مقاله پژوهشی

اثر پیش‌شرطی‌سازی با ورزش بر یادگیری احترازی به‌دنبال القای ایسکمی گذرای مغز در موش صحرایی نر

مهشید تهمتن[1]، فاطمه ایوبی[1]، علی روحبخش[2]، غلامحسین حسن شاهی[2]، علی شمسی زاده[4]

[1] کارشناسی ارشد گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی- فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

[2] استادیار گروه فارماکولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی- فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

[3] دانشیار گروه هماتولوژی، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

[4] استادیار گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی- فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

نشانی نویسنده مسؤول: رفسنجان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی-فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، دکتر علی شمسی‌زاده

E-mail: ashamsi@rums.ac.ir

وصول:۹۱/۴/۶، اصلاح:۹۱/۶/۲۸، پذیرش:۹۱/۸/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: ایسکمی گذرا در مغز موش باعث آسیب گسترده نورونی در مغز می شود؛ که به دنبال آن نقص در یادگیری و حافظه ایجاد می شود. در این مطالعه بر آن شدیم تا اثر ورزش را بر یادگیری و حافظه فضایی به دنبال ایسکمی گذرای مغز در موش صحرایی بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم بطور تصادفی در گروه های مختلف قرار داده شدند. برای القای ورزش از دستگاه تردمیل استفاده شد. جهت ایجاد ایسکمی جریان خون شریان های مشترک کاروتید به مدت ۱۰ دقیقه قطع شد. برای ارزیابی حافظه با استفاده از آزمون یادگیری احترازی غیر فعال انجام گرفت. برای بررسی نقایص حسی حرکتی از روش تشخیص و برداشتن چسب از کف دست حیوان و جهت بررسی هماهنگی حرکتی از آزمون روی لبه راه رفتن استفاده شد.

یافته‌ها: یک هفته پس از ایسکمی گذرای مغز، مدت زمان پاسخ تاخیری در آزمون احترازی غیر فعال کاهش یافت همچنین زمان لمس و برداشتن چسب از کف دست و نسبت تعداد لغزش ها نیز افزایش یافت. پیش شرطی سازی با ورزش این شاخص ها را در موش های ایسکمیک بهبود بخشید.

نتیجه‌گیری: پیش شرطی سازی با ورزش باعث بهبود نقص ایجاد شده در حافظه و اعمال حسی حرکتی به دنبال ایسکمی گذرای مغز می شود.

واژه‌های کلیدی: *ورزش، ایسکمی مغز، حافظه، ورزش، سکته مغزی، موش‌های صحرایی*

مقدمه

سکته مغزی سومین علت مرگ و میر در کشورهای پیشرفته (بعد از سرطان ها و بیماری های قلبی) (۱,۲) و دومین علت مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه است (۳,٤). سکته یک سندروم بالینی است که با آسیب شدید سیستم عصبی در اثر قطع ارسال خون

به مغز شناخته می شود (۵). سکته به دو دسته تقسیم می شود: سکته ایسکمیک و هموراژیک، که سکته ایسکمیک ۸۵٪ موارد را تشکیل می دهد (٦).

نقص های رفتاری از عوارض اصلی سکته است. القای ایسکمی عمومی در مغز موش منجر به آسیب گسترده نورونی در هیپوکمپ و قشر مغز می شود که متعاقب آن اختلال های رفتاری مثل نقص در یادگیری و حافظه فضایی ایجاد می شود (۷,۸).

حفاظت مؤثر از سیستم عصبی در مقابل ایسکمی از جالب ترین و برجسته ترین اهداف بالینی تحقیق در زمینه علوم اعصاب است. در این راستا مفهوم پیش شرطی سازی مغزی مطرح شده است که در حفاظت از مغز در مقابل آسیب های نورودژنراتیو مؤثر است که طی آن مغز از خودش در مقابل آسیب ناشی از استرس شدید (مثل ایسکمی) با کمک روبرو شدن قبلی با دوزهای خفیف عوامل استرس زا (مثل ایسکمی) محافظت می کند (۹).

از نتایج جالب مطالعات اخیر این است که ورزش نیز می تواند به عنوان محرک پیش شرطی سازی استفاده شود (۱۲-۱۰). مطالعات جانوری و انسانی نشان می دهد که ورزش باعث ایجاد حفاظت عصبی در برابر آسیب های مغزی ایجاد شده بوسیله سکته می شود (١٤-١٢) از جمله منجر به کاهش در انفارکتوس و ادم مغزی، افزایش میزان بقا و بهبود آسیب های التهابی می شود (۱۵). همچنین طی مطالعاتی نشان داده شده که ورزش می تواند باعث بهبود حافظه و یادگیری شود. به طور مثال در مطالعه ای نشان داده شد که ورزش باعث بهبود عملکرد شناختی در انسان های مسن می شود (١٦). همچنین در مطالعه دیگری اثر ورزش بر عملکرد شناختی در جوندگان بررسی شده که بهبود یادگیری در حیوانات ورزش کرده نسبت به حیوانات ورزش نکرده را نشان می دهد (۱۷).

مطالعات اندکی در زمینه تاثیر پیش شرطی سازی با ورزش بر اختلال های رفتاری به دنبال ایسکمی موجود است بنابراین در این مطالعه با کمک ایجاد ایسکمی گذرای مغز اثرات پیش شرطی سازی با ورزش را بر یادگیری و حافظه فضایی بررسی گردید. همچنین در این مطالعه اثرات پیش شرطی سازی با ورزش را بر آسیب نورونی با کمک روش های هیستولوژیک بررسی شد.

مواد و روش ها

حیوانات

مطالعه به صورت تجربی روی ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار سفید در محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم انجام شد. نمونه ها به‌طور تصادفی به ۵ گروه آزمایشی تقسیم شدند. تعداد حیوانات در هر گروه ۷ سر بود. موش ها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و۱۲ ساعت تاریکی و حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری می شدند. دسترسی به آب و غذا آزاد بود. کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان انجام مطالعه مذکور را تایید نمود. همه تلاشمان در این راستا بود که سطح درد و استرس و نیز تعداد جانوران مورد استفاده را کاهش دهیم.

نحوه گروه بندی حیوانات مورد مطالعه

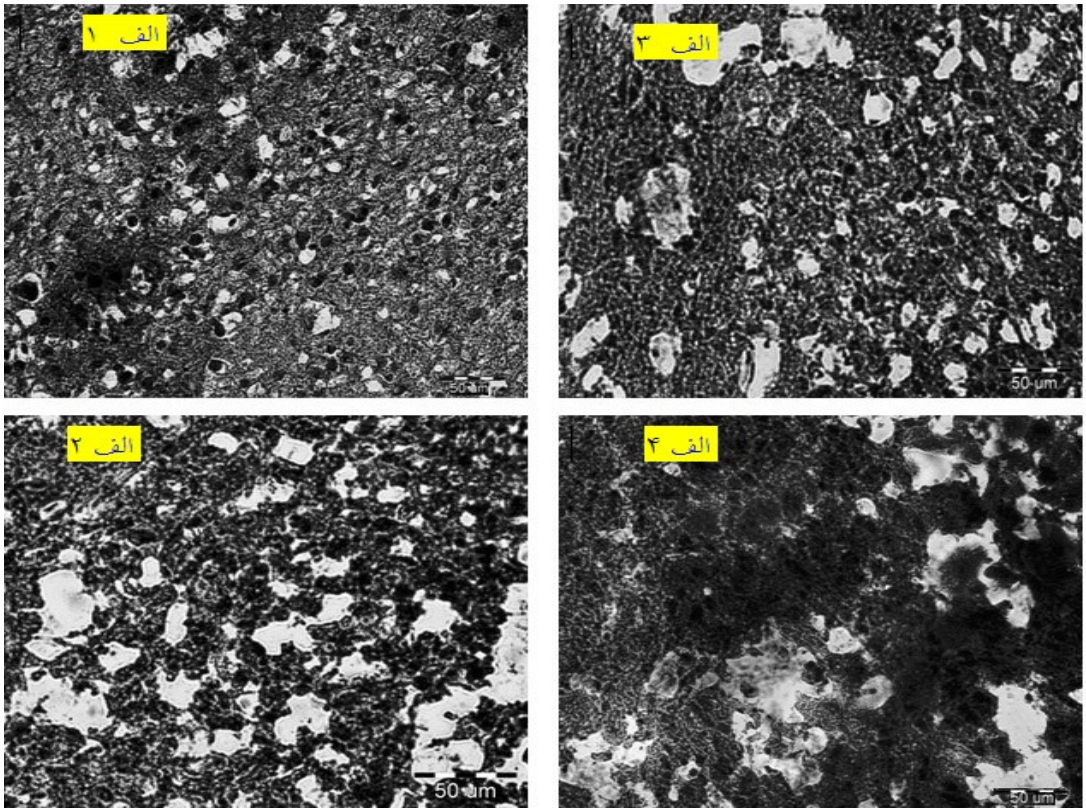
الف) گروه کنترل : ایسکمی و ورزش روی آن ها انجام نشد.

