

# Sport Physiology

Sport Sciences Research Institute of Iran

Fall 2023/ Vol. 15/ No. 59/ Pages 97-114

## The Effect of Precondition with Continuous and High-Intensity Interval Training on Angiogenic Factors in the Td-MCAO Stroke Model

M. Taheri<sup>1</sup>, K. Ebrahim<sup>2\*</sup> , J. Nemati<sup>3</sup>

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

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

3. Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Education and Psychology, Shiraz University, Shiraz, Iran.

**Received:** 2023/11/06

**Accepted:** 2024/03/17

Taheri, M; Ebrahim, K; & Nemati, J. (2023). The Effect of Precondition with Continuous and High-Intensity Interval Training on Angiogenic Factors in the Td-MCAO Stroke Model. *Sport Shysiology*, 15(59), 97-114. In Persian. DOI: 10.22089/SPJ.2024.15898.2290

### Abstract

**Objectives:** The purpose of this study was to compare the effect of 4 weeks of high intensity interval training (HIIT) and moderate intensity continuous training (MICT) on the angiogenesis pathway in nerve cells around the stroke infarct area. **Materials and Methods:** Thirty-two adult male NMRI mice (age 8 weeks, weight 35 ± 1 g) were selected and randomly divided into 4 groups of 8 including sham, stroke, stroke + HIIT and stroke + MICT groups. The training protocols were implemented for 4 weeks and 5 sessions per week, where the HIIT group performed an average of 7 bouts of 2 minutes (high intensity 95% Vmax and low intensity 45% Vmax) and the MICT group with an average intensity of 60% Vmax for 55 minutes, they performed the training protocol. 48 hours after the last training session, a stroke was induced by the t-d MCAO method, and after 24 and 48 hours, neurological deficits, behavioral tests, and penumbra area biopsy were performed. **Results:** The results of the statistical test of the one-way analysis of variance showed a significant difference in the changes of VEGF-R2, HIF-1 $\alpha$ , Ang-2, FGF-2 and STAT3 between groups, and these changes were significant (P<0.05), in the HIIT exercise group compared to the MICT group and other groups while the VEGF values in the MICT group increased significantly compared to other groups (P<0.05). **Conclusion:** The findings of the present study indicated that a period of 4 weeks of preconditioning high-intensity interval training can be considered as a suitable strategy for the prevention and treatment of stroke.

**Keywords:** Stroke, Angiogenesis, Preparatory Exercises, Neurological Deficit, Cognitive-Motor Performance.

\* Corresponding Author: Khosro Ebrahim, Tel: 09121164016, E-mail: [k-ebrahim@sbu.ac.ir](mailto:k-ebrahim@sbu.ac.ir), <https://orcid.org/0000-0001-9555-525X>

### Extended Abstract



**Copyright:** © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

### Background and Purpose

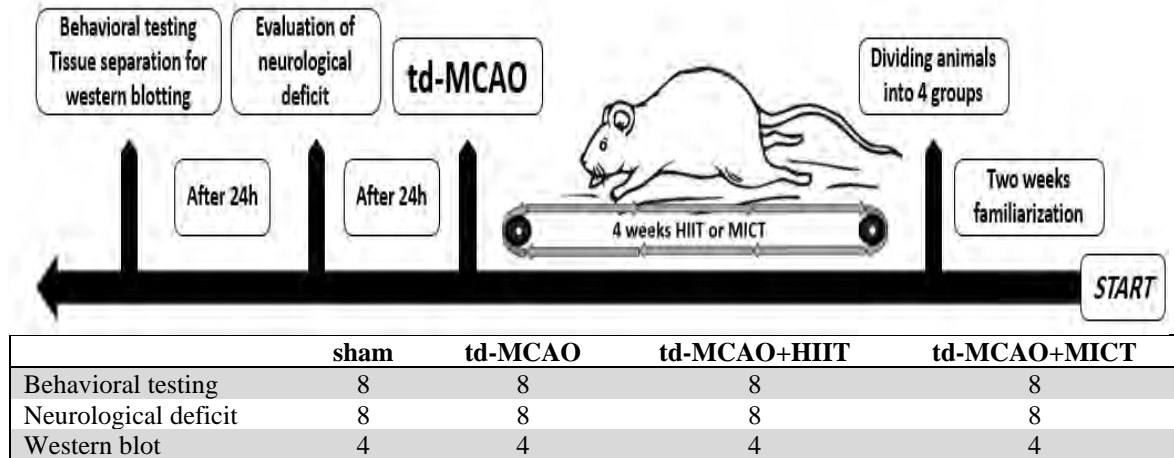
Stroke, the second leading cause of death globally, triggers pathophysiological changes, particularly in ischemic areas (1). These changes facilitate the protection and potential repair of damaged nerve cells post-stroke (2). Angiogenesis is the process of increased vessel formation in the central nervous system, emerging as a crucial physiological mechanism for neuroprotection and neurogenesis (3).

The ischemic state after stroke reduces the transcription of neuroprotective genes, such as vascular endothelial growth factor (VEGF), receptors (VEGFR-2), and hypoxia-inducible factor 1 alpha (HIF-1 $\alpha$ ), as well as the marker angiopoietin-2 (Ang-2), which is a marker of vascular sprouting and fibroblast growth factors 2 (FGF-2) as a strong angiogenic factor (4). Studies have shown that the use of pharmaceutical and exercise interventions can increase the expression of proteins related to angiogenesis in the CNS (5).

Exercise is a well-known non-pharmacological method for vascular diseases and is recommended by the American Heart Association (AHA) as a part of stroke prevention and treatment strategy (6). Clinical data have shown that physical inactivity is associated with increased severity and prevalence of stroke (7). However, this research investigated the effects of 4 weeks of high intensity interval training (HIIT) and moderate intensity continuous training (MICT) before stroke on angiogenic markers and sensorimotor function in td-MCAO stroke model of NMDR mice. In this study, it was hypothesized that high-intensity exercise can preemptively increase angiogenesis in the central nervous system and strengthen vessels due to more metabolic stress than moderate-intensity exercise, resulting in neuroprotective effects of this type of intervention against stroke to a greater extent.

### Materials and Methods

In this study, which was conducted experimentally, after evaluation based on G\*Power software to determine the sample size at the alpha level of 0.05 and effect size of 0.06, 32 adult male NMDR mice (age: 8 weeks, weight:  $35 \pm 1$  g), the animals were randomly divided into four groups: sham (n=8), stroke (n=8), stroke+HIIT (n=8) and stroke+MICT (n=8). All experiments were performed in accordance with the guidelines of the National Institute of Health and Use of Laboratory Animals. All animals were housed under standard conditions (22°C, 55% relative humidity, and 12 h light/dark cycle) and had free access to food and water (adlibidom). Schematic plan of the general protocol and the number of animals tested in different research methods (Figure 1).



**Fig. 1. Experimental protocols and schematic showing experimental group numbers for each procedure. For behavioral testing, 8 animals were used for each group, for neurological deficit 8 animals and for Western blot analyses, 4 animals were used for each group.**

## Findings

The results of one-way ANOVA showed a significant increase in the expression of VEGF, VEGF-R2, and HIF-1 proteins ( $P < 0.05$ ), and the results of Tukey's post hoc test showed that the expression values of VEGF-R2 and HIF-1 proteins in the group Stroke+HIIT had a significant increase compared to stroke and MICT+stroke groups ( $P < 0.01$ ). While levels of VEGF protein in MICT + stroke group increased significantly compared to other groups ( $P < 0.05$ ). Moreover, stroke animals had higher levels of STAT1 protein compared to stroke+exercise animals ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ), STAT3 and Ang-2 proteins were significantly increased in stroke+HIIT group compared to stroke animals ( $P < 0.01$ ) and STAT3 and Ang-2 levels in stroke+MICT group were significantly increased compared to the control group. ( $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ ).

Behavioral tests using the pole balance test were performed at baseline (24 hours before stroke), day 0 (day of stroke) and on days 1 and 2 after stroke, and the forelimb strength test on day 2 (day dissection) was performed after stroke. The exercise group showed a significant improvement in locomotor activity ( $p < 0.01$ ) on day 2 compared to the non-exercise + stroke group, as demonstrated by the bar balance test. The results of the forelimb strength test showed a significant difference between stroke + HIIT and other groups ( $p < 0.01$ ) in the left limb (opposite side of brain injury).

