Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

The effect of eight weeks of aerobic training and a medium-chain triglyceride (MCT)-enriched diet on hippocampal neurotrophic factors levels in male rats kindled with pentylenetetrazole

Noora Kareem Hamdan[1], Nabi Shamsaei[2*], Maryam Naqibzadeh[3], Soheila Erfani[4], Hussein A. Ghanimi[5]

1. MS.c Student in Exercise Physiology, Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Ilam University, Ilam, Iran.
2. Associate Professor at Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Ilam University, Ilam, Iran.
3. Assistant Professor at Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Ilam University, Ilam, Iran.
4. Assistant Professor at Department of Biology, Faculty of Sciences, Ilam University, Ilam, Iran.
5. Assistant Professor at College of Nursing, University of Al-Ameed, Karbala, Iraq.

Issue in Progress

Extended Abstract

Background and Aim: Epilepsy is one of the most common neurological disorders, characterized by spontaneous, abnormal activity or excitation in a specific region of the brain. These abnormal impulses can lead to increased excitability and disrupted coordination, ultimately resulting in seizures. Epilepsy—particularly in models involving severe seizures or temporal lobe epilepsy—is associated with significant alterations in hippocampal neurotrophins. Given the limited therapeutic options for patients with epilepsy, especially those with drug-resistant forms, non-pharmacological interventions (such as physical exercise and dietary modifications)—either alone or in combination—may contribute to the development of treatment protocols for these patients. Therefore, the present study investigated the effects of an aerobic exercise regimen and a diet rich in medium-chain triglycerides (MCTs) on the levels of BDNF, NGF, and FGF-2 in the hippocampus of male rats subjected to pentylenetetrazol (PTZ) kindling.

Materials and Methods: Thirty-five male Wistar rats (weighing 200–250 g) were randomly assigned to five groups (n = 7 per group): control, epilepsy, epilepsy + aerobic exercise, epilepsy + MCT diet, and epilepsy + aerobic exercise + MCT diet. To induce epilepsy via chemical kindling, pentylenetetrazol (Sigma-Aldrich) was administered subcutaneously at a dose of 35 mg/kg every 48 hours for a period of two weeks. Following each injection, the animals were placed in separate glass cages for 30 minutes, and their convulsive behaviors were recorded based on a modified Racine scale. Animals that exhibited stage 4 or 5 convulsive behaviors during at least three consecutive injections were considered fully kindled and were included in the study. Seventy-two hours after the final pentylenetetrazol injection—and once the establishment of full kindling in the rats was confirmed—the exercise protocol commenced. Aerobic exercise was conducted for eight weeks, five days per week, on a treadmill (with a progressive intensity increasing from 12 m/min for 15 minutes to 16 m/min for 50 minutes; at a zero-degree incline). Concurrently with the endurance exercise intervention, an MCT-enriched diet was administered for 8 consecutive weeks. To achieve the desired macronutrient composition, standard laboratory rodent chow was finely ground and mixed with pharmaceutical-grade MCT oil. This mixture was homogenized to ensure the uniform distribution of the MCT oil, then either re-pelleted or dried at room temperature prior to administration. Seventy-two hours after the final exercise session, the animals were anesthetized, and their hippocampi were harvested. The levels of BDNF, NGF, and FGF-2 in the hippocampal tissue were measured using the ELISA method.

Findings: Analysis of variance (ANOVA) revealed a significant difference among the study groups regarding BDNF levels ($F=6.91$, $p=0.006$, $\eta^2= 0.73$). The findings indicated that the induction of epilepsy resulted in a slight increase in BDNF levels (18.44±1.33) compared to the control group (13.98±2.14), though this was not statistically significant ($p=0.522$). In the aerobic exercise group, BDNF levels (22.76±2.92) showed a relative increase compared to the epilepsy group, but this was not statistically significant ($p=0.55$). Similarly, while BDNF levels in the MCT group (18.96±2.87) showed a relative increase compared to the epilepsy group, this increase was not statistically significant ($p=0.99$). The combination of an aerobic exercise regimen and an MCT-enriched diet led to a significant increase in hippocampal BDNF levels in male rats with pentylenetetrazol-induced epilepsy (27.7±5.86; $p=0.046$). Regarding NGF levels, no significant differences were found

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

among the study groups (F=2.77, p=0.08, η^2=0.52). The difference in NGF levels between the control group (226.03±27.48) and the epilepsy group (274.57±54.15) was not statistically significant (p=0.84). Although NGF levels in the aerobic exercise group (329.17±69.97) showed a relative increase compared to the epilepsy group, this difference was not statistically significant (p=0.77). NGF levels in the MCT group (316.31±16.56) showed a relative, yet non-significant, increase compared to the epilepsy group (p = 0.89). Similarly, while NGF levels in the combined intervention group (373.11±72.06) showed a relative increase compared to the epilepsy group, this difference was not statistically significant (p=0.30). Therefore, a regimen of aerobic exercise combined with an MCT-enriched diet did not result in a significant change in hippocampal NGF levels in male rats with pentylenetetrazol-induced epilepsy. Analysis of variance (ANOVA) revealed a significant difference among the study groups regarding FGF2 levels (F=9.46, p=0.002, η^2=0.79). The results indicated that the induction of epilepsy was associated with a slight increase in FGF2 levels (78.87±23.98) compared to the control group (44.81±14.66), though this was not statistically significant (p=0.18). Although FGF2 levels in the aerobic exercise group (105.9±13.13) showed a relative increase compared to the epilepsy group, the difference was not statistically significant (p=0.35). Likewise, FGF2 levels in the MCT group (92.75±11.84) exhibited a relative, but non-significant, increase compared to the epilepsy group (p=0.85). The combination of an aerobic exercise regimen and an MCT-enriched diet resulted in a significant increase in hippocampal FGF2 levels in male rats with pentylenetetrazol (PTZ)-induced epilepsy (125.57±18.97; p=0.04) (Figure 1).

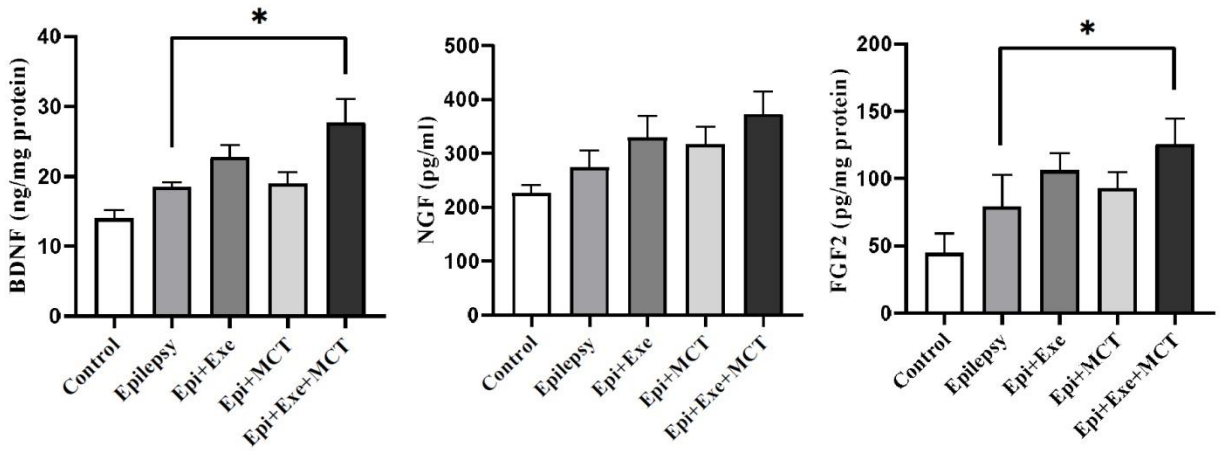


Figure 1. Comparison of BDNF, NGF, and FGF-2 levels in the hippocampus across different groups. * Statistically significant difference at p<0.05.

Conclusion: The findings of this study demonstrate a "complementary and synergistic effect" of a combined intervention—consisting of aerobic exercise and an MCT-enriched diet—on increasing the levels of neurotrophic factors in the hippocampus of male rats with pentylenetetrazol-induced epilepsy. Specifically, aerobic exercise (by enhancing mitochondrial bioenergetic efficiency) and an MCT-enriched diet (by providing a carbon substrate independent of glucose transporters—GLUT1/GLUT3—and through the epigenetic inhibition of HDACs) work in concert to counteract epilepsy-related deficits and improve hippocampal levels of BDNF and FGF-2. Given that histological neurogenesis was not directly assessed and EEG recordings were not performed, these results indicate only the potential for neuroprotection by this combined intervention at the molecular level. Before any clinical recommendations can be made regarding the use of these strategies in the management of human epilepsy, further research is required, including the assessment of direct markers of neurogenesis, electrophysiological recordings, and rigorous clinical trials.

Keywords: Aerobic exercise, MCT-enriched diet, Neurotrophic factors, Pentylenetetrazole, Epilepsy.