ب) گروه شم: سه هفته ورزش کردند و تحت بیهوشی قرار گرفتند. عمل جراحی مثل گروه ایسکمی درمورد آنها نیز انجام شد؛ با این تفاوت که شریان های مهره ای الکتروکوتریزه نشدند، همچنین شریان های مشترک کاروتید نیز بسته نشدند.

ج) گروه ورزش: سه هفته ورزش کردند.

د) گروه ایسکمی: شریان های مهره ای الکتروکوتریزه شدند و شریان های مشترک کاروتید نیز ٢٤ ساعت بعد به مدت ۱۰ دقیقه بسته شدند.

هـ) گروه پیش شرطی شده با ورزش (ورزش + ایسکمی) : به منظور پیش شرطی سازی با ورزش حیوانات سه هفته ورزش کردند. سپس القای ایسکمی در مورد آن ها



تصویر۱: شکل های مربوط به بررسی بافت شناسی در ناحیه CA1 هیپوکمپ، کورتکس و ناحیه ای به فاصله یک میلی متر در سمت شکمی هیپوکمپ پشتی. قسمت های ۳-۱ برش هایی از هیپوکمپ به ترتیب در گروه های شم، ایسکمی و گروه ورزش + ایسکمی نشان می دهد. قسمت ٤ ائوزینوفیله شدن در هیپوکمپ گروه ایسکمی را نشان می دهد. تمام تصاویر با بزرگنمایی (50µm) نشان داده شده است (n=٤) .

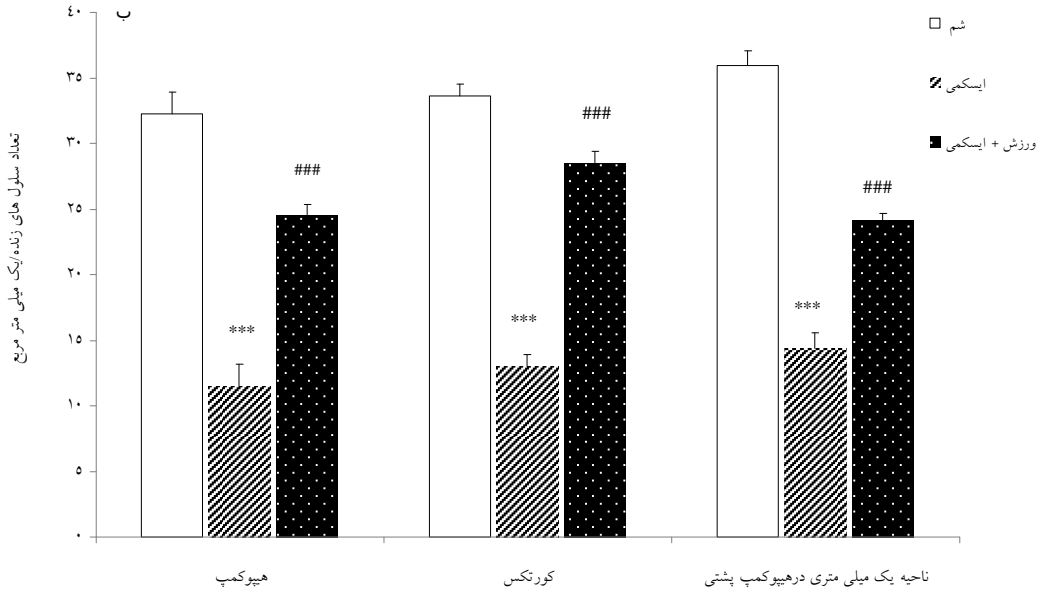
صورت گرفت.

روش پیش شرطی سازی با ورزش

حیوانات گروه شم، گروه ورزش و گروه پیش شرطی شده با ورزش (ورزش+ایسکمی) با استفاده از دستگاه تردمیل (دو برقی) (ساخت کمپانی ITTC lifescience) ورزش کردند. به منظور سازگار شدن با تردمیل، حیوانات ابتدا به مدت دو روز با سرعت ۹-٦ متر بر دقیقه دویدند (۱۸). سپس ورزش رسمی به این ترتیب آغاز شد که حیوانات روزانه با سرعت ۱۸ متر بر دقیقه و به‌مدت نیم ساعت، ۵ روز در هفته و به‌مدت ۳ هفته ورزش کردند. گروه های ورزش نکرده نیز مثل گروه هایی که ورزش کردند روی تردمیل خاموش قرار گرفتند. برای بررسی استرس احتمالی ایجاد شده به‌وسیله تردمیل وزن حیوانات هر سه روز یک بار اندازه گیری شد (۱۱).

القای ایسکمی عمومی مغز

القای ایسکمی عمومی مغزی به‌وسیله روش انسداد ٤ شریان انجام شد [4 vessel occlusion (4VO)] (۱۹). ابتدا موش ها بوسیله تزریق داخل صفاقی کتامین-زایلازین ۱۰٪ بیهوش شدند. یک برش طولی بر روی پوست ناحیه گردن حیوان داده شد و شریان های مشترک کاروتید از بافت های کناری جدا شدند و شریان های مهره ای به طور دایم الکتروکوتریزه شدند. گره شلی اطراف هر شریان کاروتید قرار گرفت تا انسداد بعدی را تسهیل کند. سپس برش های جراحی بسته شد و موش ها به مدت ۲٤ ساعت ریکاوری شدند و ۸ ساعت قبل از بستن شریان های کاروتید به آن ها غذا داده نمی شد. ۲٤ ساعت بعد، هر دو شریان کاروتید به‌وسیله یک گیره به مدت ۱۰ دقیقه بسته می شدند تا ایجاد ایسکمی مغزی کنند و سپس گره به منظور برقراری مجدد جریان خون باز می شد. موش های که رفلکس راست شدن را از دست دادند، مردمک‌هایشان گشاد شد و به نور پاسخی ندادند. از آنها به‌عنوان موش های ایسکمیک در آزمایش



نمودار ۱: اثر پیش شرطی سازی با ورزش بر تغییرات هیستولوژیک در هیپوکمپ و کورتکس متعاقب القای ایسکمی

تعداد سلول های سالم در یک میلی متر مربع در هیپوکمپ، کورتکس و ناحیه ای به فاصله یک میلی متر در سمت شکمی هیپوکمپ پشتی را نشان می دهد. در هر گروه از ٤ نمونه استفاده شده است.* تفاوت معنی داری در تعداد سلول های سالم بین گروه ایسکمی و شم نشان می دهد ($p< 0.001$). ### تفاوت معنی داری در تعداد سلول های سالم بین گروه ایسکمی و گروه ورزش + ایسکمی نشان می دهد ($p< 0.001$).**

های بعدی استفاده شد. دمای بدن حیوان در طول آزمایش در ۳۷ درجه سانتیگراد به‌وسیله یک پتوی حرارتی گردشی حفظ شد (۸,۲۰).

