Hakim Sabzevari University

Journal of Sport in Biomotor Sciences

Homepage:http://sbs.hsu.ac.ir

P- ISSN: 2228-723X
E- ISSN: 3041-959X

Sport and Biomotor Sciences ورزش و علوم زیست حرکتی

The effect of high intensity interval swimming on LRRK2 and mir-205 gene expression in rats with Parkinson's disease

Somayeh Rashidfard[1], *Mehrzad Moghadasi*[2*], *Mohammdamin Edalatmanesh*[3], *Sara Hojati*[4]

1. PhD Student in Exercise Physiology, Department of Sport Science, Faculty of Art and Architecture, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran. rashidfard@gmail.com
2. Corresponding Author, Associate professor in Exercise Physiology, Department of Sport Science, Faculty of Art and Architecture, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran. mehrzad.moghadasi@gmail.com
3. Associate Professor in Animal Physiology, Department of biology, Faculty of Agriculture and Sciences, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran. m.a.edalatmanesh@gmail.com
4. Assistant Professor in Exercise Physiology, Department of Sport Science, Faculty of Art and Architecture, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran. hojati.s@gmail.com

Article Information

Article type: Research Article

Vol: 16
No: 31
P: 13-22
Received: 2023-12-18
Revised: 2024-03-02
Accepted: 2024-03-08

Cite this Article:

Rashidfard Somayeh, Moghadasi Mehrzad, Edalatmanesh Mohammd amin, Hojati Sara. The effect of high intensity interval swimming on LRRK2 and mir-205 gene expression in rats with Parkinson's disease. *Journal of Sport and Biomotor Sciences*. 2024; 16(31): 13-22.
doi: 10.22034/sbs.2024.431182.1075.

Publisher: Hakim Sabzevari University

© The Author(s)

10.22034/sbs.2024.431182.1075

Abstract

Introduction and Purpose: Dysregulation of miRNAs will result in development and progression of numerous diseases, such as in Parkinson's disease (PD). The effect of exercise training on mechanisms of development and progression of PD are not well known. The aim of present study was to examine the effect of high intensity interval swimming on LRRK2 and mir-205 gene expression in rats with PD.

Materials and Methods: PD induced in fourteen 8 to 10-week-old male Wistar rats by injection of 1 mg/kg reserpine during 5 days. Then, these rats were divided into PD group or training group. Seven rats were considered as the healthy control group without any reserpine injection. The rats in the training group performed high intensity interval swimming, including 20 times of 30 seconds of swimming with 30 seconds of rest between each time for 6 weeks. 48h after last session of training, sacrificed animals and hypocampic LRKK2 and mir-205 gene expression was measured. To analyze data, the statistical method of one-way analysis of variance was used with significance $P<0.05$.

Results: The results indicated that LRRK2 gene expression were higher in the PD group compare to the healthy group and training group ($P=0.001$ and $P=0.001$ respectively) and no significant difference was observed between training group and healthy group ($P=0.1$). mir-205 gene expression was lower in the PD group compare to the healthy group and training group ($P=0.001$ and $P=0.01$ respectively). There was negative correlation between hypocampic LRKK2 and mir-205 gene expression ($r=-0.71$ and $P=0.01$).

Discussion and Conclusion: It seems that high intensity interval swimming improves PD by reducing LRRK2 and increasing mir-205 gene expression.

Key Words: High intensity interval swimming, Parkinson's disease**,** LRRK2, mir-205

Extended Abstract

1. Introduction and Purpose

Disruption of microRNAs (miRNAs) can contribute to the development of diseases such as Parkinson's. The effects of physical activities on factors influencing the progression of Parkinson's disease and related miRNAs are not fully understood. This study aimed to investigate the impact of high-intensity interval swimming on the expression of LRRK-2 and mir-205 genes in rats with Parkinson's disease.

2. Materials and Methods

The present study was an empirical and fundamental study. Twenty-one male Wistar rats with a mean age of 8 to 10 weeks and weighing 200 to 250 grams were selected as the subjects. After one week of adaptation of mice to the new laboratory environment, 7 mice were randomly assigned as a healthy control group without intervention, and in order to induce the Parkinson's disease model, 14 mice underwent intraperitoneal injection of 1 mg of reserpine (manufactured by Sigma Aldrich Company, India) per kg of body weight for five consecutive days with a regular program 24 hours a day. At the end of the induction period, a rotational test was taken from the samples to confirm the induction of Parkinson's disease. Each mouse was taken and raised from about two centimeters above the junction of the tail to the body, so that the nose of the mouse was two centimeters above the support level. If the mouse was unable to maintain balance and began to turn sideways, it was considered a sign of Parkinson's induction. After confirmation of induction, 14 mice were randomly divided into training groups (n=7) and patient control groups (n=7) and then the period of interval swimming training program began. The exercises were performed intermittently for six weeks, three days a week, and one day every other day. The load applied in the first week was a weight equal to 7% of the body weight of each rat that was tied to their tail and added to its weight by 1% each week, so that in the last week, each rat swam with a weight equal to 12% of its body weight. 48 hours after the last training session, the mice in all three groups were anesthetized by intraperitoneal injection of a combination of ketamine (50 mg/kg body weight) and xylazine (3 mg/kg body weight) and then sacrificed and their brains were washed into 10% formalin as a stabilizer, hippocampal tissue was extracted and molecular tests were performed to investigate gene expression LRRK-2 and mir-205 were transferred to the laboratory. Gene expression was investigated by Real Time PCR and data analysis was performed using SPSS software version 22. The Shapiro-Wilk test was used to investigate the distribution of information. Since the distribution of information was normal, the changes in gene expression were investigated by one-way ANOVA and LSD post hoc test. Also, the relationship between LRKK-2 and mir-205 gene expression was investigated through Pearson correlation coefficient. The minimum significance level in the tests was considered to be P>0.05.

