

Original Article

The effect of eight weeks of moderate-intensity aerobic exercise on the expression of IRAK4, MRP8, and TNF- α proteins in the hippocampus of epileptic rats

Mohammad Reza Kordi ^{1*}, Khadijeh Ebadizal², Siroos Choobineh¹,
Amir Hossein Saffar Kohne Quchan¹

¹ Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran

² Exercise Physiology, Aras International Campus, University of Tehran, Tabriz, Iran

Abstract

Background and Purpose: Epilepsy is a chronic neurological disorder and the fourth most common neurological disorder worldwide, in which an individual experiences two or more seizures without a specific cause during their lifetime. Inflammation is one of the important factors in exacerbating epilepsy, increasing neuronal excitability, and triggering seizure attacks. The aim of this study was to investigate the effect of eight weeks of moderate-intensity aerobic exercise on the levels of MRP8, TNF- α , and IRAK4 proteins in the hippocampus of epileptic rats.

Materials and Methods: In this regard, 32 male Wistar rats were divided into four groups, including Control (n=8), Sham (n=8), Epilepsy (n=8), and Epilepsy + Moderate-intensity aerobic exercise (n=8). After one week of adaptation to the laboratory environment, epilepsy was induced via intrahippocampal injection of one microgram of kainic acid using the stereotaxic method. Epilepsy induction was confirmed by using the Racine behavioral scale. The exercise group performed moderate-intensity aerobic exercises for 40 minutes per session, five days a week, for eight weeks. Forty eight hours after the last training session, the rats were anesthetized, and their hippocampal tissue was extracted. The levels of Myeloid-related protein 8 (MRP8), Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α), and Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase 4 (IRAK4) proteins were measured using the Western blot technique. To examine the differences in MRP8, IRAK4, and TNF- α levels between groups, one-way ANOVA and Tukey's post-hoc test were used. Furthermore, to evaluate differences in seizure frequency, an independent t-test was used.

Results: The results showed that epilepsy induction significantly increased the expression of IRAK4 ($p < 0.001$), MRP8 ($p < 0.001$), and TNF- α ($p < 0.001$) compared to the sham group. Moderate-intensity aerobic exercise significantly decreased the expression of IRAK4 ($p = 0.001$), MRP8 ($p \leq 0.001$), and TNF- α ($p = 0.001$) in the hippocampus of rats, as well as significantly reduced seizure frequency ($t = 2.80$, $p = 0.01$) compared to the epilepsy group.

* Corresponding Author's E-mail: mrkordi@ut.ac.ir

<https://doi.org/10.48308/joeppa.2025.240682.1377>

Received: 14/07/2025

Revised: 13/09/2025

Accepted: 04/10/2025



Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

Conclusion: This study indicated that moderate-intensity aerobic exercise can play an effective role in reducing neuroinflammation and improving epilepsy by decreasing inflammatory factors MRP8, IRAK4, and TNF- α in the hippocampus. Therefore, regular aerobic exercise, as a low-cost and safe non-pharmacological intervention, can be beneficial in the management of epilepsy.

Keywords: Inflammation, Seizures, Regular exercise, Central nervous system

How to cite this article: Kordi, M. R., Ebadizal, Kh., Choobineh, S., Saffar Kohneh Quchan, A.H. The effect of eight weeks of moderate-intensity Aerobic Exercise on the Expression of IRAK4, MRP8, and TNF- α Proteins in the Hippocampus of Epileptic Rats. J Sport Exerc Physiol. 2026;19(2):1-14.

تأثیر هشت هفته فعالیت ورزشی هوازی با شدت متوسط بر بیان پروتئین‌های IRAK4، MRP8 و TNF α در هیپوکمپ موش‌های صحرایی مبتلا به صرع

محمدرضا کردی^{۱*}، خدیجه عبادی زال^۲، سیروس چوبینه^۱، امیرحسین صفار کهنه قوچان^۱

^۱ گروه فیزیولوژی فعالیت ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، ایران

^۲ فیزیولوژی ورزشی، پردیس ارس دانشگاه تهران، تبریز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: صرع یک اختلال مزمن نورولوژیکی و چهارمین اختلال عصبی شایع جهان است که در آن فرد در طول زندگی خود دو یا چند تشنج بدون علت مشخص را تجربه می‌کند. التهاب یکی از عوامل مهم در تشدید وضعیت صرع و افزایش تحریک‌پذیری نورون‌ها و بروز حملات تشنجی است. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین هوازی با شدت متوسط بر سطوح پروتئین‌های MRP8، TNF- α و IRAK4 در هیپوکمپ موش‌های صحرایی مبتلا به صرع انجام شد.

مواد و روش‌ها: بدین منظور ۳۲ سر موش صحرایی نژاد ویستار به چهار گروه شامل کنترل (n=۸)، شم (n=۸)، صرع (n=۸) و صرع+ تمرین هوازی با شدت متوسط (n=۸) جایگزین شدند. پس از گذشت یک هفته از دوره سازگاری حیوانات با محیط آزمایشگاه، القای صرع از طریق تزریق درون‌هیپوکمپ کاینیک اسید به میزان یک میکروگرم با استفاده از روش استریوتاکسی انجام شد. برای ارزیابی موفقیت القای صرع، از مقیاس رفتاری راسین استفاده شد. گروه تمرین، به مدت هشت هفته، پنج روز در هفته و در هر جلسه به مدت ۴۰ دقیقه تمرین هوازی با شدت متوسط را انجام دادند. در پایان دوره تمرینی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه، موش‌های صحرایی بی‌هوش شده و بافت هیپوکمپ آن‌ها استخراج شد. سطوح پروتئین‌های TNF- α ، MRP8 و IRAK4 با استفاده از روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد. کلیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و برای بررسی تفاوت سطوح MRP-8، IRAK-4 و TNF- α بین گروه‌ها، از آزمون پارامتریک آنوای یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. همچنین، برای بررسی تفاوت نرخ تشنج‌ها، از آزمون تی مستقل در سطح معناداری ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج: نتایج القای صرع موجب افزایش بیان IRAK4 ($P < 0/0001$)، MRP8 ($P < 0/0001$) و TNF- α ($P < 0/0001$) در مقایسه با گروه شم شد. فعالیت ورزشی هوازی با شدت متوسط در مقایسه با گروه صرع بیان IRAK4 ($P = 0/001$)، MRP8 ($P \leq 0/0001$) و TNF- α ($P = 0/001$) در هیپوکمپ موش‌های صحرایی و نرخ تشنج‌ها ($t = 2/80$ ، $P = 0/01$) را به‌طور معنادار کاهش داد.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد تمرین هوازی با شدت متوسط می‌تواند با کاهش عوامل التهابی MRP8، IRAK4 و TNF- α در هیپوکمپ، نقش مؤثری در کاهش التهاب عصبی و بهبود وضعیت صرع ایفا کنند. بنابراین، فعالیت ورزشی هوازی منظم به‌عنوان یک مداخله غیردارویی کم‌هزینه و ایمن می‌تواند در مدیریت صرع سودمند باشد.

واژه‌های کلیدی: التهاب، تشنج، دستگاه عصبی مرکزی، فعالیت ورزشی منظم.

نحوه استناد به این مقاله: کردی م، عبادی زال خ، چوبینه س، صفار کهنه قوچان ا. تأثیر هشت هفته فعالیت ورزشی هوازی با شدت متوسط بر بیان پروتئین‌های IRAK4، MRP8 و TNF α در هیپوکمپ موش‌های صحرایی مبتلا به صرع. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۵؛ ۱۹(۲): ۱-۱۴.

* رایانامه نویسنده مسئول: mrkordi@ut.ac.ir

مقدمه

سرع یک اختلال مزمن نورولوژیکی است که با بروز دو یا چند تشنج بدون علت مشخص در طول زندگی فرد شناخته می‌شود. تشنج یک رویداد گذرای نورولوژیکی (عصب‌شناختی) است که به دلیل تخلیه غیرطبیعی و همزمان فعالیت الکتریکی نورون‌ها در مغز رخ می‌دهد. این پدیده می‌تواند به شکل‌های گوناگونی از جمله حرکتی، حسی، شناختی یا رفتاری بروز کند و اغلب با اختلالات گذرای هوشیاری همراه است (۱). وقوع و بروز پیایی تشنج‌ها افزون بر ایجاد آسیب نورونی، به تغییرات پایدار در شبکه‌های عصبی منجر می‌شود که در نهایت فرایند سرع‌زایی را تقویت می‌کند (۲). امروزه بیماری سرع به عنوان چهارمین اختلال شایع عصبی در جهان بیش از ۵۰ میلیون نفر را تحت تأثیر قرار داده و نرخ برآوردی مرگومیر آن هزار نفر در سال در جهان است. سرع لوب گیجگاهی میانی^۱ (MTLE) از شایع‌ترین انواع سرع است و بیشترین پتانسیل را برای مقاومت دارویی دارد. اگرچه درمان‌های دارویی با هدف کاهش تحریک‌پذیری نورونی طراحی شده‌اند، اما اثربخشی محدود و عوارض جانبی چشمگیری دارند، از جمله اختلال در عملکرد شناختی، کاهش تراکم استخوان و تراتوژنز در زنان در سنین باروری. افزون بر این، حدود ۳۰ درصد از بیماران مبتلا به سرع به درمان‌های دارویی پاسخ نمی‌دهند، که لزوم استفاده از رویکردهای مکمل و غیردارویی را برجسته می‌سازد (۳). یافته‌های پژوهشی فراوانی التهاب عصبی را به عنوان سازوکاری کلیدی در پاتوژنز سرع، تداوم و افزایش شدت تشنج‌ها معرفی کرده‌اند. در این فرایند، فعال‌سازی سلول‌های گلیال به ویژه آستروسیت‌ها و میکروگلیا، به افزایش تولید و ترشح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی نظیر اینترلوکین-۱ β (IL-1 β)، اینترلوکین-۶ (IL-6) و عامل نکروز تومور آلفا (TNF- α) منجر می‌شود. یکی از مسیرهای مهم در تنظیم این پاسخ‌های التهابی، مسیر

پیام‌رسانی گیرنده شبه‌تول (TLRs²) به ویژه TLR4 است که در سلول‌های دستگاه عصبی مرکزی از جمله نورون‌ها، آستروسیت‌ها و میکروگلیا بیان می‌شود. فعال شدن TLR4 با جذب MyD88 و IRAK4 به القای عوامل رونویسی مانند عامل هسته‌ای NF- κ B^۳ منجر می‌شود که توانایی تحریک ژن‌های مختلف پیش‌التهابی مانند ژن‌های کدکننده سایتوکاین‌ها^۴، کموکاین‌ها^۵، پروتئین‌های دستگاه کمپلمان^۶، سیکلواکسیژناز-۲^۷ (COX-2) و نیتریک اکسید سنتاز القایی^۸ (iNOS) را دارد. پروتئین وابسته به میلونید^۸ (MRP8)، به عنوان لیگاند درون‌زاد TLR4 با فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی MRP8/TLR4/NF- κ B، نقش مهم و ارزنده‌ای در تشدید پاسخ‌های التهابی ایفا می‌کند. کنگ^{۱۰} و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که قرار گرفتن TLR4 در معرض MRP8، به افزایش چشمگیر بیان این گیرنده و همچنین افزایش ترشح سایتوکاین‌های التهابی نظیر TNF- α ، IL-1 α و IL-1 β منجر می‌شود، عواملی که پایین‌دست این مسیر قرار دارند. این سایتوکاین‌ها می‌توانند گیرنده NMDA را فعال کنند و موجب افزایش جریان کلسیم شوند که این امر به بیش‌برانگیختگی نورونی و در نهایت افزایش مرگ سلولی وابسته به گیرنده NMDA منجر می‌شود (۷-۴). در این سال‌ها، فعالیت بدنی منظم به عنوان یک مداخله مکمل در مدیریت و مهار بسیاری از بیماری‌های مزمن، از جمله سرع، مورد توجه قرار گرفته است (۸). پژوهش‌های انسانی و حیوانی نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی منظم می‌تواند از طریق کاهش التهاب عصبی^{۱۱} (۹)، بهبود وضعیت روانی (۱۰)، بهبود حافظه و یادگیری و افزایش کیفیت زندگی تأثیرات مثبتی بر مبتلایان به سرع داشته باشد (۱۱-۱۳). افزون بر این، مزایای عمومی تمرین هوازی برای بیماران مبتلا به سرع می‌تواند مشابه افراد سالم باشد، مانند افزایش کار

و ظرفیت هوازی بیشینه، کاهش ضربان قلب، بهبود عملکرد قلبی-عروقی، بهبود عملکرد شناختی، کاهش وزن، افزایش سلامت استخوان و ... (۱۴). پژوهش دلیما روزا^{۱۲} و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد که دو هفته تمرین هوازی با شدت متوسط، چه به تنهایی و چه در ترکیب با پردنیزولون، به کاهش شدت و فراوانی تشنج و همچنین کاهش سطوح IL-1 β و TNF α در قشر مغز موش‌های صحرایی صرعی منجر می‌شود؛ با این همه، این تأثیرات در ناحیه هیپوکامپ دیده نشد (۱۵). دسوزا^{۱۳} و همکاران (۲۰۲۲) در پژوهشی نشان دادند که تمرین هوازی، در صورت انجام به مدت چهار هفته پیش از القای صرع با پیلوکارپین، می‌تواند آستانه بروز صرع و تشنج را افزایش دهد. همچنین ادامه تمرین هوازی به مدت هشت هفته پس از القای صرع سبب کاهش التهاب عصبی از راه کاهش سطوح TNF- α و IL-1 β در هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به صرع می‌شود (۱۴). یافته‌های یک پژوهش انسانی نیز نشان داد که تمرین هوازی و مقاومتی در بیماران صرع، موجب بهبود اتصال عملکردی مغز، افزایش حافظه و افزایش قدرت ارادی می‌شود (۱۶). چکالاروا^{۱۴} و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که تمرین استقامتی روی نوار گردان به مدت چهار هفته می‌تواند حساسیت به تشنج و اختلال شناختی ناشی از تزریق اسید کاینیک را در موش‌های صحرایی کاهش دهد (۱۷). همچنین دا سیلوا^{۱۵} و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که پیش‌شرطی‌سازی با تمرین هوازی در موش‌های ۲۱ روزه که تا شصتمین روز به فعالیت بدنی ادامه دادند، تأثیرات محافظتی در برابر صرع القاشده با پیلوکارپین دارد. یافته‌ها نشان داد که موش‌های تمرین‌دیده، علائم خفیف‌تری از صرع را تجربه کردند و دوره نهفتگی تشنج در آن‌ها به‌طور معناداری افزایش یافته بود (۱۸). بر اساس یافته‌های پیشین تمرین هوازی با شدت متوسط، برخلاف شدت‌های بسیار بالا یا پایین، بیشترین تعادل

میان تأثیرات ضدالتهابی و ایمنی ورزشی را فراهم می‌کند. تمرین شدید می‌تواند سبب افزایش گذرای نشانگرهای التهابی نظیر IL-6 و CRP شود، درحالی‌که شدت متوسط موجب کاهش پایدار TNF- α و IL-1 β و بهبود نیمرخ التهابی می‌شود (۱۵، ۱۹، ۲۰). اگرچه نقش ضدالتهابی تمرین هوازی در زمینه صرع تا حدی اثبات شده، اما اثر آن بر مسیرهای مولکولی وابسته به التهاب، به‌ویژه MRP8، IRAK4 و TNF- α در هیپوکامپ هنوز به‌طور دقیق بررسی نشده است. با توجه به نقش حیاتی این مسیرها در التهاب عصبی و مقاومت دارویی در صرع، شناسایی پاسخ آن‌ها به مداخلات ورزشی می‌تواند راهکارهای جدیدی را در مهار و مدیریت صرع فراهم کند. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین ورزشی هوازی با شدت متوسط (MICT) بر سطوح پروتئین‌های MRP8، IRAK4 و TNF- α در الگوی حیوانی صرع انجام شد.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: ۳۲ سر موش صحرایی نژاد ویستار با میانگین سنی شش تا هشت هفته و میانگین وزنی ۱۴/۹۶ $\pm$ ۲۲۶/۶۲ گرم از مؤسسه انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. این پژوهش توسط کمیته اخلاق دانشکده علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه تهران تأیید شد. حیوانات به‌صورت تصادفی در چهار گروه جایگزین شدند: گروه کنترل (هشت سر)، گروه مبتلا به صرع (هشت سر)، گروه مبتلا به صرع همراه با تمرین هوازی با شدت متوسط^{۱۶} (MICT، هشت سر) و گروه شم (هشت سر). حیوانات در شرایط کنترل‌شده شامل دمای ۲۲ تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵ تا ۶۵ درصد و چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. دسترسی به آب و غذای استاندارد نیز به‌صورت آزادانه برای آن‌ها فراهم بود.

روش اجرای پژوهش: پس از گذشت یک هفته از دوره

سازش و هم‌هوایی حیوانات با محیط آزمایشگاه، القای صرع با تزریق درون‌هیپوکمپ^{۱۷} کاینیک اسید به مقدار یک میکروگرم با استفاده از روش استریوتاکیسیک^{۱۸} انجام شد. برای ارزیابی موفقیت القای صرع، از مقیاس رفتاری راسین^{۱۹} استفاده شد. در صورت القای موفق، حیوان طی ۳۰ تا ۴۰ دقیقه پس از تزریق، نخستین حمله تشنجی را نشان می‌داد. تنها یکی از حیوانات پس از القا تلف و نرخ مرگ‌ومیر ناشی از القا برابر با ۰/۳ درصد محاسبه شد. شدت حملات بر پایه مقیاس راسین امتیازدهی شد: مرحله اول: خیره شدن؛ مرحله دوم: حرکات خودکار صورت، مانند لرزش (لرزش سگ خیس)، بو کشیدن (حرکات دماغ)، ترشح بزاق، جویدن و حرکات سر؛ مرحله سوم: همه رخدادها، مرحله دوم به همراه کلونوس اندام جلویی و لرزیدن؛ مرحله چهارم: لرزیدن‌ها و کلونوس اندام جلویی به‌طور پیاپی و افتادن؛ مرحله پنجم: تشنج‌های تونیک-کلونیک به همراه دویدن (۲۱).

تمرین به مدت هشت هفته به‌صورت تداومی و با شدت متوسط، با اقتباس از تحقیق آریدا^{۲۰} و همکاران (۲۰۰۴)، طراحی و اجرا شد. به‌منظور تعیین بیشینه سرعت دویدن^{۲۱}، ابتدا حیوانات به مدت پنج دقیقه با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه و شیب صفر درصد گرم شدند. سپس سرعت نوار گردان هر سه دقیقه به مقدار سه متر بر دقیقه افزایش یافت تا زمانی که حیوان از ادامه دویدن خودداری کرد. تمرین هوازی به‌صورت پنج جلسه در هفته و هر روز ساعت ۱۱ صبح انجام می‌شد. به‌منظور انجام تمرین به‌صورت پیشرونده، آزمون تعیین V_{max} یک بار پیش از شروع تمرین (هفته صفر) و یک‌بار در پایان هفته چهارم انجام گرفت و سرعت تمرین بر اساس نتایج جدید تنظیم شد. تمرین تداومی نیز در هر جلسه به مدت ۴۰ دقیقه بدون وقفه اجرا می‌شد. مرحله گرم کردن نیز شامل پنج دقیقه دویدن اولیه مطابق با روش ریکاردو آریدا بود (۲۲).

پایش نرخ تشنج: فراوانی تشنج‌ها دو بار ارزیابی شد؛ یک بار در هفته چهارم و بار دیگر در هفته هشتم، از ساعت شش صبح تا شش عصر. پنج نیروی آموزش‌دیده به‌طور پیوسته و مداوم قفس‌های موش‌ها را زیر نظر داشتند و همه مشاهده‌گران نسبت به گروه‌های تجربی نابینا بودند. شدت تشنج‌ها بر اساس مقیاس اصلاح‌شده راسین، مطابق با توصیفات پیشین، ثبت شد.

روش‌های آزمایشگاهی: به‌منظور رفع آثار حاد ناشی از تمرین، ۴۸ ساعت پس از اتمام تمرین، حیوانات با تزریق ترکیب زایلازین (سه تا پنج میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش و سپس به‌منظور تشریح و برداشت بافت آماده شدند. پس از خارج‌سازی مغز از جمجمه، ناحیه هیپوکامپ جدا شده و برای بررسی در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به‌منظور استخراج پروتئین، بافت هیپوکمپ نمونه‌ها در بافر لیز حاوی مهارکننده پروتئاز همگن‌سازی شد و پس از نگهداری در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، با سانتریفیوژ (۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، ۱۵ دقیقه، چهار درجه سانتی‌گراد) محلول بالایی جمع‌آوری شد. غلظت پروتئین با استفاده از روش BCA تعیین شد. برای انجام وسترن بلات، ۵۰ میکروگرم از پروتئین‌های دناتوره‌شده در ژل پلی‌آکریل‌آمید (SDS-PAGE) بارگذاری و بر اساس وزن مولکولی از یکدیگر جدا شدند. سپس پروتئین‌ها به غشای PVDF منتقل شدند. برای جلوگیری از اتصال غیراختصاصی، غشا به مدت یک ساعت در محلول مسدودکننده حاوی ۵ درصد آلبومین سرم گاوی (BSA) در بافر TBST انکوبه شد. سپس غشاها با آنتی‌بادی‌های اولیه اختصاصی عوامل MRP8، $TNF-\alpha$ و IRAK4 (طبق رقت پیشنهادی شرکت سازنده، sigma-Aldrich) به مدت یک شب در دمای چهار درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از شست‌وشو، آنتی‌بادی ثانویه کونژوگه با HRP افزوده شده و

(شکل ۱).

MRP-8

نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که بین گروه‌های پژوهشی تفاوت معناداری در متغیر MRP8 وجود دارد ($P < ۰/۰۰۰۱$ ، $F = ۱۸۴/۰$). آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان پروتئین MRP-8 در گروه صرع در مقایسه با گروه شم ($P < ۰/۰۰۰۱$) و گروه کنترل ($P < ۰/۰۰۰۱$) به‌طور چشمگیری بالاتر بود. همچنین MICT متوسط موجب کاهش معنادار MRP8 در مقایسه با گروه صرع ($P < ۰/۰۰۰۱$) شد که بیانگر اثر تعدیلی فعالیت ورزشی بر این نشانگر التهابی است (شکل ۲).

TNF- α

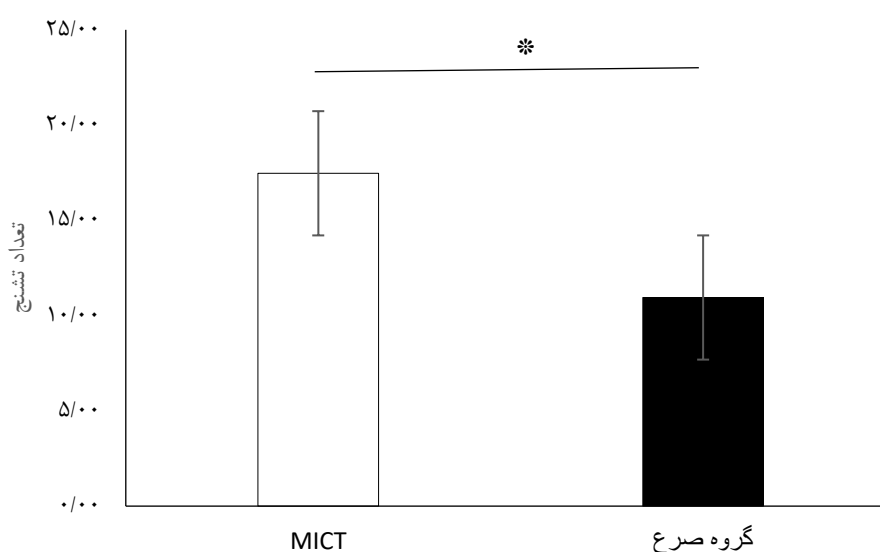
نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که بین گروه‌های پژوهشی تفاوت معناداری در متغیر TNF- α وجود دارد ($P < ۰/۰۰۰۱$ ، $F = ۶۰/۵۷$). آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان پروتئین TNF- α در گروه صرع در مقایسه با گروه شم ($P < ۰/۰۰۰۱$) و گروه کنترل ($P < ۰/۰۰۰۱$) به‌طور چشمگیری بالاتر بود. همچنین MICT متوسط موجب کاهش معنادار TNF- α در مقایسه با گروه صرع ($P = ۰/۰۰۱$) شد (شکل ۳).

انکوباسیون به مدت یک ساعت در دمای اتاق انجام شد. آشکارسازی باندهای پروتئینی با استفاده از روش نورتابی شیمیایی (ECL) صورت گرفت. شدت باندهای مشاهده‌شده با استفاده از نرم‌افزار ImageJ تحلیل و مقادیر نسبی هر پروتئین با نرمال‌سازی نسبت به β -actin به‌عنوان کنترل داخلی محاسبه شد.

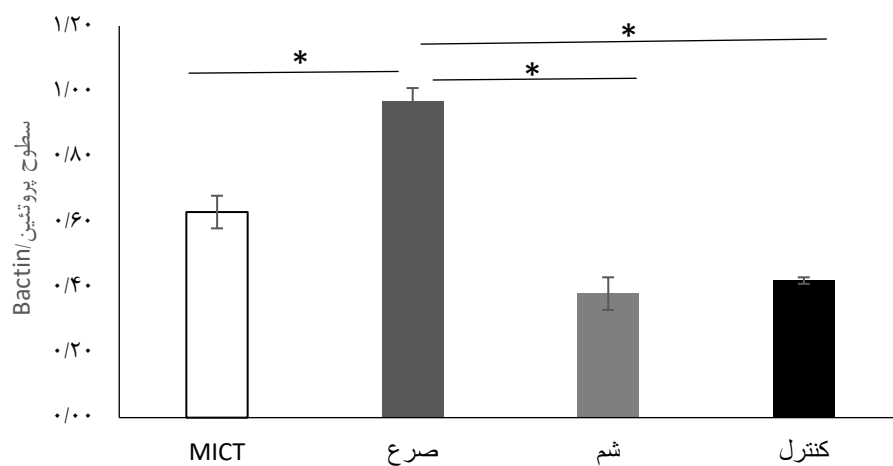
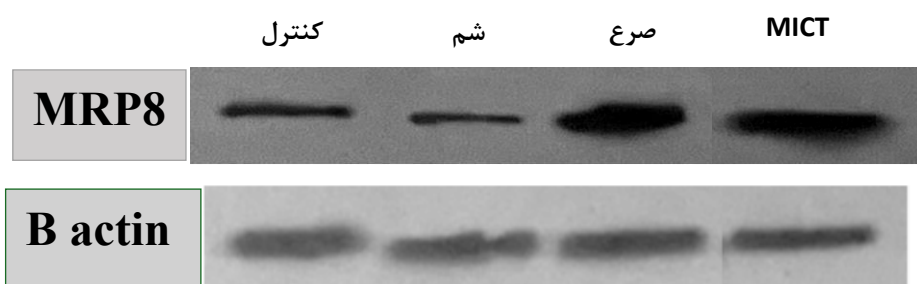
تحلیل آماری: در این پژوهش از میانگین^{۲۲} و انحراف استاندارد^{۲۳} ($\text{Mean} \pm \text{SD}$) برای توصیف داده‌ها استفاده شد، وضعیت هنجار داده‌ها با آزمون شاپیروویلیک^{۲۴} و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون^{۲۵} بررسی شد. برای بررسی تفاوت سطوح MRP8، IRAK4 و TNF- α در بین گروه‌ها از آزمون پارامتریک آنوای یکطرفه و برای مقایسه دو به دو از آزمون تعقیبی توکی سطح معناداری ۰/۰۵ استفاده شد. همه محاسبات با نرم‌افزار SPSS21 انجام شد.

نتایج**نرخ تشنج**

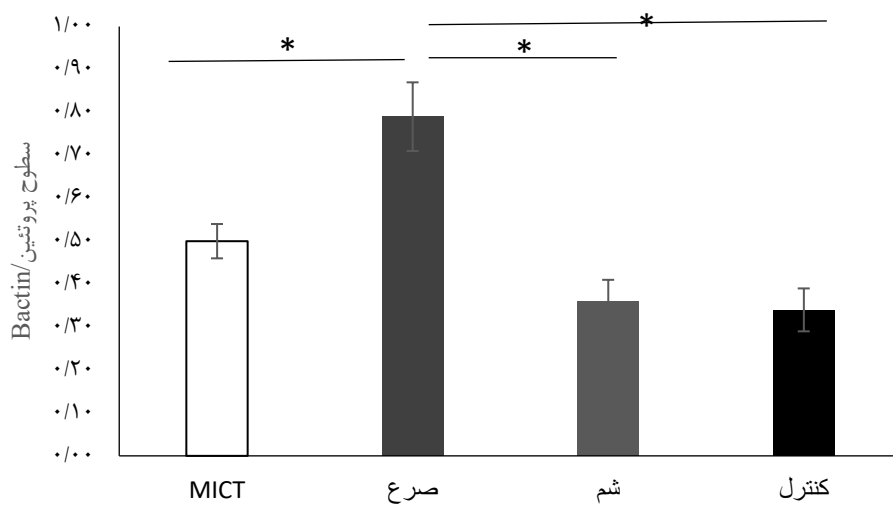
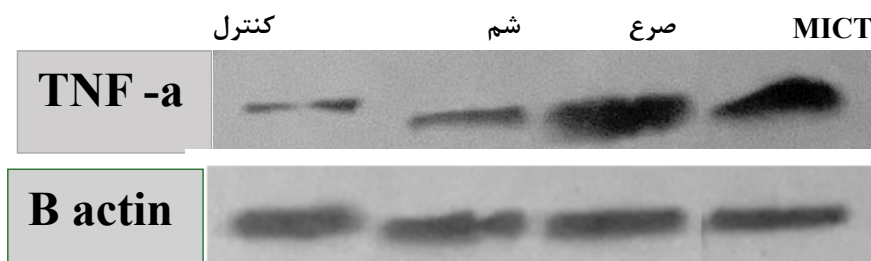
یافته‌های حاصل از آزمون t مستقل نشان داد که فعالیت هوازی با شدت متوسط در مقایسه با گروه صرع، موجب کاهش معنادار در نرخ تشنجه‌ها شد ($t = ۲/۸۰$ ، $P = ۰/۰۱$).



شکل ۱. میانگین تشنجه‌ها در هفته هشتم دو گروه صرع و MICT



شکل ۲. تغییرات سطوح بیان پروتئین MRP-8 در هیپوکمپ

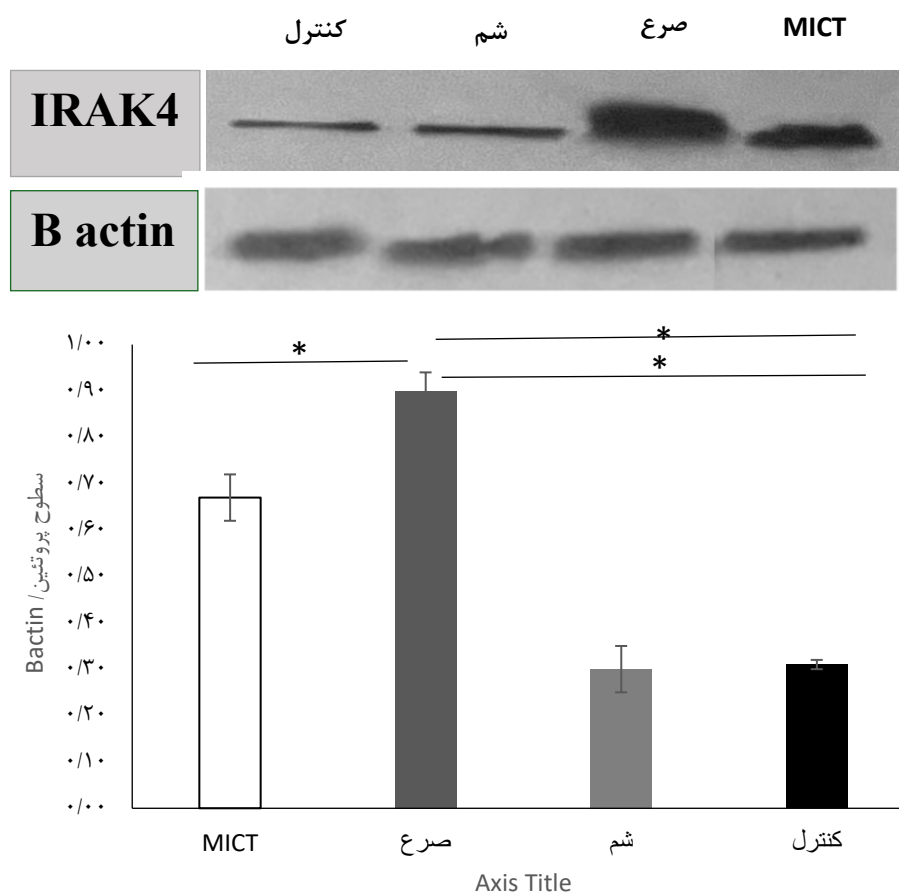


شکل ۳. تغییرات بیان پروتئین TNF-a در هیپوکمپ

IRAK4

نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که بین که بین گروه‌های پژوهشی تفاوت معناداری در متغیر IRAK4 وجود دارد ($F = ۸۹/۷۷$ ، $P < ۰/۰۰۰۱$). بررسی نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان پروتئین

IRAK4 در گروه صرع در مقایسه با گروه شم ($P < ۰/۰۰۰۱$) و گروه کنترل ($P < ۰/۰۰۰۱$) به‌طور چشمگیری بالاتر بود. همچنین MICT موجب کاهش معنادار IRAK4 در مقایسه با گروه صرع ($P = ۰/۰۰۱$) شد (شکل ۴).



شکل ۴. تغییرات بیان پروتئین IRAK4 در هیپوکمپ

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد که القای بیماری صرع با استفاده از کاینیک اسید موجب افزایش معنادار سطوح پروتئین‌های MRP8، IRAK4 و $TNF-\alpha$ در بافت هیپوکمپ موش‌های صرعی شد. همچنین یکی از یافته‌های کلیدی این پژوهش، افزایش نرخ تشنج‌ها در موش‌های صحرایی صرعی است که با افزایش نشانگرهای التهابی همزمان شد

که نشان می‌دهد، افزایش التهاب عصبی نقش مهمی در تشدید و تداوم بیماری صرع دارد. این افزایش نشانگرهای التهابی با فعال‌سازی دستگاه ایمنی ذاتی و مسیرهای التهابی شناخته‌شده در پاتوفیزیولوژی صرع همسوست (۶). یکی از مهم‌ترین سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در این زمینه، $TNF-\alpha$ است که با اثرگذاری بر سد خونی مغزی (BBB)، افزایش تحریک‌پذیری نورونی و تشدید فشار اکسایشی نقش

مهمی در بروز و گسترش تشنج دارد. این سایتوکاین همچنین تعادل تحریک-مهار نورونی را با افزایش انتقال گلوتامات از طریق گیرنده‌های AMPA و NMDA و کاهش انتقال مهاری از طریق گیرنده‌های GABA_A مختل می‌کند (۲۳). پژوهش‌های فراوانی از جمله پژوهش جیا^{۲۶} و همکاران (۲۰۲۲) نشان داده‌اند که القای صرع با کاینیک اسید به افزایش بیان TNF- α در هیپوکمپ منجر می‌شود که با نتایج این پژوهش همسوست (۲۴).

در این مسیر التهابی، TLR4 نقش کلیدی دارد. MRP8 یکی از لیگاندهای درون‌زای TLR4، فعال‌سازی این گیرنده را آغاز می‌کند و به فعال شدن IRAK4 در کمپلکس MyD88 منجر می‌شود. این فرایند مسیرهای پایین‌دستی شامل MAPK، TRAF6 و NF- κ B را فعال می‌کند و بیان ژن‌های التهابی مانند TNF- α ، IL-1 β و IL-6 را افزایش می‌دهد (۴، ۲۵). یافته‌های پژوهش‌های پیشین نیز افزایش این عوامل در الگوهای صرع را تأیید کرده‌اند. گان^{۲۷} و همکاران (۲۰۱۴) در پژوهشی نشان دادند سطوح MRP8 پس از القای بیماری صرع در هیپوکمپ افزایش می‌یابد که با نتایج تحقیق حاضر همسوست (۶). همچنین ژاو^{۲۸} و همکاران (۲۰۲۴) نشان دادند که سطوح افزایش‌یافته IRAK4 در هیپوکمپ، در نتیجه بیماری صرع با فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی NF- κ B/NLRP3 به افزایش التهاب عصبی منجر می‌شود (۲۶).

این پژوهش نشان داد اجرای تمرین تداومی با شدت متوسط به مدت هشت هفته تأثیرات چشمگیری بر تعدیل پاسخ‌های التهابی و کاهش فراوانی تشنجه‌ها دارد. این تمرین موجب کاهش معنادار سطوح TNF- α ، IRAK4 و MRP8 در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی مبتلا به صرع و نرخ تشنجه‌ها شد. این یافته بیانگر آن است که فعالیت ورزشی منظم می‌تواند با

مهار مسیرهای مولکولی وابسته به TLR4/MyD88/NF- κ B، از شدت التهاب عصبی بکاهد. کاهش سطح MRP8 احتمالاً با مهار فعال‌سازی اولیه TLR4، زنجیره پیام‌رسانی التهابی را مختل می‌سازد. پژوهش‌های فراوانی، تأثیرات تعدیل‌کننده فعالیت ورزشی بر پاسخ‌های التهابی را گزارش کرده‌اند. یافته‌ها نشان می‌دهند فعالیت ورزشی تأثیر مثبتی در کاهش تعداد حملات، بهبود علائم صرع و بهبود علائم روانی همراه صرع همچون کیفیت زندگی، حافظه و یادگیری دارد، اما هنوز سازوکار دقیق اثرگذاری ورزش ناشناخته است.

این پژوهش همراستا با تحقیقات پیشین بود که کاهش پاسخ‌های التهابی را پس از یک دوره فعالیت ورزشی هوازی گزارش کرده‌اند. جیا و همکاران در پژوهشی نشان دادند که چهار هفته دویدن با شدت پایین روی نوار گردان همراه با دریافت والپروات سدیم می‌تواند سطوح IL-1 β ، TNF- α ، IL-6، TLR4 و NF- κ B را در هیپوکمپ موش‌های مبتلا به صرع کاهش دهد و دفعات تشنج را محدود کند (۲۴). همچنین لیما روزا و همکاران نشان دادند که دو هفته تمرین هوازی با شدت متوسط، چه به تنهایی و چه در ترکیب با پردنیزولون، به کاهش سطوح TNF α در قشر مغز موش‌های صحرایی صرعی منجر می‌شود (۱۵). پژوهشی روی الگوی حیوانی صرع نشان داد که انجام ورزش هوازی (نوار گردان) در کنار کورکومین، موجب کاهش چشمگیر فراوانی تشنج در موش‌های صرعی می‌شود و تأثیرات درمانی کورکومین را تقویت می‌کند (۲۷). همچنین گفتنی است که افزایش IL-1 β می‌تواند با کاهش باز برداشت گلوتامات توسط نورون پیش‌سیناپسی به بیش‌فعالی نورون‌های پس‌سیناپسی و در نهایت وقوع حمله منجر شود. فیلیپ و همکاران نشان دادند که تزریق کاینیک اسید سبب افزایش سطوح گلوتامات

تعارض منافع

در این مقاله هیچ گونه تضاد منافی وجود ندارد.

پی‌نوشت‌ها

- ¹ Mesial temporal lobe epilepsy
- ² Toll-Like Receptors
- ³ Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
- ⁴ Cytokines
- ⁵ Chemokines
- ⁶ Complement system proteins
- ⁷ Cyclooxygenase-2
- ⁸ Inducible Nitric Oxide Synthase
- ⁹ Myeloid-related protein 8
- ¹⁰ Kong
- ¹¹ Neuroinflammation
- ¹² de Lima Rosa
- ¹³ Shishmanova-Doseva
- ¹⁴ Tchekalarova
- ¹⁵ Gomes da Silva
- ¹⁶ Moderate intensity continuous training
- ¹⁷ Intrahippocampal
- ¹⁸ Stereotaxic
- ¹⁹ Racine scale
- ²⁰ Arida
- ²¹ Vmax
- ²² Mean
- ²³ Standard deviation
- ²⁴ Shapiro Wilk
- ²⁵ Leven
- ²⁶ Jia
- ²⁷ Gan
- ²⁸ Zhao

منابع

1. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(4):475-82. <https://doi.org/10.1111/epi.12550>
2. Pitkänen A, Lukasiuk K. Mechanisms of epileptogenesis and potential treatment targets. *Lancet Neurol*. 2011;10(2):173-86. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70310-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70310-0)
3. Hollis A, Lukens JR. Role of inflammasomes and neuroinflammation in epilepsy. *Immunol Rev*. 2025;329(1):e13421. <https://doi.org/10.1111/imr.13421>

در موش‌ها شد و انجام تمرین دویدن به صورت داوطلبی با چرخ گردان به کاهش گلوتامات و همچنین کاهش در حملات نسبت به گروه بی فعالیت انجامید (۲۸).

با اینکه پژوهش‌های محدودی به بررسی مستقیم تأثیر تمرین ورزشی بر عوامل MRP8 و IRAK4 پرداخته‌اند، یافته‌های این پژوهش نشان داد که ورزش تداومی با شدت متوسط به کاهش معنادار این دو عامل در هیپوکمپ موش‌های صحرایی مبتلا به صرع منجر شد. با توجه به نقش MRP8 به عنوان لیگاند درون‌زای TLR4 و فعال‌کننده مسیر MyD88/IRAK4، گمان می‌رود کاهش سطوح آن بتواند از طریق مهار مسیر NF-κB، سبب تعدیل پاسخ‌های التهابی در مغز شود. این فرضیه با تحقیقات پیشین همراستاست که گزارش کردند تمرین ورزشی می‌تواند با مهار مسیرهای TLR4 و NF-κB، التهاب عصبی را کاهش دهد (۲۴). بنابراین، کاهش MRP8 و IRAK4 را می‌توان به‌منزله بخشی از سازوکار ضدالتهابی فعالیت ورزشی در مدل صرع در نظر گرفت، هرچند برای تأیید آن، به پژوهش‌های جامع بیشتری نیاز است.

تشکر و قدردانی

از همه کسانی که ما را در اجرای این تحقیق یاری رساندند، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

حمایت مالی

این پژوهش هیچ‌گونه حمایت مالی از سازمان خاصی دریافت نکرده و برگرفته از رساله دکتری است.

مشارکت نویسندگان

همه نویسندگان به یک اندازه در این پژوهش مشارکت داشته‌اند.

4. Kong H, Yin F, He F, Omran A, Li L, Wu T, et al. The Effect of miR-132, miR-146a, and miR-155 on MRP8/TLR4-Induced Astrocyte-Related Inflammation. *J Mol Neurosci.* 2015;57(1):28-37. <https://doi.org/10.1007/s12031-015-0574-x>
5. Liu H, Roy M, Tian FF. MicroRNA-based therapy: a new dimension in epilepsy treatment. *Int J Neurosci.* 2013;123(9):617-22. <https://doi.org/10.3109/00207454.2013.789513>
6. Gan N, Yang L, Omran A, Peng J, Wu L, He F, et al. Myeloid-related protein 8, an endogenous ligand of Toll-like receptor 4, is involved in epileptogenesis of mesial temporal lobe epilepsy via activation of the nuclear factor- κ B pathway in astrocytes. *Mol Neurobiol.* 2014;49(1):337-51. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8522-7>
7. Zhang S, Chen F, Zhai F, Liang S. Role of HMGB1/TLR4 and IL-1 β /IL-1R1 Signaling Pathways in Epilepsy. *Front Neurol.* 2022;13:904225. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.904225>
8. Cavalcante BRR, Improtta-Caria AC, Melo VH, De Sousa RAL. Exercise-linked consequences on epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2021;121(Pt A):108079. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2021.108079>
9. Ribarič S. Physical exercise, a potential non-pharmacological intervention for attenuating neuroinflammation and cognitive decline in Alzheimer's disease patients. *International journal of molecular sciences.* 2022;23(6):3245. <https://doi.org/10.3390/ijms23063245>
10. Häfele CA, Freitas MP, da Silva MC, Rombaldi AJ. Are physical activity levels associated with better health outcomes in people with epilepsy? *Epilepsy & Behavior.* 2017;72:28-34. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2017.04.038>
11. Allendorfer JB, Brokamp GA, Nenert R, Szaflarski JP, Morgan CJ, Tuggle SC, et al. A pilot study of combined endurance and resistance exercise rehabilitation for verbal memory and functional connectivity improvement in epilepsy. *Epilepsy & Behavior.* 2019;96:44-56. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.04.020>
12. Feter N, Alt R, Häfele CA, da Silva MC, Rombaldi AJ. Effect of combined physical training on cognitive function in people with epilepsy: results from a randomized controlled trial. *Epilepsia.* 2020;61(8):1649-58. <https://doi.org/10.1111/epi.16588>
13. McAuley JW, Long L, Heise J, Kirby T, Buckworth J, Pitt C, et al. A prospective evaluation of the effects of a 12-week outpatient exercise program on clinical and behavioral outcomes in patients with epilepsy. *Epilepsy & Behavior.* 2001;2(6):592-600. <https://doi.org/10.1006/ebbeh.2001.0271>
14. Shishmanova-Doseva M, Georgieva K, Uzunova Y, Ioanidu L, Atanasova M, Nenchevska Z, Tchekalarova J. Pre- and Post-Endurance Training Mitigates the Rat Pilocarpine-Induced Status Epilepticus and Epileptogenesis-Associated Deleterious Consequences. *Int J Mol Sci.* 2022;23(21). <https://doi.org/10.3390/ijms232113188>
15. de Lima Rosa G, Guzzo EFM, Nunes SEB, Padilha RB, Domingues AM, Barbosa BB, et al. Aerobic exercise, alone or combined with an anti-inflammatory drug, reduces the severity of epileptic seizures and levels of

- central pro-inflammatory cytokines in an animal model of epileptic seizures. *Epilepsy Res.* 2022;186:107018. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2022.107018>
16. Allendorfer JB, Brokamp GA, Nenert R, Szaflarski JP, Morgan CJ, Tuggle SC, et al. A pilot study of combined endurance and resistance exercise rehabilitation for verbal memory and functional connectivity improvement in epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2019;96:44-56. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.04.020>
 17. Tchekalarova J, Shishmanova M, Atanasova D, Stefanova M, Alova L, Lazarov N, Georgieva K. Effect of endurance training on seizure susceptibility, behavioral changes and neuronal damage after kainate-induced status epilepticus in spontaneously hypertensive rats. *Brain Res.* 2015;1625:39-53. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.08.022>
 18. Gomes da Silva S, de Almeida AA, Silva Araújo BH, Scorza FA, Cavalheiro EA, Arida RM. Early physical exercise and seizure susceptibility later in life. *Int J Dev Neurosci.* 2011;29(8):861-5. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2011.07.011>
 19. Cerqueira É, Marinho DA, Neiva HP, Lourenço O. Inflammatory effects of high and moderate intensity exercise—a systematic review. *Frontiers in physiology.* 2020;10:489354. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01550>
 20. Paolucci EM, Loukov D, Bowdish DM, Heisz JJ. Exercise reduces depression and inflammation but intensity matters. *Biological psychology.* 2018;133:79-84. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2018.01.015>
 21. Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1972;32(3):281-94. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(72\)90177-0](https://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90177-0)
 22. Arida RM, Sanabria ERG, da Silva AC, Faria LC, Scorza FA, Cavalheiro EA. Physical training reverts hippocampal electrophysiological changes in rats submitted to the pilocarpine model of epilepsy. *Physiology & behavior.* 2004;83(1):165-71. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.08.008>
 23. Michev A, Orsini A, Santi V, Bassanese F, Veraldi D, Brambilla I, et al. An Overview of The Role of Tumor Necrosis Factor-Alpha in Epileptogenesis and Its Therapeutic Implications. *Acta Biomed.* 2022;92(S4):e2021418. <https://doi.org/10.23750/abm.v92iS4.12667>
 24. Jia Y, Tang L, Yao Y, Zhuo L, Qu D, Chen X, et al. Low-intensity exercise combined with sodium valproate attenuates kainic acid-induced seizures and associated comorbidities by inhibiting NF-κB signaling in mice. *Front Neurol.* 2022;13:993405. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.993405>
 25. Gill R, Tsung A, Billiar T. Linking oxidative stress to inflammation: Toll-like receptors. *Free Radical Biology and Medicine.* 2010;48(9):1121-32. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.01.006>

26. Zhao T, Zhang X, Cui X, Su S, Li L, Chen Y, et al. Inhibiting the IRAK4/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway can reduce pyroptosis in hippocampal neurons and seizure episodes in epilepsy. *Experimental Neurology*. 2024;377:114794. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2024.114794>
27. Ogunsuyi O, Aro P, Umar H, Oboh G. Administration of curcumin plus treadmill exercise modulate some neuronal enzyme activities, redox markers and BDNF mRNA expression in pilocarpine-induced epileptic seizure in rats. *Neurochemical Journal*. 2023;17(3):467-76. <https://doi.org/10.1134/S1819712423030145>
28. Holmes PV, Reiss JI, Murray PS, Dishman RK, Spradley JM. Chronic exercise dampens hippocampal glutamate overflow induced by kainic acid in rats. *Behavioural Brain Research*. 2015;284:19-23. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.02.002>