Journal of Sport and Exercise Physiology
2026, 19(1): 1-21

Orginal Article

The effect of six weeks of voluntary swimming on the content of GSK3β, mTOR, and caspase-3 proteins in rats with cuprizone-induced multiple sclerosis

Mohammad Kahvazi Zadeh, Abdolhamid Habibi*, Mohammad Rami

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 (GSK3β), 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 GSK3β, mTOR, and caspase-3 proteins in the hippocampal tissue of male rats with cuprizone-induced MS.

Materials and Methods: Twenty-one male Wistar rats (average age 12 weeks; weight, 225 ± 16 g) were randomly assigned to three groups: healthy control, MS control, and MS plus exercise. MS was induced by feeding a diet containing 0.5% cuprizone for 12 weeks. Disease induction was confirmed using the rotarod performance test. Following MS 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 was increased by 5 minutes weekly, for the first 4 weeks. 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 GSK3β, mTOR, and caspase-3 were analyzed by using Western blotting. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test.

Results: A significant increase in GSK3β 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 GSK3β and caspase-3 were significantly decreased ($p<0.001$), while mTOR expression increased significantly in the exercise group compared to MS controls ($p<0.001$).

* Corresponding Author's E-mail: a.habibi@scu.ac.ir
https://doi.org/10.48308/joeppa.2025.240196.1369
Received: 01/06/2025 Revised: 31/08/2025 Accepted: 02/10/2025

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: The results of this study 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.

Keywords: GSK3β, mTOR, Caspase-3, Multiple sclerosis, Physical activity

How to cite this article: Kahvazi Zadeh M, Habibi A, Rami M. The effect of six weeks of voluntary swimming on the content of GSK3β, mTOR, and caspase-3 proteins in rats with cuprizone-induced multiple sclerosis. J Sport Exerc Physiol. 2026;19(1):1-21.

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی
۱۴۰۵، دوره ۱۹، شماره ۱، صفحه‌های ۱-۲۱

مقاله پژوهشی

اثر شش هفته فعالیت شنای اختیاری بر محتوای پروتئین‌های GSK3β، mTOR، caspase-3 موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری مولتیپل اسکلروزیس (MS) القاشده با کوپریزون

محمد کهوازی‌زاده، عبدالحمید حبیبی*، محمد رمی

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ 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 چشمگیری کیفیت زندگی بیماران را تحت تأثیر قرار می‌دهد و محدود می‌سازد. یافته‌ها نشان می‌دهد فعالیت بدنی می‌تواند با ایجاد آثار ضدالتهابی و نقش محافظتی بر آکسون‌ها در این بیماران مفید باشد. در هیپوکامپ، پیام‌رسانی GSK3β، mTOR، caspase-3 در تنظیم چندین فرایند مهم سلولی از جمله آپوپتوز، بقا، تکثیر و سوخت‌وساز نقش دارد، بر همین اساس، هدف این پژوهش بررسی تأثیر فعالیت ورزشی (شنای اختیاری) بر سطح پروتئین‌های کلیدی و برجسته‌ای GSK3β، mTOR، caspase-3 در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی مبتلا به MS القاشده با کوپریزون است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش ۲۱ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین سن ۱۲ هفته و وزن ۱۶±۲۲۵ گرم خریداری و در سه گروه شامل کنترل سالم، کنترل بیمار و بیمار تمرین جایگزین شدند. الگوی بیماری MS با استفاده از رژیم غذایی حاوی ۰/۵ درصد کوپریزون به مدت ۱۲ هفته القا شد. پس از تأیید القای بیماری با آزمون روتارود، تمرین شنا طی شش هفته اعمال شد. در هفتهٔ اول، فعالیت شنا به مدت ۱۰ دقیقه بدون بار اضافی انجام گرفت و به‌منظور اعمال اضافه بار مدت شنا در هر هفته پنج دقیقه افزایش پیدا کرد. به‌منظور ارزیابی سازگاری، مدت زمان شنا در هفته‌های پنجم و ششم به مدت زمان ۳۰ دقیقه ثابت نگه داشته شد. پس از پایان تمرین و آزمون روتارود و برای بررسی تعادل و حافظه انجام گرفت. سپس بافت هیپوکمپ استخراج و مقادیر پروتئین‌های GSK3β، mTOR و 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.

نتایج: یافته‌ها نشان داد که محتوای پروتئینی GSK3β و caspase-3 در گروه بیمار نسبت به گروه سالم بیشتر شد (P=۰/۰۰۱)؛ اما پس از شش هفته تمرین شنا، محتوای پروتئین‌های یادشده در گروه تمرینی نسبت به گروه بیمار کمتر شده (P<0/001). همچنین در محتوای پروتئین mTOR کاهش در گروه بیمار نسبت به گروه سالم دیده شد (P=۰/۰۰۱)؛ اما پس از شش هفته تمرین شنا، محتوای پروتئین یادشده در گروه تمرینی نسبت به گروه بیمار به افزایش یافت (P=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که ممکن است فعالیت ورزشی شنای اختیاری با القای سازگاری‌های مولکولی، بتواند تأثیرات ضدالتهابی و محافظت‌کنندهٔ عصبی و همچنین اثر تعدیلی بر تغییر پروتئین‌های مؤثر در فرایند آپوپتوز سلول‌های هیپوکامپ در موش‌های دارای اماس داشته باشد و موجب بقای سلول‌های هیپوکامپ شود.

واژه‌های کلیدی: GSK3β، mTOR، caspase-3، فعالیت ورزشی، مولتیپل اسکلروزیس.

* رایانامه نویسنده مسئول: a.habibi@scu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۱۱ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۶/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۱۰

نحوه استناد به این مقاله: کهوازی‌زاده م، حبیبی ع، رمی م. اثر شش هفته فعالیت شنای اختیاری بر محتوای پروتئین‌های GSK3β، mTOR، caspase-3 موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری مولتیپل اسکلروزیس(MS) القاشده با کوپریزون نشریهٔ فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی.۱۴۰۵؛۱۹(۱):۱-۲۱.

