

مقایسه تاثیر تمرینات مقاومتی و شنا بر سطوح سیرتوئین-۱ و نیکوتین امید دی

نوکلوتید در مغز موش‌های مبتلا به انسفالومیلیت خود ایمن تجربی

فاطمه بزرگی^۱، محمد رضا کردی^{۲*}، سیروس چوبینه^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۰۳ تاریخ چاپ: ۱۴۰۳/۰۳/۱۹

چکیده

مقدمه: هدف پژوهش حاضر مقایسه تاثیر چهار هفته تمرین ورزشی هوازی (شنا) و مقاومتی (بالا رفتن از نردبان) بر مقادیر پروتئین سیرتوئین-۱ (SIRT1) و نیکوتین امید آدنین دی نوکلوتید (NAD+) مغز در دوره مزمن انسفالومیلیت خود ایمن تجربی (EAE) بود. **روش کار:** این مطالعه به روش آزمایشگاهی انجام شد. ۴۰ سر موش C57BL6 ماده ۸ هفته ای با میانگین وزنی ۱۸±۲ گرم برای انجام آزمایش انتخاب شدند. برای اجرای فرایند آزمایش، اعضای گروه نمونه به چهار گروه کنترل سالم، EAE، EAE+ شنا و EAE+ تمرین مقاومتی تقسیم شدند. پس از القای EAE با MOG35-33 گروه‌های تمرینات ورزشی، برنامه شنا و تمرین مقاومتی را ۳۰ دقیقه، ۵ روز در هفته به مدت ۴ هفته انجام دادند. در روز سیام پس از القا (دوره مزمن بیماری) موش‌ها با تزریق کتامین و زایلازین بیهوش شدند، سپس تشریح و بافت برداری مغز انجام شد. مقادیر پروتئین SIRT1 و NAD+ با روش ایمونوهیستوشیمی سنجیده شد. از آزمون تحلیل واریانس یکراهه (ANOVA) به منظور مقایسه گروه‌های تحقیق استفاده شد. آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه تفاوت میان گروه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. **یافته‌ها:** یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تمرینات ورزشی شنا و مقاومتی -هر دو- در مقایسه با گروه EAE، مقادیر پروتئین NAD+ و SIRT1 را به طور معناداری افزایش دادند، هر چند تمرین ورزشی مقاومتی در مقایسه با شنا، روش مؤثرتری بوده است ($P \leq 0.05$). **نتیجه گیری:** تمرینات ورزشی، به ویژه تمرین ورزشی مقاومتی، ممکن است با افزایش NAD+ و SIRT1، باعث کاهش پیشرفت بیماری در EAE شود.

واژگان کلیدی: مولتیپل اسکلروزیس؛ انسفالومیلیت خودایمنی تجربی؛ سیرتوئین-۱؛ نیکوتین امید آدنین دی نوکلئوتید؛ فعالیت ورزشی

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، پردیس بین المللی کیش دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۲. استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۳. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

مقدمه

تواند نقش مهمی در حفظ نوروها و جلوگیری از پیشرفت بیماری داشته باشد. همچنین نشان داده شده است افزایش فعالیت SIRT1 به کمک مداخلات دارویی شدت بیماری را در انسفالو میلیت خود ایمن تجربی^۱ (EAE) کاهش می‌دهد. در همین راستا نیماگاددا^۲ و همکاران (۲۰۱۳) القای EAE را در موش‌های تراریخته با بیان بیش از حد SIRT1 بررسی کردند. بیان بیش از حد SIRT1 با کاهش التهاب، کاهش تخریب غلاف میلین، کاهش آسیب آکسونی و کاهش سلول‌های آپوپتوزی همراه بود. همچنین افزایش بیش از حد SIRT1 با افزایش BDNF و NAD⁺ همراه بود [۳]. در بیماری MS و القای EAE، NAD⁺ با فعال کردن مسیر AMPK/SIRT1 می‌تواند شدت بیماری، التهاب، استرس اکسیداتیو و مرگ سلول‌های عصبی و آستروسیت‌ها را کاهش دهد [۴].

حسینی و همکاران (۲۰۲۰) به ارزیابی اثر پیشگیرانه شش هفته‌شای اجباری بر سطوح IL-10، TNF- α و BDNF موش‌های مدل EAE پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد

مطالعات مختلفی نشان دادند، تخریب میتوکندری در بیماری MS با کاهش سطوح و فعال سازی سیرتوئین-۱ (SIRT1) و افزایش فعال سازی NF- κ B همراه است که منجر به افزایش Th1 و Th17 و تخریب عصبی می‌شود [۱]. علاوه بر این، SIRT1 به طور گسترده در مغز بزرگسالان بیان می‌شود و بیشتر در هسته‌های عصبی سلول‌های گلیال، سلول‌های بنیادی عصبی، میکروگلیا و آستروسیت‌ها یافت می‌شود [۲]. در MS تخریب مسیر NAD⁺-SIRT1 باعث افزایش تخریب عصبی، افزایش التهاب در مغز می‌شود [۳]. با توجه به پژوهش‌ها فعالیت SIRT1 به طور دقیق به وسیله نیکوتین آمید آدنین دی‌نوکلئوتید (NAD⁺) کنترل می‌شود و تمام عوامل محیطی و دارویی که بر NAD⁺ تاثیر می‌گذارد می‌تواند فعالیت SIRT-1 را تنظیم کند. با توجه به نقش مهم SIRT1 در حفظ نوروها و کاهش التهاب در بیماری MS، استفاده از مداخلات فعال کننده SIRT1 با کاهش استرس اکسیداتیو، التهاب و بهبود متابولیسم میتوکندری می

