

اثر حفاظتی تمرین همراه با مصرف عصاره هیدروالکی گل گیاه ازگیل ژاپنی بر سطح فاکتور نروتروفیکی مشتق آستروسیتی ساقه مغز موش های پارکینسونی

ضیاء فلاح محمدی^{۱*}، محمد آقاسی^۱، مرجان احمدی-کرد آسیایی^۲

^۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، پردیس دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران؛ ^۲ دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، مازندران، ساری، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۱۹

چکیده:

زمینه و هدف: عصاره هیدروالکی گل گیاه ازگیل ژاپنی غنی از ترکیبات فنلی است. این مطالعه با هدف بررسی اثر محافظتی ۱۲ هفته تمرین چرخ دوار همراه با عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی بر ضایعه القاء شده با تزریق درون بطنی ۶- هیدروکسی دوپامین در سطح فاکتور نروتروفیکی مشتق آستروسیتی ساقه مغز (MANF) در موش های پارکینسونی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۵۰ سر موش به گروه های پایه، کنترل پارکینسونی، تمرین سالم، تمرین-ارکینسون، عصاره- پارکینسون و تمرین-عصاره- پارکینسون تقسیم شدند. گروه های تمرینی ۱۲ هفته روی چرخ دوار تمرین کردند. گروه های دریافت کننده عصاره نیز به مدت ۱۲ هفته و هر هفته ۳ بار عصاره را به میزان ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. ایجاد مدل پارکینسونی با تزریق محلول ۶- هیدروکسی دوپامین (6-OHDA) به صورت استریوتاکسی به داخل بطن راست مغز صورت گرفت. سطح MANF ساقه مغز با روش الیزا اندازه گیری گردید.

یافته ها: ورزش اختیاری و مصرف عصاره هر کدام به تنهایی از کاهش سطح MANF در موش های مبتلا شده به پارکینسون جلوگیری کردند ($P=0/001$). سطح MANF در گروه تمرین سالم افزایش ($P=0/001$) و در گروه کنترل پارکینسونی کاهش داشت. اما ترکیب تمرین و مصرف عصاره نتوانست از کاهش سطح MANF پیشگیری کند ($P=0/169$).

نتیجه گیری: عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی و تمرین می توانند باعث محافظت نرونی در برابر استرس ناشی از تزریق درون بطنی 6-OHDA شود و نقش حفاظتی در برابر بیماری پارکینسون دارد.

واژه های کلیدی: ازگیل ژاپنی، پارکینسون، تمرین، ۶- هیدروکسی دوپامین، فاکتور نروتروفیکی آستروسیتی ساقه مغز.

مقدمه:

بین می روند، سایر مراکز کنترل کننده حرکات بدن نیز نامنظم می گردند. این اختلال در مراکز کنترل بدن باعث به وجود آمدن علائم پارکینسون می شوند (۳). سیستم دوپامینرژیک نیگرواستریاتال نقش مهمی در سازمان بندی عملی عقده های قاعده ای (Basal ganglia) دارد. نقص عملکردی این سیستم، مشکلات حرکتی اصلی را در بیماری پارکینسون به وجود می آورد (۳). قسمت بیشتر این سیستم از نرون های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه منشاء گرفته و به طور وسیعی در نئو استریاتوم

تحلیل نرونی ناشی از بیماری پارکینسون باعث ایجاد ارتعاش در حالت استراحت، برادی کینزی (Brady Keynesian)، لرزش، سخت شدگی عضلانی و عدم تعادل وضعیتی می شود. این بیماری بر اثر از بین رفتن سلول های ترشح کننده ماده ای به نام دوپامین (پیام رسان عصبی کاتکولامینی) رخ می دهد (۲،۱). دوپامین پیام عصبی را از مغز میانی به بخش دیگری از مغز به نام جسم مخطط می برد. انتقال این پیام ها باعث تعادل حرکات بدن می شوند. هنگامی که سلول های ترشح کننده دوپامین در مغز میانی از

می کند و انتقال عصبی دوپامینرژیک در سیستم جسم سیاه- مخطط را تغییر می دهد (۱۰). در مدل موش پارکینسونی شده با ۶- هیدرووکسی دوپامین (6-Hydroxydopamine =6-OHDA)، هر دوی تمرین اختیاری و تمرین روی نوارگردان موجب پیشگیری از کاهش دوپامین در جسم مخطط با یا بدون بازگشت نقص های رفتاری گردید (۱۱). از سوی دیگر آنتی اکسیدان های طبیعی و مصنوعی زیادی در دسترس بوده و می توانند برای درمان پارکینسون استفاده شوند (۱۲). مطالعات نشان دادند که آنتی اکسیدان کرسنتین آثار حفاظتی در برابر بیماری پارکینسون دارد (۱۳). پژوهشگران گزارش کردند که عصاره آبی زرشک باعث بهبود بیماری پارکینسون در موش های صحرایی نر می شود (۱۴). همچنین نشان داده شده است که مصرف آنتی اکسیدان کوآنزیم کیو تأثیر محافظتی در برابر بیماری پارکینسون دارد و تمرینات ورزشی تأثیر آنتی اکسیدان را تقویت می کند (۱۵). فعالیت هیپوکلاسمی عصاره دانه گل گیاه ازگیل ژاپنی (*Eriobotrya japonica*) را در مدل های دیابت نوع ۲ در رت و مایس مشاهده شده است (۱۶).

