

## اثر تمرین اختیاری بر سطح CDFN در قشر مغز موش های مدل تجربی پارکینسونی القا شده با ۶-هیدروکسی دوپامین

نویسندگان: حسین شیروانی<sup>۱\*</sup>، وحید سبحانی<sup>۲</sup>، جلیل اصلانی<sup>۳</sup>

۱. استادیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران.

۲. استادیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران.

۳. کارشناس ارشد تربیت بدنی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران.

E-mail: shirvani.h2006@gmail.com

\* نویسنده مسئول: حسین شیروانی

### چکیده

مقدمه و هدف: فعالیت روزانه بدنی می تواند احتمال بروز بیماری پارکینسون را کاهش دهد. بنابراین هدف از این پژوهش، مطالعه تأثیر تمرینات دویدن روی چرخ دوار بر سطح CDFN قشر مغز در مدل تجربی موش های در معرض ۶-هیدروکسی دوپامین (6-OHDA) بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، ۳۰ سر موش صحرایی به طور تصادفی به چهار گروه: کنترل سالم، تمرین سالم، کنترل پارکینسونی، گروهی که ابتدا تمرین داشتند و سپس پارکینسونی شد (تمرین- تیمار)، تقسیم شدند. گروه های تمرین به مدت ۱۲ هفته در قفس مخصوص که مجهز به چرخ دوار بود، قرار گرفتند. پس از ۱۲ هفته، 6-OHDA به داخل بطن راست مغز تزریق شد و نهایتاً پنج روز بعد از تزریق داخل بطنی، بافت برداری انجام و سطح CDFN قشر مغز حیوان با روش ELISA اندازه گیری شد. داده ها به روش آزمون آماری واریانس یک طرفه بین گروه ها مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج: 6-OHDA مقدار پروتئین CDFN در قشر مغز آزمودنی های کنترل پارکینسونی شده در مقایسه با آزمودنی های کنترل سالم را کاهش داد ( $P=0/017$ ). سطح CDFN در گروه تمرین پارکینسونی بالاتر از گروه کنترل پارکینسونی بود ( $P=0/002$ ).

نتیجه گیری: نتیجه این پژوهش نشان داد که پیش درمان با استفاده از تمرینات ورزشی اختیاری سبب افزایش سطح CDFN قشر مغز شده و بنابراین موجب بالارفتن طول عمر نوروها در برابر تخریب اکسیداتیو ناشی از سمیت 6-OHDA می شود. از این رو، می توان تمرینات ورزشی اختیاری را به عنوان یک راهبرد محافظتی در برابر بیماری پارکینسون مطرح کرد.

واژگان کلیدی: تمرین اختیاری، ۶-هیدروکسی دوپامین، CDFN.

دوماهنامه علمی-پژوهشی  
دانشگاه شاهد  
سال بیست و سوم-شماره ۱۲۱  
اسفند ۱۳۹۴

دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۱۹  
آخرین اصلاح ها: ۱۳۹۴/۱۱/۲۶  
پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۰۵

## مقدمه

می‌کنند (۹). CDNF<sup>۴</sup> فاکتور جدیدی از خانواده فاکتورهای نوروتروفیک است (۱۰ و ۱۱). CDNF پروتئین نگهداری‌کننده‌ای است که می‌تواند عملکرد سلول‌های دوپامینرژیک در موش‌های مدل پارکینسونی را حفاظت کند. پیشنهاد شده است که CDNF برای درمان پارکینسون مفید باشد (۹ و ۱۱ و ۱۲)، اما مکانیسم حفاظت عصبی CDNF به درستی مشخص نیست (۹). CDNF پروتئینی است که نقش‌های مهمی نه تنها در بقای سلول‌های عصبی، بلکه در بقا، تکثیر و تفکیک سلول‌ها و بافت‌های غیرعصبی دارد. CDNF عمدتاً در سلول‌های عصبی سیستم مرکزی از جمله قشر مغز، مغز میانی، مخچه، جسم سیاه و جسم مخطط توزیع شده است (۱۲). سطوح بالای CDNF در عضله اسکلتی و بیضه انسان و موش و قلب موش کشف شده است (۱۰).

قشر مغز، بخش بیرونی نیمکره‌های مغزی را تشکیل می‌دهد که در فرایندهای عالی مغز چون تفکر و اندیشیدن نقش دارد. این بخش تفکر، آگاهی از محرک‌های حسی و کنترل ارادی حرکات را امکان‌پذیر می‌سازد (۱۳).

