

Synergistic Effects of High-Intensity Interval Swimming and Gallic Acid on Pain Tolerance Mechanisms in a Parkinson's Disease Animal Model

Raheleh Rastegarian¹, Mehrzad Moghadasi^{2*}, Zahra Mosalanezhad¹, Reza Zeinalabadi³

¹Department of Exercise Physiology, Zand Higher Education Institute, Shiraz, Iran

²Department of Sports Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

³Department of Sports Sciences, Payam Noor University, Bandar Abbas, Iran

Article Info:

Received: 1 Dec 2024

Revised: 22 Dec 2024

Accepted: 7 Jan 2025

ABSTRACT

Introduction: This study aimed to investigate the combined effects of high-intensity interval swimming and gallic acid consumption on pain tolerance mechanisms in an animal model of Parkinson's disease (PD). **Materials and Methods:** In this experimental study, 35 male Wistar rats (8–10 weeks old) were randomly assigned to five groups: (1) healthy control, (2) PD, (3) gallic acid, (4) training, and (5) training + gallic acid. The animal model of PD was established by administering reserpine at a dosage of 1 mg/kg per day for five consecutive days. The training program involved six weeks of high-intensity interval swimming. Groups receiving supplements were given 200 mg/kg body weight of gallic acid, three days per week, for the duration of the six-week intervention. **Results:** The data revealed that MOR1 and miR-23b gene expression, as well as pain threshold, were significantly higher, while TNF- α gene expression was significantly lower in the training and training + gallic acid groups compared to the PD group. Moreover, MOR1 gene expression was significantly higher in the training + gallic acid group than in the training or gallic acid-alone groups. However, no significant differences in pain threshold or miR-23b gene expression were observed among the three intervention groups. Moreover, TNF- α gene expression was significantly lower in the training and training + gallic acid groups compared to the gallic acid-alone group. **Conclusion:** The findings suggest that high-intensity interval swimming combined with gallic acid consumption has the greatest potential effect on reducing pain in an animal model of PD.

Keywords:

1. Exercise
2. Hippocampus
3. Receptors, Opioid
4. Inflammation
5. Antioxidants

*Corresponding Author: Mehrzad Moghadasi

Email: Mehrzad.moghadasi@gmail.com

اثر سینرژیستی تمرین تناوبی شنای شدید و مصرف اسید گالیک بر مکانیسم‌های تحمل درد در مدل حیوانی بیماری پارکینسون

راحله رستگاریان^۱، مهرزاد مقدسی^{۲*}، زهرا مصلی‌نژاد^۱، رضا زین‌العبادی^۳

^۱گروه علوم ورزشی، مؤسسه آموزش عالی زند، شیراز، ایران
^۲گروه علوم ورزشی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
^۳گروه علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، بندرعباس، ایران

اطلاعات مقاله:

پذیرش: ۱۸ دی ۱۴۰۳

اصلاحیه: ۲ دی ۱۴۰۳

دریافت: ۱۱ آذر ۱۴۰۳

چکیده

مقدمه: هدف مطالعه حاضر، بررسی اثر همزمان یک دوره شنای تناوبی شدید همراه با مصرف مکمل اسید گالیک بر مکانیسم‌های تحمل درد در مدل حیوانی بیماری پارکینسون بود. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۳۵ سرموش نر صحرایی نژاد ویستار ۸-۱۰ هفته‌ای به طور تصادفی در پنج گروه (۱) کنترل سالم، (۲) کنترل بیمار، (۳) اسید گالیک، (۴) تمرین شنا و (۵) تمرین شنا + اسید گالیک قرار گرفتند. القاء بیماری به واسطه تزریق ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن رزپین و طی ۵ روز صورت گرفت. برنامه تمرینی شامل شش هفته شنای تناوبی شدید بود. گروه‌هایی که مصرف مکمل داشتند نیز به مدت شش هفته، سه روز در هفته، روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن مکمل اسید گالیک دریافت کردند. **یافته‌ها:** نتایج نشان داد بیان ژن MOR-1، mir-23b و آستانه تحمل درد در گروه‌های تمرین و تمرین + اسید گالیک به طور معنی‌داری بیشتر و بیان ژن TNF- α به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بیمار بود. همچنین نتایج نشان داد بیان ژن MOR-1 در گروه تمرین + اسید گالیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های تمرین و اسید گالیک به تنهایی بود در حالی که در خصوص آستانه تحمل درد و بیان ژن mir-23b تفاوتی بین سه گروه مداخله‌گر مشاهده نشد. در نهایت، نتایج نشان داد بیان ژن TNF- α در گروه تمرین و گروه تمرین + اسید گالیک نسبت به گروه اسید گالیک پایین‌تر بود. **نتیجه‌گیری:** نتایج پیشنهاد می‌کند اجرای تمرینات تناوبی شنای شدید در کنار مصرف مکمل اسید گالیک بیشترین تأثیر را بر کاهش درد نمونه‌های مبتلا به پارکینسون دارد.

واژه‌های کلیدی:

- ۱- تمرین ورزشی
- ۲- هیپوکامپ
- ۳- گیرنده‌ها، مواد افیونی
- ۴- التهاب
- ۵- آنتی‌اکسیدان‌ها

*نویسنده مسئول: مهرزاد مقدسی

پست الکترونیک: Mehrzad.moghadasi@gmail.com

مقدمه

بیماری پارکینسون یک بیماری پیشرونده تخریب عصبی است که با افزایش سن، شیوع آن نیز افزایش پیدا می‌کند (۱). نرخ شیوع این بیماری در مردان دو برابر زنان، در سفیدپوستان بیشتر از سیاه‌پوستان و نژاد آسیایی و در هر ۱۰۰ هزار فرد بالای ۴۵ سال، حدود ۵۷۲ نفر به آن مبتلا هستند (۲-۴). اگرچه عنوان شده است که بیماری پارکینسون بر اثر تخریب نورون‌های دوپامینرژیک در جسم سیاه روی می‌دهد، اما در حقیقت این بیماری یک اختلال عصبی چند سیستمی است (۵، ۲). نشانه‌های این بیماری شامل دو دسته نشانه‌های حرکتی از جمله لرزش، سفتی، برادی‌کینزی و بی‌ثباتی وضعیتی و نشانه‌های غیرحرکتی است که از مهم‌ترین نشانه‌های غیرحرکتی آن می‌توان به اختلالات خواب، اختلالات شناختی، یبوست، اختلالات دستگاه تناسلی و درد اشاره کرد (۶، ۲). درد یکی از عوارض بیماری پارکینسون است که ۶۸ تا ۹۵ درصد این بیماران با آن مواجه هستند و کیفیت زندگی آنها را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد (۷). افزایش درد بیماران پارکینسون موجب ناتوانی جدی، کاهش کیفیت زندگی، فلج شدن و در نهایت مرگ می‌شود (۸). مکانیسم‌های بروز درد در بیماران پارکینسونی متفاوت است اما به نظر می‌رسد یکی از اصلی‌ترین دلایل بروز دردهای مزمن در این بیماران، افزایش استرس اکسایشی و عوامل التهابی در بافت مغز باشد که منجر به اختلال در گیرنده‌های مرتبط با درد مانند گیرنده‌های اپیوئیدی می‌شود (۹). دستگاه اپیوئیدی سه گیرنده اصلی μ (mu)، κ (k) و δ (delta) دارد که پپتیدهای اپیوئیدی درون‌زاد این گیرنده‌ها را فعال می‌کنند. گیرنده‌های اپیوئیدی به خصوص گیرنده‌های μ که به گیرنده‌های MOR معروف هستند و پپتیدهای اپیوئیدی درون‌زاد در سراسر دستگاه عصبی مرکزی (CNS) و محیطی (PNS) توزیع شده‌اند و نقشی مهم در سیستم پاداش، انگیزش و احساسات دارند (۱۰). همچنین این گیرنده‌ها نقش اساسی در کنترل پاسخ‌های فیزیولوژیک همچون بی‌دردی و تنظیم استرس داشته و نتایج مطالعات اخیر حاکی از ارتباط بین گیرنده‌های MOR با نشانه‌های استرس و اضطراب بوده‌اند (۱۱-۱۳). از بین چهار رده گیرنده اپیوئیدی، گیرنده اپیوئیدی μ شماره ۱ (MOR1) بیشتر با عوامل التهابی در ارتباط است (۱۴).

