

Effects of high-intensity interval training and Acetyl-L-carnitine on spatial memory in male rat model of Parkinson's disease

Ghaffari, Y.¹, Zehsaz, F.^{2*}, Nourazar, M.A.³, Pourrazi, H.⁴, Mohajeri, D⁵.

1- Ph.D. Student of Exercise Physiology, Department of Sport Science, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

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

3- Associate Professor, Department of Basic Science, 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.

*Corresponding author's email: farzad_zeh@yahoo.com

(Received: 2023/11/21 Accepted: 2024/2/29)

Abstract

Parkinson's disease is a neurodegenerative disorder characterized by the loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra region of the brain, resulting in memory impairment. Regular exercise has been shown to modulate oxidative stress, reduce brain damage, enhance hippocampal neurogenesis, and improve spatial memory. Acetyl-L-carnitine, known for its protective and antioxidant properties, can enhance brain function. This study aimed to investigate the combined effects of High-Intensity Interval Training (HIIT) and acetyl-L-carnitine supplementation on substantia nigra tissue in a rat model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine. A total of 36 male rats, weighing 270 ± 20 grams, were randomly divided into six equal groups: healthy control, surgical sham, parkinsonian (unilateral single injection of 6-hydroxydopamine in the substantia nigra at $12.5 \mu\text{g/ml}$), parkinsonian receiving HIIT (8 weeks, 5 sessions per week), parkinsonian receiving acetyl-L-carnitine (100 mg/kg daily for 8 weeks by gavage), and parkinsonian receiving acetyl-L-carnitine + HIIT (similar regimen as groups 4 and 5). Spatial memory was evaluated using the Morris water maze test, and after euthanasia, brain tissue was collected to assess pathological changes in the hippocampus. Data were analyzed with a significance level of $p < 0.05$, employing SPSS 23 software. Parkinson's disease induction resulted in reduced spatial memory indices ($p < 0.05$). HIIT and acetyl-L-carnitine supplementation significantly improved spatial memory factors ($p < 0.05$). Statistically, the combined HIIT and acetyl-L-carnitine treatment demonstrated the most substantial improvement in spatial memory indices. The pathological results were consistent with the results of spatial memory. This study suggests that concurrent HIIT and acetyl-L-carnitine treatment can enhance spatial memory and ameliorate pathological changes in the hippocampus of Parkinson's disease rats.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Acetyl-L-carnitine, High Intensity Interval Training (HIIT), Parkinson's disease, Spatial memory.

تأثیر تمرین تناوبی شدید و مکمل‌سازی استیل-ال-کارنتین بر حافظه فضایی موش‌های صحرائی نر مدل پارکینسونی

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

۱- دانشجوی دکترای تخصصی فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲- دانشیار گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی و تربیتی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۳- استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۴- استادیار گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم اجتماعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران.

۵- استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: farzad_zeh@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۸/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۲/۱۲/۱۰)

چکیده

بیماری پارکینسون یک بیماری تخریب‌کننده دستگاه عصبی است که با از بین رفتن سلول‌های عصبی دوپامینرژیک در ناحیه جسم سیاه مغز مشخص می‌شود و متعاقب آن اختلال در حافظه ایجاد می‌گردد. تمرینات ورزشی موجب تنظیم حالت اکسایشی، افزایش بقاء، کاهش آسیب‌های مغزی، افزایش رشد عصبی هیپوکمپ و بهبود حافظه فضایی مغز می‌شود. استیل-ال-کارنتین نیز با اثر حفاظتی و آنتی‌اکسیدانی خود، موجب بهبود عملکرد مغز می‌گردد. مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان اثربخشی تمرین تناوبی شدید و استفاده از مکمل استیل-ال-کارنتین بر بافت جسم سیاه مغز موش‌های پارکینسونی ناشی از ۶- هیدروکسی‌دوپامین انجام گردید. بدین منظور تعداد ۳۶ سر موش صحرائی نر با وزن 20 ± 27 گرم، به‌طور تصادفی به ۶ گروه مساوی شامل کنترل سالم، شم جراحی، پارکینسونی (دریافت‌کننده تک‌دز ۶- هیدروکسی‌دوپامین، به‌میزان $12/5 \mu\text{g/ml}$ ، به‌صورت یک‌طرفه، داخل جسم سیاه مغز)، پارکینسونی (مشابه گروه ۳) تیمار شده با تمرین تناوبی شدید (۱۲ هفته، هر هفته ۵ جلسه)، پارکینسونی (مشابه گروه ۳) تیمار شده با استیل-ال-کارنتین (100 mg/kg) یک بار در روز به مدت ۱۲ هفته به‌صورت گاواژ، و پارکینسونی (مشابه گروه ۳) تیمار شده هم‌زمان با استیل-ال-کارنتین + تمرین تناوبی شدید (به‌طور مشابه با گروه‌های ۴ و ۵)، تقسیم شدند. در پایان، آزمون حافظه فضایی با ماز آبی موریس در گروه‌های مورد مطالعه انجام شد و پس از آسان‌گشتی، از بافت مغز موش‌ها جهت مطالعه آسیب‌شناختی، نمونه‌برداری انجام شد. محاسبات آماری در سطح معنی‌داری ($p < 0/05$) با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ تحلیل گردید. القاء پارکینسون باعث کاهش شاخص‌های حافظه فضایی و تمرین تناوبی شدید باعث افزایش فاکتورهای حافظه فضایی گردید ($p < 0/05$). همچنین استیل-ال-کارنتین پارامترهای مربوط به حافظه فضایی را همانند استیل-ال-کارنتین بهبود بخشید ($p < 0/05$). تمرین تناوبی شدید توأم با استیل-ال-کارنتین هم بهترین تأثیر را در بهبود شاخص‌های حافظه فضایی داشت. نتایج آسیب‌شناسی نیز همسو با نتایج حافظه فضایی بود. به نظر می‌رسد که ورزش تمرین تناوبی شدید و مکمل استیل-ال-کارنتین به‌طور هم‌زمان، منجر به بهبود حافظه فضایی و تغییرات آسیب‌شناختی هیپوکامپ در موش‌های صحرائی مدل پارکینسون می‌شود.

کلیدواژه‌ها: تمرین تناوبی شدید، استیل-ال-کارنتین، حافظه فضایی، پارکینسون.

مقدمه

دوپامین، به تدریج انجام حرکت سخت و کندتر می شود، به نحوی که بیمار در راه رفتن و تعادل نیز دچار مشکل می گردد (Hou et al., 2017). استراتژی درمانی بیماری پارکینسون براساس استفاده از آنولوگ های دوپامین یا مهارکننده های آنزیم تجزیه کننده دوپامین می باشد (Kalia et al., 2015). مطالعات نشان داده اند که احتمالاً استرس اکسیداتیو و التهاب و اختلال عملکرد میتوکندری، نقش کلیدی در پاتوژنز بیماری پارکینسون دارد (Goldstein et al., 2011). بنابراین عواملی که اثرات آنتی اکسیدانی دارند، می توانند نقش درمانی در این بیماری داشته باشند (Wakhloo et al., 2008). محققان بیان کرده اند که فعالیت بدنی سبب افزایش درون زاد سیستم های آنتی اکسیدانی و کاهش سطوح آسیب اکسیداتیو در مغز می شود (Rezaee et al., 2019)، لذا تمرینات ورزشی موجب تنظیم حالت اکسایشی، افزایش بقاء، کاهش آسیب های مغزی، افزایش رشد عصبی هیپوکامپ و بهبود عملکرد مغز می گردد (Johnson et al., 2003, Radak et al., 2007). از طرف دیگر افزایش گونه های فعال اکسیژن (reactive oxygen species; ROS) ناشی از فعالیت بدنی، موجب فعال شدن اتوفاژی می گردد (Scherz-Shouval et al., 2007). فعال شدن اتوفاژی یک مکانیسم بقاء سلولی در پاسخ به ROS بوده و حذف میتوکندری های آسیب دیده و پروتئین های اکسید شده در بیشتر موارد بقاء سلول را حمایت می کند (Kern and Kehrer, 2005). تأثیر تمرین در بازیابی رفتاری، میتوکندریایی و بیوشیمیایی ناشی از بیماری پارکینسون به عوامل زیادی از جمله نوع، شدت و مدت برنامه تمرین بستگی دارد. بنابراین، تلاش برای رسیدن

