

مقاله اصلی

اثر هشت هفته تمرین هوازی همراه با مکمل ویتامین E بر نشانگرهای آپوپتوزی در بافت مغز موش‌های صحرایی مبتلا به پارکینسون

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۲۱- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۲۷

خلاصه

مقدمه: هدف مطالعه حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرین هوازی (AT) و مکمل ویتامین E (VE) بر Bax و Bcl-2 در بافت مغز موش‌های صحرایی مبتلا به پارکینسون بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگو-داولی (سن ۱۴-۱۶ ماه و وزن ۲۵۰ تا ۲۷۰ گرم) پارکینسونی شده ۲ mg/kg رزپین (Res) به گروه‌های (۱) Res، (۲) شم (Sh/حلال ویتامین E)، (۳) AT، (۴) VE و (۵) AT+VE تقسیم شدند. جهت بررسی اثرات Res بر متغیرها تعداد ۸ سر موش صحرایی در گروه کنترل سالم (HC) قرار گرفتند. تمرین هوازی به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته و هر جلسه مدت ۱۵-۴۸ دقیقه با سرعت ۱۰-۲۴ متر بر دقیقه انجام شد. VE نیز روزانه ۳۰ mg/kg به صورت خوراکی مصرف شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد ($P \leq 0.05$).

نتایج: در گروه AT، VE، AT+VE مقادیر Bax/Bcl-2 و Bax/Bcl-2 پایین‌تر و مقادیر Bcl-2 بالاتر از گروه Res بود ($P=0.001$). همچنین مقادیر Bax در گروه VE ($P=0.02$) و AT+VE ($P=0.001$) به طور معنی‌داری کمتر از گروه AT بود؛ همچنین مقادیر Bcl-2 در گروه AT+VE به طور معنی‌داری بالاتر از گروه AT و VE بود ($P=0.001$).

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد تمرین هوازی و ویتامین E هم به تنهایی و هم به طور همزمان نقش مطلوبی در کاهش نشانگرهای آپوپتوز بافت مغز در شرایط ابتلا به بیماری پارکینسون دارند.

کلمات کلیدی: تمرین هوازی، ویتامین E، آپوپتوز، پارکینسونی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

فاطمه صادقی^۱

جمشید بنایی بروجنی^{۲*}

الهام افتخاری^۳

سعید کشاورز^۴

^۱ دانشجوی دکتری، گروه علوم ورزشی،

واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی،

نجف آباد، ایران

^۲ گروه علوم ورزشی، واحد نجف آباد،

دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران

(نویسنده مسئول)

^۳ گروه علوم ورزشی، واحد نجف آباد،

دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران

^۴ گروه علوم ورزشی، واحد نجف آباد،

دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران

Email: banaii9557@iau.ir

مقدمه

بیماری پارکینسون^۱ (PD) به عنوان دومین بیماری شایع نروژنراتیو و وابسته به سن است و با افزایش سن خطر ابتلا به این بیماری افزایش می یابد (۱). بر اساس مطالعات به نظر می رسد در سال های اخیر ۶/۵ میلیون نفر از سالمندان بالای ۶۵ سال به بیماری PD مبتلا بوده اند و پیش بینی می شود تا سال ۲۰۴۰ تعداد این بیماران به بیش از ۱۳ میلیون نفر افزایش یابد (۲). گزارش ها نشان می دهند که اختلال در تعادل، لرزش در حالت استراحت، کندی حرکات، اختلال در بلع، شب ادراری، اختلال در عملکرد سیستم عصبی، بروز اختلالات رفتاری و کاهش کیفیت زندگی در این افراد از علائم بالینی بیماری پارکینسون هستند؛ از نظر پاتولوژی تغییرات متعددی در بافت مغز در ابتلا به PD موثر هستند (۳)؛ اما مهمترین علت پاتولوژی ابتلا به این بیماری اختلال در سیستم دوپامینرژیک و عدم تعادل بین دوپامین، سروتونین و استیل کولین در جسم سیاه است (۴). اعتقاد بر این است که افزایش گونه های فعال اکسیژن^۲ (ROS) و رادیکال های آزاد منجر به تخریب ساختار سلول عصبی می شود و به طور ویژه این روند با کاهش پروتئین لنفوم B^۳ (Bcl2) و افزایش پروتئین X مرتبط با لنفوم ۲ لنفوسیت های B^۴ (Bax) منجر به بروز آپوپتوز نورونی می شود (۴-۶).

با توجه به بروز اختلال در سبک زندگی بیماران دارای اختلالات عصبی محققین به ارائه راهکار های درمان غیر تهاجمی روی آورده اند. به نظر می رسد انجام فعالیت های بدنی منظم و طولانی مدت به عنوان راهکاری مطلوب در پیشگیری و درمان برخی از بیماری های سیستم عصبی باشد (۷). به عقیده محققین ورزش می تواند موجب بهبود جریان خون مغز، بهبود عملکرد شناختی، افزایش حافظه، بهبود تعادل و کاهش اضطراب و افسردگی در بیماری های نروژنراتیو شوند (۸). به طور اختصاصی تر مطالعات نشان داده اند که فعالیت های ورزشی با سازگاری های آنتی

اکسیدانی و کاهش عوامل التهابی می توانند موجب مهار رادیکال های آزاد که خود مسئول فعال کردن آپوپتوز هستند شود؛ همچنین افزایش متابولیسم مغز و بهبود نروتروفین ها نیز متعاقب فعالیت های ورزشی موجب مهار آپوپتوز یا به عبارتی کاهش Bax و افزایش Bcl-2 در بافت مغز شود (۸، ۹). در این زمینه مطالعاتی انجام شده است به طوری که در مطالعه ای نتایج نشان داد هشت هفته تمرین تناوبی پر شدت منجر به کاهش بیان Bax و افزایش Bcl-2 در بافت مغز موش های صحرایی سالمند ماده گردید (۸). همچنین در مطالعه ای دیگر هشت هفته تمرین هوازی موجب افزایش عامل رشد اندوتلیال عروقی و دوپامین در بافت مغز موش های صحرایی مبتلا به پارکینسون گردید (۱۰).

اگرچه تاثیر مثبت ورزش بر عملکرد سیستم عصبی مشخص شده است، با این حال مطالعاتی نیز نشان داده اند که تمرین با الفا استرس اکسیداتیو اثرات متفاوتی بر ارگان های بدن دارد. لذا مکانیسم تاثیر فعالیت های ورزشی بر مسیر های اکسایشی، التهابی و آپوپتوزی هنوز به خوبی شناخته نشده است. بنابراین محققین علاوه بر فعالیت های ورزشی استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی را در کنار فعالیت های ورزشی در برخی از بیماری ها توصیه نموده اند (۱۱). محققین بر این عقیده اند که ویتامین E با ساختار های متفاوتی مانند آلفا و بتا توکوفرول هستند و به دلیل دارا بودن اثرات آنتی اکسیدانی می توانند در بهبود عملکرد سیستم عصبی موثر باشند (۱۱)، (۱۲). محققین نشان داده اند که ویتامین E با خنثی سازی رادیکال های آزاد موجب تقویت سیستم آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی شده و در نورونز تاثیر دارد (۱۲). به طوری که در مطالعه ای محققین نشان دادند ویتامین E موجب بهبود برخی شاخص های آنتروپومتریکی و کاهش اضطراب و افسردگی در موش های صحرایی سالمند مبتلا به بیماری آلزایمر گردید (۱۱). همچنین ۴۰ روز مصرف ویتامین E موجب بهبود نورونز در مغز موش های صحرایی گردید (۱۲). علاوه بر

³ B-cell lymphoma 2

⁴ Bcl-2-associated X protein

¹ Parkinson Disease

² Reactive oxygen species

این در مطالعه ای دیگر محققین نشان دادند که مصرف ویتامین E موجب کاهش آپوپتوز هیپوکامپ ارزیابی شده توسط روش تانل در موش های صحرایی مسموم شده با پلیونیل کلراید شد (۱۳). علاوه بر این مطالعاتی نیز تاثیر ویتامین E را در کنار فعالیت های ورزشی بررسی نمودند و نشان دادند که این دو دارای اثر سینرژیستی بر برخی اختلالات رفتاری و بهبود عملکرد جسمانی در مدل حیوانی مبتلا به بیماری آلزایمر گردید (۱۱). همچنین موک^۱ و همکاران نشان دادند که فعالیت ورزشی و مصرف ویتامین E و C موجب بهبود عملکرد شناختی و بهبود ردوکس سلولی در مغز سالمند می گردد؛ همچنین این محققین اشاره نمودند که تمرینات ورزشی با شدت متوسط در کنار مکمل های آنتی اکسیدانی اثر مطلوب تری بر عملکرد شناختی دارد (۱۴). علی رغم بررسی های انجام شده به نظر می رسد هنوز راهکار مناسبی برای پیشگیری و یا درمان بیماری پارکینسون یافت نشده است. با توجه به شیوع روز افزون و پیچیدگی های این بیماری، به نظر می رسد انجام مطالعات بنیادی برای فهم کامل تر مکانیسم آپوپتوز و پیشگیری از این روند ضروری به نظر می رسد. لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر هشت هفته تمرین هوازی (AT) همراه با مکمل ویتامین E (VE) بر نشانگرهای آپوپتوزی در بافت مغز موش های صحرایی مبتلا به پارکینسون انجام شد.

روش کار

نگهدای حیوانات

در این مطالعه تجربی و از نوع بنیادی که با طرح پس آزمون همراه با گروه کنترل انجام شد. ابتدا تعداد ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگ-داولی با سن میانگین ۱۴-۱۶ ماه با وزن تقریبی ۲۵۰ تا ۲۷۰ گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت تهیه شد و به مدت هفت روز برای سازگاری با محیط در آزمایشگاه

فیزیولوژی ورزشی حیوانی این واحد دانشگاهی نگهداری شدند. این نکته قابل ذکر است که در تمام دوره تحقیق موش های صحرایی در شرایط استاندارد شامل نور (چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته)، دما (۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی گراد)، رطوبت نسبی ۵۵ درصد، در قفس های پلی کربنات شفاف با قابلیت اتوکلاو در محیط آرام و به دور از سر و صدا نگهداری می شدند. تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در این تحقیق بر اساس معاهده هلسینکی و اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی تحت نظارت کمیته اخلاق در پژوهش های زیست پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف آباد با کد مصوب IR.IAU.NAJAFABAD.REC.1401.0542 انجام شد.

القا پارکینسون و گروه بندی

در ادامه در روز هشتم تعداد ۴۰ سر موش صحرایی در حالت ۱۲ ساعت ناشتایی و پس از بیهوشی با اتر تحت تزریق ۲ میلی گرم بر کیلوگرم از وزن بدن نورو توکسین زرزپین تهیه شده از شرکت سیگما آلدریج با کد اقتصادی Cat: 83580 حل شده در نرمال سالین قرار گرفتند. در ادامه ۱۴ روز پس از تزریق زرزپین با مشاهده حالت هایی مانند خونریزی اطراف چشم، پرخاشگری، اضطراب، پیچ و تاب های دمی، اختلال در شیوه راه رفتن، آزمون های چرخشی و در موش های صحرایی از القا پارکینسون اطمینان حاصل شد (۱۵). در ادامه موش های صحرایی مبتلا به پارکینسون به گروه های (۱) کنترل مبتلا به PD، (۲) شم (Sh/حلال ویتامین E)، (۳) AT، (۴) VE و (۵) AT+VE تقسیم شدند. همچنین برای بررسی اثرات القا بیماری پارکینسون بر متغیر های تحقیق تعداد ۸ سر موش صحرایی سالم در گروه کنترل سالم (HC) قرار داده شدند.

پروتکل تمرین هوازی

تمرین هوازی در این تحقیق به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته انجام شد. برای این منظور ابتدا موش های صحرایی

¹ Mock

بلافاصله پس از استخراج در کرایوتیوپ های ویژه نگهداری بافت قرار داده شدند و سپس به دمای ۷۰- منتقل شدند.

روش اندازه گیری متغیر ها

برای اندازه گیری Bax و Bcl-2 در این تحقیق از روش qReal Time PCR استفاده شد. بدین منظور ابتدا ۴۰ میلی گرم از بافت مغز با استفاده از آون کوبیده شد تا محلول همگن بدست آید. در ادامه استخراج RNA از بافت ها در همه گروه های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام شد. برای اطمینان از کیفیت RNA، با استفاده از ژل آگارز الکتروفورز و با استفاده از خاصیت جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر با دستگاه پیکو دراپ شرکت سیگما (ساخت آمریکا) استفاده شد. علاوه بر این برای بررسی کیفیت RNA از فرمول $C(\mu g/\mu l) = A_{260} \times \epsilon \times d/1000$ استفاده گردید. در ادامه پس از سنتز cDNA با استفاده از پروتکل شرکت سازنده در کیت فرمنتاز (K1621) و با استفاده از پرایمرهای طراحی شده (جدول ۱) از بر اساس راهنمای ژن-های PGC1 α و AMPK در سایت PUBMED واکنش رونویسی معکوس انجام شد. برای تعیین کارایی و اختصاصی بودن پرایمر ها از پیش پرایمرها با استفاده از نرم افزار موجود در سایت NCBI ارزیابی گردید، همچنین جهت اندازه گیری سطوح بیان ژنی متغیرهای تحقیق با استفاده از ژن کنترل داخلی TBP با استفاده شد و پس از اطمینان از اتمام کار دستگاه qReal Time PCR و پس از رسیدن نمونه ها به آستانه بیان^۱ (CT) جهت کمی سازی نسبت ژن مورد نظر به ژن مرجع از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد.

برای ۵ دقیقه با سرعت ۸ متر بر دقیقه گرم کردند. در ادامه در هفته اول موش های صحرایی برای مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه دویدند. از هفته دوم تمرینات، سرعت نوار گردان ۲ متر بر دقیقه (برای هر هفته) و زمان ۴/۱ دقیقه برای هر هفته اضافه شد تا در هفته هشتم سرعت به ۲۴ متر بر دقیقه و زمان به ۴۸ دقیقه تمرین رسید (۱۵).

تهیه و مصرف ویتامین E

در طول دوره تحقیق مکمل ویتامین E تهیه شده از شرکت SolarBio کشور چین با کد اقتصادی Cat: V8011 تهیه شد. سپس با توجه به تعداد و وزن موش های صحرایی در گروه های مکمل ویتامین E ابتدا روزانه ۱/۲ گرم ویتامین E با ۴/۸ سی سی دکستروز حل شد و سپس با قرار دادن آن محلول در بطری ویژه موش های صحرایی به هر موش ۰/۳ سی سی از محلول خورانده شد بدین صورت موش های صحرایی روزانه ۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن ویتامین E را به صورت خوراکی دریافت نمودند (16).

تشریح و نمونه برداری

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و در حالت ۱۲ ساعت ناشتایی ابتدا موش های صحرایی با استفاده از کتامین (۵۰ mg/kg) و زایلوزین (۲۰ mg/kg) تهیه شده از شرکت آلفاسان هلند بی هوش شدند. جهت اطمینان از بی هوشی موش های صحرایی توسط آزمون های حس درد و فشردن پا آزمون شدند و پس از اطمینان از بی هوشی کامل ابتدا حفره جمجمه ای موش های صحرایی با استفاده از کاتر شکافته شد و سپس بافت مغز موش های صحرایی به دقت جدا شد؛ بافت مغز

جدول ۱. توالی پرایمر های مورد استفاده در تحقیق

نام ژن	توالی پرایمر	اندازه محصول (bp)
TBP	Forward: 5'- GCGGGGTCATGAAATCCAGT-3' Reverse: 5'- AGTGATGTGGGGACAAAACGA-3'	۱۴۷
Bax	Forward: 5'- CTGCAGAGGATGATTGCTGA-3' Reverse: 5'- GATCAGCTCGGGCACTTTAG-3'	۱۷۴
Bcl-2	Forward: 5'- ATCGCTCTGTGGATGACTGAGTAC-3' Forward: 5'- AGAGACAGCCAGGAGAAATCAAAC-3'	۱۳۴

¹ Cycle Threshold

زوجی گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی در نرم افزار Graph Pad PRISM 9.0.0 استفاده شد. همچنین سطح معنی داری برای تمام تجزیه و تحلیل‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

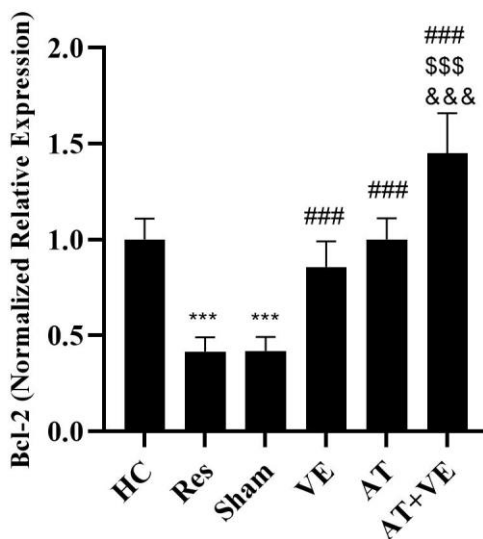
نتایج

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه نشان داد تفاوت معنی داری در مقادیر بیان ژنی Bax ($P=0/001$ و $F=47/71$)، Bcl-2 ($P=0/001$ و $F=68/66$) و Bax/Bcl-2 ($P=0/001$ و $F=123/7$) وجود دارد. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد مقادیر بیان ژنی Bax در گروه Res به طور معنی داری بالاتر از گروه HC بود ($P=0/001$). با این حال تفاوت معنی داری در گروه‌های Sham و Res مشاهده نشد ($P=0/99$). از طرفی در گروه‌های VE ($P=0/001$)، AT ($P=0/001$) و AT+VE ($P=0/001$) به طور معنی داری کمتر از گروه Res بود. همچنین در گروه VE به طور معنی داری کمتر از گروه AT بود ($P=0/02$). علاوه بر این در گروه AT+VE به طور معنی داری کمتر از گروه AT بود ($P=0/001$) (شکل ۱).

TBP: ژن کنترل داخلی (این ژن یکی از اجزای اصلی دستگاه رونویسی در سلول‌ها TATA است و به طور خاص به ناحیه ای در پروموتور ژن‌ها متصل می‌شود و به عنوان یک فاکتور رونویسی TBP عمل می‌کند و در تنظیم بیان ژن نقش دارد). Bcl2: ژن مربوط به پروتئین لنفوم B1، Bax: ژن مرتبط با لنفوم ۲ لنفوسیت‌های B2. پرایمرهای طراحی شده بر اساس راهنمای ژن‌های PGC1 α و AMPK در سایت PUBMED واکنش رونویسی معکوس انجام شد. واکنش رونویسی معکوس (Reverse Transcription) فرآیندی است که در آن RNA به DNA معکوس (cDNA) تبدیل می‌شود. این فرآیند معمولاً در مطالعات بیان ژن و تجزیه و تحلیل RNA مورد استفاده قرار می‌گیرد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

ابتدا برای بررسی نحوه توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. سپس با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک راهه استفاده شد و برای تعیین محل تفاوت بین گروه‌ها و مقایسه



شکل ۱. نتایج آنالیز واریانس یکطرفه بیان ژنی Bax در بافت مغز موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف تحقیق: HC(Healthy Control): کنترل سالم، Res(Reserpine): زرزپین، Sham: شام، VE(Vitamin E): ویتامین E، AT(Aerobic Training): تمرین هوازی، AT+VE(Aerobic Training + Vitamin E): تمرین هوازی + ویتامین E: نشان دهنده

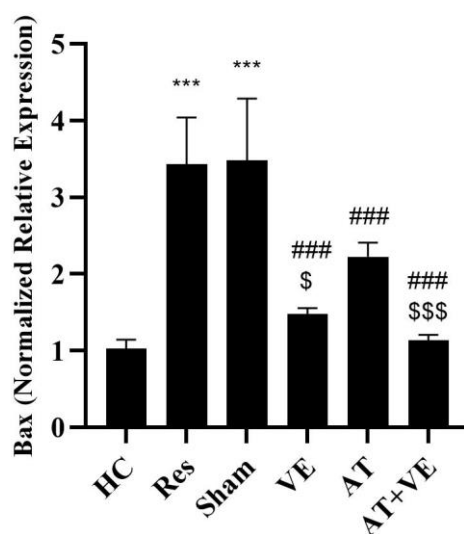
² Bcl-2-associated X protein

¹ B-cell lymphoma 2

مقایسه بین گروه های Res و Sham نسبت به گروه HC ($P=0/001$). نشان دهنده مقایسه بین گروه های VE، AT و AT+VE نسبت به گروه Res ($P=0/001$)، $P=0/05$ و $P=0/001$ و $P=0/001$ به ترتیب نشان دهنده مقایسه بین گروه های VE و AT+VE نسبت به گروه AT

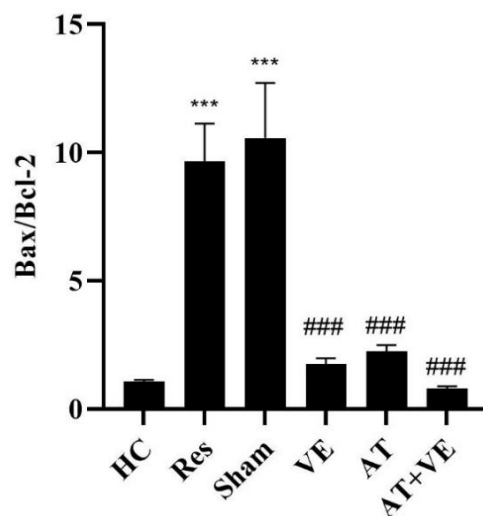
($P=0/001$) به طور معنی داری کمتر از گروه Res بود. همچنین در گروه AT+VE به طور معنی داری بالاتر از گروه های AT ($P=0/001$) و VE ($P=0/001$) بود (شکل ۲).

مقادیر بیان ژنی Bcl-2 در گروه Res به طور معنی داری کمتر از گروه HC بود ($P=0/001$). ولی تفاوت معنی داری در گروه Sham و Res مشاهده نشد ($P=0/98$). با این حال در گروه های VE ($P=0/001$)، AT ($P=0/001$) و AT+VE



شکل ۲. مقادیر بیان ژنی Bcl-2 در بافت مغز موش های صحرایی در گروه های مختلف تحقیق HC(Healthy Control): کنترل سالم، Res(Reserpine): رزپین، Sham: شام، VE(Vitamin E): ویتامین E، AT(Aerobic Training): تمرین هوازی، AT+VE(Aerobic Training + Vitamin E). ***مقایسه بین گروه های Res و Sham نسبت به گروه HC ($P=0/001$). ###مقایسه بین گروه های VE، AT و AT+VE نسبت به گروه Res ($P=0/001$). \$\$\$مقایسه بین گروه های AT+VE و AT، VE نسبت به گروه AT+VE ($P=0/001$). &&&مقایسه بین گروه AT+VE نسبت به گروه VE ($P=0/001$).

نسبت Bax به Bcl-2 در گروه Res به طور معنی داری بالاتر از گروه HC بود ($P=0/001$). تفاوت معنی داری در گروه های Sham و Res مشاهده نشد ($P=0/64$). با این حال در گروه های VE ($P=0/001$)، AT ($P=0/001$) و AT+VE ($P=0/001$) به طور معنی داری کمتر از گروه Res بود (شکل ۳).



شکل ۳. مقادیر نسبت Bax/Bcl-2 در بافت مغز موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف تحقیق: HC(Healthy Control); کنترل سالم، Res(Reserpine): رزپین، Sham: شام، VE(Vitamin E): ویتامین E، AT(Aerobic Training): تمرین هوازی، AT+VE(Aerobic Training + Vitamin E). مقایسه بین گروه‌های Res و Sham نسبت به گروه HC ($P=0/001$) ###. مقایسه بین گروه‌های VE، AT و AT+VE.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد مقادیر Bax و Bax/Bcl-2 در گروه Res به طور معنی داری بالاتر و مقادیر Bcl-2 به طور معنی داری پایین تر از گروه HC بود. اما در گروه AT مقادیر Bax و Bax/Bcl-2 پایین تر و مقادیر Bcl-2 بالاتر از گروه Res بود. امروزه به دلیل محدودیت در ارتباط با تحقیق در بافت مغز نمونه‌های انسانی محققین از مدل سازی‌های حیوانی استفاده می‌کنند؛ رزپین یکی از نوروتوکسین‌هایی است که در این زمینه برای مطالعات بنیادی بیماری پارکینسون مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۷). به عبارتی Res با افزایش گونه‌های فعال اکسیژن منجر به افزایش متیلاسیون DNA در جسم سیاه شده و با افزایش اتوفاژی و التهاب در القا بیماری پارکینسون نقش دارد (۱۷). محققین نشان داده‌اند که Res به عنوان یک نوروتوکسین با افزایش تعادل اکسیدان‌ها نسبت به آنتی اکسیدان‌ها منجر به تخریب ساختار پروتئین‌ها به ویژه نوروتروفین‌هایی مانند عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و اختلال در مسیر سیگنالی BDNF/ERK/CEREB در گلیاها و نواحی مختلف مغز از

جمله هیپوکامپ می‌شود و در نهایت با افزایش متالوپروتئازها و شاخص‌های آسیب DNA منجر به اختلال در عملکرد لنفوم شده و از این مسیر منجر به افزایش آپوپتوز و نشانگرهای آن مانند Bax و کاهش مهارکننده آپوپتوز Bcl-2 می‌گردد. از همه مهمتر محققین بر این عقیده‌اند که این نوروتوکسین منجر به برهم زدن تعادل اکسیدان-آنتی اکسیدان‌ها و همچنین نسبت Bax به Bcl-2 می‌گردد (۱۸). لذا در مطالعه حاضر نیز در تایید مطالعات پیشین با افزایش آپوپتوز نورونی و القا پارکینسون بوده و امکان استفاده از این نوع مدل سازی حیوانی و مطالعات تجربی بر آپوپتوز نورونی در بیماری پارکینسون را فراهم کرده است. از سویی فعالیت‌های بدنی منظم و طولانی مدت با بهبود ردوکس سلولی، افزایش آنتی اکسیدان‌ها، بهبود عملکرد نوروتروفین‌ها در نقش دارند؛ در این زمینه محققین نشان دادند که تمرین شنا به مدت ۱۲ هفته، پنج جلسه در هفته و هر جلسه ۳۰ دقیقه منجر به کاهش Bax/Bcl-2، کاسپاز-۳، کاسپاز-۹، لیگاند گیرنده عامل نکروز دهنده تومور آلفا (FasL)، افزایش Bcl-2 و بهبود مسیر سیگنالی BDNF/TrkB در بافت

