

·运动人体科学·

低强度激光对运动性免疫抑制大鼠肺部炎症反应进程的影响

覃飞^{1,2}, 赵杰修², 王松涛³, 郝选明³

(1.暨南大学 体育学院, 广东 广州 510032; 2.国家体育总局体育科学研究所, 北京 100061;
3.华南师范大学 体育科学学院, 广东 广州 510006)

摘 要: 探讨低强度激光对运动性免疫抑制导致的肺组织炎症的调理作用。将8周龄雄性SD大鼠104只随机分为安静对照组、运动训练组、小剂量低强度激光+运动组、大剂量低强度激光+运动组。运动各组进行跑台训练, 每次30 min, 每天1次, 每周6 d, 持续6周。采用递增负荷强度(跑台速度第1周10 m/min、第2周20 m/min, 从第3周开始, 每周递增5 m/min, 至第6周达到40 m/min)。激光干预采用氦氖激光鼻腔外照射(训练1次/d, 2 min/次)。辐射功率小剂量组为1 mW (6.8 J/cm²), 大剂量组2 mW (13.6 J/cm²)。分别于训练前及训练的第2、4、6周末取材, 检测肺灌洗液中sIgA、CRP、IL-4、IL-10、TNF- α 、ICAM-1含量; 分析肺组织中CD4⁺和CD8⁺阳性蛋白表达, 并对肺脏进行组织形态学观察。结果发现: 1)6周递增负荷训练期间, 大鼠肺脏中促炎因子(TNF- α 和ICAM-1)显著上升, 抗炎因子(IL-4和IL-10)及sIgA、CD4⁺与CD8⁺比值显著下降。肺组织局部出血、脓液渗出、炎性细胞浸润逐渐加重。2)小剂量低强度激光照射可显著延缓运动大鼠肺组织上述变化, 对抗炎因子和形态学的影响尤为显著; 而大剂量低强度激光的干预效果随照射疗程的延长呈下降趋势。结果说明: 小剂量的低强度激光鼻部照射可显著促进6周递增负荷训练大鼠的免疫机能和肺组织炎症反应的改善, 其调节过程主要是通过上调抗炎因子的合成, 促使“促炎-抗炎”细胞因子平衡。

关键词: 运动医学; 运动性免疫抑制; 低强度激光; 肺脏; 细胞因子; 大鼠

中图分类号: G804.5 文献标志码: A 文章编号: 1006-7116(2019)01-0137-08

Effects of low-power laser on the process of lung inflammation reaction of rats with exercise-induced immunosuppression

QIN Fei^{1,2}, ZHAO Jie-xiu², WANG Song-tao³, HAO Xuan-min³

(1.School of Physical Education, Jinan University, Guangzhou 510032, China; 2.China Institute of Sport Science, Beijing 100061, China; 3.School of Physical Education, South China Normal University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: In order to probe into low-power laser's function on regulating lung tissue inflammation caused by exercise-induced immunosuppression, the authors divided 104 8-week old male SD rats randomly into a calm control group, an exercise training group, a small-dose low-power laser + exercise group, and a big-dose low-power laser + exercise group. The rats in the exercise groups carried out treadmill training for 6 weeks continuously, 30min/time, 1 time/day, 6 days/week. The authors used incremental load intensities (treadmill speed: 10m/min in week 1, 20m/min in week 2, then increased incrementally by 5m/min per week, starting from week 3, to 40m/min in week 6). Laser intervention used was He-Ne laser nasal external irradiation (1 time/day on training days, 2min/time). The irradiation power was 1mW (6.8 J/cm²) for the small-dose group, 2mW (13.6 J/cm²) for the big-dose group. The authors took samples respectively before training and at the ends of weeks 2, 4 and 6, measured the contents of

收稿日期: 2018-01-24

基金项目: 广东省省级科技计划(社会发展领域)项目(2017A020220010; 2017A020220001), 国家体育总局体育科学研究所基本科研业务费专项(基本17-18和17-19)。

作者简介: 覃飞(1987-), 女, 讲师, 博士, 研究方向: 运动免疫与健康。E-mail: 9f_8707@163.com 通讯作者: 郝选明教授

sIgA, CRP, IL-4, IL-10, TNF- α and ICAM-1 in the bronchoalveolar lavage fluid, analyzed the expressions of positive proteins CD4⁺ and CD8⁺ in the lung tissues, and carried out histomorphological observation on the lungs, and revealed the following findings: 1) during the 6-week incremental load training period, in the rats' lungs, pro-inflammation cytokines TNF- α and ICAM-1 increased significantly, anti-inflammation cytokines IL-4 and IL-10 as well as sIgA and the ratio of CD4⁺ to CD8⁺ decreased significantly; the lung tissues showed local breeding, pus exudation, and gradually worsening inflammatory cell infiltration; 2) small-dose low-power laser irradiation can significantly slow the said changes of the exercise rats' lung tissues, its effects on anti-inflammation cytokines and morphology were especially significant; while the effect of big-dose low-power laser intervention showed a trend of decreasing as the irradiation process extended. The said findings indicate the followings: small-dose low-power laser nasal irradiation can significantly promote the improvement of immune function and lung tissue inflammation reaction of the rats carrying out 6-week incremental load training, its regulating process is mainly to promote the balance between pro-inflammation cytokines and anti-inflammation cytokines by up-regulating the synthesis of anti-inflammation cytokines.