بررسی های اخیر پیشنهاد نمودند که خاصیت ضد التهابی عصاره برگ این گیاه ناشی از مهار بیان سیکلواکسیناز ۲ و آنزیم سنتز کننده نیتریک اکساید (NO) می باشد (۱۷). فعالیت ضد اکسایشی عصاره دانه این گیاه را ناشی از ترکیبات زیاد بتا سیتو استرول و فعالیت مهاری آن روی پراکسیداسیون لیپیدی گزارش و تأیید شده است (۱۸). Uto و همکاران (۲۰۱۰) پیشنهاد نمودند که خاصیت ضد التهابی عصاره برگ گیاه ازگیل ژاپنی باعث مهار بیان سیکلواکسیناز ۲ و آنزیم سنتز کننده NO می گردد (۱۹). Ercisli و همکاران (۲۰۱۲) وجود ترکیبات فنولی در ازگیل را ثابت و اثرات ضد اکسایشی این عصاره را تأیید کردند (۲۰). همچنین Lu و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که دوز ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از عصاره گیاه ازگیل ژاپنی موجب کاهش معنی دار

(هسته های دمدار و پوتامن) توزیع می شود (۴). عواملی از قبیل فعالیت ورزشی و مواد طبیعی مانند آنتی اکسیدان ها در بهبود این بیماری نقش مهمی دارند. در سال های اخیر نشان داده شده است که ارتباط زیادی بین بیماری ها و عدم تحرکات بدنی وجود دارد، همچنین بین بیماری های ریشه ای و عدم تحرک ارتباط وجود دارد (۵). نشان داده شده است که تمرینات بدنی باعث محافظت از جسم سیاه در مقابل آسیب ناشی از التهابات می گردد (۶). مغز سرشار از فسفولیپید و اسیدهای چرب آزاد اشباع نشده چندگانه می باشد که هر دوی آن ها به اکسیدان ها بسیار حساس هستند. به دنبال آسیب فسفولیپیدها و اسیدهای چرب آزاد اشباع نشده چندگانه ناشی از اکسیدان ها، غشاء پلاسمایی دو لایه سلول ها به طور شدیدی تحت تأثیر قرار می گیرند. در بیماری پارکینسون غلظت اسیدهای چرب آزاد اشباع نشده چندگانه در جسم سیاه کاهش یافته در حالی که مالون دی آلدئید (MDA) که شاخص اکسیداسیون لیپید است افزایش می یابد (۷).

فعالیت ورزشی موجب کاهش نقایص بدنی و شناختی بیمارانی می شود که از اختلالات سیستم عصبی مرکزی شامل سکتة مغزی و آسیب نخاعی رنج می برند (۸). گزارش شده است که چندین عامل تروفیک ممکن است در مکانیسم های آثار مفید ورزش بر سیستم عصبی سهم باشند (۸). یک فراتحلیل نشان داد ورزش می تواند عملکرد بدنی، کیفیت وابسته به سلامت زندگی، قدرت، تعادل و سرعت گام برداشتن بیماران پارکینسونی را بهبود ببخشد (۹). در حال حاضر کمبود داروهای موثر بر حفاظت عصبی که فرآیند تحلیل نرونی را متوقف کنند احساس می شود. پژوهش های فراوان پیشنهاد می کنند که ورزش و فعالیت منظم بدنی می تواند احتمال خطر آسیب های نرونی در آینده مانند پارکینسون و دیگر بیماری های تحلیل نرونی را کاهش دهند. همچنین ورزش التیام آسیب جسم سیاه- مخطط را تسریع