اندازه گیری جریان خون مغز

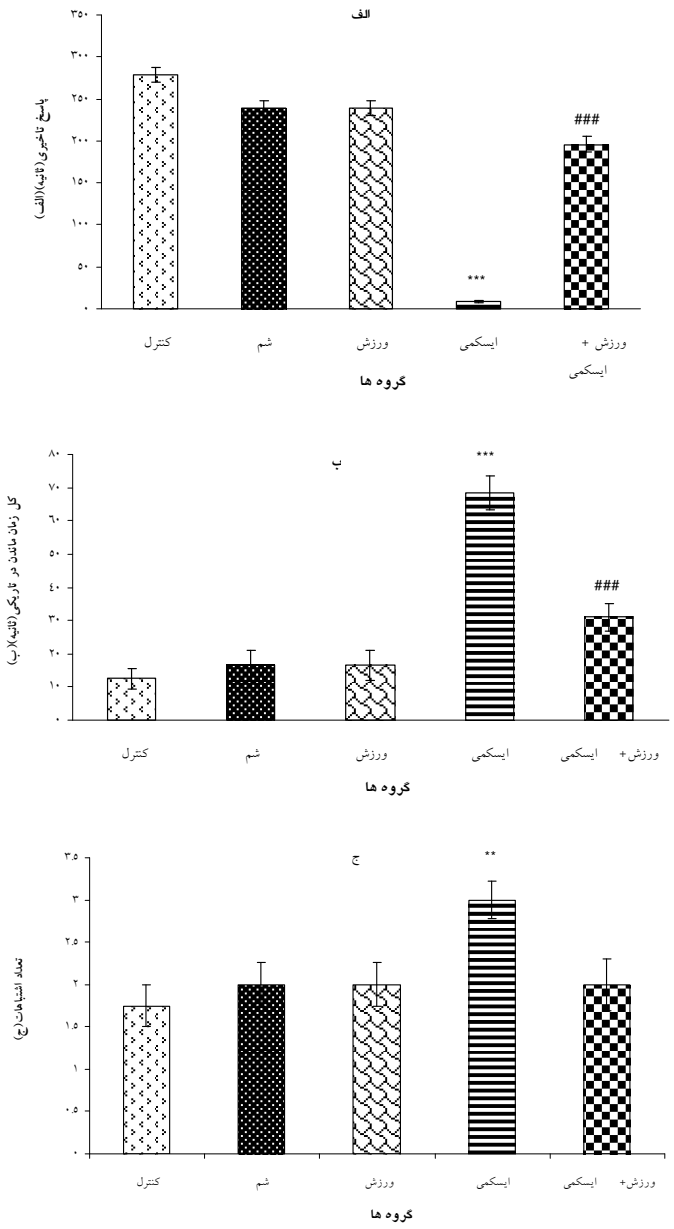
برای بررسی صحت مدل ایسکمی، جریان خون مغزی به‌وسیله لیزر داپلر (شرکت Moor instrument از آلمان) ثبت گردید که برای این منظور، ابتدا سر حیوان با استریوتاکس ثابت شده؛ سپس یک برش طولی بر روی جمجمه ایجاد و عضله تمپورالیس کنار زده شد، یک حفره حدود ۱ میلی‌متر عقب نسبت به برگما و ٤ میلی‌متر جانبی نسبت به خط وسط ایجاد گردید. ثبات دستگاه لیزر داپلر در داخل حفره به صورت خارج جمجمه ای قرار گرفت و در آنجا ثابت شد و ثبت جریان خون مغز با فرکانس ۲ هرتز صورت گرفت. جریان خون مغز دو دقیقه قبل از ایسکمی (به عنوان پایه)، در لحظه شروع ایسکمی و هر دو دقیقه یک بار طی مدت ده دقیقه ایسکمی (هنگام بستن شریان های مشترک کاروتید) ثبت گردید. همچنین به‌وسیله لیزر داپلر، دمای مغز نیز در حین ایسکمی نشان داده شد.

آماده سازی بافت و آنالیز دانسیته نورونی در بررسی بافت شناسی

به‌منظور بررسی بافت شناسی، از رنگ آمیزی هماتوکسیلین_ائوزین (H&E) استفاده نمودیم. آسیب نورونی در ناحیه CA1 هیپوکمپ، کورتکس و همچنین ناحیه ای به فاصله حدود یک میلی متری از CA1 هیپوکمپ مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای این منظور یک هفته پس از ایسکمی، موش ها به‌وسیله اتر کشته شدند. سپس مغز آن ها سریعاً بیرون آورده شد و در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد زیر صفر منجمد شد. از هر مغز به مختصات۱/۷ میلی‌متر عقب تر نسبت به برگما برش هایی به ضخامت ۱۵ میکرون گرفته شد. دانسیته سلولی (سلول/ میلی‌متر) در سه قسمت نامبرده شده در مغز پس از رنگ آمیزی هماتوکسیلین_ائوزین محاسبه شد.

جهت شمارش تعداد سلول ها در محدوده یک میلی‌متری، ده لام از مغز هر موش صحرایی (٤ موش در هر گروه) انتخاب گردید و تعداد سلول ها در مناطق مورد نظر با استفاده از میکروسکوپ نوری با درشت نمایی ٤۰



نمودار ۲: اثر پیش شرطی سازی با ورزش بر یادگیری احترازی متعاقب القای ایسکمی

الف) مقایسه میانگین پاسخ تاخیری در گروه های مختلف. *** تفاوت معنی داری در پاسخ تاخیری بین گروه ایسکمی و شم نشان می دهد($p< 0.001$). ### تفاوت معنی داری در پاسخ تاخیری بین گروه ایسکمی و گروه ورزش + ایسکمی نشان می دهد($p< 0.001$)(n=۷).

ب) مقایسه کل زمان ماندن حیوان در تاریکی در گروه های مختلف. ***تفاوت معنی داری در کل زمان ماندن حیوان در تاریکی بین گروه ایسکمی و شم نشان می دهد($p< 0.001$). ### تفاوت معنی داری در کل زمان ماندن حیوان در تاریکی بین گروه ایسکمی و گروه ورزش + ایسکمی نشان می دهد($p< 0.001$)(n=۷).

ج) مقایسه میانگین تعداد اشتباهات در گروه های مختلف. ** تفاوت معنی داری در تعداد اشتباهات بین گروه ایسکمی و گروه شم نشان می دهد ($p <0.01$) (n=۷) .

در تمامی نمودارها داده ها بر حسب میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده است.

مورد ارزیابی قرار گرفت و نهایتاً میانگین تعداد سلول‌های شمارش شده در هر گروه محاسبه شد.

آزمون احترازی غیر فعال

عملکرد شناختی با استفاده از آزمون step through passive avoidance یک هفته پس از القای ایسکمی در گروه های مورد نظر و یک روز پس از ورزش در گروه ورزش ارزیابی شد.

