DOI: 10.22122/jims.v39i615.13725 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و نهم/شماره‌ی ۶۱۵/هفته‌ی سوم اردیبهشت ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۹/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۲۴ تاریخ چاپ: ۱۴۰۰/۲/۲۱

تأثیر محافظتی ورزش بر عامل رشد عصبی در ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ پس از سکته‌ی ایسکمیک مغزی در موش صحرایی نر

مهدی صیدیوسفی[۱]، زینب کدخدا[۲]، سمانه جدیدی[۳]، نسرین عبدی کیکانلو[۱]، مهلا محمدزاده[۴]، زینب فغفوری[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: ایسکمی مغزی باعث ایجاد آسیب‌های ساختاری و عملکردی برگشت ناپذیری در نواحی خاصی از مغز به ویژه هیپوکامپ خواهد شد. شواهد نشان می‌دهد که فعالیت‌های ورزشی ممکن است ضایعات ناشی از ایسکمی مغزی را کاهش دهند. هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر محافظتی تمرین ورزشی بر بیان پروتئین عامل رشد عصبی (Nerve growth factor یا NGF) در ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ به دنبال سکته‌ی ایسکمیک مغزی در موش صحرایی نر است.

روش‌ها: تعداد ۲۴ سر موش نر Wistar با وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم به طور تصادفی انتخاب و به سه گروه (شم، ایسکمی/شاهد و ایسکمی/مورد) تقسیم شدند. Ratهای گروه مورد به مدت ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته بر روی تردمیل دویدند. ایسکمی به روش انسداد کاروتید مشترک به مدت ۴۵ دقیقه ایجاد شد. از رنگ‌آمیزی Nissl جهت بررسی میزان مرگ سلولی و جهت ارزیابی بهبود وضعیت عملکردی و حرکتی، از آزمون Ladder استفاده شد. به علاوه، بیان پروتئین NGF به روش ایمونوهیستوشیمی مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: ایسکمی مغزی، باعث افزایش اختلالات عملکردی و میزان مرگ نورون‌های ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ شد. در مقابل، تمرین ورزشی پس از آسیب ایسکمی باعث کاهش چشم‌گیر در مرگ سلولی و بهبود عملکرد حسی- حرکتی می‌شود. همچنین، بیان پروتئین NGF در گروه مورد نسبت گروه شاهد بیشتر بالاتر بود ($P < ۰/۰۵۰$).

نتیجه‌گیری: زمانی که تمرین ورزشی استقامتی به عنوان روشی درمانی و توان‌بخشی پس از ایسکمیک مغزی تجویز شود، اثرات معنی‌داری بر افزایش بیان پروتئین NGF می‌گذارد و احتمال دارد از این طریق، موجب کاهش سلول‌های مرده و نیز بهبود عملکرد حرکتی گردد.

واژگان کلیدی: ورزش؛ سکته‌ی ایسکمی مغزی؛ عامل رشد عصبی

ارجاع: صیدیوسفی مهدی، کدخدا زینب، جدیدی سمانه، عبدی کیکانلو نسرین، محمدزاده مهلا، فغفوری زینب. **تأثیر محافظتی ورزش بر عامل رشد عصبی در ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ پس از سکته‌ی ایسکمیک مغزی در موش صحرایی نر.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۰؛ ۳۹ (۶۱۵): ۱۴۱-۱۳۴.

مقدمه

ایسکمی مغزی، یکی از جدی‌ترین اختلالات عصبی و شایع‌ترین علت معلولیت دایمی در سراسر جهان است (۱). نشان داده شده است ناحیه‌ی هیپوکامپ، حساس‌ترین ناحیه‌ی مغز نسبت به ایسکمی است و پس از ایسکمی، خسارت قابل ملاحظه‌ای در ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ ایجاد می‌شود (۲) که اغلب منجر به کاهش طولانی مدت عملکرد شناختی و یادگیری حرکتی می‌شود و به طور قابل توجهی به کاهش کیفیت زندگی بیماران می‌انجامد (۳).

در حال حاضر، هیچ روش درمانی تأیید شده‌ای برای بازیابی عملکرد حرکتی پس از آسیب سکته‌ی مغزی در دسترس نیست (۴). امروزه، تمرینات استقامتی بر روی تردمیل را یکی از رایج‌ترین روش‌های توان‌بخشی دانسته‌اند و آن را جهت بهبود ناتوانی‌های جسمانی و کاهش ضایعات مغزی پس از سکته‌ی اسکمیک مغزی توصیه کرده‌اند (۵) که به طور قابل توجهی هماهنگی حرکتی و نقص

۱- دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران

۲- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران

۳- گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی علوم انسانی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

۴- دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، پردیس البرز، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۵- دکتری تخصصی تغذیه، مرکز تحقیقات سلامت غذایی (نمک)، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: زینب فغفوری؛ دکتری تخصصی تغذیه، مرکز تحقیقات سلامت غذایی (نمک)، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

Email: zfaghfoori@gmail.com

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

عصبی را بهبود (۶) و با تقویت نوروژنز، قابلیت پلاستیسیته‌ی سیناپسی و بهبود اختلالات حرکتی و شناختی از طریق مسیرهای احتمالی مانند بیان عوامل نوروتروفیک پس از سکته‌ی ایسکمیک مغزی بهبود می‌بخشد (۷). به علاوه، نشان داده‌اند تمرین استقامتی بر روی تردمیل بیان عامل رشد عصبی (Nerve growth factor یا NGF) را پس از آسیب ایسکمی به میزان زیادی افزایش و به میزان زیادی حجم ضایعه‌ی مغزی را کاهش خواهد داد (۸) که این توانایی افزایشی NGF برای بقا و تکامل سلول‌های عصبی بسیار ضروری است (۹).

با این وجود، هنوز تأثیر تمرینات ورزشی بر ضایعات ناشی از ایسکمیک مغزی ناشناخته است و ورزش در کنار مزایایی که دارد، می‌تواند نقشی مضر را پس از سکته‌ی ایسکمی به همراه داشته باشد. تمرینات استقامتی پس از سکته‌ی ایسکمی، آسیب بافت کورتکس را تشدید خواهد کرد (۱۰) و با افزایش سیتوکین‌های التهابی و استرس اکسیداتیو، ضایعات مغزی را افزایش خواهد داد (۱۱) و یا با فعال‌سازی نیتریک اکساید سنتتاز و هایپرگلیکولیز در مراحل اوایل پس از ایسکمی، باعث افزایش آپوپتوز سلولی می‌شود (۱۲).

بنابراین، در خصوص تأثیر تمرینات ورزشی پس از سکته‌ی ایسکمیک مغزی ابهاماتی وجود دارد که نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی تأثیر تمرینات استقامتی بر روی تردمیل در کاهش حجم ضایعه در نورون‌های ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ و بازیابی عملکرد شناختی و یادگیری حرکتی و بیان پروتیین NGF پس از سکته‌ی ایسکمیک مغزی انجام شد.

روش‌ها

حیوانات: ۲۴ سر موش صحرایی بالغ نژاد Wistar برای این مطالعه خریداری و در قفس‌های استاندارد و در محیط کنترل شده (با چرخه‌ی روشنایی/تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت ۲۴-۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد) با دسترسی آزادانه به غذا و آب نگهداری شدند. موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به گروه‌های شم، شاهد (ایسکمی/کنترل) و مورد (ایسکمی/تمرین) تقسیم شدند. این مطالعه توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی سمنان (IR.SEMNAN.REC.1397.057) تأیید و تمامی آزمایش‌ها بر اساس توصیه‌های ارایه شده توسط شورای کانادایی مراقبت از حیوانات (Canadian Council on Animal Care یا CCAC) انجام شد.

القای ایسکمی مغزی: جهت القای سکته‌ی ایسکمیک مغزی، ابتدا موش‌ها با استفاده از کتامین زایلازین (با دز ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. سپس، هر دو شریان کاروتید مشترک (Common carotid arterial یا CCA) از صفحه‌ی کاروتید خود آزاد و عصب واگ به دقت از شریان کاروتید جدا و شریان‌ها به مدت ۴۵ دقیقه مسدود شدند (۱۳). پس از آن، با برداشتن گیره‌ها، شریان‌های کاروتید آزاد و بلافاصله جریان خون برقرار شد. قطع و برقراری مجدد جریان خون در شریان‌های کاروتید با چشم مشاهده و مورد تأیید قرار گرفت. سپس، حیوانات پس از عمل جراحی با دسترسی آزاد به آب و غذا به مدت ۲۴ ساعت جداگانه نگهداری شدند.

شیوه‌نامه‌ی تمرینی: به منظور آشنایی و تمرین‌پذیری Ratها در گروه مورد، در ابتدا ۳ جلسه‌ی تمرین به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه با سرعت ۱۵ متر/دقیقه و شیب صفر درجه بر روی تردمیل مخصوص حیوانات، ۲۴ ساعت پس از القای سکته‌ی ایسکمیک مغزی اجرا شد. سپس، در دوره‌ی اصلی تمرین، برنامه‌ی ۸ هفته‌ای بر روی یک تردمیل ۸ لاینه به مدت ۵ جلسه در هفته طراحی شد. برنامه‌ی تمرینی با سرعت ۱۸ متر/دقیقه به مدت ۳۵ دقیقه و شیب صفر درجه در هفته‌ی اول آغاز شد که به تدریج مدت، شدت تمرین و شیب تردمیل به طور فزاینده‌ای افزایش یافت؛ به طوری که هفته‌ی هشتم، حیوانات به مدت ۵۰ دقیقه و سرعت ۳۰ متر/دقیقه با شیب ۱۰ درجه تمرین خود را به پایان رساندند (۱۴).

آزمون عملکردی: جهت بررسی عملکرد شناختی و یادگیری حرکتی از آزمون استاندارد Ladder (Skilled ladder rung walking test)، قبل و ۲۴ ساعت پس از القای ایسکمی و در پایان آخرین جلسه‌ی تمرینی استفاده شد. برای این منظور، حیوانات بر روی نردبان افقی قرار گرفتند. راه رفتن آن‌ها با استفاده از دوربین فیلم‌برداری (Canon, Japan) با کیفیت بالا ثبت گردید. سپس، در پایان آزمون، تعداد خطاهای هر Rat با مقیاس استاندارد این آزمون مورد تحلیل قرار گرفت (۱۵).

آماده‌سازی بافت: پس از اتمام برنامه‌ی تمرینی، موش‌ها بیهوش شدند. پرفیوژن ترانس‌کاردیاک با ۰/۹ درصد سالین، ۴ درصد پارافرمالدهید در ۰/۱ مولار بافر فسفات (pH = ۷/۴) تثبیت شد. سپس، مغز حیوانات برداشته شد و به مدت ۳ روز در یک تثبیت کننده‌ی مشابه قرار گرفت. از مغز، بلوک‌های پارافینه تهیه شد. سپس با توجه به اطلس پاکسینوس، بخش‌های کرونالی پارافینه برای رنگ‌آمیزی، بین ۳/۳ و ۴/۲ میلی‌متر پشت برگما برش داده شد (۱۶).

بافت‌شناسی: رنگ‌آمیزی Nissl: این رنگ‌آمیزی، به طور معمول برای شناسایی ساختار پایه‌ای نورون‌های سالم از نورون‌های نکروز شده در بافت مغز و طناب نخاعی استفاده می‌شود (۱۷). سه برش ۷ میکرومتری در هر حیوان بر روی لام‌ها انتقال داده شد. سپس، با استفاده از محلول کرزیل ویوله‌ی استات ۰/۱ درصد، رنگ‌آمیزی شدند. پس از آن، لام‌ها خشکانده و با انتالن پوشانده شدند. با استفاده از میکروسکوپ نوری (AX-70 Olympus) با بزرگ‌نمایی ۴۰ و ۱۰۰ ×، از برش‌ها تصویر تهیه شد. پس از تهیه‌ی تصاویر،

شمارش سلولی با استفاده از نرم‌افزار Image J (نسخه‌ی ۱/۴۹) در امتداد خطی با طول ۴۰۰ میکرومتر از ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ حیوانات انجام شد.

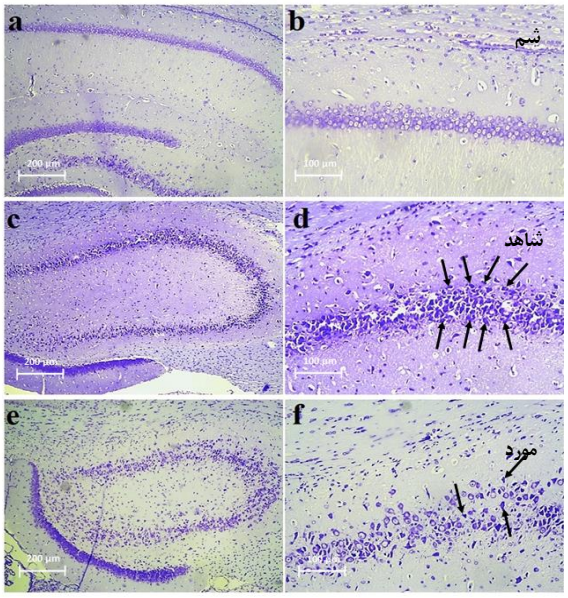
بررسی ایمونوهیستوشیمی: تکنیک ایمونوهیستوشیمی به روش انویژن (Envision) و با استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی NGF با کد (PA1-18373) ساخت شرکت Invitrogen کشور آمریکا انجام شد. با توجه به این که فعالیت نوروتروفیک NGF مربوط به زیر واحد بتای آن می‌باشد، آنتی‌بادی مورد استفاده برای عامل رشد عصبی مربوط به NGF beta است. برای این منظور، نمونه‌ها با Phosphate buffered saline (PBS) در ۴ مرحله و به فاصله‌ی ۵ دقیقه شسته شدند. سپس، به منظور بازیابی آنتی‌ژنی بر روی نمونه‌ها، اسید کلریدریک ۲ نرمال به مدت ۳۰ دقیقه ریخته شد. بافر بورات به منظور خنثی‌سازی اسید به مدت ۵ دقیقه اضافه گردید. سلول‌ها با PBS شسته شدند. در این مرحله، تریتون ۰/۳ درصد به مدت ۳۰ دقیقه به منظور پاره کردن غشای سلول‌ها اضافه و پس از آن بار دیگر بافت‌ها با PBS شستشو داده شدند. در ادامه، سرم بز ۱۰ درصد برای مدت ۳۰ دقیقه اضافه شد. آنتی‌بادی اولیه‌ی رقیق شده (۱ به ۱۰۰) با PBS به نمونه اضافه گردید و بعد از ایجاد یک محیط مرطوب برای جلوگیری از خشک شدن بافت به مدت یک شب درون یخچال با دمای ۸-۲ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. در روز بعد، ظرف حاوی بافت از یخچال خارج شد و سپس ۴ بار و هر بار به مدت ۵ دقیقه با PBS شستشو داده شدند. به نمونه، آنتی‌بادی ثانویه با دقت ۱ به ۱۵۰ اضافه گردید و سپس، در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت و ۳۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شدند. بعد از آن، نمونه از انکوباتور به اتاق تاریک منتقل گردید و بعد از ۴ بار شستشو، به آن‌ها 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) اضافه گردید، سپس بلافاصله برداشته شد و روی نمونه PBS ریخته شد (۱۸).

