فیزیولوژی ورزشی شماره ۳۴، تابستان ۱۳۹۶. صص ۷۸-۶۳

پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی از طریق افزایش بیان نوروتروفین‌های هیپوکامپ، اختلال حافظهٔ فضایی ناشی از ایسکمی مغزی در موش‌های صحرایی را کاهش می‌دهد

نبی شمسایی[1]، حمید رجبی[2]، ناهید ابوطالب[3]

۱. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه ایلام*
۲. استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه خوارزمی
۳. دانشیار فیزیولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی و گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم‌پزشکی ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۲۳

چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی اثر پیش‌آماده‌سازی یک دوره فعالیت ورزشی بر اختلال حافظهٔ فضایی و بیان «عامل رشد عصبی مشتق از مغز» و «عامل رشد عصبی» در ناحیهٔ هیپوکامپ پشتی، در پی ایسکمی ـ ریپرفیوژن مغزی در موش‌های صحرایی نر می‌باشد. بدین‌منظور، تعداد ۲۱ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌صورت تصادفی انتخاب شدند و به سه گروه (شم، ایسکمی و ورزش + ایسکمی) تقسیم گردیدند. رت‌های گروه ورزش به‌مدت چهار هفته و به‌شکل پنج روز در هفته بر روی تردمیل دویدند. ایسکمی با انسداد هر دو شریان کاروتید مشترک نیز به‌مدت ۲۰ دقیقه ایجاد شد. همچنین، عملکرد حافظهٔ فضایی رت‌ها با استفاده از از ماز آبی موریس ارزیابی گشت و سطح بیان پروتئین‌ها با استفاده از رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی تعیین گردید. یافته‌ها نشان می‌دهند که پیش‌آماده‌سازی فعالیت ورزشی منجر به کاهش معنادار مسافت طی‌شده و مدت‌زمان سپری‌شده برای رسیدن به سکوی هدف در آزمون ماز آبی موریس شده است. همچنین، فعالیت ورزشی پیش از ایسکمی، به‌صورت قابل‌توجهی میزان بیان پروتئین‌های «عامل رشد عصبی مشتق از مغز» و «عامل رشد عصبی» در ناحیهٔ هیپوکامپ پشتی را در مقایسه با گروه ایسکمی افزایش داده است. براساس نتایج می‌توان گفت که پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی، احتمالاً از طریق تنظیم افزایشی عوامل نوروتروفیک می‌تواند دربرابر آسیب‌های ناشی از ایسکمی ـ ریپرفیوژن، اثرات محافظتی داشته باشد و اختلال ناشی از ایسکمی مغزی در حافظهٔ کوتاه‌مدت را بهبود بخشد.

واژگان کلیدی: ایسکمی، فعالیت ورزشی، هیپوکامپ، حافظهٔ فضایی، نوروتروفین

*نویسندهٔ مسئول Email: n.shamsaei@ilam.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

ایسکمی مغزی با کاهش جریان خون به مغز به‌علت انسداد شریان مغزی ایجاد می‌شود (۱). در طول ایسکمی مغزی، جریان خون مغزی و میزان اکسیژن و متابولیت‌ها کاهش می‌یابد و پس از برقراری جریان خون، جریان بازگشتی به‌دنبال انسداد موجب بازگشت اکسیژن در سلول‌ها و آسیب‌های ناشی از تولید و تهاجم رادیکال‌های آزاد می‌گردد. این مسأله روی سیگنالینگ سلول‌ها تأثیر گذاشته و موجب آسیب‌های بافتی خواهد شد (۲،۳). یکی از بافت‌هایی که در پی ایسکمی بسیار آسیب‌پذیر می‌باشد، هیپوکمپ است (۴).

مطالعات نشان داده‌اند که هیپوکامپ و به‌ویژه نورون‌های هرمی ناحیهٔ هیپوکامپ پشتی (CA1)[1] آن، حساسیت بسیار بالایی نسبت به ایسکمی دارد و به‌دنبال ایسکمی مغزی بسیار آسیب‌پذیر خواهد بود (۴،۵). تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ناشی از ایسکمی مغزی در سلول‌های عصبی موجب آسیب‌های ساختاری و عملکردی برگشت‌ناپذیری در هیپوکامپ خواهد شد (۶). این تغییرات باعث آسیب گستردهٔ نورونی در هیپوکامپ می‌شود که اختلالات رفتاری از جمله نقص در یادگیری و حافظهٔ فضایی را در پی دارد (۷). علاوه‌براین، پروتئین‌هایی در مغز وجود دارد که مانع از تحلیل سلول‌های عصبی درمقابل بیماری می‌شود و می‌تواند سلول‌های آسیب‌دیده را ترمیم نماید. نوروتروفین‌ها[2]، مولکول‌هایی هستند که نقش مهمی در حفظ حیات، رشد، تمایز و شکل‌پذیری نورون‌ها دارند (۸). این عوامل تروفیک از جمله عامل رشد عصبی مشتق از مغز (BDNF)[3] و عامل رشد عصبی (NGF)[4] به‌میزان زیادی در هیپوکامپ و مغز یافت می‌شوند (۹،۱۰). BDNF و NGF در حفظ بقا، تکامل و عملکرد نورون‌ها دخالت دارند و قادر به پیام‌دهی سلول‌های خاص برای تمایز، بقا و رشد آن‌ها می‌باشند (۱۱). همچنین، نقش تنظیمی مهمی را در نورون‌زایی، سیناپس‌زایی و افزایش یکپارچگی مغزی ایفا می‌کنند (۹). علاوه‌براین، شواهد زیادی نشان می‌دهند که BDNF و NGF، نقش مهمی را در حافظه، یادگیری و اختلالات رفتاری بر عهده دارند (۱۲،۱۳). این پروتئین‌ها، میانجی‌های کلیدی برای بقای سلول و ترمیم مغز پس از ایسکمی می‌باشند (۱۴). مطالعات نشان داده‌اند که تزریق BDNF پس از حملات ایسکمیک موجب کاهش قابل‌توجهی در حجم انفارکتوس و بازیابی عملکرد رفتاری خواهد شد (۱۵). علاوه‌براین، با توجه به یافته‌های پژوهش‌هایی که بیانگر این هستند که BDNF و NGF

1. Cornus Ammonis-1
2. Neurotrophins
3. Brain-Derived Neurotrophic Factor
4. Nerve Growth Factor

Archive of SID

www.SID.ir

موجب گسترش شبکهٔ نورونی، شکل‌پذیری نورونی و محافظت از شبکهٔ عروقی دستگاه عصبی مرکزی می‌شوند، BDNF و NGF به‌عنوان عوامل مرتبط با حفاظت عصبی معرفی می‌شوند (۹،۱۶).

