

## تأثیر سه ماه تمرین هوازی اینتروال و مکمل کوئرستین بر غلظت Bax و Bcl-2 در

### هیپوکامپ موش های صحرایی نر مدل پارکینسونی

سیروس کیان مهر<sup>۱</sup>، جبار بشیری<sup>۲</sup>، رقیه پوزش جدیدی<sup>۳</sup>، حسن پوررضی<sup>۴</sup>، میرعلی نورآذر<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲- دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران. نویسنده مسئول [bashiri.jabbar@iaut.ac.ir](mailto:bashiri.jabbar@iaut.ac.ir)

۳- استادیار، گروه تربیت بدنی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۴- استادیار، فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه بین المللی امام خمینی، قزوین، ایران.

۵- استادیار، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه، واحد علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۰۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۱۴

#### چکیده

**زمینه و هدف:** بیماری پارکینسون یک اختلال پیشرونده عصبی ناشی از مرگ نورون ها در جسم سیاه، انحطاط انتقال عصبی دوپامینرژیک و حضور آلفاسینوکلئین و اجزاء پروتئینی در جسم سلولی نورون هاست. هدف از انجام تحقیق حاضر تبیین تأثیر سه ماه تمرین هوازی اینتروال و مکمل کوئرستین بر غلظت Bax و Bcl-2 در هیپوکامپ موش های صحرایی نر مدل پارکینسونی بود.

**مواد و روش‌ها:** برای انجام تحقیق آزمایشی حاضر ۲۸ رت نر نژاد ویستار تهیه و به ۵ گروه کنترل سالم ۵ رت، کنترل پارکینسونی ۵ رت، تمرین پارکینسونی: ۶ رت، ملاتونین پارکینسونی: ۶ رت و تمرین + مکمل پارکینسونی: ۶ رت تقسیم شدند. سپس گروه‌های تمرین به مدت ۱۲ هفته برنامه تمرین اینتروال را انجام داده و روزانه ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن کوئرستین مصرف کردند. در نهایت و بعد از آخرین جلسه تمرینی بافت هیپوکامپ برداشته شده و متغیرهای تحقیق با استفاده از روش برادفورد اندازه‌گیری شدند.

**نتایج:** نتایج اثرات معنی‌دار تمرین و عدم تأثیر معنی‌دار تمرین و مکمل را بر Bax نشان داده است. همچنین نتایج اثرات معنی‌دار تمرین و مکمل و عدم تأثیر معنی‌دار مکمل را بر bcl-2 معنی‌دار است. اما اثر اصلی مکمل کوئرستین بر bcl-2 نشان داده است.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج استفاده از تمرین و تمرین و مکمل کوئرستین برای افراد دیابتی زیر نظر متخصص توصیه می‌شود.

**کلمات کلیدی:** تمرین هوازی اینتروال، کوئرستین، هیپوکامپ، Bax، Bcl-2

## مقدمه

بیماری پارکینسون یک اختلال پیشرونده عصبی ناشی از مرگ نورون ها در جسم سیاه، انحطاط انتقال عصبی دوپامینرژیک و حضور آلفاسینوکلئین و اجزاء پروتئینی در جسم سلولی نورون هاست. علائم اصلی پارکینسون عبارتند از کندی، سفتی، بی ثباتی و لرزش استراحتی نامتقارن به انضمام برخی علائم غیرحرکتی نظیر خستگی، درد، زوال عقل، روان پریشی و بی تفاوتی که به عنوان مشکلات عمده در ناتوانی این افراد ذکر شده اند. در مراحل پیشرفته حدود ۸۰ درصد از بیماران مبتلا به دمانس می شوند که یک عامل مهم در مرگ و میر این گروه می باشد (۱، ۲). مشخصه نوروپاتولوژی این بیماری تخریب نورون های دوپامینرژیک موجود در ماده سیاه مغز میانی است. علائم بالینی این بیماری تقریباً به دنبال از بین رفتن حدود ۸۰٪ از نورون های دوپامینرژیک ماده سیاه بروز می کند. این سلول ماده ای به نام دوپامین ترشح می کند. دوپامین پیام عصبی را از مغز میانی به بخش دیگری از مغز به نام جسم سیاه مخطط می برد. انتقال این پیام ها باعث تعادل حرکات بدن می شوند. هنگامی که سلول های ترشح کننده دوپامین در مغز میانی از بین می روند، سایر مراکز کنترل کننده حرکات بدن نیز نامنظم می گردند. این اختلال در مراکز کنترل بدن باعث به وجود آمدن علائم پارکینسون می شوند (۲).

اهمیت پارکینسون به اندازه ای است که تحقیقات مختلفی بر روی پروتئین ها و فاکتورهای دخیل در این بیماری انجام شده و فاکتورهای مختلفی نیز شناسایی شده است که در بین فاکتورهای مختلف پروتئین های خانواده Bcl-2 از جمله پروتئین های کلیدی هستند که نقش حیاتی در تنظیم آپوپتوز ایفا می کنند. خانواده Bcl-2 به پروتئین ضد آپوپتوز (Bcl-2) و پروتئین های پروآپوپتیک خانواده Bax طبقه بندی می شود. این پروتئین ها در تنظیم مسیر آپوپتوزی نقش حیاتی ایفا می کنند. Bcl-2

یک پروتئین ضد آپوپتوزی است که در مسیر داخلی آپوپتوز نقش دارد و مانع فعالیت کاسپازها می شود. Bax نیز پروتئینی است که با خنثی کردن عمل Bcl-2، آپوپتوز را فعال می کند و تغییرات بافت شناختی معینی از جمله کاهش یا عدم چسبندگی سلول آپوپتوزی به سلول های دیگر، قطعه قطعه شدن DNA ژنومی، آزادسازی ریبوزوم ها و تجزیه سلول به اجسام آپوپتوزی و سلول در حال مرگ را ایجاد می کند. افزایش مقادیر Bax باعث افزایش میزان آپوپتوز و کاهش آن باعث بقای سلول و ترمیم آن می شود. همچنین افزایش مقادیر Bcl-2 در جهت بقاء و ترمیم سلول است و آپوپتوز را مهار می کند؛ بنابراین تعادل بین Bcl-2 / Bax یک عامل مهم در تعیین میزان آپوپتوز به شمار می رود (۳).

با توجه به مطالب فوق و اهمیت درمان این بیماری و علی رغم پیشرفت های قابل ملاحظه ای که در درمان بیماری پارکینسون حاصل شده است، ولی هنوز راه حل موثری برای رفع مشکل از دست رفتن تعداد زیادی از نورون های دوپامینرژیک به دست نیامده است. از این رو در حال حاضر پژوهش ها به سمت شناسایی روش های نوین برای جلوگیری از مرگ نورون های دوپامینرژیک در جسم سیاه و کند کردن روند پیشرفت این بیماری می باشد (۴). از طرفی در طی سالیان متمادی اثرات مختلف درمانی عصاره های گیاهی اثبات شده است. از مزیت های شناخته شده این عصاره ها عدم وجود عوارض جانبی خطرناک و گستردگی طیف اثر آن ها می باشد. فنل های گیاهی استخراج شده از قبیل فلانوئیدها و اسیدهای فنولیک می توانند به عنوان آنتی اکسیدان های طبیعی با پتانسیل بسیار بالا در درمان بیماری های ناشی از استرس اکسیداتیو بکار روند (۵). بنابراین تجویز آنتی اکسیدان ها فاکتور درمانی مهمی در کاهش سمیت عصبی می باشد (۶). کوئرستین (Quercetin) (۳،۳،۴،۵،۷) پنتا هیدروکسی فلاون) دارای

بطور کلی، در سال های اخیر مطالعات مختلف اثرات مفید مکمل کوئرستین را بر روی سلول های نرمال و بدخیم نشان داده است و از این رو این موضوع توجه بسیاری از محققین را بخود جلب کرده است. همچنین تحقیقات نشان داده است که مکمل کوئرستین و فعالیت بدنی بخصوص تمرین هوازی اینتروال هر کدام بطور جداگانه دارای اثرات مفید بر روی بقا سلول های عصبی هستند و بواسطه اعمال تغییرات در مکانیسم های سلولی، سلول های عصبی موجب بهبود بیماری های عصبی مانند پارکینسون در مدل های حیوانی می شوند. بنابراین این پژوهش در پی پاسخگویی به این سوال اساسی می باشد که آیا سه ماه تمرین هوازی اینتروال و مکمل کوئرستین بر Bcl-2 و Bax در هیپوکامپ موش های صحرایی نر مدل پارکینسونی تاثیر دارد؟

#### مواد و روش ها

برای انجام تحقیق آزمایشی و کاربردی حاضر ۲۸ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار مدل پارکینسونی با سن ۸-۱۰ هفته ای و با وزن بدن ۲۰۰-۱۸۰ گرمی از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به عنوان نمونه تهیه شدند. سپس موش های صحرایی در قفس های مخصوص، تمیز و استریل شفاف تحت شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روز و ۱۲ ساعت شب و دمای  $22 \pm 3$  درجه سانتی گراد و رطوبت  $50 \pm 5\%$ ) با دسترسی نامحدود به غذا و آب به مدت ۲ هفته قبل از شروع آزمایشات برای ایجاد تطابق با محیط آزمایشگاه قرار گرفتند. در طی دوره آزمایش، مصرف غذا و آب در مقاطع معینی به صورت روزانه کنترل می شد. جنس بستر موش های صحرایی از خاک اره بوده و پوشال بسترشان هر دو یا سه روز تعویض می شد. لازم به ذکر است که تمام اعمال انجام شده روی حیوانات متعاقب دستورالعمل کمیته اخلاقی قوانین هلسینکی و مجوز معاونت پژوهشی دانشگاه بود. همچنین کد اخلاق با

بسیاری از خواص فارماکولوژیک از جمله خواص آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدسرطانی، ضدآترواسکلروتیک، ضدویروسی، ضدتکثیر و محافظت نوروئی می باشد (۷). کوئرستین در سبزی ها، پیاز، کلم بروکلی، چای و میوه هایی مانند انگور قرمز، سیب، مرکبات و روغن زیتون یافت می شود. خاصیت آنتی اکسیدانی بسیار قوی و پاکسازی رادیکال های آزاد از ویژگی های شاخص آن می باشد (۸). مطالعات قبلی نشان داده اند کوئرستین به طور قابل توجهی نقش حفاظت نوروئی داشته و از نورودژنراسیون ناشی از استرس اکسیداتیو می کاهد. کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، بهبود فعالیت کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز و همچنین جلوگیری از کاهش گلوتاتیون از دیگر خواص به ثبت رسیده از این ترکیب می باشند (۹). همچنین کوئرستین از طریق حفاظت نوروئی سبب کند نمودن روند پیشرفت بیماری های تحلیل برنده عصبی می شود. کوئرستین توانایی عبور از سد خونی مغزی را دارد (۱۰). چندین ساعت پس از تجویز خوراکی، اثرات محافظت نوروئی، ضد اضطراب و افزایش اثرات شناختی آن را می توان در سیستم عصبی مشاهده کرد (۱۱).

از طرف دیگر برخی پژوهش ها گزارش کرده اند فعالیت ورزشی شدید موجب آپوپتوز لنفوسیت روده ای موش آزمایشگاهی می شود اما دویدن اختیاری بر روی تردمیل آپوپتوز را کاهش می دهد، در حالی که تمرین ورزشی اجباری سطوح آنتی اکسیدان ها را افزایش می دهد بنابراین تاثیر فعالیت ورزشی بر القا یا مهار آپوپتوز در بافت های مختلف هنوز مورد تردید است (۱۲). همچنین در تحقیقاتی که طی سال های اخیر صورت گرفته است نشان داده شده که میان بیماری پارکینسون و عدم تحرک رابطه وجود دارد (۱۳). در این راستا ورزش با اهمیت بوده و نشان داده شده است که از مشکلات ارتوپدیک مرتبط با علائم اولیه آن جلوگیری می کند (۱۴).

بود که با سرعت ۵ تا ۱۰ متر در دقیقه انجام شد. شدت فعالیت در دو هفته اول تمرین از ۱۰ متر در دقیقه با ۱۵ دقیقه شروع به دویدن کردند سپس مدت فعالیت به ۳۰ دقیقه رسید. شیب نوار گردان از ابتدا تا انتهای دوره تمرین روی ۵ درجه ثابت بود. برای هر جلسه تمرین، ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۵ تا ۱۰ متر در دقیقه و به همان اندازه سرد کردن در نظر گرفته شد. این پروتکل بر اساس اصول علمی انجمن (ASCM (American College of Sports Medicine) و به صورت فزاینده طراحی شد (۱۶) جهت رعایت ملاحظات اخلاقی از شوکر الکتریکی برای وادار کردن حیوانات به ادامه فعالیت بدنی استفاده نشد؛ بلکه بدین منظور از یک میله پلاستیکی استفاده شد. پروتکل تمرین هوازی به مدت ۱۲ هفته و ۵ جلسه در هفته بود جزئیات پروتکل شامل سرعت زمان و شیب در هر هفته پس از اجرای آزمون ظرفیت ورزشی و مشخص شدن  $VO_{2peak}$  تعیین شد. لازم به ذکر است که گروه‌های مکمل نیز مکمل کوئرتستین را به مدت ۱۲ هفته به صورت خوراکی و روزانه ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن ساخت شرکت سیگما به صورت محلول در آب، در ساعت ۸ تا ۱۰ صبح مصرف کردند (۱۷). در نهایت و بلافاصله بعد از آخرین جلسه تمرین تمام رت‌ها با استفاده از کلروفورم بیهوش شده و بافت هیپوکامپ مغز آن‌ها برای بررسی متغیرهای تحقیق به روش برادفورد برداشته شد. این روش بر اساس تفاوت در جذب نور در طول موج ۶۳۰ نانومتر بود. هرچه غلظت پروتئین محلول مورد بررسی بیشتر باشد میزان رنگ محلول آبی حاصل و جذب نوری آن افزایش می‌یابد. برای سنجش مقدار غلظت پروتئین کل، با استفاده از آلبومین سرم گاوی به عنوان یک پروتئین استاندارد یک منحنی استاندارد رسم و غلظت پروتئین‌ها محاسبه شد. عصاره پروتئینی به دست آمده به میزان ۸۰ میکروگرم از هر نمونه مورد الکتروفورز SDS-PAGE قرار گرفت. سپس پروتئین‌ها به روی کاغذ

شماره IR.IAU.TABRIZ.REC.1402.127 را دریافت کرد. بعد از مدت سازگاری و آشنایی با محیط، حیوانات به طور تصادفی به پنج گروه موش صحرائی سالم که در انتهای پروتکل کشته و جراحی شدند و تمرین و مصرف مکمل نداشتند (گروه مرجع سالم ۵ سر)، موش صحرائی پارکینسونی که در انتهای پروتکل کشته و جراحی شده و تمرین و مصرف مکمل نداشتند (گروه کنترل پارکینسونی ۵ سر)، موش صحرائی پارکینسونی که در انتهای پروتکل کشته و جراحی شده و تنها در تمرین هوازی اینتروال شرکت کردند (گروه تمرین پارکینسونی: ۶ سر)، موش صحرائی پارکینسونی که در انتهای پروتکل کشته و جراحی شده و تنها مکمل مصرف کردند (گروه ملاتونین پارکینسونی: ۶ سر) و موش صحرائی پارکینسونی که در انتهای پروتکل کشته و جراحی شده و هم در تمرین هوازی اینتروال و هم در مصرف مکمل شرکت کردند (گروه تمرین + مکمل پارکینسونی: ۶ سر) تقسیم شدند. در ادامه گروه‌های تمرینی برنامه تمرین هوازی را طبق پروتکل زیر انجام دادند:

شدت فعالیت اینتروال هوازی موش‌های صحرائی، با استفاده از سرعت دویدن آن‌ها بر روی نوارگردان کنترل شد. سرعت دویدن ۲۵-۲۰ متر در دقیقه برای موش‌های صحرائی به عنوان یک فعالیت اینتروال هوازی محسوب گردید (۱۵) در ابتدا موش‌های صحرائی به مدت یک هفته جهت کاهش استرس محیط جدید، با نحوه فعالیت روی نوارگردان پنج ریلی (تکنیک آزما، ساخت ایران) آشنا شدند. برنامه آشنایی شامل ۵ جلسه دویدن روی نوارگردان با سرعت ۵ تا ۱۰ متر در دقیقه با شیب ۵ درصد و به مدت ۱۰ دقیقه در روز بود (در این هفته، دو جلسه اول موش‌های صحرائی به مدت ۱۰ دقیقه فقط در داخل نوارگردان قرار گرفتند در سه جلسه بعدی به تدریج شروع به فعالیت کردند و در نهایت دو جلسه پایانی با شیب ۵ درصد همراه

بیان نسبی باندهای پروتئینی با استفاده از اسکن دانسیتومتری فیلم‌های رادیوگرافی توسط نرم‌افزار Image J انجام گردید (۱۸).

در نهایت از آمار توصیفی و آزمون‌های شاپیرو ویلک، تحلیل واریانس دو طرفه و تعقیبی توکی جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده شد.

منتقل شده و با محلول Blocking به منظور پوشاندن غشا برای ممانعت از واکنش غیر اختصاصی با آنتی بادی اولیه اشباع گردید. سپس انکوباسیون غشاها با آنتی بادی ضد Bcl-2 و Bax (۱/۱۰۰۰ v/v) انجام شده و پروتئین‌ها با ایمنوگلوبین ضد خرگوش (به عنوان آنتی بادی ثانویه) انکوبه شد. باندهای پروتئینی مورد نظر توسط کیت Ecl Advanced Chemiluminesc قابل رویت شد و

جدول ۱: نتایج آزمون تحلیل واریانس دو طرفه مربوط به bax

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	P	اندازه اثر اتا
تمرین	۲۱/۰۸۳	۱	21/083	7/979	۰/009	۰/250
مکمل	3/634	۱	3/634	1/375	۰/252	۰/054
تمرین و مکمل	۱/262	۱	۱/262	۰/477	۰/496	۰/020

### نتایج

یافته دیگر تحقیق حاضر نشان داد اثر متقابل تمرین و مکمل بر غلظت bcl-2 معنی‌دار است ( $F_{1,24}=12/429$  و  $P=0/002$ ) همچنین مشخص شد اثر اصلی تمرین بر غلظت bcl-2 معنی‌دار است ( $F_{1,24}=11/123$  و  $P=0/003$ ) اما اثر اصلی مکمل کروئستین بر غلظت bcl-2 معنی‌دار نیست ( $F_{1,24}=2/176$  و  $P=0/153$ ). با توجه به معنی‌دار بودن تاثیر تمرین و تاثیر مکمل جهت مقایسه گروه‌ها از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد و نتایج نشان داد بین انجام تمرین و عدم انجام تمرین تفاوت معناداری وجود دارد.

نتایج نشان داد اثر متقابل تمرین و مکمل بر غلظت Bax معنی‌دار نیست ( $F_{1,24}=0/477$  و  $P=0/496$ ) همچنین مشخص شد اثر اصلی تمرین بر غلظت Bax معنی‌دار است ( $F_{1,24}=7/979$  و  $P=0/009$ ) اما اثر اصلی مکمل کروئستین بر غلظت Bax معنی‌دار نیست ( $F_{1,24}=1/375$  و  $P=0/252$ ). با توجه به معنی‌دار بودن تاثیر تمرین جهت مقایسه گروه‌ها از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد و نتایج نشان داد بین انجام تمرین و عدم انجام تمرین تفاوت معناداری وجود دارد.

جدول 2: نتایج آزمون تحلیل واریانس دو طرفه مربوط به bcl-2

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	P	اندازه اثر اتا
تمرین	۳/۱۱۶	۱	۳/۱۱۶	۱۱/۱۲۳	۰/۰۰۳	۰/۳۱۷
مکمل	۰/۶۰۹	۱	۰/۶۰۹	۲/۱۷۶	۰/۱۵۳	۰/۰۸۳
تمرین و مکمل	۳/۴۸۲	۱	۳/۴۸۲	۱۲/۴۲۹	۰/۰۰۲	۰/۳۴۱

## بحث

نتایج نشان داد اثر متقابل تمرین و مکمل بر غلظت Bax معنی دار نیست همچنین مشخص شد اثر اصلی تمرین بر غلظت Bax معنی دار است اما اثر اصلی مکمل کروئستین بر غلظت Bax معنی دار نیست. یافته دیگر تحقیق حاضر نشان داد اثر متقابل بین تمرین و مکمل و اثر اصلی تمرین بر غلظت bcl-2 معنی دار است اما اثر اصلی مکمل کروئستین بر غلظت bcl-2 معنی دار نیست. بطور کلی این نتایج حاکی از آن است که تمرین هوازی احتمالاً موجب کاهش آپوپتوز و افزایش ظرفیت آنتی آپوپتوتیک بافت هیپوکامپ موشهای مبتلا به پارکینسون شد به طوری که تمرین هوازی با افزایش Bcl2 و کاهش معنی دار BAX بافت هیپوکامپ موشهای مبتلا به پارکینسون همراه بود. بیان بالای عامل ضد آپوپتوزی Bcl-2 احتمالاً موجب کاهش آسیب هیپوکامپو و بهبود عملکرد مغز می شود. افزایش Bcl2 در تحقیق حاضر با نتایج حبیبی و همکاران (۲۰۱۶)، کای و همکاران (۲۰۱۵) و سیو و همکاران (۲۰۰۴) که نشان دادند تمرین منجر به افزایش سطوح BCL-2 می شود، همخوان می باشد (۱۹،۲۰،۲۱). همچنین کاهش فاکتور BAX با نتایج تحقیقات لی و همکاران (۲۰۱۳) و کای و همکاران (۲۰۱۵) همخوان می باشد (۲۰،۲۲). در همین راستا، کای و همکاران (۲۰۱۵) به مقایسه دو روش تمرینی اینتروال با شدت بالا و تمرینات تداومی با شدت متوسط بر فرایند آپوپتوز موش های مبتلا به انفارکتوس قلبی پرداختند. در این پژوهش نشان داده شد که هر دو روش تمرینی موجب افزایش معنادار Bcl-2 بافت میوکارد در مقایسه با گروه کنترل شد (۲۰). همچنین حبیبی و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که ۸ هفته تمرینات شنا موجب افزایش معنادار Bcl-2 بافت قلب در موش های ویستار می شود (۱۹).

در رابطه با این یافته تحقیق حاضر می توان عنوان کرد که پروتئین های خانواده Bcl-2 از جمله مهمترین پروتئینها در تنظیم آپوپتوزیس هستند که در تحقیق حاضر در بافت هیپوکامپ مورد بررسی قرار گرفتند. اگرچه مکانیسم دقیق آپوپتوز هنوز مشخص نیست؛ اما ممکن است با توجه به نوع سلول و نوع تحریکات متفاوت باشد (۲۳). نشان داده شده است که تمرین ورزشی سبب القا آپوپتوز می شود که یک روند طبیعی برای از بین بردن سلول های آسیب دیده است که در آن واکنش های التهابی چشمگیری رخ نمی دهد. این روند باعث حصول اطمینان از عملکرد طبیعی بدن می شود (۲۴). مکانیسم های حفاظت در برابر آپوپتوز به علت پیشگیری ممکن است توسط NF-kB متاثر شود، که مانع از حساسیت به آپوپتوز می شود و می تواند افزایش سلول های ضد آپوپتوتیک Bcl-2 را تنظیم کند (۲۵). در تحقیقات قبلی مشاهده شده است که فعالیت ورزشی می تواند از طریق کاهش پروتئین پروآپوپتوتیک Bax و افزایش پروتئین ضد آپوپتوتیک Bcl-2 و در نتیجه مهار آزادسازی سیتوکروم C مانع فعال شدن کاسپاز ۹ شود. کاسپاز ۹ نیز با فعال سازی کاسپاز ۳ می تواند منجر به تنظیم مثبت روند آپوپتوز شود (۱۷). اگرچه در تحقیق حاضر سطوح کاسپازهای ۹ و ۳ تعیین نشد که می تواند از محدودیت های تحقیق حاضر نیز محسوب گردد، ولی در تحقیقات دیگر توسط میردار هریجانی و همکاران (۱۳۹۴) مشاهده شد که فعالیت ورزشی با کاهش فعالیت کاسپاز آغازگر ۹ و کاسپاز اجرایی ۳ می تواند از دو مسیر داخلی و خارجی مانع آپوپتوز و قطعه قطعه شدن DNA شود (۱۲). استرس اکسایشی به عنوان یک آغازگر مهم آپوپتوز در سلول ها می باشد (۲۶). همانطور که اشاره شد مکانیسم ورزش در مقابله با آپوپتوز به طور کامل روشن نشده است، با این وجود، تحقیق انجام شده توسط فرنچ و همکاران نشان می دهد که حداقل در بخشی ممکن است بهبود عملکرد آنزیم های آنتی اکسیدان

2 موجب افزایش چشمگیر میزان آپوپتوز در مغز موش های مبتلا به ایسکمی مغزی می شود. علت تناقض تحقیق حاضر با یافته فوق احتمالا بافت محل اندازه گیری و شرایط آزمودنی ها می باشد (۲۲).

سان و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که یک جلسه فعالیت وامانده ساز شنا موجب کاهش چشمگیر بیان ژن Bcl-2 عضله اسکلتی در ۶ ساعت پس از ورزش می شود (۲۷). گزارش شده است که اختلالات بافتی با آسیب DNA میتوکندری مرتبط است و منجر به نقص در زنجیره انتقال الکترون و تنظیم افزایشی ROS و در نتیجه آپوپتوز می شود (۳۱، ۳۲). همچنین کاهش فاکتور BAX با نتایج لی و همکاران (۲۰۱۶) همخوان نمی باشد (۲۰). در همین راستا، کای و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند تمرین اینتروال با شدت بالا و تمرینات تناوبی با شدت متوسط هر دو موجب کاهش بیان ژن BAX در مقایسه با گروه کنترل شد (۲۰). همچنین نتایج لی و همکاران (۲۰۱۳) حاکی از آن است که میزان لیگاند و گیرنده Fas، فعالیت کاسپاز-۳ و کاسپاز-۸، میزان پروتئین Bax و نسبت Bax به Bcl-2 در موش های چاق تمرین کرده در مقایسه با موش های چاق کم تحرک به طور چشمگیری کمتر است (۲۲). پژوهش ها نشان داده اند که تمرینات ورزشی هوازی میزان چربی احشائی را به طور معنی داری کاهش و مقاومت به انسولین را بهبود می بخشند (۳۳). با این حال میزان چربی احشائی و مقاومت به انسولین در تحقیق حاضر بررسی نشد که ممکن است از محدودیت های تحقیق حاضر باشد.

در رابطه با اثر کروئستین به تنهایی بر Bax و در تعامل با تمرین تناوبی بر bcl-2 می توان عنوان کرد که مهم ترین عوامل دزتراسیون دخیل در پارکینسون نوروپاتی دوپامینرژیک از قبیل استرس اکسیداتیو، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، تخریب DNA و کاهش سطح گلوکوتانیون و آنزیم های آنتی اکسیدانی هستند (۳۴). در

از جمله فعالیت MnSOD در تعدیل آپوپتوز نقش داشته باشد (۲۶). این یک دیدگاه مهم است که اهمیت ورزش درمانی را برای بهبود سیگنال دهی آنتی اکسیدان به عنوان وسیله ای برای جلوگیری از آپوپتوز برجسته می کند. افزایش Bcl-2 با تحکیم دیواره میتوکندری، جلوگیری از رهاسازی سیتوکروم c، تنظیم کلسیم رها شده از سارکوپلاسمیک و کاهش اثر ROS ناشی از فعالیت ورزشی، ایمنی سلول را بالا می برد و از آپوپتوز ناشی از استرس جلوگیری می کند (۲۷).

Bcl-2 یک پروتئین ضد آپوپتوزی است که در مسیر داخلی آپوپتوز نقش دارد و مانع فعالیت کاسپاز-۳ می شود. با توجه به اینکه در پژوهش حاضر از پروتکل هشت هفته ای استفاده شد بنابراین احتمال دارد سازگاری های ناشی از تمرین سبب فعال سازی مسیرهای ضد آپوپتوزی شده باشد. افزایش Bcl-2 به دنبال فعالیت ورزشی در تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات لی و همکاران (۲۰۱۶)، سان و همکاران (۲۰۱۶)، ابوطالب و همکاران (۲۰۱۵)، و سانتانا و همکاران (۲۰۱۴) همخوان نمی باشد (۲۲، ۲۷، ۲۸، ۲۹). در همین راستا نتایج جعفری و همکاران (۲۰۱۵) حاکی از آن است که پس از ۱۲ هفته تمرینات استقامتی با شدت متوسط تا شدید میزان پروتئین Bcl-2 بین گروه تمرینی و گروه کنترل در قلب موشهای ویستار تفاوت معناداری نداشت (۳۰). سیو و همکاران (۲۰۱۶) نیز در مطالعه ای به بررسی تاثیر فعالیت اختیاری (چرخ دوار) بر عوامل درگیر در آپوپتوز و کاهش استرس پرداختند. تفاوت معنی داری در سطح بیان کبدی bcl-2 مشاهده نشد. علت تناقض تحقیق حاضر با یافته فوق نیز احتمالا بافت محل اندازه گیری، نوع آزمودنی ها، شرایط آزمودنی ها و نوع پروتکل تمرینی می باشد (۲۱).

لی و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که انجام فعالیت ورزشی بلافاصله پس از سکتة مغزی از طریق کاهش Bcl-



### نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر تایید کننده تأثیر تمرین هوازی اینتروال به تنهایی و در تعامل با مکمل کوئرستین بر Bax و Bcl-2 در رت‌های مبتلا به پارکینسون میباشد لذا با توجه به تأثیر بیشتر تمرین به تنهایی و عدم تأثیر مکمل کوئرستین به تنهایی بر Bax لذا توصیه می‌شود جهت روشن شدن تأثیر کوئرستین تحقیقات بیشتری انجام شود همچنین از تمرین هوازی اینتروال زیر نظر متخصص استفاده شود.

### تعارض منافع

نویسندگان این مقاله تعارضی در منافع ندارند.

### فهرست منابع

1. Kakran M, Li L, Müller RH. Overcoming the challenge of poor drug solubility. *Pharm. Eng.* 2012 Jul;32(4):1-7.
2. Shrivastava P, Vaibhav K, Tabassum R, Khan A, Ishrat T, Khan MM, Ahmad A, Islam F, Safhi MM, Islam F. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effect of Piperine on 6-OHDA induced Parkinson's rat model. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* 2013 Apr 1;24(4):680-7.
3. Ahmadi M, Abbassi Daloi A, Salehi Kiasari S. Response of Liver Tissue Bax and Bcl-2 Gene Expression to Aerobic Training with L-Carnitine Supplementation in Rats Toxicated by Boldenone. *Complementary Medicine Journal.* 2020 Mar 10;9(4):3890-901.
4. Antonelli F, Strafella AP. Behavioral disorders in Parkinson's disease: the role of dopamine. *Parkinsonism & related disorders.* 2014 Jan 1;20:S10-2.
5. Du L, Li J, Chen C, Liu Y. Nanocarrier: A potential tool for future antioxidant therapy. *Free radical research.* 2014 Sep 1;48(9):1061-9.

بیماری پارکینسون عوامل دخیل منجر به اختلال در عملکرد میتوکندری، استرس اکسیداتیو و فعال شدن مسیرهای آپوپتوزی می‌گردند که در نهایت باعث تخریب نورون‌های دوپامینرژیک می‌گردند (۳۵).

از طرف دیگر ثابت شده است که کوئرستین دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بوده و بر عوامل استرس اکسیداتیو تأثیر مسببی دارد که همین موضوع احتمالاً دلیل اصلی تأثیر کوئرستین در تحقیق حاضر می‌باشد. با این حال با توجه به عدم اندازه‌گیری فاکتورهای استرس اکسیداتیو در تحقیق حاضر جهت روشن شدن تأثیر کوئرستین لازم است تا در این زمینه تحقیقات بیشتری انجام شود.

6. Chander K, Vaibhav K, Ahmed ME, Javed H, Tabassum R, Khan A, Kumar M, Katyal A, Islam F, Siddiqui MS. Quercetin mitigates lead acetate-induced behavioral and histological alterations via suppression of oxidative stress, Hsp-70, Bak and upregulation of Bcl-2. *Food and chemical toxicology.* 2014 Jun 1;68:297-306.
7. Hou Y, Zeng Y, Li S, Qi L, Xu W, Wang H, Zhao X, Sun C. Effect of quercetin against dichlorvos induced nephrotoxicity in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 2014 Jul 1;66(4):211-8.
8. Wang DM, Li SQ, Wu WL, Zhu XY, Wang Y, Yuan HY. Effects of long-term treatment with quercetin on cognition and mitochondrial function in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurochemical research.* 2014 Aug;39:1533-43.
9. Sriraksa N, Wattanathorn J, Muchimapura S, Tiamkao S, Brown K, Chaisiwamongkol K. Cognitive-Enhancing Effect of Quercetin in a Rat Model of Parkinson's Disease Induced by 6-Hydroxydopamine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2012;2012(1):823206.



10. Tang Y, Li Y, Yu H, Gao C, Liu L, Xing M, Liu L, Yao P. Quercetin attenuates chronic ethanol hepatotoxicity: Implication of "free" iron uptake and release. *Food and Chemical Toxicology*. 2014 May 1;67:131-8.
11. Merzoug S, Toumi ML, Tahraoui A. Quercetin mitigates Adriamycin-induced anxiety-and depression-like behaviors, immune dysfunction, and brain oxidative stress in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2014 Oct;387:921-33.
12. Mirdar Harijani S, Musavi N, Hamidian G. Effect of endurance swimming training during pregnancy on histology and apoptotic index of rats' liver. *Iranian South Medical Journal*. 2015 Apr 4;18(1):54-63.
- 13- Shirvani H, Aslani J, Fallah Mohammadi Z, Arabzadeh E. Short-term effect of low-, moderate-, and high-intensity exercise training on cerebral dopamine neurotrophic factor (CDNF) and oxidative stress biomarkers in brain male Wistar rats. *Comparative Clinical Pathology*. 2019 Apr 1;28:369-76.
14. Wu SY, Wang TF, Yu L, Jen CJ, Chuang JI, Wu FS, Wu CW, Kuo YM. Running exercise protects the substantia nigra dopaminergic neurons against inflammation-induced degeneration via the activation of BDNF signaling pathway. *Brain, behavior, and immunity*. 2011 Jan 1;25(1):135-46.
16. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*. 1995 Mar 10;267(5203):1456-62.
17. Chen Z, Jiang H, Wan Y, Bi C, Yuan Y. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced secretion of tumor necrosis factor- $\alpha$  evokes apoptosis of cardiac myocytes through reactive oxygen species-dependent activation of p38 MAPK. *Cytotechnology*. 2012 Jan;64:65-73.
- 18- Haghparast A, Taslimi Z, Ramin M, Azizi P, Khodaghohi F, Hassanpour-Ezatti M. Changes in phosphorylation of CREB, ERK, and c-fos induction in rat ventral tegmental area, hippocampus and prefrontal cortex after conditioned place preference induced by chemical stimulation of lateral hypothalamus. *Behavioural Brain Research*. 2011 Jun 20;220(1):112-8.
- 19- Habibi P, Alihemmati A, NourAzar A, Yousefi H, Mortazavi S, Ahmadiasl N. Expression of the Mir-133 and Bcl-2 could be affected by swimming training in the heart of ovariectomized rats. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2016 Apr;19(4):381.
- 20- Ghanbari-Niaki A. Neuregulins response to exercise: a mini review. *Annals of Applied Sport Science*. 2016 Apr 10;4(1):3-7.
- 21- Seo H, Park CH, Choi S, Kim W, Jeon BD, Ryu S. Effects of voluntary exercise on apoptosis and cortisol after chronic restraint stress in mice. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*. 2016 Sep;20(3):16.
- 22- Li F, Shi W, Zhao EY, Geng X, Li X, Peng C, Shen J, Wang S, Ding Y. Enhanced apoptosis from early physical exercise rehabilitation following ischemic stroke. *Journal of neuroscience research*. 2017 Apr;95(4):1017-24..
- 23- Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit*. 2006 Jul 1;12(7):130-47.
- 24- Mooren FC, Bloming D, Lechtermann A, Lerch MM, Volker K. Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise. *Journal of applied physiology*. 2002 Jul 1;93(1):147-53.
- 25- Maulik N, Sasaki H, Addya S, Das DK. Regulation of cardiomyocyte apoptosis by redox-sensitive transcription factors. *FEBS letters*. 2000 Nov 17;485(1):7-12.
- 26- Marín-García J, Goldenthal MJ. Mitochondrial centrality in heart failure. *Heart failure reviews*. 2008 Jun;13:137-50.
27. Sun Y, Cui D, Zhang Z, Zhang T, Shi J, Jin H, Ge Z, Ji L, Ding S. Attenuated

oxidative stress following acute exhaustive swimming exercise was accompanied with modified gene expression profiles of apoptosis in the skeletal muscle of mice. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016;2016(1):8381242.

28. Aboutaleb N, Shamsaei N, Khaksari M, Erfani S, Rajabi H, Nikbakht F. Pre-ischemic exercise reduces apoptosis in hippocampal CA3 cells after cerebral ischemia by modulation of the Bax/Bcl-2 proteins ratio and prevention of caspase-3 activation. *The Journal of Physiological Sciences*. 2015 Sep;65:435-43.

29. Santana ET, Serra AJ, Silva JA, Bocalini DS, Barauna VG, Krieger JE, Tucci PJ. Aerobic exercise training induces an anti-apoptotic milieu in myocardial tissue. *Motriz: Revista de Educação Física*. 2014;20(2):233-8.

30. Jafari A, Pourrazi H, Nikookheslat S, Baradaran B. Effect of exercise training on Bcl-2 and bax gene expression in the rat heart. *Gene, Cell and Tissue*. 2015 Oct 31;2(4).

31. Anderson EJ, Rodriguez E, Anderson CA, Thayne K, Chitwood WR, Kypson AP. Increased propensity for cell death in

diabetic human heart is mediated by mitochondrial-dependent pathways. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2011 Jan;300(1):H118-24.

32. Lu K, Wang L, Wang C, Yang Y, Hu D, Ding R. Effects of high-intensity interval versus continuous moderate-intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. *Molecular medicine reports*. 2015 Aug 1;12(2):2374-82.

33. Davoodi M, Moosavi H, Nikbakht M. The effect of eight weeks selected aerobic exercise on liver parenchyma and liver enzymes (AST, ALT) of fat liver patients. *Univ Med Sci J*. 2015; 14(1):84-90.

34. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*. 2003 Sep 11;39(6):889-909.

35. Lin TK, Liou CW, Chen SD, Chuang YC, Tiao MM, Wang PW, Chen JB, Chuang JH. Mitochondrial dysfunction and biogenesis in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Chang Gung Med J*. 2009 Nov 1;32(6):589-99.



## The effect of three months of interval aerobic training and Quercetin supplementation on the concentration Bax and Bcl-2 in the hippocampus of male Parkinson's model rats

Sirous kianmehr<sup>1</sup>, **Jabbar Bashiri**<sup>2</sup>, Hasan pourrazi<sup>3</sup>, Roghayeh Poozesh Jadidi<sup>4</sup>, Mir Ali Reza Nourazar<sup>5</sup>

1- Ph.D. student of Sport Physiology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

2- Associate Professor of Sport Physiology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. Corresponding Author : bashiri.jabbar@iaut.ac.ir

3- Assistant Professor of Sport Physiology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

4- Assistant Professor of Sport Physiology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

5- Assistant Professor of Sport Physiology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

Received:2023.11.05

Accepted: 2024.04.21

### Abstract

**Background & Aim:** Parkinson's disease is a progressive neurological disorder caused by the death of neurons in the substantia nigra, the degeneration of dopaminergic neurotransmission, and the presence of alpha-synuclein and protein components in the cell body of neurons. The purpose of this research was to explain the effect of three months of interval aerobic exercise and quercetin supplementation on the concentration Bax and Bcl-2 in the hippocampus of male Parkinsonian model rats.

**Materials & Methods:** To conduct the present experimental research, 28 male Wistar rats were prepared and divided into 5 healthy control groups, 5 Parkinson's control groups, 6 Parkinson's training groups, 6 Parkinson's melatonin groups, and 6 Parkinson's training + Parkinson's supplement groups. Then, the training groups performed the interval training program for 12 weeks and consumed 100 mg/kg of quercetin daily. Finally, after the last training session, the hippocampus tissue was removed and the research variables were measured using the Bradford method.

**Results:** The results showed the significant effects of training and the lack of significant effects of training and supplementation on Bax. Also, the results of the significant effects of exercise and exercise and supplementation and the lack of significant effect of supplementation on bcl-2 are significant. But the main effect of quercetin supplementation has been shown on bcl-2.

**Conclusion:** According to the results, the use of exercise and exercise and quercetin supplement is recommended for diabetics under the supervision of a specialist.

**Keywords:** interval aerobic exercise, quercetin, hippocampus, Bax, Bcl-2