در تحقیقاتی که طی سال‌های اخیر صورت گرفته است، نشان داده شد که میان بیماری ریشه‌ای و عدم تحرک رابطه وجود دارد (۱۵). این بیماری از بین نخواهد رفت؛ ولی کنترل عوارض آن تا حدود زیادی جلوی ناتوان کردن و از کارافتادگی بیمار را می‌گیرد. در این راستا، ورزش با اهمیت بوده و نشان داده شده که از مشکلات ارتوپدیک مرتبط با علائم اولیه آن جلوگیری می‌کند (۱۶). ورزش دارای اثرات متناقض ایجاد استرس اکسایشی و همچنین یکی از درمان‌های مهم این بیماری‌ها می‌باشد (۱۷). در میان الگوهای ورزشی مختلف، فعالیت داوطلبانه روی چرخ‌دوار، دوی اجباری تردمیل و حرکات عضلانی مقاومتی، رایج‌ترین مدل‌های ورزشی اتخاذ شده هستند. این ورزش‌ها، جدا از مزایای بدنی خود، عملکرد شناختی را بهبود بخشیده و باز توانی

بیماری پارکینسون، شایع‌ترین اختلال نوروپاتولوژیک است که در نتیجهٔ دژنراسیون نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه مغز و پایانه‌های آن در استراتیوم به وجود می‌آید (۱). بیماری پارکینسون به سبب اختلال در مراکز کنترل بدن باعث به وجود آمدن لرزش در حالت استراحت، برادی کینزی<sup>۱</sup>، سخت‌شدگی عضلانی<sup>۲</sup> و عدم تعادل وضعیتی می‌شود (۲). عواملی از قبیل استرس اکسیداتیو و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش سطح گلوکاتیون، تخریب DNA و تجمع آهن از مهم‌ترین علل دژنراسیون نورون‌های دوپامینرژیک هستند (۳). استرس اکسیداتیو، نه تنها نورون‌های دوپامینرژیک را تخریب می‌کند، بلکه با ایجاد اختلال در فرایند فسفریلاسیون اکسیداتیو و کاهش تولید انرژی، منجر به مرگ سلول‌ها می‌شود (۴).

تصور می‌شود که استرس اکسیداتیو به دنبال تشکیل رادیکال‌های آزاد، نقش اساسی در نوروپاتولوژی این بیماری دارد (۵). تزریق داخل استریاتال ۶-هیدروکسی دوپامین (6-OHDA)<sup>۳</sup> به میزان مشخص در موش صحرایی، موجب ازدست‌رفتن پیش‌رونده و تدریجی نورون‌های دوپامینرژیک جسم سیاه می‌گردد که روند آن شباهت بسیاری با نوروپاتولوژی بیماری پارکینسون دارد و به عنوان یک مدل تجربی معتبر برای نشان دادن مراحل شروع این بیماری محسوب می‌شود (۶). نوروتوکسین 6-OHDA با تولید رادیکال‌های آزاد که خود سیتوتوکسیک هستند، سبب مختل نمودن هموستازی کلسیم از طریق افزایش ورود یا تشدید آزاد شدن از ذخایر داخل سلولی (۷)، اثر بر برنامه تنظیم ژنتیکی و القای آپوپتوز (۸) شده و موجب مرگ نورونی می‌شود.

فاکتورهای نوروتروفیک (NTFs) پروتئین‌های ترشحی‌ای هستند که به گیرنده‌های هدفشان متصل می‌شوند و از کاهش سلول‌های عصبی جلوگیری

<sup>۱</sup> Brady Keynesian

<sup>۲</sup> Muscle hardening

<sup>۳</sup> 6-Hydroxydopamine(6-OHDA)

<sup>۴</sup> Cerebral dopamine neurotrophic factor

نیز به صورت آزاد و از طریق بطری‌های ویژه در دسترس قرار داده شد.

#### برنامه تمرینی

حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه و آشنایی با محیط جدید و نحوه فعالیت روی چرخ گردان به طور تصادفی به چهار گروه: کنترل سالم (۹ سر)، تمرین سالم (۶ سر)، کنترل پارکینسونی (۹ سر)، گروهی که ابتدا تمرین داشتند و سپس پارکینسونی شدند (۶ سر)، تقسیم شدند. گروه‌های تمرین، به مدت ۱۲ هفته در قفس مخصوص که مجهز به چرخ دوار بود، قرار گرفتند. این دستگاه مجهز به کانتر می‌باشد که میزان مسافت طی شده توسط هر آزمودنی را ثبت می‌کند.