Key words: sports medicine; exercise-induced immunosuppression; low-power laser; lung; cytokine; rat

一次和(或)长期大负荷运动均可导致机体的免疫功能下降, 感染性疾病的发生率增大, 即产生运动性免疫抑制(Exercise-induced immunosuppression, EIS)。近年来, 作为机体第一道防御屏障的“黏膜免疫”在运动性免疫抑制中的作用逐渐受到重视。大量流行病学数据^[1-3]证实, 上呼吸道感染是运动员训练和比赛期间发病率最高的内科疾病, 提示呼吸道黏膜是运动机体最易受外部环境影响的部位。外部病原微生物不仅可以在呼吸道黏膜受损部位引发局部炎症, 还可以通过受损部位进入血液或沿呼吸道长驱直入肺内, 引发进一步的健康问题。大量流行病学研究和生活经验^[3-4]证实, 机体在慢性疲劳和(或)急性强烈应激状态下可发生肺部炎症, 来源于运动队的调查也指出职业运动员是肺部炎症的易感人群^[1-3]。并且有学者指出, 由于运动员身处训练比赛期间的特殊环境, 运动员患肺炎的基本症状和体征可能并不明显, 更容易被忽视^[5-6]。

上述研究说明不适宜的运动负荷可通过损伤黏膜免疫功能而影响呼吸系统的健康。但目前尚缺乏长期大负荷训练与呼吸道黏膜免疫机能和肺组织炎症反应的实验性研究。

由于存在误用兴奋剂的风险, 运动员的呼吸系统炎症不能像普通人群一样用药。因此, 针对运动员黏膜免疫功能受损以及呼吸系统炎症等健康问题, 探讨安全有效的非药物干预手段尤为重要。既往研究已证实, 低强度激光能够产生类似超声波和针灸等物理因子的光生物调节作用, 可缓解疼痛、消除炎症、促进愈合。目前已被应用于急慢性炎症、运动系统损伤、糖尿病、高血压、冠心病等多种炎症和慢性疾病的治疗^[9-10]。因此我们认为, 低强度激光有可能成为运动员或运动健身人群呼吸道黏膜免疫功能调理和呼吸系统

炎症干预的一种潜在有效手段。

基于此, 本研究以 6 周递增负荷训练大鼠为动物模型, 以不同剂量的低强度激光为干预手段, 选取肺脏组织作为观察的靶器官, 通过其形态结构、体液免疫和细胞免疫功能、细胞因子(炎症因子和抗炎因子)的表达量在 6 周递增负荷训练过程中的动态变化, 分析低强度激光对大鼠肺组织炎症反应进程的影响, 初步探讨低强度激光调理呼吸系统黏膜免疫功能和炎症的效果与方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

SPF 级 Sprague-Dawley 大鼠 104 只(雄性, 8 周龄, 体重(238 ± 34) g), 购自广州中医药大学实验动物中心(SCXK(粤)2013-0020), 随机分为安静对照组(Control (C), 32 只)、运动训练组(Exercise (E), 24 只)、小剂量激光干预组(Exercise + Low power laser (E+LL), 24 只)、大剂量激光干预组 (Exercise+High power laser (E+HL), 24 只)。E、E+LL 和 E+HL 组进行 6 周递增负荷跑台训练。训练开始前 1 d 随机抽取 C 组 8 只取材测试, 作为各组大鼠正式训练前的基础对照值。训练开始后各组分别于 2、4、6 周周末运动后 48 h 取材。

1.2 干预方式

1) 运动方案。

6 周递增负荷训练模型^[9]: 跑台坡度 0°。跑台速度第 1 周 10 m/min、第 2 周 20 m/min。从第 3 周开始, 每周递增 5 m/min, 直至第 6 周达到 40 m/min。每次运动 30 min, 每天 1 次, 每周 6 次, 周日休息, 持续 6 周。

2) 低强度激光照射方法。

采取鼻腔外激光照射^[10]: 氦氖激光(632.8 nm), 光斑

面积为 0.018 cm^2 。每日训练结束 2 h 后, 对大鼠进行不同剂量的低强度激光照射。单手固定大鼠, 光纤探头照射鼻甲两侧, 每次 2 min, 每日 1 次, 每周 6 次, 共 6 周。小剂量组(E+LL)辐射功率 1 mW, 能量密度 6.8 J/cm^2 , 功率密度 0.06 mW/cm^2 。大剂量组(E+HL)辐射功率 2 mW, 能量密度 13.6 J/cm^2 , 功率密度 0.12 mW/cm^2 。

1.3 指标检测

1) 取材。

分别于第 0 和 2、4、6 周末运动后 48 h 进行取材。质量分数为 10%的水合氯醛(剂量 0.004 mL/g)腹腔注射麻醉, 插管收集肺灌洗液后, 快速摘取大鼠肺脏, 一半放入质量分数为 10%的中性甲醛中固定, 一半放入液氮速冻。

2) 肺灌洗液(BALF)采集。

剪开颈部皮肤, 暴露气管, 在第 2-3 软骨环间行一倒 T 形切口, 将一次性采血针剪去针头后的导管部插入肺部方向的气管内约 2 cm, 手术线结扎固定。采血针管部连接一次性注射器, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 生理盐水 2 mL 进行左肺反复灌洗 3 次(手术线结扎右肺肺门处)。每次灌洗时反复抽提 3 次, 最后一次回收全部肺灌洗液(保证 BALF 回收率 $>80\%$)。 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 和 3000 r/min 离心 15 min, 取上清分装, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存待测。

