

تأثیر ادجوانتی یک وهله فعالیت ورزشی استقامتی با شدت متوسط در واکسیناسیون ویروس هرپس سیمپلکس ۱ و یادآورهای آن بر سطوح اینترلوکین ۱۰ و گرانزیم B در مدل موش

چکیده

مهديه ملانوری شمسی^{*۱}

افسانه جمالی^۲

۱- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۲- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، بزرگراه جلال آل احمد، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم انسانی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی.
کدپستی: ۱۴۱۱۷-۱۳۱۱۶

تلفن: ۸۲۸۸۶۸۳-۰۲۱
E-mail: molanouri@modares.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۱۰ ویرایش: ۱۳۹۷/۰۳/۱۷ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۲/۱۶ آنلاین: ۱۳۹۷/۰۲/۲۴

زمینه و هدف: با توجه به تغییرات ایجاد شده در سلول‌های سیستم ایمنی به دنبال یک وهله فعالیت ورزشی استقامتی، هدف از پژوهش حاضر، بررسی میزان سایتوکین اینترلوکین ۱۰ و گرانزیم B به دنبال استفاده از یک وهله فعالیت ورزشی استقامتی با شدت متوسط در اولین تزریق واکسن ویروس هرپس سیمپلکس ۱ و یادآورهای آن در نمونه موشی بود.

روش بررسی: مطالعه حاضر از نوع تجربی و از اردیبهشت تا مهر ماه ۱۳۹۵ در دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است. با توجه به هدف پژوهش، ۳۲ موش نژاد BALB/c در چهار گروه کنترل، گروه واکسن، گروه واکسن و یک وهله ورزش پس از اولین تزریق واکسن و گروه واکسن و یک وهله ورزش در اولین تزریق و یادآورهای واکسن تقسیم شدند. دو هفته پس از سه دوره تزریق واکسن اینترلوکین ۱۰ و گرانزیم B، پس از کشت سلولی طحال توسط تکنیک الایزا سنجیده شد.

یافته‌ها: نتایج پژوهش نشان داد، بین گروه‌های پژوهش در مورد متغیرهای اینترلوکین ۱۰ و گرانزیم B تفاوت معناداری مشاهده می‌شود ($P=0/001$). افزایش میزان گرانزیم B همزمان با کاهش میزان اینترلوکین ۱۰ به دنبال استفاده از یک وهله ورزش به عنوان ادجوانت در اولین تزریق واکسن و یادآورهای آن مشاهده می‌شود.

نتیجه‌گیری: کاهش سطوح اینترلوکین ۱۰ در گروهی که یک وهله ورزش به عنوان ادجوانت در اولین تزریق واکسن و یادآورهای آن به عنوان ادجوانت داشته‌اند، مشاهده می‌شود. این نتایج می‌تواند تایید کننده تغییر فعالیت سلول‌های T کمکی نوع ۲ و تقویت ایمنی سلولی در راستای پاسخ بهتر در برابر ویروس هرپس سیمپلکس ۱ باشد.

کلمات کلیدی: فعالیت ورزشی، هرپس سیمپلکس، سیستم ایمنی، واکسن.

مقدمه

از ریشه‌کنی عفونت‌های ویروسی می‌شوند که از جمله آن‌ها می‌توان به سایتوکین اینترلوکین ۱۰ (IL-10) اشاره کرد.^۱ به‌طور کلی IL-10 یک سایتوکین تنظیم‌کننده سیستم ایمنی است که در موش و انسان توسط سلول‌های مختلفی از جمله مونوسیت‌ها، ماکروفاژها، سلول‌های B و سلول‌های T تولید می‌شود. نشان داده شده است که IL-10 می‌تواند به‌طور مستقیم از تولید سایتوکین‌ها توسط سلول‌های T جلوگیری کند. افزون‌براین این سایتوکین از بلوغ سلول‌های دندریتیکی نیز جلوگیری می‌کند^{۲-۵} و به نظر می‌رسد فعال‌سازی

واژه سایتوکین از کلمات یونانی سایتو به معنی سلول و کاین به معنی حرکت گرفته شده است. سایتوکین‌ها پپتیدها یا پروتئین‌هایی هستند که به عنوان مولکول‌هایی معرفی شده‌اند که توسط سلول‌های دستگاه ایمنی تولید و رها می‌شوند و واسطه‌ی تولید پاسخ‌های ایمنی هستند.^۱ برخلاف سایتوکین‌های وابسته به سلول‌های کمکی T نوع ۱ که با عفونت‌های ویروسی مقابله می‌کنند، تعدادی از سایتوکین‌ها مانع

