

The effect of 10-week endurance training in water on immunosenescence in elderly rats

Mohammad Jahanmahin¹, Roya Askari^{1*}, Amirhosein Haghighi¹, Toktam Hajjar²

1. Faculty of Physical Education & Sport Sciences, Department of Exercise Physiology, Sabzevar, Iran
2. Department of Basic Sciences, Faculty of Biology, Sabzevar, Iran

* Corresponding author e-mail: r.askari@hsu.ac.ir

Abstract

Background and Objective: A complex of restricted naïve lymphocytes in conjunction with an age-associated accumulation of senescent T cells and/or thymic involution are major contributors to the immunosenescence, which can be modulated by exercise training. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of 10-week endurance training in water on immunosenescence in elderly rats.

Materials and Methods: 16 rats (24 months old) were randomly distributed into control group (n=8) and endurance training (n=8). Endurance training was performed in 4 sessions per week in a container with dimensions of 50x50x100 with water at $30 \pm 1^\circ\text{C}$. Data were analyzed by independent sample T test with SPSS software version 22 at significance level <0.05 .

Results: There was a significant difference between the two training and control groups in CD4+ and CD8+ T cells, naïve TCD8+ and lymphocytes, senescent TCD8+, senescent naïve TCD8+ ($P=0.01$), while significant difference was not observed between thymus weight ($P=0.43$) and CD4+/CD8+ T cell ratio ($P=0.29$).

Conclusion: The results of this study suggest that endurance training in water is a safe activity for elderly in order to improve the immune system and reduction of senescence-prone T cells.

Keywords: Immunosenescence, T lymphocytes, Endurance training, TCD4+, TCD8+

Received: May 20, 2023

Revised: Jul 22, 2023

Accepted: Jul 31, 2023

How to cite this article: Jahanmahin M, Askari R, Haghighi A, Hajjar T. The effect of 10-week endurance training in water on immunosenescence in elderly rats. Daneshvar Medicine 2023; 31(3):22-33. doi: 10.22070/DANESHMED.2023.17745.1351

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

تأثیر ۱۰ هفته تمرینات استقامتی در آب بر سالخوردگی سیستم ایمنی رت‌های سالمند

محمد جهان مهین^۱، رؤیا عسکری^{۱*}، امیر حسین حقیقی^۱، تکتب حجار^۲

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری؛ سبزوار، ایران
۲. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه حکیم سبزواری؛ سبزوار، ایران

Email: r.askari@hsu.ac.ir

*نویسنده مسئول: رؤیا عسکری

چکیده

مقدمه و هدف: مجموعه‌ای از لئوسیت‌های بکر محدودشده همراه با تجمع سلول‌های T سالخورده و انحلال تیموس از عوامل اصلی ایجادکننده سالخوردگی سیستم ایمنی هستند که با تمرین ورزشی می‌توان این عوامل را تعدیل کرد؛ بنابراین هدف از پژوهش حاضر بررسی ۱۰ هفته تمرین استقامتی در آب بر سالخوردگی سیستم ایمنی در رت‌های سالمند است.

مواد و روش‌ها: ۱۶ رت ۲۴ ماهه به صورت تصادفی به دو گروه تمرین استقامتی (n=۸) و کنترل (n=۸) تقسیم شدند. تمرینات استقامتی ۴ جلسه در هفته در ظرفی به ابعاد ۵۰*۵۰*۱۰۰ با آب ۱±۳۰ درجه سانتی‌گراد اجرا شد. داده‌ها توسط آزمون تی مستقل با نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۲ در سطح (P<۰/۰۵) آنالیز شدند.

نتایج: تفاوت معناداری بین دو گروه تمرین و کنترل در سلول‌های TCD4+ و TCD8+، لئوسیت‌های بکر CD8+، CD8+ سالخورده، CD8+ بکر سالخورده وجود داشت (P=۰/۰۱)، درحالی‌که در دو شاخص وزن تیموس (P=۰/۴۳) و نسبت CD4+/CD8+ تفاوت معناداری مشاهده نشد (P=۰/۲۹).

نتیجه‌گیری: درنهایت، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تمرینات استقامتی در آب یک فعالیت ایمن برای سالمندان به‌منظور بهبود سیستم ایمنی و کاهش سالخوردگی سلول‌های T است.

واژه‌های کلیدی: سالخوردگی سیستم ایمنی، لئوسیت T، تمرین استقامتی، TCD8+، TCD4+

وصول مقاله: ۱۴۰۲/۰۲/۳۰

اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۲/۰۴/۳۱

پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۰۹

مقدمه

سالمندی با تعدیل عملکرد و هر دو جزء سیستم ایمنی ذاتی و سازشی مرتبط است (۱). از بین تمام بخش‌های ایمنی، سلول‌های T بیشترین آشفتگی را دارند (۲). با افزایش سن، سلول‌های T بکر به تدریج با فنوتیپ‌های بسیار متفاوت حافظه و سالخورده تغییر می‌یابند. از طرف دیگر، فرایند آتروفی غده تیموس تا سنین میان‌سالی به سرعت پیشرفت می‌کند و فقط حدود ۱۵ درصد از عملکرد بافت تیموس در سن ۵۰ سالگی باقی می‌ماند، که منجر به کاهش بیشتر لنفوسیت‌های T بکر می‌شود (۳). اگرچه دلایل احتمالی سالخوردگی سیستم ایمنی ممکن است چندعاملی باشد، اما یک مجموعه لنفوسیت‌های بکر محدود شده همراه با تجمع سلول‌های T سالخورده و انحلال تیموس از عوامل اصلی ایجادکننده این پدیده هستند که منجر به افزایش حساسیت افراد مسن به مرگ و میر می‌شود. در واقع، شواهد بالینی نشان می‌دهد که توانایی ایجاد پاسخ‌های ایمنی اولیه در برابر آنتی‌ژن‌های جدید با افزایش سن به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (۴)، در نتیجه باعث کاهش پاسخ به واکسن‌ها و افزایش آسیب‌پذیری افراد مسن در برابر بیماری‌های عفونی می‌شود. این شرایط بیشتر توسط تجمع سلول‌های T سالخورده مرتبط با سن ایجاد می‌شود. سلول‌های T سالخورده، سلول‌های ایمنی ناکارآمدی هستند، که زنده‌اند اما ظرفیت تقسیم ندارند، در برابر آپوپتوز مقاومت می‌کنند و مقادیر بیشتری از مواد پیش‌التهابی و آنزیم‌های تجزیه‌کننده ماتریکس را ترشح می‌کنند (۵-۶). در این وضعیت، سلول‌های T سالخورده می‌توانند ماتریکس خارج سلولی را برهم بزنند و یک محیط التهابی ایجاد کنند که برای پیشرفت سرطان مطلوب باشد (۷). دیگر ارگان‌های لنفوی در بدن که نقش مهمی در سیستم ایمنی بازی می‌کنند و در پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی به طور کارآمد عمل می‌کنند، طحال است. این اندام لنفوییدی ثانویه در اهدا کردن لنفوسیت‌ها و همچنین عمل لنفوسیتوز ناشی از ورزش نقش کلیدی دارد (۸). تمرینات ورزشی می‌تواند روی ساختار طحال تأثیر بگذارد. مثلاً تمرین خیلی شدید موجب تغییر غیرنرمال ساختار طحال می‌شود که با این تغییرات درصد لنفوسیت‌های T و B کاهش می‌یابد (۶).