3) sIgA 分泌水平及细胞因子的测定。

测试肺灌洗液的蛋白总量后, 使用夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA)测定肺灌洗液中的 sIgA、CRP、TNF- α 、IL-4、IL-10、ICAM-1 含量, 检测步骤按照试剂盒说明书进行。

4) 肺组织 HE 染色。

摘取右侧肺脏, 放入冰生理盐水清洗, 切取一半放入质量分数 10%中性甲醛固定 48 h。肺脏进行修块后, 常规乙醇梯度脱水, 石蜡包埋连续切片, 片厚 $5 \mu\text{m}$, HE 染色, 中性树脂封片。运用 Motic 光学显微镜和彩色数码 CCD 摄像头观片和摄片, 分别在 4×10 、 10×10 、 40×10 倍视野下观察肺组织的形态结构变化。

5) CD4⁺和 CD8⁺ T 淋巴细胞的免疫组化测试。

采用 SP 法进行肺脏免疫组化染色, DAB 显色。常规脱水、透明、封固。在 10×10 、 40×10 倍的光镜视野下, 分别对相邻切片的 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞进行统计。每张切片中采集 10 个视野, 运用 ImagePro plus 软件进行阳性面积定量分析, 得出 IOD(积分光密度)、Area(阳性面积), 通过 $\text{Density}=\text{IOD}/\text{Area}$ 计算出平均光密度。

1.4 统计处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。正态分布检验采用 Kolmogorov-Smirnov Test;

方差齐性检验采用 Homogeneity of Variances。各组间比较采用多因素方差分析。组间两两比较: 正态分布资料采用 one-way ANOVA(方差齐性, 以 LSD 法进行两两比较; 方差不齐, 采用 Dennett's T3 法); 非正态分布资料进行变量变换, 变换后符合正态分布采用上法, 不符合正态分布应用 Kruskal-Wallis Test 进行非参数检验。显著性水平取 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 肺脏形态学变化

图 1-A1、B1、C1 所示, 大鼠在参与 6 周递增负荷训练前, 肺泡和肺动脉结构完整清晰, 无炎性细胞浸润。小支气管和终末细支气管黏膜完整, 平滑肌均匀分布, 结构完好。训练初期(WK2), E 组大鼠肺泡结构清晰, 但可见局部出血和少量炎性细胞浸润(图 1-A2)。E+HL 组(图 1-B2)和 E+LL 组(图 1-C2)肺泡清晰, 出血程度略轻于 E 组, 炎性细胞零散分布于肺泡中。训练中期, 随着训练的持续和运动负荷的增大, E 组(图 1-A3)肺部炎症变化加重, 血管周围的炎性细胞聚集增多。红细胞、脓液、炎性细胞和巨噬细胞游离在肺泡内, 肺泡空隙变小。E+HL 组(图 1-C3)大量炎性细胞成群聚集在肺部血管周围, 呈环形分布, 较之 E 组更为严重, 但肺泡结构较之 E 组清晰, 虽仍有脓液, 但出血减轻。而 E+LL 组(图 1-B3)仅在肺泡内可见少量的炎性细胞、红细胞和脓液, 血管与支气管周围无炎性细胞聚集成群。训练后期(6 周), E 组(图 1-A4)肺脏组织结构的损伤进一步加重, 大量炎性细胞成群聚集在肺动脉、支气管、终末细支气管管壁外侧, 部分支气管黏膜脱落, 大量肺泡被脓血、炎性细胞填充, 可见局部肺组织纤维化。E+HL 组(图 1-C4)炎症反应加重, 血管周围成群聚集的炎性细胞向肺泡空隙游离, 填充肺泡。E+LL 组(图 1-B4)虽仍可见肺泡内有脓液、炎性细胞、浆细胞和巨噬细胞填充, 且较之 4 周末时略有增加, 但可观察到较为清晰的肺泡结构, 且血管和支气管外壁未见大量成群的炎性细胞聚集。

2.2 肺灌洗液 sIgA 变化

图 2 为肺灌洗液中 sIgA 的变化。训练初期(2 周), 运动各组大鼠肺灌洗液 sIgA 均呈下降趋势, E 组下降极显著($\downarrow 37\%$, $P < 0.01$), 而 E+LL 组和 E+HL 组下降幅度较小($P > 0.05$)。训练中期(4 周)E+HL 组肺泡 sIgA 分泌水平继续下降($P < 0.01$), E 组有所回升($P < 0.05$), E+LL 组保持不变。训练后期(6 周), E 组肺灌洗液 sIgA 显著下降, E+LL 和 E+HL 组呈上升趋势, 且 6 周末时 E+LL 组显著高于 E 组($\uparrow 66\%$, $P < 0.01$)和 E+HL 组($\uparrow 61\%$, $P < 0.01$)。

