

A RENDSZERES FIZIKAI AKTIVITÁS IMMUNOLÓGIAI HATÁSAINAK VIZSGÁLATA

INVESTIGATION ON THE IMMUNOLOGICAL EFFECTS OF REGULAR PHYSICAL ACTIVITY

**Berki Alexandra Réka¹, Arany Attila Csaba², Jámbor Ilona¹, Szabó Krisztina¹, Mile Marianna^{1,2},
Makra Gabriella², Csiki Zoltán¹, Balogh László², Papp Gábor^{1,2}**

¹Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Belgyógyászati Intézet, Klinikai Immunológiai Tanszék,
Debrecen

²Debreceni Egyetem, Sporttudományi Koordinációs Intézet, Debrecen

Összefoglaló

Bevezetés: A fizikai aktivitás jelentősen befolyásolja az immunrendszer funkcióit, noha ezek a hatások nagyban függhetnek a terhelés típusától és annak mértékétől. A sporttevékenységek immunológiai hatásainak részleteiről az életkor függvényében azonban kevés adat áll rendelkezésre.

Célkitűzés: Célunk a perifériás limfociták széles spektrumának vizsgálata volt rendszeres sporttevékenységet követően időskorú személyek körében.

Módszerek: A tanulmányunkba 60-75 év közötti, korábban rendszeresen testmozgást nem végző személyt (16 fő) vontunk be, akik a kutatásunk során funkcionális edzésprogramban vettek részt. Az életkori különbségek felmérése érdekében kontrollként fiatal versenysportolókat (8 fő), illetve rendszeres testmozgást nem végző egyetemistákat (26 fő) vontunk be. A laboratóriumi vizsgálatok során a perifériás NK, NKT sejtek, illetve T és B limfociták alcsoportjainak azonosítása sejtfelszíni és intracelluláris markerek jelölésével áramlási citométeren történt.

Eredmények: A limfocita alcsoportok nem mutattak szignifikáns különbséget az élsportoló, illetve a nem sportoló egyetemisták kiindulási értékeinek vizsgálatánál. Azonban az időskorú személyeknél az NKT sejtek aránya alacsonyabb, míg a helper T / citotoxikus T sejtarány magasabb volt a fiatal személyek értékeihez képest. Az edzésprogramok végeztével a 60-75 év közötti személyeknél a naív B sejtek aránya csökkent, míg a switched memória B sejtek szintje emelkedett. A Th2 sejtek aránya emelkedett, míg az immunszuppresszív hatású CD4+CD127-CD25^{bright} Treg sejtek aránya csökkent a rendszeres sportoláskövetkezményeként.

Következtetés: Az edzésprogramot követően megfigyelt eltérések összességében az



immunreaktivitás fokozódására és az immunrendszer erősödő válaszkészségére utalhatnak az idősebb korosztályban.

Kulcsszavak: immunrendszer, fizikai aktivitás, öregedés

Abstract

Introduction: Effects of physical activity on immune functions may largely depend on the type of activity, its intensity and duration. However, little information is available regarding the immunological effects of sporting activities in older ages.

The aim of our study was to examine the changes in a wide spectrum of lymphocyte subtypes after a period of regular workout among healthy women of different ages.

Methods: In our study, we enrolled 16 elderly women (between ages of 60-75 years) formerly not engaged in regular physical activity, who took part in lightweight conditioning gymnastic exercise program. Eight young athletes and 26 young adults with sedentary lifestyle served as controls. The percentages of peripheral NK, NKT cells, T and B lymphocyte subtypes were determined by flow cytometry based on the staining of extracellular markers and intracellular cytokines.

Results: Lymphocyte subgroups did not differ between the groups of young athletes and young adults with sedentary lifestyle. However, in elderly women, levels of NKT cells were lower, while ratios of T helper / T cytotoxic cells were higher compared to younger individuals. At the end of exercise program, in elderly women, percentages of naive B cells decreased, while levels of switched-memory B cells increased. Furthermore, proportions of Th2 cells increased, while levels of immunosuppressive CD4+CD127-CD25^{bright} Treg cells decreased as the result of regular exercise.

Conclusion: Differences observed after lightweight exercise programs reflect a presumably enhanced immunoreactivity and increased ability for immune responses in older ages.

