

اثرات هیپوتیروئیدی مادری در دوران حاملگی بر رفتارهای شبه اضطرابی در موش های بزرگ آزمایشگاهی بالغ: بررسی تاثیر ورزش متوسط اجباری

زهرا غفاری^۱ (M.Sc)، عباسعلی وفایی^{۱*} (Ph.D)، علی رشیدی پور^۱ (Ph.D)، موسی الرضا حاجزاده^۲ (Ph.D)، سید محمود حسینی^۲ (Ph.D)

۱- مرکز تحقیقات و گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۲- گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات قبلی نشان داده اند که کمبود هورمون های تیروئیدی در طی دوره تکامل مغز، موجب تغییرات ساختمانی و بیوشیمیایی در نواحی مختلف مغزی شده که می تواند منجر به اختلالات سایکولوژیکی شود. از طرف دیگر، ورزش اثرات مفیدی بر عمل کردهای مغز در زمینه نوروشیمیایی داشته و احتمالاً می تواند اختلالات ناشی از هیپوتیروئیدی را اصلاح نماید. هدف این مطالعه تعیین اثرات ورزش اجباری با شدت متوسط بر نقایص رفتارهای شبه اضطرابی در فرزندان نر و ماده بالغ مادران هیپوتیروئید موش های صحرایی بود.

مواد و روش ها: جهت هیپوتیروئیدی کردن رت های مادر از پروپیل تیواوراسیل با دوز ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در هر لیتر آب آشامیدنی و از روز شش حاملگی تا بیست و یک روز پس از تولد بچه های آنها استفاده شد. سپس به مدت نود روز بچه رت های متولد شده ریکاوری داده شد. گروه کنترل، رت های سالم نود روزه بودند. حیوانات در هر دو جنس به دو گروه ورزشی و غیر ورزشی تقسیم شدند. ورزش با شدت متوسط با استفاده از تردمیل و روزانه به مدت ۳۰ دقیقه (برای ۵ دقیقه اول با سرعت ۱۲ متر در دقیقه برای ۵ دقیقه بعدی با سرعت ۱۵ متر در دقیقه و برای ۳ دقیقه به مدت ۲۰ متر در دقیقه و مجدد ۵ دقیقه به مدت ۱۵ متر در دقیقه و مابقی را با سرعت ۱۲ متر در دقیقه با شیب صفر درجه داده شد. جهت بررسی رفتار اضطرابی از مدل های اتاق تاریک و روشن و ماز بعلاوه ای شکل مرتفع استفاده گردید.

یافته ها: بررسی داده ها نشان داد که هیپوتیروئیدی با دوز ۲۰۰ و نه با دوز ۵۰ موجب اضطراب زایی می شود و ورزش با این شدت نمی تواند به طور معنی داری اضطراب ایجاد شده را برطرف نماید. ضمناً ورزش با شدت متوسط به طور معنی داری موجب اضطراب زایی شد.

نتیجه گیری: یافته ها نشان می دهد که هیپوتیروئیدی مادری موجب افزایش واکنش های شبه اضطرابی می شود ولی ورزش با شدت متوسط اثر معنی داری بر اضطراب زایی ناشی از هیپوتیروئیدی نداشته و به تنهایی موجب افزایش اضطراب می گردد.

واژه های کلیدی: ورزش، هیپوتیروئیدی مادری، اضطراب، پروپیل تیواوراسیل، موش صحرایی

مقدمه

هورمون های تیروئیدی نقش مهمی در تمایز و رشد ایفا نموده و برای عملکرد طبیعی بافت ها، با اثر بر میزان مصرف

سطح هورمون تیروئید بیش تر با اضطراب مزمن، افزایش خستگی و کاهش سایکوموتور همراه است [۱۱].

از طرفی مطالعات نشان داده اند که ورزش باعث کاهش اضطراب در انسان [۱۲] و جوندگان [۱۳، ۱۴] می شود. در حقیقت ورزش ارادی در جوندگان با شماری از اثرات فیزیولوژیک و رفتاری سازشی مثل بهبود اعمال شناختی در رت ها [۱۵]، کاهش رفتارهای مربوط به استرس [۱۳، ۱۴]، افزایش نورونزیز و آنتیوژنیز و افزایش فاکتورهای نوروتروفیک مثل IGF-1 و BDNF همراه است [۱۶]. بنابراین به نظر می رسد که ورزش از طریق اثرات مفیدش بتواند بر اضطراب ناشی از کم کاری تیروئید موثر باشد. بر این اساس هدف این مطالعه بررسی اثرات ورزش اجباری بر اختلالات اضطرابی در فرزندان بالغ مادران هیپوتیروئید موش صحرایی بود.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی ۱۲۰ سر موش های نر و ماده صحرایی نژاد Wistar به صورت تصادفی انتخابی از بین موش های متولد شده از مادران سالم و هایپوتیروئیدی انتخاب شده بودند استفاده گردید. حیوانات مذکور در مرکز پرورش حیوانات دانشگاه، در درجه حرارت 22 ± 2 و سیکل شبانه روزی ۱۲ ساعته نگهداری می شدند. ملاحظات اخلاقی بر اساس شیوه نامه و مجوز کمیته اخلاق دانشگاه مورد توجه قرار گرفت.

روش کار. نحوه ایجاد هایپوتیروئیدی بدین صورت بود که در ابتدا تعداد حداقل ۲۰ سر رت بالغ ماده زایمان نکرده و تعداد ۱۰ سر رت بالغ نر تهیه نموده و به تدریج در طی ۴ دوره و در هر دوره ۳ شب متوالی ۱ رت ماده را با ۱ رت نر در یک قفس قرار دادیم. صبح روزها رت های ماده را بررسی کرده و با مشاهده پلاک واژینال روز صفر حاملگی (GD0) در نظر گرفته شد و هر یک به قفس جداگانه ای منتقل شدند. داروی پروپیل تیواوراسیل (PTU) با دوزهای ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر از روز ۶ بارداری (GD6) تا روز ۲۱ پس از

