

## تأثیر فعالیت ورزشی شنا همراه با تزریق مکمل ویتامین D بر سطوح فاکتور رشد عصبی (NGF) در بافت مغز موش‌های صحرایی ماده مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی

حمید حسینی<sup>۱</sup>، ضیاء فلاح محمدی<sup>۲</sup>، فرهاد ولی‌زادگان<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت ۱۳۹۵/۰۹/۰۴ تاریخ پذیرش ۱۳۹۵/۱۱/۰۸

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** هدف مطالعه حاضر تعیین اثر پیش‌درمان شش هفته فعالیت ورزشی شنا همراه با تزریق مکمل ویتامین D بر سطوح فاکتور رشد عصب (Nerve Growth Factor; NGF) موش‌های صحرایی ماده نژاد لوئیز بود.

**مواد و روش کار:** این مطالعه از نوع تجربی است؛ که روی موش‌های ماده نژاد لوئیز انجام شد. در این پژوهش حیوانات به‌طور تصادفی به ۹ گروه (هر گروه ۵ سر) شامل گروه‌ششم، کنترل سالم، کنترل ام‌اس، ویتامین D سالم، ویتامین D ام‌اس، شنای سالم، شنای ام‌اس، ترکیبی سالم و ترکیبی ام‌اس تقسیم شدند. برنامه تمرین شامل روزانه یک ساعت شنا به مدت ۶ هفته و ۵ روز در هفته بود. علاوه بر این، در گروه‌های مکمل مقدار ۲ نانوگرم ویتامین D در ۰/۲ میلی‌گرم روغن کنجد حل شده و به‌صورت درون صفاقی یک روز در میان و به مدت ۲ هفته به هر حیوان تزریق شد. سطوح NGF به روش الایزا اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که سطوح NGF در هر یک از گروه‌های مکمل ویتامین D ام‌اس و تمرین شنای ام‌اس در مقایسه با گروه کنترل ام‌اس به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (به ترتیب،  $p=0/049$  و  $p=0/006$ ). همچنین سطح این پروتئین در گروه ترکیبی ام‌اس نیز نسبت به کنترل مشابه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P=0/004$ ). علاوه بر این وزن گروه‌های مکمل ویتامین D ام‌اس، تمرین شنای ام‌اس و ترکیبی ام‌اس در مقایسه با کنترل ام‌اس افزایش یافت که این افزایش تنها در گروه ویتامین دی ام‌اس به حد معنی‌داری نرسید (به ترتیب  $p=0/164$ ،  $p=0/001$ ،  $p=0/016$ ).

**بحث و نتیجه‌گیری:** از یافته‌ها می‌توان چنین نتیجه گرفت که احتمالاً پیش‌درمان با استفاده از تمرینات میان‌مدت شنا و تزریق ویتامین D، از طریق افزایش سطوح NGF، در حفاظت عصبی مؤثر است. از این رو به نظر می‌رسد که تمرینات شنا رویکردی مناسب جهت افزایش حفاظت سلول‌های عصبی بافت مغز در برابر عوامل مستعد کننده‌ی بیماری ام‌اس و ارتقای سطح سلامت مغز است.

**کلیدواژه‌ها:** مالتیپل اسکلروزیس، ویتامین D، تمرین شنا، فاکتور رشد عصبی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هشتم، شماره اول، ص ۷۳-۶۴، فروردین ۱۳۹۶

آدرس مکاتبه: مازندران- بابلسر- پردیس دانشگاه- دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، تلفن: ۰۹۱۱۱۱۲۷۶۳۳

Email: Zia-falm@umz.ac.ir

### مقدمه

در افراد مبتلا به این بیماری است (۲). نشان داده شده است که شیوع این بیماری در زنان ۲ تا ۳ برابر بیشتر از مردان است و اغلب در سنین ۲۰ تا ۴۰ سالگی بروز می‌کند (۳). به‌طور کلی برای این بیماری درمانی اختصاصی وجود ندارد و یکی از متداول‌ترین روش‌هایی که جهت درمان استفاده می‌شود، استفاده از کورتون‌ها و عوامل مهارکننده سیستم ایمنی است. این داروها باعث تضعیف سیستم ایمنی بدن شده و احتمال بروز سرطان و سایر عفونت‌ها را در این

مالتیپل اسکلروزیس یا اسکلروز چندگانه (MS) که از آن به‌عنوان بیماری قرن یاد شده است؛ یک نوع بیماری خود ایمنی بوده که تقریباً ۲/۵ میلیون نفر در سراسر دنیا به این بیماری مبتلا هستند (۱). اتیولوژی کامل این بیماری تاکنون به‌طور کامل شناخته نشده است، اما به نظر می‌رسد که حملات خود ایمنی مکرر به سیستم اعصاب مرکزی مسئول آسیب التهابی آکسونی و به دنبال آن ناتوانی

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران

<sup>۲</sup> دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران (نویسنده مسئول)

<sup>۳</sup> استادیار علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران

(۲۰۰۳) اشاره کرد. محققین در این مطالعه عنوان کردند که سطوح NGF پس از ۳۰ دقیقه فعالیت هوازی در بیماران مبتلا به MS افزایش یافت (۱۴). در این زمینه همچنین نتایج تحقیق چاه و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که مقادیر NGF در هیپوکامپ موش‌های سالم و دیابتی پس از ۶ هفته دوییدن روی تردمیل، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (۱۵). این محققان افزایش سطح NGF در موش‌های مسن پس از ۸ هفته دوییدن روی تردمیل را نیز گزارش کرده‌اند (۱۶). بار دیگر این گروه از موش‌های سالم پس از ۸ هفته شنا کردن و ۸ هفته دوییدن روی تردمیل مشاهده کردند (۱۷). اخیراً در مطالعه‌ای که توسط به انسی و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد مشخص گردید که پس از ۳ هفته تمرین هوازی سطح NGF در بیماران مبتلا به ام‌اس افزایش معنی‌داری پیدا کرده است (۱۸). باین وجود شولز و همکاران (۲۰۰۴) بیان کرده‌اند که سطح NGF در بیماران مبتلا به ام‌اس پس از ۸ هفته تمرین هوازی تغییر معنی‌داری نداشته است (۱۹). از طرفی در تحقیقی که توسط مقدسی و همکاران (۱۳۹۴) انجام شد، مشخص شد که تمرینات مقاومتی به مدت ۸ هفته و ۳ جلسه در هفته، موجب بهبود درجه ناتوانی در زنان مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس شده اما تأثیری بر NGF آن‌ها نداشت (۲۰). با بررسی مطالعات گذشته مشاهده می‌شود که تحقیقات اندکی به بررسی اثر تمرینات ورزشی بر سطح NGF در بیماران ام‌اس پرداخته‌اند و تحقیقات اندک انجام شده نیز به نتایج قطعی دست نیافته‌اند و همچنین نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیقات متناقض است. همچنین در پژوهش‌های انجام شده در این زمینه، مدل‌های متنوعی جهت مطالعه فرآیندهای التهابی دمی‌لینه‌کننده و نورودژنراتیو بیماری ام‌اس استفاده شده است. در این میان، آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی یک مدل حیوانی برای بررسی شاخص‌های التهابی و رفتاری بیماری ام‌اس است (۲۱) با توجه به دانش کنونی ما تاکنون پژوهشی در رابطه با اثر پیش‌درمان تمرینات ورزشی و تزریق ویتامین D، بر سطوح NGF بافت مغز موش‌های صحرایی مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی انجام نشده است. از این‌رو، پژوهش حاضر باهدف بررسی تأثیر ۶ هفته فعالیت ورزشی شنا در کنار تزریق مکمل ویتامین D بر سطوح پروتئین NGF در بافت مغز موش‌های صحرایی ماده نژاد لوئیز EAE انجام شده است.

