مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و سوم/شماره ۳۵۷/هفته اول دی ماه ۱۳۹٤

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۲۶

بررسی اثر تمرین هوازی، استرس صوتی و عصاره‌ی گل سفید ختمی بر تغییرات رفتارهای اضطرابی، سطح نیتریک اکساید و سروتونین پلاسما در موش‌های نر صحرایی

دکتر امیرحسین کریمی[۱]، دکتر فرزاد ناظم[۲]، اکبر سازوار[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: استفاده از فعالیت‌های بدنی و داروهای گیاهی برای درمان بیماری‌های عصبی نظیر اضطراب سابقه‌ی طولانی دارد. مطالعه‌ی حاضر، با هدف بررسی اثر تمرین هوازی و تزریق عصاره‌ی گل سفید ختمی با استرس صوتی بر تغییرات رفتارهای اضطرابی، سطح نیتریک اکساید و سروتونین پلاسما در موش صحرایی نر انجام شد.

روش‌ها: تعداد ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ با محدوده‌ی وزنی ۲۰/۵۷ ± ۱۷۰/۸۲ گرم انتخاب شدند. موش‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه ۷ تایی شامل شاهد، استرس صوتی، تمرین + استرس صوتی، عصاره‌ی گل سفید ختمی + استرس صوتی و استرس صوتی + تمرین + عصاره‌ی گل سفید ختمی تقسیم شدند. موش‌ها در معرض استرس صوتی صدای ضبط شده ترافیک ۱۵ ± ۹۵ دسی‌بل روزانه ۵ ساعت به مدت ۶۰ روز و تمرین هوازی بیشینه و زیر بیشینه به صورت ۵ روز در هفته و به مدت ۶۰ روز قرار گرفتند. تزریق عصاره‌ی گل سفید ختمی به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن داخل صفاقی صورت گرفت. برای تعیین غلظت نیتریک اکساید و سروتونین پلاسمای خون از کیت حیوانی مخصوص رت استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل نتایج از آزمون One-way ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey استفاده و $P \leq ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: در گروه تزریق عصاره‌ی گل سفید ختمی + تمرین هوازی + استرس صوتی، میزان اضطراب کمتر و نیتریک اکساید و سروتونین زیادتر از گروه استرس صوتی در مقایسه با گروه شاهد بود ($P < ۰/۰۱$).

نتیجه‌گیری: تمرین هوازی و تزریق عصاره‌ی ختمی میزان اضطراب و سروتونین پلاسمایی خون ناشی از استرس صوتی را جبران کرد؛ در این میان، نقش تمرین هوازی به مراتب بیشتر از عصاره‌ی گل سفید ختمی بود.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، عصاره‌ی گل سفید ختمی، سروتونین، نیتریک اکساید، آزمون ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع

ارجاع: کریمی امیرحسین، ناظم فرزاد، سازوار اکبر. **بررسی اثر تمرین هوازی، استرس صوتی و عصاره‌ی گل سفید ختمی بر تغییرات رفتارهای اضطرابی، سطح نیتریک اکساید و سروتونین پلاسما در موش‌های نر صحرایی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۷): ۱۸۵۰-۱۸۴۳

مقدمه

اضطراب یکی از شایع‌ترین اختلالات روانی است که تعداد زیادی از افراد جوامع را مبتلا می‌سازد و در چند دهه‌ی اخیر، مطالعات متعدد از نقش فعالیت‌های بدنی به ویژه الگوی استقامتی در کاهش اضطراب حکایت دارد (۸-۱). مطالعاتی نشان داده‌اند که ورزش هوازی به طور منظم با کاهش علایم سیستم عصبی سمپاتیک و تنظیم محور هیپوتالاموس آدرنال (HPA axis یا Hypothalamic pituitary adrenal axis) و کاهش علایم اضطراب همراه است (۹، ۳). اهمیت و فواید فعالیت بدنی در مطالعات انسانی و حیوانی در آزمایشگاه‌ها، به خصوص حیوانات جونده نیز گزارش شده است (۱۰).

انسان امروزی در معرض بسیاری از عوامل استرس‌زای روزمره مانند ترافیک شهری، سر و صدای هواپیما، محیط کار و لوازم خانگی قرار می‌گیرد (۱۱). حساسیت، استقامت و برخورد شنونده با مبدأ صدا، از عوامل ضروری محسوب می‌شوند. تأثیر سر و صدا با توجه به شدت، مداومت، زمان، شکل مجاورت، سن، جنس و سلامت جسمی افراد متفاوت است (۱۰). سر و صدا و آلودگی صوتی، علاوه

۱- استادیار، گروه تربیت بدنی، دانشکده‌ی علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران
۲- دانشیار، گروه تربیت بدنی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۳- استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده‌ی ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر امیرحسین کریمی
Email: amir.karimi@ped.usb.ac.ir

بـر آسـیب‌هـای شـنیداری، سـبب بـروز اخـتلالات رفتـاری، سایکوفیزیولوژیک و استرس می‌گردد (۱۲).

استرس، تعادل حیاتی فیزیولوژیک جاندار را بـه هـم مـی‌ریـزد و توانایی مقابله با این محرک‌های تـنش‌زا، نقـش مهمـی در سـلامتی و بیماری موجود زنده دارند. مطالعـاتی نشـان مـی‌دهـد کـه از جنبـه‌ی پاتولوژیک، فشارهای عصبی با بر هم خوردن تعادل پیام‌آوران عصـبی در برخی از بیماری‌ها قابل توجـه هسـتند (۱۳). همچنـین، پیـام‌آوران عصبی، نقش برجسته‌ای در اختلالات رفتاری و اضطراب ایفا می‌کننـد (۱۴). مطالعـاتی اثبـات مـی‌کنـد کـه ۵- هیدروکسـی تریپتـامین (1-1-5-HT-5-hydroxytryptamine) یا سروتونین، می‌تواند شـکل پذیری سیناپسی را تنظیم نماید و خلق و خوی را بهبود بخشد (۱۵).