بالبسر جمع آوری و خشک گردید. برای تهیه عصاره هیدروالکلی گل گیاه از گیاه ژاپنی مقدار ۱۰۰ گرم از پودر گیاه از گیاه ژاپنی با مخلوط آب و اتانول به نسبت ۸۰/۲۰ در حجم ۶۰۰ میلی لیتر اضافه شد. مخلوط به مدت ۲۴ ساعت به کمک دستگاه شیکر مدل KS500 با قدرت چرخش ۳۲۵ دور در دقیقه قرار گرفت. در مرحله بعد ابتدا از پارچه سفید منفذدار و سپس دوبار از کاغذ صافی واتمن شماره ۴ عبور داده شد. محلول صاف شده وارد بالون تقطیر شد و به کمک دستگاه تبخیر کننده چرخان (rotary evaporator) تحت خلا حلال پراکنی گردید. این عمل در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۶ ساعت انجام گرفت (۲۲). نهایتاً بعد از خشک کردن، با اضافه نمودن نرمال سالین، محلول آبی عصاره حاصل گردید. حیوانات گروه های عصاره- پارکینسون و عصاره و تمرین- پارکینسون، محلول آبی عصاره (۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) را به مدت دوازده هفته و هر هفته سه روز به صورت درون صفاقی دریافت کردند (۲۳). در ادامه موش های گروه های کنترل پارکینسونی، تمرین- پارکینسون، عصاره- پارکینسون و عصاره و تمرین- پارکینسون با تزریق داخل صفاقی کتامین (۵۰ mg/kg) و زایلازین (۴ mg/kg) بی‌هوش و به کمک دستگاه استروتاکس مدل Steolting بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون، کانول راهنمای تزریق شماره ۲۲ درون بطن سمت راست مغز موش ها با مختصات: قدامی- خلفی (AP): ۰/۸- میلی متر، جانبی (L): ۱/۶+ میلی متر و عمق از سطح جمجمه (V): ۳/۵ میلی متر قرار گرفت (۲۴). در این مرحله به کمک سیمان دندانپزشکی کانول راهنما به جمجمه محکم متصل شد. در طی یک روز بعد از جراحی، تزریق های داخل مغزی به کمک کانول تزریق شماره ۲۷ که طول آن ۱ میلی متر بلندتر از طول کانول راهنما بود انجام شد. کانول تزریق به کمک لوله پلی اتیلن به یک سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتری متصل بود. ۶- هیدروکسی دوپامین به غلظت ۲۵۰ میکروگرم در ۵ میکرولیتر محلول سالین

در غلظت گلوکوز پلاسما، کلاسترول تام و تری گلسیرید و افزایش معنی دار در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و سطح انسولین سرم در موش های دیابتی شد (۲۱).

با توجه به تحقیقات انجام شده، تاکنون در مورد تأثیر تمرین بر سطح نروتروفیکی مشتق آستروسیتی ساقه مغز (MANF= mesencephalicastrocyte- derived neurotrophic factor) موش های سالم و تأثیر تمرین، عصاره گل گیاه ازگیل، و یا ترکیب اثر همزمان هر دو در موش های مدل استرس القاء شده با سم ۶ هیدروکسی دوپامین پژوهشی صورت نگرفته است. بنابراین هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره ۱۲ هفته ای تمرین اختیاری با و بدون مصرف عصاره هیدروالکلی گل گیاه ازگیل ژاپنی بر محافظت از سطح MANF در مقابل سم ۶- هیدروکسی دوپامین در ساقه مغز موش های صحرائی نر بود.

روش بررسی:

در این مطالعه آزمایشگاهی تجربی ۵۰ سر موش صحرائی نر با نژاد ویستار از انستیتو پاستور شمال ایران (آمل) خریداری و به مرکز تحقیقات (آزمایشگاه دانشگاه مازندران) منتقل شد. حیوانات پس از ورود به محیط پژوهش و آشنایی دو هفته ای با محیط جدید و نحوه فعالیت روی چرخ دوار، به صورت تصادفی به شش گروه پایه، کنترل پارکینسونی، تمرین سالم، تمرین- پارکینسون، عصاره- پارکینسون و عصاره و تمرین- پارکینسون تقسیم شدند. گروه های تمرین سالم، تمرین- پارکینسون و عصاره و تمرین- پارکینسون به مدت ۱۲ هفته در قفسی که مجهز به چرخ دوار بود قرار گرفتند. این دستگاه مجهز به کانتر می باشد که میزان مسافت طی شده توسط هر آزمودنی را ثبت می کند. هر دور این چرخ یک متر است. میزان مسافت طی هر روز صبح ساعت ۱۰:۰۰ الی ۱۱:۰۰ ثبت شد. گل تازه گیاه ازگیل ژاپنی از مناطق اطراف

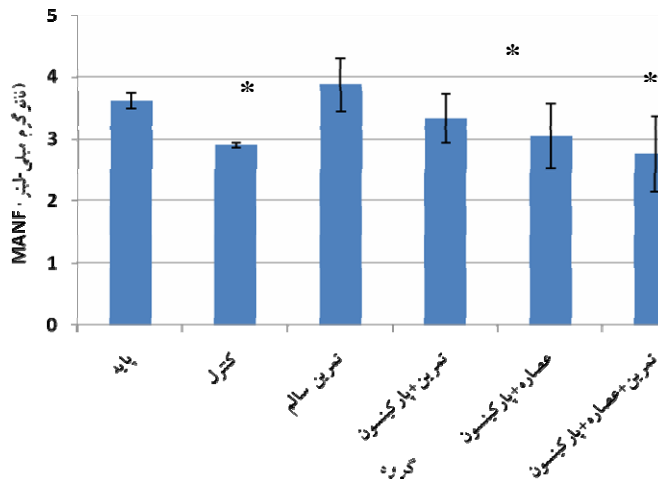
حل شده و در مدت ۶۰ ثانیه به موش های گروه های مذکور تزریق شد (۲۵). کانول تزریق علاوه بر آن به مدت ۶۰ ثانیه دیگر جهت اطمینان از جذب دارو و جلوگیری از برگشت دارو به درون کانول راهنما در محل می ماند. برای بررسی اثر تزریق (6-OHDA) و تأیید این موضوع که با تزریق ۶ هیدروکسی دوپامین موش ها پارکینسونی می شوند، از تست چرخشی با فاصله ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت استفاده شد (۲۶). در روز پنجم بعد از تزریق 6-OHDA، ابتدا موش های همه گروه ها بیهوش و سپس به سرعت بافت ساقه مغز جسم مخطط از سایر قسمت های مختلف مغز جدا شده و در ازت مایع قرار می گرفت. در ادامه بعد از هموژنایز بافت در محلول بافر فسفات سالین (PH=۷/۴)، نمونه در مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. برای سنجش غلظت MANF از کیت MANF ELISA موش خریداری شده از شرکت کازویایو ژاپن استفاده شد. ضریب پراکندگی و درجه حساسیت این روش به ترتیب ۰/۸ و ۰/۰۷۸ < نانوگرم بر میلی لیتر بود. در این پژوهش به منظور بررسی تفاوت های موجود بین گروه های تجربی و کنترل از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ONE-WAY ANOVA) استفاده شد. همچنین آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی داری $P \leq 0/05$ برای بررسی تفاوت بین گروهی استفاده شد. همه تجزیه و تحلیل های آماری به وسیله نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام شد.

یافته ها:

نتایج نشان داد وزن آزمودنی های گروه های مختلف با هم تفاوت دارند، اما این تفاوت معنی دار نبود. به نظر می رسد که مصرف این عصاره با افزایش وزن همراه نبوده و همچنین بین بیماری پارکینسون و

تغییرات وزن احتمالاً رابطه ای وجود ندارد. گروه تمرین سالم به طور میانگین بیشترین مسافت تمرین اختیاری را به خود اختصاص دادند (5428 ± 1349 متر در روز) و گروه تمرین- پارکینسون مسافت کمتری را نسبت به گروه تمرین سالم داشته اند (5229 ± 764 متر در روز)؛ اما در مقایسه با گروه تمرین- عصاره- پارکینسونی مقدار بیشتری تمرین کرده اند (4022 ± 889 متر در روز). تفاوت بین گروه تمرین سالم با گروه تمرین- پارکینسون ($P=0/002$) و گروه تمرین- عصاره- پارکینسون ($P=0/007$) معنی دار بود.

نتیجه حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که سطح MANF ساقه مغز گروه های پایه، تمرین سالم، عصاره- پارکینسون و گروه تمرین- پارکینسون نسبت به گروه کنترل پارکینسونی تفاوت معنی دار دارد ($P=0/001$)؛ اما گروه تمرین- عصاره- پارکینسون با گروه کنترل پارکینسونی تفاوت معنی دار نداشت ($P=0/169$)، (نمودار شماره ۱). نتایج نشان داد که تمرین اختیاری و مصرف عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی هر کدام به تنهایی از کاهش سطح MANF ساقه مغز موش هایی که به وسیله تزریق داخل بطنی سم عصبی ۶- هیدروکسی دوپامین دچار استرس و اکسایش شده بودند پیشگیری کرد؛ اما در گروهی که همزمان تمرین روی چرخ دوار داشت و عصاره را نیز دریافت کرد پیشگیری از کاهش سطح MANF مشاهده نشد. یافته دیگر این پژوهش در مورد گروه تمرین سالم است که تمرین اختیاری سطح MANF را در ساقه مغز افزایش داد که به خاطر تأثیرات حفاظت عصبی این فاکتور نروتروفیک جدید می تواند در پیشگیری از بیماری هایی که با تحلیل نرونی همراه هستند بسیار مفید واقع شود.



نمودار شماره ۱: میانگین سطح فاکتور نروتروفیک مشتق آستروسیتی (MANF) در گروه های مطالعه

* $P=0.01$ در مقایسه با کنترل

بحث:

درون زا را در مغز افزایش می دهد و باعث تنظیم کاهشی گیرنده های گلوتامات که در سمیت تحریکی نقش دارند می گردد. اجرای ورزش در آزمودنی های انسانی باعث زنده ماندن نرون های دوپامینرژیک در جسم سیاه می شود و از این طریق سنتز دوپامین افزایش می یابد. همچنین تمرین روی نوارگردان باعث کاهش علائم و نشانه های بیماری پارکینسون می گردد (۳۰). پژوهشگران اثر پیشگیری چهار هفته ای تمرین روی نوارگردان در مقابل تخریب ایجاد شده به وسیله تریاق ۶- هیدروکسی دوپامین به سمت راست جسم مخطط را مورد مطالعه قرار دادند. آن ها گزارش کردند گروه های تمرینی بازگشت بهتر و سریعتری بعد از تست استوانه (Cylinder test) داشتند و در اجرای آزمون چرخشی، کاهش معنی دار چرخش در مقایسه با گروه بی تحرک داشتند. همچنین محافظت معنی دار بیشتری در مقایسه با گروه بی تحرک در مقدار تیروزین هیدروکسیلاز در جسم مخطط و قسمت متراکم جسم سیاه نشان دادند و فاکتورهای مشتق از مغز در گروه تمرین کرده افزایش داشت (۳۱). به طور معمول نرون ها دارای فعالیت سلولی بسیار زیادی هستند که مستلزم فراهم بودن همیشگی انرژی به منظور انجام عملکردهای بسیار تخصصی شامل

اولین یافته این پژوهش افزایش معنی دار سطوح MANF در گروه تمرین اختیاری است. دومین یافته مهم پژوهش حاضر بیان می کند که مصرف عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی در موش های دچار استرس شده از کاهش سطح فاکتور نروتروفیک MANF ساقه مغز پیشگیری می کند. همینطور ورزش اختیاری نیز از کاهش سطح فاکتور نروتروفیک MANF ساقه مغز در موش های دچار استرس شده پیشگیری کرد. چندین عامل شامل ژن ها، انتقال دهنده های عصبی نروتروفین ها در آثار مفید ورزش بر کارکردهای مغز مشارکت دارند. نروتروفین ها شامل عامل رشد عصب (Nerve growth factor)، عامل رشد بنیادی فیروبلاست (Basic fibroblast growth factor)، عامل رشد شبه انسولین (Insulin-like growth factor 1)، عامل نروتروفیک مشتق از مغز (Brain derived neurotrophic factor)، و نروتروفین ۳ (Neurotrophin-3) تا نروتروفین ۷، نقش کلیدی در حیات، تفکیک، ارتباط و شکل گیری نرونی ایفا می کنند (۲۷، ۲۸). از میان آن ها عامل نروتروفیک مشتق از مغز به عنوان مداخله کننده در پاتوفیزیولوژی چندین بیماری عصبی در نظر گرفته شده است (۲۹). از طرف دیگر، تمرین بدنی فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی

تنظیم فعالیت انتقال دهنده های عصبی، گیرنده ها، کانال های یونی، انتقال دهنده ها و سیناپس ها است. بنابراین میتوکندری نقش حیاتی برای حفظ هموستاز و یکپارچگی نقش های عصبی دارد. اکسایش نرونی و نقص عملکردی میتوکندری با سالمندی و فرآیند تخریب نرونی همراه است (۳۲-۳۴). چندین فاکتور نروتروفیک در مغز خصوصاً (BDNF= Brain-derived neurotrophic factor) و (GDNF= Glial cell-derived neurotrophic factor) شناسایی شده اند که در زنده ماندن نرون های مسن مؤثرند (۳۵). اثر تمرین استقامتی بر میتوکندری های مغز با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی و کاهش عوامل اکسایشی همراه است (۳۶). تمرین اجباری روی نوارگردان نیز باعث آتزیوژنز در قشر مغز و جسم مخطط می شود. این آتزیوژنز با افزایش فراهم بودن اکسیژن و گلیکوژن برای سلول ها باعث فعال شدن نرون ها می شود و از تولید رادیکال های آزاد جلوگیری می کند (۳۷،۳۸). آتزیوژنز در مغز نقش اصلی و حیاتی در بازگشت و بهبود پس از ضربه های مغزی بر عهده دارد. مطالعات انجام شده نشان می دهند که آتزیوژنز باعث تولید نرون می شود و رشد مجدد ساختارهای رگی با فراهمی نیازهای مولکولی، ریکاوری شبکه نرونی پس از آسیب را مهیا می کنند (۳۹). یکی از متداول ترین نوروٹوکسین نوروں های دوپامینی، ۶- هیدروکسی دوپامین است که از طریق ترانسپورترهای دوپامینی وارد این نوروں ها می گردد. استرس اکسایشی القا شده با 6-OHDA به واسطه افزایش گونه های واکنش پذیر اکسیژن می تواند به لیپید، پروتئین و DNA آسیب رسانده موجب تخریب این نوروں ها می شود (۴۰،۴۱). مطالعات زیادی به بررسی اثرات آنتی اکسیدان های مختلف بر بیماری های عصبی پرداخته اند. در تحقیقی اثر آب انگور قرمز که دارای خواص آنتی اکسیدانی است بر روی موش های پارکینسونی مورد بررسی قرار گرفت، استفاده از آب انگور توانست میزان چرخش در موش ها را کاهش دهد (۴۲). گزارش شده است که مصرف خوراکی عصاره گیاه جینسنگ موجب توقف

