

**STUDY ON THE EFFECTS OF EXERCISE
IN LUPUS-PRONE MICE.**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
(PHYSIOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2009**

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

STUDY ON THE EFFECTS OF EXERCISE IN LUPUS-PRONE MICE

SUPAWAN VISETNOI 4536335 SCPS/D

Ph.D. (PHYSIOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: CHUMPOL PHOLPRAMOOL, Ph.D.,
KANOK PAWASUTTHIPASIT, M.D., Ph.D., YINDEE KITTIYANANT,
SANSANEE CHAIYAROJ, Ph.D., VITON SANGSIRISUWAN, Ph.D.**ABSTRACT**

Physical stress, such as exercise, promotes a number of physiological changes within the body including the immune system. Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune disease mostly affecting women of reproductive age. The cause of the disease is still unclear. Possible factors that increase the risk include lack of Complement C4 and physical stress. The latter has not been extensively explored. This study aimed to investigate the impact of exercise and training regime on cytokines and antibody levels in lupus-prone (C4 knockout, C4^{-/-}) mice compared to wild type (C57BL/6J, B6) mice. Nine-week old females of both strains were subjected to either single bout of exercise until exhaustion or exercise training at moderate intensity for 8 weeks. Immunological parameters were measured by ELISA including the serum IgG, IgM, anti-dsDNA IgG and cytokines. End organ damage was examined in the kidneys using histology and immunofluorescence microscopy for the detection of immune complex deposition.

The results showed that prior to exercise the levels of cytokine IFN- γ , IL-6 and IL-4 in C4^{-/-} mice were significantly lower whereas IL-1 β , TNF- α and TGF- β were not different among both strains. IgG concentrations were higher in C4^{-/-} mice when compared to B6. Single bout of exhaustive exercise enhanced IFN- γ and IL-1 β immediately after exercise whereas TNF- α was increased one hour after exercise cessation in B6 mice. On the other hand, this form of exercise did not alter most cytokines in C4^{-/-} group; except a rise in TGF- β which was observed one hour after exercise. An exercise bout also had virtually no effect on IgG, IgM and anti-dsDNA IgG of C4^{-/-} mice whereas IgG was increased one hour post exercise in B6 group. In addition, 8 weeks training significantly increased TGF- β in both strains whilst IgG level was increased by week-4 and sustained until the end of training program in B6 mice. However, no changes were observed in all cytokines in C4^{-/-} mice, except IL-4, which decreased during first 4 weeks of training. Only an increase in IgM was detected by 4th week of training program. Exercise training had no effect on spleen, renal structure or deposition of immune complex in the glomeruli.

In conclusion, a bout of exercise to exhaustion causes specific changes to cytokine levels including raise IFN- γ , TNF- α and IL-1 β in B6 mice with a non-significant trend of increase in C4^{-/-} group. It has no influence on anti-dsDNA IgG or antibody levels (IgG and IgM) in C4^{-/-} mice. Moderate repetitive exercise did not appear to cause end organ damage in the kidneys. However, further study is necessary to examine the long term effect of exercise on disease onset and severity since the disease pathology only develop in this model later in life.

KEY WORDS: LUPUS/ EXERCISE/ C57BL/6J/ C4 KNOCKOUT/ CYTOKINES/
IgG/ IgM/ ANTI-dsDNA IgG

110 pages

การศึกษาผลของการออกกำลังกายในหนูที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคภูมิคุ้มกัน

STUDY ON THE EFFECTS OF EXERCISE IN LUPUS-PRONE MICE

ศุภวรรณ วิเศษน้อย 4536335 SCPS/D

ปร.ด. (สรีรวิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ชุมพล ผลประมุข, Ph.D., กนก ภาวสุทธิไพสิฐ M.D, Ph.D., ยินดี กิติยานันท์, ศันสนีย์ ไชยโรจน์, Ph.D., วิจอร์ แสงศิริสุวรรณ, Ph.D.

บทคัดย่อ

ภาวะเครียดทางกายภาพเช่นจากการออกกำลังกายทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางระบบสรีรวิทยารวมถึงมีผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกัน Systemic lupus erythematosus (SLE) หรือ โรคภูมิคุ้มกันบกพร่องของการเกิดโรคยังไม่เป็นที่แน่ชัดแต่ปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรคน่าจะเนื่องมาจากการขาด Complement C4 และภาวะเครียดทางกาย ซึ่งการศึกษาผลจากการออกกำลังกายยังมีน้อยมาก การศึกษานี้จึงมุ่งศึกษาผลกระทบจากการออกกำลังกายในแบบต่างๆต่อการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันของหนูเมาส์ที่ปราศจาก Complement C4 โดยการกำจัดยีน ($C4^{-/-}$) ซึ่งมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องเปรียบเทียบกับหนูเมาส์ปกติ (C57BL/6J, B6) ให้หนูเพศเมียอายุ ๕ สัปดาห์ทั้งสองสายพันธุ์วิ่งบนสายพานออกกำลังกายแบบครั้งเดียวจนล้า หรือแบบขนาดหนักปานกลางอย่างต่อเนื่องทุกวัน นาน ๘ สัปดาห์ เก็บตัวอย่างเลือดของหนูเมาส์แต่ละตัวก่อนและหลังการออกกำลังกายมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นของไซโตไคน์และแอนติบอดี IgG, IgM, anti-dsDNA โดยใช้วิธีการตรวจแบบ ELISA และตัวอย่างเนื้อเยื่อไต เพื่อตรวจหาการเกาะของ immune complex หรือรอยโรคที่ glomerulus ของไตโดยวิธี immunofluorescence

จากผลการศึกษาพบว่าก่อนการออกกำลังกายหนู $C4^{-/-}$ มีระดับไซโตไคน์ IFN- γ , IL-6, IL-4 ต่ำกว่า แต่ระดับ IL-1 β , TNF- α และ TGF- β ในทั้งสองสายพันธุ์ไม่แตกต่างกัน แต่มี IgG สูงกว่าหนู B6 การออกกำลังกายแบบครั้งเดียวจนล้า มีผลให้ระดับไซโตไคน์ IFN- γ และ IL-1 β เพิ่มขึ้นทันทีทันทีหลังจากหยุดวิ่งในขณะที่ TNF- α เพิ่มขึ้นหลังหยุดวิ่ง ๑ ชั่วโมงในหนู B6 ส่วนหนู $C4^{-/-}$ กลับพบว่าการออกกำลังกายแบบครั้งเดียวจนล้าไม่มีผลต่อระดับไซโตไคน์ใดๆรวมทั้งแอนติบอดีทุกชนิดยกเว้นไซโตไคน์ TGF- β ซึ่งเพิ่มขึ้นทันทีหลังหนู $C4^{-/-}$ หยุดวิ่งแล้ว 1 ชั่วโมง นอกจากนี้การออกกำลังกายประเภทนี้ยังไม่ส่งผลต่อระดับแอนติบอดีต่างๆ ในหนู $C4^{-/-}$ แต่กลับมีผลเพิ่มระดับ IgG ในหนู B6 ส่วนการออกกำลังกายแบบหนักปานกลางเป็นเวลา ๘ สัปดาห์พบว่าระดับ TGF- β ของหนูเมาส์ทั้งสองสายพันธุ์เพิ่มสูงขึ้นหลังออกกำลังกาย ทั้งยังมีผลให้ IL-4 ลดลงในช่วงสัปดาห์ที่สี่ของการออกกำลังกาย $C4^{-/-}$ ในขณะที่ระดับแอนติบอดี IgG ของหนู B6 และ $C4^{-/-}$ เพิ่มขึ้น ส่วน IgM มีเพิ่มสูงขึ้นในหนู $C4^{-/-}$ อย่างไม่ขึ้นกับการออกกำลังกาย นาน ๘ สัปดาห์ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อไตหรือก่อให้เกิดการอักเสบของไตในหนูเมาส์ทั้งสองสายพันธุ์หลังการออกกำลังกายแบบต่อเนื่อง

สรุปผลการศึกษาครั้งนี้ได้ว่าการออกกำลังกายแบบครั้งเดียวจนล้ามีผลให้ไซโตไคน์บางชนิดเช่น IFN- γ , IL-1 β และ TNF- α เปลี่ยนแปลงในหนู B6 รวมทั้งไม่ได้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีในหนูเมาส์ทั้งสองสายพันธุ์และมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นหลังออกกำลังกายในหนู $C4^{-/-}$ ในขณะที่การออกกำลังกายอย่างต่อเนื่องนาน ๘ สัปดาห์ไม่มีผลกระทบต่อไซโตไคน์ส่วนใหญ่หนูในหนูเมาส์ทั้งสองสายพันธุ์ และไม่มีผลต่อระดับของ anti-dsDNA IgG แอนติบอดีและไม่มีผลเสียต่อเนื้อเยื่อหรือการอักเสบของไตและม้ามอย่างไรก็ดียังไม่สามารถสรุปได้ว่าการออกกำลังกายมีผลเสียต่อโรคนี้ในระยะยาวหรือไม่เนื่องจากจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในช่วงอายุหลังจากออกกำลังกายแล้วเพราะหนู $C4^{-/-}$ นี้จะแสดงอาการของโรคเมื่ออายุมากขึ้น