

## اثر چهار هفته ورزش و مکمل دهی اولئوروپین بر رفتارهای اضطراب و افسردگی در مدل حیوانی بیماری پارکینسون

معصومه مکوندی چشمه چنار<sup>۱</sup>، عبدالحسن دولاح<sup>۲\*</sup>، مریم رفیعی راد<sup>۳</sup>

### چکیده

**مقدمه:** بیماری پارکینسون، تحلیل نورون های دوپامینی در ساختمان متراکم جسم سیاه و دیگر نواحی ساقه مغز است. اضطراب و افسردگی در پارکینسون شایع است. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ماده اولئوروپین و ورزش بر اضطراب و افسردگی در مدل حیوانی بیماری پارکینسون انجام شد. در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی به پنج گروه کنترل، پارکینسونی (۶-هیدروکسی دوپامین به ناحیه جسم مخطط به صورت یک طرفه)، ورزش (پنج جلسه در هفته و هر جلسه ۳۰ دقیقه)، دریافت کننده اولئوروپین به مدت ۴ هفته (روزانه ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و توام تمرین شنا و اولئوروپین تقسیم شدند. برای ارزیابی اضطراب از تست ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع و برای سنجش افسردگی از تست جعبه باز انجام گرفت. از آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه و تعقیبی توکی جهت تعیین تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. نتایج نشان دادند که مصرف اولئوروپین همراه با ورزش، مدت زمان حضور حیوان مدل پارکینسونی را در بازوهای باز ماز بعلاوه‌ای، به طور معنی داری افزایش می دهد ( $P < 0.05$ ). همچنین، مصرف اولئوروپین همراه با ورزش در تست جعبه باز، تعداد عبور حیوان از مربع مرکزی، به طور معنی داری افزایش و تعداد عبور از مربع‌های حاشیه و تعداد بالا بردن دست ها، به طور معنی داری کاهش می دهد ( $P < 0.05$ ). نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که ورزش توام با مصرف اولئوروپین می تواند با تاثیر آنتی اکسیدانی خود سبب بهبود رفتارهای اضطرابی و افسردگی در رت های پارکینسونی شود.

**واژه های کلیدی:** اضطراب، افسردگی، اولئوروپین، پارکینسون، ورزش.

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۲. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۳. دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران (\* نویسنده مسئول: [h\\_doulah@yahoo.com](mailto:h_doulah@yahoo.com))

## مقدمه

بیماری پارکینسون، دومین بیماری تحلیل نرونی پس از آلزایمر و شایع ترین علت زوال عقل پیری است (Nagatsu, 2002). اختلالات حرکتی ناشی از بیماری پارکینسون مربوط به آسیب های وارده به بخش متراکم هسته سیاه بوده که معمولاً به صورت ماکروسکوپی قابل مشاهده است (Mahmoudi *et al.*, 2018). مطالعات نشان می دهند که تظاهرات ابتدایی بیماری پارکینسون خارج از سیستم عصبی مرکزی اتفاق می افتد و از جمله ی این تظاهرات غیر حرکتی می توان به اختلال رفتار خواب، اختلالات اضطرابی و افسردگی اشاره کرد (Savica *et al.*, 2010). گزارشات متناقضی در رابطه با شیوع اختلالات خلقی در بیماران پارکینسونی وجود دارد. شیوع افسردگی در بیماران پارکینسونی ۲ تا ۷۶ درصد گزارش شده است (Farzin *et al.*, 2005). تخریب نورون های دوپامینرژیک در ناحیه نیگرواستریاتال و کاهش سطح دوپامین با توسعه رفتارهای خلقی در ارتباط است (Happe *et al.*, 2001). اضطراب پاتولوژیک نیز شایع ترین اختلالات روحی و روانی است که باعث اختلال در زندگی بیمار و رنج او می شود (Sonei *et al.*, 2018). اضطراب عبارتست از یک احساس ناراحت کننده و مبهم، ترس، وحشت یا خطر با منشأ ناشناخته که بر فرد مستولی می گردد و با علائمی نظیر فشردگی قفسه سینه، تنگی نفس، تپش قلب، تعریق، سرگیجه، آشفتگی روانی، اشکال در تمرکز حواس و در سطوح کمتر، مشکل در حافظه همراه است (Degroot *et al.*, 2001). مطالعات، نقش انتقال دهنده های عصبی مختلفی را در پدیده اضطراب نشان، داده است؛ اما سیستم گابارژیک و گیرنده گابا A از مهمترین سیستم های مسؤول در اضطراب به شمار می روند (Bueno *et al.*, 2005). همچنین استرس اکسیداتیو یکی از دلایل اصلی تحلیل نورون های دوپامینرژیک در بیماری پارکینسون است که این بیماری با بروز رفتارهای شبه اضطرابی همراه است (Dissanayaka *et al.*, 2010; Dexter, 2013). یکی دیگر از مشکلات جوامع بشری افسردگی است. افسردگی یکی از مهم ترین اختلالات روانپزشکی است که بطور کلی ۲۵-۱۰ درصد زنان و ۱۰-۵ درصد مردان در برهه ای از زندگی به آن مبتلا می شوند (Bourin *et al.*, 2009). مطالعات متعددی گزارش نمودند که مصرف مواد غذایی گیاهی و یا مکمل های غنی از پلی فنل احتمالاً موجب تأخیر در شروع و پیشرفت بیماری هایی از قبیل آلزایمر، پارکینسون و اختلالات عصبی مرتبط با آن ها می شود (Vauzour *et al.*, 2010). در میان آنتی اکسیدان های طبیعی، اولئوروپین یکی از انواع پلی فنل ها است که به مقدار فراوان در برگ زیتون وجود دارد. این ترکیب با پیشگیری از اکسیداسیون لیپیدهای غشایی، از بیماری های قلبی و عروقی جلوگیری می کند و با گشاد نمودن رگ ها در بهبود بیماری تصلب شرائین مؤثر است. دارای خواص ضد آریتمی قلبی است، متابولیسم لیپیدی را بهبود بخشیده، از تخریب آنزیمی جلوگیری نموده و دارای خواص ضد التهابی است (Lockyer *et al.*, 2015). اولئوروپین ترکیب بیواکتیو اصلی در برگ و میوه فراوری نشده ی زیتون است که دارای اثرات فارماکولوژیکی سودمندی از جمله خصوصیات آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی و نوروپروتکتیو می باشد (Omar, 2010). تمرین ورزشی، زنده ماندن سلول های عصبی را افزایش می دهد و برقراری عملکردهای مغز را بعد از آسیب تسهیل می کند (Ji, 1993). شواهد نشان می دهد که ورزش سیستم دوپامینرژیک مغز را فعال کرده، دوپامین

موجود در جسم مخطط را افزایش می‌دهد. این یافته‌ها وجود این احتمال را افزایش می‌دهد که ورزش باعث کاهش آسیب پذیری نورون‌های دوپامینرژیک نسبت به ۶-هیدروکسی دوپامین می‌شود (Yoon et al., 2007). با توجه به شیوع نسبتاً زیاد اختلال اضطراب و افسردگی در ایران و عوارض داروهای مورد استفاده در این بیماران، دستیابی به روش‌های درمانی کم‌عارضه‌تر و موثرتر بسیاری ضروری است. لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر چهار هفته ورزش و مکمل دهی اولئوروپین بر رفتارهای اضطراب و افسردگی ناشی از ۶-هیدروکسی دوپامین در موش‌های صحرایی نر بالغ بود.

## مواد و روش‌ها

**گروه بندی حیوانات:** در این مطالعه تجربی، از ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم)، تهیه شده از دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز استفاده گردید. مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد، با رعایت اصول اخلاق پژوهشی کار با حیوانات با مجوز شماره ۱۰۶۲۱۴۲۳۹۶۲۰۲۶ در شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز ثبت گردیده است.

موش‌ها در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و دمای  $21 \pm 2$  درجه و با دسترسی آزاد به آب و غذای کافی، درون قفس‌های انفرادی نگهداری شدند و به صورت تصادفی به پنج گروه (هر گروه ۸ سر موش) به شرح زیر تقسیم شدند: شامل: ۱- گروه کنترل (گروه دست نخورده)؛ ۲- گروه پارکینسونی؛ ۳- گروه پارکینسونی با مصرف اولئوروپین؛ ۴- گروه پارکینسونی تیمار شده با ورزش؛ ۵- گروه پارکینسونی تیمار شده با ورزش و مصرف اولئوروپین.

گروه‌های ورزش و ورزش همراه با مصرف اولئوروپین به مدت ۴ هفته (پنج جلسه در هفته و هر جلسه ۳۰ دقیقه) در داخل وان شنا (ویژه شنای اجباری موش‌های صحرایی) شنا کردند (Jafari et al., 2020). و گروه‌های مصرف اولئوروپین و ورزش همراه با مصرف اولئوروپین، اولئوروپین را به مدت ۴ هفته (روزانه ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت خوراکی دریافت کردند (Pourkhodad et al., 2016).

## ایجاد مدل حیوانی پارکینسون:

ابتدا حیوانات وزن شدند، سپس با تزریق داخل صفاقی کتامین هیدروکلراید (دوز ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند (Jafari et al., 2020). در ادامه، موش‌ها در دستگاه استریوتکس قرار گرفتند و به‌وسیله قطعه دهانی و میله‌های داخل‌گوشی بر روی دستگاه ثابت مانده

و موهای ناحیه پشتی جمجمه آن‌ها تراشیده شد، سپس به وسیله پنبه الکلی، پوست سر حیوان ضد عفونی و یک برش طولی از میان سطح پشتی سر بین دو چشم تا فاصله نقطه سطح پشتی میانی گوش‌ها ایجاد گردید. بافت‌های پیوندی روی سطح جمجمه زدوده شدند و نقطه برگما نمایان گردید. نقطه برگما و لامبدا در یک سطح برابر قرار گرفتند و نشانگر دستگاه بر روی آن‌ها تنظیم گردید، سپس با توجه به مختصات استخراج شده از اطلس جراحی مغز، مختصات MFB (قدامی خلفی=  $4/6$ ، میانی جانبی=  $1/6$  و پشتی شکمی=  $8/2$  - میلی‌متر) مشخص گردید (Jafari et al., 2020). در این مطالعه برای ایجاد مدل حیوانی بیماری پارکینسون، از تزریق یک طرفه ۶- هیدروکسی دوپامین در دسته قدامی- میانی مغز استفاده شد و ۶- هیدروکسی دوپامین (شرکت سیگما امریکا) نیز با غلظت ۸ میکروگرم در ۲ میکرولیتر نرمال سالین (دارای ۰/۰۱ درصد اسید اسکوربیک) تهیه گردید (Jafari et al., 2020). آپومورفین (شرکت سیگما، ساخت امریکا) در نرمال سالین ۰/۰۱ درصد اسید اسکوربیک حل شد. این دارو با توجه به وزن حیوان با دوز ۰/۰۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت زیرجلدی تزریق شد (آپومورفین برای تأیید پارکینسونی شدن حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرد)، ۱۰-۵ دقیقه پس از تزریق آپومورفین، به مدت ۱۵ دقیقه تعداد چرخش‌های حیوان در سمت آسیب‌نندیده شمارش و ثبت گردید (Jafari et al., 2020).

## تست ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع<sup>۲</sup>

در این مطالعه از تست ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع برای بررسی رفتارهای اضطرابی استفاده می‌شود. دستگاه مورد استفاده یک ماز چوبی به شکل بعلاوه است. این ماز دارای دو بازوی باز بدون دیواره و دو بازوی بسته با دیواره‌ای به ارتفاع ۳۰ سانتی متر است. طول و عرض بازوی باز به ترتیب ۵۰ و ۱۰ سانتی متر است که به صورت عمود به بازوهای بسته به ابعاد ۱۰ سانتی متر مربع در ناحیه مرکز، متصل می‌باشند. این مجموعه بر روی پایه‌ای به ارتفاع ۵۰ سانتی متر از سطح زمین قرار دارد. لامپ کم نوری در اتاق تست به عنوان منبع روشنایی در طول آزمایش وجود دارد. قبل از شروع آزمایش، موش‌ها به مدت ۵ دقیقه در اتاقی که دستگاه در آن است، قرار گرفتند تا با محیط آشنا شوند. حیوانات در قسمت مرکز دستگاه و رو به بازوی باز قرار داده شدند و به مدت ۵ دقیقه اجازه داشتند تا در بازوهای باز و بسته حرکت کنند درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز<sup>۳</sup> (OAT درصد) و درصد ورود به بازوی باز (OAE درصد) به عنوان فاکتورهای استاندارد ارزیابی اضطراب به این شکل محاسبه شدند:

- 
1. Metropolitan Fire Brigade (MFB)
  1. Elevated plus-maze (EPM)
  2. Open Arm Times=OAT%
  3. Open Arm Entries=%OAE

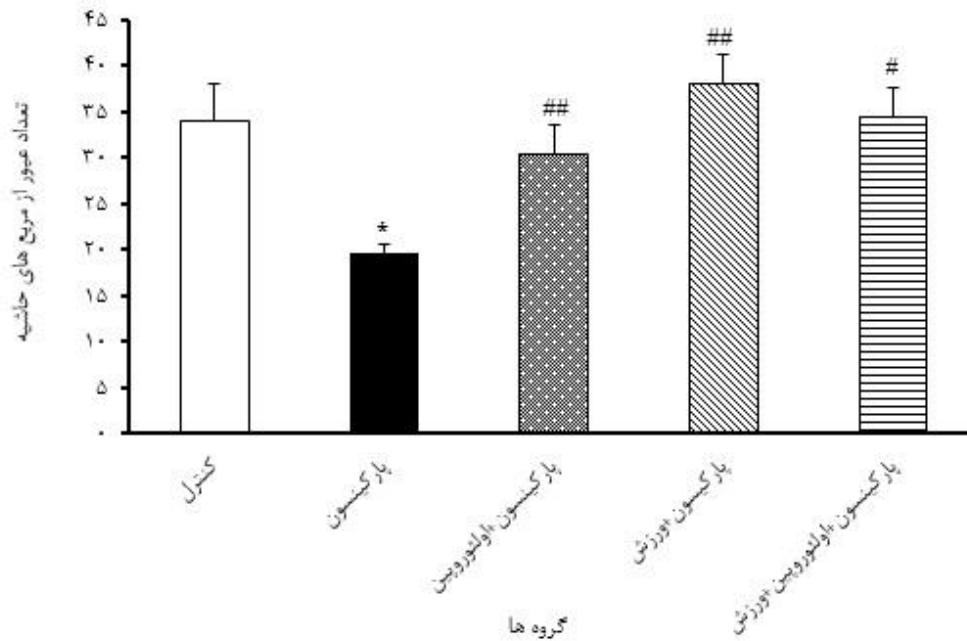
(OAT درصد) زمان ورود به بازوی باز تقسیم بر زمان ورود به کل بازوها ۱۰۰، (OAE درصد) دفعات ورود به بازوها به عنوان فاکتور فعالیت حرکتی در نظر گرفته شد (Rafieirad & Abbaszadeh, 2017). هرچه مدت زمان صرف شده در بازوی باز و تعداد دفعات ورود به آن کمتر باشد، رفتار شبه اضطرابی در آن بیشتر است.

## تست جعبه باز<sup>۱</sup>

تستی برای ارزیابی افسردگی است. تجهیزات این آزمایش شامل یک صفحه چهارگوش ساخته شده (به ابعاد ۷۲\*۷۲ سانتی متر و ارتفاع ۳۶ سانتی متر) و کف آن با خطوطی به ۱۶ مربع (۱۸\*۱۸ سانتی متر) تقسیم شده است. در ابتدا هر موش در مرکز صفحه قرار داده شد و فعالیت آن برای ۵ دقیقه ثبت شد و پارامترهای رفتاری شامل: تعداد عبور از مربع مرکزی، تعداد عبور از مربع‌های حاشیه، تست تعداد بالا بردن دست‌ها ثبت و مورد استفاده قرار گرفت (Rafieirad & Abbaszadeh, 2017).  
**محاسبات آماری:** داده‌های این تحقیق به صورت میانگین±انحراف معیار ارائه شدند. همچنین داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS، Excel، آزمون واریانس یک‌طرفه و تست پشتیبان توکی (در هر گروه n=۸) آنالیز شدند. سطح معنی‌داری،  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

## نتایج

در این مطالعه، تعداد عبور از مربع حاشیه‌ای، عبور از مربع مرکزی، تعداد دفع (اضطراب) و تعداد بالا بردن دست در تست جعبه باز و همچنین درصد مدت سپری شده در بازوی باز ماز به علاوه ای مرتفع موش‌های صحرایی در گروه‌های پنجگانه تحقیق در نمودار شماره ۱ الی ۵ ارائه شده است.



شکل ۱- تاثیر چهار هفته تجویز خوراکی اولئوروپین و ورزش بر تعداد عبور از مربع حاشیه‌ای در تست جعبه باز در مدل حیوانی بیماری پارکینسون. نمودار بر حسب میانگین  $\pm$  انحراف معیار رسم شده است. آنالیز و واریانس یک طرفه<sup>۱</sup> و تست تکمیلی توکی (در هر گروه پارکینسون، n=8).

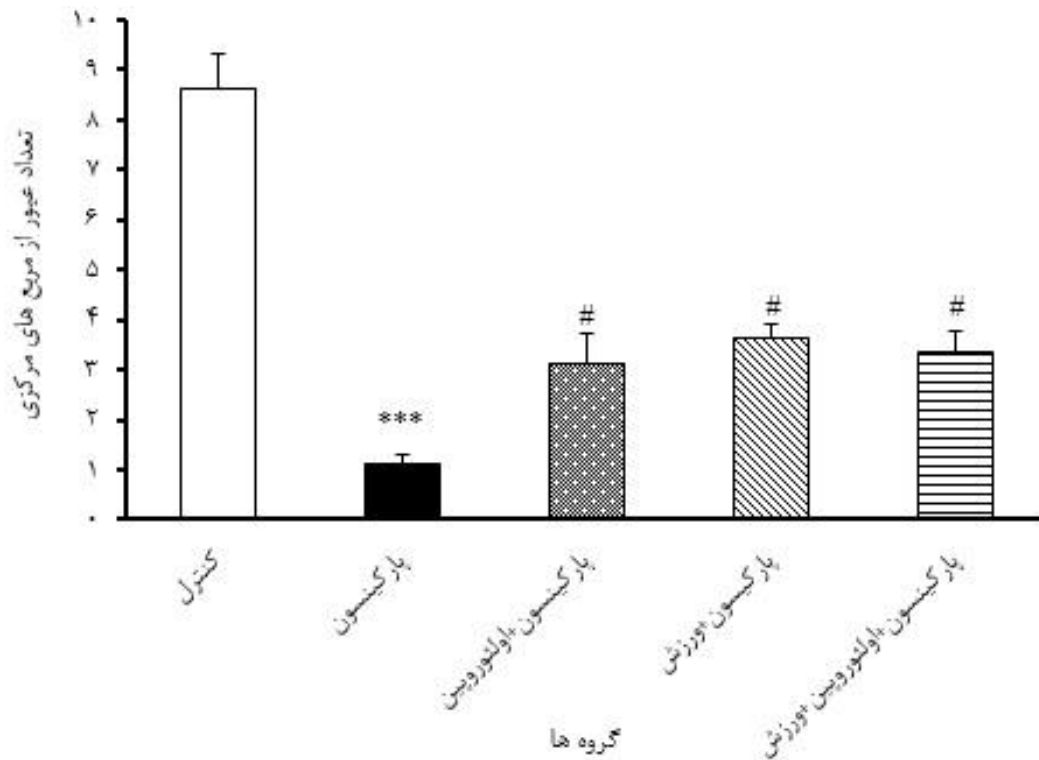
علامت \*: تفاوت معنی دار با گروه کنترل سالم ( $P < 0.05$ )

علامت #: تفاوت معنی دار با گروه پارکینسونی شده ( $P < 0.05$ )

علامت ###: تفاوت معنی دار با گروه پارکینسونی شده ( $P < 0.01$ )

**Figure 1. The effect of four-week oral supplementation of oleuropein and exercise on the number of border crossings in the open field test in the animal model of Parkinson's disease. The graph is plotted in terms of mean  $\pm$  standard deviation. One-way analysis and variance and Tukey supplementary test (n = 8 in each group). Sign \*: Significant difference with healthy control group ( $P < 0.05$ ) Sign #: Significant difference with Parkinson's group ( $P < 0.05$ ) Sign ###: Significant difference with Parkinson's group ( $P < 0.01$ )**

نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که در تعداد عبور از مربع حاشیه‌ای در تست جعبه باز، در گروه حیوانات پارکینسونی شده نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد ( $P < 0.05$ ). هم چنین این نمودار نشان می دهد تعداد عبور از مربع حاشیه‌ای در تست جعبه باز در گروه پارکینسون-مصرف اولئوروپین ( $P < 0.01$ )، پارکینسون-تمرین شنا ( $P < 0.01$ )، پارکینسون-تمرین شنا همراه با مصرف اولئوروپین ( $P < 0.05$ ) به طور معنی داری بالاتر از گروه پارکینسونی بود (شکل شماره ۱).



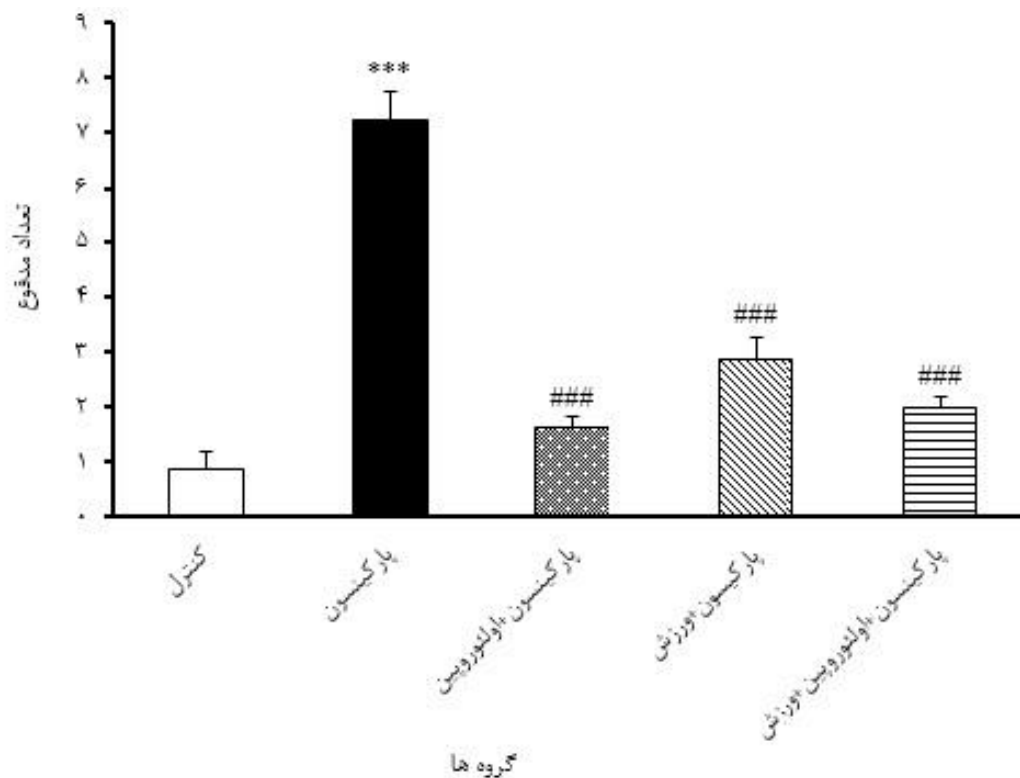
شکل ۲- تاثیر چهار هفته تجویز خوراکی اولئوروپین و ورزش بر تعداد عبور از مربع مرکزی در تست جعبه باز در مدل حیوانی بیماری پارکینسون. نمودار برحسب میانگین  $\pm$  انحراف معیار رسم شده است. آنالیز و واریانس یک طرفه و تست تکمیلی توکی (در هر گروه  $n=8$ ).

علامت \*\*\*: تفاوت معنی دار با گروه کنترل سالم ( $P<0.001$ )

علامت #: تفاوت معنی دار با گروه پارکینسونی شده ( $P<0.05$ )

**Figure 2. The effect of four-week oral supplementation of oleuropein and exercise on the number of crossings of the central square in the open field test in the animal model of Parkinson's disease. The graph is plotted in terms of mean  $\pm$  standard deviation. One-way analysis and variance and Tukey supplementary test ( $n = 8$  in each group). Sign \*\*\*: significant difference with healthy control group ( $P < 0.001$ ) Sign #: Significant difference with Parkinson's group ( $P < 0.05$ )**

همان طور که در شکل شماره ۲ مشاهده می شود در تست عبور از مربع مرکزی در تست جعبه باز ، در گروه حیوانات پارکینسونی شده نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد ( $P<0.001$ ). از سوی دیگر تعداد عبور از مربع مرکزی در تست جعبه باز در گروه پارکینسون-مصرف اولئوروپین ( $P<0.05$ )، پارکینسون-تمرین شنا ( $P<0.05$ )، پارکینسون-تمرین شنا همراه با مصرف اولئوروپین ( $P<0.05$ ) به طور معنی داری نسبت به گروه پارکینسونی افزایش یافت.



شکل ۳- تاثیر چهار هفته تجویز خوراکی اولئوروپین و ورزش بر تعداد دفع در تست جعبه باز در مدل حیوانی بیماری پارکینسون. نمودار برحسب میانگین  $\pm$  انحراف معیار رسم شده است. آنالیز و واریانس یک طرفه و تست تکمیلی توکی (در هر گروه  $n=8$ ).

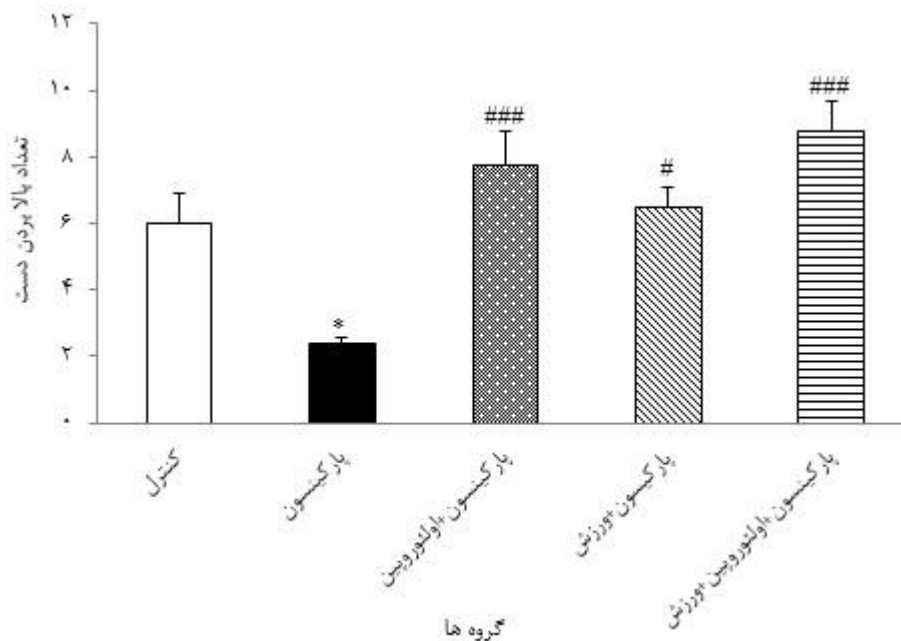
علامت \*\*\*: تفاوت معنی دار با گروه کنترل سالم ( $P<0.001$ )

علامت ###: تفاوت معنی دار با گروه پارکینسونی شده ( $P<0.001$ )

**Figure 3. The effect of four-week oral supplementation of oleuropein and exercise on the number of excretions in the open field test in the animal model of Parkinson's disease. The graph is plotted in terms of mean  $\pm$  standard deviation. One-way analysis and variance and Tukey supplementary test ( $n = 8$  in each group). Sign \*\*\*: significant difference with healthy control group ( $P < 0.001$ ) Sign ###: Significant difference with Parkinson's group ( $P < 0.001$ )**

همانطور که شکل شماره ۳ نشان می دهد، در تست تعداد دفع مربوط به موش بالغ، با توجه به اینکه با افزایش تعداد دفع، افزایش افسردگی را به دنبال دارد، گروه پارکینسونی نسبت به گروه کنترل اختلاف معنادار و افزایش پیدا کرده است ( $P<0.001$ ). نتایج نشان داد که تعداد دفع در گروه های عصاره اولئوروپین-پارکینسون، تمرین شنا-پارکینسون و ورزش همراه با مصرف اولئوروپین - پارکینسون نسبت به گروه پارکینسونی کاهش معنی داری داشته است ( $P<0.001$ ).





شکل ۴- تاثیر چهار هفته تجویز خوراکی اولئوروپین و ورزش بر تعداد بالا بردن دست در تست جعبه باز در مدل حیوانی

بیماری پارکینسون. نمودار برحسب میانگین  $\pm$  انحراف معیار رسم شده است. آنالیز و واریانس یک طرفه و تست تکمیلی توکی (در هر

گروه  $n=8$ ).

علامت \*: تفاوت معنی دار با گروه کنترل سالم ( $P<0.05$ )

علامت #: تفاوت معنی دار با گروه پارکینسونی شده ( $P<0.05$ )

علامت ###: تفاوت معنی دار با گروه پارکینسونی شده ( $P<0.001$ )

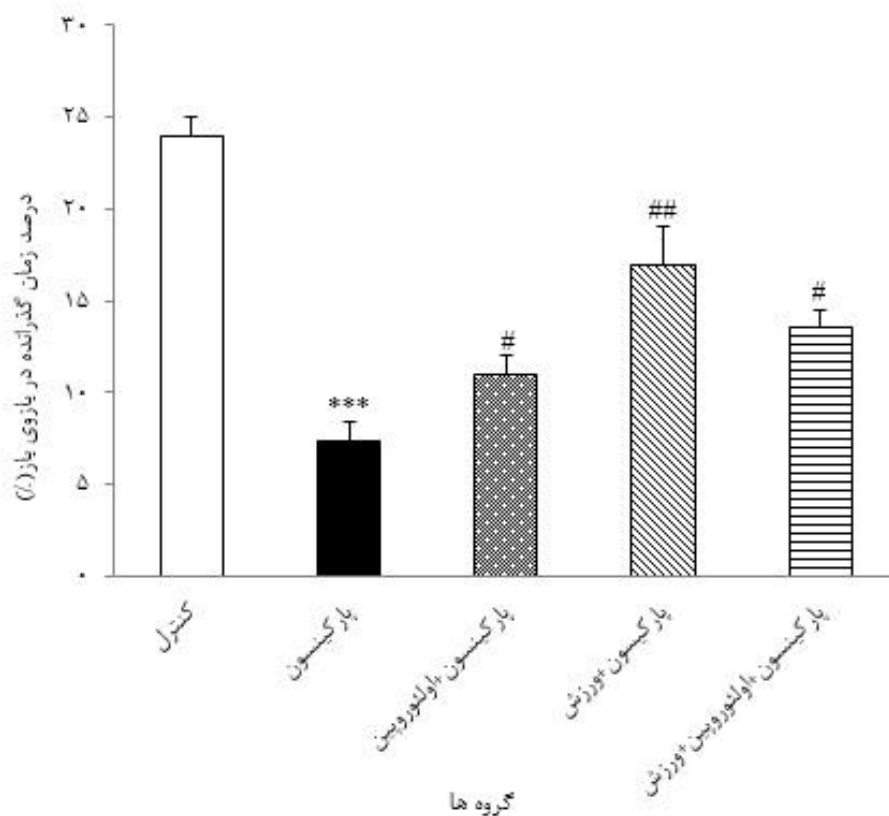
**Figure 4. The effect of four weeks of oral supplementation of oleuropein and exercise on the number of hands raised in the open field test in an animal model of Parkinson's disease. The graph is plotted in terms of mean  $\pm$  standard deviation. One-way analysis and variance and Tukey supplementary test ( $n = 8$  in each group). Sign \*: significant difference with healthy control group ( $P < 0.05$ ) Sign #: Significant difference with Parkinson's group ( $P < 0.05$ ) Sign ###: Significant difference with Parkinson's group ( $P < 0.001$ )**

نتایج حاصل از شکل ۴ نشان می‌دهد که در تست بالا بردن دست جعبه باز در گروه حیوانات پارکینسونی شده نسبت

به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد ( $P<0.05$ ). همچنین تعداد بالا بردن دست در گروه های عصاره اولئوروپین-

پارکینسون ( $P<0.001$ ) و ورزش همراه با مصرف اولئوروپین- پارکینسون ( $P<0.001$ ) و گروه تمرین شنا-پارکینسون ( $P<0.05$ )

نسبت به گروه پارکینسونی اختلاف معنادار آماری داشته و کاهش اضطراب نشان می‌دهد.



شکل ۵- تاثیر چهار هفته تجویز خوراکی اولئوروپین و ورزش بر درصد مدت زمان گذرانده در بازوی باز ماز به علاوه ای مرتفع در مدل حیوانی بیماری پارکینسون. نمودار برحسب میانگین  $\pm$  انحراف معیار رسم شده است. آنالیز و واریانس یک طرفه و تست تکمیلی توکی (در هر گروه  $n=8$ ).

علامت \*\*\*: تفاوت معنی دار با گروه کنترل سالم ( $P < 0.001$ )

علامت #: تفاوت معنی دار با گروه پارکینسونی شده ( $P < 0.05$ )

علامت ##: تفاوت معنی دار با گروه پارکینسونی شده ( $P < 0.01$ )

**Figure 5. The effect of four weeks of oral supplementation of oleuropein and exercise on the percentage of time spent in the open arms of elevated plus-maze in the animal model of Parkinson's disease. The graph is plotted in terms of mean  $\pm$  standard deviation. One-way analysis and variance and Tukey supplementary test ( $n = 8$  in each group). Sign \*\*\*: significant difference with healthy control group ( $P < 0.001$ ) Sign #: Significant difference with Parkinson's group ( $P < 0.05$ ) Sign ##: Significant difference with Parkinson's group ( $P < 0.01$ )**

نتایج حاصل از شکل ۵ نشان می‌دهد که در تست ماز به علاوه ای مربوط به موش بالغ، در گروه پارکینسونی نسبت به گروه کنترل کاهش درصد دفعات ورود موش به بازوی باز و افزایش اضطراب ( $P < 0.001$ )، و همچنین در گروه های عصاره اولئوروپین-پارکینسون، ورزش همراه با مصرف اولئوروپین- پارکینسون ( $P < 0.05$ ) و گروه تمرین شنا- پارکینسون ( $P < 0.001$ ) نسبت به گروه پارکینسونی اختلاف معنادار آماری داشته و افزایش درصد تعداد دفعات ورود به بازوی باز وجود دارد.

## بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که گروه پارکینسونی نسبت به گروه کنترل از لحاظ میانگین اضطراب اختلاف معنادار و افزایش پیدا کرده است. همچنین در گروهی که اولئوروپین مصرف کرده اند نسبت به گروه پارکینسونی اختلاف معنادار و کاهش اضطراب وجود دارد. گروهی که تمرین ورزش دریافت کرده اند نسبت به گروه پارکینسونی اختلاف معنادار و کاهش اضطراب را نشان می دهند و گروهی که توام اولئوروپین و ورزش دریافت کردند نیز نسبت به گروه پارکینسونی اختلاف معنادار و اضطراب کاهش می یابد. در همین راستا تادایسکی و همکاران گزارش نمودند که ضایعه ایجاد شده با ۶-هیدروکسی دوپامین در جسم مخطط موش، موجب افزایش پاسخ های اضطرابی در تست رفتاری ماز به علاوه ای شکل مرتفع می گردد (Tadaiesky *et al.*, 2008). پلی فنل های موجود در عصاره های گیاهی دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضد استرس اکسیداتیو فراوانی هستند (Vauzour *et al.*, 2010). Shrivastava و همکارانش پیشنهاد کردند که پیرین به دلیل خواص آنتی اکسیدانی، از طریق مکانیسم ضدآپوپتوزی، دارای اثر حفاظتی در بیماری پارکینسون ناشی از 6-OHDA است (Shrivastava *et al.*, 2013). همچنین برخی از مطالعات نیز تاثیر عصاره های گیاهی را بر اختلالات اضطرابی گزارش نمودند. Shahga و همکارانش اثرات ضد اضطرابی عصاره متانولی برگ گیاه لیمو *Cymbopogon citratus* را بررسی و وجود ترکیبات فلاونوئیدی را دلیل افزایش فاکتورهای OAT درصد و OAE درصد در تست ماز به علاوه های شکل مرتفع پیشنهاد نمودند (Shah *et al.*, 2010). در مطالعه ای دیگر خاصیت آرام بخشی عصاره برگ گیاه زیتون گزارش شده است (Obied *et al.*, 2012). بر اساس مطالعات قبلی، عصاره برگ گیاه زیتون نیز غنی از ترکیبات پلی فنلی می باشند (Aytul, 2010) و دارای فعالیت حفاظت نورونی قوی است که سبب بهبود استرس اکسیداتیو و آسیب عصبی در حیوانات می شود (Dekanski *et al.*, 2011). از طرف دیگر، ورزش طولانی مدت باعث افزایش سطح آنتی اکسیدان ها درون زامی شود که می تواند مغز را از آسیب های اکسیداتیو حفظ کند. از سوی دیگر مشخص شده که فعالیت ورزشی در انسان می تواند سبب بهبود رفتارهای اضطرابی و افسردگی گردد (Anderson & Shivakumar, 2013). فعالیت ورزشی در موش های صحرایی و سوری نیز سبب کاهش اضطراب در تست محیط باز، ماز به علاوه مرتفع و جعبه تاریک-روشن می گردد (Pietrelli *et al.*, 2012). هم چنین فعالیت های ورزشی کوتاه مدت از جمله ورزش های مقاومتی می توانند سبب بهبود علائم و نشانه های اضطراب گردند (Herring *et al.*, 2011). مطالعات پیشین نشان داده اند که فعالیت ورزشی می تواند سبب کاهش اضطراب در ورزشکاران گردد (Heidarya *et al.*, 2011). از نظر مکانیسم عمل، نشان داده شده که ورزش سبب رهاسازی اندورفین ها از مغز می گردد و اندورفین ها نقش مؤثری در کاهش اضطراب دارند (Torabi *et al.*, 2014). ورزش همچنین می تواند باعث تغییر در چندین سیستم هورمونی و نوروترانسمیتری در بدن از جمله: تغییر در سطح گابا، سروتونین و عامل ناتریورتیک دهلیزی گردد که هر کدام می تواند سبب تغییر سطح اضطراب به دنبال فعالیت ورزشی شوند (Strohle, 2009). تجزیه و تحلیل داده ها

همچنین نشان داد که مصرف اولئوروپین پس از ۴ هفته می تواند سبب کاهش معنی دار اضطراب گردد. از سوی دیگر مصرف اولئوروپین در کنار فعالیت ورزشی توانست اثر ضد اضطرابی بارزتر خود را نشان دهد. بررسی حاضر نشان می دهد که در تست عبور از مربع حاشیه‌ای مربوط به موش بالغ، با توجه به اینکه با افزایش تعداد عبور از مربع حاشیه‌ای افزایش اضطراب را به دنبال دارد گروه پارکینسونی نسبت به گروه کنترل اختلاف معنادار و افزایش افسردگی پیدا کرده است. اولئوروپین در غلظت ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به طور معنی داری افسردگی را در آزمون شنای اجباری بهبود بخشید. همچنین گروهی که تمرین ورزش دریافت کرده اند نسبت به گروه پارکینسونی اختلاف معنادار و کاهش اضطراب را نشان می دهند و در گروهی که توام اولئوروپین و ورزش دریافت کردند نیز نسبت به گروه پارکینسونی، اختلاف معنادار آماری و کاهش افسردگی در تست عبور از مربع حاشیه‌ای موش بالغ مشاهده می شود. به نظر روانشناسان، بهترین راه پیشنهادی مناسب، کم هزینه و با اثرات جانبی حداقل، ورزش است و به عنوان یکی از روش های پیشگیری و حتی درمان افسردگی خفیف مطرح است. علاوه بر اثرات اقتصادی و صرف هزینه برای درمان، افسردگی اثرات دیگری نیز در بر دارد. هنگام افسردگی و استرس، احتمال مراقبت مناسب از خود، داشتن تغذیه مناسب و فعالیت های بدنی، کمتر شده و با افزایش سطح هورمون های مربوطه، فرد بیشتر در معرض مشکلات بهداشتی قرار می گیرد. با توجه به آمار روز افزون اختلالات روانی، پژوهش های بی شماری در خصوص تأثیر ورزش در درمان و حتی پیشگیری مشکلات روانی بخصوص افسردگی انجام گرفته است. ورزش کمک مهمی در به وجود آوردن احساس تندرستی و هم چنین افزایش تحمل روانی زندگی دارد. تمرینات بدنی با تخلیه انرژی به افراد آرامش می دهد و باعث کاهش فشارهای روانی می شود (Soltaniyan & Aminbeidokhti, 2009). با ورزش علایم اضطراب و افسردگی کاهش یافته و با بهبودی خلق، احساس خوب بودن را ارتقاء می بخشد. (Asci, 2003). تمرینات ورزشی هوازی به مدت ۹ هفته و هر هفته سه جلسه ۲۰ دقیقه ای، باعث کاهش افسردگی و افزایش مکانیسم های سازگاری زنان افسرده می شود (Hasty, 2000). به نظر روانشناسان ورزش به عنوان یکی از روش های پیشگیری و حتی درمان افسردگی خفیف مطرح است (Sadok, 2004). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نیز گویای این مطلب است که ورزش در کاهش افسردگی مؤثر بوده است. یافته های پژوهش حاضر با نتایج پژوهش های پیشین مبنی بر اثر فعالیت های ورزشی بر کاهش مشکلات روانی و افسردگی، همسو است. ورزش باعث کاهش فشارهای عصبی و افسردگی در محیط کار می شود توجه برای توضیح این پدیده، افزایش سطح سروتونین و نوراپی نفرین در هنگام فعالیت های ورزشی است که موجب کاهش افسردگی می شود (Smith & Elliott, 2003). به عبارت دیگر تمرینات بدنی از دو راه بر روح و روان انسان اثرگذار است: یکی رها شدن اندورفین و دوم کاهش سطوح کورتیزول (هورمونی که با فشار عصبی در خون ترشح می شود). بر اساس نظر متخصصان فیزیولوژی، آندرفین ها داروهای طبیعی کاهش درد هستند که سبب بوجود آمدن احساسات خوشایند می شوند، تمرینات بدنی موجب افزایش سطوح ترشح آندرفین می شوند (Grohol, 2006). شهرجردی و همکاران مطالعه ای در سال ۱۳۸۸ انجام دادند که نشان دهنده تأثیر مثبت ورزش بر بهداشت روان و کیفیت زندگی بود که تأییدی بر یافته های مطالعه

حاضر است (Sharjerdi *et al.*, 2010). سلطانی و همکاران در مطالعه ای بر روی دانشجویان دانشگاه فردوسی نشان دادند که ورزش بر سلامت عمومی، کیفیت خواب و کیفیت زندگی تأثیر مثبتی داشته است (Soltani-Shall *et al.*, 2013). همچنین در یک کارآزمایی بالینی تصادفی کنترل شده، از تجزیه و تحلیل اثرات ورزش هوازی به عنوان یک استراتژی برای درمان بیماران مبتلا به افسردگی استفاده نمودند و موثر بودن تمرینات ورزشی در درمان بیماران مبتلا به افسردگی شدید را تأیید نمود (Schuch *et al.*, 2011).

**نتیجه گیری:** ورزش توام با مصرف اولئوروپین احتمالاً به دلیل اثر آنتی اکسیدانی قوی و یا تداخل در فعالیت گیرنده های مسیر پاداشی می تواند علاوه بر دارودرمانی، سبب بهبود رفتارهای اضطرابی و افسردگی در مدل حیوانی پارکینسونی شوند که نیازمند تحقیقات مولکولی تکمیلی است.

## سپاسگزاری

مقاله حاضر، برگرفته از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد، در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز ثبت می باشد. بدین وسیله، نویسندگان از مسئولان دانشگاه تمام کسانی که در انجام این تحقیق همکاری صمیمانه داشته اند تشکر و قدردانی به عمل می آورند.

## منابع

- Anderson, E. and Shivakumar, G. (2013) Effects of exercise and physical activity on anxiety. *Front Psychiatry*. 4 (27).
- Asci, F.H. (2003) The Effects of physical fitness training on trait anxiety and physical self-concept of female university student. *J Psychol Sport Exercise*, 4(2): 255-64.
- Aytul, K.K. (2010) Antimicrobial and antioxidant activities of olive leaf extract and its food applications. Izmir institute of technology. Available at: <http://library.iyte.edu.tr/tezler/master/biyoteknoloji/T000831.pdf>.
- Bourin, M., Chenu F., Prica C. and Hascoet M. (2009) Augmentation effect of combination therapy of aripiprazole and antidepressants on forced swimming test in mice . *Psychopharmacol.*, 206: 97–107.
- Bueno, C.H., Zangrossi, Jr H. and Viana, M.B. (2005) The inactivation of the basolateral nucleus of the rat amygdala has an anxiolytic effect in the elevated T-maze and light/dark transition tests. *Braz J Med Biol Res*, 38(11):1697-1701.
- Degroot, A., Kashluba, S. and Treit, D. (2001) Septal GABAergic and hippocampal cholinergic systems modulate anxiety in the plus-maze and shock-probe tests. *Pharmacol. Bioch. Behave.*, 69:391-9.

- Dekanski, D., Selakovic, V., Piperski, V., Radulovic, Z., Korenic, A., and Radenovic, L. (2011) Protective effect of olive leaf extract on hippocampal injury induced by transient global cerebral ischemia and reperfusion in Mongolian gerbils. *Phytomedicine*, 18(13), 1137-1143.
- Dexter David, T. and Jenner, P. (2013) Parkinson disease: from pathology to molecular disease mechanisms. *Free Radical Biology and Medicine*, 62, 132-144.
- Dissanayaka, N.N., Sellbach, A., Matheson, S., O'Sullivan, J.D., Silburn, P.A., Byrne, G.J., Marsh, R. and Mellik, G.D. (2010) Anxiety disorders in Parkinson's disease: prevalence and risk factors. *Mov Disord*, 25(7): 838-45.
- Farzin, D., Zarghami, M. and Khalaj, L. (2005) Evaluation of antidepressant activities of Rose oil and Geranium oil in the mouse forced swim test. *J Babol Univ Med Sci.*, 7(1): 7-13.
- Grohol, J.M. (2006) Depression in women, seniors and children. [ebook]. Available from: <http://psychcentral.com/lib/2006/the-causes-of-depression>.
- Happe, S., Schrodler, B., Faltl, M., Muller, C., Auff, E. and Zeitlhofer, J. (2001) Sleep disorders and depression in patients with Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand.*, 104(5): 275-80.
- Hasty, S. (2000) Gender studies: obesity Increases risks of depression & suicide in women,decreases risks in womans health weekly. Available from. <http://www.newsrx.com/newsletters/Women>.
- Heidarya, A. Emami, A. Eskandaripour, S. Saiah, A., Hamidi, S. and Shahbazi, M. (2011) Effects of aerobic exercise on anxiety. *Procedia Social Behavioral Science*, 30: 2497-2498.
- Herring, M.P. Jacob, M.L. Suveg, C. and O'Connor, P.J. (2011) Effects of short-term exercise training on signs and symptoms of generalized anxiety disorder. *Mental Health and Physical Activity*, 4: 71-77.
- Jafari, F., Doulah, A. and Rafieirad, M. (2020) Effect of oleuropein and swimming practice on motor disorder induced by 6-hydroxydopamine toxin in mature male rats. *JBRMS*. 7 (1) :50-60
- Ji, L.L. (1993) Antioxidant enzyme response to exercise and training in the skeletal muscle. *Oxidative Stress in skeletal muscle*. 25(2): 225-31.
- Lockyer, S., Corona, G., Yaqoob, P., Spencer, J.P. and Rowland, I. (2015) Secoiridoids delivered as olive leaf extract induce acute improvements in human vascular function and reduction of an inflammatory cytokine: a randomised, double-blind, placebo-controlled, cross-over trial. *Br J Nutr*. 8:1-9.
- Mahmoudi, R., Rafieirad, M. and Goudarzi, S. (2018). Effect of Hydroalcoholic Extract of *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss on Motor and Memory Disorders in Animal Model of Parkinson Disease. *Qom Univ Med Sci J*. 12(8): 36-47.
- Nagatsu, T. (2002) Amine-related neurotoxins in Parkinson's disease: past, present, and future. *Neurotoxicology and Teratology*. 24(5); 565-9.
- Obied, H.K., Prenzler, P.D., Omar, S.H., Ismael, R., Servili, M. and Esposto, S. (2012) Pharmacology of olive biophenols, Chapter 6. In book: *Advances in Molecular Toxicology*. Elsevier. p.195.
- Omar, S.H. (2010) Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Sci Pharm*. 78(2): 133-54.
- Pietrelli, A., Lopez-Costa, J., Goni, R., Brusco, A. and Basso, N. (2012) Aerobic exercise prevents age-dependent cognitive decline and reduces anxiety-related behaviors in middle-aged and old rats. *Neuroscience*. 202: 252-266.
- Pourkhodadad, S., Alirezaei, M., moghadasi, m., Delfan, B., Ahmadvand, H., Karami, M., et al. (2016). The effect of oleuropein on passive avoidance memory in colchicine-induced rat model of Alzheimer's disease. *Daneshvar Medicine*, 23(124); 1-8.

- Rafieirad, M. and Abbaszadeh, H. (2017) Pomegranate seed extract reduces ischemia induced anxiety in male rats. *J Herbmmed Pharmacol.* 6(2):85-89.
- Sadok, B.J. (2004) Abstract of psychiatry. Trans Rafiei H, Sobhanian Kh. Tehran: Arjmand; [Persian]
- Strohle, A. (2009) Physical activity, exercise, depression and anxiety disorders. *J. Neural Transm.* 116: 777-784.
- Smith, L.L. and Elliott, C.H. (2003) *Demystifying and defeating depression.* [ebook]. Wiley. p. 9-20.
- Sonei, A., Hajrasouliha, S.h., Hadipour Jahromy, M., Movaseghi, S.h. and Sharifi, N.Z. (2018) Effect of Aqueous Extra Ctruito frhus Coriaria on Reducing Anxiety and Pain in Mice. *Qjaphd.* 44: 35-45.
- Soltani Shall, R., Aghamohammadian Sharbaf, H. and Ghanaei chamanabad, A. (2013) Effect of exercise on general health, quality of sleep and quality of life in Ferdowsi University of Mashhad students. *JQUMS.* 17(4): 39- 46. [in Persian]
- Soltaniyan, M.A. and Aminbeidokhti, A.A. (2009) The role of sport on job burnout of employees. *J Semnan Unive Med Sci.* 10(4): 281-6. [in Persian]
- Savica, R., Rocca, W.A. and Ahlskog, J.E. (2010) When does Parkinson disease start? *Archneurosci.* 67(7): 798-801.
- Schuch, F.B., Vasconcelos-Moreno, M.P., Borowsky, C. and Fleck, M.P. (2011) Exercise and severe depression: preliminary results of an add-on study. *J Affect Disord.* 133(3): 615-8.
- Shah, G., Shiri, R., Dhabilitya, F., Nagpal, N. and Mann, A.S. (2010) Anti-anxiety activity of cymbopogon citratus (dc.) stapf leaves extracts on the elevated plus-maze model of anxiety in mice. *Pharmac J.* 2(15): 45-50.
- Sharjerdi, S.H., Shondi, N. and Sheikh Hoseini, R. (2010) The effect of strength and endurance training on blood glucose control, quality of life and mental health in women with type 2 diabetes. *IJDLD.* 9(1): 35- 44. [in Persian]
- Shrivastava, P., Vaibhav, K., Tabassum, R., Khan, A., Ishrat, T., Khan, M.M., Ahmad, A., Islam, F. Safhi, M.M. and Islam, F. (2013) Anti-apoptotic and anti-inflammatory effect of piperine on 6-OHDA induced Parkinson's rat model. *J Nutr Biochem.* 24(4): 680-7.
- Tadaiesky, M.T., Dombrowski, P.A., Figueiredo, C.P., Cargnin-Ferreira, E., Da Cunha, C. and Takahashi, R.N. (2008) Emotional, cognitive and neurochemical alterations in a premotor stage model of Parkinson's disease. *Neuroscience.* 156(4): 830-40.
- Torabi, M., Kesmati, M., Eshagh Harooni, H. and Najafzadeh Varzi, H. (2014) The effect of local and intraperitoneal administration of opioid receptors modulating agents on anxiolytic properties of nano and conventional ZnO in male rats. *Cell J.* 16: 1, 37-61.
- Vauzour, D., Rodriguez-Mateos, A., Corona, G., Oruna-Concha, M.J. and Spencer, J.P. (2010) Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action. *Nutrients.* 2(11): 1106-31.
- Yoon, M.C., Shin, M.S., Kim, T.S., Kim, B.K., Ko, I.G., Sung, Y.H., Kim, S.E., Lee, H.H., Kim, Y.P. and Kim, C.J. (2007) Treadmill exercise alleviates short-term memory impairment in 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's rats. *Neurosci Lett.* 423(1): 12-7.9.

## **The effect of four weeks of exercise and oleuropein supplementation on anxiety and depression behaviors in an animal model of Parkinson's disease**

**M. Makvandi Cheshmeh Chenar<sup>1</sup>, A. Doulah<sup>2\*</sup>, M. Raffieirad<sup>3</sup>**

Received: 2021.07.06

Accepted: 2021.10.26

### **Abstract**

Parkinson's disease is a destroyer of dopamine neurons in the dense structure of the substantia nigra and other areas of the brainstem. Anxiety and depression are common in Parkinson's. The aim of this study was to investigate the effect of oleuropein and exercise on anxiety and depression in animal models of Parkinson's disease. In this experimental study, 40 rats were divided into five groups: control, Parkinson's (6-hydroxy dopamine to the striatum area unilaterally), swimming practice (five sessions per week and 30 minutes each session), oleuropein recipient for 4 weeks (20 mg per kilogram of body weight per day) and combined with swimming practice and oleuropein. To assess anxiety, the elevated plus-maze test was performed and to assess depression, the open box test was performed. One-way ANOVA and Tukey's post hoc test were used to determine the differences between the groups. The results showed that the use of oleuropein with exercise significantly increased the duration of Parkinson's model animal in the Plus open maze arms ( $P < 0.05$ ). Also, the use of oleuropein with exercise in open field box testing significantly increases the number of animals crossing the central square and significantly reduces the number of crossings of marginal squares and the number of hands raised ( $P < 0.05$ ). The results of this study showed that exercise combined with oleuropein consumption can improve anxiety and depression behaviors in Parkinson's rats with its antioxidant effect.

***Keywords: Anxiety, Depression, Exercise, Oleuropein, Parkinson's.***

---

1MSc Graduate, Physical Education and Sport Sciences Department, Faculty of Human, Sciences, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

2 Assistance Professor, Biology Department, Faculty of Basic Sciences, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

3 Associate Professor, Biology Department, Faculty of Basic Sciences, Izeh Branch, Islamic Azad University, Izeh, Iran (\*Corresponding author h\_doulah@yahoo.com)