

小白鼠力竭运动后抗感染免疫功能的研究

The Research on Anti-infection Immunity in Rats after Incremental Exercise to Exhaustion

赵树林, 李红

ZHAO Shu-lin, LI Hong



摘要: 用封闭群昆明鼠为实验对象, 研究机体力竭运动后的抗感染能力, 研究结果显示, 力竭运动后, T 细胞转化试验和 LPCA 活性水平降低, 100% 的实验组小鼠被志贺福氏杆菌感染, 50% 的实验组小鼠被志贺福氏杆菌和阿米巴原虫混合感染。

关键词: 免疫功能; 细菌; 力竭运动; 鼠; 动物实验

Abstract: This article studies the anti-infection ability of body after incremental exercise to exhaustion by using the Kunming rats as the subjects. The result shows that T lymphocyte transformation and the level of LPCA activity decrease. 100% of rats are infected by shigelloid flexneri, 50% of rats are infected by both intestinal anebiasis and shigelloid flexneri.

Key words: immunity function; bacteria; exhaustive exercise; rat; animal experiment

中图分类号: G804.32 文献标识码: A

抗感染免疫是指机体免疫系统抵抗病原体感染的一系列防御功能。淋巴细胞是主要的免疫细胞。剧烈而大强度的运动, 会造成机体抗感染免疫功能的降低, 导致细菌的易感性增加, 引起患病^{[1][2]}, 但其发生机制目前还不清楚。为探讨免疫功能降低的机理, 本文采用封闭群昆明小白鼠为研究对象, 通过力竭运动后, 进行 T 细胞转化试验、白细胞促凝血活性测定, 以及机体对细菌的抵抗能力进行分析、判定, 为人体大强度运动后机体抗感染能力的基础研究和实际应用提供有意义的依据^{[3][4]}。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

封闭群昆明小白鼠, 雌雄各 30 只, 体重 18~21 g, 由广东医学院实验动物中心提供。

1.2 仪器、菌种和试剂

仪器: CO₂ 培养箱, 生物显微镜, 细菌计数器, 离心机; 菌种: 大肠杆菌, 志贺氏福氏杆菌, 肺炎链球菌; 试剂: 植物血凝素(PHA), 肝素抗凝剂, Fico11 液, RPM I-1640 培养液等。

1.3 实验方法

雌雄小白鼠混合, 随机分为 3 组, 每组 10 只, 同时设 3 个相应的正常对照组, 每组 10 只。

实验组每天进行 5 h 的游泳训练, 连续 7 天, 对照组不做任何处理, 笼养。实验分为 4 部分: 1) 在力竭游泳训练后的第 4 天, 对实验组和对照组的小白鼠断尾采血, 分别检测其白细胞总数、淋巴细胞总数、粒细胞、单粒细胞数。2) 在力竭游泳训练后的第 6 天, 心脏采血, 用肝素抗凝剂抗凝; 用 Fico11 液分离外周血单个核细胞(PBMC), 0.9% 盐水洗 2 次(加盐水 3 ml, 2 000 rpm; 离心 10 min, 倾去上清), 加入 RPM I 1640 培养液, 细胞浓度为 1 × 10⁶ 个/L, 加 PHA 刺激(1 ml 加 100 μg); 放置 37 °C, 5% CO₂ 培养, 培养 72 h 后^[9], 取培养细胞做涂片染色油镜检; 显微镜下观察淋巴细胞转化情况, 计算转

化率。3) 白细胞促凝血活性的测定: 取上述分离好的 PBMC 细胞混悬液 0.1 ml, 加 PHA 20 μl(含 PHA 20 μg), 再加 RPM I-1640 培养液 0.4 ml; 置 37 °C, 5% CO₂ 培养箱培养 24 h 取出, 用冷盐水洗 1 次, 37 °C 水浴中, 混合正常对照组血浆 0.1 ml, 摇匀后再加 0.03 mol/L 氯化钙 0.1 ml 混匀, 记录血浆凝固时间(反复倾斜试管, 肉眼观察, 秒表计时), 同时设对照。4) 在力竭游泳第 7 天结束后, 即刻, 分别对 3 个实验组小白鼠和相应的对照组, 用大肠杆菌灌胃, 细菌浓度为 2 麦氏单位(每 ml 含 3 亿个菌, 为 1 麦氏单位), 用量 0.2 ml; 第 2 组小鼠用志贺福氏杆菌灌胃, 细菌浓度为 2 麦氏单位, 用量 0.2 ml; 第 3 组用肺炎链球菌涂抹口、鼻、咽部黏膜, 细菌浓度为 2.4 麦氏单位, 每次 0.2 ml, 连续 3 天。

