



Original Article

**Continuous Trainings with Varying Intensities and Effectiveness on BAX / BCL-2 / Caspase-3 Apoptotic Pathway during the Rehabilitation Period after Stroke in Male Sprague-Dawley Rats**

M. Fasihiyan<sup>1</sup>, M. Nourshahi<sup>2\*</sup> 

1. Department of Biological Sciences in Sport and Health, Faculty of Sport Sciences and Health, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

2. Department of Biological Sciences in Sport and Health, Faculty of Sport Sciences and Health, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

**Received: 04/05/2024, Revised: 06/06/2024, Accepted: 22/06/2024**

**Abstract**

The aim of this study was to compare the effect of two types of continuous training with increasing duration and intensity (CTID, CTII) on the apoptosis pathway of nerve cells in the penumbra region during the rehabilitation period after stroke. 30 Sprague-Dawley rats (age 8 weeks, weight  $265 \pm 15$  grams) were selected and randomly divided into three groups: stroke, stroke+CTID exercises, and stroke+CTII exercises. Stroke was induced using the t-dMCAO method. The CTID and CTII training protocol was initiated 24 hours after stroke induction, starting with a speed of 10 m/min for duration of 10 minutes. Subsequently, both the duration and intensity of the exercises were progressively increased. MRI and behavioral tests were conducted during this period. Forty-eight hours after the last session, the rats were euthanized. Following dissection of the penumbra area, the tissues were evaluated for laboratory analysis. The results of the one-way ANOVA statistical test showed significant differences in the changes in the ratio of BAX/BCL-2 and Caspase-3 among the groups. Specifically, these changes were only observed in the CTID group compared to both the CTII and the stroke group. ( $P=0.042$ ,  $P=0.028$ ) and ( $P=0.036$ ,  $P=0.021$ ). Additionally, the results of the behavioral tests showed significant differences between both training groups and the stroke group ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** The findings of the present study suggest that CTID exercise during the acute phase after stroke could be considered a beneficial approach for prescribing physical exercise in this phase.

**Keywords:** Stroke, Magnetic resonance imaging (MRI), Rehabilitation, apoptosis, Continuous exercises, Cognitive-motor function.

\* Corresponding Author: M. Nourshahi, Tel: +98- 9126306358, Email: [m\\_nourshahi@sbu.ac.ir](mailto:m_nourshahi@sbu.ac.ir)

**How to Cite:** Fasihiyan, M; Nourshahi, M. (2024). Continuous Trainings with Varying Intensities and Effectiveness on BAX / BCL-2 / Caspase-3 Apoptotic Pathway during the Rehabilitation Period after Stroke in Male Sprague-Dawley Rats. *Sport Physiology*, 15(59), 87-106. In Persian.



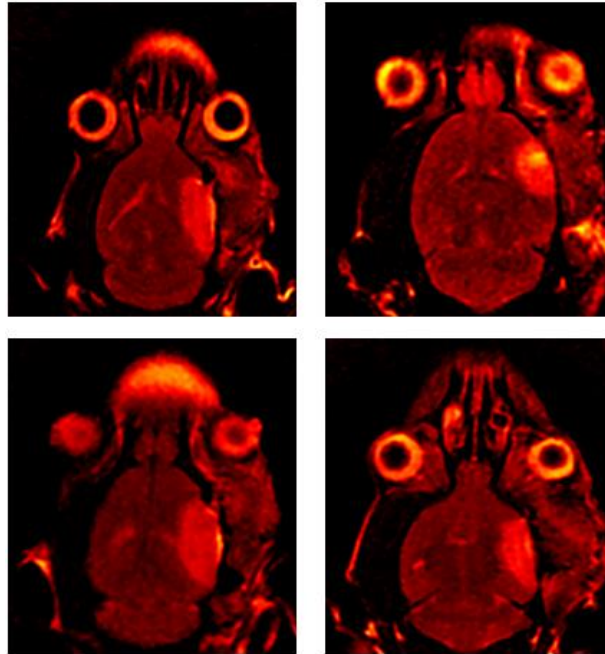
## Extended Abstract

### Background and Purpose

Following a stroke, apoptosis in nerve cells worsens damage in the ischemic region, contributing to impaired cognitive and motor functions in patients (1). Research suggests that apoptosis in the brain is significantly influenced by the BCL-2 family, which comprises both pro-apoptotic (e.g., BAX and Caspase-3) and anti-apoptotic factors (e.g., BCL-2) (2). Anti-apoptotic agents like BCL-2 can inhibit apoptosis in ischemic nerve cells by blocking the activation of pro-apoptotic factors such as BAX and the Caspase-3 pathway (2). Exercise-induced modifications in the apoptosis process, mediated by apoptotic regulatory proteins, have been demonstrated to reduce the penumbra area and improve cognitive and motor abilities post-stroke (3). Prior research underscores the pivotal role of the BAX/BCL-2 pathway in exercise training, which positively influences cognitive and motor functions by reducing pro-apoptotic proteins and increasing anti-apoptotic protein expression (4). Nevertheless, despite existing evidence, investigations in this area have not extensively explored how different types of exercises impact the anti-apoptotic BAX/BCL-2/Caspase-3 pathway and functional outcomes post-stroke (4). Hence, this study aims to examine changes in apoptosis regulatory proteins resulting from exercise regimes with varying intensity and duration following ischemia and reperfusion injury post-stroke.

### Materials and Methods

The animal procedures were carried out in accordance with ethical guidelines approved by Shahid Beheshti University (IR.SBU.REC.1401.046). Thirty Sprague-Dawley rats, aged 8 with an average weight of  $265 \pm 15$  grams, were included in this study. They were housed individually for one week to acclimate to the environment, maintaining a 12-hour light-dark cycle, temperature at  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , and relative humidity at  $50 \pm 6$ . They had ad libitum access to food and water. Before the experiment, the rats underwent a familiarization period with the treadmill, walking for three sessions of 10 minutes at speeds ranging from 5 to 10 m/MIN. Subsequently, they were randomly assigned to three groups: control group+stroke (N=10), endurance training with increasing duration+stroke (N=10) and endurance training with increasing intensity+stroke (N=10). Stroke induction was performed using the t-dMCAO method, involving temporary occlusion of the internal carotid artery with a silicone thread. Twenty-four h post-surgery, neurological deficit (NDS) and MRI tests were conducted. Following surgery, rats underwent treadmill exercise for seven days (five sessions per week), while the control group remained on the treadmill without exercising. Behavioral tests, including the Grid Walk Test, Beam Balance Test, and assessment of weight changes were conducted 24 hours after the last training session. Finally, 48 hours after behavioral testing, data analysis was performed using SPSS 22 software, utilizing one-way ANOVA with a significance level set at  $p \leq 0.05$ .



**Figure 1.** MRI images after stroke, ischemic areas with lighter color can be seen in the right cerebral hemisphere.

### Findings

In the present study, the results of the one-way analysis of variance test showed that weight changes from the fifth to seventh day were significantly different between the groups ( $P=0.043$ ), and Tukey's post hoc test revealed that the CTID group had a significant increase compared to both the CTII and control groups ( $P = 0.03$  and  $P = 0.012$ , respectively). In addition, the results of Tukey post hoc test showed that BAX protein expression values in CTID group had a significant decrease compared to both CTII ( $P=0.0096$ ) and control ( $P=0.025$ ) groups. While the changes in BAX protein levels increased in the CTII group compared to the control group, this increase was not significant ( $P=0.083$ ). BCL-2 protein values were significantly different in the training groups compared to the control group, with CTID ( $P=0.028$ ) and CTII ( $P=0.035$ ) showing significant differences. As well, the ratio of BAX to BCL-2 values was significant between the groups ( $P<0.05$ ), observed only in the CTID group compared to the CTII and control groups, respectively ( $P=0.028$ ,  $P=0.042$ ).

Moreover, there is a significant difference in the values of caspase-3 protein between the CTID and CTII groups and the control group ( $P=0.036$ ) ( $P=0.021$ ). However, the statistical results showed that the values of Caspase-3 protein in the CTII group decreased compared to the control group, but these changes were not significant ( $P=0.68$ ). In the Grid Walk Test, the number of slips significantly decreased after 3 and 7 days in the CTID training group compared to both the control group ( $P=0.013$ ) and the CTII group ( $P=0.006$ ). Also, similar results were observed in the Beam Balance Test in the CTID group after 7 days ( $P=0.0083$ ), while in the CTII group, a significant difference was observed compared to the control group only after 7 days ( $P=0.039$ ).

## Conclusion

The results of the current research suggest that, in the acute phase (one week after stroke intervention), exercise regimes with constant intensity and increasing duration are generally more effective than those with constant duration and increasing intensity, despite both having the same volume of exercise. By increasing the anti-apoptotic factor BCL-2 and decreasing the pro-apoptotic factors BAX and Caspase-3 in neurons, our data suggest the potential benefits of apoptosis inhibition in improving motor and cognitive function after stroke.

