

## تغییرات سایتوکاین‌های اینترلوکین-۲ و اینترلوکین-۱۲ در سلول‌های طحال موش‌های بلب‌سی به‌دنبال استفاده از یک وهله ورزش استقامتی به‌عنوان اجوانت واکسن ویروس هرپس سیمپلکس یک

مهديه ملانوری شمسی<sup>۱</sup>، مهدی مهدوی<sup>۲</sup>، الهام حیدزاده<sup>۳</sup>

۱. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تربیت‌مدرس \*

۲. استادیار ایمونولوژی پزشکی، انستیتو پاستور ایران

۳. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد واحد تفت

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۱۵

### چکیده

در راستای افزایش کارایی واکسن‌ها، استفاده از اجوانت‌ها همواره مورد توجه ایمونولوژیست‌ها بوده است. فعالیت‌های ورزشی با توجه به تغییرات ایمونولوژیکی که ایجاد می‌کنند می‌توانند به‌عنوان اجوانت واکسن برای پاسخ‌های ایمنی مؤثر باشند. در این ارتباط، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر اجوانتی یک وهله ورزش استقامتی بر تولید سایتوکاین‌های اینترلوکین-۲ و اینترلوکین-۱۲ از سلول‌های طحال در مدل واکسن ویروس هرپس سیمپلکس یک بود. بدین‌منظور، ۲۴ موش نژاد بلب‌سی ۴-۵ هفته (با میانگین وزنی ۱۷/۶۷ گرم) به سه گروه کنترل، گروه واکسن و دریافت‌کننده واکسن و یک وهله ورزش استقامتی تقسیم گردیدند. دو هفته بعد از سه دوره واکسن، تولید سایتوکاین‌های اینترلوکین-۲ و اینترلوکین-۱۲ پس از کشت سلولی طحال توسط تکنیک الایزا سنجیده شد. برای بررسی متغیرهای پژوهش از آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده گردید. نتایج نشان می‌دهد که بین گروه‌های پژوهش درمورد سایتوکاین اینترلوکین-۲ تفاوت معناداری وجود دارد ( $P=0.008$ ). نتایج آزمون پیگیری توکی نیز نشان‌دهنده وجود تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و دریافت‌کننده واکسن و یک وهله ورزش استقامتی می‌باشد ( $P=0.006$ )؛ اما با وجود افزایش تولید سایتوکاین اینترلوکین-۱۲ در گروه واکسن و یک وهله ورزش استقامتی، این افزایش معنادار نمی‌باشد. همچنین، نتایج حاکی از افزایش تولید سایتوکاین اینترلوکین-۲ از سلول‌های طحال به‌دنبال استفاده از یک وهله ورزش استقامتی به‌عنوان اجوانت است. به‌نظر می‌رسد که استفاده از یک وهله ورزش استقامتی به‌عنوان اجوانت واکسن ویروس هرپس سیمپلکس یک احتمالاً توانسته است کارایی سیستم ایمنی را در جهت سلول‌های کمکی نوع یک به‌منظور مبارزه با عفونت‌های ویروسی تقویت کند.

**واژگان کلیدی:** اینترلوکین-۲، اینترلوکین-۱۲، هرپس سیمپلکس ویروس، اجوانت، ورزش استقامتی

Email: molanouri@modares.ac.ir

\* نویسنده مسئول

## مقدمه

اینترلوکین ۲- (IL-2) <sup>۱</sup> نوعی سایتوکاین سیستم ایمنی است که تنظیم‌کننده فعالیت سلول‌های سفید خون از جمله لنفوسیت‌ها و لکوسیت‌ها می‌باشد. این سایتوکاین اثرات خود را بر سلول‌های مختلفی از جمله لنفوسیت‌های T اعمال می‌نماید و با اثرات ضدآپوپتوزی در سیستم ایمنی و نیز تأثیر بر متابولیسم سلولی، نقش مهمی را در سلول‌های T ایفا می‌کند (۱،۲). نشان داده شده است که این سایتوکاین در تکثیر سلول‌های T کمکی مؤثر می‌باشد (۳). از سوی دیگر، عملکردهای IL-2 در سلول‌های B مشاهده شده است. این سایتوکاین در ترشح آنتی‌بادی‌ها از سلول‌های B نیز نقش دارد (۴). علاوه بر اثرات این فاکتور بر سلول‌های T و B، این سایتوکاین به‌عنوان فاکتور رشد سلول‌های کشنده طبیعی نیز شناخته می‌شود (۵). همچنین، نشان داده شده است که IL-2 باعث افزایش تولید سایتوکاین‌های آزادشده از سلول‌های کشنده طبیعی مانند فاکتور نکروزدهنده تومور آفا و اینترفرون گاما می‌شود. افزون‌براین، با در نظر گرفتن نسبت سلول‌های کمک‌کننده T نوع یک به نوع دو (Th1/Th2) <sup>۲</sup> که به‌عنوان شاخص عملکرد ضدویروسی سیستم ایمنی مطرح می‌باشند، به نظر می‌رسد که این سایتوکاین در رده Th1 قرار می‌گیرد و افزایش آن می‌تواند دارای اثرات ضدویروسی باشد (۶). از سوی دیگر، اینترلوکین ۱۲- (IL-12) <sup>۳</sup> موجب تحریک سلول‌های T در حالت استراحت و فعالیت سیستم ایمنی می‌گردد. شایان‌ذکر است که این سایتوکاین در تولید اینترفرون گاما، فعال شدن سلول‌های کشنده طبیعی و مهار تولید اینترلوکین ۴- نقش دارد؛ بنابراین، می‌تواند در کنترل عفونت‌های ویروسی مؤثر باشد (۷،۸). همچنین، نشان داده شده است که سایتوکاین‌های IL-12 و IL-2 به‌صورت هم‌زمان باعث افزایش فعالیت سایتوتوکسیک سلول‌های کشنده طبیعی می‌شوند (۹). تب‌خال یا هرپس سیمپلکس ویروس ۱- (HSV-1) <sup>۴</sup> یک بیماری ویروسی است که توسط ویروس با همین نام ایجاد می‌شود که درمان قطعی ندارد و اگر این ویروس وارد بدن شود، تا پایان عمر همراه با شخص باقی خواهد ماند. نشان داده شده است که این ویروس حتی با ابتلای افراد به برخی از بیماری‌ها مانند آلزایمر و حتی فلج ارتباط دارد (۱۰،۱۱). افزون‌براین، عنوان شده است که ایمنی سلولی و به‌ویژه سلول‌های T، نقش مهمی در کنترل و ایمنی‌زایی این ویروس دارد (۱۲). از سوی دیگر، پیشنهاد شده است که فعال‌سازی سلول‌های کشنده طبیعی، نقش مهمی را در دفاع ایمنی ذاتی در مقابل این ویروس بازی می‌کند (۱۳).

- 
1. Interleukin-2
  2. T Helper 1/T Helper 2
  3. Interleukin-12
  4. Herpes Simplex Virus -1

یکی از مکانیسم‌های کنترل این ویروس، استفاده از واکسن می‌باشد. با توجه به لزوم ایجاد ایمنی‌زایی کافی در نتیجه استفاده از واکسن HSV، استفاده از عوامل یاور یا ادجوانت همراه با واکسن همواره مورد توجه بوده است (۱۰، ۱۴). معنای عامیانه ادجوانت، "یاور" (از اجویر؛ در لاتین به معنای کمک) می‌باشد. در واقع، اصل این لغت یونانی بوده و به مواردی اطلاق می‌گردد که در تزریق به همراه واکسن، ایمنی‌زایی آن را تحت تأثیر قرار داده و پاسخ‌های ایمنی ضد واکسن را بهبود می‌بخشد (۱۵). ادجوانت‌ها به دو دسته اندوژنوس و اگزوژنوس تقسیم می‌شوند. در سال‌های اخیر استفاده از فعالیت ورزشی به عنوان ادجوانت واکسن‌ها مورد توجه قرار گرفته است. فرضیه افزایش ایمنولوژیکی ایجاد شده در اثر استرس حاد بر اساس مطالعاتی که عنوان نموده‌اند استرس حاد می‌تواند به عنوان یک ادجوانت اندوژنوس برای واکسن باعث افزایش پاسخ‌های ایمنی شود، شکل گرفته است. بر اساس این فرضیه، جریان سلول‌های ایمنی و آزاد شدن واسطه‌های التهابی که به دلیل آسیب عضلانی و فعال شدن ایمنولوژیکی ایجاد می‌شود ممکن است باعث ایجاد یک محیط پیش‌التهابی شود که پاسخ‌های ایمنی به واکسن را به وسیله آزاد کردن "سیگنال‌های خطر" یا با فعال کردن سلول‌های دندریتیکی افزایش می‌دهند (۱۶، ۱۷).

مطالعات انجام شده در زمینه اثرات ادجوانتی ورزش در واکسن‌های مختلف با دو دیدگاه اصلی شکل گرفته‌اند. در دیدگاه اول، آزاد شدن فاکتورهای خطر به دنبال یک وهله ورزش به عنوان عاملی جهت افزایش اثرات واکسن بر سیستم ایمنی صورت گرفته است و در دیدگاه دوم، تمرینات ورزشی و به ویژه تمرین استقامتی با شدت متوسط به عنوان تقویت‌کننده سیستم ایمنی به ویژه در افراد با ضعف سیستم ایمنی مطرح بوده و به عنوان تقویت‌کننده اثرات واکسن‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۸). نشان داده شده است که یک وهله ورزش به عنوان یک استرس می‌تواند یکی از ادجوانت‌های احتمالی اندوژنوس باشد. همچنین، پیشنهاد شده است که یک وهله ورزش با اثرات تحریک‌کنندگی خود بر عضله اسکلتی و سیستم ایمنی می‌تواند مورد توجه قرار گیرد (۱۸). افزون بر این، گزارش شده است که فعالیت‌های ورزشی استقامتی در فعال‌سازی موقتی سیستم ایمنی تأثیرگذار می‌باشد. همچنین، فعالیت‌های ورزشی برون‌گرا می‌توانند با تحریک عضله اسکلتی در آزاد شدن سایتوکاین‌ها در ایجاد ریز محیط مناسب برای تأثیر بیشتر واکسن‌ها مؤثر باشند (۲۰-۱۸)؛ اما در مورد این که چه نوع فعالیت ورزشی و در چه نوع واکسن‌هایی توانایی ادجوانتی فعالیت ورزشی به صورت قطعی مشاهده می‌شود، اتفاق نظری وجود ندارد. از سوی دیگر، اخیراً نتایج برخی از مطالعات نشان داده‌اند که اثرات ادجوانتی مشاهده شده در مورد فعالیت‌های ورزشی، به شکل عمده بازوی سلولی سیستم ایمنی را فعال می‌کند (۲۱)؛ اما این نکته که کدام بخش از سیستم ایمنی سلولی به دنبال استفاده از

فعالیت‌های ورزشی به‌عنوان اجوانت فعال می‌شود، مشخص نمی‌باشد؛ بنابراین، بررسی پاسخ‌های ایمونولوژیکی ایجادشده در ایمنی سلولی به‌دنبال استفاده از فعالیت ورزشی به‌عنوان اجوانت می‌تواند موردتوجه باشد.

با توجه به این‌که تاکنون تأثیر یک وهله ورزش استقامتی برون‌گرا به‌عنوان اجوانت واکسن HSV-1 بر تولید سایتوکاین IL-2 و IL-12 از سلول‌های سیستم ایمنی بررسی نشده است و نیز با درنظرگرفتن این نکته که فعالیت‌های ورزشی استقامتی با ماهیت برون‌گرا می‌توانند با فعال‌سازی سیستم ایمنی و ریزمحیط عضله اسکلتی (۲۱-۲۳) به‌عنوان اجوانت واکسن‌ها موردتوجه قرار گیرند، هدف از پژوهش حاضر بررسی پاسخ سایتوکاین‌های IL-2 و IL-12 از سلول‌های طحال موش‌های بالبسی به‌دنبال استفاده از یک وهله ورزش استقامتی به‌عنوان اجوانت واکسن HSV-1 بود.

### روش پژوهش

جهت انجام پژوهش، ۲۴ موش بالبسی ماده چهار تا پنج هفته (با میانگین وزنی ۱۷/۶۷ گرم) از مؤسسه پاستور خریداری شدند و به‌شکل تصادفی در سه گروه قرار گرفتند (هر گروه هشت موش) که این سه گروه عبارت بود از: گروه کنترل (که به این گروه محلول بافر نمک فسفات<sup>۱</sup> (PBS) تزریق شد (گروه P)، گروهی که واکسن HSV-1 را دریافت کردند (گروه V) و گروه دریافت‌کننده واکسن HSV-1 و یک وهله ورزش استقامتی (گروه VE). شایان‌ذکر است که موش‌ها به‌منظور آشنایی با محیط و کسب آمادگی جهت انجام ورزش روی نوارگردان، به‌مدت دو هفته در حیوان‌خانه نگهداری شدند.

**ورزش استقامتی:** موش‌ها سه روز قبل از انجام ورزش اصلی، دو بار در روز، مراحل آشناسازی را پشت سر گذاشتند. یک وهله ورزش استقامتی شامل دویدن با سرعت ۲۲ متر بر دقیقه با شیب پنج درجه (شدت معادل ۷۵-۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) به‌مدت یک ساعت برای موش‌ها در نظر گرفته شد (۲۴،۲۵) و بلافاصله پس از جلسه ورزش استقامتی، واکسن HSV-1 به‌صورت درون‌عضلانی تزریق گردید. دومین واکسن نیز دو هفته پس از اولین واکسن و واکسن سوم، دو هفته بعد از واکسن دوم تزریق گشت. ذکر این نکته ضرورت دارد که طی ورزش از هیچ‌گونه شوک الکتریکی استفاده نگردید و موش‌ها توسط یک فرد دستکاری و نگهداری می‌شدند. باید عنوان نمود

#### 1. Phosphate-Buffered Saline

که طی این مدت گروه واکسن هیچ‌گونه تمرین ورزشی را انجام نداد. دو گروه واکسن و گروه کنترل قبل از تزریق واکسن روی نوارگردان قرار می‌گرفتند تا اثرات احتمالی استرس نوارگردان کنترل شود. شایان توجه است که هیچ‌کدام از متغیرها بر روی گروه کنترل اعمال نگردید. دو هفته بعد از آخرین واکسن، ۲۴ سر موش با رعایت نکات اخلاقی در ارتباط با مطالعات حیوانی، نخاعی شدند و در الکل ۷۰ درجه غوطه‌ور گردیدند.

**کشت سلولی:** در شرایط استریل، طحال از بدن خارج گشت و در پلیت درون بافر PBS قرار گرفت. سپس، به صورت سوسپانسیون درآمد و دو بار در PBS سرد با دور ۳۰۰ g و دمای چهار درجه سانتی‌گراد، به مدت ۱۰ دقیقه شستشو شد و به رسوب به دست‌آمده بافر لیزکننده به حجم پنج میلی‌لیتر اضافه گشت و به مدت پنج دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس، به آن‌ها به مقدار پنج میلی‌لیتر محیط سرم جنین گاوی<sup>۱</sup> (FBS) به اضافه محیط کشت انستیتو حافظه رزول پارک<sup>۲</sup> (RPMI-1640) ۱۰ درصد اضافه شد و پس از عبور سلول‌ها از الک سلولی، سه بار در PBS (همانند دفعه قبل) شستشو گردید. در ادامه، در محیط کشت RPMI-1640 + FBS 10% سوسپانسیون گشت و یک نمونه از آن با رنگ تریپان بلو رنگ شده و به کمک لام نئوبار شمارش گردید. در نهایت، سلول‌ها به سوسپانسیون  $3 \times 10^6$  سلول در هر میلی‌لیتر رسانیده شد.

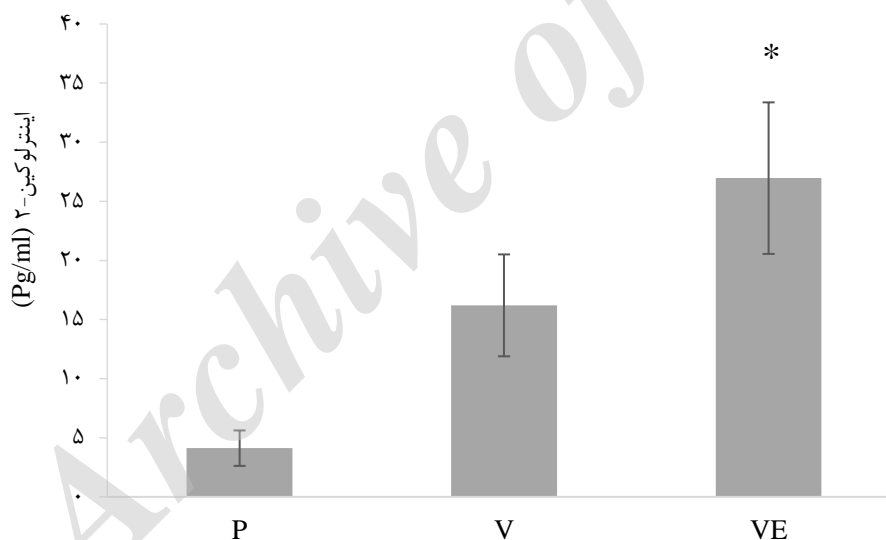
**سنجش سایتوکاین‌های IL-2 و IL-12 با روش الایزا:** سوسپانسیون سلولی به دست‌آمده در پلیت ۲۴ خانهای کشت داده شد و با آنتی‌ژن اختصاصی تحریک گشت. بدین صورت که در هر حفره  $6 \times 10^6$  سلول در هر میلی‌لیتر محیط کشت قرار گرفت و به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه به همراه پنج درصد دی‌اکسیدکربن کشت داده شد. پس از ۷۲ ساعت، سوپ رویی جمع‌آوری گشت و تست الیزا برای سنجش میزان سایتوکاین‌های مذکور با استفاده از کیت‌های تجاری (R&DUSA) براساس پروتکل کارخانه سازنده انجام گرفت. شایان ذکر است که حساسیت کیت برای اندازه‌گیری سایتوکاین‌های IL-2 و IL-12 به ترتیب سه پیکوگرم بر میلی‌لیتر و ۲/۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر در نظر گرفته شد.

- 
1. Fetal Bovine Serum
  2. Roswell Park Memorial Institute

جهت مقایسه داده‌های گروه‌های مختلف با یکدیگر از روش آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. همچنین، از نرم‌افزار آماری اس.پی.اس.اس نسخه ۲۲ برای انجام آزمون‌های آماری استفاده گردید و سطح معناداری معادل ( $P < 0.05$ ) در نظر گرفته شد.

## نتایج

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه برای میزان IL-2 نشان‌دهنده وجود تفاوت معنادار بین گروه‌های پژوهش می‌باشد ( $P=0.008$ ). آزمون پیگیری توکی نیز حاکی از وجود تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل P با گروه VE است (شکل شماره یک) ( $P=0.006$ ). شایان‌ذکر است که نتایج مربوط به IL-12 تغییری را در سطوح این سایتوکاین به‌دنبال استفاده از یک وهله ورزش استقامتی به‌عنوان اجوانت نشان نمی‌دهد ( $P=0.23$ ) (شکل شماره دو).

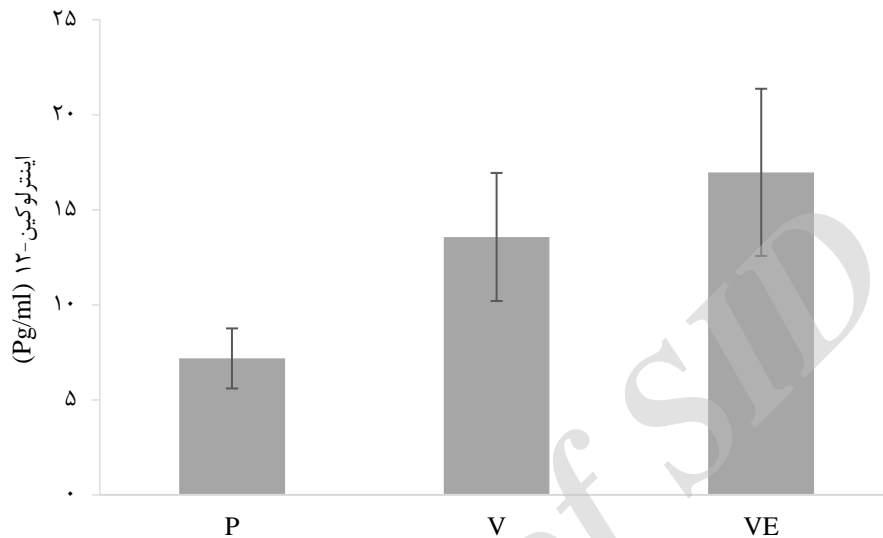


شکل ۱- میزان IL-2 تولیدشده از سلول‌های طحال در گروه‌های پژوهش

P: گروه PBS؛ V: گروه واکسن HSV-1؛ VE: دریافت‌کننده واکسن HSV-1 و یک وهله ورزش استقامتی

معناداری در سطح  $P < 0.01$

\* تفاوت معنادار با گروه P؛ تعداد نمونه در هر گروه N=6-8



شکل ۲- میزان IL-12 تولیدشده از سلول‌های طحال در گروه‌های پژوهش

P: گروه PBS؛ V: گروه واکسن HSV-1؛ VE: دریافت‌کننده واکسن HSV-1 و یک وهله ورزش استقامتی  
تعداد نمونه در هر گروه N=6-8

### بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهنده افزایش سطوح سایتوکاین‌های IL-2 و IL-12 به دنبال استفاده از یک وهله ورزش استقامتی به عنوان اجوانت واکسن HSV-1 بود که این تغییرات در مورد سایتوکاین IL-2 معنادار بود. افزایش تولید این سایتوکاین‌ها از سلول‌های طحال در پی استفاده از یک وهله ورزش استقامتی در مدل واکسن HSV-1 با توجه به عملکرد آن‌ها می‌تواند تأییدکننده احتمال فعال‌سازی سلول‌های Th1 به دنبال استفاده از ورزش به عنوان اجوانت در مدل واکسن ویروسی HSV-1 باشد.

در پژوهش حاضر از یک وهله فعالیت ورزشی استقامتی برون‌گرا با شدت متوسط استفاده شد. به نظر می‌رسد که استفاده از این فعالیت ورزشی توانسته است با فعال‌سازی ایمنولوژیکی باعث ایجاد اثرات اجوانتی در مدل واکسن HSV-1 شود. پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند که یک وهله ورزش قبل از واکسن باعث افزایش پاسخ ایمنی - هم در نمونه‌های حیوانی و هم در نمونه‌های انسانی -

می‌شود (۱۹،۲۶،۲۷)؛ برای مثال، یک وهله ورزش روی چرخ کارسنج باعث بهبود پاسخ به واکسن آنفولانزا در زنان (۲۷) و واکسن مننگوکوک A در مردان شده است (۲۶). با این وجود، برانسگارد و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند در ورزشکارانی که فعالیت شدید و طولانی مدت استقامتی را قبل از تزریق واکسن پشت سر گذاشته بودند، تفاوت مشخصی در پاسخ‌های ایمنی به واکسن مشاهده نگردید (۲۸). نظریه پنجره باز سیستم ایمنی به دنبال فعالیت‌های ورزشی طولانی مدت استقامتی مطرح شده است (۲۹). به نظر می‌رسد که ضعف ایمنولوژیکی مشاهده شده به دنبال فعالیت‌های ورزشی طولانی مدت و شدید استقامتی باعث جلوگیری از اعمال اثرات اجوانتی فعالیت‌های ورزشی استقامتی خواهد شد. از سوی دیگر، پژوهش انجام شده توسط لانگ و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که یک وهله پیاده روی با شدت متوسط ۴۵ دقیقه‌ای، تأثیری بر پاسخ‌های ایمنولوژیکی به واکسن در نمونه‌های پیر و جوان نداشته است (۳۰). به نظر می‌رسد با وجود این که فعالیت‌های ورزشی استقامتی طولانی مدت و شدید باعث سرکوب پاسخ‌های ایمنی به واکسن می‌شود، فعالیت‌های ورزشی با شدت خیلی پایین نمی‌تواند از اثرات اجوانتی برخوردار باشد؛ بنابراین، نمی‌توان از فعالیت‌های با شدت خیلی بالا یا پایین برای ایجاد اثرات اجوانتی ورزش استفاده کرد.

در این راستا، پاسکو و همکاران (۲۰۱۴) در یک مطالعه مروری عنوان نمودند که به نظر می‌رسد آسیب ایجاد شده به دنبال فعالیت‌های ورزشی مقاومتی با آزاد کردن سیگنال‌های خطر از عضله اسکلتی منجر به اثرات اجوانتی این نوع فعالیت‌ها می‌شود (۱۸). لازم به ذکر است که در پژوهش حاضر از شیب منفی هم‌زمان با فعالیت‌های ورزشی استقامتی با شدت متوسط استفاده گردید. نشان داده شده است که پاسخ‌های ایمنولوژیکی و افزایش سایتوکاین‌ها به دنبال استفاده از فعالیت‌های ورزشی استقامتی برون‌گرا بالاتر می‌باشد (۳۱). سایتوکاین‌های به‌عنوان پیام‌برهای سیستم ایمنی عمل می‌کنند؛ به طوری که فعال‌سازی آن‌ها منجر به پاسخ‌های ایمنولوژیکی قوی‌تر خواهد شد (۱۵). با توجه به این که استفاده از اجوانت‌ها به شکل عمده در نمونه‌های با ضعف سیستم ایمنی مانند افراد مسن مورد توجه بوده است (۳۲،۳۳)، به نظر می‌رسد که استفاده از تمرین استقامتی با شدت متوسط و برون‌گرا می‌تواند گزینه مناسبی برای ایجاد اثرات اجوانتی فعالیت‌های ورزشی استقامتی باشد.

علاوه بر این، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از یک وهله ورزش استقامتی به‌عنوان اجوانت واکسن HSV-1 باعث افزایش تولید سایتوکاین‌های IL-2 و IL-12 از سلول‌های طحال می‌شود. ویروس هرپس سیمپلکس از اعضای خانواده هرپس ویریده است که در بسیاری از گروه‌های جمعیتی از شایع‌ترین عفونت‌های ویروسی می‌باشد. این ویروس به سرعت تکثیر یافته و انواع



مختلفی از سلول‌ها را درگیر می‌نماید و بسیار سیتولیتیک می‌باشد (۳۴،۳۵). نشان داده شده است که افزایش هم‌زمان سایتوکاین‌های IL-2 و IL-12 می‌تواند به پاسخ‌های ایمونولوژیکی قوی‌تر ضد ویروسی منجر شود (۳۶،۳۷). همچنین، فعال‌سازی این سایتوکاین‌ها باعث فعال‌شدن ایمونولوژیکی سلول‌های Th1 می‌گردد که می‌تواند باعث ایجاد مقاومت در برابر ویروس هرپس سیمپلکس شود (۳۸،۳۹).

به نظر می‌رسد که استفاده از یک وهله ورزش استقامتی با شدت متوسط به‌عنوان اجوانت واکسن HSV-1 توانسته است باعث افزایش تولید سایتوکاین‌های IL-2 و IL-12 از سلول‌های طحال موش‌های بال‌بسی شود که این افزایش درمورد سایتوکاین IL-2 معنادار می‌باشد. از آنجایی که سایتوکاین IL-2 می‌تواند نشان‌دهنده فعال‌سازی احتمالی سلول‌های Th1 باشد. افزایش آن می‌تواند بیانگر تحریک ایمونولوژیکی در پی استفاده از یک وهله ورزش استقامتی برون‌گرا و افزایش پاسخ‌های ایمونولوژیکی برای مقاومت در برابر ویروس HSV-1 به‌دنبال تزریق واکسن باشد. با وجود استفاده همه‌گیر از انواع مختلف اجوانت‌ها درمورد واکسن‌های مختلف، خطرات همراه با برخی از این اجوانت‌ها همواره مورد توجه بوده است؛ توکسیته، خطر اتوایمنی، التهاب طولانی‌مدت مغز، مشکلات نورولوژیکی و غیره از جمله این مشکلات می‌باشند (۴۰،۴۱)؛ بنابراین، استفاده از اجوانت‌هایی که دارای اثرات مخرب در بدن نباشند، همواره مورد توجه بوده است. استفاده از فعالیت‌های ورزشی با شدت و مدت‌زمان مناسب به‌عنوان اجوانت می‌تواند به تحریک پاسخ‌های ایمنی کمک کند و علاوه بر عدم نمایش اثرات مخرب مشاهده‌شده درمورد اجوانت‌های دیگر، به اثرات مؤثرتر واکسن‌ها کمک نماید.

مطالعات بیشتر در زمینه اثرات اجوانتی فعالیت‌های ورزشی مختلف در مدل‌های گوناگون واکسن می‌تواند تأییدکننده استفاده از فعالیت‌های ورزشی به‌عنوان اجوانت‌های اندوژنوس با هزینه پایین برای واکسن‌های مختلف باشد. علاوه بر این، مقایسه اجوانت ورزش با اجوانت‌های دیگر با توجه به اثرات مخرب آن‌ها می‌تواند در تأیید استفاده از فعالیت‌های ورزشی به‌عنوان اجوانت واکسن مورد توجه قرار گیرد.

**پیام مقاله:** به نظر می‌رسد استفاده از فعالیت‌های ورزشی با توجه به ماهیت بی‌خطر آن‌ها در مقایسه با اجوانت‌های دیگر می‌تواند گام موثری در جهت مطالعات ایمونولوژی ورزش و استفاده از فعالیت‌های ورزشی به‌عنوان اجوانت واکسن باشد. پژوهش حاضر تأییدکننده فعال‌کنندگی ایمونولوژیکی درمورد سایتوکاین‌های IL-2 و IL-12 در اثر استفاده از یک وهله ورزشی استقامتی به‌عنوان اجوانت در مدل موشی بوده است.

## منابع

1. Rathmell J C, Vander Heiden M G, Harris M H, Frauwirth K A, Thompson C B. In the absence of extrinsic signals, nutrient utilization by lymphocytes is insufficient to maintain either cell size or viability. *Mol Cell*. 2000; 6(3): 683-92.
2. Frauwirth K A, Thompson C B. Regulation of T lymphocyte metabolism. *J Immunol*. 2004; 172(8): 4661-5.
3. Miyazaki T, Liu Z J, Kawahara A, Minami Y, Yamada K, Tsujimoto Y, et al. Three distinct IL-2 signaling pathways mediated by bcl-2, c-myc, and lck cooperate in hematopoietic cell proliferation. *Cell*. 1995; 81(2): 223-31.
4. Koshland M E. The coming of age of the immunoglobulin J chain. *Annu Rev Immunol*. 1985; 3: 425-53.
5. Giri J G, Kumaki S, Ahdieh M, Friend D J, Loomis A, Shanebeck K, et al. Identification and cloning of a novel IL-15 binding protein that is structurally related to the alpha chain of the IL-2 receptor. *EMBO J*. 1995; 14(15): 3654-63.
6. Gaffen S L, Liu K D. Overview of interleukin-2 function, production and clinical applications. *Cytokine*. 2004; 28(3): 109-23.
7. Marshall J D, Secrist H, DeKruyff R H, Wolf S F, Umetsu D T. IL-12 inhibits the production of IL-4 and IL-10 in allergen-specific human CD4+T lymphocytes. *J Immunol*. 1995; 155(1): 111-7.
8. Chehimi J, Trinchieri G. Interleukin-12: A bridge between innate resistance and adaptive immunity with a role in infection and acquired immunodeficiency. *J Clin Immunol*. 1994; 14(3): 149-61.
9. Khatri V P, Fehniger T A, Baiocchi R A, Yu F, Shah M H, Schiller D S, et al. Ultra-low dose interleukin-2 therapy promotes a type 1 cytokine profile in vivo in patients with AIDS and AIDS-associated malignancies. *J Clin Invest*. 1998; 101(6): 1373-8.
10. Koelle D M. Vaccines for herpes simplex virus infections. *Curr Opin Investig Drugs*. 2006; 7(2): 136-41.
11. Whitley R J, Roizman B. Herpes simplex viruses: Is a vaccine tenable? *Journal of Clinical Investigation*. 2002; 110(2): 145-51.
12. Liu T, Khanna K M, Chen X, Fink D J, Hendricks R L. CD8(+) T cells can block herpes simplex virus type 1 (HSV-1) reactivation from latency in sensory neurons. *J Exp Med*. 2000; 191(9): 1459-66.
13. Halford W P, Maender J L, Gebhardt B M. Re-evaluating the role of natural killer cells in innate resistance to herpes simplex virus type 1. *Virology*. 2005; 2: 56.
14. Gallichan W S, Woolstencroft R N, Guarasci T, McCluskie M J, Davis H L, Rosenthal K L. Intranasal immunization with CpG oligodeoxynucleotides as an adjuvant dramatically increases IgA and protection against herpes simplex virus-2 in the genital tract. *The Journal of Immunology*. 2001; 166(5): 3451-7.
15. Janeway Ca Jr, Travers P, Walport M. *Immunobiology: The immune system in health and disease*. 5<sup>th</sup> ed. New York: Garland Science; 2001.
16. Edwards K M, Burns V E, Carroll D, Drayson M, Ring C. The acute stress-induced immunoenhancement hypothesis. *Exerc Sport Sci Rev*. 2007; 35(3): 150-5.

17. Rock K L, Hearn A, Chen C J, Shi Y. Natural endogenous adjuvants. *Springer Semin Immunopathol.* 2005; 26(3): 231-46.
18. Pascoe A R, Fiatarone Singh M A, Edwards K M. The effects of exercise on vaccination responses: A review of chronic and acute exercise interventions in humans. *Brain Behav Immun.* 2014; 39: 33-41.
19. Rogers C J, Zaharoff D A, Hance K W, Perkins S N, Hursting S D, Schlom J, et al. Exercise enhances vaccine-induced antigen-specific T cell responses. *Vaccine.* 2008; 26(42): 5407-15.
20. Molanouri Shamsi M, Hassan Z M, Quinn L S, Gharakhanlou R, Baghersad L, Mahdavi M. Time course of IL-15 expression after acute resistance exercise in trained rats: Effect of diabetes and skeletal muscle phenotype. *Endocrine.* 2015; 49(2): 396-403. (In Persian).
21. Azimian E, Ranjbar R, Shakerian S, Habibi A, Ghafourian M. Comparison of an acute bout of combined exercise training in different intensities on tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6) in active men. *Sport Physiology Journal.* 2016; 28: 87-102. (In Persian).
22. Nieman D C. Exercise effects on systemic immunity. *Immunology and Cell Biology.* 2000; 78: 496-501.
23. Magalhães J, Fraga M, Lumini-Oliveira J, Gonçalves I, Costa M, Ferreira R, et al. Eccentric exercise transiently affects mice skeletal muscle mitochondrial function. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2013; 38(4): 401-9.
24. Lowder T, Padgett D A, Woods J A. Moderate exercise protects mice from death due to influenza virus. *Brain Behav Immun.* 2005; 19(5): 377-80.
25. Davis J M, Kohut M L, Colbert L H, Jackson D A, Ghaffar A, Mayer E P. Exercise, alveolar macrophage function, and susceptibility to respiratory infection. *J Appl Physiol.* 1997; 83(5): 1461-6.
26. Edwards K M, Burns V E, Adkins A E, Carroll D, Drayson M, Ring C. Meningococcal a vaccination response is enhanced by acute stress in men. *Psychosomatic Medicine.* 2008; 70(2): 147-51.
27. Edwards K M, Burns V E, Allen L M, McPhee J S, Bosch J A, Carroll D, et al. Eccentric exercise as an adjuvant to influenza vaccination in humans. *Brain Behav Immun.* 2007; 21(2): 209-17.
28. Bruunsgaard H, Hartkopp A, Mohr T, Konradsen H, Heron I, Mordhorst Ch, et al. In vivo cell-mediated immunity and vaccination response following prolonged, intense exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 1997; 29(9): 1176-81.
29. Kakanis M W, Peake J, Brenu E W, Simmonds M, Gray B, Hooper S L, et al. The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes. *Exerc Immunol Rev.* 2010; 16: 119-37.
30. Long J E, Ring C, Drayson M, Bosch J, Campbell J P, Bhabra J, et al. Vaccination response following aerobic exercise: Can a brisk walk enhance antibody response to pneumococcal and influenza vaccinations? *Brain Behav Immun.* 2012; 26(4): 680-7.
31. Pedersen B K, Steensberg A, Schjerling P. Muscle-derived interleukin-6: Possible biological effects. *J Physiol.* 2001; 536(Pt 2): 329-37.

32. Black S, De Gregorio E, Rappuoli R. Developing vaccines for an aging population. *Sci Transl Med.* 2015, 7(281): 281-8.
33. Boraschi D, Italiani P. Immunosenescence and vaccine failure in the elderly: Strategies for improving response. *Immunol Lett.* 2014; 162(1 Pt B): 346-53.
34. Kuo T, Wang C, Badakhshan T, Chilukuri S, Ben Mohamed L. The challenges and opportunities for the development of a T-cell epitope-based herpes simplex vaccine. *Vaccine.* 2014; 32(50): 6733-45.
35. St Leger A J, Hendricks R L. CD8+ T cells patrol HSV-1-infected trigeminal ganglia and prevent viral reactivation. *J Neurovirol.* 2011; 17(6): 528-34.
36. Rabinowich H, Herberman R B, Whiteside T L. Differential effects of IL12 and IL2 on expression and function of cellular adhesion molecules on purified human natural killer cells. *Cell Immunol.* 1993; 152(2): 481-98.
37. Kaufman H L, Flanagan K, Lee C S, Perretta D J, Horig H. Insertion of interleukin-2 (IL-2) and interleukin-12 (IL-12) genes into vaccinia virus results in effective anti-tumor responses without toxicity. *Vaccine.* 2002; 20(13-14): 1862-9.
38. Spruance S L, Evans T G, McKeough M B, Thai L, Araneo B A, Daynes R A, et al. Th1/ Th2-like immunity and resistance to herpes simplex labialis. *Antiviral Res.* 1995; 28(1): 39-55.
39. Xu M, Lepisto A J, Hendricks R L. CD154 signaling regulates the Th1 response to herpes simplex virus-1 and inflammation in infected corneas. *J Immunol.* 2004; 173(2): 1232-9.
40. Tomljenovic L, Shaw C A. Aluminum vaccine adjuvants: Are they safe? *Curr Med Chem.* 2011; 18(17): 2630-7.
41. Gupta R K, Siber G R. Adjuvants for human vaccines-current status, problems and future prospects. *Vaccine.* 1995; 13(14): 1263-76.

### ارجاع دهی

ملانوری شمسی مهدیه، مهدوی مهدی، حیدرزاده الهام. تغییرات سایتوکاین‌های اینترلوکین-۲ و اینترلوکین-۱۲ در سلول‌های طحال موش‌های ب‌آلب سی به‌دنبال استفاده از یک وهله ورزش استقامتی به‌عنوان اجوانت واکسن ویروس هرپس سیمپلکس یک. فیزیولوژی ورزشی. پاییز ۱۳۹۶؛ ۳۵(۹): ۶۳-۷۴. شناسه دیجیتال: 10.22089/SPJ.2017.3041.1409

Molanouri Shamsi M, Mahdavi M, Heydarzadeh E. Changes in Interleukin-2 And Interleukin-12 Cytokines in Spleen Cells of Balb-C Mice After Using an Acute Endurance Exercise as An Adjuvant for Herpes Simplex Virus 1 Vaccine. *Sport Physiology.* Fall 2017; 9(35): 63-74. (In Persian). DOI: 10.22089/SPJ.2017.3041.1409

## Changes in Interleukin-2 and Interleukin-12 Cytokines in Spleen Cells of Balb-C Mice After Using an Acute Endurance Exercise as An Adjuvant for Herpes Simplex Virus 1 Vaccine

M. Molanouri Shamsi<sup>1</sup>, M. Mahdavi<sup>2</sup>, E. Heydarzadeh<sup>3</sup>

1. Assistant Professor of Sport Physiology, Tarbiat Modares University\*
2. Assistant Professor of Immunology, Pasteur Institute of Iran
3. M.Sc. of Sport Physiology, Islamic Azad University, Taft Branch

Received: 2016/09/05

Accepted: 2017/01/01

### Abstract

For vaccine efficacy always using adjuvant has been considered by immunologists. Exercise can induce immune changes, and therefore, has been identified as an adjuvant for immune responses. The purpose of this study was to assess adjuvant effects of an acute endurance exercise on interleukin-2 and interleukin-12 cytokines of spleen cells in herpes simplex virus 1 vaccine model. 24 BALB/c mice, 4 to 5 weeks old and with an average weight of 17.6 g, were divided into 3 groups: control, vaccine and vaccine plus an acute endurance exercise. Two weeks after three booster shots of vaccine, interleukin-2 and interleukin-12 levels was determined in spleen cell culture with ELISA method. One-ways ANOVA statistical test were used for data analysis. The result of this study indicated that there are significant differences between groups in interleukin-2 ( $P=0.008$ ). Tukey post hoc test results showed significant differences between control and vaccine plus an acute endurance exercise groups ( $P=0.006$ ). Changes in interleukin-12 cytokine production in vaccine and endurance exercise group were not significant. Result of current study showed that interleukin-2 levels from spleen cells increased following using an acute endurance exercise as an adjuvant. It seems that using an acute endurance exercise probably increased efficacy of immune system in direction to T helper 1 cells against virus infections.

**Keywords:** Interleukin-2, Interleukin-12, Herpes Simplex Viruses, Adjuvant, Endurance Exercise

\*Corresponding Author

Email: molanouri@modares.ac.ir