

大强度游泳训练对少年运动员 血清 sIL - 2R 水平的影响

徐秀英 李骁君 张文峰 朱琳娜
(山东体育学院,山东 济南 250063)



摘要:对 20 名少年业体游泳运动员大强度训练前后血清可溶性白细胞介素 2 受体 (sIL - 2R) 进行了测试,并同步测试了 T 细胞亚群、NK 细胞及血乳酸水平。实验结果表明:训练后比安静时 sIL - 2R 明显下降,由此,因 IL - 2 介导的 T 细胞亚群、NK 细胞的活化程度受到明显的抑制,使免疫系统机能受到影响。因此,应强调少年运动员的科学训练,减少易感病症的发生。

关键词:游泳;少年运动员;大强度;sIL - 2R;免疫机能

中图分类号: G861. 12. 23 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006 - 2076(2000)03 - 0023 - 04

Effects of High Intensity Swimming Training on the Serum Soluble Interleukin - 2 Receptor Level of Young Athletes

Xu Xiu - ying, etc.

(Shangdog Physical Education Institute, Jinan, 250063, China)

Abstract: The serum soluble interleukin - 2 receptor (sIL - 2R) level is measured on 20 spare time young swimming athletes by ELISA method before and after high intensity training. And the T cell subpopulations, the percent of NK cell in peripheral blood mononuclear cell and serum lactic acid are also measured simultaneously. The results show that the serum sIL - 2R level decreases more significantly at the moment after training than that at quiet. And the percent of CD3, CD8 and NK cell in PBMC are also lowered after high intensity swimming training compared to quiet time. Therefore it is thought that high intensity swimming training can injure the immune system of young athletes. So it is important to strengthen scientific training on young athletes to lessen the susceptibility to infection and tumor.

Key words: young athletes, high intensity training, sIL - 2R, immune function

近年来运动与免疫研究在医学界及体育生物科学领域受到广泛关注。多数研究认为,体育锻炼可增强机体的免疫参数,增加吞噬细胞及自然杀伤细胞的活力,防止感染性疾病发生。而大强度运动,甚至不当的健身运动则会使免疫机能下降,易感性增加。参与免疫反应的多种细胞中 T、B 细胞共同担负主要的免疫机能,而免疫系统各机能环节之间又是相互影响和相互诱导的关系。免疫功能的发挥,靠血中一些主要的免疫活性分子,其中白介素 2(IL - 2)可以诱导 T、B 细胞增殖分化,诱导 LAK 作用,促进 NK 细胞功能及释放免疫干扰素。而可溶性白细胞介素 2 受体(sIL - 2R)则是 T 细胞活化的标志。本课题为探讨少年运动员在大强度游泳训练前后血清 sIL - 2R 水平的影响,进行了测试研究。

收稿日期:2000 - 05 - 15

第一作者简介:徐秀英,女,1940 年生,教授。

1 研究对象及方法

1.1 受试者:一次大强度训练课业余体校男性游泳运动员 13~16 岁 20 名。

1.2 训练内容:4 ×400m 自由泳;8 ×50m 自由泳;1 30 包干 50m 自由泳,以上强度均达 90%~95%;2 组 4 ×200m 混合泳;8 ×50m 混合泳。

1.3 血样采集:分别于清晨空腹和训练后即刻取静脉血 5ml,其中将 2.5ml 加入肝素抗凝试管,2.5ml 自然凝固分离血清。

1.4 训练前后血清 sIL - 2R 的测定采用法国 IMMUNOTECH ELISA 定量检测试剂盒。大体步骤:1) 第一个免疫步骤:a. 留取一孔作底物空白;b. 每孔加入标准样品 50ul;c. 加盖,置摇床(350rPm),室温孵育 2 小时;d. 洗涤 3 次。2) 第二个免疫步骤:a. 所有孔加入生物素化标记的第二抗体 50ul 及键酶卵白素—HRP100ul;b. 加盖,置摇床(250rpm),室温孵育 30 分钟;c. 洗涤 3 次。3) 显色反应:a. 所有孔加入 TMP 显色剂 100ul;b. 加盖,避光置摇床(350rpm),室温 30 分钟。4) 终止反应及读数:所有孔加入 50ul 终止液;BELISAREADER450nm 波长读取各孔吸光度值。标准管设 0.20,40,80,160,320,640IU/ml7 个浓度,以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,制作标准曲线,从标准曲线查得各样品的浓度,结果以 IU/ml 表示。

