

The Effect of Four Weeks of Exercise and Oleuropein Supplementation on Oxidative Stress in Brain Tissue in Experimental Model of Parkinson's Disease in Rat

اثر چهار هفته ورزش و مکمل دهی اولئورپین بر استرس اکسیداتیو بافت مغزی در مدل تجربی بیماری پارکینسون در موش صحرایی

Fereshte Keshavarzian¹, Abdolhassan Doulah^{*2},
Maryam Rafeirad³

1. M.A., Department of Physical Education and Sport Sciences, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran
2. Assisant Professor, Biology Department, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran
3. Assisant Professor, Department of Biology, Izeh Branch, Islamic Azad University, Izeh, Iran

(Received: Mar. 7, 2020 - Accepted: Oct. 2, 2021)

فرشته کشاورزبان^۱، عبدالحسن دولاح^{*۲}، مریم رفیعی‌راد^۳

۱. کارشناس ارشد، تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد اهواز، دانشگاه اهواز، اسلامی، اهواز، ایران
۲. استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
۳. استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۱۰)

Abstract

Parkinson is a chronic and widespread neurodegenerative disorder. In this study, the effects of swimming exercise and oleuropein supplementation on oxidative stress of brain tissue in experimental model of Parkinson's disease in rat were investigated. In this experimental study, 40 adult male Wistar rats were selected and divided into five groups including: control group, Parkinson's group, swimming exercise, oleuropein consumption, swimming exercise with oleuropein consumption. The groups were forced to swim for 4 weeks (five sessions per week for 30 minutes each session) and groups 4 and 5 received 20 mg of oleuropein daily per kilogram of body weight orally for 4 weeks. Serum levels of the variables were evaluated using the thiobarbituric acid method. Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey post hoc tests ($p \leq 0.05$). In this study, oleuropein-Parkinson, swimming exercise-Parkinson, and swimming exercise with oleuropein-Parkinson consumption significantly decreased Malondialdehyde levels, significantly increased glutathione peroxidase activity and thiol compared to Parkinson's group ($P < 0.001$). Swimming exercise with oleuropein consumption can improve antioxidant defense and decrease lipid peroxidation. Therefore, this interactive effect may necessitate more therapeutic and preventive treatment to prevent oxidative stress-related diseases.

Keywords: Oleuropein, Oxidative Stress, Parkinson, Rat, Swimming Exercise.

چکیده

پارکینسون یک اختلال عصبی تخریب‌کننده مزمن و شایع است. در این مطالعه اثرات تمرین شنا و مکمل دهی اولئورپین بر استرس اکسیداتیو بافت مغزی در مدل تجربی بیماری پارکینسون بررسی گردید. در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار، انتخاب و به پنج گروه شامل گروه کنترل، گروه پارکینسون، تمرین شنا، مصرف اولئورپین، تمرین شنا همراه با مصرف اولئورپین تقسیم شدند. گروه‌ها به مدت چهار هفته (پنج جلسه در هفته و هر جلسه ۳۰ دقیقه) شنا اجباری کردند و گروه‌های ۴ و ۵ به مدت چهار هفته، روزانه اولئورپین را به میزان ۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به‌صورت اورال دریافت کردند. سطوح سرمی متغیرها با استفاده از روش تیوباربیتریک اسید مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند ($p \leq 0.05$). در این مطالعه، اولئورپین-پارکینسون، تمرین شنا-پارکینسون و تمرین شنا همراه با مصرف اولئورپین-پارکینسون، کاهش معنی‌داری بر سطح مالون‌دی‌آلدهید، افزایش معنی‌داری بر میزان فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز و افزایش معنی‌داری بر میزان تیول در مقایسه با گروه پارکینسونی داشتند ($P < 0.001$). تمرین شنا همراه با مصرف اولئورپین می‌تواند دفاع آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشیده و پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش دهد. بنابراین، احتمالاً این اثر تعاملی بتواند شیوه درمانی مؤثر و پیشگیرانه‌ای برای جلوگیری از بیماری‌های مرتبط با استرس اکسایشی باشد.

واژه‌های کلیدی: استرس اکسیداتیو، اولئورپین، پارکینسون، تمرین شنا، موش صحرایی.

مقدمه

بیماری پارکینسون یک اختلال نوروپاتولوژیک با تخریب اعصاب دوپامینرژیک جسم سیاه است. کاهش تعداد نرون‌های دوپامینرژیک باعث سندروم حرکتی پیچیده‌ای شامل برادی کینزی، خشکی عضلانی و لرزش اندام‌ها می‌شود (Vazifekkhah et al., 2016). مطالعات نشان داده است که التهاب، تشکیل رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو نقش مهمی در پارکینسون دارند (Rajabi et al., 2017). استرس اکسیداتیو وقتی ایجاد می‌شود که گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) افزایش یا دفاع آنتی‌اکسیدان‌های سلولی کاهش یابد و نتیجه آن پراکسیداسیون لیپیدها، اکسیداسیون پروتئین‌ها و در نهایت مرگ سلولی است. افزایش میزان استرس اکسیداتیو می‌تواند قبل از علایم دژنره شدن نرونی اتفاق بیفتد (Ziai et al., 2017). منابع اندوژن استرس - اکسیداتیو شامل رادیکال‌های فعال اکسیژن است که به‌طور مداوم در نرون‌های دوپامینرژیک مغز میانی، بر اثر متابولیسم دوپامین توسط MAO-B تولید می‌شوند (Malek-Mohammadi et al., 2015). حفاظت در برابر آسیب اکسیداتیو القاء شده بر اثر رادیکال‌های آزاد در سیستم اعصاب مرکزی و از جمله در نرون‌های دوپامینرژیک توسط آنتی‌اکسیدان‌هایی با وزن ملکولی پایین، نظیر ویتامین‌های E و C و مولکول‌های پروتئینی بزرگ از قبیل سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون احیاء شده انجام می‌شود (Malek-Mohammadi et al., 2015).

اولئوروپین یک ترکیب فنلی است به لحاظ فارماکولوژیکی فعال‌ترین بخش روغن زیتون می‌باشد (Omar., 2010). هم چنین تحقیقات نشان داده اند که اولئوروپین اثرات آنتی‌اکسیدان، ضدالتهابی و ضد سرطانی دارد و قادر است در شرایط آزمایشگاهی از اکسیداسیون لیپیدی جلوگیری نماید (Elmarakby et al., 2012). همچنین اولئوروپین به‌عنوان فراوان‌ترین ترکیب عصاره برگ زیتون دارای فعالیت

ضدمیکروبی علیه ویروس‌ها، باکتری‌ها، مخمرها، قارچ‌ها و کپک‌ها می‌باشد. پس از آن هیدروکسی تیروزول با ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن تا ۱۰ برابر چای سبز و با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی قوی می‌باشد (Agah et al., 2015). نشان داده شده است که تمرینات بدنی باعث محافظت از جسم سیاه در مقابل آسیب ناشی از التهابات می‌شود (Mabandla et al., 2010). مغز سرشار از فسفولیپید و اسیدهای چرب آزاد اشباع‌نشده چندگانه می‌باشد که هر دوی آنها به اکسیدان‌ها بسیار حساس هستند. به‌دنبال آسیب فسفولیپیدها و اسیدهای چرب آزاد اشباع‌نشده چندگانه ناشی از اکسیدان‌ها، غشای پلاسمایی دو لایه سلول‌ها به‌طور شدیدی تحت تأثیر قرار می‌گیرند. در بیماری پارکینسون غلظت اسیدهای چرب آزاد اشباع‌نشده چندگانه در جسم سیاه کاهش یافته، در حالی‌که مالون‌دی‌آلدهید (MDA) که شاخص اکسیداسیون لیپید افزایش می‌یابد (Fallah- Mohammadi et al., 2014). مطالعات نشان داده‌اند ورزش منظم، سلامت مغز را بهبود بخشیده و از آسیب مغز با تعدیل شرایط اکسایشی پیشگیری می‌کند (Leite et al., 2012). با وجود این واقعیت که ورزش منظم اثرات مفیدی دارد، به‌خوبی مشخص شده است فعالیت ورزشی بسته به شدت یا مدت آن می‌تواند منجر به استرس اکسایشی و مرگ سلولی شود (Scopel et al., 2006). همچنین فعالیت ورزشی، تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی را افزایش می‌دهد. گونه‌های اکسیژن فعال به‌راحتی ماکرومولکول‌های مختلف مانند لیپیدها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک را اکسید می‌کند و از طرفی، سطح آنتی‌اکسیدانی بدن برای مقابله با این فشار اکسایشی کاهش می‌یابد (Battistelli et al., 2016).

در مطالعات پیشین اثرات تعاملی تمرین شنا و اولئوروپین بر آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی پرداخته نشده است. بنابراین در مطالعه حاضر اثرات ورزش

موش‌ها در دستگاه استرئوتکس قرار گرفتند و به‌وسیله قطعه دهانی و میله‌های داخل گوشی روی دستگاه ثابت مانده و موهای ناحیه پشتی مجموعه آنها تراشیده شد، سپس به‌وسیله پنبه الکلی، پوست سر حیوان ضدعفونی و یک برش طولی از میان سطح پشتی سر بین دو چشم تا فاصله نقطه سطح پشتی میانی گوش‌ها ایجاد شد. بافت‌های پیوندی روی سطح مجموعه زدوده شدند و نقطه برگما نمایان گردید. نقطه برگما و لامبدا در یک سطح برابر قرار گرفتند و نشانگر دستگاه بر روی آنها تنظیم شد، سپس با توجه به مختصات استخراج شده از اطلس جراحی مغز، مختصات دسته میانی- قدامی مغز (قدامی خلفی = $4/6$ ، میانی جانبی = $1/6$ و پشتی شکمی = $8/2$ میلی‌متر) مشخص شد (Sharifi et al., 2015). در این مطالعه برای ایجاد مدل حیوانی بیماری پارکینسون، از تزریق یک طرفه ۶ هیدروکسی دوپامین در دسته قدامی میانی- مغز استفاده شد (Sharifi et al., 2015) و ۶ هیدروکسی دوپامین (شرکت سیگما آمریکا) نیز با غلظت ۸ میکروگرم در ۲ میکرولیتر نرمال سالین (دارای $0/01$ درصد اسید اسکوربیک) تهیه شد. اپومورفین (شرکت سیگما، ساخت آمریکا) در نرمال سالین $0/01$ درصد اسید اسکوربیک حل شد. این دارو با توجه به وزن حیوان با دوز $0/05$ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت زیرجلدی تزریق شد (آپومورفین برای تأیید پارکینسونی شدن حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرد)، ۱۰-۵ دقیقه پس از تزریق آپومورفین، به‌مدت ۱۵ دقیقه تعداد چرخش‌های حیوان در سمت آسیب ندیده شمارش و ثبت شد (Sharifi et al., 2015). در ادامه، در این آزمایش از گروه‌های هشت‌تایی موش استفاده شد، بافت موردنظر بلافاصله وزن شده و به‌ازای هر ۱ گرم بافت ۱۰ میلی‌لیتر محلول KCL 5/1% اضافه و هم‌وزن شد. از محلول هم‌وزن شده $0/5$ میلی‌لیتر برداشته و $2/5$ میلی‌لیتر 3% TCA اضافه شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید، سپس ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. $0/5$ میلی‌لیتر از محلول رویی بعد

شنا و اولئوروپین هر یک به تنهایی و نیز اثرات تعاملی تمرین شنا و اولئوروپین بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بافت مغز در مدل پارکینسونی موش‌های صحرایی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار از خانه حیوانات دانشگاه جندی‌شاپور اهواز خریداری و به محل آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه آزاد واحد ایذه انتقال داده شدند. در ابتدا موش‌های صحرایی جهت سازگاری با محیط آزمایشگاه به‌مدت یک هفته در آزمایشگاه نگهداری شدند. در کل دوره پژوهش، موش‌های صحرایی به آب و غذا به‌طور آزادانه دسترسی داشتند. در ادامه، روز هشتم موش‌های صحرایی به پنج گروه (هر گروه هشت سر موش) به شرح زیر تقسیم شدند؛ ۱- گروه کنترل، ۲- گروه پارکینسونی، ۳- گروه پارکینسونی با مصرف اولئوروپین، ۴- گروه پارکینسونی درمان‌شده با تمرین شنا، ۵- گروه پارکینسونی درمان‌شده با تمرین شنا و مصرف اولئوروپین.

گروه‌های تمرین شنا و تمرین شنا همراه با مصرف اولئوروپین به‌مدت چهار هفته (پنج جلسه در هفته و هر جلسه ۳۰ دقیقه) در داخل وان شنا (ویژه شنای اجباری موش‌های صحرایی) شنا کردند (Zar et al., 2016) و گروه‌های مصرف اولئوروپین و تمرین شنا همراه با مصرف اولئوروپین، اولئوروپین را به‌مدت چهار هفته (روزانه ۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت خوراکی دریافت کردند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین در پایان هفته چهارم، موش‌ها جهت اندازه‌گیری شاخص‌های مورد مطالعه، کشته شدند تا تغییرات بیوشیمیایی ناشی از تأثیر تمرینات شنا و مصرف اولئوروپین بررسی شود.

ابتدا حیوانات وزن شدند، سپس با تزریق داخل صفاقی کتامین هیدروکلراید (دوز ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند (Sharifi et al., 2015). در ادامه،

اندازه‌گیری سطح فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز تهیه نمونه و نحوه سنجش سطح فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز مطابق با دستورالعمل قیدشده در کیت تجاری BioVision Incorporated, (Milpitas, CA, USA) انجام شد. یک واحد فعالیت به معنی مقداری از آنزیم که موجب اکسیداسیون ۱ میکرومول از NADPH به NADP^+ در دقیقه تحت شرایط کیت و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد است. لازم به ذکر است تمام جنبه‌های اخلاقی پژوهش حاضر در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ایذه بررسی و مورد تأیید قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری کلموگروف- اسمیرنوف، آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند ($P < 0/05$).

نتایج

در این مطالعه، سطوح مالون‌دی‌آلدهید، تیول و گلوکوتایون پراکسیداز موش‌های صحرایی در گروه‌های پنجگانه تحقیق در نمودارهای ۱، ۲ و ۳ ارائه شده است. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد سطوح مالون‌دی‌آلدهید در گروه پارکینسونی به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بوده است ($P < 0/001$). همچنین سطوح مالون‌دی‌آلدهید در گروه پارکینسونی مصرف اولئوروپین- پارکینسون، تمرین شنا- پارکینسون و تمرین شنا همراه با مصرف اولئوروپین- پارکینسون به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه پارکینسونی بود ($P < 0/001$) (نمودار ۱). همان‌طور که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود میزان فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز در گروه پارکینسونی به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل بود ($P < 0/001$). از سوی دیگر میزان فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز در گروه پارکینسونی مصرف اولئوروپین، گروه پارکینسونی+ تمرین شنا و گروه پارکینسونی+ تمرین شنا همراه با مصرف اولئوروپین به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه پارکینسونی افزایش یافت ($P < 0/001$). نتیجه حاصل از آزمون

از ساتتریفیوز برداشته و به هر یک ۳ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ اسید فسفریک و ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۶۷ درصد TBA اضافه شد و ۴۵ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند، لوله‌ها در ظرف یخ خنک و به هر یک ۴ میلی‌لیتر بوتانول اضافه شد. بعد از ورتکس کردن ۲۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ ساتتریفیوژ و در نهایت جذب با طول موج ۵۳۲nm خوانده شد و پس از قراردادن اعداد حاصل از اسپکتروفوتومتری و جذب در معادله خطی منحنی استاندارد میزان غلظت مالون‌دی‌آلدهید براساس استاندارد (nmol/g/ wet tissue) مورد ارزیابی قرار گرفت (Goudarzi et al., 2017).

منحنی استاندارد

در ابتدا باید منحنی استاندارد رسم شود که لازم است محلول استاندارد MDA تهیه شده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر، طول موج‌ها اندازه‌گیری شوند. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول استاندارد با غلظت‌های ۰، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ میلی‌لیتر محلول ۱ درصد اسید فسفریک اضافه شد و بقیه مراحل همچون مراحل قبل انجام گردید.

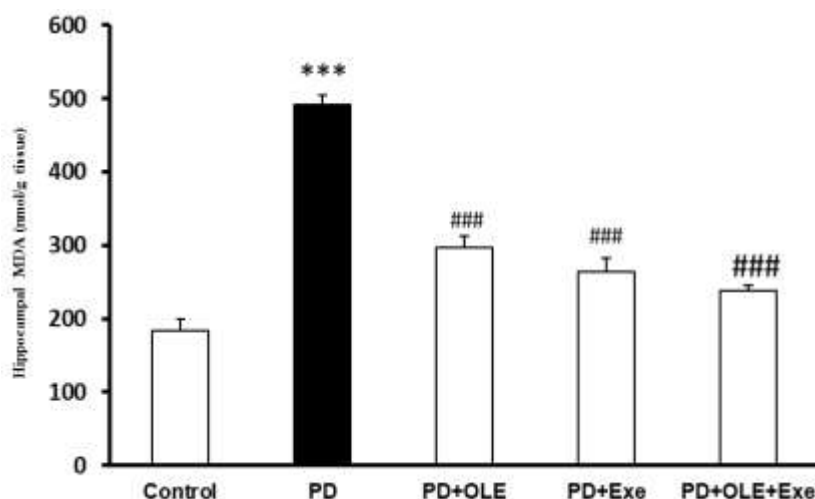
سنجش میزان تیول

برای ارزیابی گروه تیول از DTNB (معرف المن) استفاده گردید. در یک لوله آزمایش ۱ میلی‌لیتر از بافر تریس (pH=۶) را به ۵۰ میکرولیتر محلول هموژن بافت اضافه شد و جذب نوری آن در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری شد (A1). سپس به لوله‌ها ۲۰ میکرولیتر معرف DTNB اضافه شد، ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس جذب آن در همان طول موج اندازه‌گیری گردید (A2). میزان جذب شاهد (حاوی بافرتریس) نیز در ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید (B). مقادیر A1، A2 و B بدست آمده در رابطه (۱) قرار داده می‌شود و میزان گروه‌های تیولی محاسبه شد (Mansouri et al., 2013).

$$\text{میزان گروه‌های تیول (mM)} = (A2 - A1 - B) \times 1/07 / 0/05 \times 13/6$$

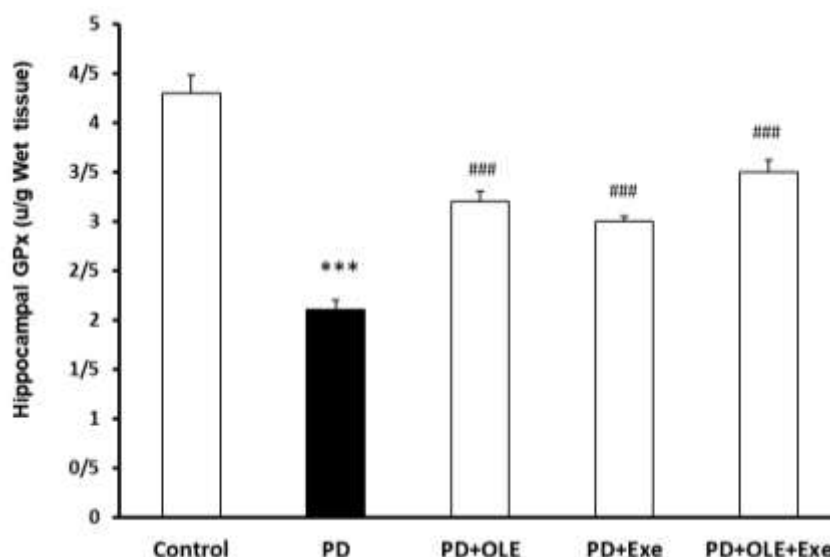
پارکینسون و گروه تمرین شنا- پارکینسون و تمرین شنا همراه با مصرف اولئوروپین- پارکینسون نسبت به گروه پارکینسونی افزایش معنی داری داشته است ($P < 0.001$).

تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که میزان تیول گروه پارکینسون نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشته است ($P < 0.05$). نتایج نشان داد که میزان تیول در گروه‌های عصاره اولئوروپین-



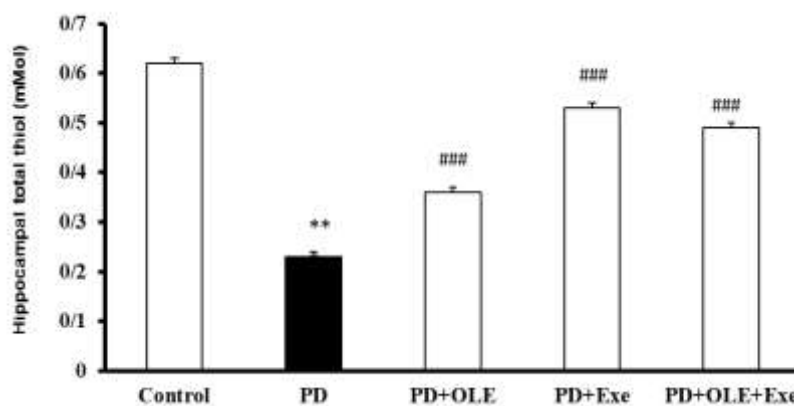
نمودار ۱. تأثیر چهار هفته تجویز خوراکی اولئوروپین و تمرین شنا بر سطوح مالون دی‌آلدهید در مدل حیوانی بیماری پارکینسون. نمودار برحسب میانگین \pm انحراف معیار رسم شده است. آنالیز و واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و تست تکمیلی توکی (در هر گروه $n=8$). علامت ***: تفاوت معنی دار با گروه کنترل سالم ($P < 0.001$) علامت ####: تفاوت معنی دار با گروه پارکینسونی شده ($P < 0.001$)

پارکینسون + ورزش شنا: PD+Exe، پارکینسون + اولئوروپین: PD+OLE، پارکینسون + اولئوروپین + ورزش شنا: PD+OLE+Exe



نمودار ۲. تأثیر چهار هفته تجویز خوراکی اولئوروپین و تمرین شنا بر میزان فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز در مدل حیوانی بیماری پارکینسون. نمودار برحسب میانگین \pm انحراف معیار رسم شده است. آنالیز و واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و تست تکمیلی توکی (در هر گروه $n=8$). علامت ***: تفاوت معنی دار با گروه کنترل سالم ($P < 0.001$) علامت ####: تفاوت معنی دار با گروه پارکینسونی شده ($P < 0.001$)

پارکینسون + ورزش شنا: PD+Exe، پارکینسون + اولئوروپین: PD+OLE، پارکینسون + اولئوروپین + ورزش شنا: PD+OLE+Exe



نمودار ۳. تأثیر چهار هفته تجویز خوراکی اولئوروپین و تمرین شنا بر میزان تیول در مدل حیوانی بیماری پارکینسون.

نمودار برحسب میانگین \pm انحراف معیار رسم شده است. آنالیز و واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و تست تکمیلی توکی (در هر گروه $n=8$).

علامت ###: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل سالم ($P < 0.001$)

علامت ####: تفاوت معنی‌دار با گروه پارکینسونی شده ($P < 0.001$)

پارکینسون + ورزش شنا: PD+Exe، پارکینسون + اولئوروپین: PD+OLE، پارکینسون: PD، پارکینسون + اولئوروپین + ورزش شنا: PD+OLE+Exe.

بحث و نتیجه‌گیری

لوتئولین ۷-گلوکوسید و کافئیک اسید) در مهار رادیکال‌های آزاد و حفاظت از پراکسیداسیون چربی غشای سلول، با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز، منجر به تنظیم تعادل اکسیداتیو و حفاظت از مخاط معده موش‌های صحرایی تحت استرس شد (Dekanski *et al.*, 2009). مطالعاتی نیز که رابطه مثبت مقدار ترکیب‌های فلاونوئیدی موجود در عصاره‌های گیاهی را با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تأیید کردند گزارش کردند که پیش‌درمان با ویتامین E خوراکی، اثر سمی ۶-OHDA را بر میزان آنزیم سوپراکسیددیسموتاز موجود در تنه مغزی و هسته ساب‌تالامیک کاهش می‌دهد (Perumal *et al.*, 1992). عصاره گیاه ماریتغال نیز که غنی از آنتی‌اکسیدان سیلی‌مارین است، موجب بقای نرون‌های نیگرواستریاتال در بخش متراکم جسم سیاه حتی پس از نورودژنراسیون القاشده به‌وسیله نوروٹوکسین ۶ هیدروکسی دوپامین می‌شود (Baluchnejad *et al.*, 2011). شواهد متعددی نشان می‌دهند که استرس اکسیداتیو نقش کلیدی در دژنراسیون نرون‌های دوپامینرژیک سیستم نیگرواستریال ایفا می‌کند (Dias *et al.*, 2013).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تجویز اولئوروپین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است و در حیوانات پارکینسونی شده، منجر به کاهش معنی‌دار سطح مالون‌دی‌آلدئید، افزایش گلوٹاتیون پراکسیداز و افزایش میزان تیول نسبت به گروه جراحی مبتلا به پارکینسون شد. در مطالعه‌ای که توسط Hajizadeh *et al.* (2014) انجام گرفت، پیش‌تیمار با عصاره برگ زیتون نیز به‌طور معناداری اختلالات تعادلی- قدرتی القاشده در مدل حیوانی بیماری پارکینسونی را کاهش داد و همچنین باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید شد. نتایج نشان دادند که عصاره ی برگ زیتون احتمالاً با اثر حفاظتی و آنتی‌اکسیدانی خود می‌تواند به میزان قابل‌ملاحظه‌ای سبب کاهش اختلالات رفتاری و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل کاتالاز و کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید در بیماری پارکینسون شود. از جمله خصوصیات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مختلف موجود در عصاره برگ زیتون (اولئوروپین، آپیجین ۷-گلوکوسید،

