



اثر چهار هفته فعالیت هوازی در آب بر علائم بالینی و سایتوکاین‌های TNF- α و IL-10 در مدل حیوانی مالتیپل اسکلروزیس

مریم وطن‌دوست*^۱، پژمان معتمدی^۲، حمید رجبی^۳، عطاالله غدیری^۴، عبدالمهدی نصیرزاده^۵، فاطمه وطن‌دوست^۶، عنایت‌الله یزدان‌پناه^۷

۱- دانشگاه خوارزمی- دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی- گروه فیزیولوژی ورزشی- دانشجوی دکتری.

۲- دانشگاه خوارزمی- دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی- گروه فیزیولوژی ورزشی- استادیار.

۳- دانشگاه خوارزمی- دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی- گروه فیزیولوژی ورزشی- دانشیار.

۴- دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز- دانشکده پزشکی- گروه ایمنی‌شناسی- استادیار.

۵- دانشگاه پیام نور- دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی- گروه مدیریت ورزشی- استادیار.

۶- دانشگاه الزهراء- دانشکده علوم زیستی- گروه بیولوژی- دانشجو.

۷- دانشگاه پیام نور- گروه بیولوژی- استادیار.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۸/۲۴، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۷

چکیده

مقدمه: باتوجه به اهمیت درمان‌های تکمیلی، در این پژوهش هدف بررسی اثربخشی ۴ هفته تمرین هوازی شنا بر روی علائم بالینی و سایتوکاین‌های TNF- α (Tumor necrosis factor alpha) و IL-10 (Interleukin 10) در سطوح سرمی موش‌های مبتلابه مالتیپل اسکلروزیس از طریق القای انسفالومیلیت خود ایمن تجربی (Experimental autoimmune encephalomyelitis یا EAE) است.

مواد و روش‌ها: ۸۰ سر موش سوری ماده با نژاد C57BL/6 با سن ۱۲-۱۰ هفته و وزن 20 ± 2 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. از روز نهم بیماری، موش‌ها به مدت چهار هفته مقدار ۱۵۰ IU/g اینترفرون بتا-۱ دریافت و یا چهار هفته ورزش شنا روزانه نیم ساعت مواجهه داده شدند. وزن و علائم بالینی به صورت روزانه با ثبت امتیازات بین گروه‌ها ارزیابی می‌شد. در پایان پروتکل نمونه‌های خونی از قلب استخراج و شاخص‌ها به روش الایزا سنجیده شدند.

نتایج: براساس نمودار امتیازات علائم بالینی، بین گروه‌های MS شنا و MS/اینترفرون و MS شنا اینترفرون با گروه MS اختلاف با سطح معنی‌داری ۰/۰۰۱ مشاهده شد، شدت آسیب در گروه‌های MS نسبت به فعال به صورت میانگین روی امتیاز ۲ تا ۳ قرار گرفت و حاکی از تخفیف پیشرفت ضایعات دمیالینه حاصل از اثر ورزش در آب بوده است.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها پیشنهاد می‌دهند احتمالاً شنا نسبت به داروی اینترفرون بتا-۱، عاملی مؤثرتر در تغییر سطح سایتوکاین‌های سرمی و بهبود علائم بالینی موش‌های مدل EAE می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تمرین منظم ورزشی در کنار درمان‌های پزشکی می‌تواند برای کاهش اختلالات MS مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: فعالیت هوازی، مالتیپل اسکلروزیس، TNF- α ، IL-10

*نویسنده مسئول: تهران، تهران نو، میدان اطلاعات، خیابان شواخ، پلاک ۱۰۰، تلفن: ۰۹۱۲۴۲۷۷۹۵۱، نمابر: ۰۲۱۸۸۵۳۶۷۰۵

Email: Maryam.vatandost@gmail.com

ارجاع: وطن‌دوست مریم، معتمدی پژمان، رجبی حمید، غدیری عطاالله، نصیرزاده عبدالمهدی، وطن‌دوست فاطمه، یزدان‌پناه عنایت‌الله. اثر چهار هفته فعالیت هوازی در آب بر علائم بالینی و سایتوکاین‌های TNF- α و IL-10 در مدل حیوانی مالتیپل اسکلروزیس. مجله دانش و تندرستی ۱۳۹۶؛ ۱۲(۴): ۴۷-۵۸.

مقدمه

شواهد علمی نشان می‌دهند که مالتیپل اسکلروزیس (MS) در نتیجه فعالیت سیستم ایمنی توسط عوامل مختلف در افراد حساس از نظر ژنتیکی ایجاد می‌شود که یک آبشار پاتوژنیکی را آغاز می‌کند و نهایتاً به تخریب پیشرونده غلاف میلین و آسیب آکسون منجر می‌شود (۱). مطالعات روی بیماران MS نشان می‌دهد که دمیلینه شدن مشاهده شده در CNS در نتیجه‌ی 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 سایتوکاین‌ها و کیمو-کاین‌ها، اشاره‌ای به عوامل التهابی نمی‌کنند، در صورتی که برای پیشرفت بهتر درمان MS، فهم التهاب ذاتی 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 (TNF- α) یک سایتوکاین تنظیم کننده 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 مورد بیماری‌زایی MS نمی‌توان نقش TNF- α را نادیده گرفت. از طرف دیگر اینترلوکین ۱۰ (IL-10) سایتوکاینی ضدالتهابی و تنظیم کننده‌ی 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 پیش التهابی شاخص نکروز تومور-آلفا، اینترلوکین-۱ و اینترلوکین-۶ و اینترلوکین-۸ را سرکوب می‌کند. مطالعات متعددی تغییرات اجزای مختلف سیستم ایمنی و برخی سایتوکاین‌ها را در ورزش، به میزان بالایی به نوع، شدت، حجم ورزش و دوره‌ی تمرینی وابسته می‌دانند (۴). اثرات ضدالتهابی تمرین ورزشی در بیماری‌های مزمن توسط کاهش سایتوکاین‌های پیش التهابی IFN- γ , TNF- α , IL-8, IL-6 (۵) و افزایش در غلظت IL-10 ضدالتهابی میانجی‌گری می‌شود (۶). نقش حیاتی سایتوکاین‌های پیش التهابی در پاتوژنز MS آنها را به یک هدف اساسی جهت رویکرد درمانی تبدیل کرده است. از آنجایی که مطالعات انجام شده روی فعالیت ورزشی و ایمنولوژی، ورزش منظم را به عنوان یک درمان ضدالتهابی برای بیماران با اختلال التهابی مزمن برجسته کرده اند، احتمالاً تمرین ورزشی نقش بالقوه‌ای در درمان اختلالات التهاب عصبی دارد و با افزایش تعدادی از سایتوکاین‌های ضدالتهابی، منجر به تنظیم پاسخ‌های ایمنی می‌گردد (۷-۹). درخصوص نقش ورزش بر کاهش التهاب بیماران MS می‌توان به تحقیق وایت و همکاران (۲۰۰۶) که درخصوص پاسخ سایتوکاین‌ها به یک برنامه تمرینی متناوب قدرتی

۸ هفته‌ای بر روی بیماران مبتلابه MS انجام شد اشاره کرد. 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 هفته‌ای با دوچرخه کارسنج را بر سایتوکاین‌های بیماران مبتلابه 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 ملاحظه‌ای می‌تواند التهاب را تحت تأثیر قرار دهد.

از سویی از آنجایی که روش‌های درمانی به کار گرفته شده در مالتیپل اسکلروزیس اثربخش نبوده (داروهای تنظیم کننده ایمنی مانند بتا اینترفرون) و تنها در کاهش میزان عود و تا حدود کمتری جلوگیری از پیشرفت بیماری مؤثر هستند (۱۲ و ۱۳) 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).

در مجموع، این مطالعات بیانگر این موضوع هستند که بیماری مالتیپل اسکلروزیس و ورزش، می‌تواند منجر به تغییر سطوح شاخص‌های IL-10 و TNF- α شوند. از این رو در مطالعه حاضر اثر فعالیت هوازی در آب بر روی میزان این دو عامل التهابی در سرم موش‌های مبتلابه EAE مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به مصرف اینترفرون بتا-۱ برای کاهش علائم بیماری در افراد مبتلابه MS، این دارو به منظور مقایسه با تأثیر شنا در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفته است. در مطالعه‌ای که به تازگی انجام شد تیمار اینترفرون بتا-۱ منجر به کاهش شدت علائم بالینی در موش‌های مبتلابه EAE گردید، از این رو با توجه به عدم وجود شواهد متقن مولکولی مبنی بر تأثیر اینترفرون بتا-۱ بر روی سایتوکاین‌های IL-10 و TNF- α ، این ماده می‌تواند خود نیز به عنوان یک مداخله‌گر مجزا مورد مطالعه قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه تجربی، ۸۰ سر موش سوری ماده نژاد C57BL/6 با سن ۱۲-۱۰ هفته و وزن 20 ± 2 گرم، از "انستیتو پاستور" ایران خریداری گردید. موش‌ها در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای 23 ± 1 درجه سانتی‌گراد نگهداری و آب و غذای کافی در اختیار آنها قرار گرفت. کلیه روش‌های موجود در این مقاله به تأیید کمیته پژوهشی دانشگاه خوارزمی رسید. اصول اخلاقی رفتار با حیوانات منطبق با کنوانسیون‌های بین‌المللی زیر نظر دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز رعایت گردید. بعد از ۲ هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط جدید، به طور تصادفی در ۸ گروه ۱۰ تایی قرار گرفتند که در ۶ گروه موش‌های مدل EAE (سالم کنترل، سالم شنا، MS کنترل، MS شنا، MS اینترفرون، و MS شنا، MS شاهد تزریق، MS شاهد شنا و تزریق) و ۲۰ سر موش دیگر در ۲ گروه

(1 ± 31 سانتی‌گراد)، ۳۰ دقیقه در روز و ۵ روز در هفته به مدت چهار هفته انجام گرفت. موش‌ها در هفته‌ی اول از روزهای اول تا چهارم جهت آشنایی با آب و تمرین‌پذیری و روز پنجم تحت یک آزمایش بار فزاینده 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 دقیقه‌ای) غوطه‌وری تا مرز خستگی کامل ادامه پیدا کرد. در نهایت و با افزایش فزاینده‌ی 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 جلسه‌ی تمرین در آب، با ۶۰ درصد از حداکثر بار بیشینه‌ی به‌دست 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. باتوجه 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 به‌منظور 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).

جهت بررسی علائم حرکتی نمونه‌ها از پروتکل زمان رسیدن به درماندگی (Time to Exhaust (TTE)) استفاده شد. بدین ترتیب که هر موش به‌صورت انفرادی در محفظه‌ی 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 براساس عدم توانایی بازگشت به سطح آب تا ۲ ثانیه و یا عدم توانایی در حفظ موقعیت سر بالاتر از سطح آب بود. همه‌ی نمونه‌ها در مرحله ابتدایی پیش از القا و انتهایی پیش از تشریح با قرار گرفتن در محفظه برای سنجش زمان رسیدن به درماندگی مورد آزمون قرار گرفتند.

با این حال، باتوجه 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 (۱۲).

از آنجا که اثر اینترفرون بتا-۱ برای کاهش علائم بیماری در افراد مبتلا به مالتیبل اسکلروزیس ثابت شده است، این دارو به‌منظور مقایسه با تأثیر شنا در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت لذا دو گروه از حیوانات میزان 150 IU/g اینترفرون بتا-۱ (سیناژن) به‌صورت 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).

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 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).

القای EAE بر روی موش‌ها در "مؤسسه اختلالات شناختی و رفتاری سالاری" انجام شد. این بیماری براساس روش کار زیر در حیوانات القاء شد (۱۵): حیوان ابتدا به‌وسیله تزریق صفاقی کمابین 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 تشدیدکننده‌ی پاسخ‌های التهابی می‌باشد در حجم ۱۰۰ میکرولیتر ادجوانت کامل (Complete freund's adjuvant) مخلوط کرده و به‌صورت 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 به جهت نفوذ عامل‌های التهابی به CNS افزایش می‌دهد به‌صورت داخل صفاقی تزریق گردید. شروع علائم بیماری و شدت بیماری براساس 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 یک‌طرفه 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).

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 محفظه‌ی شنا با دمای کنترل شده

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

موش‌های مصرف‌کننده دارو به صورت اینترفرون بتا (Cinovex-a، سیناژن) از هفته اول پس از شروع درمان‌ها، روزانه به میزان ۱۵۰ IU/g از این دارو مصرف نمودند (۱۶). دلیل استفاده از این دارو آن است که بیش از ۱۵ سال است که داروی تنظیم‌کننده ایمنی اینترفرون بتا، خط اول درمان ام‌اس است و در حال حاضر جهت درمان این بیماران به تأیید رسیده است (۱۷). 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 مدنظر بود.

تمامی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. ابتدا نحوه‌ی توزیع اطلاعات جمع‌آوری شده و همگنی واریانس‌ها به ترتیب با آزمون‌های Shapiro-Wilk و Levene's ارزیابی شد. جهت مقایسه‌ی میانگین داده‌ها بین گروه‌های موردنظر، از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (one way ANOVA) استفاده شد. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری برای تمام تحلیل‌های آماری در نظر گرفته شد.

نتایج

تأثیر چهار هفته شنا هوازی بر میزان TNF- α در سطوح سرمی موش‌های مبتلابه انسفالومیلیت خودایمن تجربی: همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌کنید، تجزیه و تحلیل واریانس نشان داده است که گروه‌های مختلف بر پاسخ TNF- α سرم به دوره‌های تمرین هوازی اثرگذار نشان دادند. میانگین مقادیر استراحتی TNF- α در موش‌های سالم برابر با ۱۳۷/۴۳ pg/ml و در آزمودنی‌های گروه MS برابر با ۳۲۹/۸۶ pg/ml می‌باشد. این اعداد حاکی از آن است که میانگین مقادیر TNF- α در گروه MS کنترل نسبت به گروه سالم کنترل با افزایش تقریباً ۳ برابری همراه بوده است. همچنین 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 ($P = 0.001$) با تغییرات ۵۰ درصدی به نفع کنترل غلظت این عامل التهابی نسبت به درمان دارویی و شنا است. دلایل بالاتر بودن غلظت TNF- α سرم در گروه MS کنترل نسبت به گروه کنترل سالم را باید در بروز بیماری آنها جستجو کرد. زیرا TNF- α نشانگر تخصصی التهاب است.

پس از چهار هفته از القاء بیماری و پایان تیمارها، حیوانات توسط ترکیب کتامین هیدروکلراید (۷۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) به صورت برگشت‌ناپذیر بیهوشی عمیق شدند. سپس حیوانات کشته شده و خون استخراج شده اغلب در نیتروژن مایع منجمد و تحت شرایط ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری میزان شاخص‌های مورد سنجش نگهداری شدند.

شاخص TNF- α و IL-10 با استفاده از کیت‌های مخصوص هر یک و براساس دستورالعمل شرکت تولیدکننده آن و با روش الایزا (ELISA) اندازه‌گیری شدند. به‌طور 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 موردنظر، به‌منظور ایجاد تحریک در سیستم ایمنی تحت تزریق دوز ثابت LPS sigma-Aldrich, saint قرار گرفتند و سپس طی مراحل ذکر شد فرآیند خون‌گیری و جداسازی سرم به‌منظور سنجش سایتوکاین‌های TNF- α و IL-10 برای نمونه‌ها صورت گرفت. در پایان پس از دفریز کردن نمونه‌ها، از کیت‌های الایزای اختصاصی هر کدام از سایتوکاین‌ها که از شرکت بولجند آمریکا (BIOLEGEND USA) تهیه شده بود استفاده شد.

قبل از القای EAE و هفت روز پس از آن، تا پایان مطالعه حیوانات روزانه جهت بررسی ناتوانی حرکتی (۱۵) به‌صورت 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 به‌علت عدم توانایی در انقباض و انبساط عضلات آگونیست و آنتاگونیست روی سطح زمین به‌دنبال 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 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 به‌طور متوسط روی امتیاز یک قرار داشت. این در حالیست که براساس 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 دمیالینه حاصل از اثر ورزش در آب بوده است. از سویی دیگر بروز علائم بالینی از روز نهم القاء (Day post injection) ۹ dpi) 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 ۴ در نمودار مربوط به شدت بیماری علامت (*) نشان‌دهنده مقایسه گروه MS کنترل با سالم کنترل می‌باشد که میانگین بین آنها اختلاف با سطح معنی‌داری ($P=0/001$) را گزارش می‌کند و علامت (+) نشان‌دهنده معنی‌داری گروه‌های MS شنا و MS اینترفرون و MS شنا اینترفرون با گروه MS می‌باشد که بر این اساس اختلاف معنادار وجود دارد ($P=0/001$).

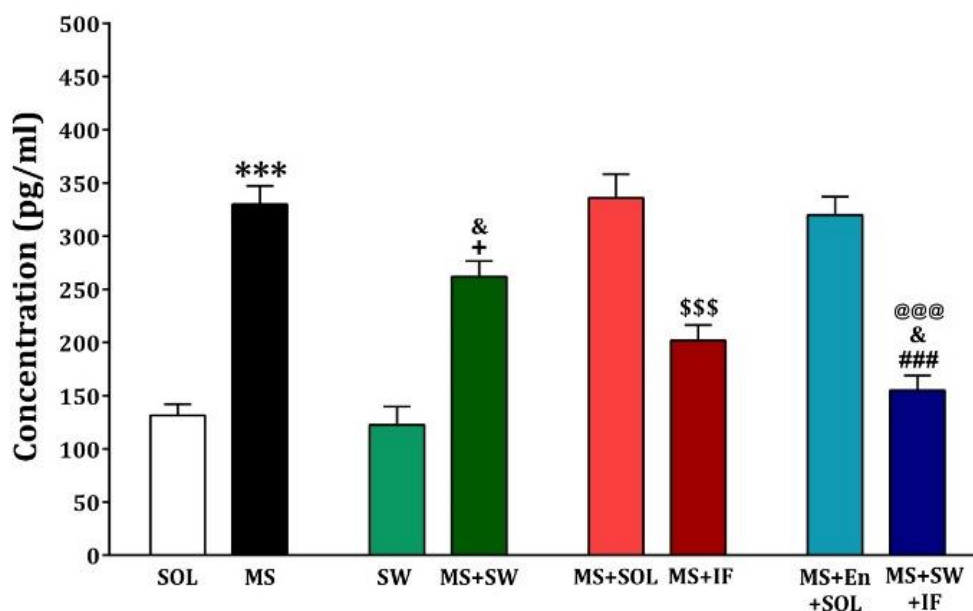
در مجموع اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های MS شنا با MS اینترفرون و یا MS شنا اینترفرون دیده نشد.

همین‌طور شاهد شنا و تزریق بدون اختلاف در نسبت برابر ارزیابی شدند و به‌ترتیب 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.

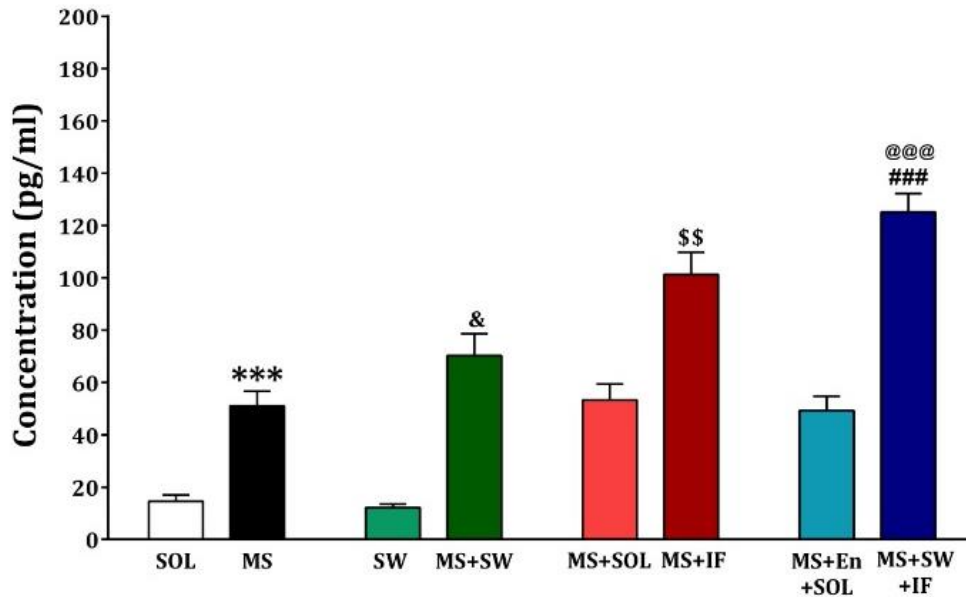
پژوهش‌های بالینی در زمینه‌ی تأثیر فعالیت ورزشی بر تغییرات علائم بالینی و تنظیم سایتوکاینی در افراد مبتلا به MS محدود است و به‌ویژه به دلیل اعمال متنوع و متعدد سایتوکاین‌ها، اغلب به سختی می‌توان اهمیت بیولوژیکی تغییرات مربوطه پاسخ به فعالیت ورزشی را تفسیر و توجیه می‌گردد. از طرفی در محدود پژوهش‌های انجام گرفته، تأثیر تمرینات در آب به ندرت مورد بررسی قرار گرفته است. بنابراین تأثیر 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 که میزان استقامت در مرحله پیش از القا در تمامی گروه‌ها بالای ۸ ساعت و در موش‌های MS 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 به‌ترتیب از بیشترین به کمترین زمان رسیدن به درماندگی را تجربه کردند. همچنین عدم تعادل ناشی از بیماری علی‌الخصوص در ناحیه دست‌ها و پشت که حیوان با کمک آنها حفظ موقعیت



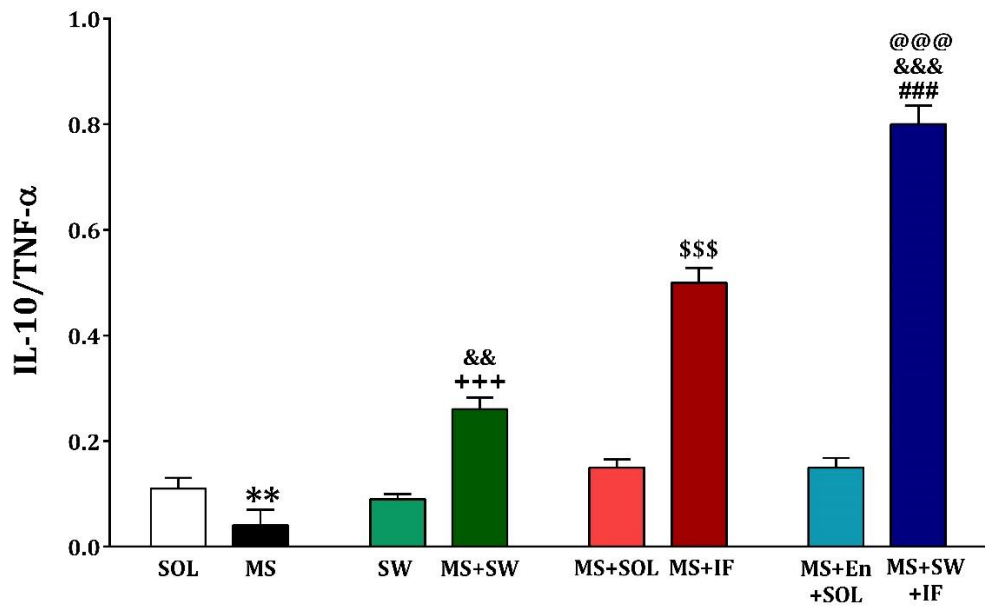
نمودار ۱- مقایسه میانگین گروه سالم کنترل با میانگین گروه MS کنترل

* اختلاف معنادار نسبت به گروه سالم کنترل، & اختلاف معنادار نسبت به گروه MS اینترفرون، \$ اختلاف معنادار نسبت به گروه MS شنا، # اختلاف معنادار نسبت به گروه MS شاهد شنا و تزریق، @ اختلاف معنادار نسبت به گروه MS شنا



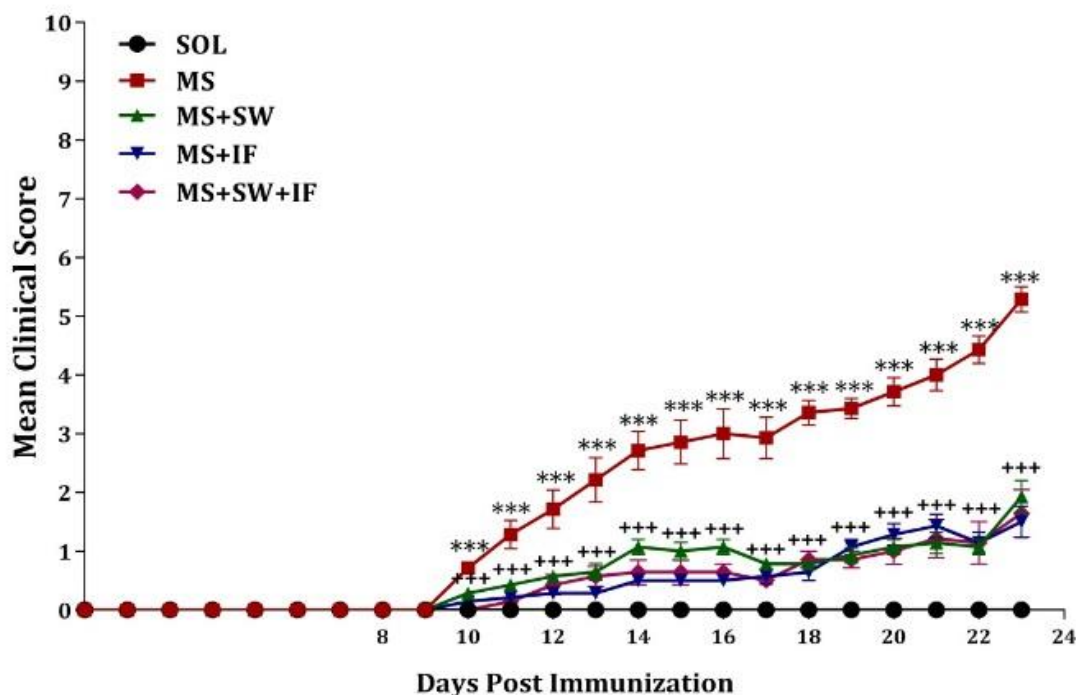
نمودار ۲- میزان غلظت IL-10 در گروه‌های مختلف

* اختلاف معنادار نسبت به گروه سالم کنترل، & اختلاف معنادار نسبت به گروه MS اینترفرون، \$ اختلاف معنادار نسبت به گروه MS شاهد تزریق، # اختلاف معنادار نسبت به گروه MS شاهد شنا و تزریق، @ اختلاف معنادار نسبت به گروه MS شنا



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

* اختلاف معنادار نسبت به گروه سالم کنترل، & اختلاف معنادار نسبت به گروه MS اینترفرون، \$ اختلاف معنادار نسبت به گروه MS شاهد تزریق، # اختلاف معنادار نسبت به گروه MS شاهد شنا و تزریق، @ اختلاف معنادار نسبت به گروه MS شنا



نمودار ۴- نمرات شدت آسیب در گروه‌های مختلف

بحث

در این مطالعه تجربی ما نشان داده‌ایم که EAE منجر به افزایش میزان TNF- α نسبت به موش‌های سالم شده است. با این حال شنا در گروه MS تا ۲۰ درصد کاهش مقادیر TNF- α 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 مؤثر در این کاهش، افزایش سایتوکاین‌های ضدالتهابی همچون IL-6، IL-10 است که در پژوهش حاضر با توجه به تغییرات IL-10 تأیید می‌شود. این سایتوکاین‌ها مانع تولید سایتوکاین‌های التهابی مانند TNF- α می‌شوند. از دلایل افزایش TNF- α در گروه‌های MS فعال‌سازی گیرنده β -آدرنرژیک است که ترشح سایتوکاین‌های التهابی را افزایش می‌دهد. سازوکار دیگری که به‌وسیله‌ی ورزش ممکن است میانجی‌های التهابی را کاهش دهد، تغییر در میزان استرس است که این کاهش با نتایج یافته‌های پژوهشگرانی که ورزش را موجب کاهش افسردگی و اضطراب بالینی می‌دانند همسو است (۱۵ و 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- α کاهش می‌یابد. کاهش TNF- α و دیگر سایتوکاین‌های التهابی نشان از سازگاری بدن به تمرینات ورزشی در

جهت ایجاد محیط ضدالتهابی است. بنابراین در مجموع علت کاهش در

سطوح TNF- α با تمرینات ورزشی را می‌توان چنین بیان کرد:

الف) تولید CRP کبدی به‌وسیله‌ی IL-6، TNF- α و IL-1 تحریک می‌شود. پژوهش‌های بسیار زیادی نشان داده‌اند فعالیت جسمانی موجب کاهش سطوح IL-6، TNF- α و IL-1 می‌شود و به‌دنبال آن تولید CRP نیز کاهش می‌یابد (۲۳). ب) تمرین بلند مدت تولید سلول‌های تک هسته‌ای سایتوکاین‌های آتروژن (IL-1 α ، TNF- α و INF- γ) را تضعیف می‌کند ج) تمرین بلند مدت تولید سایتوکاین‌های ضدالتهابی مانند IL-4، IL-10، IL-8 و آنتاگونیست گیرنده IL-1 را تحریک می‌کند (۲۴).

افزایش گلوکوکورتیکوئیدها واسطه‌ی اثرات سرکوب‌گر فعالیت ورزشی بر TNF- α می‌باشد و در اصل افزایش کورتیزول طی فعالیت‌های ورزشی طولانی مدت رخ می‌دهد که منجر به کاهش TNF- α می‌شود (۲۵). بیشتر پژوهش‌ها در آزمودنی‌های سالم روی ماکروفاژها و منوسیت‌ها نشان می‌دهد، کاتکولامین‌هایی مانند اپی نفرین، تولید سلولی TNF- α را مهار می‌کند (۲۶). TNF- α 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- α (P55, P75) باشد (۲۷). در این راستا و همسو

در این پژوهش باتوجه 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 آزادسازی TNF- α اعمال شده است. در واقع می‌توان نتیجه گرفت که کاهش IL-10 همراه با کاهش عوامل زنده پیش التهابی به دنبال دوره‌ای از تمرینات ورزشی در این نمونه‌ها رخ می‌دهد، متفاوت از کاهش 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 مبتلابه 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). همچنین 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 پیشرونده ممکن است بر غلظت سایتوکاین‌ها در افراد MS تأثیر بگذارد، که به وضعیت کلی بیمار هم بستگی دارد. همچنین باتوجه 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 مؤید آن است که سطح سایتوکاین‌های TNF- α 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 ادامه‌دار گزارش شده است (۳۵ و 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 همچون TNF- α 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 و ۳۸) تنظیم مثبت TNF- α (Upregulate) حاصل تولید سایر سایتوکاین‌های پیش‌التهابی توسط سلول‌های ایمنی و غیرایمنی چسبندگی لکوسیت‌ها را افزایش می‌دهد و مهاجرت سلولی را به داخل فضای بافت تقویت می‌کند (۳۹ و 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 و ۴۲). تولید بیش از حد سایتوکاین ممکن است عوارض جدی مانند التهاب سیستمیک و شوک سیتیک داشته باشد (۴۳). اما معمولاً، افزایش سریع TNF- α با تدابیر اولیه و پایدار از شاخص ضدالتهابی IL-10 تعدیل می‌شود (۴۴).

با نتایج این پژوهش کاستلانو و همکاران گزارش کردند احتمالاً فعالیت ورزشی منظم منجر به فعالیت التهابی خوب گیرنده TNF- α P57 می‌شود که از این طریق رشد و تکثیر سلول‌های عصبی را القاء می‌کند (۲۸). گزارش شده است عملکرد محافظت‌کننده‌ی نرونی گیرنده‌ی TNF- α 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 همکاران پیشنهاد کردند تمرین هوازی احتمالاً مقادیر سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در خون را افزایش می‌دهد، اگرچه پیامد این افزایش، ناشناخته باقی مانده است. باتوجه به این‌که در پژوهش حاضر از تمرین هوازی استفاده شده است، به نظر می‌رسد کاهش مشاهده شده مقادیر غلظت TNF- α در گروه‌های تحت درمان با ورزش را بتوان با مطالعه کاستلانو و همکاران هم راستا دانست. کاستلانو کاهش ۱۰ درصدی و غیرمعنادار TNF- α را نشان داد و علت آن را تعداد کم آزمودنی (۶ نفر) بیان کرد، در پژوهش حاضر تعداد گروه‌ها ۱۰ تایی و به جهت استفاده از نمونه‌های حیوانی مراحل اجرای پژوهش با کنترل بیشتری همراه بود، بنابراین تفاوت غلظت TNF- α بین گروه‌ها با اختلاف معنادار گزارش شد.

پدرسن و همکاران در سال‌های ۲۰۰۷ و ۲۰۱۰ در بررسی‌های گزارش کردند که سطح TNF- α و IL-6 افزایش معنی‌داری را در اثر تمرین ورزشی تجربه می‌کند. ربه‌مانه و همکاران در سال ۲۰۱۳ نیز به یافته‌های تقریباً مشابهی دست یافتند به طوری که در بررسی‌های این محققین IL-10 با افزایش معنی‌داری همراه بود، اما TNF- α تغییر چندانی نیافت. در خصوص علت‌یابی نتایج مطالعات مختلف، می‌توان به عوامل متعددی از جمله سطح آمادگی جسمانی، جنس، نوع و شدت تمرین، تفاوت‌های ژنتیکی، پیشینه تغذیه‌ای و سن آزمودنی‌ها اشاره داشت. بررسی‌ها نشان می‌دهد افراد ورزشکار و فعال که به‌طور مستمر در فعالیت‌های ورزشی شرکت دارند از سطح پایین‌تر یا تقریباً مشابهی از سایتوکاین‌های TNF- α و IL-6 در مقایسه با افراد کم تجربه برخوردار هستند (۳۰). از طرفی دیگر جنسیت نیز می‌تواند عامل مؤثری در این فرآیند باشد، محققان بر این عقیده‌اند که زنان از سطح در مقایسه با مردان TNF- α 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 شاخص‌های التهابی کمتری همچون 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.

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، تأثیر تمرینات در آب به ندرت مورد بررسی قرار گرفته است. بنابراین تأثیر 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) با مشاهده‌ی اختلاف زمانی بالا با تحقیقی که پژوهشگری بر روی موش‌های جوان و پیر MS با اجرای این پروتکل حرکتی انجام دادند همسو بود و حملات تکرارشونده مخرب و بازسازی کننده در سراسر طول عمر موش‌های MS را که منجر به خستگی عضلانی و مخاطرات شدید در جمعیت سلول‌های ماهواره‌ای و در نهایت عدم توانایی در بازسازی آتروفی حاصل از بیماری در عضلات می‌شود می‌دانستند (۶۳).

نتایج حاصل از افزایش امتیازات مینی بر شدت آسیب در گروه‌های میتلا و کنترل ضایعات در گروه‌های تحت فعالیت با نتایج مطالعه‌ای که البته پیش از لقاء، تمرین شنا داده شده بود همسو است و با برش مقطع عرضی از نخاع به دنبال منشاء اثر این مکانیسم بوده است (۶۴). تجزیه بافت عصبی نخاع به‌طور قابل توجهی کاهش حجم تخریب میلین موش‌های تمرینی شنا را در مقایسه با گروه بی‌تحرك عنوان کرد. پیشنهاد شده است که محافظت در برابر تخریب میلین ممکن است از طریق افزایش تکثیر سلول‌های پیش‌ساز الیگودندروسیت (OPCs: Oligodendrocyte precursor cells) و بالغ شدن در الیگودندروسیت‌ها رخ می‌دهد (۶۵).

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 (۶۶). 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 به‌خصوص 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

این سایتوکین تولید میانجی‌های تنظیمی و همچون TNF- α را سرکوب می‌کند، جذب لکوسیت را به محل التهاب مهار می‌کند و بیان HLA-DR را توسط مونوسیت / ماکروفاژها کاهش می‌دهد (۴۵ و ۴۶).

تا همین اواخر، اسناد موجود در مورد تغییرات و تنظیم توازن ترشحی TNF-a / IL-10 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 TNF-a / IL-10 بالاتر گزارش شده مشهود است و این با برخی از پژوهش‌ها در این زمینه که البته طرح نسبت TNF-a / IL-10 مطرح کرده بودند همسو است (۵۲-۵۰). یکی از مکانیزم‌های پیشنهادی مطالعاتی آنها پیشنهاد می‌کند که TNF-a قادر است تنظیم اولیه‌ی رونویسی IL-10 که از طریق تحریک فعال‌سازی 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-a و یا IL-1 درون‌زا (Endogenous) (۵۵-۵۳). 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 به‌کارگیری 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 دیگری مؤثر است، که آسیب عضلانی و نیز تأمین انرژی سلول‌های عضلانی از جمله‌ی آن محسوب می‌شود.

برخی از مطالعات نشان می‌دهد در حین فعالیت‌های شدید ورزشی آزاد شدن شاخص‌های التهابی از عضلات، منجر به آزاد شدن گلوکز از سلول‌های 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 زمینه‌ی تأثیر فعالیت ورزشی بر تغییرات علائم بالینی و تنظیم سایتوکاینی در افراد مبتلا به MS محدود است و به‌ویژه

7. Motl RW, Pilutti LA. The benefits of exercise training in multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol* 2012;8:487-97. doi: 10.1038/nrneuro.2012.136
8. Coelho FG, Gobbi S, Andreatto CA, Corazza DI, Pedrosa RV, Santos-Galduróz RF. Physical exercise modulates peripheral levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF): a systematic review of experimental studies in the elderly. *Arch Gerontol Geriatr* 2013;56:10-5. doi: 10.1016/j.archger.2012.06.003
9. 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;66:351-5. doi: 10.1080/0036510600727686
10. Castellano V, Patel D, White LJ. Cytokine responses to acute and chronic exercise in multiple sclerosis. *J Appl Physiol* 2008;104:1697-702. doi: 10.1152/jappphysiol.00954.2007
11. 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 Neurology* 2011;11:1-7.
12. Hayes HA, Gappmaier E, LaStayo PC. Effects of high-intensity resistance training on strength, mobility, balance, and fatigue in individuals with multiple sclerosis: a randomized controlled trial. *J Neurol Phys Ther* 2011;35:2-10. doi: 10.1097/NPT.0b013e31820b5a9d
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;4:1-61.
14. White LJ, Castellano V. Exercise and brain health –implications for multiple sclerosis part 1 – neuronal growth factors. *Sports Med* 2008;38:91-100.
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;134:128-32.
16. Martin R, Mcfarland HF, Mcfarlin DE. Immunological aspect of demyelination disease. *Ann Rev Immunol* 1992;10:153-87. doi: 10.1146/annurev.iy.10.040192.001101
17. Mary L, Patricia L, Jessie H, Lorene S, Jeanna V, Daryl K, et al. Impact of Resistance Training on Balance and Gait in Multiple Sclerosis. *International Journal of MS Care* 2010;12:6-12. doi: 10.7224/1537-2073-12.1.6
18. McCullagh R, Fitzgerald A, Murphy RP, Cooke G. Long-term benefits of exercising on quality of life and fatigue in multiple sclerosis patients with mild disability : a pilot study. *Clin Rehabil* 2008;22:206-14. doi: 10.1177/0269215507082283
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;8:161-8. doi: 10.1191/1352458502ms779oa
20. Motl R, Dlugoski D, Woźnicki T, McAuley E, Mohr D. Internet intervention for increasing physical activity in persons with multiple sclerosis. *Mult Scler J* 2011;17:116-28. doi: 10.1177/1352458510383148
21. Ogawa K, Sanada K, Machida S, Okutsu M, Suzuki K. Resistance exercise training-induced muscle hypertrophy was associated with reduction of inflammatory markers in elderly women. *Mediators Inflamm* 2010;2010:7. doi: 10.1155/2010/171023
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;39:432-41. doi: 10.1002/ana.410390405
23. Ring-Dimitriou S. Nine months aerobic fitness induced changes on blood lipids and lipoproteins in untrained subjects versus controls. *Eur J Appl Physiol* 2007;99:291-9. doi: 10.1007/s00421-006-0347-x

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 اینکه آنقدر 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.

باتوجه به مطالب و نتایج ارائه شده می‌توان بیان کرد فعالیت بدنی منظم با وجود بیماری MS (عامل اصلی تغییرات غلظت IL-10) موجب افزایش سطوح IL-10 می‌شود. افزایش IL-10 در واقع از اثرات مفید فعالیت بدنی می‌باشد. از آنجا که ارتباط قوی بین IL-10 و MS گزارش شده است می‌توان گفت فعالیت بدنی آسان‌ترین و کم هزینه‌ترین روش درمان و پیشگیری بیماری‌های التهابی است.

به نظر می‌رسد فعالیت بدنی از طریق مکانیسم‌های فیزیولوژیکی منجر به منافع کاربردی و کاهش علائم در MS، بدون تشدید آسیب‌های التهابی است. فعالیت بدنی منظم شنا دارای تأثیرات مفیدی است و می‌تواند باعث کاهش التهاب سیستمی شود. به طوری که انجام پیوسته تمرینات توسط افراد مبتلا به MS موجب کاهش سطح برخی سایتوکاین‌های التهابی می‌شود. بنابراین پیشنهاد می‌شود که بیماران مبتلا به MS با مشورت پزشک خود از این تمرینات به‌عنوان یک عامل کمک درمانی در کنار درمان دارویی استفاده کنند.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دکتری با کد ۱۳۵۹۹۷۱ می‌باشد که در دانشگاه خوارزمی به ثبت رسیده است. نویسندگان همچنین از "مؤسسه اختلافات شناختی و رفتاری سالاری" به‌خاطر همکاری صمیمانه برای ارائه حیوانات و مدل EAE تشکر می‌کنند.

References

1. Sospedra M, Martin R. Immunology of multiple sclerosis. *Annu Rev Immunol* 2005;23:683-747. doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115707
2. Jana MG, Sofia MK. Prevention of learning disability in the preschool years. *Procedia-Social and Behavioral Sciences* 2014;146:163-8. doi: 10.1016/j.sbspro.2014.08.105
4. Fehrenbach E, Niess AM, Voelker K, Northoff H, Mooren FC. Exercise intensity and duration affect blood soluble HSP72. *Int J Sports Med* 2004;26:552-7. doi: 10.1055/s-2004-830334
5. Romberg 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: a randomized study. *Neurology* 2004;63:48-203.
6. Bradly, Daroff, Fenichel, Jankovic. *Neurology in clinical practice*. 4th ed. Philadelphia: Elsevier, 2004.

24. Romberg A, Virtanen A, Ruutinen J, Aunola S, Karppi SL, Vaara M, et al. Effect of a 6-month exercise program on patient with multiple sclerosis : a randomized study. *Neurology* 2004;63:2034-8.
25. 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.
26. Svensson B, Grdle B, Elert J. Endurance training in patients with multiple sclerosis: Five case studies. *Phys Ther* 1994;74:1017-26.
27. Tartibian B, Ghodrati Gharabag Z, Gaeni 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 (ZJRMS)* 2011;13:20-30.
28. Adamopoulos S, Parisis 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. doi: 10.1053/euhj.2000.2285
29. Arastoo AA, Ahmadi A, Zahednejad Sh. The comparison of effect of 8 weeks aerobic and yoga training on physiological cost index in multiple sclerosis patients. *Sci Med J*;2011;10:153-62.[Persian].
30. Ashton F. The multiple factors of multiple sclerosis. *Journal of Nutritional & Environmental Medicine* 2004;14:1-11.
31. Bjarnadottir OH, Konradsdottir AD, Reynisdottir K, Olafsson E. Multiple sclerosis and brief moderate exercise. *Mult Scler* 2007;13:776-82. doi: 10.1177/1352458506073780
32. Brown T, Kraft G. Exercise and rehabilitation for individuals with multiple sclerosis. *Phys Med Rehabil Clin N Am* 2005;16:513-55. doi: 10.1016/j.pmr.2005.01.005
33. Fischer D, Epstein J, Klasser G. Multiple sclerosis. *Medical Management And Pharmacology Update* 2009;108:318-27. doi: 10.1016/j.tripleo.2009.05.047
34. Golzari Z, Shabkhez 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;10:1415-9. doi: 10.1016/j.intimp.2010.08.008
35. 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;29:369-75. doi: 10.1002/mus.10554
36. Page C, Ferry A, Rieu M. Effect of muscular exercise on chronic relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Appl Physiol* 1994;77:2341-7. doi: 10.1152/jappl.1994.77.5.2341
37. 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;73:130-5.
38. Sharief MK. Cytokines in multiple sclerosis: pro-inflammation or prormyelination? *Mult Scler* 1998;4:169-73. doi: 10.1177/135245859800400315
39. 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;35:426-32. doi: 10.1016/j.nbd.2009.06.002
40. Zivadinov R, Bakshi R. Central nervous system atrophy and clinical status in multiple sclerosis. *J Neuroimaging* 2004;14:27S-35S. doi: 10.1177/1051228404266266
41. Poser CM, Brinar VV. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: an historical review. *Clin Neurol Neurosurg* 2004;106:147-58. doi: 10.1016/j.clineuro.2004.02.004
42. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2000;343:938-52. doi: 10.1056/NEJM200009283431307
43. Morgado JM, Rama L, Silva I, de Jesus Inácio M, Henriques A, Laranjeira P, et al. Cytokine production by monocytes, neutrophils, and dendritic cells is hampered by long-term intensive training in elite swimmers. *European Journal of Applied Physiology* 2012;112:471-82. doi: 10.1007/s00421-011-1966-4
44. Roberts C K, 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 Appl Physiol* 2006;100:1657-65. doi: 10.1152/jappphysiol.01292.2005
45. White LJ, Castellano V, McCoy SC. Cytokine responses to resistance training in people with multiple sclerosis. *J Sports Sci* 2006;24:911-4. doi: 10.1080/02640410500357036
46. 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;19:613-21. doi: 10.1177/1352458512458605
47. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet* 2008;372:1502-17. doi: 10.1016/S0140-6736(08)61620-7
48. Gandhi R, Laroni A, Weiner HL. Role of the innate immune system in the pathogenesis of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2010;221:7-14. doi: 10.1016/j.jneuroim.2009.10.015
49. Thewissen K, Nuyts AH, Deckx N, Bart Van Wijmeersch, Guy Nagels, Marie D'hooghe, et al. Circulating dendritic cells of multiple sclerosis patients are proinflammatory and their frequency is correlated with MS-associated genetic risk factors. *Multiple Sclerosis Journal* 2014;20:548-57.
50. Walsh NP, Gleeson M, Shephard RJ, Gleeson M, Woods JA, Bishop NC, et al. Position statement. Part one. Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev* 2011;17:6-63.
51. Nickel T, Hanssen H, Emslander I, Drexel V, Hertel G, Schmidt-Trucksäss A, et al. Immunomodulatory effects of aerobic training in obesity. *Mediators of Inflammation* 2011;2011:1-10. doi: 10.1155/2011/308965
52. Pilutti LA, Platta ME, Motl RW, Latimer-Cheung AE. The safety of exercise training in multiple sclerosis: a systematic review. *J Neurol Sci* 2014;343:3-7. doi: 10.1016/j.jns.2014.05.016
53. Vassili P. The pathophysiology of tumor necrosis factor. *Annu Rev Immunol* 1992;10:411-52. doi: 10.1146/annurev.iy.10.040192.002211
54. Van der Pol T, Lowry SF. Epinephrine inhibits endotoxin-induced IL-1b production: roles of tumor necrosis factor- α and IL-10. *Am J Physiol* 1997;273:R1885-90.
55. Brouckaert P, Fiers W. Tumor necrosis factor and the systemic inflammatory response syndrome. *Curr Top Microbiol Immunol* 1996;216:167-87.
56. 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;64:4733-8.
57. Stordeur P, Goldman M. Interleukin-10 as a regulatory cytokine induced by cellular stress: molecular aspects. *Int Rev Immunol* 1998;16:501-22.
58. Oswald L, Wynn T, Sher A. Interleukine-10 inhibits microbicidal activity by blocking endogenous production of tumor necrosis factor α required as a costimulatory factor for interferon- γ -induced activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:8676-80.
59. 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 Leukoc Biol* 1998;63:101-7.
60. Foey AD, Parry SL, Williams LM, Feldmann M, Foxwell BMJ, Brennan FM. Regulation of monocyte IL-10 synthesis by endogenous IL-1 and TNF- α : role of the p38 and p42/44 mitogen-activated protein kinases. *J Immunol* 1998;160:920-8.

61. 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.
62. Wanidworanun C, Strober W. Predominant role of tumor necrosis factor-alpha in human monocyte IL-10 synthesis. *J Immunol* 1993;151:6853-61.
63. Armstrong L, Millar AB. Relative production of tumour necrosis factor alpha and interleukin-10 in adult respiratory distress syndrome. *Thorax* 1997;52:442-6.
64. Pang T, Stam NC, Nithianantharajah J, Howard ML, Hannan AJ. Differential effects of voluntary physical exercise on behavioral and brain-derived neurotrophic factor expression deficits in Huntington's disease transgenic mice. *Neuroscience* 2006;141:569-84. doi:10.1016/j.neuroscience.2006.04.013
65. 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. *J Neurochem* 2016;136:63-73. doi: 10.1111/jnc.13354
66. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2000;343:938-52. doi:10.1056/NEJM200009283431307



The Effect of Four-Week Aerobic Activity in Water on Clinical Signs and TNF- α and IL-10 Cytokines in Animal Model of Multiple Sclerosis (MS)

Maryam Vatandoust (Ph.D. Student)^{1*}, Pezhman Motamedi (Ph.D.)², Hamid Rajabi (Ph.D.)³, Ata Allah Ghadiri (Ph.D.)⁴, Abdolmahdi Nasirzade (Ph.D.)⁵, Fateme Vatandoust (M.Sc. Student)⁶, Enayatoallah Yazdanpanah (Ph.D.)⁷

1. Dept. of Sport Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.
2. Dept. of Sport Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.
3. Dept. of Sport Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.
4. Dept. of Immunology, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
5. Dept. of Sport Management, School of Physical Education and Sport Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran.
6. Dept. of Biology, School of Biosciences, Alzahra University, Tehran, Iran.
7. Dept. of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.

Received: 15 November 2017, Accepted: 17 January 2018

Abstract:

Introduction: According to importance of complimentary therapies, The aim of this study was to evaluate the effect of four-week aerobic physical activity in water on clinical signs and amount of Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α) and Interleukin 10 (IL-10) in serum levels of animal model of multiple sclerosis (MS) via inducing experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE).

Methods: 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, including: control, swimming, MS, MS+swimming, MS+interferon beta (INF- α), MS+interferon beta+swimming, MS+solvent, and MS+solvent+swimming environment. On post-immunization day 9, animals received IFN (150 IU/g) or were subjected to swimming daily for 4 weeks. Weight and clinical score were monitored daily and recorded in all groups. Finally blood samples were taken from the heart and the factors were measured by ELISA. The data were analyzed by one-way ANOVA.

Results: According to clinical signs diagrams, there was seen significant difference between MS+swimming, MS+interferon beta, MS+interferon beta+swimming with MS group ($P=0.001$). Also, Based on the scores of clinical signs, the severity of injury in MS groups compared to active subjects had a average score of 2 to 3, indicating control and reduction of the progression of demyelin lesions resulting from the effect of exercise in water.

Conclusion: These findings suggest that probably swimming is more effective than IFN to alter clinical signs and the level of TNF- α and IL-10 in the serum of EAE-induced mice. Therefore we conclude that regular moderate exercise could be helpful beside the medical therapies to attenuate the MS disorders.

Keywords: EAE, Aerobic Swimming, TNF- α , IL-10.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: M. Vatandoust, Email: Maryam.vatandost@gmail.com

Citation: Vatandoust M, Motamedi P, Rajabi H, Ghadiri AA, Nasirzade A, Vatandoust F, Yazdanpanah E. The effect of four-week aerobic activity in water on clinical signs and tnf- α and il-10 cytokines in animal model of multiple sclerosis (MS). Journal of Knowledge & Health 2018;12(4):47-58.