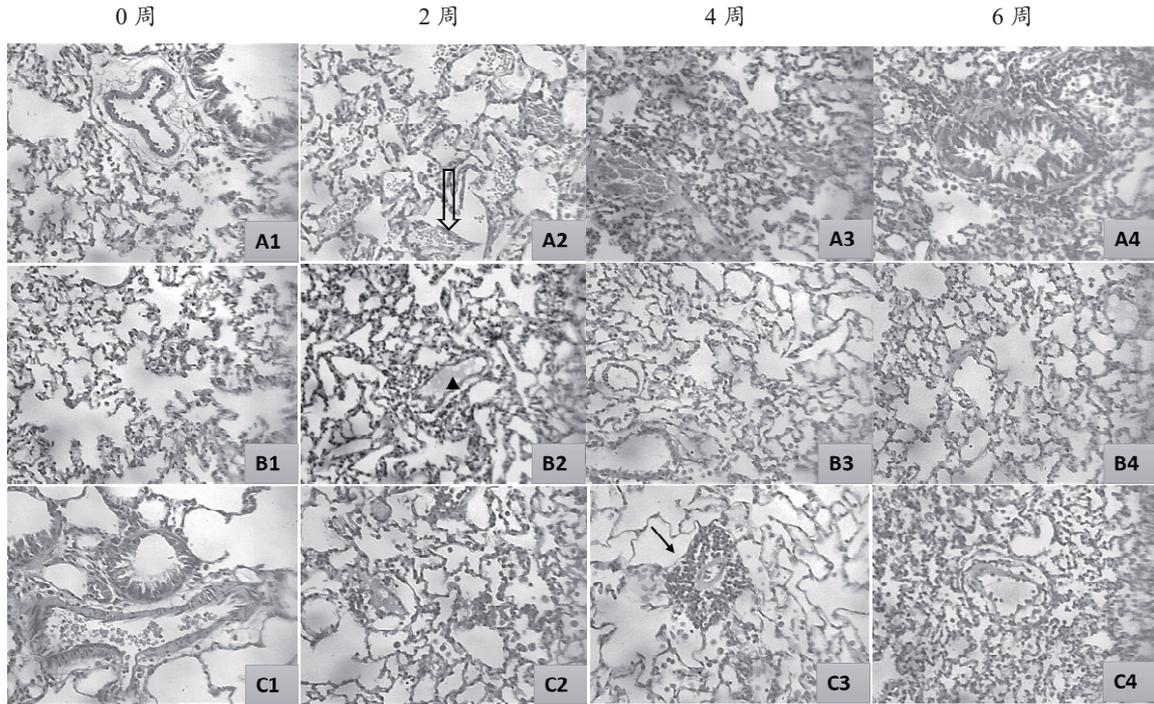


图 1 各组大鼠肺组织 HE 染色 (HE×400)

A1-A4: E 组各取样时点大鼠肺组织 HE 染色; B1-B4: E+LL 组各取样时点大鼠肺组织 HE 染色; C1-C4: E+HL 组各取样时点大鼠肺组织 HE 染色。⇔为肺组织出血; →为炎性细胞浸润; ▲为组织脓液

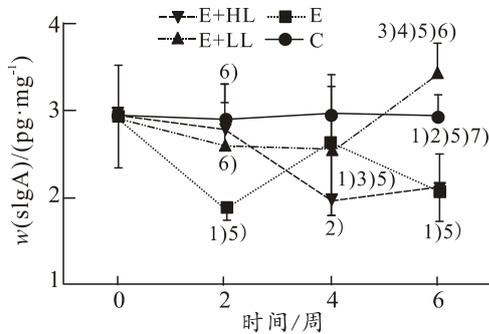


图 2 各组大鼠肺灌洗液中的 sIgA

与 0 周比较: 1) $P < 0.01$; 与 2 周比较: 2) $P < 0.05$, 3) $P < 0.01$; 与 4 周比较: 4) $P < 0.01$; 与 C 组比较: 5) $P < 0.01$; 与 E 组比较: 6) $P < 0.01$; 与 E+LL 组比较: 7) $P < 0.01$

2.3 肺脏 CD4⁺和 CD8⁺阳性 T 淋巴细胞的表达变化

图 3 和图 4 所示, CD4⁺阳性和 CD8⁺阳性表达均呈棕黄色颗粒状, 主要分布于淋巴细胞的胞浆。0 周时两者的阳性表达均匀分布于肺泡、支气管和肺动脉周围(CD8⁺阳性表达量少)。训练 2 周后, CD4⁺和 CD8⁺ T 淋巴细胞阳性表达逐渐聚集成团, 分布不均匀。

图 5(a)为肺脏 CD4⁺ T 淋巴细胞阳性表达的定量统计结果。E+HL 组肺脏 CD4⁺ T 淋巴细胞阳性表达在整个训练过程中无显著性变化, E 组在训练中期显著增加($P < 0.05$), 训练后期逐渐下降, 而 E+LL 组在训练

中后期(2~6 周)持续显著升高。图 5(b)为肺组织 CD8⁺ T 淋巴细胞阳性表达的定量统计结果。E 组在训练全程肺脏 CD8⁺ T 淋巴细胞表达呈显著上升趋势, E+LL 组运动初期(0~2 周)显著上升, 随后呈现下调趋势。E+HL 组在运动初期上升, 中期(2~4 周)下调, 随后急剧上升。E+HL 和 E+LL 组分别在 4 周末和 6 周末时显著低于 E 组($P < 0.05$)。

图 5(c)为肺组织 CD4⁺和 CD8⁺ T 淋巴细胞比值(CD4⁺/CD8⁺)的定量分析结果。训练各组肺脏 CD4⁺/CD8⁺ 值随运动负荷的增加均呈先下降后上升再下降的趋势, 其中 E+LL 组变化幅度最小, 且在 6 周末显著高于 E 组(↑45%, $P < 0.05$)和 E+HL 组(↑59%, $P < 0.01$)。