با توجه به آسیب‌های بافتی و اختلالات نورولوژیکی شدیدی که به‌دنبال ایسکمی مغزی رخ می‌دهد، یافتن راه‌هایی که ضمن قابل‌استفاده‌بودن در انسان بتواند از طریق افزایش فاکتورهای محافظتی، از گسترش آسیب‌های مغزی و ایجاد اختلالات نورولوژیکی در پی ایسکمی ـ ریپرفیوژن مغزی جلوگیری نماید، بسیار حائزاهمیت می‌باشد. در کنار روش‌های درمانی معمول، اخیراً از فعالیت ورزشی نیز به‌عنوان یک محرک پیش‌آماده‌ساز برای درمان بیماری‌ها استفاده می‌شود. شواهد نشان می‌دهند که فعالیت ورزشی، اثرات محافظتی دارد و می‌تواند آسیب‌های ناشی از ایسکمی ـ ریپرفیوژن مغزی را کاهش دهد (۱۹ـ۱۷). فعالیت ورزشی عملکردهای شناختی را از طریق سازوکارهای پیام‌رسان متعددی که منجر به تنظیم مثبت BDNF به‌ویژه در ناحیهٔ هیپوکامپ می‌شود، افزایش می‌دهد (۲۰،۲۱). مطالعات نشان داده‌اند که سطح بیان ژن BDNF وNGF به‌ویژه در سلول‌های عصبی و آستروسیت‌ها، پس از چند هفته ورزش مداوم تنظیم افزایشی می‌شود (۲۲). در پژوهشی نشان داده شده است که فعالیت ورزشی پیش ایسکمی موجب بهبود اختلالات حرکتی و کاهش حجم ضایعه در ناحیهٔ قشر مغز خواهد شد. همچنین، بیان سلولی NGF و BDNF در قشر حرکتی و جسم مخطط در رت‌های تمرین‌کرده افزایش خواهد یافت (۲۳). با این‌حال، مکانیسم‌های حفاظتی ناشی از پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی دربرابر ایسکمی مغزی به‌ویژه در ارتباط با اختلالات شناختی، هنوز به‌صورت کامل مشخص نشده است؛ بنابراین پژوهش‌های بیشتری جهت مشخص‌شدن اثرات محافظتی پیش‌آماده‌سازی فعالیت ورزشی بر آسیب مغزی ناشی از ایسکمی موردنیاز می‌باشد. در پژوهش حاضر، اثر پیش‌آماده‌سازی یک دوره فعالیت ورزشی بر اختلال حافظهٔ فضایی و بیان BDNF و NGF در ناحیهٔ CA1 هیپوکامپ به‌دنبال ایسکمی مغزی در موش‌های صحرایی نر موردبررسی قرار گرفته است.

روش پژوهش

جهت انجام پژوهش، تعداد ۲۱ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (با وزن ۳۰۰ـ۲۶۰ گرم) در قفس‌های استاندارد و محیط کنترل‌شده (دمای $^{\circ}C$ ۲۴ـ۲۲، رطوبت ۵۰ـ۴۵ درصد و چرخهٔ ۱۲ ساعت روشنایی ـ تاریکی) با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. رت‌ها به‌صورت تصادفی به سه گروه تقسیم شدند: گروه شم، گروه ورزش + ایسکمی و گروه ایسکمی (هفت سر موش در هر گروه). در

Archive of SID

www.SID.ir

گروه ایسکمی، حیوانات با انسداد شریان‌های کاروتید مشترک[1]، تحت ایسکمی مغزی قرار گرفتند؛ در گروه ورزش + ایسکمی، حیوانات قبل از القای ایسکمی به‌مدت چهار هفته روی تردمیل دویدند و در گروه شم، حیوانات (که به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شده بودند) تحت عمل جراحی مشابهی قرار گرفتند (با این تفاوت که در آن‌ها شریان کاروتیدها مشترک مسدود نمی‌شد).

رت‌های گروه مداخلهٔ ورزشی به‌مدت چهار هفته و پنج روز در هفته بر روی تردمیل (تردمیل چهار کاناله، ساخت شرکت آی‌آی‌تی‌سی[2] آمریکا) دویدند. تمرین ورزشی موردنظر دربرگیرندهٔ تمرین استقامتی بود که با شدت و مدت مشخص اجرا شد. ابتدا، پیش از تمرینات اصلی و برای عادت‌کردن، رت‌ها به‌مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت پنج تا هفت متر در دقیقه با شیب صفر درجه برای دو روز متوالی روی تردمیل دویدند. سپس، دو روز پس از تمرینات سازشی، تمرینات اصلی آغاز شد و رت‌ها به‌مدت چهار هفته به اجرای فعالیت روی تردمیل پرداختند. تمرین در هفتهٔ اول با سرعت ۱۸ متر در دقیقه و به‌مدت ۳۵ دقیقه با شیب صفر درجه اجرا شد. پس از آن، مدت‌زمان و شیب تردمیل به‌تدریج افزایش یافت؛ به‌طوری‌که حیوانات در هفتهٔ دوم با سرعت ۱۸متر در دقیقه و با شیب پنج درجه به‌مدت ۴۰ دقیقه، در هفتهٔ سوم با سرعت ۱۸متر در دقیقه و با شیب ۱۰ درجه به‌مدت ۴۵ دقیقه و در هفتهٔ آخر با سرعت ۱۸ متر در دقیقه و با شیب ۱۵ درجه به‌مدت ۵۰ دقیقه روی تردمیل دویدند (۲۴،۲۵). در مطالعات قبلی، مشخص شده است که این نوع تمرینات ورزشی استقامتی موجب اثرات نوروپروتکتیو خواهد شد (۲۶،۲۷).