Keywords: immune system, physical activity, aging

Elméleti háttér

Időskori immunológiai változások

A test öregedésével, mint minden szervrendszerben, úgy az immunrendszerben is számos változás megy végbe, a veleszületett és adaptív elemeket egyaránt érintve. Tanulmányunk során a limfociták alcsoportjait vizsgáltuk, ezért itt a natív immunrendszerre vonatkozó változásokra nem térünk ki. A csecsemőmirigy involúciója miatt a T-sejteknek nemcsak funkciójában, de számában is leírtak változásokat [MEKKEL et al., 2004]. A megfigyelések szerint időskorban az össz-T-sejt szám csökken, illetve a T-helper (Th1 és Th2) sejtek egyensúlya a Th2 típusú válasz irányába tolódik el. Csökken a naiv T-sejtek száma, és bár inger hatására nagyobb mennyiségben termelnek interleukin (IL)-2-t a fiatalokban mért sejtekhez viszonyítva, mégis összességében alacsonyabb az IL-2 szérumszint időskorban. Napjainkig kevés CD8+ sejtekkel foglalkozó vizsgálat történt, de ezekben számos életkorfüggő változást említene, többek között károsodott target kötést, azonban sikeres kötődés esetén intakt ölkapacitást [STACY, 2002]. Bár a CD8+ sejtek között megnő a szuppresszor sejtek aránya, időskorban e sejtek nehezebben különböztetik meg a saját és idegen eredetű antigéneket, szuppresszor funkciójuk is mérsékelte, emiatt nagyobb eséllyel jelennek meg autoantitestek a keringésben [BURNS, 2000]. A B-limfocitákkal kapcsolatos változások kevésbé egyértelműek, de vélhetően hasonlóak a T-sejteknél megfigyelt eltérésekhez. Az öregedés az immunglobulin-génekre is hatással van, csökkenti azok szomatikus hipermutációját, az adott antigénre specifikus immunglobulin affinitásának csökkenését eredményezve. Ezzel a kórokozókkal szemben fellépő válaszreakció minősége és hatékonysága is romlik. A B-sejtek esetében összességében csökkent aktivációs és proliferációs kapacitást figyeltek meg; valamint a primer és a szekunder védőoltásra adott antitestválasz is károsodik. A károsodás mértéke fokozódik, ha a válaszreakció kialakulásában a T-limfociták is érintettek [MEKKEL et al., 2004].

A rendszeres fizikai aktivitás immunológiai hatásai

Az elmúlt évek tanulmányai alapján a fizikai inaktivitás mára globális egészségügyi problémává nőtte ki magát, pedig az egyik legkönnyebben eliminálható rizikófaktor számos betegségre nézve [BOOTH et al., 2017]. Kutatások bizonyították, hogy a kevesebb testmozgás összefüggésbe hozható több krónikus betegség kialakulásával, például elhízás, magas vérnyomás, kardiovaszkuláris megbetegedések, 2-es típusú diabétesz, sőt a várható élettartam is csökken [LAAKSONEN et al., 2002]. A szakirodalmi adatok alapján a rendszeres, de nem megterhelő testedzés és fizikai aktivitás fokozza az immunrendszer védelmi működését, és csökkenti a felső légúti fertőzések kialakulásának kockázatát [NIEMAN et al., 1990]. Ezzel szemben a fokozott, kimerítő terhelés, ronthatja az immunfunkciót és a fertőzések magasabb előfordulási arányával járhat [ROBSON-ANSLEY et al., 2012, KRUIJSEN-JAARSMA et al., 2013]. A fizikai aktivitás a megfigyelések alapján jelentősen befolyásolhatja az immunrendszer funkcióit és működését, azonban ezek a

hatások nagyban függenek a terhelés típusától és annak mértékétől. A rendszeres és kimerítő testedzések az immunkompetens sejtek számának csökkenésével járnak, továbbá számos citokin, köztük IL-6, tumor nekrozis faktor (TNF)- α , interferon (IFN)- γ , IL-1 β , IL-2, IL-8 és IL-10 csökkent szekréciójához vezetnek [NIEMAN, 2007, NIEMAN et al., 2012]. Mindezeket az immunszuppresszív hatásokat tovább rontja a fokozott terhelési periódusok közötti pihenőidők hosszának csökkentése [RONSEN et al., 2001]. A rendszeres, de mérsékelt intenzitással történő fizikai aktivitás ezzel szemben az immunfunkciók stimulálása által hozzájárulhat a kardiovaszkuláris kórképek és daganatos megbetegedések rizikójának csökkenéséhez [KRUIJSEN-JAARSMAN et al., 2013]. Egy korábbi tanulmány eredményei alapján az idősebb korban rendszeres testmozgást nem végző személyeknél megfigyelhető CD4+/CD8+ T sejtarány emelkedés a rendszeresen sportoló idős emberek esetén nem jelentkezik. A fizikai aktivitás emellett megemeli a természetes ölüsejtek (NK) számát és fokozta a neutrofil granulocyták aktivitását is a vizsgált személyek perifériás vérében [YAN et al., 2001]. Egy frissen publikált tanulmány eredményei alapján a rendszeres testmozgást végző személyek immunkompetens sejtjei Toll-like receptorok aktivációján keresztül kifejezettebb reaktiválódást mutatnak, melynek szerepe lehet az infektív ágensekkel szembeni védelem fokozódásában is [ZHENG et al., 2015]. A terhelés intenzitása és rendszerességén túl a fizikai aktivitás időtartama is jelentősen befolyásolja az immunrendszerre gyakorolt hatásokat. Nem hivatásos sportolók esetében a mozgás kezdetben az anti-inflammatorikus citokinek (IL-4, IL-6, IL-10), majd a pro-inflammatorikus citokinek (IL-1 β , TNF α) plazmaszintjének és a monocyták számának az emelkedésével jár [OSTAPIUK-KAROLCZUK, 2012].