3. Results

The expression of the LRRK-2 gene was significantly higher in the patient group compared to the healthy control group and the training group (P=0.001). However, there was no significant difference between the training group and healthy control group (P=0.1).

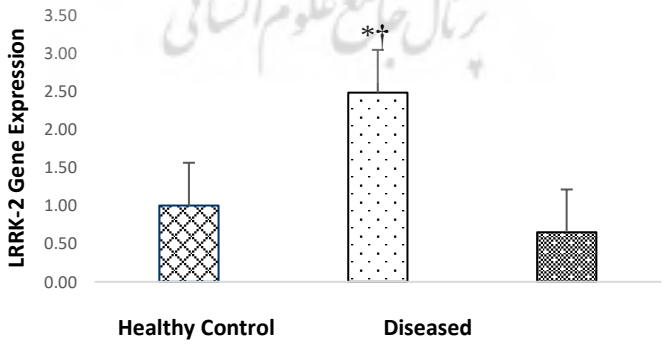


Figure 1. LRRK-2 gene expression in different research groups

*Significant difference with healthy control group (P=0.05)

† Significant difference with training group (P=0.05)

The expression of the mir-205 gene was significantly lower in the patient group compared to the healthy and exercise groups (P=0.001 and P=0.01, respectively). Pearson's correlation test revealed an inverse and significant relationship between hippocampal LRRK-2 and mir-205 gene expression (p=0.01, r=0.71).

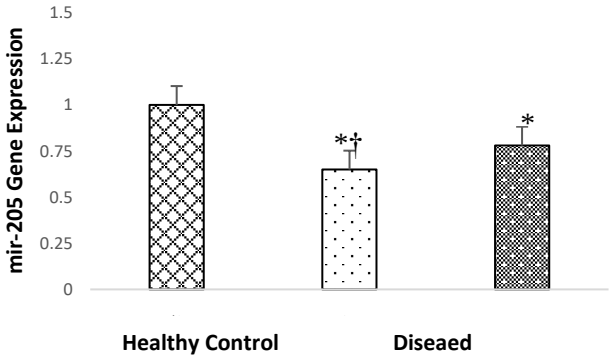


Figure 2. mir-205 gene expression in different research groups

*Significant difference with healthy control group (P=0.05)

† Significant difference with training group (P=0.05)

4. Conclusions

Increased LRRK-2 expression has been reported in individuals with Parkinson's disease, both familial and sporadic cases. It is associated with increased severity of Parkinson's disease by activating mitogen-activated protein kinase (MAPK), leading to cell death and destruction of dopaminergic neurons in the substantia nigra. LRRK2 also increases alpha-synuclein and tau protein in the brain, contributing to neuronal destruction. The significant decrease in mir-205 gene expression observed in the present study with Parkinson's disease induction may be related to increased LRRK-2 gene and alpha-synuclein expression. High-intensity interval swimming can decrease LRRK-2 gene expression and increase mir-205 gene expression in rats with Parkinson's disease. These findings suggest that the exercises performed in this study may be effective in controlling the Parkinson's disease model in rats. However, further research, particularly on human samples, is needed.

5. Acknowledgment & Funding

The results of this study are related to the Ph.D thesis of exercise physiology, which was implemented with the support and approval of Islamic Azad University, Shiraz branch. We sincerely thank all the people who have cooperated with the researchers in the progress of this study. The costs of this study were covered by the authors of the article.

6. Ethical Consideration

In the this study, the conditions of keeping, treatment, swimming and sacrificing the animals were based on the standard and according to the ethical principles of working with animals.

7. Contribution of authors

All authors have been actively participated in the process the study and writing the article.

8. Conflict of interest

According to the authors, this article has no conflict of interest.

ورزش و علوم زیست حرکتی

Sport and Biomotor Sciences ورزش و علوم زیست حرکتی

دانشگاه حکیم سبزواری

بررسی اثر یک دوره تمرینات شنای تناوبی شدید بر بیان ژن LRRK2 و mir-205 موش‌های مبتلا به پارکینسون

سمیه رشیدفرد[۱]، مهرزاد مقدسی[۲]، محمدامین عدالت‌منش[۳]، سارا حجتی[۴]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده هنر و معماری، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران. rashidfard@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده هنر و معماری، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران. mehrzad.moghadasi@gmail.com

۳. دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده کشاورزی و علوم پایه، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران. m.a.edalatmanesh@gmail.com

۴. استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده هنر و معماری، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران. hojati.s@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

دوره: ۱۶

شماره: ۳۱

صفحه: ۲۲-۱۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۷

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۸

نحوه ارجاع به این مقاله:

رشیدفرد سمیه، مقدسی مهرزاد ، عدالت‌منش محمدامین، حجتی سارا. بررسی اثر یک دوره تمرینات شنای تناوبی شدید بر بیان ژن LRRK2 و mir-205 موش‌های مبتلا به پارکینسون. نشریه ورزش و علوم زیست حرکتی. ۱۴۰۳؛ ۱۶(۳۱): ۲۲-۱۳.

doi: 10.22034/sbs.2024.431182.1075

ناشر: دانشگاه حکیم سبزواری

© نویسنده(گان).

چکیده

مقدمه و هدف: اختلال در miRNAها می‌تواند موجب بروز و پیشرفت بیماری‌هایی از جمله پارکینسون شود. اثر فعالیت‌های ورزشی بر عوامل مؤثر در پیشرفت بیماری پارکینسون و miRNA های مرتبط با آن به درستی مشخص نیست. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر یک دوره تمرینات شنای تناوبی شدید بر بیان ژن LRRK2 و mir-205 موش‌های مبتلا به پارکینسون بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۱۴ سر موش نر صحرایی نژاد ویستار ۸ تا ۱۰ هفته‌ای با تزریق روزانه ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ماده رزرپین و به مدت ۵ روز به پارکینسون مبتلا شدند. سپس موش‌ها به طور تصادفی در دو گروه تمرین شنا و کنترل بیمار قرار گرفتند. ۷ سرموش نیز بدون تزریق رزرپین به عنوان گروه سالم کنترل در نظر گرفته شد. موش‌های گروه تمرین، به مدت شش هفته و در قالب ۲۰ نوبت ۳۰ ثانیه‌ای با ۳۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت تمرینات شنا را اجرا کردند. پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرینی، حیوانات کشتار و بیان ژن هیپوکامپی LRRK2 و mir-205 اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ بهره گرفته شد.

