

## تغییرات سطوح GDNF ساقه مغز موش های پارکینسونی به دنبال مصرف عصاره گل ازگیل ژاپنی و ۱۲ هفته تمرین اختیاری

\* **راضیه محمدی:** کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، مازندران (\*نویسنده مسئول).

tumrus\_ustun@yahoo.com

**ضیاء فلاح محمدی:** دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، مازندران. zia-falm@umz.ac.ir

**خدیدجه آقاجانی:** کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، واحد علوم تحقیقات ساری، ساری، ایران. kh.aghajani@ymail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۲۸

### چکیده

**زمینه و هدف:** بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی گل ازگیل ژاپنی بر سطوح فاکتور نوروتروفیک مشتق از گلپال ساقه مغز موش های پارکینسونی به دنبال ۱۲ هفته تمرین اختیاری روی چرخ دوار.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی موش های صحرایی به ۶ گروه: کنترل (کنترل سالم)، کنترل پارکینسونی، تمرین، تمرین-سم، عصاره-سم، و تمرین-عصاره-سم تقسیم شدند. گروه تمرین به مدت ۱۲ هفته تمرین انجام داد. گروه تمرین-سم ۱۲ هفته تمرین انجام داد، سپس در معرض سم نرونی قرار گرفت. گروه تمرین-عصاره به مدت دوازده هفته تمرین کرد و هر هفته سه بار عصاره را به صورت صفاقی و به میزان ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم دریافت کرد. تخریب ساقه مغز با تزریق محلول ۶-هیدروکسی دوپامین با استریوتاکسی به داخل بطن مغز صورت گرفت. داده ها به روش One way ANOVA و آزمون تعقیبی tukey تجزیه و تحلیل شد.

**یافته ها:** بین سطوح فاکتور نوروتروفیک مشتق از گلپال ساقه مغز گروه کنترل سالم و کنترل پارکینسون تفاوت معنادار بود ( $p=0/004$ ). همچنین مقدار این پروتئین در گروه تمرین پارکینسون با گروه کنترل پارکینسون ( $p=0/015$ ) تفاوت معناداری داشت. تفاوت میانگین گروه مصرف عصاره پارکینسون با گروه کنترل پارکینسون معنادار نبود ( $p=0/191$ ). بین سطوح این فاکتور در گروه تمرین همراه با مصرف عصاره (گروه مکمل) در مقایسه با گروه کنترل پارکینسونی تفاوت معنادار وجود داشت ( $p=0/008$ ). سطوح این نوروتروفین ساقه مغز در گروه عصاره-پارکینسون با گروه کنترل پارکینسون ( $p=0/191$ ) و گروه عصاره-پارکینسون با گروه کنترل ( $p=0/164$ ) تفاوت معناداری نداشت.

**نتیجه گیری:** پیش درمان با استفاده از ورزش به تنهایی و انجام ورزش اختیاری همراه با مصرف عصاره توانست از کاهش مقدار فاکتور نوروتروفیک مشتق از گلپال در برابر سم عصبی ۶ هیدروکسی دوپامین جلوگیری کند. در نتیجه این پروتکل دارای اثر حفاظتی می باشد.

**کلیدواژه ها:** فاکتور نوروتروفیک مشتق از گلپال، ساقه مغز، عصاره گل ازگیل ژاپنی، تمرین اختیاری، ۶-هیدروکسی دوپامین.

### مقدمه

مهمی مانند بصل النخاع، پل و مغز میانی است بسیاری از پیام هایی که مغز و سایر اعضای بدن می فرستند را دسته بندی می کند. ساقه مغز دارای چند نوع سلول می باشد؛ شامل سلول های ساقه مغز جنینی، سلول های عصبی جنینی سلول های بالغ ساقه و که در پارکینسون تحت تاثیر قرار می گیرند. سلول های ساقه مغز دارای دو ویژگی مهم هستند: ۱. توانایی خودبازسازی یعنی توانایی تحمل چرخه های تقسیم سلولی مختلف با حفظ ویژگی های قبلی و ۲. توانایی تمایز. امروزه سلول های ساقه مغز به عنوان منبع نورون های دوپامینرژیک برای جایگزینی سلولی مورد توجه قرار گرفته اند (۳). محققین بیان کرده اند فعالیت

بیماری پارکینسون تقریباً در ۱۵۰ در ۱۰۰۰۰۰ نفر در اروپا و آمریکا رخ می دهد که با اختلالاتی مانند اختلالات حرکتی همراه است (۱). این بیماری یک اختلال نورودژنراتیو است که با تخریب تدریجی و وسیع نورون های دوپامینرژیک جسم سیاه همراه می باشد. نورون های استریاتوم نقش مهمی در تنظیم اعمال حرکتی بدن بر عهده دارند و یکی از آوران های اصلی آن سیستم دوپامینرژیک نیگرواستریاتال است که ۱۵-۱۰ درصد از پایانه های موجود در نئو استریاتوم را تشکیل داده و آسیب آن آثار بارزی در اعمال حرکتی بدن بر جای می گذارد (۲). ساقه مغز که شامل اجزای

تمرین اختیاری و عصاره آنتی اکسیدانی گل گیاه ازگیل ژاپنی همزمان روی ساقه مغز بیماران پارکینسون یافت نشد، لذا هدف از این تحقیق بررسی تاثیر حفاظتی تمرین اختیاری و مصرف عصاره آنتی اکسیدانی گل این گیاه بر سطح GDNF در ساقه مغز موش های پارکینسونی شده در اثر تزریق داخل بطن مغز ۶-هیدروکسی دوپامین بود.

### روش کار

گل تازه گیاه ازگیل ژاپنی از مناطق اطراف بابلسر جمع آوری شد و در سایه خشک گردید. برای تهیه عصاره هیدروالکلی گل گیاه ازگیل ژاپنی مقدار ۱۰۰ گرم از پودر گیاه به مخلوط آب و اتانول به نسبت (۸۰/۲۰) در حجم ۶۰۰ میلی لیتر اضافه شد. مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در داخل دستگاه شیکر مدل KS500 با قدرت چرخش ۳۲۵ دور در دقیقه قرار گرفت. در مرحله بعد این محلول ابتدا از پارچه سفید منفذدار و سپس دو بار 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 خلأ حلال پراکنی قرار گرفت. این عمل در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶ ساعت انجام شد (۹).

در پژوهش حاضر ۴۳ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (دوازده هفته ای) از مرکز انستیتو پاستور آمل تهیه شد. حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه، به مدت یک هفته (هفته اول) جهت تطابق با محیط جدید به صورت گروه های ۴ سر موش در قفسه های پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. در طی دوره پژوهش نیز حیوانات به غذای ساخت شرکت بهپرور (پلت) دسترسی آزاد داشتند. ضمناً آب مورد نیاز حیوان نیز به صورت آزاد و از طریق بطری های ویژه در دسترس قرار داده شد. حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه و آشنایی با محیط جدید و نحوه فعالیت روی

بدنی اثرات مفیدی بر روی سلامتی مغز می گذارد که این آثار شامل متابولیسم انرژی، تغییرپذیری سیناپسی، افزایش پروتئین های مربوط به اعمال شناختی و عملکرد میتوکندری می باشند. همچنین ورزش می تواند دارای اثر حفاظتی در مقابل چندین بیماری عصبی مانند پارکینسون و آلزایمر باشد (۴). ورزش منجر به تولید فاکتور نوروتروفیک مشتق از سلول های گلیال (GDNF) جسم سیاه که نورون های دوپامینرژیک در آن قرار دارند، می شود، به طوری که انجام ورزش شکل پذیری را در نورون های دوپامینرژیک بهبود می بخشد. این عمل به وسیله افزایش تولید GDNF انجام می گیرد. سطح GDNF در افراد پارکینسونی پایین تر از افراد سالم می باشد (۵). بعد از تشخیص بیماری پارکینسون، نگهداری آستانه ای از فعالیت بدنی می تواند یک حمایت تروفیک ایجاد کرده و بقا و رشد نورون های دوپامینرژیک را به دنبال داشته باشد. در مقابل، بی تحرکی می تواند شرایط تخریب نورونی را زمینه سازی کرده و منجر به کاهش تولید فاکتورهای تروفیک شود (۵). درمان دارویی رایج ترین روش برای درمان بیماری پارکینسون است. داروهای مانند ال دوپا که دارای عوارض روانی می باشد نشانگر ضرورت یافتن راه های درمانی بهتر با عوارض کمتر می باشد (۷). از سوی دیگر، چنانچه رادیکال های آزاد بیش از حد تولید شوند یا آنتی اکسیدان های آندروژنیک کاهش یابند آسیب نورونی ایجاد خواهد شد؛ بنابراین تعادل بین آنتی اکسیدان ها و رادیکال های آزاد برای بقای نورون ها ضروری می باشد (۶). اخیراً آنتی اکسیدان های گیاهی مورد توجه قرار گرفته اند. یکی از گیاهان دارای خواص آنتی اکسیدانی ازگیل ژاپنی است که در طب سنتی چین مورد توجه قرار گرفته است. این گیاه حاوی عناصری همچون فلاونوئیدها، فنولیک ها، ترترپنیک اسید، آمیگدالین و کاروتنوئیدها است که خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی از خود نشان می دهند. تری ترپنوئیدهای غالب موجود در ازگیل شامل پنتاسایکلکلیک اولئانولیک اسید و اوراسولیک اسید است (۸). از آنجایی که در پژوهش های قبلی اثر حفاظتی

از سایر قسمت‌های مختلف مغز جدا شد و فوراً در ازت مایع قرار گرفت. پس از منجمد شدن بافت در یخچال مخصوص در دمای زیر ۸۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. بعد از هموژنیز و سانتریفیوژ کردن میزان غلظت GDNF گروه‌ها به روش الیزا و به وسیله کیت آزمایشگاهی (ایست بیوفارم، کشور چین) اندازه‌گیری شد. ضریب پراکندگی و درجه حساسیت روش به ترتیب ۱۰٪ و ۰/۰۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر بود.

ابتدا از آزمون کولموگروف-اسمیرنف برای سنجش نرمال بودن گروه‌ها استفاده شد. همچنین همگنی واریانس‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش به منظور بررسی تفاوت‌های موجود بین گروه‌های تجربی و کنترل از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ONE-WAY ANOVA) استفاده شد. همچنین از آزمون تعقیبی tukey در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ p برای بررسی تفاوت بین گروهی استفاده شد. همه تجزیه و تحلیل‌های آماری به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام شد.

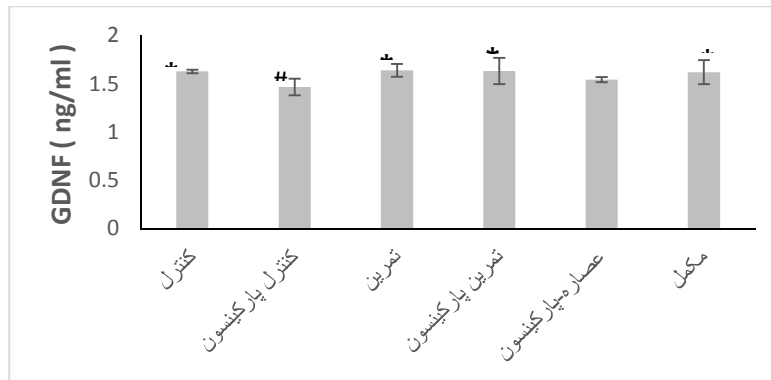
### یافته‌ها

داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد ارائه شده‌اند. بر اساس آزمون کولموگروف اسمیرنوف داده‌ها از توزیع طبیعی برخوردار بودند. بین سطوح GDNF ساقه مغز گروه تمرین پارکینسون با گروه کنترل پارکینسون ( $p=0/015$ ) تفاوت معناداری وجود داشت. همچنین بین گروه کنترل و کنترل پارکینسون تفاوت معنادار بود ( $p=0/004$ ). تفاوت میانگین گروه مصرف عصاره با گروه کنترل پارکینسون معنادار نبود ( $p=0/191$ ). بین سطوح GDNF گروه تمرین همراه با مصرف عصاره (گروه مکمل) در مقایسه با گروه کنترل پارکینسونی تفاوت معنادار وجود داشت ( $p=0/008$ ). سطوح GDNF ساقه مغز گروه عصاره-پارکینسون با گروه کنترل پارکینسون ( $p=0/191$ ) و گروه عصاره-پارکینسون با گروه کنترل ( $p=0/164$ ) تفاوت معناداری نداشت.

چرخ گردان به طور تصادفی به ۶ گروه: کنترل سالم (۸ سر)، کنترل پارکینسونی (۸ سر)، گروه تمرین سالم (۶)، گروه تمرینی که در معرض سم عصبی قرار داشت (۷)، گروه عصاره که در معرض سم عصبی قرار داشت (۸ سر) و گروهی که ابتدا آنتی اکسیدان و تمرین داشت و سپس پارکینسونی شد (۶ سر)، تقسیم شدند. گروه‌های تمرین به مدت ۱۲ هفته در قفس مخصوص مجهز به چرخ دوار قرار گرفتند. این دستگاه مجهز به کانتر می باشد که میزان مسافت طی شده توسط هر آزمودنی را ثبت می‌کند. عصاره آنتی اکسیدانی گل گیاه ازگیل ژاپنی به میزان ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم (۱۰) به صورت صفاقی و در هر هفته ۳ بار به هر کدام از موش‌های گروه آنتی اکسیدان تزریق شد.

برای انجام عمل جراحی استریوتاکسی از موش‌هایی با رده وزنی ۳۰۰-۲۲۰ گرم استفاده شد. تزریق محلول ۶-هیدروکسی دوپامین (6-OHDA) به صورت استریوتاکسی به داخل بطن مغز صورت گرفت. با استفاده از اطلس واتسون و پاکسینوس مکان مناسب برای انجام عمل استریوتاکسی با مختصات (قدامی-خلفی ۰/۵)، (جانبی ۱) و (شکمی ۱/۵) مشخص شد (۱۱). غلظت تزریق ۲۵۰ میکرولیتر و حجم تزریق ۵ میکرولیتر برای هر موش مورد استفاده قرار گرفت (۱۲). با عمل جراحی کانال ۲۷ گیج دندانپزشکی داخل جمجمه موش‌ها قرار گرفت. سپس با استفاده از سرنگ همیلتون هر میکرولیتر محلول 6-OHDA با سالین در مدت ۳۰ ثانیه تزریق شد. پس از پایان تزریق از فشر ۸ میلی متری برای جلوگیری از خروج مایع از کانال استفاده شد و موش به مدت ۱ دقیقه ثابت نگه داشته شد. برای بررسی اثر تزریق 6-ODHA و تایید این موضوع که با تزریق آن موش‌ها پارکینسونی می‌شوند، از تست چرخشی با فاصله ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت استفاده شد.

ابتدا موش‌ها با ترکیب کتامین زایلازین به نسبت ۶۰ به ۴۰ بیهوش شدند. سپس با جدا کردن سر موش با کمک قیچی مخصوص و جدا کردن کل مغز و خارج کردن آن از کاسه جمجمه، ساقه مغز



نمودار ۱- تغییرات سطح GDNF بین همه گروه های تحقیق  
\* تفاوت معنادار با گروه کنترل پارکیتسونی در سطح  $p \leq 0.05$ , # تفاوت معنادار با گروه کنترل در سطح  $p \leq 0.05$

### بحث و نتیجه گیری

با توجه به اینکه عوامل اصلی تاثیر ورزش بر روی فاکتورهای نوروتروفیک، شدت و مدت ورزش می باشند و در ورزش اختیاری شدت توسط محقق دستکاری نمی شود هدف از این تحقیق بررسی تاثیر ورزش طولانی مدت همراه با تزریق زیرصفاقی عصاره هیدروالکلی از گیل ژاپنی بر سطح GDNF ساقه مغز موش های صحرایی در معرض سم عصبی 6-OHDA بود. همان طور که از نمودار بالا مشخص است انجام ورزش اختیاری به تنهایی و تمرین همراه با عصاره توانسته است از کاهش GDNF به دنبال تزریق سم عصبی جلوگیری کند. تزریق عصاره به تنهایی تا حدودی از کاهش GDNF جلوگیری کرد اما مقدار آن معنی دار نبود. از طرف دیگر، اجرای تمرین اختیاری از کاهش سطح GDNF ساقه مغز در اثر سم عصبی 6-OHDA جلوگیری کرد؛ به عبارت دیگر، تمرینات اختیاری احتمالاً تأثیر پیش درمان بر سلول های عصبی ترشح کننده GDNF در ساقه مغز آزمودنی های تحقیق حاضر داشته است. همان طور که گفته شد تمرین به تنهایی توانست از کاهش GDNF جلوگیری کند ولی عصاره به تنهایی تاثیر معنی داری بر روی GDNF نداشت و ترکیب تمرین و تزریق عصاره آنتی اکسیدانی توانسته است به طور معنی داری از کاهش GDNF جلوگیری کند.

ورزش منجر به تولید GDNF از سلول های گلیال ساقه مغز که نورون های دوپامینرژیک در

آن قرار دارند شده است. مکانیزم دقیق عمل GDNF در مدل های حیوانی آشکار نشده است. GDNF به سطح سلول متصل شده و منجر به فعالیت سیگنال تیروزین کیناز می شود (۱۳). با فعال شدن تیروزین کیناز تعدادی از مسیرهای سیگنالی درون سلولی که رشد و بقای سلولی را سبب می شوند، از جمله پروتئین کیناز فعال شده توسط میتوزن، فعال می شوند (۱۴). نتایج تحقیق حاضر با نتایج اسمیت و همکاران همسو است. اسمیت و همکاران در پژوهشی اثر تمرین روی نوار گردان را بر موش های ۸-۱۰ هفته ای پارکیتسونی شده با القاء MPTP بررسی کردند. تمرین روی نوارگردان عملکرد راه رفتن را بهبود بخشید و فعالیت فیزیکی را افزایش داد (۱۵). فاهرتی و همکاران استدلال کوهن و همکارانش را در مدل پارکیتسون MPTP و تمرین اختیاری تأیید کردند و جلوگیری از کاهش نورون های دوپامینرژیک را ناشی از افزایش بیان GDNF دانستند (۱۶). GDNF انتقال سیناپسی را بهبود می بخشد. تحریک بیان GDNF موجب محافظت نورونی در مغز بیماران پارکیتسونی می شود و این امر ضرورت توجه به GDNF را در درمان بیماری پارکیتسون نشان می دهد (۱۷).

گونه های فعال اکسیژن در ایجاد و بدخیمی بیماری هایی نظیر سرطان، دیابت، نقرس و بیماری مربوط به سالمندی مانند پارکیتسون موثرند. سیستم های آنتی اکسیدانی بافت های گیاهی شامل آنزیم های پالاینده ROS مانند

بالایی ایفا می‌کند. همان طور که گفته شد بین سطح GDNF و شاخص های آنتی اکسیدانی رابطه مستقیم وجود دارد. در این پژوهش برای اولین بار اثر مصرف مداوم (در هر هفته سه نوبت به صورت صفاقی) عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی را که نسبت به خود میوه یا هسته ازگیل ژاپنی دارای خواص آنتی اکسیدانی بیشتر است، بر میزان تغییرات GDNF در برابر استرس ایجاد شده در موش های مدل پارکینسونی ناشی از القاء ۶-هیدروکسی دوپامین مورد بررسی قرار گرفت. تزریق مزمن عصاره این گیاه تأثیر معنی داری بر تغییرات مقادیر GDNF به دنبال القای ۶-هیدروکسی دوپامین نداشت. با این حال، ترکیب عصاره همراه با تمرین اختیاری روی چرخ دوار نقش محافظت نورونی نشان داد. همچنین این تحقیق نشان داد که اثر ورزش بر روی محافظت نورون های ساقه مغز در برابر تحلیل نورونی ناشی از سم نورونی بیشتر از عصاره آنتی اکسیدانی ازگیل ژاپنی بوده است.

همان طور که نتایج حاصل از تحقیق نشان داد ترکیب تمرین و استفاده از ازگیل و همچنین تمرین به تنهایی توانست از کاهش GDNF جلوگیری کند. با توجه به اهمیت فاکتورهای نوروتروفیک در محافظت نورونی بخش های مختلف مغز می توان این پروتکل را برای افزایش حفاظت نورون های ساقه مغز در برابر استرس حاصل از سم ۶ هیدروکسی دوپامین به عنوان یک ابزار پیشگیرانه بدون عوارض جانبی توصیه کرد.

### منابع

1. Veronica M, Stephen CN, Ana E, Jeanelle A, Philip P, Samantha O, et al. Embryonic MGE precursor cells grafted into adult rat striatum integrate and ameliorate motor symptoms in 6-OHDA-lesioned rats cell. *Stem Cell*. 2010; 5:238-50.
2. Miller R, Beninger RJ. On the interpretation of asymmetries of posture and locomotion produced with dopamine agonists in animals with unilateral depletion of striatal dopamine. *prog in Neurobiol*. 1991; 36:229-56.
3. Su P, Loane C, Politis M. The Use of stem cells in the treatment of parkinson's disease. *Insciences J*.

کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیدها و آنزیم های سم زدای فرآورده های حاصل از پراکسیداسیون لیپید مانند گلوتاتیون-S-ترانسفراز، فسفولیپید-هیدروپراکسید گلوتاتیون پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و شبکه ای از آنتی اکسیدان هایی با جرم مولکولی کم مانند آسکوربات، گلوتاتیون، ترکیبات منلی، توکوفرول ها و کاروتنوئیدها هستند (۱۸). خواص آنتی اکسیدانی گیاهان زیادی اثبات شده است. یکی از این گیاهان ازگیل ژاپنی است. تاناکا و همکاران فعالیت هیپوکلاسیمی عصاره دانه گل گیاه ازگیل ژاپنی را در مدل های دیابت نوع ۲ در موش ها گزارش نمودند و پیشنهاد نمودند که خاصیت ضد التهابی عصاره برگ این گیاه ناشی از مهار بیان سیکلواکسیناز و آنزیم سنتز کننده NO القاء می-گردد (۱۹). نیشیوکا و همکاران فعالیت ضد اکسایشی عصاره دانه این گیاه را ناشی از ترکیبات زیاد بتاسیتواستروول و فعالیت مهاری آن روی پراکسیداسیون لیپیدی گزارش نمودند (۲۰). چان هوا و همکاران در تحقیقی به این نتیجه رسیدند که گل گیاه ازگیل ژاپنی دارای فلاونوئیدها و فنولیک فراوانی است و این دو بالاترین همبستگی را در این گیاه نشان دادند (۲۱). در مورد تأثیر مواد آنتی اکسیدانی دیگر بر روی درمان پارکینسون تحقیقاتی انجام شده است مانند گولرانا و همکاران که تأثیر کورکومین که ماده آنتی-اکسیدانی می باشد و در هند به عنوان ضد التهاب، ضد تومور، ضد ایسکمی و ضد سرطان مورد استفاده قرار می گیرد را مورد بررسی قرار دادند. آن ها از ۶-هیدروکسی دوپامین برای پارکینسونی کردن موش ها استفاده کردند. محققین به این نتیجه رسیدند که استفاده از کورکومین به مدت ۲۱ روز می تواند برای درمان پارکینسون مفید باشد (۲۲).

محققین تحقیقی را که تأثیر ازگیل بر روی GDNF را مورد بررسی قرار دهد را یافت نکردند. عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی به خاطر مقدار بالای ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی که دارد باعث کاهش گونه های فعال اکسیژن و رادیکال های آزاد می شود و از این طریق نقش محافظت نورونی

16. Faherty C, Shepherd KR, Herasimtschuk A, Smeyne R. Environmental enrichment in adulthood eliminates neuronal death in experimental Parkinsonism. *Brain Res Mol Brain Res*. 2005;134:170-9.
17. Saavedra A, Baltazar G. GDNF and PD: Less common points of view. *Towards New Therapies for Parkinson's Disease*. 2011; 10:176-216.
18. Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidant, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*. 2003; 91:179-94.
19. Tanaka K, Nishiszono YS, Nozomi M Shizuka T. Hypoglycemic activity of *Eriobotrya japonica* seeds in type 2 diabetic rats and mice. *Osamu Biosci. Biotechnol Biochem*. 2008;72(3):3686-93.
20. Nishioka AY, Yoshioka S, Kusunose M, Cui T, Hamada A, Ono M, et al. Effects of extract derived from *Eriobotrya japonica* on liver function provement in rats. *Biol Pharm Bull*. 2010;8:1053-7.
21. Chunhua Z , Chongde S, Kunsong C, Xian L. Flavonoids, phenolics, and antioxidant capacity in the flower of *Eriobotrya japonica* Lindl. *Molecular Sciences*. 2011;12: 2935-45.
22. Gulrana K, Moshahid MK, Tauheed I, Ajmal A, Syed Shadab R, Mohammad A. Neuroprotective effects of curcumin on 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rats: Behavioral, neurochemical and immunohistochemical studies. *Brain Research*. 2011;1368:254- 63.
- 2011, 1(3), 136-156.
4. Ferreira FBA, Realá CC, Rodrigues CA, Alves SA, Luiz RG, Brittoa. Short-term, moderate exercise is capable of inducing structural, bdnf-independent hippocampal plasticity. *Brain Reserch*. 2011; 12:418-31.
5. Farley BG, Fox CM, Ramig LO, McFarland DH. Intensive amplitude-specific therapeutic approaches for parkinson's disease toward a neuroplasticity-principled rehabilitation model. *Topics in Geriatric Rehabilitation*. 2008; 24:99-114.
6. Grillo CA, Piroli GG, Rossel DR, Hoskin EK, Mcewen BS, Reagon LP. Region specific increases in oxidative stress and superoxide dismutase in the hippocampus of diabetic rats subjected to stress. *Neuroscience*. 2003; 121:133-40.
7. Robert J, Marinete P, Dai H, Carlos T, Joseph P. L-DOPA and psychosis: Evidence for L-DOPA-induced increases in prefrontal cortex dopamine and in serum corticosterone. *Biol Psychiatry*. 1995; 38:669-76.
8. Chunhua Z, Kunsong CH, Chongde S, Qingjun CH, Wangshu Z, Xian L. Determination of oleanolic acid, ursolic acid and amygdalin in the flower of *Eriobotrya japonica* Lindl by HPLC. *Biomed Chromatogr*. 2007; 21:755-61.
9. 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.
10. Esmaeili A, Khavari-Nejad RA, Hajizadehmoghaddam A, Chaichi M, Ebrahimzadeh M. Effects of *Eriobotrya japonica* (Lindl.) flower extracts on mercuric chloride-induced hepatotoxicity in rats. *Chin Sci Bull*. 2012; 57: 3891-7.
11. Rodríguez M, Abdala P, Barroso-Chinea P, Obeso J, González-Hernández T. Motor behavioral 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.
12. Shachar D, Kahana N, Kappel 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.
13. Al-Jarrah M. Exercise training and rehabilitation of the brain in Parkinson's disease. *Clinical Medicine Research*. 2013; 2(2):11-7.
14. Berchtold NC, Chinn G, Chou M, Kesslak JP, Cotman CW. Exercise primes a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat hippocampus. *Neuroscience*. 2005; 133:853-61.
15. Smith B, Goldberg N, Meshul C. 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.

## Pre-treatment effects of hydroalcoholic extraction of *Eriobotrya japonica* on GDNF levels in the brain stem of parkinsonian rats after 6 weeks of voluntary exercise

\***Raziyeh Mohammadi**, Master of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran (\*Corresponding author). tumrus\_ustun@yahoo.com

**Zia Fallahmohammadi**, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. zia-falm@umz.ac.ir

**Khadijeh Aghajani**, Azad University, Branch of sari, Sari. Iran. kh.aghajani@ymail.com

### Abstract

**Background:** We investigated the effects of 12 weeks of voluntary exercise on a running wheel with extraction of flowers *Eriobotrya japonica* on GDNF in the brain stem induced by 6-hydroxy dopamine.

**Methods:** In this study, 43 rats were divided into six groups: healthy control, parkinsonian control, training group, parkinsonian training, extract parkinson, training-extract parkinsonian. Training-extract group were housed in individual cages and attached to running wheels; during the study period they received 200 mg/kg extract intraperitoneally three times per week. To induce Parkinson, 6-hydroxy dopamine (6-OHDA) (dissolved in saline) was administered intracerebroventricular (ICV) by a stereotaxic apparatus. GDNF levels in the brain stem were measured by ELISA. Data was analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) and tukey post-hoc test.

**Results:** There are significant differences in the level of GDNF between training group and parkinsonian control ( $p=0.015$ ); between parkinsonian training group and parkinsonian control group there was significant difference ( $p=0.015$ ). GDNF level between training group and parkinsonian training with parkinsonian control was not significant (0.87, 0.095). There was significant difference between control and parkinsonian control group ( $p=0.004$ ). Difference between extract-parkinson group and parkinsonian control was not significant ( $p=0.191$ ). GDNF level difference between extract-training and parkinsonian control was significant ( $p=0.008$ ). Brainstem GDNF level in extract-parkinson and parkinsonian control ( $p=0.191$ ) and extract-parkinson and control ( $P=0.164$ ) was not significant.

**Conclusion:** Pre-treatment with exercise alone and exercise with extraction of *Eriobotrya japonica* could prevent the decrease of GDNF level in brainstem against neurotoxic 6-OHDA.

**Keywords:** GDNF, Brainstem, *Eriobotrya japonica*, Voluntary exercise, 6-hydroxydopamine.