مقدمه

مولتیپل اسکلروزیس (MS[1]) یک بیماری دمیلینه‌کننده (جداشدگی غشای میلین) و نورودژنراتیو (تخریب و استحالهٔ سلول‌های عصبی) است. با اینکه آنتی‌ژن خاصی برای این بیماری شناسایی نشده، اما به‌طور گسترده تأیید شده که MS یک اختلال خودایمنی است که با حملهٔ دستگاه ایمنی به میلین مشخص می‌شود (۱). MS یک اختلال التهابی و دمیلینه‌کنندهٔ چندکانونی است که بیشتر بر دستگاه عصبی مرکزی تأثیر می‌گذارد و به اختلالات عصبی پیشرونده منجر می‌شود. MS آسیب‌های گسترده‌ای به مغز و نخاع وارد می‌کند (۶)، برای نمونه، کاهش حجم مغز، بزرگ شدن بطن‌ها و آتروفی نخاع می‌شود (۷). علت کاربرد وسیع ایزوفورم (GSK3β[2]) در بیماری‌های گوناگون این است که GSK3β یک کیناز پروتئینی است که مداوم و یکسره فعال است و نزدیک به ۴۰ زیرلایهٔ پروتئینی است و از طریق مسیرهای پیام‌رسانی Wnt، انسولین و عامل نوروتروفیک مشتق‌شده از مغز (BDNF) تنظیم می‌شود (۱۱).GSK3 یک کیناز پرولین‌محور و دارای دو ایزوفورم به نام‌های گلیکوژن سنتاز کیناز-۳ آلفا (GSK3α) و بتا (GSK3β) است که به‌ترتیب توسط کروموزوم‌های ۱۹ و ۳ کدگذاری می‌شوند. GSK3β بیشتر در دستگاه عصبی مرکزی بیان می‌شود، به‌طور معمول در آکسون‌ها قرار دارد و کیناز اصلی فسفریلاسیون پروتئین تائو است (۱۲). گلیکوژن سنتاز کیناز ۳ بتا (GSK3β) یک تنظیم‌کنندهٔ منفی چندمنظوره در مشخص‌سازی سرنوشت سلولی است که تحت تأثیر بسیاری از مسیرهای پیام‌رسانی وابسته به گیرنده قرار دارد (۱۳). GSK3β در مادهٔ سفید در حال رشد دارای سطح بالایی از بیان و فعالیت است (۱۴). مهار GSK3β یکی از نتایج کلیدی و برجسته‌ای فعال‌سازی گیرنده‌های کینازی است و نقش مهمی در واسطه‌گری تأثیرات پرو-بقای عامل رشد شبه‌انسولین ۱ (IGF-1) و عامل رشد فیبروبلاستی ۲ (FGF-2) در پیش‌سازهای الیگودندروسیتی (OPs) دارد (۱۵). مجموعه هدف سازوکاری راپامایسین (mTOR[3]) از تأثیرگذارترین عوامل تنظیم‌کنندهٔ رشد، تکثیر، تحرک، بقا، اتوفاژی، رونویسی و سنتز پروتئین به‌شمار می‌رود که از دو مجتمع پروتئینی مجزا به نام‌های mTORC1 و mTORC2 تشکیل می‌شود (۱۸). در همین زمینه در کنار اهمیت تنظیم‌کنندگی سوخت‌وساز و سایر عملکردهای mTOR، وجود یک حلقه بازخورد منفی توسط mTOR که بستر گیرندهٔ انسولین (IRS) را غیرفعال می‌کند، کم‌وبیش ثابت شده است که از این طریق به ضعف پیام‌رسانی انسولین منجر می‌شود. کاسپاز-۳ در بیماران MS پیشرونده و روش‌های حیوانی آن، یک تنظیم‌کنندهٔ کلیدی و برجسته‌ای در فرایند پایروپتوز میکروگلیاها و ماکروفاژهاست که از طریق تعامل با عوامل دیگر می‌تواند به مرگ سلولی پیش‌التهابی و آزادسازی واسطه‌های التهابی مانند IL-1β منجر می‌شود (۲۱). در پژوهش ژانگ و همکاران (۲۰۲۱) تأثیر تمرین شنا بر بیان ژن کاسپاز-۳ در کندروسیت‌ها در آرتروز (OA) بررسی شد و یافته‌ها نشان داد که تمرین شنا سبب بهبود مورفولوژی بافت استخوانی و کاهش سطح کاسپاز-۳ و آپوپتوز کندروسیت‌ها در مقایسه با گروه مداخله شد. تأثیر تمرین ورزشی بر بیان ژن کاسپاز-۳ در مولتیپل اسکلروزیس (MS) به‌عنوان یک موضوع مهم در پژوهش‌های علمی مطرح است. کاسپاز-۳ نقش کلیدی و برجسته‌ای در فرایند آپوپتوز دارد و در MS که با تخریب سلول‌های عصبی و التهاب همراه است، فعال می‌شود. تمرین منظم می‌تواند با کاهش التهاب و فشار اکسایشی، سطح کاسپاز-۳ را کاهش دهد و از مرگ سلولی در بافت‌های عصبی جلوگیری کند (۲۲).

همچنین تمرین ورزشی شاید با افزایش ترشح عوامل

نوروتروفیک مانند BDNF[۴] به بهبود بقای سلول‌های عصبی کمک کنند. یافته‌های بالینی نشان می‌دهند که بیماران MS که به‌طور منظم ورزش می‌کنند، کاهش علائم و بهبود کیفیت زندگی را تجربه می‌کنند (۲۳). حاجی‌وند و همکاران (۱۴۰۳) با بررسی تأثیر یک دوره تمرین شنا بر سطوح پروتئینی AIM2 و کاسپاز ۱ در بافت هیپوکمپ موش‌های سالم نشان دادند اجرای یک دوره تمرین شنا به‌طور معناداری سبب کاهش بیان این شاخص‌های پروتئینی در هیپوکامپ موش‌های صحرایی می‌شود (۲۴). با این همه، مائ و همکاران (۲۰۲۳) با بررسی تأثیر تمرین شنا بر هایپرتروفی بطن چپ از طریق مسیر پیام‌رسانی PI3K/AKT/mTOR در موش‌های صحرایی به افزایش معنادار سطح پروتئین‌های AKT و mTOR اشاره کردند. به‌تازگی یافته‌های پژوهشی نشان می‌دهند که فعالیت‌های ورزشی، به‌ویژه ورزش‌های آبی، می‌توانند با کاهش عوامل وابسته به آپوپتوز و التهاب، مرگ سلولی را به تأخیر بیندازند و از پیشرفت بیماری اماس جلوگیری کنند. علاوه بر این، فعال‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی وابسته به نوروژنز (عصب‌زایی) می‌تواند عملکرد شناختی، تعادل و توان حرکتی بیماران را بهبود بخشد. این یافته‌ها اهمیت ورزش به‌عنوان یک مداخلهٔ مکمل برای مدیریت بیماری اماس را نشان می‌دهد (۲۵).

تأثیر ورزش بر بالا رفتن سطوح نوروتروفین‌ها، افزایش شمار الیگودندروسیت‌ها، افزایش پروتئین‌های ساختاری میلین، بازسازی میلین، کاهش التهاب و حفاظت از آکسون در گزارش‌های پژوهشی به‌وفور نشان داده شده است (۲۶). هرچند شماری از پژوهش‌ها این نتایج را گزارش نکرده‌اند، عدم مشاهدهٔ این فواید همواره به کم بودن حجم یا شدت تمرین استفاده‌شده در این پژوهش‌ها نسبت داده می‌شود (۲۷). ورزش شنا می‌تواند تأثیرات ضدالتهابی و محافظت‌کننده از عصب را داشته باشد که شاید به‌دلیل ماهیت ترکیبی هوازی-مقاومتی و به‌کارگیری واحدهای حرکتی بزرگ‌تر و درگیر کردن همزمان همهٔ گروه‌های ماهیچه‌های اصلی در این نوع ورزش، می‌توان شاهد تأثیرات مثبت‌تری نسبت به الباقی روش‌های تمرینی بود (۲۹). GSK3β و mTOR به‌عنوان دو مسیر پیام‌رسانی کلیدی و برجسته در تنظیم سوخت‌وساز سلولی و بقای سلول‌های عصبی شناخته می‌شوند، درحالی‌که caspase-3 به‌عنوان یک نشانگر آپوپتوز، نقش مهمی در مرگ سلولی دارد. بررسی تأثیر فعالیت شنا بر این پروتئین‌ها می‌تواند به شناسایی سازوکارهای مولکولی کمک کند که از طریق آن‌ها تمرین ورزشی می‌تواند به بهبود عملکرد عصبی و کاهش علائم MS منجر شود (۳۰). از این‌رو، و با توجه به ابهامات و تناقضات موجود، این پژوهش با هدف تعیین اثر شش هفته فعالیت شنای اختیاری بر محتوای پروتئین‌های GSK3β، mTOR، caspase-3 موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری مولتیپل اسکلروزیس (MS) القاشده با کوپریزون انجام شد.

روش پژوهش

نمونه‌های 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 میانگین سنی ۱۲ هفته و وزن ۱۶±۲۲۵ گرم از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکدهٔ 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 به‌منظور سازگاری با محیط آزمایش، موش‌های صحرایی دو هفته در خانهٔ حیوانات دانشکدهٔ دامپزشکی با دمای ۲۰ تا ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۴۵-۵۵ درصد، تهویهٔ مناسب و ۱۲

ساعت روشنایی و تاریکی نگهداری شدند و به شکل آزادانه به آب و غذا (پلت ویژۀ جوندگان- پارس، تهران) دسترسی داشتند. آزمودنی‌ها پس از آشنایی با نحوۀ فعالیت در استخر ویژۀ جوندگان حیوانات به‌طور تصادفی و به شرح زیر به سه گروه هفت‌تایی، در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف جایگزین شدند: گروه کنترل سالم-گروه کنترل بیمار-گروه تمرین بیمار. در مرحلۀ آشنایی با تمرین، توانایی موش‌های صحرایی برای انجام فعالیت شنا نیز بررسی و مشخص شد که همۀ آن‌ها قادر به انجام این فعالیت هستند. همۀ مراحل این پژوهش به تصویب کمیتۀ اخلاق در پژوهش دانشگاه شهید چمران اهواز رسید و با شناسۀ IR.SCU.REC.1404.013 ثبت شد.

روش اجرای پژوهش: به‌منظور القای بیماری، کوپریزون با نسبت وزنی ۰/۵ درصد به پودر غذای ویژۀ جوندگان اضافه، به‌خوبی مخلوط و با اضافه کردن آب، خمیر حاصله به پلت غذایی تبدیل شد و به مدت شش هفته در اختیار موش‌های صحرایی قرار گرفت (۵۶). در پایان شش هفته، به‌منظور تأیید القای بیماری اماس از آزمون روتارود (Rotarod) استفاده شد. بر اساس پژوهش‌های گذشته و با استفاده از آزمون روتارود، هنگامی در محدودۀ ۹۱ ثانیه به‌عنوان نمونۀ مبتلا به اماس در نظر گرفته می‌شود (۵۳) و پس از تأیید القای بیماری در شش هفتۀ بعدی (همزمان با اجرای تمرین) نیز برای جلوگیری از میلین‌سازی خودبه‌خودی و مخدوش‌سازی داده‌های پژوهش همچنان قطع نشد (ژان[5] و همکاران، ۲۰۲۰). پس از پایان دورۀ تمرین به‌منظور ارزیابی هماهنگی و تعادل و حافظۀ احتزازی از آزمون‌های روتارود و اوپن فیلد استفاده شد. همۀ آزمایش‌ها در دورۀ روشنایی فعالیت حیوان و بین ساعات نه صبح تا 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 فرایند میلین‌زدایی، مرگ الیگودندروسیت‌ها و بروز اختلالات حرکتی همراه است، به‌کارگیری این آزمون و مشاهدۀ ناتوانی‌های حرکتی می‌تواند بیانگر آثار این دارو باشد؛ به همین دلیل، این روش به‌طور گسترده در تحقیقات وابسته به روش کوپریزون استفاده می‌شود (۵۴). دستگاه روتارود از یک میلۀ افقی چرخان تشکیل شده است که حدود ۲۰ سانتی‌متر از سطح زمین فاصله دارد و به‌وسیلۀ صفحات کروی به چهار بخش مجزا تقسیم می‌شود. در این آزمون، سرعت اولیۀ چرخش معادل ۷ rpm (نزدیک به ۱۰—۱۱ دور در دقیقه) در نظر گرفته شد. برای ارزیابی تعادل، موش‌ها روی میلۀ در حال چرخش قرار گرفتند؛ به‌گونه‌ای که سرعت دستگاه طی پنج دقیقه به‌تدریج از پنج تا ۴۵ دور در دقیقه افزایش یافت. مدت زمان حفظ تعادل و باقی ماندن هر حیوان روی میله ثبت شد. در آغاز، حیوانات دو بار به‌صورت آموزشی روی دستگاه قرار داده شدند تا با شرایط آزمون سازگار شوند. سپس در سه نوبت دیگر (هر بار به مدت پنج دقیقه و با فاصلۀ ۱۵ دقیقه) آزمایش تکرار شد و میانگین زمان باقی ماندن بر روی میله بر حسب ثانیه محاسبه و ثبت شد (۵۵).

پس از تأیید القای بیماری، برنامۀ تمرین شنای اختیاری (بدون وزنه و موج) در آب به مدت شش هفته، در استخر ویژۀ جوندگان انجام شد. تمرین برگرفته از پژوهش کیم و همکاران در سال ۲۰۲۰ با اندکی تغییر (ایجاد اضافه بار) است. موش‌های صحرایی گروه تمرین بیمار به مدت شش هفته و یک بار در روز شنا کردند (کیم[6] و همکاران، ۲۰۲۰). به‌منظور سازگاری موش‌های صحرایی و ایجاد اضافه بار، مدت تمرین شنا به‌تدریج از ۱۰ دقیقه در روز اول به ۳۰ دقیقه در هفتۀ ششم افزایش یافت (۴۳). به‌منظور حفظ سازگاری‌های حاصل از فعالیت، مدت زمان شنا در هفته‌های پنجم و ششم ثابت و ۳۰ دقیقه باقی ماند (جدول ۱).

جدول ۱. افزایش بار به‌واسطهٔ زمان در شنای موش‌ها

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

روش‌های آزمایشگاهی: در نهایت ۴۸ساعت پس از پایان دورهٔ تمرینی به‌دنبال یک شب ناشتایی، موش‌ها با تزریق زیرجلدی ترکیبی از ۳۰-۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین ۱۰ درصد و ۳-۲ میلی‌گرم در کیلوگرم زایلازین دو درصد بی‌هوش و آسان‌کشی شدند. سپس با برداشت پوست و برش استخوان جمجمه، بافت هیپوکامپ مغز جدا شد. در ابتدا، برای هر ۲۰۰ میلی‌گرم 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 میلی‌مول در لیتر)، SDS (۰/۰۲ گرم، ۰/۱ درصد)، اتیلن دی آمین تتراستیک اسید (EDTA، ۵/۸۴ گرم) حل‌شده در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر با pH=7/4 به نمونه‌ها اضافه شد و با دستگاه هموژنیزه‌کننده با سرعت ۲۵۰۰۰ دور بر دقیقه (سرعت آسیاب پلاس، آنالیتیک ژنا آلمان) همگن شد. در مرحلهٔ بعد، پس از سانتریفیوژ کردن نمونه‌ها در ۱۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و انتقال مایع رویی به میکروتیوب‌های جدید، یک قرص مهارکنندهٔ پروتئاز برای هر ۱۰ میلی‌لیتر (X10) استفاده شد. در مرحلهٔ بعد، غلظت نیترات به‌دست‌آمده با استفاده از کیت برادفورد آنالیز شد. سپس نمونه‌ها با بافر نمونهٔ X2 (بافر بارگذاری) به نسبت یک به یک مخلوط شده و به مدت پنج دقیقه جوشانده شدند تا زمانی‌که ساختارهای مولکولی پروتئین‌ها تغییر یافتند و خطی شدند. بخارهای شکل‌گرفته در این حالت با پنج 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 فرایند الکتروفورز با ولتاژ ۶۰ ولت به مدت ۱۵ دقیقه و سپس با ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۶۰ دقیقه انجام شد. سپس در فرایند انتقال، پروتئین‌ها بر روی کاغذ نیتروسلولز به مدت ۱۰۵ دقیقه با ولتاژ ۶۰ ولت و در داخل بافر انتقال، انتقال یافتند. پس از سه مرحلهٔ پنج‌دقیقه‌ای شست‌وشوی کاغذ نیتروسلولز در محلول PBS، فرایند مسدود کردن با بافر مسدودکننده طی شبانه‌روز در چهار درجهٔ سانتی‌گراد انجام شد. پس از شست‌وشوی مجدد با PBS، کاغذ نیتروسلولز با آنتی‌بادی‌های اولیهٔ MTOR، caspase-3 ، Gsk3b و GAPDH (آنتی‌بادی ضد GAPDH sc-365062 :G-9 سانتا کروز) به مدت یک ساعت در دمای اتاق روی شیکر با ۶۵ دور در دقیقه انکوبه شدند. (رقیق‌سازی ۱/۲۰۰۰ تا ۱/۵۰۰۰ در بافر PBS). آنتی‌بادی‌های ثانویه (m-IgGκBP-HRP: sc-516102) نیز با رقیق‌سازی ۱/۲۰۰۰ در بافر PBS به مدت یک ساعت برای اتصال به آنتی‌بادی اولیه استفاده شدند. در این مرحله، کاغذها در اتاق تاریک تحت نور قرمز با دو محلول کیت ECL (Abcam, 133408، آمریکا) 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 (Bonnin Tech، چین) اسکن شدند و چگالی باندها توسط نرم‌افزار JS 2000 محاسبه شد.

مشخصات آنتی‌بادی‌های 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

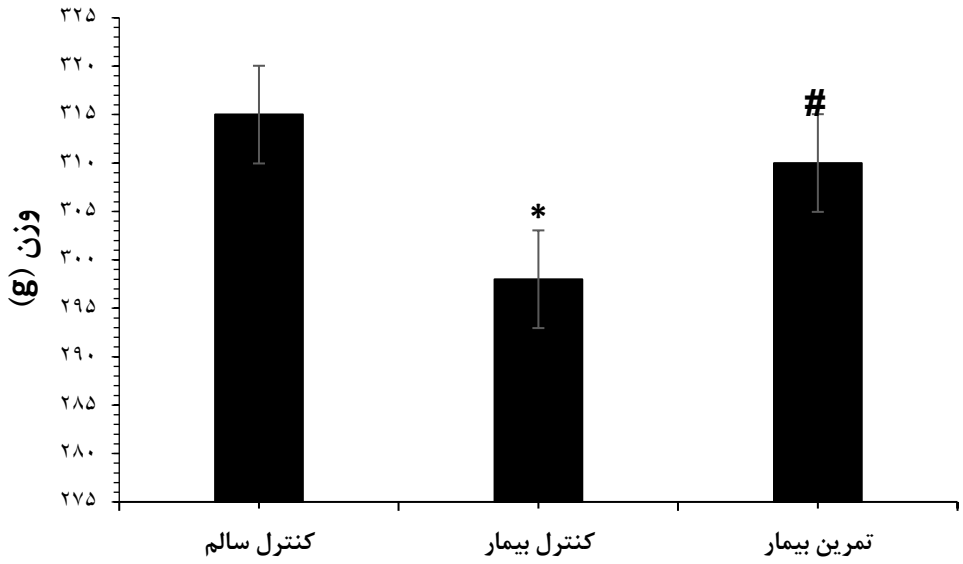
• GAPDH (14C10) Rabbit mAb - Cell Signalling

تحلیل آماری: برای تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها خام از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۵ و برای ترسیم نمودار از نرم‌افزار Excel نسخهٔ ۲۰۱۶ استفاده شد. همچنین سطح معناداری برای همهٔ روش‌های آماری در سطح احتمال P<۰/۰۵ و برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها و همگنی واریانس‌ها به‌ترتیب از آزمون شاپیروویلک و آزمون لون استفاده شد. همچنین برای تجزیه‌وتحلیل آماری از روش ANOVA یک‌راهه و آزمون‌های تعقیبی توکی استفاده شد. برای بررسی داده‌های مربوط به وزن و آزمون روتارود در هفتهٔ ششم از آزمون تی مستقل استفاده شد.

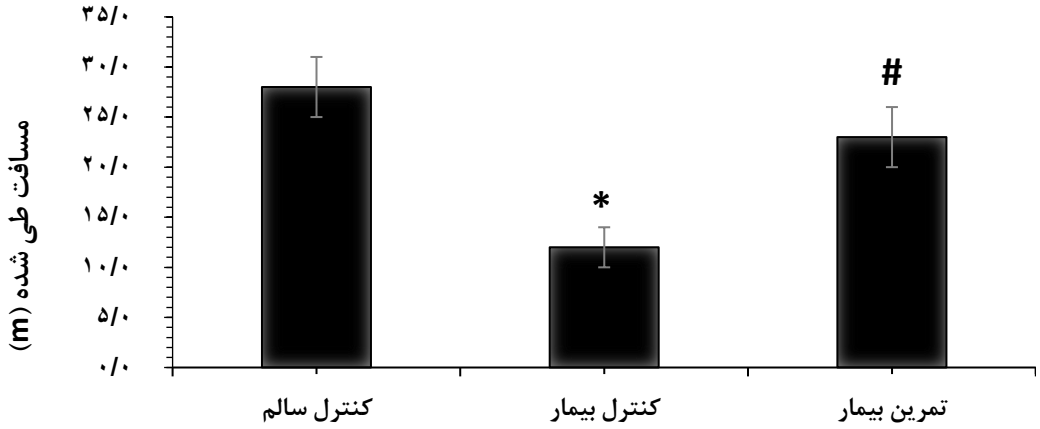
نتایج

بر پایهٔ یافته‌های آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی، در پژوهش حاضر وزن گروه کنترل بیمار نسبت به گروه کنترل سالم کمتر شد. با این همه، پس از یک دوره فعالیت ورزشی شنا، افزایش چشمگیری در وزن دیده شد که نشان‌دهندهٔ تأثیر احتمالی فعالیت ورزشی شنا در جلوگیری از کاهش وزن ناشی از بیماری اماس است.

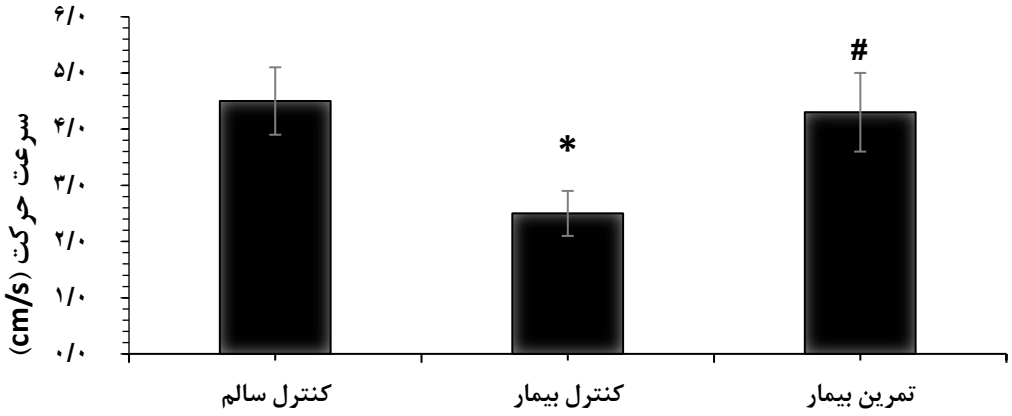
یافته‌های به‌دست‌آمده از آزمون رفتاری روتارود در شکل‌های ۲ و ۳ به نمایش گذاشته شده است. بر اساس آزمون جعبه باز، هم مسافت طی‌شده و هم سرعت حرکت در گروه کنترل بیمار نسبت به گروه کنترل سالم کاهش معناداری دارد (P=۰/۰۰۱). اما در گروه تمرین بیمار، در مقایسه با گروه کنترل بیمار، افزایش معناداری دیده شد.



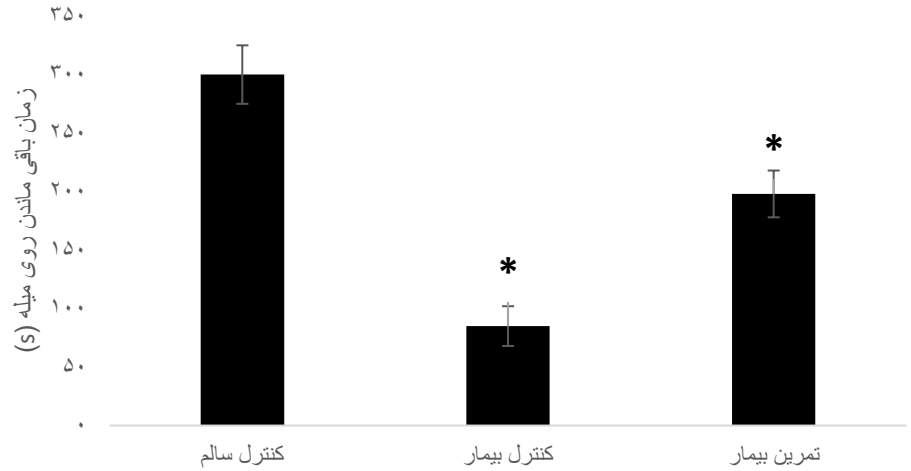
شکل ۱. نتایج تغییرات وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف. * نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار گروه کنترل بیمار با گروه کنترل سالم و سایر گروه‌ها. # نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار گروه تمرین بیمار با گروه کنترل بیمار و سایر گروه‌ها.



شکل ۲. یافته‌های به‌دست‌آمده از آزمون رفتاری روتارود (یافته‌های آزمون جعبه باز – مسافت طی‌شده). * نشان‌دهندۀ تفاوت معنادار بین گروه کنترل بیمار و گروه کنترل سالم. # نشان‌دهندۀ تفاوت معنادار در گروه تمرین بیمار نسبت به گروه کنترل بیمار. میله‌های خطا نشان‌دهندۀ انحراف معیار هستند.

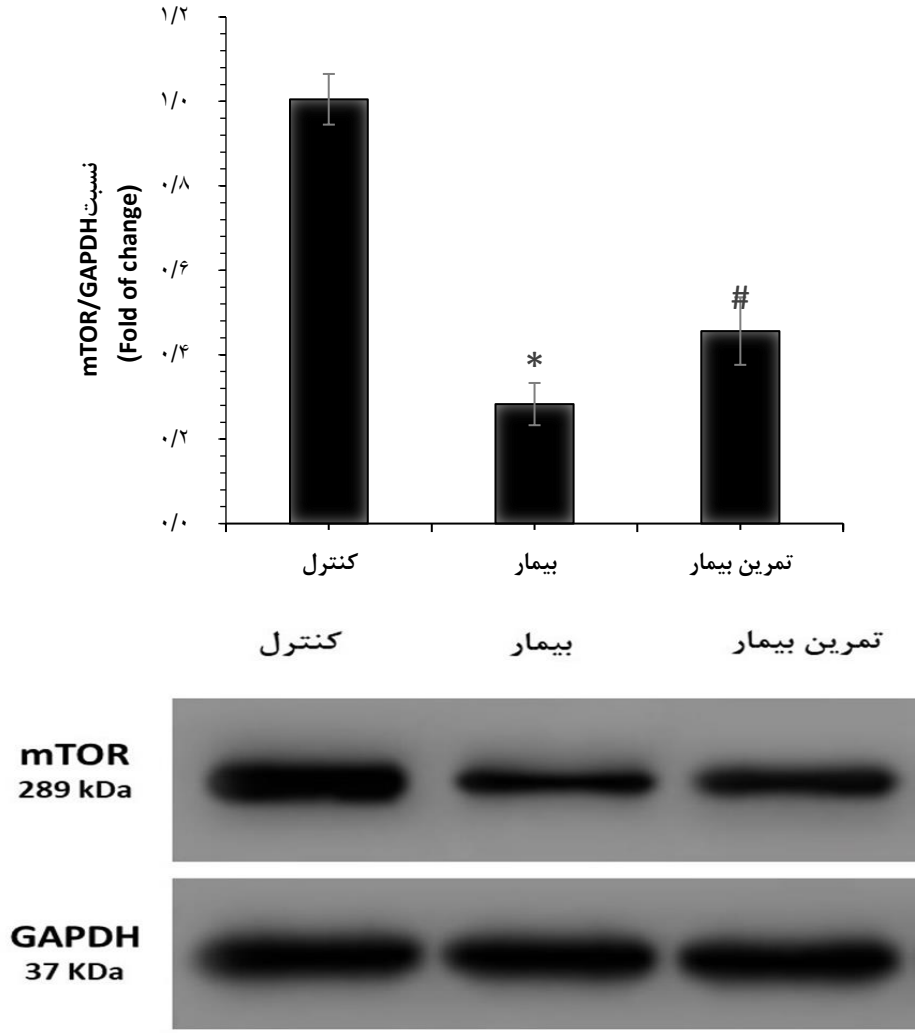


شکل ۳. یافته‌های به‌دست‌آمده از آزمون رفتاری روتارود (یافته‌های آزمون جعبه باز – سرعت حرکت). علامت * نشان‌دهندۀ تفاوت معنادار بین گروه کنترل بیمار و گروه کنترل سالم. علامت # نشان‌دهندۀ تفاوت معنادار در گروه تمرین بیمار نسبت به گروه کنترل بیمار. میله‌های خطا نشان‌دهندۀ انحراف معیار هستند.

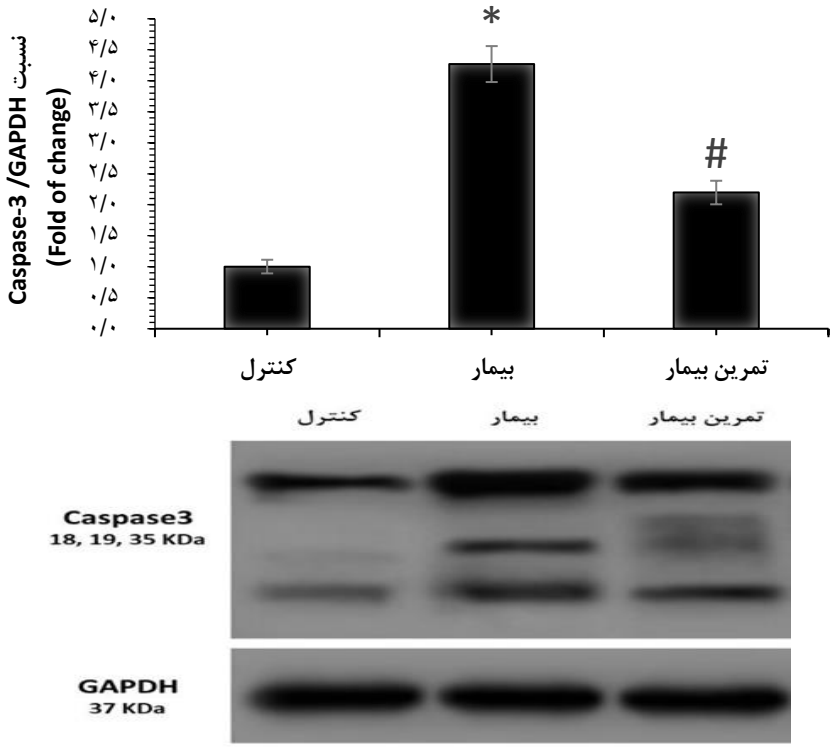


شکل ۳. یافته‌های به‌دست‌آمده از آزمون رفتاری روتارود (یافته‌های آزمون جعبه باز – زمان باقی ماندن روی میله). * نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین گروه کنترل بیمار و گروه کنترل سالم. # نشان‌دهندۀ تفاوت معنادار در گروه تمرین بیمار نسبت به گروه کنترل بیمار. میله‌های خطا بیانگر انحراف معیار هستند.

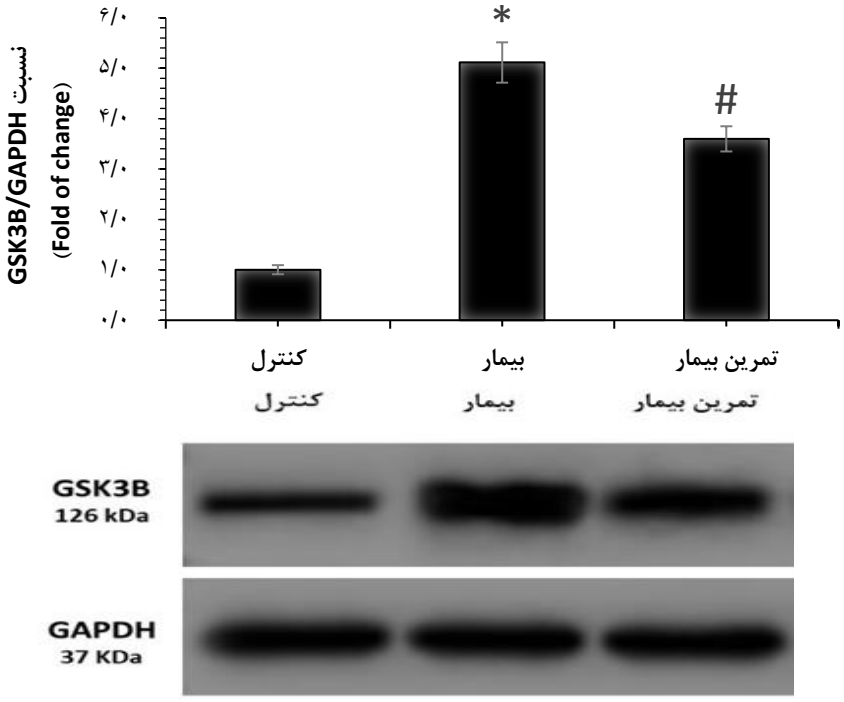
یافته‌ها نشان داد که برای هر سه پروتئین GSK3β, mTOR, caspase-3 بین سه گروه تفاوت آماری وجود دارد (P=۰/۰۰۱) و F ها به‌ترتیب ۱۹۱/۰۸۷- ۲۵۵/۰۸۷- ۲۰۵/۸۱۱ به‌دست آمده‌اند (شکل‌های ۴-۶). یافته‌های آزمون تعقیبی توکی نشان داد که محتوای پروتئینی mTOR در گروه کنترل بیمار در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش معنادار دارد (P=۰/۰۰۱) و همچنین در گروه تمرین بیمار در مقایسه با گروه کنترل بیمار افزایش معناداری دیده شد (P=۰/۰۰۱) (شکل ۳). یافته‌های آزمون تعقیبی توکی نشان داد که محتوای پروتئینی caspase-3 در گروه کنترل بیمار در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش معناداری دیده شد (P=۰/۰۰۱) و همچنین در گروه تمرین بیمار در مقایسه با گروه کنترل بیمار کاهش معناداری وجود داشت (P=۰/۰۰۱) (شکل ۴). یافته‌های آزمون تعقیبی توکی نشان داد که محتوای پروتئینی GSK3β در گروه کنترل بیمار در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش معناداری داشته است (P=۰/۰۰۱)، اما در گروه تمرین بیمار در مقایسه با گروه کنترل بیمار کاهش معناداری دیده شد (P=۰/۰۰۵) (شکل ۵).



شکل ۴. 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. * نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار بین گروه کنترل بیمار و گروه کنترل سالم. # نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار در گروه تمرین بیمار نسبت به گروه کنترل بیمار. میله‌های خطا نشان‌دهندهٔ انحراف معیار هستند.



شکل 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. * نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار بین گروه کنترل بیمار و گروه کنترل سالم. # نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار در گروه تمرین بیمار نسبت به گروه کنترل بیمار. میله‌های خطا نشان‌دهندهٔ انحراف معیار هستند.



شکل ۶. 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. * نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار بین گروه کنترل بیمار و گروه کنترل سالم. # بیانگر تفاوت معنادار در گروه تمرین بیمار نسبت به گروه کنترل بیمار. میله‌های خطا نشان‌دهندهٔ انحراف معیار هستند.

بحث و نتیجه‌گیری

بیماران مبتلا به اماس به‌طور کلی فعالیت بدنی محدودی دارند و اطلاعات کافی در خصوص تأثیر فعالیت‌های ورزشی، به‌ویژه تمرین آبی، در دسترس نیست. یکی از فرضیه‌های اصلی در تبیین پاتولوژی (آسیب‌شناسی) این بیماری، دمیلینه شدن سلول‌های عصبی دستگاه مرکزی (CNS) در اثر واکنش‌های خودایمنی است (۵۷). بنابراین هدف از پژوهش حاضر اثر شش هفته فعالیت شنای اختیاری بر محتوای پروتئین‌های GSK3β، mTOR، caspase-3 موش‌های صحرایی مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس بود. یافته‌ها نشان داد که القای بیماری اماس سبب کاهش محتوای پروتئینی mTOR در هیپوکامپ موش‌های بیمار شد. با این همه، پس از شش هفته تمرین اختیاری شنا، سطح این پروتئین در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل بیمار به‌طور معناداری افزایش یافت. یافته‌ها نشان داد که القای بیماری اماس سبب افزایش محتوای پروتئینی caspase-3 و GSK3b در هیپوکامپ موش‌های بیمار شد. با این همه، پس از شش هفته تمرین اختیاری شنا، سطح این پروتئین در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل بیمار به‌طور معناداری کاهش یافت. این یافته‌ها نشان می‌دهد که شش هفته شنای اختیاری در موش‌های صحرایی مبتلا به الگوی دمیلینه‌شدهٔ نخاعی، با افزایش بیان و فسفریلاسیون mTOR، مهار GSK3β از طریق فسفریلاسیون در Ser9 و کاهش سطوح Caspase-3 بریده همراه است. از دید زیستی، فعال‌سازی mTOR شاید با تحریک مسیرهای سنتز پروتئین و نوروجنزیس، تقویت بقا و بازسازی سلول‌های عصبی را تسهیل کرده است. مهار GSK3β می‌تواند به کاهش التهاب، جلوگیری از فسفریلاسیون نابجای پروتئین‌های سیتواسکلتی و پایدارسازی میلین کمک کند.. همچنین کاهش Caspase-3 بریده نشان‌دهندهٔ مهار مسیرهای آپوپتوتیک اجرایی است که می‌تواند بقای عصبی و الیگودندروسیتی را ارتقا دهد. همزمانی این تغییرات حاکی از آن است که شنای اختیاری شاید از طریق یک شبکهٔ چندمسیره شامل تحریک مسیر PI3K/Akt/mTOR و مهار مسیرهای پروآپاپتوتیک وابسته به GSK3β ، تأثیرات نورومحافظتی خود را اعمال می‌کند. این سازوکارها می‌توانند پایه‌ای برای طراحی مداخلات غیردارویی و کم‌خطر در مدیریت MS و سایر اختلالات دمیلینه باشند.

این یافته‌ها در پژوهش‌های اخیر نیز تأیید شده است؛ همسو با این نتایج جدیدی و همکاران (۱۴۰۱) نشان دادند که بیان پروتئین شوک گرمایی[۷] ۷۰ در کاردیومیوسیت‌ها در موش‌های کنترل الگوی سکته نسبت به گروه سالم کنترل کمتر بود. با این همه، تمرین تناوبی شدید (HIIT) به افزایش معنادار بیان پروتئین شوک گرمایی ۷۰ در مقایسه با گروه‌های کنترل سالم و سکته منجر شد. همچنین بیان کاسپاز ۳ در گروه تمرین HIIT به‌طور معناداری کمتر از گروه‌های کنترل سالم و سکته بود. این یافته‌ها حاکی از آن بود که تمرین HIIT می‌تواند در مهار آپوپتوز قلبی ناشی از سکته مؤثر باشد (۳۰). یانگ[۸] و همکاران (۲۰۲۴) در بررسی اثر ورزش هوازی بر بیان Notch1و Caspase-3 در هیپوکامپ موش‌های مبتلا به آلزایمر نشان دادند که توانایی یادگیری فضایی و حافظهٔ این موش‌ها به‌طور چشمگیری بدتر از موش‌های نوع وحشی بود. با این همه، موش‌های گروه ورزشی عملکرد بهتری نسبت به گروه‌های کنترل داشتند. همچنین بیان پروتئین‌های Aβ1-42 ، Tau، Notch1 و Caspase-3 در گروه کنترل بیماری آلزایمر بالاتر از گروه کنترل وحشی بود، اما در گروه ورزشی بیماری آلزایمر به‌طور چشمگیر و معناداری کمتر بود. بنابراین، ورزش هوازی طولانی‌مدت

می‌تواند به بهبود توانایی یادگیری فضایی و حافظهٔ موش‌های مبتلا به آلزایمر کمک کند که به کاهش بیان پروتئین‌های مرتبط در هیپوکامپ مربوط می‌شود (۳۲). علی‌نژاد و همکاران (۱۴۰۲) نیز به بررسی اثر تزریق اسید هیالورونیک و تمرین هوازی بر بیان ژن‌های β-catenin و GSK-3β بافت قلب در موش‌های صحرایی با الگوی القای استئوآرتریت زانو پرداختند. در القای استئوآرتریت در موش‌ها منجر به افزایش معنادار ژن بتا-کاتنین و کاهش معنادار ژن GSK3β بافت قلب نسبت به گروه کنترل سالم شد. همچنین یافته‌ها نشان داد که تمرین هوازی منظم، تزریق اسید هیالورونیک و ترکیبی از هر دو درمان به کاهش ژن β-catenin و افزایش ژن GSK3β بافت قلب در مقایسه با موش‌های گروه استئوآرتریت منجر شد. تمرین هوازی منظم در ترکیب با اسید هیالورونیک با کاهش بیان β-catenin و افزایش بیان ژن GSK-3β بافت قلبی می‌تواند اثر محافظتی داشته باشد که شاید از بیماری قلبی در الگوی القایی استئوآرتریت زانو جلوگیری کند (۳۶).

فعالیت ورزشی به‌عنوان یک مداخلهٔ غیردارویی در مدیریت مولتیپل اسکلروزیس (MS) مورد توجه قرار گرفته است. بررسی تأثیر ورزش بر پروتئین GSK3β در موش‌های مبتلا به MS می‌تواند به درک سازوکارهای این بیماری کمک کند GSK3β . در فرایندهای سلولی مانند التهاب نقش دارد و فعالیت غیرطبیعی آن می‌تواند به تخریب میلین منجر شود. یافته‌ها نشان می‌دهند که ورزش منظم می‌تواند با کاهش سطح GSK3β و بهبود عملکرد میتوکندری، التهاب را کاهش دهد و سلامت عصبی را بهبود بخشد. این فعالیت همچنین به بهبود جریان خون و ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده کمک می‌کند و کیفیت زندگی بیماران اماس را افزایش می‌دهد. یافته‌های این پژوهش‌ها می‌تواند به توسعهٔ روش‌های درمانی جدیدی که ترکیبی از ورزش و درمان‌های دارویی است، کمک کند (۳۷). فعالیت ورزشی تأثیرات چشمگیری بر پروتئین mTOR (سازوکار هدف داروی راپامایسین) دارد که در تنظیم رشد سلولی و سوخت‌وساز انرژی نقش کلیدی و برجسته‌ای ایفا می‌کند (۳۸). در موش‌ها، ورزش منظم سبب افزایش بیان mTOR ، بهبود ساخت پروتئین‌های ماهیچه‌ای و افزایش قدرت ماهیچه‌های می‌شود. همچنین ورزش با کاهش فشار اکسایشی و التهاب، به حفظ تعادل سوخت‌وسازی و کاهش تأثیرات منفی ناشی از افزایش سن یا بیماری‌های مزمن کمک می‌کند (۳۹). این فعالیت‌ها همچنین فرایندهای ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده را تسریع کرده و به بهبود سلامت عمومی کمک می‌کند. درک این سازوکارها می‌تواند به توسعهٔ راهبردهای درمانی جدید برای بهبود عملکرد ورزشی و مدیریت بیماری‌های سوخت‌وسازی کمک کند (۴۰). Caspase-3 یک آنزیم کلیدی و برجسته‌ای در مسیر آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی‌شدهٔ سلولی) است که نقش مهمی در تنظیم مرگ سلولی و حفظ هومئوستاز بافتی ایفا می‌کند. در شرایطی که تنش‌های محیطی یا بیماری‌ها وجود دارند، فعالیت caspase-3 می‌تواند به افزایش مرگ سلولی و تخریب بافت‌ها منجر شود (۴۱). یافته‌ها نشان می‌دهند که فعالیت ورزشی منظم می‌تواند با کاهش سطح caspase-3 و بهبود تعادل بین پیام‌های زنده‌ماندن و مرگ سلولی، به حفظ سلامت سلولی و بافتی کمک کند. این تأثیرات شاید به‌واسطهٔ افزایش بیان پروتئین‌های محافظتی و کاهش فشار اکسایشی باشد که ناشی از فعالیت ورزشی است. افزون بر این، فعالیت ورزشی می‌تواند با بهبود جریان خون و اکسیژن‌رسانی به بافت‌ها، فرایندهای ترمیم و بازسازی را تسریع و به کاهش آسیب‌های ناشی از التهاب و تنش کمک کند (۴۲).

در نتیجهٔ فعالیت شنای اختیاری به‌عنوان یک مداخلهٔ

ورزشی مؤثر، تأثیرات مثبتی بر محتوای پروتئین‌های GSK3β، mTOR و caspase-3 در موش‌های صحرایی مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس (MS) داشت. GSK3βبه‌عنوان یک کیناز سرماتیک، نقش مهمی در تنظیم فرایندهای سوخت‌وسازی و پیام‌رسانی سلولی ایفا کرد و افزایش فعالیت آن می‌توانست به تخریب بافت عصبی و تشدید علائم MS منجر شود. از سوی دیگر، mTOR به‌عنوان یک پروتئین کلیدی و برجسته‌ای در تنظیم رشد و ترمیم سلولی، با افزایش بیان خود می‌توانست به بهبود عملکرد عصبی و کاهش التهاب کمک کند (۴۵). همچنین caspase-3 به‌عنوان یک آنزیم وابسته به آپوپتوز، در شرایط التهابی و آسیب عصبی فعال شد. یافته‌ها نشان دادند که فعالیت شنای اختیاری با کاهش سطح GSK3β و caspase-3 و افزایش بیان mTOR ، به بهبود وضعیت عصبی و کاهش علائم بالینی در موش‌های مبتلا به MSمنجر شد. این تغییرات بیوشیمیایی به بهبود عملکرد حرکتی و کیفیت زندگی این موش‌ها کمک کردند. بنابراین، فعالیت شنا به‌عنوان یک راهبرد تأثیرگذار مکمل در مدیریت مولتیپل اسکلروزیس، می‌توانست به بهبود سلامت عمومی و عملکرد عصبی بیماران کمک کند و به‌عنوان رویکرد مؤثر در برنامه‌های درمانی برای این بیماران در نظر گرفته شود (۴۶). در این زمینه، GSK3β به‌عنوان یک کیناز پروتئینی سرین/ترئونین که می‌تواند آپوپتوز را از طریق تنظیم فعالیت‌های سلولی تحت تأثیر قرار دهد، نقش مهمی ایفا می‌کند. همچنین mTOR به‌عنوان یک کیناز پروتئینی که در تنظیم اتوفاژی و آپوپتوز دخالت دارد، می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار گیرد. در نهایت، caspase-3 به‌عنوان یک نشانگر کلیدی و برجستهٔ آپوپتوز، در فرایندهای تخریب سلولی نقش دارد. نتایج این پژوهش نشان داد که IL-1β می‌تواند آپوپتوز NPCها را از طریق فعال‌سازی GSK3β و caspase-3 القا کند و RES به‌طور مؤثری این آپوپتوز را با تأثیر بر مسیر mTOR مهار سازد. این یافته‌ها نشان‌دهندهٔ اهمیت این پروتئین‌ها در تنظیم آپوپتوز و بقای سلولی در شرایط پاتولوژیک هستند (۴۰).

این یافته‌ها نشان داد که شش هفته فعالیت شنای اختیاری موجب افزایش بیان و فسفریلاسیون mTOR، مهار GSK3β و کاهش سطح Caspase-3 بریده در موش‌های صحرایی با الگوی القایی MS شد. این الگوی تغییرات پروتئینی بیانگر فعال‌سازی مسیر PI3K/Akt/mTOR و مهار مسیرهای آپوپتوتیک وابسته به GSK3β است که روی‌هم‌رفته می‌توانند به بقای سلول‌های عصبی و الیگودندروسیت‌ها کمک کنند. از دید زیستی، mTOR به‌عنوان یک تنظیم‌کنندهٔ کلیدی و برجستهٔ سنتز پروتئین و رشد سلولی، در بازسازی میلین و تحریک نوروجنزیس نقش دارد. افزایش فعالیت mTOR در این پژوهش می‌تواند بیانگر بهبود ظرفیت ترمیمی دستگاه عصبی تحت اثر تمرین باشد (۴۸). مهارGSK3β که با فسفریلاسیون در Ser9 اتفاق می‌افتد، به کاهش التهاب، تثبیت اسکلت سلولی و جلوگیری از دمیلیناسیون کمک می‌کند (۴۹). یافته‌های این پژوهش همسو با برخی گزارش‌های پیشین به آثار ضدالتهابی و نورومحافظتی مهار GSK3β اشاره دارد. هرچند تفاوت در نوع تمرین، شدت و مدت آن می‌تواند میزان مهار را تغییر دهد (۵۰). کاهش Caspase-3 بریده، به‌عنوان یکی از نشانگرهای اصلی آپوپتوز، نشان‌دهندهٔ مهار مسیرهای مرگ سلولی است که شاید از طریق فعال‌سازی Akt و مهار پیام‌های پروآپاپتوتیک انجام شده است. این یافته با گزارش‌های پیشین مبنی بر کاهش فعالیت Caspase-3در الگوهای القایی نورودژنراتیو (تخریب و استحالهٔ سلول‌های عصبی) پس از تمرین هوازی همخوانی دارد (۵۱). جالب آنکه، همزمانی افزایش

mTORو مهار GSK3β می‌تواند بیانگر تعامل متقابل این دو مسیر باشد، چراکه مهار GSK3β می‌تواند موجب فعال‌سازی mTOR شود. این امر نشان می‌دهد که شنای اختیاری شاید از طریق یک شبکهٔ پیام‌رسانی یکپارچه اثر خود را اعمال می‌کند، نه صرفاً یک مسیر منفرد (۵۲).

تشکر و قدردانی

این تحقیق حاصل پروژهٔ پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد است و بدین وسیله از همکاری و پشتیبانی گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکدهٔ علوم ورزشی و بخش علوم پایهٔ دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز تشکر و قدردانی می‌شود.

حمایت مالی

این پژوهش با استفاده از اعتبار پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به شمارهٔ SCU.SS1404.539 انجام گرفته است.

مشارکت نویسندگان

در این پژوهش آقای محمد کهوازی‌زاده در انتخاب موضوع، تحقیق و جمع‌آوری منابع نظری، اجرای کار حیوانی و نگارش مقاله؛ آقای عبدالحمید حبیبی در بخش‌های انتخاب موضوع، تنظیم روش کار و اجرای کار حیوانی، انجام روش وسترن بلات و نگارش مقاله؛ آقای محمد رمی در انتخاب موضوع، تنظیم روش کار، ارزیابی محتوای پروتئین و آنالیز آن و نگارش مقاله مشارکت داشتند. تمامی نویسندگان نسخهٔ نهایی مقاله را مطالعه و تأیید کرده‌اند.

تعارض منافع

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

پی‌نوشت‌ها

[1] Multiple Sclerosis
[2] Glycogen synthase kinase-3 beta
[3] The mammalian target of rapamycin
[4] Brain-Derived Neurotrophic Factor
[5] Zhan
[6] Kim
[7] HSP70
[8] Yang

منابع

1. Gentile A, Musella A, De Vito F, Rizzo FR, Fresegna D, Bullitta S, et al. Immunomodulatory Effects of Exercise in Experimental Multiple Sclerosis. Front Immunol. 2019;10:2197 https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02197

2. Maciak K, Dziedzic A, Saluk J. Remyelination in multiple sclerosis from the miRNA perspective. Front Mol Neurosci. 2023;16:1199313. https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1199313

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. https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.1024058

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. https://doi.org/10.1002/jnr.23783

5. Rumrill Jr PD. Multiple sclerosis: Medical and psychosocial aspects, etiology, incidence, and prevalence. J Vocat Rehabil. 2009;31(2):75–82. https://doi.org/10.3233/JVR-2009-476

6. Noseworthy JH. Progress in determining the causes and treatment of multiple sclerosis. Nature. 1999;399(SUPPL.):A40–7. https://doi.org/10.1038/399a040

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. https://doi.org/10.1093/brain/awf177

11. Llorens-Martín M, Jurado J, Hernández F, Ávila J. GSK-3β, a pivotal kinase in Alzheimer disease. Front Mol Neurosci. 2014;7(MAY):46. https://doi.org/10.3389/fnmol.2014.00046

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. http://dx.doi.org/10.5316/wjn.v3.i3.56

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]. http://ppj.phypha.ir/article-1-930-en.html

10. Joseph OA, Afeez OJ, Michael A, Omotuyi OI. Molecular docking based screening analysis of GSK3B. Bioinformation. 2019;15(3):201–8. https://doi.org/10.6026/97320630015201

12. Muyllaert D, Kremer A, Jaworski T, Borghgraef P, Devijver H, Croes S, et al. Glycogen synthase kinase-3β, or a link between amyloid and tau pathology? Genes, Brain Behav. 2008;7(SUPPL. 1):57–66. https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2007.00376.x

13. Cohen P, Goedert M. GSK3 inhibitors: Development and therapeutic potential. Nat Rev Drug Discov. 2004;3(6):479–87. https://doi.org/10.1038/nrd1415

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. https://doi.org/10.4161/cbt.313

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. https://doi.org/10.1002/glia.20984

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. https://doi.org/10.4061/2011/189728

17. Busceti CL, Biagioni F, Aronica E, Riozzi 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. https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01055.x

18. Saxton RA, Sabatini DM. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. Cell. Elsevier; 2017;168(6):960–76. https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.02.004

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. https://doi.org/10.1007/s00018-017-2485-1

20. Chong ZZ, Maiese K. Mammalian target of rapamycin signaling in diabetic cardiovascular disease. Cardiovasc Diabetol. Springer; 2012;11(1):1–8. https://doi.org/10.1074/jbc.M113.521062

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. https://doi.org/10.1186/s12974-020-01902-5

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. https://doi.org/10.1186/s13287-021-02640-y

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]. https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.4589.1662

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]. http://dx.doi.org/10.61186/jams.26.6.61

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. https://doi.org/10.1007/s00421-013-2685-9

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. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01891

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. https://doi.org/10.1002/jnr.24524

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. https://doi.org/10.1016/j.msard.2018.06.005

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. https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2013.08.014

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]. https://doi.org/10.22049/jahssp.2021.27521.1407

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]. https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.25382810.1401.9.4.7.9

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]. https://doi.org/10.22089/spj.2024.16068.2291

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/EBPβ 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]. https://doi.org/10.22077/jpsbs.2024.6397.1795

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. https://doi.org/10.18632/aging.204614

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-3β 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-3β) inhibitors in Parkinson disease: exploring an overlooked avenue. Molecular Neurobiology, 61(9), 7092-7108. https://doi.org/10.1007/s12035-024-04003-z

38. Vakrakou, 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. https://doi.org/10.3390/ijms23158077

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. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2022.173406

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. https://doi.org/10.18632/oncotarget.23862

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. https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113363

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. https://doi.org/10.1080/1120009X.2023.2278014

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 Neurourol J. 2020;24(Suppl 1):S39. https://doi.org/10.5213/inj.2040156.078

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. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c03039

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]. http://dx.doi.org/10.61186/jams.26.6.61

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. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2023.114270

47. Zhan J, Mann T, Joost S, Behrangi N, Frank M, Kipp M. The cuprizone model: dos and do nots. Cells 9: 843. 2020. https://doi.org/10.3390/cells9040843

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. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054590

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). https://doi.org/10.3390/ijms231911342

55. Ghotbeddin Z, Khazaeel 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 offspring2022. https://doi.org/10.1007/s11011-022-01012-6

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. https://doi.org/10.1007/s12035-016-0368-3

57. Dobson R, Giovannoni G. Multiple sclerosis–a review. European journal of neurology. 2019;26(1):27-40. https://doi.org/10.1111/ene.13819