در نهایت، با استفاده از دوربین از هر اسلاید میکروسکوپیک تصویربرداری صورت گرفت و تصاویر برای بررسی کیفیت واکنش، با نرم‌افزار Image J نسخه‌ی ۱/۴۹ مورد واکاوی قرار گرفتند و به صورت داده‌های رتبه‌ای توصیف شدند.

واکاوی آماری: تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد و داده‌های آماری بین گروه‌ها نیز با استفاده از آزمون ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. روش Tukey نیز به عنوان آزمون تعقیبی استفاده شد. $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

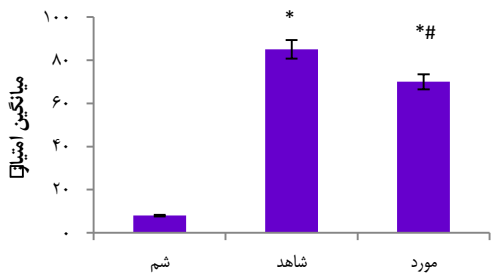
یافته‌ها

یافته‌های مربوط به مرگ سلولی: نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی Nissl نشان داد در موش‌های دچار ایسکمی مغزی، سلول‌های ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ، ظاهری نامنظم و تیره داشتند و هسته و هستک آن‌ها نامشخص بود (شکل ۱).



شکل ۱. رنگ‌آمیزی Nissl در ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ. A و b) گروه شم، c و d) گروه شاهد (ایسکمی/تمرین)، e و f) گروه مورد (ایسکمی/تمرین). (بزرگ‌نمایی ۴۰ × [a,c,e]) و (بزرگ‌نمایی ۱۰۰ × [b,d,f]). (فلش‌های سیاه سلول‌های نکروزی را نشان می‌دهند).

بر اساس نتایج به دست آمده، میزان مرگ سلولی در گروه شاهد (۸۷ درصد) در مقایسه با گروه شم (۸ درصد) به طور معنی‌داری بالاتر بود ($P < ۰/۰۰۱$). همچنین، پس از انجام برنامه‌ی تمرینی، مرگ سلولی کاهش یافت؛ به طوری که مشخص شد میزان مرگ سلولی در موش‌های گروه مورد (۶۵/۱ درصد)، نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت ($P < ۰/۰۰۱$) (شکل ۲).

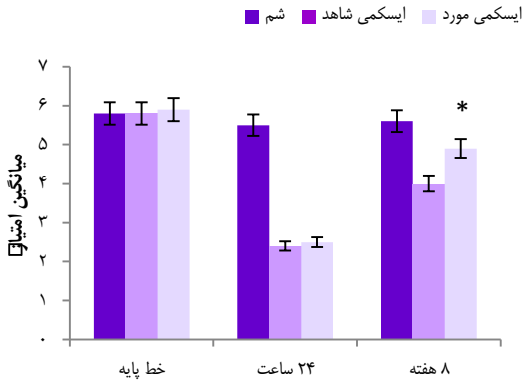


شکل ۲. مقایسه‌ی میانگین مرگ سلولی در ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ در گروه‌های مختلف

* تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شم ($P < ۰/۰۵۰$)

تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد ($P < ۰/۰۵۰$)

یافته‌های مربوط به آزمون عملکردی: نتایج نشان داد ۲۴ ساعت پس از القای سکته‌ی ایسکمیک، امتیاز کسب شده به طور قابل توجهی در گروه‌های ایسکمیک نسبت به گروه شم کاهش یافت ($P < ۰/۰۰۱$). در ادامه مشخص شد پس از اتمام برنامه‌ی تمرینی، نمرات به دست آمد از آزمون Ladder در گروه مورد، نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد ($P < ۰/۰۰۱$) (شکل ۳).



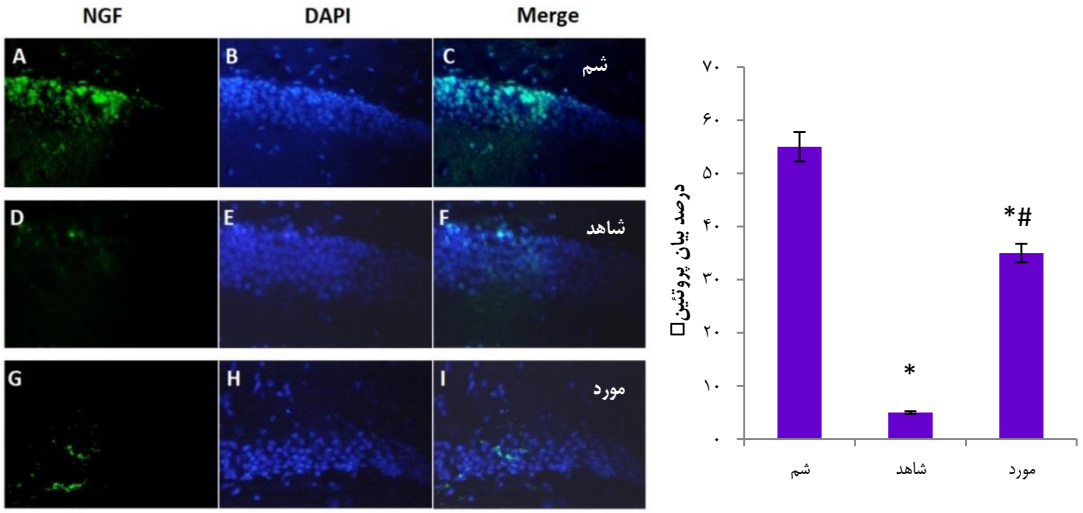
شکل ۳. میانگین امتیاز به دست آمده از آزمون Ladder

* تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد ($P < ۰/۰۵۰$)

یافته‌های مربوط به بررسی بیان NGF: طبق شکل ۴ مشخص شد بیان پروتئین NGF یک الگوی افزایشی دارد. این یافته، نشان می‌دهد که سکته‌ی ایسکمی موجب کاهش معنی‌دار در بیان NGF نسبت به گروه شم شده است ($P < ۰/۰۵۰$). همچنین، مشاهده شد که پس از انجام ورزش، بیان پروتئین NGF روند افزایشی دارد؛ به طوری که بیان NGF در گروه مورد به صورت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد بیشتر بود ($P < ۰/۰۵۰$).

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، مشخص شد که تمرینات استقامتی به دنبال سکته‌ی ایسکمیک مغزی موجب افزایش بیان پروتئین NGF در نورون‌های ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ در موش‌های صحرایی نر شد. مشخص شده است که نورون‌های ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ، حساس‌ترین ناحیه به آسیب ایسکمی هستند؛ به طوری که ۵ دقیقه انسداد شریان کاروتید مشترک (Common carotid arterial occlusion یا CCAO)، باعث ایجاد ایسکمی کامل در ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ می‌شود (۱۹) و در این شرایط، نورون‌ها با کمبود اکسیژن و مواد مغذی مواجه می‌شوند و وقایعی از قبیل اختلال در هموستاز یونی، آزادسازی بیش از حد انتقال دهنده‌های تحریک کننده‌ی عصبی از قبیل گلوتامات، اختلال در عملکرد کانال کلسیم، تولید استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد و التهاب اتفاق خواهند افتاد که به مرگ سلول‌های عصبی می‌انجامد که می‌تواند باعث ایجاد اختلالات دایمی در عملکرد حسی- حرکتی و شناختی می‌شود (۲۱-۲۰).



شکل ۴. درصد بیان Nerve growth factor (NGF) در بررسی ایمونوهیستوشیمیایی

* تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه شم ($P < ۰/۰۵۰$)

تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد ($P < ۰/۰۵۰$).

تصاویر (**A-I**) مربوط به ارزیابی و شمارش سلول‌ها با میکروسکوپ فلوئورسنت با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ × در گروه‌های شم، شاهد (ایسکمی/کنترل) و مورد (ایسکمی/تمرین) می‌باشد. در تمامی گروه‌ها، تصاویر ردیف اول (**A,D,G**) مربوط به اتصال آنتی‌بادی اولیه به **NGF** می‌باشد. تصاویر ردیف دوم (**B,E,H:**) مربوط به رنگ‌آمیزی تمامی هسته‌های سلولی توسط **4',6-diamidino-2-phenylindole** (**DAPI**) می‌باشد (**DAPI**، رنگی فلوئورسنت‌دار است که به مناطق غنی **A-T** در مولکول **DNA** متصل می‌شود) و تصاویر ردیف سوم (**C,F,I**) مربوط به ادغام تصاویر ردیف اول و دوم با هم می‌باشند (پس از رنگ‌آمیزی با **DAPI**، پروتئین **NGF** با استفاده از میکروسکوپ فلوئورسنت به صورت سبز درخشنده در تمامی گروه‌ها مشاهده می‌شود).

در مطالعه‌ی حاضر نیز نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی Nissl نشان داد در گروه شاهد در حدود ۸۷ درصد از جمعیت سلول‌های عصبی ناحیه‌ی CA1 دچار مرگ سلولی شدند. علاوه بر این، مشخص شد که ایسکمی مغزی، باعث ایجاد نقص در عملکرد حسی-حرکتی و شناختی می‌شود. شواهد، کاهش تعداد سلول‌های زنده‌ی عصبی در مناطق مختلف هیپوکامپ را زیربنایی برای کاهش عملکرد شناختی و یادگیری حرکتی دانستند (۲۲). جالب این جا است که در گروه شاهد، با گذشت زمان، نمرات کسب شده‌ی موش‌ها بهبود یافت؛ به طوری که قرار دادن صحیح اندام‌ها در هفته‌ی هشتم نسبت به ۲۴ ساعت پس از القای ایسکمی، دقیق‌تر بود.

مشاهده شده است مغز راهبردهایی را برای جبران خسارات وارده‌ی ناشی از ایسکمی اتخاذ می‌کند. در این باره، Metz و همکاران نشان داده‌اند که بهبود آسیب پس از ایسکمی، وابسته به توسعه‌ی روش‌های جبرانی مغز است (۲۳). همچنین، بهبود ضایعه‌ی مغزی بدون شک با افزایش بیان عوامل نوروتروفیک مانند Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) و NGF مرتبط است (۲۴) و از طریق این عوامل، تکثیر و بقای سلول‌های عصبی (۲۵)، تسهیل در بازسازی و انتقال سیناپسی نورون‌ها و بهبود عملکرد حسی- حرکتی و شناختی پس از آسیب ایسکمی در ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ و در نهایت، کاهش ضایعه‌ی مغزی اتفاق خواهد افتاد (۲۴).

مطالعات، تمرینات استقامتی را یک روش درمانی و توان‌بخشی به دنبال ایسکمی مغزی دانسته‌اند (۲۵-۲۴، ۵). در مطالعه‌ی حاضر نیز مشخص شد پس از تمرین استقامتی، بیان NGF به طور معنی‌داری افزایش و مرگ سلولی و عملکرد حسی- حرکتی و شناختی به دنبال سکته ی ایسکمی بهبود قابل توجهی یافت. در این راستا، نشان داده شده است که ورزش استقامتی به دنبال ایسکمی مغزی، می‌تواند با افزایش بیان نوروتروفین‌ها و عوامل رشدی دیگر، موجب تسهیل در بازسازی نورون‌ها، تشکیل و انتقال سیناپسی و نیز افزایش نوروژنز و آنژیوژنز در مغز گردد که در نهایت، باعث بازیابی سلول های عصبی و وضعیت حسی و عملکرد حرکتی خواهد شد (۲۷-۲۵) و یا ممکن است رشد سلول‌های عصبی را گسترش دهد و موجب بهبود فعالیت‌های عصبی شود (۲۸). Tian و همکاران نیز دریافتند ورزش استقامتی، با بهبود جریان خون مغزی از طریق افزایش تنش برشی لامینار وابسته به اندوتلیوم، باعث کاهش آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال مغزی می‌شود (۲۹). Zhang و همکاران، اظهار داشتند که تمرینات استقامتی از طریق افزایش بیان PGC-1 باعث افزایش بیوژنز میتوکندری پس از آسیب ایسکمیک مغزی خواهد شد (۳۰). علاوه بر این، Gomez-Pinilla و همکاران، مشخص کردند به دنبال ورزش استقامتی، بیان عامل رشد فیبروبلاست، تنظیم افزایشی دارد (۳۱). Koo و همکاران نیز دریافتند که تمرین استقامتی، آسیب ایسکمیک در ناحیه‌ی هیپوکامپ را بهبود می‌بخشد و در نهایت، بهبود عملکرد حسی- حرکتی و شناختی را به همراه خواهد داشت (۲۷).

یکی از چالش‌های کلیدی در مطالعات قبلی، تأثیر زمان شروع ورزش در نتایج توان‌بخشی پس از سکته‌ی مغزی بوده است که باعث ایجاد نتایج متناقضی شده است. در مطالعه‌ی Lee و همکاران، شروع ورزش ۶ ساعت پس از سکته‌ی ایسکمی مغزی، باعث تشدید بیشتر آسیب مغزی شد، اما وقتی ورزش ۲۴ ساعت به تعویق افتاد، از آسیب مغزی جلوگیری شد (۱۱).

همچنین، Zhang و همکاران نیز بیان کردند بهترین زمان برای انجام ورزش در مبتلایان به سکته‌ی ایسکمی، ۲۴ ساعت پس از شروع ایسکمی است (۳۲). بنابراین، زمان شروع ورزش در این مطالعه، ۲۴ ساعت پس از سکته‌ی مغزی انتخاب شد، اما در تناقض با مطالعه‌ی حاضر، زمانی که Shen و همکاران در مطالعه‌ی خود ۲۴ ساعت پس از ایسکمی تمرینات استقامتی تجویز کردند و مرگ سلولی و ضایعات مغزی تشدید شد. آن‌ها فعال‌سازی نیتریک اکساید سنتتاز در مراحل ابتدایی پس از ایسکمی را دلیل تشدید ضایعه‌ی مغزی دانستند (۱۲). به علاوه، Matsuda و همکاران نیز نشان دادند که انجام تمرین استقامتی ۲۴ ساعت پس از ایسکمی، موجب افزایش التهاب و استرس اکسیداتیو پس از ایسکمی خواهد شد (۳۳). حتی Chang و همکاران نیز در مطالعه‌ی خود اشاره داشتند که زمان ۴۸ ساعت بعد از سکته‌ی ایسکمی، مناسب‌ترین زمان برای انجام تمرینات ورزشی استقامتی پس از سکته‌ی ایسکمی خواهد بود و مکانیسم آن را این گونه مطرح و اشاره کردند که ورزش ۴۸ ساعت پس از ایسکمی، موجب افزایش برخی عوامل نوروتروفیک خواهد شد؛ به طوری که با افزایش بیان این عوامل، عملکرد حرکتی و شناختی پس از سکته‌ی ایسکمیک بهبود می‌یابد (۳۴). به همین دلیل و با توجه به وجود این تناقضات، جمع‌بندی واحدی در خصوص تأثیر تمرینات ورزشی پس از سکته‌ی ایسکمیک مغزی مشاهده نشده است.

