

Research Paper

The effect of six weeks of swimming exercise on the amount of AMPK and Sirt1 proteins and motor performance of multiple sclerosis model rats induced with Cuprizone

Maryam Shabanian¹, Mohammad Rami^{1*}, Mehrzad Shabani², Aliakbar Alizadeh²

Received: Jul 30, 2024

Revised: Oct 16, 2024

Accepted: Oct 18, 2024

Article info

1. MSc in Exercise Physiology, Department of Sport Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

2. Assistant Professor at Department of Sport Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

*Corresponding Author Address:

Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran;

Email: M.rami@scu.ac.ir

Extended Abstract

Background and Aims: Multiple Sclerosis (MS) is one of the most common chronic inflammatory diseases of the central nervous system, impairing both sensory and motor function. The exact etiology of MS remains unclear; however, it is estimated that over 2.8 million people worldwide are affected by the disease. Iran is among the top 10 countries in the world for MS prevalence. Probably, several different factors, including stress, heredity, immune deficiency, autoimmune processes, and environmental factors, especially viral infections, are thought to contribute to its onset and progression. Current anti-inflammatory therapies that modulate the immune system have limited effects on nerve destruction and clinical disability in the progressive phase of this disease. Similarly, no available treatment has proven effective in preventing cognitive decline through the inhibition of neural degeneration and brain atrophy. Given that exercise may confer anti-inflammatory and neuroprotective effects, the present study aims to evaluate the impact of six weeks of swimming training on AMP-activated protein kinase (AMPK) and Sirtuin 1 (Sirt1) levels, as well as on motor function, in a rat model of MS.

Materials and Methods: In this experimental study, 36 adult rats, with an average age of 12 weeks and weighing 230 ± 14 grams, were obtained from the animal housing center of the faculty of veterinary medicine at Shahid Chamran university of Ahvaz. The rats were randomly assigned to four groups: healthy control, healthy exercise, MS control, and MS exercise in clear polycarbonate cages. During the acclimatization period, the rats' exercisability was also assessed, and it was determined that all rats were capable of

Cite this article:

Shabanian M, Rami M, Shabani M, Alizadeh A. The effect of six weeks of swimming exercise on the amount of AMPK and Sirt1 proteins and motor performance of multiple sclerosis model rats induced with Cuprizone. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2025;13(35):88-105. <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2024.7983.1900>

performing voluntary swimming activity. To induce MS, Cuprizone was incorporated into powdered rodent chow at a weight ratio of 0.5% (0.5 g of Cuprizone per 100 g of food). The mixture was thoroughly blended, moistened with water to form pellets, and provided to the animals for six weeks. After this initial period, MS induction was confirmed using the Rotarod test. Cuprizone-containing pellets continued to be administered until week 12, coinciding with the end of the exercise protocol. The voluntary swimming exercise protocol was carried out for six weeks. The duration increased from 10 minutes in the first week to 30 minutes in the sixth week. Time was used as the overload factor during the training weeks. Upon completion of the protocol, motor activity, coordination, and balance were assessed using the open field and Rotarod tests. All behavioral assessments were conducted during the animals' active light phase, between 9:00 AM and 12:00 PM. Following behavioral testing, hippocampal tissue was extracted for biochemical analysis. Protein levels of AMPK and Sirt1 were quantified using Western blot.

Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test, with significance set at $p < 0.05$.

Findings: The open-field test results indicated that movement speed and total distance traveled were significantly lower in the MS control group compared with the healthy control group ($p = 0.001$). In contrast, these variables were significantly higher in the MS exercise compared with the MS control group ($p = 0.001$). Similarly, the Rotarod test results showed that the duration of balance on the rod was significantly lower in the MS control compared to the healthy control group ($p = 0.001$). Conversely, the duration on the rod was significantly greater in the MS exercise than in the MS control group ($p = 0.001$). The one-way ANOVA results for hippocampal AMPK and Sirt1 protein levels (Fig 1) revealed significant differences among the experimental groups ($p = 0.001$). Tukey's post hoc analysis for AMPK levels showed that its value in the patient group showed a significant decrease compared to the control group ($p = 0.001$), and after swimming activity, there was a significant increase in the patient's training group ($p = 0.001$), except for the comparison between the healthy control and MS exercise groups ($p = 0.12$). For Sirt1, Tukey's post-hoc analysis demonstrated significant differences among all groups ($p < 0.05$). Specifically, Sirt1 levels were significantly lower in the MS control compared with the healthy control group ($p = 0.001$) and were significantly higher in the MS exercise compared with the MS control group ($p = 0.01$).

Conclusion: The Cuprizone model, primarily through neuronal cell death, especially in the hippocampus, leads to impairments in movement and balance, as evidenced by deficits in behavioral tests such as the Rotarod and open-field assessments. Previous evidence indicates that exercise may stimulate mitochondrial biogenesis via activation of AMPK and Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1 α), thereby reducing oxidative stress. Exercise has also been shown to increase brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels, a neurotrophin essential for myelin sheath regeneration and neuronal protection. Numerous studies have confirmed that BDNF expression in the hippocampus and other brain regions increases in response to exercise.

The present findings demonstrate that swimming exercise significantly increases AMPK and Sirt1 protein levels in the hippocampal tissue of MS-modeled rats and improves motor function in these animals. These results suggest that swimming may exert neuroprotective and functional benefits in MS, potentially through mitochondrial and neurotrophic pathways. However, further studies with broader experimental designs are warranted to explore the underlying mechanisms and assess the translational potential of these findings in human populations.

Keywords: Swimming exercise, Multiple sclerosis, Hippocampus, Motor function.

Ethical Considerations: All stages of the present research were approved by the Ethics Committee of Shahid Chamran University of Ahvaz and registered with the code (IR.SCU.REC.1402.067).

Funding: This study is the result of a master's thesis from the Department of Exercise Physiology at Shahid Chamran University of Ahvaz, which was carried out using research grant number SCU.SS1402.266.

Conflict of Interest: The authors declare that there are no conflicts of interest regarding this article.

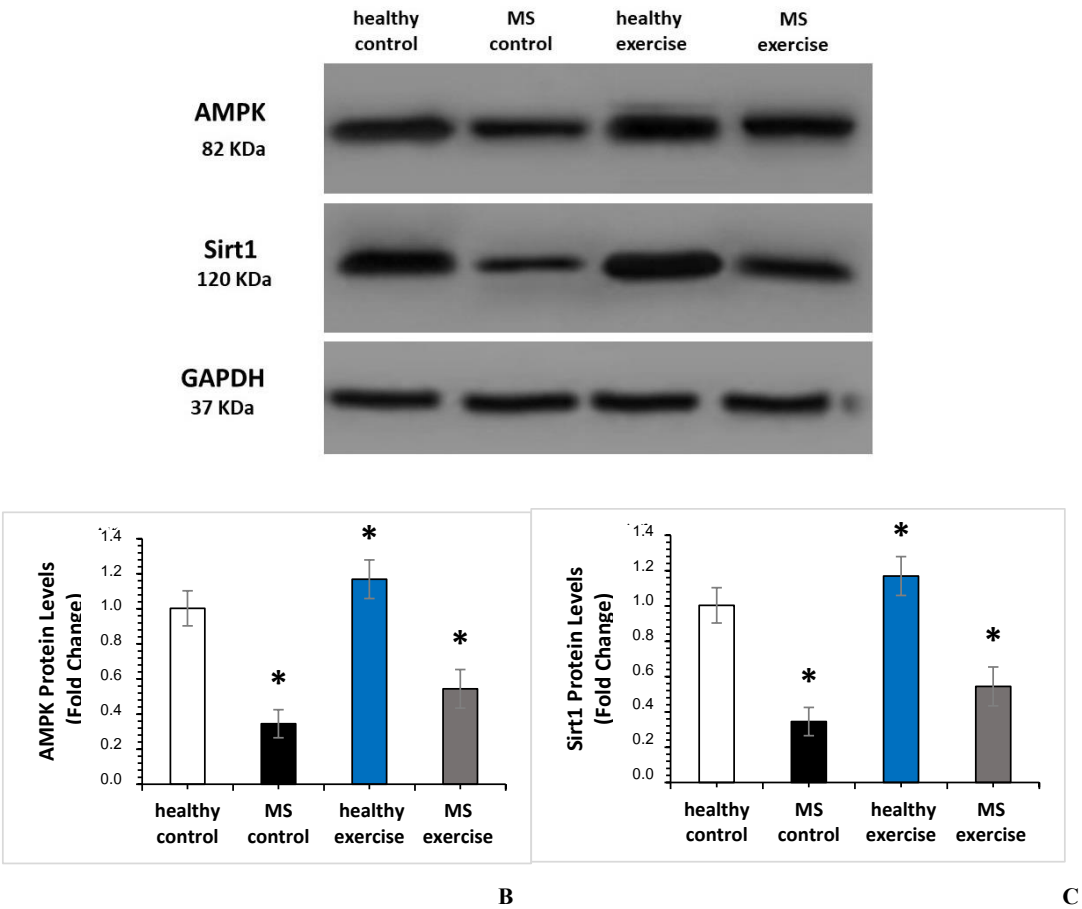


Figure 1. A) Changes in the content of AMPK and Sirt1 proteins in different groups using Western blotting. B and C) Western blot analysis of AMPK and Sirt1 proteins in different groups. * Indicator of significant difference between all groups; ** Indicators of significant difference between MS training group and healthy MS training and control groups, Significance level p<0.05.