برخی از مداخلات مربوط به سبک زندگی می‌توانند روند طبیعی پیری را حفظ کرده و در نهایت، از سالخوردگی سیستم ایمنی جلوگیری کنند. در میان این مداخلات، رژیم‌های غذایی و تمرینات متعادل ورزشی اصلی‌ترین استراتژی‌های غیردارویی مورد مطالعه برای مبارزه با کاهش ایمنی مرتبط با سن هستند (۹-۱۰). درحقیقت، نشان داده شده است که تمرینات ورزشی باعث ایجاد تغییرات گذرا در پاسخ‌های ایمنی در حالت استراحت و در پاسخ به فعالیت‌ها (دوره ریکاوری بعد از فعالیت بدنی) می‌شود. طبق ادبیات تحقیق موجود به نظر می‌رسد تمرین طولانی‌مدت می‌تواند به‌عنوان یک روش مداخله‌ای ایمن برای جلوگیری از التهاب درجه پایین مزمن، سالخوردگی سیستم ایمنی و بهبود اثربخشی واکسیناسیون آنفولانزا در افراد سالخورده بدون عوارض جانبی در نظر گرفته شود (۴-۱۱). تمرینات ورزشی را می‌توان نوعی "ایمونوترابی" نامید که به‌طور بالقوه یک اقدام بسیار مقرون‌به‌صرفه را نشان می‌دهد و می‌تواند کیفیت زندگی انسان را به‌طور چشمگیری بهبود بخشد (۱۲). در همین راستا ناوارو و همکاران (۲۰۲۱) گزارش دادند که سالمندان فعال نسبت به غیرفعال از لنفوسیت T بکر بیشتری برخوردار بودند (۱۳). ترشح اینترلوکین-۲ طی سالمندی کاهش می‌یابد، بنابراین کاهش ظرفیت تکثیر سلول‌های T ایجاد می‌شود (۱۴). برخی تحقیقات در مورد تمرینات استقامتی پیشرفت‌هایی را در سیستم ایمنی بدن برای افراد مسن (۱۵) نشان داده‌اند. این مطالعات نشان دادند تمرینات استقامتی موجب افزایش غلظت اینترلوکین-۲ می‌شود (۱۶). بنابراین می‌تواند موجب افزایش ظرفیت تکثیر لنفوسیت‌های T شود. همچنین، وودز^۱ و همکاران (۲۰۰۳) گزارش دادند تمرینات استقامتی با شدت متوسط به ترتیب موجب افزایش و کاهش سلول‌های بکر و حافظه در لنفوسیت $TCD4+$ و $TCD8+$ بافت طحال در موش‌های سالمند شد (۱۷). مکانیسم این فرایند احتمالاً به علت همبستگی مثبت لنفوسیت $TCD8+$ بکر با $VO2max$ است (۱۸).

تمرین در آب، یک پروتکل تمرینی کاملاً کنترل شده است. ثابت شده است که تمرین در آب موجب عقب‌انداختن

¹ Woods

تحقیقات در زمینه تأثیر تمرینات شنا بر سیستم ایمنی، بیشتر در بیماران مالتیپل اسکلروزیس (۲۵) و افراد ورزشکار (۲۸، ۲۹) پرداخته و ایمونوگلوبولین‌ها و اینترلوکین‌ها (۳۰-۳۱) را مورد بررسی قرار داده‌اند. با توجه به ایمن‌بودن تمرینات در آب برای گروه سالمندان و اینکه مطالعه‌ای به بررسی تمرینات استقامتی در آب بر شاخص‌های لنفوسیت T بکر در این گروه سنی نپرداخته است؛ بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر تمرینات استقامتی در آب بر زیررده‌های لنفوسیت T در رت‌های سالمند سالم است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر که با کد اخلاق به شناسه (IR.HSU.AEC.1401.003) در دانشگاه حکیم سبزواری به ثبت رسیده است از نوع تجربی- توسعه‌ای با طرح پس‌آزمون با گروه کنترل است. جامعه آماری تحقیق حاضر را موش‌های صحرائی سالمند آزمایشگاهی با جنسیت نر نژاد ویستار تشکیل می‌دادند که از میان آنها نمونه آماری شامل ۱۶ سر موش با میانگین سنی ۲۴ ماه از دانشگاه علوم پزشکی کاشان خریداری و به آزمایشگاه علوم پایه دانشگاه حکیم سبزواری منتقل شدند.

نمونه‌ها به صورت تصادفی در دو گروه تمرین استقامتی و کنترل به تعداد برابر (۸ سر) در هر گروه تقسیم شدند. همه حیوانات در تمام طول پژوهش در یک مکان با شرایط میانگین دمایی 23 ± 3 سانتی‌گراد، رطوبت 50 ± 10 و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲-۱۲ نگهداری شدند و دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند. بعد از یک هفته سازگاری با محیط جدید، دو گروه تمرین برنامه آشناسازی با پروتکل تمرین را آغاز کردند. تا پایان دوره تمرینی ۲ سر موش از گروه کنترل و ۱ سر موش از گروه استقامتی از بین رفتند و در نهایت ۶ موش از گروه کنترل و ۷ موش از گروه استقامتی مورد تحلیل قرار گرفتند.