یافته‌ها: بیان ژن LRRK2 در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل سالم و گروه تمرین به طور معنی‌داری بالاتر بود (به ترتیب P=۰/۰۰۱ و P=۰/۰۰۱) اما تفاوت معنی‌داری بین گروه تمرین و کنترل سالم مشاهده نشد (P=۰/۱). بیان ژن mir-205 در گروه بیمار نسبت به گروه سالم و گروه تمرین به طور معنی‌داری پایین‌تر بود (به ترتیب P=۰/۰۰۱ و P=۰/۰۱). ارتباط معکوس و معنی‌داری بین بیان ژن هیپوکامپی LRRK2 و mir-205 مشاهده شد (P=۰/۰۱ و r=-۰/۷۱).

بحث و نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین شنای تناوبی شدید می‌تواند با کاهش بیان ژن LRRK2 و افزایش بیان ژن mir-205 در بهبود بیماری پارکینسون مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: تمرین شنای تناوبی شدید، پارکینسون، LRKK2، mir-205

10.22034/sbs.2024.431182.1075

مقدمه

بیماری پارکینسون که با نام سندروم فلج آژیتان نیز شناسایی می‌شود، یک بیماری پیشرونده سیستم عصبی مرتبط با افزایش سن بوده که با افزایش تون عضلانی و افت حرکت همراه است (۱). بر اساس گزارش‌ها، ۳ درصد از کل جمعیت جهان به این بیماری مبتلا هستند و با افزایش سن، میزان ابتلا بیشتر می‌شود (۲). اگرچه مکانیسم بروز پارکینسون به درستی مشخص نیست، اما جهش چندین ژن به عنوان عوامل مؤثر در ایجاد آن معرفی شده است (۳). اخیراً مطالعات بالینی به جهش ژن‌هایی از جمله آلفا سینوکلئین (SNCA)، پارکین (PARK2)، کیناز با توالی تکراری غنی از لوسین-۲ (LRRK2) و DJ-1 در بروز و پیشرفت بیماری پارکینسون اشاره کرده‌اند (۴،۵). LRRK2 ژنی است که در بیماران پارکینسونی با سابقه خانوادگی و هم در بیماران بدون سابقه فامیلی ابتلا به پارکینسون مشاهده شده است (۶). مقدار بیان ژن LRRK2 در نرون‌های دوپامینرژیک ماده سیاه بسیار اندک است اما مقدار آن در انتهای دوپامینرژیک که هسته کودیت و پوتامن را عصب‌دهی می‌کنند، زیاد است (۷). LRRK2 به عنوان یک کیناز عمل می‌کند و جهش آن با اختلال در عملکرد میتوکندری، استرس اکسایشی و پاسخ‌های التهابی همراه است (۸). از طرف دیگر، SNCA پروتئینی است که هومئوساز سلول عصبی را در بیماری پارکینسون مختل کرده و موجب مرگ سلولی می‌شود (۹). مشخص شده است که ارتباط مستقیمی بین LRRK2 و SNCA در بیماران پارکینسونی وجود دارد (۱۰).

میکرو آر اِن ای ها (miRNAs) خانواده‌ای از مولکول‌های کوچک RNA غیرکدکننده هستند که از ۲۲ تا ۲۵ نوکلئوتید تشکیل شده‌اند (۱۱). اولین miRNA در سال ۱۹۹۳ توسط لی و همکاران کشف شد (۱۲). برخی miRNAها، از طریق تنظیم ترجمه ژن‌های هدفمند با رشد عصبی، شکل‌پذیری سیناپسی، تشکیل حافظه و بیماری‌های عصبی در سیستم عصبی مرتبط هستند (۱۳). یکی از miRNAهای مرتبط با پارکینسون، mir-205 است. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که mir-205 در انواع بیماران تحلیل عصبی از جمله آلزایمر (۱۴) و پارکینسون (۱۵و۱۶) کاهش پیدا می‌کند. ارتباط معکوس بین mir-205 و LRRK2 تأیید شده و یکی از دلایل افزایش LRRK2 در بیماران پارکینسونی، کاهش mir-205 عنوان شده است (۱۵و۱۶). با کاهش mir-205، بیان ژن LRRK2 افزایش یافته و بدین ترتیب شدت بیماری پارکینسون افزایش می‌یابد (۱).

اگرچه فعالیت ورزشی به عنوان یک راهکار ساده، کم هزینه و با کمترین امکانات برای درمان پارکینسون معرفی شده است (۱۷)، اما مکانیسم‌های اثرگذاری آن به درستی مشخص نیست. برخی مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی با تغییر در سیستم دوپامینرژیک، عوامل نروتروفیک مشتق از گلیال، تعدیل التهاب عصبی و همچنین بهبود نرون‌زایی می‌تواند اثرات مثبت خود را در بیماران مبتلا به پارکینسون اعمال نماید (۱۸). بر اساس اطلاعات ما تنها دو مطالعه به ارتباط بین انجام فعالیت جسمانی با مقدار LRRK2 اشاره داشته‌اند و در هیچکدام از آنها به بررسی مکانیسم اثر فعالیت ورزشی بر تغییرات LRRK2 پرداخته نشده است. در مطالعه وینر و همکاران (۲۰۱۱) اشاره شده است که اجرای ۶ هفته دویدن روی چرخ گردان به صورت اختیاری، موجب جلوگیری از کاهش نورون‌زایی به دلیل افزایش بیان ژن LRRK2 در موش‌های تراریخته LRRk2 G2019S می‌شود (۱۹). اخیراً نیز ارتباط معکوس بین میزان فعالیت جسمانی و جهش ژن LRRK2 در بیماران مبتلا به پارکینسون گزارش شده است (۲۰). در خصوص تغییرات mir-205 بیماران پارکینسونی در پاسخ به فعالیت ورزشی نیز اطلاعاتی در دست نیست. مطالعات روی نمونه‌های دیگر نشان داده‌اند که انجام فعالیت ورزشی موجب افزایش mir-205 در نمونه‌های انسانی (۲۱) و حیوانی (۲۲) مبتلا به سرطان پستان می‌شود. امروزه استفاده از تمرینات تناوبی شدید به عنوان یک شیوه جدید تمرینی مورد استقبال قرار گرفته است و تمرینات شنا نیز به دلیل به حداقل رساندن آسیب‌ها و تروماها (۲۳) ممکن است شیوه مناسبی برای بیماران اختلال عصبی از جمله بیماران پارکینسونی باشد. از سوی دیگر،گفته شده است که اجرای تمرین در آب بر خلاف تمرین در خشکی، به دلیل ویژگی هیدرودینامیکی و ایجاد شرایط بی‌وزنی موجب کاهش آسیب ناشی از تمرین می‌شود (۲۴). از آنجا که اطلاع خاصی در ارتباط با اثر فعالیت ورزشی و بخصوص تمرینات شنای تناوبی بر تغییرات LRRK2 و mir-205 در بیماران پارکینسونی در دست نیست، مطالعه حاضر با فرض آنکه ممکن است تمرینات شنای تناوبی شدید بتواند با کاهش LRRK2 و افزایش mir-205 در بهبود روند بیماری پارکینسون اثرگذار باشد، اجرا شد.

روش‌شناسی

مطالعه حاضر از نوع مطالعات تجربی و بنیادی می‌باشد که با کد اخلاق IR.IAU.SHIRAZ.REC.1402.054 در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز ثبت شده است. تعداد ۲۱ سرموش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ تا۱۰ هفته‌ای با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز خریداری و به آزمایشگاه حیوانی این دانشگاه منتقل شدند. در طول اجرای مطالعه، در هر قفس پلی‌کربنات تعداد ۳ سرموش نگهداری شدند که دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص موش داشتند. چرخه ۱۲ ساعت بیداری و خواب رعایت شد و دمای محیط آزمایشگاه بین ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد با رطوبت ۴۵ درصد حفظ گردید. از این تعداد سرموش، تعداد ۷ سرموش بدون اجرای هرگونه مداخله به عنوان گروه کنترل سالم در نظر گرفته

شد. پس از یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، در ۱۴ سرموش با تزریق درون صفاقی یک میلی گرم ماده رزرپین (ساخت شرکت سیگما آلدریچ کشور هند) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به مدت پنج روز متوالی با یک برنامه منظم در شبانه روز، بیماری پارکینسون القاء شد (۲۵). پس از دوره القاء بیماری، از نمونه‌ها آزمون چرخشی گرفته شد. هر موش از حدود ۲ سانتی‌متر بالاتر از محل اتصال دم به بدن گرفته و بالا آورده می‌شد به طوری که بینی حیوان ۲ سانتی‌متر بالاتر از سطح اتکا قرار گیرد. در صورتیکه حیوان قادر به حفظ تعادل نبود و شروع به چرخش به طرفین می‌کرد، به عنوان نشانه القاء پارکینسون در نظر گرفته می‌شد (۲۶). پس از اتمام دوره القاء بیماری، ۱۴ سرموش به طور تصادفی در دور گروه تمرین (n=۷) و کنترل بیمار (n=۷) قرار گرفتند. موش‌های گروه تمرین، قبل از اجرای بدنه اصلی تمرین به مدت یک هفته با استخر حیوانات آشنا و آموزش شنا دیدند. طی این دوره حیوان با نهایت دقت و آرامش در استخر مخصوص با قطر ۱۶۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر قرار داده می‌شد و سپس با سرعت دلخواه به مدت پنج دقیقه شنا می‌کرد. پس از اتمام دوره آشناسازی با استخر و تمرین شنا، به منظور آشنا شدن با تمرین تناوبی، پس از یک دقیقه شنا کردن، موش‌ها چند مرتبه به وسیله صفحه استراحت از آب بیرون آورده و سپس دوباره در آب قرار داده می‌شدند. مطابق جدول ۱، دوره برنامه تمرین شنای تناوبی شدید شش هفته بود که سه روز در هفته و به صورت یک روز در میان انجام می‌شد. بار اعمال شده در هفته اول وزنه‌ای معادل هفت درصد وزن بدن هر موش بود که به دم آنها بسته و هر هفته به میزان یک درصد به وزن آن اضافه می‌شد به طوری که در هفته آخر، هر موش با وزنه‌ای معادل ۱۲ درصد وزن بدن خود شنا می‌کرد (۲۷). قبل از هر جلسه تمرین ۵ دقیقه به عنوان گرم‌کردن و در انتهای بدنه اصلی تمرین نیز ۵ دقیقه به عنوان سرد کردن در نظر گرفته می‌شد.

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی تمامی موش‌ها به وسیله تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند و مغز حیوانات بعد از شستشو درون فرمالین ۱۰ درصد به عنوان فیکساتیو قرار گرفت. پس از ۴۸ ساعت، مغز برش داده شد و بافت هیپوکامپ استخراج و داخل پارافین مذاب غوطه‌ور شدند. پس از جداسازی مقاطع ۵ میکرونی از بافت فیکس شده، مرحله جدا سازی mRNA از پارافین توسط کیت مخصوص FavorPrep™ Tissue Total RNA Mini Kit ساخت کشور هنگ کنگ پروتکل استاندارد کیت انجام شد.

