

Evaluating the protective effect of 6 weeks resistance training and vitamin D intake on brain neuro-inflammatory factors in female rats with experimental autoimmune encephalomyelitis

Mousavi S¹, Fallah-Mohammadi Z^{1*}, Hajizadeh-Moghaddam A²

1- Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, I. R. Iran.

2- Department of Animal Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, I. R. Iran.

Received: 2018/08/1 | Accepted: 2018/11/21

Abstract:

Background: Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory autoimmune disease and is associated with reduced physical capacity. The aim of this study was to examine the protective effect of a 6-week resistance training program and vitamin D intake on the brain neuro-inflammatory factors in female Lewis rats with experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE).

Materials and Methods: In this experimental study, four-week-old female Lewis rats ($n=48$) were randomly divided into 8 groups. Resistance training protocol was performed for 6 weeks and 5 days a week. A training program was started with a load equal to 50% of the body weight of the rat. Animals in the first two sessions performed 8 to 10 repetitions (climbing the ladder) at 2-minute breaks. The rats were immunized with the guinea pig's spit and complete adjuvant. The EAE model was induced at the end of the sixth week of the exercise. Rats received 5 µg of vitamin D3 in 150 µl of sesame oil per kilogram of their body weight via intraperitoneal injection once every two days for 2 weeks.

Results: The results showed that six weeks of resistance training with vitamin D had no significant effect on granulocyte-monocyte growth factor, nuclear transcription factor kB and transforming growth factor beta ($P>0.05$). However, Interleukin-17 values showed a significant difference in all three levels of training ($P=0.000$), supplements ($P=0.045$), and interactive training and supplementation ($P=0.043$).

Conclusion: The inadequacy of the training period (frequency and intensity of exercise) and the dose rate of vitamin D3 can be one of the possible causes of ineffectiveness of the present intervention.

Keywords: Resistance training, Neuro-inflammatory factors, Vitamin D, Multiple sclerosis

* Corresponding Author.

Email: zia-falm@umz.ac.ir

Tel: 0098 911 112 7633

Fax: 0098 113 530 2201

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2019; Vol. 22, No 6, Pages 573-580

Please cite this article as: Mousavi S, Fallah-Mohammadi Z, Hajizadeh-Moghaddam A. Evaluating the protective effect of 6 weeks resistance training and vitamin D intake on brain neuro-inflammatory factors in female rats with experimental autoimmune encephalomyelitis. Feyz 2019; 22(6): 573-80.

ارزیابی اثر حفاظتی شش هفته تمرین مقاومتی و مصرف ویتامین D بر عوامل التهابی مغز در موش‌های صحرایی ماده مبتلا به آنسفالومیلیت خودایمن تجربی

عصمت السادات موسوی^۱، ضیاء فلاح محمدی^{۲*}، اکبر حاجی زاده مقدم^۳

خلاصه:

سابقه و هدف: مولتیپل اسکلروزیس (MS) یک بیماری خودایمن التهابی مزمن است که با کاهش توانایی بدنی همراه است. هدف از این پژوهش ارزیابی اثر حفاظتی ۶ هفته تمرین مقاومتی و مصرف ویتامین D بر عوامل التهابی مغز در موش‌های صحرایی ماده مبتلا به آنسفالومیلیت خودایمن تجربی (EAE) بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی ۴۸ سر موش ماده نژاد لوئیز ۴ هفتاهی به طور تصادفی به ۸ گروه تقسیم شدند. پروتکل تمرین مقاومتی به مدت ۶ هفته و ۵ روز در هفته انجام شد. شروع برنامه تمرینی با بار معادل ۵۰ درصد وزن بدن بود. حیوانات در دو جلسه اول ۸ تا ۱۰ تکرار (بالا رفتن از نردهان) را با فواصل استراحت ۲ دقیقه‌ای انجام دادند. موش‌ها با نخاع خوکچه هندی و ادجوانات کامل آیمونیزه شدند. مدل EAE در انتهای هفته ششم تمرینات القاء شد. حیوانات به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ۵ میکروگرم ویتامین D3 در ۱۵۰ میکرولیتر روغن کنجد هر دو روز یکبار به مدت ۲ مفته به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

نتایج: شش هفته تمرین مقاومتی به همراه رشد گرانولوستی-مونوپلیت، عامل رونویسی هسته‌ای کاپا-بی و فاکتور تبدیل رشد بتا تاثیر معنی‌داری نداشت ($P=0.05$): با این وجود، مقادیر ایترلوکین-۱۷ در هر سه سطح تمرین ($P=0.01$)، مکمل ($P=0.045$) و اثر تعاملی تمرین و مکمل ($P=0.043$) تفاوت معنی‌داری نشاد داد.

نتیجه‌گیری: احتمالاً اجرای تمرین مقاومتی و مصرف ویتامین D به صورت پیش‌آماده سازی از طریق پیشگیری از افت مقادیر عوامل ضدالتهابی و نیز افزایش عوامل پیش‌ران بیماری، اثر حفاظتی در برابر بیماری دارد.

واژگان کلیدی: تمرین مقاومتی، عوامل نوروالتهابی مغز، ویتامین D، مولتیپل اسکلروزیس

دو ماهنامه علمی-پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۶، بهمن و اسفند ۹۷، صفحات ۵۸۰-۵۷۳

مقدمه

علاوه بر این، MS و EAE (Experimental autoimmune) اختلالات دستگاه عصبی مرکزی با واسطه ایمنی هستند که با ترشح سلول‌های ایمنی، تنظیم افزایشی سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و تنظیم کاهمشی میانجی‌های سلول‌های T ضد التهابی مانند فاکتور تبدیل رشد بتا (TGF-β) مشخص می‌شوند. TGF-β اعمال متعددی انجام می‌دهد که شامل تمایز سلولی، مهار رشد سلولی، تعدیل و سرکوب پاسخ‌های التهابی و ایمنی است که در روند التهاب در بیماری مولتیپل اسکلروزیس نقش دارند [۱]. نتایج تاثیر تمرین بر سطوح TGF-β در بیماران مبتلا به MS متناقض می‌باشد؛ به طوری که عدم تغییر و کاهش سطوح β در بیماران مبتلا به MS پس از تمرینات مشاهده شده است [۲،۳]. نشان داده شده است که در MS، فاکتورهای رونویسی درگیر در التهاب و خودایمنی مانند عامل رونویسی هسته‌ای کاپا-بی (NF-κB) فعال می‌شوند و بیان چندین ژن التهابی را القاء کرده و مولکولهای پیش‌التهابی را تولید می‌کنند [۴]. با این وجود، تاثیر فعالیت ورزشی بر سیگنالدهی NF-κB در بیماران مبتلا به MS به طور کامل مشخص نشده است. مطالعات انجام شده در مدل‌های حیوانی MS نشان داده‌اند که عامل رشد گرانولوستی‌ها و مونوپلیت‌ها (GM-CSF) تولید شده توسط

مولتیپل اسکلروزیس (MS) یک بیماری خودایمن با ضایعات ملتهب و دمیلینیه شونده در دستگاه عصبی مرکزی می‌باشد [۱]. مطالعات نشان داده‌اند که سیستم ایمنی در بروز مولتیپل اسکلروزیس نقش دارد. در همین راستا نقش حیاتی سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در پاتوژن MS آن‌ها را به یک هدف اساسی در جهت رویکرد درمانی تبدیل کرده است [۲،۳]. ایترلوکین-۱۷ (IL-17) یکی از مهم‌ترین سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در پیشرفت MS است [۴]؛ به طوری که mRNA و پروتئین IL-17 در لنفوپلیت‌های عرقوق، استروپلیت‌ها و در مناطق فعال ضایعات MS نشان دیده شده است [۳].

^۱ دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

^۲ دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

^۳ دانشیار، گروه فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

تلفن: ۰۹۱۱۱۱۲۷۶۳۳ - ۰۱۱۳۵۳۴۲۲۰ - دوزنیس؛

پست الکترونیک: zia-falm@umz.ac.ir

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۵/۳۰ - تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۱۰

تریبت بدنه و علوم ورزشی دانشگاه مازندران انجام شد. مطالعه حاضر با کد IR.UMZ.REC.097004 در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه مازندران مورد تایید قرار گرفت. در این پژوهش از ۴۸ سر موش صحرایی ماده نژاد لوئیز ۴ هفتاهی تهیه شده از شرکت داروپخش تهران استفاده شد. موش‌ها پس از ۲ هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه، پروتکل تمرینی خود را آغاز کردند. در طی دوره پژوهش غذای استاندارد پلت و آب به صورت آزاد در اختیار گروه‌ها قرار گرفت و حیوانات در گروه‌های چهارتایی و در محیطی با میانگین دمای $22 \pm 1/4$ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ درصد و چرخه روش‌نایی تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. حیوانات به طور تصادفی به ۸ گروه تقسیم شدند: ۱- گروه پایه که در طول آزمایش در قفس نگهداری شدند (کنترل سالم)؛ ۲- گروهی که مخلوطی از ادجوان و نخاع خوکچه هندی بهمنظور القاء EAE دریافت کرد (کنترل MS)؛ ۳- گروهی که فقط مکمل ویتامین D دریافت کرد (گروه ویتامین D)؛ ۴- گروهی که در کنار دریافت مکمل ویتامین D مخلوطی از ادجوان و نخاع نیز به آن‌ها تزریق شد (گروه ویتامین D+MS)؛ ۵- گروهی که فقط تمرین مقاومتی را انجام داد (گروه تمرین مقاومتی سالم)؛ ۶- گروهی که تمرین مقاومتی را انجام داد و مخلوطی از ادجوان و نخاع خوکچه به آن‌ها تزریق شد (گروه تمرین مقاومتی+MS)؛ ۷- گروهی که در کنار مصرف مکمل ویتامین D تمرین مقاومتی انجام داد و مخلوط ادجوان و نخاع خوکچه به آن‌ها تزریق شد (گروه MS+تمرین مقاومتی+ویتامین D).

القاء آنسفالومیلیت خودایمن تجربی (EAE):

به منظور القاء EAE در حیوانات از مخلوطی از نخاع خوکچه و ادجوان استفاده شد. ابتدا ۶ سر خوکچه هندی از انسیتو پاستور تهران خریداری شده و به آزمایشگاه منتقل شدند. هریک از این خوکچه‌ها به وسیله کاتامین (۰-۵۰۰ میکرولیتر بر کیلوگرم) و زیالازین (۳-۵ میکرولیتر بر کیلوگرم) بیهوش شده و نخاع آن‌ها برای انجام مراحل بعدی آزمایش خارج شد. سپس، نخاع در ازت مایع فریز شده و در هاون پر از ازت کوییده شد. به منظور هموزن کردن، بافت کوییده شده با نسبت برابر با سالین مخلوط شده و در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد در دستگاه شیکر قرار داده شد تا به طور کامل هموزن شود. در نهایت، نخاع هموزن شده و ادجوان خریداری شده از شرکت سیگما با نسبت ۱ به ۱ مخلوط گردیده و بعد از بیهوش کردن موش‌های صحرایی به وسیله

سلول‌های T برای توسعه التهاب خودایمنی CNS ضروری است [۸]. این موضوع نشان می‌دهد که GM-CSF ممکن است نقشی در بیماری زایی MS داشته باشد [۹]. افزایش سطح GM-CSF در مایع مغزی نخاعی بیماران MS نیز گزارش شده است [۱۰]. بنابراین، کنترل فعالیت GM-CSF از طریق هدف گیری این سایتوکاین می‌تواند یک رویکرد درمانی امیدوار کننده در درمان MS باشد. همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی GM-CSF را در افراد سالم افزایش می‌دهد [۱۱-۱۳]. با این حال، تاکنون در تحقیقی به بررسی تأثیر فعالیت ورزشی بر سطوح GM-CSF در بیماران مبتلا به MS پرداخته نشده است. از طرف دیگر، فقدان ویتامین D به عنوان یک عامل خطر در پیشرفت بیماری MS گزارش شده است [۱۴]. میزان ویتامین D3 در سرم بیماران مبتلا به MS پیشرفته پائین بوده است [۱۵، ۱۴]. مطالعات تجربی در مدل حیوانی این بیماری (آنسفالومیلیت خودایمن تجربی) نشان می‌دهد که تجویز ویتامین D3 در جلوگیری از بیماری EAE مؤثر است [۱۶]. ویتامین D3 ممکن است به عنوان یک تنظیم کننده فاکتورهای نسخه‌برداری عمل کند و با مهار تولید سایتوکاین‌های التهابی سبب کاهش شدت بیماری گردد [۱۷]. تمرین هوازی و مصرف مکمل مولتی‌ویتامین موجب کاهش پلاسمایی مقادیر ساختهای التهابی می‌گردد [۱۹، ۱۸]. همچنین، ورزش باعث افزایش عملکرد مغز و کمک به بهبودی بیماری‌های عصبی می‌شود [۲۰]. در سال‌های اخیر توجه بیشتری به تأثیر ورزش بر سیستم عصبی مرکزی شده است؛ با این وجود، تأثیر فعالیت ورزشی بر عوامل پیش‌التهابی و عوامل رشد گلیکوپروتئینی در بافت‌های مختلف به طور ضعیفی درک شده است. همچنین، تاکنون در تحقیقات به بررسی اثر تمرینات ورزشی به همراه مکمل گیری ویتامین D بر فاکتورهای التهابی در بافت مغز در بیماری MS پرداخته نشده است. از طرف دیگر، برخی شواهد نشان می‌دهند که تمرینات مقاومتی می‌توانند باعث بهبود وضعیت جسمانی بیماران MS شوند [۲۱]. با توجه به نتایج متناقض تحقیقات پیشین مربوط به تأثیر تمرین و مصرف ویتامین D بر عوامل التهابی و نیز مشخص نبودن تأثیر هم‌افزایی این دو متغیر بر عوامل التهابی در افراد دارای MS. پژوهش حاضر قصد دارد به ارزیابی اثر حفاظتی ۶ هفته تمرین مقاومتی و مصرف ویتامین D بر عوامل التهابی مغز در موش‌های صحرایی‌ماده مبتلا به آنسفالومیلیت خودایمن تجربی (EAE) پردازد.

مواد و روش‌ها

پژوهش تجربی حاضر در سال ۱۳۹۶ در دانشکده

تجویز ویتامین D3

موش‌های گروه‌های EAE به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ۵ میکروگرم ویتامین D3 در ۱۵۰ میکرو لیتر روغن کنجد هر دو روز یکبار به صورت داخل صفاتی دریافت کردند [۲۲]. تجویز ویتامین D3 سه روز قبل از الفا EAE آغاز شد و موش‌ها به مدت ۲ هفته ویتامین D3 مصرف کردند. در پایان پروتکل و پس از نمونه برداری از بافت مغز موش‌ها، سطوح IL-17, TGF- β , NF- κ B و GM-CSF با استفاده از کیت‌های الایزا (Germany) اندازه‌گیری شد. جهت تجزیه و تحلیل استنباطی داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس چندمتغیره (MANOVA) استفاده شد. تمام عملیات آماری پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ و سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شده است.

نتایج

تحلیل واریانس چندمتغیره برای ارزیابی اثر حفاظتی ۶ هفته تمرین مقاومتی و مصرف ویتامین D بر عوامل التهابی مغز در موش‌های صحرایی ماده مبتلا به EAE انجام شد. در ابتدا مفروضه‌های مقدماتی نظر نرمال بودن، خطی بودن، داده‌های پرت تک متغیری و چندمتغیری، یکسان بودن ماتریس واریانس-کوواریانس و چندهم خطی برای اطمینان از عدم تخطی جدی از آنها مورد بررسی قرار گرفت. از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین تمرین و عدم تمرین در متغیرهای وابسته ترکیبی در مورد تمرین وجود داشت ($F(۴, ۸۸)=۹.۴/۰.۹$; $P=0.001$). لابدای ویلکز؛ و $=۰.۵۵$ مجذور اثای تفکیکی). اما از نظر آماری بین استفاده از مکمل و عدم استفاده از مکمل و اثر تعاملی تمرین و مکمل در متغیرهای وابسته ترکیبی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. همچنین، هنگامی که نتایج متغیرهای وابسته به صورت جداگانه در نظر گرفته شد، تنها در متغیر ایترولوکین ۱۷ در هر ۳ سطح تمرین ($F(۳, ۸۴)=۰.۴/۰.۸$; $P=0.001$) و $=۰.۵۴$ مجذور اتا)، مکمل ($F(۳, ۳۱)=۰.۴/۰.۳$; $P=0.045$) و $=۰.۱۳$ مجذور اتا)، و اثر تعاملی تمرین و مکمل ($F(۳, ۳۸)=۰.۴/۰.۴$; $P=0.043$) و $=۰.۱۱$ مجذور اتا) تفاوت معنی‌داری وجود داشت. همچنین، با بررسی اندازه اثر مشخص شد که تمرین بیشترین تاثیر را داشته و سپس اثر تعاملی و بعد مکمل تاثیر بیشتری داشته‌اند.

کتابخانه ۷۰ میکرولیتر بر کیلوگرم) به هر حیوان مقدار ۰/۴ میلی-لیتر از محلول حاصل در پایه دم حیوان تزریق شد. روند بیماری روزانه مورد ارزیابی قرار گرفت. 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- فلج هر دو پا، ۶- فلجی چهار دست و پا و ۷- مرگ می‌باشد [۲۲].

پروتکل تمرین مقاومتی

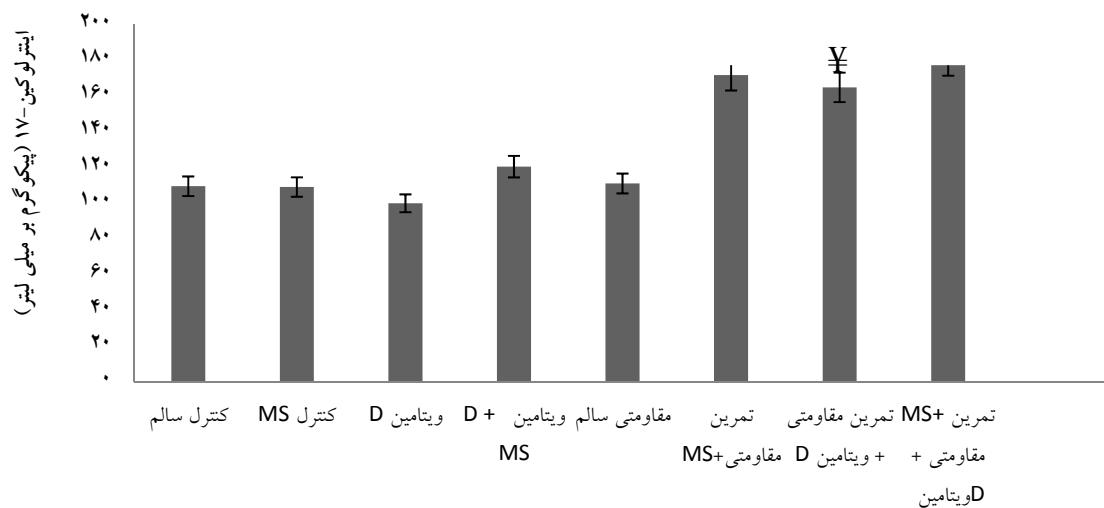
تمرین مقاومتی شامل بالا رفتن از نرdban مخصوص جوندگان (نرdban به ارتفاع ۱ متر و فاصله پله‌ها ۲ سانتی‌متر از یکدیگر و شیب ۹۰ درجه) بود که با اضافه کردن وزنه به دم موش‌ها انجام گرفت. تمرینات ۵ روز در هفته و به مدت ۶ هفته انجام شد. پیش از شروع برنامه تمرین، بالا رفتن از نرdban به حیوانات آموزش داده شد. به‌منظور تحریک برای اجرای تمرینات تنها از لمس کردن و مالیدن دم استفاده شد. در ابتدا به‌منظور گرم کردن، موش‌ها ۳ بار بدون وزنه و بدون استراحت بین تکرارها از نرdban بالا رفته‌اند. سپس، وزنه‌های مورد نظر آن جلسه تمرینی به دم موش‌ها متصل شد. در هفته‌های آخر برای چلوگیری از صدمه و آسیب دیدگی دم موش‌ها با توجه به افزایش وزنه‌ها، به چندین نقطه متفاوت از دم موش وزنه متصل می‌شد. شدت اولیه برای شروع برنامه تمرین مقاومتی ۵۰ درصد وزن بدن حیوان بود. در جلسه آخر هر هفته تمرینی پس از اتمام برنامه تمرینی مربوط به آن جلسه، برای به دست آوردن RM1 (یک تکرار بیشینه) جدید به‌منظور افزایش شدت تمرین در هفته بعد، به بیشترین وزنه حمل شده توسط موش در آن جلسه یک وزنه ۳۰ گرمی اضافه شده و اجازه داده شد موش یک تکرار را با آن انجام دهد. پس از ۲ دقیقه استراحت، وزنه ۳۰ گرمی دیگری به وزنه قبلی اضافه شد و این عمل تا زمانی که موش قادر به بالا بردن وزنه نباشد، ادامه یافت. وزنه جدید به عنوان وزنه شروع برای جلسه آینده در نظر گرفته می‌شود. تعداد تکرارها برای اضافه کردن وزنه‌های ۳۰ گرمی حداقل ۶ تا ۸ تکرار بود و در جلسه بعدی با ۵۰، ۷۵ و ۹۰ درصد هر کدام دو تکرار و یک تکرار با ۱۰۰ درصد وزن وزنه، تمرین انجام شد [۲۳].

جدول شماره ۱- نتایج آزمون تحلیل واریانس چند متغیره

ناثیر	آزمون آماری	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig	Partial Eta Squared
لامبدای ویلکز	لامبدای ویلکز	۰/۴۵۰	۹/۴۸۸	۴	۳۱	۰/۰۰۱	۰/۵۵۰
لامبدای ویلکز	لامبدای ویلکز	۰/۰۸۶۸	۱/۱۸۲	۴	۳۱	۰/۳۳۸	۰/۱۳۲
لامبدای ویلکز	لامبدای ویلکز	۰/۰۷۷۹	۲/۱۹۵	۴	۳۱	۰/۰۹۳	۰/۲۲۱

جدول شماره ۲- آزمون اثرات متقابل

منبع	متغیر وابسته	مجموع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	F ارزش	سطح معنی‌داری	اندازه اثر
تمرین	TGF-β	۲۷۱/۰۴۷	۱	۲۷۱/۰۴۷	۱/۸۴۷	۰/۱۸۰	۰/۰۵۲
	NF-κB	۰/۰۳۶	۱	۰/۰۳۶	۰/۸۴۷	۰/۰۶۴	۰/۰۲۴
	IL-17	۲۱۶۲۸/۷۷۳	۱	۲۱۶۲۸/۷۷۳	۴۰/۸۴۵	۰/۰۰۰	۰/۰۴۶
	GM-CSF	۰/۰۲۷	۱	۰/۰۲۷	۰/۰۰۳	۰/۰۵۷	۰/۰۰۰
	TGF-β	۱۰/۷۱۸	۱	۱۰/۷۱۸	۰/۰۷۴	۰/۰۷۷	۰/۰۰۲
	NF-κB	۰/۰۱۴	۱	۰/۰۱۴	۰/۰۳۸	۰/۰۵۶۵	۰/۰۱۰
مکمل	IL-17	۲۲۸۲۳/۶۲۸	۱	۲۲۸۲۳/۶۲۸	۴/۳۱۲	۰/۰۴۵	۰/۱۱۳
	GM-CSF	۳۴/۷۷۱	۱	۳۴/۷۷۱	۰/۴۹۴	۰/۴۸۷	۰/۰۱۴
	TGF-β	۱۸۵/۱۶۳	۱	۱۸۵/۱۶۳	۱/۲۸۰	۰/۰۲۶	۰/۰۳۶
	NF-κB	۰/۰۰۳	۱	۰/۰۰۳	۰/۰۶۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲
	IL-17	۲۳۳۶/۷۵۴	۱	۲۳۳۶/۷۵۴	۴/۴۱۳	۰/۰۴۳	۰/۱۱۵
	GM-CSF	۷۵/۱۳۰	۱	۷۵/۱۳۰	۱/۰۶۸	۰/۰۳۰۹	۰/۰۳۰
تمرین × مکمل	TGF-β	۷۱۷۵۲۳/۹۷۰	۳۸				
	NF-κB	۹۳/۶۱۳	۳۸				
	IL-17	۷۲۸۴۱۳/۴۴۰	۳۸				
	GM-CSF	۹۲۳۰/۶/۱۰۳	۳۸				
مجموع		۷۱۷۵۲۳/۹۷۰	۳۸				
		۹۳/۶۱۳	۳۸				
		۷۲۸۴۱۳/۴۴۰	۳۸				
		۹۲۳۰/۶/۱۰۳	۳۸				



نمودار شماره ۲- میانگین تغییرات IL-17 در گروه‌های مختلف تحقیق پس از دوره مداخله

† تفاوت معنی‌دار نسبت به کنترل سالم، ویتامین D + MS و ویتامین D

‡ تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه MS + ویتامین D و ویتامین D

* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم، کنترل MS و تمرین مقاومتی (P≤۰/۰۵)

افزایش معنی‌دار مقادیر IL-17 می‌شود. افزایش معنی‌دار مقادیر IL-17 در تحقیق حاضر با یافته‌های برخی تحقیقات قبلی هم خوان نمی‌باشد. در همین راستا، Golzari و همکاران نشان داده‌اند که ورزش‌های ترکیبی شامل ۲۴ جلسه تمرینات استقامتی و مقاومتی طی ۸ هفته به‌طور معنی‌داری تولید IL-17 در پلاسمای بیماران مبتلا به MS را کاهش می‌دهد [۲۵]. نتایج Souza و همکاران نیز

بحث

هدف این مطالعه بررسی اثر حفاظتی ۶ هفته تمرینات مقاومتی و مصرف ویتامین D بر عوامل التهابی مغز در موش‌های صحرانی ماده مبتلا به آسفلالومیلیت خودایمن تجربی (EAE) بود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ۶ هفته تمرین مقاومتی به‌تهابی و ترکیب تمرین مقاومتی با ویتامین D در مدل EAE موجب

عضلانی ناشی از ورزش و تاخیر در لکوسیتوز را با استفاده از یک پروتکل تمرینات برونگرای شدید مورد بررسی قرار داد، غلظت G-CSF ۶ ساعت پس از ورزش به اوج مقادیر خود رسید [۱۲]. بنابراین، احتمالاً پروتکل مقاومتی انجام شده در این تحقیق برای تحریک تغییرات معنی‌دار در سطوح GM-CSF کافی نبوده است. این یافته‌ها نشان می‌دهد پروتکل تمرین مقاومتی انجام شده یک پاسخ التهابی شبیه به مطالعات دیگر با استفاده از مدل‌های مختلف تمرین ایجاد نمی‌کند [۱۱، ۱۲، ۲۸]. گزارش شده است که مصرف ویتامین D به سبب جذب کمتر گوارشی بر شاخص‌های التهاب سیستمیک تاثیرگذار نیست [۳۱]. در تحقیق حاضر نیز D3 سطوح GM-CSF در بافت مغز متعاقب مصرف ویتامین D3 تغییر نکرد. از دیگر یافته‌های پژوهش حاضر عدم تغییر شاخص‌های NF- κ B و TGF- β پس از مداخله تمرین مقاومتی و ویتامین D در مدل EAE بود. این یافته تحقیق حاضر با نتایج Souza و همکاران که نشان دادند تولید TGF- β در بافت نخاع موش‌های C57 به طور قابل توجهی تحت تاثیر درمان با چهار هفته تمرینات مقاومتی قرار نمی‌گیرد [۵]، هم خوان می‌باشد. شاید دلیل عدم تغییر شاخص‌های مذکور پس از مداخله، شدت و همچنین مدت تمرین باشد. به نظر می‌رسد که برنامه تمرینی مقاومتی سبب القا سازگاری‌های کافی و در نتیجه تغییر در شاخص‌های فوق در بافت مغز موش‌های EAE نشده که این موضوع احتمالاً به میزان شدت و همچنین مدت تمرین و یا تنظیم نرمال این شاخص‌ها در بافت مغز موش‌های EAE مربوط می‌شود. در همین راستا، نتایج Soltani و همکاران نشان داد بیماران مبتلا به MS برای بهبود TGF- β عملکرد سیستم ایمنی خود می‌توانند با کاهش سطوح GM-CSF به‌واسطه شرکت در تمرین هوایی در آب، البته با یک دوره تمرینی طولانی (بیش از هشت هفته) سود ببرند [۶]. بنابراین احتمالاً با طولانی‌تر شدن دوره تمرینات می‌توان به نتایج روشن-تری دست یافت. بیان شده است که سیگنال‌دهی عامل هسته‌ای کاپا-بی (NF- κ B) نقش مهمی در تنظیم پاسخ‌های ایمنی و التهابی ایفا می‌کند و در پاتوژن بیماری‌های دمیلینه کننده ایمنی مانند مولتیپل اسکلروزیس و بیماری آنسفالومیلیت خود این تجربی نقش دارد [۳۲]. NF- κ B برای فعال سازی سیستم ایمنی محیطی و القای بیماری ضروری است. شواهد اخیر از نقش NF- κ B در محافظت از سلول‌های مختلف و کمک به آسیب شناسی MS و پیامدهای آن برای توسعه استراتژی‌های درمانی MS و دیگر بیماری‌های دمیلینه کننده حمایت می‌کنند [۳۲]. نشان داده شده است که میانگین غلظت سایتوکاین‌های ضد التهابی در موش‌های مبتلا به آنسفالومیلیت خودایمن تجربی دریافت کننده ویتامین

نشان داد که هر دو پروتکل تمرین قدرتی و استقامتی تداومی از علائم بالینی مدل حیوانی EAE جلوگیری کرده و استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، تمرینات بدنی در نخاع IL-17 را مهار می‌کند [۵]. همان‌طور که مشخص است بررسی سطوح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در بافت‌های مختلف می‌تواند به تبیین بهتر نتایج کمک کند. بر این اساس، تاکنون تاثیر تمرین بر IL-17 در بافت مغز به همراه مصرف ویتامین D3 در مطالعه‌ای یافت نشده است. تحقیقات حاکی از نقش موثر و مهم ویتامین D در تعادل و تنظیم سیستم ایمنی بدن و همچنین سلامت سایر اعضا بدن از جمله سیستم اعصاب مرکزی می‌باشد [۲۶]. از طرف دیگر، کمبود ویتامین D مسبب بسیاری از بیماری‌های خودایمن شناخته شده است [۲۶]. Mosayebi و همکاران اثر ویتامین D3 بر میزان سایتوکاین‌های ضدالتهابی در موش‌های مبتلا به آنسفالومیلیت خودایمن تجربی را بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که میانگین غلظت سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در موش‌های دریافت کننده ویتامین D3 در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری وجود ندارد [۲۴]. در تحقیق حاضر نیز سطوح IL-17 در بافت مغز به همراه مصرف ویتامین D3 در EAE افزایش معنی‌داری نشان داد. البته افزایش اینترلوکین-۱۷ را شاید بتوان به دلیل افزایش اجتناب ناپذیر اولیه آن در شروع بیماری دانست و ارتباطی با مداخلات مطالعه حاضر ندارد که به مطالعات با طول مدت بیشتر نیاز دارد. شاید بتوان با دست کاری میزان دوز ویتامین D3 و نیز مدت طولانی‌تر مصرف آن در نمونه‌های EAE به نتایج واضح‌تری دست یافت. همچنین، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که GM-CSF به‌دبال ۶ هفته تمرین مقاومتی به همراه ویتامین D در مدل EAE در گروه MS نسبت به گروه سالم به‌طور معنی‌داری کمتر بود. GM-CSF یک گلیکوپروتئین است که چسبندگی لکوسیت‌ها، تولید آئینه‌های سوپراکسید و تولید سایتوکاین را تنظیم می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی سطوح G-CSF را در افراد سالم افزایش می‌دهد [۱۱-۱۳]. همچنین، افزایش ۳۰ درصد در GM-CSF بلافارسله بعد از ۲ ساعت دوچرخه سواری با شدت بالا [۲۷]، دویدن [۲۸] و پس از مسابقه ماراتن [۲۹] گزارش شده است. در همین راستا، Kevin و همکاران نشان داده‌اند که دو هفته تمرینات ایتروال با شدت بالا-سطوح GM-CSF را در مردان فعال افزایش می‌دهد [۳۰]. به علاوه، نشان داده شده است که غلظت پلاسمایی G-CSF پس از یک جلسه ورزش برونگرای در آزمودنی‌های تمرین نکرده افزایش می‌یابد [۱۱]. علاوه بر این، در مطالعه‌ای که رابطه بین آسیب‌های

مداخله حاضر بر وزن، اشتها، درد حیوانات و تست‌های تحریکی احتمالاً به درک بهتر این تغییرات کمک می‌نماید.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد تیمار تمرین مقاومتی و مصرف ویتامین D به صورت پیش‌آمده‌سازی می‌تواند از طریق پیشگیری از افت مقادیر ضدالتهابی و نیز افزایش مقادیر التهابی نقش حفاظتی در برابر عوامل پیش‌ران بیماری داشته باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از کلیه افرادی که در انجام تحقیق حاضر همکاری داشته‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

D3 به‌طور معنی‌داری بیشتر است [۲۴]. ویتامین D3 از طریق هدایت پاسخ‌های ایمنی به سمت TH2 و القای تولید مقادیر بالای سایتوکاین‌های ضد التهابی در مهار EAE موثر است. در مطالعه حاضر مصرف ویتامین D به همراه ورزش مقاومتی نتوانست مقادیر NF- κ B و TGF- β را تغییر دهد. با توجه به مطالعات محدود در این زمینه، برای نتیجه‌گیری روشن‌تر نیاز به تحقیقات بیشتر می‌باشد. از جمله محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری دیگر عوامل التهابی و پیش‌التهابی مرتبط با پیشرفت بیماری MS اشاره کرد. همچنین، نباید دوز تجویز ویتامین D را نیز نادیده گرفت؛ به‌طوری‌که شاید با تغییر میزان دوز آن و تجویز دوز‌های مختلف بتوان به نتایج روشن‌تری دست یافت. همچنین، سنجهش اثر

References:

- [1] Harlow DE, Honce JM, Miravalle AA. Remyelination therapy in multiple sclerosis. *Front Neurol* 2015; 6: 257-64.
- [2] Stromnes IM, Cerretti LM, Liggitt D, Harris RA, Goverman JM. Differential regulation of central nervous system autoimmunity by TH1 and TH17 cells. *Nat Med* 2008; 14(3):337-42.
- [3] Tzartos JS, Friese MA, Craner MJ, Palace J, Newcombe J, Esiri MM, et al. Interleukin-17 production in central nervous system-infiltrating T cells and glial cells is associated with active disease in multiple sclerosis. *Am J Pathol* 2008; 172(1): 146-55.
- [4] Fischer HJ, Schweingruber N, Lühder F, Reichhardt HM. The potential role of T cell migration and chemotaxis as targets of glucocorticoids in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 380(1): 99-107.
- [5] Souza PS, Gonçalves ED, Pedroso GS, Farias HR, Junqueira SC, Marcon R, et al. Physical exercise attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting peripheral immune response and blood-brain barrier disruption. *Mol Neurobiol* 2017; 54(6): 4723-37.
- [6] Moazzemi M, Fathi M, Soltani M, Gelradi N. The effects of aerobic exercise in water on cortisol levels and TGF- β in patients with multiple sclerosis. *J Sabzevar Univ Med Sci* 2014; 21(2):207-16.
- [7] Yan J, Greer JM. NF- κ B, a potential therapeutic target for the treatment of multiple sclerosis. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2008; 7(6): 536-57.
- [8] El-Behi M, Ceric B, Dai H, Yan Y, Cullimore M, Safavi F, et al. The encephalitogenicity of TH17 cells is dependent on IL-1-and IL-23-induced production of the cytokine GM-CSF. *Nat Immunol* 2011; 12(6): 568-75.
- [9] Rasouli J, Ceric B, Imitola J, Gonnella P, Hwang D, Mahajan K, et al. Expression of GM-CSF in T cells is increased in multiple sclerosis and suppressed by IFN- β therapy. *J Immunol* 2015; 194(11): 5085-93.
- [10] Kostic M, Stojanovic I, Marjanovic G, Zivkovic N, Cvetanovic A. Deleterious versus protective autoimmunity in multiple sclerosis. *Cell Immunol* 2015; 296(2): 122-32.
- [11] Hirose L, Nosaka K, Newton M, Laveder A, Kano M, Peake J, Suzuki K. Changes in inflammatory mediators following eccentric exercise of the elbow flexors. *Exerc Immunol Rev* 2004; 10: 75-90.
- [12] Paulsen G, Benestad HB, Strøm-gundersen I, Mørkrid L, Lappégård KT, Raastad T. Delayed leukocytosis and cytokine response to high-force eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2005; 37(11): 1877-83.
- [13] Bonsignore MR, Morici G, Santoro A, Pagano M, Cascio L, Bonanno A, et al. Circulating hematopoietic progenitor cells in runners. *J Appl Physiol* 2002; 93(5): 1691-7.
- [14] Alharbi FM. Update in vitamin D and multiple sclerosis. *Neurosciences* 2015; 20(4):329–35.
- [15] Mosayebi G, Ghazavi A, Salehi H. Effect of vitamin D3 on leukocyte infiltration into the brain of C57/BL6 mice with experimental autoimmune encephalomyelitis. *Yafte* 2006; 8(3):85-91.
- [16] Van Etten E, Branisteanu DD, Overbergh L, Bouillon R, Verstuyf A, Mathieu C. Combination of a 1, 25-dihydroxyvitamin D 3 analog and a bisphosphonate prevents experimental autoimmune encephalomyelitis and preserves bone. *Bone* 2003; 32(4): 397-404.
- [17] Cantorna MT, Humpal-Winter J, DeLuca HF. In vivo upregulation of interleukin-4 is one mechanism underlying the immunoregulatory effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D3. *Arch Biochem Biophys* 2000; 377(1): 135-8.

- [18] Tartibian B, Godrat-Garebagh Z, Gaeini A, Tolouei-Azar J. Influence of 9-weeks aerobic exercise and multivitamin supplement on inflammation biomarkers as cardiovascular risk factor in non-athletic obese women. *Zahedan J Res Med Sci* 2013; 15(3): 30-5
- [19] Schleithoff SS, Zittermann A, Tenderich G, Berthold HK, Stehle P, Koerfer R. Vitamin D supplementation improves cytokine profiles in patients with congestive heart failure: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2006; 83(4): 754-9.
- [20] Bherer L, Erickson KI, Liu-Ambrose T. A review of the effects of physical activity and exercise on cognitive and brain functions in older adults. *J Aging Res* 2013; 657508.
- [21] DeBolt LS, McCubbin JA. The effects of home-based resistance exercise on balance, power, and mobility in adults with multiple sclerosis. *Arch Phys Med Rehabil* 2004; 85(2): 290-7.
- [22] Yaghmaei P, Nabioni M, Mahdavi M, Mehravarz T, Nazari Z. The effect of different doses of bee venom serum levels of interleukin-6 in Lewis rats EAE (a model for studying multiple sclerosis). *Pejouhandeh* 2013; 18(2): 69-75.
- [23] Safarzadeh A, Hajizadeh Rostami M, Talebi Garakani E, Fathi R. The effect of progressive resistance training on serum concentrations of omentin-1 and lipid profile in male rats. *J Sport Biosciences* 2014; 6(3): 287-300.
- [24] Mosayebi G, Ghazavi A, Payani MA. The Effect of Vitamin D3 on the inhibition of experimental autoimmune encephalomyelitis in C57BL/6 mice. *Razi J Med Sci* 2006; 13(52): 189-96.
- [25] Golzari Z, Shabkhiz F, Soudi S, Kordi MR, Hashemi SM. Combined exercise training reduces IFN- γ 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): 1415-9.
- [26] Hosseini S, Rakhshi N, Abdullah N, Jafari S, Nikravesh A. Vitamin D, the healthy and inflamed Immune System in multiple sclerosis. *J North Khorasan Univ Med Sci* 2014; 5(5):935-41.
- [27] Nieman DC, Konrad M, Henson DA, Kennerly K, Shanely RA, Wallner-Liebmann SJ. Variance in the acute inflammatory response to prolonged cycling is linked to exercise intensity. *J Interferon Cytokine Res* 2012; 32(1): 12-17.
- [28] Konrad M, Nieman DC, Henson DA, Kennerly KM, Jean F, Wallner-Liebmann SJ. The acute effect of ingesting a quercetin-based supplement on exercise-induced inflammation and immune changes in runners. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2011; 21(4): 338-46.
- [29] Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Liu Q, Kurakake S, Okamura N, et al. Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35(2): 348-55.
- [30] Zwesloot KA, John CS, Lawrence MM, Battista RA, Shanely RA. High-intensity interval training induces a modest systemic inflammatory response in active, young men. *J Inflamm Res* 2014; 9(7): 9-17.
- [31] Carrillo AE, Flynn MG, Pinkston C, Markofski MM, Jiang Y, Donkin SS, et al. Impact of Vitamin D supplementation during exercise training does not alter inflammatory biomarkers in overweight and obese subjects. *Clin Nutr* 2013; 32(3): 375-81.
- [32] Mc Guire C, Prinz M, Beyaert R, Van Loo G. Nuclear factor kappa B (NF- κ B) in multiple sclerosis pathology. *Trends Mol Med* 2013; 19(10): 604-13.