Journal of Sport and Exercise Physiology
2023,16(4):80-88

Original Article

# The effect of high intensity interval swimming training on Glial cell line-derived neurotrophic factor and Rearranged during transfection (RET) gene expression in hippocampal tissue in rats with reserpine induced-Parkinson's disease

Sahar Abdullahi[1], Mehrzad Moghdisi[1*], Mohammad Amin Adalatmanesh[2], Sara Hojjati[1]

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

## Abstract

**Background and Purpose:** Parkinson's disease is a progressive neurological disorder, where loss of dopamine neurons in the substantia nigra and dopamine depletion in the striatum cause characteristic motor and nonmotor symptoms. Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) is one of the most important neurotrophins that regenerates dopaminergic neurons by Rearranged during transfection (RET) receptor tyrosine kinase in Parkinson's disease. The effect of exercise on these proteins are not well known. Therefore, the present study was conducted to examine the effect of high intensity swimming training on GDNF and RET gene expression in hippocampal tissue in rats with Parkinson's disease.

**Materials and Methods:** In this experimental and pure study, twenty-one male Wistar rats (age 8 to 10 weeks and weight 200-250 gr) were purchased from the Animal Breeding Center of Islamic Azad University, Shiraz branch and transferred to the animal laboratory of this university. Parkinson's disease was induced in fourteen rats by injection of 1 mg/kg reserpine during 5 days. Thereafter, they were randomly divided into Parkinson's disease group or Parkinson's disease + training group. The rats in the training group performed 6 weeks of high intensity interval swimming including 20 repetitions of 30 seconds swimming followed by 30 seconds rest. Moreover, seven remaining rats received no intervention and were allocated into the healthy control group. GDNF and RET gene expressions were measured in hippocampus 48h after the last training session, using Real Time-PCR. Data were analyzed by using one-way ANOVA test and Bonferoni's post-hoc. Data were analyzed by using SPSS22 at the $P<0.05$..

**Results:** Data analyzes revealed that GDNF and RET gene expression were reduced after induction of Parkinson's disease compared to the healthy control group ($P=0.001$, $P=0.03$, respectively). After 6 weeks of training, GDNF and RET gene expressions were increased compared to the Parkinson's disease group ($P=0.009$, and $P=0.007$, respectively), whereas, no significant differences were observed between training group and healthy control group ($P=0.6$ and $P=0.9$. respectively).

**Conclusion:** In general, it seems that high-intensity interval swimming training used in this study could improve dopaminergic neuron survival in Parkinson's disease by increasing GDNF as a neurotrophine factor and subsequent signaling receptor tyrosine kinase RET. Since, the available data are scars in this field, future studies specially in human are needed.

**Keywords:** High-Intensity Interval Swimming Training, Parkinson's Disease, GDNF, RET

**How to cite this article:** Abdullahi S, Moghdisi M, Adalatmanesh MA, Hojjati S. The effect of high intensity interval swimming training on Glial cell line-derived neurotrophic factor and Rearranged during transfection (RET) gene expression in hippocampal tissue in rats with reserpine induced-Parkinson's disease. J Sport Exerc Physiol. 2023;16(4):80-88.

*Corresponding Author's E-mail: mehrzad.moghadasi@iau.ac.ir
https://doi.org/ 10.48308/joeppa.2024.234237.1216
Received: 30/11/2023 Revised: 18/12/2023 Accepted: 23/12/2023

Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی
۱۴۰۲/ دوره ۱۶/ شماره ۴/ صفحه‌های ۸۰-۸۸

مقاله پژوهشی

# تأثیر تمرین شنای تناوبی شدید بر بیان ژن GDNF و RET در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی پارکینسونی‌شده با رزرپین

سحر عبداللهی[۱]، مهرزاد مقدسی[۱*]، محمدامین عدالت‌منش[۲]، سارا حجتی[۱]

۱. گروه علوم ورزشی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

۲. گروه زیست‌شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

## چکیده

**زمینه و هدف:** بیماری پارکینسون، اختلال عصبی پیشرونده است که در آن از دست دادن نورون‌های دوپامین در جسم سیاه و کاهش دوپامین در جسم مخطط سبب دامنهٔ گسترده‌ای از نشانه‌های حرکتی و غیرحرکتی می‌شود. عامل نوروتروفیک مشتق از سلول‌های گلیال (GDNF)، یکی از مهم‌ترین نوروتروفین‌هاست که از طریق گیرندهٔ تیروزین کیناز RET (Rearranged during transfection) اثر ترمیمی خود را بر نورون‌های دوپامینرژیک در بیماری‌هایی همچون پارکینسون می‌گذارد. اثر فعالیت‌های ورزشی بر بیان ژن این دو پروتئین به‌درستی روشن نیست. ازاین‌رو هدف این پژوهش بررسی اثر یک دوره تمرین شنای تناوبی شدید بر بیان ژن GDNF و RET در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به پارکینسون بود.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش تجربی و بنیادی، ۲۱ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار هشت تا ده‌هفته‌ای با میانگین وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از مرکز پرورش حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز تهیه و در آزمایشگاه حیوانی این دانشگاه نگهداری شدند. ۱۴ سر موش با تزریق یک میلی‌گرم رزرپین به ازای هر کیلو وزن بدن و طی پنج روز به بیماری پارکینسون مبتلا شدند. سپس به‌طور تصادفی در دو گروه تمرین و بیمار قرار گرفتند. موش‌های گروه تمرین به مدت شش هفته در چارچوب ۲۰ نوبت ۳۰ ثانیه‌ای با ۳۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت شنا کردند. هفت سر موش نیز بدون هرگونه مداخله به‌عنوان گروه کنترل سالم در نظر گرفته شدند. ۴۸ ساعت پس از جلسهٔ پایانی تمرین، بیان ژن GDNF و RET در بافت هیپوکامپ به روش Real Time-PCR اندازه‌گیری شد. از آزمون تحلیل واریانس یکراهه و آزمون تعقیبی بنفرونی برای بررسی داده‌ها استفاده شد. داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۲ و در سطح معناداری P<۰/۰۵ تجزیه‌وتحلیل شدند.

**نتایج:** یافته‌ها نشان داد با القای بیماری پارکینسون، بیان ژن هیپوکامپی GDNF و RET در گروه بیمار نسبت به گروه سالم به‌طور معناداری کمتر بود (به‌ترتیب P=۰/۰۰۱ و P=۰/۰۳). با اجرای شش هفته تمرین شنای تناوبی شدید، بیان ژن GDNF و RET در گروه تمرین نسبت به گروه بیمار به‌طور معنادار بیشتر بود (به‌ترتیب P=۰/۰۰۹ و P=۰/۰۰۷)؛ اما تفاوتی در بیان ژن GDNF و RET بین گروه تمرین و گروه سالم دیده نشد (به‌ترتیب P=۰/۶ و P=۰/۹)..

**نتیجه‌گیری:** به‌طور کلی، گویا تمرین شنای تناوبی شدید می‌تواند با افزایش عامل نوروتروفین GDNF و پیام‌های پایین‌دست یعنی RET در بقای نورون‌های دوپامینرژیک در بیماری پارکینسون مؤثر باشد. البته به‌دلیل برخی محدودیت‌ها، انجام پژوهش بیشتر به‌ویژه روی نمونه‌های انسانی نیاز است.

**واژه‌های کلیدی:** بیماری پارکینسون، تمرین شنا، هیپوکامپ، نوروتروفین‌ها

**نحوهٔ استناد به این مقاله:** عبداللهی س، مقدسی م، عدالت‌منش م، حجتی س. تأثیر تمرین شنای تناوبی شدید بر بیان ژن GDNF و RET در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی پارکینسونی‌شده با رزرپین. نشریهٔ فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۲؛۱۶(۴):۸۰-۸۸.

* رایانامهٔ نویسندهٔ مسئول: mehrzad.moghadasi@iau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۰۹ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۲

## مقدمه

بیش از ده میلیون نفر در سرتاسر جهان به بیماری پارکینسون مبتلا هستند و میزان شیوع و همه‌گیری آن در افراد مسن رو به افزایش است (۱). یکی از شاخص‌های بارز بیماری پارکینسون، کاهش نورون‌های دوپامینرژیک در جسم سیاه مغز میانی است که تخلیهٔ دوپامین را در پوتامن و هستهٔ دُمی (Caudate nucleus) را به‌دنبال دارد (۲). نتیجهٔ این موضوع، آشفتگی در مدار عقده‌های قاعده‌ای – نورون‌های تالاموکورتیکال (Basal ganglia-thalamocortical neural circuitry) است که پیامدهایی مانند برادی کینزی (Bradykinesia)، سفتی، لرزش در حالت استراحت و بی‌ثباتی وضعیت را در پی دارد (۳). برآورد شده است که با شناخت اولین نشانه‌های بیماری، حدود ۳۰ درصد از نورون‌های دوپامینرژیک جسم سیاه و حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد نورون‌های دوپامینرژیک جسم مخطط از بین رفته است (۴).

نوروتروفین‌ها (Neurotrophins)، گروهی از پروتئین‌ها هستند که اعمال گوناگونی از جمله بقای عصب، رشد آکسون، تشکیل سیناپس و نورون‌زایی را افزایش می‌دهند (۵). از مهم‌ترین عوامل نوروتروفیک می‌توان به عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF)، فاکتور رشد عصب (NGF)، فاکتور نوروتروفیک مشتق از سلول‌های گلیال (GDNF)، نیورتورین (Neurturin)، آرتمین (Artemin) و پرسفین (Persephin) اشاره کرد (۶). GDNF یکی از مهم‌ترین نوروتروفین‌هاست که تأثیرات بسیار قوی در بقای نورون‌های دوپامینرژیک، نورون‌های حرکتی، حسی، سمپاتیکی و پاراسمپاتیکی دارد (۷). همچنین GDNF موجب رشد سیناپس، تمایزپذیری سلول عصبی و رشد عصب می‌شود (۸). مسیرهای پیام‌رسانی عملکرد GDNF بسیار پیچیده است، زیرا این عامل نوروتروفیک می‌تواند از مسیرهای گوناگونی تأثیر خود را اعمال کند (۹). GDNF بیشتر از راه تشکیل مجموعهٔ GFRα۱/GDNF تأثیرات خود را اعمال می‌کند (۱۰). این مجموعه با پیوند به گیرنده‌هایی از جمله گیرندهٔ تیروزین کیناز (RET (Rearranged during transfection فعال می‌شود (۹). با تشکیل مجموعهٔ RET/GDNF/GFRα۱، تأثیرات مثبت GDNF به‌ویژه ترمیم و بقای نورون‌های دوپامینرژیک اعمال می‌شود (۸ ،۱۱). پژوهش‌های گوناگون نشان داده‌اند که در بیماری پارکینسون، مقدار GDNF و گیرندهٔ اصلی عملکرد آن یعنی RET کاهش پیدا می‌کند و یکی از مهم‌ترین دلایل آسیب‌های نورونی در این بیماری، کاهش GDNF و کاهش تشکیل مجموعهٔ RET/GDNF/GFRα۱ است (۹،۱۲).

استفاده از فعالیت‌های ورزشی به‌عنوان یک روش غیرتهاجمی با رویکرد حمایتی برای افزایش سطح نوروتروفین‌ها در مغز پیشنهاد شده است (۱۳). اثر فعالیت‌های ورزشی بر نوروتروفین‌های گوناگون بررسی شده و چندین پژوهش نیز تغییرات GDNF در پاسخ به فعالیت ورزشی را بررسی کرده‌اند. برای نمونه افزایش GDNF در نمونه‌های حیوانی سالم (۱۴-۱۶)، مبتلا به دیابت نوع یک (۱۷) و همچنین، مبتلا به نوروپاتی دیابتی (۱۸) پس از اعمال فعالیت‌های ورزشی نشان داده شده است. با جست‌وجوی انجام‌گرفته روشن شد تنها یک پژوهش به بررسی اثر فعالیت ورزشی بر تغییرات GDNF در نمونه‌های پارکینسونی پرداخته و طی آن آبادیان و فلاح محمدی (۱۳۹۱) نشان دادند پس از ۱۲ هفته فعالیت روی چرخ دوار، تراز GDNF موش‌های پارکینسونی افزایش معناداری یافته است (۱۹). با این همه، پژوهش دربارهٔ تغییرات RET در نمونه‌های پارکینسونی به‌دست نیامد. از سوی دیگر، تمرین‌های تناوبی با شدت بالا نیز شیوهٔ نوینی از تمرین هستند که با شدت زیاد و در تناوب‌های کوتاه‌مدت اجرا می‌شوند و شاید تأثیرات ناهمسانی نسبت به دیگر شیوه‌های تمرینی داشته باشد (۲۰). از آنجا که در این شیوهٔ تمرینی هر دو دستگاه هوازی و بی‌هوازی در بازسازی انرژی درگیر می‌شوند، سازگاری‌های نوینی از جمله سازگاری‌های محیطی، عصبی و قلبی- عروقی بر اثر این نوع تمرین‌ها ایجاد می‌شود (۲۱). از سوی دیگر، گفته شده است که اجرای تمرین در آب بر خلاف تمرین در خشکی، به‌دلیل ویژگی هیدرودینامیکی و ایجاد شرایط بی‌وزنی موجب کاهش آسیب ناشی از تمرین می‌شود (۲۲). از آنجا که اطلاع دقیقی از اثر تمرین شنای تناوبی شدید بر سازوکارهای وابسته به بیماری پارکینسون نیست، ازاین‌رو در پژوهش حاضر به بررسی اثر یک دورهٔ شش‌هفته‌ای تمرین شنای تناوبی شدید بر بیان ژن GDNF و RET در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به پارکینسون پرداخته شد.

## روش پژوهش

**نمونه‌های پژوهش:** در این پژوهش تجربی و آزمایشگاهی، ۲۱ سر موش نر صحرایی نژاد ویستار

هشت تا ده‌هفته‌ای با میانگین وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز خریداری و در آزمایشگاه حیوانی این دانشگاه نگهداری شدند. موش‌ها به مدت یک هفته در گروه‌های چهارتایی درون قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات پوشیده‌شده با خاک‌اره در دمای ۲۲ تا ۲۴ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۵ درصد نگهداری شدند تا سازگاری با محیط آزمایشگاه شکل گیرد. در این مدت چرخهٔ ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی حفظ شد و آب و غذای ویژهٔ جوندگان به‌طور آزادانه در اختیار آنها قرار گرفت. در کل دورهٔ پژوهش همهٔ اصول اخلاق در پژوهش رعایت شد و کمیتهٔ اخلاق در پژوهش حوزهٔ معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز شمارهٔ کد IR.IAU.SHIRAZ.REC.۱۴۰۲.۲۸۴ را برای این پژوهش صادر کرد.

**روش اجرای پژوهش:** از ۲۱ سر موش صحرایی، هفت سر به‌عنوان گروه سالم در نظر گرفته شد و هیچ‌گونه مداخله‌ای روی آنها انجام نگرفت. ۱۴ سر باقیمانده با تزریق درون‌صفاقی یک میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن رزرپین (Reserpine) ساخت شرکت سیگما آلدریچ کشور هند و به مدت پنج روز، بیماری پارکینسون القا شد. تزریق رزرپین به مدت پنج روز پیاپی با برنامهٔ منظم در شبانه‌روز انجام شد (۲۳). پس از پایان دورهٔ القای پارکینسون، از آزمون چرخشی برای تأیید القای بیماری استفاده شد. حدود دو سانتی‌متر از بالای محل اتصال دم به بدن موش گرفته و موش بالا آورده می‌شد، به‌طوری‌که بینی حیوان دو سانتی‌متر بالای سطح اتکا قرار گیرد. چنانچه حیوان نمی‌توانست تعادلش را حفظ کند و شروع به چرخش به سمت راست و چپ می‌کرد، به‌عنوان نشانهٔ القای پارکینسون در نظر گرفته می‌شد (۲۴).

پس از اطمینان از القای پارکینسون، هفت سر موش صحرایی در گروه تمرین و هفت سر در گروه بیمار قرار گرفتند. موش‌های گروه تمرین به مدت یک هفته مرحلهٔ آشنایی با استخر حیوانات (قطر ۱۶۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر) را 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 آشنا، برای آموزش شنای تناوبی، چند بار پس از یک دقیقه شنا حیوانات به‌وسیلهٔ صفحهٔ استراحت از آب بیرون آورده شده و دوباره در آب قرار داده می‌شدند. پس از پایان دورهٔ آشناسازی، شش هفته برنامهٔ اصلی تمرین شنای تناوبی شدید آغاز شد که به‌صورت سه روز در هفته و یک روز در میان اجرا شد. در این شیوهٔ تمرینی، بار اعمال‌شده در هفتهٔ اول وزنه‌ای به میزان هفت درصد وزن بدن هر موش صحرایی بود که به دم آنها بسته شده و هر هفته به میزان یک درصد به وزن آن اضافه شد؛ به‌طوری‌که در هفتهٔ آخر موش‌ها با وزنه‌ای به میزان ۱۲ درصد بدن خود تمرین شنا را انجام دادند (۲۵). پس از هر جلسه تمرین در آب، موش‌های صحرایی با حوله خشک شده و به محل نگهداری منتقل شدند.

**روش‌های آزمایشگاهی:** همهٔ آزمودنی‌ها ۴۸ ساعت پس از جلسهٔ پایانی تمرینی به کمک تزریق درون‌صفاقی ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (سه میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند. بافت هیپوکامپ استخراج و بلافاصله برای سنجش‌های بعدی به آزمایشگاه منتقل شده و در دمای منهای ۸۰ منجمد شد. پس از استخراج بافت هیپوکامپ مغز برای بررسی بیان ژن‌های GDNF و RET از روش Real Time-PCR استفاده شد. نخست به کمک کیت ستونی استخراج RNA (FavorPrep™ Tissue Total RNA Mini Kit) ساخت هنگ‌کنگ کل محتویات RNA سلول استخراج شد. برای اطمینان از کیفیت RNA استخراج‌شده، پنج میکرولیتر از آن روی ژل آگارز الکتروفورز و همچنین، جذب آن در طول موج ۲۶۰ نانومتر با دستگاه پیکو دراپ شرکت سیگما (ساخت آمریکا) خوانده شد. سپس RNA حاصله تا زمان استفاده در دمای منهای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از استخراج mRNA، مرحلهٔ ساخت cDNA با استفاده از ۱۰۰۰ نانوگرم mRNA استخراج شده و پرایمر راندوم، به کمک کیت Thermoscientific-Fischer انجام شد. سپس آغازگرهای دو ژن هدف و ژن کنترل با مشخصات ارائه‌شده در جدول ۱ آماده و با کمک دستگاه Real Time-PCR نمونهٔ cDNA آماده شد و آغازگرها 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 بیان ژن با به‌کارگیری CT به‌دست‌آمده برای هر نمونه و فرمول کمی‌سازی $-CT^{2\Delta\Delta}$، به‌صورت نسبی برآورد شد.

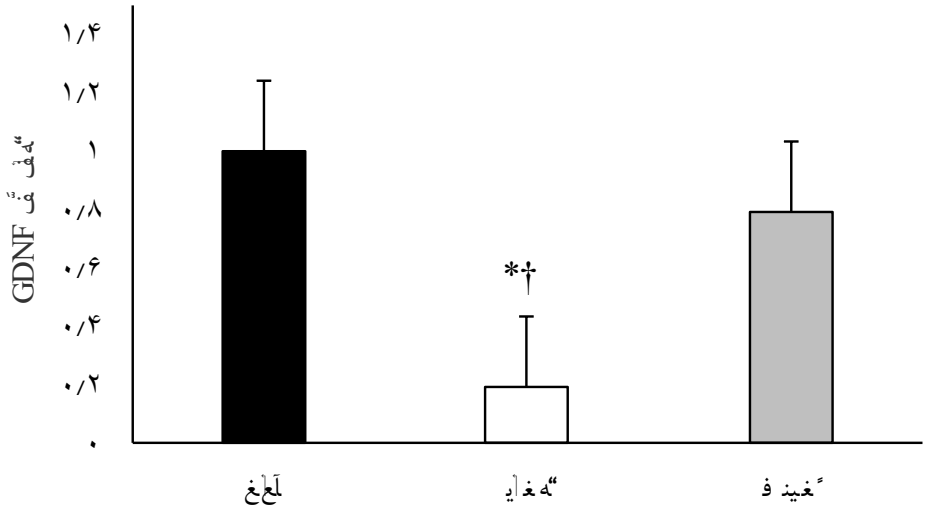
**جدول ۱. ویژگی آغازگرهای به‌کاررفته**

| Genes | Primer sequence |
|---|---|
| GDNF | ′۳ GCTGACCAGTGACTCCAATATGC ′۵ :F |
| | ′۳ CCTCTGCGACCTTTCCCTCTG ′۵ :R |
| RET | ′۳ AGATGATGGTCAAAAGCAGAGACT ′۵ :F |
| | ′۳ TTCGGTGGGATCGGAAACAC ′۵ :R |
| TBP | ′۳ GCGGGGTCATGAAATCCAGT ′۵ :F |
| | ′۳ AGTGATGTGGGGACAAAACGA ′۵ :R |

**تحلیل آماری:** آزمون شاپیروویلک برای بررسی توزیع طبیعی داده‌ها به‌کار گرفته شد. با توجه به توزیع طبیعی داده‌ها، تغییرات متغیرهای مورد پژوهش از آزمون تحلیل واریانس یکراهه و آزمون تعقیبی بنفرونی در نرم‌افزار SPSS ویراست ۲۲ بررسی شد. در همهٔ بررسی آماری تراز معناداری کمتر از پنج‌صدم (P >۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

## نتایج

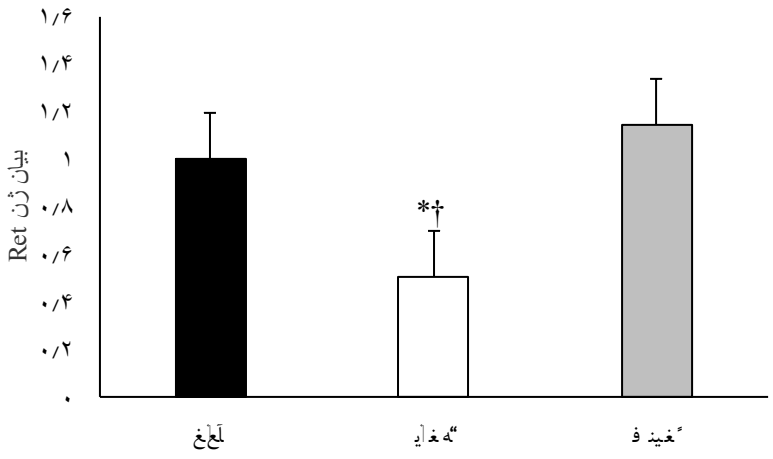
نتایج آزمون تحلیل واریانس یکراهه بیان ژن هیپوکامپی GDNF در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج حاکی از وجود تفاوت معنادار در بیان ژن این پروتئین بین گروه‌های گوناگون بود (P=۰/۰۰۱ ؛F=۱۵/۴). نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی حاکی از آن بود که بیان ژن هیپوکامپی GDNF در گروه بیمار نسبت به گروه سالم و گروه تمرین به‌طور معناداری پایین‌تر است (به‌ترتیب P=۰/۰۰۱؛ M=۰/۸ ؛P=۰/۰۰۹ ؛M=۰/۶)؛ اما ناهمسانی در بیان ژن آن بین گروه تمرین و گروه سالم (P=۰/۶ ؛M=۰/۲) دیده نشد. همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه دربارهٔ بیان ژن RET در شکل ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد بیان ژن RET نیز در بین گروه‌های گوناگون به‌طور معنادار ناهمسان است (F=۹/۴؛ P=۰/۰۰۶). نتایج آزمون تعقیبی مشخص کرد بیان ژن RET در گروه بیمار نسبت به گروه سالم و گروه تمرین به‌طور معناداری پایین‌تر است (به‌ترتیب P=۰/۰۳ ؛M=۰/۴؛ P=۰/۰۰۷ ؛M=۰/۶)؛ اما بیان ژن RET بین گروه تمرین و گروه سالم (M=۰/۱؛ P=۰/۹) ناهمسان نبود.




**شکل ۱. میانگین بیان ژن GDNF در گروه‌های گوناگون**

* اختلاف معنادار با گروه سالم (P<۰/۰۵)

† اختلاف معنادار با گروه تمرین (P<۰/۰۵)




**شکل ۲. میانگین بیان ژن RET در گروه‌های گوناگون**

*** اختلاف معنادار با گروه سالم (P<۰/۰۵)**

**† اختلاف معنادار با گروه تمرین (P<۰/۰۵)**

## بحث و نتیجه‌گیری

این پژوهش با هدف بررسی اثر شش هفته تمرین شنای تناوبی شدید بر بیان ژن هیپوکامپی GDNF و RET موش‌های صحرایی مبتلا به پارکینسون انجام گرفت. نتایج نشان داد که پس از القای پارکینسون، بیان ژن GDNF و RET در گروه بیمار به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل سالم کمتر بود. بیماری پارکینسون با از دست دادن نورون‌های دوپامینرژیک همراه است و از بین رفتن این نورون‌ها همواره رو به پیشرفت است؛ چراکه محتوای میتوکندریایی این نورون‌ها از دست می‌رود و این مسئله موجب کاهش عملکرد جسم سیاه مغز می‌شود (۲۶). حدود سه دهه است که GDNF به‌عنوان یک عامل نوروتروفین شناسایی شده و نقش آن نه‌تنها در بقا و شکل‌پذیری نورون‌های عصبی، بلکه در تکثیر، تمایزپذیری و محافظت از نورون‌های دوپامینرژیک نیز مشخص شده است (۲۷). GDNF از نورون‌های دوپامینرژیک در برابر نوروتوکسین‌ها (Neurotoxins) حین بیماری پارکینسون محافظت کرده (۲۷) و با افزایش عوامل رونویسی از جمله Nurr۱ و PITX۳ در بقای نورون‌های دوپامینرژیک نقش دارد (۲۸،۲۹). همچنین GDNF تأثیرات تروفیکی خود را از طریق تشکیل مجموعهٔ GDNF/GFRα۱ و به‌دنبال آن فعال کردن RET انجام می‌دهد (۱۰). با تشکیل مجموعهٔ RET/GDNF/GFRα۱ یک رشته واکنش‌های MAPK/ ERK/PI۳K/Akt/JNK رخ می‌دهد که سرانجام به بقای نورون‌های دوپامینرژیک منجر می‌شود (۲۷،۲۹،۳۰). افزون بر آن، همزمان با فعال شدن مسیرهای بقای نورون‌های دوپامینرژیک به کمک GDNF، مرگ نورون‌های دوپامینرژیک نیز از طریق مهار p۵۳، β-GSK۳ و کاسپاز-۹ کاهش پیدا می‌کند (۳۱).

همان‌طورکه گفته شد، RET که بر اثر GDNF فعال می‌شود، مسئول اصلی تشکیل آبشارهای پیام‌رسانی پایین‌دست است که در رشد، بقا، تمایزپذیری و شکل‌پذیری نورون‌ها نقش دارند (۳۲). همراستا با نتایج این پژوهش، دیگر یافته‌های پیشین نیز نشان داده‌اند که تراز GDNF و RET در بیماری پارکینسون کاهش می‌یابد و با کاهش این دو پروتئین، از یک سو بقای نورون‌های دوپامینرژیک کم می‌شود و از سوی دیگر سازوکارهای مرگ سلولی افزایش پیدا می‌کند (۹،۱۲). با این همه، سازوکارهای وابسته به کاهش GDNF و RET بر اثر بیماری پارکینسون به‌درستی روشن نیست (۲۱). یکی از دلایل کاهش GDNF و RET در بیماران پارکینسونی، افزایش پروتئین آلفا سینوکلئین است (۳۳). گفته شده است که پروتئین آلفا سینوکلئین با کاهش عامل رونویسی Nurr۱ موجب کاهش GDNF و RET می‌شود (۳۳). ازاین‌رو اگرچه در پژوهش حاضر پروتئین آلفا سینوکلئین اندازه‌گیری نشد، شاید علت کاهش بیان ژن GDNF و RET در گروه بیمار نسبت به گروه سالم، افزایش آلفا سینوکلئین باشد.

از دیگر نتایج این پژوهش، افزایش بیان ژن GDNF در گروه تمرین نسبت به گروه بیمار و ناهمسان نبودن در بیان ژن این پروتئین با گروه سالم بود. یافته‌ها، انجام

فعالیت‌های ورزشی را به‌عنوان یک روش غیرتهاجمی برای افزایش تراز نوروتروفین‌ها در مغز و افزایش نوروژنز و آنژیوژنز پیشنهاد کرده‌اند (۱۳). بر پایهٔ یافته‌های حاضر تنها در یک پژوهش روی نمونه‌های پارکینسونی و همراستا با نتایج پژوهش حاضر روشن شده که بیان ژن GDNF در مخچهٔ موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار پس از ۱۲ هفته فعالیت روی چرخ دوار افزایش یافته است (۱۹). دربارهٔ تغییرات این ژن در نمونه‌های دیگر پژوهش‌هایی صورت گرفته است. برای نمونه کریمی و کاکی (۱۴۰۰) نشان دادند که بیان ژن GDNF در موش‌های صحرایی دارای درد ناشی از نوروپاتی دیابتی پس از هشت هفته تمرین هوازی افزایش یافته است (۱۸). همچنین افزایش محتوای پروتئینی GDNF در اعصاب متصل به ماهیچهٔ اسکلتی دست موش‌های صحرایی پس از شش ماه دویدن گزارش شده است (۱۶). در یک پژوهش جالب، نشان داده شد نه‌تنها شدت فعالیت، بلکه نوع تار ماهیچه نیز می‌تواند در بیان ژن GDNF مؤثر باشد (۱۴). در این پژوهش گیورکوس و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند بیان ژن GDNF در محل اتصال عصب به هر دو ماهیچهٔ نعلی (به‌عنوان عضلهٔ کندانقباض) و بازکنندهٔ دراز انگشتان (به‌عنوان ماهیچهٔ تندانقباض) پس از تمرین دویدن با شدت پایین افزایش معناداری یافت، اما پس از تمرین شنای شدید بیان ژن GDNF تنها در پیوندگاه عصب به ماهیچهٔ بازکنندهٔ دراز انگشتان افزایش معناداری پیدا کرد (۱۴).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد بیان ژن RET در گروه تمرین نسبت به گروه بیمار افزایش معناداری یافته است و اختلافی بین گروه تمرین و بیمار از دید بیان ژن RET دیده نشد. در تنها پژوهش به‌دست‌آمده، سمندیان و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند بیان ژن GDNF و RET در موش‌های دیابتی نوع یک پس از اجرای شش هفته تمرین هوازی با شدت بالا به‌طور معنادار افزایش پیدا کرد (۱۷). یافته‌های بالینی علت کاهش GDNF و در پی آن کاهش تشکیل مجموعهٔ GDNF/ RET/GFRα۱ در بیماران پارکینسونی را افزایش پروتئین آلفا سینوکلئین عنوان کرده‌اند (۳۳). بنابراین شاید یکی از دلایل افزایش بیان ژن GDNF و RET در این پژوهش، کاهش آلفا سینوکلئین بر اثر فعالیت ورزشی باشد. از سوی دیگر، مغز به‌دلیل داشتن چربی فراوان، نیاز انرژی بسیار زیاد و ظرفیت ضداکسایشی پایین در معرض خطر فشار اکسایشی فراوانی است (۳۴). روشن شده است که یکی از عوامل کاهش‌دهندهٔ نوروتروفین‌ها، افزایش فشار اکسایشی است (۳۵) و در سوی دیگر، یکی از تأثیرات مثبت GDNF در بیماران پارکینسونی، کاهش فشار اکسایشی است (۳۶). یافته‌ها به‌خوبی نشان داده‌اند که فعالیت‌های ورزشی و از جمله تمرین‌های تناوبی با شدت بالا، تأثیرات ضداکسایشی را در بدن اعمال می کند و موجب کاهش فشار اکسایشی می‌شود (۳۷،۳۸). بنابراین، یکی دیگر از سازوکارهای احتمالی افزایش GDNF و RET در پژوهش حاضر شاید افزایش عوامل ضداکسایشی و کاهش عوامل فشار اکسایشی در مغز باشد. پژوهش حاضر با محدودیت‌هایی از جمله عدم اندازه‌گیری پروتئین آلفاسینوکلئین و نشانگرهای فشار اکسایشی و ضداکسایشی همراه بود. با اندازه‌گیری این شاخص‌ها می‌توان به سازوکارهای دقیق‌تری برای توجیه تغییرات GDNF و RET در نمونه‌های پارکینسونی اشاره کرد. به‌طور کلی و با توجه به نتایج این پژوهش گویا تمرین‌های شنای تناوبی شدید می‌تواند به‌واسطهٔ افزایش تراز عامل نوروتروفین GDNF و پیام‌های پایین‌دست یعنی RET در بقای نورون‌های دوپامینرژیک بیماران پارکینسونی مؤثر باشد. از آنجا که پژوهش حاضر روی نمونه‌های حیوانی انجام گرفته است، اجرای پژوهش‌های بیشتر برای تعمیم نتایج به آزمودنی‌های انسانی و جنبهٔ کاربردی نتایج پیشنهاد می‌شود

**تشکر و قدردانی**

نتایج پژوهش حاضر مربوط به رسالهٔ دکتری فیزیولوژی ورزشی است که با حمایت و تأیید دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز اجرا شده است. از همهٔ افرادی که در پیشبرد پژوهش حاضر با پژوهشگران همکاری داشتند، صمیمانه تشکر می‌شود.

**حامی/ حامیان مالی**

پژوهش حاضر برگرفته از نتایج رسالهٔ دکتری است که با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز انجام شده است.

**مشارکت نویسندگان**

مقاله برگرفته از رسالهٔ دکتری دانشجوست و همهٔ نویسندگان در مراحل پژوهش مشارکت داشته‌اند.

**تعارض منافع**

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

## منابع


1. Renko J, Mahato AK, Visnapuu T, Valkonen K, Karelson M, Voutilainen MH, et al. Neuroprotective potential of a small molecule RET agonist in cultured dopamine neurons and hemiparkinsonian rats. Journal of Parkinsons Disease. 2021;11(3):1023-1046.
2. Kalia LV, Lang AE. Parkinson's disease. Lancet. 2015; 386: 896–912.
3. Kravitz AV, Freeze BS, Parker PRL, Kay K, Thwin MT, Deisseroth K, et al. Regulation of parkinsonian motor behaviours by optogenetic control of basal ganglia circuitry. Nature. 2010; 466: 622–626.
4. Burke RE, O'Malley K. Axon degeneration in Parkinson's disease. Experimental Neurology. 2013; 246: 72–83.
5. Skaper SD. The neurotrophin family of neurotrophic factors: an overview. Methods in Molecular Biology. 2012; 846: 1–12.
6. Peterson AL, Nutt JG, Treatment of Parkinson's disease with trophic factors. Neurotherapeutics; 2008: 5: 270 –280.
7. Paratcha G, Ledda F. GDNF and GFRalpha: a versatile molecular complex for developing neurons. Trends in Neurosciences. 2008; 31: 384–391.
8. Conway JA, Ince S, Black S, Kramer ER. GDNF/RET signaling in dopamine neurons in vivo. Cell and Tissue Research. 2020; 382(1): 135-146.
9. Drinkut A, Tillack K, Meka DP, Schulz JB, Kьgler S, Kramer ER. Ret is essential to mediate GDNF's neuroprotective and neuroregenerative effect in a Parkinson disease mouse model. Cell Death & Diseases. 2016; 7: e2359.
10. Houghton FM, Adams SE, Rhos AS, Masino L, Purkiss AG, Briggs DC. Architecture and regulation of a GDNF-GFRα1 synaptic adhesion assembly. Nature Communications. 2023; 20;14(1): 7551.
11. Jafarian M, Alipour M. Modulatory effect of glial-derived growth factor on addiction. Shafaye Khatam; 2016; 4(4): 116-122. [In Persian]
12. Kramer ER, Liss B. GDNF–Ret signaling in midbrain dopaminergic neurons and its implication for Parkinson disease. FEBS Letters. 2015; 589 (24): 3760-3772.
13. Tomlinson L, Leiton CV, Colognato H. Behavioral experiences as drivers of oligodendrocyte lineage dynamics and myelin plasticity. Neuropharmacology. 2016; 110: 548-62.
14. Gyorkos AM, McCullough MJ, Spitsbergen J. Effect of varying exercise intensities on GDNF expression and neuromuscular junction morphology. The FASEB Journal. 2012; 26(S1): 1086.14-1086.14.
15. McCullough MJ, Gyorkos AM, Johna MS. Short-term exercise increases GDNF protein levels in spinal cord of young and old rats. Neuroscience. 2013; 240: 258–268.
16. 52. Cintron-Colon A, Spitsbergen J. Effect of long-term exercise on GDNF expression and innervation in rat skeletal muscle. The FASEB Journal. 2019; 33(S1): 700.25-700.25.
17. Samadian Z, Tofighi A, Razi M, Ghaderi Pakdel F, Tolouei Azar J. Effect of moderate-intensity exercise training on GDNF signaling pathway in testicles of rats after experimental diabetes type 1 induction. Diabetes Research and Clinical Practice. 2020; 167:108332.
18. Karimi M, Kaki A. The effect of aerobic exercise with melatonin on GDNF gene expression and some indicators of oxidative stress in male rats with diabetic neuropathic pain. Daneshvar Medicine 2021; 29(3):132-146.
19. Abadian F, Fallahmohammadi Z. Neuroprotective Effect of Voluntary Wheel Running Exercise on GDNF levels of Cerebellum in Parkinsonian Rats. Journal of Sport and Exercise Physiology. 2012; 10:753-759. [In Persian]
20. 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]
21. Bayati M, Gharakhanlou R, Farzad B. Adaptations of physiological performance following high-intensity interval training. Sport Physiol. 2015; 7:15-32. [In Persian]
22. Nagle EF, Sanders ME, Franklin BA. Aquatic high intensity interval training for cardiometabolic health: Benefits and training design. Am J Lifestyle Med. 2017; 11(1): 64-76.
23. 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.
24. Hubrecht R, Kirkwood J. UFAW Handbook on the care and management of

laboratory and other research animals. 8th ed. Wiley-Blackwell Publishing Ltd; 2010; 460-520.
25. 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
26. Park JS, Davis RL, Sue CM. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease: new mechanistic insights and therapeutic perspectives. Current Neurology and Neuroscience Reports. 2018; 18:21.
27. Gantner CW, de Luzy IR, Kauhausen JA, Moriarty N, Niclis JC, Bye CR, et al. Viral delivery of GDNF promotes functional integration of human stem cell grafts in Parkinson's disease. Cell Stem Cell, 2020; 26: 511-526.
28. Tereshchenko J, Maddalena A, Bдhr M, Kьgler S. Pharmacologically controlled, discontinuous GDNF gene therapy restores motor function in a rat model of Parkinson's disease. Neurobiology Diseases. 2014; 65: 35-42.
29. Mesa-Infante V, Afonso-Oramas D, Salas-Hernбndez J, Rodrнguez-Nъсez J, Barroso-Chinea P. Long-term exposure to GDNF induces dephosphorylation of Ret, AKT, and ERK1/2, and is ineffective at protecting midbrain dopaminergic neurons in cellular models of Parkinson's disease. Molecular and Cellular Neuroscience. 2022; 118:103684.
30. Conway JA, Kramer ER. Is activation of GDNF/RET signaling the answer for successful treatment of Parkinson's disease? A discussion of data from the culture dish to the clinic. Neural Regeneration Research. 2022; 17(7): 1462-1467.
31. Abraham AG, O'Neill E. PI3K/ Akt-mediated regulation of p53 in cancer Biochemical Society Transactions. 2014; 42(4): 798-803.
32. Enterria-Morales D, Lopez-Lopez I, Lopez-Barneo J, d'Anglemont de Tassigny X. Role of glial cell line-derived neurotrophic factor in the maintenance of adult mesencephalic catecholaminergic neurons. Movement Disorders. 2020; 35: 565−576.
33. Decressac M, Kadkhodaei B, Mattsson B, Laguna A, Perlmann T, et al. alpha-Synuclein-induced down-regulation of Nurr1 disrupts GDNF signaling in nigral dopamine neurons. Science Translational Medicine. 2012; 4(163):163ra156.
34. Hulbert AJ, Pamplona R, Buffenstein R, Buttemer WA. Life and death: metabolic rate, membrane composition, and life span of animals. Physiological Reviews. 2007; 87: 1175−1213.
35. Valvassori SS, Arent CO, Steckert AV, Varela RB, Jornada LK, Tonin PT, et al. Intracerebral Administration of BDNF Protects Rat Brain Against Oxidative Stress Induced by Ouabain in an Animal Model of Mania. Molecular Neurobiology. 2015; 52(1):353−62.
36. Zigmond MJ. Triggering endogenous neuroprotective mechanisms in Parkinson's disease: studies with a cellular model. Journal of Neural Transmission. 2006; 70: 439−442.
37. Flensted-Jensen M, Gram M, Dela F, Helge JW, Larsen S. Six weeks of high intensity cycle training reduces H2O2 emission and increases antioxidant protein levels in obese adults with risk factors for type 2 diabetes. Free Radical Biology and Medicine. 2021; 173:1-6.
38. Khani M, Zolfi H, Niknam Z. The effect of two-week high intensity interval training (HIIT) with Thyme supplementation on lipid profile, oxidative stress, body composition, and aerobic capacity of the obese and overweight women. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology. 2023; 10(2): 27-39.