پروتکل تمرین استقامتی: این تمرین ۴ جلسه در هفته به مدت ۱۰ هفته در یک اکواریوم به ابعاد $100 \times 50 \times 50$ و در آب 30 ± 1 درجه سانتی‌گراد اجرا شد. در جلسه آشنایی با پروتکل تمرین، حیوانات طی دو هفته و هر هفته ۵ جلسه با انجام تمرین استقامتی آشنا شدند. در روز اول، حیوان به

رشد تومور (۱۹)، تقویت فرایند ضدالتهاب و اثرات محافظتی از عصب در موش (۲۰) را دارد. علاوه بر این، زمانی که این نوع ورزش با خشکی مقایسه می‌شود می‌تواند حمایت از سیستم ایمنی و عصب را افزایش دهد (۲۱-۲۲). از طرف دیگر، این موضوع خوب مشاهده شده که پاسخ‌های فیزیولوژیکی به سازگاری‌های بلندمدت ایمنی به ورزش، وابسته به نوع و دوزهای تمرین است (۲۳-۲۴). اگرچه تمرین در آب برای افراد سالمند توصیه شده است ولی مطالعات انجام‌شده در این محیط روی سیستم ایمنی اندک هستند. برای نمونه، ژئی^۱ و همکاران (۲۰۱۹) گزارش دادند تمرینات شنا با شدت بالا (همراه با وزنه معادل ۴ درصد وزن بدن موش) نسبت به تمرینات با شدت متوسط (بدون وزنه) که به مدت ۵۰ دقیقه، ۵ روز در هفته برای ۶ هفته انجام شود، موجب کاهش شاخص‌های التهابی و افزایش شاخص‌های ضدالتهابی در موش‌های مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس می‌شود، اما هر دو شدت بر شاخص‌های $CD4+$ و $CD8+$ لنفوسیت‌های T تفاوت معناداری نداشتند. این مطالعه پیشنهاد می‌کند که با تغییر شدت و مدت فعالیت بدنی همراه با بار فزاینده طی دوره تمرین، بهتر می‌توان فراوانی زیرمجموعه لنفوسیت $CD4+$ و $CD8+$ را در اندام‌های لنفاوی تعدیل کرد (۲۵). منگوتلو-کوتینیو^۲ و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای گزارش دادند تمرینات شنا با وزنه‌ای معادل ۲ درصد وزن بدن که ۵ روز در هفته به مدت ۶ هفته و هر جلسه یک ساعت اجرا شده بود، میزان تکثیر لنفوسیتی در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل را کاهش داد (۲۶). با توجه به مطالعه ژئی و همکاران (۲۰۱۹) مدت زمان طولانی تمرین ممکن است اثرات مطلوبی روی سیستم ایمنی ایجاد نکند (۲۵). مارگادو^۳ و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند پس از یک جلسه شنای فزاینده (۷ تکرار ۲۰۰ متر) در مردان جوان، مقادیر لکوسیت، مجموع لنفوسیت، $CD4+$ ، $CD8+$ و $CD3+$ افزایش و نسبت $CD4+/CD8+$ کاهش یافته بود. دلیل کاهش نسبت بین این دو مارکر را افزایش بیان $CD8+$ به واسطه افزایش NK پس از یک تمرین حاد فزاینده عنوان کردند (۲۷).

¹ Xie

² Meneguello - Coutinho

³ Morfado

طول به دو قسمت (ابعاد ۲۵ در ۱۰۰ سانتی‌متر) تقسیم شد تا هر رت در لاین جداگانه و به صورت انفرادی شنا کند (شکل ۱). گروه کنترل در طول دوره تمرین (۴ جلسه در هفته) به مدت ۳۰ دقیقه در ظرفی که به عمق ۵ سانتی‌متر آب با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد داشت وارد شده تا از لحاظ شرایط استرس فیزیولوژیکی با گروه‌های دیگر تفاوتی نداشته باشند (۳۳).

مدت ۵ دقیقه در آب با ارتفاع ۱۰۰ درصد طول بدن بدون وزنه شنا کرد. در روز دوم و سوم ۱۰ دقیقه شنا با ارتفاع آب معادل ۱۲۰ درصد و در روزهای چهارم و پنجم ۱۵ دقیقه شنا با ارتفاع آب معادل ۱۴۰ درصد طول بدن اجرا شد و این ارتفاع در طول دوره تمرینی ثابت ماند (۳۲). سپس در هفته‌های بعدی طبق جدول ۱ برنامه تمرین توسط رت‌ها انجام شد (۲۵). در تمرین استقامتی ظرف از



شکل ۱. شماتیک تمرین استقامتی

جدول ۱. پروتکل تمرین استقامتی

هفته‌های سازگاری (به مدت ۱ هفته)	
شنا به مدت ۱۰ دقیقه با ارتفاع آب ۱۰۰ درصد طول بدن رت	جلسه ۱
شنا به مدت ۱۵ دقیقه با ارتفاع آب ۱۲۰ درصد طول بدن رت	جلسات ۲ و ۳
شنا به مدت ۲۰ دقیقه با ارتفاع آب ۱۴۰ درصد طول بدن رت	جلسات ۴ و ۵
مدت زمان تمرین	هفته
شنا تداومی به مدت ۳۰ دقیقه	۱
شنا تداومی به مدت ۳۰ دقیقه	۲
شنا تداومی به مدت ۳۵ دقیقه	۳
شنا تداومی به مدت ۳۵ دقیقه	۴
شنا تداومی به مدت ۴۰ دقیقه	۵
شنا تداومی به مدت ۴۰ دقیقه	۶
شنا تداومی به مدت ۴۵ دقیقه	۷
شنا تداومی به مدت ۴۵ دقیقه	۸
شنا تداومی به مدت ۵۰ دقیقه	۹
شنا تداومی به مدت ۵۰ دقیقه	۱۰

اندازه‌گیری و وزن

وزن موش‌ها به همراه وزن تیموس پس از جداسازی با ترازوی مدل FX30001 (ساخت ژاپن) با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری CD مارکرها

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، حیوانات با ماده کلروفوم بی‌هوش شده و سپس مورد تشریح قرار گرفتند. پس از جداکردن بافت طحال از حیوان در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شد. سپس با استفاده از آنتی‌بادی‌های اولیه شرکت Biorbyt (کشور انگلستان)، شاخص‌های CD4 (orb378206) و CD8 (orb4830)، CD28 (orb323288)، CD57 (orb385450) در ۱۰۰ میکرومتر (mμ) بافت طحال مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای بررسی لنفوسیت‌های T بکر و حافظه از بیان و عدم بیان دو مارکر CD57 و CD28 در شاخص‌های CD4+ و CD8+ استفاده شد. CD8+، CD57-، CD28+، لنفوسیت T بکر، CD28+، CD57+ لنفوسیت بکر سالخورده ارزیابی شدند.

ایمونوهیستوشیمی

نمونه‌ها توسط دستگاه میکروتوم به ضخامت ۵ میکرومتر برش و بر روی لام سیلانه شده قرار داده شدند. لام‌ها را در محلول (TBS 1X (T5912-Sigma) در داخل ماکروفر قرار داده، پس از رسیدن به نقطه جوش ماکروفر را خاموش کرده و ۲۰ دقیقه نمونه‌ها در محلول باقی می‌مانند. نمونه با (P4417- Sigma) PBS در ۳ مرحله و به فاصله ۵ دقیقه شستشو داده شدند. سپس تریتون ۰/۳ درصد به مدت ۳۰ دقیقه به منظور نفوذپذیرکردن غشای سلول‌ها به نمونه‌ها اضافه شد. نمونه‌ها با PBS شستشو داده شدند و سرم بز ۱۰ درصد برای مدت ۴۵ دقیقه به منظور بلوک‌کردن واکنش آنتی‌بادی ثانویه به نمونه‌ها اضافه شد. آنتی‌بادی اولیه رقیق شده (۱ به ۱۰۰) با PBS را روی نمونه‌ها ریخته و بعد از ایجاد یک محیط مرطوب برای جلوگیری از خشک‌شدن بافت به مدت ۲۴ ساعت

درون یخچال با دمای ۲ تا ۸ درجه قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت ظرف حاوی بافت از یخچال خارج و ۴ بار و هر بار به مدت ۵ دقیقه با PBS شستشو داده شدند. سپس آنتی‌بادی ثانویه با رقت ۱ به ۱۵۰ اضافه و در انکوباتور ۳۷ درجه (مدل AriaTeb) به مدت ۱ ساعت و ۳۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شد.

نمونه از انکوباتور به اتاق تاریک منتقل و بعد از ۳ بار شستشو، به آنها (DAPI D9542- Sigma) اضافه شد و پس از ۲۰ دقیقه نمونه با PBS شستشو داده شد. محلول گلیسرول و PBS را روی نمونه ریخته و لامل را به منظور عکس‌برداری فلورسنت با میکروسکوپ Olympus برای تأیید مارکرها قرار داده شد.

روش آماری

طبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلیک و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون برآورد شد. بر اساس نتایج این آزمون‌ها، متغیرها پیش‌فرض‌های لازم برای آزمون پارامتریک را داشتند. بدین ترتیب، داده‌ها با روش آماری T مستقل در سطح $P \leq 0/05$ با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۲ آنالیز شدند.

یافته‌ها

با توجه به جدول ۲، نتایج مطالعه نشان داد آتروفی تیموس در گروه تمرین نسبت به کنترل تفاوت معناداری نداشت ($P=0/43$). همچنین، برای نسبت ($CD4+/CD8+$) با وجود بیشتربودن در گروه تمرین، تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P=0/29$). گروه تمرین استقامتی موجب افزایش معنادار در شاخص‌های $CD4+$ ، $CD8+$ و $CD8+$ بکر ($CD8+, CD28+, CD57-$) نسبت به گروه کنترل شد ($P=0/01$). دیگر نتایج نشان داد، در گروه تمرین شاخص‌های سال‌خوردگی لنفوسیت $TCD57+$ ، $TCD8+$ سال‌خورده ($CD8+, CD57+$)، $TCD8+$ بکر سال‌خورده ($CD8+, CD28+, CD57+$) کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل داشتند ($P=0/01$).

جدول ۲. بررسی زیرمجموعه لنفوسیت T بین دو گروه استقامتی و کنترل با آزمون T مستقل

P	تمرین استقامتی		متغیرها
	کنترل	تمرین استقامتی	
	mean ± SD	mean ± SD	
۰/۴۳	۰/۰۹ ± ۰/۰۲	۰/۱۰ ± ۰/۰۳	وزن تیموس (گرم)
۰/۰۱	۱۲/۸۷ ± ۱/۸۳	۲۲/۰۲ ± ۳/۰۷	TCD4+ (درصد)
۰/۰۱	۶/۷۴ ± ۰/۸۸	۱۳/۱۶ ± ۲/۳۱	TCD8+ (درصد)
۰/۲۹	۱/۸۵ ± ۰/۲۰	۱/۶۸ ± ۰/۳۱	CD4+/CD8+ (درصد)
۰/۰۱	۲۸/۳۰ ± ۱/۱۰	۴۲/۲۱ ± ۴/۵۷	CD8+CD28+CD57- (بکر) (درصد)
۰/۰۱	۲۰/۷۹ ± ۰/۷۴	۱۴/۹۸ ± ۱/۹۷	CD8+ CD57+ (سال‌خورده) (درصد)
۰/۰۱	۲۲/۰۹ ± ۱/۱۳	۱۸/۲۳ ± ۱/۹۵	CD8+CD28+CD57+ (بکر سال‌خورده) (درصد)

بحث

دو شاخص تفاوت معناداری نداشت. در شاخص لنفوسیت TCD8+ بکر، گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار داشت. همچنین در شاخص‌های مربوط به سال‌خوردگی لنفوسیت T نیز گروه تمرین استقامتی کاهش معناداری را نسبت به گروه کنترل نشان داد.

در زمینه تغییرات وزن تیموس، نتایج مطالعه حاضر افزایش اندک با تمرینات استقامتی در آب نسبت به گروه کنترل را نشان داد ولی از لحاظ آماری این تغییر معنادار نبود. نتایج مطالعه حاضر با نتایج منگوللو-کوتینیو و همکاران (۲۰۱۴) و وودز و همکاران (۲۰۰۳) همسو است (۲۶-۱۷). هر دوی این مطالعات گزارش دادند تمرینات استقامتی تغییری در وزن تیموس ایجاد نکردند. البته این نکته یادآوری می‌شود که در مطالعه وودز و همکاران نیز افزایشی در گروه تمرین در موش‌های سالمند مشاهده شد ولی معنادار نبود. با افزایش سن، ساختار بافت تیموس از بین می‌رود. در رت‌های مسن، کورتکس تیموس نازک‌تر می‌شود، مرز بین پوست و مدولا مشخص نیست و نسبت پوست به مدولا، تعداد سلول‌های کورتیکال^۱ و حجم سلول‌ها کاهش معناداری می‌یابد. همچنین به هم‌ریختن آرایش و چیدمان سلولی، کمتر دیده شدن حاشیه سلول‌ها، افزایش آپوپتوز

اگرچه دلایل احتمالی سال‌خوردگی سیستم ایمنی ممکن است چندعاملی باشد، اما یک مجموعه لنفوسیت‌های بکر محدودشده همراه با تجمع سلول‌های T سال‌خورده و انحلال تیموس از عوامل اصلی ایجادکننده این پدیده هستند که منجر به افزایش حساسیت افراد مسن به مرگ و میر می‌شود. در واقع، شواهد بالینی نشان می‌دهد که توانایی ایجاد پاسخ‌های ایمنی اولیه در برابر آنتی‌ژن‌های جدید با افزایش سن به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد، در نتیجه باعث کاهش پاسخ به واکسن‌ها و افزایش آسیب‌پذیری افراد مسن در برابر بیماری‌های عفونی می‌شود (۴). طبق ادبیات تحقیق موجود به نظر می‌رسد تمرین طولانی‌مدت می‌تواند به‌عنوان یک روش مداخله‌ای ایمن برای جلوگیری از التهاب درجه پایین مزمن، سال‌خوردگی سیستم ایمنی و بهبود اثربخشی واکسیناسیون آنفولانزا در افراد سال‌خورده بدون عوارض جانبی در نظر گرفته شود (۱۱-۱۲). نتایج مطالعه حاضر که با هدف بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر لنفوسیت‌های T انجام شد، عدم تفاوت معنادار در شاخص وزن تیموس بین دو گروه تمرین استقامتی و کنترل را نشان داد. نتایج مربوط به زیرمجموعه لنفوسیت T نشان داد شاخص‌های CD4+ و CD8+ در گروه تمرین بالاتر از گروه کنترل است ولی نسبت بین این

¹ cortical

مارگادو و همکاران ناهمسو است (۲۷-۳۵). علت تفاوت در نتایج احتمالاً به دلیل جنسیت، سن، تغذیه، نوع آزمودنی، نوع و میزان فعالیت ورزشی و محیط تمرین باشد (۳۸). در مجموع، ویژگی‌های شدت و حجم کافی تمرین باعث افزایش بیان اینترلوکین ۲ می‌شود که در تکثیر لنفوسیت‌های T و افزایش فعالیت سیتوتوکسیک سلول‌های کشته طبیعی (NK) و مرگ سلول‌های آلوده به ویروس ضروری است. علاوه بر این، اثرات ترکیبی کاهش درصد چربی و سازگاری قلبی عروقی با ورزش ممکن است، به‌طور غیرمستقیم پاسخ ایمنی را با افزایش گردش سلول‌های ایمنی بین بافت‌های لنفاوی و اندام‌های محیطی، کاهش تولید هورمون‌های مرتبط با استرس، که با سرکوب سیستم ایمنی مرتبط هستند، تقویت کند و پیام‌رسانی لنفوسیت T را بهبود بخشد (۳۹).

در شاخص‌های لنفوسیت T بکر، نتایج مطالعه حاضر نشان داد لنفوسیت TCD8+ بکر بعد از ۱۰ هفته تمرین استقامتی افزایش معناداری داشت. این نتایج با نتایج بارتلت و همکاران (۲۰۲۰)، وودز و همکاران (۲۰۰۳) و فیلیپ و همکاران همسو است (۳۷-۱۷). طبق ادبیات تحقیق ۸ هفته تمرین و بیشتر می‌تواند سازگاری‌های تمرینی قابل توجهی را در آزمودنی‌ها تحریک کند. در سوی دیگر، با توجه به اصول هیدرودینامیکی که بر تمرینات مبتنی بر آب تأثیر می‌گذارد، نیروی کشش^۳ می‌تواند برجسته‌تر باشد، و باعث ایجاد اضافه‌بار در چندین جهت در برابر انواع حرکات در یک جلسه تمرین در آب شود (۴۰). همچنین مؤلفه دیگر دمای محیط است که طبق مشاهدات می‌تواند تأثیر معناداری بر سیستم ایمنی افراد بگذارد (۴۱). اینترلوکین ۷- سیگنال‌های بقا و تکثیر برای مهاجرت سلول‌های T بکر از تیموس فراهم می‌کند. همچنین کاهش اینترلوکین ۱۵- در رت‌ها منجر به کاهش سلول‌های TCD8+ می‌شود. این دو سایتوکاین برای حفظ سلول‌های