## Article Message

In summary, this research demonstrated that aerobic exercises with increasing duration during the acute phase (one week) after stroke enhance the regulation of apoptosis pathway factors such as BAX, BCL-2, and Caspase-3, alongside improving motor performance in rat models. It is recommended to further investigate this type of exercise regimen to identify optimal rehabilitation methods for stroke recovery in future Ethical

## Considerations

The current research with code IR.SBU.REC.1401.046 has been approved by the Ethics Committee of Shahid Beheshti University of Tehran.

## Funding

This study received no funding from public, commercial, or non-profit Organizations

## Authors' Contributions

All authors participated in designing, implementing, and writing all parts of the present study

## Acknowledgment

The authors would like to extend their gratitude to the staff and officials of the Neuroscience Center and the Faculty of Sports and Health Sciences of Shahid Beheshti University, for their invaluable assistance in enhancing the quality of this research.

## References

1. Fasihiyan M, Taheri M, Ebrahim K, Nourshahi M. review of the effect of different types of exercise on cellular-molecular changes of neurons in the rehabilitation period after ischemic stroke. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2022 Sep 10;29(6):89-104.
2. Ola MS, Nawaz M, Ahsan H. Role of Bcl-2 family proteins and caspases in the regulation of apoptosis. *Molecular and cellular biochemistry*. 2011 May; 351:41-58.
3. Dehqanizadeh B, Mohammadi ZF, Kalani AH, Mirghani SJ. Effect of early exercise on inflammatory parameters and apoptosis in CA1 area of the hippocampus following cerebral ischemia-reperfusion in rats. *Brain Research Bulletin*. 2022 May 1; 182:102-10.
4. Li Z, Xiao G, Wang H, He S, Zhu Y. A preparation of Ginkgo biloba L. leaves extract inhibits the apoptosis of hippocampal neurons in post-stroke mice via regulating the expression of Bax/Bcl-2 and Caspase-3. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021 Nov 15; 280:114481.
5. Nasoohi S, Ghahremani PT, Alehossein P, Elyasizadeh S, BaniArdalan S, Ismael S, Vatanpour H, Ahmadiani A, Ishrat T. The p75 neurotrophin receptor inhibitor, LM11A-31, ameliorates acute stroke injury and modulates astrocytic proNGF. *Experimental Neurology*. 2023 Jan 1; 359:114161.



نوع مقاله: پژوهشی

## تمرینات تداومی با شدت‌های مختلف و اثربخشی بر مسیر آپوپتوزی / BAX / BCL-2 / Caspase-3 در دوره توانبخشی پس از سکته مغزی در موش‌های نر اسپراگ داوولی

معین فصیحیان<sup>۱</sup>، مریم نورشاهی<sup>۲\*</sup>

۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم زیستی در ورزش، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.  
۲. استاد، گروه علوم زیستی در ورزش، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

**تاریخ دریافت:** ۱۴۰۲/۰۵/۱۵، **تاریخ اصلاح:** ۱۴۰۳/۰۳/۱۷، **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۳/۰۴/۰۲

### چکیده

اهداف: هدف پژوهش حاضر مقایسه تاثیر دو نوع تمرینات تداومی با مدت فزاینده (CTID) و شدت فزاینده (CTII) بر مسیر آپوپتوز سلول‌های عصبی ناحیه پنومبرا در دوره توانبخشی پس از سکته مغزی بود. مواد و روش‌ها: ۳۰ سر رت نژاد اسپراگ داوولی (سن ۸ هفته، وزن  $265 \pm 15$  گرم) انتخاب و به طور تصادفی به ۳ گروه سکته مغزی، سکته مغزی+تمرینات CTID و سکته مغزی+تمرینات CTII تقسیم شدند. القا سکته مغزی با روش (t-dMCAO) انجام شد. پروتکل تمرین CTID و CTII، ۲۴ ساعت پس از سکته مغزی با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و مدت ۱۰ دقیقه اجرا شد و پس از آن مدت و شدت تمرینات به صورت فزاینده افزایش یافت. آزمایش MRI و تست‌های رفتاری در این بازه زمانی انجام شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و ارزیابی تست‌های رفتاری، رت‌ها کشته شدند و پس از تشریح ناحیه پنومبرا مجاور منطقه ایسکمیک مغزی، بافت‌ها جهت تحلیل‌های آزمایشگاهی، مورد ارزیابی قرار گرفتند. یافته‌ها: نتایج آزمون آماری آنوای یک طرفه تفاوت معنی‌داری را در تغییرات نسبت BAX/BCL-2 و Caspase-3 بین گروه‌ها نشان داد که این تغییرات فقط در گروه CTID نسبت به گروه CTII و کنترل معنی‌دار مشاهده شد ( $P=0.042$ ,  $P=0.028$ ) و ( $P=0.036$ ,  $P=0.021$ ) علاوه بر آن نتایج آزمون رفتاری در هر دو گروه تمرین نسبت به گروه کنترل تفاوت داشتند ( $P<0.05$ ) نتیجه‌گیری: یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد، تمرین تداومی CTID جهت بازتوانی در فاز حاد پس از سکته مغزی می‌تواند به عنوان یک راهکار مناسب جهت تجویز تمرینات ورزشی در فاز حاد پس از سکته مغزی، ارائه شود.

واژگان کلیدی: سکته مغزی، MRI، توانبخشی، آپوپتوز، تمرینات تداومی، عملکرد شناختی - حرکتی

\* Corresponding Author: M. Nourshahi, Tel: +98- 9126306358, Email: [m\\_nourshahi@sbu.ac.ir](mailto:m_nourshahi@sbu.ac.ir)

**How to Cite:** Fasihiyan, M; Nourshahi, M. (2024). Continuous Trainings with Varying Intensities and Effectiveness on BAX / BCL-2 / Caspase-3 Apoptotic Pathway during the Rehabilitation Period after Stroke in Male Sprague-Dawley Rats. *Sport Physiology*, 15(59), 87-106. In Persian.



## مقدمه

سکته مغزی ایسکمیک باعث ایجاد تغییرات پاتوفیزیولوژیکی در مناطق دچار ایسکمی می‌شود و در مرکز<sup>۱</sup> آن، جریان خون به شدت کاهش می‌یابد و نواحی دور از مرکز ایسکمیک<sup>۲</sup> (پنومبرا)، به دلیل پرفیوژن<sup>۳</sup> خون به وسیله عروق جانبی حمایت می‌گردد و در این نواحی تغییرات مرتبط با بازتوانی سلول‌های عصبی، می‌تواند باعث بهبود سلول‌های عصبی آسیب دیده شود (۱) که در این راستا تمرینات ورزشی به عنوان یک مداخله درمانی غیرتهاجمی، اخیراً به عنوان یک استراتژی امیدوار کننده برای بهبود ناتوانی جسمی و اختلالات شناختی پس از سکته مغزی در نظر گرفته شده است (۲). با این حال، به نظر می‌رسد نوع، شدت و مدت تمرینات ورزشی در دوره توانبخشی پس از سکته مغزی تأثیرات متفاوتی در بهبود بیماران سکته مغزی خواهد داشت (۳). همچنین برخی مطالعات نشان دادند که تمرینات هوازی با شدت بالا در دوره پیش از سکته مغزی، باعث تغییرات بیشتری در وضعیت بهبود اختلالات نورولوژیکی نسبت به تمرینات با شدت کمتر شده است (۴) و این در حالی است که در دوره توانبخشی پس از سکته مغزی تحقیقات متعددی به شدت تمرینات پرداخته‌اند که نتایج متناقضی در رابطه با تغییرات سلولی - مولکولی در سلول‌های مغزی ارائه کردند که در این بین گزارش شده که تمرینات با شدت بالا، باعث افزایش فعالیت مسیرهای التهابی و مرگ برنامه ریزی شده سلولی (آپوپتوز) در ناحیه پنومبرا برای سکته مغزی خواهند شد (۵، ۶) علاوه بر آن پس از سکته مغزی، فرایند آپوپتوز در سلول‌های عصبی باعث تشدید آسیب در ناحیه ایسکمیک می‌شوند که تحقیقات نشان دادند عناصر کلیدی آپوپتوز که به شدت در مغز بیان و تنظیم می‌شوند (۷)، توسط خانواده BCL-2<sup>4</sup> تنظیم می‌شوند که از دو عامل پیش آپوپتوزی و ضد آپوپتوزی تشکیل شدند که عوامل پیش آپوپتوزی مانند BAX<sup>5</sup> و Caspase-3 باعث نفوذپذیری غشای بیرونی میتوکندری می‌شوند که از این طریق مسیر آپوپتوز وابسته به کاسپازها فعال می‌شود و از طرف دیگر BCL-2 به عنوان یک عامل ضد آپوپتوزی می‌تواند با مهار فعال شدن BAX و مسیر Caspase-3 آپوپتوز را در سلول‌های عصبی ناحیه ایسکمیک مسدود کند (۸). با این حال بررسی این عوامل با توجه به زمان شروع تمرینات نیز در عملکرد اختصاصی این پروتئین‌ها نقش زیادی داشته باشد.

