

تأثیر تمرین با و بدون عصاره هیدروالکلی گل گیاه ازگیل ژاپنی بر سطح فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از سلول های آستروسیت مزنسفال مخچه موش های در معرض ۶-هیدروکسی دوپامین

راضیه محمدی^{۱*}، ضیاء فلاح محمدی^۲، ملوک محمدی^۳، ابوالقاسم تقوی هلق^۴

چکیده

زمینه و هدف: تحقیقات گذشته نشان داده اند تمرین و استفاده از آنتی اکسیدان، تأثیر مثبتی در مقابل استرس اکسایشی ایفا می کند. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی ۱۲ هفته تمرین چرخ روی دوار با و بدون مصرف عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی بر سطح MANF مخچه موش های در معرض سم نوروکسی دوپامین انجام شد.

روش بررسی: موش ها به ۶ گروه شامل: گروه پایه، کنترل- تیمار، تمرین- سالم، تمرین- تیمار، عصاره- تیمار و تمرین- عصاره- تیمار تقسیم شدند. گروه های تمرینی به صورت انفرادی در قفسه هایی که چرخ دوار بر روی آنها تعبیه شده بود قرار گرفتند و گروه عصاره در طول تحقیق در هر هفته ۳ بار عصاره را به میزان ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. محلول ۶- هیدروکسی دوپامین (به میزان ۲۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت استریوتاکسی به داخل بطن مغز تزریق گردید. سطح MANF مخچه با روش Elisa اندازه گیری شد. داده ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی LSD تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: در این بررسی تمرین اختیاری روی چرخ دوار همراه با مصرف عصاره، به طور معنی داری از کاهش MANF در گروه های پیش درمان، جلوگیری کرد ($p=0/031$) و ($p=0/022$). اختلاف گروه کنترل - تمرین با گروه مکمل و چهار گروه دیگر (همگی $p<0/05$)، به لحاظ آماری معنی دار بود.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد پیش درمان با استفاده از تمرین اختیاری یا عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی و یا ترکیب این دو، منجر به افزایش محافظت نوروکسی عصبی در مقابله با استرس ناشی از تزریق درون بطنی OHDA 6- می شود.

کلید واژه ها: ورزش؛ گیاه ازگیل؛ مزانسفال؛ فاکتور نوروتروفیک.

^۱کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

^۲دانشیار فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

^۳کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

^۴مربی تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد هادی شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، هادی شهر، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

راضیه محمدی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

tumrus_ustun@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۲۳

تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۱۱

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Mohammadi R, Fallah Mohammadi Z, Mohammadi M, Taghavi Holagh A. The effect of exercise with and without consumption of hydroalcoholic extract of *Eriobotrya Japonica* flower on mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor in the cerebellum of rats subjected to 6-hydroxydopamine. Qom Univ Med Sci J 2015;9(7):40-47. [Full Text in Persian]

مقدمه

مغز، سرشار از فسفولیپید و اسیدهای چرب آزاد اشباع نشده چندگانه می باشد که هر دوی این ترکیبات نسبت به اکسیدان ها بسیار حساس هستند (۱). استرس اکسایشی می تواند بر روی سلول های دوپامینرژیک تأثیر منفی داشته باشد. هنگامی که سلول های ترشح کننده دوپامین در مغز میانی از بین می روند، سایر مراکز کنترل کننده حرکات بدن نیز نامنظم می شود. سیستم دوپامینرژیک دیگر واستریاتال، نقش مهمی در سازمان بندی عملی عقده های قاعده ای دارد (۲). قسمت بیشتر این سیستم از نورون های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه منشأ گرفته و به طور وسیعی در نئو استریاتوم (هسته های دم دار و پوتامن) توزیع می شود (۳). عواملی از قبیل فعالیت ورزشی و استفاده از مواد طبیعی مانند آنتی اکسیدان ها، در مقابله با بیماری های ناشی از استرس اکسایشی نقش مهمی دارند (۴). نشان داده شده است تمرینات بدنی باعث محافظت از جسم سیاه در مقابل آسیب ناشی از التهابات می شود (۵). ورزش به روند التیام آسیب جسم سیاه - مخطط سرعت بخشیده و انتقال عصبی دوپامینرژیک در سیستم جسم سیاه - مخطط را تغییر می دهد (۶). وجود تعادل مناسب بین رادیکال های آزاد و آنتی اکسیدان ها، بقای نورون ها را تضمین می کند (۷)، در نتیجه آنتی اکسیدان های طبیعی و مصنوعی زیادی در دسترس بوده که برای درمان این نوع بیماری ها از آنها استفاده می شود (۸). با توجه به عوارض جدایی ناپذیر داروهای شیمیایی، استفاده از مواد گیاهی دارای آنتی اکسیدان طبیعی قوی ارجح است. در پژوهش بلوچ نژاد و همکاران (سال ۲۰۱۱)، مصرف عصاره آبی گیاه ماریتیغال (خار مریم) در مدل پارکینسونی موش های صحرایی به دلیل ایجاد اثرات محافظتی در برابر رادیکال های آزاد، اثر حفاظتی در برابر توکسیسیته هیدروکسی دوپامین داشته است (۹). Tanaka و همکاران (سال ۲۰۰۸) نیز فعالیت هیپوگلاسمی عصاره دانه گل گیاه از گیل ژاپنی را در مدل های دیابت نوع ۲ در رت و مایس گزارش کردند (۱۰). همچنین Uto و همکاران (سال ۲۰۱۰) در مطالعه خود نشان دادند خاصیت ضدالتهابی عصاره برگ این گیاه ناشی از مهار بیان سیکلواکسیناز-۲ و آنزیم سترکننده NO می باشد (۱۱).

