

علوم زیستی ورزشی - بهار ۱۳۹۹  
دوره ۱۲، شماره ۱، ص: ۶۵ - ۵۳  
تاریخ دریافت: ۰۲ / ۱۱ / ۹۶  
تاریخ پذیرش: ۲۷ / ۱۱ / ۹۷

## اثر پیشگیرانه شش هفته تمرین شنا بر سطوح برخی از سایتوکاین ها و عامل تنظیم نورونی مشتق شده از مغز در رت های مدل EAE

سیده جتبی حسینی<sup>۱</sup> - ضیاء فلاح محمدی<sup>۲\*</sup> - وحید طالبی<sup>۳</sup>

۱. دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران  
۲. دانشیار، دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران  
۳. دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

### چکیده

مالتیپل اسکلروزیس یک بیماری خودایمنی پیش رونده و مزمن سیستم اعصاب مرکزی است که با از بین رفتن غلاف میلین سلول های عصبی همراه است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر پیشگیرانه ۶ هفته تمرین شنا اجباری بر سطوح BDNF و IL-10, TNF- $\alpha$  در رت های مدل EAE بود. ۲۵ سر رت ماده نژاد لوئیس به پنج گروه شامل کنترل سالم، کنترل ام.اس، شنا سالم، شنا ام.اس و حلال تقسیم شدند. تمرینات شنا به مدت ۶ هفته و ۵ روز در هفته انجام گرفت. برنامه تمرین شنا با ۳۰ دقیقه آغاز شد، که این مدت با افزایش پنج دقیقه روزانه در هفته دوم به ۶۰ دقیقه رسید. اضافه بار تمرینی با تنظیم قدرت و سرعت آب هنگام شنا، تنظیم شد. همچنین، مدل EAE در انتهای هفته ششم تمرینات القا و پس از ۱۴ روز بافت برداری از مغز رت ها انجام گرفت. نیمکره راست برای بافت شناسی و نیمکره چپ به منظور انجام آنالیز سنجش پروتئین به آزمایشگاه منتقل شد. تمرین شنا در رت های مدل EAE به کاهش معنادار TNF- $\alpha$  ( $P < 0/001$ ) و عدم تغییر معناداری در IL-10 ( $P=0/71$ ) و BDNF ( $P=0/70$ ) منجر شد. علائم بالینی در رت های تمرین کرده با تأخیر ظاهر شد. علاوه بر این، نتایج حاصل از رنگ آمیزی بافتی نشان داد که بین گروه تمرین کرده و تمرین نکرده تفاوت چشمگیری از نظر التهاب مشاهده نشد. دامیلینه شدن ناشی از مدل EAE سبب افزایش آسیب به بافت مغزی می شود که نشان می دهد ورزش شنا با شدت و مدت مطالعه حاضر نمی تواند در پیشگیری از بیماری مؤثر باشد، هرچند این علائم در مدت کوتاه به تأخیر افتاده باشد.

### واژه های کلیدی

آنسفالومیلیت خودایمن تجربی، تمرین شنا، رت لوئیس، سایتوکاین.

## مقدمه

مالتیپل اسکلروزیس<sup>۱</sup> (MS) یک بیماری خودایمنی پیش‌رونده و مزمن سیستم اعصاب مرکزی بوده و با از بین رفتن غلاف میلین سلول‌های عصبی همراه است که متعاقب آن هدایت ایمپالس‌ها در این اعصاب دچار نقص می‌شود (۱). بیماران مبتلا به این بیماری، دچار اسپاسم‌های عضلانی دردناک، عدم تعادل در راه رفتن، ضعف یا فلج، یبوست و از دست دادن کنترل مثانه می‌شوند (۱). مدل آنسفالمیلیت خودایمن تجربی (EAE)<sup>۲</sup> یک مدل حیوانی برای بررسی شاخص‌های التهابی و رفتاری بیماری ام‌اس است که با وساطت سلول‌های CD4+ T ایجاد می‌شود. در مدل EAE سیتوکین‌های التهابی h1 مثل اینترفرون<sup>۳</sup> (IFN) و فاکتور نکروز توموری آلفا<sup>۴</sup> (TNF- $\alpha$ ) نقش مهمی در ایجاد بیماری دارند (۲). TNF- $\alpha$  یک سایتوکاین پیش‌التهابی است (۳) و IL-10 نه تنها فعالیت ضدالتهابی دارد، بلکه از تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی اینترفرون<sup>۵</sup> ۲ (IL-2) و TNF- $\alpha$  جلوگیری می‌کند (۴). اثرات ضدالتهابی ورزش در بیشتر بیماری‌های مزمن با کاهش واسطه‌های التهابی مثل TNF- $\alpha$  و افزایش اینترفرون<sup>۶</sup> ۱۰ IL-10 به‌عنوان سایتوکاین ضدالتهابی همراه بوده است (۵). این در حالی است که سایتوکاین‌ها نقش مهمی در پاتوژنز بیماری ام‌اس دارند، به‌طوری‌که آنها را محور درمان احتمالاً بیماری می‌دانند (۶).

برخلاف تصورات گذشته معلوم شده است که عامل تنظیم نرونی مشتق‌شده از مغز<sup>۷</sup> (BDNF) در سلول‌های ایمنی بیان می‌شود. BDNF می‌تواند در شرایط *in Vitro* توسط عمده سلول‌های ایمنی بدن از جمله CD4 و CD8 لنفوسیت‌های T، لنفوسیت‌های B و منوسیت‌ها تولید شود. علاوه بر این، تولید BDNF در سلول‌های ایمنی تراوش‌کننده، در مدل‌های تجربی آسیب CNS و التهاب راه‌های هوایی، نشان داده شده است (۷). انتشار نوروتروفین‌هایی مثل BDNF ممکن است در شرایط بالینی همچون نوروپاتولوژی و همچنین اثر ورزش در مدل EAE نقش داشته باشد. از طرفی تحریک BDNF احتمالاً تأثیرات درمانی در EAE و ام‌اس دارد (۸). برنادز و همکاران (۲۰۱۳) در پی تأثیر ۶ هفته تمرین اجباری شنا نشان دادند BDNF هم در نخاع و هم در بافت مغز رت‌های تمرین‌کرده افزایش معناداری داشت، درحالی‌که مقدار

1. Multiple Sclerosis
2. Experimental autoimmune encephalomyelitis
3. Interferon
4. Tumor necrosis factor alpha
5. Interleukin2
6. Interleukin10
7. Brain-derived neurotrophic factor

IL-10 در بافت مغز افزایش معناداری نشان نداد، اما این تغییرات در نخاع افزایش داشت (۹). کلاستانو و وایت (۲۰۰۸) (۱۰) طی تحقیقی اثر فعالیت هوازی در بیماران ام.اس را بررسی کردند و نشان دادند سطوح سرمی BDNF در پایان برنامه تمرینی هوازی کاهش پیدا می‌کند. پاتل و همکاران (۲۰۱۳) در پژوهشی اثر ۱۰ روز تمرین اجباری بر عوامل نوروتروفیک و سایتوکاین TNF- $\alpha$  در رت‌های مبتلا به EAE را بررسی کردند. نتایج این تحقیق نشان داد مقادیر TNF- $\alpha$  کاهش معناداری داشت، در حالی که تغییرات BDNF معنادار نبود (۱۱).

تمرینات ورزشی غوطه‌وری در آب تأثیر بیشتری در فعال‌سازی سرمی BDNF در بیماران ام.اس در مقایسه با بیماران تمرین‌کرده در خشکی دارد (۱۲). بررسی تعامل بین ورزش منظم و پاسخ‌های التهاب نرونی از EAE در مرحله ابتلا به بیماری ممکن است اطلاعات مفیدی در مورد پیشرفت ام.اس و مدیریت این بیماری فراهم کند. به نظر می‌رسد که اجرای فعالیت بدنی منظم می‌تواند فرد را در برابر التهاب و عوامل مستعدکننده به بیماری ام.اس محافظت کند. در این زمینه سؤال مهمی که بدون جواب مانده، نوع ورزش است. از آنجا که ورزش شنا در متون پژوهشی به‌عنوان نوعی ورزش قابل قبول برای این بیماران مطرح شده است، در نتیجه در مطالعه حاضر تأثیر پیشگیرانه همین نوع ورزش بررسی شد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر حفاظتی ۶ هفته تمرین شنای اجباری بر سطوح IL-10، TNF- $\alpha$  و نوروتروفیک مشتق‌شده از مغز در رت‌های لوئیس مدل EAE است.

## روش بررسی

در این مطالعه تجربی، ۲۵ سر رت ماده نژاد لوئیس شش هفته‌ای از مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج تهیه شد که پس از انتقال به آزمایشگاه، به مدت ۲ هفته، برای سازگاری با محیط جدید، در قفس‌های شفاف پلی‌کربنات در محیطی با دمای  $22 \pm 1/14$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵-۵۵ درصد و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. حیوانات به‌طور تصادفی به پنج گروه که در هر گروه پنج سر رت وجود داشت، تقسیم شدند. گروه‌های تحقیق عبارت بودند از: کنترل سالم، کنترل ام.اس، شنای سالم، شنای ام.اس و حلال. در ضمن، طی دوره پژوهش غذای استاندارد و آب به‌صورت آزاد و از طریق بطری‌های ویژه در دسترس حیوانات قرار داده شد.

### برنامه تمرین شنا

پیش از اجرای برنامه تمرینی، به منظور آشنایی با آب و کاهش استرس شنا و سازگاری با شرایط تمرینی، موش‌ها در طی ۲ هفته در داخل استخر آب قرار گرفتند. موش‌های صحرایی گروه تمرین، یک بار در روز و پنج روز در هفته در استخر ویژه‌ای به ابعاد  $100 \times 50 \times 50$  سانتی‌متر به شنا پرداختند. برنامه اصلی تمرین با ۳۰ دقیقه آغاز شد که این مدت با افزایش پنج دقیقه روزانه به زمان تمرین، در هفته دوم به ۶۰ دقیقه رسید. زمان ۶۰ دقیقه تا پایان هفته سوم ثابت بود. اضافه‌بار تمرینی از طریق تنظیم قدرت و سرعت آب هنگام شنا انجام گرفت که در هفته سازگاری با تمرین، ثابت بود. در هفته‌های تمرین با ثابت ماندن ۶۰ دقیقه، سرعت و قدرت جریان آب از ۷ لیتر به ۲۰ لیتر در دقیقه افزایش یافت (۱۳). آزمودنی‌های تحقیق به مدت ۵ روز در هفته به مدت ۶ هفته به انجام تمرین پرداختند.

### روش القای EAE

در این روش از القای مدل بیماری، با نخاع کوچک‌هندی (تهیه شده از مؤسسه سرم‌سازی رازی کرج) و ادجوانت کامل فروند (Sigma F5881, CFA) که حاوی مایکوباکتری‌های کشته شده در امولسیون آب و روغن است، ایمونیزه شدند. در ابتدا کوچک‌ه‌های هندی به وسیله کلروفورم بی‌هوش شدند. سپس با خارج کردن نخاع در پتری دیش حاوی سالین گذاشته شد. نخاع برای ادامه کار به مدت ۲۵ دقیقه به دمای  $40^{\circ}\text{C}$  انتقال داده شد. غلظت مایکوباکتریوم موجود در ادجوانت‌های کامل فروند تجاری  $1\text{ mg/ml}$  بود که آن حداقل به  $4\text{ mg/ml}$  رسانیده شد (۱۴). روند بیماری روزانه ارزیابی شد. مدل EAE در انتهای هفته ششم تمرینات القا و تمرینات متوقف شد. مقیاس ارزیابی شدت بیماری شامل صفر عدم بروز بیماری، ۱. اختلال در حرکت دم، ۲. فلج شدن دم، ۳. اختلال در راه رفتن، ۴. فلج یک پا، ۵. فلجی هر دو پا، ۶. فلجی چهار دست و پا و ۷. مرگ بود (۱۴).

### نمونه برداری و اندازه‌گیری

رت‌ها دو هفته پس از القا، با تزریق داخل‌صفاقی کتامین و زایلوزین بی‌هوش شدند. پس از خارج کردن کل مغز از کاسه جمجمه، بلافاصله در ازت مایع قرار گرفت. بافت پس از منجمد شدن در دمای منفی  $80^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از هموژنایز کردن و سانتریفیوژ محلول، غلظت BDNF با کیت تجاری ZellBio ساخت آلمان، TNF- $\alpha$  و IL-10 با کیت تجاری Diaclone ساخت فرانسه به روش الیزا اندازه‌گیری شد.

### بافت‌شناسی

پس از خارج کردن بافت مغز با یک برش ساجیتال به دو نیمکره راست و چپ تقسیم شد و سمت راست نمونه‌ها در داخل فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از آماده‌سازی بافتی و تهیه برش‌های میکروسکوپی به ضخامت ۵ میکرون از مغز، با روش معمول رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی شدند. برای دیدن میلین تخریب‌شده اقدام به رنگ‌آمیزی تولوئیدین بلو-مارکی شد.

### روش آماری

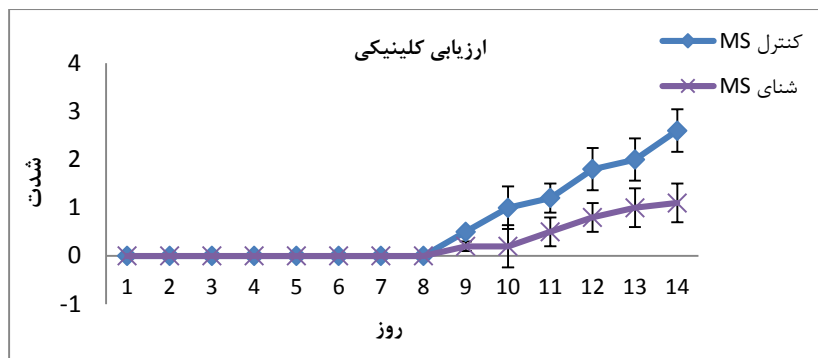
برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک در سطح معناداری  $P \leq 0.05$  استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد تمامی متغیرهای تحقیق از توزیع طبیعی برخوردار بودند، از این رو از روش‌های آماری پارامتریک استفاده شد. برای بررسی تفاوت‌های بین گروهی شاخص‌های تحقیق از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه استفاده شد؛ همچنین از آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری  $P \leq 0.05$  برای بررسی تفاوت بین گروهی استفاده شد. تمامی تجزیه و تحلیل‌های آماری به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام گرفت.