2.4 肺脏细胞因子的变化

图 6(a)、(b)、(c)为 6 周递增负荷训练过程中各组大鼠肺灌洗液中 CRP、TNF- α 和 ICAM-1 的变化。C 组上述细胞因子在整个训练周期均无显著性变化。E 组的 CRP、TNF- α 和 ICAM-1 在 6 周递增负荷训练过程中随着运动负荷的增加整体呈上升趋势, 至 6 周末时与训练前基础值相比分别上升 230%、390%和 59%。E+HL 组 CRP、TNF- α 和 ICAM-1 的改善不显著, 其中 CRP 在 2 周末时高于 E 组, TNF- α 在 2 周末时低于 E 组而 4 周末时超过 E 组, ICAM-1 在 2 周末时低

于 E 组, 但是到 6 周末时三者与 E 组相比均没有显著性差异。E+LL 组的 CRP、TNF- α 和 ICAM-1 较 E 组上升趋势显著减弱, 其中 ICAM-1 在训练后期呈下降趋势。CRP 在 6 周末($\downarrow 23\%$, $P < 0.01$)、TNF- α 在 2 周末($\downarrow 27\%$, $P < 0.05$)、ICAM-1 在整个训练周期内均低于 E 组。

图 6(d)、(e) 为 6 周递增负荷训练过程中各组大鼠肺灌洗液 IL-4 和 IL-10 的变化。C 组上述细胞因子在整个训练周期均无显著性变化。E 组 IL-4 和 IL-10 在六周递增负荷训练过程中围绕基线水平小幅波动,

IL-4 和 IL-10 分别在第 6 周末和第 4 周末时明显低于 C 组(均 $P < 0.01$)。E+HL 组和 E+LL 组 IL-4 在整个训练周期内总体呈上升趋势, E+HL 组在整个训练周期内均显著高于 E 组, E+LL 组在训练中期和后期显著高于 E 组, 且在训练后期显著高于 E+HL 组。与 E 组相比, E+LL 组在整个训练周期内均可有效上调肺脏 IL-10 水平, 但 E+HL 组仅在运动前期和中期产生良好的上调效果。训练结束后, E+LL 组肺脏 IL-10 水平显著高于 E 组($\uparrow 184\%$, $P < 0.01$)和 E+HL 组($\uparrow 208\%$, $P < 0.01$)。

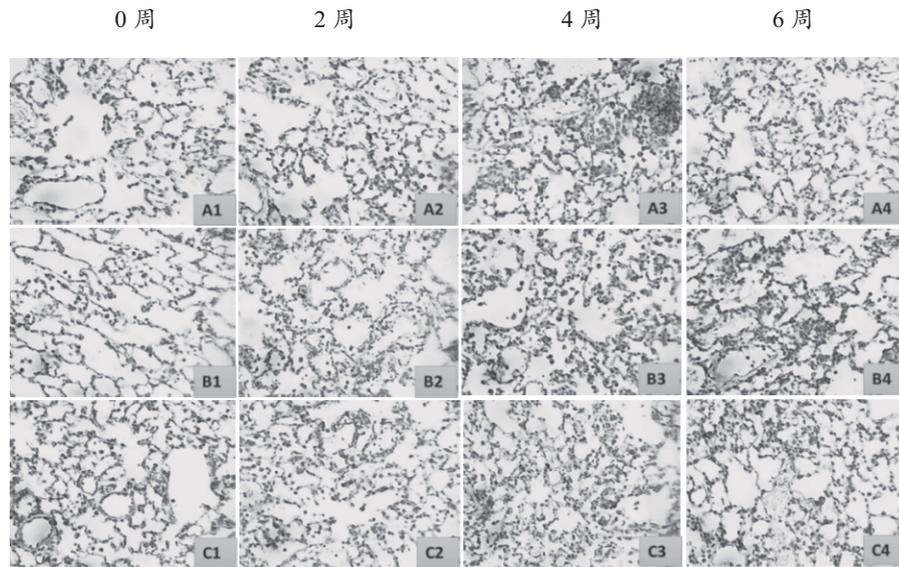


图 3 各组大鼠肺脏组织 CD4⁺阳性表达 (SP $\times 400$)

A1-A4: E 组各取样时点大鼠肺组织 CD4⁺阳性表达; B1-B4: E+LL 组各取样时点大鼠肺组织 CD4⁺阳性表达; C1-C4: E+HL 组各取样时点大鼠肺组织 CD4⁺阳性表达, 黑色箭头所示为阳性表达蛋白

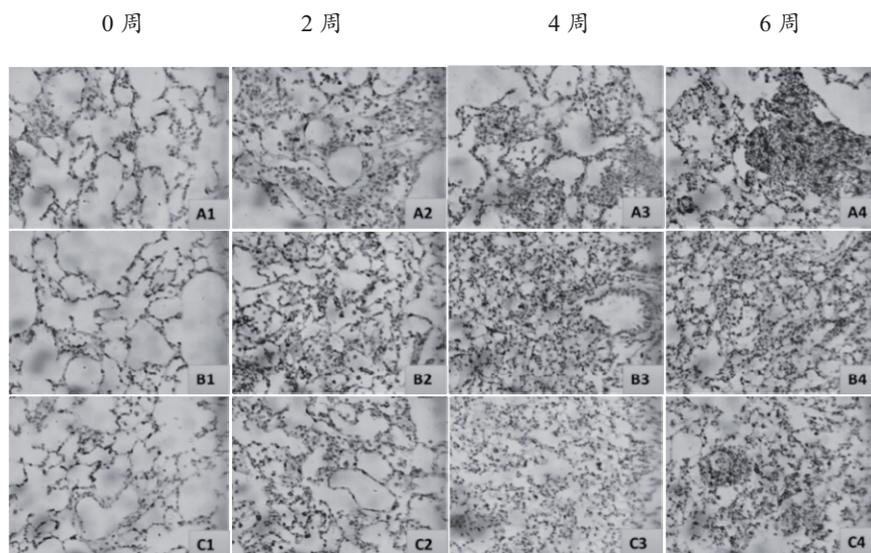


图 4 各组大鼠肺脏组织 CD8⁺阳性表达 (SP $\times 400$)

