Journal of North Khorasan University of Medical Sciences
No 67, Volume 17, Issue 3

Check for updates

Original Article

Effect of Aerobic Training on TLR4 and NLRP3 Gene Expression in the Cerebellum of Rat Models of Parkinson's Disease

Somayeh Bakhtiari Dehbalaei[1], Hojat Pasandideh Fetrat[1], Abdolhossein Taheri Kalani[2*], Mahnaz Omidi[2]

[1] Master of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Il.C, Islamic Azad University, Ilam, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Il.C, Islamic Azad University, Ilam, Iran

***Corresponding author:** Abdolhossein Taheri Kalani, Department of Exercise Physiology, Il.C, Islamic Azad University, Ilam, Iran. Email: htaheriedu@gmail.com

DOI: 10.22034/nkums.17.3.54

How to Cite this Article:
Bakhtiari Dehbalaei S, Pasandideh Fetrat H, Taheri Kalani A, Omidi M. Effect of Aerobic Training on TLR4 and NLRP3 Gene Expression in the Cerebellum of Rat Models of Parkinson's Disease J North Khorasan Univ Med Sci. 2025;17(3): 54-61. DOI: 10.22034/nkums.17.3.54

Received: 05 January 2025
Accepted: 05 March 2025

Keywords:
Aerobic exercise, Cerebellum, Neuroinflammation, Parkinson's disease

Abstract

Introduction: Extensive human and animal studies have demonstrated the role of inflammation in the initiation and development of Parkinson's disease (PD). The present study aimed to compare the effect of two types of aerobic training on the gene expression of the TLR4 and NLRP3 inflammatory pathways in the cerebellum of rat models of PD.

Method: In this experimental study, 28 male Wistar rats were randomly divided into four groups: control, Parkinson, Parkinson+continuous training (CT), and Parkinson+interval training (IT). The PD was induced by injecting 2 mg/kg rotenone in animals, CT consisted of 15-40 min, and IT included 2-6 sets running on the treadmill at a speed of 10-20 m/min for six weeks. The rats were sacrificed 48 h after the last training session, and gene expression of TLR4 and NLRP3 in the cerebellum was measured using the real-time PCR technique.

Results: There was a significant decrease in the TLR4 and NLRP3 expression in the control compared to other groups (all; P=0.0001). Moreover, the levels of TLR4 and NLRP3 expression in the Parkinson group showed a significant decline compared to the Parkinson+CT and Parkinson+IT groups (both, P=0.0001). However, there was no significant difference in the levels of TLR4 and NLRP3 expression between the Parkinson+CT and Parkinson+IT groups (P=0.309 and P=0.103, respectively).

Conclusion: Both CT and IT were similarly effective in the reduction of TLR4 and NLRP3 in the cerebellar tissue of rat models of PD. Therefore, aerobic training can help to alleviate neuronal damage in PD by exerting anti-inflammatory effects.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-25]

Copyright *© 2025 The Author(s); Published by Journal of North Khorasan University of Medical Sciences. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses /by-nc/4.0/) which permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.*

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
دوره ۱۷، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۴

مقاله پژوهشی

اثر نوع تمرین هوازی بر بیان ژن TLR4 و NLRP3 در بافت مخچه موش‌های صحرایی مدل پارکینسونی

سمیه بختیاری دهبالائی[۱]، حجت پسندیده فطرت[۱]، عبدالحسین طاهری کلانی[۲*]، مهناز امیدی[۲]

[۱] کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ایلام، دانشگاه آزاد اسلامی، ایلام، ایران
[۲] استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ایلام، دانشگاه آزاد اسلامی، ایلام، ایران

*نویسنده مسئول: عبدالحسین طاهری کلانی، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ایلام، دانشگاه آزاد اسلامی، ایلام، ایران. ایمیل: htaheriedu@gmail.com

DOI: 10.22034/nkums.17.3.54

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۵

واژگان کلیدی:
التهاب عصبی
فعالیت هوازی
بیماری پارکینسون
مخچه

چکیده

مقدمه: مطالعات گسترده انسانی و حیوانی، نقش التهاب در شروع یا پیشرفت بیماری پارکینسون را آشکار کرده‌اند. هدف پژوهش حاضر، مقایسه اثر دو نوع تمرین هوازی بر بیان ژن TLR4 و NLRP3 در بافت مخچه موش‌های صحرایی مدل پارکینسونی بود.

روش کار: در این پژوهش تجربی، ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی در چهار گروه کنترل، پارکینسون، پارکینسون+تمرین تداومی و پارکینسون+تمرین تناوبی توزیع شدند. پارکینسون با تزریق دو میلی‌گرم بر کیلوگرم روتنون به حیوانات القا گردید. تمرین تداومی شامل ۱۵ تا ۴۰ دقیقه و تناوبی به‌صورت دو تا شش نوبت دویدن روی نوارگردان با سرعت ۱۰ تا ۲۰ متر در دقیقه به مدت شش هفته بود. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، حیوانات قربانی شده و با استفاده از تکنیک Real Time-PCR بیان ژن TLR4 و NLRP3 در بافت مخچه اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: میزان بیان TLR4 و NLRP3 بافت مخچه گروه کنترل نسبت به سایر گروه‌ها، به‌طور معناداری کاهش یافت (همه؛ P=۰/۰۰۰۱). همچنین، میزان بیان TLR4 و NLRP3 در گروه پارکینسون نسبت به گروه‌های پارکینسون+تمرین تداومی و پارکینسون+تمرین تناوبی کاهش معناداری را نشان داد (هر دو؛ P=۰/۰۰۰۱). هرچند، بین دو گروه پارکینسون+تمرین تداومی و پارکینسون+تمرین تناوبی در میزان بیان TLR4 و NLRP3 تفاوت معناداری وجود نداشت (به‌ترتیب؛ P=۰/۳۰۹ و P=۰/۱۰۳).

نتیجه‌گیری: هر دو نوع تمرین هوازی تداومی و تناوبی به‌طور مشابهی در کاهش TLR4 و NLRP3 بافت مخچه موش‌های صحرایی مدل پارکینسونی مؤثر بود. بنابراین، تمرین هوازی از راه اعمال آثار ضدالتهابی می‌تواند به کاهش آسیب عصبی در بیماران پارکینسونی کمک نماید.

مقدمه

بیماری پارکینسون (Parkinson's disease: PD) یک اختلال عصبی پیش‌رونده است که با طیف گسترده‌ای از علائم حرکتی و غیرحرکتی مشخص می‌شود [۱]. سه علامت کلاسیک حرکتی در PD شامل برادی‌کینزی (کندی حرکات)، لرزش در حال استراحت و سفتی عضلانی است. این علائم اصلی ممکن است با ویژگی‌های غیرحرکتی مختلف، از جمله اختلال خواب، اختلال عملکرد اتونومیک، کاهش حس بویایی و افسردگی همراه باشد [۲]. درواقع PD، از راه ایجاد اختلالات حرکتی و شناختی با کاهش استقلال فردی، موجب وابستگی مبتلایان به دیگران شده و هزینه‌های بهداشتی و نگه‌داری از آنان را افزایش می‌دهد. باتوجه به روند پیش‌رونده PD، در صورت کنترل‌نشدن آن، مشکلات روزمره‌ای که افراد مبتلا با آن مواجه هستند بیشتر شده و پیامد آشکار آن؛ بروز اختلال‌های حرکتی و عوارض روانی در این بیماران است. همین‌طور، به دنبال بروز عوارض ناشی از روش‌های دارودرمانی در این بیماران، کاهش سطح فعالیت بدنی آنان در مقایسه با همتایان، سریع‌تر روی می‌دهد. در این شرایط، شدت و عوارض بیماری افزایش یافته و بیماران سطوح پایین‌تری از عملکرد حرکتی را از خود نشان می‌دهند [۳].

پایه‌های مولکولی برای توسعه PD تا حدودی مشخص شده‌است و شواهد گسترده از نمونه‌های انسانی و مدل‌های حیوانی از نقش التهاب در شروع یا پیشرفت این بیماری حکایت دارند [۴]. در این زمینه، پژوهش‌ها نشان داده‌است که در بیماران مبتلا به اختلال‌های عصبی میزان عوامل التهابی در مغز نسبت به افراد سالم بیشتر است که می‌تواند دلیلی بر انحطاط عصبی در این بیماران باشد [۵]. به تازگی مشخص شده است که گیرنده‌های شبه‌گذرگاهی (Tol-llike receptors: TLRs) ممکن است در ایجاد التهاب عصبی در PD نقش داشته باشند [۱]. TLRs گیرنده‌های انتقال پیام غشایی هستند که در دفاع ذاتی علیه میکروارگانیسم‌ها نقش دارند. این گیرنده‌های پروتئینی، در غشای سلول‌های ماکروفاژ و دندریتیک وجود دارند و در شناسایی مولکول‌های

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-25]

مشتق از میکروب‌ها مؤثر هستند [۶]. معلوم شده است که التهاب با فراخوانی بیشتر TLRs همراه است که سبب فعال‌شدن عوامل نسخه‌برداری پایین‌دست مختلفی شده و در نهایت تولید سایتوکین‌های التهابی و اینترفرون‌ها در سلول‌های ایمنی بدن میزبان را به دنبال دارد [۷]. TLR4 یکی از اعضای خانواده TLRs است که در غشا میکروگلیا به میزان زیادی بیان شده و در التهاب عصبی هنگام عفونت و آسیب به دستگاه عصبی مرکزی دخالت دارد [۸]. شواهد نشان داده است که مهار پیام‌رسانی TLR4 می‌تواند پاسخ‌های التهابی را در موش‌های مدل پارکینسونی کاهش دهد [۹].

مجموعه دیگری از گیرنده‌های الگوی شناساگر وابسته به پاتوژن، گیرنده‌های گره‌مانند (Nod-like receptors: NLRs) هستند که نقش مهمی در تشخیص سیگنال‌های آغازگر پاسخ‌های التهابی دارند. خانواده اینفلامازوم NLRP شامل بیش از ۲۰ گونه NLRP1، NLRP3 و NLRP4 است [۱۰]. اینفلامازوم NLRP1، نخستین عضو شناسایی‌شده از خانواده NLRP است که به‌طور عمده در میکروگلیا و نورون‌های مغز بیان می‌شود [۱۱]. اینفلامازوم NLRP3 یک پروتئین ۱۱۵ کیلودالتونی است که بیشتر در میکروگلیا قرار دارد و ابتدا در مغز شناسایی گردید. مشخص شده است که NLRP3 یک حس‌گر قوی استرس سیتوزولی است و می‌تواند یک مسیر سیگنالینگ پیش‌التهابی درگیر در پاسخ‌های ایمنی ذاتی ایجاد کند [۱۲]. در بسیاری از شرایط، پاسخ طبیعی NLRP3 اولین خط دفاعی در برابر هر گونه عفونت است [۱۳]. شواهد نشان داده است که NLRP3 با دخالت در فعال‌سازی میکروگلیا و تنظیم رهایش سایتوکین‌های پیش‌التهابی در پیشرفت پاتولوژی PD نقش دارد [۱۴].

تاکنون دارویی برای درمان قطعی PD شناخته نشده‌است، اما کنترل عوارض آن تا حد زیادی دست‌یافتنی است و مانع از ناتوان‌شدن و کارافتادگی بیمار می‌شود. به دلیل عوارض روش‌های دارویی، استفاده از رویکردهای غیردارویی مثل فعالیت ورزشی جهت کاستن از عوارض PD اهمیت زیادی پیدا کرده‌است. گزارش شده‌است که اجرای فعالیت ورزشی از مشکلات ارتوپدیک مرتبط با علائم اولیه PD جلوگیری می‌کند [۱۵]. پژوهش‌های پیشین از فعالیت ورزشی به‌عنوان مداخله‌ای بدون عارضه در ایجاد حفاظت عصبی ناشی از التهاب عصبی حمایت می‌کند [۱۶]. اما شواهد کافی در مورد موثرترین مدل تمرینی که بیشترین حفاظت عصبی و کاهش التهاب را به دنبال داشته باشد، در دسترس نیست. گزارش شده است که تمرین هوازی تداومی با کاهش TLR4 و NLRP3 در ماده سیاه [۱۷] و TLR2 در جسم مخطط [۱۸، ۱۹] موش‌های مبتلا به PD همراه است. از طرفی، گرچه تمرینات تناوبی با ایجاد تغییرات بیوشیمیایی، می‌تواند بر مقیاس یکپارچه رتبه‌بندی PD تاثیر بگذارد و حتی منجر به کاهش سرعت پیشرفت بیماری شود [۲۰]؛ اما اطلاعات کافی در مورد اثر این مدل تمرینی و کارایی آن در مقایسه با تمرین تداومی بر عوامل التهابی در بیماران پارکینسونی وجود ندارد. به دلیل ضرورت شناسایی پروتکل تمرینی مناسب برای کمک به درمان PD، مطالعه حاضر با هدف بررسی و مقایسه اثر شش هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی بر بیان ژن مسیرهای التهابی TLR4 و NLRP3 در بافت مخچه موش‌های صحرایی مدل پارکینسونی اجرا گردید.

روش کار

پژوهش حاضر از نظر اجرا؛ تجربی و به لحاظ هدف؛ بنیـادی بود. تعداد ۲۸ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار (۱۲ تا ۱۴ هفته‌ای) تهیه و به‌طور تصادفی در چهار گروه، هفت سر، به‌صورت زیر توزیع شدند: ۱) کنترل سالم که به مدت شش هفته در قفس‌های پلی‌کربنات نگه‌داری شده و در طول دوره مداخله هیچ‌گونه فعالیتی نداشتند، ۲) گروه کنترل پارکینسون که با استفاده از روتنون به‌صورت داخل صفاقی به پارکینسون مبتلا شدند و در طی انجام پروتکل شش هفته‌ای هیچ‌گونه فعالیتی نداشتند، ۳) گروه تمرین تداومی این گروه با استفاده از روتنون به‌صورت داخل صفاقی به پارکینسون مبتلا شده و در ادامه به مدت شش هفته به اجرای تمرینات تداومی پرداختند و ۴) گروه تمرین تناوبی این گروه نیز با استفاده از روتنون به‌صورت داخل صفاقی به پارکینسون مبتلا شده و سپس و طی شش هفته تمرینات تناوبی را اجرا کردند.

حیوانات در قفس‌های پلی‌کربنات (چهار سر در هر قفس) در شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵±۵۰ درصد و چرخه روشنایی/ تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی نگه‌داری شدند. این پژوهش، ضمن رعایت قرارداد هلسینکی در طول دوره مداخله، با تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایلام دارای کد اخلاق با شناسه IR.IAU.ILAM.REC.1403.072 است.

روش القای پارکینسون

القای پارکینسون تجربی با تزریق درون صفاقی روتنون (مدل سیگما، ساخت آلمان) انجام شد. بدین منظور حیوانات با دوز دو میلی‌گرم/کیلوگرم روتنون به مدت ۲۸ روز و روزانه درمان شدند. مقدار مورد نیاز روتنون برای هر موش صحرایی در ۲۰۰ میکرولیتر روغن زیتـون یا آفتابگردان حل شد و به‌صورت درون صفاقی تزریق گردید [۲۱]. چهار هفته پس از شروع تزریق روتنون میزان تعادل به‌وسیله آزمون روتارود [۲۱] برای تایید القای بیماری پارکینسون، اندازه‌گیری شد [۲۲].

روش بررسی القای پارکینسون

برای تایید القای پارکینسون در موش‌های صحرایی، از آزمون چرخشی دو هفته پس از تزریق روتنون استفاده گردید. در این آزمون، موش صحرایی از ناحیه‌ای حدود دو سانتی‌متری محل اتصال دم به بدن گرفته شد و به‌طوری بالا آورده شد که بینی حیوان دو سانتی‌متر بالاتر از سطح تکیه‌گاه قرار گیرد. در این حالت اگر موش صحرایی قادر به حفظ تعادل نبوده و به طرفین چرخش نشان دهد، این وضعیت به‌عنوان نشانه‌ای از پارکینسونی شدن در نظر گرفته شد [۲۲]. جهت اطمینان از ابتلاشدن حیوانات به پارکینسون، این آزمون بر روی گروه‌های سالم نیز اجرا شد و نتایج دو گروه سالم و بیمار با هم مقایسه گردید.

روش بررسی تعادل

ارزیابی فعالیت تعادلی حیوانات با استفاده از آزمون روتارد صورت گرفت. ابتدا به هر حیوان دو بار فرصت عادت‌کردن و تطابق با دستگاه

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-25]

اندازه‌گیری داده شد. حیوان روی میله افقی چرخنده به قطر سه سانتی‌متر که سرعت حرکت آن متغیر بود، با سرعت اولیه پنج دور در دقیقه قرار گرفت و سپس سرعت چرخش میله طی مدت پنج دقیقه به تدریج تا ۲۵ دور در دقیقه افزایش یافت. معیار اصلی برای تعادل در حیوانات سرعت ۲۵ دور در دقیقه بود. زمان حفظ تعادل و باقی‌ماندن روی میله برای هر حیوان ثبت گردید. این آزمون سه بار با فواصل ۳۰ دقیقه‌ای تکرار و میانگین آن‌ها برای هر حیوان در نظر گرفته شد [۲۳].

پروتکل‌های تمرین هوازی تناوبی و تداومی

برنامه تمرین هوازی تناوبی مطابق جدول ۱ طی شش هفته و هر هفته پنج جلسه به اجرا درآمد. این پروتکل در هفته اول با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و دو نوبت ۷:۳۰ دقیقه‌ای انجام گرفت که در هفته ششم به شش نوبت ۶:۴۰ دقیقه‌ای با سرعت ۲۰ متر در دقیقه رسید. فواصل استراحتی فعال بین نوبت‌های تمرینی به‌صورت یک به یک چهارم (یعنی به ازای هر چهار دقیقه تمرین یک دقیقه استراحت فعال) شامل دویدن با سرعت سه متر بر دقیقه بود [۲۴].

برنامه تمرین هوازی تداومی در شش هفته و هر هفته پنج جلسه اجرا گردید (جدول ۲). این برنامه در هفته اول با سرعت ۱۰ متر در دقیقه آغاز شد. از هفته دوم تا ششم، سرعت تمرین هر هفته دو متر در دقیقه افزایش یافت. به مدت تمرین نیز هر هفته، پنج دقیقه افزوده شد به‌طوری‌که از ۱۵ دقیقه در هفته اول به ۴۰ دقیقه در هفته ششم رسید [۲۴].

جدول ۱. پروتکل تمرین هوازی تناوبی

هفته‌های تمرین	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم
سرعت تمرین (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۲	۱۴	۱۶	۱۸	۲۰
نوبت (تعداد)	۲	۴	۴	۴	۶	۶
مدت تمرین در هر نوبت (دقیقه و ثانیه)	۷:۳۰	۵:۰۰	۶:۱۵	۷:۳۰	۵:۱۰	۶:۴۰
مدت تمرین در هر جلسه (دقیقه)	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰

جدول ۲. پروتکل تمرین هوازی تداومی

هفته‌های تمرین	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم
سرعت تمرین (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۲	۱۴	۱۶	۱۸	۲۰
مدت تمرین (دقیقه)	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰

هر دو گروه تمرینی در ابتدای هر جلسه تمرینی به مدت سه دقیقه با سرعت یک متر در دقیقه دویدند و سپس برای رسیدن به سرعت مورد نظر به ازای هر دقیقه، دو متر در دقیقه بر سرعت نوارگردان افزوده شد.

روش بافت‌برداری و اندازه‌گیری متغیرها

بافت‌برداری ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و به دنبال یک شب ناشتایی انجام گرفت. نخست، حیوانات با ترکیب کتامین زایلازین به ترتیب با دوز ۱۰۰ و ۱۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم بی‌هوش شدند. سپس، با خارج‌کردن کل مغز از کاسه جمجمه، بافت مخچه از سایر قسمت‌های مختلف آن جدا و در یخچال ویژه با دمای منفی ۷۰ درجه نگه‌داری شد. در ادامه، بافت مخچه با استفاده از بافر ریپا (RIPA) هموژن شده و پس از هموژنایز و سانتریفیوژ برای اندازه‌گیری بیان ژن‌های TLR4 و NLRP3 از تکنیک Real-time PCR استفاده شد. مراحل متوالی تکنیک Real-time PCR در ادامه آمده است.

استخراج RNA

استخراج RNA با استفاده از معرف Total RNA Extraction kit و طبق دستورالعمل شرکت سازنده (پارس طوس، ایران) انجام شد. ابتدا نمونه‌ها در شرایط استریل با استفاده از ازت مایع در هاون چینی پودر و در فریزر منفی ۷۰ نگه‌داری شدند.

بررسی کیفیت RNA استخراج‌شده

پس از استخراج RNA جهت اندازه‌گیری میزان غلظت آن، یک میکرولیتر از محلول RNA با ۴۹ میکرولیتر بافر تریس استریل رقیق‌سازی شد و میزان جذب نوری آن توسط دستگاه میکرواسپکتروفتومتر (اپندورف، آلمان) در طول موج ۲۶۰ نانومتر ثبت گردید. همچنین نسبت جذب نوری ۲۶۰/۲۸۰ به‌منظور بررسی میزان آلودگی RNA با پروتئین تعیین گردید. درصورتی‌که مقادیر نسبت حاصله بالاتر از ۱/۸ بود، کیفیت RNA، مطلوب به حساب می‌آمد. نسبت جذب نوری ۲۶۰/۲۳۰ نیز به منظور بررسی میزان آلودگی با فنول مشخص گردید و مقادیر بالای ۱/۸، مطلوب در نظر گرفته‌شد.

سنتز cDNA از RNA

برای این منظور از کیت Easy^{TM} cDNA synthesis kit (پارس طوس، ایران) استفاده گردید.

واکنش Real-time PCR و روش انجام آن

از آزمون PCR در زمان حقیقی (Real-time PCR) به منظور ارزیابی بیان ژن‌های TLR4 و NLRP3 استفاده شد. لیست پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه، توالی و طول قطعه‌ای که توسط آن‌ها تکثیر شد و نیز کد دسترسی GenBank در جدول ۳ آمده است. طراحی پرایمر با استفاده از نرم‌افزار Primer3 انجام شد. از کیت 2X SYBR Green Real Time PCR (پارس طوس، ایران) و دستگاه Lava96 Real-time PCR Detection System (DaanGene Co Ltd) جهت انجام واکنش Real-time PCR و با برنامه دمایی مطابق جدول ۴ استفاده شد. نتایج با استفاده از روش مقایسه‌ای ΔΔCt و با استفاده از نرم‌افزار Light Cycler SW1.1 مورد ارزیابی قرار گرفت. از ژن GAPDH به‌عنوان کالیبراتور استفاده گردید. نتایج طبق فرمول عمومی $2^{-\Delta\Delta Ct}$ گزارش شد.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-25]

جدول ۳. توالی آغازگرهای TLR4 و NLRP3 همراه با ژن کنترل

ژن	توالی آغازگر	طول آغازگر (bp)	طول محصول (bp)	کد دسترسی
TLR4-F	TCAGCTTTGGTCAGTTGGCT	۲۰	۱۴۱	NM_019178.2
TLR4-R	TGACACCATTGAAGCTGAGGT	۲۱		
NLRP3-F	ACCAGCCAGAGTGGAATGAT	۲۰	۱۱۶	NM_001191642.1
NLRP3-R	ACAAATCGAGATGCGGGAGA	۲۰		
GAPDH-F	AGTTCAACGGCACAGTCAAG	۲۰	۱۱۹	NM_017008.4
GAPDH-R	TACTCAGCACCAGCATCACC	۲۰		

جدول ۴. برنامه دمایی برای انجام واکنش Real-time PCR

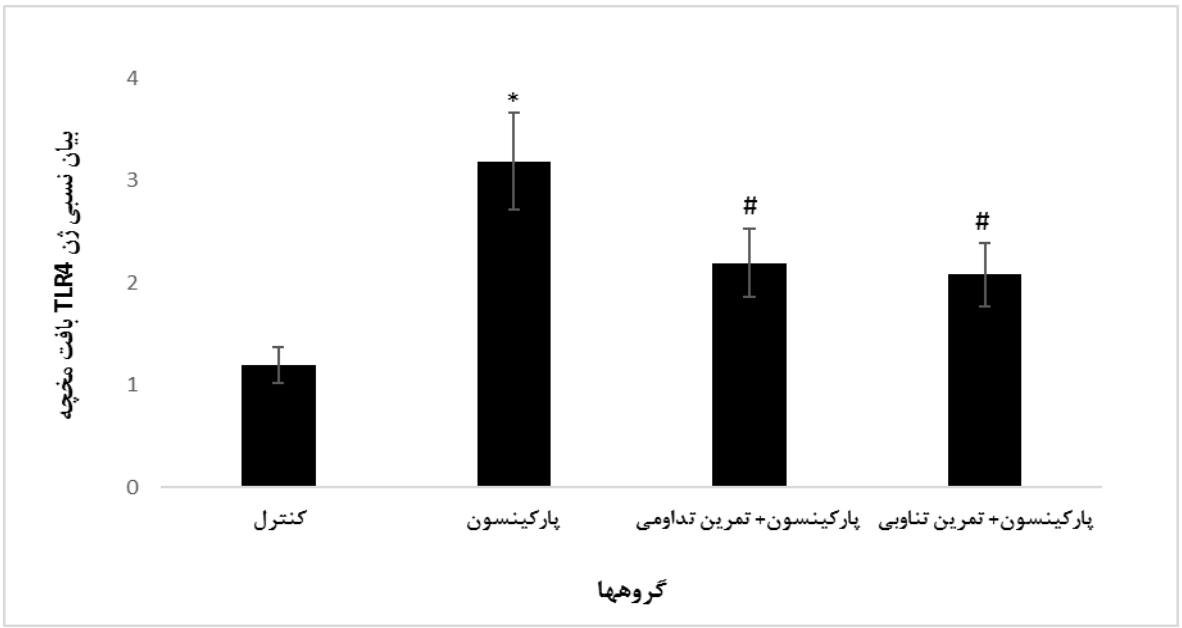
مرحله	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان (ثانیه)	سیکل (تعداد)
دناتوراسیون اولیه	۹۴	۳۰۰	۵۰
دناتوراسیون	۹۴	۱۵	۵۰
اتصال پرایمر	۶۰	۱۵	۵۰
طویل‌سازی	۷۲	۳۰	۵۰

جهت بررسی طبیعی‌بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها از آزمون لون استفاده شد. برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها از آزمون‌های واریانس یک‌راهه (ANOVA) و تعقیبی توکی در سطح معناداری P<۰/۰۵ استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج نشان داد، تفاوت معناداری در میزان بیان ژن‌های TLR4 و NLRP3 بافت مخچه بین گروه‌ها وجود دارد (هر دو؛ P=۰/۰۰۰۱).

نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد، میزان بیان ژن‌های TLR4 و NLRP3 در بافت مخچه گروه کنترل نسبت به سایر گروه‌ها کاهش معناداری داشته‌است (همه؛ P=۰/۰۰۰۱). همچنین، میزان بیان ژن‌های TLR4 و NLRP3 در گروه پارکینسون در مقایسه با گروه‌های پارکینسون+تمرین تداومی (P=۰/۰۰۰۱) و پارکینسون+تمرین تناوبی (P=۰/۰۰۰۱) کاهش معناداری را نشان داد. هرچند، بین دو گروه پارکینسون+تمرین تداومی و پارکینسون+تمرین تناوبی در میزان بیان ژن‌های TLR4 (P=۰/۳۰۹) و NLRP3 (P=۰/۱۰۳) تفاوت معناداری وجود نداشت (نمودارهای ۱ و ۲).

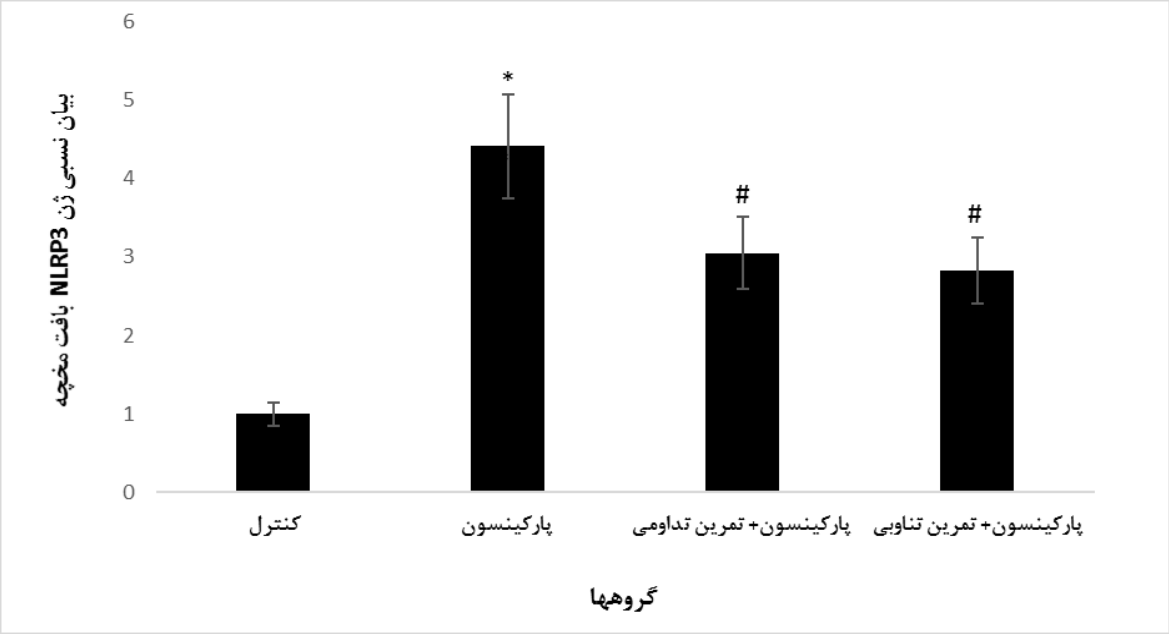


نمودار ۱. میزان بیان ژن TLR4 (انحراف استاندارد±میانگین) در گروه‌های پژوهش.

* افزایش معنادار در مقایسه با گروه‌های کنترل، پارکینسون+تمرین تداومی و پارکینسون+تمرین تناوبی (P=۰/۰۰۰۱)

افزایش معنادار نسبت به گروه کنترل (P=۰/۰۰۰۱)

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-25]



نمودار ۲. میزان بیان ژن NLRP3 (انحراف استاندارد±میانگین) در گروه‌های پژوهش.

* افزایش معنادار در مقایسه با گروه‌های کنترل، پارکینسون+تمرین تداومی و پارکینسون+تمرین تناوبی (P=۰/۰۰۰۱)

افزایش معنادار نسبت به گروه کنترل (P=۰/۰۰۰۱)

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد، القای پارکینسون با افزایش بیان ژن‌های TLR4 و NLPR3 در بافت مخچه موش‌های صحرایی همراه بود. درحالی‌که، اجرای شش هفته تمرین تداومی و تناوبی به‌طور مشابه و معناداری موجب کاهش بیان ژن‌های TLR4 و NLPR3 در بافت مخچه حیوانات گردید. درواقع، یافته‌های ما پیشنهاد می‌کند که هر دو نوع تمرین هوازی تداومی و تناوبی با تنظیم کاهشی مسیر پیام‌رسانی TLR4/NLPR3 آثار محافظت عصبی را در موش‌های صحرایی مدل پارکینسونی اعمال می‌کند.

طبق نتایج این مطالعه و سایر پژوهش‌های همسو، میزان TLR4 و NLPR3 در گردش خون و بافت‌های مختلف عصبی بیماران مبتلا به پارکینسون افزایش می‌یابد [۱۷، ۲۵، ۲۶]. TLRها می‌توانند در طول دوره PD توسط مولکول‌هایی مانند آلفاسینوکلئین و پروتئین‌های شوک حرارتی (Heat shock proteins) تحریک شوند. گزارش شده‌است که تحریک TLR4 ممکن است چندین مسیر پایین‌دستی را فعال و با تولید سایتوکین‌های پیش‌التهابی به التهاب عصبی منجر گردد [۱]. همچنین، TLR4 با فعال‌سازی عامل رونویسی هسته‌ای-کاپا بی (Nuclear transcription factor-kB: NF-κB) سبب تحریک و افزایش NLPR3 می‌شود [۲۷]. شواهد موجود از این فرضیه حمایت می‌کند که افزایش TLR4 و NLPR3 در از دست‌دادن نورون‌ها و پاتوژنز PD نقشی کلیدی دارند.

در پژوهش‌های محدودی آثار تمرین ورزشی منظم بر میزان TLR4 و NLPR3 بررسی شده و نتایج متناقضی حاصل شده است. یافته‌های ما، مبنی بر کاهش مسیرهای التهابی TLR4 و NLPR3 به دنبال اجرای تمرین هوازی، با پژوهش‌های پیشین مطابقت دارد. وانگ و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند، پس از شش هفته دویدن روی نوارگردان بیان پروتئینی TLR4 و NLPR3 در ماده سیاه مغز موش‌های نر مدل پارکینسونی با کاهش همراه است [۱۷]. همین‌طور، در پژوهش‌های دیگری نیز گزارش گردید که هشت هفته دویدن روی نوارگردان بیان پروتئینی TLR2 را در جسم مخطط مغز موش‌های صحرایی مبتلا به پارکینسون کاهش می‌دهد [۱۸، ۱۹]. به‌طور مشابهی لی و همکاران (۲۰۲۳)، نشان دادند که ۲۰ هفته دویدن روی نوارگردان موجب کاهش معنادار بیان ژنی و پروتئینی NLRP3 و IL-1β در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر می‌گردد [۲۸]. چهار هفته تمرین هوازی با شدت متوسط موجب کاهش معنادار میزان NLPR3 هیپوکمپ در موش‌های صحرایی اورکتومی شده گردید [۲۹]. آثار تمرین هوازی با شدت متوسط در کاهش بیان ژن TLR4 و NLPR3 با آزمودنی‌های انسانی (مردان جوان سالم) نیز دیده شده است [۳۰]. همه این پژوهش‌ها، بخشی از نتایج ما مبنی بر کارایی تمرین هوازی تداومی در کاهش پارامترهای التهابی را تأیید می‌کنند؛ گرچه یافته مشابهی در زمینه اثر کاهشی تمرین تناوبی بر بیان TLR4 و NLPR3 یافت نشد.

در مقابل، برخلاف یافته‌های پژوهش حاضر، عدم تغییر میزان پروتئین TLR4 در مغز [۳۱] یا افزایش بیان ژن TLR4 و NLPR3 در بافت خون [۳۰] به دنبال اجرای تمرینات هوازی گزارش گردیده است. در مطالعه فروغی و همکاران (۲۰۲۳)، چهار پیش‌آماده‌سازی با تمرین تناوبی شدید و تداومی با شدت متوسط، تاثیری بر بیان پروتئین TLR4 در قشر و استراتوم مغزی موش‌های صحرایی سالم نداشت [۳۱]. خاکرو و همکاران (۲۰۲۰)، در پژوهش خود نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین هوازی با شدت بالا (۹۰-۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه) موجب افزایش معنادار بیان ژن‌های TLR4 و NLPR3 در آزمودنی‌های انسانی می‌گردد. آنان دلیل افزایش بیان TLR4 و NLPR3 را به شدت تمرینات اجرا شده، نسبت دادند [۳۰]. علت تناقض نتایج را می‌توان به سالم‌بودن آزمودنی‌ها در این دو مطالعه، تفاوت در طول دوره تمرینی و

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-25]

بافت اندازه‌گیری متغیرها نسبت داد. در واقع، برای کاهش شاخص‌های التهابی در آزمودنی‌های سالم ممکن است به طول دوره تمرینی بیشتری نیاز باشد. ازطرفی، اگر تمرینات هوازی شدید استفاده گردد، می‌تواند شدت التهاب را افزایش دهد.

گزارش شده است که تجمع آلفاسینوکلئین (Alpha-synuclein)، نخست موجب شروع فعال‌سازی TLRs و سپس NF-κB می‌شود که با فراتنظیمی عوامل پیش‌التهابی مانند فاکتور نکروزی تومور-آلفا (Tumor necrosis factor alpha: TNF-α)، اینترلوکین-۱ بتا (Interleukin-1 beta: IL-1β)، اینترلوکین-۶ (IL-6) و در نهایت التهاب عصبی همراه است [۲۵، ۳۲]. بنابراین به نظر می‌رسد که تمرین ورزشی از راه تنظیم کاهشی آلفاسینوکلئین، موجب کاهش TLR4 در بخش‌های مختلف دستگاه عصبی مرکزی می‌گردد. در این راستا، نشان داده شده‌است که هشت هفته دویدن روی نوارگردان، کاهش آلفاسینوکلئین [۱۸، ۳۳]، TLR2 و NF-κB [۱۸] را در موش‌های صحرایی مدل پارکینسونی به دنبال داشت. همچنین، مشخص شده‌است که فعال‌شدن اینفلامازوم NLRP3 به NF-κB و TLR4 بستگی دارد [۱۷، ۲۷]. لذا، کاهش NLRP3 را می‌توان به کاهش NF-κB و TLR4 نسبت داد. گرچه در این پژوهش بیان ژن آلفاسینوکلئین، NF-κB و سایتوکین‌های پیش‌التهابی اندازه‌گیری نشد و جزو محدودیت‌های آن به شمار می‌رود. بررسی هم‌زمان همه عوامل اثرگذار بر التهاب عصبی جهت درک مکانیسم‌های درگیر در آن، در مطالعات آتی ضروری به نظر می‌رسد.

نتیجه گیری

در مجموع، مطالعه ما نشان داد که هر دو نوع تمرین هوازی تداومی و تناوبی پس از القای پارکینسون، به‌طور مشابهی در تعدیل مسیرهای التهابی در سطح مخچه مدل حیوانی موثر است. در واقع، تمرین هوازی صرف نظر از نوع آن قادر به تنظیم کاهشی مسیرهای التهابی ناشی از TLR4 و NLRP3 است که به‌طور معمول در بیماری‌هایی با زمینه التهابی افزایش می‌یابد. بنابراین، تمرین هوازی از راه اعمال آثار ضدالتهابی می‌تواند به حفاظت (بازتوانی) عصبی و کاهش عوارض در بیماران پارکینسونی کمک نماید.

سپاسگزاری

از همه کسانی که در این پژوهش با ما همکاری داشتند، قدردانی می‌کنیم.

حمایت مالی

این پژوهش بدون حمایت مالی انجام شده است.

تضاد منافع

در این پژوهش نویسندگان هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش بدون حمایت مالی انجام شده است. مطالعه حاضر دارای کد اخلاق با شناسه IR.IAU.ILAM.REC.1403.072 از کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایلام می‌باشد.

References

1. Heidari A, Yazdanpanah N, Rezaei N. The role of Toll-like receptors and neuroinflammation in parkinson's disease. J Neuroinflammation. 2022;19(1):135. [DOI: 10.1186/s12974-022-02496-w] [PMID: 35668422]
2. Hirsch EC, Standaert DG. Ten unsolved questions about neuroinflammation in Parkinson's disease. Move Disord. 2021;36(1):16-24. [DOI: 10.1002/mds.28075] [PMID: 32357266]
3. Giroux M. Parkinson's disease: Managing a complex, progressive disease at all stages. Clev Clin J Med. 2007;74(5):313-314. [DOI: 10.3949/ccjm.74.5.313] [PMID: 17506237]
4. Pajares M, I Rojo A, Manda G, Boscá L, Cuadrado A. Inflammation in Parkinson's disease: Mechanisms and therapeutic implications. Cells. 2020;9(7):1687. [DOI: 10.3390/cells9071687] [PMID: 32674367]
5. Jiang SS, Wang YL, Xu QH, Gu LY, Kang RQ, Yang WY, et al. Cytokine and chemokine map of peripheral specific immune cell subsets in Parkinson's disease. NPJ Parkinsons Dis. 2023;9(1):117. [DOI: 10.1038/s41531-023-00559-0] [PMID: 37491350]
6. Soltani N, Marandi SM, Kazemi M, Esmaeil N. Combined all-extremity high-intensity interval training regulates immunometabolic responses through Toll-like receptor 4 adaptors and A20 downregulation in obese young females. Obes Facts. 2020;13(3):415-431. [DOI:10.1159/000509132] [PMID: 32615574]
7. Nilsen NJ, Vladimer GI, Stenvik J, Orning MP, Zeid-Kilani MV, Bugge M, et al. A role for the adaptor proteins TRAM and TRIF in toll-like receptor 2 signaling. J Biol Chem. 2015;290(6):3209-3222. [DOI: 10.1074/jbc.M114.593426] [PMID: 25505250]
8. Rosa JM, Farré-Alins V, Ortega MC, Navarrete M, Lopez-Rodriguez AB, Palomino-Antolín A, et al. TLR4 pathway impairs synaptic number and cerebrovascular functions through astrocyte activation following traumatic brain injury. Br J Pharmacol. 2021;178(17):3395-3413. [DOI:10.1111/bph.15488] [PMID: 33830504]
9. Gan P, Ding L, Hang G, Xia Q, Huang Z, Ye X, et al. Oxymatrine attenuates dopaminergic neuronal damage and microglia-mediated neuroinflammation through cathepsin D-dependent HMGB1/TLR4/NF-kappaB pathway in parkinson's disease. Front Pharmacol. 2020;11:776. [DOI: 10.3389/fphar.2020.00776] [PMID: 32528295]
10. Kepp O, Galluzzi L, Kroemer G. Mitochondrial control of the NLRP3 inflammasome. Nat Immunol. 2011;12(3):199-200. [DOI: 10.1038/ni0311-199] [PMID: 21321591]
11. Zhu J, Hu Z, Han X, Wang D, Jiang Q, Ding J, et al. Dopamine D2 receptor restricts astrocytic NLRP3 inflammasome activation via enhancing the interaction of β-arrestin2 and NLRP3. Cell Death Differ. 2018;25(11):2037-2049. [DOI: 10.1038/s41418-018-0127-2] [PMID: 29786071]
12. Verma A, Pittala S, Alhozeel B, Shteinfer-Kuzmine A, Ohana E, Gupta R, et al. The role of the mitochondrial protein VDAC1 in inflammatory bowel disease: a potential therapeutic target. Mol Ther 2022;30(2):726-744. [DOI: 10.1016/j.ymthe.2021.06.024] [PMID: 34217890]
13. Sergi CM. NLRP-3 Inflammasome: A key target, but mostly overlooked following SARS-CoV-2 infection. Vaccines. 2022;10(8):1307. [DOI: 10.3390/vaccines10081307] [PMID:

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-25]

36016195]
14. Panicker N, Sarkar S, Harischandra DS, Neal M, Kam TI, Jin H, et al. Fyn kinase regulates misfolded α-synuclein uptake and NLRP3 inflammasome activation in microglia. J Exp Med. 2019;216(6):1411-1430. [DOI: 10.1084/jem.20182191] [PMID: 31036561]
15. Wong EO, Tano Jo, Wango C, Zhang Z, Tay S, Lim N, et al. Relative sensitivity of parkin and oder cysteine containing enzymes to steress-induced solubility alternations. J Biol Chem. 2007;282:12310-12318. [DOI: 10.1074/jbc.M609466200]
16. de Almeida EJR, Ibrahim HJ, Chitolina Schetinger MR, de Andrade CM, Cardoso AM. Modulation of inflammatory mediators and microglial activation through physical exercise in Alzheimer's and Parkinson's diseases. Neurochem Res. 2022;47(11):3221-3240. [DOI:10.1007/s11064-022-03713-x] [PMID: 35962936]
17. Wang W, LvZ, Gao J, Liu M, Wang Y, Tang C, Xiang J. Treadmill exercise alleviates neuronal damage by suppressing NLRP3 inflammasome and microglial activation in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. Brain Res Bull. 2021;174:349-358. [DOI:10.1016/j.brainresbull.2021.06.024] [PMID: 34224819]
18. Koo JH, Jang YC, Hwang DJ, Um HS, Lee NH, Jung JH, Cho JY. Treadmill exercise produces neuroprotective effects in a murine model of Parkinson's disease by regulating the TLR2/MyD88/NF-κB signaling pathway. Neuroscience. 2017;356:102-113. [DOI:10.1016/j.neuroscience.2017.05.016] [PMID: 28527958]
19. Jang Y, Koo JH, Kwon I, Kang EB, Um HS, Soya H, Lee Y, Cho JY. Neuroprotective effects of endurance exercise against neuroinflammation in MPTP-induced Parkinson's disease mice. Brain Res. 2017;1655:186-193. [DOI: 10.1016/j.brainres.2016.10.029] [PMID: 27816415]
20. Marusiak J, Żeligowska E, Mencel J, et al. Interval training-induced alleviation of rigidity and hypertonia in patients with Parkinson's disease is accompanied by increased basal serum brain-derived neurotrophic factor. J Rehabil Med. 2015;47:372-375. [DOI: 10.2340/16501977-1931] [PMID: 25510618]
21. Zhang ZN, Zhang JS, Xiang J, Yu ZH, Zhang W, Cai M, et al. Subcutaneous rotenone rat model of Parkinson's disease: Dose exploration study. Brain Res. 2017;1655:104-13. [DOI:10.1016/j.brainres.2016.11.020] [PMID: 27876560]
22. Hubrecht R, Kirkwood J. UFAW Handbook on the care and management of laboratory and other research animals, 8th ed. Wiley-Blackwell Publishing Ltd; 2010:460-520. [DOI:10.1002/9781444318777]
23. Razavinasab M, Shamsizadeh A, Shabani M, Nazeri M, Allahtavakoli M, Asadi-Shekaari M, et al. Pharmacological blockade of TRPV1 receptors modulates the effects of 6-OHDA on motor and cognitive functions in a rat model of Parkinson's disease. Fundam Clin Pharmacol. 2013;27(6):632-640. [DOI: 10.1111/fcp.12015] [PMID: 23216087]
24. Moradi M, Habibi A, Tabande MR, Shakerian S. Effect of 6 weeks of continuous and periodic aerobic exercises on hippocampus total antioxidant capacity and balance in Parkinson's model rats. Sport Physiol. 2020;12(45):95-108. [DOI: 10.22089/spj.2018.6123.1790]
25. Dzamko N, Gysbers A, Perera G, Bahar A, Shankar A, Gao J, et al. Toll-like receptor 2 is increased in neurons in Parkinson's disease brain and may contribute to alpha-synuclein pathology. Acta Neuropathol. 2017;133(2):303-319. [DOI:10.1007/s00401-016-1648-8] [PMID:27888296]
26. Shao QH, Chen Y, Li FF, Wang S, Zhang XL, Yuan YH, et al. TLR4 deficiency has a protective effect in the MPTP/probenecid mouse model of Parkinson's disease. Acta Pharmacol Sin. 2019;40(12):1503-1512. [DOI: 10.1038/s41401-019-0280-2] [PMID: 31388087]
27. Hughes CD, Choi ML, Ryten M, Hopkins L, Drews A, Botia JA, et al. Picomolar concentrations of oligomeric alpha-synuclein sensitizes TLR4 to play an initiating role in Parkinson's disease pathogenesis. Acta Neuropathol. 2019;137(1):103-120. [DOI: 10.1007/s00401-018-1919-7] [PMID: 30225556]
28. Li X, Jin Y, Ding X, Zhu T, Wei C, Yao L. Long-term exercise training inhibits inflammation by suppressing hippocampal NLRP3 in APP/PS1 mice. Sports Med Health Sci. 2023;5(4):329-335. [DOI: 10.1016/j.smhs.2023.09.009] [PMID: 38314041]
29. Wang Y, Xu Y, Sheng H, Ni X, Lu J. Exercise amelioration of depression-like behavior in OVX mice is associated with suppression of NLRP3 inflammasome activation in hippocampus. Behav Brain Res. 2016;307:18-24. [DOI: 10.1016/j.bbr.2016.03.044] [PMID: 27036651]
30. Khakroo Abkenar I, Rahmaninia F, Lombardi G. The effect of different intensities of acute and chronic aerobic activity on the signaling pathway of the inflammasome NLRP3 complex and TLR4 and some inflammatory cytokines in young men. J Pract Studies Biosci Sport. 2020;8(16):116-130. [DOI: 10.22077/jpsbs.2019.1982.1454]
31. Foroughi Pordanjani A, Salesi M, Rezaei R, Nemati J. Effect of 4 weeks preconditioning with high intensity interval training and moderate intensity continuous training on brain levels of TNF-α and TLR4 in male wistar rats. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci. 2023;30(10):6000-6012. [DOI: 10.18502/ssu.v30i10.11451]
32. Daniele SG, Béraud D, Davenport C, Cheng K, Yin H, Maguire-Zeiss KA. Activation of MyD88-dependent TLR1/2 signaling by misfolded α-synuclein, a protein linked to neurodegenerative disorders. Sci Signal. 2015;8(376):ra45. [DOI:10.1126/scisignal.2005965] [PMID: 25969543]
33. Movahed S, Bashiri J, Pourrazi H, Poozesh Jadidi R. The effect of aerobic exercise and food restriction on the expression of alpha-synuclein and sirtuin-1 proteins in the brain tissue of parkinson rats model. J North Khorasan Univ Med Sci. 2024;16(3):109-118. [DOI:10.32592/nkums.16.3.109]

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-25]