

WPŁYW TRENINGU FIZYCZNEGO NA PARAMETRY RUCHU, POZIOM CZYNNIKÓW TROFICZNYCH ORAZ STAN ZAPALNY MÓZGU W MYSIM MODELU CHOROBY PARKINSONA

Ewelina Pałasz (Pracownia Badań Przedklinicznych Chorób Neurodegeneracyjnych)

Choroba Parkinsona (chP) należy do zwyrodnieniowych schorzeń ośrodkowego układu nerwowego, którego podstawowym objawem są zaburzenia motoryczne, będące konsekwencją degeneracji neuronów dopaminergicznych drogi nigrostriatalnej. Złożone podłoże choroby sprawia, że jej etiologia jest nadal niewyjaśniona. Dostępne formy leczenia łagodzą jedynie objawy choroby, przy czym skuteczność ich działania maleje wraz z rozwojem choroby. Z tego względu niezwykle ważne jest poszukiwanie nowych form terapii wspomagających leczenie farmakologiczne. Jedną z form terapii wspomagających leczenie farmakologiczne jest aktywność fizyczna, jednak mechanizmy skutecznego jej działania są nieznane. Na podstawie wyników badań przeprowadzonych u ludzi i w zwierzęcych modelach chP stwierdzono, że wzmożona aktywność fizyczna stosowana długotrwale poprawia wzorce zachowań ruchowych, wzmacnia proces angiogenezy, synaptogenezy i neurogenezy oraz hamuje rozwój procesów zapalnych w mózgu. Z tego powodu głównym celem prezentowanych badań była ocena wpływu treningu fizycznego na poziom czynników neurotroficznymi, markerów zapalenia mózgu oraz sprawdzenie, czy trening fizyczny ma korzystny wpływ na parametry ruchu u myszy w przewlekłym modelu PD.

W celu indukcji chronicznego modelu parkinsonizmu myszom C57BL/6 podano 10 dawek (co dwie i pół doby) 1-metylo-4-fenilo-1,2,3,6-tetrahydropirydyny (MPTP) oraz probenecidu. MPTP w dawce 12,5 mg/kg podawano podskórnie, probenecid w dawce 250 mg/kg podawano dootrzewnowo. Myszy podzielono na pięć grup: (1) kontrolną; (2) kontrolną poddaną treningowi fizycznemu (10 tygodni treningu), (3) otrzymującą MPTP (bez treningu, indukcja PD); (4) otrzymującą MPTP wraz z wczesnym treningiem (10 tygodni treningu, przed, w trakcie i po podaniu MPTP) oraz (5) otrzymującą MPTP z późnym treningiem (10 tygodni treningu, zaczynającego się po zakończeniu podawania MPTP). Formą treningu fizycznego był trening na bieżni (10 tygodni, 40 minut dziennie, 5 dni w tygodniu). W celu oceny parametrów ruchu przeprowadzono testy motoryczne: rotarod, test otwartego pola i test trakcji. Po zakończeniu testów motorycznych przeprowadzono pośmiertną analizę tkanki nerwowej, która obejmowała barwienia immunohistochemiczne wobec hydroksylazy tyrozynowej (TH), transportera monoaminowego 2 (VMAT2), czynnika troficznego pochodzenia mózgowego (BDNF), czynnika troficznego pochodzenia glejowego (GDNF), zjonizowanej cząsteczki adaptera wiążącego wapń 1 (Iba1) i barwienia immunofluorescencyjne wobec integryny alfa M (Cd11b) i kwaśnego białka włóknkowego astrocytów (GFAP). Ekspresję TH badano w części zbitiej istoty czarnej (SNpc) i w obrębie brzusznej części nakrywki (VTA). Obecność BDNF, GDNF, VMAT2, Iba1, CD11b, GFAP wykrywano w SNpc. Ilościowej oceny poziomu GFAP oraz BDNF w prążkowie i śródmózgowiu dokonano za pomocą testu immunoenzymatycznego ELISA.

Chroniczne podanie MPTP spowodowało istotną utratę neuronów TH-immunoreaktywnych w SNpc i VTA u myszy MPTP bez treningu w porównaniu z pozostałymi grupami badawczymi. Trening fizyczny zmniejszył stopień degeneracji neuronów dopaminergicznych w SNpc u myszy MPTP poddanych zarówno wczesnemu, jak i późnemu treningowi, obniżył poziom markerów zapalnych mózgu oraz zwiększył poziom czynników neurotroficznymi w porównaniu ze zwierzętami z grupy MPTP nie poddanych treningowi. W badaniach nie obserwowano wpływu samego podawania MPTP (grupa MPTP), ani też samego treningu fizycznego (grupa kontrolna trenująca) na parametry ruchowe oceniane w szeregu testów behawioralnych. Jednak w grupach myszy MPTP, które wykonywały ćwiczenia fizyczne, nastąpiła pewna poprawa niektórych parametrów motorycznych. Uzyskane wyniki wskazują na korzystną interakcję MPTP i treningu w modyfikacji zachowań motorycznych, lecz ten

korzystny wpływ zależny od współdziałania obu czynników na zachowania myszy jest trudny do wyjaśnienia.

Otrzymane dane te sugerują, że przewlekły model MPTP uszkadza neurony układu dopaminergicznego, ale nie powoduje zaburzeń motorycznych u myszy w porównaniu z zaburzeniami motorycznymi spotykanymi u ludzi. Przewlekły model MPTP powoduje zmiany patologiczne na poziomie komórkowym (patomechanizm taki, jak u ludzi z chP) i wydaje się być dobrym modelem do badania mechanizmów leżących u podłoża skuteczność ćwiczeń fizycznych w łagodzeniu patomechanizmu chP na poziomie molekularnym i tkankowym.

Uzyskane wyniki mogą dostarczyć istotnych informacji na temat zasadności stosowania nowych form terapii wspomagających leczenie farmakologiczne chorych z chP.

PHYSICAL TRAINING EFFECTS ON MOTOR BEHAVIOUR, NEUROTHROPHIC FACTORS LEVELS AND BRAIN TISSUE INFLAMMATION IN MOUSE MODEL OF PARKINSON DISEASE

Ewelina Pałasz (Laboratory of Preclinical Studies in Neurodegenerative Diseases)

Parkinson's Disease (PD) is a neurodegenerative disorder in which progressive deterioration of the nigrostriatal dopaminergic pathway leads to motor disturbances. The underlying etiology which causes the pathological changes observed in PD is still unclear. Currently available treatments are only symptomatic, and their effectiveness decreases with the progression of the disease. For this reason, it is of paramount importance to search for new forms of therapy which may accompany pharmacological treatment.

Motor therapy in humans and animal models of Parkinson's disease (PD) has neuroprotective and neuroregenerative effects. However, the underlying mechanisms of motor therapy effects is unknown. Several reports clarified that exercise might enhance trophic factors and alleviate inflammatory process. Therefore, the overarching aim of the present study was to examine efficacy of physical training on changes in the expression of neurotrophic factors and markers of inflammation and verify the beneficial effect of physical training on motor parameters in chronic PD model in mice.

C57BL/6 mice treated for five weeks with 12,5 mg/kg 1-methyl-4-phenyl1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in combination with 250 mg/kg probenecid were used. Mice were subdivided into five groups: (1) control; (2) control subjected to physical training (10 weeks of training), (3) MPTP (non-exercised with induction of PD); (4) MPTP subjected to early physical training (10 weeks of training – continuing before, during, and after the induction of PD), and (5) MPTP subjected to late training (10 weeks of training - starting after the end of MPTP administration). Daily treadmill exercise was applied over a period of 10 weeks (40 min/day, 5 days/week). To assess motor performance behavioral tests (rotarod, open field and inverted horizontal grid) were performed. At the end of the behavioral tests, the brains were collected for immunohistochemistry and immunofluorescence staining and for ELISA assessment. Immunohistochemistry staining was performed against tyrosine hydroxylase (TH), vesicular monoamine transporter 2 (VMAT2), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), ionized calcium-binding adapter molecule 1 (Iba1) and immunofluorescence against Cd11b and glial fibrillary acidic protein (GFAP). TH expression was examined in substantia nigra pars compacta (SNpc) and ventral tegmental area (VTA); BDNF, GDNF, VMAT2, Iba1, CD11b, GFAP expression was examined in SNpc.

Chronic administration of MPTP caused the significant loss of TH-immunoreactive neurons in SNpc and VTA of sedentary MPTP mice in comparison to other groups. Treadmill training restored/preserved TH-ir neurons after the damaging action of MPTP neurotoxin and reduced the expression of glial inflammatory markers in both MPTP trained groups in relation to non-trained MPTP mice. Physical training on the treadmill increased also the expression of BDNF in both MPTP trained groups. In our study we did not observe the impact of MPTP treatment alone and physical training alone on motor performance in mice model of parkinsonism. However, there has been a certain improvement in some of the motor parameters in both groups of MPTP treated mice, which performed physical training. The obtained results indicate a favorable interaction of both factors in the modification of motor behavior, but this joint effect on mice behavior is difficult to explain. These data suggest that MPTP chronic model is effective only for dopaminergic system degeneration but not reproduces behavioral impairments, seen in humans. MPTP chronic model produces cellular changes which well reflect those seen during pathological process in humans and it seems to be a good model to show the positive effect of exercise on alleviating pathology at the cellular level.

These findings may provide important new targets for facilitating brain repair and modifying the course of disease in PD.