2 实验结果

2.1 白细胞总数及分类测定结果

在游泳训练组, 白细胞总数和中性粒细胞数急剧上升, 两组具有显著性差异($P < 0.001$), 各项测定均值见表。

2.2 T 淋巴细胞转化的试验结果

根据细胞的大小、核与胞浆的比例、胞浆的染色性和核的结构及有无核仁等特征, 计数转化的 T 淋巴细胞。转化的 T 淋巴细胞包括 3 种形态: 1) 染色体形成型: 细胞膜存在, 核膜、核仁消失, 染色体形成, 胞浆有空泡, 细胞呈圆形或卵圆形, 直径大于 10 μm。2) 母细胞型: 细胞圆形, 卵圆形, 或菱

收稿日期: 2002-06-25; 修订日期: 2002-09-25

基金项目: 湛江师范学院自然科学研究项目经费资助。

作者简介: 赵树林(1960-), 女, 山西太原人, 副教授, 医学硕士, 毕业于北京医科大学, 主要从事运动人体科学的研究和教学工作; 李红(1966-), 女, 广东湛江人, 实验师, 毕业于广州中医药大学中医专业, 研究方向为体育保健康复。

作者单位: 湛江师范学院 体育系, 广东 湛江 524048

Physical Education Department of Zhanjiang Teaching College, Zhanjiang 524048, China

形,或呈阿米巴状,直径大于 10 μm,核增大,略偏于一边,核质疏松,有 1~3 个核仁不等,胞浆嗜碱性增加,呈深紫蓝色,有网状结构,可见大小不等的空泡。3) 过渡型:细胞大小在 10 μm 左右,核质疏松,可有核仁,胞浆增多,嗜碱性增强。

游泳训练组和正常对照组小鼠白细胞及分类测定值一览表

	白细胞总数(个/L)	中性粒细胞(%)	淋巴细胞(%)	单核细胞(%)
训练组	15.8 × 10 ⁹ ± 4.2	84.8 ± 3.5	12.2 ± 2.5	3 ± 1.2
对照组	7.28 × 10 ⁹ ± 1.9	49 ± 2	50 ± 1.3	1 ± 0.3
P	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.01

以上 3 种形态,都是 T 淋巴细胞转化形态。计数转化的 T 细胞时,每份标本计数 200 个细胞,按下式计算转化率:

$$\text{转化率} = \frac{\text{转化的淋巴细胞数}}{\text{转化的淋巴细胞数} + \text{未转化的淋巴细胞数}} \times 100\%$$

在正常对照组, T 淋巴细胞转化率平均值为 63%; 在力竭游泳组, T 淋巴细胞转化率平均值为 41.5%, 两组差异非常显著 (P < 0.001)。提示: 力竭运动后, T 淋巴细胞转化功能被抑制。

2.3 白细胞促凝血活性测定结果

外周血白细胞促凝血活性(LPCA),是机体外周血白细胞在体外受 PHA 等作用,并再次接触 PHA 后,被激活产生的一种结合在细胞表面的促凝血活性因子。目前认为这种因子是淋巴细胞和单核细胞协同产生的,因此,活性的高低,可反映机体的细胞免疫功能。本次实验在力竭实验组凝血时间为 5 s,在正常对照组凝血时间为 3 s。提示: 力竭运动后白细胞功能受到抑制。

2.4 大肠杆菌灌胃结果

在力竭游泳后即刻用大肠杆菌灌胃的结果显示,实验组只有轻微的改变,小白鼠粪便内可偶见 1~3 个白细胞,正常对照组无任何反应,两组没有差异。提示: 力竭运动后对大肠杆菌仍有较强的抵抗力,推测胃酸分泌和杀菌功能正常,大肠杆菌的致病途径被切断。

2.5 志贺福氏菌灌胃结果

力竭游泳后即刻灌胃志贺福氏菌,12 h 后,在实验组小鼠的粪便内查到大量的脓血球和红细胞,高达“++++”,感染志贺福氏痢疾的小鼠达到 100%。小鼠表现为皮毛粗糙,萎靡不振,不思饮食,排出脓血稀便。同时,有 50% 的小鼠粪便内查到大量的阿米巴原虫,混合感染肠阿米巴病和痢疾。在正常对照组,只有 10% 的小鼠感染志贺福氏痢疾,而且症状轻微,粪便中脓血球可达到“+”,红细胞少许,没有查到阿米巴原虫。两组差异非常显著 (P < 0.001)。

2.6 涂抹肺炎链球菌的实验结果

力竭游泳后将肺炎链球菌涂抹在小鼠的口、鼻、咽部,同时做正常对照,两组都没有感染肺炎。推测粘膜免疫发挥了免疫防御作用,避免了感染。

3 讨论

关于急性运动对免疫系统及其功能的影响大致可归纳两个方面,中等强度适量的运动能激活免疫系统,并提高免疫功能;而剧烈过量的运动则抑制免疫功能^[5], PEDERSEN 把这一免疫功能的抑制期称“open window”期,在这一特殊

时期,各种致病因子很容易进入机体内,引起机体感染^[6]。本文使小白鼠进行过量训练,每天处于力竭状态,并测定在这一状态下的各项细胞功能。实验表明,当剧烈运动时,白细胞数急剧上升,主要是中性粒细胞上升,但白细胞的功能和 T 淋巴细胞的功能是降低的,导致机体在力竭状态下被志贺福氏杆菌感染。提示: 肠道的抗感染能力降低,容易被痢疾杆菌感染,患上痢疾,并容易被食物或水中存在的阿米巴原虫感染造成肠阿米巴病。肠阿米巴病是溶组织内阿米巴所致的肠道感染,主要病变部位在边端结肠和盲肠,典型表现是粘液血便,粪便内有阿米巴原虫。

在大肠杆菌灌胃的实验组和对照组都没有引起致病,推测在胃内,较强的胃酸杀死了细菌而没有引起患病,大肠杆菌的致病力也比较弱,即使在力竭状态下处于“open window”期也不足以致病。

在用肺炎链球菌涂抹鼻、咽、口腔部位的这组实验小白鼠中,没有出现典型的肺炎症状,肛查小白鼠的体温也很正常,平均 36.80,小鼠皮毛光滑,神态活泼,食欲良好。可能是机体的粘膜免疫应答发挥了良好的免疫防御作用,阻止了病菌的感染。粘膜免疫是免疫系统中一个特殊的组成部分,指分布在粘膜表面的免疫细胞、免疫球蛋白、免疫分子。在小鼠的鼻、咽、口腔等粘膜部位有来自淋巴组织、扁桃体、集合淋巴结等部位的 B 细胞,这些 B 细胞能产生粘膜抗体 IgA,使所有粘膜均充盈能清除各种抗原的分泌性抗体,消除掉肺炎链球菌,所以没有造成感染,在粘膜免疫应答中,起主要作用的抗体是 IgA, IgM 和 IgG 也有一定的作用^{[7][8]}。

本研究提示,在力竭运动后,机体处于“open window”期,极容易被肠道细菌感染,由于小白鼠的各项指标与人体十分相似,所以这项研究对人类也有一定的指导意义,有利于提高运动员的抗感染意识。

参考文献:

- [1] DEUSTER P, CURIALE EM. exercise-induced changes in populations of peripheral blood mononuclear cells[J]. Med Sci Sports Exerc, 1988, 20: 276-280
- [2] NIEMAN D C. *et al* the effect of acute moderate exercise on leukocyte and lymphocyte subpopulations[J]. Med Sci Sports Exerc 1990, 23: 578-585
- [3] CANNON T G. Exercise and resistance to infection T[J]. Appl Physiol, 1993, 74: 973-981
- [4] ESKOLA J O, RUUSKANEN E. *Soppl. et al* Effect of sport stress on lymphocyte transformation and antibody formation[J]. Clin Exp Immunol, 1978 32: 339-345
- [5] NIEMAN D C. Exercise infection and immunity[J]. Sports Med 1993, 13: 422-428
- [6] acute immune response to exhaustive resistance exercise [J]. Sports Med, 1995, 16: 322-328
- [7] NORTHOFF, H, C. *et al* the cytokine response to strenuous exercise[J]. Sports Med, 1994 15: 167-171.
- [8] Calabrese L H. *et al* human immunodeficiency virus infection exercise and athletics[J]. Sports Med 1996, 15: 6-13
- [9] Blømen E. Roos *et al* whole-blood lymphocyte cultures[J]. Immunol Meth, 1995, 122: 161-167.