## Conclusion

The results of the present study showed that preconditioning with high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training cause neuroprotective and cognitive effects through increasing angiogenesis in the central nervous system after stroke. These physiological benefits are created through the improvement of effective factors in angiogenesis. Stroke model animals that performed HIIT and MICT exercises showed improvement in motor function and reduction in neurological disorders. In this regard, it was found that high-intensity interval and continuous moderate-intensity training in stroke groups increased the expression of VEGF, VEGF-R2, FGF-2, TGF- $\beta$ 2, STAT-3 and HIF-1 $\alpha$  proteins in the area around cerebral ischemic infarction is effective in reducing the destruction of nerve cells.

**Keywords:** Stroke, Angiogenesis, Preparatory Exercises, Neurological Deficit, Cognitive-Motor Performance

### **Article Message**

In summary, the research findings indicate that preconditioning with both high-intensity interval training (HIIT) and moderate-intensity continuous training (MICT) prior to a stroke enhances vascular conditions, leading to neuronal protection in the vicinity of the infarcted area. Overall, high-intensity interval training appears promising as a preventive treatment strategy for reducing motor and histopathological defects associated with ischemic stroke. Given the significance of this intervention for stroke patients, the study results may serve as a basis for future practical investigations aimed at preventing and treating stroke patients in medical centers.

### **Ethical Considerations**

The present research with code IR.SBU.REC.1402.023 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 have participated in designing, implementing, and writing all parts of the present study

### **Conflict of Interest**

The authors declare that there is no conflict

### **Acknowledgment**

The authors express their gratitude to the Neuroscience Center and the faculty of Sports and Health Sciences at Shahid Beheshti University for their invaluable assistance in improving this study.

### **References**

1. Feigin VL, Brainin M, Norrving B, Martins S, Sacco RL, Hacke W, Fisher M, Pandian J, Lindsay P. World Stroke Organization (WSO): global stroke fact sheet 2022. *International Journal of Stroke*. 2022 Jan;17(1):18-29.
2. Tang W, Lv X, Huang J, Wang B, Lin L, Shen Y, Yao Y. Neuroprotective Effect of Stroke Pretreated Mesenchymal Stem Cells Against Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. *World Neurosurgery*. 2022 Sep 1;165:e1-1.
3. Chen B, Zhang Y, Chen S, Xuran L, Dong J, Chen W, Tao S, Yang W, Zhang Y. The role of vascular endothelial growth factor in ischemic stroke. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021 Apr 1;76(4):127-31.
4. Ghori A, Prinz V, Nieminen-Kehlä M, Bayerl SH, Kremenetskaia I, Riecke J, Krechel H, Brogini T, Scherschinski L, Licht T, Keshet E. Vascular endothelial growth factor augments the tolerance towards cerebral stroke by enhancing neurovascular repair mechanism. *Translational Stroke Research*. 2022 Oct;13(5):774-91.
5. Beck H, Plate KH. Angiogenesis after cerebral ischemia. *Acta neuropathologica*. 2009 May;117:481-96.
6. Church G, Ali A, Smith CL, Broom D, Sage K. Examining clinical practice guidelines for exercise and physical activity as part of rehabilitation for people with stroke: a systematic review. *International journal of environmental research and public health*. 2022 Feb 2;19(3):1707.
7. Kringle EA, Barone Gibbs B, Campbell G, McCue M, Terhorst L, Kersey J, Skidmore ER. Influence of interventions on daily physical activity and sedentary behavior after stroke: a systematic review. *PM&R*. 2020 Feb;12(2):186-201.

# فیزیولوژی ورزشی

پژوهشگاه تربیت بدنی

پاییز ۱۴۰۲، دوره ۱۵، شماره ۵۹، صفحه‌های ۹۷-۱۱۴

## تأثیر پیش آماده‌سازی با تمرینات تداومی و تناوبی با شدت بالا بر عوامل رگ‌زایی مدل سکنه مغزی td-MCAO

مریم طاهری<sup>۱</sup>، خسرو ابراهیم<sup>۲\*</sup>، جواد نعمتی<sup>۳</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.

۳. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

Taheri, M; Ebrahim, K; & Nemati, J. (2023). The The Effect of Precondition with Continuous and High-Intensity Interval Training on Angiogenic Factors in the Td-MCAO Stroke Model. *Sport Shysiology*, 15(59), 97-114. In Persian. DOI: 10.22089/SPJ.2024.15898.2290

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۸/۱۸

پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۲/۲۷

### چکیده

هدف پژوهش حاضر، مقایسه تأثیر چهار هفته تمرینات پیش‌آماده‌سازی تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تداومی با شدت متوسط (MICT) بر مسیر آنژیوژنز در سلول‌های عصبی اطراف ناحیه انفارکت سکنه مغزی بود. تعداد ۳۲ موش نر بالغ نژاد NMRI (سن هشت هفته، وزن  $25 \pm 1$  گرم) انتخاب شده و به‌طور تصادفی به چهار گروه هشت‌تایی شامل گروه‌های شم، سکنه مغزی، سکنه مغزی+HIIT و سکنه مغزی+MICT تقسیم شدند. پروتکل‌های تمرینی به‌مدت چهار هفته و پنج جلسه در هفته اجرا شد که گروه HIIT به‌صورت میانگین هفت‌وهله دو دقیقه‌ای (شدت بالا  $V_{max} 95\%$  و شدت کم  $V_{max} 45\%$ ) و گروه MICT با میانگین شدت  $V_{max} 60\%$  به‌مدت ۵۵ دقیقه، پروتکل تمرینی را اجرا کردند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، القای سکنه مغزی با روش (t-MCAO) صورت گرفت و پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب نقص نورولوژیک، تست‌های رفتاری و بافت‌برداری ناحیه پنومبرا انجام شد. نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌راهه تفاوت معناداری را در تغییرات VEGF-R2، HIF-1 $\alpha$ ، Ang-2، FGF-2 و STAT3 نشان داد. به‌صورت بین‌گروهی نشان داد که این تغییرات در گروه تمرینات HIIT در مقایسه با گروه MICT و سایر گروه‌ها معنادار بود ( $P < 0.05$ )؛ در حالی که مقادیر VEGF در گروه MICT در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش معناداری داشت ( $P < 0.05$ ). یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد، یک دوره چهارهفته‌ای تمرینات پیش‌آماده‌سازی تناوبی با شدت بالا می‌تواند راهکاری مناسب برای تحقیقات آینده در زمینه پیشگیری و درمان سکنه مغزی در نظر گرفته شود.

واژگان کلیدی: سکنه مغزی، آنژیوژنز، تمرینات پیش‌آماده‌سازی، نقص نورولوژیک، VEGF.



Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

\* Corresponding Author: Khosro Ebrahim, Tel: 09121164016, E-mail: [k-ebrahim@sbu.ac.ir](mailto:k-ebrahim@sbu.ac.ir),  
<https://orcid.org/0000-0001-9555-525X>

## مقدمه

سکته مغزی یکی از مخرب‌ترین بیماری‌ها در سراسر جهان است که دومین عامل مرگ‌ومیر شناخته می‌شود (۱). سکته مغزی ایسکمیک باعث تغییرات پاتوفیزیولوژیک در نواحی ایسکمیک می‌شود؛ جایی که جریان خون در مرکز ناحیه‌ای که جریان خون مسدود شده است، تا حد زیادی کاهش می‌یابد و نواحی دور از مرکز ایسکمیک به دلیل خون‌رسانی مجدد خون توسط عروق جانبی و رگ‌زایی پشتیبانی می‌شوند. در این مناطق، تغییرات مربوط به محافظت از سلول‌های عصبی می‌تواند سلول‌های عصبی آسیب‌دیده پس از سکته را بهبود بخشد (۲). یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های فیزیولوژیک در خصوص محافظت عصبی و نورون‌ز، افزایش تعداد و منطقه تحت پوشش عروق در سیستم عصبی مرکزی توسط فرایند آنژیوژنز<sup>۱</sup> است (۳). رگ‌زایی نقش حیاتی در حفاظت و توان‌بخشی سلول‌های عصبی پس از سکته مغزی دارد. آنژیوژنز فرایند چندمرحله‌ای است که شامل فعال شدن سلول‌های اندوتلیال عروقی توسط عوامل رگ‌زایی است که عبارت‌اند از: مهاجرت سلول‌های اندوتلیال، تخریب ماتریکس خارج سلولی و تمایز سلول‌های اندوتلیال به رگ‌های کوچک (۴).