اکسیژن و متابولیسم، مورد نیاز هستند [۱]. مطالعات قبلی نشان داده است کم کاری تیروئید در ۲/۵ درصد از حاملگی های طبیعی رخ می دهد [۲] و کمبود یا عدم وجود غده تیروئید موجب کند شدن اعمال مغزی و جسمی، کاهش مقاومت در برابر سرما و موجب عقب ماندگی ذهنی در نوزادان می شود. هورمون های تیروئید روی اکثر بافت ها مثل مغز، کبد، قلب، کلیه، ریه، استخوان و بافت چربی اثر می کنند و در حیوانات در حال تکامل اعمال مهمی روی رشد و بلوغ دارند [۳]. دیده شده است که در یک الگوی زمانی پیچیده در نواحی خاصی از مغز مثل قشر مغز، هیپوکامپ، استریاتوم، مخچه و هیپوتالاموس گیرنده های هسته ای T3 بیان می شود [۴]. هورمون های تیروئید در تنظیم چندین فرایند نورویولوژیکی پایه دخالت می کنند بنابراین نقش اساسی در تکامل اولیه مغز دارند [۵]. هورمون های تیروئید مستقیماً روی نوروها اثر می کنند و رونویسی ژن های مربوط به پروسه های نورونزیز، مهاجرت نورونی، سیناپتوزنیز، پرولیفراسیون دندریتها و میلیناسیون را فعال می کنند [۶]. بنابراین کاهش هورمون های تیروئید پی آمدهای نورولوژیک مهمی به دنبال داشته و در طی دوره جنینی و اوایل نوزادی باعث اختلالات حرکتی، شناختی و سیکولوژیکی می شوند [۷]. زمان بحرانی برای تاثیرات هورمون های تیروئید بر مغز در رت از روز ۱۸ جنینی تا روز ۲۱ تا ۲۵ پس از تولد است [۸]. هم چنین در انسان ها، هورمون های تیروئید در سه ماهه اول و در موش ها در ۱۵ روز اول بارداری (طول دوره بارداری ۲۱ روز است) از جفت عبور می کنند [۹]. مشاهدات نشان داده که هایپوتیروئیدیسم ارتباط نزدیکی با اختلالات روان پزشکی و شناختی، مثل اختلال حافظه، اضطراب و افسردگی دارد [۱۰]. دیده شده که اختلالات اضطرابی در ۳۰ تا ۴۰ درصد بیماران هایپوتیروئید حاد رخ می دهد. علامت بارز بیماران مبتلا به میگزدم پیشرفت سریع به سمت اضطراب است. بیماران ممکن است دچار هذیان، توهم و بی قراری شده و اغلب به شدت تحریک پذیر هستند. دیده شده تغییرات تدریجی و پیش رونده

تولد (PND21) به آب آشامیدنی رت‌ها افزوده شد و هر روز میزان آب مصرفی کنترل می‌گردید. روز ۲۱ پس از تولد PTU قطع شد و بچه‌ها از مادران جدا گردیدند. سپس به دنبال بی‌هوشی عمیق و گردن زدن، نمونه خون از مادران و دو مورد از بچه‌های آنان جهت بررسی تیروکسین (Total T4) و تائید هایپوتیروئیدی گرفته شد. نمونه خون سانتی‌فیوژ شده (۲۰۰۰ RPM, ۲۰ min) و سرم جدا شده در 80°C - نگه‌داری و بعد با کیت و روش الیزا ارزیابی شد که نشان‌دهنده هیپوتیروئید شدن حیوانات بود [۱۷]. به زاده‌ها ۹۰ روز فرصت ریکاوری داده شد (حدوداً ۴ ماهه شدند) و سپس به دو گروه ورزشی و غیر ورزشی تقسیم شدند و مطالعه رفتاری ارزیابی اضطراب بر اساس زمانبندی انجام شده بر روی آن‌ها انجام شد (شکل ۱). روش انجام ورزش اجباری متوسط. حیوانات در طی دو هفته روزانه به مدت ۳۰ دقیقه، به این صورت که برای ۵ دقیقه اول با سرعت ۱۲ m/min، برای ۵ دقیقه بعدی با سرعت ۱۵ m/min و برای ۳ دقیقه به مدت ۲۰ m/min و مجدد ۵ دقیقه به مدت ۱۵ m/min و مابقی را با سرعت ۱۲ m/min با شیب صفر درجه به روش دویدن اجباری با استفاده از تردمیل ورزش داده شدند.

روش ارزیابی اضطراب. دستگاه ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع: برای ارزیابی اضطراب از ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع (EPM) که مدل استاندارد جهت ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است استفاده شد. این دستگاه از چوب ساخته شده و شامل دو بازوی باز (هر یک 50×10 سانتی‌متر) و دو بازوی بسته (هر یک $50 \times 10 \times 40$ سانتی‌متر) و یک کفه مرکزی (10×10 سانتی‌متر) است که بازوهای باز روبروی هم و بازوهای بسته هم روبروی یک‌دیگر قرار دارند و حدود ۵۰ سانتی‌متر از کف اتاق بالاتر قرار می‌گیرد. این مدل تجربی سنجش اضطراب غیر شرطی بوده و نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد.

روش تست: هر موش قبل از تست به طور جداگانه، ۵ دقیقه قبل از آزمایش به اتاق کار منتقل و در جعبه‌ای به ابعاد $30 \times 40 \times 40$ سانتی‌متر قرار می‌گیرد تا فعالیت جستجوگرانه (Explorative activity) حیوان افزایش یابد. آنگاه به مدت

۵ دقیقه در ماز (قسمت کفه و رو به بازوی باز) قرار داده شده و شاخص‌های استاندارد ارزیابی اضطراب از طریق مشاهده آن‌ها بررسی و فعالیت‌های جستجوگرانه ثبت خواهد شد و افزایش ورود به بازوهای باز (Open arm entrance, OAE) و افزایش مدت سپری شده در بازوی باز (Time spend in open arm, TOA) شاخص کاهش اضطراب در موش تلقی خواهد شد. همچنین قضاوت در مورد اختلاف معنی دار سطح اضطراب بدین صورت است که اگر هم‌زمان هر دو شاخص (ورود به بازوی باز و مدت سپری شده در آن‌ها) در یک راستا کاهش و یا افزایش یابد و حداقل یکی از آن‌ها تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل داشته باشد، به عنوان تغییر معنی‌دار سطح اضطراب تلقی می‌شود [۱۸].

جعبه تاریک- روشن. این دستگاه شامل یک محفظه پلکسی گلاس مکعب مستطیل با طول ۷۱ سانتی‌متر، عرض ۲۰ سانتی‌متر ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر می‌باشد. دستگاه توسط یک تونل به دو قسمت روشن به طول ۳۱ سانتی‌متر و تاریک ۳۰ سانتی‌متر تقسیم می‌شود.

روش تست: حیوان در قسمت روشن دستگاه قرار داده شد و رفتارش به مدت ۵ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت و شاخص‌های زیر ثبت شد [۱۹].

۱- زمان گذرانده شده در قسمت روشن

(Time spent in the light chamber, TLC).

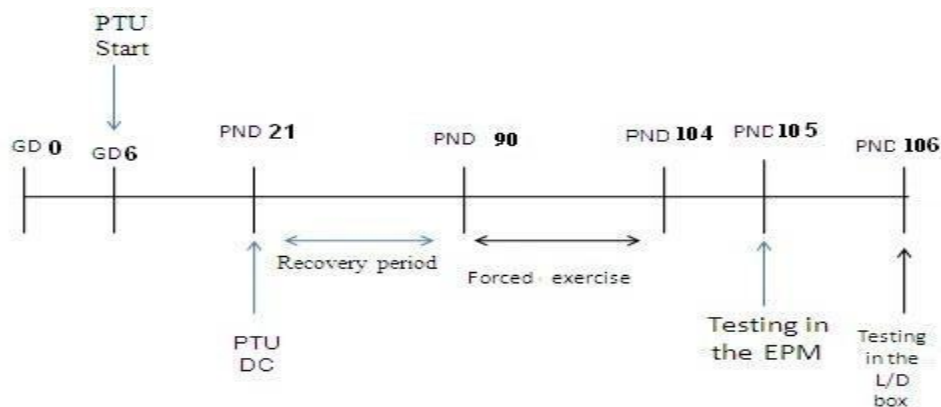
۲- تعداد بارهایی (Number of transition, NT) که بین

محفظه تاریک و روشن رفت و آمد می‌کند.

