Original Article

The effect of exercise training and olive oil consumption on the spatial learning, genes expression of the AKT and caspase3 of rats with parkinson's disease

Shamsi-Soosahab M, Elmieh AR*, Shabani R

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

Received: 2022/09/13 | Accepted: 2023/05/8

Abstract:

Background: Parkinson's disease is a progressive and destructive disorder of the central nervous system. This study aimed to determine the effect exercise training and olive oil consumption on genes expression of the AKT¸ caspase3 and the spatial learning of rats with parkinson's disease

Materials and Methods: in this study, 30 rats were divided into 5 groups of 6: healthy control¸ parkinson´s control¸ parkinson´s+olive oil¸ parkinson´s+exercise training¸ parkinson´s+exercise training+olive oil. The rats were fed 0.4 ml of olive oil daily for 8 weeks. Aerobic training was performed 5 days a week for 30 minutes and at a speed of 11 meters per minute. Resistance exercise begin with %30 of the rat´s weight and it reached %100 of the rat´s weight in the eighth week. The gene expression of AKT and caspase3 was measured through PCR-real time and spatial learning using radial maze. Data analyzed using one-way of variance and Thomhan's follow up test.

Result: Increase in AKT genes expressin, reduced in caspase3 expression and spatial learning improvement significantly observed in exercise training and exercise training+olive oil compared to the parkinson's control group ($P<0.05$).

Conclusion: exercise training with and without olive oil consumpsion can be effective in improving spatial learning by increasing AKT and decreasing caspase3.

Keywords: Parkinson's rats, Aerobic resistance exercise, Olive oil, AKT¸ Caspase3

***Corresponding Author**
Email: elmieh@iaurasht.ac.ir
Tel: 0098 911 135 9121
Fax: 0098 313 342 1829

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2023; Vol. 27, No 2, Pages 176-185

Please cite this article as: Shamsi-Soosahab M, Elmieh AR, Shabani R. The effect of exercise training and olive oil consumption on the spatial learning, genes expression of the AKT and caspase3 of rats with parkinson's disease. ***Feyz*** 2023; 27(2): 176-85.

اثر تمرین ورزشی و مصرف روغن زیتون بر حافظه فضایی، بیان ژن‌های AKT و کاسپاز۳ در رت‌های مبتلاشده به پارکینسون

منصوره شمسی سوسهاب[۱]، علیرضا علمیه[*۲]، رامین شعبانی[۳]

خلاصه:

سابقه و هدف: بیماری پارکینسون اختلال پیش‌رونده، مخرب و درازمدت دستگاه عصبی مرکزی است. هدف این پژوهش بررسی اثر تمرین ورزشی و مصرف روغن زیتون بر حافظه فضایی و بیان ژن‌های AKT، کاسپاز۳ در رت‌های مبتلاشده به پارکینسون بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۳۰ رت به۵ گروه ۶تایی تقسیم شدند. گروه‌ها شامل کنترل سالم، کنترل پارکینسون، پارکینسون + روغن زیتون، پارکینسون + تمرین ورزش و پارکینسون + تمرین ورزش + روغن زیتون بودند. ۰/۴ میلی‌لیتر روغن زیتون به‌صورت روزانه به مدت ۸ هفته به رت‌ها به‌صورت گاواژ خورانده شد. تمرین هوازی ۵ روز در هفته هر روز به مدت ۳۰ دقیقه و با سرعت ۱۱ متر در دقیقه اجرا شد. تمرین مقاومتی با ۳۰ درصد وزن رت‌ها شروع و در هفته هشتم به ۱۰۰ درصد وزن آن‌ها رسید. بیان ژن‌های AKT و کاسپاز۳ از طریق PCR- Real time و یادگیری فضایی با استفاده از ماز شعاعی اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی تامهن تحلیل گردید.

نتایج: افزایش بیان ژن AKT، کاهش بیان ژن کاسپاز۳ و بهبود در حافظه فضایی در گروه تمرین ورزشی و گروه تمرین ورزشی با روغن زیتون نسبت به گروه کنترل پارکینسون مشاهده شد ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: تمرین ورزشی با و بدون مصرف روغن زیتون می‌تواند با افزایش ژن AKT و کاهش ژن کاسپاز۳ در بهبود یادگیری فضایی رت‌های پارکینسونی مؤثر باشد.

واژگان کلیدی: رت‌های پارکینسونی، تمرین مقاومتی هوازی، روغن زیتون، حافظه فضایی، AKT، کاسپاز۳

دوماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و هفتم، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۴۰۲، صفحات ۱۸۵-۱۷۶

مقدمه

بیماری پارکینسون، شایع‌ترین اختلال حرکتی است. علائم نوروپاتولوژیک بیماری پارکینسون، ازدست‌دادن نورون در جسم سیاه است که باعث کمبود دوپامینرژیک جسم مخطط (Striatum) و تجمع α -سینوکلین (a-synucelin) می‌شود. بیماری پارکینسون یک بیماری با منشأ اختلالات نورونی می‌باشد که علائم اولیه آن بعد از تخریب ۶۵ درصد نورون‌های دوپامین (Dopamine) و ایجاد نقص حرکتی، مشخص می‌گردد [۱].

اگرچه، ازدست‌دادن نورون‌ها در این بیماری باعث ایجاد اختلالات حرکتی و شناختی می‌شود؛ اما شروع اختلالات حرکتی تا زمانی‌که حدود ۸۰ درصد از پایانه‌های دوپامینی جسم مخطط از بین نرفته باشد، چندان آشکار نیست [۲]. دوپامین، پیام عصبی را از مغز میانی به بخش دیگری از مغز به نام جسم مخطط انتقال می‌دهد و انتقال این پیام‌ها باعث ایجاد تعادل در حرکات بدن می‌شود. هنگامی‌که سلول‌های ترشح‌کننده دوپامین در مغز میانی از بین می‌روند، سایر مراکز کنترل‌کننده‌ی حرکات بدن نیز نامنظم می‌گردند [۳]. جسم سیاه، یک ناحیه مغز است که بیشتر در معرض التهاب نورونی قرار دارد؛ به همین دلیل در بیماری‌های تحلیل‌برنده‌ی عصبی، آسیب بیشتری می‌بیند. براساس مطالعات اپیدمیولوژیک علت بیماری پارکینسون ناشناخته بوده و مبتلایان آن در ۱۰ کشور دارای بیشترین جمعیت بین ۴/۱ تا ۴/۶ میلیون نفر می‌باشد [۴]. این بیماری به‌طور معمول با عدم تعادل پیشرونده قامت [۵]، کندی حرکت، سفتی حرکات و رعشه، مشخص می‌شود [۶]. به‌دلیل نیاز مغز به مقدار قابل‌توجه انرژی و اکسیژن، بافت مغز مستعد آسیب‌های اکسیداتیو بوده و افزایش استرس اکسیداتیو مغز در سنین بالا، زمینه‌ساز ابتلا به بیماری پارکینسون می‌باشد [۷]. این بیماری دو مشخصه پاتولوژیکی اصلی دارد: اول آپوپتوز (Apoptosis) نورون‌های دوپامین ناشی از استرس اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن

۱. دانشجوی دکترای تخصصی فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم‌انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

۲. دانشیار، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم‌انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

۳. استاد، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم‌انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

*** نشانی نویسنده مسؤول:**

گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

تلفن: ۰۹۱۱۱۳۵۹۱۲۱ **دورنویس:** ۰۱۳۳۳۴۲۱۸۲۹

پست الکترونیک: elmieh@iaurasht.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۶/۲۲ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۴۰۲/۲/۱۸

که سختی و کندی حرکات و ناتوانی در حفظ قامت را ایجاد می‌کند. دوم تشکیل لوی‌بادی‌ها که حاوی پروتئین آلفا – سینوکلئین می‌باشند [۸]. آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول یک فرآیند ژنتیکی است که بخش تفکیک‌ناپذیری از رشد، توسعه و هومئوستاز موجود زنده می‌باشد [۹] و برای حذف سلول‌های زاید با روش هدفمند، به کار می‌رود [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 دژنره‌کننده مانند آلزایمر و پارکینسون می‌گردد [۱۱]. مولکول‌های فراوانی در مسیرهای آپوپتوز، درگیر هستند که شناخته‌شده‌ترین آن‌ها، کاسپازها می‌باشند. کاسپازها، پروتئازهای با ساختار سیستئین – آسپارتات می‌باشند که اکثراً به شکل زیموژن بوده که با پروتئولیزشدن، به پروتئاز فعال تبدیل می‌شوند. با فعال‌شدن کاسپازهای آغازگر، آبشاری از کاسپازها، فعال می‌شوند [۱۲]. Song و همکاران بیان کردند که تمرین هوازی می‌تواند فعالیت کاسپاز۳ را در عضلات ساق پا و نعلی موش‌های صحرایی کاهش دهد [۱۳]. پروتئین AKT فعال، باعث فسفریلاسیون سوبستراهای متفاوت درون‌سلولی می‌شود که در تنظیم رشد، متابولیسم و بقاء سلول مؤثرند. زمانی‌که AKT سرکوب شود، رشد فیزیولوژیکی و سازگاری‌های همودینامیکی، کند می‌شود [۱۴]. مطالعات حیوانی اخیر نشان می‌دهد که تمرین با شدت انقباض خیلی شدید که معادل یک جلسه تمرین شنای شدید برای ۱۲۰ دقیقه می‌باشد، منجر به یک افزایش ناگهانی در فسفریلاسیون و فعالیت‌های مولکولی کلیدی AKT می‌گردد [۱۵]. روغن زیتون دارای اسیدهای چرب غیراشباع و ویتامین E است. روغن زیتون علاوه‌بر داشتن سطح بالایی از اسیدهای چرب اشباع‌نشده، حاوی ترکیبات بیولوژیک مانند آنتی‌اکسیدان‌های فنلی است که می‌توانند از تأثیر مخرب رادیکال‌های آزاد و جهش‌های حاصل بر ساختارهای سلولی جلوگیری کند. Saul و همکاران در سال ۲۰۲۱ خواص مفید روغن زیتون فوق‌بکر و پلی‌فنل‌های آن برای پیشگیری احتمالی از بیماری پارکینسون را بررسی کردند. اثرات مفید روغن زیتون و پلی‌فنول‌های آن در بیماری پارکینسون با تعدیل بسیاری از مسیرهای سلولی، مرتبط است. توانایی آن در افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش التهاب با اثر محافظتی در بیماری پارکینسون ارتباط دارد [۱۶]. محققان مصرف مکرر روغن زیتون در پیشگیری از اختلالات حافظه‌ای ناشی از ایسکمی را به اثر آنتی‌اکسیدان‌های موجود در آن مربوط دانسته‌اند. مشخص شده است که ترکیبات موجود در روغن زیتون، بر فعالیت سیستم کولینرژیک مغزی نیز اثر تعدیلی دارد [۱۷]. تمرین بدنی سبب افزایش اندوژنز سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش سطوح آسیب اکسیداتیو در مغز می‌شود. تأثیر تمرین در بازیابی رفتاری، میتوکندریایی و بیوشیمیایی ناشی از بیماری پارکینسون، به عوامل زیادی از جمله، نوع، شدت و مدت برنامه‌ی تمرین بستگی دارد. Xiaojiao و همکاران به این موضوع اشاره کردند که انواع مختلف ورزش ممکن است خطر ابتلا به بیماری پارکینسون را کاهش دهد و تأثیرات مثبتی بر علائم حرکتی و غیرحرکتی بیماری پارکینسون داشته باشد [۱۸]. بنابراین هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین ورزشی مقاومتی هوازی به همراه مصرف روغن زیتون بر بیان دو ژن مسیر آپوپتوز و حافظه فضایی در رت‌های مبتلاشده به پارکینسون بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تحقیقات تجربی آزمایشگاهی بود. این مطالعه توسط کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت با کد IR.IAU.RASHT.REC.1400.013 به تصویب رسید. جهت آزمایش، ۳۰ سر رت بالغ ۱۲ هفته‌ای نژاد ویستار با میانگین وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شدند. نمونه‌های تحقیق به‌منظور سازگاری با محیط نگهداری به مدت دو هفته در خانه حیوانات ویرا آرمانیان در رشت نگهداری شدند. تمام موارد استاندارد از جمله شرایط دمایی (۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد)، میزان رطوبت نسبی (۳±۵۵ درصد)، دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد ویژه موش (ساخت شرکت بهپرور، ایران) و همچنین سیکل تاریکی / روشنایی (۱۲ساعته) رعایت گردید. همچنین نکات اخلاقی نگهداری و کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق دستورالعمل مؤسسه ملی سلامت برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی در تمام مدت کار رعایت شد. این حیوانات به مدت دو هفته در قفس‌های مخصوص برای سازگاری با محیط جدید قرار داده شدند. حجم نمونه از طریق نرم‌افزار Gpower نمونه، ۳۰رت مشخص شد که به‌صورت تصادفی به ۵ گروه ۶تایی شامل: گروه کنترل سالم، گروه کنترل پارکینسونی، گروه پارکینسونی + مصرف روغن زیتون، گروه پارکینسونی + تمرین مقاومتی هوازی، گروه پارکینسونی + تمرین مقاومتی هوازی + مصرف روغن زیتون تقسیم شدند. معیار ورود به تحقیق، وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم و از نظر جسمی سالم‌بودن و معیار خروج از تحقیق، ضعف و بیماری، مشکل جسمی، عدم توانایی در انجام تمرینات ورزشی بود.

