

The effect of six weeks of voluntary swimming activity on the content of GSK3 β , mTOR, and caspase-3 proteins in rats with cuprizone-induced multiple sclerosis (MS)

Mohammad Kahvazi Zadeh^{ID}, Abdolhamid Habibi^{*ID}, Mohammad Rami^{ID}

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

Abstract

Background and Purpose: Multiple sclerosis (MS) is a chronic, inflammatory, and autoimmune disease with multifactorial origins that significantly reduces patients' quality of life by impairing physical and cognitive functions. Physical activity has been shown to exert anti-inflammatory effects and neuroprotective actions, which may benefit MS patients by mitigating neural degeneration, particularly axonal damage. In the hippocampus, signaling pathways involving glycogen synthase kinase-3 beta (GSK3 β), mechanistic target of rapamycin (mTOR), and caspase-3 play key roles in regulating cellular survival, apoptosis, proliferation, and metabolic homeostasis. Given the importance of these pathways, the current study aimed to investigate the effects of voluntary swimming exercise on the expression levels of GSK3 β , mTOR, and caspase-3 proteins in the hippocampal tissue of male rats with cuprizone-induced MS.

M
a
t
e
r
i
a
l
s

Results: A significant increase in GSK3 β and caspase-3 protein levels was observed in the MS control group compared to the healthy group ($P=0.001$), indicating enhanced apoptotic signaling. Conversely, mTOR expression was significantly reduced in MS rats ($P=0.001$). Importantly, after six weeks of swimming, levels of GSK3 β and caspase-3 were significantly decreased ($P<0.001$), while mTOR expression increased significantly in the exercise group compared to MS controls ($P<0.001$).

Conclusion: The results of this Research suggest that swimming exercise leads to beneficial molecular adaptations in the hippocampus of MS-affected rats. These include the suppression of apoptosis-related proteins and enhancement of pro-survival signaling, which may contribute to hippocampal cell preservation. Therefore, voluntary swimming could serve as a promising non-pharmacological intervention to support neuronal health in MS.

: Twenty-one male Wistar rats (average age 12 weeks, 225 ± 16 g) were randomly assigned to three groups: healthy

Keywords: MS, GSK3 β , and mTOR, with exercise in MS rats, physical activity, containing 0.5% cuprizone for 12 weeks.

Disease induction was confirmed using the rotarod performance test. Following confirmation, the exercise group underwent a six-week voluntary swimming training protocol. In the first week, rats swam for 10 minutes without added weight, and the swimming duration increased by 5 minutes weekly. During weeks five and six, the duration was maintained at 30 minutes to ensure adaptation and avoid overtraining. After completion of the protocol, behavioral assessments were repeated, hippocampal tissues were extracted, and protein levels of GSK3 β , mTOR, and caspase-3 were analyzed via Western blotting. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test (significance threshold set at $p<0.05$).

اثر شش هفته فعالیت شنا اختیاری بر محتوای پروتئین‌های caspase-3, mTOR, GSK3 β موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری مولتیپل اسکلروزیس (MS) القا شده با کوپریزون

محمد کهوازی زاده ^{ID}، عبدالحمید حبیبی * ^{ID}، محمد رمی ^{ID}

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: مالتیپل اسکلروزیس (MS) یک بیماری مزمن، التهابی و خودایمنی با جنبه‌های چندعاملی است که به شکل قابل توجهی کیفیت زندگی بیماران را تحت تأثیر قرار داده و محدود می‌سازد. شواهد نشان می‌دهد فعالیت بدنی می‌تواند با ایجاد اثرات ضدالتهابی و نقش محافظتی بر آکسون‌ها در این بیماران مفید باشد. در هیپوکامپ، سیگنالینگ GSK3 β , caspase-3, mTOR در تنظیم چندین فرآیند مهم سلولی از جمله آپوپتوز، بقا، تکثیر و متابولیسم نقش دارد، بر همین اساس، هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر فعالیت ورزشی (شنا) بر سطح پروتئین‌های کلیدی GSK3 β , caspase-3, mTOR در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به MS القا شده با کوپریزون است.

مواد و روش: در این تحقیق ۲۱ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین سن ۱۲ هفته ای و وزن 22.5 ± 1.6 گرم خریداری و به سه گروه شامل کنترل سالم، کنترل بیمار و بیمار تمرین تقسیم شدند. مدل بیماری MS با استفاده از رژیم غذایی حاوی ۰/۵ درصد کوپریزون به مدت ۱۲ هفته القا گردید. پس از تأیید القای بیماری با آزمون روتارود، پروتکل تمرینی شنا طی شش هفته اعمال شد. در هفته اول، فعالیت شنا به مدت ۱۰ دقیقه بدون بار اضافی انجام گرفت و به منظور اعمال اضافه بار مدت شنا در هر هفته ۵ دقیقه افزایش پیدا کرد. به منظور ارزیابی سازگاری، مدت زمان شنا در هفته‌های پنجم و ششم به مدت زمان ۳۰ دقیقه ثابت نگه داشته شد. پس از پایان پروتکل تمرینی و آزمون روتارود و برای بررسی تعادل و حافظه انجام گردید. سپس بافت هیپوکامپ استخراج و مقادیر پروتئین‌های GSK3 β , mTOR, caspase-3 با روش وسترن بلات سنجش شد. داده‌ها با آزمون آماری آنووا یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری کمتر از ۰/۰۵ تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که محتوای پروتئینی GSK3 β و caspase-3 در گروه بیمار نسبت به گروه سالم افزایش معنی داری داشت ($P=0/001$)؛ اما پس از شش هفته تمرین شنا، محتوای پروتئین‌های مذکور در گروه تمرینی نسبت به گروه بیمار به طور معناداری کاهش یافت ($P<0/001$). همچنین در محتوای پروتئین mTOR کاهش معناداری در گروه بیمار نسبت به گروه سالم مشاهده شد ($P=0/001$)؛ اما پس از شش هفته تمرین شنا، محتوای پروتئین مذکور در گروه تمرینی نسبت به گروه بیمار به طور معناداری افزایش یافت ($P<0/001$).

نتیجه گیری: یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی شنا با القای سازگاری‌های مولکولی، می‌تواند اثرات ضدالتهابی و محافظت‌کننده عصبی و همچنین اثر تعدیلی بر تغییر پروتئین‌های مؤثر در فرآیند آپوپتوز سلولهای هیپوکامپ در موشهای دارای ام اس داشته و احتمالاً میتواند موجب بقای سلولهای هیپوکامپ شود.

واژگان کلیدی: GSK3 β , mTOR, caspase-3, مولتیپل اسکروزیس، فعالیت ورزشی،

* رایانامه نویسنده مسئول: hamidhabibi330@gmail.com

مقدمه

مولتیپل اسکروزیس (MS) یک بیماری دمیالینه‌کننده و نورودژنراتیو است. با اینکه آنتی‌ژن خاصی برای این بیماری شناخته نشده، اما به طور گسترده تایید شده که MS یک اختلال خودایمنی است که با حمله سیستم ایمنی به میلین مشخص می‌شود (۱). MS یک اختلال التهابی و دمیالینه‌کننده چندکانونی است که بیشتر بر سیستم عصبی مرکزی تأثیر می‌گذارد و منجر به اختلالات عصبی پیشرونده می‌شود. MS آسیب‌های گسترده‌ای به مغز و نخاع وارد می‌کند (۶)، برای مثال کاهش حجم مغز، بزرگ شدن بطن‌ها و آتروفی نخاع می‌شود (۷). علت کاربرد وسیع ایزوفورم (GSK3 β) در بیماری‌های مختلف این است که GSK3 β یک کیناز پروتئینی است که مداوم فعال است و تقریباً ۴۰ ژیلایه پروتئینی است و توسط مسیرهای سیگنال‌دهی Wnt، انسولین و فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF) تنظیم می‌شود (۱۱). GSK3 یک کیناز پرولین‌محور است که دارای دو ایزوفورم به نام‌های گلیکوژن سنتاز کیناز-۳ آلفا (GSK3 α) و بتا (GSK3 β) می‌باشد که به ترتیب توسط کروموزوم‌های ۱۹ و ۳ کدگذاری می‌شوند. GSK3 β عمدتاً در سیستم عصبی مرکزی بیان می‌شود، به‌طور معمول در آکسون‌ها قرار دارد و کیناز اصلی فسفریلاسیون پروتئین تائو است (۱۲). گلیکوژن سنتاز کیناز-۳ بتا (GSK3 β) یک تنظیم‌کننده منفی چندمنظوره در مشخص سازی سرنوشت سلولی است که تحت تأثیر بسیاری از مسیرهای سیگنال‌دهی وابسته به گیرنده قرار دارد (۱۳). GSK3 β در ماده سفید در حال رشد دارای سطح بالایی از بیان و فعالیت است (۱۴). مهار GSK3 β یکی از نتایج کلیدی فعال سازی گیرنده‌های کینازی است و نقش مهمی در واسطه‌گری اثرات پرو-بقای فاکتور رشد شبه انسولین ۱ (IGF-1) و فاکتور رشد فیروبلستی ۲ (FGF-2) در پیش‌سازهای الیگودندروسیتی (OPs) دارد (۱۵). مجموعه هدف مکانیسمی راپامایسین (mTOR) از تاثیرگذارترین عوامل تنظیم‌کننده رشد، تکثیر، تحرک، بقا، اتوفژی، رونویسی و سنتز پروتئین به شمار می‌رود که از دو مجتمع پروتئینی مجزا به نام‌های mTORC1 و mTORC2 تشکیل می‌شود (۱۸). در همین زمینه در کنار اهمیت تنظیم‌کنندگی سوخت و ساز و سایر عملکردهای mTOR، وجود یک حلقه بازخورد منفی توسط mTOR که بستر گیرنده انسولین (IRS) را غیرفعال می‌کند، تقریباً ثابت شده است که از این طریق به ضعف پیام‌رسانی انسولین منجر می‌شود. کاسپاز-۳ در بیماران MS پیش‌رونده و مدل‌های حیوانی آن، یک تنظیم‌کننده کلیدی در فرآیند پایروپتوز میکروگلیاها و ماکروفاژها است که از طریق تعامل با عوامل دیگر میتواند منجر به مرگ سلولی پیش‌التهابی و آزادسازی واسطه‌های التهابی مانند IL-1 β می‌شود (۲۱). در پژوهش ژانگ و همکاران (۲۰۲۱) به بررسی تأثیر تمرین شنا بر بیان ژن کاسپاز-۳ در کندروسیت‌ها در آرتروز (OA) پرداخته شد نتایج

¹ Multiple Sclerosis

² Glycogen synthase kinase-3 beta

³ The mammalian target of rapamycin

نشان داد که تمرین شنا باعث بهبود مورفولوژی بافت استخوانی و کاهش سطح کاسپاز-۳ و آپوپتوز کندرو سیت‌ها در مقایسه با گروه مدل شد. تأثیر تمرینات ورزشی بر بیان ژن کاسپاز-۳ در مولتیپل اسکلروزیس (MS) به عنوان یک موضوع مهم در تحقیقات علمی مطرح است. کاسپاز-۳ نقش کلیدی در فرآیند آپوپتوز دارد و در MS که با تخریب سلول‌های عصبی و التهاب همراه است، فعال می‌شود. تمرین منظم می‌تواند با کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو، سطح کاسپاز-۳ را کاهش دهد و از مرگ سلولی در بافت‌های عصبی جلوگیری کند (۲۲).

همچنین، تمرینات ورزشی ممکن است با افزایش ترشح فاکتورهای نوروتروفیک مانند BDNF^۱ به بهبود بقای سلول‌های عصبی کمک کنند. نتایج بالینی نشان می‌دهند که بیماران MS که به طور منظم ورزش می‌کنند، کاهش علائم و بهبود کیفیت زندگی را تجربه می‌کنند (۲۳). مطالعه‌ای توسط حاجی‌وند و همکاران (۱۴۰۳) بر تأثیر یک دوره تمرین شنا بر سطوح پروتئینی AIM2 و کاسپاز ۱ در بافت هیپوکامپ موش‌های سالم متمرکز بود. نتایج نشان داد که اجرای دوره تمرین شنا به طور معناداری باعث کاهش بیان این شاخص‌های پروتئینی در هیپوکامپ موش‌های صحرایی گردیده است (۲۴). در مطالعه‌ای که توسط مائ و همکاران (۲۰۲۳) انجام شد، تأثیر تمرین شنا بر هاپروتروفی بطن چپ از طریق مسیر سیگنال‌دهی PI3K/AKT/mTOR در موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق افزایش معناداری در سطح پروتئین‌های AKT و mTOR را نشان داد. تحقیقات اخیر نشان می‌دهند که فعالیت‌های ورزشی، به ویژه ورزش‌های آبی، می‌توانند با کاهش فاکتورهای مرتبط با آپوپتوز و التهاب، مرگ سلولی را به تأخیر انداخته و از پیشرفت بیماری ام اس جلوگیری کنند. علاوه بر این، فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی مرتبط با نورونز می‌تواند عملکرد شناختی، تعادل و توان حرکتی بیماران را بهبود بخشد. این یافته‌ها اهمیت ورزش به عنوان یک مداخله مکمل برای مدیریت بیماری ام اس را نشان می‌دهد (۲۵).

تأثیر ورزش بر بالارفتن سطوح نوروتروفین‌ها، افزایش تعداد الیگودندروسیت‌ها، افزایش پروتئین‌های ساختاری میلین، بازسازی میلین، کاهش التهاب و حفاظت از آکسون در تحقیقات به وفور نشان داده شده (۲۶). هرچند تعدادی از پژوهش‌ها این نتایج را گزارش نکرده‌اند؛ عدم مشاهده این فواید معمولاً به کم بودن حجم یا شدت تمرینات استفاده‌شده در این تحقیقات نسبت داده می‌شود (۲۷). ورزش شنا می‌تواند تأثیرات ضدالتهابی و محافظت‌کننده از عصب را داشته باشد که احتمالاً به دلیل ماهیت ترکیبی هوازی-مقاومتی و به کارگیری واحدهای حرکتی بزرگتر و درگیر کردن همزمان تمام گروه‌های عضلات اصلی در این نوع ورزش، می‌توان شاهد تأثیرات مثبت تری نسبت به الباقی متودهای تمرینی بود (۲۹). GSK3 β و mTOR به عنوان دو مسیر سیگنال‌دهی کلیدی در تنظیم متابولیسم سلولی و بقای نورونی شناخته می‌شوند، در حالی که caspase-3 به عنوان یک نشانگر آپوپتوز، نقش مهمی در مرگ سلولی دارد. بررسی تأثیر فعالیت شنا بر این پروتئین‌ها می‌تواند به شناسایی مکانیسم‌های مولکولی کمک کند که از طریق آن‌ها تمرین ورزشی می‌تواند به بهبود عملکرد عصبی و کاهش علائم MS منجر شود (۳۰). در این پژوهش به دنبال آن هستیم که آیا یک مداخله غیر دارویی مانند شنا اختیاری می‌تواند تعدیلی در تغییرات ناشی از بیماری MS در سیستم عصبی مرکزی و به خصوص در در هیپوکامپ ایجاد کند؟ از این رو هدف از پژوهش حاضر اثر شش هفته فعالیت شنا اختیاری بر محتوای پروتئین‌های GSK3 β ، mTOR، caspase-3 موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری مولتیپل اسکلروزیس (MS) القا شده با کوپریزون است.

¹ Brain-Derived Neurotrophic Factor

روش شناسی

جامعه آماری پژوهش: این پژوهش از نوع تجربی-کاربردی و با طرح پس‌آزمون همراه با گروه‌های کنترل (سالم و بیمار) در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. ۲۱ سر موش صحرایی نر(رت) نژاد ویستار بالغ با مانگین سنی ۱۲ هفته و وزن 225 ± 16 از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز خریداری شد. پس از انتقال به آزمایشگاه، حیوانات در گروه‌های دو و سه‌تایی در قفس‌های پلی‌کربناتی شفاف نگهداری شدند. در ابتدا به منظور سازگاری با محیط آزمایش، رت‌ها دو هفته در خانه حیوانات دانشکده دامپزشکی با دمای ۲۰ الی ۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۴۵-۵۵ درصد، تهویه مناسب و ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی نگهداری شدند و به شکل آزادانه به آب و غذا (پلت مخصوص جوندگان- پارس، تهران) دسترسی داشتند. آزمودنی‌ها پس از آشنایی با نحوه‌ی فعالیت در استخر مخصوص جوندگان حیوانات به‌طور تصادفی و به شرح زیر به ۳ گروه ۷ تایی، در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف تقسیم شدند: گروه کنترل سالم-گروه کنترل بیمار-گروه تمرین بیمار. در مرحله‌ی آشنایی با تمرین، توانایی موش‌های صحرایی برای انجام فعالیت شنا نیز بررسی شد و مشخص گردید که همه‌ی آن‌ها قادر به انجام این فعالیت هستند. تمامی مراحل تحقیق حاضر به تضویب کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه شهید چمران اهواز رسید و با شناسه IR.SCU.REC.1404.013 ثبت شد.

روش القای بیماری ام‌اس: جهت القای بیماری، کوپریزون با نسبت وزنی ۰/۵ در صد به پودر غذای مخصوص جوندگان اضافه، به خوبی مخلوط شده و با اضافه کردن آب، خمیر حاصله به پلت غذایی تبدیل شد و به مدت ۶ هفته در اختیار رت‌ها قرار گرفته (۵۶). در پایان شش هفته، به منظور تأیید القای بیماری ام‌اس از آزمون روتارود (Rotarod) استفاده شد. بر اساس پژوهش‌های گذشته و با استفاده از آزمون روتارود، زمانی در محدوده ۹۱ ثانیه به عنوان نمونه مبتلا به MS در نظر گرفته می‌شود (۵۳) و پس از تأیید القای بیماری در ۶ هفته‌ی بعدی (همزمان با اجرای پروتکل تمرین) نیز برای جلوگیری از میلین‌سازی خود بخودی و مخدوش‌سازی داده‌های پژوهش همچنان قطع نشد (ژان^۱ و همکاران، ۲۰۲۰). پس از پایان دوره پروتکل تمرینی به منظور ارزیابی هماهنگی و تعادل و حافظه احترازی از آزمون‌های روتارود و اوپن فیلد استفاده شد. تمامی آزمایش‌ها در دوره‌ی روشنایی فعالیت حیوان و بین ساعات ۹ صبح الی ۱۲ ظهر انجام شدند. آزمون روتارود ابزاری برای ارزیابی هماهنگی اندام‌های حرکتی و سنجش تعادل در جوندگانی مانند موش صحرایی است. از آنجا که مصرف کوپریزون همزمان با فرآیند میلین‌زدایی، مرگ الیگودندروسیت‌ها و بروز اختلالات حرکتی همراه است، به‌کارگیری این آزمون و مشاهده ناتوانی‌های حرکتی می‌تواند نشانگر اثرات این دارو باشد؛ به همین دلیل، این روش به‌طور گسترده در مطالعات مرتبط با مدل کوپریزون استفاده می‌شود (۵۴). دستگاه روتارود از یک میله‌ی افقی چرخان تشکیل شده است که حدود ۲۰ سانتی‌متر از سطح زمین فاصله دارد و به وسیله‌ی صفحات کروی به چهار بخش مجزا تقسیم می‌شود. در این آزمون، سرعت اولیه‌ی چرخش معادل ۷ rpm (تقریباً ۱۰-۱۱ دور در دقیقه) در نظر گرفته شد. برای ارزیابی تعادل، موش‌ها روی میله‌ی در حال چرخش قرار گرفتند؛ به‌گونه‌ای که سرعت دستگاه طی پنج دقیقه به تدریج از ۵ تا ۴۵ دور در دقیقه افزایش یافت. مدت زمان حفظ تعادل و باقی‌ماندن هر حیوان بر روی میله ثبت شد. در آغاز، حیوانات دو بار به صورت

¹ Zhan

آموزشی روی دستگاه قرار داده شدند تا با شرایط آزمون سازگار شوند. سپس، در سه نوبت دیگر (هر بار به مدت ۵ دقیقه و با فاصله ۱۵ دقیقه) آزمایش تکرار گردید و میانگین زمان باقی ماندن بر روی میله بر حسب ثانیه محاسبه و ثبت شد (۵۵).

پروتکل تمرین: پس از تایید القای بیماری، برنامه تمرین شنای اختیاری (بدون وزنه و موج) در آب به مدت ۶ هفته، در استخر مخصوص جوندگان انجام شد. پروتکل تمرینی برگرفته از تحقیق کیم و همکاران در سال ۲۰۲۰ با اندکی تغییر (ایجاد اضافه بار) است. رت‌های گروه تمرین بیمار به مدت ۶ هفته و یکبار در روز شنا کردند (کیم و همکاران، ۲۰۲۰). جهت سازگاری رت‌ها و ایجاد اضافه بار، مدت تمرین شنا به تدریج از ۱۰ دقیقه در روز اول به ۳۰ دقیقه در هفته‌ی ششم افزایش یافت (۴۳). به منظور حفظ سازگاری‌های حاصل از فعالیت، مدت زمان شنا در هفته‌های پنجم و ششم ثابت و ۳۰ دقیقه باقی ماند.

هفته‌ی اول	هفته‌ی دوم	هفته‌ی سوم	هفته‌ی چهارم	هفته‌ی پنجم	هفته‌ی ششم
۱۰ دقیقه	۱۵ دقیقه	۲۰ دقیقه	۲۵ دقیقه	۳۰ دقیقه	۳۰ دقیقه

برداشت نمونه بافت و اندازه گیری محتوای پروتئین: نهایتاً ۴۸ ساعت پس از اتمام دوره تمرینی به دنبال یک شب ناشتایی، موش‌ها با تزریق زیرجلدی ترکیبی از ۲۰-۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم کتامین ۱۰ درصد و ۳-۲ میلی گرم در کیلوگرم زایلازین ۲ درصد بی هوش و آسان کشی شدند. سپس با برداشت پوست و برش استخوان جمجمه، بافت هیپوکامپ مغز جدا شد. در ابتدا، برای هر ۲۰۰ میلی گرم نمونه بافت، ۱۰۰ میکرولیتر بافر سرد لیز (بافر لیز حاوی: Tris-HCl (۰/۳ گرم، ۵۰ میلی مول در لیتر)، تریتون X-۱۰۰ (۰/۰۲ گرم، ۰/۱ درصد)، کلسیم دی اکسید سدیم (۰/۰۵ گرم، ۰/۲۵ درصد)، سدیم کلرید (۰/۴۳ گرم، ۱۵۰ میلی مول در لیتر)، SDS (۰/۰۲ گرم، ۰/۱ درصد)، اتیلن دی آمین تترااستیک اسید (EDTA، ۵/۸۴ گرم) حل شده در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر به pH=7/4 به نمونه‌ها اضافه شد و با دستگاه هموژنیزه کننده با سرعت ۲۵۰۰۰ دور بر دقیقه (سرعت آسیاب پلاس، آنالیتیک ژنا آلمان) همگن شد. در مرحله بعد، پس از سانتریفیوژ کردن نمونه‌ها در ۱۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و انتقال مایع رویی به میکروتیوب‌های جدید، یک قرص مهارکننده پروتئاز برای هر ۱۰ میلی لیتر (X10) استفاده شد. در مرحله بعد، غلظت نیترات به دست آمده با استفاده از کیت برادفورد مورد آنالیز قرار گرفت. سپس، نمونه‌ها با بافر نمونه X2 (بافر بارگذاری) به نسبت یک به یک مخلوط شده و به مدت پنج دقیقه جوشانده شدند تا زمانی که ساختارهای مولکولی پروتئین‌ها تغییر یافته و خطی شدند. بخارهای شکل گرفته در این حالت با ۵ ثانیه ورتکس (چرخش) سریع و قرار دادن نمونه در یخ از بین رفتند. در این مرحله، نمونه‌ها در چاه‌های الکتروفورز حاوی ژل SDS-PAGE ریخته شدند و فرآیند الکتروفورز با ولتاژ ۶۰ ولت به مدت ۱۵ دقیقه و سپس با ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۶۰ دقیقه انجام شد. سپس در فرآیند انتقال، پروتئین‌ها بر روی کاغذ نیتروسلولز به مدت ۱۰۵ دقیقه با ولتاژ ۶۰ ولت و در داخل بافر انتقال، انتقال یافتند. بعد از سه

مرحله ۵ دقیقه‌ای شستشوی کاغذ نیتروسلولوز در محلول PBS، فرآیند مسدود کردن با بافر مسدودکننده طی شبانه‌روز در ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. بعد از شستشوی مجدد با PBS، کاغذ نیتروسلولوز با آنتیبادی‌های اولیه MTOR، caspase-3، Gsk3b و GAPDH (آنتی بادی ضد GAPDH: sc-365062 G-9: سانتا کروز) به مدت یک ساعت در دمای اتاق روی شیکر با ۶۵ دور در دقیقه انکوبه شدند. (رقیق سازی ۱/۲۰۰ تا ۱/۵۰۰ در بافر PBS). آنتی بادی‌های ثانویه (m-IgGκBP-HRP: sc-516102) نیز با رقیق سازی ۱/۲۰۰ در بافر PBS به مدت ۱ ساعت برای اتصال به آنتی بادی اولیه استفاده شدند. در این مرحله، کاغذها در اتاق تاریک تحت نور قرمز با دو محلول کیت ECL (Abcam, 133408، امریکا) به مدت یک ساعت رنگ‌آمیزی شده و پس از خشک شدن در محیط، در یک کاست محافظ پلاستیکی حاوی فیلم حساس قرار گرفتند و در دستگاه قرار داده شدند. پردازشگر X-RAY (LD-14، چین) برای فرایند ظهور باندها استفاده شد. در نهایت، کاغذهای حساس به نور با استفاده از اسکنر JS 2000 (Bonin Tech، چین) اسکن شدند و چگالی باندها توسط نرم‌افزار JS 2000 محاسبه شد.

مشخصات آنتی بادی‌های اولیه و ثانویه:

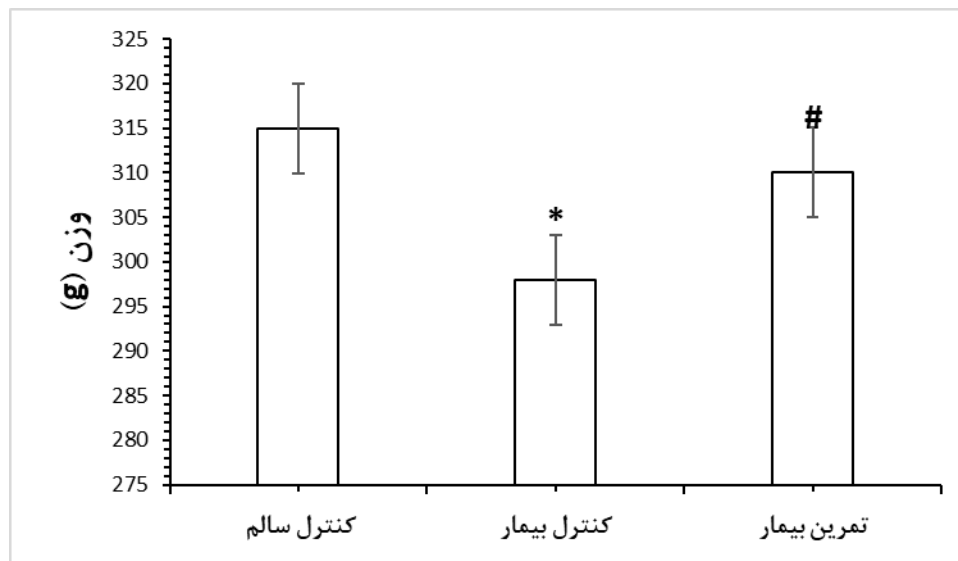
- GSK-3β (D5C5Z) XP® Rabbit mAb: #12456. Cell Signaling Technology
- mTOR (7C10) Rabbit mAb: #2983. Cell Signaling Technology
- Caspase-3 Antibody: #9662. Cell Signaling Technology
- Mouse anti-rabbit IgG: sc-2357- SANTA CRUZ
- GAPDH (14C10) Rabbit mAb - Cell Signalling

آنالیز آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات خام از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ و برای ترسیم نمودار از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۶ استفاده شد. همچنین سطح معنی‌داری برای تمام روش‌های آماری در سطح احتمال ($P < 0.05$) و برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها و همگنی واریانس‌ها به ترتیب از آزمون شاپیروویلک و آزمون لون استفاده شد. همچنین برای تجزیه و تحلیل آماری از روش ANOVA یک راهه و آزمون‌های تعقیبی توکی استفاده شد. برای بررسی داده‌های مربوط به وزن و آزمون روتارود در هفته‌ی ششم از آزمون تی مستقل استفاده شد.

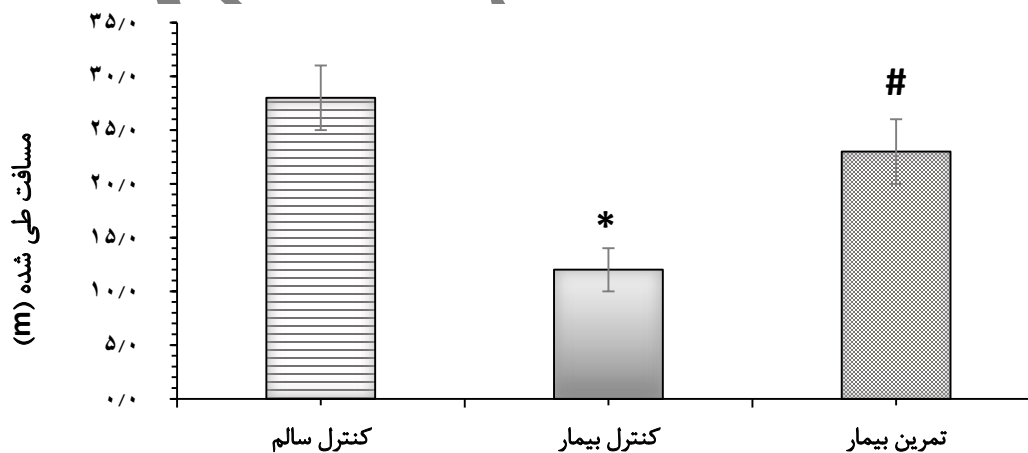
یافته‌ها

بر اساس نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی، در پژوهش حاضر وزن گروه کنترل بیمار نسبت به گروه کنترل سالم کاهش معناداری نشان داد. با این حال، پس از یک دوره فعالیت ورزشی شنا، افزایش چشم‌گیری در وزن مشاهده شد که نشان‌دهنده تأثیر احتمالی فعالیت ورزشی شنا در جلوگیری از کاهش وزن ناشی از بیماری MS است.

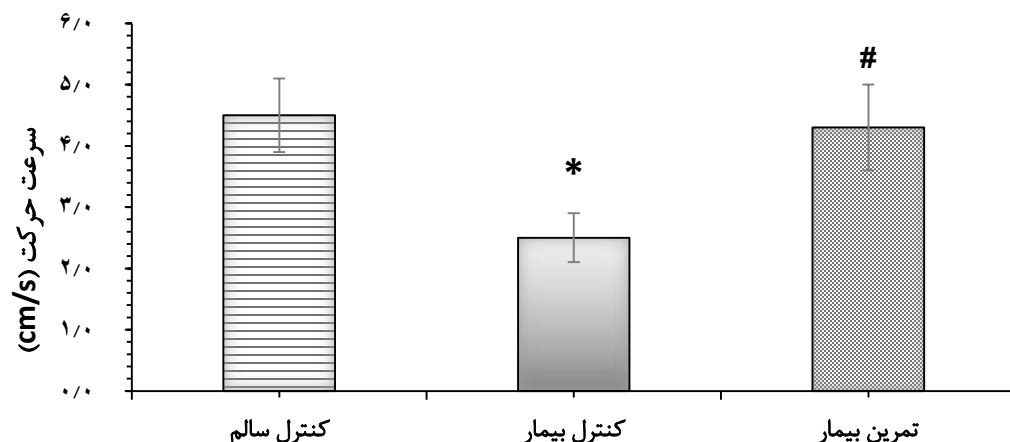


شکل ۱. نتایج تغییرات وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف. * نشان‌دهنده تفاوت معنادار گروه کنترل بیمار با گروه کنترل سالم و سایر گروه‌ها است. # نشان‌دهنده تفاوت معنادار گروه تمرین بیمار با گروه کنترل بیمار و سایر گروه‌ها است.

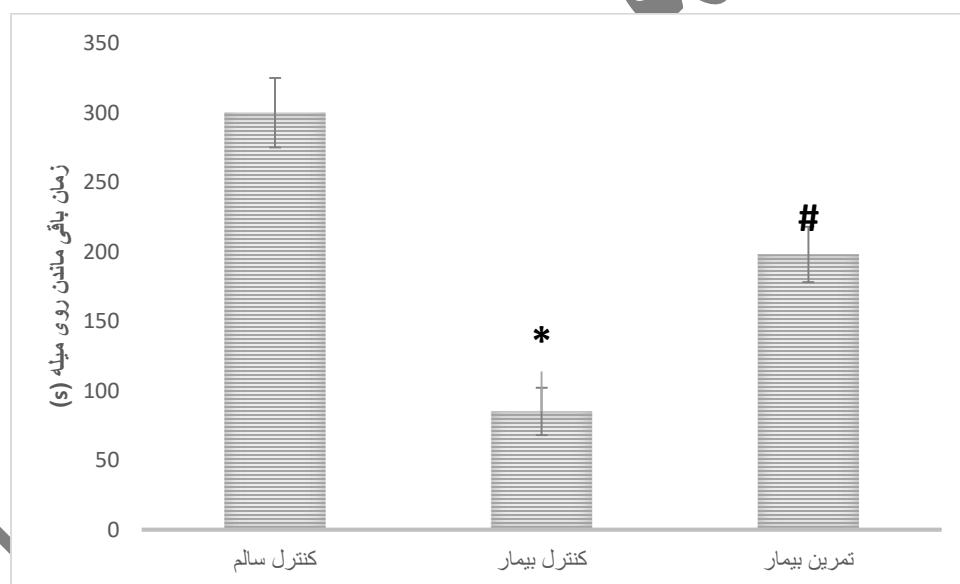
نتایج آزمون رفتاری روتارود در نمودارهای ۱ و ۲ به نمایش گذاشته شده است. بر اساس آزمون جعبه باز، هم مسافت طی شده و هم سرعت حرکت در گروه کنترل بیمار نسبت به گروه کنترل سالم کاهش معناداری دارد ($P=0/001$). اما در گروه تمرین بیمار، در مقایسه با گروه کنترل بیمار، افزایش معناداری مشاهده شد.



نمودار ۱. نتایج آزمون رفتاری روتارود (نتایج آزمون جعبه باز - مسافت طی شده). علامت * نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین گروه کنترل بیمار و گروه کنترل سالم است و علامت # نشان‌دهنده تفاوت معنادار در گروه تمرین بیمار نسبت به گروه کنترل بیمار می‌باشد. میله‌های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار هستند.



نمودار ۲. نتایج آزمون رفتاری روتارود (نتایج آزمون جعبه باز - سرعت حرکت). علامت * نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین گروه کنترل بیمار و گروه کنترل سالم است و علامت # نشان‌دهنده تفاوت معنادار در گروه تمرین بیمار نسبت به گروه کنترل بیمار می‌باشد. میله‌های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار هستند.



نمودار ۳. نتایج آزمون رفتاری روتارود (نتایج آزمون جعبه باز - زمان باقی ماندن روی میله). علامت * نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین گروه کنترل بیمار و گروه کنترل سالم است و علامت # نشان‌دهنده تفاوت معنادار در گروه تمرین بیمار نسبت به گروه کنترل بیمار می‌باشد. میله‌های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار هستند.

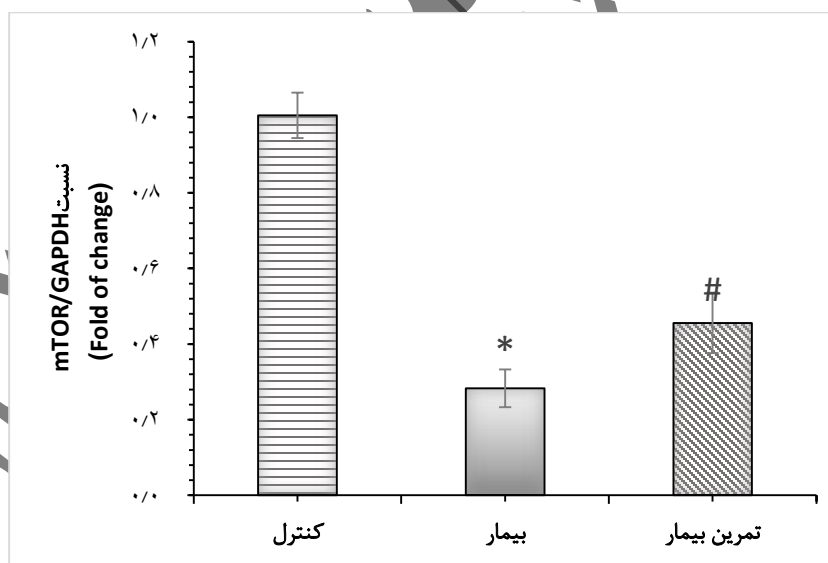
نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که برای هر سه پروتئین $GSK3\beta$, mTOR, caspase-3 بین سه گروه تفاوت آماری وجود دارد ($P=0/001$) (نمودارهای ۳-۵). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که محتوای پروتئینی mTOR در گروه کنترل بیمار در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش معنادار دارد ($P=0/001$) و همچنین در گروه تمرین بیمار در مقایسه با گروه کنترل بیمار افزایش معناداری مشاهده شد ($P=0/001$) (نمودار ۳). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که محتوای پروتئینی caspase-3 در گروه کنترل بیمار در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش معناداری مشاهده شد ($P=0/001$) و

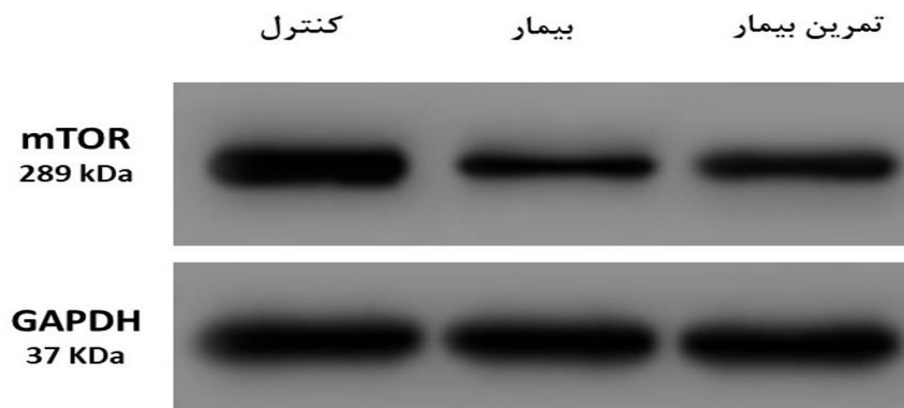
همچنین در گروه تمرین بیمار در مقایسه با گروه کنترل بیمار کاهش معناداری وجود داشت ($P=0/001$) (نمودار ۴). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که محتوای پروتئینی $GSK3\beta$ در گروه کنترل بیمار در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش معناداری داشته است ($P=0/001$)، اما در گروه تمرین بیمار در مقایسه با گروه کنترل بیمار کاهش معناداری مشاهده شد ($P=0/005$) (نمودار ۵).

متغیر	F	P
mTOR	۲۵۵/۰۸۷	*۰/۰۰۱

گروه	متغیر mTOR	
	گروه	P
سالم	بیمار	*۰/۰۰۱
	تمرین بیمار	*۰/۰۰۱
بیمار	تمرین بیمار	*۰/۰۰۱

جدول ۱: نتایج آزمون آنوای یک راهه و تعقیبی توکی متغیر mTOR سطح معنی داری (سطح معناداری $P < ۰/۰۵$)



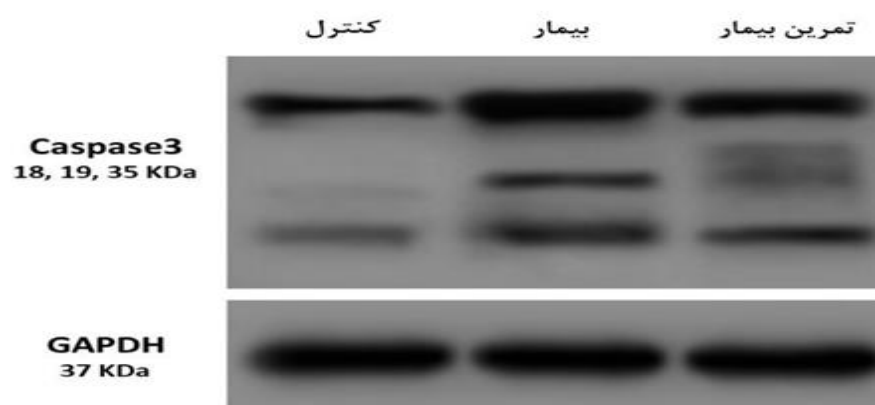
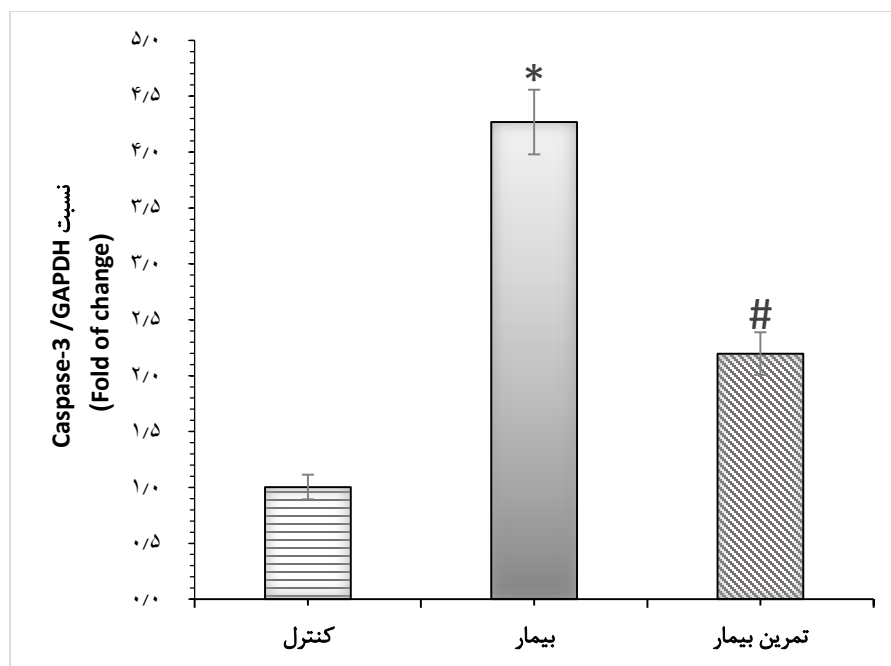


نمودار ۳. محتوای پروتئین mTOR در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر پس از شش هفته تمرین شنای اختیاری در سه گروه کنترل سالم، کنترل بیمار و تمرین بیمار علامت * نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین گروه کنترل بیمار و گروه کنترل سالم است و علامت # نشان‌دهنده تفاوت معنادار در گروه تمرین بیمار نسبت به گروه کنترل بیمار می‌باشد. میله‌های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار هستند.

متغیر	F	P
Caspase-3	۱۹۱/۰۸۷	۰/۰۰۱*

گروه	متغیر Caspase-3	
	گروه	P
سالم	بیمار	۰/۰۰۱*
	تمرین بیمار	۰/۰۰۱*
بیمار	تمرین بیمار	۰/۰۰۱*

جدول ۲: نتایج آزمون آنوای یک راهه و تعقیبی توکی متغیر caspase-3 سطح معنی داری ($P < ۰/۰۵$)

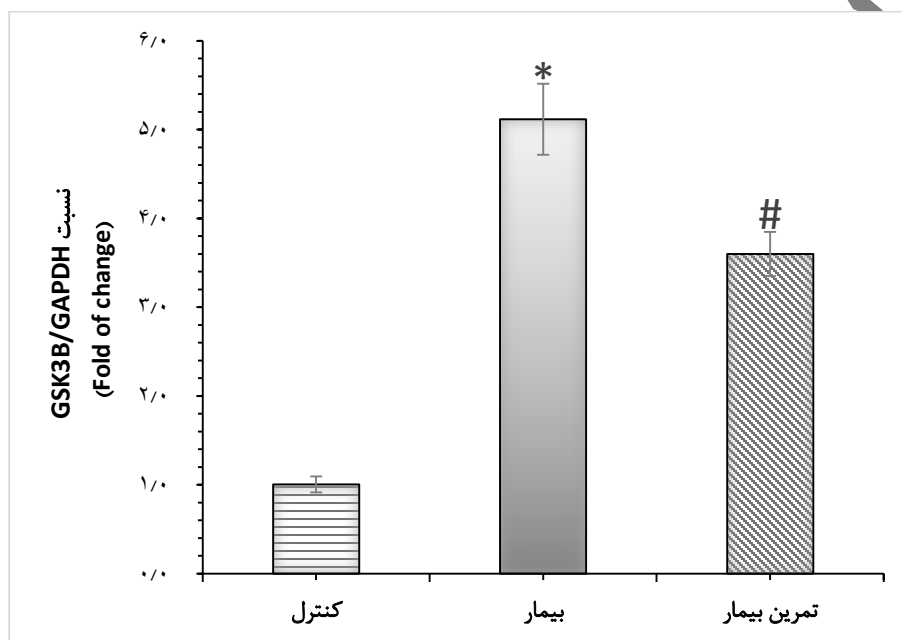


نمودار ۴. محتوای پروتئین caspase-3 در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر پس از شش هفته تمرین شنای اختیاری در سه گروه کنترل سالم، کنترل بیمار و تمرین بیمار. علامت * نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین گروه کنترل بیمار و گروه کنترل سالم است و علامت # نشان‌دهنده تفاوت معنادار در گروه تمرین بیمار نسبت به گروه کنترل بیمار می‌باشد. میله‌های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار هستند.

متغیر	F	P
GSK3B	۲۰۵/۸۱۱	۰/۰۰۱*

متغیر GSK3B		گروه
P	گروه	
*.001	بیمار	سالم
*.001	تمرین بیمار	
*.005	تمرین بیمار	بیمار

جدول ۳: نتایج آزمون آنوای یک راهه و تعقیبی توکی متغیر GSK3B سطح معنی داری ($P < 0.05$)



کنترل بیمار تمرین بیمار

GSK3B
126 kDa



GAPDH
37 KDa



نمودار ۵. محتوای پروتئین caspase-3 در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر پس از شش هفته تمرین شنای اختیاری در سه گروه کنترل سالم، کنترل بیمار و تمرین بیمار. علامت * نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین گروه کنترل بیمار و گروه کنترل سالم است و علامت # نشان‌دهنده تفاوت معنادار در گروه تمرین بیمار نسبت به گروه کنترل بیمار می‌باشد. میله‌های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار هستند.

گروه	کنترل	بیمار	تمرین بیمار
متغیر	میانگین $\pm$ انحراف معیار		
mTOR	$1/0.01 \pm 0.06$	$0/283 \pm 0.05$	$0/356 \pm 0.08$
GSK3B	$1/0.03 \pm 0.08$	$5/114 \pm 0.4$	$3/599 \pm 0.25$
Caspase3	$1/0.03 \pm 0.11$	$4/269 \pm 0.29$	$2/197 \pm 0.19$

جدول ۴: میانگین و انحراف معیار متغیرهای مورد آزمایش در گروه‌های مختلف (واحد‌ها به صورت fold change می‌باشد).

نتیجه گیری: بیماران مبتلا به ام‌اس عموماً فعالیت بدنی محدودی دارند و اطلاعات کافی در مورد تأثیر فعالیت‌های ورزشی، به‌ویژه تمرینات آبی، در دسترس نیست. یکی از فرضیه‌های اصلی در تبیین پاتولوژی این بیماری، دمیلینه شدن نورون‌های دستگاه عصبی مرکزی (CNS) در اثر واکنش‌های خودایمنی است (۵۷). بنابراین هدف از پژوهش حاضر اثر شش هفته فعالیت شنا اختیاری بر محتوای پروتئین‌های mTOR، GSK3 β ، caspase-3 موش‌های صحرایی مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس بود. نتایج نشان داد که القای بیماری ام‌اس سبب کاهش محتوای پروتئینی mTOR در هیپوکامپ موش‌های بیمار گردید. با این حال، پس از شش هفته تمرین اختیاری شنا، سطح این پروتئین در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل بیمار به‌طور معناداری افزایش یافت. نتایج نشان داد که القای بیماری ام‌اس سبب افزایش محتوای پروتئینی caspase-3 و GSK3 β در هیپوکامپ موش‌های بیمار گردید. با این حال، پس از شش هفته تمرین اختیاری شنا، سطح این پروتئین در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل بیمار به‌طور معناداری کاهش یافت. یافته‌های این مطالعه نشان داد که شش هفته شنا اختیاری در موش‌های صحرایی مبتلا به مدل دمیلینه‌شده نخاعی، با افزایش بیان و فسفریلاسیون mTOR، مهار GSK3 β از طریق فسفریلاسیون در Ser9 و کاهش سطوح Caspase-3 بریده همراه است. از منظر بیولوژیکی، فعال‌سازی mTOR احتمالاً با تحریک مسیرهای سنتز پروتئین و نوروجنزیس، تقویت بقا و بازسازی سلول‌های عصبی را تسهیل کرده است. مهار GSK3 β می‌تواند به کاهش التهاب، جلوگیری از فسفریلاسیون نابجای پروتئین‌های سیتواسکلتی و پایدارسازی میلین کمک کرده باشد. همچنین، کاهش Caspase-3 بریده نشان‌دهنده مهار مسیرهای آپوپتوتیک اجرایی است که می‌تواند بقاء نورونی و الیگودندروسیتی را ارتقاء دهد. هم‌زمانی این تغییرات حاکی از آن است که شنا اختیاری احتمالاً از طریق یک شبکه چندمسیره شامل تحریک مسیر PI3K/Akt/mTOR و مهار مسیرهای پروآپتوتیک وابسته به GSK3 β ، اثرات نورومحافظتی خود را اعمال می‌کند. این مکانیسم‌ها می‌توانند پایه‌ای برای طراحی مداخلات غیردارویی و کم‌خطر در مدیریت MS و سایر اختلالات دمیلینه باشند.

این یافته‌ها در پژوهش‌های اخیر نیز مورد تایید قرار گرفته است؛ هم‌سو با این نتایج جدیدی و همکاران (۱۴۰۱) نشان دادند که بیان پروتئین شوک گرمائی ۷۰^۱ در کاردیومیوسیت‌ها در موش‌های کنترل مدل سکتی نسبت به گروه سالم کنترل کمتر بود. با این حال، تمرین تناوبی شدید (HIIT) منجر به افزایش معنی‌دار بیان پروتئین شوک گرمائی ۷۰ در مقایسه با گروه‌های کنترل سالم و سکتی شد. همچنین، بیان کاسپاز ۳ در گروه تمرین HIIT به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه‌های کنترل سالم و سکتی بود. این یافته‌ها حاکی از آن بود که تمرین HIIT می‌تواند در مهار آپوپتوز قلبی ناشی از سکتی مؤثر باشد (۳۰). یانگ و همکاران (۲۰۲۴)

¹ HSP70

² Yang

اثر ورزش هوازی بر بیان Notch1 و Caspase-3 در هیپوکامپ موش‌های مبتلا به آلزایمر نشان می‌دهد که توانایی یادگیری فضایی و حافظه این موش‌ها به طور قابل توجهی بدتر از موش‌های نوع وحشی بود. با این حال، موش‌های گروه ورزشی عملکرد بهتری نسبت به گروه‌های کنترل داشتند. همچنین، بیان پروتئین‌های A β 1-42، Tau، Notch1 و Caspase-3 در گروه کنترل بیماری آلزایمر بالاتر از گروه کنترل وحشی بود، اما در گروه ورزشی بیماری آلزایمر به طور قابل توجهی کمتر بود. بنابراین، ورزش هوازی طولانی مدت می‌تواند به بهبود توانایی یادگیری فضایی و حافظه موش‌های مبتلا به آلزایمر کمک کند که به کاهش بیان پروتئین‌های مرتبط در هیپوکامپ مربوط می‌شود (۳۲). علی نژاد و همکاران (۱۴۰۲) نیز به بررسی اثر تزریق اسید هیالورونیک و تمرین هوازی بر بیان ژن های β -catenin و GSK-3 β بافت قلب در رت های مدل تجربی استئوآرتریت زانو پرداختند. در القای استئوآرتریت در موش‌ها منجر به افزایش معنی دار ژن بتا-کاتنین و کاهش معنی دار ژن GSK3 β بافت قلب نسبت به گروه کنترل سالم شد. نتایج همچنین نشان داد که تمرین هوازی منظم، تزریق اسید هیالورونیک و ترکیبی از هر دو درمان منجر به کاهش ژن β -catenin و افزایش ژن GSK3 β بافت قلب در مقایسه با موش‌های گروه استئوآرتریت شد. تمرین هوازی منظم در ترکیب با اسید هیالورونیک با کاهش بیان β -catenin و افزایش بیان ژن GSK-3 β بافت قلبی می‌تواند اثر محافظتی داشته باشد، که ممکن است از بیماری قلبی در مدل تجربی استئوآرتریت زانو جلوگیری کند (۳۶).

فعالیت ورزشی به عنوان یک مداخله غیر دارویی در مدیریت مولتیپل اسکلروزیس (MS) مورد توجه قرار گرفته است. بررسی تأثیر ورزش بر پروتئین GSK3 β در موش‌های مبتلا به MS می‌تواند به درک مکانیسم‌های این بیماری کمک کند. GSK3 β در فرآیندهای سلولی مانند التهاب نقش دارد و فعالیت غیرطبیعی آن می‌تواند به تخریب میلین منجر شود. شواهد نشان می‌دهند که ورزش منظم می‌تواند با کاهش سطح GSK3 β و بهبود عملکرد میتوکندری، التهاب را کاهش داده و سلامت عصبی را بهبود بخشد. این فعالیت همچنین به بهبود جریان خون و ترمیم بافت‌های آسیب دیده کمک کرده و کیفیت زندگی بیماران MS را افزایش می‌دهد. نتایج این تحقیقات می‌تواند به توسعه پروتکل‌های درمانی جدیدی که ترکیبی از ورزش و درمان‌های دارویی است، کمک کند (۳۷). فعالیت ورزشی تأثیرات قابل توجهی بر پروتئین mTOR (مکانیزم هدف داروی راپامایسین) دارد که در تنظیم رشد سلولی و متابولیسم انرژی نقش کلیدی ایفا می‌کند (۳۸). در موش‌ها، ورزش منظم باعث افزایش بیان mTOR، بهبود سنتز پروتئین‌های عضلانی و افزایش قدرت عضلات می‌شود. همچنین، ورزش با کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب، به حفظ تعادل متابولیکی و کاهش اثرات منفی ناشی از افزایش سن یا بیماری‌های مزمن کمک می‌کند (۳۹). این فعالیت‌ها همچنین فرآیندهای ترمیم بافت‌های آسیب دیده را تسریع کرده و به بهبود سلامت عمومی کمک می‌کند. درک این مکانیسم‌ها می‌تواند به توسعه استراتژی‌های درمانی جدید برای بهبود عملکرد ورزشی و مدیریت بیماری‌های متابولیکی کمک کند (۴۰). Caspase-3 یک آنزیم کلیدی در مسیر آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی) است که نقش مهمی در تنظیم مرگ سلولی و حفظ هموستاز بافتی ایفا می‌کند. در شرایطی که استرس‌های محیطی یا بیماری‌ها وجود دارند، فعالیت caspase-3 می‌تواند به افزایش مرگ سلولی و تخریب بافت‌ها منجر شود (۴۱). شواهد نشان می‌دهند که فعالیت ورزشی منظم می‌تواند با کاهش سطح caspase-3 و بهبود تعادل بین سیگنال‌های زنده ماندن و مرگ سلولی، به حفظ سلامت سلولی و بافتی کمک کند. این اثرات ممکن است به واسطه افزایش بیان پروتئین‌های محافظتی و کاهش استرس اکسیداتیو باشد که ناشی از فعالیت ورزشی است. به علاوه، فعالیت ورزشی می‌تواند با بهبود جریان خون و اکسیژن‌رسانی به بافت‌ها، فرآیندهای ترمیم و بازسازی را تسریع کند و به کاهش آسیب‌های ناشی از التهاب و استرس کمک کند (۴۲).

در نتیجه فعالیت شناختاری به عنوان یک مداخله ورزشی مؤثر، تأثیرات مثبتی بر محتوای پروتئین‌های $GSK3\beta$ ، mTOR و caspase-3 در موش‌های صحرایی مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس (MS) داشت. $GSK3\beta$ به عنوان یک کیناز سرماتیک، نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای متابولیکی و سیگنال‌دهی سلولی ایفا کرد و افزایش فعالیت آن می‌توانست منجر به تخریب بافت عصبی و تشدید علائم MS شود. از سوی دیگر، mTOR به عنوان یک پروتئین کلیدی در تنظیم رشد و ترمیم سلولی، با افزایش بیان خود می‌توانست به بهبود عملکرد عصبی و کاهش التهاب کمک کند (۴۵). همچنین، caspase-3 به عنوان یک آنزیم مرتبط با آپوپتوز، در شرایط التهابی و آسیب عصبی فعال شد. نتایج تحقیقات نشان دادند که فعالیت شناختاری با کاهش سطح $GSK3\beta$ و caspase-3 و افزایش بیان mTOR، به بهبود وضعیت عصبی و کاهش علائم بالینی در موش‌های مبتلا به MS منجر شد. این تغییرات بیوشیمیایی به بهبود عملکرد حرکتی و کیفیت زندگی این موش‌ها کمک کردند. بنابراین، فعالیت شناختاری به عنوان یک استراتژی تأثیرگذار مکمل در مدیریت مولتیپل اسکلروزیس، می‌توانست به بهبود سلامت عمومی و عملکرد عصبی بیماران کمک کند و به عنوان یک رویکرد مؤثر در برنامه‌های درمانی برای این بیماران در نظر گرفته شود (۴۶). در این راستا، $GSK3\beta$ به عنوان یک کیناز پروتئینی سرین/ترونین که می‌تواند آپوپتوز را از طریق تنظیم فعالیت‌های سلولی تحت تأثیر قرار دهد، نقش مهمی ایفا می‌کند. همچنین، mTOR به عنوان یک کیناز پروتئینی که در تنظیم اتوفژی و آپوپتوز دخالت دارد، می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار گیرد. در نهایت، caspase-3 به عنوان یک نشانگر کلیدی آپوپتوز، در فرآیندهای تخریب سلولی نقش دارد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که $IL-1\beta$ می‌تواند آپوپتوز NPC را از طریق فعال‌سازی $GSK3\beta$ و caspase-3 القا کند و RES می‌تواند به طور مؤثری این آپوپتوز را با تأثیر بر مسیر mTOR مهار کند. این یافته‌ها نشان‌دهنده اهمیت این پروتئین‌ها در تنظیم آپوپتوز و بقای سلولی در شرایط پاتولوژیک هستند (۴۰).

نتایج حاضر نشان داد که شش هفته فعالیت شناختاری موجب افزایش بیان و فسفریلاسیون mTOR، مهار $GSK3\beta$ و کاهش سطح Caspase-3 بریده در موش‌های صحرایی مدل MS شد. این الگوی تغییرات پروتئینی بیانگر فعال‌سازی مسیر PI3K/Akt/mTOR و مهار مسیرهای آپوپتوتیک وابسته به $GSK3\beta$ است که در مجموع می‌تواند به بقاء سلول‌های عصبی و الیگودندروسیت‌ها کمک کند. از منظر بیولوژیکی، mTOR به عنوان یک تنظیم‌کننده کلیدی سنتز پروتئین و رشد سلولی، در بازسازی میلین و تحریک نوروجنزیس نقش دارد. افزایش فعالیت mTOR در مطالعه حاضر می‌تواند بیانگر بهبود ظرفیت ترمیمی سیستم عصبی تحت اثر تمرین باشد (۴۸). مهار $GSK3\beta$ ، که با فسفریلاسیون در Ser9 اتفاق می‌افتد، به کاهش التهاب، تثبیت اسکلت سلولی و جلوگیری از دمیالیناسیون کمک می‌کند (۴۹). یافته‌های ما با مطالعاتی که اثرات ضدالتهابی و نورومحافظتی مهار $GSK3\beta$ را گزارش کرده‌اند هم‌سو است. هرچند تفاوت در نوع تمرین، شدت و مدت آن می‌تواند میزان مهار را تغییر دهد (۵۰). کاهش Caspase-3 بریده، به عنوان یکی از شاخص‌های اصلی آپوپتوز، نشان‌دهنده مهار مسیرهای مرگ سلولی است که احتمالاً از طریق فعال‌سازی Akt و مهار سیگنال‌های پروآپتوتیک انجام شده است. این یافته با گزارش‌های قبلی مبنی بر کاهش فعالیت Caspase-3 در مدل‌های نورودژنراتیو پس از تمرین هوازی همخوانی دارد (۵۱). جالب آنکه، هم‌زمانی افزایش mTOR و مهار $GSK3\beta$ می‌تواند بیانگر تعامل متقابل این دو مسیر باشد، چراکه مهار $GSK3\beta$ می‌تواند موجب فعال‌سازی mTOR گردد. این امر نشان می‌دهد که شناختاری احتمالاً از طریق یک شبکه سیگنالینگ یکپارچه اثر خود را اعمال می‌کند، نه صرفاً یک مسیر منفرد (۵۲).

این مقاله بر اساس پایان نامه که در دانشگاه شهید چمران اهواز ثبت شده است، می باشد. هزینه های مطالعه بر عهده محقق بوده و نویسنده همچنین از آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز بخاطر همکاری صمیمانه تشکر میکند.

منابع

1. Gentile A, Musella A, De Vito F, Rizzo FR, Fresegha D, Bullitta S, et al. Immunomodulatory Effects of Exercise in Experimental Multiple Sclerosis. *Front Immunol*. 2019;10:2197.
2. Maciak K, Dziedzic A, Saluk J. Remyelination in multiple sclerosis from the miRNA perspective. *Front Mol Neurosci*. 2023;16:1199313.
3. Voskuhl RR, MacKenzie-Graham A. Chronic experimental autoimmune encephalomyelitis is an excellent model to study neuroaxonal degeneration in multiple sclerosis. *Front Mol Neurosci*. 2022;15:1024058.
4. Klaren RE, Stasula U, Steelman AJ, Hernandez J, Pence BD, Woods JA, et al. Effects of exercise in a relapsing-remitting model of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurosci Res*. 2016;94(10):907–14.
5. Rumrill Jr PD. Multiple sclerosis: Medical and psychosocial aspects, etiology, incidence, and prevalence. *J Vocat Rehabil*. 2009;31(2):75–82.
6. Noseworthy JH. Progress in determining the causes and treatment of multiple sclerosis. *Nature*. 1999;399(SUPPL.):A40–7.
7. Miller DH, Barkhof F, Frank JA, Parker GJM, Thompson AJ. Measurement of atrophy in multiple sclerosis: Pathological basis, methodological aspects and clinical relevance. *Brain*. 2002;125(8):1676–95.
11. Llorens-Martín M, Jurado J, Hernández F, Ávila J. GSK-3 β , a pivotal kinase in Alzheimer disease. *Front Mol Neurosci*. 2014;7(MAY):46.
8. Takeuchi C, Yamagata K, Takemiya T. Variation in experimental autoimmune encephalomyelitis scores in a mouse model of multiple sclerosis. *World J Neurol*. 2013;3(3):56.
9. Ghaffari S, Nemati HH, Dehghan G. Protective effect of short-term administration of ethanolic saffron extract on improvement of cognitive deficits and decrement of lipid peroxidation induced by ethidium bromide in experimental models of MS. *Physiol Pharmacol*. 2013;17(3):315–27. [In Persian].
10. Joseph OA, Afeez OJ, Michael A, Omotuyi OI. Molecular docking based screening analysis of GSK3B. *Bioinformation*. 2019;15(3):201–8.

12. Muyllaert D, Kremer A, Jaworski T, Borghgraef P, Devijver H, Croes S, et al. Glycogen synthase kinase-3 β , or a link between amyloid and tau pathology? *Genes, Brain Behav.* 2008;7(SUPPL. 1):57–66.
13. Cohen P, Goedert M. GSK3 inhibitors: Development and therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov.* 2004;3(6):479–87.
14. Coyle-Rink J, Del Valle L, Sweet T, Khalili K, Amini S. Developmental expression of Wnt signaling factors in mouse brain. *Cancer Biol Ther.* 2002;1(6):640–5.
15. Ye P, Hu Q, Liu H, Yan Y, D’Ercole AJ. β -catenin mediates insulin-like growth factor-I actions to promote cyclin D1 mRNA expression, cell proliferation and survival in oligodendroglial cultures. *Glia.* 2010;58(9):1031–41.
16. Salcedo-Tello P, Ortiz-Matamoros A, Arias C. GSK3 function in the brain during development, neuronal plasticity, and neurodegeneration. *Int J Alzheimers Dis.* 2011;2011(1):189728.
17. Busceti CL, Biagioni F, Aronica E, Rizzo B, Storto M, Battaglia G, et al. Induction of the Wnt inhibitor, Dickkopf-1, is associated with neurodegeneration related to temporal lobe epilepsy. *Epilepsia.* 2007;48(4):694–705.
18. Saxton RA, Sabatini DM. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell.* Elsevier; 2017;168(6):960–76.
19. Zhang Y, Huang B, Wang H-Y, Chang A, Zheng XFS. Emerging role of microRNAs in mTOR signaling. *Cell Mol Life Sci.* Springer; 2017;74(14):2613–25.
20. Chong ZZ, Maiese K. Mammalian target of rapamycin signaling in diabetic cardiovascular disease. *Cardiovasc Diabetol.* Springer; 2012;11(1):1–8.
21. McKenzie BA, Fernandes JP, Doan MAL, Schmitt LM, Branton WG, Power C. Activation of the executioner caspases-3 and-7 promotes microglial pyroptosis in models of multiple sclerosis. *J Neuroinflammation.* 2020;17(1):1–25.
22. Zhang, J., Chen, Y., Yin, D., Feng, F., An, Q., Liu, Z., ... & Hu, X. (2021). Caspase-3/NLRP3 signaling in the mesenchymal stromal niche regulates myeloid-biased hematopoiesis. *Stem Cell Research & Therapy*, 12, 1-16.
23. Rezaee, N., Rahmani-Nia, F., Delfan, M., & Ghahremani, R. (2022). The effect of aerobic training and probiotic supplementation on blood glucose levels and caspase-3 gene expression in skeletal muscle of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 10(23), 8-18. [In Persian].
24. Hajivand M, Fathi M, Karaji ZG, Rezaei R. the effect of swimming training on the expression of caspase 1 and AIM2 protein in Hippocampus male wistar rats. *J Arak Univ Med Sci.* 2024;26(6):0. [In Persian].

25. Ma Z, Qi J, Meng S, Wen B, Zhang J. Swimming exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves microRNAs and synergistic regulation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *Eur J Appl Physiol*. 2023;113:2473–86.
26. Greer JM, Trifilieff E, Pender MP. Correlation Between Anti-Myelin Proteolipid Protein (PLP) Antibodies and Disease Severity in Multiple Sclerosis Patients With PLP Response-Permissive HLA Types. *Front Immunol*. 2020;11:1891.
27. Guo LY, Lozinski B, Yong VW. Exercise in multiple sclerosis and its models: Focus on the central nervous system outcomes. *J Neurosci Res*. 2020;98(3):509–23.
28. Campbell E, Coulter EH, Paul L. High intensity interval training for people with multiple sclerosis: A systematic review. *Mult Scler Relat Disord*. 2018;24:55–63.
29. Bernardes D, Oliveira-Lima OC, da Silva TV, Faraco CCF, Leite HR, Juliano MA, et al. Differential brain and spinal cord cytokine and BDNF levels in experimental autoimmune encephalomyelitis are modulated by prior and regular exercise. *J Neuroimmunol*. 2013;264(1–2):24–34.
30. Jadidi, D., Seifi, F., Bolboli, L., Pourrahim, A. (2021). The Effect of High-Intensity Interval Training on Gene Expression of Heat Shock Protein 70 and Caspase-3 in Cardiomyocytes of Male Rats Model of Myocardial Infarction. *Journal of Applied Health Studies in Exercise Physiology*, 2022; 9(2): 1-11. doi: 10.22049/jahssp.2021.27521.1407. [In Persian].
31. Bazyar F, Shabani R, Elmiyeh A. The Effects of Endurance Training and Saffron Extract on the Expression of Bax, Bcl-2, and Caspase-3 Genes in the Hippocampal Tissue of Alzheimer's Male Rats. *J Jiroft Univ Med Sci* 2023; 9 (4) :1151-1159. URL: <http://journal.jmu.ac.ir/article-1-680-fa.html>. [In Persian].
32. Yang L, Zhang Y, Li C, Wei C. Effects of aerobic exercise on the expression of Notch1 and Caspase-3 in the hippocampus of Alzheimer's disease mice. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*. 2024 Sep 18;28(26):4113.
33. Hamidi, F., Sadeghipour, H. R., Zar, Abdolsaleh, R., Ranjbar, R. (2021). Gene Pathway Changes of TSC2(RAGs)/mTOR/4E-BPs in Male Rats Following a Period of Resistance Training and Spirulina Plantesis Supplementation. *Sport Physiology*, 2024; 16(61): 31-46. doi: 10.22089/spj.2024.16068.2291. [In Persian].
34. Izadimanesh, F., Haghighi, A.H., Hosseini Kakhk, S. A., Asadi Shekari, M., Marefati, H. (2021). The Effect of Moderate Intensity TED Omi Training on the Expression of C/EBP β and mTOR Genes Associated with Autophagy in the Prefrontal Cortex of METH-Dependent Rats. *Journal of Applied Studies in Sport Sciences in Sport*, 2024; 12(31): 8-19. doi: 10.22077/jpsbs.2024.6397.1795. [In Persian].
35. Hu M, Han M, Zhang H, Li Z, Xu K, Kang H, Zong J, Zhao F, Liu Y, Liu W. Curcumin (CUMINUP60®) mitigates exercise fatigue through regulating PI3K/Akt/AMPK/mTOR pathway in mice. *Aging (Albany NY)*. 2023 Mar 28;15(6):2308.

36. Alinezhad H, Abbasi A, Farzanegi P, Abdi A. Effect of Hyaluronic Acid Injection and Aerobic Exercise on the Expression of β -catenin and GSK-3 β Genes in Heart Tissue of Rats in the Experimental Model of Knee Osteoarthritis. *Paramedical Sciences and Military Health* 2021; 16 (2) :1-10. URL: <http://jps.ajaums.ac.ir/article-1-282-fa.html>. [In Persian].
37. Turkistani, A., Al-Kuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., Albuhadily, A. K., Alexiou, A., Papadakis, M., ... & Batiha, G. E. S. (2024). Therapeutic potential effect of glycogen synthase kinase 3 beta (GSK-3 β) inhibitors in Parkinson disease: exploring an overlooked avenue. *Molecular Neurobiology*, 61(9), 7092-7108.
38. Vakrahou, A. G., Alexaki, A., Brinia, M. E., Anagnostouli, M., Stefanis, L., & Stathopoulos, P. (2022). The mTOR signaling pathway in multiple sclerosis; from animal models to human data. *International journal of molecular sciences*, 23(15), 8077.
39. Pupyshev AB, Belichenko VM, Tenditnik MV, Bashirzade AA, Dubrovina NI, Ovsyukova MV, Akopyan AA, Fedoseeva LA, Korolenko TA, Amstislavskaya TG, Tikhonova MA. Combined induction of mTOR-dependent and mTOR-independent pathways of autophagy activation as an experimental therapy for Alzheimer's disease-like pathology in a mouse model. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2022 Jun 1;217:173406.
40. Mammana, S., Bramanti, P., Mazzon, E., Cavalli, E., Basile, M. S., Fagone, P., ... & Mangano, K. (2018). Preclinical evaluation of the PI3K/Akt/mTOR pathway in animal models of multiple sclerosis. *Oncotarget*, 9(9), 8263.
41. Ke H, Wang X, Zhou Z, Ai W, Wu Z, Zhang Y. Effect of weimaining on apoptosis and Caspase-3 expression in a breast cancer mouse model. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021 Jan 10;264:113363.
42. Dou, H., Yu, P. Y., Liu, Y. Q., Zhu, Y., Li, F. C., Wang, Y. Y., ... & Xiao, M. (2024). Recent advances in caspase-3, breast cancer, and traditional Chinese medicine: a review. *Journal of Chemotherapy*, 36(5), 370-388.
43. Kim JY, Yi ES, Lee H, Kim JS, Jee YS, Kim SE, et al. Swimming exercise ameliorates symptoms of MOG-induced experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting inflammation and demyelination in rats. *Int Neurol J*. 2020;24(Suppl 1):S39.
44. Muller HB, Scholl G, Far J, De Pauw E, Eppe G. Sliding windows in ion mobility (SWIM): a new approach to increase the resolving power in trapped ion mobility-mass spectrometry hyphenated with chromatography. *Analytical Chemistry*. 2023 Nov 17;95(48):17586-94.
45. Hajivand M, Fathi M, Karaji ZG, Rezaei R. the effect of swimming training on the expression of caspase 1 and AIM2 protein in Hippocampus male wistar rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 2024 Feb 10;26(6):0-12. [In Persian].
46. Önel, T., Arıcıoğlu, F., Yıldırım, E., Zortul, H., & Yaba, A. (2023). The effect of maternal separation stress-induced depression on ovarian reserve in Sprague Dawley Rats: The possible role of imipramine and agmatine through a mTOR signal pathway. *Physiology & Behavior*, 269, 114270.

47. Zhan J, Mann T, Joost S, Behrangi N, Frank M, Kipp M. The cuprizone model: dos and do nots. *Cells* 9: 843. 2020.
48. Saxton, R. A., & Sabatini, D. M. (2017). mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell*, 168(6), 960-976. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.02.004>
49. Jope, R. S., & Johnson, G. V. (2004). The glamour and gloom of glycogen synthase kinase-3. *Trends in Biochemical Sciences*, 29(2), 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2003.12.004>
50. Li, X., Alafuzoff, I., Soininen, H., Winblad, B., & Pei, J. J. (2020). Levels of mTOR and its downstream targets 4E-BP1, eIF4E, and p70S6K in the Alzheimer's disease brain. *Journal of Alzheimer's Disease*, 77(1), 47–57. <https://doi.org/10.3233/JAD-200203>
51. Leem, Y. H., Lee, Y. I., Son, H. J., & Kim, Y. K. (2019). Chronic exercise ameliorates the neuroinflammation in mice carrying human Alzheimer's mutant APP/PS1 genes via the reduction of TNF- α and activation of Akt pathway. *Experimental Gerontology*, 116, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2018.12.006>
52. Hou, Y., Dan, X., Babbar, M., Wei, Y., Hasselbalch, S. G., Croteau, D. L., & Bohr, V. A. (2019). Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neurology*, 15(10), 565–581. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0244-7>
53. Ye JN, Chen XS, Su L, Liu YL, Cai QY, Zhan XL, et al. Progesterone alleviates neural behavioral deficits and demyelination with reduced degeneration of oligodendroglial cells in cuprizone-induced mice. *PLoS One*. 2013;8(1):e54590.
54. Lubrich C, Giesler P, Kipp M. Motor Behavioral Deficits in the Cuprizone Model: Validity of the Rotarod Test Paradigm. *Int J Mol Sci*. 2022;23(19).
55. Ghotbeddin Z, Khazaei K, Tabandeh M-R, Aliheydari M, Yaghobi H. Effects of Omega-3 Fatty acid supplementation during chronic maternal hypoxia on behavioral disorders in male rat offspring 2022.
56. Zimmermann J, Emrich M, Krauthausen M, Saxe S, Nitsch L, Heneka MT, et al. IL-17A promotes granulocyte infiltration, myelin loss, microglia activation, and behavioral deficits during cuprizone-induced demyelination. *Molecular neurobiology*. 2018;55:946-57.
57. Dobson R, Giovannoni G. Multiple sclerosis—a review. *European journal of neurology*. 2019;26(1):27-40.