A fizikai aktivitás tehát jelentősen befolyásolja az immunrendszer funkcióit, azonban ezek a hatások nagyban függenek a terhelés típusától és annak mértékétől, továbbá az életkor függvényében is változást mutathatnak. Kutatásaink során ezért célul tűztük ki az immunkompetens sejtek alcsoportjainak széleskörű vizsgálatát rendszeres testmozgást nem végző személyek bevonásával, rendszeres funkcionális edzőmunka mellett.

Módszerek

Rendszeresen sportoló, illetve nem sportoló egészséges személyek

Vizsgálatunkba 16 fő, 60-75 év közötti nőt (átl. életkor: $66,5 \pm 3,33$), 8 egészséges, rendszeresen sportoló, NB II osztályú röplabda csapatban játszó egyetemista lányt (átl. életkor: $22,00 \pm 1,31$ év), illetve 26 egészséges, rendszeresen nem sportoló egyetemista lányt (átl. életkor $22,18 \pm 2,36$ év) vontunk be.

Kutatásunk során a 60-75 éves nők körében végeztük el a sportolás immunológiai hatásainak vizsgálatát. Az edzés program során az önkéntes személyek gyógytornász irányítása mellett 6 héten át heti kétszer 45 perces funkcionális tréninget végeztek. A vérvételek a mozgásprogramok elvégzése előtt és a program befejezése után 3 nappal történtek, kiküszöbölve ezzel a mozgás utáni akut hatások befolyását.

A vizsgálatból való kizárási kritériumok (a kontrollcsoportra vonatkoztatva is) az alábbiak voltak: zajló vírusos vagy bakteriális fertőzés; allergiás vagy autoimmun megbetegedés; folyamatosan alkalmazott gyógyszeres terápiával kezelt krónikus betegség, daganatos megbetegedés; alkohol- vagy drogfüggőség, terhesség vagy szoptatás; pszichiátriai megbetegedés; elégtelen együttműködési készség. A kutatásban való részvételhez a vizsgálatba bevont személyek külön beleegyező nyilatkozatot írtak alá. A vizsgálatok elvégzéséhez a kutatás etikai engedélyeztetése megtörtént, engedély száma: DE RKEB/IKEB: 4879-2017.

Laboratóriumi vizsgálatok

Az NK sejtek meghatározása CD56, az NKT sejtek meghatározása CD3 és 6B11, a B sejtek CD19, a T sejtek CD3, a Th limfociták CD4, míg a citotoxikus T (Tc) limfociták azonosítása CD8 sejt felszíni molekulák vizsgálatával történt. A CD4⁺ CD25^{bright} Treg sejtek meghatározása CD4, CD127 és CD25 antigének sejt felszíni jelölésével történt. A T-sejt aktivációs markerek jelenlétét, úgymint a HLA-DR és CD69 antigéneket szintén vizsgáltuk a CD3⁺ T sejteken. A naív és memória T-sejtekhez a CD45RA, anti-CD45RA és CD62L, míg a B-sejtek meghatározásához a z IgD, CD27 markerek elleni ellenanyagok szolgálták. A sejt felszíni markerek jelölését 100 µl heparinnal alvadásgátolt vérből végeztük, a festésekhez 5-10 µl monoklonális antitestet használtunk (BD Pharmingen, San-Diego, CA, USA, Beckman Coulter, Brea, CA, USA és DAKO, Glostrup, Dánia). A mintákat 30 percig inkubáltuk, majd a vörösvértesteket hemolizáltuk (FACS Lysing Solution). A sejteket BSA (10 mg/L) és nátrium azid (2 mg/L) tartalmú PBS-ben mostuk 1800 rpm 4 percig, majd 2%-os paraformaldehiddel fixáltuk. Izotípus kontrollként egér IgG1 típusú antitestet használtunk. A méréseket és kiértékeléseket Coulter FC500 flow cytometeren (Beckman Coulter Inc., Miami, FL, USA) végeztük el. A kiértékeléseket a Kaluza 2.1a analízis szoftverrel végeztük. A lymphocyták, monocyták és granulocyták a méretük és granulációs mintázatuk alapján lettek elkülönítve az előre, illetve oldalra szórt fény intenzitásának meghatározása segítségével. A lymphocyta kapuban 10000 sejtet gyűjtöttünk össze minden mintánál.

A CD4⁺ T-helper sejtek intracelluláris festéséhez az alábbi monoklonális antitesteket használtuk: anti-IFN-gamma, anti-IL-4, anti-IL-10 és anti-IL-17. Az intracelluláris festődés alapján a következő sejteket különböztettük meg: Th1: CD4⁺ IFN-gamma⁺ IL4⁻; Th2: CD4⁺ IFN-gamma⁻ IL4⁺; Tr1: CD4⁺ IL10⁺; Th17: CD4⁺ IFN-gamma⁻ IL17⁺. A CD4⁺ Th sejtek intracelluláris citokin koncentrációjának meghatározása során 1 ml perifériás vért hígítottunk 1:2 arányban 80 mg/l gentamycint és 2 nM glutamint tartalmazó RPMI-1640-ben. A sejtek stimulálásához 25 ng/ml phorbol-myristát-acetátot (Sigma Aldrich Corp, St. Louis, MO, USA), és 1 µg/ml ionomycint (Sigma Aldrich Corp, St. Louis, MO, USA) használtunk 5 órán keresztül, 37°C-on és 5% CO₂ mellett. A de novo szintetizált citokinek transzportját a Golgi apparátusból 10 µg/ml brefeldin-A-val gátoltuk meg (Sigma Aldrich Corp, St. Louis, MO, USA). A nem stimulált sejtek kontrollként szolgálták. A stimuláció után a sejteket CD4 antigénre festettük, és

szobahőmérsékleten 30 percen keresztül inkubáltuk. Ezt követően 15 percen keresztül sötétben, szobahőmérsékleten hemolizáltuk a vörösvértesteket FACS Lysing Solution (Becton Dickinson, Mountain View, CA) felhasználásával. A leukocytákat ezt követően centrifugáltuk (500 g, 10 perc) és sejtmembránjukat permeabilizáltuk FACS Permeabilizing Solution (BD Biosciences, San Diego, CA, USA) segítségével, melyet 5 percig szobahőmérsékleten alkalmaztunk. A mintákat PBS-ben átmostuk, és utána 30 percen át szobahőmérsékleten sötétben inkubáltuk monoklonális antitesttel (BD Pharmingen, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). A sejteket 1%-os paraformaldehidben fixáltuk. A méréseket és kiértékeléseket – Coulter FC500 flow cytometeren végeztük el. A kiértékelések a Kaluza 2.1a analízis szoftverrel történtek. A lymphocytákat, granulocytákat és monocytákat a morfológiai tulajdonságuk alapján kapuzva differenciáltuk. A kiértékelés 5000 CD4+ sejt begyűjtésével történt.

A következő sejttípusokat különítettük el: CD56+ NK-, CD19+ B-, CD3+ T-sejtek, CD4+ T helper, CD8+ citotoxikus T-sejtek, CD3+6B11+ NKT-sejtek, korai (CD3+CD69+) és késői (CD3+HLA-DR+) aktivált T-sejtek, naív (CD62L+CD45RA+), effektor (CD62L-CD45RA+), centrális memória (CD62L+CD45RA-) és effektor memória (CD62L-CD45RA-) T helper (Th)-, illetve citotoxikus T (Tc) - sejtek, Th1(CD4+ IFN-gamma+ IL-4-); Th2 (CD4+ IFN-gamma- IL-4+); Tr1 (CD4+ IL- 10+); Th17 (CD4+ IFN-gamma- IL-17+), naív (IgD+CD27-) és switched (IgD-CD27+), illetve un-switched (IgD+CD27+) memória B-sejtek és CD4+CD127-C25^{bright} Tregsejtek.

Statisztikai adatfeldolgozás

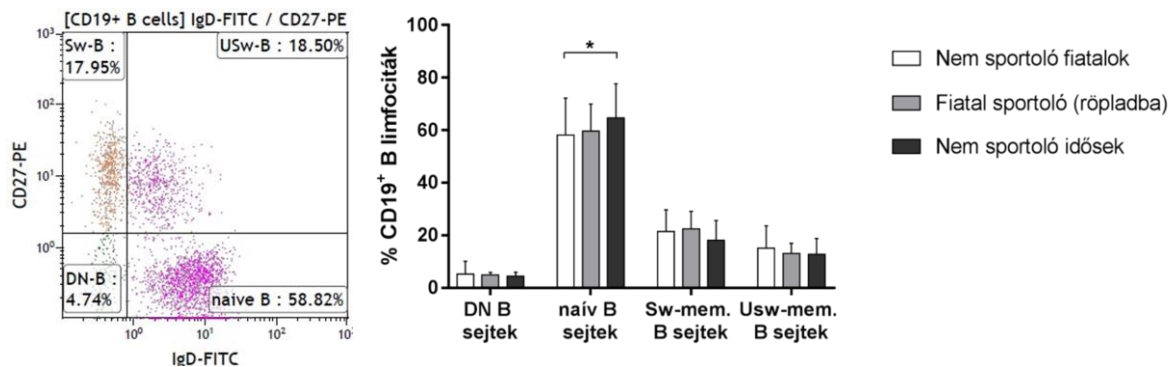
A vizsgálataink során nyert eredmények statisztikai kiértékeléséhez SPSS v.20.0 szoftvert alkalmazunk. Az adataink normál eloszlásának vizsgálatát Kolgomorov-Smirnov teszttel és Shapiro-Wilk normality teszttel végeztük el. Vizsgálatunkban minden adatsor normál eloszlást mutatott, így meghatároztuk az átlag ± szórás (SD) értékeket. A kísérleti adataink statisztikai kiértékelése kétirányú/két utas ANOVA varianciaanalízissel, Tukey-féle post hoc analízissel történt. Az időskorú személyek edzésprogramja kezdetén és végén nyert eredmények kiértékelésekor normál eloszlás esetén páros t-próbát, nem normál eloszlás esetén Wilcoxon tesztet alkalmaztunk. A statisztikai próbák értékelésekor a $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikánsnak.

Eredmények

A fiatalok és idősebb korú nők eredményeinek összehasonlítása

A vizsgálatunk első részében fiatal, egészséges nők eredményeit hasonlítottuk össze az időskorú hölgyekben még a mozgásprogram megkezdése előtt mért értékekkel. A CD56+ NK, a CD3+ 6B11+ NKT, a CD3+ T és a CD19+ B sejtek esetében nem figyeltünk meg szignifikáns eltérést a vizsgált csoportok között. A CD19+ B sejt alpopulációk %-os arányának megoszlási vizsgálata során viszont az IgD+CD27- naív B sejtek esetében

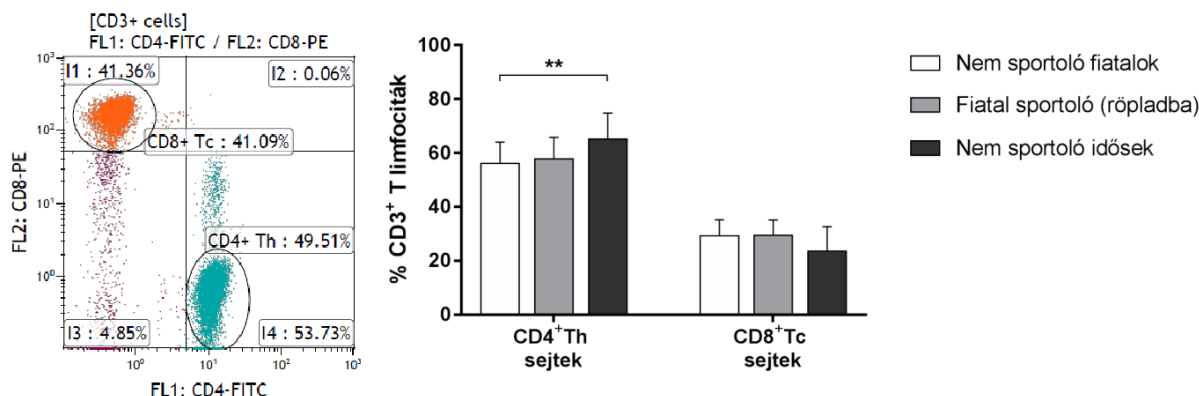
szignifikáns különbséget tapasztaltunk. A nem sportoló időseknél mért CD19+ B sejtpopuláción belüli naív B sejtarány (64,748 ± 12,881 %) szignifikánsan magasabb volt a nem sportoló fiataloknál észlelt sejtarányhoz (58,205 ± 14,028 %) képest (p=0,0454). A dupla-negatív (DN), switched-memória és unswitched-memória B sejtek esetében a különböző csoportokban mért sejtarányok között nem volt szignifikáns különbség (1. Ábra).



1. Ábra: A naív és memória B sejtpopulációk arányai.

Az ábra bal fele a citometriás mérések egy jellegzetes dot plotját, míg a jobb oldali grafika a B sejt alpopulációk százalékos arányának megoszlását mutatja a CD19+ limfocitákon belül, a különböző vizsgálati csoportokban. (* p<0,05). Forrás: saját forrás.

A CD4+ Th sejtek nem sportoló időseknél mért aránya (65,127 ± 9,635 %) szignifikánsan magasabb volt a nem sportoló fiataloknál észlelt sejtarányhoz (56,209 ± 7,813 %) képest (p=0,0011). A CD8+ Tc sejtek esetében a különböző csoportokban mért sejtarányok között nem volt szignifikáns különbség (2. Ábra).

