

The effect of swimming training on hippocampic mir-23b and mir-let-7 gene expression related to pain in Wistar rats with Parkinson's disease

Reza Zeinolebadi¹, Mehrzad Moghadasi^{2*}, Mohammadamin Edalatmanesh³, Mehdi Noora⁴

1. PhD student in exercise physiology, Department of exercise physiology, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
2. Associate professor of exercise physiology, Department of exercise physiology, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
3. Associate professor of physiology, Department of biology, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
4. Assistant professor of exercise physiology, Department of exercise physiology, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Abstract

Background and Aim: Dysregulated miRNAs play critical roles in many disorders such as pain in Parkinson's disease. The aim of this study was to examine the effect of swimming training on hippocampic miRNAs gene expression related to pain in rats with Parkinson's disease (PD). **Material and Methods:** Twenty-one male Wistar rats (age eight to ten weeks) were divided into healthy control (n=7), PD (n=7) and training (n=7) group. PD induced by injection of 1 mg/kg reserpine to rats in PD and training groups. The rats in the training group performed 6 weeks high-intensity interval training, including 20 times of 30 seconds of swimming with 30 seconds of rest between each time and 3 times a week. mir-23b and mir-let-7 gene expressions were measured in hippocampus using Real Time-PCR. Data were analyzed using one-way ANOVA and LSD post hoc test were run using SPSS-22 at the $p < 0.05$. **Results:** Data indicated that mir-23b gene expression was lower in PD group compare to the healthy control group ($p = 0.01$), while no significant difference was observed between PD group and training group ($p = 0.22$) and between healthy control group and training group ($p = 0.09$). Data revealed that mir-let-7 gene expression was lower in the PD group compare to the healthy control group, but it not achieved significant statistically ($p = 0.50$). Also, no significant difference was observed between PD group and training group ($p = 0.82$) and between healthy control group and training group ($p = 0.64$). **Conclusion:** In summary it seems that high-intensity interval swimming training did not affect miRNAs related pain in rats with PD; however future studies are needed.

Keywords: Parkinson's disease, Swimming training, Pain, mir-23b gene expression, mir-let-7 gene expression.

* Corresponding author: Department of exercise physiology, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
E-mail: mehrzad.moghadasi@gmail.com



اثر تمرین شنا بر بیان ژن های هیپوکامپی mir-23b و mir-let-7 مرتبط با درد در موش های صحرائی نژاد ویستار مبتلا به پارکینسون

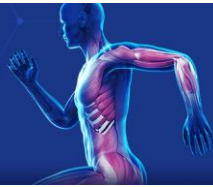
رضا زین العبادی^۱، مهرزاد مقدسی^{۲*}، محمدامین عدالت منش^۳، مهدی نورا^۴

- ۱- دانشجوی دوره دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
- ۲- دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
- ۳- دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
- ۴- استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: عدم تنظیم در میکرو آر ان اها (miRNAs) نقش کلیدی در بروز اختلالات رایجی از جمله درد در بیماری پارکینسون دارند. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر یک دوره شش هفته ای تمرین شنا بر miRNAs مرتبط با درد در موش های مبتلا به پارکینسون بود. **روش تحقیق:** ۲۱ سرموش نژاد ویستار هشت تا ده هفته ای در سه گروه سالم (n=۷)، بیمار (n=۷) و تمرین شنا (n=۷) تقسیم شدند. به گروه بیمار و تمرین، با تزریق یک میلی گرم رزپین به ازای هر کیلو وزن، بیماری پارکینسون القا شد. گروه تمرین، تمرینات شنای تناوبی شدید را به مدت ۶ هفته در قالب ۲۰ نوبت ۳۰ ثانیه ای با ۳۰ ثانیه استراحت بین نوبت ها و ۳ جلسه در هفته اجرا کردند. بیان ژن mir-23b و mir-let-7 در بافت هیپوکامپ با روش Real Time-PCR اندازه گیری شد. تغییرات بیان ژن با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی LSD در سطح معنی داری $p < 0/05$ توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ تجزیه و تحلیل شدند. **یافته ها:** بیان ژن هیپوکامپی mir-23b در گروه بیمار نسبت به گروه سالم به طور معنی داری پایین تر بود ($p = 0/01$) اما تفاوتی بین گروه بیمار با گروه تمرین ($p = 0/22$) و بین گروه تمرین و گروه سالم ($p = 0/09$) مشاهده نشد. در خصوص بیان ژن mir-let-7 نیز نتایج حاکی از آن بود که تفاوت معنی داری در بیان این ژن بین گروه بیمار و گروه سالم وجود ندارد ($p = 0/50$). همچنین تفاوت معنی داری در بیان ژن mir-let-7 بین گروه تمرین و گروه سالم ($p = 0/82$) و بین گروه بیمار و گروه تمرین ($p = 0/64$) مشاهده نشد. نتیجه گیری: به طور کلی به نظر می رسد تمرینات شنای تناوبی شدید تأثیر چندانی بر miRNA های مرتبط با درد در موش های پارکینسونی ندارد؛ البته با توجه به محدودیت اطلاعات، بررسی این موضوع نیازمند مطالعات بیشتری است.

واژه های کلیدی: بیماری پارکینسون، تمرین شنا، درد، بیان ژن mir-23b، بیان ژن mir-let-7.



بیماری پارکینسون برای اولین بار توسط جیمز پارکینسون^۱ در سال ۱۸۱۷ شناسایی شد و چندین سال بعد، یک متخصص مغز و اعصاب فرانسوی به نام ژان مارتین شارکو^۲ این اختلال را به یاد جیمز، بیماری پارکینسون نامید (پرنت^۳، ۲۰۱۸). این بیماری با از بین رفتن نورون‌های دوپامینرژیک^۴ در جسم سیاه مغز^۵ آغاز می‌شود و به طور کلی با کند شدن حرکات،^۶ سفتی و لرزش همراه است (ناسبام و ایس^۷، ۲۰۰۳). این علائم معمولاً با از بین رفتن حدود ۶۰ درصد از نورون‌های دوپامینرژیک جسم سیاه مغز آغاز می‌شود و با اختلالات گسترده در سیستم عصبی ادامه پیدا می‌کند (دائر و پریژدبورسکی^۸، ۲۰۰۳). بروز 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 (بامن^۹ و دیگران، ۲۰۱۷). افزایش درد در بیماران پارکینسونی موجب ناتوانی جدی، کاهش کیفیت زندگی، فلج شدن و در نهایت مرگ می‌شود (ریو^{۱۰} و دیگران، ۲۰۲۳).

ساز و کارهای بروز درد در بیماران پارکینسونی متفاوت است اما به نظر می‌رسد یکی از اصلی‌ترین دلایل بروز دردهای مزمن در این بیماران، اختلال در میکرو آر ان ا‌های (miRNA) بافت مغز و به تبع آن اختلال در گیرنده‌های مرتبط با درد مانند گیرنده‌های اپیوئیدی و به خصوص گیرنده‌های μ باشد (نامتمان و تومینن^{۱۱}، ۲۰۱۸). این گیرنده‌ها در سراسر دستگاه عصبی مرکزی (CNS) و محیطی (PNS) توزیع شده‌اند و نقشی مهم در کنترل پاسخ‌های فیزیولوژیک همچون بی‌دردی دارند (کورد^{۱۲} و دیگران، ۲۰۱۸).

miRNAها، RNAهای غیرکدکننده کوچکی هستند که در کنترل پس از رونویسی بیان ژن شرکت می‌کنند و به تازگی اختلال در بیان ژن آنها در مغز بیماران پارکینسونی فوت شده شناسایی شده است (سالمی^{۱۳} و دیگران، ۲۰۲۳). تا چند سال پیش اجماعی در خصوص نقش miRNAها در بروز برخی بیماری‌ها از جمله پارکینسون وجود نداشت که علت آن عدم وجود ابزار دقیق برای شناسایی آنها و ساز و کار عمل آنها بوده است؛ اما در حال حاضر، مطالعات بالینی روز به روز نسبت به شناخت miRNAهای مختلف اقدام می‌کنند (گاورمونت^{۱۴} و دیگران، ۲۰۲۳). تاکنون چندین miRNA مرتبط با درد شناسایی شده‌اند. از جمله این miRNAها می‌توان به mir-23b و mir-let-7 اشاره کرد. برای اولین بار کاهش بیان ژن mir-23b و ارتباط مستقیم آن با افزایش درد توسط ایم^{۱۵} و دیگران (۲۰۱۲) در نمونه‌های حیوانی

1. James Parkinson
2. Jean-Martin Charcot
3. Parent
4. Dopaminergic neurons
5. Substantia nigra
6. Bradykinesia
7. Nussbaum and Ellis
8. Dauer and Przedborski
9. Buhmann
- 1 . Ryu 0
- 1 . Nummenmaa and Tuominen
- 1 . Corder 2
- 1 . Salemi 3
- 1 . Guévremont 4
- 1 . Im 5



پس از آسیب ستون مهره‌ها گزارش شد. در دیگر مطالعات نیز کاهش بیان ژن mir-23b و mir-let-7 در بیماران مختلف که درد یکی از عوارض این بیماری‌ها است از جمله فیبروما لایا (برسینگ^۲ و دیگران، ۲۰۱۳) و پارکینسون (سان^۳ و دیگران، ۲۰۱۸؛ کای^۴ و دیگران، ۲۰۲۱؛ ژانگ^۵ و دیگران، ۲۰۱۹) گزارش شده است.

بر اساس اطلاعات ما تاکنون مطالعه‌ای به بررسی تغییرات این دو miRNA نسبت به تمرینات ورزشی در نمونه‌های پارکینسونی نپرداخته است. پیش از این، افزایش mir-23b در بافت عضلانی پس از اجرای تمرینات هوازی در موش‌ها (لی^۶ و دیگران، ۲۰۱۹) و همچنین پس از اجرای تمرینات ترکیبی روی مردان سالم (کمر^۷ و دیگران، ۲۰۱۶) گزارش شده است. افزایش mir-let-7 نیز در پاسخ به تمرینات ورزشی در نمونه‌های مبتلا به سرطان گزارش شده است (انوشه و دیگران، ۲۰۱۵؛ عیسی‌نژاد و دیگران، ۲۰۱۶). تمرینات تناوبی با شدت بالا 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 (زهراپی و همکاران، ۲۰۲۲). عنوان شده است که با انجام این نوع تمرینات، سازگاری‌های جدیدی از جمله سازگاری‌های محیطی، عصبی و قلبی-عروقی ایجاد می‌گردد (بیاتی و همکاران، ۲۰۱۵). 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 (ناگل^۸ و دیگران، ۲۰۱۷). با توجه به نوظهور بودن نقش miRNAها در بروز بیماری‌هایی همچون پارکینسون از یک طرف و مشخص نبودن پاسخ آنها به تمرینات ورزشی و به خصوص تمرینات تناوبی با شدت بالا از سوی دیگر، مطالعه حاضر با هدف مشخص ساختن اثر یک دوره شش هفته‌ای تمرین شنا بر miRNAهای مرتبط با گیرنده‌های درد در موش‌های مبتلا به پارکینسون به اجرا درآمد.

روش تحقیق

مطالعه حاضر از نوع مطالعات تجربی و آزمایشگاهی با طرح پس از آزمون با گروه کنترل بود. کلیه مراحل تحقیق به تأیید کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز رسید و کد اخلاق نیز با شماره IR.IAU.SHIRAZ.REC.1402.49 توسط این کمیته صادر گردید. در این مطالعه از ۲۱ سرموش نر صحرایی نژاد ویستار با میانگین وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد که از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز خریداری و به آزمایشگاه حیوانی این دانشگاه منتقل شدند. به منظور

1. Fibromyalgia
2. Bjersing
3. Sun
4. Cai
5. Xang
6. Lee
7. Camera
8. Nagle



سازگاری با محیط آزمایشگاهی، به مدت یک هفته موش‌ها درون قفس‌های پلاستیکی پوشیده شده با خاک اره در دمای $23/2 \pm 2$ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۵ درصد نگهداری شدند. در این مدت آب و غذا به طور آزادانه در اختیار حیوانات قرار گرفت و چرخه ۱۲ ساعت تاریکی ۱۲ ساعت روشنایی حفظ شد.

به غیر از ۷ موش که به عنوان گروه سالم در نظر گرفته شدند، به ۱۴ سرموش با تزریق درون صفاقی ماده رزپین^۱ (ساخت شرکت سیگما آلدریچ^۲ کشور هند) به میزان یک میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، بیماری پارکینسون القاء شد. تزریق رزپین به مدت پنج روز متوالی با یک برنامه منظم در شبانه روز انجام شد (هابرت و کیرکوود^۳، ۲۰۱۰). پس از پایان دوره القاء و به منظور تأیید القاء بیماری، آزمون چرخشی اجرا 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 (شفیعی و دیگران، ۲۰۱۴).

از ۱۴ سرموشی که تحت القاء پارکینسون قرار گرفتند، ۷ سرموش 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 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 (عباسی و دیگران، ۲۰۲۳). 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 یک نشان داده شده است.

جدول ۱. پروتکل تمرین شنای تناوبی شدید

تعداد (نوبت)	مدت تلاش (ثانیه)	مدت استراحت (ثانیه)	میزان اضافه بار (درصد وزن بدن)
۲۰	۳۰	۳۰	۷
۲۰	۳۰	۳۰	۸
۲۰	۳۰	۳۰	۹
۲۰	۳۰	۳۰	۱۰

1. Reserpine

2. Sigma-Aldrich

3. Hubrecht, R., & Kirkwood



۱۱	۳۰	۳۰	۲۰	هفته پنجم
۱۲	۳۰	۳۰	۲۰	هفته ششم

۴۸ ساعت بعد 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. در نهایت بافت هیپوکامپ استخراج و بلافاصله برای سنجش‌های بعدی به آزمایشگاه منتقل و در دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد فریز شدند. پس از جداسازی بافت هیپوکامپ، مرحله جدا سازی mRNA توسط کیت مخصوص FavorPrep™ Tissue Total RNA Mini Kit و بر اساس دستورالعمل بروشور کیت انجام شد. بعد از استخراج mRNA، مرحله سنتز cDNA با استفاده از ۱۰۰۰ نانوگرم mRNA استخراج شده و پرایمر تصادفی، توسط کیت Thermoscientific-Fischer انجام گردید. سپس، پرایمرهای دو ژن هدف و ژن کنترل 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، نمودارهای تکثیر Real Time-PCR و CT دو ژن هدف و ژن کنترل را برای هر نمونه ترسیم کرد. سپس، مقادیر بیان ژن با استفاده از CT به دست آمده برای هر نمونه و فرمول کمی سازی $2^{-\Delta\Delta CT}$ ، به صورت نسبی محاسبه گردید.

جدول ۲. لیست پرایمرهای استفاده شده

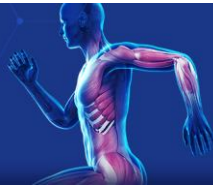
Gene	Primer sequence
mir-23b	F: 5' ACACTCCAGCTGGGATCACATTGCCAGG 3'
	R: 5' TGGTGTCTGGAGTCTCG 3'
mir-let-7	F: 5' AGGTAGTAGTTGTATAGTTG 3'
	R: 5' CCCAGTTATGGCCGTTTA 3'
U6	F: 5' CTCGCTTCGGCAGCACACA 3'
	R: 5' AACGCTTCACGAATTTGCGT 3'

روش آماری

به منظور بررسی توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. از آنجا که داده‌ها دارای توزیع طبیعی بودند، برای بررسی تغییرات متغیرهای مورد مطالعه از آزمون تحلیل واریانس یک راهه همراه با آزمون تعقیبی ال اس دی (LSD) در نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد. حداقل سطح معنی داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

1. Shapiro-Wilk

2. Least Significant Difference (LSD)



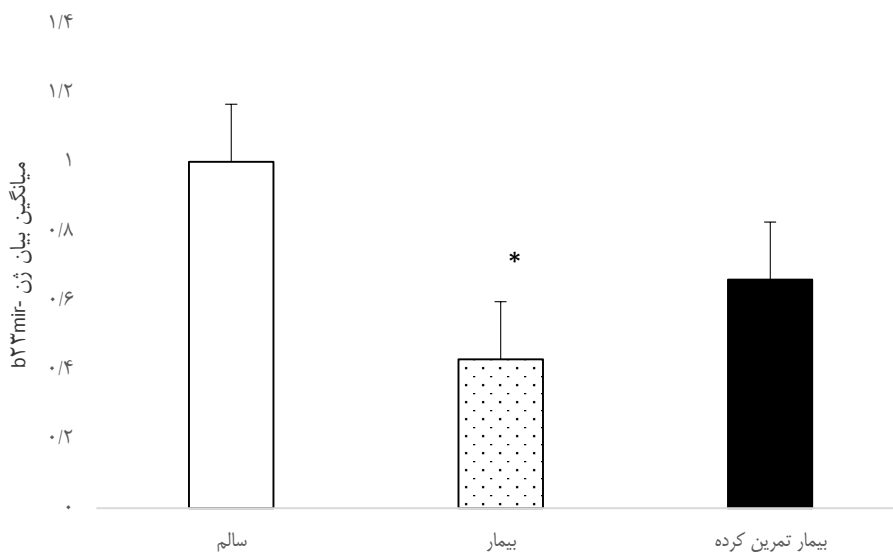
یافته‌ها

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه مربوط به بیان ژن هیپوکامپی mir-23b در جدول ۲ و شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار در بیان ژن این miRNA بین گروه‌های مختلف بود ($p=0/03$ و $F=5/19$). نتایج آزمون تعقیبی LSD حاکی از آن بود که بیان ژن هیپوکامپی mir-23b در گروه بیمار نسبت به گروه سالم به طور معنی‌داری پایین‌تر است ($p=0/01$ و $M=0/57$); اما تفاوتی در بیان ژن mir-23b بین گروه بیمار با گروه بیمار تمرین کرده ($p=0/22$ و $M=-0/23$) و بین گروه بیمار تمرین کرده و گروه سالم ($p=0/09$ و $M=0/33$) مشاهده نشد. از طرف دیگر، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه حاکی از عدم وجود اختلاف معنی‌دار در بیان ژن mir-let-7 بین گروه‌های مختلف بود ($p=0/78$ و $F=0/25$). نتایج نشان داد علی‌رغم کاهش بیان ژن این miRNA در گروه بیمار نسبت به گروه سالم، اما این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p=0/50$). همچنین تفاوت معنی‌داری در بیان ژن این miRNA بین گروه بیمار تمرین کرده و گروه سالم ($p=0/82$) و بین گروه بیمار و گروه بیمار تمرین کرده ($p=0/64$) مشاهده نشد (جدول ۲ و شکل ۲).

جدول ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه در خصوص تغییرات بیان ژن miRNA

متغیرها	شاخص / منابع	میانگین مربعات	درجه آزادی	F	p
mir-23b	بین گروهی	۰/۳۲	۲	۵/۱۹	۰/۰۳*
	درون گروهی	۰/۰۶	۹		
mir-let-7	بین گروهی	۰/۱۳	۲	۰/۲۵	۰/۷۸
	درون گروهی	۰/۵۲	۹		

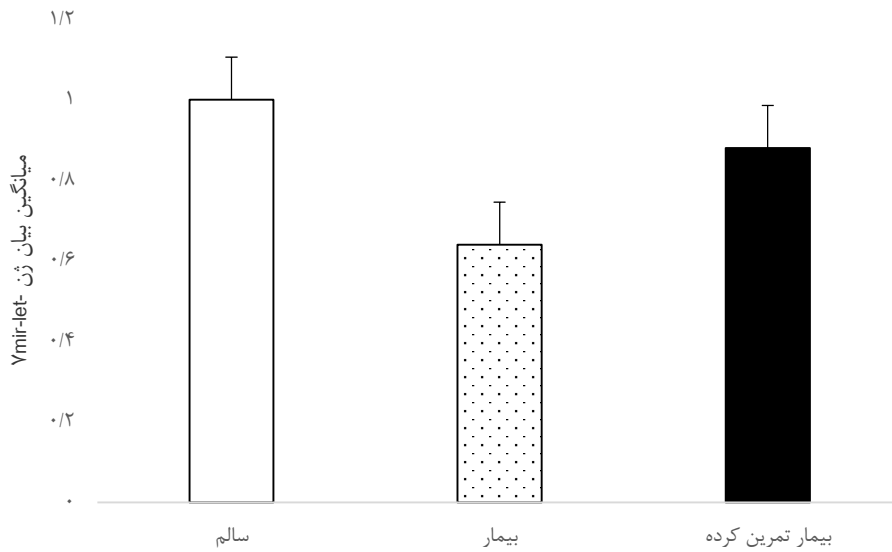
* نشانه اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح $p < 0/05$



شکل ۱. مقایسه بیان نسبی ژن mir-23b در گروه‌های مختلف



* نشانه اختلاف معنی‌دار بین گروه بیمار و گروه سالم در سطح $p < 0.05$



شکل ۲. مقایسه بیان نسبی ژن miR-let-7 در گروه‌های مختلف

پژوهش‌ها در زیست‌شناسی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد بیان ژن هیپوکامپی mir-23b با القاء پارکینسون کاهش معنی‌داری پیدا کرد. miRNAها نشان‌گرهای زیستی ایده‌آلی برای تشخیص تخریب عصبی هستند، زیرا به طور پیوسته با آسیب شناسی عصبی تغییر می‌کنند و از سلول‌های مغز آزاد و وارد جریان خون می‌شوند (گاورمونت و دیگران، ۲۰۲۳). طی سال‌های اخیر، بیان افزایشی یا کاهش‌ی تعدادی از miRNAها در برخی بیماری‌ها از جمله پارکینسون شناسایی شده است (سالمی و دیگران، ۲۰۲۳). همراستا با نتایج مطالعه حاضر، کای و دیگران (۲۰۲۱) گزارش کردند بیان ژن mir-23b در افراد مبتلا به پارکینسون ۹۶/۲۴ درصد پایین‌تر از همسن و سالان سالم خودشان است.

پیش از این عنوان شده است که mir-23b با تسکین التهاب و آپوپتوز عصبی ناشی از هیپوکسی که در بیماری پارکینسون روی می‌دهد، ارتباط دارد (هو و دیگران، ۲۰۱۹). از آنجا که یکی از عواض التهاب عصبی درد است (جی و دیگران، ۲۰۱۸)، لذا کاهش این miRNA موجب افزایش درد در بیماران مبتلا به پارکینسون می‌شود. مطالعات گذشته عنوان کرده‌اند که کاهش mir-23b با افزایش استرس اکسایشی و در ارتباط است و با کاهش بیان ژن این miRNA، گونه‌های فعال اکسیژن افزایش یافته و به تبع آن تخریب نورون‌های عصبی در هیپوکامپ روی می‌دهد (ژائو و دیگران، ۲۰۱۹). از این رو ممکن است یکی از دلایل کاهش mir-23b در گروه بیمار نسبت به گروه سالم در این مطالعه، افزایش سطح استرس اکسایشی در بافت هیپوکامپ باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد اگرچه بیان ژن mir-let-7 در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل سالم کاهش می‌یابد، اما این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار نیست. این نتایج ناهمسو با یافته‌های ژانگ و دیگران (۲۰۱۹) است؛ زیرا این محققین کاهش mir-let-7 در موش‌های مبتلا به پارکینسون را مشاهده کرده‌اند. علت اصلی ناهمسویی در نتایج تحقیق حاضر و مطالعه ژانگ و دیگران ممکن است نحوه القاء بیماری پارکینسون و محل اندازه‌گیری بیان ژن mir-let-7 باشد. لازم به ذکر است که در مطالعه حاضر از تزریق رزپین برای القاء بیماری استفاده شد و بیان ژن نیز در بافت هیپوکامپ مورد بررسی قرار گرفت؛ در حالی که در مطالعه ژانگ و دیگران القاء بیماری با تزریق ویروس‌های AAV2 و آلفا سینوکلئین صورت گرفته و بیان ژن mir-let-7 درون سلول‌های میکروگلیا اندازه‌گیری شده است. مشخص شده است که mir-let-7 نیز با مهار فعالیت میکروگلیا و کاهش تولید مواد پیش التهابی، موجب کاهش تولید آلفا سینوکلئین می‌گردد (ژانگ و دیگران، ۲۰۱۹).

نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن بود که با انجام شنای تناوبی شدید، بیان ژن‌های mir-23b و mir-let-7 در گروه بیمار تمرین کرده افزایش پیدا می‌کند، اما این افزایش نسبت به گروه بیمار معنی‌دار نبود. همچنین، تفاوتی در بیان ژن این دو miRNA بین گروه بیمار تمرین کرده و گروه سالم مشاهده نشد. بر اساس اطلاعات ما، تاکنون تغییرات بیان ژن این miRNAها در پاسخ به انواع مختلف فعالیت ورزشی در نمونه‌های پارکینسونی مورد بررسی قرار نگرفته است. بر خلاف نتایج مطالعه حاضر، افزایش بیان ژن mir-23b در بافت عضلانی پس از

1. Hu

2. Ji

3. Zhu

4. α -synuclein

اجرای تمرینات هوازی (لی و دیگران، ۲۰۱۹) و همچنین پس از اجرای تمرینات ترکیبی (کمر و دیگران، ۲۰۱۶) گزارش شده است. افزایش mir-let-7 نیز در پاسخ به تمرینات هوازی در نمونه‌های مبتلا به سرطان گزارش شده است (انوشه و دیگران، ۲۰۱۵؛ عیسی‌نژاد و دیگران، ۲۰۱۶). همانطور که پیش از این عنوان شد امروزه مشخص شده است که miRNA نقش‌های متفاوتی در بیماری‌های مختلف ایفا می‌کنند. اکثر محققین افزایش بیان ژن این دو miRNA را به کاهش عوامل التهابی از جمله IL-6 و NFκB پس از ورزش نسبت داده‌اند (انوشه و دیگران، ۲۰۱۵؛ الیپولوس^۱ و دیگران، ۲۰۰۹). تفاوت در نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های این مطالعات ممکن است به دلیل اختلاف در نوع بیماری، بافت مورد بررسی و نوع تمرین ورزشی باشد. هرچند ساز و کارهایی که برای افزایش بیان ژن mir-23b و mir-let-7 در پاسخ به فعالیت ورزشی در این مطالعات عنوان شده است می‌تواند مشترک باشد.

از آنجا که به نظر می‌رسد مطالعه حاضر اولین مطالعه‌ای است که تغییرات بیان ژن mir-let-7 و mir-23b را در پاسخ به فعالیت ورزشی در نمونه‌های پارکینسونی بررسی می‌کند، ارائه ساز و کارهای مرتبط با تغییرات آنها مشکل است. با توجه به نتایج مطالعات بالینی گذشته مبنی بر وجود ارتباط بین تغییرات بیان ژن این دو miRNA با عوامل پیش التهابی، فعالیت میکروگلیا و تغییرات آلفا سینوکلئین و در نهایت درد ناشی از التهاب عصبی در بیماران مبتلا به پارکینسون (کای و دیگران، ۲۰۲۱؛ ژانگ و دیگران، ۲۰۱۹)، به نظر می‌رسد تمرین به کار رفته در مطالعه حاضر توانسته است تحریکاتی را در مهار این عوامل ایجاد نماید، اما این تحریک‌ها به اندازه‌ای نبوده‌اند که بتوانند به طور معنی‌دار بیان ژن mir-let-7 و mir-23b را افزایش دهند. با توجه به محدودیت‌های مطالعه حاضر از جمله عدم اندازه‌گیری میزان درد، عدم اندازه‌گیری عوامل التهابی و پیش التهابی در مغز و همچنین عدم ارزیابی فعالیت میکروگلیا و مقدار آلفا سینوکلئین، نیاز به انجام مطالعات دیگر برای بررسی ساز و کارهای کاهش درد در نمونه‌های پارکینسونی به واسطه انجام فعالیت‌های ورزشی ضروری به نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، تمرین شنای تناوبی شدید اثر معنی‌داری بر بیان ژن‌های مرتبط با درد در بیماری پارکینسون ندارد. با توجه عدم اطلاعات کافی در خصوص بررسی ساز و کارهای مرتبط با اثربخشی تمرینات ورزشی بر میزان درد در بیماری پارکینسون با تأکید بر نقش miRNA، به انجام مطالعات بیشتری نیاز است.

تضاد منافع

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

قدردانی و تشکر

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

نسخه پیش از انتشار ویدئو پیش نهاده

- Abbasi, M., Kordi, M., Daryanoosh, F. (2023). 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*. In press.
- Anoosheh, L., Kordi, M.R., Gaeini, A., Mahdian, R., & Mirakhori, Z. (2015). Effects of exercise training on development of breast cancer in mice. *Biomedical & Pharmacology Journal*. 8(2): 785-792. <https://doi.org/10.13005/bpj/827>
- Bayati, M., Gharakhanlou, R., & Farzad, B. (2015). Adaptations of physiological performance following high-intensity interval training. *Sport Physiology*. 7:15-32. [In Persian]. <https://doi.org/10.2322164.1394.7.26.1.3>
- Bjersing, J.L., Lundborg, C., Bokarewa, M.I., & Mannerkorpi, K. (2013). Profile of cerebrospinal microRNAs in fibromyalgia. *PLoS One*. 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078762>
- Buhmann, C., Wrobel, N., Grashorn, W., Freundt, O., Wesemann, K., Diedrich, S., ... & Bingel, U. (2017). Pain in Parkinson disease: A cross-sectional survey of its prevalence, specifics, and therapy. *Journal of Neurology*. 264: 758–769. <https://doi.org/10.1007/s00415-017-8426-y>
- Cai, M., Chai, S., Xiong, T., Wei, J., Mao, W., Zhu, Y., ... & Xiong, N. (2021). 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*. 9: 695007. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.695007>
- Camera D.M., Ong J.N., Coffey V.G., & Hawley J.A. (2016). Selective modulation of microRNA expression with protein ingestion following concurrent resistance and endurance exercise in human skeletal muscle. *Frontiers in Physiology*. 7: 87. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00087>.
- Corder, G., Castro, D.C., Bruchas, M.R., & Scherrer, G. (2018). Endogenous and exogenous opioids in pain. *Annual Review of Neuroscience*. 41(1):453–73. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-080317-061522>.
- Dauer, W., & Przedborski, S. (2003). Parkinson's disease. *Neuron*. 39: 889–909. doi: 10.1016/s0896-6273(03)00568-3.
- Guévremont, D., Roy, J., Cutfield N.J., & Williams, J.M. (2023). MicroRNAs in Parkinson's disease: a systematic review and diagnostic accuracy meta-analysis. *Scientific Reports*. 13:16272. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43096-9>
- Hu, L., Zhang, H., Wang, B., Ao, Q., Shi, J., & He, Z. (2019). MicroRNA-23b alleviates neuroinflammation and brain injury in intracerebral hemorrhage by targeting inositol polyphosphate multikinase. *International Immunopharmacology*. 76:105887. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.105887>.
- Hubrecht, R., & Kirkwood, J. (2010). *UFAW Handbook on the care and management of laboratory and other research animals*. 8th ed. Wiley-Blackwell Publishing Ltd; P:460-520.
- Iliopoulos, D., Hirsch, H.A., & Struhl, K. (2009). An epigenetic switch involving NF- κ B, Lin28, Let-7 MicroRNA, and IL6 links inflammation to cell transformation. *Cell*. 139: 693-706. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.10.014>
- Im, Y.B., Jee, M.K., Choi, J.I., Cho, H.T., Kwon, O.H., & Kang, S.K. (2012). Molecular targeting of NOX4 for neuropathic pain after traumatic injury of the spinal cord. *Cell Death and Disease*. 3: e426. <https://doi.org/10.1038/cddis.2012.168>

- Isanejad, A., Alizadeh A.M., Amani Shalamzari S., Khodayari, H., Khodayari, S., Khori, V. ... & Khojastehnezhad, N. (2016). MicroRNA-206, let-7a and microRNA-21 pathways involved in the anti-angiogenesis effects of the interval exercise training and hormone therapy in breast cancer. *Life Sciences*. 151: 30-40. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.02.090>.
- Ji, R, Nackley, A., Huh, Y., Terrando, N., & Maixner, W. (2018). Neuroinflammation and central sensitization in chronic and widespread pain. *Anesthesiology*. 129: 343–366. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000002130>.
- Kielb, S., Kisanuki, Y.Y., & Dawson, E. (2021). Neuropsychological profile associated with an alpha-synuclein gene (SNCA) duplication. *Clinical Neuropsychologist*. 36(7): 1787-1798. <https://doi.org/10.1080/13854046.2021.1914735>.
- Lee, M., Wada, S., Oikawa, S., Suzuki, K., Ushida, T., & Akimoto, T. (2019). Loss of microRNA-23–27–24 clusters in skeletal muscle is not influential in skeletal muscle development and exercise-induced muscle adaptation. *Scientific Reports*. 9:1092. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37765-3>.
- Nagle, E.F., Sanders, M.E., & Franklin, B.A. (2017). Aquatic high intensity interval training for cardiometabolic health: Benefits and training design. *American Journal of Lifestyle Medicine*. 11(1): 64-76. <https://doi.org/10.1177/1559827615583640>
- Nummenmaa, L., & Tuominen, L. (2018). Opioid system and human emotions. *British Journal of Pharmacology*. 175(14):2737–49. <https://doi.org/10.1111/bph.13812>.
- Nussbaum, R.L., & Ellis, C. E. (2003). Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *New England Journal of Medicine*. 348: 1356–1364. <https://doi.org/10.1056/NEJM2003ra020003>.
- Parent, A. (2018). A tribute to James Parkinson. *Canadian Journal of Neurological Sciences*. 45(1):83-89. [doi: 10.1017/cjn.2017.270](https://doi.org/10.1017/cjn.2017.270).
- Ryu, D.W., Han, K., & Cho, A. (2023). Mortality and causes of death in patients with Parkinson's disease: a nationwide population-based cohort study. *Front Neurology*. 14: 1-13. <https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1236296>.
- Salemi, M., Marchese, G., Lanza, G., Cosentino, F.I.I., Salluzzo, M.G., Schillaci, F.A., ... & Ferri, F. (2023). Role and dysregulation of miRNA in patients with Parkinson's disease. *International Journal of Molecular*. 24(1): 712. <https://doi.org/10.3390/ijms24010712>.
- Shafiee, A., Gaeini, A., Soleimani, M., Nekouei, A., & Hadidi V. (2014). The effect of eight week of high intensity interval training on expression of mir-210 and ephrinA3 mRNA in soleus muscle healthy male rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 2014;17(3):26-34. [In Persian].
- Sun, L., Liu, A., Zhang, J., Ji, W., Li, Y., Yang, X., ... & Guo, J. (2018). miR-23b improves cognitive impairments in traumatic brain injury by targeting ATG12-mediated neuronal autophagy. *Behavioural Brain Research*. 340: 126–136. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.09.020>.
- Zahraei, H., Mogharnasi, M., Afzalpour, M.E., & Fanaei, H. (2022). 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*. 15(1):33-44. <https://doi.org/10.52547/joeppa.15.1.33>

Zhang, J., Zhou, D., Zhang, Z., Qu, X., Bao, K., Lu, G., ... & Duan, J. (2019). miR-let-7a suppresses α -Synuclein-induced microglia inflammation through targeting STAT3 in Parkinson's disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 519(4): 740-746. [https://doi: 10.1016/j.bbrc.2019.08.140](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.08.140).

Zhu, X., Zhang, A., Dong, J., Yao, Y., Zhu, M., Xu, K., & Al Hamda, M.H. (2019). MicroRNA-23a contributes to hippocampal neuronal injuries and spatial memory impairment in an experimental model of temporal lobe epilepsy. *Brain Res Bull*, 152(2019): 175-183. [https://doi:10.1016/j.brainresbull.2019.07.021](https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2019.07.021)

مجله پیش از انتشار ویدئو پیش نهاده