

## The Effect of Combined Resistance-Aerobic Training Along with Olive Oil Consumption on some Genes Involved in Apoptosis and the Balance of Induced Parkinsonian Rats

Shamsi Soosahab M, Elmieh A\*, Shabani R

Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

\* *Corresponding author.* Tel: +989111359121, Fax: +981333421829, E-mail: elmieh@iaurasht.ac.ir

Received: Aug 5, 2022

Accepted: Dec 12, 2022

### ABSTRACT

**Background & objectives:** Parkinson's disease is a progressive neurological disorder associated with the destruction of dopaminergic neurons in the substantia nigra. Physical exercise can control the risk of neuronal damage. The compounds of olive oil have a modulating effect on the activity of the brain cholinergic system. The present study aimed to investigate 8 weeks of combined aerobic resistance training with olive oil consumption on the balance and some apoptotic genes of the substantia nigra of the brain in Parkinsonian rats.

**Methods:** Forty- eight male rats were divided into 8 groups (n=6). 6-Hydroxydopamine was used to induce Parkinson's disease. Olive oil (0.4ml/daily) was fed for 8 weeks to the target group. Thirty minutes aerobic exercise was performed on a treadmill at a speed of 11 meters per minute with an intensity of 60 to 65% of VO<sub>2</sub>max. Resistance exercise started by climbing a ladder with weights to the rat's tail with 30% of body weight, which reached 100% of body weight at the end of the eighth week. To check the balance of the mice, a balance bar was used; the expression level of genes was measured using Real time-PCR method. Statistical analysis was performed using one-way analysis of variance and Thomhan's post hoc test at a significance level of  $p < 0.05$ .

**Results:** A significant increase in PINK-1 and AKT gene expression levels and a decrease in caspase-3 and p53 gene expression levels were observed in the exercising group, exercising with and without consuming olive oil and corn oil compared to the Parkinson's group ( $p = 0.001$ ). However, there was no significant difference between these three groups ( $p > 0.05$ ). Balance improvement was observed in rats with exercise and olive oil consumption compared to the parkinsonian group ( $p = 0.001$ ).

**Conclusion:** 8 weeks of combined resistance-aerobic training causes a significant increase in the expression level of AKT and PINK1 genes and a decrease in the expression level of caspase-3 and P53 genes in Parkinsonian rats. Also, this type of exercise, along with the consumption of olive oil improves balance in Parkinsonian rats.

**Keywords:** Parkinson's; Aerobic Resistance Training; AKT; PINK1; Caspase 3; P53

## اثر تمرین ترکیبی مقاومتی- هوازی به همراه مصرف روغن زیتون بر برخی ژن های مسیر آپوپتوز و تعادل موش های پارکینسونی القا شده

منصوره شمسی سوسهباب، علیرضا علمیه\*، رامین شعبانی

گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.  
\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۱۱۳۵۹۱۲۱ فاکس: ۰۱۳۳۳۴۲۱۸۲۹ پست الکترونیک: elmieh@iaurasht.ac.ir

### چکیده

**زمینه و هدف:** بیماری پارکینسون نوعی اختلال پیشرونده عصبی است که با تخریب نورون های دوپامینرژیک جسم سیاه همراه است. تمرین بدنی می تواند خطر آسیب های نورونی را کنترل کند. ترکیبات روغن زیتون، بر فعالیت سیستم کولینرژیک مغزی اثر تعدیلی دارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی هشت هفته تمرین ترکیبی مقاومتی هوازی با مصرف روغن زیتون بر تعادل و برخی ژن های آپوپتوز جسم سیاه مغز در موش های پارکینسونی انجام شد.

**روش کار:** تعداد ۴۸ موش صحرایی نر به هشت گروه شش تایی تقسیم شدند. جهت القای پارکینسون از تزریق داخل هیپوکامپی ۶- هیدروکسی دوپامین استفاده شد. روغن زیتون روزانه ۰/۴ میلی لیتر به مدت هشت هفته به موش های مورد نظر خوراند. تمرین هوازی ۳۰ دقیقه روی تردمیل با سرعت ۱۱ متر در دقیقه با شدت ۶۰ تا ۶۵ درصد VO<sub>2</sub>max انجام شد. تمرین مقاومتی با بالا رفتن از نردبان با وزنه به دم موش با ۳۰ درصد وزن بدن شروع و در انتهای هفته هشتم به ۱۰۰ درصد وزن بدن رسید. جهت بررسی تعادل موش ها از میله تعادل استفاده شد، بیان ژن ها با روش Real time-PCR انجام شد. تحلیل آماری با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی تامن در سطح معنی داری ۰/۰۵ <math>p</math> انجام شد.

**یافته ها:** افزایش معنی داری در بیان ژن AKT، PINK-1 و کاهش در بیان ژن کاسپاز-۳ و p53 در گروه تمرین، تمرین با و بدون مصرف روغن زیتون و روغن ذرت در مقایسه با گروه پارکینسون مشاهده شد ( $p=0/001$ ). لیکن بین این سه گروه اختلاف معنی داری وجود نداشت. بهبود تعادل در موش های با تمرین و مصرف روغن زیتون نسبت به گروه پارکینسونی مشاهده شد ( $p=0/001$ ).

**نتیجه گیری:** هشت هفته تمرین ترکیبی مقاومتی- هوازی باعث افزایش معنی دار در بیان ژن AKT و PINK1 و کاهش بیان ژن کاسپاز-۳ و p53 در موش های پارکینسونی می شود. همچنین این شیوه تمرینات ورزشی به همراه مصرف روغن زیتون باعث بهبود تعادل در موش های پارکینسونی می گردد.

**واژه های کلیدی:** پارکینسون، تمرین مقاومتی هوازی، AKT، PINK1، کاسپاز-۳، p53

دریافت: ۱۴۰۱/۵/۱۴ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۲۱

### مقدمه

نوروپاتولوژیک بیماری پارکینسون از دست دادن نورون در جسم سیاه است که باعث کمبود دوپامینرژیک جسم مخطط و تجمع  $\alpha$ -سینوکلین

بیماری پارکینسون شایع ترین اختلال حرکتی و دومین اختلال شایع عصبی پس از بیماری آلزایمر است. علائم

می‌شود. با این حال، مکانیسم‌های متعددی در پاتوژنز بیماری پارکینسون، از جمله استرس اکسیداتیو، میتو‌کندری ناکارآمد، عدم تعادل کلسیم سلولی، التهاب عصبی و سایر نقایص سیستم انتقال‌دهنده عصبی نقش دارند [۱]. بیماری پارکینسون بیش از شش میلیون بیمار را در سراسر جهان تحت تاثیر قرار می‌دهد [۲،۳]. این بیماری نورودژنراتیو سریع‌ترین اختلال عصبی در حال رشد است. سال‌های زندگی و نرخ مرگ و میر تعدیل شده با ناتوانی برای بیماری پارکینسون نیز روند افزایشی را نشان داد. جدای از علائم حرکتی اصلی ناشی از کمبود دوپامینرژیک جسم مخطط، تأثیر علائم مختلف غیر حرکتی همزمان به‌طور فزاینده‌ای شناخته شده است [۵،۴]. اگرچه مشخصه اصلی بیماری پارکینسون قطعاً کاهش نورون‌های دوپامینرژیک در جسم سیاه واقع در مزانسفالون است، معکوس کردن پیشرفت یا پیشگیری از آن هنوز یک چالش است [۶]. مشکلات راه رفتن و تعادل در بیماری پارکینسون پیچیده است و در اوایل بیماری مشهود است و در طول زمان پیشرفت می‌کند [۷]. مهمترین علامت پاتولوژیکی بیماری پارکینسون، کاهش نورون‌های دوپامینرژیک و بروز آنکلوژین‌های سیتوپلاسمیک است که لوی بادی نامیده می‌شوند این بیماری دو مشخصه پاتولوژیکی اصلی دارد: اول آپوپتوز نورون‌های دوپامین ناشی از استرس اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن، که سختی و کندی حرکات و ناتوانی در حفظ قامت را ایجاد می‌کند: دوم تشکیل لوی بادی‌ها که حاوی پروتئین آلفا-سینوکلئین می‌باشند [۸]. آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلول یک فرایند ژنتیکی<sup>۱</sup> است که بخش تفکیک ناپذیر از رشد، توسعه و هومئوستاز موجود زنده می‌باشد و برای حذف سلول‌های زاید با روش هدفمند به کار می‌رود [۹،۱۰]. آپوپتوز در مراحل متفاوت تکامل زیستی

یک موجود زنده ایفای نقش کرده و اگر از تنظیم خارج شود بیماری‌های گوناگونی را موجب می‌شود. برای نمونه، فعالیت بیش از حد طبیعی آپوپتوز سبب بیماری‌های دژنره کننده مانند آلزایمر و پارکینسون می‌گردد [۱۱].

مولکول‌های فراوانی در مسیرهای آپوپتوز درگیر هستند که شناخته شده‌ترین آن‌ها، کاسپازها<sup>۲</sup> هستند. کاسپازها، پروتئازهای با ساختار سیستئین-آسپاراتات می‌باشند که اکثراً به شکل زیموژن<sup>۳</sup> هستند که با پروتئولیز شدن به پروتئاز فعال تبدیل می‌شوند. با فعال شدن کاسپازهای آغازگر، آبخاری از کاسپازها فعال می‌شوند. در مجموع، دو سازوکار برای شروع آپوپتوز شناسایی شده است. مسیر برون سلولی و مسیر درون سلولی. در مسیر برون سلولی سیگنال مرگ محیط به گیرنده‌های ویژه مرگ (TNFR)<sup>۴</sup> و fasR متصل شده و موجب فعال شدن کاسپازهای آغازگر می‌شوند. مسیر دیگر، مسیر درونی یا میتو‌کندریایی است که توسط به هم خوردن نفوذپذیری غشاء میتو‌کندری و آزاد شدن شماری مولکول‌های موجود در غشاء میتو‌کندری از جمله سیتوکروم C و AIF آغاز می‌گردد که این پروتئین‌ها نیز به نوبه خود موجب فعال شدن کاسپازهای آغازگر دیگری می‌شوند که در نهایت آبخاری از کاسپازها به راه افتاده و سلول به سمت خودکشی خود پیش می‌رود. از جمله مولکول‌های مهم دیگر در مسیر آپوپتوز IAP<sup>۵</sup> یا همان پروتئین‌های مهارکننده آپوپتوز می‌باشند که تا امروز انواع زیادی از این نوع شناخته شده است [۱۲]. پروتئین P53 در تنظیم آپوپتوز نقش مهمی دارد. این پروتئین از ۳۹۳ آمینواسید ساخته شده است و نام پروتئین P53، از وزن مولکولی آن

<sup>2</sup> Caspases

<sup>3</sup> Zymogen

<sup>4</sup> Tumor Necrosis Factor Receptor

<sup>5</sup> Inhibitor of Apoptosis

<sup>1</sup> Genetic

گرفته شده که برابر با ۵۳ کیلو دالتون است [۱۳]. مولکول P53 یکی از مهمترین مهارکننده‌های چرخه تکثیر سلولی است که آن را محافظ ژنوم می‌نامند. این مولکول با ایجاد وقفه در مرحله G2 باعث مهار چرخه سلولی می‌شود. تخریب DNA عامل اصلی فعالیت این مولکول است [۱۴، ۱۵].

PINK1 رمزگذار یک پروتئین کیناز واقع در میتوکندری است که در سرتاسر مغز انسان وجود دارد، نقش محافظت نورون را دارد و این عمل را با فسفوریلاسیون برخی از پروتئین‌های میتوکندری انجام می‌دهد (TRPA1)<sup>۱</sup>. جهش در این ژن باعث کاهش پتانسیل غشاء میتوکندری در شرایط تنش می‌شود [۱۶].

پروتئین AKT فعال، باعث فسفوریلاسیون سوبستراهای متفاوت درون سلولی می‌شود که در تنظیم رشد، متابولیسم و بقاء سلول مؤثرند. زمانی که AKT سرکوب شود، رشد فیزیولوژیکی و سازگاری‌های همودینامیکی کند می‌شود [۱۷]. مطالعات حیوانی اخیر نشان می‌دهد که تنها یک تمرین با شدت انقباض خیلی زیاد که معادل یک جلسه تمرین شنای شدید برای ۱۲۰ دقیقه و یا ۶۰ دقیقه دویدن با سرعت ۲۲ متر در دقیقه و شیب ۱۰٪ می‌باشد، منجر به یک افزایش ناگهانی در فسفوریلاسیون و فعالیت‌های مولکولی کلیدی AKT می‌گردد [۱۸]. همچنین سانگ<sup>۲</sup> و همکاران بیان کردند که تمرین هوازی میزان پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl2 را افزایش داده در حالی که به طور مشخصی قطعه قطعه شدن DNA، فعالیت کاسپاز ۳، پروتئین Bax و نسبت Bax/Bcl2 را در عضلات ساق پا و نعلی موش‌های صحرایی کاهش می‌دهد [۱۹]. ویمر<sup>۳</sup> و همکاران بیان کردند که ۲۶ روز دویدن اختیاری باعث کاهش بیان P53 در عضله

قلبی موش‌ها شد [۲۰]. ای کیو<sup>۴</sup> و همکاران نیز گزارش کردند که تمرین دویدن باعث کاهش بیان P53 در عضله قلبی موش‌ها شد [۲۱]. حدیدی و همکاران افزایش معنی‌داری pink1 را در عضله نعلی در پی هفت روز بی‌حرکی اندام تحتانی در رت‌های تمرین کرده استقامتی نشان دادند [۲۲].

بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی هشت هفته تمرین ترکیبی مقاومتی هوازی با مصرف روغن زیتون بر تعادل و برخی ژن‌های مسیر آپوپتوز (PINK1, AKT, کاسپاز-۳, P53) جسم سیاه مغز در رت‌های پارکینسونی بود.

### روش کار

این پژوهش از نوع تجربی بوده و همه آزمایش‌های مربوط به حیوانات با توجه به سیاست‌های مربوط به حمایت از حیوانات بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینگی انجام شد و قوانین راهنمای انستیتوی ملی سلامت در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است. تعداد ۴۸ سر رت نر بالغ ۱۲ هفته‌ای نژاد ویستار با میانگین وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم از شرکت پاسارگاد تهران تهیه شد و به آزمایشگاه حیوانی ویرا آرمانیان در رشت منتقل شدند. حجم نمونه مطالعه حاضر بر اساس نتایج تحقیقات پیشین و در سطح معنی‌داری پنج درصد تعیین شد. تمام موارد استاندارد از جمله شرایط دمایی ( $24 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد)، میزان رطوبت نسبی ( $55 \pm 3$ ٪)، دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد ویژه موش (ساخت شرکت بهپرور، ایران) و همچنین سیکل تاریکی/روشنایی (۱۲ ساعته) رعایت گردید. روغن زیتون خالص از منطقه رودبار به روش دستی و با فشار بدون حرارت تهیه شده خریداری شد و روغن معمولی با مارک مازولا استاندارد موجود در فروشگاه‌های معتبر تهیه شد. این حیوانات به مدت دو هفته در قفس‌های مخصوص برای سازگاری با محیط جدید قرار داده شدند.

<sup>1</sup> Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily A Member 1

<sup>2</sup> Song

<sup>3</sup> Wemer

حیوانات به صورت تصادفی به هشت گروه شش تایی شامل: کنترل سالم، گروه پارکینسونی، پارکینسونی+ مصرف روغن زیتون، پارکینسونی+ روغن معمولی، پارکینسونی+ تمرین ترکیبی مقاومتی استقامتی، پارکینسونی+ تمرین ترکیبی مقاومتی- استقامتی+ مصرف روغن زیتون، پارکینسونی+ تمرین ترکیبی مقاومتی- استقامتی+ روغن معمولی، گروه سالم+ ترکیبی مقاومتی- استقامتی+ مصرف روغن زیتون تقسیم شدند.

جهت القای مدل پارکینسونی و تخریب جسم مخطط موش‌ها، تزریق محلول ۶- هیدروکسی دوپامین به صورت استریوتاکیسی به داخل جسم مخطط (سمت راست) انجام گرفت. به این طریق که با استفاده از اطلس واتسون و پاکسینوس مکان مناسب برای عمل استریوتاکیسی با مختصات قدامی- خلفی (۰/۵) جانبی (۱) و عمقی ۵/۱ مشخص و کانال ۲۷ گیج دندانپزشکی داخل جمجمه موش‌ها قرار گرفت. سپس از طریق این کانال و با استفاده از سرنگ همیلتون مقدار پنج میکروگرم ۶- هیدروکسی دوپامین (با سرعت هر میکرو لیتر محلول با سالیین در مدت ۳۰ ثانیه) به هر موش تزریق شد. بعد از پایان تزریق از فنر هشت میلی‌لیتری جهت جلوگیری از خروج مایع از کانال استفاده و موش به مدت یک دقیقه ثابت نگه داشته شد [۲۳]. دو روز بعد از القای پارکینسون برای تایید القای پارکینسون از آزمون پیچش بدن بالارفته بر طبق روش EBST<sup>۱</sup> شرح داده شده توسط بارلانگان<sup>۲</sup> و همکاران در سال ۱۹۹۵ انجام گرفت. دم موش، از محدوده دو سانتیمتری محل اتصال با بدن، گرفته شده و به بالا آورده می‌شد؛ به طوری که بینی موش دو سانتیمتر بالاتر از سطح اتکا قرار می‌گرفت. در این حالت حیوان بدن خود را به سمت راست یا چپ می‌پیچاند که تعداد این پیچش‌ها به هر طرف نشان‌دهنده شدت بیماری بود. حیوان بر روی میز

قرار می‌گرفت، اگر طرز ایستادن و راه رفتن حیوان طبیعی بود، نمره‌ای دریافت نمی‌کرد (نمره صفر می‌گرفت)؛ در صورتی که حیوان روی میز قرار می‌گرفت و در اثر سفتی عضلات بی‌حرکت باقی می‌ماند و یا با زحمت با حرکت دست‌ها و پاها شروع به حرکت می‌کرد به حیوان نمره ۰/۵ داده می‌شد [۲۴]. برای اطمینان بیشتر از القای پارکینسون دست راست حیوان، روی سکوی چوبی به ارتفاع سه سانتیمتر قرار گرفت. اگر حیوان حداقل ۱۰ ثانیه دست خود را از روی سکو بر نمی‌داشت، نمره ۰/۵ دریافت می‌کرد. برای دست چپ هم این آزمایش انجام گرفت. این مرحله در مجموع یک نمره داشت. دست راست حیوان، روی سکوی ۹ سانتیمتری قرار داده می‌شد؛ در صورتی که حیوان می‌توانست دست خود را نگه دارد، نمره یک می‌گرفت و برای دست چپ نیز به همین شکل آزمایش انجام شد. این مرحله در مجموع دو نمره داشت. حیوان پارکینسونی، از مجموع دو آزمون فوق، نمره ۳/۵ را دریافت می‌کرد و حیوان سالم نمره صفر می‌گرفت [۲۴].

برنامه تمرینی شامل آشناسازی با دویدن روی نوارگردان برای انجام ورزش استقامتی و بالا رفتن از نردبان مخصوص تمرینات مقاومتی (طول ۱۱۰ سانتی‌متر، شیب ۸۰ درجه، ۲۶ پله و دو سانتی‌متر فضای بین هر پله) در حیوانات مختص گروه‌های تعیین شده به مدت چهار روز انجام شد. گروه کنترل سالم هیچ‌گونه تمرین و جراحی نداشته و صرفاً به مدت دوره‌های طی شده گروه‌های ورزشی، ضمن استقرار در نوارگردان خاموش، در حیوان خانه نگهداری شدند. تمرینات آشناسازی استقامتی شامل راه رفتن و دویدن روی نوارگردان با سرعت ۸-۹ متر در دقیقه با و به مدت ۱۰ دقیقه بود. تمرینات آشناسازی گروه مقاومتی سه بار بالا رفتن از نردبان بدون وزنه بود. برای حیوانات با تمرینات ورزشی، دوره آشناسازی به طور یکسان اجرا شد. پس از آشناسازی موش‌ها با دویدن روی نوارگردان

<sup>1</sup> Elevated Body Swing Test

<sup>2</sup> Borlongan

کاسه جمجمه، جسم مخطط از سایر قسمت‌های مختلف مغز جدا شد و بلافاصله در ازت مایع قرار گرفت. پس از منجمد شدن، بافت در یخچال مخصوص در دمای ۸۰- درجه نگهداری شد. پس از هموژنایز بافت در محلول بافر فسفات سالین با pH ۷/۴ نمونه در مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ g سانتریفوژ شد.

#### واکنش زنجیره پلیمراز زمان واقعی

برای اندازه‌گیری بیان ژن‌های کاسپاز ۳، AKT، Pink1 و P53 از روش کمی Real time-PCR استفاده شد. در ابتدای کار میزان غلظت بهینه cDNA و همچنین پرایمرهای مربوط به هر ژن با استفاده از آزمایش سریال غلظت برای هر کدام به‌طور جداگانه مشخص گردید. جهت سنجش میزان از کیت‌های شرکت نوند سلامت بر روی جسم سیاه بافت مغز استفاده شد. در جدول ۱ توالی پرایمرهای مورد مطالعه در تحقیق آورده شده است.

تمرینات استقامتی شروع شد. تمرین استقامتی شامل پنج روز در هفته صبح‌ها هر روز به مدت ۳۰ دقیقه و با سرعت ۱۱ متر در دقیقه با شدت ۶۰ تا ۶۵ درصد  $vo_{2max}$  در طی هشت هفته بود. در انتهای هر جلسه حیوانات پس از طی دوره سرد شدن از روی نوارگردان برداشته شدند و عصرها در ابتدای برنامه تمرین مقاومتی به منظور گرم کردن، سه بار بدون وزنه و استراحت بین تکرارها از نردبان بالا رفته و سپس وزنه‌های آن جلسه تمرینی به دم موش‌ها وصل شد. وزن وزنه در هفته اول ۳۰ درصد وزن موش بود و هر هفته به اندازه ده درصد وزن بدن موش به وزنه‌ها اضافه تا اینکه هفته هشتم ۱۰۰ درصد وزن حیوان به وزنه اضافه شد. لازم به ذکر است که مکمل روغن زیتون و روغن معمولی به مقدار ۰/۴ میلی گرم صبح‌ها قبل از تمرین به گروه‌های مورد نظر به طریق گاوژ داده می‌شد [۲۶،۲۵].

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی ابتدا موش‌ها با ترکیب کتامین زایلازین به نسبت ۶۰ به ۴۰ بیهوش شدند. سپس با جداکردن کل مغز و خارج کردن آن از

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد مطالعه در تحقیق

Gene	Forward/ Reverse	primer
Casp-3	F	GTTAACACGAGTGAGGATGTG
Casp-3	R	TACCCTGAAATGGGCTTGTGT
PTEN	F	AGACCATAACCCACCACAGC
PTEN	R	GCGCCTCTGACTGGGAATAG
P53	F	GACTTCTTGTAGATGGCCATGG
P53	R	ATGGAGGAGTCACAGTCGGATA
AKT	F	CTACGGTGCGGAGATTGTGT
AKT	R	CACAGCCCCGAAGTCCGTTAT
GAPDH	F	GCAAGAGAGAGGCCCTCAG
GAPDH	R	TGTGAGGGAGATGCTCAGTG

مقابل نیز قفس موش قرار داشت. به محض حرکت از خط شروع با کرومومتر زمان عبور ثبت گردید [۲۷]. حداکثر زمان برای عبور از طول چوب برای هر موش دو دقیقه و حداکثر زمان توقف اولیه یک دقیقه منظور گردید. همچنین تعداد سقوطها نیز ثبت شد. این تست در هر مرحله، برای هر موش سه بار تکرار و کمترین مقدار ثبت شد. به منظور آشنایی

#### آزمون تعادل

برای سنجش تعادل از میله تعادل استفاده شد. بدین‌منظور از دستگاه چوبی به طول ۱۰۵ سانتیمتر، عرض چهار سانتیمتر و ضخامت جانبی سه سانتیمتر استفاده شد (مطابق شکل ۱). ارتفاع این دستگاه از زمین ۸۰ سانتیمتر بود. ۲۰ سانتیمتر اول این چوب به‌عنوان خط شروع در نظر گرفته شد و در طرف

موش‌های با این تست، قبل از اجرای آزمون اصلی، هر یک از موش‌ها سه بار این تست را اجرا کردند.

توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک بررسی شد. برای بررسی همسان بودن واریانس‌ها از آزمون لون استفاده شد تحلیل داده‌های و همچنین متغیرهای بیان ژن با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و در صورت نیاز از آزمون تعقیبی تامهن انجام شد. معنی‌داری بین متغیرها در سطح  $p < 0.05$  مورد توجه قرار گرفت. مراحل تجزیه

و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-25 انجام گرفت.

### یافته‌ها

نتایج میانگین و انحراف معیار متغیرهای پژوهش شامل بیان ژن AKT، PINK1، کاسپاز ۳، p53 و میزان تعادل در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج آزمون آماری ANOVA یک راهه برای متغیرهای تحقیق در جدول ۳ ارائه گردیده است.

جدول ۲. میانگین متغیرهای پژوهش

گروه	متغیر	بیان ژن AKT	بیان ژن PINK1	بیان ژن کاسپاز ۳	بیان ژن p53	تعادل
کنترل سالم		۱/۰۰۰ ± ۰/۰۰	۱/۰۰۰ ± ۰/۰۰	۱/۰۰۰ ± ۰/۰۰	۱/۰۰۰ ± ۰/۰۰	۶/۹۸ ± ۰/۱۹
گروه پارکینسون		۰/۶۰۱۳۴ ± ۰/۰۲۳۹	۰/۶۳۶۴۵ ± ۰/۱۵۵۲	۱/۲۰۶۸۱ ± ۰/۱۷۸۶	۱/۳۵۳۸۱ ± ۰/۱۱۵۶	۸/۶۳ ± ۰/۲۱
پارکینسون و روغن زیتون		۰/۶۹۹۵۳ ± ۰/۰۶۳۴	۰/۸۴۱۹۷ ± ۰/۶۱۰۷	۰/۸۵۹۷۲ ± ۰/۰۷۱۸	۱/۱۵۱۸۱ ± ۰/۱۳۹۲	۸/۲۳ ± ۰/۰۸
پارکینسون و روغن ذرت		۰/۶۰۵۷۳ ± ۰/۰۲۰۸	۰/۸۵۸۱۸ ± ۰/۰۵۹۹	۰/۸۳۸۲۶ ± ۰/۰۶۲۳	۱/۲۵۸۶۰ ± ۰/۰۹۷۱	۸/۵۳ ± ۰/۱۲
پارکینسون و ورزش		۱/۱۶۴۲۴ ± ۰/۳۰۲۲	۱/۳۲۴۰۳ ± ۰/۱۷۸۳	۰/۵۱۲۴۸ ± ۰/۰۷۷۵۹	۰/۸۳۷۳۵ ± ۰/۰۶۰۶	۸/۳۰ ± ۰/۰۸
پارکینسون، ورزش و روغن زیتون		۱/۷۵۱۰۶ ± ۰/۱۰۰۸	۱/۷۸۴۲۳ ± ۰/۱۰۶۶	۰/۳۹۸۱۵ ± ۰/۰۵۱۶	۰/۷۰۹۶۰ ± ۰/۰۲۰۱	۷/۵۵ ± ۰/۳۸
پارکینسون، ورزش و روغن ذرت		۱/۷۹۱۶۱ ± ۰/۰۸۴۷	۱/۸۰۷۵۱ ± ۰/۱۱۶۵	۰/۵۴۸۷۱ ± ۰/۰۴۷۳	۰/۷۲۴۸۰ ± ۰/۰۴۰۲	۸/۷۰ ± ۰/۳۳
سالم، ورزش و روغن زیتون		۳/۳۰۹۹۷ ± ۰/۷۱۷۲	۲/۴۴۸۴۱ ± ۰/۳۷۵۷	۰/۲۶۳۸۹ ± ۰/۰۶۸۴	۰/۲۲۶۹۹ ± ۰/۰۳۶۰	۴/۷۱ ± ۰/۴۷

جدول ۳. نتایج آزمون آماری ANOVA یک راهه در متغیرهای تحقیق

متغیرها	گروه‌ها	درجه آزادی	آماره F	معنی‌داری آماری
بیان ژن AKT	بین گروه‌ها درون گروه‌ها	۷ ۴۰	۴۹/۹۷	۰/۰۰۱*
بیان ژن PINK1	بین گروه‌ها درون گروه‌ها	۷ ۴۰	۸۱/۷۸	۰/۰۰۱*
بیان ژن کاسپاز ۳	بین گروه‌ها درون گروه‌ها	۷ ۴۰	۸۲/۸۶	۰/۰۰۱*
بیان ژن p53	بین گروه‌ها درون گروه‌ها	۷ ۴۰	۴۸/۰۱	۰/۰۰۱*
تعادل	بین گروه‌ها درون گروه‌ها	۷ ۴۰	۱۴۶/۵۲	۰/۰۰۱*

\*معنی‌داری آماری در آزمون تحلیل واریانس یک راهه  $p < 0.05$

بررسی آزمون واریانس یک‌راهه نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین بیان ژن‌های AKT، PINK1، کاسپاز ۳،

p53 و تعادل در گروه‌های تحقیق وجود داشت ( $p = 0.001$ ).

تعادل بهبود یافته است.

### بحث

نتایج تحقیق نشان داد که تمرین ترکیبی و تمرین مقاومتی استقامتی همراه با مصرف روغن زیتون و روغن ذرت موجب افزایش بیان ژن‌های AKT، PINK1 و کاهش بیان ژن کاسپاز ۳ و بیان ژن P53 گردید. همچنین این تمرینات همراه با مصرف روغن زیتون موجب بهبود تعادل در گروه رت‌های پارکینسونی گردید. همسو با تحقیق حاضر در پژوهشی که توسط دی سوزا و همکاران صورت گرفت اثر سه نوع پروتکل تمرینی قدرتی، استقامتی و ترکیب استقامتی- قدرتی را بر روی بیان ژن AKT در عضلات اسکلتی موش‌ها بررسی شد. یافته‌ها نشان داد که تنها در گروه تمرین ترکیبی افزایش ۸۷ درصد پروتئین AKT مشاهده شد و در گروه‌های دیگر هیچ تفاوت معنی‌داری در بیان این ژن وجود نداشت [۲۸]. ضیاء‌الدینی و همکاران تأثیر شش هفته تمرین هوازی بر روی نوارگردان را در عضلات اسکلتی موش‌های صحرایی جوان (سه ماهه) و پیر (هشت ماهه) مورد ارزیابی قرار دادند. پس از شش هفته تمرین هوازی، سطوح P53 هم در موش‌های پیر و هم در موش‌های جوان کاهش یافت، اما این کاهش معنی‌داری نبود [۲۹]. الجراح و همکاران تأثیر ۴ هفته تمرینات هوازی را بر روی تردمیل را در عضلات قلب موش‌های صحرایی دیابتی و غیر دیابتی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان که میزان بیان P53 عضله قلب در گروه کنترل دیابتی غیرفعال بطور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل غیرفعال افزایش یافت ( $p=0/02$ ) پس از اجرای پروتکل تمرین نیز میزان بیان P53 بطور معنی‌داری در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرد، اما تفاوت معنی‌داری بین بیان P53 در گروه کنترل فعال سالم و کنترل غیرفعال سالم مشاهده نشد [۳۰].

با توجه به معنی‌داری آماری در متغیرهای تحقیق، از آزمون تعقیبی تامن استفاده شد و نتایج نشان داد که در بیان ژن AKT در مقایسه با گروه پارکینسون در گروه پارکینسون، ورزش با مصرف روغن زیتون و یا روغن ذرت اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. به نحوه‌ای که در این دو گروه میزان بیان ژن AKT افزایش معنی‌داری وجود داشت. لیکن بین دو گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

در بیان ژن PINK-1 یافته‌های آزمون تعقیبی نشان داد که در مقایسه با گروه پارکینسون، در سه گروه پارکینسون، ورزش با و یا بدون مصرف روغن زیتون و یا روغن ذرت افزایش معنی‌داری وجود داشت ( $p=0/001$ ). در حالی که بین سه گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج نشانگر تأثیر تمرینات ورزشی در افزایش بیان ژن PINK-1 بود.

یافته‌های آزمون تعقیبی در بیان ژن کاسپاز-۳ نشان داد که در مقایسه با گروه پارکینسون، در سه گروه پارکینسون، ورزش با و یا بدون مصرف روغن زیتون و یا روغن ذرت کاهش معنی‌داری وجود داشت ( $p=0/001$ ). در حالی که بین سه گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج نشانگر تأثیر تمرینات ورزشی در کاهش بیان ژن کاسپاز-۳ بود.

یافته‌های آزمون تعقیبی در بیان ژن P53 نشان داد که در مقایسه با گروه پارکینسون، در سه گروه پارکینسون، ورزش با و یا بدون مصرف روغن زیتون و یا روغن ذرت کاهش معنی‌داری وجود داشت ( $p=0/001$ ). در حالی که بین سه گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج نشانگر تأثیر تمرینات ورزشی در کاهش بیان ژن P53 بود.

یافته‌های آزمون تعقیبی نشان داد که در مورد تعادل بین گروه پارکینسون با گروه پارکینسون تمرین کرده به همراه مصرف روغن زیتون اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $p=0/001$ ). به عبارت دیگر تعادل در گروه پارکینسون دچار اختلال شده است که با تمرین مقاومتی هوازی به همراه مصرف روغن زیتون مقدار



اصغرپور و همکاران در پژوهش خود به این نتیجه رسیدند که دوازده هفته تمرین هوازی باعث کاهش غیرمعنی‌دار پروتئین کاسپاز سه در موش‌های صحرایی در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل می‌شود. با این حال و با توجه به عدم تفاوت معنی‌دار پروتئین کاسپاز سه، اظهار نظر قطعی در مورد تأثیر تمرین ورزشی بر شاخص‌های مربوط به آپوپتوز، منوط به انجام مطالعات بیشتری است [۳۱].

دهقانی‌زاده و همکاران در پژوهشی نشان دادند که اجرای هشت هفته تمرین استقامتی باعث کاهش معنادار بیان پروتئین کاسپاز-۳ در هیپوکامپ حیوانات مبتلا به ایسکمی مغزی گردید [۳۲]. آلبوت و همکاران عملکرد رفتاری موش‌های پارکینسونی را با استفاده از تست تعادل ارزیابی کردند که یافته‌های آنها هم تا اندازه‌ای با پژوهش حاضر همسو است. آنان به این نتیجه دست یافتند که تمرین زمان اجرای تست تعادل را در موش‌های بیمار کاهش می‌دهد اما این کاهش معنی‌دار نمی‌باشد [۲۷]. لوسری و همکاران نشان دادند که مداخله با روغن زیتون بیان ژن‌ها و miRNA های دخیل در عملکرد عصبی و شکل‌پذیری سیناپسی را همراه با رفتارهای شناختی، حرکتی و احساسی تعدیل می‌کند. علاوه بر این، قشر پیشانی موش‌های پیر تغذیه شده با روغن زیتون، پروفایل‌های بیان miRNA مشابه آنچه در موش‌های جوان مشاهده شد را نشان داد [۳۳]. رابرت اولیور و همکاران در پژوهش خود نشان دادند که انجام فعالیت ورزشی بر روی تردمیل باعث بهبود تغییرات رفتاری، عصبی و ایمونوهیستوشیمی مشاهده شده در گروه پارکینسونی القا شده با ۶- هیدروکسی دوپامین در گروه‌های غیرورزشی شد. به نظر می‌رسد انجام فعالیت ورزشی باعث کاهش استرس اکسیداتیو، کاهش پراکسیداسیون لیپید و به طور عمده تنظیم BDNF<sup>1</sup> در جسم سیاه افراد آسیب دیده می‌گردد [۳۴].

<sup>1</sup> Brain-Derived Neurotrophic Factor

به علت اثرات آنتی‌اکسیدان‌ها و چربی‌های غیراشباع موجود در روغن‌ها مثل پلی‌فنل‌ها، اسید اولئیک، اسید لینولینیک، اسید لینولئیک و ویتامین E است. این ترکیبات بعد از جذب از دستگاه گوارش وارد خون می‌شوند و مقداری از آن بعد از این که به مغز رسید، به علت خاصیت محلول بودن در چربی، از سد خونی-مغزی گذشته و وارد قسمت‌های مختلف آن از جمله هیپوکامپ می‌شود [۳۵]. در این محل، پلی‌فنول‌ها و اثرات هم‌افزایی (سینرژیستی) این ترکیبات با ویتامین E باعث اثرات قوی آنتی‌اکسیدانی روی رادیکال‌های آزاد و اسیدهای می‌شوند که به دنبال کاهش خونرسانی در این محل تجمع پیدا کرده‌اند و با آنها واکنش داده و آن‌ها را خنثی می‌کنند. به این ترتیب، از واکنش این رادیکال‌ها با لیپیدهای موجود در غشای نورون‌ها جلوگیری می‌شود [۳۶]. تمرین ورزشی ممکن است به عنوان یک استراتژی کمک درمانی بالقوه برای بهبود توانایی هماهنگی و تعادل حرکتی بیماران پارکینسونی به وسیله تسهیل پلاستیسیته سیناپسی و افزایش برآمدگی دندریتی در نورون‌های دوپامینرژیک نیکرو استریاتال جسم سیاه-مخطط به کار رود [۳۷].

### نتیجه‌گیری

تمرین مقاومتی- هوازی با و بدون مصرف روغن زیتون و روغن ذرت باعث افزایش بیان ژن‌های AKT و PINK1 و کاهش کاسپاز ۳ و P53 در موش‌های پارکینسونی شد و تمرین مقاومتی- هوازی به همراه مصرف روغن زیتون تعادل را بهبود بخشید. یافته‌های مطالعه حاضر نشان دهنده تأثیر پروتکل این تحقیق بر حفاظت نورونی در برابر بیماری پارکینسون می‌باشد. البته هنوز نمی‌توان در این باره با قطعیت نظر داد. بنابراین، برای نتیجه‌گیری قاطعانه درباره نقش تمرین مقاومتی هوازی با و بدون مصرف روغن زیتون در

اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت  
با کد IR.IAU.RASHT.REC.1400.013 انجام  
شد. بدینوسیله نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از  
این واحد دانشگاهی و پرسنل آزمایشگاه حیوانی ویرا  
آرمانیان رشت اعلام می دارند.

برابر بیماری تحلیل برنده نورونی پارکینسون به  
مطالعات بیشتری نیاز است.

### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از رساله دکتری در رشته  
فیزیولوژی ورزشی مصوب گروه فیزیولوژی ورزشی  
دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت و با تایید کمیته

### References

- 1- Zaman V , Shields DC, Shams R, Drasites KP, Matzelle D, Haque A, et al. Cellular and molecular pathophysiology in the progression of Parkinson's disease. *Metab Brain Dis*. 2021 Jun; 36(5):815-27.
- 2- Dorsey ER, Elbaz A, Nichols E, Abbasi N, Abd-Allah F, Abdelalim A, et al. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 Nov. *Lancet Neurol*. 17(11):939-953.
- 3- Dorsey ER, Sherer T, Okun MS, Bloem BR. The emerging evidence of the Parkinson pandemic. *J Parkinsons Dis*. 2018; 8(s1):S3-S8.
- 4- TA Zesiewicz. Parkinson disease. *Continuum (Minneap Minn)*. 2019 Aug; 25(4):896-918.
- 5- Aarsland D, Batzu L, Halliday GM, Geurtsen GJ, Ballard C, Ray Chaudhuri K, et al. Parkinson disease-associated cognitive impairment. *Nat Rev Dis Primers*. 2021 Jul; 7(1):47.
- 6- Iarkov A, Barreto GE, Grizzell JA, Echeverria V. Strategies for the treatment of Parkinson's disease: beyond dopamine. *Front Aging Neurosci*. 2020 Jan;12:4.
- 7- Chen T, Fan Y, Zhuang X, Feng D, Chen Y, Chan P, et al. Postural sway in patients with early Parkinson's disease performing cognitive tasks while standing. *Neurol Res*. 2018 Jun;40(6):491-498.
- 8-Subramaniam SR, Chesselet MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*. 2013 Jul-Aug; 106-107:17-32
- 9- Marfe G, Tafani M, Pucci B, Di Stefano C, Indelicato M, Andreoli A, et al. The effect of marathon on mRNA expression of anti-apoptotic and pro-apoptotic proteins and sirtuins family in male recreational longdistance runners. *BMC Physiol*. 2010 May;10:7.
- 10- Siu PM, Bryner RW, Murlasits Z, Alway SE. Response of XIAP, ARC, and FLIP apoptotic suppressors to 8 wk of treadmill running in rat heart and skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)*. 2005 Jul; 99(1):204-9.
- 11- Offen D, Elkon H, Melamed E. Apoptosis as a general cell death pathway in neurodegenerative diseases. *J Neural Transm Suppl*. 2000; (58):153-66.
- 12 -Leist M, Jaattela M. Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2001 Aug;2(8):589-98.
- 13 -Surget S, Khoury MP, Bourdon JC. Uncovering the Role of P53 Splice Variants in Human Malignancy: A Clinical Perspective. *Onco Targets Ther*. 2014; 7:57-68.
- 14- Höpker K, Hagmann H, Khurshid S, Chen S, Schermer B, Benzing T, et al. Putting the brakes on p53-driven apoptosis. *Cell Cycle*. 2012 Nov; 11(22):4122-4128.
- 15-Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature*. 2000 Oct; 407:770-776.
- 16- Clark LN, Wang Y, Karlins E, Saito L, Mejia-Santana H, Harris J, et al. Frequency of LRRK2 mutations in early- and late-onset Parkinson disease. *Neurology*. 2006 Nov;67(10):1786-91.
- 17-Weeks KL, McMullen JR. The athlete's heart vs. the failing heart: can signaling explain the two distinct outcomes? *Physiology (Bethesda)*. 2011 Apr;26(2):97-105.
- 18-Castorena CM, Arias EB, Sharma N, Cartee GD. Postexercise improvement in insulin stimulated glucose uptake occurs concomitant with greater AS160 phosphorylation in muscle from normal and insulin-resistant rats. *Diabetes*. 2014 Jul; 63(7);2297-308.

- 19-Song W, Kwak HB, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced changes in apoptotic signaling in rat skeletal muscle. *Antioxid Redox Signal*. 2006 Mar; **8**(3-4):517-528.
20. Werner C, Hanhoun M, Widmann T, Kazakov A, Semenov A, Pöss J, et al. Effects of physical exercise on myocardial telomere-regulating proteins, survival pathways, and apoptosis. *J Am Coll Cardiol*. 2008 Aug 5; **52**(6):470-82.
21. Qi Z, He J, Su Y, He Q, Liu J, Yu L, et al. Physical exercise regulates p53 activity targeting SCO2 and increases mitochondrial COX biogenesis in cardiac muscle with age. *PLoS One*. 2011 Jul; **6**(7): e21140.
- 22-Hadidi V, Daryanoosh F, Nemati J, Tanideh N. The effect of hind limb immobilization on expression of some genes involved in the regulation of mitochondrial processes in soleus muscle of trained and untrained rats. *J Arak Uni Med Sci*. 2019 Spring; **22**(1): 51-61. [Full text in Persian]
- 23 -Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 6<sup>th</sup>ed. CA, Academic Press Inc: San Diego, 2006; 6-13
- 24 - Dursun I, Jakubowska-Doğru E, Uzbayb T. Effects of prenatal exposure to alcohol on activity, anxiety, motor coordination, and memory in young adult Wistar rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006 Oct; **85**(2):345-55.
- 25 -Zarrinkalam E, Heidarianpour A, Salehi I, Ranjbar K, Komaki A. Effects of endurance, resistance, and concurrent exercise on learning and memory after morphine withdrawal in rats. *Life Sci*. 2016 Jul; **157**:19-24.
- 26 -Furrer R, Jaspers RT, Baggerman HL, Bravenboer N, Lips P, de Haan A. Attenuated increase in maximal force of rat medial gastrocnemius muscle after concurrent peak power and endurance training. *Biomed Res Int*. 2013; **2013**:935671.
- 27- Allbutt HN, Henderson JM. Use of the narrow beam test in the rat, 6- hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *J Neurosci Methods*. 2007 Jan; **159**(2):195-202.
- 28- De Souza EO, Tricoli V, Bueno Junior C, Pereira MG, Brum PC, Oliveira EM, et al. The acute effects of strength, endurance and concurrent exercises on the Akt/mTOR/p70S6K1 and AMPK signaling pathway responses in rat skeletal muscle. *Braz J Med Biol Res*. 2013 Apr; **46**(4):343-7.
- 29- Ziaaldini MM, Koltai E, Csende Z, Goto S, Boldogh I, Taylor AW, et al. Exercise training increases anabolic and attenuates catabolic and apoptotic processes in aged skeletal muscle of male rats. *Exp Gerontol*. 2015 Jul; **67**:9-14.
- 30- Al-Jarrah M, Ahmad M, Maayah M, Al-Khatib A. Effect of exercise training on the expression of p53 and iNOS in the cardiac muscle of type I diabetic rats. *J Endocrinol Metab*. 2012 Nov; **2**(4-5):176-80.
- 31- Siahkohian M, Asgharpour-arshad M, Bolboli L, Jafari A, Sheikhzadeh hesari F. Effect of 12-weeks aerobic training on some indices of skeletal muscle apoptosis in male rats. *Med J Tabriz Univ Med Sci Health Serv*. 2018 Winter; **39**(6):35-43. [Full text in Persian]
- 32- Dehghanizadeh B, Fallahmohammadi Z, Taheri Kalani A, Mirghani S J. Effects of aerobic training on caspase-3 expression and apoptosis in hippocampus of rats after brain ischemic stroke. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*. 2022 Spring; **30**(1):4431-4440. [Full text in Persian]
- 33- Luceri C, Bigagli E, Pitozzi V, Giovannelli L. A nutrigenomics approach for the study of anti-aging interventions: olive oil phenols and the modulation of gene and microRNA expression profiles in mouse brain. *Eur J Nutr*. 2017 Mar; **56**(2):865-877.
- 34- da Costa RO, Gadelha-Filho CVJ, da Costa AEM, Feitosa ML, de Araújo DP, de Lucena JD, et al. The treadmill exercise protects against dopaminergic neuron loss and brain oxidative stress in Parkinsonian Rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2017 Jun; **2017**:2138169.
- 35-Vamos vigyazo L, Gajzago I, Nadudvari markus V, Mihalyi K. Studies into the enzymic browning and the polyphenol: Polyphenol oxidase complex of apple cultivars. *Confructa*. 1976; **21**:24-35.
- 36-Myhrer T. Neurotransmitter systems involved in learning and memory in the rat: a meta-analysis based on studies of for behavioral tasks. *Brain Res Rev*. 2003 Mar; **41**(2-3):268-87.
- 37- Shin MS, Jeong HY, An DI, Lee HY, Sung YH. Corrigendum to Treadmill exercise facilitates synaptic plasticity on dopaminergic neurons and fibers in the mouse model with Parkinson s disease. *Neurosci Lett*. 2016 Aug; **627**:233.