مقاله پژوهشی

تأثیر دو نوع روش تمرین هوازی بر IFN-γ در مدل حیوانی آنسفالومیلیت خودایمن تجربی

مریم کریمیان، محسن قنبرزاده*، عبدالحمید حبیبی، مسعود نیک بخت

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

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۱۲/۲۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۶/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: مولتیپل اسکلروز (MS) یک بیماری مزمن دمیلینه شدن سیستم اعصاب مرکزی بوده که عوارض و مشکلات فراوانی برای بیماران مبتلا ایجاد نموده و آن‌ها را به‌سوی ناتوانی حرکتی سوق می‌دهد. حوزه تحقیقاتی علوم ورزشی، با توجه به توسعه و پیشرفتی که پیداکرده است، امروزه همگام با علوم دیگر در یافتن روش‌های کمک درمانی برای بهبود اختلالات ناشی از بیماری‌ها و آسیب‌های ورزشی و بهبود وضعیت سلامتی افراد جامعه می‌کوشد. با توجه به اهمیت درمان‌های تکمیلی، در این پژوهش به بررسی اثربخشی دو نوع تمرین هوازی بر IFN-γ در نمونه‌های حیوانی مبتلابه MS پرداخته‌شده است.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های تحت آزمایش این پژوهش ۹۶ سر موش C57bl6 بودند که پس از تهیه و القاء به‌صورت تولید مدل EAE در پژوهش هم در تمرین شنا و هم در تمرین چرخ دوار جداگانه به ۸ گروه ۶تایی مشتمل بر گروه‌های سالم (کنترل، تمرین) و MS (کنترل، تمرین، اینترفرون، تمرین+ اینترفرون، شاهد تزریق، شاهد تمرین و تزریق) تقسیم شدند. مدل‌های حیوانی پس از یک هفته سازگاری با محیط، پروتکل تمرینی را اجرا کردند؛ و بعد از خون‌گیری، در آزمایشگاه با جدا کردن سرم، غلظت IFN-γ با کیت‌های ویژه اندازه‌گیری شد. در پایان آزمایش‌ها، موش‌ها ازنظر شدت ابتلا به EAE نیز بین گروه‌های مطالعه مقایسه شدند. این پژوهش به‌صورت تجربی انجام گرفت و کلیه‌ی اطلاعات و داده‌های خام به‌دست‌آمده از نمونه‌ها توسط نرم‌افزار SPSS۲۴ و به روش آماری واریانس یک‌طرفه مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. حداقل سطح معنی‌داری نیز $p\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج: نتایج حاصل از تجزیه‌وتحلیل نهایی نشان داد که میانگین غلظت IFN-γ در مدل‌های EAE که فعالیت هوازی شنا انجام می‌دادند هم در گروه بدون تزریق (P=0.047)و هم در گروه با تزریق اینترفرون (P=0.013) نسبت به مدل‌های EAEی که فعالیتی نداشتند کاهش معنی‌داری را نشان داد. همچنین میانگین غلظت IFN-γ در تمرین چرخ دوار فقط در گروه MS + تمرین چرخ دوار معنی‌دار شد (P=0.025).

نتیجه‌گیری: با توجه به پروتکل پژوهش حاضر در مورد پاسخ نشانگرهای التهابی به دوره‌های تمرین هوازی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تمرین شنا و تمرین چرخ دوار توانسته است سطوح نشانگرهای التهابی را باوجود بیماری MS کاهش دهد.

کلمات کلیدی: آنسفالومیلیت خودایمن تجربی، IFN-γ، شنای هوازی، چرخ دوار

مقدمه

اینترفرون گاما (IFN-γ) به‌عنوان مجری اصلی ایمنی اغلب در درمان بسیاری از بیماری‌ها مورداستفاده قرارگرفته است (۱) IFN-γ در حال حاضر به‌عنوان نماینده خانواده اینترفرون‌ها شناخته‌شده است و نقش مهمی نه‌تنها در سازمان‌دهی پاسخ‌های ایمنی ذاتی و انطباقی علیه ویروس‌ها، باکتری‌ها و تومورها دارد بلکه در ارتقای فرایندهای التهابی پاتولوژیک نیز سهیم است (۱). تولید IFN-γ درنهایت منجر به تولید پاسخ‌های ایمنی ترکیب‌شده با سلول‌های TH1، +CD4 و سلول‌های T تلقیح شده می‌شود (۱). نقش اینترفرون IFN-γ در مولتیپل اسکلروزیس (MS) و مدل حیوانی آن، آنسفالومیلیت اتوایمن تجربی (EAE)، به مدت ۳۰ سال به‌عنوان یک پارادوکس مبهم باقی‌مانده است. شواهد جمع‌آوری‌شده نشان می‌دهد که IFN-γ نیز نقش محافظتی را ایفا می‌کند و تنظیم‌کننده فعالیت

*نویسنده مسئول: : **محسن قنبرزاده**، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
Email: Ghanbarzadeh213@gmail.com
https://orcid.org/: 0000-0002-0257-0731

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.3.10.7]

سلول‌های T کنشگر است. چندین سلول ایمنی ذاتی و سازگار نیز فعالیت‌های متفاوتی را که با تولید IFN-γ در EAE مرتبط است، ایجاد می‌کنند. حتی فعالیت سرکوب‌کننده انواع سلول‌های تنظیم‌کننده وابسته به IFN-γ است (۲). برخی از محققان مشاهده کردند که فعالیت بدنی، تغییرات فیزیولوژیک زیادی را در سیستم ایمنی ایجاد می‌کند. ورزش پاسخ‌های ایمنی را از طریق تولید سایتوکاین که در تنظیم شکل‌گیری پاسخ‌های ایمنی و التهابی نقش دارد تنظیم می‌کند (۳). آنچه در تحقیقات مشخص‌شده است این است که سطح IFN-γ پس از یک تمرین متوسط افزایش می‌یابد اما پس از تمرین شدید روزانه کاهش قابل‌توجهی دارد (۴). بنابراین می‌توان فرض کرد که در افرادی که به ورزش منظم می‌پردازند، کاهش ناگهانی و شدید سایتوکاین ضدالتهاب ممکن است؛ که این «ظرفیت بافر» یا «پاسخ سازنده سایتوکاین» را ایجاد کند که در طی وقایع ناگهانی فعالیت بدنی در طول عمر طبیعی برای تحمل‌پذیری تنش‌های فیزیکی بهتر باشد (۴).

تمرین باعث افزایش تولید سایتوکین CD8+ در پاسخ به آنتی‌ژن‌های لنفوسیت Tcell و Bcell، همچنین سلول‌های NK[1] می‌شود که در سیستم ایمنی و تولیدات سایتوکاین‌ها به‌وسیله کنترل عملکرد ایمنی و انتقال سیگنالی نقش مهمی را ایفا می‌کند (۵). از طرف دیگر با توجه به اثرات ضدالتهابی ورزش و تعدیل سطوح سایتوکاینی به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی اثرات مثبتی در پیشگیری و کمک به درمان بیماری MS داشته باشد (۶). تمرین یک سری از پاسخ‌های ایمونولوژیک و هورمونی را فعال می‌کند و شواهد زیادی نشان می‌دهد که تمرین‌های ورزشی می‌توانند باعث کاهش التهاب عصبی مزمن و پاتولوژی مرتبط با آن با هدف‌گیری سایتوکاین‌های پیش التهابی و ضدالتهابی شود (۶). درواقع در بیماری‌های مزمن تمرین می‌تواند پروفایل‌های سایتوکاین را به سمت تائید ضدالتهابی منحرف کند که منجر به مزایای سلامتی ورزش و محافظت در برابر بیماری‌های مزمن مرتبط با التهاب شود (۷). علاوه بر این داده‌های جدید نشان می‌دهد که تمرین به‌طور مستقیم سیستم خود ایمنی را به‌وسیله هدف‌گذاری سیگنالینگ TLR[2] تحت تأثیر قرار می‌دهد که بر تنظیم فیزیولوژیکی بیان TLR و عملکرد آن در انسان‌ها و بیماری تأثیر می‌گذارد (۸). به‌خوبی مشخص‌شده است که تمرین ضدالتهاب است و باعث رشد سلول‌های عصبی، پلاستیسیتی و حافظه در جوندگان می‌شود (۹). درواقع تمرین مقاومتی که به مدت ۱۲ هفته انجام شد بیان mRNA IFN-γ در عضله پلانتار موش صحرایی را کاهش داد (۱۰). ازآنجاکه شیوع MS در همه کشورها و در بین کلیه اقشار جامعه در حال گسترش است، یافتن راه‌هایی برای پیشگیری و درمان این بیماری ضروری است؛ و از سویی دیگر چون MS و بی‌تحرکی جسمانی با بالا بودن سطوح نشانگرهای التهابی همراه هستند، تعیین این‌که MS و یا بی‌تحرکی جسمانی عاملان مستقل برای بروز التهاب و بیماری‌های التهابی‌اند، ضروری به نظر می‌رسد.اکثر پژوهش‌ها اثر یک جلسه فعالیت هوازی شدید و یا یک جلسه تمرین مقاومتی بر سطوح عوامل التهابی را مستند کرده‌اند، اما در مورد اثر یک دوره فعالیت در آب علی‌الخصوص بر روی نمونه‌های حیوانی در مقابل تمرین در خشکی به‌روشنی پژوهشی مشاهده نشده است. تمرینات هوازی در آب در نمونه‌های حیوانی MS به‌صورت پیش از القا (پری کاندیشنینگ)[3] بررسی گردیده‌اند و پژوهش‌های پس از القا روی اثر آب‌درمانی متمرکز نشده است، از سویی دیگر با توجه به شرایط خاص بیماران MS آیا تمرین در خشکی نیز همین اثرات بر میزان غلظت این سایتوکاین داشته است و این که کدام روش تمرینی مؤثرتر جهت این قبیل بیماران است. ازاین رو هدف از مطالعه حاضر پاسخ به این پرسش است که آیا چهار هفته تمرین هوازی شنا بر میزان IFN-γ در مدل حیوانی بیماری مالتیپل اسکلروزیس (EAE)[4] مؤثر است و آیا تمرین با چرخ دوار نیز همین اثر را دارد؟ با توجه به این یافته‌ها و مکانیسم‌های یادشده در کاهش IFN-γ می‌توان گفت فعالیت بدنی با عملکرد واسطه‌ای خود بر کاهش فاکتورهای التهابی می‌تواند مطالعه‌ای ارزشمند در بیماران مبتلابه اماس باشد و راهکارهای نوین و امیدوارکننده جهت تفکرات دارودرمانی صرف به سمت ورزش‌درمانی در این بیماران باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات

این مطالعه تجربی روی ۹۶ سر موش سوری ماده نژاد C57BL/6 با سن ۱۲-۱۰ هفته و وزن ۲ ±۲۰ گرم، که از «انستیتو پاستور» ایران خریداری گردید انجام شد. موش‌ها در

[1] Natural killer cell
[2] Tool-Like receptors
[3] Preconditioning
[4] Experimental Autoimmune Encephalomyelitis

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.3.10.7]

شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۱ ± ۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری و آب و غذای کافی در اختیار آن‌ها قرار گرفت. کلیه روش‌های موجود در این مقاله به تائید کمیته پژوهشی دانشگاه چمران اهواز رسید. اصول اخلاقی رفتار با حیوانات منطبق با کنوانسیون‌های بین‌المللی و اصول اخلاق در پژوهش‌های حیوانی زیر نظر «موسسه اختلالات شناختی و رفتاری سالاری» رعایت گردید.

جدول ۱- برنامه تمرینی در گروه‌های شنا

تعداد موش‌ها	گروه‌ها	نوع تمرین	سازگاری با محیط	آشنایی با آب	آزمایش بار فزاینده	طول دوره	تعداد جلسات	مدت	شدت
۱۸	سالم شنا MS شنا MS شنا اینترفرون	شنا در دمای ۱ ± ۳۱	یک هفته	۴ روز	روز پنجم با ۲٪ تا ۷٪ وزن	۲۸ روز	۵ جلسه در هفته	روزانه ۳۰ دقیقه	۴/۲ درصد وزن

گروه‌های آزمایشی در هر دو پروتکل تمرین

در این مطالعه موش‌ها به‌صورت تصادفی در ۸ گروه ۶تایی قرار گرفتند و نهایتاً در هر دو پروتکل بدین ترتیب نام‌گذاری گردیدند: ۱) گروه کنترل ۲) گروه EAE و حلال۳) گروه EAE کنترل ۴) گروه EAE و اینترفرون ۵) گروه شاهد تمرین و حلال۶) گروه سالم تمرین ۷) گروه EAE و تمرین و ۸) گروه EAE تمرین و اینترفرون

پروتکل تمرین شنا

برنامه تمرینی در یک محفظه‌ی شنا با دمای کنترل‌شده (۱ ±۳۱ درجه سانتی‌گراد)، ۳۰ دقیقه در روز و ۵ روز در هفته به مدت چهار هفته انجام گرفت. موش‌ها در هفته‌ی اول، جهت آشنایی با آب و تمرین پذیری در محفظه قرار گرفتند (روزهای اول تا چهارم) و نیز تحت یک آزمایش بار فزاینده (روز پنجم) طبق پروتکل تعدیل‌شده‌ی برنارد و همکاران (۲۰۱۶) توسط پژوهشگر طی مطالعه مقدماتی قرار گرفتند که شامل افزایش بار برابر با ۲ درصد و ماکزیمم تا ۷ درصد وزن بدن آن‌ها بود که هر ۳ دقیقه یک‌بار تا مرز خستگی کامل ادامه پیدا کرد. شدت تمرین در جلسه‌ی اول تمرینات استقامتی تا ۶۰ درصد حداکثر بار به‌دست‌آمده (معادل ۴/۲٪ وزن) در آزمون اضافه‌بار پیش‌رونده بود که طی اجرای پروتکل تمرینی به‌شرط حفظ موقعیت روی سطح آب تا ۷۰ درصد (هر ۱۰ روز حدود ۵ درصد) به‌صورت فزاینده قابل‌افزایش بود (جدول ۱). ماکزیمم وزن حمل شده در آزمایش بار توسط حیوان به درصدی از وزن بدن حیوان تبدیل شد. این موش‌ها هر هفته وزن شدند و با توجه به وضعیت گزارش‌شده وزنی در این پژوهش پروتکل اضافه‌بار بدون نیاز به تغییر و بار جدید، تا پایان ثابت در نظر گرفته شد. برای محاسبه‌ی فشار همراه محیط آب، موش‌های تمرین نکرده بر روی یک سکو در بالای محفظه شنا به همان میزان زمان گروه تمرین‌کرده و به‌منظور ایجاد تطابق رطوبتی، قرار داده شدند. برای تسریع در تنظیم دمای بدن و کاهش استرس وارده بعد از هر جلسه تمرین، حیوانات در هر دو گروه به نرمی توسط یک حوله خشک شدند (۱۱).

گروه آزمایشی چرخ دوار

برنامه تمرین چرخ دوار طبق پروتکل تمرین ویلیام پریور انجام شد بدین ترتیب که بعد از روز نهم القا، موش‌ها به‌صورت تصادفی در گروه‌های موردنظر در قفس‌های مخصوص قرار گرفتند، گروه‌های چرخ دوار به‌صورت ۲۴ ساعته به مدت ۴ هفته در قفسی با دسترسی داوطلبانه چرخ دوار تمرین کردند. گروه کنترل نیز در محیط قفس با چرخ دوار قفل‌شده قرار گرفتند میانگین مسافت طی شده، توسط ادومتر با سنسور مگنت با برند زیگما ثبت شد (۱۲).

موش‌های مبتلابه انسفالومیلیت خود ایمن تجربی

القای EAE بر روی موش‌ها در «موسسه اختلالات شناختی و رفتاری سالاری» انجام شد. این بیماری بر اساس روش کار زیر در حیوانات القاء شد (۱۳): حیوان ابتدا به‌وسیله تزریق صفاقی کتامین هیدروکلراید (50 mg/kg) و زایلازین (5 mg/kg) بی‌هوش شد. سپس ۳۰۰ میکروگرم[5] ((MOG(35-55)در حجم

[5] Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.3.10.7]

۱۰۰ میکرولیتر PBS[6] و با ۵۰۰ میکروگرم مایکوباکتریوم که تسهیل و تشدیدکننده‌ی پاسخ‌های التهابی است در حجم ۱۰۰ میکرولیتر ادجوانت کامل[7] مخلوط کرده و به‌صورت زیر جلدی در ناحیه هر دوپهلو تزریق شد. بلافاصله بعدازاین تزریق و ۴۸ ساعت بعد ۳۰۰ نانوگرم سم سیاه‌سرفه (PT)[8] که نفوذپذیری سد خونی مغزی را جهت نفوذ عامل‌های التهابی به CNS افزایش می‌دهد به‌صورت داخل صفاقی تزریق گردید (۱۳). شروع علائم بیماری و شدت بیماری بر اساس درجات زیر مشخص شد: نمره صفر (بدون علائم بالینی)، نمره ۰/۵ (شلی بخشی از دم)، نمره ۱ (فلج کامل دم)، نمره ۱/۵ (فلج کامل دم و ضعف مقطعی اندام پشتی)، نمره ۲ (فلج کامل دم و ضعف مشهود اندام پشتی، نمره ۲/۵ (فلج یک‌طرفه اندام پشتی)، نمره ۳ (فلج کامل اندام پشتی)، نمره ۳/۵ (فلج کامل اندام پشتی و ضعف دست)، نمره ۴ (فلج چهار دست‌وپا)، نمره ۵ (زمین‌گیری کامل یا مرگ) (۱۴).

تزریق اینترفرون

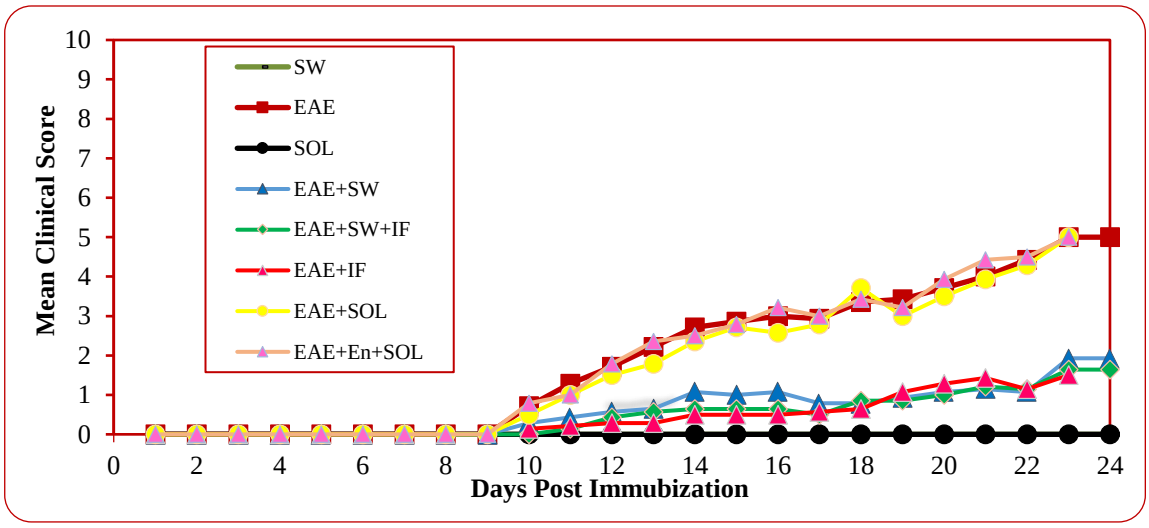
ازآنجاکه اثر اینترفرون بتا-۱ برای کاهش علائم بیماری در افراد مبتلابه مالتیپل اسکلروزیس ثابت‌شده است، این دارو به‌منظور مقایسه با تأثیر شنا در این مطالعه مورداستفاده قرار گرفت لذا دو گروه از حیوانات میزان 150 IU/g اینترفرون بتا-۱ (سیناژن) به‌صورت زیر جلدی دریافت کردند. اینترفرون بتا-۱ در بافر فسفات سالین حل شد. حیوانات از روز نهم و آغاز علائم بیماری مورد تیمار قرار گرفتند (۱۳).

اندازه‌گیری اینترفرون گاما

در سرم‌های جمع‌آوری‌شده؛ پس از دفریز کردن نمونه‌ها؛ از کیت IFN- γ الایزای اختصاصی استفاده شد. به‌طور اختصار مراحل سنجش سایتوکاین‌ها بدین‌صورت بود؛ ابتدا آنتی‌بادی گیرنده (Capture) هرکدام از سایتوکاین‌های ذکرشده در بافر کوتینگ و به‌صورت شبانه در یخچال؛ در داخل چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای کوت شد. پس از شستشوی چاهک‌ها؛ بافر بلاکینگ اضافه شد. مراحل بعد شامل شستشو؛ اضافه کردن سرم‌های جمع‌آوری‌شده در کنار نمونه‌های استاندارد؛ شستشو؛ اضافه کردن آنتی‌بادی اختصاصی کونژوگه با بیوتین؛ شستشو؛ اضافه کردن آنزیم HRP گونژوگه با آویدین؛ شستشو و درنهایت اضافه کردن سوبسترای ترترا متیل بنزیدین (TMB) بود. در پایان جذب هرکدام از چاهک‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول‌موج ۴۵۰ نانومتر قرائت شد و پس از رسم نمودار استاندار؛ مقدار اینترفرون گاما با توجه به نمودار استاندارد مربوطه؛ برحسب پیکوگرم در میلی‌لیتر (pg/ml) محاسبه شد (۱۳).

نتایج

برای بررسی تأثیر تمرین هوازی شنا و چرخ دوار بر علائم بالینی و میزان غلظت اینترفرون گاما (IFN- γ) در موش‌های C57BL/6 با مدل EAE از آزمون پارامتریک واریانس یک‌راهه با سطح معنی‌داری p≤ ۰/۰۵ استفاده شد.



نمودار ۱- نمرات علائم بالینی در گروه‌های مختلف تمرین شنا

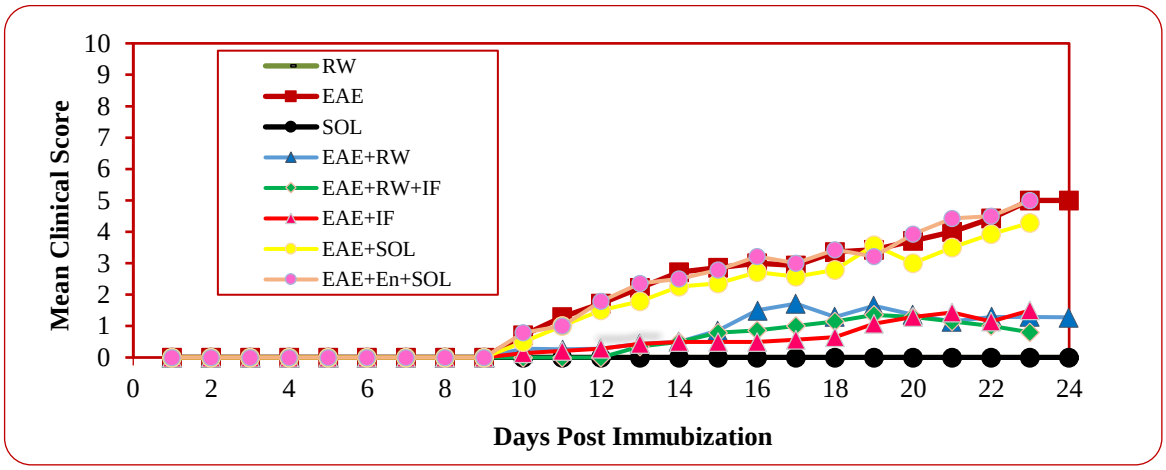
[6] Phosphate buffered saline
[7] Complete Freund's Adjuvant
[8] Pertussis Toxin: PT

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.3.10.7]

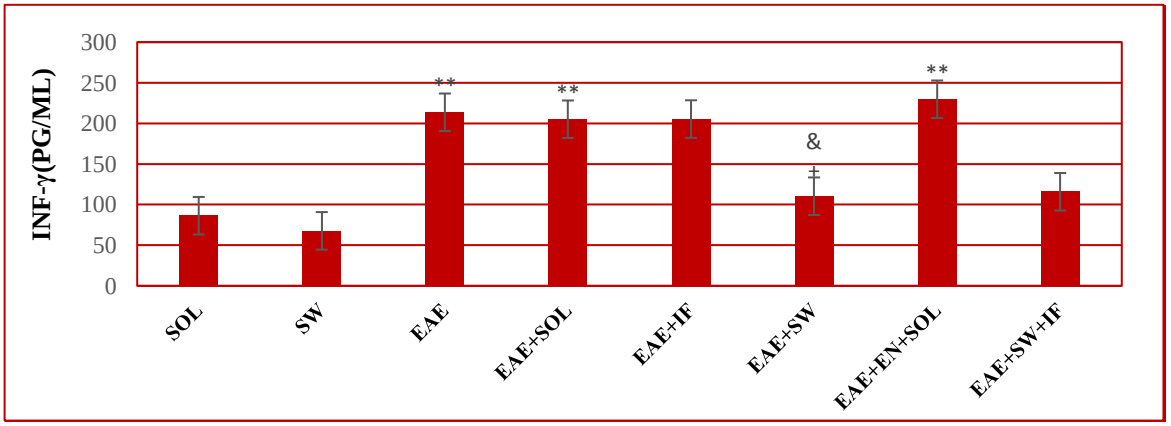
نمودار ۱ نمرات علائم بالینی در گروه‌های مختلف تمرین شنا نمرات شدت آسیب در گروه‌های مختلف تمرین شنا و EAE را نشان می‌دهد: در این نمودار گروه EAE کنترل با گروه سالم کنترل مقایسه شده است که میانگین بین آن‌ها اختلاف با سطح معنی‌داری (P = ۰/۰۰۱) را گزارش می‌کند و گروه‌های (EAE +تمرین شنا) و (EAE +اینترفرون) و (EAE تمرین شنا + اینترفرون) با گروه EAE مقایسه شده است که بر این اساس اختلاف معنادار وجود دارد (P = ۰/۰۰۱). درمجموع اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های (EAE+تمرین شنا) با (EAE +اینترفرون) و یا (EAE+ تمرین شنا +اینترفرون) دیده نشد.

نمودار ۲ نمرات شدت آسیب در گروه‌های مختلف در تمرین چرخ دوار و EAE را نشان می هد در این نمودار گروه EAE کنترل با گروه سالم کنترل مقایسه شده است که میانگین بین آن‌ها اختلاف با سطح معنی‌داری (P = ۰/۰۰۱) را گزارش می‌کند و گروه‌های (EAE +تمرین) و (EAE +اینترفرون) و (EAE +تمرین+ اینترفرون) با گروه EAE مقایسه شده است که بر این اساس اختلاف معنادار وجود دارد (P = ۰/۰۰۱). درمجموع اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های EAE +تمرین با EAE +اینترفرون و یا EAE +تمرین و اینترفرون دیده نشد.

همان‌طور که در نمودار ۳ مشخص است، آنالیز واریانس نشان داده شده که آنسفالومیلینت خود ایمن تجربی منجر به افزایش میزان IFN-γ در مقایسه با گروه کنترل می‌شود این افزایش معنی‌دار در گروه EAE + حلال (P < 0.05) و گروه EAE+تمرین +حلال (P < 0.05) نیز در مقایسه با گروه کنترل مشاهده



نمودار ۲- نمرات علائم بالینی در گروه‌های مختلف تمرین چرخ دوار



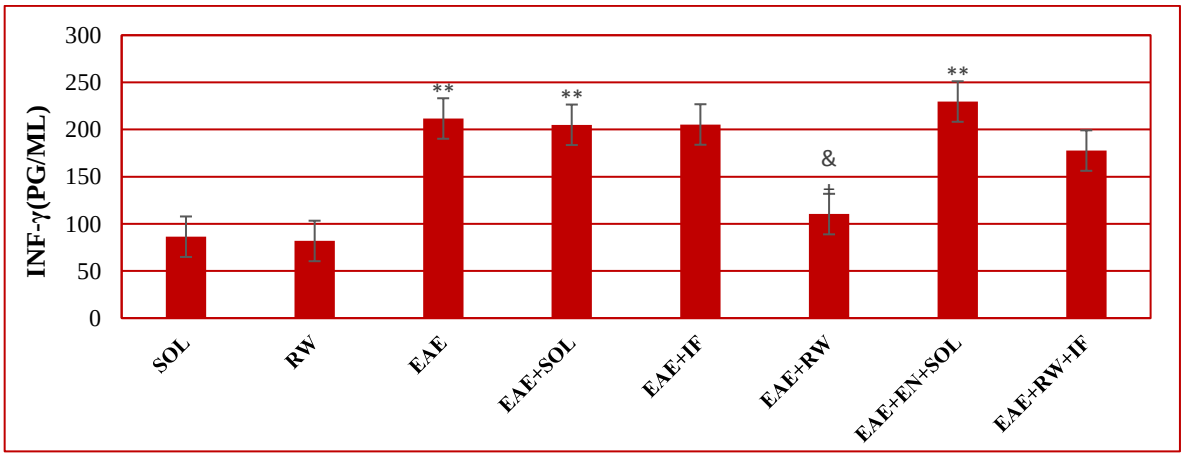
نمودار ۳- غلظت IFN-γ در گروه‌های مختلف تمرین شنا
** اختلاف معنادار نسبت به گروه سالم کنترل (P < 0.001)
+ اختلاف معنادار نسبت به گروه MS (P < 0.05)
& اختلاف معنادار نسبت به گروه MS اینترفرون ((P < 0.05)

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.3.10.7]

می‌شود. تجزیه‌وتحلیل‌های بیشتر نشان می‌دهد که ورزش به‌تنهایی و اینترفرون همراه با ورزش در موش‌های مبتلابه آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی منجر به کاهش سطح IFN-γ در مقایسه با گروه EAE شده است (P=0.001) ۶/۷۳۲ =(۳۵ و F(۶.

در نمودار ۴ آنالیز واریانس نشان داده شده است که چهار هفته تمرین بر میزان IFN-γ در سرم موش‌های مبتلابه آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی منجر به افزایش معنی‌دار IFN-γ در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. (P<0.001) ۸/۰۸۰ =(۳۵ و F(۶ این افزایش معنی‌دار در گروه EAE + حلال (P < 0.05) و گروه EAE+محیط چرخ دوار+حلال (P < 0.05) نیز در مقایسه با گروه کنترل مشاهده می‌شود. تجزیه‌وتحلیل‌های بیشتر نشان می‌دهد که ورزش به‌تنهایی در موش‌های مبتلابه آنسفالومیلینت خود ایمن تجربی منجر به کاهش سطح IFN-γ در مقایسه با گروه EAE شده است که این افزایش به‌صورت معنی‌دار بوده است (P=0.001) ۸/۰۸۰ =۳۵ و F(۶.

به درماندگی را تجربه کردند. این نتایج با تحقیقی که برنارد و همکاران (۲۰۱۶) بر روی موش‌های EAE با اجرای این پروتکل حرکتی انجام دادند همسو بود و حملات تکرارشونده مخرب و بازسازی‌کننده در سراسر طول عمر موش‌های EAE را که منجر به خستگی عضلانی و مخاطرات شدید در جمعیت سلول‌های ماهواره‌ای و درنهایت عدم توانایی در بازسازی آتروفی حاصل از بیماری در عضلات می‌شود می‌دانستند؛ که البته تمرین پیش از القاء، انجام‌شده بود. بروز این علائم بالینی در پی دمیلینه شدن منجر به مختل شدن انتقال پیام‌های عصبی می‌شود (۱۱). نتایج پژوهش حاضر که در آن گروه‌های مختلف بر اساس گروه EAE و گروه سالم مجزا بودند، بر پاسخ IFN-γ سرم به دوره‌های تمرین هوازی اثرگذار نشان دادند که میانگین مقادیر استراحتی IFN-γ در موش‌های EAE در مقایسه با آزمودنی‌های گروه سالم بیشتر است؛ که این حاکی از آن است که میانگین مقادیر IFN-γ در گروه EAE کنترل نسبت به گروه سالم کنترل با افزایش همراه بوده است. همچنین بین میانگین گروه EAE شاهد تزریق با



نمودار ۴- غلظت IFN-γ در گروه‌های مختلف چرخ دوار

** اختلاف معنادار نسبت به گروه سالم کنترل (P < 0.001)

+ اختلاف معنادار نسبت به گروه MS (P < 0.05)

& اختلاف معنادار نسبت به گروه MS اینترفرون (P < 0.05)

+ اختلاف معنادار نسبت به گروه MS (P < 0.05)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج بررسی بر روی میزان توانایی‌های حرکتی نشان داد که در مقایسه بین گروهی در آخرین روز گروه‌های (EAE + تمرین + اینترفرون) (EAE + اینترفرون)، (EAE + تمرین، EAE) و (EAE + شاهد)، به ترتیب از بیشترین به کمترین زمان رسیدن

میانگین گروه EAE اینترفرون اختلاف معناداری وجود دارد (P<0.001). اختلاف معنادار بین میانگین گروه EAE شنا اینترفرون با میانگین گروه EAE شاهد شنا و تزریق (P=0.001) ۸/۰۸۰ =(۳۵ و F(۶ با تغییرات نسبتاً بالا به نفع کنترل غلظت این عامل التهابی نسبت به درمان دارویی و شنا است؛ و در گروه تمرین چرخ دوار اختلاف بین میانگین‌ها (P=0.001) ۶/۷۳۲ =(

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.3.10.7]

۳۵ و F(۶ نشان داد که دلایل بالاتر بودن غلظت IFN-γ سرم در گروه EAE کنترل نسبت به گروه کنترل سالم را باید در بروز بیماری آن‌ها جستجو کرد؛ زیرا IFN-γ نشانگر تخصصی التهاب است(۱۵). پژوهش‌های متعددی وجود دارد که التهاب را در بدن افراد MS گزارش کرده‌اند (۱۵) بنابراین به‌طور مشخص در بدن افرادی که التهاب دارند باید نشانگرهای التهاب نیز بالا باشد.(۱۵) تمرین شنا در گروه EAE فعال کاهش مقادیر IFN-γ را نسبت به گروه EAE بی‌تحرک نشان داد. درواقع در گروه EAE کنترل اختلاف معنادار نسبت به گروه سالم کنترل و EAE تمرین شنا و همین‌طور در گروه سالم تمرین شنا اختلاف معنادار نسبت به گروه سالم کنترل وجود داشت. یکی از مکانیسم‌های مؤثر در این کاهش، افزایش سایتوکاین‌های ضدالتهابی همچون IL-10, IL-6 است. این سایتوکاین‌ها مانع تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند IFN-γ می‌شوند. ( ) از دیگر دلایل افزایش IFN-γ در گروه‌های MS فعال‌سازی گیرنده‌ی β-آدرنرژیک است که ترشح سایتوکاین‌های التهابی را افزایش می‌دهد. سازوکار دیگری که به‌وسیله‌ی ورزش ممکن است میانجی‌های التهابی را کاهش دهد، تغییر در میزان استرس است که این کاهش با نتایج یافته‌های بلک و گربوت همسو است و ورزش را موجب کاهش افسردگی و اضطراب بالینی می‌داند (۱۶). مارگاریدا نیز نشان داد که تمرین منظم التهاب را در بیماران MS کاهش می‌دهد (۶) این اثر از طریق بهبود در کاهش سایتوکاین‌های ضدالتهابی IFN-γ به وجود آمد. هم‌راستا با این تحقیق اسکات و همکاران (۲۰۱۷) چگونگی کیفیت تمرین را بر بیماران MS بررسی کردند که نقش مهمی در تغییر التهاب بازی می‌کند، مثلاً تمرین هوازی به نظر می‌رسد که بر کاهش نشانگرهای ضدالتهابی تأثیر داشته باشد (۱۷). در تحقیق گسترده‌ای بر روی مطالعات دیگر پژوهشگران رئوف و همکاران به این نتیجه رسیدند که تمرینات ورزشی بر سایتوکاین‌ها در افراد مبتلابه MS از ابتدا تأثیرگذار بوده است (۱۸). کاهش IFN-γ و دیگر سایتوکاین‌های التهابی نشان از سازگاری بدن به تمرینات ورزشی در جهت ایجاد محیط ضدالتهابی است. IFN-γ در بیماران MS نقش دوگانه‌ای را ایفا می‌کند، زیرا ازیک‌طرف افزایش آن با تخریب میلین همراه است و از طرف دیگر این عامل نقش حفاظتی روی اعصاب از طریق افزایش تکثیر الیگودندروسیت‌ها و تحریک بازسازی میلین دارد (۱۹). ازگل و همکاران نیز طی تحقیقی نشان دادند که سیگنال‌های سایتوکاین، فاکتورهای نوتروفین مغز، عملکرد جسمانی و میزان خستگی باوجود تمرینات ترکیبی بهبود یافت (۲۰). از طرفی برنامه‌های منظم تمرین ایزومتریک را در کاهش ناتوانی و بهبود تعادل پیشنهاد کردند (۲۱). اثر متقابل بین ورزش و سیستم ایمنی برای ارزیابی نقش مکانیسم‌های سایتوکاینی و سیستم غدد درون‌ریز حائز اهمیت است (۲۲). یافته‌های حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که تمرین شنا سبب کاهش معنی‌داری سطوح IFN-γ در سطح سرم می‌شود. در تائید این مطلب محققین نشان دادند که ورزش شنا توسط موش‌ها به مدت ۶ هفته شدت EAE را کاهش می‌دهد و بیان پروتئین‌های IL-10، IL-6، TNF- α و IL-1 را در مغز کاهش می‌دهد (۲۳). همچنین تمرین شنا به مدت ۶ هفته باعث کاهش سلول‌های T و B در نخاع موش‌های EAE می‌شود (۱۱). علاوه بر این در پژوهشی دیگر گلزاری و همکاران نیز نشان دادند بعد از ۸ هفته تمرینات ترکیبی (کششی، هوازی و مقاومتی) میزان تولید IFN-γ و IL-17 در سلول‌های تک‌سلولی خون پلاسما و محیطی به‌طور معناداری کاهش یافت (۳). از سویی دیگر زانچی و همکاران نشان دادند که تمرین مقاومتی به مدت ۱۲ هفته دو بار در روز و دو جلسه در هفته بیان ژن‌های IFN-γ را در عضله موش صحرایی کاهش می‌دهد؛ که با نتایج این تحقیق همخوانی داشت (۱۰ و ۱۴). تحقیقات صورت گرفته در مورد ارتباط بین تغییرات ایمنی و انقباضات عضلانی منجر به کشف این نکته شد که ورزش باعث کاهش تعدادی از سایتوکاین‌های پیش التهابی می‌شود و منجر به تنظیم پاسخ‌های ایمنی از طریق تولید سایتوکاین‌هایی که در شکل‌گیری پاسخ‌های ایمنی و التهابی نقش دارند می‌گردد (۱۴). در تحقیقات اخیر بین سطوح سرمی IFN-γ و خستگی که یکی از رایج‌ترین عارضه بیماران مبتلابه MS است رابطه مثبتی را گزارش کرده‌اند (۲۴). کالائور و همکاران نیز نیمرخ سایتوکاین در سرم بیماران MS پیشرفته و افراد گروه کنترل را بررسی کردند، نتایج آن‌ها نشان داد سطوح سرمی IL-1, IL-10 IL-17, IL-6, TNF- α در بیمارانی که MS پیشرفته داشتند نسبت به بیمارانی که در درجه پایین‌تری هستند بالاتر بود آن‌ها نتیجه گرفتند اختلال شبکه سایتوکاینی در بیماران MS دیده می‌شود و IFN-γ، TNF- α و IL-17 در سبب‌شناختی و پیشرفت بیماری نقش دارد (۲۵). یافته‌های دیگر حاصل از پژوهش حاضر در پروتکل تمرین چرخ دوار نتایج معنی‌دار آماری در مورد گروه EAEو تمرین نشان نداد. در راستای این موضوع کاستلانو و همکاران (۲۰۰۴ و ۲۰۰۸) در تحقیقی به دنبال ۸ هفته تمرین

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.3.10.7]

هوازی افزایش در غلظت IFN-γ مشاهده کردند که البته این افزایش با تشدید ناتوانی همراه نبود(۱۵). به‌هرحال به نظر می‌رسد تفاوت‌ها در نوع برنامه تمرینی باشد. درپژوهشی دیگر قبل و بعد از ۲۴ هفته تمرین مقاومتی پیش‌رونده میزان IFN-γ اندازه‌گیری شد ولی هیچ تغییری در سطوح این سایتوکاین پس از تمرین مشاهده نشد (۲۶). در تحقیقی نشان دادند تمرین چرخ دوار داوطلبانه در موش‌ها (یک ساعت در روز) قبل از القا، EAE را به تأخیر انداخت و باعث کاهش لکوسیت‌های CD+45 و CD + T cell در ترکیب نخاع شد (۲۷) . از طرفی محققین مشاهده کردند که سیگنال‌های سایتوکاین، فاکتورهای نوتروفین مغز، عملکرد جسمانی و میزان خستگی باوجود تمرینات ترکیبی بهبود یافت (۲۸).

مقدار فعالیت، میزان توده‌ی عضلانی بکار گرفته‌شده، زمان خون‌گیری، شدت و مدت ورزش، نوع ورزش و آسیب عضلانی ایجادشده نیز از عوامل مؤثر در تفاوت حاصل در نتایج است(۲۹) . به‌هرحال نتایج این پژوهش با نتایج پژوهشگران که در مطالعه خود اثر یک دوره تمرین هوازی ۸ هفته‌ای با دوچرخه کار سنج را بر سایتوکاین‌های بیماران مبتلابه MS بررسی کردند و درنهایت کاهش غلظت استراحتی IFN-γ را گزارش دادند همسو است (۱۵).

مطالعات زیادی نشان داده‌اند که ورزش با آزادسازی سایتوکاین‌های پیش التهابی ازجمله IFN-γ همراه است. البته زمان افزایش و یا رسیدن آن‌ها به سطح پایه در مورد تمامی آن‌ها یکسان نیست. به‌هرحال در این پژوهش با توجه به گزارش نتایج، نوع و شدت تمرینات جهت ایجاد سازگاری‌های لازم در حدی بوده است که توانسته موجب بروز خاصیت ضدالتهابی گردد. به‌طورکلی تحقیقات موجود درزمینه تمرینات ورزشی و فعالیت بدنی در EAE امیدوارکننده است اما با توجه به محدودیت‌های پژوهش‌های حاضر ازجمله ناهمگونی سؤالات (ورزش به‌عنوان یک استرس دهنده و یا مداخله درمانی) مدل‌های کاربردی EAE (فعال در مقابل القایی غیرفعال)، حساسیت حیوانات (رت‌ها در مقابل موش‌ها)، محرک‌های ورزشی (ناهمگونی طراحی تمرین) و دوره ورزش نسبت به القاء (پس از EAE در مقابل پیش از EAE) می‌تواند باعث ایجاد نتایج متناقض در متغیرهایی از قبیل ناتوانی، تنظیم ایمنی و عوامل نوروتروفیکی شود؛ بنابراین در این راستا نیاز به مطالعات بیشتری است که در آن شدت‌ها و مدت‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گیرند (۲۹). با توجه به مطالب و نتایج ارائه‌شده می‌توان بیان کرد فعالیت بدنی منظم باوجود بیماری MS (عامل اصلی تغییرات غلظت IFN-γ) موجب کاهش سطوح IFN-γ می‌شود. کاهش IFN-γ درواقع از اثرات مفید فعالیت بدنی است. ازآنجاکه ارتباط قوی بین IFN-γ و MS گزارش‌شده است می‌توان گفت فعالیت بدنی آسان‌ترین و کم‌هزینه‌ترین روش درمان و پیشگیری بیماری‌های التهابی است.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دکتری با کد ۹۵/۳/۳/۷۲۳۸۱ است که در کمیته اخلاق دانشگاه شهید چمران اهواز نیز به تصویب رسیده است. نویسندگان همچنین از «موسسه اختلالات شناختی و رفتاری سالاری» به خاطر همکاری صمیمانه برای ارائه حیوانات و مدل EAE تشکر می‌کنند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Alspach E, Lussier DM, Schreiber RD. Interferon γ and Its Important Roles in Promoting and Inhibiting Spontaneous and Therapeutic Cancer Immunity ,Cold Spring Harb Perspect Biol. 2019;11,3.
2. Arellano G, Payton A.O, Reyes L I, Burgos P I, Naves R. Stage-Specific Role of Interferon-Gamma in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis and Multiple Sclerosis, Front Immunol. 2015; 6: 492.
3. Golzari Z, Shabkhiz F, Soudi S, Kordi M, Hashemi M. Combined exercise training reduces IFN-γ and IL-17 levels in the plasma and the supernatant of peripheral blood mononuclear cells in women with multiple sclerosis. International Immunopharmacology. 2010; 10:1415–1419.
4. Vijayaraghava A, Radhika k. Alteration of Interferon Gamma (IFN-γ) in Human Plasma with Graded Physical

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.3.10.7]

Activity, Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2014;8(6): BC05-BC07.
5. Choi E, Lee CH, Park HH, So WY. Effect of 12-Week Low-Intensity Exercise on Interleukin -2, Interferon-Gamma and Interleukin-4 Cytokin Production in Rat Spleen, J Mens Health, 2018; 14(3):e14-e19.
6. Florindo M. Inflammatory Cytokines and Physical Activity in Multiple Sclerosis, ISRN Neurology, 2014; 151572, 8
7. Petersen A. M., Pedersen B. K. The anti-inflammatory effect of exercise. J Appl Physiol. 2005:98, 1154–1162
8. Barry A, Cronin O, Ryan A M, Sweeney B, Yap SM, O'Toole O, et al. Impact of Exercise on Innate Immunity in Multiple Sclerosis Progression and Symptomatology,Front Physiol, 2016; 7: 194.
9. Bechara RG, Lyne R, Kelly ÁM. BDNF-stimulated intracellular signalling mechanisms underlie exercise-induced improvement in spatial memory in the male Wistar rat. BehavBrain Res 2014;275:297-306.
10. Zanchi NE1, Lira FS, de Siqueira Filho MA, Rosa JC, de Oliveira Carvalho CR, Seelaender M, et al. Chronic low frequency/low volume resistance training reduces pro-inflammatory cytokine protein levels and TLR4 mRNA in rat skeletal muscle. 2010 ;109(6):1095-102
11. Bernardes D, Brambilla R, Bracchi Ricard V, Karmally S, Dellarole A, Carvalho Tavares J, et al. Prior regular exercise improves clinical outcome and reduces demyelination and axonal injury in experimental autoimmune encephalomyelitis. J neurochem 2016;136(S1):63-73.
12. Pryor WM, Freeman KG, Larson RD, Edwards GL, White LJ. Chronic exercise confersneuroprotection in experimental autoimmune encephalomyelitis. J Neurosci res 2015;93(5):697-706.
13. Majidi-Zolbanin J, Doosti M-H, Kosari-Nasab M, Salari A.A. Prenatal maternal immune activation increases anxiety-and depressive-like behaviors in offspring with experimental autoimmune encephalomyelitis. Neurosci. 2015;294:69-81
14. Kafami L, Raza M, Razavi A, Mirshafiey A, Movahedian M, Khorramizadeh MR. Intermittent feeding attenuates clinical course of experimental autoimmune encephalomyelitis in C57BL/6 mice. Avicenna J Med Biotechnol, 2010;2(1):47-52.
15. Castellano V, Patel D, White L.Cytokine Responses to Acute and Chronic Exercise in Multiple Sclerosis. J Appl Physiol. 2008;104(6):1697-702
16. Black PH1, Garbutt LD. Stress, inflammation and cardiovascular disease. J Psychosom Res. 2002;52(1):1-23.
17. Donia S A. The Effects of Acute Aerobic Exercise on Inflammatory Markers and Mood in Individuals with Multiple Sclerosis and Spinal Cord Injury, Faculty of Applied Health SciencesBrock UniversitySt. Catharines, ON 2017
18. Negaresh R, Motl RW, Mokhtarzade M, Dalgas U, Patel D, Shamsi MM ,et al. Effects of exercise training on cytokines and adipokines in multiple Sclerosis: Mult Scler Relat Disord. 2018; 24: 91–100
19. Jean E.MerrillaEtty N.Benvenisteb. Cytokines in inflammatory brain lesions: helpful and harmful, Trends in Neurosciences, 1996; 19: 331-338
20. Ozkul C, Guclu-Gunduz A, Irkec C, Fidan I, Aydin Y, Ozkan T, et al. Effect of combined exercise training on serum brain-derived neurotrophic factor, suppressors of cytokine signaling 1 and 3 in patients with multiple sclerosis. J Neuroimmunol 2018; 316:121-129.
21. Zahmatkeshan N, Delaviz H. Effect of Isometric Exercises on Ability and Balance of Patients With Multiple Sclerosis. IRJ. 2017; 15 (4):415-420./In Persian/
22. Skihar V, Silva C, Chojnacki A, Döring A, Stallcup WB, Weiss S, et al. Promoting oligodendrogenesis and myelin repair using the multiple sclerosis medication glatiramer acetate, PNAS 2009. 106(42): 17992–17997.
23. Kjølhede U, Dalgas A, Gade B, Bjerre M, Stenager E, Petersen T, et al. Acute and chronic cytokine responses to resistance exercise and training in people with multiple sclerosis, Scand J Med Sci Sports, 2016:824-834.
24. Maes M, Twisk FN, Kubera M, Ringel K. Evidence for inflammation and activation of cellmediated immunity in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome (ME/CFS): increasedinterleukin-1, tumor necrosis factor-α, PMN-elastase, lysozyme and neopterin. Journal of affective Disorders 2012; 136(3): 933-9.
25. Kallaur AP, Oliveira SR, Alfieri DF, Flauzino T, Lopes J, Pereira WLdCJ, et al. Cytokine profile in patients with progressive multiple sclerosis and its association with disease progression and disability. Molecular Neurobiology 2016: s12035-016-9846-x; 1-11
26. Ten Brinke LF, Bolandzadeh N, Nagamatsu LS, Hsu CL, Davis JC, Miran-Khan K,et al. Aerobic exercise increases hippocampal volume in older women with probable mild cognitive impairment: a 6-month randomised controlled trial. Br J Sports Med. 2014; 49(4): 248–254
27.Benson C, Paylor JW, Tenorio G, Winship I, Baker G, Kerr BJ. Voluntary wheel running delays disease onset and reduces pain hypersensitivity in early experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). 2015;271:279-90.
28. Heesen C, Romberg A, Gold S, Schulz KH.Physical exercise in multiple sclerosis: supportive care or a putative disease-modifying treatment. Expert Rev Neurother. 2006; 6(3):347-55.
29.Klaren RE, Motl RW, Woods JA, Miller SD. Effects of exercise in experimental auto immuneence phalomyelitis (an animal model of multiple sclerosis). J Neuroimmunology 2014;274 (1):14-9.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.3.10.7]

Original Article

The Effect of Two Methods of Aerobic Exercise on IFN-γ in the Animal Model of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis

Karimian M, Ghanbarzadeh M*, Habibi AH, Nikbakht M

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

Received: 15 Mar 2019 Accepted: 01 Sep 2019

Abstract

Background & Objective: Multiple Sclerosis (MS) is a chronic demyelination of the central nervous system which has caused a lot of complications for affected patients and leads to disability. Today, along with other sciences, the field of research of sports science is trying to find ways to improve disorders caused by diseases and sport injuries and to improve the health of people in the community. Regarding the importance of complementary therapies, this study aimed to investigate the effect of two types of aerobic training on inflammatory cytokines of IFN-γ in animal samples with MS.

Materials & Methods: The sample included 96 C57bl6 mice. After preparation and induction in the form of EAE model, swimming training was conducted in 8 groups of 6, including healthy groups (control, swimming) and MS (control, swimming, interferon, swimming + interferon, control, injection and control). Moreover, in the case of wheel running training, they were divided into eight groups of 10 including healthy groups (control, wheel running) and MS (control, wheel running, interferon, wheel running + interferon, injection control, wheel running control and injection). The animal models performed the exercise protocol after one week of environmental compatibility. After blood sampling, IFN-γ concentration was measured with specific kits in the laboratory by separating serum. At the end of the experiments, the severity of EAE in rats was compared among the study groups. The present study was done experimentally and all data and raw data obtained from the samples were analyzed by SPSS (software version 24) using one-way ANOVA. The minimum level of significance was considered as $p \leq 0.05$.

Results: The study showed that the mean concentration of IFN-γ in the EAE model, which was performed by the swimming, had a significant decrease both in the non-injected ($p=0.047$) and interferon-treated group ($p=0.013$) compared to the non-active models. Also, the mean concentration of IFN-γ in wheel running training was significant (($p=0.025$) $p \leq 0.05$)) only in EAE group and wheel running.

Conclusion: According to the protocol of the present study, it can be concluded about the response of inflammatory markers to aerobic training courses that the physical activity of swimming and wheel running has been able to reduce the level of inflammatory markers with MS.

Keywords: Experimental autoimmune encephalomyelitis, IFN-γ, swimming, wheel running

***Corresponding Author: Ghanbarzadeh Mohsen,** Department of Sport Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
Email: Ghanbarzadeh213@gmail.com
https://orcid.org/: 0000-0002-0257-073

Journal of Fasa University of Medical Sciences 9 (2019): 1542-1551

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.3.10.7]