تغذیه رسانی به مغز در بهبود متابولیسم و کاهش آپوپتوز نقش دارد (۲۳). در این زمینه محققین نشان دادند که مصرف VE منجر به فعال سازی مسیر NRF2، ARE افزایش بیان آنتی اکسیدان ها، کاهش عوامل التهابی، تعدیل سیستم دوپامینرژیک، بهبود عملکرد اورکسین و در نهایت کاهش استرس اکسیداتیو و آپوپتوز در شرایط اختلالات نورودژنراتیو می شوند (۲۴). در یک مطالعه ی مروری محققین نشان دادند که مصرف VE منجر به توسعه و بهبود عملکرد نورون نوزادان می گردد (۲۵). بنابر این مطالعه حاضر نیز در تایید مطالعات پیشین بوده و اثرات نورویولوژیکی VE را تایید می کنند. علی رغم بررسی های فراوان اطلاعات محدودی در ارتباط با نشانگرهای آپوپتوزی در بافت مغز متعاقب مدل سازی پارکینسون وجود داشت. لذا مطالعه حاضر از جنبه بررسی این مسیر سیگنالی دارای نوآوری بود.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد در گروه AT+VE مقادیر Bax و Bcl-2/Bax پایین تر و مقادیر Bcl-2 بالاتر از گروه Res بود. همچنین مقادیر Bax در گروه VE و AT+VE به طور معنی داری کمتر از گروه AT بود؛ در حالی که مقادیر Bcl-2 در گروه AT+VE به طور معنی داری بالاتر از گروه AT و VE بود. همانگونه که بیان شد مطالعات در ارتباط با VE، AT و ترکیب آنها محدود بود. با این حال مطالعاتی در ارتباط با اثر همزمان تمرین و مکمل های آنتی اکسیدانی در شرایط نورودژنراتیو انجام شده است. به عنوان مثال در مطالعه شمسی سوسهاب و همکاران نتایج نشان داد تمرین ترکیبی با و بدون روغن زیتون موجب کاهش کاسپاز-۳ و P53 در بافت مغز موش های صحرایی مبتلا به پارکینسون گردید، با این حال بهبود تعادل تنها در موش های صحرایی گروه تمرین + روغن زیتون نسبت به سایر گروه ها بهتر بود (۲۲). همچنین در مطالعه صالحی و همکاران نتایج نشان داد که تمرین تناوبی به تنهایی و تمرین تناوبی شدید همراه با VE منجر به بهبود شاخص های تن سنجی گردید، تمرین تناوبی شدید بیشتر بر عملکرد جسمانی و روانی موثر بود در حالی که ویتامین E

مغز موش های صحرایی دیابتی شده با استروپتوزتوسین گردید (۱۹). همچنین محققین نشان دادند که ورزش هوازی فزاینده به مدت شش هفته موجب افزایش عامل رشد عصبی و افزایش آنژیوتنسنین ۱ در بافت هیپوکامپ رت های نژاد لوئیس مبتلا به انسفالومیلیت خود ایمن تجربی گردید (۲۰). این اتفاق نشان دهنده افزایش جریان خون مغز و بهبود تغذیه رسانی به نرون های عصبی می باشد. در مطالعه ای دیگر نتایج نشان داد هشت هفته، پنج جلسه و هر جلسه ۲۰-۵۰ دقیقه تمرین هوازی موجب کاهش مقادیر کاسپاز-۳ و آپوپتوز بافتی در بافت مغز موش های صحرایی مبتلا به سکنه قلبی شد (۲۱). در مطالعه ای دیگر نیز محققین نشان دادند که هشت هفته تمرین تناوبی پرشدت موجب افزایش مقادیر Bcl-2 و کاهش Bax در بافت مغز موش های صحرایی ماده سالمند می گردد (۸). علاوه بر این محققین نشان دادند که هشت هفته تمرین هوازی-مقاومتی موجب کاهش کاسپاز-۳ و P53 در بافت مغز موش های صحرایی مبتلا به پارکینسون گردید (۲۲). با توجه به پیشینه موجود اگرچه نقش ضد آپوپتوزی تمرینات ورزشی بر بافت مغز در شرایط اختلالات نورودژنراتیو مشخص شده است، با این حال این مکانیسم سلولی مولکولی در شرایط بیماری پارکینسون هنوز نیاز به بررسی دارد.

نتایج نشان داد در گروه VE مقادیر Bax و Bcl-2/Bax پایین تر و مقادیر Bcl-2 بالاتر از گروه Res بود. مطالعات نشان می دهند که رژیم غذایی مناسب و سرشار از ویتامین ها نقش مطلوبی بر بسیاری از بیماری های نورودژنراتیو دارند. به عبارتی VE با بهبود عملکرد سیستم آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی و بهبود مسیر رونویسی از آنزیم های آنتی اکسیدانی منجر به کاهش رادیکال های آزاد می گردد؛ به طور اختصاصی تر محققین نشان دادند که الفا و بتا توکوفرول با فعال سازی مسیر NRF ها منجر به رونویسی از ژن های آنتی اکسیدانی و ژن های متابولیکی در نورون می شوند. علاوه بر این VE با افزایش جریان خون مغز منجر به افزایش نیتریک اکسید سنتتاز اندوتلیالی شده و در ادامه با افزایش رگرایی و

از مسیرهای مشترک اثر یکدیگر را در بیان نروتروفین‌ها در شرایط مدل سازی بیماری پارکینسون تقویت کنند.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف آباد با کد اخلاق IR.IAU.NAJAFABAD.REC.1401.052 می باشد. نویسنده از اساتید راهنما و مشاور و تمامی کسانی که در این راستا با محقق همکاری نمودند کمال تشکر را دارد.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان مقاله حاضر فاقد هرگونه تعارض منافع بوده است.

بیشتر بر عملکرد روانشناختی مدل حیوانی مبتلا به بیماری آلزایمر موثر بود (۱۱). با توجه به اینکه مطالعات نشان داده اند که تمرینات ورزشی از مسیرهای تعدیل ردوکس، القای آنتی اکسیدان متعاقب استرس اکسیداتیو ناشی از ورزش منجر به بهبود عملکرد سلولی می شوند؛ به نظر می رسد در این مطالعه نیز کاهش Bax در گروه VE و AT+VE نسبت به گروه AT به عامل استرس اکسیداتیو متعاقب فعالیت ورزشی وابسته است.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می رسد اگرچه تمرین هوازی و ویتامین E هر کدام به تنهایی موجب بهبود بیان نروتروفین‌ها می گردد. با این حال این دو مداخله می توانند

References

1. Willis AW, Roberts E, Beck JC, Fiske B, Ross W, Savica R, et al. Incidence of Parkinson disease in North America. *npj Park Dis*. 2022;8(1):170.
2. Zirra A, Rao SC, Bestwick J, Rajalingam R, Marras C, Blauwendraat C, et al. Gender differences in the prevalence of Parkinson's disease. *Mov Disord Clin Pract*. 2023;10(1):86–93.
3. Keshtkar S, Kiasalari Z, Khorasani M, Fakour M, Ghasemi R, Roghani M. The effect of nobiletin on apoptosis in midbrain and neostriatum in a rat model of Parkinson's disease induced by intranigral injection of lipopolysaccharide. *Daneshvar Med*. 2020;27(3):9–16. [in Persian]
4. Oh M, Nam J, Baek A, Seo J-H, Chae J-I, Lee S-Y, et al. Neuroprotective Effects of Licochalcone D in Oxidative-Stress-Induced Primitive Neural Stem Cells from Parkinson's Disease Patient-Derived iPSCs. *Biomedicines*. 2023;11(1):228.
5. Sivagurunathan N, Gnanasekaran P, Calivarathan L. Mitochondrial Toxicant-Induced Neuronal Apoptosis in Parkinson's Disease: What We Know so Far. *Degener Neurol Neuromuscul Dis*. 2023;1–13.
6. Li D-W, Li G-R, Lu Y, Liu Z-Q, Chang M, Yao M, et al. α -lipoic acid protects dopaminergic neurons against MPP⁺-induced apoptosis by attenuating reactive oxygen species formation. *Int J Mol Med*. 2013;32(1):108–14.
7. Hosseini SA, Salehi OR, Farzanegi P, Farkhaie F, Darvishpour AR, Roozegar S. Interactive Effects of Endurance Training and Royal Jelly Consumption on Motor Balance and Pain Threshold in Animal Model of the Alzheimer Disease. *Arch Neurosci*. 7(2).
8. Hasani S, Habibian M. The effect of regular high-intensity interval exercise on some apoptotic factors in the brain tissue of old female rats. *Feyz Med Sci J*. 2018;22(2):128–33. [in Persian]
9. Rasouli Fooshazdeh A, Abedi B, Matinhomae H, Farzanegi P. Effects of Aerobic Exercise and Tribulus Terrestris Extract on Some Indicators of Oxidative Stress and Apoptosis in Lung Tissue of Male Rats Poisoned with Hydrogen Peroxide. *Complement Med J*. 2022;12(1):84–99. [in Persian]
10. Hashemvarzi SA, Heidarianpour A, Fallahmohammadi Z, Pourghasem M. The Effect of 8 Weeks Aerobic Training After Bone Marrow Stem Cells Transplantation on Striatum VEGF and DA Levels in Parkinson Rats Model. *Sport Physiol*. 2016;8(32):101–14. [in Persian]
11. Sheikholeslami-Vatani D, Salehi OR, Hosseini SA. Psycho-physiological effects of high intensity interval training and vitamin E consumption in elderly trimethyltin-treated Alzheimer's rats. *Metab Exerc*. 2021;11(2):57–76. [in Persian]
12. Sadeghi A, Ghahari L, Yousefpour M. Vitamin E Supplementation Reduces Oxidative Stress in the Male Wistar Rats' Brain Against Polyvinyl Chloride Products. *Ann Mil Heal Sci Res*. 2019;17(2).
13. Sadeghi A, Ghahari L. Vitamin E as an antioxidant reduces apoptosis of cells in rat hippocampus following exposure to polyvinyl chloride. *Ann Mil Heal Sci Res*. 2018;16(4).
14. Mock JT, Chaudhari K, Sidhu A, Sumien N. The influence of vitamins E and C and exercise on brain aging. *Exp Gerontol*. 2017;94:69–72.

15. Moradi S, Habibi A, Tabande MR, Shakerian S. Comparing the effect of 6 weeks of continuous and interval aerobic training on vascular endothelial growth factor and superoxide dismutase enzyme in hippocampus of male rats of Parkinson's model. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci.* 2019; 1: 47-57. [in Persian]
16. Hamid NAA, Hasrul MA, Ruzanna RJ, Ibrahim IA, Baruah PS, Mazlan M, et al. Effect of vitamin E (Tri E®) on antioxidant enzymes and DNA damage in rats following eight weeks exercise. *Nutr J.* 2011;10(1):1-7.
17. Li Y, Yin Q, Wang B, Shen T, Luo W, Liu T. Preclinical reserpine models recapitulating motor and non-motor features of Parkinson's disease: Roles of epigenetic upregulation of alpha-synuclein and autophagy impairment. *Front Pharmacol.* 2022;13:944376.
18. Li Y, Yin Q, Li Q, Huo A, Shen T, Cao J, et al. Botulinum neurotoxin A ameliorates depressive-like behavior in a reserpine-induced Parkinson's disease mouse model via suppressing hippocampal microglial engulfment and neuroinflammation. *Acta Pharmacol Sin.* 2023;44(7):1322-36.
19. Cheng S-M, Lee S-D. Exercise training enhances BDNF/TrkB signaling pathway and inhibits apoptosis in diabetic cerebral cortex. *Int J Mol Sci.* 2022;23(12):6740.
20. Razi O, Parnow A, Rashidi I, Pakravan N, Nedaei SE, Motl RW. Aerobic training improves blood-brain barrier and neuronal apoptosis in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Iran J Basic Med Sci.* 2022;25(2):245.
21. Dehghanizadeh B, Fallahmohammadi Z, Kalani AT, Mirghani SJ. Effects of Aerobic Training on Caspase-3 Expression and Apoptosis in Hippocampus of Rats after Brain Ischemic Stroke. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci.* 2022; 30(1): 4431-4440. [in Persian]
22. Shamsi Soshab M, Elmieh A, Shabani R. The Effect of Combined Resistance-Aerobic Training Along with Olive Oil Consumption on some Genes Involved in Apoptosis and the Balance of Induced Parkinsonian Rats. *J Ardabil Univ Med Sci.* 2022;22(3):269-79. [in Persian]
23. Zhao R, Han X, Zhang H, Liu J, Zhang M, Zhao W, et al. Association of vitamin E intake in diet and supplements with risk of dementia: A meta-analysis. *Front Aging Neurosci.* 2022;14:955878.
24. La Torre ME, Villano I, Monda M, Messina A, Cibelli G, Valenzano A, et al. Correction: La Torre et al. Role of Vitamin E and the Orexin System in Neuroprotection. *Brain Sci.* 2021, 11, 1098. *Brain Sci.* 2022;12(12):1709.
25. Kolnik S, Wood TR. Role of Vitamin E in Neonatal Neuroprotection: A Comprehensive Narrative Review. *Life.* 2022;12(7):1083.

Original Article

The effect of eight weeks of aerobic training with vitamin E supplementation on apoptotic markers in the brain tissue of rates with Parkinson's disease

Received: 11/12/2024 - Accepted: 16/04/2

Fatemeh Sadeghi¹

Jamshid Banaei Borogeni^{*2}

Elham Eftekhari³

Saeed Keshavarz⁴

¹ PhD candidate, Department of Sports Science, Na.C., Islamic Azad University, NajafAbad, Iran

² Department of Sports Science, Na.C., Islamic Azad University, NajafAbad, Iran (Corresponding Author)

³ Department of Sports Science, Na.C., Islamic Azad University, NajafAbad, Iran

⁴ Department of Sports Science, Na.C., Islamic Azad University, NajafAbad, Iran

Email: banaii9557@iau.ir

Abstract

Introduction: The aim of the present study was to investigate the effect of eight weeks of aerobic training (AT) and vitamin E (VE) supplementation on Bax and Bcl-2 in the brain tissue of rats with Parkinson's disease.

Methods: In this experimental study, 40 male Sprague-Dawley rats (aged 14–16 months, weighing 250–270 g) with Parkinsonism induced by 2 mg/kg of Reserpine (Res) were divided into five groups: (1) Res, (2) Sham (Sh/Vitamin E solvent), (3) AT, (4) VE, and (5) AT+VE. To evaluate the effects of Res on the variables, 8 healthy rats were placed in the healthy control group (HC). Aerobic training was performed for eight weeks, five sessions per week, 15–48 minutes per session at a speed of 10–24 meters per minute. VE was administered orally at a dose of 30 mg/kg per day. One-way ANOVA and Tukey's post hoc test were used to analyze the data ($P \leq 0.05$).

Findings: In the AT, VE, and AT+VE groups, Bax and Bax/Bcl-2 levels were significantly lower and Bcl-2 levels significantly higher than in the Res group ($P = 0.001$). Moreover, Bax levels in the VE ($P = 0.02$) and AT+VE ($P = 0.001$) groups were significantly lower than in the AT group; Bcl-2 levels in the AT+VE group were significantly higher than in the AT and VE groups ($P = 0.001$).

Conclusion: It seems that both aerobic training and vitamin E, either individually or combined, play a beneficial role in reducing apoptosis markers in brain tissue under Parkinson's disease conditions.

Keywords: Aerobic Training, Vitamin E, Apoptosis, Parkinson's Disease