وضعیت ایسکمیک پس از سکته مغزی، رونویسی ژن‌های محافظ‌کننده عصبی مانند فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)، گیرنده‌های (VEGFR-2) و عامل القایی هایپوکسی- $1\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) را کاهش می‌دهد (۵). علاوه بر این، سایر پروتئین‌های تنظیمی دیگر را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد و می‌تواند بر سیگنالینگ رگ‌زایی توسط بیان ژن VEGF تأثیر بگذارند. این پروتئین‌ها شامل مبدل سیگنال و فعال‌کننده رونویسی ۱ و ۳ است (STAT-1,3) که STAT-1 بیان آلفا HIF-1 را سرکوب می‌کند؛ درحالی‌که STAT-3 به‌طور مثبت HIF-1 $\alpha$  را تنظیم می‌کند؛ در نتیجه بیان VEGF را به‌ترتیب کاهش و تنظیم مثبت می‌کند (۶). همچنین بیومارکر (Ang-2) (Angiopoietin-2) که با مارکر جوانه‌زدن عروق و فاکتورهای رشد فیبروبلاست-2 (FGF-2) به‌عنوان یک عامل قوی رگ‌زایی مرتبط است نیز دست‌خوش تغییرات پاتوفیزیولوژیک می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از مداخلات دارویی و ورزشی می‌تواند بیان پروتئین‌های مرتبط با آنژیوژنز را در CNS افزایش دهد (۷) که در این بین با توجه به اینکه تمرینات ورزشی به لحاظ فیزیولوژیک از اهمیت بسیار زیادی برخوردارند، اخیراً در مراکز درمانی از این مداخله به‌عنوان مداخله غیرتهاجمی برای پیشگیری و درمان بیماران استفاده می‌شود.

ورزش، روش غیردارویی شناخته‌شده برای بیماری‌های عروقی است و توسط انجمن قلب آمریکا (AHA) به‌عنوان بخشی از استراتژی پیشگیری و درمان سکته مغزی توصیه می‌شود (۸). داده‌های بالینی نشان داده‌اند که نداشتن فعالیت بدنی با افزایش شدت و شیوع سکته مغزی همراه است (۹). تحقیقاتی در زمینه پیش‌شرطی‌سازی با تمرین ورزشی روی سازگاری مغز و مقابله با اثرات سکته مغزی انجام شده که مشخص شده است پیش‌آماده‌سازی با ورزش با شدت کم تا متوسط، شدت و شیوع سکته مغزی را در انسان کاهش می‌دهد و از لحاظ تشکیل رگ‌های خونی جدید برای بهبود سکته مغزی مهم به‌شمار می‌رود (۱۰، ۱۱). علاوه بر این، تمرینات با شدت‌های بالا نیز بقای نورون‌ها را افزایش می‌دهند و فعالیت عروقی و جریان خون مغزی را در مدل‌های حیوانی سکته مغزی بهبود می‌بخشد که از طریق افزایش مارکرهای مرتبط با آنژیوژنز در رگ‌زایی عروق مغزی نقش دارند. مطالعات نشان داده‌اند که پیش‌آماده‌سازی با ورزش باعث افزایش VEGF، افزایش گیرنده (VEGFR-2) و افزایش

## 1. Angiogenesis

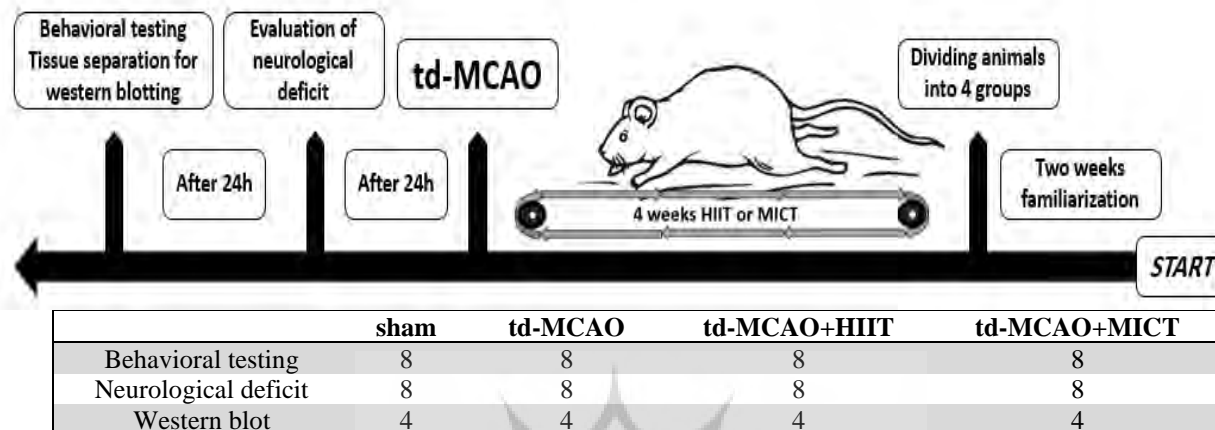
تراکم مویرگی در ناحیه اطراف انفارکت می‌شود (۱۲). در چندین مطالعه، نقش VEGF در رگ‌زایی ناشی از ورزش و افزایش گردش خون مغزی مشخص شده است؛ به‌عنوان مثال، در تحقیقی گزارش شد که تمرینات پیش‌آماده‌سازی، تراکم مویرگی در مغز حیوانات مدل سکته مغزی را تقویت می‌کنند که در این پژوهش، حیوانات برای مدت سه هفته به صورت روزانه با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه و مدت زمان ۳۰ دقیقه بر روی تردمیل دویدند. پس از اتمام پروتکل تمرینی و سکته مغزی مشخص شد که حجم ناحیه ایسکمیک در حیوانات تمرین‌کرده به‌طور معناداری کمتر از گروه بدون تمرین بود. همچنین گزارش شد، ادم مغزی و چگالی مویرگی نیز در گروه تمرین در مقایسه با گروه بی‌تمرین به‌ترتیب کاهش و افزایش معناداری داشت (۱۳). در مطالعه دیگری مشخص شد که پیش‌آماده‌سازی کوتاه‌مدت تمرین HIIT قبل از سکته مغزی باعث کاهش آسیب عروق عصبی پس از سکته مغزی، از طریق افزایش نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیالی (eNOS) می‌شود (۱۴)؛ باین‌حال، مکانیسم سلولی و مولکولی دقیق برای اثرات مفید انواع مختلف ورزش با فشارهای مکانیکی و متابولیکی مختلف و همچنین مدت زمان اجرای تمرینات، بر شاخص‌های آنژیوژنیک در ناحیه اطراف انفارکت سکته مغزی هنوز به‌خوبی مشخص نشده است.

مطالعه حاضر برای کمک به پرکردن شکاف دانش فعلی در زمینه ورزش پیشگیرانه و نتایج سکته مغزی، طراحی شده است. با توجه به اینکه بسیاری از مداخلات ورزشی در زمینه پیش‌آماده‌سازی قبل از سکته مغزی به بررسی اثربخشی این نوع تمرینات پرداخته‌اند، مشخص شده است که برای اثربخشی در رابطه با بهبود عملکرد نوروهای عصبی، به فعالیت بدنی طولانی‌مدت و شدید نیاز است (۱۵) که احتمالاً برای بسیاری از بیماران در معرض خطر سکته مغزی جذابیتی ندارد؛ باین‌حال، در تحقیق حاضر به بررسی تأثیر شدت‌های تمرینی با فشارهای مکانیکی و متابولیکی متفاوت در زمان‌های مختلف بر مسیر آنژیوژنز بافت پنومبرا پرداخته شد که آیا قرار گرفتن در معرض تمرینات تناوبی با شدت بالا برای مدت‌زمان کوتاه‌تر، محافظت عصبی بهتری در مقایسه با تمرینات تداومی با شدت متوسط دارد یا خیر. در اینجا، اثرات چهار هفته تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تمرینات تداومی با شدت متوسط (MICT) قبل از سکته را بر نشانگرهای رگ‌زایی و عملکرد حسی حرکتی در مدل سکته مغزی td-MCAO موش‌های NMDR بررسی و ارزیابی کردیم. فرض کردیم که تمرینات با شدت بالا به دلیل استرس متابولیک بیشتر در مقایسه با تمرینات با شدت متوسط، می‌تواند به‌طور پیشگیرانه رگ‌زایی در سیستم عصبی مرکزی را افزایش دهد و عروق را تقویت کند؛ در نتیجه به نظر می‌رسد که این نوع مداخلات، اثرات محافظت عصبی در برابر سکته مغزی را به مقدار بیشتری ایجاد کند.

## روش پژوهش

در این مطالعه که به‌صورت تجربی انجام شد، پس از ارزیابی براساس نرم افزار G\*Power برای مشخص شدن حجم نمونه در سطح آلفای ۰/۰۵ و اندازه اثر ۰/۰۶، ۳۲ موش صوری نر بالغ نژاد NMDR (سن: هشت هفته، وزن:  $35 \pm 1$  گرم) از مرکز انستیتو پاستور (تهران، ایران) خریداری شدند. پس از دو هفته سازگاری با شرایط آزمایشگاهی و تمرین روی تردمیل، حیوانات به‌طور تصادفی به چهار گروه شم (n=8)، سکته مغزی (n=8)، سکته مغزی+HIIT (n=8) و سکته مغزی+MICT (n=8)، تقسیم شدند. تمامی آزمایش‌ها مطابق با راهنمای مؤسسه ملی بهداشت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و به تأیید کمیته مراقبت و استفاده از حیوانات دانشگاه شهید بهشتی تهران رسید. پژوهش حاضر با کد IR.SBU.REC.1402.023 از سوی کمیته اخلاق دانشگاه شهید بهشتی تهران تأیید شد.

همه حیوانات تحدرت شرایط عادی (۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵ درصد و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعت) قرار گرفتند و دسترسی آزاد به غذا و آب (adlibidom) داشتند. طرح شماتیک پروتکل کلی و تعداد حیوانات مورد آزمایش در روش‌های مختلف تحقیق در شکل شماره یک ارائه شده است.



شکل ۱- پروتکل شماتیکی آزمایش که تعداد گروه‌ها را برای هر روش نشان می‌دهد. برای آزمایش رفتاری و نقص عصبی ۸ حیوان و برای آنالیز وسترن بلات، ۴ حیوان برای هر گروه استفاده شد.

**Figure 1- Experimental protocols and schematic showing experimental group numbers for each procedure. For behavioral testing, n=8 animals were used for each group, for neurological deficit, N = 8 and for Western blot analyses, n=4 animals were used for each group.**

القای ایسکمی کانونی مغزی (td-MCAO): موش‌های نر NMRI در مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی نگهداری شدند. تمام آزمایش‌ها 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 حیوانات (IR.SBU.REC.1402.023) تأیید شد. همان‌طور که لی و همکاران (۱۶) توضیح دادند، موش‌های بالغ (هشت هفته،  $35 \pm 1$  گرم) با تغییرات جزئی تحت td-MCAO قرار گرفتند. به‌طور خلاصه، حیوانات با استفاده از استنشاق ایزوفلوران ۲ تا ۵ درصد (Inhalation Anesthesia, parkland Scientific) بی‌هوش شدند و در زیر میکروسکوپ جراحی قرار گرفتند. یک برش پوستی بین چشم چپ و گوش ایجاد شد و عضله تمپورال به‌صورت جانبی جمع شد. شریان مغزی میانی (MCA) پس از کرانیوتومی نمایان شد و با استفاده از یک نخ نایلونی ۹-۰ (شرکت doccol کشور ایالت متحده)، قسمت انتهایی MCA سمت چپ در دو شاخه شدن به شاخه‌های جلویی و خلفی چسبانده شد. پس از دو ساعت، گره‌های بخیه به آرامی با میکرو قیچی بریده شد تا جریان خون مجدد در نواحی ایسکمیک مغز فراهم شود. حیوانات تا زمان بهبودی کامل از بیهوشی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱۷).

پروتکل‌های تمرینی: بعد از یک هفته آشناسازی با محیط نگهداری، حیوانات به مدت یک هفته (پنج بار در هفته و هر بار به مدت ۱۵ دقیقه) با سرعت ۵ تا ۱۵ متر در دقیقه و با شیب صفر درجه تمرین شد که پس از ۴۸ ساعت استراحت از آخرین جلسه آشناسازی، از موش‌ها آزمون وامانده‌ساز برای سنجش حداکثر سرعت گرفته شد (۱۸). سپس براساس سرعت دویدن



در مرحله واماندگی، موش‌ها به‌صورت تصادفی به چهار گروه کنترل، شم، تمرین استقامتی تداومی با شدت متوسط (MICT) و تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) تقسیم شدند که به‌منظور یکسان‌سازی توان هوازی اولیه بین گروه‌ها میانگین سرعت واماندگی در مرحله اولیه بین گروه‌ها همسان‌سازی شد.

**آزمون تعیین حداکثر سرعت در زمان حداکثر اکسیژن مصرفی:** برای تعیین سرعت حداکثر از آزمون فزاینده استاندارد از آزمونی استفاده شد که شامل ۱۰ مرحله سه‌دقیقه‌ای است که در شروع آزمون با سرعت پنج متر بر دقیقه به مدت سه دقیقه فعالیت راه‌رفتن آغاز شد و پس از آن، هر سه دقیقه پنج متر بر دقیقه به سرعت افزوده شد. در این تحقیق از شیب صفر درجه برای تعیین سرعت حداکثر استفاده شد و سرعت به‌دست‌آمده در آخرین مرحله که حیوان قادر به ادامه دویدن نبود، به‌عنوان حداکثر سرعت دویدن ( $V_{max}$ ) استفاده شد (۱۹).

**پروتکل تمرین هوازی تداومی با شدت متوسط (MICT):** این تمرینات براساس اصل اضافه‌بار طراحی و اجرا شد. در گروه تمرین تداومی، حیوانات ابتدا به مدت پنج دقیقه با شدت ۴۰ درصد سرعت بیشینه روی نوارگردان برای گرم کردن دویدند و سپس با شدت ۵۰ درصد سرعت بیشینه در هفته اول، ۵۵ درصد سرعت بیشینه در هفته دوم و ۶۰ درصد سرعت بیشینه در هفته‌های سوم و هفته چهارم، ۶۵ درصد تمرین تداومی را اجرا کردند (جدول شماره یک). مسافت دویدن موش‌ها در گروه تمرین تداومی در یک جلسه تمرین با مسافت طی‌شده در گروه تمرینات تناوبی با شدت بالا، براساس شدت و مدت همسان‌سازی شد. در پایان، موش‌ها پنج دقیقه سرد کردن را در شدت ۴۰ درصد سرعت بیشینه انجام دادند.

جدول ۱- پروتکل تمرین تداومی

Table 1- Protocol of MICT group for 4 weeks

هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم
۵۰٪	۵۵٪	۶۰٪	۶۵٪
۴۰	۵۰	۶۰	۷۰

**برنامه تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا (HIIT):** پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا شامل سه قسمت گرم کردن، بدنه تمرین اصلی و سرد کردن بود که حیوانات مطابق با شدت گرم و سرد کردن گروه MICT، گرم و سرد کردن را هرکدام به مدت پنج دقیقه انجام دادند. بدنه اصلی تمرین شامل میانگین شدت وهله‌های کار و استراحت تمرین تناوبی به‌صورت متغیر از لحاظ استرس متابولیکی و اصل اضافه‌بار بود که در وهله‌های شدید در هفته‌های اول تا چهارم به‌ترتیب با شدت‌های ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ و ۱۱۰ درصد  $V_{max}$  بود. همچنین در وهله‌های با شدت کم، ۴۵ درصد در نظر گرفته شد که هفته اول شامل ۴ اینتروال و هر هفته ۲ اینتروال به آن افزوده شد که در هفته آخر ۱۰ اینتروال اجرا شد؛ از این‌رو زمان بدنه تمرین اصلی شامل فعالیت با شدت بالا و فعالیت با شدت پایین در هفته اول ۱۶ دقیقه، در هفته دوم ۲۴ دقیقه، هفته سوم ۳۲ دقیقه و در هفته چهارم ۴۰ دقیقه بود.

## جدول ۲- پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا

Table 2- Protocol of HIIT group for 4 weeks

هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	
4	6	8	10	تعداد تکرار
%80	%90	%100	%110	شدت فعالیت (حداکثر سرعت)
2	2	2	2	مدت فعالیت (دقیقه)
%45	%45	%45	%45	شدت استراحت (حداکثر سرعت)
2	2	2	2	مدت استراحت (دقیقه)
26	34	42	50	مدت زمان کل تمرین (دقیقه)

## تست‌های رفتاری

**آزمون میله تعادل (BEAM BALANCE TEST):** دستگاه آزمون میله تعادل شامل یک میله یک‌متری با سطح صاف با عرض ۱۰ میلی‌متر بود که ۵۰ سانتی‌متر بالای میز روی دو تیر قرار گرفت. یک جعبه در انتهای میله به‌عنوان نقطه پایان قرار گرفت. مقداری پوشال به‌منزله ایجاد محرک مثبت از قفس‌های خانگی اختصاصی هر حیوان در جعبه انتهایی قرار گرفت تا موش را به نقطه پایان جذب کند. یک لامپ برای تابش نور به بالای نقطه شروع استفاده شد که به‌عنوان یک محرک برای حرکت حیوانات به سمت جایگاه تاریک در نظر گرفته شد. زمان عبور از مرکز ۸۰ سانتی‌متری توسط یک کورنومتر اندازه‌گیری شد: ابتدا در صفر سانتی‌متر شروع و در ۸۰ سانتی‌متر، تایمر متوقف شد. یک نایلون در زیر تیر، ۱۵ سانتی‌متری میز کشیده شد تا هرگونه سقوط را مهار کند و درنهایت زمان عبور از میله و رسیدن به قسمت انتهایی ثبت شد و به‌منظور ارزیابی عملکرد حسی حرکتی حیوانات، در نظر گرفته شد (۲۰).

**آزمون قدرت اندام جلویی (Forepaw Grip Strength Test):** قدرت گرفتن با استفاده از نیروی سنج دیجیتالی (DSI ساخت ایران) در حالت عملیات نیروی حداکثری با تغییرات اندک اندازه‌گیری شد. پس از پوشاندن یکی از اندام‌های جلویی حیوان با نوار چسب (تکه ۲×۲ سانتی‌متر)، موش‌ها با گرفتن دم توسط محقق بالای یک میله (قطر حدود یک میلی‌متر، سطح دستگیره حدود ۱/۵ سانتی‌متر) متصل به نیروسنج نگه داشته شدند. موش‌ها در موقعیتی آویزان شده بودند که به آن‌ها اجازه می‌داد سیم را با پنجه جلویی آزاد خود به‌طور بازتابی بگیرند. سپس محقق، حیوان را با سرعت ثابت از میله عقب کشید و حداکثر نیروی ایجادشده درست قبل از اینکه موش‌ها دست خود را رها کنند، ثبت شد. این کار پنج بار تکرار شد و هر آزمایش با چند ثانیه استراحت، دنبال شد. پنجه جلوی چپ یا راست به‌طور تصادفی انتخاب شد و قدرت آن در تمام حیوانات در یک ردیف و سپس با مقابل مقابل اندازه‌گیری شد (۲۱).

**نقص عصبی (NDS) و ارزیابی رفتاری ناشی از سکته مغزی:** پس از جراحی t-dMCAO، نمرات نقص عصبی در حیوانات پس از ۲۴ ساعت محاسبه شد (۲۲). روش نمره‌گذاری عبارت بود از: درجه صفر، نبود نقص عصبی؛ درجه ۱، ناتوانی در گسترش کامل اندام جلویی؛ درجه ۲، هنگامی که حیوان توسط دم کشیده می‌شود، بیش از حد معمول به اطراف می‌چرخد؛ درجه ۳، چرخش یک‌طرفه به دور خودش؛ درجه ۴، حرکت‌ندادن خود به خود و سطح هوشیاری پایین؛ درجه ۵، مرگ حیوانات. در این مطالعه، با توجه به نوع مداخله سکته مغزی t-dMCAO، حیوانات با نمره نقص عصبی ۲ و ۳ وارد آزمایش شدند.

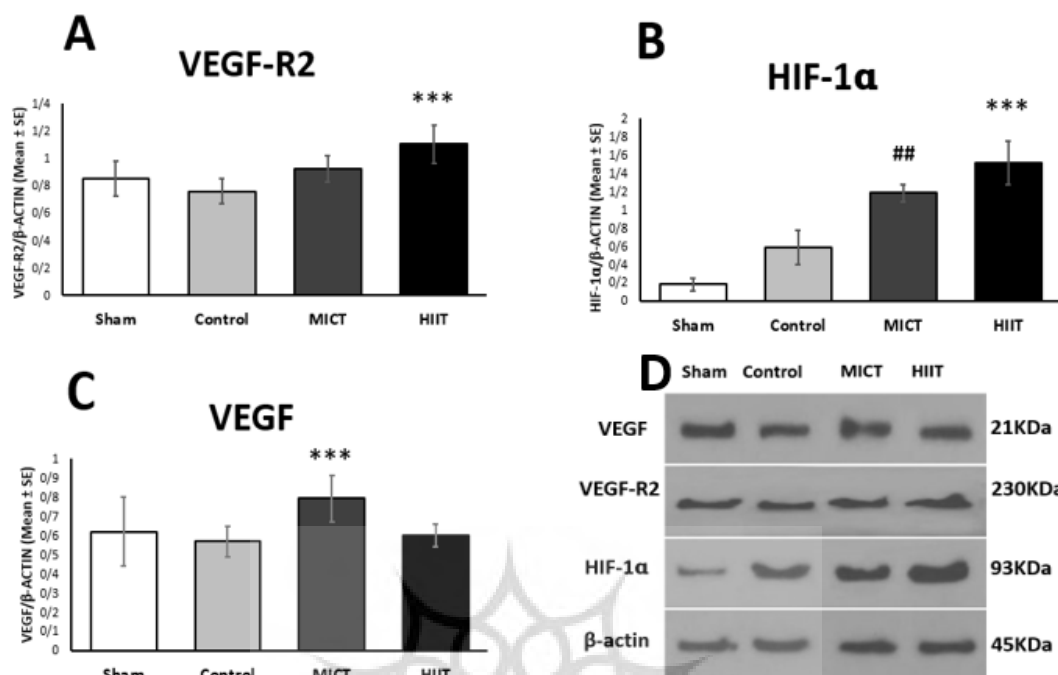
آزمایش وسترن بلاتینگ (Western blotting): بافت نواحی قشری اطراف انفارکت (پنومبرا) به مقدار ۳۰ میلی‌گرم، پس از انجام مراحل اولیه برای لیزشدن در ژل SDS PAGE الکتروفوروز لود شدند و پس از مراحل تانک وسترن و الکتروفوروز پروتئین‌ها به کاغذ PVDF منتقل شدند. پس از آن به مدت ۱۸ ساعت در دمای چهار درجه با آنتی‌بادی‌های اولیه (VEGF- $\alpha$  (1/500; Abcam technology VEGF-R2 (1/1000; Abcam technology co. Cambridge, UK), HIF-1 $\alpha$ , STAT-3 (1/1000; Santa Cruz Biotechnology, USA), and FGF-2 (1/1000; Merk, Germany) سپس ایمونوبلات‌ها با آنتی‌بادی‌های ثانویه IgG ضد موش یا IgG ضد خرگوش (Cell signaling, 7076, 7074, 1:5000; USA) آنکوبه شدند (۱ ساعت). تجزیه و تحلیل باندهای پروتئینی با روش دانسیتومتری از طریق استفاده از نرم‌افزار Image J انجام شد.

برای طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک، برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه و در صورت معنادار بودن نتایج آماری از آزمون تعقیبی توکی برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار اسپاس اس ۲۳ استفاده شد. سطح معناداری آماری  $P < 0.05$  و قدرت آماری ۸۰ درصد برای تجزیه و تحلیل داده‌ها در نظر گرفته شد. همچنین برای تعیین حجم نمونه، نرم‌افزار G\*Power در سطح آلفای ۰/۰۵ و اندازه اثر ۰/۰۶ به کار رفت.