بیماری پارکینسون بعد از بیماری آلزایمر، شایع ترین بیماری مخرب دستگاه عصبی به شمار می رود. سالانه حدود ۱ الی ۳ نفر به ازای هر ۱۰۰۰ نفر در جهان به این بیماری مبتلا می شوند. بیماری پارکینسون (Parkinson disease; PD) اختلالی مزمن در مغز است که روی حرکات بدن تأثیر می گذارد. این بیماری عمدتاً در نتیجه ضعیف شدن، از بین رفتن و یا آسیب سلول های عصبی تولیدکننده دوپامین در جسم سیاه مغز میانی می باشد (Buddhala et al., 2015). با کاهش سطوح دوپامین و متعاقب آن، برهم خوردن سطح تعادلی دوپامین و استیل کولین که هر دو به عنوان انتقال دهنده های عصبی مهم بدن محسوب می شوند، مراکز دیگر کنترل کننده حرکات بدن نامنظم کار کرده و باعث اختلالات حرکتی در این بیماران می شوند (Nocker et al., 2012). در واقع سیستم دوپامینرژیک، که نقش بسیار مهمی در سازماندهی عملکردی عقده های قاعده ای مغز و برنامه ریزی و کنترل طرح های پیچیده حرکات عضلانی دارد، در بیماری پارکینسون آسیب می بیند. با توجه به بیان گیرنده های دوپامین D₁ (تحریکی) و D₂ (مهار)، دو مسیر برای عقده های قاعده ای تعریف می شود: مسیر مستقیم (حاوی گیرنده های D₁)، که سبب تسهیل حرکت می شوند و مسیر غیرمستقیم (حاوی گیرنده های D₂)، که نقش مهارتی در انجام حرکات دارد (Autry and Monteggia, 2012). آزادسازی دوپامین از پایانه های دوپامینرژیک استریاتوم، سبب تحرک مسیر مستقیم و مهار مسیر غیرمستقیم می شود. روشن است که در اثر آسیب سیستم دوپامینرژیک و کاهش تأثیر برگیرنده های

گرفته ورزش می‌تواند یک نوع مداخله درمانی اثربخش غیرتهاجمی برای به حداقل رساندن تخریب عصبی در مغز با عارضه پارکینسون باشد (Yau et al., 2014). فعالیت ورزشی می‌تواند با افزایش حجم جریان خون مغزی، افزایش اتصالات عصبی در هیپوکامپ و تاثیر بر الگوهای شناختی، در مغز اثر بگذارد (Sayal, 2015). تحقیقات نشان می‌دهد که ورزش تا حد زیادی بر فرآیندهای کنترل مدیریتی که شامل برنامه‌ریزی، انجام چند وظیفه همزمان و مقابله با حواس‌پرتی است، می‌تواند تاثیرگذار باشد (Kramer and Erickson, 2007). اثر تمرینات ورزشی روی درمان، کاهش عوارض، کاهش روند رو به رشد بیماری و سایر ویژگی‌های بیماری در سالیان اخیر بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (Fritsch et al., 2012, Connolly and Lang, 2014).

از آنجایی که اکثر مطالعات مربوط به بیماران پارکینسونی در حوزه تمرینات هوازی بوده و با توجه به اینکه هیچ تحقیقی در مورد اثر همزمان تمرین تناوبی شدید و مکمل استیل-ال-کارتین در موش‌های صحرایی مدل پارکینسون انجام نشده است، لذا مطالعه حاضر طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی مداخله‌گر آزمایشگاهی می‌باشد که در طی انجام آن، کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی، براساس موازین مورد تایید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی، رعایت شده و منطبق بر کد اخلاق تخصصی‌یافت‌ه

به شدت بهینه تمرین، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Rezaee et al., 2019). رادیکال‌های آزاد اکسیژن به طور مداوم در تمام سلول‌های بدن و از جمله نورون‌های دوپامینرژیک مغز میانی بر اثر متابولیسم دوپامین توسط آنزیم منوآکسیداز B یا اتواکسیداسیون دوپامین، تولید می‌شود. چنانچه رادیکال‌های آزاد بیش از حد تولید شود یا آنتی‌اکسیدان‌های آندروژنیک کاهش یابد آسیب نوروئی ایجاد خواهد شد. بنابراین تعادل مناسب بین رادیکال-های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها برای بقای نورون‌ها ضروری است (Coyle and Puttfarcken, 1993). امروزه در طب، یکی از روش‌های درمانی جهت کاهش دادن اثرات استرس اکسیداتیو و محافظت نورون‌های دوپامینرژیک در مراحل اولیه بیماری پارکینسون، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها است. استیل-ال-کارتین (Acetyl-L-carnitine) یک ترکیب آمینواسیدی مشتق از لیزین (Lysine) و متیونین (Methionine) می‌باشد که نقش حائز اهمیتی در متابولیسم موادغذائی به ویژه چربی‌ها دارد و به عنوان یک مکمل غذائی مورد توجه قرار گرفته و در مطالعات قبلی، اثرات حفاظتی، ضد استرس اکسیداتیو، کاهش دهندگی میزان آسیب مغزی به دنبال القاء ایسکمی، خاصیت ضد تشنجی در مدل تجربی صرع و همچنین خواص ضد آلزایمری و ضد پارکینسونی آن، بررسی و اثبات شده‌است (Rahimi et al., 2005a; Abdul et al., 2006; Kobayashi et al., 2010).

در سالیان اخیر به دلیل عوارض ناشی از مصرف دارو و مقاومت دارویی، برای درمان بیماری پارکینسون توجه به روش‌های درمان غیردارویی بیشتر شده است (Louis and Frucht, 2007). براساس مطالعات انجام

(Louic, MO) داخل جسم سیاه مغز سمت چپ تزریق شد.

۴- گروه پارکینسون+ تیمار با ورزش (Exercise ET; Training); که حیوانات این گروه مشابه گروه ۳، به طور تجربی پارکینسونی شده و در ادامه، تمرین تناوبی شدید را طبق پروتکل، ۵ روز در هفته، به مدت ۱۲ هفته انجام دادند (Pourrazi *et al.*, 2020).

۵- گروه پارکینسون+ تیمار با استیل-ال-کارتینین (Acetyl-L-carnitine; ALC) که موش های این گروه نیز مشابه گروه ۳، به طور تجربی پارکینسونی شده و در ادامه، با استفاده از استیل-ال-کارتینین (Acetyl-L-Carnitine by ATP Science Australia) با دوز ۱۰۰mg/kg یک بار در روز به مدت ۸ هفته بصورت گاوآژ، تیمار شدند (Goo *et al.*, 2012, Sarkar *et al.*, 2015).

۶- گروه پارکینسونی تیمار شده با ورزش و استیل-ال-کارتینین (Acetyl-L-carnitine+ Exercise Training; AET) که موش های این گروه نیز مشابه گروه ۳، به طور تجربی پارکینسونی شده و در ادامه، مشابه حیوانات گروه های ۴ و ۵ به طور همزمان تمرین تناوبی شدید را انجام داده و همچنین با مکمل استیل-ال-کارتینین تیمار شدند.

- نحوه جراحی با دستگاه استریوتاکیسی جهت انجام تزریق

جهت ایجاد مدل پارکینسون در گروه های پارکینسونی، تیمار با ورزش، تیمار با استیل-ال-کارتینین و گروه تیمار همزمان با ورزش و استیل-ال-کارتینین، از روش روغنی و همکاران که به صورت تزریق تک دوز 6-OHDA که به میزان کلی ۱۲/۵ µg در ۵ µl محلول

(IR.IAU.TABRIZ.REC.1401.093)، در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تبریز، در تابستان سال ۱۴۰۱ به مدت ۶ ماه، هر روز از ساعت ۸ صبح الی ۲ بعد از ظهر، انجام شده است. بدین منظور، تعداد ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰±۲۷۰ گرم، از انستیتو پاستور (تهران، ایران) خریداری شد. بلافاصله حیوانات به مدت یک هفته به منظور عادت-کردن به شرایط جدید، در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، نگهداری شدند که شرایط نگهداری برای تمام آن ها یکسان و به صورت ۱۲ ساعت روشنایی/ تاریکی و دمای ۲±۲۱ درجه سلسیوس بود. همچنین جیره غذایی یکسان و آب نیز به طور آزاد در دسترس همه حیوانات قرار گرفت. پس از اتمام یک هفته، آزمایش تجربی شروع شد.

-گروه بندی حیوانات و نحوه انجام آزمایش تجربی

در این مرحله، ابتدا موش ها به طور تصادفی به ۶ گروه مساوی به شرح زیر تقسیم شدند:

۱- گروه شاهد سالم (control; co) که موش های این گروه در طول آزمایش در قفس نگهداری شدند.

۲- گروه شاهد جراحی یا شام (sham; Sh) که موش های این گروه تنها توسط جراحی استریوتاکیسی، سالیین به همراه اسید آسکوربیک دریافت کرده و در طول آزمایش در قفس نگهداری شدند.

۳- گروه پارکینسون (arkinson's disease; PDP) که به موش های این گروه به صورت یک طرفه، ۶-هیدروکسی-دوپامین (6-OHDA; Sigma Aldrich, USA St.)،

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 آزما، تبریز، ایران) ویژه جواندگان 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 تمرینی بدین صورت انجام گرفت که پس از ۵ دقیقه گرم شدن موش‌ها با سرعت ۵ متر در دقیقه، برنامه تردمیل با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و زاویه ۱۰ درجه تنظیم شد و در ادامه این سرعت برای ۳-۲ دقیقه حفظ گردید، سپس هر ۲ دقیقه یک‌بار به مقدار ۳ متر در دقیقه بر سرعت نوارگردان افزوده شد. براین اساس حداکثر سرعت بیشینه زمانی به دست آمد که موش‌ها علی‌رغم اعمال شوک، دیگر نتوانستند سرعت ثابت خود را حفظ کرده و با افزایش سرعت قادر به دویدن نشدند (Henderson *et al.*, 2002, Thomas *et al.*, 2007).

بعد از تعیین سرعت بیشینه موش‌ها، گروه‌های تمرین به مدت ۱۲ هفته و هر هفته ۵ جلسه تمرین تناوبی شدید (High Intensity Interval Training; HIIT) را اجرا کردند. 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 (۳۵-۴۰ 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 اول با ۲ تکرار شروع شده و در هفته‌های بعدی با توجه به توان موش‌ها افزایش یافت. لازم به ذکر است که جهت

حاوی اسید آسکوربیک ۰/۲ درصد (Sigma Aldrich, USA St. Louic, MO) در حیوانات بود، استفاده شد (Roghani *et al.*, 2002). بدین منظور حیوانات بعد از نوازش، 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 به دست آمده از اطلس پاکسینوس ($DV=-AP=-5.5mm$, $ML=-2.6mm$, $7.3mm$)، بعد از کانال‌گذاری به وسیله مته دندانپزشکی، تزریق با استفاده از سرسوزن شماره ۲۷، که به سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتری متصل بود در جسم سیاه سمت چپ مغز انجام گرفت (Paxinos and Watson, 2014) و ۵ دقیقه پس از انجام تزریق، سرسوزن مذکور از محل تزریق خارج شد. لازم به ذکر است که تجویز سالین و ۶-OHDA به صورت آهسته و با سرعت یک میکرولیتر در دقیقه انجام می‌شد. ۴ هفته بعد از القاء بیماری، پروتکل درمان مطابق گروه‌بندی اعلام شده، آغاز گردید. در ادامه جهت ارزیابی مداخلات درمانی، ۲۴ ساعت پس از روز آخر تیمار، آزمون سنجش حافظه فضایی با ماز آبی موریس (Morris water maze) انجام گرفت. در نهایت، موش‌ها با تزریق داخل صفاقی ۹۰ mg/kg کتامین و ۱۰ mg/kg زایلازین بی‌هوش و سپس آسان‌کشی شدند و جهت مطالعه بافت‌شناسی، از مغز آن‌ها نمونه‌برداری انجام گرفت.

- پروتکل تمرین هوازی موش‌ها

اطمینان از سرعت بیشینه^۶ مناسب، در پایان هر هفته، حیوانات تحقیق، آزمون تعیین ظرفیت بیشینه را انجام دادند (Pourrazi et al., 2020).

- تیمار موش‌ها با استیل-ال-کارتین

بدین منظور، گروهی از حیوانات پارکینسونی که مطابق پروتکل تحقیق، قرار بود با استفاده از استیل-ال-کارتین تیمار شوند، یک بار در روز، به صورت تک‌دوز (100 mg/kg)، بمدت ۱۲ هفته، مکمل استیل-ال-کارتین را به صورت گاوآژ دریافت کردند (Goo et al., 2012, Sarkar et al., 2015).

- آزمون ماز آبی موریس

جهت سنجش یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی تحقیق حاضر، آزمون ماز آبی موریس مورد استفاده قرار گرفت. ماز آبی موریس، حوضچه دایره‌ای شکل تیره رنگی به قطر ۱۲۰ و ارتفاع ۷۵ سانتی‌متر است که یک سکوی مدور به ارتفاع ۳۸ سانتی‌متر در مرکز ربع دوم (Q2) ماز و ۳ سانتی‌متر زیر سطح آب ۱±۲۰ درجه سلسیوس قرار داشت. این حوضچه به لحاظ جغرافیایی به ۴ ربع دایره مساوی شمال، جنوب، غرب و شرق تقسیم می‌شود و برای شناسایی جهت و یادگیری فضایی، علائمی در چهار جهت ماز روی دیوارهای اتاق نصب گردید. هر حیوان در کنار دیواره ماز و به صورت تصادفی و تعیین‌شده توسط نرم‌افزار، از یکی از جهات شمال، جنوب، شرق یا غرب به داخل آب رها می‌شد تا سکوی پنهان در زیر آب را پیدا کند. حیوانی که در عرض یک دقیقه موفق به یافتن سکوی نمی‌شد، با دست بر روی سکوی هدایت می‌شد تا ناحیه را شناسایی کرده و پس از استقرار بر روی سکوی، به مدت ۲۰ ثانیه روی آن استراحت کند. به منظور یادگیری

فضایی، آموزش حیوانات در ماز آبی طی ۴ روز و هر روز با ۴ دوره آموزش انجام گرفت و عملکرد حیوان در ماز از طریق یک دوربین به رایانه منتقل و ضبط شد. نحوه عملکرد حافظه، ۲۴ ساعت پس از اجرای مراحل آموزش با اجرای آزمون به خاطر آوری به مدت ۶۰ ثانیه ارزیابی شد. در این مرحله، پس از برداشتن سکوی حیوان از ناحیه مخالف سکوی در آب رها گردید تا محل سکوی را پیدا کند. شاخص‌های مدت زمان و مسافت طی شده در ناحیه هدف (Q2) برای یافتن سکوی در روز پنجم آزمون، ارزیابی شد (Giralt et al., 2011).