### یافته‌ها

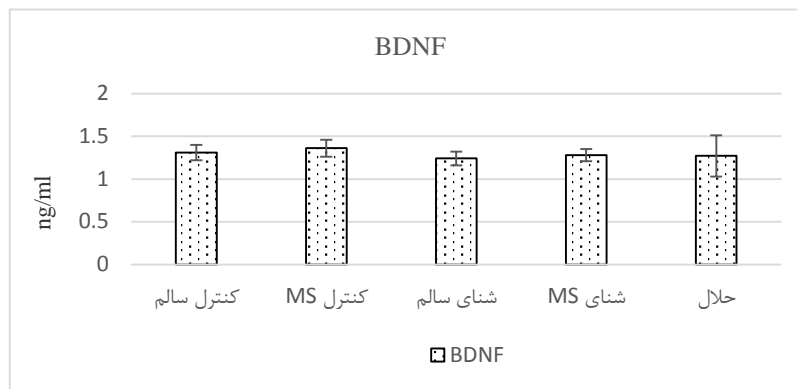
نتایج پژوهش نشان می‌دهد ۶ هفته تمرین شنای اجباری علائم کلینیکی پس از روز ۹ ایمونیزاسیون شروع و سستی دم دیده شد. به تدریج با گذشت زمان دم به‌طور کامل فلج شد و اختلال در راه رفتن مشاهده شد (شکل ۱). متغیرهای پژوهش به‌صورت میانگین و انحراف استاندارد در جدول ۱ ذکر شده است. نتایج تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد، تمرینات شنا تغییرات معناداری در سطوح BDNF ایجاد نمی‌کند ( $P=0.70$ ,  $F=0.55$ ) (شکل ۲). از دیگر نتایج پژوهش حاضر، عدم تغییرات معناداری در IL-10 ( $P=0.71$ ,  $F=0.527$ ) (شکل ۳) است، در حالی که TNF- $\alpha$  کاهش معناداری داشت ( $F=13.412$ ,  $P=0.001$ ) (شکل ۴). بررسی‌های بافت‌شناسی نشان داد که با القای بیماری، التهاب و دمیلینه شدن دیده می‌شود و با پیشرفت بیماری، این دمیلینه شدن بخش بیشتری را به خود اختصاص می‌دهد (شکل ۱). این یافته‌های بافت‌شناسی نشان می‌دهد که ورزش شنا نمی‌تواند در پیشگیری از خطر ابتلا به بیماری EAE مفید باشد.

جدول ۱. توصیف متغیرها به صورت میانگین و انحراف استاندارد در هر گروه

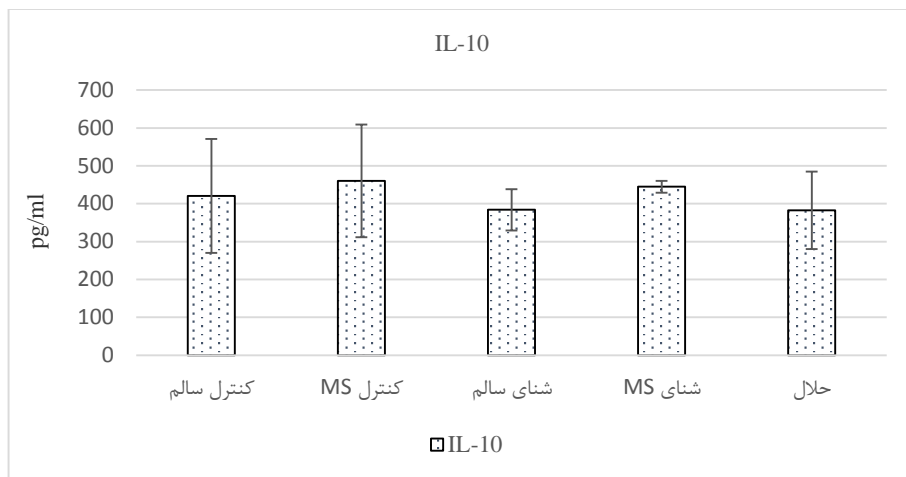
گروه	TNF- $\alpha$	IL-10	BDNF
کنترل سالم	۲۸/۷۴ $\pm$ ۱/۷۸	۴۲۰/۷۲ $\pm$ ۱۵۰/۳۸	۱/۳۱ $\pm$ ۰/۰۹
کنترل ام.اس	۵۱/۵۶ $\pm$ ۷/۷۳	۴۶۰/۵۶ $\pm$ ۱۴۸/۶۱	۱/۳۶ $\pm$ ۰/۱
شنای سالم	۳۴/۵۳ $\pm$ ۴/۶۴	۳۸۴/۰۶ $\pm$ ۵۴/۴۱	۱/۲۴ $\pm$ ۰/۰۸
شنای ام.اس	۳۹/۷۱ $\pm$ ۷/۳۵	۴۴۴/۶۲ $\pm$ ۱۵/۴۲	۱/۲۸ $\pm$ ۰/۰۷
حلال	۲۸/۲۶ $\pm$ ۵/۷۶	۳۸۲/۶۴ $\pm$ ۱۰۲/۴۸	۱/۲۷ $\pm$ ۰/۲۴



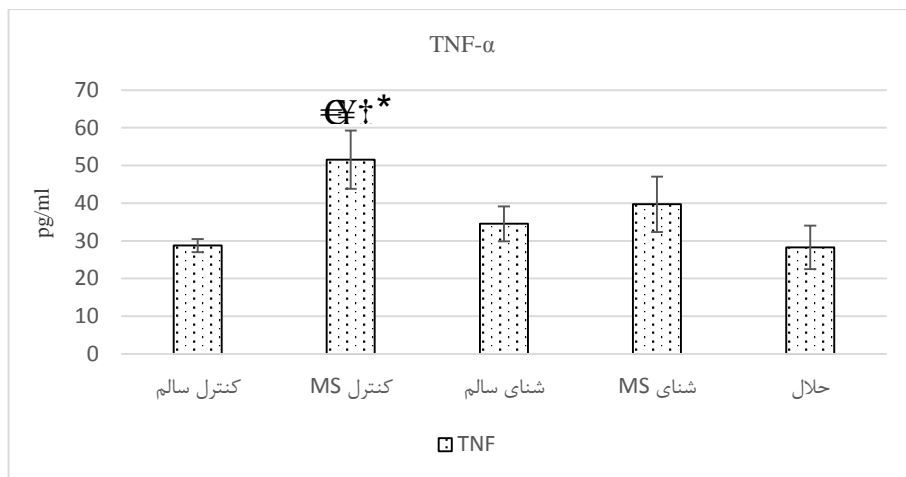
شکل ۱. ارزیابی‌های کلینیکی در گروه‌های مطالعه در پی شش هفته تمرین اجباری شنا



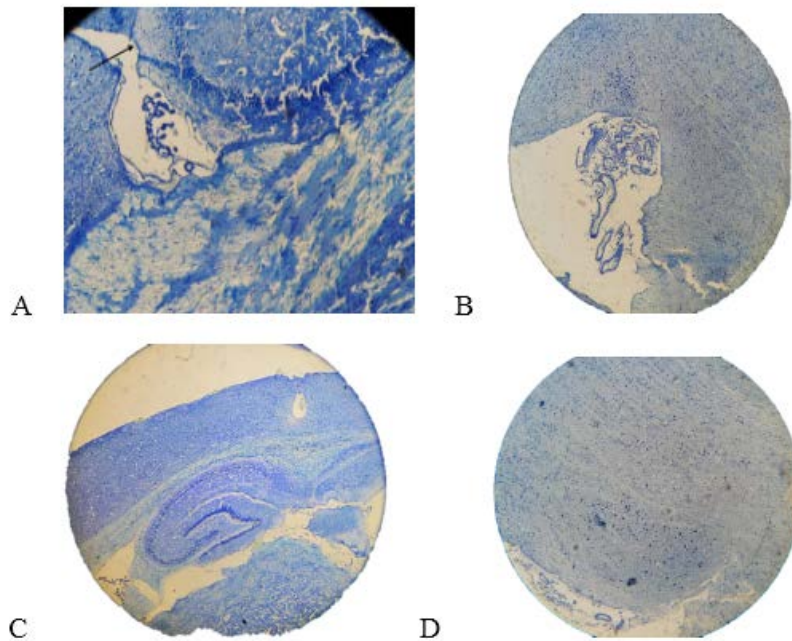
شکل ۲. تغییرات BDNF در پی شش هفته تمرین اجباری شنا



شکل ۳. تغییرات IL-10 در پی شش هفته تمرین اجباری شنا



شکل ۴. تغییرات TNF-α در گروه تمرینی شنای مدل EAE؛ \* کنترل ام.اس با کنترل سالم (P=0/001)، † کنترل ام.اس با شنای ام.اس (P=0/03)، ‡ کنترل ام.اس با شنای سالم (P=0/01)، € کنترل ام.اس با شنای ام.اس با حلال (P=0/04).



شکل ۵. تغییرات بافت‌شناسی در گروه‌های مطالعه در پی تمرین شنای اجباری. (A) گروه شنای ام.اس. تخریب میلین در سطح هیپوکامپ و زیر شبکه کوروئید دیده می‌شود. (B) گروه کنترل سالم، نمایی از بطن همراه شبکه کوروئید و بخش خاکستری مغز که کاملاً طبیعی‌اند. (C) گروه کنترل ام.اس. تخریب میلین در هیپوکامپ و قشر مغز مشاهده می‌شود. (D) شنای سالم ساختار منطقه ساقه مغز که کاملاً طبیعی است.

## بحث

پژوهش‌های بالینی در زمینه بررسی اثر تمرین ورزشی بر تنظیم سایتوکاین‌های در مدل EAE محدود بوده و تقریباً تا به امروز مطالعه‌ای در زمینه اثر پیشگیرانه تمرین شنای اجباری بر سطوح  $TNF-\alpha$ ، IL-10 و BDNF یافت نشده است. یافته‌های ارزیابی کلینیکی تحقیق حاضر نشان داد ۶ هفته تمرین شنای اجباری به‌منظور پیشگیری و به تأخیر انداختن علائم بیماری در رت‌های مبتلا مؤثر بوده است. این یافته‌ها نشان داد که علائم بالینی در رت‌های مطالعه‌های حاضر با شدت کمتری بروز کرده است. این علائم کلینیکی همراستا با یافته‌های برنادز و همکاران (۲۰۱۳) (۹) و (۲۰۱۶) (۱۵) و ناهمسو با یافته‌های بالینی پاتل و وایت (۲۰۱۳) (۱۱) و کلارن و همکاران (۲۰۱۶) (۱۶) است. از دلایل همسویی علائم بالینی



می‌توان به برنامه‌ی تمرینی مطالعه‌ی حاضر و مطالعه‌ی برنادز اشاره کرد که در هر دو از تمرینات شنا استفاده شده است. درحالی‌که مطالعات دیگر از تمرین تردمیل و تمرین اختیاری استفاده کرده‌اند. کلارن و همکاران دلیل عدم تغییر معناداری را ناکافی بودن شدت ورزش اختیاری به‌عنوان یک محرک قوی برای افزایش سطح BDNF مغز دانستند (۱۶).

برخی مطالعات بهبودی علائم بالینی را با افزایش سطح BDNF مربوط دانسته‌اند (۱۷، ۹). درحالی‌که سطوح BDNF در مطالعه‌ی حاضر تغییری نداشت و این عدم تغییر با بهبود علائم رت‌های مدل EAE همراه بوده است که با یافته‌های پاتل و وایت (۱۱) همسوست. در مدل بیماری EAE، آزاد کردن BDNF به درون مغز از طریق دگرگونی سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) به کاهش علائم بالینی منجر می‌شود. التهاب و آپوپتوز و همچنین دمیلینه شدن نیز کاهش می‌یابد. در مطالعات تکمیلی، تزریق BDNF بیان بیش‌ازحد سلول‌های T را منجر می‌شود به کاهش علائم بالینی و آسیب آکسونی کمک می‌کند (۱۷). اگرچه عنوان شده است یکی از مهم‌ترین عوامل افزایش‌دهنده‌ی سطح BDNF انجام فعالیت ورزشی است (۱۸)، اثر حفاظتی BDNF توسط سلول‌های عصبی و لکوسیت‌ها تولید و آزاد می‌شوند. سطوح زیاد BDNF در مغز موش‌های بیمار EAE می‌تواند منعکس‌کننده‌ی مکانیزم خودترمیمی سلول‌های آسیب‌دیده باشد که موجب کاهش آسیب‌های ناشی از بیماری می‌شود (۱۹). نتایج بهبود علائم بالینی که در مدت ۱۴ روز ثبت شده است، نشان از تأخیر و کاهش شدت بروز علائم بالینی دارد، اما یافته‌های بافت‌شناسی نشان می‌دهد که در گروه تمرین‌کرده‌ی شنا نشانه‌هایی از علائم تخریب میلین و التهاب دیده می‌شود. مقایسه‌ی یک به یک رت‌های گروه تمرین‌کرده‌ی شنای سالم با گروه تمرین نکرده‌ی ام‌اس نشان می‌دهد نتایج بالینی به‌دست‌آمده از هر دو گروه شبیه به هم است. از دلایلی که به کاهش شدت بروز علائم منجر شده است تعداد روزهای ثبت‌شده می‌تواند باشد. در مقایسه با سایر مطالعات که مدت زمان طولانی‌تری را ثبت کرده‌اند، نتیجه‌ی نهایی یافته‌ها حاکی از این است که تمرین شنای اجباری به‌عنوان ابزاری برای پیشگیری از خطر ابتلا به بیماری ام‌اس در مقایسه با سایر ورزش‌های دیگر مثل تمرین اختیاری چندان قوی نیست. از دیگر یافته‌های این پژوهش عدم تغییر معنادار IL-10 بود. IL-10 عامل مهمی در درمان بیماری ام‌اس محسوب می‌شود، زیرا این بیماران با کمبود این سایتوکاین مواجه‌اند (۲۰). براساس نتایج پژوهش‌های گذشته در بیماران مبتلا به ام‌اس، افزایش تولید IL-10 توسط لنفوسیت‌های CD4<sup>+</sup> در کاهش

شدت علائم مؤثر بوده است. این علائم می‌تواند به‌صورت بالینی یا هیستوشیمیایی باشد (۲۱). با توجه به اثرات ضدتکثیری IL-10 در لنفوسیت‌ها (۲۲)، در صورت افزایش این سایتوکاین از آسیب‌های بافت مغزی می‌کاهد، درحالی‌که یافته‌های بافت‌شناسی مطالعه حاضر نشان از عدم افزایش معنادار این سایتوکاین در بافت مغزی دارد. در درمان EAE با داروهایی مثل اتورواستاتین نشان داده شده است که سطح سایتوکاین ضدالتهابی IL-10 به‌طور معناداری افزایش می‌یابد. افزایش در این سایتوکاین ضدالتهابی را نشان از بهبود بیماری تلقی کرده‌اند (۲۱) که با یافته تحقیق حاضر ناهم‌سوست. به‌عبارت دیگر، تمرین شنا به‌عنوان عامل پیشگیرانه در رت‌های در معرض ابتلا به EAE نمی‌تواند محرک خوبی برای افزایش IL-10 باشد. در مطالعه‌ای برنادز و همکاران (۲۰۱۳) اثر ۶ هفته تمرین شنا را بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که تغییر معناداری در IL-10 بافت مغز صورت نگرفت، اما همین سایتوکاین در بافت نخاع افزایش معناداری نشان داد. این عدم معناداری و نحوه اندازه‌گیری در بافت مغز مشابه پژوهش حاضر است. احتمالاً اگر این اندازه‌گیری در نخاع هم صورت می‌گرفت، با توجه به مشابه بودن نوع تمرین شاید افزایش این سایتوکاین را در نخاع نشان می‌داد. در مطالعه برنادز و همکاران (۲۰۱۳)، اثر ۶ هفته شنای اجباری بر غلظت سایتوکاین‌ها در بافت مغز و نخاع موش‌های مدل EAE بررسی شد. پس از ۱۴ روز از ارزیابی علائم بالینی مطابق با پژوهش حاضر، در بافت مغز فقط افزایش IL-1 $\beta$  و در بافت نخاع افزایش TNF- $\alpha$ , IL-6 معنادار بود (۹). با این حال، این تغییرات در مطالعه ما به‌صورت تغییرات کاهشی نه در نخاع، بلکه در مغز رت‌های مبتلا مشاهده شد. تفاوت در پروتکل شنا می‌تواند یکی از دلایل احتمالی این تفاوت بوده باشد، چراکه تمرین شنا در مطالعه برنادز با تحمل ۲ درصد از وزن بدن شروع می‌شد و تا حد واماندگی طول می‌کشید، درحالی‌که تنظیم شدت این تمرین در پروتکل حاضر با استفاده از جریان آب انجام گرفت. بررسی تغییرات غلظت TNF- $\alpha$  مغز در گروه تمرین کرده EAE نشان می‌دهد که کاهش معناداری در مقادیر TNF- $\alpha$  نسبت به گروه تمرین‌نکرده EAE وجود دارد که با نتایج قبلی هم‌راستاست و احتمالاً می‌توان آن را به آثار تمرینات ورزشی نسبت داد (۲۳). در نتیجه همسو با یافته‌های دیگر، تمرینات مقاومتی با شدت بالا در مدل تجربی بیماری ام‌اس تأثیر مثبتی روی میزان سایتوکاین‌های التهابی دارد (۱۸). در واقع اعتقاد بر این است که تمرین ورزشی اثرات ضدالتهابی دارد (۹). ناسلی دیلکس<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که پس از ۱۲ هفته تمرین ترکیبی مقاومتی و استقامتی TNF- $\alpha$  کاهش یافت. آنها این کاهش را به کاسته

شدن از شدت تحریک سلول‌های تأثیرگذار Th1 و Th17 بر میلین‌سازی مرتبط دانستند (۹) که با یافته تحقیق حاضر همسوست.

به‌طور کلی با توجه به نتایج تحقیق حاضر به‌نظر می‌رسد با قطعیت نمی‌توان گفت تمرینات شنا با این شدت و مدت می‌تواند به‌عنوان عاملی در بحث پیشگیری از خطر مبتلا به بیماری EAE در نظر گرفته شود. ورزش به‌خودی‌خود اثرات ضدالتهابی دارد، به‌شرطی که شدت و مدت و نوع تمرین انتخاب‌شده بتواند اثرات ضدالتهابی تمرین را افزایش و اثرات پیش‌التهابی را کاهش دهد. بنابراین با توجه به کم بودن مطالعات در این زمینه نیاز به مطالعات بیشتری در این زمینه احساس می‌شود. از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به فعالیت رت‌ها در طول شبانه‌روز که در قفس انجام می‌دهند اشاره کرد. برای رفع این محدودیت در مطالعات بعدی می‌توان از نصب دوربین بهره برد تا به سطح فعالیت آنها پی برد.

#### تشکر و قدردانی

از تمامی عزیزانی که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند، صمیمانه سپاسگزاریم.

#### منابع و مأخذ

1. Barnett MH, Prineas JW. Relapsing and remitting multiple sclerosis: pathology of the newly forming lesion. *Annals of neurology*. 2004;55(4):458-68.
2. Pedotti R, De Voss JJ, Steinman L, Galli SJ. Involvement of both 'allergic' and 'autoimmune' mechanisms in EAE, MS and other autoimmune diseases. *Trends in immunology*. 2003;24(9):479-84.
3. Mancini A, Gaetani L, Di Gregorio M, Tozzi A, Ghiglieri V, Calabresi P, et al. Hippocampal neuroplasticity and inflammation: relevance for multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis and Demyelinating Disorders*. 2017;2(1):2.
4. Das UN. Anti-inflammatory nature of exercise. *Nutrition*. 2004;20(3):323.
5. Goldhammer E, Tanchilevitch A, Maor I, Beniamini Y, Rosenschein U, Sagiv M. Exercise training modulates cytokines activity in coronary heart disease patients. *International journal of cardiology*. 2005;100(1):93-9.
6. Cudrici C, Niculescu T, Niculescu F, Shin ML. Oligodendrocyte cell death in pathogenesis of multiple sclerosis: Protection of oligodendrocytes from apoptosis by complement. *Journal of rehabilitation research and development*. 2006;43(1):123.
7. Hohlfeld R. Neurotrophic cross-talk between the nervous and immune systems: relevance for repair strategies in multiple sclerosis? *Journal of the neurological sciences*. 2008;265(1):93-6.

8. Rossi S, Furlan R, De Chiara V, Musella A, Giudice TL, Mataluni G, et al. Exercise attenuates the clinical, synaptic and dendritic abnormalities of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neurobiology of disease*. 2009;36(1):51-9.
9. Bernardes D, Oliveira-Lima OC, da Silva TV, Faraco CCF, Leite HR, Juliano MA, et al. Differential brain and spinal cord cytokine and BDNF levels in experimental autoimmune encephalomyelitis are modulated by prior and regular exercise. *Journal of neuroimmunology*. 2013;264(1):24-34.
10. Castellano V, White LJ. Serum brain-derived neurotrophic factor response to aerobic exercise in multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences*. 2008;269(1):85-91.
11. Patel DI, White LJ. Effect of 10-day forced treadmill training on neurotrophic factors in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2013;38(2):194-199.
12. Basso DM, Hansen CN. Biological basis of exercise-based treatments: spinal cord injury. *PM&R*. 2011;3(6):S73-S7.
13. Mirdar Sh, Arab A, Hedayati M, Hajizade A. The effect of pregnant rat swimming on hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  levels of neonatal lung. *Tehran University Medical Journal TUMS Publications*. 2012;69(12):754-60.
14. Yaghmaei P NM, Mahdavi M, Mehrvarz T, Zahra Nazari. The effect of different doses of bee venom serum levels of interleukin-6 in Lewis rats EAE (a model for studying multiple sclerosis). *Pajoohandeh Journal*. 2013: 18 (2): 69-75. [In Persian].
15. Bernardes D, Brambilla R, Bracchi-Ricard V, Karmally S, Dellarole A, Carvalho-Tavares J, et al. Prior regular exercise improves clinical outcome and reduces demyelination and axonal injury in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of neurochemistry*. 2016;136(S1):63-73.
16. Klaren RE, Stasula U, Steelman AJ, Hernandez J, Pence BD, Woods JA, et al. Effects of exercise in a relapsing-remitting model of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Neuroscience Research*. 2016;94(10):907-14.
17. Huang Y, Dreyfus CF. The role of growth factors as a therapeutic approach to demyelinating disease. *Experimental neurology*. 2016;283:531-540.
18. Kierkegaard M, Lundberg IE, Olsson T, Johansson S, Ygberg S, Opava C, et al. High-intensity resistance training in multiple sclerosis—An exploratory study of effects on immune markers in blood and cerebrospinal fluid, and on mood, fatigue, health-related quality of life, muscle strength, walking and cognition. *Journal of the neurological sciences*. 2016;362:251-7.
19. Zhu W, Frost EE, Begum F, Vora P, Au K, Gong Y, et al. The role of dorsal root ganglia activation and brain-derived neurotrophic factor in multiple sclerosis. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2012;16(8):1856-65.
20. Lim S-Y, Constantinescu CS. TNF- $\alpha$ : A paradigm of paradox and complexity in multiple sclerosis and its animal models. *Open Autoimmun J*. 2010;2:160-70.
21. Abtahi froushani, SM, Delerezh N, Hobbenaghi R, Mosayebi GH. The Effects of Atorvastatin on the Treatment of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis and its

- 
- Role in the Response of T-Helper Lymphocytes. Journal of Isfahan Medical School. 2012. 30(188);622-623. (in Persian).
22. Saraiva M, O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. Nature Reviews Immunology. 2010;10(3):170-81.
23. Ang E, Wong P, Mochhala S, Ng Y. Cytokine changes in the horizontal diagonal band of Broca in the septum after running and stroke: a correlation to glial activation. Neuroscience. 2004;129(2):337-47.

## Preventive effect six weeks of swimming training on the levels of cytokines and brain-derived neurotrophic rat model of EAE

Sayed Mojtaba Hosseini<sup>1</sup> - Zia Fallah Mohammadi\*<sup>2</sup> - Vahid Talebi<sup>3</sup>

1. PhD of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran 2. Associate Professor PhD of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran 3. PhD student of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran  
(Received:2018/01/22;Accepted:2019/02/16)

### Abstract

Multiple sclerosis is a progressive and chronic autoimmune disease of the central nervous system that is associated with the destruction of the myelin sheath of nerve cells. The aim of this study was to investigate the preventive effect of six weeks of forced swimming on the levels of TNF- $\alpha$ , IL-10 and BDNF in the EAE model rats. Twenty-five female Lewis were divided into five groups: healthy control, MS control, healthy swimming, MS swimming, and solvent. Swimming training for 6 weeks and 5 days a week. Swimming training program began with 30 minutes daily five-minute period in the second week with an increase to 60 minutes. Overload training was set by adjusting the power and speed of the water while swimming. Also, EAE was induced model at the end of the sixth week of training and After 14 days' mice were sacrificed. Right Cerebral hemisphere for the histology and right Cerebral hemisphere was transferred to the lab for analysis of protein measurements. Swimming exercise in rats EAE model leads to a significant reduction in TNF- $\alpha$  ( $P=0/001$ ) and no significant change in IL-10 ( $P=0/71$ ) and BDNF ( $P=0/70$ ) was. In rats trained clinical signs appeared delayed. Furthermore, results of histological staining showed that certain differences were observed between trained and untrained. EAE-induced demyelination model increases the damage to brain tissue Shows that swimming exercise intensity and duration of six weeks can be effective in delaying symptoms, although these symptoms are delayed in the short term.

### Keywords

Experimental autoimmune encephalomyelitis, Lewis rats, swimming training, cytokine.

---

\* Corresponding Author: Email :zia-falm@umz.ac.ir ; Tel: +989111127633