

Effect of High_Intensity Interval Training and Acetyl_L_Carnitine supplementation on Thioredoxin and alpha-synuclein in the brain tissue of male rat model of parkinson's disease

Ghaffari, Y.¹, Zehsaz, F.^{2*}, Nourazar, M.A.³, Pourrazi, H.⁴, Mohajeri, D.⁵

Receive 2024 March 03; Accepted 2024 July 02

Abstract

Aim: Parkinson's disease is a neurodegenerative disease characterized by the destruction of dopaminergic neurons in the substantia nigra region of the brain. Alpha-synuclein is a protein that forms plaques called Lewy bodies in Parkinson's disease and is considered the main cause of brain tissue damage. The purpose of the present study was to determine the effect of an intense interval training period and acetyl-L-carnitine (ALC) supplementation on alpha-synuclein and thioredoxin (TRX) protein levels in the brains of 6-hydroxydopamine-induced parkinsonian rats. Research method: The statistical population of this study included 36 Wistar male rats, which were randomly divided into 6 equal groups: healthy control group, sham surgery group, Parkinson's control group, Parkinson's exercise group, Parkinson's supplement group, Parkinson's exercise and supplement group. This experimental research was carried out during 12 weeks of training and the drug receiving groups received ALC supplement once a day for 12 weeks with a dose of 100 mg/kg by gavage. Behavioral tests were performed to confirm the creation of the Parkinsonian model. Tissue samples were obtained 48 hours after the last exercise program. Results: The findings showed that after 12 weeks of HIIT training and ALC consumption, there was a significant difference in TRX ($P=0.001$) and alpha-synuclein ($P=0.001$) values between the study groups. The results of the follow-up test showed that the values of TRX and alpha-synuclein in the exercise+supplement group increased ($P=0.001$) and decreased ($P=0.002$) respectively, compared to the Parkinson's control group. There was no significant difference in the values of alpha-synuclein in the training ($p=0.114$) and supplement ($p=0.325$) groups compared to the Parkinson's control group. Conclusion: Intense intermittent exercise with ALC supplement may be effective in improving cell damage and function of Parkinson's patients by modulating some oxidative regulatory pathways, including increasing TRX antioxidant enzyme and reducing brain tissue alpha-synuclein accumulation.

Keywords: Intense interval training, thioredoxin, alpha-synuclein, 6-hydroxydopamine, Parkinson.



Scan this QR code to see the accompanying video, or visit jahssp.azaruniv.ac.ir

1. Exercise Physiology Ph.D. student, Physical Education & Sport Sciences Department, Faculty of Humanities, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

2. Associate Professor, Department of Physical Education & Sport Sciences, Faculty of Humanities, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

*(corresponding author)

f.zehsaz@gmail.com

3. Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

4. Associate Professor, Department of Physical Education, Faculty of Social Sciences, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran.

5. Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

Cite as: Ghaffari, Yousef. Zehsaz, Farzad. Nourazar, Mir-Alireza. Pourrazi, Hasan. Mohajeri, Darush. Effect of High_Intensity Interval Training and Acetyl_L_Carnitine supplementation on Thioredoxin and alpha-synuclein in the brain tissue of male rat model of parkinson's disease . Applied Health Studies in Sport Physiology. 2025; 12(1): 81-94..

Owner and Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

Journal ISSN (online): 2676-6507

Access Type: Open Access

DOI: 10.22049/JAHSSP.2024.29499.1636



Copyright ©The authors

Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

Extended abstract

Background

Parkinson's disease is a neurodegenerative disorder that results from the loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra. Genetic factors, increased intracellular calcium, oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and cytotoxic factors cause neuronal death (1). Alpha-synuclein is a protein that forms plaques called lewy body in the including Parkinson's, as a major cause of cellular damage and brain tissue deterioration (2). The treatment of Parkinson's disease is based on dopamine analogues, which cause a drug-resistant complication over time (3). The purpose of this study was to investigate the effect of high intensity interval training and acetyl-L-carnitine supplementation on the levels of alpha-synuclein and thioredoxin in the brains of parkinsonian rats induced by 6-hydroxydopamine.

Materials and Methods

The statistical population of this research included 36 Wistar male rats, which were randomly divided into 6 equal groups: healthy control group, surgical sham group, Parkinson's control group, Parkinson's training group, Parkinson's supplement group, Parkinson's training and supplement group. This experimental study was carried out during 12 weeks of training (5 sessions per week) and the drug receiving groups received acetyl-L-carnitine supplement once a day for 12 weeks with a dose of 100 mg/kg by gavage. Behavioral tests were performed in order to confirm the creation of the Parkinsonian model. Tissue samples were taken 48 hours after the last exercise program to measure the levels of alpha-synuclein and thioredoxin protein in brain tissue. Data were analyzed by ANOVA and Tukey post hoc tests at a significance level of $p < 0.05$ by SPSS software and Graphpad software.

Behavioral tests

Four weeks after disease induction, behavioral tests were performed in all groups to evaluate the amount of damage caused in the brain of mice and the possibility of creating a Parkinsonian model. The rotation test was used to evaluate motor symmetry, the load test was used to evaluate catalepsy or muscle contractions, and the Morris water maze test was used to evaluate the spatial memory of rats, which are the most common tests to evaluate the Parkinson's model (4). After confirming the induction of Parkinson's disease by the results of behavioral tests, the treatment protocol was started according to the grouping.

Exercise protocols

During the first week, animals were familiarized with the exercise protocol on a motorized treadmill (0% , $6 - 10 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, $5 - 10 \text{ min} \cdot \text{d}^{-1}$) for one week. Then, an incremental exhaustive exercise test was implemented to assess the maximal speed, commenced with $10 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, with an increase of $3 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$ every 2 min until failure. Failure was defined when the rats could not continue running despite electric shocks and when they were unable to upright themselves when placed on the back (5).

Findings

The findings showed, 12 weeks of high intensity interval training had a significant effect on increasing thioredoxin reductase one ($p=0.005$), and caused a decrease the level of alpha-synuclein in the substantia nigra of the brain of rats in training group compared to the Parkinson's control group, although this decrease was not significant. ($p=0.114$) Also, the results of this study showed that performing high intensity interval training and simultaneous consumption of acetyl L-carnitine supplement in Parkinson's model rats induced with 6-hydroxydopamine had the most significant effect in the thioredoxin reductase one ($p=0.001$) as well as the most significant decrease in alpha-synuclein ($p=0.002$) compared to Parkinson's control group.

Conclusion

Few studies have investigated the effect of HIIT and acetyl L-carnitine supplementation on pathways related to the progression of Parkinson's disease. The results of the present study showed that after a period of high intensity interval training and acetyl L-carnitine supplementation, TRX levels in the brain's substantia nigra increased significantly in the training + supplementation group compared to the Parkinson's control group. Regular exercise, a chronic physical stress,



is able to produce appropriate adaptations in response to increased ROS production. These adaptations are related to several systems, among which the thioredoxin system plays a major role (6). The thioredoxin system protects the cell against oxidative stress by eliminating reactive oxygen species through a variety of direct and indirect mechanisms (7). The activation of Nrf2 transcription factor due to exercise and acetyl L-carnitine supplementation inhibits lipid peroxidation and reduces alpha-synuclein levels (8). Acetyl-L-carnitine treatment also prevents age-related changes in mitochondrial respiration and reduces oxidative stress biomarkers by up-regulating HO-1 (heme oxygenase-1), Hsp70 (heat shock protein 70), and superoxide dismutase in aged mice (9).

Article message

The present study suggests that high intensity interval training with acetyl L-carnitine supplementation leads to an increase in TRX and a decrease in alpha-synuclein accumulation in the brain tissue of desert rats with Parkinson's disease. These changes seem to be effective in improving the severity of Parkinson's disease. Doing HIIT exercises along with taking acetyl-L-carnitine can be considered as an auxiliary and alternative treatment for those suffering from this type of disease. However, it seems necessary to conduct more studies in this field.