#### جراحی استریوتاکسی

برای انجام عمل جراحی استریوتاکسی از موش‌هایی با رده وزنی ۲۲۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. تخریب قشر مغز موش‌ها با تزریق محلول ۶-هیدروکسی دوپامین (6-OHDA) ساخت شرکت سیگما آلدريج 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 (۲۰). غلظت تزریق ۲۵۰ میکروگرم و حجم تزریق ۵ $\mu$ L برای هر موش استفاده شد (۲۱). با عمل جراحی کانال ۲۷ گیج دندان پزشکی داخل جمجمه موش‌ها قرار گرفت، سپس با استفاده از سرنگ همیلتون محلول ۶-هیدروکسی دوپامین با سالیین به مدت ۳۰ ثانیه برای هر میکرولیتر تزریق شد. پس از پایان تزریق از فتر ۸ میلیمتری برای جلوگیری از خروج مایع از کانال استفاده شد و موش به مدت ۱ دقیقه ثابت نگاه داشته شد. برای بررسی اثر تزریق (6-OHDA) و تأیید این موضوع که با تزریق ۶ هیدروکسی دوپامین موش‌ها پارکینسونی می‌شوند، از تست چرخشی با فاصله ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت استفاده شد. در این آزمون، موش از ناحیه دم بالا نگاه داشته می‌شود و در صورتی که نتواند تعادلش را حفظ کند، نشانه پارکینسونی شدن موش‌ها تلقی می‌گردد (۲۲).

عصبی را بعد از آسیب مغزی، آسان‌تر می‌کنند. هرچند در ارتباط با تأثیر تمرین ورزشی بر فعالیت‌های آنزیم‌های ضد اکسایشی اطلاعات ضدونقیضی وجود دارد، اما به نظر می‌رسد که ورزش با ایجاد تعادل وضعیت اکسیداسیون و احیاء، در بهبود عملکرد مغزی نقش دارد؛ به طوری که مقاومت بر علیه استرس اکسایشی را افزایش داده و بهبود استرس اکسایشی را تسریع می‌نماید (۱۸). تمرین ورزشی، زنده ماندن سلول‌های عصبی را افزایش می‌دهد و برقراری عملکردهای مغز را بعد از آسیب، تسهیل می‌کند (۱۹).

تاکنون در رابطه با ورزش و تغییرات سطوح CDFN مطالعه‌ای مشاهده نشده است. در تنها مطالعه‌ای که در خصوص CDFN انجام شده است، لیندهم و همکاران (۲۰۰۷) اثر حفاظتی CDFN بر موش‌های پارکینسونی شده با ۶-هیدروکسی دوپامین را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند CDFN تزریقی به درون جسم مخطط، توانست عملکرد نورون‌های دوپامینرژیک را حفظ کرده و همچنین از نابودی این نورون‌ها جلوگیری کند (۱۱). بنابراین کاملاً واضح است که در این زمینه ابهام وجود دارد؛ در نتیجه، هدف از تحقیق حاضر عبارت از تعیین تأثیر حفاظتی ۱۲ هفته تمرین اختیاری بر سطح CDFN قشر مغز موش‌های صحرایی در معرض یک بار تزریق 6-OHDA بود.

#### روش تحقیق

##### حیوانات

در پژوهش حاضر ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (دوازده هفته‌ای) 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 گروه‌های ۴ سر موش در قفسه‌های پلی‌کربنات 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 بهرور (پلت) دسترسی آزاد داشتند. ضمناً آب مورد نیاز حیوان

### بافت‌برداری

ابتدا موش‌ها با ترکیب کتامین زایلازین به نسبت ۶۰ به ۴۰ بیهوش شدند. سپس با جداکردن سر موش با کمک قیچی مخصوص و جداکردن کل مغز و خارج کردن آن از کاسهٔ مجسمه، قشر مغز از سایر قسمت‌های مختلف مغز جدا شد و فوراً در ازت مایع قرار گرفت. پس از منجمدشدن، بافت در یخچال مخصوص در دمای زیر ۸۰ درجه نگهداری شد. بعد از هموژنیز و سانتریفیوژکردن، میزان غلظت CDNF گروه‌ها به وسیلهٔ کیت آزمایشگاهی شرکت CUSABIO کشور چین اندازه‌گیری شد. ضریب پراکندگی و حساسیت روش مذکور به ترتیب ۰/۰۳۹ نانوگرم بر میلی‌لیتر و ۸ درصد می‌باشد.

### روش‌های آماری

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 آزمون تعقیبی LSD در سطح معنی‌داری  $P \leq 0/05$  برای بررسی تفاوت بین گروهی استفاده شد. همهٔ تجزیه و تحلیل‌های آماری به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۱۹ انجام شد.