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات. با توجه به توزیع طبیعی داده‌ها از روش‌های پارامتریک (مدل آنالیز واریانس یک طرفه، دوطرفه و سه طرفه و تست Post-hoc توکی) استفاده گردید و سطح معنی‌داری با $P < 0.05$ مورد قبول قرار گرفت.

گروه‌های آزمایش. برای ارزیابی اثر ورزش اجباری با شدت متوسط بر میزان اضطراب ناشی از هایپوتیروئیدسم مادری، ابتدا ۱۲۰ سر حیوان (پوپ‌های بالغ) به طور مساوی از هر دو جنس در ۱۲ گروه (۶ گروه نر و ۶ گروه ماده) ۱۰ تایی دسته‌بندی شدند.

- ۱- گروه سالم غیر ورزشی (SED-CON).
 ۲- گروه هایپوتیروئیدی غیر ورزشی (۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم (EX-HYP)
 ۳- گروه سالم ورزشی (EX-CON)
 ۴- گروه هایپوتیروئید ورزشی (۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم (SED-HYP)



(EX-HYP)

میلی گرم (SED-HYP)

شکل ۱. بازه زمانی آزمایش

اختلاف معنی داری نداشت که نشان دهنده عدم اثر ورزش بر اضطراب‌زایی ناشی از هیپوتیروئیدی است. ضمناً این زمان در گروه سالم ورزشی نسبت به گروه سالم غیر ورزشی به‌طور معنی داری کاهش یافته است ($P < 0.05$) که نشان دهنده اضطراب‌زایی ورزش است. این یافته نشانگر این است که ورزش با شدت متوسط موجب افزایش واکنش‌های شبه اضطرابی می‌گردد.

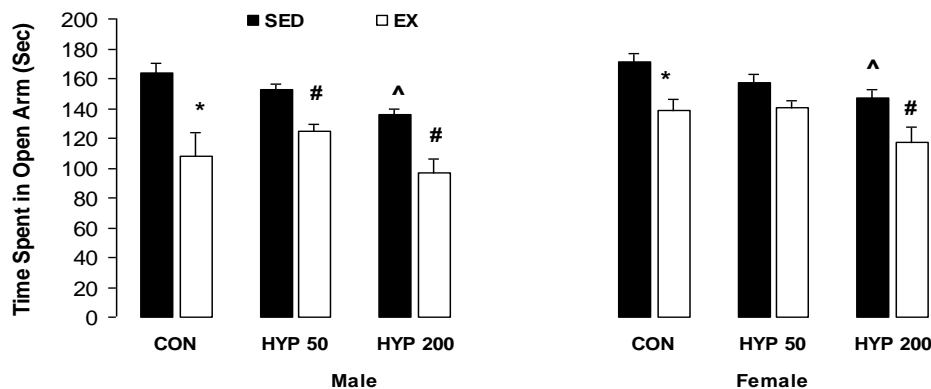
ب: زمان سپری شده در بازوی بسته. شکل ۳ زمان سپری شده در بازوی بسته را در هر دو جنس نشان می‌دهد. آنالیز واریانس سه طرفه (جنس × گروه × مداخله) در خصوص زمان حضور حیوان در بازوی بسته حاکی از عدم اثر معنی داری جنس ($P = 0.17, F_{1,72} = 1.91$) اثر معنی داری گروه‌ها ($P = 0.0001, F_{1,72} = 35.79$) و اثر معنی داری مداخله ($P = 0.004, F_{2,72} = 5.76$) و تعامل معنی داری بین جنس و گروه ($P = 0.31, F_{1,72} = 1.01$) و تعامل معنی داری بین جنس و مداخله ($P = 0.007, F_{2,72} = 5.17$) و گروه و مداخله ($P = 0.009, F_{2,72} = 5.01$) و عدم تعامل معنی داری بین جنس، گروه و مداخله ($P = 0.22, F_{2,72} = 1.51$) می‌باشد. آنالیز بعدی بین گروه‌ها نشان داد. که بین زمان حضور در بازوی بسته در گروه هایپوتیروئید غیر ورزشی نسبت به گروه

نتایج

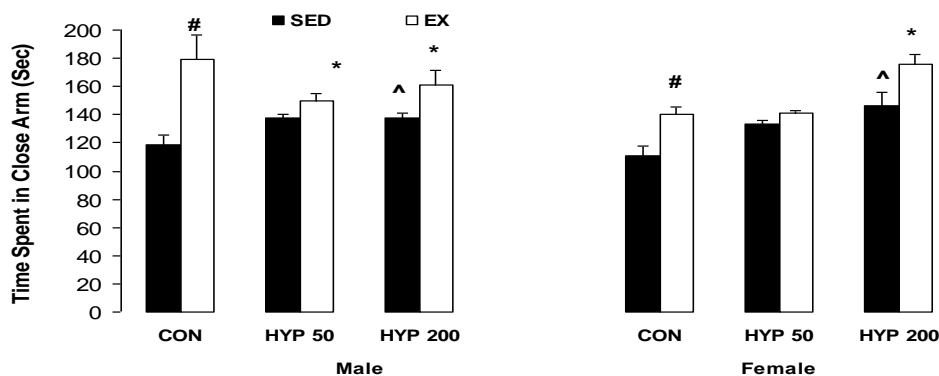
اثر ورزش متوسط اجباری بر واکنش‌های شبه اضطرابی در ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع در دو جنس نر و ماده:
 الف: زمان سپری شده در بازوی باز. شکل ۲ زمان سپری شده در بازوی باز را نشان می‌دهد. آنالیز واریانس سه طرفه (جنس × گروه × مداخله) در خصوص زمان حضور حیوان بر روی بازوی باز حاکی از اثر معنی داری جنس ($F_{1,72} = 11.62$)، اثر معنی داری گروه‌ها ($P = 0.001, F_{1,72} = 57.16$) و اثر معنی دار مداخله ($P = 0.0001, F_{2,72} = 9.25$) و عدم تعامل معنی دار بین جنس و گروه ($P = 0.003, F_{1,72} = 2.99$) و عدم تعامل معنی دار بین جنس و مداخله ($P = 0.06, F_{2,72} = 0.399$) و عدم تعامل معنی داری بین جنس، گروه و مداخله ($P = 0.12, F_{2,72} = 2.17$) و عدم تعامل معنی داری بین جنس، گروه و مداخله ($P = 0.7, F_{2,72} = 0.227$) می‌باشد. آنالیز بعدی بین گروه‌ها نشان داد. که بین زمان حضور در بازوی باز در گروه هایپوتیروئید غیرورزشی با دوز ۲۰۰ میلی گرم نسبت به گروه سالم غیرورزشی اختلاف معنی داری وجود دارد که نشان دهنده اثر اضطراب‌زایی هیپوتیروئیدی است ($P < 0.05$). هم‌چنین این زمان در گروه‌های هیپوتیروئید ورزشی نسبت به گروه سالم ورزشی

این زمان در گروه سالم ورزشی نسبت به گروه سالم غیر ورزشی به طور معنی داری افزایش یافته است ($P < 0.05$) که نشان دهنده اضطراب زایی ورزش است. این یافته نشانگر این است که ورزش با شدت متوسط موجب افزایش واکنش های شبه اضطرابی می گردد.

سالم غیر ورزشی اختلاف معنی داری دارد که نشان دهنده اثر اضطراب زایی هیپوتیروئیدی است ($P < 0.05$). همچنین این زمان در گروه های هیپوتیروئید ورزشی نسبت به گروه سالم ورزشی اختلاف معنی داری نداشت که نشان دهنده عدم اثر ورزش بر اضطراب زایی ناشی از هیپوتیروئیدی است. ضمناً



شکل ۲. زمان گذرانده شده در بازوی باز در گروه های سالم و هیپوتیروئید، ورزشی و غیرورزشی و در هر دو جنس را نشان می دهد. $P < 0.05$ * نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه سالم غیرورزشی در جنس مربوطه است. $P < 0.05$ ^ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه سالم غیرورزشی در جنس مربوطه است. $P < 0.05$ # نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه هیپوتیروئید غیرورزشی در جنس مربوطه است.



شکل ۳. زمان گذرانده شده در بازوی بسته را گروه های سالم و هیپوتیروئید، ورزشی و غیرورزشی و در هر دو جنس را نشان می دهد. $P < 0.05$ * نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه سالم غیرورزشی در جنس مربوطه است. $P < 0.05$ ^ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه سالم غیرورزشی در جنس مربوطه است. $P < 0.05$ # نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه هیپوتیروئید غیرورزشی در جنس مربوطه است.

گروه ($P = 0.91$, $F_{1,72} = 0.11$) و عدم تعامل معنی دار بین جنس و مداخله ($P = 0.65$, $F_{2,72} = 0.42$) عدم تعامل معنی دار بین گروه و مداخله ($P = 0.912$, $F_{2,72} = 2.47$) و عدم تعامل معنی دار بین جنس، گروه و مداخله ($P = 0.71$, $F_{2,72} = 0.33$) می باشد. آنالیز بعدی نشان داد که بین تعداد دفعات ورود به بازوی باز فقط در گروه سالم ورزشی نسبت به گروه سالم

ج: تعداد ورود به بازوی باز. شکل ۴ تعداد ورود به بازوی باز را در هر دو جنس نشان می دهد.

آنالیز واریانس سه طرفه (جنس × گروه × مداخله) در خصوص تعداد ورود به بازوی باز حاکی از عدم اثر معنی داری جنس ($P = 0.74$, $F_{1,72} = 0.1$) عدم اثر معنی داری گروه ها ($P = 0.23$, $F_{1,72} = 1.44$) و عدم اثر معنی دار مداخله ($P = 0.65$, $F_{2,72} = 0.42$) و عدم تعامل معنی دار بین جنس و

آنالیز واریانس سه طرفه (جنس×گروه×مداخله) در خصوص زمان سپری شده در جعبه تاریک حاکی از عدم اثر معنی‌داری جنس ($P=0/39$, $F_{1,72}=0/73$) اثر معنی‌داری گروه‌ها ($P<0/0001$, $F_{1,72}=27/51$) و عدم اثر معنی‌دار مداخله ($P=0/9$, $F_{2,72}=0/05$) و عدم تعامل معنی‌دار بین جنس و گروه ($P=0/3$, $F_{1,72}=1/04$) و عدم تعامل معنی‌دار بین جنس و مداخله ($P=0/06$, $F_{2,72}=2/78$) و عدم تعامل معنی‌دار بین گروه و مداخله ($P=0/001$, $F_{2,72}=7/01$) و عدم تعامل معنی‌دار بین جنس، گروه و مداخله ($F_{2,72}=0/99$) می‌باشد. همچنین آنالیز بعدی نشان داد که زمان سپری شده در جعبه تاریک در گروه‌های هایپوتیروئید غیرورزشی به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ($P<0/05$) که نشان‌دهنده اثر اضطراب‌زایی هیپوتیروئیدی است.

ب: تعداد عبور بین جعبه روشن و تاریک. شکل ۷ تعداد عبور بین ناحیه روشن و تاریک را در هر دو جنس نشان می‌دهد.

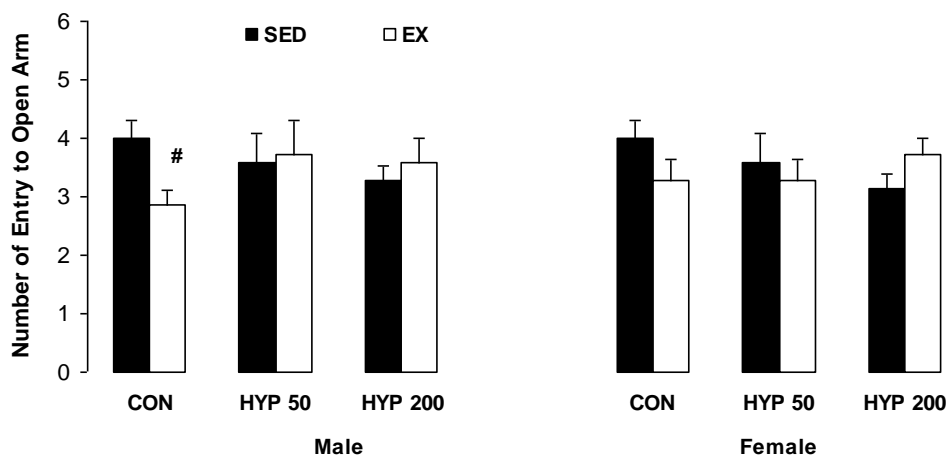
آنالیز بعدی بین گروه‌ها نشان داد. که تعداد عبور بین ناحیه روشن و تاریک در گروه سالم ورزشی نسبت به گروه سالم غیر ورزشی اختلاف معنی‌داری داشت ($P<0/05$) که نشان‌دهنده اثر اضطراب‌زایی ورزش می‌باشد.

غیرورزشی اختلاف معنی‌دار است ($P<0/05$) و در بقیه گروه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

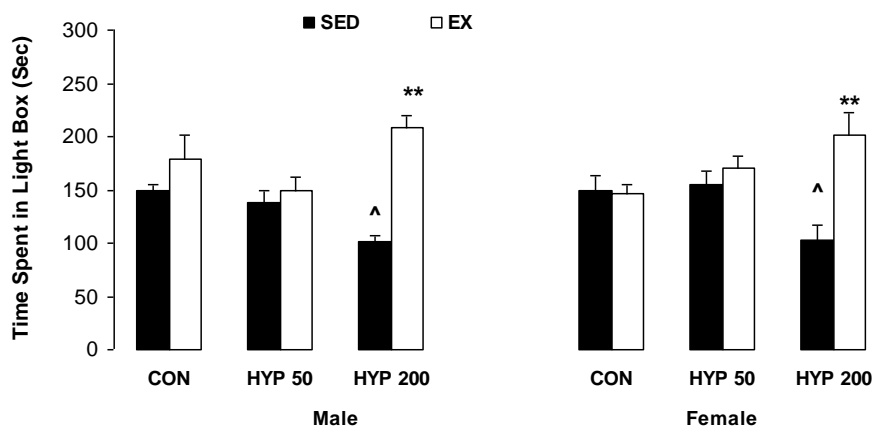
اثر ورزش متوسط اجباری بر واکنش‌های شبه اضطرابی در جعبه تاریک و روشن در دو جنس نر و ماده:

الف: زمان سپری شده در جعبه روشن. شکل ۵ زمان سپری شده در جعبه روشن را در هر دو جنس نشان می‌دهد. آنالیز واریانس سه طرفه (جنس×گروه×مداخله) در خصوص زمان سپری شده در جعبه روشن حاکی از عدم اثر معنی‌داری جنس ($P=0/9$, $F_{1,72}=0/009$) اثر معنی‌دار گروه‌ها ($P<0/0001$, $F_{1,72}=29/17$) و عدم اثر معنی‌دار بین جنس و گروه ($P=0/09$, $F_{2,72}=0/09$) و عدم تعامل معنی‌دار بین جنس و مداخله ($P=0/37$, $F_{1,72}=0/78$) و عدم تعامل معنی‌دار بین گروه و مداخله ($P=0/25$, $F_{2,72}=1/399$) و عدم تعامل معنی‌دار بین گروه و مداخله ($P<0/0001$, $F_{2,72}=13/19$) و عدم تعامل معنی‌دار بین جنس، گروه و مداخله ($F_{2,72}=0/59$) می‌باشد. همچنین آنالیز بعدی نشان داد که زمان سپری شده در جعبه روشن در گروه‌های هایپوتیروئید غیر ورزشی به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ($P<0/05$) که نشان‌دهنده اثر اضطراب‌زایی هیپوتیروئیدی است.

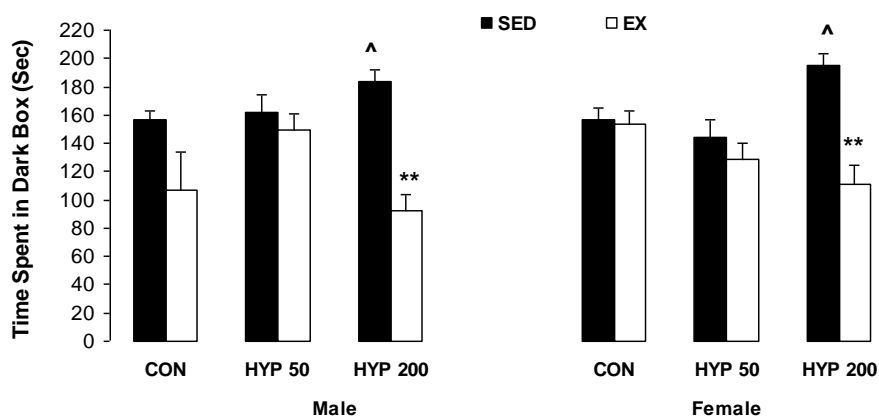
الف: زمان سپری شده در ناحیه تاریک. شکل ۶ زمان سپری شده در ناحیه تاریک را در هر دو جنس نشان می‌دهد.



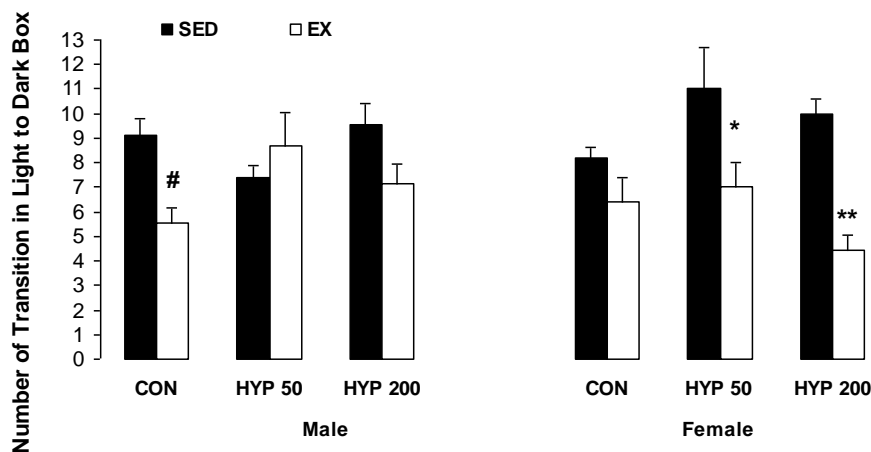
شکل ۴. تعداد ورود به بازوی باز را در گروه‌های سالم و هیپوتیروئید، ورزشی و غیرورزشی و در هر دو جنس نشان می‌دهد. $P<0/05$ # نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه سالم غیرورزشی در جنس مربوطه است.



شکل ۵. زمان سپری شده در جعبه روشن را در گروه های سالم و هیپوتیروئید، ورزشی و غیرورزشی و در هر دو جنس نشان می دهد. $P < 0.01$ ** نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه هیپوتیروئید غیرورزشی در جنس مربوطه است. $P < 0.05$ ^ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه سالم غیرورزشی در جنس مربوطه است.



شکل ۶. زمان سپری شده در جعبه تاریک را در گروه های سالم و هیپوتیروئید، ورزشی و غیرورزشی و در هر دو جنس نشان می دهد. $P < 0.05$ ** نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه هیپوتیروئید غیرورزشی در جنس مربوطه است. $P < 0.05$ ^ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه سالم غیرورزشی در جنس مربوطه است.

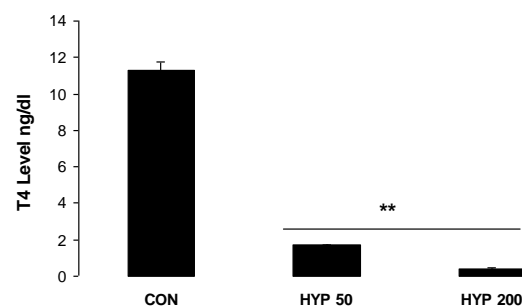


شکل ۷. تعداد عبور بین جعبه تاریک و روشن را گروه های سالم و هیپوتیروئید، ورزشی و غیرورزشی و در هر دو جنس نشان می دهد. $P < 0.05$ ** نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه هیپوتیروئید غیرورزشی در جنس مربوطه است. $P < 0.05$ ^ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه سالم غیرورزشی در جنس مربوطه است. $P < 0.05$ # نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه سالم غیرورزشی در جنس مربوطه است.

معنی داری واکنش‌های شبه اضطرابی را در زاده‌های بالغ نر و ماده افزایش می‌دهد. ۲- ورزش با شدت متوسط اثر معنی داری بر اضطراب‌زایی ناشی از هیپوتیروئیدیسم مادری در زاده‌های بالغ نر و ماده ندارد. ۳- ورزش اجباری با شدت متوسط می‌تواند موجب اضطراب‌زایی در موش‌های سالم گردد. یافته‌های این مطالعه نشان داد که هیپوتیروئیدی مادری موجب افزایش رفتارهای شبه اضطرابی در بچه‌ها می‌گردد. مطالعات قبلی زیادی نشان داده که مغز یک هدف اصلی برای اثرات هورمون‌های تیروئید است. دیده شده نقص این هورمون‌ها در طی دوره تکامل مغز منجر به تغییرات ساختمانی، الکتروفیزیولوژی و بیوشیمیایی در نواحی مغزی می‌شود که این مسئله می‌تواند منجر به اختلالات سایکولوژیکی و نورولوژیکی شود [۲۰]. یافته‌های ما در این قسمت با یافته‌های تحقیقات قبلی هم‌خوانی داشته و یافته‌های سایر پژوهشگرانی که در این زمینه کار کرده‌اند این موضوع را تایید می‌کنند. احمدیه و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش کردند که رت‌های هیپوتیروئید اختلالات رفتاری مثل افسردگی و اضطراب نشان می‌دهند [۲۱]. Constant و همکاران در سال ۲۰۰۶ گزارش کردند که بیماران هیپوتیروئیدیسم اغلب از علائم روانی مثل افسردگی، بی‌ثباتی خلق و اضطراب رنج می‌برند [۲۲]. یکی از مکانیسم‌های احتمالی که هیپوتیروئیدیسم باعث رفتارهای شبه اضطرابی می‌شود کاهش فعالیت سیستم سروتونرژیک است. زیرا سروتونین یک نوروترانسمیتر و تعدیل‌کننده عصبی مهم در سیستم عصبی مرکزی است که در پاتوفیزیولوژی بسیاری از اختلالات روان‌پزشکی مثل اسکیزوفرنی، افسردگی و اضطراب نقش دارد [۲۳، ۲۴]. تریپتوفان هیدروکسیلاز (TPH)، کاتالیزور مرحله محدودکننده سرعت بیوسنتز سروتونین در هسته رافه است. ژن TPH یک هدف محتمل در تعدیل مسیر اعمال سروتونرژیک است [۲۵]. بنابراین، کدینگ ژن PTH ممکن است در پاتونریزس وقایع دخیل در اختلال عمل‌کرد سیستم سروتونرژیک نقش داشته باشد و این ژن یکی از کاندیداهای اصلی اختلالات روانی و رفتاری [۲۶] و احتمالاً در

آنالیز واریانس سه طرفه (جنس × گروه × مداخله) در خصوص تعداد عبور بین ناحیه روشن و تاریک حاکی از اثر معنی داری جنس ($P=0/017$, $F_{1,72}=0/89$) اثر معنی داری گروه‌ها ($P<0/0001$, $F_{1,72}=24/15$) و عدم اثر معنی دار مداخله ($P=0/1$, $F_{2,72}=1/7$) و تعامل معنی دار بین جنس و گروه ($P=0/044$, $F_{1,72}=4/17$) و عدم تعامل معنی دار جنس و مداخله ($P=0/35$, $F_{2,72}=1/03$) عدم تعامل معنی دار بین گروه و مداخله ($P=0/18$, $F_{2,72}=1/7$) و تعامل معنی دار بین جنس، گروه و مداخله ($P=0/035$, $F_{2,72}=3/49$) می‌باشد.

شکل ۸ مقدار تیروکسین سرم (Total T4) را در موش‌های که پروپیل تیواوراسیل را دریافت نموده‌اند و آن‌هایی که این دارو را دریافت نموده‌اند (کنترل) را نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از اختلاف معنی دار بین گروه‌های دریافت‌کننده پروپیل تیواوراسیل و گروه کنترل می‌باشد ($P<0/0001$, $F_{2,12}=529/004$). هم‌چنین آنالیز بعدی نشان داد که سطح تیروکسین سرم در گروه‌های دریافت‌کننده پروپیل تیواوراسیل نسبت به گروه کنترل به شدت کاهش یافته ($P<0/001$) که نشانه هیپوتیروئیدی می‌باشد.



شکل ۸. تغییر سطح توتال تیروکسین را در موش‌های کنترل و دریافت‌کننده پروپیل تیواوراسیل نشان می‌دهد. $P<0/01$ ** نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه‌های هیپوتیروئید و گروه کنترل است.

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های اصلی عبارت است:

۱- هیپوتیروئیدی مادری به دنبال استفاده از پروپیل تیواوراسیل با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم و نه ۵۰ میلی‌گرم به‌طور

هایپوتیروئیدسم است. همچنین، این احتمال وجود دارد که هایپوتیروئیدسم در دوره‌های پری‌ناتال و نوزادی فعالیت سیستم سروتونرژیک را کاهش می‌دهد و برخی مطالعات نشان داده‌اند که هایپوتیروئیدسم سیستم سروتونرژیک را در هر سه دوره پره‌ناتال، نوزادی و بالغین تغییر می‌دهند [۲۷].

مکانیسم احتمالی دیگر تغییر در سیستم گاباژیک است که در هایپوتیروئیدسم فعالیت این سیستم کاهش می‌یابد. مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که هورمون‌های تیروئید فعالیت گیرنده گابا را تنظیم می‌کنند. هورمون‌های تیروئید می‌توانند به عنوان نوروترانسمیتر یا نورومدولاتور رسپتور گیرنده گابا عمل کنند [۲۸]. مسیر اصلی سنتز گابا تبدیل آنزیماتیک گلوتامات به گابا توسط گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز (GAD) در نرون‌های گاباژیک است [۲۹]. هایپوتیروئیدسم دوره نوزادی باعث کاهش فعالیت GAD در نواحی مختلف مغز می‌شود [۳۰]. که این موضوع می‌تواند در ایجاد اضطراب‌زایی نقش داشته باشد.

همچنین مطالعات قبلی در انسان نشان داده که یکی از مشکلاتی که افراد هایپوتیروئیدی با آن درگیر هستند اضطراب است [۳۱]. مطالعات نشان داده افراد هایپوتیروئیدی در طول زندگی خود با حالات مختلفی از هیجان از قبیل از دست دادن اعتماد به نفس، اضطراب و افسردگی مواجه می‌شوند و از جمله هورمون‌های که بر اضطراب موثر است هورمون کورتیزول مترشح از غده فوق کلیه است که تحت تاثیر هورمون محرکه آدرنوکورتیکوتروپین، ترشح می‌شود و این هورمون اثرات مهمی بر استرس، متابولیسم چربی‌ها، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها دارد و نیز اثرات تحریکی بر سیستم عصبی مرکزی دارد [۳۲].

در این مطالعه این‌که هایپوتیروئیدی فقط در دوز بالا اثر معنی‌داری بر واکنش‌های شبه اضطرابی داشته، شاید مرتبط به این نکته باشد که از زمان دریافت داروی پروبیل تیواوراسیل در موش‌ها حدود ۳ ماه گذشته و موش‌ها در این مدت ریکاوری شده‌اند.