A1-A4: E 组各取样时点大鼠肺组织 CD8⁺阳性表达; B1-B4: E+LL 组各取样时点大鼠肺组织 CD8⁺阳性表达; C1-C4: E+HL 组各取样时点大鼠肺组织 CD8⁺阳性表达, 黑色箭头所示为阳性表达蛋白

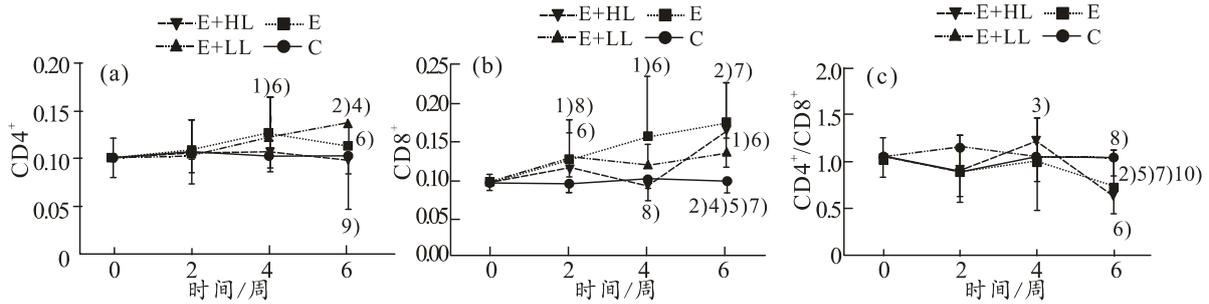


图 5 各组大鼠肺组织 CD4⁺和 CD8⁺阳性表达的定量统计结果

与 0 周比较, 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$; 与 2 周比较, 3) $P < 0.05$, 4) $P < 0.01$; 与 4 周比较, 5) $P < 0.01$; 与 C 组比较, 6) $P < 0.05$, 7) $P < 0.01$; 与 E 组比较, 8) $P < 0.05$; 与 E+LL 组比较, 9) $P < 0.05$, 10) $P < 0.01$ 。
(a)肺脏组织内 CD4⁺阳性表达; (b)肺脏组织内 CD8⁺阳性表达; (c)肺脏组织内 CD4⁺/CD8⁺比率

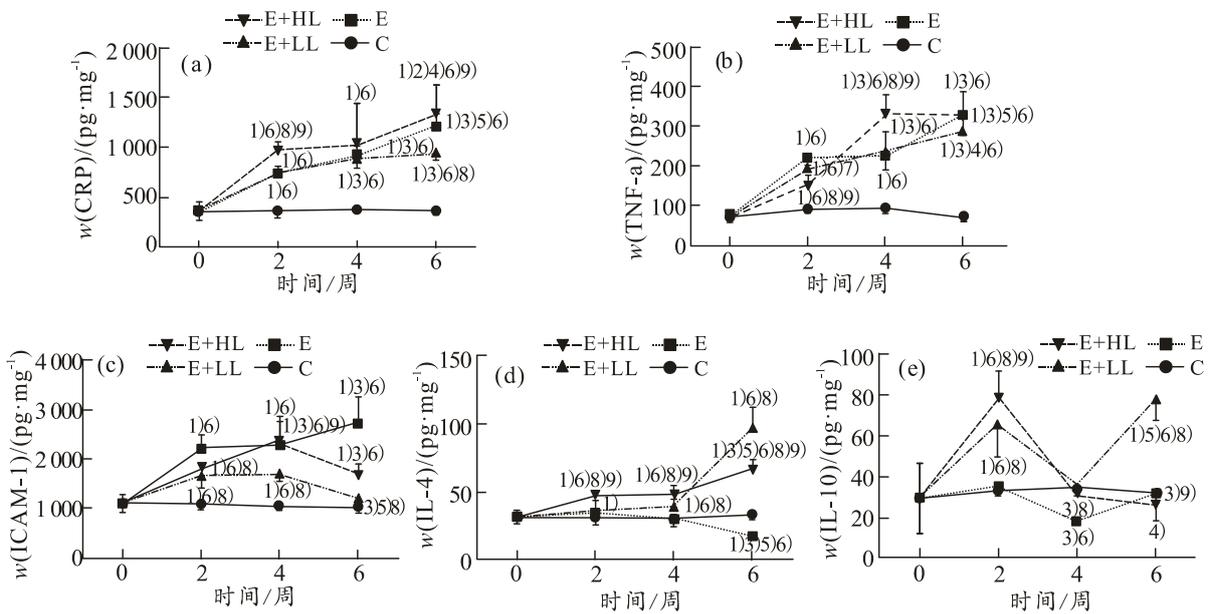


图 6 各组大鼠肺脏细胞因子的蛋白表达

与 0 周比较, 1) $P < 0.01$; 与 2 周比较, 2) $P < 0.05$, 3) $P < 0.01$; 与 4 周比较, 4) $P < 0.05$, 5) $P < 0.01$; 与 C 组比较, 6) $P < 0.01$; 与 E 组比较, 7) $P < 0.05$, 8) $P < 0.01$; 与 E+LL 组比较, 9) $P < 0.01$ 。(a)CRP 质量分数; (b)TNF- α 质量分数; (c)ICAM-1 质量分数; (d)IL-4 质量分数; (e)IL-10 质量分数。

