مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۷٤/هفته سوم فروردین ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۲۸

اثر پیش درمان عصاره‌ی گل ازگیل ژاپنی بر سطوح BDNF (Brain-Derived neurotrophic factor)، SOD (Superoxide dismutase) و MDA (Malondialdehyde) در هیپوکامپ موش‌های در معرض ۶ هیدروکسی دوپامین به دنبال ۱۲ هفته تمرین اختیاری

دکتر ضیاء فلاح محمدی[۱]، راضیه محمدی[۲]، جلیل اصلانی[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: هدف از اجرای پژوهش، بررسی تأثیر عصاره‌ی هیدروالکلی گل ازگیل ژاپنی بر سطوح BDNF (Brain-derived neurotrophic factor)، SOD (Superoxide dismutase) و MDA (Malondialdehyde) در هیپوکامپ موش‌های پارکینسونی به دنبال ۱۲ هفته تمرین اختیاری در چرخ دوار بود.

روش‌ها: موش‌های صحرایی به ۶ گروه شاهد سالم، شاهد پارکینسونی، تمرین، تمرین- سم، عصاره- سم و تمرین- عصاره- سم تقسیم شدند. گروه تمرین به مدت ۱۲ هفته تمرین انجام داد. گروه تمرین- سم، ۱۲ هفته تمرین انجام داد. سپس در معرض سم نرونی قرار گرفت. گروه تمرین- عصاره به مدت ۱۲ هفته تمرین کرد و هر هفته سه بار عصاره را به صورت صفاقی و به میزان ۲۰۰ mg/kg دریافت کرد. تخریب هیپوکامپ با تزریق استریوتاکسی محلول ۶-هیدروکسی دوپامین به داخل بطن مغز صورت گرفت. داده‌ها به روش One way analysis of variance (One way ANOVA) و آزمون تعقیبی LSD (Fisher's least significant difference) تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: تمرین، BDNF را افزایش داد؛ اما تمرین و عصاره به تنهایی نتوانستند از کاهش BDNF در اثر سم جلوگیری کنند و تفاوت بین گروه‌های شاهد سالم و گروه تمرین- عصاره معنی‌دار بود (P = ۰/۰۰۱). تمرین به طور معنی‌داری موجب افزایش SOD در مقایسه با گروه شاهد شد (P = ۰/۰۰۱)؛ اما نتوانست در مقابل آثار سم جلوگیری کند (P = ۰/۰۰۱). تفاوت سطوح SOD بین گروه عصاره- تمرین با گروه شاهد معنی‌دار نبود (P = /۱۲۵). تمرین اثر پیشگیرانه در برابر افزایش MDA نداشت (P = ۰/۰۰۱). تفاوت MDA بین گروه عصاره‌ی پارکینسون و شاهد سالم معنی‌دار نبود (P = ۰/۹۰۴). همچنین اختلاف سطح MDA بین دوگروه شاهد سالم و گروه تمرین و عصاره معنی‌دار نبود (P = ۰/۹۱۸).

نتیجه‌گیری: ورزش اختیاری همراه با مصرف عصاره‌ی ازگیل سبب افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی هیپوکمپ می‌شود، اما نمی‌تواند مانع از کاهش معنی‌دار BDNF شود. احتمال دارد با افزایش SOD و کاهش MDA، دیگر نیازی به بالا رفتن سطح BDNF برای مقابله با استرس اکسایشی تولید شده به دنبال ورزش نباشد.

واژگان کلیدی: عصاره‌ی گل گیاه ازگیل ژاپنی، تمرین اختیاری، ۶-هیدروکسی دوپامین

ارجاع: فلاح محمدی ضیاء، محمدی راضیه، اصلانی جلیل. **اثر پیش درمان عصاره‌ی گل ازگیل ژاپنی بر سطوح BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor)، SOD (Superoxide Dismutase) و MDA/Malondialdehyde) در هیپوکامپ موش‌های در معرض ۶ هیدروکسی دوپامین به دنبال ۱۲ هفته تمرین اختیاری.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۷۴): ۱۳۰-۱۲۰

۱- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تربیت بدنی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر ضیاء فلاح محمدی
Email: zia-falm@umz.ac.ir

www.SID.ir

مقدمه

در حال حاضر، ۷ درصد جامعه‌ی ایران را افراد سالمند تشکیل می‌دهند. ظرف ۲۰ سال آینده، این مقدار از دو برابر فراتر خواهد رفت و در ۳۰ یا ۴۰ سال آینده، ایران به یک جامعه با اکثریت سالمند تبدیل خواهد شد. با افزایش قشر سالمند، تعداد مبتلایان به بیماری پارکینسون افزایش خواهد یافت (۱). این بیماری با علایمی چون سفتی عضلات، کندی حرکات، لرزش در حالت سکون و بی‌ثباتی وضعیتی شناخته می‌شود. پارکینسون می‌تواند در سطح وسیعی بر زندگی بیماران تأثیر بگذارد (۲).

این بیماری از لحاظ اتیولوژی به انواع ایدیوپاتیک، پست آنسفالیت، پارکینسونیسم دارویی و پارکینسونیسم فامیلی تقسیم‌بندی می‌شود. در پارکینسونیسم ایدیوپاتیک، بررسی‌های پاتولوژیک فقدان پیگمانتاسیون و سلول در جسم سیاه و دیگر مراکز ساقه‌ی مغز را نشان می‌دهد. دوپامین و استیل کولین در اجسام مخطط وجود دارند و به عنوان نوروترانسمیتر عمل می‌کنند. در پارکینسونیسم ایدیوپاتیک عقیده بر این است که تعادل طبیعی بین این دو ترانسمیتر به هم می‌خورد؛ زیرا نقص دوپامینی در سیستم دوپامینرژیک نیگرواستریاتال وجود دارد (۳).

به احتمال زیاد استریاتوم، محل اولیه‌ی دژنراسیون در بیماری پارکینسون است که به دنبال آن سلول‌های دوپامینرژیک نیگرال دچار مرگ سلولی می‌شوند (۴). مطالعه روی انسان نشان می‌دهد که پارکینسون موجب آتروفی هیپوکمپ می‌شود (۵). کاهش حجم هیپوکمپ ممکن است با کاهش تولید BDNF (Brain-derived neurotrophic factor) در بیماری‌های استرس اکسایشی مرتبط باشد (۶).

BDNF از تخریب نرون‌های دوپامینرژیک جلوگیری می‌کند. عدم تعادل بین آنتی اکسیدان‌ها و رادیکال‌های آزاد و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد منجر به بروز بیماری‌های مربوط به سالمندی مانند آلزایمر و پارکینسون می‌شود. تئوری سالمندی به وسیله‌ی رادیکال آزاد بیان می کند که تجمع رادیکال‌های آزاد منجر به آسیب مولکول‌های زیستی حیاتی مانند DNA، غشای لیپیدی و پروتئین‌ها می‌شود (۷).

چنانچه رادیکال‌های آزاد بیش از حد تولید شوند یا آنتی اکسیدان‌های آندروژنیک کاهش یابند، آسیب نرونی ایجاد خواهد شد. بنابراین، تعادل مناسب بین رادیکال‌های آزاد و آنتی اکسیدان‌ها برای بقای نرون‌ها ضروری است (۸). علاوه بر آثار حفاظت عصبی BDNF که از نرون‌ها در برابر آسیب و بیماری‌ها دفاع می‌کند، نشانه‌هایی وجود دارد که BDNF فعالیت آنتی اکسیدانی نیز دارد. تنظیم افزایشی BDNF و TrkB (Tropomyosin receptor kinase B) یک اثر آنتی اکسیدانی در مغز نشان داده است (۹).

به عبارت دیگر، یکی از نقش‌هایی که برای BDNF قایل شده‌اند، نقش آنتی اکسیدانی آن و افزایش مقاومت در برابر استرس اکسایشی می‌باشد (۱۰). سیستم آنتی اکسیدانی شامل اجزای آنزیمی و غیر آنزیمی است. یکی از این اجزا، مولکول‌های آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسایددیسموتاز می‌باشد (۱۱).

درمان دارویی در بیماری پارکینسون بسیار رایج می‌باشد. اگر چه برخی از این داروها دارای عوارض جانبی هستند و در درازمدت از کارایی آن‌ها کاسته می‌شود، یافتن روش‌های درمانی ایمن‌تر، مفیدتر و با ثبات بالا، در این بیماری حایز اهمیت است.

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

همان‌طور که گفته شد، احتمال می‌رود پارکینسون به دلیل استرس اکسایشی رخ دهد. بنابراین استفاده از مواد آنتی اکسیدانی برای مبارزه با رادیکال‌های آزاد می‌تواند مفید باشد. پس از اثبات سرطان‌زا بودن آنتی اکسیدان‌های سنتزی، آنتی اکسیدان‌های گیاهی بیشتر مورد توجه قرار گرفتند؛ چون دارای عوارض کمتری هستند (۱۲).

یکی از گیاهان دارای خواص آنتی اکسیدانی ازگیل ژاپنی است که در طب سنتی چین مورد توجه قرار گرفته است. این گیاه حاوی عناصری همچون فلاونوئیدها، فنولیک‌ها، ترترپنیک اسید، آمیگدالین و کاروتنوئیدها است که خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی از خود نشان می‌دهند. تری‌ترپنوئیدهای غالب موجود در ازگیل شامل پنتاسایکلیک اولئانولیک اسید (OA یا Isomeric pentacyclicoleanolic acid) و اوراسولیک اسید (UA یا Ursolic acid) است که دارای خواصی مانند خواص ضد التهابی و ضد توموری می‌باشند. امروزه، آمیگدالین به عنوان داروی ضد سرطان مورد توجه قرار گرفته است (۱۳).

از سوی دیگر، تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که میان بیماری رعشه‌ای و عدم تحرک، رابطه وجود دارد (۱۴). در این راستا، ورزش اهمیت ویژه‌ای دارد و نشان داده شده است که از مشکلات ارتوپدیک مرتبط با علایم اولیه‌ی آن جلوگیری می‌کند (۱۵). مطالعات حیوانی نشان داده‌اند که انجام ورزش منظم روزانه موجب رها شدن نوروترنسمیترهای مختلف در مغز مانند نوراپی‌نفرین، دوپامین و به خصوص BDNF می‌شود و میزان رهایی BDNF با افزایش سرعت یادگیری و حفظ بهتر آن پس از یک دوره‌ی یک هفته‌ای مرتبط است (۱۶). تمرین به طور فزاینده، باعث افزایش بقا و مقاومت در برابر آسیب‌های مغزی و افزایش رشد عصبی هیپوکامپ می‌شود (۱۷).

از آن جایی که در پژوهش‌های قبل اثر حفاظتی تمرین اختیاری و عصاره‌ی آنتی اکسیدانی گل گیاه ازگیل ژاپنی همزمان روی بیماری پارکینسون بررسی نشده بود، هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر حفاظتی تمرین اختیاری و مصرف عصاره‌ی آنتی اکسیدانی گل این گیاه بر سطح BDNF، MDA (Malondialdehyde) و (Superoxide dismutase) SOD در هیپوکمپ موش‌های پارکینسونی شده در اثر تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین به داخل بطن مغز بود.

