



## پاسخ عوامل نورواتهابی مغز در رت‌های مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی به اثر حفاظتی تمرینات اینتروال و مصرف ویتامین D

عصمت السادات موسوی: دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه فرهنگیان، پردیس نسیمیه، تهران، ایران  
 ۱۵ ضیاء فلاح محمدی: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران (✉ نویسنده مسئول) [mousavi2753@gmail.com](mailto:mousavi2753@gmail.com)

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

مولتیپل اسکلروزیس،  
 تمرین اینتروال،  
 ویتامین D،  
 عوامل نورواتهابی

**زمینه و هدف:** مولتیپل اسکلروزیس یک بیماری خودایمن با ضایعات ملتهب و دمیلینه‌شونده در سیستم عصبی مرکزی می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی پاسخ عوامل نورواتهابی مغز در رت‌های مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی به اثر حفاظتی تمرینات اینتروال و مصرف ویتامین D بود.

**روش کار:** در این پژوهش تجربی، ۴۸ سر موش ماده نژاد لوبیز ۴ هفته‌ای به‌طور تصادفی به ۸ گروه تقسیم شدند. رت‌ها با نخاع خوکچه هندی و ادجوانت کامل ایمونیزه شدند. مدل EAE در انتهای هفته ششم تمرینات القاء شد. رت‌ها به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ۵ میکروگرم ویتامین D3 در ۱۵۰ میکرولیتر روغن کنجد هر دو روز یک بار به مدت ۲ هفته به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند. پروتکل اینتروال شامل ۱۰ تکرار ۱ دقیقه‌ای، نسبت کار به استراحت ۱ به ۲ و کل زمان دویدن ۳۰ دقیقه بود. شدت تمرین به تدریج از ۲۵ متر در دقیقه به ۷۰ متر در دقیقه افزایش یافت. داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  تجزیه و تحلیل شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که بین گروه‌ها در شاخص NF-KB و TGF-B تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). میانگین تغییرات IL-17 در گروه ویتامین D در مدل EAE افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم ویتامین D داشت ( $P = 0.01$ ). میانگین تغییرات GM-CSF در گروه‌های اینتروال سالم ( $P = 0.018$ )، D کنترل سالم ( $P = 0.02$ )، D اینتروال سالم ( $P = 0.001$ ) و D اینتروال MS ( $P = 0.03$ ) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم داشت.

**نتیجه‌گیری:** تمرینات اینتروال و ویتامین با بهبود عوامل نورواتهابی مغز در رت‌های مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی همراه نبود.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت‌کننده:** حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Mousavi S, Falahmohammadi Z. The Response of Neuro-Inflammatory Factors in Brain Tissue in Rats with Experimental Autoimmune Encephalomyelitis to the Protective Effect of Interval Training and Vitamin D. Razi J Med Sci. 2025(10 Nov);32.126.

Copyright: ©2024 The Author(s); Published by Iran University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the CC BY-NC-SA 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.en>).

\*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 4.0 صورت گرفته است.



## The Response of Neuro-Inflammatory Factors in Brain Tissue in Rats with Experimental Autoimmune Encephalomyelitis to the Protective Effect of Interval Training and Vitamin D

**Smatalsadat Mousavi:** PhD Farhangian University, Nasibah Campus, Tehran, Iran

**Zia Falahmohammadi:** Associate Professor Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Mazandaran, Iran (\* Corresponding Author) [mousavi2753@gmail.com](mailto:mousavi2753@gmail.com)

### Abstract

**Background & Aims:** As a complex disease, MS is characterized by neuroinflammation, demyelination, and sequential axonal loss (1). By identifying inflammatory factors in experimental autoimmune encephalomyelitis, Th17 cells producing interleukin-17 (IL-17) were also added to the list of potential factors involved in the pathogenesis of the disease (2). Transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) is also a potent regulatory cytokine with diverse effects on hematopoietic cells. The main function of TGF- $\beta$  in the immune system is to maintain tolerance by regulating lymphocyte proliferation, differentiation and survival. Defects in TGF-beta1 expression or signaling in T cells are associated with the onset of several autoimmune diseases (6). The nuclear transcription factor kappa B (NF- $\kappa$ B) plays a major role in inflammatory diseases through the regulation of inflammation and cell survival. NF- $\kappa$ B has been shown to be activated in multiple cell types in the central nervous system of MS patients, including T cells, microglia/macrophages, astrocytes, oligodendrocytes, and neurons (7). It has also been shown that granulocyte and monocyte growth factor (GM-CSF) may play a role in the pathogenesis of multiple sclerosis (8). Finding suitable methods to reduce the complications of neuroinflammation may lead to the selection of new treatment regimens for many neurological diseases and neurological disorders (1). In a study on multiple sclerosis patients, eight weeks of combined endurance and resistance training was associated with a significant reduction of IL-17 in plasma (10). Also, in another study, both continuous strength and endurance training protocols inhibit the production of pro-inflammatory cytokines such as interleukin-17 in the spinal cord of mice suffering from experimental autoimmune encephalomyelitis (11). Studies have shown that sports activity increases GM-CSF levels in healthy people (12, 13). Also, no change and decrease in TGF- $\beta$  levels have been reported in patients with multiple sclerosis after exercises (11, 14). Vitamin D deficiency is also associated with the development of multiple sclerosis, which is usually an inflammatory demyelinating disease of the central nervous system in adults (15, 16). Vitamin D3 may act as a regulator of prescription factors and reduce the severity of the disease by inhibiting the production of inflammatory cytokines (17).

Considering the important role of exercise in health and the prevention and treatment of diseases such as multiple sclerosis, it seems that the study of the effects of exercise and supplements on neuroinflammatory factors of the brain is of great importance, but according to the researcher's studies, the research conducted in this regard is very limited. In recent studies, support has been provided for the use of vitamin D to improve the inflammatory condition in multiple sclerosis patients. On the other hand, the results of studies related to the effect of exercise training on changes in neuroinflammatory factors of brain tissue are contradictory. Therefore, in the current study, the researcher intends to answer the question of what effect does interval training and vitamin D consumption have on brain neuroinflammatory factors in rats suffering from experimental autoimmune encephalomyelitis?