- آسیب‌شناختی بافتی

در انتهای دوره آزمایش پس از مرگ آسان موش‌ها، جمجمه باز و مغز آن‌ها خارج شد و به مدت ۴۸ ساعت در محلول فرمالین ۱۰ درصد بافری شده جهت ثبوت قرار داده شدند. در ادامه از نمونه‌های پایدارشده در فرمالین با استفاده از شیوه‌های رایج پاساژ بافت و تهیه مقاطع هیستولوژی، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون تهیه و سپس از رنگ آمیزی هماتوکسلین-انوزین استفاده شد. برای مقایسه آسیب‌های پاتولوژیک مشاهده شده در لام‌های تهیه‌شده، تعداد نورون‌های قسمت متراکم جسم سیاه سمت چپ مغز موش‌ها، توسط میکروسکوپ نوری مدل نیکون (Eclipse E200; Japan) با بزرگنمایی ۴۰× شمارش گردید.

- تحلیل آماری داده‌ها

ابتدا داده‌ها از جنبه کیفیت توزیع آماری مورد ارزیابی قرار گرفت. برای ارزیابی توزیع داده‌ها از آزمون آماری شاپیرو-ویلک استفاده شد. داده‌های به دست آمده کمی، به صورت میانگین ± خطای استاندارد (mean±SEM) ارائه و اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها

استریوتاکسی، خود به تنهایی تاثیری در بیماری پارکینسونی حیوانات نداشته است. همچنین میانگین مسافت طی شده در ربع هدف توسط موش‌های گروه PD به‌طور معنی‌داری کمتر از مقدار آن در سایر گروه‌ها بود ($p < 0/05$). مقدار میانگین مذکور در مورد موش‌های گروه ET هم به‌طور معنی‌داری بیشتر از میزان آن در خصوص حیوانات گروه PD بوده، در حالی‌که مقدار شاخص فوق به‌طور معنی‌داری کمتر از میزان آن در سایر گروه‌های مورد مطالعه برآورد شد ($p < 0/05$). همچنین مقدار میانگین فوق در مورد حیوانات گروه ACL اختلاف آماری معنی‌دار نسبت به مقدار آن در موش‌های گروه ET ($p < 0/03$) و افزایش معنی‌دار نسبت به مقدار آن در حیوانات گروه PD نشان داد ($p < 0/001$). در نهایت مشخص گردید که میانگین مسافت طی شده در مورد موش‌های گروه AET نسبت به گروه‌های PD، ET و ACL افزایش معنی‌دار بیشتری داشت ($p < 0/05$).

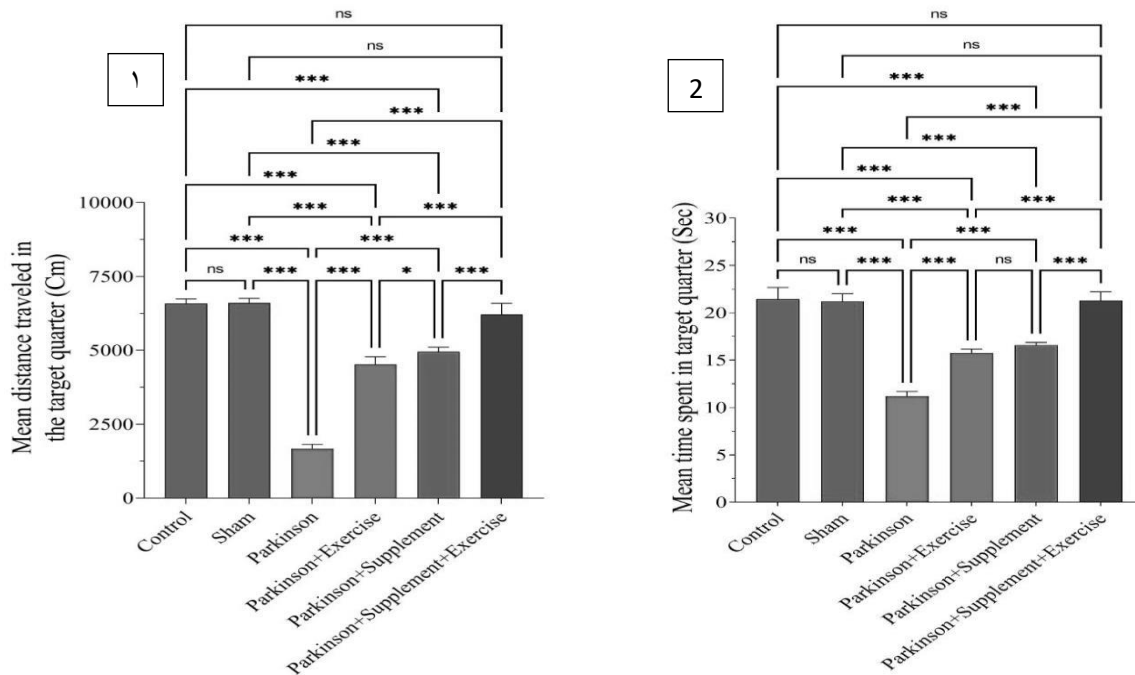
توسط آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و همچنین برای مشخص کردن محل اختلاف بین گروهی از آزمون تعقیبی توکی (Tukey) استفاده گردید. محاسبات آماری هم در سطح معنی‌داری $p < 0/05$ با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام گرفت.

یافته‌ها

در مطالعه حاضر انجام تمرین تناوبی شدید و استفاده از مکمل استیل-ال-کارنتین، منجر به بهبود وضعیت بافت جسم سیاه مغز و عملکرد رفتاری موش‌های مواجه‌یافته با سم ۶-هیدروکسی دوپامین شده‌است.

- نتایج مربوط به بررسی حافظه فضایی

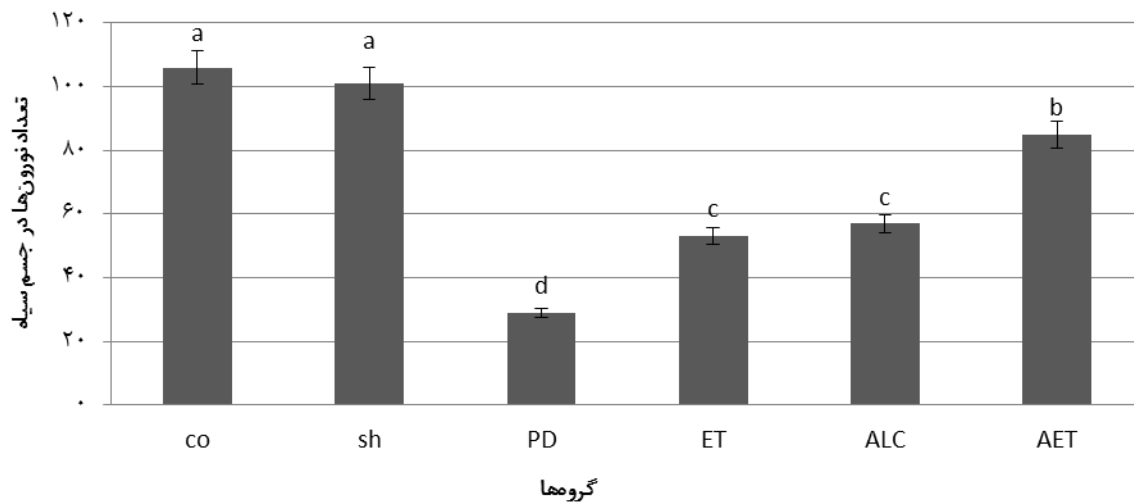
طبق نتایج ارائه شده در نمودار ۱، مشخص می‌گردد که میانگین مسافت طی شده در ربع هدف توسط موش‌های گروه CO در مقایسه با گروه Sh، معنی‌دار نیست که این مهم نشان می‌دهد عمل جراحی



نمودار ۱- مقایسه تأثیر تمرین تناوبی شدید و مکمل‌سازی استیل-ال-کارتینین بر: (۱) میانگین مسافت طی شده در منطقه هدف (cm)، (۲) میانگین زمان طی شده در منطقه هدف (sec) بین گروه‌های مورد مطالعه (داده‌ها بصورت میانگین±خطای استاندارد گزارش شده‌اند).
 CO: گروه کنترل، Sh: شام جراحی، PD: پارکینسون، ET: تیمار با ورزش، ALC: تیمار با استیل-ال-کارتینین، AET: تیمار با ورزش و استیل-ال-کارتینین.
 *** اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مقایسه‌شده ($p < 0.05$).
 * اختلاف آماری معنی‌دار جزئی ($p < 0.03$).
 ns عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مقایسه‌شده.

موش‌های گروه PD افزایش آماری معنی‌داری داشت ($p < 0.001$). همچنین اختلاف آماری میانگین زمان طی شده در ربع هدف در گروه‌های ET و ALC معنی‌دار نبود. مقدار شاخص مذکور در خصوص موش‌های گروه AET هم نسبت به گروه‌های PD، ET و ALC به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($p < 0.05$).

از طرف دیگر، مطابق نتایج ارائه‌شده در نمودار ۲، مشاهده می‌گردد که میانگین زمان طی شده در ربع هدف در مورد موش‌های گروه PD بیشترین کاهش آماری معنی‌دار را نسبت مقدار آن در مورد حیوانات سایر گروه‌های مورد آزمایش داشت ($p < 0.05$ ، درحالی‌که این زمان در مورد حیوانات گروه ET نسبت به



نمودار ۲- تاثیر تمرین و استفاده از مکمل استیل-ال-کارنتین بر تعداد نورون‌های جسم سیاه در موش‌های مورد مطالعه (داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد، گزارش شده‌اند).

CO: گروه کنترل، sh: شم جراحی، PD: پارکینسون، ET: تیمار با ورزش، ALC: تیمار با استیل-ال-کارنتین، AET: تیمار با ورزش و استیل-ال-کارنتین. حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).

- نتایج آسیب‌شناختی بافتی

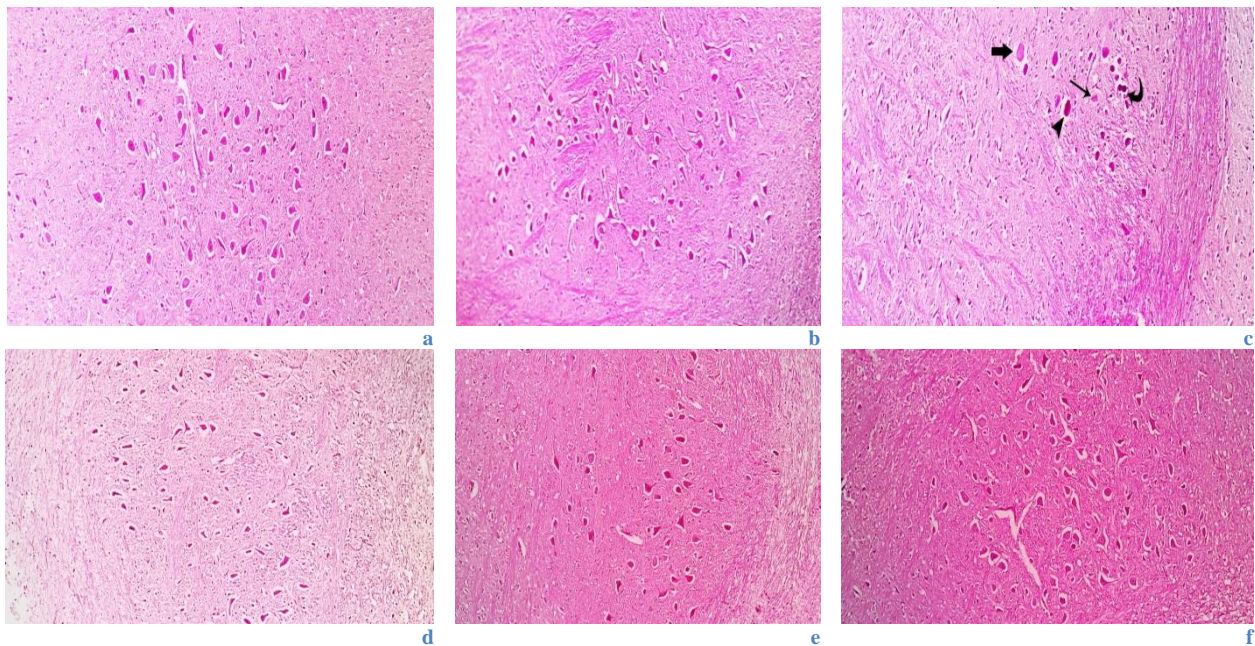
گروه مبتلا به پارکینسون تغییرات شدید سیتوپلاسم و هسته، مبنی بر نکروز در نورون‌های جسم سیاه قابل مشاهده بود. تغییرات شدید نکروز به شکل کوچک شدن یا تورم نورون‌ها و همچنین ایجاد نورون‌های قرمز در نتیجه اتوزینوفیلی شدن سیتوپلاسم، پیکنوز هسته‌ای و سایر تغییرات نکروز شامل متلاشی شدن هسته و یا عدم مشاهده هسته در نورون‌های جسم سیاه قابل مشاهده بود (شکل ۱-۳). تعداد نورون‌ها نیز به شدت کاهش یافته و به‌طور معنی‌داری ($p < 0.001$) کمتر از گروه شاهد سالم بود (نمودار ۲). در گروه پارکینسونی به‌علاوه تیمار با انجام ورزش، از شدت آسیب و تغییرات پاتولوژیک در نورون‌های جسم سیاه به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاسته شده (شکل ۱-۴) و تعداد نورون‌های آن در مقایسه با گروه پارکینسونی افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$) اما در مقایسه با گروه شاهد سالم، تعداد مذکور به‌طور معنی‌داری ($p < 0.001$)

یافته‌های حاصله از تاثیر OHDA-۶ بر ساختار بافتی و تعداد نورون‌های ناحیه متراکم جسم سیاه و اثر محافظتی انجام تمرین تناوبی شدید و مصرف استیل-ال-کارنتین و همچنین تاثیر توام آن‌ها بر بافت‌شناسی و تعداد نورون‌های این ناحیه از مغز متعاقب القاء پارکینسون در موش‌های صحرایی در نمودار ۲ و شکل‌های ۱-a تا ۱-f ارائه شده است.

در مشاهدات ریزبینی بافت مغز در گروه CO و Sh، ساختار بافتی جسم سیاه و همچنین نورون‌های دوپامینرژیک موجود در آن‌ها سالم و طبیعی بود و هیچ‌گونه تغییر پاتولوژیک قابل توجه مشاهده نشد (اشکال ۱-a و ۱-b). همچنین از لحاظ تعداد نورون‌های متراکم جسم سیاه نیز تفاوت آماری معنی‌داری بین حیوانات این دو گروه یافت نشد (نمودار ۲). در مشاهدات میکروسکوپی بافت مغز موش‌های

در حیوانات گروه شاهد سالم بود (نمودار ۲). در گروه پارکینسونی به‌علاوه تیمار همزمان با استیل-ال-کارتین و ورزش، از شدت تغییرات پاتولوژیک جسم سیاه به-خوبی و تا نزدیک به حد نرمال کاسته شده بود (شکل ۱-f) و تعداد نورون‌ها نیز در مقایسه با حیوانات گروه پارکینسونی افزایش معنی‌داری ($p < 0/01$) داشت. در هر صورت تعداد نورون‌ها در این گروه نیز هرگز به حد نرمال نرسیده و به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) کمتر از تعداد آن در موش‌های گروه شاهد سالم بود (نمودار ۲).

کمتر بود (نمودار ۲). در گروه پارکینسونی به‌علاوه تیمار با استیل-ال-کارتین، مشابه با گروه تیمار با انجام ورزش از شدت آسیب و بروز تغییرات پاتولوژیک در جسم سیاه به‌طور قابل توجهی کاسته شده بود (شکل ۱-e) و تعداد نورون‌های آن نیز در مقایسه با گروه پارکینسونی افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0/05$). لازم به ذکر است، تعداد نورون‌های جسم سیاه در این گروه بیشتر از گروه تیمار با ورزش بود، لکن این تفاوت معنی‌دار نبود. به هر حال تعداد نورون‌ها در این گروه همچنان به‌طور معنی‌داری ($p < 0/01$) کمتر از تعداد آن



شکل ۱- تاثیر تمرین تناوبی شدید و مکمل استیل-ال-کارتنن بر میزان نرون‌های جسم سیاه موش‌های گروه‌های: (a) Co، (b) sh، (c) PD، (d) ET، (e) ALC، (f) AET (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، درشت‌نمایی $\times 100$).
Co: کنترل، sh: شم جراحی، PD: پارکینسون، ET: تیمار با ورزش، ALC: تیمار با استیل-ال-کارتنن، AET: تیمار با ورزش و استیل-ال-کارتنن.

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر القاء پارکینسون توسط OHDA-6 منجر به کاهش مدت زمان و مسافت طی‌شده در ربع هدف در فاز حافظه موریس شد (نمودارهای ۱ و ۲). همچنین شاخص‌های آسیب‌شناسی بافتی در ناحیه جسم سیاه مغز موش‌های تحقیق، دژنراسیون و کاهش نورون‌های دوپامینرژیک را نشان داد (نمودار ۲ و شکل ۱). در این راستا دیمونس و همکاران بیان کرده‌اند که بین مرگ سلول‌های دوپامینرژیک هسته جسم سیاه مغز و شدت علائم رفتاری بیماری پارکینسون القاء شده با OHDA-6 ارتباط مثبت معنی‌داری وجود دارد (Deumens et al., 2002). همچنین یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج تحقیق آگویار و همکاران همسو بوده و ضعف عملکرد حافظه در موش‌های صحرایی

پارکینسونی با القاء سم ۶-هیدروکسی دوپامین را تایید می‌کند (Aguiar Jr et al., 2009). وجود اختلال در یادگیری و حافظه موش‌های صحرایی پارکینسونی به دنبال القاء سم OHDA-6، در مطالعات دیگری نیز گزارش گردیده است (Leroi et al., 2012, Kim et al., 2013). در این ارتباط مشخص شده که سم OHDA-6 از طریق ایجاد اختلال در زنجیره تنفسی میتوکندری و القاء استرس اکسیداتیو باعث زوال نورون‌های دوپامینرژیک می‌شود (Duty and Jenner, 2011). علاوه بر این، OHDA-6 از طریق ماده سیتوتوکسیک H_2O_2 ، موجب تولید گونه‌های فعال اکسیژن (reactive oxygen species; ROS) می‌شود که این گونه‌های فعال اکسیژن، به گروه‌های داخل هسته‌ای حمله کرده و منجر

عصبی و رفتاری داشته باشند (Kim et al., 2013). در پژوهش حاضر از آزمون ماز آبی موریس برای سنجش یادگیری و حافظه استفاده شد که سلول‌های مغز دستکاری نشده‌اند. در مطالعات انسانی نیز، گزارش‌ها بیان می‌دارند که افراد با وضعیت جسمانی مناسب در مقایسه با هم‌تایان بی‌تحرك، از لحاظ شناختی و عملکرد حافظه بهتر بوده‌اند (Broeders et al., 2013). در تبیین نتایج به دست آمده می‌توان گفت فعالیت ورزشی با تسهیل در ترمیم آسیب‌های مغزی، تسهیل عوامل تغذیه‌ای، تغییرات در قدرت سیناپسی، موجب عملکرد بهتر حافظه می‌شود (Frazzitta et al., 2013)، بنابراین ورزش ممکن است پلاستیسیته سیناپسی، نورون‌زایی و یادگیری را افزایش دهد. همچنین فعالیت ورزشی، میزان آپوپتوزیس در مغز موش را کاهش داده، تکثیر نورونی و شکنج دندانه‌دار را در هیپوکامپ افزایش داده و موجب بهبود یادگیری فضایی موش‌ها در ماز آبی می‌شود (Vaynman et al., 2004). از طرف دیگر یکی از مکانیسم‌های بیان‌شده برای اثرات مفید تمرین، احتمالاً فعال‌شدن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی درون‌زا و افزایش عملکرد فاکتور نورون‌زایی مشتق شده از مغز (brain-derived neurotrophic factor; BDNF) می‌باشد که در حافظه طولانی‌مدت و نوروزن تاثیر داشته و موجب کاهش آپوپتوزیس می‌شود (Devi and Kiran, 2004; Mocchetti et al., 2007; Mattson et al., 2008). همچنین گزارش شده که ورزش منجر به بهبود علائم پارکینسون شده و مکانیسم‌های احتمالی آن را تنظیم مجدد فاکتورهای عصبی و کاهش گونه‌های رادیکال آزاد اکسیژن (Crowley et al., 2019)، بهبود متابولیسم انرژی در میتوکندری، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی (Dias et al., 2013)، بهبود اثرات

به تغییرات اکسیداتیو قوی می‌شوند (Noor et al., 2016).

همچنین در تحقیق حاضر مشخص شد که تمرین تناوبی شدید منجر به بهبود شاخص‌های مسافت طی شده و زمان طی شده در ربع هدف می‌شود. استفاده از مکمل استیل-ال-کارنتین نیز اثرات مذکور را طبق الگوی اثرات تمرین بهبود بخشید و البته تمرین به همراه مکمل استیل-ال-کارنتین منجر به بهترین اثر درمانی گردید. این یافته، با نتایج مطالعه هانگ و همکاران که نشان دادند دویدن روی تردمیل به مدت ۱۲ هفته و با شدت بالا، می‌تواند حافظه و یادگیری را افزایش داده و همزمان تعداد سلول‌های عصبی را تحت تاثیر قرار دهد (Huang et al., 2014)، همسو است. گزارش‌ها در مورد موش‌های صحرایی و موش‌های مایس، مؤید این نکته است که فعالیت ورزشی دویدن روی تردمیل، حافظه و یادگیری را افزایش داده و همزمان تعداد سلول‌های عصبی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Aguilar Jr et al., 2009). البته در مطالعه پوتاکس و همکاران در سال ۲۰۰۹، هر چند ۴ هفته تمرین اجباری با تردمیل توانست الگوی گام‌برداری و طول گام را در موش صحرایی بهبود بخشد، اما بر یادگیری و حافظه تاثیری نداشت که با نتیجه تحقیق حاضر در تضاد است (Pothonakos et al., 2009). در همین زمینه، کیم و همکاران نشان دادند که شدت و مدت زمان ورزش می‌تواند عاملی مهم و تعیین‌کننده در تکثیر سلولی شکنج دانه‌دار باشد نتایج این تحقیق بیانگر این مطلب است که برنامه‌های مختلف ورزشی و همچنین نحوه سنجش آزمون‌ها (مانند آزمون الکتروفیزیولوژی) می‌تواند تاثیرات متفاوتی بر عملکرد

التهاب عصبی، افزایش جوانه‌زدن آکسون‌ها، کاهش بیان پروتئین پیش‌آپوپتوز BAX (Bax protein) و کاهش آپوپتوزیس، کاهش فعالیت میکروگلیاها، کاهش مرگ زودرس نورون‌های حرکتی و به تاخیر افتادن تحلیل نورون‌های حسی و مهار ROS می‌شود (Karalija et al., 2014). همسو با نتایج مطالعه حاضر، برخی تحقیقات انجام‌یافته نشان داده‌اند که شکل استیله‌ال-کارنتین می‌تواند سلول‌های میکروگلیا را به حالت ضدالتهابی تغییر داده و از آسیب سلول‌های اندوتلیال و دوپامینرژیک در موش‌های مدل پارکینسونی جلوگیری کرده و به‌عنوان یک محافظت‌کننده عصبی امیدوارکننده در درمان بیماری پارکینسون، مطرح شود (Burks et al., 2019).

با توجه به یافته‌های به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر، به‌نظر می‌رسد که می‌توان نتیجه گرفت، انجام تمرین تناوبی شدید و مصرف هم‌زمان مکمل استیل-ال-کارنتین در موش‌های صحرایی مدل پارکینسون القاء‌شده با OHDA-6 منجر به بهبود حافظه فضایی و تغییرات آسیب‌شناسی بافت مغز می‌شود. البته انجام بررسی تاثیر نوع و شدت تمرین‌های مختلف ورزشی به‌همراه دوزهای مختلف مکمل، در مطالعات آتی توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

مقاله حاضر مستخرج از پایان‌نامه دوره دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی یوسف غفاری با کد ۱۰۲۲۹۰۳۷۵۶۷۰۴۸۴۱۳۹۸۱۶۲۲۸۰۳۶۲ می‌باشد. نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تبریز و همچنین مسئولان و کارکنان

ضدالتهابی (Tuon et al., 2015)، افزایش سیناپتوژنز و نوروپلاستیسیته (Crowley et al., 2019) و افزایش گیرنده‌های دوپامین در ناحیه جسم سیاه دانسته‌اند (Tsai et al., 2019). همسو با نتایج پژوهش حاضر، نیوچینگ و همکاران در یک مطالعه مروری سیستماتیک، به دنبال بررسی اثرات ورزش بر نقص تنفسی میتوکندری و اختلال عملکرد آن در موش‌های نر مدل پارکینسونی پرداختند و نتایج مطالعات آن‌ها هم نشان داده که تمرین با تردمیل می‌تواند ناهنجاری‌های مربوط به کمپلکس ۱ و ۵ میتوکندری و سیتوکروم C و ATP را کاهش داده و همچنین بیوژنز میتوکندری، همجوشی میتوکندری عصبی و میتوفاژی عصبی در بیماران پارکینسونی را بهبود می‌بخشد. همچنین نامبردگان گزارش کرده‌اند که ورزش ممکن است تخریب عصبی بیماران پارکینسونی را کاهش داده و منجر به پیشگیری از توسعه بیماری پارکینسون شود (Nhu et al., 2021).

از طرف دیگر استیل-ال-کارنتین، شکل استیله‌ال-کارنتین، پپتید کوچکی است که در آب محلول بوده و می‌تواند از سد خونی مغزی عبور کند. همچنین یکی از اجزای غشاء داخلی میتوکندری است که برای تولید انرژی، حفظ سطح استیل کوآ، متابولیسم گلوکز، سنتز گلیکوژن و گلوکاتیون لازم است. در واقع به‌طورکلی کارنتین‌ها با کاهش سطح انرژی در نتیجه اختلال در عملکرد میتوکندری، مقابله می‌کنند (Burks et al., 2019). اثرات حفاظتی و آنتی‌اکسیدانی استیل-ال-کارنتین در بررسی‌های قبلی هم به اثبات رسیده است (Rahimi et al., 2005b). مشخص شده که درمان فوری با آنتی‌اکسیدان استیل-ال-کارنتین، باعث کاهش

تعارض منافع

آزمایشگاه‌های دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد

علوم پزشکی تبریز تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منافعی ندارند.

منابع

- Abdul, H.M., Calabrese, Calvani, M. and Butterfield, D.A. (2006). 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*, 84(2): 398-408.
- Aguiar Jr, A.S., Araújo, A.L., da-Cunha T.R., Speck, A.E., Ignácio, Z.M., De-Mello, N. and Prediger, R.D. (2009). Physical exercise improves motor and short-term social memory deficits in reserpinized rats. *Brain Research Bulletin*, 79(6): 452-457.
- Autry, A.E. and Monteggia, L.M. (2012). Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacological Reviews*, 64(2): 238-258.
- Broeders, M., De Bie, R., Velseboer, D.C., Speelman, J.D., Muslimovic, D. and Schmand, B.J.N. (2013). Evolution of mild cognitive impairment in Parkinson disease. *Journal of Neurology*, 81(4): 346-352.
- Buddhala, C., Loftin, S.K., Kuley, B.M., Cairns, N.J., Campbell, M.C., Perlmutter, J.S., Kotzbauer, P.T.J. (2015). Dopaminergic, serotonergic, and noradrenergic deficits in Parkinson disease. *Neurology*, 2(10): 949-959.
- Burks, S., Raymick, J., Robinson, B., Hanig, J. and Sarkar, S.J. (2019). Neuroprotective effects of acetyl-L-carnitine (ALC) in a chronic MPTP-induced Parkinson's disease mouse model: Endothelial and microglial effects. *Neuroscience Letters*, 703: 86-95.
- Connolly, B.S. and Lang, A.E. (2014). Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. *Jama*, 311(16): 1670-1683.
- Coyle, J.T. and Puttfarcken, P. (1993). Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science*, 262(5134): 689-695.
- Crowley, E., Nolan, Y. and Sullivan, A.J. (2019). Exercise as a therapeutic intervention for motor and non-motor symptoms in Parkinson's disease :Evidence from rodent models. *Progress in Neurobiology*, 172: 2-22.
- Deumens, R., Blokland, A. and Prickaerts, J. (2002). Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. *Experimental Neurology*, 175(2): 303-317.
- Devi, S.A. and .Kiran, T.R. (2004). Regional responses in antioxidant system to exercise training and dietary vitamin E in aging rat brain. *Neurobiology of Aging*, 25(4): 501-508
- Dias, V., Junn, E. and Mouradian, M.M. (2013). The role of oxidative stress in Parkinson's disease. *Journal of Parkinson's disease*, 3(4): 461-491.
- Duty, S. and Jenner, P. (2011). Animal models of Parkinson's disease: a source of novel treatments and clues to the cause of the disease. *British Journal of Pharmacology*, 164(4): 1357-1391.
- Frazzitta, G., Balbi, P., Maestri, R., Bertotti, G., Boveri, N. and Pezzoli, G. (2013). The beneficial role of intensive exercise on Parkinson disease progression. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, 92(6): 523-532.
- Fritsch, T., Smyth, K., Wallendal, M., Hyde, T., Leo, G. and Geldmacher, D. (2012). Parkinson disease: research update and clinical management. *Southern Medical Journal*, 105(12): 650-656.
- Giralt, A., Saavedra, A., Carreton, O., Xifro, X., Alberch, J. and Perez-Navarro, E. (2011). Increased PKA signaling disrupts recognition memory and spatial memory: role in Huntington's disease. *Human Molecular Genetics*, 20(21): 4232-4247.

- Goldstein, D.S., Holmes, C., Kopin, I.J. and Sharabi, Y. (2011). Intra-neuronal vesicular uptake of catecholamines is decreased in patients with Lewy body diseases. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(8): 3320-3330.
- Goo, M.J., Choi, S.M., Kim, S.H. and Ahn, B.O. (2012). Protective effects of acetyl-L-carnitine on neurodegenerative changes in chronic cerebral ischemia models and learning-memory impairment in aged rats. *Archives of Pharmacal Research*, 35(1): 145-154.
- Henderson, K.K., Wagner, H., Favret, F., Britton, S.L., Koch, L.G., Wagner, P.D. and Gonzalez, N.C. (2002). Determinants of maximal O₂ uptake in rats selectively bred for endurance running capacity. *Journal of Applied Physiology*, 93(4): 1265-1274.
- Hou, L., Chen, W., Liu, X., Qiao, D. and Zhou, F. (2017). Exercise-induced neuroprotection of the nigrostriatal dopamine system in Parkinson's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 9: 358.
- Huang, T., Larsen, K.T., Ried-Larsen, M., Møller, N.C. and Andersen, L.B. (2014). The effects of physical activity and exercise on brain-derived neurotrophic factor in healthy humans: A review. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 24(1): 1-10.
- Johnson, R.A., Rhodes, J.S., Jeffrey, S.L., Garland, T. and Mitchell, G.S. (2003). Hippocampal brain-derived neurotrophic factor but not neurotrophin-3 increases more in mice selected for increased voluntary wheel running. *Neuroscience*, 121(1): 1-7.
- Kalia, L.V., Kalia, S.K. and Lang, A.E. (2015). Disease-modifying strategies for Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 30(11): 1442-1450.
- Karalija, A., Novikova, L.N., Kingham, P.J., Wiberg, M. and Novikov, L.N. (2014). The effects of N-acetyl-cysteine and acetyl-L-carnitine on neural survival, neuroinflammation and regeneration following spinal cord injury. *Neuroscience*, 269: 143-151.
- Kern, J. and Kehrer, J. (2005). Free radicals and apoptosis: relationships with glutathione, thioredoxin, and the BCL family of proteins. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 10(2): 1727-1738.
- Kim, Y.M., Ji, E.S., Yoon, S.J. and Yoon, J.H. (2013). Sudden detraining deteriorates swimming training-induced enhancement of short-term and spatial learning memories in mice. *Journal of Exercise Rehabilitation*, 9(2): 243.
- Kobayashi, S., Iwamoto, M., Kon, K., Waki, H., Ando, S. and Tanaka, Y. (2010). Acetyl-l-carnitine improves aged brain function. *Geriatrics and gerontology international*, 10: S99-S106.
- Kramer, A.F. and Erickson, K.I. (2007). Capitalizing on cortical plasticity: influence of physical activity on cognition and brain function. *Trends in cognitive sciences*, 11(8): 342-348.
- Leroi, I., McDonald, K., Pantula, H. and Harbishettar, V. (2012). Cognitive impairment in Parkinson disease: impact on quality of life, disability, and caregiver burden. *Journal of geriatric psychiatry and neurology*, 25(4): 208-214.
- Louis, E.D. and Frucht, S.J. (2007). Prevalence of essential tremor in patients with Parkinson's disease vs. Parkinson-plus syndromes. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*, 22(10): 1402-1407.
- Mattson, M.P., Gleichmann, M. and Cheng, A. (2008). Mitochondria in neuroplasticity and neurological disorders. *Neuron*, 60(5): 748-766.
- Mocchetti, I., Bachis, A., Nosheny, R.L. and Tanda, G. (2007). Brain-derived neurotrophic factor expression in the substantia nigra does not change after lesions of dopaminergic neurons. *Neurotoxicity Research*, 12: 135-143.
- Nhu, N.T., Cheng, Y.J. and Lee, S.D. (2021). Effects of Treadmill Exercise on Neural Mitochondrial Functions in Parkinson's Disease: A Systematic Review of Animal Studies. *Biomedicine*, 9(8): 1011.
- Nocker, M., Seppi, K., Donnemiller, E., Virgolini, I., Wenning, G.K., Poewe, W. and Scherfler, C. (2012). 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. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 39: 1012-1020.

- Noor, N.A., Mohammed, H.S., Mourad, I.M., Khadrawy, Y.A. and Ezz, H.S.A. (2016). A promising therapeutic potential of cerebrolysin in 6-OHDA rat model of Parkinson's disease. *Life Sciences*, 155: 174-179.
- Paxinos, G. and Watson, C. (2014). *The brain in stereotaxic coordinates*, 7th ed., Elsevier Academic Press, pp: 66-85.
- Pothakos, K., Kurz, M.J. and Lau, Y.S. (2009). Restorative effect of endurance exercise on behavioral deficits in the chronic mouse model of Parkinson's disease with severe neurodegeneration. *BMC Neuroscience*, 10: 1-14.
- Pourrazi, H., Asgharpour-Arshad, M., Gholami, F. and Abbasi, S. (2020). Effect of high-intensity interval training on apoptotic gene expression in rat myocardial tissue. *Gene, Cell and Tissue*, 7(2): e101963.
- Radak, Z., Kumagai, S., Taylor, A., Naito, H. and Goto, S. (2007). Effects of exercise on brain function: role of free radicals. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 32(5): 942-946.
- Rahimi, R., Nikfar, S., Larijani, B. and Abdollahi, M. (2005). A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 59(7): 365-373.
- Rezaee, Z., Marandi, S.M., Alaei, H., Esfarjani, F. and Feyzollahzadeh, S. (2019). Effects of preventive treadmill exercise on the recovery of metabolic and mitochondrial factors in the 6-hydroxydopamine rat model of Parkinson's disease. *Neurotoxicity Research*, 35: 908-917.
- Roghani, M., Behzadi, G. and Baluchnejadmojarad, T. (2002). Efficacy of elevated body swing test in the early model of Parkinson's disease in rat. *Physiology & Behavior*, 76(4-5): 507-510.
- Sarkar, S., Gough, B., Raymick, J., Beaudoin, M.A., Ali, S.F., Virmani, A. and Binienda, Z.K. (2015). Histopathological and electrophysiological indices of rotenone-evoked dopaminergic toxicity: Neuroprotective effects of acetyl-L-carnitine. *Neuroscience Letters*, 606: 53-59.
- Sayal, N. (2015). Exercise training increases size of hippocampus and improves memory PNAS (2011) vol. 108| no. 7| 3017–3022. *Annals of Neurosciences*, 22(2): 107.
- Scherz-Shouval, R., Shvets, E., Fass, E., Shorer, H., Gil, L. and Elazar, Z. (2007). Reactive oxygen species are essential for autophagy and specifically regulate the activity of Atg4. *The EMBO Journal*, 26(7): 1749-1760.
- Thomas, C., Bishop, D., Moore-Morris, T. and Mercier, J. (2007). Effects of high-intensity training on MCT1, MCT4, and NBC expressions in rat skeletal muscles: influence of chronic metabolic alkalosis. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 293(4): E916-E922.
- Tsai, W. L., Chen, H.Y., Huang, Y.Z., Chen, Y.H., Kuo, C.W., Chen, K.Y. and Hsieh, T.H. (2019). Long-Term voluntary physical exercise exerts neuroprotective effects and motor disturbance alleviation in a rat model of Parkinson's disease. *Behavioural Neurology*, 2019: 1-10.
- Tuon, T., Souza, P.S., Santos, M.F., Pereira, F.T., Pedrosa, G.S., Luciano, T.F. and Pinho, R.A. (2015). Physical training regulates mitochondrial parameters and neuroinflammatory mechanisms in an experimental model of Parkinson's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015: 1-10.
- Vaynman, S., Ying, Z. and Gomez-Pinilla, F. (2004). Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *European Journal of Neuroscience*, 20(10): 2580-2590.
- Wakhloo, A.K., Gounis, M.J., Lieber, B.B., Mericle, R.A. and Linfante, I. (2008). *Thrombus and stroke: Informa Healthcare*, pp: 159-168.
- Yau, S.Y., Gil-Mohapel, J., Christie, B.R. and So, K.F. (2014). Physical exercise-induced adult neurogenesis: a good strategy to prevent cognitive decline in neurodegenerative diseases?. *BioMed Research International*, 2014, 1-20.