روش‌ها

نحوه‌ی جمع‌آوری و عصاره‌گیری و تزریق

گل تازه‌ی گیاه ازگیل ژاپنی از مناطق اطراف بابلسر جمع‌آوری شد و در سایه خشک گردید. برای تهیه‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی گل گیاه ازگیل ژاپنی، مقدار ۱۰۰ g از پودر گیاه به مخلوط آب و اتانول به نسبت (۸۰/۲۰) در حجم ۶۰۰ ml اضافه شد. مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در داخل دستگاه Shaker مدل KS۵۰۰ با قدرت چرخش ۳۲۵ دور در دقیقه قرار گرفت. در مرحله‌ی بعد، این محلول ابتدا از پارچه‌ی سفید منفذدار و سپس دو بار از کاغذ صافی واتمن شماره‌ی ۴ عبور داده شد. محلول صاف شده، وارد بالون تقطیر شد و به کمک دستگاه تبخیر کننده‌ی چرخان (Rotary evaporator) تحت خلأ حلال پراکنی قرار گرفت. این عمل در دمای ۴۰ °C به مدت ۶ ساعت انجام شد (۱۸).

حیوانات

در پژوهش حاضر ۴۳ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد

Archive of SID
www.SID.ir

ویستار (دوازده هفته‌ای) از مرکز انستیتو پاستور آمل تهیه شد. حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه، به مدت یک هفته (هفته‌ی اول) جهت تطابق با محیط جدید به صورت گروه‌های ۴ سر موش در قفسه‌های پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۴-۲۰ °C، رطوبت ۵۵-۴۵ درصد و در شرایط ۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. در طی دوره‌ی پژوهش نیز حیوانات به غذای ساخت شرکت به‌پرور (پلت) دسترسی آزاد داشتند. ضمن این که آب مورد نیاز حیوان نیز به صورت آزاد و از طریق بطری‌های ویژه در دسترس قرار داده شد.

برنامه‌ی تمرینی

حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه و آشنایی با محیط جدید و نحوه‌ی فعالیت روی چرخ گردان، به طور تصادفی به ۶ گروه شاهد سالم (۸ سر)، شاهد پارکینسونی (۸ سر)، تمرین سالم (۶)، تمرینی در معرض سم عصبی (۷)، عصاره در معرض سم عصبی (۸ سر) و گروهی که ابتدا آنتی اکسیدان و تمرین داشت و سپس پارکینسونی شد (۶ سر)، تقسیم شدند. گروه‌های تمرین به مدت ۱۲ هفته در قفس مخصوص مجهز به چرخ دوار قرار گرفتند. این دستگاه مجهز به کانتر می‌باشد که میزان مسافت طی شده توسط هر آزمودنی را ثبت می‌کند.

عصاره‌ی آنتی اکسیدانی گل گیاه ازگیل ژاپنی به میزان ۲۰۰ mg/kg (۱۹) به صورت صفاقی و در هر هفته ۳ بار به هر کدام از موش‌های گروه آنتی اکسیدان تزریق شد.

جراحی استریوتاکسی

برای انجام عمل جراحی استریوتاکسی از موش‌هایی با رده‌ی وزنی ۳۰۰-۲۲۰ g استفاده شد. تزریق محلول ۶-هیدروکسی دوپامین (۶-OHDA) به صورت استریوتاکسی به داخل بطن مغز صورت گرفت. با استفاده از اطلس واتسون و پاکسینوس، مکان مناسب برای انجام عمل استریوتاکسی با مختصات (قدامی-خلفی ۰/۵)، (جانبی ۱) و (شکمی ۱/۵) مشخص شد (۲۰). غلظت تزریق ۲۵۰ µL و حجم تزریق ۵ µL برای هر موش استفاده شد (۲۱).

با عمل جراحی کانال ۲۷ گیج دندانپزشکی داخل جمجمه‌ی موش‌ها قرار گرفت. سپس با استفاده از سرنگ Hamilton هر میکرولیتر محلول ۶-OHDA با سالین در مدت ۳۰ ثانیه تزریق شد. پس از پایان تزریق از فنر ۸ mm برای جلوگیری از خروج مایع از کانال استفاده شد و موش به مدت ۱ دقیقه ثابت نگه داشته شد. برای بررسی اثر تزریق ۶-ODHA و تأیید این موضوع که با تزریق آن موش‌ها پارکینسونی می‌شوند، از آزمایش چرخشی با فاصله‌ی۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت استفاده شد.

بافت‌برداری

ابتدا موش‌ها با ترکیب کتامین زایلازین به نسبت ۶۰ به ۴۰ بیهوش شدند. سپس با جدا کردن سر موش با کمک قیچی مخصوص و جدا کردن کل مغز و خارج کردن آن از کاسه‌ی جمجمه، هیپوکامپ از سایر قسمت‌های مختلف مغز جدا شد و سریع در ازت مایع قرار گرفت. پس از منجمد شدن بافت در یخچال مخصوص در دمای زیر ۸۰ °C نگهداری شد. بعد از هموژنیز و سانتریفیوژ کردن، میزان غلظت BDNF گروه‌ها به وسیله‌ی کیت آزمایشگاهی شرکت CUSABIO (ژاپن) و میزان SOD و MDA با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری شد.

Archive of SID
www.SID.ir

روش‌های آماری

در این پژوهش به منظور بررسی تفاوت‌های موجود بین گروه‌های تمرین و شاهد از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-way analysis of variance یا One-way ANOVA) استفاده شد. همچنین از آزمون تعقیبی (Fisher's least significant difference) LSD در سطح معنی‌داری P < ۰/۰۵۰ برای بررسی تفاوت بین گروهی استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری به وسیله‌ی نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ (version 19, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد.

یافته‌ها

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد ارایه شدند (جدول ۱). بر اساس آزمون Kolmogorov-Smirnov، داده‌ها از توزیع طبیعی برخوردار بودند. تمرین موجب افزایش BDNF شد؛ اما تمرین به تنهایی، عصاره به تنهایی، و تمرین به همراه عصاره نتوانست از کاهش مقدار BDNF در اثر سم عصبی جلوگیری کنند و تفاوت بین گروه‌های شاهد سالم و تمرین- عصاره معنی‌دار بود (P = ۰/۰۰۱). تزریق سم به طور معنی‌داری سطح SOD را کاهش داد (P = ۰/۰۳۴). اما ورزش به تنهایی نتوانست در مقابل آثار سم عصبی جلوگیری کند و مقدار این آنزیم به طور معنی‌داری کاهش یافت (P = ۰/۰۰۱).

همچنین تفاوت سطوح SOD بین گروه عصاره- تمرین با گروه شاهد معنی‌دار نبود (P = ۰/۱۲۵). به همین ترتیب، تفاوت بین گروه تمرین- عصاره و شاهد سالم نیز معنی‌دار نبود (P = ۰/۱۷۲). از سوی دیگر، تمرین به تنهایی نتوانست از افزایش MDA جلوگیری کند (P = ۰/۰۰۱)؛ اما مصرف عصاره مانع از افزایش MDA گردید (P = ۰/۹۰۴). همچنین انجام ورزش اختیاری همراه با مصرف عصاره توانست به طور معنی‌داری از افزایش MDA در اثر سم عصبی جلوگیری کند؛ به طوری که سطح MDA بین دو گروه شاهد سالم و گروه تمرین و عصاره معنی‌دار نبود (P = ۰/۹۱۸).

جدول ۱. سطح شاخص‌های BDNF، SOD و MDA در گروه‌های مورد بررسی

گروه‌ها	BDNF (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	SOD (واحد در هر میلی‌لیتر)	MDA (میکرومول)
شاهد سالم	# ۰/۲۷۸۶ ± ۰/۰۲۴۷	۰/۰۰۲۸ ± ۰/۰۰۰۱	۲/۶۵۶۳ ± ۲/۸۱۸۲
شاهد پارکینسونی	۰/۰۴۱۰ ± ۰/۰۰۴۵	+ ۰/۰۰۱۸ ± ۰/۰۰۰۱	* ۴/۱۴۳۹ ± ۱/۹۶۱۶
تمرین سالم	# ۰/۶۰۸۳ ± ۰/۰۷۰۶	۰/۰۰۵۹ ± ۰/۰۰۰۸	۳/۹۸۱۵ ± ۳/۸۸۵۲
تمرین- سم	۰/۰۵۷۰ ± ۰/۰۰۲۹	۰/۰۰۳۵ ± ۰/۰۰۰۰	۸/۱۷۳۱ ± ۱/۷۶۰۳
ازگیل- سم	۰/۰۷۰۸ ± ۰/۰۰۸۸	۰/۰۰۳۵ ± ۰/۰۰۰۳	۲/۷۷۷۰ ± ۱/۷۶۱۶
تمرین- ازگیل- سم	۰/۰۴۳۱ ± ۰/۰۰۶۸	۰/۰۰۳۵ ± ۰/۰۰۰۷	۲/۵۴۵۳ ± ۲/۷۹۲۲

BDNF: Brain-derived neurotrophic factor; SOD: Superoxide dismutase; MDA: Malondialdehyde

+ تفاوت معنی‌دار سطح SOD در گروه شاهد پارکینسونی با سایر گروه‌ها

تفاوت معنی‌دار گروه‌های شاهد سالم و تمرین سالم با سایر گروه‌ها

* تفاوت معنی‌دار گروه شاهد پارکینسونی با گروه‌های شاهد سالم و تمرین- سم، ازگیل- سم و ترکیب تمرین- ازگیل- سم

Archive of SID
www.SID.ir

بحث

هدف از این پژوهش بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرین اختیاری همراه با تزریق زیر صفاقی عصاره‌ی هیدروالکلی ازگیل ژاپنی بر سطح BDNF، SOD و MDA هیپوکامپ موش‌های صحرایی در معرض سم عصبی ۶-OHDA بود. انجام ورزش اختیاری همراه با عصاره توانست از کاهش SOD و افزایش MDA به دنبال تزریق سم عصبی جلوگیری کند؛ اما اثر پیشگیرانه در برابر کاهش سطح BDNF در هیپوکامپ موش‌های پارکینسونی ندارد.

محققان دریافتند که هر دو نوع تمرینات تناوبی و تمرینات منظم روزانه، پروتئین BDNF هیپوکامپ را افزایش می‌دهند که نه تنها به مدت چندین روز بعد از پایان تمرین بالا باقی می‌ماند؛ بلکه می‌تواند با دوره‌های انفرادی تمرین زیر آستانه به مدت ۱۴ روز تا سطوح حداکثر تقویت شود. این اطلاعات حاکی از آن است که یک برنامه‌ی تمرینی می‌تواند به حفاظت نورونی مربوط به BDNF و تغییرپذیری عصبی کمک کند و بنابراین، احتمال می‌رود نقش مهمی را در ایجاد تغییرات انحطاطی همبسته با MS (Multiple sclerosis) و دیگر بیماری‌های انحطاطی CNS ایفا نماید (۲۲).

بیماری پارکینسون بیماری استرس اکسایشی است. آسیب ناشی از رادیکال آزاد در ناحیه‌ی جسم سیاه در صورت افزایش تولید یا کمبود عوامل آنتی اکسیدان رخ می‌دهد (۲۳). در مورد تأثیر مواد آنتی اکسیدانی بر روی بیماری پارکینسون، چندین مطالعه انجام گرفته است. برای مثال اشراقی جزی و همکاران تحقیقی با هدف بررسی اثر آب انگور -که دارای خواص آنتی اکسیدانی است-، بر روی موش‌های پارکینسونی انجام دادند و مشاهده کردند که آب انگور می‌تواند میزان چرخش در موش‌ها را کاهش دهد (۲۴).

در تحقیقی که توسط Rausch و همکاران انجام شد، مصرف خوراکی عصاره‌ی گیاه جینسنگ موجب توقف تخریب سلولی در جسم سیاه شد و اختلالات حرکتی را در موش‌های پارکینسونی شده کاهش داد (۲۵). Khuwaja و همکاران اثر مصرف کورکومین (ماده‌ی آنتی اکسیدانی) را بر روی پارکینسون سنجیدند، مصرف کورکومین موجب بهبود علایم موش‌های پارکینسونی شده توسط ۶-هیدروکسی دوپامین شد (۲۶).

در مورد تأثیر ورزش بر روی BDNF چندین ساز و کار مطرح شده است. اجرای ورزش در آزمودنی‌های انسانی موجب زنده ماندن نرون‌های دوپامینرژیک درجسم سیاه می‌شود و از این طریق، سنتز دوپامین افزایش می‌یابد. یکی از مکانیسم‌هایی که می‌تواند این بهبودی را توضیح دهد، افزایش نوروژنز است که در اثر انجام ورزش هوازی متوسط صورت می‌گیرد. BDNF پس از پیوند با TrkB تعدادی از مسیرهای علامت دهی درون سلولی که رشد و بقای سلولی را سبب می‌شوند، از جمله Ras (Reversed antisense) و پروتئین کیناز فعال شده توسط میتوژن (MAP/کیناز یا Mitogen activated protein kinase) را فعال می‌کند (۲۷).

اثر آنتی اکسیدانی BDNF در برابر استرس اکسایشی از طریق TrkB وساطت می‌شود. تنظیم افزایشی علامت دهی BDNF-TrkB اثر آنتی اکسیدانی خود را از طریق مهار فسفوریلاسیون

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

P۴۷phox اعمال می‌کند (۹). از سوی دیگر، فعالیت نرون‌ها زیاد است و نیازمند دسترسی همیشگی به انرژی می‌باشد تا اعمال تنظیمی مانند تنظیم فعالیت انتقال دهنده‌های عصبی، گیرنده‌ها، کانال‌های یونی، انتقال دهنده‌ها و سیناپس‌ها را انجام دهند. بنابراین، میتوکندری نقش حیاتی برای حفظ هموستاز و یکپارچگی نقش های عصبی دارد. اکسایش نرونی و نقص عملکردی میتوکندری با سالمندی و فرایند تخریب نرونی همراه است که ناشی از کاهش فعالیت کمپلکس ۱ میتوکندری در سیستم عصبی می‌باشد.

یکی از اثرات عمیق تمرینات استقامتی، تحریک حیات میتوکندریایی به وسیله‌ی افزایش تعداد میتوکندری است که بعد از چند هفته تمرین ایجاد می شود. این افزایش تعداد میتوکندری، باعث تسهیل فراهمی انرژی، تولید کمتر گونه های فعال اکسیژن و فرایندهای سودمند دیگری می‌شود که همگی نقش محافظت نرونی ایفا می‌کنند. بعد از ۴ هفته تمرین اختیاری روی نوار گردان در موش‌های نر و ماده، افزایش تراکم و عملکرد میتوکندری‌ها مشاهده شد (۲۸).

این یافته‌ها نشان می‌دهند که احتمال می‌رود ورزش با تولید میتوکندری در پیشگیری از بیماری‌هایی که با نقص میتوکندری همراه است، مانند پیری و بیماری‌های تخریب نرونی مؤثر باشد. در سال‌های اخیر، به این نتیجه رسیدند که در هیپوکامپ، ورزش به طور قابل ملاحظه‌ای سطوح پروتئین ۲ زوج نشده‌ی میتوکندریایی (Uncoupling protein ۲) را افزایش می‌دهد که یک عامل تعادل انرژی است.

این عمل با حفظ هموستاز کلسیم، تولید ATP و مدیریت رادیکال آزاد انجام می‌گیرد. به نظر می‌رسد پروتئین ۲ زوج نشده‌ی میتوکندریایی، تولید BDNF به وسیله‌ی هیپوکامپ را میانجی‌گری می‌کند. همچنین عمل ورزش بر روی BDNF می‌تواند به وسیله‌ی سیستم‌های سیگنال داخل سلولی مانند کلسیم- کالمودولین کیناز ۲ (Calcium calmodulin kinase ۲) و پروتئین کیناز فعال شده‌ی میتوژنی (Mitogen activated protein kinase) انجام گیرد که با تأثیر نهایی بر روی تولید و عملکرد cAMP انجام می‌گیرد (۲۹).

همچنین گزارش شد که رهایش نوراپی‌نفرین و فعالیت سیستم نورآدرنرژیک طی ورزش زیاد می‌شود. افزایش نوراپی‌نفرین طی ورزش، احتمال دارد از طریق فعال کردن گیرنده‌های بتا- آدرنرژیک منجر به افزایش بیان mRNABDNF و به دنبال آن موجب افزایش یادگیری، حافظه و شناخت می‌شود (۲۲).

بر خلاف بعضی از یافته‌های ارایه شده که افزایش BDNF را به دنبال تمرین در آزمودنی‌های پارکینسونی گزارش کرده‌اند در تحقیق حاضر مقدار آن در هیپوکامپ موش‌های پارکینسونی به دنبال تمرین ورزشی اختیاری همراه با مصرف عصاره‌ی آنتی اکسیدانی ازگیل ژاپنی افزایش نیافت.

چندین دلیل احتمالی در متون پژوهشی برای توجیه این نتیجه‌گیری مطرح شده است. یک دلیل ممکن است این باشد که هیپوکامپ به دلیل توانایی شکل پذیری عصبی بالا، آسیب پذیرترین ناحیه‌ی مغز نسبت به استرس اکسایشی می‌باشد و به طور قابل توجهی تحت تأثیر استرس اکسایشی ناشی از سم نرونی قرار گرفته است (۳۰). استفاده از تمرین ورزشی و عصاره نتوانست از اثرات سم عصبی ۶-هیدروکسی دوپامین جلوگیری کند. همان‌طور که

www.SID.ir
www.mui.ac.ir
Archive of SID

بیان شد، احتمال دارد هیپوکامپ بیشتر از سایر قسمت‌های مغز تحت تأثیر خاصیت سمی 6-OHDA قرار گیرد و بیشتر دچار تخریب شود. در نتیجه مقدار تولید BDNF در آن کاهش می‌یابد.

همچنین سن آزمودنی، نوع تمرین حرکتی (مهارتی یا هوازی) و مقدار ماده‌ی سمی تزریق شده ممکن است بر روی خاصیت حفاظتی تمرین ورزشی تأثیرگذار باشد (۳۱). احتمال می‌رود مقدار دوز سم عصبی برای هیپوکامپ زیاد بوده باشد. همچنین به نظر می‌رسد حد آستانه‌ای از ورزش لازم است تا یک اثر حفاظتی در برابر بیماری پارکینسون ایجاد شود. ورزش با شدت بالا و مدت طولانی برای بهبود علایم پارکینسون مورد نیاز است (۳۰).

در یک تحقیق که در آن تمرین اجباری با تمرین اختیاری مقایسه شد، تمرین اختیاری باعث بهبود پارکینسون نشد (۳۲). به نظر می‌رسد برنامه‌ی تمرین مطالعه‌ی حاضر که از نوع اختیاری بوده و شدت در آن دستکاری نشده است، از شدت لازم برای رسیدن به آستانه‌ی معین برخوردار نبوده باشد و در نتیجه، نتوانسته باشد اثر حفاظتی در برابر سم عصبی اعمال نماید.

در همین راستا، در تحقیق صالحی و همکاران، سطح BDNF هیپوکامپ با انجام ورزش منظم در آزمودنی‌های مبتلا به دیابت کاهش یافت و ورزش نتوانست از آثار سمی STZ (Streptozotocin) در هیپوکامپ جلوگیری کند. محققان به این نتیجه رسیدند که ورزش، استرس اکسایشی را افزایش و BDNF هیپوکامپ را کاهش داد (۳۳). با توجه به این که در تحقیق یاد شده برنامه‌ی ورزشی شنا مورد استفاده قرار گرفت که در آن شدت کنترل نمی‌شود و در نتیجه نوعی ورزش اختیاری به شمار می‌آید، بنابراین، به نظر می‌رسد دستکاری شدت ورزش از طریق تمرین‌های اجباری شاید عنصر ضروری برای القای آثار مفید ورزش به واسطه‌ی افزایش سطح BDNF در پیش درمان و یا درمان زخم‌های ناشی از تزریق سم عصبی در هیپوکامپ باشد.

از طرف دیگر، افزایش SOD را می‌توان به عنوان دلیل احتمالی عدم افزایش معنی‌دار BDNF مطرح کرد؛ زیرا با افزایش SOD و کاهش MDA شاید دیگر نیازی به بالا رفتن سطح BDNF برای مقابله با استرس اکسایشی تولید شده به دنبال ورزش نباشد. مشاهده شده است که گونه‌های اکسیژن فعال بیان BDNF را تحریک می‌کنند و آنتی اکسیدان‌ها از این افزایش پیشگیری می‌نمایند (۳۴).

بنابراین در مطالعه‌ی حاضر منطقی به نظر می‌رسد که عصاره و ترکیب تمرین- عصاره، ظرفیت آنتی اکسیدانی را افزایش دهد و با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی، دیگر نیازی به افزایش عامل نروتروفیک که شاید دارای خواص آنتی اکسیدانی و محافظت نرونی می‌باشد، نبوده است.

References

1. Kargarfard M, Chitsaz A, Azizi S. Effects of an 8-week aquatic exercise training on balance in patients with Parkinson's disease. J Isfahan Med Sch 2012; 30(178): 141-50. [In Persian].
2. Ghaem H, Borhani Haghighi A, Zeighami B, Dehghan A. Validity and reliability of the Persian version of the Parkinson's disease quality of life (PDQL) questionaire. J Kerman Univ Med Sci 2010; 17(1): 49-58. [In Persian].
3. Farhoudi M, Majidi J,Talebi M, Yazdchi Marandi M, Alizade M, et al. Serum homocysteine level in Parkinson disease and its

Archive of SID
www.SID.ir

relationship with stage of disease. Med J Tabriz Univ Med Sci 2007; 29(4): 47-51. [In Persian].
4. Ichitani Y, Okamura H, Nakahara D, Nagatsu I, Ibata Y. Biochemical and immunocytochemical changes induced by intrastriatal 6-hydroxydopamine injection in the rat nigrostriatal dopamine neuron system: evidence for cell death in the substantia nigra. Exp Neurol 1994; 130(2): 269-78.
5. Apostolova L, Alves G, Hwang KS, Babakchanian S, Bronnick KS, Larsen JP, et al. Hippocampal and ventricular changes in Parkinson's disease mild cognitive impairment. Neurobiol Aging 2012; 33(9): 2113-24.
6. Howells DW, Porritt MJ, Wong JY, Batchelor PE, Kalnins R, Hughes AJ, et al. Reduced BDNF mRNA expression in the Parkinson's disease substantia nigra. Exp Neurol 2000; 166(1): 127-35.
7. Kumar H, Lim HW, More SV, Kim BW, Koppula S, Kim IS, et al. The role of free radicals in the aging brain and Parkinson's disease: convergence and parallelism. Int J Mol Sci 2012; 13(8): 10478-504.
8. Grillo CA, Piroli GG, Rosell DR, Hoskin EK, Mcewen BS, Reagan LP. Region specific increases in oxidative stress and superoxide dismutase in the hippocampus of diabetic rats subjected to stress. Neuroscience 2003; 121(1): 133-40.
9. Tsai CY, Chan JY, Hsu KS, Chang AY, Chan SH. Brain-derived neurotrophic factor ameliorates brain stem cardiovascular dysregulation during experimental temporal lobe status epilepticus. PLoS One 2012; 7(3): e33527.
10. Klumpp S, Kriha D, Bechmann G, Maassen A, Maier S, Pallast S, et al. Phosphorylation of the growth factors bFGF, NGF and BDNF: a prerequisite for their biological activity. Neurochem Int 2006; 48(2): 131-7.
11. Kostic N, Caparevic Z, Marina D, Ilic S, Radojkovic J, Cosic Z, et al. Clinical evaluation of oxidative stress in patients with diabetes mellitus type II -- impact of acute exercise. Vojnosanit Pregl 2009; 66(6): 459-64.
12. Ito H, Kobayashi E, Takamatsu Y, Li SH, Hatano T, Sakagami H, et al. Polyphenols from Eriobotrya japonica and their cytotoxicity against human oral tumor cell lines. Chem Pharm Bull (Tokyo) 2000; 48(5): 687-93.
13. Zhou C, Chen K, Sun C, Chen Q, Zhang W, Li X. Determination of oleanolic acid, ursolic acid and amygdalin in the flower of Eriobotrya japonica Lindl. by HPLC. Biomed Chromatogr 2007; 21(7): 755-61.
14. Stern MB. Parkinson's disease: early diagnosis and management. J Fam Pract 1993; 36(4): 439-46.
15. Wu SY, Wang TF, Yu L, Jen CJ, Chuang JI, Wu FS, et al. Running exercise protects the substantia nigra dopaminergic neurons against inflammation-induced degeneration via the activation of BDNF signaling pathway. Brain Behav Immun 2011; 25(1): 135-46.
16. Winter B, Breitenstein C, Mooren FC, Voelker K, Fobker M, Lechtermann A, et al. High impact running improves learning. Neurobiol Learn Mem 2007; 87(4): 597-609.
17. Johnson RA, Rhodes JS, Jeffrey SL, Garland T, Jr., Mitchell GS. Hippocampal brain-derived neurotrophic factor but not neurotrophin-3 increases more in mice selected for increased voluntary wheel running. Neuroscience 2003; 121(1): 1-7.
18. Nishioka Y, Yoshioka S, Kusunose M, Cui T, Hamada A, Ono M, et al. Effects of extract derived from Eriobotrya japonica on liver function improvement in rats. Biol Pharm Bull 2002; 25(8): 1053-7.
19. Esmaeili A, Khavari-Nejad R, Hajizadeh Moghaddam A, Chaichi M, Ebrahimzadeh M. Effects of Eriobotrya japonica (Lindl.) flower extracts on mercuric chloride-induced hepatotoxicity in rats. Chin Sci Bull 2012; 57(30): 3891-7.
20. Rodriguez DM, Abdala P, Barroso-Chinea P, Obeso J, Gonzalez-Hernandez T. Motor behavioural changes after intracerebroventricular injection of 6-hydroxydopamine in the rat: an animal model of Parkinson's disease. Behav Brain Res 2001; 122(1): 79-92.
21. Shachar DB, Kahana N, Kampel V, Warshawsky A, Youdim MB. Neuroprotection by a novel brain permeable iron chelator, VK-28, against 6-hydroxydopamine lession in rats. Neuropharmacology 2004; 46(2): 254-63.
22. Griesbach GS, Hovda DA, Molteni R, Wu A, Gomez-Pinilla F. Voluntary exercise following traumatic brain injury: brain-derived neurotrophic factor upregulation and recovery of function. Neuroscience 2004; 125(1): 129-39.
23. Vatassery GT. Vitamin E and other endogenous antioxidants in the central nervous system. Geriatrics 1998; 53(Suppl 1): S25-S27.
24. Eshraghi-Jazi F, Alaei H, Azizi-Malekabadi H. The effect of red grape juice and exercise, and their combination on Parkinson's disease in rats. Avicenna J Phytomedicine 2012; 2(2): 90-6.
25. Rausch WD, Liu S, Gille G, Radad K. Neuroprotective effects of ginsenosides. Acta Neurobiol Exp (Wars) 2006; 66(4): 369-75.
26. Khuwaja G, Khan MM, Ishrat T, Ahmad A, Raza SS, Ashafaq M, et al. Neuroprotective

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

effects of curcumin on 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rats: behavioral, neurochemical and immunohistochemical studies. Brain Res 2011; 1368: 254-63.

27. Berchtold NC, Chinn G, Chou M, Kesslak JP, Cotman CW. Exercise primes a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat hippocampus. Neuroscience 2005; 133(3): 853-61.
28. Hosseini E. Mojtahedi SH. Kordi MR. ShabKhiz F .Fallah Omran S. Effect of short term and light forced treadmill running on BDNF and TrkB in the hippocampus of adult wistar male rats. Razi j Med Sci 2012, 19(101): 61-7. [In Persian].
29. 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 Res 2010; 1310: 200-7.
30. Saravia FE, Revsin Y, Gonzalez Deniselle MC, Gonzalez SL, Roig P, Lima A, et al. Increased astrocyte reactivity in the hippocampus of murine models of type 1 diabetes: the nonobese diabetic (NOD) and streptozotocin-treated mice. Brain Res 2002; 957(2): 345-53.
31. Hirsch MA, Farley BG. Exercise and neuroplasticity in persons living with Parkinson's disease. Eur J Phys Rehabil Med 2009; 45(2): 215-29.
32. Farley BG, Fox CM, Ramig LO, McFarland DH. Intensive amplitude-specific therapeutic approaches for Parkinson's disease toward a neuroplasticity-principled rehabilitation model. Topics in Geriatric Rehabilitation 2008; 24(2): 99-114.
33. Salehi I, Farajnia S, Mohammadi M, Sabouri Ghannad M. The pattern of brain-derived neurotrophic factor gene expression in the hippocampus of diabetic rats. Iran J Basic Med Sci 2010; 13(3): 146-53.
34. Schneider CD, Barp J, Ribeiro JL, Bello-Klein A, Oliveira AR. Oxidative stress after three different intensities of running. Can J Appl Physiol 2005; 30(6): 723-34.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Isfahan Medical School Received: 23.01.2014

Vol. 32, No. 274, 3rd Week, April 2014 Accepted: 19.03.2014

Pre-treatment Effects of Eriobotrya Japonica Extraction on Malondialdehyde (MDA), Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF), and Superoxide Dismutase (SOD) Levels in Hippocampus of Parkinsonian Rats Induced by 6-hydroxydopamine Following 12 weeks of Voluntary Exercise

Zia Fallah-Mohammadi PhD[1], Razieh Mohammadi[2], Jalil Aslani[2]

Original Article

Abstract

Background: The purpose of this study was to investigate the effects of extract of Eriobotrya japonica flower on brain-derived neurotrophic factor (BDNF), superoxide dismutase (SOD), and malondialdehyde (MDA) levels in the hippocampus of Parkinsonian rats after 12 weeks of voluntary exercise on a running wheel.

Methods: 43 rats were divided into six groups of healthy control, Parkinsonian control, training group, Parkinsonian training, extract Parkinsonian, and training-extract Parkinsonian. Training group exercised on running wheels for 12 weeks. Training-extract group exercised on running wheels and received 200 mg/kg extract of Eriobotrya japonica intraperitoneally three times per week during study period. To induce Parkinson, 6-hydroxydopamine (6-OHDA) (dissolved in saline) was administered intracerebrovenricular (ICV) by a stereotaxic apparatus. BDNF level were measured using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test. SOD and MDA levels were measured using spectrophotometric method. Data was analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) and least significant difference (LSD) post-hoc tests.

Findings: Exercise in Parkinsonian-training and extract in Parkinsonian-extract group could not prevent decrease of BDNF and difference between healthy control and training-extract group was significant (P = 0.001). Voluntary wheel running and extract significantly prevented SOD level to decrease in Parkinsonian rats (P = 0.001). Differences of SOD level between training-extract and healthy group were not significant (P = 0.125). Training and extraction could not prevent MDA level to increase compared with healthy control group (P = 0.918). The difference of MDA level between extract-Parkinsonian and healthy group was not significant (P = 0.904).

Conclusion: Pre-treatment with voluntary exercise and extraction of Eriobotrya japonica increase oxidative protection capacity of hippocampus against 6-OHDA toxicity but they cannot prevent significant decrease of BDNF level against 6-OHDA. Possibly, along with increase of SOD and decrease of MDA there would be no need to BDNF increase in order to counteract oxidative stress induced by exercise.

Keywords: Eriobotrya japonica, Voluntary exercise, 6-hydroxydopamine

Citation: Fallah Mohammadi Z, Mohammadi R, Aslani J. **Pretreatment Effects of Eriobotrya Japonica Extraction on Malondialdehyde (MDA), Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF), and Superoxide Dismutase (SOD) Levels in Hippocampus of Rats with Parkinson's Disease Induced by 6-hydroxydopamine Following 12 weeks of Voluntary Exercise.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(274): 120-30

1- Associate Professor, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sports Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
2- MSc Student, School of Physical Education and Sports Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
Corresponding Author: Zia Fallah Mohammadi PhD, Email: zia-falm@umz.ac.ir

www.SID.ir