**Methods:** In this experimental study, 48 male Louise 4-week-old female rats were randomly divided into 8 groups. The training intensity was gradually increased from 25 meters per minute to 70 meters per minute. The rats were immunized with the guinea pig's spit and complete adjuvant. The EAE model was induced at the end of the sixth week of exercise. Rats received 5  $\mu$ g of body weight per kilogram of vitamin D3 in 150  $\mu$ l of sesame oil every two days once for 2 weeks' intraperitoneal injection. The interval protocol consisted of 10

### Keywords

Multiple sclerosis,  
Interval training,  
Vitamin D,  
Neuroinflammatory  
factors

Received: 02/08/2025

Published: 10/11/2025

repetitions of 1 minute, the ratio of work to rest was 1:2, and the total running time was 30 minutes. Data were analyzed by one-way analysis of variance and Tukey post hoc test at the  $p < 0.05$ .

**Results:** The results showed that there was no significant difference between the groups in NF- $\kappa$ B and TGF- $\beta$  ( $p > 0.05$ ). The average changes of IL-17 in the vitamin D group in the EAE model had significant increase compared to the healthy vitamin D control group ( $P = 0.01$ ). The average changes of GM-CSF in healthy interval groups ( $P = 0.018$ ), D healthy control ( $P = 0.02$ ), D healthy interval ( $P = 0.001$ ) and D interval MS ( $P = 0.03$ ) There was significant decrease compared to the healthy control group.

**Conclusion:** The results of this research showed that six weeks of interval training had no significant effect on NF- $\kappa$ B and TGF- $\beta$  indicators. Also, the mean changes of IL-17 and GM-CSF in the intervention groups (interval exercises and vitamin D) were not significant compared to the control group of the EAE model. Consistent with the findings of our study, in a study on experimental autoimmune encephalomyelitis rats, it was found that there was no significant difference between the average concentrations of pro-inflammatory cytokines in the vitamin D3 group compared to the control group (10). In the present study, the levels of IL-17 in the brain tissue along with the consumption of vitamin D3 in EAE did not show a significant change, there is a possibility that the dose of vitamin D3 in EAE samples was not sufficient. Studies have shown that sports activity increases G-CSF levels in healthy people (12, 13). The production of TGF- $\beta$  in the spinal cord tissue of C57 mice was not significantly affected by the treatment with four weeks of resistance training (the initial intensity to start the resistance training program was 25% of the animal's body weight, this value increased from 50 to 75% of the animal's weight) (11) which is consistent with the results of our study. Recent studies have also shown that NF- $\kappa$ B regulates the survival of resident cells in inflammatory lesions (25, 26). Stimuli such as pro-inflammatory cytokines tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-1 (IL-1) can activate NF- $\kappa$ B. These stimuli activate I $\kappa$ B kinases (IKK), which in turn phosphorylate the major inhibitor of NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B $\alpha$ . This phosphorylation step leads to ubiquitination and subsequent degradation by the I $\kappa$ B $\alpha$  proteasome. The NF- $\kappa$ B complex translocates to the nucleus, where it binds to  $\kappa$ B enhancers in the regulatory regions of various genes, where it activates transcription (28). Some studies have shown that the action of protein kinase B (Akt) through IKK is necessary for the activation and phosphorylation of NF- $\kappa$ B. Phospho-AKT mediates the phosphorylation of IKK $\alpha$ , which allows it to phosphorylate I $\kappa$ B and thereby allow NF $\kappa$ B to translocate into the nucleus. In addition, AKT can independently phosphorylate NF $\kappa$ B by directly phosphorylating the p65/RelA subunit to activate IKK (29). Maybe the reason for not changing the indicators after the intervention is the training period. It seems that in this regard, the results of Soltani et al showed that patients with multiple sclerosis can improve their immune system function by reducing TGF- $\beta$  levels by participating in aerobic exercise in water, although with a long training period more than eight weeks) to profit (14). Therefore, it is possible to achieve clearer results by lengthening the training period. Recent intervention studies show that, unlike continuous moderate exercise, interval exercise reduces inflammatory activity indicators and helps to improve the immune system and is related to disability status, symptoms and disease activity (35). In summary, the research results show that interval training and vitamin D are not associated with the improvement of brain neuroinflammatory factors in rats suffering from experimental autoimmune encephalomyelitis.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

### Cite this article as:

Mousavi S, Falahmohammadi Z. The Response of Neuro-Inflammatory Factors in Brain Tissue in Rats with Experimental Autoimmune Encephalomyelitis to the Protective Effect of Interval Training and Vitamin D. Razi J Med Sci. 2025(10 Nov);32:126.

Copyright: ©2024 The Author(s); Published by Iran University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the CC BY-NC-SA 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.en>).

\*This work is published under CC BY-NC-SA 4.0 licence.

## مقدمه

التهاب عصبی به عنوان یک جزء پاتولوژیک اصلی تقریباً همه بیماری‌های عصبی شناخته شده است. التهاب عصبی در سیستم عصبی مرکزی با پاسخ‌های ایمنی سلول‌های گلیال همراه است. سلول‌های گلیال از طریق ارائه آنتی ژن و سیگنال دهی سیتوکین و کموکاین به محرک‌های پاتولوژیک پاسخ می‌دهند. بنابراین، محدود کردن التهاب سیستم عصبی مرکزی نشان دهنده رویکرد درمانی آینده نگر در بیماری‌هایی مانند مولتیپل اسکلروزیس است. به عنوان یک بیماری پیچیده، ام اس با التهاب عصبی، دمیلینه شدن و از دست دادن متوالی آکسون مشخص می‌شود (۱).

با شناسایی عوامل التهاب در آنسفالمیلیت خود ایمن تجربی، سلول‌های Th17 تولید کننده اینترلوکین-17 (IL-17) نیز به فهرست عوامل بالقوه دخیل در پاتوژنز بیماری اضافه شدند (۲). نقش محوری سلول‌های Th17 در پاتوژنز بیماری مولتیپل اسکلروزیس، فرکانس‌های بالاتری از سلول‌های Th17 تولیدکننده IL-17 در خون و ضایعات فعال مولتیپل اسکلروزیس را نشان می‌دهند (۳،۴)، که به طور بالقوه با پیشرفت بیماری، بیان بیشتر مولکول‌های تحریک کننده و مقاومت بالاتر در برابر سرکوب مرتبط است (۵). فاکتور رشدی تغییر شکل دهنده بتا (TGF- $\beta$ ) نیز یک سایتوکاین تنظیم کننده قوی با اثرات متنوع بر سلول‌های خون ساز است. عملکرد اصلی TGF- $\beta$  در سیستم ایمنی حفظ تحمل از طریق تنظیم تکثیر لنفوسیت‌ها، تمایز و بقا است. نقص در بیان TGF- $\beta$  یا  $\beta$ 1 یا سیگنال دهی آن در سلول‌های T با شروع چندین بیماری خودایمنی مرتبط است. بنابراین، درک عملکرد و تنظیم TGF- $\beta$  در طول پاسخ‌های ایمنی، نوید درمانی را برای کنترل بیماری‌های خودایمنی مانند مولتیپل اسکلروزیس ارائه می‌دهد (۶). عامل رونویسی هسته‌ای کاپا بی (NF- $\kappa$ B) از طریق تنظیم التهاب و زنده ماندن سلولی، نقش عمده‌ای در بیماری‌های التهابی ایفا می‌کند. نشان داده شده است که NF- $\kappa$ B در انواع سلول‌های متعدد در سیستم عصبی مرکزی بیماران ام اس، از جمله سلول‌های T، میکروگلیا/ماکروفاژها، آستروسیت‌ها، الیگودندروسیت‌ها و نورون‌ها فعال می‌شود. داده‌های حاصل از مطالعات

مدل حیوانی، به ویژه مطالعات آنسفالمیلیت خودایمنی تجربی، نشان داده‌اند که فعال‌سازی NF- $\kappa$ B در این نوع سلول‌های منفرد، اثرات متمایزی بر توسعه مولتیپل اسکلروزیس دارد (۷). همچنین نشان داده شده است که عامل رشد گرانولوسیت‌ها و مونوسیت‌ها (GM-CSF) ممکن است نقشی در بیماری‌زایی مولتیپل اسکلروزیس داشته باشد (۸). علاوه بر اثرات آن به عنوان یک فاکتور رشد، GM-CSF نقش مهمی در بیماری‌های خودایمنی التهابی مزمن مانند مولتیپل اسکلروزیس دارد (۹).

به دلیل علت ناشناخته و تظاهرات ناهمگن بیماری، درمان ام اس سخت است و جستجو برای درمان‌های بالقوه گسترده و دقیق است. با این حال، یافتن روش‌هایی مناسب برای کاهش عوارض التهاب عصبی ممکن است در انتخاب رژیم‌های درمانی جدید برای بسیاری از بیماری‌های عصبی و اختلالات عصبی پیشرفت داشته باشد (۱). در تحقیقی روی بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس هشت هفته تمرین ترکیبی استقامتی و مقاومتی با کاهش معنی‌دار IL-17 در پلاسما همراه بود (۱۰). همچنین در تحقیق دیگری هر دو پروتکل تمرین قدرتی و استقامتی تداومی در نخاع موش مبتلا به آنسفالمیلیت خود ایمن تجربی تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی همچون اینترلوکین 17 را مهار می‌کند (۱۱). مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی سطوح GM-CSF را در افراد سالم افزایش می‌دهد (۱۲،۱۳). همچنین عدم تغییر و کاهش سطوح TGF- $\beta$  در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس پس از تمرینات گزارش شده است (۱۱،۱۴). کمبود ویتامین D نیز با ایجاد مولتیپل اسکلروزیس که معمولاً یک بیماری دمیلینه کننده التهابی سیستم عصبی مرکزی در بزرگسالان است، مرتبط است. مطالعات بالینی نقش محافظتی سطوح بالاتر ویتامین D را بر محتوای میلین در مولتیپل اسکلروزیس پیش‌رونده و ارتباط بین وضعیت ویتامین D پایین در آغاز مولتیپل اسکلروزیس و ورود زود هنگام به حالت پیش‌رونده بیماری نشان می‌دهند (۱۵،۱۶). ویتامین D3 ممکن است به عنوان یک تنظیم کننده فاکتورهای نسخه‌برداری عمل کند و با مهار تولید

سیتوکاین‌های التهابی سبب کاهش شدت بیماری گردد (۱۷).

با توجه به نقش مهم ورزش در سلامت و پیشگیری و درمان بیماری‌های مانند مولتیپل اسکلروزیس، به نظر می‌رسد بررسی اثرات ورزش و مکمل بر عوامل نوروالتهابی مغز از اهمیت بالایی برخوردار باشد، اما بر اساس مطالعات محقق تحقیقات انجام شده در این خصوص بسیار محدود است در مطالعات انجام شده اخیر، حمایت‌هایی برای استفاده از مصرف ویتامین D برای بهبود وضعیت التهابی در بیماران مولتیپل اسکلروزیس فراهم شده است. از طرفی نتایج مطالعات انجام شده در ارتباط با اثر تمرین ورزشی بر تغییرات عوامل نوروالتهابی بافت مغز متناقض است. بنابراین، در پژوهش حاضر محقق قصد دارد به این پرسش پاسخ دهد که تمرینات اینتروال و مصرف ویتامین D چه تأثیری بر عوامل نوروالتهابی مغز در رت‌های مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی دارد؟

## روش کار

پژوهش حاضر از نوع تجربی می‌باشد. مطالعه حاضر با شماره IR.UMZ.REC.097004 در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه مازندران مورد تایید قرار گرفت. در این پژوهش از ۴۸ سر رت ماده نژاد لوتیز ۴ هفته‌ای از شرکت داروپخش تهران استفاده شد. موش‌ها توسط محققین در آزمایشگاه جوندگان دانشکده علوم ورزشی دانشگاه مازندران پس از ۲ هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه، پروتکل تمرینی خود را در سن ۶ هفته آغاز کردند. در طی دوره پژوهش غذای استاندارد پلت و آب به صورت آزاد در اختیار گروه‌ها قرار گرفت و رت‌ها در گروه‌های چهار تایی و در محیطی با میانگین دمای  $22 \pm 1/4$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵٪ و چرخه روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند. حیوانات پس از آشنایی با شرایط آزمایشگاه به طور تصادفی به هشت گروه تقسیم شدند: ۱- گروه پایه که در طول آزمایش در قفس نگهداری شدند (کنترل سالم)، ۲- گروهی که بدون انجام تمرین و دریافت مکمل ویتامین D،

مخلوطی از ادجوانت و نخاع خوکچه هندی (به منظور القاء EAE) دریافت کرد (کنترل MS)، ۳- گروهی که در طول آزمایش فقط مکمل ویتامین D دریافت کرد (گروه ویتامین D سالم)، ۴- گروهی که در کنار دریافت مکمل ویتامین D مخلوطی از ادجوانت و نخاع نیز به آن‌ها تزریق شد (گروه ویتامین D + MS)، ۵- گروهی که در طول آزمایش فقط تمرین اینتروال را انجام داد (گروه تمرین اینتروال سالم)، ۶- گروهی که در طول آزمایش فقط تمرین اینتروال را انجام دادند و در نهایت مخلوطی از ادجوانت و نخاع خوکچه به آن‌ها تزریق شد (گروه تمرین اینتروال + MS)، ۷- گروهی که در طول آزمایش در کنار مصرف مکمل ویتامین D تمرین اینتروال انجام داد (گروه ویتامین D + اینتروال سالم)، ۸- گروهی که در طول آزمایش در کنار مصرف مکمل ویتامین D تمرین اینتروال انجام داد و در نهایت مخلوط ادجوانت و نخاع خوکچه به آن‌ها تزریق شد (گروه MS + تمرین اینتروال + ویتامین D).

به منظور القاء آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی (EAE) در حیوانات از مخلوطی از نخاع خوکچه و ادجوانت استفاده شد. بدین منظور ابتدا ۶ سر خوکچه هندی از انستیتو پاستور تهران خریداری شده و به آزمایشگاه منتقل شدند. هر یک از این خوکچه‌ها به وسیله کتامین (۵۰-۳۰ میکرولیتر بر کیلوگرم) و زایلازین (۵-۳ میکرولیتر بر کیلوگرم) بیهوش شده و نخاع آن برای انجام مراحل بعدی آزمایش خارج شد. پس از بیرون آوردن نخاع خوکچه و منتقل کردن آن به داخل میکروتیوب، به منظور فریز کردن بافت (نخاع خوکچه)، آن را داخل ازت (نیتروژن مایع) قرار داده و سپس نخاع فریز شده دومرتبه در هاون پر از ازت قرار داده شد و درحالی که در مایع شناور بود، کوبیده شد. به منظور هموژن کردن، بافت کوبیده شده را با نسبت برابر با سالین مخلوط کرده و در دمای ۵ درجه سانتیگراد در دستگاه شیکر قرار داده تا بطور کامل هموژن شد. نهایتاً نخاع هموژن شده و ادجولنت خریداری شده از شرکت سیگما را با نسبت ۱ به ۱ مخلوط کرده و بعد از بیهوش کردن رت‌ها به وسیله کتامین (۷۰ میکرولیتر بر کیلوگرم) به هر رت مقدار

جدول ۱- پروتکل تمرین انتروال فزاینده

ششم	پنجم	چهارم	سوم	دوم	اول	آشنایی	هفته
۶۵-۷۰	۶۰-۷۰	۵۰-۶۵	۴۵-۵۵	۳۰-۴۵	۲۵-۳۵	۱۰-۲۵	سرعت تمرین (متر در دقیقه)
۳۰-۳۵	۳۰-۳۵	۲۵-۳۵	۲۵-۳۰	۱۵-۲۵	۱۰-۲۰	۱۰	سرعت استراحت (متر در دقیقه)
۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	مدت تمرین (دقیقه)
۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	مدت استراحت بین تکرارها (دقیقه)
۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	تعداد تکرار
۵	۵	۵	۵	۵	۵	۴	تعداد جلسه در هفته

انتخاب دوز تزریقی ویتامین در این مطالعه براساس مطالعات مشابه بود که از این ویتامین جهت درمان بیماری‌ها در مدل‌های حیوانی استفاده شده است (۲۰). در پایان پروتکل و پس از نمونه برداری از بافت مغز موش‌ها، سطوح  $\text{NF-}\kappa\text{B}$ ،  $\text{TGF-}\beta$ ، IL-17 و GM-CSF با استفاده از کیت‌های الایزا ویژه رت (Zellbio Germany) اندازه‌گیری شد. برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. بعد از این که طبیعی بودن توزیع داده‌ها مشخص گردید، برای مقایسه متغیرهای تحقیق آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری در همه موارد  $p \leq 0.05$  در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با نرم افزارهای SPSS با نسخه ۲۶ به اجرا درآمد.

### یافته‌ها

وزن گروه‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار در جدول ۲ نمایش داده شده است. تمامی گروه‌ها در تحقیق از هم تفکیک شده است تا تغییرات قابل مقایسه تر باشد. تغییرات مربوط به علائم بالینی در پروتکل نیز به دنبال القای مدل EAE در رت‌های ماده نژاد لوئیس ذکر شده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) نشان داد که بین گروه‌ها در شاخص IL-17 تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $p < 0.001$ ). میانگین تغییرات IL-17 در گروه ویتامین D در مدل EAE افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم ویتامین D داشت ( $P = 0.01$ ) (نمودار ۱).

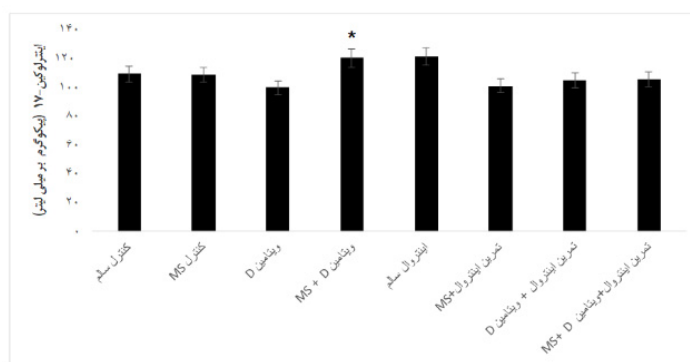
۰/۴ ml از محلول حاصل، در پایه دم حیوان، تزریق شد. روند بیماری روزانه مورد ارزیابی قرار گرفت. مقیاس ارزیابی شدت بیماری شامل؛ صفر عدم بروز بیماری، ۱- اختلال در حرکت دم، ۲- فلج شدن دم، ۳- اختلال در راه رفتن، ۴- فلج یک پا، ۵- فلجی هر دو پا، ۶- فلجی چهارپا و پا و ۷- مرگ می‌باشد (۱۸).

نوار گردان ویژه موش‌ها (ساخت ایران دانشگاه مازندران دانشکده علوم ورزشی) و دارای ۱۰ محفظه‌ی شیشه‌ای از جنس پلکسی گلاس و به ابعاد طول ۹۰ سانتی متر، عرض ۱۰ سانتی متر و ارتفاع ۱۵ سانتی متر دارای شوکر اتومات، شیب صفر درجه و دارای صفحه نمایشگر سرعت و مسافت و ولتاژ بود. قبل از اجرای برنامه تمرینی، آزمودنی‌ها به مدت یک هفته با محیط و نحوه فعالیت با نوارگردان آشنا شدند. برنامه تمرین اینتروال در هفته دوم و طی ۶ هفته تمرین در هر جلسه شامل ۱۰ تکرار ۱ دقیقه‌ای بود. نسبت کار به استراحت ۱ به ۲ و کل زمان دویدن ۳۰ دقیقه در نظر گرفته شد. در طی این مدت شدت تمرین به تدریج از ۲۵ متر در دقیقه به ۷۰ متر در دقیقه افزایش یافت (۱۹) (جدول ۱).

موش‌های گروه‌های EAE به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ۵ میکروگرم ویتامین D3 در ۱۵۰ میکرو لیتر روغن کنجد هر دو روز یک بار به صورت داخل صفاقی دریافت کردند و گروه کنترل موش‌های مبتلا به EAE به هر موش ۱۵۰ میکرو لیتر روغن کنجد هر دو روز یک بار به صورت داخل صفاقی تجویز شد. تجویز ویتامین D3 سه روز قبل از القا EAE آغاز شد و موش‌ها به مدت ۲ هفته ویتامین D3 مصرف کردند.

جدول ۲- میانگین و انحراف استاندارد وزن گروه تمرینی اینتروال مدل EAE

مرحله گروه	هفته اول	هفته آخر	روز قبل القا	روز آخر القا
کنترل سالم	110 ± 2/44	200/4 ± 14/39	200/4 ± 14/39	217/6 ± 13/01
کنترل MS	110/6 ± 1/81	201/6 ± 8/76	201/6 ± 8/76	209/8 ± 11/14
اینتروال سالم	109/6 ± 1/51	188/2 ± 12/59	188/2 ± 12/59	207 ± 16/62
اینتروال MS	111/6 ± 1/14	184/6 ± 16/10	184/6 ± 16/10	203/8 ± 17/29
D کنترل سالم	110/6 ± 2/74	193/4 ± 10/01	193/4 ± 10/01	205/6 ± 11/76
D کنترل MS	113/6 ± 1/51	198 ± 4/94	198 ± 4/94	193/2 ± 13/98
D اینتروال سالم	111/2 ± 1/64	190/6 ± 15/12	190/6 ± 15/12	199 ± 9/19
D اینتروال MS	108/8 ± 1/48	180/6 ± 12/81	180/6 ± 12/81	197 ± 8/91



نمودار ۱- میانگین تغییرات معنی داری IL-17 در گروه پروتکل اینتروال ویتامین D در مدل EAE؛ \* تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل سالم ویتامین D (P=0/01).

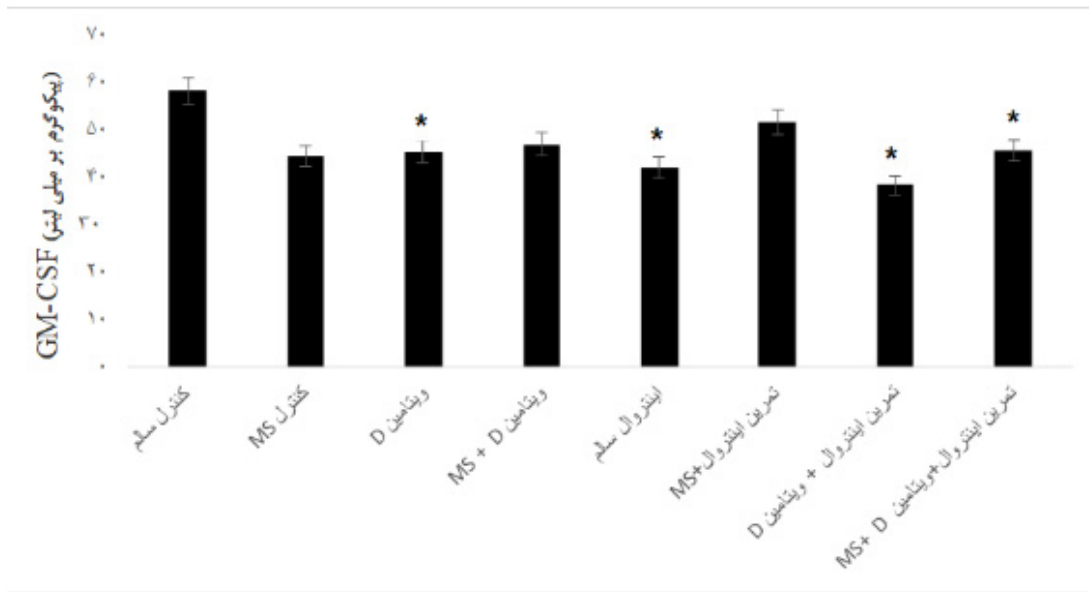
### بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که شش هفته تمرینات اینتروال بر شاخص های NF-KB و TGF-B تاثیر معنی داری نداشت. همچنین میانگین تغییرات IL-17 و GM-CSF در گروه های مداخله (تمرینات اینتروال و ویتامین D) نسبت به گروه کنترل مدل EAE معنی دار نبود. همخوان با یافته های مطالعه ما، در تحقیقی روی موش های مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی مشخص شد که بین میانگین غلظت سایتوکاین های پیش التهابی در گروه ویتامین D3 در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی داری وجود نداشت (۱۰). در تحقیق حاضر نیز سطوح IL-17 بافت مغز به همراه مصرف ویتامین D3 در EAE تغییر معنی داری نشان نداد این احتمال وجود دارد که میزان دوز ویتامین D3 در نمونه های EAE کافی نبوده

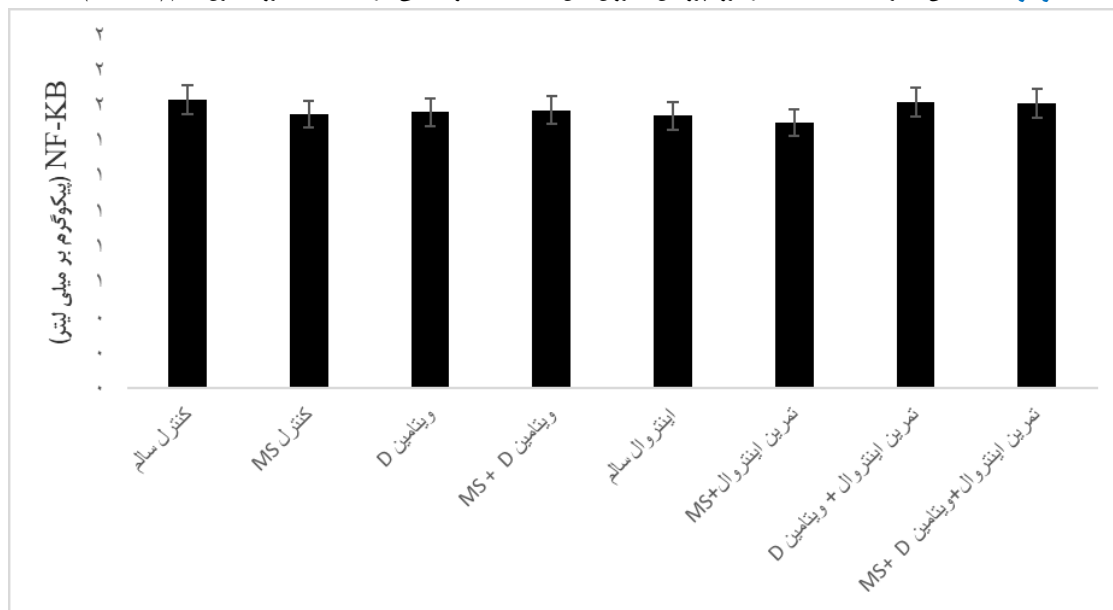
نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) نشان داد که بین گروه ها در شاخص GM-CSF تفاوت معنی داری وجود داشت (p<0/001). میانگین تغییرات GM-CSF در گروه های اینتروال سالم (P=0/018)، D کنترل سالم (P=0/02)، D اینتروال سالم (P=0/001) و D اینتروال MS (P=0/03) کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل سالم داشت (نمودار ۲).

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) نشان داد که بین گروه ها در شاخص NF-KB تفاوت معنی داری وجود نداشت (p>0/05) (نمودار ۳).

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) نشان داد که بین گروه ها در شاخص TGF-B تفاوت معنی داری وجود نداشت (p>0/05) (نمودار ۴).



نمودار ۲- میانگین تغییرات GM-CSF در گروه پروتکل اینتروال مدل EAE؛ \* تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل سالم (P=0/018)



نمودار ۳- میانگین تغییرات معنی داری NF-KB در گروه پروتکل اینتروال ویتامین D در مدل EAE.

علائم بالینی مدل حیوانی انسفامیلیت خودایمنی تجربی جلوگیری و استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهند، علاوه بر این، تمرینات در نخاع موش با EAE تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی همچون اینترلوکین 17 را مهار می‌کند (۱۱). نوع تمرینات اجرا

است. از طرفی، مخالف با نتایج مطالعه ما، در تحقیقی روی بیماران مبتلا به MS هشت هفته تمرین ترکیبی استقامتی و مقاومتی با کاهش معنی‌دار IL-17 در پلاسما همراه بود (۲۰). همچنین در تحقیق دیگری هر دو پروتکل تمرین قدرتی و استقامتی تداومی از

بعدی توسط پروتئازوم I $\kappa$ B $\alpha$  می‌شود. کمپلکس NF- $\kappa$ B به هسته منتقل می‌شود و در آنجا به تقویت کننده های kB موجود در مناطق نظارتی ژن های مختلف متصل می‌شود و در آنجا رونویسی را فعال می‌کند (۲۸). برخی مطالعات نشان داده اند که عمل پروتئین کیناز B (Akt) از طریق IKK برای فعال سازی و فسفوریلاسیون NF- $\kappa$ B لازم است. فسفو- AKT واسطه فسفوریلاسیون IKK $\alpha$  است که به آن اجازه می‌دهد تا I $\kappa$ B را فسفریله کند و از این رو به NF $\kappa$ B اجازه می‌دهد تا در هسته جابجا شود علاوه بر این، AKT می‌تواند با فسفوریلاسیون مستقیم زیر واحد NF $\kappa$ B / p65 / RelA را مستقل از IKK فعال کند (۲۹). شاید دلیل عدم تغییر شاخص‌های پس از مداخله، مدت تمرین باشد. به نظر می‌رسد در همین راستا، نتایج سلطانی و همکاران نشان داد بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس برای بهبود عملکرد سیستم ایمنی خود، می‌توانند با کاهش در سطوح TGF- $\beta$  به واسطه‌ی شرکت در تمرین هوازی در آب، البته با یک دوره‌ی تمرینی طولانی (بیش از هشت هفته) سود ببرند (۱۴). بنابراین احتمالاً با طولانی‌تر شدن دوره تمرینات می‌توان به نتایج روشن‌تری دست یافت. برنامه های ورزشی برای مولتیپل اسکلروزیس به عنوان گزینه های درمانی حمایتی امیدوارکننده برای کاهش علائم و عوارض جانبی بیماری توصیف شده است (۳۰،۳۱). با این حال، افراد مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس اغلب غیر فعال هستند (۳۲). تمرین اینتروال یک برنامه تمرینی امیدوارکننده و صرفه جویی در زمان برای افراد مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس است که به طور موثر ظرفیت هوازی و خستگی را بهبود می‌بخشد (۳۳،۳۴). مطالعات مداخله‌ای اخیر نشان می‌دهد که برخلاف تمرین مداوم متوسط، تمرین اینتروال شاخص های فعالیت التهابی را کاهش می‌دهد و به بهبود سیستم ایمنی کمک می‌کند و با وضعیت ناتوانی، علائم و فعالیت بیماری مرتبط است (۳۵). به نظر می‌رسد ورزش بر فرآیندهای بیولوژیکی تأثیر می‌گذارد، که نقش مهمی در پاتوژنز و پیشرفت مولتیپل اسکلروزیس دارند (۳۳). محدودیت‌هایی در

شده ممکن است سازگاری های متفاوتی به همراه داشته باشد و می‌تواند علت تفاوت نتایج با یافته های فوق باشد. مطالعات نشان داده اند که فعالیت ورزشی سطوح G-CSF را در افراد سالم افزایش می‌دهد (۱۲،۱۳). همچنین افزایش ۳۰ درصد در GM-CSF بلافاصله بعد از ۲ ساعت دوچرخه سواری با شدت بالا (۲۱)، همچنین دویدن (۲۲) و پس از مسابقه ماراتن (۲۳) گزارش شده است. در همین راستا کوین و همکاران در تحقیقی نشان دادند که دو هفته تمرینات اینتروال با شدت بالا سطوح GM-CSF را در مردان فعال افزایش می‌دهد (۲۴). همچنین نشان داده شده است که غلظت پلاسمایی G-CSF پس از یک جلسه ورزش برونگرا در آزمودنی‌های تمرین نکرده افزایش می‌یابد (۱۲). علاوه بر این، در مطالعه‌ای که رابطه بین آسیب‌های عضلانی ناشی از ورزش و تاخیر در لکوسیتوز، با استفاده از یک پروتکل تمرینات برونگرا شدید مورد بررسی قرار گرفت، غلظت G-CSF شش ساعت پس از ورزش به اوج مقادیر خود رسید (۱۳). تولید TGF- $\beta$  در بافت نخاع موش‌های C57 به طور قابل توجهی تحت تأثیر درمان با چهار هفته تمرینات مقاومتی (شدت اولیه برای شروع برنامه تمرین مقاومتی ۲۵ درصد وزن بدن حیوان بود، این مقدار ۵۰ تا ۷۵ درصد وزن حیوان افزایش یافت) قرار نگرفت (۱۱) که با نتایج مطالعه ما، همخوان می‌باشد. مطالعات اخیر همچنین نشان داده است که NF- $\kappa$ B زنده ماندن سلول های ساکن در ضایعات التهابی را تنظیم می‌کند (۲۵،۲۶). نکته مهم، نشان داده شده است که NF- $\kappa$ B در بسیاری از انواع سلول در مولتیپل اسکلروزیس و آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی فعال می‌شود، از جمله سلول های T، میکروگلیا/ماکروفاژها، آستروسیت ها، لیگودندروسیت ها و نورون ها (۲۷). محرکهایی مانند فاکتور نکروز تومور سیتوکینهای پیش التهابی (TNF- $\alpha$ ) و اینترلوکین ۱- (IL-1) می‌توانند NF- $\kappa$ B را فعال کنند. این محرک ها کینازهای IKK (I $\kappa$ B) را فعال می‌کنند، که به نوبه خود مهارکننده اصلی NF- $\kappa$ B، I $\kappa$ B $\alpha$  را فسفریله می‌کنند. این مرحله فسفوریلاسیون منجر به یوبیکیون شدن و تخریب

3. Durelli L, Conti L, Clerico M, Boselli D, Contessa G, Ripellino P, et al. T-helper 17 cells expand in multiple sclerosis and are inhibited by interferon-beta. *Ann Neurol*. 2009 May;65(5):499-509.

4. Arellano G, Acuña E, Reyes LI, Ottum PA, De Sarno P, Villarroel L, et al. Th1 and Th17 Cells and Associated Cytokines Discriminate among Clinically Isolated Syndrome and Multiple Sclerosis Phenotypes. *Front Immunol*. 2017;8:753.

5. Brucklacher-Waldert V, Stuermer K, Kolster M, Wolthausen J, Tolosa E. Phenotypical and functional characterization of T helper 17 cells in multiple sclerosis. *Brain*. 2009;132(Pt 12):3329-41.

6. Mirshafiey A, Mohsenzadegan M. TGF-beta as a promising option in the treatment of multiple sclerosis. *Neuropharmacology*. 2009;56(6-7):929-36.

7. Yue Y, Stone S, Lin W. Role of nuclear factor  $\kappa$ B in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neural Regen Res*. 2018;13(9):1507-1515

8. Rasouli J, Ciric B, Imitola J, Gonnella P, Hwang D, Mahajan K, et al. Expression of GM-CSF in T cells is increased in multiple sclerosis and suppressed by IFN- $\beta$  therapy. *J Immunol* 2015; 194(11): 5085-5093.

9. Lotfi N, Zhang GX, Esmaeil N, Rostami A. Evaluation of the effect of GM-CSF blocking on the phenotype and function of human monocytes. *Sci Rep*. 2020 Jan 31;10(1):1567.

10. 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):1415-1419

11. Souza PS, Gonçalves ED, Pedroso GS, Farias HR, Junqueira SC, Marcon R, et al. Physical exercise attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting peripheral immune response and blood-brain barrier disruption. *Mol Neurobiol* 2017; 54(6): 4723-4737

12. Hirose L, Nosaka K, Newton M, Laveder A, Kano M, Peake J, Suzuki K. Changes in inflammatory mediators following eccentric exercise of the elbow flexors. *Exerc Immunol Rev* 2004; 10(90): 20-31.

13. Paulsen G, Benestad HB, Strøm-gundersen I, Mørkrid L, Lappegård KT, Raastad T. Delayed leukocytosis and cytokine response to high-force eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2005; 37(11):1877-1883.

14. Soltani M, Fathi M, Moazzemi M, Golradi N. The effects of aerobic exercise in water on cortisol

تحقیق حاضر وجود داشت که از جمله می توان به عدم اندازه گیری شاخص های ساختاری بافت مغز اشاره کرد. همچنین پیشنهاد می شود که تحقیقی مشابه با اندازه گیری این عوامل در بافت نخاع متعاقب تمرین اینتروال و مصرف ویتامین D انجام شود. همچنین با تغییر دوز مصرفی ویتامین D نیز ممکن است بتوان به نتایج روشن تری دست یافت. به هر حال تحقیقات بیشتری در این زمینه مورد نیاز می باشد.

### نتیجه گیری

به طور خلاصه، نتایج تحقیق نشان می دهد که تمرینات اینتروال و ویتامین D با بهبود عوامل نوروالتهابی مغز در رت های مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی همراه نمی باشد.

### تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر مستخرج از رساله دکتری با شماره IR.UMZ.REC.097004 می باشد. بدین وسیله از کلیه افرادی که در انجام تحقیق حاضر همکاری داشته اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می شود.

### ملاحظات اخلاقی

مطالعه با کد اخلاق: IR.UMZ.REC.097004 انجام شده است.

### مشارکت نویسندگان

مفهوم سازی و روش کار: ضیا فلاح ویرایش و مرور: ضیاء فلاح محمدی و عصمت السادات موسوی؛ نوشتن مقاله و تحلیلی داده ها: ضیاء فلاح محمدی

### References

1. Bjelobaba I, Savic D, Lavrnja I. Multiple Sclerosis and Neuroinflammation: The Overview of Current and Prospective Therapies. *Curr Pharm Des*. 2017; 23(5):693-730.
2. Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol*. 2005 Nov;6(11):1133-41.

- levels and TGF- $\beta$  in patients with multiple sclerosis. *J Sabzevar Univ Med Sci* 2014; 21(2):207-216
15. Abbateamarco JR, Fox RJ, Li H, Ontaneda D. Vitamin D and MRI measures in progressive multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord.* (2019) 35:276–82.
  16. Muris AH, Rolf L, Broen K, Hupperts R, Damoiseaux J, Smolders J, et al. Low vitamin D status at diagnosis is associated with an early conversion to secondary progressive multiple sclerosis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016;164:254–7
  17. Cantorna MT, Humpal-Winter J, DeLuca HF. In vivo upregulation of interleukin-4 is one mechanism underlying the immunoregulatory effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D3. *Arch Biochem Biophys* 2000; 377(1):135-138
  18. 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). *Pejouhandeh* 2013; 18(2):69-75.
  19. Mirdar Sh, Arabzadeh E, Hedayati M. The effect of 6 weeks of interval training on HIF-1 levels in inflating rat lungs. *Sports Physiology.* 2013; 6(23): 125-136.
  20. Mosayebi GA, Payani MA. The Effect of Vitamin D3 on the Inhibition of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis in C57BL/6 Mice. *Razi j Med Sci* 2007; 13(52):189-96.
  21. Nieman DC, Konrad M, Henson DA, Kennerly K, Shanely RA, Wallner-Liebmann SJ. Variance in the acute inflammatory response to prolonged cycling is linked to exercise intensity. *J Interferon Cytokine Res* 2012; 32(1):12-17.
  22. Konrad M, Nieman DC, Henson DA, Kennerly KM, Fuxia J, Wallner-Liebmann SJ. The Acute Effect of Ingesting a Quercetin-Based Supplement on Exercise-Induced Inflammation and Immune Changes in Runners. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2011; 21(4):338-346.
  23. Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Liu Q, Kurakake S, Okamura N, et al. Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35(2):348-355.
  24. Kevin AZ, Casey SJ, Marcus ML, Rebecca AB, Andrew S. High-intensity interval training induces a modest systemic inflammatory response in active. *J Inflamm Res* 2014; 9(7): 9–17.
  25. Mc Guire C, Prinz M, Beyaert R, van Loo G. Nuclear factor kappa B (NF-kappaB) in multiple sclerosis pathology. *Trends Mol Med.* 2013; 19:604–613.
  26. Park MH, Hong JT. Roles of NF- $\kappa$ B in cancer and inflammatory diseases and their therapeutic approaches. *Cells.* 2016;5:E15
  27. Yan J, Greer JM. NF-kappa B, a potential therapeutic target for the treatment of multiple sclerosis. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2008; 7:536–557.
  28. Gilmore TD. Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives. *Oncogene* 25:6680–6684
  29. Madrid L, Mayo M, Reuther J, Baldwin AS. Akt stimulates the transactivation potential of the RelA/p65 subunit of NF- $\kappa$ B through utilization of IKK and activation of mitogen activated protein kinase p38. *J. Biol. Chem.* 2001; 276:18934–18940.
  30. Latimer-Cheung AE, Pilutti LA, Hicks AL, Martin Ginis KA, Fenuta AM, MacKibbin KA, et al. Effects of exercise training on fitness, mobility, fatigue, and health-related quality of life among adults with multiple sclerosis: a systematic review to inform guideline development. *Arch Phys Med Rehabil.* 2013; 94(9):1800–28 e1803.
  31. Dalgas U, Langeskov-Christensen M, Stenager E, Riemenschneider M, Hvid LG. Exercise as medicine in multiple sclerosis-time for a paradigm shift: preventive, symptomatic, and disease-modifying aspects and perspectives. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2019; 19(11):88.
  32. Motl RW, Arnett PA, Smith MM, Barwick FH, Ahlstrom B, Stover EJ. Worsening of symptoms is associated with lower physical activity levels in individuals with multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2008; 14(1):140–2.
  33. Zimmer P, Bloch W, Schenk A, Oberste M, Riedel S, Kool J, et al. High-intensity interval exercise improves cognitive performance and reduces matrix metalloproteinases-2 serum levels in persons with multiple sclerosis: a randomized controlled trial. *Mult Scler.* 2017;24(12):1635–44
  34. Wonneberger M, Schmidt S. high-intensity interval ergometer training improves aerobic capacity and fatigue in patients with multiple sclerosis. *Sport Sciences for Health.* 2019; 15(3):559–67.
  35. Joisten N, Proschinger S, Rademacher A, Schenk A, Bloch W, Warnke C, et al. High-intensity interval training reduces neutrophil-to-lymphocyte ratio in persons with multiple sclerosis during inpatient rehabilitation. *Mult Scler.* 2020;1352458520951382.