

## تأثیر تمرین استقامتی کوتاه مدت روی مسیر سیگنالینگ PGC-1 $\alpha$ /FNDC5/BDNF در رت‌های پارکینسونی 6-OHDA

زینب رضایی<sup>۱</sup>، سید محمد مرندی<sup>۲</sup>، حجت اله علایی<sup>۳</sup>، فهیمه اسفرجانی<sup>۴</sup>

### چکیده:

**زمینه و هدف:** بیماری پارکینسون یک اختلال تخریب نورونی است که به وسیله نقص رفتاری، شناختی و بیوشیمیایی مشخص می‌شود. این مطالعه اثر تمرین استقامتی قبل از تزریق 6-OHDA را بر بیان PGC-1 $\alpha$ ، FNDC5 و BDNF بررسی می‌کند.

**مواد و روش‌ها:** در مطالعه حاضر، رت‌های پارکینسونی از طریق تزریق 6-OHDA به میزان 8 $\mu$ g در دسته میانی مغز قدامی با استفاده از دستگاه استریوتاکس ایجاد شدند. گروه‌های آزمایشی شامل ۱. سالین، ۲. 6-OHDA، ۳. سالین + تمرین و ۴. 6-OHDA + تمرین بودند (هر گروه = ۸ رت). گروه‌های تمرین ۲ هفته پس از جراحی، ۱۴ روز متوالی دویدن روی نوارگردان را آغاز کردند. ۴ هفته پس از تحریک با 6-OHDA/سالین بیان mRNA برای PGC-1 $\alpha$ ، FNDC5 و BDNF در استریاتوم رت‌ها بررسی شد.

**یافته‌ها:** نتایج حاصل از آنوای یک طرفه نشان داد که تزریق 6-OHDA (گروه پارکینسون)، سبب افزایش چرخش‌های نامتقارن ناشی از آپومورفین و کاهش معنادر بیان mRNAهای مسیر سیگنالینگ PGC-1 $\alpha$ /FNDC5/BDNF می‌شود. با اینحال، تمرین استقامتی در گروه پارکینسون+تمرین، این اختلالات را به طور معناداری کاهش می‌دهد ( $p \leq 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد که تمرین استقامتی می‌تواند اختلالات رفتاری و فیزیولوژیکی را در رت‌های پارکینسونی کاهش دهد.

**واژگان کلیدی:** آپومورفین، بیماری پارکینسون، تمرین و PGC-1 $\alpha$ .

۱ دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان

۲ استاد گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان. نویسنده مسئول smmarandi2001@yahoo.com

۳ استاد گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۴ دانشیار گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان

## مقدمه

بیماری پارکینسون رایج‌ترین اختلال حرکتی و دومین بیماری شایع با منشا تخریب نورونی می‌باشد. اختلالات حرکتی، شناختی و میتوکندریایی در این بیماری، مساله مهمی می‌باشد که کیفیت زندگی را به ویژه در دوره سالمندی کاهش می‌دهد و سرانجام منجر به مرگ می‌شود (۱).

$PGC-1\alpha$  عاملی است که به وسیله تمرین تحریک می‌شود و نقش مهمی در بیوژنز میتوکندریایی دارد. این عامل بیان آنزیم‌های پاک‌کننده گونه‌های اکسیژن فعال<sup>۲</sup> (ROS) را افزایش و استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد، با اینحال بیان بیش از حد  $PGC-1\alpha$  اثر معکوس دارد و سبب فعالیت زیاد میتوکندریایی و افزایش تولید ROS می‌شود. به هرحال، مطالعات در این زمینه نتایج متناقضی دارند (۳). از آنجا که نقص در بیان  $PGC-1\alpha$  در مدل‌های حیوانی، سبب افزایش شدت ابتلا به پارکینسون می‌شود، بنابراین، افزایش بیان این فاکتور می‌تواند اثرات مقاومتی در برابر بیماری ایجاد کند (۱۳). پاتکی و همکاران (۲۰۱۱)، گزارش کردند که به دنبال ایجاد پارکینسون در مدل‌های حیوانی، بیان  $PGC-1\alpha$  و BDNF به صورت جبرانی افزایش می‌یابد (۱). در حالی که، مطالعات دیگر کاهش بیان فاکتورهای مؤثر در عملکرد میتوکندریایی را، در اثر ایجاد پارکینسون گزارش کرده‌اند (۲، ۳). اخیراً، یک مایوکاین وابسته به  $PGC-1\alpha$  به نام FNDC5 کشف شده است، که طی تمرین علاوه بر عضله در سیستم عصبی مرکزی نیز ترشح می‌شود و با تحریک بعضی از فواید اصلی متابولیک تمرین، نقش توسعه‌ای در نورون‌ها دارد (۱۴). FNDC5 یک پروتئین غشایی گلیکوزیله شده نوع ۱ می‌باشد. ترشح FNDC5 شامل ۱۱۲ آمینو اسید است که ایریزین<sup>۵</sup> نامیده می‌شود. ایریزین، ترجیحاً روی بافت چربی زیرپوستی اثر می‌گذارد و از طریق افزایش بیان UCP-1 و سایر ژن‌های مؤثر در ترموژنز، سبب قهوه‌ای شدن چربی سفید و در نتیجه کاهش چاقی و هموستاز گلوکز می‌شود (۴). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که مشابه با عضله، همستگی قوی بین بیان ژن  $PGC-1\alpha$  و FNDC5 در مغز وجود دارد، که منجر به تنظیم بیان BDNF می‌شود (۵). با توجه به نقش مهم نوروتوفین‌ها، به ویژه BDNF، روی محافظت نورونی، تحقیقات اخیر در این زمینه روی بررسی تأثیرات درمانی آن‌ها، در جلوگیری و یا کاهش آسیب و آتروفی نورونی متمرکز شده‌اند (۲۶). BDNF<sup>۶</sup>، یکی از فاکتورهای بسیار مهم در خانواده نوروتروفین‌هاست، که به وسیله تمرین در نواحی مختلف مغز تحریک می‌شود (۱۷). در حافظه و یادگیری درگیر است و می‌تواند بقا، تمایز، انعطاف نورونی و سیناپتوژنز را افزایش دهد. همچنین، بیان BDNF یکی از مکانیسم‌های مهم محافظتی دیگر در برابر عوامل ایجاد تخریب نورونی است (۵، ۱۴). استرس اکسیداتیو از عواملی است که به ویژه با افزایش سن سبب بروز اختلالات نورونی مانند پارکینسون می‌شود. در مقابل، فعالیت بدنی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی آن، به عنوان روش پیشگیری و درمانی، مطرح می‌شود (۲، ۱۸). برای اولین بار ران<sup>۷</sup> و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که بعد از ۳۰ روز تمرین اختیاری روی چرخ گردان، بیان FNDC5 در مغز افزایش می‌یابد و به طور جالب  $PGC-1\alpha$  و FNDC5 بیان BDNF را تنظیم می‌کنند (۱۴). به تازگی مسیر سیگنالینگ  $PGC-1\alpha$ /FNDC5/BDNF به عنوان یک محور سیگنالینگ مهم که تأثیرات محافظتی روی نورون‌ها دارد در بعضی قسمت‌های مغز شناخته شده است، که تحت تأثیر تمرین، عملکرد و بیان آن بهبود می‌یابد (۵، ۶). ناشی از برنامه