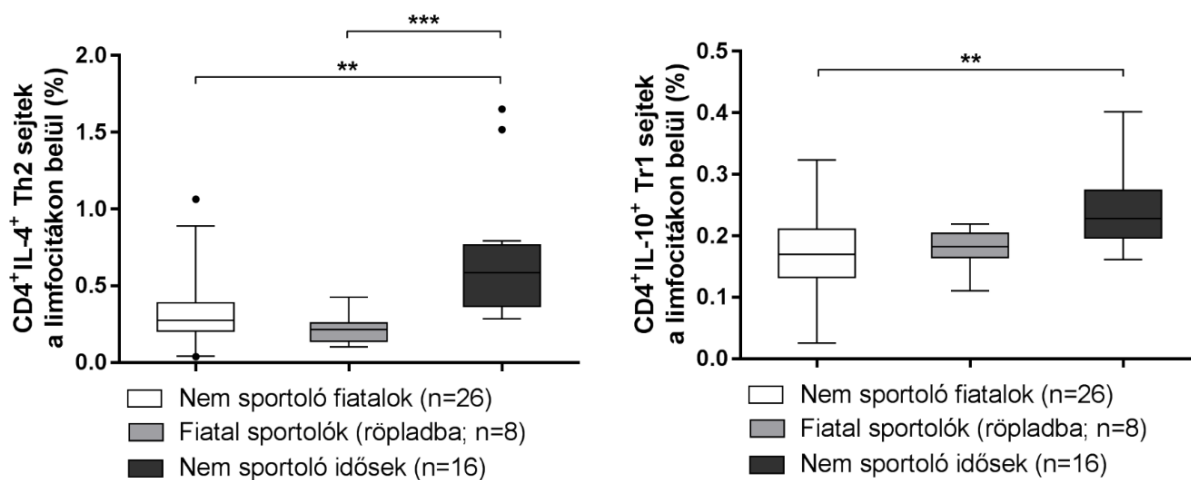


2. Ábra: A CD4+ Th és CD8+ Tc sejtpopulációk arányai.

Az ábra bal fele a citometriás mérések egy jellegzetes dot plotját, míg a jobb oldali grafika a T sejt alpopulációk százalékos arányának megoszlását mutatja a CD3+ limfocitákon belül, a különböző vizsgálati csoportokban. (** p<0,01). Forrás: saját forrás

A korai és késői aktivált T sejtek és a CD4+CD127-CD25^{bright} Treg sejtek esetén

szignifikáns eltérést nem tapasztaltunk. A T-helper sejtek alcsoportjainak vizsgálata során nem mértünk szignifikáns különbséget az idős és fiatal személyek Th1 és Th17 sejtarányai között. A Th2 és Tr1 sejtek esetében azonban az idősebb alanyok magasabb arányokkal rendelkeztek. A nem sportoló időseknél mért Th2 sejtarány ($0,6509 \pm 0,4013$ %) szignifikánsan emelkedett volt a nem sportoló fiatalok ($0,3178 \pm 0,1994$ %), illetve a sportoló röplabdások arányaihoz ($0,2210 \pm 0,1009$ %) képest ($p=0,0013$, illetve $p=0,0004$). A nem sportoló időseknél mért Tr1 sejtarány ($0,2418 \pm 0,0615$ %) szignifikánsan magasabb volt a nem sportoló fiataloknál észlelt sejtarányhoz ($0,1682 \pm 0,1994$ %) képest ($p=0,0015$) (3. Ábra).



3. Ábra: A Th2 és Tr1 sejtek arányai.

Az ábra a CD4+IL-4+ Th2 sejtek, illetve a CD4+IL-10+ Tr1 sejtek százalékos arányának megoszlását mutatja a teljes limfocita populáción belül, a különböző vizsgálati csoportokban. (** $p<0,01$, *** $p<0,001$) Forrás: saját forrás

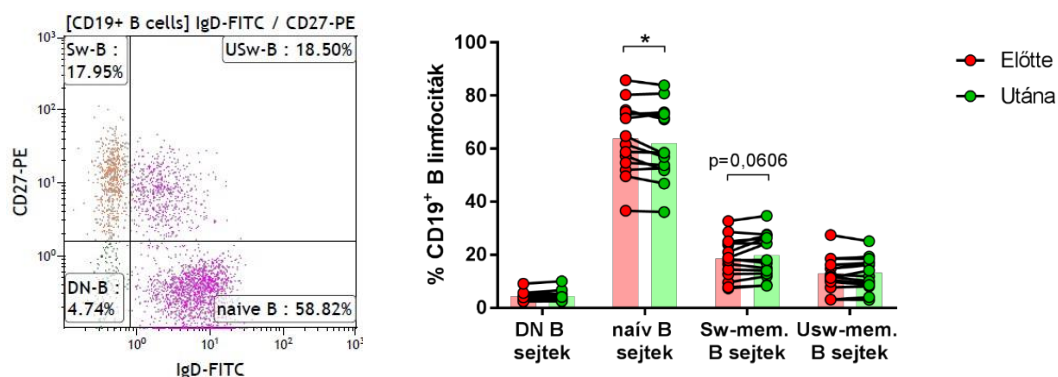
Az időskorúak eredményeinek összehasonlítása a mozgásprogram előtt és után

A 60-75 év közötti 16 önkéntes mindegyike elvégezte a 6 hetes edzésprogramot, melynek végén ismételt vérvételeket végeztünk, és az egyes személyek ekkor mért eredményeit összehasonlítottuk a kiindulási adataikkal.

Nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a CD56⁺ NK, a CD3⁺6B11⁺ NKT, a CD19⁺ B, illetve a CD3⁺ T sejtek esetében. Nem észleltünk szignifikáns változást a CD4⁺ Th sejtek és a CD8⁺ Tc sejtek esetében, továbbá azok naív és memória alcsoportjainál sem. A korai és késői aktivált T sejtek sem mutattak érdemi eltérést.

A B sejt alcsoportok megoszlásának vizsgálatakor a DN B sejtek arányában nem figyeltünk meg különbséget, azonban az IgD⁺CD27⁻ naív B sejtek esetén az edzésprogram előtt mért sejtarányhoz ($63,886 \pm 13,442$ %) képest az azt követően mért sejtarány ($62,047 \pm 13,802$ %) szignifikánsan csökkent ($p=0,0188$). Az IgD⁺CD27⁺ switched memória B sejtek előtte mért sejtarányához ($18,615 \pm 7,500$ %) képest az utána mért sejtarány ($19,771 \pm 8,007$ %) emelkedett, de a különbség nem szignifikáns ($p=0,0606$). Az

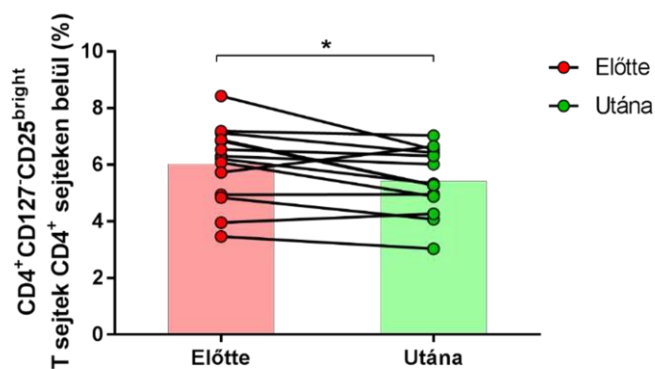
un-switched memória B sejtek esetén nem volt szignifikáns különbség (4. Ábra).



4. Ábra. Naív és memória B sejt alcsoportok arányai.

Az ábra bal fele a citometriás mérések egy jellegzetes dot plotját, míg a jobb oldali grafikon a naív és memória B sejt alcsoportok százalékos arányának megoszlását mutatja a CD19+ B limfocitákon belül, a 6 hetes mozgásprogram előtt (piros) és után (zöld). (* $p < 0,05$). Forrás: saját forrás

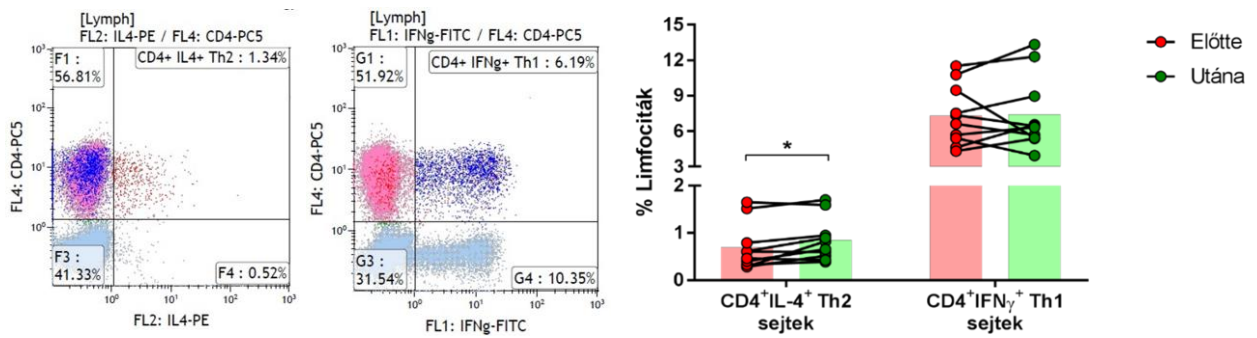
A CD4+CD127-CD25^{bright} Treg sejtek aránya jelentősen változott a mozgásprogram befejezését követően, ugyanis a sejtek kiindulási sejtarányához ($6,036 \pm 1,349$ %) képest az edzések befejezését követően mért sejtarány ($5,431 \pm 1,142$ %) szignifikánsan csökkent ($p = 0,0129$) (5. Ábra).



5. Ábra. Treg sejtek arányai.

