

## تأثیر یک دوره تمرین ورزشی مقاومتی با شدت بالا بر سطوح اینترلوکین-۱۰،

Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) و Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) در مغز

## رت‌های Lewis مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی

سید مجتبی حسینی<sup>۱</sup>، ضیاء فلاح محمدی<sup>۲</sup>، فریده فیضی<sup>۳</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** Multiple sclerosis (MS)، بیماری التهابی دمیالینه کننده‌ی مزمن Central nervous system (CNS) است. واکنش التهابی با تنظیم افزایشی انواعی از سیتوکاین‌ها در ضایعات MS همبستگی دارد. هدف از انجام این تحقیق، بررسی تأثیر برنامه‌ی ورزشی مقاومتی با شدت بالا در پیش‌گیری از بیماری آنسفالومیلیت خود ایمنی (EAE یا Experimental autoimmune encephalomyelitis) (مدلی برای مطالعه‌ی MS) بود.

**روش‌ها:** تمرینات مقاومتی به مدت ۶ هفته و ۵ روز در هفته انجام شد. شروع برنامه‌ی تمرینی با بار معادل ۵۰ درصد وزن بدن رت بود. حیوانات در دو جلسه‌ی اول، ۱۰-۸ تکرار (بالا رفتن از نردبان) را با فواصل استراحت ۲ دقیقه‌ای انجام دادند. رت‌ها با نخاع کوچک‌هی هندی و Complete Freund's adjuvant ایمونیزه شدند. روند بیماری و تغییرات وزن رت‌ها روزانه مورد ارزیابی قرار گرفت. مدل آنسفالومیلیت خود ایمنی در انتهای هفته‌ی ششم تمرینات القا شد.

**یافته‌ها:** تمرین مقاومتی در رت‌های ماده‌ی نژاد Lewis مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمنی، منجر به کاهش معنی‌دار (TNF- $\alpha$ ) Tumor necrosis factor alpha و افزایش معنی‌دار اینترلوکین-۱۰ (IL-10 یا Interleukin-10) ( $P = 0/001$ ) شد، اما تغییر معنی‌داری در عامل مشتق شده از مغز Brain-derived neurotrophic factor (BDNF یا BDNF) ایجاد نکرد ( $P = 0/055$ ). همچنین، علائم بالینی در رت‌های تمرین کرده با تأخیر ظاهر شد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج، به نظر می‌رسد تمرینات مقاومتی با مدت و شدت لازم موجب تأخیر در بروز و کاهش شدت علائم بالینی، عدم تغییر BDNF، کاهش TNF- $\alpha$  و افزایش IL-10 در رت‌های Lewis مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمنی می‌شود.

**واژگان کلیدی:** Multiple sclerosis، سیتوکاین‌ها، تمرین مقاومتی، آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی

**ارجاع:** حسینی سید مجتبی، ضیاء محمدی فلاح، فیضی فریده. تأثیر یک دوره تمرین ورزشی مقاومتی با شدت بالا بر سطوح اینترلوکین-۱۰،

Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) و Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) در مغز رت‌های Lewis

آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۲۲): ۲۷۰-۲۷۷

عامل رشد عصبی (Nerve growth factor یا NGF) می‌تواند واسطه ترمیم بافت باشد (۲).

BDNF، از خانواده‌ی عوامل نروتروفیک و یک عامل رشد اندوژن است که نقش حیاتی در سلامتی نرون و به خصوص انتقال، شکل‌گیری و هماهنگی عصبی دارد (۳). افزایش ترشح BDNF، موجب بهبود بازسازی بافت‌های مختلف می‌شود و در افراد مبتلا به MS، سطح این پروتئین کاهش می‌یابد (۴). نکته‌ی مهم که در مورد

## مقدمه

بیماری Multiple sclerosis (MS)، یک بیماری خود ایمنی است که در آن، گلبول‌های سفید بدن به سوی هدف اشتباه، نشان‌دهنده‌ی می‌کنند و سلول‌های بدن شخص را مورد هجوم قرار می‌دهند (۱). محققان بر این باورند که خروج گلبول‌های سفید به سرتاسر سد خونی- مغزی پس از تحریک عوامل تغذیه‌ای نظیر عامل نروتروفیک مشتق از مغز (Brain-derived neurotrophic factor یا BDNF) و

۱- دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابل، ایران

۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابل، ایران

۳- استادیار، گروه بافت‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: سید مجتبی حسینی

EAE انجام دادند، انجام ۶ هفته تمرین شنا، به کاهش معنی‌دار TNF- $\alpha$  در مغز رت‌ها منجر شد (۵).

در مطالعه‌ی دیگری، Patel و White مشاهده کردند که ۱۰ روز دوییدن اجباری روی تردمیل در رت‌های مبتلا به EAE، موجب افزایش TNF- $\alpha$  شد که البته معنی‌دار نبود (۱۵). Wens و همکاران، پیشنهاد کردند از شدت‌های بالای تمرینات ورزشی در بیماری MS استفاده کنند (۱۶). در یک جمع‌بندی از پژوهش‌های انجام شده‌ی پیشین، می‌توان دریافت که نتایج به دست آمده ضد و نقیض بوده است و توافق کلی در رابطه با آثار انواع تمرینات ورزشی با شدت و مدت متفاوت بر روی بیماری MS وجود ندارد. بر اساس مطالعه‌ی ادیبات پیشینه‌ی پژوهش، مطالعه‌ای بر روی اثرات تمرینات مقاومتی به نسبت شدید که منجر به پاسخ‌های التهابی موقت شود، صورت نگرفته است تا تغییرات در عوامل تأثیر گذار در بیماری MS نظیر TNF- $\alpha$ ، IL-10 و BDNF را بررسی کند؛ چرا که ادعا کرده‌اند احتمال می‌رود تمرینات مقاومتی، اثر تنظیم‌کننده‌ی ایمنی داشته باشد (۱۴). از این رو، تحقیق حاضر با هدف مشخص ساختن اثر پیش‌گیرانه‌ی ۶ هفته تمرین مقاومتی به نسبت شدید بر سطوح TNF- $\alpha$ ، IL-10 و BDNF در رت‌های مبتلا به EAE (در معرض ابتلا به MS) انجام شد.

### روش‌ها

در این مطالعه‌ی تجربی، ۲۰ سر رت ماده‌ی نژاد Lewis از مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج با سن ۶ هفته تهیه شدند. رت‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه، به مدت ۲ هفته، برای سازگاری با محیط جدید، در قفس‌های شفاف پلی‌کربنات در محیطی با دمای  $22/00 \pm 1/14$  درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵-۵۵ درصد و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. در طی دوره‌ی پژوهش، غذای استاندارد و آب به صورت آزاد و از طریق بطری‌های ویژه در دسترس حیوانات قرار داده شد. حیوانات، به طور تصادفی در چهار گروه شاهد سالم (۵ سر)، مورد سالم (۵ سر)، شاهد مبتلا به EAE (۵ سر) و مورد مبتلا به EAE (۵ سر) قرار گرفتند.

**شیوه‌نامه‌ی تمرین مقاومتی:** تمرین مقاومتی استفاده شده در این تحقیق، بالا رفتن از نردبان ۱ متر با دارا بودن ۲۶ پله با زاویه‌ی ۸۵ درجه نسبت به زمین، با اضافه کردن وزنه به دم رت‌ها انجام گرفت. تمرینات ۵ روز در هفته و به مدت ۶ هفته انجام شد؛ به طوری که یک روز در میان، شدت تمرین تغییر می‌یافت تا حیوان دچار کوفتگی‌های عضلانی نشود؛ در صورتی که رت‌ها از انجام تمرین سر باز می‌زدند، به منظور تحریک برای اجرای تمرینات، تنها از روش لمس کردن و مالیدن دم استفاده می‌شد. شروع برنامه‌ی تمرینی با بار معادل ۵۰ درصد وزن بدن حیوانات بود. حیوانات در دو

تحریک BDNF پیشنهاد شده است، اثرات درمانی در مدل Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) و همچنین، در MS است (۵). این عامل، نقش حیاتی در تکامل و حفظ سلامت سیستم عصبی مرکزی و محیطی، شکل‌پذیری سیناپس‌ها و نورون‌های مغزی دارد (۶). BDNF، نقش کلیدی در تنظیم، بقا، رشد و نگهداری سلول‌های عصبی و ظرفیت قابل توجهی در شکل‌پذیری نورون در اعصاب مرکزی دارد که به وسیله‌ی عمل روی آکسون و دندریت، عصب را بازسازی می‌کند (۷).

پژوهش‌های گذشته، نشان داده‌اند که ممکن است فعالیت ورزشی بر تغییرات BDNF در افراد سالم و بیماران MS مؤثر باشد، اما تناقضاتی در این رابطه وجود دارد. برای نمونه، Waschbisch و همکاران، عنوان کرده‌اند فعالیت ورزشی تغییر معنی‌داری در سطح BDNF بیماران MS ایجاد نکرده است (۸). از طرفی، Castellano و White، عنوان کرده‌اند که پس از ۴ هفته فعالیت ورزشی با ۶۵ درصد توان هوازی، اوج سطح BDNF در بیماران MS، افزایش معنی‌داری یافته، اما در ادامه، پس از ۸ هفته تمرین، مقدار آن به سطح اولیه بازگشته است (۹).

نواحی موضعی تخریب میلین که در MS مشاهده می‌شود، در فرایند التهابی به واسطه‌ی نفوذ سلول‌های T رخ می‌دهد. این واکنش التهابی، با تنظیم افزایشی انواعی از سیتوکاین‌ها در ضایعات MS همبستگی دارد که شامل اینترلوکین (Interleukin یا IL) های ۱، ۲، ۴، ۶ و ۱۲، Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) و اینترفرون گاما (Interferon gamma یا IFN- $\gamma$ )، می‌شود (۱۰). IL-10، عامل مهمی در درمان بیماری MS محسوب می‌شود؛ چرا که این بیماران، با کمبود این سیتوکاین مواجه هستند. TNF- $\alpha$ ، اعمال گسترده‌ای در سیستم ایمنی بدن دارد و یک میانجی مهم در وضعیت‌های بیماری التهابی سیستم ایمنی، نظیر MS است (۱۱).

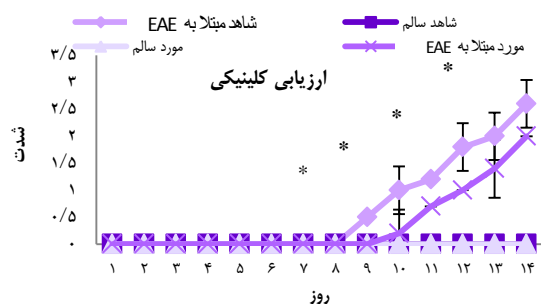
تحقیقات نشان می‌دهد TNF- $\alpha$  تولید شده توسط سلول‌های دندریتیک و ماکروفاژها در بیماران مبتلا به MS نسبت به افراد سالم، افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان داده است که این سطح افزایش با پیشرفت ناتوانی در بیمار مرتبط است (۱۲). در تحقیق کردی و همکاران، تأثیر سه روش تمرین ترکیبی بر سیتوکاین‌های سرمی بیماران مبتلا به MS بررسی شد که مقادیر TNF- $\alpha$  کاهش داشت، اما این کاهش معنی‌دار نبود (۱۳). در همین راستا، مقصودی و همکاران مشاهده کردند غلظت TNF- $\alpha$  پس از ۸ هفته تمرینات منتخب، به شکل متفاوتی تغییر کرد؛ در زنان TNF- $\alpha$  کاهش معنی‌داری داشت، اما در مردان این تغییر افزایشی بود (۱۴). جالب آن که در پژوهشی مشابه، Castellano و همکاران مشاهده کردند که یک دوره تمرین هوازی در زنان و مردان مبتلا به MS، به افزایش TNF- $\alpha$  منجر شد (۱۰). در تحقیقی که Bernardes و همکاران بر روی رت‌های مدل

**نمونه برداری و اندازه‌گیری:** رت‌ها با تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلوزین بیهوش شدند. بعد از خارج کردن کل مغز از کاسه‌ی مججمه، بلافاصله مغز در ازت مایع قرار گرفت. بافت مغز پس از منجمد شدن در دمای  $-80^{\circ}\text{C}$  درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از هموژنایز کردن و سانتریفیوژ محلول، غلظت BDNF با کیت تجاری Zellbio (ساخت آلمان)، و غلظت TNF- $\alpha$  و IL-10 با کیت تجاری Diaclone (ساخت فرانسه) به روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) اندازه‌گیری شد.

**روش‌های آماری:** برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌های مربوط به متغیرهای مختلف، از آزمون Shapiro-Wilk در سطح معنی‌داری  $P \leq 0/050$  استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد کلیه‌ی متغیرهای مطالعه، از توزیع طبیعی برخوردارند. از این رو، به منظور بررسی میزان تغییرات متغیرها و ارتباط بین آن‌ها، از روش‌های آماری پارامتریک استفاده شد. به منظور بررسی تفاوت‌های موجود در وزن رت‌ها در شروع مطالعه و پس از مداخله، از آزمون Paired t و برای ارزیابی بالینی از آزمون Independent t استفاده شد. برای بررسی تفاوت‌های بین گروهی شاخص‌های تحقیق، از آزمون One-way ANOVA استفاده شد. با معنی‌دار شدن آزمون F، آزمون تعقیبی Tukey در سطح معنی‌داری  $P \leq 0/050$  برای بررسی تفاوت بین گروهی استفاده شد. کلیه‌ی تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ (version 21, IBM Corporation, Armonk, NY) انجام شد.

### یافته‌ها

رت‌ها مدلی از EAE را نشان دادند که علائم بالینی از روز ۹ بعد از ایمن‌سازی شروع و سستی دم دیده شد. به تدریج، با گذشت زمان دم فلج کامل شد و اختلال در راه رفتن مشاهده شد (شکل ۱).



شکل ۱. ارزیابی بالینی‌های رت‌های مدل

### (EAE) Experimental autoimmune encephalomyelitis

\* تفاوت معنی‌دار نسبت به همان روز در مقایسه با گروه‌های مورد مبتلا به EAE. روز نهم ( $P = 0/001$ )، روز دهم ( $P = 0/010$ )، روز یازدهم ( $P = 0/800$ )، روز دوازدهم ( $P = 0/030$ )، روز سیزدهم ( $P = 0/190$ ) و روز چهاردهم ( $P = 0/040$ ) شدت: صفر (عدم بروز بیماری)، ۱ (اختلال در حرکت دم)، ۲ (فلج شدن دم)، ۳ (اختلال در راه رفتن)، ۴ (فلج یک پا)

جلسه‌ی اول، ۱۰-۸ تکرار (بالا رفتن از نردبان) را با فواصل استراحت ۲ دقیقه‌ای انجام دادند. در جلسه‌ی سوم تمرین، از تکرار دوم به بعد، در هر تکرار ۳۰ گرم وزنه به بار متصل به دم حیوانات اضافه شد، بدون این که زمان استراحت بین ست‌ها تغییری داشته باشد. از جلسه‌ی چهارم تا پایان برنامه‌ی تمرینی، تکرار اول با باری معادل با ۵۰ درصد بیشترین وزنه‌ی حمل شده در جلسه‌ی قبل (ظرفیت حمل بیشینه)، انجام شد و در تکرارهای بعدی، به ترتیب مقدار وزنه‌ها به ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت حمل بیشینه رسید. پس از آن، در هر یک از تکرارهای پنجم تا هشتم، ۳۰ گرم به وزنه‌ی قبلی اضافه شد. بار پایانی، به عنوان ظرفیت حمل بیشینه‌ی آن جلسه در نظر گرفته شد. زمانی که با افزایش وزنه‌های ۳۰ گرمی، رت‌ها قادر به بالا رفتن از نردبان نبودند، تکرارها با بار قبلی تا ۸ تکرار ادامه می‌یافت. به منظور انجام مراحل گرم کردن و سرد کردن، ۲ بار بالا رفتن از نردبان بدون وزنه، پیش و پس از هر جلسه تمرین انجام شد (۱۷).

**روش القای EAE** رت‌ها با نخاع خوکچه‌ی هندی (تهیه شده از مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج) و Complete Freund's adjuvant (Sigma F5881, CFA) که حاوی مایکوباکتری‌های کشته شده در امولسیون آب و روغن می‌باشد، ایمونیزه شدند. در ابتدا، خوکچه‌های هندی با استفاده از کلروفورم بیهوش شدند. سپس، با خارج کردن نخاع در پتری دیش حاوی سالیین گذاشته شد. برای ادامه‌ی کار، نخاع به مدت ۲۵ دقیقه به دمای  $40^{\circ}\text{C}$  درجه‌ی سانتی‌گراد انتقال داده شد. غلظت مایکوباکتریوم موجود در Complete Freund's adjuvant تجاری، ۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر بود که حداقل به ۴ میلی‌گرم/میلی‌لیتر رسانیده شد (۱۸). روند بیماری و تغییرات وزن رت‌ها روزانه مورد ارزیابی قرار گرفت. مدل EAE در انتهای هفته‌ی ششم تمرینات القا شد و تمرینات متوقف گردید. زمان‌بندی و روند کلی پژوهش در جدول ۱ به طور خلاصه آمده است.

جدول ۱. زمان‌بندی روند کلی پژوهش

مدت زمان	فعالیت انجام شده
۲ هفته	آشنایی با محیط آزمایشگاه و شیوه‌نامه‌ی تمرینی
۶ هفته	انجام شیوه‌نامه‌ی تمرینی
۱ هفته	القای EAE
۲ هفته	علایم بالینی
یک روز	نمونه‌برداری

EAE: Experimental autoimmune encephalomyelitis

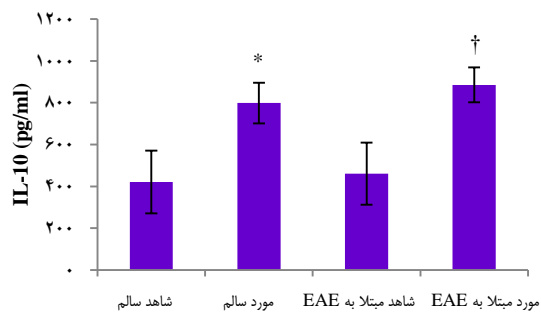
مقیاس ارزیابی شدت بیماری شامل صفر (عدم بروز بیماری)، ۱ (اختلال در حرکت دم)، ۲ (فلج شدن دم)، ۳ (اختلال در راه رفتن)، ۴ (فلج یک پا)، ۵ (فلج هر دو پا)، ۶ (فلج چهار دست و پا) و ۷ (مرگ) می‌باشد (۱۸).

جدول ۲. میانگین وزن رت‌ها در گروه‌های مورد مطالعه

ANOVA	مورد مبتلا به EAE	مورد سالم	شاهد مبتلا به EAE	شاهد سالم	گروه
۰/۴۰۰	۱۱۰/۲۰ ± ۱/۹۲	۱۱۲/۴۰ ± ۳/۲۸	۱۱۰/۶۰ ± ۱/۸۱	۱۱۰/۲۰ ± ۴۴/۰۰	وزن در شروع مطالعه (g)
۰/۰۱۹	۱۹۵/۲۰ ± ۹/۶۷	۲۰۴/۲۰ ± ۳/۱۹	۲۱۰/۲۰ ± ۱۱/۰۹	۲۱۷/۴۰ ± ۱۳/۰۱	وزن در انتهای مطالعه (g)
-	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	Paired t

EAE: Experimental autoimmune encephalomyelitis

این تغییرات در گروه مورد مبتلا به EAE با گروه شاهد مبتلا به EAE ( $P = 0/010$ )، شاهد سالم با شاهد مبتلا به EAE ( $P = 0/010$ ) داشت. مقادیر IL-10 بین گروهی نیز تفاوت معنی‌داری نشان داد ( $P = 0/001$ ,  $F = 17/985$ ). این تغییرات در بین گروه شاهد مبتلا به EAE با گروه مورد مبتلا به EAE ( $P = 0/001$ ) تفاوت معنی‌داری داشت (شکل ۴).



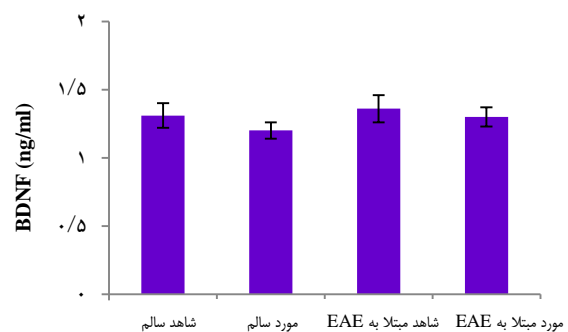
شکل ۴. میانگین اینترلوکین-۱۰ (Interleukin-10 یا IL-10) در گروه‌های مطالعه

در مقایسه با گروه (مورد سالم) ( $P = 0/001$ ) † در مقایسه با گروه شاهد مبتلا به Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) (گروه مورد مبتلا به EAE) ( $P = 0/001$ )

### بحث

هدف از انجام این مطالعه، بررسی تعیین اثر پیش درمان تمرین مقاومتی به نسبت شدید در رت‌های ماده‌ی نژاد Lewis مدل EAE قبل از القای مدل بیماری بود. نتایج مطالعه‌ی حاضر، نشان از بهبود علائم بالینی در مدل‌های EAE تمرین مقاومتی نسبت به گروه رت‌های مدل EAE بدون تمرین مقاومتی داشت. داده‌های تحقیق حاضر، با مشاهدات قبلی در مورد اثرات سودمند ورزش در مدل EAE بوده، هم‌راستا است (۱۹). داده‌های بالینی، نشان می‌دهد که ورزش اثرات مثبتی روی عملکرد بیماران مبتلا به MS دارد (۲۰) که بیشتر این شواهد در رابطه با سیستم ایمنی است (۲۱). بر خلاف یافته‌های تحقیق حاضر، Casado نشان داد که تمرینات با شدت بالا، تأثیری بر کیفیت زندگی و بهبود علائم بیماری ندارد (۲۲). از طرفی، نشان داده شده است که تمرین مقاومتی و استقامتی و یا ترکیبی از

میانگین وزن رت‌های گروه‌های مختلف، در جدول ۲ آمده است. تمرینات مقاومتی، موجب تغییرات معنی‌داری در سطوح BDNF نشد ( $P = 0/055$ ,  $F = 3/13$ ) (شکل ۲).

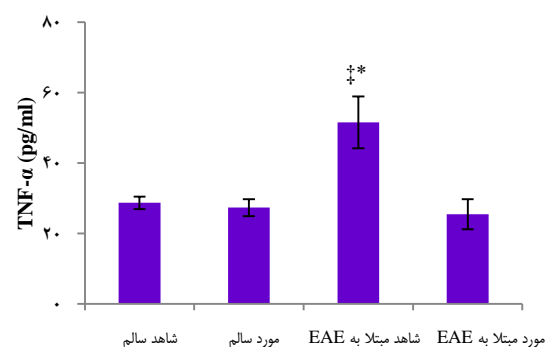


شکل ۲. میانگین Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)

در گروه‌های پژوهش نشان از اختلاف غیر معنی‌داری است ( $P = 0/055$ )

EAE: Experimental autoimmune encephalomyelitis

نتایج حاصل از پژوهش نشان می‌دهد که ۶ هفته تمرین مقاومتی، موجب شد تا مقادیر TNF- $\alpha$  در بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری داشته باشد ( $P = 0/001$ ,  $F = 34/537$ ) (شکل ۳).

شکل ۳. میانگین Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) در

گروه‌های مطالعه

در مقایسه با گروه شاهد ( $P = 0/010$ ) † در مقایسه‌ی با گروه مورد مبتلا به Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) ( $P = 0/010$ )

مدل EAE، می‌تواند نشانگر افزایش ذخایر این سیتوکاین ضد التهابی و در نتیجه، تقویت حفاظت عصبی رت‌های مدل EAE باشد. IL-10، یک سیتوکاین تنظیمی است که توسط سلول‌های Th2 ترشح می‌شود. نشان داده شده است که قبل از عود بیماری، سطح سیستمیک IL-10 کاهش می‌یابد و هنگامی که مرحله‌ی بهبودی بیماری شروع می‌شود، میزان آن به تدریج افزایش می‌یابد (۲۸).

ناهمسو با یافته‌های پژوهش حاضر، یک مطالعه نشان داده است که ورزش، باعث کاهش سطح IL-10 و عدم تغییر معنی‌دار در TNF- $\alpha$  بعد از تمرین می‌شود. در این مطالعه، شرکت کنندگان زن بودند و نمونه‌ی خونی آن‌ها ۸ ساعت بعد به دست آمد (۲۵). در مطالعه‌ی حاضر، بعد از القای مدل EAE و ظهور علائم بالینی، شیوه‌نامه‌ی تمرینی متوقف شد. مشابه پژوهش حاضر، در مطالعه‌ی Kierkegaard و همکاران که نمونه‌های خونی به طور میانگین ۱۰ روز بعد از آخرین جلسه‌ی تمرینی جمع‌آوری شد، کاهش معنی‌داری در سطوح TNF- $\alpha$  مشاهده گردید. آنان، تفاوت در نتایج خود را به متفاوت بودن شدت تمرین و نحوه‌ی نمونه‌گیری مرتبط دانستند. از سوی دیگر، در مدل‌های حیوانی MS، ورزش می‌تواند از التهاب سیناپس عصبی و تغییرات دندریتیک محافظت کند (۲۵).

BDNF، از خانواده‌ی عوامل رشد عصب است که در انتقال، شکل‌گیری و هماهنگی عصبی، نورون‌سازی (۳) و میلین‌سازی دخیل و دارای نقش به‌سزایی هستند (۲۹). ترشح BDNF موجب بهبود بازسازی بافت‌های مختلف می‌شود و بر اساس مطالعه‌ی گذشته، در افراد مبتلا به MS، سطح این پروتئین ممکن است کاهش یابد (۴). اگر چه عنوان شده است که یکی از مهم‌ترین عوامل افزایش دهنده‌ی سطح BDNF، انجام فعالیت ورزشی است. احتمال می‌رود انتشار نروتروفین‌هایی مثل BDNF در علائم بالینی همچون اثرات نوروپاتولوژیک ورزش در مدل EAE نقش داشته باشد (۲۵).

اثر حفاظتی، مربوط به BDNF تولید و منتشر شده توسط سلول‌های عصبی و لوکوسیت‌ها است (۳۰). همسو با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، رت‌های مدل EAE در مطالعه‌ی Zhu و همکاران نشان از عدم وجود تغییرات معنی‌دار در سطوح BDNF مغز دارد که در اوج بیماری، می‌تواند یک روند خود تعمیر در پیش بگیرد؛ چرا که اثر حفاظتی BDNF به تولید و منتشر شدن سلول‌های عصبی و لوکوسیت‌ها مربوط می‌شود (۳۰). در نتیجه، داده‌های مطالعه‌ی حاضر، این فرضیه که «آزادی نروتروفین‌هایی مانند BDNF ممکن است دلالت بر علائم نوروپاتولوژیک تأثیر ورزش در EAE باشد (۵)» را رد می‌کند؛ چرا که BDNF در مطالعه‌ی حاضر، تغییری نکرد، اما علائم بالینی در گروه تمرین کرده، با شدت و مدت کمتری نسبت به گروه تمرین نکرده ظاهر شد.

این دو ورزش، جنبه‌های مختلف فیزیولوژیک افراد مبتلا به MS و اختلالات مربوط به عدم فعالیت را می‌تواند بهبود دهد (۲۳).

یک بررسی نشان داده است که ورزش، منجر به کاهش شدت کلی بیماری و اختلال عصبی در مقایسه با گروه شاهد پس از القای EAE شد. ورزش، همچنین می‌تواند شروع علائم بالینی در فعالیت‌های انتخابی در مدل‌های EAE را به تأخیر اندازد (۵). شدت مورد استفاده، می‌تواند یکی از دلایل این بهبودی باشد؛ چرا که Wens و همکاران که از ورزش مقاومتی و استقامتی با شدت متوسط استفاده کرده بودند، تغییری در بهبودی گلوکز در بیماران MS مشاهده نکردند و در آخر، پیشنهاد کردند که از شدت‌های بالای تمرینات ورزشی در برابر علائم و شدت بیماری MS استفاده گردد (۱۶).

به منظور درک بیشتر اثرات ورزش مقاومتی بر تغییرات مولکول‌های ایمنی، سطح برخی سیتوکاین‌ها در مغز، نظیر TNF- $\alpha$  (پیش‌التهابی) و IL-10 (ضد التهابی) (۵) بررسی گردید. این سیتوکاین‌ها، در اثرات ورزش در بیماران مبتلا به MS نقش دارند (۵). مقایسه‌ی سطوح TNF- $\alpha$  و IL-10 در شکل‌های ۳ و ۴ نشان داده شده است. بررسی تغییرات غلظت TNF- $\alpha$  مغز در گروه مورد مبتلا به EAE نشان داد که کاهش معنی‌داری در مقادیر TNF- $\alpha$  نسبت به گروه شاهد مبتلا به EAE وجود داشت که هم‌راستا با نتایج مطالعات قبلی است و احتمال می‌رود به آثار تمرینات ورزشی ارتباط داشته باشد (۲۴). در نتیجه‌ی همسو با یافته‌های مطالعات دیگر، تمرینات مقاومتی با شدت بالا در مدل تجربی بیماری MS، تأثیر مثبتی بر روی میزان سیتوکاین‌های التهابی دارد (۲۵). در واقع، اعتقاد بر این است که تمرین ورزشی، دارای اثرات ضد التهابی است (۵). در یک مطالعه، بعد از ۱۲ هفته تمرین ترکیبی مقاومتی و استقامتی، TNF- $\alpha$  کاهش پیدا کرد. پژوهشگران، این کاهش را به کاسته شدن از شدت تحریک سلول‌های تأثیرگذار T helper1 (Th1) و Th17 بر میلین‌سازی مرتبط دانستند (۵).

سطوح IL-10 گروه مورد مبتلا به مدل EAE نسبت به گروه شاهد مبتلا به MS و گروه شاهد سالم افزایش معنی‌داری را نشان داد. همسو با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، اثرات ضد التهابی تمرین ورزشی در بیماری‌های مزمن، با کاهش سیتوکاین‌های التهابی مانند TNF- $\alpha$  و افزایش غلظت‌های ضد التهابی (IL-10) همراه است (۲۶). از طرفی، بر خلاف یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، بیژه و همکاران به دنبال بررسی تأثیر برنامه‌ی تمرین در آب بر IL-6 و IL-10 بیماران مبتلا به MS نشان دادند که تمرین، موجب کاهش معنی‌داری در سطوح این دو نوع IL می‌شود و این مقدار کاهش را با شدت ورزش مرتبط دانستند (۲۷). افزایش عامل IL-10 به عنوان یک عامل ضد التهابی در گروه تمرین کرده، نشان از اثرات احتمالی ورزش دارد که در پاسخ به القای

بالینی، نشان از به تأخیر افتادن علائم MS در گروه تمرینی MS همراه است (شکل ۱).

در یک مطالعه با مدل EAE، مشاهده شد که با ورزش، سطوح BDNF با بیشتر شدن شدت بیماری افزایش می‌یابد (۳۲) که حاکی از ارتباط بین ورزش و بیان BDNF (۳۲) و شدت عود بیماری است و با توجه به علائم بیماری، می‌توان گفت که احتمال می‌رود ورزش عاملی پیش‌گیرانه در عود بیماری و به دنبال آن افزایش ترشح BDNF باشد.

نتیجه‌گیری نهایی این که اجرای ۶ هفته تمرین مقاومتی به نسبت شدید پیش از القای مدل تجربی بیماری MS، می‌تواند موجب کاهش TNF- $\alpha$  به عنوان شاخص پیش‌التهابی و افزایش IL-10 به عنوان شاخص ضد التهابی و همچنین، بهبود علائم بالینی بیماری MS شود. در نتیجه، احتمال می‌رود تمرین مقاومتی به نسبت شدید، به عنوان عامل مؤثر در پیش‌گیری از ابتلای افراد به این بیماری عمل کند. به طور کلی، با توجه به نتایج تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد تمرینات مقاومتی اگر از شدت و مدت کافی (مشابه با شیوه‌نامه‌ی مطالعه‌ی حاضر) برخوردار باشد، می‌تواند در پیش‌گیری از ابتلا به بیماری MS مؤثر باشد. البته، با توجه به داده‌های BDNF، به نظر می‌رسد لااقل این پروتئین خانواده‌ی نوروتروفین، در پیام‌رسانی مسیر حفاظت عصبی مدل بیماری MS که یک بیماری التهابی به شمار می‌رود، نقش ندارد. با این حال، با توجه به نقش ورزش به عنوان یک روش واقعی در تعدیل نوروبیولوژیک (Neurobiological) نشانگرهای فعال (نوروتروفین‌ها، TNF- $\alpha$  و IL-10)، برای خنثی کردن فرایندهای التهاب عصبی باید در مطالعات آینده بیشتر بررسی شود.

### تشریح و قدردانی

این مقاله، برگرفته از پایان‌نامه‌ی دکتری فیزیولوژی ورزشی به راهنمایی آقای دکتر ضیاء فلاح محمدی و مشاوره‌ی خانم دکتر فریده فیضی به شماره‌ی طرح تحقیقاتی ۱۲۱۷۹۹۵ می‌باشد و با حمایت‌های مادی و معنوی دانشگاه مازندران در بابلسر اجرا شده است. بدین وسیله از زحمات این عزیزان تقدیر می‌گردد.

White و Castellano، در مقایسه‌ی BDNF پایه بعد از ۸ هفته تمرین هوازی، تفاوتی مشاهده نکردند. با این حال، مشاهده شده است که میزان محو شدن سرمی BDNF بین هفته‌های ۴ و ۸ معنی‌دار بود که می‌تواند به دلیل افزایش انتقال BDNF به CNS یا عضلات باشد (۹). در مقابل، یافته‌های Bernardes و همکاران نشان داد که سطوح BDNF در رت‌های مدل EAE افزایش داشت. افزایش سطوح BDNF می‌تواند به بهبود فرایند تعمیر، تکثیر میلین و یا بازسازی الیگودندروسیت در منطقه‌ی ضایعه بیان شود (۵). غلظت BDNF افراد عود کننده و بهبود شونده (Relapsing remitting) نسبت به افراد سالم کمتر بود و بعد از ۲۴ هفته تمرین، در افراد مبتلا به MS در مقایسه با افراد شاهد بدون تمرین افزایش داشت (۲۳). اثر حاد ورزش بر افزایش BDNF، مطابق با یافته‌های مطالعه‌ی Briken و همکاران بر روی بیماران مبتلا به MS و بیماران مبتلا به MS عود کننده و بهبود شونده است. آن‌ها نشان دادند که سطوح BDNF در پایان ورزش، افزایش معنی‌داری داشت، اما بعد از نیم ساعت، این افزایش سطوح به مرحله‌ی پایه و حتی کمی پایین‌تر از مرحله‌ی پایه می‌رسد؛ با فرض این که افزایش BDNF بعد از ورزش طولانی مدت نیست (۲۰).

بنابراین، روش کار در اندازه‌گیری BDNF مهم است؛ چرا که در مطالعه‌ی حاضر، بین ورزش و اندازه‌گیری، فاصله‌ی ۱۴ روزه وجود داشت و احتمال افزایش سطوح BDNF افزایش می‌رفت، اما با گذشت زمان این افزایش به سطوح پایه برگشت. شواهد حاصل از مدل‌های حیوانی MS نشان از آن دارند که ورزش می‌تواند از التهاب‌های ناشی از سیناپس‌های عصبی و تغییرات دندریتیک محافظت کند (۲۵). مطالعات حیوانی، نشان داده است که ورزش روزانه، باعث رها شدن انتقال دهنده‌های مختلف در مغز نظیر دوپامین، نوراپی‌نفرین و به ویژه BDNF می‌شود (۳۱). سطوح سرمی BDNF، می‌تواند در حفظ یکپارچگی مغز در بیماران MS اثرات مثبتی بر نتایج بالینی داشته باشد. به نظر می‌رسد BDNF می‌تواند برای مطالعات گسترده در نتیجه‌ی پارامترهای پیش‌تعریف شده با نشانگرهای بالینی مناسب باشد (۲۰) که این علائم، با سنجش علائم

### References

- Moghadasi M, Edalatmanesh MA, Moeini A, Nematollahzadeh Mahani MS. Effects of eight weeks resistance training on brain derived neurotrophic factor in female patients with multiple sclerosis. *Koomesh* 2015; 17(1): 152-9. [In Persian].
- Kjohede T, Dalgas U, Gade AB, Bjerre M, Stenager E, Petersen T, et al. Acute and chronic cytokine responses to resistance exercise and training in people with multiple sclerosis. *Scand J Med Sci Sports* 2016; 26(7): 824-34.
- Fujimura H, Altar CA, Chen R, Nakamura T, Nakahashi T, Kambayashi J, et al. Brain-derived neurotrophic factor is stored in human platelets and released by agonist stimulation. *Thromb Haemost* 2002; 87(4): 728-34.
- 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.
5. Bernardes D, Oliveira-Lima OC, Silva TV, Faraco CC, 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.
  6. Huang AM, Jen CJ, Chen HF, Yu L, Kuo YM, Chen HI. Compulsive exercise acutely upregulates rat hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *J Neural Transm (Vienna)* 2006; 113(7): 803-11.
  7. Gomez-Pinilla F, Vaynman S, Ying Z. Brain-derived neurotrophic factor functions as a metabotrophin to mediate the effects of exercise on cognition. *Eur J Neurosci* 2008; 28(11): 2278-87.
  8. Waschbisch A, Wenny I, Tallner A, Schwab S, Pfeifer K, Maurer M. Physical activity in multiple sclerosis: a comparative study of vitamin D, brain-derived neurotrophic factor and regulatory T cell populations. *Eur Neurol* 2012; 68(2): 122-8.
  9. Castellano V, White LJ. Serum brain-derived neurotrophic factor response to aerobic exercise in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2008; 269(1-2): 85-91.
  10. Castellano V, Patel DI, White LJ. Cytokine responses to acute and chronic exercise in multiple sclerosis. *J Appl Physiol (1985)* 2008; 104(6): 1697-702.
  11. TNF- $\alpha$ : a paradigm of paradox and complexity in multiple sclerosis and its animal models. *The Open Autoimmunity Journal* 2010; 2: 160-70.
  12. Sharief MK, Hentges R. Association between tumor necrosis factor-alpha and disease progression in patients with multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1991; 325(7): 467-72.
  13. Kordi M, Anooshe L, Khodadade S, Maghsodi N, Sanglachi B, Hemmatinfar B. Comparing the effect of three methods of combined training on serum levels of ghrelin, pro and anti-inflammatory cytokines in multiple sclerosis (MS) patients. *J Zanjan Univ Med Sci* 2014; 22 (91): 39-51. [In Persian].
  14. Maghsodi 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* 2011; (10): 5-23. [In Persian].
  15. Patel DI, White LJ. Effect of 10-day forced treadmill training on neurotrophic factors in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Appl Physiol Nutr Metab* 2013; 38(2): 194-9.
  16. Wens I, Hansen D, Verboven K, Deckx N, Kosten L, Stevens AL, et al. Impact of 24 weeks of resistance and endurance exercise on glucose tolerance in persons with multiple sclerosis. *Am J Phys Med Rehabil* 2015; 94(10 Suppl 1): 838-47.
  17. Safarzadeh A, Hajizadeh Rostami M, Talebi Garakani E, Fathi R. The effects of progressive resistance training on serum omentin-1 and lipid profile of rats. *Sport Biosciences* 2014; (22): 287-300. [In Persian].
  18. Yaghmaei P, Nabiuni M, Mahdavi M, Mehrvarz T, Nazari Z. The effects of honey bee venom on the serum interleukin 6 level in EAE Lewis rats a model for the study of multiple sclerosis. *Pejouhandeh* 2013; 18(2): 69-75. [In Persian].
  19. Pryor WM, Freeman KG, Larson RD, Edwards GL, White LJ. Chronic exercise confers neuroprotection in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurosci Res* 2015; 93(5): 697-706.
  20. Briken S, Rosenkranz SC, Keminer O, Patra S, Ketels G, Heesen C, et al. Effects of exercise on Irisin, BDNF and IL-6 serum levels in patients with progressive multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2016; 299: 53-8.
  21. Motl RW, Sandroff BM. Benefits of exercise training in multiple sclerosis. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2015; 15(9): 62.
  22. Casado MA. The effect of 12 weeks high-intensity interval - and resistance training on mobility and quality of life in multiple sclerosis. Hasselt, Belgium: University of Hasselt; 2016.
  23. Wens I, Keytsman C, Deckx N, Cools N, Dalgas U, Eijnde BO. Brain derived neurotrophic factor in multiple sclerosis: effect of 24 weeks endurance and resistance training. *Eur J Neurol* 2016; 23(6): 1028-35.
  24. Ang ET, Wong PT, Moochhala S, Ng YK. Cytokine changes in the horizontal diagonal band of Broca in the septum after running and stroke: a correlation to glial activation. *Neuroscience* 2004; 129(2): 337-47.
  25. 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.
  26. Golzari Z, Shabkhiz F, Soudi S, Kordi MR, Hashemi SM. Combined exercise training reduces IFN-gamma and IL-17 levels in the plasma and the supernatant of peripheral blood mononuclear cells in women with multiple sclerosis. *Int Immunopharmacol* 2010; 10(11): 1415-9.
  27. Bezheh N, Soltani M, Khaleghzade H. Effects of aerobic training in water on IL-6 and IL-10 in patients with multiple sclerosis. *Evid Basic Care* 2014; 4(2): 63-72. [In Persian].
  28. Khalilnezhad A, Zahednasab H, Khodabandehloo H, Mahmoudian E, Azar-Abdar T, Balood M, et al. Diagnostic Biomarkers in Multiple Sclerosis. *J Ilam Univ Med Sci* 2013; 21(7): 288-311. [In Persian].
  29. Cotman CW, Engesser-Cesar C. Exercise enhances and protects brain function. *Exerc Sport Sci Rev* 2002; 30(2): 75-9.
  30. 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.
  31. Fallah-mohammadi Z, Ahmadi-kordasiabi M, Aghasi M. The effect of voluntary exercise on MANF level in the brainstem of Parkinsonian rats induced by 6-Hydroxydopamine. *J Birjand Univ Med Sci* 2014; 21(2): 179-87. [In Persian].
  32. Sorenson M, Jason L, Peterson J, Herrington J, Mathews H. Brain Derived Neurotrophic Factor is Decreased in Chronic Fatigue Syndrome and Multiple Sclerosis. *J Neurol Neurophysiol* 2014; S12: S2-013.

## The Effect of High-Intensity Resistance Exercise Period on the Levels of Interleukin-10 (IL-10), Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ), and Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in the Brain of Lewis Rats with Experimental Autoimmune Encephalomyelitis

Seyed Mojtaba Hosseini<sup>1</sup>, Zia Fallah-Mohammadi<sup>2</sup>, Farideh Feizi<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Multiple Sclerosis (MS) is a chronic inflammatory demyelinating disease of the central nervous system (CNS). There is a correlation between up-regulation of a variety of cytokines with inflammatory reactions in multiple sclerosis lesions. This study aimed to investigate the effects of high-intensity resistance exercise program on prevention of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) (a model for studying multiple sclerosis).

**Methods:** Resistance exercises were performed for 6 weeks, 5 days a week. Training program started with 50% of rats' body weight. In the first session, animals performed 8 to 10 repetitions (up the ladder) with 2-minute rest intervals. Rats were immunized with spinal cord and complete adjuvant of guinea pigs. Disease process and changes in rats' weights were measured every day. Experimental autoimmune encephalomyelitis model was induced at the end of the sixth week of training.

**Findings:** Resistance training in Lewis female rats with experimental autoimmune encephalomyelitis resulted in a significant reduction in tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) ( $P = 0.001$ ) and a significant increase in interleukin-10 (IL-10) ( $P = 0.001$ ). However, it did not cause significant changes in Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) ( $P = 0.055$ ). In addition, clinical symptoms in exercised rats were postponed.

**Conclusion:** Regarding the results, it appears that resistance exercises with necessary duration and intensity delay the onset, reduce the severity of clinical symptoms, and decrease TNF- $\alpha$ , increase IL-10, with no change in BDNF, in Lewis rats with experimental autoimmune encephalomyelitis.

**Keywords:** Multiple Sclerosis, Cytokines, Resistance training, Experimental autoimmune encephalomyelitis

**Citation:** Hosseini SM, Fallah-Mohammadi Z, Feizi F. **The Effect of High-Intensity Resistance Exercise Period on the Levels of Interleukin-10 (IL-10), Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ), and Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in the Brain of Lewis Rats with Experimental Autoimmune Encephalomyelitis.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(422): 270-7.

1- PhD Student, Department of Exercise Physiology, School of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

2- Associate Professor, Department of Exercise Physiology, School of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

3- Assistant Professor, Department of Histology, School of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

**Corresponding Author:** Seyed Mojtaba Hosseini, Email: hoseini.smojtaba@yahoo.com