3 讨论

3.1 六周递增负荷训练对大鼠肺组织免疫机能的影响

在形态学方面, 本研究发现: 运动组大鼠肺脏组织呈现局部出血、脓液渗出、炎性细胞浸润和纤维化等现象, 并随训练周数的增加而加重, 提示 6 周递增负荷训练可导致大鼠肺脏发生进行性炎症反应。

在体液免疫方面, 本研究发现: 在 6 周递增负荷训练进程中, 肺灌洗液 sIgA 呈现先下降后上升再下降的变化过程。在本研究中表现为运动后期肺灌洗液中 sIgA 分泌量显著下降。由于 sIgA 是黏膜免疫中体液免疫功能的重要效应分子^[11], 肺灌洗液 sIgA 分泌量的显著下降, 提示机体呼吸系统的黏膜免疫功能大幅度降低。

在细胞免疫方面, 本研究发现: 6 周递增负荷训

练可导致大鼠肺脏 CD8⁺ T 淋巴细胞持续大幅度上升, 而 CD4⁺ T 淋巴细胞仅在训练中期显著上升, 致使 CD4⁺/CD8⁺波动变化但整体呈下降趋势, 至 6 周末时显著低于对照组, 说明长期大负荷训练可导致肺脏的细胞免疫机能下降。这与既往研究的结果相一致, 一次性力竭运动和或长期大强度训练均可导致一定程度的 CD4⁺ T 淋巴细胞数目下降, CD8⁺ T 淋巴细胞数目上升, CD4⁺与 CD8⁺平衡失调^[12-13]。

炎症的发生和发展是一个复杂的过程, 其中细胞因子之间的网络调控对于平衡炎症的过程和控制炎症的发展具有重要的作用^[14]。本研究基于促炎和抗炎因子的平衡, 来进一步阐述长期大负荷运动对肺脏组织炎症反应的影响, 结果发现: 在训练初期, E 组大鼠

就表现为暂时性的“促炎-抗炎”平衡失调(促炎症因子增高和抗炎因子降低), 训练中期有一定的改善, 但在训练后期, 促炎因子 TNF- α 、黏附因子 ICAM-1 的表达不断增多, 而抗炎因子的表达受阻, 尤其是 IL-10 呈下降趋势, 导致机体“促炎-抗炎”因子的平衡被破坏, 炎症反应蔓延(如本研究中的肺脏形态结构结果所示), 造成肺组织损伤, 导致防御能力下降, 反复感染机率增加, 进一步加重肺组织损伤, 形成恶性循环。

3.2 低强度激光对 6 周递增负荷运动大鼠肺组织炎症的调节作用

本研究发现, 小剂量激光干预对于 6 周递增负荷训练导致的大鼠肺组织炎症反应具有良好的调节作用。与单纯训练组相比, 表现为: 肺组织局部出血减少, 肺泡内和血管周围炎性细胞聚集程度降低, 肺组织免疫组化检测所示 CD4⁺与 CD8⁺比值上调, 肺灌洗液 sIgA 含量上升, 尤其在训练的中后期表现更为显著, 提示小剂量低强度激光可有效改善 6 周递增负荷训练过程中淋巴细胞亚群的数量和平衡紊乱, 增强细胞免疫功能, 同时肺脏黏膜组织的体液免疫机能亦得到改善。Mafra de Lima F^[15]应用低强度激光对肺炎的研究结果可为本研究的发现提供支持。

但是本研究也发现, 大剂量的低强度激光对长期大负荷训练导致的肺组织炎症的调理效果随着照射疗程的延长而减弱, 本研究中的测试指标(体液和细胞免疫学指标、细胞因子)与形态结构的变化结果相互支持, 均证明这一现象, 这可能是激光干预存在疗效的抛物线效应, 超过一定的累积剂量或疗程, 调理效果将减弱^[9]。因此应合理控制照射剂量和疗程, 使其达到最佳照射效果。

低强度激光可通过调节“促炎-抗炎”细胞因子的平衡, 来调理 6 周递增负荷训练大鼠的呼吸系统免疫机能。本研究发现, 在训练初期两个激光组的促炎症因子 TNF- α 和 ICAM-1 均低于 E 组(且 E+HL 组最低), 而抗炎因子 IL-4、IL-10 均高于 E 组(且 E+HL 组最高), 提示低强度激光对“促炎-抗炎”因子失衡具有良好的调节作用, 可缓解训练初期(0~2 周)的暂时性免疫机能下降, 且大剂量的低强度激光干预效果更佳。在训练的后期, 由于训练负荷的不断加大, 机体进入累积性免疫抑制状态。低强度激光的干预效果表现为, 小剂量激光可有效下调运动机体增高的促炎因子, 上调下降的抗炎因子, 而大剂量激光对促炎和抗炎因子的调控效果在训练后期均不显著, 甚至向负性方向发展。提示小剂量的低强度激光对“促炎-抗炎”因子失衡具有良好的调节作用, 进而改善长期大负荷