تخریب سلولی در جسم سیاه می شود و اختلالات حرکتی را در موش های پارکینسونی شده کاهش می دهد (۴۳). Khuwaja و همکاران (۲۰۱۱) اثر مکمل آنتی اکسیدانی کورکومین را بر روی بیماری پارکینسون مورد بررسی قرار دادند، مصرف کورکومین موجب بهبود علائم حرکتی و بهبود در تست چرخشی موش های پارکینسونی شده توسط ۶ هیدروکسی دوپامین شد (۴۴). عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی دارای ترکیبات مختلفی است که فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی را نشان می دهند، که از جمله آن ها اسید کافئیک، اسید کلروژنیک، اسید اولنولیک، اسید اورسولیک و آمیگدالین می باشند. همچنین بتا- سیتو استرول که از تولید اکسیژن فعال به وسیله نوتروفیل ها جلوگیری می کند و بدین ترتیب در پایداری غشاء سلول نقش دارد (۲۲،۴۵). این پژوهش به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی عصاره گل این گیاه و نقش حفاظت نوروںی که این گیاه دارد برای اولین بار اثر پیش درمانی مزمن عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی را که نسبت به خود میوه یا هسته ازگیل ژاپنی دارای خواص آنتی اکسیدانی بیشتری است، بر میزان غلظت پروتئین حفاظتی MANF در برابر آسیب نوروںی ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین مورد بررسی قرار داد و نتیجه این پژوهش نشان می دهد که مصرف این عصاره بطور چشمگیری از کاهش MANF در برابر ضایعه ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین جلوگیری می کند و احتمالاً می تواند نقش حفاظتی در برابر بیماری پارکینسون داشته باشد؛ اما به طور کلی یافته این پژوهش پیشنهاد می کند که تمرین اختیاری طولانی مدت باعث افزایش سطح MANF در ساقه مغز موش های سالم می شود. همچنین تمرین اختیاری طولانی مدت از کاهش سطح MANF در ساقه مغز موش های تحت استرس مدل ۶- هیدروکسی دوپامین بیماری پارکینسون، پیشگیری می کند. همینطور مصرف مزمن عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی نیز مانند تمرین اختیاری از کاهش سطح پروتئین حفاظتی MANF در موش های تحت استرس مدل ۶ هیدروکسی دوپامین

جلوگیری کردند و تمرین باعث افزایش سطح MANF در موش های سالم شد. این پژوهش نشان داد که پیش درمان با استفاده از تمرینات ورزشی اختیاری یا عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی ممکن است سبب افزایش محافظت نرونی عصبی در برابر استرس ناشی از تزریق درون بطنی ۶ هیدروکسی دوپامین شود و می تواند دارای نقش حفاظتی در برابر بیماری پارکینسون باشد.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان بر خود لازم می دانند تا از کلیه افرادی که در انجام این پژوهش ما را یاری رساندند تشکر کنند.

بیماری پارکینسون، جلوگیری کرد. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق احتمال می رود تمرین اختیاری طولانی مدت و یا مصرف عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی بتواند از ابتلا به بیماری پارکینسون پیشگیری کند.

نتیجه گیری:

در این پژوهش ورزش اختیاری و مصرف عصاره هر کدام به تنهایی از کاهش سطح MANF در موش های مبتلا شده به پارکینسون جلوگیری کردند. همچنین سطح MANF در گروه تمرین سالم افزایش و در گروه کنترل پارکینسونی کاهش داشت. به عبارت بهتر تمرین و عصاره هر کدام به طور برجسته ای از کاهش سطح MANF در موش های پارکینسونی

منابع:

1. Tadibi V, Yosefi B, Taheri HR, Taherzadeh J, Taherzadeh M. The impact of a physical therapy regimen on motor function in people with parkinson disease. *World J Sport Sci*. 2008; 1(1): 48-53.
2. 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.
3. Buob A, Winter H, Kinderman M, Becker G, Möller JC, Oertel, WH, et al. Parasympathetic but not sympathetic cardiac dysfunction at early stages of Parkinson's disease. *Clin Res Cardiol*. 2010; 99(11): 701-6.
4. Brochard V, Combadiere B, Prigent A, Laouar Y, Perrin A, Beray-Berthat V, et al. Infiltration of CD4+ lymphocytes into the brain contributes to neurodegeneration in a mouse model of Parkinson disease. *J Clin Invest*. 2009; 119(1): 182-92.
5. 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(Suppl 3): S42-5.
6. Mabandla M, Russell V. Voluntary exercise reduces the neurotoxic effects of 6-hydroxydopamine in maternally separated rats. *Behav Brain Res*. 2010; 211(1): 16-22.
7. 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.
8. Yasuhara T, Hara K, Maki M, Matsukawa N, Fujino H, Date I, et al. Lack of exercise, via hindlimb suspension, impedes endogenous neurogenesis. *Neuroscience*. 2007; 149(1): 182-91.
9. Goodwin VA, Richards SH, Taylor RS, Taylor AH, Campbell JL. The effectiveness of exercise interventions for people with Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord*. 2008; 23(5): 631-40.
10. 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.

11. Poulton NP, Muir GD. Treadmill training ameliorates dopamine loss but not behavioral deficits in hemi-parkinsonian rats. *Exp Neurol*. 2005; 193(1): 181-97.
12. 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; 11(47): 93-104.
13. Arianpor R, Joghataiy M, Roghani M, nobakht M, Askari H. Quercetin effects on behavioral and histological changes in experimental models of Parkinson's disease in the adult system Nigrastriat. *J Iran Anat Sci*. 2006; 1(3): 225-39.
14. Salar F, Ziaiy A, Nasri S, Roghani M, Kamalinejad M. Neuronal protective effect of aqueous extract of barberry in rats model of Parkinson's disease. *J Iran Anat Sci*. 2010; 4(36): 89-96.
15. Nejadi A, Ghazi F, Rasoli H, Bakhtiary M, Ataiy Z, Marzban M. Therapeutic effects of bone marrow stromal cells and Coenzyme Q10 in experimental models of Parkinson's mice. *J Anatom*. 2009; 28(29): 85-97.
16. 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. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2008; 72(3): 686-93.
17. 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-kappaB and MAPK activation in murine macrophages. *Am J Chin Med*. 2010; 38(5): 985-94.
18. Yokota 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.
19. 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-kappaB and MAPK activation in murine macrophages. *Am J Chin Med*. 2010; 38(5): 985-94.
20. Ercisli S, Gozlekci S, Sengulc M, Hegedus A, Tepe S. Some physicochemical characteristics, bioactive content and antioxidant capacity of loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) fruits from Turkey. *Sci Hort (Amsterdam)*. 2012; 148: 155-59.
21. Lu H, Chen J, Li WL, Ren BR, Wu JL, Zhang HQ. Hypoglycemic effect of the total flavonoid fraction from *folium Eriobotryae*. *Phytomedicine*. 2009; 16(10): 967-71.
22. 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.
23. Esmaeili AH, Khavari-Nejad RA, Hajizadeh Moghaddam A, Chaichi J, Ebrahimzadeh MA. Effects of *Eriobotrya japonica* (Lindl.) flower extracts on mercuric chloride-induced hepatotoxicity in rats. *Chin Sci Bull*. 2012; 57(30): 3891-97.
24. Rodríguez 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.
25. Shachar D, Kahana N, Kampel V, Warshawsky A, Youdim M. Neuroprotection by novel brain permeable iron chelator, VK-28 against 6-hydroxydopamine lesion in rats. *Neuropharmacology*. 2004; 46(2): 254-63.
26. Whihe WH. The laboratory rat. In: T. Pool: *UFAW Handbook on the care and management of laboratory animals* : 6th Ed. Longman scientific and technical, Harlow, UK. 1987.
27. Barimn S, Raeisi A, Alaei H, Sharifi M-R, Mohaddes G. Effect of forced treadmill exercise on long-term potentiation (LTP) in the dentate gyrus of hippocampus in male rats. *Physiol Pharmacol*. 2003; 12(1): 39 – 45.
28. Huang EJ, Reichardt LF. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci*. 2001; 24: 677-736.
29. 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.
30. 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.
31. Tajiri N, Yasuhara T, Shingo T, Kondo A, Yuan W, Kadota T, et al. Exercise exerts neuroprotective effects on Parkinson's diseases model of rats. *Brain Res*. 2010; 15(1310): 200-7.

32. Van Praag H. Neurogenesis and exercise: past and future directions. *Neuromolecular Med.* 2008; 10(2): 128-40.
33. Betarbet R, Sherer TB, Di Monte DA, Greenamyre JT. Mechanistic approaches to Parkinson's disease pathogenesis. *Brain Pathol.* 2002; 12(4): 499-510.
34. Beal MF. Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration. *Ann Neurol.* 2005; 58(4): 495-505.
35. Hennigan A1, O'Callaghan RM, Kelly AM. Neurotrophins and their receptors: roles in plasticity, neurodegeneration and neuroprotection.. *Biochem Soc Trans.* 2007 Apr; 35(Pt 2): 424-7.
36. Lau YS, Patki G, Das-Panja K, Le WD, Ahmad SO. Neuroprotective effects and mechanisms of exercise in a chronic mouse model of Parkinson's disease with moderate neurodegeneration. *Eur J Neurosci.* 2011; 33(7): 1264-74.
37. Swain RA, Harris AB, Wiener EC, Dutka MV, Morris HD, Theien BE, et al. Exercise induces angiogenesis and increases cerebral blood volume in primary motor cortex of the rat, *Neuroscience.* 2003; 117(4): 1037-46.
38. Ding YH, Luan XD, Li J, Rafols JA, Guthinkonda M, Diaz FG, Ding Y. Exercise-induced overexpression of angiogenic factors and reduction of ischemia/reperfusion injury in stroke. *Curr Neurovasc Res.* 2004; 1(5): 411-20.
39. Ohab JJ, Fleming S, Blesch A, Carmichael ST. A neurovascular niche for neurogenesis after stroke. *J Neurosci.* 2006; 26(50): 13007-16.
40. Kaakkola S, Tervainen H. Animal models of Parkinsonism. *Pharmacol Toxicol.* 1990; 67(2): 95-100.
41. Gerlach M, Riederer P. Animals model of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in man. *J Neural Transm.* 1996; 103(8-9): 987-1041.
42. Eshraghi-Jazi1 F, Alaei H, Azizi-Malekabadi H, Cheravi- Naini M, Pilehvarian AA, ciahmard Z. The effect of red grape juice and exercise, and their combination on parkinson's disease in rats. *Avicenna J Med Biotechnol.* 2012; 2(2): 90-96.
43. Lopez MV, Cuadrado MP, Ruiz-Poveda OM, Del Fresno AM, Accame ME. Neuroprotective effect of individual ginsenosides on astrocytes primary culture. *Biochim Biophys Acta.* 2007; 1770(9): 1308-16.
44. Khuwaja G, Khan MM, Ishrat T, Ahmad A, Raza SS, Ashafaq M, et al. Neuroprotective effects of curcumin on 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rats: behavioral, neurochemical and immunohistochemical studies. *Brain Res.* 2011; 1368: 254-63.
45. 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.

Neuroprotective effects of exercise with hydroalcoholic extraction of *Eriobotrya japonica* on MANF in the Brainstem of parkinson's rats

Fallah- Mohammadi Z^{1*}, Aghasi M¹, Ahmadi-Kordasiai M²

¹Sport Physiology Dept., Pardis Babolsar, Mazandaran University, I.R. Iran;

²Islamic Azad University Research and Sciences Branch, Sari, I.R. Iran.

Received: 12/Aug/2013 Accepted: 10/Nov/2013

Background and aims: *Eriobotrya japonica* flower extract (EJFE) has abundant amount of phenolic compounds. This study was aimed to examine protective effects of 12 weeks of voluntary exercise on a running wheel and EJFE on intraventricular 6-hydroxydopamine-induced lesion on MANF in the Brainstem of parkinson's rats.

Methods: In this laboratory experimental study, fifty rats were divided into six groups: basic, control parkinson, training, training-parkinson, extract-parkinson and training-parkinson-extract. Training groups were housed in individual cages with attached running wheels and extracts groups during study period received 200 mg/kg extract intraperitoneally in twelve weeks three times per week. To induce parkinson, injection by 6-hydroxydopamine solution (6-OHDA) (dissolved in saline) was administered into intracerebroventricular (ICV) by a stereotaxic apparatus. MANF levels in the Brainstem were measured by ELISA.

Results: Voluntary wheel running and extract significantly prevent decreasing MANF levels in parkinson rats (P=0.001). MANF levels in training group increase and MANF levels in control parkinson decreased, but in training and extract group didn't prevent decrease levels MANF in the Brainstem of parkinson's rats (P=0.169).

Conclusion: The results of this research showed that pre-treatment with voluntary exercise and hydroalcoholic extraction of *Eriobotrya japonica* may be increased protective against 6-OHDA toxicity and have protective role against parkinson disease.

Keywords: *Eriobotrya japonica*, Exercise, 6-hydroxydopamine, MANF, Parkinson.

Cite this article as: Fallah- Mohammadi Z, Aghasi M, Ahmadi- Kordasiai M.

Neuroprotective effects of exercise with hydroalcoholic extraction of *Eriobotrya japonica* on MANF in the Brainstem of parkinson's rats. J Shahrekord Univ Med Sci. 2014; 16(3): 43-52.

***Corresponding author:**

Sport Physiology Dept., Mazandaran University, Mazandaran, I.R. Iran. Tel: 00989111127633,

E-mail: zibafalm@yahoo.com