

تغییرات مقادیر پلاسمایی و بیان ژن نوروتروفین-۳ در بیماران مالتیپل اسکلروزیس متعاقب هشت هفته تمرین در آب و تمرین مقاومتی

اسرا عسکری^۱، امیر رشیدلمیر^{۲*}، ناهید بیژه^۲، مجید مؤمنی مقدم^۳

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، گروه فیزیولوژی ورزشی، مشهد، ایران

۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۳. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران

چکیده

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۵/۱۰

تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۸/۱۸

زمینه و هدف: نوروتروفین-۳ (NT-3) از بیومارکرهای مورد مطالعه در بیماری ام.اس. شناخته شده است. با توجه به اینکه تمرینات ورزشی شیوه مؤثر غیردارویی در درمان بیماری ام.اس. مطرح شده است، هدف از مطالعه حاضر بررسی تغییرات مقادیر پلاسمایی و بیان ژن NT-3 متعاقب هشت هفته تمرین در آب و تمرین مقاومتی در زنان مبتلا به ام.اس. بود.

مواد و روش‌ها: در پژوهش حاضر، ۳۰ زن از بین جامعه آماری زنان مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس شهر مشهد انتخاب و به‌طور تصادفی به سه گروه کنترل، تمرین مقاومتی و تمرین در آب تقسیم شدند. برنامه تمرین مقاومتی و تمرین در آب به مدت هشت هفته انجام شد. آزمودنی‌های گروه کنترل در هیچ تمرینی شرکت نداشتند. پس از جداسازی پلاسما و سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC)، اندازه‌گیری مقادیر پلاسمایی و بیان ژن NT-3 به ترتیب به روش الیزا و ریل‌تایم-پی‌سی‌آر انجام شد. برای مقایسه میانگین، مقادیر پلاسمایی و بیان ژن NT-3 در سه گروه از روش ANCOVA و مقایسه گروه‌ها به صورت قبل و بعد از مداخله از تی همبسته استفاده و سطح معناداری $p \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج افزایش معناداری در مقادیر پلاسمایی NT-3 سه گروه نشان داد ($p < 0/001$). آزمون تعقیبی شفه در مقایسه دوه‌دو گروه آب‌درمانی و مقاومتی نسبت به گروه کنترل معنادار است (به ترتیب، $p = 0/001$ و $p = 0/001$ ، ولی تفاوت بین گروه آب‌درمانی و مقاومتی معنادار نیست ($p = 0/329$). همچنین، افزایش معناداری در بیان ژن NT-3 سه گروه به دست آمد ($p = 0/001$). بر اساس آزمون شفه، تفاوت میانگین بین گروه آب‌درمانی و مقاومتی نسبت به گروه کنترل (به ترتیب، $p = 0/053$ و $p < 0/001$) معنادار است. تفاوت معناداری در دو گروه آب‌درمانی و تمرین مقاومتی وجود نداشت ($p = 0/08$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد هر دو نوع تمرین مقاومتی و تمرین در آب از طریق افزایش سطوح پلاسمایی و بیان ژن نوروتروفین-۳ باعث بهبود مبتلایان به ام.اس. می‌شود.

کلیدواژه‌ها:

تروتروفین-۳، تمرین در آب، تمرین مقاومتی، مالتیپل اسکلروز.

* نویسنده مسئول: امیر رشیدلمیر

نشانی: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تلفن: ۰۹۱۵۱۵۱۴۱۷۴ دورنگار: -

رایانه: rashidlamir@um.ac.ir

شناسه ORCID: امیر رشیدلمیر 0000-0002-6452-6699

اسرا عسکری 0000-0002-4948-9658

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۲۵، شماره ۳، مرداد و شهریور ۱۳۹۷، ص

آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانه: journal@medsab.ac.ir

شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

مقدمه

مالتیپل اسکلروزیس (Multiple Sclerosis)، به صورت حملات ناگهانی تصادفی بر میلین بروز می‌کند که در نتیجه آن، جریان تکانه‌های عصبی دچار نقص می‌شود [۱]. ایجاد تاری دید، دوبینی، ضعف عضلانی، اختلال در تعادل و هماهنگی، درد، خستگی و لرزش از جمله عوارض این بیماری است [۲] که به‌طور چشمگیری بر عملکرد و کیفیت زندگی مبتلایان به مالتیپل اسکلروزیس اثر می‌گذارد [۳]. نشانه‌های اولیه عموماً قبل از ۵۰ سالگی و حداکثر بروز این بیماری بین سنین ۲۰ تا ۴۰ سالگی است [۴] و در زنان شایع‌تر از مردان است [۵، ۶]. مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که علت پاتوژنز بیماری‌های نورودژنراتیو انسانی ممکن است به دلیل تغییر در عوامل نوروتروفیکی (neurotrophic) باشد که نقش مهمی در میلین‌سازی نیز دارد [۷، ۸]. نوروتروفین‌ها شامل عامل عصبی تغذیه‌ای مشتق از مغز (nerve growth factor)، نوروتروفین-۳ (NT-3) و NT-4/5 است [۹].

نوروتروفین-۳ نقش مهمی در بلوغ عملکردی سیناپس‌های عصبی-عضلانی دارد [۱۰] و از بیومارکرهای مورد مطالعه در بیماری ام.اس.، شناخته شده است [۱۱] به‌ویژه اینکه نشان داده شده است غلظت NT-3 در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون به شدت با موارد زیادی از مقادیر آتروفی مغز در بیماران ام.اس. مرتبط است [۱۲]، به طوری که در مالتیپل اسکلروز حمایت اضافی نوروتروفیکی ناشی از سلول‌های تک‌هسته‌ای خون ممکن است باعث جبران نسبی نقص نوروتروفین‌ها در بافت مغز آسیب‌دیده شود که به ترمیم نیاز دارد [۱۳].

امروزه، روش‌های غیردارویی که توجه مبتلایان به ام.اس. را به خود جلب کرده است با عنوان درمان‌های تکمیلی (complementary therapies) شناخته می‌شود که از جمله آن‌ها می‌توان ورزش را نام برد [۱۴]. گزارش شده است داشتن تحرک و ورزش، مشکلات حرکتی مبتلایان به ام.اس. را بهبود می‌بخشد [۱۵]. از جمله فعالیت‌های ورزشی در بهبود این بیماران تمرینات مقاومتی است که مؤثرترین روش موجود برای حفظ و افزایش توده بدون چربی و بهبود قدرت و استقامت عضلانی [۳، ۱۶] و عمومی‌ترین شکل‌های تمرین بدنی است که هر دو افراد عادی و بیماران استفاده زیادی از آن می‌کنند [۱۴].

یکی دیگر از شیوه‌های تمرینی که برای مبتلایان به ام.اس. سودمند است، ورزش در آب است [۱۷]. منظور از ورزش در آب، انجام حرکاتی مانند پیاده‌روی، ایروبیک و نرمش است [۱۸] که باعث کاهش خستگی در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس می‌شود [۱۹]. در حقیقت، با توجه به علائم بیماری ام.اس. از جمله کاهش توانایی راه‌رفتن، خستگی، ضعف عضلات اسکلتی، کاهش تعادل [۱۵]، و لرزش و ضعف [۲]، تمرین در آب روش پیشنهادی برای توصیه به بیماران ام.اس. است.

به‌طور کلی، در بسیاری از بیماری‌های تحلیل‌برنده اعصاب، اغلب سعی بر این است تا از طریق تحریک سیستم بازسازی ذخیره سلول‌های بنیادی در بافت آسیب‌دیده با محرک‌های محیطی از قبیل ورزش و دارو بتوان زمینه رشد و بازسازی بافت بیمار و آسیب‌دیده را فراهم آورد. در این زمینه، نوروتروفین‌ها ابزاری برای اعمال آثار مفید ورزش بر مغز قلمداد می‌شود [۲۰]، به طوری که گزارش شده است تمرین ورزشی، بیان ژن تعدادی از فاکتورهای رشد و نوروتروفین‌ها را در مغز افزایش می‌دهد [۹]. این فاکتورهای نوروتروفیکی راهبرد درمانی برای اختلالات روانی-عصبی است [۲۱]. با وجود این، تاکنون تحقیقاتی که در زمینه نقش تمرینات ورزشی در تغییرات سطوح نوروتروفین‌ها انجام شده است اغلب، به بررسی تأثیر ورزش اختیاری (wheel running) بر نوروتروفین‌ها (اغلب BDNF) متمرکز شده و نتایج متفاوتی نیز گزارش شده است [۲۲، ۲۳] که با ابهامات زیادی نیز همراه است. با توجه به شیوع بیماری ام.اس.، به‌ویژه در زنان و تأثیرات منفی آن بر عملکرد و کیفیت زندگی بیماران و از طرفی با توجه به نقش تمرینات ورزشی در بهبود آمادگی جسمانی، و جلوگیری از آسیب‌ها [۱۵]، تحقیقاتی که نقش تمرینات ورزشی را در فرایند بهبود مبتلایان به ام.اس. بررسی کند، ضروری به نظر می‌رسد. از این‌رو، هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر هشت هفته تمرین در آب و تمرین مقاومتی بر مقادیر پلاسمایی و بیان ژن نوروتروفین-۳ (NT-3) سلول‌های (Peripheral Blood) PBMN (Mononuclear) در زنان مبتلا به ام.اس. است.

مواد و روش‌ها

مطالعه از نوع نیمه‌تجربی بود و مشارکت‌کنندگان پژوهش

استپ در آب (۱۰ دقیقه)؛ مرحله سوم، تمرینات اندام فوقانی و بالاتنه (۱۸ دقیقه؛ خم کردن چانه، نگاه کردن به شانه، چرخش شانه‌ها، بالانداختن شانه، چرخش مچ دست، فلکشن و اکستنشن انگشتان، تماس شست با انگشتان، بالارفتن از طناب، شنای پروانه، پرش جک، مشت زدن، کشش قفسه سینه، دایره زدن به جلو و عقب، حرکت انقباض دوسر بازویی (Biceps Curl)، فلکشن و اکستنشن شانه، آبداکشن و ادداکشن شانه، چرخش تنه)؛ مرحله چهارم، تمرینات اندام تحتانی (۷ دقیقه؛ کشیدن زانو به سمت قفسه سینه، آبداکشن و ادداکشن لگن، حرکت انقباض همسترینگ (Hamstring Curl)، فیلامینگو، چرخش مچ پا، فلکشن مچ پا، حرکت پاندولی لگزدن سریع با پای صاف، فشار به عقب). تمامی تمرینات در قسمت کم عمق استخر انجام شد [۱۹، ۲۵].

برنامه تمرین مقاومتی. تمرین مقاومتی به مدت هشت هفته، سه بار در هفته اجرا شد. شدت تمرینات ۴۰-۷۰ درصد یک تکرار بیشینه بود. آزمودنی‌ها هر جلسه تمرینی را با برنامه گرم کردن ۵ تا ۱۰ دقیقه‌ای شروع کردند. سپس، برنامه تمرین مقاومتی ۳۰ تا ۴۵ دقیقه‌ای را اجرا کردند. برای اعمال برنامه تمرین مقاومتی به ترتیب از دستگاه‌های پرس پا، دستگاه H بدنسازی، پشت پا، پرس سینه و جلو پا استفاده شد. استراحت بین هر ست ۶۰ تا ۹۰ ثانیه و استراحت بین حرکات ۲ دقیقه در نظر گرفته شد. در ابتدا و انتهای هفته چهارم، آزمون یک تکرار بیشینه (تعداد تکرارها * ۰/۰۲۷۸ - ۱/۰۲۷۸) / مقدار وزنه = یک تکرار بیشینه [۲۶] با دستگاه‌های پرس پا و پرس سینه گرفته شد. اجرای این آزمون در پایان هفته چهارم به منظور تطبیق پروتکل تمرینی با تغییراتی بود که احتمالاً در قدرت مشاهده می‌شود، و پروتکل تمرینی بر اساس نتیجه این آزمون در پایان هفته چهارم ادامه یافت. شدت تمرین، تعداد تکرارها و ست‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. در پایان هر جلسه تمرینی، برنامه سرد کردن ۱۰ تا ۱۵ دقیقه‌ای انجام شد [۲۷].

حاضر را ۳۰ زن تشکیل دادند که از بین جامعه آماری زنان مبتلا به ام.اس. و مراجعه‌کنندگان به انجمن ام.اس. شهر مشهد بر اساس معیارهای پژوهش و به صورت رضایت آگاهانه انتخاب شدند.

معیارهای ورود به مطالعه عبارت بود از [۲۴]:

۱. در سه ماه گذشته در فعالیت ورزشی منظم شرکت نکرده باشند.
۲. دارای محدودیت شدید شناختی نباشند.
۳. در چهار هفته گذشته دچار حمله یا بروز علائم عصبی شدید نشده باشند.
۴. مبتلا به بیماری‌های ارتوپدی، قلبی-ریوی یا متابولیکی نباشند و به جز استفاده از داروهای ریفب، بتافرون، آوونکس و سینوووکس، داروی دیگری مصرف نکرده باشند.
۵. مقیاس EDSS (Expanded Disability Status Scale) آن‌ها بین ۱ تا ۴ باشد.

بیش از سه جلسه غیبت در طول دوره طرح تمرینات و انصراف از ادامه شرکت در طرح پژوهش معیارهای خروج از مطالعه بود.

آزمودنی‌ها به طور تصادفی به سه گروه تمرین در آب (۱۰ نفر)، تمرین مقاومتی (۱۰ نفر) و گروه کنترل (۱۰ نفر) تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی به مدت هشت هفته و در هر هفته سه جلسه به تمرین پرداختند و در این مدت گروه کنترل هیچ‌گونه تمرینی انجام نداد.

پروتکل تمرینی

برنامه تمرین در آب. آزمودنی‌های این گروه به مدت هشت هفته و هر هفته سه جلسه در صبح در برنامه تمرین در آب شرکت کردند. تعداد جلسات به طور کلی ۲۴ جلسه ۳۰ تا ۵۰ دقیقه‌ای بود. به منظور رعایت اصل اضافه بار هر هشت جلسه ۱۰ دقیقه به زمان هر جلسه اضافه شد. مراحل برنامه تمرین در آب به شرح زیر بود: مرحله نخست، راه رفتن در آب به منظور گرم کردن (حدود ۱۰ دقیقه)؛ مرحله دوم، تمرینات

جدول ۱. برنامه تمرین مقاومتی در هشت هفته

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	آزمون	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
شدت (% از) IRM	۴۵-۴۰	۴۵-۴۰	۶۰-۵۰	۶۵-۶۰	1RM	۷۰-۶۰	۶۰-۵۰	۷۰-۶۰	۷۰-۶۵

تعداد ست	۲	۳	۲	۳		۳	۳	۳	۳
تعداد تکرار	۱۲-۱۰	۱۴-۱۲	۱۲-۱۰	۱۲-۱۰		۱۲-۱۰	۱۲-۱۰	۱۲-۱۰	۱۲-۱۰

خون گیری و اندازه گیری های آزمایشگاهی

خون گیری از تمام آزمودنی ها در دو نوبت شامل ۴۸ ساعت قبل از شروع نخستین جلسه تمرین و ۴۸ ساعت بعد از اتمام آخرین جلسه تمرین، در حالت ناشتا و از ورید بازویی انجام شد. نمونه های خونی در لوله های آزمایشی با ماده ضد انعقاد EDTA جمع آوری و پس از جداسازی پلاسما و سلول های PBMC [۲۸] تا زمان اندازه گیری های مربوط در فریزر -۷۰-

درجه سانتی گراد نگهداری شد. پس از تخلیص mRNA سلول های PBMC، سنتز cDNA با استفاده از پرایمر اولیگو (dT) و کیت (Fermentas GmbH، ساخت کشور آلمان) انجام شد. برای بررسی بیان ژن NT-3، از روش Real-Time-PCR استفاده شد. توالی پرایمرهای NT-3 [۲۹] و بتا کتین [۲۸] در جدول ۲ اشاره شده است. مقادیر پلاسمایی NT-3 نیز به روش الایزا و با استفاده از کیت (Chongqing Biospes Co, Ltd) انجام شد.

جدول ۲. توالی الیگو نوکلئوتیدی پرایمرها

نام ژن	نوع	توالی پرایمرها
NT-3	رفت	GTATCTCATGGAGGATTACGTGGG
	برگشت	TGTTCTCTAAGTCAGTGCTCGGA
β -Actin	رفت	TCCCTGGAGAAGAGCTACG
	برگشت	GTAGTTTCGTGGATGCCACA

تعیین خط آستانه سیکل آستانه Ct هر نمونه مشخص شد. از نسبت سیکل آستانه ژن مورد نظر با ژن خانه گردان می توان میزان بیان ژن مورد نظر را با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ از معادله (۲) به دست آورد، به این صورت که نخست سیکل آستانه ژن مورد نظر هر نمونه را از سیکل آستانه ژن خانه گردان همان نمونه کم می کنیم.

$$\Delta Ct = Ct_{\text{Target}} - Ct_{\text{Housekeeping}} \quad (1)$$

در مرحله بعد، ΔCt هر نمونه را از نمونه ای که نسبت به آن می خواهیم مقایسه کنیم کم می کنیم و منفی عدد به دست آمده را به توان ۲ می رسانیم و بیان نسبی آن ژن را به دست می آوریم.

$$E = 2^{-\Delta\Delta Ct} \quad (2)$$

سیس، داده ها با استفاده از آمار توصیفی و استنباطی تحلیل شد. پس از تعیین توزیع نرمال داده ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک برای مقایسه میانگین، مقادیر پلاسمایی و

Real-Time PCR واکنش زنجیره ای پلیمرز (Polymerase chain reaction) با دستگاه BIO RAD(C1000 Thermal Cycler)™ و در پلیت های ۹۶ چاهکی انجام شد، شامل مرحله نخست، فعالیت آغازی PCR در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه (یک سیکل)؛ مرحله دوم، شامل سه مرحله ۱. واسرشت در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ ثانیه، ۲. اتصال پرایمر و طولیل شدن در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، و ۳. منحنی ذوب در دمای ۵۵ تا ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۶/۵ دقیقه که در ۴۵ سیکل تکرار شد [۳۰].

روش تجزیه و تحلیل داده ها

پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه، سیکل آستانه (Ct) هر نمونه به دست آمد. از نسبت سیکل آستانه ژن مورد نظر با ژن خانه گردان، میزان بیان ژن مورد نظر با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ از طریق معادله (۱) به دست آمد [۳۱]. پس از پایان واکنش و

یافته‌ها

مشخصات آزمودنی‌ها در جدول ۳ آمده است.

بیان ژن NT-3 در سه گروه از روش ANCOVA و مقایسه گروه‌ها به صورت قبل و بعد از مداخله از تی هم‌بسته با سطح معناداری $p \leq 0/05$ و SPSS نسخه ۱۸ در نظر گرفته شد.

جدول ۳. مشخصات آزمودنی‌های هر گروه

گروه‌ها	کنترل	تمرین در آب	تمرین مقاومتی
سن (سال)	۳۷/۴۳±۴/۳۹	۳۳/۲۲±۵/۳۳	۳۴/۵۰±۴/۳۸
وزن اولیه (کیلوگرم)	۵۹/۶۷±۵/۸۸	۶۱/۵۹±۵/۰۷	۶۰/۸۵±۲/۴۴

اعداد به صورت میانگین ± انحراف استاندارد (SD) نوشته شده است.

همچنین، افزایش معناداری در تغییرات درون گروهی میانگین مقادیر بیان ژن NT-3 در گروه‌های تمرین در آب و تمرین مقاومتی مشاهده شد (به ترتیب $p = 0/004$ و $t = -4/028$ ؛ $p = 0/001$ و $t = -5/935$) (شکل ۱).

نتایج افزایش معناداری در بیان ژن NT-3 سه گروه نشان داد ($F = 11/812$ و $p = 0/001$). بر اساس آزمون شفه، تفاوت میانگین بین گروه آب درمانی و مقاومتی نسبت به گروه کنترل (به ترتیب، $p = 0/05$ ؛ $p = 0/001$) است. تفاوت معناداری در دو گروه آب‌درمانی و تمرین مقاومتی وجود نداشت ($p = 0/08$).



شکل ۱. تغییرات بیان نسبی ژن نوروتروفین-۳ (NT-3) در گروه‌های مختلف تمرین

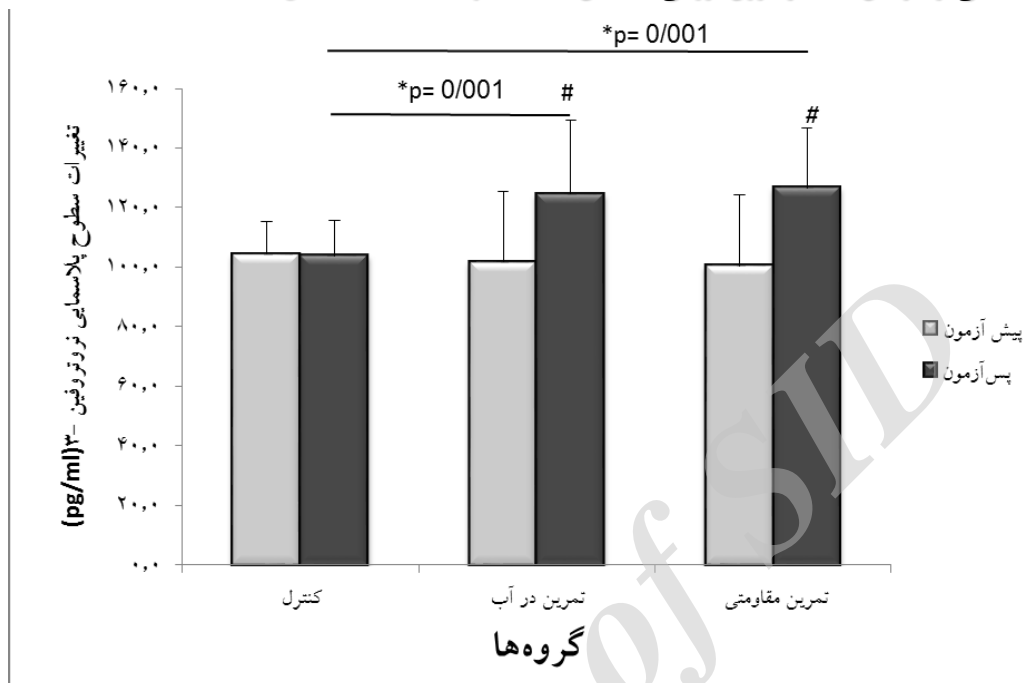
* اختلاف بین گروهی معنادار
اختلاف درون گروهی معنادار

آزمون تعقیبی شفه در مقایسه دوبه‌دوی گروه آب‌درمانی و مقاومتی نسبت به گروه کنترل معنادار است ($F = 31/81$).

همچنین، نتایج آنالیز کوواریانس افزایش معناداری در مقادیر پلاسمایی NT-3 سه گروه نشان داد ($p = 0/001$).

مقادیر پلاسمایی NT-3 در هر دو گروه تمرین در آب و تمرین مقاومتی بود (به ترتیب $p=0/001$ و $t=-10/335$ ؛ $p=0/001$ و $t=-8/846$) (شکل ۲).

(به ترتیب، $p=0/001$ ؛ $p=0/001$). ولی تفاوت بین گروه آب درمانی و مقاومتی معنادار نیست ($p=0/329$). نتایج آزمون تی هم‌بسته حاکی از افزایش معنادار درون گروهی میانگین



شکل ۲. تغییرات سطوح پلاسمایی نوروتروفین-۳ (NT-3) در گروه‌های مختلف تمرین

اختلاف بین گروهی معنادار

اختلاف درون گروهی معنادار

بیان ژن نوروتروفین-۳ را در زنان مبتلا به ام.اس. افزایش دهد. با توجه به اینکه تحقیقات انجام گرفته نشان می‌دهد تمرینات مقاومتی ساختار تارها را تغییر می‌دهد، به نظر می‌رسد ساختار نورون‌هایی که این تارها را عصب‌رسانی می‌کند نیز دستخوش تغییر می‌شود. در نتیجه از این طریق می‌توان فاکتورهای نوروتروفیکی موجود در عضلات و گیرنده‌های آن‌ها را نیز که نقش اثبات شده‌ای در روند عصبی-عضلانی دارد، تحت تأثیر این نوع تمرین دانست [۳۲]. با توجه به افزایش معنادار بیان ژن و سطوح پلاسمایی نوروتروفین-۳ در گروه تمرین در آب، به نظر می‌رسد با توجه به اینکه وزن بدن هنگامی که بدن در آب قرار دارد تا ۹۰ درصد کاهش می‌یابد و در نتیجه از فشار وارد بر مفاصل به‌طور قابل توجهی کاسته می‌شود و بدن می‌تواند حرکات را به‌طور کامل انجام دهد [۳۳]. لذا، اجرای راحت فعالیت در آب بیماران مبتلا به

بحث

از یافته‌های مهم پژوهش حاضر افزایش معنادار میزان بیان ژن و مقادیر پلاسمایی نوروتروفین-۳ در گروه‌های تمرین مقاومتی و تمرین در آب نسبت به گروه کنترل است. افزایش معناداری در میانگین مقادیر پلاسمایی و بیان ژن نوروتروفین-۳ در هر دو گروه تمرینی نیز از دیگر نتایج مهم تحقیق حاضر است.

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد هر دو نوع تمرین مقاومتی و تمرین در آب به‌طور مشابه به افزایش سطوح پلاسمایی و تنظیم مثبت بیان ژن نوروتروفین-۳ در سلول‌های تک‌هسته‌ای می‌انجامد. تمرین مقاومتی اقدام مناسبی برای بهبود استقامت و تعادل است و بیماران ام.اس. نیز قادر به تطبیق با تمرینات مقاومتی مربوط به افزایش استقامت عضلانی و تعادل‌اند [۲۴]. همچنین، همان‌طور که گفتیم، در پژوهش حاضر تمرینات مقاومتی توانست سطوح پلاسمایی و

افراد سالم به‌طور معناداری کمتر است [۳۶] که به‌نظر می‌رسد کاهش و تغییر بیان ژن نوروتروفین‌ها در PBMCs بیماران مبتلا به ام.اس. با ناتوانی در فعالیت حفاظت عصبی توسط سلول‌های ایمنی در این بیماری مرتبط باشد [۳۷]. سلول‌های ایمنی همچنین، گیرنده‌های نوروتروفین را نیز بیان می‌کنند، به‌طوری‌که گیرنده p75NTR و trkA روی سلول‌های T و ماکروفاژها، گیرنده trkB روی سلول‌های B و ماکروفاژها، و گیرنده trkC روی ماکروفاژها بیان می‌شود [۱۳]. در بیماری ام.اس. نوروتروفین‌های مشتق از سلول‌های تک‌هسته‌ای خون به‌طور مستقیم از طریق اتصال به گیرنده‌های trk روی نوروهای درون سیستم عصبی مرکزی و افزایش بقای آن، و به‌طور غیرمستقیم از طریق تعامل با گیرنده‌های نوروتروفینی روی سلول‌های ایمنی، و تنظیم عملکرد آن و تعیین بقا یا آپوپتوز آن نقش خود را ایفا می‌کند [۱۳]. در این زمینه، یافته‌های بالینی نشان داد که غلظت NT-3 در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون به شدت با موارد زیادی از مقادیر آتروفی مغز در بیماران MS مرتبط است [۱۲]، به‌طوری‌که در مالتیپل اسکلروز حمایت اضافی نوروتروفیکی ناشی از سلول‌های تک‌هسته‌ای خون ممکن است باعث جبران نسبی نقص نوروتروفین‌ها در بافت مغز آسیب‌دیده شود که به ترمیم نیاز دارد [۱۳].

همچنین، مطالعات اخیر نشان‌دهنده نقش مهم فاکتورهای نوروتروفیکی در میلین‌سازی است [۲۱]. در این زمینه، NT-3 تکثیر و بقای الیگودندروسیت‌ها را افزایش می‌دهد و از آنجا که نوروتروفین‌ها قادر به جلوگیری از مرگ نوروها و کمک به فرایند ریکاوری است و در بازسازی عصبی و میلین‌سازی مجدد شرکت می‌کند [۳۷]، به‌نظر می‌رسد تمرین ورزشی از طریق افزایش سطوح NT-3 در فرایند میلین‌سازی نیز نقش مثبتی دارد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که فعالیت ورزشی بیان ژن و سطوح پلاسمایی نوروتروفین-۳ را در بیماران مبتلا به ام.اس. افزایش می‌دهد، ولی در پاسخ اینکه چه فعالیتی ثمربخش‌تر است، تفاوت معناداری بین فعالیت مقاومتی و تمرین در آب مشاهده نشد. از این‌رو، با توجه به

ام.اس. و عدم ایجاد خستگی زیاد در آن‌ها توانسته است در افزایش آثار مفید ورزش نقش داشته باشد.

سازوکارهای نحوه اثرگذاری فعالیت بدنی بر بیان ژن NT-3 در بیماران مبتلا به ام.اس. هنوز به‌طور کامل روشن نشده است و در این زمینه مطالعات نتایج مختلفی گزارش کرده‌اند؛ از جمله، گومز-فینیلا و همکاران [۲۲] در مدلی حیوانی، افزایش بیان ژن NT-3 را بعد از دویدن پی‌پی یک روز و پنج روز روی نوارگردان در موش‌های صحرایی مشاهده کردند که با نتایج پژوهش حاضر در زمینه تأثیر فعالیت ورزشی بر افزایش بیان ژن نوروتروفین-۳ همسوست.

از طرفی، در مطالعه ینگ و همکاران [۲۳] بیان NT-3 و گیرنده TrkC در عضله سولئوس به‌دنبال سه روز تمرین دلخواه اثری به‌دنبال نداشت. لذا، آنان نتیجه گرفتند با توجه به نقش NT-3 و گیرنده TrkC در رشد و ترمیم عصبی، افزایش بیان آن در عضله سولئوس بعد از فعالیت ورزشی ممکن است سازوکار عملکردی در افزایش توان بازیابی و بازسازی عصبی پس از آسیب باشد.

در پژوهشی دیگر، اسلامی و همکاران [۳۴] با بررسی اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان ژن‌های NT-3 و گیرنده TrkC در عضله سولئوس موش گزارش کردند که بیان ژن NT-3 افزایش معناداری نداشت اما بیان گیرنده TrkC در عضله سولئوس متعاقب یک جلسه تمرین مقاومتی ۷/۵ برابر افزایش داشت که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی ندارد. لذا عنوان کردند که احتمالاً بیان گیرنده‌های ژن NT-3، بیشتر از خود آن به فعالیت بدنی وابسته است. به‌علاوه با توجه به افزایش غیرمعنادار بیان ژن NT-3 می‌توان فرض کرد ژن NT-3 آثار خود را بیشتر از طریق افزایش عملکرد یعنی فسفوریله‌شدن با گیرنده انجام می‌دهد [۳۵]. علت تناقض نتایج آن‌ها با یافته‌های مطالعه حاضر ممکن است تفاوت در نوع آزمودنی و بافت مورد مطالعه و نیز روش تمرین مقاومتی باشد. آن‌ها اثر یک جلسه تمرین مقاومتی را بررسی کردند. لذا، با توجه به نتایج پژوهش حاضر احتمالاً با انجام تمرینات طولانی‌مدت بتوان نتیجه مطلوب‌تری در افزایش مقادیر نوروتروفین-۳ کسب کرد.

بر اساس مطالعات علمی، سطوح mRNA NT-3 در سلول‌های PBM بیماران مبتلا به ام.اس. درمان‌نشده نسبت به

بهبود بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس، تأثیر تمرینات ورزشی مختلف بر سایر نوروتروفین‌ها و نقش متفاوت گیرنده‌های آن‌ها نیز بررسی شود.

نقش فعالیت ورزشی در افزایش میزان نوروتروفین‌ها و در نتیجه افزایش سلامتی مغزی، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده در تعیین برنامه‌های تمرینی مطلوب‌تر و مؤثرتر در روند

References

- [1]. Moghadasi M, Edalatmanesh M, Moeini A, Nematollahzadeh Mahani MS, Arvin H. Effect of 8 weeks resistance training on plasma levels of nerve growth factor and interleukin-6 in female patients with multiple sclerosis. *Iran South Med J*. 2015; 18(3): 527-537.
- [2]. Balouchy R, Ghiasi A, Naderi E, Sodoghi H. The survey of Cawthorne and Cooksey exercise on the quality of life, balance and fatigue in patients with multiple sclerosis. *SJIMU*. 2014; 21(7): 43-53.
- [3]. Ebrahimi Atri A, Sokhangoi M, Sarvari F. The comparison of resistance and endurance exercises on fatigue severity and balance in women with multiple sclerosis. 2013; 5(1): 89-102.
- [4]. Turner AP, Kivlahan DR, Haselkorn JK. Exercise and quality of life among people with multiple sclerosis: looking beyond physical functioning to mental health and participation in life. *Arch Phys Med Rehabil*. 2009; 90(3): 420-428.
- [5]. Atashzadeh F, Shiri H, Moshage esheqi Z, Saniei, M. Effect of exercise training on activity of daily living in women with multiple sclerosis in Iranian multiple sclerosis in society. *Sci J of Rafsanjan Uni of Med Sci*. 2003; 2(3-4): 164-71. [in Persian]
- [6]. Motl RW, Goldman MD, Benedict RH. Walking impairment in patients with multiple sclerosis: exercise training as a treatment option. *Neuropsych Disease and Treatment*. 2010; 6: 767-774.
- [7]. Azoulav 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: 186-193.
- [8]. Mashavekhi F, Faraji M, Mousavi SZ. Effects of leukemia inhibitory factor on myelin basic protein, olig1 and olig2 expression in the cerebral cortex of cuprizone induced multiple sclerosis mice. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2012; 22(87): 65-73.
- [9]. Rezaee Z, Marandi SM, Ghaedi K, Esfarijani F. A review on the function and molecular structure of neurotrophins. *G3M*. 2015; 12(4): 3806-3822.
- [10]. Sterne GD, Coulton GR, Brown RA, Green CI, Terenghi G. Neurotrophin-3-enhanced nerve regeneration selectively improves recovery of muscle fibers expressing myosin heavy chains 2b. *The Journal of Cell Biology*. 1997; 139(3): 709-715.
- [11]. Khalil Nejhah A, Zahed Nasab H, Khodabande Lo H, Mahmodian E, Azar Abdar T, Balood M et al. Diagnostic biomarkers in multiple sclerosis. *SJIMU*. 2014; 21(7): 288-311. [in Persian]
- [12]. Khan NT, Smith T. Neurotrophins and neuropathic pain: role in pathobiology. *Molecules*. 2015; 20: 10657-10688.
- [13]. Kalinowska-Lyszczarz A, Losy J. The role of neurotrophins in multiple sclerosis- pathological and clinical implications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2012; 13: 13713-13725.
- [14]. Pazokian M, Shaban M, Zakerimoghdam M, Mehran A, Sanglaj B. The effect of stretching together aerobic exercises on fatigue level in multiple sclerosis patients refer to MS society of Iran those suffer from fatigue. *J Holist Nurs Midwifery*. 2012; 22(2): 18-24.
- [15]. Masoodi Nejad M, Khosroo E, Shirvani H. Effect of combined training on strength muscle and functional capacity in women with multiple sclerosis. *Journals Sport Physiology (Research on Sport Science)*. 2013; 4(16): 81-96. [in Persian]
- [16]. Hass C, Feigenbaum MS, Franklin BA. Prescription of resistance training for healthy populations. *Sport Medicine*. 2001; 31(14): 953-964.
- [17]. Kurdi M, Anoosheh L, Khodadad S, Khosravi N, Sangelaji B. The effect of selected combined training on strength, balance and life quality of patients multiple sclerosis. *Journal of Sport Medicine*. 2011; 2(5): 46-59.
- [18]. Shahnazari Z, Marandi SM, Shavegan Nejad V. The effect of pilates exercises and aquatic training on walking speed in women with multiple sclerosis. *JGBFNM*. 2013; 10(2): 10-17.
- [19]. Sarvari F, Ebrahimi Atri A, Saeedi M, Khorshid Sokhangoo M. The effect of aquatic exercise program on fatigue in women with multiple sclerosis. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2012; 22(94): 54-61.
- [20]. Mojtahedi S, Shabkhiz F, Akbarnejad A, Salehian O. Effect of 8 weeks resistance training on BDNF and TrkB in the hippocampus of adult male rats. *Armaghane Danesh*. 2014; 19(5): 380-389.
- [21]. Moghani Ghoroghi F, Nobakht M, Esmaeilzade B, Bakhtiyari M, Hejazian LB. Effect of neurotrophin-3 on differentiation of rat hair follicle stem cells into neural like cells. *Journal of Iranian Anatomical Sciences*. 2012; 9(37): 269-278.
- [22]. Goñamez-Pinilla F, Ying Z, Opazo P, Roy RR, Edgerton R. Differential regulation by exercise of BDNF and NT-3 in rat spinal cord and skeletal muscle. *European Journal of Neuroscience*. 2001; 13: 1078-1084.
- [23]. Ying Z, Roy RR, Edgerton R, Gomez- Pinilla F. Voluntary exercise increases neurotrophin-3 and its receptor TrkC in the spinal cord. *Brain Research*. 2003; 987: 93-9.
- [24]. Moradi M, Kordy MR, Sahraian MA, Mehri K, Hosseini Sh. The effect of eight-week resistance training on muscular strength and balance in men with multiple sclerosis. *Journal of Sport Biosciences*. 2012; 4(11): 5-22. [in Persian]
- [25]. Broach ME. The effect of aquatic exercise on the gross behavior, strength, fatigue and enjoyment of adults with multiple sclerosis (dissertation). *Ms. Univ of South Alabama*. 1998.
- [26]. Amirasan R, Khaleghi-Anbardan MM, ZarghamiKhameneh A. The acute effects of exhaustive resistance training and different dosages of caffeine intake on IL-6 response. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2015; 22(134): 49-58. [in Persian]
- [27]. Whitem LJ, Dressendorfer RH. Exercise and multiple sclerosis. *Sports Med*. 2004; 34: 1077-1100.
- [28]. Rashidlamir A. Investigation of the effect of aerobic and resistance exercises on peripheral blood mononuclear cells ABCG1 gene expression in female athletes. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2012; 20(1): 1-9. [in Persian]
- [29]. Edling AE, Nanavati T, Johnson JM, Tuohy VK. Human and murine lymphocyte neurotrophin expression is confined to B cells. *Journal of Neuroscience Research*. 2004; 77: 709-717.
- [30]. Ghanbari-Niaki A, Ghanbari-Abarghooi S, Rahbarizadeh F, Zare-Kookandeh N, Gholizadeh M, Roudbari F, et al. Heart ABCA1 and PPAR- α genes expression responses in male rats: Effects of high intensity treadmill running training and aqueous extraction of black Crataegus-Pentaegyna. *Res Cardiovasc Med*. 2013; 1(5): 153-159.
- [31]. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-Delta Delta C(T)} Method. *Methods*. 2001; 25(4): 402-408.
- [32]. shayan A, Bagherzadeh F, shahbazi M, choobineh S. The effect of two types of exercise (endurance and resistance) on attention and brain derived neurotropic factor levels in sedentary students. 2015; 6(4): 433-452.
- [33]. Sami S, Hakimi M, Ali-Mohammadi M, Karimiyani N. Comparing the effects of hydrotherapy, relaxation and

- McKenzie exercise on improvement of chronic low back pain in athletes. *Journal of Anesthesiology and Pain official (IAP)*. 2014; 4(2): 11-21.
- [34]. Eslami R, Gharakhanlou R, Kazemi AR, Dabaghzadeh R. Effect of a session resistance exercise on mRNA expression of NT-3 and TrkC proteins in soleus muscle of Wistar rats. *J Gorgan Uni Med Sci*. 2015; 17(3): 63-68.
- [35]. Eslami R, Gharakhanlou R, Mowla SJ, Rajabi H. Effect of one session resistance exercise on mRNA expression of NT4/5 and P75 proteins in slow and fast skeletal muscles of Wistar Rats. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2013; 23(100): 74-82.
- [36]. Laroche C, Alvarez JL, Prat A. How do immune cells overcome the blood-brain barrier in multiple sclerosis?. *FEBS Letters*. 2011; 585: 3770-3780.
- [37]. Urshansky N, Mausner-Fainberg K, Auriel E, Regev K, Farhum F, Karni A. Dysregulated neurotrophin mRNA production by immune cells of patients with relapsing remitting multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*. 2010; 295: 31-37..

Archive of SID

Changes in plasma levels and expression of neurotrophin-3 gene in multiple sclerosis patients following 8-weeks aquatic and resistance exercise training

Asra Askari¹, Amir Rashidlamir^{1*}, Nahid Bijeh¹, Mohammad Momeni moghaddam²

1. Ferdowsi university, Mashhad, Iran
2. Hakim Sabzevari university, Sabzevar, Iran

Abstract

Background Neurotrophin-3 is among the biomarkers studied in MS. Regarding the fact that exercise training has been proposed as an effective non-drug way of treating Multiple Sclerosis (MS), the present study aims at investigating the effect of eight weeks' aquatic exercise and resistance training programs on the plasmatic levels and gene expression of neurotrophin-3 in Multiple Sclerosis patients.

Materials and Methods To the aims of the present study, 30 women with MS were randomly selected and assigned to three groups: the control group, resistance training group, and aquatic exercise group. Resistance training and aquatic exercise programs were used for eight weeks. The control group did not receive any training. After separating plasma and PBMN cells, plasmatic levels and the expression of neurotrophin-3 gene were measured via ELISA and real-time PCR, respectively. In order to compare the means, plasmatic levels and the gene expression of neurotrophin-3 of the three groups were analyzed by the ANCOVA test at the significance level of $p \leq 0.05$ through SPSS 18.

Results The results showed a significant increase in plasma levels neurotrophin-3 of the three groups ($p=0.001$). The Scheffe post hoc test was significant in two by two comparisons of the aquatic group and resistance training group with the control group ($p=0.001$, $p=0.001$, respectively). However, the difference between the aquatic and resistance groups was not significant ($p=0.329$). Moreover, there was a significant increase in the gene expression of neurotrophin-3 of the three groups ($p=0.001$). Based on the Scheffe test, the mean differences between the aquatic and resistance groups, and the control group were $p=0.053$, $p=0.001$, respectively. However, non-significant differences in the gene expression of neurotrophin-3 were shown between the aquatic group and the resistance group ($p=0.08$).

Conclusion The findings of the present study indicated that both the resistance training and the aquatic exercise can increase plasmatic levels and the gene expression of neurotrophin-3 in PBMN cells in the women with MS..

Received: 2017/08/01

Accepted: 2017/11/9

Keywords: aquatic exercise, Multiple Sclerosis, neurotrophin- 3, resistance training.