Keywords: Intense interval training, thioredoxin, alpha-synuclein, 6-hydroxydopamine, Parkinson

1. Balestrino R, Schapira AHV. Parkinson disease. *European journal of neurology*. 2020;27(1):27-42.
2. Mor DE, Ugras SE, Daniels MJ, Ischiropoulos HJNod. Dynamic structural flexibility of α -synuclein. 2016;88:66-74.
3. Anstrom KK, Schallert T, Woodlee MT, Shattuck A, Roberts DCJBBr. Repetitive vibrissae-elicited forelimb placing before and immediately after unilateral 6-hydroxydopamine improves outcome in a model of Parkinson's disease. 2007;179(2):183-91.
4. Landers MR, Kinney JW, van Breukelen FJBr. Forced exercise before or after induction of 6-OHDA-mediated nigrostriatal insult does not mitigate behavioral asymmetry in a hemiparkinsonian rat model. 2014;1543:263-70.
5. Thomas C, Bishop D, Moore-Morris T, Mercier JJAJoP-E, Metabolism. Effects of high-intensity training on MCT1, MCT4, and NBC expressions in rat skeletal muscles: influence of chronic metabolic alkalosis. 2007;293(4):E916-E22.
6. Holmgren AJA, signaling r. Antioxidant function of thioredoxin and glutaredoxin systems. 2000;2(4):811-20.
7. Metin G, Kucur M, İşman F, Altan M, Mengi M, Çakar L, et al. The effect of regular training with vitamin E supplementation on the thioredoxine system in rats. 2010;2010(2).
8. Calabrese V, Ravagna A, Colombrita C, Scapagnini G, Guagliano E, Calvani M, et al. Acetylcarnitine induces heme oxygenase in rat astrocytes and protects against oxidative stress: involvement of the transcription factor Nrf2. 2005;79(4):509-21.
9. Calabrese V, Colombrita C, Sultana R, Scapagnini G, Calvani M, Butterfield D, et al. Redox modulation of heat shock protein expression by acetylcarnitine in aging brain: relationship to antioxidant status and mitochondrial function. 2006;8(3-4):404-16.

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال دوازدهم، شماره اول؛

بهار و تابستان ۱۴۰۴؛ صفحات ۸۱-۹۴

Open Access

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین تناوبی شدید و مکمل سازی استیل ال-کارنتین بر تیوردوکسین و آلفاسینوکلئین بافت مغز موش های نر مدل پارکینسونی

یوسف غفاری^۱، فرزاد زهساز^{۲*}، میرعلیرضا نورآذر^۳، حسن پوررضی^۴، داریوش مهاجری^۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۳



با اسکن QR فوق می توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت
www.jahssp.azaruniv.ac.ir مشاهده کنید.

چکیده

هدف: بیماری پارکینسون یک بیماری تخریب کننده عصبی است که با از بین رفتن سلول های عصبی دوپامینرژیک در ناحیه جسم سیاه مغز مشخص می شود. آلفاسینوکلئین پروتئینی است که با تشکیل پلاک هایی به نام لویی بادی در بیماری پارکینسون، به عنوان عامل اصلی آسیب های سلولی بافت مغز محسوب می شود. هدف از اجرای پژوهش حاضر، تعیین اثر یک دوره تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل استیل ال-کارنتین (ALC) بر سطوح پروتئین آلفاسینوکلئین و تیوردوکسین (TRX) مغز موش های پارکینسونی ناشی از ۶-هیدروکسی دوپامین بود. **روش پژوهش:** جامعه آماری تحقیق حاضر شامل ۳۶ سررت نر نژاد ویستار بودند که بطور تصادفی در ۶ گروه مساوی: گروه کنترل سالم، گروه شمش جراحی، گروه کنترل پارکینسون، گروه تمرین پارکینسون، گروه مکمل پارکینسون، گروه تمرین و مکمل پارکینسون، تقسیم شدند. این پژوهش تجربی، در مدت ۱۲ هفته تمرین اجرا گردید و گروه های دریافت کننده دارو، مکمل ALC را یک بار در روز به مدت ۱۲ هفته با دوز ۱۰۰ mg/kg بصورت گاوژ دریافت کردند. تست های رفتاری بمنظور تایید ایجاد مدل پارکینسونی اجرا گردید. نمونه های بافتی ۴۸ ساعت پس از آخرین برنامه ی تمرین، تهیه شد. **یافته ها:** یافته ها نشان دادند پس از ۱۲ هفته تمرین HIIT و مصرف ALC، تفاوت معنی داری در مقادیر TRX و آلفاسینوکلئین ($P=0/001$) و آلفاسینوکلئین ($P=0/001$) بین گروه های مطالعه وجود داشت. نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که مقادیر TRX و آلفاسینوکلئین در گروه تمرین+مکمل به ترتیب بیشترین افزایش ($P=0/001$) و کاهش ($P=0/002$) را نسبت به گروه کنترل پارکینسون داشت. تفاوت معنی داری در مقادیر آلفاسینوکلئین در گروه های تمرین ($p=0/114$) و مکمل ($p=0/325$) نسبت به گروه کنترل پارکینسون وجود نداشت. **نتیجه گیری:** تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف مکمل ALC از طریق تعدیل برخی مسیرهای تنظیم اکسایشی از جمله افزایش آنزیم آنتی اکسیدانی TRX و کاهش تجمع آلفاسینوکلئین بافت مغز ممکن است در بهبود آسیب های سلولی و عملکرد بیماران پارکینسونی موثر باشد.

واژه های کلیدی: تمرین تناوبی شدید، تیوردوکسین، آلفا سینوکلئین، ۶-هیدروکسی دوپامین، پارکینسون.

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
۲. دانشیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران (نویسنده مسئول): f.zehsaz@gmail.com
۳. استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
۴. استادیار گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم اجتماعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران.
۵. استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

نحوه ارجاع: غفاری، یوسف، زهساز، فرزاد، نورآذر، میرعلیرضا، پوررضی، حسن، مهاجری، داریوش. "تأثیر تمرین تناوبی شدید و مکمل سازی استیل ال-کارنتین بر تیوردوکسین و آلفاسینوکلئین بافت مغز موش های نر مدل پارکینسونی". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ۱۴۰۴؛ ۱۲ (۱)، ۸۱-۹۴.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۶۵۰۷-۲۶۷۶

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/JAHSSP.2024.29499.1636



Copyright ©The authors

Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

تشکیل انواع الیگومرهای داخل سلولی از تجمع های آلفا سینوکلئین در جسم سیاه مغز، با پیشرفت بیماری پارکینسون مرتبط است (۷). مطالعات نشان داده اند که احتمالاً استرس اکسیداتیو و التهاب و اختلال عملکرد میتوکندری، نقش کلیدی در پاتوژنز بیماری پارکینسون دارد (۸). گزارش شده است که استرس اکسیداتیو، تجمع آلفا سینوکلئین را در نورون های دوپامینرژیک افزایش می دهد و منجر به تولید ROS درون سلولی بیشتری می گردد، استرس افزایش یافته ناشی از تولید ROS یکی از مکانیسم های پیشنهادی برای مرگ نورون های دوپامینرژیک در بیماری پارکینسون می باشد (۹). بنابراین عواملی که اثرات آنتی اکسیدانی دارند، می توانند نقش درمانی در این بیماری داشته باشند. تنظیم بخش عمده ای از حالت اکسایشی و کنترل مسیرهای اکسایشی درون سلول بر عهده برخی عوامل از جمله رونویسی و بیان ژن تیوردوکسین است که با استفاده از NADPH، پروتئین های دی سولفیدی را به غیردی سولفیدی تبدیل کرده و منجر به مهار آپوپتوز و تنظیم حالت اکسایشی درون سلولی می گردد (۱۰). در چند سال اخیر تمرکز بر پروتئین های آنتی اکسیدانی تیوردوکسین (TR) افزایش یافته است. تیوردوکسین ها ضمن مقابله با شرایط اکسیداتیو و مرگ سلولی، بر عوامل رشد سلولی نیز تأثیر دارند. تیوردوکسین ردوکتاز (TR1) عملکردهای همه جانبه سلولی از جمله تمایز و رشد سلولی را حفظ می کند. TR1 یک آنزیم آنتی اکسیدان وابسته به NADPH⁺ است که نقش دفاعی مهمی در برابر آسیب اکسیداتیو ایفا می کند. مغز حاوی مقدار زیادی TR1 است که ممکن است نقش مهمی در درمان PD داشته باشد (۱۱).

اگرچه، داروهایی وجود دارد که می تواند از پیشرفت علائم این بیماری تا یک دهه جلوگیری کند، در بسیاری از موارد مخصوصاً در بیماران با سن زیاد، درمان های دارویی کارایی خود را از دست داده و حتی ممکن است انحطاط عصبی را افزایش دهند (۱۲). از این رو در حال حاضر تحقیقات به سمت شناخت روش های نوین برای جلوگیری از مرگ نورون های دوپامینرژیک در جسم سیاه و کند کردن پیشرفت این بیماری می باشد. علاوه بر این، شواهد فزاینده ای وجود دارد که نشان می دهد فعالیت ورزشی موجب کاهش نقایص بدنی و شناختی بیمارانی می شود که از اختلالات سیستم عصبی مرکزی شامل: پارکینسون، سکتۀ مغزی و آسیب نخاعی رنج می برند اما اینکه کدام نوع تمرینات هوازی و یا HIIT در بهبود بیماری پارکینسون بر دیگری برتری دارد، مشخص نبوده و دارای نتایج متناقضی هستند (۱۳، ۱۴). با این حال، با توجه به اینکه تمرینات HIIT اغلب مستلزم صرف وقت و هزینه انرژی کمتری است، ممکن است برای بسیاری از افراد مناسب تر بوده و بیشتر مورد استقبال قرار گیرد. تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) نوع خاصی از تمرینات ورزشی با شدت بالا

مقدمه

بیماری پارکینسون (PD)^۱، دومین بیماری شایع عصبی در دنیا است که از علائم پاتولوژیک آن می توان به از بین رفتن سلول های عصبی دوپامینرژیک در قسمت متراکم ماده سیاه و بخش شکمی تگمنتوم مغز میانی و همچنین تجمع آلفا سینوکلئین اشاره کرد (۱). بر اساس گزارش ها ایران در آینده نه چندان دور، به یک جامعه با اکثریت سالمند تبدیل خواهد شد. با افزایش قشر سالمند تعداد مبتلایان به بیماری پارکینسون افزایش خواهد یافت (۲). تخمین زده می شود بیماری پارکینسون در سراسر جهان حدود ۷ تا ۱۰ میلیون نفر را تحت تأثیر قرار داده است. سالانه ۶۰ هزار نفر در ایالات متحده دچار این بیماری می شوند. هزینه های مستقیم و غیرمستقیم بیماری پارکینسون سالانه حدود ۲۵ بلیون دلار در ایالات متحده است (۳).

نورون های دوپامینرژیک میانجی عصبی دوپامین را ترشح می کنند که یک سوبسترای بالقوه برای شکل پذیری سیناپسی و مکانیسم های حافظه می باشد با کاهش سطح دوپامین و متعاقب آن برهم خوردن سطوح تعادلی دوپامین و استیل کولین که هر دو به عنوان انتقال دهنده های عصبی مهم بدن محسوب می شوند، دیگر مراکز کنترل کننده حرکات بدن نامنظم کار کرده و موجب ایجاد اختلالات حرکتی در این بیماران می شوند (۴).

بیماری پارکینسون دو مشخصه پاتولوژیایی اصلی دارد: ۱. آپوپتوز نورون های دوپامین ناشی از استرس اکسیداتیو و تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS)^۲، که سختی و کندی حرکات و ناتوانی در حفظ قامت را ایجاد می کند. ۲. تشکیل لوی بادیها که حاوی پروتئین آلفا سینوکلئین می باشند (۵). فرم های آمیلوئیدی آلفا سینوکلئین یکی از ترکیبات اصلی تجمعات (لوی بادی) درون سلول های دوپامینرژیک در بیماری پارکینسون است. سطح آلفا- سینوکلئین در CNS به تعادل بین سرعت سنتز آلفا- سینوکلئین، تجمع آن و ترخیص آن وابسته است عدم تعادل بین این مکانیسم ها می تواند سطح غیر طبیعی از آلفا- سینوکلئین را سبب شود که ممکن است سمی باشند (۶). این پروتئین می تواند به فضای خارج سلولی ترشح شود و با مکانیسم های مختلف به سلول گیرنده وارد شده و بیماری زایی را به سایر سلول ها منتقل کند. آلفا سینوکلئین مدت زمان طولانی است که به خاطر اهمیت و با توجه به نقش آن در پیشرفت بیماری پارکینسون مورد توجه قرار گرفته است. این پروتئین انعطاف پذیری ساختاری قابل توجهی را نشان می دهد و این ویژگی برای عملکرد صحیح سلولی و یا پیشرفت پاتولوژیک بیماری پارکینسون (PD) مهم است.

³. Thioredoxin

⁴. Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

¹. Parkinson disease

². Reactive oxygen species



پایداری غشاهای سلولی، موجب افزایش مقاومت نوروها در برابر آسیب اکسیداتیو شود و از طرفی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز را در برابر آسیب افزایش دهد (۲۶). بروال و همکاران در پژوهشی نشان دادند تجویز استیل ال-کارتین، بیان تیوردوکسین را در موش‌هایی که در هیپوکسی قرار گرفتند به‌طور قابل توجهی افزایش داد (۲۷).

باتوجه به مکانیسم‌های بیماری‌زایی PD ما فرض کردیم که HIIT در هم‌افزایی با مصرف مکمل استیل ال-کارتین ممکن است در شناخت استراتژی‌های جدید درمانی و مکانیسم آن برای بیماران مبتلا به PD مفید باشد. برای به‌دست آوردن اطلاعات بیشتر در زمینه کنترل تعادل بین عوامل آنتی‌اکسیدانی و عوامل اکسایش، به‌ویژه به‌دنبال تمرینات و مکمل‌های غیردارویی، نیاز به مطالعه مسیرهای سیستم دفاع ضداکسایشی در شرایط مختلف وجود دارد؛ بنابراین، در پژوهش حاضر سعی شده است با بررسی و اندازه‌گیری عوامل درگیر در شرایط استرس اکسیداتیو با مداخله تمرینات تناوبی و مکمل استیل ال-کارتین، درک بهتری از مسیرهای ضداکسایشی به‌دست آید. بنابراین هدف از مطالعه حاضر، بررسی تاثیر تمرین تناوبی شدید همراه با مکمل‌سازی استیل ال-کارتین بر پروتئین تیوردوکسین و آلفاسینوکلئین بافت مغز موش‌های صحرایی نر مدل پارکینسونی ناشی از ۶-هیدروکسی دوپامین است.

روش پژوهش

مطالعه حاضر از نوع تجربی مداخله‌گر آزمایشگاهی می‌باشد که در طی انجام آن، کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار روی حیوانات آزمایشگاهی، براساس موازین مورد تایید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی بوده است (IR.IAU.TABRIZ.REC.1401.093). این مطالعه در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تبریز هر روز از ساعت ۸ صبح الی ۲ بعد از ظهر انجام شد. برای انجام تحقیق حاضر، تعداد ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی 270 ± 20 گرم، از انستیتو پاستور (تهران-ایران) خریداری شد. حیوانات به مدت یک هفته به‌منظور عادت کردن به شرایط جدید، در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، نگهداری شدند. شرایط تغذیه و نگهداری برای تمام گروه‌ها یکسان و به‌صورت ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی و دمای 21 ± 2 درجه سلسیوس بود. جیره غذایی یکسان و آب نیز به‌طور آزاد در دسترس حیوانات قرار گرفت. لازم به ذکر است که پس از یک هفته، آزمایش تجربی شروع شد.

هستند و شامل دوره‌های کوتاه و متناوب فعالیت شدید و دوره‌های استراحت مکرر یا ورزش با شدت پایین است (۱۵) که انتظار می‌رود در بهبود PD موثر باشد. چند کارآزمایی بالینی محدود تاثیر تمرین HIIT در بیماران PD را مورد بررسی قرار داده‌اند، به‌طور مثال ودلی و همکاران (۲۰۱۵) در پژوهشی نشان دادند که پروتئین تیوردوکسین در کلیه روش‌های تمرینی در پلاسما افزایش یافته بود، اما این افزایش در گروه‌های تمرین با شدت بالا بیشتر بود (۱۶). لپالانین و همکارانش (۲۰۰۹) نشان دادند که تمرین ورزشی سطح تیوردوکسین را در مغز موش‌های غیردیابتی افزایش می‌دهد (۱۷). کاسکون و همکاران پیشنهاد می‌دهند که واکنش آنزیم‌های ضداکسایشی مغز بر فعالیت‌های بدنی بستگی به نوع، مدت و شدت فعالیت موش‌ها دارد (۱۸). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که ورزش از افزایش آلفاسینوکلئین در مغز بیماران پارکینسونی جلوگیری می‌کند (۱۹) و می‌تواند به میزان قابل توجهی سطح این پروتئین را در مغز (۲۰) و گلوبول‌های قرمز (۲۱) بیماران پارکینسونی کاهش دهد. ژو و همکاران در پژوهشی نشان دادند که ۳ ماه ورزش داوطلبانه دودین روی یک چرخ، باعث کاهش سطح آلفاسینوکلئین مغز و افزایش سطح آن در پلاسما شد. به‌نظر می‌رسد ورزش از افزایش قابل‌توجه آلفاسینوکلئین مغز موش‌ها، با افزایش پاکسازی آن از مغز به جریان خون، جلوگیری می‌کند (۲۲). بر اساس گزارش محققان، ورزش و فعالیت بدنی منظم خطر آسیب‌های آینده نرونی مانند پارکینسون و دیگر بیماری‌های تحلیل نرونی را کاهش می‌دهد. لذا ورزش می‌تواند یک رویکرد کاملاً منطقی برای توسعه درمان‌های محافظتی و عصبی برای بیماری پارکینسون باشد در حال حاضر پزشکان به بیماران خود این روش درمانی را توصیه می‌کنند (۲۳).

استیل ال کارنیتین (ALC) ^۵ یک ترکیب آمینواسیدی مشتق از لیزین و متیونین می‌باشد که نقش حائز اهمیتی در متابولیسم موادغذائی به‌ویژه چربی‌ها دارد. برخی پژوهش‌ها نشان داده است که این ماده می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مهم در رژیم‌های غذایی استفاده شود. در مورد این ماده اثرات ضد استرس اکسیداتیو، کاهش دهنده‌ی میزان آسیب مغزی به‌دنبال القا ایسکمی، ضد تشنجی در مدل تجربی صرع، ضد آلزایمر و ضد پارکینسون مورد بررسی قرار گرفته و اثر حفاظتی و آنتی‌اکسیدانی استیل ال کارنیتین در بررسی‌های قبلی به اثبات رسیده است (۲۴، ۲۵). از آنجایی که ALC می‌تواند از سد خونی مغز عبور کرده و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مستقیم عمل کند می‌تواند اثر محافظتی عصبی در مقابل عوامل اکسیداسیون در موش‌های مسن داشته باشد. حشمتی و همکارانش طی مطالعه‌ای نشان دادند که استیل ال-کارتین می‌تواند از طریق افزایش

^۵ Acetyl-L-carnitine

چهار هفته بعد از القاء بیماری، برای ارزیابی میزان آسیب ایجاد شده در مغز موش ها و احتمال ایجاد مدل پارکینسونی، تست های رفتاری در تمام گروه ها اجرا گردید. تست چرخشی برای ارزیابی تقارن حرکتی، بار تست برای ارزیابی کاتالپسی یا انقباضات عضلانی و تست ماز آبی موریس جهت ارزیابی حافظه فضایی رت ها که معمول ترین تست های ارزیابی مدل پارکینسون هستند بکار گرفته شد (۳۱). بعد از تایید القای بیماری پارکینسون توسط نتایج تست های رفتاری، پروتکل درمان مطابق گروه بندی آغاز شد

– **پروتکل تمرین:** ابتدا آزمودنی ها یک هفته به مدت ۳ تا ۱۰ دقیقه با سرعت ۶ تا ۱۰ متر در دقیقه با راه رفتن بر روی تردمیل (شرکت تجهیز آزما، تبریز، ایران) و ویژه جوندگان آشنا شدند. ارزیابی توان هوازی با محاسبه سرعت بیشینه در زمان رسیدن به حداکثر اکسیژن مصرفی و محاسبه تعیین شدت تمرین با استفاده از تست تعیین ظرفیت بیشینه، بر اساس VO_{2max} در ابتدای برنامه ی تمرینی بصورت زیر انجام گرفت: پس از ۵ دقیقه گرم شدن با سرعت ۵ متر در دقیقه، برنامه ی تردمیل با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و زاویه ۱۰ درجه تنظیم شد این سرعت برای ۳-۲ دقیقه حفظ شده، سپس هر ۲ دقیقه یکبار به مقدار ۳ متر در دقیقه بر سرعت نوارگردان افزوده شد. براین اساس حداکثر سرعت بیشینه زمانی بدست آمد که موش ها علی رغم اعمال شوک، دیگر نتوانستند سرعت ثابت خود را حفظ کرده و با افزایش سرعت قادر به دیدن نشدند (۳۲، ۳۳). پروتکل تمرین تناوبی شدید شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن با سرعت ۵ متر در دقیقه و تناوب تمرین با شدت بالا (۸۵ درصد سرعت بیشینه) به مدت ۲ دقیقه و تناوب تمرین با شدت پایین (۴۰-۳۵ درصد سرعت بیشینه) هم به مدت ۲ دقیقه تعیین گردید. شدت تمرین بر اساس اصل اورلود هر هفته ۵ درصد افزایش یافت. تعداد تناوب در هفته ی اول با ۲ تکرار شروع شده و در هفته های بعدی با توجه به توان موش ها افزایش یافت (جدول ۱). جهت اطمینان از سرعت بیشینه ی مناسب، در پایان هر هفته، حیوانات تحت آزمایش، تست تعیین ظرفیت بیشینه را انجام دادند (۱۵).

– **تیمار با استیل-ال-کارتنتین:** حیوانات این گروه یک بار در روز، به صورت تک دوز (۱۰۰ mg/kg) بمدت ۱۲ هفته، مکمل استیل ال کارتنتین را بصورت گاواژ دریافت کردند (۲۸).

– پرفیوژن ترانس کاردیال

در ادامه ۴۸ ساعت پس از آخرین روز تیمار، موش ها با تزریق داخل صفاقی ۹۰ mg/kg کتامین و ۱۰ mg/kg زایلازین بی هوش و سپس آسان کشی شدند.

– گروه بندی حیوانات و نحوه انجام آزمایش تجربی: ابتدا

موش ها به طور تصادفی به ۶ گروه مساوی تقسیم شدند:

۱- گروه شاهد سالم (co) که در طول آزمایش در قفس نگهداری شدند.
۲- گروه شاهد جراحی یا شم (Sh) که تنها توسط جراحی استریوتاکسی، سالیین به همراه اسید آسکوربیک دریافت کرده و در طول آزمایش در قفس نگهداری شدند.

۳- گروه پارکینسون (PD) که به موش های این گروه به صورت یکطرفه، سم ۶-هیدروکسی دوپامین (6-OHDA)؛ (Sigma Aldrich, USA St. Louic, MO) داخل جسم سیاه سمت چپ تزریق شد.

۴- گروه پارکینسون+تیمار با ورزش (ET) که حیوانات این گروه تمرین تناوبی شدید را طبق پروتکل، ۵ روز هفته به مدت ۱۲ هفته انجام دادند (۱۵).

۵- گروه پارکینسون+تیمار (ALC) که موش های این گروه با استفاده از استیل-ال-کارتنتین (Acetyl-L-Carnitine by ATP Science) با دوز ۱۰۰ mg/kg یک بار در روز به مدت ۱۲ هفته بصورت گاواژ تیمار شدند (۲۸).

۶- گروه پارکینسونی تیمار شده با ورزش و استیل-ال-کارتنتین (AET) که به طور مشابه گروه های ۴ و ۵ همزمان تمرین را انجام داده و مکمل استیل-ال-کارتنتین را استفاده کردند.

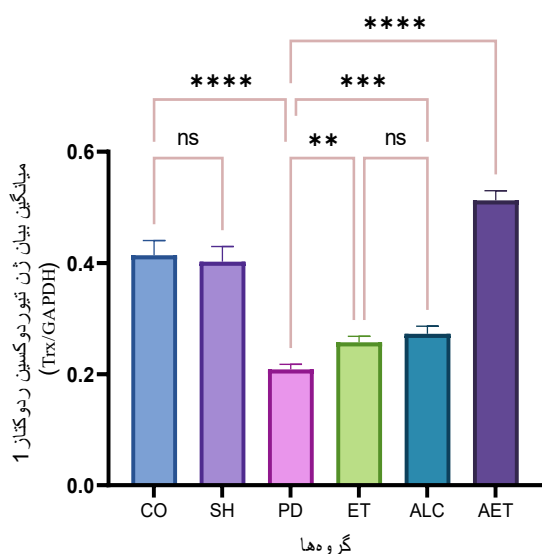
– **جراحی با دستگاه استریوتاکسی برای تزریق:** در تحقیق حاضر جهت ایجاد مدل پارکینسون در گروه های پارکینسونی، تیمار با ورزش، تیمار با استیل-ال-کارتنتین و گروه تیمار همزمان با ورزش و استیل-ال-کارتنتین، از روش روغنی و همکاران که به صورت تزریق تک دوز 6-OHDA که به میزان کلی ۱۲/۵ μg در ۵ μl محلول حاوی اسید آسکوربیک ۰/۲ درصد (Sigma Aldrich, USA St. Louic, MO) در حیوانات بود، استفاده شد (۲۹). بدین منظور حیوانات بعد از نوازش و هندلینگ، با تزریق داخل صفاقی ۹۰ mg/kg کتامین (Bremer, Germany) و ۱۰ mg/kg زایلازین (Alfasan, Holland) بی هوش گردیده و سپس موهای سر حیوان کاملاً تراشیده شده و در داخل دستگاه استریوتاکسی (شرکت استولتینگ، آمریکا) ثابت شد. برای حفظ حرارت، بدن حیوان در حین جراحی در داخل حوله قرار می گرفت. بر اساس مختصات به دست آمده از اطلس پاکسینوس (AP=-5.5mm، DV=-7.3mm، ML=-2.6mm)، تزریق در جسم سیاه سمت چپ انجام گرفت (۳۰). پس از ۵ دقیقه از انجام تزریق، سرسوزن (شماره ۲۷) از محل خارج شد. تجویز سالیین و 6-OHDA به صورت آهسته و با سرعت یک میکرولیتر در دقیقه بود.

– تست های رفتاری

⁶ . 6-Hydroxydopamine.

نتایج به دست آمده از آزمون تعقیبی توکی نشان می‌دهد که بین گروه‌های کنترل سالم و شاهد جراحی از نظر میزان بیان ژن تیوردوکسین ردوکتاز ۱ (TR1) جسم سیاه مغز، تغییر قابل توجهی وجود نداشته و تفاوت‌های بین آنها معنی‌دار نیست. در مقایسه‌ی گروه تحت تیمار با ورزش با گروه پارکینسون، میزان TR1 جسم سیاه مغز افزایش معنی‌داری داشت ($p=0/005$). همچنین در مقایسه‌ی گروه تحت تیمار با مکمل با گروه پارکینسون، میزان TR1 جسم سیاه مغز افزایش معنی‌داری داشت ($p=0/001$). این افزایش در گروه تیمار همزمان ورزش و مکمل در مقایسه با گروه پارکینسون، بیشترین تاثیر معنی‌داری را داشته است (نمودار ۱).

نمودار ۱. تاثیر تمرین تناوبی شدید و استفاده از مکمل استیل-ال-کارتین بر میانگین میزان بیان ژن تیوردوکسین ردوکتاز ۱ (TR1) جسم سیاه مغز



مقادیر به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد تعریف شده‌اند ($p<0/05$). CO: کنترل سالم، SH: شم جراحی، PD: پارکینسون، ET: تیمار با ورزش، ALC: تیمار با استیل-ال-کارتین، AET: تیمار با ورزش و استیل-ال-کارتین.

همچنین نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک راهه در مطالعه حاضر، نشان می‌دهد که میزان بیان ژن آلفا سینوکلین جسم سیاه مغز، بین گروه‌های مختلف تحقیق اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P=0/001$). نتایج به دست آمده از آزمون تعقیبی توکی نیز نشان می‌دهد که بین گروه‌های کنترل سالم و شاهد جراحی از نظر میزان بیان ژن آلفا سینوکلین جسم سیاه مغز، تغییر قابل توجهی وجود نداشته و تفاوت‌های بین آنها معنی‌دار نیست (نمودار شماره ۲). در مقایسه‌ی گروه تحت تیمار

پس از برداشتن پوست و جدار قدامی قفسه سینه، شریان آئورت نزولی را کلمپ می‌نمائیم تا محلول فیکساتیو فقط در قسمتهای بالایی بدن موش جریان یابد. بعد از آن، دو واحد سرنگ انسولین، هیپارین ۱٪ به بطن چپ موش ها تزریق گردید. سپس کانول ست پرفیوژن را به بطن چپ وارد می‌کنیم و ابتدا ۱۰۰cc محلول نرمال سالین و بعد از آن ۱۰۰-۲۰۰ cc محلول پارافرمالدئید ۴٪ در بافر فسفات ۱/۱ مولار عبور داده شد. با پاره کردن همزمان دهلیز راست، خروج خون و محلول اضافی ادامه یافت. از سرم برای تخلیه خون و شستشوی عروق استفاده شد. برای همین دیواره لترال دهلیز راست برش داده شد تا خون توسط فشار سرم فیزیولوژیک تخلیه گردید، انفوزیون محلول پارافرمالدئید ۴٪ را آغاز نمودیم. پس از عبور فیکساتیو، اکثر بخش های بدن از جمله دست ها همراه با مقداری لرزش سفت و سخت گردید. با خارج نمودن مغز از جمجمه، نمونه‌های مربوط به مطالعات بافتی بلافاصله در یخچال مخصوص در دمای ۷۰- درجه نگهداری شد تا در موعد مقرر از یخچال خارج شده و توسط تانک حاوی نیتروژن مایع به محل آزمایشگاه اندازه گیری منتقل شدند.

Real time-PCR تحقیق ابتدا داده‌ها از جنبه کیفیت توزیع آماری مورد ارزیابی قرار گرفت. برای ارزیابی توزیع داده‌ها از آزمون آماری شاپیرو-ویلک استفاده شد. داده‌های به‌دست آمده کمی، به‌صورت میانگین $\pm$ خطای

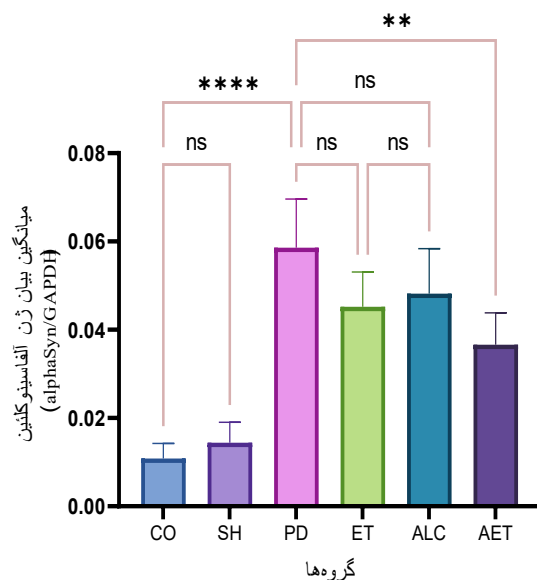
- برای ژنهای مورد بررسی:

برای بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از Real time-PCR، از ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی و با استفاده از دستگاه Light Cycler 96 و رنگ syber green I تعیین شد. جفت پرایمرهای مربوط به هر ژن با استفاده از نرم افزار oligo7 طراحی شد و توسط شرکت Roche سنتز شد. واکنش PCR در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر انجام شد.

تحلیل آماری داده‌ها: در این استاندارد (mean $\pm$ SEM) ارائه و اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها توسط آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (One-WAY ANOVA) و همچنین برای مشخص کردن محل اختلاف بین گروهی از آزمون تعقیبی توکی (TUKEY) استفاده گردید. محاسبات آماری در سطح معنی‌داری $p<0/05$ با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ی ۲۳ انجام گرفت.

یافته‌ها

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک راهه پژوهش حاضر، که در جدول ۲ هم اشاره شده است نشان می‌دهد که میزان بیان ژن تیوردوکسین ردوکتاز ۱ (TR1) و آلفاسینوکلین جسم سیاه مغز، بین گروه‌های مختلف تحقیق اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<0/05$).



مقادیر به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد تعریف شده‌اند ($p < 0.05$). CO: کنترل سالم، SH: شم جراحی، PD: پارکینسون، ET: تیمار با ورزش، ALC: تیمار با استیل-ال-کارنتین، AET: تیمار با ورزش و استیل-ال-کارنتین.

با ورزش و مکمل با گروه پارکینسون، میزان آلفا سینوکلئین جسم سیاه مغز هر چند کاهش داشته ولی این کاهش به سطح معنی داری نرسید. (به ترتیب $p = 0.114$ و $p = 0.325$). ولی این کاهش در گروه تیمار همزمان ورزش و مکمل در مقایسه با گروه پارکینسون، کاهش معنی داری را داشته است ($p = 0.002$).

نمودار ۲ تاثیر تمرین و استفاده از مکمل استیل-ال-کارنتین بر میانگین بیان ژن آلفا سینوکلئین جسم سیاه مغز

جدول ۱. پروتکل تمرین تناوبی شدید

هفته	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
تمرین با تناوب بالا												
سرعت (متوسط دقیقه)	۲۰	۲۱	۲۲	۲۳	۲۴	۲۵	۲۶	۲۷	۲۸	۲۹	۳۰	۳۰
تایم (دقیقه)	۲	۲	۲	۳	۳	۳	۳	۳	۴	۴	۴	۴
تمرین با تناوب پایین												
سرعت (متوسط دقیقه)	۱۰	۱۱	۱۲	۱۲	۱۳	۱۳	۱۴	۱۴	۱۵	۱۵	۱۶	۱۶
تایم (دقیقه)	۲	۲	۲	۳	۳	۳	۳	۳	۴	۴	۴	۴
تعداد تکرار	۲	۲	۳	۳	۴	۴	۵	۵	۵	۵	۵	۵
کل زمان فعالیت (دقیقه در روز)	۸	۸	۱۲	۱۸	۲۴	۲۴	۳۰	۳۰	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰
شیب دستگاه %	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰

بحث

گلوکاتایون پراکسیدازها و پراکسی‌ردوکسین‌ها از حالت اکسید به احیاء تبدیل می‌شوند (۴) عامل رونویسی رشد NF- κ B، که نقش مهمی در سرکوب حافظه و یادگیری دارد مهار می‌شود (۵) فاکتور رونویسی رشد (AP-1) که آپوپتوز را کنترل می‌کند فعال می‌شود (۶) دی هیدرواسکوربیک اسید به اسکوروپیک اسید که آنتی اکسیدان قوی است تبدیل می‌شود (۷) آلفا لیپوئیک اسید (α -Lipoic acid) به DHLA تبدیل می‌شود این دو باهم می‌توانند رادیکال‌های هیدروکسیل، نیتریک اکساید، پروکسی‌نیتريت و هیدروژن پراکسید را نابود کنند (۱۰).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد پس از یک دوره تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل استیل‌ال-کارنتین مقادیر TRX بافت مغز در گروه‌های تمرین تناوبی، مکمل و تمرین تناوبی+ مکمل نسبت به گروه کنترل پارکینسون افزایش معنی‌داری یافت. مطالعات متعددی اثرات تمرینات ورزشی بر TRX در رت‌های مدل پارکینسونی را بررسی کرده‌اند که نتایج متفاوتی نیز گزارش شده است.

همسو با نتایج پژوهش حاضر، یافته‌های متین و همکاران نشان داد فعالیت تیوردوکسین (TRX) پس از ۹ هفته تمرین ورزشی شنا به همراه مکمل ویتامین E در همه بافت‌ها (کبد، مغز و ریه) افزایش معنی‌داری داشته است (۳۷). همچنین اوکسالا و همکارانش گزارش کردند که ۸ هفته تمرین ورزشی سطح TRX را در موش‌های غیردیابتی افزایش می‌دهد (۱۷). در مطالعه ودلی و همکاران که بر روی ۱۰ مرد سالم با شدت بالا ۸۰ درصد VO_{2MAX} و شدت متوسط ۶۰ درصد VO_{2MAX} و تمرین با حجم پایین و شدت بالا ۹۰ درصد VO_{2MAX} بر روی دوچرخه ثابت انجام شده بود، پروتئین TRX در کلیه روش‌های تمرینی در پلاسما افزایش یافته بود، اما این افزایش در گروه‌های با شدت بالا بیشتر بود (۱۶). هاماکاوا و همکارانش در پژوهشی ناهمسو با پژوهش حاضر، نشان دادند که سطح TRX بافت مغز طی ۳ هفته تمرین ورزشی بر روی تردمیل قبل از سکنه مغزی ناشی از انسداد موقت عروق مغز میانی تغییر معنی‌داری پیدا نکرده است (۳۸). ناهمسویی مطالعه حاضر با مطالعه هاماکاوا، احتمالاً به دلیل مدت زمان تمرین می‌باشد که ایشان نتایج پژوهش خود را بعد از ۳ هفته تمرین ورزشی بررسی کردند.

در رابطه با سازوکار تاثیر فعالیت ورزشی بر آنتی اکسیدان‌ها، ثابت شده که چنانچه مدت و شدت فعالیت ورزشی به اندازه کافی باشد، ظرفیت آنتی اکسیدانی تغییر خواهد کرد (۳۹). همان طور که گفته شد در طی فعالیت ورزشی شدید میزان تولید رادیکال‌های آزاد به دلیل افزایش مصرف اکسیژن نسبت به حالت استراحت، افزایش پیدا می‌کند که با توجه به نوع، شدت و مدت فعالیت بدنی طیف وسیعی از تغییرات در بدن افراد ایجاد می‌شود. همانطور که مشخص است فعالیت بدنی منبع استرس است، و

هدف اصلی این مطالعه تعیین تاثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل استیل‌ال-کارنتین بر میزان بیان ژن پروتئین‌های تیوردوکسین و آلفاسینوکلئین بافت جسم سیاه مغز موش‌های مدل پارکینسونی ناشی از ۶-هیدروکسی دوپامین بود. در مطالعه حاضر، پس از القاء پارکینسون در رت‌ها، مقادیر TRX بافت مغز در رت‌های مبتلا به پارکینسون نسبت به رت‌های کنترل سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که با یافته‌های برخی مطالعات مشابه می‌باشد (۳۴، ۳۵). مشابه با مطالعه حاضر لیو و همکارانش (۲۰۱۳) کاهش معنی‌دار بیان نسبی ژن TRX به دنبال القاء پارکینسون را در رت‌های صحرایی گزارش کردند (۳۴).

یافته‌های پژوهش ما نشان می‌دهند که تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین به جسم سیاه، موجب کاهش معنی‌دار سطوح تیوردوکسین ردوکتاز در بافت جسم سیاه گروه موش‌های مدل پارکینسونی نسبت به گروه کنترل سالم گردید.

مکانیسم سمیت ۶-هیدروکسی دوپامین، همانند استرس اکسیداتیو ثابت شده است. گزارش شده است که انحطاط نورونی ناشی از ۶-هیدروکسی دوپامین، شامل پردازش هیدروژن پراکسیداز و رادیکال‌های هیدروکسیل در حضور آهن می‌باشد. علاوه براین، نشان داده شده است که ۶-هیدروکسی دوپامین باعث کاهش گلوکاتایون جسم مخطط (GSH) و کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و افزایش سطح مالون دی آلدئید می‌گردد. به نظر می‌رسد ۶-هیدروکسی دوپامین برای میتوکندری سمی است و منجر به تشکیل رادیکال‌های آزاد سوپر اکسید می‌شود (۳۶).

سیستم تیوردوکسین از دو آنزیم آنتی اکسیدان تیوردوکسین ردوکتاز (TrxR) و آنزیم تیوردوکسین (Trx) تشکیل شده است. تیوردوکسین ردوکتاز با مصرف NADH، تیوردوکسین‌های دی سولفیدی ($TrxS_2$) را به تیوردوکسین غیر دی سولفیدی [$Trx(SH)_2$] تبدیل می‌کند. در واقع تیوردوکسین ردوکتاز و NADPH، محل فعال دی سولفید را در تیوردوکسین و چندین سوبسترای دیگر پروتئین‌ها و پپتیدها، از جمله پراکسیدوکسین‌ها (Prx) و گلوکاتایون دی سولفید (GSSG) کاهش می‌دهد. در نتیجه کاهش دی سولفید تیوردوکسین، واکنش‌های زیر در جهت کاهش عوامل اکسیداسیون و کاهش رادیکال‌های آزاد آسیب‌زا در درون سلول اتفاق می‌افتد:

(۱) کیناز تنظیم کننده سیگنال آپوپتوز ۱ (ASK_1) مهار می‌شود (۲) پراکسیداسیون هیدروژن (H_2O_2) به H_2O و O_2 تبدیل می‌شود (۳)

خود نشان دادند که تمرین (دویدن ۱۰-۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ m/min در ۵ روز هفته به مدت ۵ هفته) تجمع پروتئین HSF1 در هیپوکمپ و سرم موش های دیابتی را در مقایسه با دیابتی های کم تحرک به طور معنی داری افزایش داد. به نظر می رسد فعالیت ورزشی با افزایش برخی عوامل مانند دما و ROS، مسیر سیگنال دهی درون سلولی استرس آدرنرژیک را فعال کرده و منجر به افزایش پاسخ شوک حرارتی ناشی از HSF1 می شود همچنین ورزش ممکن است از طریق مکانیسم هایی مانند افزایش HSP70 و BDNF و مهار GSK3 در مغز، HSF1 را افزایش دهد (۴۶).

با توجه به نتایج پژوهش های انجام گرفته، به نظر می رسد دلیل تناقض پژوهش ما با سایر پژوهش ها در این زمینه، به نوع و مدت زمان تمرین مربوط می شود. نتایج تحقیقات نشان می دهد تمرینات با شدت پایین و در مدت زمان طولانی، از تجمعات پروتئین آلفاسینوکلئین در بافت های بدن از جمله در هیپوکمپ مغز به طور موثرتری پیشگیری کرده و سطوح آن را کاهش می دهد.

مطالعات معدودی در خصوص ترکیب تمرینات تناوبی شدید و مکمل استیل ال-کارتنتین روی آزمودنی های مدل پارکینسونی انجام شده که این مطالعات بیشتر بر شاخص های اکسیداسیون لیپیدی و سطوح آنتی اکسیدان های آنزیمی متمرکز شده اند و نتایج امیدوارکننده ای را گزارش کرده اند ولی مطالعه معدودی به بررسی مکانیسم های مرتبط با آن پرداخته اند. به طور خاص پیشنهاد شده است که استیل ال-کارتنتین دارای اثرات مفیدی در جلوگیری از کاهش عملکرد مغز دارد که معمولاً در طول پیری و اختلالات عصبی رخ می دهد. در واقع نشان داده شده است که درمان استیل ال-کارتنتین از تغییرات مرتبط با افزایش سن در تنفس میتوکندریایی جلوگیری می کند و نشانگرهای زیستی استرس اکسیداتیو را با تنظیم بالا HO-1 (هم اکسیناز-۱)، Hsp70 (پروتئین شوک حرارتی ۷۰) و سوپراکسید دیسموتاز در موش های پیر کاهش می دهد (۴۷). استیل ال-کارتنتین از طریق فعال شدن فاکتور رونویسی Nrf2 عمل می کند که پس از اتصال به ARE (عنصر پاسخ دهنده آنتی اکسیدانی) در ژن HO-1، هر دوی HO-1 و تیوردوکسین ردوکتاز (TrxR) را تنظیم کرده و با شرایط پرواکسیدانی مقابله می کند. عملکرد مشترک استیل ال-کارتنتین، انتقال اسیدهای چرب از طریق غشای داخلی میتوکندری است، در نتیجه در تولید انرژی در مغز و در حفظ نورون و ترمیم آسیب ها نقش دارد. علاوه بر این، فعالیت پروتئین کیناز C (PKC) را افزایش می دهد. همچنین می تواند سنتز و آزادسازی استیل کولین را تقویت کرده و سنتز پروتئین ها و فسفولیپیدهای غشایی را تحریک کند (۴۸).

تمرین منظم، یک استرس فیزیکی مزمن، قادر است در پاسخ به تولید بیشتر ROS، سازگاری های مناسبی را ایجاد نماید. این سازگاری ها به چندین سیستم مربوط می شوند، که در میان آنها سیستم تیوردوکسین نقش اصلی را ایفا می کند که از تیوردوکسین (Trx) و تیوردوکسین ردوکتاز (TrxR) تشکیل شده است (۴۰). سیستم تیوردوکسین با از بین بردن گونه های فعال اکسیژن از طریق انواع مکانیسم های مستقیم و غیرمستقیم که قبلاً ذکر گردید از سلول در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می کند. (۳۷)

یافته های پژوهش ما نشان می دهند که تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین به جسم سیاه، موجب افزایش معنی دار بیان ژن آلفاسینوکلئین در بافت جسم سیاه گروه موش های مدل پارکینسونی نسبت به گروه کنترل سالم گردید که با یافته های برخی مطالعات مشابه می باشد (۴۱، ۴۲). سکوتی و همکاران (۲۰۲۲) در پژوهش خود نشان دادند که، القای پارکینسون توسط ۶-هیدروکسی دوپامین باعث افزایش معنی دار میزان پروتئین آلفا سینوکلئین و سطوح مالون دی آلدئید و کاهش تعداد نورون های جسم سیاه، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز در بافت مغز موش ها شد (۴۱). لیمنشک و همکاران، مکانیسمی از سمیت دوپامینرژیک ناشی از ۶-هیدروکسی دوپامین را پیشنهاد کرد که شامل برهمکنش پروتئین آلفاسینوکلئین جهش یافته با مولکول ناقل دوپامین و تسریع متعاقب آن، کاهش انرژی سلولی و تولید گونه های فعال است که ممکن است در پاتوژنز بیماری پارکینسون مرتبط باشد (۴۲).

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، هرچند انجام یک دوره تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل استیل ال-کارتنتین به تنهایی باعث کاهش سطوح بیان ژن آلفاسینوکلئین در هیپوکمپ موش های گروه های مذکور نسبت به گروه کنترل پارکینسون گردید ولی این کاهش ها معنی دار نبودند. با این حال، اجرای تمرین تناوبی شدید همزمان با مصرف مکمل استیل ال-کارتنتین دارای اثر معنی داری در کاهش بیان ژن آلفا سینوکلئین جسم سیاه مغز داشتند.

مطالعات متعدد نشان داده اند که ورزش از افزایش آلفاسینوکلئین در مغز بیماران پارکینسونی جلوگیری می کند و می تواند به میزان قابل توجهی سطح این پروتئین را در مغز و گلبول های قرمز بیماران پارکینسونی کاهش دهد (۲۱). ژو و همکاران در پژوهشی نشان دادند که ۳ ماه ورزش داوطلبانه دویدن روی یک چرخ، باعث کاهش سطح آلفاسینوکلئین مغز و افزایش سطح آن در پلاسما شد. به نظر می رسد ورزش از افزایش قابل توجه آلفاسینوکلئین مغز موش های دیابتی، با افزایش پاکسازی آن از مغز به جریان خون، جلوگیری می کند (۲۲). همچنین مطالعات نشان دادند که ورزش یا فعالیت بدنی (حاد و مزمن) می تواند سطح پروتئین و بیان HSF1 را در کبد (۴۳) و قلب افزایش دهد (۴۴، ۴۵). پیر و همکاران در پژوهش

درمان کمکی و جایگزین برای مبتلایان به این نوع بیماری در نظر گرفت. با این حال، انجام مطالعات بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

اطلاعات مقاله حاضر، مستخرج از رساله دکتری یوسف غفاری دانشجوی رشته فیزیولوژی ورزشی دانشکده علوم انسانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز (کد رساله: ۱۰۱۶۲۵۱۱۳۰-۹۳۵۱۴۰۰۳۷۹۲۵۱۳۷۴۸۱) می‌باشد. بدین‌وسیله از معاونت پژوهش و فن‌آوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز و نیز کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های فیزیولوژی و پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، علوم پزشکی، تبریز، قدردان می‌شود.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به استرس ناشی از گاوآز و میزان دوز استفاده شده از مکمل استیل‌ال-کارتین اشاره کرد. این احتمال وجود دارد که اثرات موثرتر مکمل استیل‌ال-کارتین در بیماران مبتلا به پارکینسون به مقدار دز آن وابسته باشد. ضمناً به‌منظور کاهش فشار اکسایشی ناشی از تمرین HIIT، و دستیابی به نتایج بهتر، پیشنهاد می‌شود در پروتکل تمرینی HIIT، شیوه باردهی تمرینات به شکل غیرخطی اعمال شود.

نتیجه گیری

مطالعه حاضر پیشنهاد می‌کند که تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف مکمل استیل ال-کارتنین منجر به افزایش TRX و کاهش تجمعات آلفا سینوکلئین بافت مغز رت‌های صحرایی مبتلا به پارکینسون می‌گردد. این تغییرات به‌نظر می‌رسد در بهبود شدت بیماری پارکینسون موثر باشد. انجام تمرینات HIIT به همراه مصرف استیل ال-کارتنین را می‌توان به عنوان

Reference

8. Goldstein DS, Holmes C, Kopin IJ, Sharabi YJTJoCI. Intra-neuronal vesicular uptake of catecholamines is decreased in patients with Lewy body diseases. 2011;121(8):3320-30.
 9. Salim SJJOP, Therapeutics E. Oxidative stress and the central nervous system. 2017;360(1):201-5.
 10. Awan MUN, Yan F, Mahmood F, Bai L, Liu J, Bai JJA, et al. The functions of thioredoxin 1 in neurodegeneration. 2022;36(13):1023-36.
 11. Liu Z, Wang F, Guo Y, Cui R, Wang J, Wang DJNL. Protective effect of thioredoxin reductase 1 in Parkinson's disease. 2021;741:135457.
 12. Anstrom KK, Schallert T, Woodlee MT, Shattuck A, Roberts DCJBbr. Repetitive vibrissae-elicited forelimb placing before and immediately after unilateral 6-hydroxydopamine improves outcome in a model of Parkinson's disease. 2007;179(2):183-91.
 13. Choe M-A, Koo B-S, An GJ, Jeon SJTKJoP, Society POJotKP, Pharmacology tKSo. Effects of treadmill exercise on the recovery of dopaminergic neuron loss and muscle atrophy in the 6-ohda lesioned parkinson's disease rat model. 2012;16(5):305.
 14. Oliveira NR, Marques SO, Luciano TF, Pauli JR, Moura LP, Caperuto E, et al. Treadmill
- ## Reference
1. Balestrino R, Schapira AJEjon. Parkinson disease. 2020;27(1):27-42.
 2. Mohamadpour F, Aflakseir A, Mohamadi N, Hadianfard HJPPR. Analysis of components of meaning of life in elderly. 2021;7(1):1-18. [In persian]
 3. Piccinini E. Neurotrophic factors GDNF and NRTN: from basic properties to clinical trials. 2014.
 4. Nocker M, Seppi K, Donnemiller E, Virgolini I, Wenning GK, Poewe W, et al. Progression of dopamine transporter decline in patients with the Parkinson variant of multiple system atrophy: a voxel-based analysis of [123 I] β -CIT SPECT. 2012;39:1012-20.
 5. Subramaniam SR, Chesselet M-F. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease. Progress in neurobiology. 2013;106:17-32.
 6. Mor DE, Ugras SE, Daniels MJ, Ischiropoulos H. Dynamic structural flexibility of α -synuclein. Neurobiology of Disease. 2016;88:66-74.
 7. Snead D, Eliezer DJEn. Alpha-synuclein function and dysfunction on cellular membranes. 2014;23(4):292.

24. Abdul HM, Calabrese V, Calvani M, Butterfield DA. Acetyl-L-carnitine-induced up-regulation of heat shock proteins protects cortical neurons against amyloid-beta peptide 1–42-mediated oxidative stress and neurotoxicity: Implications for Alzheimer's disease. *Journal of neuroscience research*. 2006;84(2):398-408.
25. Kobayashi S, Iwamoto M, Kon K, Waki H, Ando S, Tanaka Y. Acetyl-l-carnitine improves aged brain function. *Geriatrics & gerontology international*. 2010;10:S99-S106.
26. Hatami H, Dehghan GJJ. The Effect of Ethanolic The effect of ethanolic extract of Saffron (*Crocus sativus* L.) on improving the spatial memory parameters in the experimental models of Parkinson disease in male rats. 2015;5(4):534-41. [In persian]
27. Barhwal K, Hota S, Jain V, Prasad D, Singh S, Ilavazhagan GJN. Acetyl-l-carnitine (ALCAR) prevents hypobaric hypoxia-induced spatial memory impairment through extracellular related kinase-mediated nuclear factor erythroid 2-related factor 2 phosphorylation. 2009;161(2):501-14.
28. Bielefeld EC, Coling D, Chen G-D, Henderson DJ. Multiple dosing strategies with acetyl L-carnitine (ALCAR) fail to alter age-related hearing loss in the Fischer 344/NHsd rat. 2008;7:1-5.
29. Roghani M, Behzadi G, Baluchnejadmojarad TJP, behavior. Efficacy of elevated body swing test in the early model of Parkinson's disease in rat. 2002;76(4-5):507-10.
30. Paxinos G, Watson C. The brain in stereotaxic coordinates. New York. Academic Press; 2014.
31. Landers MR, Kinney JW, van Breukelen F. Forced exercise before or after induction of 6-OHDA-mediated nigrostriatal insult does not mitigate behavioral asymmetry in a hemiparkinsonian rat model. *Brain research*. 2014;1543:263-70.
32. Henderson KK, Wagner H, Favret F, Britton SL, Koch LG, Wagner PD, et al. Determinants of maximal O₂ uptake in rats selectively bred for endurance running capacity. 2002;93(4):1265-74.
- training increases SIRT-1 and PGC-1 α protein levels and AMPK phosphorylation in quadriceps of middle-aged rats in an intensity-dependent manner. 2014;2014.
15. Pourrazi H, Asgharpour-Arshad M, Gholami F, Abbasi SJG, Cell, Tissue. Effect of high-intensity interval training on apoptotic gene expression in rat myocardial tissue. 2020;7(2).
16. Wadley A, Chen Y-W, Bennett S, Lip GY, Turner JE, Fisher JP, et al. Monitoring changes in thioredoxin and over-oxidised peroxiredoxin in response to exercise in humans. 2015;49(3):290-8.
17. Lappalainen Z, Lappalainen J, Oksala NK, Laaksonen DE, Khanna S, Sen CK, et al. Diabetes impairs exercise training-associated thioredoxin response and glutathione status in rat brain. 2009;106(2):461-7.
18. Coşkun Ş, Gönül B, Güzel NA, Balabanlı BJM, biochemistry c. The effects of vitamin C supplementation on oxidative stress and antioxidant content in the brains of chronically exercised rats. 2005;280:135-8.
19. Almeida MF, Silva CM, Chaves RS, Lima NC, Almeida RS, Melo KP, et al. Effects of mild running on substantia nigra during early neurodegeneration. 2018;36(12):1363-70.
20. chul Jang Y, Hwang DJ, Koo JH, Um HS, Lee NH, Yeom DC, et al. Association of exercise-induced autophagy upregulation and apoptosis suppression with neuroprotection against pharmacologically induced Parkinson's disease. 2018;22(1):1.
21. Daniele S, Pietrobono D, Fusi J, Iofrida C, Chico L, Petrozzi L, et al. α -Synuclein aggregates with β -amyloid or tau in human red blood cells: correlation with antioxidant capability and physical exercise in human healthy subjects. 2018;55:2653-75.
22. Zhou W, Barkow JC, Freed CRJP. Running wheel exercise reduces α -synuclein aggregation and improves motor and cognitive function in a transgenic mouse model of Parkinson's disease. 2017;12(12):e0190160.
23. Zigmond MJ, Smeyne RJJP, disorders r. Exercise: is it a neuroprotective and if so, how does it work? 2014;20:S123-S7.

42. Lehmensiek V, Tan E-M, Liebau S, Lenk T, Zettlmeisl H, Schwarz J, et al. Dopamine transporter-mediated cytotoxicity of 6-hydroxydopamine in vitro depends on expression of mutant α -synucleins related to Parkinson's disease. 2006;48(5):329-40.
43. Atalay M, Oksala NK, Laaksonen DE, Khanna S, Nakao C, Lappalainen J, et al. Exercise training modulates heat shock protein response in diabetic rats. 2004;97(2):605-11.
44. Tian X, Zhou N, Yuan J, Lu L, Zhang Q, Wei M, et al. Heat shock transcription factor 1 regulates exercise-induced myocardial angiogenesis after pressure overload via HIF-1 α /VEGF pathway. 2020;24(3):2178-88.
45. Kim E, Wang B, Sastry N, Masliah E, Nelson PT, Cai H, et al. NEDD4-mediated HSF1 degradation underlies α -synucleinopathy. 2016;25(2):211-22.
46. Peer ME, Fallahmohammadi Z, Akbari AJMO. The effect of progressive endurance training and extract of black winter truffle on proteins levels and expression of hippocampus α -synuclein and HSF1 in the healthy and diabetic rats. 2023;17:100232.
47. Calabrese V, Colombrita C, Sultana R, Scapagnini G, Calvani M, Butterfield D, et al. Redox modulation of heat shock protein expression by acetylcarnitine in aging brain: relationship to antioxidant status and mitochondrial function. 2006;8(3-4):404-16.
48. Calabrese V, Ravagna A, Colombrita C, Scapagnini G, Guagliano E, Calvani M, et al. Acetylcarnitine induces heme oxygenase in rat astrocytes and protects against oxidative stress: involvement of the transcription factor Nrf2. 2005;79(4):509-21.
33. Thomas C, Bishop D, Moore-Morris T, Mercier JJAJoP-E, Metabolism. Effects of high-intensity training on MCT1, MCT4, and NBC expressions in rat skeletal muscles: influence of chronic metabolic alkalosis. 2007;293(4):E916-E22.
34. Liu Z, Jing Y, Yin J, Mu J, Yao T, Gao LJNrr. Downregulation of thioredoxin reductase 1 expression in the substantia nigra pars compacta of Parkinson's disease mice. 2013;8(35):3275-83.
35. Lopert P, Day BJ, Patel MJPo. Thioredoxin reductase deficiency potentiates oxidative stress, mitochondrial dysfunction and cell death in dopaminergic cells. 2012;7(11):e50683.
36. Schober AJC, research t. Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP. 2004;318(1):215-24.
37. Metin G, Kucur M, İşman F, Altan M, Mengi M, Çakar L, et al. The effect of regular training with vitamin E supplementation on the thioredoxine system in rats. 2010;2010(2).
38. Hamakawa M, Ishida A, Tamakoshi K, Shimada H, Nakashima H, Noguchi T, et al. Repeated short-term daily exercise ameliorates oxidative cerebral damage and the resultant motor dysfunction after transient ischemia in rats. 2013;53(1):8-14.
39. Jahani G, Firoozrai M, Matin Homaee H, Tarverdzadeh B, Azarbayjani M, Movaseghi G, et al. The effect of continuous and regular exercise on erythrocyte antioxidative enzymes activity and stress oxidative in young soccer players. 2010;17(74):22-32. [In persian]
40. Holmgren AJA, signaling r. Antioxidant function of thioredoxin and glutaredoxin systems. 2000;2(4):811-20.
41. Sokouti H, Mohajeri D, Nourazar MAJPR. 6-Hydroxydopamine-Induced Neurotoxicity in Rat Model of Parkinson's Disease: Is Reversed via Anti-Oxidative Activities of Curcumin and Aerobic Exercise Therapy. 2022;71(4):551.