مطالعات دیگر نشان دادند که تمرینات با شدت کم در فاز اولیه و حاد، پس از سکته مغزی در محافظت عصبی و شکل‌پذیری سیناپسی پس از سکته مغزی برتری معنی‌داری نسبت به تمرینات با شدت بالا دارند (۹). در این راستا در مطالعه‌ای لی و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تاثیر مدت زمان انجام تمرینات در یک وهله تمرینی و فازهای متعدد پس از سکته همراه با شدت‌های مختلف پرداختند که در این مطالعه انجام پروتکل‌هایی با مدت کم و بالا، زیاد و متوسط پس از سکته مغزی انجام شد و مارکرهای مسیر آپوپتوزی و نروژنزی مورد بررسی قرار گرفت که در نهایت مشخص شد تمرینات با مدت زیاد و شدت متوسط از لحاظ اثر بخشی نسبت به تمرینات با مدت کم و شدت زیاد، جهت بهبود اختلالات عصبی پس از سکته مغزی، برتری چشمگیری داشتند (۳). همچنین مطالعات در این زمینه اشاره کردند که انجام تمرینات ورزشی با مدت و شدت‌های مختلف می‌تواند اثر بخشی متفاوتی بر مسیرهای مختلف سیگنالینگ آپوپتوزی در بهبود سکته مغزی در دوره توانبخشی داشته باشند (۲). این نتایج متناقض بر این اصل تاکید می‌کند که شدت و مدت تمرینات ورزشی، یک عامل تاثیرگذار در

1. Core
2. Penumbra
3. Perfusion
4. B-Cell Lymphoma 2
5. BCL2 Associated X

دوره توانبخشی پس از سکته مغزی تلقی می‌شود. بنابراین، مشخص کردن سازوکارهایی که زیربنای اثرات وابسته به شدت و مدت ورزش بر عملکرد حرکتی و شناختی بیماران سکته مغزی هستند، ممکن است به کاربرد بالینی توانبخشی عصبی مبتنی بر ورزش کمک کنند (۱۰). در حال حاضر این سازوکارها به طور کامل مشخص نشدند که در این صورت نیاز به انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه احساس می‌شود.

تغییرات در فرآیند آپوپتوز ناشی از سکته مغزی، در اثر ورزش از طریق پروتئین‌های تنظیم کننده آپوپتوتیکی باعث کاهش ناحیه پنومبرا و بهبود عملکرد شناختی و حرکتی بیماران می‌شود (۱۱). مطالعات پیشین، نقش تنظیمی و محوری مسیر BAX / BCL-2 را در اثر تمرینات ورزشی مورد بحث قرار دادند که از طریق مهار پروتئین‌های پیش آپوپتوزی و بیان پروتئین‌های ضد آپوپتوزی تأثیرات مثبت در عملکرد شناختی و حرکتی را گزارش کردند (۱۲). علاوه بر آن، یکی دیگر از عوامل اثرگذار بر فرآیند آپوپتوز در شرایط سکته مغزی در سلول‌های عصبی ناحیه پنومبرا، پروتئین مرتبط با اجرای آپوپتوز سلولی Caspase-3 شناخته شده که مهار این پروتئین باعث کاهش اختلالات ناشی از سکته مغزی می‌شود که این عامل در اثر تمرینات ورزشی دستخوش تغییرات مهمی می‌شود (۱۳). در مجموع، این شواهد نشان می‌دهند که انواع پروتکل‌های تمرینی پس از سکته مغزی مانند آنچه که در این مطالعه نشان داده شده، ممکن است با تغییراتی که در مسیر سیگنالینگ BAX / BCL-2 / Caspase-3 ایجاد می‌کند، بر نتایج بهبود عملکرد حرکتی و شناختی بیماران سکته مغزی تأثیرات متفاوتی بگذارد. با این حال، علی‌رغم شواهد موجود، مطالعات انجام شده در این زمینه، هنوز به بررسی تأثیر شدت و مدت فزاینده فعالیت‌های ورزشی بر مسیر ضد آپوپتوز BAX / BCL-2 / Caspase-3 و تغییرات عملکردی پس از سکته مغزی به خوبی نپرداختند. هدف تحقیق حاضر، بررسی تغییرات پروتئین‌های تنظیمی آپوپتوز در اثر تمرینات ورزشی با شدت و مدت فزاینده به دنبال آسیب ایسکمی و پرفیوژن مجدد متعاقب سکته مغزی است. این نتایج ممکن است به ارائه یک پروتکل مناسب جهت کاهش و یا مهار فرآیند آپوپتوز در سلول‌های عصبی پس از سکته مغزی برای مطالعات آینده و مراکز درمانی کمک کند.

## روش پژوهش

در این مطالعه که به صورت تجربی انجام شد، ۳۰ سر موش صحرایی، نژاد اسپراگ داوولی با میانگین سنی هشت هفته و با وزن تقریبی ۲۵۰ تا ۲۸۰ گرم پس از ارزیابی بر اساس نرم افزار G\*Power جهت مشخص شدن حجم نمونه در سطح آلفای ۰/۰۵ و اندازه اثر ۰/۰۶، از موسسه واکسن و سرم سازی رازی خریداری شدند. حیوانات جهت آشناسازی با محیط، به مدت یک هفته در قفس‌های جداگانه از جنس ماکرلون (پلی کربنات) شفاف و اتوکلاوپذیر به ابعاد ۴۲×۲۷×۱۵ سانتیمتر که هر قفس به دو حیوان اختصاص داشت، قرار گرفتند و چرخه تاریکی-روشنایی به صورت (۱۲:۱۲)، دمای محیط ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۵۰±۶ تنظیم شد و آب و غذا به صورت دسترسی آزاد در اختیار حیوانات قرار داشت. جهت آشنا سازی با پروتکل تمرین و تردمیل نیز به مدت یک هفته و هر هفته ۳ جلسه ۱۰ دقیقه‌ای با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه، حیوانات بر روی تردمیل فعالیت راه رفتن را انجام دادند. پس از پایان هفته دوم، حیوانات با صورت تصادفی به ۳ گروه ۱۰ تایی شامل: گروه کنترل + سکته مغزی (Stroke, N=10)، گروه تمرین تداومی با مدت فزاینده + سکته مغزی (Stroke+CTID, N=10) و گروه تمرین تداومی با شدت فزاینده + سکته مغزی (Stroke+CTII, N=10) تقسیم شدند. سکته مغزی با استفاده از روش

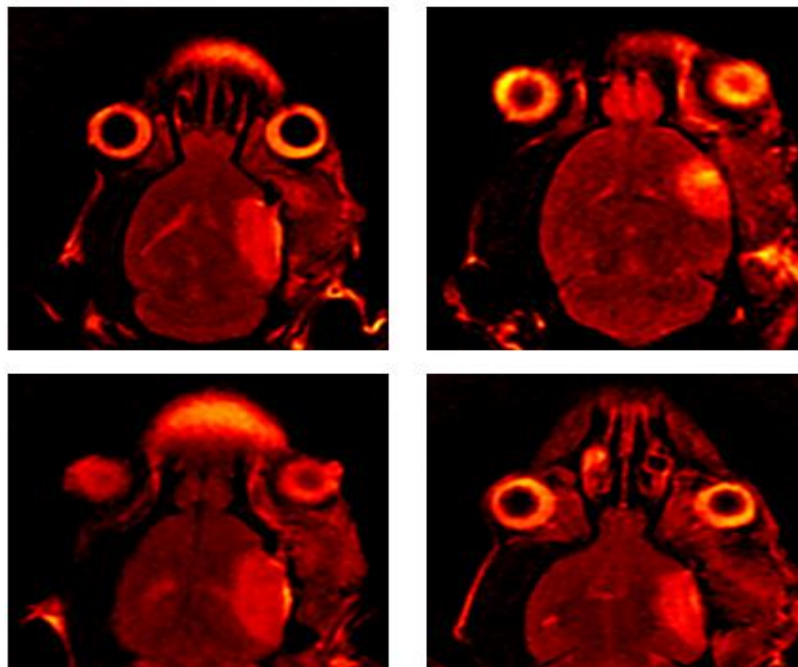
سکته (t-dMCAO) انجام شد که در این روش با استفاده از نخ سلیکونی شریان داخلی کاروتیدی مسدود شد و پس از جداسازی استخوان تمپورال جمجمه در قسمت دیستال نیز شریان کاروتیدی خارجی با استفاده از گیره مخصوص به مدت ۱۲۰ دقیقه مسدود شد (۱۴). ۲۴ ساعت پس از عمل جراحی، آزمایش نقص نورولوژیک (NDS<sup>2</sup>) و آزمون MRI به منظور بررسی میزان مداخله سکته انجام شد و پس از آن پروتکل تمرینی ورزش تداومی با شدت فزاینده و زمان ثابت و پروتکل تمرینی ورزش تداومی با مدت فزاینده و شدت ثابت آغاز شد. رت‌ها به مدت ۷ روز (۵ جلسه در هفته) پس از گذشت ۲۴ ساعت از عمل جراحی، تمرینات ورزشی را بر روی تردمیل انجام دادند. گروه کنترل در شرایط استرس‌زای محیط تردمیل قرار داده شد ولی حیوانات در گروه کنترل هیچگونه فعالیتی را انجام ندادند. در روزهای قبل، ۲۴ ساعت بعد، ۳، ۵ و در پایان ۷ روز، پس از ۲۴ ساعت از آخرین جلسه تمرینی آزمون‌های رفتاری آزمون راه رفتن شبکه‌ای (Grid Walk Test) و آزمون تعادل میله (Beam Balance Test)، انجام شد. تغییرات وزنی نیز که به عنوان یکی از مولفه‌های ریکاوری پس از مداخلات بالینی محسوب می‌شود، تا روز آخر در روزهای آزمون رفتاری قبل از آزمون ثبت شد و در نهایت، ۴۸ ساعت پس از انجام آزمون‌های رفتاری، تشریح و بافت‌برداری انجام گردید. تمامی مراحل پژوهش در تحقیق حاضر مطابق با دستورالعمل‌های مؤسسه ملی بهداشت (NIH) برای مراقبت و استفاده از حیوانات در تحقیقات انجام شد. تمام پروتکل‌ها توسط کمیته اخلاق مراقبت از حیوانات و استفاده از آنها با شماره (IR.SBU.REC.1401.046)، تایید شد.

