The Effect of Exercise Preconditioning on Stroke Outcome in an Experimental Mice Model

Soudabeh Naderi, Rahele Ali Mohammadi, Ali Shamsi Zadeh, Masoud Mobini, Fatemeh Amin, Mohammad Allahtavakoli*

Department of Physiology, Pharmacology-Physiology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

Article Info:

Received: **24 Dec 2014** ***Accepted*****: 28 Feb 2015**

ABSTRACT

Introduction: Stroke is a major cause of mortality and long-term disability among adults. The risk of stroke is rapidly increasing in women after menopause. It has been reported that exercise reduces ischemia and reperfusion injury in rat model of stroke. The aim of this study was to investigate the effect of exercise on stroke outcome in the permanent middle cerebral artery occlusion in ovariectomized mice. ***Materials and Methods:*** A group of 32 female mice (25-35g) were randomly divided into 4 groups as following (8 mice in each group): ovariectomy+stroke, stroke, ovariectomy+exercise+stroke, and sham. Seven days before exercise preconditioning, mice were ovariectomized. The exercise group was forced to run on a treadmill 5 days per week, for 40 min/day at a speed of 18 m/min for four weeks. Stroke was induced by permanent middle cerebral artery occlusion (MCAO) method five weeks after ovariectomy. The infarct volume, sensory-motor deficits, and neurological deficits were studied. ***Results:*** Infarct volume in the ovariectomy+exercise+stroke and stroke groups was significantly smaller compared to ovariectomy+stroke group. In ovariectomy+exercise+stroke and stroke groups, neurological deficits were significantly lower than ovariectomy+stroke gorup, respectively. sensory-motor deficits were also lower in the ovariectomy+exercise+stroke and stroke groups compared to ovariectomy+stroke group. ***Conclusion:*** The present data suggest that exercise preconditioning plays a neuroprotective role in ovariectomized animals and improves stroke outcome in a permanent model of MCAO.

Key words:

1. Stroke
2. Exercise
3. Ovariectomy
4. Sensorimotor Cortex
5. Gonadal Steroid Hormones

* ***Corresponding Author:*** Mohammad Allah Tavakoli

E-mail: *m_alahtavakoli@rums.ac.ir*

اثر پیش شرطی‌سازی با ورزش بر پیامدهای سکتهٔ مغزی در یک مدل موشی آزمایشگاهی

سودابه نادری، راحله علی محمدی، علی شمسی زاده، مسعود مبینی، فاطمه امین، محمد الله توکلی*

گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۳ دی ۱۳۹۳

تاریخ پذیرش: ۹ اسفند ۱۳۹۳

چکیده

مقدمه: سکتهٔ مغزی یکی از علل عمدهٔ مرگ و میر و ناتوانی‌های طولانی مدت در بزرگسالان است. خطر بروز سکتهٔ مغزی در زنان در سنین پس از یائسگی به‌سرعت در حال افزایش است. گزارش شده است که ورزش آسیب ناشی از ایسکمی و رپرفیوژن را در مدل سکتهٔ مغزی موش صحرایی کاهش می‌دهد. هدف از این مطالعه بررسی اثر ورزش بر روی پیامدهای سکتهٔ مغزی در انسداد دایم شریان مغزی میانی در موش‌های اوارکتومی شده بود. **مواد و روش‌ها:** ۳۲ سر موش ماده در محدودهٔ وزنی ۳۵-۲۵ گرم به‌طور تصادفی به چهار گروه (۸ موش در هر گروه) شامل اوارکتومی + سکتهٔ مغزی، سکتهٔ مغزی، اوارکتومی + ورزش + سکتهٔ مغزی و گروه شم تقسیم شدند. هفت روز قبل از پیش شرطی‌سازی با ورزش، موش‌ها اوارکتومی شدند. در گروه ورزش، موش‌ها وادار شدند روی دستگاه تردمیل، ۵ روز در هفته، روزانه به مدت ۴۰ دقیقه با سرعت ۱۸ متر بر دقیقه به مدت ۴ هفته بدوند. سکتهٔ مغزی از روش انسداد دایم شریان مغزی میانی پنج هفته پس از اوارکتومی القاء گردید. حجم انفارکتوس، اختلالات نورولوژیک و اختلالات حسی -حرکتی مطالعه شدند. **یافته‌ها:** حجم انفارکتوس در گروه‌های اوارکتومی + ورزش + سکتهٔ مغزی و سکتهٔ مغزی در مقایسه با گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی به‌طور معنی‌داری کمتر بود. در گروه‌های اوارکتومی + ورزش + سکتهٔ مغزی و سکتهٔ مغزی اختلالات نورولوژیک نسبت به گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی به ترتیب به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بودند. اختلالات حسی -حرکتی نیز در گروه‌های اوارکتومی + ورزش + سکتهٔ مغزی و سکتهٔ مغزی در مقایسه با گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی کمتر بود. **نتیجه‌گیری:** نتایج حاضر پیشنهاد می‌کند که پیش شرطی‌سازی با ورزش یک نقش محافظ عصبی را در حیوانات اوارکتومی شده ایفاء می‌نماید و پیامدهای سکتهٔ مغزی را در یک مدل انسداد شریان مغزی میانی بهبود می‌بخشد.

کلید واژه‌ها:

۱. سکتهٔ مغزی
۲. ورزش
۳. اوارکتومی
۴. قشر حسی -حرکتی
۵. هورمون‌های استروئیدی گناد

* **نویسنده مسئول:** محمد الله توکلی

آدرس الکترونیکی: *m_alahtavakoli@rums.ac.ir*

مقدمه

سکتهٔ مغزی، سومین عامل مرگ و میر در کشورهای پیشرفته و یکی از علل اصلی معلولیت‌های درازمدت به شمار می‌رود (۱). بررسی‌ها نشان می‌دهند ۸۵ درصد سکته‌های مغزی در انسان از نوع انسدادی (ایسکمیک) و ۱۵ درصد در اثر پاره شدن شریان‌های تغذیه کنندهٔ مغزی (نوع خونریزی دهنده) است (۲).

خطر سکتهٔ مغزی به‌طور طبیعی با افزایش سن زیاد می‌شود (۳) و احتمال بروز آن در زنان پیش از یائسگی نسبت به مردان هم سن خود کمتر است (۴)، اما زنان مسن نسبت به مردان هم سن خود در معرض خطر بالاتری برای ابتلا به سکتهٔ مغزی می‌باشند. تصور می‌شود که کاهش هورمون‌های استروئید تخمدانی منجر به افزایش سکتهٔ مغزی، ناتوانی‌های مرتبط و مرگ و میر در این گروه از زنان می‌گردد (۵). استروژن در دههٔ اخیر به‌عنوان یک عامل محافظ عصبی در برابر بیماری‌های تخریب‌کنندهٔ عصبی قرار گرفته است. درمان مزمن یا حاد با استروژن آسیب‌های نورونی را در هر دو جنس کاهش می‌دهد (۶).

اگرچه استفاده از هورمون استروژن به‌عنوان یک روش درمانی در زنان یائسه کاربرد دارد، اما استفادهٔ طولانی مدت از آن، خطر آندومتریوز و سرطان سینه را افزایش می‌دهد (۷). به همین دلیل محققان به دنبال یافتن راهکاری محافظتی که جایگزین مناسبی برای درمان با استروژن در زنان یائسه باشد، هستند. حفاظت مؤثر از سیستم عصبی در مقابل ایسکمی از جالب‌ترین و برجسته‌ترین اهداف بالینی تحقیق در زمینهٔ علوم اعصاب است. در این راستا مفهوم پیش شرطی‌سازی مغزی مطرح است که در حفاظت از مغز در مقابل آسیب‌های بیماری‌های تخریب‌کنندهٔ عصبی مؤثر است که طی آن مغز خودش را در مقابل آسیب ناشی از استرس شدید (مانند ایسکمی) با کمک روبرو شدن قبلی با دوزهای خفیف عوامل استرس‌زا (مانند ورزش) محافظت کند (۸).

پیش شرطی‌سازی به‌وسیلهٔ محرک‌های متنوعی مثل ایسکمی موقت[1] (۹)، هیپوکسی[2] (۱۰) و مواد بیهوشی (۱۱) القاء می‌شود. از نتایج جالب اخیر این است که ورزش نیز می‌تواند به‌عنوان محرک پیش شرطی‌سازی استفاده شود (۱۲، ۸). مطالعات اخیر نشان داده است پیش شرطی‌سازی با ورزش می‌تواند به‌عنوان یک عامل محافظ عصبی در نظر گرفته شود (۱۳). مطالعات جانوری و انسانی نشان می‌دهد که ورزش باعث ایجاد حفاظت عصبی در برابر آسیب‌های مغزی ایجاد شده به‌وسیلهٔ سکته می‌شود (۱۵، ۱۴) که می‌توان به کاهش در انفارکتوس و ادم مغزی، افزایش میزان بقاء و بهبود آسیب‌های التهابی اشاره نمود (۱۶). بنابراین با توجه به اثرات محافظت عصبی و ضدالتهابی ورزش و احتمال بروز آسیب عروقی و سکتهٔ مغزی که در سنین یائسگی به دنبال کمبود استروژن ایجاد می‌شود، در این مطالعه اثر ورزش پس از اوارکتومی بر پیامد سکتهٔ مغزی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

روش بررسی

در این مطالعه از ۳۲ سر موش سوری ماده در محدودهٔ وزنی ۳۵-۲۵ گرم استفاده شد. موش‌ها در گروه‌های ۸ تایی در قفس‌های جدا و در اتاقی تحت شرایطی آرام و با حداقل استرس و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و حرارت ۱ ± ۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. کمیتهٔ اخلاق دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان انجام مطالعهٔ مذکور را تأیید نمود.

حیوانات به‌طور تصادفی به چهار گروه ۸ تایی تقسیم شدند:

اوارکتومی + سکتهٔ مغزی: در این گروه ابتدا موش‌ها اوارکتومی شده و بعد از گذشت هفتهٔ پنجم، سکتهٔ مغزی القاء شد.

سکتهٔ مغزی: در این گروه موش‌ها به مدت ۴ هفته در شرایط یکسان با سایر گروه‌ها نگهداری شده و بعد از گذشت هفتهٔ پنجم، سکتهٔ مغزی القاء شد.

اوارکتومی + ورزش + سکتهٔ مغزی: در این گروه ابتدا موش‌ها اوارکتومی شده پس از گذشت یک هفته، ورزش با استفاده از دستگاه تردمیل با سرعت ۱۸ متر بر دقیقه، ۵ روز در هفته به مدت ۴ هفته انجام شد و پس از هفتهٔ پنجم سکتهٔ مغزی القاء گردید.

شم: گروهی که تحت استرس جراحی قرار گرفتند و تمام مراحل جراحی اوارکتومی (به‌جز برداشتن تخمدان‌ها) و سکتهٔ مغزی (بدون انسداد شریان مغزی میانی) بر روی آنان انجام شد.

روش ایجاد اوارکتومی (القاء یائسگی)

ابتدا موش را وزن کرده و ۹۰ mg/kg داروی بیهوشی کتامین به همراه ۴/۵ mg/kg داروی زایلازین به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد و بعد از بیهوشی کامل، ناحیهٔ شکمی حیوان را تراشیده سپس محل جراحی استریل شد، طرفین بخش شکمی بین دو پستان دو و سه کنار عضلهٔ ران موش را شکاف داده، تخمدان را پیدا کرده و با دستگاه کوتر لوله رحمی را سوزانده و سپس تخمدان (بافت فولیکولی و قرمز رنگ متصل به لوله اویداکت) به آهستگی جدا و خارج شد. بعد از آن لایهٔ داخلی و خارجی را جداگانه بخیه کرده و در آخر به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن حیوان ۰/۳ میلی‌گرم پنی‌سیلین به عضلهٔ ران موش تزریق کرده و حیوان به قفس برگردانده شد (۱۷).

ارزیابی صحت انجام اوارکتومی

بعد از گذشت سه روز به مدت شش روز اسمیر واژن حیوان بررسی شد (به‌وسیلهٔ بالب چند قطره نرمال سالین به واژن موش اضافه و آن را خارج کرده و سپس بر روی لام قرار داده به حالت اسمیر آن را پخش نموده و به‌وسیلهٔ میکروسکوپ نوری مشاهده شد) و با مشاهده نشدن طرح سرخسی، جراحی اوارکتومی تأیید گردید (۱۷).

[1] Transient ischemic attack
[2] Hypoxia

ورزش جسمانی

برای ورزش حیوانات از دستگاه تردمیل (دو برقی)-(ساخت کمپانی ITTC life science) استفاده شد. به‌منظور آشنا شدن، حیوانات به مدت دو روز با سرعت ۹-۶ متر بر دقیقه بر روی دستگاه دویدند. راهنمای ورزش به این ترتیب بود که روزانه با سرعت ۱۸ متر بر دقیقه و به مدت ۴۰ دقیقه ورزش انجام شد. حیوانات گروه ورزش ۵ روز در هفته و به مدت ۴ هفته ورزش کردند. گروه‌های ورزش نکرده نیز مثل گروه‌هایی که ورزش کردند روی تردمیل خاموش قرار گرفتند. به‌منظور بررسی استرسی که ممکن است به‌وسیله تردمیل ایجاد شود وزن حیوانات در هر سه روز اندازه‌گیری شد (۱۸).

روش ایجاد سکتهٔ مغزی

برای ایجاد سکتهٔ مغزی، پس از بیهوش کردن حیوان با کتامین، حیوان به پهلو قرار داده شد و یک برش مورب عمودی ۲ سانتی‌متری در پوست ناحیهٔ وسط اوربیت چپ و کانال شنوایی خارجی ایجاد شد. مراحل بعدی با روش‌های جراحی انجام گرفت. بدین ترتیب که پوست اطراف شکاف را کنار زده و پس از مشاهده غدهٔ پاروتید در یک/چهارم پشتی -تحتانی میدان دید، منبع عروقی سوزانده شد و در قطب قدامی-فوقانی خود تقسیم و غده به جهت پشتی حرکت داده شد، سپس یک برش در اطراف لبه‌های فوقانی و پشتی عضلهٔ تمپورالیس ایجاد کرده و با یک بالا برندهٔ عضله از سمت کناری جمجمه کنار زده و به سمت جلو برگردانده شد. بخش اصلی عضله سپس با یک برش عمودی رو به لبهٔ قدامی آن و از ناحیهٔ اتصال آن به نوک زائدهٔ کورونوئیدی برش داده شد، سپس این استخوان و نیمهٔ پشتی استخوان گونه را برداشته و شریان مغزی میانی در معرض قرار گرفته و سوزانده شد. در نهایت بافت‌های نرم به سمت عقب به‌جای خود برگردانده و پوست سر بخیه زده شد (۱۹).

تعیین حجم انفارکتوس

حجم انفارکتوس یک هفته پس از سکتهٔ مغزی اندازه‌گیری شد. برای تعیین حجم انفارکتوس پس از خارج کردن مغز، آن را به‌صورت برش‌های ۲ میلی‌متری کرونال برش داده و با محلول ۲ درصدی تری فنیل تترازولیوم کلراید (TTC)[3] رنگ‌آمیزی شدند. برای این منظور برش‌های مغز هر حیوان در محلول TTC قرار داده شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شدند. TTC با آنزیم‌های دهیدروژناز داخل سلول‌های زنده واکنش نشان داده و به رنگ قرمز در می‌آید. بنابراین سلول‌های زنده به رنگ قرمز درآمده اما نورون‌های مرده به دلیل نبودن دهیدروژنازها تغییر رنگ نمی‌دهند. پس از فیکس کردن برش‌ها با فرمالین ۱۰ درصد، از آن‌ها توسط اسکنر تصویربرداری شده و با نرم‌افزار پردازشگر تصویر به نام Image J version 1/61 اندازه‌گیری شدند. سطوح به دست آمده از هر برش در ضخامت آن ضرب شده و از مجموع ۶ برش حجم نیمکرهٔ چپ و راست، حجم انفارکتوس با فرمول مربوطه تعیین شدند (۲۰، ۲۱).

فرمول تعیین حجم انفارکتوس

$$\frac{[\text{حجم نیمکرهٔ چپ} - (\text{حجم نیمکرهٔ راست} - \text{حجم انفارکتوس اندازه‌گیری شده با TTC})] \times ۱۰۰}{\text{حجم نیمکرهٔ چپ}}$$

بررسی اختلالات نورولوژیک

اختلالات نورولوژیک با سیستم رتبه‌بندی بدرسون در ۲۴، ۴۸ ساعت و یک هفته بعد نمره داده شدند که شامل عدم هرگونه اختلالی (نمرهٔ ۰)، خم شدن اندام جلویی (نمرهٔ ۱)، خم شدن اندام جلویی به اضافهٔ کنترل مقاومت در هل دادن جانبی (نمرهٔ ۲)، چرخیدن به یکطرف (نمرهٔ ۳)، چرخیدن به یکطرف به اضافهٔ کاهش سطح هوشیاری (نمرهٔ ۴)، مردن و یا عدم هوشیاری و تحرک (نمرهٔ ۵) می‌باشد. این داده‌های کیفی به صورت میانه و صدک‌های ۷۵ ام و ۲۵ ام نمایش داده شدند (۲۲).

بررسی اختلالات حسی -حرکتی

به‌منظور بررسی عملکرد حسی-حرکتی ناشی از القاء سکتهٔ مغزی، موش‌ها روزی دو بار و به مدت سه روز قبل از ایجاد سکته، برای انجام آزمون جدا کردن برچسب کاغذی[4]، آموزش داده شدند و اختلالات حسی -حرکتی قبل از جراحی سکتهٔ مغزی جهت مقایسه با ۲۴، ۴۸ ساعت و یک هفته پس از سکتهٔ مغزی مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمون، یک تکه چسب به کف دست راست موش چسبانده شد. مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان برچسب را لمس و جدا نماید به‌عنوان میزان فعالیت حسی -حرکتی در نظر گرفته شد که هر چه مدت زمان لازم برای جدا کردن برچسب بیشتر باشد، میزان اختلالات حسی -حرکتی بیشتر است (۲۳).

آنالیز آماری

در مطالعهٔ حاضر از نرم‌افزار SPSS 18 برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. تفاوت‌های حجم انفارکتوس، اختلالات حسی -حرکتی با آزمون ANOVA و سپس با آزمون Tukey مقایسه شدند و به‌صورت Mean ± SEM گزارش داده شدند. اختلالات نورولوژیک با آزمون غیرپارامتریک Kruskal-Wallis مقایسه شدند و به‌صورت میانه و صدک‌های ۷۵ ام و ۲۵ ام گزارش شدند. $P<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری حجم انفارکتوس بافت مغز

نتایج حاصل از بررسی حجم انفارکتوس در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد که اوارکتومی سبب افزایش قابل توجه در حجم انفارکتوس می‌شود. به‌طوری‌که درصد حجم انفارکتوس در یک هفته پس از سکتهٔ مغزی در گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی (۲/۳۳ ± ۱۱/۹۸) نسبت به گروه سکتهٔ مغزی (۱/۴۹ ± ۵/۵۴) افزایش معنی‌داری را نشان داد. ($P<۰/۰۱$، $F(۳، ۲۸)= ۱۴/۲۲$)-(تصویر ۱).

همچنین درصد حجم انفارکتوس در گروه اوارکتومی + ورزش + سکتهٔ مغزی (۰/۹ ± ۶/۲۳)، در یک هفته بعد از سکتهٔ مغزی

[3] Triphenyltetrazolium chloride
[4] Sticky test

نسبت به گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی (۱۱/۹۸ ±۲/۳۳) کاهش معنی‌داری داشته است ($P<0/05$، $F(3، 28)= 14/22$)-(تصویر ۱).

بررسی نتایج حاصل از ارزیابی اختلالات نورولوژیک

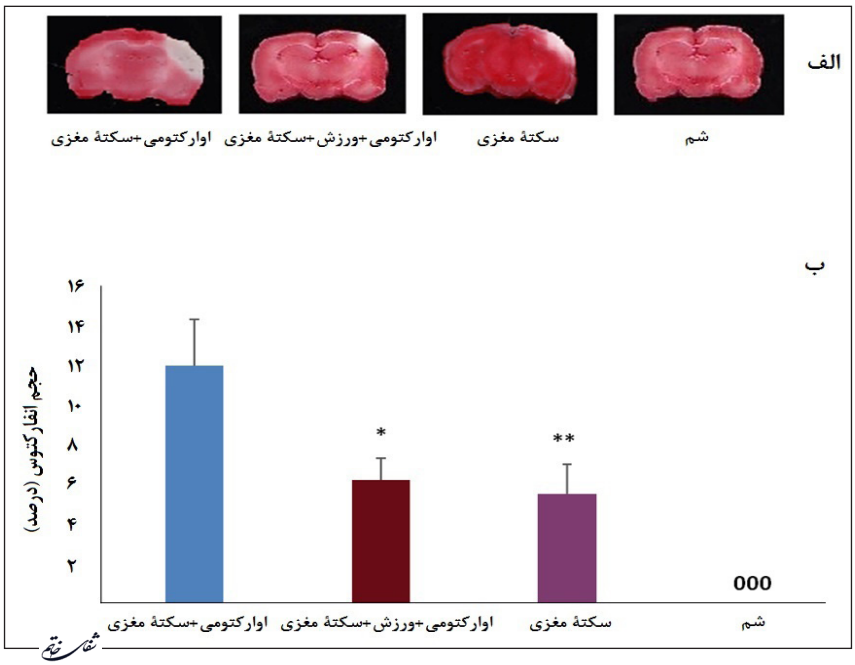
اثر ورزش بر اختلالات نورولوژیک با سیستم رتبه‌بندی بدرسون در ۲۴، ۴۸ ساعت و یک هفته پس از ایجاد سکتهٔ مغزی مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های کیفی به‌صورت میانه (صدک ۷۵ ام و صدک ۲۵ ام) نمایش داده شدند. مقایسهٔ اختلالات نورولوژیک در ۴۸ ساعت بعد از سکتهٔ مغزی در گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی [۲(۲-۲)]، نسبت به گروه سکتهٔ مغزی [۲(۲-۱)] افزایش معنی‌داری را نشان داده است ($P<0/05$)، همچنین این شاخص در یک هفته پس از سکتهٔ مغزی در گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی [۲(۲-۴/۲۵)] در مقایسه با گروه سکتهٔ مغزی [۱(۱/۵-۱)] افزایش چشمگیری داشته است ($P<0/01$)-(جدول ۱). القاء ورزش در طی ۴ هفته، اختلالات نورولوژیک را به‌طور معنی‌داری در گروه اوارکتومی + ورزش + سکتهٔ مغزی [۱(۲-۱)] نسبت به گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی [۲(۲-۴/۲۵)] در یک هفته بعد از سکتهٔ مغزی کاهش داد ($P<0/05$).

گروه شم که شامل حیوانات سالم بود، رتبه‌بندی اختلالات نورولوژیک با سیستم بدرسون در آن صفر بود.

بررسی نتایج حاصل از سنجش فعالیت حسی -حرکتی

مدت زمان تأخیر لمس و برداشتن چسب از کف دست سمت مقابل ناحیهٔ سکتهٔ مغزی در ۴۸ ساعت بعد از سکته در گروه سکتهٔ مغزی (۱/۸۶ ± ۱۹/۸۳ ثانیه) کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه اوارکتومی+سکتهٔ مغزی (۱۲/۱۷ ± ۵۲/۲۹ ثانیه) نشان داده است ($P<0/01$، $F(3، 28)= 10/978$). مدت زمان تأخیر لمس و برداشتن چسب از کف دست سمت مقابل ناحیهٔ سکتهٔ مغزی در یک هفته بعد از سکته، در گروه سکتهٔ مغزی (۳/۱۴ ± ۳۱/۳۳ ثانیه) نیز کمتر از گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی (۷/۳۵ ± ۵۰/۶۷ ثانیه) می‌باشد ($P<0/05$، $F(3، 28)= 20/453$)-(نمودار ۱).

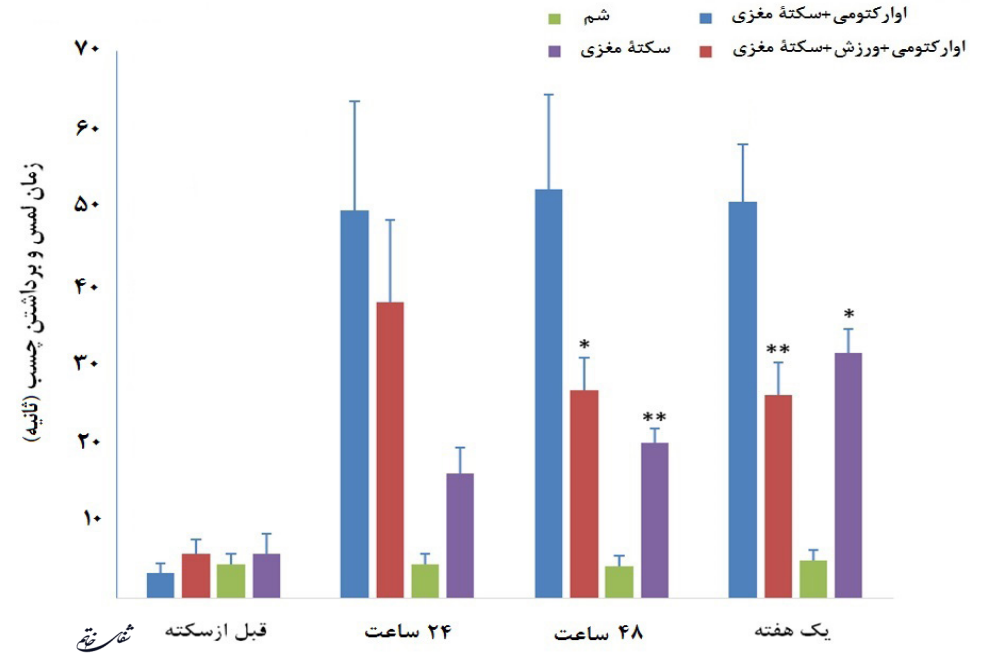
اثر ورزش بر آزمون جدا کردن چسب از کف دست حیوان در ۲۴، ۴۸ ساعت و یک هفته پس از ایجاد سکتهٔ مغزی مورد بررسی قرار گرفت. مقایسهٔ میانگین اختلالات حسی -حرکتی در آزمون مدت زمان تأخیر لمس و برچسب کاغذی در ۲۴ ساعت بعد از سکتهٔ مغزی در گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری را



تصویر ۱- حجم انفارکتوس یک هفته بعد از سکتهٔ مغزی. الف) حجم انفارکتوس (ناحیهٔ سفیدرنگ) در برش‌های مغزی گروه‌های مورد مطالعه. ب) میانگین حجم انفارکتوس گروه‌های سکتهٔ مغزی و اوارکتومی + ورزش + سکتهٔ مغزی در مقایسه با گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی کاهش معنی‌داری داشته است. گروه شم حیوانات سالم را تشکیل می‌دهد و میانگین حجم انفارکتوس آن صفر می‌باشد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. تعداد موش‌های سوری در هر گروه ۸ سر بوده است. * و ** به ترتیب نمایانگر: $P<0/05$ و $P<0/01$ نسبت به گروه اوارکتومی + سکته مغزی می‌باشند.

جدول ۱- اختلالات نورولوژیک توسط سیستم نمره‌دهی بدرسون در ۲۴، ۴۸ ساعت و یک هفته پس از ایجاد سکتهٔ مغزی. تعداد موش‌های سوری در هر گروه ۸ سر بوده است. * و ** به ترتیب نمایانگر: $P<0/05$ و $P<0/01$ در مقایسه با گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی می‌باشند.

گروه / زمان	اوارکتومی+سکتهٔ مغزی میانه (صدک ۷۵ام-صدک ۲۵ام)	سکتهٔ مغزی میانه (صدک ۷۵ام-صدک ۲۵ام)	اوارکتومی+ورزش+سکتهٔ مغزی میانه (صدک ۷۵ام-صدک ۲۵ام)	شم میانه (صدک ۷۵ام-صدک ۲۵ام)
۲۴ ساعت	(۱/۲۵-۲)۲	(۱-۲)۱	(۱-۲)۱	(۰-۰)۰
۴۸ ساعت	(۲-۲)۲	*(۱-۲)۲	(۱-۲)۱	(۰-۰)۰
۱ هفته	(۲-۴/۲۵)۲	**(۱-۱/۵)۱	*(۱-۲)۱	(۰-۰)۰



نمودار ۱– مقایسهٔ اختلالات حسی –حرکتی در ۲۴، ۴۸ ساعت و یک هفته پس از ایجاد سکتهٔ مغزی بین گروه‌های اوارکتومی + سکتهٔ مغزی، سکتهٔ مغزی و اوارکتومی + ورزش + سکتهٔ مغزی. میانگین اختلالات حسی –حرکتی در آزمون برچسب کاغذی در ۴۸ ساعت بعد از سکتهٔ مغزی در گروه اوارکتومی + ورزش + سکتهٔ مغزی نسبت به گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی کاهش معنی‌داری داشته است که این کاهش در یک هفته بعد از سکتهٔ مغزی چشمگیرتر بوده است. همچنین میانگین اختلالات حسی –حرکتی در آزمون Sticky در گروه سکتهٔ مغزی نسبت به گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی کاهش معنی‌داری را نشان داد. حیوانات در گروه شم سالم بودند و هیچ‌گونه اختلال حسی –حرکتی نشان ندادند. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. تعداد موش‌های سوری در هر گروه ۸ سر بوده است. * و ** به ترتیب نمایانگر: ($P<۰/۰۵$) و ($P<۰/۰۱$) نسبت به گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی می‌باشند.

نشان نداده است. مدت زمان تأخیر لمس و برداشتن چسب از کف دست سمت مقابل ناحیهٔ سکتهٔ مغزی در ۴۸ ساعت بعد از سکته در گروه اوارکتومی + ورزش + سکتهٔ مغزی (۴/۰۴ ± ۲۶/۶۷ ثانیه) کمتر از گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی (۱۲/۱۷ ± ۵۲/۲۹ ثانیه) بود ($P<۰/۰۵$). همچنین این شاخص در یک هفته بعد از سکته در گروه اوارکتومی + ورزش + سکتهٔ مغزی (۴/۱۱ ± ۲۶ ثانیه) نسبت به گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی (۷/۳۵ ± ۵۰/۶۷ ثانیه)، به‌طور چشمگیری کاهش معنی‌داری را نشان داده است ($P<۰/۰۱$)–(نمودار ۱).

باتوجه به اینکه حیوانات درگروه شم سالم بودند و هیچ‌گونه اختلالی را در عملکرد حسی –حرکتی نشان ندادند، مدت زمان تأخیر لمس و برداشتن چسب از کف دست سمت مقابل ناحیهٔ سکته در همهٔ بازه‌های زمانی مشابه بود.

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از این مطالعه بررسی اثر پیش شرطی‌سازی با ورزش بر حجم انفارکتوس، اختلالات حسی –حرکتی و اختلالات نورولوژیک ناشی از انسداد دایم شریان مغزی میانی بود. یافته‌های این مطالعه نشان دادند که در موش‌های سوری اوارکتومی شده‌ای که به مدت ۴ هفته ورزش انجام شده و سپس سکتهٔ مغزی القاء شده بود، حجم انفارکتوس، اختلالات حسی –حرکتی و اختلالات نورولوژیک به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی کاهش یافت. نتایج این مطالعه با مطالعات قبلی در این زمینه همسو است (۱۵، ۱۴، ۱۲).

انجام ورزش در موش‌های سوری اوارکتومی شده در یک هفته پس از ایجاد سکتهٔ مغزی، حجم انفارکتوس را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی کاهش داده است، همچنین در گروه سکتهٔ مغزی، حجم انفارکتوس در یک هفته بعد از سکتهٔ مغزی نسبت به گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است؛ بنابراین به نظر می‌رسد که ورزش مشابه با هورمون‌های جنسی طبیعی با ایجاد اثرات محافظ عصبی در کاهش پیامدهای ناشی از سکتهٔ مغزی مؤثر باشد.

بررسی شاخص‌های رفتاری و شناختی، ابزاری مناسب و ضروری برای ارزیابی نتایج حاصل از سکتهٔ مغزی است. از این رو در این مطالعه توانایی هماهنگی حسی –حرکتی (آزمون Sticky) متعاقب سکته، دچار اختلال شد درحالی‌که حیوانات گروه اوارکتومی + ورزش + سکتهٔ مغزی زمان کمتری را صرف لمس و برداشتن چسب از کف دستشان می‌کردند که این مدت زمان در یک هفته بعد از سکتهٔ مغزی به‌طور معنی‌دار کاهش چشمگیرتری داشته است. به‌علاوه گروه سکتهٔ مغزی نیز در آزمون Sticky نسبت به گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی کاهش معنی‌داری را نشان داده است که مشابه با اثر ورزش می‌باشد. نتایج حاصل از مطالعهٔ ما نیز نشان داد، ورزش اختلالات نورولوژیک ناشی از القاء سکتهٔ مغزی را به‌طور معنی‌داری در گروه اوارکتومی + ورزش + سکتهٔ مغزی نسبت به گروه اوارکتومی + سکتهٔ مغزی کاهش داده است.

بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که استروژن دارای اثر محافظتی بر روی سلول‌های مغزی می‌باشد (۲۵، ۲۴). Alkayed و همکاران نشان دادند که در سکته‌های مغزی، زنان آسیب‌های نورونی کمتری را نسبت به مردان هم سن خود

متحمل می‌شوند (۲۶). بررسی‌های دیگری که در این زمینه انجام شده نشان دادند که منبع این محافظت عصبی، مربوط به استروئیدهای تخمدانی می‌باشد زیرا کاهش استروژن از طریق جراحی (اوارکتومی)، عوامل دارویی (آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن) و یا پیری (پیری باروری)، باعث حذف این اثر محافظتی می‌شود و در نتیجه آسیب‌های نورونی را در زنان افزایش می‌دهد (۲۸، ۲۷). استروژن اثرات محافظت عصبی خود را از طریق تنظیم و ترشح ناقلین عصبی[5]، نوروپپتیدها و همچنین تنظیم فعالیت کاسپاز[6] پیش از آپوپتوز و در نتیجه مهار آپوپتوز نورون‌ها، کاهش نوعی اکسیژن واکنشگر، مهار اثر نوروتوکسیک LDL[7] و گلوتامات اکسید شده انجام می‌دهد (۲۹). بنابراین فقدان هورمون‌های تخمدانی مانند استروژن می‌تواند عوارض ناشی از سکته‌های مغزی را در زنان افزایش دهد (۲۸، ۲۷).

مطالعات اخیر نشان داده است پیش شرطی‌سازی با ورزش می‌تواند به‌عنوان یک عامل محافظ عصبی بر مغز عمل کند (۱۲،۳۰). پیش شرطی‌سازی مفهوم نسبتاً جدیدی است که در حفاظت از مغز در مقابل آسیب‌های تحلیل برندهٔ عصبی که به‌واسطهٔ روبرو شدن قبلی با دوزهای خفیفی از عوامل استرس‌زا (مثل ایسکمی)، مغز خودش را در مقابل آسیب ناشی از استرس شدید (مثل ایسکمی) محافظت می‌کند، مؤثر است (۸). پیش شرطی‌سازی به‌وسیلهٔ محرک‌های متنوعی مثل ایسکمی موقت موضعی و کلی (۳۲، ۳۱)، هیپوکسی (۱۰) و مواد بیهوشی (۳۳، ۱۱) القاء می‌شود. ورزش مداوم سبب کاهش خطرات متابولیکی به دنبال کاهش استروژن می‌گردد. از دیگر اثرات مفید می‌توان به کاهش خطر فشارخون بالا، حملهٔ قلبی و سکتهٔ مغزی اشاره نمود (۳۴).

Yang و همکاران طی مطالعه‌ای مشاهده کردند که ورزش اختلالات عملکرد نورونی و همچنین حجم انفارکتوس را در موش صحرایی کاهش می‌دهد (۳۵). Kim و همکاران در سال ۲۰۱۰ طی مطالعه‌ای مشاهده کردند که ورزش، حافظهٔ کوتاه مدت و حافظهٔ فضایی را از طریق افزایش تولید نورون و همچنین کاهش آپوپتوز در هیپوکامپ بهبود می‌بخشد (۳۶).

Ding و همکاران طی مطالعه‌ای مشاهده کردند که ورزش حفاظت عصبی و مقاومت عصبی نسبت به آسیب‌های مغزی القاء شده با سکته را افزایش می‌دهد (۳۸، ۳۷). همچنین Ding و همکاران طی مطالعه‌ای دیگر در ارتباط با تأثیر ورزش بر کاهش میزان آسیب التهابی و همچنین میانجی‌های التهابی ناشی از سکته دریافتند که ورزش آسیب التهابی را با کاهش بیان میانجی‌های التهابی و کاهش تجمع لوکوسیت‌ها کاهش می‌دهد (۱۳). Guo و همکاران طی مطالعه‌ای مشاهده کردند که ورزش به‌واسطهٔ کاهش بیان پروتئین ماتریکس متالوپروتئیناز ۹[8] که عضوی از خانوادهٔ آنزیم‌های تخریبی متالوپروتئیناز می‌باشد، آسیب به سد خونی -مغزی را کاهش می‌دهد (۱۴). همچنین ورزش به‌واسطهٔ افزایش بیان کلاژن ۴ سبب پیشرفت بهبودی بازال لامینا[9] در سد خونی -مغزی می‌شود (۳۹). همچنین ورزش سبب ارتقاء پاسخ‌های ایمنی به‌واسطهٔ پیشبرد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش صدمات اکسیداتیو می‌گردد (۴۰).

در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه و مطالعات قبلی بر این نکته دلالت دارند که سکتهٔ مغزی باعث ایجاد اختلالات نورولوژیک و حسی -حرکتی متعدد در فرد می‌گردد و پیش شرطی‌سازی با ورزش باعث کاهش اختلالات نورولوژیک و حسی -حرکتی متعاقب القای سکتهٔ مغزی می‌شود و با توجه به اینکه ورزش مانند مصرف داروهای استروژنی دارای عوارض قلبی -عروقی نمی‌باشد، می‌تواند جایگزین مناسبی برای پیشگیری از عوارض ناشی از فقدان استروژن در زنان یائسه باشد. البته باید پژوهش‌های بیشتری انجام شود تا بتوان نتایج حاصل از این مطالعه را در بالین به کار برد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب به شمارهٔ ۹/۲۳۳۱ مورخ ۹۲/۸/۲۵ معاونت آموزشی و پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان می‌باشد. بدین وسیله از معاونت آموزشی و پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان به جهت تأمین هزینه‌های مالی این تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

1. Taylor TN, Davis PH, Torner JC, Holmes J, Meyer JW, Jacobson MF. Lifetime cost of stroke in the United States. Stroke. 1996; 27(9): 1459-66.

2. Mergenthaler P, Dirnagl U, Meisel A. Pathophysiology of stroke: lessons from animal models. Metab Brain Dis. 2004; 19(3-4): 151-67.

3. Chinwatanakul S, Boonyapisit K, Pornsriniyom D, Proyoonwiwat N, Senanarong V, Chaisevikul R, et al. Siriraj acute stroke unit: 10 years experience. J Med Assoc Thai. 2012; 95: S235-44.

4. Barrett-Connor E, Bush TL. Estrogen and coronary heart disease in women. JAMA. 1991; 265(14): 1861-7.

5. Hochner-Celnikier D, Manor O, Garbi B, Chajek-Shaul T. Gender gap in cerebrovascular accidents: comparison of the extent, severity, and risk factors in men and women aged 45-65. Int J Fertil Womens Med. 2004; 50(3): 122-8.

6. Wise PM. Estrogens and neuroprotection. Trends Endocrinol Metab. 2002; 13(6): 229-30.

7. Hammond C. Women's concerns with hormone replacement therapy-compliance issues. Fertil Steril. 1994; 62(6 Suppl 2): 157S-60S.

[5] Neurotransmitters
[6] Caspase
[7] Low density lipoprotein
[8] Matrix metalloproteinase 9 (MMP-9)
[9] Basal lamina

8. Dirnagl U, Simon RP, Hallenbeck JM. Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection. Trends Neurosci. 2003; 26(5): 248-54.

9. Hoshi A, Nakahara T, Kayama H, Yamamoto T. Ischemic tolerance in chemical preconditioning: possible role of astrocytic glutamine synthetase buffering glutamate-mediated neurotoxicity. J Neurosci Res. 2006; 84(1): 130-41.

10. Gidday JM, Shah AR, Maceren RG, Wang Q, Pelligrino DA, Holtzman DM, et al. Nitric oxide mediates cerebral ischemic tolerance in a neonatal rat model of hypoxic preconditioning. J Cereb Blood Flow Metab. 1999; 19(3): 331-40.

11. Kobayashi S, Harris VA, Welsh FA. Spreading depression induces tolerance of cortical neurons to ischemia in rat brain. J Cereb Blood Flow Metab. 1995; 15(5): 721-7.

12. Ding YH, Young CN, Luan X, Li J, Rafols JA, Clark JC, et al. Exercise preconditioning ameliorates inflammatory injury in ischemic rats during reperfusion. Acta Neuropathol. 2005; 109(3): 237-46.

13. Ding YH, Mrizek M, Lai Q, Wu Y, Reyes R, Li J, et al. Exercise preconditioning reduces brain damage and inhibits TNF-α receptor expression after hypoxia/reoxygenation: an in vivo and in vitro study. Curr Neurovasc Res. 2006; 3(4): 263-71.

14. Guo M, Cox B, Mahale S, Davis W, Carranza A, Hayes K, et al. Pre-ischemic exercise reduces matrix metalloproteinase-9 expression and ameliorates blood-brain barrier dysfunction in stroke. Neuroscience. 2008; 151(2): 340-51.

15. Feng R, Zhang M, Wang X, Li WB, Ren SQ, Zhang F. Pre-ischemic exercise alleviates oxidative damage following ischemic stroke in rats. Exp Ther Med. 2014; 8(4): 1325-9.

16. Li J, Luan X, Clark JC, Rafols JA, Ding Y. Neuroprotection against transient cerebral ischemia by exercise pre-conditioning in rats. Neurol Res. 2004; 26(4): 404-8.

17. Emerton K, Hu B, Woo A, Sinofsky A, Hernandez C, Majeska RJ, et al. Osteocyte apoptosis and control of bone resorption following ovariectomy in mice. Bone. 2010; 46(3): 577-83.

18. Al-Jarrah MD, Jamous M. Effect of endurance exercise training on the expression of GFAP, S100B, and NSE in the striatum of chronic/progressive mouse model of Parkinson's disease. Neuro Rehabilitation. 2011; 28(4): 359-63.

19. Bogaert-Buchmann A, Poittevin M, Po C, Dupont D, Sebrié C, Tomita Y, et al. Spatial and temporal MRI profile of ischemic tissue after the acute stages of a permanent mouse model of stroke. Open Neuroimag J. 2013; 7: 4-14.

20. Ren C, Gao X, Niu G, Yan Z, Chen X, Zhao H. Delayed postconditioning protects against focal ischemic brain injury in rats. PLoS One. 2008; 3(12): e3851. doi: 10.1371/journal.pone.0003851.

21. Jiao H, Wang Z, Liu Y, Wang P, Xue Y. Specific role of tight junction proteins claudin-5, occludin, and ZO-1 of the blood–brain barrier in a focal cerebral ischemic insult. J Mol Neurosci. 2011; 44(2): 130-9.

22. Allahtavakoli M, Kahnouei MH, Rezazadeh H, Roohbakhsh A, Mahmoodi MH, Moghadam-Ahmadi A, et al. Delayed combination therapy of local brain hypothermia and decompressive craniectomy on acute stroke outcome in rat. Iran J Basic Med Sci. 2014; 17(7): 476-82.

23. Micale V, Marco Leggio G, Mazzola C, Drago F. Cognitive effects of SL65. 0155, a serotonin 5-HT4 receptor partial agonist, in animal models of amnesia. Brain Res. 2006; 1121(1): 207-15.

24. Bushnell CD. Stroke in women: risk and prevention throughout the lifespan. Neurol Clin. 2008; 26(4): 1161-76.

25. Krause DN, Duckles SP, Pelligrino DA. Influence of sex steroid hormones on cerebrovascular function. J Appl Physiol. 2006; 101(4): 1252-61.

26. Alkayed NJ, Harukuni I, Kimes AS, London ED, Traystman RJ, Hurn PD. Gender-linked brain injury in experimental stroke. Stroke. 1998; 29(1): 159-66.

27. Alkayed NJ, Murphy SJ, Traystman RJ, Hurn PD, Miller VM. Neuroprotective effects of female gonadal steroids in reproductively senescent female rats. Stroke. 2000; 31(1): 161-8.

28. Murphy SJ, McCullough LD, Smith JM. Stroke in the female: role of biological sex and estrogen. ILAR J. 2004; 45(2): 147-59.

29. Fiocchetti M, Ascenzi P, Marino M. Neuroprotective effects of 17β-estradiol rely on estrogen receptor membrane initiated signals. Front Physiol. 2012; 3: 73. doi: 10.3389/fphys.2012.00073.

30. 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; 166(4): 1091-100.

31. Dillon GM, Qu X, Marcus JN, Dodart JC. Excitotoxic lesions restricted to the dorsal CA1 field of the hippocampus impair spatial memory and extinction learning in C57BL/6 mice. Neurobiol Learn Mem. 2008; 90(2): 426-33.

32. Kunz A, Park L, Abe T, Gallo EF, Anrather J, Zhou P, et al. Neurovascular protection by ischemic tolerance: role of nitric oxide and reactive oxygen species. J Neurosci. 2007; 27(27): 7083-93.

33. Zhao P, Zuo Z. Isoflurane preconditioning induces neuroprotection that is inducible nitric oxide synthase-dependent in neonatal rats. J Anaesthesiol. 2004; 101(3): 695-703.

34. Mishra N, Mishra VN, Devanshi. Exercise beyond menopause: Dos and Don'ts. J Midlife Health. 2011; 2(2): 51-6.

35. Yang R, Cui HJ, Wang H, Wang Y, Liu JH, Li Y, et al. N-Stearoyltyrosine protects against glutamate-induced oxidative toxicity by an apoptosis-inducing factor (AIF)-mediated caspase-independent cell death pathway. J Pharmacol Sci. 2014; 124(2): 169-79.

36. Kim SE, Ko IG, Kim BK, Shin MS, Cho S, Kim CJ, et al. Treadmill exercise prevents aging-induced failure of memory through an increase in neurogenesis and suppression of apoptosis in rat hippocampus. Exp Gerontol. 2010; 45(5): 357-65.

37. Ding YH, Luan XD, Li J, Rafols JA, Guthinkonda M, Diaz FG, et al. Exercise-induced overexpression of angiogenic factors and reduction of ischemia/reperfusion injury in stroke. Curr Neurovasc Res. 2004; 1(5): 411-20.

38. Ding Y, Li J, Luan X, Ding YH, Lai Q, Rafols JA, et al. Exercise pre-conditioning reduces brain damage in ischemic rats that may be associated with regional angiogenesis and cellular overexpression of neurotrophin. Neuroscience. 2004; 124(3): 583-91.

39. Guo M, Lin V, Davis W, Huang T, Carranza A, Sprague S, et al. Preischemic induction of TNF-α by physical exercise reduces blood–brain barrier dysfunction in stroke. J Cereb Blood Flow Metab. 2008; 28(8): 1422-30.

40. Radák Z, Sasvári M, Nyakas C, Pucsok J, Nakamoto H, Goto S. Exercise preconditioning against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in proteins of rat myocardium. Arch Biochem Biophys. 2000; 376(2): 248-51.