Ethical Considerations: This research was conducted following ethical approval from the Research Ethics Committee of Ilam University (ID: IR.ILAM.REC.1404.018).

In Press
Issue

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

Compliance with ethical guideline: All experiments were performed in accordance with the Research Ethics Committee's regulations for animal studies.

Funding: This study did not receive any financial support from internal or external sources.

Conflicts of interest: There are no conflicts of interest regarding this article.

Issue in Progress

مطالعات کاربردی
علوم زیستی در ورزش

اثر هشت هفته تمرین هوازی و رژیم غذایی غنی‌شده با تری‌گلیسیرید با زنجیره متوسط (MCT) بر سطح فاکتورهای نوروتروفیک هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر کیندل‌شده با پنتیلن‌تترازول

نوره کریم حمدان[۱]، نبی شمسایی[۲*]، مریم نقیب‌زاده[۳]، سهیلا عرفانی[۴]، حسین علاوی حسین الغانمی[۵]

۱. کارشناسی ارشد، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۲. دانشیار، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۳. استادیار، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۴. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه علوم، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۵. استادیار، دانشکده پرستاری، دانشگاه العمید، کربلا، عراق.

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

چکیده

زمینه و هدف: صرع یکی از شایع‌ترین اختلالات عصبی است و حدود یک‌سوم بیماران به درمان دارویی پاسخ کامل نمی‌دهند؛ از این رو شناسایی راهکارهای مکمل غیردارویی اهمیت دارد. هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر یک دوره تمرین هوازی و رژیم غذایی غنی از تری‌گلیسریدهای با زنجیره متوسط (MCT) بر سطوح فاکتورهای نوروتروفیک در هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر کیندل‌شده با پنتیلن‌تترازول (PTZ) بود. **روش تحقیق:** ۳۵ سر موش صحرایی نر ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم به پنج گروه هفت تایی تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه صرع، گروه صرع + تمرین هوازی، گروه صرع + MCT، گروه صرع+ تمرین هوازی+ MCT. مدل صرع کیندلینگ با تزریق زیرجلدی PTZ (با دوز ۳۵mg/kg هر ۴۸ ساعت به مدت دو هفته) القا شد و رفتار تشنجی بر اساس مقیاس راسین ثبت و حیوانات کیندل‌شده کامل وارد مطالعه شدند. تمرین هوازی به مدت هشت هفته، پنج روز در هفته روی نوارگردان (پیشرونده از ۱۲ متر بر دقیقه و ۱۵ دقیقه تا ۱۶ متر بر دقیقه و ۵۰ دقیقه، شیب صفر) انجام شد. گروه‌های رژیم MCT نیز روزانه رژیم غذایی خاص خود را دریافت کردند. سطوح BDNF، NGF و FGF-2 بافت هیپوکامپ با روش الایزا سنجیده شد.**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که مداخله توأم تمرین هوازی و رژیم MCT موجب افزایش معنی‌دار سطح BDNF (p=0.046) و FGF-2 (p=0.046) هیپوکامپ در مقایسه با گروه صرع درمان‌نشده شد؛ اثر هیچ‌یک از دو مداخله به‌تنهایی در مقایسه با گروه صرع معنی‌دار نبود، همچنین سطح NGF بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت. **نتیجه‌گیری:** یافته‌ها نشان می‌دهد ترکیب تمرین هوازی منظم و رژیم غنی از MCT می‌تواند پتانسیل افزایش سطوح فاکتورهای نوروتروفیک هیپوکامپ در سطح مولکولی را در حیوانات کیندل‌شده داشته باشد؛ با توجه به عدم سنجش مستقیم نشانگرهای بافتی نوروژنز و نبود ثبت EEG، تعمیم این نتایج به مدیریت بالینی صرع نیازمند پژوهش‌های تکمیلی است.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، رژیم غذایی غنی شده با MCT، فاکتورهای نوروتروفیک، پنتیلن‌تترازول، صرع.

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

The effect of eight weeks of aerobic training and a medium-chain triglyceride (MCT)-enriched diet on hippocampal neurotrophic factors levels in male rats kindled with pentylenetetrazole

Noora Kareem Hamdan[1], Nabi Shamsaei[2*], Maryam Naqibzadeh[3], Soheila Erfani[4], Hussein A. Ghanimi[5]

1. MS.c Student in Exercise Physiology, Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Ilam University, Ilam, Iran.
2. Associate Professor at Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Ilam University, Ilam, Iran.
3. Assistant Professor at Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Ilam University, Ilam, Iran.
4. Assistant Professor at Department of Biology, Faculty of Sciences, Ilam University, Ilam, Iran.
5. Assistant Professor at College of Nursing, University of Al-Ameed, Karbala, Iraq.

Abstract

Background and Objective: Epilepsy is one of the most common neurological disorders, and approximately one-third of patients do not respond fully to pharmacological treatment; therefore, identifying complementary non-pharmacological strategies is important. The aim of this study was to investigate the effect of an aerobic exercise program and a diet rich in medium-chain triglycerides (MCT) on neurotrophic factor levels in the hippocampus of male rats kindled with pentylenetetrazole (PTZ). **Materials and Methods**: Thirty-five male Wistar rats (weighing 200–250 g) were divided into five groups of seven: control, epilepsy, epilepsy + aerobic exercise, epilepsy + MCT, and epilepsy + aerobic exercise + MCT. The epilepsy model was induced via subcutaneous PTZ injection (35 mg/kg every 48 hours for 2 weeks); seizure behavior was recorded using the Racine scale, and fully kindled animals were included in the study. Aerobic exercise was performed on a treadmill for eight weeks, five days a week (progressive intensity from 12 m/min for 15 minutes to 16 m/min for 50 minutes; zero incline). Groups assigned to the MCT diet received their specific diet daily. Hippocampal tissue levels of BDNF, NGF, and FGF-2 were measured using the ELISA method. **Findings**: The results showed that the combined intervention of aerobic exercise and an MCT diet led to a significant increase in hippocampal BDNF ($p=0.046$) and FGF-2 ($p=0.046$) levels compared to the untreated epilepsy group; the effect of neither intervention alone was significant compared to the epilepsy group, and there was no significant difference in NGF levels among the groups. **Conclusion**: The findings indicate that combining regular aerobic exercise with an MCT-rich diet has the potential to increase hippocampal neurotrophic factor levels at the molecular level in kindled animals; however, given the lack of direct measurement of tissue markers for neurogenesis and the absence of EEG recordings, further research is required to generalize these results to the clinical management of epilepsy.

Keywords: Aerobic exercise, MCT-enriched diet, Neurotrophic factors, Pentylenetetrazole, Epilepsy.

* **آدرس نویسنده مسئول**: ایلام، دانشگاه ایلام، دانشکده علوم انسانی، گروه علوم ورزشی.

پست الکترونیک: n.shamsaei@ilam.ac.ir

مقدمه

صرع یکی از اختلالات مهم سیستم عصبی مرکزی است که در آن یک ناحیه از مغز به طور خود به خودی دچار فعالیت یا برانگیختگی غیرطبیعی می‌شود. این ایمپالس‌های غیرطبیعی می‌تولند منجر به افزایش تحریک‌پذیری و اختلال هماهنگ و نهایتاً منجر به ایجاد تشنج گردد (۱). بیماران مبتلا به صرع ممکن است به مشکلات دیگری مانند بیماری قلبی، زوال شناختی یا زوال عقل، مقاومت به انسولین، چاقی، تصلب شرایین و مشکلات درونی مانند اضطراب و افسردگی مبتلا شوند (۲). عدم درمان صحیح و کنترل این عارضه عواقب عصبی، روانشناختی، شناختی و اجتماعی را به دنبال دارد (۳).