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر نشان داده شد تمرین استقامتی، اثرات قابل توجهی بر بیان پروتئین NGF و کاهش مرگ سلول‌های عصبی در ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ دارد و در نهایت، باعث بهبود ضایعات مغزی پس از سکته‌ی ایسکمیک مغزی می‌شود. به طور کلی، تمرین ورزشی استقامتی، می تواند راهکارهایی احتمالی را برای مداخلات درمانی در بیماران مبتلا به ایسکمی مغزی فراهم کند و می‌تواند به طور بالقوه جزء اصلی بسیاری از برنامه‌های توان‌بخشی باشد و منافع چشم‌گیری را برای بیماران مبتلا به ایسکمی مغزی فراهم کند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی همکارانی که در انجـام مطالعـه‌ی حاضـر کمـک کرده‌اند، سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Knecht S, Hesse S, Oster P. Rehabilitation after stroke. Dtsch Arztebl Int 2011; 108(36): 600-6.
2. Antonow-Schlorke I, Ehrhardt J, Knieling M. Modification of the ladder rung walking task-new options for analysis of skilled movements. Stroke Res Treat 2013; 2013: 418627.
3. Stroke Unit Trialists' Collaboration. Organised inpatient (stroke unit) care for stroke. Cochrane Database Syst Rev 2013; (9): CD000197.
4. Luft AR, Macko RF, Forrester LW, Villagra F, Ivey F, Sorkin JD, et al. Treadmill exercise activates subcortical neural networks and improves walking after stroke: A randomized controlled trial. Stroke 2008; 39(12): 3341-50.
5. Kesner RP, Adelstein TB, Crutcher KA. Equivalent spatial location memory deficits in rats with medial septum or hippocampal formation lesions and patients with dementia of the Alzheimer's type. Brain Cogn 1989; 9(2): 289-300.
6. Moseley AM, Stark A, Cameron ID, Pollock A. Treadmill training and body weight support for walking after stroke. Stroke 2003; 34(12): 3006.
7. Mizutani K, Sonoda S, Yamada K, Beppu H, Shimpo K. Alteration of protein expression profile following voluntary exercise in the perilesional cortex of rats with focal cerebral infarction. Brain Res 2011; 1416: 61-8.
8. Ang ET, Wong PT, Moochhala S, Ng YK. Neuroprotection associated with running: Is it a result of increased endogenous neurotrophic factors? Neuroscience 2003; 118(2): 335-45.
9. Hassankhani A, Steinhelper ME, Soonpaa MH, Katz EB, Taylor DA, Andrade-Rozental A, et al. Overexpression of NGF within the heart of transgenic mice causes hyperinnervation, cardiac enlargement, and hyperplasia of ectopic cells. Dev Biol 1995; 169(1): 309-21.
10. Xing Y, Yang SD, Dong F, Wang MM, Feng YS, Zhang F. The beneficial role of early exercise training following stroke and possible mechanisms. Life Sci 2018; 198: 32-7.
11. Li F, Geng X, Khan H, Pendy JT, Jr., Peng C, Li X, et al. Exacerbation of brain injury by post-stroke exercise is contingent upon exercise initiation timing. Front Cell Neurosci 2017; 11: 311.
12. Shen J, Huber M, Zhao EY, Peng C, Li F, Li X, et al. Early rehabilitation aggravates brain damage after stroke via enhanced activation of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (NOX). Brain Res 2016; 1648(Pt A): 266-76.
13. Erfani S, Khaksari M, Oryan S, 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.
14. Shamsaei N, Erfani S, Fereidoni M, Shahbazi A. Neuroprotective Effects of exercise on brain edema and neurological movement disorders following the cerebral ischemia and reperfusion in rats. Basic Clin Neurosci 2017; 8(1): 77-84.
15. Metz GA, Whishaw IQ. The ladder rung walking task: A scoring system and its practical application. J Vis Exp 2009; (28): 1204.
16. Keith BJF, Paxinos G. Paxinos and Franklin's the mouse brain in stereotaxic coordinates, compact: The coronal plates and diagrams. 5th ed. San Diego, CA: Academic Press; 2019.
17. Kiernan J. Histological and histochemical methods: Theory and practice. 4th ed. Woodbury, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2008.
18. Hofman F. Immunohistochemistry. Current Protocols in Immunology 2002; 49(1): 21.
19. Sugawara T, Lewen A, Noshita N, Gasche Y, Chan PH. Effects of global ischemia duration on neuronal, astroglial, oligodendroglial, and microglial reactions in the vulnerable hippocampal CA1 subregion in rats. J Neurotrauma 2002; 19(1): 85-98.
20. Fu SH, Zhang HF, Yang ZB, Li TB, Liu B, Lou Z, et al. Alda-1 reduces cerebral ischemia/reperfusion injury in rat through clearance of reactive aldehydes. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 2014; 387(1): 87-94.
21. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicol Pathol 2007; 35(4): 495-516.
22. Dong Z, Bai Y, Wu X, Li H, Gong B, Howland JG, et al. Hippocampal long-term depression mediates spatial reversal learning in the Morris water maze. Neuropharmacology 2013; 64: 65-73.
23. Metz GA, Antonow-Schlorke I, Witte OW. Motor improvements after focal cortical ischemia in adult rats are mediated by compensatory mechanisms. Behav Brain Res 2005; 162(1): 71-82.
24. Teixeira AL, Barbosa IG, Diniz BS, Kummer A. Circulating levels of brain-derived neurotrophic factor: Correlation with mood, cognition and motor function. Biomark Med 2010; 4(6): 871-87.
25. Xie Q, Cheng J, Pan G, Wu S, Hu Q, Jiang H, et al. Treadmill exercise ameliorates focal cerebral ischemia/reperfusion-induced neurological deficit by promoting dendritic modification and synaptic plasticity via upregulating caveolin-1/VEGF signaling pathways. Exp Neurol 2019; 313: 60-78.
26. Pang Q, Zhang H, Chen Z, Wu Y, Bai M, Liu Y, et al. Role of caveolin-1/vascular endothelial growth factor pathway in basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis and neurogenesis after treadmill training following focal cerebral ischemia in rats. Brain Res 2017; 1663: 9-19.
27. Koo HM, Lee SM, Kim MH. Spontaneous wheel running exercise induces brain recovery via neurotrophin-3 expression following experimental