1.5 T 细胞亚群及 NK 细胞的免疫细胞化学染色分析

首先将肝素抗凝的外周血,采用淋巴细胞分层液分离单个核细胞。其方法:在刻度离心管中加入 4~5ml 淋巴细胞分层液,然后缓缓加入肝素抗凝血 2000rpm,离心 20 分钟,取中层单个核细胞层,再以 PH7.2 的 PBS 洗涤 3 次,留 0.1ml 左右细胞悬液,涂片,吹干,固定。T 细胞亚群及 NK 细胞免疫组化染色试剂盒购自北京中山生物技术公司,其中 CD₃,CD₄,CD₈,NK(56,57)一抗均为美国 ZAMED 公司产品,按说明操作。步骤:1) 每片分别滴加 CD₃,CD₄,CD₈,NK 一抗 30ul,4 过液,PBS 淋洗。2) 滴加生物素化二抗,37 孵育 40 分钟,PBS 淋洗 3 次。3) 滴加硷性磷酸酶标记的键酶卵白素 30ul,37 孵育 40 分钟,PBS 淋洗。4) 滴加显色剂,显微镜下控制显色时间,T 细胞亚群 30 分钟,NK 细胞 20 分钟,自来水冲洗。5) 苏木素复染液复染 5 秒钟,自来水冲洗。6) 阅片,以淋巴细胞膜上出现红色沉淀为一个阳性细胞,每片计数 200 个淋巴细胞计算阳性细胞百分比。

1.6 训练前后血乳酸测定

血乳酸测定采用南京建成生物工程公司的酶法检测试剂盒,按说明操作,结果以 mmol/ml 示之。

2 实验结果

2.1 游泳训练前后血清可溶性白介素 - 2 受体变化

表 1 训练前后血清 sIL - 2R 水平变化

时间	n	sIL - 2(X ±SD,u/ml)	t 值	P 值
训练前	19	32.9 ±12.5	3.74	<0.001
训练后	20	20.2 ±8.57		

由表 1 可见血清 sIL - 2R 明显降低。

白细胞介素 - 2 可与高亲和力的受体结合,

后者含有 3 个不同的亚单位,即 (55KDa), (70 - 75KDa) 及 (64KDa)。亚单位是淋巴细胞的组成成分,亚单位可被结合的 IL - 2 诱导,它能与 IL - 2 低亲和力受体相对应,受体数目的增加标志着细胞活化,活化后 55KDa 亚单位的一部分从细胞膜上释放出来,成为一个 42KDa 糖蛋白,变成了 IL - 2 可溶性受体,细胞活化的循环标志物。sIL - 2R 存在于活化 T 细胞的培养上清中,在某些情况下如 AIDS、成熟 T 细胞白血病、毛细细胞白血病及某些自身免疫性疾病可检测到。本研究仅探讨了游泳训练对 sIL - 2R 的影响,发现训练后 sIL - 2R 降低,说明大强度训练可抑制 T 细胞的活化。

2.2 游泳训练前后 T 细胞亚群的比较

由表 2 可见大强度游泳训练后 CD₃ 明显下降(t 检验 P<0.05),CD₄ 明显下降(t 检验 P<0.05),CD₈ 虽有下降趋势,但未达显著水平,CD₄/CD₈ 比值未见明显差异。

表 2 游泳训练对外周血 T 细胞亚群的影响

时间	n	CD ₃ (%)	CD ₄ (%)	CD ₈ (%)	CD ₄ /CD ₈
训练前	20	71.5 ±7.22	50.7 ±7.75	24.0 ±6.79	2.37 ±1.10
训练后	20	60.9 ±16.9*	43.7 ±11.44*	21.0 ±4.89	2.24 ±0.98

*P < 0.05

2.3 游泳训练前后外周血 NK 细胞变化

由表 3 可见,大强度游泳训练可使少年运动员外周血 NK 细胞比率明显下降,说明大强度运动训练可能损伤免疫系统。

2.4 游泳训练前后血乳酸变化

由表 4 可见血乳酸在运动后即刻比运动前明显升高,乳酸堆积,机体出现疲劳。

2.5 血乳酸与 sIL - 2R、T₃、NK 细胞的关系

由表 5 可见,血乳酸与 sIL - 2R、T₃、NK 细胞比率经相关分析,表明无明显相关关系。

表 3 游泳训练前后外周血 NK 细胞百分比变化

同时	n	NK 细胞 (X ±SD %)	t 值	P 值
训练前	20	26.0 ±7.87	2.64	<0.02
训练后	19	19.2 ±7.22		

表 4 训练前后血乳酸变化情况

时间	n	血乳酸 (X ±SD, mmol/L)	t 值	P 值
训练前	19	2.16 ±0.82	1.96	<0.05
训练后	20	2.87 ±1.363		

3 讨论

近十几年来人们从不同角度对大强度运动引起机体免疫系统的变化进行研究。Shinkai 研究了 15 名健康男性在铁人三项比赛前、赛后即刻、赛后 1 天及 8 天外周血白细胞、淋巴细胞亚群、体外淋巴细胞增殖及 NK 活性的改变。结果表明,铁人三项赛后即刻能引起外周白细胞、

表 5 血乳酸与 sIL - 2R、T₃、NK 细胞的相关关系分析

指 标	血 乳 酸	
	运 动 前	运 动 后
	P	P
sIL - 2R	- 0.096 >0.05	- 0.19 >0.05
T ₃	- 0.27 >0.05	- 0.41 >0.05
NK	0.07 >0.05	- 0.24 >0.05

为相关系数

淋巴细胞亚群、体外淋巴细胞增殖及 NK 活性的一过性降低,但都在赛后 1 至 8 天恢复正常^[1]。Baum 选择 20 名年轻田径运动员,一组为两个月的耐力训练,一组为大强度的速度训练,采血时间在休息时(4PM)和最后一次锻炼 22 小时。测定指标有 CD₃ + ,CD₂₀ + ,CD₂₃ + ,CD₄ - HLA - DRI,CD₄ + CD₂₅ + ,CD₈ + ,CD₂₈ + ,CD₄ + CD₄₅RO + ,CD₁₆ + CD₅₆ + ,CD₅₄ + 及血清 sIL - 2R,s - ICAM - 1。13 名体育系学生为对照。结果只有在耐力训练后 s - ICAM - 1 的增加可解释为抗感染的保护机制。CD₂₀ + ,CD₂₃ + 持续升高。开始训练至比赛时间的过渡期间,CD₄ + CD₅₄RO + 亚群增加可以解释为对过敏性疾病的易感性增高,而且特异性免疫机能的活化可通过 sIL - 2R 及单核吞噬细胞功能的活化而实现^[2]。Zelazowska 研究了上午和下午运动对女性淋巴细胞反应的影响,分别在运动前、运动后即刻及运动后 40 分钟采血。结果表明,运动后即刻淋巴细胞亚群绝对值增加,但恢复期低于运动前水平,但大部分淋巴细胞亚群由运动诱导的免疫反应上午和下午都是一致的^[3]。Gabriel 研究了无氧酵解程度和锻炼时间免疫参数改变的情况,发现一次性锻炼对免疫细胞计数的作用最大,但对细胞功能的作用同细菌 URTI 相比,相对较小^[4]。Furusawa 报道了 9 名第 15 届 Oita 国际轮椅马拉松比赛运动员 NK 细胞计数及功能,分别于比赛前一天、赛后即刻及赛后一天采血,并以有脊柱损伤但不常锻炼的人为对照。结果显示,赛后即刻白细胞增加,相反 NK 细胞计数,NK 细胞毒作用明显降低,血浆可的松水平在比赛后增加,但所有参数在赛后 24 小时恢复正常,说明轮椅马拉松比赛能引起运动员外周血 NK 细胞计数及 NK 细胞毒作用的降低,可能与运动后

