

اثر پیش شرطی سازی با ورزش بر یادگیری لمسی به دنبال القای ایسکمی گذرای مغز در موش صحرایی نر

مهشید تهمتن^۱، دکتر محمد الله توکلی^۲، دکتر محمد محسن تقوی^۳، حسین رضازاده^۱، دکتر محمد کاظمی عرب آبادی^۴،

دکتر علی شمس‌زاده^۵

نویسنده‌ی مسوول: رفسنجان، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان ashamsi@rums.ac.ir

دریافت: ۹۱/۵/۱۱ پذیرش: ۹۱/۱۰/۱۲

چکیده

زمینه و هدف: ایسکمی عمومی مغز باعث آسیب نورونی در هیپوکامپ و قشر مغز می‌شود و منجر به نقص در یادگیری و حافظه می‌شود. پیش شرطی سازی با ورزش باعث حفاظت عصبی در مقابل آسیب‌های مغزی ناشی از ایسکمی می‌شود. هدف این تحقیق، بررسی اثر پیش شرطی سازی با ورزش بر حافظه‌ی لمسی متعاقب ایسکمی عمومی مغزی در موش صحرایی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۵۰ سر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم به طور تصادفی در پنج گروه آزمایشی تقسیم شدند. ورزش با تردمیل انجام شد و حیوانات روزانه با سرعت ۱۸ متر بر دقیقه، به مدت نیم ساعت، ۵ روز در هفته و به مدت ۳ هفته ورزش کردند. ایسکمی با روش انسداد ۴ شریان (شریان‌های مهره‌ای و کاروتید مشترک) القا شد. ارزیابی حافظه‌ی لمسی با تست تشخیص شی جدید انجام شد.

یافته‌ها: میانگین فرکانس لمس شی آشنا در گروه ایسکمی (4.1 ± 0.4 هرتز) نسبت به کنترل (2.1 ± 0.1 هرتز) افزایش یافت. همچنین شاخص تشخیص در گروه ایسکمی (1.6 ± 0.8 درصد) نسبت به شام (2.8 ± 0.2 درصد) کاهش یافت و پیش شرطی سازی با ورزش این شاخص را در حیوانات ایسکمیک (6.6 ± 0.3 درصد) بهبود بخشید.

نتیجه‌گیری: ایسکمی گذرای مغز باعث اختلال در یادگیری لمسی می‌شود و پیش شرطی سازی با ورزش باعث کاهش اختلال در این نوع یادگیری در موش‌های ایسکمیک می‌شود.

واژگان کلیدی: ایسکمی گذرای مغزی، پیش شرطی سازی، موش صحرایی نر، ورزش، یادگیری لمسی

۱- کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی فارماکولوژی رفسنجان

۲- دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی فارماکولوژی رفسنجان

۳- دکترای تخصصی علوم تشریح، استادیار دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

۴- دکترای تخصصی ایمونولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، مرکز تحقیقات ایمونولوژی بیماری‌های عفونی و گرمسیری رفسنجان

۵- دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی فارماکولوژی رفسنجان

مقدمه

ایسکمی گذرای مغز منجر به آسیب‌های برگشت ناپذیری در مغز می‌شود. از مهم‌ترین این آسیب‌ها می‌توان به نقایص رفتاری اشاره کرد که به‌طور عمده این نقایص، اعمال مربوط به یادگیری و حافظه را درگیر می‌کند. نورون‌های پیرامیدال CA1 هیپوکمپ، آسیب پذیرترین سلول‌ها نسبت به کاهش خون رسانی به مغز در انسان و جوندگان هستند (۱). تحقیقات گسترده‌ای برای پیدا کردن داروی موثر به‌منظور کاهش آسیب ایجاد شده به دنبال ایسکمی و برقراری مجدد جریان خون (ریپرفیوژن) انجام شده است (۲). با این حال یافتن راه‌های درمانی جدیدتر و مطمئن‌تر امری ضروری است. پیش شرطی‌سازی مفهوم نسبتاً جدیدی است که در حفاظت از مغز در مقابل آسیب‌های نورودژنراتیو موثر است. پیش شرطی‌سازی مغز 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 استرس‌زا (مثل ایسکمی) محافظت می‌کند (۳). پیش شرطی‌سازی به‌وسیله محرک‌های متنوعی مثل ایسکمی موقت موضعی و عمومی (۴)، هیپوکسی (۵) و مواد بیهوشی (۶) القا می‌شود. از نتایج جالب مطالعات اخیر این است که ورزش نیز می‌تواند به عنوان محرک پیش شرطی‌سازی استفاده شود (۷). طی ۲۰ سال اخیر، مطالعات جانوری اثرات سودمند ورزش جسمانی روی ایسکمی مغزی را نشان داده‌اند. این اثرات شامل افزایش میزان بقا، کاهش نقایص نورولوژیکی، بهبودی در نقص سد خونی مغزی و برقراری یکپارچگی در عروق خونی است (۸). بنابراین پیش شرطی‌سازی با ورزش مورد توجه گسترده‌ای قرار گرفت. مطالعات قبلی که در زمینه‌ی تاثیر پیش شرطی‌سازی با ورزش بر ایسکمی انجام شده‌اند بیشتر به بررسی‌های ملکولی و هیستولوژیک پرداخته‌اند. به‌تازگی مطالعاتی در خصوص تاثیر پیش شرطی‌سازی با ورزش بر اختلالات رفتاری ایجاد شده به‌دنبال ایسکمی انجام