1 Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  
Gamma Coactivator 1-Alpha  
2 Reactive Oxygen Species  
3 Fibronectin Type III Domain-Containing Protein 5

4 Fibronectin domain-containing protein 5  
5 Irisin  
6 Brain Derived Neurotrophic Factor  
7 Wrann

های تمرینی مختلف، تاون<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۵)، بیان فاکتورهای میتوکندریایی را در استریاتوم و هیپوکمپ گزارش کردند، در مقابل، به گزارش استینز<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۱۱)، بیان آن‌ها فقط در مخچه و ساقه مغز وجود دارد (۷، ۸). پیشنهاد شده است که این مسیر سیگنالی‌نگ در سایر نواحی مغز و در بیماری‌های مختلف به ویژه با منشا تخریب نورونی تحت بررسی قرار گیرد (۱۳). با توجه به نقش این فاکتورها در محافظت نورونی و عملکرد میتوکندریایی، هر روشی که منجر به افزایش بیان آن‌ها شود به ویژه در بیماری‌های نورودژنراتیو مانند پارکینسون، می‌تواند اثرات درمانی داشته باشد و مورد توجه قرار گیرد (۲). بر اساس مطالعات، فعالیت بدنی منظم می‌تواند دسترسی به دوپامین در استریاتوم و ریکآوری عملکردی را پس از تخریب استریاتال افزایش دهد و نقص‌های رفتاری و نوروشیمیایی ناشی از 6-OHDA، که یکی از رایج‌ترین نوروتوکسین‌هاست و برای ایجاد پارکینسون در مدل‌های حیوانی کاربرد دارد، را کاهش می‌دهد (۶). مطالعات اپیدمیولوژی روی نمونه‌های انسانی و حیوانی نشان می‌دهد انجام تمرین منظم در سال‌های جوانی می‌تواند نقش محافظت نورونی داشته باشد و با کاهش بروز بیماری‌های نورودژنراتیو در سالمندی (۹، ۱۰)، نتایج خوبی روی اختلالات حرکتی و محافظت نورونی ایجاد کند (۱۱، ۱۲). مطالعات حیوانی در این زمینه بیشتر روی دوییدن اختیاری بر چرخ گردان تمرکز کرده‌اند (۲۱-۱۹) در حالی که تمرین اجباری روی نوارگردان بیشتر با فعالیت بدنی انسان مرتبط است (۲۲). بنابراین، با توجه به نتایج متناقض و به ویژه کمبود مطالعات روی بافت مغز، در مطالعه حاضر اثر ۱۴ روز متوالی دوییدن روی نوارگردان، در مدل حیوانی مبتلا به پارکینسون بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

### حیوانات

۳۲ سر رت نر نژاد ویستار ( $g \pm 20, 400 \pm 7$  ماهه)، برای انجام این تحقیق انتخاب شدند. حیوانات تحت چرخه روشنایی- تاریکی (۱۲ ساعت نور ۱۲ ساعت تاریکی) با رطوبت هوا  $50 \pm 2$  درصد و درجه حرارت  $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد، در لانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان نگهداری شدند. رت‌هایی که توانستند قسمت جلوی نوارگردان را با سرعت  $10 \text{ m/min}$  برای  $5 \text{ min}$  حفظ کنند انتخاب شدند تا مشخص شود قبل از آغاز جراحی رت‌ها از لحاظ توان حرکتی یکسان بودند (۹). رت‌ها، پس از آشنایی با نوارگردان به مدت ۱ هفته ( $5 \text{ m/min}$  و  $10 \text{ min}$ ) (۱۰)، بصورت تصادفی به ۲ گروه ۱۶ تایی شامل (۱) پارکینسون و (۲) کنترل تقسیم شدند.

### روش جراحی

رت‌ها قبل از انجام جراحی از طریق دستگاه استریوتاکس و تزریق 6-OHDA به درون دسته میانی مغز قدامی<sup>۳</sup> (MFB) (۶، ۲۳، ۲۴)، با استفاده از تزریق داخل صفاقی کلرال هیدرات ( $400 \text{ mg/kg}$ )، بیهوش شدند (۲۵). به گروه‌های پارکینسونی،  $8 \mu\text{g}$  از ماده 6-OHDA در  $2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  محلول نمکی ۰/۹٪ که حاوی اسید اسکوربیک ۰/۲٪ بود، تزریق شد. این تزریق به وسیله سرنگ هامیلتون و دستگاه استریوتاکسی در ناحیه MFB سمت راست، به مختصات AP:  $-1/8 \text{ mm}$  (قدامی-خلفی براساس فاصله از برگما)، ML:  $4/7 \text{ mm}$  (میانی-جانبی براساس فاصله از خط وسط) و DV:  $-8/2 \text{ mm}$  (پشتی شکمی براساس فاصله از سطح جمجمه) و با سرعت  $0/5 \mu\text{L}/\text{min}$  انجام شد و بعد از انجام تزریق، برای جلوگیری از برگشت دارو، سرنگ به مدت ۵ min بی حرکت باقی ماند. گروه‌های سالیان نیز با روشی مشابه فقط حلال دریافت نمودند ( $2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  سالیان ۰/۹٪ محتوی اسید اسکوربیک ۰/۲٪).

## آزمون چرخش القا شده بر اثر تزریق آپومورفین

۵ روز بعد از جراحی، که زمان لازم برای ایجاد تخریب سلولی است (۲۶)، به منظور آشنایی با فضای آزمون هر رت به طور جداگانه، در یک محوطه شیشه ای به قطر ۲۸cm و ارتفاع ۲۵cm برای ۱۰ دقیقه قرار گرفت (شکل ۳-۳). سپس، آپومورفین (۵mg/kg) به ازای هر کیلوگرم وزن) به صورت درون صفاقی تزریق گردید. تزریق این ماده سبب چرخش های مکرر حیوان در خلاف جهت تزریق (در این تحقیق خلاف جهت عقربه های ساعت) می گردد. به چرخش های انجام شده در خلاف جهت تزریق، عدد مثبت و در جهت تزریق عدد منفی تعلق گرفت و جمع جبری این اعداد در ۶۰ دقیقه به عنوان پاسخ حیوان به آپومورفین ثبت شد (۵، ۲۵).

### برنامه تمرینی

۲ هفته پس از جراحی، حیوانات به صورت تصادفی به ۴ گروه شامل ۱. سالی ۲. سالی + تمرین ۳. 6-OHDA و ۴. 6-OHDA + تمرین تقسیم شدند. گروه های تمرینی ۱۴ روز متوالی به مدت ۳۰ دقیقه (۵ m/min) برای ۵ دقیقه اول، ۸ m/min برای ۵ دقیقه بعد و ۱۲ m/min برای ۲۰ دقیقه آخر) روی نوارگردان دویند (۶، ۲۷). گروه های غیر تمرین هم برای مدت مشابه روی نوارگردان ثابت قرار گرفتند.

### بافت برداری

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، (۴ هفته پس از جراحی)، رت ها با استفاده از تزریق درون صفاقی کلرال هیدرات (۴۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) بیهوش شدند. پس از جدایی سر حیوانات با استفاده از دستگاه گیوتین، استریاتوم آنها جدا شد، بلافاصله از طریق نیتروژن مایع منجمد و در دمای ۸۰- فریزر نگهداری گردید.

### استخراج RNA و بررسی بیان ژن توسط Real-time PCR

بافت استریاتوم از طریق هموژنیزه کردن (۱۱۰۰۰rpm، ۴۰ دقیقه) برای استخراج RNA آماده شد و طبق دستورالعمل کیت RNA-Plus (شرکت سینازن)، جداسازی RNA انجام شد. به منظور پاکسازی محلول RNA استخراج شده، از هر گونه آلودگی به DNA و آنزیم های مخرب RNA از کیت DNaseI (شرکت فرمنتاز آلمان) استفاده گردید. از هر نمونه، به میزان ۲ میکروگرم mRNA برای سنتز اولین رشته cDNA با استفاده از کیت cDNA سنتتاز شرکت فرمنتاز به کار گرفته شد. طراحی پرایمرهای مورد نیاز با استفاده از نرم افزار oligo7 انجام گرفت. جدول ۱، پرایمرهای لازم برای ژن های مدنظر و همچنین ژن خانه دار را نشان می دهد. برای انجام Real-time PCR از ۲ میکرولیتر cDNA، ۳ میکرولیتر dH<sub>2</sub>O و ۰/۵ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها (Forwd) و (Revers) استفاده گردید. این واکنش با استفاده از ۵ میکرولیتر SYBR Green PCR Master Mix ( TaKaRa, Japan) و دستگاه BioRad مدل Chromo ۴ آلمان انجام شد. واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه سپس ۴۵ سیکل شامل: ۱) واسرشت در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ ثانیه، ۲) اتصال پرایمرها در دمای مناسب (۶۰°C) و به مدت ۳۰ ثانیه و ۳) بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. بهترین غلظت cDNA برای انجام Real-time PCR از طریق بررسی غلظت های مختلف و نهایتاً غلظت مناسب برای cDNA (۲ میکرولیتر) انجام شد. پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه، سیکل آستانه (Ct) برای هر نمونه مشخص گردید و با استفاده از روش  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  سطح بیان mRNA ژن های مورد ارزیابی نسبت به بیان ژن خانه دار محاسبه شد.

