

## تاثیر ورزش اجباری بر بافت جسم سیاه و آزمون های رفتاری مدل پارکینسونی القاء شده با ۶-هیدروکسی دوپامین رت های دارای استرس پرناتال

تورج محمد زمانی<sup>۱</sup>، احمدرضا موحدی<sup>۲\*</sup>، الهه عرب عامری<sup>۳</sup>

(۱) گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

(۲) گروه رفتار حرکتی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

(۳) گروه رفتار حرکتی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۷/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۲۰

### چکیده

**مقدمه:** استرس پرناتال موجب تغییرپذیری مغز شده و اثرات طولانی مدتی بر ساختار و عملکرد آن بر جای می گذارد. پارکینسون یک بیماری مخرب عصبی پیشرونده است و یکی از عوامل مستعدکننده پارکینسون استرس پرناتال است. پرداختن به فعالیت ورزشی روشی مناسب برای پیشگیری این بیماری می باشد. این مطالعه با هدف بررسی میزان اثر بخشی ورزش اجباری بر بافت جسم سیاه در رت های پارکینسونی دارای استرس پرناتال انجام گردید.

**مواد و روش ها:** این پژوهش به صورت تجربی انجام گرفت. تعداد ۴۸ موش نر نژاد ویستار که نیمی از آن ها تحت استرس پرناتال و به دنبال آن پرداختن به فعالیت ورزشی اجباری قرار گرفته بودند در ۸ گروه ۶ تایی؛ با استرس (کنترل، شم، پارکینسونی، پارکینسون+ورزش اجباری) و بدون استرس (کنترل، شم، پارکینسونی، پارکینسون+ورزش اجباری) تقسیم شدند. پس از ۸ هفته، حیوانات جراحی استریوتاکس گردیدند، سه هفته بعد علائم پارکینسون با استفاده از آزمون آپومورفین Rotation test و Wire grasping بررسی گردید. تعداد نورون ها جسم سیاه مغز با استفاده از میکروسکوپ شمارش و داده های با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی تحلیل گردید.

**یافته های پژوهش:** یافته ها نشان داد که در گروه های با و بدون استرس، تعداد نورون های جسم سیاه گروه ورزش اجباری با گروه پارکینسون تفاوت داشتند و این تفاوت از نظر آماری معنی دار بود ( $P=0.000$ ) و بین میانگین تعداد نورون های جسم سیاه گروه ورزش اجباری در دو گروه با و بدون استرس تفاوت معنی دار بود ( $P=0.014$ ).

**بحث و نتیجه گیری:** نتایج به اثرات ورزش اجباری در حفاظت بهتر تعداد نورون های جسم سیاه اشاره می کند و پیشنهاد می نماید ورزش می تواند به عنوان یک عامل سودمند در کاهش دژنره شدن نورون های دوپامینرژیک بیماری پارکینسون موثر باشد و نیز استرس پرناتال باعث کاهش اثرات سودمند ورزش می گردد.

**واژه های کلیدی:** ورزش اجباری، استرس پرناتال، جسم سیاه، پارکینسون

\* نویسنده مسئول: گروه رفتار حرکتی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

Email: armovahedi@yahoo.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

## مقدمه

استرس به عنوان آشفتگی روحی و عاطفی تعریف شده است که در پاسخ به عوامل زیان آور خارجی، هم چنین محرک یا موقعیت های ایجادکننده آن رخ می دهد (۱). تحقیقات نشان می دهند که استرس فیزیکی محیطی اعمال شده در پریناتال پاسخ های رفتاری بعدی موجود زنده را تحت تاثیر قرار می دهد. استرس مزمن دوره بارداری با تغییر نوع ترانسسمیترها و ساختار نورونی در مسیرهای عصبی سبب به وجود آمدن بیماری ها و بروز اختلالات بسیاری در فرزندان می شود (۲). از سوی دیگر استرس وارد شده به مادر سبب تغییراتی در رشد بافت جنینی در مغز و تغییرات نوروتروپیک در نورون های مغز جنین می شود. استرس حاد از جمله استرس بی حرکتی باعث تغییرات معنی داری در فعالیت حرکتی، اضطراب و اثرات ضد درد می گردد. بسیاری از این تغییرات به نوروترنسمیتر دوپامین (DA) نسبت داده شده است. در انسان اختلال در عملکرد سیستم دوپامینرژیک با رشد چندین اختلال عصبی مانند پارکینسون (PD)، اسکیزوفرنی، اختلال بیش فعالی و افسردگی همراه است (۳).

بیماری پارکینسون بعد از آلزایمر به عنوان شایع ترین بیماری مخرب عصبی مطرح است. این بیماری تقریباً ۱ درصد از افراد بالای ۵۰ سال را در حال حاضر مبتلا کرده است. علائم بالینی بیماری تقریباً به دنبال از بین رفتن حدود ۸۰ درصد از نورون های دوپامینرژیک جرم سیاه بروز می کند (۴). اگر چه علت این بیماری هنوز شناخته شده نیست، اما دو عامل محیط و ژنتیک بر ای این بیماری مطرح شده است (۵). تحقیقات نشان داده اند که عوامل محیطی و سبک زندگی مانند رژیم غذایی، آموزش، ورزش و قرار گرفتن در معرض ترکیبات سمی بر فرآیند تخریب نورونی پیش رونده که منجر به بیماری پارکینسون می شود، اثرگذار است (۶).

تمرین بدنی یک رویکرد غیر دارویی است که معمولاً به بیماران مبتلا به پارکینسون به منظور کاهش اثرات مخرب بیماری توصیه می شود (۷). در مدل موش های پارکینسونی در معرض استرس پریناتال و القاء شده با هیدروکسی دوپامین، ورزش اختیاری

اثری حفاظتی بر جرم سیاه نشان داد و اثرات مفید ورزش به عنوان بهبود در کنترل حرکتی نمایان شد (۸). مدل های اخیر توان بخشی اغلب از استراتژی های جبرانی به عنوان مدیریت درمانی استفاده کرده اند، با این حال شواهدی در مورد سودمندی ورزش در شرایط نوروپلاستی و توانایی خود تعمیری مغز وجود دارد (۹). در میان الگوهای ورزشی مختلف، فعالیت اختیاری روی چرخ دوار، دوی اجباری تردمیل و حرکات مقاومتی عضلانی، رایج ترین مدل های ورزشی اتخاذ شده هستند. این ورزش ها، جدا از مزایای بدنی خود، عملکرد شناختی را بهبود بخشیده و بازتوانی عصبی را بعد از آسیب مغزی، آسان تر می کنند (۱۰). تحقیقاتی که به بررسی اثر ورزش اجباری بر رت های مبتلا به پارکینسون پرداخته اند نتایج متناقضی را نشان می دهند

برخی تحقیقات نشان داده اند که تمرینات اجباری دویدن روی نوارگردان آثار بهبود عملکرد ناشی از فعالیت بدنی را پنهان می سازد و دلیل آن را استرس مزمن ناشی از ورزش اجباری می دانند. در حالی که برخی دیگر نتایج متفاوتی نشان داده اند.

بیش از ۸۰ درصد از زنان باردار استرس، بویژه استرس روانی را تجربه می کنند (۱۱). کورتیکواستروئیدها تولید شده ناشی از استرس در بدن مادر ممکن است به راحتی از سد جفت گذشته و بر فعالیت سلول های جنین اثر بگذارد و برنامه ریزی سلول های عصبی جنینی را تغییر دهد و در رشد سیستم عصبی تداخل ایجاد نماید (۱۲).

اغلب قرار گرفتن در معرض استرس مادر غیرقابل کنترل است و عواقب طولانی مدت آن نیاز فوری برای استراتژی های درمانی را اهمیت می بخشد که به طور موثری برنامه نویسی استرس را معکوس می سازد. تحقیقات نشان داده است که قرار گرفتن در معرض تجارب مناسب یکی از قدرتمندترین درمان ها برای افزایش نوروپلاستیسی و عملکرد حرکتی در هر زمان از زندگی می باشد (۱۳). تحقیقات انجام شده که اثر ورزش را در افراد مبتلا به پارکینسون ناشی از استرس پریناتال بررسی نمایند، بسیار اندک می باشد.

در این پژوهش عامل استرس زای جدایی از مادر کنترل شده است و نتایج منحصراً به دلیل استرسپریناتال می باشد.

ارزیابی عواقب سطوح رفتاری، عملکردی و مورفولوژیکی ناشی از استرس مادر در مدل حیوانی بسیار مفید است که در آن نه تنها عوامل محیطی و ژنتیکی راحت تر کنترل می شوند بلکه زمان، شدت و مدت قرار گرفتن در معرض استرس توسط محقق تعیین می شوند. بنا بر این قابل اعتمادترین حمایت در مورد اثرات استرس قبل از تولد بر رشد و رفتار فرزندان از آزمایشات بر روی جوندگان و پستانداران غیر انسانی به دست می آید (۱۴).

درمان قطعی برای این بیماری وجود ندارد و اغلب درمان هایی که صورت می گیرد در جهت کاهش علائم این بیماری است، از این رو در حال حاضر تحقیقات به سمت شناخت روش های نوین برای پیشگیری از بروز این بیماری است. به دلیل محدودیت و فقدان تحقیقات انجام شده در مورد اثربخشی ورزش در پیشگیری و کاهش علائم بیماری پارکینسون در افراد دارای استرسپریناتال، هم چنین با توجه به اهمیت بررسی اثر عوامل مختلف استرس زا در دوران بارداری بر نوروں های دوپامینرژیک در فرزندان پس از تولد و کمک به کاهش مشکلات بهداشتی و هزینه های درمانی بعدی فرزندان، مطالعه بیشتر در این خصوص کاملاً ضروری به نظر می رسد و پیشگیری از افزایش روز افزون تعداد بیماران پارکینسون در جامعه از ضروریات و اهمیت انجام این پژوهش می باشد.

### مواد و روش ها

روش این پژوهش از نوع تجربی بود. ۴۸ رت نر نژاد ویستار که نیمی از آن ها در شرایط استاندارد و طبیعی و نیم دیگر تحت استرس پیش از تولد با قرارگیری مادر در شرایط بی حرکتی توسط دستگاه restrainer از روز ۸ تا ۲۱ دوره بارداری هر روز به مدت ۳ ساعت قرار گرفتند، استفاده گردید. از روز تولد تا روز ۲۱ نوزادان و مادر در شرایط بدون استرس قرار

گرفتند. در روز ۲۱ بعد از تولد نوزاد از مادر جدا شده و سپس هر ۳ نوزاد در یک قفس جداگانه و در شرایط استاندارد قرار گرفتند، که به آب و مواد غذایی ویژه موش ها دسترسی آزاد داشتند. در روز ۳۰ پس از تولد، رت های دارای استرسپریناتال و بدون استرسپریناتال در ۸ گروه زیر تقسیم شدند.

-گروه های کنترل ۱ و ۲ که در شرایط استاندارد زندگی کردند و هیچ گونه فعالیت بر روی آن ها انجام نگردید.

-گروه های شم ۱ و ۲ که در این گروه از حلال سالین به جای تزریق سم 6-OHDA، استفاده شد. با توجه به این که در تزریق نوروتوکسین سوزن همیلتوناز ساختارهای متفاوتی از مغز عبور می کند؛ بنا بر این هدف از طراحی این گروه، بررسی اثر تخریب احتمالی سوزن همیلتون بود.

-گروه های پارکینسونی ۱ و ۲ که در این گروه با تزریق 6-OHDA برای القاء پارکینسون استفاده گردید. -گروه های ورزش اجباری+پارکینسون ۱ و ۲ که در این گروه ۸ هفته تمرینات تردمیل به صورت اجباری بر اساس پروتکل تمرین و سپس القاء پارکینسون با 6-OHDA صورت گرفت. (عدد ۱ مشخصه بدون استرس و عدد ۲ مشخصه با استرس می باشد).

به منظور آشناسازی حیوانات با تردمیل جهت پرداختن به فعالیت ورزشی اجباری و به حداقل رساندن استرس رت ها، ۳ روز قبل از شروع پروتکل به صورت فزاینده روی تردمیل تمرین داده شدند (۳ روز، ۱۰ دقیقه، سرعت ۱۲ متر بر دقیقه). حیوانات بی میل به دویدن روی تردمیل در دوره آشناسازی حذف شدند. برنامه گرم کردن در ابتدای هر جلسه تمرینی شامل ۳ دقیقه دویدن با سرعت ۷ متر دقیقه و افزایش سرعت در هر دقیقه دو متر در دقیقه تا رسیدن به سرعت مورد نظر بود. گروه تمرین، پنج روز در هفته و به مدت ۸ هفته روی تردمیل به اجرای تمرینات اجباری دویدن پرداختند. برنامه تمرینی اصلی به صورت پیشرونده و شامل ۲۵ دقیقه دویدن با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در هفته اول آغاز و تا ۶۴ دقیقه دویدن با سرعت ۲۲ متر در دقیقه در هفته هشتم ادامه داده شد (۱۵).

Tokyo, Japan, Olympus, BX51 WI عکسبرداری صورت گرفت. تراکم عددی تعداد نورون ها تیره در عکسبرداری X40 در ناحیه متراکم جسم سیاه از سمت میانی تا بخش جانبی در برش کرونال با نرم افزار Image G و با استفاده از روش مورفومتری در واحد سطح سنجش شد. برای این کار تعداد نورون های تیره با استفاده از قاب های مخصوص شمارش و با مساحت ۱۰۰۰۰ میکرومتر مربع شمرده شدند. میانگین تراکم عددی نورون ها در واحد سطح با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

در این فرمول مجموع تعداد نورون های تیره شمارش شده در هر مقطع،  $a/f$  مساحت ناحیه شمارش شده با استفاده از قاب مخصوص شمارش و  $\Sigma P$  مجموع قاب های شمارش گردید.

$$N_A = \frac{\Sigma Q}{a/f \cdot \Sigma P}$$

تجزیه و تحلیل آماری: پس از انجام آزمون کولموگراف اسمیرنوف و تایید نرمال بودن توزیع داده ها، از آزمون های پارامتریک استفاده گردید. جهت بررسی تفاوت های موجود در بین گروه های مورد آزمایش از تحلیل واریانس یک طرفه و هم چنین در صورت مشاهده اختلاف معنی دار از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. در این پژوهش از برنامه SPSS نسخه ۲۰ استفاده گردید.

### یافته های پژوهش

جهت بررسی میزان تاثیر ورزش اجباری بر روی نورون ها، از آزمون های رفتار چرخش آپومورفین (Apo morphine rotation test) و آزمون چنگ زدن به سیم (Hanging or wire grasping test)، هم چنین از نظر بافت شناسی، شمارش کمی تعداد نورون ها در ناحیه بخش متراکم جسم سیاه مورد بررسی قرار گرفت.

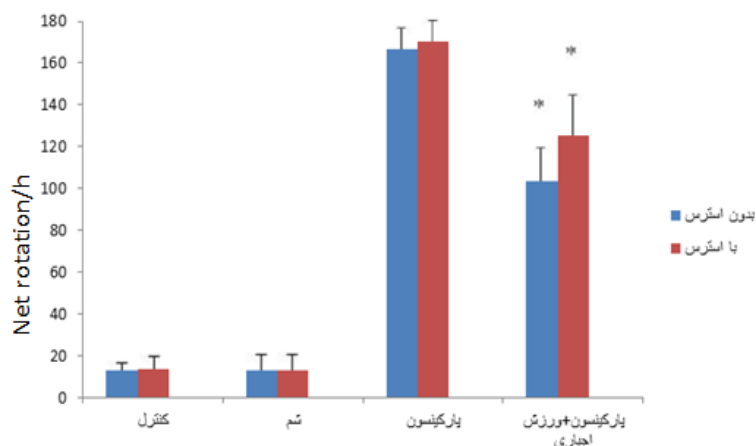
آزمون رفتار چرخشی آپومورفین: بررسی رفتار چرخشی توسط دارویی آپومورفین هیدروکلراید با غلظت ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم سه هفته بعد از جراحی انجام پذیرفت. برای اندازه گیری تعداد دفعات چرخش از روش استاندارد استفاده شد (۱۷). به این ترتیب که موش ها ده دقیقه قبل از شروع ارزیابی به منظور

پس از ۸ هفته زندگی در شرایط استاندارد و انجام ورزش اجباری، تمامی حیوانات با کتامین و زیلازین بیهوش شده و مورد جراحی استریوتاکس و تزریق سم ۶-هیدروکسی دوپامین قرار گرفتند. با توجه به اطلس Watson و Paxinos مختصات تزریق به قرار زیر می باشد:  $+9/2$  میلی متر قدامی-خلفی،  $-3$  میلی متر جانبی و  $4/5$  میلی متر شکمی. میله دندانی  $3/3$  میلی متر پایین تر از سطح افقی تنظیم گردید (۱۶). بعد از سوراخ کردن محل مورد نظر با استفاده از دریل دستی، ۶ میکروگرم نوروکسین (6-OHDA) در ۲ میکرو لیتر سالین  $0/9$  درصد حاوی اسید اسکوربیک ۲ درصد به درون CNS سمت چپ با استفاده از سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرو لیتری که به پمپ تزریق نصب شده بود تزریق گردید. سرعت تزریق  $0/33$  میکرو لیتر در دقیقه بود. برای جلوگیری از بازگشت محلول به درون سرنگ و انتشار بهتر محلول در مغز، سوزن به مدت ۷ دقیقه پس از تزریق در جای خود قرار داده شد. سپس سر حیوانات بخیه و حیوانات جراحی شده در قفس های جداگانه مورد مراقبت قرار گرفتند. در این پژوهش سه هفته بعد از جراحی آزمون چرخش آپومورفین و آزمون آویزان ماندن و چنگ زدن انجام شد. در ادامه حیوانات با محلول اثر بیهوش و سپس کشته شدند. بعد از وزن کشی حیوان، بافت مغز آن ها به سرعت و با دقت زیاد از داخل جمجمه خارج گردید. وزن مغز هر حیوان ثبت و جهت مطالعه میکروسکوپی نوری، نمونه هایی از نیمکره چپ در داخل محلول فیکساتور فرمالین ۱۰ درصد به مدت چهار روز قرار داده شد. سپس مراحل پاساژ بافتی توسط دستگاه tissue processor شامل فیکس کردن، آبگیری، شفاف سازی و آغشتگی انجام شد. بلوک های پارافینی تهیه و برش های سریالی نازکی به ضخامت ۵ میکرومتر توسط دستگاه میکروتوم دوار در ناحیه جسم سیاه انجام شد. در نهایت از هر نمونه ۹ برش در قسمت قدامی، میانی و خلفی بافت به صورت تصادفی سیستماتیک یکنواخت انتخاب گردید به طوری که تمامی بافت را شامل شود و پس از رنگ آمیزی با هماتوکسین آئوزین لام های میکروسکوپی تهیه گردید. سپس از برش های انتخاب شده با درشت نمایی X40 و X100 با میکروسکوپ

سازگاری با محفظه استوانه ای به داخل محفظه انتقال یافتند. قطر استوانه ۳۳ سانتی متر ارتفاع ۲۵ سانتی متر انتخاب شد. موش ها چند دقیقه پس از تزریق در داخل استوانه در جهت عکس سمت دیده کنترل‌الترال (سمت راست) شروع به چرخش کرده و تعداد چرخش های کامل آن ها به مدت یک ساعت شمارش گردید (۱۸).

نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد در تمامی گروه های که تحت تاثیر نوروتوکسین قرار گرفتند، درجات مختلفی از چرخش القا شده با سم ۶-هیدروکسی دوپامین مشاهده گردید. به طوری که تمامی گروه های پارکینسونی نسبت به گروه کنترل (۱-ساله بدون استرس پرناتال) در آزمون چرخش آپومورفین افزایش معنی داری

داشتند ( $P=0.00$ ). که نشان دهنده اثر سم ۶-هیدروکسی دوپامین در ایجاد بیماری پارکینسون می باشد. در حالی که تفاوت معنی داری بین گروه های کنترل با و بدون استرس و نیز شم با و بدون استرس مشاهده نشد ( $P=1.00$ ). به عبارت دیگر استرس پرناتال بر میزان چرخش آپومورفین اثری ندارد. هم چنین تاثیر ورزش اجباری نتوانست از مرگ سلول های جسم سیاه جلوگیری کند ( $P=0.000$ ). اما در گروه های تمرینات هوازی+پارکینسون با و بدون استرس پرناتال تعداد چرخش ها به طور معنی داری کمتر از گروه پارکینسونی با و بدون استرس پرناتال بود ( $P=0.000$ ). استرس پرناتال باعث کاهش اثرات سودمند ورزش بر چرخش آپومورفین شد ( $P=0.044$ ) (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱. میانگین تعداد چرخش به سمت راست (کنترل‌الترال) ناشی از القاء آپومورفین در گروه های مورد آزمایش (با استرس و بدون استرس). \* اختلاف معنی دار بین گروه پارکینسون+ورزش اجباری (با و بدون استرس) با گروه کنترل و پارکینسون (با و بدون استرس) ( $P \leq 0.05$ ).

کرونومتر ثبت شد. موش ها به صورت تصادفی انتخاب شدند و برای هر موش، سه بار این آزمایش انجام شد. بین هر یک از مراحل آزمایش، نیم ساعت به حیوان استراحت داده شد (شکل شماره ۱)

آزمون چنگ زدن و آویزان ماندن: هر موش به وسیله دست های جلویی خود، از یک سیم فلزی به طول ۱۰۰ سانتی متر و قطر ۷ میلی متر آویزان شد. هنگامی که حیوان به سیم فلزی چنگ می زند، آن را محکم می گیرد و مدت زمان تاخیر در سقوط حیوان توسط

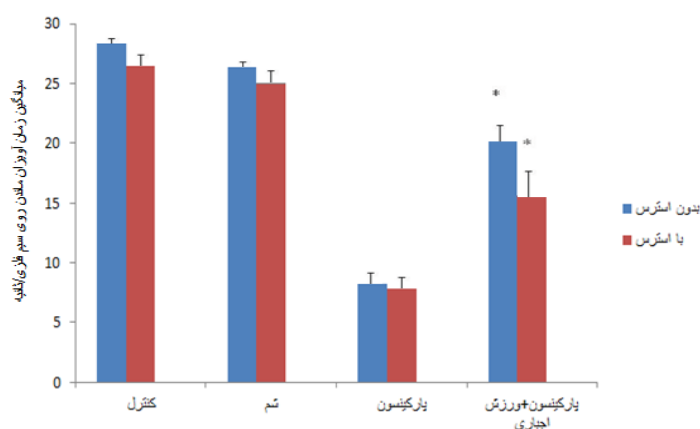


شکل شماره ۱. نحوه انجام آزمایش بررسی قدرت عضلانی با استفاده از آزمون (Hanging or wire grasping test)

در گروه های با استرس پری‌ناتال؛ گروه پارکینسونی مدت زمان آویزان ماندن ( $7/85 \pm 1/7$ ) ثانیه کمتری را روی سیم فلزی نسبت به گروه کنترل (ثانیه  $26/4 \pm 1/35$ ) داشتند ( $P=0.000$ ). گروه ورزشی اجباری رت های پارکینسونی شده، افزایش میانگین زمان باقی ماندن بیشتری به مدت (ثانیه  $15/58 \pm 2/80$ ) را نسبت به گروه پارکینسونی نشان دادند که این اختلاف از نظر آماری معنی دار است ( $P=0.000$ ). بین گروه شم با مدت زمان (ثانیه  $24/90 \pm 1/50$ ) و گروه کنترل تفاوتی مشاهده نگردید ( $P=0.836$ ).

در نهایت این که در گروه های با وبدون استرس، انجام ورزش اجباری اختلاف آماری را از نظر زمان آویزان ماندن بر روی سیم نسبت به گروه کنترل نشان دادند ( $P=0.000$ ) (نمودار شماره ۲).

برای بررسی قدرت عضلانی، از آزمون آویزان ماندن از سیم فلزی استفاده گردید. نتایج حاصل از تحلیل های آماری در گروه های بدون استرس نشان داد؛ القاء پارکینسون با تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین، باعث کاهش مدت زمان آویزان ماندن (ثانیه  $8/27 \pm 1/62$ ) حیوان روی سیم فلزی نسبت به گروه کنترل (ثانیه  $28/50 \pm 0/95$ ) شد ( $P=0.000$ ). پرداختن به فعالیت ورزشی اجباری رت های پارکینسونی شده، باعث افزایش میانگین زمان باقی ماندن حیوان به مدت (ثانیه  $20/48 \pm 2/16$ ) گردید. این اختلاف بین گروه ورزش اجباری و گروه پارکینسونی تخریب شده با سم ۶-هیدروکسی دوپامین از نظر آماری معنی دار است ( $P=0.000$ ). گروه شم (تزریق سالین نرمال) با مدت زمان آویزان ماندن (ثانیه  $26/40 \pm 0/85$ ) تفاوت معنی داری را با گروه کنترل نشان نداد ( $P=1.000$ ).

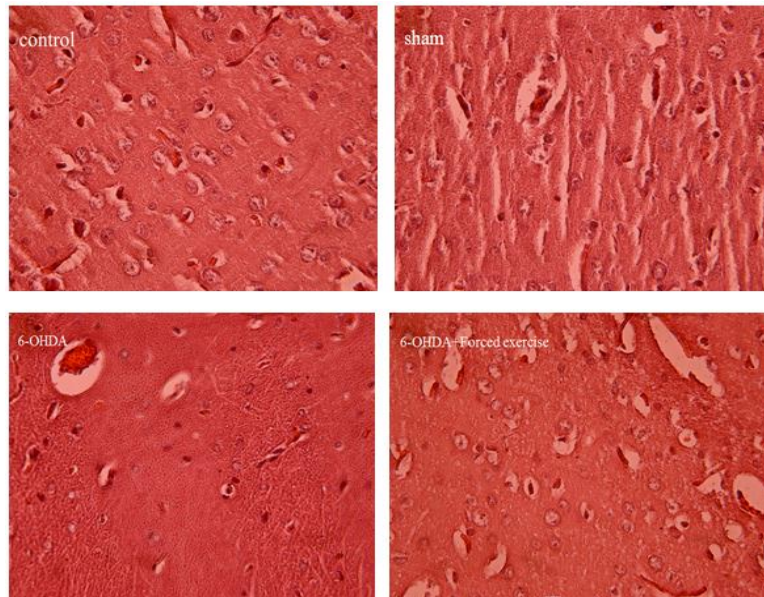


نمودار شماره ۲. میانگین زمان آویزان ماندن حیوان روی سیم فلزی در گروه های مورد آزمایش با و بدون استرس. \* اختلاف معنی دار بین گروه های (پارکینسون+ورزش اجباری) با و بدون استرس با گروه (پارکینسونی) با و بدون استرس و گروه کنترل ( $P \leq 0.05$ ).

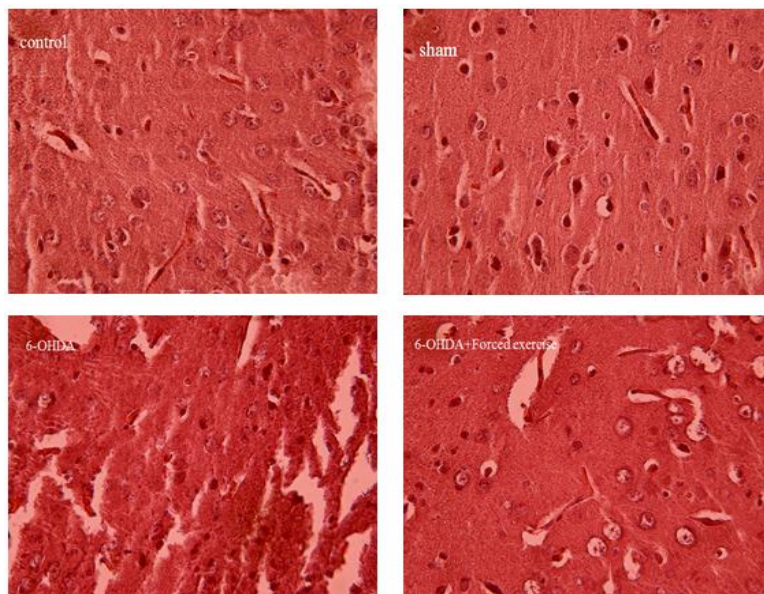


در برش های منطبق با چهار سطح ۲/۹، ۳/۲، ۳/۷ و ۴/۲ اطلس پارکینسون نسبت به مرکز خط بین دو گوش انجام گرفت (۲۰). بررسی بافت شناسی و شمارش تعداد نورون های بخش متراکم جسم سیاه در هر چهار گروه کنترل، شم، پارکینسونی و ورزش اجباری در گروه با و بدون استرس با بزرگ نمایی ۱۰۰ برابر مورد بررسی قرار گرفت (شکل شماره ۳ و ۲).

مطالعه بافت شناسی و شمارش نورونی (CNS)، مطالعه میکروسکوپی در مورد کلیه نمونه ها با استفاده از میکروسکوپ Olympus, BX51 انجام گردید. در هر حیوان برش های میانسی (۴/۲-۹/۲ mm Interaural) طبق روش بیان شده توسط Blandini بررسی گردید (۱۹). شمارش نورون های واقع در بخش متراکم جسم سیاه



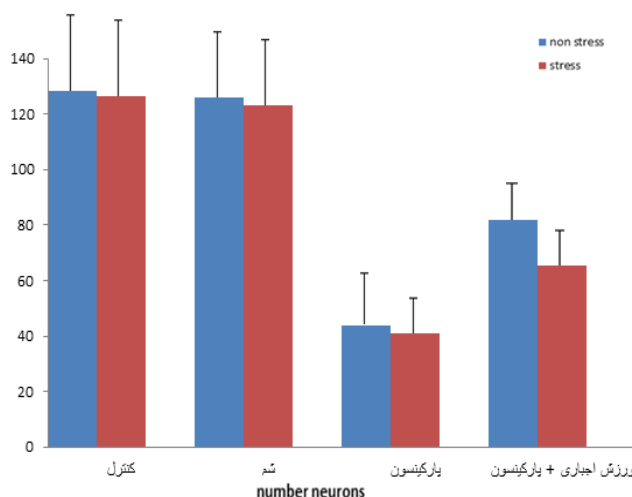
شکل شماره ۲. نمای میکروسکوپی نورون های دوپامینرژیک جسم سیاه در گروه بی استرس: (کنترل؛ بدون هیچ گونه تزریق)، (شم؛ تزریق سالین نرمال)، (پارکینسونی؛ تخریب با 6-OHDA)، (پارکینسونی+ورزش اجباری).



شکل شماره ۳. نمای میکروسکوپی نورون های دوپامینرژیک جسم سیاه در گروه با استرس- (کنترل؛ بدون هیچ گونه تزریق)، (شم؛ تزریق سالین نرمال)، (پارکینسونی؛ تخریب با 6-OHDA)، (پارکینسونی+ورزش اجباری).

پرداخته بودند نسبت به گروه های پارکینسونی بدون فعالیت دارای بیشترین تعداد نورون در بخش متراکم جسم سیاه بودند که این مقدار نیز از نظر آماری معنی دار بود ( $P=0.000$ ). کمترین تعداد نورونی مربوط به گروه پارکینسونی تخریب با 6-OHDA بود که اختلاف معنی دار آماری را با سایر گروه های مورد مطالعه نشان داد ( $P=0.000$ ). ورزش اجباری، به طور معنی داری از تخریب نورون های جسم سیاه جلوگیری نکرد ( $P\leq 0.001$ ). از طرفی استرس پریناتال باعث کاهش اثرات سودمند ورزش اجباری گردید ( $P=0.014$ ) (نمودار شماره ۳).

نتایج حاصل از بررسی بافتی در ناحیه متراکم جسم سیاه از قسمت میانی تا بخش جانبی در برش عرضی، حاکی از آن بود که میانگین و انحراف معیار تعداد نورون های شمارش شده در واحد میکرومتر مکعب در گروه ها با و بدون استرس با هم اختلاف معنی داری را نشان ندادند ( $P\leq 0.001$ ). بیشترین تعداد نورون ها به ترتیب مربوط به گروه کنترل و شم بود که تعداد آن ها نسبت به سایر گروه ها از لحاظ آماری معنی دار بود ( $P\leq 0.001$ ). هم چنین تفاوت معنی داری بین گروه های کنترل و شم با و بدون استرس پریناتال مشاهده نشد ( $P\leq 0.001$ ). بعد از گروه های یاد شده گروه های پارکینسونی که به انجام ورزش اجباری



نمودار شماره ۳. میانگین و انحراف معیار تعداد نورون ها در نیمکره سمت چپ گروه های مورد آزمایش

می گردد (۲۱). در این مطالعه نیز نتایج حاصل از القاء سم ۶-هیدروکسی دوپامین در رت ها، توسط آزمون آپومورفین مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاصل، نشان از تاثیر سم نوروتوکسین و اثر تخریبی آن بر جسم سیاه داشت.

دیمونس، بلکلند و همکاران در سال (۲۰۰۲)، بیان کردند که بین مرگ سلول های دوپامینرژیک هسته جسم سیاه و شدت علائم رفتاری بیماری پارکینسون القاء شده با ۶-هیدروکسی دوپامین ارتباط مثبت معنی داری وجود دارد (۲۲). نتایج آزمون رفتاری چرخشی (Rotation test) حاصل از القاء آپومورفین

## بحث و نتیجه گیری

در این پژوهش تاثیرات پرداختن به فعالیت ورزش اجباری مدل تجربی بیماری پارکینسون بر بافت جسم سیاه مغز و عملکرد رفتاری موش های صحرایی نر نژاد ویستار دارای استرس پریناتال مورد بررسی قرار گرفت. آسیب یک طرفه به سیستم دوپامینرژیک جسم سیاه از طریق تزریق داخل بطنی سم ۶-هیدروکسی دوپامین (6-OHDA) باعث کاهش دوپامین و در نتیجه افزایش گیرنده های پس سیناپسی دوپامینرژیک و عدم تقارن کارکردی می شود که میزان آسیب توسط چرخش کنترالتال ناشی از تست آپومورفین تایید



هیدروکلراید در گروه با و بدون استرس، تفاوت معنی داری در تعداد چرخش های به سمت مخالف قسمت آسیب دیده (کنترالتال) در گروه های ورزش اجباری با گروه کنترل را نشان می دهد. این در حالی است که در رت های دارای استرسپرینتال تفاوت بین گروه ورزش اجباری و کنترل بیشتر از تفاوت در تعداد چرخش بین دو گروه کنترل و ورزش اجباری در رت های بدون استرس می باشد، به عبارتی تعداد چرخش به سمت راست گروه ورزش اجباری حیوانات دارای استرسپرینتال زیادتر بود و این بدان معنی است که وجود عوامل استرس زایپرینتال تا حدودی از اثرات مفید ورزش در نگهداری و حفاظت نورونی جسم سیاه مغز می کاهد. بر اساس نتایج پژوهش ما، پرداختن به فعالیت های ورزشی اجباری باعث بهبود در عملکرد آزمون های رفتاری مورد آزمایش در پژوهش گردید، به طوری که این نتیجه با یافته های رابرت اولیور و همکاران (۲۰۱۷) هم خوانی دارد. آن ها در پژوهش خود نشان دادند که انجام فعالیت ورزشی بر رو ترمیم باعث بهبود تغییرات رفتاری، عصبی و ایمنونوهیستوشیمی مشاهده شده در گروه پارکینسونی القاء شده با ۶-هیدروکس دوپامین در گروه های غیر ورزشی شد. به نظر می رسد انجام فعالیت ورزشی باعث کاهش استرس اکسیداتیو، کاهش پراکسیداسیون لیپید و به طور عمده تنظیم BDNF در جسم سیاه افراد آسیب دیده می گردد (۲۳).

نتایج آزمایش بررسی قدرت عضلانی و تعادل با استفاده از آزمون چنگ زدن و آویزان ماندن در گروه های با و بدون استرس نشان داد؛ گروه های که به انجام ورزش اجباری پرداخته بودند، اختلاف آماری معنی داری را با گروه پارکینسونی تخریب با ۶-هیدروکسی دوپامین از نظر زمان آویزان ماندن بر روی سیم داشتند، به نحوی که حیوانات گروه ورزش اجباری مدت زمان بیشتری آویزان ماندند، این موضوع به عملکرد بهتر و طبعاً قدرت عضلانی و مغزی بالاتر این گروه اشاره دارد. این نتایج با پژوهش مال سونشین و همکاران (۲۰۱۶) همسو است. آن ها در یک پژوهش به بررسی اثر

تسهیل کنندگی تمرینات ترمیم بر پلاستیسیته سیناپسی رشته ها و نورون های دوپامینرژیک در مدل موش های پارکینسونی پرداختند. نتایج نشان داد ورزش ترمیم ممکن است به عنوان یک استراتژی درمانی بالقوه برای بهبود توانایی هماهنگی و تعادل حرکتی بیماران پارکینسونی به وسیله تسهیل پلاستیسی سیناپسی و افزایش برآمدگی دندریتی در نورون های دوپامینرژیک نیگرو استریاتال جسم سیاه-مخطط به کار رود (۲۴).

اسکونس، چرچیل و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی اثر ۴ هفته تمرین پس از القاء سم MPTP پرداختند. آن ها نشان دادند که ورزش اجباری باعث بهبود رفتار در ارزیابی های چندگانه رفتاری علی رغم از دست رفتن ۷۳ درصد و ۵۳ درصد هیدروکسیلاز تیروزین در دورسالتال جسم مخطط و جسم سیاه در رت های مبتلا به پارکینسون شد. نتایج نشان داد ورزش اختلالات حرکتی را کم نمی کند اما تثبیت شدن نوروترنسمیترها خارج نورونی، شاهدهی برای بازیابی نوروترنسمیترهای دوپامین و گلوتامات می باشد و باعث کاهش التهاب می گردد و این که اگر ورزش هم نتواند به تنهایی یک درمان موفق باشد ولی می تواند مکمل درمانی خوب برای افراد پارکینسونی باشد (۲۵).

از طرفی لندرس و همکاران (۲۰۱۴) در پژوهشی به بررسی اثر ورزش اجباری قبل و بعد از پارکینسون (به وسیله القاء سم 6-OHDA) پرداختند. نتایج پس از ۴ هفته ورزش اجباری قبل یا بعد از پارکینسون هیچ تفاوتی را از نظر آزمون های رفتار حرکتی بین گروه کنترل و گروه ورزش اجباری نشان نداد. آن ها بیان کردند که استرس ناشی از شوک انگیزشی در دوییدن اجباری ممکن است اثرات سودمند رفتاری را پنهان کرده باشد. هم چنین ممکن است تاثیر یک هفته ای در اجرای پروتکل تمرینی در گروه ورزش اجباری بعد از القاء سم

6-OHDA باعث پنهان شدن سودمندی ورزش اجباری گردیده باشد (۲۶). یکی از دلایل عدم هم خوانی پژوهش فوق با مطالعه حاضر می تواند مدت زمان ورزش اجباری باشد.

هورمون استرس بیش از حد در گردش خون مادر می تواند برنامه ریزی سلول های عصبی جنین را تغییر دهد و در رشد سیستم عصبی تداخل ایجاد نماید. همراه با عوامل ژنتیکی، نوع و ماهیت محیط زیست پس از تولد، کیفیت توجه به مادر و استرس تجربه شده در رحم می تواند در رفتار فرزند عاملی تعیین کننده باشد (۲۷).

نتایج این پژوهش نشان داد که؛ استرس پریناتال باعث کاهش اثرات سودمند ورزش در آزمون چنگ زدن شد. نتایج آزمون رفتار چرخشی نیز حکایت از تعداد چرخش بیشتر به سمت راست گروه ورزش اجباری دارای استرس نسبت به گروه ورزش اجباری بدون استرس پریناتال دارد. بر اساس مطالب یاد شده به وضوح میزان تاثیرات منفی استرس پریناتال را در کاهش اثرات مفید ورزش اجباری در گروه های پارکینسونی می توان ملاحظه نمود. بین گروه های پارکینسونی، کنترل و شم همتا در هر دو گروه (با و بدون استرس) تفاوت معنی دار آماری مشاهده نگردید. این بدان معنی است که استرس پریناتال به خودی خود عاملی در کاهش تعداد نورون های جسم سیاه و عملکرد پایین در آزمون های رفتاری نخواهد بود، بلکه تفاوت مشاهده شده صرفاً ناشی از اثر مخرب و نقش بازدارندگی استرس بر عملکرد مطلوب ورزش در افراد پارکینسونی می باشد.

در پژوهش حاضر میزان استرس به عنوان یک متغیر با سازه رفتاری مورد مطالعه قرار گرفت. مشاهدات عینی در مورد وضعیت زندگی حیوانات دارای استرس و بدون استرس حاکی از آن بود که رت های دارای استرس پریناتال رفتار های متناقضی را با سایر گروه ها نشان دادند. به گونه ای که رت های این گروه دائماً در حال درگیری با یکدیگر، اضطراب و حالات

بی قراری شدید بودند. بر اساس نتایج حاصل از این مشاهدات می توان گفت که وضعیت استرس زاپیریناتال تا چه اندازه می تواند بر روی وضعیت رفتاری افراد تاثیر گذاشته و اثرات مخربی را بر جای بگذارد.

از آن جایی که در پژوهش های پیشین نوزادان دارای استرس پریناتال جدا از مادر پرورش داده شده اند و خود جدایی از مادر یک عامل اصلی در ایجاد استرس خواهد بود، پس نمی توان به طور قطعی نتایج آن ها را مربوط با استرس پریناتال دانست زیرا که اثرات استرس جدایی از مادر بعد از تولد با استرس پریناتال خلط شده است. از نقاط قوت مطالعه حاضر این است که عامل استرس زای جدایی از مادر، با قرار دادن نوزاد در کنار مادر تا سه هفته بعد از تولد کنترل شده است و می توان به طور قطعی بیان نمود که نتایج به دست آمده در این مطالعه منحصراً به دلیل استرس پریناتال می باشد.

نتایج مطالعات بافت شناسی به دست آمده در این پژوهش نشان داد که در هر دو گروه حیوانات با و بدون استرس پریناتال میانگین تعداد نورون های جسم سیاه در گروه های ورزش اجباری از گروه های پارکینسونی تخریب با ۶-هیدروکسی دوپامین بیشتر بوده و از نظر آماری این اختلاف معنی دار بود.

سبب شناسی پارکینسون و عوامل موثر بر پیشرفت آن هنوز درک نشده است اما اطلاعات اتیولوژیک نشان می دهد که سبک زندگی ممکن است بر آن موثر باشد (۲۸).

شیوه های درمانی بیماری پارکینسون محدودیت های بسیاری دارند، معمولاً در مدت زمان کوتاه و تنها علائم حرکتی را بهبود می بخشند به طوری که در اوایل شروع درمان علائم ثابت هستند. اما با پیشرفت بیماری اختلالات حرکتی وخیم تر و اختلالات غیر حرکتی مانند افسردگی و دمانس پدیدار می شوند (۲۹).

ورزش می تواند شروع بیماری پارکینسون را به تاخیر بیندازد و خطر ابتلای به این بیماری با میزان ورزش در طول زندگی رابطه معکوس دارد (۳۰). نتایج مطالعه ما نشان داد که پرداختن به فعالیت های ورزش

استراتژی های غیر درمانی و دارویی مانند فعالیت ورزشی مستمر و اجباری روزانه، ظهور و شدت بیماری پارکینسون را به تاخیر بیندازیم.

### سپاسگزاری

از کارشناسان محترم آزمایشگاه های علوم جانوری و بافت شناسی مرکز تحقیقاتی زکریای رازی واحد علوم و تحقیقات تهران که در انجام این پژوهش ما را یاری نموده اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می گردد.  
کد/خلاق:

IR.IAU.SRB.REC.1396

### References

1. Selye H. The stress concept. Medical knowledge that matters. Can Med Assoc J 1976; 8: 115-28. doi: 20312787
2. Rossi GA, Virgolini MB, Weston D, Coryslehta DA. Alterations in glucocorticoid negative feedback following maternal Pb, prenatal stress and the combination a potential biological unifying mechanism for their corresponding disease profiles. Toxicol Appl Pharmacol 2009; 234: 117-27. doi: 10.1016/j.taap.2008.10.003
3. Mabandla MV, Kellaway LA, Daniels WM, Russell VA. Effect of exercise on dopamine neuron survival in prenatally stressed Rats. Metab Brain Dis 2010; 24:525-39. doi: 10.1007/s11011-009-9161-6
4. Allen NE, Canning CG, Sherrington C, Lord SR, Latt MD, Close JC, O'Rourke SD, et al. The effects of an exercise program on fall risk factors in people with Parkinson disease a randomized controlled trial. Mov Disord 2010; 25:1217-25. doi: 10.1002/mds.23082.
5. Dimond PF. No new parkinson disease drug expected anytime soon gen news highlights. Gen Engin Biotechnol Intell 2010; 15:789-93.
6. Goodwin VA, Richards SH, Taylor RS, Taylor AH, Campbell JL. The effectiveness of exercise interventions for people with Parkinsons disease a systematic review and metaanalysis. Mov Disord 2008;15: 631-40. doi: 10.1002/mds.21922.
7. Ellis T, Cavanaugh JT, Earhart GM, Ford MP, Foreman KB, Fredman L, et al. Factors

می تواند باعث جلوگیری از نورودژنراسیون نورون های بخش متراکم جسم سیاه گردد. بنا بر این می توان گفت که اگر علائم و نشانه های اولیه بیماری در افراد زود تشخیص داده شود می توان با انجام فعالیت های ورزشی اجباری سازمان یافته و روزانه از ظهور و پیشرفت سریع بیماری پارکینسون جلوگیری بعمل آورد. نتیجه نهایی آن که با فراهم آوردن شرایطی آرام و مطلوب برای مادران باردار عوامل استرس زا پیریناتال، که ممکن است خود عامل تحریکی منفی در کاهش اثرات سودمند ورزش در آینده باشد، را برای فرزندانمان کاهش دهیم و از طرفی دیگر با به کار گیری

8. Jacqueline J, Dimatelis S, Scott H. Exercise partly reverses the effect of maternal separation on hippocampal proteins in 6-hydroxydopamine lesioned rat brain. Exp physiol 2013;2:123-09. doi: 10.1113/expphysiol.2012.066720
9. Capecchi M, Serpicelli C, Fiorentini L. Postural rehabilitation and kinesio taping for axial postural disorders in Parkinson disease. Arc Phys Med Rehabil 2014; 9: 1067-75. doi: 10.1016/j.
10. Rodrigues F. Physical therapy exercise and Parkinsons disease. Cam Pam 2006; 3:70-90.
11. McCreary KJ, Metz GAS. Environmental enrichment as an intervention for adverse health outcomes of prenatal stress. Environ Epigenet 2016;2: 1-12. doi: 10.1093/eep/dvw013. eCollection 2016 Aug
12. Kinney DK, Munir KM, Crowley DJ, Miller AM. Prenatal stress and risk for autism. Neurosci Biobehav Rev 2008; 32:1519-32. doi: 10.1016/j
13. Peiling WU. WEffectiveness of physical activity on patients with depression and Parkinson disease: A systematic review. Plos One 2017; 12: 181515. doi: 10.1371/journal.pone.0181515
14. Lamotte G, Rafferty MR, Prodoehl J, Kohrt WM, Comella CL, Simuni T. et al. Effects of endurance exercise training on the motor and non-motor features of

- Parkinson disease. *J Parkinsons Dis* 2015;5:21-41. doi: 10.3233/JPD-140425.
15. Shahandeh M, Dabidiroshan V, Mahjoub S, Sarkisian V. Can aerobic training restore the level of BDNF in the hippocampus of rat expose to lead acetate? *New Arm Med J* 2011; 5:4-11.
16. Olanow CW, Tatton WG. Biology and pathogenesis of Parkinson disease. *Annu Rev Neurosci* 1999; 22: 123-49. doi: 10.1146/annurev.neuro.22.1.123
17. College K, Campus L, London SE. Flavonoids Antioxidants or signaling Molecules. *Free Rad Biol Med* 2004; 7: 838-49.
18. Razavinasab M, Shamsizadeh A, Shabani M, Nazeri M, Allahtavakoli M, Asadishekaari M, et al. Pharmacological blockade of TRPV1 receptors modulates the effects of 6-OHDA on motor and cognitive functions in a rat model of Parkinsons disease. *Fundam Clin Pharmacol* 2013; 27:632-40. doi: 10.1111/fcp.12015
19. Blandin F, Porter RH, Greenamyre JT. Glutamate and Parkinson disease. *Mol Neurobiol* 1996; 12: 73-94. doi: 10.1007/BF02740748
20. Moradganjeh A, Ziai S, Sohrabihaghdost A, Roghani M. [Protective of petroselinum hortense Hoffm on experimental model of Parkinsons disease in rats: behavioral and histopathological evidences]. *J Vet Clin.Res* 2011; 2:203-23. (Persian)
21. Morpurgo C. Effects of antiparkinson drugs on a phenothiazine induced cataonic reaction. *Eur J Neurosci* 2003; 18: 1-8.
22. Deumens R, Blokland A, Prickaerts J. Modeling Parkinsons disease in Rats an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. *Exp Neurol* 2002; 175: 303-17. doi: 10.1006/exnr.2002.7891
23. Roberta O. The treadmill exercise protects against dopaminergic neuron loss and brain oxidative stress in Parkinsonian Rats. *Hindawi Ox Med Cell Long* 2017;2:138-69. doi: /10.1155/2017/2138169
24. Malsoon Shin, Hoyoung Jeong, Dain An, Hyeyun Lee, Yunhee Sung. Corrigendum to Treadmill exercise facilitates synaptic plasticity on dopaminergic neurons and fibers in the mouse model with Parkinsons disease. *Neurosci* 2016; 28-33. doi: 10.1016/j.neulet.2016.05.024
25. Sconce MD, Churchill MJ, Greene RE, Meshul CK, and Intervention with exercise restores motor deficits but not nigrostriatal loss in a progressive MPTP mousemodel of Parkinson's disease. *Neuroscience*. 2015; 23: 299:156-74. doi: 10.1016/j
26. Landers MR, Kinney JW, van Breukelen F, Forced exercise before or after induction of 6-OHDA mediated nigrostriatal insult does not mitigate behavioral asymmetry in hemiparkinsonian rat model. *Brain Res*. 2014; 1543:263-70. doi: 10.1016/j
27. Weinstock M. The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neurosci Biobehav Rev* 2008 ; 32:1073-86. doi: 10.1016/j
28. Olanow C, Tatton W. Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Annu. Rev. Neurosci*. 1999; (22):123-144. doi: 10.1146/annurev.neuro.22.1.123
29. Toulouse A, Sullivan AM. Progress in Parkinsons disease-where do we stand? *Prog Neurobiol* 2008; 85: 376-92. doi: 10.1016/j.pneurobio
30. Xu Q, Park Y, Huang X, Hollenbeck A, Blair A, Schatzkin A, et al. Physical activities and future risk of Parkinson disease. *Neurology* 2010 ; 75: 341-08. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181ea1597.

# The Effect of Compulsory Sports Activities on Substantia Nigra Tissue and Behavioral Tests Induction Parkinsons Model with 6-Hydroxydopamine in Prenatal Stress Rats

Mohammadzamani T<sup>1</sup>, Movahedi A<sup>2\*</sup>, ArabAmeri E<sup>3</sup>

(Received: June 10, 2018

Accepted: October 15, 2018)

## Abstract

**Introduction:** Prenatal stress causes brain alteration and prolongs effects on structure and function. Parkinson's is a progressive neurodegenerative disease And one of the factors motive Parkinson's is the Prenatal stress. Exercising activity is a good way to prevent the disease. The aim of this study was to investigate the effect of mandatory exercise on Substantia nigra tissue in Perinatal Parkinson's rats.

**Materials & Methods:** A Laboratory research method was used. 48 Wistar male rats, half of them under prenatal stress And followed up on compulsory sports activities. Were divided into 8 groups of 6, with stress (control, sham, Parkinson, Parkinson + compulsory exercise) and without stress (control, sham, Parkinson, Parkinson + compulsory exercise). the animals received Stereotaxic Surgery after 8 weeks, Three weeks later, Parkinson's symptoms were evaluated using Apo morphine rotation test and Wire grasping. The number of substantia nigra neurons in the brain is counted using a microscope;

Data were analyzed using One-Way ANOVA and Tukey's Post Test.

**Ethics code:** IR.IAU.SRB.REC.1396

**Findings:** In groups with and without stress, the number of substantia nigra neurons compulsory sports group was different from that of the control group and this difference was statistically significant (P=0.0000). The average number of substantia nigra neurons compulsory sports group in both groups with and without stress difference was low, but statistically significant (P=0.014).

**Discussion & conclusions:** The results refer to the effects of compulsive exercise on the better protection of Substantia nigra neurons and suggests that exercise can be effective as a beneficial factor in reducing the degeneration of dopaminergic neurons in Parkinson's disease. Prenatal stress also reduces the beneficial effects of exercise.

**Keywords:** Compulsory sports, Prenatal stress, Substantia nigra tissue, Parkinson's disease

1. Dept of Physical Education and Sport Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Dept of Motor Behavior, Faculty of Physical Education, University of Isfahan, Isfahan, Iran

3. Dept of Motor Behavior, Faculty of Physical Education, university of Tehran, Tehran, Iran

\* Corresponding author Email: armovahedi@yahoo.com