

## برهم کنش مهار سیستم گلوتاماترژیک و ورزش هوازی بر رفتار شبه اضطرابی در موش‌های صحرایی

عادله جعفری<sup>۱</sup> (Ph.D)، محمد رستم پور<sup>۱،۳</sup> (Ph.D)، اعظم عطایی<sup>۴</sup> (M.Sc)، بهروز خاکپور طالقانی<sup>۱،۲</sup> (Ph.D)

۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۲- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۳- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۴- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۲۶

rost\_v@yahoo.com

نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۱۳۰۹۷۸۲

### چکیده

هدف: رفتارهای جستجوگرانه در جوندگان به‌عنوان شاخصی از رفتارهای اضطرابی هستند، در مطالعه حاضر اثر توأم ورزش هوازی با شدت‌های مختلف و مهار سیستم گلوتامات بر رفتار جستجوگرانه در موش‌های صحرایی بررسی شده است. مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۸۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی به ۱۰ گروه ۸ تایی شامل شاهد، دیازپام (۰/۶ میلی‌گرم در هر کیلوگرم)، دو دوز MK-801 (۰/۱ و ۰/۰۵ میلی‌گرم در هر کیلوگرم)، دو گروه تمرین هوازی حاد (شدت متوسط و پایین)، دو گروه تمرین هوازی حاد (شدت متوسط و پایین) + دوز ۰/۱ MK-801، دو گروه انجام‌دهنده تمرین هوازی حاد (شدت پایین و متوسط) + دوز ۰/۰۵ MK-801 تقسیم شدند. در روز آزمایش بلافاصله پس از انجام تمرین ورزشی، دارو تزریق شد و پس از ۳۰ دقیقه رفتارهای جستجوگرانه با استفاده از جعبه باز بررسی شد. یافته‌ها: تمرین ورزشی با شدت پایین و متوسط به همراه MK-801 با دوز ۰/۰۵ به‌طور معناداری موجب افزایش دفعات بلند شدن حیوان روی دو پا و کاهش تعداد لیسیدن و خاراندن بدن و دفعات اجابت مزاج در مقایسه با گروه‌های شاهد و MK-801 شد (به هم‌چنین، تمرین ورزشی با شدت پایین و متوسط به همراه تجویز MK-801 با دوز ۰/۱ به‌طور معناداری موجب افزایش دفعات بلند شدن حیوان روی دو پا و کاهش تعداد لیسیدن و خاراندن بدن و دفعات اجابت مزاج در مقایسه با گروه‌های شاهد و MK-801 شد (به ترتیب  $P < 0/001$ ،  $P < 0/001$  و  $P < 0/05$ ). نتیجه‌گیری: نتایج حاضر پیشنهاد می‌کند که استفاده از ورزش همراه با مهار گیرنده NMDA می‌تواند بر رفتارهای جستجوگرانه ناشی از اضطراب در حیوانات موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: تست جعبه باز، لیسیدن و خاراندن بدن (تیمار کردن)، Dizocilpine Maleate، ورزش

### مقدمه

آنتاگونیست غیررقابتی گیرنده NMDA است. این دارو پس از ورود به کانال، به جایگاه فنسیکلیدین (phencyclidine) گیرنده متصل شده و مانع عبور یون از کانال می‌شود. اثر ضد اضطرابی این دارو در آزمون ماز به‌علاوه در جوندگان نشان داده شده است [۳،۲]. دیازپام از خانواده بنزودیازپین‌ها بوده و با تسهیل فعالیت GABA از طریق گیرنده GABA<sub>A</sub> در سیستم عصب مرکزی اثرات ضد اضطرابی نشان می‌دهد [۴]. بر پایه شواهد موجود، تمرینات فیزیکی منظم بر بهداشت روان موثر بوده و می‌تواند پیامدهای حاصل از درمان‌های دارویی را بهبود بخشد [۵]. ورزش منظم اثرات مثبتی بر مغز دارد. ورزش از طریق تاثیر بر روی محور هیپوتالاموس-

بررسی‌های اخیر نشان داده‌اند که میانجی‌های گلوتاماترژیک از طریق گیرنده‌های یونوتروپیک در پاتوفیزیولوژی اضطراب، افسردگی و ترس شرطی سازی شده موثر هستند [۱]. سه نوع مختلف از گیرنده‌های یونوتروپیک گلوتاماتی در پستانداران وجود دارند که شامل NMDA (N-متیل دی‌آسپاراتات)، AMPA (۲- آمینو-۳- هیدروکسی-۵- متیل-۴- ایزوکسانول پروپیونیک اسید) و کاینات می‌باشند. این گیرنده‌ها عمدتاً در بخش پس سیناپسی قرار گرفته و از طریق افزایش نفوذپذیری به سدیم و کلسیم موجب تحریک پذیری سیناپسی می‌شوند. MK801 (دیزوسیلپین) یک

هر محیط جدیدی مشاهده شود. دفعات تکرار این رفتار با افزایش اضطراب در حیوان افزایش می‌یابد که قاعدتاً ارتباطی با پوست یا موی کثیف حیوان ندارد. تعداد دفعات اجابت مزاج (defecation) نیز به‌عنوان شاخصی از میزان اضطراب در نظر گرفته می‌شود [۱۴].

با توجه به عوارض داروهای مورد استفاده در اضطراب و اثرات سودمند ورزش در کاهش نشانه‌های اضطراب در مطالعه حاضر برهم کنش بین مهار گیرنده NMDA و هم‌چنین ورزش با شدت‌های مختلف بر رفتارهای جستجوگرانه که می‌تواند شاخص مهمی از وجود اضطراب در حیوانات باشد را مورد بررسی قرار دادیم.

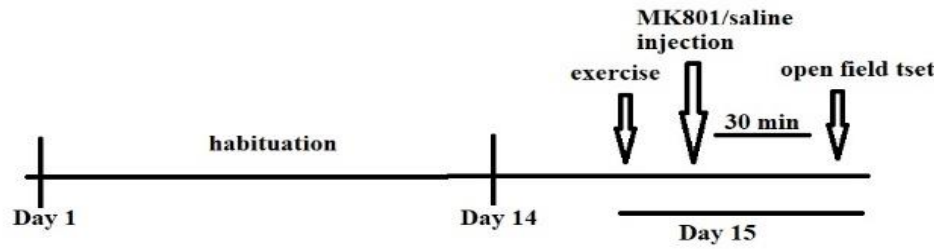
### مواد و روش‌ها

حیوانات. در این مطالعه تجربی که در دانشگاه علوم پزشکی گیلان (رشت-ایران) انجام گرفت از ۸۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار با وزن  $20 \pm 190$  گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های جدا و در اتاقی تحت شرایط آرام و با حداقل استرس و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و حرارت  $22 \pm 2$  درجه سلسیوس نگهداری شدند. دسترسی به آب و غذا آزاد بود. قبل از شروع آزمایشات، به مدت یک هفته به منظور پیشگیری از بروز تنش حیوانات روزانه دست‌آموز شدند (handling). کلیه آزمایشات در طول روز و بین ساعات ۸ تا ۱۴ انجام شد. تمام مراحل آزمایش به تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گیلان (IR.GUMS.REC.1395.159) رسید.

داروها. در این تحقیق از MK801 (سیگما، آمریکا) به عنوان آنتاگونیست غیررقابتی گیرنده NMDA و دیازپام (شرکت کاسپین، رشت، ایران) استفاده شد. هر دو دارو بلافاصله قبل از آزمایش در سرم فیزیولوژیک استریل ۰/۹ درصد حل شد. نرمال سالین با دوز ۱ میلی‌لیتر در هر کیلوگرم به گروه شاهد و دیازپام با دوز ۰/۶ میلی‌گرم در هر کیلوگرم [۱۵] به گروه دیازپام تزریق شد. MK801 با دوز ۰/۱ و ۰/۰۵ میلی‌گرم در هر کیلوگرم به گروه‌های آزمایشی مربوطه تزریق شد [۱۶]. تزریق کلیه داروها و سالین به صورت داخل صفاقی و بلافاصله بعد از اتمام فعالیت ورزشی انجام شد (شکل ۱). پس از ۳۰ دقیقه شاخص‌های رفتار اضطرابی و جستجوگرانه حیوانات در آزمون جعبه باز مورد بررسی قرار گرفت [۱۷].

هیپوفیز- آدرنال و کاهش گلوکوکورتیکوئیدها موجب تعدیل اضطراب در افراد می‌شود. در بررسی‌های حیوانی نیز اثرات سودمند ورزش بر اضطراب در آزمون‌های رفتاری مختلف گزارش شده است [۷،۶]. به عنوان مثال، وفایی و همکاران گزارش کردند که انجام ورزش اجباری ملایم و متوسط در موش‌های سالم و اواریکتومی شده وابسته به مورفین دارای اثرات ضد اضطرابی است [۸]. دویدن بر روی تردمیل موجب افزایش میزان میانجی‌هایی از قبیل سروتونین، نوراپی‌نفرین و GABA در حیوانات می‌شود [۹]. اثرات سودمند ورزش به‌طور گسترده‌ای به شدت، دوره زمانی و نوع ورزش بستگی دارد. هر دو تمرین هوازی با شدت بالا و پایین موجب کاهش اضطراب افراد شده است. هر چند تمرین هوازی با شدت بالا موجب کاهش سریع‌تر در اضطراب و تولید پاسخ درمانی بیش‌تر شده است [۱۰].

برای ارزیابی میزان اضطراب در جوندگان از آزمون‌های متعددی از قبیل ماز به‌علاوه مرتفع (EPM)، آزمون جعبه روشن و تاریک (light-dark box)، آزمون هیپوفازی ناشی از تازگی (Novelty-induced hypophagia test) استفاده می‌شود که مورد اخیر به معنای کاهش تمایل به غذای ناشی از تازگی است و تحت تأثیر عوامل مختلف مانند غذای جدید، محیط آزمون جدید و یا ظرف غذای جدید برانگیخته می‌شود. در این آزمون حیوانات با شرایطی روبرو می‌شوند که باید بین مصرف غذای مورد علاقه‌شان در شرایط جدید و یا اجتناب از این شرایط انتخاب کنند [۱۱]. آزمون جعبه باز (open field test) یک آزمون محبوب در بررسی فعالیت حرکتی و رفتار جستجوگرانه و رفتارهای شبه اضطرابی در حیوانات است و ابزار مناسبی در ارزیابی جنبه‌های مختلف رفتار حیوانات به‌ویژه در بررسی‌های مرتبط به عوارض جانبی داروها می‌باشد [۱۲،۱۳]. تعداد بلندشدن حیوان روی دویا (rearing) به‌عنوان شاخصی از فعالیت لکوموتور استفاده می‌شود، اما از سوی دیگر رفتار جستجوگرانه و اضطرابی را نیز نشان می‌دهد. افزایش در تعداد چنین رفتارهایی نشان‌دهنده افزایش فعالیت حرکتی و کنجکاوی (exploration) و در نتیجه نشانه کاهش سطح اضطراب در حیوان می‌باشد. روی هم‌رفته، بلند شدن روی دو پا به‌عنوان یک شاخص عاطفی و جستجوگرانه در جوندگان در نظر گرفته می‌شود. لیسیدن و خاراندن بدن (grooming) یک پاسخ جایگزینی (displacement) بوده و انتظار می‌رود که در



شکل ۱. زمان بندی انجام آزمایشات. پس از طی دو هفته سازگاری با تردمیل، در روز آزمایش ابتدا یک جلسه تمرین ورزشی بمدت ۳۰ دقیقه انجام شد. بلافاصله پس از آن داروها تزریق شد و بعد از سپری شدن ۳۰ دقیقه آزمون جعبه باز برای هر حیوان انجام شد.

بعد از گذشت دو هفته سازگاری، در روز آزمایش اصلی موش ها طی یک جلسه به مدت ۳۰ دقیقه در دو شدت متوسط (سرعت ۱۴ m/min) و پایین (سرعت ۱۱ m/min) بر روی تردمیل دوانده شدند. موش های متعلق به گروه با شدت متوسط، ۵ دقیقه اول با سرعت ۸ m/min، ۵ دقیقه دوم با سرعت ۱۴ m/min و ۱۱ و ۲۰ دقیقه باقی مانده با سرعت ۱۴ m/min دوانده شدند. موش های متعلق به گروه با شدت پایین، ۵ دقیقه اول با سرعت ۵ m/min، ۵ دقیقه دوم با سرعت ۸ m/min و ۲۰ دقیقه باقی مانده با سرعت ۱۱ m/min دوانده شدند. موش های گروه شاهد و دیازپام و گروه هایی که تنها MK801 دریافت کردند، به مدت دو هفته بر روی دستگاه تردمیل خاموش قرار گرفتند. شب دستگاه تردمیل صفر درجه قرار داده شد [۱۷].

بررسی رفتار جستجوگرانه مرتبط با اضطراب در آزمون جعبه باز. تجهیزات این آزمایش شامل یک صفحه چهارگوش ساخته شده از چوب سیاه (با ابعاد ۶۰ × ۶۰ × ۵۰) است و کف آن با خطوطی به ۲۵ مربع تقسیم شده است. پس از طی ۳۰ دقیقه از تزریق دارو و سالیان در گروه های مختلف، ابتدا حیوان در مرکز صفحه قرار داده می شد و رفتار و فعالیت حیوان به مدت ۵ دقیقه ثبت می گردید. پارامترهای رفتاری مورد نظر شامل تعداد دفعات ایستادن روی پاهای عقب، لیسیدن و خاراندن بدن و اجابت مزاج بود.

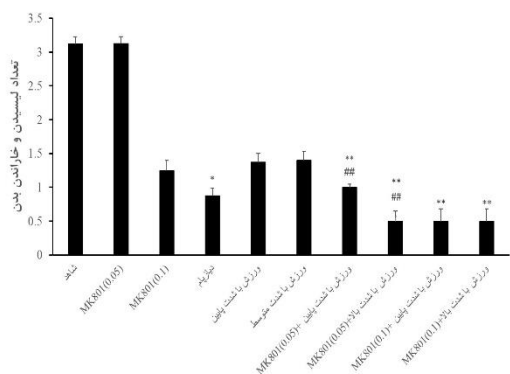
روش تحلیل داده ها. تحلیل داده های آماری با استفاده از برنامه SPSS ویرایش ۲۳ انجام شد. برای تحلیل داده های آزمایشات رفتاری از آزمون کروسکال والیس و سپس مقایسه زوجی (paired-wise) استفاده شد. کلیه داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه و با در نظر گرفتن سطح معنی داری  $P < 0.05$  انجام شد.

## نتایج

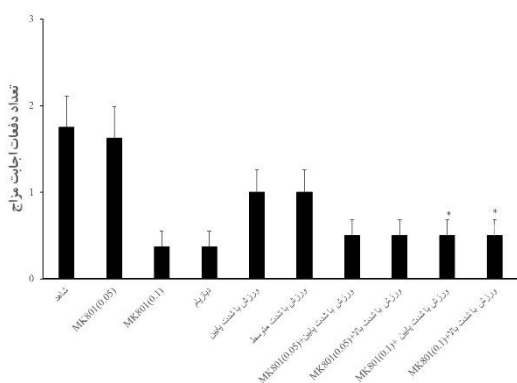
اثر توام MK801 و ورزش هوازی بر تعداد بلند شدن روی دویا. شکل ۲ تعداد بلند شدن روی دو پا را در گروه های مورد

گروه ها. حیوانات به طور تصادفی به ۱۰ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه ها شامل: ۱- گروه شاهد: (دریافت کننده سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد، ۱ میلی لیتر در هر کیلوگرم)، ۲- گروه دیازپام: (دریافت کننده ۰/۶ میلی گرم در هر کیلوگرم از دیازپام)، ۳- گروه MK801 (۰/۱): (دریافت کننده دوز ۰/۱ میلی گرم در هر کیلوگرم MK801)، ۴- گروه MK801 (۰/۰۵): (دریافت کننده دوز ۰/۰۵ میلی گرم در هر کیلوگرم MK801)، ۵- گروه ورزش با شدت پایین: (انجام دهنده تمرین هوازی حاد با شدت پایین + سرم فیزیولوژی)، ۶- گروه ورزش با شدت متوسط: (انجام دهنده تمرین هوازی حاد با شدت متوسط + سرم فیزیولوژی)، ۷- گروه ورزش با شدت پایین + MK801 (۰/۱): (گروهی از حیوانات که پس از انجام تمرین هوازی حاد با شدت پایین دوز ۰/۱ از MK801 را دریافت کردند)، ۸- گروه ورزش با شدت پایین + MK801 (۰/۰۵): (گروهی از حیوانات که پس از انجام تمرین هوازی حاد با شدت پایین، دوز MK801 ۰/۰۵ را دریافت کردند)، ۹- گروه ورزش با شدت متوسط + MK801 (۰/۱): (گروهی از حیوانات که پس از انجام تمرین هوازی حاد با شدت متوسط، دوز MK801 ۰/۱ را دریافت کردند)، ۱۰- گروه ورزش با شدت متوسط + MK801 (۰/۰۵): (گروهی از حیوانات که پس از تمرین هوازی حاد با شدت متوسط، دوز MK801 ۰/۰۵ را دریافت کردند).

روش اجرای تمرینات ورزشی. پروتکل تمرینات ورزشی بر پایه ورزش هوازی اجباری و با استفاده از دستگاه تردمیل جوندگان انجام شد. در ابتدا موش ها به منظور سازگاری با دستگاه تردمیل به مدت دو هفته، هر هفته سه روز روی دستگاه تردمیل دوانده شدند. سرعت در اولین جلسه تمرین از ۱۴ m/min شروع و روزانه افزایش داده شد تا در آخرین روز سازگاری برای موش های متعلق به گروه با شدت متوسط به ۱۴ m/min و برای موش های متعلق به گروه شدت پایین به ۱۱ m/min رسید. زمان فعالیت ورزشی در اولین جلسه سازگاری از ۵ دقیقه شروع و در آخرین جلسه به ۳۰ دقیقه رسید.



شکل ۳. اثر تجویز توام MK801 و ورزش هوازی بر دفعات لیسیدن و خاراندن بدن در گروه‌های مورد مطالعه در آزمون جعبه باز. داده‌ها بصورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد نشان داده شده است.  $P < 0.05$  \* و  $P < 0.01$  \*\* در مقایسه با گروه شاهد؛  $P < 0.01$  \*\*\* در مقایسه با گروه MK801 (0.05).

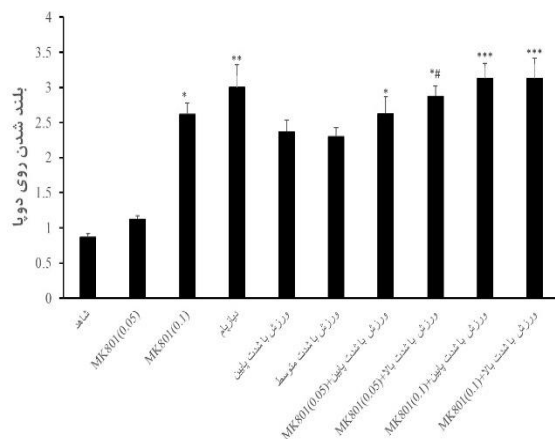


شکل ۴. اثر تجویز توام MK801 و ورزش هوازی بر دفعات اجابت مزاج در گروه‌های مورد مطالعه در آزمون جعبه باز. داده‌ها بصورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد نشان داده شده است.  $P < 0.05$  \* در مقایسه با گروه شاهد.

### بحث و نتیجه‌گیری

آزمون جعبه باز از جمله مدل‌های تجربی است که از دیرباز برای ارزیابی رفتارهای جستجوگرانه و عاطفی جوندگان مورد استفاده قرار می‌گرفته است [۱۳]. در مطالعه حاضر پاسخ رفتاری حیوانات پس از تیمار با دارو و ورزش از طریق این آزمون بررسی شد. یافته‌های حاصل از این بررسی نشان داد که (۱) تجویز دوز ۰/۱ میلی‌گرم در هر کیلوگرم از داروی MK801 موجب افزایش تعداد بلند شدن حیوان روی دو پا شد؛ در حالی که دفعات لیسیدن و خاراندن بدن و اجابت مزاج را در حیوانات کاهش داد. (۲) انجام ورزش هوازی حاد به تنهایی شاخص‌های رفتاری را تغییر داد اگر چه معناداری مشاهده نشد (۳) استفاده هم‌زمان تمرین ورزشی با تریدمیل و MK801 به طور معناداری تعداد بلند شدن حیوان روی دو پا را افزایش و دفعات لیسیدن و خاراندن بدن و اجابت مزاج را کاهش داد.

مطالعه نشان می‌دهد. بر این اساس، گروه‌های (۰/۱) MK801، ورزش با شدت پایین + MK801 (۰/۰۵)، ورزش با شدت متوسط + MK801 (۰/۰۵) با  $P < 0.05$ ، ورزش با شدت بالا + MK801 (۰/۰۱) و ورزش با شدت پایین + MK801 (۰/۰۱) با  $P < 0.01$ ، ورزش با شدت متوسط + MK801 (۰/۰۱) با  $P < 0.001$  توانستند به طور معنی‌داری تعداد بلند شدن روی دو پا را در مقایسه با گروه شاهد افزایش دهند.



شکل ۲. اثر تجویز توام MK801 و ورزش هوازی بر تعداد بلند شدن روی دو پا در گروه‌های مورد مطالعه در آزمون جعبه باز. داده‌ها بصورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد نشان داده شده است.  $P < 0.05$  \*،  $P < 0.01$  \*\*،  $P < 0.001$  \*\*\*.

اثر توام MK801 و ورزش هوازی بر تعداد لیسیدن و خاراندن بدن. نتایج مربوط به تعداد لیسیدن و خاراندن بدن نشان داد که گروه دیازپام با  $P < 0.05$  و گروه‌های ورزش با شدت پایین + MK801 (۰/۰۵)، ورزش با شدت متوسط + MK801 (۰/۰۱) و ورزش با شدت متوسط + MK801 (۰/۰۱) با  $P < 0.01$  توانستند به طور معنی‌داری تعداد لیسیدن و خاراندن بدن را در مقایسه با گروه شاهد کاهش دهند. همچنین گروه ورزش با شدت پایین + MK801 (۰/۰۵) و گروه ورزش با شدت متوسط + MK801 (۰/۰۵) به طور معنی‌داری کاهش داد ( $P < 0.01$ ) (شکل ۳).

اثر توام MK801 و ورزش هوازی بر تعداد دفعات اجابت مزاج. همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده شده است، همه گروه‌های مورد مطالعه تعداد دفعات اجابت مزاج را در مقایسه با گروه شاهد کاهش دادند که این کاهش در گروه‌های ورزش با شدت پایین + MK801 (۰/۰۱) و ورزش با شدت بالا + MK801 (۰/۰۱) با  $P < 0.01$  در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار بود.

تمرینات اختیاری بیش از ورزش اجباری در آزمون جعبه باز رفتار جستجوگرانه از خود نشان می‌دهند. به نظر می‌رسد که تفاوت در پاسخ‌های مشاهده شده در حیوانات به نوع پروتکل ورزشی و دوره زمانی تمرین ورزشی بستگی دارد. همچنین مدت زمان بررسی حیوان در آزمون جعبه باز نیز حایز اهمیت است [۶]. علاوه بر این، رفتار حیوانات نه تنها از یک الگوی واحد پیروی نمی‌کند، بلکه از اجزای مختلفی از قبیل فعالیت، اضطراب، جستجوگری و حرکات کلیشه‌ای تشکیل شده است. در نتیجه اثر یک تیمار بر تمام اجزای رفتاری حیوان لزوماً یک پاسخ مشابه را نخواهد داشت [۲۳]. بنابراین، به نظر می‌رسد تفاوت در اثرات مشاهده شده در اثر تجویز MK801 یا انجام تمرین ورزشی نه تنها به دوز داروی مورد استفاده، روش تزریق و پروتکل ورزشی بستگی دارد بلکه آزمون مورد استفاده در سنجش رفتار حیوان نیز بسیار مهم است.

علاوه بر این، در بررسی حاضر استفاده توأم ورزش هوازی و تجویز MK801 توانست رفتارهای جستجوگرانه حیوانات را تحت تاثیر قرار داده به طوری که تعداد بلند شدن حیوان روی دوپا را افزایش و دفعات لیسیدن و خاراندن بدن و اجابت مزاج را به طور معناداری کاهش داد. ورزش به طور مستقیم و غیر مستقیم میانجی‌ها و هورون‌هایی از قبیل سروتونین، پپتید ناتریوریتیک دهلیزی و GABA را در بدن افزایش می‌دهد. علاوه بر این، اندورفین رها شده در مغز در اثر ورزش به کاهش اضطراب کمک می‌کند [۲۴]. در مورد مکانیسم احتمالی ورزش هوازی حاد بر میزان اضطراب نقش سروتونین و تعامل آن با سیستم گلو تاماتی مورد توجه قرار گرفته است. پیشنهاد شده است که افزایش سنتز و ترشح سروتونین در اثر فعال شدن نورون‌های سروتونرژیک در هسته رافه در اثرات ضد اضطرابی آن نقش دارد. تعامل بین سیستم سروتونینی و گیرنده‌های NMDA در قشر جلوی پیشانی در تنظیم شناخت و احساسات موثر است. سروتونین از طریق گیرنده‌های نوع ۱ خود موجب کاهش انتقال گیرنده‌های NMDA به غشای سلول می‌شود [۲۵]. در مطالعه حاضر این احتمال می‌رود ورزش از طریق افزایش ترشح سروتونین سبب کاهش گیرنده‌های NMDA در سطح غشا و در نتیجه کاهش اضطراب شود. علاوه بر این، بر اساس یافته‌های ژنتیکی، زیر واحد NR2A گیرنده NMDA در پاسخ‌های اضطرابی مشاهده شده در جوندگان نقش ایفا می‌کند. به طوری که غیر فعال کردن این زیر واحد موجب کاهش رفتارهای اضطرابی در آزمون‌های رفتاری متفاوت می‌شود [۲۶]. واسوتا و همکارانش نشان دادند که فعالیت ورزشی می‌تواند نقش ویژه زیر واحدهای NR2A و NR2B را تنظیم کند. با توجه به موارد ذکر شده به نظر می‌رسد در مطالعه ما

شواهد بسیاری نقش گلو تامات را در اضطراب مورد بررسی قرار داده‌اند. گلو تامات با اتصال به گیرنده‌های NMDA باعث ورود یون‌های مثبت سدیم و کلسیم و خروج پتاسیم از سلول می‌شود [۱۸]. مهار این گیرنده با داروهایی مانند MK801 می‌تواند موجب بروز اثرات ضد اضطرابی شود. این دارو به درون کانال NMDA وارد شده و به جایگاه اتصالی PCP (فنسیکلیدین) متصل، و در نتیجه باعث مهار کانال می‌شود. در مطالعه Polesak و همکارانش (۲۰۰۸) تجویز MK801 با دوز ۰/۱ میلی‌گرم در هر کیلوگرم موجب افزایش مدت زمان حضور و تعداد ورود به بازوی باز در دستگاه ماز بعلاوه‌ای مرتفع شد، در حالی که دوز ۰/۰۵ میلی‌گرم در هر کیلوگرم اثر معناداری از خود نشان نداد [۱۶]. بررسی پاسخ اضطرابی در مطالعه Ennaceur و همکاران (۲۰۱۱) بر روی موش‌های سوری نشان داد که تزریق MK801 با دوز ۰/۱ میلی‌گرم در هر کیلوگرم سطح پایه اضطراب در دستگاه ماز شعاعی ۹ بازویه را افزایش داده است [۱۹]. زرین دست و همکاران (۲۰۱۲) گزارش نمودند که تزریق داخل بطنی MK801 ورود به بازوی باز در ماز بعلاوه مرتفع را کاهش می‌دهد، در حالی که دفعات بلند شدن حیوان روی دو پا و لیسیدن و خاراندن بدن و دفعات اجابت مزاج تغییر معناداری را در این حیوانات نشان نداد [۲۰]. در مطالعه ما، تعداد بلند شدن روی دو پا در اثر مهار گیرنده NMDA با دوز ۰/۱ نسبت به شاهد کاهش معناداری نشان داد. علاوه بر این، در مطالعه حاضر انجام ۳۰ دقیقه ورزش هوازی بر روی تردمیل، اگر چه رفتارهای جستجوگرانه در حیوانات را تغییر داد اما معناداری مشاهده نشد. گرچه در مطالعاتی کاهش معنادار رفتارهای شبه اضطرابی در جوندگان در اثر ورزش گزارش شده است. به عنوان مثال، مطالعه‌ای که توسط Patki و همکاران انجام گرفت نشان داد ۳۰ دقیقه ورزش هوازی بر روی تردمیل به مدت دو هفته با شدت متوسط سبب کاهش رفتارهای اضطرابی موش‌های صحرایی در مدل حیوانی استرس طولانی مدت (single prolonged stress) می‌شود. در این مطالعه درصد حضور حیوان در مرکز، درصد ورود به بازوی بسته و همچنین درصد حضور در اتاق روشن به عنوان شاخصی از اضطراب در حیوانات گزارش شد [۲۱]. همچنین در بررسی Otsuka گزارش شد که ورزش هوازی حاد با شدت پایین سبب افزایش مدت زمان حضور و تعداد ورود به بازوی باز در دستگاه ماز بعلاوه‌ای مرتفع در حیوانات می‌شود [۱۷]. در همین راستا، رشیدی پور و همکاران گزارش کردند که ۳۰ دقیقه ورزش ملایم به مدت ۱۰ روز رفتارهای شبه اضطرابی مورد بررسی در ماز بعلاوه‌ای مرتفع را در حیوانات سالم کاهش می‌دهد [۲۲]. از سوی دیگر، برخی مطالعات نشان داده‌اند که جوندگان به دنبال

- anxiety. *Proc Soc Behav Sci* 2011; 30: 2497-2498. (Persian). <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2011.10.487>
- [6] Binder E, Droste SK, Ohi F, Reul JM. Regular voluntary exercise reduces anxiety-related behaviour and impulsiveness in mice. *Behav Brain Res* 2004; 155: 197-206. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.04.017> PMID:15364478
- [7] Vollert C, Zagaar M, Hovatta I, Taneja M, Vu A, Dao A, et al. Exercise prevents sleep deprivation-associated anxiety-like behavior in rats: potential role of oxidative stress mechanisms. *Behav Brain Res* 2011; 224: 233-240. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.05.010> PMID:21621560
- [8] Vafaei AA, Hagaygh KF, Seraj Z, Miladi Gorji H, Rashidy Pour A. Effects of forced exercise on object location memory and anxiety behaviour in morphine dependent ovariectomized rats. *Koomesh* 2020; 22: 704-710. (Persian). <https://doi.org/10.29252/koomesh.22.4.704>
- [9] DeBoer LB, Powers MB, Utschig AC, Otto MW, Smits JA. Exploring exercise as an avenue for the treatment of anxiety disorders. *Expert Rev Neurother* 2012; 12: 1011-1022. <https://doi.org/10.1586/ern.12.73> PMID:23002943 PMCid:PMC3501262
- [10] Broman-Fulks JJ, Berman ME, Rabian BA, Webster MJ. Effects of aerobic exercise on anxiety sensitivity. *Behav Res Ther* 2004; 42: 125-136. [https://doi.org/10.1016/S0005-7967\(03\)00103-7](https://doi.org/10.1016/S0005-7967(03)00103-7)
- [11] Zavvari F, Karimzadeh F. A methodological review of development and assessment of behavioral models of depression in rats. *Neurosci J Shefaye Khatam* 2015; 3: 151-160. (Persian). <https://doi.org/10.18869/acadpub.shefa.3.4.151>
- [12] Cholieris E, Thomas AW, Kavaliers M, Prato FS. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neurosci Biobehav Rev* 2001; 25: 235-260. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(01\)00011-2](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(01)00011-2)
- [13] Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol* 2003; 463: 3-33. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01272-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01272-X)
- [14] Kaluuff AV, Tuohimaa P. The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research. *J Neurosci Methods* 2005; 143: 169-177. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2004.10.001> PMID:15814150
- [15] Rostampour M, Hadipour E, Oryan S, Soltani B, Saadat F. Anxiolytic-like effect of hydroalcoholic extract of ripe pistachio hulls in adult female Wistar rats and its possible mechanisms. *Res Pharm Sci* 2016; 11: 454. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.194870> PMID:28003838 PMCid:PMC5168881
- [16] Poleszak E, Wlaz P, Wróbel A, Fidecka S, Nowak G. NMDA/glutamate mechanism of magnesium-induced anxiolytic-like behavior in mice. *Pharmacol Rep* 2008; 60: 655.
- [17] Otsuka T, Nishii A, Amemiya S, Kubota N, Nishijima T, Kita I. Effects of acute treadmill running at different intensities on activities of serotonin and corticotropin-releasing factor neurons, and anxiety-and depressive-like behaviors in rats. *Behav Brain Res* 2016; 298: 44-51. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.10.055> PMID:26542811
- [18] Szakacs R, Janka Z, Kalman J. The "blue" side of glutamatergic neurotransmission: NMDA receptor antagonists as possible novel therapeutics for major depression. *Neuropsychopharmacol Hung* 2012; 14: 29-40.
- [19] Ennaceur A, Michalikova S, van Rensburg R, Chazot PL. MK-801 increases the baseline level of anxiety in mice introduced to a spatial memory task without prior habituation. *Neuropharmacology* 2011; 61: 981-991. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.06.027> PMID:21762710

تغییر رفتار حیوانات می‌تواند به اثرات هم‌افزایی ورزش و مهارکننده گیرنده NMDA از طریق مکانیسم‌های ذکر شده باشد.

استفاده از یک پروتکل ورزشی تک جلسه‌ای و بررسی شاخص‌های رفتاری فقط در دستگاه جعبه باز از محدودیت‌های پروژه حاضر بود. با توجه به نتایج حاصله به نظر می‌رسد بررسی شاخص‌های رفتاری در آزمون‌های دیگر اضطرابی می‌تواند کمک شایانی در جمع‌بندی و نتیجه‌گیری باشد. در عین حال، نقطه قوت این پژوهش این بود که همراه شدن ورزش با شدت پایین با دوز غیر موثر دارو به طور معنی‌داری رفتار اضطرابی را در حیوان تعدیل کرد. به طور خلاصه، نتایج پژوهش حاضر دریچه نوینی به سوی این دیدگاه باز می‌کند که استفاده از ورزش همراه با آنتاگونیست NMDA می‌تواند بر رفتارهای جستجوگرانه ناشی از اضطراب در حیوانات موثر باشد.

### تشکر و قدردانی

این کار تحقیقاتی بر اساس گرنت معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی (۹۵۰۵۲۳۰۳) انجام شده است.

### مشارکت و نقش نویسندگان

محمد رستم‌پور: ایده و طراحی مطالعه، اعظم عطایی: جمع‌آوری داده‌ها، محمد رستم‌پور و عادل جعفری: آنالیز و تفسیر نتایج، محمد رستم‌پور، عادل جعفری، اعظم عطایی و بهروز خاکپور: نگارش نسخه اول مقاله، محمد رستم‌پور و عادل جعفری: نسخه نهایی مقاله. همه نویسندگان نتایج را بررسی نموده و نسخه نهایی مقاله را تایید نمودند.

### منابع

- [1] Poleszak E, Serefko A, Szopa A, Wośko S, Dudka J, Wróbel A, et al. NMDA receptor activation antagonizes the NMDA antagonist-induced anti-anxiety effect in the elevated plus-maze test in mice. *Pharmacol Rep* 2013; 65: 1124-1131. [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(13\)71470-1](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(13)71470-1)
- [2] Bowie D. Ionotropic glutamate receptors & CNS disorders. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2008; 7: 129-143. <https://doi.org/10.2174/187152708784083821> PMID:18537642 PMCid:PMC2662616
- [3] Blot K, Bai J, Otani S. The effect of non-competitive NMDA receptor antagonist MK-801 on neuronal activity in rodent prefrontal cortex: an animal model for cognitive symptoms of schizophrenia. *J Physiol Paris* 2013; 107: 448-451. <https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2013.04.003> PMID:23603055
- [4] Calcaterra NE, Barrow JC. Classics in chemical neuroscience: diazepam (valium). *ACS Chem Neurosci* 2014; 5: 253-260. <https://doi.org/10.1021/cn5000056> PMID:24552479 PMCid:PMC3990949
- [5] Heidary A, Emami A, Eskandaripour S, Saiah A, Hamidi S, Shahbazi M. Effects of aerobic exercise on

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.04.045>

PMid:22569582 PMCID:PMC3866095

[24] Koltyn KF. Analgesia following exercise. *Sports Med* 2000; 29: 85-98.

<https://doi.org/10.2165/00007256-200029020-00002>

PMid:10701712

[25] Yuen EY, Jiang Q, Chen P, Gu Z, Feng J, Yan Z. Serotonin 5-HT1A receptors regulate NMDA receptor channels through a microtubule-dependent mechanism. *J Neurosci* 2005; 25: 5488-5501.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1187-05.2005>

PMid:15944377 PMCID:PMC6724987

[26] Boyce-Rustay JM, Holmes A. Genetic inactivation of the NMDA receptor NR2A subunit has anxiolytic-and antidepressant-like effects in mice.

*Neuropsychopharmacology* 2006; 31: 2405-2414.

<https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301039>

PMid:16482087

[20] Zarrindast MR, Nasehi M, Pournaghshband M, Yekta BG. Dopaminergic system in CA1 modulates MK-801 induced anxiolytic-like responses. *Pharmacol Biochem Behav* 2012; 103: 102-110.

<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2012.07.016>

PMid:22885281

[21] Patki G, Li L, Allam F, Solanki N, Dao AT, Alkadhi K, Salim S. Moderate treadmill exercise rescues anxiety and depression-like behavior as well as memory impairment in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Physiol Behav* 2014; 130: 47-53.

<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.03.016>

PMid:24657739 PMCID:PMC4318362

[22] Rashidy-Pour A, Vafaei AA, Mokhtari-Zaer A, Miladi-Gorji H. Physical activity alleviates anxiety but not hippocampal BDNF deficits in morphine abstinent rats. *Koomesh* 2018; 20: 594-602. (Persian).

[23] Tanaka S, Young JW, Halberstadt AL, Masten VL, Geyer MA. Four factors underlying mouse behavior in an open field. *Behav Brain Res* 2012; 233: 55-61.

## Interaction of glutamatergic system inhibition and aerobic exercise on anxiety-like behaviors in rats

Adeleh Jafari (Ph.D)<sup>1</sup>, Mohammad Rostampour (Ph.D)<sup>\*1,2,3</sup>, Azam Ataei (M.Sc)<sup>4</sup>, Behrooz Khakpour-Taleghani (Ph.D)<sup>1,2,3</sup>

1 – Dept. of Physiology, School of medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

2 - Cellular and Molecular Research Center, School of medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

3 - Neuroscience Research Center, School of medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

4 - Student Research Committee, School of medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

\* Corresponding author. +98 9111309782

rost\_v@yahoo.com

Received: 9 Jun 2021 ; Accepted: 16 Jan 2022

**Introduction:** Exploratory behaviors in rodents are an indicator of anxiety behaviors. In the present study, the combined effect of aerobic exercise with different intensities and inhibition of the glutamate system on exploratory behavior in rats was investigated.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 80 male Wistar rats were randomly divided into 10 groups including control, diazepam (0.6 mg/kg), two doses of MK-801 (0.1 and 0.05 mg/kg), two groups of acute aerobic exercise (low and moderate intensity), two acute aerobic exercise groups (low and moderate intensity) + dose 0.1 MK-801, the two groups performing acute aerobic exercise (low and moderate intensity) + dose 0.05 MK-801. On the test day, immediately after exercise, drugs were injected, and 30 minutes later, exploratory behaviors were assessed by an open field.

**Results:** Low and moderate-intensity exercise with MK-801 at a dose of 0.05 mg/kg significantly increased the frequency of rearing and decreased the number of grooming, and frequency of defecation compared to control and MK-801 groups ( $P<0.01$ ,  $P<0.01$  and  $P<0.05$ , respectively). In addition, performing low and medium intensity exercise with MK-801 at a dose of 0.1 mg/kg significantly increased the number of rearing and decreased the number of grooming, and frequency of defecation compared to control and MK-801 groups ( $P<0.001$ ,  $P<0.001$  and  $P<0.05$ , respectively).

**Conclusion:** The results of the present study suggest that the use of exercise in combination with NMDA inhibition can be effective on anxiety-induced exploratory behaviors in animals.

**Keywords:** Open Field Test, Grooming, Dizocilpine Maleate, Exercise