فعالیت‌های ورزشی حاد آزاد می‌شوند می‌توانند در فعال‌سازی هر دو بازوی ایمنی اکتسابی و ذاتی به سیستم ایمنی کمک کند،^{۱۸-۲۰} این نکته که فعالیت‌های ورزشی با چه مکانیسم‌های ایمنولوژیکی باعث اثرات ادجوانتی در واکنش‌ها می‌شوند هنوز مشخص نشده است. از سویی دیگر با وجود این‌که برای استفاده موثر از ادجوانت‌های مختلف در واکنش باید در دوره‌های یادآور واکنش‌ها نیز ادجوانت‌ها استفاده شوند.^{۱۷} تاکنون مطالعات انجام شده در این زمینه از ورزش به عنوان ادجوانت در دوره‌های یادآور واکنش استفاده نکرده‌اند. این خود می‌تواند دلیلی بر عدم تاثیر ادجوانتی فعالیت ورزشی در مورد برخی از مطالعات باشد.^{۲۱ و ۲۲} هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر ادجوانتی یک وهله فعالیت ورزشی استقامتی با شدت متوسط در واکنش‌های اولیه HSV-1 و همچنین یادآورهای آن بر سایتوکین IL-10 در محیط کشت سلول‌های طحال و همچنین میزان گرانزیم B در نمونه موشی بود.

روش بررسی

تعداد ۳۲ موش BALB/c inbred ماده (چهار تا پنج هفته، میانگین وزنی ۱۷/۶۷ g) از موسسه پاستور خریداری شدند. موش‌ها به‌طور تصادفی در چهار گروه قرار گرفتند (هر گروه هشت موش) که این چهار گروه عبارت بودند از: گروه کنترل که به این گروه محلول بافر نمک فسفات (PBS)، تزریق شد، (گروه P)، گروهی که واکنش HSV-1 دریافت کردند (گروه V)، دریافت کننده واکنش HSV-1 و یک وهله ورزش استقامتی در اولین تزریق (گروه VE) و دریافت کننده واکنش HSV-1 و یک وهله ورزش استقامتی در اولین تزریق (گروه VE3). موش‌ها دو هفته در حیوان‌خانه نگهداری شدند تا با محیط آشنا شوند و آمادگی انجام ورزش روی نوازگردان را داشته باشند.

برای انجام پروتکل ورزش موش‌ها سه روز پیش از انجام ورزش اصلی دوبار در روز مراحل آشناسازی را پشت سر گذاشتند. یک وهله ورزش استقامتی شامل دویدن با سرعت ۲۲ متر بر دقیقه با شیب ۵- درجه (شدت معادل ۹۰-۷۵٪ بیشینه‌ی اکسیژن مصرفی) به مدت یک ساعت برای موش‌ها در نظر گرفته شد.^{۲۳ و ۲۴} بلافاصله پس از جلسه ورزش استقامتی واکنش HSV-1 به‌صورت درون عضلانی

ایمنولوژیکی آن می‌تواند مانع مبارزه بدن با عفونت‌های ویروسی شود. از سویی دیگر، گرانزیم B یک پروتئاز سیستمی است که در گرانول‌های سیتوپلاسمیک لنفوسیت‌های T سایتوتوکسیک و سلول‌های کشنده طبیعی وجود دارد. گرانزیم B برای ایجاد لیز سلول‌های هدف که بخشی از پاسخ‌های ایمنی سلولی است مورد نیاز است و می‌تواند باعث فعال کردن آپتوزیس در سلول‌های هدف شود.^{۶-۸} نشان داده شده است که IL-10 باعث مهار آزاد شدن گرانزیم B و کاهش فعالیت سایتوتوکسیک سلول‌های T می‌شود.^۹

تبخال یا عفونت هرپس سیمپلکس یک بیماری ویروسی است که توسط ویروس به همین نام ایجاد می‌شود و در موضع درگیر به صورت التهاب و مجموعه تاول‌های ریز نمایان می‌شود. ویروس‌های هرپس سیمپلکس نوع ۱ (HSV-1) در همه جا به‌عنوان عامل پاتوژن انسانی موجود بوده و قادر به ایجاد عفونت‌های اولیه، نهفته و عود کننده می‌باشند.^{۱۰} ارزیابی عفونت هرپس سیمپلکس در سراسر جهان حکایت از افزایش شیوع آن در دو دهه گذشته دارد و بر اساس برآوردها، حدود یک‌سوم جمعیت جهان از عفونت ویروس هرپس سیمپلکس رنج می‌برند، با این‌حال، اغلب تظاهرات بالینی به شرایط ایمنی میزبان، محل تلقیح ویروس و سویه‌های ویروسی بستگی دارد.^{۱۱ و ۱۲} واکنش‌ها در مبارزه با بیماری‌های عفونی موجب جلوگیری از مرگ‌ومیر فراوان ناشی از عفونت‌ها شده است و امروزه به‌عنوان یک استراتژی موفق در کنترل عفونت‌ها به‌کار می‌روند.^{۱۳}

برای تاثیرگذاری بیشتر واکنش‌ها استفاده از عواملی به نام ادجوانت (یاور) مورد نیاز است. واژه ادجوانت به معنی کمک یا افزایش مشتق شده است. ادجوانت‌ها ترکیباتی هستند که واکنش ایمنی علیه آنتی‌ژن‌های تلقیح شده با آن‌ها را افزایش می‌دهند.^{۱۴ و ۱۵} ادجوانت‌ها باید مطابق معیارهایی انتخاب شوند که از جمله آن‌ها گونه‌های هدف، نوع آنتی‌ژن، نوع و مدت پاسخ ایمنی مورد نیاز برای حفاظت می‌باشد.^{۱۶} ادجوانت‌ها می‌توانند به دو دسته اندوژنوس و اگزوژنوس تقسیم شوند. ادجوانت‌های اگزوژنوس می‌توانند اجزای شیمیایی یا میکروبی و یا ترکیبات توکسیک باشند. از سویی دیگر ادجوانت‌های اندوژنوس عواملی هستند که توسط سلول‌های مختلف بدن تولید می‌شوند و مثل ادجوانت‌های اگزوژنوس فعالیت سیستم ایمنی را افزایش می‌دهند.^{۱۷ و ۱۸} پیشنهاد شده است که سیگنال‌های خطر مانند اینترلوکین ۶ که از قسمت‌های مختلف بدن در پاسخ به

میزان آزاد شدن مولکول گرانزیم B به وسیله سلول‌های ایمنی پس از تحریک تحریک دوباره با آنتی ژن به وسیله الیزای گرانزیم موشی (Mouse Granzyme B kit, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) ارزیابی شد. به صورت خلاصه اسپلینوسیت‌ها در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای با یا بدون پروتیین کوکتیل کشت داده شد. پس از ۶۰ ساعت انکوبه شدن در 37°C ، سوپرناتانت جمع‌آوری و با استفاده از روش الیزا و با توجه به کاردستور کیت اندازه‌گیری انجام شد. مقادیر مطلق گرانزیم B هر موش (Pg/ml) از تفریق مقادیر کمی تحریک شده به تحریک نشده همان موش به دست آمد.

جهت مقایسه داده‌های گروه‌های مختلف با یکدیگر از روش آماری تحلیل One-way ANOVA و Tukey's test استفاده شد. ضمن این‌که از نرم‌افزار آماری SPSS software, version 22 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) برای انجام آزمون‌های آماری استفاده شد. $P < 0/05$ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

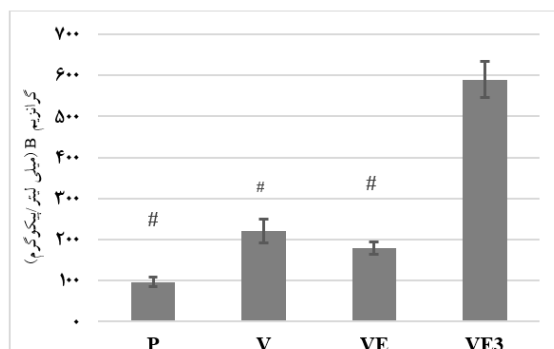
نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه برای میزان سایتوکین IL-10 تولید شده از سلول‌های طحال نشان دهنده وجود تفاوت معنادار بین گروه‌های پژوهش است ($P=0/001$). Tukey's test نشان دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل با تمام گروه‌های پژوهش است ($P=0/001$). گروه‌های واکسن و واکسن همراه با یک جلسه فعالیت ورزشی در اولین تزریق واکسن به عنوان ادجوانت افزایش معنادار در مقایسه با این گروه را نشان داده‌اند در حالی که گروه واکسن و یک وهله ورزش استقامتی به عنوان ادجوانت در اولین تزریق واکسن و یادآورهای آن کاهش معنادار در میزان IL-10 در مقایسه با گروه کنترل را نشان می‌دهند. همچنین نتایج پژوهش نشان دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌های V و VE با گروه VE3 می‌باشد ($P=0/001$). به نظر می‌رسد گروهی که یک وهله فعالیت ورزشی استقامتی را در همه دوره‌های تزریق واکسن به عنوان ادجوانت داشته است کمترین میزان IL-10 در مقایسه با گروه‌های دیگر واکسن را نشان داده است (نمودار ۱).

همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه برای میزان گرانزیم B نشان دهنده وجود تفاوت معنادار بین گروه‌های پژوهش

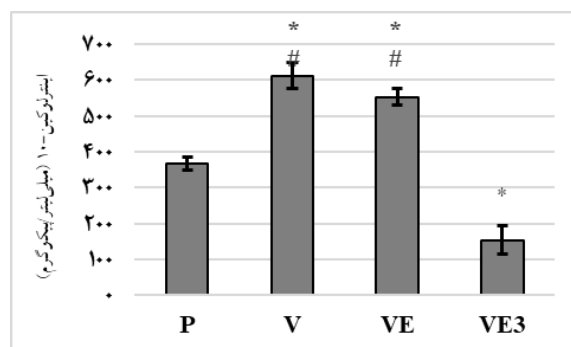
تزریق شد. دومین واکسن، دو هفته پس از اولین واکسن و واکسن سوم دو هفته پس از واکسن دوم تزریق گردید. برای گروه VE3 در دومین و سومین تزریق واکسن همانند تزریق اول از یک وهله ورزش استقامتی پیش از تزریق یادآورهای واکسن استفاده شد. در طی ورزش از هیچگونه شوک الکتریکی استفاده نشد و موش‌ها توسط یک فرد دستکاری و نگهداری می‌شدند گروه واکسن هیچگونه تمرین ورزشی انجام ندادند. دو گروه واکسن و گروه کنترل پیش از تزریق واکسن روی نوارگردان قرار می‌گرفتند تا اثرات احتمالی استرس نوارگردان کنترل شود. هیچکدام از متغیرها بر روی گروه کنترل اعمال نشد. دو هفته پس از آخرین تزریق واکسن ۳۲ سر موش با رعایت نکات اخلاقی در خصوص مطالعات حیوانی نخاعی شدند و در الکل هفتاد درجه غوطه‌ور شدند.

برای اندازه‌گیری شاخص‌های پژوهش 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 و دمای 4°C ، به مدت ۱۰ دقیقه شستشو شد و به رسوب به دست آمده بافر لیزکننده به حجم پنج میلی‌لیتر اضافه گشت و به مدت پنج دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس، به آن‌ها به مقدار ۵ ml محیط سرم جنین گاوی (FBS) به اضافه محیط کشت انستیتو حافظه رزول پارک (RPMI-1640) ۱۰٪ اضافه شد و پس از عبور سلول‌ها از الک سلولی، سه بار در PBS (همانند دفعه پیش) 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 3×10^6 سلول در هر میلی‌لیتر رسانیده شد.

از سوسپانسیون سلولی به دست آمده در پلیت ۲۴ خانه‌ای کشت داده و با آنتی ژن اختصاصی تحریک نموده، در هر حفره 6×10^6 سلول در هر ۲ ml محیط کشت قرار گرفت و به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور 37°C به همراه ۵٪ دی‌اکسید کربن کشت داده شد و پس از ۷۲ ساعت سوپ رویی جمع‌آوری شد و تست الیزا برای سنجش میزان سایتوکین مذکور با استفاده از کیت تجاری (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) بر اساس کاردستور شرکت سازنده انجام شد. حساسیت کیت برای اندازه‌گیری سایتوکین‌های IL-10، $1/49 \text{ pg/ml}$ بود.



نمودار ۲: میزان گرانزیم B در گروه‌های پژوهش



نمودار ۱: میزان IL-10 در گروه‌های پژوهش

باعث آسیب ساختاری بیشتری به تارهای عضلانی می‌شود.^{۲۵ و ۲۷ و ۲۸} با این وجود، برخی مطالعات نیز عدم تاثیر فعالیتهای ورزشی به‌عنوان ادجوانت را نشان داده‌اند. Long و همکاران نشان داده شد که یک وهله پیاده روی با شدت متوسط ۴۵ دقیقه‌ای تاثیری بر پاسخ‌های ایمنولوژیکی به واکسن در نمونه‌های پیر و جوان نداشته است.^{۲۱} همچنین Bruunsgaard و همکاران نشان دادند که ورزشکاران که فعالیت شدید و طولانی‌مدت استقامتی را پیش از تزریق واکسن پشت سر گذاشتند تفاوت مشخصی در پاسخ‌های ایمنی به واکسن مشاهده نشده است.^{۲۹} به‌نظر می‌رسد مدت، شدت فعالیتهای ورزشی و همچنین نوع واکسن‌های مورد استفاده می‌تواند دلیلی بر تفاوت‌های موجود بین پژوهش‌های انجام شده باشد. اما مطالعات انجام شده در زمینه اثرات ادجوانتی ورزش تنها از یک وهله ورزش پیش از اولین تزریق واکسن استفاده کرده‌اند. مطالعه حاضر اولین مطالعه‌ای است که به یادآورهای واکسن نیز توجه کرده است. نشان داده شده است که کارایی ادجوانت‌ها در صورتی مشخص خواهد بود که در دوره‌های یادآور واکسن نیز مورد استفاده قرار گیرد.^{۱۷}

بیان IL-10 به دنبال عفونت‌های HSV افزایش می‌یابد.^{۳۰ و ۳۱} این سایتوکین به‌عنوان فاکتور سرکوب کننده مهم در لنفوسیت‌های T و سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن است. نشان داده شده است اثرات این سایتوکین باعث تحریک سلول‌های Th2 و همچنین سرکوب پاسخ‌های سلول‌های Th1 می‌شود.^{۳۲ و ۳۳} همچنان که می‌دانیم پاسخ‌های سلول‌های Th1 به‌عنوان بخش اساسی در دفاع در برابر

است ($P=0/001$). Tukey's test نشان‌دهنده وجود تفاوت معنادار تمام گروه‌ها با گروه VE3 می‌باشد ($P=0/001$). این نتایج پیشنهاد کننده افزایش معنادار گرانزیم B در گروهی که یک وهله فعالیت ورزشی استقامتی را در همه دوره‌های تزریق واکسن به‌عنوان ادجوانت داشته است، می‌باشد (نمودار ۲).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده افزایش سطوح سایتوکین IL-10 به‌دنبال استفاده از یک وهله ورزش استقامتی به‌عنوان ادجوانت واکسن HSV-1 در اولین تزریق واکسن و همچنین در گروه واکسن به تنهایی بوده است. اما مقدار سایتوکین آزاد شده از سلول‌های طحال به‌دنبال استفاده از یک وهله ورزش در اولین تزریق واکسن و یادآورهای آن کاهش یافته است. همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده افزایش معنادار در میزان گرانزیم B در گروهی که یک وهله فعالیت ورزشی استقامتی را در همه دوره‌های تزریق واکسن به‌عنوان ادجوانت داشته است، می‌باشد.

پژوهش انجام شده در زمینه تاثیرات فعالیتهای ورزشی به‌عنوان ادجوانت محدود می‌باشند. اثر ادجوانتی واکسن آنفولانزا با استفاده از پروتکل برون‌گرای مقاومتی مشاهده شده است.^{۲۵} همچنین پاسخ آنتی‌بادی به واکسن آنفولانزا در زنان به‌دنبال یک وهله ورزش برون‌گرا افزایش یافته است.^{۲۶} نشان داده شده که تمرینات برون‌گرا

پاسخ‌های سلولی T ضد ویروسی باشد.^{۳۷،۳۶} اثرات ضد ویروسی گرانزیم B در مطالعات مختلف مشاهده شده است.^{۳۸-۴۰} به نظر می‌رسد استفاده از یک وهله ورزش به‌عنوان ادجوانت واکسن توانسته است با تحریک ایمنی سلولی در تقویت پاسخ‌های ایمنی بر ضد ویروس HSV-1 موثر باشد.

نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده کاهش میزان تولید سایتوکین IL-10 به‌دنبال استفاده از یک وهله ورزش استقامتی به‌عنوان ادجوانت در اولین تزریق واکسن و یادآورهای آن بوده است. این کاهش همزمان با افزایش میزان گرانزیم B در این گروه بوده است. کاهش تولید سایتوکین IL-10 از سلول‌های طحال به‌دنبال استفاده از یک وهله ورزش استقامتی در اولین تزریق و یادآورهای مدل واکسن HSV-1 با توجه به عملکرد این سایتوکین می‌تواند تایید کننده کاهش احتمالی در فعالیت سلول‌های T کمکی نوع ۲ و تقویت ایمنی سلولی در راستای پاسخ‌های ایمنولوژیکی بهتر به واکسن می‌باشد.

سپاسگزاری: این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی تحت عنوان "نقش سلول‌های بنیادی عضله اسکلتی در اثرات اجوانتی یک وهله ورزش استقامتی در مدل موش" مصوب دانشگاه تربیت مدرس در سال ۱۳۹۴ به کد ۳۰/۱۹۳۳۳ و با حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس و ستاد سلول‌های بنیادی بوده است. بدین وسیله مراتب سپاسگزاری خود را از این دو نهاد اعلام می‌داریم.

عفونت‌های ویروسی مطرح هستند.^{۱۱} همچنین IL-10 می‌تواند بر ماکروفاژها اثرگذار باشد و نتیجه آن مهار ستر سایتوکین‌ها توسط سلول‌های Th1 و سلول‌های کشنده طبیعی بوده است.^{۳۳} در مفهوم ایمنولوژیکی سلول‌های Th2 منجر به پاسخ‌های وابسته به آنتی‌بادی در سیستم ایمنی می‌شوند و Th1 پاسخ‌های ایمنی سلولی را فعال می‌کند،^{۱۱} به نظر می‌رسد در مورد ویروس HSV پاسخ‌های آنتی‌بادی‌ها تنها در مراحل اولیه بروز عفونت مهم هستند و برای جلوگیری از فاز نهفته ویروس HSV که بسیاری از مشکلات مرتبط با این ویروس در مورد این فاز است بی‌تاثیر می‌باشند و ایمنی سلولی و فعال شدن آن موثرترین بخش است.^{۳۵،۳۴} بنابراین غیرفعال شدن تولید این سایتوکین همچنان که در مطالعه حاضر در مورد گروهی که فعالیت ورزشی را به‌عنوان ادجوانت در اولین تزریق واکسن و یادآورهای آن پشت سر گذاشته‌اند باعث پاسخ‌های بهتر ایمنولوژیکی برای مقابله با عفونت‌های ویروسی از جمله HSV-1 می‌شود. میزان گرانزیم B در گروهی که یک وهله فعالیت ورزشی استقامتی را در همه دوره‌های تزریق واکسن به‌عنوان ادجوانت داشته است افزایش معناداری در مقایسه با گروه‌های دیگر را نشان داده است. این نتیجه همزمان با کاهش معنادار میزان اینترلوکین ۱۰ در این گروه می‌باشد. پیشنهاد شده است که سطوح اینترلوکین ۱۰ می‌تواند تعیین کننده مقاومت در برابر ویروس به دلیل اختلال در

References

1. Stenken JA, Poschenrieder AJ. Bioanalytical chemistry of cytokines: a review. *Anal Chim Acta* 2015;853:95-115.
2. Guidotti LG, Chisari FV. Noncytolytic control of viral infections by the innate and adaptive immune response. *Annu Rev Immunol* 2001;19:65-91.
3. Moore KW, O'Garra A, de Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR. Interleukin-10. *Annu Rev Immunol* 1993;11:165-90.
4. Pestka S, Krause CD, Sarkar D, Walter MR, Shi Y, Fisher PB. Interleukin-10 and related cytokines and receptors. *Annu Rev Immunol* 2004;22:929-79.
5. de Waal Malefyt R, Yssel H, de Vries JE. Direct effects of IL-10 on subsets of human CD4+ T cell clones and resting T cells. Specific inhibition of IL-2 production and proliferation. *J Immunol* 1993;150(11):4754-65.
6. Buzza MS, Bird PI. Extracellular granzymes: current perspectives. *Biol Chem* 2006;387(7):827-37.
7. Hameed A, Truong LD, Price V, Kruhenbuhl O, Tschopp J. Immunohistochemical localization of granzyme B antigen in cytotoxic cells in human tissues. *Am J Pathol* 1991;138(5):1069-75.
8. San Mateo LR, Chua MM, Weiss SR, Shen H. Perforin-mediated CTL cytotoxicity counteracts direct cell-cell spread of *Listeria monocytogenes*. *J Immunol* 2002;169(9):5202-8.
9. Nishimura M, Sato H, Okazaki H, Satake M, Tadokoro K. Interleukin-10 containing normal human serum inhibits granzyme B release but not perforin release from alloreactive and EBV-specific T cell clones. *Cell Immunol* 2008;251(1):31-6.
10. Koelle DM. Vaccines for herpes simplex virus infections. *Curr Opin Investig Drugs* 2006;7(2):136-41.
11. Liu T, Khanna KM, Chen X, Fink DJ, Hendricks RL. 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.
12. Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, editors. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th ed. New York, NY: Garland Science; 2001.
13. Aguilar JC, Rodríguez EG. Vaccine adjuvants revisited. *Vaccine* 2007;25(19):3752-62.
14. Lima KM, dos Santos SA, Rodrigues JM Jr, Silva CL. Vaccine adjuvant: it makes the difference. *Vaccine* 2004;22(19):2374-9.

15. Dupuis L, Deville S, Aucouturier J, Ascarateil S, Laval A, Ganne V. Veterinary vaccine adjuvants. *Vet Immunol Immunopa* 2009;(1-3):248-9.
16. Gallucci S, Lolkema M, Matzinger P. Natural adjuvants: endogenous activators of dendritic cells. *Nat Med* 1999;5(11):1249-55.
17. Petrovsky N, Aguilar JC. Vaccine adjuvants: current state and future trends. *Immunol Cell Biol* 2004;82(5):488-96.
18. Pedersen BK, Steensberg A, Schjerling P. Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects. *J Physiol* 2001;536(Pt 2):329-37.
19. Pedersen BK, Fischer CP. Physiological roles of muscle-derived interleukin-6 in response to exercise. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007;10(3):265-71.
20. Molanouri Shamsi M, Hassan ZM, Quinn LS, 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.
21. Long JE, Ring C, Drayson M, Bosch J, Campbell JP, 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.
22. Pascoe AR, Fiatarone Singh MA, Edwards KM. The effects of exercise on vaccination responses: a review of chronic and acute exercise interventions in humans. *Brain Behav Immun* 2014;39:33-41.
23. Lowder T, Padgett DA, Woods JA. Moderate exercise protects mice from death due to influenza virus. *Brain Behav Immun* 2005;19(5):377-80.
24. Davis JM, Kohut ML, Colbert LH, Jackson DA, Ghaffar A, Mayer EP. Exercise, alveolar macrophage function, and susceptibility to respiratory infection. *J Appl Physiol (1985)* 1997;83(5):1461-6.
25. Edwards KM, Burns VE, Allen LM, McPhee JS, Bosch JA, Carroll D, et al. Eccentric exercise as an adjuvant to influenza vaccination in humans. *Brain Behav Immun* 2007;21(2):209-17.
26. Edwards KM, Burns VE, Adkins AE, Carroll D, Drayson M, Ring C. Meningococcal A vaccination response is enhanced by acute stress in men. *Psychosom Med* 2008;70(2):147-51.
27. Woods JA, Vieira VJ, Keylock KT. Exercise, inflammation, and innate immunity. *Neurol Clin* 2006;24(3):585-99.
28. Molanouri Shamsi M, Mahdavi M, Quinn LS, Gharakhanlou R, Isanegad A. Effect of resistance exercise training on expression of Hsp70 and inflammatory cytokines in skeletal muscle and adipose tissue of STZ-induced diabetic rats. *Cell Stress Chaperones* 2016;21(5):783-91.
29. 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.
30. St Leger AJ, Hendricks RL. CD8+ T cells patrol HSV-1-infected trigeminal ganglia and prevent viral reactivation. *J Neurovirol* 2011;17(6):528-34.
31. Zheng W, Huang W, Liu S, Levitt RC, Candiotti KA, Lubarsky DA, et al. Interleukin 10 mediated by herpes simplex virus vectors suppresses neuropathic pain induced by human immunodeficiency virus gp120 in rats. *Anesth Analg* 2014;119(3):693-701.
32. Roberts MT, Stober CB, McKenzie AN, Blackwell JM. Interleukin-4 (IL-4) and IL-10 collude in vaccine failure for novel exacerbatory antigens in murine Leishmania major infection. *Infect Immun* 2005;73(11):7620-8.
33. Scott MJ, Hoth JJ, Turina M, Woods DR, Cheadle WG. Interleukin-10 suppresses natural killer cell but not natural killer T cell activation during bacterial infection. *Cytokine* 2006;33(2):79-86.
34. Nash AA. T cells and the regulation of herpes simplex virus latency and reactivation. *J Exp Med* 2000;191(9):1455-8.
35. Schiffer JT, Corey L. Rapid host immune response and viral dynamics in herpes simplex virus-2 infection. *Nat Med* 2013;19(3):280-90.
36. Brooks DG, Trifilo MJ, Edelman KH, Teyton L, McGavern DB, Oldstone MB. Interleukin-10 determines viral clearance or persistence in vivo. *Nat Med* 2006;12(11):1301-9.
37. Leen AM, Myers GD, Sili U, Huls MH, Weiss H, Leung KS, et al. Monoculture-derived T lymphocytes specific for multiple viruses expand and produce clinically relevant effects in immunocompromised individuals. *Nat Med* 2006;12(10):1160-6.
38. Loh J, Thomas DA, Revell PA, Ley TJ, Virgin HW 4th. Granzymes and caspase 3 play important roles in control of gammaherpesvirus latency. *J Virol* 2004;78(22):12519-28.
39. Salti SM, Hammelev EM, Grewal JL, Reddy ST, Zemple SJ, Grossman WJ et al. Granzyme B regulates antiviral CD8+ T cell responses. *J Immunol* 2011;187(12):6301-9.
40. van Dommelen SL, Sumaria N, Schreiber RD, Scalzo AA, Smyth MJ, Degli-Esposti MA. Perforin and granzymes have distinct roles in defensive immunity and immunopathology. *Immunity* 2006;25(5):835-48.

Adjuvant effect of an acute moderate endurance exercise in herpes simplex virus 1 vaccination and its boosters on interleukin 10 cytokine and granzyme B in mice

Mahdieh Molanouri Shamsi
Ph.D.^{1*}
Afsaneh Jamali M.Sc. Student²

1- Department of Physical Education & Sport Sciences, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
2- Department of Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

* Corresponding author: Department of Physical Education & Sport Sciences, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Jala Ale Ahmad Highway, Tehran, Iran.
P.O.Box: 14117-13116
Tel: +98- 21- 82884683
E-mail: molanouri@modares.ac.ir

Abstract

Received: 31 May 2017 Revised: 07 Jun. 2017 Accepted: 6 May 2018 Available online: 14 May 2018

Background: The herpes simplex viruses cause a variety of clinical illnesses that are painful and often distressing. To control the infection, the development of an effective vaccine that prevents or reduces the primary and recurrent infections would be of great significance. With considering to immunological changes following an acute endurance exercise, the purpose of this study was to assess adjuvant effects of an acute endurance exercise in first herpes simplex virus 1 vaccine injection and its booster shots on interleukin-10 cytokine and granzyme B levels.

Methods: This experimental study was carried out in Tarbiat Modares University during May to October 2016. 32 BALB/c mice were divided into 4 groups: control, vaccine, vaccine plus an acute exercise in first injection and vaccine plus an acute endurance exercise in first injection and booster shots. Mice without or with access to acute endurance exercise were immunized intramuscularly with inactivated KOS strain of HSV-1. Two weeks after three booster shots of vaccine, interleukin-10 and granzyme B levels were determined in spleen cell culture with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method.

Results: This study was undertaken to test the hypothesis that an acute endurance exercise as an adjuvant in herpes simplex virus 1 vaccine can change interleukin-10 cytokine and granzyme B levels in mouse model. The result of this study showed significant differences between groups in interleukin-10 and granzyme B levels ($P=0.001$). Increasing in granzyme B levels with concurrent decreases in interleukin-10 levels was observed following using vaccine plus acute exercise in first injection of vaccine and booster shots.

Conclusion: It is suggested that exercise may stimulate parameters related to cellular immunity and hence decrease the risk of infection decreased levels of interleukin-10 in experimental group that had vaccine plus acute exercise in the first injection of vaccine and booster shots as an adjuvant was observed. These results demonstrate alternation of T helper 2 cells function and improve of cell immunity for protection against herpes simplex virus 1 infections.

Keywords: exercise, herpes simplex, immune system, vaccines.