وسیله آن یک شاتل باکس اتوماتیک (panlab

Spain) بود (۲۱). این دستگاه شامل دو اتاقک تاریک و اتاقک روشن و درب گیوتینی بین آن ها می باشد (مسیر حرکت یک طرفه برای موش) (۲۲,۲۳). کف اتاقک ها دارای میله های فلزی ضد زنگ هستند که به دستگاه مولد شوک الکتریکی وصل می باشند. آزمون یادگیری در دو مرحله انجام شد؛ در مرحله اول موش در اتاقک روشن قرار داده شد و با توجه به تمایل و ترجیح محیط تاریک از طریق درب تعبیه شده جعبه وارد محیط تاریک می شد. سپس درب گیوتینی بسته می شد، پس از ۲ دقیقه حیوان از این محیط خارج می شد. در این مرحله چنانچه حیوانی بیش از ۳۰۰ ثانیه در همان محیط اول (محیط روشن) باقی می ماند از آزمایشات خارج می شد. در مرحله دوم یادگیری همان فرایند انجام می شد با این تفاوت که پس از ورود حیوان به اتاقک تاریک و بسته شدن درب گیوتینی با روشن کردن دستگاه مولد شوک، جریان الکتریکی با شدت ۱ میلی آمپر به مدت ۵ ثانیه از طریق میله های فلزی کف اتاقک تاریک به پاهای موش وارد می شد که با واکنش جست و خیز جانور، دریافت شوک محرز می شد. بلافاصله پس از دریافت شوک، موش از محیط دستگاه خارج می شد و به قفس برگردانده می شد (۲٦-۲٤). تست حافظه ۲٤ ساعت پس از آزمون یادگیری اندازه گیری شد. هر جانور در بخش روشن قرار داده شد و پس از ۵ ثانیه ، در باز شد. تاخیر برای ورود دوباره به بخش تاریک ماکسیمم به ۳۰۰ ثانیه می رسید. در طول انجام تست حافظه هیچ شوکی وارد نمی شد. جانورانی که طی دوره آزمایش به اتاق تاریک وارد نمی شدند با تاخیر ۳۰۰ ثانیه ای تعیین می شدند (۲٦).

آزمون تشخیص و برداشتن چسب از پنجه دست حیوان

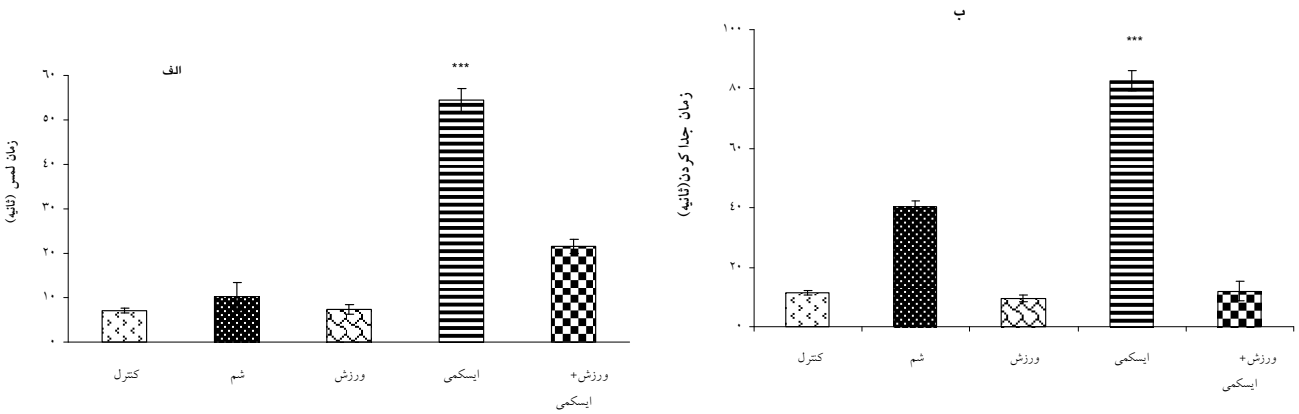
به منظور بررسی نقایص احتمالی حسی حرکتی ناشی از ایسکمی، یک روز پس از القای ایسکمی و یک روز پس از ورزش، آزمون تشخیص و برداشتن چسب از پنجه دست حیوان انجام شد. در این تست یک تکه چسب به کف دست چپ موش چسبانده شد. مدت زمان لمس چسب و همچنین مدت زمانی که موش چسب را از کف دست جدا کرد اندازه گیری شد. مدت زمانی که طول کشید تا حیوان برچسب را لمس نموده و جدا نماید به‌عنوان میزان فعالیت حسی حرکتی در نظر گرفته شد که هر چه مدت زمان لازم برای جدا کردن برچسب بیشتر باشد اختلال حسی حرکتی بیشتر است (۲۷).

آزمون روی لبه تخته راه رفتن (Ledge beam walking test)

آزمون روی لبه تخته راه رفتن به منظور تعیین هماهنگی و یکپارچگی جابجایی های حرکتی بکار رفت تا بهبودی عملکردی عصبی را در موش ها پس از ایسکمی ارزیابی کند (۳۰-۲۸). این آزمون یک هفته پس از القای ایسکمی در گروه های مورد نظر و یک روز پس از ورزش در گروه ورزش انجام شد. وسیله به‌کار رفته در این تست، شامل یک تخته است که در هر دو انتها به یک سکو متصل می باشد. یک جعبه تاریک (20cm×20cm) نیز در یک سمت تخته روی سکو متصل شده است. تخته در نقطه آغاز عریض است و به‌تدریج هر چه به سمت هدف (جعبه تاریک) نزدیک می شویم باریک تر می شود که این امر منجر به حساسیت بیشتر این تست می شود (۲۹). طول این تخته ۱۲۰ سانتی متر است و ارتفاع آن از سطح زمین ۳ سانتی متر می باشد. پهنای این تخته در ابتدا ۵ سانتی متر است که به تدریج باریک شده تا در انتها به دو سانتی متر می رسد. سه روز قبل از تست به موش ها آموزش داده شد که از روی تخته عبور کنند. در روز تست از آزمایش فیلمبرداری شد و سپس فیلم ها بررسی شد. سپس نسبت لغزش اندام عقبی آسیب دیده (تعداد لغزش ها / تعداد کل قدم ها) محاسبه شد.

روش تجزیه و تحلیل داده ها

آنالیز داده ها به کمک نرم افزار SPSS و Excel انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین و خطای انحراف معیار نشان داده شدند. مقایسه بین گروه ها با آزمون آماری آنووا یک طرفه و آزمون تکمیلی توکی مورد تجزیه



نمودار ۳: اثر پیش شرطی سازی با ورزش بر مدت زمان لمس و جدا کردن چسب متعاقب القای ایسکمی

الف) مقایسه میانگین مدت زمان لمس چسب در گروه های مختلف. *** تفاوت معنی داری در مدت زمان لمس چسب بین گروه ایسکمی و شم نشان می دهد($p< 0.001$). ### تفاوت معنی داری در مدت زمان لمس چسب بین گروه ایسکمی و گروه ورزش + ایسکمی نشان می دهد($p< 0.001$) (n=۷).

ب) *** تفاوت معنی داری در مدت زمان جدا کردن چسب بین گروه ایسکمی و شم نشان می دهد($p< 0.001$). ### تفاوت معنی داری در مدت زمان جدا کردن چسب بین گروه ایسکمی و گروه ورزش + ایسکمی نشان می دهد($p< 0.001$)(n=۷) .در هر دو نمودار داده ها بر حسب میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده است.

و تحلیل قرار گرفتند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بررسی نتایج مربوط به وزن حیوانات

وزن بدن هر حیوان از گروه های ورزش کرده (طی سه هفته پروتکل ورزش) و گروه هایی که ورزش نکرده بودند به تدریج افزایش یافت و بین گروه های مختلف هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (داده ها نشان داده نشده است).

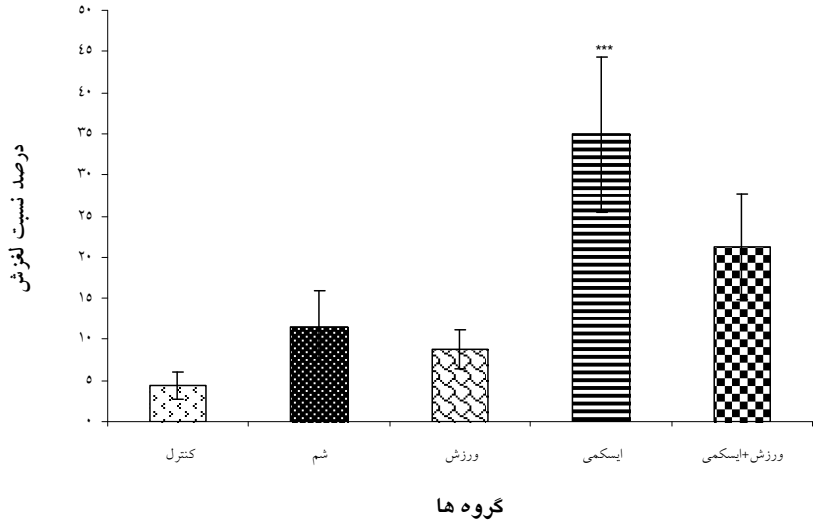
بررسی نتایج حاصل از اندازه گیری جریان خون مغز

به منظور بررسی صحت روش ایسکمی به کار رفته در این مطالعه میزان جریان خون مغز در حیوانات گروه ایسکمی اندازه گیری شد. میزان جریان خون مغز، ۲ دقیقه قبل از شروع ایسکمی به عنوان پایه (۱۰۰٪) در نظر گرفته شد و در طول ۱۰ دقیقه ایسکمی (هنگام بستن موقت شریان های کاروتید مشترک) به حدود ۱٤ درصد (۱٤/۵±۰/۳) کاهش یافت که این افت شدید جریان خون، صحت روش القای ایسکمی در این مطالعه را نشان داد.

علاوه بر آن، دمای مغز نیز در طول ایسکمی به‌وسیله دستگاه لیزر داپلر نشان داده شد که مقدار آن (۰/۰۷ ± ۳۷/۱) بود.

بررسی نتایج مربوط به ارزیابی بافت شناسی

از رنگ آمیزی هماتوکسیلین_ائوزین برای ارزیابی تغییرات بافت‌شناسی مغز در نواحی CA1 هیپوکمپ، کورتکس و همچنین ناحیه ای به فاصله حدود یک میلی متری پایین تر از CA1 هیپوکمپ یک هفته پس از ایسکمی عمومی گذرای مغز در موش صحرایی استفاده نمودیم (تصویر ۱). در گروه ایسکمی آسیب نورونی قابل ملاحظه ای در نورون های مناطق نامبرده شده مشاهده شد به گونه ای که علائم نوروپاتولوژیکی واضحی مثل چروکیدگی سلول و همچنین کاهش سیتوپلاسم (تصویر ۱، قسمت ۲) ، دیده شد. همچنین ائوزینوفیله شدن که از ابتدایی ترین نشانه های ایسکمی عمومی در مغز است نیز در گروه مبتلا به ایسکمی مشاهده شد (تصویر ۱، قسمت ٤). در مقابل در گروه ورزش+ایسکمی کاهش این علائم نوروپاتولوژیکی دیده شد (تصویر ۱، قسمت ۳). این علایم نوروپاتولوژیکی با استفاده از شمارش تعداد سلول ها در نواحی نامبرده شده از مغز در گروه شم، گروه ورزش و گروه ایسکمی به صورت کمی نشان داده شد. ورزش به طور معنی داری مرگ نورونی را در حیوانات



نمودار٤: اثر پیش شرطی سازی با ورزش بر میانگین تعداد لغزش در آزمون روی لبه راه رفتن متعاقب القای ایسکمی
*** تفاوت معنی داری در درصد لغزش بین گروه ایسکمی و شم نشان می دهد($p<0.001$)($n=۷$) .
داده ها بر حسب میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده است.

مبتلا به ایسکمی کاهش داد ($p<۰/۰۰۱$) (نمودار ۱).

بررسی نتایج آزمون احترازی غیر فعال

در آزمون احترازی غیر فعال، کاهش معنی داری در پاسخ تاخیری، در موش های صحرایی ایسکمیک (۱/٤± ۸/۷ ثانیه) در مقایسه با مقادیر ۹/۰۲±۲۳۹ ثانیه برای گروه شم و ۸/۵ ± ۲۷۸/۸ ثانیه برای گروه کنترل مشاهده شد ($P<۰/۰۰۱$) (نمودار۲ الف).

علاوه بر این در روز تست افزایش معنی داری درکل مدت زمان ماندن موش ها در اتاقک تاریک در گروه ایسکمی (۹±۲۳۹ ثانیه) در مقایسه با گروه شم (٤/۳±۱۵/۵ ثانیه)، گروه کنترل (۳/۲±۱۲/۵ثانیه) و گروه ورزش (٤/۳±۱٦/۵ ثانیه) مشاهده شد ($P<۰/۰۰۱$) (نمودار۲ ب).

پیش شرطی سازی با ورزش این شاخص را در مقایسه با گروه ایسکمی کاهش داد ($P<۰/۰۰۱$). تعداد اشتباهات نیز در بین گروه های مختلف بدست آمد. تعداد اشتباهات در گروه ایسکمی (۰/۲۱± ۳) نسبت به گروه کنترل (۰/۲۵ ± ۱/۷۵) افزایش معنی داری داشت ($p=۰/۰۱$) اما نسبت به بقیه گروه ها تفاوت معنی داری دیده نشد(نمودار۲ ج).

بررسی نتایج حاصل از آزمون جدا کردن چسب از کف دست حیوان

تأثیر پیش شرطی سازی به‌وسیله ورزش روی نقایص حسی حرکتی در تست تشخیص و جدا کردن تکه چسب از کف دست حیوان در نمودار ۳ الف و ب نشان داده شده است. تأخیر در لمس ($P<۰/۰۰۱$) و سپس جداکردن ($P<۰/۰۰۱$) تکه چسب از اندام جلویی به دنبال ایسکمی افزایش یافت. پیش شرطی سازی به‌وسیله ورزش تأخیر در لمس ($P<۰/۰۰۱$) و سپس جدا کردن ($P<۰/۰۰۱$) تکه چسب از اندام جلویی را در مقایسه با گروه ایسکمی کاهش داد. ورزش به تنهایی روی تأخیر در لمس و سپس جدا کردن تکه چسب از اندام جلویی تأثیری نداشت.

بررسی نتایج آزمون روی لبه تخته راه رفتن

موش‌های صحرایی گروه ایسکمی در میزان لغزش نسبت به حیوانات گروه کنترل و گروه ورزش افزایش معنی داری ($P<۰/۰۱$) نشان دادند. این شاخص همچنین در موش های گروه ایسکمی نسبت به گروه شم افزایش معنی داری نشان داد ($P<۰/۰۱$). پیش شرطی سازی با ورزش این شاخص را در حیوانات ایسکمیک بهبود بخشید؛ اگر چه تفاوت از نظر آماری معنی دار نیست ($P=۰/۲۷$) (نمودار ٤).

بحث

نتایج مطالعه ما حکایت از ایجاد آسیب‌های شدید رفتاری و شناختی متعاقب القای ایسکمی عمومی مغز داشت. به‌طوری‌که یادگیری احترازی غیر فعال به دنبال القای ایسکمی بشدت مختل شد. علاوه بر آن توانایی هماهنگی حسی-حرکتی (ارزیابی شده با کمک روش تشخیص و برداشتن چسب از کف دست توسط حیوان Adhesive removal test) حیوانات متعاقب ایسکمی دچار اختلال شد بطوریکه حیوانات ایسکمیک زمان زیادتری را صرف لمس و برداشتن چسب از کف دستشان می کردند. توانایی هماهنگی و تنظیم حرکات حیوانات نیز با کمک روش راه رفتن روی لبه (ledge beam walking test) بررسی شد و این شاخص نیز متعاقب القای ایسکمی دچار اختلال شد به گونه ای که حیوانات گروه ایسکمی تعداد لغزش های بیشتری را نشان دادند. همچنین در این مطالعه آسیب به نورون ها از نظر بافت شناسی نیز بررسی شد که شاهد آسیب شدید نورونی و کاهش تعداد سلول های سالم پس از ایسکمی بودیم. نتایج این مطالعه با مطالعات قبلی در این زمینه همسو است. به هرحال مطالعات قبلی کمتر به اختلالات رفتاری و شناختی متعاقب القای ایسکمی پرداخته اند و بیشتر بر تغییرات هیستولوژیک و مولکولی متمرکز بوده اند. مطالعه ما بیشتر بر بررسی اختلالات شناختی و رفتاری متعاقب القای ایسکمی متمرکز بوده است.

