

## 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.<sup>1</sup>, Zehsaz, F.<sup>2\*</sup>, Nourazar, M.A.<sup>3</sup>, Pourrazi, H.<sup>4</sup>, Mohajeri, D<sup>5</sup>

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](http://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](mailto: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. ????; ?(In press): ?-??.

**Owner and Publisher:** Azarbaijan Shahid Madani University

**Journal ISSN** (online): 2676-6507

**Access Type:** Open Access

**DOI:** 10.22049/JAHSSP.2024.29499.1636

**DOR:**



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  $\alpha$ -synuclein. 2016;88:66-74.
3. Anstrom KK, Schallert T, Woodlee MT, Shattuck A, Roberts DCJBr. 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؟، شماره؟

؟ و ؟؟؟؟ صفحات؟-؟

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<sup>۱</sup>، فرزاد زهساز<sup>۲\*</sup>، میرعلیرضا نورآذر<sup>۳</sup>، حسن پوررضی<sup>۴</sup>، داریوش مهاجری<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۱۲

## 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 شم 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 در 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.

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

با اسکن QR فوق می توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت [www.jahssp.azaruniv.ac.ir/](http://www.jahssp.azaruniv.ac.ir/) مشاهده کنید

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](mailto: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. ؟؟؟؟؟؟ (؟)؟-؟؟.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۲۶۷۶-۰۷-۶۵

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/JAHSSP.2024.29499.1636



تشکیل انواع الیگومرهای داخل سلولی از تجمع های آلفا سینوکلئین در جسم سیاه مغز، با پیشرفت بیماری پارکینسون مرتبط است (۷).

مطالعات نشان داده‌اند 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، می‌توانند نقش درمانی در این بیماری داشته باشند. تنظیم بخش عمده‌ای 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، پروتئین‌های دی سولفیدی را به غیردی سولفیدی تبدیل کرده و منجر به مهار آپوپتوز و تنظیم حالت اکسایشی درون سلولی می‌گردد (۱۰). در چند سال اخیر تمرکز بر پروتئین‌های آنتی اکسیدانی تیوردوکسین (TR) افزایش یافته است. تیوردوکسین‌ها ضمن مقابله با شرایط اکسیداتیو و مرگ سلولی، بر عوامل رشد سلولی نیز تأثیر دارند. تیوردوکسین ردونکاز (TR1) عملکردهای همه جانبه سلولی از جمله تمایز و رشد سلولی را حفظ می کند. TR1 یک آنزیم آنتی اکسیدان وابسته به NADPH<sup>+</sup> 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 می‌تواند از پیشرفت علایم این بیماری تا یک دهه جلوگیری کند، در بسیاری از موارد مخصوصاً در بیماران با سن زیاد، درمان‌های 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 نورون‌های دوپامینرژیک در جسم سیاه و کند کردن پیشرفت این بیماری می‌باشد. علاوه بر این، شواهد فزاینده‌ای وجود دارد که نشان می‌دهد فعالیت ورزشی موجب کاهش نقایص بدنی و شناختی بیمارانی می‌شود که از اختلالات سیستم عصبی مرکزی شامل: پارکینسون، سکتۀ مغزی و آسیب نخاعی رنج می‌برند 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 مناسب‌تر 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)<sup>۱</sup>، دومین بیماری شایع عصبی در دنیا است که از علائم پاتولوژیک آن می‌توان به از بین رفتن سلول‌های 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).

نورون‌های دوپامینرژیک میانجی عصبی دوپامین را ترشح می‌کنند که یک سوبسترای بالقوه برای شکل‌پذیری سیناپسی و مکانیسم‌های حافظه می‌باشد با کاهش سطح دوپامین و متعاقب آن برهم خوردن سطوح تعادلی دوپامین و استیل کولین که هر دو به‌عنوان انتقال دهنده‌های عصبی مهم بدن محسوب می‌شوند، دیگر مراکز کنترل کننده حرکات بدن نامنظم کار کرده و موجب ایجاد اختلالات حرکتی در این بیماران می‌شوند (۴).

