مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره سی، شماره یک، فروردین ۱۴۰۱
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۷

آثار تمرین هوازی بر بیان پروتئین کاسپاز- ۳ و آپوپتوز در هیپوکامپ موش صحرایی متعاقب سکته ایسکمیک مغزی

بهزاد دهقانی‌زاده[۱]، ضیاء فلاح‌محمدی*[۱]، عبدالحسین طاهری کلانی[۲]، سیدجواد میرغنی[۳]

مقاله پژوهشی

مقدمه: اگرچه فعالیت ورزشی یک استراتژی مؤثر برای پیشگیری و درمان سکته مغزی است، به‌نظر می‌رسد میزان این تأثیر به زمان شروع تمرین ورزشی بستگی دارد. آپوپتوز نقش مهمی را پس از سکته مغزی ایفا می‌کند. با این‌حال، مشخص نیست که آیا ورزش زودهنگام پس از سکته مغزی آپوپتوز را مهار می‌کند یا خیر؟ هدف پژوهش حاضر تعیین اثر هشت هفته تمرین هوازی زودهنگام پس از القای سکته مغزی بر بیان پروتئین کاسپاز- ۳ و آپوپتوز در هیپوکامپ موش صحرایی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۳۲ سَر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم) به طور تصادفی به چهار گروه ۸ سَری شامل شَم، ایسکمی، تمرین و ایسکمی+ تمرین تقسیم شدند. برای القای ایسکمی مغزی هر دو سرخرگ کاروتید مشترک (CCA) به مدت ۴۵ دقیقه مسدود شد. تمرین هوازی ۲۴ ساعت پس از القای ایسکمی، طی هشت هفته به مدت ۵۰- ۲۰ دقیقه و با سرعت ۳۰- ۱۸ متر بر دقیقه در هر جلسه و پنج جلسه در هفته اجرا شد. چهل و هشت ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، حیوانات معدوم شده و با استفاده از تکنیک رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی بیان پروتئین کاسپاز- ۳ و به روش هماتوکسیلین- آئوزین میزان آپوپتوز در سطح هیپوکامپی حیوانات اندازه‌گیری شد. از آزمون آماری آنوای یکطرفه و تعقیبی توکی در سطح معناداری ۰/۰۵ برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. نرم‌افزار آماری SPSS version 16 برای آزمون‌های آماری به کار گرفته شد.

نتایج: میزان بیان پروتئین کاسپاز- ۳ و آپوپتوز در سطح هیپوکامپ رت‌های گروه شم و تمرین در مقایسه با گروه‌های ایسکمی و ایسکمی+ تمرین به طور معناداری کمتر بود (در هردو؛ $p<۰/۰۰۰۱$). هم‌چنین، در گروه ایسکمی+ تمرین میزان بیان پروتئین کاسپاز- ۳ و آپوپتوز نسبت به گروه ایسکمی کاهش معناداری را نشان داد ($p<۰/۰۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: با استناد به نتایج این مطالعه می‌توان گفت، هشت هفته تمرین هوازی زودهنگام می‌تواند از راه کاهش بیان عوامل ایجادکننده مرگ سلولی ضایعات ناشی از ایسکمی مغزی را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، ایسکمی، آپوپتوز، هیپوکامپ.

ارجاع: دهقانی‌زاده بهزاد، فلاح‌محمدی ضیاء، طاهری کلانی عبدالحسین، میرغنی سیدجواد. **آثار تمرین هوازی بر بیان پروتئین کاسپاز- ۳ و آپوپتوز در هیپوکامپ موش صحرایی متعاقب سکته ایسکمیک مغزی.** مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۱؛ ۳۰ (۱): ۴۰-۴۴۳۱.

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، مازندران، ایران.
۲- گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایلام، ایلام، ایران.
۳- دکترای فیزیولوژی ورزشی، موسسه تحقیقات شهید میرغنی، گلستان، گرگان، ایران.
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۱۱۳۵۳۰۲۲۱۳، پست الکترونیکی: zia-falm@umz.ac.ir، صندوق پستی: ۴۷۴۱۶۱۳۵۳۴

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9098]

مقدمه

سکته مغزی پنجمین عامل مرگ و میر و یکی از مضرترین و خطرناک‌ترین بیماری‌های جهان معاصر است (۱). عوامل خطر اصلی سکته مغزی شامل فشار خون بالا، دیابت، اختلالات قلبی، کلسترول بالا، مصرف دخانیات، نداشتن فعالیت بدنی و تغذیه نامناسب است (۲). مشخص شده است که حدود ۸۷ درصد سکته‌ها از نوع ایسکمیک می‌باشد. از لحظه آغاز سکته مغزی سیگنال‌های التهابی باعث آزاد شدن الگوهای مولکولی مرتبط با آسیب و عوامل بیماری‌زا از سلول‌های عصبی آسیب دیده می‌گردند که سبب فعال شدن میکروگلیا، آستروسیت‌ها، سلول‌های ایمنی محیطی، تولید سایتوکاین‌ها، افزایش مولکول‌های چسبنده، تخریب سد خونی مغزی و نهایتاً آپوپتوز (Apoptosis) و مرگ سلول در مغز می‌شود (۳). بنابراین، مهار آپوپتوز در مراحل اولیه پس از سکته مغزی می‌تواند یک فرصت مهم برای محافظت از نورون‌ها باشد، و در ادامه حجم انفارکتوس و آسیب مغزی ناشی از ایسکمی مغزی را کاهش دهد. آسیب‌های بافتی متعاقب ایسکمی مغزی از راه تعامل فرایندهای پیچیده پاتوفیزیولوژیک از قبیل آپوپتوز و التهاب به‌وجود می‌آیند (۴). آپوپتوز نوعی از مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده است که با قطعه‌قطعه شدن DNA، تراکم کروماتین و خون‌ریزی سیتوپلاسمی مشخص می‌شود (۵). مشخص شده است که میتوکندری نقش مهمی در بروز آپوپتوز دارد (۶). میتوکندری‌ها حاوی تعدادی پروتئین با عنوان پروتئین‌های پروآپوپتوتیک (apoptotic-pro) مانند AIF (apoptosis inducing factor) و سیتوکروم C هستند. به‌دنبال افزایش نفوذپذیری غشای میتوکندری، آزادسازی سیتوکروم C و دیگر مولکول‌های پروآپوپتوتیک از میتوکندری به سیتوزل سلول انجام می‌گیرد. سیتوکروم C در سیتوزل سلول و با حضور dATP موجب القای تشکیل آپوپتوزوم (apoptosome) کمپلکس ماکرومولکولار حاوی Apaf می‌گردد. آپوپتوزوم نیز باعث جذب و فعال‌شدن پروکاسپاز- ۹ و تسریع فعالیت‌های آن می‌گردد. کاسپاز- ۹ فعال و متصل به آپوپتوزوم نیز به نوبه خود موجب جذب و فعال‌سازی کاسپازهای مجری همچون کاسپاز- ۳ می‌گردد (۷). فعال‌شدن کاسپاز- ۳، قطعه‌قطعه شدن DNA و آپوپتوز سلولی را به‌دنبال دارد (۸). درحالی‌که مهار کاسپاز- ۳، می‌تواند آپوپتوز و مرگ سلولی ناشی از ایسکمی را کاهش دهد (۹). در سال‌های اخیر فعالیت ورزشی به‌عنوان یک روش پیشگیری، توانبخشی و درمانی در بسیاری از بیماری‌ها مورد توجه قرار گرفته است (۱۰). در این زمینه، اجرای تمرینات هوازی منظم بخشی از پیشگیری و درمان سکته مغزی به حساب می‌آید (۱۱). با این‌حال، چالش‌هایی در طراحی پروتکل‌های پیشنهادی تمرینات ورزشی همچون پارامترهای تکرار، شدت، مدت زمان و نوع تمرین به منظور کاهش آسیب و بهبود عملکرد مغز پس از سکته ایسکمی مورد توجه قرار دارند. پیشگیری به وسیله محرک‌های متنوعی چون ایسکمی- هیپوکسی القاء می‌شود ورزش نیز می‌تواند به عنوان محرک پیش‌آماده‌سازی سبب حفاظت عصبی در ایسکمی شود (۱۲). با این وجود برخی مطالعات مزایای عملکردی فعالیت بدنی پس از سکته مغزی را نفی می‌کنند (۱۳). شروع تمرینات بلافاصله بعد از سکته می‌تواند نقش مضری ایفا کند که سبب آسیب جدی به بافت مغز و القاء آپوپتوز سلول شود (۱۳،۱۴). اوج آپوپتوز دستگاه عصبی مرکزی ناشی از ورزش، بعد از ۲۴ ساعت است (۱۵). فعالیت ورزشی زودهنگام (حداکثر تا ۲۴ ساعت) پس از سکته مغزی باعث افزایش مرگ و میر سلول‌های آپوپتوز می‌شود (۱۶). فعالیت ورزشی حتی با شدت کم می‌تواند باعث کاهش آثار زیان‌بار شود (۱۷). سرعت دویدن ۲۵ تا ۳۰ متر در دقیقه و با شدت متوسط تا زیاد سطح کورتیکوسترون را پس از ایسکمی مغزی بالا می‌برد (۱۸،۱۹). در مقابل، گزارش شده که به منظور مهار آپوپتوز شروع فعالیت ورزشی در ۲۴ ساعت پس از سکته ایسکمیک مغزی در مقایسه با ۶، ۱۲، ۴۸ و ۷۲ ساعت آثار درمانی ایده‌ال‌تری به همراه دارد (۲۰). هم‌چنین، نشان داده شده است که ورزش اجباری نسبتاً شدید بلافاصله پس از سکته مغزی (۲۴ تا ۴۸ ساعت) از بافت مغزی در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کند (۲۱). در بیشتر مطالعات مدل پُرخطر ایسکمی گلوبال برای بررسی میزان آسیب‌پذیری در

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9098]

ناحیه هیپوکامپ مورد استفاده قرار می‌گیرد. زیرا ناحیه هیپوکامپ به مدل ایسکمی گلوبال حساسیت بالایی دارد، به‌طوری‌که بعد از ۳ دقیقه انسداد کاروتید مشترک خسارت قابل ملاحظه‌ای در ناحیه CA1 هیپوکمپ ایجاد می‌گردد (۲۲). مطالعات پیشین آثار مثبت پیش‌آماده‌سازی تمرین هوازی بر آسیب‌های مغزی ناشی از سکته ایسکمیک را نشان داده‌اند (۲۳،۲۴)، درحالیکه آثار درمانی تمرین ورزشی به ویژه در شرایط بروز سکته مغزی از راه انسداد سرخرگ مشترک کاروتید کمتر مورد توجه قرار گرفته است. بنابراین، هدف پژوهش حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرین هوازی زودهنگام پس از القای ایسکمی مغزی بر بیان پروتئین کاسپاز- ۳ و آپوپتوز در هیپوکامپ موش صحرایی بود.

روش بررسی

این پژوهش از نوع تجربی با طرح پس‌آزمون با گروه کنترل و استفاده از مدل حیوانی بود. در این مطالعه ۳۲ سَر موش صحرایی‌نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۲-۲۱۰ گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های جدا و در اتاقی با شرایط آرام و بدون استرس در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دمای ۲۴c°-۲۲، رطوبت ۵۰-۴۵ درصد و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. حیوانات به‌طور تصادفی به چهار گروه ۸ سَری به شرح زیر تقسیم شدند: ۱- گروه شَم که جهت کنترل آثار مربوط به بی‌هوشی و القای ایسکمی، تمام مراحل کار جراحی و مراقبت‌های بعد از آن بدون القای ایسکمی انجام شد. ۲- گروه ایسکمی که تحت عمل جراحی و القای ایسکمی قرار گرفته و به‌صورت کنترل شده نگهداری شدند. ۳- گروه تمرین هوازی که تنها به اجرای ۸ هفته تمرین هوازی پرداختند. ۴- گروه ایسکمی+ تمرین هوازی که ۲۴ ساعت پس از جراحی و القای ایسکمی به مدت ۸ هفته تمرین هوازی اجرا کردند. بـرای القای ایسکمی مغزی، ابتدا حیوانات با داروی کتامین (۵۰-۳۰mg/kg) و زایلازین (۳-۵mg/kg) بی‌هوش شدند (۱۰). سپس هر دو سرخرگ کاروتید مشترک از صفحه کاروتید خود آزاد شده، و عصب واگ به دقت از سرخرگ کاروتید جدا گردید. پس از آن هر دو سرخرگ کاروتید مشترک بـه مدت ۴۵ دقیقه با استفاده از گیره‌های جراحی مسدود شدند. پس از آن، با برداشتن گیره‌ها سرخرگ‌های کاروتید آزاد و بلافاصله جریان خون برقرار شد. برقراری مجدد جریان خون در سرخرگ‌های کاروتید با مشاهده تأیید شد. در طول عمل جراحی، درجه حرارت مقعدی حیوانات با اسـتفاده از یک سیستم گرمایش تنظیم بازخوردی در ۰/۵±۳۶/۵ درجه سانتی‌گراد حفظ شد (۲۵). حیوانات پس از القای ایسکمی و جراحی با دسترسی آزاد به آب و غذا به قفس خود بازگردانده شدند. در ادامه حیوانات گروه تمرین، ۲۴ ساعت پس از القای ایسکمی ۸ هفته تمرینات استقامتی منتخب را اجرا کردند. ابتدا گروه تمرینی طی یک هفته و ۳ جلسه متناوب به منظور آشناسازی با فعالیت ورزشی و دستگاه نوارگردان با سرعت ۱۵ متر در دقیقه و به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه تمرین کردند. پس از یک روز استراحت، اجرای پروتکل تمرینی با ۵ جلسه در هفته شروع شد. جهت رعایت اصل اضافه بار در حیوانات گروه تمرین، پروتکل تمرینی با سرعت ۱۸ متر بر دقیقه، مدت ۲۰ دقیقه و شیب صفر درصد در هفته اول شروع و به طور فزاینده به سرعت ۳۰ متر بر دقیقه، به مدت ۵۰ دقیقه با شیب ۱۵ درجه در هفته ۸ رسید. پیش از تمرین اصلی، گرم‌کردن به مدت ۳ دقیقه با شدت ۱۰ متر بر دقیقه و به دنبال آن به مدت ۲ دقیقه با شدت ۱۵ متر بر دقیقه اجرا شد. به منظور سرد کردن پس از اجرای تمرین اصلی، حیوانات به مدت ۱ دقیقه با شدت ۱۵ متر بر دقیقه و سپس مدت ۲ دقیقه با شدت ۱۰ متر بر دقیقه روی نوارگردان دویدند. جهت کاهش استرس در حیوانات از هیچ‌گونه شوک الکتریکی یا محرک دیگری به جز لمس کردن و مالیدن دُم برای تحریک استفاده نشد (۲۶). پس از اتمام دوره تمرینی به منظور از بین بردن آثار حاد فعالیت ورزشی، ۴۸ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمرینی با تزریق درون صفاقی ترکیبی از ماده کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند. پرفیوژن ترانس کاردیاک با سالین ۰/۹ درصد و محلول پارافرمالدهید ۴ درصد در بافر فسفات ۰/۱ مولار (PH=۷/۴) به‌عنوان تثبیت‌کننده انجام شد. در ادامه، مغز حیوانات برداشته شد و به مدت ۷۲ ساعت در تثبیت‌کننده مشابه قرار گرفت. از مغز حیوانات بلوک‌های پارافینه تهیه و با

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9098]

استفاده از میکروتوم مقاطع کرونال با ضخامت ۷ میکرومتر برای رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی فراهم شد. مقاطع بر اساس اطلس پاکسینوس، بین ۳/۳- ۴/۲ میلی‌متر پشت برگما برش داده شد. تعیین میزان بیان پروتئین کاسپاز- ۳ با تکنیک ایمونوهیستوشیمی (۲۵) و استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی اولیه (sc-52746) استفاده شد. در پایان بررسی، تصاویری با استفاده از تصویربرداری میکروسکوپیک (مدل LABOMED ساخت کشور آمریکا) تهیه و برای بررسی کیفیت واکنش، تصاویر با استفاده از نرم‌افزار Image J نسخه ۱/۴۹ مورد تحلیل قرار گرفت. از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- آئوزین برای اندازه‌گیری میزان آپوپتوز استفاده گردید. بدین صورت که توسط دستگاه میکروتوم (مدل Leica ساخت کشور آلمان)، از بلوک‌های پارافینه مقاطع کرونال با ضخامت ۶ میکرومتری آماده و با استفاده از هماتوکسیلین- آئوزین رنگ‌آمیزی شدند و به‌منظور بررسی تغییرات هیستومورفولوژیک توسط میکروسکوپ نوری (مدل LABOMED ساخت کشور آمریکا) با بزرگنمایی ۴۰۰× بررسی شدند. سلول‌های عصبی با غشای هسته‌ای و هستک مشخص به‌عنوان سلول زنده و سلول‌های عصبی با تراکم رنگی بالا، به‌عنوان سلول مرده شمارش شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به‌دست آمده بر اساس میانگین و انحراف معیار گزارش شدند. 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 واریانس یک‌راهه (ANOVA) و نرم‌افزار آماری SPSS version 16 استفاده شد. هنگامی که تفاوت معناداری وجود داشت، آزمون تعقیبی توکی برای تعیین محل تفاوت در سطح معناداری $p<۰/۰۵$ استفاده گردید.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه مازندران تایید شده است (کد اخلاق IR.UMZ.REC.1400.003).

نتایج

نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی (جدول ۱) نشان داد که تفاوت معناداری در میزان بیان پروتئین کاسپاز- ۳ در هیپوکامپ مغزی بین گروه‌ها وجود دارد ($p<۰/۰۰۰۱$). نتایج آزمون تعقیبی توکی (جدول ۲) نشان داد، میزان بیان پروتئین کاسپاز- ۳ در سطح هیپوکامپ آزمودنی‌های گروه شَم و تمرین در مقایسه با گروه‌های ایسکمی و ایسکمی+ تمرین به‌طور معناداری کمتر بود (در همه موارد، $p<۰/۰۰۰۱$). هم‌چنین، در گروه ایسکمی+ تمرین میزان بیان پروتئین کاسپاز- ۳ نسبت به گروه ایسکمی کاهش معناداری را نشان داد ($p<۰/۰۰۰۱$). در حالی‌که، بین دو گروه شَم و تمرین در میزان بیان پروتئین کاسپاز- ۳ تفاوت معناداری وجود نداشت ($p>۰/۳۸۳$). همین‌طور تجزیه و تحلیل رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- آئوزین، بین میزان آپوپتوز در گروه‌های مورد بررسی تفاوت معناداری را نشان داد ($p<۰/۰۰۰۱$). سطح آپوپتوز هیپوکامپ در گروه‌های شَم و تمرین نسبت به گروه‌های ایسکمی و ایسکمی+ تمرین کاهش معناداری را نشان داد (در همه موارد، $p<۰/۰۰۰۱$). هم‌چنین، سطح آپوپتوز در گروه ایسکمی+ تمرین نسبت به گروه ایسکمی به‌طور معناداری کمتر بود ($p<۰/۰۰۰۱$). درحالیکه، بین دو گروه شَم و تمرین در میزان آپوپتوز تفاوت معناداری وجود نداشت ($p>۰/۲۹۵$). در شکل ۱ مقطع عرضی از ناحیه CA1 هیپوکامپ رت‌ها را نشان می‌دهد که با استفاده از هماتوکسیلین- آئوزین رنگ‌آمیزی شده است.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9098]

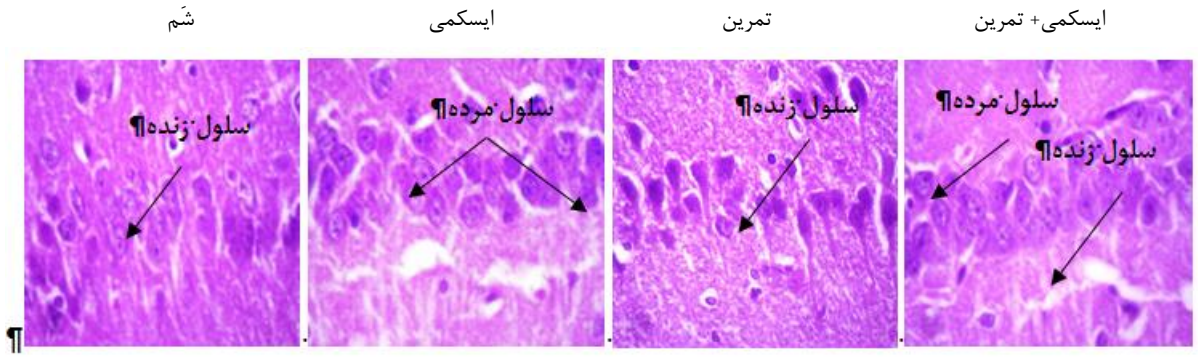
جدول ۱: تغییرات بیان پروتئین کاسپاز- ۳ در گروه‌های مورد بررسی

گروه	بیان پروتئین (٪)	F	p
شم	۱۳/۸۱ ± ۱/۴۷	۴۴/۸۵	*۰/۰۰۰۱
ایسکمی	۶۱/۸۱ ± ۲/۶۸		
تمرین	۱۰/۶۲ ± ۱/۹۱		
ایسکمی+ تمرین	۴۱/۳۴ ± ۱/۰۵		

* تفاوت معنادار در سطح p<۰/۰۵ ANOVA Test

جدول ۲: گزارش آزمون تعقیبی توکی برای سطح معناداری اختلاف بین گروه‌ها

گروه‌ها	شم	ایسکمی	تمرین	ایسکمی+ تمرین
شم		<۰/۰۰۰۱	۰/۳۸۳	<۰/۰۰۰۱
ایسکمی			<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
تمرین				<۰/۰۰۰۱
ایسکمی+ تمرین				



شکل ۱: رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- آئوزین در بخش CA1 هیپوکامپ در گروه‌های شم، ایسکمی، تمرین و ایسکمی+ تمرین.

سلول‌های طبیعی با هسته روشن، هستک واضح، سیتوپلاسم صورتی و سلول‌های مرده با هسته و هستک نامشخص و سیتوپلاسم به شکل تیره رنگ مشخص است (بزرگ‌نمایی ۴۰۰×).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد، بیان پروتئین کاسپاز- ۳ در سطح هیپوکامپ رت‌های گروه شَم و تمرین در مقایسه با گروه‌های ایسکمی و ایسکمی+ تمرین کاهش معناداری داشته است. همین‌طور، اجرای هشت هفته تمرین استقامتی باعث کاهش معنادار بیان پروتئین کاسپاز- ۳ در هیپوکامپ حیوانات مبتلا به ایسکمی مغزی گردید. این یافته نشان می‌دهد که ایسکمی مغزی از راه فعال‌سازی کاسپاز- ۳ باعث مرگ سلولی در ناحیه هیپوکامپ می‌گردد. ازطرفی، تمرین هوازی با مهارکردن کاسپاز- ۳ ناشی از ایسکمی میزان مرگ سلولی در این ناحیه کاهش می‌دهد. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که فعال شدن کاسپاز- ۳ منجر به تخریب DNA یکی از شاخص‌های آپوپتوزی می‌شود، مطالعات حیوانی و انسانی بیان کاسپاز- ۳ و آثار آن را بعد از سکته ایسکمیک مغزی را نشان داده‌اند (۲۷). هم‌چنین، چهار هفته دویدن روی نوارگردان به‌طور معناداری تعداد نورون‌های کاسپاز- ۳ مثبت ناشی از ایسکمی- جریان خون مجدد کاهش داد (۲۴). علیرغم متفاوت بودن روش القای ایسکمی و دوره تمرینات، به‌نظر می‌رسد استفاده از مدل حیوانی و پروتکل تمرینی مشابه دلیل همسویی نتایج این مطالعات با پژوهش ما باشد. یافته‌های این پژوهش نشان داد که در گروه ایسکمی+ تمرین میزان کاسپاز- ۳ نسبت به گروه ایسکمی روند کاهشی داشت، که ممکن است بیانگر این مطلب

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]
[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9098]

باشد که پروتکل تمرینی در این فرایند اثرگذار بوده باشد. همسو با نتایج مطالعه حاضر، مطالعات انسانی و حیوانی بیانگر تنظیم افزایشی بیان کاسپاز- ۳ و آثار آن پس از بروز سکته مغزی هستند (۲۸،۲۹). در واقع، فعال‌سازی کاسپاز- ۳ در ایجاد آبشار آپوپتوزی نقشی کلیدی دارد. در این پژوهش مشخص گردید که تمرین هوازی زودهنگام از راه کاهش بیان کاسپاز- ۳ در مقابل سکته مغزی حفاظت عصبی ایجاد می‌کند. این فرضیه با یافته دیگر ما مبنی بر کاهش میزان آپوپتوز در گروه تمرین هوازی مطابقت دارد. در این مطالعه تنها کاسپاز- ۳ به‌عنوان یکی از عوامل بروز آبشار آپوپتوزی اندازه‌گیری شد، بنابراین جهت درک بهتر مکانیسم‌های مولکولی ایجاد حفاظت عصبی پس از القای سکته ایسکمیک مغزی مطالعات آتی تغییرات همزمان عوامل آپوپتوزی و حفاظت عصبی را بررسی نمایند. کاهش معنادار سطح آپوپتوز هیپوکامپ در گروه‌های شَم و تمرین نسبت به گروه‌های ایسکمی و ایسکمی+ تمرین یافته دیگر این پژوهش بود. هم‌چنین، سطح آپوپتوز در گروه ایسکمی+ تمرین نسبت به گروه ایسکمی به‌طور معناداری کمتر بود. به‌طور مشابهی نشان داده شده است که اجرای ورزش زودهنگام اجباری (۲۴ ساعت) پس از بروز سکته مغزی از راه حفاظت در برابر آسیب اکسیداتیو، موجب کاهش میزان آپوپتوز می‌گردد (۲۱). میتوکندری مهم‌ترین اندامک فراهم کننده انرژی برای حفظ عملکرد طبیعی سلول است. ایسکمی مغزی و جریان خون مجدد شیب الکتروشیمیایی که برای تنفس سلولی و اکسیداسیون گلوکز ضروری است را در غشای میتوکندری مختل می‌کند (۳۰). تخریب میتوکندری نه‌تنها موجب تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) می‌شود، بلکه رهایش سیتوکروم C و عامل القای آپوپتوزی برای شروع روند مرگ سلولی را به دنبال دارد (۲۵). گزارش شده است که تمرین هوازی موجب تنظیم افزایشی عوامل درگیر در ساخت و تکامل میتوکندری (۳۱) و رشد فیبروبلاستی (۲۶) در مغز جوندگان می‌شود. عامل رشد فیبروبلاستی، سبب توسعه‌ی رگ‌زایی در بافت مغز می‌گردد. در واقع، تمرین هوازی متعاقب ایسکمی مغزی از راه بهبود جریان خون و تولید انرژی در مغز می‌تواند ضایعات عصبی را کاهش دهد. بنابراین، راهبردهایی از جمله اجرای تمرین هوازی که از اختلال عملکرد میتوکندری جلوگیری می‌کنند، باید به‌عنوان یک شیوه بالقوه حفاظت عصبی جهت کاهش مرگ سلولی و بازیابی سریع‌تر عملکرد حرکتی در نظر گرفته شود.

نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، پژوهش حاضر نشان داد که تمرین هوازی زودهنگام پس از بروز ایسکمی مغزی می‌تواند فرایند آپوپتوز سلولی را در هیپوکامپ به منظور حفاظت عصبی در مغز تنظیم نماید. همینطور، این مطالعه از شواهدی حمایت می‌کند که شروع زودهنگام تمرین هوازی (۲۴ ساعت) پس از ایسکمی مغزی، کاهش بیان کاسپاز- ۳ را در مدل حیوانی به‌دنبال داشته باشد. بنابراین، تمرین هوازی می‌تواند به‌عنوان یک شیوه بازتوانی عصبی در بیماران سکته مغزی مورد استفاده قرار گیرد.

سپاس‌گزاری

مقاله حاضر برگرفته از رساله دکتری آقای بهزاد دهقانی‌زاده مصوب دانشکده علوم ورزشی در دانشگاه مازندران می‌باشد. بدین‌وسیله از کلیه کسانی که ما را در اجرای این پژوهش یاری رساندند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

حامی مالی: ندارد.

تعارض منافع: وجود ندارد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9098]

References:

1-Geng X, Wang Q, Lee H, Huber C, Wills M, Elkin K, et al. ***Remote Ischemic Postconditioning Vs. Physical Exercise after Stroke: An Alternative Rehabilitation Strategy?*** Mol Neurobiol 2021; 58(7): 3141-57.

2-Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, et al. ***Heart Disease and Stroke Statistics Update: A Report from the American Heart Association.*** Circulation 2018; 137(12): E67–E492.

3-Fang M, Zhong L, Jin X, Cui R, Yang W, Gao S, Lv J, Li B, Liu T. ***Effect of Inflammation on the Process of Stroke Rehabilitation and Poststroke Depression.*** Front Psychiatry 2019; 10:184.

4-Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz Ma. ***Pathobiology of Ischaemic Stroke: An Integrated View***. Trends Neurosci 1999; 22(9): 391-7.

5-Mattson M, Duan W, Pedersen W, Culmsee C. ***Neurodegenerative Disorders and Ischemic Brain Diseases***. Apoptosis 2001; 6(1-2): 69-81.

6-Zamzami N, Susin Sa, Marchetti P, Hirsch T, Gómez-Monterrey I, Castedo M, et al. ***Mitochondrial Control of Nuclear Apoptosis.*** J Exp Med 1996; 183(4): 1533-44.

7-Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula Sm, Ahmad M, Alnemri Es, et Al. ***Cytochrome C and Datp-Dependent Formation of Apaf-1/Caspase-9 Complex Initiates an Apoptotic Protease Cascade***. Cell 1997; 91(4): 479-89.

8- Benchoua A, Guegan C, Couriaud C, Hosseini H, Sampaio N, Morin D, et al. ***Specific Caspase Pathways are Activated in the Two Stages of Cerebral Infarction.*** J Neurosci 2001; 21(18): 7127-34.

9-Chen J, Nagayama T, Jin K, Stetler RA, Zhu RL, Graham SH, et al. ***Induction of Caspase-3-Like Protease May Mediate Delayed Neuronal Death in the Hippocampus after Transient Cerebral Ischemia***. J Neurosci 1998; 18(13): 4914-28.

10-Erfani H, Taheri Kalani A, Shamsaei N. ***The Protective Effect of Aerobic Training on Cognitive Impairment and Motor Dysfunction in Male Rats Following Cerebral Ischemia***. J Med J 2017; 15(3): 24-33. [Persian].

11-Winstein Cj, Stein J, Arena R, Bates B, Cherney Lr, Cramer Sc, Lang Ce, et al. ***Guidelines for Adult Stroke Rehabilitation and Recovery: A Guideline for Healthcare Professionals from the American Heart Association/American Stroke Association***. Stroke 2016; 47(6): E98-E169.

12-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.

13-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.

14-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***. Neurorehabil Neural Repair 2015; 29(6): 577-89.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9098]

15-Kerr Al, Swain Ra**.** ***Rapid Cellular Genesis and Apoptosis: Effects of Exercise in the Adult Rat***. Behav Neurosci 2011; 125(1): 1-9.

16-Li F, Geng X, Khan H, Pendy Jr Jt, Peng C, Li X, Ding Y. ***Exacerbation of Brain Injury by Post-Stroke Exercise is Contingent upon Exercise Initiation Timing.*** Front Cell Neurosci 2017; 11: 311.

17-Taguchi S, Choudhury Me, Miyanishi K, Nakanishi Y, Kameda K, Abe N, Tanaka J. ***Aggravating Effects of Treadmill Exercises During the Early-Onset Period in a Rat Traumatic Brain Injury Model: When Should Rehabilitation Exercises Be Initiated?*** IBRO Rep 2019; 7: 82-89.

18-Hayes K, Sprague S, Guo M, Davis W, Friedman A, Kumar A, Jimenez Df, Ding Y. ***Forced, Not Voluntary, Exercise Effectively Induces Neuroprotection in Stroke***. Acta Neuropathol 2008; 115(3): 289-96.

19-Soya H, Nakamura T, Deocaris Cc, Kimpara A, Iimura M, Fujikawa T, et al. ***Bdnf Induction with Mild Exercise in the Rat Hippocampus***. Biochem Biophys Res Commun 2007; 358(4): 961-7.

20-Li M, Peng J, Wang Md, Song Yl, Mei Yw, Fang Y. ***Passive Movement Improves the Learning and Memory Function of Rats with Cerebral Infarction by Inhibiting Neuron Cell Apoptosis***. Mol Neurobiol 2014; 49(1): 216-21.

21-Hasan Sm, Rancourt Sn, Austin Mw, Ploughman M**.** ***Defining Optimal Aerobic Exercise Parameters to Affect Complex Motor and Cognitive Outcomes after Stroke: A Systematic Review and Synthesis***. Neural Plast 2016; 2016: 2961573.

22-Sugawara T, Lewén 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.

23-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***. Neuroscice 2010; 166(4): 1091-100.

24-Shamsaei N, Rajabi H, Aboutaleb N, Nikbakht F, Motamedi P, Khaksari M, Erfani S. ***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. [Persian].

25-Aboutaleb N, Shamsaei N, Khaksari M, Erfani S, Rajabi H, Nikbakht F**.** ***Pre-Ischemic Exercise Reduces Apoptosis in Hippocampal Ca3 Cells After Cerebral Ischemia by Modulation of the Bax/Bcl-2 Proteins Ratio and Prevention of Caspase-3 Activation***. J Physiol Sci 2015; 65(5): 435-443.

26-Asa A, Taheri Kalani A, Nikseresht M. ***The Effect of Endurance Training on Gene Expression Nerve and Fibroblast Growth Factors in Hippocampus of Rats after Brain Stroke***. Stud Med Sci 2020; 30(11): 912-23. [Persian]

27-Zhang P, Zhang Y, Zhang J, Wu Y, Jia J, Wu J, et al. ***Early Exercise Protects Against Cerebral Ischemic Injury Through Inhibiting Neuron***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9098]

Apoptosis in Cortex in Rats. Int J Mol Sci 2013; 14(3): 6074-89.

28- Namura S, Zhu J, Fink K, Endres M, Srinivasan A, Tomaselli Kj, et al***. Activation and Cleavage of Caspase-3 in Apoptosis Induced by Experimental Cerebral Ischemia.*** J Neurosci 1998; 18(10): 3659-68.

29- Rami A, Sims J, Botez G, Winckler J. ***Spatial Resolution of Phospholipid Scramblase 1, Caspase-3 Activation and Dna-Fragmentation in the Human Hippocampus after Cerebral Ischemia***. Neurochem Int 2003; 43(1): 79-87.

30- Chen Sd, Yang Di, Lin Tk, Shaw Fz, Liou Cw, Chuang Yc. ***Roles of Oxidative Stress, Apoptosis, Pgc-1alpha and Mitochondrial Biogenesis in Cerebral Ischemia.*** Int J Mol Sci 2011; 12(10): 7199-215.

31- Steiner Jl, Murphy Ea, Mcclellan Jl, Carmichael Md, Davis Jm. ***Exercise Training Increases Mitochondrial Biogenesis in the Brain.*** J Appl Physiol 2011; 111(4): 1066-71.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9098]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 30| NO 1 | Apr 2022
Received: 29 Jun 2021
Accepted: 29 Aug 2021

Effects of Aerobic Training on Caspase-3 Expression and Apoptosis in Hippocampus of Rats after Brain Ischemic Stroke

Behzad Dehghanizadeh[1], Ziya Fallahmohammadi[†1], Abdolhossein Taheri Kalani[2], Sayed Javad Mirghani[3]

Original Article

Introduction: Although exercise is an effective strategy for preventing and treating stroke, the extent of this effect seems to depend on when exercise begins. Apoptosis plays a critical role after stroke. However, it is unclear whether early exercise inhibits apoptosis after stroke? The aim of this study was to determine the effect of eight weeks of early aerobic training after stroke induction on caspase-3 protein expression and apoptosis in the hippocampus of male Wistar rats.

Methods: In this experimental study, 32 adult male Wistar rats (weighting 210-252 gr) were purchased and randomly divided into four groups: sham, ischemia, training and ischemia+ training groups. Ischemia was induced by the occlusion of both common carotid arteries (CCA) for 45 min. Aerobic training was initiated at 24 hours after induction of ischemia, for eight weeks for 20-50 minutes and at a speed of 18-30 meters per minute in each session and five sessions per week. Forty eight hours after the last training session, rats were sacrificed, then using immunohistochemical staining technique of caspase-3 protein expression and the rate of cell apoptosis were measured by hematoxylin and eosinophil (H&E) staining method in hippocampus of rats.

Results: The expression of caspase-3 protein and apoptosis in the hippocampus of rats in sham and training groups were significantly lower than in the ischemia and ischemia+ training groups (both; $p<0.0001$). Moreover, in the ischemia+ training group, the expression of caspase-3 protein and apoptosis showed a significant decrease compared to the ischemia group ($p<0.0001$).

Conclusion: Based on the results of this study, it can be said that eight weeks of early aerobic training can reduce the lesions induced-cerebral ischemia by reducing the expression of cell death-causing factors.

Keywords: Aerobic training, Ischemia, Apoptosis, Hippocampus.

Citation: Dehghanizadeh B, Fallahmohammadi Z, Taheri Kalani A, Mirghani S.J. **Effects of Aerobic Training on Caspase-3 Expression and Apoptosis in Hippocampus of Rats after Brain Ischemic Stroke.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2022; 30(1): 4431-40.

1Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Mazandaran, Iran.
2Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Ilam Branch, Islamic Azad University, Ilam, Iran.
3Shahid Mirghani Research Institute, Golestan, Gorgan, Iran.
***Corresponding author: Tel:** 011-35302213**, email:** zia-falm@umz.ac.ir

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9098]