#### نحوه ایجاد ایسکمی مغزی موقت (t-dMcao)

گروه‌های تجربی در تحقیق حاضر با استفاده از دستگاه بیهوشی استنشاقی (PARKLAND)، توسط داروی بیهوشی استنشاقی ایزوفلوران ۵-۲ درصد برای ایجاد ایسکمی مغزی موقتی، بیهوش شدند و در زیر میکروسکوپ جراحی قرار گرفتند. پس از استریل کردن سطح پوست حیوانات با الکل ۷۰ درصد، یک برش طولی در ناحیه پوستی کاروتید زده شد و پس از کنار زدن عضلات جناغی چنبری پستانی در ناحیه قدامی گردن شریان میانی کاروتید مشخص شد و پس از جدا کردن این رگ از عصب واگ این شریان توسط گیره مخصوص مسدود شد و پس از آن یک برش پوستی بین چشم چپ و گوش ایجاد شد و عضله تمپورال کنار نگه داشته شد و توسط دریل کوچک استخوان جمجمه در بخش تمپورال برداشته شد پس از آن شریان مغزی میانی (MCA) پس از کرانیوتومی در معرض دید قرار گرفت و با استفاده از نخ نایلون ۰-۹، قسمت انتهایی MCA سمت چپ در محل انشعاب به شاخه‌های فرونتال و خلفی بسته شد. پس از ۲ ساعت، گره‌های بخیه به آرامی با میکروچیچی بریده شدند تا جریان خون مجدد در نواحی ایسکمیک مغز فراهم شود. سپس زخم بخیه زده شد و حیوان در جعبه ریکاوری حیوانات تا زمان بهبودی کامل از بیهوشی در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند (۱۴). ۲۴ ساعت پس از اعمال جراحی سکته مغزی حیوانات برای ارزیابی اولیه جهت مشخص شدن شرایط ایسکمیک در ناحیه مغزی مورد نظر به بخش پژوهشی بیمارستان امام خمینی تهران جهت آزمایش MRI<sup>۴</sup> با دستگاه ۳ تسلا (ساخت کشور ایالت متحده) انجام گرفت که تصاویر MRI، ناحیه ایسکمیک مغزی ناشی از اعمال سکته را به صورت روشن‌تر از سایر نواحی مغزی نشان دادند. شکل ۱. تصویر MRI پس از سکته مغزی t-dMCAO.

1. Transient Distal Occlusion of the Middle Cerebral Artery
2. Neurologic Deficit Score
3. National Institutes of Health
4. Magnetic Resonance Imaginig





شکل ۱. تصاویر MRI پس از سکته مغزی، نواحی ایسکمیک با رنگ روشن تر در نیم کره راست مغزی قابل مشاهده است.  
**Figure 1- MRI images of ischemic areas with lighter color identified in the right cerebral hemisphere after stroke.**

### معیار ورود و اندازه گیری دو سویه کور

ارزیابی‌های عصبی توسط یک آزمایشگر بدون اطلاع از نوع مداخله، گروه‌های تجربی، جراحی‌ها و درمان‌ها انجام شد. قفس‌های حیوانات و همچنین نمونه‌های بافتی، قبل از تخصیص برای تجزیه و تحلیل کدگذاری شدند.

### نقص نورولوژیک (NDS<sup>1</sup>) و ارزیابی رفتاری حاصل از سکته

پس از جراحی t-dMCAO، نمرات نقص نورولوژیکی در موش‌ها پس از ۲۴ ساعت محاسبه شد (۱۵). نحوه امتیازدهی در جدول ۱ نشان داده شده است. موش‌هایی که امتیاز ۱، ۰، ۴ یا ۵ داشتند از مطالعه حذف شدند. در این پژوهش با توجه به نوع مداخله سکته مغزی t-dMCAO حیوانات دارای نمره نقص نورولوژیک ۲ و ۳ وارد آزمایش شدند.

1. Neurologic Deficit Score

فصلنامه فیزیولوژی ورزشی، زمستان ۱۴۰۲، دوره ۱۵، شماره ۶۰

جدول ۱- امتیاز و اختلالات عصبی در آزمون NSD

Table 1- Score and neurological disorders in the NSD test

امتیاز	علائم
نقص نورولوژیکی (NSD)	شناختی- حرکتی
۰	عدم وجود نقص عصبی
۱	ناتوانی در گسترش کامل اندام قدامی
۲	هنگامی که حیوان توسط دم کشیده می شود به دور خود بیشتر از حالت عادی می چرخد
۳	چرخش یکطرفه به دور خود
۴	عدم حرکت خود به خود و سطح پایین هوشیاری
۵	مرگ

### پروتکل تمرینات تداومی

تمرین ورزشی مورد نظر بر روی تردمیل به صورت ۵ جلسه در هفته و به مدت یک هفته در فاز حاد پس از سکتا انجام شد. این تمرینات بر اساس پیشینه تحقیقاتی در زمینه توانبخشی پس از سکتا مغزی، با توجه به درجه ۲ و ۳ آزمون نقص نورولوژیکی NDS طراحی شد. در جلسه اول (۲۴ ساعت پس از جراحی سکتا مغزی) حیوانات با سرعت ۵ متر بر دقیقه و به مدت ۵ دقیقه، فعالیت گرم کردن را انجام دادند و پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه، فعالیت تداومی انجام شد و در نهایت با سرعت ۵ متر در دقیقه به مدت ۵ دقیقه عمل سرد کردن انجام گردید. در گروه تمرین تداومی با مدت فزاینده (CTID<sup>۱</sup>) مدت زمان هر جلسه نسبت به جلسه قبل ۲ دقیقه افزایش داشت که در جلسه اول ۱۰ دقیقه و در جلسه آخر، مدت زمان تمرین اصلی به ۱۸ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه (۶۰ درصد حداکثر سرعت پیشینه رسید) رسید و در گروه تمرین تداومی با شدت فزاینده (CTII<sup>۲</sup>) سرعت تردمیل هر جلسه ۲ متر بر دقیقه افزایش یافت و در روز آخر به ۱۸ متر بر دقیقه (۹۰ درصد حداکثر سرعت پیشینه) رسید با توجه به مولفه حجم تمرینات هر دو گروه بر اساس مسافت، هم حجم شدند.

جدول ۲- پروتکل تمرینات تداومی با شدت و مدت فزاینده

Table 2- Protocol of continuous exercises with incremental duration and intensity

	جلسه اول	جلسه دوم	جلسه سوم	جلسه چهارم	جلسه پنجم	حجم تمرین متر از نهایی
	دقیقه / سرعت (متر بر دقیقه)	دقیقه / سرعت (متر بر دقیقه)	دقیقه / سرعت (متر بر دقیقه)	دقیقه / سرعت (متر بر دقیقه)	دقیقه / سرعت (متر بر دقیقه)	
CTID	۱۰/۱۰	۱۲/۱۰	۱۴/۱۰	۱۶/۱۰	۱۸/۱۰	۷۰۰ متر
CTII	۱۰/۱۰	۱۰/۱۲	۱۰/۱۴	۱۰/۱۶	۱۰/۱۸	۷۰۰ متر

1. Continuous Training with Incremental Duration
2. Continuous Training with Incremental Intensity

آزمون‌های عصبی رفتاری<sup>۱</sup>

## آزمون راه رفتن شبکه‌ای (Grid Walk Test)

آزمون راه رفتن شبکه‌ای، به منظور سنجش عملکرد حسی - حرکتی آپس از سکتته مغزی در روزهای اول، سوم، پنجم و روز آخر مورد استفاده قرار گرفت. در این آزمون، موش‌ها بر روی یک شبکه سیمی (عرض ۲۵×طول ۵۰×ارتفاع ۱۰۰ سانتی متر) قرار گرفتند و اجازه داده شد از یک سر تا سر دیگر راه بروند. تعداد کل لغزش‌های پا در هنگام عبور از شبکه تورینه‌ای ثبت شد (۱۶).