بیماری پارکینسون دو مشخصه پاتولوژیایی اصلی دارد: ۱. آپوپتوز نورون‌های دوپامین ناشی از استرس اکسیداتیو و تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS)<sup>۲</sup>، که سختی و کندی حرکات و ناتوانی در حفظ قامت را ایجاد می کند. ۲. تشکیل لوی بادیها که حاوی پروتئین آلفاسینوکلئین می باشند (۵). فرمهای آمیلوئیدی آلفاسینوکلئین یکی از ترکیبات اصلی تجمعات (لوی بادی) درون سلولهای 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 سلولها 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.

<sup>3</sup>. Thioredoxin

<sup>4</sup>. Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

<sup>1</sup>. Parkinson disease

<sup>2</sup>. Reactive oxygen species





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-کارتنتین، 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-کارتنتین 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 مسیره‌های سیستم دفاع ضد اکسایشی 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-کارتنتین، درک بهتری از مسیرهای ضد اکسایشی به‌دست آید. بنابراین هدف از مطالعه حاضر، بررسی تاثیر تمرین تناوبی شدید همراه با مکمل‌سازی استیل ال-کارتنتین 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 ۴۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی  $20 \pm 27$  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 ۱۶ ساعت روشنایی/تاریکی و دمای  $21 \pm 2$  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.

**گروه‌بندی حیوانات و نحوه انجام آزمایش تجربی:** ابتدا موش‌ها به‌طور تصادفی به ۶ گروه مساوی تقسیم شدند:

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 کارازمایی 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 ضد اکسایشی 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 گلبول‌های قرمز (۲۱) بیماران پارکینسونی کاهش دهد. ژو و همکاران در پژوهشی نشان دادند که ۳ ماه ورزش داوطلبانه دوییدن روی یک چرخ، باعث کاهش سطح آلفاسینوکلئین مغز و افزایش سطح آن در پلاسما شد. به‌نظر می‌رسد ورزش از افزایش قابل توجه 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 نوروئی مانند پارکینسون و دیگر بیماری‌های تحلیل نوروئی 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-کارتنتین (ALC) <sup>۵</sup> یک ترکیب آمینواسیدی مشتق از لیزین و متیونین می‌باشد که نقش حائز اهمیتی در متابولیسم موادغذائی به ویژه 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 دهنده‌گی میزان آسیب مغزی به‌دنبال القا ایسکمی، ضد تشنجی در مدل تجربی صرع، ضد آلازیمر و ضد پارکینسون مورد بررسی قرار گرفته و اثر حفاظتی و آنتی‌اکسیدانی استیل ال-کارتنتین 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-کارتنتین می‌تواند از طریق افزایش پایداری غشاهای سلولی، موجب افزایش مقاومت نوروئی‌ها در برابر آسیب

<sup>5</sup>. Acetyl-L-carnitine

گروه‌ها 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 رت‌ها که معمول‌ترین تست‌های ارزیابی مدل پارکینسون هستند بکار گرفته شد (۳۱). بعد از تایید القای بیماری پارکینسون توسط نتایج تست‌های رفتاری، پروتکل درمان مطابق گروه‌بندی آغاز شد

– **پروتکل تمرین:** ابتدا آزمودنی‌ها یک هفته به مدت ۳ تا ۱۰ دقیقه با سرعت ۶ تا ۱۰ متر در دقیقه با راه رفتن بر روی تردمیل (شرکت تجهیز آژما، تبریز، ایران) ویژه جوانان 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 برنامه‌ی تمرینی بصورت زیر انجام گرفت: پس از ۵ دقیقه گرم شدن با سرعت ۵ متر در دقیقه، برنامه‌ی 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 موش‌ها علی‌رغم اعمال شوک، دیگر نتوانستند سرعت ثابت خود را حفظ کرده و با افزایش سرعت قادر به دویدن 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 هفته‌ی اول با ۲ تکرار شروع شده و در هفته‌های بعدی با توجه به توان موش‌ها افزایش یافت (جدول ۱). جهت اطمینان از سرعت بیشینه‌ی مناسب، در پایان هر هفته، حیوانات تحت آزمایش، تست تعیین ظرفیت بیشینه را انجام دادند (۱۵).

