

# تأثیر چهار هفته فعالیت هوازی بر نسبت سطوح سرمی عامل نکروز تومور آلفا، اینترلوکین-۱۰ و میزان فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز در بافت مغز موش های C57 از طریق القای Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE)

مریم وطن دوست<sup>۱\*</sup>، سید مهدی سیدالحسینی<sup>۲</sup>، عبدالمهدی نصیرزاده<sup>۳</sup>، اعظم جورابلو<sup>۴</sup>

## مقاله پژوهشی

**مقدمه:** هدف از این پژوهش بررسی اثربخشی ۴ هفته تمرین هوازی شنا بر نسبت سطوح سرمی سایتوکاین های Tumor TNF- $\alpha$  (Necrosis Factor alpha) و IL-10 (Interleukin 10) و میزان فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز ( Brain Derived Neurotrophic Factor یا BDNF) در بافت مغز موش های مدل حیوانی مالتیپل اسکلروزیس از طریق القای Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE) بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، ۸۰ سر موش سوری ماده با نژاد C57BL/6 با سن ۱۲-۱۰ هفته و وزن  $20 \pm 2$  گرم به ۸ گروه ۱۰ تایی (سالم کنترل، سالم شنا، MS کنترل، MS شنا، MS اینترفرون، MS اینترفرون و شنا، MS شاهد تزریق، MS شاهد شنا و تزریق) تقسیم شدند. جهت القای EAE، ۳۰۰ میکروگرم (MOG (35-55) Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein) در حجم ۱۰۰ میکرولیتر PBS (Phosphate buffered saline) و ادجوانت کامل (Complete Freund's Adjuvant) مخلوط و به صورت زیر جلدی تزریق شد. هم زمان با تزریق اول و ۴۸ ساعت بعد از آن، ۳۰۰ نانوگرم سم سیاه سرفه (PT یا toxin Pertussis) به صورت داخل صفاقی تزریق شد. موش های مصرف کننده داروی اینترفرون بتا، از هفته اول پس از شروع درمان، روزانه به میزان ۱۵۰ واحد بین المللی/گرم از این دارو را به صورت زیر جلدی دریافت کردند. علائم بالینی و وزن موش ها روزانه بررسی و ثبت شد. برای گروه های تمرین، روزانه ۳۰ دقیقه به مدت ۴ هفته، هفته ای ۵ جلسه، فعالیت هوازی در محفظه شنا اجرا شد. در پایان پروتکل بافت مغز جداسازی و نمونه های خونی از قلب استخراج شد و از روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) برای اندازه گیری فاکتورهای مذکور استفاده گردید. برای آنالیز داده ها از نرم افزار SPSS(16) استفاده و سطح معنی داری آزمون ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. داده های به دست آمده، با استفاده از آزمون ANOVA way-One تجزیه و تحلیل شد.

**نتایج:** بر اساس یافته های این مطالعه، ورزش نسبت به تیمار اینترفرون بتا - ۱، به عنوان عامل مؤثرتری منجر به افزایش معنادار فاکتور BDNF در مغز موش ها، افزایش IL-10 و کاهش TNF- $\alpha$  در سرم شد.

**نتیجه گیری:** تمرین هوازی شنا به احتمال زیاد می تواند از طریق کنترل عوامل التهابی به بازسازی میلین و یا کاهش سرعت تخریب میلین کمک می کند و از این طریق، به بهبود بالینی بیماران مبتلا به MS منجر شود.

**واژه های کلیدی:** فعالیت هوازی، عامل نکروز تومور آلفا، اینترلوکین-۱۰، فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز، مالتیپل اسکلروزیس

**ارجاع:** وطن دوست مریم، سیدالحسینی سید مهدی، نصیرزاده عبدالمهدی، جورابلو اعظم. تأثیر چهار هفته فعالیت هوازی بر نسبت سطوح سرمی عامل نکروز تومور آلفا، اینترلوکین-۱۰ و میزان فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز در بافت مغز موش های C57 از طریق القای Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE). مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۷؛ ۲۶ (۷): ۴۵-۶۲۴.

۱- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه فرهنگیان، نیشابور، ایران

۳- استادیار، گروه مدیریت ورزشی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۴- کارشناس ارشد، گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

\* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۲۴۲۷۷۹۵۱، پست الکترونیکی: Maryam.vatandost@gmail.com، کد پستی: ۱۹۳۹۵-۳۶۹۷

را نادیده گرفت. از طرف دیگر اینترلوکین ۱۰ (Interleukin 10) (IL-10) سایتوکاینی ضدالتهابی و تنظیم‌کننده کلیدی سیستم ایمنی است که پاسخ التهابی ناشی از آسیب بافتی را محدود می‌کند (۳). نکته حائز اهمیت این است که علاوه بر این ویژگی، اینترلوکین ۱۰ با کاهش پاسخ‌های ایمنی و التهابی از تشدید التهاب جلوگیری کرده و تولید سایتوکاین پیش‌التهابی فاکتور نکروز تومور-آلفا، اینترلوکین-۱ و اینترلوکین-۶ و اینترلوکین-۸ را سرکوب می‌کند. در سال‌های اخیر فاکتورهای نوروتروفیک شامل BDNF به عنوان یک کاندید مولکولی برای افزایش محافظت عصبی در بیماری‌های خودایمن مثل مالتیپل اسکلروزیس پیشنهاد شده است.

این فاکتور می‌تواند منجر به افزایش رشد، بقا و توسعه و هم‌چنین بهبود عملکرد سلول‌های عصبی شود. BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) به فراوانی در مغز تولید می‌شود و در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس توسط سلول‌های سیستم ایمنی هم تولید می‌شود (۴). مطالعات انسانی نشان داده‌اند که سطح سرمی BDNF در فاز حمله بیماری و ریکاوری بعد از آن در بیماران ام-اس نوع برگشت پذیر؛ به شکل معناداری بالاتر از گروه کنترل می‌باشد در حالی که مقدار این فاکتور در بیماران ام-اس نوع پیش‌رونده، به شکل معناداری پایین‌تر از گروه کنترل گزارش شده است (۴). مطالعات متعددی تغییرات اجزای مختلف سیستم ایمنی و برخی سایتوکاین‌ها را در ورزش، به میزان بالایی به نوع، شدت، حجم ورزش و دوره تمرینی وابسته می‌دانند (۵). اثرات ضد التهابی تمرین ورزشی در بیماری‌های مزمن توسط کاهش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی  $\text{TNF-}\alpha$ ,  $\text{IL-8}$ ,  $\text{IL-6}$  و افزایش در غلظت IL-10 ضد التهابی میانجی‌گری می‌شود (۶). نقش حیاتی سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در پاتوژنز MS آن‌ها را به یک هدف اساسی جهت رویکرد درمانی تبدیل کرده است. از آن جایی که مطالعات انجام شده روی فعالیت ورزشی و ایمونولوژی، ورزش منظم را به عنوان یک درمان ضدالتهابی برای بیماران با اختلال التهابی مزمن برجسته کرده‌اند، احتمالاً تمرین ورزشی نقش بالقوه‌ای در درمان اختلالات التهاب عصبی

## مقدمه

شواهد علمی پیشنهاد می‌کنند که MS (Multiple Sclerosis) در نتیجه فعالیت سیستم ایمنی توسط عوامل مختلف در افراد حساس از نظر ژنتیکی ایجاد می‌شود که یک آبشار پاتوژنیک را آغاز می‌کند و نهایتاً به تخریب پیش‌رونده غلاف میلین و آسیب آکسون منجر می‌شود (۱).

ویژگی پاتوژنیک این بیماری، فعالیت سلول‌های گلیال (Glial cells) و نفوذ سلول‌های تک‌هسته‌ای (Mononuclear cells) در سیستم عصبی مرکزی است. نفوذ سلول‌های تک‌هسته‌ای و سلول‌های گلیالی فعال شده، انواعی از تغییردهنده‌های پاسخ‌های بیولوژیک شامل سایتوکاین‌ها Cytokines و کیموکاین‌های (Chemokines) پیش‌التهابی را تولید کرده که نتیجه آن از دست رفتن لایه میلین آکسون است. به طور کلی اگرچه علت MS به طور کامل مشخص نشده است، مطالعات روی بیماران MS نشان می‌دهد که دمیلینه شدن مشاهده شده در CNS در نتیجه یک التهاب خودایمنی است (۲).

به هر حال، به علت شناسایی نسبتاً اخیر ساختار عوامل التهابی و خواص آن‌ها، بسیاری از مطالعات MS صرف نظر از تشریح مولکول‌های مرتبط با سیتوکاین‌ها و کیموکاین‌ها، اشاره‌ای به عوامل التهابی نمی‌کنند، در صورتی که برای پیشرفت بهتر درمان MS، فهم التهاب ذاتی (Innate inflammation) ضروری به نظر می‌رسد. سایتوکاین‌ها همه مراحل پاسخ ایمنی را از ابتدا تا انتهای بیماری هماهنگ می‌کنند. آن‌ها به وسیله انواع سلول‌ها ترشح می‌شوند و روی سلول‌هایی که گیرنده مناسب سایتوکاین را بیان می‌کنند عمل می‌کنند. در این راستا عامل نکروز تومور آلفا (Tumor necrosis factor alpha) ( $\text{TNF-}\alpha$ ) یک سایتوکاین تنظیم‌کننده ایمنی است و در بیماری‌های التهابی معینی مثل MS دخیل می‌باشد. به هر حال چندین مطالعه سطوح سایتوکاین‌ها را در مالتیپل اسکلروزیس بررسی نموده‌اند که نتایج متفاوتی در برداشته است. در مجموع در مورد بیماری‌زایی مالتیپل اسکلروزیس نمی‌توان نقش  $\text{TNF-}\alpha$

دارد. تمرینات ورزش به عنوان یک فاکتور محیطی مهم، می تواند التهاب سیستمیک را در حیوانات و انسانها کاهش دهد (۷). بر این اساس اتخاذ روشهایی که سطوح سرمی سایتوکاینهای التهابی را کاهش دهد یک روند مفید برای کاهش عوارض بیماری MS محسوب می شود. هم چنین نشان داده شده است که میزان بیان BDNF می تواند تحت تاثیر عوامل التهابی، عوامل ضد التهابی اگزوزنیک و نیز ورزش تغییر پیدا کند (۴). در تایید این یافته ها، محققان نشان داده اند که برخی از داروها با خاصیت ضد التهابی می توانند منجر به افزایش بیان و تولید این فاکتور و همچنین کاهش میلین زدایی و شدت نشانه های جسمی در موش های مبتلا به EAE شوند (۸).

اثر متقابل بین ورزش و سیستم ایمنی برای ارزیابی نقش مکانیسم های سایتوکاینی و سیستم غدد درون ریز حائز اهمیت است. تحقیقات صورت گرفته در مورد ارتباط بین تغییرات ایمنی و انقباضات عضلانی منجر به کشف این نکته شد که ورزش باعث افزایش تعدادی از سایتوکاین های ضد التهابی می شود و منجر به تنظیم پاسخ های ایمنی از طریق تولید سایتوکاین هایی که در شکل گیری پاسخ های ایمنی و التهابی نقش دارند می گردد (۹). در خصوص نقش ورزش بر کاهش التهاب بیماران MS می توان به تحقیق وایت و همکاران (۲۰۰۶) اشاره کرد که در خصوص پاسخ سایتوکاین ها به یک برنامه تمرینی فزاینده قدرتی ۸ هفته ای با تناوب دو بار در هفته بر روی بیماران مبتلا به MS انجام شد. نتایج تحقیق کاهش مقادیر استراحتی سایتوکاین IL-4 و عدم تغییر در IL-10 بعد از مداخله تمرینی را نشان داد (۱۰). کاستلانو و همکاران (۲۰۰۸)، در مطالعه خود اثر یک دوره تمرین هوازی ۸ هفته ای با دو چرخه کارسنج را بر سایتوکاین های بیماران مبتلا به MS بررسی کردند، که در نهایت کاهش غلظت استراحتی IL-6 در هر دو گروه بعد از هشت هفته تمرین مشاهده شد (۱۱) بنابراین شیوه زندگی به طور قابل ملاحظه ای می تواند التهاب را تحت تأثیر قرار دهد. برخی از شواهد انسانی نشان می دهد که ورزش هوازی و شنا به مدت چند هفته باعث

افزایش سطح BDNF در سرم افراد مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس می شود (۱۲). علاوه بر آن، مطالعات انسانی نشان داده است که افرادی که فعالیت فیزیکی بویژه ورزش هوازی را به صورت طولانی انجام داده اند میزان بالاتری از BDNF را داشته اند (۱۳).

در مجموع از آن جایی که روش های درمانی به کار گرفته شده در MS اثر بخش نبوده (داروهای تنظیم کننده ایمنی مانند بتا اینترفرون) و تنها در کاهش میزان عود و تا حدود کمتری جلوگیری از پیشرفت بیماری مؤثر هستند، نگرانی هایی در مورد اثرات جانبی کوتاه و بلند مدت این گونه داروها و اینکه آیا تفاوت معنی داری برای پیشرفت بیماری ایجاد می کنند یا خیر هم چنان باقی مانده است. لیکن، فعالیت درمانی با محور کاهش التهاب به سرعت به عنوان یک روش جایگزین و غیرتهاجمی برای انواعی از اختلالات عصبی پدید آمده است (۱۴).

بنابراین، با توجه به مکانیسم های یاد شده و با علم به نقش تعیین کننده سیگنالینگ نوروپروتکتیو BDNF و روند تنظیمی سایتوکاین های TNF- $\alpha$  و IL-10 به عنوان واسطه تأثیر فعالیت ورزشی بر بدن، به نظر می رسد فعالیت ورزشی منظم، از طریق تغییر بیان و تولید BDNF و همین طور کنترل التهاب با افزایش IL-10 و کاهش TNF- $\alpha$  به تواند در بهبود وضعیت بیماران MS مؤثر باشد. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف تعیین اثر چهار هفته تمرین هوازی در آب بر میزان پروتئین BDNF در بافت مغز و سطوح سرمی فاکتورهای ایمنولوژیک TNF- $\alpha$  و IL-10 در مدل انسفالومیلیت خود ایمن تجربی Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE) که تاکنون پذیرفته ترین مدل تجربی حیوانی برای MS بوده است و به طور بهینه ای وقوع مکانیسم و روند این بیماری را تقلید می کند انجام شد. با توجه به استفاده از اینترفرون بتا-۱ برای کاهش علائم بیماری در افراد مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس این دارو به منظور مقایسه با تاثیر شنا در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفته است. در مطالعه اخیری که گروه ما انجام داده ؛ تیمار اینترفرون بتا-۱

حلال اینترفرون بتا-۱ دریافت کرده‌اند و بر سکوی بالاتر از سطح آب روی محفظه شنا مستقر شده‌اند (MS +EN+SOL) (۸) گروه ام اس+ اینترفرون بتا-۱ + شنا، موش‌ها دارای انسفالومیلیت خود ایمن تجربی که اینترفرون دریافت و چهار هفته فعالیت ورزشی شنا را تجربه کرده‌اند (MS +SW+IFN).

#### موش‌های مبتلا به انسفالومیلیت خود ایمن تجربی

القای EAE بر روی موش‌ها در "موسسه اختلالات شناختی و رفتاری سالاری" انجام شد. این بیماری بر اساس روش کار زیر در حیوانات القاء شد (۱۵): حیوان ابتدا به وسیله تزریق صفاقی کتامین هیدروکلراید (50 mg/kg) و زایلازین (5 mg/kg) بیهوش شد. سپس ۳۰۰ میکروگرم (Myelin MOG(35-55) (Oligodendrocyte Glycoprotein) در حجم ۱۰۰ میکرولیتر PBS (Phosphate buffered saline) و با ۵۰۰ میکروگرم مایکوباکتریوم که تسهیل و تشدید کننده پاسخ های التهابی می باشد در حجم ۱۰۰ میکرولیتر ادجوانت کامل (Complete Freund's Adjuvant) مخلوط کرده و به صورت زیر جلدی در ناحیه هر دو پهلو تزریق شد. بلافاصله بعد از این تزریق و ۴۸ ساعت بعد ۳۰۰ نانوگرم سم سیاه سرفه (Pertussis Toxin: PT) که نفوذپذیری سد خونی مغزی را بجهت نفوذ عامل های التهابی به CNS افزایش می دهد به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. شروع علائم بیماری و شدت بیماری بر اساس درجات زیر مشخص شد: نمره صفر (بدون علائم بالینی)، نمره ۰/۵ (شلی بخشی از دم)، نمره ۱ (فلج کامل دم)، نمره ۱/۵ (فلج کامل دم و ضعف مقطعی اندام پشتی)، نمره ۲ (فلج کامل دم و ضعف مشهود اندام پشتی، نمره ۲/۵ (فلج یک طرفه اندام پشتی)، نمره ۳ (فلج کامل اندام پشتی)، نمره ۳/۵ (فلج کامل اندام پشتی و ضعف دست)، نمره ۴ (فلج چهار دست و پا)، نمره ۵ (زمینگیری کامل یا مرگ).

#### فعالیت بدنی شنا

برنامه تمرینی شنا طبق پروتکل برنارد و همکاران (۱۶) از روز نهم بعد از القاء بیماری، که بروز علائم بالینی در حیوانات شروع می‌شود (در پروتکل القاء مدل انسفالومیلیت تجربی اجرا شده، علائم بالینی معمولاً از روز نهم ظاهر می‌شوند)، در یک

منجر به کاهش شدت علائم کلینیکی در موش‌های مبتلا به EAE شده است، از این رو با توجه به عدم وجود شواهد کافی مبنی بر تاثیر اینترفرون بتا-۱ بر روی سایتوکاین های مورد نظر این ماده می تواند خود نیز به عنوان یک مداخله گر مجزا قرار گیرد.

## روش بررسی

### حیوانات

این مطالعه تجربی روی ۸۰ سر موش سوری ماده نژاد C57BL/6 با سن ۱۰-۱۲ هفته و وزن  $2 \pm 20$  گرم، که از "انستیتو پاستور" ایران خریداری گردید. موش‌ها در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای  $1 \pm 23$  درجه سانتی گراد نگهداری و آب و غذای کافی در اختیار آن‌ها قرار گرفت.

### گروه‌های آزمایشی

در این مطالعه موش‌ها در ۸ گروه ۱۰ تایی قرار گرفتند که در ۶ گروه موش‌های مدل EAE (MS کنترل، MS شنا، MS اینترفرون، MS اینترفرون و شنا، MS شاهد تزریق، MS شاهد شنا و تزریق) به صورت تصادفی تقسیم شدند و ۲۰ سر موش دیگر در ۲ گروه سالم (کنترل، شنا) تقسیم شدند و نهایتاً گروه‌ها بدین ترتیب نام‌گذاری گردیدند: (۱) گروه سالم کنترل، موش‌ها سالم و فاقد انسفالومیلیت خود ایمن تجربی (Control)؛ (۲) گروه سالم شنا، موش‌ها سالم و فاقد انسفالومیلیت خود ایمن تجربی که صرفاً چهار هفته فعالیت ورزشی شنا را تجربه کرده‌اند (SW)؛ (۳) گروه ام اس، موش‌ها دارای انسفالومیلیت خود ایمن تجربی (MS)؛ (۴) گروه ام اس+ شنا، موش‌ها دارای انسفالومیلیت خود ایمن تجربی که چهار هفته فعالیت ورزشی شنا را تجربه کرده‌اند (MS +SW)؛ (۵) گروه ام اس+ اینترفرون، موش‌ها دارای انسفالومیلیت خود ایمن تجربی که اینترفرون بتا-۱ دریافت کرده‌اند (MS +IFN)؛ (۶) گروه ام اس+ حلال اینترفرون بتا-۱، موش‌ها دارای انسفالومیلیت خود ایمن تجربی که صرفاً حلال اینترفرون بتا-۱ دریافت کرده‌اند (MS +SOL)؛ (۷) گروه ام اس+ محیط شنا + حلال، موش‌ها دارای انسفالومیلیت خود ایمن تجربی که صرفاً

محفظه شنا با دمای کنترل شده ( $1 \pm 31$  سانتی گراد)، ۳۰ دقیقه در روز و ۵ روز در هفته به مدت چهار هفته انجام گرفت. موش‌ها در هفته اول از روزهای اول تا چهارم جهت آشنایی با آب و تمرین‌پذیری و روز پنجم تحت یک آزمایش بارفزاینده طبق پروتکل برنارد و همکاران در محفظه قرار گرفتند. این پروتکل شامل چند مرحله شنا با تحمیل باری پیش‌رونده (فزاینده) بر دم موش‌ها و در هر مرحله به میزان ۲ درصد وزن بدن آن‌ها بود، که در این مراحل (حداکثر ۳ دقیقه ای) غوطه‌وری تا مرز خستگی کامل ادامه پیدا کرد. در نهایت و با افزایش فزاینده ۲ درصدی به بار اعمال شده طی مراحل مختلف، مشخص گردید حداکثر بار بیشینه‌ای که موش‌ها در مراحل آزمایش بار فزاینده تحمل می‌کنند برابر با ۷ درصد از

وزن بدن آن‌ها می‌باشد. بنابراین اولین جلسه تمرین در آب، با ۶۰ درصد از حداکثر بار بیشینه به دست آمده (معادل ۴/۲ درصد از وزن بدن) آغاز گردید. موش‌ها هر هفته وزن شدند تا در صورت نیاز بار اضافی براساس وزن جدید اعمال گردد. با توجه به وضعیت گزارش شده وزنی در این پژوهش، پروتکل اضافه بار بدون نیاز به تغییر و بار جدید، تا پایان ثابت در نظر گرفته شد. برای اعمال فشار محیط شنا و به منظور ایجاد شرایط رطوبتی یکسان، موش‌های گروه کنترل محیط شنا (EN)؛ هم‌زمان بر روی یک سکو در بالای محفظه شنای گروه تمرین، قرار داده شدند. برای تسریع در تنظیم دمای بدن و کاهش استرس وارده بعد از هر جلسه تمرین شنا، حیوانات به آرامی توسط یک حوله نرم، خشک شدند (جدول ۱).

جدول ۱: شامل برنامه تمرینی سه گروه از موش‌ها و میزان اضافه بار وارد شده به حیوان در طی چهار هفته تمرین شنا که با احتساب درصد معین از وزن بدن موش به عنوان بار تمرینی مشخص گردیده است

تعداد موش‌ها	گروه‌ها	نوع تمرین	سازگاری با محیط	آشنایی با آب	آزمایش بار فزاینده	طول دوره	تعداد جلسات	مدت	شدت
--------------	---------	-----------	-----------------	--------------	--------------------	----------	-------------	-----	-----

۳۰	سالم شنا MS شنا MS شنا اینترفرون	شنا در دمای $1 \pm 31$ سانتی گراد	یک هفته	۴ روز	روز پنجم با ۲٪ تا ۷٪ وزن	۲۸ روز	۵ جلسه در هفته	روزانه ۳۰ دقیقه	۴/۲ درصد وزن
----	--	---	---------	-------	-----------------------------	--------	-------------------	--------------------	-----------------

### پروتکل زمان رسیدن به درماندگی Time to Exhaust (TTE)

جهت بررسی علائم حرکتی نمونه‌ها از پروتکل زمان رسیدن به درماندگی استفاده شد. بدین ترتیب که هر موش به‌صورت انفرادی در محفظه بزرگی از آب انداخته شد که عمق آن از طول ارتفاع نوک بینی تا انتهای دم موش بیشتر بود. در صورت مشاهده درماندگی موش از آب خارج می‌شد که شاخص آن بر اساس عدم توانایی بازگشت به سطح آب تا ۲ ثانیه و یا عدم توانایی در حفظ موقعیت سر بالاتر از سطح آب بود. همه

نمونه‌ها در مرحله ابتدایی پیش از القا و انتهای پیش از تشریح با قرار گرفتن در محفظه برای سنجش زمان رسیدن به درماندگی مورد آزمون قرار گرفتند.

با این حال، با توجه به عملکرد شنا و سن موش‌ها، و لزوم اطمینان از حفظ بقاء همه حیواناتی که تحت این پروتکل شنا قرار گرفتند برای ۲ روز متوالی استراحت در نظر گرفته شد. (هایس و همکاران، ۲۰۱۷)

جدول ۲: زمان رسیدن به درماندگی موش‌های C57 در گروه‌های مختلف

گروه‌ها متغیرها	سالم کنترل	MS کنترل	سالم شنا	MS شنا	MS شاهد تزریق	MS اینترفرون	MS شاهد شنا و تزریق	MS شنا اینترفرون
زمان ابتدایی (دقیقه)			۴۸۰ ± ۳۰					
زمان نهایی (دقیقه)	۴۸۰ ± ۳۰	۱۰ ± ۵	۵۰۰ ± ۳۰	۳۰ ± ۱۰	۱۰ ± ۵	۲۶ ± ۱	۱۰ ± ۵	۴۰ ± ۱۰

### تیمار اینترفرون

از آن جا که اثر اینترفرون بتا-۱ برای کاهش علائم بیماری در افراد مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس ثابت شده است، این دارو به منظور مقایسه با تاثیر شنا در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت لذا دو گروه از حیوانات میزان 150 IU/g اینترفرون بتا-۱ (سیناژن) به صورت زیر جلدی دریافت کردند. اینترفرون بتا-۱ در بافر فسفات سالین حل شد. حیوانات از روز نهم و آغاز علائم بیماری مورد تیمار قرار گرفتند (۱۴).

### خون گیری

پس از چهار هفته از القاء بیماری و پایان تیمارها، حیوانات توسط ترکیب کتامین هیدروکلراید (70 mg/kg) و زایلازین (5mg/kg) به صورت برگشت‌ناپذیر بیهوشی عمیق شدند. سپس حیوانات کشته شده و خون استخراج شده اط قلب در نیتروژن مایع منجمد و تحت شرایط ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری میزان فاکتورهای مورد سنجش نگهداری شدند.

### سنجش فاکتورهای TNF-α و IL-10

فاکتور TNF-α و IL-10 با استفاده از کیت‌های مخصوص هر یک و بر اساس دستورالعمل شرکت تولیدکننده آن و با روش الیزا (ELISA) اندازه‌گیری شدند. به طور خلاصه، در این پژوهش سرم نمونه‌ها ۲ ساعت پس از تزریق POLYL-C با ۱۵۰۰ دور در دقیقه طی ۳ دقیقه با دستگاه سانتریفیوژ جداسازی گردید، سپس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای بررسی میزان سایتوکاین‌ها نگهداری شد. سایتوکاین‌های مورد نظر، به‌منظور ایجاد تحریک در سیستم ایمنی تحت تزریق دوز ثابت LPS sigma-Aldrich قرار گرفتند و سپس طی مراحل که ذکر شد فرایند خون‌گیری و جداسازی سرم به

منظور سنجش سایتوکاین‌های TNF-α و IL-10 برای نمونه‌ها صورت گرفت. در پایان پس از دفریز کردن نمونه‌ها، از کیت‌های الیزای اختصاصی هر کدام از سایتوکاین‌ها که از شرکت بیولجند آمریکا (BIOLEGEND USA) تهیه شده بود استفاده شد.

### جداسازی بافت مغز

پس از چهار هفته از القاء بیماری و پایان تیمارها، حیوانات توسط ترکیب کتامین هیدروکلراید (70 mg/kg) و زایلازین (5mg/kg) به صورت برگشت‌ناپذیر بیهوشی عمیق شدند. سپس حیوانات کشته شده و مغز آن‌ها از جمجمه خارج و در نیتروژن مایع منجمد و تحت شرایط ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری میزان BDNF و گیرنده TrkB نگهداری شدند.

سنجش فاکتور نورون‌زایی مشتق شده از مغز و گیرنده

### تیروزین کیناز بی

فاکتور نورون‌زایی مشتق شده از مغز و گیرنده تیروزین کیناز بی با استفاده از کیت الیزا (R&D, USA) و بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. ه طور خلاصه، برای جداسازی پروتئین، بافت مغز جدا شده در بافر لیز کننده (137 mM NaCl، ۲۰mM Tris-HCL، گلیسرول ۱۰٪، آپروتینین ۱۰ μg/ml، لوپتین ۵ μg/ml، وانادات سدیم mM ۰/۵) همگن گردیده و NaOH یک نرمال به همه نمونه‌ها برای رسیدن به PH تا حد ۷/۵ اضافه شد. سپس نمونه‌ها برای سه دقیقه (۱۴۰۰۰ rpm در ۴ درجه سانتی‌گراد) سانتریفیوژ گردید و محلول روبی جمع‌آوری شد. چاهک‌های الیزا به مدت یک شب با بافر پوشاننده کربنات انکوبه و سپس به مدت یک ساعت

که به جهت استفاده از روش استاندارد مقالات معتبر در تمامی موش‌ها علائم القاء ظاهر شد.

موش‌های مصرف کننده دارو به صورت اینترفرون بتا (a- Cinovex، سیناژن) از هفته اول پس از شروع درمان‌ها، روزانه به میزان ۱۵۰ IU/g از این دارو مصرف نمودند (مارتینز پب سی ای و همکاران) با وجود این که مکانیسم مولکولی بیماری MS به درستی شناخته نشده است اما شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد مسیر انتقال پیام NF-kB در ارتباط با تأثیر اینترفرون گاما بر الیگودندروسیت‌ها است که در واقع این مسیر می‌تواند از طریق اینترفرون گاما فعال شود و پاسخ الیگودندروسیت‌ها را به اینترفرون گاما در بیماری‌های دمی‌لینه کننده خود ایمن نظیر MS و انسفالومیلیت تنظیم نماید. (لین یو و همکاران، ۲۰۱۲) با این وجود اولین دارویی که برای درمان MS توسط FDA در سال ۱۹۹۳ مورد تأیید قرار گرفت از خانواده اینترفرون‌ها و از نوع اینترفرون بتا بود و بیش از ۱۵ سال است که داروی تنظیم‌کننده ایمنی اینترفرون بتا، خط اول درمان ام‌اس است. (مکتو اینو و همکاران ۲۰۱۲) اینترفرون گاما در مراحل اولیه بیماری سبب کاهش شدت بیماری می‌شود اما مدل‌های آزمایشگاهی که در آن‌ها اینترفرون گاما در مراحل اولیه وجود نداشت به فرم‌های شدید بیماری مبتلا شدند. نقش اینترفرون‌ها در روند بیماری‌زایی بیماری‌های خود ایمن به اثبات رسیده است و بنابراین می‌توان از آن‌ها در درمان این بیماری‌ها استفاده نمود و تأثیر محافظتی آن‌ها را نمی‌توان نادیده گرفت. (شچر و همکاران، ۲۰۱۲) در این مطالعه هدف از تجویز دارو، جلوگیری از محروم کردن حیوان مدل بیماری از دریافت این دارو و بررسی اثرات ورزش در درمان بیماری مد نظر بود.

### تجزیه و تحلیل آماری

تمامی داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۱۶ (version 16, IBM Corporation, Armonk, NY) آنالیز شدند. ابتدا نحوه توزیع اطلاعات جمع‌آوری شده و همگنی واریانس‌ها به ترتیب با

با بافر بلوک کننده TBS، بلوک و نمونه‌های استاندارد حاصله در درجه حرارت اتاق درحالی که تکان می‌خورند انکوبه شد. منحنی استاندارد با استفاده از مقادیر شناخته شده از هر دو پروتئین رسم و غلظت BDNF و گیرنده TrkB توسط دستگاه الیزا با طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری و سپس با توجه به غلظت پروتئین نمونه‌ها مقادیر به صورت پیکوگرم در میلی‌لیتر پروتئین بیان شد.

### ارزیابی علائم بالینی

قبل از القای EAE و هفت روز پس از آن، تا پایان مطالعه حیوانات روزانه جهت بررسی ناتوانی حرکتی (کافامی-ال و همکاران ۲۰۱۰) به صورت زیر نمره‌دهی می‌شوند:

- ۱) نمره صفر (بدون علائم بالینی): بدون هرگونه علائم بالینی اختلال حرکتی
- ۲) نمره ۰/۵ (شلی بخشی از دم)
- ۳) نمره ۱ (فلج کامل دم):
- ۴) نمره ۱/۵ (فلج کامل دم و ضعف مقطعی اندام پشتی): در این صورت اندام حرکتی عقبی (پاها) قابل حرکت دادن است، اما حیوان در حین راه رفتن می‌لنگد
- ۵) نمره ۲ (فلج کامل دم و ضعف مشهود اندام پشتی): در این صورت حیوان اندام‌های حرکتی عقبی (پاها) را به علت عدم توانایی در انقباض و انبساط عضلات آگونیست و آنتاگونیست روی سطح زمین به دنبال خود می‌کشد. در واقع حیوان نمی‌تواند وزنی را روی آن‌ها تحمل کند.
- ۶) نمره ۲/۵ (فلج یک‌طرفه اندام پشتی) (تیکسیرا-اس آ و همکاران ۲۰۰۲).
- ۷) نمره ۳ (فلج کامل اندام پشتی)
- ۸) نمره ۳/۵ (فلج کامل اندام پشتی و ضعف دست)
- ۹) نمره ۴ (فلج چهار دست و پا)
- ۱۰) نمره ۵ (مرگ)

در پایان آزمایشات، موش‌ها از نظر شدت ابتلا به EAE نیز بین گروه‌های مطالعه مقایسه شدند. فقط موش‌هایی که دارای علائم کلینیکی بودند در مطالعه حاضر مورد بررسی قرار گرفتند

۳۲۹/۸۶ pg/ml و در آزمودنی‌های مدل EAE برابر با ۱۳۷/۴۳ می‌باشد. این اعداد حاکی از آن است که میانگین مقادیر TNF- $\alpha$  در گروه MS کنترل نسبت به گروه سالم کنترل با افزایش تقریباً ۳ برابری همراه بوده است و بیانگر میزان و شدت بالای آسیب است. هم چنین اختلاف معناداری بین میانگین گروه MS شاهد تزریق با میانگین گروه MS درصد تغییراتی بالغ بر ۴۰ درصد بالاتر بودن غلظت سایتوکاین التهابی عامل نکروز تومور در گروه شاهد را گزارش می‌دهد. اختلاف معنادار بین میانگین گروه MS شنا اینترفرون با میانگین گروه MS شاهد شنا و تزریق (P = ۰/۰۰۱) با تغییرات ۵۰ درصدی به نفع کنترل غلظت این عامل التهابی نسبت به درمان دارویی و شنا است. دلایل بالاتر بودن غلظت TNF- $\alpha$  سرم در گروه MS کنترل نسبت به گروه کنترل سالم را باید در بروز بیماری آن‌ها جستجو کرد. زیرا TNF- $\alpha$  نشانگر تخصصی التهاب است. پژوهش‌های متعددی وجود التهاب در بدن افراد MS را گزارش کرده‌اند (اسپوسیتو Esposito ۲۰۰۴، اسکوبار مورایل Escobar-Morreale ۲۰۰۴، نتتال Neteale ۲۰۰۶).

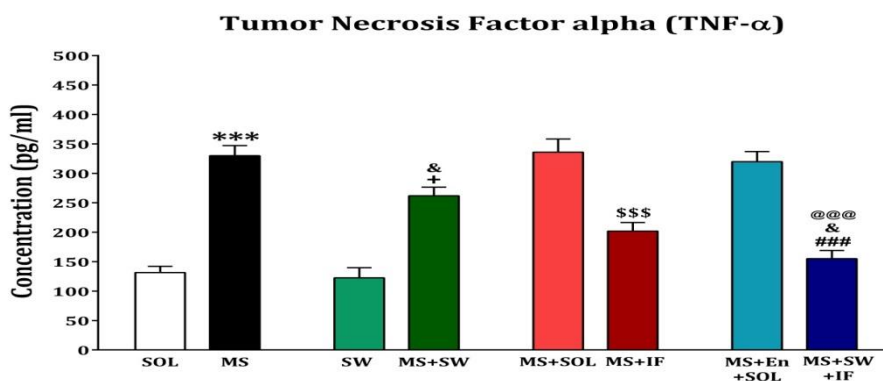
آزمون‌های Shapiro-Wilk و Levene's ارزیابی شد. جهت مقایسه میانگین داده‌ها بین گروه‌های مورد نظر، از آزمون One-way ANOVA استفاده شد. P < ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری برای تمام تحلیل‌های آماری در نظر گرفته شد.

### ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه خوارزمی تایید شده است و روش‌های اخلاقی رفتار با حیوانات منطبق با کنوانسیون‌های بین‌المللی و اصول اخلاق در پژوهش‌های حیوانی زیر نظر دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز رعایت گردید.

### نتایج

تاثیر چهار هفته شنا هوازی بر میزان TNF- $\alpha$  در سطوح سرمی موش‌های مبتلا به انسفالومیلیت خودایمن تجربی: همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌کنید، آنالیز واریانس نشان داده است که در گروه‌های مختلف دوره‌های تمرین هوازی بر پاسخ TNF- $\alpha$  سرم اثرگذار نشان دادند. میانگین مقادیر استراحتی TNF- $\alpha$  در موش‌های سالم برابر با pg/ml



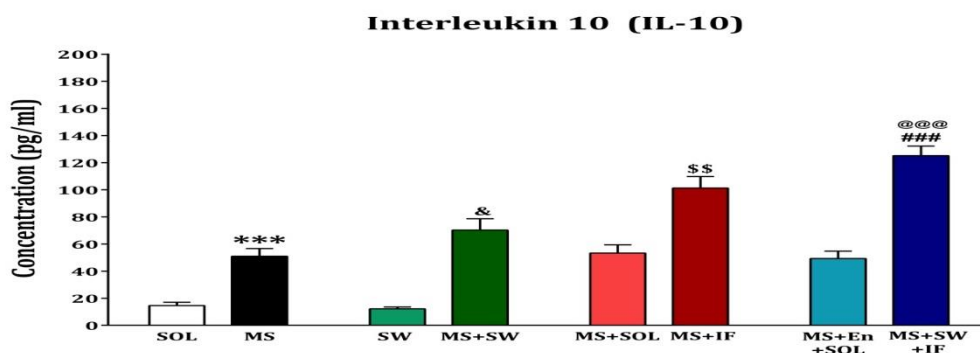
نمودار ۱: میزان غلظت TNF- $\alpha$  در گروه‌های مختلف

شنا با میانگین گروه MS شنا اختلاف معناداری وجود ندارد (P = ۰/۰۵). بین میانگین گروه MS شنا و اینترفرون اختلاف معنادار نسبت به گروه MS شنا وجود دارد (P = ۰/۰۰۱). مقدار فاکتور به صورت پیکوگرم در میلی لیتر (pg/ml) نمایش داده شده است. تاثیر چهار هفته شنا هوازی بر میزان IL-10 در سطوح سرمی موش‌های مبتلا به انسفالومیلیت خودایمن

نمودار ۱) در مقایسه میانگین گروه سالم کنترل با میانگین گروه MS کنترل (P = ۰/۰۰۱) اختلاف معناداری وجود دارد. هم چنین بین میانگین گروه MS شاهد تزریق با میانگین گروه MS اینترفرون و همین‌طور بین میانگین گروه MS شنا اینترفرون با میانگین گروه MS شاهد شنا و تزریق اختلاف معناداری وجود دارد (P = ۰/۰۰۱). بین میانگین گروه سالم

این تیپ موش‌ها موجب پاسخ متفاوت با موش‌های سالم می‌شود. همین‌طور بین گروه MS فعال و گروه MS تمرین کرده به همراه دریافت اینترفرون ۴۳ درصد افزایش مقادیر وجود دارد. این دو گروه به طور کامل از جهت سطح سلامتی و فعالیت بدنی با هم تفاوت داشتند، بنابراین هم بیماری و هم فعالیت بدنی و هم دریافت دارو در بروز چنین پاسخی نقش داشته است. کمترین سطوح IL-10 در گروه سالم تمرین کننده شنا و بالاترین سطوح IL-10 در گروه MS فعال و همین‌طور دریافت کننده دارو وجود داشت.

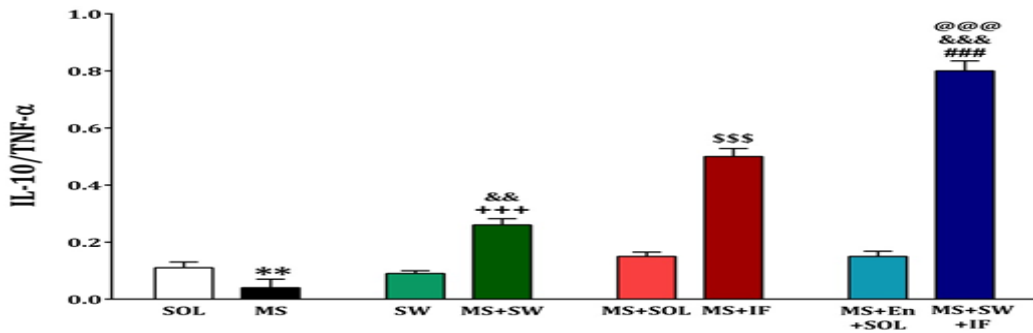
تجربی: نتایج یافته حاضر نشان داد که دوره‌های تمرین هوازی بر پاسخ IL-10 در گروه‌های مختلف اثرگذار می‌باشد. در واقع بین گروه MS شنا با گروه MS غیرفعال قریب به ۷۵ درصد تفاوت در پاسخ IL-10 وجود دارد. به نظر می‌رسد علت چنین پاسخی را می‌توان در سطح التهاب این نمونه‌های حیوانی پیگیری کرد. موش‌های MS دارای میزان IL-10 برابری نسبت به موش‌های سالم بودند. پژوهشگران التهاب را از علل اصلی تولید IL-10 معرفی کرده‌اند، موش‌های MS دارای محیط التهابی بالاتری هستند و به همان نسبت نیز دارای مقادیر IL-10 بیشتری می‌باشند. بنابراین میزان بالاتر این سایتوکاین در



نمودار ۲: میزان غلظت IL-10 در گروه‌های مختلف

دوره‌های تمرین هوازی بر نسبت غلظت IL-10 به TNF- $\alpha$  در گروه‌های آزمایش موثر است. این نتایج حاکی از آن است که در تناسب بین سایتوکاین‌های ضد التهابی و التهابی هرچه دامنه نسبت IL-10/TNF- $\alpha$  بیشتر باشد تغییرات به نفع کاهش التهاب، کنترل و بهبود بیماری بیماری MS است. نتایج حاصل از این پژوهش با تعیین نسبت غلظت IL-10/TNF- $\alpha$  وضعیت کنترل این ۲ سایتوکاین در برابر یکدیگر را با نسبت ۱ به ۲ در درمان با اینترفرون، نسبت ۱ به ۴ در درمان با ورزش و نسبت ۱ به ۱/۲ در درمان توامان ورزش و دارو گزارش کرد. در گروه‌های سالم نسبت میانگین غلظت در حداقل مقادیر و این نسبت در گروه مبتلا به MS در پایین‌ترین مقدار ممکن و همین‌طور کمتر از گروه‌های سالم گزارش می‌شود.

نمودار ۲) در مقایسه میانگین غلظت IL-10، گروه سالم کنترل با میانگین گروه MS کنترل اختلاف معناداری وجود دارد ( $P = 0/001$ ). بین میانگین گروه سالم شنا با میانگین گروه MS شنا اختلاف معناداری وجود دارد ( $P = 0/05$ ). بین میانگین گروه MS شاهد تزریق با میانگین گروه MS اینترفرون اختلاف معناداری وجود دارد ( $P = 0/01$ ). بین میانگین گروه MS شاهد شنا و تزریق با میانگین گروه MS شنا و اینترفرون اختلاف معناداری وجود دارد ( $P = 0/001$ ). بین میانگین گروه MS شنا و اینترفرون اختلاف معنادار نسبت به گروه MS شنا وجود دارد ( $P = 0/001$ ). تاثیر چهار هفته شنا هوازی بر نسبت غلظت IL-10 به TNF- $\alpha$  در سطوح سرمی موش‌های مبتلا به انسفالومیلیت خودایمن تجربی: نتایج یافته حاضر نشان داد که



نمودار ۳: میزان نسبت غلظت IL-10 به TNF-α در گروه‌های مختلف

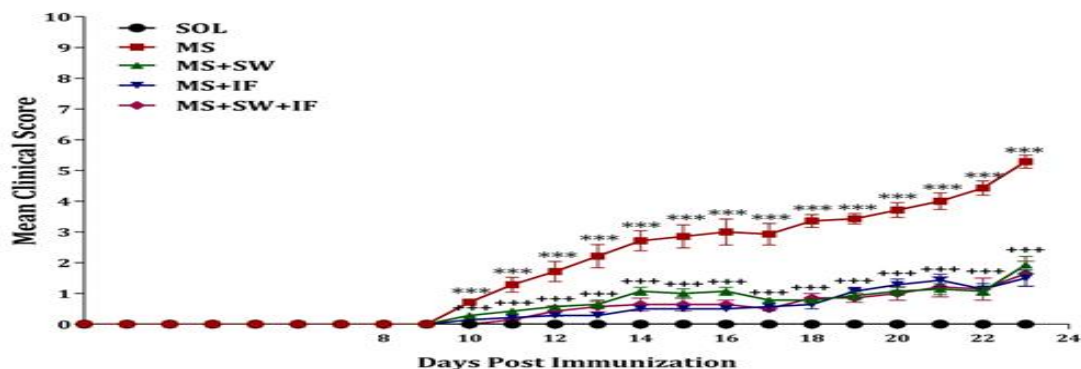
که میزان استقامت در مرحله پیش از القا در تمامی گروه‌ها بالای ۸ ساعت و در موش‌های مدل EAE در روز پایانی کمتر از ۱۵ دقیقه انجام شد. این در حالی است که در مقایسه بین گروهی در آخرین روز گروه‌های MS شنا اینترفرون، MS اینترفرون، MS شنا، MS و MS شاهد به ترتیب از بیشترین به کمترین زمان رسیدن به درماندگی را تجربه کردند. هم چنین عدم تعادل ناشی از بیماری علی‌الخصوص در ناحیه دست‌ها و پشت که حیوان با کمک آن‌ها حفظ موقعیت در آب داشته است از دلایل اصلی این ناتوانی چشم‌گیر بود.

پیش از افزایش امتیاز تا نمرات بالاتر، فلج در ناحیه دم تنها منجر به اضافه شدن حرکات کنترلی در پاها مضاف بر دست‌ها شده بود که در روزهای نهم تا چهاردهم مشهود بود و به طور متوسط روی امتیاز یک قرار داشت. این در حالیست که بر اساس نمودار امتیازات، شدت آسیب در همین زمان در گروه‌های MS روی امتیاز ۲ تا ۳ به صورت میانگین قرار داشت و حاکی از کنترل و تخفیف پیشرفت ضایعات دمی‌لینه حاصل از اثر ورزش در آب بوده است. از سویی دیگر بروز علائم بالینی از روز نهم القاء (۹ dpi Day post of injection) بروز یافت و در روزهای ۲۳ و ۲۴ به اوج خود رسید که این علائم در گروه‌های تحت درمان با ورزش و اینترفرون و ترکیب ورزش با اینترفرون در عدد امتیاز پایین‌تری در روزهای مشابه نسبت به گروه‌های MS غیردرمانی قرار داشت.

نمودار ۳) با اندازه‌گیری نسبت IL-10/TNF-α در مقایسه بین گروهی به ترتیب در گروه‌های MS شنا اینترفرون، MS اینترفرون، MS شنا مقادیر از بیشترین به کمترین گزارش شد. گروه‌های شاهد تزریق و همین‌طور شاهد شنا و تزریق بدون اختلاف در نسبت برابر ارزیابی شدند و به ترتیب در مقایسه با گروه MS اینترفرون و MS شنا اینترفرون اختلاف ۷۰ درصدی و ۸۰ درصدی را نشان می‌دهد. در گروه‌های سالم نسبت میانگین غلظت در حداقل مقادیر و این نسبت در گروه MS در پایین‌ترین مقدار ممکن حتی کمتر از گروه‌های سالم گزارش می‌شود.

تاثیر چهار هفته شنا هوازی بر میزان بهبود علائم بالینی در موش‌های مبتلا به انسفالومیلیت خودایمن تجربی: پژوهش‌های بالینی در زمینه تاثیر فعالیت ورزشی بر تغییرات علائم بالینی و تنظیم سایتوکاینی در افراد مبتلا به MS محدود است و به‌ویژه به دلیل اعمال متنوع و متعدد سایتوکاین‌ها، اغلب به سختی می‌توان اهمیت بیولوژیکی تغییرات مربوط به پاسخ به فعالیت ورزشی را تفسیر و توجیه می‌گردد. از طرفی در محدود پژوهش‌های انجام گرفته، تاثیر تمرینات در آب به ندرت مورد بررسی قرار گرفته است.

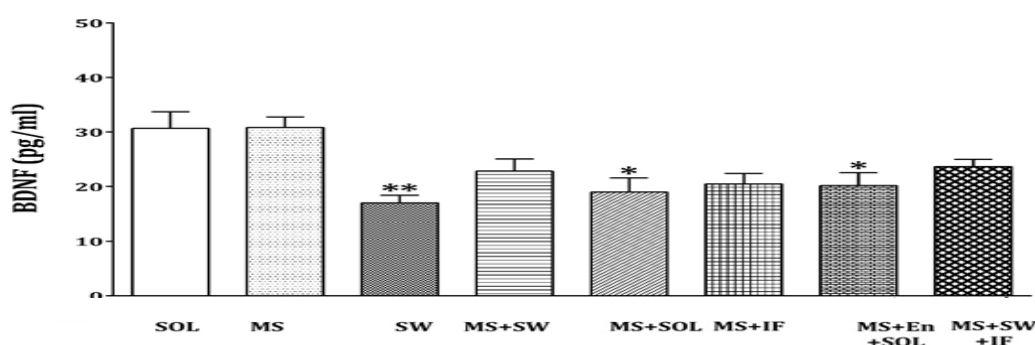
بنابراین تاثیر تمرینات در آب بر سیستم ایمنی این بیماران شناخته نشده است. نتایج بررسی بر روی میزان توانایی‌های حرکتی در پروتکل زمان رسیدن به درماندگی (TTE) نشان داد



نمودار ۴: نمرات شدت آسیب در گروه های مختلف

کنترل می‌شود. این کاهش معنی‌دار در گروه EAE + حلال (P = ۰/۰۵) و گروه EAE + محیط شنا + حلال (P = ۰/۰۵) نیز در مقایسه با گروه کنترل مشاهده می‌شود. تجزیه و تحلیل‌های بیشتر نشان می‌دهد که ورزش به تنهایی، اینترفرون به تنهایی و یا همراه با ورزش در موش‌های مبتلا به انسفالومیلیت خود ایمن تجربی منجر به افزایش سطح BDNF در مقایسه با گروه EAE شده است، با این حال این افزایش به صورت آماری معنی‌دار نبوده است. علاوه بر این، نتایج نشان می‌دهد که اینترفرون به تنهایی و حتی همراه با ورزش قادر به افزایش سطح این فاکتور در مغز موش‌های مبتلا به انسفالومیلیت خود ایمن تجربی نبوده است.

نمودار ۴) در نمودار مربوط به شدت بیماری علامت (\*) نشان دهنده مقایسه گروه MS کنترل با سالم کنترل می‌باشد که میانگین بین آن‌ها اختلاف با سطح معنی‌داری (P = ۰/۰۰۱) را گزارش می‌کند و علامت (+) نشان دهنده معنی‌داری گروه‌های MS شنا و MS اینترفرون و MS شنا اینترفرون با گروه MS می‌باشد که بر این اساس اختلاف معنادار وجود دارد (P = ۰/۰۰۱). تأثیر چهار هفته شنا هوازی بر میزان BDNF در بافت مغز موش‌های مبتلا به انسفالومیلیت خود ایمن تجربی: همان‌طور که در نمودار ۵ مشاهده می‌کنید، آنالیز واریانس نشان داده است که انسفالومیلیت خود ایمن تجربی منجر به کاهش معنی‌دار میزان BDNF (P = ۰/۰۱) در مقایسه با گروه



نمودار ۵: میزان فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF).

تجربی و دریافت اینترفرون بتا-۱، انسفالومیلیت خود ایمن تجربی که حلال دارو دریافت کرده و در محیط شنا قرار می‌گیرد و نهایتاً گروه انسفالومیلیت خود ایمن تجربی و دریافت اینترفرون بتا-۱ که در تمرینات شنا شرکت دارد و به بررسی

نمودار ۵) مقایسه میانگین غلظت BDNF در، گروه سالم شنا با میانگین گروه‌های انسفالومیلیت خود ایمن تجربی EAE، شنا و انسفالومیلیت خود ایمن تجربی، انسفالومیلیت خود ایمن تجربی و دریافت حلال، انسفالومیلیت خود ایمن

به دنبال آن تولید CRP نیز کاهش می‌یابد (۲۳). ب) تمرین بلند مدت تولید سلول‌های تک هسته‌ای سایتوکاین‌های آتروژن (IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$  و INF-y) را تضعیف می‌کند (ج) تمرین بلند مدت تولید سایتوکاین‌های ضدالتهابی مانند IL-4, IL-10, IL-1 و 8 و آنتاگونیست گیرنده IL-1 را تحریک می‌کند (۲۴).

افزایش گلوکوکورتیکوئیدها واسطه اثرات سرکوب‌گر فعالیت ورزشی بر TNF- $\alpha$  می‌باشد و در اصل افزایش کورتیزول طی فعالیت‌های ورزشی طولانی مدت رخ می‌دهد که منجر به کاهش TNF- $\alpha$  می‌شود. (۲۵) بیشتر پژوهش‌ها در آزمودنی‌های سالم روی ماکروفاژها و منوسیت‌ها نشان می‌دهد، کاتکولامین‌هایی مانند اپی نفرین، تولید سلولی TNF- $\alpha$  را مهار می‌کند (۲۶). TNF- $\alpha$  در بیماران MS نقش دوگانه‌ای را ایفا می‌کند، زیرا از یک طرف افزایش آن با تخریب میلین همراه است و از طرف دیگر این عامل نقش حفاظتی روی اعصاب از طریق افزایش تکثیر الیگودنروسیت‌ها و تحریک بازسازی میلین دارد. یک توضیح احتمالی می‌تواند وجود دو مسیر علامت‌رسانی متفاوت توسط دو گیرنده مختلف TNF- $\alpha$  (P55, P75) باشد (۲۷). در این راستا و هم‌سو با نتایج این پژوهش کاستلانو و همکارانش گزارش کردند احتمالاً فعالیت ورزشی منظم منجر به فعالیت التهابی خوب گیرنده TNF- $\alpha$  P57 می‌شود که از این طریق رشد و تکثیر سلول‌های عصبی را القاء می‌کند (۲۸) گزارش شده است عملکرد محافظت-کننده نرونی گیرنده TNF- $\alpha$  P57 از طریق القای سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، حفاظت نرون‌ها از گونه‌های اکسیژنی فعال (ROS) و تثبیت کالبدین برای پایداری کلسیم در CNS اعمال می‌شود (۲۹). کاستلانو و همکارانش پیشنهاد کردند تمرین هوازی احتمالاً مقادیر سایتوکاین‌های پیش التهابی در خون را افزایش می‌دهد، اگرچه پیامد این افزایش، ناشناخته باقی مانده است. با توجه به این‌که در پژوهش حاضر از تمرین هوازی استفاده شده است، به نظر می‌رسد کاهش مشاهده شده مقادیر غلظت TNF- $\alpha$  در گروه‌های تحت درمان با ورزش را بتوان با مطالعه کاستلانو و همکارانش هم راستا دانست. کاستلانو کاهش ۱۰ درصدی و غیرمعنادار TNF- $\alpha$  را نشان داد و علت

تاثیر شنا و تیمار اینترفرون بتا-۱ بر روی میزان فاکتور نورون زایی مشتق شده از مغز (BDNF) در بافت مغز موش‌های مبتلا به انسفالومیلیت خود ایمن تجربی پرداخته است. مقدار فاکتور نورون زایی مشتق شده از مغز به صورت پیکوگرم در میلی‌لیتر (pg/ml) نمایش داده شده است.

## بحث

در این مطالعه تجربی ما نشان داده‌ایم که EAE منجر به افزایش میزان TNF- $\alpha$  نسبت به موش‌های سالم شده است. با این حال شنا در گروه MS تا ۲۰ درصد کاهش مقادیر TNF- $\alpha$  را نسبت به گروه MS بی‌تحرک نشان داد. در واقع در گروه MS کنترل اختلاف معنادار نسبت به گروه سالم کنترل و MS شنا و همین‌طور در گروه سالم شنا اختلاف معنادار نسبت به گروه سالم کنترل وجود داشت. یکی از مکانیسم‌های موثر در این کاهش، افزایش سایتوکاین‌های ضد التهابی همچون IL-10, IL-6 است که در پژوهش حاضر با توجه به تغییرات IL-10, IL-6 تایید می‌شود. این سایتوکاین‌ها مانع تولید سایتوکاین‌های التهابی مانند TNF- $\alpha$  می‌شوند. از دلایل افزایش TNF- $\alpha$  در گروه‌های MS فعال‌سازی گیرنده  $\beta$ -آدرنرژیک است که ترشح سایتوکاین‌های التهابی را افزایش می‌دهد. سازوکار دیگری که به وسیله ورزش ممکن است میانجی‌های التهابی را کاهش دهد، تغییر در میزان استرس است که این کاهش با نتایج یافته‌های پژوهش گرانی که ورزش را موجب کاهش افسردگی و اضطراب بالینی می‌دانند هم‌سو است (۱۵،۱۶).

داده‌های این پژوهش و یافته‌های بسیاری از پژوهش‌گران نشان داد که بر اثر انجام تمرینات ورزشی هوازی (۱۹-۱۷) و تمرینات مقاومتی (۲۲-۲۰) سطوح TNF- $\alpha$  کاهش می‌یابد. کاهش TNF- $\alpha$  و دیگر سایتوکاین‌های التهابی نشان از سازگاری بدن به تمرینات ورزشی در جهت ایجاد محیط ضد التهابی است. بنابراین در مجموع علت کاهش در سطوح TNF- $\alpha$  با تمرینات ورزشی را می‌توان چنین بیان کرد:

الف) تولید CRP کبدی به وسیله‌ی IL-6, TNF- $\alpha$  و IL-1 تحریک می‌شود. پژوهش‌های بسیار زیادی نشان داده‌اند فعالیت جسمانی موجب کاهش سطوح IL-6, TNF- $\alpha$  و IL-1 می‌شود و

آن را تعداد کم آزمودنی (۶ نفر) بیان کرد، در پژوهش حاضر تعداد گروه ها ۱۰ تایی و به جهت استفاده از نمونه‌های حیوانی مراحل اجرای پژوهش با کنترل بیشتری همراه بود، بنابراین تفاوت غلظت TNF- $\alpha$  بین گروه‌ها با اختلاف معنادار گزارش شد.

پدرسن و همکاران در سال‌های ۲۰۰۷ و ۲۰۱۰ در بررسی‌های گزارش کردند که سطح TNF- $\alpha$  و IL-6 افزایش معنی داری را در اثر تمرین ورزشی تجربه می‌کند. ریه‌مانه و همکاران در سال ۲۰۱۳ نیز به یافته‌های تقریباً مشابهی دست یافتند به طوری که در بررسی‌های این محققین IL-10 با افزایش معنی داری همراه بود، اما TNF- $\alpha$  تغییر چندانی نیافت. در خصوص علت یابی نتایج مطالعات مختلف، می‌توان به عوامل متعددی از جمله سطح آمادگی جسمانی، جنس، نوع و شدت تمرین، تفاوت‌های ژنتیکی، پیشینه تغذیه ای و سن آزمودنی‌ها اشاره داشت. بررسی‌ها نشان می‌دهد افراد ورزشکار و فعال که به طور مستمر در فعالیت‌های ورزشی شرکت دارند از سطح پایین‌تر یا تقریباً مشابهی از سایتوکاین‌های TNF- $\alpha$  و IL-6 در مقایسه با افراد کم تجربه برخوردار هستند (۳۰). از طرفی دیگر جنسیت نیز می‌تواند عامل مؤثری در این فرایند باشد، محققان بر این عقیده‌اند که زنان از سطح در مقایسه با مردان TNF- $\alpha$  بالاتری از برخوردار هستند که در این زمینه عواملی از جمله سطح رادیکال‌های آزاد و توان دفاعی بدن نیز بسیار مهم می‌باشند (۳۱). در برخی از تحقیقات نیز گزارش شده است که زنان به دلیل برخورداری از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتر و نیز سطح استروژن بالا، از سطح رادیکال‌های آزاد و نیز شاخص‌ها التهابی کمتری هم چون CRP در مقایسه با مردان برخوردار هستند، (۳۲) بنابراین در مقایسه با مردان سطح سایتوکاین‌ها در زمان فعالیت ورزشی و نیز در حالت استراحت، در این جنس از افراد فعال روند افزایشی کمتری دارد.

در این پژوهش با توجه به گزارش نتایج، نوع و شدت تمرینات جهت ایجاد سازگاری‌های لازم در حدی بوده است که توانسته موجب بروز خاصیت ضدالتهابی گردد و با افزایش سایتوکاین ضدالتهابی IL-10 یک فید بک منفی روی آزاد

سازی TNF- $\alpha$  اعمال شده است. در واقع می‌توان نتیجه گرفت که کاهش‌ی که در IL-10 همراه با کاهش عوامل زنده پیش التهابی به دنبال دوره ای از تمرینات ورزشی در این نمونه‌ها رخ می‌دهد، متفاوت از کاهش‌ی است که در اثر روند عود بیماری اتفاق می‌افتد. این موضوع احتمالاً به اثر ورزش روی تنظیم سایتوکاین‌ها در بیماران MS بر می‌گردد. پژوهشی دیگر تحت عنوان پاسخ آندوکراین‌ها و سایتوکاین‌ها به استرس ورزشی در افراد مبتلا به MS انجام شد که کاهش معنادار IL-10 را بعد از ۴ هفته تمرین هوازی با شدت ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و تواتر دو بار در هفته مشاهده کردند (۳۳). هم چنین پاسخ سایتوکاین‌های بیماران MS را نسبت به تمرینات مقاومتی توسط پژوهشگری سنجیده شد. در این پژوهش ۱۰ بیمار زن MS به مدت ۱۲ هفته در برنامه ورزشی شرکت کردند. نتایج نشان داد که غلظت IL-10 در خون کاهش یافت. وی بیان کرد که تمرینات مقاومتی پیش رونده ممکن است بر غلظت سایتوکاین‌ها در افراد MS تاثیر بگذارد، که به وضعیت کلی بیمار هم بستگی دارد. هم چنین با توجه به نقش بسیار پیچیده سایتوکاین‌ها در عملکرد سیستم ایمنی بیماران MS، تفسیر یافته‌های مربوط به سایتوکاین‌ها بسیار مشکل است (۳۴).

بررسی‌های تحقیق حاضر در زمینه نسبت غلظت عوامل التهابی مورد نظر موید آن است که سطح سایتوکاین‌های TNF- $\alpha$  و IL-10 در اثر فعالیت ورزشی با شدت فزاینده تغییر می‌یابد که این روند در مدت زمان ریکاوری بعد از فعالیت ورزشی طی مطالعه همسان ادامه دار گزارش شده است (۳۵،۳۶). مطالعه پژوهش‌های سایر محققین نیز حاکی از نتایج مشابه و در برخی موارد نتایج متناقض با یافته‌های تحقیق حاضر است. در واقع رقابت با عوامل عفونی یا محصولات آن‌ها، ترشح زود هنگام سایتوکاین‌های تنظیم‌کننده هم چون TNF- $\alpha$  و IL-10 را تحریک می‌کند. این سایتوکاین‌ها توسط ماکروفاژهای فعال شده تولید می‌شوند و نقش‌های متضادی هم در پاسخ ایمنی ذاتی و هم ایمنی اختصاصی بازی می‌کنند (۳۷،۳۸). تنظیم مثبت TNF- $\alpha$  Upregulate حاصل تولید سایر سایتوکاین‌های پیش التهابی توسط سلول‌های ایمنی و غیر

دیگری مؤثر است، که آسیب عضلانی و نیز تأمین انرژی سلول‌های عضلانی از جمله آن محسوب می‌شود.

برخی از مطالعات نشان می‌دهد در حین فعالیت‌های شدید ورزشی آزاد شدن فاکتورهای التهابی از عضلات، منجر به آزاد شدن گلوکز از سلول‌ها کبدی از طریق اتصال به گیرنده‌های آن و تولید cAMP و متعاقب آن فعال کردن آنزیم‌های گلوکز 6 فسفاتاز و نیز فسفوریلاز می‌شود (۵۸-۵۶) بنابراین تغییرات سطوح سایتوکاین‌ها باید از جنبه ایمنی و تولید انرژی نیز مورد توجه قرار گیرد.

در نهایت می‌توان دریافت که احتمالاً نمونه‌های تمرین به هنگام فعالیت ورزشی شدید در معرض گسترش شاخص‌های التهابی بوده و آسیب‌های شدید قرار دارند. با توجه به منشأ عضلانی و نیز سلول‌های ایمنی سایتوکاین‌های التهابی، (۶۲-۵۹) به قطعیت نمی‌توان گفت که این سایتوکاین‌ها جهت سرکوب استرس وارد شده بر بدن آزاد شده اند یا خود مسبب التهاب هستند، بنابراین به تحقیقات بیشتری نیاز است و پیشنهاد می‌گردد در مطالعات بعدی بیشتر مورد توجه پژوهش‌گران قرار گیرد. پژوهش‌های بالینی در زمینه تاثیر فعالیت ورزشی بر تغییرات علائم بالینی و تنظیم سایتوکاینی در افراد مبتلا به MS محدود است و به‌ویژه به دلیل اعمال متنوع و متعدد سایتوکاین‌ها، اغلب به سختی می‌توان اهمیت بیولوژیکی تغییرات مربوط به پاسخ به فعالیت ورزشی را تفسیر و توجیه می‌گردد. از طرفی در معدود پژوهش‌های انجام گرفته، تاثیر تمرینات در آب به ندرت مورد بررسی قرار گرفته است. بنابراین تاثیر تمرینات در آب بر سیستم ایمنی این بیماران شناخته نشده است. در این مطالعه تجربی ما نشان داده‌ایم که EAE منجر به کاهش میزان BDNF نسبت به موش‌های سالم شده است. در راستای یافته‌های ما، مطالعات گذشته کاهش سطح بیان BDNF را در بافت مغز موش‌های مبتلا به EAE نشان داده‌اند (۶۴،۶۳). علاوه بر آن، نتایج متناقضی در سنجش میزان این فاکتور در مطالعات پزشکی در سرم خون افراد مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس وجود دارد. برای نمونه، برخی مطالعات

ایمنی چسبندگی لکوسیت‌ها را افزایش می‌دهد و مهاجرت سلولی را به داخل فضای بافت تقویت می‌کند (۳۹،۴۰). در واقع فعالیت ضد میکروبی نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها را تسهیل می‌کند، اما علاوه بر این، توانایی آسیب رساندن به بافت‌ها را نیز افزایش می‌دهد (۴۱،۴۲). تولید بیش از حد سایتوکین ممکن است عوارض جدی مانند التهاب سیستمیک و شوک سپتیک داشته باشد (۴۳). اما معمولاً، افزایش سریع TNF- $\alpha$  با تدابیر اولیه و پایدار از فاکتور ضدالتهابی IL-10 تعدیل می‌شود (۴۴). این سایتوکین تولید میانجی‌های تنظیمی و هم چون TNF- $\alpha$  را سرکوب می‌کند، جذب لکوسیت را به محل التهاب مهار می‌کند و بیان HLA-DR را توسط مونوسیت / ماکروفاژها کاهش می‌دهد (۴۵،۴۶).

تا همین اواخر، اسناد موجود در مورد تغییرات و تنظیم توازن ترشحی IL-10 / TNF- $\alpha$  هم در شرایط ایمنی و هم در متابولیسم پایه بسیار اندک بود. روابط بین سایتوکین‌ها در زمینه سندرم سپسیس نسبت به سایر بیماری‌ها بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته است (۴۷-۴۹). در پژوهش حاضر آثار بهبودی در گروه‌هایی که نسبت IL-10/ TNF- $\alpha$  بالاتر گزارش شده مشهود است و این با برخی از پژوهش‌ها در این زمینه که البته طرح نسبت را IL-10/ TNF- $\alpha$  مطرح کرده بودند همسو است. (۵۰-۵۲) یکی از مکانیزم‌های پیشنهادی مطالعاتی آن‌ها پیشنهاد می‌کند که TNF- $\alpha$  قادر است تنظیم اولیه رونویسی IL-10 که از طریق تحریک فعال سازی پروتئین-۱ تشخیصی توسط پروموتور IL-10 است را انجام دهد. با این فرضیه که تولید IL-10 نیاز به حداقل دو سیگنال دارد؛ اولین مورد توسط لیپوپلی ساکارید (یا معیار فیزیولوژیک آن) و دوم توسط TNF- $\alpha$  یا IL-1 درون Endogenous (۵۳-۵۵) شاید یکی از دلایل تغییرات نامحسوس در گروه‌های MS تحت درمان این پژوهش این بود که بالای ۳۰ درصد نمونه‌ها توانایی خاتمه پروتکل تمرین را علیرغم به کارگیری یکی از بهترین نوع تمرینات (شنا) برای این بیماری نداشتند. با این حال در بررسی علل و عوامل مؤثر بر افزایش سایتوکاین‌ها بعد از ورزش عوامل

کاهش تولید BDNF را نشان می‌دهند، در حالی که تعدادی از تحقیقات افزایش سطح بیان و تولید این فاکتور را گزارش کرده‌اند (۶۵،۶۶).

یافته‌های ما نشان داده است که تیمار اینترفرون بتا-۱ در موش‌های مبتلا به EAE منجر به تغییر معنی‌داری در میزان BDNF در بافت مغزی نشده است. در این چارچوب، محققان نشان داده‌اند که تیمار اینترفرون بتا-۱ منجر به افزایش بیان BDNF توسط سلول‌های سیستم دفاعی بدن می‌شود. از سویی دیگر، تضاد بین یافته‌ها بر روی تغییر سطح بیان این فاکتور توسط اینترفرون بتا-۱ گزارش شده است که بیانگر عدم قطعیت در مورد نقش اینترفرون بتا-۱ در مطالعات می‌باشد. برای مثال، برخی از یافته‌های پزشکی نشان داده‌اند که تیمار اینترفرون بتا-۱ موجب افزایش میزان BDNF در محیط داخلی سلول‌های تک هسته‌ای خون در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس می‌شود (۶۷، ۶۸)، در حالی که تفاوتی در مقدار این فاکتور در سرم این بیماران یافت نشده است (۷۰، ۶۹). علاوه بر آن، نتایج مطالعه ما نشان می‌دهد که چهار هفته شنای هوازی توانسته است به صورت محسوس منجر به افزایش سطح BDNF در موش‌های مبتلا به EAE شود ولی با این حال این افزایش به صورت آماری معنی‌دار نبوده است. در موافقت با این یافته‌ها، افزایش سطح BDNF پس از انجام تمرین‌های ورزشی در مغز و نخاع حیوانات سالم و در مغز انسان، البته از طریق تکنیک Microarray مشاهده شده است (۷۱-۷۲). مطالعات انسانی و حیوانی هم‌چنین نشان داده‌اند که سطح پایین BDNF سرمی در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس پس از انجام چهار هفته ورزش هوازی، تغییر و با افزایش میزان این فاکتور همراه بوده است (۷۲).

در نتیجه، این مطالعه نشان می‌دهد که EAE می‌تواند منجر به کاهش سطح BDNF در بافت مغز موش‌های مبتلا به EAE شود و ممکن است ورزش بتواند اثر کاهشی EAE بر روی BDNF را مهار و منجر به افزایش این فاکتور و هم‌چنین افزایش بیشتر گیرنده TrkB شود. احتمال دارد این افزایش‌ها بتواند موجب کاهش میلین‌زدایی در مغز شود که برای رسیدن

به چنین نتیجه‌ای مطالعات تکمیلی و بیشتری توصیه می‌شود. مبتلایان به این بیماری گرفتار طیف وسیعی از مشکلات هستند که می‌تواند از یک مشکل حسی ساده تا فلج هر چهار اندام متغیر باشد، علاوه بر آن به دلیل مزمن بودن بیماری MS و بروز حملات مکرر، اغلب منجر به حساس و زود رنج شدن، خستگی، افسردگی و کاهش اعتماد به نفس مبتلایان می‌شود (۷۳).

بر این اساس حضور در آب اثرات چند سویه و متفاوتی را منجر شد که از آن جمله می‌توان به بهبود علائم حرکتی و تفاوت مشهود در میزان امتیاز اشاره کرد. پروتکل شنا برای موش‌های MS که تحت درمان دارویی یا ورزشی نبودند به جهت شدت علائم دست‌خوش تغییراتی هم‌چون کاهش عمق آب و زمان فعالیت شد، تا جایی که علیرغم این تفاوت برخی نمونه‌های این گروه‌ها، دیگر قادر به حفظ بدن خود جهت حضور در آب نبودند. بروز این علائم بالینی در پی دمیلینه شدن منجر به مختل شدن انتقال پیام‌های عصبی می‌شود. البته علائم بالینی به‌خاطر شدت و مکان دمیلینه شدن در بین افراد مختلف بسیار هتروژن است. علائم آغازین MS عبارت از ضعف در اندام‌ها به خصوص اندام‌های تحتانی، اختلالات حسی، التهاب اعصاب بینایی، دو بینی، ناپایداری در گام برداشتن و اتاکسی می‌باشد. در این تحقیق علائم رفتاری مورد بررسی نبود و شروع بیماری در نمونه‌ها کاملاً متغیر و از حالت ناگهانی بروز بیماری تا حالت مرموز و پیشرونده که علائم بالینی نیز نداشت وجود داشت. تا آن‌جا که در برخی نمونه‌ها بدون هیچ‌گونه علامتی مرگ و خارج شدن از گروه رخ می‌داد. علائم بیماری نیز بسیار متغیر است در بعضی موارد بسیار شدید است یا این که آن قدر ناچیز که بیمار برای چندین سال به پزشک مراجعه نمی‌کند. با پیشرفت بیماری علائم بیماری نیز وخیم‌تر شد. حساسیت به گرما که حضور در آب با دمایی کمتر از دمای بدن موش‌ها طراحی شده بود به بهبود حرکتی ناشی از کنترل دمای محیطی و مرکزی نمونه‌ها کمک شایانی کرد و در مراحل درمان کاملاً اثرگذار بود.

نوروتروفیک هم چون BDNF می شود. بنابراین پیشنهاد می شود که بیماران مبتلا به MS با مشورت پزشک خود از این تمرینات به عنوان یک عامل کمک درمانی در کنار درمان دارویی استفاده کنند.

### سیاسگزاری

این مقاله برگرفته از رساله دکتری با کد: ۱۳۵۹۹۷۱ می باشد که در دانشگاه خوارزمی به ثبت رسیده است. هزینه های مطالعه بر عهده محققین بوده است و نویسندگان هم چنین از "موسسه اختلالات شناختی و رفتاری سالاری" بخاطر همکاری صمیمانه برای ارائه حیوانات و مدل EAE تشکر می کنند.

**تعارض در منافع:** وجود ندارد

### نتیجه گیری

با توجه به مطالب و نتایج ارائه شده می توان بیان کرد فعالیت بدنی منظم با وجود بیماری MS (عامل اصلی تغییرات غلظت IL-10) موجب افزایش سطوح IL-10 می شود. از آنجا که ارتباط قوی بین IL-10 و MS گزارش شده است می توان گفت فعالیت بدنی آسان ترین و کم هزینه ترین روش درمان و پیش گیری بیماری های التهابی است. به نظر می رسد فعالیت بدنی از طریق مکانیسم های فیزیولوژیکی منجر به منافع کاربردی و کاهش علائم در MS، بدون تشدید آسیب های التهابی است. فعالیت بدنی منظم شنا دارای تاثیرات مفیدی است و می تواند باعث کاهش التهاب سیستمی شود. به طوری که انجام پیوسته تمرینات توسط افراد مبتلا به MS موجب کاهش سطح برخی سایتوکاین های التهابی و افزایش فاکتورهای

### References:

- 1-Sospedra M, Martin R. *Immunology of Multiple Sclerosis*. Immunol 2005; 23: 683-747.
- 2-Glozman JM, Konini S. *Prevention of learning disability in the preschool years*. Procedia - Social Behavioral Sci 2014; 146: 163-68.
- 3-De Santi L, Annunziata P, Sessa E, Bramanti P. *Brain-derived neurotrophic factor and TrkB receptor in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis*. J Neurol Sci 2009; 287(1): 17-26.
- 4-Rombery A, Virtanen A, Ruutiainen J, Aunola S, Karppi SL, Vaara M, et al. *Effect of a 6-month exercise program on patient with multiple sclerosis*. Neurology 2004; 63(11): 2034-48.
- 5-Bradly, Daroff, Fenichel, Jankovic. *Neurology in clinical practice*. 4 ed. Philadelphia: Elsevier, 2004: 37-56.
- 6-Motl RW, Pilutti LA. *The benefits of exercise training in multiple sclerosis*. Nat Rev Neurol 2012; 8(9): 487-97.
- 7-Ziemssen T, Kumpfel T, Klinkert WE, Neuhaus O, Hohlfeld R. *Glatiramer acetate specific T-helper 1- and 2-type cell lines produce BDNF: implications for multiple sclerosis therapy*. Brain 2002; 125(11): 2381-91.
- 8-White LJ, McCoy SC, Castellano V, Ferguson MA, Hou W, Dressendorfer RH. *Effect of resistance training on risk of coronary artery disease in women with multiple sclerosis*. Scand J Clin Lab Invest 2006; 66(4): 5-351.
- 9-Castellano V, Patel D, White L. *Cytokine Responses to Acute and Chronic Exercise in Multiple Sclerosis*. J Appl Physiol 2008; 104: 1697-702.

- 10- Kress-Bennett J, Ehrlich G, Bruno A, Post C, Scott T. *Preliminary study: Treatment with intramuscular interferon beta-1a results in increased levels of IL-12Rb2+ and decreased levels of IL23R+ CD4+ T - Lymphocytes in multiple sclerosis*. BMC Neurol 2011; 11:155: 1-7.
- 11- Knaepen K, Goekint M, Heyman EM, Meeusen R. *Neuroplasticity-exercise-induced response of peripheral brain-derived neurotrophic factor*. Sports Med 2010; 40(9): 765-801.
- 12- Aharoni R, Saada R, Eilam R, Hayardeny L, Sela M, Arnon R. *Oral treatment with laquinimod augments regulatory T-cells and brain-derived neurotrophic factor expression and reduces injury in the CNS of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis*. J Neuroimmunology 2012; 251(1):14-24.
- 13- Branas P, Jordan R, Fry-Smith A, Burls A, Hyde C. *Treatments for fatigue in multiple sclerosis: a rapid and systematic review*. Health Technol Assess 2000; 4(27):1-61.
- 14- Lesley J, Castellano V. *Exercise and Brain Health –Implications for Multiple SclerosisPart 1 – Neuronal Growth Factors*. Sports Med 2008; 38(2): 91-100.
- 15- Mahon BD, Gordon SA, Cruz J, Cosman F, Cantorna T. *Cytokine profile in patients with multiple sclerosis following vitamin D supplementation*. J Neuroimmunol 2003; 134(1-2): 128-32.
- 16- Martin R, Mcfarland HF, Mcfarlin DE. *Immunological aspect of demyelinationy disease*. Ann Rev Immunol 1992; 10(1-2): 153-87.
- 17- Mary L, Patricia L, Jessie H, Lorene S, Jeanna V, Daryl K, Nick S. *Impact of Resistance Training on Balance and Gait in Multiple Sclerosis*. International J MS Care 2010; 12: 6-12.
- 18- McCullagh R, Fitzgerald A, Murphy R, Cooke G. *Long-term benefits of exercising on quality of life and fatigue in multiple sclerosis patients with mild disability*. Clin Rehabil 2008; 22(3): 206-14.
- 19- Mostert S, Kesselring J. *Effects of a short-term exercise training program on aerobic fitness, fatigue, health perception and activity level of subjects with multiple sclerosis*. Mult Scler 2002; 8(2): 161-68.
- 20- Motl R, Dlugonski D, Wójcicki TR, McAuley E, Mohr DC. *Internet intervention for increasing physical activity in persons with multiple sclerosis*. Mult Scler J 2011; 17(1): 116-128.
- 21- Ogawa K, Sanada K, Machida S, Okutsu M, Suzuki K. *Resistance Exercise Training-Induced Muscle Hypertrophy is Associated with Reduction of Inflammatory Markers in Elderly Women*. Mediators of Inflammation 2010; 1-7.
- 22- Petajan JH, Gappmaier E, White AT, Spencer MK, Mino L, Hicks RW. *Impact of aerobic training on fitness and quality of life in multiple sclerosis*. Am Neurol 1996; 39(4): 41-432.
- 23- Ring-Dimitriou S1, von Duvillard SP, Paulweber B, Stadlmann M, Lemura LM, Peak K, et al . *Nine months aerobic fitness induced changes on blood lipids and lipoproteins in*

- untrained subjects versus controls*. Eur J Appl Physiol 2007; 99(3): 291-9.
- 24- Stinissen P, Raus J, Zhany J. *Autoimmune pathogenesis of multiple sclerosis: role of autoreactive T lymphocyte and new immunotherapeutic strategies*. Crit Rev Immunol 1997; 17: 33-75.
- 25- Svensson B, Grade B, Elert J. *Endurance training in patients with multiple sclerosis*. Five case studies, phys ther 1994;74(11): 1017-26.
- 26- Tartibian B, Ghodrat.Gharabag Z, Gaeini A, Tolouei-Azar. *Influence of 9 Weeks Aerobic Exercise and Multivitamin supplement on inflammation biomarkers as Cardiovascular Risk Factor in Non-athletic Obese Women*. (Iran2000-2010 Zahedan J Res Med Sci (ZJRMS) 2011; 15(3): 30-35.
- 27- Adamopoulos S, Parissis J, Kroupis C, Georgiadis M, Karatzas D, Karavolias G, et al. *Physical training reduces peripheral markers of inflammation in patients with chronic heart failure*. Eur Heart J 2001; 22: 791-7.
- 28- Arastoo AA, Ahmadi A, Zahedinejad Sh. *The comparison of effect of 8 weeks aerobic and yoga training on physiological cost index in multiple sclerosis patients*. Sci Med J 2011; 10(2):153-62. (Persian)
- 29- ASHTON F. *The Multiple Factors of Multiple Sclerosis*. J Nutritional & Environ Med 2004; 14(4): 1-11.
- 30- Bjarnadottir OH, Konradsdottir AD, Reynisdottir K, Olafsson E. *Multiple sclerosis and brief moderate exercise*. Mult Scler 2007; 13(6): 776-82.
- 31- Brown TR, Kraft GH. *Exercise and rehabilitation for individuals with multiple sclerosis*. Phys Med Rehabil Clin N Am 2005; 16(2): 513-55.
- 32- Fischer D, Epstein J, Klasser G. *Multiple sclerosis: an update for oral health care providers*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009;108(3):318-27
- 33- Golzari Z, Shabkhiz F, Soudi S, Reza Kordi M, Mahmoud Hashemi S. *Combined exercise training reduces IFN- $\gamma$  and IL-17 levels in the plasma and the supernatant of peripheral blood mononuclear cells in women with multiple sclerosis*, Int Immunopharmacol 2010; 10(11):1415-19.
- 34- Haan A, van der Vliet MR, Hendriks JJ, Heijnen DA, Dijkstra CD. *Changes in characteristics of rat skeletal muscle after experimental allergic encephalomyelitis*. Muscle Nerve 2004; 29(3): 369-75.
- 35- Page C, Ferry A, Rieu M. *Effect of muscular exercise on chronic relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis*. J Appl Physiol 1994; 77(5): 2341-47.
- 36- Page C, Bourdoulous S, Beraud E, Couraud PO, Rieu M, Ferry A. *Effect of physical exercise on adoptive experimental auto-immune encephalomyelitis in rats*. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 1996; 73(1-2): 130-5.

- 37- Sharief MK. *Cytokines in multiple sclerosis: pro-inflammation or proremyelination?* Mult Scler 1998; 4(3): 169-73.
- 38- Yuede CM, Zimmerman SD, Dong H, Kling MJ, Bero AW, Holtzman DM, et al. *Effects of voluntary and forced exercise on plaque deposition, hippocampal volume, and behavior in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease.* Neurobiol Dis 2009; 35(3): 426-32.
- 39- Zivadinov R, Bakshi R. *Central nervous system atrophy and clinical status in multiple sclerosis.* J Neuroimaging 2004; 14(3 Suppl): 27S-35S.
- 40- Poser CM, Brinar VV. *Diagnostic criteria for multiple sclerosis: an historical review.* Clin Neurol Neurosurg 2004; 106(3): 147-58.
- 41- Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. *Multiple sclerosis.* N Engl J Med 2002; 343(13): 938-52.
- 42- Morgado JM1, Rama L, Silva I, de Jesus Inácio M, Henriques A, Laranjeira P, Pedreiro S, et al. *Cytokine production by monocytes, neutrophils, and dendritic cells is hampered by long-term intensive training in elite swimmers.* Eur J App Physiol 2012; 112(2): 471-82.
- 43- Roberts CK1, Won D, Pruthi S, Kurtovic S, Sindhu RK, Vaziri ND, et al. *Effect of a short-term diet and exercise intervention on oxidative stress, inflammation, MMP-9, and monocyte chemotactic activity in men with metabolic syndrome factors.* J Applied Physiol 1985; 100(5): 1657-65.
- 44- White LJ, Castellano V, McCoy SV. *Cytokine responses to resistance training in people with multiple sclerosis.* J Sports Sci 2006; 24(8): 911-14.
- 45- Bansi J, Bloch W, Gamper U, Kesselring J. *Training in MS: influence of two different endurance training protocols (aquatic versus overland) on cytokine and neurotrophin concentrations during three week randomized controlled trial.* Mult Scler 2013; 19(5): 613-21.
- 46- Compston A, Coles A. *Multiple sclerosis.* Lancet. 2008 Oct 25;372(9648):1502-17.
- 47- Gandhi R, Laroni A, Weiner HL. *Role of the innate immune system in the pathogenesis of multiple sclerosis.* J Neuroimmunology 2010; 221(1-2): 7-14.
- 48- Thewissen K1, Nuyts AH, Deckx N, Van Wijmeersch B, Nagels G, D'hooghe M, et al. *Circulating dendritic cells of multiple sclerosis patients are proinflammatory and their frequency is correlated with MS-associated genetic risk factors.* Mult Scler 2014; 20(5): 548-57.
- 49- Walsh NP, Gleeson M, Shephard RJ, Geleeson M, Woods J, Bishop N, et al. *Position statement. Part one. Immune function and exercise.* Exercise Immunology Rev 2011; 17: 6-63.
- 50- T.Nickel, H.Hanssen, I. Emslander et al. *Immunomodulatory effects of aerobic training in obesity.* Mediators of Inflammation, 2011, Article ID 308965, 10 pages.
- 51- Pilutti LA, Platta ME, Motl RW, Latimer-Cheung AE. *The safety of exercise training in*

- multiple sclerosis: a systematic review.* J Neurol Sci 2014; 343(1-2): 3-7.
- 52- Vassili P. *The pathophysiology of tumor necrosis factor.* Annu Rev Immunol 1992; 10: 411-52.
- 53- Van der Poll T, Lowry SF. *Epinephrine inhibits endotoxin-induced IL-1b production: roles of tumor necrosis factor-a and IL-10.* Am J Physiol 1997; 273 (6 Pt 2): R1885-R90.
- 54- Brouckaert P, Fiers W. *Tumor necrosis factor and the systemic inflammatory response syndrome.* Curr Top Microbiol Immunol 1996; 21(6): 167-87.
- 55- Walley KR, Lukacs NW, Standiford TJ, Strieter RM, Kunkel SL. *Balance of inflammatory cytokines related to severity and mortality of murine sepsis.* Infect Immun 1996; 64(11): 4733-38.
- 56- Stordeur P, Goldman M. *Interleukin-10 as a regulatory cytokine induced by cellular stress: molecular aspects.* Int Rev Immunol 1998; 16: 501-22.
- 57- Oswald IP<sup>1</sup>, Wynn TA, Sher A, James SL. *Interleukin 10 inhibits macrophage microbicidal activity by blocking the endogenous production of tumor necrosis factor alpha required as a costimulatory factor for interferon gamma-induced activation.* Proc Natl Acad Sci U S A. 1992 Sep 15;89(18):8676-80.
- 58- Eigler A, Siegmund B, Emmerich U, Baumann KH, Hartmann G, Endres S. *Anti-inflammatory activities of cAMP-elevating agents: enhancement of IL-10 synthesis and concurrent suppression of TNF production.* J Leuc Biol 1998; 63: 101-7.
- 59- Foey AD, Parry SL, Williams LM, Feldmann M, Foxwell BMJ, Brennan FM. *Regulation of monocyte IL-10 synthesis by endogenous IL-1 and TNF-a : role of the p38 and p42/44 mitogen-activated protein kinases.* J Immunol 1998; 160: 920-28.
- 60- Platzer C, Meisel C, Vogt K, Platzer M, Volk HD. *Up-regulation of monocytic IL-10 by tumor necrosis factor-alpha and cAMP elevating drugs.* Int Immunol 1995; 7: 517-23.
- 61- Aharoni R, Saada R, Eilam R, Hayardeny L, Sela M, Arnon R. *Oral treatment with laquinimod augments regulatory T-cells and brain-derived neurotrophic factor expression and reduces injury in the CNS of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis.* J Neuroimmunol 2012; 251(1-2): 14-24.
- 62- Chen X, Hu X, Zou Y, Pi R, Liu M, Wang T, et al. *Combined treatment with minocycline and prednisone attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis in C57 BL/6 mice.* J Neuroimmunol 2009; 210(1): 22-9.
- 63- Castellano V, White LJ. *Serum brain-derived neurotrophic factor response to aerobic exercise in multiple sclerosis.* J Neurological Sci 2008; 269(1): 85-91.
- 64- Liguori M, Fera F, Patitucci A, Manna I, Condino F, Valentino P, et al. *A longitudinal observation of brain-derived neurotrophic factor mRNA levels in patients with relapsing-*

- remitting multiple sclerosis*. Brain Res 2009; 1256: 123-8.
- 65- Lalive P, Kantengwa S, Benkhoucha M, Juillard C, Chofflon M. *Interferon- $\beta$  induces brain-derived neurotrophic factor in peripheral blood mononuclear cells of multiple sclerosis patients*. J Neuroimmunol 2008;197(2):147-51.
- 66- Azoulay D, Mausner-Fainberg K, Urshansky N, Fahoum F, Karni A. *Interferon- $\beta$  therapy up-regulates BDNF secretion from PBMCs of MS patients through a CD40-dependent mechanism*. J Neuroimmunol 2009; 211(1):114-9.
- 67- Caggiula M, Batocchi AP, Frisullo G, Angelucci F, Patanella AK, Sancricca C, et al. *Neurotrophic factors in relapsing remitting and secondary progressive multiple sclerosis patients during interferon beta therapy*. Clinical Immunology 2006; 118(1): 77-82.
- 68- Sarchielli P, Zaffaroni M, Floridi A, Greco L, Candelieri A, Mattioni A, et al. *Production of brain-derived neurotrophic factor by mononuclear cells of patients with multiple sclerosis treated with glatiramer acetate, interferon- $\beta$  1a, and high doses of immunoglobulins*. Mult Scler J 2007; 13(3): 313-31.
- 69- Neeper SA, Gómez-Pinilla F, Choi J, Cotman CW. *Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain*. Brain Res 1996; 726(1): 49-56.
- 70- Cotman CW, Berchtold NC. *Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity*. Trends in Neurosci 2002; 25(6): 295-301.
- 71- Lin Y, Jamison S, Lin W. *Interferon- $\gamma$  Activates Nuclear Factor- $\kappa$  B in Oligodendrocytes through a Process Mediated by the Unfolded Protein Response*. Plos One 2012; 7(5): e36408.

## The effect of 4 weeks of aerobic activity on the ratio of Serum levels of tumor necrosis factor alpha, interleukin-10 and brain-derived neurotrophic factor in C57 rat brain tissue by induction of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)

Maryam Vatandoust<sup>\*1</sup>, Seyed Mehdi Seyed Alhosseini<sup>2</sup>, Abdolmahdi Nasirzadeh<sup>3</sup>, Azam Jourabloo<sup>4</sup>

### Original Article

**Introduction:** According to importance of complimentary therapies. This study was conducted to investigate the effect of a four-week aerobic physical activities in water on the extent of clinical improvement and amount of Tumor Necrosis Factor alpha, TNF- $\alpha$ , Interleukin 10, IL-10 on serum levels and brain-derived neurotrophic factor in the brain tissue of the animal model of of multiple sclerosis (MS) via inducing experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE).

**Methods:** In this experimental study, a total number of 80 female Syrian mice from the race of C57BL/6,, aging 10 to 12 weeks and weighing  $20 \pm 2$  gram were divided into eight groups of 10, namely, control, swimming, MS, MS + swimming, MS + interferon beta (INF- $\beta$ ), MS + interferon beta + swimming, MS + solvent, and MS + solvent + swimming environment. For induction of EAE, 300  $\mu$ g (35-55) myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) was first mixed in 100  $\mu$ l phosphate buffered saline (PBS) with complete Freund's adjuvant (CFA) and injected subcutaneously (SC). At the time of injection and after 48 hours, 300 ng pertussis toxin was diluted in PBS and injected intraperitoneally (IP). During a week after the treatment, mice receiving were the drug in form intraperitoneal received 150 IU/g of the drug per day. Clinical symptoms and the mice's weights were recorded every day. Physical activity group did the aerobic activities for four weeks, five sessions a week, 30 minutes each session. Finally Brains were extracted and blood samples were taken from the heart and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was applied to measure markers. Data analysis was done using one-way ANOVA.

**Results:** Based on the findings of this study, physical activity compared to interferon beta-1 treatment significantly increased the BDNF factor in mice, increased IL-10, and decreased TNF- $\alpha$  in serum .

**Conclusion:** Aerobic swimming exercises could most probably help remyelination by regulation of inflammatory factors and lowering the speed of myelin destruction, hence, helping the clinical improvement in patients with multiple sclerosis.

**Keywords:** Aerobic Activity, Tumor necrosis factor alpha, Interleukin 10, Brain-derived neurotrophic factor, Multiple sclerosis.

**Citation:** Vatandoust M, Seyed Alhosseini MS, Nasirzadeh A, Jourabloo A. **The Effect of 4 weeks of Aerobic Activity on the ratio of Serum levels of Tumor necrosis factor alpha, Interleukin-10 and Brain-Derived neurotrophic factor in C57 rat brain tissue by induction of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE).** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2018; 26(7): 624-45

<sup>1</sup>Department of Sport Physiology, Payame Noor University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Department of Sport Physiology, Farhangian University, Neyshabur, Iran

<sup>3</sup>Department of Sport Management, Payame Noor University, Tehran, Iran

<sup>4</sup>Department of Biochemistry, Payame Noor University, Tehran, Iran

\*Corresponding author: Tel: 09124277951, email: Maryam.vatandost@gmail.com