مقاله پژوهشی

تأثیر شش هفته تمرین شنا بر میزان پروتئین‌های AMPK و Sirt1 و عملکرد حرکتی رت‌های مدل مالتیپل اسکلروزیس القاء شده با کوپریزون

مریم شعبانیان^۱، محمد رمی^{۲*}، مهرزاد شعبانی^۲، علی اکبر علی زاده^۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۷/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۰۹

اطلاعات مقاله

چکیده

زمینه و هدف: بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) یکی از شایع‌ترین بیماری‌های التهابی مزمن سیستم عصبی مرکزی است که عملکرد حسی و حرکتی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. از آنجا که فعالیت ورزشی ممکن است دارای فواید ضد التهابی برای این بیماران باشد، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر شش هفته تمرین شنا بر میزان پروتئین کیناز فعال شده با AMP (AMPK) و سیرتوئین ۱ (Sirt1) و عملکرد حرکتی رت‌های مدل MS می‌باشد. **روش تحقیق:** تعداد ۳۶ سر رت نر با سن ۱۲ هفته به‌طور تصادفی به چهار گروه: کنترل سالم، سالم تمرین، کنترل MS و تمرین MS تقسیم شدند. جهت القای بیماری MS، رت‌ها در گروه‌های بیمار به مدت شش هفته با غذای دارای کوپریزون با نسبت وزنی ۰/۵ درصد تغذیه شدند. پروتکل تمرین شنا به صورت اختیاری به مدت شش هفته انجام شد، به این صورت که از مدت ۱۰ دقیقه در هفته اول به ۳۰ دقیقه در هفته ششم رسید. از عامل زمان به عنوان اضافه بار تمرینی در هفته‌های تمرین استفاده شد. پس از انجام آزمون‌های رفتاری روتارود و جعبه باز، بافت هیپوکمپ استخراج و مقادیر پروتئین‌ها اندازه‌گیری شد. داده‌ها توسط آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه و سپس آزمون تعقیبی توکی، مورد بررسی قرار گرفت و سطح معنی‌داری $p < 0/05$ در نظر گرفته شد. **یافته‌ها:** نتایج آزمون‌های جعبه باز و روتارود نشان داد که عملکرد فعالیت حرکتی و حفظ تعادل در گروه کنترل MS نسبت به گروه کنترل سالم، دچار اختلال شده؛ اما به دنبال فعالیت شنا، به صورت معنی‌داری بهبود یافته است ($p = 0/01$). همچنین محتوای پروتئین‌های AMPK و Sirt1 در گروه کنترل MS، نسبت به گروه کنترل سالم، به صورت معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($p = 0/01$)؛ ضمن آن که مقادیر این پروتئین‌ها در گروه تمرین MS نسبت به گروه کنترل MS به صورت معنی‌داری افزایش یافت (به ترتیب با $p = 0/01$ و $p = 0/03$). **نتیجه‌گیری:** احتمالاً فعالیت ورزشی شنا، با تنظیم میزان پروتئین‌های AMPK و Sirt1، می‌تواند یکی از مسیرهای احتمالی بهبود متابولیسم انرژی نورون‌ها و تنظیم فرآیندهای متابولیکی سیستم عصبی مرکزی باشد و همچنین سبب افزایش عملکرد حرکتی نمونه‌های حیوانی مبتلا به این بیماری شود. این یافته‌ها می‌تواند راهگشایی برای مطالعات انسانی در آینده باشد.

واژه‌های کلیدی: تمرین شنا، بیماری مالتیپل اسکلروزیس، هیپوکمپ، عملکرد حرکتی.

۱. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۲. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

* آدرس نویسندگان مسئول:
اهواز، دانشگاه شهید چمران
اهواز، دانشکده علوم ورزشی، گروه
فیزیولوژی ورزشی؛
پست الکترونیک:
M.rami@scu.ac.ir

مقدمه

بیماری مالتیپل اسکلروزیس^۱ (MS) یکی از شایع ترین بیماری های مزمن سیستم عصبی مرکزی است که با دمیالینه شدن نورون های عصبی همراه است و عملکرد حسی و حرکتی را تحت تأثیر قرار می دهد (۱). علت دقیق این بیماری هنوز به طور کامل و واضح شناخته نشده است. در سراسر جهان بیش از ۲/۸ میلیون نفر با این بیماری زندگی می کنند (۲). کشور ایران، در ابتدا به بیماری MS، جزء ۱۰ کشور اول دنیا است (۳). احتمالاً چندین عامل مختلف از جمله استرس، وراثت و نقص ایمنی، فرآیندهای خودایمنی و عوامل محیطی به خصوص عفونت های ویروسی؛ در این روند دخالت دارند (۴). ضعف حافظه، اختلال در تمرکز، اختلال بینایی، بی حسی و مور مور شدن مداوم اندام ها، اسپاسم و گرفتگی عضلانی، اختلال در کنترل ادرار و مدفوع، افسردگی و تغییرات خلق و خو، از علائم مهم و اولیه بیماری MS و از مشکلات رایج مبتلایان به این بیماری هستند، و به طور رایج در مبتلایان مشاهده می شوند (۵). معمول ترین زمان شروع این بیماری در دوره جوانی بوده و در زنان حدود دو برابر مردان شایع است. از میان مکانیسم های مختلف پیشرفت بیماری MS، آپوپتوزیس نقش پررنگی بازی کرده و با تخریب نورون ها در بخش های مختلف دستگاه عصبی، به خصوص هیپوکمپ، منجر به ایجاد نقص در حافظه و یادگیری می شود (۶). به علاوه، دمیالیناسیون هیپوکمپ یکی از ویژگی های برجسته مغز بیماران مبتلا به MS است و نشان داده شده است که آتروفی هیپوکمپ با کاهش عملکرد شناختی در بیماران MS ارتباط دارد (۸). به هر حال، مکانیسم های سلولی و مولکولی مسئول اختلال عملکرد عصبی در هیپوکمپ دمیالینه شده، به طور کامل شناخته نشده است. مدل مبتنی بر سم کوپریزون^۲، که یک کمپلکس کننده قوی عنصر مس است، با ایجاد اختلال عملکرد میتوکندری، کاهش پروتئین های ساختاری میلین نظیر پروتئین پایه میلین^۳ (MBP) و پروتئین پروتئولپید^۴ (PLP)، میلین زدایی، مرگ الیگودندروسیت ها، آسیب آکسونی و در نهایت، اختلالات رفتاری و حرکتی؛ موجب ایجاد شرایطی مشابه با MS شده (۹)، و با توجه به این مسئله که بر خلاف

مدل EAE، موجب فلج کامل آزمودنی نمی شود، شرایط مناسب تری برای مطالعه اثر فعالیت ورزشی بر نمونه های مبتلا به بیماری MS مهیا می کند (۱۰). در مطالعات مدل حیوانی یکی از روش های تأیید القاء این بیماری استفاده از آزمون روتارود^۵ است و هنگامی که مدت زمان پایداری نمونه حیوانی بر روی دستگاه روتارود کمتر از ۹۱ ثانیه باشد، آن نمونه حیوانی (رت) به عنوان نمونه بیمار در نظر گرفته می شود (۱۱). درمان های ضدالتهابی با تعدیل سیستم ایمنی اثرات محدودی بر تخریب اعصاب و ناتوانی بالینی در مرحله پیش رونده این بیماری دارند (۸). به همین ترتیب، هیچ درمان موثری که با جلوگیری از تخریب اعصاب و آتروفی مغز، اختلال عملکرد شناختی را به طور موثر کاهش دهد، در دسترس نیست (۱۲). بنابراین، رویکردهای جدید درمانی برای محافظت از دستگاه عصبی مورد نیاز است.

فعالیت ورزشی ممکن است با تأثیرگذاری بر پلاستیسیته عصبی^۶، سلامت مغز را ارتقاء داده و به کاهش علائم بیماری و بهبود شرایط در بیماران MS کمک کند (۱۳). پروتئین کیناز فعال شده با AMP^۷ (AMPK)، یک آنزیم حساس به انرژی در تمام سلول های بدن پستانداران است، که دارای فعالیت ضدالتهابی وابسته به Sirt1 است و در یک سری فرآیندهای عصبی فیزیولوژیک و پاتولوژیک نقش اساسی دارد (۱۴). سیگنال دهی AMPK می تواند فسفوریلاسیون و تولید آمیلوئید بتا را مهار کند و در نتیجه، پیشرفت بیماری MS را به تأخیر بیندازد (۱۵). شواهدی وجود دارد که AMPK ممکن است با تعدیل متابولیسم انرژی نورون های نخاعی در مکانیسم بازسازی اعصاب پس از آسیب شرکت کند و بر متابولیسم انرژی کل بدن تأثیر گذارد (۱۶). به علاوه، به تازگی نقش AMPK در تسریع تمایز سلول های نیای الیگودندروسیت و تغییرات بیوانرژتیک الیگودندروسیت ها که در فرآیند بازسازی غلاف میلین ضروری می باشند، گزارش شده است (۱۷). از دیگر عوامل دخیل در تخریب اعصاب می توان از سیرتوئین ها^۸ (Sirt) نام برد. آنها به عنوان حسگرهای انرژی و وضعیت ردوکس در سلول ها عمل می کنند. آنها فعالیت آنزیم های متابولیک کلیدی را تعدیل می کنند و همچنین رونویسی ژن های متابولیک

1. Multiple sclerosis
2. Cuprizone
3. Myelin basic protein

4. Proteolipid protein
5. Rotarod
6. Neuroplasticity

7. AMP-activated protein kinase
8. Sirtuins

یک مطالعه متاآنالیز نشان داده است که تمرینات ترکیبی هوازی و مقاومتی نظیر شنا نیز می‌توانند در بهبود علائم و کیفیت زندگی مبتلایان به بیماری MS مؤثرتر باشند (۲۹). هرچند به‌صورت محدود، نشان داده شده است که ورزش شنا در مقایسه با انواع دیگر تمرینات ورزشی، احتمالاً به‌دلیل ماهیت ترکیبی و مقاومتی که دارد منجر به حفاظت بیشتری از عصب گردد (۳۰). شنا (شناوری در آب) میزان کاری که بیمار باید انجام دهد را کاهش می‌دهد. بنابراین به‌طور فرضی خستگی تجمعی را محدود می‌کند. بهره‌گیری از شنا برای بیماران MS علاوه بر تسهیل حرکت دست‌ها و پاها، به تقویت عضلات نیز کمک می‌کند. بنابراین روند پیشرفت بیماری را به‌طور قابل توجهی کندتر خواهد کرد. مهم‌ترین اهمیت فعالیت شنا برای بیماران MS، احساس بی‌وزنی و انجام حرکات ورزشی به شکل ساده‌تر و متعادل‌تر خواهد بود (۳۱)، و احتمالاً ممکن است که اثرات آب درمانی برای بیماران MS، کاهش احساس خستگی و ضعف عضلانی، بهبود کیفیت زندگی و افزایش تعادل در هنگام راه رفتن یا ایستادن باشد. با وجود اهمیت درمان‌های دارویی در بهبود علائم این بیماری، برخی از داروهای مورد استفاده نظیر اینترفرون بتا^۴ (IFN-B) برای ۷ تا ۴۹ درصد بیماران مؤثر نیست (۳۲)، و عوارض جانبی ناشی از این درمان‌ها نیز پابندی به درمان را مشکل می‌سازد (۳۳). بنابراین، فعالیت ورزشی به‌عنوان یک راهبرد ارزان و بی‌ضرر، می‌تواند در کنار درمان‌های دارویی به بهبود وضعیت و شرایط بیماران کمک کند؛ اما با وجود فوائد ذکر شده، سازو کار دقیق ایجاد اثرات مثبت فعالیت ورزشی، به‌خصوص تاثیرات آن بر مسیرهای سلولی و مولکولی حاکم بر این بیماری، کاملاً مشخص نیست. از سوی دیگر، اکثر مطالعات انجام شده بر روی این بیماری و بررسی اثرات احتمالی فعالیت ورزشی معطوف به مطالعات انسانی بوده و لزوم پژوهش‌های گسترده مولکولی و بافت‌شناسی بر روی اثرات احتمالی این نوع فعالیت ورزشی بر بافت‌های حیاتی نظیر سیستم عصبی مرکزی و به‌خصوص بافت هیپوکمپ در مدل‌های حیوانی بیماری MS، احساس می‌شود. تا به‌حال، تاثیرات فعالیت ورزشی بر این دو پروتئین در مدل آنسفالومیلیت خودایمنی تجربی^۵ (EAE)

را تنظیم می‌کنند (۱۸). علاوه بر این، سیرتوئین-۱ (Sirt1) می‌تواند به‌عنوان فعال‌کننده کلیدی AMPK عمل کند (۱۹). Sirt1 نقش مهمی در فرآیندهای سلولی مانند پیری، رونویسی، آپوپتوزیس، التهاب، مقاومت در برابر فشار و همچنین بهره‌وری انرژی و هوشیاری در شرایط محدودیت کالری دارند. Sirt1 ها خانواده‌ای از داستیلازهای^۱ حفاظت شده وابسته به NAD^+ هستند که به‌عنوان حسگرهای درون سلولی باعث شناسایی سطح انرژی سلول و تنظیم فرآیندهای متابولیک می‌شوند و در میان آنها، Sirt1 نقش مهمی در مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، چرخه سلولی، عملکرد میتوکندری و متابولیسم دارد (۲۰). Sirt1 در طیف وسیعی از ارگان‌ها بیان می‌شود. این ژن در کبد، پانکراس، قلب، عضله و مغز بیان شده و کاهش مقادیر آن در بیماری‌های تخریب عصب مانند MS مشاهده شده است (۲۱). مطالعات نشان داده‌اند که فعال‌سازی Sirt1 می‌تواند از آسیب عصبی و اختلال عملکرد عصبی طولانی مدت مرتبط با آن جلوگیری کند (۲۲). همچنین نشان داده شده که افزایش بیان Sirt1، با ایجاد اثرات ضدالتهابی، از افزایش سطوح سایتوکاین‌های پیش التهابی نظیر عامل نکروزی تومور آلفا^۲ (TNF-a) که مشخصاً در بیماری MS افزایش می‌یابد، جلوگیری کند (۲۳) و شواهدی دال بر کاهش قابل توجه بیان این پروتئین در نمونه‌های انسانی مبتلا به MS، وجود دارد (۲۴). به‌علاوه، با توجه به نقش مهم Sirt1 در سلامت عملکرد میتوکندری و کاهش بیان آن در MS، کاهش این پروتئین می‌تواند اختلال در عملکرد میتوکندری که از مشخصات پاتوژنز این بیماری است (۲۵) را تسریع کند. براساس نتایج مطالعات، کم تحرکی بیماران MS باعث کوتاهی و ضعف عضلات و زخم بستر می‌شود. بنابراین نرمش و فعالیت بدنی با شدتی قابل تحمل برای این بیماران می‌تواند مشکلات حرکتی افراد مبتلا به این بیماری را، بهبود بخشد (۲۶). فعالیت بدنی به‌عنوان یک مداخله غیر دارویی نقش مهمی در پیشگیری و بهبود بیماری‌های عصبی مانند MS دارد (۲۷). در مطالعات پیشین، اثرات مفید فعالیت‌های ورزشی نظیر تمرینات تناوبی پر شدت، تمرینات مقاومتی و هوازی بر بهبود علائم بالینی بیماری MS نشان داده شده است (۲۸). همچنین نتایج

1. deacetylase

2. Nicotinamide adenine dinucleotide

3. Tumor necrosis factor alpha

4. Interferon beta-1b

5. Experimental autoimmune encephalomyelitis

اضافه شد و سپس به خوبی مخلوط شد و با اضافه کردن آب، خمیر حاصله به پلت غذایی تبدیل شد و به مدت ۶ هفته در اختیار حیوانات قرار گرفت (۳۵). پس از هفته ششم و تایید القای بیماری MS توسط آزمون روتارود (۳۶)، مصرف پلت غذایی حاوی کوپریزون تا هفته ۱۲ و انتهای پروتکل تمرینی ادامه پیدا کرد.

آزمون‌های رفتار حرکتی و حفظ تعادل: پس از پایان دوره پروتکل تمرینی جهت ارزیابی فعالیت حرکتی و هماهنگی و تعادل، از آزمون‌های جعبه باز و روتارود استفاده شد. تمامی آزمون‌ها در دوره روشنائی فعالیت رت‌ها و بین ساعات ۹-۱۲ انجام شدند.

آزمون جعبه باز: در این آزمون، فعالیت حرکتی رت‌ها، بر اساس جابه‌جایی از یک نقطه به نقطه دیگر، توسط دوربین دیجیتالی (شرکت فناوری اطلاعات نولدوس، ورژن ۳/۱، هلند)، که در بالای محفظه دستگاه تعبیه شده بود، ضبط و اندازه‌گیری شد. این دستگاه شامل یک جعبه مکعبی به ابعاد ۵۰ سانتی‌متر ارتفاع، ۶۰ سانتی‌متر طول و ۴۰ سانتی‌متر عرض به صورت روباز بود و با کفی که با خطوطی به ۲۵ مربع تقریباً مساوی تقسیم شده بود، تشکیل می‌شد. رت‌ها در مرکز صفحه دستگاه قرار گرفتند و فعالیت آن‌ها به مدت ۱۰ دقیقه ثبت شد. کل مسافت طی شده و سرعت حرکت، به‌عنوان متغیرهای رفتاری ثبت و مورد بررسی قرار گرفتند (۳۷).

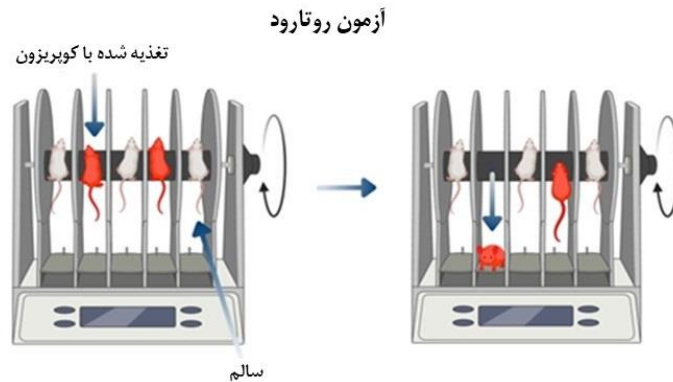
آزمون روتارود: این آزمون به‌منظور سنجش تعادل و هماهنگی بین اندام‌های حرکتی در رت‌ها استفاده می‌شود. دستگاه روتارود شامل یک گردانه (روی میله افقی چرخنده) با حدود ۲۰ سانتی‌متر فاصله از زمین می‌باشد که توسط صفحاتی دایره‌ای شکل به چهار بخش جدا از هم تقسیم می‌شود. جهت ارزیابی تعادل، رت‌ها بر روی گردانه در حال چرخش که سرعت آن در مدت ۳۰۰ ثانیه از پنج به ۴۵ دور در دقیقه افزایش داده می‌شد؛ قرار گرفتند. مدت حفظ تعادل و باقی ماندن بر روی میله برای هر رت ثبت گردید. این عمل برای هر رت سه مرتبه تکرار و میانگین آن محاسبه شد (۳۸) (شکل ۱). نتایج یک مطالعه مروری، همزمانی اثرگذاری کوپریزون در ایجاد آپوپتوزیس، میلین‌زدایی و کاهش زمان تاخیر افتادن آزمودنی از روی گردانه دستگاه روتارود را نشان داده و روایی این آزمون را تایید می‌کنند (۳۶). بنابراین می‌توان از آزمون روتارود برای تایید القاء MS استفاده کرد.

بررسی شده است (۳۴)؛ همچنین اثر برخی داروها نیز بر پروتئین‌های ذکر شده در مدل کوپریزون مورد ارزیابی قرار گرفته است (۱۶). با توجه به این مسئله که تا به حال تاثیر فعالیت شنا بر AMPK و SIRT1 در مدل کوپریزون کمتر بررسی شده است؛ در مطالعه حاضر، به‌دنبال پاسخ به این پرسش هستیم که آیا فعالیت شنا به‌عنوان یک راهبرد غیردارویی، می‌تواند تغییرات ناشی از مدل کوپریزون در نمونه‌های مبتلا به MS را در سیستم عصبی مرکزی به خصوص هیپوکمپ، تعدیل کند؟ لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات یک دوره فعالیت شنا بر میزان پروتئین‌های AMPK و Sirt1 بافت هیپوکمپ رت‌های مبتلا به بیماری MS القاء شده با کوپریزون می‌باشد.

روش تحقیق

حیوانات و شرایط نگهداری: در این پژوهش تجربی، از ۳۶ سر رت بالغ با سن ۱۲ هفته و وزن 230 ± 14 که از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهیدچمران اهواز خریداری شدند، استفاده شد. ابتدا رت‌ها جهت سازگار شدن با محیط به مدت دو هفته در خانه حیوانات دانشکده دامپزشکی با دمای ۲۰ الی ۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۴۵ تا ۵۵ درصد، تهویه مناسب با ۱۲ ساعت روشنائی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند و به‌صورت آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. پس از القاء MS در طول پروتکل تحقیق تعداد سه سر رت تلف شدند و ۳۳ سر رت باقی مانده در گروه‌های چهارگانه تقسیم شدند. رت‌های تلف شده در گروه‌های بیمار بودند. پس از اتمام پروتکل تمرینی تعداد پنج نمونه از هر گروه برای آنالیزهای آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفت. رت‌ها در گروه‌هایی شامل: کنترل سالم، سالم تمرین، کنترل MS و تمرین MS، در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف تقسیم شدند. در زمان آشنایی، تمرین پذیری رت‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که تمامی رت‌ها قادر به انجام فعالیت شنای اختیاری هستند. تمامی مراحل تحقیق حاضر به تصویب کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه شهید چمران اهواز رسید و با شناسه IR.SCU.REC.1402.067 به ثبت رسید.

روش القای بیماری مالتیپل اسکلروزیس: جهت القای بیماری MS، کوپریزون با نسبت وزنی ۰/۵ درصد (۰/۵ گرم کوپریزون در هر ۱۰۰ گرم غذا) به پودر غذای جوندگان



شکل ۱. طرح شماتیک آزمون روتارود

درصد)، سدیم داکسی کولات (۰/۵ گرم، ۰/۲۵ درصد)، کلرید سدیم (۰/۴۳ گرم، ۱۵۰ میلی مول در لیتر)، سدیم داکسی سولفات (۰/۰۲ گرم، ۰/۱ درصد)، اسید اتیلن دی آمین تراستیک (EDTA، ۵/۸۴ گرم) که در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر با $pH=7/4$ مخلوط شده بود؛ به نمونه های بافت قبلی افزوده شد و با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه با دستگاه هموژنایزر هموژن شدند (اسپید مایل پلاس ساخت آلمان). در مرحله بعد، پس از ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدن نمونه ها با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه و انتقال مایع رویی به میکروتیوپ جدید، از یک قرص مهارکننده پروتئاز به ازای هر ۱۰ میلی لیتر (10X) استفاده شد. سپس با استفاده از کیت براد فورد غلظت سوپرناتانت به دست آمده، مورد بررسی قرار گرفت. نمونه ها با نسبت یک به یک (بر اساس برآورد غلظت با روش برادفورد) با بافر نمونه 2X مخلوط و پنج دقیقه جوشانده شدند تا ساختارهای مولکولی پروتئینی ها دناتوره شده و حالت خطی پیدا کند. بخارات ایجاد شده در این حالت با پنج ثانیه ورتکس سریع و قرار دادن نمونه در یخ، از بین می رود. در روش وسترن بلات از ژل 10% SDS-PAGE استفاده شد و پس از انجام روش های متداول الکتروفوروز و انتقال و بلاکینگ، نمونه ها با آنتی بادی های اولیه^۱ (AMPK و Sirt1) با رقت ۱/۲۰۰۰ الی ۱/۵۰۰۰ در بافر PBS مورد سنجش قرار گرفتند. از آنتی بادی ثانویه^۲ نیز با رقت ۱/۲۰۰۰ در بافر PBS برای اتصال به آنتی بادی اولیه استفاده شد. در این تحقیق از آنتی بادی معیار^۳ (GAPDH) به عنوان پروتئین کالیبره کننده استفاده شد. سپس در اتاق تاریک و در زیر نور قرمز

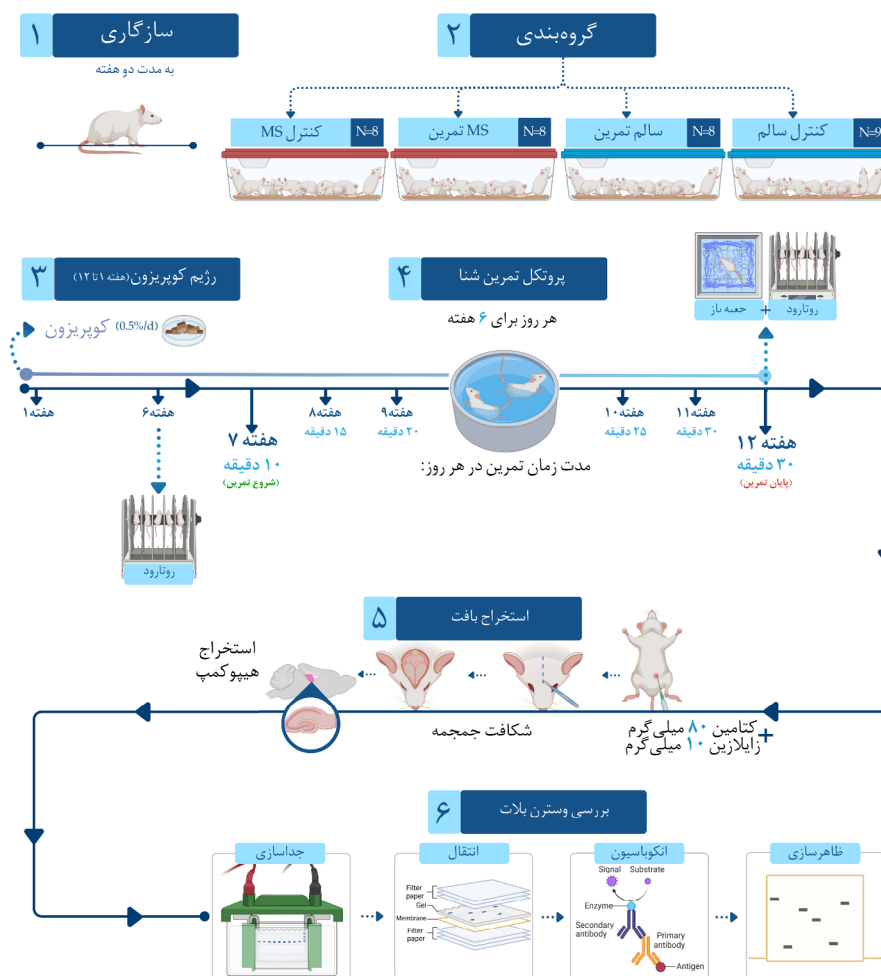
نحوه اجرای پروتکل تمرین: بعد از تایید القای MS، پروتکل تمرین شنای در آب به مدت شش هفته در استخر مخصوص جوندگان انجام شد. پروتکل تمرینی برگرفته از تحقیق کیم و دیگران (۲۰۲۰) با اندکی اصلاح بود، به این صورت که اصل اضافه بار به پروتکل تمرینی افزوده شد (۳۰). رت های گروه فعالیت شنا یک بار در روز و به مدت ۶ هفته شنا کردند. به منظور رعایت اصل اضافه بار و جهت سازگاری حیوانات، مدت تمرین در هفته اول تا ششم به صورتی افزایش یافت که در آن زمان فعالیت از ۱۰ دقیقه در روز اول شروع، و با اضافه کردن ۵ دقیقه در هر هفته به ۳۰ دقیقه در هفته های پنجم و ششم رسید. به منظور جلوگیری از وارد شدن هرگونه استرس اضافی به آزمودنی ها و تاثیر ناخواسته آن بر نتایج پژوهش، در پروتکل تمرینی از وزنه استفاده نشد (۱۰) و فعالیت شنا رت ها به صورت اختیاری و تلاش برای شناور ماندن انجام شد. تمرین شنای رت ها در استخر جوندگان (شرکت دانش سالار ایرانیان) با ابعاد ۹۰ سانتی متر ارتفاع و ۱۲۰ سانتی متر طول و ۵۰ سانتی متر عرض که با صفحات شیشه ای به شش قسمت تقسیم شده بود، انجام شد. عمق در نظر گرفته شده برای آب استخر ۴۰ سانتی متر بود. طرح شماتیک مراحل انجام پروتکل تمرینی در شکل دو نشان داده شده است.

روش های آزمایشگاهی: به منظور سنجش محتوای پروتئین های AMPK و Sirt1 از روش وسترن بلات استفاده شد. نخست به ازای هر ۲۰۰ میلی گرم بافت، ۱۰۰ میکرو لیتر بافر لیز کننده سرد شامل تریس پایه (۰/۳ گرم، ۵۰ میلی مول در لیتر)، تریتون X-100 (۰/۰۲ گرم، ۰/۱

1. AMPK α (D63G4) Rabbit mAb، Cell Signaling Technology & Sirt1 (D1D7) Rabbit mAb،

Cell Signaling Technology
2. Mouse anti-rabbit IgG-HRP: sc-2357

3. GAPDH (D16H11) XP® Rabbit mAb، Cell Signaling Technology



شکل ۲. طرح شماتیک مراحل انجام پروتکل تمرین

یافته‌ها

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه و متعاقب آن آزمون تعقیبی توکی در مورد آزمون‌های جعبه باز و روتارود نشان داد که سرعت حرکت و مسافت طی شده در آزمون جعبه باز در رت‌های گروه کنترل MS نسبت به گروه کنترل سالم به‌صورت معنی‌داری کمتر است ($p=0/001$). همچنین این متغیرها در گروه تمرین MS نسبت به گروه کنترل MS به میزان قابل توجهی بیشتر بود ($p=0/001$). به‌علاوه، نتایج آزمون روتارود نشان داد که مدت زمان ماندگاری و حفظ تعادل بر روی میله دستگاه در گروه کنترل MS در مقایسه با گروه کنترل سالم کمتر است که از نظر آماری، معنی‌دار بود ($p=0/001$). از سوی دیگر، زمان ماندگاری بر روی میله در گروه تمرین MS نسبت به گروه کنترل MS، به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($p=0/001$). نتایج آزمون‌های جعبه باز و روتارود در شکل سه ارائه شده است.

با استفاده از کیت ECL (133408, abcam)، ظهور باندها در دستگاه پردازشگر X-RAY (LD-14، چین) صورت گرفت. در مرحله بعد، با استفاده از دستگاه اسکنر JS 2000 (BoninTech، چین) کاغذهای حساس به نور اسکن شده و دانسیته باندها با استفاده نرم افزار دستگاه JS 2000 مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌های تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. نتایج به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد میانگین گزارش شد. به‌منظور بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها، از آزمون شاپیرو-ویلک^۱ استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌ها، از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) یک‌راهه برای مقایسه میانگین گروه‌ها استفاده شد. از آزمون تعقیبی توکی^۲ نیز برای بررسی تفاوت دو به دوی گروه‌ها استفاده گردید و سطح معنی‌داری $p<0/05$ در نظر گرفته شد.

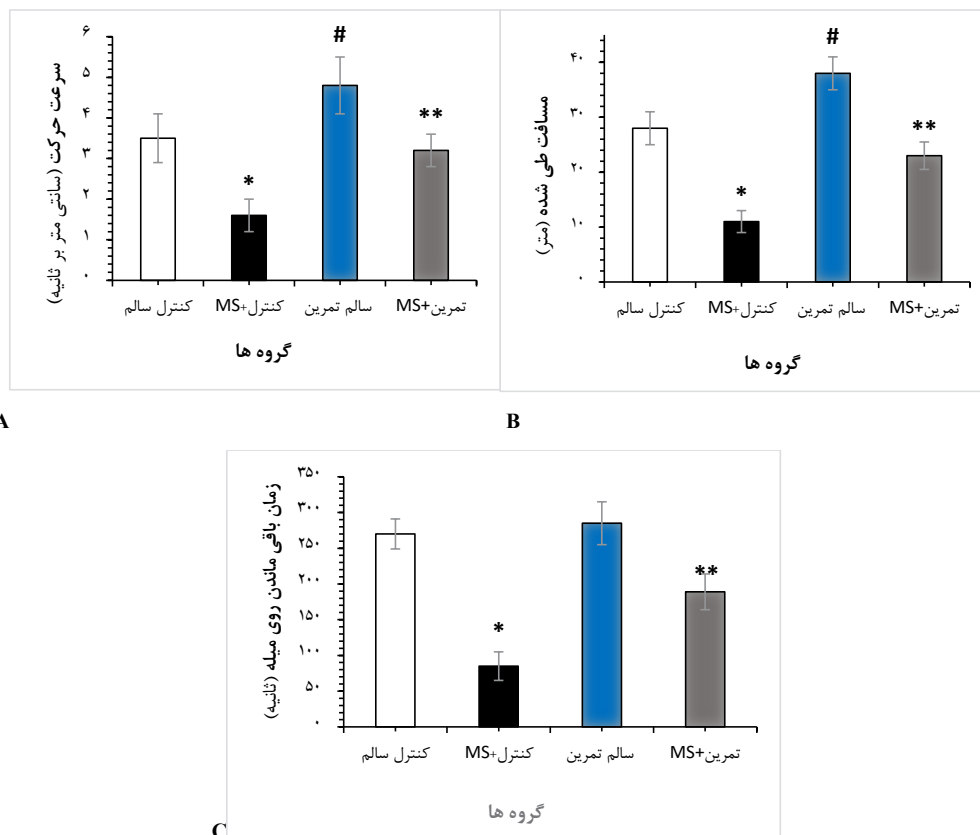
1. Shapiro-Wilk

2. Tukey

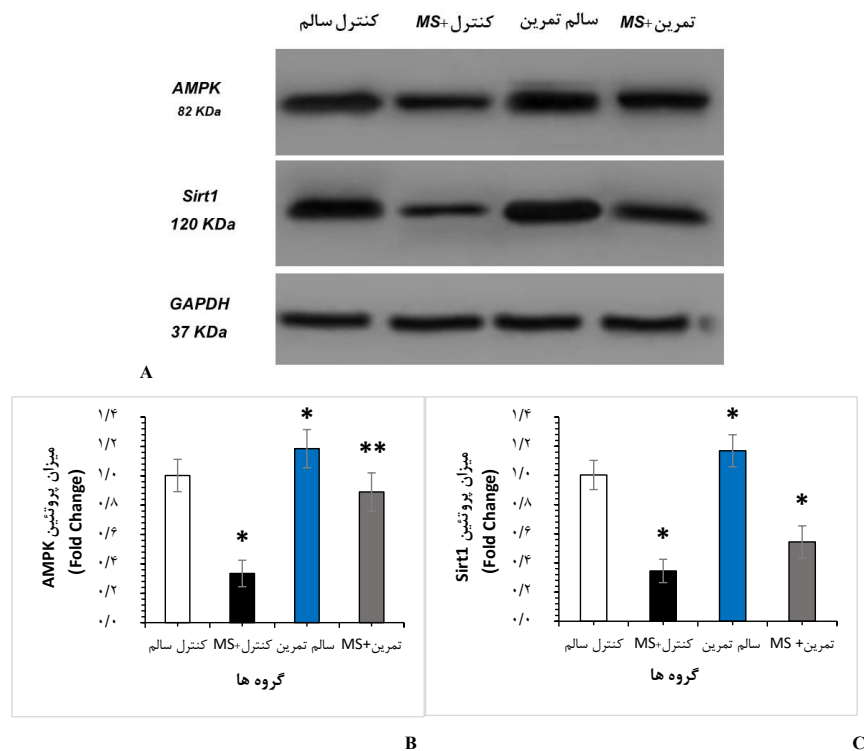
بحث

مدل کوپریزون از طریق مرگ سلول‌های عصبی به‌ویژه در هیپوکمپ، باعث ایجاد اختلال در حرکت و تعادل می‌شود که توسط آزمون‌های رفتاری از قبیل روتارود و جعبه باز قابل مشاهده است (۳۹ و ۴۰). در این مطالعه از آزمون‌های ذکر شده برای تایید وجود و القای بیماری و همچنین بررسی عملکرد حرکتی رت‌های بیمار و اثرات تمرین شنا بر این متغیرها استفاده شد. بر اساس یافته‌های آزمون روتارود در این مطالعه، کاهش قابل توجه زمان باقی ماندن آزمودنی‌های گروه کنترل MS در مقایسه با گروه کنترل سالم بر روی گردانه دستگاه روتارود، نشان دهنده تاثیرگذاری کوپریزون بر ایجاد بیماری بود که همسو با پژوهش انجام شده توسط لوبریک و دیگران (۲۰۲۲) است (۳۴)، همان‌گونه که پیش‌تر بیان شد، مدت زمان کمتر از ۹۱ ثانیه در این آزمون به عنوان نمونه بیمار تلقی می‌شود، نتایج این مطالعه نشان داد که این زمان

همچنین نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه در مورد میزان پروتئین‌های AMPK و Sirt1 بافت هیپوکمپ رت‌ها در گروه‌های مختلف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در میزان این پروتئین‌ها در گروه‌های مختلف تحقیق بود ($p=0/001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی در رابطه با متغیرهای AMPK و Sirt1 در شکل پنج (B و C) نشان داده شده است. بر این اساس در متغیر AMPK به استثناء تفاوت بین گروه‌های کنترل سالم و تمرین MS ($p=0/124$)، تفاوت در بین سایر گروه‌ها معنی‌دار بود ($p<0/05$). همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی در رابطه با متغیر Sirt1 نشان داد که تفاوت در بین تمام گروه‌ها معنی‌دار است ($p<0/05$). به این صورت که، مقادیر این پروتئین در گروه کنترل MS نسبت به گروه کنترل سالم از نظر آماری کمتر بود ($p=0/001$) و در گروه تمرین MS افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p=0/001$). در شکل چهار (A) باندهای وسترن بلات پروتئین‌های AMPK و Sirt1 نشان داده شده است.



شکل ۳. نتایج آزمون‌های جعبه باز و روتارود در گروه‌های مختلف. A و B. نتایج آزمون جعبه باز (سرعت حرکت و مسافت طی شده)، C. نتایج آزمون روتارود (زمان باقی ماندن روی میله). * نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل MS و گروه کنترل سالم؛ # نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه سالم تمرین و سایر گروه‌ها؛ ** نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه تمرین MS و گروه کنترل MS. سطح معنی‌داری $p<0/05$.



شکل ۴. (A) تغییرات محتوای پروتئین‌های AMPK و Sirt1 در گروه‌های مختلف با استفاده از روش وسترن بلات. (B و C) تجزیه و تحلیل باندهای وسترن بلات پروتئین‌های AMPK و Sirt1 در گروه‌های مختلف. * نشانه تفاوت معنی‌دار بین تمام گروه‌ها؛ ** نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه تمرین MS و گروه‌های سالم تمرین و کنترل MS، سطح معنی‌داری $p < 0.05$.

ذکر شده، نقیب زاده و دیگران (۲۰۱۸)، مسافت طی شده کم‌تری را در یکی از گروه‌های کنترل تمرینی، در مقایسه با گروه تمرین بیمار و کنترل سالم گزارش دادند (۴۲). نتایج حاصله از آزمون‌های رفتاری، احتمالاً می‌تواند با اثرات فعالیت در حفاظت از اعصاب، افزایش پروتئین‌های ساختاری و شعاع غلاف‌های میلین در بافت مخچه مرتبط باشد؛ چنانکه چندین مطالعه ارتباط اختلال عملکرد و آتروفی مخچه را با شکایات متعدد حرکتی و شناختی در مبتلایان به MS گزارش کرده‌اند (۴۳). همچنین، پژوهش‌ها نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی می‌تواند باعث افزایش درخت‌وارگی دندریت‌های سلول‌های پورکینز بافت مخچه و جلوگیری از مرگ آن‌ها شود (۴۴) و کاهش تعداد این سلول‌ها در بیماری‌هایی نظیر MS، با افزایش اختلالات حرکتی و کاهش هماهنگی و تعادل همراه است (۴۵). به‌علاوه، هر چند محدود، شواهدی وجود دارد که تمرین شنا در بازدارندگی از کاهش پروتئین‌های ساختاری در بافت مخچه، موثرتر از تمرین دویدن عمل کرده‌است (۴۶).

در گروه تمرین MS، پس از اجرای پروتکل تمرینی شنا، به شکل قابل توجهی افزایش پیدا کرد؛ با این وجود، نسبت به گروه‌های کنترل سالم و سالم تمرین کمتر بود که ممکن است این تفاوت به افزایش طول دوره تمرینی مربوط باشد. در تضاد با این نتیجه، در مطالعه ماندولسی^۱ و دیگران (۲۰۱۹) (۳۹)، زمان باقی ماندن بر روی گردانه دستگاه در گروه تمرین بیمار، حتی از گروه‌های کنترل سالم و کنترل تمرین نیز بیشتر بوده است. کیم و دیگران (۲۰۲۰) نیز که به بررسی اثر فعالیت شنا در مدل EAE پرداخته بودند (۳۰)، نتایجی مشابه را گزارش کردند؛ اما با وجود عدم رعایت اصل اضافه بار، اثرات مثبت فعالیت همچنان واضح و معنی‌دار بود. براساس نتایج آزمون جعبه باز، مسافت طی شده و سرعت حرکت در رت‌های بیمار کمتر بود که همسو با مطالعات توماس-روینگ^۲ و دیگران (۲۰۱۹) (۴۰) و هان^۳ و دیگران (۲۰۲۰) (۴۱) است که متعاقب یک دوره فعالیت شنای اختیاری به میزان قابل توجهی افزایش پیدا کردند. برخلاف نتیجه

1. Mandolesi

2. Tomas-Roig

3. Han

مانند استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی، نقش اساسی در محافظت عصبی ایفا می‌کند (۵۱). جالب توجه است که AMPK و Sirt1 در تنظیم یکدیگر نقش دارند و فعال‌سازی آن‌ها ممکن است نقش حیاتی در محافظت عصبی داشته باشد (۵۲). چندین مدل حیوانی MS کاهش سیگنالینگ AMPK/Sirt1 را نشان داده‌اند که به دنبال آن تخریب عصبی برجسته بوده است (۵۳). فعالیت ورزشی با فعال‌سازی AMPK و Sirt1 و به دنبال آن غیرفعال‌سازی NF- κ B، از رونویسی NLRP3^۱ که مسئول ایجاد مرگ التهابی پایروپتوز در نورون‌ها و الیگودندروسیت‌ها است، جلوگیری می‌کند (۱۶). به علاوه Sirt1 از طریق مسیر آتوفاژی، از ایجاد الگوهای مولکولی مرتبط با آسیب^۲ (DAMP) جلوگیری کرده و AMPK نیز گیرنده TLR^{۱۱} را محدود می‌کند (۱۶). عدم اتصال DAMP به گیرنده TLR، و کاهش سیگنالینگ MYD88^{۱۱}، خود از فعال شدن NF- κ B و رونویسی NLRP3 جلوگیری می‌کند (۵۴). شواهد نشان می‌دهند که فعالیت ورزشی، احتمالاً از طریق افزایش فعال‌سازی AMPK و PGC1- α ^{۱۲}، موجب افزایش سطوح پروتئین klotho می‌شود (۵۵). klotho با تنظیم میلین‌سازی، افزایش بیان پروتئین‌های ساختاری میلین مانند MBP و PLP و همچنین جلوگیری از افزایش سطوح TNF- α ترشح شده از سلول‌های Th17، به بهبود علائم بیماری کمک می‌کند (۵۶). به علاوه، فعالیت ورزشی می‌تواند با افزایش AMPK و متعاقباً فعال‌سازی PGC1- α ، بیونز میتوکندریایی را تحریک کرده (۵۷)، استرس اکسیداتیو را کاهش دهد و همچنین عامل نوروٹروفیک مشتق از مغز^{۱۳} (BDNF) را افزایش دهد (۵۸). دوباره‌سازی غلاف میلین و حفاظت از نورون‌ها ضروری است و پژوهش‌های گسترده، افزایش آن را در پاسخ به فعالیت ورزشی در هیپوکمپ (و دیگر قسمت‌های مغز) به خوبی نشان داده‌اند (۵۹).

نتیجه‌گیری: طبق شواهد ذکر شده، فعالیت ورزشی شنا سبب افزایش میزان پروتئین‌های AMPK و Sirt1 در بافت هیپوکمپ رت‌های مبتلا به بیماری MS می‌شود. همچنین فعالیت ورزشی، به‌خصوص فعالیت شنا، سبب افزایش

در پیشینه تحقیق، مطالعه‌ای که تغییرات AMPK و Sirt1 را در پاسخ به فعالیت شنا و در مدل کوپریزون را مورد بررسی قرار دهد یافت نشد، درحالی‌که نتایج پژوهش حاضر نشان داد که محتوای پروتئین‌های AMPK و Sirt1 در گروه کنترل MS نسبت به گروه کنترل سالم کاهش معنی‌داری داشته است و همسو با نتایج پژوهش عمار^۱ و دیگران (۲۰۲۲) است که تاثیر لیراگلوتايد^۲ را بر این دو پروتئین در مدل کوپریزون بررسی کرده‌اند (۱۶). لیو^۳ و دیگران (۲۰۲۱) نیز کاهش Sirt1 را در مدل کوپریزون گزارش کرده‌اند (۴۷). همچنین نتایج نشان داد که سطوح پروتئین‌های AMPK و Sirt1 بافت هیپوکمپ رت‌ها در گروه تمرین MS در مقایسه با گروه کنترل MS به‌صورت معنی‌داری افزایش یافته است. این افزایش در AMPK همسو با نتایج پژوهش نظری و دیگران (۲۰۲۲) در مدل EAE است (۲۲). لازم به ذکر است که بافت مورد بررسی در پژوهش نظری و دیگران با مطالعه حاضر متفاوت بوده و محققین در پژوهش ذکر شده از کبد بجای مغز استفاده کردند. همچنین، ژانگ^۴ و دیگران (۲۰۱۹) گزارش کردند که پس از هشت هفته تمرین هوازی بر روی نوارگردان، بیان AMPK به‌طور قابل توجهی در موش‌های چاق افزایش می‌یابد (۴۸). از سوی دیگر، موریست^۵ و دیگران (۲۰۱۹) گزارش دادند که در طول فعالیت، AMPK در عضلات اسکلتی، بافت چربی، کبد و سایر اندام‌ها، با افزایش نسبت AMP/ATP فعال می‌شود (۴۹). همچنین وادلی^۶ و دیگران (۲۰۰۶) بیان کردند که فعالیت به‌عنوان قوی‌ترین فعال‌کننده فیزیولوژیکی AMPK شناخته می‌شود، و تغییر در بیان این پروتئین یک مدل منحصر به فرد برای مطالعه بسیاری از نقش‌های فیزیولوژیک فعالیت ورزشی است (۵۰). فعالیت ورزشی نقش واسطه‌ای در فعال‌سازی AMPK ایفا می‌کند و می‌تواند از برخی بیماری‌ها مانند MS پیشگیری کند. طبق نتایج مطالعه حاضر، کاهش شدت بیماری مدل کوپریزون با فعال شدن مسیر AMPK/Sirt1 منطبق است. Sirt1 از طریق از بین بردن عوامل متعددی که در مرگ نورون‌ها در بیماری‌های عصبی دژنراتیو دخیل هستند،

1. Ammar
2. Iiraglutide
3. Liu
4. Zhang
5. Morissette
6. Wadley

7. Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B
8. NLR family pyrin domain containing 3
9. damage-associated molecular pattern
10. Toll-like receptors
11. Myeloid differentiation primary response 88

12. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha
13. Brain-derived neurotrophic factor

قدردانی و تشکر: این مطالعه حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه شهید چمران اهواز است که با استفاده از گرنت پژوهشی به شماره SCU.SS1402.266 انجام گرفته است. بدین وسیله از همکاری و پشتیبانی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز و گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده علوم ورزشی دانشگاه شهید چمران اهواز تشکر و قدردانی می‌شود.

عملکرد حرکتی نمونه‌های حیوانی مبتلا به این بیماری شد. با این وجود، نیاز به مطالعات جامع‌تر و گسترده‌تر برای روشن شدن ابعاد دیگر موضوع مورد بحث در این زمینه احساس می‌شود تا این مطالعات مدل حیوانی بتواند در آینده راهگشایی برای مطالعات انسانی باشد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچگونه تعارض منافی در خصوص این مقاله وجود ندارد.

منابع

1. Portaccio E, Magyari M, Havrdova EK, Ruet A, Brochet B, Scalfari A, Di Filippo M, Tur C, Montalban X, Amato MP. Multiple sclerosis: emerging epidemiological trends and redefining the clinical course. The Lancet Regional Health–Europe. 2024;1:44. <https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2024.100979>
2. Walton C, King R, Rechtman L, Kaye W, Leray E, Marrie RA, Robertson N, La Rocca N, Uitdehaag B, van Der Mei I, Wallin M. Rising prevalence of multiple sclerosis worldwide: Insights from the Atlas of MS. Multiple Sclerosis Journal. 2020;26(14):1816-21. <https://doi.org/10.1177/1352458520970841>
3. Sadeghi B, Estebsari F, Ebadi A, Rasouli M, Sadeghi E. The social support needs of family caregivers of patients with multiple sclerosis: a qualitative study. Archives of Rehabilitation. 2022;23(1):68-87. [In Persian]. <https://doi.org/10.32598/RJ.23.1.3330.1>
4. Jalali, A., & Pourhosein, R. adaptability to multiple sclerosis (MS) from psychological and social perspectives: a systematic review of literature. Rooyesh-e-Ravanshenasi. 2021;9(10):143-152. [In persian]. <https://doi.org/20.1001.1.2383353.1399.9.10.1.2>
5. Rommer PS, Eichstädt K, Ellenberger D, Flachenecker P, Friede T, Haas J, Kleinschnitz C, Pöhlau D, Rienhoff O, Stahmann A, Zettl UK. Symptomatology and symptomatic treatment in multiple sclerosis: Results from a nationwide MS registry. Multiple Sclerosis Journal. 2019;25(12):1641-52. <https://doi.org/10.1177/1352458518799580>
6. Artemiadis AK, Anagnostouli MC. Apoptosis of oligodendrocytes and post-translational modifications of myelin basic protein in multiple sclerosis: possible role for the early stages of multiple sclerosis. European Neurology. 2010;63(2):65-72. <https://doi.org/10.1159/000272940>
7. Halper J, Holland N. Multiple sclerosis: A self-care guide to wellness. Demos Medical Publishing; 2005 Jun 1.
8. Baltan S, Jawaidd SS, Chomyk AM, Kidd GJ, Chen J, Battapady HD, Chan R, Dutta R, Trapp BD. Neuronal hibernation following hippocampal demyelination. Acta Neuropathologica Communications. 2021;9(1):34. <https://doi.org/10.1186/s40478-021-01130-9>
9. Zhan J, Mann T, Joost S, Behrangi N, Frank M, Kipp M. The cuprizone model: dos and do nots. Cells. 2020;9(4):843. <https://doi.org/10.3390/cells9040843>
10. Guo LY, Lozinski B, Yong VW. Exercise in multiple sclerosis and its models: Focus on the central nervous system outcomes. Journal of Neuroscience Research. 2020;98(3):509-23. <https://doi.org/10.1002/jnr.24524>

11. Ye JN, Chen XS, Su L, Liu YL, Cai QY, Zhan XL, Xu Y, Zhao SF, Yao ZX. Progesterone alleviates neural behavioral deficits and demyelination with reduced degeneration of oligodendroglial cells in cuprizone-induced mice. *PLoS One*. 2013;8(1):e54590. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054590>
12. Rieckmann P, Centonze D, Elovaara I, Giovannoni G, Havrdová E, Kesselring J, Kobelt G, Langdon D, Morrow SA, Oreja-Guevara C, Schippling S. Unmet needs, burden of treatment, and patient engagement in multiple sclerosis: a combined perspective from the MS in the 21st century steering group. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. 2018;19:153-60. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2017.11.013>
13. Sandroff BM, Jones CD, Baird JF, Motl RW. Systematic review on exercise training as a neuroplasticity-inducing behavior in multiple sclerosis. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. 2020;34(7):575-88. <https://doi.org/10.1177/1545968320921836>
14. Aslam M, Ladilov Y. Emerging role of cAMP/AMPK signaling. *Cells*. 2022;11(2):308. <https://doi.org/10.3390/cells11020308>
15. Gaetani L, Salvadori N, Chipi E, Gentili L, Borrelli A, Parnetti L, Di Filippo M. Cognitive impairment in multiple sclerosis: lessons from cerebrospinal fluid biomarkers. *Neural Regeneration Research*. 2021;16(1):36-42. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.286949>
16. Ammar RA, Mohamed AF, Kamal MM, Safar MM, Abdelkader NF. Neuroprotective effect of liraglutide in an experimental mouse model of multiple sclerosis: role of AMPK/SIRT1 signaling and NLRP3 inflammasome. *Inflammopharmacology*. 2022;30(3):919-34. <https://doi.org/10.1007/s10787-022-00956-6>
17. Narine M, Azmi MA, Umali M, Volz A, Colognato H. The AMPK activator metformin improves recovery from demyelination by shifting oligodendrocyte bioenergetics and accelerating OPC differentiation. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2023;17:1254303. <https://doi.org/10.3389/fncel.2023.1254303>
18. Patel S, Khan H, Majumdar A. Crosstalk between Sirtuins and Nrf2: SIRT1 activators as emerging treatment for diabetic neuropathy. *Metabolic Brain Disease*. 2022;37(7):2181-95. <https://doi.org/10.1007/s11011-022-00956-z>
19. Paintlia AS, Paintlia MK, Mohan S, Singh AK, Singh I. AMP-activated protein kinase signaling protects oligodendrocytes that restore central nervous system functions in an experimental autoimmune encephalomyelitis model. *The American Journal of Pathology*. 2013;183(2):526-41. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.04.030>
20. Yang Y, Liu Y, Wang Y, Chao Y, Zhang J, Jia Y, Tie J, Hu D. Regulation of SIRT1 and its roles in inflammation. *Frontiers in Immunology*. 2022;13:831168. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.831168>
21. Bamps S, Wirtz J, Savory FR, Lake D, Hope IA. The *Caenorhabditis elegans* sirtuin gene, sir-2.1, is widely expressed and induced upon caloric restriction. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2009;130(11-12):762-70. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2009.10.001>
22. Fagerli E, Escobar I, Ferrier FJ, Jackson CW, Perez-Lao EJ, Perez-Pinzon MA. Sirtuins and cognition: implications for learning and memory in neurological disorders. *Frontiers in Physiology*. 2022;13:908689. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.908689>

23. Wu QJ, Zhang TN, Chen HH, Yu XF, Lv JL, Liu YY, Liu YS, Zheng G, Zhao JQ, Wei YF, Guo JY. The sirtuin family in health and disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022;7(1):402. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01257-8>
24. Nageeb RS, Fawzy A, Ateya MA, Talaat A. Sirtuin-1 level and gene polymorphisms in multiple sclerosis. *The Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*. 2024;60(1):43. <https://doi.org/10.1186/s41983-024-00819-7>
25. Atkinson KC, Osunde M, Tiwari-Woodruff SK. The complexities of investigating mitochondria dynamics in multiple sclerosis and mouse models of MS. *Frontiers in Neuroscience*. 2023;17:1144896. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1144896>
26. Warutkar V, Gulrandhe P, Morghade S, Kovela RK, Morghade Jr SV. Physiotherapy for multiple sclerosis patients from early to transition phase: A scoping review. *Cureus*. 2022;14(10). <https://doi.org/10.7759/cureus.30779>
27. Harrison AM, Safari R, Mercer T, Picariello F, van der Linden ML, White C, Moss-Morris R, Norton S. Which exercise and behavioural interventions show most promise for treating fatigue in multiple sclerosis? A network meta-analysis. *Multiple Sclerosis Journal*. 2021;27(11):1657-78. <https://doi.org/10.1177/1352458521996002>
28. Torres-Costoso A, Martinez-Vizcaino V, Reina-Gutiérrez S, Álvarez-Bueno C, Guzmán-Pavón MJ, Pozuelo-Carrascosa DP, et al. Effect of exercise on fatigue in multiple sclerosis: a network meta-analysis comparing different types of exercise. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. 2022;103(5):970-87. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2021.08.008>
29. Deforges S, Branchu J, Biondi O, Grondard C, Pariset C, Lécolle S, Lopes P, Vidal PP, Chanoine C, Charbonnier F. Motoneuron survival is promoted by specific exercise in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *The Journal of Physiology*. 2009;587(14):3561-72. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.169748>
30. Kim JY, Yi ES, Lee H, Kim JS, Jee YS, Kim SE, Kim CJ, Ko IG. Swimming exercise ameliorates symptoms of MOG-induced experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting inflammation and demyelination in rats. *International Neurourology Journal*. 2020;24(Suppl 1):S39. <https://doi.org/10.5213/inj.2040156.078>
31. Barclay W, Shinohara ML. Inflammasome activation in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *Brain Pathology*. 2017;27(2):213-9. <https://doi.org/10.1111/bpa.12477>
32. Nazari M, Kordi MR, Minasian V, Quchan AH. 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. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2022;25(8):1016. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2022.65117.14335>
33. Zimmermann J, Emrich M, Krauthausen M, Saxe S, Nitsch L, Heneka MT, Campbell IL, Müller M. IL-17A promotes granulocyte infiltration, myelin loss, microglia activation, and behavioral deficits during cuprizone-induced demyelination. *Molecular Neurobiology*. 2018;55(2):946-57. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0368-3>
34. Lubrich C, Giesler P, Kipp M. Motor behavioral deficits in the cuprizone model: validity of the rotarod test paradigm. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(19):11342. <https://doi.org/10.3390/ijms231911342>
35. Ghotbeddin Z, Basir Z, Jamshidian J, Delfi F. Modulation of behavioral responses and CA1 neuronal death by nitric oxide in the neonatal rat's hypoxia model. *Brain and Behavior*. 2020;10(11):e01841. <https://doi.org/10.1002/brb3.1841>

36. Ghotbeddin Z, Khazaeel K, Tabandeh MR, Aliheydari M, Yaghoubi H. Effects of omega-3 fatty acid supplementation during chronic maternal hypoxia on behavioral disorders in male rat offspring: The role of Trk family and oxidative stress. *Metabolic Brain Disease*. 2022;37(6):1959-67. <https://doi.org/10.1007/s11011-022-01012-6>
37. McQualter JL, Bernard CC. Multiple sclerosis: a battle between destruction and repair. *Journal of Neurochemistry*. 2007;100(2):295-306. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04232.x>
38. Omotoso GO, Gbadamosi IT, Afolabi TT, Abdulwahab AB, Akinlolu AA. Ameliorative effects of Moringa on cuprizone-induced memory decline in rat model of multiple sclerosis. *Anatomy & Cell Biology*. 2018;51(2):119-27. <https://doi.org/10.5115/acb.2018.51.2.119>
39. Mandolesi G, Bullitta S, Freseigna D, De Vito F, Rizzo FR, Musella A, Guadalupi L, Vanni V, Bassi MS, Buttari F, Viscomi MT. Voluntary running wheel attenuates motor deterioration and brain damage in cuprizone-induced demyelination. *Neurobiology of Disease*. 2019;129:102-17. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.05.010>
40. Tomas-Roig J, Torrente M, Cabré M, Vilella E, Colomina MT. Long lasting behavioural effects on cuprizone fed mice after neurotoxicant withdrawal. *Behavioural Brain Research*. 2019;363:38-44. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.01.036>
41. Han SR, Kang YH, Jeon H, Lee S, Park SJ, Song DY, Min SS, Yoo SM, Lee MS, Lee SH. Differential expression of miRNAs and behavioral change in the cuprizone-induced demyelination mouse model. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(2):646. <https://doi.org/10.3390/ijms21020646>
42. 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. *International Journal of Sports Medicine*. 2018;39(08):604-12. <https://doi.org/10.1055/a-0608-4635>
43. Fietsam AC, Darling WG, Sosnoff JJ, Workman CD, Kamholz J, Rudroff T. Cerebellar contributions to motor impairments in people with multiple sclerosis. *The Cerebellum*. 2022;21(6):1052-60. <https://doi.org/10.1007/s12311-021-01336-6>
44. Parmar K, Fonov VS, Naegelin Y, Amann M, Wuerfel J, Collins DL, Gaetano L, Magon S, Sprenger T, Kappos L, Granziera C. Regional cerebellar volume loss predicts future disability in multiple sclerosis patients. *The Cerebellum*. 2022;21(4):632-46. <https://doi.org/10.1007/s12311-021-01312-0>
45. D'Ambrosio A, Pagani E, Riccitelli GC, Colombo B, Rodegher M, Falini A, Comi G, Filippi M, Rocca MA. Cerebellar contribution to motor and cognitive performance in multiple sclerosis: an MRI sub-regional volumetric analysis. *Multiple Sclerosis Journal*. 2017;23(9):1194-203. <https://doi.org/10.1177/1352458516674567>
46. Wilkins A. Cerebellar dysfunction in multiple sclerosis. *Frontiers in Neurology*. 2017;8:312. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00312>
47. Liu Y, Fan H, Li X, Liu J, Qu X, Wu X, Liu M, Liu Z, Yao R. Trpv4 regulates Nlrp3 inflammasome via SIRT1/PGC-1 α pathway in a cuprizone-induced mouse model of demyelination. *Experimental Neurology*. 2021;337:113593. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2020.113593>
48. Zhang YJ, Li J, Huang W, Mo GY, Wang LH, Zhuo Y, Zhou ZY. Effect of electroacupuncture combined with treadmill

- exercise on body weight and expression of PGC-1 α , Irisin and AMPK in skeletal muscle of diet-induced obesity rats. Zhen ci yan jiu= Acupuncture Research. 2019;44(7):476-80. <https://doi.org/10.13702/j.1000-0607.180460>
49. Morissette MP, Susser SE, Stammers AN, Moffatt TL, Wigle JT, Wigle TJ, et al. Exercise-induced increases in the expression and activity of cardiac sarcoplasmic reticulum calcium ATPase 2 is attenuated in AMPK α 2 kinase-dead mice. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. 2019;97(8):786-95. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2018-0737>
50. Wadley GD, Lee-Young RS, Canny BJ, Wasuntarawat C, Chen ZP, Hargreaves M, Kemp BE, McConell GK. Effect of exercise intensity and hypoxia on skeletal muscle AMPK signaling and substrate metabolism in humans. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2006;290(4):E694-702. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00464.2005>
51. Manjula R, Anuja K, Alcain FJ. SIRT1 and SIRT2 activity control in neurodegenerative diseases. Frontiers in Pharmacology. 2021;11:585821. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.585821>
52. Ruderman NB, Julia Xu X, Nelson L, Cacicedo JM, Saha AK, Lan F, Ido Y. AMPK and SIRT1: a long-standing partnership?. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2010;298(4):E751-60. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00745.2009>
53. Wang J, Zhao C, Kong P, Bian G, Sun Z, Sun Y, Guo L, Li B. Methylene blue alleviates experimental autoimmune encephalomyelitis by modulating AMPK/SIRT1 signaling pathway and Th17/Treg immune response. Journal of Neuroimmunology. 2016;299:45-52. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2016.08.014>
54. Govindarajan V, de Rivero Vaccari JP, Keane RW. Role of inflammasomes in multiple sclerosis and their potential as therapeutic targets. Journal of Neuroinflammation. 2020;17(1):260. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01944-9>
55. Farahmand F, Nourshahi M, Soleimani M, Rajabi H, Power KE. The effect of 6 weeks of high intensity interval training on myelin biomarkers and demyelination in experimental autoimmune encephalomyelitis model. Journal of Neuroimmunology. 2020;346:577306. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2020.577306>
56. Marosi K, Bori Z, Hart N, Sárga L, Koltai E, Radák Z, Nyakas C. Long-term exercise treatment reduces oxidative stress in the hippocampus of aging rats. Neuroscience. 2012;226:21-8. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.09.001>
57. Salamon A, Torok R, Sumegi E, Boros F, Pesei ZG, Molnar MF, et al. The effect of physical stimuli on the expression level of key elements in mitochondrial biogenesis. Neuroscience Letters. 2019;698:13-8. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.01.003>
58. Shen J, Li Y, Qu C, Xu L, Sun H, Zhang J. The enriched environment ameliorates chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behaviors and cognitive impairment by activating the SIRT1/miR-134 signaling pathway in hippocampus. Journal of Affective Disorders. 2019;248:81-90. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2019.01.031>
59. Bernardes D, Oliveira-Lima OC, da Silva TV, Faraco CC, Leite HR, Juliano MA, dos Santos DM, Bethea JR, Brambilla R, Orian JM, Arantes RM. Differential brain and spinal cord cytokine and BDNF levels in experimental autoimmune encephalomyelitis are modulated by prior and regular exercise. Journal of neuroimmunology. 2013;264(1-2):24-34. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2013.08.014>

