Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol.15, No.3, Autumn 2015, Pages 291 - 300

Effect of Exercise Preconditioning on Memory Deficits and Neuronal Cell Death in the CA3 Pyramidal Cells of the Rat Hippocampus Following Transient Global Cerebral Ischemia

Shamsaei N[1], Aboutaleb N[2], Erfani S[3], Khaksari M*[4]

1. Department of Physical Education andSports Sciences, Faculty of Literature and Humanities, Ilam University, Ilam, Iran
2.Physiology Research Center and Department of Physiology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Department of Animal Physiology, Faculty of Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran
4. Department of Physiology, Faculty of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran
**** Corresponding author.*** Tel: +982332395054 Fax: +982332394800E-mail: khaksari417@yahoo.com

Received: Apr 11, 2015 Accepted: Aug 16, 2015

Archive of SID

ABSTRACT

Background & objectives: Brain ischemia leads to irreversible functional and structural damage in various regions of the brain, especially in the hippocampus. There is an evidence indicating the physical exercise has neuroprotective effects and may decrease the cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. The purpose of this study was the study of the effect of exercise preconditioning on memory deficits and neuronal cell death in CA3 pyramidal cells of the rat hippocampus following transient global ischemia.
Methods:21 male rats weighing 260-300g were randomly selected and allocated into three groups (sham, ischemia and exercise+ischemia). The rats in exercise group were trained to run on a treadmill 5 days a week for 4 weeks. Ischemia induced by occlusion both common carotid arteries (CCA) for 20 minutes. The passive avoidance memory test using a Shuttle box used to assess the impairment of memory. The amount of cell death was measured using cresyl violet staining method.
Results: The results showed that cerebral ischemia is associated with memory impairment, and physical activity before ischemia improves ischemia-induced memory impairments significantly (p<0.05). In addition, ischemia leads to cell death in hippocampal CA3 area neurons and exercise also reduces ischemia-induced cell death significantly (p<0.05).
Conclusion: This study showed that exercise, when is used as apreconditioning stimulant, has a neuroprotective effects against brain ischemia.
Keywords: Exercise; Hippocampus; Ischemia; Reperfusion; Cell Death

www.SID.ir

اثر شرطی‌سازی اولیه با تمرین استقامتی بر اختلالات حافظه و مرگ سلولی نورون‌های ناحیه CA3 هیپوکامپ به دنبال ایسکمی- ریپرفیوژن مغزی در موش صحرایی نر

*نبی شمسائی[۱]، ناهیدابوطالب[۲]، سهیلاعرفانی[۳]، مهدی خاکساری[٤]**

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران ۲. مرکز تحقیقات فیزیولوژی و گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران ۳. گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
٤. گروه فیزیولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران
* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۲۳ ۸۸۶۲۲۷۰۹ فاکس: ۰۲۳ ۸۸۶۲۲۷۰۹ پست الکترونیک: khaksari417@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: ایسکمی مغزی موجب آسیب‌های ساختاری و عملکردی برگشت ناپذیری در نواحی خاصی از مغز به ویژه هیپوکامپ خواهد شد. شواهد نشان می‌دهد که ورزش ممکن است آسیب‌های ناشی از ایسکمی مغزی را کاهش دهد. هدف از این مطالعه بررسی اثر شرطی سازی اولیه با یک دوره تمرین ورزشی استقامتی بر اختلالات حافظه و مرگ سلولی نورون‌های ناحیهCA3 هیپوکامپ به دنبال ایسکمی- جریان مجدد مغزی در موش صحرایی نر بود.

روش کار: تعداد ۲۱ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۳۰۰-۲۶۰ گرم به طور تصادفی انتخاب و به سه گروه (شم، ایسکمی، ورزش+ایسکمی) تقسیم شدند. رت‌های گروه ورزش به مدت ٤ هفته، ۵ روز در هفته بر روی تردمیل دویدند. ایسکمی با انسداد هر دو شریان کاروتید مشترک (CCA) به مدت ۲۰ دقیقه ایجاد شد. از آزمون حافظه احترازی غیرفعال برای بررسی میزان اختلال در حافظه و از رنگ آمیزی کرزیل ویوله جهت بررسی میزان مرگ سلولی استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که ایسکمی مغزی با اختلال در حافظه و مرگ سلولی نورون‌های ناحیه CA3 هیپوکامپ همراه است و فعالیت ورزشی پیش از ایسکمی بطور معنی داری اختلال ناشی از ایسکمی در حافظه را بهبود می‌بخشد ($p<۰/۰۵$)، همچنین فعالیت ورزشی بطور معنی داری مرگ سلولی ناشی از ایسکمی را کاهش می‌دهد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که فعالیت ورزشی، زمانی که به عنوان یک محرک پیش شرطی ساز استفاده شود، موجب اثرات محافظتی در برابر ایسکمی مغزی خواهد شد.

واژه‌های کلیدی: ورزش، هیپوکامپ، ایسکمی، ریپرفیوژن، مرگ سلولی

دریافت: ۹٤/۱/۲۲ **پذیرش:** ۹٤/۵/۲۵

مقدمه

ایسکمی مغزی موجب تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در سلول‌های عصبی می‌شود که در نهایت منجر به مرگ سلولی خواهد شد. به علاوه، برقراری مجدد جریان خون موجب تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد خواهد شد که آسیب های جریان مجدد را به دنبال دارد [۱]. آسیب‌های بافتی به دنبال ایسکمی مغزی بوسیله تعامل فرآیندهای پیچیده پاتوفیزیولوژیک مانند سمیت تحریکی، التهاب و مرگ سلولی ایجاد می‌شوند [۲]. مرگ سلولی نکروزی یک نوع خاص از مرگ سلولی در آسیب‌های مغزی ناشی از ایسکمی می‌باشد که با نفوذپذیری غشا و لیزشدن سلول همراه است [۳].

هیپوکامپ نقش مهمی در یادگیری و حافظه فضایی و احترازی غیرفعال دارد. مشخص شده است که هیپوکامپ نسبت به حملات ایسکمیک از دیگر مناطق مغز حساس‌تر است. آسیب به نورون‌های هرمی هیپوکامپ منجر به نقص در حافظه و یادگیری

www.SID.ir

می‌شود [٤]. مطالعات نشان داده‌اند که نورون‌های پیرامیدال هیپوکامپ در برابر ایسکمی بسیار آسیب‌پذیر بوده و ۷-۳ روز بعد از ایسکمی گذرای مغز می‌میرند [۵]. همچنین، ایسکمی گلوبال موقت به مدت ۱۵ دقیقه موجب آسیب به سلول‌های عصبی ناحیه هیپوکامپ خواهد شد [۶]. به علاوه مطالعات قبلی نشان داده‌اند که نکروز سلول‌های ناحیه CA3 هیپوکامپ، ۶ دقیقه پس از ایسکمی آغاز می‌شود [۷]. مطالعات گذشته اثرات مفید شرطی‌سازی اولیه با فعالیت ورزشی بر آسیب‌های ناشی از ایسکمی-جریان مجدد در مدل حیوانی سکته مغزی را نشان داده‌اند [۹،۸]. شواهد نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی از طریق کاهش خطر عواملی مانند التهاب، از مغز در برابر آسیب ایسکمیک محافظت می‌کند [۱۰]. با این حال، مکانیسم‌های حفاظتی ناشی از ورزش در برابر ایسکمی، به ویژه در ارتباط با مرگ نورون‌ها، هنوز بطور کامل مشخص نیست. بنابراین تحقیقات بیشتری نیاز است تا اثرات محافظتی شرطی‌سازی اولیه با فعالیت ورزشی روی آسیب مغزی ناشی از ایسکمی مشخص شود. در مطالعه حاضر، محققین میزان مرگ سلولی در نورون‌های ناحیه CA3 هیپوکامپ و نیز میزان اختلال در حافظه به دنبال ایسکمی مغزی در موش‌های صحرایی را مورد بررسی قرار دادند. به علاوه، اثر شرطی‌سازی اولیه یک دوره فعالیت ورزشی استقامتی بر موش‌های صحرایی نیز مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار

حیوانات و گروه‌های تجربی

تعداد ۲۱ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (با وزن ۳۰۰-۲۶۰ گرم) از انستیتو پاستور تهران خریداری شد و در قفس‌های استاندارد و محیط کنترل شده (دمای ۲٤°c-۲۲، رطوبت ۵۰-٤۵٪ و چرخه ۱۲ ساعت روشنایی- تاریکی)، با دسترسی آزاد به آب و غذا، نگهداری شدند.

رت‌ها به طور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند: گروه شم، گروه ورزش+ ایسکمی (ایسکمی با ٤ هفته ورزش قبل از ایسکمی) و گروه ایسکمی (۷ موش در هر گروه). در گروه ایسکمی، حیوانات تحت ایسکمی تنها با استفاده از روش انسداد دو شریان کاروتید (2VO) قرار گرفتند. درگروه ورزش+ ایسکمی، حیوانات قبل از القاءِ ایسکمی، به مدت ٤ هفته روی تردمیل دویدند. حیوانات گروه شم (که به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند) تحت عمل جراحی مشابه قرار گرفتند با این تفاوت که شریان کاروتید مشترک مسدود نمی‌شد.

پروتکل فعالیت ورزشی

رت‌ها درگروه مداخله ورزشی به مدت ٤ هفته و ۵ روز در هفته بر روی تردمیل (تردمیل ٤ کاناله، ساخت شرکت IITC آمریکا) دویدند. در ابتدا، قبل از تمرینات اصلی و به منظور عادت کردن، رت‌ها به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه با سرعت ۷-۵ متر در دقیقه با شیب صفر درجه برای ۲ روز متوالی روی تردمیل دویدند. ۲ روز پس از تمرینات سازشی، تمرینات اصلی آغاز شد و رت‌ها به مدت ٤ هفته به اجرای فعالیت روی تردمیل پرداختند. تمرین در هفته اول با سرعت ۱۸ متر در دقیقه برای ۳۵ دقیقه با شیب صفر درجه اجرا شد. پس از آن، مدت زمان و شیب تردمیل به تدریج افزایش یافت، به طوری که حیوانات در هفته دوم با سرعت ۱۸متر در دقیقه با شیب ۵ درجه به مدت ٤۰ دقیقه، در هفته سوم با سرعت ۱۸ متر در دقیقه با شیب ۱۰ درجه به مدت ٤۵ دقیقه و در هفته آخر با سرعت ۱۸ متر در دقیقه با شیب ۱۵ درجه به مدت ۵۰ دقیقه روی تردمیل دویدند.

القای ایسکمی گلوبال مغزی

برای القای ایسکمی گذرای مغزی [۱۱]، رت‌ها باکتامین/ زایلازین (٤۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم، بصورت IP) بی‌هوش شدند. سپس هر دو شریان کاروتید مشترک از صفحه کاروتید خود آزاد شدند، پس از

Archive of SID

www.SID.ir

آن عصب واگ به دقت از شریان کاروتید جدا شد. سپس هر دو شریان کاروتید مشترک به مدت ۲۰ دقیقه با استفاده از گیره‌های جراحی مسدود شدند. پس از آن، با برداشتن گیره‌ها شریان‌های کاروتید آزاد و بلافاصله جریان خون برقرار شد. برقراری مجدد جریان خون در شریان‌های کاروتید با مشاهده تأیید شد. در طول عمل جراحی، درجه حرارت مقعدی رت‌ها با استفاده از یک سیستم گرمایش تنظیم بازخوردی در ۰/۵±۳۶/۵ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. حیوانات پس از عمل جراحی با دسترسی آزاد به آب و غذا به قفس خود بازگردانده شدند.

مطالعه حافظه احترازی غیرفعال

حافظه احترازی غیرفعال با استفاده از دستگاه شاتل باکس[1] و بر اساس تمایل طبیعی موش‌ها برای محیط‌های تاریک، ۳ روز بعد از ایجاد ایسکمی به مدت ۲ روز بررسی شد. دستگاه شاتل باکس استفاده شده (ساخت شرکت برج صنعت، ایران) دارای دو محفظه، هر یک با طول و عرض ۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر بود. این دستگاه از یک اتاقک روشن که دیواره‌های سفیدرنگ دارد و یک اتاقک تاریک که دارای دیواره‌های سیاه‌رنگ بوده و کف آن توسط میله‌های شوک‌دهنده از جنس استیل ضد زنگ پوشانده شده است، تشکیل شده است. این دو اتاقک توسط یک درب گیوتینی که در قسمت وسط و پایین دیواره بین اتاقک‌های روشن و تاریک قرار دارد، از هم جدا شده‌اند. میله‌های اتاقک تاریک به یک الکتروشوکر متصل شده است. این دستگاه جریان الکتریکی با شدت ۰/۵ میلی‌آمپر و با فرکانس ۵۰ هرتز را به مدت ۳ ثانیه از طریق میله‌های شوک‌دهنده به بدن حیوان انتقال می‌دهد. ارزیابی حافظه احترازی غیرفعال طی مراحل ذیل صورت گرفت:

مرحله سازگاری

در روز سوم بعد از ایسکمی، در حالی که بین اتاقک روشن و تاریک باز بود، هر موش در اتاقک روشن قرار داده می‌شد و به مدت ۵ دقیقه به آن اجازه داده می‌شد که با دستگاه آشنا شود و از طریق دریچه، ارتباط اتاقک روشن و تاریک را بیابد. سپس موش از دستگاه خارج شده و به قفس انفرادی منتقل می‌گردید.

مرحله آموزش

۱ ساعت بعد از مرحله سازگاری، هر موش در اتاقک روشن (در حالی‌که درب گیوتینی بسته بود) قرار داده شد، ۱۰ ثانیه بعد درب گیوتینی باز می‌شد. سپس مدت زمانی که موش از جعبه روشن به تاریک می‌رفت را یادداشت کرده که اگر از ۱۰۰ ثانیه تجاوز کند، به علت عدم همکاری، آن موش از آزمایش‌ها حذف می‌شد. پس از رفتن موش به اتاقک تاریک، بلافاصله درب بسته می‌شد و زمان تأخیر در ورود به اتاقک تاریک به عنوان زمان تأخیر اولیه یاداشت می‌شد و یک شوک الکتریکی (به مدت ۳ ثانیه، با شدت جریان ۰/۵ میلی آمپر و با فرکانس ۵۰ هرتز) از میله‌های فلزی به کف پا اعمال می‌شد. قبل از ورود به قسمت روشن دست و پای موش را مرطوب کرده تا شوک الکتریکی از طریق پا و دست-ها بهتر احساس گردد. ۲۰ ثانیه بعد موش از اتاقک خارج می‌شد و به قفس منتقل می‌گردید.

مرحله به یادآوری

۲٤ ساعت بعد از مرحله آموزش، هر موش در اتاقک روشن (در حالی‌که درب گیوتینی بسته بود) قرار داده شد، ۱۰ ثانیه بعد درب گیوتینی باز می‌شد و زمان تأخیر در ورود به اتاقک تاریک به عنوان Step-Through Latency (STL) Time یاداشت گردید. در واقع STL مدت زمانی است که حیوان در محفظه روشن باقی می‌ماند پیش از آنکه وارد اتاقک تاریک شود. حداکثر زمان برای تأخیر در ورود به محفظه تاریک تا ۱۸۰ ثانیه ثبت گردید. بعد از آنکه

[1] Shuttle Box

Archive of SID

www.SID.ir

موش به قسمت تاریک رفت، مدت زمان سپری‌شده در اتاقک تاریک یادداشت گردید، که به عنوان زمان سپری شده در محفظه تاریک در نظرگرفته شد.

آماده‌سازی بافت

٤ روز (۹۶ ساعت) بعد از ایسکمی، موش‌ها بی‌هوش شدند و پرفیوژن ترانس کاردیاک با ۰/۹٪ سالین و به دنبال آن ٤٪ پارافرمالدهید در ۰/۱M بافر فسفات (pH ۷/٤) به عنوان فیکساتیو انجام شد [۱۲]. سپس مغز رت‌ها برداشته شد و به مدت یک شبانه روز در فیکساتیو مشابه قرار گرفت. از مغزها بلوک‌های پارافینه تهیه شد و با استفاده از دستگاه میکروتوم مقاطع کرونال با ضخامت ۷ µm برای رنگ‌آمیزی تهیه شد. مقاطع بر اساس اطلس پاکسینوس بین ۳/۳ و ٤/۲ میلی‌متر پشت برگما تهیه شد.

رنگ‌آمیزی کرزیل ویوله (نیسل)

رنگ‌آمیزی نیسل معمولاً برای شناسایی ساختار پایه‌ای نورون‌های سالم از نورون‌های نکروزشده در بافت مغز و طناب نخاعی استفاده می‌شود [۱۳]. در این رنگ‌آمیزی سلول‌های سالم به صورت سلول‌های یوکروماتین دیده می‌شوند. برای رنگ‌آمیزی نیسل، برش‌های ۷ میکرومتری (سه برش در هر حیوان) بر روی لام‌های سیلانه شده انتقال داده شدند. سپس با استفاده از محلول کرزیل ویوله استات ۰/۱ درصد (سیگما، USA) رنگ‌آمیزی شدند. لام‌ها سپس خشک شده و با انتالن پوشانده شدند. سپس با استفاده از میکوسکوپ نوری (AX-70Olympus) و با بزرگنمایی ٤۰۰، از برش‌ها تصویر تهیه شد. بعد از تهیه تصاویر، با استفاده از نرم‌افزار Olysia Bio Report شمارش سلولی در امتداد خطی با طول ٤۰۰ میکرومتر (مساحتی حدود $0/160 mm^2$) از ناحیه CA3 هیپوکامپ راست رت‌ها انجام شد. فقط سلول‌های نامنظم و تیره که هسته و هستک مشخص نداشتند به عنوان سلول‌های مرده در نظر گرفته و شمارش شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به دست آمده بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شدند. به منظور بررسی نرمال‌بودن توزیع از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه تفاوت بین گروه‌ها از آزمون واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد. هنگامی که تفاوت معناداری وجود داشت، آزمون تعقیبی دانت تی-۳ یا آزمون تعقیبی شفه برای تعیین اینکه تفاوت در کدام گروه‌ها رخ داده است، مورد استفاده قرار گرفت. هنگامی که همگنی واریانس برقرار بود، آزمون تعقیبی شفه استفاده شد. در غیر این صورت، از آزمون تعقیبی دانت تی- ۳ استفاده شد. سطح معنی‌داری $p\leq ۰/۰۵$ تعیین شد. همه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS-16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

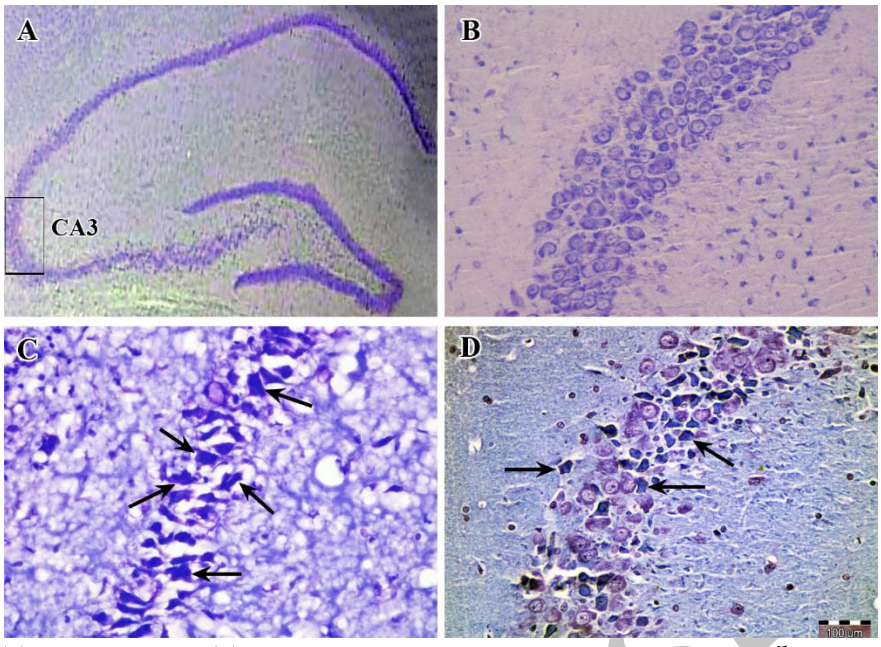
یافته‌ها

شرطی‌سازی اولیه با فعالیت ورزشی مرگ سلولی ناشی از ایسکمی- ریپرفیوژن را در ناحیه CA3 هیپوکامپ کاهش می‌دهد. نتایج رنگ‌آمیزی نیسل نشان داد که در ناحیه CA3 هیپوکامپ موش‌های ایسکمیک، سلول‌ها نامنظم و تیره بوده و هسته و هستک آنها نامشخص بود (شکل ۱).

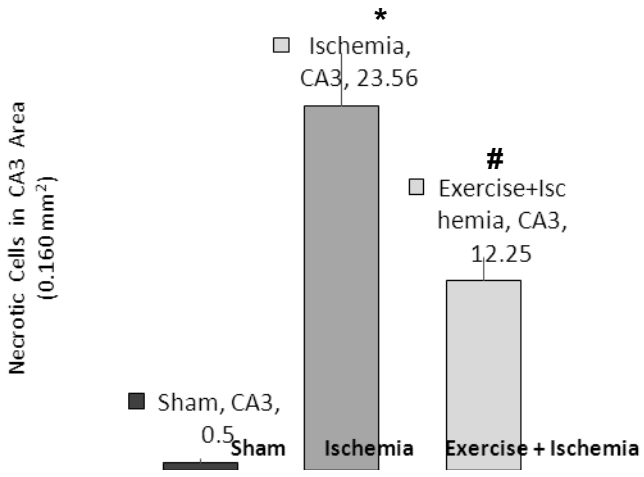
براساس نتایج بدست آمده، ایسکمی‌گذرای مغزی موجب مرگ نکروزی در نورون‌های ناحیه CA3 هیپوکامپ شد (۱۳/۵۶۹±۲۳/۵۶ عدد سلول نکروز شده). میزان مرگ سلولی در گروه ایسکمی در مقایسه با گروه شم که مرگ سلولی چندانی را در ناحیه CA3 نشان نداد (۰/۵±۰/۸۱۶ عدد سلول نکروز شده)، از نظر آماری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۰۱$). در موش‌های ایسکمیک پیش شرطی‌سازی شده با ورزش، تعداد نورون‌های نکروز شده (۶/۰۱۷±۱۲/۲۵) نسبت به گروه ایسکمی کاهش معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$) (نمودار ۱).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱. فتومیکروگراف‌های رنگ‌آمیزی نیسل در ناحیه CA3 هیپوکامپ پس از ایسکمی گذرای مغزی. (A) ناحیه CA3 هیپوکامپ، (B) گروه شم، (C) گروه ایسکمی، (D) گروه ورزش+ ایسکمی (فلش‌های سیاه سلول‌های نکروزی را نشان می‌دهند، بزرگنمایی٤٠٠x).



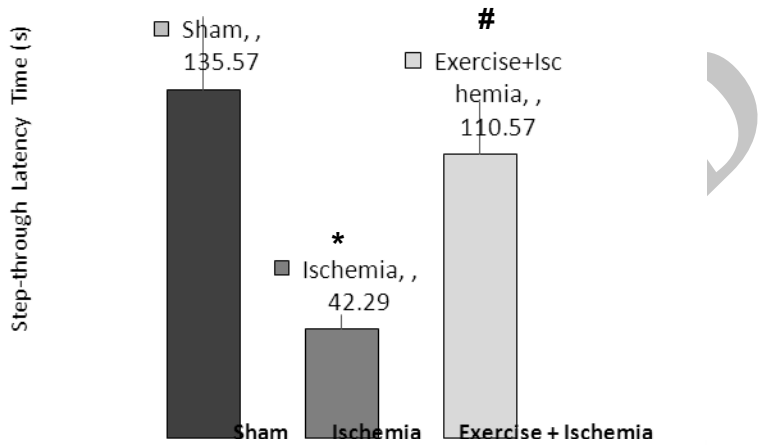
نمودار ۱. مقایسه میانگین مرگ سلولی نکروزی در ناحیه CA3 هیپوکامپ در گروه‌های مختلف (* وجود تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شم (p<۰/۰۰۱) # وجود تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شم (p<۰/۰۰۱) و گروه ایسکمی (p<۰/۰۵))

شرطی‌سازی اولیه با ورزش اختلال ناشی از ایسکمی در حافظه را بهبود می‌بخشد.

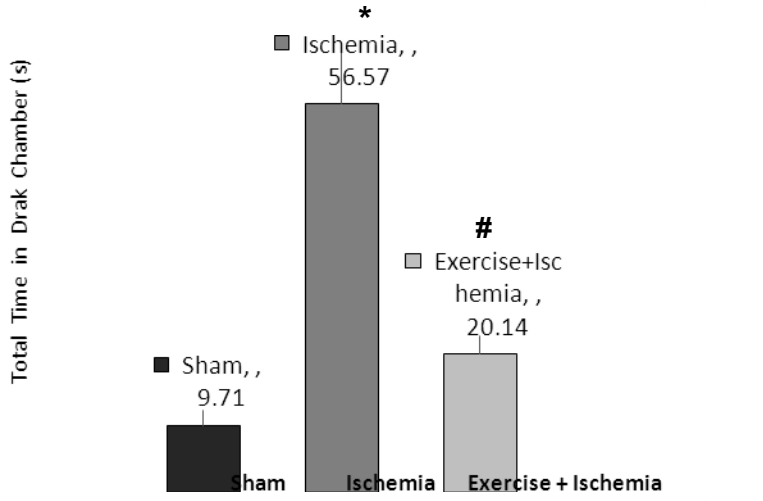
تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمون حافظه احترازی غیرفعال نشان داد که در مرحله آموزش، زمان تأخیر در ورود به محفظه تاریک در هر سه گروه به طور متوسط کمتر از ۲۰ ثانیه بود. در مرحله یادداری، تفاوت معنی‌داری در تأخیر در ورود به محفظه تاریک بین گروه‌ها مشاهده شد. گروه شم بالاترین میزان تأخیر در ورود به محفظه تاریک را نشان داد. همچنین، کاهش قابل توجهی در مدت زمان تأخیر در ورود به محفظه تاریک در گروه ایسکمی (٤٢/٢٩±١٤/٦٧١ ثانیه) در مقایسه با گروه شم (١٣٥/٥٧±٧٥/١٧٥ ثانیه) مشاهده شد (p<۰/۰۵). این میزان تأخیر در گروه ورزش

www.SID.ir

(۵۴/۵۹۵±۱۱۰/۵۷ ثانیه) در مقایسه با گروه ایسکمی، به طور قابل توجهی افزایش یافت ($p<۰/۰۵$، نمودار ۲). نمودار ۳ اثر شرطی‌سازی اولیه با فعالیت ورزشی روی کل زمان سپری شده در محفظه تاریک در طول مرحله یادداری را نشان می‌دهد. تجزیه و تحلیل داده‌ها، افزایش در زمان سپری شده در محفظه تاریک در گروه ایسکمی (۲۲/۳۸۱±۵۶/۵۷ ثانیه) در مقایسه با گروه شم (۵/۹۳۶±۹/۷۱ ثانیه) را نشان می‌دهد ($p<۰/۰۱$). این پاسخ در گروه ورزش (۷/۱۰۴±۲۰/۱۴ ثانیه) در مقایسه با گروه ایسکمی، کاهش قابل توجهی را نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$). این بدان معنی است که شرطی‌سازی اولیه با فعالیت ورزشی می‌تواند اختلال ناشی از ایسکمی در حافظه کوتاه مدت را بهبود بخشد.



نمودار ۲. آزمون حافظه احترازی غیرفعال؛ میانگین مدت زمان تأخیر در ورود به محفظه تاریک (برحسب ثانیه) در مرحله یادداری در گروه‌های مختلف (* وجود تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شم ($p<۰/۰۵$) # وجود تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه ایسکمی ($p<۰/۰۵$))



نمودار ۳. آزمون حافظه احترازی غیرفعال؛ میانگین زمان سپری شده در محفظه تاریک (بر حسب ثانیه) در مرحله یادداری در گروه‌های مختلف (* وجود تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شم ($p<۰/۰۱$) # وجود تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شم ($p<۰/۰۵$) و گروه ایسکمی ($p<۰/۰۵$))

بحث

به منظور مطالعه اثرات حفاظتی پیش درمانی فعالیت ورزشی، در این مطالعه محققین اثر شرطی‌سازی اولیه با یک دوره فعالیت ورزشی استقامتی روی میزان مرگ سلولی در نورون‌های ناحیه CA3 هیپوکامپ و همچنین میزان اختلال در حافظه به

www.SID.ir

دنبال ایسکمی‌گذرای مغزی را در موش‌های صحرایی نر مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی نیسل نشان داد که شرطی‌سازی اولیه با فعالیت ورزشی به طور قابل توجهی مرگ سلولی نکروزی ناشی از ایسکمی در نورون‌های ناحیه CA3 هیپوکامپ را کاهش می‌دهد. همچنین نتایج نشان داد که فعالیت ورزشی، اختلال در حافظه احترازی غیرفعال در موش‌های ایسکمیک را به میزان قابل توجهی بهبود می‌بخشد. بطور کلی یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که شرطی‌سازی اولیه با فعالیت ورزشی، با کاهش مرگ سلولی نورون‌های ناحیه CA3 هیپوکامپ، می‌تواند اختلال ناشی از ایسکمی در حافظه کوتاه مدت را بهبود بخشد. مکانیسم‌های اساسی این اثرات نوروپروتکتیو فعالیت ورزشی هنوز بطور کامل شناخته نشده است. مشخص شده است که فعالیت ورزشی از طریق کاهش عوامل خطر موجب حفاظت از نورون‌ها در برابر آسیب ایسکمی- جریان مجدد خواهد شد. همچنین نشان داده شده است که ورزش یک اثر حفاظتی نورونی درون‌زا ایجاد می‌کند که موجب زنده ماندن نورون‌ها در مقابل آسیب‌های ناشی از ایسکمی- جریان مجدد خواهد شد [۱۵،۱٤]. جیا[1] و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که تمرین روی تردمیل می‌تواند از انشعابات نورون‌های جسم مخطط در برابر آسیب ایسکمیک محافظت کند [۱۶].

کینازهای تنظیم شونده با سیگنال خارج سلولی (ERK1/2) در مسیرهای پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن (MAPK) درگیر هستند [۱۷]. مسیرهای تنظیمی ERK1/2 در هدایت سیگنالی و محافظت از سیستم عصبی در برابر آسیب‌های ایسکمی- جریان مجدد حیاتی هستند. نشان داده شده است که فعال‌سازی این کینازهای تنظیمی می‌تواند موجب ترمیم بافت آسیب‌دیده ناشی از آسیب ایسکمی- جریان مجدد و در نتیجه کاهش مرگ سلولی شود [۱۸،۱۹]. به علاوه به نظر می‌رسد شرطی‌سازی اولیه با ورزش موجب تنظیم افزایشی ERK1/2 و در نتیجه افزایش میزان تحمل نورون‌ها در شرایط ایسکمی و هیپوکسی خواهد شد [۲۰]. مکانیسم احتمالی دیگر در زمینه قابلیت نوروپروتکتیو فعالیت ورزشی می‌تواند کاهش تشکیل رادیکال‌های آزاد باشد. گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در زنجیره انتقال الکترون میتوکندری به عنوان 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 ROS، نقش بسیار مهمی در آبشار ایسکمی بازی می‌کند [۲۱]. با توجه به مطالعات قبلی، مشخص شده است که ورزش فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد، همچنین موجب افزایش بیان پروتئین آنتی‌اکسیدانی CuZn-SOD در موش‌ها می‌شود [۲۲]. فاکتور نکروز تومور آلفا (TNFα) سایتوکاین پیش التهابی آسیب‌رسان مهم است که در سراسر جریان خون وجود دارد و به دنبال سکته و آسیب‌های مغزی تنظیم افزایشی می‌شود [۲۳]. با وجود اثرات التهابی و مضر آن، شواهدی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد TNFα به عنوان یک فاکتور مفید در ترمیم بافت و محافظت از سلول‌های عصبی عمل می‌کند [۲٤]. به علاوه، پس از یک دوره طولانی پیش‌شرطی‌سازی با فعالیت ورزشی، این سایتوکاین ممکن است به عنوان یک فاکتور نوروپروتکتیو درون‌زا عمل کند. اعتقاد بر این است که تمرین ورزشی موجب افزایش اندکی در غلظت TNFα خواهد شد که در نهایت موجب تعدیل آسیب‌ها به دنبال افزایش شدید TNFα در طول ایسکمی- جریان مجدد و افزایش تحمل سلول‌های عصبی خواهد شد. مکانیسم‌های اساسی این تصویر پیچیده از TNFα هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است، اما تصور می‌شود که بیان گیرنده‌های TNFα ممکن است در این مسئله نقش داشته باشد. مطالعات قبلی نشان

[1] Jia

Archive of SID

www.SID.ir

داده‌اند که افزایش اندک و مزمن سطح TNFα به دلیل فعالیت ورزشی موجب کاهش بیان گیرنده TNFα پس از ایسکمی- جریان مجدد خواهد شد [۲۵]. اثرات نوروپروتکتیو فعالیت ورزشی در بخشی دیگر از طریق تنظیم افزایشی بیان نوروتروفین‌ها، مانند فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز[1] (BDNF) و فاکتور رشد عصب[2] (NGF)، صورت می‌گیرد. این پروتئین‌های تنظیمی مهم موجب افزایش نوروژنز شده و با فراهم‌کردن یک شبکه عصبی گسترده‌تر، موجب افزایش قابلیت احیا (رژنراسیون) سلول‌های عصبی می‌شوند [۲۷،۲۶]. نشان داده شده است که سطوح ژنی BDNF و NGF پس از چند هفته ورزش مداوم، تنظیم افزایشی می‌شوند [۲۸]. تنظیم افزایشی این پروتئین‌ها پس از ورزش، موجب افزایش نوروژنز می‌شود که در مقابل آسیب‌های ناشی از ایسکمی- جریان مجدد نقش محافظتی دارد. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که در موش‌های پیش‌شرطی‌سازی شده با ورزش، سطوح BDNF و NGF به دنبال آسیب‌های ناشی از ایسکمی- جریان مجدد افزایش می‌یابد، که با کاهش اختلالات نورولوژیکی و کاهش حجم ضایعه همراه خواهد بود [۲۹].

نتیجه‌گیری

بطور کلی، مطالعه حاضر نشان داد که تمرین ورزشی پیش از ایسکمی به طور قابل توجهی مرگ سلولی نورون‌های ناحیه CA3 هیپوکامپ را کاهش می‌دهد. همچنین شرطی‌سازی اولیه با فعالیت ورزشی می‌تواند اختلال ناشی از ایسکمی در حافظه کوتاه مدت را به میزان قابل توجهی بهبود بخشد. به‌طور قابل توجهی این مطالعه نشان داد که فعالیت ورزشی، زمانی‌که به عنوان محرک پیش‌شرطی‌ساز استفاده می‌شود، اثرات محافظتی را در برابر ایسکمی به دنبال خواهد شد. این مکانیسم‌های حفاظتی نورونی فعالیت ورزشی، یک دیدگاه درمانی نوین را فراهم می‌کند و می‌تواند به عنوان یک روش مؤثر در کاهش عوارض مغزی ناشی از ایسکمی مورد توجه قرار گیرد.

[1] Brain-Derived Neurotrophic Factor
[2] Nerve Growth Factor

References

1- Wang Y, Qin ZH. Molecular and cellular mechanisms of excitotoxic neuronal death. Apoptosis. 2010 Nov;15(11):1382-402.

2- Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. Trends Neurosci. 1999 Sep;22(9):391-7.

3- Zheng YQ, Liu JX, Li XZ, Xu L, Xu YG. RNA interference-mediated downregulation of Beclin1 attenuates cerebral ischemic injury in rats. Acta Pharmacol Sin. 2009 Jul; 30(7):919–27.

4- Albasser MM, Amin E, Lin T-CE, Iordanova MD, Aggleton JP. Evidence that the rat hippocampus has contrasting roles in object recognition memory and object recency memory. Behav Neurosci. 2012 Oct;126(5):659-69.

5- 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;63:39-58.

6- 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 May; 54(1):69-92.

7- Smith ML, Auer RN, Siesjö BK. The density and distribution of ischemic brain injury in the rat following 2–10 min of forebrain ischemia. Acta Neuropathol. 1984;64(4):319-32.

8- Chaudhry K, Rogers R, Guo M, Lai Q, Goel G, Liebelt B, et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) expression and extracellular signal-regulated kinase 1 and 2 (ERK1/2) activation in exercise-reduced neuronal apoptosis after stroke. Neurosci lett. 2010 Apr; 474(2):109-14.

9- Ding Y-H, Ding Y, Li J, Bessert DA, Rafols JA. Exercise pre-conditioning strengthens brain microvascular integrity in a rat stroke model. Neurol Res. 2006 Mar;28(2):184-9.

Archive of SID

www.SID.ir

10- Zhang P, Zhang Q, Pu H, Wu Y, Bai Y, Vosler P, et al. Very early-initiated physical rehabilitation protects against ischemic brain injury. Front Biosci (Elite Ed). 2011 Jun;4:2476-89.
11- 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 May;56(1):237-43.
12- Aboutaleb N, Kalalianmoghaddam 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 Ther. 2014 Jun;20(2):127-32.
13- Kiernan JA. Histological, Histochemical Methods. 3rd Ed. Oxford: Butterworth-Heinemann; 1999: 262-93.
14- Zwagerman N, Plumlee C, Guthikonda M, Ding Y. Toll-like receptor-4 and cytokine cascade in stroke after exercise. Neurol Res. 2010 Mar;32(2):123-6.
15- Liebelt B, Papapetrou P, Ali A, Guo M, Ji X, Peng C, et al. Exercise preconditioning reduces neuronal apoptosis in stroke by up-regulating heat shock protein-70 (heat shock protein-72) and extracellular-signal-regulated-kinase 1/2. Neuroscience. 2010 Apr;166(4):1091-100.
16. Jia J, Hu Y-S, Wu Y, Liu G, Yu H-X, Zheng Q-P, et al. Pre-ischemic treadmill training affects glutamate and gamma aminobutyric acid levels in the striatal dialysate of a rat model of cerebral ischemia. Life sciences. 2009 Apr;84(15):505-11.
17- Sharony R, Pintucci G, Saunders PC, Grossi EA, Baumann FG, Galloway AC, et al. Matrix metalloproteinase expression in vein grafts: role of inflammatory mediators and extracellular signal-regulated kinases-1 and-2. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2006 Apr;290(4):H1651-H9.
18- Cavanaugh JE. Role of extracellular signal regulated kinase 5 in neuronal survival. Eur J Biochem. 2004 Jun;271(11):2056-9.
19- Hetman M, Gozdz A. Role of extracellular signal regulated kinases 1 and 2 in neuronal survival. Eur J Biochem. 2004 Jun;271(11):2050-5.
20- Jones NM, Bergeron M. Hypoxia-induced ischemic tolerance in neonatal rat brain involves enhanced ERK1/2 signaling. J Neurochem. 2004 Apr;89(1):157-67.
21- Chan PH. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. J Cereb Blood Flow Metab. 2001 Jan;21(1):2-14.
22- Hoffman-Goetz L, Spagnuolo P. Effect of repeated exercise stress on caspase 3, Bcl-2, HSP 70 and CuZn-SOD protein expression in mouse intestinal lymphocytes. J Neuroimmunol. 2007 Jul;187(1):94-101.
23- Sairanen T, Lindsberg P, Brenner M, Carpen O, Sirén AL. Differential cellular expression of tumor necrosis factor-α and Type I tumor necrosis factor receptor after transient global forebrain ischemia. J Neurol Sci. 2001 May;186(1-2):87-99.
24- Wang RY, Yang YR, Yu SM. Protective effects of treadmill training on infarction in rats. Brain Res. 2001 Des;922(1):140-3.
25- Reyes R Jr, Wu Y, Lai Q, Mrizek M, Berger J, Jimenez DF, et al. Early inflammatory response in rat brain after peripheral thermal injury. Neurosci Lett. 2006 Oct;407(1):11-5.
26- Kuipers SD, Bramham CR. Brain-derived neurotrophic factor mechanisms and function in adult synaptic plasticity: new insights and implications for therapy. Curr Opin Drug Discov Devel. 2006 Sep;9(5):580-6.
27- Cohen-Cory S, Kidane AH, Shirkey NJ, Marshak S. Brain-derived neurotrophic factor and the development of structural neuronal connectivity: Dev Neurobiol. 2010 Apr;70(5):271-88.
28- Ding YH, Luan XD, Li J, Rafols JA, Guthikonda M, Diaz FG, et al. Exercise-induced overexpression of angiogenic factors and reduction of ischemia/reperfusion injury in stroke: Curr Neurovasc Res. 2004 Dec;1(5):411-20.
29- Ang ET, Wong PT, Moochhala S, Ng YK. Neuroprotection associated with running: is it a result of increased endogenous neurotrophic factors? Neuroscience. 2003 May;118(2):335-45.

Archive of SID

www.SID.ir