## آزمون تعادل میله (Beam Balance Test)

این آزمون جهت ارزیابی هماهنگی حرکتی و تعادل مورد ارزیابی قرار می‌گیرد که در روزهای مربوط به انجام آزمون‌های رفتاری پس از سکتته مغزی استفاده شد که ابتدا حیوانات بر روی میله ای به قطر ۲/۵ سانتی متر قرار گرفتند و بر روی میله به سمت انتهای میله پیش رفتند که در محفظه انتهایی به منظور تحریک به راه رفتن حیوانات، از قفس خودشان استفاده شد. (۱۷). که در این آزمایش به منظور بررسی سطح کنترل حرکتی حیوانات، موش‌ها بر روی یک تیر چوبی باریک به طول ۱۲۰ و قطر ۲/۵ سانتی‌متر قرار گرفتند و عملکرد از ۰ تا ۵ نمره گذاری شد که در جدول شماره ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳- امتیاز و اختلالات عصبی در آزمون تعادل میله

Table 3- Score and neurological disorders in the Beam Balance Test

امتیاز	علائم
آزمون تعادل میله	شناختی- حرکتی
۰	عدم تلاش برای ماندن روی تیر
۱	تلاش برای ماندن روی تیر اما بدون حرکت
۲	تلاش برای عبور از تیر اما ناموفق
۳	عبور از تیر با لغزش‌های اندام عقبی طرف مقابل بیش از ۵۰ درصد موارد
۴	عبور از تیر با لغزش‌های اندام عقبی طرف مقابل در کمتر از ۵۰ درصد موارد
۵	عبور از روی میله بدون لغزش

## وسترن بلائینگ

جهت انجام بافت‌برداری پس از اجرای مداخلات موجود در تحقیق حاضر، مغز حیوانات در ماتریکس (سطح مقطع با فواصل یک میلی متر) که در محیط سرد و بر روی یخ قرار گرفته بود، قرار داده شد و توسط تیغ‌های استریل برش‌های عرض در مغز انجام گرفت و پس از آن نواحی ایسکمیک در ناحیه قشری حذف و نواحی پنومبرای مجاور ناحیه ایسکمیک جمع‌آوری شد و در میکروتیوپ ۰/۵ به درون تانک ازت منتقل شد سپس از هموژن کردن با دستگاه هموژنایزر یخچالدار اپندورف ساخت کشور آلمان، پروتئین لیز شده نواحی قشری اطراف انفارکتوس (۳۰ میکروگرم) در هر خط SDS ژل برای جداسازی الکتروفورز و به دنبال آن به غشاهای PVDF بارگذاری شدند. غشاها با شیر بدون چربی ۵ درصد مسدود و با آنتی بادی‌های اولیه (Bcl-

1. Neurobehavioral Tests

2. Sensory motor

sc-492 (N-19): 2)، (Bax (B-9): sc-7480) و (caspase-3 (31A1067): sc-56053) شرکت سانتاکروز ساخت (کشور ایالات متحده آمریکا)، در دمای ۴ درجه سانتیگراد در طول شب انکوبه شدند و در مرحله بعد ایمونوبلاتها با آنتی‌بادی‌های ثانویه انکوبه شدند. سپس نوارهای پروتئینی توسط یک سیستم سوبسترای نورتابی شیمیایی (Amersham) مشاهده و با استفاده از نرم افزار Image J تراکم سنجی و آنالیز شدند.

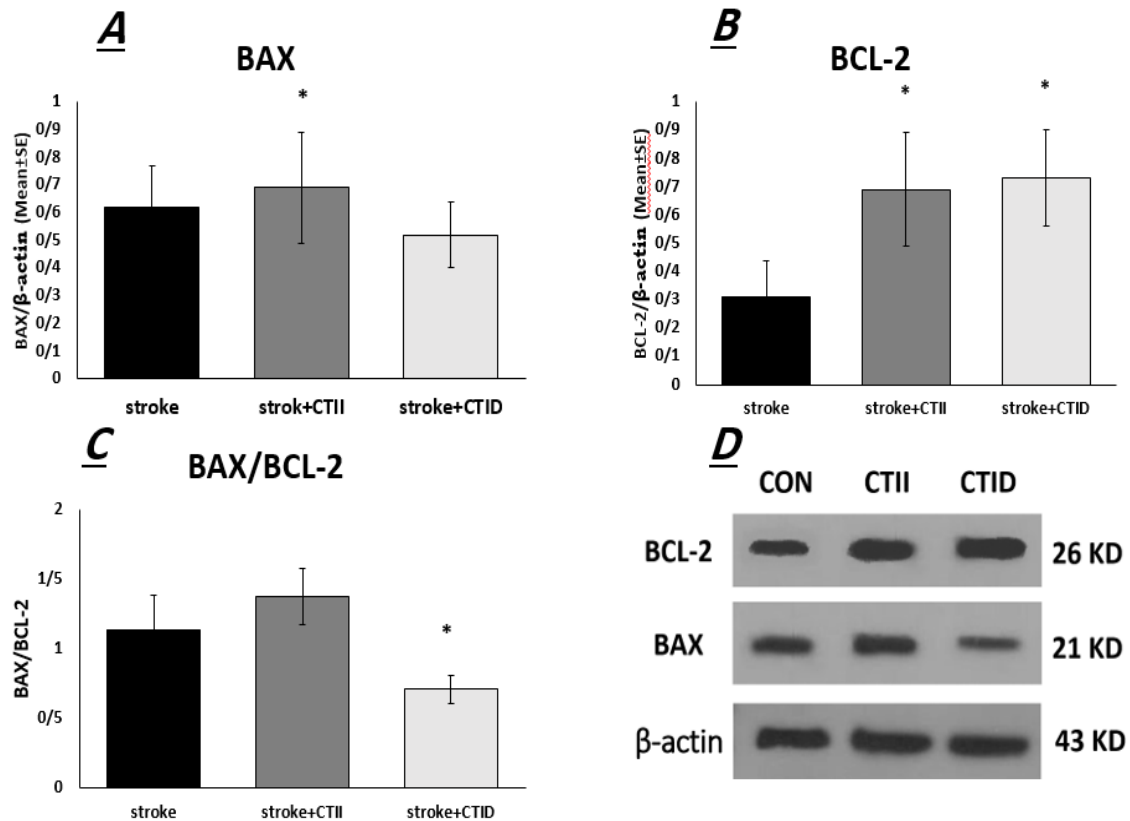
### روش آماری

پس از بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شیپرو ویلیک برای تحلیل داده‌ها، از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه<sup>۱</sup> و در صورت معناداری نتایج آماری، از آزمون تعقیبی توکی به منظور مشخص شدن تفاوت بین گروهی به کمک نرم افزار SPSS-23 استفاده شد. سطح معنی‌داری آماری  $P < 0.05$  و توان آماری برای تجزیه و تحلیل داده‌ها ۸۰٪ در نظر گرفته شد همچنین جهت مشخص شدن حجم نمونه از نرم افزار G\*Power در سطح آلفای ۰/۰۵ و اندازه اثر ۰/۰۶، استفاده شد.

### یافته‌ها

#### سطوح پروتئین‌های BAX/BCL-2 در ناحیه پنومبرا

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که میزان سطوح BAX در گروه‌های مورد بررسی، تفاوت وجود دارد ( $P < 0.05$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی و بونفرونی نشان داد که مقادیر بیان پروتئین BAX در گروه CTID نسبت به تغییرات پروتئین BAX در گروه‌های CTII ( $P = 0.0096$ ) و کنترل ( $P = 0.025$ ) کاهش داشت. در حالی که تغییرات مقادیر پروتئین BAX در گروه CTII نسبت به گروه کنترل افزایش داشت ( $P = 0.083$ ) (شکل ۲-آ). مقادیر پروتئین BCL-2 در گروه‌های تمرینی نسبت به گروه کنترل تفاوت داشت ( $P = 0.028$ ) CTID و ( $P = 0.035$ ) CTII در حالی که بین گروه‌های تمرینی، تفاوتی مشاهده نشد ( $P = 0.14$ ) (شکل ۲-ب). همچنین نسبت مقادیر BAX به BCL-2 در بین گروه‌ها معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) و فقط در گروه تمرینات با مدت فزاینده نسبت به گروه‌های CTII و کنترل به ترتیب معنی‌دار ( $P = 0.028$ ,  $P = 0.042$ ) مشاهده شد (شکل ۲-ج). تصویر مقادیر پروتئین‌های BAX و BCL-2 در مقایسه با پروتئین بتا اکتین با روش وسترن بلات (شکل ۲-د).