سلولی و تشکیل چربی و فیبروز بینابینی نیز رخ می‌دهد (۳۴). احتمالاً تمرینات استقامتی تحریک لازم برای جلوگیری این تغییرات را ایجاد نمی‌کند. در مجموع، به دلیل اندک‌بودن بررسی‌ها و نتیجه‌گیری بهتر، مطالعاتی برای تشخیص تأثیر انواع تمرینات ورزشی بر آتروفی تیموس در آینده مورد نیاز است.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد تمرین استقامتی هر دو شاخص CD4+ و CD8+ را افزایش داد. همسو با نتایج این پژوهش، پری^۱ و همکاران (۲۰۱۱) افزایش در این دو شاخص را در افراد سالمند بعد از تمرین هوازی مشاهده کردند (۳۵). در مقابل ژری و همکاران (۲۰۱۹) نتایج ناهمسو را گزارش دادند (۲۵). علت تناقض احتمالاً ناشی از تفاوت نوع آزمودنی‌هاست. در مطالعه ژری و همکاران آزمودنی‌ها انسان و دارای بیماری مالتیپل اسکلروزیس بودند، در حالی که در مطالعه حاضر رت‌های سالمند سالم بررسی شدند. مصرف اکسیژن در طول ورزش تا ۱۰ برابر افزایش می‌یابد و بنابراین تعداد رادیکال‌های آزاد به دنبال این تغییر به‌طور چشمگیری زیاد می‌شوند. در مجموع، سیستم ایمنی توانایی بیشتری برای مبارزه با رادیکال‌های آزاد مضر موجود در خون، تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون به دست می‌آورد. این فرایند منجر به تنظیم عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پاسخ ایمنی سلولی و افزایش تعداد سلول‌های CD4 و CD8 می‌شود (۳۶).

کاهش نسبت CD4+/CD8+ معمولاً با افزایش سن توصیف می‌شود و بنابراین به‌عنوان یک نشانه پذیرفته‌شده ایمنی در نظر گرفته می‌شود. این همچنین برای بیماری‌های مزمن مرتبط با التهاب سیستمیک با درجه پایین قابل استفاده است. در مطالعه حاضر نسبت CD4+/CD8+ در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل اختلاف معناداری نداشت. نتایج این مطالعه با نتایج بارتلت^۲ و همکاران (۲۰۲۰) همسو (۳۷) و با نتایج پری و همکاران (۲۰۱۱) و

¹ Peeri² Bartlett³ drag force

سلول‌های TCD8+ بکر نیز ارتباط دارد. پیشنهاد شده که کاهش فزاینده بیان miR-92a ممکن است با کاهش فزاینده سلول‌های T بکر در نتیجه قرارگرفتن در معرض تحریکات مکرر ایجاد شود (۴۸). ژانگ^۳ و همکاران (۲۰۱۷) گزارش دادند فعالیت ورزشی موجب بهبود در بیان ژن miR-92a در افراد سالمند (۶۹ سال) شده است (۴۹)؛ بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت احتمالاً بهبود این ژن با فعالیت ورزشی استقامتی در کنار افزایش طول تلومر می‌تواند سالخوردگی سیستم ایمنی را بهبود بخشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد ۱۰ هفته تمرین استقامتی در آب تأثیر معناداری بر برخی از زیررده‌های لنفوسیت T گذاشت که در سالمندی دچار تغییرات اساسی می‌شوند و زندگی یک شخص سالمند را تحت تأثیر قرار می‌دهند. احتمال دارد با اجرای تمرینات استقامتی در آب که یک محیط ایمن برای انسان نیز هست بتوان علاوه بر آثار مثبت اسکلتی-عضلانی سیستم ایمنی را نیز تقویت کرد تا مقاومت بیشتری در برابر بیماری‌های مختلف و احتمالاً اثربخشی بیشتر تزریق واکسن‌ها را مشاهده کرد.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله استخراج‌شده از رساله دکتری نویسنده اول در دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری است.

تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

T حیاتی هستند که تمرینات استقامتی منجر به افزایش ترشح این دو ماده می‌شود (۱۸).

مشخصه قابل توجه سالخوردگی سلول T، کاهش توانایی تکثیر آن است، که ارتباط نزدیکی با بیان CD57 در سطح سلول T (۴۲)، کوتاه‌شدن طول تلومر و کاهش فعالیت تلومراز دارد (۴۳). سلول‌های TCD57+ در مقایسه با سلول‌های T-CD57+CD28 پس از تحریک با آنتی‌ژن در شرایط *in vitro* نمی‌توانند تکثیر یابند و نسبت به آپوپتوز ناشی از فعال‌سازی^۱ حساسیت بالایی دارند (۴۴). سیلوا و همکاران (۲۰۱۶) گزارش دادند سالمندان ۶۵ تا ۸۵ سال که فعالیت بدنی منظم داشتند، از افزایش طول تلومر در TCD8+ برخوردار بودند (۴۵). این افزایش در طول تلومر مکانیزمی است که از سالخوردگی لنفوسیت‌های T جلوگیری می‌کند. در همین راستا، نتایج مطالعه حاضر نشان داد ۱۰ هفته تمرین استقامتی در آب موجب کاهش معنادار در شاخص‌های مربوط به TCD8+ (CD8+,CD57) سالخورده، بکر سالخورده TCD8+ (CD8+,CD28+,CD57+) شد. سالمندی با کاهش لنفوسیت‌های T بکر و افزایش تجمع سلول‌های سالخورده مشخص می‌شود که بیشترین تأثیر مربوط به TCD8+ به وجود می‌آید (۴۶). نتایج مطالعه با نتایج مطالعه کاسگرو^۲ و همکاران (۲۰۱۲) ناهمسو است (۴۷). علت تناقض در نتایج احتمالاً به دلیل تفاوت در محیط اجرای تمرین، نوع آزمودنی‌ها و سن آنهاست. محیط تمرینی مطالعه حاضر در آب است که با توجه به خواص آب مثل نیروی کشش، نیروی هموستاتیک، اسمولاریته و دمای آب می‌تواند اثرات متفاوتی روی بدن نسبت به تمرین خشکی بگذارد (۴۰). یکی دیگر از علل سالخوردگی سیستم ایمنی آشفتگی در تنظیم میکرو RNA سلول‌های لنفوسیت T است. به‌طور مثال، بیان miR-92a به‌طور معناداری در سلول‌های CD8+ طی سالمندی کاهش می‌یابد، و همچنین این میکرو RNA با کاهش تعداد

¹ activation induced apoptosis

² Cosfrove

³ Zhang

منابع

1. Witkowski JM, Fulop T, Bryl E. Immunosenescence and COVID-19. Mechanisms of Ageing and Development. 2022; 204:111672.
2. Saule P, Trauet J, Dutriez V, Lekeux V, Dessaint JP, Labalette M. Accumulation of memory T cells from childhood to old age: central and effector memory cells in CD4+ versus effector memory and terminally differentiated memory cells in CD8+ compartment. Mechanisms of ageing and development. 2006; 127(3):274-81.
3. Palmer DB. The effect of age on thymic function. Frontiers in immunology. 2013; 4:316.
4. Cao Dinh H, Njemini R, Onyema OO, Beyer I, Liberman K, De Dobbeleer L, Renmans W, Vander Meeren S, Jochmans K, Delaere A, Knoop V. Strength endurance training but not intensive strength training reduces senescence-prone T cells in peripheral blood in community-dwelling elderly women. The Journals of Gerontology: Series A. 2019; 74(12):1870-8.
5. Van Deursen JM. The role of senescent cells in ageing. Nature. 2014; 509(7501):439-46.
6. Yuan J, Liu Y, Wang J, Zhao Y, Li K, Jing Y, Zhang X, Liu Q, Geng X, Li G, Wang F. Long-term persistent organic pollutants exposure induced telomere dysfunction and senescence-associated secretory phenotype. The Journals of Gerontology: Series A. 2018; 73(8):1027-35.
7. Davalos AR, Coppe JP, Campisi J, Desprez PY. Senescent cells as a source of inflammatory factors for tumor progression. Cancer and Metastasis Reviews. 2010 Jun; 29(2):273-83.
8. Estruel-Amades S, Ruiz-Iglesias P, Pérez M, Franch À, Pérez-Cano FJ, Camps-Bossacoma M, Castell M. Changes in lymphocyte composition and functionality after intensive training and exhausting exercise in rats. Frontiers in Physiology. 2019; 10:1491.
9. Akunuru S, Geiger H. Aging, clonality, and rejuvenation of hematopoietic stem cells. Trends in molecular medicine. 2016; 22(8):701-12.
10. Spica VR, Macini P, Galeone D, Liguori G, Signorelli C, Marensi L, Vagali P, Guberti E, Goletti M, Mammaia C, Tabacchi G. Adapted physical activity for the promotion of health and the prevention of multifactorial chronic diseases: the Erice Charter.
11. Valdiglesias V, Sánchez-Flores M, Maseda A, Lorenzo-López L, Marcos-Pérez D, López-Cortón A, Strasser B, Fuchs D, Laffon B, Millán-Calenti JC, Pásaro E. Immune biomarkers in older adults: Role of physical activity. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A. 2017; 80(13-15):605-20.
12. De Araújo AL, Silva LC, Fernandes JR, Benard G. Preventing or reversing immunosenescence: can exercise be an immunotherapy? Immunotherapy. 2013; 5(8):879-93.
13. Merellano-Navarro E, Olate-Briones A, Norambuena-Mardones L, Rojas-Ramos V, de la Plata-Luna AM, Faúndez-Acuña JY, Moraga JC, Escobedo N, Herrada AA. Reduced Naïve T Cell Numbers Correlate with Increased Low-Grade Systemic Inflammation during Ageing and can be modulated by Physical Activity. International Journal of Morphology. 2021; 39(3).
14. Alves AS, Bueno V. Imunosenescência: participação de linfócitos T e células mieloides supressoras nas alterações da resposta imune relacionadas ao envelhecimento. Einstein (São Paulo). 2019; 17.
15. Drela N, Kozdron E, Szczypiorski P. Moderate exercise may attenuate some aspects of immunosenescence. BMC geriatrics. 2004; 4(1):1-7.
16. Sellami M, Bragazzi NL, Aboghaba B, Elrayess MA. The impact of acute and chronic exercise on immunoglobulins and cytokines in elderly: insights from a critical review of the literature. Frontiers in Immunology. 2021; 12:631873.
17. Woods JA, Ceddia MA, Zack MD, Lowder TW, Lu Q. Exercise training increases the naïve to memory T cell ratio in old mice. Brain, behavior, and immunity. 2003; 17(5):384-92.
18. Gustafson MP, Wheatley-Guy CM, Rosenthal AC, Gastineau DA, Katsanis E, Johnson BD, Simpson RJ. Exercise and the immune system: Taking steps to improve responses to cancer immunotherapy. Journal for ImmunoTherapy of Cancer. 2021; 9(7).
19. Almeida PW, Gomes-Filho A, Ferreira AJ, Rodrigues CE, Dias-Peixoto MF, Russo RC, Teixeira MM, Cassali GD, Ferreira E, Santos IC, Garcia AM. Swim training suppresses tumor growth in mice. Journal of applied physiology. 2009; 107(1):261-5.
20. Bernardes D, Oliveira-Lima OC, da Silva TV, Faraco CC, Leite HR, Juliano MA, dos Santos DM, Bethea JR, Brambilla R, Orian JM, Arantes RM. Differential brain and spinal cord cytokine and BDNF levels in experimental autoimmune encephalomyelitis are modulated by prior and regular exercise. Journal of neuroimmunology. 2013; 264(1-2):24-34.
21. Deforges S, Branchu J, Biondi O, Grondard C, Pariset C, Lécolle S, Lopes P, Vidal PP, Chanoine C, Charbonnier F. Motoneuron survival is promoted by specific exercise in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. The Journal of physiology. 2009; 587(14):3561-72.
22. Goes AT, Souza LC, Del Fabbro L, De

- Gomes MG, Boeira SP, Jesse CR. Neuroprotective effects of swimming training in a mouse model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine. *Neuroscience*. 2014; 256:61-71.
23. Campbell JP, Turner JE. Debunking the myth of exercise-induced immune suppression: redefining the impact of exercise on immunological health across the lifespan. *Frontiers in immunology*. 2018:648.
 24. Kakanis M, Peake J, Hooper S, Gray B, Marshall-Gradisnik S. The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes. *Journal of Science and Medicine in Sport*. 2010 ; 13:e85-6.
 25. Xie Y, Li Z, Wang Y, Xue X, Ma W, Zhang Y, Wang J. Effects of moderate-versus high-intensity swimming training on inflammatory and CD4+ T cell subset profiles in experimental autoimmune encephalomyelitis mice. *Journal of neuroimmunology*. 2019; 328:60-7.
 26. Meneguello-Coutinho M, Caperuto E, Bacurau AV, Chamusca G, Uchida MC, Tibana RA, Pereira GB, Nalva JW, Wasinski F, Cavaglieri CR, Prestes J. Effects of dietary restriction or swimming on lymphocytes and macrophages functionality from old rats. *Immunological investigations*. 2014; 43(2):113-22.
 27. Morgado JP, Monteiro CP, Matias CN, Reis JF, Teles J, Laires MJ, Alves F. Long-term swimming training modifies acute immune cell response to a high-intensity session. *European Journal of Applied Physiology*. 2018; 118(3):573-83.
 28. Morgado JP, Matias CN, Reis JF, Curto D, Alves FB, Monteiro CP. The cellular composition of the innate and adaptive immune system is changed in blood in response to long-term swimming training. *Frontiers in Physiology*. 2020; 11:471.
 29. Kwon D, Hwang K, Kim Y, Lee K, Kang H, Song Y. Effects of swimming training on immune function of growing rats fed a high-fat diet. *Journal of the Human-Environment System*. 2005; 8(1):13-8.
 30. Park CH, Bae HY, Cheon JU. Effects of 24-week swimming program on the health related physical fitness, stress hormones and immune functions in adults with intellectual disabilities. *Journal of the Korean Applied Science and Technology*. 2020; 37(3):551-63.
 31. Kapilevich LV, Kironenko TA, Zakharova AN, Kabachkova AV, Orlov SN. Level of interleukins IL-6 and IL-15 in blood plasma of mice after forced swimming test. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2017; 163(1):10-3.
 32. Silva RT, Castro PV, Coutinho MP, Brito AC, Bezerra MA, Moraes SR. Resistance jump training may reverse the weakened biomechanical behavior of tendons of diabetic Wistar rats. *Fisioterapia e Pesquisa*. 2017; 24:399-405.
 33. Altarifi AA, Kalha Z, Kana'An SF, Alfaqih MA, Alsalem MI. Effects of combined swimming exercise and non steroidal anti inflammatory drugs on inflammatory nociception in rats. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2019; 17(5):4303-11.
 34. Chen, H. Y., Kong, Y. H., & Cai, Z. M. (2005). A study on the morphologic changes of rat thymus with increasing age. *Journal Medicine Theory Practical*, 18(12), 1379-1382.
 35. Peeri, M., Azarbayjani, M., Akbarpour, M., & Ebrahimi, M. (2011). The effect of aerobic training on the immune system of aging men. *Annals of Biological Research*, 2(5), 299-304.
 36. Abd El-Kader SM, Al-Shreef FM. Inflammatory cytokines and immune system modulation by aerobic versus resisted exercise training for elderly. *African health sciences*. 2018; 18(1):120-31.
 37. Bartlett DB, Duggal NA. Moderate physical activity associated with a higher naïve/memory T-cell ratio in healthy old individuals: potential role of IL15. *Age and ageing*. 2020; 49(3):368-73.
 38. Tylutka A, Morawin B, Gramacki A, Zembron-Lacny A. Lifestyle exercise attenuates immunosenescence; flow cytometry analysis. *BMC geriatrics*. 2021 21(1):1-3.
 39. de Brito-Neto JG, de Andrade MF, de Almeida VD, Paiva DC, de Moraes NM, Bezerra CM, Fernandes JV, Nascimento EG, Fonseca IA, de Medeiros Fernandes TA. Strength training improves body composition, muscle strength and increases CD4+ T lymphocyte levels in people living with HIV/AIDS. *Infectious disease reports*. 2019 23; 11(1):7925.
 40. Alberton CL, Nunes GN, Rau DG, Bergamin M, Cavalli AS, Pinto SS. Vertical ground reaction force during a water-based exercise performed by elderly women: Equipment use effects. *Research quarterly for exercise and sport*. 2019; 90(4):479-86.
 41. Lee B, Kim G, Jo Y, Lee B, Shin YI, Hong C. Aquatic exercise at thermoneutral water temperature enhances antitumor immune responses. *Immune network*. 2019 Apr 16; 19(2).
 42. Nguyen V, Mendelsohn A, Larrick JW. Interleukin-7 and immunosenescence. *Journal of immunology research*. 2017; 2017.
 43. Pera A, Campos C, López N, Hassouneh F, Alonso C, Tarazona R, Solana R. Immunosenescence: implications for response to infection and vaccination in older people. *Maturitas*. 2015; 82(1):50-5.
 44. Yu Y, Zheng S. Research progress on immune aging and its mechanisms affecting geriatric diseases. *Aging Medicine*. 2019; 2(4):216-22.
 45. Silva LC, de Araújo AL, Fernandes JR, Matias MD, Silva PR, Duarte AJ, Garcez Leme LE, Benard G. Moderate and intense exercise lifestyles attenuate the effects of



- aging on telomere length and the survival and composition of T cell subpopulations. *Age*. 2016; 38(1):1-6.
46. Fletcher JM, Vukmanovic-Stejić M, Dunne PJ, Birch KE, Cook JE, Jackson SE, Salmon M, Rustin MH, Akbar AN. Cytomegalovirus-specific CD4⁺ T cells in healthy carriers are continuously driven to replicative exhaustion. *The Journal of Immunology*. 2005; 175(12):8218-25.
47. Cosgrove C, Galloway SD, Neal C, Hunter AM, McFarlin BK, Spielmann G, Simpson RJ. The impact of 6-month training preparation for an Ironman triathlon on the proportions of naive, memory and senescent T cells in resting blood. *European journal of applied physiology*. 2012; 112:2989-98.
48. Ohyashiki K, Umezu T, Yoshizawa SI, Ito Y, Ohyashiki M, Kawashima H, Tanaka M, Kuroda M, Ohyashiki JH. Clinical impact of down-regulated plasma miR-92a levels in non-Hodgkin's lymphoma. *PloS one*. 2011; 6(2):e16408.
49. Zhang T, Brinkley TE, Liu K, Feng X, Marsh AP, Kritchevsky S, Zhou X, Nicklas BJ. Circulating MiRNAs as biomarkers of gait speed responses to aerobic exercise training in obese older adults. *Aging (Albany NY)*. 2017; 9(3):900.

