

Original Article

Effect of swimming on oligodendrocytic cells and myelin tissue in corpus callosum of rat model of MS induced by Cuprizone

Ebrahim Bagheri¹, Sayyed Mohammad Marandi^{2*}, Nazem Ghasemi³, Zeinab Rezaee⁴

¹M.Sc student of Clinical Sport Physiology, Department of Physical Education and Sport Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

²Department of Physical Education and Sport Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

³Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

⁴PhD of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

*Corresponding author; E-mail: s.m.marandi@spr.ui.ac.ir

Received: 17 Apr 2019 Accepted: 14 July 2019 First Published online: 24 Feb 2021
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2021;42(6):737-744

Abstract

Background: Multiple Sclerosis is a myelin destroyer disease, which physical activity can be effective in improving it. Therefore, in the present study, the effect of swimming on oligodendrocytic cells and myelin tissue in rat brain of the Cuprizone model of MS disease is investigated.

Methods: In this study, 21 male Wistar rats were randomly divided into Control groups, Cuprizone and Swim + Cuprizone. For the induction of MS, Cuprizone 0.6% were gavaged for one month. The group of Swim + Cuprizone swam at the same time with gavage. The training program included 4 weeks of swimming for 5 sessions per week and 30 minutes. Immunohistochemistry technique was used to determine the percentage of immature and mature oligodendrocytes and Luxol fast blue solution for evaluation of myelin density. Image j software and One-way ANOVA was used to analyze the findings.

Results: The mean percentage of immature and mature oligodendrocytes and myelin density in the Swim+Cuprizone group was significantly higher than that of the Cuprizone group ($p \leq 0.05$).

Conclusion: Swimming decreases destruction of the oligodendrocytes and myelin cells due to Cuprizone.

Keywords: Corpus Callosum, Oligodendrocyte Cells, Swimming, Cuprizone, Multiple Sclerosis, Myelin

How to cite this article: Bagheri E, Marandi S M, Ghasemi N, Rezaee Z. [Effect of swimming on oligodendrocytic cells and myelin tissue in corpus callosum of rat model of MS induced by Cuprizone]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020;42(6):737-744. Persian.

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین شنا بر سلول‌های الیگوندروسیتی و بافت میلین، در جسم پینه‌ای مغز موش‌های مدل بیماری مولتیپل اسکلروزیس القا شده با کاپریزون

ابراهیم باقری^۱، سید محمد مرندی^{۲*}، ناظم قاسمی^۳، زینب رضایی^۴

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش بالینی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
^۲ گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
^۳ گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
^۴ دکترای فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
* نویسنده مسؤول؛ ایمیل: s.m.marandi@spr.ui.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۸/۱/۲۸ پذیرش: ۱۳۹۸/۴/۲۳ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۱۲/۶
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛ ۴۲(۶): ۷۳۷-۷۴۴

چکیده

زمینه: مولتیپل اسکلروزیس، نوعی بیماری تخریب کننده میلین است، که فعالیت بدنی می‌تواند در بهبود آن موثر باشد. بنابراین، در مطالعه حاضر، اثر تمرین شنا بر سلول‌های الیگوندروسیتی و بافت میلین در مغز موش‌های مدل کاپریزون بیماری MS بررسی می‌شود. روش کار: از رنگ آمیزی لوکسال فست بلو برای ارزیابی میزان تراکم میلین استفاده شد. نتایج از طریق نرم افزار Image J و One Way ANOVA تجزیه و تحلیل شد. یافته ها: براساس نتایج، میانگین درصد سلول‌های نابالغ و بالغ الیگوندروسیتی و تراکم میلین در گروه شنا+کاپریزون در مقایسه با گروه کاپریزون به صورت معناداری بیشتر است ($p \leq 0/05$). نتیجه گیری: در نتیجه، شنا کردن تخریب سلول‌های الیگوندروسیتی و میلین توسط کاپریزون را کاهش می‌دهد.

کلید واژه‌ها: جسم پینه‌ای، سلول‌های الیگوندروسیت، شنا کردن، کاپریزون، مولتیپل اسکلروزیس، میلین

نحوه استناد به این مقاله: باقری ا، مرندی س م، قاسمی ن، رضایی ز. تأثیر تمرین شنا بر سلول‌های الیگوندروسیتی و بافت میلین، در جسم پینه‌ای مغز موش‌های مدل بیماری مولتیپل اسکلروزیس القا شده با کاپریزون. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛ ۴۲(۶): ۷۳۷-۷۴۴

حق تالیف برای مولف محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر گردیده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

نکات کاربردی

تحقیق حاضر اثر فعالیت بدنی مناسب را در زمینه پیشگیری و بهبود بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس تا حدودی نشان داد.