از طرفی یکی از راه‌های پیشنهادی برای کنترل اضطراب ورزش می‌باشد که در طی مطالعات قبلی در آزمایشگاه ما اثرات مثبت ورزش ملایم بر اضطراب دیده شد. اگر چه در مورد تاثیرات مثبت ورزش بر اضطراب و حتی مکانیسم‌های آن تحقیقات زیادی انجام شده است اما هنوز در مورد نوع و شدت و مدت ورزش و تفاوت‌های نژادی و فرهنگی سوالات بی‌جواب است.

در مطالعه حاضر خود ورزش موجب افزایش واکنش‌های شبه اضطرابی شد. این‌که خود ورزش چگونه موجب افزایش واکنش‌های شبه اضطرابی شده به زمینه پاسخ حیوان به شدت ورزش بر می‌گردد و مطالعات قبلی نشان داده‌اند یکی از موثرترین عوامل در زمینه پاسخ به اضطراب تغییر سطوح هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی (کورتیزول در انسان و کورتیکوسترون در موش آزمایشگاهی) است [۳۳]. البته در زمینه پاسخ اضطراب و هورمون کورتیزول یا کورتیکوسترون به فعالیت‌های مختلف ورزشی، تحقیقات بسیاری صورت گرفته است که نتایج متناقضی را گزارش کرده‌اند. برخی از بررسی‌ها بیان کرده‌اند که ترشح هورمون کورتیزول با افزایش شدت تمرین افزایش می‌یابد و دریافتند که غلظت هورمون کورتیزول در جریان ورزش با شدت متوسط و کوتاه‌مدت، کاهش می‌یابد [۳۴]. پاسخ کورتیزول به فعالیت ورزشی به نوع فعالیت ورزشی، شدت و مدت آن بستگی دارد به طور کلی به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی هوازی با شدت مدت متوسط تغییری در سطوح کورتیزول موجود در گردش خون به وجود نمی‌آورد اگرچه که بعضی از تحقیقات کاهش کورتیزول را گزارش کردند در مقابل فعالیت ورزشی طولانی‌تر و با شدت بیش‌تر موجب افزایش سطح کورتیزول خون می‌شود [۳۵، ۳۶]. بر این اساس مدت زمان تمرین به عنوان یک عامل اثرگذار بر واکنش هورمون کورتیزول شناخته شده است. از طرفی برخی تحقیقات کاهش اضطراب را بعد از ده هفته تمرین گزارش نمودند [۳۷] و برخی نیز با بررسی اثر ورزش‌های هوازی بر اضطراب، افسردگی و اعتماد به نفس دریافتند که ورزش هوازی بر بهبود اضطراب و افزایش اعتماد

- [1] Yen PM. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiol Rev* 2001; 81: 1097-1142.
- [2] De Vijlder J, Ris-Stalpers C, Vulsma T. Inborn errors of thyroid hormone biosynthesis. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes: official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 1996; 105: 32-37.
- [3] Bianco AC, Salvatore D, Gereben Bz, Berry MJ, Larsen PR. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocr Rev* 2002; 23: 38-89.
- [4] Porterfield SP. Thyroidal dysfunction and environmental chemicals--potential impact on brain development. *Environ Health Perspect* 2000; 108: 433-438.
- [5] Bernal J, Nunez J. Thyroid hormones and brain development. *Eur J Endocrinol* 1995; 133: 390-398.
- [6] Morreale de Escobar G, Pastor R, Obregon MJ, Escobar del Rey F. Effects of maternal hypothyroidism on the weight and thyroid hormone content of rat embryonic tissues, before and after onset of fetal thyroid function. *Endocrinology* 1985; 117: 1890-1900.
- [7] Glinoe D. Pregnancy and iodine. *Thyroid* 2001; 11: 471-481.
- [8] Obregon MJ, Calvo RM, Del Rey FE, de Escobar GM. Ontogenesis of thyroid function and interactions with maternal function. *Endocr Dev* 2007; 10: 86-98.
- [9] de Escobar GM, Obregon MJ, del Rey FE. Iodine deficiency and brain development in the first half of pregnancy. *Public Health Nutr* 2007; 10: 1554-1570.
- [10] Sala-Roca J, Estebanez-Perpina E, Balada F, Garau A, Martí-Carbonell MA. Effects of adult dysthyroidism on the morphology of hippocampal neurons. *Behav Brain Res* 2008; 188: 348-354.
- [11] Hall RC. Psychiatric effects of thyroid hormone disturbance. *Psychosomatics* 1983; 24: 7-11,5-8.
- [12] Hill K, Geist R, Goldstein R, Lacasse Y. Anxiety and depression in end-stage COPD. *Eur Respir J* 2008; 31: 667-677.
- [13] Fox JH, Hammack SE, Falls WA. Exercise is associated with reduction in the anxiogenic effect of mCPP on acoustic startle. *Behav Neurosci* 2008; 122: 943-948.
- [14] Duman CH, Schlesinger L, Russell DS, Duman RS. Voluntary exercise produces antidepressant and anxiolytic behavioral effects in mice. *Brain Res* 2008; 1199: 148-158.
- [15] Van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, Gage FH. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 13427-13431.
- [16] van Praag H. Neurogenesis and exercise: past and future directions. *Neuromolecular Med* 2008; 10: 128-140.
- [17] Zahedi Asl S, Farahani H, Ghasemi A, Faraji Shahrivar F. The effect of maternal hypothyroidism during pregnancy on carbohydrate metabolism in adulthood in rats. *Physiol Pharmacol* 2009; 12: 261-267. (Persian).
- [18] Lister RG. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berl)* 1987; 92: 180-185.
- [19] Mineur YS, Belzung C, Crusio WE. Effects of unpredictable chronic mild stress on anxiety and depression-like behavior in mice. *Behav Brain Res* 2006; 175: 43-50.
- [20] Bernal J. Thyroid hormones and brain development. *Vitam Horm* 2005; 71: 95-122.
- [21] Ahmadiyeh N, Slone-Wilcoxon JL, Takahashi JS, Redei EE. Maternal behavior modulates X-linked inheritance of behavioral coping in the defensive burying test. *Biol Psychiatry* 2004; 55: 1069-1074.
- [22] Constant EL, Adam S, Seron X, Bruyer R, Seghers A, Daumerie C. Hypothyroidism and major depression: a

به نفس موثر بوده است ولی در بهبود افسردگی تاثیری نداشته است [۳۸].

در تحقیق دیگری با بررسی میزان ترشح هورمون کورتیزول و غلظت پلاسمایی آن در ورزشکاران در حال دویدن، دریافتن که انجام این تمرینات باعث افزایش هورمون کورتیزول و اضطراب گردیده است [۳۹]. ولی در برخی تحقیقات به این نتایج دست یافتند که ورزش هوازی در کاهش اضطراب نقش دارد. تحقیقات Jin و همکارانش نشان داد که میانگین غلظت هورمون کورتیزول بعد از تمرین پس از ورزش های هوازی، در زمان استراحت کاهش می یابد [۴۰]. نهایتاً اثر ضد اضطرابی ورزش هنگامی بیش تر است که: (۱) ورزش هوازی باشد. (۲) طول برنامه ورزشی زیاد باشد (بین ده تا پانزده هفته). (۳) در شروع برنامه ورزشی، ورزش گیرندگان آمادگی جسمانی کم تر و اضطراب بیش تری داشته باشند [۳۵،۳۴]. محدودیت این مطالعه در خصوص بررسی موش های ماده بود که امکان بررسی سیکل استروس در آنها مقدور نشد.

یافته های این مطالعه نشان داد که هایپوتیروئیدی مادری به طور معنی داری موجب افزایش واکنش های شبه اضطرابی می گردد و ورزش با شدت متوسط تاثیر معنی داری بر اختلال اضطرابی ناشی از هایپوتیروئیدی ندارد. از طرفی ورزش با شدت متوسط به طور معنی داری موجب افزایش واکنش های شبه اضطرابی می شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان نامه خانم زهرا غفاری که در جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد فیزیولوژی طراحی شده بود استخراج شده است و بدین وسیله از معاونت و شورای محترم پژوهشی دانشگاه در جهت تصویب طرح آن و از همه افرادی که در تمامی مراحل اجرای آزمایشات همیار ما بودند صمیمانه تقدیر و تشکر به عمل می آید.

منابع

- [31] Petruzzello SJ, Landers DM, Hatfield BD, Kubitz KA, Salazar W. A meta-analysis on the anxiety-reducing effects of acute and chronic exercise. *Sports Med* 1991; 11: 143-182.
- [32] Calfas KJ, Taylor WC. Effects of physical activity on psychological variables in adolescents. *Pediatr Exerc Sci* 1994; 6: 406.
- [33] Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Taherian AA. Peripheral injection of dexamethasone modulates anxiety related behaviors in mice: an interaction with opioidergic neurons. *Pak J Pharm Sci* 2008; 21: 285-289.
- [34] BIÇER SY. The effect of aerobic exercise on anxiety and secretion of cortisol in young male volleyball players. *Anxiety* 15(52.81):4.33.
- [35] Gould E, Tanapat P, Rydel T, Hastings, NGould E, Tanapat P, et al. Molecular and cellular hypothesis of antidepressant action. *Biol Psychiatry* 2000; p: 715-720.
- [36] Tipton C, Sawka M, Tate CH, Terjung R. ACSM's Advanced exercise physiology. Am College of sports medicine publication, USA; 2006.
- [37] Deslandes A, Moraes H, Ferreira C, Veiga H, Silveira H, Mouta R, et al. Exercise and mental health: many reasons to move. *Neuropsychobiology* 2009; 59: 191-198.
- [38] Hackney AC, Gullledge T. Thyroid hormone responses during an 8-hour period following aerobic and anaerobic exercise. *Physiol Res* 1994; 43: 1-5.
- [39] Mena P, Maynar M, Campillo JE. Changes in plasma enzyme activities in professional racing cyclists. *Br J Sports Med* 1996; 30: 122-124.
- [40] Jin P. Changes in heart rate, noradrenaline, cortisol and mood during Tai Chi. *J Psychosomat Res* 1989; 33: 197-206.
- common executive dysfunction? *J Clin Exp Neuropsychol* 2006; 28: 790-807.
- [23] Graeff FG. Serotonergic systems. *Psychiatr Clin North Am* 1997; 20: 723-739.
- [24] Lucki I. The spectrum of behaviors influenced by serotonin. *Biol Psychiatry* 1998; 44: 151-162.
- [25] Gartside SE, Cowen PJ, Sharp T. Effect of 5-hydroxy-L-tryptophan on the release of 5-HT in rat hypothalamus in vivo as measured by microdialysis. *Neuropharmacology* 1992; 31: 9-14.
- [26] Roy A, Nielsen D, Rylander G, Sarchiapone M, Segal N. Genetics of suicide in depression. *J Clin Psychiatry* 1999; 60: 12-17.
- [27] Pineda-Reynoso M, Cano-Europa E, Blas-Valdivia V, Hernandez-Garcia A, Franco-Colin M, Ortiz-Butron R. Hypothyroidism during neonatal and perinatal period induced by thyroidectomy of the mother causes depressive-like behavior in prepubertal rats. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2010; 6: 137-143.
- [28] Martin JV, Williams DB, Fitzgerald RM, Im HK, Vonvoigtlander PF. Thyroid hormonal modulation of the binding and activity of the GABAA receptor complex of brain. *Neuroscience* 1996; 73: 705-713.
- [29] Lariviere K, MacEachern L, Greco V, Majchrzak G, Chiu S, Drouin G, et al. GAD(65) and GAD(67) isoforms of the glutamic acid decarboxylase gene originated before the divergence of cartilaginous fishes. *Mol Biol Evol* 2002; 19: 2325-2329.
- [30] Patel AJ, Hayashi M, Hunt A. Role of thyroid hormone and nerve growth factor in the development of choline acetyltransferase and other cell-specific marker enzymes in the basal forebrain of the rat. *J Neurochem* 1988; 50: 803-811.

Effects of maternal hypothyroidism during pregnancy on anxiety-like behaviors in adulthood rats: Impact of moderate treadmill exercise

Zahra Ghaffari (M.Sc)¹, Abbas Ali Vafaei (Ph.D)^{*1}, Ali Rashidy-Pour (Ph.D)¹, Mosa Al Reza Hadjzadeh (Ph.D)², Seyed Mahmoud Hosseini (Ph.D)²

1 - Research Center and Dept. of Physiology, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

2- Dept. of Physiology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

(Received: 2 Feb 2016; Accepted: 8 Mar 2016)

Introduction: Previous study indicated that the lack of thyroid hormones during brain development can be associated with structural and biochemical changes in the brain that can cause psychological disorders. Physical exercise affects brain neurochemistry and may be ameliorate behavioral deficit in hypothyroidism. The aim of this study was to determine the impact of moderate forced exercise on the effects of maternal hypothyroidism on anxiety-like behaviors in adulthood rats.

Materials and Methods: For the induction of hypothyroidism, 6-propyl-2-thiouracil (PTU) was added to the drinking water (50 and 200 mg/L) of mothers, from the 6th prenatal day to the 21th postnatal day. Maternal hypothyroid adult offspring were exercised on treadmill with moderate intensity for 2 weeks. For measuring the anxiety, animals were tested in an elevated plus maze (EPM) and light and dark box (L/D).

Results: Induction of hypothyroidism during the rat fetal and early postnatal period increased anxiety-like behavior in both EPM and L/D box tasks. Treadmill exercise with moderate intensity, during the postnatal period did not affect the levels of anxiety significantly. Also forced exercise alone increased anxiety behavior significantly.

Conclusion: These findings indicated that maternal hypothyroidism increase anxiety-like behaviors and treadmill exercise with moderate intensity did not ameliorate this behavior. Moreover, physical activity in moderate intensity had anxiogenic effects.

Keywords: Maternal hypothyroidism, Forced exercise, Anxiety, Propylthiouracil, Rat

* Corresponding author. Tel: +98 23 33654170

aavaf43@semums.ac.ir