Yokota و همکاران (سال ۲۰۰۶) نیز فعالیت ضد اکسایشی عصاره دانه این گیاه را ناشی از ترکیبات زیاد بتا سیتواسترول و فعالیت مهارى آن روی پراکسیداسیون لیپیدی دانسته اند (۱۲). شواهد آناتومیکی، فیزیولوژی و بالینی نشان می دهند مخچه نقش به سزایی در بروز علائم بیماری پارکینسون که نوعی بیماری استرس اکسایشی است ایفا می کند. آکینزی در بیماری پارکینسون با افزایش جریان خون غیرعادی موضعی مخچه همراه است. تحریک عمقی مغز در هسته های ساب تالاموسی نیز علائم حرکتی را بهبود بخشیده که همراه با کاهش جریان خون موضعی در مخچه می باشد. وجود نورون دوپامینرژیک و گیرنده های دوپامینی D1-3 در مخچه به اثبات رسیده است. در پی تخریب نورون های دوپامینرژیک، تغییرات پاتولوژیکی در مخچه بیماران پارکینسونی و مدل های حیوانی پارکینسونی نیز مشاهده شده است (۱۳). فرآیند تخریب نورونی، چندین سال قبل از بروز علائم بالینی بیماری پارکینسون شروع می شود. بنابراین، حفظ سلامتی نورون ها به گونه ای موجب پیشگیری از بروز بیماری های اکسایشی می گردد. از جمله عواملی که در بقای نورونی نقش دارند می توان به فاکتورهای نوروتروفیک اشاره کرد. از جمله فاکتورهای نوروتروفیک، فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از سلول های آستروسیت مزانسفال (Mesencephalic Astrocyte-Derived Neurotrophic Factor, MANF) را می توان نام برد. MANF همراه با نوروتروفیک هم خانواده خود؛ یعنی CDNF (اخیراً نشان داده شده است دارای فعالیت محافظت نورونی بوده که موجب بهبود و بقای نورون های دوپامینرژیک می شود)، دارای اثرات حفاظتی، احیاگر و سلامتی بخش در مقابل تحلیل نورونی می باشد (۱۴). ساختار کریستالی انتهای C زنجیر MANF از این نظریه که می تواند به عنوان پروتئینی در مقابل استرس ER و در پی آن مقابله با مرگ سلولی عمل نماید، پیروی می کند (۱۵). فاکتور جدید نوروتروفیک مشتق از استروسیت، پروتئین گلیکوزیده با وزن مولکولی ۱۸ کیلودالتون (۱۵۸ اسید آمینه) برای اولین بار از سلول استروسیته مغز موش جدا شده است (۱۶). وجود پروتئین و MANF mRNA در مغز میانی جنین موش نشان می دهد MANF ممکن است در رشد جنینی نورون های دوپامینرژیک نقش داشته باشد.

بیشتر آزمایشهای ایمونوهیستوشیمی و هیبریداسیون نشان می دهد MANF به طور گسترده در بافت عصبی و غیرعصبی موش در حال رشد و نمو و موش بالغ بیان می شود. سطوح نسبتاً بالایی از MANF در سلول های پورکیته، قشر مخچه و هیپوکامپ مغز شناسایی شده است. همچنین پیش درمان با MANF، ریکاوری حرکتی را پس از سکنه مغزی با کمی تأخیر، بهبود می بخشد (۱۴). سم عصبی 6-OHDA با تولید رادیکال های آزاد که خود سیتوتوکسیک هستند، سبب مختل شدن هموستازی کلسیم از طریق افزایش ورود یا تشدید آزاد شدن از ذخایر داخل سلولی و تأثیر بر برنامه تنظیم ژنتیکی و القای آپوپتوز شده و موجب مرگ نورونی می شود (۱۷). این ماده یک ترکیب شیمیایی پیش التهابی است که قابلیت افزایش رهایی سایتوکین های سمی مانند اینترلوکین-۱، اینترلوکین-۶ و فاکتور تومور نکروزی را دارد (۱۸). در نتیجه با توجه به نقش تغذیه عصبی عامل نوروتروفیک مشتق شده از سلول های استروسیتی مزانسفال در حفاظت از نورون ها و آثار مخرب استرس اکسایشی روی سلول های عصبی، این سؤال مطرح می شود که آیا می توان با افزایش مقدار این پروتئین ها و یا جلوگیری از کاهش سطح آنها با استفاده از مداخلات غیردارویی و جراحی، در برابر استرس اکسایشی ناشی از تزریق سم عصبی مقابله نمود؟ پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر یک دوره ۱۲ هفته ای تمرین اختیاری بر سطح MANF مخچه موش های سالم و تعیین تأثیر یک دوره ۱۲ هفته ای تمرین اختیاری با و بدون مصرف عصاره هیدروالکلی گل گیاه از گیل ژاپنی بر محافظت از سطح MANF در مقابل سم ۶- هیدروکسی دوپامین در مخچه موش های صحرایی نر انجام شد.

روش بررسی

گل تازه گیاه از گیل ژاپنی از مناطق اطراف بابلسر جمع آوری و در سایه خشک شد. برای تهیه عصاره هیدروالکلی گل گیاه از گیل ژاپنی، مقدار ۱۰۰ گرم از پودر گیاه به مخلوط آب و اتانول (نسبت ۸۰/۲۰) در حجم ۶۰۰ میلی لیتر اضافه گردید. مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه شیکر (مدل KS500) با قدرت چرخش ۳۲۵ دور در دقیقه قرار گرفت. در مرحله بعد، ابتدا این مخلوط با پارچه سفید منفذدار، ۲ بار از کاغذ صافی واتمن

شماره ۴ عبور داده شد، سپس محلول صاف شده وارد بالون تقطیر شده و به کمک دستگاه تبخیرکننده چرخان (Rotary Evaporator) تحت خلأ، حلال پراکنی شد. این عمل در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۶ ساعت انجام گرفت (۱۹). عصاره آنتی اکسیدانی گل گیاه از گیل ژاپنی محلول در سالین (به میزان ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت صفاقی و در هر هفته ۳ بار به هرکدام از موش های گروه آنتی اکسیدان تزریق شد (۲۰). ۵۰ سر موش صحرایی نر با نژاد ویستار از انستیتو پاستور شمال ایران (آمل) خریداری و به مرکز تحقیقات (آزمایشگاه دانشگاه مازندران) منتقل گردید. حیوانات پس از ورود به محیط پژوهش و آشنایی با محیط جدید به مدت ۲ هفته و نحوه فعالیت روی چرخ دوار، به صورت تصادفی به شش گروه اصلی پایه (هرکدام ۸ سر) شامل: گروه کنترل - تیمار، تمرین - سالم، تمرین - تیمار، عصاره - تیمار و عصاره - تمرین - تیمار تقسیم شدند. هرکدام از موش های گروه های تمرینی به مدت ۱۲ هفته در قفس مخصوص که مجهز به چرخ دوار بود، قرار گرفتند (این دستگاه مجهز به کانتر بوده که میزان مسافت طی شده توسط هر آزمودنی را ثبت می کند. هر دور این چرخ یک متر است). میزان مسافت طی شده توسط آزمودنی ها هر روز صبح ساعت ۱۰ الی ۱۱ ثبت می شد. برای انجام عمل جراحی استریوتاکسی از موش هایی با رده وزنی ۲۲۰-۳۰۰ گرم استفاده گردید. ایجاد استرس و اکسایش در مخچه موش ها با تزریق محلول ۶- هیدروکسی دوپامین (6-OHDA) به صورت استریوتاکسی به داخل بطن مغز انجام شد. 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 گردید (۲۱). برای هر موش غلظت تزریق ۲۵۰ میکرولیتر در نظر گرفته شد (۲۲). با عمل جراحی، کانال ۲۷ گیج دندان پزشکی داخل جمجمه موش ها قرار گرفت. سپس با استفاده از سرنگ همیلتون، محلول ۶- هیدروکسی دوپامین با سالین به مدت ۳۰ ثانیه برای هر میکرولیتر تزریق گردید. پس از پایان تزریق، با استفاده از فر ۸ میلی متری (جهت جلوگیری از خروج مایع از کانال) حیوان به مدت ۱ دقیقه ثابت نگه داشته شد. موش ها نخست با ترکیب کتامین زایلازین به نسبت ۶۰ به

یافته‌ها

مسافت طی شده توسط آزمودنی‌های گروه‌های تمرین در قالب تمرین اختیاری روی چرخ دوار به گونه‌ای بود که آزمودنی‌های گروه تمرین - سالم به طور میانگین بیشترین مسافت تمرین اختیاری را به خود اختصاص دادند (۵۴۲۸ متر در روز) و گروه تمرین - تیمار مسافت کمتری را نسبت به گروه اول داشت، اما در مقایسه با گروه عصاره - تمرین - تیمار، مقدار بیشتری تمرین کردند (۵۲۲۹ متر در برابر ۴۰۲۲ متر در روز). تفاوت بین گروه تمرین - سالم با گروه تمرین - تیمار ($p=0/002$) و گروه عصاره - تمرین - تیمار ($p=0/007$)، معنی دار بود. اختلاف گروه کنترل - تمرین با گروه عصاره - تمرین - تیمار ($p<0/026$) و چهار گروه دیگر ($p<0/05$)، به لحاظ آماری معنی دار بود (جدول).

جدول: میانگین و انحراف معیار MANF (نانوگرم بر میلی لیتر) در موش‌های بررسی شده*

گروه	میانگین	انحراف معیار
پایه	۲/۹	۰/۲۴
کنترل - تیمار	۲	۰/۲۵
تمرین	۲/۹۷	۰/۳۶
تمرین - تیمار	۲/۹	۰/۲۳
عصاره - تیمار	۲/۹۵	۰/۲۴
عصاره - تمرین - تیمار	۲/۸	۰/۱۵

*اختلاف تمام گروه‌ها با گروه کنترل - تیمار معنی دار است.

بحث

۴۰ بیهوش شدند. سپس با جدا کردن سر حیوان با کمک قیچی مخصوص و جدا کردن کل مغز و خارج کردن آن از کاسه مجسمه، مخچه از سایر قسمت‌های مختلف مغز جدا و سریعاً در ازت مایع قرار گرفت. بافت پس از منجمد شدن، در یخچال مخصوص در دمای ۸۰- درجه نگهداری شد. بعد از عمل هموژنیز و سانتریفوژ، میزان غلظت MANF گروه‌ها به وسیله کیت آزمایشگاهی اندازه گیری شد. جهت بررسی تفاوت‌های موجود بین گروه‌های تجربی و کنترل از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و برای بررسی تفاوت بین گروهی از آزمون‌های تعقیبی مناسب (LSD) در سطح معنی داری $p\leq 0/05$ استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ تجزیه و تحلیل شدند.

حیات، تفکیک، ارتباط و شکل‌گیری نورونی ایفا می‌کنند (۲۴، ۲۳). از بین آنها، عامل نوروتروفیک مشتق از مغز به عنوان مداخله کننده در پاتوفیزیولوژی چندین بیماری عصبی در نظر گرفته شده است (۲۵). انجام ورزش در آزمودنی‌های انسانی باعث زنده ماندن نورون‌های دوپامینرژیک در جسم سیاه شده و از این طریق سنتز دوپامین افزایش می‌یابد. همچنین تمرین روی نوارگردان باعث کاهش علائم و نشانه‌های بیماری پارکینسون می‌شود (۲۶). به طور معمول نورون‌ها دارای فعالیت سلولی بسیار زیادی هستند که مستلزم فراهم بودن همیشگی انرژی به منظور انجام عملکردهای بسیار تخصصی شامل: تنظیم فعالیت انتقال دهنده‌های عصبی، گیرنده‌ها، کانال‌های یونی، انتقال دهنده‌ها و سیناپس‌ها می‌باشد. بنابراین، میتوکندری نقشی حیاتی برای حفظ هموستاز و یک پارچگی نقش‌های عصبی دارد. اکسایش نورونی و نقص عملکردی میتوکندری، با کهولت سن و فرآیند

نخستین یافته علمی تحقیق حاضر، افزایش معنی دار سطوح MANF مخچه در گروه تمرین اختیاری بود. به عبارت دیگر، احتمالاً تمرین اختیاری در برابر سم نورونی، اثر حفاظتی عصبی ایجاد می‌کند. دومین یافته مهم نشان داد مصرف عصاره گل گیاه از گیل ژاپنی در موش‌های القایی با ۶- هیدروکسی دوپامین، از کاهش سطح فاکتور نوروتروفیک MANF مخچه جلوگیری می‌کند. بنابراین می‌توان گفت عصاره و تمرین اختیاری، هر کدام به تنهایی و به صورت ترکیب به یکدیگر، اثرات حفاظت عصبی دارند. نوروتروفین‌ها شامل عامل رشد عصب (Brain Derived Neurotrophic Factor)، عامل رشد بنیادی فیروبلات، عامل رشد شبه انسولین ۱ (Insulin-like Growth Factor 1)، عامل نوروتروفیک مشتق شده از مغز (Brain Derived Neurotrophic Factor)، نوروتروفین - ۳ تا نوروتروفین - ۷، نقش کلیدی

تخریب نورونی همراه است (۲۷، ۲۸). از میان خانواده بزرگ فاکتورهای نوروتروفیک، MANF و CDFN مانند GDNF دارای خاصیت حفاظت نورونی در نورون‌های دوپامینرژیک در مقابل آثار سمی ۶- هیدروکسی دوپامین هستند. MANF بعد از تزریق به استریاتال به قشر مخ انتقال می‌یابد که از این جهت با GDNF تفاوت دارد (۲۹). قرارگیری در معرض BDNF قبل از تزریق داخل جسم مخطوطی ۶- هیدروکسی دوپامین، موجب محافظت نورون‌های دوپامینرژیک از اثرات سمی این ماده در موش‌های جوان و پیر می‌شود. اگرچه محافظت در موش‌های پیر، کمتر از موش‌های جوان می‌باشد (۳۰). تزریق GDNF به مغز میانی جوندگان بزرگسال به‌طور آشکاری روی محافظت نورونی نورون‌های دوپامینرژیک مغز میانی، بیان تیروزین هیدروکسیلاز (TH)، متابولیسم دوپامین و جوانه‌زدن نورون‌های دوپامینرژیک، تأثیر مثبت می‌گذارد. همچنین با افزایش سن، عملکرد حرکتی و بیان تیروزین هیدروکسیلاز کاهش می‌یابد. گزارش شده است GDNF نقش حیاتی در نگهداری و حفظ نورون‌های سیستم دوپامینرژیک ایفا می‌کند. همچنین کاهش بیان GDNF موجب کاهش بیان TH و جوانه‌زدن نورون‌های دوپامینرژیک می‌شود. بیان GDNF mRNA در جسم مخطوط بعد از دوران جنینی بیشتر از بزرگسالی انجام می‌گیرد (۱۴). نشان داده شده است ترشح CDFN در محیط *in vitro* نورون‌های دوپامینرژیک را از مرگ نجات می‌دهد. اثرات محافظت نورونی CDFN نیز وابسته به دوز می‌باشد. در مطالعه حاضر، ۳ میکروگرم CDFN، به‌طور معنی‌داری رفتار چرخشی را در موش‌های پارکینسونی کاهش و تعداد سلول‌های مثبت تیروزین هیدروکسیلاز (TH-positive) را در جسم سیاه افزایش داد که مقدار تأثیر آن از اثر ۱۰ میکروگرم کمتر بود. اثرات محافظتی CDFN در مقدار دوز ۱ میکروگرم نیز به‌طور معنی‌داری کمتر گزارش شده است (۳۱). در مدل تزریق ۶- هیدروکسی دوپامین و ایجاد مدل پارکینسونی، تزریق داخل استریاتال MANF توانست نورون‌های دوپامینرژیک را از تخریب حفظ کند، لذا در سیستم عصبی مهره‌داران، MANF به‌عنوان فاکتور حاوی عملکردهای محافظت نورونی شناخته شده است. همچنین در گزارش آمده است MANF دارای اثرات محافظت نورونی بر روی تنظیم و تکامل نورون‌های دوپامینرژیک در

محیط *vitro* می‌باشد (۳۲). مطالعات نشان داده‌اند MANF دارای اثرات حفاظت عصبی و ریکاوری نورونی در مدل 6-OHDA بیماری پارکینسون می‌باشد. در مطالعه حاضر، تزریق MANF به داخل استریاتوم (دوز ۱۰ میکروگرم)، ۶ ساعت پیش از القای 6-OHDA، از تحلیل نورون‌های دوپامینرژیک نیکرال (جسم سیاه) پیشگیری کرد. همچنین در مطالعه‌ای مشخص گردید MANF (دوز ۱۰ میکروگرم) ریکاوری عملکردی سیستم mDA را ۴ هفته پس از آسیب ناشی از 6-OHDA القا می‌کند (۳۳). به‌علاوه، اخیراً نشان داده شده است پروتئین MANF در برابر آسیب ایسکمی مغز ناشی از انسداد شریان میانی مغزی در بدن موش‌های زنده، نقش حفاظتی دارد (۲۹). از آنجایی که MANF نقش حفاظت سلولی در برابر استرس ER را در آزمایشگاه نشان داده است، لذا در نتیجه می‌تواند اثرات حفاظت عصبی در مقابل بیماری‌های تحلیل عصبی داشته باشد. در تحقیقی O'Callaghan و Kelly (سال ۲۰۰۷) با بررسی تأثیر یک پروتکل ورزشی اجباری کوتاه‌مدت بر عملکرد هیپوکامپ در موش‌های نر جوان و مسن و یستار نشان دادند فقط در موش‌های جوان، بهبود در LTP القایی به‌وسیله ورزش با افزایش BDNF در ناحیه شکنج دندانه‌ای، همبستگی دارد. نتایج این تحقیق نشان داد ۷ روز تمرین ورزشی تأثیری روی یادگیری فضایی ندارد (۳۳). Siamilis و همکاران (سال ۲۰۰۸) در تحقیقی به این نتیجه دست یافتند که انجام ورزش منظم همراه با مداخله اکسیدان - آنتی اکسیدان منجر به افزایش BDNF، GDNF در نخاع موش‌های صحرایی می‌شود (۳۴). مطالعات متعددی اثرات آنتی اکسیدان‌های مختلف بر بیماری‌های عصبی را مورد بررسی قرار داده‌اند، که نتایج این تحقیقات با مطالعه حاضر همخوانی داشت. بنابراین، می‌توان گفت علت تأثیر مثبت عصاره گل گیاه از گیل ژاپنی، دارا بودن ترکیبات مختلفی است که فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی را نشان می‌دهند، که از جمله می‌توان به اسید کافیک، اسید کلروژنیک، اسید اولنولیک، اسید اورسولیک و آمیگدالین اشاره کرد. همچنین بتا- سیتواسترول از تولید اکسیژن فعال به‌وسیله نوتروفیل‌ها جلوگیری کرده و بدین ترتیب در پایداری غشای سلول نقش دارد (۳۵). همان‌گونه که گفته شد ورزش اختیاری که بدون اجبار و فشار توسط آزمودنی انجام شده و در نتیجه آثار التهاب‌زای ناشی

طولانی مدت نیز موجب افزایش سطح MANF در مخچه موش های سالم می شود. همچنین تمرین اختیاری طولانی مدت از کاهش سطح MANF در مخچه موش های در معرض ۶- هیدروکسی دوپامین پیشگیری می کند. از طرفی، ترکیب تمرین و عصاره، اثر مثبتی در برابر این نوروتوکسین دارد. لذا با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق احتمال می رود تمرین اختیاری طولانی مدت و مصرف عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی و یا ترکیب این دو مداخله غیردارویی و عاری از عوارض جانبی بتواند در مقابل آثار سم نورونی نقش محافظتی ایفا کند.

از استرس تمرینات شدید و اجباری را نیز به همراه ندارد، می تواند موجب تقویت سیستم آنتی اکسیدانی و ضد التهابی گردد. در پژوهش حاضر نیز عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی، تأثیر مثبتی بر علیه سم نورونی داشت.

نتیجه گیری

طبق نتایج این پژوهش، مصرف عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی به طور چشمگیری از کاهش MANF در برابر ضایعه ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین جلوگیری می کند و تمرین اختیاری

References:

- Dexter DT, Carter CJ, Wells FR, Javoy-Agid F, Agid Y, Lees A, et al. Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease. *J Neurochem* 1989;52(2):381-9.
- Henderson JM, Dunnett SB. Targeting the subthalamic nucleus in the treatment of Parkinson's disease. *Brain Res Bull* 1998;46(6):467-74.
- Delong MR. Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci* 1990;13(7):281-5.
- Stern MB. Parkinson's disease: Early diagnosis and management. *J Fam Pract* 1993;36(4):439-46.
- Mabandla MV, Russell VA. Voluntary exercise reduces the neurotoxic effects of 6-hydroxydopamine in maternally separated rats. *Behav Brain Res* 2010;211(1):16-22.
- O'Dell SJ, Gross NB, Fricks AN, Casiano BD, Nguyen TB, Marshall JF. Running wheel exercise enhances recovery from nigrostriatal dopamine injury without inducing neuroprotection. *Neuroscience* 2007;144(3):1141-51.
- Ebadi M, Srinivasan SK, Baxi MD. Oxidative stress and antioxidant therapy in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* 1996;48(1):1-19.
- Zhou C, Huang Y, Przedborski S. Oxidative stress in Parkinson's disease: A mechanism of pathogenic and therapeutic significance. *Ann N Y Acad Sci* 2008;1147:93-104.
- Baluchnejad Mojarad T, Roghani M, Mafakheri M. Protective effect of aqueous extract of silybum marianum in 6-hydroxydopamine-induced model of parkinsonism in mal rat: A behavioral, biochemical and histological study. *Koomesh* 2011;12(4):459-65. [Full Text in Persian]
- Tanaka K, Nishizono S, Makino N, Tamaru S, Terai O, Ikeda I. Hypoglycemic Activity of eriobotrya Japonica seeds in type 2 diabetic rats and mice. *Osamu Biosci Biotechnol Biochem* 2008;72(3):686-93.
- Uto T, Suangkaew N, Morinaga O, Kariyazono H, Oiso S, Shoyama Y. Eriobotryae folium extract suppresses LPS-Induced iNOS and COX-2 expression by inhibition of NF-B and MAPK activation in murine macrophages. *Am J Chin Med* 2010;38(5):985-94.
- Yotoka J, Takuma D, Hamada A, Onogawa M, Yoshioka S, Kusunose M, et al. Scavenging of reactive oxygen species by eriobotrya Japonica seed extract. *Biol Pharm Bull* 2006;29(3):467-71.
- Wu T, Hallett M. The cerebellum in Parkinson's disease. *Brain* 2013;136(Pt 3):696-709.
- Lindholm P, Saarma M. Novel CDNF/MANF family of neurotrophic factors. *Dev Neurobiol* 2010;70(5):360-71.

15. Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress Glutamate, and Neurodegenerative disorders. *Science* 1993;262(5134):689-95.
16. Petrova P, Raibekas A, Pevsner J, Vigo N, Anafi M, Moore MK, et al. MANF: A new mesencephalic, astrocyte-derived neurotrophic factor with selectivity for dopaminergic neurons. *J Mol Neurosci* 2003;20(2):173-88.
17. Hirsch MA, Farley BG. Exercise and neuroplasticity in persons living with Parkinson's disease. *Eur J Phys Rehabil Med* 2009;45(2):215-29.
18. Nagatsu T, Mogi M, Ichinose H, Togari A. Cytokines in Parkinson's disease. *J Neural Transm* 2000;58:143-51.
19. 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.
20. Esmaeili AH, Khavari-Nejad RA, Hajizadeh Moghaddam A, Chaichi MJ, Ebrahimzadeh MA. Effects of *Eriobotrya japonica* (Lindl.) flower extracts on mercuric chloride-induced hepatotoxicity in rats. *Chin Sci Bull* 2012;57(30):3891-7.
21. Rodríguez Díaz M, Abdala P, Barroso-Chinea P, Obeso J, González-Hernández T. Motor behavior change after intracerebroventricular injection of 6-hydroxydopamine in the rat: An animal model of Parkinson's disease. *Behav Brain Res* 2001;122(1):79-92.
22. Shachar DB, Kahana N, Kampel V, Warshawsky A, Youdim MB. Neuroprotection by novel brain permeable iron chelator, VK-28 against 6-hydroxydopamine lesion in rats. *Neuropharmacology* 2004;46(2):254-63.
23. Barim S, Raeisi A, Alaei H, Sharifi MR, Mohaddes G. Effect of forced treadmill exercise on long-term potentiation (LTP) in the dentate gyrus of hippocampus in male rats. *J Physiol Pharmacol* 2008;12(1):39-45. [Full Text in Persian]
24. Huang EJ, Reichardt LF. Neurotrophins: Roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:677-736.
25. Hashimoto K, Shimizu E, Iyo M. Critical role of brain-derived neurotrophic factor in mood disorders. *Brain Res Brain Res Rev* 2004;45(2):104-14.
26. Chen H, Zhang SM, Schwarzschild MA, Hernán MA, Ascherio A. Physical activity and the risk of Parkinson's disease. *Neurology* 2005;64(4):664-9.
27. van Praag H. Neurogenesis and exercise: Past and future directions. *Neuromolecular Med* 2008;10(2):128-40.
28. Betarbet R, Sherer TB, Di Monte DA, Greenamyre JT. Mechanistic approaches to Parkinson's disease pathogenesis. *Brain Pathol* 2002;12(4):499-510.
29. Farhoodi M, Majidi J, Talebi M, Yazdchi Marandi M, Alizadeh M, Arjhang Nia F. Study on serum homocysteine level in Alzheimer disease and its relationship with the stage of disease. *Med J Tabriz Univ Med Sci Health Serv* 2007;29(4):47-51. [Full Text in Persian]
30. Aron L, Klein R. Repairing the parkinsonian brain with neurotrophic factors. *Trends Neurosci* 2011;34(2):88-99.
31. Päivi Lindholm. Novel *cdnf/manf* protein family: Molecular structure, expression and neurotrophic activity. Institute of biotechnology and faculty of biosciences, department of biological and environmental sciences, division of genetics 2009;23(4):1-83.
32. Palgi M, Greco D, Lindström R, Auvinen P, Heino TI. Gene expression analysis of *Drosophila* *manf* mutants reveals perturbations in membrane traffic and major metabolic changes. *BMC Genomics* 2012;13:134.
33. O'Callaghan R, Kelly A. The effect of acute exercise on hippocampal function in young and aged male wistar rats. *Eur Neuropsychopharmacol* 2007;17(1):47-8.
34. Siamilis S, Jakus J, Nyakas C, Costa A, Mihalik B, Falus A, et al. The effect of exercise and oxidant-antioxidant intervention on the levels of neurotrophins and free radicals in spinal cord of rats. *Spinal Cord* 2009;47(6):453-7.
35. 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.

The Effect of Exercise with and without Consumption of Hydroalcoholic Extract of Eriobotrya Japonica Flower on Mesencephalic Astrocyte-derived Neurotrophic Factor in the Cerebellum of Rats Subjected to 6-Hydroxydopamine

Raziyeh Mohammadi^{1*}, Zia Fallah Mohammadi², Molook Mohammadi³, Aboalghasem Taghavi Holagh⁴

¹Master of Sciences in Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

²Associate Professor of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

³Master of Sciences in Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

⁴Instructor of Physical Education & Sport Sciences, Hadishahr Branch, Islamic Azad University, Hadishahr, Iran.

***Corresponding Author:**
Raziyeh Mohammadi,
Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

Email:
tumrus_ustun@yahoo.com

Received: 14 Aug, 2014

Accepted: 1 Jan, 2015

Abstract

Background and Objectives: Previous researchs has shown that exercise and antioxidants consumption have positive effect on oxidative stress. Therefore, this study was carried out aiming at investigating the effects of 12 weeks of exercise on a running wheel, with and without consumption of the extract of *Eriobotrya japonica* flowers, on MANF level in the cerebellum of rats subjected to 6-hydroxydopamine (6-OHDA).

Methods: Rats were divided into 6 groups: Base, control-treatment, training-healthy, training-treatment, extract-treatment, and training-extract-treatment. Training groups were housed individually in cages with attached running wheels, and the extracts group received 200 mg/kg bw of the extract, 3 times per week during the research period. The 6-hydroxydopamine solution (250 mg/kg bw) was stereotactically injected into intracerebroventricular (ICV) region of the brain. MANF levels in the cerebellum were measured by ELISA. Data were analyzed using one-way ANOVA and post-hoc LSD test.

Results: In this investigation, the voluntary training on running wheel along with consumption of the extract significantly prevents the decrease in MANF levels in pre-treatment groups, ($p=0.031$) and ($p=0.022$). The difference between the control-training group and supplementation group as well as other four groups was statistically significant (all $p<0.05$).

Conclusion: The results of the present study showed that pre-treatment with voluntary training or extract of *Eriobotrya japonica* flower increases neuroprotection against the stress induced by ICV injection of 6-OHDA.

Keywords: Exercise; Eriobotrya; Mesencephalon; Neurotrophic factor.