ساز و کارهای بروز درد در بیماری پارکینسون متفاوت است، اما به نظر می‌رسد به غیر از استرس اکسایشی و افزایش عوامل التهابی در مغز، یکی دیگر از دلایل اصلی بروز دردهای مزمن در این بیماران، اختلال در میکرو آر

ان ای‌های (miRNAs) بافت مغز و به تبع آن اختلال در گیرنده‌های مرتبط با درد مانند گیرنده‌های اپیوئیدی و به خصوص گیرنده‌های μ باشد (۱۲). miRNA ها، RNA های غیرکدکننده کوچکی هستند که در کنترل پس از رونویسی بیان ژن شرکت می‌کنند و به تازگی اختلال در بیان ژن آنها در مغز افراد مبتلا به پارکینسون فوت شده شناسایی شده است (۱۴). تاکنون چندین miRNA مرتبط با درد شناسایی شده‌اند که از جمله این miRNA ها می‌توان به mir-23b اشاره کرد. برای اولین بار کاهش بیان ژن mir-23b و ارتباط مستقیم آن با افزایش درد توسط ایم^۱ و همکاران در نمونه‌های حیوانی پس از آسیب ستون مهره‌ها گزارش شد (۱۵). در دیگر مطالعات نیز کاهش بیان ژن mir-23b در بیماران مختلف که درد یکی از عوارض این بیماری‌ها است از جمله فیبرومالازی^۲ و پارکینسون گزارش شده است (۱۶، ۱۷). مطالعات بالینی نشان داده‌اند که mir-23b به‌عنوان یک عامل اتصالی به پیشبرد بیان MOR1 کمک می‌کند (۱۸).

تمرینات تناوبی شدید تمریناتی هستند که با شدت زیاد و در تناوب‌های کوتاه مدت اجرا می‌شوند و به دلیل اثرات متفاوتی که ممکن است نسبت به دیگر شیوه‌های تمرینی داشته باشند، امروزه مورد استقبال قرار گرفته‌اند (۱۹). عنوان شده است که این نوع تمرینات سازگاری‌های جدیدی از جمله سازگاری‌های محیطی، عصبی و قلبی-عروقی ایجاد می‌کنند (۲۰). همچنین مطالعات نشان داده‌اند که اجرای تمرینات در آب بر خلاف تمرینات در خشکی، به دلیل خواص هیدرودینامیکی و ایجاد شرایط بی‌وزنی موجب کاهش صدمات ناشی از تمرین می‌شود (۲۱). بر اساس اطلاعات ما تاکنون مطالعه‌ای به بررسی اثر تمرینات تناوبی شدید بر مکانیسم‌های مرتبط با درد در بیماران پارکینسونی نپرداخته است؛ لذا یکی از اهداف مطالعه حاضر مشخص کردن اثر این نوع تمرینات بر آستانه تحمل درد و بیان ژن‌های گیرنده درد MOR1، mir-23b و $\text{TNF-}\alpha$ به‌عنوان یک شاخص التهابی بود.

از طرف دیگر، همانطور که عنوان شد یکی از مکانیسم‌های بروز درد در بیماران مبتلا به پارکینسون، افزایش عوامل التهابی و استرس اکسایشی در بافت مغز است؛ لذا امکان دارد استفاده از گیاهان با خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد التهابی بتواند در کاهش التهاب و به تبع آن کاهش درد مؤثر باشد. اسیدگالیک (۳، ۴ و ۵ تری‌هیدروکسی‌بنزوئیک‌اسید) که یکی از مهم‌ترین ترکیبات پلی‌فنولی در گیاهان و محصول هیدرولیز تانن‌ها به شمار می‌آید، یک پودر سفید با فرمول شیمیایی $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ است که به واسطه اکسیداسیون،

^۱ Im et al.^۲ Fibromyalgia

واحد شیراز رسید و کد اخلاق نیز با شماره IR.IAU.SHIRAZ.REC.1402.49 توسط این کمیته صادر گردید.

القاء پارکینسون و گروه بندی نمونه ها

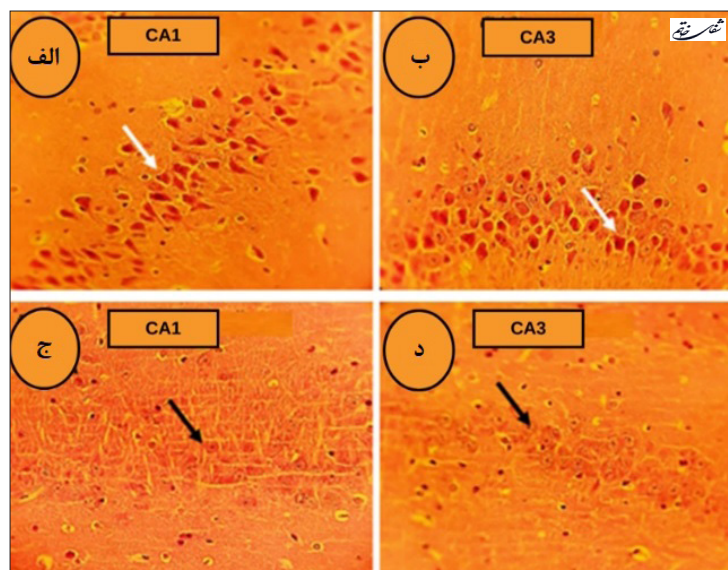
به غیر از ۷ موش که به عنوان گروه سالم در نظر گرفته شدند، به ۲۸ سرموش با تزریق درون صفاقی ماده رزپرین^۳ (ساخت شرکت سیگما آلدریج^۴ کشور هند) به میزان یک میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، بیماری پارکینسون القاء شد. تزریق رزپرین به مدت پنج روز متوالی با یک برنامه منظم در شبانه روز انجام شد. پس از پایان دوره القاء و به منظور تأیید القاء بیماری، آزمون چرخشی گرفته شد. در این آزمون، حیوان از حدود ۲ سانتی متر بالاتر از محل اتصال دم به بدن گرفته و بالا آورده می شد به طوری که بینی حیوان ۲ سانتی متر بالای سطح اتکا قرار گیرد. چنانچه موش نمی توانست تعادلش را حفظ کند و شروع به چرخش به دو طرف می کرد، به عنوان نشانه القاء پارکینسون در نظر گرفته می شد (۲۷-۲۵). در کنار این آزمون، سه سر موش صحرایی (یک موش سالم و دو موش تحت تزریق رزپرین) نیز برای انجام عکسبرداری از بافت مغز جهت تأیید مدل انتخاب شدند. تصویر ۱ میکروگراف حاصل از نواحی CA1 و CA3 هیپوکامپ را نشان می دهد که در گروه القاء بیماری پارکینسون، نورون های تحلیل رفته، سیتوپلاسم رنگ ننگ نشده، هسته های متراکم یا قطعه قطعه شده و غشاء سلولی آسیب دیده مشخص است. این علائم آسیب سلولی در هر دو ناحیه هیپوکامپ مشخص است. علاوه بر این، کاهش قابل توجه تعداد سلول ها در سطح مقطع مورد بررسی نسبت به گروه کنترل مشاهده می شود که این امر نشان دهنده وقوع مرگ سلولی گسترده در ناحیه CA1 و CA3 در گروه القاء بیماری پارکینسون (تصویر ۱- ج و د) در مقایسه با گروه کنترل سالم (تصویر ۱- الف و ب) است.

