

长期高温预处理对力竭运动后 T 淋巴细胞亚群的影响

陈小琼, 肖国强

(华南师范大学 民族体质与健康研究中心, 广东 广州 510006)

摘要: 为研究长期高温预处理对 T 淋巴细胞亚群数量变化的影响, 以探讨长期高温预处理能否对机体免疫机能产生影响。实验方法: 10 名男性受试者在一个月的高温预处理(环境温度 46℃, 相对湿度 90%)前后采用 Bruce 方法进行力竭运动, 并采集安静时、运动后即刻、运动后 1 h、运动后 24 h 肘静脉血, 测试 T 淋巴细胞亚群数量。实验结果: 经过长期高温预处理, 安静时 CD4⁺ 增高且差异具有显著性($P < 0.05$), CD3⁺、CD8⁺增高且差异具有非常显著性($P < 0.01$)。运动后即刻 CD3⁺、CD4⁺差异没有显著性($P > 0.05$), CD8⁺增高且差异具有显著性($P < 0.05$)。CD4⁺/CD8⁺值变化规律相同, 差异没有显著性($P > 0.05$)。运动后 24 h 各指标差异均没有显著性($P > 0.05$)。结果说明: 经过长期高温预处理安静时机体仍处于免疫稳态, 没有发生免疫功能失常, 提示长期高温预处理对机体免疫有预防保护作用; 运动后即刻至运动后 1 h, 机体免疫抑制情况比高温预处理前轻。

关键词: 运动生理学; 高温预处理; 力竭运动; T 淋巴细胞亚群

中图分类号: G804.7 文献标识码: A 文章编号: 1006-7116(2010)10-0109-04

Effects of long term hyperthermic pretreatment on T-lymphocyte subsets after exhaustive exercising

CHEN Xiao-qiong, XIAO Guo-qiang

(Center for National Physical Fitness and Health, South China Normal University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Purposes: To study the effects of long-term hyperthermic pretreatment on changes of the quantity of T-lymphocyte subsets, and to probe into whether long term hyperthermic pretreatment produces any effects on the immune functions of the human body. Experiment method: 10 male testees did an exhaustive exercise by applying the Bruce method before and after the one-month hyperthermic treatment (ambient temperature: 46°C, relative humidity: 90%); their elbow venous blood was drawn and their quantity of T-lymphocyte subsets was tested in a calm condition, immediately after exercising, 1h after exercising, and 24h after exercising. Experiment results: after long term hyperthermic pretreatment, in a calm condition, CD4⁺ increased and the difference was significant ($P < 0.05$), while CD3⁺ and CD8⁺ increased and the differences were very significant ($P < 0.01$); immediately after exercising, the differences in CD3⁺ and CD4⁺ were not significant ($P > 0.05$), while CD8⁺ increased and the difference was significant ($P < 0.05$); the patterns of changing of CD4⁺ and CD8⁺ values were identical, and the differences were not significant ($P > 0.05$); 24h after exercising, the differences in various indexes were all not significant ($P > 0.05$). Result suggestions: after long term hyperthermic pretreatment, in a calm condition, the human body was still in an immunization stable state, having no immune function disorders, which suggests that long term hyperthermic pretreatment plays a role in preventive protection of immunization of the human body; from immediately after exercising to 1h after exercising, the condition of immunosuppression of the human body was less serious than that before hyperthermic pretreatment.

Key words: sports physiology; hyperthermic pretreatment; exhaustive exercising; T-lymphocyte subsets

20 世纪 70 年代,有报道在大强度运动后或比赛前运动员抵抗力下降,容易感染各种细菌和病毒性疾病,提示了运动训练可能造成机体免疫功能的改变。不同的运动量和运动方式对机体 T 淋巴细胞亚群的影响不同。有报道指出,大鼠经过高温预处理 24 h 之后运动,与对照组比较,耐力明显提高,运动时间显著延长,提示大鼠运动能力得到提高^[1]。但是不同的高温预处理方式、不同的运动方式,使得实验结果不尽相同。关于长期高温预处理对力竭运动后 T 淋巴细胞亚群数量变化的影响的研究很少见报道。因此,本实验通过对 10 名体育系学生,进行 1 个月的高温预处理,研究长期高温预处理对力竭运动后 T 淋巴细胞亚群数量变化的影响。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

参加本实验的受试者是 10 名体育系男生,均为健康男性,平均年龄(20.2 ± 0.8)岁,平均身高(171.25 ± 5.49) cm,无代谢及心肺系统疾病史,均不是热环境驯化者,并自愿参加本实验。实验时间为 11 月中旬至 12 月中旬,受试者采用自身对照的方式进行实验。

1.2 研究方法

1)运动方法:两次力竭运动均在室温约 25℃、相对湿度 65%的条件下使用跑台进行测试,在进行力竭运动前 48 h,要求限制激烈的身体活动。受试者心率在 75 次·min⁻¹左右时,在常温环境下开始进行渐增负荷运动直至力竭。

2)高温预处理方法:高温实验室环境温度为 46℃,相对湿度 90%。受试者在实验期间,要求保持正常饮食。在力竭运动后 3 d 进行首次桑拿高温预处理,以后每隔 3 d 进行高温预处理 1 次,为期 1 个月。桑拿要求坐位姿势持续 60 min,每次桑拿后体重比桑拿前下降 1.5%~2%,并监测直肠温度。在进行高温预处理实验前后,监测受试者裸重和直肠温度。

3)血样采集与测试方法:在力竭运动前安静状态、运动后即刻、运动后 1 h 和运动后 24 h 在肘静脉抽取外周血 2 mL,用 EDTAK2 抗凝,在 6 h 内进行 T 淋巴细胞 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺及 CD4⁺/CD8⁺值变化的测定。采用三色直接标记免疫荧光法测试。

1.3 试剂与仪器

电子称、POLAR 心率遥测表(芬兰)、SensorMedics 2900 型运动心肺和能量测定仪(美国),跑台(意大利 Technogym),美国 Beckman-coulter ELITE 型流式细胞仪,激光波长 488 nm,功率 15 mW。CD3⁺抗体标记 PerCP 荧光素、CD4⁺抗体标记 FITC 荧光素、CD8⁺抗体

标记 PE 荧光素。T 淋巴细胞亚群测定试剂:CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺鼠抗人单克隆抗体测试试剂盒(美国 BD 公司)、荧光微球(美国 Beckman-coulter 公司)。

1.4 统计分析

实验数据用 EXCEL 2003 统计软件包进行统计学处理,采用 paired samples *T* test 统计数据,显著性水平为 $P < 0.05$,非常显著性水平为 $P < 0.01$ 。

2 结果与分析

2.1 长期高温预处理平均直肠温度、平均裸体重和平均脱水百分率变化

高温预处理过程中受试者的直肠温度不断上升,高温预处理后 0.5 h 达到((38.01 ± 0.52) °C),预处理后 1 h 达到((38.43 ± 0.24) °C),与高温预处理前((37.50 ± 0.54) °C)比较,差异具有非常显著性($P < 0.01$);预处理后 1 h 与预处理后 0.5 h 比较,差异也具有非常显著性($P < 0.01$)。受试者在预处理后 1 h 的平均裸体重为(61.19 ± 5.06) kg,平均脱水百分率为(1.67 ± 0.51)%,与预处理前平均裸体重(62.23 ± 5.20) kg 比较,差异具有非常显著性($P < 0.01$)。

2.2 长期高温预处理前后力竭运动 T 淋巴细胞亚群的变化

1)长期高温预处理前力竭运动 T 淋巴细胞亚群的变化。

如表 1 所示,运动后即刻与安静时比较:CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺值均明显下降且差异具有非常显著性($P < 0.01$)。运动后 1 h 与安静时比较:CD3⁺高于安静时,差异具有显著性($P < 0.05$),也高于运动后即刻,差异具有非常显著性($P < 0.01$);CD4⁺急剧回升,高于安静时和运动后即刻,差异具有非常显著性($P < 0.01$);CD8⁺恢复到安静时水平,差异没有显著性($P > 0.05$);CD4⁺/CD8⁺值高于安静时,差异具有非常显著性($P < 0.01$)。运动后 24 h:CD3⁺与运动后 1 h 差异没有显著性($P > 0.05$),但仍高于安静时和运动后即刻;CD4⁺与运动后 1 h 比较有所下降,差异具有显著性($P < 0.05$),与安静时比较差异没有显著性($P > 0.05$);CD8⁺与运动后 1 h 和运动后即刻比较均增加,差异具有显著性($P < 0.05$),与安静时比较差异没有显著性($P > 0.05$);CD4⁺/CD8⁺值与运动后 1 h 比较有所减少,差异具有显著性($P < 0.05$),与安静时比较差异没有显著性($P > 0.05$)。

2)长期高温预处理后力竭运动 T 淋巴细胞亚群的变化。

如表 1 所示,经过长期高温预处理,力竭运动后各时相 T 淋巴细胞亚群的变化规律与预处理前基本相同。预处理后与预处理前相比,安静时的 CD3⁺、CD4⁺、

CD8⁺均增高, CD4⁺差异有显著性($P < 0.05$), 而 CD3⁺、CD8⁺差异具有非常显著性($P < 0.01$)。运动后即刻 CD3⁺、CD4⁺减少幅度差异均没有显著性($P > 0.05$), 而 CD8⁺减

少幅度下降且差异具有显著性($P < 0.05$)。CD4⁺/CD8⁺值变化规律相同, 差异没有显著性($P > 0.05$)。运动后 24 h, 各指标变化幅度差异没有显著性($P > 0.05$)。

表 1 长期高温预处理前后力竭运动 T 淋巴细胞亚群阳性百分率 ($\bar{x} \pm s$) 变化

检测时间	CD3 ⁺		CD4 ⁺		CD8 ⁺		CD4 ⁺ /CD8 ⁺	
	预处理前	预处理后	预处理前	预处理后	预处理前	预处理后	预处理前	预处理后
安静	62.56±	67.72±	31.73±	35.34±	23.89±	26.73±	1.35±	1.35±
	9.36	6.00 ⁸⁾	9.26	6.30 ⁷⁾	3.08	3.21 ⁸⁾	0.41	0.32
后即刻	49.21±	49.43±	19.76±	19.67±	21.94±	22.93±	0.92±	0.87±
	9.69 ²⁾	9.15 ²⁾	5.25 ²⁾	4.38 ²⁾	4.39 ²⁾	3.99 ^{2) 9)}	0.24 ²⁾	0.19 ²⁾
后 1 h	67.46±	67.39±	38.92±	37.99±	23.57±	24.57±	1.70±	1.59±
	7.44 ^{1) 4)}	5.66 ⁴⁾	9.22 ^{2) 4)}	7.21 ^{2) 4)}	5.53 ³⁾	3.44 ^{2) 4)}	0.50 ^{2) 4)}	0.41 ^{2) 4)}
后 24 h	66.48±	67.82±	33.92±	34.75±	26.51±	27.38±	1.33±	1.31±
	6.31 ^{1) 4)}	8.24 ⁴⁾	7.74 ^{4) 5)}	6.92 ^{4) 5)}	4.04 ^{3) 5)}	4.66 ^{4) 5)}	0.42 ^{4) 5)}	0.34 ⁶⁾

与安静时比较: 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$; 与运动后即刻比较: 3) $P < 0.05$, 4) $P < 0.01$; 与运动后 1 h 比较: 5) $P < 0.05$, 6) $P < 0.01$; 与高温预处理前安静时比较: 7) $P < 0.05$, 8) $P < 0.01$; 与高温预处理前运动后即刻比较: 9) $P < 0.05$

3 讨论

本实验在模拟高温条件下, 监测的直肠温度及最大心率均有显著增高, 说明此环境下可使机体处于生理性应激反应状态。长期高温预处理平均脱水百分率为(1.67 ± 0.51)%, 基本达到实验设计的平均脱水 1.5% ~ 2.0% 的要求。

T 淋巴细胞是一种重要的免疫活性细胞, 根据细胞表面的特征分子可以分为 CD4⁺和 CD8⁺两个亚群。T 淋巴细胞均表达 CD3⁺, Th 细胞表面除了表达 CD3⁺外还表达 CD4⁺; Ts 细胞、Tc 细胞表面除了表达 CD3⁺外还表达 CD8⁺。CD4⁺主要是辅助和诱导作用, CD8⁺主要是杀伤和抑制作用。CD4⁺和 CD8⁺功能相异、相互协调, 调节机体的免疫应答反应。CD4⁺/CD8⁺值正常人约为 2, 代表着机体的免疫平衡, 如果比例异常(小于 1 或者大于 2)则会发生免疫功能异常, 机体易感性增加。

运动对 T 淋巴细胞的影响与运动的强度、方式和个人的训练水平有关。丘卫等^[2]将实验对象分成 4 组, 进行 2 周不同强度训练, 结果发现大强度运动训练使 CD4⁺/CD8⁺值显著下降。颜凯等^[3]对优秀短跨项目运动员 4 周大强度训练和比赛跟踪调查, 结果显示长时间大强度运动使 T 淋巴细胞系统功能降低, CD4⁺/CD8⁺值低于正常, CD4⁺显著下降, 而 CD8⁺变化不大。Mooren 等^[4]让受试者以 80%VO_{2max} 在跑台上运动至力竭, 发现 T 淋巴细胞亚群, 尤其是 CD8⁺运动后即刻有所增加, CD4⁺/CD8⁺值降低, 运动后 1 d 恢复正常。本实验的运动后即刻 CD4⁺/CD8⁺值显著下降的结果与丘卫、颜凯、Mooren 等的研究结果相同。但是本实验的运动后即刻 CD8⁺显著下降, 与他们的研究有异, 原因可能是本实验采用的运动方式是一次性力竭运动与他们的不同。

本实验进一步证实了大强度急性运动能使机体处于暂时性的免疫抑制状态。已有很多报道表明, 运动影响 T 淋巴细胞亚群数量。对运动引起的 T 淋巴细胞功能抑制方面的研究, 主要集中在淋巴细胞的增殖能力。Oshida 等^[5]报道以 60%VO_{2max} 进行 2 h 运动后, 运动后即刻淋巴细胞对有丝分裂原的反应, 明显低于运动前、运动后 24 和 72 h。Macheil^[6]报道在不同强度和不同时间的运动组中, 结果运动后 2 h 淋巴细胞对有丝分裂原刀豆素 A(ConA)的应答减弱, 减弱的程度与运动持续时间无关, 而与运动强度增加一致, 运动后 24 h 恢复到运动前水平, 而 ConA 主要是针对 CD4⁺和 CD8⁺发生反应, 所以淋巴细胞增殖转化率下降。

目前, 热刺激和运动单因素刺激 T 淋巴细胞数量变化的研究比较多, 而热刺激和运动双重因素刺激 T 淋巴细胞数量变化的研究也有报道。高温预处理和运动双重因素刺激的研究比较集中在一次高温预处理对机体 HSP70 表达的影响, 而长期高温预处理和力竭运动双重因素对 T 淋巴细胞变化影响的研究在所见到的文献中尚无报道。本实验经过长期高温预处理, 安静时 CD4⁺显著增加, CD3⁺、CD8⁺极显著增加, CD8⁺增幅比 CD4⁺大, CD4⁺/CD8⁺值无显著性差异, 提示安静时机体仍处于免疫稳态, 没有发生免疫功能失常, 但 CD8⁺对高温应激比 CD4⁺敏感, 可能有发生免疫抑制的趋势。力竭运动后即刻, CD8⁺却明显高于高温预处理前, 且有显著性差异, CD4⁺/CD8⁺值有下降趋势但无显著性差异, 而对 CD3⁺、CD4⁺则没有显著影响, 提示长期高温预处理对机体免疫有预防保护作用。CD8⁺数量恢复到正常基线水平的时间相对延长, CD4⁺细胞的恢复时间不变, 提示运动后即刻至运动后 1 h 期间, 机

体免疫抑制情况比高温预处理前(减弱)轻。

Jampel^[7]指出 T 淋巴细胞各亚群对温度变化的反应不尽一致:温度的上升使 CD4⁺淋巴细胞产生大大增加并促进其功能活化,这种 CD4⁺细胞的反应对其它许多免疫反应有明显的促进作用,而温度的变化对 CD8⁺细胞的免疫抑制功能和 T 淋巴细胞抑制因子(TSF)的功效率基本没有影响。邬堂春等^[8]发现飞行员在 2 h 热应激后,CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺值均明显下降,CD8⁺略为升高,发生免疫抑制效应,而本实验长期高温预处理后力竭运动后即刻 CD4⁺/CD8⁺值有所下降,但没有显著性差异,表明长期高温预处理后力竭运动后即刻并没有发生免疫抑制效应。可能是高温诱导 HSP70 表达,说明长期高温预处理对于机体有预防性保护作用。有大量的研究表明显示,高温预处理能诱导机体脑部、海马回、肾脏的热休克蛋白 HSP70 的表达,保护机体或细胞不受或少受伤害,使机体获得更加的耐受性^[9-12]。力竭运动使机体产生大量的代谢热,体温升高。长期高温预处理后力竭运动后免疫抑制情况比高温预处理前轻可能是经过长期高温预处理,机体热耐受增强,减轻了机体对力竭运动产生大量的代谢热的应激,诱导机体产生大量的 HSP70,减少淋巴细胞凋亡。

如何减轻运动性免疫抑制,增强大强度运动后机体免疫功能是亟待解决的重要课题之一,也是体育教学的重要课题之一。本研究结果表明,长期高温预处理可以使机体适应类似急性运动所引起的代谢热应激,减轻因力竭运动引起的免疫抑制情况,长期高温预处理可能是减轻运动性免疫抑制的手段之一。

参考文献:

- [1] 杨锡让,傅浩坚. 运动生理学进展[M]. 北京:北京体育大学出版社,2000:360-361.
- [2] 丘卫,赵君军,冯炜权,等. 补充谷氨酰胺对大强度训练赛艇运动员免疫功能的影响[J]. 解放军体育学院学报,2002,21(2):42-45.
- [3] 颜凯,徐晓阳,邓树勋. 赛前强化训练对短跨项目运动员 T 淋巴细胞和唾液 SIgA 的影响[J]. 体育学刊,2002,9(2):115-117.
- [4] Mooren F C. Alterations in intercellular calcium signaling of lymphocytes after exhaustive exercise[J]. Med Sci Sports Exerc, 2001:33.
- [5] Oshida Y. Effects of acute physical exercise on lymphocyte subpopulations in trained and ontrained subjects[J]. Int J Sports Med, 1988,9(2):137-140.
- [6] Macneil B. Lymphocyte proliferation responses after exercise in men: fitness, intensity and duration effects[J]. J Appl Physiol, 1991,70(1):179-185.
- [7] Jampel, Duff C W, Gerson R K, et al. Fever and immunoregulation[J]. J Exp Med, 1983,157:1229.
- [8] 邬堂春,陈胜,肖成峰,等. 急性热应激对飞行员免疫活性细胞的影响研究[J]. 职业卫生与病伤,1999,14(2):65-67.
- [9] Hung Ching-hsia, Lin Mao-tsun, Liao Jyh-fei, et al. Scopolamine-induced amnesia can be prevented by heat shock pretreatment in rats[J]. Neuroscience Letters, 2004,364:63-66.
- [10] 朱轶. 高温预处理对不同强度急性运动大鼠海马回 HSP70、抗氧化系统及 Ca²⁺-ATP 酶的影响[D]. 广州:华南师范大学,2007.
- [11] 吴明飞. 高温预处理室温下不同强度负荷对肾脏热休克蛋白 70 (HSP70)表达的影响[D]. 广州:华南师范大学,2007.
- [12] 王军力. 热预处理对大鼠急性运动耐受性和热休克蛋白 70 表达的影响[D]. 广州:华南师范大学,2005.