نیتریک اکساید (NO یا Nitric oxide) بـه عنـوان یـک مـاده‌ی میـانجی عصـبی در بسـیاری از عملکـرد سیسـتم عصـبی و رفتارهـای اضطرابی نقش دارد (۱۶). نیتریـک اکسـاید، رادیکـال آزادی اسـت کـه توسط فعالیت آنزیمی از L- آرژنین در سلول‌های مختلف (ماکروفاژهـا، کندروسیت‌ها و نرون‌های عصبی) سنتز می‌شود؛ به عنوان یـک مولکـول پیامبر داخل و بین سلولی عمل می‌کند و با طیـف وسـیعی از رونـدهای فیزیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیک همراه است (۱۷).

در مطالعات مختلف، کاهش (۱۱)، عدم وجـود اخـتلاف معنـی‌دار (۱۸) و یا افزایش (۱۹) در غلظت نیتریک اکساید در تمرینـات مختلـف ورزشی مشاهده شده است.

در درمان اضطراب، داروهای معمول مانند داروهای بنزودیـازپینی استفاده می‌شوند که مهار کننده‌ی انتخابی بازجذب سـروتونین هسـتند (۱۳). همچنین، استفاده از گیاهان دارویی در کاهش اضطراب و بهبود اختلالات خـواب از قـدیم مرسـوم بـوده اسـت. قـدیمی‌تـرین روش درمانی شناخته شده از سوی بشر، طب گیاهی است.

گونه‌ی گیاهی گل سفید ختمی با نـام علمـی Althaea kurdica گیاهی چند ساله است. نام این گونه‌ی گیاه Althaea از واژه‌ی یونانی Althaino به معنی درمان مشتق شده است. این گیـاه در طـب سـنتی اروپایی استفاده شده و قدمت کاربرد آن تا دو هزار سـال نیـز بـرآورد شده است (۲۰). گونه‌های این گیاه، کاربرد وسیعی در طـب قـومی و قبیله‌ای داشته است؛ چرا که، دارای خـواص زیـادی از قبیـل تسـکین دهنـده و آرام‌بخـش (کـاهش اضـطراب)، مـاده‌ی ادرار آور (افـزایش دهنده‌ی حجـم ادرار)، داروی ملـین (باعـث نـرم شـدن و آرام شـدن پوست)، شفا دهنده و بهبود بخش زخم‌ها (افـزایش سـرعت بهبـودی زخم و جراحت) است (۲۱). سابقه‌ی مصـرف دارویـی ایـن گیـاه در ایران باستان نیز آمده است (۲۲).

این پژوهش، با هدف بررسی تأثیر توأم تزریق مجموعـه‌ی انـدام گل سفید ختمی، تمرینـات هـوازی و اسـترس صـوتی بـر رفتارهـای اضـطرابی و غلظـت‌هـای بیوشـیمیایی نیتریـک اکسـاید و سـروتونین پلاسمای خون، بر روی موش‌های نر صحرایی انجام شد.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی تجربی، ۳۵ سر موش صحرایی نر سالم (نـژاد ویسـتار) بـا محـدوده‌ی وزنـی ۲۰/۵۷ ± ۱۷۰/۸۲ گـرم و دامنـه‌ی سـنی ۷۰-۶۰ روز، جهت آزمایش از انستیتو رازی کرج تهیـه و در قفـس‌هـای مخصـوص در محفظه‌ی انعکاسی فلزی با ابعاد ۹۰ × ۶۰ × ۶۰ سانتی‌متـر بـا شـرایط دوره‌ی تـاریکی- روشـنایی ۱۲ سـاعته و دمـای ۲ ± ۲۵ درجـه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت ۵ ± ۵۵ درصد نگه‌داری شدند.

هیچ محدودیت غذایی یا آبی برای حیوانات وجود نداشت. اصـول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق با بیانیه های کمیته‌ی اخلاقـی دانشگاه بوعلی سینای همدان و معاهده‌ی Helsinki انجام گرفت.

موش‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه ۷ تایی شامل شاهد، اسـترس صوتی، تمرین + استرس صوتی، عصاره‌ی گل سفید ختمی + استرس صوتی و استرس صوتی + تمرین + عصاره‌ی گل سفید ختمی تقسـیم شدند و مورد آزمایش قرار گرفتند.

پروتکل تمرینی: برنامه‌ی تمرینی شامل ۸ هفتـه تمـرین هـوازی، ۵ روز در هفته و با شدت و مدت معین طبق برنامه ی تمرینـی کـه در دامنه ی زمانی ۱۲:۳۰-۷:۳۰ به صورت دویـدن بـر روی نـوار گـردان حیوانی با شیب صفر درجه در نظر گرفته شد. برنامه‌ی تمرینی پس از ۵ روز آشنایی موش‌ها با دویدن روی دستگاه نوار گردان بـه صـورت زیر آغاز شد. در این مرحله، به منظور رعایت مسـایل اخلاقـی، بـرای وادار کردن موش به دویدن از شوک الکتریکـی اسـتفاده نشـد و ایـن عمل توسط میله‌ای پلاستیکی انجام شد (۲۳). در مرحله ی آشناسازی، حرکت نوار گردان (به مدت ۵ روز) با مدت زمان ۱۵ دقیقه و شـدت ۱۰ متر بر دقیقه بود. ۱۰ دقیقه‌ی اول و آخر هر جلسه‌ی تمرین نیز بـه ترتیب به گرم و سرد کردن اختصاص داده شد.

با احتساب هفتـه‌ی سـازگاری، هفتـه‌ی اول و دوم، مـوش‌هـا در هـر جلسه با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه بر روی نـوار گـردان بدون شیب قرار گرفتند. به همین ترتیب، در هفته‌هـای بعـد هـر دو هفتـه، ۵ واحد بر سرعت تمرین اضـافه شـد؛ ولـی، از هفتـه‌ی هفـتم تـا آخـرین هفته‌ی تمرین، سرعت تمرین ۳۰ متـر در دقیقـه ثابـت بـود. مـدت زمـان تمرین نیز در هفته‌های سوم تا هفتم به ترتیب ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ دقیقـه در نظر گرفته شد. از هفته‌ی هشتم به بعد، مدت تمرین بـر روی ۶۰ دقیقـه ثابت نگه داشته شد. این برنامه معادل بـا شـدت‌هـای کـار ۸۵-۵۵ درصـد حداکثر جذب اکسیژن VO_2max به اجرا در آمد (۲۵-۲۴).

عصاره‌گیری مجموعه‌ی اندام گیاه گل سفید ختمـی: مجموعـه‌ی اندام گیاه گل سفید ختمی حدود ۱۷۰۰ گرم (گـل‌هـای تـازه و سـالم

سفید، با شماره‌ی هرباریوم ۲۸۸۷-۴۸۵۶-۵۰۵۲ و با عنوان علمی Altheae kurdica L. از منطقه‌ی حفاظت شده‌ی باغ گیاهان دارویی) در استان همدان زیر نظر کارشناسان مجرب شناسایی و جمع‌آوری شد و مقداری از آن در دمای ۴۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در محلی تاریک خشک و سپس به صورت پودر ساییده شد و آن گاه، عصاره‌گیری برای استخراج مواد مؤثر به روش خیساندن انجام گرفت. بدین صورت که برای هر ۲۰۰ گرم وزن خشک از مجموعه‌ی اندام گیاه گل سفید ختمی، از ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد. پس از گذشت ۱۲ ساعت، سه بار از کاغذ صافی عبور داده شد و سپس، در دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت عصاره‌گیری گردید.

عصاره‌ی به دست آمده، به مدت ۱۶ ساعت در دستگاه فریز دراير قرار گرفت تا به صورت خشک در آید و سپس پودر حاصل با سالین به صورت محلول درآمد تا عصاره‌ی ۵۰۰ میلی‌گرمی بر کیلوگرم وزن موش حاصل شود (۲۶).

استرس صوتی: برای در معرض صوت قرار دادن حیوانات، ابتدا صدای ناشی از ترافیک در یکی از میادین پر ترافیک شهر همدان (میدان امام) توسط یک دستگاه ضبط صوت استاندارد ضبط و با نرم‌افزار سونار (Sonar) شدت آن معادل ۱۵ ± ۹۵ دسی‌بل تنظیم شد.

صدای ضبط و تنظیم شده، با استفاده از دو باند بلندگو در فاصله‌ی ۳۰ سانتی‌متری قفس حیوانات و زمان‌سنج، روزانه ۵ ساعت (صبح ۱۰:۳۰-۸:۰۰ و بعد از ظهر ۱۸:۳۰-۱۶:۰۰) به مدت ۶۰ روز در محیط پخش شد. برای این که حیوان در معرض شدت صوت یکسان قرار بگیرد، با یک دستگاه اندازه‌گیری صوت مدل TES-۱۳۵۱، شدت صوت در تمام مدت زمان مواجهه، پایش شد. با توجه به این که صدای ضبط شده از ترافیک، طیف وسیعی از فرکانس‌های صوتی را در بر می‌گیرد، در این تحقیق تنها شدت آزارنده‌ی صوت مد نظر قرار گرفت (۱۶).

آزمون رفتاری حیوان جونده‌ی آزمایشگاهی: برای سنجش مدل رفتاری اضطراب، از دستگاه آزمایش اضطراب ماز به علاوه‌ای مرتفع (Elevated plus-maze) واقع در آزمایشگاه استفاده شد. این دستگاه از جنس پلکسی گلاس (Plexiglas) و دارای چهار بازو به شکل علامت صلیب (+) بود. ابعاد راهروی باز و بسته ۱۰ × ۵۰ سانتی‌متر بود. دو طرف و انتهای راهروی بسته، دیواره به بلندی ۴۰ سانتی‌متر و چهار راهرو، به وسیله‌ی یک صفحه‌ی مرکزی به ابعاد ۱۰ × ۱۰ سانتی‌متر با هم در ارتباط بودند. ماز، توسط پایه‌هایی در ارتفاع حداقل ۵۰ سانتی‌متر از سطح زمین قرار داشت. موش‌ها درون محدوده‌ی مرکزی ماز قرار گرفتند و نور مناسب با استفاده از یک لامپ ۱۰۰ واتی که در ارتفاع ۱۲۰ سانتی‌متری از مرکز ماز قرار داشت، تأمین شد.

در هنگام آزمایش، موش به آرامی و با احتیاط بر روی بخش مرکزی دستگاه به طوری که سر موش به طرف راهروی باز بود، قرار می‌گرفت. در مدت ۵ دقیقه‌ای که حیوان آزادانه در قسمت‌های مختلف ماز حرکت می‌کرد، برای هر حیوان پس از شمارش دفعات ورود به راهروهای باز و بسته و اندازه‌گیری زمان حضور حیوان در راهروهای باز و بسته، با استفاده از نصب دو دوربین دیجیتال از روبه‌رو و بالای دستگاه، زمان گذرانده شده در راهروی باز محاسبه می‌شد. پس از هر بار استفاده، دستگاه با پارچه‌ی آغشته به الکل تمیز می‌شد. میزان فعالیت‌های حرکتی عبارت از تعداد کل دفعات ورود به راهروی باز و بسته، با اندازه‌گیری طی بازپخش فیلمبرداری دوربین‌ها بود.

ورود به راهروی باز و بسته به زمانی گفته می‌شد که هر چهار پای حیوان در راهروی مورد نظر قرار می‌گرفت. زمان گذرانده شده در هر راهرو نیز بر همین اساس محاسبه می‌شد. حضور موش در مرکز ماز و راهروهای باز، نشانگر عدم اضطراب و حضور موش در راهروهای بسته، نشانگر اضطراب بود؛ بدین معنی که هر قدر زمان حضور در راهروهای باز بیشتر بود، نشان دهنده‌ی اثرات ضد اضطرابی قوی‌تر ناشی از عصاره، تمرین و یا ترکیب این دو در بروز رفتارهای اضطرابی در گروه‌های موش‌های صحرایی محسوب می‌شد (۲۹-۲۷).

اندازه‌گیری سروتونین: در ساعت ۹:۰۲ صبح روز بعد از آخرین جلسه‌ی تمرین و استرس صوتی، با تزریق داخل صفاقی ماده‌ی بیهوشی کتامین به میزان ۵۰-۳۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن، موش‌ها بیهوش شدند و بعد از باز نمودن شکم، از باب کبدی خون گرفته شد و در لوله‌های Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) جمع‌آوری گردید. سپس، نمونه‌های خون با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و پلاسمای خون آن جداسازی و جهت مراحل بعدی تحقیق (اندازه‌گیری متغیرهای مورد نظر) به فریزر با دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد انتقال یافت. اندازه‌گیری غلظت پلاسمایی سروتونین و به روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) با استفاده از کیت سروتونین مخصوص موش صحرایی (CK-E90166, Torrance, USA) انجام شد. کارشناسان آزمایشگاه از چگونگی گروه‌بندی نمونه‌ها بدون اطلاع بودند (۱۶).

اندازه‌گیری نیتریک اکساید: میزان تولید نیتریک اکساید با روش رنگ‌سنجی گریس (Griess) و استفاده از منحنی استاندارد نیتریت سدیم تعیین گردید. به طور خلاصه، ۱۰۰ میکرولیتر از مایع رویی به داخل چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای ته تخت ریخته شد. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۱ درصد سولفانیل آمید (Sigma, USA) به

چاهک اضافه شد. پلیت به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی و دمای اتاق نگه‌داری شد. آن گاه، به تمام حفره‌ها ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۱ درصد N ۱-۱- نفتیل اتیلن دی‌آمین دی‌هیدرو کلراید (Sigma, USA) اضافه شد و بار دیگر به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی و دمای اتاق نگه‌داری شد. در نهایت، جذب نوری نمونه در طول موج ۵۳۰ نانومتر توسط دستگاه ELISAنگار خوانده شد. هم‌زمان با استفاده از غلظت‌های مختلف نیتریت سدیم، منحنی استاندارد ترسیم شد و از طریق Regression و معادله‌ی خطی، غلظت نیتریت موجود در نمونه‌ها تعیین گردید (۱۸).

با توجه به توزیع تصادفی آزمودنی‌ها در گروه‌های مورد مطالعه و نیز اطمینان از طبیعی بودن داده‌ها (با استفاده از آزمون Kolmogorov–Smirnov)، از آزمون One-way ANOVA استفاده شد. همچنین، برای این که مشخص شود بین کدام گروه‌ها اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد، از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. سطح معنی‌داری نیز برای تمام محاسبات $P \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در جدول ۱، سطح اضطراب در هر پنج گروه آمده است.

بررسی ۶۰ روز اعمال استرس صوتی با استفاده ازآزمون ANOVA نشان داد که این استرس، باعث افزایش معنی‌داری در میزان اضطراب یعنی کاهش زمان سپری شده در راهروی باز (۳۰/۸۰ ± ۲۴/۳۰) در مقایسه با گروه شاهد (۲۷/۵۰ ± ۷۲/۹۰) ($P < ۰/۰۱$) و همچنین کاهش معنی‌دار میزان غلظت نیتریک اکساید پلاسما (۴/۱۰ ± ۳/۳۰) در مقایسه با گروه شاهد (۸/۴۰ ± ۱۸/۸۰) ($P < ۰/۰۱$) و غلظت سروتونین پلاسما (۲/۱۰ ± ۲۱/۹۰) در مقایسه با گروه شاهد (۷/۳۰ ± ۴۰/۸۰) در موش‌های صحرایی شده بود (جدول ۱).

اثر ۸ هفته تمرین هوازی با استرس صوتی، باعث کاهش معنی‌دار در میزان اضطراب یعنی افزایش زمان سپری شده در راهروی باز (۱۵/۳۰ ± ۷۰/۶۰) در مقایسه با استرس صوتی (۳۰/۸۰ ± ۲۴/۳۰) ($P < ۰/۰۵$) و همچنین، افزایش معنی‌داری میزان غلظت سروتونین پلاسما (۳/۱ ± ۳۶/۲) در مقایسه با استرس صوتی (۲/۱۰ ± ۲۱/۹۰) در موش‌های صحرایی شده بود ($P < ۰/۰۱$).

تزریق عصاره‌ی گیاه گل سفید ختمی با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن، تا حدودی اثرات ناشی از استرس صوتی یعنی میزان اضطراب را جبران کرد؛ در این میان، نقش تمرینات ورزشی به مراتب بیشتر از عصاره‌ی گیاه گل سفید ختمی بود؛ همچنین غلظت سروتونین بهتر از غلظت نیتریک اکساید، تعیین کننده‌ی اضطراب بود. این نشان داد که مجاورت با سر و صدا اضطراب به وجود می‌آورد و تمرین هوازی و عصاره‌ی گل سفید ختمی، اضطراب را کاهش و میزان سروتونین و نیتریک اکساید را افزایش می‌دهد. ادغام تمرین هوازی با عصاره‌ی گیاه گل سفید ختمی نسبت به تمرین هوازی تنها، در کاهش اضطراب تأثیر معنی‌داری نداشت. در بین چهار گروه که در معرض سر و صدا قرار داشتند، به ترتیب گروه تمرین هوازی + عصاره‌ی گل سفید ختمی، تمرین هوازی و عصاره‌ی گل سفید ختمی کمترین و استرس صوتی بیشترین میزان اضطراب را نشان دادند که روی میزان غلظت نیتریک اکساید و سروتونین پلاسمای خون نیز تأثیرگذار بود.

جدول ۱. زمان حضور و تعداد ورود به راهروی باز و غلظت‌های نیتریک اکساید و سروتونین پلاسما در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	زمان حضور در راهروی باز (ثانیه) میانگین ± انحراف معیار	تعداد ورود به راهروی باز میانگین ± انحراف معیار	نیتریک اکساید پلاسما (میکرومول در میلی‌لیتر) میانگین ± انحراف معیار	سروتونین پلاسما (نانوگرم در میلی‌لیتر) میانگین ± انحراف معیار
شاهد	۷۲/۹ ± ۲۷/۵	۳/۱ ± ۰/۹	۱۸/۸ ± ۸/۴	۴۰/۸ ± ۷/۳
استرس صوتی	۲۴/۳ ± ۳۰/۸**	۱/۸ ± ۰/۹	۳/۳ ± ۴/۱**	۲۱/۹ ± ۲/۱**
تمرین هوازی + استرس صوتی	۷۰/۶ ± ۱۵/۳	۲/۸ ± ۰/۷†	۹/۳ ± ۵/۲	۳۶/۲ ± ۳/۱††
عصاره‌ی گل سفید ختمی + استرس صوتی	۵۰/۴ ± ۱۵/۷	۲/۲ ± ۰/۷	۷/۵ ± ۱۱/۰*	۲۷/۰۲ ± ۲/۵**
تمرین هوازی + استرس صوتی+ عصاره‌ی گل سفید ختمی	۷۷/۵ ± ۲۳/۸	۳/۱ ± ۰/۷	۶/۸ ± ۳/۱	۳۵/۵ ± ۳/۴††

$P < ۰/۰۱$**؛ $P < ۰/۰۵$*؛ $P < ۰/۰۱$ †† در مقایسه با گروه شاهد؛ $P < ۰/۰۵$ † در مقایسه با گروه استرس صوتی

بحث

طبق نتایج به دست آمده در این مطالعه، گروه‌های با تمرین هوازی و عصاره‌ی گیاهی گل سفید ختمی و تمرین هوازی بدون عصاره‌ی گل سفید ختمی، مدت زمان و تعداد ورود در راهروی باز نسبت به گروهی که فقط در معرض سر و صدا قرار داشتند، کمترین میزان اضطراب را داشتند. در این زمینه، پیش تر تحقیقی انجام نشده بود. از این رو، شاید بتوان برای توجیه جنبه های عصب شناختی، بیوشیمیایی و فیزیولوژی، دلایل احتمالی عنوان کرد؛ از جنبه‌ی عصبی، می‌توان به ورزش هوازی و تأثیر آن بر گیرنده‌های پیش‌سیناپسی و پس‌سیناپس سروتونین به خصوص گیرنده‌های سروتونین (5HT2A و 5HT1A) که در فرایند اضطراب و افسردگی نقش دارند (۵)، اشاره کرد. همچنین، احتمال می‌رود که تمرینات هوازی با افزایش تعداد و اندازه‌ی وزیکول‌های طبیعی سروتونین در گیرنده‌های پیش‌سیناپسی و افزایش این پیام‌آوران عصبی در محل شکاف سیناپسی و فعال شدن این گیرنده‌ها، در کاهش اضطراب و ترس و ایجاد آرامش نقش داشته باشند (۱۴).

از لحاظ فیزیولوژیک به نظر می‌رسد، در گروه استرس صوتی، سطح نورآدرنالین که یک پیام‌آور عصبی دخیل در واکنش جنگ و گریز و ترس است، کاهش می‌یابد. همچنین، در پاسخ به افزایش خون در شریان، در اثر فعالیت ورزشی اندوتلیوم تحریک می‌شود و مواد وازودیلاتور مثل اکسید نیتریک از خود آزاد می‌کند (۱۸) و به نظر می‌رسد، نقش تمرینات ورزشی در کاهش اضطراب در مقایسه با عصاره‌ی گیاهی گل سفید ختمی به مراتب ماندگار و دایمی‌تر باشد.

نتایج کنونی شواهد یکپارچه‌ای را در اختیار متخصصان قرار می‌دهد که بر اساس آن‌ها، تمرینات ورزشی و داروهای گیاهی را به عنوان وسیله‌ای برای کاهش علایم اضطراب با کمترین خطر تجویز کنند؛ به ویژه برای افرادی که درمان‌های طبیعی و سنتی را ترجیح می‌دهند.

مطالعات نیز حاکی از آن است که ورزش به طور معنی‌داری باعث کاهش علایم اضطراب در بیماران و افراد مبتلا به اضطراب مزمن می‌شود (۳۰). پژوهش‌های آزمایشگاهی نیز نشان می‌دهد که تمرینات هوازی، باعث کاهش رفتارهای اضطرابی موش‌های صحرایی می‌گردد (۳۱). آمیگدال، یکی از مهم‌ترین مناطق سیستم لیمبیک در تنظیم رفتارهای اضطرابی است (۱۶). در عین حال، شواهدی مبنی بر نقش Bed nucleus of the stria terminalis (BNST) در پاسخ به استرس و بروز بعضی از انواع رفتارهای اضطرابی وجود دارد (۱۶).

Walker و همکاران عقیده دارند که آمیگدال و BNST در بروز پاسخ‌های اضطرابی سیستم عصبی به صورت مکمل یکدیگر عمل می‌کنند؛ بدین معنی که اگر مواجهه با استرس کوتاه مدت باشد، بروز پاسخ اضطرابی توسط آمیگدال واسطه‌گری می‌شود و در بلند مدت، BNST بروز پاسخ‌های اضطرابی را واسطه‌گری می‌کند (۳۲).

به نظر می‌رسد که استرس صوتی در پژوهش حاضر، روی آمیگدال و BNST تأثیرگذار بوده که در بروز رفتاری سازگاری ایجاد نشده است. شاید نوع پروتکل استرس صوتی به کار گرفته شده، باعث افزایش غیر طبیعی سطح سروتونین شده باشد. نتایج مطالعاتی دیگر نشان می‌دهد که اعمال استرس‌های صوتی، اعصاب نوروژنز هیپوکامپ مغز موش‌های صحرایی را تخریب می‌کند و روی میانجی‌های عصبی در این ناحیه اثر می‌گذارد (۱۴). از این رو، به نظر می‌رسد که میان استرس‌های صوتی و آسیب‌های هیپوکامپ رابطه وجود دارد (۱۱).

در تحقیق دیگری، کاهش معنی‌داری در سطح 5-HT (سروتونین) در مقایسه با گروه شاهد در موش‌های صحرایی تحت استرس‌های صوتی مشاهده شد (۱۶). در تحقیق مشابه، ۱۵ روز و روزی ۴ ساعت در معرض استرس‌های صوتی، رفتارهای اضطرابی و افسردگی در موش نر صحرایی مشاهده شد که به گفته‌ی پژوهشگران، ممکن است به دلیل تغییر در فعالیت‌های اعصاب سروتونروژیک باشد (۱۳).

هم‌گام با این یافته‌ها، پژوهش‌هایی حاکی از این است که ورزش‌های طولانی موجب بهبود سروتونین و همچنین کاهش سطح افسردگی و اضطراب و ازدیاد مواد ناقل شیمیایی و در نتیجه موجب انتقال بهتر پیام‌های عصبی و بهبود خلق و خو می‌شود (۱۰). Eser و همکاران نیز در تحقیقات خود، ارتباط بین بروز رفتارهای اضطرابی و ناکارآمدی محور HPA را گزارش کردند (۳۰).

در یک مطالعه‌ی دانشگاهی، اثرات مختلف درجات تمرین روی سطح نیتریک اکساید اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد؛ در حالی که پژوهش دیگری نیز افزایش غلظت نیتریک اکساید در تمرین با شدت بالا را نشان داد (۱۷). پژوهشی نیز از کاهش غلظت نیتریک اکساید بعد از تمرین در مقایسه با قبل از تمرین حکایت می‌کند (۱۱). در مطالعه‌ی دیگری، عدم اختلاف معنی‌دار بین سطح نیتریک اکساید پلاسما و سرم قبل و بلافاصله بعد از تمرین‌های هوازی وجود نداشت (۱۸). در تحقیق Jungersten و همکاران، اختلاف معنی‌داری در سطح نیتریک اکساید در بین دوندگان مسافت طولانی و دانشجویانی که تمرین منظم نداشتند، مشاهده شد و همچنین، اختلاف سطح نیتریک اکساید قبل و بعد از تمرین، در دانشجویانی که تمرین منظم نداشتند، نسبت به دوندگان مسافت طولانی بیشتر بود (۱۹).

با بررسی مطالعات، به نظر می‌رسد که فعالیت بدنی اثرات متفاوتی روی سطح نیتریک اکساید در بافت‌های بدن به جا می‌گذارد که این تفاوت می‌تواند ناشی از مدت، نوع، شدت تمرین و حتی نوع بافت باشد که در این جا پلاسما نماینده‌ی سلول‌های کل بدن بوده است. در این مطالعه، سطح نیتریک اکساید و سروتونین در گروه‌های

در معرض استرس صوتی، کاهش معنی‌داری نشان داد که ممکن است ناشی از افزایش استرس‌های اکسیداتیو باشد که با تولید محرک‌های الکترومغناطیسی ناشی از سر و صدای با شدت بالاتر از آستانه‌ی معمولی باشد.

بنا بر این، با توجه به وجود ترکیبات در عصاره گیاه گل سفید ختمی، احتمال می‌رود که این گیاه از طریق تأثیر بر گیرنده‌های بنزودیازپینی متصل به گیرنده‌های Gamma-aminobutyric acid-A (GABA-A) باعث بروز اثرات آرام‌بخش و ضد اضطرابی گردد. البته اثبات این امر، نیازمند جدا نمودن هر یک از مواد مؤثر گیاه و تحقیق اختصاصی با استخراج و شناسایی ساختمان شیمیایی هر یک از این مواد و نیز با استفاده از مدل حیوانی دیگری می‌باشد تا بتوان مکانیسم اثرات آرام‌بخشی و ضد اضطرابی آن را مشخص نمود. با ایجاد پل ارتباطی بین پژوهش‌ها و یافته‌های کنونی، معلوم می‌شود که مجاورت پیاپی با سر و صدا، می‌تواند به سلول‌های زنده آسیب برساند که ممکن است در برخی اعضای زنده مثل مغز به شدت دخالت کنند.

نتایج همچنین نشان می‌دهد که افزایش سر و صدای طولانی، ممکن است موجب بیماری شود. بنا بر این، شناسایی یک رابطه‌ی داروشناختی مناسب برای ممانعت از آثار زیان‌بار تنش حاصل از سر و صدا بایستی در رویکردی جامع مورد بررسی قرار گیرد تا دگرگونی‌هایی را که صدا در سیستم‌های فیزیولوژیک مختلف به وجود می‌آورد، کاهش یابد. از این رو، مکانیسم تأثیر مجاورت با سر وصدا بر سلامت عمومی، بسیار پیچیده و تعامل بین سیستم‌های فیزیولوژیک مختلف سهیم در مواجهه با سر و صدا و مکانیسم‌های مختلف تأثیر آن بر رفاه روانی، اجتماعی و سلامتی، اغلب اوقات انکار یا نادیده گرفته شده است. ورزش و به کارگیری داروهای گیاهی، راه‌های گریز از اثرات مخرب آن می‌باشند.

نتیجه‌گیری نهایی این که اختلالات رفتاری در موش‌های در معرض صدای ترافیک به تنهایی ایجاد و با مداخله‌ی تمرینات هوازی رفتارهای اضطرابی و شاخص‌های زیست‌شیمیایی خون (سروتونین و نیتریک اکساید) حیوان تغییر می‌یابد. به نظر می‌رسد که نقش مداخله‌ی ورزش هوازی به تنهایی و همراه با تزریق مقدار معینی از عصاره‌ی گل سفید ختمی، بر کاهش رفتارهای اضطرابی از جنبه‌ی شاخص‌های زیست‌شیمیایی خون کارآمد خواهد بود و این رویکرد، می‌تواند مبنایی برای مطالعات انسانی در بررسی‌های آتی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از تمامی افرادی که در این مطالعه ما را یاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Abu-Omar K, Rutten A, Robine JM. Self-rated health and physical activity in the European Union. Soz Praventivmed 2004; 49(4): 235-42.
2. Totzeck A, Unverzagt S, Bak M, Augst P, Diener HC, Gaul C. Aerobic endurance training versus relaxation training in patients with migraine (ARMIG): study protocol for a randomized controlled trial. Trials 2012; 13: 46.
3. Astrand PO, Rodahl K, Dahl H, Stromme SB. Textbook of work physiology: Physiological bases of exercise. 4th ed. Champaign, IL: Human Kinetics; 2003.
4. Bhui K, Fletcher A. Common mood and anxiety states: gender differences in the protective effect of physical activity. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol 2000; 35(1): 28-35.
5. Baptista S, Piloto N, Reis F, Teixeira-de-Lemos E, Garrido AP, Dias A, et al. Treadmill running and swimming imposes distinct cardiovascular physiological adaptations in the rat: focus on serotonergic and sympathetic nervous systems modulation. Acta Physiol Hung 2008; 95(4): 365-81.
6. Anderson E, Shivakumar G. Effects of exercise and physical activity on anxiety. Front Psychiatry 2013; 4: 27.
7. Goodwin RD. Association between physical activity and mental disorders among adults in the United States. Prev Med 2003; 36(6): 698-703.
8. Haarasilta LM, Marttunen MJ, Kaprio JA, Aro HM. Correlates of depression in a representative nationwide sample of adolescents (15-19 years) and young adults (20-24 years). Eur J Public Health 2004; 14(3): 280-5.
9. Rimmele U, Zellweger BC, Marti B, Seiler R, Mohiyeddini C, Ehlert U, et al. Trained men show lower cortisol, heart rate and psychological responses to psychosocial stress compared with untrained men. Psychoneuroendocrinology 2007; 32(6): 627-35.
10. Samson J, Sheeladevi R, Ravindran R, Senthilvelan M. Stress response in rat brain after different durations of noise exposure. Neurosci Res 2007; 57(1): 143-7.
11. Ogonovszky H, Berkes I, Kumagai S, Kaneko T, Tahara S, Goto S, et al. The effects of moderate-, strenuous- and over-training on oxidative stress markers, DNA repair, and memory, in rat brain. Neurochem Int 2005; 46(8): 635-40.
12. Kjellberg A. Subjective, behavioral and psychophysiological effects of noise. Scand J Work Environ Health 1990; 16(Suppl 1): 29-38.
13. Cui B, Wu M, She X. Effects of chronic noise exposure on spatial learning and memory of rats in relation to neurotransmitters and NMDAR2B alteration in the hippocampus. J Occup Health 2009; 51(2): 152-8.
14. Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Interplay

between brain-derived neurotrophic factor and signal transduction modulators in the regulation of the effects of exercise on synaptic-plasticity. Neuroscience 2003; 122(3): 647-57.

15. Haider S, Naqvi F, Batool Z, Tabassum S, Perveen T, Saleem S, et al. Decreased hippocampal 5-HT and DA levels following sub-chronic exposure to noise stress: Impairment in both spatial and recognition memory in male rats. Sci Pharm 2012; 80(4): 1001-11.

16. Khazaei M, Moshayedi MA, Teimouri M, Aghili Sh, Montazeri S, Mehdipour R, et al. The effects of L-arginine (the precursor of nitric oxide) and L-NAME (nitric oxide synthase inhibitor) on coronary angiogenesis in normal rats. J Isfahan Med Sch 2011; 29(158): 1630-6. [In Persian].

17. Sofiabadi M, Sadeghipour HR, Shabanzadeh AR, Zarindast MR, Dehpour AR. Possible involvement of nitric oxide (NO) in anxiety-like behavior induced by female steroid hormones. Koomesh 2001; 2(3): 177-83. [In Persian].

18. Saygin o. Acute effect of speed exercise on nitric oxide (NO) level of footballers. Turk J Med Sci 2009; 39(3): 361-5.

19. Jungersten L, Ambring A, Wall B, Wennmalm A. Both physical fitness and acute exercise regulate nitric oxide formation in healthy humans. J Appl Physiol (1985) 1997; 82(3): 760-4.

20. Leung A, Foster S. Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics. 2nd ed. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons; 1995.

21. Karnick CR. Pharmacopoeial standards of herbal plants. Delhi, India: Sri Satguru Publications; 1994.

22. Zargari A. Medicinal plants. Tehran, Iran: Tehran University Press; 1990. p. 106. [In Persian]

23. Mogharnasi M, Gaeini AA, Javadi E, Kordi MR, Ravasi AA, Sheikholeslami D. The effect of endurance training on inflammatory biomarkers and lipid profiles in wistar rats. World Journal of Sport Sciences 2009; 2(2): 82-8.

24. Ghanbari-Niaki A, Khabazian BM, Hossaini-Kakhak SA, Rahbarizadeh F, Hedayati M. Treadmill exercise enhances ABCA1 expression in rat liver. Biochem Biophys Res Commun 2007; 361(4): 841-6.

25. Mogharnasi M, Nasseh M. Relationship between loss of exercise consequences and risk of cardiovascular diseases after detraining. Zahedan J Res Med Sci 2011; 13(2): 20-5. [In Persian].

26. Babri S, Doosti M, Fatehi L, Salari AA. The effects of Scrophularia striata extract on anxiety anddepression behaviors in adult male mice. J Pharm Sci Tabriz Univ Med Sci 2012; 18(2): 133-40.

27. Rezayat M, Roohbakhsh A, Zarrindast MR, Massoudi R, Djahanguiri B. Cholecystokinin and GABA interaction in the dorsal hippocampus of rats in the elevated plus-maze test of anxiety. Physiology and Behavior 2005; 84(5): 775-82.

28. Bueno CH, Zangrossi H, Jr., Viana MB. The inactivation of the basolateral nucleus of the rat amygdala has an anxiolytic effect in the elevated T-maze and light/dark transition tests. Braz J Med Biol Res 2005; 38(11): 1697-701.

29. Yau SK, Lau BWM, Lee TMC, So KF. Differential behavioral outcome of anxiety tests in runner rats treated with corticosterone. J Neurosci Behav Health 2013; 5(1): 5-12.

30. Eser D, Romeo E, Baghai TC, di Michele F, Schule C, Pasini A, et al. Neuroactive steroids as modulators of depression and anxiety. Neuroscience 2006; 138(3): 1041-8.

31. Naqvi F, Haideri S, Perveen T, Haleem DJ. Sub-chronic exposure to noise affects locomotor activity and produces anxiogenic and depressive like behavior in rats. Pharmacol Rep 2012; 64: 64-9.

32. Walker DL, Miles LA, Davis M. Selective participation of the bed nucleus of the stria terminalis and CRF in sustained anxiety-like versus phasic fear-like responses. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2009; 33(8): 1291-308.

Journal of Isfahan Medical School

Vol. 33, No. 357, 1st Week, January 2016

Received: 18.09.2015

Accepted: 17.11.2015

Effects of Aerobic Training, Extract of Althaea kurdica and Noise Stress on the Anxiety-related Behaviors, Plasma Levels of Nitric Oxide and Serotonin in Wistar Male Rats

Amirhossien Karimi PhD[1], Farzad Nazem PhD[2], Akbar Sazvar MSc[3]

Original Article

Abstract

Background: Physical activity and medicinal plants have been used years for the treatment of different neuropsychological diseases such as anxiety. This study aimed to assess the effects of training, Althaea kurdica extract injection, and noise stress on the anxiety-related behaviors, plasma levels of nitric oxide and serotonin in Wistar male rats.

Methods: Thirty-five male rats were randomly divided into five groups of seven, noise, training + noise, extract + noise, training + noise + extract, and control groups. The aerobic training was performed 5 days per week, for a 60-day period. The noise stress included exposure to traffic noise 5 hours per day over a 60-day period (range: 95 ± 15 dB). The Althaea curdica extract (500 mg/kg of body weight) was injected intraperitoneally (IP) 30 minutes prior to the plus maze test. The control group was not exposed to any noise or exercise, and was kept away from the sources of stress; the rats were kept under the same conditions. At the end of the experiment, blood samples were collected and plasma nitric oxide (NO) and serotonin concentrations were determined with special kits for rat. For the statistical data analysis, ANOVA and Tukey post-hoc tests were used at the significant level of $P \leq 0.05$.

Findings: In the noise + training + extract group, the anxiety was less and nitric oxide and serotonin were more than that of the noise stress group compared with the control group ($P < 0.01$).

Conclusion: It seems that aerobic training and extract injections had eliminated the effect of noise stress, and apparently the effect of aerobic training was more significant than that of the extracts.

Keywords: Aerobic training, Noise stress, Althaea kurdica extract, Nitric oxide, Serotonin, Elevated plus maze test

Citation: Karimi A, Nazem F, Sazvar A. **Effects of Aerobic Training, Extract of Althaea kurdica and Noise Stress on the Anxiety-related Behaviors, Plasma Levels of Nitric Oxide and Serotonin in Wistar Male Rats.** J Isfahan Med Sch 2016; 33(357): 1843-50

1- Assistant Professor, Department of Physical Education, School of Education and Psychology, University of Sistan and Bluchestan, Zahedan, Iran
2- Associate Professor, Department of Physical Education, School of Physical Education and Sport Science, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Science, School of Literature and Humanities, Malayer University, Malayer, Iran
Corresponding Author: Amirhossien Karimi PhD, Email: amir.karimi@ped.usb.ac.ir