به رنگ قهوه ای متمایل می گردد. اسیدگالیک در پوست بلوط، گردو، سماق، برگ های چای و در دیگر گیاهان یافت می شود (۲۲). این ترکیب دارای اثرات ضد دیابتی، ضد سرطانی و جهش زایی و ضد ویروسی و یک آنتی اکسیدان قوی است که می تواند از استرس اکسایشی جلوگیری نماید (۲۳). همچنین این ترکیب می تواند به راحتی از طریق سد خونی مغزی عبور کرده و عملکرد نورون ها در نواحی بحرانی مغز را بهبود و سطح مالون دی آلدهید را در موش های مدل بیماری پارکینسون کاهش دهد (۲۴). از آن جا که تاکنون اثر مصرف اسیدگالیک در کنار فعالیت ورزشی بر مکانیسم های مرتبط با درد در بیماران مبتلا به پارکینسون بررسی نشده است، دیگر هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تعاملی تمرین شنای تناوبی شدید و مصرف اسیدگالیک بر مکانیسم های مؤثر بر تحمل درد در مدل حیوانی بیماری پارکینسون بود.

مواد و روش ها نمونه های تحقیق

مطالعه حاضر از نوع مطالعات تجربی و بنیادی با طرح پس آزمون با گروه کنترل بود. در این مطالعه ۳۵ سر موش نر صحرایی نژاد ویستار ۸-۱۰ هفته ای با میانگین وزن 10.6 ± 2.05 گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی انستیتو رازی کرج خریداری و به آزمایشگاه حیوانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز منتقل شدند. نمونه ها به مدت یک هفته درون قفس های پلاستیکی پوشیده شده با خاک اره در شرایط استاندارد (دمای $23.2 \pm$ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۴۵ درصد) نگهداری شدند تا سازگاری با محیط آزمایشگاهی صورت گیرد. در کل مدت تحقیق آب و غذا به طور آزادانه در اختیار حیوانات قرار گرفت و چرخه ۱۲ ساعت تاریکی ۱۲ ساعت روشنایی حفظ شد. کلیه مراحل تحقیق به تأیید کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی

تصویر ۱- ارزیابی هیستوپاتولوژیک القاء بیماری پارکینسون



³ Reserpine

⁴ Sigma-Aldrich

وسیله صفحه استراحت از آب بیرون آورده و مجدد در آب قرار داده می‌شدند. برنامه اصلی تمرین شنای تناوبی شدید شش هفته بود که سه روز در هفته و به صورت یک روز در میان اجرا شد. در این شیوه تمرینی، بار اعمال شده در هفته اول وزنه‌ای به میزان هفت درصد وزن بدن هر موش صحرایی بود که به دم آنها بسته و هر هفته به میزان یک درصد به وزن آن اضافه گردید؛ به طوری که، در هفته آخر موش‌ها با وزنه‌ای به میزان ۱۲ درصد بدن خود تمرین شنا را انجام دادند (۲۸). پس از هر جلسه تمرین در آب، موش‌های صحرایی با حوله خشک و به محل نگهداری منتقل می‌شدند. طی دوران مطالعه، نمونه‌های گروه کنترل سالم و گروه بیمار، هیچگونه برنامه تمرینی نداشتند. مشخصات برنامه تمرینی در جدول ۱ نشان داده شده است.

مصرف اسید گالیک

نمونه‌های گروه‌های اسید گالیک و تمرین شنا + اسید گالیک به مدت شش هفته، سه روز در هفته، روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن مکمل اسید گالیک شرکت سیگما ساخت کشور آمریکا به صورت گاوژ دریافت کردند (۲۹).

سنجش آستانه تحمل درد

برای ارزیابی آستانه تحمل درد از آزمون هات پلیت استفاده شد. حیوانات هر گروه بر روی دستگاه هات پلیت که در دمای ۵۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود، قرار داده شدند و زمان پاسخ به محرک

تصویر ۱ - الف و ب مربوط به گروه کنترل سالم و تصویر ۱-ج و د مربوط به گروه بیمار است. همانطور که فلش‌ها نشان می‌دهد در نواحی CA1 و CA3 گروه القاء بیماری پارکینسون، نورون‌های تحلیل‌رفته، سیتوپلاسم رنگ نشده، هسته‌های متراکم یا قطعه قطعه شده و غشاء سلولی آسیب دیده مشخص است. علاوه بر این، در مقایسه با گروه سالم، کاهش قابل توجه تعداد سلول‌ها در سطح مقطع مورد بررسی مشاهده می‌شود که این امر نشان دهنده وقوع مرگ سلولی گسترده در ناحیه CA1 و CA3 در گروه القاء بیماری پارکینسون است.

با حصول اطمینان از القاء بیماری پارکینسون، ۲۶ سرموش باقیمانده (۲ سرموش از گروه تزریق رزوپین طی آزمون اطمینان از القاء بیماری قربانی شدند) به طور تصادفی در گروه‌های کنترل بیمار (۶ سرموش)، اسید گالیک (۶ سرموش)، تمرین شنا (۷ سرموش) و تمرین شنا + اسید گالیک (۷ سرموش) قرار گرفتند.

برنامه تمرینی

موش‌های گروه تمرین شنا و تمرین شنا + اسید گالیک ابتدا به مدت یک هفته مرحله آشنایی با استخر حیوانات (قطر ۱۶۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر) را پیش از شروع دوره تمرینات اصلی گذراندند. در روز اول این دوره، موش‌ها با نهایت دقت و آرامش در استخر حیوانات قرار داده شدند و با سرعت دلخواه به مدت پنج دقیقه شنا کردند. در جلسات بعد و پس از آشناسازی کافی با تمرین شنا، برای آموزش شنای تناوبی، چند بار پس از یک دقیقه شنا حیوانات به

جدول ۱- پروتکل تمرین شنای تناوبی شدید

هفته	تعداد (نوبت)	مدت تلاش (ثانیه)	مدت استراحت (ثانیه)	میزان اضافه بار (درصد وزن بدن)
اول	۲۰	۳۰	۳۰	۷
دوم	۲۰	۳۰	۳۰	۸
سوم	۲۰	۳۰	۳۰	۹
چهارم	۲۰	۳۰	۳۰	۱۰
پنجم	۲۰	۳۰	۳۰	۱۱
ششم	۲۰	۳۰	۳۰	۱۲

شفاخته

miRNA ها در مطالعات متعدد توصیه شده است (۳۲-۳۴). از آب به عنوان کنترل منفی واکنش PCR در هر دور از واکنش PCR برای هر ژن استفاده شد. مخلوط واکنش بر اساس پروتکل پیشنهادی آماده شد. برنامه زمانی - گرمایی دستگاه طبق مراحل زیر انجام شد. مرحله اول که منجر به واسرشته شدن (-Dena turation) مولکول های CDNA به صورت ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه، مرحله دوم ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه برای ۴۰ چرخه متوالی بود و در مرحله آخر ضمن بررسی نمودار ذوب، محصولات توسط الکتروفورز در سطح ژل آگارز مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش آماری

به منظور بررسی توزیع طبیعی داده ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. از آنجا که داده ها دارای توزیع طبیعی بودند، برای بررسی تغییرات متغیرهای مورد مطالعه از آزمون تحلیل واریانس یک راهه همراه با آزمون تعقیبی توکی و برای بررسی اثرات اصلی و اثر متقابل تمرین شنا و مصرف اسیدگالیک بر متغیرها، از تحلیل واریانس دوره استفاده شد تجزیه و تحلیل یافته ها با نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ و در سطح معنی داری $P > 0.05$ انجام شد.

یافته ها

مقایسه آستانه تحمل درد بین گروه های مختلف با آزمون تحلیل واریانس یک راهه بررسی شد. نتایج این

حرارتی به دنبال تغییر رفتار (لیس زدن کف پا، پریدن، یا تکان دادن شدید پنجه) ثبت گردید. زمان خاتمه آزمون ۳۰ ثانیه در نظر گرفته شد (۳۰).

بافتبرداری و اندازه گیری بیان ژن

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، با تزریق درون صفاقی کتامین (۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) نمونه ها بیهوش شدند. بافت هیپوکامپ استخراج و بلافاصله برای سنجش های بعدی به آزمایشگاه منتقل و در دمای منهای ۸۰ درجه سانتی گراد فریز شدند. پس از جداسازی بافت هیپوکامپ، مرحله جداسازی mRNA توسط کیت مخصوص FavorPrep™ Tissue Total RNA Mini Kit (Farvorgen Biotech, Chang-zhi Township, Taiwan) و بر اساس دستورالعمل کیت انجام شد. یک میکروگرم از RNA استخراج شده با کمک کیت RevertAid™ First Strand cDNA Syn-thesis (Fermentas)، طبق دستورالعمل کیت جهت سنتز CDNA استفاده شد. واکنش qRT-PCR (RealQ Plus 2x Master آنزیم با کمک آمپلیکون (Ampliqon, Inc) Mix Green و با استفاده از دستگاه Applied Biosystems StepOne™ (USA) صورت گرفت.

جهت بررسی بیان ژن ها هدف، برای جفت پرایمر های $TNF-\alpha$ و MOR-1 از ژن کنترل TBP و برای بررسی میزان mir-23b از کنترل U6 استفاده شد (۳۱). استفاده از U6 به صورت سنتی به عنوان رفرنس در بررسی

جدول ۲- لیست پرایمرهای استفاده شده

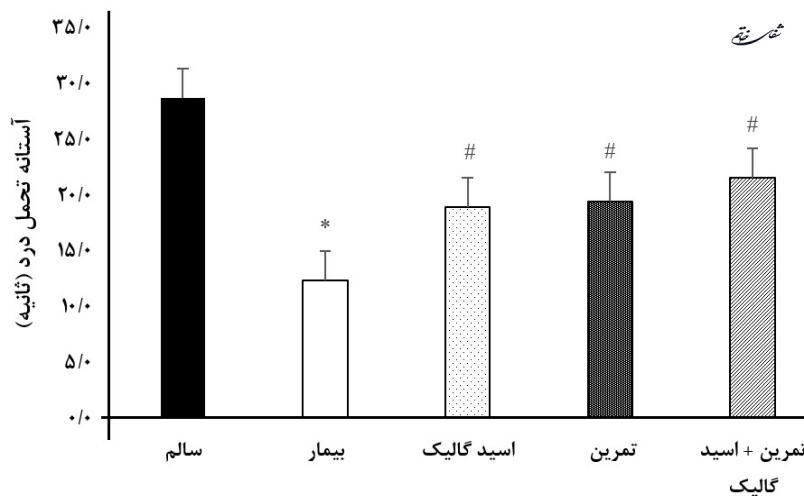
ژن	توالی پرایمر	طول محصول (جفت باز)	Ta (°C)
TBP	Forward: 5'- GCGGGGTCATGAAATCCAGT-3'	۱۴۷	۶۰/۰
	Reverse: 5'- AGTGATGTGGGGACAAAACGA -3'		
TNF- α	Forward: 5'- ATGGGCTCCCTCTCATCAGT-3'	۱۰۶	۶۰/۰
	Reverse: 5'- GCTTGGTGGTTTGTCTACGACG-3'		
MOR-1	Forward: 5'- CAAAATACAGGCAGGGGTCCA -3'	۱۷۳	۶۰/۰
	Reverse: 5'- TAGCATGCGAACGCTCTTGA -3'		
mir-23b	Forward: ACACTCCAGCTGGGATCACATTGCCAGG	۱۱۰	۶۰/۰
	Reverse: TGGTGTCGTGGAGTCG		
U6	Forward: CTCGCTTCGGCAGCACA	۹۴	۶۰/۰
	Reverse: AACGCTTCACGAATTTGCGT		

منبع

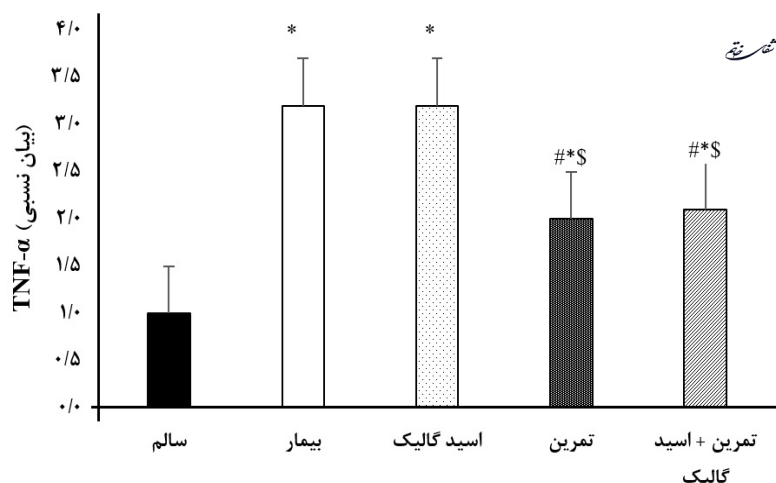
نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه نشان داد تفاوت معنی‌داری در مقادیر بیان ژن $TNF-\alpha$ در گروه‌های تحقیق وجود دارد ($P=0/001$ و $F=10/2$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد مقادیر $TNF-\alpha$ در گروه بیمار و اسید گالیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل سالم بود ($P<0/001$). اگرچه بیان ژن $TNF-\alpha$ در گروه تمرین و گروه تمرین + اسید گالیک نسبت به گروه بیمار و گروه اسید گالیک کاهش معنی‌داری یافته بود ($P<0/05$) اما مقادیر آن همچنان در این دو گروه نسبت به گروه سالم بالاتر بود ($P<0/05$). علاوه بر این، نتایج آزمون تحلیل واریانس دو راهه نشان داد عامل تمرین ($P=0/001$ ، $F=22/11$ و اندازه اثر $0/54$) و تمرین همراه با اسید گالیک ($P=0/001$ ، $F=23/41$ و اندازه اثر $0/60$) اثر معنی‌داری در کاهش $TNF-\alpha$ در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به پارکینسون دارند اما مصرف اسید گالیک به تنهایی اثری در کاهش بیان ژن $TNF-\alpha$ ندارد ($P=0/15$ ، $F=2/15$ و اندازه اثر $0/08$).

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه نشان داد تفاوت معنی‌داری در بیان $mir-23b$ در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی گروه‌های تحقیق وجود دارد ($P=0/001$ و $F=33/44$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد بیان

آزمون نشان داد تفاوت معنی‌داری در آستانه تحمل درد بین موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق وجود دارد ($P=0/001$ و $F=83/19$). در ادامه نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد آستانه تحمل درد در گروه بیمار به طور معنی‌داری کمتر از گروه سالم بود ($P<0/001$). با این حال در گروه‌های اسید گالیک، تمرین و تمرین + اسید گالیک آستانه درد به طور معنی‌داری بیشتر از گروه بیمار بود ($P<0/001$). با این وجود تفاوت معنی‌داری در گروه‌های تمرین ($P=0/98$) و تمرین + اسید گالیک ($P=0/52$) در مقایسه با گروه اسید گالیک مشاهده نشد. همچنین تفاوت معنی‌داری در گروه‌های تمرین و تمرین + اسید گالیک مشاهده نشد ($P=0/15$). در ادامه برای بررسی نحوه اثر تعاملی تمرین و اسید گالیک بر آستانه تحمل درد نتایج آزمون آنالیز واریانس دو راهه ارائه شده است. نتایج این آزمون نشان داد عامل تمرین ($P=0/001$ ، $F=56/90$ و اندازه اثر $0/7$) و اسید گالیک ($P=0/001$ ، $F=45/99$ و اندازه اثر $0/65$) اثر معنی‌داری بر افزایش آستانه تحمل درد در موش‌های صحرایی مبتلا به پارکینسون دارند. علاوه بر این ترکیب تمرین و اسید گالیک دارای اثر سینرژیستی بر افزایش آستانه تحمل درد در موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری پارکینسون دارد ($P=0/002$ ، $F=12/01$ و اندازه اثر $0/33$).



نمودار ۱- مقادیر آستانه تحمل درد موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق (SD ± mean)
* اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه سالم؛ # ($P<0/001$) اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه بیمار

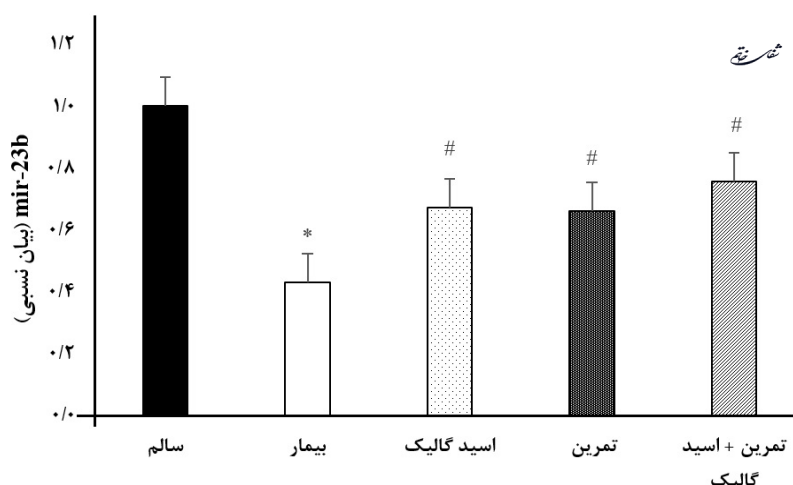


نمودار ۲- بیان ژن نسبی $TNF-\alpha$ در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق (SD ± mean)
* اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه سالم؛ # ($P<0/001$) اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه بیمار؛ \$ ($P<0/01$) اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه اسید گالیک

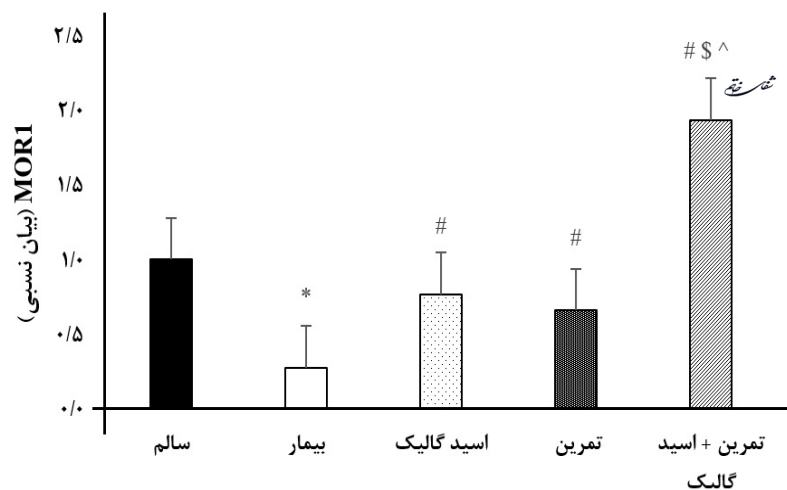
گروه‌های تحقیق وجود دارد ($P=0/001$ و $F=448/63$). نتایج آزمون تعقیبی توکی حاکی از آن بود که بیان MOR1 در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی گروه بیمار به طور معنی‌داری کمتر از گروه سالم بود ($P<0/001$). با این حال بیان ژن MOR1 در گروه‌های اسید گالیک، تمرین و تمرین + اسید گالیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه بیمار بود ($P<0/001$). تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تمرین و اسید گالیک مشاهده نشد ($P=0/09$); اما بیان ژن MOR1 در گروه تمرین + اسید گالیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های اسید گالیک ($P=0/001$) و تمرین ($P=0/001$) به تنهایی بود. نتایج آنالیز واریانس دو راهه نشان داد عامل تمرین ($P=0/001$ ، $F=827/19$ و اندازه اثر $0/97$) و اسید گالیک ($P=0/001$ ، $F=1074/22$ و اندازه اثر $0/97$) اثر معنی‌داری بر افزایش بیان MOR1 در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به پارکینسون دارند. علاوه بر این تمرین و اسید گالیک دارای اثر سینرژیستی بر افزایش بیان MOR1 در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری پارکینسون دارد ($P=0/001$ ، $F=211/76$ و اندازه اثر $0/89$).

mir-23b در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی گروه بیمار به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل سالم بود ($P<0/001$); در حالی که بیان ژن آن در گروه‌های اسید گالیک، تمرین و تمرین + اسید گالیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه بیمار بود ($P<0/001$). تفاوت معنی‌داری در بیان ژن mir-23b بین گروه‌های تمرین ($P=0/99$) و تمرین + اسید گالیک ($P=0/46$) در مقایسه با گروه اسید گالیک مشاهده نشد. همچنین تفاوت معنی‌داری در گروه‌های تمرین و تمرین + اسید گالیک مشاهده نشد ($P=0/35$). نتایج آزمون آنالیز واریانس دوراهه نشان داد عامل تمرین ($P=0/001$ ، $F=16/49$ و اندازه اثر $0/40$) و اسید گالیک ($P=0/001$ ، $F=18/65$ و اندازه اثر $0/43$) اثر معنی‌داری بر افزایش بیان mir-23b در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به پارکینسون دارند ولی تمرین و اسید گالیک دارای اثر تعاملی بر افزایش بیان mir-23b در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری پارکینسون نمی‌باشند ($P=0/07$ ، $F=3/58$ و اندازه اثر $0/13$).

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه در خصوص تغییرات بیان ژن MOR1 نشان داد تفاوت معنی‌داری بر بیان این پروتئین در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی در



نمودار ۳- بیان ژن نسبی mir-23b در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق (SD ± mean)
* ($P<0/001$) اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه سالم؛ # ($P<0/001$) اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه بیمار



نمودار ۴- بیان ژن نسبی MOR1 در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق (SD ± mean)
* ($P<0/001$) اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه سالم؛ # ($P<0/001$) اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه بیمار؛ \$ ($P<0/001$) اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه اسید گالیک؛ ^ ($P<0/001$) اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه تمرین

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر تعاملی تمرین شنای تناوبی شدید و مصرف اسیدگالیک بر مکانیسم‌های مؤثر بر تحمل درد در مدل حیوانی بیماری پارکینسون اجرا شد. نتایج این مطالعه نشان داد با القاء پارکینسون، آستانه تحمل درد در گروه بیمار به طور معنی‌داری کمتر از گروه سالم شد. این در حالی بود که مصرف اسید گالیک، اجرای تمرین شنای تناوبی شدید و مصرف اسید گالیک همراه با تمرین شنا موجب افزایش آستانه درد نسبت به گروه بیمار شد و ترکیب تمرین و اسید گالیک دارای اثر سینرژیستی بر افزایش آستانه تحمل درد در موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری پارکینسون داشت. مطالعات بالینی نشان داده‌اند که درد یکی از عوارض شایع بیماری پارکینسون بوده و مکانیسم‌های مختلفی از جمله افزایش استرس اکسایشی و عوامل التهابی در بافت مغز و همچنین اختلال در برخی miR-NA ها موجب کاهش عملکرد گیرنده‌های ضد درد به خصوص MOR1 شده، به این واسطه درد در بیماران پارکینسونی بروز می‌کند (۹، ۷). در ادامه به بررسی اثر تمرین، مصرف اسید گالیک و اثر همزمان تمرین و مصرف اسید گالیک بر مکانیسم‌های مطرح شده می‌پردازیم.

همانطور که عنوان شد، یکی از مکانیسم‌های اختلال در عملکرد گیرنده‌های ضد درد در بیماران مبتلا به پارکینسون، افزایش عوامل التهابی در بافت مغز است. تحقیقات گذشته نشان داده‌اند که استرس اکسایشی ناشی از تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و نیترژن (RNS) و التهاب عصبی (ناشی از فعالیت بیش از حد سلول‌های میکروگلیا و آستروگلیا) در سیستم عصبی مرکزی در پیشرفت پارکینسون نقش دارد (۳۵). فعالیت میکروگلیاها موجب تولید مقدار زیادی رادیکال‌های آزاد از جمله سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و سائتوکین‌های دارای سمیت سلولی از جمله IL-1 β ، TNF- α و مونواکسید نیترژن می‌شود که به نوروپاتی آسیب می‌رساند (۳۶). از این رو در مطالعه حاضر تغییرات بیان ژن TNF- α به عنوان شاخص التهابی در بروز درد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد بیان ژن TNF- α در گروه بیمار و اسید گالیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل سالم بود اما با اجرای تمرین و مصرف اسید گالیک در کنار تمرین، بیان ژن TNF- α کاهش معنی‌داری پیدا کرد اما مقادیر آن همچنان در این دو گروه نسبت به گروه سالم بالاتر بود. همراستا با نتایج مطالعه حاضر در دو مطالعه نشان داده شده است که سطح پلاسمایی TNF- α در افراد مبتلا به پارکینسون پس از یک دوره تمرینات تناوبی شدید

و یک دوره تمرینات استقامتی کاهش معنی‌داری پیدا کرده است (۳۷، ۳۸). این نتایج بیانگر اثرات ضدالتهابی فعالیت ورزشی در بیماری پارکینسون است. این مورد پیش از این نیز به تأیید محققین رسیده است (۳۹). فعالیت میکروگلیا توسط فاکتور رشد تغییر دهنده-بتا ۱ (TGF- β 1)^۵ - یک سائتوکین ضد التهابی - کنترل می‌شود (۴۰). TGF- β 1 خاصیت محافظت نوروپاتی سیستم عصبی مرکزی در برابر آسیب و التهاب دارد (۴۱). مشاهده شده است که TGF- β 1 فعالیت میکروگلیا را در نمونه‌های حیوانی مبتلا به پارکینسون تعدیل کرده و به این واسطه تولید سائتوکین‌های التهابی از جمله TNF- α ، IL-1 β ، گاز نیتریک اکساید و گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهد (۳۴). ژیمورا و همکاران در مطالعه خود مشاهده کردند میزان TGF- β 1 پس از اعمال دوره تمرینی افزایش و سطح TNF- α در خون بیماران پارکینسونی کاهش معنی‌داری پیدا کرد (۳۷). اگرچه در مطالعه حاضر میزان TGF- β 1 اندازه‌گیری نشده است، اما به نظر می‌رسد کاهش مشاهده شده در بیان ژن عوامل التهابی تا حدی به دلیل افزایش TGF- β 1 و کاهش فعالیت میکروگلیا باشد. در خصوص تغییرات TNF- α بر اثر مصرف اسید گالیک همراه با تمرین ورزشی و همراستا با نتایج مطالعه حاضر، بازیار و همکاران نیز مشاهده کردند با مصرف ۱۰۰ میلی گرم اسید گالیک در کنار هشت هفته تمرین استقامتی، غلظت TNF- α در بافت هیپوکامپ موش‌های مبتلا به آلزایمر کاهش معنی‌داری پیدا کرد که علت آن ترکیبات پلی فنولی موجود در اسید گالیک عنوان شده است (۴۲). به طور کلی ممکن است یکی از مکانیسم‌های بهبود آستانه تحمل درد در نمونه‌های مطالعه حاضر، کاهش سطح عوامل التهابی باشد. از دیگر مکانیسم‌های مرتبط با بروز درد در بیماران مبتلا به پارکینسون، اختلال در در برخی miRNA ها است. برخی مطالعات عنوان کرده‌اند که کاهش mir-23b با افزایش درد در بیماران مبتلا به پارکینسون ارتباط است (۱۸). نتایج مطالعه حاضر نشان داد اگرچه بیان mir-23b در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی گروه بیمار به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل سالم بود، اما بیان ژن آن در گروه‌های اسید گالیک، تمرین و تمرین + اسید گالیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه بیمار بود و اختلاف معنی‌داری بین سه گروه مشاهده نشد. کاهش mir-23b با افزایش استرس اکسایشی و التهاب در ارتباط است و با کاهش بیان ژن این miRNA، گونه‌های فعال اکسیژن و سطح التهاب افزایش یافته و به تبع آن تخریب نوروپاتی عصبی در هیپوکامپ روی می‌دهد (۴۳). از این رو

