

تأثیر چهار هفته فعالیت هوازی داوطلبانه همراه با اینترفرون بتا بر سطوح سرمی عامل نکروز دهنده‌ی تومور آلفا (TNF- α) و اینترلوکین-۱۰ (IL-10) در موش‌های مدل مالتیپل اسکلروزیس

مریم وطن‌دوست^۱، علی زارع بنادکوکي^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اثرات ضد التهابی ورزش در بیماری‌های مزمن، با کاهش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و افزایش سایتوکاین‌های ضد التهابی میانجی‌گری می‌شود. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر ۴ هفته فعالیت هوازی داوطلبانه همراه با اینترفرون بتا، بر سطوح سرمی عامل نکروز دهنده‌ی تومور آلفا (Tumor necrosis factor alpha) یا TNF- α و اینترلوکین-۱۰ (IL-10 یا Interleukin 10) در موش‌های مدل مالتیپل اسکلروزیس (Multiple sclerosis یا MS) بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، ۸۰ سر موش ماده به ۸ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. جهت القای Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)، مخلوط (MOG) Myelin oligodendrocyte glycoprotein (35-55) به صورت زیرجلدی و سم سیاه سرفه به صورت داخل صفاقی به موش‌ها تزریق شد. پروتکل دارویی اینترفرون بتا به میزان ۱۵۰ واحد بین‌الملل در گرم و پروتکل ۴ هفته‌ای تمرین هوازی داوطلبانه با چرخ دوار روی گروه‌های درمان اجرا گردید. در پایان، نمونه‌های خونی از قلب استخراج شد و داده‌ها با استفاده از آزمون One-way ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: سطوح TNF- α در گروه مبتلا به MS دریافت‌کننده‌ی اینترفرون در مقایسه با گروه شاهد مبتلا به MS دریافت‌کننده‌ی اینترفرون، کاهش معنی‌دار ($P = 0/001$) و میزان IL-10 در مقایسه‌ی همین گروه‌ها افزایش معنی‌داری ($P = 0/010$) را نشان داد، اما فعالیت هوازی در کنار تزریق اینترفرون، به طور مؤثرتری منجر به افزایش IL-10 و کاهش TNF- α سرمی در گروه مبتلا به MS دریافت‌کننده‌ی اینترفرون و دونده در مقایسه با گروه شاهد مبتلا به MS دونده و دریافت‌کننده‌ی اینترفرون (نسبت به ورزش یا دارودرمانی به تنهایی) گردید ($P = 0/001$).

نتیجه‌گیری: فعالیت هوازی در کنار دارودرمانی شاید بتواند از طریق کنترل عوامل التهابی، منجر به بهبود بالینی و کیفیت زندگی بیماران مبتلا به MS شود.

واژگان کلیدی: عامل نکروز دهنده‌ی تومور آلفا؛ اینترلوکین-۱۰؛ مالتیپل اسکلروزیس

ارجاع: وطن‌دوست مریم، زارع بنادکوکي علی. تأثیر چهار هفته فعالیت هوازی داوطلبانه همراه با اینترفرون بتا بر سطوح سرمی عامل نکروز دهنده‌ی تومور آلفا (TNF- α) و اینترلوکین-۱۰ (IL-10) در موش‌های مدل مالتیپل اسکلروزیس. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۰؛ ۳۹ (۶۵۱): ۹۱۳-۹۰۶.

مقدمه

مالتیپل اسکلروزیس (Multiple sclerosis یا MS)، یک التهاب خودایمنی است که در نهایت، منجر به تخریب پیش‌رونده‌ی غلاف میلین و آسیب آکسون می‌شود و علائم آغازین آن شامل ضعف در اندام‌ها، اختلالات حسی، التهاب اعصاب بینایی و اتاکسی می‌باشد (۱-۲). ویژگی پاتوفیزیولوژی این بیماری، فعالیت سلول‌های گلیا و نفوذ سلول‌های تک هسته‌ای در سیستم عصبی مرکزی است. نفوذ این سلول‌های فعال شده، انواعی از تغییر دهنده‌های پاسخ‌های بیولوژیک شامل سایتوکاین‌ها و کیموکاین‌های پیش‌التهابی را تولید می‌کند که

نتیجه‌ی آن، از دست رفتن لایه‌ی میلین آکسون می‌باشد (۳-۴). سایتوکاین‌های مترشح‌شده از انواع سلول‌ها با تأثیر بر گیرنده‌های مناسب، هم‌ه‌ی مراحل پاسخ ایمنی را از ابتدا تا انتهای بیماری هماهنگ می‌کنند. در این راستا، عامل نکروز دهنده‌ی تومور آلفا (Tumor necrosis factor alpha یا TNF- α) یک سایتوکاین تنظیم‌کننده‌ی ایمنی است و در بیماری‌های التهابی معینی مانند MS دخیل می‌باشد. از طرف دیگر، اینترلوکین-۱۰ (IL-10 یا Interleukin 10) یک سایتوکاین ضد التهابی و تنظیم‌کننده‌ی کلیدی سیستم ایمنی است که پاسخ التهابی ناشی از آسیب بافتی را محدود و تولید

۱- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه پیام نور، البرز، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: مریم وطن‌دوست؛ استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تحقیق حاضر به تعیین این که آیا ورزش هوازی روش درمانی مناسبی برای کاهش شدت EAE است، کمک خواهد کرد. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر چهار هفته فعالیت هوازی داوطلبانه در کنار ایترفرون بتا بر سطوح سرمی TNF- α و IL-10 در موش‌های مدل EAE که تاکنون پذیرفته‌ترین مدل تجربی حیوانی برای MS بوده‌اند، انجام شد.

روش‌ها

این مطالعه‌ی تجربی بر روی ۸۰ سر موش سوری ماده‌ی نژاد C57BL/6 با سن ۱۰ تا ۱۲ هفته و وزن 20 ± 2 گرم انجام گردید. موش‌ها در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه خوارزمی کرج در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای 1 ± 23 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند و آب و غذای ویژه‌ی موش (شرکت خوراک دام به‌پرور) به میزان کافی در اختیار آن‌ها قرار داشت. با توجه به گزارش تحقیقات اخیر، موش ماده‌ی نژاد C57BL/6 به دلایل زیر انتخاب شد.

۱- در پژوهش‌ها گزارش شده است که موش‌های ماده (هم‌جوان و هم‌سن) زمانی که به صورت داوطلبانه به چرخ دوار دسترسی داشتند، مسافت بیشتر (۵۰-۴۰ درصد) را با میانگین سرعت بیشتری نسبت به نرها دویدند. ۲- تنوع دویدن در موش‌های ماده روز به روز متفاوت بود و در هر روز، با شدت و حجم متفاوتی دویدند که در مجموع، هم‌شدت و هم‌حجم فعالیت آن‌ها بیشتر از نرها بود. ۳- سازگاری قلبی-عروقی در پروتکل چرخ دوار داوطلبانه در طول ۲۰ روز، در موش ماده نسبت به نر بیشتر بود (۱۳-۱۲).

گروه‌های آزمایشی: در مطالعه‌ی حاضر، موش‌ها در هشت گروه ۱۰ تایی قرار گرفتند که در شش گروه موش‌های مدل EAE به صورت تصادفی تقسیم شدند و ۲۰ سر موش دیگر در دو گروه سالم (شاهد، دونده) قرار گرفتند و در نهایت، گروه‌ها به صورت ۱- گروه سالم شاهد شامل موش‌های سالم و فاقد EAE، ۲- گروه سالم دونده شامل موش‌های سالم و فاقد EAE که فقط چهار هفته دویدن روی چرخ دوار را تجربه کردند (RW)، ۳- گروه مبتلا به MS شامل موش‌های دارای EAE (MS)، ۴- گروه MS + دونده شامل موش‌های دارای EAE که چهار هفته فعالیت دویدن روی چرخ دوار را تجربه کردند (MS + RW)، ۵- گروه MS + ایترفرون شامل موش‌های دارای EAE که ایترفرون بتا-۱ دریافت کردند (MS + IFN)، ۶- گروه MS + حلال ایترفرون بتا-۱ شامل موش‌های دارای EAE که فقط حلال ایترفرون بتا-۱ دریافت کردند (MS + SOL)، ۷- گروه MS + محیط چرخ دوار + حلال شامل موش‌های دارای EAE که فقط حلال ایترفرون بتا-۱ دریافت کردند و

TNF- α را سرکوب می‌کند (۴). در تأیید این یافته‌ها، نتایج پژوهش‌های وطن‌دوست و همکاران (۵) و Martire و همکاران (۶) نشان داد که برخی از داروها از جمله ایترفرون بتا-۱ با خاصیت ضد التهابی، می‌تواند منجر به افزایش بیان IL-10 و کاهش میلین‌زدایی و شدت نشانه‌های جسمی در موش‌های مبتلا به Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) شود.

از آنجایی که مطالعات انجام شده روی فعالیت ورزشی و ایمونولوژی، ورزش منظم را به عنوان یک درمان ضد التهابی برای بیماران با اختلال التهابی مزمن برجسته کرده‌اند، شاید ورزش نقش بالقوه‌ای در کمک به درمان اختلالات التهاب عصبی دارد و به عنوان یک شاخص محیطی مهم، بتواند التهاب سیستمیک را در حیوانات و انسان‌ها کاهش دهد (۷). به نظر می‌رسد که تمرینات هوازی روی بخش‌هایی از مغز که در برابر MS آسیب‌پذیرتر هستند، نقش محافظتی دارد و سبب می‌شود قشر خاکستری مغز در حجم گسترده‌تری حفظ شود. Devasahayam و همکاران در تحقیق خود بیان کردند که ورزش‌های هوازی منظم، باعث بهبود عملکرد و کیفیت زندگی افراد مبتلا می‌شود و همچنین، در ایجاد تأخیر در شروع بیماری و کاهش شدت آن مؤثر است (۸). از طرف دیگر، White و Castellano در پژوهشی با نمونه‌های انسانی مبتلا به MS، مشاهده کردند که تمرینات هوازی منجر به افزایش TNF- α و کاهش IL-10 می‌شود (۹).

بنابراین، با علم به روند تنظیمی سایتوکاین‌های TNF- α و IL-10 به عنوان واسطه‌ی تأثیر فعالیت ورزشی بر بدن، به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی منظم بتواند از طریق کنترل التهاب و افزایش IL-10 که تولید TNF- α را سرکوب و جذب لکوسیت را به محل التهاب مهار می‌کند و بیان Human leukocyte antigen-DR (HLA-DR) را توسط مونوسیت/ماکروفاژها کاهش می‌دهد و همچنین، از طریق کاهش RNA پیام‌رسان TNF- α ، باعث کاهش TNF- α به عنوان یک سایتوکاین کاتابولیکی شود و در بهبود وضعیت بیماران مبتلا به MS مؤثر باشد (۱۰). در مطالعه‌ی مختارزاده و همکاران، نقش مثبت تمرینات هوازی با شدت متوسط بر علائم بالینی و حرکتی بیماران مبتلا به MS نسبت به تمرینات دیگر برجسته‌تر بوده است (۱۱).

از آنجا که درمان قطعی برای MS وجود ندارد، راهکارهای کاهش پیشرفت بیماری ممکن است کیفیت زندگی مبتلایان را بهبود بخشد و به دلیل این که روش‌های دارودرمانی به کار گرفته شده در MS به تنهایی اثربخش نیست (داروهای تنظیم‌کننده‌ی ایمنی مانند ایترفرون بتا)، فعالیت هوازی با شدت مناسب به عنوان یک روش غیر تهاجمی در کنار دارودرمانی با هدف کاهش التهاب، برای انواعی از اختلالات عصبی پدید آمده است (۷).

در مبتلایان به MS را اجرا کردند، مشخص شد که حداقل مدت زمان لازم برای سازگاری با تمرینات هوازی، ۳ هفته در نظر گرفته شد (۱۵). در مجموع، با توجه به یافته‌های مطالعات، دویدن داوطلبانه چرخ دوار در موش‌های C57، طی ۳ هفته‌ی اول افزایش می‌یابد که این موضوع در تعیین مدت زمان پروتکل تمرینی تحقیق حاضر مد نظر قرار گرفت (۱۵، ۱۲).

حیوانات به طور تصادفی به گروه‌های شاهد و تمرین تقسیم شدند. گروه بی‌تحرك در معرض همان محیط گروه تمرین قرار گرفت، اما چرخ‌های دستگاه قفل بود. به منظور اندازه‌گیری مسافت، زمان در دوره‌های ۲۴ ساعته از سیستم الکترونیکی و ادومتر تقریباً در زمان مشابه هر روز صبح استفاده شد (جدول ۱).

تیمار/اینترفرون: دو گروه از حیوانات ۱۵۰ واحد بین‌الملل در گرم میزان اینترفرون بتا-۱ (Cinovex-a، شرکت سینازن، ایران) به صورت زیرجلدی دریافت کردند. اینترفرون بتا-۱ در PBS حل شد. حیوانات از روز نهم و آغاز علائم بیماری مورد تیمار قرار گرفتند (۶).

خون‌گیری: پس از چهار هفته از القای بیماری و پایان تیمارها، حیوانات با استفاده از ترکیب ۷۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کتامین هیدروکلراید و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم زایلانین کشته شدند و خون استخراج شده از قلب در نیتروژن مایع منجمد و تحت دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری میزان شاخص‌های مورد سنجش، نگهداری شد.

سنجش فاکتورهای TNF- α و IL-1۰: شاخص‌های التهابی با استفاده از کیت‌های IL-1۰ (IL-10-KRC2341-Mouse، شرکت Biogen، آمریکا) و TNF- α (TNF-alpha Elisa BMS622-Mouse، شرکت Biogen، آمریکا) به روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) اندازه‌گیری گردید. در پژوهش حاضر، سرم نمونه‌ها ۲ ساعت پس از تزریق poly(I:c) با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه طی ۳ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ جداسازی گردید. سپس به منظور بررسی میزان سایتوکاین‌ها، در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. سایتوکاین‌های مورد نظر به منظور ایجاد تحریک در سیستم ایمنی تحت تزریق دز ثابت Lipopolysaccharides (LPS) (Sigma-Aldrich، آمریکا) قرار گرفتند و سپس طی مراحل ذکر شد، فرایند خون‌گیری و جداسازی سرم به منظور سنجش سایتوکاین‌های TNF- α و IL-1۰ برای نمونه‌ها صورت گرفت.

بر سکویی بالاتر از سطح چرخ دوار مستقر شدند (MS + EN + SOL). گروه ۸- MS + اینترفرون بتا-۱ + دویدن شامل موش‌های دارای EAE که اینترفرون دریافت و چهار هفته فعالیت روی چرخ دوار را تجربه کردند (MS + RW + IFN) نام‌گذاری شدند.

موش‌های مبتلا به EAE: القای EAE بر روی موش‌ها در مؤسسه‌ی اختلالات شناختی و رفتاری سالاری (تهران) انجام گردید. این بیماری بر اساس روش کاری که در ادامه آمده است، در حیوانات القا شد؛ ابتدا حیوان به وسیله‌ی تزریق صفاقی ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کتامین هیدروکلراید و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم زایلانین بی‌هوش شد. سپس ۳۰۰ میکروگرم Myelin oligodendrocyte glycoprotein (35-55) (MOG) در حجم ۱۰۰ میکرولیتر Phosphate-buffered saline (PBS) با ۵۰۰ میکروگرم مایکوباکتریوم که تسهیل و تشدیدکننده‌ی پاسخ‌های التهابی می‌باشد، در حجم ۱۰۰ میکرولیتر ادجوانت کامل (Complete Freund's Adjuvant) مخلوط و به صورت زیرجلدی در ناحیه‌ی هر دو پهلو تزریق گردید. بلافاصله پس از این تزریق و ۴۸ ساعت بعد، ۳۰۰ نانوگرم سم سیاه سرفه که نفوذپذیری سد خونی مغزی را به جهت نفوذ عامل‌های التهابی به Central nervous system (CNS) افزایش می‌دهد، به صورت داخل صفاقی تزریق گردید (۱۲).

برای تعیین این که آیا تفاوت‌های بالینی بین گروه‌ها وجود دارد، هشت موش در هر گروه از نظر رفتاری و شدت بیماری به مدت ۲۵ روز پس از تزریق MOG/ ادجوانت با استفاده از یک روش استاندارد امتیازدهی به معلولیت حرکتی مورد آزمایش قرار گرفتند (۱۲). روزی که نشانه‌های بالینی برای اولین بار مشاهده شد، روز شروع در نظر گرفته شد.

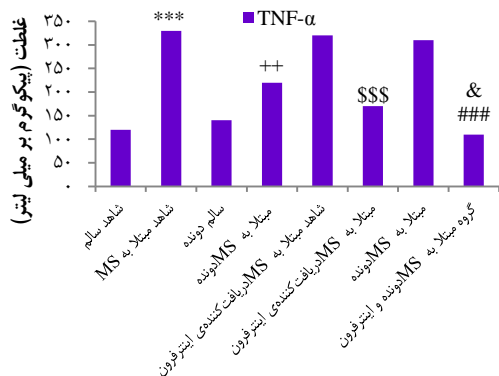
پروتکل تمرینی: برنامه‌ی تمرینی ۴ هفته‌ای دویدن روی چرخ دوار طبق پروتکل Pryor از روز نهم بعد از القای بیماری که بروز علائم بالینی در حیوانات شروع می‌شود (در پروتکل القای مدل EAE اجرا شده، علائم بالینی اغلب از روز نهم ظاهر می‌شود)، آغاز گردید (۱۴).

بر اساس مطالعات اخیر، در موش‌هایی که در معرض پروتکل چرخ دوار داوطلبانه قرار گرفتند، کل مسافت، زمان و سرعت دویدن در روز، طی هفته‌های اول به تدریج افزایش می‌یابد و پس از ۲ تا ۵ هفته به فلات می‌رسد. این مقادیر از هفته‌ی پنجم به بعد، به تدریج کاهش می‌یابد (۱۲). علاوه بر این، در پژوهش‌هایی که پروتکل تمرینی ۴ هفته‌ای هوازی

جدول ۱. پروتکل تمرینی گروه‌های تمرین

تعداد موش‌ها	گروه‌های تمرینی	نوع تمرین	سازگاری با محیط	طول دوره	تعداد جلسات	مدت
۳۰	۱- سالم دونده	دویدن داوطلبانه روی چرخ دوار	یک هفته	۲۸ روز	۷ جلسه در هفته	۲۴ ساعت روزانه
	۲- مبتلا به MS دونده					
	۳- مبتلا به MS دونده‌ی دریافت‌کننده‌ی اینترفرون					

MS: Multiple sclerosis

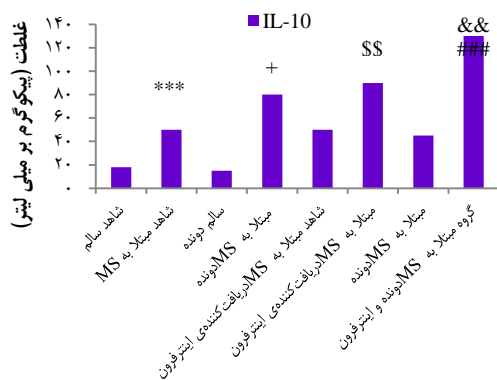


شکل ۱. میزان غلظت Tumor necrosis factor-α (TNF-α) در

گروه‌های مختلف

اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد سالم و گروه شاهد مبتلا به Multiple sclerosis (MS) ($P = 0/001$)، اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد مبتلا به MS دریافت‌کننده اینترفرون و گروه مبتلا به MS دریافت‌کننده اینترفرون ($P = 0/001$)، اختلاف معنی‌دار بین گروه مبتلا به MS دونه و اینترفرون و گروه مبتلا به MS دریافت‌کننده اینترفرون ($P = 0/001$)، اختلاف معنی‌دار بین گروه سالم دونه و اینترفرون ($P = 0/001$)، اختلاف معنی‌دار بین گروه سالم دونه و اینترفرون و گروه مبتلا به MS دونه و اینترفرون ($P = 0/050$)، اختلاف معنی‌دار بین گروه مبتلا به MS دونه و اینترفرون و گروه مبتلا به MS دونه ($P = 0/001$)

۴۳ درصد افزایش مقادیر وجود داشت ($P = 0/001$). کمترین سطوح IL-10 در گروه سالم دونه و بالاترین سطوح آن در گروه مبتلا به MS دونه‌ی تزریق‌کننده‌ی اینترفرون وجود داشت (شکل ۲).



شکل ۲. میزان غلظت Interleukin-10 (IL-10) در گروه‌های مختلف

اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد سالم و گروه شاهد مبتلا به Multiple sclerosis (MS) ($P = 0/001$)، اختلاف معنی‌دار بین گروه سالم دونه و گروه مبتلا به MS دونه ($P = 0/050$)، اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد مبتلا به MS تزریق‌کننده‌ی اینترفرون و گروه مبتلا به MS تزریق‌کننده‌ی اینترفرون ($P = 0/001$)، اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد مبتلا به MS دونه و اینترفرون و گروه مبتلا به MS دونه و اینترفرون ($P = 0/001$)، اختلاف معنی‌دار بین گروه سالم دونه و اینترفرون و گروه مبتلا به MS دونه و اینترفرون ($P = 0/001$)

علایم بالینی حیوانات قبل از القای EAE و هفت روز پس از آن، تا پایان مطالعه روزانه جهت بررسی ناتوانی حرکتی مطابق پروتکل Expanded Disability Status Scale (EDSS) نمره‌دهی شد.

روش‌های اخلاقی رفتار با حیوانات منطبق با کنوانسیون‌های بین‌المللی و اصول اخلاقی در پژوهش‌های حیوانی زیر نظر دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز رعایت گردید.

جهت مقایسه‌ی میانگین داده‌های بین گروهی، از آزمون One-way ANOVA استفاده شد. داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

کاهش چشمگیر حجم تمرین پس از شروع EAE گروه موش‌های تمرینی، $4/3 \pm 5/5$ کیلومتر در اوج (روز دوازدهم پس از تزریق) و میانگین $1/3 \pm 4/4$ کیلومتر قبل از شروع EAE دویندند. از روز چهاردهم به بعد، موش‌ها فقط $0/7 \pm 0/5$ کیلومتر در روز دویندند تا این که پس از روز ۲۵ به پایان تیمار رسیدند که تفاوت قابل توجهی با حجم تمرینی که قبل از شروع علائم بالینی بیماری انجام شده بود، داشت. حجم ورزش قبل از شروع بیماری به طور قابل توجهی بیشتر بود ($P \leq 0/010$) (۸ سر موش). همچنین، کاهش وزن هم‌زمان با شروع EAE اتفاق افتاد و تفاوت معنی‌داری بین حیوانات EAE که در معرض ورزش‌های داوطلبانه یا شرایط بی‌تحرك قرار داشتند، مشاهده نشد.

نتایج آزمون One-way ANOVA نشان داد که در گروه‌های مختلف، دوره‌های تمرین هوازی بر پاسخ TNF-α سرم تأثیرگذار بود. میانگین مقادیر TNF-α در گروه شاهد مبتلا به MS نسبت به گروه شاهد سالم با افزایش حدود ۳ برابری همراه بود و بیانگر میزان و شدت بالای آسیب بود ($P = 0/001$). همچنین، نتایج به دست آمده بین گروه شاهد مبتلا به MS و گروه مبتلا به MS تزریق‌کننده‌ی اینترفرون، تغییراتی بالغ بر ۴۰ درصد بالاتر بودن غلظت TNF-α در گروه شاهد را گزارش داد ($P = 0/001$). اختلاف معنی‌دار بین میانگین گروه مبتلا به MS دونه‌ی اینترفرون با میانگین گروه شاهد مبتلا به MS دونه ($P = 0/001$) با تغییرات ۵۰ درصدی به نفع کنترل غلظت این عامل التهابی نسبت به درمان دارویی و دویند بود (شکل ۱).

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که دوره‌های تمرین هوازی بر پاسخ IL-10 در گروه‌های مختلف اثرگذار بود. بین گروه مبتلا به MS دونه با گروه مبتلا به MS غیر فعال، نزدیک به ۵۰ درصد تفاوت در پاسخ IL-10 وجود داشت ($P = 0/010$). همچنین، بین گروه مبتلا به MS دونه و گروه مبتلا به MS دونه‌ی اینترفرون،

با شدت متوسط و بالا بر سطوح TNF- α و IL-10 در زنان را بررسی و کاهش معنی‌دار TNF- α و عدم تغییر در سطوح سرمی IL-10 را گزارش نمودند (۱۱). همسو با نتایج تحقیق حاضر، White و همکاران (۱۷) و رضایی و همکاران (۱۸) با انجام پژوهش‌هایی دریافتند که احتمالاً فعالیت ورزشی منظم، منجر به فعالیت خوب گیرنده‌ی TNF- α P57 می‌شود که از این طریق، تکثیر سلول‌های عصبی را القا می‌کند.

Pedersen و همکاران گزارش کردند که تمرینات شدید هوازی یا با حجم بالا (از جمله ماراتن) منجر به افزایش معنی‌داری در سطوح TNF- α و IL-6 می‌شود (۱۹). Cabral-Santos و همکاران در مطالعه‌ی مروری خود به یافته‌های تقریباً مشابهی دست یافتند؛ به طوری که سطح IL-10 با افزایش معنی‌داری همراه بود، اما TNF- α تغییر چندانی نداشت (۲۰). همچنین، Cerqueira و همکاران گزارش کردند که سطح سایتوکاین‌های TNF- α و IL-10 در اثر فعالیت ورزشی با شدت فزاینده، تغییر می‌کند که این روند در مدت زمان ریکاوری بعد از فعالیت ورزشی ادامه‌دار گزارش شد (۲۱). Castellano و همکاران در تحقیق خود، کاهش غلظت استراحتی IL-10 به میزان ۱۷ درصد را با تمرین هوازی عنوان کردند (۲۲) که با یافته‌های بررسی حاضر مغایرت داشت. در پژوهش White و همکاران، کاهش سطح IL-10 پس از یک دوره‌ی تمرین مقاومتی گزارش شد (۱۷) در خصوص علت‌یابی نتایج مطالعات مختلف، می‌توان به عوامل متعددی از جمله سطح آمادگی جسمانی، جنسیت، نوع و شدت تمرین و تفاوت‌های ژنتیکی آزمودنی‌ها اشاره کرد. بررسی‌ها نشان می‌دهد افراد ورزشکار و فعال که به طور مستمر در فعالیت‌های ورزشی شرکت دارند، از سطح پایین‌تر یا تقریباً مشابهی از سایتوکاین‌های TNF- α و IL-6 در مقایسه با افراد کم‌تجربه برخوردار هستند (۱۰). از طرف دیگر، جنسیت نیز می‌تواند عامل مؤثری در این فرایند باشد. محققان اعتقاد دارند که زنان در مقایسه با مردان، از سطح TNF- α بالاتری برخوردار هستند (۱۱).

یکی از مکانیسم‌های مؤثر در کاهش TNF- α ، افزایش سایتوکاین‌های ضد التهابی همچون IL-10 و IL-4 و تأثیر آن‌ها بر مهار سایتوکاین‌های التهابی مانند TNF- α است که در پژوهش حاضر با توجه به تغییرات IL-10 تأیید می‌شود. ساز و کارهای پیشنهادی مطالعات در این زمینه عنوان می‌کنند که TNF- α قادر است تنظیم اولیه‌ی رونویسی IL-10 که از طریق تحریک فعال‌سازی پروتئین-1 تشخیصی توسط پروموتور IL-10 است را انجام دهد. با این فرضیه که تولید IL-10 نیاز به حداقل دو سیگنال ۱. توسط LPS (یا معیار فیزیولوژیک آن) و ۲. توسط TNF- α و یا IL-1 درون زاد دارد (۲۳). کاهش TNF- α نشان از سازگاری بدن با تمرینات ورزشی در جهت ایجاد محیط ضد التهابی است که دلایل آن در ادامه آمده است. الف) تولید C-Reactive Protein (CRP) کبدی به وسیله‌ی IL-6،

تظاهرات اولیه‌ی علائم بالینی EAE در موش‌های بی‌تحرك در روز ۰/۵ ± ۱۲/۳ شروع شد؛ در حالی که موش‌های EAE که در معرض ورزش داوطلبانه قرار داشتند، با تأخیر در روز ۰/۶ ± ۱۴/۳ پس از تزریق، شروع بیماری را تجربه کردند و به طور قابل توجهی نمره‌ی بیماری پایین‌تری را کسب کردند (P ≤ ۰/۰۱۰). بنابراین، در مقایسه میانگین گروه‌های شاهد مبتلا به MS و شاهد سالم و بین میانگین گروه‌های مبتلا به MS دونه و مبتلا به MS دریافت‌کننده‌ی اینترفرون و مبتلا به MS دونه‌ی اینترفرون با گروه شاهد مبتلا به MS، اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P = ۰/۰۰۱).

بحث

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین هوازی داوطلبانه در کنار اینترفرون بتا بر سطوح سرمی TNF- α و IL-10 در موش‌های مدل MS بود. نتایج نشان داد که EAE منجر به افزایش میزان TNF- α و IL-10 در موش‌های مدل نسبت به موش‌های سالم می‌شود. ویژگی پاتوژنیک MS، فعالیت سلول‌های گلیا و نفوذ سلول‌های تک هسته‌ای در CNS است که نفوذ این سلول‌های فعال شده، انواعی از تغییردهنده‌های پاسخ‌های بیولوژیک شامل سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند TNF- α را تولید می‌کند و نتیجه‌ی آن، از دست رفتن لایه‌ی میلین آکسون است (۳).

با این حال، فعالیت هوازی دویدن در گروه مبتلا به MS تا ۲۰ درصد کاهش مقادیر TNF- α را نسبت به گروه مبتلا به MS بی‌تحرك نشان داد. اختلاف معنی‌داری در سطوح سرمی TNF- α در گروه شاهد مبتلا به MS نسبت به گروه شاهد سالم و مبتلا به MS دونه وجود داشت. نکته‌ی قابل توجه، کاهش معنی‌دار میانگین غلظت TNF- α در گروه موش‌های مبتلا به MS که هم‌زمان با مصرف اینترفرون تمرین هوازی انجام می‌دادند، نسبت به گروه مبتلا به MS که فقط داروی اینترفرون دریافت می‌کردند، بود.

بر اساس نتایج تحقیق حاضر، افزایش میانگین غلظت IL-10 در گروه‌های مبتلا به MS که تمرین هوازی داشتند و یا هم‌زمان با تمرین، داروی اینترفرون مصرف می‌کردند، نسبت به گروه‌های شاهد سالم و مبتلا به MS دریافت‌کننده‌ی دارو، حایز اهمیت است.

وطن‌دوست و همکاران در پژوهش تجربی خود به این نتیجه رسیدند که تمرین هوازی شنا، منجر به افزایش معنی‌دار سطوح سرمی IL-10 و کاهش TNF- α در موش‌های EAE می‌شود (۵) که با نتایج بررسی حاضر همسو بود. حسینی و همکاران نیز در مطالعه‌ی خود، کاهش معنی‌دار TNF- α و افزایش IL-10 را به دنبال تمرین مقاومتی در موش‌های مبتلا به MS گزارش کردند (۱۶) که با یافته‌های بررسی حاضر همخوانی داشت. مختارزاده و همکاران، اثر تمرین تناوبی هوازی

نتیجه گیری

مطالعات گسترده تر در مورد ورزش و EAE، شواهد بیشتری در علوم پایه ارایه خواهد داد؛ چرا که تأثیرات فیزیولوژیک و توان بخشی تمرینات هوازی اهمیت زیادی برای افراد مبتلا به MS دارد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد هنگامی که فعالیت هوازی با شدت زیربیشینه تا متوسط به طور منظم در موش انجام شد، به طور مداوم پیشرفت علائم پاتولوژیک EAE کاهش یافت. در نتیجه چربی پاسبی، فعالیت هوازی یک مداخله مهم غیر دارویی جهت کمک به بهبود بیماری های واسطه ای ایمنی مانند MS است. شکل ها نشان دهنده ای اثرات مفید ورزش در طول انجام پژوهش در نمونه های فعال مدل آزمایش بود و پیشرفت بیماری را با توجه به میانگین حداکثر نمره ی بالینی (به ترتیب ۱/۵ و ۱)، کند کرد.

پیشنهاد می شود که بیماران مبتلا به MS با مشورت پزشک خود، از تمرینات هوازی به عنوان یک عامل کمک درمانی در کنار درمان دارویی استفاده نمایند. پژوهش حاضر طی ۴ هفته ی تمرینی صورت گرفت. از این رو، پیشنهاد می گردد اثرات تمرینات بلندمدت هوازی با شدت های مختلف، بر سطوح سایتوکاین های ضد التهابی در نمونه های انسانی این بیماری مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

مطالعه ای حاضر برگرفته از رساله ی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی (گرایش قلب و عروق) با شماره ی ۱۳۵۹۹۷۱، مصوب دانشکده ی تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه خوارزمی می باشد.

TNF- α و IL-۱ تحریک می شود و بر اساس مطالعات، فعالیت جسمانی موجب کاهش سطح IL-۶، TNF- α و IL-۱ می شود و به دنبال آن، تولید CRP نیز کاهش می یابد (۲۴). ب) تمرین بلندمدت، تولید سلول های تک هسته ای سایتوکاین های آتروژنز (IL-1 α ، TNF- α و اینترفرون گاما) را تضعیف می کند. ج) تمرین بلندمدت، تولید سایتوکاین های ضد التهابی مانند IL-۴، IL-۱۰ و IL-۸ را تحریک می کند (۲۵). ساز و کار دیگر، کاهش در میزان استرس و اضطراب بالینی است که با نتایج یافته های Paolucci و همکاران (۲۶) و بشیری و همکاران (۲۷) همسو است.

از دلایل افزایش TNF- α در گروه های مبتلا به MS دهنده و شاهد، می توان به فعال سازی گیرنده ی β -آدرنرژیک اشاره کرد که شاید بتواند ترشح سایتوکاین های التهابی را افزایش دهد (۲۸).

دویدن روی چرخ دوار منجر به بروز اثرات چند سویه و متفاوتی می شود که از آن جمله می توان به بهبود علائم حرکتی و تفاوت مشهود در میزان امتیازات بالینی اشاره کرد (۲۹-۳۰). مختارزاده و همکاران در مطالعه ای خود گزارش کردند که تمرین تناوبی هوازی می تواند بر خستگی، بهبود عملکرد حرکتی و کیفیت زندگی مبتلایان به MS تأثیر مثبت بگذارد (۱۱).

شروع بیماری در نمونه های تحقیق حاضر کاملاً متغیر و از حالت ناگهانی بروز بیماری تا حالت مرموز و پیش رونده که علائم بالینی نداشت، بود. تا آن جا که در برخی نمونه ها بدون هیچ گونه علامتی، مرگ و خارج شدن از گروه رخ می داد که تلفات غیر قابل کنترل نمونه ها، از محدودیت های پژوهش به شمار می رود.

References

- Lassmann H. Multiple sclerosis pathology. Cold Spring Harb Perspect Med 2018; 8(3): 29358320 .
- Sospedra M, Martin R. Immunology of multiple sclerosis. Semin Neurol 2016; 36(2): 115-27.
- 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.
- Skaper SD, Facci L, Zusso M, Giusti P. An inflammation-centric view of neurological disease: Beyond the neuron. Front Cell Neurosci 2018; 12: 72.
- Vatandoust M, Seyed Alhosseini SM, Nasirzadeh A, Jourabloo A. The effect of 4 weeks of aerobic activity on the ratio of Serum levels of tumor necrosis factor alpha, interleukin-10 and brain-derived neurotrophic factor in C57 rat brain tissue by induction of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2018; 26(7): 624-45. [In Persian].
- Martire S, Navone ND, Montarolo F, Perga S, Bertolotto A. A gene expression study denies the ability of 25 candidate biomarkers to predict the interferon-beta treatment response in multiple sclerosis patients. J Neuroimmunol 2016; 292: 34-9.
- Kim Y, Lai B, Mehta T, Thirumalai M, Padalabalanarayanan S, Rimmer JH, et al. Exercise training guidelines for multiple sclerosis, stroke, and parkinson disease: rapid review and synthesis. Am J Phys Med Rehabil 2019; 98(7): 613-21.
- Devasahayam AJ, Downer MB, Ploughman M. The effects of aerobic exercise on the recovery of walking ability and neuroplasticity in people with multiple sclerosis: A systematic review of animal and clinical studies. Mult Scler Int 2017; 2017: 4815958.
- White LJ, Castellano V. Exercise and brain health--implications for multiple sclerosis: Part 1--neuronal growth factors. Sports Med 2008; 38(2): 91-100.
- Abd El-Kader SM, Al-Shreef FM, Al-Jiffri OH. Impact of aerobic exercise versus resisted exercise on endothelial activation markers and inflammatory cytokines among elderly. Afr Health Sci 2019; 19(4): 2874-80.
- Mokhtarzade M, Ranjbar R, Majdinasab N, Patel D,

- Molanouri SM. Effect of aerobic interval training on serum IL-10, TNF α , and adipokines levels in women with multiple sclerosis: Possible relations with fatigue and quality of life. *Endocrine* 2017; 57(2): 262-71.
12. Manzanares G, Brito-da-Silva G, Gandra PG. Voluntary wheel running: patterns and physiological effects in mice. *Braz J Med Biol Res* 2018; 52(1): e7830.
 13. Bartling B, Al-Robaity S, Lehnich H, Binder L, Hiebl B, Simm A. Sex-related differences in the wheel-running activity of mice decline with increasing age. *Exp Gerontol* 2017; 87(Pt B): 139-47.
 14. Pryor Wm. Effects Of Exercise On Neuroprotection In Experimental Autoimmune Encephalomyelitis [PhD Thesis]. Athens, Ga: University Of Georgia; 2012.
 15. Andreassen AK, Stenager E, Dalgas U. The effect of exercise therapy on fatigue in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2011; 17(9): 1041-54.
 16. 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- α), 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. [In Persian].
 17. White LJ, Castellano V, Mc Coy SC. Cytokine responses to resistance training in people with multiple sclerosis. *J Sports Sci* 2006; 24(8): 911-4.
 18. Rezaee S, Kahrizi S, Nabavi SM, Hedayati M. VEGF and TNF- α responses to acute and chronic aerobic exercise in the patients with multiple sclerosis. *Asian J Sports Med* 2020; 11(3): e98312.
 19. Pedersen BK, Steensberg A, Schjerling P. Exercise and interleukin-6. *Curr Opin Hematol* 2001; 8(3): 137-41.
 20. Cabral-Santos C, de Lima Junior EA, Fernandes IMDC, Pinto RZ, Rosa-Neto JC, Bishop NC, et al. Interleukin-10 responses from acute exercise in healthy subjects: A systematic review. *J Cell Physiol* 2019; 234(7): 9956-65.
 21. Cerqueira E, Marinho DA, Neiva HP, Lourenco O. Inflammatory effects of high and moderate intensity exercise-a systematic review. *Front Physiol* 2019; 10: 1550.
 22. 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.
 23. Morgan JA, Singhal G, Corrigan F, Jaehne EJ, Jawahar MC, Baune BT. TNF signalling via the TNF receptors mediates the effects of exercise on cognition-like behaviours. *Behav Brain Res* 2018; 353: 74-82.
 24. Koh Y, Park KS. Responses of inflammatory cytokines following moderate intensity walking exercise in overweight or obese individuals. *J Exerc Rehabil* 2017; 13(4): 472-6.
 25. Negaresh R, Motl RW, Mokhtarzade M, Dalgas U, Patel D, Shamsi MM, et al. Effects of exercise training on cytokines and adipokines in multiple Sclerosis: A systematic review. *Mult Scler Relat Disord* 2018; 24: 91-100.
 26. Paolucci EM, Loukov D, Bowdish DME, Heisz JJ. Exercise reduces depression and inflammation but intensity matters. *Biol Psychol* 2018; 133: 79-84.
 27. Bashiri H, Enayati M, Bashiri A, Salari AA. Swimming exercise improves cognitive and behavioral disorders in male NMRI mice with sporadic Alzheimer-like disease. *Physiol Behav* 2020; 223: 113003.
 28. Suzuki K. Cytokine response to exercise and its modulation. *Antioxidants (Basel)* 2018; 7(1): 17.
 29. Guo LY, Lozinski B, Yong VW. Exercise in multiple sclerosis and its models: Focus on the central nervous system outcomes. *J Neurosci Res* 2020; 98(3): 509-23.
 30. Trenova AG, Miteva LD, Stanilova SA. Association between TNFA, IL10 and IL18 promoter gene variants and cognitive functions in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2020; 347: 577357.

The Effect of 4 Weeks of Voluntary Aerobic Activity along with Interferon Beta on Serum Levels of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) and Interleukin 10 (IL-10) in Mice Model of Multiple Sclerosis

Maryam Vatandoust¹, Ali Zare-Banaadkouki²

Original Article

Abstract

Background: The anti-inflammatory effects of exercise in chronic diseases are mediated by a decrease in pro-inflammatory cytokines and an increase in anti-inflammatory cytokines. The Aim of this study was to evaluate the effect of 4 weeks of voluntary aerobic activity along with interferon beta on the serum levels of tumor necrosis factor alfa (TNF- α) and interleukin 10 (IL-10) in mice model of multiple sclerosis.

Methods: In this experimental study, a total number of 80 female mice were divided into eight groups. To induce of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE), mixture of myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) (35-55) was injected subcutaneously, and pertussis toxin was injected intraperitoneally. The interferon beta drug protocol in amount of 150 IU/g as well as the 4-week protocol of voluntary aerobic exercise with running wheel were administered to the treatment groups. Finally, blood samples were taken from the heart and data analysis was done using one-way ANOVA test.

Findings: TNF- α levels in the MS+INF- β group significantly reduced compared to the MS + solvent group ($P = 0.0010$), and a significant increase was observed in the amount of IL-10 in comparison with the same groups ($P = 0.01$). But aerobic activity along with interferon beta-1 treatment, more effectively led to an increase in IL-10 of serum and a decrease in serum TNF- α in MS + INF- β + running wheel group compared to MS + solvent + running wheel group (compared to exercise or medication alone) ($P = 0.001$).

Conclusion: Aerobic activity along with medication may possibly lead to clinical improvement and quality of life in patients with MS by controlling inflammatory factors.

Keywords: Tumor necrosis factor-alpha; Interleukin-10; Multiple sclerosis

Citation: Vatandoust M, Zare-Banaadkouki A. **The Effect of 4 Weeks of Voluntary Aerobic Activity along with Interferon Beta on Serum Levels of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) and Interleukin 10 (IL-10) in Mice Model of Multiple Sclerosis.** J Isfahan Med Sch 2022; 39(651): 906-13.

1- Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Payame Noor University, Tehran, Iran

2- Department of Exercise Physiology, Payame Noor University, Alborz, Iran

Corresponding Author: Maryam Vatandoust, Assistant Professor, Department of Exercise physiology, Payame Noor University, Tehran, Iran; Email: maryam.vatandost@pnu.ac.ir