از طرفی التهاب ناشی از تخریب میلین یک محرک قوی برای بسیج سلول‌های الیگودندروسیتی پیش ساز برای رemyelination محسوب می‌شود که با مصرف کورتیکواستروئیدها فرصت رemyelination از دست می‌رود و دemyelination مزمن می‌گردد. علاوه بر این عوارض جانبی، این داروها قادر به توقف فرآیند تخریب نورونی و دemyelination نبوده و با تضعیف سیستم ایمنی، فرد را در معرض انواع بیماری‌های عفونی و ویروسی قرار می‌دهند (۱۱). بنابراین، با توجه به نبود درمان قطعی، بالا بودن هزینه‌ها و همچنین عوارض جانبی داروها، روش‌های غیر دارویی می‌توانند موثرتر و مناسب‌تر باشند. اخیراً در مطالعات انجام شده، ورزش به عنوان یکی از عوامل مهم در بهبود عملکرد نورونی معرفی شده است. این در حالیست که پیش از این برخی از مطالعات تشدید عوارض بیماری و عدم تحمل ورزش را در بیماران مبتلا به MS گزارش کرده‌اند. باور بر این بود که ورزش با افزایش دمای بدن و خستگی بیماران، موجب تشدید عوارض این بیماری می‌شود (۱۲، ۱۳). برخلاف مطالعات فراوانی که تاثیر ورزش را بر روی علائم بالینی، و ساختارهای قابل انعطافی مانند سیناپس‌ها و نورون‌ها بررسی کرده‌اند، مطالعات اندکی تاثیر ورزش را بر روی سلول‌های پشتیبان دستگاه اعصاب مرکزی که نقش مهمی در فرآیند رemyelination دارند انجام داده‌اند، این در حالیست که در این مطالعات از بین سلول‌های پشتیبان گلیال، بیشتر پاسخگویی آستروسیت‌ها به ورزش را بررسی کرده‌اند (۱۴). به نظر می‌رسد سلول‌های الیگودندروسیت به عنوان مهمترین عامل فرآیند رemyelination همانند دیگر سلول‌های پشتیبان به ورزش پاسخگو باشند. بررسی سایر مدل‌های بیماری‌های نورودژنراتیو، مانند حیوانات ترنس ژنتیک و ایسکمی، نشان می‌دهد پاسخگویی سلول‌های الیگودندروسیت و بافت میلین به ورزش‌های هوازی منجر به افزایش سلول‌های الیگودندروسیتی و بازسازی میلین از بین رفته می‌شود (۱۵ و ۱۶). در میان پروتکل‌های تمرینی هوازی در بیماری‌های نورودژنراتیو به نظر می‌رسد شنا کردن اهمیت خاصی داشته باشد. ورزش شنا نسبت به دویدن روی تردمیل باعث حفظ بیشتر جمعیت الیگودندروسیت‌ها مقابل مدل بیماری نورودژنراتیو اسکروز جانبی آمیوتروفیک (Amyotrophic lateral sclerosis, ALS) شده است (۱۷). همچنین هنگامی که ورزش شنا با دارو ایترفون بتا-۱ که یک کورتیکواستروئید پراستفاده در درمان بیماری MS است مقایسه شد، عامل موثرتری در تغییر سطح سایتوکاین‌های سرمی و بهبود علائم بالینی در موش‌های مدل آنسفالمیلیت خود ایمنی تجربی (Experimental autoimmune encephalomyelitis) می‌شوند.

مولتیپل اسکلروزیس (Multiple sclerosis, MS)، نوعی بیماری مزمن خود ایمنی است که در طی آن سیستم ایمنی بدن، به بافت میلین نورون‌های دستگاه عصبی مرکزی حمله می‌کند، بنابراین در گروه بیماری‌های نورودژنراتیو قرار می‌گیرد (۱). شیوع این بیماری در زنان دو برابر مردان و بیشترین شیوع آن در سنین بین ۲۰ تا ۴۰ سال است (۲). علت بروز این بیماری تاکنون ناشناخته است، اما مطالعات زیادی عوامل ژنتیکی، جنبه‌های محیطی و ایمونولوژیک را در پیدایش این بیماری موثر دانسته‌اند (۳، ۴). تخریب میلین (Demyelination) یکی از مهمترین ویژگی‌های پاتوفیزیولوژیک این بیماری است که منجر به کاهش سرعت هدایت پیام‌های عصبی می‌شود (۵). بنابراین مجموعه‌ای از علائم شامل ضعف، اختلال در بینایی و راه رفتن، لرزش، ناهماهنگی در حرکات، اختلال در عملکرد مثانه، افسردگی، خستگی و اختلال شناختی در افراد مبتلا رخ می‌دهد، که سرانجام منجر به یک سبک زندگی بی تحرک شده و علائم تخریب را بیش از حد افزایش می‌دهد (۶ و ۷). تأثیر روش‌های درمانی در کاهش سیر بیماری MS به بهبود فرآیند بازسازی میلین بستگی دارد (۸). فقط سلول‌های الیگودندروسیت پیش ساز هستند که با دریافت تغییرات مورفولوژیکی و افزایش تعداد شاخک‌ها، بالغ می‌شوند و قابلیت میلیه‌کنندگی را بدست می‌آورند. این سلول‌ها بطور خودکار در صورت تخریب بافت میلین، به ناحیه مدنظر برای میلیه شدن مهاجرت می‌کنند و در آنجا تکثیر شده و با سپری کردن فرآیند بلوغ، آمادگی لازم را بدست می‌آورند. در فرآیند بلوغ، الیگودندروسیت پیش ساز پس از طی مراحل به پیش الیگودندروسیت‌ها، الیگودندروسیت‌های نابالغ و الیگودندروسیت‌های بالغ تبدیل می‌شوند و در انتها میلین توسط سلول‌های الیگودندروسیت بالغ تولید می‌شود (۹). در بسیاری از موارد بعد از تخریب میلین، میلین سازی مجدد بطور خود به خودی صورت می‌گیرد (۱۰) اما با از بین رفتن سلول‌های الیگودندروسیت، قابلیت بازسازی میلین هم از بین می‌رود. جایگزینی سلول‌های الیگودندروسیتی آسیب دیده و پیشگیری از تخریب بیشتر این سلول‌ها، از مهمترین اهداف در پیشبرد فرآیند Remyelination است. بنابراین، با توجه به اهمیت بالای الیگودندروسیت‌ها، بسیاری از مطالعات بدنبال روش‌هایی برای پیشگیری از آسیب این سلول‌ها هستند. از این رو به تازگی بیشتر مطالعات توجه خود را بر روی روش‌های حفظ و بازسازی این سلول‌ها معطوف کرده‌اند. تا به امروز بیشتر داروهایی که برای درمان این بیماری بکار برده می‌شود حاوی کورتیکواستروئیدها است. مکانیسم دقیق عملکرد این داروها هنوز مشخص نیست اما به طور کلی این داروها با سرکوب پاسخ‌های التهابی موجب کاهش آسیب در ناحیه دمیلینه شده می‌شوند.

شنا کردند. در ابتدا برای سازگاری حیوانات، در چهار روز متوالی جلسات با ۱۰ دقیقه شنا کردن شروع شد و مدت ورزش به تدریج افزایش یافت تا اینکه حیوانات توانستند بمدت ۳۰ دقیقه شنا کنند و بعد از آن مدت زمان شنا ثابت ماند. در پایان هر جلسه تمرینی حیوانات با حوله و سشوار خشک شدند و پس از گرم شدن در کنار وسایل گرمایشی در قفس هایشان اسکان داده شدند. در پایان مطالعه، ابتدا حیوانات با زایلازین و کتامین بیهوش شدند و سپس با استفاده از پروتکل کاردیاک پرفیوژن، مغز موش ها فیکس گردید. برای این کار از بافر سرد PBS و پارافرمالدهید ۴ درصد استفاده شد. در ادامه مغز موش ها برداشته و مجدداً با استفاده از فرمالین ۱۰ درصد و به مدت ۲۴ ساعت فیکس گردید. بعد از آن مقاطع پارافینه با قطر ۷ میکرومتر از مغز تهیه شد و سپس با استفاده از بافر سدیم سیترات جهت تکنیک بازبایی آنتی ژن با کمک آنتی‌بادی‌های اولیه شامل Anti olig2 و Anti MOG و آنتی‌بادی‌های ثانویه متصل به فلئورسینس، تکنیک ایمونوهیستوشیمی برای تعیین درصد سلول‌های الیگودندروسیت‌های نابالغ و بالغ در جسم پینه ای موش‌ها انجام شد. همچنین با DAPI رنگ آمیزی هسته‌ها صورت گرفت. تعداد ۲۰۰ سلول حداقل در ۵ فیلد به شکل تصادفی برای تعیین درصد سلول‌های بیان کننده مارکرهای الیگودندروسیتی شمارش شد و درصد سلول‌های بیان کننده هر مارکر گزارش گردید. کلیه بررسی‌های ایمونوهیستوشیمی سه بار تکرار شد (۱۱). بعد از انجام کاردیاک پرفیوژن، مغز موش‌ها جدا و در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شدند. میلین با تکنیک رنگ آمیزی لوکسال فست بلو از مقاطع پارافینه تهیه شده از مغز، بررسی شد. در ادامه مقاطع با استفاده از الکل ۹۵ درصد آبدهی شدند، و نمونه‌ها در محلول لوکسال ۰/۱ درصد در دما ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت قرار داده شدند. رنگ اضافی، با استفاده از الکل ۹۵ درصد حذف شد. و مقاطع با آب مقطر شستشو شده و در محلول کربنات لیتیم ۰/۰۵ درصد به مدت ۳۰ ثانیه قرار داده شدند. رنگ آمیزی در ادامه با استفاده از الکل ۷۰ درصد (به مدت ۳۰ ثانیه)، محلول کرزیل ویولت (به مدت ۴۰ تا ۳۰ ثانیه)، الکل ۹۵ درصد (به مدت ۵ دقیقه)، الکل ۱۰۰ درصد (به مدت ۱۰ دقیقه) و زایلین (به مدت ۱۰ دقیقه) کامل شد و در نهایت نمونه‌ها مونت گردید و در زیر میکروسکوپ مشاهده شد (۲۳). برای کمی کردن داده‌ها از نرم افزار Image استفاده شد و آنالیز آماری آن‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰، از طریق آنالیز واریانس یک راهه به همراه آزمون تعقیبی توکی انجام گرفت. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد و P-Value کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

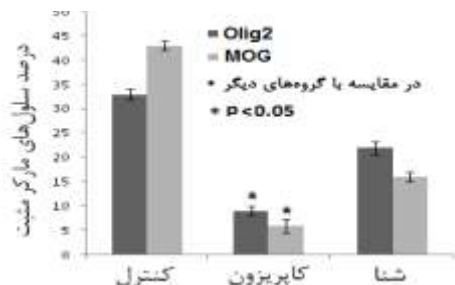
(EAE) که مدل حیوانی دیگری از بیماری MS است شده است (۱۸). به طور کلی، ورزش شنا با قابلیت که در آزاد سازی فاکتور های نروتروفیکی مانند فاکتور نروتروفیک مشتق از مغز (Brain-derived neurotrophic factor, BDNF) نسبت به تمرین روی خشکی دارد در افزایش اثرات محافظت نرونی و ضد التهابی در بیماری MS می تواند موثرتر باشد (۱۷). به علاوه، با توجه به محدودیت مطالعات انجام شده در زمینه بررسی تاثیر ورزش بر سلول های الیگودندروسیتی و بافت میلین در پیشگیری از ابتلا به بیماری MS، این مطالعه با هدف بررسی تاثیر ورزش شنا بر پیشگیری از تخریب سلول های الیگودندروسیتی و بافت میلین در مدل حیوانی بیماری MS انجام شد که نتایج حاصل از آن می تواند گامی موثر در بهبود یا درمان این بیماری باشد.

روش کار

در این مطالعه از ۲۱ سر موش نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات از دانشکده داروسازی دانشگاه اصفهان خریداری و بطور تصادفی در سه قفس جداگانه تحت چرخه ۱۲ ساعت تاریکی/۱۲ ساعت روشنایی با دسترسی آزادانه به آب و غذای کافی نگهداری شدند. روش‌های تجربی مطابق با دستورالعمل‌های مراقبت از حیوانات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد (با کد اخلاق IR.UR.REC.1397.140). حیوانات در سه گروه ۷ تایی شامل: کنترل، کاپریزون و شنا+کاپریزون قرار گرفتند. در گروه‌های کاپریزون، به ازای هر کیلو گرم وزن بدن به مدت یک ماه، دو میلی لیتر کاپریزون ۰/۶ درصد محلول در روغن ذرت خالص گاوآژ شد (۱۹) و در گروه شنا+کاپریزون همزمان با گاوآژ کاپریزون، پروتکل تمرینی شنا انجام شد. همچنین از ابتدای گاوآژ کاپریزون، بر اساس منابع موجود موش‌ها از نظر فعالیت فیزیکی و عادات روزانه به صورت کیفی مشاهده شدند (۲۰ و ۲۱). به این ترتیب که در موش‌های مورد مطالعه که دریافت کننده رژیم کاپریزون بودند بعد از گذشت حدوداً ۲ هفته کاهش فعالیت و گوشه گیری مشاهده شد که این تغییرات رفتاری در گروه شنا+کاپریزون کمتر بود. در نتیجه از فرآیند دمیلینیشن ایجاد شده در گروه‌های کاپریزون اطمینان به عمل آمد. برای شنای موش‌ها، استخری با مشخصات ۷۰ سانتی متر طول، ۳۰ سانتی متر عرض و ۵۰ سانتی متر ارتفاع تهیه شد. برای هر بار شنا کردن آب آن عوض شده و دما آن با ترمومتر اندازه گیری و روی دما ۳۱-۳۰ تنظیم می شد. ارتفاع آب به اندازه ای تنظیم می شد که علاوه بر اینکه اجازه خروج از استخر را به موش نمیداد، موش بدون آنکه در استخر راه برود مجبور به شنا کردن می شد. برنامه تمرینی با توجه به مطالعه مارسلینو و همکاران (۲۲) شدت تمرین متوسطی داشت که موش‌ها بدون اضافه بار ۵ جلسه در طول هفته و به مدت یک ماه

یافته‌ها

معنا داری بالاتر است ($p < 0.05$). این درحالیست که تراکم میلین در گروه کاپریزون نسبت به گروه کنترل (48.24 ± 3.5) در سطح معنا داری قرار ندارد.



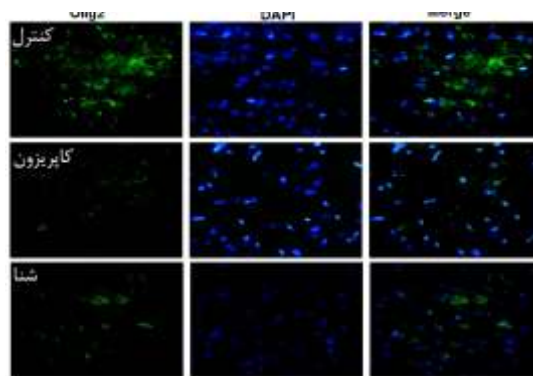
نمودار ۱: مقایسه میانگین درصد سلول‌های بیان‌کننده مارکرهای الیگودندروسیتی نابالغ و بالغ. میانگین درصد سلول‌های بیان‌کننده مارکرهای olig2 و MOG در گروه شنا+کاپریزون نسبت به گروه کاپریزون به شکل معنی داری بالاتر است ($p < 0.05$).



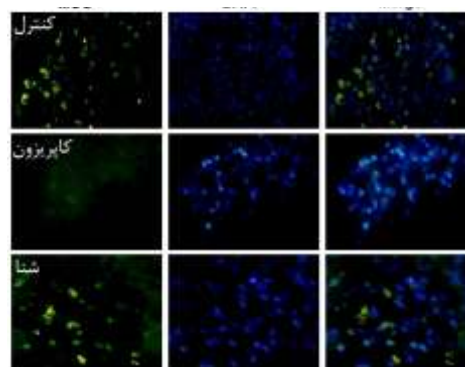
رنگ آمیزی لوکسال فست بلو

شکل ۳: رنگ آمیزی لوکسال فست بلو از ناحیه ی جسم پینه ای مغز. میلین به رنگ آبی دیده می شود (بزرگنمایی $\times 40$).

همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است طبق عکس برداری‌های ایمونوهیستوشیمی، میانگین درصد سلول‌های الیگودندروسیتی نابالغ olig2 مثبت در گروه شنا+ کاپریزون ($22 \pm 1/3$) و در گروه کاپریزون به میزان ($9 \pm 0/9$) و در گروه کنترل به میزان ($33 \pm 1/1$) است. مطابق با شکل ۲ میانگین درصد سلول‌های الیگودندروسیتی بالغ MOG مثبت در گروه شنا ($16 \pm 0/98$) و در گروه‌های کاپریزون و گروه کنترل به ترتیب ($6 \pm 1/4$) و ($43 \pm 0/88$) است. این نتایج نشان می‌دهند که کاپریزون موجب تخریب قابل توجهی از سلول‌های الیگودندروسیتی نابالغ و بالغ شده است و ورزش شنا از تخریب این سلول‌ها بطور معناداری جلوگیری می‌کند ($p < 0.05$).



شکل ۱: تصویر میکروسکوپ فلوروسنس از ناحیه ی جسم پینه ای مغز. بیان مارکر الیگودندروسیت‌های نابالغ (olig2) در گروه‌های مختلف هسته ها با DAPI رنگ شده‌اند (مقیاس ۲۰۰ میکرومتر).



شکل ۲: تصویر میکروسکوپ فلوروسنس از ناحیه ی جسم پینه ای مغز. بیان مارکر الیگودندروسیت‌های بالغ (MOG) در گروه‌های مختلف هسته ها با DAPI رنگ شده‌اند (مقیاس ۲۰۰ میکرومتر).

بحث

مولتیپل اسکلروزیس نوعی بیماری خود ایمنی است که اثرات زیانباری بر الیگودندروسیت‌ها و غلاف میلین دارد (۱۳). به دلیل محدودیت‌های فراوانی که در توانایی ترمیم سیستم عصبی مرکزی آسیب دیده وجود دارد، کاهش هرچه بیشتر آسیب‌های وارده از طریق مهار مرگ آپوپتوتیک سلول‌های عصبی که تحت تاثیر محرک‌های آپوپتوز قرار می‌گیرند، بسیار اهمیت دارد (۸). برای شکل‌گیری غلاف میلین، الیگودندروسیت‌های پیش‌ساز مراحل متعددی را می‌گذرانند. یکی از حیاتی‌ترین این مراحل، تشکیل الیگودندروسیت‌های بالغ از سلول‌های نابالغ است. در نهایت، الیگودندروسیت‌های بالغ موجب شکل‌گیری غلاف میلین می‌شوند (۱۱). هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر ورزش شنا بر پیشگیری از تخریب سلول‌های الیگودندروسیتی نابالغ، بالغ و بافت میلین در جسم پینه‌ای مغز موش‌های مدل کاپریزونی MS است. برای اطمینان از دمیلینیشن، تغییرات ظاهری رفتاری در هفته دوم گاوژ کاپریزون مشاهده شد که این تغییرات در موش‌هایی که شنا کرده بودند کمتر بود. هم جهت با این مطالعه، زاهدنسب و همکاران در سال ۲۰۱۹ و آدامو و همکاران در سال ۲۰۰۶ از کاپریزون برای دمیلینیشن جسم پینه‌ای استفاده کردند و تغییرات قابل توجه رفتاری اعم از کاهش میزان فعالیت، حرکت و گوشه‌گیری

طبق یافته‌های هیستولوژی بدست آمده از رنگ‌آمیزی لوکسال فست بلو و نرم افزار Image J کاپریزون باعث تخریب قابل توجهی در بافت میلین جسم پینه‌ای شده است (شکل ۳). یافته‌های نرم افزار Image J نشان می‌دهد که تراکم میلین در گروه ورزش (40.77 ± 3.0) نسبت به گروه کاپریزون (15.92 ± 3.2) به‌طور

فاکتور رشد شبه انسولینی (Insulin-Like Growth Factor1 (IGF-1))، فاکتور رشد عصب (Factor Nerve Growth (NGF)) و فاکتور رشدی آندوتلیال عروقی (Vascular endothelial growth factor (VEGF)) باشد که در ادامه موجب فرآیند نوروزن و کاهش تخریب عصبی می‌شوند (۱۵). در مطالعه دیگری گزارش شده گروه‌های ورزش کرده روی تردمیل، میزان بالاتری از فاکتور های نروتروفیک داشتند. در نتیجه میزان بیشتری از الیگودندروسیت‌ها را نسبت به گروهی که بدون ورزش بودند نشان دادند (۲۶). به نظر می‌رسد یکی دیگر از مکانیسم های موثر در پیشگیری از تخریب الیگودندروسیت‌ها تغییراتی باشد که در سایتوکاین های ضد التهابی توسط ورزش شنا به وجود می‌آید. سایتوکاین های ضد التهابی اعم از اینترلوکین ۱۰ (Interleukin-10)، با جلوگیری از فعالیت سایتوکاین های التهابی نظیر عامل نکروز تومور آلفا (Tumor Necrosis Factor Alpha, TNF α) و اینترفرون بتا یک (Interferon β -1) باعث کاهش التهاب می‌شود. نشان داده شده است که افزایش سایتوکاین های التهابی موجب التهاب و در ادامه موجب تخریب الیگودندروسیت‌ها و میلین می‌شوند که ورزش شنا با قابلیت که در تنظیم فاکتور های التهابی دارد موجب کاهش فاکتورهای ضد التهابی و در نتیجه کاهش التهاب می‌شود (۱۷ و ۱۸). با این حال، در مطالعه دیگری نشان داده شده است که شنا موجب افزایش سلول‌های الیگودندروسیتی در مناطق دمیلینه شده نمی‌شود (۳۰). علت این تناقض را می‌توان در اثرات دو سویه فاکتور های التهابی در ترمیم میلین دانست. سرکوب التهاب همیشه بخودی خود مخصوصا در افراد مبتلا به MS نشانگر خوبی برای بهبود فرآیند میلینیشن نمی‌تواند باشد. TNF α بعنوان یک فاکتور التهابی شناخته شده همانند دیگر فاکتورهای التهابی موجب التهاب در CNS شده که این اتفاق منجر به دمیلینیشن در آن منطقه می‌شود. از سوی دیگر عامل جبران این تخریب، مهاجرت الیگودندروسیت‌های پیش ساز به منطقه دمیلینه شده است که محرک این مهاجرت التهاب ایجاد شده توسط فاکتور های التهابی است (۱۱). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که شنا می‌تواند اثرات تخریبی کاپریزون بر بافت میلین را کاهش دهد. همانطور که در شکل ۳ و یافته های نرم افزار Image مشاهده می‌شود بافت میلین در گروه کاپریزون دارای کمترین تراکم است اما در گروه شنا+کاپریزون تراکم میلین بطور معنا داری نسبت به گروه کاپریزون بالاتر است. الیگودندروسیت‌های بالغ، مرحله نهایی فرآیند تولید میلین هستند که از تمایز و بلوغ سلول های الیگودندروسیت های پیش ساز و نابالغ بوجود می‌آیند. به همین دلیل، با افزایش الیگودندروسیت های بالغ، احتمالا تولید غلاف میلین و بازسازی آن افزایش می‌یابد (۹). ما در این مطالعه نشان دادیم که ورزش شنا تخریب سلول های الیگودندروسیت بالغ را نسبت به گروه کاپریزون کاهش داده و در نتیجه موجب افزایش

حیوانات را گزارش نمودند. در مقابل شنا کردن موجب تعدیل این تغییرات رفتاری شد (۲۴، ۱۹). مطابق با نتایج ایمونوهیستوشیمی و هیستولوژی در این مطالعه، ماده توکسیک کاپریزون باعث کاهش قابل توجهی در تعداد سلول‌های الیگودندروسیت نابالغ، بالغ و تراکم میلین شده است. این مساله می‌تواند ناشی از استرس اکسیداتیو و القا آپوپتوز کاپریزون باشد. استرس اکسیداتیو ناشی از کاپریزون با استفاده از کاهش عملکرد آنزیم‌هایی مانند مونوآمین اکسیداز، سیتوکروم اکسیداز و سوپراکسید دسموتاز مغز صورت می‌گیرد و در ادامه یک نقش حیاتی در آپوپتوزیس الیگودندروسیت‌ها و تخریب میلین ایفا می‌کند. همچنین، کاپریزون با تغییر ساختاری، بزرگ شدن غیر عادی و اختلال در عملکرد میتوکندری الیگودندروسیت‌ها، متابولیسم انرژی این سلول ها را تحت تاثیر قرار داده و در نهایت باعث عدم کارایی و از بین رفتن انتخابی آنها می‌گردد که در نتیجه با تخریب این سلول ها امکان بازسازی میلین آسیب دیده از بین می‌رود. با این همه، مکانیسم دقیق اثر کاپریزون در القای آپوپتوز و اینکه چرا تنها سلول‌های الیگودندروسیت را تحت تاثیر قرار می‌دهد هنوز ناشناخته است. اما مدل خوبی برای مطالعه مکانیسم‌های سلولی و پاتوفیزیولوژی MS و ابزاری مهم برای مطالعه اتفاقات مربوط به آسیب و بازسازی میلین شناخته شده است (۲۵، ۲۶، ۸). مطابق با شکل های ۲، ۱ و نمودار ۱، الیگودندروسیت‌های بالغ به نسبت بیشتری تحت تاثیر کاپریزون قرار می‌گیرند. نیامویا و همکاران (۲۷) در سال ۲۰۱۸ و کارل و همکاران (۲۸) در سال ۲۰۱۳، نشان دادند کاپریزون موجب آپوپتوزیس انتخابی الیگودندروسیت های بالغ می‌شود. این مطالعات بیان می‌کنند که ماده توکسیک کاپریزون تنها از سلول‌های گلیال، الیگودندروسیت های بالغ را تحت تاثیر قرار می‌دهد و بر دیگر سلول‌های گلیال مانند الیگودندروسیت نابالغ تاثیر کمی دارد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ورزش شنا قادر است اثرات مخرب کاپریزون بر سلول های الیگودندروسیتی را کاهش دهد. با توجه به یافته‌های ایمونوهیستوشیمی مطالعه حاضر که در شکل های ۱، ۲ و نمودار ۱ نشان داده شده است ورزش شنا جمعیت سلول های بیان کننده مارکرهای الیگودندروسیتی نابالغ olig2 مثبت و الیگودندروسیت بالغ MOG مثبت را نسبت به گروه‌های کاپریزون به طور قابل توجهی افزایش می‌دهد و موجب پیشگیری از تخریب سلول‌های الیگودندروسیت نابالغ و بالغ می‌شود. به نظر می‌رسد این نتیجه ناشی از اثرات محافظت نوروئی و آنتی اکسیدانی ورزش باشد. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که ورزش می‌تواند فعالیت‌های محافظت نوروئی را تحریک و در ادامه موجب بازآرایی نوروئی و بازسازی سلول‌های مغزی گردد. در این راستا دوساهاایام و همکاران (۲۹) در سال ۲۰۱۷ گزارش کردند که ورزش می‌تواند ارتقادهنده دفاع آنتی اکسیدانی و فاکتورهای نروتروفیکی مانند فاکتور نروتروفیک مشتق از مغز (BDNF)،

قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله کارشناسی ارشد می باشد. نویسندگان مقاله از کلیه افرادی که در انجام مراحل آزمایشگاهی یاری رساندند، تشکر می‌کنند.

منابع مالی

حمایت مالی این طرح از طرف خود محققین بوده است.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تالیف و یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان

ا. ب. س. م. م. ن. ق. ز. ر. طراحی، نظارت بر اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را انجام دادند. همچنین، اجرای مراحل مختلف آزمایشگاهی مقاله را عهده داشته اند که پس از تالیف مقاله، نسخه نهایی آن توسط نویسنده مسئول تایید شده است.

تراکم میلین می شود. برخلاف نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه دیگر ورزش در مدل حیوانی کاپریزون باعث تغییرات کلی در بافت میلین نشد (۱۴). در توجیه این اختلاف می توان چنین بیان کرد که اثرات ورزش می تواند بستگی بالایی به منطقه مورد نظری که بررسی می شود، به سن حیوانات مورد آزمایش و نوع و شدت ورزش استفاده شده داشته باشد لذا تحقیقات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است.

نتیجه گیری

با توجه به اثرات مثبت برنامه تمرینی مورد بررسی در این مطالعه بر حفظ و پیشگیری سلول های الیگودندروسیت و میلین می توان از آن به عنوان یک روش درمانی امید بخش در جهت بهبود و پیشگیری علائم بیماری MS استفاده کرد.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در کمیته پزشکی دانشگاه اصفهان به شماره مرجع IR.UR.REC.1397.140 به تایید رسیده است.

References

- Jin JJ, Ko IG, Kim SE, Shin MS, Kim SH, Jee YS. Swimming exercise ameliorates multiple sclerosis-induced impairment of short-term memory by suppressing apoptosis in the hippocampus of rats. *J Exerc Rehabil.* 2014 Apr 30;10(2):69-74. doi: 10.12965/jer.140103. PMID: 24877040; PMCID: PMC4025552.
- Khan F, Turner-Stokes L, Ng L, Kilpatrick T. Multidisciplinary rehabilitation for adults with multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2008 Feb;79(2):114. doi: 10.1136/jnnp.2007.127563. PMID: 18202203.
- Barcellos LF, Oksenberg JR, Begovich AB, Martin ER, Schmidt S, Vittinghoff E, Goodin DS, Pelletier D, Lincoln RR, Bucher P, Swerdlin A, Pericak-Vance MA, Haines JL, Hauser SL; Multiple Sclerosis Genetics Group. HLA-DR2 dose effect on susceptibility to multiple sclerosis and influence on disease course. *Am J Hum Genet.* 2003 Mar;72(3):710-6. doi: 10.1086/367781. Epub 2003 Jan 28. PMID: 12557126; PMCID: PMC1180245.
- Brown RC, Lockwood AH, Sonawane BR. Neurodegenerative diseases: an overview of environmental risk factors. *Environ Health Perspect.* 2005 Sep;113(9):1250-6. doi: 10.1289/ehp.7567. PMID: 16140637; PMCID: PMC1280411.
- Asghari A, Azarnia M, Mirnajafi-Zadeh J, Javan M. Effect of the adenosine A1 receptor agonist on demyelination and remyelination processes in lysolecithin induced demyelination in rat optic chiasm. *Feyz.* 2012;16(1):1-8. doi: 10.1016/j.jns.2012.11.008
- Nunes AK, Rapôso C, de Oliveira WH, Thomé R, Verinaud L, Tovar-Moll F, Peixoto CA. Phosphodiesterase-5 inhibition promotes remyelination by MCP-1/CCR-2 and MMP-9 regulation in a cuprizone-induced demyelination model. *Exp Neurol.* 2016 Jan;275 Pt 1:143-53. doi: 10.1016/j.expneurol.2015.10.013. Epub 2015 Oct 26. PMID: 26515692.
- Wens I, Eijnde BO, Hansen D. Muscular, cardiac, ventilatory and metabolic dysfunction in patients with multiple sclerosis: Implications for screening, clinical care and endurance and resistance exercise therapy, a scoping review. *J Neurol Sci.* 2016 Aug 15;367:107-21. doi: 10.1016/j.jns.2016.05.050. Epub 2016 May 26. PMID: 27423572.
- Liebetanz D, Merkler D. Effects of commissural de- and remyelination on motor skill behaviour in the cuprizone mouse model of multiple sclerosis. *Exp Neurol.* 2006 Nov;202(1):217-24. doi: 10.1016/j.expneurol.2006.05.032. Epub 2006 Jul 20. PMID: 16857191.
- Barateiro A, Fernandes A. Temporal oligodendrocyte lineage progression: in vitro models of proliferation, differentiation and myelination. *Biochim Biophys Acta.* 2014 Sep;1843(9):1917-29. doi: 10.1016/j.bbamcr.2014.04.018. Epub 2014 Apr 21. PMID: 24768715.
- Tripathi RB, Rivers LE, Young KM, Jamen F, Richardson WD. NG2 glia generate new oligodendrocytes but few astrocytes in a murine experimental autoimmune encephalomyelitis model of demyelinating disease. *J*

- Neurosci. 2010 Dec 1;30(48):16383-90. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3411-10.2010. PMID: 21123584; PMCID: PMC3063541.
11. Franklin RJ. Why does remyelination fail in multiple sclerosis? *Nat Rev Neurosci.* 2002 Sep;3(9):705-14. doi: 10.1038/nrn917. PMID: 12209119.
 12. Shahnazari Z, Marandi SM, Shayegan Nejad V. The Effect of Pilates Exercises and Aquatic Training on Walking Speed in Women with Multiple Sclerosis. *J Res Dev Nurs Midw.* 2013;10(2):10-7.
 13. White LJ, Dressendorfer RH. Exercise and multiple sclerosis. *Sports Med.* 2004;34(15):1077-100. doi: 10.2165/00007256-200434150-00005. PMID: 15575796.
 14. Tomlinson L, Huang PH, Colognato H. Prefrontal cortex NG2 glia undergo a developmental switch in their responsiveness to exercise. *Dev Neurobiol.* 2018 Jul;78(7):687-700. doi: 10.1002/dneu.22590. Epub 2018 Mar 31. PMID: 29569358.
 15. Krityakiarana W, Espinosa-Jeffrey A, Ghiani CA, Zhao PM, Topaldjikian N, Gomez-Pinilla F, Yamaguchi M, Kotchabhakdi N, de Vellis J. Voluntary exercise increases oligodendrogenesis in spinal cord. *Int J Neurosci.* 2010 Apr;120(4):280-90. doi: 10.3109/00207450903222741. PMID: 20374076; PMCID: PMC2852894.
 16. Pak ME, Jung DH, Lee HJ, Shin MJ, Kim SY, Shin YB, et al. Combined therapy involving electroacupuncture and treadmill exercise attenuates demyelination in the corpus callosum by stimulating oligodendrogenesis in a rat model of neonatal hypoxia-ischemia. *Experimental Neurology.* 2018 Feb;300:222-31. doi: 10.1016/j.expneurol.2017.11.014.
 17. Bernardes D, Oliveira-Lima OC, Silva TV, Faraco CC, Leite HR, Juliano MA, et al. Differential brain and spinal cord cytokine and BDNF levels in experimental autoimmune encephalomyelitis are modulated by prior and regular exercise. *J Neuroimmunol.* 2013;264(1-2):24-34. doi: 10.1016/j.jneuroim.2013.08.014.
 18. Vatandoust M, Motamedi P, Rajabi H, Ghadiri AA, Nasirzade A, Vatandoust F, et al. The effect of four-week aerobic activity in water on clinical signs and $\text{tnf-}\alpha$ and il-10 cytokines in animal model of multiple sclerosis (MS). *J Know & Health.* 2018;12(4):47-58. doi: 10.22100/jkh.v12i4.1818
 19. Adamo AM, Paez PM, Escobar Cabrera OE, Wolfson M, Franco PG, Pasquini JM, Soto EF. Remyelination after cuprizone-induced demyelination in the rat is stimulated by apotransferrin. *Exp Neurol.* 2006 Apr;198(2):519-29. doi: 10.1016/j.expneurol.2005.12.027. Epub 2006 Feb 14. PMID: 16480980.
 20. Faizi M, Salimi A, Seydi E, Naserzadeh P, Kouhnavard M, Rahimi A, et al. Toxicity of cuprizone a $\text{Cu}(2+)$ chelating agent on isolated mouse brain mitochondria: a justification for demyelination and subsequent behavioral dysfunction. *Toxicol Mech Methods.* 2016 May;26(4):276-83. doi: 10.3109/15376516.2016.1172284. Epub 2016 Apr 18. PMID: 27088566.
 21. Vakilzadeh G, Khodaghali F, Ghadiri T, Darvishi M, Ghaemi A, Noorbakhsh F, et al. Protective Effect of a cAMP Analogue on Behavioral Deficits and Neuropathological Changes in Cuprizone Model of Demyelination. *Mol Neurobiol.* 2015 Aug;52(1):130-41. doi: 10.1007/s12035-014-8857-8. Epub 2014 Aug 17. PMID: 25128030.
 22. Marcelino TB, Longoni A, Kudo KY, Stone V, Rech A, de Assis AM, et al. Evidences that maternal swimming exercise improves antioxidant defenses and induces mitochondrial biogenesis in the brain of young Wistar rats. *Neuroscience.* 2013 Aug 29;246:28-39. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.04.043. Epub 2013 Apr 30. PMID: 23639877.
 23. Bagheri E, Marandi SM, Ghasemi N. Evaluation of curcumin effects on improvement of muscle strength, prevention of oligodendrocytes and myelin damage in brain, in an animal model of multiple sclerosis (MS). *SJKU.* 2018;23(5):55-64.
 24. Zahednasab H, Firouzi M, Kaboudanian-Ardestani S, Mojallal-Tabatabaei Z, Karampour S, Keyvani H. The protective effect of rifampicin on behavioral deficits, biochemical, and neuropathological changes in a cuprizone model of demyelination. *Cytokine.* 2019 Jan;113:417-426. doi: 10.1016/j.cyto.2018.10.016. Epub 2018 Oct 24. PMID: 30539784.
 25. Sanadgo L, Komijan I. Evaluation of myelin sheath and their related proteins (MAG, MOG, MBP and PLP) during cuprizone-induced demyelination in central nervous system of male C57BL/6 mice. *Journal of Cell & Tissue.* 2017;8(1):12-21.
 26. Naghibzadeh M, Ranjbar R, Tabandeh MR, Habibi A. Effects of Two Training Programs on Transcriptional Levels of Neurotrophins and Glial Cells Population in Hippocampus of Experimental Multiple Sclerosis. *Int J Sports Med.* 2018 Jul;39(8):604-12. doi: 10.1055/a-0608-4635. Epub 2018 May 18. PMID: 29775986.
 27. Nyamoya S, Schweiger F, Kipp M, Hochstrasser T. Cuprizone as a model of myelin and axonal damage. *Drug Discovery Today: Dis. Models.* 2018. doi: 10.1016/j.ddmod.2018.09.003.
 28. Bénardais K, Kotsiari A, Skuljec J, Koutsoudaki PN, Gudi V, Singh V. Cuprizone [bis(cyclohexylidenehydrazide)] is selectively toxic for mature oligodendrocytes. *Neurotox Res.* 2013 Aug;24(2):244-50. doi: 10.1007/s12640-013-9380-9. Epub 2013 Feb 8. PMID: 23392957.
 29. Devasahayam AJ, Downer MB, Ploughman M. The Effects of Aerobic Exercise on the Recovery of Walking Ability and Neuroplasticity in People with Multiple Sclerosis: A Systematic Review of Animal and Clinical Studies. *Mult Scler Int.* 2017;2017:4815958. doi: 10.1155/2017/4815958. Epub 2017 Oct 17. PMID: 29181199; PMCID: PMC5664281.
 30. Feter N, Freitas MP, Gonzales NG, Umpierre D, Cardoso RK, Rombaldi AJ. Effects of physical exercise on myelin sheath regeneration: A systematic review and meta-analysis. *Sci & Sports.* 2018;33(1):8-21. doi: 10.1016/j.scispo.2017.06.009.