⁵ Transforming growth factor- β 1

است و تمرین ورزشی باید به گونه‌ای باشد که در حد مناسبی منجر به رهايش اپيوئيد به‌عنوان يك كاهنده درد شود (۴۶). همچنين اطلاعات نشان می‌دهند كه افزايش عوامل التهابی و استرس اكسایشی موجب تخریب گیرنده‌های اپيوئیدی μ شده و این امر در ادامه به افزايش پروستاگلندین‌ها و تحريك گیرنده‌های درد می‌شود و MOR-1 در نهایت كاهش می‌یابد (۴۷). در کنار این موضوع، مشخص شده است كه mir-23b به‌عنوان يك عامل اتصالی به پیشبرد بیان MOR1 كمك می‌كند از این رو افزايش بیان ژن MOR1 در مطالعه حاضر ممكن است به دليل كاهش $TNF-\alpha$ و افزايش بیان ژن mir-23b بر اثر تمرین و مكمل اسید گالیک باشد (۱۸).

مطالعه حاضر با محدودیت‌هایی از جمله عدم ارزیابی شاخص‌های استرس اكسایشی همراه بود. به منظور بررسی دقیق‌تر مكانیسم‌های مؤثر بر بروز درد در نمونه‌های مبتلا به پارکینسون، بررسی شاخص‌های استرس اكسایشی از جمله مالون دآلدهید پیشنهاد می‌شود. به طور کلی مطالعه حاضر نشان داد تمرینات شنای تناوبی شدید در کنار مكمل آنتی اكسیدانی اسید گالیک می‌تواند به واسطه كاهش التهاب و افزايش miRNA های مرتبط با گیرنده ضد درد MOR1، در كاهش درد در نمونه‌های حیوانی مبتلا به پارکینسون مؤثر باشد. طبیعتاً تعمیم این نتایج به نمونه‌های انسانی نیازمند مطالعات بیشتری است.

ممکن است یکی از دلایل افزایش بیان ژن mir-23b در گروه‌های تمرین، مصرف اسید گالیک و ترکیب تمرین و اسید گالیک با یکدیگر، كاهش $TNF-\alpha$ بر اثر تمرین و خاصیت آنتی اكسیدانی اسید گالیک باشد.

در نهایت نتایج مطالعه حاضر نشان داد بیان ژن MOR1 در بافت هیپوكامپ موش‌های صحرایی گروه بیمار به طور معنی‌داری كمتر از گروه سالم بود. از این رو اختلال در این گیرنده اپيوئیدی و كاهش آستانه درد در نمونه‌های مطالعه حاضر به اثبات رسید. همچنین نتایج نشان داد بیان ژن MOR1 در گروه‌های اسید گالیک، تمرین و تمرین + اسید گالیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه بیمار بود و بیان ژن این گیرنده در گروه تمرین + اسید گالیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های اسید گالیک و تمرین به تنهایی بود. همراستا با نتایج مطالعه حاضر، برخی پژوهشگران عنوان کرده‌اند كه تمرین ورزشی با شدت بالا منجر به ترشح بیشتر گیرنده MOR نسبت به تمرین با شدت متوسط رو به بالا، در سیستم عصبی مركزی می‌شود (۴۴). محققین نشان داده‌اند كه تمرینات ورزشی منجر به فعال شدن پروتئین G متصل به گیرنده اپيوئید می‌گردد و در ادامه با افزايش بیان گیرنده‌های اپيوئیدی در مسیرهای ضد دردی اثرگذار می‌باشد. البته فعالیت‌های ورزشی بلند مدت نسبت به فعالیت‌های حاد تاثیر مطلوب‌تری بر این مكانیسم دارد (۴۵). لذا به نظر می‌رسد تأثیرپذیری سیستم ضد دردی اپيوئیدی به شدت تمرین وابسته

منابع

- Willis AW, Roberts E, Beck JC, Fiske B, Ross W, Savica R, et al. Incidence of Parkinson disease in North America. *NPJ Parkinsons Disease*. 2022; 8: 170.
- Tanner CM and Ostrem JL. Parkinson's Disease. *The New England Journal of Medicine*. 2024; 395(5): 442-52.
- Van Den Eeden SK, Tanner CM, Bernstein AL, Fross RD, Leimpeter A, Bloch DA, et al. Incidence of Parkinson's disease: variation by age, gender, and race/ethnicity. *American Journal of Epidemiology*. 2003; 157: 1015-022.
- GBD 2016 Parkinson's Disease Collaborators. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurology*. 2018; 17: 939-53.
- Rezaee Z, Marandi SM, Alaei H, Esfarjani F. Molecular mechanisms of Parkinson's disease. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 2019; 8 (1): 120-28.
- Takamiya A, Seki M, Kudo S, Yoshizaki T, Nakahara J, Mimura M, et al. Electroconvulsive therapy for Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Movement Disorders*. 2021; 36: 50-8.
- Buhmann C, Wrobel N, Grashorn W, Fruendt O, Wesemann K, Diedrich S, et al. Pain in Parkinson disease: A cross-sectional survey of its prevalence, specifics, and therapy. *Journal of Neurology*. 2017; 264: 758-69.
- Ryu DW, Han K, Cho A. Mortality and causes of death in patients with Parkinson's disease: a nationwide population-based cohort study. *Frontiers in Neurology*. 2023; 14: 1-13.
- Grigoletto J, Schechter M, Sharon R. Loss of Corticostriatal Mu-Opioid receptors in α -synuclein transgenic mouse brains. *Life (Basel)*. 2022; 12(1): 63.
- Nummenmaa L, Tuominen L. Opioid system and human emotions. *British Journal of Pharmacology*. 2018; 175(14): 2737-749.
- Corder G, Castro DC, Bruchas MR, Scherrer G. Endogenous and exogenous opioids in pain. *Annual Review of Neuroscience*. 2018; 41(1): 453-73.
- Ribeiro SC, Kennedy SE, Smith YR, Stohler CS, Zubieta JK. Interface of physical and emotional stress regulation through the endogenous opioid system and mu-opioid receptors. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2005; 29(8): 1264-80.

13. Nummenmaa L, Karjalainen T, Isojärvi J, et al. Lowered endogenous mu-opioid receptor availability in subclinical depression and anxiety. *Neuropsychopharmacology*. 2020; 45(11): 1953-9.
14. Salemi M, Marchese G, Lanza G, Cosentino FII, Salluzzo MG, Schillaci FA, Ferri F. Role and dysregulation of miRNA in patients with Parkinson's disease. *International Journal of Molecular*. 2023; 24(1): 712.
15. Im YB, Jee MK, Choi JI, Cho HT, Kwon OH, Kang SK. Molecular targeting of NOX4 for neuropathic pain after traumatic injury of the spinal cord. *Cell Death and Disease*. 2012; 3: e426.
16. Bjersing JL, Lundborg C, Bokarewa MI, Mannerkorpi K. Profile of cerebrospinal microRNAs in fibromyalgia. *PLoS One*. 2013; 8.
17. Cai M, Chai S, Xiong T, Wei J, Mao W, Zhu Y, et al. Aberrant expression of circulating microRNA leads to the dysregulation of alpha-synuclein and other pathogenic genes in Parkinson's disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021; 9: 695007.
18. Rodríguez RE. Morphine and microRNA activity: is there a relation with addiction? *Frontiers in Genetics*. 2012; 3: 223.
19. Zahraei H, Mogharnasi M, Afzalpour ME, Fanaei H. The effect of 8 weeks of continuous and high intensity interval swimming on chemerin levels in liver and visceral fat tissues and insulin resistance in male rats with metabolic syndrome. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2022; 15(1): 33-44.
20. Bayati M, Gharakhanlou R, Farzad B. Adaptations of physiological performance following high-intensity interval training. *Sport Physiology*. 2015; 7: 15-32.
21. Nagle EF, Sanders ME, Franklin BA. Aquatic high intensity interval training for cardiometabolic health: Benefits and training design. *American Journal of Lifestyle Medicine*. 2017; 11(1): 64-76.
22. Kosuru RY., Roy A., Das SK., Bera S. Gallic Acid and Gallates in Human Health and Disease: Do Mitochondria Hold the Key to Success? *Molecular Nutrition & Food Research*. 2018; 62(1): 1700699.
23. Reckziegel P, Dias VT, Benvegnú DM, Bouffleur N, Barcelos RCS, Segat HJ, et al. Antioxidant protection of gallic acid against toxicity induced by Pb in blood, liver and kidney of rats. *Toxicology Reports*. 2016; 3: 351-36.
24. Farbood Y, Sarkaki A, Hashemi S, Mansouri MT, Dianat M. The effects of gallic acid on pain and memory following transient global ischemia/reperfusion in Wistar rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 2013; 3(4): 329-40.
25. Hubrecht R, Kirkwood J. *UFAW Handbook on the care and management of laboratory and other research animals*. 8th ed. Wiley-Blackwell Publishing Ltd; 2010; 460-520.
26. Cesario V, Borlongan CV, Sanberg PR. Elevated body swing test: A new behavioral parameter for rats with 6-hydroxydopamine-induced hemiparkinsonism. *Journal of Neuroscience*. 1995; 15(7): 5372-378.
27. Moradi S, Habibi AH, Tabande MR, Shakerian S. Comparison of nitric oxide changes in hippocampal tissue and pain sensation in male rats Parkinson's model following 6 weeks of continuous and intermittent training. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2020; 28(3): 2502-514.
28. Abbasi M, Kordi M, Daryanoosh F. The effect of eight weeks of high-intensity interval swimming training on the expression of PGC-1 α and IL-6 proteins and memory function in brain hippocampus in rats with non-alcoholic steatohepatitis induced by high fat diet. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2023; In press.
29. Edalatmanesh MA, Samimi P. The effect of gallic acid on motor learning and cerebellar level of brain derived neurotrophic factor in a rat model of autism. *Shafaye Khatam*. 2018; 6(4): 5-13.
30. Paudel KR, Das BP, Rauniar GP, Sangraula H, Deo S, Bhattacharya SK. Antinociceptive effect of amitriptyline in mice of acute pain models. *Indian Journal of Experimental Biology*. 2007; 45(6): 529-31.
31. Han H, Xing J, Chen W, Jia J, Li Q. Fluorinated polyamidoamine dendrimer-mediated miR-23b delivery for the treatment of experimental rheumatoid arthritis in rats. *Nature Communications*. 2023; 14(1): 944.
32. Santos AR, Duarte CB. Validation of internal control genes for expression studies: effects of the neurotrophin BDNF on hippocampal neurons. *Journal of Neuroscience Research*. 2008; 86(16): 3684-92.
33. Kim HJ, Na JI, Min BW, Na JY, Lee KH, Lee JH, et al. Evaluation of protein expression in housekeeping genes across multiple tissues in rats. *Korean Journal of Pathology*. 2014; 48(3): 193-200.
34. Ching AS, Ahmad-Annuar A. U6 snRNA is a suitable endogenous control for microRNA-124 and-134 in cultured rat hippocampal neurons. *Sains Malaysiana*. 2015; 44(10): 1481-8.

35. Harms AS, Ferreira SA, Romero-Ramos M. Periphery and brain, innate and adaptive immunity in Parkinson's disease. *Acta Neuropathology*. 2021; 141: 527-45.
36. Tansey MG, Wallings RL, Houser MC, Herrick MK, Keating CE, Joers V. Inflammation and immune dysfunction in Parkinson disease. *Nature Reviews Immunology*. 2022; 22: 657-73.
37. Szymura J, Kubica J, Wiecek M, Pera J. The immunomodulatory effects of systematic exercise in older adults and people with Parkinson's disease. *Journal of Clinical Medicine*. 2020; 9: 184.
38. Malczynska-Sims P, Chalimoniuk M, Wronski Z, Marusiak J, Sulek A. High-intensity interval training modulates inflammatory response in Parkinson's disease. *Aging Clinical and Experimental Research*. 2022; 34(9): 2165-176.
39. Rezaee Z, Marandi SM, Alaei H, Esfarjani F. The effect of exercise on Parkinson's disease. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam* 2020; 9(1): 189-99.
40. Zhou X, Spittau B, Kriegelstein K. TGF β signalling plays an important role in IL4-induced alternative activation of microglia. *Journal of Neuroinflammation*. 2012; 9: 210.
41. Chen X, Liu Z, Cao BB, Qiu YH, Peng YP. TGF- β 1 Neuroprotection via inhibition of microglial activation in a rat model of Parkinson's disease. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2017; 12: 433-46.
42. Bazayr Y, Rafiei S, Hosseini A, Edalatmanesh MA. Effect of Endurance Exercise Training and Gallic Acid on Tumor Necrosis Factor- α in an Animal Model of Alzheimer's Disease. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 2015; 3(3): 21-26.
43. Zhu X, Zhang A, Dong J, Yao Y, Zhu M, Xu K, Al Hamda MH. MicroRNA-23a contributes to hippocampal neuronal injuries and spatial memory impairment in an experimental model of temporal lobe epilepsy. *Brain Research Bulletin*. 2019; 152(2019): 175-183.
44. Saanijoki T, Kantonen T, Pekkarinen L, Kalliokoski K, Hirvonen J, Malén T, et al. Aerobic fitness is associated with cerebral mu-opioid receptor activation in healthy humans. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2022; 54(7): 1076-084.
45. Arida RM, Gomes da Silva S, de Almeida AA, Cavalheiro EA, Zavala-Tecuapetla C, Brand S, et al. Differential effects of exercise on brain opioid receptor binding and activation in rats. *Journal of neurochemistry*. 2015; 132(2): 206-17.
46. Jafari H, Daryanoosh F, Zarifkar A, Ghiasi E, Mohammadi M. Effect of exercise on pain and morphine-induced analgesia in the formalin test in male mice. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*. 2014; 13 (1) :97-108.
47. Habibi-Asl B, Vaez H, Aghaie N, Hasanpour-Aghdam S, Parvizpur A, Chakhpur M, et al. Attenuation of morphine-induced tolerance and dependency by pretreatment with magnesium sulfate and amitriptyline in male mice. *Pharmaceutical Sciences*. 2015; 21(4): 192-98.