در مجموع بر اساس نتایج این مطالعه و یافته های قبل می‌توان گفت که ایسکمی مغزی منجر به آسیب های شناختی و هیستولوژیک می شود. البته در بررسی حاضر در مورد اختلالات شناختی یک هفته پس از ایسکمی و در مورد ارزیابی نقایص حسی حرکتی، یک روز پس از ایسکمی انجام شد. لازم به ذکر است که بر اساس بعضی گزارش ها آسیب نورونی متعاقب ایسکمی ممکن است چند هفته تا چند ماه پس از ایسکمی ایجاد شود. بنابراین پیشنهاد می شود در مطالعات آینده اختلالات رفتاری در دوره زمانی طولانی تر پس از ایسکمی بررسی شود.

بررسی شاخص های رفتاری و شناختی، ابزاری مناسب و ضروری برای ارزیابی نتایج حاصل از ایسکمی مغزی است.

اغلب آسیب های ناشی از ایسکمی کشنده هستند و بیمارانی که زنده می مانند دچار عوارضی نظیر اختلال در حافظه و یادگیری و سایر نقایص رفتاری می شوند که این امر ناشی از آسیب سلولی ایسکمیک در نواحی آسیب پذیر مغز است (۲۲). بر همین اساس مطالعات زیادی با هدف بررسی دقیق این آسیب ها و همچنین با هدف یافتن راهی برای کاهش آن ها طراحی و انجام شده است. گفته شده است که ایسکمی عمومی مغز منجر به آسیب نورونی در نواحی آسیب پذیر مغز می شود (۳۱). همچنین طی مطالعه ای نشان داده شده که مرگ نورونی به دنبال ایسکمی در نواحی حساسی از مغز از جمله هیپوکمپ رخ می دهد (۳۲). در همین راستا گفته شده که آسیب به هیپوکمپ متعاقب ایسکمی ممکن است منجر به نقایص رفتاری بخصوص نقایص مرتبط با حافظه و یادگیری شود (۳۳). Katsuta و همکاران و همچنین در سال ۲۰۰۸ Wang و همکاران در مطالعه ای جداگانه متوجه شدند که القای ایسکمی عمومی در مغز موش منجر به آسیب گسترده نورونی در هیپوکمپ و قشر مغز می شود که متعاقب آن اختلال های رفتاری مثل نقص در یادگیری و حافظه فضایی ایجاد می شود (۷,۸). مطالعه ما نیز در تایید نتایج مطالعات قبلی نشان داد که القای ایسکمی موقت هم باعث آسیب گسترده نورونی در هیپوکمپ و همچنین باعث ایجاد اختلالات حرکتی و اختلالات یادگیری و حافظه می شود.

حفاظت مؤثر از سیستم عصبی در مقابل ایسکمی از جالب ترین و برجسته ترین اهداف بالینی تحقیق در زمینه علوم اعصاب است. پیش شرطی سازی (Preconditioning) مفهوم نسبتاً جدیدی است که در حفاظت از مغز در مقابل آسیب های نورودژنراتیو

موثراست. Brain preconditioning مفهومی است که طی آن مغز از خودش در مقابل آسیب ناشی از استرس شدید (مثل ایسکمی) با کمک روبرو شدن قبلی با دوزهای خفیف عوامل استرس زا (مثل ایسکمی) محافظت می کند (۹). Preconditioning بوسیله محرک های متنوعی مثل ایسکمی موقت موضعی و عمومی (۳٤-۳٦)، هیپوکسی (۳۷) و مواد بیهوشی (۳۸, ۳۹) القا می شود. یکی از نتایج جذاب مطالعات اخیر این است که ورزش نیز می تواند به عنوان محرک Preconditioning استفاده شود (۱۰-۱۲). بر همین اساس در این مطالعه ما اثرات پیش شرطی سازی با ورزش را بر عوارض و اختلالات ناشی از القای ایسکمی مغزی بررسی کردیم. یافته های ما بر اثرات سودمند پیش شرطی سازی با ورزش بر نقایص رفتاری و شناختی و حسی- حرکتی متعاقب ایسکمی مغزی دلالت دارد. همچنین پیش شرطی سازی با ورزش باعث بهبود آسیب نورونی و همچنین کاهش تعداد سلول های آسیب دیده در موش های مبتلا به ایسکمی می شود.

در این مطالعه از آزمون یادگیری احترازی غیر فعال به منظور بررسی جنبه های دیگری از اختلالات شناختی و حافظه استفاده شد. یافته های ما بر اثرات سودمند پیش شرطی سازی با ورزش بر اختلال یادگیری احترازی دلالت دارد. بطوریکه زمان تاخیر در ورود به فضای تاریک (response latency) که به عنوان شاخصی برای یادگیری فوق است در حیوانات ایسکمیک بشدت کاهش یافت که این امر دلالت بر اختلال در این نوع حافظه متعاقب ایسکمی دارد جالب توجه انکه پیش شرطی سازی با ورزش منجر به بهبودی قابل ملاحظه ای در زمان تاخیر حیوانات برای خودداری از ورود به بخش تاریک شد. علاوه بر آن پیش شرطی سازی با ورزش باعث بهبود سایر شاخص های اندازه گیری شده در این تست (تعداد اشتباهات و مدت زمان ماندن در تاریکی) شد.

بررسی های قبلی از این امر حکایت دارد که حافظه احترازی متعاقب القای ایسکمی در مغز آسیب می بیند (٤۲-٤۰). آسیب ایسکمیک در هیپوکمپ منجر به نقص گسترده ای در وظایف مربوط به حافظه فضایی می شود. آزمون یادگیری احترازی غیر فعال اغلب برای ارزیابی آسیب به سلول های پیرامیدال هیپوکمپ انجام می شود (٤۳). مرگ نورونی در منطقه CA1 هیپوکمپ ۷-۳ روز پس از ایسکمی موقت عمومی مغز در جوندگان ظاهر می شود که بطور عمومی مرگ نورونی تاخیری نامیده می شود.

Yang و همکاران طی مطالعه ای مشاهده کردند که ورزش عملکرد نورونی و همچنین حجم سکته در موش صحرایی را کاهش می دهد (٤٤). در سال ۲۰۱۰ Kim و همکاران طی مطالعه ای مشاهده کردند که ورزش، حافظه کوتاه مدت و حافظه فضایی را از طریق افزایش تولید نورون و همچنین کاهش آپوپتوز در هیپوکمپ بهبود می بخشد (۱۸). Ding و همکاران طی مطالعه ای مشاهده کردند که ورزش (exercise preconditioning)، حفاظت عصبی و مقاومت نسبت به آسیب های مغزی القا شده با سکته را افزایش می دهد (٤٥, ٤٦) همچنین Ding و همکاران طی مطالعه ای بررسی کردند که آیا ورزش میزان آسیب التهابی و همچنین میانجی های التهاب ناشی از سکته را کاهش می دهد و مشاهده کردند که ورزش آسیب التهابی را با کاهش بیان میانجی های التهاب و همچنین کاهش تجمع لوکوسیت ها کاهش می دهد (۱۱). Guo و همکاران طی مطالعه ای بررسی کردند که آیا ورزش می تواند نقصی که به دنبال سکته در سد خونی مغزی ایجاد می شود را کاهش دهد و مشاهده کردند که ورزش میزان پروتئین MMP-9 (Matrix metallopeptidase 9) را کاهش داده و از این طریق آسیب به سد خونی مغزی را کاهش می دهد (۱۲). در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه و مطالعات قبلی بر این نکته دلالت دارند که اختلالات عملکردی و هیستولوژیک و تغییرات مولکولی متعاقب القای ایسکمی

مغزی در نواحی مختلف مغز بخصوص هیپوکمپ می تواند از طریق پیش شرطی سازی با ورزش کاهش یابد.