صرع به عنوان یک اختلال عصبی مزمن، تأثیر عمیقی بر فرآیند نوروژنز در قسمت‌های مختلف مغز به ویژه هیپوکامپ دارد. مطالعات جدید نشان می‌دهد که در مراحل اولیه ابتلا به صرع، یک افزایش در تولید نورون‌های جدید در هیپوکامپ مشاهده می‌شود. این افزایش که به عنوان «افزایش جبرانی» شناخته می‌شود، در پاسخ به آسیب‌های اولیه نورونی و فعالیت‌های تشنجی رخ می‌دهد (۴). صرع، به‌ویژه در مدل‌های تشنج شدید و صرع لوب تمپورال، با تغییرات معنی‌دار در نوروتروفین‌های هیپوکامپ همراه است؛ شواهد نشان می‌دهد که پس از تشنج، هم بیان و ترشح فاکتور نوروتروفیک مشتق‌شده از مغز[1] (BDNF) و فاکتور رشد عصب[2] (NGF) و هم افزایش گیرنده p75NTR در هیپوکامپ رخ می‌دهد، به‌طوری‌که تعادل پیام‌رسانی از مسیرهای بقا و پلاستیسیته به سمت سیگنال‌های مرگ سلولی جابه‌جا می‌شود. در این میان، نوروتروفین‌های بالغ عمدتاً از طریق گیرنده‌های تروپومیوزین کیناز[3] (Trk) اثرات نوروحافظتی و سیناپتوپلاستیک دارند (BDNF عمدتاً از طریق TrkB و NGFاز طریق TrkA)، اما پیش‌سازهای آن‌ها مانند proBDNF و proNGF می‌توانند از طریق گیرنده نوروتروفین P75[4] (p75NTR) مسیرهای آپوپتوز را فعال کنند؛ بنابراین در صرع، افزایش سطح یک نوروتروفین لزوماً صرفاً به معنای حفاظت عصبی نیست و نوع مولکول، گیرنده درگیر، و شدت/مدت تشنج نیز تعیین‌کننده هستند (۵). علاوه بر این، در مدل تشنج ناشی از پیلوکارپین، افزایش BDNF در هیپوکامپ با کاهش مرگ نورونی هم‌زمان گزارش شده است که نقش دوگانه و وابسته به زمینه این فاکتور را تأیید می‌کند (۶). داروهای ضد صرع به عنوان اصلی‌ترین روش درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این داروهای در برخی از بیماران دارای مزایایی هستند، اما عوارض جانبی بسیاری از جمله پرخاشگری، پریشانی کج خلقی را به همراه دارند (۷). علاوه بر این، حدود ۳۰٪ از بیماران به شکل مقاوم این بیماری مبتلا هستند که به درمان دارویی پاسخ مطلوب نمی‌دهد (۸). این شرایط، ضرورت به کارگیری روش‌های درمانی مکمل و جایگزین را بیش از پیش نمایان می‌سازد.

یکی از گزینه‌های درمانی غیردارویی برای بیماران صرعی کنترل رژیم غذایی باشد. مشاهدات نشان می‌دهد زمانی که برای کنترل صرع درمان دارویی جوابگو نباشد، رژیم غذایی می‌تواند در کنترل تشنج‌ها موفق عمل کند. رژیم کتوژنیک[5] (KD) مبتنی بر تری‌گلیسرید با زنجیره متوسط[6] (MCT)، یک الگوی غذایی بسیار کم کربوهیدرات، با چربی بالا و پروتئین متوسط است که هدف آن ورود بدن به حالت متابولیکی به نام «کتوز» است. در حالت کتوز، بدن به جای استفاده از گلوکز به عنوان

1. Brain-derived neurotrophic factor
2. Nerve growth factor
3. Tropomyosin receptor kinas
4. p75 neurotrophin receptor (p75NTR)
5. Ketogenic diet
6. Medium-Chain Triglyceride

نسخه پیش از انتشار ویراستاری نشده

منبع اصلی انرژی، به سوزاندن چربی‌ها و تولید اجسام کتونی می‌پردازد. این کتون‌ها سپس به عنوان سوخت برای مغز و سایر بافت‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. این تغییر در سوخت‌رسانی بدن، با مزایایی چون کاهش وزن، تثبیت سطح قند خون، افزایش سطح انرژی پایدار، و حتی بهبود علائم برخی بیماری‌های نورولوژیک (مانند صرع) مرتبط دانسته شده است. در واقع، بدن از یک «دستگاه سوزاننده کربوهیدرات» به یک «دستگاه سوزاننده چربی» تبدیل می‌شود. این تغییرات متابولیک انجام شده توسط رژیم غذایی کتوژنیک بر مکانیسم‌های ضد تشنج، تأثیر می‌گذارد (۹، ۱۰).

مکانیسم اثر ضدتشنج رژیم کتوژنیک هنوز کاملاً آشکار نشده است. شواهد جدید نشان می‌دهند که این اثرات چندعاملی بوده و تنها به یک مسیر محدود نمی‌شود. اولاً، کتون‌بادی‌ها به ویژه بتا-هیدروکسی‌بوتیرات[1]، به طور مستقیم بر پایداری غشای نورون‌ها تأثیر می‌گذارند. آنها با تعدیل کانال‌های یونی، از جمله فعال کردن کانال‌های پتاسیم و مهار کانال‌های سدیم، باعث افزایش آستانه تحریک‌پذیری نورون‌ها و کاهش احتمال انتشار امواج تشنجی می‌شوند. ثانیاً، این رژیم منجر به تغییرات عمیقی در انتقال‌دهنده‌های عصبی و متابولیسم انرژی مغز می‌گردد. کتون‌بادی‌ها باعث افزایش تولید گاما-آمینوبوتیریک اسید[2] (GABA)، که یک انتقال‌دهنده عصبی مهاری مهم است، می‌شوند و در عین حال سطح گلوتامات را کاهش می‌دهند. این تغییر تعادل به نفع مهار عصبی، یکی از کلیدی‌ترین عوامل ضد تشنجی رژیم کتوژنیک محسوب می‌شود. علاوه بر این، مغز در حالت کتوز، متابولیسم انرژی کارآمدتری دارد. کتون‌ها به عنوان یک «سوخت تمیزتر»[3] با بازده تولید ATP بالاتر نسبت به گلوکز عمل کرده و استرس اکسیداتیو میتوکندریایی را کاهش می‌دهند. در نهایت، اثرات ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی این رژیم به طور فزاینده‌ای مورد تأکید قرار گرفته است. رژیم کتوژنیک با مهار مسیرهای التهابی کلیدی مانند فاکتور هسته‌ای کاپا بی[4] (NF-κB) و کاهش تولید سیتوکاین‌های پیش‌التهابی، التهاب عصبی را مهار می‌کند. همچنین سطح آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زا مانند گلوتاتیون را افزایش داده و از نورون‌ها در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد محافظت می‌نماید (۱۱).

انجام فعالیت بدنی در افراد مبتلا به صرع موضوعی مورد بحث برای متخصصان بهداشتی است. اگر چه موارد نادری از تحقیقات گزارش کرده‌اند که ورزش می‌تواند موجب القاء تشنج شود، اما مطالعات نشان دادند که فعالیت بدنی با فراهم کردن مزایای فیزیولوژیکی و روانی می‌تواند موجب بهبود کیفیت زندگی در بیماران صرعی شود (۱۲). مطالعات حیوانی همچنین نشان داده‌اند که ورزش ممکن است آسیب عصبی مرتبط با صرع را کاهش داده و روند صرع‌زایی را تغییر دهد. در مدل‌های کیندلینگ آمیگدال[5]، یک برنامه ورزشی بدنی مزمن، پیشرفت کیندلینگ را به ویژه در موش‌های پینئالکتومی شده[6] به تأخیر انداخت، که نشان‌دهنده اثر محافظتی در برابر ایجاد تشنج‌های صرعی است (۱۳). شواهد جدیدتر از یک مدل صرع اکتسابی نشان داد که دویدن ارادی روی چرخ، بار تشنج و شدت صرع پایدار را کاهش می‌دهد، در حالی که سلول‌های خوشه‌ای هیلر[7] را حفظ می‌کند، نوروژنز غیرطبیعی هیپوکامپ را عادی می‌کند و اختلال عملکرد سد خونی-مغزی را کاهش می‌دهد (۱۴). به طور مشابه، ورزش تردمیل باعث کاهش از دست دادن نورون‌های GABAergic و فعال‌سازی پاتولوژیک نورونی در موش‌های

1. Beta-hydroxybutyrate
2. Gamma-Aminobutyric Acid
3. Cleaner fuel
4. Nuclear factor kappa B
5. Amygdala
6. Pinealectomized rats
7. Hilar mossy cells

صرعی ناشی از پیلوکارپین می‌شود (۱۵). در مجموع، این یافته‌ها از اثرات ضد تشنجی و محافظت عصبی بالقوه ورزش در صرع تجربی پشتیبانی می‌کنند.

با توجه به محدود گزینه‌های درمانی برای بیماران مبتلا به صرع، به ویژه آنهایی که به دارو مقاوم هستند، مداخلات غیردارویی (مانند فعالیت ورزشی و رژیم غذایی) و ترکیب آنها می‌تواند به توسعه پروتکل‌های درمانی بیماران صرعی کمک کند. از این رو، در پژوهش حاضر اثر یک دوره تمرین هوازی و رژیم غذایی غنی از تری‌گلیسریدهای با زنجیره متوسط (MCT) بر سطوح BDNF، NGF و فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲[1] (FGF-2) هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر کیندل‌شده با پنتیلن‌تترازول مورد بررسی قرار گرفته است.

روش تحقیق

نمونه آماری: در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم، سن ۸-۶ هفته) تهیه و با توجه به مطالعات قبلی به‌طور تصادفی ساده به پنج گروه هفت تایی تقسیم شدند: گروه کنترل: بدون القای صرع + رژیم استاندارد، گروه صرع: القای صرع + رژیم استاندارد، گروه صرع + تمرین هوازی، گروه صرع + MCT: القای صرع + رژیم غذایی MCT و گروه صرع + تمرین هوازی+ MCT: القای صرع + تمرین هوازی + رژیم غذایی MCT. حیوانات پس از گروه‌بندی، در داخل قفس‌های استاندارد و در شرایط محیطی یکسان (دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۵-۴۵ درصد) با چرخه ۱۲ ساعت تاریکی/ روشنایی و دسترسی آزادانه به آب و غذای مخصوص موش صحرایی به طور مجزا نگهداری شدند. وزن بدن به‌صورت هفتگی و میزان غذای مصرفی هر قفس به‌صورت روزانه ثبت گردید؛ در پایان مطالعه تفاوت معنی‌داری در وزن نهایی بدن بین گروه‌ها مشاهده نشد. در این مطالعه تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات ازمایشگاهی براساس معاهده هلسینکی و تحت نظر کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی با کد مصوب IR.ILAM.REC.1404.018 انجام شد.

القاء مدل کیندلینگ ناشی از پنتیلن‌تترازول: به منظور القای مدل صرع کیندلینگ شیمیایی، پنتیلن‌تترازول (Sigma-Aldrich) به صورت زیرجلدی با دوز ۳۵ mg/kg هر ۴۸ ساعت یک‌بار به مدت دو هفته تجویز شد (۱۶). پس از هر تزریق، حیوانات به مدت ۳۰ دقیقه در قفس‌های شیشه‌ای مجزا قرار گرفته و رفتارهای تشنجی آن‌ها بر اساس مقیاس اصلاح‌شده راسین (Racine's scale) ثبت گردید (۱۷)، (جدول ۱).

جدول ۱. مقیاس اصلاح‌شده راسین

توصیف رفتار تشنجی	درجه
بدون پاسخ حرکتی	۰
حرکات تشنجی صورت و پرش گوش و پلک	۱
میوکلونوس و پرش‌های عضلانی اندام فوقانی همراه با تکان دادن سر	۲
کلونوس اندام قدامی با وضعیت لوردوز ستون فقرات	۳
کلونوس شدید همراه با افتادن به پهلو و بلند شدن روی دو پا	۴
تشنج تونیک-کلونیک عمومی همراه با از دست دادن تعادل پاسچرال	۵

1. Fibroblast growth factor-2

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

حیواناتی که حداقل در سه تزریق متوالی رفتارهای تشنجی درجه چهار یا پنج را نشان دادند، به عنوان رت‌های کیندل‌شده کامل در نظر گرفته شده و وارد مطالعه شدند. در طول مطالعه، حیوانات به‌طور روزانه برای مشاهده هرگونه نشانه فعالیت تشنجی خودبه‌خودی پایش شدند تا از پایداری مدل اطمینان حاصل شود. همچنین در طول این دوره، هیچ مورد مرگ‌ومیری مشاهده نگردید و تمام حیوانات پروتکل کیندلینگ را با موفقیت سپری کردند.

پروتکل فعالیت ورزشی: پس از آخرین تزریق پنتیلن‌تترازول و تأیید ایجاد کیندلینگ کامل در رت‌ها، یک دوره استراحت ۷۲ ساعته به منظور دفع کامل دارو، بازیابی فیزیولوژیک حیوانات از فاز پساتشنجی و تثبیت مدل اعمال شد و سپس پروتکل تمرینی آغاز گردید. پروتکل تمرینی مورد استفاده در این مطالعه به صورت تمرین تداومی با شدت متوسط طراحی شد که بر روی نوارگردان انجام گرفت. این شدت بر اساس پروتکل‌های تثبیت‌شده قبلی برای تمرینات استقامتی در رت‌ها انتخاب گردید. رت‌ها برای عادت کردن به تمرینات و دویدن روی تردمیل، ابتدا تمرینات آشناسازی را با راه رفتن سریع روی تردمیل با سرعت ۷-۵ متر در دقیقه، ۱۵-۱۰ دقیقه در روز، دو روز متوالی انجام دادند. پس از دو روز استراحت، رت‌ها به اجرای تمرینات اصلی پرداختند. تمرینات اصلی به مدت ۸ هفته ۵ روز در هفته بر روی نوارگردان صورت گرفت. تمرین در هفته اول با سرعت ۱۲ متر در دقیقه برای ۱۵ دقیقه با شیب صفر درجه، در هفته دوم با سرعت ۱۲ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه با شیب صفر درجه، در هفته سوم با سرعت ۱۲ متر در دقیقه برای ۲۵ دقیقه با شیب صفر درجه، در هفته چهارم با سرعت ۱۴ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه با شیب صفر درجه، در هفته پنجم با سرعت ۱۴ متر در دقیقه برای ۳۵ دقیقه با شیب صفر درجه، در هفته ششم با سرعت ۱۴ متر در دقیقه برای ۴۰ دقیقه با شیب صفر درجه، در هفته هفتم با سرعت ۱۶ متر در دقیقه برای ۴۵ دقیقه با شیب صفر درجه، در هفته هشتم با سرعت ۱۶ متر در دقیقه برای ۵۰ دقیقه با شیب صفر درجه اجرا شد (جدول ۲)، (۱۸).

جدول ۲. برنامه تمرین ورزشی

	سرعت (متر بر دقیقه)	مدت (دقیقه)	شیب (درجه)
هفته اول	۱۲	۱۵	۰
هفته دوم	۱۲	۲۰	۰
هفته سوم	۱۲	۲۵	۰
هفته چهارم	۱۴	۳۰	۰
هفته پنجم	۱۴	۳۵	۰
هفته ششم	۱۴	۴۰	۰
هفته هفتم	۱۶	۴۵	۰
هفته هشتم	۱۶	۵۰	۰

پروتکل رژیم غذایی غنی‌شده با MCT : رژیم غذایی غنی‌شده با MCT به مدت ۸ هفته متوالی و هم‌زمان با مداخله تمرین استقامتی تجویز شد. رژیم کتوژنیک مبتنی بر MCT به‌گونه‌ای فرموله شد که ۷۵-۷۰ درصد انرژی کل از چربی، ۲۵-۲۰ درصد از پروتئین و ۱۰-۵ درصد از کربوهیدرات تأمین شود. برای دستیابی به ترکیب مطلوب درشت‌مغذی‌ها، غذای استاندارد آزمایشگاهی جوندگان به‌خوبی آسیاب و با روغن MCT با گرید دارویی (حاوی حدود ۶۰ درصد اسید کاپریلیک C8 و ۴۰ درصد

اسید کاپریک C10) مخلوط شد. این مخلوط همگن‌سازی شد تا از توزیع یکنواخت روغن MCT اطمینان حاصل شود و سپس پیش از تجویز، مجدداً به شکل پلت (حبه) درآمده یا در دمای اتاق خشک شد. برای به حداقل رساندن اکسیداسیون لیپیدها، رژیم‌های تهیه‌شده در ظروف دربسته و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند و در طول دوره مداخله، هر ۴۸ ساعت یک‌بار به‌صورت تازه تهیه می‌شدند. فرمولاسیون رژیم غذایی بر اساس پروتکل‌های کتوژنیک تجربیِ تثبیت‌شده‌ای تنظیم شد که برای القای کتوز تغذیه‌ای پایدار و به حداکثر رساندن اثربخشی متابولیک، ضدالتهابی و محافظت‌کنندگی عصبیِ رژیم غنی‌شده با MCT طراحی شده بودند (۱۹). مقدار MCT به‌گونه‌ای محاسبه شد که دریافت روزانه هدف حدود دو تا سه گرم MCT به ازای هر کیلوگرم وزن بدن باشد و دریافت انرژی و مصرف روزانه غذا در هر قفس ثبت گردید. برای جلوگیری از تفاوت دریافت کالری، وزن بدن حیوانات به صورت هفتگی و میزان غذای مصرفی روزانه در هر قفس ثبت گردید. هیچ تفاوت آماری معنی‌داری در وزن نهایی بدن بین گروه‌ها مشاهده نشد که نشان‌دهنده تعادل انرژی مناسب در طول دوره مطالعه بود.

نمونه‌برداری و آماده‌سازی بافت هیپوکامپ: ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و پس از ناشتایی شبانه، حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. در شرایط بی‌هوشی عمیق، کاسه سر حیوانات شکافته شد، سپس مغز خارج و روی سطح خنک‌شده با یخ قرار گرفت و کل هیپوکامپ هر دو نیمکره مغزی به‌دقت جدا و در میکروتیوب در نیتروژن مایع منجمد و سپس در فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد تا روز سنجش نگهداری شد. در روز سنجش، بافت با نسبت وزن به حجم یک به ۱۰ در بافر لیزینگ سرد PBS (حاوی یک درصد تریتون X-100 و کوکتل مهارکننده پروتئاز) با هموژنایزر همگن و سپس به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ گرم در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید و محلول شفاف رویی جدا شد (۲۰).

سنجش فاکتورهای نوروتروفیک: سطوح BDNF، NGF و FGF-2 بافت هیپوکامپ با کیت‌های الایزا اختصاصی رت (BDNF: SunLong Biotech Co., LTD, China. Catalog Number: EL0030Ra; NGF: SunLong Biotech Co., LTD, China. Catalog Number: QS0515Ra; FGF-2: SunLong Biotech Co., LTD, China. Catalog Number: SL1067Ra) و مطابق دستورالعمل سازنده اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری: به منظور بررسی نرمال بودن توزیع از آزمون شاپیرویلک استفاده شد. پس از تعیین توزیع نرمال داده‌ها، برای مقایسه تفاوت بین گروه‌ها از تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری $p\leq0.05$ در نظر گرفته شد. همه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism (نسخه ۹) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

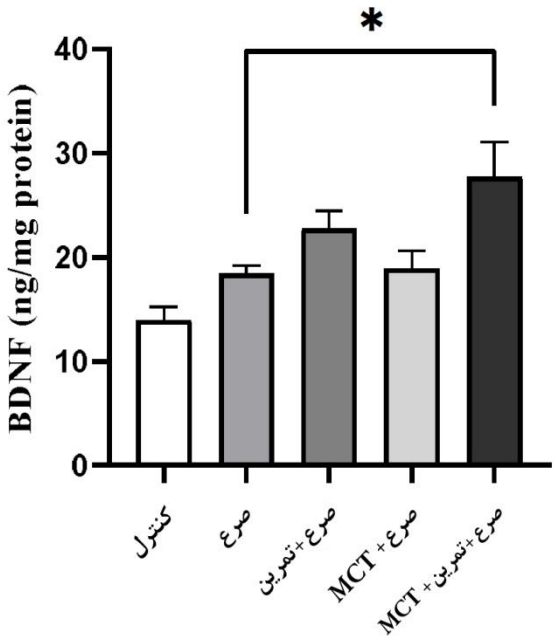
ملاحظات اخلاقی: این پژوهش پس از تأییدیه اخلاقی با شناسه IR.ILAM.REC.1404.018 از کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه ایلام انجام شد. کلیه آزمایشات مطابق آیین‌نامه کمیته اخلاق پژوهشی برای مطالعات حیوانی صورت گرفت.

یافته‌ها

با توجه به نتایج آزمون واریانس، مشخص شد که بین گروه‌های تحقیق در متغیر سطح BDNF تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($n2=۰/۷۳$، $F=۶/۹۱$، $p=۰/۰۰۶$). یافته‌ها نشان داد که القای صرع منجر به افزایش اندکی در سطح BDNF (۱۸/۴۴±۱/۳۳) در مقایسه با گروه کنترل (۱۳/۹۸±۲/۱۴) شد که از نظر آماری معنادار نبود ($p=۰/۵۲۲$). سطح BDNF در گروه تمرین هوازی (۲۲/۷۶±۲/۹۲) نسبت به گروه صرع اگرچه افزایش نسبی نشان داد، اما از نظر آماری معنادار نبود ($p=۰/۵۵$). سطح BDNF در

نسخه پیش از انتشار ویراستاری نشده

گروه MCT (۱۸/۹۶±۲/۸۷) نسبت به گروه صرع نیز اگرچه افزایش نسبی داشت، اما این افزایش از نظر آماری معنادار نبود (p=۰.۹۹). ترکیب یک دوره تمرین هوازی همراه با رژیم غذایی غنی‌شده با MCT موجب افزایش معنی‌دار سطح BDNF هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر صرعی شده با پنتیلن تترازول گردید (۲۷/۷±۵/۸۶، p=۰/۰۴۶) (شکل ۱).

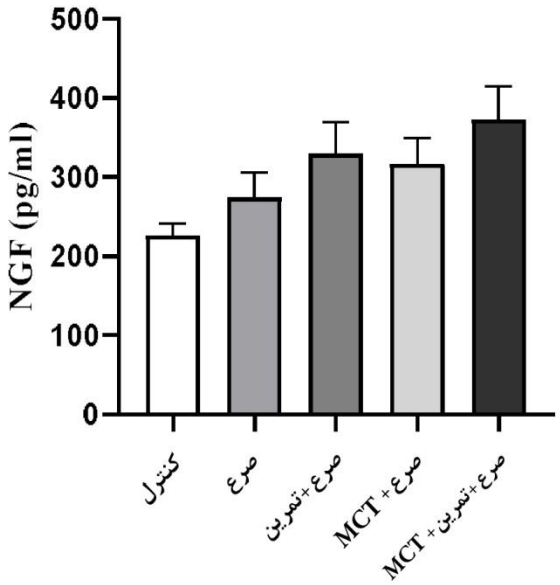


شکل ۱. میانگین سطح BDNF در ناحیه هیپوکامپ در گروه‌های مختلف

* اختلاف آماری معنی‌دار در سطح p<0.05

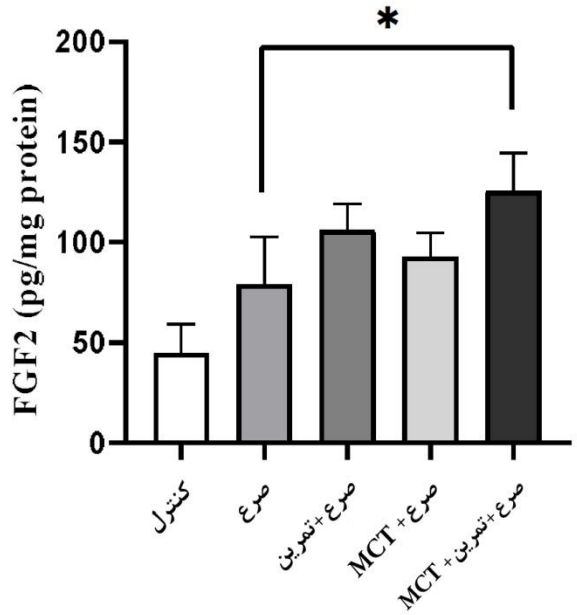
در مورد سطح NGF، مشخص شد که بین گروه‌های تحقیق تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (n2=۰/۵۲، F=۲/۷۷، p=۰/۰۸). تفاوت سطح NGF بین گروه کنترل (۲۲۶/۰۳±۲۷/۴۸) و گروه صرع (۲۷۴/۵۷±۵۴/۱۵) از نظر آماری معنادار نبود (p=۰/۸۴). سطح NGF در گروه تمرین هوازی (۳۲۹/۱۷±۶۹/۹۷) نسبت به گروه صرع اگرچه افزایش نسبی نشان داد، اما تفاوت از نظر آماری معنادار نبود (p=۰/۷۷). سطح NGF در گروه MCT (۳۱۶/۷±۵۶/۱۶) نسبت به گروه صرع نیز افزایش نسبی اما غیرمعناداری داشت (p=۰/۸۹). سطح NGF در گروه مداخله ترکیبی (۳۷۳/۱۱±۷۲/۰۶) نسبت به گروه صرع اگرچه افزایش نسبی نشان داد اما از نظر آماری معنادار نبود (p=۰/۳۰). بنابراین، یک دوره تمرین هوازی همراه با رژیم غذایی غنی‌شده با MCT موجب تغییر معنی‌داری در سطح NGF هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر صرعی شده با پنتیلن تترازول نشد (شکل ۲).

نسخه پیش‌نویس ویرایش نشده



شکل ۲. میانگین سطح NGF در ناحیه هیپوکامپ در گروه‌های مختلف

با توجه به نتایج آزمون واریانس، مشخص شد که بین گروه‌های تحقیق در متغیر سطح FGF2 تفاوت معنی‌داری وجود دارد (n2=۰/۷۹، F=۹/۴۶، p=۰/۰۰۲). نتایج نشان داد که القای صرع با افزایش اندکی در سطح FGF2 (۲۳/۹۸±۷۸/۸۷) در مقایسه با گروه کنترل (۱۴/۶۶±۴۴/۸۱) همراه بود که از نظر آماری معنادار نبود (p=۰/۱۸). سطح FGF2 در گروه تمرین هوازی (۱۳/۱۳±۱۰۵/۹) نسبت به گروه صرع اگرچه افزایش نسبی نشان دادند، اما تفاوت از نظر آماری معنادار نبود (p=۰/۳۵). سطح FGF2 در گروه MCT (۱۱/۸۴±۹۲/۷۵) نسبت به گروه صرع نیز افزایش نسبی اما غیرمعناداری داشت (p=۰/۸۵). ترکیب یک دوره تمرین هوازی همراه با رژیم غذایی رژیم غذایی غنی‌شده با MCT موجب افزایش معنی‌دار سطح FGF2 هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر صرعی شده با پنتیلن تترازول گردید (۱۸/۹۷±۱۲۵/۵۷، p=۰/۰۴)، (شکل ۳).



نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

شکل ۳. میانگین سطح FGF2 در ناحیه هیپوکامپ در گروه‌های مختلف
* اختلاف آماری معنی‌دار در سطح p<0.05

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که هشت هفته مداخله توأم تمرین هوازی روی نوارگردان و رژیم غذایی غنی از MCT توانست به طور معنی‌داری سطوح BDNF و FGF-2 را در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی صرعی شده با پنتیلن‌تترازول در مقایسه با گروه صرع درمان‌نشده افزایش دهد. با این حال، هر یک از مداخلات تمرین و رژیم MCT به تنهایی تغییر معنی‌داری در مقایسه با گروه صرع ایجاد نکردند و سطوح هیپوکامپی NGF نیز در هیچ‌یک از گروه‌های تجربی تغییر معنی‌داری نشان نداد.

این الگو از نتایج حاوی نکات مکانیسمی مهمی است؛ نخست اینکه اثرگذاری بر فاکتورهای نوروتروفیک در شرایط صرع مزمن نیازمند تحریک همزمان چند مسیر سیگنال‌دهی مکمل است، و دوم اینکه فاکتورهای نوروتروفیک مختلف (نظیر BDNF، FGF2 و NGF) پاسخ‌پذیری همگنی به مداخلات متابولیک و ورزشی در هیپوکامپ ندارند.

BDNF یک نوروتروفین است که به میزان زیادی در مغز بیان می‌شود و تأثیر زیادی بر جنبه‌های مختلف عملکرد نورونی دارد. BDNF با میل ترکیبی بالا به TrkB متصل می‌شود و آبشارهای سیگنالینگ درون سلولی پایین‌دست حاصل، نقش‌های حیاتی در تعیین سرنوشت سلولی، از جمله تمایز عصبی و بلوغ نورون‌های CNS، ایفا می‌کنند. به خوبی نشان داده شده است که کاهش/ اختلال در تنظیم سیستم BDNF/TrkB در پاتوژنز اختلالات عصبی و روانی نقش دارد (۲۱). پیش‌ساز فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (proBDNF) نقش مهمی در پاتوژنز و پیشرفت بیماری‌های مختلف ایفا می‌کند. proBDNF از طریق تعامل با گیرنده‌های p75NTR و سورتیلین، آپوپتوز را تقویت می‌کند، انعطاف‌پذیری سیناپسی را مختل می‌کند و به تنظیم عملکرد سیستم ایمنی، پاسخ‌های التهابی و فرآیندهای متابولیک سلولی کمک می‌کند (۲۲).

فعالیت بدنی مزایای قابل توجهی در پیشگیری و درمان بیماری‌ها، به ویژه از طریق تأثیرات آن بر مغز و سیستم عصبی، ارائه می‌دهد (۲۳، ۲۴). مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت‌های بدنی با شدت متوسط حجم هیپوکامپ را افزایش می‌دهد، حافظه فضایی را بهبود می‌بخشد و شبکه‌های عصبی را تقویت می‌کند. علاوه بر این، این نوع ورزش ارتباط درون شبکه‌های عصبی را تقویت می‌کند و حافظه را افزایش می‌دهد (۲۵، ۲۶). به علاوه، فعالیت بدنی با فزایش سطح BDNF می‌تواند سطح نوروژنز و سیناپتوژنز را افزایش دهد، از مرگ نورون‌ها جلوگیری کند و به طور بالقوه منجر به بهبود شناختی و کاهش علائم روانی شود (۲۶). ورزش به داشتن مزایای محافظت عصبی و شناختی متعدد، به ویژه در فرآیندهای مرتبط با حافظه و یادگیری، معروف است. یکی از حلقه‌های بالقوه اتصال آنها، نوروژنز هیپوکامپ با واسطه ورزش است که در آن نورون‌های جدید تولید شده و در مدارهای هیپوکامپ گنجانده می‌شوند (۲۷).

شواهد رو به رشدی از اثربخشی رژیم کتوژنیک در ارتقاء سلامت مغز و بهبود عملکرد شناختی در تعدادی از حوزه‌ها، مانند حافظه کاری، حافظه مرجع و توجه، پشتیبانی می‌کنند. نکته قابل توجه این است که رژیم کتوژنیک در انواع بیماری‌های عصبی، از جمله آلزایمر، پارکینسون و مولتیپل اسکلروزیس نقش محافظتی دارد (۲۸، ۲۹).

رژیم غذایی کتوژنیک با کاهش التهاب عصبی، افزایش سیگنالینگ نوروتروفیک و ترویج نوروژنز هیپوکامپ، رفتارهای شبه افسردگی ناشی را در موش‌ها کاهش می‌دهد و در نتیجه مبنایی مکانیکی برای پتانسیل آن به عنوان یک درمان جدید غذایی

نسخه پیش از انتشار ویراستاری نشده

ضد افسردگی فراهم می‌کند (۳۰). تحقیقات نوظهور نشان می‌دهد که مصرف رژیم کتوژنیک یا مکمل کتون‌های اگزوژن اثرات مفید بسیاری از جمله اثرات تقویت شناختی، پیش‌ساز نوروژنیک، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی دارد (۳۳-۳۱). مطالعات انجام شده در مدل‌های جوندگان مبتلا به آلزایمر نشان داده است که رژیم کتوژنیک و/یا درمان اگزوژن با مکمل‌های کتون، اختلالات شناختی- رفتاری، التهاب عصبی، استرس اکسیداتیو و تجمع آمیلوئید بتا (Aβ)؛ و عملکرد میتوکندری و انعطاف‌پذیری سیناپسی را افزایش می‌دهد (۳۳). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد مداخلات غذایی کتوژنیک سلامت مغز را ارتقا داده و عملکرد شناختی را تقویت می‌کنند و از مغز در برابر بیماری‌های عصبی محافظت می‌کنند (۳۵-۳۳).

مطالعه حاضر نشان داد که اثرات هم‌افزایی رژیم غذایی غنی‌شده با MCT و ورزش هوازی در مسیرهای بیولوژیکی مشترک، از جمله افزایش سطح BDNF هیپوکامپ، می‌تواند موجب ارتقای فاکتورهای نوروتروفیک هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر صرعی شده با پنتیلن‌تترازول شود. افزایش معنی‌دار BDNF در گروه ترکیبی (تمرین هوازی+ رژیم غذایی MCT) را می‌توان از طریق هم‌پوشانی و تقویت متقابل چند مسیر بیوشیمیایی تبیین کرد.

اولین مسیر، مسیر متابولیک اجسام کتونی و اپی‌ژنتیک می‌باشد. هیدرولیز اسیدهای چرب زنجیره متوسط در کبد، منبع پایداری از استواستات و بتا-هیدروکسی‌بوتیرات را فراهم می‌کند. بتا-هیدروکسی‌بوتیرات نه تنها به عنوان یک سوبسترای پرانرژی جایگزین گلوکز در نورون‌های آسیب‌دیده عمل می‌کند، بلکه به عنوان یک مهارکننده هیستون داسیتیلازها[1] (کلاس I و IIa آنزیم HDACs) شناخته می‌شود. مهار HDAC ها هیپراستیلاسیون هیستون‌های H3K9 و H3K14 را در پروموتر ژن BDNF القا کرده و رونویسی آن را تسهیل می‌نماید (۳۶). علاوه بر این، تمرین هوازی با شدت متوسط با تحریک جریان کلسیم درون‌سلولی و فعال‌سازی کلسیم/کالمودولین کیناز II (CaMKII) و پروتئین کیناز فعال‌شده با AMP[2] (AMPK) ، بیان کمک‌فعال‌کننده رونویسی PGC-1alpha را افزایش می‌دهد. این مسیر به نوبه خود با تحریک فاکتور ترشحی FNDC5/ ایریسین، آبشار سیگنال‌دهی ترانس‌کریپشنال BDNF را در نورون‌های هیپوکامپ فعال می‌کند. ترکیب این مسیر با افزایش دسترسی به انرژی کتون‌ها، آستانه رونویسی BDNF را که در گروه صرع دچار سرکوب شده بود، جبران می‌نماید (۳۷).

برخی مطالعات پیشین افزایش شدید سطح BDNF متعاقب تشنج را گزارش کرده‌اند (۳۸، ۳۹)، در حالی که در مطالعه حاضر گروه صرع تغییر معنی‌داری در سطح BDNF نشان نداد. همچنین در برخی مقالات تمرین به تنهایی برای افزایش BDNF کافی بوده است (۴۰). این ناهمسویی‌ها می‌تواند ناشی از عوامل مختلفی از جمله فاز زمانی سنجش فاکتورها، شدت و حجم تمرینات و نیز تفاوت در روش سنجش بافتی فاکتورها باشد.

NGF یک پروتئین نوروتروفیک حیاتی برای رشد و بقای نورون‌های دخیل در فرآیندهای مختلف محافظت عصبی و ترمیمی است. در اختلالات عصبی، NGF نقش کلیدی در حفظ سلامت و عملکرد نورونی ایفا می‌کند. NGF توانایی بالایی در تنظیم رشد و بقای نورون‌های کولینرژیک حسی محیطی، سمپاتیک و مرکزی دارد. خواص تقویت‌کننده بقا و ترمیمی فاکتورهای نوروتروفیک به ویژه NGF، پتانسیل درمانی را در طیف وسیعی از بیماری‌های مغزی پیشنهاد می‌کند (۴۱).

عدم تغییر معنی‌دار NGF در گروه‌های تجربی را می‌توان با ویژگی‌های بیولوژیک و توزیع گیرنده‌های آن در مغز توجیه کرد. برخلاف BDNF که به وفور توسط نورون‌های گلوتاماترژیک و گرانولار هیپوکامپ سنتز می‌شود، سهم عمده مسیرهای

1. Histone deacetylase (HDAC)
2. AMP-activated protein kinase

نسخه پیش از انتشار ویراستاری نشده

سیگنال‌دهی وابسته به NGF مربوط به نورون‌های کولینرژیک عقده‌های قاعده‌ای پیشین[1] است که فیبرهای خود را به هیپوکامپ می‌فرستند. از این رو، حساسیت رونویسی ژن NGF در سلول‌های پارانشیم هیپوکامپ به تمرین هوازی و کتون‌ها به مراتب کمتر از BDNF و FGF-2 است (۴۲). علاوه براین، سازوکارهای محافظت عصبی ناشی از تمرین در هیپوکامپ عمدتاً از طریق محور TrkB (گیرنده اختصاصی BDNF) و FGFR1 (گیرنده FGF-2) میانجی‌گری می‌شوند؛ در حالی که محور TrkA/p75NTR اختصاصی NGF در فاز پس از کیندلینگ، پاسخ‌پذیری محدودی به مداخلات متابولیک هشت‌هفته‌ای نشان می‌دهد (۴۳).

FGFها مولکول‌های سیگنالینگ کلیدی هستند که عملکردهای مختلف سلولی، از جمله تکثیر سلولی، تمایز، تحریک‌پذیری الکتریکی و پاسخ‌های آسیب را تنظیم می‌کنند. از این رو، چندین تحقیق ادعا کرده‌اند که بین FGFها و اختلالات عصبی رابطه‌ای وجود دارد و می‌توان از آنها به عنوان اهداف درمانی برای اختلالات عصبی استفاده کرد. گزارش شده است که FGFها مسیرهای سیگنالینگ مختلفی از جمله Ras/MAPK/PI3k/Akt را فعال می‌کنند و مسیرهای GSK-3β/NF-κB را که مسئول اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد آپوپتوز هستند، کاهش می‌دهند (۴۴). بنابراین، FGFها می‌توانند به عنوان گزینه‌های درمانی جدید برای اختلالات عصبی از جمله صرع مطرح باشند.

در مطالعه حاضر، افزایش معنی‌دار FGF-2 در گروه مداخله ترکیبی احتمالاً ناشی از فعال‌سازی آبشار کینازهای تنظیمی خارج سلولی (MAPK/ERK) و مسیر PI3K/Akt است. افزایش دسترسی بیوانرژتیک ناشی از متابولیسم کتون‌ها در کنار تنش برشی[2] عروقی ناشی از تمرین هوازی، سلول‌های آستروسیتی و اندوتلیال را به ترشح اتوکرین و پاراکرین FGF-2 تحریک می‌کند (۴۵، ۴۶).

عدم سنجش مستقیم نوروژنز یکی از محدودیت عمده پژوهش حاضر بود. در این مطالعه، از تکنیک‌های ایمونوهیستوشیمی و نشانگرهای مستقیم نوروژنز (نظیر BrdU/EdU، Ki-67، DCX و NeuN) استفاده نشد؛ بنابراین نتیجه‌گیری درباره تشکیل نورون‌های جدید در شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ ممکن نیست و یافته‌ها تنها به سطوح فاکتورهای نوروتروفیک محدود می‌شود. عدم اعتبارسنجی کتوزیس یکی دیگر از محدودیت‌های مطالعه حاضر بود. در این مطالعه غلظت خونی بتا-هیدروکسی‌بوتیرات اندازه‌گیری نشد؛ از این رو نمی‌توان به‌طور قطعی تأیید کرد که حیوانات گروه رژیمی وارد حالت کتوزیس شده‌اند و به همین دلیل در سراسر متن از «رژیم غنی از MCT» به جای «رژیم کتوژنیک» استفاده شده است. همچنین، در طول دوره مداخله نوار مغزی EEG ثبت نشد و اثر مداخلات بر آستانه تشنج و فعالیت صرعی مستقیماً ارزیابی نشد. به علاوه، عدم وجود گروه‌های کنترل سالم تحت تمرین، رژیم و مداخله توأم، امکان اجرای آزمون آماری تعامل بین تمرین و رژیم را از میان برداشت؛ بنابراین اثر گروه ترکیبی صرفاً به‌عنوان «اثر مداخله توأم در مقایسه با گروه صرع» گزارش می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان‌دهنده «اثر مکمل و تشدیدکننده» مداخله همزمان یک دوره تمرین هوازی و رژیم غذایی غنی‌شده با MCT بر افزایش سطح فاکتورهای نوروتروفیک هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر صرعی شده با پنتیلن تترازول می‌باشد؛ بدین‌معنا که تمرین هوازی از طریق بهبود کارایی بیوانرژتیک میتوکندریایی، و رژیم غذایی غنی‌شده با MCT از طریق تأمین

1. Basal forebrain cholinergic neurons
2. Shear stress

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

بستر کربنی غیروابسته به ناقلین گلوکز (GLUT1/GLUT3) و مهار اپی‌ژنتیک HDACها، به‌صورت هماهنگ نقص ناشی از صرع را مهار کرده و سطوح هیپوکامپی BDNF و FGF-2 را بهبود بخشیده‌اند. با توجه به عدم ارزیابی مستقیم نوروژنز بافت‌شناسی و نبود ثبت EEG، این نتایج صرفاً حاکی از پتانسیل محافظت عصبی این مداخله ترکیبی در سطح مولکولی است. پیش از هرگونه پیشنهاد بالینی برای استفاده از این راهکارها در مدیریت صرع انسانی، به مطالعات تکمیلی شامل ارزیابی نشانگرهای مستقیم نوروژنز، ثبت الکتروفیزیولوژیک و آزمایش‌های بالینی دقیق نیاز است.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در رابطه با انجام یا انتشار این پژوهش وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

از دانشگاه ایلام و تمامی کسانی که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند، قدردانی می‌شود.

منابع:

1. Espinosa-Jovel C, Toledano R, Aledo-Serrano Á, García-Morales I, Gil-Nagel A. Epidemiological profile of epilepsy in low income populations. Seizure. 2018;56:67-72. doi: 10.1016/j.seizure.2018.02.002.
2. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross J.H, Elger C.E, et al. ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. Epilepsia, 2014;55(4):475-482. doi: 10.1111/epi.12550.
3. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. Epilepsia. 2017;58(4):512-521. doi: 10.1111/epi.13709.
4. Chen P, Chen F, Wu Y, Zhou B. New Insights Into the Role of Aberrant Hippocampal Neurogenesis in Epilepsy. Front Neurol. 2021;12:727065. doi: 10.3389/fneur.2021.727065.
5. Friedman WJ. Proneurotrophins, seizures, and neuronal apoptosis. Neuroscientist. 2010;16(3):244-52. doi: 10.1177/1073858409349903.
6. Kang DH, Choi BY, Lee SH, Kho AR, Jeong JH, Hong DK, et al. Effects of Cerebrolysin on Hippocampal Neuronal Death After Pilocarpine-Induced Seizure. Front Neurosci. 2020;14:568813. doi: 10.3389/fnins.2020.568813.
7. Brodie MJ, Besag F, Ettinger AB, Mula M, Gobbi G, Comai S, et al. Epilepsy, Antiepileptic Drugs, and Aggression: An Evidence-Based Review. Pharmacol Rev. 2016;68(3):563-602. doi: 10.1124/pr.115.012021.
8. Kaye AD, Esneault B, Deshpande S, Wentling J, Ahmadzadeh S, Potharaju P, et al. Consideration of Anesthesia Techniques for Deep Brain Stimulation Implantation in the Treatment of Drug-Resistant Epilepsy: A Narrative Review. Biomolecules. 2025;15(6):784. doi: 10.3390/biom15060784.
9. Auvin S, Arzimanoglou A, Beller C, Floricel F, Daniels T, Bozorg A. Safety, tolerability, and efficacy of adjunctive lacosamide in pediatric patients with epilepsy syndromes associated with generalized seizures: Phase 2, open-label exploratory trial. Epilepsia. 2023;64(11):2947-2957. doi: 10.1111/epi.17741.
10. Martin-McGill KJ, Bresnahan R, Levy RG, Cooper PN. Ketogenic diets for drug-resistant epilepsy. Cochrane Database Syst Rev. 2020;6(6):CD001903.

نسخه پیش از انتشار

11. Verrotti A, Iapadre G, Di Francesco L, Zagaroli L, Farello G. Diet in the Treatment of Epilepsy: What We Know So Far. Nutrients. 2020;12(9):2645. doi: 10.3390/nu12092645.
12. Hafele CA, Freitas MP, da Silva MC, Rombaldi AJ. Are physical activity levels associated with better health outcomes in people with epilepsy? Epilepsy Behav 2017;72:28-34. doi: 10.1016/j.yebeh.2017.04.038.
13. Silva de Lacerda AF, Janjoppi L, Scorza FA, Lima E, Amado D, Cavalheiro EA, et al. Physical exercise program reverts the effects of pinealectomy on the amygdala kindling development. Brain Res Bull. 2007;74(4):216-20. doi: 10.1016/j.brainresbull.2007.06.011.
14. Kebede V, Di Sapia R, Tonesi N, Rizzi M, Balosso S, Spallaci D, et al. Voluntary running wheel activity reduces seizure burden and affords neuroprotection in a mouse model of acquired epilepsy. Epilepsia. 2025;66(5):1718-1733. doi: 10.1111/epi.18313.
15. Lim BV, Shin MS, Lee JM, Seo JH. Treadmill exercise prevents GABAergic neuronal loss with suppression of neuronal activation in the pilocarpine-induced epileptic rats. J Exerc Rehabil. 2015;11(2):80-6. doi: 10.12965/jer.150193.
16. Dhir A. Pentylenetetrazol (PTZ) kindling model of epilepsy. Curr Protoc Neurosci. 2012;Chapter 9:Unit9.37. doi: 10.1002/0471142301.ns0937s58
17. Lüttjohann A, Fabene PF, van Luijtelaar G. A revised Racine's scale for PTZ-induced seizures in rats. Physiol Behav. 2009 Dec 7;98(5):579-86. doi: 10.1016/j.physbeh.2009.09.005.
18. Xu X, Wan W, Garza MA, Zhang JQ. Post-myocardial infarction exercise training beneficially regulates thyroid hormone receptor isoforms. J Physiol Sci. 2018;68(6):743-748. doi: 10.1007/s12576-017-0587-z
19. Thavendiranathan P, Mendonca A, Dell C, et al. The MCT ketogenic diet: effects on animal seizure models. Exp Neurol. 2000;161(2):696-703. doi: 10.1006/exnr.1999.7298
20. Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. Eur J Neurosci. 2004;20(10):2580-90. doi: 10.1111/j.1460-9568.2004.03720.x.
21. Numakawa T, Kajihara R. The Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor as an Essential Mediator in Neuronal Functions and the Therapeutic Potential of Its Mimetics for Neuroprotection in Neurologic and Psychiatric Disorders. Molecules. 2025;30(4):848. doi: 10.3390/molecules30040848.
22. Chen R, Chen W, Li P, Zhao Y, Zeng Q, Chen W, et al. Function and application of brain-derived neurotrophic factor precursors (Review). Int J Mol Med. 2025;56(1):105. doi: 10.3892/ijmm.2025.5546.
23. Lammers MD, Anéli NM, de Oliveira GG, de Oliveira Maciel SFV, Zanini D, Mânica A, et al. The anti-inflammatory effect of resistance training in hypertensive women: the role of purinergic signaling. J Hypertens. 2020;38(12):2490-2500. doi: 10.1097/HJH.0000000000002578.
24. Liguori G. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription (Spanish Edition), 4th Edition, Kindle Edition. American College of Sports Medicine (ACSM). 2021.
25. Vivar C, Peterson BD, van Praag H. Running rewires the neuronal network of adult-born dentate granule cells. Neuroimage. 2016;131:29-41. doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.11.031.
26. Romero Garavito A, Díaz Martínez V, Juárez Cortés E, Negrete Díaz JV, Montilla Rodríguez LM. Impact of physical exercise on the regulation of brain-derived neurotrophic factor in people with neurodegenerative diseases. Front Neurol. 2025;15:1505879. doi: 10.3389/fneur.2024.1505879.
27. Liu PZ, Nusslock R. Exercise-Mediated Neurogenesis in the Hippocampus via BDNF. Front Neurosci. 2018;12:52. doi: 10.3389/fnins.2018.00052.

نسخه پیش از انتشار

28. Chinna-Meyyappan A, Gomes FA, Koning E, Fabe J, Breda V, Brietzke E. Effects of the ketogenic diet on cognition: a systematic review. Nutr Neurosci. 2023;26(12):1258-1278. doi: 10.1080/1028415X.2022.2143609.
29. Tao Y, Leng SX, Zhang H. Ketogenic Diet: An Effective Treatment Approach for Neurodegenerative Diseases. Curr Neuropharmacol. 2022;20(12):2303-2319. doi: 10.2174/1570159X20666220830102628.
30. Liang J, Zhang J, Sun J, Liang Q, Zhan Y, Yang Z, et al. Ketogenic diet attenuates neuroinflammation and restores hippocampal neurogenesis to improve CUMS induced depression-like behavior in mice. Food Funct. 2025;16(9):3408-3422. doi: 10.1039/d5fo00226e.
31. Makievskaya CI, Popkov VA, Andrianova NV, Liao X, Zorov DB, Plotnikov EY. Ketogenic Diet and Ketone Bodies against Ischemic Injury: Targets, Mechanisms, and Therapeutic Potential. Int J Mol Sci. 2023;24(3):2576. doi: 10.3390/ijms24032576.
32. Saito ER, Warren CE, Hanegan CM, Larsen JG, du Randt JD, Cannon M, et al. A Novel Ketone-Supplemented Diet Improves Recognition Memory and Hippocampal Mitochondrial Efficiency in Healthy Adult Mice. Metabolites. 2022;12(11):1019. doi: 10.3390/metabo12111019.
33. Shippy DC, Wilhelm C, Viharkumar PA, Raife TJ, Ulland TK. β-Hydroxybutyrate inhibits inflammasome activation to attenuate Alzheimer's disease pathology. J Neuroinflammation. 2020;17(1):280. doi: 10.1186/s12974-020-01948-5.
34. Hersant H, Grossberg G. The Ketogenic Diet and Alzheimer's Disease. J Nutr Health Aging. 2022;26(6):606-614. doi: 10.1007/s12603-022-1807-7.
35. Shaafi S, Mahmoudi J, Pashapour A, Farhoudi M, Sadigh-Eteghad S, Akbari H. Ketogenic Diet Provides Neuroprotective Effects against Ischemic Stroke Neuronal Damages. Adv Pharm Bull. 2014;4(Suppl 2):479-481. doi: 10.5681/apb.2014.071.
36. Sleiman SF, Henry J, Al-Haddad R, et al. Exercise promotes the expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF) through the action of the ketone body β-hydroxybutyrate. Elife. 2016;5:e15092. Published 2016 Jun 2. doi: 10.7554/eLife.15092
37. Wrann CD, White JP, Salogiannnis J, Laznik-Bogoslavski D, Wu J, Ma D, et al. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1α/FNDC5 pathway. Cell Metab. 2013;18(5):649-659. doi: 10.1016/j.cmet.2013.09.008
38. Binder DK, Croll SD, Gall CM, Scharfman HE. BDNF and epilepsy: too much of a good thing?. Trends Neurosci. 2001;24(1):47-53. doi: 10.1016/s0166-2236(00)01682-9
39. Ernfors P, Bengzon J, Kokaia Z, Persson H, Lindvall O. Increased levels of messenger RNAs for neurotrophic factors in the brain during kindling epileptogenesis. Neuron. 1991;7(1):165-176. doi: 10.1016/0896-6273(91)90084-d
40. Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. Trends Neurosci. 2002;25(6):295-301. doi: 10.1016/s0166-2236(02)02143-4
41. Capossela L, Gatto A, Ferretti S, Di Sarno L, Graglia B, Massese M, et al. Multifaceted Roles of Nerve Growth Factor: A Comprehensive Review with a Special Insight into Pediatric Perspectives. Biology (Basel). 2024;13(7):546. doi: 10.3390/biology13070546.
42. Neeper SA, Gómez-Pinilla F, Choi J, Cotman C. Exercise and brain neurotrophins. Nature. 1995;373(6510):109. doi: 10.1038/373109a0
43. Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. Eur J Neurosci. 2004;20(10):2580-2590. doi: 10.1111/j.1460-9568.2004.03720.x
44. Upadhayay S, Soni D, Dhureja M, Temgire P, Kumar V, Arthur R, Kumar P. Role of Fibroblast Growth Factors in Neurological Disorders: Insight into Therapeutic Approaches and Molecular Mechanisms. Mol Neurobiol. 2025;62(11):14367-14386. doi: 10.1007/s12035-025-04962-x.

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

45. Chen X, Li Z, Cheng Y, Kardami E, Loh YP. Low and High Molecular Weight FGF-2 Have Differential Effects on Astrocyte Proliferation, but Are Both Protective Against Aβ-Induced Cytotoxicity. Front Mol Neurosci. 2020;12:328. Published 2020 Jan 24. doi: 10.3389/fnmol.2019.00328

46. Gómez-Pinilla F, Dao L, So V. Physical exercise induces FGF-2 and its mRNA in the hippocampus. Brain Res. 1997;764(1-2):1-8. doi: 10.1016/s0006-8993(97)00375-2

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

مطالعات کاربردی
علوم زیستی در ورزش

*Corresponding Author Address: Ilam, Ilam University, Faculty of Humanities, Department of Sport Sciences.
Email: n.shamsaei@ilam.ac.ir

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده