اثر تمرینات پیش‌آماده‌سازی بر ضایعات مغزی در هیپوکامپ به دنبال سکته‌ی ایسکمیک مغزی/ ریپرفیوژن در موش صحرایی

بهزاد دهقانی‌زاده[۱]، ضیاء فلاح محمدی[۲*]، عبدالحسین طاهری کلانی[۳]، سیدجواد میرغنی[۴]

۱-دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۲-دانشیار، فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۳-استادیار، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایلام، ایلام، ایران

۴-دکتری فیزیولوژی ورزشی، موسسه تحقیقات شهید میرغنی، گلستان، گرگان، ایران

یافته / دوره ۲۳ / شماره ۱ / ویژه نامه ۱۴۰۰

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۵/۳۱ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۸/۱۲

مقدمه: ایسکمی/ ریپرفیوژن مغزی، سبب آسیب در ساختار و عملکرد در ناحیه هیپوکامپ می‌شود. پیش‌آماده‌سازی ورزشی می‌تواند یک روش کارآمد در پیشگیری از ایجاد سکته مغزی یا کاهش در میزان آسیب ناشی از آن باشد. هدف از این پژوهش، بررسی اثر ۸ هفته تمرین پیش‌آماده‌سازی استقامتی بر کاهش مرگ سلولی ناحیه‌ی کورنو امموئنیس-۱ هیپوکامپ و فاکتور التهابی به دنبال ایسکمی/ ریپرفیوژن مغزی در موش صحرایی نر ویستار بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۳۲ سَر موش صحرایی نر به طور تصادفی به چهار گروه (شم، تمرین، ایسکمی و تمرین+ ایسکمی) تقسیم شدند. حیوانات گروه تمرین و ایسکمی ۵ روز در هفته به مدت ۸ هفته روی نوارگردان دویدند. ایسکمی با انسداد هر دو سرخرگ کاروتید مشترک به مدت ۴۵ دقیقه ایجاد شد. از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین آئوزین جهت بررسی میزان مرگ سلولی و برای بیان پروتئین فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا (TNF-α) از روش ایمونوهیستوشیمی استفاده شد.

یافته‌ها: تعداد سلول‌های عصبی آپوپتوز در ناحیه کورنو امموئنیس-۱ هیپوکامپ در گروه ایسکمی در مقایسه با گروه شم و تمرین+ ایسکمی به‌طور معناداری بیشتر بود. همچنین، در گروه تمرین+ ایسکمی تعداد مرگ سلولی ناشی از ایسکمی و بیان پروتئین TNF-α به‌طور معناداری کمتر از گروه ایسکمی بود ($p < ۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به نظر می‌رسد، پیش‌آماده‌سازی اجباری روی نوارگردان می‌تواند به عنوان یک محرک حفاظت کننده موجب کاهش مرگ سلولی و التهاب شود.

واژه‌های کلیدی: پیش‌آماده‌سازی، ایسکمی، مرگ سلولی، فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا.

*آدرس مکاتبه: بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم ورزش، گروه فیزیولوژی ورزش.

پست الکترونیک: zia-falm@umz.ac.ir

مقدمه

سکته ایسکمیک مغزی ISC (Ischemic stroke cerebral) یکی از بیماری‌های مهم مغزی- عروقی است که دارای عوارض بالایی در مرگ‌ومیر و ناتوانی‌های متعاقب آن می‌باشد (۱). به دنبال ISC عوامل پاتوفیزیولوژیک مانند التهاب فعال می‌شود (۲). معمولاً اعتقاد بر این بود که التهاب تنها یک واکنش طبیعی به آسیب بافتی می‌باشد، درحالی‌که مدارک رو به رشد، آن را به عنوان یک عامل کلیدی مشارکت‌کننده در بیماری‌های مغزی- عروقی به‌ویژه ISC معرفی کرده‌اند (۳). امروزه مشخص شده است که پس از سکته، مغز مورد تأثیر التهاب قرار می‌گیرد. برای شکل‌گیری یک پاسخ ایمنی موثر، سلول‌های التهابی و سلول‌های دیگر مشارکت دارند. واکنش‌های پیچیده بین این سلول‌های وابسته به سایتوکاین است که نوروپاتولوژیست‌ها برای تعیین سن تقریبی ضایعات مغزی- عروقی از آن استفاده می‌کنند (۴).

فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا (TNF-α) از جمله سایتوکین‌های پیش‌التهابی آسیب‌رسان مهم می‌باشد که در سراسر خون وجود دارد. عموماً میزان خون‌رسانی مجدد پس از ISC کمتر از میزان طبیعی است که ناشی از آسیب عروق‌ریز یا انسداد عروق است (۵). نشان داده شده است که TNF-α به دنبال سکته‌ی مغزی تنظیم افزایشی دارد که این افزایش سبب اختلال در جریان خون عروق مغزی، یکپارچگی واحد عصبی- عروقی و در نهایت مرگ سلولی می‌گردد (۶). آپوپتوز نوعی از مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده است که با خون‌ریزی سیتوپلاسمی، تراکم کروماتین و قطعه قطعه شدن دئوکسی ریبو نوکلئیک اسید به اختصار دی‌اِن‌اِی (DNA) مشخص می‌شود (۷).

یک مطالعه کوهورت آینده‌نگر بالینی پیش‌بینی کرده است که کم‌تحرکی خطرات زیادی در وابستگی در قبل و بعد از ISC به همراه دارد (۸). با توجه به اینکه عوامل خطر ISC شامل موارد قابل اصلاح (کلسترول خون بالا، فشار خون و قند خون بالا، چاقی و سیگار کشیدن) و غیرقابل اصلاح (سن، سابقه خانوادگی، جنسیت و نژاد) هستند، ضروری است از راه کاهش عوامل خطر قابل اصلاح و تا حدودی غیرقابل اصلاح، در پیشگیری و درمان به بیماران کمک کرد (۱۰، ۹). در سال‌های اخیر از ورزش به عنوان یک روش کارآمد در کاهش آسیب ایسکمی و عوارض ناشی از محدودیت جریان خون مغزی استفاده می‌شود. بنابراین اجرای تمرینات پیش‌آماده‌سازی، ممکن است سبب حفاظت عصبی و کنترل بهتر در بیماران ISC شود (۱۱).

پژوهش‌ها نشان داده‌اند که مرگ سلول‌های آپوپتوتیک ناشی از فعال‌شدن گیرنده‌های TNF-α بر روی نورون‌ها، باعث ایجاد آبشار آپوپتوزی و در نهایت مرگ سلولی می‌شود (۱۲، ۱۳). طاهری‌چادرنشین و همکاران (۲۰۱۵)، شیروانی و همکاران (۲۰۱۵)، فوادالدینی و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعات خود نشان دادند که تمرین ورزشی سبب افزایش غلظت TNF-α شد (۱۶، ۱۵، ۱۴). از سوی دیگر، احمدی و طاهری‌کلانی (۲۰۲۰) و ژانگ و همکاران (۲۰۱۶)، تغییری را در سطح TNF-α به دنبال تمرین ورزشی نشان ندادند (۶، ۱۷). لذا با توجه به این نتایج و ماهیت سکته به عنوان یک رویداد ناگهانی و غیرقابل پیش‌بینی در افراد دارای فعالیت یا بدون فعالیت و همچنین ابهام در مکانیسم‌های حفاظتی ناشی از ورزش به خصوص در ارتباط با مرگ سلول عصبی، پروهش حاضر به دنبال این است که تا چه میزان افراد را می‌توان با اجرای تمرینات ورزشی از مرگ سلولی مصون کرد. ازاین‌رو، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ۸ هفته تمرین پیش-آماده‌سازی استقامتی بر میزان بیان پروتئین TNF-α و آپوپتوز در ناحیه‌ی هیپوکمپ با ایسکمی ریپرفیوژن در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار اجرا شد.

مواد و روش‌ها

روش پژوهش حاضر تجربی بود که با طرح پس‌آزمون با گروه کنترل اجرا شد. جامعه مورد مطالعه، ۳۲ سَر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار بود که در یک محیط کنترل شده (با رطوبت ۲۲-۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت) با دسترسی آزاد به غذا و آب نگهداری شدند. رت‌های صحرایی به صورت تصادفی ساده به ۴ گروه تقسیم شدند که شامل ۱- گروه شم (۸ = n) جهت تعیین آثار داروی بی‌هوشی و بدون القای ایسکمی، ۲- تمرین بدون ایسکمی (n=۸) فقط به اجرای پروتکل پرداختند، ۳- کنترل با ایسکمی (n=۸) حیوانات فقط تحت عمل جراحی و القای ایسکمی قرار گرفتند و ۴- تمرین با ایسکمی (n=۸) که قبل از القای ایسکمی مغزی، حیوانات به مدت ۸ هفته به انجام تمرینات استقامتی بر روی نوارگردان (۱۰ لاین، ساخت پژوهشگاه شهید میرغنی، besrcsm) پرداختند. این مطالعه توسط کمیته اخلاقی دانشگاه مازندران (با کد IR.UMZ.REC.1400.003) تأئید و تمام مراحل آن مطابق بیانیه‌ی هلسینکی انجام شد.

موش‌ها با استفاده از (۱۰ میلی‌گرم زایلازین و ۳۰ میلی‌گرم کتامین) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از راه تزریق درون صفاقی بی‌هوش شدند (۱۸). پس از جداسازی هر دو سرخرگ کاروتید مشترک از صفحه‌ی خود و جدا کردن عصب واگ، شریان به مدت ۴۵ دقیقه با استفاده از گیره جراحی مسدود شدند (۱۹).

برای اجرای پروتکل تمرینی، ابتدا حیوانات جهت آشناسازی با تمرین به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه با سرعت ۱۵ متر/دقیقه و شیب صفر درجه، به مدت دو روز به فعالیت پرداختند، سپس برنامه اصلی اجرا شد. حیوانات در هفته اول ۱۸ متر/دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه و شیب صفر درجه، به مدت ۵ روز در هفته بر روی تردمیل دویدند. مدت و شدت تمرین و همچنین شیب نوارگردان به‌طور فزاینده افزایش یافت به‌طوری که در هفته پایانی حیوانات ۳۰ متر/دقیقه به مدت ۵۰ دقیقه با شیب ۱۰ درجه اجرا کردند. لازم به ذکر است جهت تحریک حیوانات از لمس با دست، جهت پرهیز از استرس استفاده شد (۲۰).

جهت آماده‌سازی بافت، ۴۸ ساعت بعد از ایسکمی، موش‌ها بی‌هوش شدند و پرفیوژن ترانس کاردیاک با ۰/۹ درصد سالین، ۴ درصد پارافرمالدهید در ۰/۱ مولار بافر فسفات (pH=۷/۴) به عنوان فیکساتیو استفاده شد. سپس مغز آنها برداشته شد و به مدت ۳ روز در یک تثبیت کننده مشابه قرار گرفت. از مغز بلوک‌های پارافینه تهیه شد و با استفاده از دستگاه میکروتوم (ساخت کشور آلمان، شرکت لایکا) مقاطع کرونال با ضخامت ۷ میکرومتر تهیه شد. مختصات ناحیه CA1 هیپوکمپ بر اساس اطلس پاکسینوس بین ۴/۲ و ۳/۲ میلی‌متر پشت برگما تهیه شد (۲۱).

برای رنگ‌آمیزی هماتوکسین- آئوزین به‌وسیله‌ی دستگاه میکروتوم، از بلوک‌های پارافینه مقاطع کرونال به ضخامت ۶ میکرومتری برش داده شد و تغییرات هیستومورفولوژیک توسط میکروسکوپ نوری (ای ایکس ۷۰ المپیوس) با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ بررسی گردید. نورون‌های با هسته‌ی روشن، هستک واضح و مشخص و سیتوپلاسم به رنگ صورتی به عنوان زنده و نورون‌های با هسته و هستک نامشخص و سیتوپلاسم به صورت تیره رنگ به عنوان مرده محاسبه شدند (۲۲).

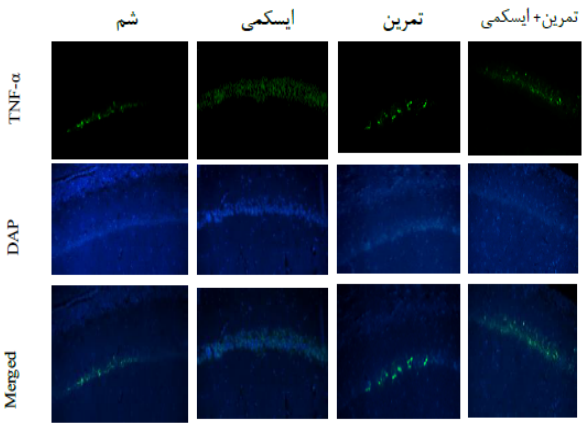
از تکنیک ایمونوهیستوشیمی و با استفاده از آنتی‌بادی اولیه (52B83):sc-52746 جهت اندازه گیری بیان پروتئین TNF-α استفاده شد. به طور خلاصه، نمونه‌ها در چندین مرحله با محلول نمکی فسفات (PBS) شسته شدند. آنتی‌بادی ثانویه با رقت ۱: ۱۵۰ به نمونه اضافه شد و سپس نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت و ۳۰ دقیقه انکوبه شدند. سپس نمونه از دستگاه جوجه‌کشی به اتاق تاریک منتقل شد و پس از ۴ بار

شستشو، DAPI پس از ۵ دقیقه به دنبال PBS اضافه شد (۲۳). سرانجام، از هر اسلاید عکس گرفته شده و با استفاده از نرم‌افزار ImageJ (نسخه ۱/۴۹، NIH) تجزیه و تحلیل شد.

با استفاده از آزمون شاپیرو- ویلک و لون طبیعی بودن توزیع داده‌ها و همگنی واریانس‌ها مورد بررسی قرار گرفت. برای مقایسه تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه (ANOVA) استفاده شد. همچنین از آزمون تعقیبی توکی برای تعیین اینکه تفاوت در کدام گروه‌ها رخ داده است، در سطح معناداری p<۰/۰۵ به کار رفت.

یافته‌ها

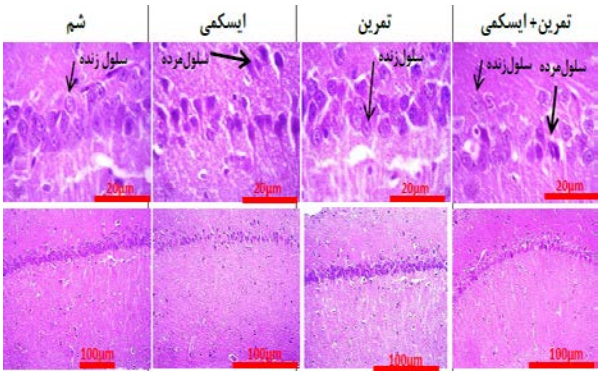
نتایج نشان داد، بین میزان بیان پروتئین TNF-α در ناحیه CA1 هیپوکامپ مغزی بین گروه‌ها تفاوت معناداری وجود داشت (p <۰/۰۰۱). آزمون تعقیبی توکی نشان داد، میزان بیان پروتئین TNF-α در گروه تمرین+ ایسکمی به‌طور معناداری نسبت به گروه ایسکمی کمتر بود (p < ۰/۰۰۱)، اما بین دو گروه تمرین و شم تفاوت معناداری وجود نداشت (p>۰/۰۵) (شکل ۱).



شکل ۱. ارزیابی و شمارش سلول‌ها در گروه‌های شم، ایسکمی، تمرین و گروه تمرین+ ایسکمی. تصاویر ردیف بالا مربوط به اتصال آنتی‌بادی اولیه به پروتئین TNF-α در همه گروه‌ها. ردیف وسط مربوط به رنگ آمیزی تمامی هسته های سلولی با استفاده 4′,6-diamindino-2-phenylindole (DAPI) می‌باشد. تصاویر ردیف پایین مربوط به ترکیب تصاویر بالا و وسط می‌باشد که توسط میکروسکوپ فلورسانت با بزرگ‌نمایی ۴۰۰×، واکنش‌پذیری و بیان سلول‌ها مورد ارزیابی و شمارش شدند.

بر اساس نتایج بدست آمده از تصاویر گروه شم و تمرین مشخص شد که جمعیت سلول‌های نورونی در هیپوکامپ به صورت زنده مشاهده شد و دارای انسجام و ترتیب مشخصی بود که در مقایسه این دو گروه باهم اختلاف معناداری مشاهده نشد. در این گروه‌ها درصد کمی از نورون‌ها در حدود ۵ الی ۱۰ درصد دچار مرگ شده بودند.

بررسی تصاویر مربوط به گروه ایسکمی نشان داد، مناطق مختلف هیپوکمپ از انسجام و ترتیب مشخصی برخوردار نبود، این به هم ریختگی بافتی در بخش CA1 نسبت به سایر مناطق بیشتر دیده شد به طوری که به دلیل حذف‌شدگی برخی از سلول‌های مرده و آپوپتوز شده نسبت جمعیت سلولی به سایر گروه‌های مورد بررسی کاهش یافته بود. میزان مرگ سلولی در این گروه نسبت به سایر گروه‌ها به‌صورت معناداری افزایش یافته و در حدود ۶۵ الی ۷۰ درصد بود. از طرفی نتایج نشان داد، در گروه تمرین ایسکمی، این ناحیه نسبت به گروه ایسکمی بهبود نسبی یافته بود به‌طوری که نسبت جمعیت سلولی افزایش معناداری را به لحاظ کیفی نشان داد. در این گروه‌ها حدود ۲۰ الی ۲۵ درصد از نورون‌ها دچار مرگ شده بودند (شکل ۲).



شکل ۲. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین سلول‌های ناحیه‌ی CA1 هیپوکمپ در گروه‌های شم، ایسکمی، تمرین، تمرین+ ایسکمی. سلول‌های زنده با هسته‌ی روشن، هستک واضح و سیتوپلاسم صورتی و سلول‌های مرده با هسته و هستک نامشخص و سیتوپلاسم به صورت تیره رنگ قابل مشاهده هستند.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که به دنبال القای ایسکمی، بیان پروتئین TNF-α در ناحیه‌ی CA1 هیپوکمپ افزایش معناداری داشت، اما تمرین پیش‌آماده-سازی استقامتی باعث کاهش معنادار بیان پروتئین TNF-α در گروه تمرین+ ایسکمی گردید و متعاقب این کاهش میزان آپوپتوز نیز تقلیل داشت. این نتایج نشان دهنده آثار مفید و سودمند تمرین پیش‌آماده‌سازی استقامتی از راه تعدیل عوامل التهابی و کاهش مرگ سلولی است.

به دنبال ایسکمی اختلالات پیچیده‌ای در نواحی مربوطه رخ می‌دهد که از جمله می‌توان به التهاب اشاره نمود. این عامل در صورت بروز مداوم یا بیش از حد، منجر به ایجاد آسیب‌های جدی در بافت شده و در نهایت مرگ نورون‌ها را به دنبال دارد (۲۴). ناحیه‌ی ایسکمی مغزی با پاسخ التهابی مانند تولید سایتوکین TNF-α همراه است، به‌طوری که دست‌کم ۲۴ ساعت پس از بروز ایسکمی در بافت آسیب‌دیده مغز افزایش یافته و تا چندین هفته قابل مشاهده است (۲۶، ۲۵). در سطوح پاتوفیزیولوژیکی نشان داده شده است که TNF-α نه تنها در بروز نکروز، بلکه در تنظیم کاسپازها و سایر فاکتورهای آپوپتوز نیز نقش دارد (۲۷، ۲۸). از سوی دیگر، نقش محافظت عصبی برای TNF-α مشتق شده از میکروگلیا در ایسکمی مغزی شناسایی شده است (۱۳). بااین‌وجود، عملکرد TNF-α در ایسکمی مغز بحث‌برانگیز است، مسیرهای مرگ سلولی بسته به ارسال پیام مرگ سلولی از مسیر داخلی (میتوکندریایی) و خارجی (رسپتورها) متفاوت است. میزان مرگ سلولی توسط رسپتورها شدیدتر از مسیر میتوکندریایی است. مهم‌ترین مسیر رسپتورهای مرگ سلولی، خانواده رسپتوری TNF-α است (۲۹).

نشان داده شده است که آسیب به سلول‌های عصبی توسط ایسکمی مغزی و هجوم سمیت سلولی در موش‌ها افزایش یافته است (۳۰). این آثار شامل افزایش استرس اکسیداتیو و مهار فعال‌سازی میکروگلیایی ناشی از آسیب است که گیرنده TNF، یعنی p۵۵ و p۷۵ را در این آثار دخیل می‌داند (۳۱). مطالعات نشان داده‌اند که فعال‌شدن گیرنده-۱ TNF بر روی نورون‌ها آبشار کاسپازی ۳ و ۸ را درگیر می‌کند که منجر به مرگ سلول‌های آپوپتوزی می‌گردد (۱۳، ۳۲). گرچه در پژوهش حاضر، سطح کاسپاز ۳ و ۸ اندازه‌گیری نشد که از محدودیت‌های آن به شمار می‌رود.

برخی از عوامل آسیب عصبی مانند هیپوکسی و ایسکمی با افزایش‌گیرنده (آلفا- آمینو- ۳- هیدروکسی- ۵- متیل- ۴-ایزوآلوکسازول پروپانوئیک اسید) AMPAی گلوتامات همراه است. همین‌طور گزارش شده که سهم پاتولوژیک TNF-α در آسیب عصبی، دست‌کم تا حدی ممکن است ناشی از توانایی آن در تقویت سمیت عصبی از راه تحریک گلوتامات باشد. TNF-α باعث تخلیه سریع گیرنده‌های AMPA در سلول‌های هرمی هیپوکامپ شده و برعکس سبب آندوسیتوز گیرنده‌های گاما آمینوبوتیریک اسید (GABAA) می‌گردد، در نتیجه گیرنده‌های سطح GABAA کمتری تولید و قدرت بازدارندگی سیناپسی کاهش می‌یابد و بنابراین به‌دلیل سمیت عصبی، تشدید آسیب را به دنبال دارد (۳۳).

داده‌های بالینی هنوز بر سهم احتمالی التهاب در اختلالات مغزی تأکید دارند. گزارش شده است که ورزش به طور مؤثری التهاب را تعدیل می‌کند (۳۴). اگرچه آثار تمرینات ورزشی بر سیستم ایمنی بدن می‌تواند در دستگاه عصبی مرکزی و محیطی متفاوت باشد. همسو با مطالعه حاضر ژانگ و همکاران (۲۰۱۶)، احمدی و طاهری کلانی (۲۰۲۰) کاهش در سطح TNF-α هیپوکامپی را به دنبال اجرای تمرینات هوازی گزارش کردند و این کاهش را به پایین بودن سطح فعالیت گلیاها مرتبط دانستند (۱۷، ۱۸). برعکس در مطالعات دیگری، تمرین ورزشی منجر به

افزایش TNF-α شد (۱۴، ۱۵، ۱۶) که نشان می‌دهد انتخاب نوع تمرین و شاخص‌های آن منجر به نتایج متفاوتی می‌گردد. همچنین در مطالعه خارج از سیستم عصبی گزارش گردید که تمرین هوازی شدید شامل دویدن به مدت ۶۰ دقیقه در روز با سرعت ۲۶ متر در دقیقه و شیب ۱۰ درصد در موش‌ها، سایتوکین‌های ضدالتهابی را افزایش و پیش‌التهابی را کاهش داد (۳۵). به‌طور مشابهی، ۱۰۵ دقیقه دویدن در روز با سرعت ۲۸ متر/ دقیقه باعث افزایش TNF-α در روده و کاهش همزمان آن در هیپوکامپ موش‌های ماده شد (۳۶). همچنین، دویدن به مدت ۶۰ دقیقه در روز با سرعت ۱۲ تا ۲۰ متر در دقیقه منجر به تغییر ماکروفاژهای پیش-التهابی به ضدالتهابی در بافت چربی شد (۳۷)، که نشان دهنده‌ی آثار متفاوت ورزش با شدت‌های مختلف بر تعادل سلول‌های T در آزمودنی‌های سالم یا بیمار است (۳۸، ۳۹). گرچه TNF-α به‌عنوان یک عامل مضر شناخته شده است، اما در بافت عصبی می‌تواند دارای آثار مفیدی نیز باشد (۴۰). در مجموع، بیشتر مطالعات بیانگر آثار مخرب گسترده TNF-α بر عملکرد سلول‌های گلیالی و عصبی در طی بروز ایسکمی مغزی هستند. تخریب سلولی ممکن است به‌طور مستقیم، از راه فعال‌سازی گیرنده TNF و مسیرهای سیگنالینگ مرگ سلولی متعاقب آن، یا غیرمستقیم با افزایش مسمومیت با تحریک گلوتامات میانجی‌گری شود. به‌طورکلی، داده‌های متقاعد کننده‌ای وجود دارد که از هر دو اثر مخرب و محافظتی TNF-α در ایسکمی مغز پشتیبانی می‌کند (۴۱).

پروتکل تمرینی مورد استفاده در این پژوهش موجب کاهش میزان بیان TNF-α و آپوپتوز گردید، درحالی‌که سکته ایسکمی مغزی با افزایش معنادار این فاکتورها همراه بود. بنابراین، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که اجرای تمرینات پیش‌آماده‌سازی استقامتی می‌تواند منجر به کاهش مرگ سلولی ناشی از ایسکمی و TNF-α شود. گرچه، به مطالعات بیشتری برای مشخص شدن محدوده احتمالی شدت، مدت، تعداد جلسات و نوع (هوازی یا بی-هوازی) تمرینات ورزشی نیاز است که برای القای پاسخ‌های موردنظر در برابر آسیب‌های ناشی از ایسکمی مغزی لازم است.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر برگرفته از رساله‌ی دکتری آقای بهزاد دهقانی‌زاده، در دانشکده علوم ورزشی دانشگاه مازندران می‌باشد. بدین وسیله از همه کسانی که ما را در اجرای این پژوهش کمک کردند، تشکر و قدرانی می‌گردد.

References

1. Norrving B, Kissela B. The global burden of stroke and need for a continuum of care. Neurology. 2013; 80:S5-12.
2. Mattson MP, Duan W, Pedersen WA, Culmsee C. Neurodegenerative disorders and ischemic brain diseases. Apoptosis. 2001; 6(1):69-81.
3. Moskowitz MA, Lo EH, Iadecola C. The science of stroke: Mechanisms in search of treatments. Neuron. 2010; 67(2):181-98.
4. Pascual M, Baliño P, Aragón CM, Guerri C. Cytokines and chemokines as biomarkers of ethanol-induced neuroinflammation and anxiety-related behavior: role of TLR4 and TLR2. Neuropharmacology. 2015; 89:352-9.
5. Farajzadeh D, Karimi-Gharigh S, Dastmalchi S. Tumor necrosis factor-alpha and its inhibition strategies. Tehran University Medical Journal. 2017; 75(3):159-71.
6. Ahmadi R, Taheri Kalani A. Changes of tumor necrosis factor-alpha gene expression in hippocampus of rats after brain stroke and endurance training. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2020; 10(1):2012-9. (In Persian).
7. Honardoost M, Soleimanjahi H, Rajaei F. Apoptosis: programmed cell death. Journal of Inflammatory Disease. 2013; 17(3):48-57. (In Persian).
8. Rist PM, Capistrant BD, Mayeda ER, Liu SY, Glymour MM. Physical activity, but not body mass index, predicts less disability before and after stroke. Neurology. 2017; 88(18):1718-26.
9. Terashi T, Otsuka S, Takada S, Nakanishi K, Ueda K, Sumizono M, Kikuchi K, Sakakima H. Neuroprotective effects of different frequency preconditioning exercise on neuronal apoptosis after focal brain ischemia in rats. Neurological Research. 2019; 41(6):510-8.
10. Lee CD, Folsom AR, Blair SN. Physical activity and stroke risk: A meta-analysis. Stroke. 2003; 34(10):2475-81.
11. Samadi A. Exercise Preconditioning and Neuroprotection: A Review of Mechanisms. The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam. 2015; 1(3):115-130. (In Persian).
12. Kogo J, Takeba Y, Kumai T, Kitaoka Y, Matsumoto N, Ueno S, Kobayashi S. Involvement of TNF-α in glutamate-induced apoptosis in a differentiated neuronal cell line. Brain Research. 2006; 1122(1):201-8.
13. Badiola N, Malagelada C, Llecha N, Hidalgo J, Comella JX, Sabriá J, et al. Activation of caspase-8 by tumour necrosis factor receptor 1 is necessary for caspase-3 activation and apoptosis in oxygen–glucose deprived cultured cortical cells. Neurobiology of Disease. 2009; 35(3):438-47.
14. Taheri Chadorneshin H, Afzalpour ME, Foadodini M, Abtahi H. The Effect of high intensity intermittent trainings on brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor levels in brain of rats. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences. 2015; 22(1):180-8. (In Persian)
15. Shirvani H, Rostamkhani F, Sobhani V. The interactive effect of taurine supplementation

and intensive training protocols on serum inflammatory cytokines (IL-6 and TNF-α) levels in elite soccer players. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology. 2015; 10(3):29-38. (In Persian)

16. Foadoddini M, Afzalpour ME, Taheri Chadorneshin H, Abtahi-Eivary SH. Effect of intensive exercise training and vitamin E supplementation on the content of rat brain neurotrophic factors. Iran Red Crescent Medical Journal. 2018; 20(2): e57298. (In Persian)
17. Zhang Y, Cao RY, Jia X, Li Q, Qiao L, Yan G, Yang J. Treadmill exercise promotes neuroprotection against cerebral ischemia–reperfusion injury via downregulation of pro-inflammatory mediators. Neuropsychiatric Disease and Treatment. 2016; 12:3161.
18. Nadia Sharifi Z, Abolhassani F, Hassanzadeh G, Zarrindast MR, Movassaghi S. Neuroprotective treatment with FK506 reduces hippocampal damage and prevents learning and memory deficits after transient global ischemia in rat. Archives of Neuroscience. 2014; 1(1):35-40.
19. 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. Journal of Molecular Neuroscience. 2015; 56(1):237-43.
20. Seydyousefi M, Moazzami M, Yaghobi A, Faghfoori Z. Impact of early endurance training on improvement of brain damage in CA1 region of Hippocampus and expression of A2A protein following ischemic stroke in rats. Journal of Isfahan Medical School. 2019; 37(526): 485-92. (In Persian)
21. Zwagerman N, Plumlee C, Guthikonda M, Ding Y. Toll-like receptor-4 and cytokine cascade in stroke after exercise. Neurological Research. 2010; 32(2):123-6.
22. Paxinos G, Franklin KB. Paxinos and Franklin's the mouse brain in stereotaxic coordinates. Academic press; 2019 Apr 6.
23. Hofman FM, Taylor CR. Immunohistochemistry. Current Protocols in Immunology. 2013; 103(1):21-4.
24. Fairbanks SL, Brambrink AM. Preconditioning and postconditioning for neuroprotection: the most recent evidence. Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology. 2010; 24(4):521-34.
25. Scarpioni R, Ricardi M, Albertazzi V. Secondary amyloidosis in autoinflammatory diseases and the role of inflammation in renal damage. World journal of nephrology. 2016; 5(1):66.
26. Pawluk H, Woźniak A, Grześk G, Kołodziejska R, Kozakiewicz M, Kopkowska E, et al. The role of selected pro-inflammatory cytokines in pathogenesis of ischemic stroke. Clinical Interventions in Aging. 2020; 15:469.
27. Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor-α signaling in macrophages. Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression. 2010; 20(2).

28. Schneider-Brachert W, Tchikov V, Neumeyer J, Jakob M, Winoto-Morbach S, Held-Feindt J, et al. Compartmentalization of TNF receptor 1 signaling: internalized TNF receptosomes as death signaling vesicles. Immunity. 2004; 21(3):415-28.
29. Lambertsen KL, Clausen BH, Babcock AA, Gregersen R, Fenger C, Nielsen HH, et al. Microglia protect neurons against ischemia by synthesis of tumor necrosis factor. Journal of Neuroscience. 2009; 29(5):1319-30.
30. Viard-Leveugle I, Gaide O, Jankovic D, Feldmeyer L, Kerl K, Pickard C, et al. TNF-α and IFN-γ are potential inducers of Fas-mediated keratinocyte apoptosis through activation of inducible nitric oxide synthase in toxic epidermal necrolysis. Journal of Investigative Dermatology. 2013;133(2):489-98.
31. Von Leden RE, Yauger YJ, Khayrullina G, Byrnes KR. Central nervous system injury and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase: oxidative stress and therapeutic targets. Journal of Neurotrauma. 2017; 34(4):755-64.
32. Wajant H, Siegmund D. TNFR1 and TNFR2 in the control of the life and death balance of macrophages. Frontiers in Cell and Developmental Biology. 2019; 7:91.
33. Stellwagen D, Beattie EC, Seo JY, Malenka RC. Differential regulation of AMPA receptor and GABA receptor trafficking by tumor necrosis factor-α. Journal of Neuroscience. 2005; 25(12):3219-28.
34. Svensson M, Lexell J, Deierborg T. Effects of physical exercise on neuroinflammation, neuroplasticity, neurodegeneration, and behavior: what we can learn from animal models in clinical settings. Neurorehabilitation and Neural Repair. 2015; 29(6):577-89.
35. Liesz A, Suri-Payer E, Veltkamp C, Doerr H, Sommer C, Rivest S, Giese T, Veltkamp R. Regulatory T cells are key cerebroprotective immunomodulators in acute experimental stroke. Nature Medicine. 2009; 15(2):192-9.
36. Pervaiz N, Hoffman-Goetz L. Immune cell inflammatory cytokine responses differ between central and systemic compartments in response to acute exercise in mice. Exercise Immunology Review. 2012; 18: 142-157.
37. Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. Nature Review Immunology. 2011; 11(9): 607-615.
38. McAlees JW, Smith LT, Erbe RS, Jarjoura D, Ponzio NM, Sanders VM. Epigenetic regulation of beta2-adrenergic receptor expression in TH1 and TH2 cells. Brain, Behavior, and Immunity. 2011; 25(3):408-15.
39. Zhao G, Zhou S, Davie A, Su Q. Effects of moderate and high intensity exercise on T1/T2 balance. Exercise Immunology Review. 2012;18.
40. Kawanishi N, Yano H, Yokogawa Y, Suzuki K. Exercise training inhibits inflammation in adipose tissue via both

41. Beldi G, Khosravi M, Abdelgawad ME, Salomon BL, Uzan G, Haouas H, Naserian S. TNFα/TNFR2 signaling pathway: an active immune checkpoint for mesenchymal stem cell immunoregulatory function. Stem Cell Research & Therapy. 2020; 11(1):1-5.

suppression of macrophage infiltration and acceleration of phenotypic switching from M1 to M2 macrophages in high-fat-diet-induced obese mice. Exercise Immunology Review. 2010; 1:16.

Impact of Pre-Conditioning Training on Brain Damage in the Hippocampus Following Ischemic/ Reperfusion Stroke in Rats

Dehghanizadeh B[1], Fallahmohammadi Z[2]*, Taheri Kalani AH[3], Mirghani SJ[4]

1.PhD student of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

2.PhD in Exercise Physiology, Associate Professor of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran, zia-falm@umz.ac.ir.

3.PhD in Exercise Physiology, Assistant Professor of Exercise Physiology, Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Ilam Branch, Islamic Azad University, Ilam, Iran

4.PhD in Exercise Physiology, Assistant Professor of Exercise Physiology, Shahid Mirghani Research Institute, Golestan, Gorgan, Iran

Abstract

Background: Cerebral ischemia/reperfusion causes structural and functional damage in the hippocampus. Pre-conditioning training can be an effective way to prevent or reduce the risk of stroke. The aim of this study was to determine the effect of 8 weeks of pre-conditioning training on diminution of the neurons of CA1 region of hippocampus and the expression of tumor necrosis factor-α (TNF-α) protein following cerebral ischemia/ reperfusion in male rats.

Materials and Methods: Thirty-two male Wistar rats were randomly divided into four groups of sham, training, ischemia and training+ ischemia. The rats in training group were trained to run on a treadmill 5 days a week in 8 weeks before induction of ischemia. Ischemia was induced by blocking both common carotid arteries for 45 minutes. Hematoxylin and eosinophil (H&E) staining and immunohistochemical method were used for neuronal death, and protein expression respectively.

Results: The number of apoptosis neurons in the CA1 area were significantly increased in the ischemia group, compared to the sham and the training group ($p<0.05$). Also, in the training+ ischemia group, the numbers of cell death and expression of TNF-α were significantly lower than ischemia group. ($p<0.05$).

Conclusion: Regarding to the results, it seems that exercise pre-conditioning on treadmill, as a neuroprotective stimulant, would have protective effects against the cell death and the inflammation.

Keywords: Pre-conditioning, Ischemia, Neuronal death, Tumor necrosis factor-α.

Citation: Dehganizadeh B, Fallahmohammadi Z, Taheri Kalani AH, Mirghani SJ. Impact of Pre-Conditioning Training on Improvement of Brain Damage in the Hippocampus Following Ischemic/ Reperfusion Stroke in Rats. Yafte. 2021; 23(1):278-288.