برای بررسی نقایص حسی حرکتی ناشی از ایسکمی عمومی مغزی از روش تشخیص و برداشتن چسب از کف دست توسط حیوان استفاده کردیم. نقایص حسی پس از ایسکمی معمولا به مدت ٤٨-٢٤ ساعت خود را نشان می دهند به همین دلیل این آزمون را ٢٤ ساعت پس از القای ایسکمی انجام دادیم و مشاهده کردیم که حیواناتی که دچار ایسکمی نشده اند سریعا چسب را جدا کردند؛ اما در حیوانات ایسکمیک نقص حسی- حرکتی واضحی مشاهده شد به این ترتیب که ایسکمی موجب تاخیر در لمس و همچنین تاخیر در جدا کردن چسب از کف دست شد. جالب اینکه پیش شرطی سازی با ورزش این نقص را در حیوانات ایسکمیک تا حد زیادی برطرف نمود. مطالعات گسترده ای نیز مبنی بر اینکه ایسکمی منجر به افزایش در زمان لمس و همچنین افزایش در زمان جداکردن تکه چسب از کف دست حیوان می شود وجود دارد که نتایج ما را تایید می کنند (٤٧, ٤٨). روش تشخیص و برداشتن چسب از کف دست توسط حیوان به آسانی و بدون نیاز به امکانات هزینه بر انجام می شود و تست بسیار حساسی برای شناسایی نقایص حسی - حرکتی ناشی از ایسکمی عمومی مغزی است. تاخیر در جدا کردن چسب با آسیب در ناحیهcaudal forelimb قشر حسی حرکتی سوماتیک و قشر قدامی میانی همراه است (٤٩). این اجزای قشری به طور اصلی در تفاوت زمانی (از لحظه ای که موش با دندان ،چسب را لمس می کند تا وقتی که آنرا جدا می کند) درگیر هستند (٥٠). نشان داده شده است که آسیب به استریاتوم منجر به تاخیر لمس چسب با دندان است و یکی از اجزای مغزی آسیب پذیر نسبت به ایسکمی عمومی مغز استریاتوم می باشد (٥٠). بنابر این میتوان احتمال داد که پیش شرطی سازی با ورزش منجر به بهبود آسیب های عملکردی ناشی از ایسکمی در مناطق ذکر شده در فوق بشود. توانایی هماهنگی و تنظیم حرکات حیوانات با کمک روش راه رفتن روی لبه (ledge beam walking test) بررسی شد و این شاخص نیز متعاقب القای ایسکمی دچار اختلال شد بطوریکه حیوانات گروه ایسکمی تعداد لغزش های بیشتری را داشتند. پیش شرطی سازی با ورزش این نقص را در حیوانات ایسکمیک تا حدی بهبود بخشید گرچه اثر از لحاظ آماری معنی دار نبود. در مطالعاتی نیز به منظور ارزیابی هماهنگی حرکتی از این آزمون استفاده شد. نتایج این مطالعات نیز حاکی از افزایش تعداد لغزش ها در حیوانات ایسکمیک نسبت به حیوانات سالم است (٥١و٥٢, ٤٨, ٢٩) که در راستای نتایج مطالعه حاضر است. علاوه بر تعداد لغزش ها، در مطالعه ای زمان عبور از روی تخته نیز اندازه گیری شده است و نشان داده شده که موش های ایسکمیک نسبت به موش های گروه شم مدت زمان بیشتری را صرف عبور از روی تخته می کنند (٢٩).بطور خلاصه نتایج مطالعه ما نشان می دهد که ایسکمی عمومی مغز باعث ایجاد اختلالات شناختی و رفتاری می شود و پیش شرطی سازی با ورزش باعث بهبود اختلال حافظه در موش های ایسکمیک می شود. همچنین پیش شرطی سازی با ورزش، نقایص حسی حرکتی ناشی از ایسکمی را کاهش داده و باعث بهبودی اعمال حرکتی در آنها می شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی مرکز تحقیقات فیزیولوژی-فارماکولوژی و همچنین معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان (شماره قرارداد ٩/٢٠/٧٨٨ مورخ ٩٠/٨/١٤) انجام شده است که بدین وسیله از ایشان تشکر می‌شود.

References

1. Warlow C, Sudlow C, Dennis M, Wardlaw J, Sandercock P. Stroke. Lancet. 2003 Oct 11;362(9391):1211-

24.
2. Clarkson AN. Anesthetic-mediated protection/preconditioning during cerebral ischemia. Life Sci. 2007 Mar 6;80(13):1157-75.
3. Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, Carnethon M, Dai S, De Simone G, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics--2010 update: a report from the American Heart Association. Circulation. 2010
4. Feb 23;121(7):948-54.
5. Truelsen T, Piechowski-Jozwiak B, Bonita R ,Mathers C, Bogousslavsky J, Boysen G. Stroke incidence and prevalence in Europe: a review of available data. Eur J Neurol. 2006 Jun;13(6):581-98.
6. Chiarugi A. Poly(ADP-ribosyl)ation and stroke. Pharmacol Res. 2005 Jul;52(1):15-24.
7. Rosamond W, Flegal K, Furie K, Go A, Greenlund K, Haase N, et al. Heart disease and stroke statistics--2008 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Circulation. 2008 Jan 29;117(4):e25-146.
8. Katsuta K ,Umemura K, Ueyama N, Matsuoka N. Pharmacological evidence for a correlation between hippocampal CA1 cell damage and hyperlocomotion following global cerebral ischemia in gerbils. Eur J Pharmacol. 2003 Apr 25;467(1-3):103-9.
9. Wang JY, Shen J, Gao Q, Ye ZG, Yang SY, Liang HW, et al. Ischemic postconditioning protects against global cerebral ischemia/reperfusion-induced injury in rats. Stroke. 2008 Mar;39(3):983-90.
10. Dirnagl U, Simon RP, Hallenbeck JM. Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection .Trends Neurosci. 2003 May;26(5):248-54.
11. Ding YH, Mrizek M, Lai Q, Wu Y, Reyes R, Jr., Li J, et al. Exercise preconditioning reduces brain damage and inhibits TNF-alpha receptor expression after hypoxia/reoxygenation: an in vivo and in vitro study. Curr Neurovasc Res. 2006 Nov;3(4):263-71.
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 Mar;109(3):237-46.
13. 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 Jan 24;151(2):340-51.
14. Stummer W, Baethmann A, Murr R, Schurer L, Kempski OS. Cerebral protection against ischemia by locomotor activity in gerbils. Underlying mechanisms. Stroke. 1995 Aug;26(8):1423-9; discussion 30.
15. Li J, Luan X, Clark JC, Rafols JA, Ding Y. Neuroprotection against transient cerebral ischemia by exercise pre-conditioning in rats. Neurol Res. 2004 Jun;26(4):404-8.
16. Endres M, Gertz K, Lindauer U, Katchanov J, Schultze J, Schrock H, et al. Mechanisms of stroke protection by physical activity. Ann Neurol. 2003 Nov;54(5):582-90.
17. Dishman RK, Berthoud HR, Booth FW, Cotman CW, Edgerton VR, Fleshner MR, et al. Neurobiology of exercise. Obesity (Silver Spring). 2006 Mar;14(3):345-56.
18. Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. Eur J Neurosci. 2004 Nov;20(10):2580-90.
19. 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 May;45(5):357-65.
20. Pulsinelli WA, Brierley JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. Stroke. 1979 May-Jun;10(3):267-72.
21. Zhang W, Miao Y, Zhou S, Wang B, Luo Q, Qiu Y. Involvement of Glutamate Transporter-1 in Neuroprotection against Global Brain Ischemia-Reperfusion Injury Induced by Postconditioning in Rats. Int J Mol Sci. 2010;11(11):4407-16.
22. Kofler J, Hattori K, Sawada M, DeVries AC, Martin LJ, Hurn PD, et al. Histopathological and behavioral characterization of a novel model of cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation in mice. J Neurosci Methods. 2004 Jun 15;136(1):33-44.
23. Kaundal RK, Sharma SS. GW1929: a nonthiazolidinedione PPARgamma agonist, ameliorates neurological damage in global cerebral ischemic-reperfusion injury through reduction in inflammation and DNA fragmentation. Behav Brain Res. 2011 Jan 20;216(2):606-12.
24. Pegorini S, Braida D, Verzoni C, Guerini-Rocco C, Consalez GG, Croci L, et al. Capsaicin exhibits

neuroprotective effects in a model of transient global cerebral ischemia in Mongolian gerbils. Br J Pharmacol. 2005 Mar;144(5):727-35.

25. Lo Pumo R, Bellia M, Nicosia A, Micale V, Drago F. Long-lasting neurotoxicity of prenatal benzene acute exposure in rats. Toxicology. 2006 Jun 15;223(3):227-34.
26. Micale V, Incognito T, Ignoto A, Rampello L, Sparta M, Drago F. Dopaminergic drugs may counteract behavioral and biochemical changes induced by models of brain injury. Eur Neuropsychopharmacol. 2006 Apr;16(3):195-203.
27. Micale V, Leggio GM, Mazzola C, Drago F. Cognitive effects of SL65.0155, a serotonin 5-HT4 receptor partial agonist, in animal models of amnesia. Brain Res. 2006 Nov 22;1121(1):207-15.
28. Sughrue ME, Mocco J, Komotar RJ, Mehra A, D'Ambrosio AL, Grobelny BT, et al. An improved test of neurological dysfunction following transient focal cerebral ischemia in rats. J Neurosci Methods. 2006 Mar 15;151(2):83-9.
29. Clifton GL, Jiang JY, Lyeth BG, Jenkins LW, Hamm RJ, Hayes RL. Marked protection by moderate hypothermia after experimental traumatic brain injury. J Cereb Blood Flow Metab. 1991 Jan;11(1):114-21.
30. Lin B, Levy S, Raval AP, Perez-Pinzon MA, Defazio RA. Forebrain ischemia triggers GABAergic system degeneration in substantia nigra at chronic stages in rats. Cardiovasc Psychiatry Neurol. 2010;2010(506952):506952.
31. Ohlsson AL, Johansson BB. Environment influences functional outcome of cerebral infarction in rats. Stroke. 1995 Apr;26(4):644-9.
32. Kirino T. Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. Brain Res. 1982 May 6;239(1):57-69.
33. Ruan YW, Ling GY, Zhang JL, Xu ZC. Apoptosis in the adult striatum after transient forebrain ischemia and the effects of ischemic severity. Brain Res. 2003 Aug 29;982(2.٤٠-٢٢٨:(
34. 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 Sep;90(2):426-33.
35. Chen J, Simon R .Ischemic tolerance in the brain. Neurology. 1997 Feb;48(2):306-11.
36. 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 Jul 4;27.٩٣-٧٠٨٣:(٢٧)
37. Simon RP, Cho H, Gwinn R, Lowenstein DH. The temporal profile of 72-kDa heat-shock protein expression following global ischemia. J Neurosci. 1991 Mar;11(3):881-9.
38. Alkan T, Goren B, Vatansever E, Sarandol E. Effects of hypoxic preconditioning in antioxidant enzyme activities in hypoxic-ischemic brain damage in immature rats. Turk Neurosurg. 2008 Apr;18(2):165-71.
39. Kobayashi S, Harris VA, Welsh FA. Spreading depression induces tolerance of cortical neurons to ischemia in rat brain. J Cereb Blood Flow Metab. 1995 Sep;15(5):721-7.
40. Taga K, Patel PM, Drummond JC, Cole DJ, Kelly PJ. Transient neuronal depolarization induces tolerance to subsequent forebrain ischemia in rats. Anesthesiology. 1997 Oct;87(4):918-25.
41. Karasawa Y, Araki H, Otomo S. Changes in locomotor activity and passive avoidance task performance induced by cerebral ischemia in Mongolian gerbils. Stroke. 1994 Mar;25(3):645-50.
42. Araki H, Nojiri M, Kawashima K, Kimura M, Aihara H. Behavioral, electroencephalographic and histopathological studies on mongolian gerbils with occluded common carotid arteries. Physiol Behav. 1986;38(1):89-94.
43. Katoh A, Ishibashi C, Shiomi T, Takahara Y, Eigyo M. Ischemia-induced irreversible deficit of memory function in gerbils. Brain Res. 1992 Apr 10;577(1):57-63.
44. Zhang YB, Kan MY, Yang ZH, Ding WL, Yi J, Chen HZ, et al. Neuroprotective effects of N-stearoyltyrosine on transient global cerebral ischemia in gerbils. Brain Res. 2009 Sep 1;1287:146-56.
45. Yang YR, Wang RY, Wang PS .Early and late treadmill training after focal brain ischemia in rats. Neurosci Lett. 2003 Mar 20;339(2):91-4.
46. 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 Dec;1(5):411-20.
47. 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.

48. Sicard KM, Henninger N, Fisher M, Duong TQ, Ferris CF. Long-term changes of functional MRI-based brain function, behavioral status, and histopathology after transient focal cerebral ischemia in rats. Stroke. 2006 Oct;37(10):2593-600.
49. Allahtavakoli M, Jarrott B. Sigma-1 receptor ligand PRE-084 reduced infarct volume, neurological deficits, pro-inflammatory cytokines and enhanced anti-inflammatory cytokines after embolic stroke in rats. Brain Res Bull. 2011 May 30;85(3-4):219-24.
50. Barth TM, Jones TA, Schallert T. Functional subdivisions of the rat somatic sensorimotor cortex. Behav Brain Res. 1990 Jun 18;39(1):73-95.
51. Grow JL, Liu YQ, Barks JD. Can lateralizing sensorimotor deficits be identified after neonatal cerebral hypoxia-ischemia in rats? Dev Neurosci. 2003 Nov-Dec;25(6):394-402.
52. Malik ZA, Singh M, Sharma PL. Neuroprotective effect of Momordica charantia in global cerebral ischemia and reperfusion induced neuronal damage in diabetic mice. J Ethnopharmacol. 2011 Jan 27;133(2):729-34.

Exercise preconditioning decreases deleterious effects of transient cerebral ischemia in rat's

Mahshid Tahamtan., MSc
Physiology-pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

Fateme Ayoubi., Ph.D
Physiology-pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

Ali Roohbakhsh., Ph.D
Physiology-pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

Gholamhossein Hassanshahi., Ph.D
Molecular-Medicine Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

Ali Shamsizade., Ph.D
Physiology-pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

Received:19/7/2012**, Revised:**08/09/2012**, Accepted:**01/10/2012

Corresponding author:
Ali Shamsizadeh, Physiology-pharmacology research centre, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
E-mail: ashamsi@rums.ac.ir

Abstract

Background: Transient global cerebral ischemia causes extensive neuronal damage in the brain and leads to a deficit in learning and memory. We designed the present study to investigate the effect of exercise preconditioning on learning and spatial memory following transient cerebral ischemia in rat.

Materials and methods: In this experimental study, 50 male Wistar rats weighing 250-300g were randomly allocated to different groups. Exercise was done by treadmill and, for inducing cerebral ischemia, both common carotid arteries were occluded for 10 minutes. Memory was evaluated using a step-through passive avoidance task. Sensory motor deficits were assessed by adhesive removal test. For evaluating slip ratio, we used ledged beam walking test.

Results: One week after transient cerebral ischemia, response latency decreased in passive avoidance test. Also touch time, remove time, and slip ratio were increased in these animals. Exercise preconditioning improved the measured indices in ischemic rats.

Conclusion: Exercise preconditioning improved deficits in learning and memory, as well as sensory-motor function, following transient cerebral ischemia.

Keywords: E*xercise Preconditioning, Step-Through Passive Avoidance Task, Rat, Spatial Memory*