### یافته‌ها

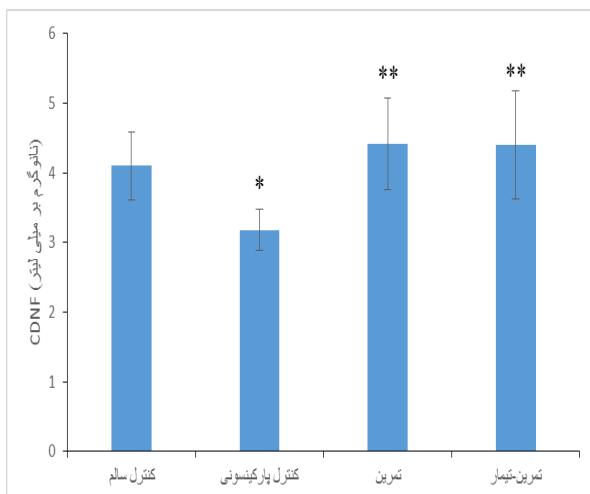
داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد بیان شده‌اند (جدول ۱). آزمون کولموگروف-اسمیرنف نشان داد که داده‌ها از توزیع طبیعی برخوردارند. مقدار پروتئین CDNF در قشر مغز آزمودنی‌های کنترل پارکینسونی شده در مقایسه با آزمودنی‌های کنترل سالم کاهش یافت (۳/۱۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر در برابر ۴/۱۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر) ( $P=0/017$ ) (نمودار ۱). این یافته نشان می‌دهد تزریق 6-OHDA موجب افزایش تحلیل سلولی، در نتیجه استرس اکسایشی شده است. تحلیل واریانس یک طرفه مشخص کرد، بین میانگین سطح CDNF قشر مغز گروه‌ها به دنبال ۱۲ هفته تمرین اختیاری و تزریق 6-OHDA تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $P=0/010$ ) (نمودار ۱). آزمون تعقیبی LSD مشخص

ساخت که سطح CDNF بین گروه‌های کنترل پارکینسونی و تمرین تیمار تفاوت داشت ( $P=0/002$ )؛ به طوری که میانگین این پروتئین در گروه تمرین پارکینسونی بالاتر از گروه کنترل پارکینسونی بود (۴/۴۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر در برابر ۳/۱۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر) (نمودار ۱). این یافته، به خوبی تأثیر حفاظتی تمرین اختیاری بر سطح CDNF قشر مغز را نشان می‌دهد. مقدار CDNF در موش‌های گروه تمرین تیمار در مقایسه با گروه تمرین سالم کمتر بود (۴/۴۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر در برابر ۴/۴۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر) (نمودار ۱). اما تفاوت دو گروه معنی‌دار نبود ( $P=0/95$ )؛ به عبارت دیگر، اجرای تمرین اختیاری، سطح CDNF را در آزمودنی‌های گروه تمرین تیمار به اندازهٔ گروه تمرین سالم افزایش داد.

جدول ۱. مقدار CDNF در گروه‌ها به صورت میانگین  $\pm$

### انحراف استاندارد

میانگین $\pm$ انحراف معیار CDNF (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	گروه‌ها
۴/۱۰ $\pm$ ۰/۴۹	کنترل سالم (n=۹)
۳/۱۸ $\pm$ ۰/۳۰	کنترل پارکینسون (n=۹)
۴/۴۲ $\pm$ ۰/۶۶	تمرین (n=۶)
۴/۴۰ $\pm$ ۰/۷۸	تمرین تیمار (n=۶)



### نمودار ۱. مقدار CDNF در گروه‌های مختلف

\* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل سالم در سطح  $P \leq 0/05$   
 \*\* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل پارکینسونی در سطح  $P \leq 0/05$

## بحث و نتیجه گیری

هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر حفاظتی ۱۲ هفته تمرین اختیاری بر سطوح CDFNF قشر مغز موش‌های پارکینسونی مدل 6-OHDA بود. یک بار تزریق 6-OHDA به مقدار ۵۰۰ μL مدل تجربی پارکینسونی را در موش‌های گروه‌های تیمار القا کرد. همان‌طور که مطالعات پیشین نشان داده‌اند، 6-OHDA اثر سمیت عصبی دارد که آثار خود را از طریق تخریب سلول‌های دوپامینرژیک جسم‌سیاه اعمال می‌کند (۶). مهم‌ترین یافته تحقیق کنونی، افزایش غلظت CDFNF قشر مغز در گروه تمرین اختیاری بود. این نخستین پژوهشی است که تغییرات سطوح CDFNF را به دنبال تمرین ورزشی در قشر مغز نشان می‌دهد.

CDFNF یک عضو خانواده نوروتروفین هاست که در بافت‌های مختلف موش و انسان بیان می‌شود. لیندهلم و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که CDFNF از تحلیل نرون‌های دوپامینرژیک موش‌های مدل تجربی بیماری پارکینسون به دنبال القای 6-OHDA پیشگیری کرد. یک بار تزریق CDFNF پیش از القای 6-OHDA به درون استریاتوم، رفتار چرخشی ناشی از آفتامین را کاهش داد و سلول‌های TH مثبت دوپامینرژیک را در جسم‌سیاه به‌طور کامل حفظ کرد (۱۰). در مطالعه‌ای دیگر، یک بار تزریق CDFNF به حیوانات سالم، تعداد سلول‌های مثبت TH را در بخش متراکم سلول‌های جسم‌سیاه (SNpc)<sup>۱</sup> یا چگالی تارها را در بخش مشبکی سلول‌های جسم‌سیاه (SNpr)<sup>۲</sup> در مقایسه با طرف کنترل افزایش نداد. به‌علاوه تزریق مزمن CDFNF در حیوانات سالم، تعداد سلول‌های TH مثبت را در SNpc یا تارهای جسم‌مخطط افزایش نداد (۲۳). در حال حاضر مشخص نیست که آیا ترشح برون‌زای CDFNF به‌وسیله محرک یا آسیب فیزیولوژیک در درون موجود زنده تنظیم می‌شود یا خیر. با آنکه CDFNF تعداد سلول‌های TH مثبت را در SNpc یا تارهای جسم‌مخطط در حیوانات سالم پس از یک بار تزریق یا

تزریق مزمن افزایش نداد؛ اما آثار حفاظت عصبی و دوباره‌سازی قابل‌توجهی در مدل 6-OHDA پارکینسونی داشت. گمان می‌رود که احتمالاً CDFNF در نتیجه تحریک آسیب فیزیولوژیک می‌تواند فعال شود (۲۳).

درمان‌های دارویی فعلی بیماری پارکینسون سمپتوماتیک بوده و از مرگ پیش‌رونده نرون‌های دوپامینرژیک پیشگیری نمی‌کند. هدف پیش روی محققین، عبارت از توسعه درمان‌های بازسازی‌کننده نرون‌هاست که بتوانند فرایند تحلیل‌برنده را متوقف کرده یا حتی نرون‌های آسیب‌دیده را احیا نمایند (۱۰). از آنجایی که CDFNF می‌تواند در موش‌های مدل بیماری پارکینسون عملکرد نرون‌های دوپامینرژیک را حفاظت و بازیابی نماید، می‌توان آن را یک پروتئین درمانی بالقوه، یا به‌عنوان پایه‌ای برای توسعه داروهای درمان پارکینسون در نظر گرفت. مطالعات نشان داده‌اند که 6-OHDA اثر سمی خود بر روی نرون‌ها را عمدتاً از طریق مهار کمپلکس ۱ میتوکندریایی<sup>۳</sup> و افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال، القا می‌کند (۲۴)؛ اما مرگ سلولی آپوپتوزی و التهاب را نیز موجب می‌شود (۲۵). CDFNF می‌تواند مسیرهای علامت‌دهی را فعال نماید که با برخی از این پدیده‌ها مقابله می‌کند. گزارش‌ها نشان می‌دهند که حداقل بخشی از اثر حفاظت عصبی CDFNF بر علیه سمیت ناشی از 6-OHDA مربوط به مهار استرس شبکه اندوپلاسمیک (۲۳) است. تجمع پروتئین‌های غیرعملکردی در ER<sup>۴</sup> موجب استرس می‌شود که پاسخ پروتئین غیرعملکردی (UPR<sup>۵</sup>) را آغاز می‌کند. هر دو مسیر سازگاری و آپوپتوزی را فعال می‌کند که به‌طور متفاوتی با پاتوژن بیماری سهمیم می‌باشند (۲۶). استرس اکسایشی، دلیل اصلی یا نتیجه تحلیل نرونی هم‌بسته با پارکینسون می‌باشد. از آنجایی که افزایش در استرس اکسایشی را می‌توان قبل از علائم تحلیل نرونی در مدل پارکینسونی کشف کرد، استرس اکسایشی می‌تواند یک

3. Mitochondrial complex 1

4. Endoplasmic Reticulum

5. Unfolded Protein Response

1. substantia nigra pars compacta

2. substantia nigra pars reticulata

حداقل در نرون‌های آزمون‌های حیوانی مؤثر است؛ اما برای بهینه‌سازی آثار درمانی و به حداقل رساندن عوارض جانبی و به دلیل مشکلات تکنیکی تزریق، توجه به روش‌های درمانی غیر دارویی، همچون فعالیت‌های بدنی و تمرینات ورزشی که افزایش‌دهنده این عوامل حفاظت‌کننده می‌باشند، توجیه‌پذیر است (۲۳).

به دلیل نبود اطلاعات لازم، هنوز سازوکارهایی که ورزش از طریق آن موجب افزایش سطح CDNF در مغز می‌شود مشخص نیست. سازوکارهای تنظیم‌کننده نروتروفین‌ها توسط ورزش در BDNF به صورت نسبتاً وسیعی مطالعه شده است. یافته‌های پژوهشی نشان داده‌اند که تنظیم BDNF هیپوکامپ توسط ورزش با واسطه سیستم‌های انتقال‌دهنده‌های عصبی، سیستم‌های نورواندوکرین و IGF-1<sup>۱</sup> صورت می‌گیرد. ورزش از طریق تنظیم سطوح گونه‌های اکسیژنی فعال، نقش مهمی در محتوای پروتئینی، بیان BDNF، گیرنده تیروزین کیناز B و پاسخ AMP حلقوی داشته و منجر به عملکرد بهتر و افزایش نرون‌زایی می‌شود. به نظر می‌رسد ورزش، موجب تنظیم حالت اکسیداسیون-احیاء و افزایش مقاومت در برابر استرس اکسایشی و تسهیل ترمیم و بهبود عملکرد مغز می‌شود (۳۱)؛ اما مشخص نیست که آیا تنظیم CDNF نیز توسط همین مسیر علامت‌دهی صورت می‌گیرد یا خیر؟

به طور خلاصه، تحقیق کنونی اولین پژوهشی است که تأثیر تمرینات ورزشی اختیاری طولانی مدت بر سطوح CDNF قشر مغز را در مدل تجربی موش‌های پارکینسونی مورد بررسی قرار داده است. نتایج، نشان‌دهنده افزایش غلظت این پروتئین در آزمون‌های گروه تمرین در مقایسه با گروه‌های دیگر می‌باشد. به عبارت دیگر، ورزش اختیاری سطح CDNF را تنظیم افزایشی کرده است. این اثر ورزش بر CDNF می‌تواند موجب حفاظت عصبی نرون‌های دوپامینرژیک در برابر آثار تحلیل عصبی بیماری پارکینسون شود که در مدل آزمایشی به کار گرفته شده در تحقیق حاضر نشان داده شد. برای

عنصر اولیه ازدست‌رفتن نرون‌ها باشد (۲۷). عامل نورتروفیک مشتق از سلول‌های گلیال (GDNF) یکی دیگر از اعضای خانواده نورتروفین‌ها، استرس اکسایشی القاکننده مرگ سلولی را در نمونه‌های آزمایشگاهی کاهش داد (۲۸). یک مطالعه اخیر نشان داد که (۲۰۰۷) GDNF تزریقی به درون جسم مخطط تولید استرس اکسایشی را در مدل پارکینسونی کاهش داد (۲۹). اکثر آثار بیولوژیک GDNF و NRTN از طریق فعال‌سازی AKt (پروتئین کیناز B)، SRk و MAP کینازها تحریک می‌شود (۲۳). پاسخ به این سؤال که آیا CDNF نیز همچون GDNF استرس اکسایشی را کاهش می‌دهد یا نه، به تحقیقات بیشتری احتیاج دارد.

بر اساس اطلاعات ما، تاکنون در رابطه با تأثیر فعالیت بدنی بر غلظت CDNF در بافت‌های بدن پژوهشی انجام نشده است. مطالعات ورزشی تاکنون بیشتر BDNF را مورد بررسی قرار داده‌اند. استفاده از انواع مختلف فعالیت‌های بدنی و تمرینات ورزشی با شدت‌ها و مدت‌های گوناگون برای افزایش عوامل حفاظت عصبی همچون BDNF رایج می‌باشد. BDNF یک میانجی کلیدی تغییرپذیری سیناپسی در نرون‌های بالغ می‌باشد و کاهش سطوح آن در مغز انسان با نقایص عملکرد شناختی، حافظه و افسردگی هم‌بستگی دارد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که سطوح BDNF به دنبال تمرینات مختلف ورزشی افزایش یافته است که این افزایش، مقاومت مغز را در مقابل آسیب‌دیدگی و تحلیل بیشتر می‌کند (۳۰)؛ اما در رابطه با CDNF و ورزش، تاکنون مطالعه‌ای صورت نگرفته است. در اندک مطالعات موجود، سطوح این پروتئین در آزمون‌های حیوانی سالم و بیمار مورد بررسی قرار گرفته است (۲۳). در دو پژوهش انجام‌شده، اثر تزریق درون سلولی CDNF بر حفاظت و بازسازی نرونی مطالعه شد. البته باید توجه داشت که تزریق نروتروفین‌ها به آزمون‌های بیمار یک روش چالش برانگیز است؛ زیرا این عوامل نمی‌توانند از سد خون-مغز عبور کنند، بنابراین باید آن‌ها را به درون جمجمه تزریق کرد. یقیناً رهیافت تزریق فاکتورهای نروتروفیک،

<sup>۱</sup>. Insulin Growth Factor-1

سم با هدف حفاظتی و در مرحله پس از آن با هدف درمانی، ضرورت دارد.

نتیجه‌گیری قاطعانه در این رابطه، انجام مطالعات بیشتر با استفاده از پروتکل‌های مختلف حاد و طولانی مدت، با شدت‌ها و مدت‌های مختلف، در مرحله پیش از تزریق

#### منابع

1. Sauer H, Oertel W. Progressive degeneration of nigrostriatal dopamine neurons following intrastriatal terminal lesions with 6-hydroxydopamine: a combined retrograde tracing and immunocytochemical study in the rat. *Neuroscience* 1994;59(2):401-15.
2. Tadibi V, Yosefi B, Taheri H, Taherzadeh J. Following a period of motor function in patients with Parkinson's Movement Therapy. *Jurnal of pajohesh* 2008;18:157-69.
3. Schwarting R, Huston J. Behavioral and neurochemical dynamics of neurotoxic mesostriatal dopamine lesions. *Neurotoxicology* 1996;18(3):689-708.
4. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron* 2003;39(6):889-909.
5. Olanow C. Oxidation reactions in Parkinson's disease. *Neurology* 1990;40 (10 Suppl 3):suppl 32-7; discussion 7-9.
6. Gerlach M, Riederer P. Animal models of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in man. *Journal of neural transmission* 1996;103(8-9):987-1041.
7. Sautter J, Kupsch A, Earl C, Oertel W. Degeneration of pre-labelled nigral neurons induced by intrastriatal 6-hydroxydopamine in the rat: behavioural and biochemical changes and pretreatment with the calcium-entry blocker nimodipine. *Experimental brain research* 1997;117(1):111-9.
8. Lotharius J, Dugan LL, O'malley KL. Distinct mechanisms underlie neurotoxin-mediated cell death in cultured dopaminergic neurons. *The Journal of neuroscience* 1999;19(4):1284-93.
9. Hellman M, Peränen J, Saarma M, Permi P. <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N resonance assignments of the human mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor. *Biomolecular NMR assignments* 2010;4(2):215-7.
10. Lindholm P, Saarma M. Novel CDNF/MANF family of neurotrophic factors. *Developmental neurobiology* 2010;70(5):360-71.
11. Parkash V, Lindholm P, Peränen J, Kalkkinen N, Oksanen E. The structure of the conserved neurotrophic factors MANF and CDFN explains why they are bifunctional. *Protein Engineering Design and Selection* 2009; 22(4): 233-241.
12. Sun ZP, Gong L, Huang SH, Geng Z, Cheng L, Chen ZY. Intracellular trafficking and secretion of cerebral dopamine neurotrophic factor in neurosecretory cells. *Journal of neurochemistry* 2011;117(1):121-32.
13. Costill DL, Wilmore JH, Kenney WL. *Physiology of sport and exercise. Physiology Of Sport And Exercise-9780736094092-66, 78.* 2012.
14. Paul J, Kuruvilla KP, Mathew J, Kumar P, Paulose C. Dopamine D 1 and D 2 receptor subtypes functional regulation in cerebral cortex of unilateral rotenone lesioned Parkinson's rat model: Effect of serotonin, dopamine and norepinephrine. *Parkinsonism & related disorders* 2011;17(4):255-9.
15. Stern MB. Parkinson disease. Early Diagnosis and management. *The Journal of family practice* 2005;36(4):439-46.
16. Wu S-Y, Wang T-F, Yu L, Jen CJ, Chuang J-I, Wu F-S, et al. Running exercise protects the substantia nigra dopaminergic neurons against inflammation-induced degeneration via the activation of BDNF signaling pathway. *Brain, behavior, and immunity* 2011;25(1):135-46.
17. Hyman C, Hofer M, Barde Y-A, Juhasz M, Yancopoulos GD, Squinto SP, et al. BDNF is a neurotrophic factor for dopaminergic neurons of the substantia nigra. *Nature* 1991;350(6315):230-2.
18. Radak Z, Kumagai S, Taylor AW, Naito H, Goto S. Effects of exercise on brain function: role of free radicals. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 2007;32(5):942-6.
19. Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Medicine and science in sports and exercise* 1993;25(2):225-31.
20. Rodriguez Diaz M, Abdala P, Barroso-Chinea P, Obeso J, Gonzalez-Hernandez T. Motor behavioural changes after intracerebroventricular injection of 6-

- hydroxydopamine in the rat: an animal model of Parkinson's disease. *Behavioural brain research* 2001;122(1):79-92.
21. Shachar DB, Kahana N, Kampel V, Warshawsky A, Youdim MB. Neuroprotection by a novel brain permeable iron chelator, VK-28, against 6-hydroxydopamine lesion in rats. *Neuropharmacology* 2004;46(2):254-63.
  22. Hubrecht RC, Kirkwood J. *The UFAW handbook on the care and management of laboratory and other research animals*: John Wiley & Sons; 2010.
  23. Voutilainen M. CDFN and MANF in an experimental model of Parkinson's disease in rats. 2010.
  24. Sachs C, Jonsson G. Mechanisms of action of 6-hydroxydopamine. *Biochemical pharmacology* 1975;24(1):1-8.
  25. Schober A. Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP. *Cell and tissue research* 2004;318(1):215-24.
  26. Kim R, Emi M, Tanabe K, Murakami S. Role of the unfolded protein response in cell death. *Apoptosis* 2006;11(1):5-13.
  27. Maguire-Zeiss KA, Short DW, Federoff HJ. Synuclein, dopamine and oxidative stress: co-conspirators in Parkinson's disease? *Molecular Brain Research* 2005;134(1):18-23.
  28. Toth G, Yang H, Anguelov RA, Vettraino J, Wang Y, Acsadi G. Gene transfer of glial cell-derived neurotrophic factor and cardiotrophin-1 protects PC12 cells from injury: involvement of the phosphatidylinositol 3-kinase and mitogen-activated protein kinase pathways. *Journal of neuroscience research* 2002;69(5):622-32.
  29. Smith MP, Cass WA. GDNF reduces oxidative stress in a 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Neuroscience letters* 2007;412(3):259-63.
  30. Zoladz J, Pilc A, Majerczak J, Grandys M, Zapart-Bukowska J, Duda K. Endurance training increases plasma brain-derived neurotrophic factor concentration in young healthy men. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2008;59(7):119-32.
  31. Hajizade Moghadam A, Fallah Mohammadi Z, Sheykh P, Mirzaee S. Effect of voluntary exercise on a running wheel and brain-derived neurotrophic factor levels Allium paradoxum extracts in alloxan-induced diabetic rat hippocampus. *Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders* 1391;11(4).



Daneshvar  
Medicine

*Scientific-Research  
Journal of Shahed  
University  
23th Year, No.121  
February-March  
2016*

Received: 09/01/2016

Last revised: 15/02/2016

Accepted: 24/02/2016

## Effect of voluntary exercise on cerebral dopamine neurotrophic factor (CDNF) level in the cerebral cortex of experimental model of parkinsonian rats induced by 6-hydroxydopamine

Hossein Shirvani\*, Vahid Sobhani, Jalil Aslani

Exercise Physiology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

\*Corresponding author e-mail: shirvani.h2006@gmail.com

### Abstract

**Background and Objective:** Daily physical activity can reduce the risk of Parkinson's disease. Therefore, the purpose of this research was to study the effect of wheel running exercise on CDNF level in cortex in an experimental model of rats exposed to 6-hydroxydopamine.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 30 Wistar rats were randomly divided into four groups: healthy control, healthy exercise, Parkinsonian control, and Parkinsonian group that first exercised and then Parkinson's model was induced (Practice-treated), respectively. Subjects in exercise group were kept in special cages geared with running wheels for 12 weeks. After 12 weeks, 6-OHDA was injected into the right ventricle of the brain and five days after intraventricular injection, sampling was performed and CDNF level of cerebral cortex was measured by ELISA method. Data were analyzed statistically by ANOVA test.

**Results:** 6-OHDA decreased CDNF protein content in the cerebral cortex of control subjects with Parkinson's disease compared with healthy controls ( $p=0.017$ ). CDNF level of Parkinson's exercise group was higher than that of Parkinsonian control group ( $p=0.002$ ).

**Conclusion:** The findings of the present study show that pre-treatment with voluntary exercise can increase CDNF level of cerebral cortex and protect neurons versus oxidative destruction led by 6-OHDA toxicity. Therefore, voluntary exercise can be offered as a protection strategy against Parkinson's disease.

**Keywords:** Voluntary exercise, 6-hydroxydopamine, CDNF