traumatic brain injury in rats. J Phys Ther Sci 2013; 25(9): 1103-7.
28. Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. Eur J Neurosci 2004; 20(10): 2580-90.
29. Tian S, Zhang Y, Tian S, Yang X, Yu K, Zhang Y, et al. Early exercise training improves ischemic outcome in rats by cerebral hemodynamics. Brain Res 2013; 1533: 114-21.
30. Zhang P, Xianglei J, Hongbo Y, Zhang J, Xu C. Neuroprotection of early locomotor exercise poststroke: Evidence from animal studies. Can J Neurol Sci 2015; 42(4): 213-20.
31. Gomez-Pinilla F, Dao L, So V. Physical exercise induces FGF-2 and its mRNA in the hippocampus. Brain Res 1997; 764(1-2): 1-8.
32. Zhang P, Yu H, Zhou N, Zhang J, Wu Y, Zhang Y, et al. Early exercise improves cerebral blood flow through increased angiogenesis in experimental stroke rat model. J Neuroeng Rehabil 2013; 10: 43.
33. Matsuda F, Sakakima H, Yoshida Y. The effects of early exercise on brain damage and recovery after focal cerebral infarction in rats. Acta Physiol (Oxf) 2011; 201(2): 275-87.
34. Chang MC, Park CR, Rhie SH, Shim WH, Kim DY. Early treadmill exercise increases macrophage migration inhibitory factor expression after cerebral ischemia/reperfusion. Neural Regen Res 2019; 14(7): 1230-6.

DOI: *10.22122/jims.v39i615.13725* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 39, No. 615, 3rd Week, May 2021**

Received: 28.11.2020 Accepted: 13.01.2021 Published: 19.05.2021

Protective Effect of Exercise on Nerve Growth Factor in the Hippocampal CA1 Region Following Ischemic Stroke in Male Rat

Mehdi Seydyousefi[1], Zeinab Kadkhoda[2], Samaneh Jadidi[3], Nasrin Abdi-Keykanlo[1], Mahla Mohammadzadeh[4], Zeinab Faghfoori[5]

Original Article

Abstract

Background: Brain ischemia causes irreversible structural and functional damages to specific parts of brain particularly the hippocampus. There are evidences that show exercise training may decrease the damages inflected on brain. The purpose of this research was to examine the effect of exercise training on nerve growth factor (NGF) in hippocampus CA1 region following cerebral ischemia stroke in male Wistar Rats.

Methods: 24 male Wistar rats weighing 250-300 g were randomly assigned into three groups including Sham, Ischemia/Control, and Ischemia/Exercise. The rats in the exercise groups ran on a rat treadmill for 45 minutes per day five days a week for 8 consecutive weeks. Common carotid artery occlusion procedure was employed for 45 minutes to induce ischemia. Cresyl violet (Nissl) was used to neuronal death, and ladder rung walking test was used to evaluate motor and functional recovery. In addition, NGF protein expression was assayed by immunohistochemistry.

Findings: Brain ischemia increased neuron death in CA1 region in hippocampus and impaired motor performance on the ladder rung task. In contrast, post-ischemic exercise considerably reduced neuron death and improved skilled motor performance. In addition, NGF protein expression was significantly higher in ischemic/exercise group than the ischemic/control group ($P < 0.05$).

Conclusion: When exercise is prescribed as a treatment and rehabilitation method after cerebral ischemia, it had significant effects on increasing NGF protein expression, and may reduce dead cells, and improve motor function.

Keywords: Exercise; Ischemic stroke; Nerve growth factor

Citation: Seydyousefi M, Kadkhoda Z, Jadidi S, Abdi-Keykanlo N, Mohammadzadeh M, Faghfoori Z. **Protective Effect of Exercise on Nerve Growth Factor in the Hippocampal CA1 Region Following Ischemic Stroke in Male Rat.** J Isfahan Med Sch 2021; 39(615): 134-41.

1- PhD in Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran
2- Department of Physical Education and Sport Sciences, Nishabur Branch, Islamic Azad University, Nishabur, Iran
3- Department of Sport Sciences, School of Human Sciences, Semnan University, Semnan, Iran
4- PhD in Exercise Physiology, Alborz Campus, University of Tehran, Karaj, Iran
5- PhD in Nutrition, Food Safety Research Center (Salt), Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
Corresponding Author: Zeinab Faghfoori, PhD in Nutrition, Food Safety Research Center (Salt), Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran; Email: zfaghfoori@gmail.com