از طرف دیگر گزارش‌هایی مبنی بر اثرات درمانی ورزش بر روی بسیاری از بیماری‌ها و مشکلات نظیر افسردگی، فشار خون بالا، آلزایمر و اعتیاد آمده است. ورزش می‌تواند میزان آزادسازی نوروترانسمیترها نظیر گلوتامات، دوپامین، استیل‌کولین و سروتونین را در مغز تغییر دهد (Naderi *et al.*, 2006). شواهد نشان می‌دهد که ورزش سیستم دوپامینرژیک مغز را فعال کرده، دوپامین موجود در جسم مخطط را افزایش می‌دهد. این یافته‌ها وجود این احتمال را افزایش می‌دهد که ورزش باعث کاهش آسیب‌پذیری نرون‌های دوپامینرژیک نسبت به ۶-OHDA می‌شود (Yoon *et al.*, 2007). پژوهش‌ها بیان می‌کنند که اثر تمرین استقامتی بر میتوکندری‌های مغز با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش عوامل اکسایشی همراه است (Lau *et al.*, 2011). تمرین اجباری روی نوار گردان نیز باعث آنژیوژنز در قشر مغز و جسم مخطط می‌شود. این آنژیوژنز با افزایش فراهم‌بودن اکسیژن و گلیکوژن برای سلول‌ها باعث فعال شدن نرون‌ها می‌شود و از تولید رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند (Ding *et al.*, 2004). فعالیت‌های ورزشی با شدت بالا از طریق افزایش تولید گونه‌های رادیکالی، منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب اکسایشی لیبیدها و تولید بعدی پراکسیداسیون لیبیدی می‌شوند (Tajiri *et al.*, 2010).

دومین یافته این پژوهش نشان داد تمرین شنا سبب کاهش معنی‌دار سطوح مالون‌دی‌آلدهید، افزایش معنی‌دار میزان گلوتامین پراکسیداز و افزایش معنی‌دار میزان تیول نسبت به گروه پارکینسونی شد. مطالعات نشان داده‌اند فعالیت ورزشی موجب کاهش نقایص بدنی و شناختی بیمارانی می‌شود که از اختلالات سیستم عصبی مرکزی شامل سکتة مغزی و آسیب نخاعی رنج می‌برند (Yasuhara *et al.*, 2007). گزارش شده است که چندین عامل تروفیک ممکن است در مکانیسم‌های آثار مفید ورزش بر سیستم عصبی سهیم باشند (Yasuhara *et al.*, 2007). یک

گزارش شده است که در بیماری پارکینسون اتواکسیداسیون دوپامین و همچنین، متابولیسم آنزیمی دوپامین که توسط آنزیم مونو آمین‌اکسیداز B انجام می‌شود، موجب تولید گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود (Semchuk *et al.*, 1993). علاوه بر این رسوب آهن و پراکسیداسیون لیبیدی القاشده به‌وسیله رادیکال‌های آزاد، منجر به آسیب اکسیداتیو در سلول‌های دوپامینرژیک سیستم نیگرواستریاتال می‌شود (Wypijewska *et al.*, 2010). در شرایط فیزیولوژیک غلظت‌های پایینی از پراکسیداسیون لیبیدی در بافت‌ها یافت می‌شود، اما در شرایط بیماری، میزان پراکسیداسیون لیبیدی در جسم سیاه و استریاتوم مغزی بیماران مبتلا به پارکینسون و در نمونه‌های حیوانی افزایش می‌یابد (Venkateshappa *et al.*, 2012). در مدل تجربی بیماری پارکینسون نیز تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین با تولید رادیکال‌های هیدروکسیل در جریان اتواکسیداسیون و با مهار کمپلکس I میتوکندریایی منجر به آسیب اکسیداتیو در این سلول‌های دوپامینرژیک می‌شود (Glinka *et al.*, 1995). در این مطالعه نیز افزایش میزان پراکسیداسیون لیبیدی در ناحیه استریاتوم مغز حیوانات مبتلا به پارکینسون مشاهده شد که در راستای مطالعات قبلی می‌باشد. همچنین یافته مطالعه حاضر نشان داد تیمار با اولئورپین به‌مدت چهار هفته میزان TBARS را نسبت به گروه کنترل افزایش داد. نتایج مطالعه Alirezaei *et al.* (2012) نشان داد تجویز اتانول در موش‌ها، موجب سمیت کبدی شد که به‌وسیله افزایش معنی‌دار سطح آنزیم‌های ترانس آمیناز، کلسترول تام، و همچنین یافته‌های پاتولوژیک کبد مشخص شد. همچنین غلظت TBARS (شاخصی از پراکسیداسیون لیبید) در موش‌های درمان‌شده با اتانول افزایش یافت. در مطالعات اشاره شده است که استرس اکسیداتیو با تولید رادیکال‌های آزاد، سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی مغز را تضعیف می‌کند و مغز در برابر اثرات مخرب آن آسیب می‌بیند (Shukitt-Hale *et al.*, 2006).

تمرین شنا همراه با مصرف عصاره دارای اثرات تعاملی در افزایش میزان فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز و کاهش سطح مالون‌دی‌آلدهید در موش‌های صحرایی است، اما تمرین شنا همراه با مصرف بابونه، در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام موش‌های صحرایی، اثر تعاملی ندارد. بنابراین در مطالعه حاضر براساس مصرف اولئوروپین تأثیر محافظتی در برابر بیماری پارکینسون دارد و تمرین شنا تأثیر آنتی‌اکسیدان‌ها را تقویت می‌کند.

با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد تمرین شنا همراه با مصرف اولئوروپین می‌تواند دفاع آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشیده و پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش دهد. بنابراین، احتمالاً این اثر تعاملی بتواند شیوه درمانی مؤثر و پیشگیرانه‌ای برای جلوگیری از بیماری‌های مرتبط با استرس اکسایشی باشد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد، مصوب معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز می‌باشد. بدین وسیله، از این معاونت تشکر و قدردانی می‌گردد.

فرا تحلیل نشان داد ورزش می‌تواند عملکرد بدنی، کیفیت وابسته به سلامت زندگی، قدرت، تعادل و سرعت گام برداشتن بیماران پارکینسونی را بهبود ببخشد (Goodwin *et al.*, 2008). در حال حاضر کمبود داروهای مؤثر بر حفاظت عصبی که فرایند تحلیل نرونی را متوقف کنند احساس می‌شود. پژوهش‌های فراوان پیشنهاد می‌کنند که ورزش و فعالیت منظم بدنی می‌تواند احتمال خطر آسیب‌های نرونی در آینده مانند پارکینسون و دیگر بیماری‌های تحلیل نرونی را کاهش دهند (Fallah- Mohammadi *et al.*, 2014). همچنین ورزش التیام آسیب جسم سیاه- مخطط را تسریع می‌کند و انتقال عصبی دوپامینرژیک در سیستم جسم سیاه- مخطط را تغییر می‌دهد (O'Dell *et al.*, 2007).

سومین یافته مهم این پژوهش بیان می‌کند که مصرف اولئوروپین همراه با تمرین شنا موجب کاهش معنی‌دار سطوح مالون‌دی‌آلدهید، افزایش معنی‌دار میزان گلوکوتایون پراکسیداز و میزان تیول در مقایسه با گروه پارکینسونی می‌شود. در همین راستا، Mohammad Hosseini *et al.* (2018) در پژوهشی نشان دادند

REFERENCES

- Agah, M.J.; Nassiri-moghaddam, H.; Golian, A.; Raji, A.R.; Farhosh, R. and Zarban, A. (2015). Effect of dietary olive leaves (*Olea europaea* L.) extracts and sesame (*Sesamum indicum* L.) oil on intestinal morphology and some blood parameters in broiler chicken. Scientific-Research Iranian Veterinary Journal Summer; 11(2): 33-4.
- Alirezaei, M.; Dezfoulian, O.; Neamati, Sh.; Rashidipour, M.; Tanideh, N.; Kheradmand, A. (2012). Oleuropein prevents ethanol-induced gastric ulcers via elevation of antioxidant enzyme activities in rats. Journal of Physiology and Biochemistry; 3(40): 218-226.
- Baluchnejad Mojarad, T.; Roghani, M. (2011). Role of estrogenic receptors and oxidative stress on protective effect of aqueous extract of *Silybum marianum* in hemiparkinsonian rat. Kosar Med J; 15(4): 207-12.
- Battistelli, M.; Malatesta, M.; Meschini, S. (2016). Oxidative stress to promote cell death or survival. Oxid Med Cell Longev; 2054650.
- Dekanski, D.; Jančićević-Hudoma, S.; Ristić, S.; Radonjić, N.V.; Petronijević, N.D.; Piperski, V. and Mitrović D.M. (2009). Attenuation of cold restraint stress-induced gastric lesions by an olive leaf extract. General Physiology and Biophysics; 28: 135-142.
- Dias, V.; Junn, E.; Mouradian, MM. (2013). The role of oxidative stress in Parkinson's disease. J Parkinsons Dis; 3(4): 461-91.

- Ding, Y.H.; Luan, X.D.; Li, J.; Rafols, J.A.; Guthinkonda, M.; Diaz, F.G.; Ding, Y. (2004). Exercise-induced overexpression of angiogenic factors and reduction of ischemia/reperfusion injury in stroke. *Curr Neurovasc Res*; 1(5): 411-20.
- Elmarakby, A.A.; Sullivan, J.C.(2012). Relationship Between Oxidative Stress And Inflammatory Cytokines In Diabetic Nephropathy. *Cardiovasc Ther*; 30(1): 49-59.
- Fallah-Mohammadi, Z.; Aghasi, M.; Ahmadi-Kordasai, M. (2014). Neuroprotective effects of exercise with hydroalcoholic extraction of *Eriobotrya japonica* on MANF in the Brainstem of parkinson's rats. *J Shahrekord Univ Med Sci*; 16(3): 43-52.
- Glinka, Y.Y.; Youdim, M.B. (1995). Inhibition of mitochondrial complexes I and IV by 6-hydroxydopamine. *Eur J Pharmacol*; 292(3-4): 329-32h.
- Goudarzi, S.; Rafieirad, M. (2017). Evaluating the effect of α -pinene on motor activity, avoidance memory and lipid peroxidation in animal model of Parkinson disease in adult male rats. *Res J Pharm*; 4(2): 53-63.
- Goodwin, V.A.; Richards, SH.; Taylor, R.S.; Taylor, A.H.; Campbell, J.L. (2008). The effectiveness of exercise interventions for people with Parkinson's disease: a systematic review and metaanalysis. *Mov Disord*; 23(5): 631-40.
- Hajizadeh Moghaddam, A.; Agagolzadeh, M. (2014). Protective effect of olive leaf extract on catalase activity and malondialdehyde levels in striatum destroyed with 6- dopamine. thesis. Ministry of Science, Research, and Technology of Mazandaran University Faculty of Biology.
- Lau, Y.S.; Patki, G.; Das-Panja, K.; Le, W.D. Ahmad, S.O. (2011). Neuroprotective effects and mechanisms of exercise in a chronic mouse model of Parkinsons disease with moderate neurodegeneration. *The European Journal of Neuroscience*; (5): 1380-1390.
- Leite, H.R.; Mourao, F.A.; Drumond, L.E.; Ferreira-Vieira, TH.; Bernardes, D.; Silva, J.F. (2012). Swim training attenuates oxidative damage and promotes neuroprotection in cerebral cortical slices submitted to oxygen glucose deprivation. *J Neurochem*; 123(2): 317-24. PubMed
- Mabandla, M.; Russell, V. (2010). Voluntary exercise reduces the neurotoxic effects of 6-hydroxydopamine in maternally separated rats. *Behav Brain Res*; 211(1): 16-22.
- Malek-Mohammadi, R.; Roghani, M.; Salami, M. (2015). The effect of aqueous extract of *Melissa officinalis* on the oxidative stress indices in the midbrain tissue. *Feyz*; 19 (1): 8-14.
- Mansouri, M.T.Y.; Farbood, M.J.; Sameri, A.; Sarkaki, B.; Naghizadeh, M.; Rafeirad, M.(2013). Neuroprotective effects of oral gallic acid against oxidative stress induced by 6-hydroxydopamine in rats. *Food chemistry*; 138: 1028-1033.
- Mohammad Hosseini, F.; Hosseini, S. A.; Ahmadi, M. (2018). The Effect of a Period of Swimming Training and Chamomile Extract on Antioxidant Status in Adult Male Rats. *Qom Univ Med Sci J*; 12 (6) :10-19
- Naderi, A.; Alaei, H.; Sharifi, M.R.; Hoseini, M. (2006). The comparison between effect of short-term and mid-term exercise on the enthusiasm of the male rats to self-administer morphine. *Iran J Basic Med Sci*; 9(4): 1608-15.
- O'Dell, S.J.; Gross, N.B.; Fricks, A.N.; Casiano, B.D.; Nguyen, T.B.; Marshall, J.F. (2007). Running wheel exercise enhances recovery from nigrostriatal dopamine injury without inducing neuroprotection. *Neuroscience*; 144(3): 1141-51.
- Omar, SH.(2010). Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Sci Pharm*; 78(2): 133-54.

- Perumal, A.S.; Gopal, V.B.; Tordzro, W.K.; Cooper, T.B.; Cadet, J.L. (1992). Vitamin E attenuates the toxic effects of 6-hydroxydopamine on radical scavenging systems in rat brain. *ResBull*; 29(5): 699-701.
- Rajabi, S.; Noori, S.; Zal, F.; Jahanbazi Jahan-Abad, A. (2017). Oxidative Stress and its Different Roles in Neurodegenerative Diseases. *Shefaye Khatam*; 5(1): 73-86.
- Semchuk, K.M.; Love, E.J.; Lee, R.G. (1993). Parkinson's disease: a test of the multifactorial etiologic hypothesis. *Neurology*; 43(6): 1173-80.
- Scopel, D.; Fochesatto, C.; Cimarosti, H.; Rabbo, M.; Bello-Klein, A.; Salbego, C. (2006). Exercise intensity influences cell injury in rat hippocampal slices exposed to oxygen and glucose deprivation. *Brain Res Bull*; 71(1-3): 155-9.
- Sharifi, F.; Rafieirad, M.; Sazegar, H. (2015). Effects of *Ferulago angulata* Extract Against Oxidative Stress Induced by 6-hydroxydopamine in Rats. *J Med Plan*; 1(53): 34-44.
- Shukitt-Hale, B.; Carey, A.; Simon, L.; Mark, D.A.; Joseph, J.A. (2006). Effects of Concord grape juice on cognitive and motor deficits in aging. *Nutrition*; 22(3): 295-302.
- Tajiri, N.; Yasuhara, T.; Shingo, T.; Kondo, A.; Yuan, W.; Kadota, T. (2010). Exercise exerts neuroprotective effects on Parkinson's diseases model of rats. *Brain Res*; 15(1310): 200-7.
- Vazifekkhah, S.; Karimzadeh, F. (2016). Parkinson Disease: from Pathophysiology to the Animal Models. *Shefaye Khatam*; 4(3): 91-102.
- Venkateshappa, C.; Harish, G.; Mythri, R.B.; Mahadevan, A.; Bharath, M.M.; Shankar, S.K. (2012). Increased oxidative damage and decreased antioxidant function in aging human substantia nigra compared to striatum: implications for Parkinson's disease. *Neurochem Res*; 37(2): 358-69.
- Wypijewska, A.; Galazka-Friedman, J.; Bauminger, E.R.; Wszolek, Z.K.; Schweitzer, K.J.; Dickson, D.W. (2010). Iron and reactive oxygen species activity in parkinsonian substantia nigra. *Parkinsonism Relat Disord*; 16(5): 329-33.
- Yasuhara, T.; Hara, K.; Maki, M.; Matsukawa, N.; Fujino, H.; Date, I. (2007). Lack of exercise, via hindlimb suspension, impedes endogenous neurogenesis. *Neuroscience*. 2007; 149(1): 182-91.
- Yoon, M.C.; Shin, M.S.; Kim, T.S.; Kim, B.K.; Ko, I.G.; Sung, Y.H. (2007). Treadmill exercise suppresses nigrostriatal dopaminergic neuronal loss in 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's rats. *Neurosci Lett*; 423(1): 12-7.
- Zar, A.; Hoseini, A.; Ahmadi, F.; Rezaei, M. (2016). Effects of Ginger together with Swimming Training on Blood Fat Profiles in Adult Diabetic Rats with Streptozotocin. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*; 11 (2) :65-74.
- Ziai, S.A.; Moradganjeh, A. (2017). Effects of aqueous extract of parsley on prevention of nerve cells peroxidation in an experimental model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxy dopamine in male rats. *Research in Medicine*; 41(1): 17-23.