– **تیمار با استیل‌ال-کارتینین:** حیوانات این گروه یک بار در روز، به‌صورت تک‌دوز (۱۰۰ mg/kg) بمدت ۱۲ هفته، مکمل استیل‌ال-کارتینین را بصورت گاوژ دریافت کردند (۲۸).

– **پرفیوژن ترانس کاردیال**  
در ادامه ۴۸ ساعت پس از آخرین روز تیمار، موش‌ها با تزریق داخل صفاقی ۹۰ mg/kg کتامین و ۱۰ mg/kg زایلازین بی‌هوش و سپس آسان‌کشی شدند.

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، هپارین ۱٪ به بطن چپ

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 به‌همراه اسید آسکوربیک دریافت کرده و در طول آزمایش در قفس نگهداری شدند.

۳- گروه پارکینسون (PD) که به موش‌های 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 موش‌های این گروه با استفاده از استیل‌ال-کارتینین (Acetyl-L-Carnitine by ATP Science) با دوز ۱۰۰ mg/kg یک بار در روز به مدت ۱۲ هفته بصورت گاوژ تیمار شدند (۲۸).

۶- گروه پارکینسونی تیمار شده با ورزش و استیل‌ال-کارتینین (AET) که به طور مشابه گروه‌های ۴ و ۵ همزمان تمرین را انجام داده و مکمل استیل‌ال-کارتینین را استفاده کردند.

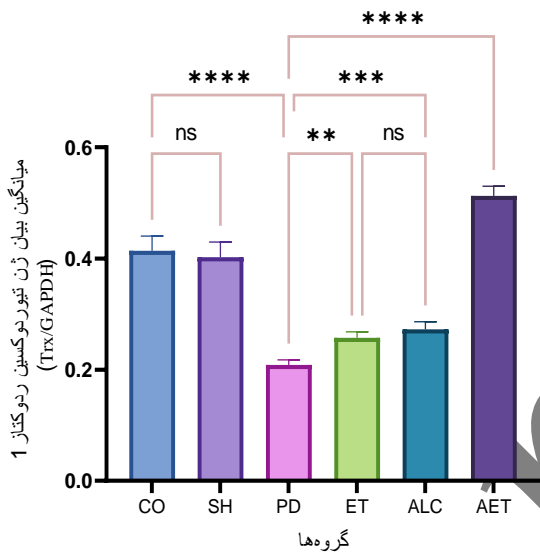
– **جراحی با دستگاه استریوتاکسی برای تزریق:** در تحقیق حاضر جهت ایجاد مدل پارکینسون در گروه‌های پارکینسونی، تیمار با ورزش، تیمار با استیل‌ال-کارتینین و گروه تیمار همزمان با ورزش و استیل‌ال-کارتینین، از روش روغنی و همکاران که به‌صورت تزریق تک‌دوز ۶-OHDA که به‌میزان کلی ۱۲/۵ μg در ۵ μl محلول حاوی اسید 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) بی‌هوش 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 می‌گرفت. بر اساس مختصات به‌دست 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 ۶-OHDA به‌صورت آهسته و با سرعت یک میکرولیتر در دقیقه بود.

– **تست‌های رفتاری**  
چهار هفته بعد از القاء بیماری، برای ارزیابی میزان آسیب ایجاد شده در مغز موش‌ها و احتمال ایجاد مدل پارکینسونی، تست‌های رفتاری در تمام

6 . 6-Hydroxydopamine.

پارکینسون، میزان TR1 جسم سیاه مغز افزایش معنی‌داری داشت (p=۰/۰۰۵). همچنین در مقایسه‌ی گروه تحت تیمار با مکمل با گروه پارکینسون، میزان TR1 جسم سیاه مغز افزایش معنی‌داری داشت (p=۰/۰۰۱). 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-کارتینین بر میانگین میزان بیان ژن تیوردوکسین ردوکتاز ۱ (TR1) جسم سیاه مغز**



مقادیر به صورت میانگین ± خطای استاندارد تعریف شده‌اند (p<۰/۰۵). CO: کنترل سالم، SH: شم جراحی، PD: پارکینسون، ET: تیمار با ورزش، ALC: تیمار با استیل-ال-کارتینین، تیمار با ورزش و استیل-ال-کارتینین.

همچنین نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک راهه در مطالعه حاضر، نشان می‌دهد که میزان بیان ژن آلفا سینوکلئین جسم سیاه مغز، بین گروه‌های مختلف تحقیق اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P=۰/۰۰۱).

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 سینوکلئین جسم سیاه مغز، تغییر قابل توجهی وجود نداشته و تفاوت‌های بین آنها معنی‌دار نیست (نمودار شماره ۲). در مقایسه‌ی گروه تحت تیمار با ورزش و مکمل با گروه پارکینسون، میزان آلفا سینوکلئین جسم سیاه مغز هر چند کاهش داشته ولی این کاهش به سطح معنی‌داری نرسید. (به ترتیب p=۰/۱۱۴ و p=۰/۳۲۵). ولی این کاهش در گروه تیمار همزمان

موش‌ها 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/ 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 بخش‌های بدن از جمله دست‌ها 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 اندازه‌گیری 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 ± 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±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 ۰/۰۵ < p با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام گرفت.

**یافته‌ها**

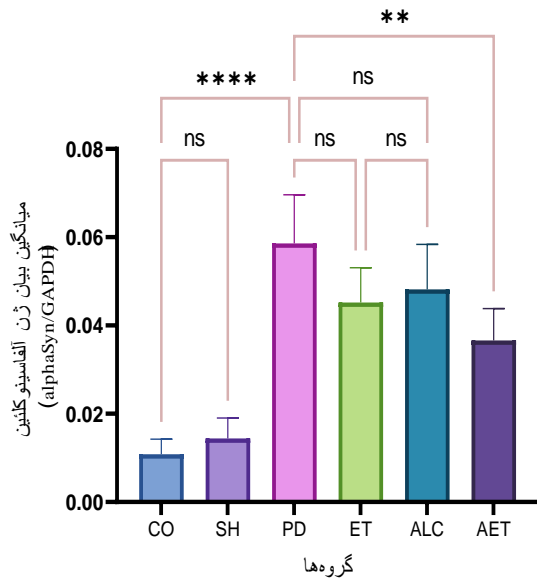
نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک راهه پژوهش حاضر، که در جدول ۲ هم اشاره شده است نشان می‌دهد که میزان بیان ژن تیوردوکسین ردوکتاز ۱ (TR1) و آلفاسینوکلئین جسم سیاه مغز، بین گروه‌های مختلف تحقیق اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۵).

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



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



مقادیر به صورت میانگین ± 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.

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	۳	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 اجیاء تبدیل می‌شوند (۴) عامل رونویسی رشد NF-K $\beta$ ، 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 هیدرواسکوروبیک اسید به اسکوروبیک اسید که آنتی‌اکسیدان قوی است تبدیل می‌شود (۷) آلفا لیپوئیک اسید ( $\alpha$ -Lipoic acid) به DHLA تبدیل می‌شود این دو باهم می‌توانند رادیکال‌های هیدروکسیل، نیتریک اکساید، پروکسی‌نیتریت 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 ترمیدیل قبل از سکتة 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 آنتی‌اکسیدان‌ها، ثابت شده که چنانچه مدت و شدت فعالیت ورزشی به اندازه کافی باشد، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تغییر خواهد کرد (۳۹). همان‌طور 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 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 بل مطالعه حاضر لیو و همکارانش (۲۰۱۳) کاهش معنی‌داری 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 بر این، نشان داده شده است که ۶-هیدروکسی دوپامین باعث کاهش گلوکاتایون جسم مخطط (GSH) و کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و افزایش سطح مالون دی‌آلدئید می‌گردد. به نظر می‌رسد ۶-هیدروکسی دوپامین برای میتوکندری سمی است و منجر به تشکیل رادیکال‌های آزاد سوپراکسید می‌شود (۳۶).

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

(۱) کیناز تنظیم‌کننده سیگنال آپوپتوز ۱ (ASK1) 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 موش‌های دیابتی را در مقایسه با دیابتی‌های کم تحرک به‌طور معنی‌داری افزایش داد. به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی با افزایش برخی عوامل مانند دما و ROS، مسیر سیگنال‌دهی درون سلولی استرس آدرنرژیک را فعال کرده و منجر به افزایش پاسخ شوک حرارتی ناشی از HSF1 می‌شود همچنین ورزش ممکن است از طریق مکانیسم‌هایی مانند افزایش HSP70 و BDNF و مهار GSK3 در مغز، HSF1 را افزایش دهد (۴۶).

با توجه به نتایج پژوهش‌های انجام گرفته، به‌نظر می‌رسد دلیل تناقض پژوهش ما با سایر پژوهش‌ها در این زمینه، به نوع و مدت زمان تمرین مربوط می‌شود. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد تمرینات با شدت پایین و در مدت زمان طولانی، از تجمعات پروتئین آلفاسینوکلئین در بافت‌های بدن از جمله در هیپوکمپ مغز به‌طور موثرتری پیشگیری کرده و سطوح آن‌را کاهش می‌دهد.

مطالعات معدودی در خصوص ترکیب تمرینات تناوبی شدید و مکمل استیل‌ال-کارتینین روی آزمودنی‌های مدل پارکینسونی انجام شده که این مطالعات بیشتر بر شاخص‌های اکسیداسیون لیپیدی و سطوح آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی متمرکز شده‌اند و نتایج امیدوارکننده‌ای را گزارش کرده‌اند ولی مطالعه معدودی به بررسی مکانیسم‌های مرتبط با آن پرداخته‌اند. به‌طور خاص پیشنهاد شده است که استیل‌ال-کارتینین دارای اثرات مفیدی در جلوگیری از کاهش عملکرد مغز دارد که معمولاً در طول پیری و اختلالات عصبی رخ می‌دهد. در واقع نشان داده شده است که درمان استیل‌ال-کارتینین از تغییرات مرتبط با افزایش سن در تنفس میتوکندریایی جلوگیری می‌کند و نشانگرهای زیستی استرس اکسیداتیو را با تنظیم بالا HO-1 (هم اکسیناز-۱)، Hsp70 (پروتئین شوک حرارتی ۷۰) و سوپراکسیددیسموتاز در موش‌های پیر کاهش می‌دهد (۴۷). استیل‌ال-کارتینین از طریق فعال شدن فاکتور رونویسی Nrf2 عمل می‌کند که پس از اتصال به ARE (عصر پاسخ دهنده آنتی‌اکسیدانی) در ژن HO-1، هر دوی HO-1 و تیوردوکسین ردوکتاز (TxR) را تنظیم کرده و با شرایط پرواکسیدانی مقابله می‌کند. عملکرد مشترک استیل‌ال-کارتینین، انتقال اسیدهای چرب از طریق غشای داخلی میتوکندری است، در نتیجه در تولید انرژی در مغز و در حفظ نورون و ترمیم آسیب‌ها نقش دارد. علاوه بر این، فعالیت پروتئین کیناز C (PKC) را افزایش می‌دهد. همچنین می‌تواند سنتز و آزادسازی استیل کولین را تقویت کرده و سنتز پروتئین‌ها و فسفولیپیدهای غشایی را تحریک کند (۴۸).

تمرین منظم، یک استرس فیزیکی مزمن، قادر است در پاسخ به تولید بیشتر ROS، سازگاری‌های مناسبی را ایجاد نماید. این سازگاری‌ها به چندین سیستم مربوط می‌شوند، که در میان آنها سیستم تیوردوکسین نقش اصلی را ایفا می‌کند که از تیوردوکسین (TxR) و تیوردوکسین ردوکتاز (TxR) تشکیل شده است (۴۰). سیستم تیوردوکسین با از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن از طریق انواع مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم که قبلاً ذکر گردید از سلول در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند. (۳۷).

یافته‌های پژوهش ما نشان می‌دهند که تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین به جسم سیاه، موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن آلفاسینوکلئین در بافت جسم سیاه گروه موش‌های مدل پارکینسونی نسبت به گروه کنترل سالم گردید که با یافته‌های برخی مطالعات مشابه می‌باشد (۴۱، ۴۲). سکوتی و همکاران (۲۰۲۲) در پژوهش خود نشان دادند که، القای پارکینسون توسط ۶-هیدروکسی دوپامین باعث افزایش معنی‌دار میزان پروتئین آلفا سینوکلئین و سطوح مالون‌دی‌آلدید و کاهش تعداد نورون‌های جسم سیاه، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و فعالیت گلوکوتیون پراکسیداز در بافت مغز موش‌ها شد (۴۱). لیمنشک و همکاران، مکانیسمی از سمیت دوپامینرژیک ناشی از ۶-هیدروکسی دوپامین را پیشنهاد کرده که شامل برهمکنش پروتئین آلفاسینوکلئین جهش یافته با مولکول ناقل دوپامین و تسریع متعاقب آن، کاهش انرژی سلولی و تولید گونه‌های 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 استیل‌ال-کارتینین به‌تنهایی باعث کاهش سطوح بیان ژن آلفاسینوکلئین در هیپوکمپ موش‌های گروه‌های مذکور نسبت به گروه کنترل پارکینسون گردید ولی این کاهش‌ها معنی‌دار نبودند. با این حال، اجرای تمرین تناوبی شدید همزمان با مصرف مکمل استیل‌ال-کارتینین دارای اثر معنی‌داری در کاهش بیان ژن آلفا سینوکلئین جسم سیاه مغز داشتند.

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که ورزش از افزایش آلفاسینوکلئین در مغز بیماران پارکینسونی جلوگیری می‌کند و می‌تواند به میزان قابل توجهی سطح این پروتئین را در مغز و گلبول‌های 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. به‌نظر می‌رسد ورزش از افزایش قابل توجه آلفاسینوکلئین مغز موش‌های دیابتی، با افزایش پاکسازی آن از مغز به جریان خون، جلوگیری می‌کند (۲۲). همچنین مطالعات نشان دادند که ورزش یا فعالیت بدنی (حاد و مزمن) می‌تواند 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: ۱۶۲۵۵۱۱۳۰-۹۳۵۱۴۰۰۹۳۷۹۲۵۰۱۰۲۴۸۱۳۷۹۲۵) 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، قدردانی می‌شود.

### تضاد منافع

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

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 SJJJoP, 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 DCJBr. 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

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به استرس ناشی از گاوژ و میزان دوز استفاده شده از مکمل استیل‌ال-کارتتین اشاره کرد. این احتمال وجود دارد که اثرات موثرتر مکمل استیل‌ال-کارتتین 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.

### نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر پیشنهاد می‌کند که تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف مکمل استیل‌ال-کارتتین 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 استیل‌ال-کارتتین را می‌توان به‌عنوان

### 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 O<sub>2</sub> uptake in rats selectively bred for endurance running capacity. 2002;93(4):1265-74.
- training increases SIRT-1 and PGC-1 $\alpha$  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.  $\alpha$ -Synuclein aggregates with  $\beta$ -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 CRJ. Running wheel exercise reduces  $\alpha$ -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 RJ. 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  $\alpha$ -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 $\alpha$ /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  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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 Homae H, Tarverdizadeh 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.