## نتایج

### اثر تمرینات HIIT و MICT بر بیان پروتئین VEGF، VEGF-R2 و HIF-1 $\alpha$ در ناحیه پنومبرا برای حیوانات مدل سگته مغزی

نتایج آنوای یک طرفه، افزایش معناداری را در بیان پروتئین VEGF، VEGF-R2 و HIF-1 نشان داد ( $P < 0.05$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که مقادیر بیان پروتئین‌های VEGF-R2 و HIF-1 در گروه سگته مغزی+HIIT در مقایسه با گروه سگته مغزی و سگته مغزی+MICT افزایش معناداری داشت ( $P = 0.0084$ ,  $P = 0.039$ ). شکل شماره یک، قسمت‌های A و B؛ درحالی‌که آزمون توکی تعقیبی نشان داد که مقادیر بیان پروتئین VEGF در گروه سگته مغزی+MICT در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش معناداری داشت ( $P = 0.022$ ). شکل شماره یک، قسمت C). بیان پروتئین VEGF، VEGF-R2، HIF-1 و  $\beta$ -اکتین در شکل شماره یک قسمت D مشاهده می‌شود.

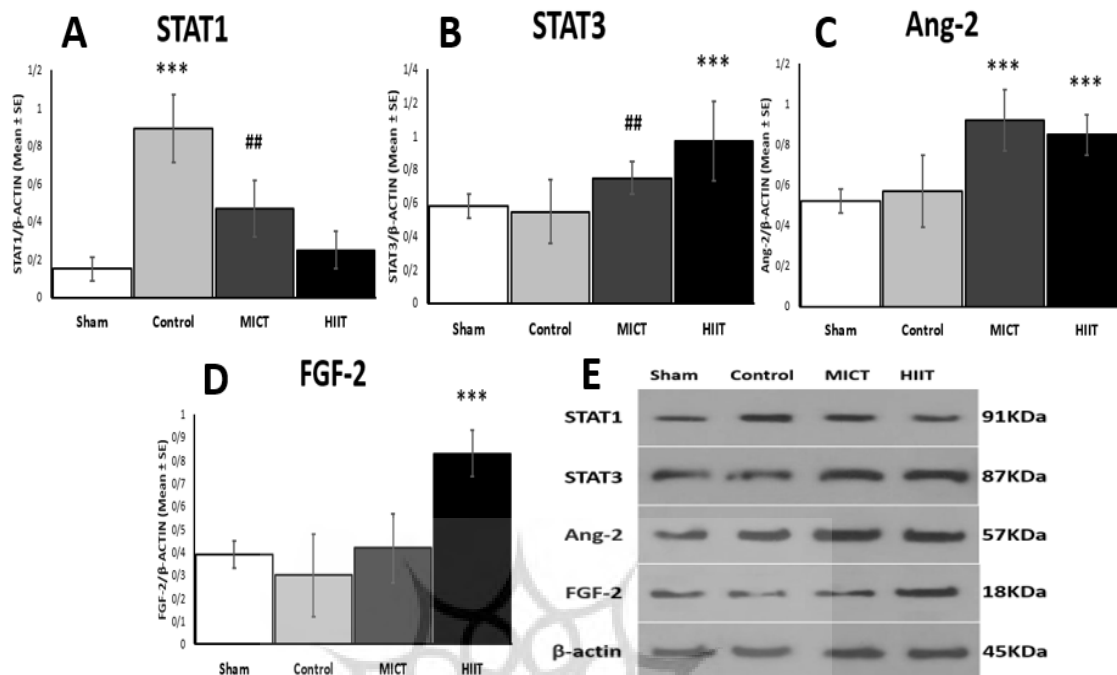


شکل ۲- داده‌ها نسبت به گروه کنترل ارزیابی شد و به صورت میانگین  $\pm$  SEM (گروه/ n=4) بیان شد.  $^{***}P<0.01$ ،  $^{##}P<0.05$  در مقایسه با گروه کنترل. HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا و MICT تمرین تداومی با شدت متوسط

**Figure 2-** The data were normalized to the control group and expressed as the mean  $\pm$  SEM (n=4/group).  $^{***}P<0.01$ ,  $^{##}P<0.05$  vs. control group. HIIT: high-intensity interval training, MICT: moderate-intensity continuous training

تأثیر تمرینات HIIT و MICT بر بیان پروتئین STAT1، STAT3، Ang-2 و FGF-2 در ناحیه پنومبرای حیوانات مدل سگته مغزی

نتایج وسترن بلات نشان داد که حیوانات سگته مغزی سطوح بالاتری از پروتئین STAT1 در مقایسه با حیوانات سگته مغزی+ورزش داشتند ( $P<0.01$ ،  $P<0.05$ ، شکل شماره سه قسمت A)؛ با وجود این، پروتئین‌های STAT3 و Ang-2 در گروه سگته مغزی+HIIT در مقایسه با حیوانات سگته مغزی ( $P<0.01$ ) و گروه سگته مغزی+MICT سطوح STAT3 و Ang-2 در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معناداری داشت ( $P<0.05$ ،  $P<0.01$ ، شکل شماره سه قسمت‌های B&C). همچنین مقدار FGF-2 در گروه سگته مغزی+HIIT به‌طور درخور توجهی بیشتر از سایر گروه‌ها بود ( $P<0.01$ ، شکل شماره سه قسمت D). بیان پروتئین STAT1، STAT3، Ang-2، FGF-2 و  $\beta$ -اکتین در شکل شماره سه قسمت E مشاهده می‌شود.

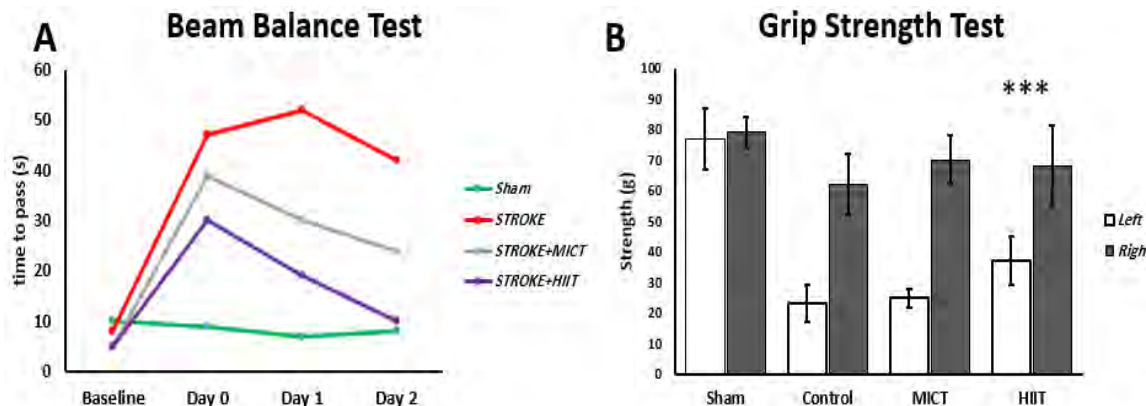


شکل ۳- داده‌ها نسبت به گروه کنترل ارزیابی شد و به صورت میانگین  $\pm$  SEM (گروه/  $n = 4$ ) بیان شد.  $***P < 0.01$ ,  $**P < 0.05$  در مقایسه با گروه کنترل

**Figure 3-** The data were normalized to the control group and expressed as the mean  $\pm$  SEM (n=4/group).  $***P < 0.01$ ,  $**P < 0.05$  vs. control group

### ارزیابی فعالیت حرکتی، عملکرد عصبی، در حیوانات مدل سکته مغزی

تست‌های رفتاری با استفاده از تست تعادل میله، در ابتدا (۲۴ ساعت قبل از سکته مغزی)، روز صفر (روز سکته مغزی) و در روزهای اول و دوم پس از سکته مغزی انجام شد. تست قدرت اندام جلویی در روز دوم (روز تشریح) پس از سکته انجام شد. گروه تمرینی موش‌های سکته مغزی بهبود قابل توجهی در فعالیت حرکتی ( $P < 0.01$ ) در روز دوم در مقایسه با گروه بدون ورزش + سکته مغزی نشان دادند که توسط تست تعادل میله (شکل ۴A) نشان داده شد. نتایج آزمون قدرت اندام جلویی تفاوت معناداری را بین سکته مغزی + HIIT و سایر گروه‌ها ( $P < 0.01$ ) در اندام سمت چپ (سمت مقابل آسیب مغزی) نشان داد (شکل شماره چهار، قسمت B).



شکل ۴- فعالیت حرکتی که با تست تعادل میله (A) و عملکرد عصبی با تست‌های قدرت اندام جلویی (B) اندازه‌گیری شد. شم: (n=8)، سکته مغزی: (n=8)، سکته مغزی+MICT (n=8) و سکته مغزی+HIIT (n=8)

**Figure 4-** Motor activity as measured by the Beam Balance test (A) and neurological function as measured by Grip Strength Tests (B). Sham: (n=8); Stroke: (n=8); Stroke+MICT (n=8), and Stroke+HIIT (n=8)

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرینات پیش‌آماده‌سازی تناوبی با شدت بالا و تمرینات تداومی با شدت متوسط باعث تأثیرات محافظتی عصبی و شناختی از طریق افزایش رگ‌زایی در سیستم عصبی مرکزی، پس از سکته مغزی می‌شوند. این مزایای فیزیولوژیک از طریق بهبود عوامل مؤثر در آنژیوژنز ایجاد می‌شود. حیوانات مدل سکته مغزی که تمرینات HIIT و MICT را انجام داده بودند، بهبود عملکرد حرکتی و کاهش اختلالات عصبی را نشان دادند. در همین راستا، مشخص شد که تمرینات تناوبی با شدت بالا و تداومی با شدت متوسط در گروه‌های سکته مغزی از طریق افزایش بیان پروتئین‌های HIF-1 $\alpha$  و VEGF, VEGF-R2, FGF-2, TGF- $\beta$ 2, STAT-3 در ناحیه اطراف انفارکتوس ایسکمیک مغزی، در جهت کاهش تخریب سلول‌های عصبی مؤثر است.

نتایج این مطالعه، بهبود هم‌زمان آنژیوژنز و عملکرد حرکتی را در جهت محافظت از سلول‌های عصبی در ناحیه پنومبرا در اثر تمرینات استقامتی، هم‌راستا با نتایج تحقیقات قبلی نشان داد؛ مبنی بر اینکه نقش حیاتی پروتئین‌های مرتبط با سیگنالینگ رگ‌زایی در اثر تمرینات ورزشی پس از سکته مغزی را نشان داد که مشخص شد هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط و شدت بالا قبل از سکته مغزی MCAO باعث بهبود آنژیوژنز، عملکرد عصبی، حجم سکته مغزی و سد خونی مغزی پس از سکته مغزی شد (۱۲). این نتایج با افزایش VEGF, VEGF-R2 و Ang-2 در ناحیه پنومبرا گروه‌های ورزشی تحقیق حاضر مطابقت دارد. در تحقیقی دیگر، مشابه با نتایج گروه تمرین HIIT در مطالعه حاضر، مشخص شد که تمرینات با شدت بالا با توجه به هایپوکسی ایجادشده در سلول‌های عصبی، باعث افزایش بیان پروتئین FGF-2 و HIF-1 $\alpha$  در سلول‌های عصبی شد که از این طریق نیز آنژیوژنز در نزدیکی ناحیه ایسکمیک افزایش داشت (۲۳). لی و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که تمرینات با شدت متوسط در بهبود شرایط آپوپتوتیک، آنژیوژنز و نوروژنز تأثیرات بیشتری در مقایسه با تمرینات با شدت بالا

داشتند (۲۴)؛ با این حال، در مقایسه با نتایج تحقیقات گذشته که از تمرینات ورزشی با شدت‌های مختلف در شرایط قبل از سکتة استفاده شده بود، مشخص شد که تمرینات MICT در مقایسه با تمرینات HIIT اثربخشی کمتری در آنژیوژنز و بهبود عملکرد حرکتی پس از سکتة مغزی داشت (۲۶، ۲۵)؛ با این حال تناقضات در بهبود عملکرد عصبی ناشی از تمرینات با شدت بالا و شدت متوسط ممکن است به مدت‌زمان اجرای پروتکل‌های ورزشی، فشار متابولیکی و مکانیکی حاصل از نوع تمرینات و نوع مداخله سکتة مغزی نسبت داده شود که نشان داده شده است، اجرای تمرینات MICT با توجه به فشارهای فیزیولوژیک وارد شده بر بدن برای پیشگیری و بهبودی پس از سکتة مغزی و نقص حرکتی، میزان اثربخشی کمتری دارند (۲۷). همچنین این اختلافات ممکن است ناشی از معیارهای عملکردی و متابولیسمی متفاوتی باشد که برای اندازه‌گیری عملکرد عصبی بین این مطالعات استفاده شده است. در این راستا گزارش شده است که پیش‌آماده‌سازی با تمرینات استقامتی با مدت‌زمان ۳۰ و ۶۰ دقیقه قبل از سکتة مغزی ایسکمیک باعث افزایش مارکرهای رگ‌زایی و کاهش حجم سکتة می‌شود، اما عملکرد عصبی در برخی از موزن‌ها را بهبود نمی‌بخشد (۱۴).

نتایج تحقیقات گذشته در حیطه اعمال مداخله تمرینات ورزشی با شدت‌های مختلف در دوره قبل از سکتة مغزی، با اکثر نتایج مطالعه حاضر هم‌راستا است که در آن گروه‌های ورزشی HIIT و MICT افزایش رگ‌زایی در ناحیه اطراف انفارکتوس و بهبود عملکرد حرکتی را تجربه کردند، اما تغییرات مرتبط با مارکرهای STAT1, STAT3, VEGF-R2, و FGF-2 در گروه تمرینات با شدت بالا به‌صورت معناداری در مقایسه با گروه تمرینات با شدت متوسط بیشتر بود. همچنین این تغییرات در آزمون‌های رفتاری مشاهده شد. براساس مطالعه هوگوئس و همکاران، در مطالعه حاضر این احتمال وجود دارد که مزایای ناشی از تمرینات HIIT برای ایسکمیک مغزی به دلیل افزایش بیان فاکتورهای ضدالتهاپی، نوروژنزی، افزایش فشارخون در اثر این نوع تمرینات حین فعالیت و افزایش مارکرهای مرتبط با فشار برشی جریان خون مانند نیتریک اکساید (NO)، همراه با افزایش آنژیوژنز در ناحیه پنومبرا باشد (۲۵). به‌طور جالب، کرامر و همکاران گزارش کردند که تعداد جلسات و تمرینات با شدت پایین قبل از سکتة مغزی برای القای بهبودهای عصبی در سکتة مغزی ایسکمیک اثربخشی کمتری در مقایسه با تمرینات با شدت بالا دارد (۲۸)؛ این گزارش، این ایده را تقویت می‌کند که یک پروتکل تمرینی پیش‌آماده‌سازی با شدت بیشتر و مدت‌زمان طولانی‌تر، مانند پروتکل هشت‌هفته‌ای استفاده‌شده در مطالعه رضایی و همکاران (۱۲) برای مشاهده اثربخشی و پیشرفت عوامل فیزیولوژیک در جهت افزایش آنژیوژنز و عملکرد عصبی ضروری است.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرینات با شدت بالا برای مدت چهار هفته قبل از سکتة مغزی MCAO، از طریق افزایش مارکرهای مؤثر در آنژیوژنز از قبیل STAT3, HIF-1 $\alpha$ , VEGF-R2, و FGF-2 و کاهش پروتئین STAT1، اثرات محافظت‌کننده عصبی بیشتری در مقایسه با تمرینات MICT دارد. در حالی که یافته‌های حاضر با گزارش‌های قبلی در زمینه پیش‌آماده‌سازی همراه با تمرینات ورزشی قبل از مداخله سکتة مغزی تا حدود زیادی مطابقت دارد (۵، ۱۲، ۲۳)، بهینه‌سازی، تعمیم مدت‌زمان و شدت فعالیت‌های ورزشی از مدل‌های حیوانی با انسان، مستلزم انجام‌دادن تحقیقات بیشتری است. نکته درخور توجه این است که به نظر می‌رسد، تمرینات ورزشی استقامتی، به‌طور کلی یک نوع مداخله غیرتهاجمی و پیشگیری‌کننده برای کاهش آسیب‌های ناشی از سکتة مغزی است؛ به‌عنوان مثال، گزارش شده است که بیش از سه جلسه ورزش در هفته قبل از سکتة مغزی، بر کاهش عوامل آپوپتوز عصبی همراه با سکتة در موش‌های صحرایی مؤثر است (۲۹) علاوه بر آن، از آنجاکه تحقیقات فعلی اهمیت فشارهای مکانیکی و متابولیکی انواع تمرینات ورزشی قبل از سکتة مغزی را نشان می‌دهند، به نظر

می‌رسد تمرینات ورزشی با شدت‌های بالاتر علاوه بر پیشگیری از سکته مغزی، برای بیماران مبتلا به سکته مغزی در جهت حفظ مزایای محافظت عصبی و بازتوانی در دوره پس از سکته مغزی، می‌توانند مؤثرتر از سایر عوامل ورزشی باشد.

