

## The effect of regular interval training on histochemical symptoms and cytokine and neurotrophic levels of brain tissue of the Lewis rats in experimental model of multiple sclerosis

Hosseini SM<sup>1</sup>, Falah-Mohammadi Z<sup>2</sup>, Talebi V<sup>2</sup>

1- PhD Exercise Physiology, University of Mazandaran, Mazandaran, I. R. Iran.

2- Department of Exercise Physiology, University of Mazandaran, Mazandaran, I. R. Iran.

Received: 2018/05/6 | Accepted: 2018/08/19

### Abstract:

**Background:** Multiple sclerosis is an inflammatory and chronic disease of the central nervous system. Regarding the possible effects of exercise in preventing this disease, the aim of this study was to investigate the effect of 6 weeks of high intensity interval training on TNF- $\alpha$ , IL-10 and BDNF levels in rat brain tissue of the experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) model.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 25 Lewis female rats, 6 weeks old, were randomly divided into 5 groups. Interval training was performed for 6 weeks and 5 days a week. An interval training program was conducted in the second week and during 6 weeks of training in each session including 10 repetitions of 1 minute. The EAE model was induced at the end of the sixth week of exercise. TNF- $\alpha$ , BDNF and IL-10 were measured in the brain tissue.

**Results:** The results of coloring showed that the amount of inflammation of the nerve tissue decreased in the interval training groups. Interval training in Lewis female rats with experimental autoimmune encephalomyelitis showed a significant decrease in TNF- $\alpha$  ( $P=0.001$ ), but did not significantly change the IL-10 ( $P=0.07$ ) and BDNF ( $P=0.54$ ) levels. In addition, trained rats showed delayed clinical symptoms.

**Conclusions:** It seems that interval exercises with the duration and severity of the present study protocol may delay the incidence and severity of clinical symptoms and thus increase cellular protection in Lewis rats against the onset of experimental autoimmune encephalomyelitis.

**Keywords:** Cytokine, Experimental autoimmune encephalomyelitis, Interleukin 10, BDNF, TNF- $\alpha$

\* Corresponding Author.

Email: ziafalm@yahoo.com

Tel: 0098 911 112 7633

Fax: 0098 113 530 2201

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2018; Vol. 22, No 5, Pages 450-457

Please cite this article as: Hosseini SM, Falah-Mohammadi Z, Talebi V. The effect of regular interval training on histochemical symptoms and cytokine and neurotrophic levels of brain tissue of the Lewis rats in experimental model of multiple sclerosis. *Feyz* 2018; 22(5): 450-7.

# تأثیر تمرینات منظم اینتروال بر علائم هیستوشیمیایی و سطح سایتوکاینی و نوروتروفیکی بافت مغز موش‌های صحرایی لوئیس در مدل تجربی مالتیپل اسکلروزیس

سید مجتبی حسینی<sup>۱</sup>، ضیاء فلاح محمدی<sup>۲\*</sup>، وحید طالبی<sup>۳</sup>

خلاصه:

**سابقه و هدف:** مالتیپل اسکلروزیس یک بیماری التهابی و مزمن دستگاه عصبی مرکزی است. با توجه به اثرات احتمالی فعالیت ورزشی در پیشگیری از این بیماری، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر ۶ هفته تمرین اینتروال با شدت بالا بر سطوح TNF- $\alpha$ ، IL-10 و BDNF در بافت مغز موش‌های صحرایی مدل آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی بود.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی ۲۵ سر موش صحرایی ماده نژاد لوئیس با سن ۶ هفته به‌طور تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند. تمرینات اینتروال به مدت ۶ هفته و ۵ روز در هفته انجام شد. برنامه تمرین اینتروال در هفته دوم و طی ۶ هفته تمرین در هر جلسه شامل ۱۰ تکرار ۱ دقیقه‌ای بود. مدل آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی در انتهای هفته ششم تمرینات القاء گردید. TNF- $\alpha$ ، BDNF و IL-10 در بافت مغز اندازه‌گیری شد.

**نتایج:** نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی نشان داد که در گروه‌های تحت تیمار با تمرین اینتروال میزان التهاب بافت عصبی کاهش می‌یابد. تمرین اینتروال در موش‌های ماده نژاد لوئیس مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی منجر به کاهش معنی‌دار TNF- $\alpha$  ( $P=0/001$ ) شد، اما تغییر معنی‌داری در IL-10 ( $P=0/07$ ) و BDNF ایجاد نکرد ( $P=0/54$ ). علاوه بر این، علائم بالینی در موش‌های صحرایی تمرین کرده با تاخیر ظاهر شد.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرینات اینتروال با مدت و شدت پروتکل مطالعه حاضر احتمالاً موجب تاخیر در بروز و کاهش شدت علائم بالینی و در نتیجه افزایش حفاظت سلولی در موش‌های صحرایی لوئیس در برابر ابتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی می‌شود.

**واژگان کلیدی:** سایتوکاین، مدل آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی، اینترلوکین ۱۰، TNF- $\alpha$ ، BDNF

دو ماهنامه علمی-پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۵، آذر و دی ۹۷، صفحات ۴۵۷-۴۵۰

## مقدمه

مالتیپل اسکلروزیس (Multiple Sclerosis; MS) بیماری مزمن سیستم عصبی مرکزی و احتمالاً شناخته‌شده‌ترین بیماری خود ایمنی است که منجر به دمیالینه شدن چند کانونی به وسیله آسیب به الیگودندروسیت‌های تولید کننده میلین در سیستم عصبی مرکزی می‌شود [۱]. به نظر می‌رسد عوامل دیگری همچون ایمنی ذاتی و افزایش بیان برخی مولکول‌های کمکی تحریکی و افزایش ترشح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در فعال شدن و افزایش تعداد این سلول‌ها موثر باشند [۳،۴]. بیماری مالتیپل اسکلروزیس یک بیماری خود ایمن با الگوی Th1 (T helper1) بوده و سایتوکاین‌های التهابی مربوطه، در تشدید علائم و بروز ضایعات نقش برجسته‌ای دارند [۴].

سلول‌های Th1 مولد اینترفرون گاما ( $\text{IFN-}\gamma$ ) نقش اصلی را در پاتوژنز بیماری‌های خود ایمن از قبیل آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی (Experimental autoimmune encephalomyelitis; EAE) و MS بازی می‌کنند [۵]. اینترلوکین ۱۰ نقش مهمی در محدود کردن و ختم پاسخ‌های التهابی داشته و از ایجاد آسیب‌های بافتی ممانعت می‌کند [۶]. علاوه بر این، عامل مهمی در درمان بیماری MS محسوب می‌شود [۷]. نتایج مطالعه Bezheh و همکاران [۸] در رابطه با تاثیر برنامه تمرین در آب بر اینترلوکین-۶ و ۱۰ در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس نشان داد مقادیر IL-10 و IL-6 کاهش معنی‌داری می‌یابد. در همین راستا، فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا (TNF- $\alpha$ ) نیز یکی از مهم‌ترین سایتوکاین‌های پیش‌التهابی است که می‌تواند التهاب میانجی شده با ایمنی را در سیستم عصبی مرکزی فعال نماید [۹]. Imitola و همکاران [۱۰] افزایش TNF- $\alpha$  را در بیماری MS نشان دادند و با توجه به نقش التهابی آن عنوان کردند که عدم وجود TNF- $\alpha$  باید EAE را بهبود بخشد، اما در کمال تعجب مشاهده شد که در موش‌هایی که TNF- $\alpha$  کمتری داشتند، فرم شدیدتری از EAE با التهاب و دمیالینه شدن قابل توجه بروز می‌یابد. یکی از نشانه‌های پاتولوژیکی MS نفوذ سلول‌های ایمنی به سیستم عصبی مرکزی و

<sup>۱</sup> دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران، مازندران، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران، مازندران، ایران

<sup>۳</sup> دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران، مازندران، ایران

\* نشانی نویسنده مسئول:

مازندران، دانشگاه مازندران

تلفن: ۰۹۱۱۱۱۲۷۶۳۳

دوره‌نویس: ۰۱۱۳۵۳۰۲۲۰۱

پست الکترونیک: ziafalm@yahoo.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۵/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۴/۱۶

لویس از موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج با سن ۶ هفته تهیه شد. حیوانات پس از انتقال به آزمایشگاه به مدت ۲ هفته برای سازگاری با محیط جدید در قفس‌های شفاف پلی-کربنات در محیطی با دمای  $22 \pm 14/1$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵-۵۵ درصد و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. طی دوره پژوهش غذای استاندارد و آب به صورت آزاد و از طریق بطری‌های ویژه در دسترس حیوانات قرار داده شد. حیوانات به‌طور تصادفی در پنج گروه کنترل سالم، اینتروال سالم، کنترل MS، اینتروال MS و حلال قرار گرفتند.

#### پروتکل تمرین اینتروال

قبل از اجرای برنامه تمرینی، آزمودنی‌ها به مدت یک هفته با محیط و نحوه فعالیت با نوار گردان آشنا شدند. برنامه تمرین اینتروال در هفته دوم و طی ۶ هفته تمرین در هر جلسه شامل ۱۰ تکرار ۱ دقیقه‌ای بود. نسبت کار به استراحت ۱ به ۲ و کل زمان دویدن ۳۰ دقیقه در نظر گرفته شد. در طی این مدت شدت تمرین به تدریج از ۲۵ متر در دقیقه به ۷۰ متر در دقیقه افزایش یافت [۲۱]. نوار گردان ویژه موش‌ها (ساخت ایران، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم ورزشی) دارای ۱۰ محفظه شیشه‌ای از جنس پلکسی‌گلاس و به ابعاد طول ۹۰ سانتی‌متر، عرض ۱۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر، دارای شوکر خودکار، شیب صفر درجه و دارای صفحه نمایشگر سرعت، مسافت و ولتاژ بود.

#### روش القاء EAE

موش‌های صحرایی با نخاع کوچک هندی (تهیه شده از موسسه سرم سازی رازی کرج) و ادجوانت کامل فروند Sigma (F5881, CFA) که حاوی مایکوباکتری‌های کشته شده در امولسیون آب و روغن بود، ایمونیزه شدند. ابتدا خوکچه‌های هندی توسط کلروفورم بیهوش شدند. سپس، با خارج کردن نخاع در پتری دیش حاوی سالی‌ن گذاشته شد. برای ادامه کار نخاع 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 حداقل به  $4\text{ mg/ml}$  رسانیده شد [۲۲]. روند بیماری موش‌ها روزانه مورد ارزیابی قرار گرفت. مدل EAE در انتهای هفته ششم تمرینات متوقف گردید و القاء مدل بیماری انجام شد. مقیاس ارزیابی شدت بیماری نیز به صورت بصری شامل صفر؛ عدم بروز بیماری، ۱؛ اختلال در حرکت دم، ۲؛ فلج شدن دم، ۳؛ اختلال در راه رفتن، ۴؛ فلج یک پا، ۵؛ فلج هر دو پا، ۶؛ فلجی چهار دست و پا و ۷؛ مرگ بود [۲۲].

تخریب میلین و آسیب‌های آکسونی است [۱۱] که طی روند ترمیم بافتی سلول‌های ایمنی فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF) را می‌سازند [۱۲]. نشان داده شده است BDNF تولیدی در سلول‌های ایمنی در محل مدل‌های تجربی از آسیب CNS و التهاب راه‌های هوایی نفوذ می‌کند [۱۳]. این در حالی است که سیستم عصبی و ایمنی در چندین سطح به هم پیوسته‌اند [۱۴]. ترشح BDNF موجب بهبود بازسازی بافت‌های مختلف شده و نشان داده شده است که در افراد مبتلا به MS سطح این پروتئین ممکن است کاهش یابد [۱۵]. یکی از مهمترین عوامل افزایش‌دهنده سطح BDNF انجام فعالیت ورزشی است [۱۶]. White و Castellano [۱۷] پاسخ سرمی BDNF به ورزش هوازی در مالتیپل اسکلروزیس را بررسی کرده و نشان دادند که ورزش تاثیر تنظیمی در BDNF انسان‌ها دارد. آنها بیان کردند ورزش حاد BDNF را در هر دو گروه سالم و مبتلا به MS در طی سه ساعت بعد از دوره ریکاوری کاهش می‌دهد. بیان شده است که ورزش اختیاری تاثیر معنی‌داری بر بهبود علائم بالینی و سطح BDNF هیپوکامپ در موش‌های مدل فروکش شونده عود کننده (Relapsing Remitting) آنسفالومیلیت خود ایمنی تجربی ندارد [۱۸]. اثرات ضد التهابی تمرین ورزشی در بیمارهای مزمن توسط کاهش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و افزایش در غلظت سایتوکاین‌های ضد التهابی میانجی‌گری می‌شود؛ این در حالی است که تعادل این سایتوکاین‌ها در افراد مبتلا به هم می‌خورد [۱۹]. پروتکل دوی استقامتی تداومی و اینتروال در بهبود عملکرد ورزشی و کاهش ریسک فاکتورهای سلامتی دارای تاثیر یکسانی می‌باشند. استفاده از تمرینات اینتروال به دلایل کارایی بالاتر، تحمل پذیری بیشتر و تداوم اجرای برنامه توسط شرکت کنندگان بدون به خطر افتادن سلامتی افراد ترجیح داده می‌شوند. در تمرینات اینتروال می‌توان کار بیشتری را با شدت بالاتر و خستگی کمتر انجام داد و در نتیجه این تمرینات می‌تواند تاثیر بالقوه‌ای در سلامتی مغز داشته باشد [۲۰]. استفاده از برنامه‌های پیش‌آماده‌سازی ورزشی یکی از ابزارهای کم‌هزینه و بدون عوارض جانبی برای مقابله با بیماری‌های در حال گسترش عصر حاضر از جمله MS است. هدف از این مطالعه بررسی اثر یک دوره پیش‌آماده‌سازی تمرین اینتروال با شدت بالا بر تغییرات IL-10، TNF و BDNF در بافت مغز موش‌های صحرایی ماده نژاد لویس مبتلا به EAE بود.

#### مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه تجربی ثبت شده با کد اخلاق IR.UMZ.REC.097002، ۲۵ سر موش صحرایی ماده نژاد

شاخص های تحقیق از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد؛ با معنی دار شدن آزمون F، آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی-داری  $P \leq 0/05$  برای بررسی تفاوت بین گروهی استفاده شد. کلیه تجزیه و تحلیل های آماری به وسیله نرم افزار SPSS ویرایش ۲۱ انجام شد.

### نتایج

موش ها مدلی از EAE را نشان دادند که علائم کلینیکی آن از روز ۹ بعد از ایمونیزاسیون شروع شده و سستی دم دیده شد. به تدریج با گذشت زمان دم فلج کامل شد و اختلال در راه رفتن مشاهده شد (نمودار شماره ۱). اجرای تمرینات اینترنتال موجب ایجاد تغییرات معنی دار در سطوح BDNF نشد ( $F=0/79$ ،  $P=0/54$ ) (نمودار شماره ۲). نتایج حاصل از پژوهش نشان می-دهد که ۶ هفته تمرین اینترنتال موجب شد تا مقادیر TNF- $\alpha$  در بین گروه ها تفاوت معنی داری داشته باشد (نمودار شماره ۳) ( $F=9/890$ ،  $P=0/001$ )؛ به طوری که مقدار آن در گروه کنترل MS بیشتر از گروه اینترنتال MS ( $P=0/001$ )، گروه کنترل سالم ( $P=0/001$ )، گروه اینترنتال سالم ( $P=0/01$ ) و گروه حلال ( $P=0/001$ ) بود. اما سطح آن در گروه های دیگر باهم تفاوت نداشت. از سوی دیگر، مقادیر IL-10 تفاوت معنی داری نشان نداد ( $F=2/568$ ،  $P=0/07$ ) (نمودار شماره ۴). بررسی بخش عصبی نشان داد که انجام تمرینات اینترنتال به مدت ۶ هفته میزان التهاب دیده شده در گروه کنترل EAE بیشتر از گروه اینترنتال EAE است (شکل شماره ۱).

نمونه برداری و اندازه گیری

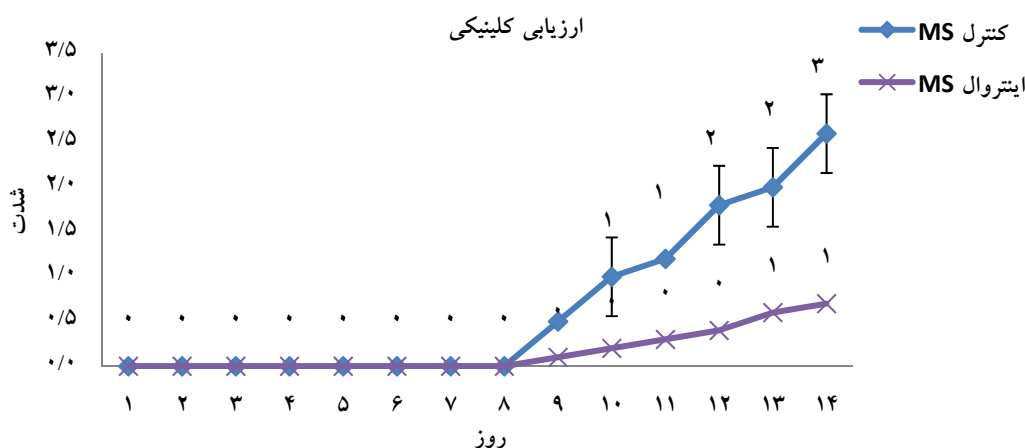
حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلازین بیهوش شدند. بعد از خارج کردن کل مغز از کاسه جمجمه، بلافاصله در ازت مایع قرار گرفت. بافت پس از منجمد شدن در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. بعد از هموژنایز و سانترفیوژ کردن محلول، غلظت BDNF با کیت تجاری Zellbio ساخت آلمان و غلظت TNF- $\alpha$  و IL-10 با کیت تجاری Diaclone ساخت فرانسه به روش الیزا اندازه گیری شد.

بررسی های هیستولوژیک

پس از خارج کردن، بافت مغز با یک برش ساجیتال به دو نیم کره راست و چپ تقسیم شده و سمت راست نمونه ها در داخل فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از آماده سازی بافتی و تهیه برش های میکروسکوپی به ضخامت ۳-۴ میکرون از مغز، با روش معمول رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی شدند. برای دیدن میلین تخریب شده اقدام به رنگ آمیزی تولوئیدن بلو-مارکی شد.

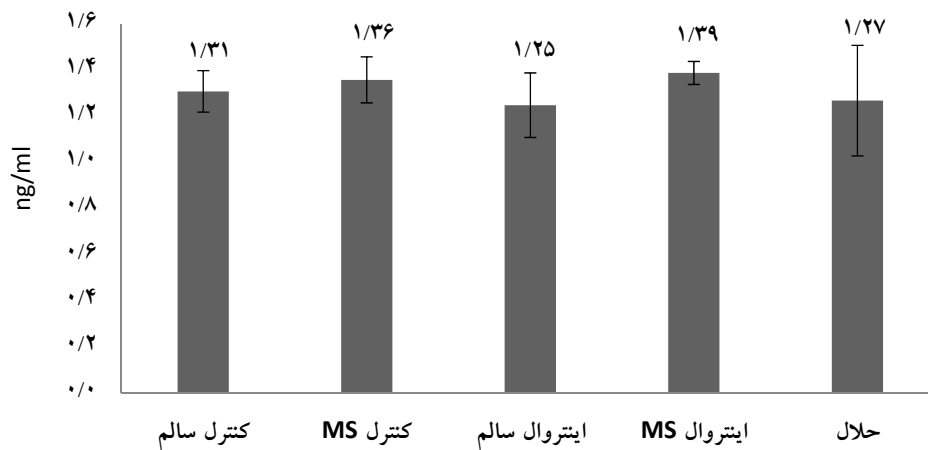
روش های آماری

برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده ها از آزمون شاپیرو-ویلک در سطح معنی داری  $P \leq 0/05$  استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد کلیه متغیرهای تحقیق از توزیع طبیعی برخوردار بوده، لذا به منظور بررسی میزان تغییرات متغیرها از روش های آماری پارامتریک استفاده شد. برای بررسی تفاوت های بین گروهی

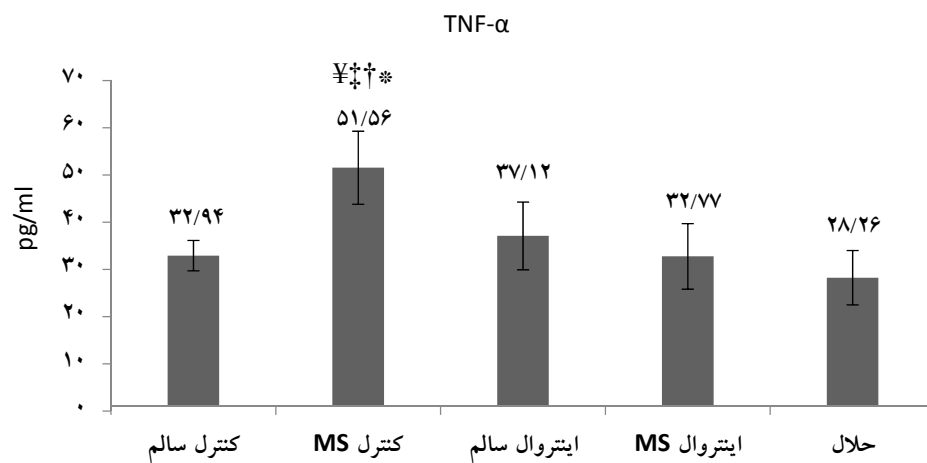


نمودار شماره ۱- ارزیابی های کلینیکی در گروه های کنترل MS و اینترنتال MS.

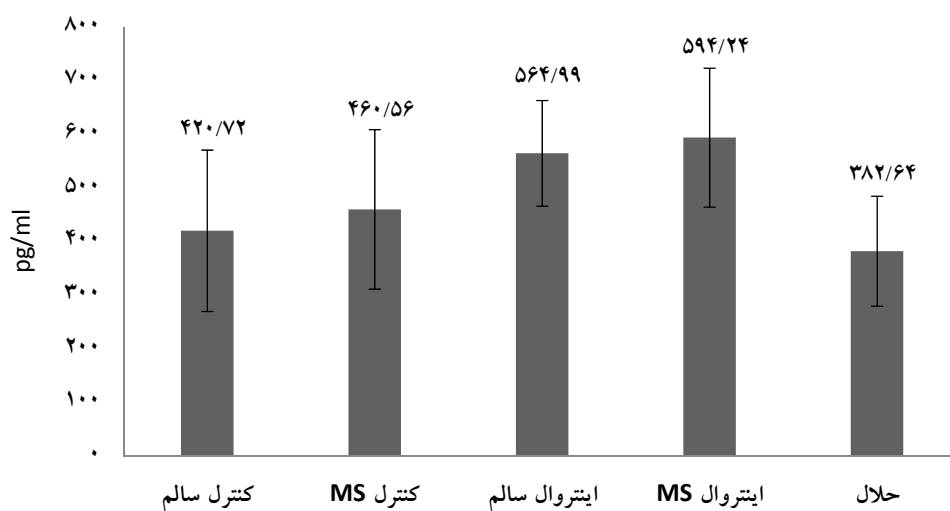
علائم در گروه اینترنتال MS با تاخیر ظاهر شد.



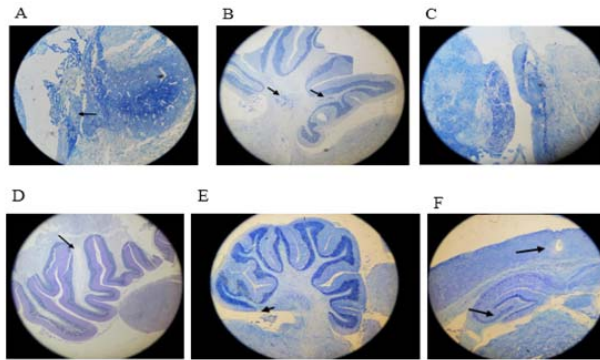
نمودار شماره ۲- میانگین تغییرات BDNF نشان دهنده عدم وجود تغییرات معنی دار در گروه‌های مطالعه است ( $P=0.54$ ).



نمودار شماره ۲- میانگین تغییرات TNF-α در گروه‌های مطالعه نشان از معنی داری این شاخص دارد ( $P=0.001$ ).  
\* تفاوت معنی دار با کنترل سالم ( $P=0.001$ ) † تفاوت معنی دار با اینتروال سالم ( $P=0.01$ ), ‡ تفاوت معنی دار با اینتروال MS ( $P=0.001$ ) و § تفاوت معنی دار با گروه حلال ( $P=0.001$ )



نمودار شماره ۳- میانگین تغییرات IL-10 نشان دهنده عدم وجود تغییرات معنی دار در گروه‌های مطالعه است ( $P=0.07$ ).



شکل شماره ۱- تحلیل هیستوپاتولوژیکی مغز موش های

(A) وجود تخریب در بخش بطن ها در گروه ایتروال EAE؛ (B) وجود التهاب در بخش سفید مخچه در گروه ایتروال EAE؛ (C) عدم وجود تخریب یا التهاب در بخش هیپوکامپ و مغز در گروه ایتروال EAE؛ (D) وجود تخریب در بخش بطن ها در گروه کنترل EAE؛ (E) مشاهده ضایعات در زیر شبکه کورویید در گروه کنترل EAE و (F) وجود تخریب میلین در هیپوکامپ و قشر مغز در گروه کنترل EAE

## بحث

BDNF احتمالاً در علائم بالینی همچون اثرات نوروپاتولوژیکی ورزش در مدل EAE نقش داشته باشد [۱۶]. نتایج حاصل از تغییرات علائم بالینی پژوهش ما با یافته های نمرات بالینی Klaren و همکاران [۱۸] ناهمسو است. دلیل این ناهمسویی به احتمال زیاد به تعداد روزهای ثبت شده بعد از القاء مربوط است. تعداد روزهای ثبت شده در این مطالعه ۱۴ روز بود، ولی در پژوهش مذکور تا ۷۰ روز ثبت صورت گرفته بود. از دیگر یافته های پژوهش حاضر کاهش معنادار  $TNF-\alpha$  است. Castellano و همکاران [۲۵] اثر ۸ هفته تمرین هوازی (۳ جلسه در هفته، ۳۰ دقیقه فعالیت هوازی را روی دوچرخه کارسینج با شدت ۶۰ درصد اکسیژن مصرفی پیک) بر  $TNF-\alpha$ ، IL-6، و INF- $\gamma$  ۱۱ بیمار MS و ۱۱ نفر سالم به عنوان گروه کنترل مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که مقادیر استراحتی  $TNF-\alpha$  پلاسما در بیماران MS افزایش می یابد. این نتایج با یافته پژوهش حاضر ناهمسو است. به نظر می رسد تفاوت نتایج به دلیل تفاوت بودن پروتکل و زمان های اندازه گیری باشد. ایشان خاطر نشان کردند که احتمالاً فعالیت ورزشی منظم موجب فعالیت التهابی گیرنده P75  $TNF-\alpha$  می شود که از این طریق رشد و تکثیر سلول های عصبی را القاء می کند. همچنین، پیشنهاد کردند که تمرین هوازی احتمالاً مقادیر سایتوکاین های پیش التهابی مثل  $TNF-\alpha$  را در خون افزایش می دهد [۱۷]. در حالی که یافته های پژوهش حاضر نشان می دهد که ۶ هفته تمرین ایتروال موجب کاهش سایتوکاین پیش التهابی  $TNF-\alpha$  می شود. با در نظر گرفتن این نکته که  $TNF-\alpha$  در بیماران MS نقش دوگانه ای ایفا می کند، افزایش آن منجر به تخریب میلین شده و کاهش آن نقش حفاظتی روی اعصاب از طریق افزایش تکثیر الیگودندروسیت ها و تحریک بازسازی میلین دارد [۲۶]. سلول های ایمنی در آغاز فرایند التهاب عصبی در MS و EAE با

پژوهش های بالینی در زمینه اثر تمرینات ورزشی بر تنظیم سایتوکاین ها در مدل های مبتلا به EAE محدود است و به دلیل وجود سایتوکاین های زیاد که اغلب تاثیرات بیولوژیکی متعددی به دنبال فعالیت ورزشی به وجود می آورند، سخت و دشوار است. از طرف دیگر در محدود پژوهش هایی اثر طول دوره تمرین بر مدل های EAE بررسی شده است. از این رو، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر طول دوره تمرینی ایتروال با شدت بالا بر سطوح  $TNF-\alpha$ ، IL-10، و BDNF در بافت مغز موش های صحرائی مبتلا به EAE بود. در موش های لوئیس مدل EAE تفاوت معنی داری بین پروتئین BDNF مغز در گروه های پژوهش مشاهده نشد که با یافته های برخی مطالعات [۱۸ و ۲۳] هم راستا است. Klaren و همکاران [۱۸] در توجیه عدم تفاوت معنی دار BDNF در بافت مغز موش های لوئیس، سرعت کم و میزان فعالیت روی چرخ دوار و شرایط تردمیل اجباری را عامل اصلی دانسته اند. در حالی که نتایج ما نشان می دهد که شدت بالا و سرعت زیاد تردمیل که شرایط تحریک را تداعی می کند، نیز نتوانست منجر به افزایش BDNF در مغز موش های لوئیس مدل EAE شود. ترشح BDNF موجب بهبود بازسازی بافت های مختلف شده و بر اساس مطالعه گذشته نشان داده شده است که در افراد مبتلا به MS سطح این پروتئین ممکن است کاهش یابد [۱۵]. BDNF بالا در مغز موش های بیمار EAE می تواند منعکس کننده مکانیزم خود تعمیری به دنبال کاهش ناشی از آسیب بیماری است، باشد [۲۴]. این افزایش BDNF در گروه تمرین ایتروال MS نسبت به گروه کنترل MS تا حدودی بالاتر است اما در حد معنی دار نیست. اگرچه عنوان شده است یکی از مهم ترین عوامل افزایش دهنده سطح BDNF انجام فعالیت ورزشی است، باین حال، انتشار نوروتروفین هایی مثل

بسیار مشکل می‌باشد. یکی از نقاط ضعف مطالعه حاضر تفاوت بین مدل تجربی بیماری MS و نمونه‌های انسانی این بیماری می‌باشد که تعمیم نتایج را تحت تاثیر قرار می‌دهد. باتوجه به اینکه تزریق در پایه دم حیوان صورت می‌گیرد، اولین ناحیه‌ای که تحت تاثیر قرار می‌گیرد نخاع می‌باشد و به تدریج التهاب و تخریب به طرف مغز گسترش می‌یابد. در نتیجه زمان بیشتری باید صرف شود تا آثار القای محلول در مغز مشاهده شود. از طرف دیگر تفاوت‌های فردی بین حیوانات پاسخ آنها را تحت تاثیر قرار می‌دهد؛ به طوری که برخی زودتر و برخی دیرتر مبتلا می‌شوند و در برابر محلول القایی مقاومت می‌کنند. بنابراین، در زمان اندازه‌گیری ممکن است نتایج مغشوش شوند.

#### نتیجه‌گیری

با توجه به مفید بودن فعالیت‌های بدنی با مشخصات این تحقیق در کاهش شدت و علائم بالینی، می‌توان تمرینات ورزشی اینتروال را به‌عنوان یک پروتکل پیشگیرانه غیردارویی و بدون عوارض جانبی به افراد در معرض خطر ابتلا به بیماری MS توصیه کرد.

#### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از رساله دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی عصبی عضلانی دانشگاه مازندران با کد ۱۲۱۷۹۹۵ می‌باشد. از کلیه عزیزانی که در به سر انجام رساندن این پژوهش ما را یاری کردند، صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایم.

#### References:

[1] Kim TW, Sung YH. Regular exercise promotes memory function and enhances hippocampal neuroplasticity in experimental autoimmune encephalomyelitis mice. *Neuroscience* 2017; 346: 173-81.

[2] Sospedra M, Martin R. Immunology of multiple sclerosis. *Annu Rev Immunol* 2005; 23: 683-747.

[3] Seamons A, Perchellet A, Goverman J. Immune tolerance to myelin proteins. *Immunol Res* 2003; 28(3): 201-21.

[4] Reboldi A, Coisne C, Baumjohann D, Benvenuto F, Bottinelli D, Lira S, et al. CC chemokine receptor 6-regulated entry of TH-17 cells into the CNS through the choroid plexus is required for the initiation of EAE. *Nat Immunol* 2009; 10(5): 514-23.

[5] El-behi M, Rostami A, Ciric B. Current views on the roles of Th1 and Th17 cells in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmune Pharmacol* 2010; 5(2): 189-97.

تولید سایتوکاین‌های مانند TNF- $\alpha$  انتقال عصبی را تحت تاثیر قرار می‌دهند [۲۷]. با توجه به داده‌های TNF- $\alpha$  و علائم بالینی و یافته‌های هیستولوژیکی ما می‌توان گفت کاهش TNF- $\alpha$  با کمتر شدن شدت بیماری و علائم آن همراه است. در مطالعه حاضر اگرچه IL-10 در مقایسه با گروه کنترل MS افزایش نشان داد، ولی این افزایش معنی‌دار نبود. IL-10 سایتوکاین تنظیمی است که قبل از عود بیماری کاهش می‌یابد [۲۸]. افزایش معنی‌دار سطح این سایتوکاین به همراه کاهش در سطح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی از جمله عوامل کاهش شدت بیماری در گروه درمانی می‌باشد [۲۹]. این نتایج با نتایج پژوهش حاضر هم‌راستا است و نشان می‌دهد که اثر طول دوره تمرین اینتروال بر افراد مبتلا به MS می‌تواند در کاهش علائم بیماری مفید باشد. مطالعات گذشته نشان داده است که در بیماران مبتلا به MS افزایش تولید IL-10 توسط لنفوسیت‌های CD4 در کاهش شدت علائم بیماری موثر بوده است [۳۰]. IL-10 در مطالعه حاضر تغییر معنی‌داری نداشت که احتمالاً از اثرات سودمند و ماندگار طول دوره تمرین اینتروال باشد که مانع از کاهش این سایتوکاین در برابر آسیب‌ها می‌شود. White و همکاران [۳۱] پاسخ سایتوکاین‌های بیماران MS را به تمرینات مقاومتی سنجیده‌اند. در این پژوهش ۱۰ بیمار زن MS به مدت ۱۲ هفته در برنامه ورزشی شرکت کردند. نتایج آنها نشان داد که غلظت IL-10 در سرم خون کاهش می‌یابد. آنها بیان کردند که تمرینات مقاومتی پیش‌رونده ممکن است بر غلظت سایتوکاین‌ها افراد MS تاثیر بگذارد که این تاثیر به وضعیت کلی بیمار هم بستگی دارد. همچنین، با توجه به نقش بسیار پیچیده سایتوکاین‌ها در عملکرد سیستم ایمنی بیماران MS، تفسیر یافته‌های سایتوکاین

[6] Saraiva M, O'garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat Rev Immunol* 2010; 10(3): 170-81.

[7] Maghsoodi N, Khosravi N, Ravasi AA. The effect of a period of selected training (aerobic and resistance) on some cytokines in male and female patients with multiple sclerosis. *Sport Biosciences (harakat)*. 2011; 10: 5-23. [in Persian]

[8] Bezheh N, Soltani M, Khaleghzade H. Effects of aerobic training in water on IL-6 and IL-10 in patients with Multiple Sclerosis. *Evidence Based Care* 2014; 4(2): 63-72. [in Persian]

[9] Tekieh E, Zaringhalam J, Manaheji H, Maghsoodi N, Alani B, Zardooz H. Increased serum IL-6 level time-dependently regulates hyperalgesia and spinal mu opioid receptor expression during CFA-induced arthritis. *EXCLI J* 2011; 10: 23.

[10] Imitola J, Chitnis T, Khoury SJ. Cytokines in multiple sclerosis: from bench to bedside. *Pharmacol Ther* 2005; 106(2): 163-77.

- [11] 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. *J Neuroimmunol* 2013; 264(1-2): 24-34.
- [12] Caggiula M, Batocchi A, Frisullo G, Angelucci F, Patanella A, Sancricca C, et al. Neurotrophic Factors and Clinical Recovery in Relapsing Remitting Multiple Sclerosis. *Scand J Immunol* 2005; 62(2): 176-82.
- [13] Hohnfeld R. Neurotrophic cross-talk between the nervous and immune systems: relevance for repair strategies in multiple sclerosis? *J Neurol Sci* 2008; 265(1): 93-6.
- [14] Kalinowska-Lyszczarz A, Losy J. The Role of Neurotrophins in Multiple Sclerosis—Pathological and Clinical Implications. *Int J Molecular Sci* 2012; 13(10): 13713-25.
- [15] Azoulay D, Vachapova V, Shihman B, Miler A, Karni A. Lower brain-derived neurotrophic factor in serum of relapsing remitting MS: reversal by glatiramer acetate. *J Neuroimmunol* 2005; 167(1-2): 215-8.
- [16] 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. *J Neurol Sci* 2016; 362: 251-7.
- [17] Castellano V, White LJ. Serum brain-derived neurotrophic factor response to aerobic exercise in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2008; 269(1): 85-91.
- [18] 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. *J Neurosci Res* 2016; 94(10): 907-14.
- [19] Turner AP, Kivlahan DR, Haselkorn JK. Exercise and quality of life among people with multiple sclerosis: looking beyond physical functioning to mental health and participation in life. *Arch Physical Med Rehabil* 2009; 90(3): 420-8.
- [20] Marquez CM, Vanaudenaerde B, Troosters T, Wenderoth N. High-intensity interval training evokes larger serum BDNF levels compared with intense continuous exercise. *J Appl Physiol* 2015; 119(12): 1363-73.
- [21] Ogura Y, Naito H, Kurosaka M, Sugiura T, Junichiro A, Katamoto S. Sprint-interval training induces heat shock protein 72 in rat skeletal muscles. *J Sports Sci Med* 2006; 5(2): 194.
- [22] 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). *Pajohandeh J* 2013; 18(2): 69-75. [in Persian]
- [23] Patel DI, White LJ. Effect of 10-day forced treadmill training on neurotrophic factors in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Appl Physiol Nutrition Metabol* 2013; 38(2): 194-9.
- [24] 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. *J Cell Mol Med* 2012; 16(8): 1856-65.
- [25] Castellano V, Patel DI, White LJ. Cytokine responses to acute and chronic exercise in multiple sclerosis. *J Applied Physiol* 2008; 104(6): 1697-702.
- [26] Arnett HA, Mason J, Marino M, Suzuki K, Matsushima GK, Ting JP-Y. TNF $\alpha$  promotes proliferation of oligodendrocyte progenitors and remyelination. *Nature Neuroscience* 2001; 4(11): 1116-22.
- [27] 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 Demyelinating Disorders* 2017; 2(1): 2.
- [28] Petereit H, Pukrop R, Fazekas F, Bamborschke S, Röpele S, Kölmel H, et al. Low interleukin-10 production is associated with higher disability and MRI lesion load in secondary progressive multiple sclerosis. *J Neurological Sci* 2003; 206(2): 209-14.
- [29] Aktunc E, Kayhan B, Arasli M, Gun BD, Barut F. The effect of atorvastatin and its role on systemic cytokine network in treatment of acute experimental colitis. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2011; 33(4): 667-75.
- [30] Perrella O, Sbreghia C, Perrella M, Spetrini G, Gorga F, Pezzella M, et al. Interleukin-10 and tumor necrosis factor-alpha: model of immunomodulation in multiple sclerosis. *Neurological Res* 2006; 28(2): 193-5.
- [31] White LJ, Castellano V, Mc Coy SC. Cytokine responses to resistance training in people with multiple sclerosis. *J Sports Sci* 2006; 24(8): 911-4.