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
خدیجه 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 برسطوح فاکتور نوروتروفیک مشتق از گلیال ساقه مغز موش‌های پارکینسونی به دنبال ۱۲هفته تمرین اختیاری روی چرخ دوار.

روش کار: در این مطالعه تجربی موش‌های 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 نورونی 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. داده‌ها به روش One way ANOVA و آزمون تعقیبیtukey تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: بین سطوح فاکتور نوروتروفیک مشتق از گلیال ساقه مغز گروه کنترل سالم و کنترل پارکینسون تفاوت معنادار بود (p=۰/۰۰۴). همچنین مقدار این پروتئین در گروه‌تمرین پارکینسون با گروه کنترل پارکینسون (p=۰/۰۱۵) تفاوت معناداری داشت. تفاوت میانگین گروه مصرف عصاره پارکینسون با گروه کنترل پارکینسون معنادار نبود (p=۰/۱۹۱). بین سطوح این فاکتور در گروه تمرین همراه با مصرف عصاره (گروه مکمل) در مقایسه با گروه کنترل پارکینسونی تفاوت معنادار وجود داشت (p=۰/۰۰۸). سطوح این نورتروفین ساقه مغز در گروه عصاره-پارکینسون با گروه کنترل پارکینسون (p=۰/۱۹۱) و گروه عصاره-پارکینسون با گروه کنترل (p=۰/۱۶۴) 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 گلیال در برابر سم عصبی ۶ هیدروکسی دوپامین جلوگیری کند. در نتیجه این پروتکل دارای اثر حفاظتی می باشد.

کلیدواژه‌ها: فاکتور نوروتروفیک مشتق از گلیال، ساقه مغز، عصاره گل ازگیل ژاپنی، تمرین اختیاری، ۶-هیدروکسی دوپامین.

مقدمه

بیماری پارکینسون تقریباً در ۱۵۰ در ۱۰۰۰۰۰ نفر در اروپا و آمریکا رخ می‌دهد که با اختلالاتی مانند اختلالات حرکتی همراه است (۱). این بیماری یک اختلال نورودژنراتیو است که با تخریب تدریجی و وسیع نورون‌های دوپامینرژیک جسم سیاه همراه می‌باشد. نورون‌های استریاتوم نقش مهمی در تنظیم اعمال حرکتی بدن بر عهده دارند و یکی از آوران‌های اصلی آن سیستم دوپامینرژک نیگرواستریاتال است که ۱۵-۱۰ درصد از پایانه های موجود در نئواستریاتوم را تشکیل داده و آسیب آن آثار بارزی در اعمال حرکتی بدن بر جای می‌گذارد (۲). ساقه مغز که شامل اجزای 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 سلول‌های ساقه مغز جنینی، سلول های عصبی جنینی سلول‌های بالغ ساقه و که در پارکینسون تحت تاثیر قرار می‌گیرند. سلول‌های ساقه مغز دارای دو ویژگی مهم هستند: ۱. توانایی خودبازسازی یعنی توانایی تحمل چرخه‌های تقسیم سلولی مختلف با حفظ ویژگی‌های قبلی و ۲. توانایی تمایز. امروزه سلول‌های ساقه مغز به عنوان منبع نورون‌های دوپامینرژیک برای جایگزینی سلولی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۳). محققین بیان کرده‌اند فعالیت

بدنی اثرات مفیدی بر روی سلامتی مغز می‌گذارد که این آثار شامل متابولیسم انرژی، تغییرپذیری سیناپسی، افزایش پروتئین های مربوط به اعمال شناختی و عملکرد میتوکندری می‌باشند. همچنین ورزش می‌تواند 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، می‌شود، به طوری که انجام ورزش شکل پذیری را در نورون های دوپامینرژیک بهبود می‌بخشد. این عمل به وسیله افزایش تولید GDNF انجام می گیرد. سطح GDNF در افراد پارکینسونی پایین تر از افراد سالم می‌باشد (۵). بعد از تشخیص بیماری پارکینسون، نگهداری آستانه‌ای از فعالیت بدنی می‌تواند یک حمایت تروفیک ایجاد کرده و بقا و رشد نورون‌های دوپامینرژیک را به دنبال داشته باشد. در مقابل، بی‌تحرکی می‌تواند 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. داروهایی مانند ال دوپا که دارای عوارض روانی می‌باشد نشانگر ضرورت یافتن راه های درمانی بهتر با عوارض کمتر می‌باشد (۷). از سوی دیگر، چنانچه رادیکال‌های آزاد بیش از حد تولید شوند یا آنتی اکسیدان های آندروژنیک کاهش یابند آسیب نورونی ایجاد خواهد شد؛ بنابراین تعادل بین آنتی اکسیدان‌ها و رادیکال های آزاد برای بقای نورون‌ها ضروری می‌باشد (۶). اخیراً آنتی اکسیدان‌های گیاهی مورد توجه قرار گرفته اند. یکی از گیاهان دارای خواص آنتی‌اکسیدانی 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 آنتی‌اکسیدانی بالایی از خود نشان می‌دهند. تری‌ترپنوئیدهای غالب موجود در ازگیل شامل پنتاسایکلیک اولئانولیک اسید و اوراسولیک اسید است (۸).

از آنجایی که در پژوهش‌های قبلی اثر حفاظتی 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 صحرائی نر بالغ نژاد ویستار (دوازده هفته ای) ازمرکز انستیتو پاستور آمل تهیه شد. حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه، به مدت یک هفته (هفته‌ی اول) جهت تطابق با محیط جدید به صورت گروه های ۴ سر موش در قفسه‌های پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، 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 بطری‌های ویژه در دسترس قرارداده شد.

حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه و آشنایی با محیط جدید و نحوه‌ی فعالیت روی

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 ابتداآنتی 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.

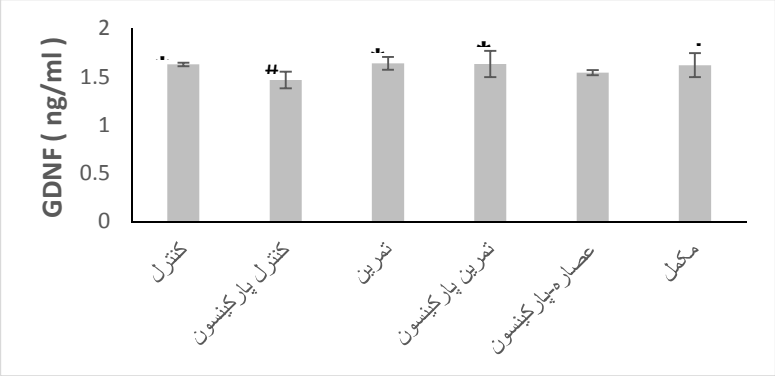
برای انجام عمل جراحی استریوتاکسی از موش‌هایی با رده وزنی ۳۰۰-۲۲۰ گرم استفاده شد. تزریق محلول ۶-هیدروکسی دوپامین (6-OHDA) به صورت استریوتاکسی به داخل بطن مغز صورت گرفت. با استفاده از اطلس واتسون و پاکسینوس مکان مناسب برای انجام عمل استریوتاکسی با مختصات (قدامی-خلفی ۰/۵)، (جانبی ۱) و (شکمی ۱/۵) مشخص شد (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 ازپایان تزریق از فنر 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 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 ازهموژنیز و سانتریفیوژ کردن میزان غلظت GDNF گروه‌ها به روش الایزا 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 گروه ها استفاده شد. همچنین همگنی واریانس ها مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش به منظور بررسی تفاوت‌های موجود بین گروه های تجربی و کنترلاز آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ONE-WAY ANOVA) استفاده شد. همچنین از آزمون تعقیبی tukey در سطح معنی‌داری $p\leq$ ۰/۰۵ برای بررسی تفاوت بین گروهی استفاده شد. همه تجزیه و تحلیل‌های آماری به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام شد.

یافته ها

داده‌ها به صورت میانگین± 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=۰/۰۱۵) تفاوت معناداری وجود داشت. همچنین بین گروه کنترل و کنترل پارکینسون تفاوت معنادار بود (p=۰/۰۰۴). تفاوت میانگین گروه مصرف عصاره با گروه کنترل پارکینسون معنادار نبود (p=۰/۱۹۱). بین سطوح GDNF گروه تمرین همراه با مصرف عصاره (گروه مکمل) در مقایسه با گروه کنترل پارکینسونی تفاوت معنادار وجود داشت (p=۰/۰۰۸). سطوح GDNF ساقه مغز گروه عصاره-پارکینسون با گروه کنترل پارکینسون (p=۰/۱۹۱) و گروه عصاره-پارکینسون با گروه کنترل (p=۰/۱۶۴) تفاوت معناداری نداشت.



نمودار ۱- تغییرات سطح GDNF بین همه گروه های تحقیق
* تفاوت معنادار با گروه کنترل پارکینسونی در سطح p≤۰/۰۵، # تفاوت معنادار با گروه کنترل در سطح p≤۰/۰۵

بحث و نتیجه گیری

با توجه به اینکه عوامل اصلی تاثیر ورزش بر روی فاکتورهای نوروتروفیک، شدت و مدت ورزش می‌باشند و در ورزش اختیاری شدت توسط محقق دستکاری نمی‌شود هدف از این تحقیق بررسی تاثیر ورزش طولانی مدت همراه با تزریق زیرصفاقی عصاره هیدروالکلی ازگیل ژاپنی بر سطح GDNF ساقه مغز موش‌های صحرایی در معرض سم عصبی ۶-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 آزمودنی‌های تحقیق حاضر داشته است. همان طور که گفته شد تمرین به تنهایی توانست از کاهش GDNF جلوگیری کند ولی عصاره به تنهایی تاثیر معنی‌داری بر روی GDNF نداشت و ترکیب تمرین و تزریق عصاره آنتی‌اکسیدانی 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 مدل‌های حیوانی آشکار نشده است. GDNF به سطح سلول متصل شده و منجر به فعالیت سیگنال تیروزین کیناز می‌شود (۱۳). با فعال شدن تیروزین کیناز تعدادی از مسیرهای سیگنالی درون سلولی که رشد و بقای سلولی را سبب می‌شوند، از جمله پروتئین کیناز فعال شده توسط میتوژن، فعال می‌شوند (۱۴). نتایج تحقیق حاضر با نتایج اسمیت و همکاران همسو است. اسمیت و همکاران در پژوهشی اثر تمرین روی نوار گردان را بر موش‌های ۱۰-۸ هفته‌ای پارکینسونی شده با القاء MPTP بررسی کردند. تمرین روی نوارگردان عملکرد راه رفتن را بهبود بخشید و فعالیت فیزیکی را ا فزایش داد (۱۵). فاهرتی و همکاران استدلال کوهن و همکارانش را در مدل پارکینسون MPTP و تمرین اختیاری تأیید کردند و جلوگیری از کاهش نورون‌های دوپامینرژیک را ناشی از افزایش بیان GDNF دانستند (۱۶). GDNF انتقال سیناپسی را بهبود می‌بخشد. تحریک بیان GDNF موجب محافظت نورونی در مغز بیماران پارکینسونی می شود و این امر ضرورت توجه به GDNF را در درمان بیماری پارکینسون نشان می‌دهد (۱۷).

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

کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیدها و آنزیم‌های سم‌زدای فرآورده‌های حاصل از پراکسیداسیون لیپید مانند گلوتاتیون-S-ترانسفراز، فسفولیپید-هیدروپراکسید گلوتلتیون پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و شبکه ای از آنتی اکسیدان‌هایی با جرم مولکولی کم مانند آسکوربات، گلوتاتیون، ترکیبات منلی، توکوفرول ها و کاروتنوئیدها هستند (۱۸). خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان زیادی اثبات شده است. یکی از این گیاهان ازگیل ژاپنی است. تاناکا و همکاران فعالیت هیپوکلایسمی عصاره دانه گل گیاه ازگیل ژاپنی را در مدل‌های دیابت نوع ۲ در موش ها گزارش نمودند و پیشنهاد نمودند که خاصیت ضد التهابی عصاره برگ این گیاه ناشی از مهار بیان سیکلواکسیناژ و آنزیم سنتز کننده NO القاء می-گردد (۱۹). نیشیوکا و همکاران فعالیت ضد اکسایشی عصاره دانه این گیاه را ناشی از ترکیبات زیاد بتاسیتواسترول 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 فلاونوئید ها و فنولیک فراوانی است و این دو بالاترین همبستگی را در این گیاه نشان دادند (۲۱). در مورد تاثیر مواد آنتی‌اکسیدانی دیگر بر روی درمان پارکینسون تحقیقاتی انجام شده است مانند گولرانا و همکاران که تاثیر 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 موش‌ها 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 تاثیر 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 گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد می‌شود و از این طریق نقش محافظت نورونی 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 موش‌های 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 نورون‌های 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 Neurobiobgy. 1991; 36:229-56.
3. Su P, Loane C, Politis M. The Uuse of stem cells in the treatment of parkinson's disease. Insciences J.

2011, 1(3), 136-156.
4. Ferreiraa FBA, Reala CC, Rodriguesb CA, Alvesa SA, Luiz RG, Brittoa. Short-term, moderate exercise is capable of inducing structural, bdnf-independent hippocampal plasticity. Brain Reaserch. 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 intracerebrovenricular 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, 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.
13. Al-Jarrah M. Exercise training and rehabilitation of the brain inParkinson'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 the1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned mouse. Brain Res. 2011;1386:70-80.
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.

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 intracerebrovenricular (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.