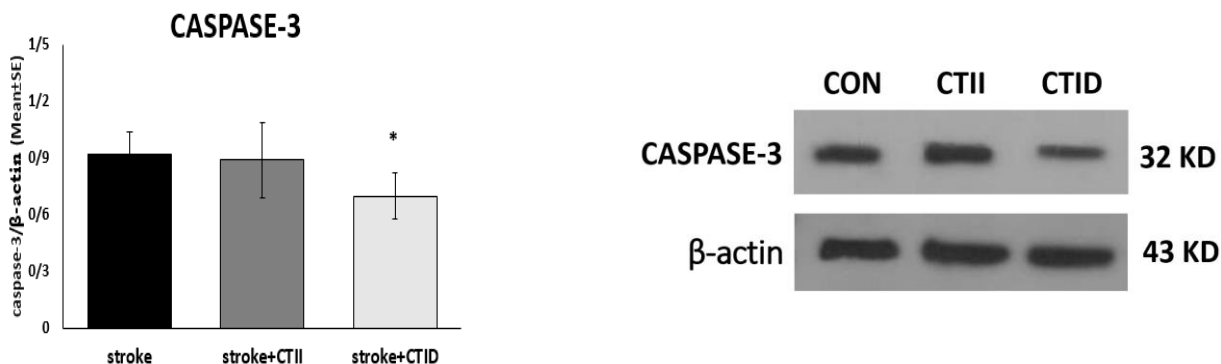


شکل ۲. تغییرات مقادیر پروتئین‌های BAX (A)، BCL-2 (B)، و نسبت بین پروتئین‌ها آپوپتوتیک BAX/BCL-2 (C) در ناحیه پنومبرا ( $P < 0.05^*$ ). نمونه باندهای آزمایش وسترن بلات (D).

Figure 2. illustrates alterations in apoptotic proteins including BAX (A), BCL-2 (B), and the BAX/BCL-2 ratio (C) within the penumbra region, showing statistical significance ( $P < 0.05^*$ ). Picture of Western blotting blot (D).

### سطوح پروتئین Caspase-3 در ناحیه پنومبرا

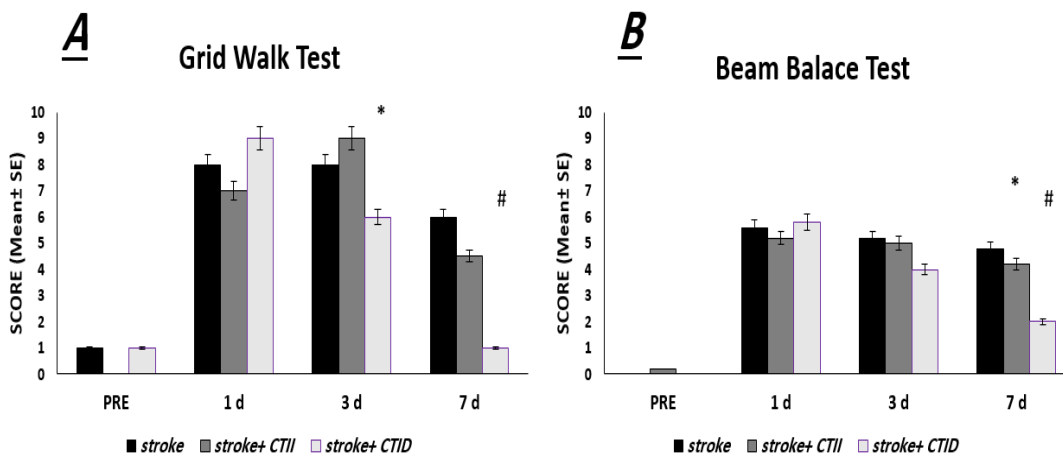
نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که مقادیر سطوح پروتئین Caspase-3 در گروه‌های مورد بررسی تفاوت معنی داری وجود داشت ( $P < 0.05$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بین گروه CTID با CTII و گروه کنترل تفاوت وجود دارد ( $P = 0.036$ ) ( $P = 0.021$ ) در حالی که نتایج آماری نشان دادند، مقادیر پروتئین Caspase-3 در گروه CTII نسبت به گروه کنترل کاهش داشت ولی این تغییرات تعیین کننده نبود ( $P = 0.68$ ) (شکل ۳).



شکل ۳. تغییرات مقادیر پروتئین Caspase-3 در ناحیه پنومبرا. ( $p < 0.05^*$ ) و نمونه باندهای آزمایش وسترن بلات. **Figure 3- Changes in Caspase-3 protein levels in the penumbra region. ( $p < 0.05^*$ ), and Picture of Western blotting blot.**

آزمون عملکردی راه رفتن شبکه‌ای

همانطور که در شکل ۴-A نشان داده شده، در آزمون راه رفتن شبکه‌ای، تعداد لغزش برای افتادن از شبکه به طور قابل توجهی پس از ۳ و ۷ روز در گروه تمرین CTID نسبت به گروه کنترل ( $P = 0.013$ ) و گروه CTII ( $P = 0.006$ ) کاهش داشت. در حالی که در گروه CTII، ۳ روز پس از سکته مغزی تعداد لغزش نسبت به گروه کنترل افزایش ( $P = 0.047$ ) و پس از ۷ روز کاهش داشت ( $P = 0.025$ ). همچنین نتایج مشابهی در آزمون تعادل میله، در گروه CTID پس از ۷ روز ( $P = 0.0083$ ) و در گروه CTII فقط پس از ۷ روز نسبت به گروه کنترل تفاوت مشاهده شد ( $P = 0.039$ ). (شکل ۴-B)



شکل ۴. تغییرات عملکردی در آزمون‌های راه رفتن شبکه‌ای (A) و میله تعادلی (B) در روزهای تمرینی. ( $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.00 \#$ ). **Figure 4- Performance changes in grid walk and beam balance tests according to the days after stroke. ( $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.00 \#$ ).**

## بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر با در نظر گرفتن تفاوت شدت و مدت تمرینات ورزشی در فاز حاد (یک هفته پس از اعمال مداخله سکتة مغزی)، نشان داد که به طور کلی تمرینات با شدت ثابت و مدت فزاینده در مقایسه با تمرینات با مدت ثابت و شدت فزاینده با متراژ یکسان، در برابر پیامدهای ناشی از سکتة مغزی، اثر بخشی بیشتری دارند. با افزایش عوامل مهار کننده آپوپتوز -BCL2 و کاهش عوامل مرگ برنامه ریزی شده مرگ سلول‌های عصبی BAX و Caspase-3، داده‌های ما حاکی از پیامدهای بالقوه مهار آپوپتوز و بهبود عملکرد حرکتی و شناختی پس از سکتة مغزی شد. تمرینات ورزشی در دوره توانبخشی پس از سکتة مغزی از طریق فعال‌سازی سازوکارهای محافظت کننده سلول‌های عصبی (۱۸)، مهار عوامل آپوپتوتیک و التهابی (۱۹)، باعث بازتوانی و بهبود سریعتر بیماران پس از سکتة مغزی می‌شود (۲۰). با این حال، جهت تمایز مسیرهای اثر گذاری انواع تمرینات ورزشی با شدت و مدت‌های مختلف در زمان‌های حاد و مزمن پس از سکتة مغزی، مطالعات محدودی صورت گرفته است.

در همین راستا مطالعات در این زمینه گزارش کرده‌اند که تمرینات ورزشی استقامتی با شدت متوسط ممکن است مقادیر مایوکاین‌ها و متابولیسم پروتئین‌های تنظیمی را نسبت به تمرینات با شدت بالا به طور متفاوتی بهبود بخشد (۳). این عامل ممکن است به طور غیر مستقیم افزایش وزن و عملکرد شناختی-حرکتی قابل توجه در حیوانات گروه CTID را مشخص کند که احتمالاً به دلیل مهار عوامل التهابی و عملکرد پروتئین‌های موثر در آپوپتوز سلولی باشد (۲۱). علاوه بر آن تحقیقات در زمینه بررسی سازوکار اثر گذاری تمرینات ورزشی با شدت‌های مختلف از لحاظ بیوشیمیایی به این مورد اشاره دارد که مسیرهای کلسیم کلسینورین یکی از مسیرهای مهم سیگنال‌دهی داخل سلولی است که در مقابل تنظیم فعالیت سلولی و پاسخ به تغییرات در محیط سلولی نقش دارد و این مسیر از اهمیت بسیاری در فرایندهای زیستی از قبیل رشد سلولی، تکثیر، تمایز سلولی، و مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده (آپوپتوز) برخوردار است و همچنین مسیر کلسیم کالمودولین کیناز نیز در اثر شدت‌های مختلف تمرینی باعث تغییر عوامل آپوپتوزی و بهبود عوامل آنابولیک می‌شود (۹).

با این حال، برخی از اختلافات موجود، نتیجه‌گیری و تجویز مشخص در مورد تمرینات از نظر اثرات تمرین در دوره توانبخشی را پیچیده می‌کند. مطالعاتی در این زمینه گزارش کرده‌اند که تمرینات با شدت بالا موجب تخریب سد خونی مغزی می‌شوند (۲۲) که احتمالاً به دلیل آسیب‌پذیری سلول‌های آسیب دیده در ناحیه پنومبرا پس از سکتة مغزی این عامل می‌تواند در بازتوانی بیماران اختلال ایجاد کند، بر اساس هدف‌گذاری اصلی در مطالعه حاضر بر روی تاثیرات تمرینات ورزشی در دوره توانبخشی پس از سکتة مغزی، نتایج نشان داد تمرینات CTID تغییراتی در بهبود سلول‌های عصبی ناشی از انفارکتوس در اثر سکتة مغزی را ارائه می‌دهد که افزایش مقادیر پروتئین BCL-2 و همچنین کاهش مقادیر پروتئین‌های BAX و Caspase-3، منجر به یک روند قابل توجه جهت ارتقاء عملکرد شناختی - حرکتی در حیوانات گروه CTID شد. نتایج مطالعات اخیر در این زمینه از داده‌های به دست آمده توسط این تحقیق، از نتایج حقیق حاضر پشتیبانی می‌کند که نشان می‌دهد تمرینات با شدت متوسط در دوره حاد پس از سکتة مغزی باعث بهبودی در زمان کمتری خواهد شد (۳، ۲۳). با این حال، عوامل سلولی - مولکولی دیگر مانند نروتروفین‌ها و عوامل آنژیوژنیک نیز ممکن است به طور مناسبی اثرات کمک کننده تمرینات تداومی را در مغز پس از سکتة مغزی مشخص کنند (۲۴). به نظر می‌رسد مهار عوامل مرگ برنامه ریزی شده سلولی و کاهش عوامل التهابی نقش مهمی در اثرگذاری تمرینات ورزشی پس از سکتة مغزی داشته باشند. رویدادهای سلولی - مولکولی وابسته به تمرینات ورزشی بر عملکرد ضد التهابی و مهارکننده آپوپتوز در مطالعات دیگری نیز مورد بررسی قرار گرفته است (۲۵). بر این اساس، تراشی و همکاران گزارش کردند که تمرینات هوازی با شدت متوسط باعث کاهش عوامل التهابی از طریق القای

فعالیت رونویسی مارکر BCL-2 باعث مهار مسیر سیگنالینگ آپوپتوز در ناحیه ایسکمیک سخته مغزی شد (۲۶). در همین راستا، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در گروه تمرینات با شدت متوسط و مدت فزاینده، بین مقادیر BCL-2 با بهبود عملکرد شناختی - حرکتی و همچنین کاهش BAX و Caspase-3، رابطه مستقیمی وجود دارد که این تغییرات در گروه تمرینات استقامتی با شدت فزاینده به دلیل افزایش عوامل التهابی در اثر تمرینات با شدت بالا، رابطه‌ای با سطح مارکرهای مرتبط با بهبودی پس از سخته پس از سخته مغزی نداشت.

با این حال نشان داده شده که پس از اعمال سخته مغزی فعالیت مسیرهای مرگ برنامه ریزی شده سلولی در نرون‌ها به سرعت فعال می‌شود که افزایش بیان پروتئین‌های آپوپتوزی مانند BAX، CASPASE-3 و در مقابل کاهش مقادیر پروتئین BCL-2، نقش اصلی را در تخریب نرونی ایفا می‌کنند (۲۷). در همین راستا جورکائو و همکاران گزارش کردند که مسیر آپوپتوتیک BAX-BCL-2-CASPASE تحت تاثیر عوامل مختلفی که نقش پیام رسانی سلولی را دارند عمل می‌کنند که با فعال سازی مسیر ERK در مهار پروتئین‌های آپوپتوتیک BAX و CASPASE-3 و افزایش پروتئین ضد آپوپتوتیک BCL-2 در فرآیند محافظت نرونی نقش داشته است علاوه بر آن اندازه حجم انفارکتوس، ادم مغز و نفوذپذیری BBB نیز کاهش داشت (۲۸). علاوه بر آن در پژوهشی تراشی و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که انجام تمرینات ورزشی به صورت تداومی در گروه‌های ۵ و ۳ جلسه تمرین در دوره قبل از سخته مغزی، باعث کاهش بیان پروتئین‌های BAX و CASPASE-3 و افزایش نسبت BCL-2/BAX در ناحیه پنومبرا شد که نشان دهنده تاثیر تمرینات ورزشی بر مهار مرگ برنامه ریزی شده سلولی، پس از سخته ایسکمیک می‌باشد که در این پژوهش به بررسی ۳ هفته پیش آماده سازی با تمرین ورزشی با تواتر متفاوت بر میزان حجم سخته، عملکرد نورولوژیکی و حرکتی و بیان Caspase-3 و نسبت BCL-2 به BAX، پرداختند. در این پژوهش حیوانات به گروه‌های ۵ جلسه، ۳ جلسه و یک جلسه تمرین در هفته به مدت ۳۰ دقیقه با شدت ۲۵ متر در دقیقه تقسیم شدند. در این پژوهش ۵ و ۳ جلسه تمرین در هفته موجب کاهش معنادار حجم سخته، و بهبود عملکرد حسی-حرکتی نسبت به گروه کنترل گردید. همچنین بیان Caspase-3 و نسبت BCL-2 به BAX در ناحیه پنومبرا در گروه ۵ و ۳ جلسه تمرین کاهش یافت (۲۶).

با توجه به اهمیت مداخلات ورزشی جهت بهبود قابلیت‌های حرکتی و شناختی پس از سخته مغزی، بررسی عوامل مختلف در اثر بخشی تمرینات ورزشی به طور جالبی به شدت و مدت فعالیت‌های ورزشی وابسته است (۲۳). که در این پژوهش مشخص شد که فشارهای مکانیکی و متابولیکی متفاوت، می‌تواند در مسیرهای سیگنالینگ مختلف در مهار فرایند آپوپتوز سلول‌های عصبی ناحیه پنومبرا و همچنین بهبود عملکرد حرکتی تاثیرات متفاوتی داشته باشد بنابراین، احتمالاً تمرینات تداومی با شدت متوسط بدون افزایش شرایط هایپوکسی و همچنین عوامل التهابی، باعث تغییرات مثبت در بازسازی سلول‌های آسیب دیده ناشی از سخته مغزی می‌شوند که با توجه به نتایج مطالعه حاضر، تمرینات CTID کارایی موثرتری برای مهار عوامل درگیر در مسیر سیگنالینگ آپوپتوز و عملکرد حرکتی جهت بازتوانی پس از سخته مغزی را ارائه دادند که به نظر می‌رسد بهبود عوامل شناختی و حرکتی در اثر تغییرات عصب‌زایی و رگ‌زایی در مغز نیز باشد که متعاقب آن با افزایش وسعت وسعت تحت پوشش آکسون و دندریت‌ها باعث بهبود انتقال پیام‌های عصبی به عضلات و نواحی مختلف بدن می‌شود.

در مقابل هاگونس و همکاران گزارش کردند، در حالی که تمرینات ورزشی با شدت بالا ممکن است در دوره پیش شرطی سازی قبل از سخته مغزی از طریق اثرگذاری بر مسیرهای محافظت نرونی و نروژنیک نسبت به تمرینات با شدت کم موثرتر واقع شوند (۲۹) ولی در دوره توانبخشی نتایج تحقیق ما مشخص کرد که تمرینات با شدت بالا در فاز حاد پس از سخته مغزی



از طریق افزایش استرس‌های متابولیکی و التهابی، می‌تواند تاثیرات منفی به دنبال داشته باشد و بر خلاف آن تمرینات با مدت فزاینده از طریق تعدیل استرس‌های ایجاد شده در تمرینات و فعال‌سازی مسیرهای تبادل پیام‌های عصبی - عضلانی باعث تغییرات مثبت سلولی - مولکولی مارکرهای BAX-BCL-2-Caspase-3 در فرآیندهای آپوپتوتیکی و همچنین بهبود عملکرد شناختی - حرکتی، شد. به نظر می‌رسد تمرینات CTID از طریق اف تغییرات پروتئین‌های تنظیمی مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی به عنوان یک روند پیام‌رسان متابولیکی در فاز حاد پس از سکته مغزی، جهت بازتوانی رویکرد مناسب‌تری نسبت به تمرینات با شدت بالا داشته باشد. علاوه بر این، برای نتیجه‌گیری دقیق و مقایسه مطالعات موازی، تحقیقات بیشتری برای تمرکز در معیارهای استاندارد برای شناسایی پارامترهای سلولی - مولکولی و همچنین عوامل متغیرهای تمرینات ورزشی در آینده مورد نیاز است با این حال محدودیت‌های تحقیق از قبیل مرگ و میر حیوانات، وابستگی شرایط آن‌تروپومتریکی حیوانات مانند: وزن و قد و همچنین نژاد حیوانات در اجرای جراحی سکته و اعمال سکته باید مورد توجه محققان قرار گیرد که این عامل یکی از مهمترین عوامل محدود کننده در تحقیق حاضر بود لذا نقاط قوت این پژوهش امکان استفاده از ارزیابی سکته مغزی توسط دستگاه فوق پیشرفته MRI بود. با این حال پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده به بررسی تغییرات عوامل مرتبط با نرون‌زایی و رگ‌زایی در مدت زمان‌ها طولانی‌تر پرداخته شود. به طور خلاصه، نتایج این پژوهش نشان داد که تمرینات هوازی با مدت فزاینده در فاز حاد (یک هفته) پس از سکته مغزی، منجر به بهبود عوامل تنظیمی مسیر آپوپتوز از طریق سیگنالینگ BAX-BCL\_2-Caspase\_3 و عملکرد حرکتی در موش‌های مدل سکته مغزی t-dMCAO شد که به نوبه خود این نوع تمرینات جهت تجویز مداخله ورزشی در دوران توانبخشی پس از سکته مغزی می‌تواند راهکار مناسب‌تری در نظر گرفته شود. این داده‌ها از مطالعات بالینی در مورد تجویز فعالیت‌های ورزشی پس از سکته مغزی با هدف کاربردهای احتمالی پشتیبانی می‌کنند.

### ملاحظات اخلاقی

پژوهش حاضر با کد IR.SBU.REC.1401.046 به تایید کمیته اخلاق دانشگاه شهید بهشتی تهران رسیده است.

### حامی مالی

این مطالعه هیچ گونه کمک مالی از سازمان‌های تامین مالی در بخش عمومی، تجاری یا غیر انتفاعی دریافت نکرده است.

### تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مطالعه تعارض منافع ندارد.

### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشگاه شهید بهشتی است و نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر و قدردانی را از کارکنان و مسئولان محترم مرکز علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی و همچنین دانشگاه علوم ورزشی و تندرستی که ما را در ارتقاء کیفی این پژوهش یاری کردند، به جا آورند.

## Reference

1. Zhao Y, Zhang X, Chen X, Wei Y. Neuronal injuries in cerebral infarction and ischemic stroke: From mechanisms to treatment. *International Journal of Molecular Medicine*. 2021 Feb 1;49(2):1-9.
2. Fasihiyan M, Taheri M, Ebrahim K, Nourshahi M. review of the effect of different types of exercise on cellular-molecular changes of neurons in the rehabilitation period after ischemic stroke. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2022 Sep 10;29(6):89-104.
3. Li F, Geng X, Huber C, Stone C, Ding Y. In search of a dose: the functional and molecular effects of exercise on post-stroke rehabilitation in rats. *Frontiers in cellular neuroscience*. 2020 Jun 25;14:186.
4. Taheri M, Ebrahim K, Nemati J. The effect of precondition with continuous and high-intensity interval training on angiogenic factors in the td-MCAO stroke model. *Sport Physiology*. 2024 Mar 17.
5. Zhang L, Yang X, Yin M, Yang H, Li L, Parashos A, Alawieh A, Feng W, Zheng H, Hu X. An Animal Trial on the Optimal Time and Intensity of Exercise after Stroke. *Medicine and science in sports and exercise*. 2020 Aug 1;52(8):1699-709.
6. Cerqueira É, Marinho DA, Neiva HP, Lourenço O. Inflammatory effects of high and moderate intensity exercise—a systematic review. *Frontiers in physiology*. 2020 Jan 9;10:1550.
7. Xing Y, Yang SD, Dong F, Wang MM, Feng YS, Zhang F. The beneficial role of early exercise training following stroke and possible mechanisms. *Life sciences*. 2018 Apr 1;198:32-7.
8. Fang G, Zhao J, Li P, Li L, Yu T, Yang X, He Z, Tian Y. Long-term treadmill exercise inhibits neuronal cell apoptosis and reduces tau phosphorylation in the cerebral cortex and hippocampus of aged rats. *Sci Bull*. 2017 Jun 15;62(11):755-7.
9. Austin MW, Ploughman M, Glynn L, Corbett D. Aerobic exercise effects on neuroprotection and brain repair following stroke: a systematic review and perspective. *Neuroscience research*. 2014 Oct 1;87:8-15.
10. Li W, Luo Z, Jiang J, Li K, Wu C. The effects of exercise intervention on cognition and motor function in stroke survivors: a systematic review and meta-analysis. *Neurological Sciences*. 2023 Feb 14:1-3.

11. Hugues N, Pin-Barre C, Brioché T, Pellegrino C, Berton E, Rivera C, Laurin J. High-intensity training with short and long intervals regulate cortical neurotrophic factors, apoptosis markers and chloride homeostasis in rats with stroke. *Physiology & behavior*. 2023 Jul 1;266:114190.
12. Terashi T, Otsuka S, Takada S, Nakanishi K, Ueda K, Sumizono M, Kikuchi K, Sakakima H. Neuroprotective effects of different frequency preconditioning exercise on neuronal apoptosis after focal brain ischemia in rats. *Neurological research*. 2019 Jun 3;41(6):510-8.
13. Dehghanizadeh B, Fallahmohammadi Z, Kalani AT, Mirghani SJ. Effects of Aerobic Training on Caspase-3 Expression and Apoptosis in Hippocampus of Rats after Brain Ischemic Stroke. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2022 Apr 3.
14. Nasoohi S, Ghahremani PT, Alehossein P, Elyasizadeh S, BaniArdalan S, Ismael S, Vatanpour H, Ahmadiani A, Ishrat T. The p75 neurotrophin receptor inhibitor, LM11A-31, ameliorates acute stroke injury and modulates astrocytic proNGF. *Experimental Neurology*. 2023 Jan 1; 359:114161.
15. Althurwi HN, Abdel-Rahman RF, Soliman GA, Ogaly HA, Alkholifi FK, Abd-Elsalam RM, Alqasoumi SI, Abdel-Kader MS. Protective Effect of Beta-Carotene against Myeloperoxidase-Mediated Oxidative Stress and Inflammation in Rat Ischemic Brain Injury. *Antioxidants*. 2022 Nov 27;11(12):2344
16. Liu P, Song XC, Yang XS, Cao QL, Tang YY, Liu XD, Yang M, An WQ, Dong BX, Song XY. A preclinical model to assess brain recovery after acute stroke in rats. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*. 2019 Nov 6(153): e60166.
17. Hausser N, Johnson K, Parsley MA, Guptarak J, Spratt H, Sell SL. Detecting behavioral deficits in rats after traumatic brain injury. *Journal of visualized experiments: JoVE*. 2018(131)..
18. Rafie F, Khaksari M, Amiresmaili S, Soltani Z, Pourranjbar M, Shirazpour S, Jafari E. Protective effects of early exercise on neuroinflammation, and neurotoxicity associated by traumatic brain injury: a behavioral and neurochemical approach. *International Journal of Neuroscience*. 2022 Nov 15:1-4.
19. Shi G. Sports training on recovery of nerve function and nerve cell apoptosis in athletes with hemorrhagic brain injury. *International Journal of Biomedical Engineering and Technology*. 2023;42(1):96-108.
20. Dantes E, Axelerad SD, Stroe AZ, Axelerad DD, Axelerad AD. THE REHABILITATION OF HEMIPARESIS AFTER STROKE. *Ovidius University Annals, Series Physical Education & Sport/Science, Movement & Health*. 2020 Jan 1;20(1).
21. Li F, Geng X, Lee H, Wills M, Ding Y. Neuroprotective effects of exercise postconditioning after stroke via SIRT1-mediated suppression of endoplasmic reticulum (ER) stress. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2021 Feb 16; 15:598230.
22. Koh SX, Lee JK. S100B as a marker for brain damage and blood-brain barrier disruption following exercise. *Sports Medicine*. 2014 Mar; 44:369-85.
23. Gothe NP, Bourbeau K. Associations between physical activity intensities and physical function in stroke survivors. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*. 2020 Aug 1;99(8):733-8.
24. Brait VH, Jackman KA, Pang TY. Effects of wheel-running on anxiety and depression-relevant behaviours in the MCAO mouse model of stroke: moderation of brain-derived neurotrophic factor and serotonin receptor gene expression. *Behavioural Brain Research*. 2022 Aug 26; 432:113983.
25. Liu MX, Luo L, Fu JH, He JY, Chen MY, He ZJ, Jia J. Exercise-induced neuroprotection against cerebral ischemia/reperfusion injury is mediated via alleviating inflammasome-induced pyroptosis. *Experimental Neurology*. 2022 Mar 1; 349:113952.
26. Terashi T, Otsuka S, Takada S, Nakanishi K, Ueda K, Sumizono M, Kikuchi K, Sakakima H. Neuroprotective effects of different frequency preconditioning exercise on neuronal apoptosis after focal brain ischemia in rats. *Neurological research*. 2019 Jun 3;41(6):510-8.
27. Radak D, Katsiki N, Resanovic I, Jovanovic A, Sudar-Milovanovic E, Zafirovic S, A Mousad S, R Isenovic E. Apoptosis and acute brain ischemia in ischemic stroke. *Current vascular pharmacology*. 2017 Mar 1;15(2):115-22.
28. Jurcau A, Ardelean IA. Molecular pathophysiological mechanisms of ischemia/reperfusion injuries after recanalization therapy for acute ischemic stroke. *Journal of integrative neuroscience*. 2021 Sep 30;20(3):727-44.

29. Hugues N, Pellegrino C, Rivera C, Berton E, Pin-Barre C, Laurin J. Is high-intensity interval training suitable to promote neuroplasticity and cognitive functions after stroke?. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021 Mar 16;22(6):3003.