## جدول ۱. آغازگرهای اختصاصی برای بررسی بیان ژن

ژن بانک	طول قطعه	توالی پرایمر
NM_031347.1	169 bp	PGC-1 $\alpha$ -Fw 5'-ACAACCGCAGTCGCAACA-3'
		PGC-1 $\alpha$ -Rv 5'-AGGAGTCGTGGGAGGAGTTAG-3'
NM_001270981.1	204 bp	FNDC5-Fw 5'-ACGAAGGAGGCTGAACTACGA-3'
		FNDC5-Rv 5'-CAGTCTTGCTGCTCTCTC-3'
NM_001270638.1	83 bp	BDNF-Fw 5'-ACTCGCAATGCCGAACTACC-3'
		BDNF-Rv 5'-CCTTATGAACCGCCAGCCAAT-3'
NM_017008.4	78 bp	GAPDH-Fw 5'-CTAGAGACAGCCGCATCTTCTTG-3'
		GAPDH-Rv 5'-AATCCGTTACACCGACCTTC-3'

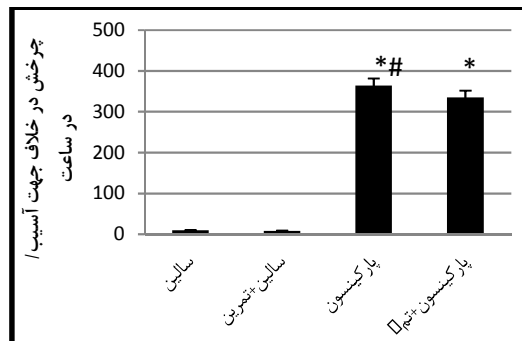
## تحلیل داده ها

داده ها با استفاده از SPSS نرم افزار نسخه ۲۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار بیان گردید. برای بررسی بیان mRNA از تحلیل واریانس آنوا استفاده شد و از طریق آزمون تعقیبی توکی معنی داری اختلاف ها در سطح ۰/۰۵ بررسی گردید.

## یافته ها

## تست چرخشی آپومورفین

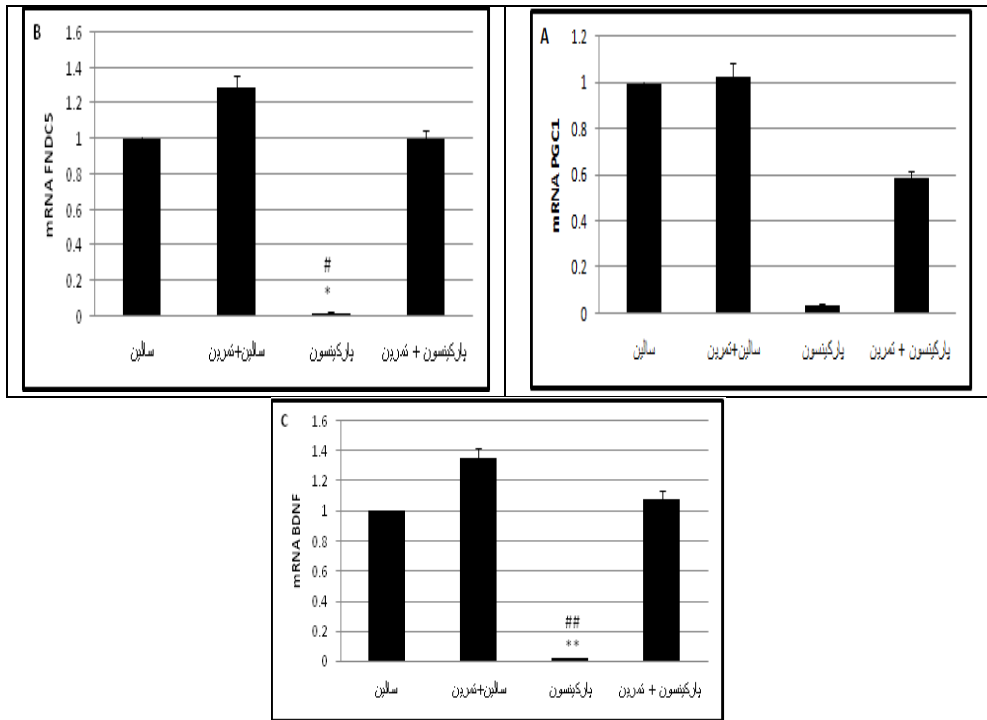
۵ روز بعد از جراحی، بررسی تغییرات ناشی از آپومورفین در رفتار چرخشی رت ها نشان داد که تعداد چرخش ها در خلاف جهت تزریق (خلاف چرخش عقربه های ساعت)، در گروه 6-OHDA ( $6 \pm 1/8$  turns/h) به طور معناداری نسبت به گروه سالین ( $9/0 \pm 6/6$  turns/h) بیشتر است. تمرین در گروه پارکینسون سبب می شود، تعداد چرخش ها به طور معناداری (۷/۸ درصد) نسبت به گروه پارکینسون بدون تمرین کاهش یابد ( $p \leq 0/001$ ) (نمودار ۱).



نمودار ۱. چرخش های ناشی از آپومورفین، در گروه های مختلف، بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد.  $p \leq 0/001$  \* در مقایسه با گروه سالین و  $p \leq 0/001$  # در مقایسه با گروه پارکینسون + تمرین).

بیان mRNA برای PGC-1 $\alpha$ ، FNDC5 و BDNF

براساس یافته‌ها، بیان mRNA برای فاکتورهای PGC-1 $\alpha$ ، FNDC5 و BDNF در استریاتوم رت‌ها نشان می‌دهد، تزریق 6-OHDA در گروه پارکینسون، سبب کاهش بیان فاکتورهای مورد نظر نسبت به گروه سالیین می‌شود که در مورد ژن‌های FNDC5 و BDNF این کاهش معنادار است ( $p \leq 0/05$ ) (نمودار C و B). همچنین، براساس یافته‌ها، ۱۴ روز متوالی دوییدن روی نوارگردان در گروه پارکینسون+تمرین، بیان هر سه ژن نسبت به گروه پارکینسون را افزایش می‌دهد، که در مورد FNDC5 و BDNF این افزایش معنادار می‌باشد ( $p \leq 0/01$ ) (نمودار C و B، ۲A).



نمودار ۲. نتایج بیان mRNA برای PGC-1 $\alpha$  (A)، FNDC5 (B) و BDNF (C) از طریق real time PCR در استریاتوم، بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد. ( $p \leq 0/05$ ), \* =  $p \leq 0/01$ \*\*, # =  $p \leq 0/05$  در مقایسه با گروه سالیین و =  $p \leq 0/01$ ##, # =  $p \leq 0/05$  در مقایسه با گروه پارکینسون+تمرین).

بحث

در مطالعه حاضر، برای ایجاد مدل پارکینسون از تزریق یک طرفه 6-OHDA به درون MFB رت‌های نر نژاد ویستار استفاده شد. نتایج آزمون رفتاری آپومورفین ۵ روز پس از جراحی نشان داد ایجاد پارکینسون سبب افزایش معنادار تعداد چرخش‌های نامتقارن ناشی از آپومورفین و کاهش بیان فاکتورهای فیزیولوژیکی مؤثر در بیماری

می‌شود. از طرف دیگر، تمرین درمانی پس از ابتلا به بیماری از شدت اختلالات ایجاد شده می‌کاهد. بر اساس مطالعات قبلی، افزایش تعداد چرخش‌های ناشی از آپومورفین، پس از ایجاد بیماری پارکینسون می‌تواند ناشی از کاهش نورو نهای دوپامین استریاتوم و تخریب در عملکرد حرکتی باشد، که ابتلا به پارکینسون و اختلال نورودژنراتیو را در رت‌ها نشان می‌دهد (۲۷). چرخش‌های نامتقارن تحریک شده به وسیله آپومورفین در رت‌ها، به عنوان یک نشانه برای تخلیه بیش از ۹۰٪ از نورو نهای دوپامین استریاتوم استفاده می‌شود (۲۴). از طرفی، کاهش تعداد چرخش‌ها در رت‌های گروه پارکینسون+تمرین نشاندهنده اثر محافظتی فعالیت روی نورو نهای دوپامینرژیک و تولید دوپامین در استریاتوم رت‌ها می‌باشد. (۸). یون<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۷)، و تاجیری<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۱۰)، نیز در مطالعات خود نتایج مشابهی را گزارش کردند (۶، ۲۸). هر چند مکانیسم زیربنایی دقیقاً مشخص نیست، اما، به نظر می‌رسد فعالیت بدنی بتواند سبب افزایش دسترسی سیناپسی و حضور جبرانی سیستم دوپامینرژیک شود و در نتیجه، سرعت محو شدن دوپامین کندتر گردد (۲۹). با اینحال، لندرز<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۳)، گزارش کردند یک ماه تمرین استقامتی روی نوارگردان سبب افزایش استرس اکسیداتیو در رت‌های پارکینسونی و در نتیجه افزایش تعداد چرخش‌های ناشی از آپومورفین نسبت به گروه بدون تمرین می‌شود (۱۰). این نتایج متناقض می‌تواند ناشی از شدت‌های مختلف تمرین تحت بررسی و اختلاف در سن رت‌ها باشد، که نیازمند تحقیقات بیشتری است.

همچنین، پس از ۱۴ روز متوالی دویدن بر روی نوارگردان (هفته چهارم پس از جراحی)، نتایج نمونه برداری از استریاتوم نشان داد که پارکینسون سبب کاهش بیان mRNA در مسیر سیگنالینگ PGC-1 $\alpha$ /FNDC5/BDNF می‌شود و تمرین در رت‌های مبتلا سبب افزایش بیان این فاکتورها شد، به گونه‌ای که بین گروه پارکینسون+تمرین و گروه سالمین اختلاف معناداری مشاهده نشد (شکل A، B و C). تحقیقات دیگری نیز نتایج مطالعه حاضر را تأیید می‌کند (۳۰، ۳۱). همچنین، اگرچه تمرین سبب افزایش بیان فاکتورها در گروه سالمین+تمرین نسبت به گروه‌های سالمین و پارکینسون+تمرین می‌شود اما این اختلاف معنادار نیست (شکل A، B و C). موری<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۱۴)، نیز گزارش کردند فعالیت بدنی منجر به افزایش معنادار در بیان برخی عوامل شناختی و میتوکندریایی در حیواناتی می‌شود که تحت تخریب ماده نوروتوکسین قرار گرفته باشند و در رت‌هایی که تخریب ناشی از ماده سمی ایجاد نمی‌گردد، مانند گروه سالمین، انجام فعالیت سبب تغییر چشمگیری در بیان این فاکتورها نمی‌شود. به گزارش آنها، افزایش غیر طبیعی این متغیرها در رت‌های سالم، حتی می‌تواند سبب بروز آسیب شود (۳۲). همچنین، براساس مطالعات انجام شده در این زمینه، اثر بخشی تمرین در مسیرهای مولکولی نمونه‌های سالم، مستلزم دوره‌های تمرینی طولانی‌تر می‌باشد (۳۳، ۳۴).

مطالعات نشان می‌دهد کاهش تخریب حافظه و عملکرد میتوکندریایی ناشی از تمرین در حیوانات پارکینسونی می‌تواند به دلیل نقش آنتی اکسیدانی و ضد التهابی تمرین باشد (۳۱). در واقع، به دنبال فعالیت منظم با افزایش بیان فاکتورهای متابولیکی مانند PGC-1 $\alpha$  و کاهش فاکتورهای التهابی مانند TNF- $\alpha$ ، سطح تخریب نورو نهای دوپامین کاهش و عملکرد میتوکندریایی بهبود می‌یابد (۳۵). PGC-1 $\alpha$ ، با تأثیر بر بیان فاکتورهای ضد استرس اکسیداتیو، از سلول‌های نورونی محافظت می‌کند و با کاهش مرگ سلولی می‌تواند در حفظ نورو نهای دوپامین و عملکرد حافظه مؤثر باشد (۳). با اینحال، پاتکی<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۱۱)، گزارش کردند ۱۸ هفته پس از ایجاد پارکینسون در رت‌ها، برای جبران نقص میتوکندریایی و بهبود اختلالات، سطح بیان PGC-1 $\alpha$  افزایش می‌یابد،

اما به دلیل افزایش بیان فاکتورهای موثر در ایجاد آپوپتوز مانند p53 در این گروه، آسیب میتوکندریایی و نقص در یادگیری و عملکرد شناختی همچنان وجود دارد (۳۶). به نظر می‌رسد تمرین با کاهش عوامل آپوپتوتیک سبب بهبود اختلالات ناشی از تزریق 6-OHDA در بیماران پارکینسونی شود، که این مساله نیازمند بررسی بیشتری می‌باشد. همچنین، پس از بروز علائم پارکینسون، زمان‌های بافت برداری متفاوت می‌تواند از دلایل اختلاف در نتایج تحقیقات مشابه باشد.

PGC-1 $\alpha$  از طریق ERR $\alpha$  تنظیم کننده مؤثر متابولیسم مرکزی و یک واکنش دهنده خیلی مهم با-PGC-1 $\alpha$  بیان FNDC5 را تحریک و از این طریق بیان BDNF را تنظیم می‌کند (۱۴). نکته مهم دیگر اینکه مسیر سیگنالینگ تحت بررسی، با افزایش BDNF فیدبک مثبتی روی فعالیت‌های پروتئین باندشونده به جزء پاسخ دهنده به cAMP $\beta$  CREB) دارد و سرانجام سبب افزایش بیان PGC-1 $\alpha$  در نوروها می‌شود (۱۳). همچنین، برای BDNF ویژگی محافظت نورونی و آنتی آپوپتوتیک در اختلالات با منشأ تخریب نورونی گزارش شده است، که این عمل را با افزایش بیان پروتئین ضد آپوپتوز Bcl2 و کاهش بیان پروتئین آپوپتوتیک Bax- که هر دو در میتوکندری‌ها عمل می‌کنند- انجام می‌دهد (۱۳). اگرچه اطلاعات کمی درباره تأثیر این محور در مغز وجود دارد، با اینحال بهبود آنژیوژنز، عملکرد میتوکندریایی و متابولیسم اکسیداتیو ناشی از افزایش در بیان فاکتورهای مذکور گزارش شده است (۱۴، ۱۸). مغز بسیار مستعد برای اکسیداسیون و مصرف اکسیژن می‌باشد. بنابراین، اختلال در عملکرد میتوکندریایی و متابولیسم اکسیداتیو می‌تواند آسیب جدی در مغز ایجاد کند. همچنین، سطوح پایین آنتی اکسیدان‌ها، عدم تعادل در تولید و برداشت رادیکال‌های آزاد و بی‌ثباتی در موقعیت ردوکس سلول، سبب ایجاد استرس اکسیداتیو شده و بیان BDNF را کاهش می‌دهد (۵). به نظر می‌رسد تمرین از طریق ظرفیت آنتی اکسیدانی، پتانسیل محافظت نورونی و کاهش تولید ROS سبب افزایش در بیان محور سیگنالینگ PGC-1 $\alpha$ /FNDC5/BDNF در استریاتوم رت‌ها شود (۱۴). افزایش بیان BDNF پس از تمرین، در بیماران پارکینسونی، می‌تواند اختلالات شناختی، حافظه و یادگیری که از مشکلات اصلی این بیماران است و سبب کاهش کیفیت زندگی آنها می‌شود را تقلیل دهد و با افزایش شکل‌پذیری نورونی ناشی از افزایش نوروتروفین‌ها، مرگ سلولی و اختلالات حرکتی در این بیماران کاهش یابد (۲۹). مطالعات انجام شده تا کنون، اهمیت فاکتورهای تحت بررسی را در محافظت نورونی گزارش کرده‌اند (۳۷). افزایش نوروتروفین‌ها و عوامل مؤثر بر عملکرد میتوکندریایی می‌تواند سبب کاهش بیماری‌های با منشأ تخریب نورونی به ویژه در دوره سالمندی شود. بنابراین، هر روشی موجب افزایش بیان این عوامل گردد، می‌تواند به عنوان روش درمانی مورد توجه قرار بگیرد. در این مطالعه، به دنبال تمرین استقامتی، تغییرات نوروشیمیایی مثبت در برخی فاکتورهای مؤثر در بیماری پارکینسون مشاهده شد. با اینحال، با توجه به اختصاصی بودن تغییرات ناشی از نوع تمرین و کمبود تحقیقات در نواحی مختلف مغز، اطلاعات در این زمینه محدود بوده و مطالعات گسترده‌تر به ویژه در ارتباط با بیماری پارکینسون مورد نیاز است.



1. Subramaniam SR, Chesselet M-F. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease. *Progress in neurobiology*. 2013;106:17-32.
2. Sriraksa N, Wattanathorn J, Muchimapura S, Tiamkao S, Brown K, Chaisiwamongkol K. Cognitive-enhancing effect of quercetin in a rat model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011;2012.
3. Corona J, Duchen M. PPAR $\gamma$  and PGC-1 $\alpha$  as Therapeutic Targets in Parkinson's. *Neurochem Res*. 2016:1-9.
4. Petzinger G, Holschneider D, Fisher B, McEwen S, Kintz N, Halliday M, et al. The effects of exercise on dopamine neurotransmission in Parkinson's disease: targeting neuroplasticity to modulate basal ganglia circuitry. *Brain plasticity*. 2015;1(1):29-39.
5. Tuon T, Valvassori SS, Dal Pont GC, Paganini CS, Pozzi BG, Luciano TF, et al. Physical training prevents depressive symptoms and a decrease in brain-derived neurotrophic factor in Parkinson's disease. *Brain Research Bulletin*. 2014;108:106-12.
6. Yoon M-C, Shin M-S, Kim T-S, Kim B-K, Ko I-G, Sung Y-H, et al. Treadmill exercise suppresses nigrostriatal dopaminergic neuronal loss in 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's rats. *Neuroscience Letters*. 2007;423(1):12-7.
7. Muñoz A, Corrêa CL, Villar-Cheda B, Costa-Besada MA, Labandeira-Garcia JL. Aging-related increase in Rho kinase activity in the nigral region is counteracted by physical exercise. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*. 2015;71(10):1254-7.
8. Tuon T, Valvassori SS, Lopes-Borges J, Luciano T, Trom CB, Silva LA, et al. Physical training exerts neuroprotective effects in the regulation of neurochemical factors in an animal model of Parkinson's disease. *Neuroscience*. 2012;227:305-12.
9. Chen MJ, Russo-Neustadt AA. Exercise activates the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *Molecular Brain Research*. 2005;135(1):181-93.
10. Landers MR, Kinney JW, Allen DN, van Breukelen F. A comparison of voluntary and forced exercise in protecting against behavioral asymmetry in a juvenile hemiparkinsonian rat model. *Behavioural Brain Research*. 2013;248(0):121-8.
11. Cohen AD. *Role of Exercise and GDNF in an Animal Model of Parkinson's Disease: Implications for Neuroprotection*: University of Pittsburgh; 2006.
12. Faherty CJ, Raviie Shepherd K, Herasimtschuk A, Smeyne RJ. Environmental enrichment in adulthood eliminates neuronal death in experimental Parkinsonism. *Molecular Brain Research*. 2005;134(1):170-9.
13. Farshbaf MJ, Ghaedi K, Megraw TL, Curtiss J, Faradonbeh MS, Vaziri P, et al. Does PGC1 $\alpha$ /FNDC5/BDNF elicit the beneficial effects of exercise on neurodegenerative disorders? *Neuromolecular medicine*. 2016;18(1):1-15.

14. Wrann Christiane D, White James P, Salogiannis J, Laznik-Bogoslavski D, Wu J, Ma D, et al. Exercise Induces Hippocampal BDNF through a PGC-1 $\alpha$ /FNDC5 Pathway. *Cell Metabolism*. 2013;0.(
15. Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1-[agr]-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463-8.
16. Huh JY, Mantzoros CS. Irisin physiology, oxidative stress, and thyroid dysfunction: What next? *Metabolism*. 2015;64(7):765-7.
17. Sleiman SF, Henry J, Al-Haddad R, El Hayek L, Haidar EA, Stringer T, et al. Exercise promotes the expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF) through the action of the ketone body  $\beta$ -hydroxybutyrate. *Elife*. 2016;5:e15092.
18. Psilander N. The effect of different exercise regimens on mitochondrial biogenesis and performance. 2014.
19. Berchtold N, Chinn G, Chou M, Kessler J, Cotman C. Exercise primes a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat hippocampus. *Neuroscience*. 2005;133(3):853-61.
20. Ke Z, Yip SP, Li L, Zheng X-X, Tong K-Y. The effects of voluntary, involuntary, and forced exercises on brain-derived neurotrophic factor and motor function recovery: a rat brain ischemia model. *PLoS One*. 2011;6(2):e16643.
21. Rafie F, Shahbazi M, Naghdi N, Sheibani V, Shikh M. The Effects of Voluntary Exercise on Learning and Memory Deficit in Parkinson's Disease Model of Rats. 2016.
22. Ang E-T, Dawe GS, Wong PTH, Mochhala S, Ng Y-K. Alterations in spatial learning and memory after forced exercise. *Brain Research*. 2006;1113(1):186-93.
23. Carvalho MM, Campos FL, Coimbra B, Pêgo JM, Rodrigues C, Lima R, et al. Behavioral characterization of the 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease and pharmacological rescuing of non-motor deficits. *Molecular neurodegeneration*. 2013;8(1):14.
24. Mabandla M, Kellaway L, Gibson ASC, Russell VA. Voluntary running provides neuroprotection in rats after 6-hydroxydopamine injection into the medial forebrain bundle. *Metabolic brain disease*. 2004;19(1-2):43-50.
25. Aguiar Jr AS, Duzzioni M, Remor AP, Tristão FSM, Matheus FC, Raisman-Vozari R, et al. Moderate-Intensity Physical Exercise Protects Against Experimental 6-Hydroxydopamine-Induced Hemiparkinsonism Through Nrf2-Antioxidant Response Element Pathway. *Neurochem Res*. 2016;41:1-9.
26. Choe M, Koo B-S, An GJ, Jeon S. Effects of treadmill exercise on the recovery of dopaminergic neuron loss and muscle atrophy in the 6-ohda lesioned parkinson's disease rat model. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*. 2012;16(5):305-12.
27. Cho H-S, Shin M-S, Song W, Jun T-W, Lim B-V, Kim Y-P, et al. Treadmill exercise alleviates short-term memory impairment in 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's rats. *Journal of exercise rehabilitation*. 2013;9(3):354.

28. Tajiri N, Yasuhara T, Shingo T, Kondo A, Yuan W, Kadota T, et al. Exercise exerts neuroprotective effects on Parkinson's disease model of rats. *Brain Research*. 2010;1310(Supplement C):200-7.
29. Petzinger GM, Walsh JP, Akopian G, Hogg E, Abernathy A, Arevalo P, et al. Effects of treadmill exercise on dopaminergic transmission in the 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-lesioned mouse model of basal ganglia injury. *The Journal of neuroscience*. 2007;27(20):5291-300.
30. Fisher BE, Petzinger GM, Nixon K, Hogg E, Bremmer S, Meshul CK, et al. Exercise induced behavioral recovery and neuroplasticity in the 1- methyl- 4- phenyl- 1, 2, 3, 6 tetrahydropyridine lesioned mouse basal ganglia. *Journal of neuroscience research*. 2004;77(3):378-90.
31. Goes A, Souza L, Del Fabbro L, De Gomes M, Boeira S, Jesse C. Neuroprotective effects of swimming training in a mouse model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine. *Neuroscience*. 2014;256:61-71.
32. Murray DK, Sacheli MA, Eng JJ, Stoessl AJ. The effects of exercise on cognition in Parkinson's disease: a systematic review. *Translational neurodegeneration*. 2014;3(1):5.
33. Cassilhas R, Lee K, Venâncio D, Oliveira M, Tufik S, Mello M. Resistance exercise improves hippocampus-dependent memory. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2012;45(12):1215-20.
34. RojasVega S, Stricker HK, Vera Wahrmann B, Schmidt A, Bloch W, Hollmann W. Acute BDNF and cortisol response to low intensity exercise and following ramp incremental exercise to exhaustion in humans. *Brain Research*. 2006;1121(1):59-65.
35. Oliveira NR, Marques SO, Luciano TF, Pauli JR, Moura LP, Caperuto E, et al. Treadmill Training Increases SIRT-1 and PGC-1 $\alpha$  Protein Levels and AMPK Phosphorylation in Quadriceps of Middle-Aged Rats in an Intensity-Dependent Manner. *Mediators of inflammation*. 2014;2014.
36. Patki G, Lau Y-S. Impact of exercise on mitochondrial transcription factor expression and damage in the striatum of a chronic mouse model of Parkinson's disease. *Neuroscience letters*. 2011;505(3):268-72.
37. Xia D-Y, Huang X, Bi C-F, Mao L-L, Peng L-J, Qian H-R. PGC-1 $\alpha$  or FNDC5 Is Involved in Modulating the Effects of A $\beta$ 1-42 Oligomers on Suppressing the Expression of BDNF, a Beneficial Factor for Inhibiting Neuronal Apoptosis, A $\beta$  Deposition and Cognitive Decline of APP/PS1 Tg Mice. *Frontiers in aging neuroscience*. 2017;9.

**The Effect of Short Endurance Training on PGC-1 $\alpha$ /FNDC5/BDNF Signalling Pathway In 6-OHDA-Induced Parkinson's Rats**

Zeinab Rezaee<sup>1</sup>, Sayed Mohammad Marandi<sup>1</sup>, Hojjatallah Alaei<sup>2</sup>, Fahimeh Esfarjani<sup>1</sup>

**Abstract**

**Background&Purpose:** Parkinson's disease is a neurodegenerative disorder that is characterized by impairment on behavioral, cognitive and biochemical. This study investigated the effect of endurance training after the 6-OHDA induction, on PGC-1 $\alpha$ , FNDC5 and BDNF expression.

**Methodology:** In this study, Parkinson's rats were made by 8 $\mu$ g injection of 6-OHDA into the Medial Forebrain Bundle using stereotaxic. Experimental groups were: 1. Saline, 2. 6-OHDA, 3. Saline+training and 4. 6-OHDA+training (n=8). Training groups 2 weeks after surgery started 14 consecutive days treadmill running, 4 weeks after the induction with 6-OHDA/Saline, mRNA expression levels for PGC-1 $\alpha$ , FNDC5 and BDNF were measured through one way ANOVA in the striatum of rats.

**Results:** It was found that exposure to the 6-OHDA (6-OHDA group), resulted in increasing in the apomorphine-induced rotational asymmetry and significant decrease in mRNAs expression of PGC-1 $\alpha$ /FNDC5/BDNF signalling pathway. However, endurance exercise in 6-OHDA+training group reduces these disorders, significantly ( $p \leq 0/05$ ).

**Conclusion:** It seems that the endurance training can reduce behavioral and physiological disorders in Parkinson's disease.

**Keywords:** Apomorphine, Parkinson 's disease, Training, PGC-1 $\alpha$

<sup>1</sup> Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

<sup>2</sup> Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.