皮质醇水平升高有关^[5]。

我们的研究显示,少年运动员在经过长达一个月的大强度游泳训练后,CD₃ 细胞总数及 CD₄ 亚群明显降低,NK(CD₁₆) 细胞相对数明显降低,血清可溶性 IL - 2 受体水平明显低于运动前,证实长期大强度训练可损伤少年的免疫系统,抑制 T 细胞的活化。这种免疫的抑制可能是过度训练综合症的一部分^[6],而且大强度训练可能通过抑制谷胺酰胺的释放过程,使其不能满足免疫系统的需要^[7]而发挥作用。对于少年运动员大强度训练后使 sIL - 2R 下降,导致 T 细胞及 NK 细胞的活化受到抑制,在国内外均未见报道。最近我国学者发现了大强度运动训练后,运动员的血清可抑制正常的淋巴细胞增殖,认为运动员血清中含有一种抑制性蛋白(神经免疫蛋白,Neuro immunoprotein, NTP)^[8]。为了对儿童少年的免疫机能与运动的关系及其发生的机制进一步探讨,我们将对儿少生长激素同步测试研究,以求对少年运动员的运动训练进行科学安排,防止感染性疾病的发生,确保儿少的健康成长。】

参考文献:

- [1] Shinkai. S. ,Kurokawa. Y. ,Hino. S. etc. Triathlon competition induced a transient immunosuppressive change in the peripheral blood[J]. Sports. Med Phys Fitness. 1993Mar. 33(1) . 70 - 8.
- [2] Baum. M. ,Liesen. H. ,Enneper. J. Leucocytes ,lymphocytes ,activation parameters and cell adhesion molecules in middle - distance runners under different training conditions[J]. Int ,Sports. Med. 1994 Oct. 15Suppl :S122 - 6.
- [3] Zelazowska. E. B. ,Singh. A. ,Raybourne. R. B ,etc. Lymphocyte subpopulation expression in women :effect of exercise and circadian rhythm[Published erratum appears in Med Sci Sports Exerc 1997 Jun. 29(6) :846][J]. Med Sci. Sports Exerc. 1997 Apr. 29(4) :467 - 73.
- [4] Gabriel. H. ,Kindermann. W. The acute immune response to exercise :what does it mean[J] ? Int ,Sports. Med. 1997Mar. 18 Suppl :S28 - 45.
- [5] Furusawa. K. ,Tajima. F. ,Tanaka. Y. ,etc. Short - term attenuation of natural killer cell cytotoxic activity in wheelchair marathoners with paraplegia[J]. Arch Phys Med Rehabil. 1998 Sep. 79(9) 11 :1116 - 21.
- [6] Sharp. N. C. ,Koutedakis. Y. Sport and the overtraining syndrome :immunological aspects[J]. Br. Med Bull. 1992 Jul. 48(3) 518 - 33.
- [7] Newsholme. E. A. Biochemical mechanisms to explain immunosuppression in welltrained and overtrained athletes [J]. Int. Sports Med. 1994 Oct. 15 Suppl 13 :S142 - 7.
- [8] 邵黎,矫伟,朱迅,等. 运动员剧烈运动后血中应急免疫抑制蛋白的产生[J]. 中国应用生理学杂志,1997,13(4) :312 ~ 315.