شده است (۹ و ۱۰). در این مطالعه برای اولین بار، یادگیری حسی به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی اختلالات شناختی در مغز به‌وسیله‌ی آزمون تشخیص شی جدید (بر مبنای میل طبیعی حیوان به لمس شی جدید در مقابل شی آشنا) مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

حیوانات مورد استفاده: این مطالعه روی ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار سفید به وزن تقریبی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی و دسترسی به آب و غذای کافی انجام شد. حیوانات به‌طور تصادفی در ۵ گروه آزمایشی تقسیم شدند. تعداد آن‌ها در هر گروه ۷ سر و دمای اتاق ۳۷ درجه ی سانتی‌گراد بود. حیوانات هر گروه در شرایط مراقبتی یکسانی با گردش زمانی ۱۲ ساعت تاریکی/روشنایی در سراسر مطالعه نگه‌داشته شدند. تمام آزمایشات به‌وسیله کمیته اخلاقی دانشکده‌ی علوم پزشکی رفسنجان تایید شد. همه تلاش‌مان در این راستا بود که سطح درد و استرس و نیز تعداد جانوران مورد استفاده را کاهش دهیم.

نحوه‌ی گروه بندی حیوانات مورد مطالعه: در گروه کنترل، ایسکمی و ورزش روی حیوانات انجام نگرفت. در گروه شم، حیوانات سه هفته ورزش کردند و تحت بیهوشی قرار گرفتند، همچنین عمل جراحی مثل گروه ایسکمی روی آن‌ها صورت گرفت اما شریان‌های مهره‌ای و شریان‌های مشترک کاروتید مسدود نشدند. در گروه ورزش، حیوانات سه هفته ورزش کردند. در گروه ایسکمی شریان‌های مهره‌ای الکتروکوتریزه شدند و شریان‌های مشترک کاروتید نیز ۲۴ ساعت بعد به مدت ۱۰ دقیقه بسته شدند. گروه پیش شرطی شده با ورزش (ورزش + ایسکمی) به‌منظور پیش شرطی‌سازی با ورزش حیوانات سه هفته ورزش کردند، سپس القای ایسکمی در مورد آن‌ها 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 IITC Lifescience) ورزش کردند. به منظور سازگار شدن با تردمیل، حیوانات ابتدا به مدت دو روز با سرعت ۶ تا ۹ متر بر دقیقه دویدند (۱۱). سپس ورزش رسمی به این ترتیب آغاز شد که حیوانات روزانه با سرعت ۱۸ متر بر دقیقه و به مدت نیم ساعت، ۵ روز در هفته و به مدت ۳ هفته ورزش کردند. گروه‌های ورزش نکرده نیز مثل گروه‌هایی که ورزش کردند روی تردمیل خاموش قرار گرفتند. برای بررسی استرس احتمالی ایجاد شده به وسیله‌ی تردمیل وزن حیوانات هر سه روز یک بار اندازه‌گیری شد (۱۲).

القای ایسکمی عمومی مغز: ایسکمی عمومی مغزی به وسیله‌ی روش انسداد ۴ رگ القا شد [4 Vessel Occlusion (4VO)] (۱). در این روش موش‌ها به وسیله‌ی تزریق صفاقی کتامین-زایلازین ۱۰ درصد بیهوش شدند. پوست قسمت گردن بریده شد و ماهیچه‌ها و بافت‌های پیوندی به آرامی کنار زده شدند، سپس شریان‌های مشترک کاروتید از بافت‌های کناری آزاد شدند و شریان‌های مهره‌ای به طور دایم کوتر شدند. یک رشته نخ ابریشمی به قطر کم اطراف هر شریان کاروتید قرار گرفت تا انسداد بعدی را تسهیل کند. پس از بستن برش‌های جراحی، موش‌ها به مدت ۲۴ ساعت ریکاوری شدند و به مدت ۸ ساعت قبل از بستن شریان‌های کاروتید به آن‌ها غذا داده نشد. در روز بعد، هر دو شریان کاروتید به وسیله‌ی یک گره به مدت ۱۰ دقیقه بسته شدند تا ایجاد ایسکمی مغزی کنند و سپس گره به منظور برقراری ریپرفیوژن باز شد. موش‌هایی که رفلکس راست شدن را از دست دادند، مردمک‌هایشان گشاد شد و به نور پاسخی ندادند، به عنوان موش‌های ایسکمیک در آزمایش‌های بعدی استفاده شدند. دمای بدن در طول آزمایش در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به وسیله‌ی یک پتوی حرارتی گردشی حفظ شد.

اندازه‌گیری جریان خون مغز: برای بررسی صحت مدل ایسکمی، جریان خون مغزی به وسیله‌ی 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 عضله‌ی تمپورالیس کنار زده شد، یک حفره حدود ۱ میلی‌متر عقب نسبت به برگما و ۴ میلی‌متر جانبی نسبت به خط وسط ایجاد گردید. ثبات دستگاه لیزر داپلر در داخل حفره به صورت خارج جمجمه‌ای 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 لحظه‌ی شروع ایسکمی و هر دو دقیقه یک بار طی مدت ده دقیقه ایسکمی (هنگام بستن شریان‌های مشترک کاروتید) ثبت گردید. همچنین به وسیله‌ی لیزر داپلر، دمای مغز نیز در حین ایسکمی نشان داده شد.

فعالیت حرکتی (Locomotor Activity): به منظور بررسی تغییرات در فعالیت حرکتی در طول زمان، فعالیت حرکتی جانوران یک هفته پس از القای ایسکمی در گروه‌های مورد نظر و یک روز پس از ورزش در گروه ورزش به مدت ۳۰ دقیقه اندازه‌گیری شد (۱۳).

به این منظور از یک جعبه‌ی شیشه‌ای (35 cm × 35 cm × 35 cm) با یک کف پلاستیکی مشکی رنگ استفاده کردیم. فعالیت موش به وسیله‌ی یک دوربین که مستقیماً بالای جعبه قرار داشت ضبط شد و سپس با استفاده از نرم افزار Ethovision (Noldus, Wageningen, Netherlands) آنالیز شد.

آزمون تشخیص شی جدید (Novel Object Recognition Task): یادگیری حسی با کمک روش تشخیص شی جدید (بر مبنای میل طبیعی حیوان به لمس شی جدید در مقابل شی آشنا) یک هفته پس از القای ایسکمی در گروه‌های مورد نظر و یک روز پس از ورزش در گروه ورزش بررسی شد. این روش با استفاده از یک جعبه پلکسی گلاس به ابعاد (۳۵*۳۵*۳۵ سانتیمتر مکعب) در اتاق تاریک با نور قرمز

بررسی میزان تمایل حیوان به لمس شی جدید به روش زیر محاسبه شد (کل زمان لمس دو شی جدید و آشنا / زمان لمس شی جدید) * ۱۰۰ (۱۷). شاخص تشخیص معیاری از سنجش حافظه‌ی حیوان بود بر این اساس که در روز تست تمایل حیوان به لمس شی جدید نشان دهنده‌ی میزان به‌خاطرآوری حیوان از شی آشنا در روز قبل یعنی فاز یادگیری یا T1 است. بنابراین حیوانی که حافظه‌ی سالمی داشته باشد تمایل بیشتری برای لمس شی جدید دارد و زمان بیشتری را به آن اختصاص می‌دهد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها به‌صورت میانگین و خطای انحراف معیار نشان داده شدند. مقایسه‌ی بین گروه‌ها با آزمون آماری ANOVA یک طرفه و آزمون تکمیلی Tukey مورد تجزیه 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 گروه‌های ورزش کرده (طی سه هفته پروتکل ورزش) و گروه‌هایی که ورزش نکرده بودند به‌تدریج بدون تفاوت معنی‌داری افزایش یافت.

بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری جریان خون مغز: به‌منظور بررسی صحت روش ایسکمی به کار رفته در این مطالعه، میزان جریان خون مغز در حیوانات گروه ایسکمی اندازه‌گیری شد. میزان جریان خون مغز، ۲ دقیقه قبل از شروع ایسکمی به‌عنوان پایه (۱۰۰ درصد) در نظر گرفته شد و در طول ۱۰ دقیقه ایسکمی (هنگام بستن موقت شریان‌های کاروتید مشترک) به حدود ۱۴ درصد ($0.3 \pm 14/5$) 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 $0.7 \pm 37/1$ بود.

کمرنگ ($1 \text{ Lux} <$ شدت نور) (Lux لومیکس) انجام شد. طی مطالعاتی مشخص شده است که موش‌ها قادر به دیدن نور قرمز نیستند (۱۴). برای اینکه یادگیری موش با استفاده از اطلاعات بینایی نباشد تست رفتاری در اتاقی با شرایط نوری ذکر شده انجام گرفت. در چندین مطالعه که یادگیری فقط بر مبنای حس لامسه است از چنین شرایط نوری استفاده شده است (۱۵).

در کف جعبه یک پلاستیک مشکی رنگ قرار داشت و از دو شی فلزی مربع و مثلث به‌عنوان اشیای جدید و آشنا استفاده شد. در بالای جعبه یک دوربین رفتار حیوان را ضبط می‌کرد و آنالیز رفتاری با نرم افزار Ethovision (ساخت شرکت Noldos) انجام شد.

تست در سه مرحله با فاصله‌ی زمانی ۲۴ ساعت بین هر مرحله انجام شد. در مرحله عادت (Habituation) به‌منظور آشنایی به موش اجازه داده شد تا آزادانه به مدت نیم ساعت جعبه را بدون هیچ شی لمس کند. در روز بعد در فاز یادگیری (training یا T1) ۲ شی یکسان در جعبه گذاشته شد و موش به مدت ۵ دقیقه آن‌ها را لمس کرد. شکل و جای اشیای برای هر موش متفاوت بود. همچنین جهت ورود هر موش به داخل جعبه در سه روز آزمایشی یکسان بود تا از اثر وابستگی به جهت روی رفتار موش جلوگیری شود. در مرحله‌ی تست (Test یا T2) یک شی از مرحله‌ی قبل (فاز T1) همراه با یک شی جدید در جعبه گذاشته شد و موش به مدت ۵ دقیقه آن‌ها را لمس کرد. به منظور حذف اثرات بویایی کف جعبه و اشیای با اتانول ۷۰ درصد تمیز شد (۱۶). مدت زمانی که برای لمس هر شی صرف شد و همچنین کل زمان لمس دو شی محاسبه شد. لمس یک شی براساس قرارگیری بینی در فاصله کمتر مساوی ۲ سانتی‌متر از شی تعریف می‌شود. بالا رفتن یا نشستن روی شی در محاسبات قرار نگرفت (۱۷). موش‌هایی که در آن‌ها کل زمان لمس کمتر از ۱۰ ثانیه بود حذف شدند (۱۸). شاخص تشخیص (Discrimination Ratio) جهت

بررسی نتایج حاصل از سنجش فعالیت حرکتی (Activity Level): فعالیت حرکتی موش‌ها با اندازه‌گیری مسافت طی شده در طول مرحله‌ی آشنایی به مدت سی دقیقه بررسی شد (۱۶). میانگین مسافت پیموده شده در پنج گروه آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P=0/3$). بررسی نتایج حاصل از آزمون تشخیص شی جدید مرحله‌ی

یادگیری یا T1: میانگین مدت زمان کلی که صرف لمس دو شی یکسان در مرحله‌ی T1 می‌شود در پنج گروه آزمایشی هیچ تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۱) ($P=0/76$). همچنین بین میانگین فرکانس لمس اشیا در طول مرحله‌ی T1 در گروه‌های مختلف هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P=0/78$) (جدول ۱).

جدول ۱: فرکانس (بر حسب تعداد در ۵ دقیقه) و مدت زمان لمس اشیا (بر حسب ثانیه) در فازهای T1 و T2 در پنج گروه آزمایشی

شاخص اندازه‌گیری شده	کنترل	شم	ورزش	ایسکمی	ورزش + ایسکمی
مدت زمان کل لمس دو شی یکسان	$42/5 \pm 3/5$	$47/6 \pm 7/5$	$44/8 \pm 4/6$	$52/8 \pm 9/7$	$49/7 \pm 8/4$
فرکانس لمس دو شی یکسان	$65/3 \pm 7/7$	$82/3 \pm 14/07$	$56/2 \pm 6/1$	$75/7 \pm 12/9$	$73/4 \pm 10/8$
مدت زمان لمس شی آشنا	$15/7 \pm 1/9$	$19/2 \pm 3/2$	$17/8 \pm 2/5$	$22/9 \pm 3/2$	$29/3 \pm 8/4$
مدت زمان لمس شی جدید	$24/2 \pm 2/7$	$27/1 \pm 5/5$	$27/01 \pm 4/1$	$17/4 \pm 2/9$	$26/9 \pm 5/6$
مدت زمان کل	$39/9 \pm 3/8$	$46/3 \pm 6/5$	$44/8 \pm 5/2$	$40/4 \pm 5/4$	$56/2 \pm 9/8$
فرکانس لمس شی آشنا	$22/8 \pm 2/7$	$36/5 \pm 8/08$	$28/5 \pm 3/4$	$48 \pm 9/4^*$	$31/7 \pm 6/7$
فرکانس لمس شی جدید	$42/5 \pm 7/07$	$35/3 \pm 10/1$	$27/7 \pm 4/1$	$27/7 \pm 6/7$	$41/7 \pm 9/2$

* اختلاف معنی‌دار در فرکانس لمس شیء آشنا بین گروه کنترل و گروه ایسکمی است ($P < 0/05$).

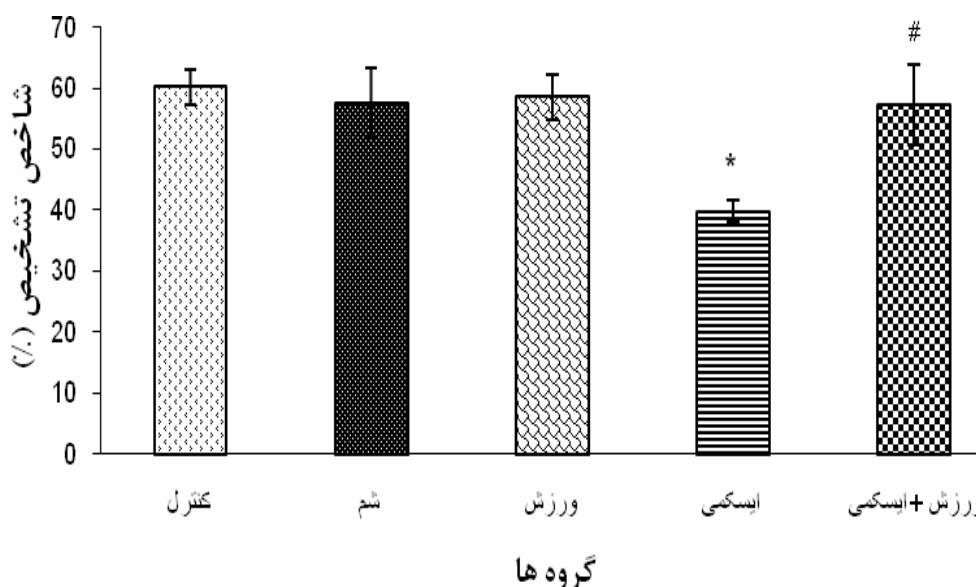
داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نمایش داده شده‌اند. T2 ۲۴ ساعت بعد از T1 انجام شده است.

مرحله‌ی تست یا T2: در این مرحله شاخص‌های میانگین زمان لمس شی جدید، میانگین فرکانس لمس شی جدید، میانگین زمان لمس شی آشنا، میانگین فرکانس لمس شی آشنا و میانگین کل زمان لمس بررسی شد (جدول ۱). میانگین مدت زمان کل لمس دو شی (شی آشنا و شی جدید) در مرحله‌ی تست بر حسب ثانیه در گروه‌های مختلف از نظر آماری اختلاف معنی‌دار نداشت ($P > 0/05$). میانگین زمان لمس شی آشنا، میانگین زمان لمس شی جدید و همچنین میانگین فرکانس لمس شی جدید در گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نشان دادند. میانگین فرکانس لمس شی

آشنا نیز در گروه‌های مختلف به‌دست آمد. مقایسه میانگین فرکانس لمس شی آشنا در پنج گروه نشان داد که در گروه ایسکمی ($48 \pm 9/4$) این شاخص نسبت به گروه کنترل ($22/8 \pm 2/7$) افزایش یافت ($P=0/006$). بنابراین حیوانات ایسکمیک مدت زمان بیشتری را صرف لمس شی آشنا کرده‌اند. شاخص تشخیص معیاری از حافظه‌ی حیوان است و تمایل طبیعی حیوان به لمس شی جدید را نشان می‌دهد. مقایسه شاخص تشخیص در پنج گروه نشان داد که در گروه ایسکمی ($39/8 \pm 1/6$ درصد) این شاخص نسبت به گروه شم ($27/7 \pm 4/1$ درصد) کاهش یافت ($P=0/024$). پیش شرطی

(نمودار ۱)، مقایسه شاخص تشخیص در گروه‌های مختلف. داده‌ها بر حسب میانگین $\pm$ انحراف معیار نمایش داده شده است.

سازی با ورزش ($57/3 \pm 6/6$ درصد) این شاخص را در حیوانات ایسکمیک ($39/8 \pm 1/6$ درصد) بهبود بخشید ($P=0/03$) درحالی‌که این شاخص نسبت به گروه کنترل ($60/2 \pm 2/8$ درصد) تفاوت معنی‌داری نداشت ($P=0/9$)



نمودار ۱: اثر پیش شرطی سازی با ورزش بر شاخص تشخیص متعاقب القای ایسکمی

بحث

نسبت به موش‌های دیابتی ورزش نکرده بهبود می‌بخشد (۱۹). نتایج مطالعه‌ی ما همچنین نشان داد که در شاخص تشخیص بین حیوانات ورزش نکرده (گروه کنترل) و حیوانات گروه ورزش تفاوت معنی‌داری از نظر آماری وجود ندارد. از طرف دیگر طی مطالعه‌ای Hopkins و همکاران نشان دادند که حیوانات ورزش کرده شاخص تشخیص بهتری نسبت به حیوانات ورزش نکرده نشان می‌دهند. آن‌ها همچنین گزارش کرده‌اند که ۲ هفته بی‌حرکتی حیوانات پس از ورزش، این اثر ورزش را از بین می‌برد. همچنین مدت زمان ورزش در مطالعه ذکر شده به مدت ۴ هفته بود. یکی از مناطقی از مغز که تست تشخیص شی جدید را میانجی‌گری می‌کند قشر Perirhinal است. پس احتمال دارد که ورزش بتواند روی

در این مطالعه، ما اثرات پیش شرطی سازی با ورزش را بر یادگیری لمسی متعاقب القای ایسکمیک مغزی، بررسی کردیم. یافته‌های ما بر اثرات سودمند پیش شرطی سازی با ورزش بر نقایص شناختی متعاقب ایسکمیک مغزی دلالت دارد. به‌طوری‌که مشاهده کردیم پیش شرطی سازی با ورزش باعث بهبود شاخص تشخیص (Discrimination Index) (ارزیابی شده در تست تشخیص شی جدید) در حیوانات مبتلا به ایسکمیک و در نتیجه باعث بهبود اختلال در یادگیری لمسی در این حیوانات شد. در مطالعه‌ای اثر ورزش بر تست تشخیص شی جدید در موش‌های دیابتی بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که ورزش، شاخص تشخیص را در موش‌های دیابتی

قسمت‌های مختلف مغز از جمله قشر Perirhinal موثر واقع شود و آسیب‌های عملکردی رسیده به آن (در اثر ایسکمی) را تا حدی بهبود بخشد (۲۰). یانگ و همکاران طی مطالعه‌ای مشاهده کردند که ورزش عملکرد نورونی و همچنین حجم سخته در موش صحرایی را کاهش می‌دهد (۲۱). در سال ۲۰۱۰ کیم و همکاران طی مطالعه‌ای مشاهده کردند که ورزش، حافظه‌ی کوتاه مدت و حافظه‌ی فضایی را از طریق افزایش تولید نورون و همچنین کاهش آپوپتوز در هیپوکمپ بهبود می‌بخشد. دینگ و همکاران طی مطالعه‌ای مشاهده کردند که ورزش (Exercise Preconditioning)، حفاظت عصبی و مقاومت نسبت به آسیب‌های مغزی القا شده با سخته را افزایش می‌دهد (۲۲). همچنین دینگ و همکاران طی مطالعه‌ای بررسی کردند که آیا ورزش میزان آسیب التهابی و همچنین میانجی‌های التهاب ناشی از سخته را کاهش می‌دهد و مشاهده کردند که ورزش آسیب التهابی را با کاهش بیان میانجی‌های التهاب و همچنین کاهش تجمع لوکوسیت‌ها کاهش می‌دهد (۱۲). کوا و همکاران طی مطالعه‌ای بررسی کردند که آیا ورزش می‌تواند نقصی که به دنبال سخته در سد خونی مغزی ایجاد می‌شود را کاهش دهد و مشاهده کردند که ورزش میزان پروتئین MMP-9 (Matrix Metalloproteinase 9) را کاهش داده و از این طریق آسیب به سد خونی مغزی را کاهش می‌دهد (۷). 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 به‌خصوص هیپوکامپ می‌تواند از طریق پیش شرطی سازی با ورزش کاهش یابد. همچنین فعالیت حرکتی حیوانات نیز در مدت نیم ساعت (در روز اول تست تشخیص شی جدید) بررسی شد که طی آن مشاهده کردیم پیش شرطی سازی با ورزش، در میزان فعالیت حرکتی در جانوران ایسکمیک بی‌تاثیر است و در بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت حرکتی

دیده نشد. در برخی مطالعات، به دنبال ایسکمی عمومی مغز، افزایش گذرایی در میزان فعالیت حرکتی مشاهده شده است (۲۴ و ۲۳). این افزایش فعالیت در اولین روز پس از ایسکمی کاملاً مشخص و برجسته است اما طی دو روز بعد میزان آن رو به کاهش می‌رود تا جایی که در روز ۵ تا ۷ پس از ایسکمی، بین حیوانات گروه کنترل (حیوانات سالم) و حیوانات ایسکمیک هیچ تفاوتی در میزان فعالیت حرکتی مشاهده نمی‌شود (۲۶ و ۲۵) که با نتایج مشاهده شده در مطالعه‌ی ما (بررسی میزان فعالیت حرکتی یک هفته پس از القای ایسکمی عمومی مغز) تطابق دارد. نتایج برخی مطالعات با نتایج ما همخوانی نداشت به‌طوری‌که گزارشاتی وجود دارد مبنی بر اینکه ورزش باعث افزایش میزان فعالیت حرکتی می‌شود (۲۷ و ۱۹). این تناقض ممکن است به علت تفاوت در پروتکل ورزش باشد به‌طوری‌که مثلاً در مطالعه ریزی و همکاران، ورزش با سرعت ۱۷ متر بر دقیقه، به مدت ۴۰ دقیقه، طی ۷ روز هفته، به مدت ۱۲ هفته انجام شد (۲۸). یا ورزش در مطالعه‌ی علایی با سرعت ۱۷ متر بر دقیقه، روزی یک ساعت، به مدت ۶ هفته انجام شد (۲۹). در مطالعه‌ی ناسیمتو و همکاران و همچنین در مطالعه‌ی مالیز و همکاران، روزی دو بار، به مدت یک ساعت، ۵ روز در هفته، به ترتیب به مدت ۸ هفته و ۱۰ هفته ورزش انجام شد (۲۷ و ۱۹). به هر حال نتایج مشابهی با مطالعه‌ی ما (پروتکل ورزش در مطالعه‌ی اخیر، ۱۸ متر بر دقیقه، روزی ۳۰ دقیقه، ۵ روز در هفته و به مدت سه هفته) گزارش شده است (۲۰). در مطالعه‌ی دیگری نیز نتایجی متناقض با نتایج ذکر شده در بالا دیده شد به این صورت که در موش‌های دیابتی که ورزش کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری دیده شد (۱۹). از آنجا که در مطالعه‌ی ما فعالیت حرکتی بین گروه ایسکمی با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشته است و همچنین ورزش نیز تاثیری روی میزان فعالیت حرکتی نشان نداده است پس می‌توان گفت که فعالیت حرکتی تاثیری در

تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت مالی مرکز تحقیقات فیزیولوژی-فارماکولوژی و همچنین معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان (شماره قرارداد ۹/۲۰/۷۸۸ مورخ ۹۰/۸/۱۴) انجام شده است که بدین وسیله از ایشان تشکر می‌شود.

نتایج مربوط به آزمون‌های حافظه نداشته است.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه‌ی ما نشان می‌دهد که ایسکمی عمومی مغز باعث ایجاد اختلالات شناختی می‌شود و پیش شرطی سازی با ورزش باعث بهبود یادگیری لمسی و حافظه در موش‌های ایسکمیک می‌شود.

References

- 1- Pulsinelli WA, Brierley JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke*. 1979; 10: 267-72.
- 2- Lee JM, Grabb MC, Zipfel GJ, Choi DW. Brain tissue responses to ischemia. *J Clin Invest*. 2000; 106: 723-31.
- 3- Dirnagl U, Simon RP, Hallenbeck JM. Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection. *Trends Neurosci*. 2003; 26: 248-54.
- 4- Kunz A, Park L, Abe T, et al. Neurovascular protection by ischemic tolerance: role of nitric oxide and reactive oxygen species. *J Neurosci*. 2007; 27: 7083-93.
- 5- 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; 18: 165-71.
- 6- Taga K, Patel PM, Drummond JC, Cole DJ, Kelly PJ. Transient neuronal depolarization induces tolerance to subsequent forebrain ischemia in rats. *Anesthesiology*. 1997; 87: 918-25.
- 7- Guo M, Cox B, Mahale S, et al. Pre-ischemic exercise reduces matrix metalloproteinase-9 expression and ameliorates blood-brain barrier dysfunction in stroke. *Neuroscience*. 2008; 151: 340-51.
- 8- Ding YH, Ding Y, Li J, Bessert DA, Rafols JA. Exercise pre-conditioning strengthens brain microvascular integrity in a rat stroke model. *Neurol Res*. 2006; 28: 184-9.
- 9- Stummer W, Baethmann A, Murr R, Schurer L, Kempfski OS. Cerebral protection against ischemia by locomotor activity in gerbils. Underlying mechanisms. *Stroke*. 1995; 26: 1423-9; discussion 1430.
- 10- Stummer W, Weber K, Tranmer B, Baethmann A, Kempfski O. Reduced mortality and brain damage after locomotor activity in gerbil forebrain ischemia. *Stroke*. 1994; 25: 1862-9.
- 11- Kim SE, Ko IG, Kim BK, 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: 357-65.
- 12- Ding YH, Young CN, Luan X, et al. Exercise preconditioning ameliorates inflammatory injury in ischemic rats during reperfusion. *Acta Neuropathol* 2005; 109: 237-46.
- 13- Okuda S, Roozendaal B, McGaugh JL. Glucocorticoid effects on object recognition memory require training-associated emotional arousal. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101: 853-8.
- 14- Jacobs GH, Fenwick JA, Williams GA. Cone-based vision of rats for ultraviolet and visible lights. *J Exp Biol*. 2001; 204: 2439-46.
- 15- Kramer AF, Hahn S, Cohen NJ, Banich MT, McAuley E, Harrison CR, et al. Ageing, fitness and neurocognitive function. *Nature*. 19. 9-400; 418: 99.
- 16- Chuhan YS, Taukulis HK. Impairment of single-trial memory formation by oral methylphenidate in the rat. *Neurobiol Learn Mem*. 2006; 85: 125-31.
- 17- Chopin P, Colpaert FC, Marien M. Effects of acute and subchronic administration of dexefaroxan, an alpha(2)-adrenoceptor antagonist, on memory performance in young adult and aged rodents. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002; 301: 187-96.
- 18- Roozendaal B, Okuda S, Van der Zee EA, McGaugh JL. Glucocorticoid enhancement of memory requires arousal-induced noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103:6741-6.
- 19- de Senna PN, Ilha J, Baptista PP, do Nascimento PS, Leite MC, Paim MF, et al. Effects of physical exercise on spatial memory and astroglial alterations in the hippocampus of diabetic rats. *Metab Brain Dis*. 2011; 26: 269-79.
- 20- Hopkins ME, Bucci DJ. BDNF expression in perirhinal cortex is associated with exercise-induced improvement in object recognition memory. *Neurobiol Learn Mem*. 2010; 94: 278-84.
- 21- Yang YR, Wang RY, Wang PS. Early and late treadmill training after focal brain ischemia in rats. *Neurosci Lett*. 2003; 339: 91-4.
- 22- Ding YH, Luan XD, Li J, et al. Exercise-induced overexpression of angiogenic factors and reduction of ischemia/reperfusion injury in stroke. *Curr Neurovasc Res*. 2004; 1: 411-20.
- 23- Kuroiwa T, Bonnekoh P, Hossmann KA. Locomotor hyperactivity and hippocampal CA1 injury after transient forebrain ischemia of gerbils. *Neurosci Lett*. 1991; 122: 141-4.
- 24- Nakamura T, Tanaka S, Hirooka K, et al. Anti-oxidative effects of d-allose, a rare sugar, on ischemia-reperfusion damage following focal cerebral ischemia in rat. *Neurosci Lett*. 2011; 487: 103-6.
- 25- Block F, Schwarz M. Dextromethorphan reduces functional deficits and neuronal damage after global ischemia in rats. *Brain Res*. 1996; 741: 153-9.
- 26- Karasawa Y, Araki H, Otomo S. Changes in locomotor activity and passive avoidance task performance induced by cerebral ischemia in

- Mongolian gerbils. *Stroke*. 1994; 25: 645-50.
- 27- Malysz T, Ilha J, Nascimento PS, De Angelis K, Schaan BD, Achaval M. Beneficial effects of treadmill training in experimental diabetic nerve regeneration. *Clinics (Sao Paulo)*. 2010; 65: 1329-37.
- 28- Reisi P, Alaei H, Babri S, Sharifi MR, Mohaddes G. Effects of treadmill running on spatial learning and memory in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurosci Lett*. 2009; 455: 79-83.
- 29- Alaei H, Moloudi R, Sarkaki AR. Effects of treadmill running on mid-term memory and swim speed in the rat with Morris water maze test. *J Bodyw Mov Ther*. 2008; 12: 72-5.

The Effect of Exercise Preconditioning on Tactile Learning Following Transient Cerebral Ischemia in Male Rats

Tahamtan M¹, Allahtavakoli M¹, Taghavi MM², Rezazadeh H¹, Arababadi MK³, Shamsizade A¹

¹Physiology-pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

²Dept. of Anatomy, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

³Infectious and Tropical Diseases Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

Corresponding Author: Shamsizadeh A, Physiology-Pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.

Email: ashamsi@rums.ac.ir

Received: 1 Aug 2012 **Accepted:** 1 Jan 2013

Background and objective: Transient global cerebral ischemia leads to neuronal damage in the hippocampus and cerebral cortex which results in learning and memory impairment. Exercise preconditioning helps with neuroprotection against cerebral injuries induced by ischemia. The purpose of the present study was to investigate the effect of exercise preconditioning on tactile learning following global cerebral ischemia in rats.

Materials and Methods: A total of 50 male wistar rats weighing 250-300g were divided into 5 experimental groups. Exercise was performed on a treadmill and animals ran with the speed of 18 m/s for 30 minutes, 5 days per week for 3 weeks. Ischemia was induced by a four-vessel occlusion (vertebral and common carotid arteries) method. Tactile memory was assessed using a novel object recognition task.

Results: Frequency of visits to a familiar object increased in the ischemia group (48 ± 9.4 Hz) compared to the control (22.8 ± 2.7 Hz). Also discrimination index decreased in the ischemia group ($39.8 \pm 1.6\%$) compared to the sham ($60.2 \pm 2.8\%$). Exercise preconditioning improved this index in the ischemic animals ($57.3 \pm 6.6\%$).

Conclusion: Transient cerebral ischemia can impair tactile learning and exercise preconditioning can prevent this deficit in the ischemic rats.

Keywords: Transient cerebral ischemia, Preconditioning, Male rat, Exercise, Tactile learning