Journal of North Khorasan University of Medical Sciences
No 43, Volume 11, Issue 3

Research Article

Effect of Endurance Training on Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and Tyrosine Kinase B (Trkb) Level in Hippocampus of Ischemic Induced Male Rats

Mohammad Reza Jalilvand [1], Ziya Fallah Mohammadi [2,*], Ali Yaghoubi [3]

[1] PhD Student in Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Science, Islamic Azad University, Bojnourd Branch, Bojnourd, Iran
[2] Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Mazandaran, Iran
[3] Department of Physical Education and Sport Science, Islamic Azad University, Bojnourd Branch, Bojnourd, Iran
*** Corresponding author:** Ziya Fallah Mohammadi, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Mazandaran, Iran. E-mail: ziafalm@yahoo.com

DOI: 10.21859/nkjmd-110312

How to Cite this Article:
Jalilvand MR, Fallah Mohammadi Z, Yaghoubi A. Effect of Endurance Training on Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and Tyrosine Kinase B (Trkb) Level in Hippocampus of Ischemic Induced Male Rats. *J North Khorasan Univ Med Sci*. 2019; **11**(3):87-93. DOI: 10.21859/nkjmd-110312

Received: 23 Jan 2019
Accepted: 01 Jun 2019

Keywords:
Endurance Training
Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF)
Tyrosine Kinase B (TrkB)
Ischemia

Abstract

Introduction: Brain derived neurotrophic factor (BDNF) have neuroprotective effect through binding with tyrosine kinase B (TrkB). Thus the Aim of the present study was to investigate the effects of eight weeks endurance training on BDNF and TrkB levels in the hippocampus of ischemic induced male rats.

Methods: 40 Male wistar rats (12 weeks old and 228.19±21.18g) were divided into four groups, including: ischemic control, ischemic training, healthy control, healthy training. To induce ischemia, carotid artery is clamped with microsurgery clamp for 45 minutes**.** Training groups (healthy and ischemic), trained with 30m/min (70% VO_2max), 30min/day, and 5 days/week on the treadmill. BDNF and TrkB levels of the hippocampus were measured using ELISA method.For data analysis, one-way ANOVA and post hoc Tukey tests were performed at a significance level of $P<0.05$.

Results: The results showed that BDNF levels in hippocampus of ischemic control group were significantly lower than healthy control and healthy training group (P values 0.001, 0.002 respectively). No significant differences were found between BDNF levels in ischemic training with ischemic control and healthy control group (p values 0.54, 0.091 respectively) and No significant differences were found between TrkB levels in ischemic control with healthy control and ischemic control group (p values 0.675, 0.821 respectively). TrkB level in healthy training group was significantly higher than healthy control, healthy training groups ($P=0.001$).

Conclusions: Based on these results, it seems that endurance training can have neuroprotective effect through increasing the level of BDNF and TrkB level in hippocampus of ischemic rats and can be studied as a complementary therapy in ischemic disease.

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
دوره ۱۱، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۸

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین استقامتی بر سطح عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و گیرنده تیروزین کیناز B (TrkB) در هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر ایسکمی شده

محمدرضا جلیلوند [۱]، ضیاء فلاح‌محمدی [۲،*]، علی یعقوبی [۳]

[۱] دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بجنورد، بجنورد، ایران
[۲] دانشیار دانشگاه مازندران، دانشکده علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، مازندران، ایران
[۳] گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بجنورد، بجنورد، ایران
[*] **نویسنده مسئول:** ضیاء فلاح‌محمدی، دانشیار دانشگاه مازندران، دانشکده علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، مازندران، ایران.
ایمیل: ziafalm@yahoo.com

DOI: 10.21859/nkjms-110312

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۰۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۱۱

واژگان کلیدی:
تمرین استقامتی
عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF)
تیروزین کیناز B (TrkB)
ایسکمی

چکیده

مقدمه: عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) با اتصال به گیرنده تیروزین کیناز B (TrkB) می‌تواند اثرات محافظت کننده عصبی داشته باشد. بنابراین هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر ۸ هفته تمرین استقامتی بر BDNF و TrkB در هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر ایسکمی شده بود.

روش کار: ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (با سن ۱۲ هفته و میانگین وزنی ۲۱/۱۸ ±۲۲۸/۱۹ گرم)، در ۴ گروه سالم کنترل، ایسکمی کنترل، سالم تمرین، ایسکمی تمرین قرار گرفتند. برای القای ایسکمی، شریان کاروتید با استفاده از گیره‌های میکروسرجری به مدت ۴۵ دقیقه مسدود شد. گروه‌های تمرین (سالم و ایسکمی) با سرعت ۳۰ متر در دقیقه (معادل ۷۰ درصد VO_2max) به مدت ۳۰ دقیقه در هر جلسه و ۵ روز در هفته روی نوار گردان تمرین کردند. سطح BDNF و TrkB هیپوکامپ با استفاده از روش الایزا مورد سنجش قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی انجام شد ($P < ۰/۰۵$).

یافته‌ها: سطح BDNF در هیپوکامپ موش‌های گروه ایسکمی کنترل نسبت به گروه سالم کنترل و سالم تمرین به طور معناداری پایین‌تر بود (مقادیر P به‌ترتیب ۰/۰۰۲ و ۰/۰۰۱) ولی سطح این شاخص در گروه ایسکمی تمرین نسبت به گروه ایسکمی کنترل و سالم کنترل تفاوت معناداری مشاهده نشد (مقادیر P به‌ترتیب ۰/۵۴ و ۰/۰۹۱). بین سطح TrkB در گروه ایسکمی کنترل نسبت به گروه سالم کنترل و ایسکمی تمرین، تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P < ۰/۰۵$) ولی سطح این شاخص در گروه سالم تمرین نسبت سالم کنترل و ایسکمی تمرین به‌طور معناداری بالاتر بود ($P = ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین استقامتی می‌تواند از طریق بهبود سطح BDNF و TrkB در هیپوکامپ موش‌های ایسکمی شده، به بازیافت نورون‌های عصبی متعاقب ایسکمی کمک کند و به عنوان یک روش درمانی مکمل در بیماران ایسکمی مورد مطالعه قرار گیرد.

مقدمه

بنابر اعلام سازمان بهداشت جهانی، ۵ میلیون نفر از مبتلایان به عارضه سکته مغزی در هر سال فوت کرده و ۵ میلیون نفر نیز دچار معلولیت دائمی می‌شوند [۱]. ایسکمی مغزی منجر به اختلالات عصبی نظیر اختلالات حرکتی، حسی، بینایی، اختلال در تکلم و نقایص شناختی، آلزایمر و اختلال در یادگیری فضایی و حافظه می‌گردد [۱-۳]. در واقع به دنبال ایسکمی مغزی نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ که نقش اساسی در شکل گیری حافظه دارند، دچار آسیب می‌شوند [۴]؛ در این راستا توجه به عواملی که باعث بازسازی و بهبود عملکرد مغز پس از سکته می‌شوند، رو به گسترش است[۳].

عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) عامل تغذیه عصبی مهمی است که تأثیر مستقیمی در حفظ و فراخوانی عناصر شکل دهنده مغز دارد و نیز در تنظیم و بقای نورون‌ها و افزایش عملکرد سیناپسی نقش مهمی دارد [۵]. عامل نوروتروفیک مشتق از مغز به عنوان مهم‌ترین عامل تنظیم کننده تفکیک نورون‌ها، شکل پذیری سیناپسی و روند مرگ سلولی معرفی شده است [۶, ۷] و همچنین نقش مهمی در یادگیری و حافظه بر عهده دارد [۸, ۹]. این عامل به عنوان مهم‌ترین عامل تروفیکی شناخته شده در سیستم عصبی می‌باشد [۱۰, ۱۱]. پژوهشگران، BDNF را یک عامل نوروژنیک می‌دانند که موجب انتقال اثرات ضد آپوپتوزی و افزایش بازیابی حسی و تحریک نورونی پس از سکته مغزی می‌شود [۱۲]. اصولاً BDNF اثرات خود را از طریق اتصال به دو دسته گیرنده‌های غشایی شامل گیرنده تیروزین کیناز B (TrkB) و p75 اعمال می‌کند [۱۳]. توزیع BDNF در مناطق مختلف مغزی

و در سطح بالایی در هیپوکامپ که قطب اصلی تشکیلات حافظه و یادگیری است، گزارش شده است. از آنجا که به طور کلی BDNF در مغز حضور دارد پردازش‌های متناوب خود و گیرنده‌اش (TrkB) باعث تثبیت و تقویت اعمال سیناپسی و فرآیندهای شناختی می‌شود. باند شدن BDNF با گیرنده اختصاصی‌اش، برای نشان دادن مسیرهای سیگنالینگ شکل پذیری سیناپسی در نواحی مختلف هیپوکامپ مورد استفاده قرار می‌گیرد [۵]. نشان داده شده است که BDNF، از طریق اتصال به TrkB، یک نقش کلیدی در حمایت از نورون‌های نجات یافته و بازسازی بافت‌ها، بعد از آسیب‌های ناشی از ایسکمی بر عهده دارد [۱۴, ۱۵].

ورزش درمانی رایج‌ترین روش توان‌بخشی است و می‌تواند به‌طور قابل توجهی باعث کاهش شدت آسیب عملکردی و افزایش عوامل رشدی مغز پس از سکته مغزی شود [۱۶, ۱۷]. در این میان ورزش استقامتی یک نوع مرسوم و آسان برای انجام فعالیت ورزشی قبل و بعد از سکته ایسکمیک مغزی است [۱۷]. تورا و کوجی (۲۰۱۲) نیز در مطالعه‌ای مروری به بررسی میزان نوروژنز بعد از القای سکته مغزی پرداختند. آن‌ها از آنجا که سکته مغزی را یکی از علل عمده مرگ می‌دانستند یک استراتژی جدید برای به حداقل رساندن آسیب مربوط ایسکمیک مورد نیاز دانستند [۱۸]. محققان اعتقاد دارند که تمرینات استقامتی می تواند باعث حفاظت نورونی شود [۱۹-۲۱] در این راستا ژانگ که و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند که ورزش استقامتی پس از سکته مغزی می‌تواند از سلول‌های عصبی در برابر آسیب ایسکمیک محافظت کند [۲۲]. همچنین شمسایی و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه‌ای به بررسی اثر آماده سازی اولیه با یک دوره تمرین ورزشی استقامتی بر اختلالات حافظه و مرگ سلولی نورون‌های ناحیه هیپوکامپ به دنبال ایسکمی ریپرفیوژن مغزی در موش صحرایی نر پرداختند. نتایج نشان داد که ایسکمی مغزی با اختلال در حافظه و مرگ سلولی نورون‌های ناحیه هیپوکامپ همراه است و فعالیت ورزشی پیش از ایسکمی به‌طور معناداری اختلال ناشی از ایسکمی در حافظه و مرگ سلولی را بهبود می‌بخشد[۲۳]. پوترا و همکاران (۲۰۱۶) در گزارشی به بررسی سطح BDNF در مبتلایان سکته مغزی پرداختند.. مطالعه آن‌ها نشان داد که سطح BDNF پس از ۱۵ روز افزایش پیدا کرده است. یافته‌های آن‌ها نشان داد که BDNF ممکن است برای جلوگیری از مرگ سلولی بسیج شوند[۲۴]. اما لیبلت و همکاران (۲۰۱۰) در گزارشی دریافتند که ۱یا ۲ هفته ورزش پیش از القای ایسکمیک MCA در مقایسه با یک گروه کنترل، عوارض ناشی از سکته کاهش را نمی‌دهد[۲۵].

با توجه به این‌که تمرین ورزشی به عنوان یک مداخله غیردارویی و بدون عوارض جانبی در درمان بسیاری از بیماری‌ها مد نظر می‌باشد [۲۶] و همان‌طور که می‌توان دریافت، نتایج تحقیقات در زمینه تأثیر تمرین بر سطح BDNF مغز آزمودنی‌های ایسکمی شده از اجماع برخوردار نیستند و نقش کلیدی BDNF و گیرنده اختصاصی‌اش (TrkB] در محافظت و بازسازی نورون‌ها بعد از ایسمکی مغزی و اینکه مکانیزم اثرات محافظت کننده عصبی تمرین ورزشی به خوبی مورد بررسی و مطالعه قرار نگرفته است، بنابراین تحقیق حاضر در پی پاسخ به این سؤال است که آیا ۸ هفته تمرین استقامتی بر روی نوارگردان بر سطح BDNF و TrkB هیپوکامپ موش‌های ایسکمی شده اثر دارد؟

روش کار

پژوهش حاضر از نوع تجربی است که به شیوه آزمایشگاهی انجام شد. در این تحقیق از ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ با دامنه وزنی ۱۰۰ تا ۱۵۰ گرم و سن ۸ هفته استفاده شد. موش‌ها در محیطی با دمای ۲ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و در قفس‌های پلی کربنات (۵ موش در هر قفس) نگهداری شدند. پس از رسیدن موش‌ها به دامنه وزنی ۲۰۰ تا ۳۰۰ گرم، موش‌های گروه‌های ایسکمی با تزریق درون صفاقی کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. با توجه به پایلوت انجام شده (بر اساس تحقیق عرفانی و همکاران (۲۰۱۵))، ابتدا و قبل از انجام جراحی و القای ایسکمی ریپرفیوژن، اقدامات بهداشتی و ایمنی و رفتاری (جرکت طبیعی اندام‌ها)، اجرا شد سپس موش‌ها با استفاده از ترکیبی از زایلازین و کتامین بیهوش شده و سپس با یک برش کوچک در ناحیه گردن، عروق کاروتید مشخص شد و سپس شریان کاروتید مشترک به دقت از ورید کاروتید و عصب واگ جدا شد [۲۷]. شریان کاروتید مشترک به مدت ۴۵ دقیقه با استفاده از گیره میکروسرجری مسدود شد و در پایان ۴۵ دقیقه، جریان خون شریان مشترک، با باز کردن گیره‌ها مجدداً برقرار شد [۲۸]. به منظور بررسی میزان آسیب دیدگی ناشی از ایسکمی، از آزمون حسی-حرکتی و شناختی راه رفتن بر روی نردبان افقی لدر [۲۹]، ۲۴ ساعت پس از القای ایسکمی استفاده شد. سپس موش‌های باقی مانده به طور تصادفی به در چهار گروه سالم کنترل، سالم تمرین، ایسکمی کنترل و ایسکمی تمرین، تقسیم شدند. لازم به ذکر است که در طول اجرای پژوهش، ۱۰ سر موش به علت مرگ و یا ناتوانی از مراحل تحقیق حذف شدند.

پروتکل تمرین استقامتی: مجموع دوره تمرین به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته و در ۳ مرحله آشنایی، اضافه بار و تثبیت بار اجرا شد. در مرحله آشنایی (هفته اول)، موش‌ها هر روز به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۵ متر در دقیقه روی نوار گردان راه رفتند. در مرحله اضافه بار (هفته دوم تا چهارم)، به تدریج در طی ۳ هفته، به شدت و مدت فعالیت افزوده شد تا به میزان نهایی ۵۰ دقیقه با سرعت ۳۰ متر در دقیقه با شیب ۱۰ درجه رسید. در مرحله حفظ یا تثبیت (هفته پنجم تا هشتم)، تمرین با همین شدت ادامه یافت تا ۸ هفته به پایان رسید. بر اساس تحقیق بد فورد این شدت معادل ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی ارزیابی شده است [۳۰].

تمامی آزمودنی‌ها، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۴ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. برای جمع‌آوری نمونه‌های هیپوکامپ، سر آزمودنی‌ها با قیچی مخصوص از ناحیه گردن جدا شد. ابتدا، جمجمه با استفاده از تیغ جراحی شکافته شد و مغز با احتیاط خارج گردید. مغز سالم با استفاده از تیغ جراحی دقیقاً از وسط به دو نیم تقسیم شد و با توجه به مختصات هیپوکامپ به کمک اطلس پاکسینوس، هیپوکامپ از سیستم لمبیک جدا شد. نمونه‌های هیپوکامپ جمع‌آوری شده برای اندازه‌گیری‌های بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای اندازه‌گیری سطح BDNF و TrkB، ابتدا ۵۰ میلی‌گرم از بافت هیپوکامپ در محلول بافر سیترات-سالین سرد قرار داده شد. سپس بافت مذکور به مدت ۱۰ دقیقه از طریق میکروهموژنایزر هوموژن شد. بافت هوموژن شده سانتریفوژ گردید و مایع رویی به داخل اپندورف منتقل شد. از این محلول برای اندازه‌گیری BDNF و TrkB در بافت هیپوکامپ استفاده گردید. سطح BDNF هیپوکامپ به روش الایزا با استفاده از کیت تحقیقاتی مخصوص موش‌های صحرایی (ساخت شرکت کازابیو چین) طبق دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. حساسیت کیت ۷/۸۱ پیکوگرم در میلی‌لیتر و ضریب تغییرات ۷/۹ درصد بود. سطح TrkB هیپوکامپ به روش الایزا با استفاده از کیت تحقیقاتی مخصوص موش‌های صحرایی (ساخت شرکت کازابیو چین) طبق دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. حساسیت کیت ۷/۸ پیکوگرم در میلی‌لیتر و ضریب تغییرات کمتر از ۸/۲ درصد بود.

به منظور بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک و برای بررسی فرض برابری واریانس‌ها از آزمون لون استفاده شد. پس از مشخص شدن نرمال بودن توزیع داده‌ها و برقراری فرض برابری واریانس‌ها، به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و مقایسه درون گروهی از آزمون آنالیز واریانس با اندازه گیری مکرر و برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی با سطح معناداری P <۰/۰۵ استفاده شد. تمام محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت.

یافته‌ها

در جدول ۱ مقایسه وزن موش‌ها قبل و بعد از ۸ هفته تمرین تداومی و همچنین داده‌های حاصل از آزمون آزمون حسی-حرکتی و شناختی راه رفتن بر روی نردبان افقی لدر قبل و بعد از القای ایسکمی در گروه‌های تحقیق ارائه شده است.

نتایج حاصل آزمون اندازه گیری مکرر نشان داد که بین امتیازات کسب شده موش‌ها از آزمون آزمون حسی-حرکتی و شناختی راه رفتن بر روی نردبان افقی لدر تفاوت معناداری وجود دارد (P=۰/۰۰۱). یافته‌های حاصل از آزمون تعقیبی در مورد مقایسه جفتی نشان داد که القای ایسکمی باعث کاهش معنادار امتیازات کسب شده از آزمون لدر در گروه ایسکمی کنترل و تمرین شده است (P = ۰/۰۰۱) ولی بین این شاخص در گروه‌های ایسکمی کنترل و تمرین، در پیش و پس از القای ایسکمی و همچنین پس از هشت هفته تمرین استقامتی، تفاوت معناداری مشاهده نشد (P < ۰/۰۵).

در جدول ۲ یافته‌های آزمون آماری در خصوص مقایسه اثر تمرین استقامتی بر سطوح BDNF و TrkB در گروه‌های تحقیق ارائه شده است. بر اساس یافته‌های موجود در جدول ۲، بین میانگین سطوح BDNF و TrkB در گروه‌های تحقیق اختلاف معناداری مشاهده شد (P = ۰/۰۰۱).

سطح BDNF هیپوکامپ گروه‌های تحقیق

اطلاعات موجود در تصویر ۱ نشان می‌دهد سطح BDNF هیپوکامپ در گروه ایسکمی کنترل نسبت به گروه‌های سالم کنترل و سالم تمرین به طور معناداری پایین‌تر بود (مقادیر P به ترتیب ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۲). از طرفی بین سطح این شاخص در گروه ایسکمی تمرین نسبت به ایسکمی کنترل و سالم کنترل تفاوت معناداری مشاهده نشد (مقادیر P به ترتیب ۰/۵۴ و ۰/۰۹۱). تصویر ۱ مقادیر BDNF هیپوکامپ گروه‌های تحقیق را نشان می‌دهد.

سطح TrkB هیپوکامپ گروه‌های تحقیق

نتایج نشان داد که بین سطح TrkB هیپوکامپ در گروه ایسکمی کنترل نسبت به گروه‌های سالم کنترل و ایسکمی تمرین تفاوت معناداری مشاهده نشد (مقادیر P به ترتیب ۰/۸۲۱ و ۰/۶۷۵). از طرفی بین سطح این شاخص در هیپوکامپ گروه سالم تمرین نسبت به سالم کنترل، ایسکمی کنترل و ایسکمی تمرین، به طور معناداری بالاتر بود (P = ۰/۰۰۱). تصویر ۲ مقادیر TrkB هیپوکامپ گروه‌های تحقیق را نشان می‌دهد.

جدول ۱: مقادیر وزن موش‌ها قبل و بعد از ۸ هفته تمرین و امتیاز حاصل از آزمون لدر پیش و پس از القای ایسکمی و همچنین پس از ۸ هفته تمرین (انحراف معیار ±میانگین)

شاخص	سالم کنترل (۹ سر)	سالم تمرین (۹ سر)	ایسکمی کنترل (۷ سر)	ایسکمی تمرین (۸ سر)
وزن (گرم)				
پیش آزمون	۲۱۹/۴۴ ± ۱۴/۲۴	۲۱۵/۰۰ ± ۱۱/۹۸	۲۲۳/۱۱ ± ۱۱/۹۲	۲۲۴/۷۵ ±۱۲/۳۰
پس آزمون	۳۰۳/۸۹ ± ۲۴/۵۹	۳۰۸/۶۷ ± ۲۵/۰۸	۳۲۵/۱۱ ± ۳۸/۹۷	۳۱۹/۳۸ ± ۳۲/۰۱
آزمون لدر (امتیاز)				
پیش از ایسکمی	-	-	۵/ ۲۶± ۰/۷۰	۵/۴۶ ± ۰/۶۳
پس از ایسکمی	-	-	۱/ ۳۲± ۰/۲۱	۱/۵ ± ۰/۲۹
پس آزمون	-	-	۳/۲۲ ± ۰/۹۸	۴/۵۶ ± ۰/۴۹

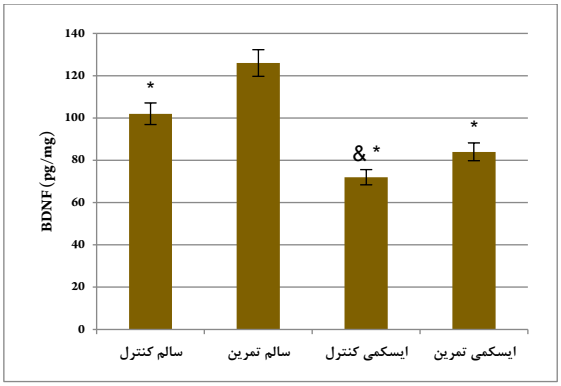
مقادیر داخل جدول به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

جدول ۲: مقایسه سطوح شاخص‌های تحقیق (انحراف معیار ±میانگین) در هیپوکامپ گروه‌های تحقیق و یافته‌های آزمون آنالیز واریانس

شاخص	سالم کنترل	سالم تمرین	آلزایمر کنترل	آلزایمر تمرین	مقدار F†	مقدار P‡
BDNF (pg/mg tissue)	۱۰۲/۵۸ ± ۹/۵۷	۱۲۶/۸۸ ± ۱۰/۶۴	۷۲/۱۱ ± ۱۱/۵۶	۸۴/۲۶ ± ۱۰/۷۱	۲۵/۰۵	&۰/۰۰۱
TrkB (pg/mg tissue)	۱۲۰/۵ ± ۸/۹۱	۱۶۴/۹ ± ۸/۹۶	۱۱۴/۱ ± ۱۲/۵۴	۱۲۹/۳ ± ۱۰/۷۱	۲۳/۱۰	&۰/۰۰۱

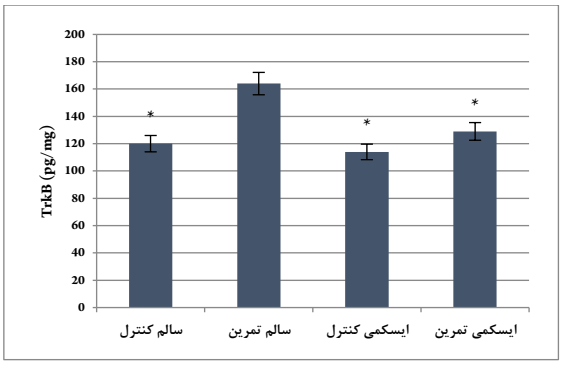
† آماره آزمون، ‡ مقدار P<۰/۰۵ از نظر آماری معنادار است، & وجود تفاوت معنادار (P<۰/۰۵) بین گروه‌های تحقیق

مقادیر داخل جدول به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.



تصویر ۱: مقایسه سطح BDNF هیپوکامپ گروه‌های تحقیق متعاقب ۸ هفته تمرین استقامتی

* نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه سالم تمرین و & نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه سالم کنترل در سطح P> ۰/۰۵



تصویر ۲: مقایسه سطح TrkB هیپوکامپ گروه‌های تحقیق متعاقب ۸ هفته تمرین استقامتی

* نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه ایسکمی تمرین در سطح P> ۰/۰۵

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد القای ایسکمی باعث کاهش سطح BDNF هیپوکامپ موش‌ها در گروه ایسکمی کنترل در مقایسه با گروه‌های سالم (کنترل و تمرین) شد. همچنین نتایج مربوط به TrkB هیپوکامپ نیز نشان داد که سطح این شاخص در گروه ایسکمی کنترل نسبت به سالم کنترل پایین‌تر بود و ولی این تفاوت‌ها از نظر آماری معنادار نبود. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سطح BDNF هیپوکامپ در گروه سالم تمرین نسبت به سالم کنترل، ایسکمی کنترل و ایسکمی تمرین به طور معناداری بالاتر بود و همچنین سطح این شاخص در گروه ایسکمی تمرین افزایش غیرمعناداری نسبت به ایسکمی کنترل را نشان داد و بین سطح BDNF هیپوکامپ در گروه ایسکمی تمرین و سالم کنترل نیز تفاوت معناداری مشاهده نشد نتایج مربوط به TrkB هیپوکامپ نیز نشان داد که سطح این شاخص در گروه سالم تمرین به طور معناداری بالاتر از سایر گروه‌ها بود و تمرین ورزشی در گروه ایسکمی (ایسکمی کنترل) سطح آن را به بیشتر از گروه سالم کنترل نیز افزایش داد ولی این تفاوت‌ها از نظر آماری معنادار نبود.

آسیب‌های مغزی ناشی از ایسکمی ریپرفیوژن یک دلیل عمده مرگ و آسیب‌های نرون های عصبی ناشی از آن می‌باشد. ایسکمی ریپرفیوژن یک شبیه ساز از سکته مغزی در انسان می‌باشد که باعث افزایش التهاب، استرس اکسایشی، آپوپتوز نرون های عصبی و ... می‌شود. پروتئین BDNF با اتصال به گیرنده TrkB، موجب افزایش بیان و فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی، افزایش عوامل ضد آپوپتوزی و افزایش ساختارهای درگیر در سیناپس می‌شود و از این طریق، نقش مهمی در رشد و حفظ سیستم عصبی، فعالیت سیناپسی و به طور کلی، بهبود عملکرد شناختی ایفا می‌کند [۳۱]. پروتئین BDNF توسط نرون‌ها، آستروسیت‌ها، سلول‌های گلیا، الیگودندروسیت‌ها و میکروگلیا تولید و بیشترین مقادیر آن در نواحی مختلف سیستم عصبی مرکزی مانند کورتکس، جسم مخطط، هیپوکامپ، هیپوتالاموس، ساقه مغز و مخچه؛ یافت می‌شود [۳۲]. در این راستا دیاز و همکاران (۲۰۱۷)، بیان کردند که BDNF، از طریق اتصال به TrkB، یک نقش کلیدی در حمایت از نورون‌های نجات یافته و بازسازی بافت‌ها، بعد از آسیب‌های ناشی از ایسکمی بر عهده دارد [۱۴, ۱۵]. همچنین وانگ و همکاران (۲۰۱۳) تغییرات سایتوکاین های التهابی و نوروتروفین ها را بعد از ۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت و همچنین ۷ روز پس از ایسکمی مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که میزان آپوپتوز نورونی به طور مثبت با عامل نکروز کننده تومور آلفا (TNF-α) و اینترلوکین-۱ بتا (IL-1β) و به طور معکوس با عامل رشد عصبی (NGF) و BDNF در ارتباط بود. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که ایسکمی باعث افزایش سایتوکاین های التهابی و در نتیجه آپوپتوز نورونی می‌گردند هرچند نوروتروفین هایی مثل NGF و BDNF آن را سرکوب می‌کنند [۳۳]. بنابراین نتایج تحقیق حاضر که کاهش سطح این شاخص‌ها در اثر ایسمکی را نشان می‌دهد می‌تواند نشان دهنده کاهش حمایت از نورون‌های عصبی و افزایش احتمال آپوپتوز و مرگ نورونی در مغز موش‌ها در اثر ایسکمی باشد.

بیان شده است که اثرات محافظت کننده عصبی تمرین ورزشی، از طریق تنظیم افزایشی بیان نوروتروفین ها صورت می‌گیرد. این پروتئین‌ها موجب افزایش نرون زایی شده و با فراهم کردن یک شبکه عصبی گسترده‌تر، موجب افزایش قابلیت احیا (رژنراسیون) سلول‌های عصبی می‌شوند. باند شدن BDNF با گیرنده اختصاصی‌اش یعنی TrkB، اصلی‌ترین مسیر سیگنالینگ فرآیند شکل پذیری سیناپسی در هیپوکامپ می‌باشد. در واقع ۳ مسیر سیگنالینگ اصلی وجود دارد که به دنبال باند شدن BDNFبا TrkB فعال می‌شود؛ مسیر پروتئین کیناز فعال شده توسط میتوژن (MAPK)، مسیر فسفاتیدیل اینوزیتول ۳ کیناز (PI3K) و مسیر فسفو لیپاز C گاما (PLC-γ)؛ هر سه این مسیرها پس از باند شدن لیگاند با گیرنده فعال شده و در نهایت منجر به تکثیر، تمایز و بقای نورونی می‌شوند. در این بین نقش مسیر سوم به دلیل درگیری دو عامل PKC و کلسیم از آن جهت که ورزش نقش مهمی را بر هموستاز کلسیم ایفا می‌کند، می‌تواند دارای اهمیت بیشتری باشد. فعال سازی PLC-γمنجر به راه اندازی سیگنال‌های وابسته به اینوزیتول تری فسفات (IP3) و دی آسیل گلیسرول (DAG) می‌شود. IP3 منجر به رهاسازی سریع کلسیم از ذخایر درون سلولی می‌شود و DAG،PKC را فعال کرده که منجر به ازدیاد حساسیت دستگاه انقباضی و رهایش کلسیم و در پی آن رخدادهای درون سلولی نظیر؛ تکثیر و مهاجرت در عضلات می‌شود، اما آنچه که در سلول‌های نورونی اهمیت دارد، همان مسیر IP3 می‌باشد که علاوه بر تکثیر، تمایز و بقای سلول‌های نورونی به ویژه در هیپوکامپ، منجر به تقویت حافظه

دراز مدت و همچنین افزایش نقل و انتقالات سیناپسی نیز می‌شود[۹, ۳۴, ۳۵]. همچنین نشان داده شده است که سطوح ژنی BDNF پس از چند هفته ورزش مداوم، تنظیم افزایشی می‌شوند. تنظیم افزایشی این پروتئین‌ها پس از تمرین ورزشی با کاهش آسیب‌ها و اختلالات نورولوژیکی همراه خواهد بود [۳۶]. این یافته‌ها از این فرض که تمرین استقامتی برای اشاعه شکل پذیری هیپوکامپی وابسته به سیگنالینگ BDNF، پس از وقوع ایسکمی مفید است را حمایت می‌کنند.

از طرفی مطالعات پیشین ثابت کردند که تمرین هوازی می‌تواند سطوح BDNF و TrkB را تغییر دهد[۹, ۳۶]. فنگ و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی تأثیر تمرینات نوارگردان بر مسیرهای وابسته به BDNF در هیپوکامپ موش‌های استرسی شده پرداختند. هم راستا با نتایج مطالعه حاضر، نتایج آن‌ها نشان داد که تمرین ورزشی تأثیر منفی استرس بر BDNF و TrkB را از بین برد و در موش‌های بدون استرس افزایش سطح این شاخص‌ها را در پی داشت [۳۷]. همچنین لی و همکاران (۲۰۱۲) نیز به بررسی اثر هر دو مدل تمرینی اجباری و اختیاری به مدت ۴ هفته بر مقادیر BDNF و Trk و در بافت CA1 هیپوکامپ رت های نر ویستار پرداختند. این نتایج نشان دهنده تأثیر مثبت هر دو مدل‌های تمرینی ورزشی بر بهبود مسیرهای سیگنالینگ برای عملکرد شناختی بود [۳۸]. در این راستا در تحقیق دیگری که توسط لئو و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد مقایسه‌ای بین تأثیر دویدن اختیاری و اجباری (۱۰ متر بر دقیقه) انجام شد. محققان اثبات کردند که هر دوی این تمرینات باعث افزایش در پروتئین BDNF و TrkB در هیپوکامپ موش‌ها می‌شود [۳۹]. از طرف دیگر در مطالعه حسین زاده و همکاران [۲۰۱۲]، ۸ هفته تمرین روی نوارگردان به صورت پیش رونده بین ۲۵-۴۶ دقیقه و با سرعت ۱۵ تا ۲۲ متر در دقیقه، تغییر معناداری در سطوح پروتئینی BDNF در ناحیه قشری مغز موش‌های صحرایی بالغ ایجاد نکرد [۴۰]. در این ارتباط سچتی و همکاران (۲۰۰۸) به مقایسه تغییرات سطوح BDNF در نواحی مختلف مغز از جمله مخچه، جسم مخطط، قشر و هیپوکامپ پرداختند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که دو هفته دویدن موش‌های صحرایی روی نوارگردان با شدت ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (۲۰ متر بر دقیقه) تنها منجر به افزایش معنادار BDNF در ناحیه هیپوکامپ در مقایسه با سایر نواحی مغزی شد [۲۰]. با وجود این تفاسیر نتایج مطالعه حاضر (افزایش معنادار سطح BDNF در گروه سالم تمرین و ایسکمی تمرین در مقایسه با سالم کنترل و ایسکمی کنترل) همسو با مطالعات انجام شده از این ایده حمایت می‌کند که دویدن منجر به بروز فواید بیشتری در افزایش سطوح BDNF و به طبع آن افزایش‌ها در شکل پذیری هیپوکامپی و بقای نورونی در مقایسه با شدت‌های بالاتر و در سایر نواحی مغز می‌شود.

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان بیان داشت که ایسکمی سطح BDNF هیپوکامپ را کاهش داد و تمرین ورزشی سطح BDNF و TrkB هیپوکامپ موش‌های ایسکمی شده را تغییر داد بنابراین به نظر می‌رسد تمرین استقامتی می‌تواند از طریق بهبود سطح BDNF و TrkB در هیپوکامپ موش‌های ایسکمی شده، به بازیافت نورون‌های عصبی متعاقب ایسکمی کمک کند و به عنوان یک روش درمانی مکمل در بیماران ایسکمی مورد مطالعه قرار گیرد.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از رساله دکتری تخصصی رشته فیزیولوژی ورزش دانشگاه آزاد اسلامی واحد بجنورد با کد ۱۸۲۲۱۴۲۳۹۶۲۰۰۱ می‌باشد. بدین وسیله از مسئولان محترم دانشکده علوم انسانی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی و مرکز تحقیقات شهید میرغنی-گرگان جهت همکاری در مراحل اجرایی این پروژه، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Ginsberg MD. Neuroprotection for ischemic stroke: past, present and future. Neuropharmacology. 2008;55(3):363-89. doi: 10.1016/j.neuropharm.2007.12.007 pmid: 18308347
2. Cheng O, Li Z, Han Y, Jiang Q, Yan Y, Cheng K. Baicalin improved the spatial learning ability of global ischemia/reperfusion rats by reducing hippocampal apoptosis. Brain Res. 2012;1470:111-8. doi: 10.1016/j.brainres.2012.06.026 pmid: 22796597
3. Chen J, Chopp M. Neurorestorative treatment of stroke: cell and pharmacological approaches. NeuroRx. 2006;3(4):466-73. doi: 10.1016/j.nurx.2006.07.007 pmid: 17012060
4. Chan PH. Mitochondria and neuronal death/survival signaling pathways in cerebral ischemia. Neurochem Res. 2004;29(11):1943-9. doi: 10.1007/s11064-004-6869-x pmid: 15662830
5. Aoki C, Wu K, Elste A, Len G, Lin S, McAuliffe G, et al. Localization of brain-derived neurotrophic factor and TrkB receptors to postsynaptic densities of adult rat cerebral cortex. J Neurosci Res. 2000;59(3):454-63. doi: 10.1002/(SICI)1097-4547(20000201)59:3<454::AID-JNR21>3.0.CO;2-H pmid: 10679783
6. Lou SJ, Liu JY, Chang H, Chen PJ. Hippocampal neurogenesis and gene expression depend on exercise intensity in juvenile rats. Brain Res. 2008;1210:48-55. doi: 10.1016/j.brainres.2008.02.080 pmid: 18423578
7. Mirzaei S, Falah MZ, Hajizadeh Moghadam A, Fathi R, Alizadeh R, Ranjbar R. Effect Of 8 Weeks Of Endurance Training At Different Durations On Serum Brain Derived Neurotrophic Factor (Bdnf) In Male Rats. Metacogn Learn 2011;3(1):17-37.
8. Babaei P, Azali Alamdari K. Effects of Endurance Training and Detraining on Serum BDNF and Memory Performance in Middle Aged Males with Metabolic Syndrome. Iranian J Endocrinol Metab. 2013;15(2):132-42.
9. Gomez-Pinilla F, Vaynman S, Ying Z. Brain-derived neurotrophic factor functions as a metabotrophin to mediate the effects of exercise on cognition. Eur J Neurosci. 2008;28(11):2278-87.
10. Ploughman M. Exercise is brain food: the effects of physical activity on cognitive function. Dev Neurorehabil. 2008;11(3):236-40.
11. Vosadi E, Ravasi AA, Choobine S, Barzegar H, Borjianfard M. Effect of endurance training and omega-3 supplementation in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in male adult rat hippocampus. Razi J Med Sci. 2013;20(111):50-7.
12. Yuan J, Yankner BA. Apoptosis in the nervous system. Nature. 2000;407(6805):802-9. doi: 10.1038/35037739 pmid: 11048732
13. Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. Eur J Neurosci. 2004;20(10):2580-90. doi: 10.1111/j.1460-9568.2004.03720.x pmid: 15548201
14. Almli CR, Levy TJ, Han BH, Shah AR, Gidday JM, Holtzman DM. BDNF protects against spatial memory deficits following neonatal hypoxia-ischemia. Exp Neurol. 2000;166(1):99-114. doi: 10.1006/exnr.2000.7492 pmid: 11031087

15. Chavez-Valdez R, Martin LJ, Razdan S, Gauda EB, Northington FJ. Sexual dimorphism in BDNF signaling after neonatal hypoxia–ischemia and treatment with necrostatin-1. Neuroscience. 2014;260:106-19.
16. Sun J, Ke Z, Yip SP, Hu XL, Zheng XX, Tong KY. Gradually increased training intensity benefits rehabilitation outcome after stroke by BDNF upregulation and stress suppression. Biomed Res Int. 2014;2014:925762. doi: 10.1155/2014/925762 pmid: 25045713
17. Austin MW, Ploughman M, Glynn L, Corbett D. Aerobic exercise effects on neuroprotection and brain repair following stroke: a systematic review and perspective. Neurosci Res. 2014;87:8-15. doi: 10.1016/j.neures.2014.06.007 pmid: 24997243
18. Yamashita T, Abe K. Endogenous neurogenesis, oligodendrogenesis and angiogenesis after ischemic brain injury. J Neurol Neurophysiol 2012;8.
19. 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. doi: 10.1007/s00401-004-0943-y pmid: 15616790
20. Cechetti F, Fochesatto C, Scopel D, Nardin P, Goncalves CA, Netto CA, et al. Effect of a neuroprotective exercise protocol on oxidative state and BDNF levels in the rat hippocampus. Brain Res. 2008;1188:182-8. doi: 10.1016/j.brainres.2007.10.012 pmid: 18021756
21. Wang X, Zhang M, Feng R, Li WB, Ren SQ, Zhang J, et al. Physical exercise training and neurovascular unit in ischemic stroke. Neuroscience. 2014;271:99-107. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.04.030 pmid: 24780769
22. Ke Z, Yip SP, Li L, Zheng XX, Tong KY. The effects of voluntary, involuntary, and forced exercises on brain-derived neurotrophic factor and motor function recovery: a rat brain ischemia model. PLoS One. 2011;6(2):e16643. doi: 10.1371/journal.pone.0016643 pmid: 21347437
23. Shamsaei N, Aboutaleb N, Erfani S, Khaksari M. Effect of Exercise Preconditioning on Memory Deficits and Neuronal Cell Death in the CA3 Pyramidal Cells of the Rat Hippocampus Following Transient Global Cerebral Ischemia. J Res Plan Higher Educ. 2015;20(1):79-100.
24. Putera BW, Sartika CR, Wijaya A, Yusuf I, Tar-Choon A. Levels of Stromal Derived Factor-1 (SDF-1) and Brain Derived Neurotropic Factor (BDNF) and Very Small Embryonic-Like Cells (VSEL) in Ischemic Stroke Patients. Int J Translational Sci. 2016;2016(1):61-70.
25. 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. doi: 10.1016/j.neuroscience.2009.12.067 pmid: 20083167
26. Kang EB, Cho JY. Effects of treadmill exercise on brain insulin signaling and beta-amyloid in intracerebroventricular streptozotocin induced-memory impairment in rats. J Exerc Nutrition Biochem. 2014;18(1):89-96. doi: 10.5717/jenb.2014.18.1.89 pmid: 25566443
27. Erfani S, Khaksari M, Oryan S, Shamsaei N, Aboutaleb N, Nikbakht F. Nampt/PBEF/visfatin exerts neuroprotective effects against ischemia/reperfusion injury via modulation of Bax/Bcl-2 ratio and prevention of caspase-3 activation. J Mol Neurosci. 2015;56(1):237-43. doi: 10.1007/s12031-014-0486-1 pmid: 25603815
28. Brint S, Jacewicz M, Kiessling M, Tanabe J, Pulsinelli W. Focal brain ischemia in the rat: methods for reproducible neocortical infarction using tandem occlusion of the distal middle cerebral and ipsilateral common carotid arteries. J Cereb Blood Flow Metab. 1988;8(4):474-85.
29. Metz GA, Whishaw IQ. The ladder rung walking task: a scoring system and its practical application. J Vis Exp. 2009(28). doi: 10.3791/1204 pmid: 19525918
30. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. J Appl Physiol. 1979;47(6):1278-83.
31. Zuccato C, Cattaneo E. Role of brain-derived neurotrophic factor in Huntington's disease. Prog Neurobiol. 2007;81(5-6):294-330. doi: 10.1016/j.pneurobio.2007.01.003 pmid: 17379385
32. Bejot Y, Mossiat C, Giroud M, Prigent-Tessier A, Marie C. Circulating and brain BDNF levels in stroke rats. Relevance to clinical studies. PLoS One. 2011;6(12):e29405. doi: 10.1371/journal.pone.0029405 pmid: 22195050
33. Wang Y, Cao M, Liu A, Di W, Zhao F, Tian Y, et al. Changes of inflammatory cytokines and neurotrophins emphasized their roles in hypoxic–ischemic brain damage. Int J Neurosci. 2013;123(3):191-5.
34. Bariohay B, Lebrun B, Moyse E, Jean A. Brain-derived neurotrophic factor plays a role as an anorexigenic factor in the dorsal vagal complex. Endocrinology. 2005;146(12):5612-20.
35. Gottschalk WA, Jiang H, Tartaglia N, Feng L, Figurov A, Lu B. Signaling mechanisms mediating BDNF modulation of synaptic plasticity in the hippocampus. Learn Mem. 1999;6(3):243-56. pmid: 10492006
36. Ang E, Wong P, Moochhala S, Ng Y. Neuroprotection associated with running: is it a result of increased endogenous neurotrophic factors? Neuroscience. 2003;118(2):335-45.
37. Fang ZH, Lee CH, Seo MK, Cho H, Lee JG, Lee BJ, et al. Effect of treadmill exercise on the BDNF-mediated pathway in the hippocampus of stressed rats. Neurosci Res. 2013;76(4):187-94. doi: 10.1016/j.neures.2013.04.005 pmid: 23665137
38. Lee MC, Okamoto M, Liu YF, Inoue K, Matsui T, Nogami H, et al. Voluntary resistance running with short distance enhances spatial memory related to hippocampal BDNF signaling. J Appl Physiol (1985). 2012;113(8):1260-6. doi: 10.1152/japplphysiol.00869.2012 pmid: 22936723
39. Liu YF, Chen HI, Wu CL, Kuo YM, Yu L, Huang AM, et al. Differential effects of treadmill running and wheel running on spatial or aversive learning and memory: roles of amygdalar brain-derived neurotrophic factor and synaptotagmin I. J Physiol. 2009;587(Pt 13):3221-31. doi: 10.1113/jphysiol.2009.173088 pmid: 19451201
40. Hosseinzadeh S, Dabidi RV, Mahjoub S, Taghipour DM. The Interactive Effect of Lead Acetate and Endurance Training on the Brain-Derived Neurotrophic Factor and Malondialdehyde Levels in Rat's Cortex. J Online Learn Teach. 2012;4(3):261-6.