² Nimmagadda¹ Experimental Autoimmune Encephalomyelitis

پژوهشگران نتیجه گرفتند که انجام فعالیت ورزشی منظم ممکن است با تنظیم بیان fetuin-A و افزایش سطوح AMPK و NAD⁺ در بافت کبد، پاسخ‌های التهابی بدن را محدود کرده و شدت MS را کاهش دهد. فعالیت ورزشی به عنوان یک مداخله غیر دارویی نقش مهمی در پیشگیری از تخریب عصبی و بهبود علائم ثانویه از جمله درد، خستگی و افسردگی در بیماری MS داشته باشد. اثر بهینه فعالیت ورزشی در بیماریهای عصبی به نوع، شدت و مدت آن بستگی دارد. فعالیت ورزشی هوازی بیشتر باعث افزایش استرس متابولیکی و فعالیت ورزشی مقاومتی منجر به استرس مکانیکی می شود بنابراین منجر به سازگاری های متفاوتی در سیستم عصبی مرکزی می شود. از آنجایی که فعال شدن SIRT1 از طریق افزایش NAD⁺ می تواند از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب نقش مهمی در کنترل بیماری MS داشته باشد. و تاکنون پژوهشی که میزان تأثیر تمرین ورزشی مقاومتی و هوازی را بر فعالیت SIRT1 در بیماری MS بررسی کند، وجود نداشته است. هدف از پژوهش حاضر بررسی و مقایسه تاثیر دو نوع تمرین ورزشی هوازی (استرس

که ورزش شنا در مدل EAE موش منجر به کاهش قابل توجه TNF- α می گردد [۵]. در مطالعه‌ای دیگر توسط نظری و همکاران (۲۰۲۲) برای تعیین مکانیسم عمل فعالیت‌های بدنی در درمان و پیشگیری MS را برای انجام تحقیقات بیشتر ضروری دانست [۶]. از این رو، در مطالعه آنها بررسی اثر پیشگیرانه ورزش شنا بر برخی عوامل کبدی دخیل در التهاب و MS صورت پذیرفت. جامعه نمونه این مطالعه، موش‌های سوری C57BL/6 بود که EAE به آنها القا شده و تأثیر شش هفته تمرین شنا بر سطوح fetuin-A، پروتئین کیناز فعال شده با AMP (AMPK) و نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید (NAD⁺) در بافت کبد آنها با آنالیز وسترن بلات و روش رنگ سنجی NAD⁺ مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج این پژوهش مشاهده شد که القای EAE به‌طور قابل توجهی (۳/۵ برابر) باعث افزایش سطح fetuin-A و کاهش AMPK و NAD⁺ گشت، در حالی که انجام ۶ هفته ورزش شنا، fetuin-A را کمی بالاتر از گروه کنترل کاهش داد. بعلاوه، سطوح AMPK و NAD⁺ در موش‌های C57BL/6 با EAE به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. از این رو،

علاوه بر این، ذکر این نکته حائز اهمیت است که انتخاب تعداد حیوانات مورد استفاده در یک آزمایش بر اساس محاسبات قدرت آماری و ملاحظات اخلاقی است. در این مورد، استفاده از ۴۰ موش C57BL/6 ماده بر اساس قدرت آماری مورد نظر برای تشخیص اثرات تمرین مقاومتی و شنا بر سطوح SIRT1 و نیکوتین امید دی نوکلئوتید در زمینه آنسفالومیلیت خودایمنی تجربی تعیین شد.

در هفته اول پس از انتقال، موش‌ها با محیط آزمایشگاه سازگار گردیدند. هفته دوم گروه-های تمرین ورزشی با پروتکل و ابزار تمرین آشنا و سپس القای EAE انجام شد. از آنجا که القای EAE می‌تواند یک فرآیند استرس‌زای فیزیکی برای حیوانات باشد، در این آزمایش با اجازه دادن به یک دوره آشنایی و تمرین ورزشی قبل از القای EAE، در صد به حداقل رساندن اثرات مخدوش‌کننده بالقوه استرس ناشی از فرآیند القاء بر نتایج مداخله ورزشی بودیم. پس از القای EAE، گروه‌های تمرین ورزشی ۵ روز در هفته روزی نیم ساعت به مدت ۴ هفته تمرین کرده ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (روز ۳۰ پس از القا) موش‌ها با تزریق کتامین (۱۰۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی

متابولیکی) و مقاومتی (استرس مکانیکی) بر سطوح بیان پروتئین NAD⁺ و SIRT1 در مغز موش‌های مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی است.

روش کار حیوانات آزمایشگاهی

جامعه آماری تحقیق حاضر را کلیه موش‌های ماده C57BL/6 تشکیل می‌دهند که ۴۰ سر موش ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی 18 ± 2 گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شد و به آزمایشگاه علوم رفتاری و شناختی سالاری (کرج، SICBD) منتقل شدند حیوانات در قفس‌های عمومی در شرایط نور کنترل شده با چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته (شروع روشنایی ۷ صبح)، در دمای 22 ± 1 درجه سانتیگراد و رطوبت حدود ۴۵٪ قرار گرفتند. آن‌ها دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند.

روش اجرای پژوهش

۴۰ سر موش ماده C57BL/6 به روش تصادفی ساده به چهار گروه EAE (n=10)، کنترل سالم (n=10) تمرین هواری شنا + EAE (n=10)، تمرین مقاومتی + EAE (n=10) تقسیم شدند.

پروتکل‌های تمرینی

تمام موش‌های گروه تمرین مقاومتی به مدت یک هفته با بالا رفتن از نردبان آشنا شدند. بار محاسبه شده برحسب وزن بدن به وسیله چسب کاغذی به دم موش‌ها متصل می‌شد و بالا رفتن حیوان از پایین نردبان به بالای آن به عنوان یک تکرار موفق ثبت می‌شد. موش‌ها در این گروه ۵ روز در هفته به مدت ۴ هفته و روزانه ۳۰ دقیقه تمرین کردند (جدول-۱). تمرین مقاومتی شامل بالا رفتن از نردبان با حمل بار مربوط به ۲۵ درصد وزن بدن حیوانات بود. این وزن به تدریج به ۵۰ و ۷۵ درصد با ۸-۱۲ تکرار و یک استراحت ۲ دقیقه‌ای بین تکرارها افزایش یافت [۸].

جدول ۱. پروتکل تمرین ورزشی مقاومتی

هفته	هفته	هفته	هفته	
اول	دوم	سوم	چهارم	
۲۵	۵۰	۷۵	۷۵	شدت
درصد	درصد	درصد	درصد	
از وزن بدن	از وزن بدن	از وزن بدن	از وزن بدن	
۸-۱۲	۸-۱۲	۸-۱۲	۸-۱۲	تعداد تکرار
تکرار	تکرار	تکرار	تکرار	
۲	۲	۲	۲	استراحت
دقیقه	دقیقه	دقیقه	دقیقه	
۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	حجم
دقیقه	دقیقه	دقیقه	دقیقه	تمرین ورزشی

گرم به کیلوگرم وزن بدن) بیهوش، سپس تشریح و بافت برداری شدند.

القای EAE

نحوه القای EAE موش‌های C57BL/6 با ۵۰ میکروگرم میلین الیگودندروسیتس گلیکوپروتئین (MOG35-55) که در محلول بافرشده با فسفات (PBS) حل شده است، و یک میلی گرم در میلی لیتر دواي کامل فروند (CFA) ایمن سازی می شوند. تمامی حیوانات در روزهای ۰ و ۲ (در روز تزریق و دو روز بعد از آن)، به صورت داخل صفاقی ۱۰۰ نانوگرم تزریق پرتوسیس تاکسین داشتند [۷]. لازم به ذکر است گروه کنترل همزمان با باقی گروه‌ها تزریق سالین داشتند. برای ارزیابی وزن بدن (پارامتر سلامت)، وزن حیوانات روزانه اندازه گیری می شد و علائم بالینی EAE، توسط دو ناظر مستقل بر اساس مقیاس زیر مورد ارزیابی قرار گرفتند (۵۵): نمره ۰ = بدون بیماری؛ نمره ۱ = کم شدن وزن و ضعف در دم؛ نمره ۲ = ضعف در اندام عقبی؛ نمره ۳ = فلج کامل اندام عقبی؛ نمره ۴ = فلج اندام عقبی با ضعف یا فلج در اندام جلویی؛ و نمره ۵ = مرگ.

سازگاری در استخر شنا قرار گرفتند (۱-۴ روز). برای کاهش استرس حرارتی مرتبط با شنا، حیوانات پس از هر جلسه تمرین شنا به آرامی با استفاده از حوله خشک شدند.

موش‌ها ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین کتامین و زایلازین بیهوش شدند و ۲ (بیهوش شده و پس از آن تشریح شدند. مغز موش‌ها به مدت یک شب در یک مقدار مناسب فرمالین قرار داده شد. مکان یابی پروتئین‌های NAD⁺ و SIRT1 در مغز با استفاده از تکنیک IHC مورد بررسی قرار گرفتند. بدین صورت که ابتدا نمونه با PBS شسته شدند به منظور بازیابی آنتی ژن بر روی نمونه‌ها اسیدکلریدریک نرمال به مدت ۳۰ دقیقه ریخته شد. سپس بافر بورات به منظور خنثی سازی اسید به مدت ۵ دقیقه اضافه شد و دوباره سلول‌ها با PBS شسته شدند. تریتون ۰/۳ درصد به مدت ۳۰ دقیقه برای نفوذپذیر کردن غشاء سلول استفاده شد و سپس با PBS شستشو شدند. سرم بز ۱۰۳ درصد برای ۳۰ دقیقه به منظور بلوک کردن واکنش آنتی بادی ثانویه به صورت رنگ اضافی زمینه اضافه شد. آنتی بادی اولیه رقیق

جدول ۲. پروتکل تمرین هوازی شنا

هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	
۲۵	۵۰	۷۵	۷۵	شدت
درصد	درصد	درصد	درصد	از وزن بدن
۸-۱۲	۸-۱۲	۸-۱۲	۸-۱۲	تعداد تکرار
۲	۲	۲	۲	استراحت دقیقه
۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	حجم تمرین دقیقه
				ورزشی

طبق مطالعات گذشته، گروه تمرین هوازی شنا به مدت ۳۰ دقیقه، پنج روز متوالی در هفته به مدت ۴ هفته (دمای آب 1 ± 31 درجه سانتیگراد تنظیم شد) در معرض تمرین ورزشی شنای اجباری^۱ (FSE) قرار گرفتند (جدول-۲) [۶]. تمرین روزانه شنا در یک مخزن آب شیشه‌ای بزرگ $100 \text{ cm (L)} \times 60 \text{ cm (W)} \times 80 \text{ cm (H)}$ انجام شد. عمق آب ۶۰ سانتی متری این اطمینان را می‌داد که موش‌ها نمی‌توانند با لمس کف آن خود را تحمل کنند. در طول هفته اول، حیوانات تحت یک دوره

³ Goat Serum¹ Forced swimming exercise² Pentobarbital

مقایسه تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. نرم افزار آماری مورد استفاده برای تحلیل داده‌ها SPSS۲۲ بود.

یافته‌ها

علائم بالینی در جدول ۳ نشان داده شده است. با توجه به اطلاعات جدول ۳، علائم بالینی در گروه‌های پژوهش از روز ۱۳ پس از القا آغاز شده است.

جدول ۳- تغییرات علائم بالینی موش‌ها از روز شروع علائم تا روز ۳۰ پس از القا

روز شروع علائم	روز ۳۰ پس از القا	گروه کنترل
± ۰/۵۲ ۰/۵	۱/۳۳ ± ۰/۵	گروه EAE
± ۰/۵۱ ۰/۴	± ۰/۴۸ ۰/۷۰	گروه شنا + EAE
± ۰/۴۲ ۰/۲	۰/۵۱ ± ۰/۶	گروه تمرین ورزشی + EAE

با توجه به نتایج آماری ارائه‌شده در جدول ۴، می‌توان نتیجه گرفت که گروه کنترل در مقابل گروه‌های EAE، شنا و تمرین مقاومتی نتایج بهتری را ارائه داده است.

شده (۱ به ۱۰۰) با PBS به نمونه اضافه شد و بعد از مرطوب کردن برای جلوگیری از خشک شدن بافت به مدت یک شب درون یخچال با دمای ۲ تا ۸ درجه قرار داده شد، روز بعد بافت از یخچال خارج و چهار بار و هر بار به مدت ۵ دقیقه با PBS شسته شدند سپس به نمونه آنتی بادی ثانویه با غلظت ۱ به ۱۵۰ اضافه شد، سپس در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه به مدت ۱ ساعت و ۳۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شد. بعد از آن نمونه از انکوباتور به اتاق تاریک منتقل و بعد از ۴ بار شستشو به آن‌ها DAPI اضافه و بلافاصله با PBS شسته شد. در مرحله آخر نمونه توسط میکروسکوپ فلوروسنت با لنز ۴۰۰ برای تاکید مارکرها بررسی شدند.

تحلیل آماری

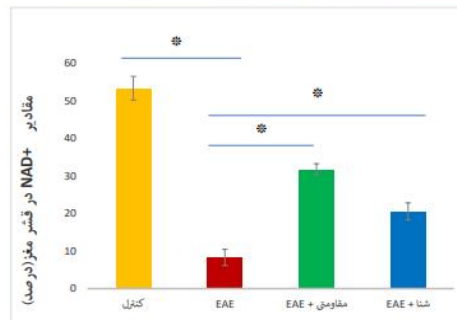
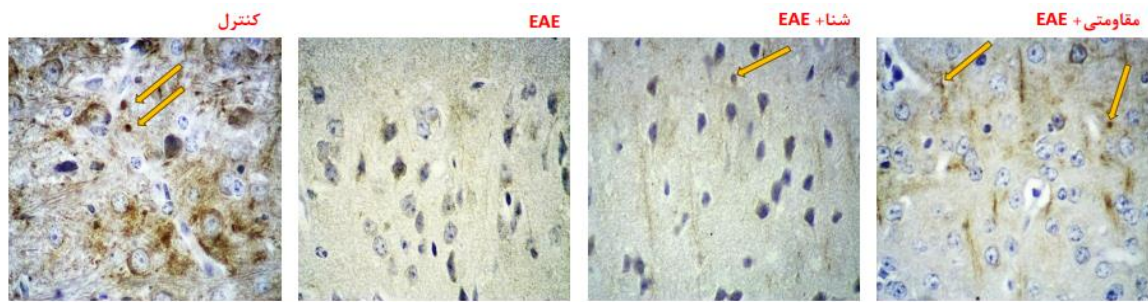
از شاخص‌های گرایش به مرکز و پراکندگی (میانگین و انحراف استاندارد) در سطح آمار توصیفی استفاده شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون شاپیروویلک تأیید شد و همگن بودن واریانس‌ها با استفاده از آزمون لون بررسی شد و این پیش فرض مورد تأیید قرار گرفت. برای مقایسه گروه‌های تحقیق از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه (ANOVA) استفاده شد. آزمون تعقیبی توکی برای

وجود دارد ($F=93/16$ و $P=0/0001$)، شکل ۲). مقدار SIRT1 در مقایسه با گروه کنترل در قشر مغز در حد معناداری کاهش یافته است ($P=0/000$) و تمرین ورزشی شنا و مقاومتی مقدار SIRT1 را در مقایسه با گروه EAE افزایش داده است ($P=0/0001$) و ($P=0/001$).

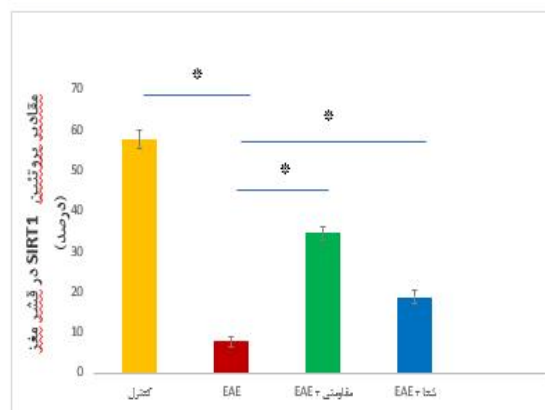
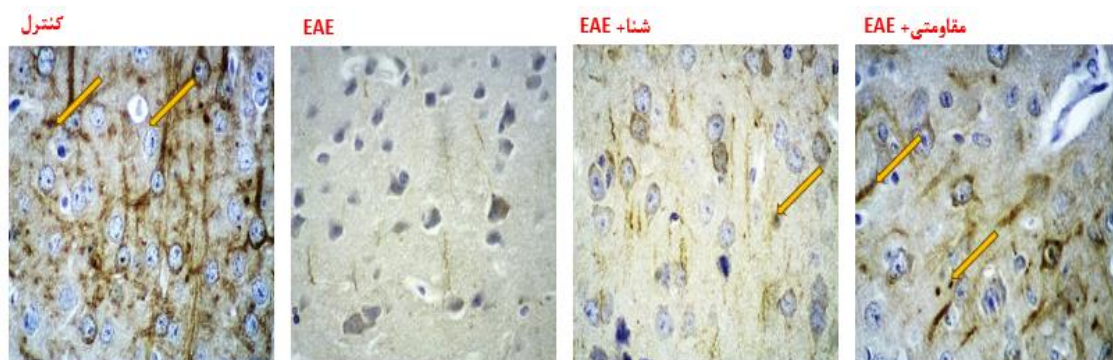
جدول ۴- نتایج آزمون مقایسه چندگانه توکی

میانگین تفاوت	مقدار q	معناداری ($P<0/05$)
گروه کنترل در مقابل گروه EAE	۴/۶	۱۷/۳۶
گروه کنترل در مقابل گروه شنا	۳/۷۷۷	۱۴/۲۵
گروه کنترل در مقابل گروه تمرین مقاومتی	۳/۰۳۳	۱۱/۴۴
گروه EAE در مقابل گروه شنا	-۰/۸۲۳۳	۳/۱۰۶
گروه EAE در مقابل گروه تمرین مقاومتی	-۱/۵۶۷	۵/۹۱۱
گروه شنا در مقابل تمرین مقاومتی	-۰/۷۴۳۳	۲/۸۰۵

نتایج رنگ آمیزی ایمنووهیستوشیمی نشان می‌دهد بین گروه‌های پژوهش در مقدار NAD+ در قشر مغز در دوره مزمن بیماری تفاوت معناداری وجود دارد ($F=69/81$ و $P=0/0001$)، مقدار NAD+ در مقایسه با گروه ایمنووهیستوشیمی نشان می‌دهد بین گروه‌های پژوهش در مقدار SIRT1 در قشر مغز در دوره مزمن بیماری تفاوت معناداری



شکل ۱- رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی - نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان می دهد تمرین ورزشی شنا و تمرین مقاومتی در مقایسه با گروه EAE سطوح پروتئین NAD+ را در قشر مغز افزایش می دهد. $P \leq 0.05$. فلش زرد رنگ سطوح پروتئین NAD+ است.



شکل ۲- رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی - نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان می دهد تمرین ورزشی شنا و تمرین مقاومتی در مقایسه با گروه EAE سطوح پروتئین SIRT1 را در قشر مغز افزایش می دهد. $P \leq 0.05$. فلش زرد رنگ سطوح پروتئین SIRT1 است.

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد سطوح پروتئین SIRT1 و NAD+ در مغز موش‌های مبتلا به EAE کاهش یافت. SIRT1 یک پروتئین دی‌استیلاز وابسته به NAD+ است که نقش بسیار مهمی در پاتوژنز بیمار MS و EAE دارد. در همین راستا لی^۱ و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند سطوح SIRT1 در سرم بیماران مبتلا به MS کاهش می‌یابد که این کاهش با افزایش التهاب همراه است [۹]. علاوه بر این نیمادا و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند، افزایش شدت SIRT1 در موش‌های مبتلا به EAE شدت بیماری را از طریق کاهش التهاب، افزایش BDNF و کاهش تخریب غلاف میلین، کاهش داد [۱۰]. پژوهش‌های جدید نشان می‌دهند در MS بیان NAD+ کاهش می‌یابد، که این کاهش با افزایش عوامل التهابی مثل Th1 و Th17 همراه است [۱۱]. همچنین نشان داده شده است که کاهش NAD+ نوروں‌ها را در برابر بیماری MS آسیب پذیرتر می‌کند [۱۱]. همچنین یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد، فعالیت ورزشی هوازی و مقاومتی به طور معنی داری سطوح

این پروتئین‌ها را در مغز موش‌های مبتلا به EAE افزایش دادند (شکل ۴-۲). به نظر می‌رسد تمرین ورزشی نیز با فعال کردن مسیر NAD+/SIRT/AMPK می‌تواند شدت EAE را کاهش دهد. افزایش NAD+ باعث افزایش بیان AMPK می‌شود. AMPK پروتئین SIRT1 را فعال می‌کند. SIRT1 از طریق سرکوب بیان پروتئین NFkB پاسخ‌های ایمنی و التهابی را تعدیل می‌کند [۱۱]. علاوه بر این افزایش NAD+ با فعالیت ورزشی می‌تواند با افزایش فعالیت ماکروفاژهای M2، سلول‌های B تنظیمی و سلول‌های Th2 رهایش سایتوکاین‌های ضد التهابی IL-10 و TGF-β را افزایش دهد و از این طریق شدت بیماری را کاهش دهد [۱۱]. در همین راستا صفار و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند چهار هفته دویدن بر روی چرخ دوار سطوح پروتئین NRF2، IL-10 را در نخاع موش‌های مبتلا به EAE افزایش و شدت بیماری را کاهش می‌دهند [۱۲]. همچنین محمدی و همکاران (۱۴۰۱) نشان دادند که چهار هفته فعالیت در محیط غتی شده سطوح TNF-α و IL-1B را در نخاع

¹ Li

می‌کند، اما مسیر وابسته به mTOR1 را فعال نمی‌کند. AMPK هموستاز انرژی سلولی بافت‌های مختلف را حفظ می‌کند و اتوفاژی را از طریق فسفوریلاسیون ULK1 فعال می‌کند [۱۶، ۱۷].

مطالعات قبلی دریافتند که فسفات-AMPK می‌تواند SIRT1 را فعال کند و SIRT1 تشکیل واکوئل اتوفاژیایی را تنظیم می‌کند [۲۰-۱۸]. به نظر می‌رسد افزایش اتوفاژی موجب کاهش التهاب و تخریب غلاف میلین و تخریب آکسون‌ها در مغز و کاهش شدت بیماری در EAE می‌شود [۲۱].

یکی از محدودیت‌های بالقوه تحقیق در زمینه موضوع این پژوهش، پیچیدگی مدل بیماری و ارتباط آن با شرایط انسانی است. EAE یک مدل حیوانی است که جنبه‌های خاصی از MS را تقلید می‌کند، اما تمام طیف پاتوفیزیولوژی و علائم MS را که در انسان مشاهده می‌شود، به‌طور کامل تکرار نمی‌کند. بنابراین، یافته‌های این مدل ممکن است به‌طور مستقیم برای بیماران MS انسانی قابل ترجمه نباشد.

علاوه بر این، اثرات خاص تمرین مقاومتی و شنا بر سطوح SIRT1 و NAD⁺ در زمینه

موش‌های مبتلا به EAE کاهش و سطوح TGF- β را افزایش و شدت بیماری را کاهش داد [۱۳].

هووانگ^۱ و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهشی بروی موش‌های مدل EX527-موش‌هایی که فعالیت SIRT1 در آن‌ها مهار شده- دریافتند که تمرین بروی چرخ دوار (۸ هفته، ۵ روز/هفته) عملکرد لیزوزومی مغز را از طریق مسیر AMPK-SIRT1-TFEB فعال می‌کند [۷]. لیزوزوم آخرین مرحله فلاکس اتوفاژی است، بنابراین عملکرد لیزوزوم برای تکمیل کل فرآیند اتوفاژی و به‌طور کلی سلامت سلول‌ها بسیار مهم است [۱۴]. از آنجایی که این پژوهش دریافت که تمرین ورزشی طولانی مدت با بهبود انتقال هسته‌ای TFEB و تقویت رونویسی ژن‌های تنظیم شده توسط TFEB، عملکرد لیزوزومی را افزایش می‌دهد [۷]، احتمالاً تمرین ورزشی از طریق مسیر وابسته به mTOR1، که یک مکانیسم مهم افزایش عملکرد TFEB است، انتقال هسته‌ای TFEB را افزایش می‌دهد [۱۵]. با این حال، آن‌ها نشان دادند که فعالیت ورزشی هوازی، بیوژنز و عملکرد لیزوزوم را در مسیر AMPK-ULK1 فعال

¹ Huang

مسیرهای مولکولی در زمینه بیماری‌های عصبی ممکن است نیاز به تأیید بیشتر در مطالعات انسانی باشد.

بر اساس نتیجه تحقیق، یک پیشنهاد عملی می‌تواند بررسی بیشتر اثرات درمانی بالقوه تمرین مقاومتی و شنا در زمینه MS از طریق مطالعات تحقیقاتی اضافی باشد. به طور خاص، انجام آزمایش‌های بالینی یا مطالعات طولی شامل بیماران MS می‌تواند به تأیید یافته‌های مشاهده‌شده در مدل حیوانی EAE کمک کند. علاوه بر این، با توجه به فعال‌سازی بالقوه مکانیسم SIRT-1/NAD⁺ و افزایش نشانگرهای ضد التهابی مرتبط با تمرین مقاومتی و شنا، ممکن است توسعه برنامه‌های ورزشی ساختاریافته متناسب با افراد مبتلا به MS مفید باشد. این برنامه‌ها می‌توانند برای ترکیب عناصر تمرین مقاومتی و شنا، با در نظر گرفتن نیازها و توانایی‌های خاص بیماران MS، با هدف ارزیابی مزایای بالقوه درمانی در یک محیط بالینی طراحی شوند.

همچنین، با توجه به ماهیت اولیه یافته‌ها، بررسی اثرات بلندمدت این مداخلات ورزشی بر پیشرفت بیماری، مدیریت علائم و کیفیت کلی زندگی در افراد مبتلا به MS ارزشمند

EAE ممکن است به طور مستقیم به سایر شرایط یا بیماری‌های عصبی قابل تعمیم نباشد. اثرات فعالیت ورزشی بر مسیرهای مولکولی و التهاب عصبی می‌تواند بسته به بیماری یا شرایط خاص مورد مطالعه متفاوت باشد. همچنین، ترجمه یافته‌ها از مدل‌های حیوانی به کاربردهای بالینی انسانی نیازمند بررسی دقیق تفاوت‌های گونه‌ها و همچنین تأثیر بالقوه عوامل دیگر مانند رژیم غذایی، تنوع ژنتیکی و تأثیرات محیطی است. توجه به این نکته نیز مهم است که در حالی که مطالعات حیوانی می‌تواند بینش‌های ارزشمندی ارائه دهد، تأثیر مداخلات ورزشی بر مسیرهای مولکولی و پیشرفت بیماری در بیماران انسانی ممکن است با آنچه در مدل‌های حیوانی مشاهده می‌شود متفاوت باشد. بنابراین، هنگام تعمیم یافته‌های مطالعات حیوانی به کاربردهای بالینی انسانی باید احتیاط کرد.

به طور خلاصه، در حالی که تحقیق در مدل‌های حیوانی مانند EAE می‌تواند بینش مکانیکی مهمی را ارائه دهد، محدودیت‌های ترجمه مستقیم یافته‌ها به زمینه‌های بیماری انسانی باید در نظر گرفته شود. علاوه بر این، اثرات خاص انواع مختلف مداخلات ورزشی بر

هر دو- با فعال کردن مکانیسم SIRT- $NAD+1$ و افزایش میزان این دو نشانگر ضدالتهابی احتمالا سبب درمان و بهبود و کنترل بیماری MS موثر باشد. با این وجود، این اولین پژوهشی بود که به این بررسی می‌پردازد و به تحقیقاتی بیشتری در این زمینه نیاز است.

سپاسگزاری

مقاله حاضر برگرفته از رساله دکتری فاطمه بزرگی در رشته فیزیولوژی ورزشی دانشگاه تهران می‌باشد. بنابراین از تمام کسانی که در این مطالعه ما را حمایت کردند، صمیمانه سپاسگزاری می‌کنیم.

حامی مالی: ندارد.

تعارض منافع: ندارد.

خواهد بود. این مهم می‌تواند شامل همکاری بین محققان، متخصصان مراقبت‌های بهداشتی و بیماران MS برای توسعه و اجرای مداخلات مبتنی بر ورزش باشد که برای مدیریت بیماری ایمن، امکان‌پذیر و مؤثر باشد. به‌طور خلاصه، پیشنهاد عملی بر اساس نتیجه‌گیری تحقیق، پیگیری تحقیقات بالینی بیشتر است که به‌طور بالقوه منجر به توسعه برنامه‌های ورزشی مناسب و ارزیابی مزایای بلندمدت برای افراد مبتلا به MS می‌شود.

نتیجه‌گیری

بطور کلی یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که ۴ هفته تمرین مقاومتی و شنا اجباری -

منابع

1. Zhang, Y., et al., Review of the anti-inflammatory effect of SIRT1 and SIRT2 modulators on neurodegenerative diseases. *Eur J Pharmacol*, 2020. **867**: p. 172847.
2. Zhang, F., et al., Protective effects and mechanisms of sirtuins in the nervous system. *Prog Neurobiol*, 2011. **95**(3): p. 373-95.
3. Nimmagadda, V.K., et al., Overexpression of SIRT1 protein in neurons protects against experimental autoimmune encephalomyelitis through activation of multiple SIRT1 targets. *J Immunol*, 2013. **190**(9): p. 4595-607.
4. Tegla, C.A., et al., SIRT1 is decreased during relapses in patients with multiple sclerosis. *Exp Mol Pathol*, 2014. **96**(2): p. 139-48.
5. Hoseini, S.M., Z. Falah Mohammadi, and V. Talebi, Preventive Effect six Weeks of Swimming Training on the Levels of Cytokines and Brain-Derived Neurotrophic Rat Model of EAE. *Journal of Sport Biosciences*, 2020. **12**(1): p. 53-65.
6. Nazari, M., et al., Ameliorating effect of 6-week swimming exercise on mice with experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) by reducing fetuin-A and increasing AMPK & NAD(+) levels in liver tissue. *Iran J Basic Med Sci*, 2022. **25**(8): p. 1016-1020.
7. Huang, J., et al., Exercise activates lysosomal function in the brain through AMPK-SIRT1-TFEB pathway. *CNS Neurosci Ther*, 2019. **25**(6): p. 796-807.
8. Souza, P.S., et al., Physical Exercise Attenuates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by Inhibiting Peripheral Immune Response and Blood-Brain Barrier Disruption. *Mol Neurobiol*, 2017. **54**(6): p. 4723-4737.
9. Li, R., et al., Serum CCL20 and its association with SIRT1 activity in multiple sclerosis patients. *Journal of neuroimmunology*, 2017. **313**: p. 56-60.
10. Nimmagadda, V.K., et al., Overexpression of SIRT1 protein in neurons protects against experimental autoimmune encephalomyelitis through activation of multiple SIRT1 targets. *The Journal of Immunology*, 2013. **190**(9): p. 4595-4607.
11. Wang, J., et al., Treatment with NAD(+) inhibited experimental autoimmune encephalomyelitis by activating AMPK/SIRT1 signaling pathway and modulating Th1/Th17 immune responses in mice. *Int Immunopharmacol*, 2016. **39**: p. 287-294.
12. Saffar Kohnh Quchan, A.H., et al., Voluntary wheel running stimulates the expression of Nrf-2 and interleukin-10 but suppresses interleukin-17 in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neuroscience Letters*, 2020. **738**: p. 135382.
13. Mohammadi, G., m. kordi, and S. Choobineh, The effect of four weeks of physical activity in the enriched environment on inflammatory and anti-inflammatory factors in the dorsal horn of the spinal cord of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*, 2022. **9**(2): p. 138-148.
14. Huang, W.J., X. Zhang, and W.W. Chen, Gaucher disease: a lysosomal neurodegenerative disorder. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2015. **19**(7): p. 1219-26.
15. Martini-Stoica, H., et al., The Autophagy-Lysosomal Pathway in Neurodegeneration: A TFEB Perspective. *Trends Neurosci*, 2016. **39**(4): p. 221-234.
16. Kim, J., et al., AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol*, 2011. **13**(2): p. 132-41.
17. Gailite, I., B.L. Aerne, and N. Tapon, Differential control of Yorkie activity by LKB1/AMPK and the Hippo/Warts cascade in the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015. **112**(37): p. E5169-78.
18. Salminen, A. and K. Kaarniranta, SIRT1: regulation of longevity via autophagy. *Cell Signal*, 2009. **21**(9): p. 1356-60.
19. Cantó, C., et al., AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD+ metabolism and SIRT1 activity. *Nature*, 2009. **458**(7241): p. 1056-60.
20. Chen, Z., et al., Shear stress, SIRT1, and vascular homeostasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010. **107**(22): p. 10268-73.



Metabolism and Exercise
A biannual journal

Vol 14, Number 1, 2024



Comparison of the effect of resistance training and forced swimming on sirtuin-1 and nicotinamide dinucleotide levels in the brains of rats with experimental autoimmune encephalomyelitis

Fatemeh Bozorgi¹, Mohammad reza Kordi^{2*}, Siroos Chobineh³

Received: 23/03/2024

Accepted: 24/05/2024

Published: 8/06/2024

Abstract

Introduction: The aim of the present research was to compare the effects of four weeks of aerobic exercise (swimming) and resistance exercise (climbing stairs) on the levels of Sirtuin-1 protein (SIRT1) and Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NAD⁺) in the brain in the chronic experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) period. **Methodology:** This study was conducted using a laboratory method. 40 female C57BL6 mice, 8 weeks old with an average weight of 18±2 grams, were selected for the experiment. For the experiment process, the sample group members were divided into four groups: healthy control, EAE, EAE + swimming, and EAE + resistance exercise. After inducing EAE with MOG35-33, the exercise groups performed swimming and resistance exercise programs for 30 minutes, 5 days a week for 4 weeks. On the 30th day post-induction (chronic disease period), the mice were anesthetized with ketamine and xylazine, followed by brain dissection and tissue sampling. The levels of SIRT1 and NAD⁺ proteins were measured using immunohistochemistry. One-way analysis of variance (ANOVA) was used to compare the research groups. Tukey's post hoc test was used to compare differences between groups. **Results:** The findings of the current research showed that both swimming and resistance exercises significantly increased the levels of NAD⁺ and SIRT1 proteins compared to the EAE group, although resistance exercise was more effective than swimming ($P \leq 0.05$). **Conclusion:** Exercise, especially resistance exercise, may reduce disease progression in EAE by increasing NAD⁺ and SIRT1 levels.

Key words: Multiple sclerosis; Experimental autoimmune encephalomyelitis; Sirtuin-1; Nicotinamide Adenine Dinucleotide; Exercise

1. Department of Exercise Physiology, Kish International Campus, University of Tehran, Kish, Iran. 2. Corresponding Author, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran. 3. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran.

*Corresponding author: mrkordi@ut.ac.ir

