



The Effect of Eight Weeks of Aerobic Training and Garlic Supplementation on IFN- γ and IL-4 Gene Expression in the Brain Tissue of Rats with Parkinson's Disease

Mohammad Reza Khosravi ¹, Seyed Ali Hoseini ^{2*}, Ghobad Hasanpoor ², Mehdi Roozbehani ³

¹ Department of Physical Education, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran

² Department of Sport Physiology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran

³ Department of Motor Behavior, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran

*Corresponding author: Seyed Ali Hoseini, Department of Sport Physiology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran. Email: Alihoseini_57@miau.ac.ir

Received: 17 December 2023 Revised: 30 June 2024 Accepted: 30 June 2024

Abstract

Background and Aim: Parkinson's disease is associated with a dysfunction in the inflammatory system. This study aims to evaluate the effects of eight weeks of aerobic training combined with garlic supplementation on the expression of interferon gamma (IFN- γ) and interleukin 4 (IL-4) genes in the brain tissue of reserpine-induced parkinsonian rats.

Methods: In this experimental study, 32 reserpine-induced parkinsonian rats (administered an intraperitoneal injection of 2 mg/kg reserpine) were divided into four groups: 1) reserpine, 2) aerobic training (AT) for eight weeks, 3) garlic supplementation (G), and 4) AT + G. Additionally, eight healthy rats were included in a healthy control group. The aerobic training regimen consisted of five sessions per week for eight weeks, with each session lasting between 15 and 48 minutes at a speed of 10 to 24 m/min. Rats received 500 mg/kg/day of aqueous garlic extract via gavage. The gene expression levels of IFN- γ and IL-4 in the brain tissue were measured using the RT-PCR method. Motor balance was assessed using a rotarod device.

Results: IFN- γ gene expression was significantly lower in the G, AT, and AT + G groups compared to the reserpine group ($P < 0.001$). Furthermore, IL-4 levels and motor balance scores were significantly higher in these groups than in the reserpine group ($P < 0.001$). Notably, the combined effect of eight weeks of aerobic exercise (AT) with garlic supplementation (G) on reducing IFN- γ gene expression levels and enhancing motor balance was significantly more favorable than that of garlic supplementation alone ($P \geq 0.05$).

Conclusion: Both aerobic exercise and garlic supplementation seem to exert beneficial effects on the inflammatory and anti-inflammatory systems in the brain tissue, as well as on motor balance in neurological diseases. These findings suggest that integrating aerobic training with garlic supplementation may enhance therapeutic approaches for managing Parkinson's disease.

Keywords: Exercise, Garlic, Interferon Gamma (IFN- γ), Interleukin 4 (IL-4), Parkinson's Disease



تأثیر هشت هفته تمرین هوازی همراه با مکمل دهی سیر بر بیان ژن اینترفرون گاما و اینترلوکین ۴ در بافت مغز موش‌های صحرائی مبتلا به پارکینسون

محمد رضا خسروی^۱، سید علی حسینی^{۲*}، قباد حسن پور^۲، مهدی روزبهانی^۳

^۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران
^۲ گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران
^۳ گروه رفتار حرکتی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۹/۲۶ اصلاح مقاله: ۱۴۰۲/۰۴/۱۰ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۰۴/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: بیماری پارکینسون با اختلال در سیستم التهابی همراه است. هدف مطالعه حاضر ارزیابی تأثیر ۸ هفته تمرین هوازی همراه با مکمل سیر بر بیان ژن اینترفرون گاما (IFN- γ) و اینترلوکین ۴ (IL-4) در بافت مغز موش‌های صحرائی پارکینسونی شده با رزپین بود.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۲ موش صحرائی پارکینسونی شده با تزریق داخل صفاقی ۲mg/kg رزپین، به گروه‌های (۱) رزپین، (۲) هشت هفته تمرین هوازی (AT)، (۳) مکمل سیر (G) و (۴) AT+G تقسیم شدند. همچنین ۸ موش صحرائی سالم در گروه کنترل سالم قرار داده شدند. تمرین هوازی به مدت ۸ هفته، ۵ جلسه در هفته و هر جلسه ۱۵-۴۸ دقیقه و سرعت ۱۰-۲۴ متر بر دقیقه انجام شد. همچنین ۵۰۰ mg/kg/day عصاره آبی سیر به موش‌های صحرائی خوراندند. بیان ژن اینترفرون گاما (IFN- γ) و اینترلوکین ۴ (IL-4) در بافت مغز موش‌های صحرائی با روش RT-PCR سنجش شد. تعادل حرکتی نیز با دستگاه روتارود مخصوص موش ارزیابی شد.

یافته‌ها: مقادیر بیان ژن IFN- γ در گروه AT، G، AT+G به طور معنی‌داری کمتر و مقادیر IL-4 و تعادل حرکتی در این گروه‌ها به طور معنی‌داری بیشتر از گروه رزپین بود ($P=0/001$). همچنین تأثیر هشت هفته تمرین هوازی (AT) همراه با مکمل سیر (G) بر کاهش مقادیر بیان ژن IFN- γ و افزایش تعادل حرکتی به مراتب مطلوب‌تر از اثر مکمل سیر (G) بود ($P\leq 0/05$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین هوازی و مکمل سیر هر دو با مکانیسم‌های مشابه می‌توانند اثرات مطلوبی بر بهبود عملکرد سیستم التهابی و ضد التهابی در بافت مغز و همچنین تعادل حرکتی بیماری‌های عصب شناختی داشته باشند.

کلیدواژه‌ها: تمرین، سیر، اینترفرون گاما، اینترلوکین ۴، پارکینسون

مقدمه

به پارکینسون می‌شود که این نکته برای محافظت از این افراد در شرایط پاندمی کووید-۱۹ بسیار حائز اهمیت بود [۱۱]. این در حالی است که اطلاعات محدودی در ارتباط با این نشانگرها در بیماری پارکینسون وجود دارد.

علیرغم اینکه فعالیت ورزشی به عنوان یک راه کار مناسب برای بهبود بیماری‌های نورودژنراتیو توصیه شده است، بسیاری از محققین حوزه علوم ورزشی بر این باورند که استفاده از رژیم غذایی مناسب نیز عاملی اثرگذار بر سلامت نورو است [۱۲، ۶]. استفاده از گیاهان دارویی در این زمینه بسیار موثر است. گیاه سیر (Allium sativum) به دلیل دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی قوی، خواص ضدالتهابی، خاصیت ترمیم‌کننده عملکرد میتوکندریایی، بهبود بیان نوروتروفین‌ها می‌تواند گیاه دارویی مناسبی برای بیماران پارکینسون باشد [۱۳]. به طوری که مصرف عصاره اتانولی سیر با بهبود مسیر سیگنالی کیناز خارج سلولی (Erk1/2) و بهبود عملکرد سیستم ایمنی عصبی، بهبود نورون‌زایی، عملکرد سیناپسی و بهبود حافظه در موش‌های صحرایی گردیده است [۱۴]. در مطالعه‌ای دیگر محققین نشان دادند مصرف ۵۰۰ mg/kg سیر موجب تعدیل سلول‌های T کشنده طبیعی می‌شود و از این مسیر می‌تواند به افزایش بیان IL-4 تنظیم IFN- γ و افزایش IL-13 در موش‌های دچار آسیب شناختی با ورمیفورمیس vermiformis گردد [۱۵]. در مطالعه Taleshi و همکاران مشخص شد که تمرین و مکمل سیر می‌تواند موجب بهبود بیان لپتین و پروتئین وابسته به آگوتی در بافت مغز موش‌های صحرایی چاق گردد [۱۶]. همچنین در شرایط چاقی تمرینات ورزشی و مکمل سیر منجر به افزایش بیان BDNF و TrkB در بافت مغز موش‌های صحرایی شد [۱۷]. علیرغم اثر مطلوب ورزش و مکمل سیر بر بهبود عملکرد نورونی، هنوز مکانیسم التهابی و ضد التهابی این دو مداخله در بافت مغز به خوبی مشخص نشده است. مطالعه حاضر با هدف تعیین تاثیر ۸ هفته تمرین هوازی همراه با مکمل دهی سیر بر IFN- γ و IL-4 در بافت مغز موش‌های صحرایی مبتلا به پارکینسون انجام شد.

روش‌ها

در این مطالعه تجربی، با طرح پس آزمون همراه با گروه کنترل، تعداد ۴۰ موش صحرایی نر نژاد اسپراگو-داولی با سن ۱۸-۲۰ ماه و وزن تقریبی ۲۵۰ الی ۲۷۰ گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت تهیه شدند. پس از انتقال به مرکز آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی حیوانی این واحد دانشگاهی، به مدت یک هفته در محیط آزمایشگاه برای آشنا سازی با محیط قرار گرفتند. در طول کل دوره تحقیق، موش‌ها در شرایط استاندارد شامل چرخه روشنایی ۱۲ ساعت به ۱۲ ساعت، دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی ۵۵ تا ۶۰ درصد و در قفس‌های پلی‌کربنات قابل شست و شو نگهداری شدند. در طی دوره تحقیق دسترسی به آب و غذای حیوانات آزادانه بود.

بیماری پارکینسون دومین بیماری شایع عصبی پس از آلزایمر است که با نقص حرکتی، سفتی عضلانی، برادی کینزی و لرزش مشخص می‌شود. بروز این بیماری در کشورهای مختلف متفاوت است، به طور کلی از ۸۰ تا ۶۷۸ نفر از هر صد هزار نفر به این بیماری مبتلا می‌شوند [۱]. با افزایش سن خطر ابتلا به این بیماری به شدت افزایش می‌یابد، به طوری که بیش از ۶/۷ میلیون نفر از افراد بالای ۴۵ سال و ۹/۳ میلیون نفر از افراد بالای ۶۵ سال در آمریکای شمالی در سال‌های اخیر به این بیماری مبتلا شده‌اند و این روند همچنان در حال افزایش است [۲]. بر اساس اطلاعات موجود، عوامل ژنتیک و محیطی نقش مهمی در بروز این بیماری دارند [۳]. از نظر نورویولوژی، التهاب نقش مهمی در پیشبرد بیماری پارکینسون بازی می‌کند؛ به عبارتی افزایش استرس اکسیداتیو منجر به اختلال در سیستم ایمنی و التهابی می‌گردد. همچنین فعال شدن عامل محرک کلونی (CSF) در بیماری پارکینسون موجب افزایش مقادیر IL-6، عامل نکروز دهنده تومور آلفا (TNF- α)، IL-1 β ، CRP و سیکلواکسژنازها شده و از سویی با کاهش اینترفرون گاما (INF- γ) و IL-4 همراه است [۴]. علاوه بر این، افزایش رادیکال‌های آزاد و نقص در سیستم ایمنی منجر به فعالسازی سلول‌های ماکروفاژی نوع ۱ (M1) که مسئول ترشح و سنتز سایتوکاین‌های التهابی هستند، می‌شود و با سرکوب M2 منجر به کاهش بیان عوامل ضد التهابی می‌گردد [۵].

فعالیت‌های بدنی برای درمان برخی از بیماری‌های عصب شناختی مورد بررسی قرار گرفته است [۶]. فعالیت‌های بدنی با بهبود نوروتروفین‌ها می‌تواند موجب بهبود عملکرد شناختی، کاهش استرس اکسیداتیو، بهبود عملکرد بدنی در مدل‌های حیوانی بیماری نورودژنراتیو شود [۷]. تمرینات ورزشی با بهبود مکانیسم‌های سلولی مولکولی در ترمیم سیناپس‌ها، بهبود پلاستیسیته نورونی، بهبود عملکرد شناختی در مدل حیوانی مبتلا به پارکینسون می‌گردد. علاوه بر این، تمرین هوازی موجب افزایش عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و گیرنده آن، بهبود گیرنده تروپومیزین کیناز B و برخی از شاخص‌های آسیب نورونی در مدل حیوانی پارکینسون شده است [۸]. در مطالعه‌ای مروری نتایج نشان داد که تمرینات ورزشی در مدل‌های انسانی و حیوانی منجر به کاهش قابل توجه سایتوکاین‌های پیش التهابی و افزایش سایتوکاین‌های ضد التهابی مانند IL-4، IL-10، IL-4 β ، IL-10 β و TGF- β در بیماری‌های نورودژنراتیو می‌شود [۹]. همچنین تمرینات هوازی شدید در نمونه‌های انسانی بیماری آلزایمر موجب افزایش آگونیست گیرنده IL-1 (IL-1RA)، IL-10 می‌شود. تمرینات هوازی با شدت متوسط موجب کاهش بیان IFN- γ ، IL-1 β ، CRP، TNF- α ، sTNFR1، COX-2 و NF- κ B می‌گردد [۱۰]. در مطالعه‌ای نیز نتایج نشان داد فعالیت‌های ورزشی منجر به تنظیم سیستم ایمنی، بهبود پلاستیسیته نورونی و بهبود کیفیت زندگی در بیماران مبتلا

القای بیماری پارکینسون و گروه بندی

از بین ۴۰ موش صحرایی، تعداد ۳۲ موش پس از ۱۲ ساعت ناشتایی و بیهوش شدن با کتامین و زایلوزین (به منظور مقید کردن و عدم حس درد) تحت تزریق درون صفاقی ۲ میلی گرم بر کیلوگرم رزپین ساخت شرکت سیگما آلدیج آمریکا قرار گرفتند. در ادامه ۱۴ روز پس از تزریق نوروتوکسین رزپین برای القای پارکینسون، موش‌های صحرایی تحت نظر قرار گرفتند و از نظر بالینی بیماری در آنها ثبت شد. این نکته قابل ذکر است که در این دوره رفتارهایی مانند پرخاشگری، پیچ و تاب‌های دمی، رعشه دم، عدم تعادل در راه رفتن در نمونه‌ها ارزیابی گردید [۱۸]. پس از اطمینان از القای پارکینسون در موش‌های صحرایی، بر اساس توان حرکتی و آزمون تعادل (برای همگن نمودن گروه‌ها)، به گروه‌های (۱) کنترل رزپین (Res)، (۲) تمرین هوازی (AT)، (۳) مکمل سیر (G) و (۴) تمرین هوازی + مکمل سیر (AT+G) تقسیم شدند. همچنین برای بررسی اثرات القا بیماری پارکینسون بر متغیرهای تحقیق تعداد ۸ موش صحرایی سالم در گروه کنترل سالم (HC) قرار داده شدند.

تمرین هوازی

برای انجام تمرینات ورزشی، ابتدا آموزش و آشناسازی با نوارگردان در نظر گرفته شد. بدین صورت که موش‌های صحرایی در گروه‌های تمرین، به مدت یک هفته، روزانه ۵ دقیقه با سرعت ۸ متر بر دقیقه، بر روی نوارگردان قرار گرفتند تا فقط با محیط آن آشنا شوند. این نکته قابل ذکر است که بر اساس مطالعات این نوع تمرین هیچ گونه اثری بر تغییرات فیزیولوژیک حیوان ندارد. تمرین هوازی به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته انجام شد. بدین منظور موش‌های صحرایی در هفته اول به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه بر روی نوارگردان ویژه موش ساخت شرکت دانش سالار ایرانیان به تمرین پرداختند. در ادامه هر هفته ۲ متر بر دقیقه به سرعت نوارگردان و ۴/۸ دقیقه به زمان تمرین اضافه شد تا در هفته هشتم سرعت به ۲۴ متر بر دقیقه و مدت زمان تمرین به ۴۸ دقیقه برسد. در ابتدا و انتهای تمرین هوازی، مدت زمان ۵ دقیقه با سرعت ۸ متر بر دقیقه برای گرم کردن و سرد کردن حیوانات در نظر گرفته شد [۱۸].

تهیه و مصرف مکمل سیر

سیر بومی شهرستان مرودشت از فروشگاه‌های معتبر تهیه شد و سپس اصالت و بومی بودن آن مورد تایید جهاد کشاورزی این شهرستان قرار گرفت. سیر به دقت پس از شست و شو و جداسازی پوست به وسیله اسکالپل به تکیه‌های ریز بریده شد. در نهایت ۱۰۰ گرم سیر با ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد و به مدت ۱۵ دقیقه در مخلوط کن قرار گرفت تا محلولی همگن و شیری رنگ به دست آید. سپس این مخلوط به مدت ۴۸ ساعت در محیط آزمایشگاه نگهداری شد و پس از آن از پارچه صافی گذرانده شد. محلول صاف شده به ظرف آزمایشگاهی تمیز منتقل شد و به مدت ۲ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۸ درجه سانتیگراد نگهداری شد تا آب آن تبخیر

و مایع سفید رنگ در ظرف باقی بماند. سپس برای مصرف عصاره سیر، از این ماده سفید رنگ، روزانه ۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن موش‌های صحرایی در آب مقطر حل شد و به صورت انفرادی در بطری‌های میلی لیتری به موش‌های صحرایی خوراندند شد [۱۹].

ارزیابی تعادل حرکتی

تعادل حرکتی در موش‌های صحرایی با استفاده از دستگاه روتارود مخصوص موش ساخت شرکت دانش سالار ایرانیان ارزیابی شد. این دستگاه دارای یک گردونه است و سرعت چرخش آن بین ۰ تا ۴۰ دور در دقیقه است. برای آشناسازی، موش‌های صحرایی به مدت ۳ دقیقه با سرعت چرخیدن ۱۰ دور در دقیقه با شتاب 7 rpm^2 بر روی این دستگاه قرار گرفتند. در ادامه ۳۰ دقیقه بعد از زمان آشناسازی، آزمون تست تعادلی انجام شد (1 rpm و با شتاب 7 rpm^2 در نظر گرفته شد)، که تقریباً ۱۰ تا ۱۱ دور در دقیقه می باشد، و مدت زمان مقاومت حیوان جهت حفظ تعادل بر روی گردونه بر حسب ثانیه محاسبه شد. کل مدت زمان این آزمون ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد. این آزمون برای هر موش صحرایی سه بار و با فاصله‌های تکرار تقریباً ۳۰ دقیقه اندازه گیری شد [۶]. در زمان پیش آزمون نیز برای اطمینان از القا بیماری پارکینسون علاوه بر مشاهدات بالینی ذکر شده، از گروه کنترل سالم و کنترل بیمار آزمون روتارود برای ارزیابی تعادل انجام شد. با توجه به نتایج این آزمون و کاهش معنی‌دار مدت زمان حفظ تعادل از مدل سازی، بیماری پارکینسون تایید شد.

تشریح و نمونه برداری

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و در حالت ۱۲ ساعت ناشتایی، موش‌های صحرایی با استفاده از کتامین (50 mg/kg) و زایلوزین (20 mg/kg) (شرکت آلفاسان هلند) بیهوش شدند. برای اطمینان از بیهوشی، با آزمون‌های حس درد و فشردن پا آزمون شدند و سپس حفره جمجمه‌ای موش‌های صحرایی با استفاده از کاتر شکافته شد و بافت مغز موش‌های صحرایی به دقت جدا گردید. بافت مغز بلافاصله در کرایوتوب‌های ویژه نگهداری بافت قرار داده شد و به دمای -70°C منتقل گردید.

اندازه‌گیری IFN- γ و IL-4

ابتدا بافت مغز در بافر فسفات سالین هموژنیزه گردید، سپس مقدار ۵۰ میلی گرم بافت از مغز جدا شد، و استخراج RNA بر اساس پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام شد. برای اطمینان از کیفیت RNA از ژل آگارز الکتروفورز و با استفاده از خاصیت جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر با دستگاه پیکو دراپ شرکت سیگما (ساخت آمریکا) و فرمول $(C (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = A_{260} \times \epsilon \times d/1000)$ استفاده شد. پس از تایید غلظت موردنظر، نمونه‌ها برای مراحل بعدی نگهداری شدند. پس از سنتز cDNA با استفاده از پروتکل شرکت سازنده با کیت فرمنتاز (K1621) و با استفاده از پرایمرهای طراحی شده (جدول ۱) واکنش رونویسی معکوس انجام شد. پس

از اتمام کار دستگاه qReal Time PCR و رسیدن نمونه‌ها به آستانه بیان (Cycle Treshold) جهت کمی سازی نسبت ژن موردنظر به ژن مرجع از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد.

جدول-۱. توالی پرایمر های تحقیق

Genes	Primer Sequences	Size (bp)
TBP	Forward: 5'- GCGGGGTCATGAAATCCAGT- 3'	147
	Reverse: 5'- AGTGATGTGGGGACAAAACG A-3'	
IFN- γ	Forward: 5'- AGGATGCATTTCATGAGCATCG CC-3'	136
	Reverse: 5'- CACCGACTCCTTTTCCGCTTC CT-3'	
IL-4	Forward: 5'- CCTTACGGCAACAAGGAACA C-3'	159
	Reverse: 5'- AGACCGCTGACACCTCTACA - 3'	

ملاحظات اخلاقی

تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی بر اساس دستورالعمل هلسینکی و تحت نظر کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت با کد مصوب IR.IAU.M.REC.1402.013 انجام شد.

نتایج

طبق آنالیز واریانس یک راهه، تفاوت معنی داری در مقادیر بیان ژنی IFN- γ ($P=0/001$) و IL-4 ($P=0/001$) در گروه‌ها ثبت شد. نتایج آزمون تعادل حرکتی نشان داد تفاوت معنی داری در مدت زمان حفظ تعادل در موش‌های صحرایی در گروه‌ها وجود دارد ($P=0/001$) (جدول ۲).

نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد IFN- γ در گروه Res به‌طور معنی داری بیشتر از گروه HC بود ($P=0/001$)، اما در گروه‌های G ($P=0/04$)، AT ($P=0/001$) و AT+G ($P=0/001$) به‌طور معنی داری کمتر از گروه Res بود. همچنین در گروه AT+G به‌طور معنی داری کمتر از گروه G بود ($P=0/001$) (نمودار ۱).

مقادیر IL-4 در گروه Res به‌طور معنی داری کمتر از گروه HC بود ($P=0/001$)، اما در گروه‌های G ($P=0/001$)، AT ($P=0/001$) و AT+G ($P=0/001$) به‌طور معنی داری بیشتر از گروه Res بود (نمودار ۲).

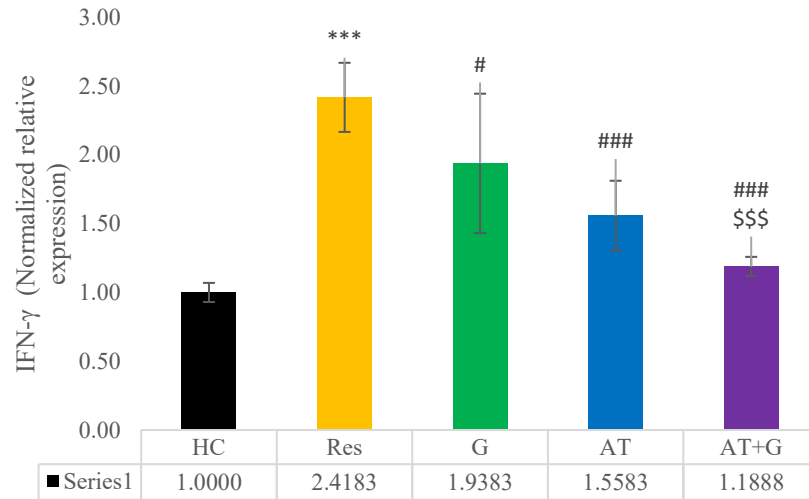
در ادامه نتایج آزمون t مستقل نشان داد مدت زمان حفظ تعادل در قبل از شروع دوره تمرین و مکمل‌دهی در گروه Res به‌طور معنی داری کمتر از گروه HC بود ($P=0/001$ و $t=20/08$). همچنین نتایج تعقیبی توکی نشان داد مدت زمان حفظ تعادل در گروه Res به‌طور معنی داری کمتر از گروه HC بود ($P=0/001$); اما در گروه‌های G ($P=0/001$)، AT ($P=0/001$) و AT+G ($P=0/001$) به‌طور معنی داری بیشتر از گروه Res بود. همچنین در گروه AT ($P=0/001$) و AT+G ($P=0/001$) به‌طور معنی داری بیشتر از گروه G بود (نمودار ۳).

محاسبات آماری

برای بررسی نحوه توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها، برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک راهه استفاده شد و برای تعیین محل تفاوت بین گروه‌ها و مقایسه زوجی گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی در نرم افزار SPSS ویرایش ۲۶ استفاده گردید. در ابتدای تحقیق برای اطمینان از القای بیماری پارکینسون و تجزیه و تحلیل آزمون تعادل حرکتی بین گروه کنترل سالم و گروه کنترل بیمار از آزمون t مستقل استفاده شد. سطح معنی داری برای تمام محاسبات ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

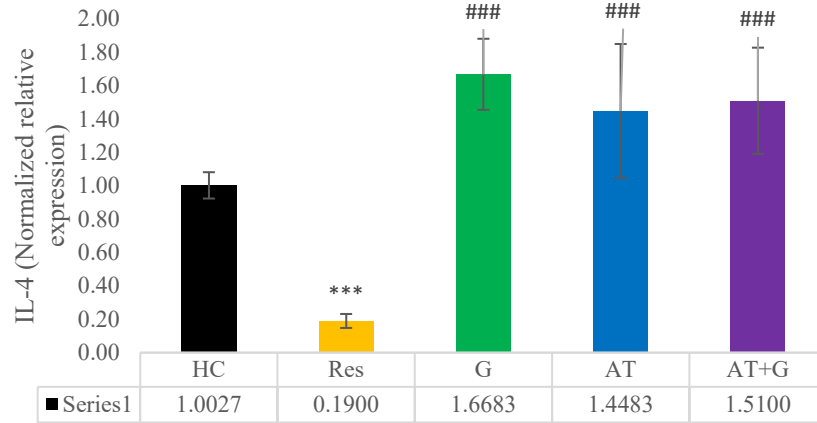
جدول-۲. نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه برای تعیین اثر تمرین و مکمل سیر بر متغیرها در گروه‌ها

سطح معنی داری	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	بین گروه‌ها	IL-4
۰/۰۰۱	۶۳/۲۶	۲/۸۵	۴	۱۱/۴۱	بین گروه‌ها	۱۱/۴۱
		۰/۰۴۵	۳۵	۱/۵۷	درون گروهی	
			۳۹	۱۲/۹۹	کل	
۰/۰۰۱	۱۳/۲۸	۲/۳۷	۴	۹/۴۸	بین گروه‌ها	۹/۴۸
		۰/۱۷۸	۳۵	۶/۲۴	درون گروهی	
			۳۹	۱۵/۷۲	کل	
۰/۰۰۱	۱۸۸۸/۰۰۸	۶۸۵۴۳/۲۸	۴	۲۷۴۱۷۳/۵۲	بین گروه‌ها	۲۷۴۱۷۳/۵۲
		۳۶/۳۰	۳۵	۱۲۷۰/۶۶	درون گروهی	
			۳۹	۲۷۵۴۴۴/۱۸	کل	



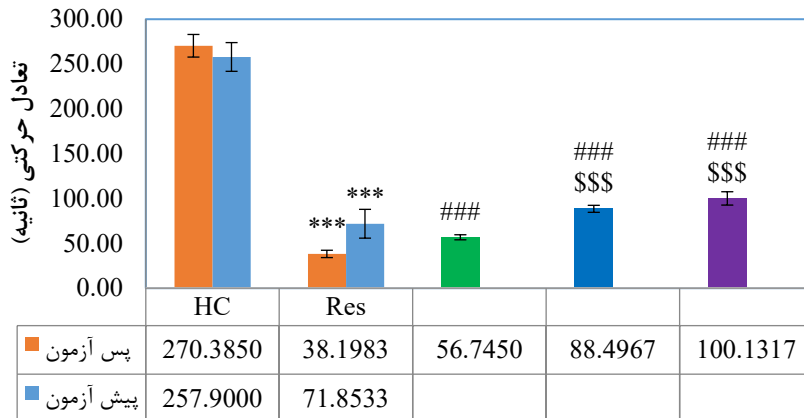
نمودار ۱. مقادیر بیان ژنی IFN-γ در بافت مغز موش های صحرایی گروه ها

*** (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی دار در گروه Res نسبت به گروه کنترل سالم
 # (P=۰/۰۵) و ### (P=۰/۰۰۱) کاهش معنی دار در گروه های AT, G و AT+G نسبت به گروه Res
 \$\$\$ (P=۰/۰۰۱) کاهش معنی دار در گروه AT+G نسبت به گروه G



نمودار ۲. مقادیر بیان ژنی IL-4 در بافت مغز موش های صحرایی در گروه ها

*** (P=۰/۰۰۱) کاهش معنی دار در گروه Res نسبت به گروه کنترل سالم
 ### (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی دار در گروه های AT, G و AT+G نسبت به گروه Res



نمودار ۳. مدت زمان حفظ تعادل در پیش آزمون و پس آزمون گروه ها

*** (P=۰/۰۰۱) کاهش معنی دار در گروه Res نسبت به گروه کنترل سالم
 ### (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی دار در گروه های AT, G و AT+G نسبت به گروه Res
 \$\$\$ (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی دار در گروه های AT و AT+G نسبت به گروه G

بهبود عملکرد نورونی معرفی شده است. این گیاه دارای S-آلیل-سیستئین (SAC) بوده و در درمان بیماری‌های عصب شناختی، نورون زایی، پلاستیسیته نورنی، بهبود عملکرد سیناپس‌ها، دندریت‌ها و بهبود حافظه بسیار موثر است [۱۴]. علاوه بر این محققین نشان داده اند که گیاه سیر به دلیل دارا بودن خاصیت آنتی اکسیدانی می‌تواند منجر به کاهش آمیلوئید بتا، تعدیل میکروگلیا و تنظیم افزایشی ماکروفاژهای نوع M2 شود و در نتیجه با سرکوب گیرنده شبه تول ۴ (TLRs) منجر به سرکوب TNF- α ، IL-1 β ، NF- κ B، بهبود مسیر رونویسی از آنتی‌اکسیدان‌ها (PI3K/NRF2)، افزایش IL-10 و در نهایت بهبود عملکرد نورونی در بیماری‌های عصب شناختی گردد [۲۵]. در این زمینه محققین نشان دادند که عصاره سیر موجب بهبود مسیر گلیکوژن سنتتاز-کیناز ۳ (GSK3 β)، پروتئین کیناز تنظیمی وابسته به خارج سلول (Erk1/2) و بهبود ایمونوسیتوشیمی در بافت مغز در نرون‌های هیپوکامپ موش‌های صحرایی می‌شود [۱۴]. همچنین در مطالعه ای فراتحلیلی محققین نشان دادند که مصرف آلیسین با افزایش عملکرد آنتی‌اکسیدان‌ها و کاهش مالون دی آلدئید همراه است و اثرات ضد التهابی مطلوبی دارد [۲۶]. در مطالعه ای مروری دیگر نیز نتایج نشان داد مصرف SAC به‌عنوان یک ماده بیواکتیو می‌تواند در تعدیل سیستم ایمنی، کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو در بیماری‌های سیستم عصبی نقش مطلوب داشته باشد [۲۷]. هر چند مطالعات در ارتباط با نشانگرهای التهابی در بافت مغز متعاقب مکمل دهی سیر به طور محدود بررسی شده اما شواهد نشان دهنده اثر ضد التهابی این گیاه دارویی است. نکته قابل توجه اینکه طبق دانش ما، مطالعه‌ای یافت نشد که به‌طور مستقیم اثرات ضد التهابی این گیاه دارویی را در بافت مغز پس از مدل سازی پارکینسون بررسی کرده باشد و این ارزیابی یکی از نوآوری‌های مطالعه حاضر بوده است.

مقادیر IFN- γ در گروه AT+G به طور معنی‌داری کمتر و مقادیر IL-4 در این گروه به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه Res بود. علاوه بر این اثر کاهنده AT+G بر مقادیر بیان ژنی IFN- γ به مراتب مطلوب‌تر از اثر G بود. با توجه به مطالعات انجام شده به نظر می‌رسد تمرینات ورزشی با مکانیسم فعال‌سازی آپشار AMPK/NRF1، منجر به بیوژنز میتوکندریایی، افزایش BDNF، بهبود گیرنده‌های دوپامینی، افزایش بیان آنتی‌اکسیدان‌ها، مهار ماکروفاژهای نوع M1 و در نهایت افزایش IL-4 و IL-10 و کاهش TNF- α ، IL-1 β ، IFN- γ و CRP می‌گردد [۲۲، ۲۱]. در حالی که مکمل سیر نیز با دارا بودن S-آلیل-سیستئین (SAC) allyl-cysteines می‌تواند از مسیر نورون‌زایی، منجر به پلاستیسیته نورنی، بهبود عملکرد سیناپس‌ها، دندریت‌ها و بهبود حافظه [۱۴]، افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها، کاهش آمیلوئید بتا، تنظیم افزایشی ماکروفاژهای نوع M2، سرکوب گیرنده‌های شبه‌تول ۴ (TLRs) Toll-like receptor 4، سرکوب TNF- α ، IL-1 β

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد مقادیر IFN- γ در گروه AT به‌طور معنی‌داری کمتر و مقادیر IL-4 در این گروه به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه Res بود. میکروگلیاها بخشی از سیستم عصبی و ماکروفاژها ساکن این سیستم هستند. محققین نشان داده‌اند که افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) منجر به فعال شدن ماکروفاژهای فنوتیپ نوع M1 و سرکوب فنوتیپ نوع M2 می‌شوند که نتیجه این امر بروز التهاب نورونی است. علاوه بر این سلول‌های میکروگلیال در پاسخ به لیپولی ساکارید باکتریایی (LPS) و INF- γ فرم M1 می‌گیرند و سایتوکاین‌های التهابی مانند TNF- α ، IL-1 β ، IL-6 و سایر عوامل التهابی را بیان می‌کنند. این در حالی است که میکروگلیاها در مواجهه با عوامل ضد التهابی مانند IL-4 و IL-13 شکل فنوتیپ نوع M2 به خود می‌گیرند و در سیستم عصبی منجر به افزایش بیان سایتوکاین‌های ضد التهابی IL-10 شده و در نهایت M1 را سرکوب می‌کنند [۲۰]. از سویی محققین نشان داده اند که فعالیت‌های ورزشی در وحله اول با مکانیسم‌های بیان ژنی مانند مسیر AMPK/NRF1 می‌توانند موجب افزایش رونویسی از مسیرهای بیوژنز میتوکندریایی، با مسیر افزایش BDNF و بهبود گیرنده‌های دوپامینی موجب تعدیل عملکرد میکروگلیاها شوند. همچنین فعالیت‌های ورزشی بلند مدت و منظم به‌ویژه با شدت‌های متوسط می‌توانند موجب افزایش بیان آنتی‌اکسیدان‌ها گردند و از این مسیر فعال شدن ماکروفاژهای نوع M1 را سرکوب کنند و در مقابل موجب افزایش IL-4 و IL-10 شوند [۲۱]. در این زمینه مطالعه‌ای نشان داده که تمرینات ورزشی موجب افزایش بیان دوپامین، تیروزین هیدروکسیلاز و افزایش BDNF در بافت مغز موش‌های صحرایی در معرض 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine می‌شود [۲۲]. همچنین در مطالعه‌ای مروری محققین بیان نمودند که احتمالاً تمرینات ورزشی حاد منجر به افزایش عوامل التهابی مانند TNF- α ، IL-1 β ، IFN- γ و CRP در بیماران پارکینسون می‌شود. در حالی که تمرینات منظم با شدت‌های ۵۰ تا ۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه باعث افزایش سایتوکاین‌های ضد التهابی مانند IL-10 و IL-4 در این بیماران می‌شود [۲۳]. در مطالعه‌ای نیز محققین نشان دادند که ۱۲ هفته تمرینات تناوبی شدید موجب کاهش TNF- α ، نوتروفیل‌ها، افزایش IL-10 و سوپراکسید دیسموتاز در بیماران مبتلا به پارکینسون می‌شود [۲۴]. بنابراین مطالعه حاضر نیز همسو با مطالعات پیشین، نقش مطلوب تمرینات ورزشی را بر سیستم ایمنی و التهابی نشان می‌دهند. اگرچه در برخی از این مطالعات طول دوره تمرینی به مراتب طولانی‌تر از تحقیق حاضر بوده است [۲۴].

نتایج تحقیق حاضر نشان داد مقادیر IFN- γ در گروه G به طور معنی‌داری کمتر و مقادیر IL-4 در این گروه به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه G بود. گیاه سیر به عنوان یک داروی قوی برای

نتیجه‌گیری

طبق یافته‌های مطالعه حاضر، تمرین هوازی و مکمل سیر هر دو با مکانیسم‌های مشابه توانستند اثرات مطلوبی بر بهبود عملکرد سیستم التهابی و ضد التهابی در بافت مغز متعاقب بیماری‌های عصب شناختی در موشها داشته باشند که البته نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

تشکر و قدردانی: از همه اساتیدی که در غنای مطالب

حاضر یاری‌رسان بودند، نهایت تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

نقش نویسندگان: همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله

یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ گونه تضاد

منافی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

- Kang SH, Moon SJ, Kang M, Chung SJ, Cho GJ, Koh SB. Incidence of Parkinson's disease and modifiable risk factors in Korean population: A longitudinal follow-up study of a nationwide cohort. *Front Aging Neurosci.* 2023; 15. doi:10.3389/fnagi.2023.1094778 PMID:36865411 PMCid:PMC9971569
- Willis AW, Roberts E, Beck JC, Fiske B, Ross W, Savica R, et al. Incidence of Parkinson disease in North America. *Npj Park Dis.* 2022; 8(1):170. doi:10.1038/s41531-022-00410-y PMID:36522332 PMCid:PMC9755252
- Wu AD, Wilson AM. Parkinson's disease population-wide registries in the United States: Current and future opportunities. *Front Digit Heal.* 2023; 5. doi:10.3389/fdgh.2023.1149154 PMID:37035478 PMCid:PMC10073707
- Qu Y, Li J, Qin Q, Wang D, Zhao J, An K, et al. A systematic review and meta-analysis of inflammatory biomarkers in Parkinson's disease. *NPJ Park Dis.* 2023; 9(1):18. doi:10.1038/s41531-023-00449-5 PMID:36739284 PMCid:PMC9899271
- Parisi L, Gini E, Baci D, Tremolati M, Fanuli M, Bassani B, et al. Macrophage Polarization in Chronic Inflammatory Diseases: Killers or Builders? *J Immunol Res.* 2018; 2018: 8917804. doi:10.1155/2018/8917804 PMID:29507865 PMCid:PMC5821995
- Sheikholeslami-Vatani D, Salehi OR, Hosseini SA. Psycho-physiological effects of high intensity interval training and vitamin E consumption in elderly trimethyltin-treated Alzheimer's rats. *Metab Exerc.* 2021; 11(2): 57-76.
- Ghanbari P, Khajehzadeh S, Sayyed A, Raecisi D, Salehi O. The effect of high intensity interval training with beetroot (Beta vulgaris) juice supplementation on serotonin and dopamine receptors expression, anxiety and depression in middle-aged diabetic rats. *Avicenna J Phytomed.* 2022; 12(6).
- Marino G, Campanelli F, Natale G, De Carluccio M, Servillo F, Ferrari E, et al. Intensive exercise ameliorates motor and cognitive symptoms in experimental Parkinson's disease restoring striatal synaptic plasticity. *Sci Adv.* 2023;

و در نهایت افزایش IL-10 شود [۲۵]. بنابراین به نظر می‌رسد این دو مداخله از مسیر مشابه سرکوب ماکروفاژهای نوع M1، فعال‌سازی نوع M2، سرکوب عوال التهابی و افزایش عوامل ضد التهابی، مسیر سیگنالی یکسانی دارند [۲۱، ۲۲]. در مطالعه اسفندیاری و همکاران نتایج حاکی از افزایش بیان BDNF، TrKB و بهبود حافظه کوتاه مدت در موش‌های صحرایی چاق بود [۱۷]. همچنین در مطالعه امید و همکاران نتایج نشان داد که تعامل تمرین و سیر موجب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، بهبود اضطراب و افسردگی در معرض اشعه سابع شده از روتر WIFI می‌شود [۲۸]. با توجه به وجود مسیر مشترک، به نظر می‌رسد سنجش عامل محرک کلونی، نقش مهمی در تنظیم سیستم التهابی داشته باشد. بنابراین عدم اندازه‌گیری این متغیر از محدودیت‌های مطالعه حاضر است. پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی مسیرهای بالادستی التهاب نیز ارزیابی شوند. همچنین با توجه به نقش استرس اکسیداتیو در پیشبرد سیستم التهابی به نظر می‌رسد عدم ارزیابی مکانیسم‌های مرتبط با این مسیر نیز از دیگر محدودیت‌های مطالعه حاضر باشد. لذا پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی عملکرد این سیستم در کنار عوامل التهابی ارزیابی شود.

- 9(28): eadh1403. doi:10.1126/sciadv.adh1403 PMID:37450585 PMCid:PMC10348672
- Ayari S, Abellard A, Carayol M, Guedj E, Gavarry O. A systematic review of exercise modalities that reduce pro-inflammatory cytokines in humans and animals' models with mild cognitive impairment or dementia. *Exp Gerontol.* 2023; 175: 112141. doi:10.1016/j.exger.2023.112141 PMID:36898593
- Pahlavani HA. Exercise therapy to prevent and treat Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci.* 2023; 15. doi:10.3389/fnagi.2023.1243869 PMID:37600508 PMCid:PMC10436316
- Hall M-FE, Church FC. Exercise for older adults improves the quality of life in Parkinson's disease and potentially enhances the immune response to COVID-19. *Brain Sci.* 2020; 10(9): 612. doi:10.3390/brainsci10090612 PMID:32899958 PMCid:PMC7563553
- Agahi MRH, Mosallanejad Z, Salehi OR. The effects of resistance training and spirulina on the performance of the antioxidant system with emphasis on mir125b, mir146a and cognitive function in stanazolol-induced neurotoxicity in rats. *Chem Biol Interact.* 2022; 110112. doi:10.1016/j.cbi.2022.110112 PMID:36029803
- Rakshit D, Nayak S, Kundu S, Angelopoulou E, Pyrgelis ES, Piperi C, et al. The Pharmacological Activity of Garlic (*Allium sativum*) in Parkinson's disease: From Molecular Mechanisms to the Therapeutic Potential. *ACS Chem Neurosci.* 2023; 14(6): 1033-44. doi:10.1021/acchemneuro.2c00789 PMID:36861262
- Munni YA, Dash R, Choi HJ, Mitra S, Hannan MA, Mazumder K, et al. Differential Effects of the Processed and Unprocessed Garlic (*Allium sativum* L.) Ethanol Extracts on Neurogenesis and Synaptogenesis in Rat Primary Hippocampal Neurons. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(17): 13386. doi:10.3390/ijms241713386 PMID:37686193 PMCid:PMC10487397
- Khalil AMH, Fawaz MM. Garlic Extracts Up-regulate IL-4 and IL-13 Cytokines and Increase the Goblet Cell Numbers in *Eimeria vermiformis* Infected Mice. *J ISSN.*

- 2023; 2766: 2276. doi:10.37871/jbres1712
16. Taleshi M, Rezaeeshirazi R, Ziaalghaj SJ, Asgharpour H. The effect of endurance training with garlic and stevia supplementation on AgRP and α -MSH in the brain tissue of obese Wistar rats. *J Nutr Food Secur*. 2024; 9(2): 232-40. doi:10.18502/jnfs.v9i2.15418
17. Esfandiari B, Rezai Shirazi R, Asgharpour H, Ghorbani S. The effect of obesity and supplementation of garlic extract along with aerobic activity on the expression of brain-derived neurogenic factor genes, tyrosine kinase B and short-term memory of male wistar rats. *J Anim Biol*. 2022; 2(4):65.
18. Moradi S, Moradi M, Habibi A, Shakeriyan S. Comparison of the Effect of 6 Weeks of Continuous and Interval Aerobic Training on Hippocampal Nerve Growth Factor and Catalase Enzyme in a Rat Model of Parkinson's Disease. *J Ilam Univ Med Sci*. 2019; 27(4): 47-57. doi:10.29252/sjimu.27.4.47
19. Pintana H, Srietchwande J, Supakul L, Apaijai N, Chattipakorn N, Chattipakorn S. Garlic extract attenuates brain mitochondrial dysfunction and cognitive deficit in obese-insulin resistant rats. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2014; 39(12): 1373-1379. doi:10.1139/apnm-2014-0255 PMID:25350296
20. Bargi R, Salmani H, Asgharzadeh Yazdi F, Hosseini M. Inflammation and the brain disorders: a review. *Neurosci J Shefaye Khatam*. 2017; 5(3): 68-82. doi:10.18869/acadpub.shefa.5.3.68
21. Li JA, Loevaas MB, Guan C, Goh L, Allen NE, Mak MKY, et al. Does Exercise Attenuate Disease Progression in People with Parkinson's Disease? A Systematic Review with Meta-Analyses. *Neurorehabil Neural Repair*. 2023; 37(5): 328-52. doi:10.1177/15459683231172752 PMID:37166181 PMCID:PMC10272626
22. Wang Y, Pu Z, Zhang Y, Du Z, Guo Z, Bai Q. Exercise training has a protective effect in 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine mice model with improved neural and intestinal pathology and modified intestinal flora. *Behav Brain Res*. 2023; 439: 114240. doi:10.1016/j.bbr.2022.114240 PMID:36455673
23. Małczyńska-Sims P, Chalimoniuk M, Sulek A. The Effect of Endurance Training on Brain-Derived Neurotrophic Factor and Inflammatory Markers in Healthy People and Parkinson's Disease. A Narrative Review. *Front Physiol*. 2020; 11: 578981. doi:10.3389/fphys.2020.578981 PMID:33329027 PMCID:PMC7711132
24. Malczynska-Sims P, Chalimoniuk M, Wronski Z, Marusiak J, Sulek A. High-intensity interval training modulates inflammatory response in Parkinson's disease. *Aging Clin Exp Res*. 2022; 34(9): 2165-76. doi:10.1007/s40520-022-02208-7 doi:10.1007/s40520-022-02153-5 PMID:35699838 PMCID:PMC9192928
25. Song H, Cui J, Mossine VV, Greenlief CM, Fritsche K, Sun GY, et al. Bioactive components from garlic on brain resiliency against neuroinflammation and neurodegeneration. *Exp Ther Med*. 2020; 19(2): 1554-9. doi:10.3892/etm.2019.8389
26. Moosavian SP, Arab A, Paknahad Z, Moradi S. The effects of garlic supplementation on oxidative stress markers: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Complement Ther Med*. 2020; 50: 102385. doi:10.1016/j.ctim.2020.102385 PMID:32444050
27. Rais N, Ved A, Ahmad R, Kumar M, Barbhai MD, Chandran D, et al. S-Allyl-L-Cysteine-A garlic Bioactive: Physicochemical Nature, Mechanism, Pharmacokinetics, and health promoting activities. *J Funct Foods*. 2023; 107: 105657. doi:10.1016/j.jff.2023.105657

28. Omid A, Seyed A, Kheirdeh M. The Effect of Eight-Week Aerobic Training with Garlic Supplementation on Anxiety and Depression in Rats Exposed to WIFI Electromagnetic Radiation. *Res Sport Sci Med Plants*. 2021; 1(3): 47.

How to Cite this Article:

Khosravi M R, Hosseini S A, Hasanpoor G, Roozbehani M. The effect of eight weeks of aerobic training and garlic supplementation on IFN- γ and IL-4 gene expression in the brain tissue of rats with Parkinson's disease. *Feyz Med Sci J* 2024;28(3):244-252. doi: 10.48307/FMSJ.2024.28.3.244