بعد از استخراج mRNA، مرحله سنتز cDNA با استفاده از ۱۰۰۰ نانوگرم mRNA استخراج شده و پرایمر راندوم، توسط کیت Thermoscientific-Fischer انجام گردید. سپس، پرایمرهای ژن‌های هدف با مشخصات ارائه شده در جدول ۲ آماده گردید و با استفاده از دستگاه Real-Time PCR نمونه cDNA آماده شده و پرایمرها درون دستگاه قرار گرفت و دستگاه، نمودار های تکثیر Real-Time PCR و CT ژن‌های هدف را برای هر نمونه ترسیم کرد. سپس، مقادیر بیان ژن با استفاده از CT به دست آمده برای هر نمونه و فرمول کمی‌سازی $۲^{-\Delta\Delta CT}$، به صورت نسبی محاسبه شد.

روش‌های آماری

از آزمون شاپیرو–ویلک برای بررسی نحوه توزیع اطلاعات استفاده شد. از آنجا که توزیع اطلاعات طبیعی بود، تغییرات بیان ژن‌ها با آزمون تحلیل واریانس یک راهه همراه با آزمون تعقیبی LSD در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ مورد بررسی قرار گرفت. ارتباط بین بیان ژن LRKK2 و mir-205 توسط ضریب همبستگی پیرسون بررسی شد. در این مطالعه حداقل سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۱. پروتکل تمرین شنای تناوبی شدید

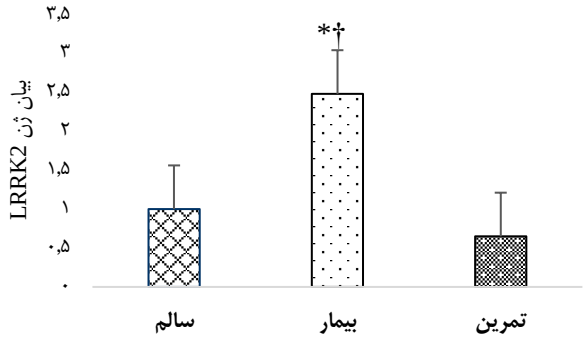
	تعداد (نوبت)	مدت تلاش (ثانیه)	مدت استراحت (ثانیه)	میزان اضافه بار (درصد وزن بدن)
هفته اول	۲۰	۳۰	۳۰	۷
هفته دوم	۲۰	۳۰	۳۰	۸
هفته سوم	۲۰	۳۰	۳۰	۹
هفته چهارم	۲۰	۳۰	۳۰	۱۰
هفته پنجم	۲۰	۳۰	۳۰	۱۱
هفته ششم	۲۰	۳۰	۳۰	۱۲

جدول ۲. لیست پرایمرهای استفاده شده

Gene	Primer sequence
LRRK2	F: 5′ GGGAAATTGCCAGACCCAGT 3′
	R: 5′ CACAGCCCAACCAGAGAGTC 3′
Mir-205	F: 5′ GGGACCAACAAACCACCGGA 3′
	R: 5′ CAGTGCGTGTCGTGGAGT 3′

یافته‌ها

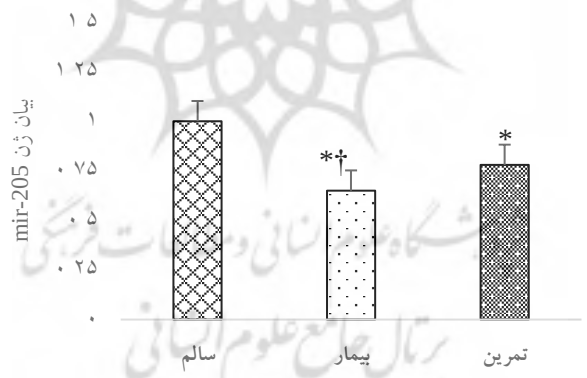
نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه در خصوص بیان ژن LRRK2 در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج آزمون نشان داد تفاوت معنی‌داری در بیان ژن LRRK2 بین گروه‌های مختلف وجود دارد (P=۰/۰۰۱ و F=۳۹/۱). آزمون تعقیبی نشان داد بیان ژن LRRK2 در گروه بیمار هم نسبت به گروه کنترل سالم (P=۰/۰۰۱) و هم نسبت به گروه تمرین به طور معنی‌داری بالاتر بود (P=۰/۰۰۱) اما تفاوت معنی‌داری بین گروه تمرین و کنترل سالم مشاهده نشد (P=۰/۱).



شکل ۱. بیان ژن هیپوکامپی LRRK2 در گروه‌های مختلف

* اختلاف معنی‌دار با گروه سالم (P=۰/۰۵)؛ † اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین (P=۰/۰۵)

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه در خصوص تغییرات بیان ژن mir-205 در شکل ۲ ارائه شده است. آزمون تحلیل واریانس یک راهه نشان داد تفاوت معنی‌داری در بیان ژن mir-205 بین گروه‌های مختلف وجود دارد (P=۰/۰۰۱ و F=۲۱/۴). نتایج آزمون تعقیبی حاکی از آن بود که بیان ژن mir-205 در گروه بیمار نسبت به هم گروه سالم و هم نسبت به گروه تمرین به طور معنی‌داری بالاتر است (به ترتیب P=۰/۰۰۱ و P=۰/۰۱). همچنین نتایج نشان داد بیان ژن mir-205 اگرچه در گروه تمرین نسبت به گروه بیمار افزایش داشته است اما همچنان نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری پایین‌تر بود (P=۰/۰۰۹). در نهایت، ضریب همبستگی پیرسون ارتباط معکوس و معنی‌داری بین بیان ژن هیپوکامپی LRRK2 و mir-205 نشان داد (P=۰/۰۱ و r=-۰/۷۱)



شکل ۲. بیان ژن هیپوکامپی mir-205 در گروه‌های مختلف

* اختلاف معنی‌دار با گروه سالم (P=۰/۰۵)؛ † اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین (P=۰/۰۵)

بحث

شناسایی ژن‌های مرتبط با بیماری پارکینسون، موجب تغییر دیدگاه محققین مبنی بر غیرژنتیکی بودن این بیماری شده است. امروزه به خوبی مشخص شده است که به غیر از افزایش سن، برخی ژن‌ها در بروز این بیماری نقش دارند اما اثر فعالیت ورزشی بر تغییر این ژن‌ها حوزه جدیدی از مطالعات است. در مطالعه حاضر به بررسی اثر یک دوره تمرینات شنای تناوبی شدید بر بیان ژن LRRK2 و mir-205 در موش‌های مبتلا به پارکینسون پرداخته شد. با مقایسه موش‌های گروه سالم کنترل و گروه بیمار مشخص شد پس از القاء بیماری پارکینسون، بیان ژن LRRK2 در بافت هیپوکامپ افزایش معنی‌داری پیدا کرد.

همراستا با نتایج مطالعه حاضر در دیگر مطالعات نیز افزایش LRRK2 در نمونه‌های انسانی و حیوانی مبتلا به پارکینسون گزارش شده است (۴،۵). افزایش LRRK2 در ۱ تا ۶ درصد افراد مبتلا به پارکینسون بدون سابقه فامیلی و در ۳ تا ۱۹ درصد افراد مبتلا به پارکینسون به دلایل سابقه فامیلی و ژنتیکی گزارش شده

است (۲۸)؛ تا جایی که از آن به عنوان یک شاخص معتبر بین پارکینسون ناشی از ژنتیک و پارکینسون ناشناخته در نظر گرفته می‌شود (۲۹). مطالعات نشان داده‌اند با افزایش بیان ژن LRRK2، شدت پارکینسون نیز افزایش پیدا می‌کند اما مکانیسم‌های مرتبط به درستی مشخص نشده‌اند (۳۰). برخی مکانیسم‌های مرتبط با پیشرفت پارکینسون به دلیل افزایش LRRK2 به شرح زیر است: این پروتئین موجب افزایش میتوژن فعال شده با پروتئین کیناز (MAPK)۱ می‌شود و بدین ترتیب یکسری واکنش‌ها آغاز می‌گردد که در نهایت با فعال شدن MKK4 مرگ سلولی و تخریب نورون‌های دوپامینرژیک در جسم سیاه رخ می‌دهد (۳۱). علاوه بر این، LRRK2 موجب افزایش آلفا سینوکلئین و پروتئین تائو۲ در مغز شده و به واسطه آنها تخریب نورونی شکل می‌گیرد (۳۲).

از دیگر نتایج مطالعه حاضر، کاهش بیان ژن mir-205 با القاء بیماری پارکینسون نسبت به گروه کنترل سالم بود. طی سال‌های اخیر مطالعات مختلف به نقش مهم miRNAها و به خصوص mir-205 در پاتولوژی بسیاری از بیماری‌ها از جمله آلزایمر (۱۴)، سرطان سر و گردن (۳۴)، سرطان پستان (۳۵) و پارکینسون اشاره داشته‌اند (۳۳) و محققین از این miRNA به عنوان یک پروتئین مهم در پاتولوژی بیماری‌های مختلف یاد می‌کنند. همراستا با نتایج مطالعه حاضر، مطالعات بالینی نیز نشان داده‌اند که mir-205 در بیماری پارکینسون کاهش پیدا می‌کند (۱۵،۱۶). از دلایل کاهش این پروتئین در بیماران پارکینسونی افزایش LRRK2 و آلفا سینوکلئین ذکر شده است (۳۶).

همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد با اجرای تمرین شنای تناوبی شدید، بیان ژن LRRK2 کاهش معنی‌داری نسبت به گروه بیمار پیدا کرد. مطالعات ورزشی در این زمینه محدود است. همراستا با نتایج مطالعه حاضر پیش از این نیز کاهش بیان ژن LRRK2 در موش‌های تراریخته LRRk2 G2019S پس از اجرای ۶ هفته دویدن روی چرخ گردان به صورت اختیاری گزارش شده است (۱۹). اخیراً نیز با مطالعه روی ۴۴۲۲ بیمار مبتلا به پارکینسون، ارتباط معکوسی بین میزان انجام فعالیت جسمانی و جهش ژن LRRK2 گزارش شده است (۲۰). هیچکدام از این دو مطالعه مکانیسم مرتبط با انجام فعالیت ورزشی و اثر آن بر تغییرات LRRK2 را ارائه نکرده‌اند؛ اما از آنجا که مطالعات بالینی علت افزایش LRRK2 در بیماران پارکینسونی را افزایش آلفاسینوکلئین، افزایش استرس اکسایشی، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش عوامل التهابی عنوان کرده‌اند (۳۷)، لذا ممکن است کاهش این عوامل بر اثر تمرین شنای به کار رفته در مطالعه حاضر موجب کاهش LRRK2 شده باشد. اخیراً مشاهده شده است که ۱۲ هفته تمرینات تناوبی شدید موجب افزایش شاخص ضد التهابی IL-10 و کاهش شاخص التهابی TNF-α در سرم افراد مبتلا به پارکینسون شده است (۳۸).

در نهایت نتایج نشان داد بیان ژن mir-205 در گروه تمرین نسبت به گروه بیمار افزایش معنی‌داری داشته است هرچند مقدار بیان ژن در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری پایین‌تر بود. اگرچه در این زمینه نیز پیشینه‌ای در خصوص اثر فعالیت ورزشی بر بیان ژن mir-205 در بیماران پارکینسونی به دست نیامد، اما افزایش این miRNA در نمونه‌های انسانی (۲۱) و حیوانی (۲۲) مبتلا به سرطان پستان پس از انجام فعالیت ورزشی گزارش شده است. یکی از دلایل افزایش LRRK2 در بیماران پارکینسونی، کاهش mir-205 عنوان شده است (۱۵،۱۶). در مطالعه حاضر نیز ارتباط معکوس و معنی‌داری بین بیان ژن LRRK2 و mir-205 مشاهده شد (p=۰/۰۱ و r=−۰/۷۱)؛ از این رو ممکن است یکی از دلایل تغییرات بیان ژن این دو پروتئین بر اثر تمرین ورزشی در مطالعه حاضر، اثر متقابل آنها بر یکدیگر باشد. مطالعه حاضر با محدودیت‌هایی از جمله عدم اندازه‌گیری بیان ژن آلفاسینوکلئین، شاخص‌های استرس اکسایشی و عوامل پیش التهابی، التهابی و ضدالتهابی بود. طبیعتاً با اندازه‌گیری این پروتئین‌ها، مکانیسم‌های دقیق‌تری در خصوص تغییرات LRRK2 بر اثر فعالیت ورزشی در بیماران پارکینسونی قابل ارائه بود؛ لذا با توجه به جدید بودن این زمینه در مطالعات ورزشی، به تحقیقات بیشتری نیاز است.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد با اجرای یک دوره تمرین شنای تناوبی شدید، بیان ژن LRRK2 به عنوان یک شاخص پیشرفت بیماری پارکینسون کاهش و بیان ژن mir-205 به عنوان یک miRNA مهار کننده LRRK2 در موش‌های مبتلا به پارکینسون افزایش معنی‌داری پیدا می‌کند. بنابراین می‌توان عنوان کرد تمرینات به کار رفته در مطالعه حاضر می‌تواند در کنترل بیماری پارکینسون اثرگذار باشد هرچند با توجه به مطالعات محدود، اجرای تحقیقات بیشتر و به خصوص روی نمونه‌های انسانی در این زمینه نیاز است.

تشکر و قدردانی

نتایج مطالعه حاضر مربوط به رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی می‌باشد که با حمایت و تأیید دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز اجرا شده است. از کلیه افرادی که در پیشبرد مطالعه حاضر با محققین همکاری داشته‌اند، صمیمانه تشکر می‌گردد.

تعارض منافع

کلیه نویسندگان اظهار می‌کنند هیچگونه تعارض منافعی بین آنها وجود ندارد.

1. Mitogen-activated protein kinase (MAPK)

2. Tau protein

منابع

1. Wang W, Li J, Tao L, Lv L, Sun J, Zhang T, et al. MiR-205 regulates LRRK2 expression in dopamine neurons in Parkinson's disease through methylation modification. *Iranian Journal of Public Health*. 2022; 51(7): 1637-1647. https://doi.org/10.18502/ijph.v51i7.10098.
2. Belvisi D, Pellicciari R, Fabbrini A, Costanzo M, Pietracupa S, De Lucia M, et al. Risk factors of Parkinson disease: Simultaneous assessment, interactions, and etiologic subtypes. *Neurology*. 2020; 95: e2500-e2508. doi: 10.1212/WNL.0000000000010813.
3. Hardy J, Cai H, Cookson MR, Gwinn-Hardy K, Singleton A. Genetics of Parkinson's disease and parkinsonism. *Annals of Neurology*. 2006;60:389–398. DOI: 10.1002/ana.21022.
4. Lesage S, Lunati A, Houot M, Romdhan SB, Clot F, Tesson C, et al. Characterization of recessive Parkinson disease in a large multicenter study. *Annals of Neurology*. 2020; 88: 843–850. doi: 10.1002/ana.25787.
5. Tolosa E, Botta-Orfila T, Morato X, Calatayud C, Ferrer-Lorente R, Marti MJ, et al. MicroRNA alterations in iPSC-derived dopaminergic neurons from Parkinson disease patients. *Neurobiology of Aging*. 2018; 69: 283–291. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2018.05.032.
6. Alegre-Abarrategui J, Ansorge O, Esiri M, Wade-Martins R. LRRK2 is a component of granular alpha-synuclein pathology in the brainstem of Parkinson's disease. *Neuropathology* and *Applied Neurobiology*, 2008; 34: 272-283. doi: 10.1111/j.1365-2990.2007.00888.x.
7. Rohani M. Genetics of Parkinson disease. *Genetics in the Third Millennium*. 2010; 8(1):1990-1997. [In Persian].
8. Rui Q, Ni H, Li D, Gao R, Chen G. The Role of LRRK2 in neurodegeneration of Parkinson disease. *Current Neuropharmacology*. 2018; 16(9): 1348–1357. doi: 10.2174/1570159X16666180222165418.
9. Kielb S, Kisanuki YY, Dawson E. Neuropsychological profile associated with an alpha-synuclein gene (SNCA) duplication. *Clinical Neuropsychologist*. 2021; 36 (7): 1787-1798. https://doi.org/10. 1080/ 13854046. 2021.1914735.
10. Vetchinova AS, Kapkaeva MR, Ivanov MV, Kutukova KA, Mudzhiri NM, Frumkina LE, et al. Mitochondrial dysfunction in dopaminergic neurons derived from patients with LRRK2- and SNCA-associated genetic forms of Parkinson's disease. *Current Issues in Molecular Biology*. 2023; 45: 8395–8411. https://doi.org/10.3390/ cimb45100529.
11. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng, C. Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Frontiers Endocrinology*. 2018; 9: 402. doi: 10.3389/fendo.2018.00402.
12. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell*. 1993; 75: 843–854. doi: 10.1016/0092-8674(93)90529-Y.
13. Hebert SS, De Strooper B. Alterations of the microRNA network cause neurodegenerative disease. *Trends in Neurosciences*. 2009; 32: 199–206. doi: 10.1016/j.tins.2008.12.003.
14. Song H, Bu G. MicroRNA-205 inhibits tumor cell migration through downregulating the expression of the LDL receptor-related protein 1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2009; 388: 400-405. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.08.020.
15. Cho HJ, Liu G, Jin SM, Parisiadou L, Xie C, Yu J, et al. MicroRNA-205 regulates the expression of Parkinson's disease-related leucine-rich repeat kinase 2 protein. *Human* Molecular *Genetic*. 2013; 22(3): 608–620. doi: 10.1093/hmg/dds470.
16. Nies YH, Mohamad Najib NH, Lim WL, Kamaruzzaman MA, Yahaya MF, Teoh SL. MicroRNA dysregulation in Parkinson's disease: A narrative review. *Frontiers Endocrinology*. 2021; 15: https://doi.org/ 10.3389/ fnins.2021. 660379.
17. Ji L, Steffens DC, Wang L. Effects of physical exercise on the aging brain across imaging modalities: a meta-analysis of neuroimaging studies in randomized controlled trials. *International Journal* of *Geriatric Psychiatry*. 2021; 36: 1148–1157. doi: 10.1002/gps.5510 Epub 2021 Mar 5.
18. Sacheli MA, Neva JL, Lakhani B, Murray DK, Vafai N, Shahinfard E, et al. Exercise increases caudate dopamine release and ventral striatal activation in Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 2019; 34: 1891–1900. doi: 10.1002/mds.27865 Epub 2019 Oct 4.
19. Winner B, Melrose HL, Zhao C, Hinkle KM, Yue M, Kent C, et al. Adult neurogenesis and neurite outgrowth are impaired in *LRRK2* G2019S mice. *Neurobiology of Disease*. 2011; 41(3): 706–716. doi: 10.1016/j.nbd. 2010.12.008.
20. Schootemeijer S, Coker D, Shelton JF, Chanoff E, Rowbotham HM, Darweesh SKL, et al. Exercise knowledge, barriers and motivators among LRRK2 G2019S mutation carriers. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2023; 113: 105497. doi: 10.1016/j.parkreldis.2023.105497.
21. Olson J, Sheean P, Matthews L, Chitambar CR, Banerjee A, Visotcky A, et al. Circulating miRNAs as early indicators of diet and physical activity response in women with metastatic breast cancer. *Future Science OA*. 2021; 7(4): FSO694. doi: 10.2144/fsoa-2020-0208.
22. Rezaei Z, Shakerian S, Nikbakht M. Comparison of the effect of 10 weeks of high intensity interval training with continuous endurance training on MiR-205 and VEGF gene expression in mice with breast cancer.

Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology. 2019; 6(1): 37-44. [In Persian] http://dx.doi.org/ 10.22049/jassp.2019.26611.1258.
23. 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. [In Persian]. [https://doi.org/10.52547/ joeppa.15.1.33.
24. 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. https://doi:10.1177/ 1559827615583640.
25. Khalaj A, Ahmadi R. The effect of treadmill exercise on catalepsy from reserpine-induced Parkinson model in diabetic male rat. *KAUMS Journal (FEYZ)*. 2016;20(5):397-404. [In Persian]
26. Hubrecht RC, Kirkwood J. The UFAW handbook on the care and management of laboratory and other research animals: John Wiley & Sons; 2010.
27. Abbasi M, Kordi M, Daryanoosh F. The effect of eight weeks of high-intensity interval swimming training on the expression of PGC-1α 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. doi: 10.22049/jahssp.2023.28611.1552.
28. Artzi M, Even-Sapir E, Shacham HL, Thaler A, Urterger AO, Bressman S, et al. DaT-SPECT assessment depicts dopamine depletion among asymptomatic G2019S LRRK2 mutation carriers. *PLoS One*. 2017; 12: e0175424. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175424.
29. Kluss JH, Mamais A, Cookson MR. LRRK2 links genetic and sporadic Parkinson's disease. *Biochemical Society Transaction*. 2019: 47(2): 651-661. https://doi.org/10.1042/BST20180462.
30. Rocha EM, Keeney MR, Di Maio R, De Miranda BR, Greenamyre GT. LRRK2 and idiopathic Parkinson's disease. *Trends in Neurosciences*. 2022; 45(3): 224-236. https://doi.org/10.1016/j.tins.2021.12.002
31. Chen CY, Weng YH, Chien KY, Lin KJ, Yeh TH, Cheng YP, et al. (G2019S) LRRK2 activates MKK4-JNK pathway and causes degeneration of SN dopaminergic neurons in a transgenic mouse model of PD. *Cell Death and Differentiation.* 2012;19(10):1623–1633. http://dx.doi.org/10.1038/cdd.2012.42.
32. Ruffmann C, Giaccone G, Canesi M, Bramerio M, Goldwurm S, Gambacorta M, et al. Atypical tauopathy in a patient with LRRK2-G2019S mutation and tremor-dominant Parkinsonism. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 2012;38(4):382–386. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2990.2011. 01216.x.
33. Li S, Bi G, Han S, Huang R. MicroRNAs play a role in Parkinson's disease by regulating microglia function: From pathogenetic involvement to therapeutic potential. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2022;14:744942. https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.744942.
34. Fletcher AM, Heaford AC, Trask DK. Detection of metastatic head and neck squamous cell carcinoma using the relative expression of tissue-specific mir-205. *Translational Oncology.* 2008; 1:202–208. doi: 10.1593/tlo.08163.
35. Wu H, Mo YY. Targeting miR-205 in breast cancer. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 2009;13:1439–1448. doi: 10.1517/14728220903338777.
36. Patil KS, Basak I, Pal R, Ho HP, Alves G, Chang EJ, et al. A proteomics approach to investigate miR-153-3p and miR-205-5p targets in neuroblastoma cells. *PLoS One*. 2015;10(12):e0143969. doi: 10.1371/journal. pone.0143969.
37. Tiwari PC, Pal R. The potential role of neuroinflammation and transcription factors in Parkinson disease. *Dialogues* in *Clinical Neuroscience*. 2017;19(1):71–80. doi: 10.31887/DCNS.2017.19.1/rpal.
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):2165-2176. doi: 10.1007/s40520-022-02153-5.