علاوه‌براین، برای القای ایسکمی گذرای مغزی (۲۸)، ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی، رت‌ها با کتامین/ زایلازین (۴۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم و به صورت درون صفاقی) بی‌هوش شدند. سپس، هر دو شریان کاروتید مشترک از صفحهٔ کاروتید خود آزاد گشتند و پس از آن، عصب واگ به‌دقت از شریان کاروتید جدا گردید. در ادامه، هر دو شریان کاروتید مشترک به‌مدت ۲۰ دقیقه با استفاده از گیره‌های جراحی مسدود شدند و در پی آن، با برداشتن گیره‌ها، شریان‌های کاروتید آزاد شدند و بلافاصله جریان خون برقرار گردید. شایان‌ذکر است که برقراری مجدد جریان خون در شریان‌های کاروتید با مشاهده تأیید شد. در طول عمل جراحی، درجهٔ حرارت مقعدی رت‌ها با استفاده از یک

1. Common Carotid Arteries Occlusion (CCAO)
2. IITC Life Science

Archive of SID

www.SID.ir

سیستم گرمایش تنظیم بازخوردی در ۰/۵± ۳۶/۵ درجهٔ سانتی‌گراد حفظ شد و حیوانات پس از عمل جراحی با دسترسی آزاد به آب و غذا به قفس خود بازگردانده شدند.

علاوه‌براین، برای سنجش حافظهٔ فضایی از ماز آبی موریس[1] استفاده شد. در این تست، میزان یادگیری حیوانات به‌مدت پنج روز متوالی (چهار روز آموزش و یک روز آزمون) ارزیابی گردید. ماز آبی موریس از یک حوضچهٔ استوانه‌ای شکل سیاه‌رنگ تشکیل شده است که تا ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر با آب (۲۲±۱°C) پر می‌شود. این حوضچه به چهار ربع دایره (شمال، جنوب، شرق و غرب) تقسیم شده است و یک سکوی مخفی کوچک از جنس فلز تیره‌رنگ، یک سانتی‌متر زیر سطح آب در مرکز ربع دایرهٔ جنوب غربی قرار می‌گیرد. جهت انجام پژوهش، هر موش به‌صورت تصادفی از یکی از ربع‌های حوضچه آزاد شده و مدت‌زمان پیداکردن سکو ثبت می‌گشت. همچنین، هر موش به‌مدت پنج روز و هر روز یک نوبت (هر نوبت شامل چهار تجربه) از چهار ربع حوضچه به‌شکل تصادفی تحت‌آزمایش قرار می‌گرفت. ذکر این نکته ضرورت دارد که یک تجربه زمانی به اتمام می‌رسید که موش بر روی سکو رفته و یا ۹۰ ثانیه می‌گذشت. سپس، ۳۰ ثانیه به حیوان فرصت داده می‌شد و پس از آن تجربهٔ بعدی آغاز می‌گردید. موش‌هایی که محل سکو را پیدا نمی‌کردند توسط آزمونگر به روی سکو منتقل شده و اجازه می‌یافتند که ۳۰ ثانیه در آنجا بمانند. پس از اتمام تجربهٔ چهارم، موش‌ها از حوضچه خارج می‌شدند. شایان‌ذکر است که حرکات حیوان درون ماز آبی به‌وسیلهٔ یک نرم‌افزار کامپیوتری ردیابی و بررسی گردید. در این تست، زمان رسیدن به سکوی هدف و مسافت طی‌شده برای رسیدن به سکو ثبت شد.

پس از تست حافظهٔ فضایی، موش‌ها بی‌هوش شدند و پرفیوژن قلبی با ۰/۹ درصد سالین و در پی آن، چهار درصد پارافرمالدهید در M ۰/۱ بافر فسفات (pH ۷/۴) به‌عنوان ثابت‌کننده انجام شد (۲۹). سپس، مغز رت‌ها برداشته شد و به‌مدت یک شبانه‌روز در ثابت‌کنندهٔ مشابه قرار گرفت. در ادامه، از مغزها، بلوک‌های پارافینه تهیه شد و با استفاده از دستگاه میکروتوم، مقاطع کرونال با ضخامت هفت میکرومتر برای رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی تهیه گردید. شایان‌ذکر است که مقاطع براساس اطلس پاکسینوس[2] بین ۳/۳ و ۴/۲ میلی‌متر پشت برگما[3] تهیه شدند (۳۰) و بر روی برش‌های بافتی، رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی انجام گرفت (۳۱). به‌طورکلی، برش‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در ۶۰ درجه

1. Morris Water Maze
2. Paxinos
3. Bregma

Archive of SID

www.SID.ir

انکوبه شدند. سپس، از طریق سری‌های الکل نزولی، دهیدراته گردیدند و پس از آن به‌منظور کاهش فعالیت آنزیم درون‌زا، در پراکسید هیدروژن ۱۰ درصد در متانول به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. در ادامه، در بافر تریس ($H_2NC(CH_2OH)_3$، pH 7.4) شسته شدند و آنتی‌ژن‌ها با اتوکلاوینگ در بافر سیترات ($C_6H_5Na_3O_7{\cdot}2H_2O$، pH6) به‌مدت ۱۱ دقیقه بازیابی گشتند. سپس، برش‌ها با استفاده از آنتی‌بادی اولیه (شرکت بی‌اوربیت[1]، انگلستان) به‌مدت یک شب در دمای چهار درجه انکوبه شدند. قابل‌ذکر است که رقت مطلوب برای آنتی‌بادی اولیه، یک به ۱۰۰ بود. پس از آن، برش‌های بافتی در آنتی‌بادی ثانویه (پراکسیداز ترب کوهی، HRP)[2] (شرکت بی‌اوربیت، انگلستان) به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید. در ادامه، محلول دی‌آمینوبنزیدین (DAB)[3] (شرکت سیگما[4]، آمریکا) به برش‌ها اضافه شد. در پایان، برش‌ها با استفاده از هماتوکسیلین رنگ شدند، در سری‌های الکل صعودی دهیدراته گشتند، توسط زایلن شفاف گردیدند و برای مشاهده از طریق انتالن، مونته شدند. قابل‌ذکر است که برای کنترل منفی از آنتی‌بادی اولیه استفاده نشد. علاوه‌براین، برای کنترل مثبت، بافت سرطان دهانهٔ رحم انسانی مورداستفاده قرار گرفت. سپس، از طریق میکروسکوپ نوری (اولیمپوس AX-70)[5] و با بزرگ‌نمایی 400x، از برش‌ها عکس گرفته شد و درنهایت، تعداد سلول‌های مثبت در امتداد خطی با طول ۴۰۰ میکرومتر (مساحتی حدود mm^2 ۰/۱۶۰) از ناحیهٔ CA1 هیپوکامپ راست رت‌ها با استفاده از نرم‌افزار ایمیج تول-۲[6] شمارش گردید.