训练机体的免疫抑制状态, 而大剂量低强度激光在训练初期出现较好的调理效果, 但随着训练周期的继续以及照射疗程的延长, 调理效果消失或产生一定的不良影响。

此外, 为综合评价低强度激光对长期大负荷训练机体免疫机能的调理效果, 本研究测定了肺灌洗液中的 C-反应蛋白(CRP)的浓度。CRP 是机体组织损伤或受到微生物入侵等炎性刺激时机体合成的急性蛋白, 常用于反映炎症、组织损伤程度以及评价治疗反应的一种非特异性敏感指标^[16]。本研究发现, 参与训练的各组大鼠在 6 周递增负荷训练过程中 CRP 均呈持续上升趋势, 其中 E+LL 组在训练初期有较大幅度上升后, 增加趋势逐步放缓。且各组大鼠的 CRP 水平在整个训练周期中, E+HL 始终高于 E 组, 而 E+LL 组最低。这些研究结果说明, 6 周递增负荷训练过程中大鼠肺脏的炎症反应或组织损伤是进行性的, 这与本研究中的肺组织形态学观察结果相一致(图 1)。小剂量激光组在训练末期可显著下调肺灌洗液中 CRP, 6 周训练结束时与单纯训练组相比下调 23%, 间接说明肺部炎症或损伤有所改善。而大剂量激光在训练刺激的基础上导致额外的 CRP 增多, 提示 CRP 水平可作为控制激光照射剂量的一个敏感指标。

本研究采用的激光照射方法为氦氖激光鼻腔外照射, 具有高波长(632.8 nm)和低强度(能量密度为 6.8 和 13.6 J/cm²)的特性。这种高波长的红光, 具有较好的组织穿透性能。鼻部皮肤薄, 血供旺盛, 鼻黏膜固有层和黏膜下层有很多与免疫机能关系密切的细胞^[14], 因此鼻部是调控机体免疫机能的血液辐射方法的首选部位。激光具有热效应、压强效应、电磁场效应、光化学效应和生物刺激等生物学效应。这些效应都可能对 6 周递增负荷训练大鼠的免疫机能产生影响。但目前, 低强度激光的抗炎作用机制, 尚无明确定论, 本研究发现低强度激光可改善长期大负荷训练机体的“促炎-抗炎”细胞因子失衡, 但其深入机制仍有待进一步研究。

参考文献:

- [1] SOLIGARD T, STEFFEN K, PALMER D, et al. Sports injury and illness incidence in the Rio de Janeiro 2016 Olympic Summer Games: A prospective study of 11 274 athletes from 207 countries[J]. Br J Sports Med, 2017, 51(17): 1265-1271.
- [2] DREW M, VLAHOVICH N, HUGHES D, et al. Prevalence of illness, poor mental health and sleep quality and low energy availability prior to the 2016

- Summer Olympic Games[J]. *Br J Sports Med*, 2018, 52(1): 47-53.
- [3] EDOUARD P, DEPIESSE F, BRANCO P, et al. Analyses of helsinki 2012 european athletics championships injury and illness surveillance to discuss elite athletes risk factors[J]. *Clin J Sport Med*, 2014, 24(5): 409.
- [4] SEMINOG O O, GOLDACRE M J. Risk of pneumonia and pneumococcal disease in people with severe mental illness: English record linkage studies[J]. *Thorax*, 2013, 68(2): 171-176.
- [5] DIJKSTRA H P, POLLOCK N, CHAKRAVERTY R, et al. Managing the health of the elite athlete: a new integrated performance health management and coaching model[J]. *Br J Sports Med*, 2014, 48: 523-531.
- [6] KIRILL M S, DANICA B S, SHEHHI M A, et al. Completing an Ironman Triathlon with Pneumonia: a Case Report[J]. *Asian J Sports Med*, 2010, 1(4): 223-227.
- [7] 朱平. 低强度激光临床应用手册[M]. 北京: 人民军医出版社, 2014: 22-32.
- [8] VANIN A A, VERHAGEN E, BARBOZA S D, et al. Photobiomodulation therapy for the improvement of muscular performance and reduction of muscular fatigue associated with exercise in healthy people: a systematic review and meta-analysis[J]. *Lasers Med Sci*, 2018, 33(1): 181-214.
- [9] 张琳, 郝选明. 运动性免疫抑制中胸腺 IL-7 和 TGF- β 1 应答性特征[J]. *体育学刊*, 2011, 18(4): 137-140.
- [10] 麻晓鸽, 王松涛, 覃飞. 不同强度激光对递增负荷运动大鼠心脏炎性损伤和 CD8⁺ T 淋巴细胞表达的影响[J]. *体育学刊*, 2016, 23(3): 137-144.
- [11] 何维. 医学免疫学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 170-174.
- [12] GLEESON M. Immune function in sport and exercise[J]. *Immunology and Cell Biology*, 2007, 103: 693-699.
- [13] MORGADO J P, MONTEIRO C P, TELES J, et al. Immune cell changes in response to a swimming training session during a 24-h recovery period[J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2016, 41(5): 476-483.
- [14] 王建枝. 病理生理学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 209-221.
- [15] MAFRA F, VILLAVARDE A B, SALGADO M A, et al. Low intensity laser therapy (LILT) in vivo acts on the neutrophils recruitment and chemokines/cytokines levels in a model of acute pulmonary inflammation induced by aerosol of lipopolysaccharide from *Escherichia coli* in rat [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2010, 2; 101(3): 271-278.
- [16] SERBAN C, SAHEBKAR A, ANTAL D, et al. Effects of supplementation with green tea catechins on plasma C-reactive protein concentrations: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Nutrition*, 2015, 31(9): 1061-1071.