## مواد و روش کار

بیماران افزایش می‌دهد (۴). از طرفی پژوهش‌ها حاکی از آن است که توسعه و عملکرد عادی نرون‌ها به حضور نروتروفین‌ها بستگی دارد (۵). نروتروفین‌ها به گروهی از پروتئین‌های ترشحی اطلاق می‌شود که توسط ساختارهای موجود در سیستم عصبی تولید می‌شوند. این خانواده متشکل از حداقل ۴ پروتئین در پستانداران شامل فاکتور رشد عصبی (NGF)<sup>۱</sup>، نروتروفین - ۳ (NT-3)<sup>۲</sup>، نروتروفین - ۴ (NT-4)<sup>۳</sup> و فاکتور نروتروفیک مشتق از مغز (BDNF)<sup>۴</sup> که به‌طور عمده فعالیت‌های سیستم عصبی را شکل داده و سیستم عصبی محیطی و مرکزی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۶). در این میان، NGF یکی از مهم‌ترین نروتروفین‌هایی است که حدود ۶۰ سال پیش در موش و در سال ۱۹۸۳ در انسان شناسایی شده است (۷). این فاکتور یک عامل پلی‌پپتیدی (دارای عملکرد چندگانه) در سیستم عصبی مرکزی و یک نوروسایتوکاین مشخص در بقاء، تکثیر، ترمیم، تمایز و رشد سلول‌های مختلف سیستم عصبی محیطی و مرکزی است (۸). افزایش ترشح NGF موجب بهبودسازی بافت‌های مختلف شده و مقادیر آن در مایع مغزی نخاعی (CSF)<sup>۵</sup> در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس در مرحله حاد بیماری افزایش و در مرحله عود کاهش می‌یابد (۵). علاوه بر موارد مذکور، پیش‌از این نقش فعالیت‌های ورزشی بر عملکرد مغز همچون تقویت حافظه و بهبود یادگیری به‌خوبی مشخص شده است و مطالعات عنوان کرده‌اند که اثرات مفید انجام فعالیت ورزشی بر عملکرد مغز تا حدی به‌واسطه تقویت عملکرد و افزایش سطوح نروتروفین‌ها بخصوص NGF و BDNF است (۹). از سوی دیگر، گزارش‌ها نشان می‌دهد که ویتامین D در تعدیل پاسخ‌های ایمنی نقش دارد (۱۰). در حقیقت ویتامین D به‌عنوان یک تنظیم‌کننده کلیدی سیستم ایمنی در انسان شناخته شده است (۱۱). اطلاعات و مطالعات تجربی و اپیدمیولوژیک گواهِ بر این فرضیه است که افزایش سطح ویتامین D از طریق رژیم غذایی و یا اشعه ماوراءبنفش نقش محافظتی دارد به‌طوری‌که گفته می‌شود ساکنین مناطقی که در معرض بیشتر نور خورشید هستند، به دلیل نقش مهمی که اشعه ماوراءبنفش در تولید ویتامین D3 دارد و نیز افرادی که غذاهای سرشار از ویتامین D3 مصرف می‌کنند کم‌تر دچار MS می‌شوند (۱۲). همچنین نتایج مطالعات قبلی نشان می‌دهد که ویتامین D از طریق تنظیم عملکرد سیستم ایمنولوژیک بدن می‌تواند نقش مهمی در بروز و یا شدت MS داشته باشد (۱۳). در رابطه با اثر ورزش بر سطوح NGF در بیماران ام‌اس تحقیقات اندکی انجام شده که در این راستا می‌توان به تحقیق گلد و همکاران

<sup>4</sup> Brain-Derived Neurotrophic Factor

<sup>5</sup> Cerebrospinal fluid

<sup>1</sup> Nerve growth factor

<sup>2</sup> Neurotrophin-3

<sup>3</sup> Neurotrophin-4

ویتامین D در ۰/۲ میلی‌لیتر روغن کنجد حل شده و به‌صورت درون صفاقی و روز در میان با سرنگ انسولینی به هر حیوان تزریق شد (۲۲). به‌منظور جلوگیری از عفونت، محل تزریق قبل و بعد از تزریق به‌وسیله‌ی پنبه‌ای آغشته به الکل ضدعفونی شد. ضمناً تزریق ویتامین D دو هفته قبل از القاء EAE شروع شد.

#### برنامه تمرینی:

قبل از اجرای برنامه تمرینی، به‌منظور آشنایی با آب و کاهش استرس شنا و سازگاری با شرایط تمرینی، موش‌ها در طی ۲ هفته در داخل استخر آب قرار گرفتند. موش‌های صحرایی ماده نژاد لوییز، یک بار در روز و پنج روز در هفته در استخر ویژه‌ای به ابعاد ۵۰×۵۰×۱۰۰ سانتی‌متر که توسط میردار و همکاران در دانشکده علوم ورزشی دانشگاه مازندران ساخته شده بود به شنا پرداختند. برنامه اصلی تمرین با ۳۰ دقیقه آغاز شد که این مدت با افزایش پنج دقیقه‌ی روزانه به زمان تمرین، در هفته دوم به ۶۰ دقیقه رسید. زمان ۶۰ دقیقه تا پایان هفته سوم ثابت بود. اضافه‌بار تمرینی از طریق تنظیم قدرت و سرعت آب هنگام شنا انجام شد که در هفته سازگاری با تمرین، ثابت بود. در هفته‌های تمرین با ثابت ماندن ۶۰ دقیقه، سرعت و قدرت جریان آب از ۷ لیتر به ۲۰ لیتر در دقیقه افزایش یافت (۲۳).

#### نحوه القاء EAE:

به‌منظور القاء EAE در حیوانات از مخلوطی از نخاع خوکچه و ادجوانت استفاده شد. بدین منظور ابتدا ۵ سر خوکچه‌هندی از موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج خریداری شده و به آزمایشگاه منتقل شدند. ۲۴ ساعت پس از آخرین وهله تمرین و تزریق ویتامین D، هر یک از این خوکچه‌ها به‌وسیله کتامین بیهوش شدند و نخاع آن‌ها برای انجام مراحل بعدی آزمایش خارج شد. پس از خارج کردن نخاع خوکچه و منتقل کردن آن به داخل میکروتیوب، به‌منظور فریز کردن بافت (نخاع خوکچه)، آن را داخل ازت (نیتروزن مایع) قرار داده و سپس نخاع فریز شده دو مرتبه در هاون پر از ازت قرار داده شد و درحالی‌که در مایع شناور بود، کوبیده شد. به‌منظور هموزن کردن، بافت کوبیده شده را با نسبت برابر با سالیین مخلوط کرده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در دستگاه شیکر قرار داده تا به‌طور کامل هموزن شود. نهایتاً نخاع هموزن شده و ادجوانت خریداری شده از شرکت سیگما را با نسبت ۱ به ۱ مخلوط کرده و بعد از بیهوش کردن حیوانات به‌وسیله‌ی کتامین (۷۰ mg/kg; Alfasan, Holland)، به هر حیوان مقدار ۰/۴ ml از محلول حاصل، در پایه دم حیوان، تزریق شد (۲۴). روند بیماری و تغییر وزن موش‌ها روزانه مورد بررسی قرار گرفت و شدت بیماری بر اساس جدول شماره ۲ از صفر تا ۸ درجه بندی شد (۲۵). با توجه به جدول

آزمودنی‌های پژوهش حاضر را ۴۵ سر موش صحرایی ماده نژاد لوییز با میانگین سن ۴ هفته تشکیل می‌دادند؛ که از مرکز شرکت داروپخش تهران تهیه شدند و سپس به آزمایشگاه جانوری دانشگاه مازندران منتقل شدند. از آنجایی‌که انتقال حیوانات باعث القای استرس به آن‌ها و در نتیجه تأثیر بر نتایج آزمایش می‌شود، حیوانات پس از انتقال به آزمایشگاه جانوری دانشگاه مازندران، ابتدا به مدت دو هفته تحت شرایط جدید نگهداری شدند. آزمودنی‌ها پس از آشنایی با محیط جدید وزن‌کشی شدند. از آنجاکه وزن حیوانات دقیقاً یکسان نبود، لذا برای یکسان‌سازی حیوانات به لحاظ وزنی، ابتدا وزن‌کشی شد و سعی بر آن شد تا میانگین وزن بین گروه‌های مختلف تا حد ممکن به هم نزدیک باشد. بر این اساس، میانگین وزن موش‌های گروه‌های مختلف پژوهش پس از دسته‌بندی به‌طور متوسط  $111/3 \pm 11/60$  گرم بود. سپس آزمودنی‌ها به‌طور تصادفی به ۹ گروه تقسیم شدند:

۱- گروه پایه که در طول آزمایش در قفس نگهداری شدند (کنترل سالم). ۲- گروهی که تنها در طول فرایند آزمایش روغن کنجد دریافت کردند و در قفس نگهداری شدند (گروه‌شم). ۳- گروهی که بدون انجام تمرین و تزریق ویتامین D، مخلوطی از ادجوانت و نخاع خوکچه‌هندی (به‌منظور القاء EAE) دریافت کردند (کنترل ام‌اس). ۴- گروهی که در طول آزمایش فقط ویتامین D دریافت کردند (گروه ویتامین D سالم). ۵- گروهی که در کنار تزریق ویتامین D مخلوطی از ادجوانت و نخاع نیز به آن‌ها تزریق شد (گروه ویتامین D ام‌اس). ۶- گروهی که در طول آزمایش فقط تمرین شنا را انجام دادند (گروه تمرین شنای سالم). ۷- گروهی که در طول آزمایش فقط تمرین شنا را انجام دادند و پس از آن مخلوطی از ادجوانت و نخاع خوکچه به آن‌ها تزریق شد (گروه تمرین شنای ام‌اس). ۸- گروهی که در طول آزمایش در کنار تزریق ویتامین D تمرین شنا انجام دادند و پس از آن مخلوط ادجوانت و نخاع خوکچه به آن‌ها تزریق شد (ترکیبی ام‌اس). هر گروه شامل ۵ سر موش بود؛ که به‌صورت ۵ سر موش در هر قفس پلی‌کربنات شفاف و در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند. در طی دوره پژوهش نیز حیوانات از غذای ساخت شرکت به‌پرور به‌صورت پلت و به‌صورت آزاد مصرف کردند. در ضمن آب موردنیاز حیوانات آزادانه و از طریق بطری‌های ویژه در دسترس قرار داده شد (جدول ۱).

#### نحوه تزریق ویتامین D:

ویتامین D که از شرکت دارویی کایمن (آلمان) تهیه شد. در دو هفته پایانی تمرین، هم‌زمان با انجام ورزش شنا، مقدار ۲ نانوگرم

مذکور، چنانچه به هر یک از حیوانات امتیاز ناتوانی ۱ تا ۸ نسبت داده می‌شد، نشان‌دهنده ابتلای حیوان به EAE بود.

**جدول (۲): درجه‌بندی شدت بیماری بر اساس علائم و پیامدهای ناشی از القاء EAE**

علائم و پیامدها	درجه شدت بیماری
عدم ابتلا به بیماری	۰
اختلال در حرکت دم	۱
فلج شدن دم	۲
اختلال ملایم در راه رفتن	۳
اختلال شدید در راه رفتن	۴
فلجی یک پا	۵
فلجی هر دو پا	۶
فلجی کامل دست و پا	۷
مرگ	۸

#### بافت‌برداری و تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی:

تمام گروه‌ها دوهفته بعد از القاء EAE (در روز چهاردهم) و در پی ظهور علائم بیماری، در شرایط استراحتی با کتامین و زایلازین با نسبت ۲ به ۵ بی‌هوش و سپس بافت مغز حیوان جدا و پس از شست‌وشو بلافاصله در مایع نیتروژن قرار داده شد و سپس تا زمان هموژنیزه شدن در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره‌سازی شد. جهت سنجش غلظت NGF بافت مغز، ابتدا بافت مغز با استفاده از مایع نیتروژن پودر شده و سپس ۰/۱ گرم (۱۰۰ میلی‌گرم) از پودر ساخته شده با ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین حاوی ۸ گرم NaCl، ۰/۲۰۱ گرم KCl، ۱/۴۱۹ گرم Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>، ۰/۲۴۴ گرم KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> و ۸۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر (PH=۷/۴) هموژنیزه شد و سپس محلول به دست آمده از آن به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۴ تا ۶ هزار دور در دقیقه در دمای ۲-۸ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و برای سنجش شاخص موردنظر با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شد. برای تعیین مقادیر NGF از روش الیزا و کیت کمپانی Zellbio chemical (campany, German) استفاده شد.

#### تجزیه و تحلیل داده‌ها:

پس از جمع‌آوری داده‌های خام، از آمار توصیفی برای دسته‌بندی داده‌ها و تعیین شاخص‌های مرکزی و پراکندگی استفاده شد. با توجه

به طبیعی بودن توزیع داده‌ها، از روش تحلیل واریانس (ANOVA) یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی (TUKEY) به منظور بررسی تفاوت شاخص NGF بین گروه‌های مختلف پژوهش استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS با نسخه ۲۲ استفاده شد. در این بررسی‌ها مقدار معنی‌داری ( $P \leq 0/05$ ) در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

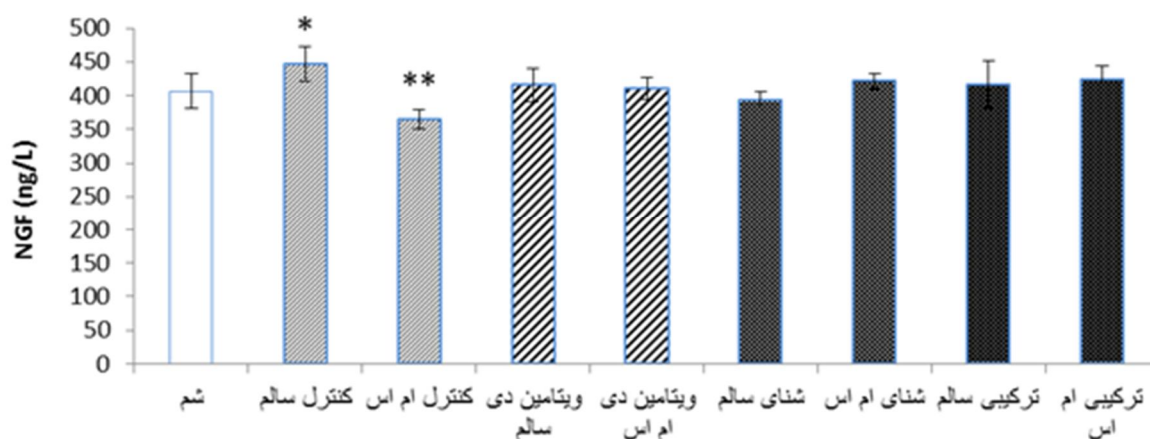
بر اساس یافته‌های جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود که وزن گروه کنترل ام‌اس در مقایسه با گروه کنترل سالم به میزان ۸ درصد کاهش معنی‌داری یافته‌است ( $p=0/003$ ). در مقابل وزن گروه مکمل ام‌اس نسبت به گروه کنترل ام‌اس به میزان ۵ درصد افزایش غیرمعنی‌داری داشته‌است ( $p=0/164$ ). همچنین وزن گروه تمرین شنای ام‌اس نسبت به گروه کنترل ام‌اس به میزان ۹ درصد افزایش معنی‌داری داشته‌است ( $p=0/001$ ). علاوه بر این در گروه و ترکیبی ام‌اس نیز نسبت به گروه کنترل ام‌اس به میزان ۷ درصد افزایش معنی‌داری یافته‌است ( $p=0/016$ ). با توجه به این یافته‌ها به نظر می‌رسد که هر یک از متغیرهای مستقل پژوهش به تنهایی می‌توانند از کاهش وزن ناشی از القاء سم عصبی جلوگیری کنند. همچنین ترکیب این دو متغیر نیز می‌تواند آثار مشابهی بر وزن حیوان داشته باشد.

جدول (۱): میانگین و انحراف معیار وزن گروه‌ها برحسب گرم

نام گروه	میانگین وزن ابتدای پژوهش	میانگین وزن پایان
کنترل سالم	۱۱۰±۲/۴۴۹	۲۰۵/۸±۶/۱۴۰
کنترل ام‌اس	۱۱۰/۶±۱/۸۱۷	۱۹۰±۴/۱۲۳
گروه ششم	۱۱۲/۴±۲/۳۰۲	۲۰۹/۸±۳/۷۶۸
ویتامین دی سالم	۱۱۰/۶±۲/۰۷۴	۲۱۳/۶±۵/۰۲۹
ویتامین دی ام‌اس	۱۱۳/۶±۱/۵۱۷	۲۰۰±۷/۶۱۵
تمرین شنای سالم	۱۰۹/۲±۱/۳۰۴	۲۱۵/۲±۴/۴۳۸
تمرین شنای ام‌اس	۱۱۱/۶±۱/۸۱۷	۲۰۷/۴±۸/۶۷۷
ترکیبی سالم	۱۱۰/۴±۲/۵۱	۲۲۱/۸±۵/۳۱۰
ترکیبی ام‌اس	۱۱۳/۸±۱/۳۰۴	۲۰۳/۶±۴/۵۰۵
مجموع وزن تمام گروه‌ها	۱۱۱/۳±۱/۶۰	۲۰۷/۴±۱۰/۲۴۳

داده‌ها سطح NGF آزمودنی‌های گروه کنترل ام‌اس نسبت به گروه کنترل سالم (۴۴۶/۶۶۹۶±۲۴/۷۹) و گروه ششم (۴۰۶/۶۱۸۷±۲۶/۳۷) به ترتیب به میزان ۲۲ و ۱۲ درصد کاهش داشته است (به ترتیب،  $p=0/001$  و  $p=0/089$ ). اما سطح NGF در گروه ششم و گروه کنترل سالم تفاوت معنی‌داری ندارد ( $p=0/128$ ). این یافته‌ها نشان می‌دهد که القاء EAE (که شامل محلولی از نخاع خوکچه و ادجوانت است) تأثیر زیادی بر این فرآیند داشته اما روغن کنجد که در گروه ششم تزریق شده تأثیر اندک و غیر قابل‌توجهی داشته است.

نمودار ۱ میانگین سطوح NGF را در گروه‌های مختلف پژوهش نشان می‌دهد. درصد تغییرات سطح NGF در گروه مکمل ام‌اس (۴۰۹/۹۴۰۲±۱۵/۹۵) شنای ام‌اس (۴۲۱/۰۰۹۸±۱۱/۳۹) و گروه ترکیبی ام‌اس (۴۲۲/۸۹۷۰±۲۱/۶۵) نسبت به گروه کنترل ام‌اس (۳۶۴/۲۱۲۲±۱۴/۳۵) به ترتیب به میزان ۱۳، ۱۶ و ۱۶ درصد بوده است (به ترتیب،  $p=0/049$  و  $p=0/006$  و  $p=0/004$ ). همچنین سطوح NGF در گروه مکمل ام‌اس نسبت به هر یک از گروه‌های تمرین شنای ام‌اس و ترکیبی ام‌اس به میزان ۳ درصد کاهش یافته است (به ترتیب  $P=0/997$  و  $P=0/990$ ). همچنین بر اساس این



نمودار (۱): میانگین سطوح NGF گروه‌های مختلف پژوهش. (\* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه‌های کنترل ام‌اس و شنای سالم؛ (\*\*)) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه‌های ویتامین دی ام‌اس، شنای ام‌اس، ترکیبی ام‌اس و ترکیبی ام‌اس

ام‌اس به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ( $P=0/049$ ) همچنین در گروه تمرین شنای ام‌اس نیز در مقایسه با گروه کنترل ام‌اس این

نتایج حاصل از آزمون واریانس در نمودار شماره ۱ نشان می‌دهد که سطوح NGF در گروه مکمل ام‌اس در مقایسه با گروه کنترل

پاتل و وایت (۲۰۱۳) باهدف بررسی تأثیر ده روز ورزش اجباری روی ترمیم بر فاکتورهای نوروتروفیک در حیوانات مبتلا به آنسفالومیلیت خودایمن تجربی، انجام شد، محققان به این نتیجه رسیدند که سطوح NGF در گروه‌های ورزشی نسبت به گروه‌های کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (۲۶). همچنین چاه و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه خود تحت عنوان ورزش روی ترمیم باعث بهبود عملکرد شناختی و تسهیل سیگنالینگ فاکتور رشد عصب، به‌وسیله فعال کردن پروتئین کیناز فعال کننده میتوز، در هیپوکامپ موش‌های دیابتی ناشی از القای استرپتوزوتوسین می‌شود، به بررسی اثر ۶ هفته تمرین منظم روی ترمیم بر سطوح NGF، گیرنده تیروزین کیناز (TrKA) و فسفاتیدیل اینوزیتول کیناز-۳ (Pi3-K) پرداختند. محققین در این مطالعه عنوان کردند که ورزش با فعال کردن مسیرهای سیگنال‌دهی  $MAPK/Erk1/2^1$  باعث افزایش سطوح NGF در گروه‌های ورزش دیابتی و ورزش سالم شده است (۱۵). دخیلی و همکاران (۱۳۹۲) در مطالعه خود به بررسی اثر ۶ هفته تمرین استقامتی بر بیان ژن فاکتور رشد عصبی در بخش حسی رت‌های با نوروپاتی دیابت پرداختند. نتایج تحقیق این محققین نشان داد که ۶ هفته تمرین استقامتی به‌طور معنی‌داری باعث افزایش سطوح NGF هم در رت‌های با نوروپاتی دیابت و هم در رت‌های سالم شد. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که سطوح NGF در گروه دیابت تمرینی نسبت به گروه تمرینی سالم بیشتر بوده اما اختلاف بین دو گروه معنی‌دار نبود. محققین در این پژوهش دلایل احتمالی این افزایش را نیاز بیشتر به NGF در بخش حسی رت‌های دیابتی نسبت به رت‌های سالم و نیز مضاعف بودن فشار تمرین در گروه دیابت به دلیل اختلال و آسیب به اعصاب محیطی دانستند. آن‌ها همچنین عنوان کردند که ورزش از طریق کاهش سطح کورتیکو استرون و تقویت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش سطوح NGF می‌شود (۲۷).

با این وجود شولز و همکاران (۲۰۰۴) تحقیقی باهدف بررسی تأثیر تمرین هوازی بر پارامترهای ایمنی - غدد درون ریز، فاکتورهای نوروتروفین، کیفیت زندگی و هماهنگی در بیماران ام‌اس انجام دادند، یافته‌های این محققین نشان داد که هیچ تغییری در سطح NGF طی ۸ هفته تمرین هوازی در بیماران ام‌اس مشاهده نشد. در این مطالعه فاکتورهای ایمنولوژیک (ایمنی)، اندوکرین (غدد درون ریز)، نوروتروفین و همچنین میزان هماهنگی و کیفیت زندگی در طی ۸ هفته تمرین هوازی با دوچرخه اندازه‌گیری شد. اما هیچ تغییر قابل توجهی در پارامترهای اندوکرین و ایمنی یا نوروتروفین‌ها مشاهده نشد (۱۱).

افزایش معنی‌دار بوده است ( $P=0/006$ ). علاوه بر این در گروه ترکیبی ام‌اس نیز در مقایسه با گروه کنترل ام‌اس سطوح NGF به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ( $P=0/004$ ).

## بحث و نتیجه‌گیری

همان‌طور که گفته شد، در مقایسه با گروه کنترل ام‌اس، سطوح پروتئین NGF در هر یک از گروه‌های تمرین شنای ام‌اس، ویتامین D ام‌اس و گروه ترکیبی ام‌اس به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که این افزایش در گروه ترکیبی ام‌اس نسبت به دو گروه دیگر بارزتر بود. لذا نتیجه به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که انجام تمرین ورزشی شنا هم‌زمان با تزریق ویتامین D دارای اثر حفاظتی در برابر بیماری ام‌اس بوده و نسبت به هر کدام از این دو متغیر به تنهایی، بر سطوح NGF تأثیر بیشتری دارد، اگرچه تفاوت این اثر با اثر هر یک از این دو متغیر به تنهایی معنی‌دار نبود؛ که یکی از دلایل احتمالی آن می‌تواند پایین بودن حجم نمونه در پژوهش حاضر باشد. به عبارتی سهم هر دو متغیر مستقل وقتی که با هم ترکیب شدند، موجب تقویت تأثیر ترکیبی آن‌ها نشد. لیکن بر اساس جست و جوی ما تا کنون تحقیق دیگری در رابطه با تأثیر تعاملی ورزش و مکمل ویتامین D بر سطح NGF در بیماران ام‌اس انجام نشده است. سایر مطالعات تنها به بررسی اثر جداگانه هر یک از این دو مداخله بر سطح NGF پرداخته‌اند.

به عنوان مثال در تحقیقی که توسط به انسی و همکاران (۲۰۱۲) باهدف بررسی تأثیر دو نوع پروتکل تمرین استقامتی متفاوت (آبی در مقابل خشکی) بر غلظت سایتوکاین‌ها و نوروتروفین‌ها در طول ۳ هفته کارآزمایی تصادفی کنترل شده در بیماران ام‌اس، انجام شد، تفاوت در غلظت سایتوکاین‌ها و نوروتروفین‌ها، خستگی و شاخص‌های قلبی - تنفسی در پاسخ به ۳ هفته تمرین استقامتی روی چرخ کارسنج یا دوچرخه آبی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتیجه حاصل از این تحقیق بیانگر این موضوع است که تمرین در آب نسبت به خشکی باعث افزایش قابل توجهی در فاکتورهای مذکور از جمله NGF می‌شود (۱۸). همچنین در تحقیق دیگری که توسط گلد و همکاران (۲۰۰۳) تحت عنوان مقادیر سرمی پایه و واکنش‌پذیری فاکتور رشد عصبی (NGF) و فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) به ورزش حاد استاندارد انجام شد، مشخص گردید که مقادیر NGF در بیماران مبتلا به ام‌اس پس از ۳۰ دقیقه فعالیت هوازی مشخص افزایش یافت. محققین در این مطالعه عنوان کردند که سطوح افزایش یافته NGF با شدت بیماری در ارتباط است (۱۴). علاوه بر این در تحقیق دیگری که توسط

<sup>1</sup> mitogen-activated protein kinase /extracellular signal-regulated kinase 1/2

اماس مکانیسم‌های متعددی را مطرح می‌کنند؛ بنابراین اثرات این ویتامین در CNS دیدگاه جدیدی را برای توان درمانی این ویتامین در عرصه سلامت پدید می‌آورد (۳۰). آثار ترکیبی ورزش و مکمل ویتامین D را می‌توان به‌وسیله چند سازوکار توضیح داد. اول اینکه ورزش می‌تواند مسیر تولید NGF را به‌واسطه افزایش انرژی در دسترس سلول عصبی و بلوغ پیش‌سازهای NGF، تسهیل کند. دوم مکمل ویتامین D می‌تواند به‌وسیله مسیرهای هسته‌ای یا کلاسیک و غیر هسته‌ای یا نئوکلاسیک بر بیان NGF در سلول‌های عصبی اثرگذار باشد. علاوه بر این ورزش از راه افزایش بیان گیرنده‌های NGF در سطح سلول، اثربخشی این فاکتور نروتروفیک را افزایش می‌دهد. همچنین مصرف مکمل ویتامین D نیز اثری مشابه در مورد گیرنده P75 دارد (۳۱).

بر اساس یافته‌های حاصل از پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد که پیش‌درمان با استفاده از تمرین شنا سبب حفظ و افزایش سطوح NGF در بافت مغز در برابر تخریب ناشی از سم عصبی ادجوانت می‌شود. همچنین تزریق ویتامین D نیز در برابر آثار تخریبی این سم عصبی، می‌تواند نتایج مشابهی با تمرین شنا داشته باشد و از آنجاکه آثار محافظتی تمرین شنا همراه با تزریق ویتامین D بر سطح NGF نسبت به هر یک از دو متغیر شنا و مکمل بارزتر بود، لذا چنین به نظر می‌رسد که تمرین ورزشی در صورت همراه بودن با ویتامین D، می‌تواند نتیجه مطلوب‌تری به دنبال داشته باشد. از طرفی، با توجه به اثرات متفاوت انواع مختلف تمرینات ورزشی بر سطوح NGF و با توجه به محدودیت‌های پژوهش حاضر از جمله عدم کنترل حجم غذای مصرفی و نیز کمبود منابع تحقیقی در رابطه با موضوع تحقیق (پیش‌درمان)، جهت بررسی نقش حفاظتی تمرینات ورزشی اجباری روی متغیر مذکور، نیاز به مطالعات دیگری است که در آن‌ها شدت‌ها و مدت‌های مختلفی مورد ارزیابی قرار گیرند. در نتیجه، احتمالاً پروتکل مورد استفاده در این مطالعه را می‌توان برای افزایش حفاظت سلول‌های عصبی بافت مغز در برابر عوامل مستعدکننده‌ی بیماری اماس و نهایتاً برای ارتقای سطح سلامت مغز توصیه کرد.

### تشکر و قدردانی

با سپاس به درگاه خداوند متعال، بر خود لازم میدانیم از همکاری صادقانه تمامی افرادی که محققان را در مراحل مختلف اجرای پروتکل تحقیق یاری نموده‌اند، به‌ویژه از مسئولین آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده علوم ورزشی دانشگاه مازندران، صمیمانه سپاسگزار نماییم.

همچنین در تحقیقی که توسط مقدسی و همکاران (۱۳۹۴) تحت عنوان اثر ۸ هفته تمرینات قدرتی بر غلظت پلاسمایی فاکتور رشد عصب و اینترلوکین-۶ زنان مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس انجام شد، محققین به این نتیجه رسیدند که تمرینات قدرتی (به مدت ۸ هفته و ۳ جلسه در هفته) تأثیری بر سطح NGF در بیماران اماس ندارد (۲۰). چنین به نظر می‌رسد که طول دوره تمرین و میزان ناتوانی ناشی از بیماری اماس ممکن است در اختلاف نتایج به‌دست‌آمده مؤثر باشد. علاوه بر این در مطالعه مقدسی و همکاران (۱۳۹۴) اثر تمرین قدرتی به‌عنوان عامل مداخله‌گر بر سطح NGF بیماران اماس مورد ارزیابی قرار گرفت در حالی که در تحقیق حاضر اثر تمرین شنا بررسی شد. از این‌رو به نظر می‌رسد نوع تمرین نیز عامل مؤثری بر پاسخ‌گویی NGF در بیماران اماس باشد. همچنین یکی از دلایل اختلاف نتایج پژوهش حاضر با مطالعات شولز و همکاران (۲۰۰۳) و مقدسی و همکاران (۱۳۹۴) می‌تواند نوع آزمودنی باشد که در مطالعه حاضر از نمونه حیوانی استفاده شد، درحالی که این پژوهشگران در تحقیقات خود از انسان به‌عنوان آزمودنی استفاده کردند. با این‌وجود از آنجاکه مطالعات اندکی در این زمینه صورت گرفته است نیاز به تحقیقات بیشتری برای بررسی این فرضیات ضروری به نظر می‌رسد.

در رابطه با تأثیر ویتامین D نیز می‌توان به مطالعه مسیبی و همکاران (۱۳۸۵) اشاره کرد. در این مطالعه محققین با این نتیجه رسیدند که ویتامین D3 در موش‌های مبتلا به EAE از طریق مهار تولید نیتریک اکساید، تعدیل پاسخ‌های ایمنی و کاهش ارتشاح لکوسیت‌ها به مغز، سبب کاهش شدت بیماری، علائم کلینیکی و تعدیل بیماری می‌گردد (۲۸). همچنین برون جیلان و همکاران (۲۰۰۳) در یک مطالعه مروری به بررسی تأثیر مکمل ویتامین D3 بر سطح NGF در مغز جنین موش پرداختند. این محققین عنوان کردند که افزایش سطوح ویتامین D3 باعث افزایش گیرنده‌های آن در سطح سلول می‌شود که این موضوع به‌طور مستقیم می‌تواند بیان NGF را تحریک کند (۲۹). در هر صورت سازوکار دقیق اثر ویتامین D در جلوگیری از بیماری یا کاهش شدت علائم بالینی بیماری مشخص نیست. پاره‌ای مطالعات نشان داده که ویتامین D3 با اثر ایمونومدولاتوری موجب مهار پاسخ‌های ایمنی می‌شود و معتقدند که ویتامین D می‌تواند از طریق فعال‌سازی سلول‌های الیگودندروسیت موجب بهبود علائم بیماری اماس گردد. همچنین نشان داده شده است که ویتامین D می‌تواند با دخالت در تعادل کلسیم درون‌سلولی از دژنره شدن نرون‌ها که همراه با اختلالات شناختی است، جلوگیری نماید. در هر صورت در خصوص عملکرد ویتامین D در مهار بیماری

## References:

1. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet* 2002; 360(93):648-1221.
2. Karussis D, Karageorgiou C, Vaknin-Dembinsky A, Gowda-Kurkalli B, Gomori JM, Kassir I, et al. Safety and immunological effects of mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol* 2010; 67(10):1187-94.
3. Rolak LA. Multiple sclerosis: it's not the disease you thought it was. *Clin Med Res* 2003; 1(1):57-60.
4. Mosayebi G, Ghazavi A, Payani MA. The effect of vitamin D on the cytokines IL-10 and IFN- $\gamma$  in mice with experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Shaeed Sdoughi Univ Med Sci Yazd* 2007; 15(1): 53-60.
5. Laudiero LB, Aloe L, Levi-Montalcini R, Buttinelli C, Schilter D, Gillessen S, et al. Multiple sclerosis patients express increased levels of  $\beta$ -nerve growth factor in cerebrospinal fluid. *Neuroscience letters* 1992; 147(1):9-12.
6. Miller FD, Kaplan DR. Signaling mechanisms underlying dendrite formation. *Curr Opin Neurobiol* 2003; 13(3):391-8.
7. Ullrich A, Gray A, Berman C, Dull TJ. Human  $\beta$ -nerve growth factor gene sequence highly homologous to that of mouse. *Nature* 1983; 303: 821-5.
8. Bueker ED. Implantation of tumors in the hind limb field of the embryonic chick and the developmental response of the lumbosacral nervous system. *Anat Rec* 1948; 102(3):369-89.
9. Aloe L, Tuveri MA, Carcassi U, Levi-Montalcini R. Nerve growth factor in the synovial fluid of patients with chronic arthritis. *Arthritis Rheum* 1992; 35(3):351-5.
10. Cantorna MT. Vitamin D and its role in immunology: multiple sclerosis, and inflammatory bowel disease. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92(1):60-4.
11. Olliver M, Spelmink L, Hiew J, Meyer-Hoffert U, Henriques-Normark B, Bergman P. Immunomodulatory effects of vitamin D on innate and adaptive immune responses to *Streptococcus pneumoniae*. *J Infect Dis* 2013; 208(9):1474-81.
12. Schwarz S, Leweling H. Multiple sclerosis and nutrition. *Mult Scler* 2005; 11(1):24-32.
13. Hosseini S, Rakhshi N, Abdollah Chalaki N. Vitamin D, the healthy and inflamed ImmuneSystem in Multiple Sclerosis. *J North Khorasan Univ Med Sci* 2013;5(Student Research Committee Supplementary):935-41.
14. Gold SM, Schulz KH, Hartmann S, Mladek M, Lang UE, Hellweg R, et al. Basal serum levels and reactivity of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor to standardized acute exercise in multiple sclerosis and controls. *J Neuroimmunol* 2003; 138(1):99-105.
15. Chae CH, Jung SL, An SH, Park BY, Wang SW, Cho IH, et al. Treadmill exercise improves cognitive function and facilitates nerve growth factor signaling by activating mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase1/2 in the streptozotocin-induced diabetic rat hippocampus. *Neuroscience* 2009;164(4):1665-73.
16. Chae CH, Kim HT. Forced, moderate-intensity treadmill exercise suppresses apoptosis by increasing the level of NGF and stimulating phosphatidylinositol 3-kinase signaling in the hippocampus of induced aging rats. *Neurochem Int* 2009; 55(4):208-13.
17. Chae CH, Lee HC, Jung SL, Kim TW, Kim JH, Kim NJ, et al. RETRACTED: Swimming exercise increases the level of nerve growth factor and stimulates neurogenesis in adult rat hippocampus. *Neuroscience* 2012; 212:30-7.



18. Bansi J, Bloch W, Gamper U, Kesselring J. Training in MS: influence of two different endurance training protocols (aquatic versus overland) on cytokine and neurotrophin concentrations during three week randomized controlled trial. *Mult Scler* 2013;19(5):613–21.
19. Schulz KH, Gold SM, Witte J, Bartsch K, Lang UE, Hellweg R, Reer R, Braumann KM, Heesen C. Impact of aerobic training on immune-endocrine parameters, neurotrophic factors, quality of life and coordinative function in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2004; 225(1):11-8.
20. Moghadasi M, Edalatmanesh MA, Moeini A, Nematollahzadeh mahani M, Arvin H. Effect of 8 weeks resistance training on plasma levels of nerve growth factor and interleukin-6 in female patients with multiple sclerosis. *ISMJ* 2015; 18(3): 527-37.
21. Khezri Sh, Javan M, Baharvand H, Semnani S. Reaction of subventricular zone stem cells to the induction of experimental autoimmune encephalomyelitis in mouse. *Physiol Pharmacol* 2011; 15(2): 229-240. (Persian)
22. Sherlin DG, Verma RJ. Vitamin D ameliorates fluoride-induced embryotoxicity in pregnant rats. *Neurotoxicol Teratol* 2001; 23(2):197-201.
23. Mirdar Harijani Sh, Musavi N, Hamidian GhR, oliaei HA. Effect of Endurance Swimming Training and Silymarin Treatment on Changes in Liver Apoptotic Index in Pregnant Rats Exposed to Cadmium. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2014; 13(8): 705-14. (persian)
24. Pazhoohan S, Satarian L, Asghari A-A, Salimi M, Kiani S, Mani A-R, et al. Valproic Acid attenuates disease symptoms and increases endogenous myelin repair by recruiting neural stem cells and oligodendrocyte progenitors in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neurodegener Dis* 2014;13(1):45–52.
25. Mosayebi G, Ghazavi A, Salehi H, Payani MA, Khazae MR. Effect of sesame oil on the inhibition of experimental autoimmune encephalomyelitis in C57BL/6 mice. *Pak J Biol Sci* 2007;10(11):1790–6.
26. Patel DI, White LJ. Effect of 10-day forced treadmill training on neurotrophic factors in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Appl Physiol Nutr Metab* 2013;38(2):194–9.
27. Dakhili AB, Gharakhanlou R., Movaheddin M, Rahmati M, Keshavarz M. The effect of 6 weeks endurance training on gene expression of nerve growth factor in sensory Spinal Cord of rates with Diabetic Neuropathy. *Iran J Diabetes Metab* 2014; 13(3): 44-9.
28. Mosayebi G, Ghazavi A, Salehi H. The effect of vitamin D on leukocyte infiltration into the brain of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Lorestan Univ Med Sci* 2006; 8(3): 85-91.
29. Brown J, Bianco JI, McGrath JJ, Eyles DW. 1,25-dihydroxyvitamin D3 induces nerve growth factor, promotes neurite outgrowth and inhibits mitosis in embryonic rat hippocampal neurons. *Neurosci Lett* 2003;343(2):139–43.
30. Tarbali S, Khezri Sh. The study of spatial working and reference memory in experimental model of multiple sclerosis after treatment with vitamin D3. *Razi J Med Sci* 2015; 22(136): 46-58.
31. Fernandes de Abreu, D. Eyles, and F. Feron, Vitamin D, a neuroimmunomodulator: implication for neurodegenerative and autoimmune diseases. *Psychoneuroendocrinology* 2009; 34: 265-77.

## THE EFFECT OF SWIMMING EXERCISE WITH INJECTIONS OF VITAMIN D SUPPLEMENTATION ON THE LEVELS OF NERVE GROWTH FACTOR (NGF) IN THE BRAIN TISSUE OF FEMALE RATS WITH EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE ENCEPHALOMYELITIS

Hamid Hosseini<sup>1</sup>, Zia Fallah-Mohammadi<sup>2\*</sup>, Farhad Valizadegan<sup>3</sup>

Received: 25 Nov, 2016; Accepted: 28 Jan, 2017

### Abstract

**Background & Aims:** This study aimed to determine the pretreatment effect of 6 week swimming exercise with injections of vitamin D supplementation on the levels of Nerve Growth Factor (NGF) in female Lewis rats.

**Materials & Methods:** This experimental in vitro study that was conducted on female Lewis rats. In this study, animals were randomly divided into 9 groups (n=5 per group), including sham, EAE control, vitamin D healthy, EAE vitamin D, healthy swimming, EAE swimming, EAE combination and healthy combination. Swimming training program included one hour daily for 6 weeks and 5 days a week. In addition, supplementary groups received vitamin D supplementation (2ng/0.2mg sesame oil/every two days) intraperitoneally for 2 weeks. NGF levels were measured by ELISA.

**Results:** The results of this study indicated that NGF levels in each group of EAE vitamin D and EAE swimming significantly increased compared with control group (respectively  $P=0.049$ ,  $P=0.006$ ). Also NGF levels in EAE combination group significantly increased compared with control group ( $p=0.004$ ). Furthermore, the weight of EAE vitamin D group, EAE swimming training group and EAE combination group increased compared with control that these only in EAE vitamin D group were not significant (respectively  $P=0.164$ ,  $P=0.001$ ,  $P=0.016$ ).

**Conclusion:** From the results it can be concluded the factors effective in neuroprotection are pretreatment with medium-term training, swimming and injection of vitamin D, and increasing the levels of NGF. Hence, it seems that swimming is a good way to enhance the protection of nerve cells in the brain against MS risk factors and promotion of brain health.

**Keywords:** Multiple sclerosis, Vitamin D, Swimming, Nerve growth factor

**Address:** Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

**Tel:** +989111127633

**Email:** Ziafalm@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2017; 28(1): 73 ISSN: 1027-3727

<sup>1</sup> M.Sc. Student in Exercise Physiology, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran (Corresponding Author)

<sup>3</sup> Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran