



Investigating the effect of long-term unpredictable mild stress on anxiety, passive avoidance memory, depression-like behavior, and running index of male Wistar rats

Maedeh Poureskandar¹ , Saleh Rahmati^{2*} , Zahra Entezari¹, Marzieh Balali¹

1. Department of Motor Behavior, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Department of Physical Education, Pardis Branch, Islamic Azad University, Pardis, Iran

Abstract

Introduction: Stress is a set of reactions that occurs in response to any factor that disturbs the internal balance (homeostasis). The present study aims to investigate the effect of unpredictable long-term stress on running index, passive avoidance memory, and depressive-like behaviors in male Wistar rats.

Methods: Sixteen male rats were randomly divided into two groups (Each group=8). The experimental group was exposed to four weeks of stress, while the control group was not under stress conditions. Forty-eight hours after the end of the intervention, behavioral and running index tests were taken from all animals. Rats' body weight also were measured during the intervention induced. Data analysis was done using one-way and repeated measure analysis of variance. $P < 0.05$ was considered a significant change.

Results: Chronic stress causes weight loss, increasing the time spent in the closed arm (plus elevated maze test), increasing the immobility time (forced swimming test), reducing the distance traveled in the open box test, reducing the distance traveled using the rotating wheel, increasing the number of times entering the black box (shuttle box test), increasing the duration of staying in the black box, and increasing the delay in entering the black box. Running distance had a negative correlation with stress and depression and had a positive correlation with memory and rats' body weight.

Conclusion: Long-term stress negatively affects weight gain, anxiety, depression, memory, and running index of animals. According to the correlations, a better running index is associated with fewer behavioral disorders.

Received: 28 Nov. 2022

Revised: 17 Mar. 2023

Accepted: 9 May. 2023

Keywords


Open box test
Forced swimming test
Plus elevated maze test
Passive avoidance memory test
Homeostasis

Corresponding author

Saleh Rahmati, Department of Physical Education, Pardis Branch, Islamic Azad University, Pardis, Iran

Email: Salehrahmati@pardisiau.ac.ir



 doi.org/10.30514/icss.25.1.73

Citation: Poureskandar M, Rahmati S, Entezari Z, Balali M. Investigating the effect of long-term unpredictable mild stress on anxiety, passive avoidance memory, depression-like behavior, and running index of male Wistar rats. *Advances in Cognitive Sciences*. 2023;25(1):73-89.

Extended Abstract

Introduction

Stress is a set of reactions that occurs in response to any factor that disturbs the internal balance (homeostasis). Stress is known as one of the factors that cause behavioral disorders and may also affect the amount of physical

activity, which will be explained more in the following. Memory is one of the essential variables of the cognitive field that researchers in both animal and human society study. Memory is a mental process that records, stores,

and retrieves information; thus, it is exposed to various types of pathological processes, including neurodegenerative diseases, stroke, tumors, head trauma, hypoxia, heart surgery, and malnutrition. Stress can have destructive effects on a person's learning ability and memory.

Suffering from depression is a combination of genetic and environmental/psychological factors such as insufficient physical activity and stress. Actually, in addition to genetic disorders, some biological factors such as diseases, inactive life, hormonal and neurotransmitter disorders, and some drugs can play a role in the occurrence of depression.

Recently, it has been found that sports activities and exercises have neuroprotective effects and anti-depressant and anxiety effects. Physical activity, specifically aerobic activities performed continuously and continuously, helps reduce nervous and emotional disorders. In addition, aerobic activities prevent and counter the occurrence of many mental disorders and diseases and treat or reduce many of their side effects. As it is known, physical activity has beneficial effects on the body, but stress may cause a decrease in physical activity, and this decrease is probably related to behavioral disorders.

Many studies have investigated the effect of stress on avoidant memory and depressive-like behaviors. Consequently, the results of some of these studies were contradictory. Also, very few studies have investigated the effect of chronic stress on running index. Hence, this study aims to investigate the effect of unpredictable long-term stress on running index, passive avoidance memory, and depressive-like behaviors, as well as investigate the relationship between these variables in male Wistar rats.

Methods

Sixteen male rats were randomly divided into two groups (Each group=8), including experimental and control. The experimental group was exposed to four weeks of stress,

while the control group was not under stress conditions. Forty-eight hours after the end of the intervention, behavioral and running index tests were taken from all animals. Rats' body weight also were measured during the intervention induced. Long-term stress each week consisted of one 18-hour period of food deprivation followed by one hour of food restriction, two periods of 18-hour water deprivation followed by one hour of the empty water bottle, one 21-hour period of being in the wet cage, two periods of 9-hour cage tilt (45°), two 6-hour periods of white noise (85 dB), two 6-hour flashes (150 times per minute), one 24-hour period of light-dark cycles, and one 24-hour period without stressful. The forced swimming test was used to measure the level of hopelessness and despair, as well as the effectiveness of antidepressant interventions. The open box was used to evaluate depression and anxiety in rodents. When an animal is anxious, its natural tendency is to be next to the high walls of the box, and it refuses to go to the center of the environment and search there, and when the anxiety and depression disappear, it walks in all directions to learn more about the world around it. In the present study, the software calculated the total distance the animal moved within 5 minutes. Plus-elevated maze test was used for stress assessment. The elevated maze has two open and closed arms. Rats were individually placed in the center of the elevated maze apparatus facing the open arm and allowed to explore freely for 5 minutes. During this time, the observer (one meter away from the maze) recorded the time the animal remained in the closed arm. The duration of staying in the closed arm indicates the animal's anxiety level. The meaning of entering the closed arm was that all four legs of the animal were placed in the desired arm. A shuttle box device was used to measure passive avoidance memory. The running index was also examined. All data were described as mean and standard deviation. The Shapiro-Wilk test was used to check the normal distribu-

tion of the data. According to the normal distribution of the data, parametric statistical methods of one-way analysis of variance (ANOVA) and repeated measures ANOVA were used at a significance level of $P < 0.05$. The effect size was also reported (η^2). The correlation between the dependent variables of the research was calculated using the Pearson correlation coefficient. Data analysis was done using SPSS version 24 statistical software, and the graphs were drawn using Excel software.

Results

Long-term chronic stress has caused significant weight loss in animals. The time spent in the closed arm (plus elevated maze test) in the long-term stress group was significantly longer than the control group, indicating more anxiety in the experimental group. The duration of immobility (forced swimming test) was significantly longer in the long-term stress group than in the control group, indicating the depression of the rats in the experimental group. The distance covered in the open box test was significantly lower in the long-term stress group than in the control group, indicating the stress and depression of the experimental group. The distance traveled using the spinning wheel was significantly less in the long-term stress group than in the control group. The number of times entering the black box (shuttle box test) in the long-term stress group was significantly higher than in the control group. The duration of staying in the black box in the long-term stress group was significantly longer than the control group. The delay time to enter the black box in the long-term stress group was significantly lower than in the control group, indicating less passive avoidance memory in the experimental group compared to the control group. Stress and depression had a negative and significant relationship with running distance. Furthermore, memory and rats' body weight correlate positively and significantly with

running distance.

Conclusion

In general, the results of the present study showed the destructive effect of long-term stress on memory, anxiety, depression, and running index of rats. According to the correlation results, a better running index is associated with fewer behavioral disorders. One of the limitations of the present study is the lack of measurement of effective physiological factors such as brain-derived neurotrophic factor (BDNF, a key molecule involved in plastic changes related to learning and memory), cortisol, and oxidative stress indicators. The measurement of these physiological indicators can guide us to find a definite mechanism for the effect of stress on the present study variables. Therefore, it is suggested that future studies examine these issues.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

The present study observed all the ethical principles of working with laboratory animals. Besides, the current research has the ethics code number IR.IAU.CTB.REC.1401.093 from Islamic Azad University, Central Tehran Branch.

Authors' contributions

Saleh Rahmati conceived and designed the study. Saleh Rahmati and Maedeh Pourskandar analyzed the data and wrote the manuscript. All the authors contributed to the revision of the paper. All the authors read and approved the final version of the manuscript.

Funding

This article is a part of the PhD dissertation of the first author approved in Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Iran. The cost of conducting the research has

been provided personally.

Acknowledgments

The authors express their gratitude to the staff of Islamic Azad University, Central Tehran Branch, for their coop-

eration in the research process.

Conflict of interest

The authors declared no conflict of interest related to this article.

بررسی اثر استرس ملایم غیر قابل پیش‌بینی بلندمدت بر اضطراب، حافظه اجتنابی غیرفعال، رفتار شبه افسردگی و شاخص دویدن موش‌های نر ویستار

مآنده پوراسکندر^۱ ID، صالح رحمتی^{۲*} ID، زهرا انتظاری^۱، مرضیه بلالی^۱

۱. دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. گروه تربیت بدنی، واحد پردیس، دانشگاه آزاد اسلامی، پردیس، ایران

چکیده

مقدمه: استرس مجموعه واکنش‌هایی است که در پاسخ به هر عاملی که موجب به هم خوردن تعادل درونی (هومئوستاز) شود به وجود می‌آید. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر استرس بلندمدت غیرقابل پیش‌بینی بر شاخص دویدن، حافظه اجتنابی غیرفعال، اضطراب، و رفتارهای شبه افسردگی در موش‌های نر ویستار بود.

روش کار: ۱۶ سر موش صحرایی نر به صورت تصادفی به دو گروه (۸ سر در هر گروه) تجربی و کنترل تقسیم شدند. گروه تجربی در معرض چهار هفته استرس قرار گرفت در حالی که گروه کنترل در شرایط استرس‌زا نبودند. ۴۸ ساعت پس از پایان مداخله، از تمام حیوانات آزمون‌های رفتاری و دویدن اختیاری گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون‌های تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر و تحلیل واریانس یک طرفه انجام شد. $P < 0.05$ به عنوان تغییر معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: استرس بلندمدت باعث کاهش وزن، افزایش زمان ماندن در بازوی بسته (آزمون ماز مرتفع بعلاوه)، افزایش مدت زمان بی‌حرکتی (آزمون شنای اجباری) کاهش مسافت طی شده در آزمون جعبه باز، کاهش مسافت طی شده با استفاده از چرخ دوار، افزایش تعداد دفعات ورود به جعبه سیاه (آزمون شاتل باکس)، افزایش مدت زمان ماندن در جعبه سیاه و افزایش زمان تأخیر در ورود به جعبه سیاه شد. مسافت دویدن با استرس و افسردگی همبستگی منفی و با حافظه و وزن‌گیری همبستگی مثبت داشت.

نتیجه‌گیری: استرس طولانی مدت بر افزایش وزن، اضطراب، افسردگی، حافظه و شاخص دویدن حیوانات تأثیر منفی داشت. با توجه به نتایج همبستگی‌ها، شاخص دویدن بیشتر، با اختلالات رفتاری کمتر همراه است.

دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۰۷

اصلاح نهایی: ۱۴۰۱/۱۲/۲۶

پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۹

واژه‌های کلیدی

آزمون جعبه باز
آزمون شنای اجباری
آزمون ماز مرتفع بعلاوه
آزمون حافظه اجتنابی غیرفعال
هومئوستاز

نویسنده مسئول

صالح رحمتی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

ایمیل: Salehrahmati@pardisiu.ac.ir



doi.org/10.30514/ics.25.1.73

مقدمه

به نوع و مدت زمان استرس ایجاد شده بستگی دارد. وقتی مدت زمان استرس طولانی شود، ممکن است بدن نتواند واکنش‌های تطبیقی مناسب نشان دهد و به افزایش فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال منجر می‌شود، در نتیجه ممکن است موجب ایجاد اختلالات شناختی شود (۳، ۴).

حافظه یکی از متغیرهای مهم حوزه شناختی است که توسط پژوهشگران

استرس مجموعه واکنش‌هایی است که در پاسخ به هر عاملی که موجب به هم خوردن تعادل درونی (هومئوستاز) شود به وجود می‌آید. هرگونه عامل محیطی یا ذهنی که ادامه حیات را برای جاندار مشکل سازد می‌تواند یک استرس محسوب شود. استرس حالت متعادل بدن را از طریق آبخاری از واکنش‌های فیزیولوژیکی تطبیقی، در تلاش برای حفظ هومئوستاز تغییر می‌دهد (۱، ۲). مقدار این واکنش‌های فیزیولوژیکی

خودبستگی و عزت نفس بر فرایندهای روانی - عصبی - ایمنی شناختی بیماران مؤثر واقع شده که خود باعث کاهش اضطراب در این بیماران می شود (۱۵).

فعالیت بدنی دارای اثرات محافظت نورونی، ضد افسردگی و ضد اضطراب می باشد. نشان داده شده است فعالیت بدنی مستمر و مداوم به کاهش اختلالات عصبی و عاطفی کمک می نماید و از بروز بسیاری از اختلالات و بیماری های روانی پیشگیری کرده و بسیاری از عوارض آنها را درمان و یا کاهش می دهد (۱۶). پژوهش ها نشان داده است که ورزش احتمالاً با افزایش بیان و تولید عامل رشد نورونی مشتق شده از مغز (BDNF)، کاهش عوامل التهابی، افزایش میزان فعالیت سیستم سروتونرژیک و کاهش استرس اکسیداتیو اثرات بر عوامل شناختی و رفتاری اثرگذار است (۱۶). همان طور که مشخص است فعالیت بدنی اثرات مفیدی بر بدن دارد، اما استرس طولانی مدت ممکن است باعث کاهش خود فعالیت بدنی شود و این کاهش احتمالاً با افزایش اختلالات رفتاری که پیش از این توضیح داده شد، مرتبط خواهد بود. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر استرس طولانی مدت غیرقابل پیش بینی بر شاخص دویدن، حافظه اجتنابی غیرفعال و رفتارهای شبه افسردگی و همچنین بررسی ارتباط بین این متغیرها در موش های صحرایی نر نژاد ویستار بود.

روش کار

طرح پژوهش

پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی بود که در آن از ۱۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ الی ۲۲۰ گرم استفاده شد. موش ها در حیوان خانه با شرایط استاندارد (میانگین دمای 22 ± 4 درجه سانتی گراد، رطوبت 55 ± 4 درصد و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت) در قفس های مخصوص از جنس پلی کربنات نگهداری می شدند. تمامی حیوانات به آب و غذای مخصوص موش های آزمایشگاهی (تولید شرکت خوراک دام پارس) به صورت آزاد دسترسی داشتند. حیوانات به صورت تصادفی به دو گروه (۸ سر در هر گروه) با نام های تجربی و کنترل تقسیم شدند. گروه تجربی به مدت چهار هفته در معرض استرس بلندمدت قرار گرفت. همچنین وزن حیوانات به صورت هفتگی در طول اعمال مداخله استرس ثبت گردید. گروه کنترل در طول دوره پژوهش در شرایط عادی نگهداری شدند. ۴۸ ساعت پس از پایان مداخله، از تمام حیوانات آزمون های رفتاری (جعبه باز، شنای اجباری، ماز مرتفع بعلاوه، شاتل باکس) گرفته شد. پس از انجام آزمون های رفتاری، حیوانات در قفس های دارای چرخ دوار (هر سر در یک قفس) قرار گرفتند و مسافت طی شده آنها در

در جامعه حیوانی و انسانی مورد مطالعه قرار می گیرد. حافظه یک فرآیند ذهنی است که اطلاعات را ثبت، ذخیره و بازیابی می کند و در معرض انواع مختلف فرایندهای پاتولوژیک (بیماری های نورودژنراتیو، سکت، تومورها، ترومای سر، هیپوکسی، جراحی قلب و سوء تغذیه) و استرس قرار می گیرد (۵، ۶). استرس می تواند بر توانایی یادگیری و حافظه فرد اثرات تخریبی به جا بگذارد (۷). میرزایی و همکاران در پژوهشی نشان دادند که استرس موجب افزایش معناداری در غلظت کورتیکواسترون و نورکسی گروه کنترل مثبت (دریافت کننده استرس) گردید و میانگین حافظه و یادگیری در این گروه کاهش یافت (۸). قلم قاش در پژوهشی نشان داد که استرس ملایم همراه با استرس صدا سبب کاهش یادگیری و حافظه در دوران نخست پس از تولد در موش های نر صحرایی می شود (۹). همچنین نشان داده شده است مواجهه مکرر با استرس منجر به اختلال در عملکردهای وابسته به هیپوکامپ در چندین الگوی شناختی مانند ماز آبی موریس، تکلیف جدید تشخیص شی و ماز Y می شود (۱۰).

ابتلا به افسردگی، ترکیبی از عوامل ژنتیکی، جسمی، محیطی و روانی می باشد. اختلالات هورمونی، اختلالات ناقلین عصبی و بعضی داروها می توانند در بروز افسردگی نقش داشته باشند. همچنین وقایع استرس زا و ناراحت کننده زندگی فردی و اجتماعی نیز نقش به سزایی در بروز افسردگی دارد. داشتن زندگی چالش برانگیز، نگرانی ها و فشارهای روانی مداوم، سلامت ذهنی و روانی فرد را تحت تأثیر قرار می دهند و در نهایت او را افسرده و مضطرب می کند و باعث انزوای اجتماعی می شود (۱۱).

بر اساس مطالعات انجام شده ارتباط بالایی بین استرس، اضطراب و افسردگی وجود دارد و در بسیاری از موارد هر سه اختلال توأماً در یک فرد بروز می کنند. استرس، به خصوص اگر فرد در شرایط خانوادگی و اجتماعی متشنجی قرار گرفته باشد، می تواند او را به سمت تجربه عواطف منفی و بروز نشانه های اضطراب و افسردگی سوق دهد و در نهایت بهزیستی روان شناختی وی را به مخاطره بیندازد (۱۲). نتایج مطالعه میرزایی رزاز و همکاران روی ۴۰۰ نمونه نشان داد که حاضر، ۴۹/۸ درصد نمونه های مورد مطالعه سطوحی از استرس داشتند، ۵۶/۳ درصد آنها از اضطراب رنج می بردند و ۵۵/۳ درصد دارای سطوحی از افسردگی بودند (۱۳). روابط قوی بین تنیدگی، افسردگی، اضطراب و بیماری های پریدنتال دیده شده است. استرس مقدمه حالت اضطرابی است و می تواند توسط سیستم دفاع بدن تا حد زیادی کنترل کند (۱۴). یافته ها همچنین حاکی از اثربخشی مداخله مدیریت استرس به شیوه شناختی - رفتاری بر سطوح اضطراب، افسردگی و کیفیت زندگی بیماران می باشد. مدیریت استرس از طریق افزایش حس کنترل،

نگه داشتن سر از آب انجام می‌دهد. در هر دو روز موش‌ها پس از پایان آزمون با حوله خشک و به درون قفس در محیطی گرم برگردانده شد.

آزمون ماز مرتفع بعلاوه

این آزمون برای ارزیابی استرس می‌باشد. ماز مرتفع دارای دو بازوی باز و بسته می‌باشد. موش‌ها به طور جداگانه در مرکز دستگاه ماز مرتفع بعلاوه رو به بازوی باز قرار داده شدند و به آنها اجازه شد به مدت ۵ دقیقه آزادانه به جستجو بپردازند. در این مدت، ناظر (که در یک متری ماز بود) مدت زمانی که حیوان در بازوی بسته باقی ماند را ثبت نمود. مدت زمان ماندن در بازوی بسته نشان‌دهنده میزان استرس حیوان است. منظور از ورود به بازوی بسته قرار گرفتن هر چهار پای حیوان در بازوی مورد نظر بود (۲۰).

آزمون حافظه اجتنابی غیرفعال (شاتل باکس)

از دستگاه شاتل باکس با ابعاد $20 \times 40 \times 20$ سانتی‌متر با هدف سنجش حافظه اجتنابی غیرفعال استفاده شد. این دستگاه شامل جعبه‌ای دو قسمتی است (یک بخش تاریک و دیگری روشن) که با یک درب گیوتینی 8×8 سانتی‌متری به هم راه دارند. در کف هر دو قسمت میله‌های فلزی (با قطر 0.4 سانتی‌متر) به موازات هم و به فاصله $1/2$ سانتی‌متری از هم تعبیه شده است. میله‌های کف بخش تاریک دستگاه به یک مولد شوک الکتریکی (50 هرتز، 0.3 میلی‌آمپر، 3 ثانیه) متصل است. آزمون شامل سه مرحله بود (۱) مرحله سازش که در آن موش در بخش روشن شاتل باکس قرار گرفت و بعد از 10 ثانیه درب گیوتینی باز شده و مدت زمانی که طول کشید تا موش وارد بخش تاریک شود ثبت شد. اگر بعد از گذشت 120 ثانیه موش تمایلی به رفتن به بخش تاریک نداشت از آزمایش کنار گذاشته می‌شد. (۲) مرحله اکتساب یا آموزش 30 دقیقه بعد از مرحله سازش اجرا شد. موش در بخش روشن دستگاه شاتل باکس قرار داده شده و پس از گذشت 10 ثانیه درب رابط باز و مدت زمانی که طول کشید تا موش وارد قسمت تاریک جعبه شود ثبت شد. پس از وارد شدن به بخش تاریک درب گیوتینی را بسته و شوک الکتریکی به موش وارد شد. بعد از 20 ثانیه موش به قفس نگهداری منتقل و پس از 2 دقیقه دوباره این مرحله انجام شد. در صورت ورود موش به بخش تاریک دوباره شوک اعمال شد؛ اما اگر بعد از 120 ثانیه موش وارد بخش تاریک نمی‌شد به قفس بازگردانده می‌شد. (۳) مرحله به خاطرآوری یا آزمون که موش‌ها 24 ساعت بعد به مدت 5 دقیقه در دستگاه قرار داده شد. موش درون بخش روشن قرار داده شده و 10 ثانیه بعد درب گیوتینی باز شد. مدت زمانی که طول کشید تا موش از درب

مدت زمان 24 ساعت ثبت گردید. در پژوهش حاضر تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. همچنین پژوهش حاضر دارای کد اخلاق به شماره IR.IAU.CTB.REC.1401.093 از دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی می‌باشد.

روش القای استرس

در مطالعه حاضر استرس بلندمدت در هر هفته شامل یک دوره 18 ساعته محرومیت از غذا و به دنبال آن یک ساعت محدودیت غذا، دو دوره 18 ساعته محرومیت از آب و به دنبال آن یک ساعت بطری خالی آب، یک دوره 21 ساعته حضور در قفس خیس، دو دوره 9 ساعته کج کردن قفس (45 درجه)، دو دوره 6 ساعته صدای سفید (85 دسی‌بل)، دو دوره 6 ساعته فلشر (150 بار در دقیقه)، یک دوره 24 ساعته بر هم زدن چرخه روشنایی و تاریکی و یک دوره 24 ساعته بدون استرس بود (۱۷).

آزمون جعبه باز

این آزمون به منظور ارزیابی افسردگی و اضطراب در جوندگان استفاده می‌شود. حیوان در یک جعبه از جنس ماده‌ای غیر شفاف به ابعاد $100 \times 100 \times 40$ سانتی‌متر قرار گرفت. زمانی که حیوان مضطرب و افسرده است گرایش طبیعی‌اش این است که کنار دیواره‌های بلند محیط باشد و از رفتن به مرکز محیط و جستجو در آنجا خودداری می‌کند و زمانی که اضطراب و افسردگی از بین رود برای شناختن بیشتر دنیای پیرامون خود به هر طرف از آن قدم می‌گذارد. در پژوهش حاضر کل مسافت جابه‌جا شده حیوان توسط نرم‌افزار طی مدت زمان 5 دقیقه محاسبه شد (۱۸).

آزمون شنای اجباری

از آزمون شنای اجباری جهت اندازه‌گیری میزان یاس و ناامیدی و همچنین تأثیرگذاری مداخلات ضد افسردگی استفاده شد (۱۹). طی این آزمون هر یک از موش‌ها درون محفظه استوانه‌ای (ارتفاع 50 سانتی‌متر و قطر 20 سانتی‌متر) حاوی آب تمیز (دمای 23 تا 25 درجه سانتی‌گراد با ارتفاع 30 سانتی‌متر) قرار داده شد. پروتکل شامل دو بخش آشنایی و آزمون بود. در روز اول موش‌ها به مدت 15 دقیقه در محفظه قرار گرفتند. سپس 24 ساعت بعد مجدداً به مدت 5 دقیقه درون محفظه قرار داده شده و در این مرحله کل زمان بی‌حرکتی ثبت شد. رفتار بی‌حرکتی عبارت است از وضعیتی که حیوان به حالت سکون در سطح آب شناور می‌ماند و صرفاً حرکات مختصر و ضروری برای بالاتر

محاسبه شد. تجزیه و تحلیل داده‌های با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۴ انجام شد.

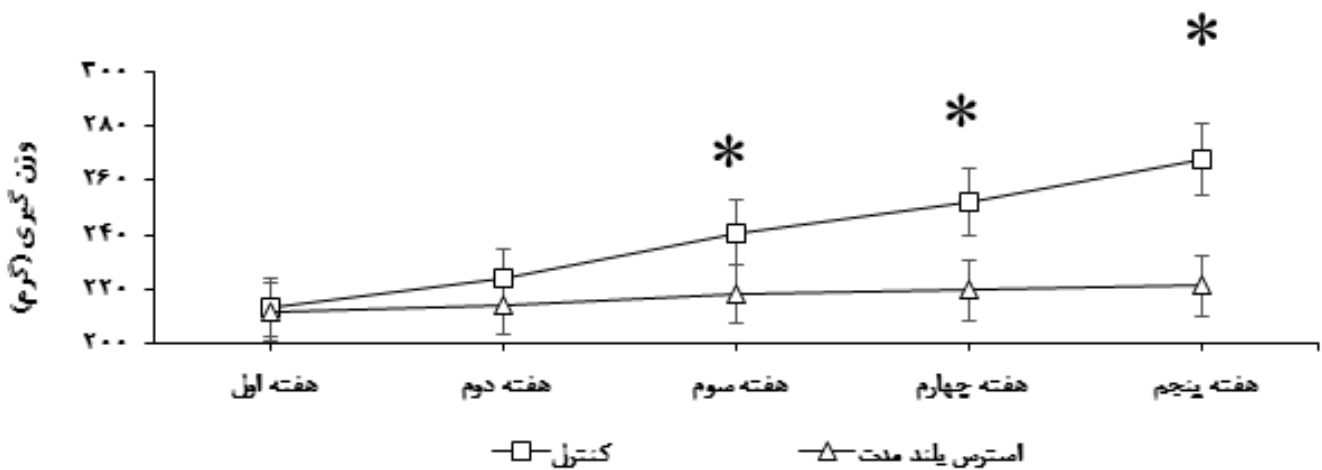
یافته‌ها

تحلیل نتایج وزن آزمودنی‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس با اندازه‌گیری مکرر نشان داد اثر زمان ($F=۴۵۹/۲۱$ ، $P=۰/۰۰۱$ ، $\eta p^2=۰/۹۶$)، گروه ($F=۳۷/۵۶$ ، $P=۰/۰۰۱$ ، $\eta p^2=۰/۹۹$) و زمان×گروه ($F=۶۷/۳۷$ ، $P=۰/۰۰۱$ ، $\eta p^2=۰/۹۰$) معنادار می‌باشد. وزن آزمودنی‌های گروه استرس مزمن در هفته‌های دوم ($P=۰/۰۱$)، سوم ($P=۰/۰۰۱$)، چهارم ($P=۰/۰۰۱$) و پنجم ($P=۰/۰۰۱$) به طور معناداری کمتر از گروه کنترل بود (شکل ۱).

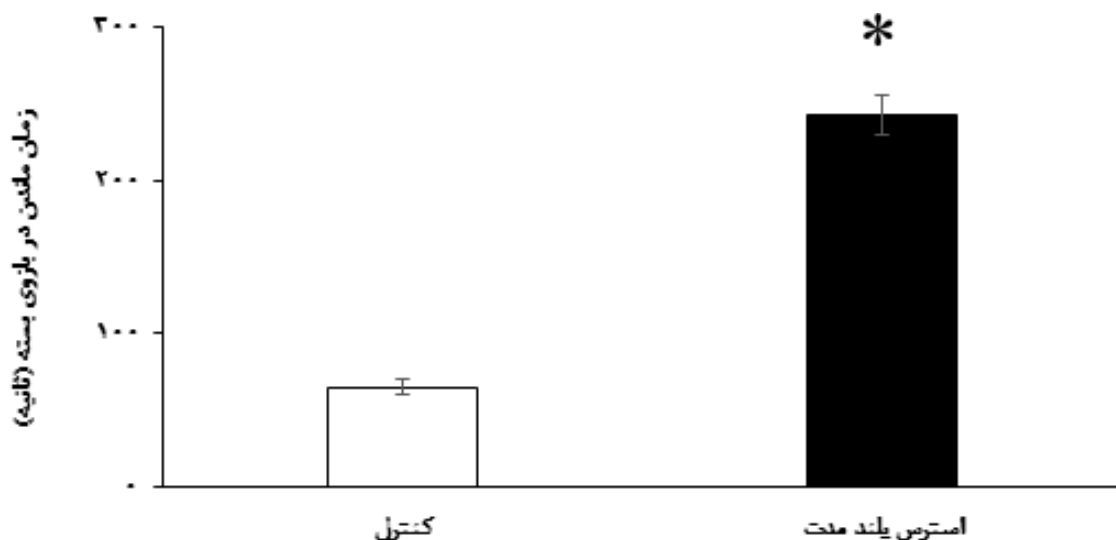
رابط عبور کند (زمان تأخیر) و همچنین مدت زمان ماندن در بخش تاریک ثبت و به عنوان معیاری برای حافظه اجتنابی در نظر گرفته شد (۲۱).

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار توصیف شدند. از آزمون شاپیرو-ویلک جهت بررسی توزیع نرمال داده‌ها استفاده شد. با توجه به توزیع نرمال داده‌ها از روش‌های آماری پارامتریک آنالیز واریانس یک طرفه و آنالیز واریانس با اندازه‌گیری مکرر در سطح معناداری $P<۰/۰۵$ استفاده شد. همچنین اندازه اثر گزارش شد (ηp^2). همبستگی بین متغیرهای وابسته پژوهش با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون



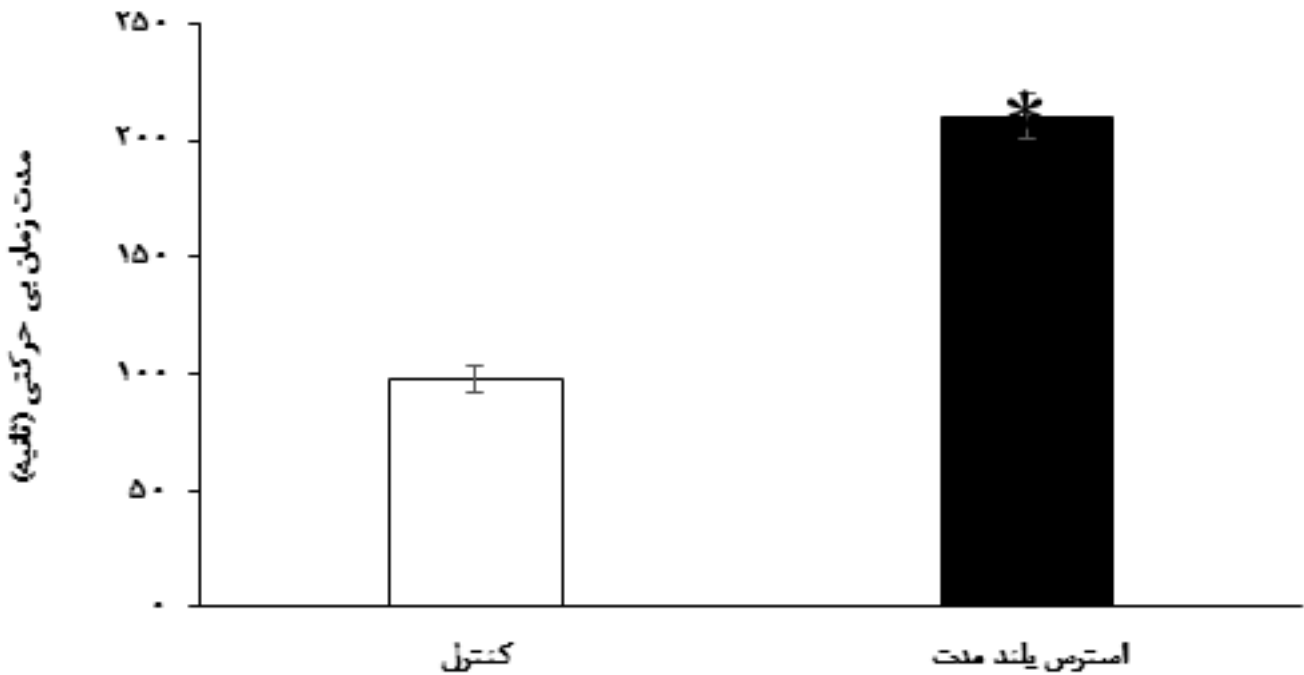
شکل ۱. وزن آزمودنی‌ها (گرم) در گروه‌ها و هفته‌های مختلف مطالعه



شکل ۲. زمان ماندن در بازوی بسته در گروه‌های مختلف مطالعه

در گروه استرس بلند مدت به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود (شکل ۲) ($F=256/44$ ، $P=0/001$ ، $\eta p^2=0/97$).

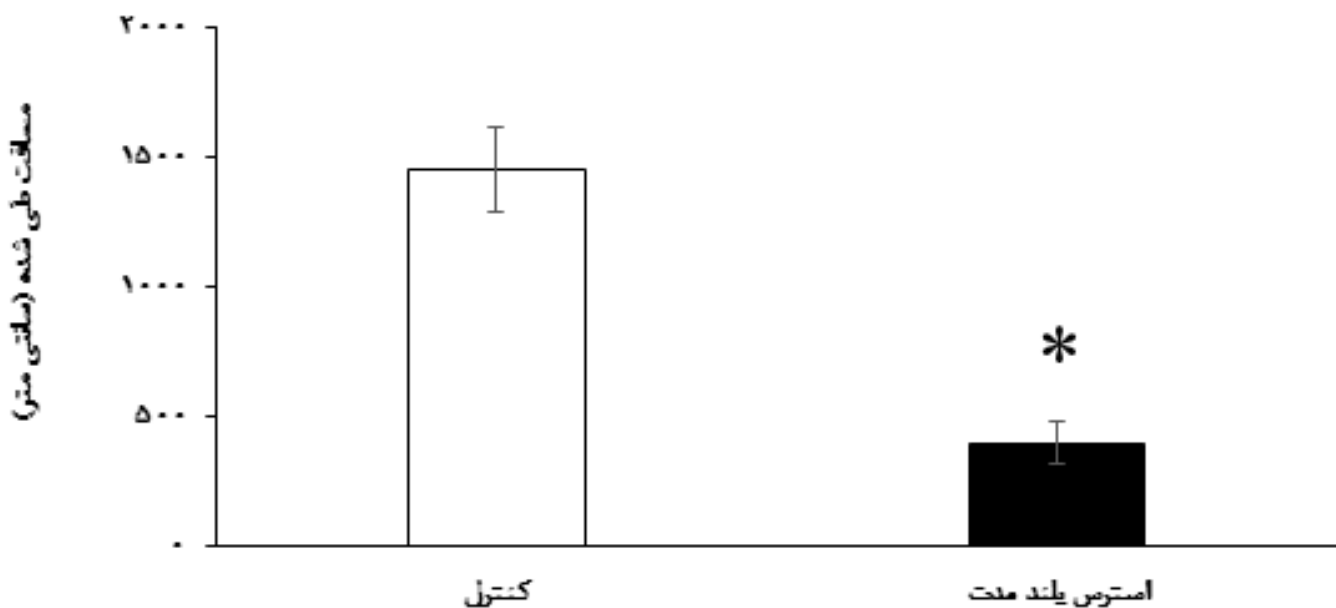
تحلیل نتایج پس از اتمام مداخله پنج هفته‌ای استرس با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد زمان ماندن در بازوی بسته



شکل ۳. مدت زمان بی حرکتی در گروه‌های مختلف مطالعه

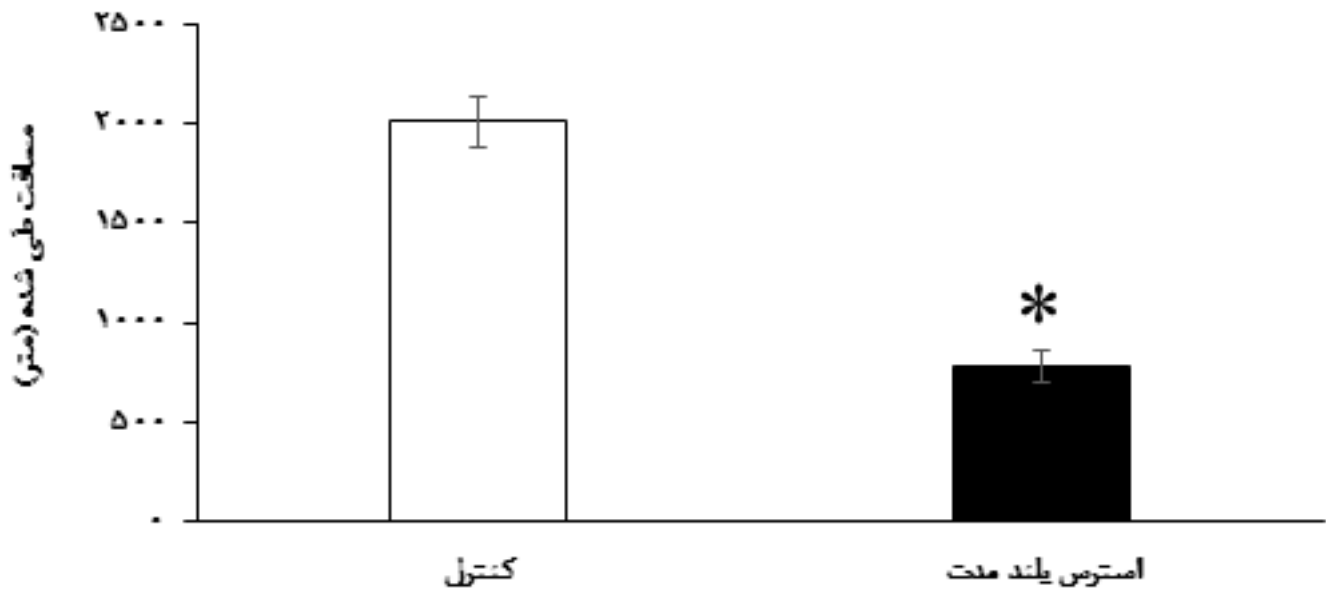
از گروه کنترل بود (شکل ۳) ($F=79/85$ ، $P=0/001$ ، $\eta p^2=0/91$).

مدت زمان بی حرکتی به طور معناداری در گروه استرس بلند مدت بیشتر



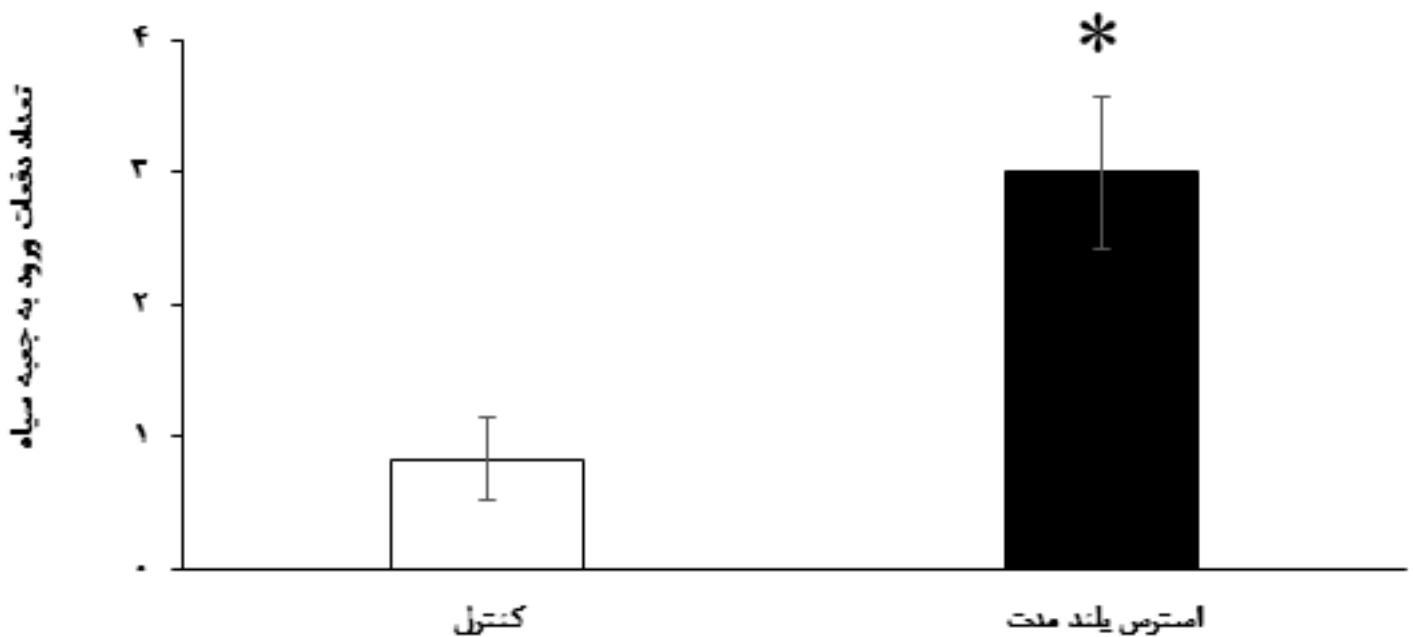
شکل ۴. مسافت طی شده در آزمون جعبه باز در گروه‌های مختلف مطالعه

مسافت طی شده در آزمون جعبه باز به طور معناداری در گروه استرس بلند مدت کمتر از گروه کنترل بود ($F=27/28, P=0/001, \eta p^2=0/78$) (شکل ۴).



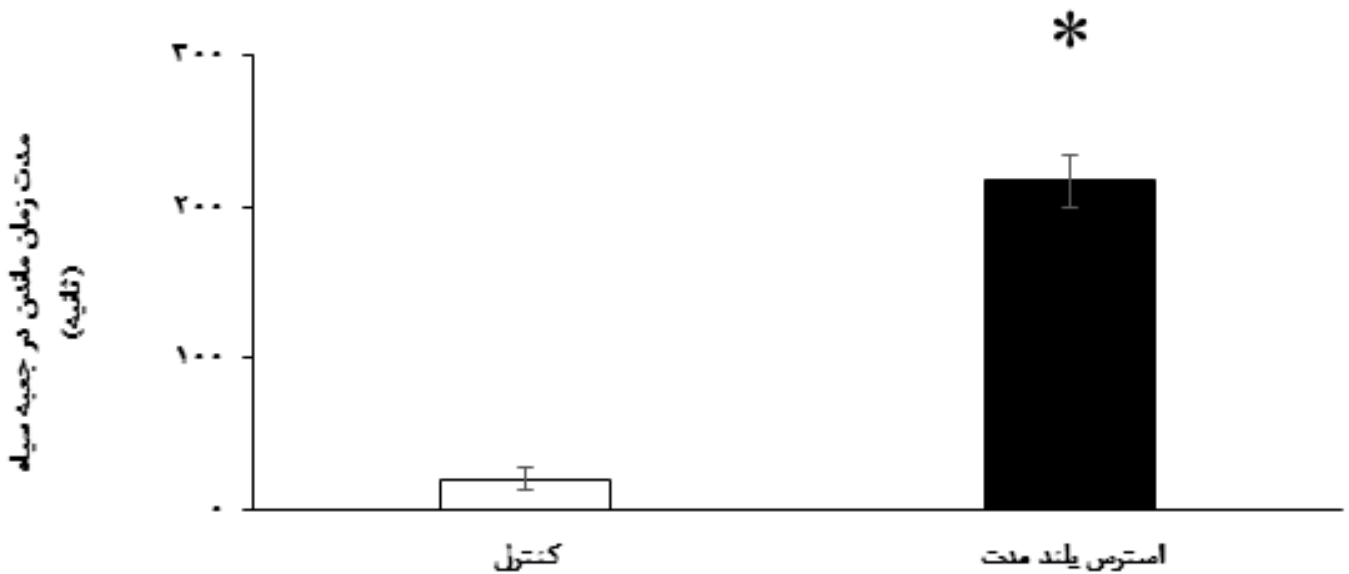
شکل ۵. مسافت طی شده با استفاده از چرخ دوار در گروه‌های مختلف مطالعه

مسافت طی شده با استفاده از چرخ دوار به طور معناداری در گروه استرس بلند مدت کمتر از گروه کنترل بود ($F=51/51, P=0/001, \eta p^2=0/87$) (شکل ۵).



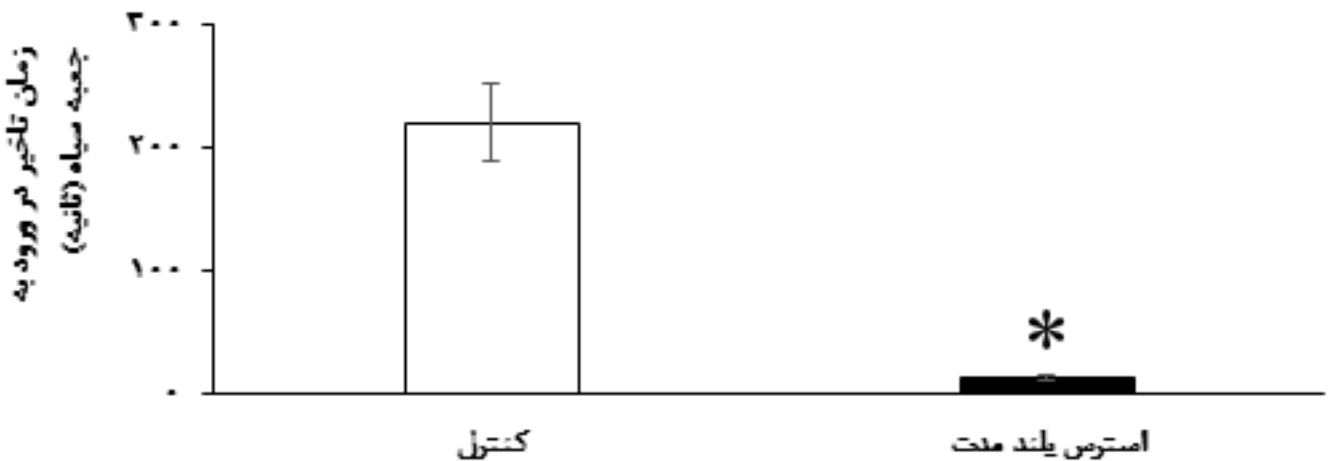
شکل ۶. تعداد دفعات ورود به جعبه سیاه در گروه‌های مختلف مطالعه

تعداد دفعات ورود به جعبه سیاه در گروه استرس بلند مدت به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود ($F=7/40$ ، $P=0/006$ ، $\eta p^2=0/49$) (شکل ۶).



شکل ۷. مدت زمان ماندن در جعبه سیاه در گروه‌های مختلف مطالعه

مدت زمان ماندن در جعبه سیاه در گروه استرس بلند مدت به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود ($F=43/06$ ، $P=0/001$ ، $\eta p^2=0/85$) (شکل ۷).



شکل ۸. زمان تأخیر در ورود به جعبه سیاه در گروه‌های مختلف مطالعه

نتایج ضریب همبستگی پیرسون بین متغیرهای وابسته پژوهش در جدول ۱ آورده شده است.

زمان تأخیر در ورود به جعبه سیاه در گروه استرس بلند مدت به طور معناداری کمتر از گروه کنترل بود ($F=36/24$ ، $P=0/001$ ، $\eta p^2=0/82$) (شکل ۸).

جدول ۱. همبستگی پیرسون بین متغیرهای وابسته پژوهش

متغیر	وزن اول هفته	وزن دوم هفته	وزن سوم هفته	وزن چهارم هفته	وزن پنجم هفته	وزن ماندن در بازوی بسته	مدت زمان بی حرکتی	مسافت طی شده در آزمون جعبه باز	مسافت طی شده با استفاده از چرخ دوار	تعداد دفعات ورود به جعبه سیاه	مدت زمان ماندن در جعبه سیاه	زمان تأخیر در ورود به جعبه سیاه
وزن هفته اول	۱											
وزن هفته دوم	**۰/۶۶	۱										
وزن هفته سوم	**۰/۸۲	۰/۲۹	۱									
وزن هفته چهارم	**۰/۷۷	**۰/۹۷	۱									
وزن هفته پنجم	**۰/۷۲	**۰/۹۲	**۰/۹۵	۱								
زمان ماندن در بازوی بسته	۰/۰۳	**۰/۶۳	**۰/۹۱	**۰/۹۳	۱							
مدت زمان بی حرکتی	۰/۱۱	**۰/۴۷	**۰/۸۴	**۰/۸۹	**۰/۸۹	۱						
مسافت طی شده در آزمون جعبه باز	-۰/۰۳	۰/۳۸	**۰/۷۴	**۰/۷۴	**۰/۶۵	**۰/۸۰	**۰/۷۷	۱				
مسافت طی شده با استفاده از چرخ دوار	۰/۰۵	**۰/۴۷	**۰/۷۸	**۰/۷۸	**۰/۶۷	**۰/۸۲	**۰/۷۹	**۰/۸۴	۱			
تعداد دفعات ورود به جعبه سیاه	-۰/۰۰۵	-۰/۲۰	-۰/۳۳	-۰/۳۵	**۰/۵۴	۰/۴۲	**۰/۵۰	-۰/۲۲	-۰/۲۲	۱		
مدت زمان ماندن در جعبه سیاه	-۰/۰۶	**۰/۵۹	**۰/۷۹	**۰/۸۲	**۰/۹۱	**۰/۸۴	**۰/۸۲	**۰/۵۶	**۰/۵۶	**۰/۵۴	۱	
زمان تأخیر در ورود به جعبه سیاه	۰/۱۹	۰/۴۸	**۰/۵۵	**۰/۵۷	**۰/۷۵	**۰/۵۹	**۰/۵۷	۰/۳۲	۰/۲۶	**۰/۷۰	**۰/۷۸	۱

*P<۰/۰۵، **P<۰/۰۱

بحث

در گروه استرس بلند مدت بیشتر از گروه کنترل بود که نشان‌دهنده افسردگی موش‌های گروه تجربی است. (۴) مسافت طی شده در آزمون جعبه باز به طور معناداری در گروه استرس بلند مدت کمتر از گروه کنترل بود که نشان‌دهنده استرس و افسردگی گروه تجربی است. (۵) مسافت طی شده با استفاده از چرخ دوار به طور معناداری در گروه استرس بلند مدت کمتر از گروه کنترل بود. (۶) تعداد دفعات ورود به جعبه سیاه (آزمون شاتل باکس) در گروه استرس بلند مدت به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود. مدت زمان ماندن در جعبه سیاه

مطالعه حاضر به بررسی اثر استرس ملایم غیرقابل پیش‌بینی بلند مدت بر برخی رفتارهای حرکتی و شناختی موش‌های صحرایی پرداخت. به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد: (۱) استرس مزمن بلندمدت باعث کاهش وزن حیوانات شده است. (۲) زمان ماندن در بازوی بسته (آزمون ماز مرتفع بعلاوه) در گروه استرس بلندمدت به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود که نشان‌دهنده اضطراب بیشتر گروه تجربی است. (۳) مدت زمان بی‌حرکتی (آزمون شنای اجباری) به طور معناداری

کورتیکوتروپین تضعیف شده و سطح پلاسمایی کورتیکواسترون بالا رفته و از این رو دچار اضطراب می‌گردند (۲۹).
 نتایج مطالعه حاضر در مورد آزمون شاتل باکس با نتایج مطالعات پیشین همسو می‌باشد (۳۰-۳۲). جلاوند و همکاران دادند استرس مزمن به اختلال در یادگیری و حافظه موش‌های صحرایی منجر می‌شود (۳۱). بر اساس مطالعات، استرس ناشی از بی‌حرکتی به مدت ۲۱ روز و روزانه ۶ ساعت موجب اختلالات معناداری در حافظه و یادگیری حیوانات می‌شود (۳۳). سیستم عصبی از جمله بخش‌هایی است که دچار بیشترین آسیب ناشی از استرس بی‌حرکتی می‌شود و در نتیجه، تعدادی از اعمال پیشرفته مغز نظیر حافظه و یادگیری مختل می‌گردد. اختلال حافظه بر اثر عواملی نظیر پیدایش استرس اکسیداتیو/نیتروژاتیو، آبخار استرسی شبکه آندوپلاسمی، التهاب عصبی و آپوپتوز در مغز و تضعیف تقویت طولانی مدت (LTP) به خصوص در هیپوکامپ رخ می‌دهد (۳۰) که به عنوان مکانیسم‌های احتمالی اثر استرس بر متغیرهای پژوهش حاضر مطرح هستند. یکی دیگر از دیگر عوامل مؤثر بر رفتارهای شناختی، حافظه و یادگیری نوروتروفین‌ها می‌باشد که نقش‌های گسترده‌ای در رشد و نمو نورون‌ها، تمایز، گسترش ایجاد سیناپس‌های جدید و تنظیم عملکرد نورون‌ها ایفا می‌کنند. از مهم‌ترین فاکتورهای نوروتروفیک می‌توان به فاکتور رشد مشتق از مغز و فاکتور رشد شبه انسولین-۱ (IGF-1) اشاره کرد که در تنظیم فرایندهای شناختی و حافظه در هیپوکامپ نقشی اساسی دارند. مطالعات نشان داده‌اند که قرار گرفتن در معرض استرس به صورت مداوم موجب کاهش سطوح نوروتروفین‌های مغزی می‌شود (۲۷). تغییرات اندوکرینی ناشی از استرس، افزایش سطوح هورمون کورتیکواسترون و کورتیزول است. یافته‌ها نشان می‌دهد که میزان ترشح پلاسمایی این هورمون‌ها در اثر استرس در حیوانات به طور معناداری افزایش می‌یابد (۳۴، ۳۵) هیپوکامپ یکی از مراکز اصلی دارای تراکم زیاد گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی در مغز است. بنابراین می‌توان هیپوکامپ را جزء مهم‌ترین هدف‌های هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی در مغز دانست. همچنین هیپوکامپ محل اصلی حافظه و فرایندهای شناختی است. با در نظر گرفتن این تعاملات، افزایش سطوح هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی می‌تواند به اختلال عملکرد هیپوکامپ شده و متعاقب آن حافظه را مختل کند (۳۶، ۳۷).
 بر اساس مطالعات انجام شده، افزایش سطح گلوکوکورتیکوئیدی مغز باعث فعال شدن گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی شده که فعال شدن این گیرنده‌ها با همکاری باعث به هم خوردن جریان کلسیمی رو به داخل و در نتیجه افزایش پاتولوژیک غلظت کلسیم در سلول‌های مغزی به خصوص در هیپوکامپ شود که این امر به فعال شدن مکانیسم‌های

در گروه استرس بلند مدت به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود. زمان تأخیر در ورود به جعبه سیاه در گروه استرس بلند مدت به طور معناداری کمتر از گروه کنترل بود که در مجموع نشان از حافظه اجتنابی غیرفعال کمتر گروه تجربی نسبت به کنترل است.
 نتایج مطالعات پیشین در مورد وزن ضد و نقیض است. برخی مطالعات افزایش وزن گیری (۲۲، ۲۳) و برخی کاهش وزن گیری (۲۴، ۲۵) متعاقب استرس را گزارش کردند که علت این تفاوت ممکن است مربوط به نحوه القای استرس و تفاوت در مدت زمان اعمال مداخله باشد. مطالعات بسیاری همانند پژوهش حاضر نشان دادند استرس بلند مدت باعث اختلال در حافظه، افزایش اضطراب و افسردگی می‌شود (۲۶). نتایج یک مطالعه که در سال ۲۰۱۳ منتشر شده است نشان می‌دهد که افسردگی، رفتار شبه اضطرابی و اختلال حافظه با افزایش استرس اکسیداتیو و التهاب موش‌های مدل استرسی همراه است (۲۶).
 بنابراین از مکانیسم‌های احتمالی اثر استرس بلند مدت بر متغیرهای پژوهش حاضر می‌توان به افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش ظرفیت سرکوب عوامل التهاب‌زا به واسطه استرس اشاره نمود. علاوه بر این، هورمون‌های استرس، یعنی آدرنالین و کورتیزول، تأثیرات عمیقی بر متابولیسم بدن دارند که منجر به افزایش قند خون، مقاومت به انسولین، مقاومت به لپتین، التهاب و در نهایت چاقی و سندرم متابولیک می‌شود (۲۲، ۲۳). طبیعتاً پاسخ استرس اشتها را سرکوب می‌کند که از آن می‌توان به عنوان مکانیسم احتمالی در توجیه کاهش وزن حیوانات یاد نمود. وقتی هموستاز تهدید می‌شود، احساس گرسنگی، جستجوی غذا و فعالیت گوارشی (حرکت، ترشح و جذب) مهار می‌شود، زیرا در اولویت نیست. هورمون‌های استرس، آدرنالین و کورتیزول، به افزایش سطح گلوکز خون کمک می‌کنند و در شرایط استرس حاد کورتیزول باعث تحریک ترشح انسولین می‌شود. سطح بالای گلوکز و انسولین در خون یک سیگنال سیری است. همچنین کورتیزول از طریق افزایش فرایندهای گلوکونئوزنی باعث تخریب بافتی و کاهش وزن می‌شود.
 نتایج مطالعات پیشین نشان می‌دهد که استرس موجب افزایش اضطراب می‌شود. به عنوان مثال علی‌آبادی و همکاران دریافتند که استرس به مدت ۱۵ روز و روزانه ۱ ساعت منجر به افزایش معنادار رفتارهای اضطرابی حیوانات در ماز بعلاوه می‌شود که همسو با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد (۲۷). نتایج یک مطالعه دیگر نشان داد که بین افسردگی، اضطراب با استرس همبستگی مثبت و معناداری وجود دارد (۲۸). به عنوان یک مکانیسم احتمالی Dorey و همکاران نشان دادند در موش‌های صحرایی که در معرض استرس بوده‌اند به علت کاهش رسپتورهای گلوکوکورتیکوئیدی، فیدبک مهاري هورمون آزادکننده

پژوهش حاضر عدم اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیولوژیک اثرگذار مانند BDNF، کورتیزول، شاخص‌های استرس اکسیداتیو می‌باشد. سنجش این شاخص‌های فیزیولوژیک می‌تواند ما را به یافتن یک مکانیسم قطعی برای اثرگذاری استرس بر متغیرهای رفتاری پژوهش راهنمایی کند؛ بنابراین پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های آینده این موارد را مورد بررسی قرار دهند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق در پژوهش

در پژوهش حاضر تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. همچنین پژوهش حاضر دارای کد اخلاق به شماره IR.IAU.CTB.REC.1401.093 از دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

ایده‌پردازی و طراحی این مطالعه توسط صالح رحمتی انجام شد. صالح رحمتی و مأده پوراسکندر داده‌ها را تجزیه و تحلیل کردند و نگارش مقاله را انجام دادند. همه نویسندگان در ویرایش مقاله مشارکت داشتند. همه نویسندگان نسخه نهایی مقاله را خوانده و تایید کردند.

منابع مالی

این مقاله بخشی از رساله دکتری نویسنده نخست می‌باشد که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی تأیید شده است. هزینه انجام پژوهش به صورت شخصی تامین گردیده است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان کمال تشکر و قدردانی را از کادر دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز به خاطر همکاری در روند پژوهش را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان اظهار می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافی در ارتباط با این مقاله وجود ندارد.

مرگ سلولی (آپوپتوز یا نکروز) می‌گردد. برآیند این اتفاقات، کاهش حافظه و قدرت یادگیری در حیوان یا انسان تحت شرایط استرس مداوم است (۳۶، ۳۸). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد که قرار گرفتن در معرض استرس و گلوکوکورتیکوئیدها باعث ایجاد آتروفی دندربی در هیپوکامپ از طریق آسیب عصبی مرتبط با کاهش نورونز می‌شود که خود موجب تغییرات انعطاف‌پذیری عصبی می‌شود. چنین تغییراتی در هیپوکامپ به‌عنوان یک مکانیسم شناختی مرتبط با اثرات مخرب استرس بر حافظه و یادگیری شناخته می‌شود و به طور کلی به تغییرات در سطوح کورتیکوسترون نسبت داده می‌شود (۳۹).

واضح است که فعالیت بدنی منظم می‌تواند اعتماد به نفس را افزایش دهد، خلق‌وخو را بهبود بخشد، به آرامش کمک کند و علائم افسردگی و اضطراب را کاهش دهد. فعالیت بدنی همچنین می‌تواند خواب را بهبود بخشد، که اغلب با استرس، افسردگی و اضطراب مختل می‌شود. همه این فواید می‌تواند سطح استرس را کاهش دهد. اما نتیجه مهمی که مطالعه حاضر به آن دست یافته است این است که استرس دارای قابلیت اثرگذاری بر میزان فعالیت بدنی است. این کاهش میزان فعالیت بدنی متعاقب افزایش استرس در مطالعه حاضر با افزایش ناهنجاری‌های رفتاری اندازه‌گیری شده در مطالعه حاضر رابطه داشته است. نتایج مطالعات پیشین در این مورد ضد و نقیض است (۴۰). به هر حال نتایج یک مطالعه مروری نشان می‌دهد در بسیاری از مطالعات، تجربه استرس تلاش‌ها برای فعال بودن فیزیکی را مختل می‌کند که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (۴۰).

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج مطالعه حاضر اثر مخرب استرس طولانی مدت را بر حافظه، اضطراب و افسردگی نشان داد. با توجه به نتایج همبستگی به نظر می‌رسد موش‌های فعال اثرات مخرب کمتری را تجربه کرده‌اند. از محدودیت‌های پژوهش حاضر عدم داشتن گروه‌های متفاوت برای سنجش هر آزمون رفتاری است. در واقع ممکن است انجام آزمون‌های رفتاری متعدد روی موش‌های دارای اختلال رفتاری، چالش برانگیز باشد اما به نظر نمی‌رسد (با توجه به این که شرایط برای همه موش‌ها یکسان است) در نتیجه کلی مطالعه حاضر اثرگذار باشد. از دیگر محدودیت‌های

References

1. Del Giudice M, Buck CL, Chaby LE, Gormally BM, Taff CC, Thawley CJ, et al. What is stress? A systems perspective.

- Integrative and Comparative Biology*. 2018;58(6):1019-1032.
2. Tsigos C, Kyrou I, Kassi E, Chrousos GP. Stress: Endocrine physiology and pathophysiology. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, Boyce A, Chrousos G, Corpas E, et al., editors. Endotext. South Dartmouth, MA, USA:MDText.com, Inc;2020.
 3. Herman JP, McKlveen JM, Ghosal S, Kopp B, Wulsin A, Makinson R, et al. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical stress response. *Comprehensive Physiology*. 2016;6(2):603-621.
 4. Goncharova ND. The HPA axis under stress and aging: Individual vulnerability is associated with behavioral patterns and exposure time. *Bioessays*. 2020;42(9):2000007.
 5. Budson AE, Price BH. Memory dysfunction. *New England Journal of Medicine*. 2005;352(7):692-699.
 6. Ayeni EA, Aldossary AM, Ayejoto DA, Gbadegesin LA, Alshehri AA, Alfassam HA, et al. Neurodegenerative diseases: Implications of environmental and climatic influences on neurotransmitters and neuronal hormones activities. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022;19(19):12495.
 7. Assuncao M, Santos-Marques MJ, Carvalho F, Andrade JP. Green tea averts age-dependent decline of hippocampal signaling systems related to antioxidant defenses and survival. *Free Radical Biology and Medicine*. 2010;48(6):831-838.
 8. Mirzaei P, Lotfi Kashani F, Behzadi S, Sahraie H. The effect of Papaver rhoeas distillate on learning, memory, corticosterone and anorexia in little laboratory mice under inescapable tension. *Medical Sciences Journal of Islamic Azad University*. 2013;23(1):21-29 (Persian)
 9. Ghalamghash R, Zaker Mamedouf, H, Ashayeri, H, Bahrami Z. Comparison of handling-injection stress with noise stress on learning and memory in the early life of male rats. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2010;12(2):13-18. (Persian)
 10. Sousa N, Almeida OF, Wotjak CT. A hitchhiker's guide to behavioral analysis in laboratory rodents. *Genes, Brain and Behavior*. 2006;5(2):5-24.
 11. Yang L, Zhao Y, Wang Y, Liu L, Zhang X, Li B, et al. The effects of psychological stress on depression. *Current Neuropharmacology*. 2015;13(4):494-504.
 12. Yuksel A, Bahadir-Yilmaz E. Relationship between depression, anxiety, cognitive distortions, and psychological well-being among nursing students. *Perspectives in Psychiatric Care*. 2019;55(4):690-696.
 13. Mirzay Razaz J, Mohebi Z, Haji Faraji M, Houshiarrad A, Eini-Zinab H, Agah Haris M. The association between depression, anxiety, stress and dietary behavior in female students. *Tehran University Medical Journal*. 2019;76(10):672-677. (Persian)
 14. Gloster AT, Rhoades HM, Novy D, Klotsche J, Senior A, Kunik M, et al. Psychometric properties of the Depression Anxiety and Stress Scale-21 in older primary care patients. *Journal of Affective Disorders*. 2008;110(3):248-259.
 15. Lowry CL, Shah R, Fleming C, Taylor R, Bewley A. A study of service provision in psychocutaneous medicine. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2014;39(1):13-18.
 16. Pedersen BK, Saltin B. Exercise as medicine—evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2015;25(S3):1-72.
 17. Babaei A, Nourshahi M, Fani M, Entezari Z, Jameie SB, Haghparast A. The effectiveness of continuous and interval exercise preconditioning against chronic unpredictable stress: Involvement of hippocampal PGC-1 α /FNDC5/BDNF pathway. *Journal of Psychiatric Research*. 2021;136:173-183.
 18. Zavvari F, Karimzadeh F. A review on the behavioral tests for learning and memory assessments in rat. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 2017;5(4):110-124. (Persian)
 19. Rahmati-Ahmadabad S, Azarbayjani MA, Broom DR, Nasehi M. Effects of high-intensity interval training and flaxseed oil supplement on learning, memory and immobility: Relationship with BDNF and TrkB genes. *Comparative Exercise Physiology*. 2021;17(3):273-283.
 20. Albrechet-Souza L, de Carvalho MC, Franci CR, Brandão

- ML. Increases in plasma corticosterone and stretched-attend postures in rats naive and previously exposed to the elevated plus-maze are sensitive to the anxiolytic-like effects of midazolam. *Hormones and Behavior*. 2007;52(2):267-273.
21. Nasri S, Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Balvardi M, Rabani T. Chronic cyanidin-3-glucoside administration improves short-term spatial recognition memory but not passive avoidance learning and memory in streptozotocin-diabetic rats. *Phytotherapy Research*. 2012;26(8):1205-1210.
22. Sominsky L, Spencer SJ. Eating behavior and stress: A pathway to obesity. *Frontiers in Psychology*. 2014;5:434.
23. Spencer SJ, Tilbrook A. The glucocorticoid contribution to obesity. *Stress*. 2011;14(3):233-246.
24. Poulain T, Vogel M, Sobek C, Hilbert A, Korner A, Kiess W. Associations between socio-economic status and child health: Findings of a large German cohort study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2019;16(5):677.
25. Cottone E, D'Atri I, Conte D, Pomatto V, Gothilf Y, Santoro MM, et al., editors. The endocannabinoid system regulates zebrafish GnRH neuronal development. 28th Conference of European Comparative Endocrinologists; 2016 August 21-25; Leuven, Belgium; E*SCE society;2016.
26. Patki G, Solanki N, Atrooz F, Allam F, Salim S. Depression, anxiety-like behavior and memory impairment are associated with increased oxidative stress and inflammation in a rat model of social stress. *Brain Research*. 2013;1539:73-86.
27. Aliabadi N, Sahraei H, Bahari Z, Meftahi G. Effect of prenatal immobilization stress on spatial memory, anxiety-like behavior and brain BDNF concentration in the F1 generation male mice. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*. 2018;23(3):73-84.
28. Ali Ahmed S, Cerkez Y. The impact of anxiety, depression, and stress on emotional stability among the university students from the view of educational aspects. *Purposes and Representations*. 2020;8(3):520.
29. Dorey R, Pierard C, Chauveau F, David V, Beracochea D. Stress-induced memory retrieval impairments: Different time-course involvement of corticosterone and glucocorticoid receptors in Dorsal and Ventral Hippocampus. *Neuropsychopharmacology*. 2012;37(13):2870-2880.
30. Zhang Y, Liu W, Zhou Y, Ma C, Li S, Cong B. Endoplasmic reticulum stress is involved in restraint stress-induced hippocampal apoptosis and cognitive impairments in rats. *Physiology & Behavior*. 2014;131:41-48.
31. Jalalvand F, Asle-Rousta M. Effect of myrtus communis hydro-alcoholic extract on chronic restraint stress-induced spatial memory deficit in adult male rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 2018;21(3):33-41.
32. Darkhah P, Zarghami M, Shetab BN, Fatemi R. The effect of exercise on learning and spatial memory following stress-induced sleep deprivation (Sleep REM) in rats. *Jentashapir Journal of Health Research*. 2016;7(2):e32005.
33. Ghadrdoost B, Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Hajisoltani R, Bandegi AR, Motamedi F, et al. Protective effects of saffron extract and its active constituent crocin against oxidative stress and spatial learning and memory deficits induced by chronic stress in rats. *European Journal of Pharmacology*. 2011;667(1-3):222-229.
34. Ghobadi N, Sahraei H, Meftahi GH, Bananej M, Salehi S. Effect of estradiol replacement in ovariectomized NMRI mice in response to acute and chronic stress. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2016;6(11):176-184.
35. Gong S, Miao Y-L, Jiao G-Z, Sun M-J, Li H, Lin J, et al. Dynamics and correlation of serum cortisol and corticosterone under different physiological or stressful conditions in mice. *Plos One*. 2015;10(2):e0117503.
36. McEwen BS, Bowles NP, Gray JD, Hill MN, Hunter RG, Karatsoreos IN, et al. Mechanisms of stress in the brain. *Nature Neuroscience*. 2015;18(10):1353-1363.
37. ter Heegde F, De Rijk RH, Vinkers CH. The brain mineralocorticoid receptor and stress resilience. *Psychoneuroendocrinology*. 2015;52:92-110.
38. Cottrell EC, Seckl J. Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of adult disease. *Frontiers in Behavioral*

Neuroscience. 2009;3:19.

39. Pham K, Nacher J, Hof PR, McEwen BS. Repeated restraint stress suppresses neurogenesis and induces biphasic PSA-NCAM expression in the adult rat dentate gyrus. *European*

Journal of Neuroscience. 2003;17(4):879-886.

40. Stults-Kolehmainen MA, Sinha R. The effects of stress on physical activity and exercise. *Sports Medicine*. 2014;44(1):81-121.