قابل‌ذکر است که نتایج به‌دست‌آمده براساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شدند. جهت بررسی نرمال‌بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف ـ اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسهٔ تفاوت بین گروه‌ها نیز آزمون واریانس یک‌طرفهٔ (آنوا)[7] و آزمون تعقیبی شفه مورداستفاده قرار گرفت.همچنین، سطح معناداری معادل ($P\leq0.05$) تعیین شد و تمام داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار اس‌پی‌اس‌اس[8] (نسخهٔ ۱۶) تجزیه‌وتحلیل گردید.

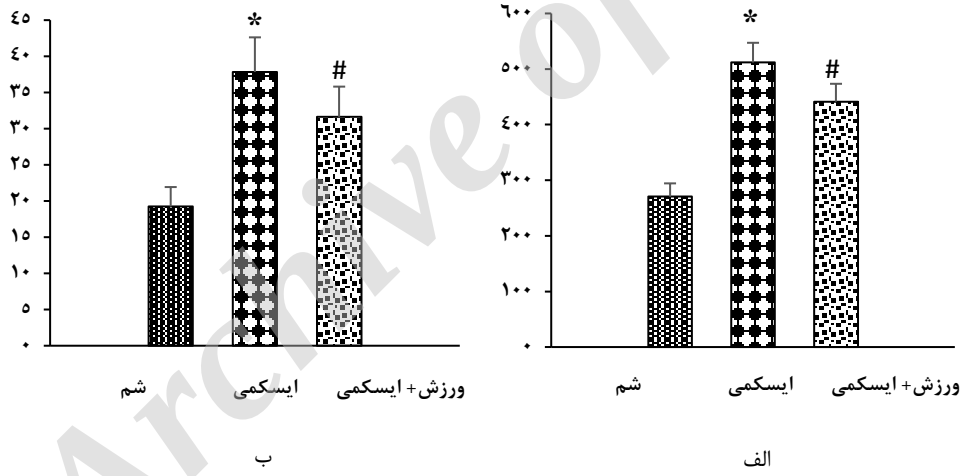
1. Biorbyt
2. Horseradish Peroxidase
3. 3,3'diaminobenzidine
4. Sigma
5. Olympus AX-70
6. Image Tool-2
7. ANOVA
8. SPSS

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج

نتایج آزمون حافظهٔ فضایی نشان می‌دهد که گروه ایسکمی، مسافت زیادی را برای رسیدن به سکوی مخفی (۹۳/۶۴±۵۱۱/۷۱ سانتی‌متر) در مقایسه با گروه شم (۶۳/۱۷±۲۷۰/۴۲ سانتی‌متر) طی نموده است (P=0.003). همچنین، پیش‌آماده‌سازی با ورزش منجر به کاهش معنادار مسافت طی‌شده (۸۴/۷۳±۴۴۱/۴۲ سانتی‌متر) در مقایسه با گروه ایسکمی گردیده است (P=0.021). در رابطه با زمان سپری‌شده برای رسیدن به سکوی هدف نیز تفاوت آماری معناداری بین گروه شم (۷/۱۱±۱۹/۲۸ ثانیه) و گروه ایسکمی (۱۲/۶۷±۳۷/۸۵ ثانیه) مشاهده می‌شود (P=0.005) و گروه ایسکمی زمان بیشتری را برای رسیدن به سکو سپری نموده است. علاوه‌براین، پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی منجر به کاهش معنادار این زمان در مقایسه با گروه ایسکمی شده است (۱۱/۰۶±۳۱/۵۷ ثانیه، P=0.029) (شکل شمارهٔ یک).



شکل ۱ـ الف) میانگین طول مسافت طی‌شده (سانتی‌متر) و ب) مدت‌زمان سپری‌شده (ثانیه) برای یافتن سکوی هدف در گروه‌های مختلف

* تفاوت معنادار در مقایسه با گروه شم

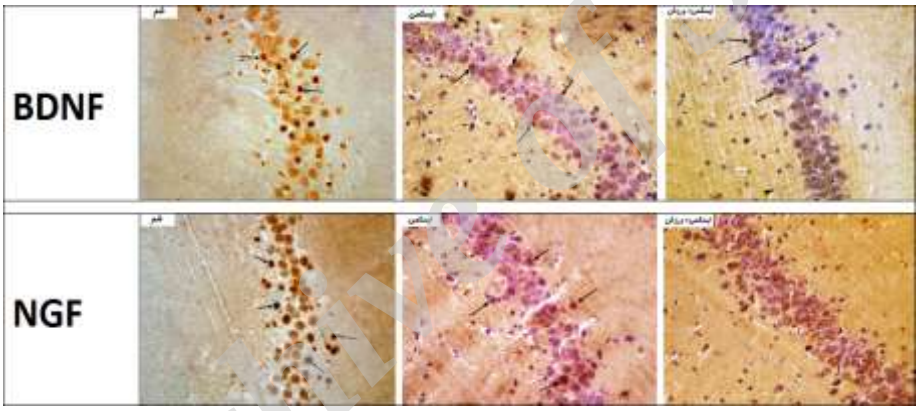
تفاوت معنادار در مقایسه با گروه ایسکمی و گروه شم

علاوه‌براین، نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی نشان می‌دهد که در ناحیهٔ CA1 هیپوکامپ، تعداد سلول‌های BDNF مثبت در گروه ایسکمی (۸/۳۷±۲۹/۸۶) نسبت به گروه شم

Archive of SID

www.SID.ir

(۲۱/۱۴±۶/۱۲) به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافته است (P=0.007). در موش‌های ایسکمیک پیش‌آماده‌سازی‌شده با ورزش نیز تعداد سلول‌های BDNF مثبت (۳۶/۵۷±۱۱/۹۶) نسبت به گروه ایسکمی افزایش معناداری داشته است (P=0.006). همچنین، نتایج رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی نشان می‌دهد که در ناحیهٔ CA1 هیپوکامپ، تعداد سلول‌های NGF مثبت در گروه ایسکمی (۳۳/۲۸±۹/۷۲) نسبت به گروه شم (۱۹/۸۵±۵/۰۷) به‌شکل قابل‌توجهی افزایش یافته است (P=0.001). در موش‌های ایسکمیک پیش‌آماده‌سازی‌شده با ورزش نیز تعداد سلول‌های NGF مثبت (۳۹/۷۱±۱۲/۲۳)، افزایش معناداری را نسبت به گروه ایسکمی نشان می‌دهد (P=0.008)، (شکل شمارهٔ دو و سه).

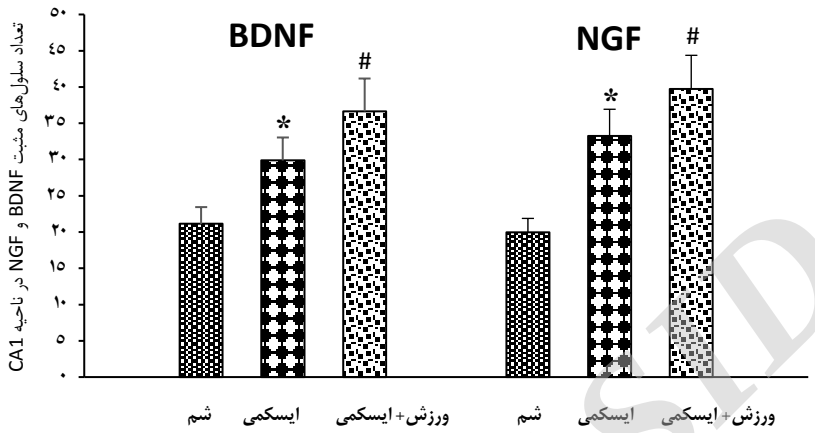


شکل ۲ـ فتومیکروگراف‌های رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی BDNF و NGF در ناحیهٔ CA1 هیپوکامپ در گروه‌های مختلف

(فلش‌های سیاه، سلول‌های مثبت BDNF و NGF را نشان می‌دهد، بزرگنمایی 400x).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳ـ مقایسهٔ میانگین تعداد سلول‌های مثبت BDNF و NGF در ناحیهٔ CA1 هیپوکامپ در گروه‌های مختلف

* تفاوت معنادار در مقایسه با گروه شم

تفاوت معنادار در مقایسه با گروه ایسکمی و گروه شم

بحث و نتیجه‌گیری

جهت بررسی اثرات محافظت عصبی پیش‌درمانی فعالیت ورزشی، در این پژوهش اثر پیش‌آماده‌سازی یک دوره فعالیت ورزشی بر اختلال حافظهٔ فضایی و بیان BDNF و NGF در ناحیهٔ CA1 هیپوکامپ به‌دنبال ایسکمی ـ ریپرفیوژن مغزی در موش‌های صحرایی نر موردبررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ایسکمی موجب افزایش بیان BDNF و NGF می‌شود. همچنین، فعالیت ورزشی پیش از ایسکمی سبب افزایش بیشتر بیان این پروتئین‌ها خواهد شد. تنظیم افزایشی این عوامل به‌طور بالقوه احتمال حیات نورونی و بازسازی نورونی را افزایش می‌دهد (۹). علاوه‌براین، مشخص شده است که القای ایسکمی در مغز منجر به آسیب گستردهٔ نورونی در هیپوکامپ خواهد شد که با اختلالات رفتاری، به‌ویژه اختلالات مرتبط با حافظه و یادگیری همراه خواهد بود (۳۲). نتایج این مطالعه نشان داد که ایسکمی مغزی موجب اختلال در حافظهٔ فضایی و افزایش مسافت طی‌شده و مدت‌زمان سپری‌شده برای یافتن سکوی هدف در آزمون ماز آبی موریس خواهد شد. همچنین، مشخص شد که پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی می‌تواند اختلال ناشی از ایسکمی در حافظهٔ فضایی را بهبود بخشد.

Archive of SID

www.SID.ir

عنوان شده است که افزایش بیان نوروتروفین‌ها پس از آسیب ایسکمی، نشان‌دهندهٔ نقش ترمیمی و عملکرد طبیعی آن در حفظ یکپارچگی نورونی می‌باشد (۱۵). به‌نظر می‌رسد که تنظیم افزایشی میزان نوروتروفین‌های ناشی از فعالیت ورزشی، به‌دلیل افزایش فعالیت نورونی به‌هنگام فعالیت ورزشی است. فعالیت ورزشی موجب افزایش فعالیت نورونی و ترشح عوامل نوروتروفیکی بیشتر می‌شود که پیامد آن ایجاد حفاظت نورونی بیشتر خواهد بود (۹).

مطالعات متعددی اثر تمرینات ورزشی بر حفاظت عصبی را بررسی کرده‌اند. لیبلت[1] و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی می‌تواند موجب افزایش تحمل مغز نسبت به حملات ایسکمی شود (۳۳). علاوه‌براین، افزایش بیان و میزان BDNF و NGF در خون و مغز پس ئاز انواع فعالیت‌های ورزشی در آزمودنی‌های انسانی و حیوانی در پژوهش‌های مختلف گزارش شده است (۲۳). در موش‌های صحرایی که در آن‌ها پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی انجام گرفته است، میزان BDNF و NGF پس از آسیب ایسکمی ـ ریپرفیوژن بیشتر می‌باشد و میزان زیاد این عوامل با نقایص عصبی و حجم کمتر ضایعهٔ مغزی ارتباط دارد (۳۴). دینگ[2] و همکاران (۲۰۰۴) نیز در پژوهشی نشان دادند که فعالیت ورزشی پیش از ایسکمی با افزایش آنژیوژنز و تنظیم افزایشی BDNF و NGF در ناحیهٔ قشر و جسم مخطط مغز می‌تواند آسیب‌های مغزی ناشی از سکته را کاهش دهد (۲۲). این شواهد از این فرضیه حمایت می‌کنند که افزایش نوروژنز ناشی از فعالیت ورزشی ممکن است مکانیسمی برای کاهش آسیب‌های مغزی ناشی از ایسکمی باشد که موجب کاهش اختلالات نورولوژیکی و کاهش حجم ضایعه خواهد شد (۲۳،۳۴). علاوه‌براین، در پژوهشی نشان داده شده است که این عوامل در مرحلهٔ ریپرفیوژن، تنظیم افزایشی می‌شوند که ممکن است دلیل آن، نقش ترمیمی آن‌ها پس از حملات ایسکمی باشد (۱۵). این نتایج، نقش دوگانهٔ BDNF و NGF به‌دنبال پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی را پیشنهاد می‌کنند؛ بدین‌معنا که فعالیت ورزشی موجب تقویت واحد عصبی ـ عروقی، قبل و بعد از آسیب ایسکمی ریپرفیوژن خواهد شد. به‌طورکلی، تنظیم افزایشی BDNF و NGF پس از پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی، افزایش بقای نورونی بعد از آسیب ایسکمی ـ ریپرفیوژن مغزی را در پی دارد (۹).

این نتایج حاکی از آن است که یک برنامهٔ تمرینی ممکن است به حفاظت نورونی مربوط به BDNF و شکل‌پذیری عصبی کمک کند و بنابراین، احتمالاً نقشی را در ایجاد تغییرات انحطاطی هم‌بسته با بیماری‌های انحطاطی سیستم عصبی مرکزی ایفا می‌کند (۳۵). در تضاد با این نتایج، سچتی[3] و

1. Liebelt
2. Ding
3. Cechetti

Archive of SID

www.SID.ir

همکاران (۲۰۰۸) تغییری را در سطوح BDNF نواحی مختلف مغز در پی فعالیت ورزشی مشاهده نکردند. آن‌ها بیان کردند که نوروتروفین‌ها ممکن است به‌صورت مستقیم در مکانیسم‌های محافظت نورونی ناشی از ورزش پس از ایسکمی درگیر نباشند (۳۶).

به‌طورکلی، یافته‌های حاصل از مطالعات حیوانی از این مفهوم حمایت می‌کنند که تمرین ممکن است سازوکارهای تنظیم‌کنندهٔ BDNF و NGF را القا نماید. اگرچه هنوز سازوکارهایی که ورزش از طریق آن موجب تغییر سطح BDNF و NGF در مغز می شود به‌طور کامل م شخص نمی‌با شد، اما یافته‌های پژوهشی نشان داده‌اند که تنظیم BDNF هیپوکامپ ناشی از ورزش، با واسطهٔ سیستم‌های انتقال‌دهنده‌های عصبی، سیستم‌های نورواندوکرین و عامل رشد شبه انسولین-۱ (IGF-1)[1] صورت می‌گیرد. همچنین، ورزش از طریق تنظیم گونه های فعال اکسیژن (ROS)[2]، نقش مهمی را در محتوای پروتئینی، بیان BDNF، گیرندهٔ تیروزین کیناز B و پاسخ آدنوزین مونوفسفات حلقوی داشته و منجر به عملکرد بهتر و افزایش نورون‌زایی می‌شود (۳۷).

علاوه بر آثار محافظت نورونی نوروتروفین‌ها، نشانه‌هایی مبنی بر این وجود دارد که BDNF، دارای فعالیت آنتی‌اک سیدانی نیز می‌با شد. گونه‌های فعال اک سیژن در زنجیرهٔ انتقال الکترون میتوکندری، به‌عنوان یک محصول طبیعی تولید می‌شوند، اما زمانی که سطح آن‌ها بیش از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول باشد می‌توانند منجر به مرگ سلول شوند. استرس اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن، نقش بسیار مهمی را در آبشار ایسکمی ایفا می‌کند (۴۰-۳۸). علاوه‌براین، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی ناشی از ورزش به‌دلیل تنظیم افزایشی BDNF، موجب حفاظت از نورون‌ها دربرابر آسیب ایسکمی - ریپرفیوژن خواهد شد. این مطالعه نشان داد که فعالیت ورزشی هنگامی که به‌عنوان یک محرک پیش‌آماده‌ساز استفاده شود، از طریق تنظیم افزایشی میزان عوامل نوروتروفیک، توانایی ساختار مغزی را برای خودترمیمی پس از آسیب ایسکمی بهبود می‌بخشد و می‌تواند دربرابر آسیب‌های بافتی و اختلالات نورولوژیکی ناشی از ایسکمی ـ ریپرفیوژن، اثرات محافظتی داشته باشد و موجب کاهش میزان آسیب اولیه و افزایش بقای نورونی پس از آسیب ناشی از ایسکمی ـ

1. Insulin-Like Growth Factor-1
2. Reactive Oxygen Species

Archive of SID

www.SID.ir

ریپرفیوژن شود. این اثرات نوروپروتکتیو فعالیت ورزشی، یک دیدگاه درمانی نوین را فراهم می‌کند و می‌تواند به‌عنوان یک روش مؤثر در کاهش عوارض مغزی ناشی از ایسکمی - ریپرفیوژن موردتوجه قرار گیرد. قابل‌ذکر است که انجام مطالعات بیشتر برای تعیین رابطهٔ علت و معلولی تحمل عصبی ناشی از ورزش و بیان نوروتروفین‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد.

پیام مقاله: انجام فعالیت ورزشی پیش از سکتهٔ مغزی می‌تواند دربرابر آسیب‌های بافتی و اختلالات نورولوژیکی ناشی از آن، اثرات محافظتی داشته باشد.

منابع

1. Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz M A. Pathobiology of ischaemic stroke: An integrated view. Trend Neurosci. 1999; 22(9): 391-7.
2. Siesj B K. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. J Neurosurg. 1992; 77(2): 169-84.
3. Gheibi S, Khaksari M, Kalalian-Moghaddam H, Majd Z, Zare Mehrjerdi F, Aboutaleb N. The effect of NaHS on behavioral neurological dysfunction following focal cerebral ischemia in Rats. J Knowledge Health. 2014; 9(1); 68-73. (In Persian).
4. Kirino T, Tamura A, Sano K. Selective vulnerability of the hippocampus to ischemia reversible and irreversible types of ischemic cell damage. Prog Brain Res. 1985; 63(1): 39-58.
5. Netto C, Hodges H, Sinden J, Le Peillet E, Kershaw T, Sowinski P, et al. Effects of fetal hippocampal field grafts on ischaemic-induced deficits in spatial navigation in the water maze. Neuroscience. 1993; 54(1): 69-92.
6. Wang Y, Qin Z H. Molecular and cellular mechanisms of excitotoxic neuronal death. Apoptosis. 2012; 15(11): 1382-402.
7. Albasser M M, Amin E, Lin T C E, Iordanova M D, Aggleton J P. Evidence that the Rat hippocampus has contrasting roles in object recognition memory and object recency memory. Behav Neurosci. 2012; 126(5): 659-69.
8. Deister C, Schmidt C E. Optimizing neurotrophic factor combinations for neurite outgrowth. J Neural Eng. 2006; 3(2): 172-9.
9. Dornbos III D, Ding Y. Mechanisms of neuroprotection underlying physical exercise in ischemia-reperfusion injury. First ed. Rijeka, Croatia: Intech Open Access Publisher; 2012. P. 299-326.
10. Kochanski R, Dornbos III D, Ding Y. Neuroprotection and physical preconditioning: Exercise, hypothermia, and hyperthermia. First ed. New York, USA: Innate Tolerance CNS; 2013. P. 105-31.
11. Allen S J, Dawbarn D. Clinical relevance of the neurotrophins and their receptors. Clin Sci. 2006; 110(2): 175-91.

Archive of SID

www.SID.ir

12. Bariohay B, Lebrun B, Moyse E, Jean A. Brain-derived neurotrophic factor plays a role as an anorexigenic factor in the dorsal vagal complex. Endocrinology. 2005; 146(12): 5612-20.
13. Duman R S. Synaptic plasticity and mood disorders. Mol Psychiatry. 2002; 7(1): 29–34.
14. Kokaia Z, Andsberg G, Yan Q, Lindvall O. Rapid alterations of BDNF protein levels in the Rat brain after focal ischemia: Evidence for increased synthesis and anterograde axonal transport. Exp Neurol. 1998; 154(2): 289-301.
15. Schäbitz W R, Steigleder T, Cooper-Kuhn C M, Schwab S, Sommer C, Schneider A, et al. Intravenous brain-derived neurotrophic factor enhances poststroke sensorimotor recovery and stimulates neurogenesis. Stroke. 2007; 38(7): 2165-72.
16. Cohen-Cory S, Kidane A H, Shirkey N J, Marshak S. Brain-derived neurotrophic factor and the development of structural neuronal connectivity. Dev Neurobiol. 2010; 70(5); 271-88.
17. Zhang P, Zhang Q, Pu H, Wu Y, Bai Y, Vosler P. Very early-initiated physical rehabilitation protects against ischemic brain injury. Front Biosci (Elite Ed). 2011; 4(1); 2476-89.
18. Shamsaei N, Rajabi H, Aboutaleb N, Nikbakht F, Motamedi P, Khaksari M, et al. Effects of exercise pre-conditioning on hippocampus expression of Bcl-2 and Bax protein and apoptosis following ischemia/ reperfusion injury in male Rats. J Knowledge Health. 2015; 10(2): 24-32. (In Persian).
19. Tahamtan M, Allahtavakoli M, Taghavi M M, Rezazadeh H, Arababadi M, Shamsizade A. The effect of exercise preconditioning on tactile learning following transient cerebral ischemia in male Rats. ZUMS J. 2013; 21(84): 36-46. (In Persian).
20. Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Docosahexaenoic acid dietary supplementation enhances the effects of exercise on synaptic plasticity and cognition. Neuroscience. 2008; 155(3): 751-9.
21. Cotman C W, Berchtold N C. Exercise: A behavioral intervention to enhance brain healthand plasticity. Trends Neuroscience. 2002; 25(6): 295-301.
22. Ding Y H, Luan X D, Li J, Rafols J A, Guthinkonda M, Diaz F G, et al. Exercise-induced overexpression of angiogenic factors and reduction of ischemia/reperfusion injury in stroke. Cur Neurovasc Res. 2004; 1(5); 411-20.
23. Ding Y, Li J, Luan X, Ding Y H, Lai Q, Rafols J A, et al. Exercise preconditioning reduces brain damage in ischemic rats that may be associated with regional angiogenesis and cellular overexpression of neurotrophin. Neuroscience. 2004; 124(3): 583-91.
24. Duzova H, Karakoc Y, Emre M H, Dogan Z Y, Kilinc E. Effects of acute moderate and strenuous exercise bouts on IL-17 production and inflammatory response in trained rats. J Sports Sci Med. 2009; 8(2): 219-24.
25. Kevin C, Kregel D L. Resource book for the design of animal exercise protocols. 5th ed. Iowa, USA: American Physiological Society; 2006. P. 23-57.

Archive of SID

www.SID.ir

26. Zhang F, Wu Y, Jia J. Exercise preconditioning and brain ischemic tolerance. Neuroscience. 2011; 177(1): 170-6.
27. Zhang F, Jia J, Wu Y, Hu Y, Wang Y. The effect of treadmill training pre-exercise on glutamate receptor expression in rats after cerebral ischemia. Int J Mol Sci. 2010; 11(7): 2658-69.
28. Erfani S, Khaksari M, Oryan SH, Shamsaei N, Aboutaleb N, Nikbakht F. Nampt/ PBEF/ Visfatin exerts neuroprotective effects against ischemia/ reperfusion injury via modulation of Bax/ Bcl-2 ratio and prevention of Caspase-3 activation. J Mol Neurosci. 2015; 56(1): 237-43. (In Persian).
29. Aboutaleb N, Kalalian Moghaddam H, Eftekhari S, Shahbazi A, Abbaspour H, Khaksari M. Apelin-13 inhibits apoptosis of cortical neurons following brain ischemic reperfusion injury in a transient model of focal cerebral ischemia. Int J Pept Res Therap. 2014; 20(2): 127-32.
30. Paxinos G, Watson C. The Rat brain in stereotaxic coordinates. 6th ed. San Diego, USA: Academic Press; 2006. P. 13-153.
31. Gheibi S, Aboutaleb N, Khaksari M, Kalalian Moghaddam H, Vakili A, Asadi Y, et al. Hydrogen sulfide protects the brain against ischemic reperfusion injury in a transient model of focal cerebral ischemia. J Mol Neurosci. 2014; 54(2): 264-70. (In Persian).
32. Wang J Y, Shen J, Gao Q, Ye Z G, Yang S Y, Liang H W, et al. Ischemic postconditioning protects against global cerebral ischemia/ reperfusion-induced injury in rats. Stroke. 2008; 39(3): 983-90.
33. Liebelt B, Papapetrou P, Ali A, Guo M, Ji X, Peng C, et al. Exercise preconditioning reduces neuronal apoptosis in stroke by up-regulation heat shock protein-70 (heat shock protein-72) and extracellular-signal-regulatedkinase1/2. Neuroscience. 2010; 166(4): 1091-100.
34. Ang E T, Wong P T, Moochhala S, Ng Y K. Neuroprotection associated with running: Is it a result of increased endogenous neurotrophic factors? Neuroscience. 2003; 118(2): 335-45.
35. Berchtold N C, Chinn G, Chou M, Kesslak J P, Cotman C W. Exercise primes a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat hippocampus. Neuroscience. 2005; 133(3): 853-61.
36. Cechetti F, Fochesatto C, Scopel D, Nardin P, Gonçalves C A, Netto C A, et al. Effect of a neuroprotective exercise protocol on oxidative state and BDNF levels in the rat hippocampus. Brain Res. 2008; 1188(1): 182-8.
37. Hajizade Moghadam A, Fallah Mohammadi Z, Sheykh P, Mirzaee S. Effect of voluntary exercise on a running wheel and brain-derived neurotrophic factor levels Allium Paradoxium extracts in alloxan-induced diabetic Rat hippocampus. Iranian J Diab Lipid Disord. 2012; 11(4): 350-7. (In Persian).
38. Chan P H. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. J Cereb Blood Flow Metab. 2001; 21(1): 2-14.
39. Rahimi M, Asgari A R, Khoshbaten A. The role of exercise preconditioning in cardioprotection against ischemia reperfusion injury. Physiol Pharmacol. 2014; 18(2): 122-43. (In Persian).

Archive of SID

www.SID.ir

40. Faraji F, Ranjbar A, Eshrati B, Talaie A, Shafie N, Pirasteh S. Comparing the oxidative stress indexes of CVA patients with control group. J Arak Uni of Med Sci. 2008; 11(3): 109-16. (In Persian).

ارجاع دهی

شمسایی نبی، رجبی حمید، ابوطالب ناهید. پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی از طریق افزایش بیان نوروتروفین‌های هیپوکامپ، اختلال حافظهٔ فضایی ناشی از ایسکمی مغزی در موش‌های صحرایی را کاهش می‌دهد. فیزیولوژی ورزشی. تابستان ۱۳۹۶؛ ۹(۳۴): ۷۸- ۶۳. شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2017.951

Shamsaei. N, Rajabi. H, Aboutaleb. N. Exercise Preconditioning Reduces Spatial Memory Disorder Induced by Cerebral Ischemia Via Increasing the Expression of Neurotrophins In Rat Hippocampus. Sport Physiology. Summer 2017; 9(34): 63-78. Doi: 10.22089/spj.2017.951

Archive of SID

www.SID.ir

Exercise Preconditioning Reduces Spatial Memory Disorder Induced by Cerebral Ischemia Via Increasing the Expression of Neurotrophins In Rat Hippocampus

N. Shamsaei[1], H. Rajabi[2], N. Aboutaleb[3]

1. Assistant Professor of Sport Physiology, Ilam University*
2. Professor of Sport Physiology, Kharazmi University
3. Associated Professor of Medical Physiology, Iran University of Medical Sciences

Received: 2015/11/29 **Accepted: 2016/01/13**

Abstract

The aim of this study was the study of effect of exercise preconditioning on spatial memory disorders and expression of BDNF and NGF proteins in the CA1 area of hippocampus following cerebral ischemia-reperfusion in male rats. 21 male Wistar rats were randomly selected and allocated into three groups (sham, ischemia and exercise + ischemia). The rats in exercise group were trained to run on the treadmill 5 days in a week for 4 weeks. Ischemia induced by occlusion both common carotid arteries for 20 minutes. Spatial memory performances of rats were evaluated by the Morris water maze. The level of proteins expression was determined by immunohistochemically staining. Exercise preconditioning significantly decreased the time and distance traversed to reach the platform in Morris water maze. Also, pre-ischemic exercise significantly increased the expression of BDNF and NGF proteins in the CA1 area of hippocampus compared to the ischemia group. Exercise preconditioning, probably via up-regulation of neurotrophic factors, could have neuroprotective effects against brain ischemia-reperfusion-induced injuries and improve short-term memory impairments induced by cerebral ischemia.

Keywords: Ischemia, Exercise, Hippocampus, Spatial memory, Neurotrophin

*Corresponding Author Email: n.shamsaei@ilam.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir