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

Original Article

The Effect of Eight Weeks of Moderate-Intensity Aerobic Exercise on the Expression of IRAK4, MRP8, and TNF-α Proteins in the Hippocampus of Epileptic Rats

Mohammad Reza Kordi[*1], Khadijeh Ebadizal[2], Siroos Choobineh[1], Amir Hossein Saffar Kohneh Quchan[1]

1- Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran
2- PhD Student in Exercise Physiology, Aras International Campus, University of Tehran, Tabriz, Iran

Abstract

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

Materials and Methods: In this regard, thirty-two male Wistar rats were divided into four groups, including Control (n=8), Sham (n=8), Epilepsy (n=8), and Epilepsy + Moderate-Intensity Aerobic Exercise (n=8). After one week of adaptation to the laboratory environment, epilepsy was induced via intrahippocampal injection of one microgram of kainic acid using the stereotaxic method. The Racine behavioral scale was used to evaluate the success of epilepsy induction. The exercise group performed moderate-intensity aerobic exercises for 40 minutes per session, five days a week, for eight weeks. At the end of the training period, 48 hours after the last session, the rats were anesthetized, and their hippocampal tissue was extracted. The levels of MRP8, TNF-α, and IRAK4 proteins were measured using the Western blot method. All data were analyzed using SPSS software, and to examine the differences in MRP8, IRAK4, and TNF-α levels between groups, one-way parametric ANOVA and Tukey's post hoc test were used. Furthermore, to evaluate differences in seizure frequency, an independent t-test was applied at a significance level of 0.05.

Results: The results showed that moderate-intensity aerobic exercise significantly reduced hippocampal levels of IRAK4 ($F=89.77$, $P\leq0.0001$), MRP8 ($F=184.00$, $P\leq0.0001$), and TNF-α ($F=60.57$, $P\leq0.0001$), and the number of seizures was also significantly decreased ($t=2.80$, $P=0.01$).

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

Keywords: Inflammation, seizures, regular exercise, central nervous system

How to cite this article: Kordi, M. R., Ebadizal, Kh., Choobineh, S., Saffar Kohneh Quchan, A.H. The Effect of Eight Weeks of Moderate-Intensity Aerobic Exercise on the Expression of IRAK4, MRP8, and TNF-α Proteins in the Hippocampus of Epileptic Rats. J Sport Exerc Physiol. 2026;19(1):1-?.

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

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

Received: 14/07/2025 Revised: 13/09/2025 Accepted: 04/10/2025

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

مقاله پژوهشی

تاثیر هشت هفته فعالیت ورزشی هوازی با شدت متوسط بر بیان پروتئین های IRAK4 ، MRP8 و TNFα در هیپوکمپ رت های مبتلا به صرع

محمدرضا کردی[۱*]، خدیجه عبادی زال[۲]، سیروس چوبینه[۱] ، امیرحسین صفار کهنه قوچان[۱]

۱- گروه فیزیولوژی فعالیت ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، ایران
۲- دانشجو ی دکتری فیزیولوژی ورزشی، پردیس ارس دانشگاه تهران، تبریز، ایران

چکیده

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

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

نتایج: نتایج نشان داد فعالیت ورزشی هوازی با شدت متوسط سبب کاهش سطوح (P ≤ ۰/۰۰۰۱ ، F= ۸۹/۷۷) IRAK4، (P ≤ ۰/۰۰۰۱ ، F = ۱۸۴/۰۰) MRP88 و (P ≤ ۰/۰۰۰۱ ، F= ۶۰/۵۷) TNFα در هیپوکمپ رت‌ها گردید و تعداد تشنج‌ها نیز به طور معناداری کاهش یافت (P=۰/۰۱، t= ۲/۸۰).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد تمرینات هوازی با شدت متوسط می‌توانند با کاهش عوامل التهابی MRP8، IRAK4 و TNF-α در هیپوکمپ، نقش موثری در کاهش التهاب عصبی و بهبود وضعیت صرع ایفا کنند. بنابراین، فعالیت ورزشی هوازی منظم به عنوان یک مداخله غیردارویی کم هزینه و ایمن می¬تواند در مدیریت صرع سودمند باشد.

واژه‌های کلیدی: التهاب، تشنج، فعالیت ورزشی منظم، سیستم عصبی مرکزی

نحوهٔ استناد به این مقاله: کردی م, عبادی زال خ, چوبینه س، صفار کهنه قوچان ا. تاثیر هشت هفته فعالیت ورزشی هوازی با شدت متوسط بر بیان پروتئین های IRAK4، MRP8 و TNFα در هیپوکمپ رت های مبتلا به صرع .نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. نشریهٔ فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۵؛۱۹(۱):؟-؟.

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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۲۳ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۱۲

مقدمه

صرع یک اختلال مزمن نورولوژیکی است که با بروز دو یا چند تشنج بدون علت مشخص در طول زندگی فرد شناخته می‌شود. تشنج یک رویداد گذرای نورولوژیکی است که به‌دلیل تخلیه غیرطبیعی و همزمان فعالیت الکتریکی نورون‌ها در مغز رخ می‌دهد. این پدیده می‌تواند به شکل‌های مختلفی از جمله حرکتی، حسی، شناختی یا رفتاری بروز کند و اغلب با اختلالات گذرای هوشیاری همراه است (۱). وقوع مکرر تشنج‌ها علاوه بر ایجاد آسیب نورونی، منجر به تغییرات پایدار در شبکه‌های عصبی می‌شود که در نهایت فرایند صرع‌زایی را تقویت می‌کند (۲). بیماری صرع در حال حاضر به‌عنوان چهارمین اختلال شایع عصبی در جهان بیش از ۵۰ میلیون نفر را تحت تأثیر قرار داده و نرخ تخمینی مرگ و میر آن هزار نفر در سال در سطح جهان است. صرع لوب گیجگاهی میانی (mTLE[1]) یکی از شایع‌ترین انواع صرع است و بیشترین پتانسیل را برای مقاومت دارویی دارد. اگرچه درمان‌های دارویی با هدف کاهش تحریک‌پذیری نورونی طراحی شده‌اند، اما اثربخشی محدود و عوارض جانبی قابل‌توجهی دارند، از جمله اختلال در عملکرد شناختی، کاهش تراکم استخوان، و تراتوژنز در زنان در سنین باروری. فزون بر این، حدود ۳۰ درصد از بیماران مبتلا به صرع به درمان‌های دارویی پاسخ نمی‌دهند، که لزوم استفاده از رویکردهای مکمل و غیر دارویی را برجسته می‌سازد (۳). شواهد متعددی التهاب عصبی را به‌عنوان یک مکانیسم کلیدی در پاتوژنز صرع، تداوم و افزایش شدت تشنج‌ها معرفی کرده‌اند. در این فرآیند، فعال‌سازی سلول‌های گلیال به‌ویژه آستروسیت‌ها و میکروگلیا، منجر به افزایش تولید و ترشح سیتوکین‌های پیش‌التهابی نظیر اینترلوکین-۱ بتا (IL-1β)، اینترلوکین-۶ (IL-6) و فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF-α) می‌شود. یکی از مسیرهای مهم در تنظیم این پاسخ‌های التهابی، مسیر سیگنالینگ گیرنده شبه تول (TLRs[2]) به‌ویژه TLR4 است که در سلول‌های مختلف سیستم عصبی مرکزی از جمله نورون‌ها، آستروسیت‌ها و میکروگلیا بیان می‌شود. فعال شدن TLR4 با جذب MyD88 و IRAK4 منجر به القای فاکتورهای رونویسی مانند فاکتور هسته‌ای NF-κB[3] می‌شود که توانایی تحریک ژن‌های مختلف پیش‌التهابی مانند ژن‌های کدکننده سیتوکین‌ها[4]، کموکاین‌ها[5] پروتئین‌های سیستم کمپلمان[6]، سیکلواکسیژناز-۲[7](COX-2) و نیتریک‌اکسید سنتاز القایی[8](iNOS) را دارد. پروتئین مرتبط با میلوئید ۸ (MRP8[9]) ، که به‌عنوان لیگاند درون‌زاد TLR4 با فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ MRP8/TLR4/NF-κB، نقش مهمی در تشدید پاسخ‌های التهابی ایفا می‌کند. کنگ[10] و همکاران (۲۰۱۵) نشان

---

[1] mesial temporal lobe epilepsy

[2] Toll-Like Receptors

[3] Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

[4] cytokines

[5] chemokines

[6] complement system proteins

[7] Cyclooxygenase-2

[8] inducible Nitric Oxide Synthase

[9] Myeloid-related protein 8

[10] kong

دادند که قرار گرفتن TLR4 در معرض MRP8، به افزایش قابل توجه بیان این گیرنده و همچنین افزایش ترشح سایتوکاین‌های التهابی نظیر TNF-α، IL-1α وIL-1β منجر می‌شود، عواملی که پایین دست این مسیر قرار دارند. این سایتوکاین‌ها می‌توانند گیرنده NMDA را فعال کرده و موجب افزایش جریان کلسیم شود که این امر به بیش‌برانگیختگی نورونی و در نهایت افزایش مرگ سلولی وابسته به گیرندهNMDA منجر می‌شود (۷-۴).

در سال‌های اخیر، فعالیت بدنی منظم به‌عنوان یک مداخله مکمل در مدیریت بسیاری از بیماری‌های مزمن، از جمله صرع، مورد توجه قرار گرفته است (۸). مطالعات انسانی و حیوانی نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی منظم می‌تواند از طریق کاهش التهاب عصبی[1](۹) ، بهبود وضعیت روانی (۱۰) ، ارتقا حافظه و یادگیری و افزایش کیفیت زندگی اثرات مثبتی بر مبتلایان به صرع داشته باشد (۱۱-۱۳). علاوه بر این، مزایای عمومی تمرین هوازی برای بیماران مبتلا به صرع می‌تواند مشابه افراد سالم باشد، مانند افزایش کار و حداکثر ظرفیت هوازی، کاهش ضربان قلب، بهبود عملکرد قلبی عروقی، بهبود عملکرد شناختی، کاهش وزن، افزایش سلامت استخوان و ... (۱۴). مطالعه د لیما روزا[2]و همکاران نشان داد که ۲ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط، چه به‌تنهایی و چه در ترکیب با پردنیزولون، منجر به کاهش شدت و فراوانی تشنج و همچنین کاهش سطوح IL-1β و TNFα در قشر مغز رت‌های صرعی می‌شود؛ با این حال، این اثرات در ناحیه هیپوکامپ مشاهده نشد (15). دسوزا[3]و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که تمرین هوازی، در صورت انجام به‌مدت چهار هفته پیش از القای صرع با پیلوکارپین، می‌تواند آستانه بروز صرع و تشنج را افزایش دهد. همچنین، ادامه تمرین هوازی به‌مدت هشت هفته پس از القای صرع منجر به کاهش التهاب عصبی از طریق کاهش سطوح TNF-α و IL-1β در هیپوکامپ رت‌های مبتلا به صرع می‌شود (۱۴). نتایج یک مطالعه انسانی نیز نشان داد که تمرین هوازی و مقاومتی در بیماران صرع، موجب بهبود اتصال عملکردی مغز، افزایش حافظه و افزایش قدرت ارادی می‌شود (۱۶). چکالاروا[4]و همکاران گزارش کردند که تمرین استقامتی روی تردمیل به مدت چهار هفته می‌تواند حساسیت به تشنج و اختلال شناختی ناشی از تزریق اسید کاینیک را در رت‌ها کاهش دهد (۱۷). همچنین، دا سیلوا[5]و همکاران گزارش کردند که پیش‌شرطی‌سازی با تمرین هوازی در موش‌های ۲۱ روزه که تا روز ۶۰ به فعالیت بدنی ادامه دادند، اثرات محافظتی در برابر صرع القاشده با پیلوکارپین دارد. نتایج نشان داد که موش‌های تمرین‌دیده، علائم خفیف‌تری از صرع را تجربه کرده و دوره نهفتگی تشنج در آن‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافته بود (۱۸). مطالعات نشان داده‌اند که تمرین هوازی با شدت متوسط، برخلاف شدت‌های بسیار بالا یا پایین، بیشترین تعادل میان اثرات ضدالتهابی و ایمنی ورزشی را فراهم می‌کند. تمرین شدید می‌تواند منجر به افزایش گذرای نشانگرهای التهابی نظیر IL-6 وCRP شود، در حالی‌که شدت متوسط باعث کاهش پایدار TNF-α و-IL 1βو بهبود پروفایل التهابی می‌شود (۱۵, ۱۹, ۲۰). اگرچه نقش ضدالتهابی تمرینات هوازی در زمینه صرع تا حدی اثبات شده است، اما اثر آن بر مسیرهای مولکولی مرتبط با التهاب، به‌ویژه MRP8، IRAK4 و TNF-α در هیپوکمپ هنوز به‌طور دقیق بررسی نشده است. با توجه به نقش حیاتی این مسیرها در التهاب عصبی و مقاومت دارویی در صرع، شناسایی پاسخ آن‌ها به مداخلات ورزشی می‌تواند راهکارهای جدیدی را در کنترل و مدیریت صرع فراهم کند.

---

[1] Neuroinflammation [1]
[1] de Lima Rosa
[1] Shishmanova-Doseva [3]
[1] Tchekalarova [4]
[1] Gomes da Silva [5]

بنابراین، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرین ورزشی هوازی با شدت متوسط (MICT) بر سطوح پروتئین‌های MRP8، IRAK4 و TNF-α در مدل حیوانی صرع بود. نتایج این تحقیق می‌تواند با ارائه‌ی بینش‌های نوین، زمینه‌ساز استفاده از ورزش به‌عنوان رویکرد مکمل در مدیریت التهاب عصبی و کنترل تشنج در بیماران مبتلا به صرع باشد.

روش پژوهش

تعداد ۳۲ سر رت نر نژاد ویستار با میانگین سنی ۶ تا ۸ هفته و میانگین وزنی ۱۴،۹۶۶±۲۲۶،۶۲۵ گرم از مؤسسه انیستیتو پاستور ایران خریداری شدند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشکده علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه تهران مورد تأیید قرار گرفت. حیوانات به‌صورت تصادفی در چهار گروه تقسیم شدند: گروه کنترل (تعداد = ۸)، گروه مبتلا به صرع (تعداد = ۸)، گروه مبتلا به صرع همراه با تمرین هوازی با شدت متوسط[۶](MICT ، تعداد = ۸) و گروه شم(تعداد = ۸). حیوانات در شرایط کنترل‌شده شامل دمای ۲۲ تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵ تا ۶۵ درصد و چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. دسترسی به آب و غذای استاندارد نیز به‌صورت آزادانه برای آن‌ها فراهم بود.

القا صرع: پس از گذشت یک هفته از دوره تطبیق حیوانات با محیط آزمایشگاه، القای صرع از طریق تزریق درون‌هیپوکمپ[۱۷] کاینیک اسید به میزان یک میکروگرم با استفاده از روش استریوتاکسیک[۱۸]انجام شد. برای ارزیابی موفقیت القای صرع، از مقیاس رفتاری راسین[۱۹]استفاده شد. در صورت القای موفق، حیوان معمولاً طی ۳۰ تا ۴۰ دقیقه پس از تزریق، نخستین حمله تشنجی را نشان می‌دهد. تنها یکی از حیوانات پس از القا تلف شد و نرخ مرگ‌ومیر ناشی از القا برابر با ۰،۳٪ محاسبه گردید. شدت حملات بر اساس مقیاس راسین امتیاز دهی شد: مرحله یک؛ خیره شدن، مرحله دو؛ حرکات خودکار صورت، مثل؛ لرزش (لرزش سگ خیس)، بو کشیدن(حرکات دماغ)، ترشح بزاق، جویدن و حرکات سر، مرحله سه؛ تمامی وقایع مرحله دو به همراه کلونوس اندام جلویی و لرزیدن مرحله چهار؛ لرزیدن ها و کلونوس اندام جلویی به طور مکرر و افتادن، مرحله پنجم؛ تشنج های تونیک-کلونیک به همراه دویدن (۲۱).

پروتکل تمرینی: پروتکل تمرینی به مدت ۸ هفته به‌صورت تداومی و با شدت متوسط، با اقتباس از مطالعه آریدا[۲۰] و همکاران (۲۰۰۴)، طراحی و اجرا شد. به‌منظور تعیین حداکثر سرعت دویدن[۲۱]ابتدا حیوانات به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه و شیب صفر درصد گرم شدند. سپس، سرعت تردمیل هر ۳ دقیقه به میزان ۳ متر بر دقیقه افزایش یافت تا زمانی که حیوان از ادامه دویدن خودداری می‌کرد. تمرینات هوازی به‌صورت پنج جلسه در هفته و هر روز ساعت ۱۱ صبح انجام می‌شد. به منظور انجام تمرینات به صورت پیشرونده، آزمون تعیین Vmax یک‌بار پیش از شروع تمرینات (هفته صفر) و یک‌بار در پایان هفته چهارم انجام شد، و سرعت تمرین بر اساس نتایج جدید تنظیم گردید. تمرینات تداومی نیز در هر جلسه به‌مدت ۴۰ دقیقه بدون وقفه اجرا می‌شد. مرحله گرم‌کردن نیز شامل ۵ دقیقه دویدن اولیه مطابق با پروتکل ریکاردو آریدا بود (۲۲).

---

[1] Moderate intensity continuous training
[1] Intrahippocampal
[1] Stereotaxic
[1] Racine scale
[2] Arida et al.
[2] Vmax

پایش تعداد تشنج: فراوانی تشنج‌ها دو بار مورد ارزیابی قرار گرفت: یک‌بار در هفته چهارم و بار دیگر در هفته هشتم، از ساعت ۶ صبح تا ۶ عصر. پنج نیروی آموزش‌دیده به‌طور مداوم قفس‌های موش‌ها را زیر نظر داشتند و تمامی مشاهده‌گران نسبت به گروه‌های تجربی نابینا بودند. شدت تشنج‌ها بر اساس مقیاس اصلاح‌شده راسین، مطابق با توصیفات پیشین، ثبت شد.

بافت برداری و اندازه گیری پروتئین های MRP8، IRAK4 وTNF-α

به‌منظور رفع اثرات حاد ناشی از تمرین، ۴۸ ساعت پس از اتمام پروتکل تمرینی، حیوانات با تزریق ترکیب زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند و سپس جهت تشریح و برداشت بافت آماده گردیدند. پس از خارج‌سازی مغز از جمجمه، ناحیه هیپوکامپ جدا شده و برای انجام آنالیزها در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

به‌منظور استخراج پروتئین، بافت هیپوکمپ نمونه‌ها در بافر لیز حاوی مهارکننده پروتئاز همگن‌سازی شد و پس از نگهداری در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، با سانتریفیوژ (۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، ۱۵ دقیقه، ۴ درجه سانتی‌گراد) محلول بالایی جمع‌آوری گردید. غلظت پروتئین با استفاده از روش BCA تعیین شد. برای انجام وسترن بلات، ۵۰ میکروگرم از پروتئین‌های دناتوره‌شده در ژل پلی‌آکریل‌آمید (SDS-PAGE) بارگذاری و براساس وزن مولکولی از یکدیگر جدا شدند. سپس پروتئین‌ها به غشای PVDF منتقل شدند. برای جلوگیری از اتصال غیراختصاصی، غشا به‌مدت ۱ ساعت در محلول مسدودکننده حاوی ٪۵ آلبومین سرم گاوی (BSA) در بافر TBST انکوبه شد. سپس غشاها با آنتی‌بادی‌های اولیه اختصاصی فاکتورهای MRP8، TNF-αو IRAK4(طبق رقت پیشنهادی شرکت سازنده،sigma-Aldrich) به‌مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از شستشو، آنتی‌بادی ثانویه کونژوگه با HRP افزوده و انکوباسیون به‌مدت ۱ ساعت در دمای اتاق انجام شد. آشکارسازی باندهای پروتئینی با استفاده از روش نورتابی شیمیایی (ECL) صورت گرفت. شدت باندهای مشاهده‌شده با استفاده از نرم‌افزار ImageJ تحلیل و مقادیر نسبی هر پروتئین با نرمال‌سازی نسبت به β-actin به‌عنوان کنترل داخلی محاسبه گردید.

.

تجزیه تحلیل آماری:

در این پژوهش از میانگین[۲۲] و انحراف استاندارد[۲۳](Mean ±SD) برای توصیف داده ها استفاده شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون شاپیروویلک[۲۴] و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون[۲۵] بررسی شد. برای بررسی تفاوت سطوح MRP-8، IRAK-4 و TNF-α در بین گروه ها از آزمون پارامتریک آنووای یک طرفه و برای مقایسه دو به دو از آزمون تعقیبی توکی سطح معناداری ۰،۰۵ در نظر گرفته شد. تمامی محاسبات با نرم افزار SPSS21 انجام شد.

نتایج

تعداد تشنج

یافته‌های حاصل از آزمون t مستقل نشان داد که فعالیت هوازی با شدت متوسط در مقایسه با گروه صرع، منجر به کاهش معنادار در تعداد تشنج‌ها گردید(P=۰/۰۱، t=۲/۸۰).(شکل ۱).

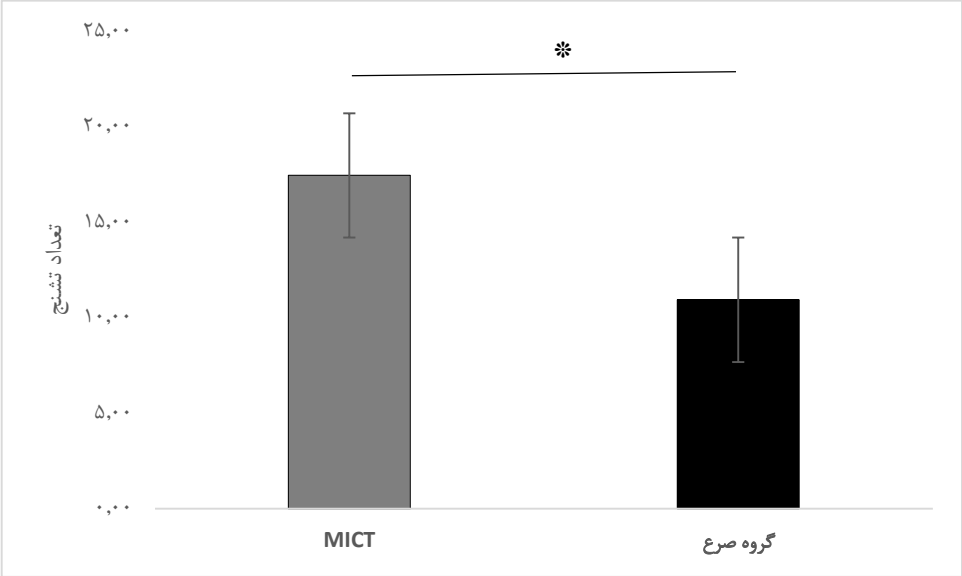
---

[۲۲] Mean

[۲۳] Standard deviation

[۲۴] Shapiro Wilk

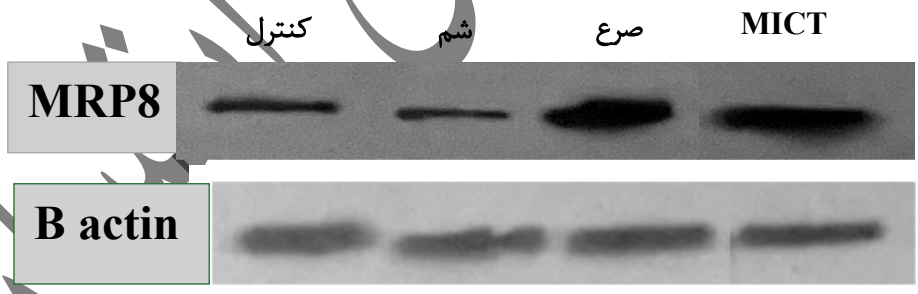
[۲۵] Leven

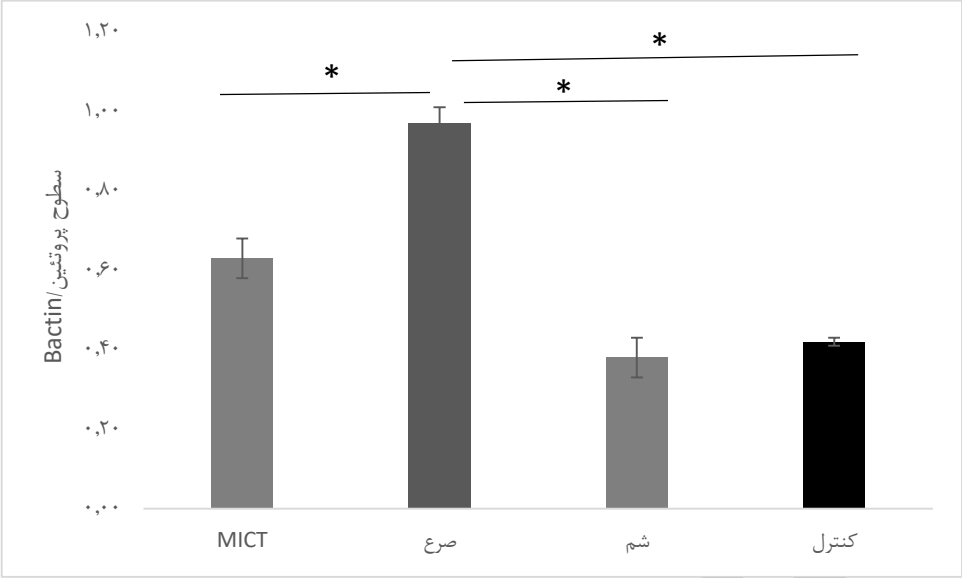


شکل۱.میانگین تشنج‌ها در هفته هشتم دو گروه صرع و MICT

MRP-8

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین گروه‌های پژوهشی تفاوت معنی‌داری در متغییر MRP-8 وجود دارد (F = ۱۸۴,۰ ، P<۰,۰۰۰۱). آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح MRP-8 در گروه صرع به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از تمامی گروه‌های دیگر بود. همچنین، فعالیت ورزشی هوازی با شدت متوسط موجب کاهش معنی‌دار MRP-8 در مقایسه با گروه صرع شد که بیانگر اثر تعدیلی ورزش بر این شاخص التهابی است. (شکل ۲).

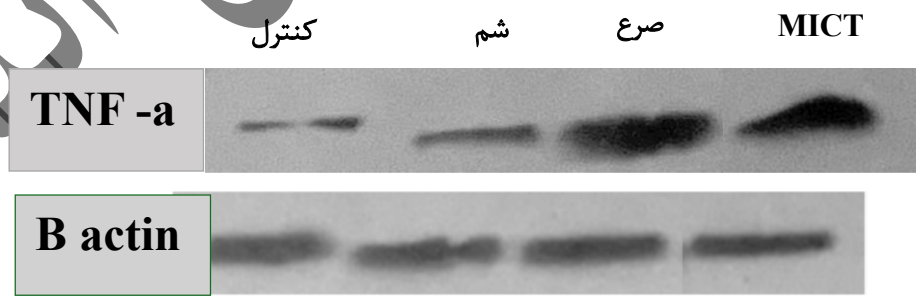


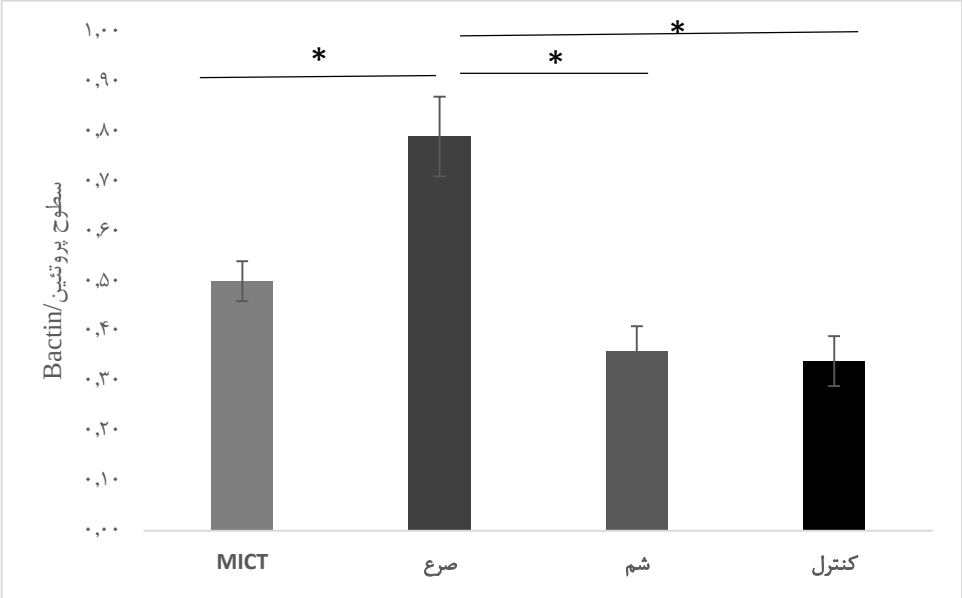


شکل۲. تغییرات سطوح بیان پروتئین MRP-8 در هیپوکمپ.

TNF-α

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد بین گروه‌های پژوهش در سطوح بیان TNF-α تفاوت معناداری دارد (F = ۶۰,۵۷ ، P<۰,۰۰۰۱). آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح TNF-α در گروه صرع نسبت به گروه های دیگر بالاتر است. مقایسه گروه MICT با گروه صرع نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی با شدت متوسط موجب کاهش معنی‌دار TNF-α می‌شود. (شکل ۳).

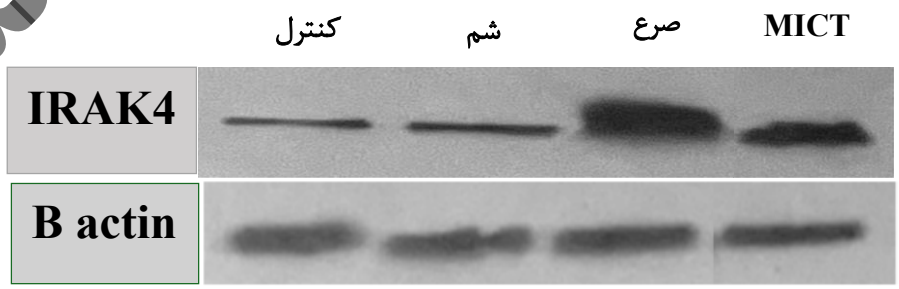


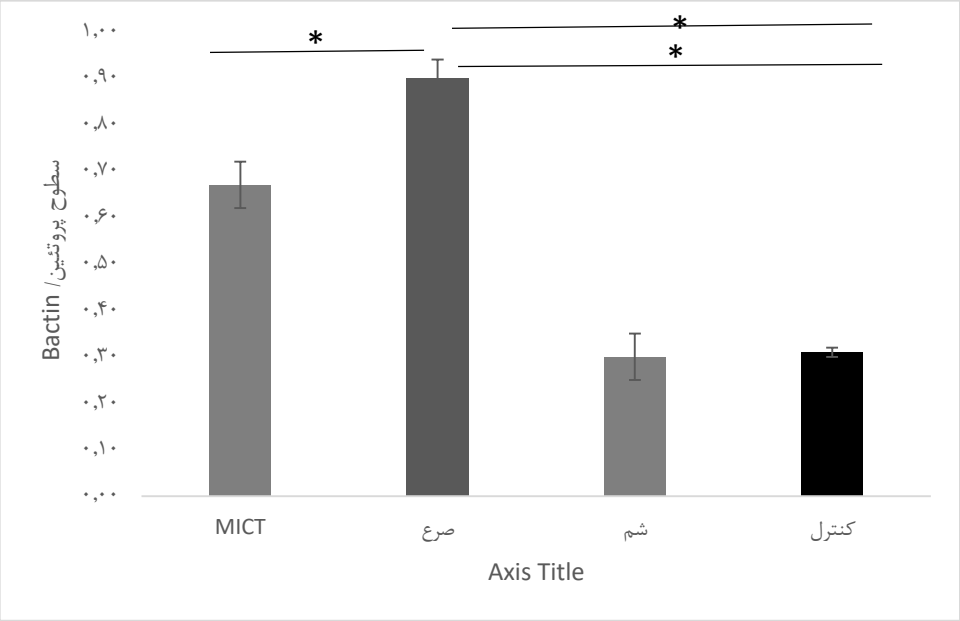


شکل ۳. تغییرات بیان پروتئین TNF-a در هیپوکمپ

IRAK-4

تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که سطح بیان IRAK-4 بین گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معناداری دارد (F = ۸۹,۷۷ ، P<۰,۰۰۰۱). بررسی نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح IRAK-4 در گروه صرع نسبت به گروه های دیگر بالاتر است. در مقابل، اجرای فعالیت ورزشی هوازی با شدت متوسط در گروه MICT منجر به کاهش معنی‌دار این شاخص در مقایسه با گروه صرع شد. (شکل ۴).





شکل ۴. تغییرات بیان پروتئین IRAK-4 در هیپوکمپ

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که القای بیماری صرع با استفاده از کاینیک اسید موجب افزایش معنی‌دار سطوح پروتئین‌های MRP8، IRAK4و TNF-α در بافت هیپوکمپ موش‌های صرعی شد. همچنین یکی از یافته‌های کلیدی پژوهش حاضر، افزایش تعداد تشنج‌ها در رت‌های صرعی است که با افزایش شاخص‌های التهابی همزمان شد. این همبستگی نشان می‌دهد که افزایش التهاب عصبی نقش مهمی در تشدید و تداوم بیماری صرع دارد. این افزایش شاخص‌های التهابی با فعال‌سازی سیستم ایمنی ذاتی و مسیرهای التهابی شناخته‌شده در پاتوفیزیولوژی صرع همسو است (۶). یکی از مهم‌ترین سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در این زمینه، TNF-α است که با اثر گذاری بر سد خونی مغزی (BBB)، افزایش تحریک پذیری نورونی، و تشدید استرس اکسیداتیو نقش مهمی در بروز و گسترش تشنج دارد. این سایتوکاین همچنین تعادل تحریک–مهار نورونی را با افزایش انتقال گلوتامات از طریق گیرنده گیرنده‌های AMPA و NMDA و کاهش انتقال مهاری از ظریث گیرنده‌های GABA_A مختل می‌کند (۲۳). مطالعات متعددی از جمله پژوهش جیا[۲۶] و همکاران (۲۰۲۲) نشان داده‌اند که القای صرع با کاینیک اسید منجر به افزایش بیان TNF-α در هیپوکمپ می‌شود که با مطالعه حاضر همسو است (۲۴).

در این مسیر التهابی، TLR4 نقش کلیدی دارد. MRP8 یکی از لیگاندهای درون‌زای TLR4، فعال‌سازی این گیرنده را آغاز کرده و منجر به فعال شدن IRAK4 در کمپلکس MyD88 می‌شود. این فرآیند مسیرهای پایین دستی شامل MAPK، TRAF6و NF-kB را فعال کرده , و بیان ژن‌های التهابی مانند TNF-α، IL-1β و IL-6 را افزایش می‌دهد. (۴) (۲۵). مطالعات قبلی نیز افزایش این فاکتورها در مدل‌های صرع را تأیید کرده‌اند؛ گان[۲۷] و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای نشان دادن سطوح MRP8 پس از القای بیماری صرع در هیپوکمپ افزایش دارد که با مطالعه ما همسو است (۶). همچنین ژاو[۲۸] و همکاران (۲۰۲۴) نشان دادند که القای صرع به واسطه پنتیلن تترازول (PTZ) باعث افزایش سطوح IRAK4 در هیپوکمپ می‌شود (۲۶). ژاو در مطالعه‌ای دیگر (۲۰۲۴) نشان داد سطوح افزایش یافته IRAK4 در هیپوکمپ، در نتیجه بیماری صرع با فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ NF-κB/NLRP3 منجر به افزایش التهاب عصبی می‌شود (۲۷).

مطالعه حاضر نشان داد اجرای تمرین تداومی با شدت متوسط به‌مدت هشت هفته اثرات قابل توجهی بر تعدیل پاسخ‌های التهابی و کاهش فراوانی تشنج‌ها دارد. این تمرین باعث کاهش معنادار سطوح TNF-α، IRAK4 و MRP8 در بافت هیپوکمپ رت‌های مبتلا به صرع و تعداد تشنج‌ها شد. این نتایج حاکی از آن است که فعالیت ورزشی منظم می‌تواند با مهار مسیرهای مولکولی وابسته به TLR4/MyD88/NF-κB، از شدت التهاب عصبی بکاهد. کاهش سطح MRP8 احتمالاً با مهار فعال‌سازی اولیه TLR4، زنجیره سیگنالینگ التهابی را مختل می‌سازد. مطالعات متعددی اثرات تعدیل‌کننده فعالیت ورزشی بر پاسخ‌های التهابی را گزارش کرده‌اند. مطالعات نشان می‌دهند فعالیت ورزشی آثار مثبتی بر کاهش تعداد حملات، بهبود علائم صرع و بهبود علائم روانی همراه صرع همچون کیفیت زندگی، حافظه و یادگیری را نشان داده اما هنوز مکانیسم دقیق اثر گذاری ورزش ناشناخته است.

مطالعه حاضر هم راستا با مطالعات پیشین بود که کاهش پاسخ‌های التهابی را پس از یک دوره فعالیت ورزشی هوازی گزارش کرده‌اند. جیا و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که چهار هفته دویدن با شدت پایین روی تردمیل همراه با مصرف والپروات سدیم می‌تواند سطوح IL-1β، TNF-α، IL-6، TLR4و NF-κB را در هیپوکمپ موش‌های مبتلا به صرع کاهش داده و دفعات تشنج را محدود کند (۲۴). همچنین مطالعه لیما روزا و همکاران نشان داد که ۲ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط، چه به‌تنهایی و چه در ترکیب با پردنیزولون، منجر به کاهش سطوح TNFα در قشر مغز رت‌های صرعی می شود(۱۵). مطالعه‌ای بر روی مدل حیوانی صرع نشان داد که

[۲۶] Jia

[۲۷] Gan

[۲۸] Zhao

انجام ورزش هوازی (تردمیل) در کنار کورکومین، باعث کاهش قابل‌توجه فراوانی تشنج در موش‌های صرعی شده و اثرات درمانی کورکومین را تقویت می‌کند (۲۸). همچنین این نکته شایان ذکر است که افزایش IL-1β میتواند به واسطه کاهش باز برداشت گلوتامات توسط نورون پیش سیناپسی منجر به بیش فعالی نورون های پس سیناپسی شده و در نهایت باعث وقوع حمله شود(۲۹). فیلیپ و همکاران نشان دادند که تزریق کاینیک اسید باعث افزایش سطوح گلوتامات در موش ها شد و انجام تمرینات دویدن به صورت داوطلبی با چرخ گردان منجر به کاهش گلوتامات و همچنینن کاهش در حملات نسبت به گروه بی فعالیت شد (۳۰)

با وجود اینکه مطالعات محدودی به بررسی مستقیم تأثیر تمرین ورزشی بر فاکتورهای MRP8 و IRAK4 پرداخته‌اند، یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که ورزش تداومی با شدت متوسط منجر به کاهش معنادار این دو فاکتور در هیپوکمپ رت‌های مبتلا به صرع شد. با توجه به نقش MRP8 به‌عنوان لیگاند درون‌زای TLR4 و فعال‌کننده مسیرMyD88/IRAK4 ، به‌نظر می‌رسد کاهش سطوح آن بتواند از طریق مهار مسیرNF-κB ، منجر به تعدیل پاسخ‌های التهابی در مغز شود. این فرضیه با مطالعات پیشین هم‌راستاست که گزارش کرده‌اند تمرین ورزشی می‌تواند با مهار مسیرهای TLR4 وNF-κB ، التهاب عصبی را کاهش دهد (۲۴). بنابراین، کاهش MRP8 و IRAK4 را می‌توان به‌عنوان بخشی از سازوکار ضدالتهابی فعالیت ورزشی در مدل صرع در نظر گرفت، هرچند برای تأیید این ارتباط، مطالعات بیشتری مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

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

منابع

1. Fisher, R.S., et al., *ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy.* Epilepsia, 2014. **55**(4): p. 475-82.
2. Pitkänen, A. and K. Lukasiuk, *Mechanisms of epileptogenesis and potential treatment targets.* Lancet Neurol, 2011. **10**(2): p. 173-86.
3. Hollis, A. and J.R. Lukens, *Role of inflammasomes and neuroinflammation in epilepsy.* Immunol Rev, 2025. **329**(1): p. e13421.
4. Kong, H., et al., *The Effect of miR-132, miR-146a, and miR-155 on MRP8/TLR4-Induced Astrocyte-Related Inflammation.* J Mol Neurosci, 2015. **57**(1): p. 28-37.
5. Liu, H., M. Roy, and F.F. Tian, *MicroRNA-based therapy: a new dimension in epilepsy treatment.* Int J Neurosci, 2013. **123**(9): p. 617-22.
6. Gan, N., et al., *Myoloid-related protein 8, an endogenous ligand of Toll-like receptor 4, is involved in epileptogenesis of mesial temporal lobe epilepsy via activation of the nuclear factor-κB pathway in astrocytes.* Mol Neurobiol, 2014. **49**(1): p. 337-51.
7. Zhang, S., et al., *Role of HMGB1/TLR4 and IL-1β/IL-1R1 Signaling Pathways in Epilepsy.* Front Neurol, 2022. **13**: p. 904225.
8. Cavalcante, B.R.R., et al., *Exercise-linked consequences on epilepsy.* Epilepsy Behav, 2021. **121**(Pt A): p. 108079.
9. Ribarič, S., *Physical exercise, a potential non-pharmacological intervention for attenuating neuroinflammation and cognitive decline in Alzheimer's disease patients.* International journal of molecular sciences, 2022. **23**(6): p. 3245.
10. Häfele, C.A., et al., *Are physical activity levels associated with better health outcomes in people with epilepsy?* Epilepsy & Behavior, 2017. **72**: p. 28-34.
11. Allendorfer, J.B., et al., *A pilot study of combined endurance and resistance exercise rehabilitation for verbal memory and functional connectivity improvement in epilepsy.* Epilepsy & Behavior, 2019. **96**: p. 44-56.
12. Feter, N., et al., *Effect of combined physical training on cognitive function in people with epilepsy: results from a randomized controlled trial.* Epilepsia, 2020. **61**(8): p. 1649-1658.
13. McAuley, J.W., et al., *A prospective evaluation of the effects of a 12-week outpatient exercise program on clinical and behavioral outcomes in patients with epilepsy.* Epilepsy & Behavior, 2001. **2**(6): p. 592-600.

14. Shishmanova-Doseva, M., et al., *Pre- and Post-Endurance Training Mitigates the Rat Pilocarpine-Induced Status Epilepticus and Epileptogenesis-Associated Deleterious Consequences.* Int J Mol Sci, 2022. **23**(21).
15. de Lima Rosa, G., et al., *Aerobic exercise, alone or combined with an anti-inflammatory drug, reduces the severity of epileptic seizures and levels of central pro-inflammatory cytokines in an animal model of epileptic seizures.* Epilepsy Res, 2022. **186**: p. 107018.
16. Allendorfer, J.B., et al., *A pilot study of combined endurance and resistance exercise rehabilitation for verbal memory and functional connectivity improvement in epilepsy.* Epilepsy Behav, 2019. **96**: p. 44-56.
17. Tchekalarova, J., et al., *Effect of endurance training on seizure susceptibility, behavioral changes and neuronal damage after kainate-induced status epilepticus in spontaneously hypertensive rats.* Brain Res, 2015. **1625**: p. 39-53.
18. Gomes da Silva, S., et al., *Early physical exercise and seizure susceptibility later in life.* Int J Dev Neurosci, 2011. **29**(8): p. 861-5.
19. Cerqueira, É., et al., *Inflammatory effects of high and moderate intensity exercise—a systematic review.* Frontiers in physiology, 2020. **10**: p. 489354.
20. Paolucci, E.M., et al., *Exercise reduces depression and inflammation but intensity matters.* Biological psychology, 2018. **133**: p. 79-84.
21. Racine, R.J., *Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure.* Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 1972. **32**(3): p. 281-94.
22. Arida, R.M., et al., *Physical training reverts hippocampal electrophysiological changes in rats submitted to the pilocarpine model of epilepsy.* Physiology & behavior, 2004. **83**(1): p. 165-171.
23. Michev, A., et al., *An Overview of The Role of Tumor Necrosis Factor-Alpha in Epileptogenesis and Its Terapeutic Implications.* Acta Biomed, 2022. **92**(S4): p. e2021418.
24. Jia, Y., et al., *Low-intensity exercise combined with sodium valproate attenuates kainic acid-induced seizures and associated co-morbidities by inhibiting NF-κB signaling in mice.* Front Neurol, 2022. **13**: p. 993405.
25. Gill, R., A. Tsung, and T. Billiar, *Linking oxidative stress to inflammation: Toll-like receptors.* Free Radical Biology and Medicine, 2010. **48**(9): p. 1121-1132.
26. Zhao, T., et al., *IRAK4 in the hippocampus increases susceptibility to seizures through NF-κB/NLRP3-mediated neuronal pyroptosis.* 2024.
27. Zhao, T., et al., *Inhibiting the IRAK4/NF-κB/NLRP3 signaling pathway can reduce pyroptosis in hippocampal neurons and seizure episodes in epilepsy.* Experimental Neurology, 2024. **377**: p. 114794.
28. Ogunsuyi, O., et al., *Administration of curcumin plus treadmill exercise modulate some neuronal enzyme activities, redox markers and BDNF mRNA expression in pilocarpine-induced epileptic seizure in rats.* Neurochemical Journal, 2023. **17**(3): p. 467-476.
29. Zhang, S., et al., *Role of HMGB1/TLR4 and IL-1β/IL-1R1 signaling pathways in epilepsy.* Frontiers in neurology, 2022. **13**: p. 904225.
30. Holmes, P.V., et al., *Chronic exercise dampens hippocampal glutamate overflow induced by kainic acid in rats.* Behavioural Brain Research, 2015. **284**: p. 19-23.