Archive of SID

کومش- جلد ۲۲، شماره ۳ (پیاپی ۷۹)، تابستان ۱۳۹۹

# اثرات تمرین استقامتی روی محافظت نورونی در رت‌های پارکینسونی مدل ۶-هیدروکسی دوپامین

زینب رضایی [۱](Ph.D)، سید محمد مرندی [۱*](Ph.D)، حجت‌اله علایی [۲*](Ph.D)، فهیمه اسفرجانی [۱](Ph.D)

۱- گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۲ - گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۱۱۰۲۵۵۹ s.m.marandi@spr.ui.ac.ir

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۲۶۹۸۴۷۸ alaei@med.mui.ac.i r

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۲۵

## چکیده

**هدف:** بیماری پارکینسون ناشی از کاهش پیشرونده نورونهای دوپامینرژیک در استریاتوم است که منجر به اختلالات میتوکندریایی و حرکتی می‌شود. در این مطالعه، اثر تمرین استقامتی متوسط بر نقص حرکتی و بیان mRNA برای PPAR-γ، PGC-1α ( فاکتورهای میتوکندریایی) و BDNF در رت‌های پارکینسونی مدل ۶-هیدروکسی دوپامین (۶-OHDA) بررسی شد.

**مواد و روش‌ها:** ۳۲ موش نر بالغ به چهار گروه مساوی ۱. حامل (شم)، ۲. حامل+ تمرین استقامتی ۳. پارکینسون و ۴. پارکینسون+تمرین استقامتی تقسیم شدند. مدل پارکینسون با تزریق یک طرفه -هیدروکسی دوپامین به داخل دسته میانی مغز جلویی (Medial forbrain bundle) تزریق شد. گروه شم فقط حامل ۶-هیدروکسی دوپامین را دریافت کرد. ۲ هفته پس از جراحی، گروههای تمرینی روزانه به مدت ۳۰ دقیقه و برای ۳۰ روز متوالی روی نوارگردان دویدند. ۶ هفته پس از جراحی، چرخش ناشی از آپومورفین و بیان mRNA برای PPAR-γ، PGC-1α و BDNF از طریق روش Real Time-PCR در هیپوکمپ موش ها ارزیابی شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که تزریق ۶-OHDA سبب افزایش معنادار تعداد چرخش‌ها ($P\leq ۰/۰۰۱$)، کاهش معنادار در بیان PPAR-γ و BDNF و افزایش جبرانی در بیان mRN PGC-1α می‌شود. تمرین استقامتی تا حدودی توانست این اختلالات را اصلاح نماید.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرین استقامتی می‌تواند اختلال حرکتی و نقص در بیان فاکتورهای میتوکندریایی را در بیماران پارکینسونی اصلاح نماید.

**واژه‌های کلیدی:** بیماری پارکینسون، تمرین استقامتی، آپومورفین، BDNF

## مقدمه

بیماری پارکینسون یک بیماری ناتوان‌کننده می‌باشد که در افراد بالای ۵۰ سال شیوع گسترده‌ای دارد و پس از آلزایمر شایع‌ترین بیماری تخریب نورونی رایج در جهان است [۱]. بیش‌تر جنبه‌های زندگی افراد مبتلا تحت تأثیر قرار می‌گیرد و اکثر بیماران از راه رفتن، بلند شدن، فقدان انرژی، نیاز به صرف انرژی اضافی برای انجام کارهای روزانه و همچنین علائم غیر حرکتی مانند نقص در بویایی، حافظه و گوارش شکایت دارند [۲]. این بیماری از طریق کاهش فزاینده نورون‌های دوپامینرژیک در سابستانتیانیگرا (Substantia nigra) تشخیص داده می‌شود که منجر به کاهش دوپامین در استریاتال شده و در نتیجه سبب افزایش خطر افتادن، بی‌حرکتی و نقص شناختی می‌شود [۳]. بر اساس مطالعات، پس از بروز آسیب‌های مغزی، خود بافت مغز فعالیت‌های جبرانی برای کاهش نقایص ایجاد شده آغاز می‌کند، اما کافی نیست و برای رسیدن به شرایط مطلوب نیازمند محرکی مانند فعالیت تمرینی می‌باشد [۴]. هم‌چنین، داروهای در دسترس برای مدت کوتاهی مفید هستند و ممکن است در طولانی‌مدت اثر معکوسی ایجاد کنند و شرایط بیمار بدتر شود [۵].

مطالعات، نقش بالقوه تمرین را در تعدیل علائم پیش‌رونده این بیماری در حیوانات و انسان‌ها نشان می‌دهند [۷،۶]. با این‌حال، باید توجه شود تغییرات ناشی از تمرین در مغز، به طور ویژه به نوع، مدت و شدت تمرین بستگی دارد [۸]. تمرین شدید می‌تواند سبب افزایش استرس اکسیداتیو در مغز شود، اما، تمرین با شدت پایین ممکن است از مغز در برابر آسیب اکسیداتیو



www.SID.ir

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:48 +0430 on Monday June 29th 2020

Archive of SID


Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:48 +0430 on Monday June 29th 2020

محافظت کند [۹،۱۰]. بنابراین، تلاش برای رسیدن به شدت بهینه تمرین از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پراکسی زوم (Peroxisome Proliferator–Activated Receptors)، فاکتورهای نسخه‌برداری متعلق به خانواده بزرگ هورمون‌های گیرنده هسته‌ای هستند، که دارای ایزوفرم‌های متفاوتی می‌باشند. در سال‌های اخیر، ایزوفرم PPAR-γ و آگونیست‌های آن، به دلیل داشتن فوایدی روی محافظت نورونی، عملکرد میتوکندریایی، کاهش حرکات غیرارادی و محافظت نورونی توجه بسیاری از پژوهشگران را به ویژه در بیماری‌های نورودژنراتیو به خود جلب کرده‌اند [۱۱]، هر چند، پژوهش درباره آن بسیار اندک است و این مساله می‌تواند زمینه تحقیقاتی جالبی را ایجاد کند [۱۲].

PGC-1α (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha) با بسیاری از فاکتورهای نسخه‌برداری در تنظیم میتوکندریایی تعامل دارد و روی چندین ژن مختلف در ژنوم هسته و میتوکندری تأثیرگذار است [۱۳]. PGC-1α، بیان آنزیم‌های مؤثر در کاهش استرس اکسیداتیو را تحریک می‌کند و سبب حفاظت از سلول‌های نورونی در برابر گونه‌های اکسیژن فعال Reactive Oxygen Species (ROS) و کاهش مرگ سلولی می‌شود [۱۴]. عامل عصبی تغذیه‌ای مشتق از مغز Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF)، مهم‌ترین نوروتروفین (Neurotrophin) می‌باشد که به عنوان ژن پایین دست PGC-1α شناخته شده و بر رشد، بقا، سلامت انواع گونه‌های نورونی، انتقال سیناپسی و تحریک‌پذیری نورونی اثر می‌گذارد و مولکول اصلی درگیر در حافظه و یادگیری می‌باشد [۱۵]. در ابتدا تصور بر این بود که پاسخ‌های نوروتروفین‌ها به تمرین، محدود به سیستم‌های حسی–حرکتی مغز مانند مخچه و نواحی ابتدایی کورتیکال می‌شود. اما، در پژوهش‌های بعدی گزارش شد که در مدل‌های حیوانی، بیان BDNF به طور متوسط در اکثر نواحی مغز به ویژه هیپوکمپ، که ساختار مهمی برای عملکردهای شناختی به ویژه یادگیری و حافظه می‌باشد، صورت می‌گیرد [۱۶]. با توجه به تأثیرات محافظتی BDNF از نورون‌ها، به ویژه در بیماری‌های ناشی از اختلالات نورونی و شناختی مانند پارکینسون، آلزایمر، صرع و افسردگی، هر روشی که بتواند سبب افزایش بیان این ژن گردد از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است [۱۷]. تمرین با تنظیم BDNF ممکن است روی بهبود و سلامت ذهن موثر باشد و سبب پیشرفت عملکرد شناختی شود [۱۶]. هر چند، به دلیل استفاده از برنامه‌های تمرینی مختلف، بعضی از مطالعات چنین ارتباطی را گزارش نکرده‌اند [۹]. هم‌چنین، به گزارش پولتون و موییر (Poulton and Muir) (۲۰۰۵)، در صورتی‌که تمرین در زمان کوتاهی پس از تخریب با OHDA–۶، آغاز شود سبب بازسازی نوروشیمیایی دوپامین می‌شود، اما ریکاوری حرکتی صورت نمی‌گیرد [۱۸]، در مقابل، اسمیث (Smith) و همکاران (۲۰۱۱)، به نتایج متناقضی رسیدند و نشان دادند تمرین سبب بازسازی نورون‌های دوپامین نمی‌شود اما روی ریکاوری حرکتی و رفتاری تأثیر دارد [۱۹].

با توجه به سبک زندگی در سال‌های اخیر، به نظر می‌رسد بیماری پارکینسون در دهه‌های آینده گسترش بیش‌تری بیابد [۲۰]. به علاوه، با توجه به این‌که عوامل مختلفی از جمله برنامه تمرینی، میزان ماده تزریقی و شدت تخریب، هم‌چنین زمان آغاز فعالیت بعد از ابتلا به بیماری پارکینسون نتایج متناقضی را ایجاد می‌کند [۸،۱۴،۱۷]، ضمن این‌که، بررسی برخی فاکتورهای مهم در این بیماری، مانند PPAR-γ در تحقیقات گذشته کم‌تر مورد توجه قرار گرفته است. لذا، هم‌چنان تلاش برای ارزیابی روش‌های درمانی مؤثر و پیامدهای ناشی از بیماری ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین، در مطالعه حاضر، اثر تمرین استقامتی متوسط، بر یادگیری و فاکتورهای بیوشیمیایی PPAR-γ، PGC-1α و BDNF در هیپوکمپ رت‌های پارکینسونی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

## مواد و روش‌ها

**حیوانات.** ۳۲ سر رت نر نژاد ویستار (۲۰±۲۵۰g، ۳ ماهه)، برای انجام این تحقیق که از نوع تجربی است، انتخاب شدند. حیوانات تحت چرخه ۱۲ ساعت روشنایی/ تاریکی، با رطوبت هوا ۲±۲۵ درصد و درجه حرارت ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد، در لانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان نگه‌داری شدند. رت‌ها، پس از آشنایی با نوارگردان به مدت ۱ هفته (با سرعت ۵ متر در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه) [۶]، به‌صورت تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی شامل: ۱) سالین (شم)، ۲) سالین+ تمرین، ۳) پارکینسون و ۴) پارکینسون+تمرین تقسیم شدند. همه آزمایش‌ها به تأیید کمیته اخلاقی کار باحیوانات آزمایشگاهی در دانشگاه اصفهان رسید (IR.UI.REC, ۱۳۹۶، ۰۰۸).

**روش جراحی.** ابتدا رت‌ها از طریق تزریق داخل صفاقی زایلازن (۱۰mg/kg) و کتامین (۸۰mg/kg) بی‌هوش شدند [۲۰]، سپس به وسیله دستگاه استریوتاکس (Stoelting, USA)، مورد جراحی قرار گرفتند. به این ترتیب، به گروه‌های پارکینسونی μg ۸ از ماده OHDA–۶ در ۲μg/μL محلول نمکی ۰/۹درصد حاوی اسید اسکوربیک ۰/۲درصد، تزریق شد و گروه‌های سالین نیز با روشی مشابه فقط حلال دریافت نمودند (۲μg/μL سالین ۰/۹درصد محتوی اسید اسکوربیک ۰/۲درصد) [۲۱]. این تزریق با سرعت ۰/۵ μL/min [۲۲] ، و به وسیله سرنگ


www.SID.ir

Archive of SID


Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:48 +0430 on Monday June 29th 2020

هامیلتون (Hamilton Company, Switzerland)، در ناحیه MFB سمت راست به مختصات AP:-۴/۴mm، mm ML:۱/۳ و DV: -۸/۲ mm انجام شد [۲۳].

**برنامه تمرینی.** دو هفته پس از جراحی، گروه‌های تمرینی ۳۰ روز متوالی تمرین اجباری روی نوارگردان با شدت متوسط به مدت ۳۰ دقیقه (با سرعت ۵ متر در دقیقه برای ۵ دقیقه اول، ۸ متر در دقیقه برای ۵ دقیقه بعد و ۱۲ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه آخر) روی نوارگردان دویدند [۲۵،۲۴]. گروه‌های غیر تمرین هم برای مدت مشابه روی نوارگردان ثابت قرار گرفتند.

**آزمون رفتاری چرخش القاشده ناشی از آپومورفین.** ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، به منظور آشنایی با فضای این آزمون، ابتدا هر رت به طور جداگانه، در داخل یک محفظه پلکسی گلاس شفاف به ابعاد ۵۰ × ۲۸cm× ۲۸ cm برای ۱۰ دقیقه قرار گرفت. سپس، آپومورفین (۰/۵ mg به ازای هر کیلوگرم وزن) به صورت درون صفاقی تزریق گردید [۲۵]. تزریق این ماده سبب چرخش‌های مکرر حیوان در خلاف جهت تزریق (در این پژوهش خلاف جهت عقربه‌های ساعت) می‌گردد. ۱ دقیقه پس از تزریق، حیوان در داخل استوانه شیشه‌ای قرار گرفت. به چرخش‌های انجام شده در خلاف جهت تزریق، عدد مثبت و در جهت تزریق عدد منفی تعلق گرفت و جمع جبری این اعداد در ۶۰ دقیقه و در فواصل ده دقیقه‌ای به عنوان پاسخ حیوان به آپومورفین ثبت شد [۸،۶].

**بافت‌برداری.** ۲۴ ساعت پس از آزمون رفتاری (شش هفته پس از جراحی)، رت‌ها با استفاده از تزریق درون صفاقی زایلازین/کتامین (۱mg زایلازین در ترکیب با ۵mg کتامین به ازای هر ۱۰۰g وزن بدن)، بی‌هوش شدند [۲۶]. پس از جدایی سر حیوانات با استفاده از دستگاه گیوتین، هیپوکمپ آن‌ها جدا شد، بلافاصله از طریق نیتروژن مایع منجمد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

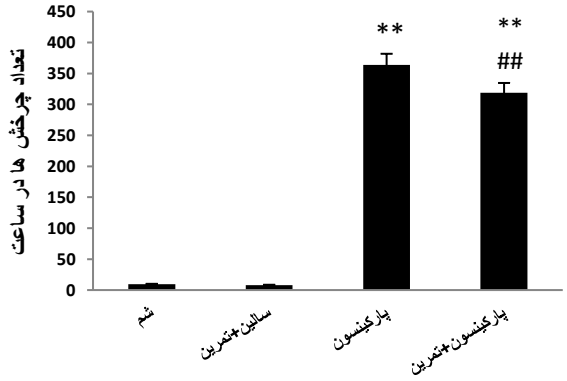
**استخراج RNA و بررسی بیان ژن توسط Real-time PCR.** بافت هیپوکمپ از طریق هموژنیزه کردن (۱۰۰۰rpm1، ۴۰ دقیقه) برای استخراج RNA آماده، و طبق دستورالعمل کیت RNA-Plus (شرکت سیناژن)، جداسازی RNA انجام شد. به منظور پاک‌سازی محلول RNA استخراج شده، از هر گونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های مخرب RNA از کیت DNaseI (شرکت فرمنتاز آلمان) استفاده گردید. از هر نمونه، به میزان ۲ میکروگرم mRNA برای سنتز اولین رشته cDNA با استفاده از کیت cDNAsynthesis شرکت فرمنتاز به کار گرفته شد. برای انجام Real-time PCR از ۲ میکرولیتر cDNA استفاده گردید [۲۱]. این واکنش با استفاده از کیت SYBR Green PCR Master Mix (TaKaRa, Japan) و دستگاه BioRad مدل Chromo4 آلمان انجام شد. پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه، سیکل آستانه ($C_t$) برای هر نمونه مشخص گردید و با استفاده از روش $^{-\Delta\Delta Ct}$ ۲ سطح بیان mRNA ژن‌های مورد ارزیابی نسبت به بیان ژن خانه‌دار محاسبه شد. جدول ۱، پرایمرهای لازم برای ژن‌های مدنظر و همچنین ژن خانه‌دار را نشان می‌دهد [۲۷].

**تحلیل داده‌ها.** داده‌ها با استفاده از SPSS نرم‌افزار نسخه ۲۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با استفاده از آنوای یک‌طرفه یافته‌های حاصل تحلیل شد و از طریق آزمون تعقیبی توکی معنی‌داری اختلاف‌ها در سطح ۰/۰۵ بررسی گردید.

## نتایج

### چرخش‌های ناشی از تزریق آپومورفین

نتایج حاصل از تزریق آپومورفین نشان می‌دهد که یک هفته پس از جراحی و ایجاد پارکینسون، افزایش معنادار در تعداد چرخش‌های خلاف جهت تزریق (پادساعتگرد) در گروه پارکینسون و پارکینسون+تمرین نسبت به گروه شم وجود دارد. با این حال، تعداد چرخش‌ها در گروه پارکینسون+تمرین نسبت به گروه پارکینسون به طور معناداری پایین‌تر است ($P\leq$ ۰/۰۰۱ و $F_{۳و۲۸}$=۲۱۷/۴) (شکل ۱).




شکل ۱. تعداد چرخش‌ها ناشی از تزریق آپومورفین. (۰/۰۰۱$\geq P$ =** در مقایسه با گروه شم و ۰/۰۰۱$\geq P$ =## در مقایسه با گروه پارکینسون).

### بیان mRNA برای ژن‌های PPARγ، PGC-1α و BDNF

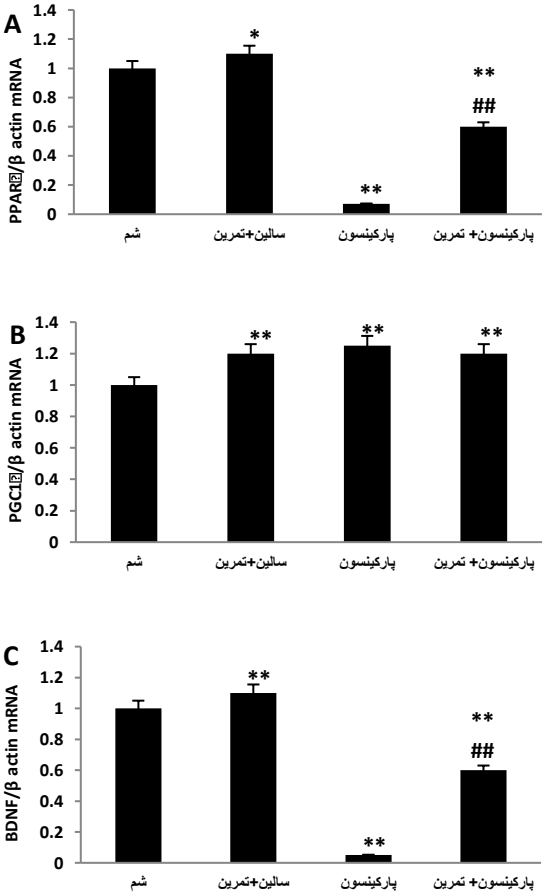
اختلاف معنادار در بیان ژن‌های PPARγ و BDNF در هیپوکمپ گروه‌های تحت بررسی وجود دارد (به ترتیب ۰/۰۰۱$\geq P$ و ۴۸۰/۴ و $F_{۳و۲۸}$=۱۸۷/۹). به طوری‌که، تزریق ماده نوروتوکسین در گروه پارکینسون سبب کاهش معنادار بیان mRNA برای هر دو ژن در رت‌های پارکینسونی نسبت به گروه شم گردید. با این حال، در گروه پارکینسون+ تمرین افزایش معنادار بیان این ژن‌ها نسبت به گروه پارکینسونی بدون تمرین ایجاد شد، هر چند،


www.SID.ir

Archive of SID


Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:48 +0430 on Monday June 29th 2020

تمرین در این گروه نتوانست میزان بیان آن‌ها را به سطح نرمال برساند و هنوز کاهش معنادار نسبت به گروه شم وجود دارد (شکل C و A2). از طرفی، برخلاف پیش‌بینی اولیه، بیان PGC-1α به طور معناداری در گروه پارکینسون نسبت به گروه شم افزایش یافت. به طوری‌که بین این گروه با گروه‌های تمرین در بیان ژن PGC-1α اختلاف معنادار وجود نداشت ($P\leq$۰/۰۰۱ و $F_{۳,۲۸}$=۲۸/۳) (شکل B2).




شکل ۲. نتایج بیان mRNA برای PPARγ (A)، PGC-1α (B) و BDNF (C) در هیپوکمپ، بر اساس میانگین± انحراف استاندارد. (*= $P\leq$۰/۰۱ و **= $P\leq$۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه شم و ##= $P\leq$۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه پارکینسون).

## بحث و نتیجه‌گیری

آسیب نورون‌های دوپامین نقش مهمی در بروز بیماری پارکینسون دارد که منجر به انواع اختلالات میتوکندریایی و حرکتی می‌شود. هر چه، میزان تخریب شدیدتر باشد، تأثیر داروها برای درمان و کاهش علائم، کم‌تر می‌گردد [۷]. بنابراین، استفاده از روش‌های جدید درمانی، مانند فعالیت بدنی، از اهمیت بالایی برخوردار است [۲۸،۷]. هر چند با توجه به انواع مختلف فعالیت بدنی، شدت بیماری، سن بیماران و بسیاری از عوامل دیگر نتایج تحقیقات متناقض است.

در این مطالعه، تزریق آپومورفین پس از القای پارکینسون سبب افزایش تعداد چرخش‌ها در خلاف تخریب شد و در مقابل، ۳۰ روز تمرین استقامتی متوسط پس از ابتلا به بیماری منجر به کاهش تعداد چرخش‌ها گردید، اما، در مقایسه با گروه شم هنوز افزایش معنادار در چرخش‌ها وجود دارد (نمودار ۱). این بدان معنی است که فعالیت استقامتی پس از ابتلا به پارکینسون نسبت به حیوانات پارکینسونی بدون فعالیت می‌تواند تخریب نورونی را به طور معناداری کاهش دهد اما، آن را متوقف نمی‌کند که این یافته با نتایج بسیاری از پژوهشگران هم‌خوانی دارد [۳۰،۲۹،۲۵،۲۱،۸]. با این حال، برخی دیگر عدم تأثیر تمرین بر محافظت نورونی یا حتی افزایش آپوپتوز به دنبال استرس ناشی از فعالیت بدنی را در گروه‌های پارکینسونی تمرین کرده نسبت به بدون تمرین گزارش کرده‌اند [۳۱،۲۷]. افزایش تعداد چرخش‌ها پس از تزریق آپومورفین در گروه‌های پارکینسونی نشان‌دهنده افزایش مرگ نورون‌های دوپامین، اختلال در حرکت و حافظه می‌باشد [۳۲]. از طرفی، کاهش چرخش‌ها در رت‌های پارکینسونی که فعالیت کرده‌اند، می‌تواند ناشی از تأثیرات محافظت نورونی تمرین باشد. هر چند، مکانیسم آن دقیقاً مشخص نیست اما، احتمالاً تمرین با افزایش نوروتروفین‌ها این اثر را ایجاد می‌کند [۳۳،۶]. ضمناً، فعالیت می‌تواند با افزایش جریان خون به ویژه در نواحی از مغز که روی عملکرد رفتاری مؤثرند، میزان اکسیژن در دسترس را افزایش دهد. بنابراین، مشکل کمبود اکسیژن و تجمع مواد زائد محدود می‌شود و با افزایش برداشت ماده نوروتوکسین، فرایند بقای نورونی بهبود می‌یابد [۳۴].

هم‌چنین، نتایج استخراج mRNA، اختلال در بیان ژن‌های PPARγ و BDNF را به دنبال تزریق ماده نوروتوکسین نشان می‌دهد، اگر چه تمرین در گروه پارکینسونی این اختلال را کاهش می‌دهد، اما، هم‌چنان نسبت به سطح نرمال پایین‌تر است (نمودار C و A2). برخی مطالعات دیگر نیز نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند [۳۵،۸]. موری (Murray) و همکاران (۲۰۱۴)، گزارش کردند فعالیت بدنی منجر به افزایش معنادار در بیان برخی عوامل شناختی و میتوکندریایی در حیواناتی می‌شود که تحت تخریب با ماده نوروتوکسین قرار گرفته باشند [۵]. با این حال، لندرز (Landers) و همکاران ۲۰۱۳ گزارش کردند تمرین در رت‌های تخریب شده با ۶-OHDA، اختلالات نورونی و نقص حرکتی را کاهش نمی‌دهد [۳۱]. به گزارش آن‌ها رت‌های بدون تمرین، محافظت نورونی بیش‌تری در برابر ۶-OHDA داشتند و دلیل آن را تأثیر تخریبی استرس ناشی از فعالیت بدنی بیان کردند که می‌تواند در بیماران پارکینسونی سبب افزایش مرگ نورونی شود [۳۱]. ضمن این‌که، در این مطالعه برنامه تمرینی دو هفته پس از


www.SID.ir

Archive of SID


Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:48 +0430 on Monday June 29th 2020

تخریب آغاز شد. مطالعات نشان می‌دهد هر چه برنامه تمرینی در فاصله کم‌تری پس از تخریب شروع شود (۲۴ ساعت تا ۵ روز پس از تخریب)، به دلیل این‌که روند تخریب نورونی کامل نشده است، برنامه تمرینی اثرات بیش‌تری خواهد داشت، با این حال، باید توجه نمود در این شرایط به دلیل عدم آغاز و تکمیل فرایند آپوپتوز ناشی از ماده سمی، موقعیت ایجاد شده برای نمونه‌ها با شرایط طبیعی بیماری پارکینسون متفاوت می‌شود و این از اعتبار نتایج می‌کاهد [۲۶،۱۳]. به علاوه، گارسیا (Garcia) و همکاران در سال ۲۰۱۷، نشان دادند در ارزیابی‌های انجام شده پس از ۳ یا ۴ ماه فعالیت، محافظت نورونی ناشی از فعالیت در رت‌های پارکینسونی، نتایج بهتری نسبت به ۱ ماه فعالیت دارد [۳۶]. به دنبال ایجاد پارکینسون و افزایش بیان فاکتورهای التهابی مانند TNF-α در نیگرال، تخریب نورون‌های دوپامین ایجاد می‌شود. فعال‌سازی PPAR-γ در این شرایط سبب بهبود فعالیت مکانیسم‌های ضد التهابی و محافظت نورونی می‌شود و با راه‌اندازی پاسخ‌های ایمنی از طریق تعدیل فعالیت لنفوسیت‌ها و کاهش فعالیت فاکتورهای التهابی، نقش مهمی در بهبود وضعیت بیماری‌های نورودژنراتیو ایفا می‌کند [۱۱]. به علاوه، فعال‌سازی PPARγ پتانسیل غشای میتوکندریایی را افزایش می‌دهد و از سلول‌ها در برابر آپوپتوز محافظت می‌کند [۱۴]. BDNF، نیز عامل مؤثر در حافظه و شناخت می‌باشد، که افزایش بیان آن در بیماری پارکینسون می‌تواند از عوامل مؤثر در کاهش اختلالات حرکتی باشد [۳۷]. به طور کلی، افزایش نوروتروفین‌ها در اثر فعالیت بدنی، می‌تواند نقش مهمی در محافظت و افزایش بقای نورونی داشته باشد. در این میان به نظر می‌رسد سطوح BDNF و آنتی‌اکسیدان‌ها نقش تعدیل‌کننده مهمی در بازسازی اختلالات ناشی از پارکینسون ایفا کند [۳۹،۳۸،۴]. در نتیجه، کاهش بیان این فاکتورها در اثر پارکینسون و افزایش بیان آن‌ها به دنبال تمرین استقامتی در مطالعه حاضر، می‌تواند از دیگر دلایل کاهش چرخش‌های نامتقارن و محافظت نورونی در رت‌های پارکینسونی تمرین کرده باشد.

به علاوه، برخلاف انتظارات، بیان PGC-1α در رت‌های پارکینسونی نسبت به گروه شم کاهش چشمگیری نشان نداد. به عبارت دیگر، افزایش جبرانی در بیان این ژن پس از ایجاد پارکینسون مشاهده شد (نمودار B2). پاتکی (Patki) و همکاران نیز در سال ۲۰۱۱، نشان دادند در حیوانات پارکینسونی بدون تمرین نسبت به تمرین کرده بیان PGC-1α افزایش می‌یابد [۲۷]. نکته قابل توجه این‌که، در مطالعه حاضر، افزایش جبرانی PGC-1α در گروه پارکینسونی بدون تمرین، منجر به کاهش تعداد چرخش‌ها در این گروه نشد، اما، تمرین انجام شده چنین اثری را به دنبال داشت (شکل ۱). این نشان می‌دهد که تمرین، با راه‌اندازی مکانیسم‌هایی، اثر محافظتی روی سیستم عصبی مرکزی، ژن‌های میتوکندریایی و دوپامین دارد، اما، در مورد افزایش جبرانی ناشی از ایجاد پارکینسون، این مسأله صادق نیست [۴۰،۲۷]. با این حال، چونگ (Chong) و همکاران (۲۰۱۲)، با توجه به نقش PGC-1α در حفظ عملکرد میتوکندریایی و حافظه و شناخت، کاهش بیان این فاکتور به دنبال ایجاد پارکینسون را گزارش کردند [۴۱]. اختلاف در نتایج می‌تواند ناشی از تفاوت در ماده سمی، دوز مصرفی و زمان اندازه‌گیری پس از جراحی باشد. ضمن این‌که، مساله پاسخ‌های جبرانی به دنبال ایجاد بیماری پارکینسون و تأثیر این بیماری بر بیان فاکتورهای مؤثر، بحث مهمی است که نتایج متناقضی را در برداشته و مکانیسم‌های زیربنایی ناشی از آن به طور واضح مشخص نیست [۴۲].

از آن‌جا که یون (Yoon) و همکاران (۲۰۰۷) و گارسیا و همکاران (۲۰۱۷) در تحقیقات جداگانه‌ای گزارش کردند، تمرین با شدت سبک نمی‌تواند در بیان فاکتورهای میتوکندریایی و نوروشیمیایی مؤثر باشد و تمرین با شدت متوسط می‌تواند بهترین نتایج را ایجاد کند [۳۶،۲۵]. در این مطالعه نیز، به دنبال تخریب ناشی از ماده نوروتوکسین و ایجاد پارکینسون، مشاهده شد که ۳۰ روز متوالی دویدن روی نوارگردان با شدت متوسط نتایج مثبتی روی بهبود یادگیری و فاکتورهای بیوشیمیایی تحت بررسی دارد. هر چند عوامل بسیار دیگری وجود دارد که در نتایج مؤثر است و باید بررسی شود.

به طور کلی، تزریق ۶-OHDA با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد به لیپیدهای غشایی آسیب می‌زند و مرگ نورونی و اختلالات شناختی و حرکتی را موجب می‌شود، و در مقابل، تمرین، از طریق افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بیان فاکتورهای مؤثر در محافظت نورونی، از نورون‌ها در برابر سمیت ۶-OHDA محافظت می‌کند [۴۳]. اگر چه، به دلایل مختلفی، که از جمله مهم‌ترین آن‌ها زمان آغاز فعالیت ورزشی پس از ایجاد تخریب می‌باشد، نتایج در این زمینه متفاوت است، اما، به طور کلی، از آن‌جا که روند کندی برای تخریب نورونی ناشی از تزریق ۶-OHDA وجود دارد (۵ تا ۲۸ روز پس از جراحی)، بنابراین، انجام تمرین در این بازه می‌تواند مداخله مؤثر و مثبتی باشد و بدون فعالیت بودن، به ویژه با افزایش سن، شرایط بیمار و کیفیت زندگی او را وخیم‌تر می‌کند [۴۴].

## تشکر و قدردانی

با تشکر از تمام افرادی که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند.



www.SID.ir

Archive of SID


Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:48 +0430 on Monday June 29th 2020

## منابع

[1] Hosseini M, Rajaei Z, Alaei H. Effects of crocin on rotational behavior, lipid peroxidation and nitrite levels in Rat's brain striatum in an experimental model of Parkinson's disease. J Isfahan Med School 2015; 33: 780-791 (Persian).

[2] Salgado S, Williams N, Kotian R, Salgado M. An evidence-based exercise regimen for patients with mild to moderate Parkinson's disease. Brain Sci 2013; 3: 87-100.

[3] Siegel GJ, Chauhan NB. Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's disease brain. Brain Res Rev 2000; 33: 199-227.

[4] Fredriksson A, Stigsdotter IM, Hurtig A, Ewalds-Kvist B, Archer T. Running wheel activity restores MPTP-induced functional deficits. J Neural Transm 2011; 118: 407-420.

[5] Murray DK, Sacheli MA, Eng JJ, Stoessl AJ. The effects of exerciseon cognition in Parkinson's disease: a systematic review. Transl Neurodegener 2014; 3: 5.

[6] Aguiar Jr AS, Duzzioni M, Remor AP, Tristão FS, 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.

[7] Cohen AD. Role of Exercise and GDNF in an Animal Model of Parkinson's Disease: Implications for Neuroprotection: University of Pittsburgh; 2006.

[8] 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 Res Bull 2014; 108: 106-112.

[9] Aguiar AS, Castro AA, Moreira EL, Glaser V, Santos AR, Tasca CI, et al. Short bouts of mild-intensity physical exercise improve spatial learning and memory in aging rats: involvement of hippocampal plasticity via AKT, CREB and BDNF signaling. Mech Ageing Dev 2011; 132: 560-567.

[10] Aguiar CCT, Almeida AB, Araújo PV, Abreu RN, Chaves EM, Vale OC, et al. Oxidative Stress and Epilepsy: Literature Review. Oxidative Med Cell Longevity 2012; 2012.

[11] Carta AR, Pisanu A, Carboni E. Do PPAR-Gamma Agonists Have a Future in Parkinson's Disease Therapy? Parkinson's Dis 2011; 2011: 689181.

[12] Martinez AA, Morgese MG, Pisanu A, Macheda T, Paquette MA, Seillier A, et al. Activation of ppar gamma receptors reduces levodopa-induced dyskinesias in 6-Ohda-Lesioned rats. Neurobiol Dis 2015; 74: 295-304.

[13] Psilander N. The effect of different exercise regimens on mitochondrial biogenesis and performance. 2014.

[14] Corona J, Duchen M. PPARγ and PGC-1α as Therapeutic Targets in Parkinson's. Neurochem Res 2016; 1-9.

[15] Mooren F. Molecular and cellular exercise physiology. Human Kinetics; 2005.

[16] McGough E, Kirk-Sanchez N. Exercise interventions targeting neuroplasticity and neuroprotection in adults with neurodegenerative diseases. Neurodegener Dis 2012.

[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 ofthe ketone body β-hydroxybutyrate. Elife 2016; 5: e15092.

[18] Poulton NP, Muir GD. Treadmill training ameliorates dopamine loss but not behavioral deficits in hemi-Parkinsonian rats. Exper Neurol 2005; 193: 181-197.

[19] Smith BA, Goldberg NR, Meshul CK. Effects of treadmill exercise on behavioral recovery and neural changes in the substantia nigra and striatum of the 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-lesioned mouse. Brain Res 2011; 1386: 70-80.

[20] LaHue SC, Comella CL, TannerCM. The best medicine? The influence of physical activity and inactivity on Parkinson's disease. Mov Disorder 2016; 31: 1444-1454.

[21] Costa ROd, Gadelha-Filho CVJ, Costa AEMd, Feitosa ML, jo DPd, Lucena JDd, et al. The Treadmill exercise protectsagainst dopaminergic neuron loss and brain oxidative stress in parkinsonian rats. Oxid Med Cell Longev 2017; 2017: 10.

[22] Tuon T, Souza PS, Santos MF, Pereira FT, Pedroso GS, Luciano TF, et al. Physical training regulates mitochondrial parameters and neuroinflammatory mechanisms in an experimental model of Parkinson's disease. Oxid Med Cell Longev 2015; 2015: 261809.

[23] Chen W, Qiao D, Liu X, Shi K. Treadmill exercise improves motor dysfunction and hyperactivity of the corticostriatal glutamatergic pathway in rats with 6-OHDA-Induced Parkinson’s Disease. Neural Plast 2017; 2017: 11.

[24] Sheibani V, Rafie F, Shahbazi M, Naghdi N, Sheikh M. Comparison of voluntary and forced exercise effects on motor behavior in 6-hydroxydopamine-lesion rat model of Parkinson's disease. Sport Sci Health 2017; 13: 203-211.

[25] Cho HS, Shin MS, Song W, Jun TW, Lim BV, Kim YP, et al. Treadmill exercise alleviates short-term memory impairment in 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's rats. J Exerc Rehabil 2013; 9: 354.

[26] Yoon MC, Shin MS, Kim TS, Kim BK, Ko IG, Sung YH, et al. Treadmill exercise suppresses nigrostriatal dopaminergic neuronal loss in 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's rats. Neurosci Lett 2007; 423: 12-17.

[27] Real CC, Garcia PC, Britto LRG. Treadmill exercise prevents increase of neuroinflammation markers involved in the dopaminergic damage of the 6-OHDA Parkinson's disease model. J Mol Neurosci 2017; 63: 36-49.

[28] Fujita KA, Ostaszewski M, Matsuoka Y, Ghosh S, Glaab E, Trefois C, et al. Integrating pathways of Parkinson's disease in a molecular interaction map. Mol Neurobiol 2014; 49: 88-102.

[29] Steiner JL, Murphy EA, McClellan JL, Carmichael MD, Davis JM. Exercise training increases mitochondrial biogenesis in the brain. J Appl Physiol 2011; 111: 1066-1071.

[30] 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: 305-312.

[31] 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. Behav Brain Res 2013; 248: 121-128.

[32] 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. Neurosci lett 2011; 505: 268-272.

[33] Razgado-Hernandez LF, Espadas-Alvarez AJ, Reyna-Velazquez P, Sierra-Sanchez A, Anaya-Martinez V, Jimenez-Estrada I, et al. The transfection of BDNF to dopamine neurons potentiates theeffect of dopamine D3 receptor agonist recovering the striatal innervation, dendritic spines and motor behavior in an aged rat model of Parkinson's disease. PloS One 2015; 10: e0117391.

[34] Mabandla M, Kellaway L, Gibson ASC, Russell VA. Voluntary running provides neuroprotection in rats after 6-hydroxydopamine injection into the medial forebrain bundle. Metab Brain Dis 2004; 19: 43-50.

[35] Richter EA, Ruderman NB. AMPK and the biochemistry of exercise: implications for human health and disease. Biochem J 2009; 418: 261-275.

[36] Garcia PC, Real CC, Britto LR. The impact of short and long-term exercise on the expression of Arc and AMPARs during evolution of the 6-Hydroxy-dopamine animal model of Parkinson's disease. J Mol Neurosci 2017; 61: 542-552.

[37] Rezaee Z, Marandi S-M, Ghaedi K, Esfarjani F. Molecular mechanisms of neurotrophins actions on diseases of nervous system. Genet Third Millennium 2015; 12: 3778-3793 (Persian).

[38] Dunnett SB. Chapter V Motor function(s) of the nigrostriatal dopamine system: Studies of lesions and behavior.

[39] Choe M, Koo BS, An GJ, Jeon S. Effects of treadmill exercise on the recovery of dopaminergic neuronloss and muscle atrophy in the 6-ohda lesioned parkinson's disease rat model. Korean J Physiol Pharmacol 2012; 16: 305-312.

[40] Zigmond MJ, Cameron JL, Leak RK, Mirnics K, Russell VA, Smeyne RJ, et al. Triggering endogenous neuroprotective processes through exercise in models of dopamine deficiency. Parkinsonism Relat Disord 2009; 15: 42-45.

[41] Chong ZZ, Shang YC, Wang S, Maiese K. SIRT1: new avenues of discovery for disorders of oxidative stress. Expert Opin Ther Targets 2012; 16: 167-178.

[42] 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. J Neurosci 2007; 27: 5291-5300.

[43] Hou L, Chen W, Liu X, Qiao D, Zhou FM. Exercise-induced neuroprotection of the nigrostriatal dopamine system in Parkinson's disease. Front Aging Neurosci 2017; 9: 358.



www.SID.ir

Archive of SID


[44] Merrill Russen Landers RL, Frank van Breukelen. Exercise-induced neuroprotection in a hemiparkinsonian 6-hydroxydopamine rat model: University of Nevada, Las Vegas; 2015.

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:48 +0430 on Monday June 29th 2020


www.SID.ir

Archive of SID

Volume 22, Issue 3 (Summer 2020), 556 - 562

# Neuroprotective effects of endurance training in 6-hydroxydopamine rat model of Parkinson's disease

Zeinab Rezaee (Ph.D)[1], Sayed Mohammad Marandi (Ph.D)[*1], Hojjatallah Alaei (Ph.D)[*2], Fahimeh Esfarjani (Ph.D)[1]
*1 -Dept. of Physical Education and Sport Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran*
*2 -Dept. of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran*

* Corresponding author. +98 9131102559 s.m.marandi@spr.ui.ac.ir
* Corresponding author. +98 9132698478 alaei@med.mui.ac.ir

Received: 1 Jan 2019; Accepted: 15 Jun 2019

***Introduction:*** Parkinson's disease (PD) is characterized by progressive dopamine depletion in the striatum, and leads to mitochondrial and motor disorders. The present study investigated the effect of moderate endurance training on motor disorder and mRNA expression of PPAR-γ, PGC-1α and BDNF in 6-hydroxydopamine (6-OHDA) rat model of PD

***Materials and Methods:*** Thirty two male Wistar rats were divided into 4 eqaul groups: 1. Vehicle (Sham), 2. Vehicle + endurance training, 3. 6-OHDA and 4. 6-OHDA + endurance training. The PD model obtained by unilateral injection of 6-OHDA (8µg/2µl) into the medial forebrain bundle, and the sham group recevied vehicle alone. Two weeks after the surgery, endurance training groups ran on a treadmill 30 min per day for 30 days. Six weeks after the surgery, the rat's rotations due to apomorphine injection and hippocampal mRNA expression of PPAR-γ, PGC-1α and BDNF were analyzed using Real Time-PCR.

***Results:*** 6-OHDA lesioned rats showed increased rotations ($P \leq 0.001$), decreased expression of PPAR-γ and BDNF mRNA and compensatory increased in PGC-1α mRNA. Edurance training improved both behavioural and molecular changes.

***Conclusion:*** It seems that endurance training can reduce motor disorder and defects in expression of the mitochondrial factors in Parkinson's disease.

***Keywords:*** Parkinson Disease, Endurance Training, Apomorphine, BDNF.

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:48 +0430 on Monday June 29th 2020



www.SID.ir