http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2024.29203.1606

Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology
Spring/Summer 2024
Volume 11, Number 1
251-260

Original Article **Open Access**

The effect of high intensity interval swimming on DJ-1 and mir-874 gene expression of hippocampal cells in rats with Parkinson's disease

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

Receive 2023 November 28; Accepted 2024 January 20

Abstract

Aim: Parkinson's disease characterized by loss of the dopaminergic neurons, accompanied by neuroinflammation. The effect of high intensity interval training on dopaminergic neurons survival is not well known. The aim of present study was to examine the effect of high intensity interval swimming on DJ-1 and mir-874 gene expression of hippocampal cells in rats with Parkinson's disease.
Methods: In this experimental study, twenty-one 8 to 10-week-old male Wistar rats (weight 200 ± 10.2 grams) were divided into three groups (7 rats in each group), including: healthy control, PD and training. PD induced by injection of 1 mg/kg reserpine during 5 days. 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. Data were analyzed using one-way ANOVA and LSD post hoc test were run using SPSS-22 at the P <0.05.
Results: The study results indicated that DJ-1 gene expression were lower in the PD group compare to the healthy group and training group (p=0.02 and p=0.04 respectively); while, mir-874 gene expression was higher in the PD group compare to the healthy group and training group (p=0.001 and p=0.02 respectively). No significant difference was observed between training group and healthy group for these proteins' gene expression (p=0.6 and p=0.08 respectively).
Conclusions: In general, it seems that high intensity swimming interval training is effective for improving PD by enhancing the mechanisms of dopaminergic neurons survival.

Keywords: Parkinson's disease, Swimming, Dopaminergic neurons, DJ-1, mir-874

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

1. PhD student in exercise physiology, Department of exercise physiology, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
2. Associate professor in exercise physiology, Department of exercise physiology, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran (Corresponding Author): mehrzad.moghadasi@gmail.com
3. Associate professor in physiology, Department of biology, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
4. Assistant professor in exercise physiology, Department of exercise physiology, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Cite as: Somayeh Rashidfard, Mehrzad Moghadasi, Mohammdamin Edalatmanesh, Sara Hojati. The effect of high intensity interval swimming on DJ-1 and mir-874 gene expression of hippocampal cells in rats with Parkinson's disease. Applied Health Studies in Sport Physiology. 2024; 11(1): 251-260.

Owner and Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University
Journal ISSN (online): 2676-6507
Access Type: Open Access
DOI: 10.22049/JAHSSP.2024.29203.1606
DOR:

Copyright ©The authors

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2024.29203.1606

Extended abstract

Background

Parkinson disease (PD) is often regarded as a degenerative disease with neuronal loss and reduction of dopamine production (1). The DJ-1 protein is a kind of multifunctional protective protein that participates in the different stages of cell growth and development, including transcriptional regulation, cell transformation, antioxidant stress reaction, molecular chaperoning, and protease and mitochondrial regulation (3). The decreased DJ-1 protein caused by the inactivated DJ-1 protein after oxidation was found in the midbrain SN of sporadic PD patients, which reveals that the DJ-1 gene participates in both familial and sporadic PD (4). MicroRNAs (miRNAs) are a class of evolutionarily conserved, endogenous, non-coding, and single stranded small RNAs. Studies have shown that microRNAs play an important role in the pathogenesis of PD (8). The effect of high intensity interval training on dopaminergic neurons survival is not well known. The aim of present study was to examine the effect of high intensity interval swimming on DJ-1 and mir-874 gene expression of hippocampal cells in rats with PD.

Materials and Methods

In this experimental study, twenty-one male Wistar rats (age 8 to 10 weeks and weight 200-250 gr) were obtained from the Animal Breeding Center of Islamic Azad University, Shiraz branch and transferred to the animal laboratory of this university. Before the experiment, the rats were housed in pathogen-free conditions, maintained a 12 hr:12 hr light/dark cycle with water and food, with ad libitum access to water and food, and then transferred to the institution's sports physiology laboratory. PD induced in fourteen rats by injection of 1 mg/kg reserpine during 5 days and then these rats were divided into PD group or training group randomly. The rats in the training group swam 20 times of 30 seconds with 30 seconds of rest between each time for 6 weeks. Additionally, seven remaining rats were included in the healthy control group without any intervention. Forty-eight hours following the final training session, all rats underwent anesthesia using ketamine and xylazine. Subsequently, their brains were carefully separated in half and a midline incision was made and the midbrain was gently removed. The hippocampus is delineated by a large vessel running along its length. Thus, the hippocampi were isolated and the tissues at each end were trimmed, washed with saline, rapidly frozen in liquid nitrogen, and stored at –80°C for subsequent processing. The mRNA of the brains was isolated by RNA iso plus. Isolated mRNA was dissolved in DEPC water, and 1μg of mRNA was converted to complementary DNA sequence by reversed transcription using cDNA synthesis kit according to the manufacturers' protocol. cDNA expression of DJ-1 and mir-874 were assessed by real-time PCR. Sourced from the Animal Breeding Centre of the Islamic Azad University, Shiraz branch with ethical clearance granted under the reference code: IR.IAU.SHIRAZ.REC.1402.054. The normal distribution of data was assessed using the Shapiro-Wilk test. To analyze the data, a one-way analysis of variance (ANOVA) test with Bonferoni post hoc tests was employed.

Findings

One-way ANOVA indicated that DJ-1 gene expression was reduced after induction of PD and this gene was lower in PD group compare to the healthy control group ($p=0.02$. For mir-874 gene expression also our results indicated that this gene was increased after induction of PD disease and this gene was higher in PD group compare to the healthy control group ($p=0.04$). After 6-week of training, DJ-1 gene expression increases compare to the PD group ($p=0.04$). For mir-874 gene expression, our results indicated that this gene expression reduced compare to the PD group ($p=0.02$); while on significant differences were observed between training group and healthy group ($p=0.6$ and $p=0.08$ respectively).

Conclusion

Study results in line with previous studies indicated that DJ-1 gene expression was reduced after induction of PD compare to the control group (23,24). The loss of the function of DJ-1 has been found to be associated with autosomal recessive, early onset PD in mammalian cells by functioning as a molecular chaperone, antioxidant, transcriptional regulator and/or protease (26). Mitochondrial dysfunction has been implicated in the pathogenesis of PD and DJ-1 appears to protect the cells from the downstream consequences of mitochondrial dysfunction, but the mechanism is not clear (27). DJ-1 gene expression increase after 6 weeks training. Previous studies have shown that exercise induced improvement in mitochondrial efficacy and reduction of oxidative stress and alpha-synuclein are associated with the increase in DJ-1 gene expression (2,18). Our results in line with previous studies indicated that mir-874 gene expression increased after induction of PD compare to the control group (16). It is possible that the increase of DJ-1 after training might be responsible for the reduction of mir-874 gene expression.

Article message

Copyright ©The authors Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2024.29203.1606

The present study investigated the effect of high-intensity intermittent swimming training on the survival of dopaminergic neurons in this disease by observing the changes in hippocampal DJ-1 and mir-874 gene expression in rats with PD. In general, the results showed that this type of training can increase the expression of the DJ-1 gene and decrease the expression of the mir-874 gene in the hippocampus tissue. Therefore, the implementation of this training method is recommended to improve the function of dopaminergic neurons and consequently to improve PD. On the other hand, considering the emerging nature of mir-874 in the pathology of PD and the results obtained in the present study, the need for more studies in the field of exercise to identify the mechanisms affecting the changes of DJ-1 and miRNAs and overall improvement of the disease process PD is felt.

Copyright ©The authors

JAHSSP

http://jahssp.azaruniv.ac.ir/

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2024.29203.1606

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال یازدهم، شماره اول ؛

بهار و تابستان ۱۴۰۳؛ صفحات ۲۵۱-۲۶۰

Open Access

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرینات تناوبی شدید شنا بر بیان ژن DJ-1 و mir-874 سلول‌های هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری پارکینسون

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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۹

چکیده

هدف: بیماری پارکینسون با کاهش نرون‌های دوپامینرژیک و التهاب عصبی همراه است. اثر تمرینات ورزشی تناوبی شدید بر بقاء نرون‌های دوپامینرژیک بیماران پارکینسونی به درستی مشخص نیست. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر تمرینات تناوبی شدید شنا بر بیان ژن DJ-1 و mir-874 هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به پارکینسون انجام شد. **روش شناسی:** ۲۱ سرموش نر صحرایی نژاد ویستار با دامنه سنی ۸ -۱۰ هفته و میانگین وزن ۱۰/۲ ± ۲۰۰ گرم به طور تصادفی و مساوی در سه گروه سالم، بیمار و تمرین شنا قرار گرفتند. به منظور القاء بیماری پارکینسون، طی ۵ روز، روزانه ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن ماده رزرپین تزریق شد. موش‌های گروه تمرین، تمرینات شنا را به مدت شش هفته و در قالب ۲۰ نوبت ۳۰ ثانیه‌ای با ۳۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت اجرا کردند. برای مقایسه نتایج بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک راهه همراه با آزمون تعقیبی LSD توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ و در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ بهره گرفته شد. **یافته‌ها:** نتایج تحقیق حاضر نشان داد بیان ژن DJ-1 در گروه بیمار نسبت به گروه سالم و گروه تمرین به طور معنی‌داری پایین‌تر (به ترتیب p=۰/۰۲ و p=۰/۰۴) بود، در حالی که بیان ژن mir-874 در گروه بیمار نسبت به گروه سالم و گروه تمرین به طور معنی‌داری بالاتر بود (به ترتیب p=۰/۰۰۱ و p=۰/۰۲). اختلافی در بیان ژن این دو پروتئین بین گروه سالم و تمرین مشاهده نشد (به ترتیب p=۰/۶ و p=۰/۰۸). **نتیجه‌گیری:** به طور کلی به نظر می‌رسد تمرینات تناوبی شنا با شدت زیاد در بهبود مکانیسم‌های مربوط به بقاء نرون‌های دوپامینرژیک بیماران پارکینسونی مؤثر بوده و ممکن است به این واسطه به بهبود روند بیماری کمک نماید.

واژه‌های کلیدی: بیماری پارکینسون، تمرین شنا، نرون‌های دوپامینرژیک، DJ-1، mir-874

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

۱- دانشجوی دوره دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

۲- دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران * (نویسنده مسئول):

mehrzad.moghadasi@gmail.com

۳- دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

۴- استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

نحوه ارجاع: سمیه رشیدفرد، مهرزاد مقدسی، محمدامین عدالت‌منش و سارا حجتی. تأثیر تمرینات تناوبی شدید شنا بر بیان ژن DJ-1 و mir-874 سلول‌های هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری پارکینسون، مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ۱۴۰۳: ۱۱ (۱)،۲۵۱-۲۶۰.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۲۶۷۶-۶۵۰۷

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/JAHSSP.2024.29203.1606

DOR: 20.1001.

Copyright ©The authors

Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

JAHSSP
http://jahssp.azaruniv.ac.ir/
http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2024.29203.1606

مقدمه

افزایش سن یکی از عوامل مهم خطرساز در بروز بیماری‌های غیرواگیر است و با افزایش جمعیت سالمندان، مشکلات سلامتی آن‌ها نیز افزایش و اهمیت می‌یابد. بیماری پارکینسون[۱] که به عنوان دومین بیماری شایع پیش‌رونده تحلیل‌برنده سیستم عصبی بعد از بیماری آلزایمر[۲] در بزرگسالان شناخته شده (۱) یک بیماری غیرواگیر وابسته به سن است که به علت تخریب نورون‌های دوپامینی جسم سیاه[۳] در مغز انسان به وجود می‌آید (۲).

پروتئین DJ-1، یک پروتئین چند عملکردی است که به وفور در آستروسیت‌های[۴] فعال و به میزان کمتری در نورون‌ها بیان می‌شود (۳). علاوه بر آستروسیت‌ها و نورون‌ها، بیان ژن این پروتئین در میکروگلیا و الیگودندروسیت‌های نمونه‌های حیوانی نیز مشاهده شده است (۴). پروتئین DJ-1 می‌تواند مسیرهای رونویسی و سیگنالی انتقالی را تنظیم کند، گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) را حذف نموده و به عنوان یک چپرون مولکولی و آنزیم عمل نماید (۵). این پروتئین به عنوان یک حس‌گر استرس اکسایشی شناخته شده که در آغاز بیماری‌های مرتبط با استرس اکسایشی نظیر سرطان‌ها، بیماری‌های مخرب سیستم عصبی، دیابت نوع دوم و ناباروری مردانه مشارکت می‌کند (۶). همچنین DJ-1 با تعدیل فعالیت برخی از سلول‌های سیستم ایمنی بدن انسان شامل سلول‌های بیگانه‌خوار (ماکروفاژها)، ماست سل‌ها و سلول‌های T از طریق مکانیسم‌های وابسته به ROS و مکانیسم‌های مستقل از ROS، عملکرد تنظیم سیستم ایمنی در بدن انسان را اعمال می‌کند (۶). تمام این عملکردها، جزء واکنش‌های ضد استرس اکسایشی این پروتئین محسوب می‌شوند (۵) که می‌تواند در نهایت منجر به حفاظت از نورون‌های دوپامینرژیک در بیماری پارکینسون شود (۷).

یکی دیگر از نشان‌گرهای زیستی تأثیرگذار در بیماری پارکینسون، RNAهای غیرکدکننده[۵] هستند (۸). این نوع از RNAها، رونوشت‌هایی از ژنوم هستند که به پروتئین ترجمه نمی‌شوند، اما نقش‌های ساختاری و تنظیمی اساسی و متنوعی در سلول را به عهده دارند. در میان این دسته از RNAها، RNAهای کوچک به نام میکرو آر ان آ[۶] یا به اختصار miRNA، نقش قابل‌توجهی در تنظیم بیان ژن به عهده دارند. مولکول miRNA یک مولکول کوچک از گروه RNA غیرکدکننده است که حدود ۱۷ تا ۲۳ نوکلئوتید دارد و عملکرد اصلی آن، تنظیم بیان ژن پس از رونویسی است. این ملکول‌ها، تنظیم‌کننده‌های پس از رونویسی و بیان ژن هستند که می‌توانند برای تغییرات مربوط به سن و بیماری در عملکردهای عامل رشد حیاتی باشند. نقص در فعالیت‌های عامل رشد، در کاهش و مرگ سلول‌های عصبی (نورون‌ها) در طول روند افزایش سن و فرآیند سالمندی در بیماری‌های مخرب سیستم عصبی مشارکت دارند (۹). مشخص شده است که برخی miRNA ها از جمله mir-124، mi-195 و mir-150 در بیماران پارکینسون کاهش پیدا می کند (۱۰)، (۱۱)، (۱۲). برای نمونه، mir-124 در رشد و تکثیر نورون‌ها مؤثر است و همچنین موجب کاهش عوامل التهابی در مغز بیماران پارکینسونی می‌شود و بیان ژن آن با پیشرفت بیماری، کاهش پیدا می‌کند (۱۰). این در حالی است که برخی دیگر از miRNA ها در بیماری پارکینسون تنظیم افزایشی می‌یابند. مشخص شده است miRNA هایی از جمله mir-155، mir-181c و mir-125b به ترتیب می‌توانند با کاهش BDNF، فعال‌سازی میکروگلیا و افزایش التهاب در توسعه بیماری پارکینسون نقش داشته باشند (۱۳)، (۱۴)، (۱۵).

اخیراً چن و همکاران[۷] (۲۰۲۰) نشان داده‌اند که mir-874 در بزاق بیماران پارکینسونی به طور معنی‌داری بالاتر از افراد سالم است (۱۶). mir-874 با کاهش بیان ژن DJ-1 موجب افزایش التهاب نرونی (۱۶) و همچنین با افزایش ژن‌های مرتبط با اتوفاژی (ATGs) به خصوص ATG10 موجب سمیت سلول و اتوفاژی می‌گردد (۱۷) و در مجموع در آسیب به نرون‌های دوپامینرژیک و پیشرفت بیماری پارکینسون نقش دارد.

بر اساس اطلاعات ما، تنها دو مطالعه به بررسی اثر فعالیت ورزشی بر تغییرات DJ-1 در نمونه‌های مبتلا به پارکینسون پرداخته است. ژو و همکاران[۸] (۲۰۱۷) مشاهده کردند غلظت DJ-1 در خون و عضله موش‌های پارکینسونی پس از یک هفته دویدن روی چرخ گردان افزایش معنی‌داری پیدا کرد (۲). ویانا و همکاران[۹] (۲۰۱۷) نیز مشاهده کردند بیان ژن DJ-1 در هیپوکامپ موش‌های مبتلا به پارکینسون که ۳۰ روز قبل از القاء و ۱۱ روز پس از القاء بیماری فعالیت ورزشی هوازی داشتند، افزایش معنی‌داری یافت (۱۸). علاوه محدود بودن مطالعات در خصوص بررسی اثر تمرینات مختلف ورزشی بر تغییرات DJ-1 در نمونه‌های پارکینسونی، شناخت نقش mir-874 در پارکینسون جدید بوده و در حیطه بالینی نیز مطالعات محدودی انجام شده است. از این رو، اطلاعاتی از تغییرات این miRNA در پاسخ به فعالیت ورزشی به خصوص در بیماران پارکینسونی در دسترس نیست.

اولاً از آنجا که امروزه تمرینات تناوبی با شدت بالا به عنوان یک شیوه جدید تمرینی با اهداف مختلف به کار گرفته می‌شود و اثر این نوع تمرینات در بهبود بیماری پارکینسون به درستی مشخص نیست و ثانیاً با توجه به مطالعات بسیار اندک در خصوص بررسی متغیرهای تحقیق حاضر در پاسخ به فعالیت ورزشی، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر تمرینات تناوبی شدید شنا بر بیان ژن DJ-1 و mir-874 در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به پارکینسون انجام شد.

روش پژوهش

در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۱ سرموش صحرایی نر نژاد ویستار (دامنه سنی ۸ –۱۰ هفته و وزن حدود ۲۰۰ گرم) بر حسب قوانین برآورد حجم نمونه بر اساس مقدار درجه آزادی (df=۱۸) و تعداد گروه (n=۳) در نظر گرفته شد (۱۹). نمونه‌ها از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز خریداری و به آزمایشگاه حیوانی این دانشگاه منتقل شدند. حیوانات در دمای استاندارد (۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی گراد)، رطوبت ۴۵ درصد، چرخه تاریکی–روشنایی ۱۲–۱۲ (۸ صبح تا ۸ شب) و در قفس‌های پلاستکی پوشیده شده با خاک اره نگهداری شد. در طول مدت مطالعه حیوانات به آب و

۱. Parkinson's disease
۲. Alzheimer's disease (AD)
۳. Substantia nigra
۴. Astrocytes
۵. Non-coding RNA
۶. microRNA
۷. Chen et al.
۸. Zhou et al.
۹. Viana et al.

Copyright ©The authors
Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

غذا دسترسی آزاد داشتند و در کل دوره تحقیق توسط یک کارشناس جابجا می‌شدند. غذای استاندارد حیوانات محتوی ۱۵ درصد چربی (کیلوکالری)، ۲۵ درصد پروتئین (کیلوکالری) و ۶۰ درصد کربوهیدرات (کیلو کالری) بود. ضمن رعایت معاهده هلسینکی در کل دوره تحقیق، مراحل پژوهش به تأیید کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز رسید و کد اخلاق نیز با شماره IR.IAU.SHIRAZ.REC.1402.054 توسط این کمیته صادر شد.

مدت یک هفته موش‌ها در شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند تا حیوانات با محیط آشنا و سازگار شوند. پس از آن، با تزریق درون صفاقی یک میلی گرم ماده رزرپین[1] (ساخت شرکت سیگما آلدریچ کشور هند) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به ۱۴ سر موش و به مدت پنج روز متوالی با یک برنامه منظم در شبانه روز، بیماری پارکینسون القاء شد (۲۰). مقدار ماده مورد نظر از رزرپین در ۰/۰۳ میلی لیتر محلول اسید استیک گلاسیال حل شد و سپس محلول با استفاده از آب مقطر به حجم رسانده شد. به منظور تأیید القاء بیماری، از آزمون چرخشی استفاده شد. در این آزمون، حدود ۲ سانتی‌متر از بالای محل اتصال دم به بدن موش گرفته و موش بالا آورده می‌شد به طوری که بینی حیوان ۲ سانتی‌متر بالای سطح اتکا قرار گیرد. چنانچه حیوان نمی‌توانست تعادلش را حفظ کند و شروع به چرخش به دو طرف می‌کرد، به عنوان نشانه القاء پارکینسون در نظر گرفته می‌شد (۲۱). پس از اطمینان از القاء بیماری، ۱۴ سرموش به دو گروه تمرین شنا و بیمار تقسیم شدند. ۷ سر موش نیز بدون القاء بیماری بعنوان گروه کنترل سالم در نظر گرفته شدند.

یک هفته پیش از شروع دوره تمرینات اصلی، موش‌های گروه تمرین با استخر حیوانات (قطر ۱۶۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر) آشنا شدند. بدین منظور، در روز اول موش‌های صحرایی گروه تمرین 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 شنا کردن، برای آشنایی با نوع تمرین تناوبی، حیوانات چند بار پس از یک دقیقه شنا به وسیله صفحه استراحت از آب بیرون آورده و سپس، دوباره در آب قرار داده می‌شدند. برنامه تمرین شنای تناوبی شدید به مدت شش هفته، سه جلسه در هفته و به صورت یک روز در میان انجام شد. 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 (هفته ششم) موش‌های صحرایی با وزنه‌ای به میزان ۱۲ درصد بدن خود تمرین شنا را انجام دادند (۲۲). پس از هر جلسه تمرین در آب، حیوانات با حوله خشک، و به محل نگهداری منتقل می‌شدند. مشخصات برنامه تمرینی در جدول ۱ نشان داده شده است. طی دوران مطالعه، نمونه‌های گروه کنترل سالم هیچگونه برنامه تمرینی نداشتند.

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

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، تمامی موش ها 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 و سپس، پرفیوژن قلبی انجام گردید. برای انجام پرفیوژن قلبی، قفسه سینه موش صحرایی از پایین و از طریق دیافراگم شکاف داده شد و با نمایان شدن قلب، قلب از درون آبشامه خارج گردید. سوزنی که از طریق ست سرم به ظرف حاوی فرمالین ۱۰ درصد و کلروسدیم ۱ درصد وصل شده بود از نوک قلب به بطن چپ وارد و بلافاصله جریان مایع برقرار گردید. در طرف دیگر قلب، بزرگ سیاهرگ زیرین و یا بطن راست برش داده شد و خون حیوان به تدریج خارج و فرمالین جایگزین شد تا فرمالین به تمام رگ‌ها و مویرگ‌های بدن راه پیدا کرد. با خارج شدن خون و جایگزین شدن فرمالین، اندام‌های حرکتی، دست، پا و دم و در نهایت، تمام بخش‌های بدن موش صحرایی شروع به لرزیدن کرد. این لرزش نشانه تثبیت بافت‌ها و اندام‌های بدن بود. جریان فرمالین تا اتمام لرزش اندام‌ها ادامه داشت. پس از اتمام فرآیند پرفیوژن، سر حیوان از محل سوراخ بزرگ جمجمه جدا شد، پوست و عضلات سر خارج و جمجمه کاملاً تمیز شد. استخوان‌های جمجمه به آرامی از محل سوراخ بزرگ جمجمه شکسته و بدون این که آسیبی به مغز برسد، مغز را خارج شد و بلافاصله کل مغز با ترازوی دیجیتالی بسیار حساس (سنجش تا هزارم گرم) توزین گردید. در نهایت بافت هیپوکامپ استخراج و بلافاصله برای سنجش‌های بعدی به آزمایشگاه منتقل و در دمای منهای۸۰ درجه سانتی‌گراد فریز شدند.

برای بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از Real-time PCR تمام پرایمرها توسط نرم افزار Allele ID v7.8 طراحی و از ژن TATA-binding protein (TBP) به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید. تمام پرایمرها به صورت اتصال اگزون- اگزون طراحی شد. جهت اطمینان از عدم تکثیر DNA ژنومی از ۲۵ نانوگرم cDNA و ۲۵ نانوگرم RNA در تیوب‌های جداگانه از واکنش PCR و استفاده از ژل آگاروز ۱/۵ درصد استفاده گردید. تکثیر

1. Reserpine

Copyright ©The authors

cDNA و مشاهده باند مورد انتظار توسط پرایمر اختصاصی و عدم تکثیر RNA پس از واکنش PCR نمایانگر عدم تکثیر DNA ژنومی می‌باشد. جدول ۱ اطلاعات مربوط به پرایمرهای مورد استفاده برای سنجش هر ژن را ارائه می‌دهد. کمی سازی میزان تکثیر ژن هدف و ژن کنترل داخلی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

Normalized target gene expression level in sample = $2^{-\Delta\Delta CT}$

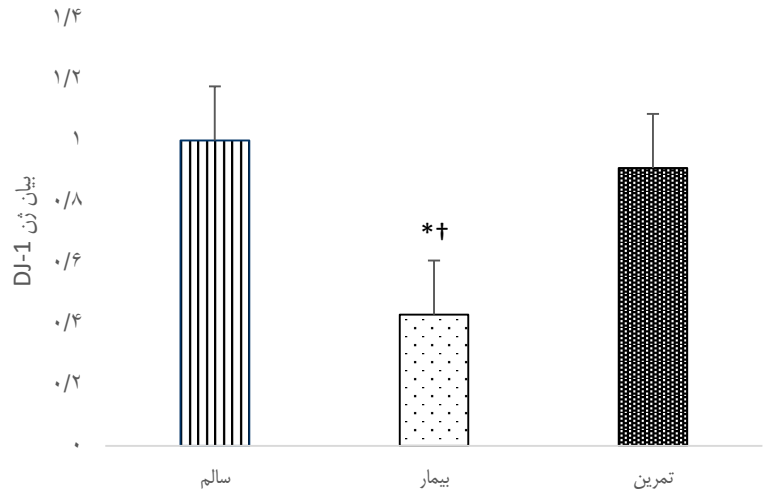
جدول ۲. لیست پرایمر های استفاده شده

Gene	Primer sequence
DJ-1	F: 5′ GAAGCAAAAACACAGGGACCAT 3′
	R: 5′ CCTTAGCCAATGGGTGCGAT 3′
Mir-874	F: 5′ GGGCGGCCCCACGCACCA 3′
	R: 5′ GTGCAGGGTCCGAGGT 3′

به منظور بررسی توزیع طبیعی اطلاعات از آزمون شاپیرو- ویلک استفاده شد. از آنجا که داده‌ها دارای توزیع طبیعی بودند، برای بررسی تغییرات متغیرهای مورد مطالعه، آزمون تحلیل واریانس یک راهه همراه با آزمون تعقیبی LSD در نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ به کار رفت. ارتباط بین متغیرها با ضریب همبستگی پیرسون مورد ارزیابی قرار گرفت و حداقل سطح معنی داری در کلیه آزمون‌ها $p<۰/۰۵$ بود.

یافته‌ها

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه نشان داد تفاوت معنی‌داری در بیان ژن هیپوکامپی DJ-1 بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($p=۰/۰۴$ و $F=۴/۵$). آزمون تعقیبی نشان داد بیان ژن DJ-1 در گروه بیمار هم نسبت به گروه سالم و هم نسبت به گروه تمرین به طور معنی‌داری پایین‌تر (به ترتیب $p=۰/۰۲$ و $p=۰/۰۴$) است و اختلاف معنی‌داری در بیان ژن DJ-1 بین گروه سالم و تمرین مشاهده نشد ($p=۰/۶$). نتایج مربوط به بیان ژن DJ-1 در گروه‌های مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است.



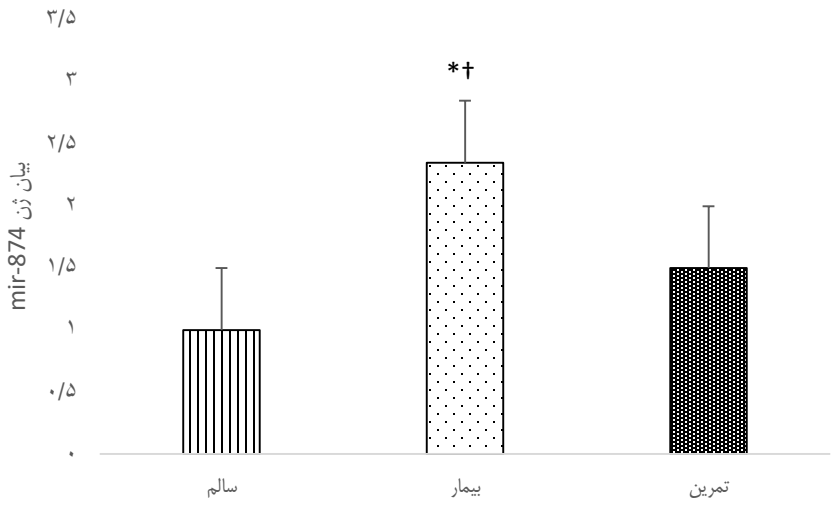
* و †: به ترتیب نمایانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه سالم و تمرین ($p=۰/۰۵$)

نمودار ۱. بیان ژن هیپوکامپ DJ-1 در گروه‌های مختلف

همانطور که در شکل ۲ مشخص است، آزمون تحلیل واریانس یک راهه نشان داد تفاوت معنی‌داری در بیان ژن هیپوکامپی mir-874 نیز بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($p=۰/۰۰۴$ و $F=۱۰/۹$). نتایج آزمون تعقیبی حاکی از آن بود که بیان ژن mir-874 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 $p=۰/۰۲$). اختلافی در بیان ژن mir-874 بین گروه سالم و تمرین مشاهده نشد ($p=۰/۰۸$).

ضریب همبستگی پیرسون ارتباط معکوس و غیر معنی‌داری بین بیان ژن هیپوکامپی DJ-1 و mir-874 نشان داد ($p=۰/۴$ و $r=-۰/۲۴$).

Copyright ©The authors
Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University



* و †: به ترتیب نمایانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه سالم و تمرین (p=۰/۰۵)
نمودار ۲. بیان ژن هیپوکامپی mir-874 در گروه‌های مختلف

بحث

نتایج ما نشان داد که با القاء بیماری، بیان ژن DJ-1 در بافت هیپوکامپ موش‌ها نسبت به نمونه‌های سالم کاهش معنی‌داری پیدا کرد (۵۷ درصد کاهش بیان ژن). پیش از این کاهش بیان ژن این پروتئین در بیماران مبتلا به پارکینسون به تأیید رسیده است (۲۳)، (۲۴). مشخص شده است که یکی از مکانیسم‌های بروز بیماری پارکینسون، کاهش نرون‌های دوپامینرژیک و التهاب عصبی است (۲۵). مطالعات نشان داده‌اند که DJ-1 نقش‌های متعددی از جمله محافظت از نرون‌های دوپامینرژیک در برابر ROS داشته و خاصیت ضد استرس اکسایشی آن موجب بقاء این نرون‌های می‌شود (۵). علاوه بر این مشاهده شده است که این پروتئین موجب افزایش کارآیی میتوکندری‌ها در نرون‌های دوپامینرژیک می‌شود (۲۶). از دیگر مکانیسم‌های محافظتی از نرون‌های دوپامینرژیک، کاهش پروتئین آلفا سینوکلئین[11] به واسطه DJ-1 است (۲۷). با تمام این موارد مشخص می‌شود که DJ-1 با مکانیسم‌های متعددی به بقاء نرون‌های دوپامینرژیک در بیماران پارکینسونی کمک می‌کند. برخی از جهش‌ها در پروتئین DJ-1 ممکن است منجر به شروع زودرس پارکینسون شود؛ از این‌رو، کاهش بیان ژن DJ-1 به عنوان یک عامل پیش‌آگهی در بیماری پارکینسون در نظر گرفته می‌شود (۴). نتایج مطالعه حاضر نشان داد بیان ژن DJ-1 با اجرای برنامه تمرینی، نسبت به گروه بیمار افزایش معنی‌داری پیدا کرد و نسبت به گروه سالم تفاوت معنی‌داری نداشت. مطالعات اندکی به بررسی اثر فعالیت ورزشی بر تغییرات DJ-1 در نمونه‌های مبتلا به پارکینسون پرداخته است. همراستا با نتایج مطالعه حاضر، افزایش غلظت خونی DJ-1 و افزایش غلظت این پروتئین در عضله موش‌های پارکینسونی پس از یک هفته دویدن روی چرخ گردان گزارش شده است (۲). در مطالعه دیگر نیز مشاهده است که بیان ژن DJ-1 در هیپوکامپ موش‌های مبتلا به پارکینسون که ۳۰ روز قبل از القاء و ۱۱ روز پس از القاء بیماری فعالیت ورزشی هوازی داشتند، افزایش معنی‌داری یافته است (۱۸). در هیچکدام از این دو مطالعه مکانیسم‌های احتمالی افزایش DJ-1 در نمونه‌های پارکینسونی گزارش نشده و تنها به این موضوع اشاره شده است که افزایش DJ-1 به واسطه فعالیت ورزشی حاکی از اثرات مثبت فعالیت بر کاهش استرس اکسایشی، بهبود کارآیی میتوکندری، کاهش پروتئین‌هایی که در بیماری پارکینسون افزایش پیدا می‌کند (از جمله آلفا سینوکلئین) و در کل بهبود روند بیماری است (۲و۱۸). از دیگر نتایج مطالعه حاضر، افزایش بیان ژن هیپوکامپی mir-874 در گروه بیمار نسبت به گروه سالم بود (۱۳۵ درصد افزایش). این در حالی بود که با اجرای تمرینات شنای تناوبی با شدت بالا، بیان ژن این پروتئین کاهش یافت و تفاوتی بین گروه تمرین و گروه سالم مشاهده نشد.

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر تمرین تناوبی شنا با شدت زیاد بر بقاء نرون‌های دوپامینرژیک در نمونه‌های حیوانی مبتلا به پارکینسون انجام شد. بدین

11. Alpha-Synuclein

Copyright ©The authors

شناسایی نقش این miRNA در بیماری آلزایمر مربوط به سال‌های اخیر است و در سال ۲۰۲۰ مشخص شد که مقدار mir-874 در بیماران پارکینسونی بالاتر از افراد سالم است (۱۶). پیش از این مشخص شده است که یکی از تنظیم کنندگان DJ-1، می‌تواند mir-874 باشد (۱۶). mir-874 در پارکینسون تنظیم افزایشی یافته و با کاهش بیان ژن DJ-1 موجب افزایش التهاب نرونی (۱۶) و همچنین، با افزایش ژن‌های مرتبط با اتوفاژی (ATGs) به خصوص ATG10 موجب سمیت سلول و اتوفاژی می‌گردد (۱۷) که روی هم رفته آسیب نرون‌های دوپامینرژیک را به دنبال دارد. بر اساس اطلاعات ما تا کنون تغییرات mir-874 بر اثر تمرینات ورزشی مورد بررسی قرار نگرفته است و ما به عنوان اولین مطالعه مشاهده کردیم که با اجرای تمرینات ورزشی بیان ژن این miRNA در هیپوکامپ نمونه‌های پارکینسونی کاهش پیدا می‌کند. نتایج ضریب همبستگی پیرسون در مطالعه حاضر نشان داد ارتباط معکوس و غیر معنی‌داری بین بیان ژن DJ-1 و mir-874 وجود دارد. از این رو ممکن است تغییرات DJ-1 تا حدی مربوط به تغییرات mir-874 باشد. در تأیید نتایج مطالعه حاضر، چن و همکاران (۲۰۲۰) عنوان کرده‌اند که بیان ژن mir-874 در افراد سالم در حد طبیعی مقدار خود است تا مقدار DJ-1 را نیز در حد طبیعی خود نگه دارد. اما در افراد مبتلا به پارکینسون مقدار این miRNA افزایش پیدا می‌کند و با افزایش آن DJ-1 تحت تأثیر قرار گرفته و به شدت کاهش پیدا می‌کند و به تبع آن اختلالات میتوکندریایی در نرون‌های دوپامینرژیک روی می‌دهد (۱۶). بنابراین به نظر می‌رسد با افزایش بیان ژن mir-874، بیان ژن و به دنبال آن میزان پروتئین DJ-1 کاهش پیدا می‌کند و بیماری پارکینسون پیشرفت می‌نماید. مطالعه حاضر با محدودیت‌هایی همراه بود؛ از جمله آن که در این مطالعه تنها بیان ژن DJ-1 مورد بررسی قرار گرفت اما غلظت این پروتئین در بافت و در خون بررسی نشد. علاوه بر این، با توجه به تنوع miRNA های اثرگذار بر تغییرات DJ-1، تنها mir-874 به عنوان یک miRNA تازه شناسایی شده که اثر فعالیت‌های ورزشی بر آن نامشخص بود انتخاب شد. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده miRNA های مرتبط دیگری از جمله mi-145-3p که آن نیز همانند mir-874 در بیماری پارکینسون افزایش می‌یابد و با کاهش DJ-1 در ارتباط است بررسی شود.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر با رصد کردن تغییرات بیان ژن هیپوکامپی DJ-1 و mir-874 موش‌های مبتلا به پارکینسون به بررسی اثر تمرین تناوبی شنا با شدت زیاد بر بقاء نرون‌های دوپامینرژیک در این بیماری پرداخت. به طور کلی نتایج نشان داد این نوع تمرینات می‌تواند موجب افزایش بیان ژن DJ-1 و کاهش بیان ژن mir-874 در بافت هیپوکامپ شود. بنابراین، اجرای این شیوه تمرینی برای بهبود عملکرد نرون‌های دوپامینرژیک و به تبع آن بهبود بیماری پارکینسون توصیه می‌شود. از طرفی، با توجه به نوظهور بودن mir-874 در پاتولوژی بیماری پارکینسون و نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر، نیاز به مطالعات بیشتری در حوزه ورزش برای شناسایی مکانیسم‌های اثر گذار بر تغییرات DJ-1 و miRNA ها و در کل بهبود روند بیماری پارکینسون احساس می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله حاضر از کلیه پرسنل آزمایشگاه حیوانی دانشگاه آزاد اسلامی شیراز و دیگر عزیزانی که در پیشبرد این مطالعه ما یاری رساندند، تقدیر و تشکر می‌کنند.

تضاد منافع

هیچگونه تضاد منافعی بین نویسندگان این مطالعه وجود ندارد.

Reference

1. Cui L, Hou N-N, Wu H-M, Zuo X, Lian Y-Z, Zhang C-N, et al. Prevalence of Alzheimer's disease and Parkinson's disease in China: an updated systematical analysis. Frontiers in aging neuroscience. 2020;12:603854.
2. Zhou W, Barkow JC, Freed CR. Running wheel exercise reduces α-synuclein aggregation and improves motor and cognitive function in a transgenic mouse model of Parkinson's disease. PloS one. 2017;12(12):e0190160.
3. Repici M, Giorgini F. DJ-1 in Parkinson’s disease: clinical insights and therapeutic perspectives. Journal of clinical medicine. 2019;8(9):1377.
4. Mencke P, Boussaad I, Romano CD, Kitami T, Linster CL, Krüger R. The role of DJ-1 in cellular metabolism and pathophysiological implications for Parkinson’s disease. Cells. 2021;10(2):347.
5. Tashiro S, Caaveiro JM, Nakakido M, Tanabe A, Nagatoishi S, Tamura Y, et al. Discovery and optimization of inhibitors of the Parkinson’s disease associated protein DJ-1. ACS chemical biology. 2018;13(9):2783-93.
6. Zhang L, Wang J, Wang J, Yang B, He Q, Weng Q. Role of DJ-1 in immune and inflammatory diseases. Frontiers in immunology. 2020;11:994.
7. Dolgacheva LP, Berezhnov AV, Fedotova EI, Zinchenko VP, Abramov AY. Role of DJ-1 in the mechanism of pathogenesis of Parkinson's disease. Journal of Bioenergetics and Biomembranes. 2019;51:175-88.
8. Lv Q, Wang Z, Zhong Z, Huang W. Role of long noncoding RNAs in Parkinson’s disease: putative biomarkers and therapeutic targets. Parkinson’s Disease. 2020;2020.
9. Kim W, Noh H, Lee Y, Jeon J, Shanmugavadivu A, McPhie DL, et al. MiR-126 regulates growth factor activities and vulnerability to toxic insult in neurons. Molecular neurobiology. 2016;53:95-108.

Copyright ©The authors

impairs homo-oligomerization. Journal of neurochemistry. 2003;87(6):1558-67.
25. 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.
26. Chen S, Annesley SJ, Jasim RA, Fisher PR. The Parkinson's disease-associated protein DJ-1 protects dictyostelium cells from AMPK-dependent outcomes of oxidative stress. Cells. 2021;10(8):1874.
27. Batelli S, Invernizzi RW, Negro A, Calcagno E, Rodilossi S, Forloni G, Albani D. The Parkinson's disease-related protein DJ-1 protects dopaminergic neurons in vivo and cultured cells from alpha-synuclein and 6-hydroxydopamine toxicity. Neurodegenerative Diseases. 2015;15(1):13-23.
10. Yao L, Zhu Z, Wu J, Zhang Y, Zhang H, Sun X, et al. MicroRNA-124 regulates the expression of p62/p38 and promotes autophagy in the inflammatory pathogenesis of Parkinson's disease. The FASEB Journal. 2019;33(7):8648-65.
11. Ren Y, Li H, Xie W, Wei N, Liu M. MicroRNA-195 triggers neuroinflammation in Parkinson's disease in a Rho-associated kinase 1-dependent manner. Molecular medicine reports. 2019;19(6):5153-61.
12. Li H, Yu L, Li M, Chen X, Tian Q, Jiang Y, Li N. MicroRNA-150 serves as a diagnostic biomarker and is involved in the inflammatory pathogenesis of Parkinson's disease. Molecular Genetics & Genomic Medicine. 2020;8(4):e1189.
13. Fu H, Cheng Y, Luo H, Rong Z, Li Y, Lu P, et al. Silencing microRNA-155 attenuates kainic acid-induced seizure by inhibiting microglia activation. Neuroimmunomodulation. 2019;26(2):67-76.
14. Ma Q, Zhao H, Tao Z, Wang R, Liu P, Han Z, et al. MicroRNA-181c exacerbates brain injury in acute ischemic stroke. Aging and disease. 2016;7(6):705.
15. Parisi C, Napoli G, Amadio S, Spalloni A, Apolloni S, Longone P, Volonté C. MicroRNA-125b regulates microglia activation and motor neuron death in ALS. Cell Death & Differentiation. 2016;23(3):531-41.
16. Chen Y, Zheng J, Su L, Chen F, Zhu R, Chen X, Ye Q. Increased salivary microRNAs that regulate DJ-1 gene expression as potential markers for Parkinson's disease. Frontiers in aging neuroscience. 2020;12:210.
17. Zhao J, Li H, Chang N. LncRNA HOTAIR promotes MPP+-induced neuronal injury in Parkinson's disease by regulating the miR-874-5p/ATG10 axis. EXCLI journal. 2020;19:1141.
18. Viana SD, Pita IR, Lemos C, Rial D, Couceiro P, Rodrigues-Santos P, et al. The effects of physical exercise on nonmotor symptoms and on neuroimmune RAGE network in experimental parkinsonism. Journal of Applied Physiology. 2017;123(1):161-71.
19. Alimohamadi Y, Sepandi M. Sample Size in Animal Studies (The number of laboratory animals in a Research study). Iranian Journal of Medical Microbiology. 2022;16(2):173-6.
20. 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.
21. Hubrecht RC, Kirkwood J. The UFAW handbook on the care and management of laboratory and other research animals: John Wiley & Sons; 2010.
22. 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.
23. Taipa R, Pereira C, Reis I, Alonso I, Bastos-Lima A, Melo-Pires M, Magalhães M. DJ-1 linked parkinsonism (PARK7) is associated with Lewy body pathology. Brain. 2016;139(6):1680-7.
24. Moore DJ, Zhang L, Dawson TM, Dawson VL. A missense mutation (L166P) in DJ-1, linked to familial Parkinson's disease, confers reduced protein stability and

Copyright ©The authors