

اثر پیش درمان تمرینات اینتروال همراه با ویتامین دی بر BDNF، IL-10 و TNF در مغز رت های مدل آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی (EAE)

سید مجتبی حسینی^۱، ضیاء فلاح محمدی^۲، وحید طالبی^۳

۱. دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران*

۳. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۰۱

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر پیش درمان تمرینات اینتروال و ویتامین دی (D) بر فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و TNF در مغز رت های مدل آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی (EAE) انجام شد. بدین منظور، ۳۰ سر رت نژاد لوئیس شش هفته‌ای، پنج روز در هفته و به مدت شش هفته تمرینات دوی اینتروال را به صورت ۱۰ تکرار ۱ دقیقه‌ای انجام دادند. نسبت کار به استراحت ۱ به ۲ و کل زمان دویدن ۳۰ دقیقه در نظر گرفته شد. بعد از اتمام دوره تمرینی، رت ها با نخاع خوکچه هندی و ادجوانت کامل ایمونیزه شدند. روند بیماری و تغییرات بالینی رت ها به مدت ۲ هفته بعد از القاء مدل بیماری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد رت های ماده نژاد لوئیس مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی افزایش معنی داری در اینترلوکین-۱۰ (IL-10) ($P=0.003$) و کاهش معنی داری در فاکتور نکروز توموری آلفا (TNF- α) ($P=0.001$) داشتند اما تغییرات BDNF ($P=0.62$) به حد معناداری نرسید. همچنین علائم بالینی در موش ها تمرین کرده با تاخیر ظاهر شد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر، به نظر می رسد که تمرین اینتروال به مدت شش هفته به همراه ویتامین D میتواند ضمن به تاخیر انداختن بروز علائم بالینی، ذخایر شاخص های ضدالتهابی و التهابی را در مغز مدل های مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی افزایش داده و در نتیجه به حفاظت عصبی کمک نماید.

واژگان کلیدی: تمرین اینتروال، ویتامین D، ضدالتهابی، سایتوکاین

مقدمه

مالتیپل اسکلروزیس^۱ (MS) یک بیماری التهابی سیستم عصبی مرکزی است که احتمالاً منشأ خود ایمنی دارد. همچنین این فرضیه وجود دارد که این بیماری ترکیبی از عوامل ژنتیکی و محیطی است (۱). یکی از عوامل محیطی که در طول دهه‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است ویتامین دی (D) می‌باشد. مهم‌ترین القاء کننده‌های بیماری MS، قرار گرفتن در معرض کم نور خورشید و مصرف کم ویتامین دی است (۲). هر قدر میزان مولکول حد واسط ویتامین دی یعنی مولکول ۲۵-هیدروکسی ویتامین دی در خون بالاتر باشد، ریسک عود بیماری در ۶ ماهه آینده کمتر خواهد بود (۳). مطالعات انجام شده بر روی آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی^۲ (EAE) (مدل حیوانی مالتیپل اسکلروزیس) نیز نشان می‌دهد که ویتامین دی از پیشرفت بیماری جلوگیری می‌کند (۴). اگر چه ویتامین دی در کنترل علائم بیماری MS استفاده می‌شود اما چگونگی مهار آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی توسط ویتامین دی مشخص نیست (۵). علاوه بر این در شرایط آزمایشگاهی قرار گرفتن در معرض 1,25(OH)2D از تکثیر سلول CD4 T جلوگیری و تولید سایتوکاین پیش‌التهابی (IFN- و TNF-) و سایتوکاین‌های ضدالتهابی (IL-4 و IL-10) را توسعه می‌دهد (۶).

نشان داده شده است که فعالیت بدنی از تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در نخاع موش مدل EAE جلوگیری می‌کند. با توجه به این موضوع، سلول‌های طحال بدست آمده از رت‌های القاء شده با MOG35-55 که تمرین مقاومتی انجام داده بودند نیز نشان داد که تنظیم افزایشی IL-10^۳ با کاهش عمده در TNF-^۴ در طول مرحله حاد و مزمن مدل EAE همراه است (۷). از سوی دیگر، فعالیت ورزشی به عنوان یکی از عوامل بالقوه اصلی تعدیل کننده سلول‌های T کمکی سایتوکاین‌ها در افراد سالم و بیمار می‌باشد (۸). آثار ضدالتهابی تمرین در بیماری‌های مزمن به واسطه کاهش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مثل TNF- و افزایش غلظت سایتوکاین‌های ضدالتهابی IL-10 است (۹). از طرفی مشاهدات در تمرینات اختیاری نشان داده است که فعالیت ورزشی نمی‌تواند عناصر التهابی رت‌های مدل EAE را تحت تاثیر قرار دهد ولی می‌تواند اثرات مستقیم محافظت نرونی اعمال کند (۱۰).

احتمالاً انتشار نوروتروفیک‌هایی مانند فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز^۵ (BDNF) در شرایط بالینی و نیز تاثیر نوروپاتولوژیکی ورزش در EAE نقش داشته باشد. همچنین تحریک BDNF تاثیر درمانی

1. Multiple Sclerosis
2. Experimental Autoimmune Encephalomyelitis
3. Interleukin 10
4. Tumor Necrosis Factor Alpha
5. Brain-Derived Neurotrophic Factor
6. Neuropathological

در EAE و MS دارد (۱۰). نشان داده شده است که BDNF مقاومت CNS را در برابر ضایعه دمیلینه کننده بالا می‌برد (۱۱). استادلمن^۱ و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که در مغز بیماران MS فاکتور BDNF نه تنها در سلول‌های عصبی بلکه در لنفوسیت‌های T و ماکروفاژ، بخصوص در فضای عروقی بیان می‌شود در حالی که این در افراد سالم مشاهده نشد (۱۲). BDNF بالا در مغز موش‌های بیمار EAE می‌تواند نشان دهنده مکانیزم خود ترمیمی به دنبال کاهش ناشی از بیماری باشد (۱۳). با این حال اغلب مطالعات منتشر شده نتایج متناقضی منتشر کرده‌اند. در طول بهبودی نشان داده شد که سطح BDNF بدون تغییر (۱۴) کاهش (۱۵،۱۶) یا افزایش (۱۷،۱۸) یافت. دو پروتکل ورزشی هوازی که عموماً در مراکز فعالیت‌های ورزشی وابسته به سلامتی با هدف ارتقای سطح تندرستی دستگاه‌های بدن مورد استفاده قرار می‌گیرد شامل دوی استقامتی تداومی و دویدن اینتروال است. هر دوی این پروتکل‌ها در بهبود عملکرد ورزشی و کاهش ریسک فاکتورهای سلامتی دارای تاثیر یکسانی می‌باشند. استفاده از تمرینات اینتروال شاید به چند دلیل ترجیح داده می‌شوند که شامل: کارایی بالاتر، تحمل پذیری بیشتر و تداوم اجرای برنامه توسط شرکت کنندگان بدون به خطر افتادن سلامتی افراد می‌باشد. در تمرینات اینتروال می‌توان کار بیشتری را با شدت بالاتر و خستگی کمتر انجام داد، در نتیجه می‌تواند تاثیر بالقوه‌ای در سلامتی مغز داشته باشد. در یک مطالعه تاثیر تمرینات اینتروال با شدت بالاتر با تمرینات تداومی مقایسه شد نتایج نشان داد که تمرینات اینتروال با شدت بالا تاثیر بیشتری روی سطوح BDNF داشت (۱۹).

هدف ما در این مطالعه یافتن پاسخ به این سوال بود که آیا برنامه تمرینات دوی نسبتاً شدید اینتروال همراه با مصرف ویتامین دی پیش از القای بیماری EAE به عنوان یک ابزار پیشگیرانه می‌تواند موجب کاهش التهاب نورونی و شاخص‌های آن یعنی سایتوکاین‌های التهابی، و افزایش سایتوکاین‌های ضدالتهابی شود یا خیر؟ از آنجایی که مطالعات انجام شده از نقش درمانی ورزش منظم به عنوان ابزار ضدالتهابی برای بیماران مبتلا به بیماری‌های مزمن التهابی یاد می‌کنند تمرین ورزشی ممکن است نقش درمانی بر روی التهاب عصبی و بیماری‌های عصبی نیز داشته باشد. بنابراین، هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر پیشگیرانه ورزش اینتروال به همراه مصرف ویتامین دی در بهبود بیماری با توجه به تعدیل سایتوکاین‌ها و BDNF در بافت مغز مدل القاء شده EAE در رت‌های ماده نژاد لوئیس بود.

روش پژوهش

در این مطالعه تجربی، ۳۰ سر رت ماده نژاد لوئیس شش هفته‌ای از موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج تهیه شد که پس از انتقال به آزمایشگاه، به مدت ۲ هفته، برای سازگاری با محیط

جدید، در قفس‌های شفاف پلی کربنات در محیطی با دمای $22 \pm 1/14$ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵-۵۵ درصد و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگه داری شدند. حیوانات به طور تصادفی به پنج گروه که در هر گروه پنج سر رت وجود داشت تقسیم بندی شدند. گروه‌های تحقیق عبارت بودند از: حلال (H)، کنترل سالم (CO-S)، کنترل MS (CO-EAE)، کنترل MS (CO-EAE-)، کنترل MS (EX-S-D)، ویتامین D اینتروال (EX-S-D) و ویتامین D اینتروال MS (EX-EAE-D). در ضمن طی دوره پژوهش غذای استاندارد و آب به صورت آزاد و از طریق بطری‌های ویژه در دسترس حیوانات قرار داده شد.

پروتکل بر روی نوار گردان ویژه موش‌ها (ساخت ایران دانشگاه مازندران دانشکده علوم ورزشی) با ۱۰ ریل و مجهز به شیب سنج و دارای صفحه نمایشگر سرعت و مسافت و ولتاژ اجرا شد. قبل از اجرای برنامه تمرینی، آزمودنی‌ها به مدت یک هفته با محیط و نحوه فعالیت روی نوار گردان آشنا شدند. برنامه تمرین اینتروال در هفته دوم و طی شش هفته تمرین در هر جلسه شامل ۱۰ تکرار یک دقیقه‌ای بود. نسبت کار به استراحت یک به دو و کل زمان دویدن ۳۰ دقیقه در نظر گرفته شد (۲۰).

جهت القاء مدل بیماری، آزمودنی‌ها با استفاده از نخاع خوکچه هندی (تهیه شده از موسسه سرم سازی رازی کرج) و ادجوانت کامل فروند^۱ که حاوی مایکوباکتری‌های کشته شده در امولسیون آب و روغن می‌باشد ایمونیزه^۲ شدند. در ابتدا خوکچه هندی توسط کلروفورم بیهوش شدند. سپس با خارج کردن نخاع در پتری دیش حاوی سالیین گذاشته شد. نخاع برای ادامه کار به مدت ۲۵ دقیقه به دمای ۴۰- انتقال داده شد. غلظت مایکوباکتریوم موجود در ادجوانت‌های کامل فروند تجاری یک میلی گرم بر میلی لیتر بود که آن حداقل به چهار میلی گرم بر میلی لیتر رسانیده شد (۲۱). روند بیماری روزانه مورد ارزیابی قرار گرفت. مدل EAE در انتهای هفته ششم تمرینات القاء شد و تمرینات متوقف گردید. 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- فلجی هر دو پا، ۶- فلجی چهار دست و پا و ۷- مرگ بود (۲۱).

رت‌های مبتلا به EAE به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن دو میکروگرم ویتامین‌دی در ۱۵۰ میکرولیتر روغن کنجد هر دو روز یک بار به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. در گروه کنترل EAE به هر موش ۱۵۰ میکرولیتر روغن کنجد هر دو روز یک بار به صورت داخل صفاقی تجویز شد. درمان با ویتامین دی دو هفته قبل از القاء EAE آغاز شده و تا زمان کشتار یعنی پایان هفته هشتم ادامه یافت.

1. Sigma F5881,CFA
2. Immunization

انتخاب دوز تزریقی ویتامین در این مطالعه براساس مطالعه مشابه‌ای بود که از این ویتامین جهت درمان بیماری‌ها در مدل‌های حیوانی استفاده شده بود (۲۲). رت‌ها با تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلوزین بیهوش شدند. بعد از خارج کردن کل مغز از جمجمه، بلافاصله در ازت مایع قرار گرفت. بافت پس از منجمد شدن در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از هموژنایز کردن و سانتریفیوژ^۱ محلول، غلظت BDNF با کیت تجاری زل بیو^۲ ساخت آلمان، TNF- و IL-10 با کیت تجاری دیاکلون^۳ ساخت فرانسه به روش الایزا^۴ اندازه‌گیری شد.

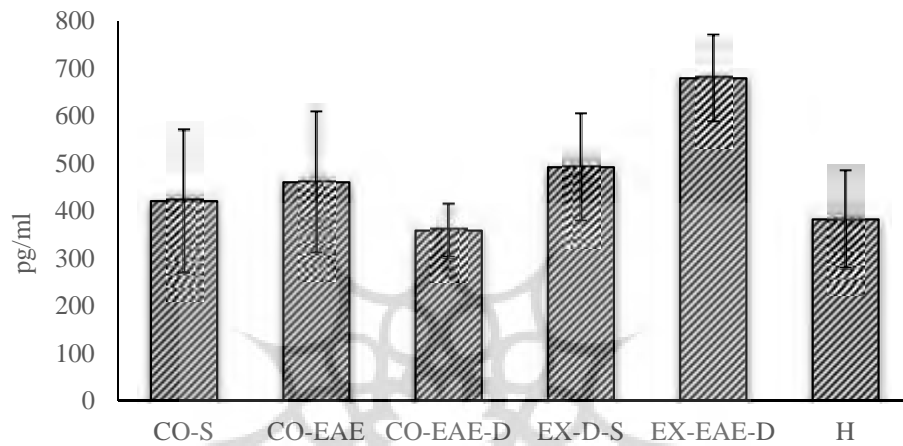
برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها مربوط به متغیرهای مختلف از آزمون شاپیرو-ویلک در سطح معنی داری 0.05 P استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد کلیه داده‌ها از توزیع طبیعی برخوردارند، لذا به منظور بررسی میزان تغییرات متغیرها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد؛ با معنادار شدن آزمون F، آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی داری 0.05 P برای بررسی تفاوت بین گروهی استفاده شد. کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری به وسیله نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد.

نتایج

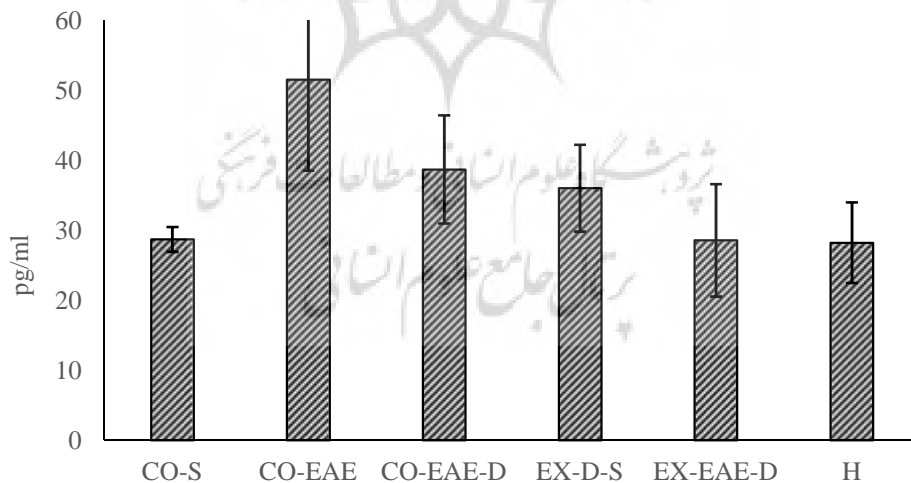
نتایج حاصل از پژوهش نشان می‌دهد که اثر پیش درمان تمرین اینتروال به همراه ویتامین دی به مدت شش هفته موجب شد تا مقادیر IL-10 و TNF- در بین گروه‌ها تفاوت معنی داری داشته باشند به طوری که مقدار IL-10 افزایش و مقدار TNF- کاهش یافت (شکل ۱) (F=5.04, P=0.003) (شکل ۲) (F=10.05, P=0.001). این تغییرات در گروه تمرین اینتروال ویتامین دی MS با کنترل سالم (P=0.01)، با D کنترل MS (P=0.002)، و با گروه حلال (P=0.005) معنادار می‌باشد. همچنین در رابطه با تغییرات TNF- گروه کنترل MS با کنترل سالم (P=0.001)، با D کنترل MS (P=0.04)، با ویتامین D اینتروال سالم (P=0.009)، با گروه ویتامین D اینتروال MS (P=0.001) و با گروه حلال (P=0.001) تفاوت معناداری نشان داد. از طرف دیگر نتایج مقادیر BDNF بین گروهی تفاوت معناداری نشان نداد (F=0.70, P=0.62، شکل ۳). به عبارت دیگر سطوح BDNF بدون تغییر باقی ماند و از کاهش آن که در این بیماران مشاهده می‌شود پیشگیری به عمل آمد. رت‌های ایمونیزه شده مدلی از EAE را نشان دادند که علائم کلینیکی از روز ۹ بعد از ایمونیزاسیون شروع و سستی دم دیده شد. به تدریج با گذشت زمان به فلج شدن کامل دم رسید (شکل ۴). همانطوری که در شکل مشخص است

1. Centrifugus
2. Zell bio
3. Diaclone
4. ELISA

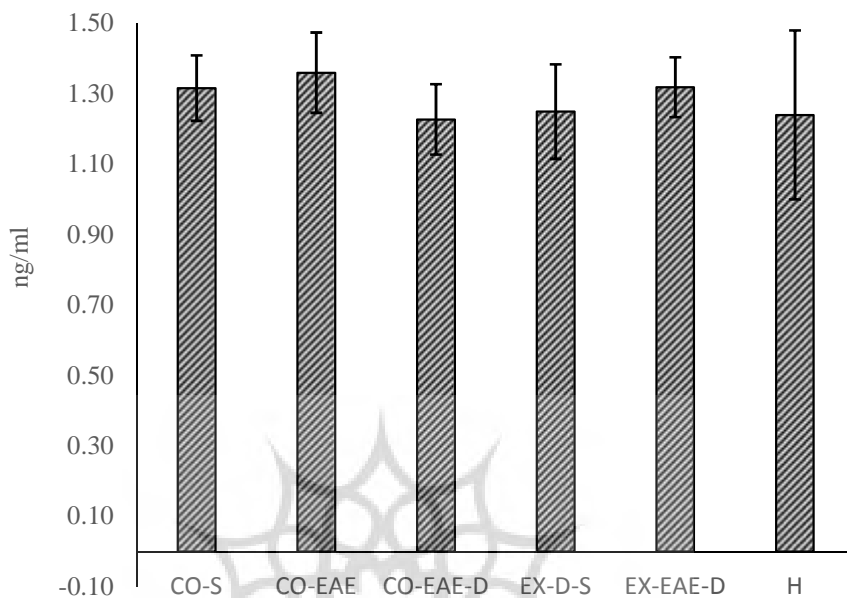
در گروه کنترل MS علائم بیماری بتدریج حاد تر می‌شود ولی در گروه‌های ویتامین دی کنترل MS و ویتامین دی اینتروال MS این علائم با شدت کمتری بروز کرده است. در بین این دو گروه نیز ورزش به همراه ویتامین دی تا حدودی توانسته تاخیر بیشتری به وجود آورد (شکل ۴).



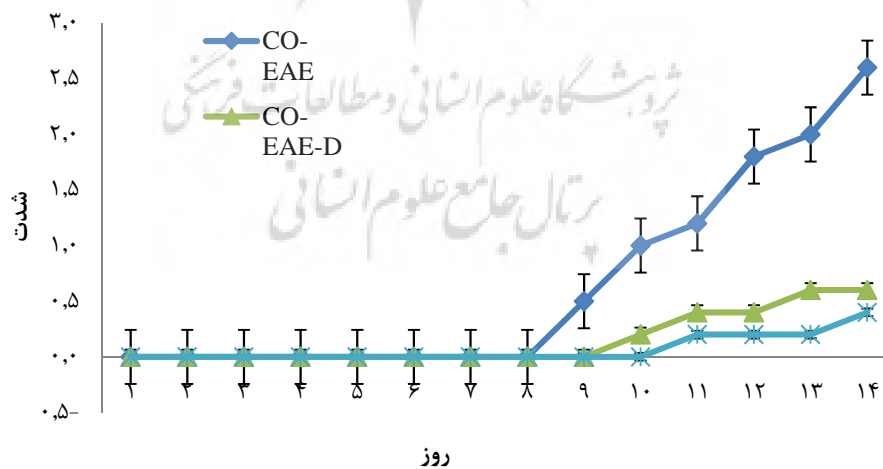
شکل ۱- میانگین IL-10 در گروه‌های مطالعه نشان از تفاوت معنادار گروه تمرین اینتروال ویتامین دی ام اس با گروه‌های دیگر است ($P=0.003$).



شکل ۲- میانگین TNF- نشان دهنده تغییرات معنی داری در گروه‌های مطالعه است ($P=0.001$).



شکل ۲- میانگین BDNF در گروه های مطالعه نشان از تغییرات غیر معناداری است ($P=0.62$).



شکل ۳- ارزیابی های کلینیکی در رت های مدل EAE تمرین اینتروال ویتامین دی

بحث و نتیجه گیری

مالتیپل اسکلروزیس یک بیماری دمیالینه کننده التهابی CNS است که یک عدم تعادل بین سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی ایجاد می‌کند (۹). هدف این مطالعه بررسی تاثیر پیشگیرانه تمرینات اینتروال در برابر بیماری با توجه به تعدیل سایتوکاین‌ها و BDNF در بافت مغز موش‌های مدل EAE بود. یکی از نتایج این پژوهش عدم تغییر معنادار در BDNF بافت مغز رت‌های ماده لوئیس بود.

مطالعه حاضر نشان دهنده عدم تغییر معنی دار در BDNF بود. پاتل و لیسلی^۱ (۲۰۱۳)(۲۳) در مطالعه خود عنوان کردند مقدار BDNF نسبت به گروه تمرین کرده پایین‌تر بود چرا که فعالیت ورزشی اجباری یک استرس در حیوانات مبتلا به EAE ایجاد می‌کند و باعث کاهش غلظت BDNF نسبت به گروه کنترل می‌شود. این نتیجه گیری با یافته‌های مطالعه حاضر همراستا نیست زیرا در آزمودنی‌های ما BDNF بدون تغییر ماند و تیمار برنامه ورزشی اینتروال و ویتامین دی موجب پیشگیری از کاهش آن به دنبال القاء مدل EAE شد. به عبارت دیگر می‌توان تمرینات اینتروال و ویتامین دی را دارای آثار حفاظت عصبی به شمار آورد. در مدل EAE، تحویل درون زای BDNF به مغز از طریق سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) علائم بالینی را کاهش می‌دهد و التهاب، آپوپتوز و همچنین دمیالینه شدن را کاهش می‌دهد. در مطالعات تکمیلی، تزریق برون زای BDNF موجب بیان بیش از حد سلول‌های T می‌شود که باعث کاهش علائم بالینی و آسیب آکسونی می‌گردد (۱۱). از سوی دیگر، افزایش BDNF محیطی به دنبال فعالیت ورزش هوازی حاد به صورت گذرا می‌باشد. در اکثر تحقیقات، غلظت BDNF در مدت ۱۰ تا ۶۰ دقیقه به مقادیر اولیه بر می‌گردد که نشان از سرعت بالای پاک شدن BDNF از گردش خون به دنبال قطع فعالیت ورزش هوازی است. کلاستلانو و وایت^۲ (۲۴) و یارو^۳ و همکاران (۲۵)، کاهش معنادار BDNF محیطی به زیر مقادیر طبیعی را به دنبال ۲ تا ۳ ساعت پس از ورزش مشاهده کرده‌اند. به نظر می‌رسد پاسخ BDNF ناشی از ورزش در بیماران ام اس و سالم، با ترشح BDNF به جریان خون و از طرف دیگر با افزایش جذب بافتی همراه باشد (۲۶). کلارن^۴ و همکاران (۲۰۱۶)، اثر فعالیت ورزش در یک مدل فروکش شونده، عود کننده آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی را بررسی کردند. در این مطالعه به تاثیر چرخ دوار اختیاری و دویدن اجباری روی ناتوانی بالینی و فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز هیپوکامپ در موش‌های مدل

-
1. Patel and Lesley
 2. Castellano and White
 3. Yarrow
 4. Klaren

1 SJL با مدل آنسفالومیلیت خود ایمنی فروکش شونده، عود کننده پرداختند. نتایج آنها نشان داد که تمرین اختیاری تاثیر معنی داری در شروع اولیه بیماری و علائم بالینی و همچنین سطح BDNF هیپوکامپ در موش‌های مدل RR-EAE ندارد. این نتایج نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی اختیاری محرک کافی برای استنباط تفاوت در ناتوانی بالینی یا BDNF هیپوکامپ در شرایط درمان نباشد (۲۷). با آن که مقادیر BDNF در مطالعه حاضر تغییر نشان نداد اما مقاومت در برابر کاهش آن می‌تواند علامت تاثیر مثبت پروتکل مورد استفاده در تحقیق باشد. یعنی استفاده از ترکیب تمرینات شدید اینتروال و ویتامین دی با حفظ ذخایر BDNF نقش موثری در مقابله با بیماری EAE ایفا کرد. هانگ^۲ و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند دویدن اجباری می‌تواند به واسطه تحمیل شرایط تمرین به حیوان بر سطح کورتیکواستروئید و لاکتات تاثیر گذارد و موجب ایجاد فشار و تاثیر منفی بر پیام‌های میانجی BDNF شود (۲۸). از آنجایی که در این پژوهش شدت تمرینات زیاد بود می‌تواند از جمله دلایلی باشد که میزان BDNF در هیچ یک از گروه‌های تمرینی تغییر نکرده باشد. علاوه بر فعالیت ورزشی، تغذیه نیز به عنوان یک عامل محیطی تاثیر گذار بر مقادیر عامل نوروتروفیک مشتق از مغز شناخته شده است. در این راستا وو^۳ و همکاران (۲۰۰۸) افزایش بیشتر مقادیر BDNF را در نتیجه انجام فعالیت ورزشی استقامتی همراه با مصرف مکمل امگا-۳ نسبت به استفاده از مکمل و یا فعالیت ورزشی هر کدام به تنهایی مشاهده کردند (۲۹). اما در مطالعه حاضر این مقادیر معنی دار نبود و مصرف ویتامین دی نتوانست به همراه ورزش اینتروال مقادیر BDNF را تغییر دهد.

از دیگر یافته‌های پژوهش حاضر کاهش TNF- بود. TNF- به عنوان یک سایتوکاین التهابی در گروه بیمار EAE افزایش یافت، اما در گروه تمرین و ویتامین بدون تغییر باقی ماند که علامت دلگرم کننده ای برای پیشگیری از بیماری به شمار می‌رود. به عبارت دیگر این یافته نشان می‌دهد که کاربرد پیش درمان تمرینات ورزشی اینتروال و ویتامین دی می‌تواند از افزایش این سایتوکاین جلوگیری نماید و در نتیجه تاثیر حفاظت نورونی به دنبال دارد. همچنین به نظر می‌رسد بین اجرای تمرین ورزشی اینتروال و مصرف ویتامین دی تفاوت معنی داری در رابطه با تغییرات سطح این سایتوکاین وجود ندارد. نشان داده شده است که TNF- تولید شده توسط سلول‌های دندریتیک و ماکروفاژها در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس نسبت به افراد سالم افزایش قابل ملاحظه‌ای می‌یابد که این سطح افزایش با پیشرفت ناتوانی در بیمار مرتبط است (۳۰). علائم بالینی نشان می‌دهد که این پیشرفت به دنبال اثرات تمرینات استقامتی و مصرف ویتامین دی کمتر بوده و سطح TNF-

-
1. Swiss Jim Lambert mice
 2. Huang
 3. Wu

نیز تا حدودی کاهش پیدا کرده است. برنادز^۱ و همکاران (۲۰۱۳) کاهش TNF- در مغز رت‌های مبتلا به EAE را گزارش کردند (۳۱). در مقابل؛ پاتل و وایت^۲ (۲۰۱۳) نشان دادند که افزایش معنی داری در TNF- مشاهده شد. TNF- یک تاثیر بالقوه در پیشرفت بیماری در EAE دارد. در واقع اعتقاد بر این است که تمرین ورزشی دارای اثرات ضد التهابی است (۲۳). ناسلی دیلکس^۳ و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که بعد از ۱۲ هفته تمرین ترکیبی مقاومتی و استقامتی TNF- کاهش پیدا کرد. آنها این کاهش را به کاسته شدن از شدت تحریک سلول‌های تاثیر گذار Th1 و Th17 بر میلیون سازی مرتبط دانستند (۲۷).

از دیگر یافته‌های این پژوهش افزایش IL-10 در گروه EAE-EX-D نسبت به گروه کنترل بود. این افزایش در گروه ترکیب تمرین و ویتامین به سطح معنی دار رسید، به عبارت دیگر ترکیب تمرین و ویتامین نسبت به مصرف ویتامین به تنهایی دارای آثار نیرومندتری بود در حالی که نسبت به گروه تمرین به تنهایی چنین تفاوتی وجود نداشت. IL-10 سایتوکاینی تنظیمی محسوب می‌شود که افزایش آن با دوره فروکش بیماری MS همراه است. IL-10 از گسترش جمعیت سلولی Th1 ممانعت به عمل می‌آورد. در حالی که تشکیل سلول‌های TH2 دارای اثرات حفاظت بخشی است (۳۲). IL-10 اثرات ضد التهابی قوی را اعمال می‌کند، شدت و مدت پاسخ‌های التهابی به فعالیت ورزشی را محدود می‌کند. از طرفی با فعالیت ورزشی منظم مقادیر در گردش خون سایتوکاین‌ها التهابی مثل: IL-6 و CRP کاهش یافت و در مقابل IL-10، IL-4 و TGF- که نشان دهنده عملکرد ضد التهابی فعالیت ورزشی منظم است افزایش یافت (۳۳). برنادز و همکاران (۲۰۱۳) کاهش IL-10 در مغز رت‌های مبتلا به EAE را گزارش کردند (۳۱). در مطالعه ای دیگر، برنادز و همکاران (۲۰۱۶)، تاثیر ورزش منظم پیشین در بهبود علائم کلینیکی حاصل از کاهش دمیلینه شدن و آسیب آکسونی در آنسفالومیلیت خود ایمنی را بررسی کردند. نتیجه گیری نهایی آنها حاکی از این بود که برنامه طولانی مدت و پیش درمان پروتکل تمرینی، علائم بالینی و شدت نشانه‌های پاتولوژیکی بیماری مزمن EAE را بهبود می‌دهد (۳۴). مطالعات در رابطه با بیماران MS از افزایش IL-10 در سرم بیماران حکایت می‌کند که نشان دهنده پاسخ به درمان بیماران RRMS است (۳۵).

بیماری مالتیپل اسکلروزیس و آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی از دسته بیماری‌های التهابی هستند که با ارتشاح لکوسیتهی به بافت مغز و نخاع همراه است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اجرای تمرینات پیشگیرانه دویدن اینتروال و تجویز ویتامین دی به موش‌های مبتلا به EAE باعث کاهش

-
1. Bernardes
 2. Patel and White
 3. Nathalie Deckx

شدت علائم کلینیکی بیماری می‌گردد. همچنین در زمان شروع علائم بیماری در گروه‌های تیمار، نتایج نشان می‌دهد که بروز علائم بیماری با تاخیر ظاهر می‌شود. یافته‌های قبلی نشان می‌دهد که ویتامین دی در تعدیل پاسخ‌های ایمنی نقش دارد (۳۶). تمرین ورزشی اینتروال و ویتامین دی ممکن است با مهار تولید سایتوکاین‌های التهابی و افزایش تولید سایتوکاین‌های ضدالتهابی، باعث کاهش فراخوانی سلولی به محل التهاب گردد به طوری که باعث کاهش علائم بالینی در رت‌های مبتلا به EAE شود.

پیام مقاله: پیش آماده سازی ورزشی با استفاده از پروتکل ورزشی اجباری دویدن اینتروال روی تردمیل همراه با مصرف ویتامین دی برای حفاظت عصبی در برابر بیماری MS توصیه می‌شود.

منابع

1. Smolders J, Peelen E, Thewissen M, Tervaert JWC, Menheere P, Hupperts R, et al. Safety and T cell modulating effects of high dose vitamin D 3 supplementation in multiple sclerosis. *PLoS One*. 2010; 5(12): 15235.
2. Ascherio A, Munger KL, Simon KC. Vitamin D and multiple sclerosis. *The Lancet Neurology*. 2010; 9(6): 599-612.
3. Simpson S, Taylor B, Blizzard L, Ponsonby AL, Pittas F, Tremlett H, et al. Higher 25-hydroxyvitamin D is associated with lower relapse risk in multiple sclerosis. *Annals of neurology*. 2010 Aug 1; 68(2): 193-203.
4. Spach KM, Hayes CE. Vitamin D3 confers protection from autoimmune encephalomyelitis only in female mice. *The Journal of Immunology*. 2005; 175(6): 4119-26.
5. May E, Asadullah K, Zugel U. Immunoregulation through 1, 25-dihydroxyvitamin D 3 and its analogs. *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy*. 2004; 3(4): 377-93.
6. Pierrot-Deseilligny C, Souberbielle J-C. Contribution of vitamin D insufficiency to the pathogenesis of multiple sclerosis. *Therapeutic advances in neurological disorders*. 2013; 6(2): 81-116.
7. Souza PS, Gonçalves ED, Pedrosa GS, Farias HR, Junqueira SC, Marcon R, et al. Physical Exercise Attenuates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by Inhibiting Peripheral Immune Response and Blood-Brain Barrier Disruption. *Molecular Neurobiology*. 2016: 1-15.
8. Kjølhede 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. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2015.
9. Golzari Z, Shabkhiz F, Soudi S, Kordi MR, Hashemi SM. Combined exercise training reduces IFN- and IL-17 levels in the plasma and the supernatant of peripheral blood mononuclear cells in women with multiple sclerosis. *International immunopharmacology*. 2010; 10(11): 1415-9.

10. Rossi S, Furlan R, De Chiara V, Musella A, Giudice TL, Mataluni G, et al. Exercise attenuates the clinical, synaptic and dendritic abnormalities of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neurobiology of disease*. 2009; 36(1): 51-9.
11. Huang Y, Dreyfus CF. The role of growth factors as a therapeutic approach to demyelinating disease. *Experimental neurology*. 2016; 283: 531-40.
12. Stadelmann C, Kerschensteiner M, Misgeld T, Brück W, Hohlfeld R, Lassmann H. BDNF and gp145trkB in multiple sclerosis brain lesions: neuroprotective interactions between immune and neuronal cells? *Brain*. 2002; 125(1): 75-85.
13. 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. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2012; 16(8): 1856-65.
14. Sarchielli P, Greco L, Stipa A, Floridi A, Gallai V. Brain-derived neurotrophic factor in patients with multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology*. 2002; 132(1): 180-8.
15. Azoulay D, Urshansky N, Karni A. Low and dysregulated BDNF secretion from immune cells of MS patients is related to reduced neuroprotection. *Journal of neuroimmunology*. 2008; 195(1): 186-93.
16. 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. *Journal of neuroimmunology*. 2005; 167(1): 215-8.
17. Gielen A, Khademi M, Muhallab S, Olsson T, Piehl F. Increased Brain-Derived Neurotrophic Factor Expression in White Blood Cells of Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis Patients. *Scandinavian journal of immunology*. 2003; 57(5): 493-7.
18. Petereit H, Lindemann H, Schoppe S. Effect of immunomodulatory drugs on in vitro production of brain-derived neurotrophic factor. *Multiple Sclerosis Journal*. 2003; 9(1): 16-20.
19. Marquez CMS, Vanaudenaerde B, Troosters T, Wenderoth N. High-intensity interval training evokes larger serum BDNF levels compared with intense continuous exercise. *Journal of Applied Physiology*. 2015; 119(12): 1363-73.
20. Ogura Y, Naito H, Kurosaka M, Sugiura T, Junichiro A, Katamoto S. Sprint-interval training induces heat shock protein 72 in rat skeletal muscles. *Journal of sports science & medicine*. 2006; 5(2): 19. 4.
21. Yaghmaei P NM, Mahdavi M, Mehrvarz T, Zahra Nazari. The effect of different doses of bee venom serum levels of interleukin-6 in Lewis rats EAE (a model for studying multiple sclerosis). *Pajoohandeh Journal*. 2013; 18 (2): 69-75. (In Persian).
22. Mosayebi G GA, payani M. A. The Effect of Vitamin D3 on the Inhibition of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis in C57BL/6 Mice. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2007; 13(52),189-96. (In Persian).
23. Patel DI, White LJ. Effect of 10-day forced treadmill training on neurotrophic factors in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2013; 38(2): 194-9.

24. Castellano V, White LJ. Serum brain-derived neurotrophic factor response to aerobic exercise in multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences*. 2008; 269(1): 85-91.
25. Yarrow JF, White LJ, McCoy SC, Borst SE. Training augments resistance exercise induced elevation of circulating brain derived neurotrophic factor (BDNF). *Neuroscience letters*. 2010; 479(2): 161-5.
26. Ploughman M, Granter-Button S, Chernenko G, Tucker B, Mearow K, Corbett D. Endurance exercise regimens induce differential effects on brain-derived neurotrophic factor, synapsin-I and insulin-like growth factor I after focal ischemia. *Neuroscience*. 2005; 136(4): 991-1001.
27. Klaren RE, Stasula U, Steelman AJ, Hernandez J, Pence BD, Woods JA, et al. Effects of exercise in a relapsing-remitting model of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Neuroscience Research*. 2016; 94(10): 907-14.
28. Huang A, Jen C, Chen H, Yu L, Kuo Y, Chen H-I. Compulsive exercise acutely upregulates rat hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *Journal of neural transmission*. 2006; 113(7): 803-11.
29. Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Docosahexaenoic acid dietary supplementation enhances the effects of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Neuroscience*. 2008; 155(3): 751-9.
30. Maimone D, Gregory S, Arnason BG, Reder AT. Cytokine levels in the cerebrospinal fluid and serum of patients with multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology*. 1991; 32(1): 67-74.
31. Bernardes D, Oliveira-Lima OC, da Silva TV, Faraco CCF, Leite HR, Juliano MA, et al. Differential brain and spinal cord cytokine and BDNF levels in experimental autoimmune encephalomyelitis are modulated by prior and regular exercise. *Journal of neuroimmunology*. 2013; 264(1): 24-34.
32. Hauser SL, Oksenberg JR. The neurobiology of multiple sclerosis: genes, inflammation, and neurodegeneration. *Neuron*. 2006; 52(1): 61-76.
33. Das UN. Anti-inflammatory nature of exercise. *Nutrition*. 2004; 20(3): 323.
34. 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. *Journal of neurochemistry*. 2016; 136(S1): 63-73.
35. Patanella AK, Zinno M, Quaranta D, Nociti V, Frisullo G, Gainotti G, et al. Correlations between peripheral blood mononuclear cell production of BDNF, TNF-alpha, IL-6, IL-10 and cognitive performances in multiple sclerosis patients. *Journal of neuroscience research*. 2010; 88(5): 1106-12.
36. Lemire J. 1, 25-Dihydroxyvitamin D 3-a hormone with immunomodulatory properties. *Zeitschrift für Rheumatologie*. 2000; 59(7): 117-24.

ارجاع دهی

حسینی سید مجتبی، فلاح محمدی ضیاء، طالبی وحید. اثر پیش‌درمان
تمرینات اینتروال همراه با ویتامین دی بر IL-10، BDNF و TNF
در مغز رت های مدل آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی (EAE).
فیزیولوژی ورزشی. زمستان ۱۳۹۶؛ ۹(۳۶): ۴۲-۱۲۹.
شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2017.3985.1540

Hosseini S.M, Falah Mohammadi Z, Talebi V. The Effect
of Pretreatment with Interval Training and Vitamin D on
IL-10, BDNF and TNF in Brain Rat Model of
Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE).
Sport Physiology. Winter 2018; 9(36): 129-42. (In Persian).
DOI: 10.22089/spj.2017.3985.1540

The Effect of Pretreatment with Interval Training and Vitamin D on IL-10, BDNF and TNF- α in Brain Rat Model of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE)

S.M. Hosseini¹, Z. Falah Mohammadi², V. Talebi³

1. Ph.D. in Sport Physiology, University of Mazandaran
2. Associate Professor of Sport Physiology, University of Mazandaran*
3. Ph.D. Student in Sport Physiology, University of Mazandaran

Received: 2017/06/17

Accepted: 2017/10/23

Abstract

The present study aimed at investigating the pre-treatment effect of interval exercises and vitamin D supplementation on BDNF and TNF- α of the brain in the rat model of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). Thirty Lewis rats (six-week old) were assigned to six groups: healthy control, EAE control, EAE control D, healthy interval D, interval EAE D, and sham. Animals were subjected to 6 weeks of interval running training, 5 days in each week, which were performed 10 reps of 1-minute in each. In addition, work to rest ratio of 1: 2 and the running overall time of 30 minutes was considered. After completing the training period, the rats were immunized with guinea pig spinal cord and complete adjuvant. The disease progress and the clinical changes in rats were evaluated over 2 weeks after inducing the disease model. The results showed that there was a significant increase in IL-10 ($P=0.003$) and a significant decrease in TNF- α ($P=0.001$) in Lewis female rats with experimental autoimmune encephalomyelitis, but there was no significant change in BDNF ($P=0.62$). Furthermore, the clinical symptoms in trained rats were delayed. According to the results of this study, it seems that six weeks of interval training along with vitamin D supplementation can not only postpone the onset of clinical symptoms but also increase the anti-inflammatory and inflammation indices in the brain of experimental autoimmune encephalomyelitis models, and thus could help neuroprotection.

Keywords: Interval Training, Vitamin D, Anti-Inflammatory, Cytokine

*Corresponding Author

Email: zia-falm@umz.ac.ir