القا و تأیید بیماری پارکینسون

جهت القای مدل پارکینسونی، تخریب جسم مخطط رت‌ها به غیر از گروه کنترل سالم، تزریق محلول ۶ – هیدروکسی دوپامین به‌صورت استریوتاکسی به داخل جسم مخطط (سمت راست) انجام گرفت. به این طریق که با استفاده از اطلس واتسون و پاکسینوس، مکان مناسب برای عمل استریوتاکسی با مختصات قدامی - خلفی

(۰/۵) جانبی (۱) و عمقی (۱/۵) مشخص و کانال ۲۷ گیج دندانپزشکی، داخل جمجمه موش‌ها قرار گرفت. سپس از طریق این کانال و با استفاده از سرنگ همیلتون مقدار ۵ میکروگرم ۶ - هیدروکسی دوپامین (با سرعت هر میکرولیتر محلول با سالین در مدت ۳۰ ثانیه) به هر موش به‌وسیله پمپ، تزریق شد. بعد از پایان تزریق از فنر ۸ میلی‌لیتری جهت جلوگیری از خروج مایع از کانال استفاده و موش به‌مدت ۱ دقیقه ثابت نگه داشته شد [۱۹]. دو روز بعد از القای پارکینسون، برای تأیید القای پارکینسون در موش‌ها، آزمون پیچش بدن بالارفته برطبق روش EBST (Elevated body swing test) شرح‌داده‌شده توسط بورلوگان و همکاران در سال ۱۹۹۵ انجام گرفت. روش کار به این صورت بود که دُم موش، از محدوده ۲ سانتی‌متری محل اتصال با بدن، گرفته شده و به طرف بالا آورده می‌شد؛ به‌طوری‌که بینی موش ۲ سانتی‌متر بالاتر ازسطح اتّکا قرار می‌گیرد. در این حالت حیوان، بدن خود را به سمت راست یا چپ می‌پیچاند که تعداد این پیچش‌ها به هر طرف نشان‌دهنده شدت بیماری بود. همچنین حیوان روی میز قرار می‌گرفت. اگر طرز ایستادن و راه رفتن حیوان طبیعی بود، نمره‌ای دریافت نمی‌کرد (نمره صفر می‌گرفت)؛ درصورتی‌که 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. همچنین برای اطمینان بیشتر از القای پارکینسون، دست راست حیوان، روی سکوی چوبی به ارتفاع ۳ 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 درمجموع، یک نمره داشت. دست راست حیوان، روی سکوی ۹ سانتی‌متری قرار داده می‌شد؛ درصورتی‌که حیوان می‌توانست دست خود را نگه دارد، نمره یک می‌گرفت و برای دست چپ نیز به همین شکل آزمایش انجام شد. این مرحله درمجموع، ۲ نمره داشت. حیوان پارکینسونی، از مجموع دو آزمون فوق، نمره ۳/۵ را دریافت می‌کرد و حیوان سالم نمره صفر می‌گرفت [۲۰].

پروتکل تمرین

برنامه تمرینی، شامل آشناسازی با دویدن روی نوار گردان برای انجام ورزش هوازی و بالارفتن از نردبان مخصوص تمرینات مقاومتی در حیوانات مختص گروه‌های تعیین‌شده، به‌مدت ۵ روز در هفته بود. گروه کنترل سالم هیچ‌گونه تمرین و جراحی نداشته و صرفاً به‌مدت دوره‌های طی‌شده گروه‌های ورزشی، ضمن استقرار در نوارگردان خاموش، در حیوان خانه نگهداری شدند. تمرینات آشناسازی هوازی شامل راه‌رفتن و دویدن روی نوارگردان با سرعت ۹-۸ متر در دقیقه و به‌مدت ۱۰ دقیقه بود. تمرینات آشناسازی گروه مقاومتی، ۳ بار بالارفتن از نردبان بدون وزنه بود. برای حیوانات با تمرینات ورزشی، دوره آشناسازی به‌طور یکسان اجرا شد. پس از آشناسازی موش‌ها با دویدن روی نوارگردان، تمرینات هوازی شروع شد. تمرین هوازی شامل ۵ روز در هفته صبح‌ها با سرعت ۱۱ متر در دقیقه، در طی ۸ هفته، به‌مدت ۳۰ دقیقه در روز بود. در انتهای هر جلسه حیوانات پس از طی دوره سردشدن از روی نوارگردان برداشته می‌شدند. برنامه تمرین مقاومتی، بعدازظهرها شامل ۵ روز در هفته بود. در ابتدای برنامه تمرین مقاومتی، به‌منظور گرم‌کردن، ۳ بار بدون وزنه و استراحت بین تکرارها، رت‌ها از نردبان بالا رفته و سپس وزنه‌های آن جلسه تمرینی، به دُم موش‌ها وصل می‌شد. وزن وزنه در هفته اول ۳۰ درصد وزن رت‌ها بود و هر هفته به اندازه ۱۰ درصد وزن بدن رت‌ها به وزنه‌ها اضافه می‌شد تا این‌که هفته‌ی هشتم به ۱۰۰ درصد وزن رت‌ها رسید.

جدول شماره ۱- برنامه تمرین هوازی [۲۱]

هفته‌های تمرین	آشنایی	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم تا هشتم
مدت تمرین [دقیقه]	۱۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
سرعت [متر بر دقیقه]	۹-۸	۱۱	۱۱	۱۱	۱۱	۱۱
شدت به درصد *VO2max*	-	۶۵-۶۰	۶۵-۶۰	۶۵-۶۰	۶۵-۶۰	۶۵-۶۰

جدول شماره ۲- برنامه تمرین مقاومتی [۲۲]

زمان	وزنه	تکرار	استراحت
هفته اول	۳۰ درصدوزن بدن رت	۶	۱ دقیقه
هفته دوم	۴۰ درصد وزن بدن رت	۶	۱ دقیقه
هفته سوم	۵۰ در صد وزن بدن رت	۶	۱ دقیقه
هفته چهارم	۶۰ درصد وزن بدن رت	۶	۱دقیقه
هفته پنجم	۷۰ درصد وزن بدن رت	۶	۱ دقیقه
هفته ششم	۸۰ در صد وزن بدن رت	۶	۱دقیقه
هفته هفتم	۹۰ درصد وزن بدن رت	۶	۱ دقیقه
هفته هشتم	۱۰۰ درصد وزن بدن رت	۶	۱ دقیقه

روغن زیتون

روغن زیتون به مقدار ۰/۴ میلی‌گرم صبح‌ها قبل از تمرین، به گروه‌های موردنظر، به‌طریق گاواژ داده شد [۲۳].

اندازه‌گیری بیان ژن‌های AKT و کاسپاز۳

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، ابتدا موش‌ها با ترکیب کتامین‌زایلازین به نسبت ۶۰ به ۴۰، بیهوش شدند. سپس با جداکردن کل مغز و خارج کردن آن از کاسه جمجمه، جسم مخطط از سایر قسمت‌های مختلف مغز، جدا شده و بلافاصله در ازت مایع قرار گرفت. بافت پس از منجمدشدن، در یخچال مخصوص در دمای ۸۰- درجه نگهداری شد. پس از هموژنایز بافت در محلول بافر فسفات‌سالین با PH ۷/۴ نمونه، در مدت ۲۰ دقیقه با دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ انجام شد. جهت سنجش میزان بیان ژن‌های کاسپاز۳ و AKT، از روش PCR-real time استفاده شد.

حافظه و یادگیری فضایی

سنجش حافظه فضایی به کمک ماز شعاعی ۸ بازویی (Radial arm maze) انجام شد. این دستگاه دارای هشت بازوی کاملاً یکسان است که به‌صورت شعاعی از یک صفحه مرکزی کوچک دایره‌ای‌شکل با قطر ۲۵ سانتی‌متر منشعب می‌شود و ارتفاع آن از زمین، حدود ۶۰ سانتی‌متر است. طول بازو ۵۰ سانتیمتر، عرض آن ۱۰ سانتی‌متر و ارتفاع دیواره‌ها ۱۳ سانتی‌متر است. رنگ قفس و دستگاه کدر و تیره در نظر گرفته شد، چون رت‌ها تاحدی نورگریز هستند و نیز این امر هنگام تصویربرداری ودنبال‌کردن ردّ حیوان در مورد موش‌های سفید سودمند است. برای مشاهده اثرات مزمن تیمار، این آزمایش پس از اتمام دوره اجرای پروتکل و طی دو روز شامل روز آموزش و روز آزمون، انجام شد. یک شب قبل از آموزش و آزمون، غذا به‌طور کامل از دسترس رت‌ها خارج شد. در روز آموزش، رت‌ها به آزمایشگاه منتقل و با ماز آشنا شدند. به این ترتیب که در یکی از بازوهای ماز، غذا به‌عنوان پاداش قرار داده شد. به‌منظور اجرای فرآیندهای یادگیری و حافظه در روز اول، بدون این‌که زمان اندزه‌گیری شود، رت در محفظه مرکزی ماز رها شد و به‌محض پیداکردن غذا، به آن اجازه داده شد تا مقداری از غذا را بخورد. هدف از این مرحله اولاً این بود که حیوان یاد بگیرد که در یک بازوی ماز غذا وجود دارد و ثانیًا به خاطر بسپارد که غذا در کدام ماز قرار دارد. در روز دوم آزمون، غذا در همان بازوی مشخص قرار داده شد و رت در مرکز ماز رها گردید و به آن اجازه داده شد تا دنبال غذا بگردد. مدت زمان صرف‌شده برای یافتن غذا، توسط کرنومتر اندازه‌گیری شد و اگر رت در مدت زمان ۱۰ دقیقه غذا را پیدا نمی‌کرد؛ از ماز خارج می‌شد. در آزمون ماز شعاعی هرچه مدت زمان یافتن غذا کمتر بود؛ نشان‌دهنده‌ی حافظه بهتر رت بود [۲۴].

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون آماری شاپیروویلک بررسی شد. طبق نتایج به‌دست‌آمده، داده‌ها دارای توزیع طبیعی بودند. جهت مقایسه نتایج آزمایش‌های بیان ژن‌ها و حافظه فضایی از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد. در ابتدا همگنی واریانس با استفاده از آزمون آماری لون بررسی شد. به‌علت نابرابری واریانس‌ها از آزمون ولچ استفاده گردید. در مواردی‌که اختلاف معناداری وجود داشت جهت ارزیابی اختلاف بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی تامهن استفاده شد. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد ارائه شده و سطح معنی‌داری $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. مراحل تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه۲۵ انجام گرفت.

نتایج

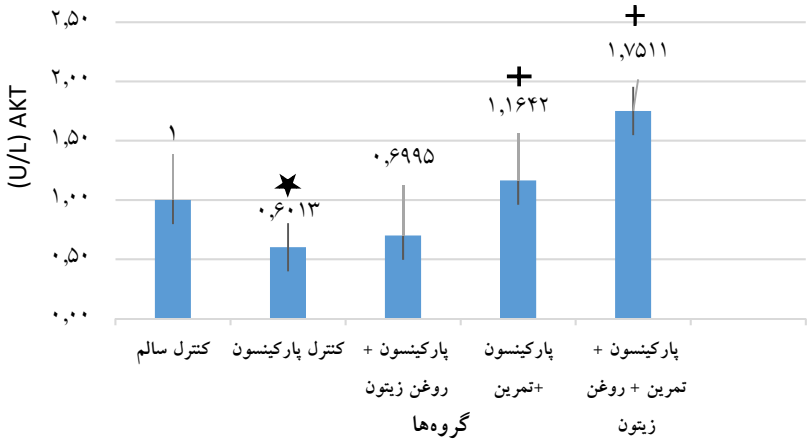
میانگین و انحراف معیار متغیرهای پژوهش به تفکیک گروه‌ها در جدول شماره ۳ ارائه شده است.

جدول شماره ۳- میانگین و انحراف معیار متغیرهای پژوهش ($P<۰/۰۵$)

متغیر تحقیق	گروه‌ها	پس‌آزمون
بیان ژن AKT	کنترل سالم	۱ ± ۰
	کنترل پارکینسون	۰/۶۰۱۳۴±۰/۰۲۳۹
	پارکینسون و روغن زیتون	۰/۶۹۹۵۳±۰/۰۶۳۴
	پارکینسون و ورزش	۱/۱۶۴۲۴±۰/۳۰۲۲
	پارکینسون، ورزش و روغن زیتون	۱/۷۰۵۶±۰/۱۰۰۸
بیان ژن کاسپاز-۳	کنترل سالم	۱±۰
	کنترل پارکینسون	۱/۲۰۶۸۱±۰/۱۷۶۸
	پارکینسون و روغن زیتون	۰/۸۵۹۷۲±۰/۰۷۱۸
	پارکینسون و ورزش	۰/۵۱۲۴۸±۰/۰۷۷۵۹
	پارکینسون، ورزش و روغن زیتون	۰/۳۹۸۱۶±۰/۰۵۶۱۶
حافظه و یادگیری فضایی (ثانیه)	کنترل سالم	۴۱۵/۱۶±۲۱/۶۸
	کنترل پارکینسون	۵۷۹/۸۳±۲۱/۷۹
	پارکینسون و روغن زیتون	۵۰۱/۸۳±۱۳/۷۱
	پارکینسون و ورزش	۴۸۰/۱۶±۱۸/۲۶
	پارکینسون، ورزش و روغن زیتون	۴۶۲/۱۶±۱۸/۰۶

بیان ژن AKT

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (آزمون ولچ در حالت نابرابر واریانس‌ها) نشان داد که بین گروه‌های پژوهش، تفاوت معنی‌داری وجود دارد (P=۰/۰۰۱). یافته‌های آزمون تعقیبی تامهن نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل سالم، کاهش معنی‌دار در بیان ژن AKT در گروه کنترل پارکینسون به وجود آمده است. گروه کنترل پارکینسون با تمرین ورزش به‌تنهایی و تمرین ورزشی به‌همراه مصرف روغن زیتون، اختلاف معنی‌داری داشت اما اختلاف بین دو گروه معنی‌دار نبود. به عبارت دیگر در این دو گروه افزایش بیان ژن AKT نسبت به گروه پارکینسون اتفاق افتاده است. در گروه پارکینسون + روغن زیتون افزایش بیان ژن AKT اتفاق افتاد اما نسبت به گروه کنترل پارکینسون معنی‌دار نبود. درنهایت، نتایج نشان‌دهنده‌ی افزایش معنی‌دار بیان ژن AKT در اثر تمرینات ورزشی و تمرینات ورزشی با مصرف روغن زیتون و عدم معنی‌داری این ژن در اثر مصرف روغن زیتون به‌تنهایی بود (نمودار شماره ۱).

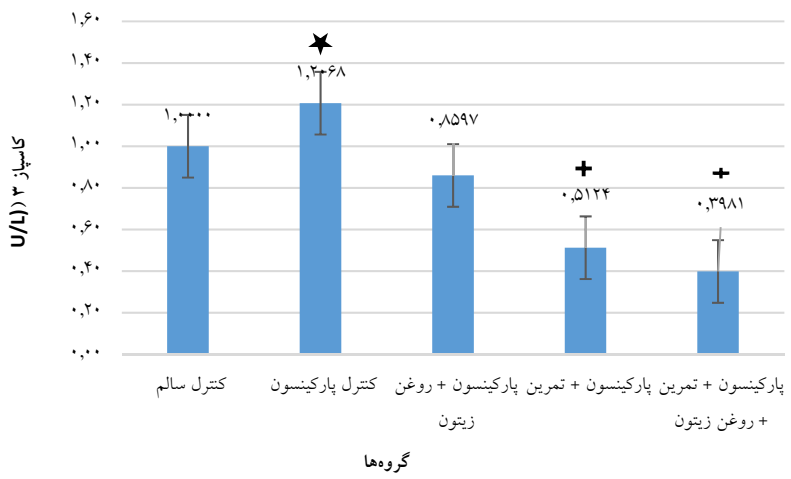


نمودار شماره ۱- تغییرات میانگین بیان ژن AKT به نسبت گروه سالم در گروه‌های تحقیق

* تفاوت معنی دار با گروه سالم + تفاوت معنی دار با گروه پارکینسون

بیان ژن کاسپاز۳

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (آزمون ولچ در حالت نابرابر واریانس‌ها) نشان داد که بین گروه‌های پژوهش، تفاوت معنی‌داری وجود دارد (P=۰/۰۲۳). یافته‌های آزمون تعقیبی تامهن نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل سالم، افزایش معنی‌دار در بیان ژن کاسپاز۳ در گروه پارکینسون به‌وجود آمده است. گروه کنترل پارکینسون با تمرین ورزش به‌تنهایی و تمرین ورزشی به‌همراه مصرف روغن زیتونُ اختلاف معنی‌داری داشتند اما اختلاف بین دو گروه معنی‌دار نبود. به عبارت دیگر در این دو گروه افزایش بیان ژن کاسپاز۳ نسبت به گروه پارکینسون اتفاق افتاد. در گروه پارکینسون + روغن زیتون، کاهش بیان ژن کاسپاز ۳ اتفاق افتاده است اما نسبت به گروه کنترل پارکینسون معنی‌دار نبود. درنهایت، نتایج نشان‌دهنده‌ی کاهش معنی‌دار بیان ژن کاسپاز۳ در اثر تمرینات ورزشی و تمزینات ورزشی با مصرف روغن زیتون و عدم معنی‌داری این ژن در اثر مصرف روغن زیتون به‌تنهایی بود (نمودار شماره ۲).

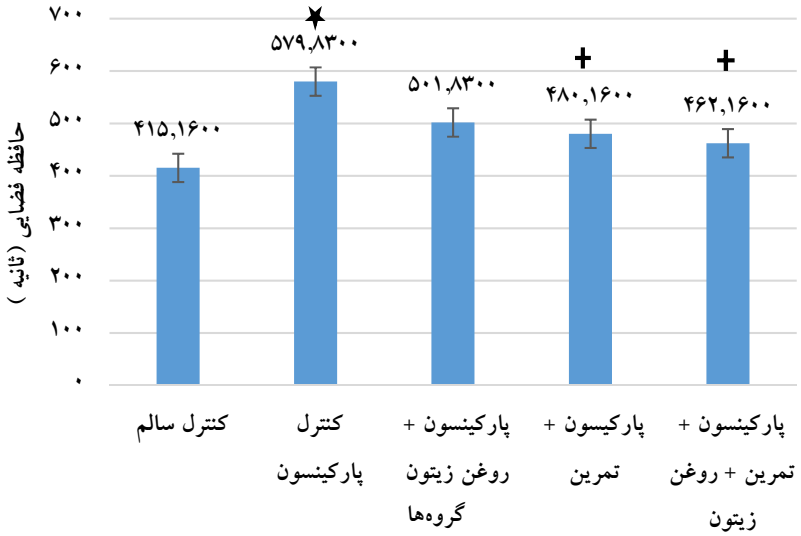


نمودار شماره ۲- تغییرات میانگین بیان ژن کاسپاز۳ در گروه‌های تحقیق

* تفاوت معنی‌دار با گروه سالم + تفاوت معنی‌دار با گروه پارکینسون

حافظه و یادگیری فضایی

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (آزمون ولچ در حالت نابرابر واریانس‌ها) نشان داد که بین گروه‌های پژوهش، تفاوت معنی‌داری وجود دارد (P=۰/۰۰۱). یافته‌های آزمون تعقیبی تامهن نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل سالم، کاهش در حافظه و یادگیری فضایی در گروه کنترل پارکینسون اتفاق افتاده است. گروه کنترل پارکینسون با گروه تمرین ورزش به‌تنهایی و گروه تمرین ورزشی به‌همراه مصرف روغن زیتون، اختلاف معنی‌داری داشتند اما اختلاف بین دو گروه معنی‌دار نبود. به عبارت دیگر در این دو گروه بهبود حافظه و یادگیری نسبت به گروه پارکینسون اتفاق افتاده است. در گروه پارکینسون + روغن زیتون، بهبود حافظه اتفاق افتاده است اما از نظر آماری نسبت به گروه کنترل پارکینسون، معنی‌دار نبود. درنهایت، نتایج نشان‌دهنده‌ی بهبود معنی‌دار حافظه و یادگیری فضایی در اثر تمرینات ورزشی، تمرینات ورزشی با مصرف روغن زیتون و عدم معنی‌داری حافظه در اثر مصرف روغن زیتون به‌تنهایی بود (نمودار شماره۳).



نمودار شماره ۳- تغییرات میانگین حافظه رت‌ها در گروه‌های تحقیق

* تفاوت معنی‌دار با گروه سالم + تفاوت معنی‌دار با گروه پارکینسون

بحث

در این مطالعه نتایج حاصل از القای سم نوروتوکسین در رت‌ها، توسط آزمون پیچش بدن بالارفته، مورد بررسی قرار گرفت که اطلاعات حاصل، نشان از تأثیر سم نوروتوکسین و اثر تخریبی آن بر جسم سیاه داشت. نتایج، نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار بیان ژن AKT و کاهش بیان ژن کاسپاز۳ در اثر تمرین ورزشی مقاومتی – هوازی به‌تنهایی و تمرین مذکور با روغن زیتون و افزایش غیرمعنی‌دار این ژن در اثر مصرف روغن زیتون به‌تنهایی بود که اثر هم‌افزایی معنی‌دار در گروه‌های پارکینسونی به‌همراه تمرین ورزشی و مصرف روغن زیتون را مشخص می‌ساخت. همچنین تمرین ورزشی مقاومتی هوازی و تمرین ورزشی با مصرف روغن زیتون، موجب بهبود حافظه فضایی گردید، اما مصرف روغن زیتون به‌تنهایی تأثیر معنی‌داری نداشت. در پژوهشی که توسط De Souza و همکاران صورت گرفت اثر سه نوع پروتکل تمرینی قدرتی، استقامتی و ترکیب استقامتی – قدرتی بر بیان ژن AKT در عضلات اسکلتی موش‌ها بررسی شد. یافته‌های آنان نشان داد که در گروه تمرین ترکیبی، افزایش ۸۷ درصدی پروتئین AKT وجود داشت و در گروه‌های دیگر هیچ تفاوت معنی‌داری در بیان این ژن مشاهده نشد [۲۴]. پژوهش‌ها نشان داده است که فعال‌شدن کاسپاز۳ منجر به تخریب DNA یکی از شاخص‌های آپوپتوزی می‌شود. مطالعات حیوانی و انسانی بیان کاسپاز۳ و آثار آن را بعد از سکته ایسکمیک مغزی نشان داده‌اند [۱۹]. همچنین ۴ هفته دویدن روی نوار گردان به‌طور معنی‌داری بیان ژن کاسپاز۳ ناشی از ایسکمی را کاهش داد [۲۵]. در پژوهشی اثر شدت فعالیت ورزشی بر یادگیری، حافظه فضایی و رفتار اضطرابی در رت‌های مبتلا به اختلال حرکت بررسی و نشان داده شد که تمرین با شدت زیاد، بیشترین تأثیر را در افزایش یادگیری و حافظه فضایی دارد [۲۶]. همچنین تأثیر چهار هفته شنا و مکمل‌دهی روغن زیتون بر اختلال حافظه و درد ناشی از 6-OHDA در مدل حیوانی پارکینسون بررسی شد. براساس نتایج این مطالعه تمرین با مکمل زیتون، سبب بهبود درد و کاهش اختلالات حافظه ناشی از مدل پارکینسون شد [۲۷]. در مطالعات الکتروفیزیولوژیک مشخص شده است که حرکات بدنی مانند دویدن و قدم‌زدن، فعالیت الکتریکی را افزایش می‌دهد که علت آن را تغییر فعالیت نورونی و نوروترانسیمتری می‌دانند. با افزایش فعالیت بدنی، عملکرد شناختی نیز بهبود می‌یابد؛ به‌طوری‌که فعالیت بدنی موجب بهبود یادگیری و حافظه در سطح سلولی و مولکولی می‌شود. مکانیسم اساسی که از طریق آن فعالیت بدنی می‌تواند حافظه را افزایش دهد شامل افزایش نوروژنز هیپوکامپ، اندازه هیپوکامپ و سطوح فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز است که ناشی از شکل‌پذیری سیناپسی بوده و نیازمند دخالت بی‌شمار مولکول‌های دخیل در نگه‌داری و تنظیم عملکرد مغز می‌باشد[۲۸]. همچنین تمرین بدنی می‌تواند منجر به بهبود عملکرد شناختی از طریق کاهش آسیب‌های اکسیداتیو و افزایش بیوژنز میتوکندریایی در مغز شود [۲۹]. مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی هوازی روند تولید پروتئین‌های بتاآمیلوئید را معکوس و سلول‌های عصبی را از استحاله ناشی از استرس اکسیداتیو محافظت می‌کنند، به‌طوری‌که ازطریق افزایش عوامل نوروتروفیکی مؤثر بر نورون‌های هیپوکامپ باعث بهبود حافظه و یادگیری فضایی می‌شوند [۳۰]. گزارش شده است که فعالیت قدرتی از طریق افزایش IGF1، منجر به بهبود رشد و تمایزپذیری سلول‌های عصبی و فعالیت هوازی از طریق افزایش BDNF، منجر به بهبود عملکرد شناختی و حافظه می‌شود. تحقیقات حاکی از آن است که ورزش، تکثیر سلولی هیپوکمپ رت‌ها در مقایسه با گروه کنترل را افزایش می‌دهد. این تحقیقات نشان دادند که فعالیت ورزشی موجب تکثیر سلولی و افزایش سیناپس‌ها می‌شود [۳۱]. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که انواع مختلف تمرین ورزشی می‌تواند عوارض بیماری پارکینسون را کاهش دهد و تأثیرات مثبتی در علائم حرکتی و غیرحرکتی بیماران مبتلا به پارکینسون داشته باشد. در ارتباط با بهبود علائم بالینی، تمرین می‌تواند از طریق تعدیل‌کردن بخش‌هایی از سیستم‌های حمایتی شامل نورون‌زایی و خلق سیناپس، باعث انعطاف‌پذیری و حفظ مغز شود و رگ‌زایی و متابولیسم آن را افزایش دهد. تمرین ورزشی همه این منافع را از طریق مهار استرس اکسیداتیو، ترمیم آسیب میتوکندریایی و تولید فاکتورهای رشد انجام می‌دهد [۱۸]. همچنین روغن زیتون دارای ترکیبات اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد که می‌تواند سطح کلسترول پلاسما را کاهش دهد و کاهش کلسترول باعث افزایش سیّالیّت غشا شده و فعالیت گیرنده‌ها و کانال‌ها را تحت تأثیر قرار دهد و ممکن است تغییر فعالیت کانال‌ها و گیرنده‌ها نیز، تقویت طولانی‌مدت و فرآیند یادگیری را تحت تأثیر قرار دهد [۳۲]. اسیدهای چرب غیراشباع و ویتامین E و A موجود در روغن زیتون احتمالاً با کاهش کلسترول، باعث تغییر سیّالیّت غشاء، به‌ویژه در ناحیه هیپوکامپی شده و درنتیجه باعث افزایش یادگیری می‌شود. همچنین ویتامین A موجود در روغن زیتون با افزایش سطح فعالیت آنزیم استیل‌کولین ترانسفراز، ساخته شدن استیل‌کولین را افزایش می‌دهد و از این طریق، باعث افزایش یادگیری می‌شود [۳۳]. تأثیرات سودمند روغن زیتون و پلی‌فنول‌های آن در بیماری پارکینسون، با تعدیل برخی مسیرهای سلولی ارتباط دارد که شامل افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش التهاب می‌باشد و می‌تواند نقش حفاظتی در بیماری پارکینسون داشته باشد [۱۶]. روغن زیتون دارای ترکیبات

فنلی است که به فنل‌های ساده (مانند هیدروکسی تیروزول و تیروزول)، سکاایریدوئیدها (مانند اولئوروپئین و اولئوکانتال) و لیگنان‌ها تقسیم می‌شوند. روغن زیتون با این ترکیب غنی، محافظت عصبی را از طریق توانایی حذف اکسیژن گونه فعال (ROS)، اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدّالتهابی، مهار پراکسیداسیون لیپیدی، ترمیم گلوتاتیون و خاصیت ضدّآپوپتوزی انجام می‌دهد [۳۴].

نتیجه‌گیری

براساس نتایج این مطالعه، تمرین ترکیبی مقاومتی – هوازی به‌تنهایی و به همراه مصرف روغن زیتون، دارای اثرات مطلوب بر مارکرهای آپوپتوتیک (AKT و کاسپاز۳) در رت‌های پارکینسونی می‌باشد. تمرین مقاومتی – هوازی با مصرف روغن زیتون و تمرین مقاومتی – هوازی، باعث افزایش بیان ژن AKT، کاهش بیان ژن کاسپاز۳ و بهبود در حافظه و یادگیری فضایی رت‌های پارکینسونی می‌شود. به‌نظر می‌رسد تمرین و روغن زیتون باهم بر روی ژن‌های موردمطالعه تأثیر می‌گذارند و باعث افزایش فعالیت نورون‌ها در جسم سیاه مغز موش‌های پارکینسونی شده و حافظه را بهبود می‌بخشند.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از رساله دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی، مصوب گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت می‌باشد. بدین‌وسیله از همه افراد شرکت‌کننده در این مطالعه و اساتید گرانقدری که در اجرای این پروژه همکاری داشتند، سپاسگزاری می‌گردد.

References:

[1] Salgado S, Williams N, Kotian R, Salgado M. An evidence-based exercise regimen for patients with mild to moderate Parkinson's disease. ***Brain Sci*** 2013; 3(1): 87-100.

[2] Anstrom KK, Schallert T, Woodlee MT, Shattuck A, Roberts DC. Repetitive vibrissae-elicited forelimb placing before and immediately after unilateral 6-hydroxydopamine improves outcome in a model of Parkinson's disease. ***Behav Brain Res*** 2007; 179(2): 183-91.

[3] Paris SV. A history of manipulative therapy through the ages and up to the current controversy in the United States. ***J Man Manip Ther*** 2000; 8(2): 66-77.

[4] Dorsey EA, Constantinescu R, Thompson JP, Biglan KM, Holloway RG, Kieburtz K, et al. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. ***Neurology*** 2007; 68(5): 384-6.

[5] Marjama-Lyons JM, Koller WC. Parkinson's disease. Update in diagnosis and symptom management. ***Geriatrics*** 2001; 56(8): 24-5.

[6] Wood B, Walker R. Parkinson's disease: characteristics of fallers and non-fallers. ***Age Ageing*** 2001; 30(5): 423-4.

[7] Vervoort G, Bengevoord A, Nackaerts E, Heremans E, Vandenberghe W, Nieuwboer A. Distal motor deficit contributions to postural instability and gait disorder in Parkinson's disease. ***Behav Brain Res*** 2015; 287: 1-7.

[8] Subramaniam SR, Chesselet MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease. ***Prog Neurobiol*** 2013; 106: 17-32.

[9] Marfe G, Tafani M, Pucci B, Di Stefano C, Indelicato M, Andreoli A, Russo MA, Sinibaldi-Salimei P, Manzi V. Retracted Article: The effect of marathon on mRNA expression of anti-apoptotic and pro-apoptotic proteins and sirtuins family in male recreational long-distance runners. ***BMC Physiol*** 2010; 10: 1-9.

[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 Applied Physiol*** 2005; 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, Jäättelä M. Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms. ***Nat Rev Mol Cell Biol*** 2001; 2(8): 589-98.

[13] Song W, Kwak HB, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced changes in apoptotic signaling in rat skeletal muscle. ***Antioxid Redox Signal*** 2006; 8(3-4): 517-28.

[14] Weeks KL, McMullen JR. The athlete's heart vs. the failing heart: can signaling explain the two distinct outcomes?. ***Physiology*** 2011;26(2):97-105.

[15] 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; 63(7): 2297-308.

[16] Saul CF, Mata IR, Peres KK. The benefits of extra virgin olive oil polyphenols for possible prevention of parkinson's disease: an integrative mini literature review. ***Int Phys Med Rehab J*** 2021; 6(3): 54-6.

[17] Marandi SM, Alaei H, Esfarjani F. The metabolically effects of the short term endurance training among rat model of 6-hydroxydopamine Parkinson's disease. ***Med J Tabriz Univ Med Sci*** 2020; 42(3): 273-80. [in Persian]

[18] Xu X, Fu Z, Le W. Exercise and Parkinson's disease. ***Int Rev Neurobiol*** 2019;147:45-74.
[19] Zhang P, Zhang Y, Zhang J, Wu Y, Jia J, Wu J, et al. Early exercise protects against cerebral ischemic injury through inhibiting neuron apoptosis in cortex in rats. ***Int J Mol Sci*** 2013; 14(3): 6074-89.
[20] Dursun I, Jakubowska-Doğru E, Uzbay T. Effects of prenatal exposure to alcohol on activity, anxiety, motor coordination, and memory in young adult Wistar rats. ***Pharmacol Biochem Behav*** 2006; 85(2): 345-55.
[21] Alaei H, Moloudi R, Sarkaki AR. Effects of treadmill running on mid-term memory and swim speed in the rat with Morris water maze test. ***J Bodyw Mov Ther*** 2008; 12(1): 72-5.
[22] Souza MV, Leite RD, de Souza Lino AD, de Cássia Marqueti R, Bernardes CF, de Araújo HS, Bouskella E, Shiguemoto GE, de Andrade Perez SE, Kraemer-Aguiar LG. Resistance training improves body composition and increases matrix metalloproteinase 2 activity in biceps and gastrocnemius muscles of diet-induced obese rats. ***Clinics*** 2014; 69: 265-70.
[23] Zamani M, Hassanshahi J, Soleimani M, Zamani F, Chubin K. Effects of olive oil consumption on stroke complications, particularly in the hippocampal region, in mice. ***Iran J Nutr Sci Food Technol*** 2012; 7(2): 1-8. [in Persian]
[24] Stuchlik A, Petrasek T, Hatalová H, Rambousek L, Nekovarova T, Vales K. Behavioral tests for evaluation of information processing and cognitive deficits in rodent animal models of neuropsychiatric disorders. Schizophrenia in the 21st Century 2012: 153-80.
[25] Shamsaei N, Rajabi H, Aboutaleb N, Nikbakht F, Motamedi P, Khaksari M, Erfani S. Effects of Exercise Pre-Conditioning on HippocampuS Expression of Bcl-2 and Bax Protein and Apoptosis following Ischemia/ Reperfusion Injury in MalS Rats. ***J Knowledge Health*** 2015; 10(2): 24-32. [in Persian]
[26] Soori Z, Heyrani A, Souri R. Comparison of the effects of exercise intensity on learning, spatial memory and anxiety behaviors in rats with motion impairment. ***J Sports Motor Development Learning*** 2018; 9(4): 667-82. [in Persian]
[27] Ghasemzadeh Dehkordi S, Doulah A, Rafieirad M. The effect of four weeks of exercise and oleuropein supplementation on anxiety and depression behaviors in an animal model of Parkinson's disease. ***Appl Biol*** 2022; 35(1): 180-95. [in Persian]
[28] Nikzad S, Vafaei AA, Rashidy-Pour A. Assessment the effects of Metyrapone (as a glucocorticoids synthesis inhibitor) on memory retrieval and reconsolidation in rats. ***Assessment*** 1988; 11(3/89). [in Persian]
[29] García-Mesa Y, López-Ramos JC, Giménez-Llort L, Revilla S, Guerra R, Gruart A, LaFerla FM, Cristòfol R, Delgado-García JM, Sanfeliu C. Physical exercise protects against Alzheimer's disease in 3xTg-AD mice. ***J Alzheimers Dis*** 2011; 24(3): 421-54.
[30] Selfridge JE, Lezi E, Lu J, Swerdlow RH. Role of mitochondrial homeostasis and dynamics in Alzheimer's disease. ***Neurobiol Dis*** 2013; 51: 3-12.
[31] Cassilhas RC, Lee KS, Fernandes J, Oliveira MG, Tufik S, Meeusen R, De Mello MT. Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. ***Neuroscience*** 2012; 202: 309-17.
[32] Moazedi AA, Shafahy M, Chinipardaz R. The effect of sesame oil on spatial Learning in yong Rats. ***Iran J Biol*** 2003; 14(12):22-31. [in Persian]
[33] Shafahi M. The effect of olive oil on spatial learning in aged rats. ***Med Sci J Islamic Azad Univesity-Tehran Med Branch*** 2013; 23(1): 7-13. [in Persian]
[34] Bulotta S, Celano M, Lepore SM, Montalcini T, Pujia A, Russo D. Beneficial effects of the olive oil phenolic components oleuropein and hydroxytyrosol: focus on protection against cardiovascular and metabolic diseases. ***J Transl Med*** 2014; 12: 1-9.