

Pre-treatment aerobic exercises on cerebellar Purkinje cells in Parkinson's rats with prenatal stress

Azizi S¹, *Movahedi A², Arabameri E³, Ghasemi A⁴

Author Address

1. PhD Student of Department physical Education and Sport Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran;
2. Professor, Department of Motor Behavior, University of Isfahan, Isfahan, Iran;
3. Associate Professor, Department of Motor Behavior, Faculty of Physical Education and Sport Science, University of Tehran, Tehran, Iran;
4. Assistant Professor, Department physical Education and Sport Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding Author: armovahedi@yahoo.com

Received: 2018 August 13; Accepted: 2018 October 6

Abstract

Background & Objective: Pathophysiological and atrophic changes in the cerebellum have been proven one of the reasons for embryonic stress in Parkinson's patients. Without compensatory activity, such abnormalities can have widespread effects on the motor and non-motor movement of these patients. The aim of this study was to investigate the pre-treatment effects of aerobic exercises on Purkinje cells of cerebellum in Parkinson's rats with fetal stress.

Methods: The research method was experimental. A total of 40 pregnant Wistar rats were randomly divided into two groups with and without stress. The stress-related group was subjected to immobilization stress from day 8 to 21 for 3 hours each day. A total of 26 neonates with prenatal stress and 26 neonates with prenatal stress (30 days old) were randomly assigned to groups. There was eight groups including control group 1 (without perinatal stress, motionless, healthy, n=6), sham group 1 (without perinatal stress, motionless, n=6), sham group 2 (with perinatal stress, motionless, n=6), experimental group 1 (without perinatal stress, treatment, motionless, n=6), experimental group 2 (without perinatal stress, treatment, treadmill exercises, n=8), control group 2 (with perinatal stress, healthy, without activity, n=6), experimental group 3 (with perinatal stress, treatment, no activity, n=6), experimental group 4 (with stress perinatal, treatment, treadmill exercises, n=8). Aerobic training groups performed aerobic exercises on the treadmill five days a week for 8 weeks. In order to introduce animals with treadmill and minimize the stress of rats, they were practiced extensively on the treadmill for 3 days before the start of the protocol (3 days, 10 minutes, speed 12 meters per minute). Animals were reluctant to run on treadmill during the introduction. The main training program was progressive and included a 25-minute ran at speeds of 15 m/min in the first week and 64 minutes ran at a speed of 22 m/min in the eighth week. To create the Parkinson's model, the substantia nigra was destroyed by injecting 5µg of 6-hydroxy dopamine solution into the substantia nigra. Three weeks after surgery and Apomofin rotation test, animals sacrificed and the brain extracted from the skull, and after the procedure, tissue passage, cutting and staining, the number of cerebral pourkingia cells counted using a microscope. To normalize the distribution of dependent variables from Shapiro-wilk and assume the equality of variances, Levin test and one-way variance for intergroup change were used.

Results: Perinatal stress caused a significant decrease in the number of pourkingia cells. Therefore, the number of control cells in the control group was significantly lower than the control group without stress ($p<0.001$). However, there was no significant difference between the control and sham groups without stress and between control and sham groups with stress ($p<0.001$). Injection of 6-OHDA poison reduces the number of Parkinson's cerebral pourkingia cells And the mean number of pourkingia cells in the Parkinson's with stress and Parkinson's without prenatal groups was lower than the mean number of pourkingia cells in the control groups ($p<0.001$). This decrease was observed in Parkinson's group with prenatal stress ($p=0.011$). Parkinsonian groups with stress and no stress+aerobic training showed a significant increase in the number of porcini cerebellar cells, which showed a significant difference at the level ($p<0.001$). Prenatal stress also reduced the beneficial effects of exercise on the number of pourkingia cells in the cerebellum ($p=0.017$).

Conclusion: Prenatal stress seems to significantly reduce the number of Parkinsonian rats' pourkingia. Aerobic exercises have reduced the negative effects of prenatal stress and the reduction of the negative effects of Parkinson's on the changes in the pourkingia cells of the cerebellum. The results of the beneficial effects of aerobic activity on the protection of pourkingia cell cells in Parkinson's patients show prenatal stress.

Keywords: Pre-treatment, Purkinje cells in the cerebellum, Prenatal stress, Parkinson's disease, Aerobic exercise.

اثر پیش‌درمانی تمرینات هوازی بر سلول‌های پورکینژ مخچه رت‌های مبتلا به پارکینسون دارای استرس پریناتال

صدیقه عزیزی^۱، *احمدرضا موحدی^۲، الهه عرب عامری^۳، عبدالله قاسمی^۴

توضیحات نویسندگان

۱. دانشجوی دکتری تخصصی، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران؛

۲. استاد گروه رفتارحرکتی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران؛

۳. دانشیار گروه رفتارحرکتی، دانشگاه تهران، تهران، ایران؛

۴. استادیار، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

*ارایانامه نویسنده مسئول: amovahedi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۲۲ مرداد ۱۳۹۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۴ مهر ۱۳۹۷

چکیده

هدف: هدف پژوهش، بررسی اثر پیش‌درمانی و حفاظتی تمرینات هوازی بر سلول‌های پورکینژ مخچه رت‌های پارکینسون دارای استرس پریناتال بود.

روش‌بررسی: روش این پژوهش از نوع تجربی بود. تعداد ۴۸ نوزاد رت نر سی‌روزه که نیمی از آن‌ها تحت استرس پریناتال بودند، به‌طور تصادفی در ۸ گروه با استرس و بدون استرس (گواه، شم، پارکینسون، تمرینات هوازی + پارکینسون) قرار گرفتند. پس از ۸ هفته تمرینات هوازی، با القای 6-OHDA پارکینسونی و علائم پارکینسون توسط آزمون آپومورفین تأیید شد. مغز و مخچه نمونه‌برداری شد و درباره تعداد سلول‌های پورکینژ مطالعه بافت‌شناسی صورت گرفت. داده‌ها با استفاده از SPSS و آزمون‌های تی مستقل، آنالیز واریانس یک‌طرفه و توکی در سطح $(p \leq 0/05)$ تحلیل شد.

یافته‌ها: تعداد سلول‌های پورکینژ گروه گواه با استرس، به‌طور معناداری کمتر از گروه گواه بدون استرس بود $(p \leq 0/001)$. القای 6-OHDA، باعث کاهش تعداد سلول‌های پورکینژ گروه‌های پارکینسونی شد $(p \leq 0/001)$. این کاهش در گروه پارکینسونی با استرس پریناتال بیشتر مشاهده شد $(p \leq 0/005)$. گروه‌های پارکینسونی با و بدون استرس + تمرینات هوازی، افزایش معناداری در تعداد سلول‌های پورکینژ نشان دادند که این اختلاف $(p \leq 0/001)$ معنادار بود. استرس پریناتال باعث کاهش اثرات سودمند ورزش بر تعداد سلول‌های پورکینژ مخچه شد $(p = 0/017)$.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های پژوهش، به نظر می‌رسد استرس پریناتال به‌طور محسوسی باعث کاهش بیشتر تعداد سلول‌های پورکینژ رت‌های پارکینسونی می‌شود. تمرینات هوازی اثرات منفی استرس پریناتال را کاهش داد و نیز کاهش اثرات منفی پارکینسون بر تغییرات سلول‌های پورکینژ مخچه مشاهده شد. نتایج، نشان‌دهنده سودمند بودن تأثیر فعالیت‌های هوازی بر حفاظت سلول پورکینژ مخچه بیماران پارکینسونی دارای استرس پریناتال بود.

کلیدواژه‌ها: پیش‌درمانی، سلول‌های پورکینژ مخچه، استرس پریناتال، بیماری پارکینسون، تمرینات هوازی.

قرارگرفتن در معرض استرس پریناتال، به وسیله تأثیر بر تقسیم فعالانه سلول‌های پورکینز در طول دوره استرس‌زا، به تغییرات مورفولوژیکی و کاهش چگالی عددی نورون‌های مخچه منجر می‌شود (۷). از آنجا که کاهش انتقال گابا، هنگام استرس در مخچه ثابت شده است، استرس پریناتال می‌تواند با ایجاد سلول‌های پورکینز غیرنرمال و کاهش ارتباطات نورونی، باعث ایجاد اختلالات شود (۸).

علاوه بر این، شواهد فراوانی وجود دارد که نشان می‌دهد استرس پریناتال ممکن است اثرات طولانی‌مدتی بر ساختار و عملکرد مغز داشته باشد. بسیاری از تغییرات ایجادشده در مغز، به دلیل تغییر در نوروترنسمیتر دوپامین رخ می‌دهد. اختلال در عملکرد سیستم دوپامینرژیک باعث اختلالات عصبی همچون پارکینسون می‌شود (۹). ایتولوژی بیماری پارکینسون و عوامل مؤثر بر پیشرفت آن هنوز درک نشده است؛ اما اطلاعات ایتولوژیکی نشان می‌دهد که عوامل محیطی و سبک زندگی، مانند ورزش، ممکن است بر فرایند تخریب نورونی پیش‌رونده که به بیماری پارکینسون منجر می‌شود، مؤثر باشد (۱۰). همچنین مطالعات استریولوژی در موش صحرایی نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی در پیشگیری یا تأخیر در مرگ پورکینز اثر دارد (۱۱). اکثر مطالعات انجام‌شده، اثر محافظت نورونی ورزش را بعد از همی‌پارکینسونیسم آغاز کرده‌اند و مطالعات کمی نقش آماده‌سازی ورزش را قبل از تزریق سم در مدل‌های جوندگان بررسی کرده‌اند (۱۲). از طرفی، دانش ما درباره اثر بیماری پارکینسون بر مخچه محدود است. برای روشن شدن تغییرات ایجادشده در مخچه به علت بیماری پارکینسون و چگونگی اثرات پاتولوژیکی و جبرانی مخچه با پیشرفت اختلال، به تحقیقات بیشتری نیاز است. درک بهتر از تغییرات مخچه به علت این بیماری، ممکن است به‌طور چشمگیری به پاتوفیزیولوژی بیماری پارکینسون و رشد استراتژی‌های جدید درمانی کمک کند (۱). به‌طور طبیعی، قرارگرفتن در معرض استرس پریناتال کنترل‌ناشدنی است. با توجه به اینکه سیستم عصبی، رشد و تکامل اصلی خود را در دوران جنینی طی می‌کند، احتمال می‌رود که در معرض استرس قرارگرفتن مادر در این دوره، بر تکامل مخچه و نیز بر مستعدساختن فرزندان به بیماری پارکینسون اثر بگذارد؛ بنابراین یافتن راهکارهایی که بتواند اثرات مخرب استرس پریناتال بر بافت‌های بدن به‌ویژه مغز را مهار کند، اهمیت فوق‌العاده زیادی دارد و نیاز فوری به استراتژی‌های درمانی را اهمیت می‌بخشد. تاکنون هیچ تحقیقی به بررسی اثرات پیش‌درمانی ورزش هوازی بر بافت مخچه رت‌های پارکینسونی‌شده دارای استرس پریناتال نپرداخته است. لذا هدف از این پژوهش، نقش پیش‌درمانی تمرینات هوازی بر بافت مخچه رت‌های مبتلا به پارکینسون دارای استرس پریناتال بود.

۲ روش بررسی

روش این پژوهش از نوع تجربی بود و تمامی مراحل آن را کمیته اخلاق مرکز تحقیقات پژوهشی زکریای رازی واحد علوم و تحقیقات تهران با مجوز کد اخلاق به شماره IR.IAU.SRB.REC.1396.52 تأیید کرد. در این تحقیق، از رت‌های بزرگ نژاد ویستار (۴۰ ماده و ۲۰ نر) خریداری‌شده از انستیتو پاستور ایران با میانگین وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم

پارکینسون از شایع‌ترین بیماری‌های پیش‌رونده و مخرب دستگاه عصبی مرکزی بعد از آلزایمر است. این بیماری نورون‌های واقع در سطح عقده‌های قاعده‌ای، به‌ویژه بیشتر نورون‌های جسم سیاه را که دوپامین ترشح می‌کنند، تحت تأثیر قرار می‌دهد. دوپامین پیام عصبی را از جسم سیاه به جسم مخطط انتقال می‌دهد. انتقال این پیام باعث ایجاد تعادل در حرکات بدن می‌شود. هنگامی که سلول‌های ترشح‌کننده دوپامین در مغز میانی از بین بروند، سایر مراکز کنترل‌کننده بدن نامنظم می‌شوند. بنابراین کمبود دوپامین به اختلال حرکتی، وضعیتی و ناتوانی‌های کارکردی منجر می‌شود (۱).

تحقیقات مکانیسم پاتولوژیک بیماری پارکینسون، به‌طور عمده بر سیستم نیگرواستریاتال متمرکز شده است. برای چند دهه، یک مدل کلاسیک نقش عقده‌های قاعده‌ای را در تعدیل عملکرد قشر مغز از طریق مدارات جسم مخطط - تالاموس - کورتکس (STC) نشان داد. با این حال، مخچه از طریق ارتباط عملکردی و آناتومیکی با عقده‌های قاعده‌ای و سایر قسمت‌های قشر مغز، تأثیر فراوانی بر رفتار، برنامه‌ریزی و اجرای حرکتی و نیز دامنه وسیعی از عملکردهای شناختی و عاطفی دارد. از طرفی، مخچه جزء مهمی در کنترل حرکتی است و بر فعالیت کورتکس مغز، از طریق مدارهای مخچه - تالاموس - کورتکس (CTC)، تأثیر می‌گذارد (۲).

در بیماری پارکینسون، تغییرات در مخچه و اتصالات قشری آن ممکن است بر علائم حرکتی و غیرحرکتی این بیماری دخالت داشته باشد (۱). تغییرات پاتولوژیک مستقیم در مخچه، به علت بیماری پارکینسون، شامل آتروفی و تضعیف گیرنده‌های دوپامین در مخچه می‌شود (۳). سطح نورون‌های دوپامینرژیک کاهش یافته در جسم سیاه، با تحریک بیش از حد مداوم سلول‌های پورکینز در کورتکس مخچه ارتباط دارد (۴). سلول‌های پورکینز گاباثرژیک هستند که جزء سلول‌های اصلی مخچه‌اند و از دست دادن آن‌ها ممکن است اختلالی جدی در ارتباط CTC ایجاد کند (۲).

شواهد نشان می‌دهد که مخچه ممکن است نقش خاصی در پاتولوژی این بیماری داشته باشد؛ با این حال نقش مخچه در پاتولوژی بیماری پارکینسون به‌خوبی مشخص نشده است (۲).

استرس پریناتال ناشی از قرارگرفتن در معرض سختی‌های محیطی، فیزیکی یا اجتماعی در طی دوران بارداری، ممکن است ظرفیت تنظیم‌کنندگی طبیعی غدد درون‌ریز و سیستم عصبی و ایمنی را در جنین در حال رشد تهدید کند. آزمایش‌ها نشان داده که هورمون‌های بخش قشری غدد فوق کلیوی، می‌تواند به‌راحتی از سد جفتی عبور کند و بر فعالیت سلول‌های جنین اثر بگذارد. کاهش سرعت مهاجرت سلول‌های مغز جنین و نیز افزایش سرعت تکثیر آن‌ها، تنها قسمتی از اثرات مخرب کورتون‌ها بر مغز جنین در حال تکوین است (۵).

ساختار مخچه، هنگام تولد کامل است؛ اما پلاستیسیته شامل فرایند تشکیل آکسونی، ارتباط سیناپسی، تولید نورون جدید و تمایز، بعد از تولد نیز ادامه دارد. سلول‌های پورکینز، بزرگ‌ترین سلول‌های مخچه و سیستم عصبی‌اند که در طی مراحل رشد و تمایز خود حساسیت بسیار زیادی به عوامل مختلفی از جمله عوامل ژنتیکی، محیطی و شیمیایی

استفاده شد. پس از انتقال به محیط آزمایشگاه، به مدت یک هفته به منظور سازگاری با محیط جدید در وضعیت استاندارد آزمایشگاهی، سیکل نوری شبانه‌روزی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، از ساعت ۷ صبح تا ۱۹ شب) و دسترسی آزادانه به آب و مواد غذایی، در ۳۰ قفس نگهداری شدند (هر قفس ۲ رت). از همه رت‌های ماده، اسمیر واژینال گرفته شد تا دوره جنسی حیوانات قبل از شروع آزمایش بررسی شود. در روز پرو استرس (شروع تخمک‌گذاری)، یک نر به صورت تصادفی انتخاب شد و به منظور جفت‌گیری شبانه داخل قفس ماده‌ها قرار گرفت. پس از حصول اطمینان از جفت‌گیری (مشاهده تشکیل پلاک واژنی و مشاهده اسپرم در گسترش واژنی)، روز صفر رت بارداری تعیین و از موش‌های نر جدا شد و هرکدام از رت‌های ماده در یک قفس جداگانه نگهداری شدند.

رت‌های بارداری در هفته دوم بارداری، به دو گروه گواه و تجربی و هرکدام به تعداد ۲۰ سر تقسیم شدند. رت‌های گروه گواه هیچ‌گونه دسترسی دریافت نکردند؛ ولی گروه تجربی از روز ۸ تا ۲۱ دوره بارداری هر روز به مدت سه ساعت در داخل دستگاه restrainer از جنس پلکسی‌گلاس قابل تنظیم با وزن و جثه حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند. به منظور جلوگیری از تطابق (سازگاری) با استرس، استرس در روزهای مختلف، در ساعات مختلف اعمال شد (۱۳) و پس از اعمال استرس به قفس خود بازگردانده شدند؛ اما مادران بدون استرس پریناتال همچنان در قفس خود باقی ماندند.

پس از تولد، فرزندان همراه مادران خود، در یک محیط استاندارد تا روز ۲۱ بعد از تولد نگهداری شدند و در روز ۲۱ بعد از تولد از شیر گرفته شدند. در روز ۳۰ پس از تولد (۱۳)، از بین فرزندان هر مادر، تنها دو نوزاد نر به صورت تصادفی برای مطالعه انتخاب و پس از وزن‌کشی، ۲۶ نوزاد دارای استرس پریناتال و ۲۶ نوزاد بدون استرس پریناتال به صورت تصادفی به گروه‌های شش‌تایی تقسیم شدند: - گروه‌های گواه ۱ و ۲ که در وضعیت استاندارد زندگی کردند و هیچ‌گونه فعالیتی بر روی آن‌ها انجام نشد. - گروه‌های شم ۱ و ۲ که در این گروه از حلال سالین به جای تزریق سم 6-OHDA استفاده شد. با توجه به اینکه در تزریق نوروئوکسین، سوزن همیلتون از ساختارهای متفاوتی از مغز عبور می‌کند، هدف از طراحی این گروه، بررسی اثر تخریب احتمالی سوزن همیلتون بود. - گروه‌های پارکینسونی ۱ و ۲ که در این گروه از تزریق 6-OHDA برای القای پارکینسون استفاده شد. - گروه‌های ورزش‌هوازی + پارکینسون ۱ و ۲ که در این گروه، ۸ هفته تمرینات تردمیل بر اساس پروتکل تمرین و سپس القای پارکینسون با 6-OHDA صورت گرفت. گفتنی است عدد ۱ مشخصه بدون استرس و عدد ۲ مشخصه با استرس است. به علت نگرانی از ریزش رت‌ها در گروه‌های تمرین‌هوازی که در مطالعات انجام‌شده قبلی نشان داده شده (۱۳)، در گروه تجربی ۲ و گروه تجربی ۴، دو رت اضافی نسبت به گروه‌های تجربی دیگر انتخاب شدند. از آنجا که وزن حیوانات به دلیل وجود داشتن یا نداشتن استرس پریناتال دقیقاً یکسان نبود، برای یکسان‌سازی آزمودنی‌ها به لحاظ وزنی، ابتدا وزن‌کشی شدند و در قفس‌های جداگانه مربوط دسته‌بندی شدند. سپس

از هریک از قفس‌ها با دسته‌وزنی مشخص، یک موش به طور تصادفی انتخاب و در گروه‌های اصلی قرار داده شد و سعی بر آن شد میانگین وزنی بین گروه‌های مختلف دارای استرس تا حد ممکن به هم نزدیک باشند. همچنین میانگین وزنی بین گروه‌های مختلف بدون استرس نیز نزدیک به هم انتخاب شد.

به منظور آشناسازی حیوانات با تمرینات هوازی تردمیل و به حداقل رساندن استرس رت‌ها، ۳ روز قبل از شروع پروتکل، به صورت فزاینده بر روی تردمیل تمرین داده شدند (۳ روز، ۱۰ دقیقه، با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه). حیوانات بی‌میل به دویدن روی تردمیل، در دوره آشناسازی حذف شدند. برنامه گرم‌کردن در ابتدای هر جلسه تمرینی، شامل ۳ دقیقه دویدن با سرعت ۷ متر بر دقیقه و افزایش سرعت در هر دقیقه ۲ متر در دقیقه تا رسیدن به سرعت مدنظر بود. گروه تمرین، ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته روی تردمیل به انجام دادن تمرینات هوازی (دویدن) پرداختند. برنامه تمرینی اصلی به صورت پیش‌رونده و شامل ۲۵ دقیقه دویدن با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در هفته اول آغاز و تا ۶۴ دقیقه دویدن با سرعت ۲۲ متر در دقیقه در هفته هشتم ادامه داده شد (۱۴).

پس از اتمام پروتکل تمرین، حیوانات با کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند و جراحی استریوتاکس و تزریق سم ۶- هیدروکسی دوپامین بر روی آن‌ها انجام شد. با توجه به اطلس Paxinos و Watson مشخصات تزریق به قرار زیر است: ۹/۲+ میلی‌متر قدامی- خلفی، ۳- میلی‌متر جانبی و ۴/۵ میلی‌متر شکمی. میله داندانی ۳/۳ میلی‌متر پایین‌تر از سطح افقی تنظیم شد (۱۵). بعد از سوراخ کردن محل مدنظر با استفاده از دریل دستی، ۶ میکروگرم نوروئوکسین 6-OHDA (خریداری شده از شرکت سیگما آمریکا) در ۲ میلی‌مول از محلول نرمال سالین ۰/۹ درصد، حاوی ۰/۱ میلی‌مول اسید اسکوربیک ۰/۲ درصد، به صورت یک‌طرفه در جسم سیاه نیم‌کره چپ با استفاده از سرنگ همیلتون ۱۰ میکرولیتری که به پمپ تزریق نصب شده بود، تزریق شد. سرعت تزریق ۰/۳۳ میکرو لیتر در دقیقه بود. برای جلوگیری از بازگشت محلول به درون سرنگ و انتشار بهتر محلول در مغز، سوزن به مدت ۷ دقیقه پس از تزریق در جای خود قرار داده شد.

در گروه‌های شم ۵ میلی‌مول محلول نرمال سالین ۰/۹ درصد، حاوی ۰/۱ اسید اسکوربیک ۰/۲ درصد به داخل جسم سیاه (در ناحیه چپ) آن‌ها تزریق شد. سپس سر حیوانات بخیه زده شد و حیوانات جراحی‌شده در قفس‌های جداگانه مراقبت شدند. برای بررسی میزان اثر سم ۶- هیدروکسی دوپامین و تأیید این موضوع که با تزریق ۶- هیدروکسی دوپامین موش‌ها پارکینسونی می‌شوند، سه هفته پس از تزریق نوروئوکسین از تست چرخشی آپومورفین استفاده شد (۱۶).

به منظور بررسی رفتار چرخشی در ۳ هفته بعد از جراحی، توسط تزریق ۰/۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، هیدروکلراید آپومورفین محلول در سالین به صورت زیرجلدی انجام گرفت. ابتدا حیوانات به مدت ۱۵ دقیقه قبل از شروع آزمایش، به منظور آشنایی با محیط انجام تست، در یک محفظه استوانه‌ای از جنس پلکسی‌گلاس (۳۳ سانتی‌متر قطر، ۳۵ سانتی‌متر ارتفاع) قرار گرفتند. یک دقیقه پس از تزریق دارو، مجدداً در داخل استوانه قرار گرفتند و تعداد کل

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: در این پژوهش با استفاده از برنامه SPSS نسخه ۲۰، پس از انجام دادن آزمون شاپیرو-ویلک و تأیید نرمال بودن توزیع داده‌ها، از آزمون‌های پارامتریک استفاده شد. به منظور بررسی تفاوت‌های موجود در بین گروه‌های تجربی و گواه با و بدون استرس پری‌ناتال، در ارتباط با متغیر وزن بدن رت‌ها در ۳۰ روزگی از آزمون تی مستقل در سطح $(p \leq 0/05)$ و به منظور تعیین وجود اختلاف معنادار متغیرهای وزن بدن در ۱۶ هفته‌گی، آزمون چرخش آپومورفین، وزن مخچه، مغز و تعداد سلول‌های پورکینژ از تحلیل واریانس یک طرفه و همچنین در صورت مشاهده اختلاف معنادار از آزمون تعقیبی توکی در سطح $(p \leq 0/05)$ استفاده شد.

۳ یافته‌ها

همان گونه که در جدول ۱ می‌توان مشاهده کرد، نتایج حاصل از توزین بدن بین گروه‌های با و بدون استرس پری‌ناتال در ۳۰ روزگی، اختلاف معناداری را نشان داد $(p \leq 0/05)$ (جدول ۱)؛ در حالی که اختلاف معناداری در میانگین وزن حیوانات ۱۶ هفته در هیچ‌یک از گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد $(p \geq 0/05)$ (جدول ۱). نتایج حاصل شده از توزین مغز و مخچه، اختلاف قابل ملاحظه‌ای را در وزن مرطوب مغز و مخچه بین گروه‌های گواه ۱ (سالم بدون استرس)، شم ۱ (بدون استرس)، گواه ۲ (سالم با استرس) و شم ۲ (با استرس) نشان نداد $(p \geq 0/05)$ (جدول ۱). به عبارت دیگر، استرس باعث کاهش معنادار وزن مغز و مخچه نشد. در حالی که وزن مرطوب مغز و مخچه در گروه‌های پارکینسونی با و بدون استرس پری‌ناتال کمتر از وزن آن‌ها در حیوانات گروه گواه ۱ و ۲ بود $(p \leq 0/05)$. همچنین وزن مرطوب مغز و مخچه در گروه‌های پارکینسونی با و بدون استرس پری‌ناتال کمتر از وزن آن در گروه‌های پارکینسونی با استرس و بدون استرس پری‌ناتال + تمرینات هوازی بود $(p \leq 0/05)$. به عبارت دیگر، ورزش باعث افزایش معناداری در وزن مرطوب مغز و مخچه در گروه‌های پارکینسونی با و بدون استرس پری‌ناتال + تمرینات هوازی شد (جدول ۱).

چرخش‌های کامل (۳۶۰ درجه) انجام شده در جهت موافق و مخالف سمت آسیب دیده جسم سیاه در طی یک دوره ۳۰ دقیقه‌ای با استفاده از نوار ویدئویی ضبط و سپس توسط محقق شمارش شد. تعداد چرخش‌ها به سمت چپ، به عنوان عدد منفی و چرخش‌ها به سمت راست به عنوان عدد مثبت در نظر گرفته شد. تعداد چرخش سمت آسیب دیده از سمت مخالف تفریق شد که بیانگر تعداد چرخش خالص به سمت مخالف است. چرخش بیشتر به سمت مخالف قسمت آسیب دیده نشان دهنده شدت آسیب از نظر از دست دادن سلول‌های دوپامینرژیک است (۱۶). پس از تأیید آسیب جسم سیاه و پارکینسونی شدن حیوانات توسط آزمون آپومورفین، موش‌ها با دوز مناسب اِتر بیهوش شدند و پس از وزن کردن، به منظور نمونه برداری از حیوان، بافت مغز و مخچه به طور یکپارچه و کامل از داخل حفره جمجمه به دقت خارج شد و با ترازوی حساس توزین شد. نمونه‌های مخچه و نیم‌کره چپ مغز، به مدت ۴ روز در محلول فیکساتور (فرمالین ۱۰ درصد) قرار گرفتند و سپس مراحل پاساژ بافتی توسط دستگاه tissue processor شامل فیکس کردن، آبگیری، شفاف سازی و آغشتگی انجام شد. بلوک‌های پارافینی تهیه و برش‌های سریالی نازکی به ضخامت ۵ میکرومتر توسط دستگاه میکروتوم دوار به صورت مقطع گیری کورونال از کل بافت مخچه به صورت سریالی تهیه شد. در نهایت از هر نمونه، ۵ برش در قسمت قدامی، میانی و خلفی بافت مخچه به صورت تصادفی سیستماتیک یکنواخت انتخاب شد؛ به طوری که تمامی بافت را شامل و بر لام چسبانده شود و لام‌ها به روش هماتوکسیلین انئوزین رنگ آمیزی شدند. تصویربرداری میکروسکوپی با میکروسکوپ WI Tokyo, Japan, Olympus, BX51 انجام شد. سپس عکس‌ها از نظر تعداد سلول‌های پورکینژ به وسیله نرم افزار موتیک بررسی شدند. شمارش تعداد سلول‌های پورکینژ با استفاده از میکروسکوپ کالیبره با بزرگ‌نمایی ۴۰X انجام شد. در نهایت شمارش تعداد سلول‌های پورکینژ توسط دو نفر به صورت مجزا (دوسوکور) و با مساحتی به ابعاد ۸ × ۸ mm ۲ انجام شد.

جدول ۱. مقایسه میانگین وزن بدن در ۳۰ روزگی و ۱۶ هفته‌گی و وزن مرطوب مغز و مخچه در گروه‌های مورد مطالعه

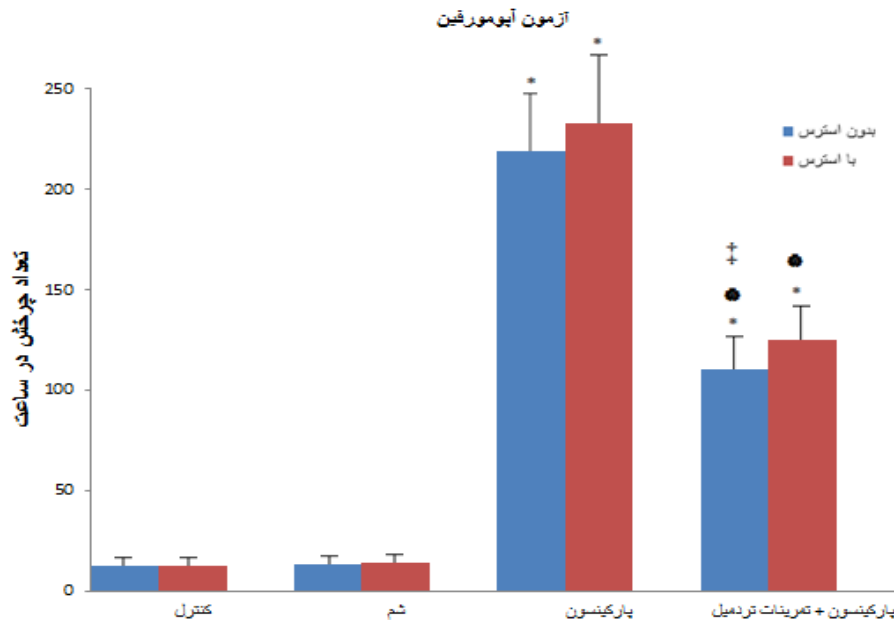
گروه	وزن بدن (۳۰ روزگی) میانگین ± انحراف معیار	وزن بدن (۱۶ هفته‌گی) میانگین ± انحراف معیار	وزن مرطوب مغز میانگین ± انحراف معیار	وزن مرطوب مخچه میانگین ± انحراف معیار
گواه ۱	۷۰/۲۲ ± ۲/۲	۳۱۲/۴۱ ± ۲۲/۹۹	۲/۰۲ ± ۰/۰۵۰	۰/۲۸۵ ± ۰/۰۲۱
شم ۱	۷۱/۷۴ ± ۱/۲۹	۳۰۷/۳۴ ± ۲۵/۶۴	۲/۰۰ ± ۰/۰۵۸	۰/۲۸۸ ± ۰/۰۲۹
پارکینسون ۱	۶۹/۹۹ ± ۱/۶۸	۳۱۳/۴۴ ± ۱۹/۰۱	۱/۸۴ ± ۰/۰۳۰	۰/۲۳۰ ± ۰/۰۱۱
تمرینات هوازی + پارکینسون ۱	۷۲/۵۲ ± ۱/۷۲	۳۰۶/۳۴ ± ۲۳/۴۳	۱/۹۵ ± ۰/۰۳۶	۰/۲۷۶ ± ۰/۰۳۵
گواه ۲	۶۰/۷۷ ± ۱/۶۸	۳۱۰/۲۸ ± ۳۰/۰۵	۲/۰۱ ± ۰/۰۵۱	۰/۲۸۵ ± ۰/۰۱۳
شم ۲	۶۱/۲۲ ± ۲/۵۴	۳۰۷/۵۰ ± ۲۸/۶۰	۲/۰۲ ± ۰/۰۲۱	۰/۲۸۳ ± ۰/۰۱۳
پارکینسون ۲	۶۳/۰۳۲ ± ۲/۸۰	۳۱۷/۷۱ ± ۲۰/۶۲	۱/۸۳ ± ۰/۰۳۲۰	۰/۲۳۱ ± ۰/۰۱۵
تمرینات هوازی + پارکینسون ۲	۶۱/۲۲ ± ۲/۲۱	۲۹۸۷/۳۶ ± ۲۶/۹۷	۱/۹۴ ± ۰/۰۴۳	۰/۲۷۴ ± ۰/۰۲۴

نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه در آزمون چرخشی آپومورفین؛ تفاوت معناداری را بین گروه‌های مورد پژوهش نشان داد $(p \leq 0/001)$. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد در تمامی گروه‌هایی

که تحت تأثیر نوروتوکسین قرار گرفتند، درجات مختلفی از چرخش القاشده با سم ۶- هیدروکسی دوپامین مشاهده شد. به طوری که تمامی گروه‌های پارکینسونی نسبت به گروه گواه ۱ (سالم- بدون استرس

پریناتال) در آزمون چرخش آپومورفین افزایش معنی‌داری داشتند ($p \leq 0/001$) که نشان‌دهنده اثر سم ۶-هیدروکسی دوپامین در ایجاد بیماری پارکینسون است. در حالی که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های گواه با و بدون استرس پریناتال و نیز شم با و بدون استرس پریناتال مشاهده نشد ($p \geq 0/05$). به عبارت دیگر، استرس پریناتال بر میزان چرخش آپومورفین اثری ندارد و نیز تأثیر تمرینات هوازی نتوانست از

مرگ سلول‌های جسم سیاه در آزمون آپومورفین جلوگیری کند ($p \leq 0/001$)؛ اما در گروه‌های تمرینات هوازی + پارکینسون با و بدون استرس پریناتال تعداد چرخش‌ها به‌طور معناداری کمتر از گروه پارکینسونی با و بدون استرس پریناتال بود ($p \leq 0/001$) و نیز استرس پریناتال باعث کاهش اثرات سودمند ورزش بر چرخش آپومورفین شد ($p = 0/044$) (نمودار ۱).



نمودار ۱. مقایسه میانگین تعداد چرخش به سمت راست (کنترل‌ال) ناشی از القای آپومورفین در هشت گروه موردآزمایش (با استرس و بدون استرس) (*): نشانه اختلاف معناداری نسبت به گروه گواه ($p \leq 0/05$)، (†): نشانه اختلاف معناداری نسبت به گروه پارکینسون بدون تمرین ($p \leq 0/05$)، (‡): نشانه اختلاف معناداری نسبت به گروه پارکینسون + تمرین با استرس ($p \leq 0/05$).

مطالعه بافت‌شناسی و شمارش سلولی: نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه برای میانگین تعداد سلول‌های پورکینز گروه‌های موردآزمایش نشان می‌دهد که تفاوت بین گروه‌ها در تعداد سلول‌های پورکینز معنادار است ($p \leq 0/001$). با توجه به تفاوت داشتن گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی برای مشخص کردن تفاوت هر گروه با سایر گروه‌ها استفاده شد. نتایج حاصل از آزمون تعقیبی توکی نشان داد که استرس پریناتال گروه گواه با استرس (گواه ۲) سبب کاهش معنادار تعداد سلول‌های پورکینز قشر مخچه نسبت به گروه گواه بدون استرس (گواه ۱) شد ($p \leq 0/001$)؛ اما هیچ‌گونه اختلاف چشمگیری بین گروه‌های گواه و شم بدون استرس (گواه ۱، شم ۱) با همدیگر مشاهده نشد. همچنین بین گروه گواه و شم با استرس (گواه ۲، شم ۲) نیز اختلاف از نظر آماری معنادار نبود؛ در حالی که داده‌ها نشان داد تزریق سم عصبی باعث کاهش تعداد سلول‌های پورکینز مخچه گروه پارکینسونی شد و میانگین تعداد سلول‌های پورکینز در گروه پارکینسونی با استرس ($1/33813 \pm 0/1749$) و گروه پارکینسونی بدون استرس پریناتال ($2/4906 \pm 0/3740$) کمتر از میانگین تعداد سلول‌های پورکینز در گروه‌های گواه ۱ ($8/8100 \pm 0/7100$) و گواه ۲ ($6/7200 \pm 0/6470$) بود ($p \leq 0/001$) و نیز اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های پارکینسونی با و بدون استرس پریناتال مشاهده شد ($p = 0/011$). به عبارت دیگر، استرس پریناتال باعث کاهش بیشتر قرارگرفتن در معرض استرس پریناتال می‌تواند میانگین تعداد

تعداد سلول‌های پورکینز در رت‌های پارکینسونی دارای استرس شد و گروه‌های پارکینسونی با و بدون استرس پریناتال دریافت‌کننده تمرینات هوازی، افزایش معناداری را در تعداد سلول‌های پورکینز قشر مخچه نشان دادند که این اختلاف از نظر آماری معنادار بود ($p \leq 0/001$). به عبارت دیگر، تمرینات هوازی باعث کاهش اثر تخریبی ناشی از القای سم ۶-هیدروکسی دوپامین هیدرو کلراید بر کاهش تعداد سلول‌های پورکینز قشر مخچه شد. در حالی که تفاوت معناداری بین گروه‌های تمرین هوازی + پارکینسون با و بدون استرس پریناتال و نیز گروه‌های پارکینسونی با و بدون استرس پریناتال مشاهده شد ($p = 0/017$). به عبارت دیگر، استرس پریناتال باعث کاهش اثرات سودمند ورزش بر میانگین تعداد سلول‌های پورکینز گردید.

۴ بحث

با وجود اینکه مخچه از اولین ساختارهای مغز است که تمایز می‌یابد، از آخرین قسمت‌هایی است که بالغ می‌شود؛ بنابراین، این رشد و نمو طولانی آن را، به‌ویژه به اختلالات طول دوره بارداری، حساس کرده است (۱۷). ترشح بیش از حد گلوکوکورتیکوئیدها در خون توسط فعالیت محور HPA به‌دنبال استرس، باعث ایجاد استرس اکسیداتیو سلولی می‌شود (۵). در تحقیق حاضر، تعداد سلول‌های پورکینز قشر مخچه در گروه‌های مختلف بررسی شد. طبق مطالعه حاضر، قرارگرفتن در معرض استرس پریناتال می‌تواند میانگین تعداد

سلول‌های پورکینز در قشر مخچه را کاهش دهد.

استرس پری‌ناتال به افزایش کورتیکوسترون و در نتیجه کاهش انتشار عوامل نروتروفیک منجر می‌شود (۱۸). وندن و همکاران نشان دادند که فاکتورهای نروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) در فرزندان دارای استرس پری‌ناتال کاهش می‌یابد (۱۹). BDNF علاوه بر آثار حفاظت عصبی نورون‌ها در برابر آسیب‌ها و بیماری‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز دارد. در تحقیقی، ماباندلا و همکاران نشان دادند که افزایش کورتیکوسترون در زمان قبل از تولد، بر ساختار مخچه تأثیر داشته و سبب کاهش تعداد سلول‌های پورکینز مخچه موش‌های دارای استرس پری‌ناتال می‌شود (۱۸)؛ بنابراین در پژوهش حاضر، یکی دیگر از دلایل احتمالی کاهش سلول‌های پورکینز در گروه استرس پری‌ناتال می‌تواند سطوح بالای کورتیکوسترون و کاهش سطوح فاکتورهای نروتروفیک باشد.

از دیگر یافته‌های بررسی حاضر، تحلیل عصبی سلول‌های پورکینز مخچه به علت بیماری پارکینسون بود. در گروه‌های پارکینسونی، کاهش تعداد سلول‌های پورکینز نسبت به گروه گواه با و بدون استرس پری‌ناتال مشاهده شد که با نتایج وو و همکاران (۲) هم‌راستاست و نیز استرس پری‌ناتال باعث کاهش بیشتر تعداد سلول‌های پورکینز در گروه پارکینسونی با استرس پری‌ناتال شد. به‌طور کلی، کاهش تعداد سلول می‌تواند ناشی از کاهش فعالیت هسته‌ای آن و در نتیجه فعالیت متابولیکی سلول باشد و همچنین با توجه به اینکه سلول‌های پورکینز بزرگ‌ترین سلول‌های عصبی هستند، این موضوعات می‌تواند دلایلی بر کاهش وزن مخچه در گروه‌های پارکینسونی با و بدون استرس پری‌ناتال باشند.

از دیگر دلایل کاهش تعداد سلول‌های پورکینز این است که آسیب به جسم سیاه با ۶- هیدروکسی دوپامین، ارتباط مستقیم بین نورون‌های دوپامینرژیک مزانسفال و کورتکس مخچه را از بین می‌برد می‌تواند مکانیسم‌های جبرانی مخچه برای تغییر علائم حرکتی ناشی از قطع نیگرو استریاتال باشد (۲)؛ همان‌طور که موش‌های گروه‌های پارکینسونی تحقیق حاضر نیز در چرخش آپومورفین نشان دادند.

سلول‌های پورکینز گابا‌رژیک هستند. آن‌ها سلول‌های اصلی مخچه‌اند که از دست دادن آن‌ها ممکن است اختلالی جدی در ارتباط (CTC) ایجاد کند (۲). اثر مهار سلول‌های پورکینز بر قشر حرکتی اولیه از طریق هسته‌های دندان‌دار و تالاموس جانبی شکمی، خروجی تحرکی به قشر حرکتی را که به اصلاح حرکتی منجر می‌شود، کاهش می‌دهد (۲۰). انتظار می‌رود کاهش سلول‌های پورکینز به بازسازی هسته عمیق مخچه منجر شود تا باعث افزایش خروجی تحرکی به تالاموس با افزایش هم‌زمان در خروجی تالاموس- قشر مغز شود (۲۰)؛ بنابراین ما استنباط کردیم که کاهش سلول‌های پورکینز به تغییرات رفتاری غیرمعمولی در مدل موش پارکینسونی می‌انجامد و این تغییرات ممکن است با اختلالات حرکتی بیماری پارکینسون ارتباط داشته باشد.

نتایج پژوهش حاضر همچنین نشان داد تمرینات هوازی، آسیب وارده به مخچه را در گروه‌های پارکینسونی با و بدون استرس پری‌ناتال کاهش داد و باعث حفظ قابل‌توجه سلول‌های پورکینز در این گروه‌ها شد. مطالعات حیوانی همراه با مطالعات انسانی نشان می‌دهند که به‌طور

کلی فعالیت جسمانی باعث بهبود عملکرد از طریق تغییر ساختار سلول‌های پورکینز در سالمندان می‌شود. ورزش می‌تواند آثار حفاظت عصبی را اعمال کند و نورون‌ها و آنژیوژنز را افزایش دهد. چنان‌که نشان داده شده، ورزش باعث اجرای حرکتی بهتر می‌شود و از زوال سلول‌های پورکینز تحت حالات پاتولوژیکی مختلف جلوگیری می‌کند (۲۱).

در تحقیق مدل موش‌های پارکینسونی شده در معرض استرس پری‌ناتال، اثر حفاظتی ورزش اختیاری بر جسم سیاه نشان داده شده است و اثرات مفید ورزش به‌عنوان بهبود در عملکرد حرکتی نمایان شده است (۲۲). نتایج این مطالعه نیز اثرات تمرینات هوازی را به‌وسیله کاهش کمتر تعداد سلول‌های پورکینز و چرخش کمتر به سمت راست در آزمون آپومورفین در پی تزریق ۶- هیدروکسی دوپامین تأیید می‌کند.

یکی از روش‌های دیگر پلاستیسیته مخچه و مقاومت در برابر سم عصبی، ممکن است توسط جایگزینی سایر نروتروفیک میانجی شده باشد؛ برای مثال عامل نروتروفیک دوپامین مغزی (CDNF) که با فعالیت محافظت نورونی و بازیابی عصبی همراه است و توانایی حفاظت از عملکرد سلول‌های دوپامینرژیک را در موش‌های مدل پارکینسونی دارد، عمدتاً در سلول‌های عصبی سیستم مرکزی از جمله قشر مغز، مغز میانی، مخچه، جسم سیاه و جسم مخطط توزیع شده است و ممکن است به‌عنوان عامل درمانی بالقوه برای پیش‌درمان پارکینسون عمل کند. یکی از راه‌های افزایش نروتروفین‌ها اجرای برنامه‌های ورزشی است. تمرینات هوازی عامل‌های نروتروفیک را در نواحی مختلف سیستم عصبی مرکزی و محیطی افزایش می‌دهد (۲۳). فاکتور نروتروفیک مشتق‌شده از سلول گلیال (GDNF) نیز به‌طور عمده در سلول‌های پورکینز مخچه تولید و متمرکز می‌شود. GDNF قوی‌ترین عامل بقا و عامل تمایز برای کشت سلول‌های پورکینز شرح داده شد و ورزش اثر قوی بر تولید آن دارد (۲۴). بنابراین، به نظر می‌رسد تمرین ورزشی، از طریق افزایش محتوای نروتروفین‌ها در مغز نقش پیشگیرانه‌ای در برابر بیماری پارکینسون و کاهش تعداد سلول‌های پورکینز قشر مخچه داشته باشد؛ بنابراین یکی از دلایل احتمالی اثر سودمند تمرینات هوازی بر حفظ سلول‌های پورکینز، ممکن است افزایش سطح عوامل نروتروفیک باشد.

از دیگر نتایج تحقیق حاضر، کاهش اثرات سودمند تمرینات هوازی بر تعداد سلول‌های پورکینز قشر مخچه رت‌های مبتلا به پارکینسون به‌دلیل استرس پری‌ناتال بود که با نتایج ماباندلا و همکاران (۲۲) و هندریکس و همکاران (۲۵) هم‌سو است. همچنان که هندریکس و همکاران نشان داده‌اند، استرس در اوایل زندگی مانند جدایی از مادر، باعث تغییرات انطباقی در مکانیزم‌های عصبی می‌شود که اثرات سوء بر نوروپلاستیسیته مغز در بزرگسالی دارد و این استرس ممکن است پاسخ انطباقی به ورزش در جسم مخطط را که هدف اصلی نورون‌های دوپامین است، کاهش دهد. کودکانی که در معرض استرس در طی رشد هستند، ممکن است مستعد اختلالات تخریب نورونی در بزرگسالی شوند.

در فرایند مرگ سلول‌های دائمی یا نورونی که باعث تشکیل اجسام آپوپتیک و تغییر موقعیت هسته در سلول می‌شود، فاکتورهای سلولی و مولکولی زیادی نقش دارند؛ به‌طوری که چندین ژن فعال می‌شوند که

سلول‌های پورکینز را کاهش داده، در نتیجه باعث کاهش اختلالات حرکتی در این بیماران شود و در آخر در نظر گرفتن هزینه‌های پزشکی و اجتماعی بالا برای بیماران پارکینسونی و افزایش اختلالات عملکردی مخیچه به دلیل استرس پریناتال در این بیماران ایجاب می‌کند که مادران باردار به دور از استرس نگه داشته شوند و حمایت و همدلی بهتری از تمامی بخش‌های جامعه در دوران بارداری دریافت کنند.

۶ تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر برگرفته از نتایج رسالهٔ مقطع دکتری رشد حرکتی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران بود. از استادان راهنما، مشاور و مسئول آزمایشگاه‌های علوم جانوری و بافت‌شناسی زکریای رازی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات و تمامی افرادی که در انجام‌دادن این تحقیق ما را یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌کنیم.

از مهم‌ترین این ژن‌ها ژن P53 است (۲۶)؛ لذا برای بررسی بیشتر اثرات ورزش بر روی نورون‌های پورکینز حیوانات پارکینسونی‌شده با و بدون استرس پریناتال، پیشنهاد می‌شود در سطح مولکولی بیان ژن‌هایی که در بقا یا مرگ نورون‌های پورکینز فعال می‌شوند، مطالعه شود.

۵ نتیجه‌گیری

از آنجا که مخیچه مرکز تعادل و هماهنگ‌کننده حرکات بدن است، این تغییرات می‌توانند در تعادل و هماهنگی حرکات بدن اختلال ایجاد کنند. افزایش پلاستیسیته عصبی و نورونز سلولی ممکن است روش پیش‌درمانی مؤثری در بیماری پارکینسون و تأثیرات درمانی برای کاهش اثرات استرس پریناتال در این بیماران باشد. به نظر می‌رسد ورزش می‌تواند اثرات مخرب استرس پریناتال و بیماری پارکینسون بر

References

1. Wu T, Hallett M. The cerebellum in Parkinson's disease. *Brain*. 2013;136(3):696-709. doi:[10.1093/brain/aws360](https://doi.org/10.1093/brain/aws360)
2. Wu C, Fan G, Yu G, Li Z. Morphologic changes within the cerebellar cortex in the unilateral 6-hydroxydopamine lesioned rat model for Parkinson disease. *Histol Histopathol*. 2016;31(12):1337-46. doi:[10.14670/HH-11-760](https://doi.org/10.14670/HH-11-760)
3. Borghammer P, Østergaard K, Cumming P, Gjedde A, Rodell A, Hall N, et al. A deformation-based morphometry study of patients with early-stage Parkinson's disease. *Eur J Neurol*. 2010;17(2):314-20. doi:[10.1111/j.1468-1331.2009.02807.x](https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2009.02807.x)
4. Hurley MJ, Mash DC, Jenner P. Markers for dopaminergic neurotransmission in the cerebellum in normal individuals and patients with Parkinson's disease examined by RT-PCR. *Eur J Neurosci*. 2003;18(9):2668-72. doi:[10.1046/j.1460-9568.2003.02963.x](https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02963.x)
5. Fujioka T, Sakata Y, Yamaguchi K, Shibasaki T, Kato H, Nakamura S. The effects of prenatal stress on the development of hypothalamic paraventricular neurons in fetal rats. *Neuroscience*. 1999;92(3):1079-88. doi:[10.1016/s0306-4522\(99\)00073-1](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(99)00073-1)
6. Fonnum F, Lock E. Cerebellum as a target for toxic substances. *Toxicology letters*. 2000;112:9-16. doi:[10.1016/S0378-4274\(99\)00246-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(99)00246-5)
7. Glover V, Bergman K, Sarkar P, O'Connor TG. Association between maternal and amniotic fluid cortisol is moderated by maternal anxiety. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34(3):430-5. doi:[10.1016/j.psyneuen.2008.10.005](https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2008.10.005)
8. De Souza EB. Corticotropin-releasing factor receptors: physiology, pharmacology, biochemistry and role in central nervous system and immune disorders. *Psychoneuroendocrinology*. 1995;20(8):789-819. doi:[10.1016/0306-4530\(95\)00011-9](https://doi.org/10.1016/0306-4530(95)00011-9)
9. Kinney DK, Munir KM, Crowley DJ, Miller AM. Prenatal stress and risk for autism. *Neurosci Biobehav Rev*. 2008;32(8):1519-32. doi:[10.1016/j.neubiorev.2008.06.004](https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.06.004)
10. Chen H, Zhang S, Schwarzschild M, Hernan M, Ascherio A. Physical activity and the risk of Parkinson disease. *Neurology*. 2005;64(4):664-9. doi:[10.1212/01.WNL.0000151960.28687.93](https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000151960.28687.93)
11. Larsen JO, Skalicky M, Viidik A. Does long-term physical exercise counteract age-related Purkinje cell loss? A stereological study of rat cerebellum. *Journal of Comparative Neurology*. 2000;428(2):213-22. doi:[10.1002/1096-9861\(20001211\)428:2<213::AID-CNE2>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/1096-9861(20001211)428:2<213::AID-CNE2>3.0.CO;2-Q)
12. Landers MR, Kinney JW, Allen DN, van Breukelen F. A comparison of voluntary and forced exercise in protecting against behavioral asymmetry in a juvenile hemiparkinsonian rat model. *Behav Brain Res*. 2013;248:121-8. doi:[10.1016/j.bbr.2013.04.002](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.04.002)
13. McCreary JK, Metz GA. Environmental enrichment as an intervention for adverse health outcomes of prenatal stress. *Environ Epigenet*. 2016;2(3). doi:[10.1093/eep/dvw013](https://doi.org/10.1093/eep/dvw013)
14. Shahandeh M, Sarkisian V, Dabidi RV, Mahjoub S. Can aerobic training restore the level of BDNF in the hippocampus of rats exposed to lead acetate? *The New Armenian Medical Journal*. 2011;5(4):4-11.
15. Šumec R, Filip P, Sheardová K, Bareš M. Psychological benefits of nonpharmacological methods aimed for improving balance in Parkinson's disease: a systematic review. *Behav Neurol*. 2015;2015.

- doi:[10.1155/2015/620674](https://doi.org/10.1155/2015/620674)
16. Anastasia A, Torre L, De Erausquin GA, Mascó DH. Enriched environment protects the nigrostriatal dopaminergic system and induces astroglial reaction in the 6-OHDA rat model of Parkinson's disease. *J Neurochem.* 2009;109(3):755-65. doi:[10.1111/j.1471-4159.2009.06001.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06001.x)
 17. Ulupinar E. Effects of prenatal stress on developmental anatomy of the brain and adult behavioural pathology. *Anatomy.* 2009;3(1):3-13. doi:[10.2399/ana.09.034](https://doi.org/10.2399/ana.09.034)
 18. Mabandla MV, Dobson B, Johnson S, Kellaway LA, Daniels WM, Russell VA. Development of a mild prenatal stress rat model to study long term effects on neural function and survival. *Metab Brain Dis.* 2008;23(1):31-42. doi:[10.1007/s11011-007-9049-2](https://doi.org/10.1007/s11011-007-9049-2)
 19. Van den Hove D, Steinbusch H, Scheepens A, Van de Berg W, Kooiman L, Boosten B, et al. Prenatal stress and neonatal rat brain development. *Neuroscience.* 2006;137(1):145-55. doi:[10.1016/j.neuroscience.2005.08.060](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.08.060)
 20. Holdefer R, Miller L, Chen L, Houk J. Functional connectivity between cerebellum and primary motor cortex in the awake monkey. *J Neurophysiol.* 2000;84(1):585-90. doi:[10.1152/jn.2000.84.1.585](https://doi.org/10.1152/jn.2000.84.1.585)
 21. Uhlendorf TL, Van Kummer BH, Yaspelkis III BB, Cohen RW. Neuroprotective effects of moderate aerobic exercise on the spastic Han–Wistar rat, a model of ataxia. *Brain research.* 2011;1369:216-22. doi:[10.1016/j.brainres.2010.10.094](https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.10.094)
 22. Mabandla MV, Kellaway LA, Daniels WM, Russell VA. Effect of exercise on dopamine neuron survival in prenatally stressed rats. *Metab Brain Dis.* 2009;24(4):525-39. doi: [10.1007/s11011-009-9161-6](https://doi.org/10.1007/s11011-009-9161-6)
 23. Ma X, Hamadeh MJ, Christie BR ,Foster JA, Tarnopolsky MA. Impact of treadmill running and sex on hippocampal neurogenesis in the mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *PloS one.* 2012;7(4):e36048. doi:[10.1371/journal.pone.0036048](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036048)
 24. Falvo MJ, Schilling BK, Earhart GM. Parkinson's disease and resistive exercise :rationale, review, and recommendations. *Movement disorders.* 2008;23(1):1-11. doi:[10.1002/mds.21690](https://doi.org/10.1002/mds.21690)
 25. Hendricks S, Ojuka E, Kellaway LA, Mabandla MV, Russell VA. Effect of maternal separation on mitochondrial function and role of exercise in a rat model of Parkinson's disease. *Metab Brain Dis.* 2012;27(3):387-92. doi:[10.1007/s11011-012-9305-y](https://doi.org/10.1007/s11011-012-9305-y)
 26. Golmohammadi R, Namazi MJ, Nikbakht M, Salehi M, Derakhshan MH. Characterization and prognostic value of mutations in exons 5 and 6 of the p53 gene in patients with colorectal cancers in central Iran. *Gut Liver.* 2013;7(3):295-302. doi:10.5009/gnl.2013.7.3.295