### پیام مقاله

نتایج تحقیق حاضر نشان داد، تمرینات پیش‌آماده‌سازی HIIT و MICT قبل از سکته مغزی باعث بهبود شرایط عروقی در جهت محافظت نورونی در ناحیه اطراف قسمت انفارکت می‌شود. در این بین، نقش تمرینات تناوبی با شدت بالا به دلیل ایجاد فشارهای متابولیکی و مکانیکی بیشتر این نوع تمرینات در مقایسه با تمرینات با شدت متوسط، در آنژیوژنز و تغییرات مارکرهای مرتبط با آن، بیشتر مشاهده شد. در مجموع، به نظر می‌رسد با توجه به محدودیت‌های پژوهش حاضر از قبیل استفاده از گونه حیوانی و انجام جراحی مغزی و کنترل‌نشدن تفاوت‌های فردی، تمرینات با شدت بالا می‌توانند به‌عنوان راهکار درمانی پیشگیرانه برای کاهش نقایص حرکتی و هیستوپاتولوژیک همراه با سکته مغزی ایسکمیک، در مطالعات آینده بیشتر در نظر گرفته شوند. علاوه بر آن، با توجه به اهمیت این نوع مداخلات در بیماران سکته مغزی، نتایج مطالعه حاضر می‌تواند برای مطالعات توسعه‌ای-کاربردی در آینده نیز برای پیشگیری و درمان بیماران سکته مغزی در مراکز درمانی به کار رود.

### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشگاه شهید بهشتی است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر و قدردانی خود را از کارکنان و مسئولان محترم مرکز علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و همچنین دانشکده علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه شهید بهشتی که ما را در انجام ارتقای کیفی این پژوهش یاری نمودند، اعلام کنند.

### منابع

1. Feigin VL, Brainin M, Norrving B, Martins S, Sacco RL, Hacke W, Fisher M, Pandian J, Lindsay P. World Stroke Organization (WSO): global stroke fact sheet 2022. *International Journal of Stroke*. 2022;17(1):18-29.
2. Tang W, Lv X, Huang J, Wang B, Lin L, Shen Y, Yao Y. Neuroprotective effect of stroke pretreated mesenchymal stem cells against cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. *World Neurosurgery*. 2022;165:e1-1.
3. Chen B, Zhang Y, Chen S, Xuran L, Dong J, Chen W, et al. The role of vascular endothelial growth factor in ischemic stroke. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021;76(4):127-31.
4. Wlodarczyk L, Szelenberger R, Cichon N, Saluk-Bijak J, Bijak M, Miller E. Biomarkers of angiogenesis and neuroplasticity as promising clinical tools for stroke recovery evaluation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(8):3949.
5. Ghorri A, Prinz V, Nieminen-Kehlä M, Bayerl SH, Kremenetskaia I, Riecke J, et al. Vascular endothelial growth factor augments the tolerance towards cerebral stroke by enhancing neurovascular repair mechanism. *Translational Stroke Research*. 2022;13(5):774-91.
6. Talwar T, Srivastava MV. Role of vascular endothelial growth factor and other growth factors in post-stroke recovery. *Annals of Indian Academy of Neurology*. 2014;17(1):1.
7. Beck H, Plate KH. Angiogenesis after cerebral ischemia. *Acta Neuropathologica*. 2009; 117:481-96.



8. Church G, Ali A, Smith CL, Broom D, Sage K. Examining clinical practice guidelines for exercise and physical activity as part of rehabilitation for people with stroke: a systematic review. *International journal of environmental research and public health*. 2022;19(3):1707.
9. Kringle EA, Barone Gibbs B, Campbell G, McCue M, Terhorst L, Kersey J, Skidmore ER. Influence of interventions on daily physical activity and sedentary behavior after stroke: a systematic review. *PM&R*. 2020;12(2):186-201.
10. Hafez S, Eid Z, Alabasi S, Darwiche Y, Channaoui S, Hess DC. Mechanisms of preconditioning exercise-induced neurovascular protection in stroke. *Journal of Stroke*. 2021;23(3):312-26.
11. 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;29(6):89-104.
12. Rezaei R, Nasoohi S, Haghparast A, Khodaghohi F, Bigdeli MR, Nourshahi M. High intensity exercise preconditioning provides differential protection against brain injury following experimental stroke. *Life Sciences*. 2018; 207:30-5.
13. Ding Y, Li J, Luan X, Ding YH, Lai Q, Rafols JA, et al. Exercise pre-conditioning reduces brain damage in ischemic rats that may be associated with regional angiogenesis and cellular overexpression of neurotrophin. *Neuroscience*. 2004;124(3):583-91.
14. Hafez S, Khan MB, Awad ME, Wagner JD, Hess DC. Short-term acute exercise preconditioning reduces neurovascular injury after stroke through induced eNOS activation. *Translational Stroke Research*. 2020; 11:851-60.
15. Zhu Y, Sun Y, Hu J, Pan Z. Insight into the mechanism of exercise preconditioning in ischemic stroke. *Frontiers in Pharmacology*. 2022; 13:866360.
16. Lee S, Lee M, Hong Y, Won J, Lee Y, Kang SG, et al. Middle cerebral artery occlusion methods in rat versus mouse models of transient focal cerebral ischemic stroke. *Neural Regeneration Research*. 2014;9(7):757.
17. Nasoohi S, Ghahremani PT, Alehossein P, Elyasizadeh S, BaniArdalan S, Ismael S, et al. The p75 neurotrophin receptor inhibitor, LM11A-31, ameliorates acute stroke injury and modulates astrocytic proNGF. *Experimental Neurology*. 2023; 359:114161.
18. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhas-De-Castro RA, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for wistar rats based on maximal oxygen consumption. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 2007;21(3):751-6.
19. Wang N, Liu Y, Ma Y, Wen D. High-intensity interval versus moderate-intensity continuous training: Superior metabolic benefits in diet-induced obesity mice. *Life Sciences*. 2017; 191:122-31.
20. Luong TN, Carlisle HJ, Southwell A, Patterson PH. Assessment of motor balance and coordination in mice using the balance beam. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*. 2011;(49): e2376.
21. Alamri FF, Al Shoyaib A, Biggers A, Jayaraman S, Guindon J, Karamyan VT. Applicability of the grip strength and automated von Frey tactile sensitivity tests in the mouse photothrombotic model of stroke. *Behavioural Brain Research*. 2018; 336:250-5.
22. Park SY, Marasini S, Kim GH, Ku T, Choi C, Park MY, Kim EH, et al. A method for generate a mouse model of stroke: evaluation of parameters for blood flow, behavior, and survival. *Experimental Neurobiology*. 2014;23(1):104.
23. Banaei P, Nazem F, Nazari A, Arjomand A. Preconditioning effect of high-intensity interval training (HIIT) and berberine supplementation on the gene expression of angiogenesis regulators and caspase-3 protein in the rats with myocardial ischemia-reperfusion (IR) injury. *BioMed Research International*. 2020; 2020:4104965.
24. 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; 14:186.

25. 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;22(6):3003.
26. Rodrigues L, Moncion K, Eng JJ, Noguchi KS, Wiley E, de Las Heras B, et al. Intensity matters: protocol for a randomized controlled trial exercise intervention for individuals with chronic stroke. *Trials*. 2022;23(1):1-5.
27. Anjos JM, Neto MG, Dos Santos FS, Almeida KD, Bocchi EA, Lima Bitar YD, et al. The impact of high-intensity interval training on functioning and health-related quality of life in post-stroke patients: a systematic review with meta-analysis. *Clinical Rehabilitation*. 2022;36(6):726-39.
28. Kramer SF, Hung SH, Brodtmann A. The impact of physical activity before and after stroke-on-stroke risk and recovery: a narrative review. *Current Neurology and Neuroscience Reports*. 2019; 19:1-9.
29. Terashi T, Otsuka S, Takada S, Nakanishi K, Ueda K, Sumizono M, et al. Neuroprotective effects of different frequency preconditioning exercise on neuronal apoptosis after focal brain ischemia in rats. *Neurological Research*. 2019;41(6):510-8.

