تحقیقی

اثر حمایتی تمرین هوازی بر استرس اکسیداتیو ناشی از سرب در مخچه موش صحرایی

دکتر معصومه حبیبیان*[۱]، دکتر ولی اله دیبدی روشن[۲]، دکتر سید جعفر موسوی[۱]، سید علی اکبر محمودی[۳]

۱- استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر. ۲- دانشیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران.

۳- دانشجوی دکتری تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس.

چکیده

زمینه و هدف : *آسیب اکسیداتیو ناشی از وجود سرب در مغز، به عنوان یک مکانیسم مولکولی احتمالی در سمیت سرب در نظر گرفته می‌شود. تمرین هوازی با القای آبشاری از فرایندهای مولکولی و سلولی از مغز حمایت می‌کند. این مطالعه به منظور تعیین اثر ۸ هفته تمرین هوازی بر عامل نروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و مالون دی آلدئید (MDA) بافت مخچه موش‌های صحرایی در معرض استات سرب انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه تجربی ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به گروه‌های پایه، شم (۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، اتیل اولئات)، سرب و سرب + تمرین (۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، تزریق داخل صفاقی استات سرب) تقسیم شدند. برنامه تمرینی شامل ۸ هفته دویدن با سرعت ۱۵ تا ۲۲متربردقیقه، مدت ۲۵ تا ٦٤ دقیقه در روز و ۵ جلسه در هفته بود. سطوح BDNF و MDA به ترتیب با روش ELISA و تیوباربیتوریک اسید سنجیده شد.*

یافته‌ها : *تیمار مزمن با استات سرب سطوح MDA مخچه‌ای را در موش‌ها افزایش داد (P<۰/۰۰۱)؛ اما اثری بر سطوح BDNF نداشت. اثر متقابل تمرین هوازی و استات سرب سطوح MDA را کاهش داد (P<۰/۰۰۱) و منجر به افزایش غیرمعنی‌دار سطوح BDNF در مخچه گردید.*

نتیجه‌گیری : *تمرین هوازی با شدت متوسط ممکن است نقش حمایت عصبی در مقابل آسیب ناشی از سرب بر مخچه از طریق تنظیم منفی استرس اکسیداتیو داشته باشد و سلامت مغز را با افزایش BDNF ارتقاء بخشد.*

کلید واژه‌ها : *تمرین هوازی ، سرب ، استرس اکسیداتیو*

* نویسنده مسؤول : دکتر معصومه حبیبیان ، پست الکترونیکی habibian_m@yahoo.com

نشانی : قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، تلفن ۰۱۲۳-۲۲٤۱۳۱۰، نمابر ۲۱٤٥۱٦۰

وصول مقاله : ۹۱/۳/۱۰ ، اصلاح نهایی : ۹۱/۱۰/۱۹ ، پذیرش مقاله : ۹۱/۱۰/۲٤

مقدمه

آلودگی محیطی شامل حضور حداقل یک آلاینده در محیط مانند آب، هوا و خاک و در نتیجه غذا است که ممکن است سمی بوده و منجر به آسیب موجود زنده شود (۱). سرب یکی از آلاینده‌های زیستی است که در صنعت کاربرد دارد. همچنین سطوح آن از طریق سوخت ناقص خودروها در هوا افزایش می‌یابد و در محیط به ویژه خاک ،گرد و غبار و آب‌های سطحی باقی می‌ماند. لذا توزیع زیاد این فلز در محیط و اثرات مخرب آن بر سلامتی انسان‌ها موضوعی نگران کننده، جدی و مورد بحث در جهان است (۲). انسان‌ها از طریق استنشاق (۳۰-۱۵ درصد) و یا از مسیر معدی- روده ای (۸۵-۷۰ درصد) در معرض آلاینده سرب قرار می‌گیرند (۳) که برای بسیاری از اندام‌ها و بافت‌های بدن سمی محسوب شده (۴) و مغز حساس‌ترین عضو نسبت به آن است(۵). به طوری که می‌تواند از طریق تغییرات شیمیایی، فیزیولوژیکی و بافتی فوری بر مغز (۶) منجر به اثرات پاتولوژیکی بر سیستم اعصاب مرکزی شود (۴). به‌علاوه تخلیه رسوبات سرب در برخی از مناطق مغز کندتر از خون است (۶). آسیب ناشی از سرب به طور اولیه در بخش‌های قشر جلویی مغز، مخچه و هیپوکامپ روی می‌دهد و می‌تواند منجر به تغییرات مرفولوژیکی در مغز شود که حتی پس از کاهش سطوح سرب هم باقی می‌ماند (۷). سرب اثرات قوی بر ساختار بافتی مخچه مانند ضخیم‌شدگی و چروکیدگی سلولی، آتروفی و کاهش تعداد سلول‌ها پورکینژ وگرانولی، اختلال در ترتیب سلول‌های گرانولی و مهار ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی مخچه دارد (۸). استرس اکسایشی ممکن است یکی از مکانیسم‌های مولکولی اعمال اثرات سمی سرب بر مغز باشد (۶و۸) که در پی عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی ایجاد

می‌گردد (۹). قرارگیری در معرض سرب منجر به کاهش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در مناطق مختلف مغزی از جمله هیپوکامپ، قشر مغز، مخچه و بخش مرکزی مغز می‌شود (۶و۸و۱۰) که بیانگر افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در مناطق مغزی است (۱۲-۱۰). از سوی دیگر کاهش سطوح عامل نروتروفیک مشتق از مغز Brain-derived neurotrophic factor(BDNF) با افزایش پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از سرب در مناطق مغزی گزارش شده است (۱۱و۱۳). BDNF خانواده‌ای از نروتروفین‌ها است که سبب توسعه نورون‌های نابالغ، تنظیم بقا و عمکرد نورون‌های بالغ و حیات سلولی در شرایط پراسترس می‌شوند و تنظیم کننده اصلی شکل‌پذیری سیناپسی و هدف کلیدی در افسردگی و بیماری آلزایمر است (۱۴) BDNF ضمن مهار تجمع پراکسیدها، با افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و غلظت کلسیم، از نورون‌های هیپوکامپ در مقابل آسیب استرس اکسایشی حمایت می‌کند (۱۵).

آلودگی هوا به شدت بر سلامت ساکنین شهرهای بزرگ به ویژه ورزشکاران اثرگذار است (۱۶). حفظ سلامت مغزی و خاصیت شکل‌پذیری آن در طول زندگی یکی از اهداف مهم سلامت بشری است. تمرینات ورزشی منجر به افزایش حیات سلول عصبی و مقاومت در برابر تهاجمات مغزی، تحریک نوروژنز، افزاش یادگیری و حفظ عملکرد شناختی در دوران پیری می‌شوند (۱۷). علاوه بر این، اثرات مفیدی بر عملکرد مغز دارند و نقش پیشگیرانه و درمانی مهمی در برابر ضربات و بیماری‌های آلزایمر و پارکینسون ایفا می‌کنند (۱۸). بر اساس نتایج تحقیقات قبلی ۸ هفته تمرین هوازی دویدن، سطوح BDNF هیپوکامپ و قشر مغز موش‌های بزرگ قرار گرفته در معرض استات سرب را افزایش داد (۱۱و۱۲)؛ اما ۸ هفته تمرین شنای پرفشار اثر معنی‌داری بر سطوح نسخه‌برداری BDNF بخش‌های مخچه و لب قدامی مغز در موش‌های سالم نداشت (۱۹). امروزه فعالیت هوازی به عنوان شیوه زندگی برای حفظ سلامتی توصیه می‌شود؛ اما اجرای آن در هوای آلوده مورد بحث است. با افزایش تعداد ضربان قلب و نیاز بیشتر به اکسیژن در حین فعالیت هوازی، تهویه ریوی و در نتیجه ورود هوای آلوده به بدن از طریق ریه‌ها، افزایش می‌یابد. لذا با توجه به اثرات ماندگار سرب در بافت مغزی (۷) نقش احتمالی استرس اکسایشی در بروز اثرات سمی سرب بر ساختار بافتی مخچه و بلاکه نمودن سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانتی این بافت (۶و۸)، توسعه آلودگی محیطی، ثبات و پایداری سرب در محیط و عدم دستیابی به یک آستانه بی‌خطر و قطعی غلظت سرب در بدن (۴)، یافتن دقیق مکانیسم سمیت ناشی از مسموم کننده‌های محیطی و توسعه روش‌های درمانی بی‌خطر برای کاهش اثرات سمی آنها ضروری است (۲). در این مطالعه اثر تمرینات طولانی مدت هوازی بر سطوح شاخص پراکسیداسیون بافتی (MDA) و عامل حمایت کننده عصبی BDNF بافت مخچه موش‌های ویستار قرارگرفته در معرض سرب غیرآلی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۰-۸ هفته‌ای با دامنه وزنی ۴±۲۵۰ گرم انجام شد. حیوانات پس از خریداری از انستیتو پاستور ایران (کرج) و انتقال به آزمایشگاه، طی یک هفته با محیط جدید و نحوه فعالیت روی نوارگردان آشنایی یافتند. سپس به‌طور تصادفی به چهار گروه ۱۰ تایی پایه، شم، سرب و تمرین هوازی (سرب+تمرین) تقسیم شدند. در طول مطالعه حیوانات به صورت گروه‌های ۴ سر موش در قفس‌های پلی‌اتیلنی ۱۵×۱۵×۳۰ ساخت شرکت رازی راد، دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵±۵۰ درصد در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) نگهداری شدند. براساس وزن‌کشی سه روز در میان، حیوانات به جیره غذایی استاندارد (۱۰ گرم به ازای ۱۰۰گرم وزن بدن) ساخت شرکت بهپرور به شکل پلت و آب آزادانه دسترسی داشتند. پروتکل تجربی بر اساس راهنمودهای تیمار و محافظت حیوانی و پس از تایید توسط گروه فیزیولوژی دانشگاه مازندران در آزمایشگاه حیوانات انجام شد.

طی ۸ هفته، به موش‌های گروه‌های سرب و تمرین هوازی، محلول استات سرب ۲۰ گرم/لیتر (۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و به گروه شم اتیل اولئات (۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی و سه بار در هفته تزریق شد (۲۰). گروه پایه تحت تاثیر هیچ دارو و تمرینی قرار نگرفت. علت تزریق اتیل اولئات به گروه شم در نظر گرفتن عامل استرسی ناشی از تزریق دارو بود (۱۲).

حیوانات گروه بی‌هوازی قبل از شروع تمرینات اصلی با ۵ جلسه راه رفتن و ۵ تا ۱۰دقیقه دویدن با سرعت ۵ تا ۸ متر/دقیقه روی نوارگردان بدون شیب، با نحوه دویدن روی نوارگردان آشنایی یافتند. برنامه تمرینی اصلی به صورت پیشرونده و شامل ۲۵ دقیقه دویدن با سرعت ۱۵متر/ دقیقه در هفته اول تا ۶۴ دقیقه دویدن با سرعت ۲۲متر/ دقیقه در هفته هشتم و ۵ جلسه در هفته اجرا شد. برنامه گرم کردن در ابتدای هر جلسه تمرینی، شامل ۳ دقیقه دویدن با سرعت ۷ متر/دقیقه و افزایش سرعت در هر دقیقه (۲ متر/دقیقه) تا رسیدن به سرعت مورد نظر بود. عمل سردکردن نیز در انتهای تمرین با کاهش پلکانی سرعت در انتهای هر جلسه تمرین انجام شد (۱۱و۱۲). تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه، پس از ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و تزریقات، با تزریق داخل صفاقی کتامین(۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش و کشته شدند. پس از

جدول ۱ : اثرات تمرین هوازی و استات سرب بر سطوح استرس اکسایشی و عامل مشتق از مغز بافت مخچه موش‌های قرار گرفته در معرض استات سرب

متغیر	پایه	شم	سرب	سرب + تمرین
وزن بدن (g)	۳۴۲±۲۵	۳۴۲±۳۴	۳۱۷±۲۴	۳۲۸±۲۰
وزن تر مغز (g)	۱/۷۴±۰/۱۵	۱/۷۰±۰/۱۸	۱/۶۲±۰/۲۹	۱/۷۷±۰/۲۱
فاکتور نروتروفیک مشتق از مغز (ng/mg protein)	۲/۵۳±۲/۰۳	۲/۲۱±۱/۱۲	۲/۵۹±۱/۹۸	۳/۵۸±۲/۸۲
سطوح مالون دی آلدئید (nmol/mg protein)	۰/۲۹±۰/۰۷۵	۰/۳۱±۰/۰۴۸	۰/۵۶±۰/۰۴۶ a*	۰/۴۰±۰/۰۶۱ b**

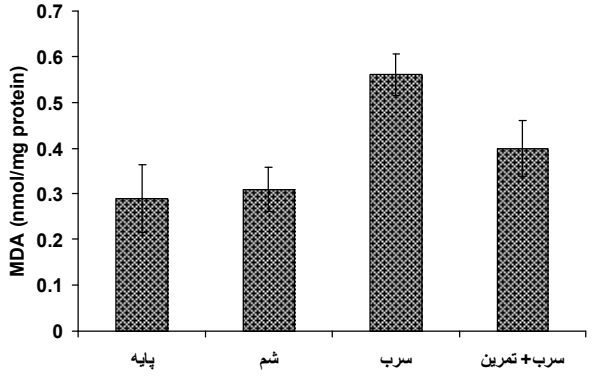
a :اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه‌های کنترل، شم و تمرین+سرب ، b : اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه پایه
* P<۰/۰۱ ، ** P<۰/۰۵

شکافتن جمجمه، بافت مخچه جدا گشته و در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بافت فریز شده پس از پودر شدن (ساییده شدن) در نیتروژن مایع، در بافر حاوی پروتئاز (PBS, pH 7.4) هموژنیزه شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۲هزار دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گشت. محلول به دست آمده با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه منتقل گشت. سطوح BDNF از روش الایزا (۲۱)، تغییرات MDA مخچه نیز با استفاده از معرف تیوباربیتوریک اسید اندازه‌گیری شد (۱۱و۱۲). پس از مشخص شدن توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، آزمون فرضیه‌های تحقیق با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-16 انجام شد.

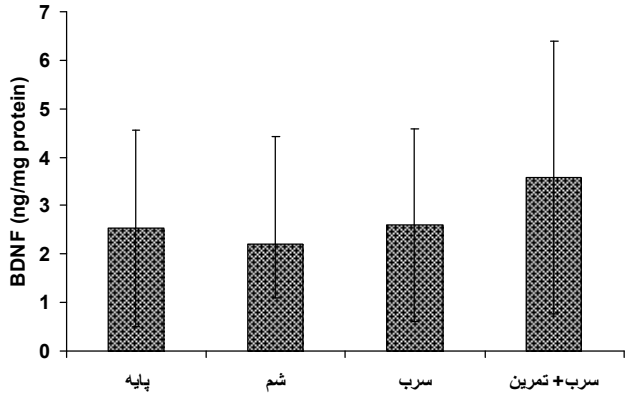
یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار وزن بدن و مغز و میزان عامل نروتروفیک و سطوح مالون دی آلدئید در گروه‌های مورد مطالعه در جدول یک آمده است. براساس این یافته‌ها ۸ هفته تیمار موش‌های ویستار با استات سرب، منجر به افزایش شاخص سطوح MDA مخچه نسبت به گروه‌های پایه (۹۳درصد) و شم (۸۱ درصد) شد (به ترتیب ۰/۵۶±۰/۰۴۶ در مقایسه با ۰/۲۹±۰/۰۷۵ و ۰/۳۱±۰/۰۴۸ نانومول/میلی‌گرم بافت، P<۰/۰۰۱). تمرین هوازی در مقایسه با گروه استات سرب منجر به کاهش معنی‌دار سطوح MDA مخچه (۰/۴۰±۰/۰۶۱، P<۰/۰۰۱) گردید که علی‌رغم این کاهش، سطوح MDA هنوز نسبت به گروه پایه، به طورمعنی‌داری بالاتر بود (P<۰/۰۲) (نمودار یک).

پس از ۸ هفته تیمار موش‌ها با استات سرب، سطوح BDNF مخچه نسبت به گروه‌های پایه و شم تغییر آماری معنی‌داری نیافت و تمرین هوازی منجر به افزایش غیرمعنی‌دار سطوح BDNF مخچه (۲/۸۲±۳/۵۸ نانوگرم/میلی‌گرم بافت) نسبت به گروه‌های پایه (۴۱درصد)، شم (۶۱درصد) و سرب (۳۸ درصد) گردید (نمودار۲). همچنین در موش‌های قرار گرفته در معرض سمیت سرب، وزن بدن و وزن تر مغز نسبت به گروه‌های شم و پایه کاهش یافت؛ اما تمرین هوازی با کاهش غیرمعنی‌دار اثرات سرب بر وزن بدن و مغز همراه بود.



نمودار ۱ : مقایسه سطوح مالون دی آلدئید (MDA) بافت مخچه گروه‌های مورد مطالعه



نمودار ۲ : مقایسه سطوح عامل نروتروفیک مغزی (BNDF) بافت مخچه گروه‌های مورد مطالعه

بحث

مهم‌ترین یافته این مطالعه افزایش سطوح MDA بافت مخچه پس از ۸ هفته تیمار با استات سرب و تنظیم منفی این شاخص اکسایشی با تمرین هوازی بلند مدت بودکه حاکی از دخالت احتمالی استرس اکسایشی حاصل از سمیت سرب درآسیب مخچه و همچنین اثر فعالیت‌های ورزشی هوازی بر کاهش پراکسیداسیون لیپیدی است. با

وجود این، مواجهه مزمن با استات سرب منجر به تغییری در سطوح عامل نروترفیک مشتق از مغز در مخچه نشد؛ اما تاثیر متقابل تمرین و استات سرب منجر به افزایش غیرمعنی‌دار BDNF نسبت به گروه‌های دیگر گردید. این نتایج نشان می‌دهند که تمرین ممکن است نقش حمایت عصبی خود را در مقابل اثرات سمی و مزمن سرب بر مخچه، از طریق کاهش شاخص استرس اکسایشی و افزایش BDNF اعمال نماید. همچنین وزن بدن و وزن تر مغز حیوانات گروه سرب در مقایسه با گروه‌های پایه و شم کاهش یافت.

Sidhu و Nehru به طور مشابهی نشان دادند که تیمار ۸ هفته‌ای با سرب (۵۰ میلی‌گرم استات سرب/کیلوگرم) منجر به کاهش معنی‌دار وزن بافت مخچه و مخ می‌گردد که بیانگر تاثیر سمیت سرب برآسیب بخش‌های مختلف مغز است (۶). سرب می‌تواند بلوغ نورونی را در مخچه به تاخیر اندازد که ممکن است منتج از گسستگی عروقی باشد (۲۲). در این راستا محققین دیگر نشان دادند افزایش وزن مغز موش‌های قرار گرفته در معرض سرب با کاهش در پهنای لایه مولکولی، دانسیته سلول گرانولی و شاخه شاخه شدن دندریت‌ها مخچه همراه است (۲۳). علاوه بر این، کاهش وزن مناطق مختلف مغزی شامل قشرمخ، مخچه و هیپوکامپ طی بیماری مغزی ناشی از سرب در موش‌های نوزادگزارش شده است (۶). اگرچه در مطالعه حاضر وزن مخچه و سطوح سرب موجود در آن اندازه‌گیری نشد که این می‌تواند یکی از محدودیت‌های پژوهش نیز باشد؛ اما وزن تر مغز اندازه‌گیری شد. بنابراین کاهش وزن مغز در تحقیق حاضر ممکن است ناشی از اثرات سمی حاصل از رسوب سرب و آسیب ساختاری بخش‌های مختلف مغز از جمله بافت مخچه باشد. هر چند در مطالعه حاضر بررسی میکروسکوپی بافت مخچه نیز به علت محدودیت‌های مختلف صورت نگرفت. محققین دیگر نشان دادند ۸ هفته تیمار با استات سرب منجر بهم‌ریختگی سلولی در لایه‌های متوالی قشر مغز و گسستگی کامل لایه‌های سلولی پورکینژ (۶)، زوال لایه سلولی پیریمیدال مخچه و لایه سلولی پورکینژ (۲۴) شده است که با افزایش سطوح سرب در بافت مخچه همراه است (۶). در تحقیق حاضر ۸ هفته تیمار با استات سرب منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی (شاخص استرس اکسایشی) و در نتیجه آسیب احتمالی مخچه بافت شد و تمرین هوازی علی‌رغم تنظیم منفی استرس اکسایشی، منجر به مهار کامل آن نسبت به گروه پایه نشد که دلایل احتمالی آن ممکن است کافی نبودن دوره تمرینی و یا توسعه زیاد پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از سرب باشد. سرب و یون‌های آن منجر به القا استرس اکسیداتیو در سلول‌ها از مسیرهای مشخص می‌شوند. تمایل زیاد این فلز سنگین به گروه سولفیدریل باقیمانده در پروتئین‌ها می‌تواند منجر به مهار عملکردی و در نتیجه تغییر فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی از جمله سوپراکسید دیسموتاز و کاتلاز شود. علاوه بر این δ -آمینولوولیک اسید دهیدراز نیز به اثرات سمی سرب بسیار حساس است و سرب با مهار این آنزیم می‌تواند منجر به تجمع سوبسترای آن (δ -آمینولوولیک اسید)شود. δ -آمینولوولیک اسید به محض قرار گرفتن در معرض سرب منجر به تولید گونه‌های اکسیژن فعال از جمله یون سوپراکسید، هیدروکسیل، آب اکسیژنه و در نتیجه استرس اکسیداتیو می‌شود (۹و۲۵و۲۶). Wang و همکار نشان دادند که سرب منجر به آسیب ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی و ساختار بافتی مخچه در موش‌های کوچک می‌گردد و این اثرات به کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها و افزایش بیشتر سطوح MDA مربوط است (۸). همسو با نتایج تحقیق حاضر در مطالعات قبلی افزایش سطوح MDA در بخش‌های مختلف مغز مانند قشر مغز (۱۲)، هیپوکامپ (۱۱)، مخچه (۶و۸) پس از یک دوره تیمار با استات سرب تایید شد. یک توجیه ممکن یافته‌های فوق این است که سرب می‌تواند سبب تولید آنیون سوپراکسید و آب اکسیژنه و در نتیجه تجمع پراکسیدهای لیپیدی در غشای سلولی اندام‌ها و افزایش محتوای MDA گردد. توجیه دیگر آن است که سرب با مهار فعالیت آنتی‌اکسیدانتی، پراکسیداسیون لیپیدی را توسعه می‌بخشد(۸). در تحقیق حاضر سطوح آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی مخچه اندازه‌گیری نشده است که می‌تواند از محدودیت‌های دیگر تحقیق قلمداد شود؛ ولی با توجه یافته‌های موجود در خصوص کاهش سطوح MDA هیپوکامپی ناشی از القا استات سرب با مکمل‌گیری همزمان آنتی‌اکسیدانت کورکومین در طی ۸ هفته (۱۳) می‌توان چنین استنباط نمود که افزایش شاخص MDA در بافت مخچه نیز ممکن است ناشی از مهار فعالیت آنزیم‌های اکسیدانتی و یا افزایش زیاد رادیکال‌های آزاد در بافت مخچه باشد.

برجسته‌ترین یافته در تحقیق حاضر، عدم تغییر معنی‌دار سطوح BDNF بافت مخچه پس از ۸ هفته مواجهه با استات سرب و همچنین تنظیم منفی استرس اکسایشی ناشی از سرب و افزایش غیرمعنی‌دار سطوح عامل حمایتی نروترفیک مشتق از مغز، با اجرای فعالیت ورزشی منظم بودکه بیانگر نقش حمایتی تمرین هوازی در مقابل آسیب اکسایشی و عصبی مخچه ناشی از فلز سنگین سرب است. نتایج مطالعات قبلی نشان داده است که ۸ هفته تیمار مزمن موش‌های صحرایی با استات سرب (مشابه با دوز تحقیق حاضر) با کاهش معنی‌دار سطوح BDNF در بافت هیپوکامپ (۱۱و۱۳) و عدم تغییر سطوح آن در بافت قشر مغز (۱۲) همراه است. سنتز و رهایی BDNF به عنوان عضوی از خانواده نروتروفین‌ها در نورون‌های پس‌سیناپسی و تحت یک شیوه وابسته به گیرنده ان- متیل- دی آسپارات صورت می‌گیرد و سرب ممکن است فعال‌سازی این

گیرنده‌ها را مهار نماید (۲۷). اگرچه زمان پاک شدن سرب در مناطق مختلف مغزی به نسبت کند است (۶)؛ ولی به نظر می‌رسد توزیع و تاثیر سرب بر پاسخ BDNF در مناطق مختلف مغز به دنبال مواجهه مزمن با دوز مشابهی از استات سرب یکسان نیست و یک ویژگی با زمان و منطقه مغزی به دنبال مواجهه با استات سرب، از سوی محققین پیشنهاد شده است (۲۸).

مشابه با نتایج تحقیق حاضر، در مطالعات قبلی مشاهده شدکه اثر متقابل ۸ هفته تمرین دویدن و استات سرب، با کاهش استرس اکسایشی (MDA) و افزایش سطوح BDNF در بافت‌های قشر مغز و هیپوکامپ موش‌های بزرگ همراه است (۱۱و۱۲). به اعتقاد Radak و همکاران تمرین ورزشی منظم اثرات مفیدی در عملکرد مغزی داشته و می‌تواند از طریق افزایش عوامل نوروتروفین، محتوی پروتئینیBDNF، رسپتورتیروزین کیناز B، افزایش شبکه مویرگی، کاهش استرس اکسایشی با تعدیل سطوح گونه‌های اکسیژن واکنشی (ROS) سبب افزایش نوروژنز شود. علاوه بر این تمرین با افزایش فعالیت پروتئوزوم‌ها و نپریلایزین (neprilysin) منجر به کاهش تجمع کربنیل‌ها و پروتئین‌های بتاآمیلوئید می‌شود (۱۸). اما Toldy و همکاران اظهار داشتند که ۸ هفته تمرین شنای مزمن پرفشار (۱/۵ ساعت در روز و ۵ روز در هفته) با تاثیر معنی‌دار بر استرس اکسیداتیو، محتوای کربنیل و سطوح نسخه‌برداری BDNF مغزی همراه نیست (۲۹). همچنین Cechetti و همکاران بیان نمودند که دوهفته دویدن روی نوارگردان با شدت متوسط (۲۰ دقیقه در روز) تاثیری بر سطوح BDNF مناطق مختلف مغز مانند هیپوکامپ، قشر مغز، جسم مخطط و مخچه ندارد (۳۰). همسو نبودن این نتایج با تحقیق حاضر ممکن است به علت تفاوت در نوع پروتکل تمرینی، مدت تمرین، شدت تمرین و وضعیت آزمودنی‌ها باشد. به نحوی که در تحقیق حاضر شدت و مدت تمرین به صورت فزاینده در طی ۸ هفته افزایش یافت و آزمودنی‌ها در معرض مسمومیت ناشی از سرب قرار گرفته بودند. همسو با یافته‌های تحقیق حاضر، مطالعه تاثیر ۸ هفته شنا (۵ جلسه در هفته و ۲ ساعت در روز) و ۶ هفته بی‌تمرینی متعاقب آن توسط Radak و همکاران نشان داد که تمرین منجر به کاهش غلظت رادیکال‌های آزاد افزایش سطوحBDNF در مغز موش‌های بزرگ می‌گردد و با بی‌تمرینی این اثرات از بین رفت که بیانگر قابل برگشت بودن اثرات حمایت عصبی حاصل از تمرین است (۳۱). همچنین Rasmussen و همکاران نشان دادند که سهم مغز در BDNF گردش خون پس از تمرین طولانی مدت افزایش می‌یابد که علت آن ممکن است رهاییBDNF از هیپوکامپ، قشر مغز و مخچه باشد (۳۲). بیان BDNF در هیپوکامپ موش و افزایش رهایی آن از مغز انسان نشان‌دهنده نقش تمرین استقامتی در سلامت مغزی است و تمرین ورزشی ممکن است مکانیسم‌های مصرف و رهایی BDNF را در سیستم اعصاب مرکزی یا سیستم‌های رهایی و مخزن محیطی تعدیل نماید. براساس شواهد، عامل نوروتروفیک مشتق از مغز نیز می‌تواند با مهار تجمع پراکسیدها، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و افزایش غلظت کلسیم از نورون‌های مغزی در مقابل آسیب استرس اکسایشی حمایت نماید (۱۵). از آن جایی که بافت مغزی به دلیل تنش اکسیژن زیاد، میزان تقسیم میتوزی بالا، محتوای لیپید زیاد و غلظت آنتی‌اکسیدانتی کم، بسیار مستعد آسیب پراکسیداز است (۳۳)؛ لذا افزایش غیرمعنی‌دار سطوح BDNF در موش‌های تمرین کرده؛ ممکن است در کاهش استرس اکسایشی ناشی از سمیت سرب موثر باشد. اگرچه مکانیسم‌های وابسته به فعالیت CNS در تغییرات ناشی از ورزش بر سطوح BDNF mRNA در مغز بسیار موثرند؛ اما مکانیسم‌های محیطی مانند هورمون‌های استروژن، کورتیکوسترون و عامل رشد شبه‌انسولنی-۱(IGF-1) نیز در تنظیم بیان این پروتئین‌های محافظتی BDNF اثرگذارند. به عنوان مثال BDNF به عنوان یک هدف انتهایی، برخی از اثرات حمایتی IGF-1 را میانجیگری می‌کند و با راه‌اندازی مسیر پیامدهی عامل رشد در مغز می‌تواند مکانیسم‌های شکل‌پذیری را در مغز در حال توسعه تغییر دهد (۳۴).

نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه ما نشان داد که تمرین هوازی ضمن کاهش معنی‌داری استرس اکسایشی، سطوح عامل نوروتروفیک مشتق از مغز بافت مخچه موش‌های قرار گرفته در معرض سرب را به طور غیرمعنی‌داری می‌افزاید. بنابراین کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش عوامل حمایتی مغزی ناشی از تمرین استقامتی، ممکن است یک روش درمانی وحمایتی مهم برای افزایش مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از آلاینده‌های محیطی از جمله سرب و در نتیجه سلامت بافت‌های مغزی باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۰۳-۱۹-۵/۱۵۸۱۹) دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر بود. بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی و تمام همکارانی که ما را در اجرای این طرح یاری نمودند؛ قدردانی می‌شود.

References

1. Ibrahim NM, Eweis EA, el-Beltagi HS, Abdel-Mobdy YE. The effect of lead acetate toxicity on experimental male albino rat. Biol Trace Elem Res. 2011 Dec;144(1-3):1120-32.

2. Garza A, Vega R, Soto E. Cellular mechanisms of lead neurotoxicity. Med Sci Monit. 2006 Mar;12(3):RA57-65.

3. Levin SM, Goldberg M. Clinical evaluation and management of lead-exposed construction workers. Am J Ind Med. 2000 Jan; 37(1):23-43.

4. Hsiang J, Díaz E. Lead and developmental neurotoxicity of the central nervous system. Current Neurobiology. 2011; 2(1):35-42.

5. Cecil KM, Brubaker CJ, Adler CM, Dietrich KN, Altaye M, Egelhoff JC, et al. Decreased brain volume in adults with childhood lead exposure. PLoS Med. 2008;5(5):e112.

6. Sidhu P, Nehru B. Lead Intoxication: Histological and Oxidative Damage in Rat Cerebrum and Cerebellum. J Trace Elem Exp Med. 2004; 17(1):45-53.

7. Chen HH, Ma T, Hume AS, Ho IK. Developmental lead exposure alters the distribution of protein kinase C activity in the rat hippocampus. Biomed Environ Sci. 1998 Mar;11(1):61-9.

8. Wang Y, Wang S. [Effects of lead exposure on histological structure and antioxidant capacity in the cerebellum of 30-day-old mice]. Neural Regen Res 2011; 6(14):1077-81. [Article in Chinese]

9. Ahamed M, Siddiqui MK. Low level lead exposure and oxidative stress: current opinions. Clin Chim Acta. 2007 Aug; 383(1-2):57-64.

10. Prasanthi RP, Devi CB, Basha DC, Reddy NS, Reddy GR. Calcium and zinc supplementation protects lead (Pb)-induced perturbations in antioxidant enzymes and lipid peroxidation in developing mouse brain. Int J Dev Neurosci. 2010 Apr;28(2):161-7.

11. Shahandeh M, Dabidi Roshan V, Mahjoub S, Sarkisian V. Can aerobic training restore the level of BDNF in the hippocampus of rat expose to lead acetate? New Armenian Med J. 2011; 5(4):4-11.

12. Hosseinzadeh S, Dabidi Roshan V, Mahjoub S, Taghipour Darzi M. [The Interactive Effect of Lead Acetate and Endurance Training on the Brain-Derived Neurotrophic Factor and Malondialdehyde Levels in Rat's Cortex]. J Babol Univ Med Sci. 2012;14(2):7-15. [Article in Persian]

13. Hosseinzadeh S, Dabidi Roshan V. [Effects of Curcumin supplementation on BDNF and Oxidative/antioxidative process in rat's hippocampus which exposed to lead]. J Gorgan Uni Med Sci. 2011;13(2):1-8. [Article in Persian]

14. Kuipers SD, Bramham CR. Brain-derived neurotrophic factor mechanisms and function in adult synaptic plasticity: new insights and implications for therapy. Curr Opin Drug Discov Devel. 2006 Sep; 9(5):580-6.

15. Mattson MP, Lovell MA, Furukawa K, Markesbery WR. Neurotrophic factors attenuate glutamate-induced accumulation of peroxides, elevation of intracellular Ca2+ concentration, and neurotoxicity and increase antioxidant enzyme activities in hippocampal neurons. J Neurochem. 1995 Oct;65(4):1740-51.

16. Rundell KW. Effect of air pollution on athlete health and performance. Br J Sports Med. 2012;46:407-12.

17. Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. Trends Neurosci. 2002 Jun; 25(6):295-301.

18. Radak Z, Kumagai S, Taylor AW, Naito H, Goto S. Effects of exercise on brain function: role of free radicals. Appl Physiol Nutr Metab. 2007 Oct;32(5):942-6.

19. Toldy A, Stadler K, Sasvári M, Jakus J, Jung KJ, Chung HY, et al. The effect of exercise and nettle supplementation on oxidative stress markers in the rat brain. Brain Res Bull. 2005; 65(6):487-93.

20. Daniel S, Limson JL, Dairam A, Watkins GM, Daya S. Through metal binding, curcumin protects against lead- and cadmium-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates and against lead-induced tissue damage in rat brain. J Inorg Biochem. 2004 Feb;98(2):266-75.

21. Johnson RA, Rhodes JS, Jeffrey SL, Garland T Jr, Mitchell GS. Hippocampal brain-derived neurotrophic factor but not neurotrophin-3 increases more in mice selected for increased voluntary wheel running. Neuroscience. 2003;121(1):1-7.

22. Press MF. Neuronal development in the cerebellum of lead poisoned neonatal rats. Acta Neuropathol. 1977 Nov;40(3):259-68.

23. Lorton D, Anderson WJ. The effects of postnatal lead toxicity on the development of cerebellum in rats. Neurobehav Toxicol Teratol. 1986 Jan-Feb;8(1):51-9.

24. Nehru B, Kanwar SS. Modulation by N-acetylcysteine of lead-induced alterations in rat brain: reduced glutathione levels and morphology. Toxicol Mech Methods. 2007;17(5):289-93.

25. White LD, Cory-Slechta DA, Gilbert ME, Tiffany-Castiglioni E, Zawia NH, Virgolini M, et al. New and evolving concepts in the neurotoxicology of lead. Toxicol Appl Pharmacol. 2007 Nov; 225(1):1-27.

26. Patra RC, Rautray AK, Swarup D. Oxidative stress in lead and cadmium toxicity and its amelioration. Vet Med Int. 2011; 2011:457327s.

27. Neal AP, Stansfield KH, Worley PF, Thompson RE, Guilarte TR. Lead exposure during synaptogenesis alters vesicular proteins and impairs vesicular release: potential role of NMDA receptor-dependent BDNF signaling. Toxicol Sci. 2010 Jul;116(1):249-63.

28. Chao SL, Moss JM, Harry GJ. Lead-induced alterations of apoptosis and neurotrophic factor mRNA in the developing rat cortex, hippocampus, and cerebellum. J Biochem Mol Toxicol. 2007; 21(5):265-72.

29. Toldy A, Stadler K, Sasvári M, Jakus J, Jung KJ, Chung HY, et al. The effect of exercise and nettle supplementation on oxidative stress markers in the rat brain. Brain Res Bull. 2005 May; 65(6):487-93.

30. Cechetti F, Fochesatto C, Scopel D, Nardin P, Gonçalves CA, Netto CA, et al. Effect of a neuroprotective exercise protocol on oxidative state and BDNF levels in the rat hippocampus. Brain Res. 2008 Jan; 1188:182-8.

31. Radak Z, Toldy A, Szabo Z, Siamilis S, Nyakas C, Silye G, et al. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. Neurochem Int. 2006 Sep;49(4):387-92.

32. Rasmussen P, Brassard P, Adser H, Pedersen MV, Leick L, Hart E, et al. Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise. Exp Physiol. 2009 Oct; 94(10):1062-9.

33. Seifert T, Brassard P, Wissenberg M, Rasmussen P, Nordby P, Stallknecht B, et al. Endurance training enhances BDNF release from the human brain. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2010 Feb;298(2):R372-7.

34. Julka D, Pal R, Gill KD. Neurotoxicity of dichlorvos: effect on antioxidant defense system in the rat central nervous system. Exp Mol Pathol. 1992 Apr;56(2):144-52.

Original Paper

Neuroprotective effect of aerobic training against Lead-induced oxidative stress in rat cerebellum

Habibian M (PhD)*[1], Dabidi Roshan V (PhD)[2], Moosavi SJ (PhD)[1], Mahmoody SA (MA)[3]

[1]Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Qaemshahar Branch, Islamic Azad University Qaemshahar, Iran. [2]Associate Professor, Department of Exercise Physiology, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. [3]PhD Candidate in Physical Education and Sport Science, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: Oxidative damage associated with the presence of Lead in the brain has been proposed as one possible molecular mechanism involved in Lead toxicity. Aerobic exercise is known to protect the brain through a cascade of molecular and cellular processes. The purpose of this study was to investigate the effect of 8 week aerobic training on the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and malondialdehyde (MDA) levels in rat's cerebellum exposed to Lead acetate.

Materials and Methods: In this experimental study, 40 Male Wistar rats were randomly allocated into four groups: sedentary base, sham (30 mg/kg of ethyloleate), Lead and exercise+Lead (20 mg/kg Lead acetate, intraperitoneally). The exercise program consisted of progressive running training on the treadmill for 15 to 22 m/min, 25 to 64 min/day, and 5 days/week for 8 weeks. BDNF and MDA levels were measured by ELISA and TBARS methods, respectively.

Results: Chronic Lead acetate administration enhanced significantly ($P<0.05$) cerebellar MDA levels in rats compare to base and sham groups but had no effect on BDNF levels. Cerebellar MDA significantly was reduced and BDNF non significantly was increased in Lead acetate+ training group.

Conclusion: Regular aerobic exercise with moderate intense may exert role neuroprotective against Lead-induced cerebellar injury by down-regulating oxidative stress and promotes brain health through increases in BDNF.

Keywords: Aerobic training, Lead, Oxidative stress

*** Corresponding Author: Habibian M (PhD), E-mail: habibian_m@yahoo.com**

Received 30 May 2012 **Revised** 8 January 2013 **Accepted** 13 January 2013

This paper should be cited as: Habibian M, Dabidi Roshan V, Moosavi SJ, Mahmoody SA. [Neuroprotective effect of aerobic training against Lead-induced oxidative stress in Rat cerebellum]. J Gorgan Uni Med Sci. 2013; 15(3): 39-45. [Article in Persian]