Az ábra a CD4+CD127-CD25^{bright} Treg sejtek százalékos arányának megoszlását mutatja a CD4+ T limfocitákon belül, a 6 hetes mozgásprogram előtt (piros) és után (zöld). (* $p < 0,05$) Forrás: saját forrás

A Th2 sejtek edzésprogram előtt mért sejtarányához ($0,695 \pm 0,497$ %) képest a z azt követően megfigyelt sejtarány ($0,854 \pm 0,459$ %) szignifikánsan emelkedett volt ($p = 0,0375$), míg a Th1 sejtek esetén érdemi változás nem volt megfigyelhető (6. Ábra). A Th17 és Tr1 sejtek esetén szintén nem jelentkezett érdemi változás a mozgásprogram végeztével.



6. Ábra. A Th1, Th2 sejtek arányai.

Az ábra bal oldali képein a citometriás mérések egy-egy jellegzetes dot plotjai láthatók. A jobb oldali grafikon a CD4+IL-4+IFN-gamma- Th2, CD4+IL-4-IFN-gamma+ Th1 sejtek százalékos arányának megoszlását mutatja a limfocitákon belül, a 6 hetes mozgásprogram előtt (piros) és után (zöld). (* p<0,05). Forrás: saját forrás

Megbeszélés

A WHO jelentése szerint a fizikai inaktivitás a globális halálozás 4. legfontosabb rizikófaktora [WHO, 2018]. A mozgásszegény életmód, illetve a sportolás immunrendszerre gyakorolt hatásának vizsgálata különösen aktuális a mai, mozgásszegény világunkban, hiszen a fizikai aktivitás könnyedén beiktatható a mindennapokba eliminálva ezzel egy komoly, több betegség kialakításával is összefüggésbe hozható rizikófaktort [BOOTH et al., 2017].

Vizsgálataink első részében összehasonlítottuk a különböző életkorú nők csoportjaiban mért eredményeinket. Bár a fiatal élsportoló és fiatal nem sportoló egyetemisták értékei egymáshoz viszonyítva érdemben nem tértek el, azonban az idősek mozgásprogram előtt mért, fizikai inaktivitásban megfigyelt adataival összevetve érdemi eltérések igazolódtak. Az IgD+CD27- naiv B sejtek és CD4+ Th sejtek aránya szignifikánsan magasabb volt az időseknél a nem sportoló fiatalokhoz viszonyítva. A CD4+IL-4+ Th2 sejtek arányát vizsgálva az időseknél szignifikánsan magasabb (kivágva az az) értéket kaptunk mind a nem sportoló fiatalokhoz, mind az élsportoló röplabdásokhoz viszonyítva. A CD4+IL-10+ Tr1 sejtek aránya szintén magasabb volt az időseknél a nem sportoló fiatalokhoz képest. Eredményeink összhangban állnak a szakirodalmi adatokkal, ugyanis a korábbi kutatási adatok leírják az életkor előrehaladtával bekövetkező változásokat a T-sejtek számában és arányában, melyek jelentős mértékű Th2 irányú eltolódáshoz, illetve megváltozott regulatórikus funkciókhoz vezetnek [RINK, 1997].

Munkánk második részében a vizsgálatainkba bevont időskorú nők edzésprogramját követően mérhető immunológiai változásokat vizsgáltuk. Összehasonlítva az értékeket a mozgásprogram előtt és után, az IgD+CD27- naiv B-sejtek arányának szignifikáns csökkenését észleltük. Bár nem szignifikáns mértékű, de emelkedő tendenciát mutat az IgD-CD27+ switched memória B- sejtek szintje, mely változás egyértelmű igazolásához nagyobb esetszám mellett további vizsgálatok szükségesek. Elmondható tehát, hogy a B-sejtes profil változást mutat, rendszeres testmozgást követően csökken a naiv B-limfociták, és növekszik a memória B-sejtek aránya, melynek hatására effektívebb és gyorsabb immunválasz alakulhat ki az esetleges fertőzések során. A memória B-sejteknek ugyanis a másodlagos immunválasz kialakításában van nagy szerepük. Míg primer immunválasz során 7-14 nap szükséges az ellenanyag-termelő sejtek kialakulásához, addig szekunder esetben sokkal kevesebb idő is elég, illetve nagyobb mennyiségű, általában IgG- típusú ellenanyag képződése jellemző. Az immunológiai memória aktiválódását kiváltó reakció során az antigént felismerő memóriasejtek klónjai stimulálódnak. Ezek főként IgA, IgG és IgE termelésére képesek, ezért a vérben, illetőleg a szekrétaumokban ezen immunoglobulinok szintje magasabb lesz az IgM-hez viszonyítva másodlagos immunválasz során. A szekunder válasz során termelődött ellenanyagok affinitásérően mentek keresztül, így átlagos affinitásuk nagyobb, mint primer válasz során képződött társaiké. A növekvő affinitás pedig ismétlődő fertőzések során biztosítja az egyre hatékonyabb védekezést a fertőzésekkel szemben [SÁRMAY, 2006].

A T sejtek vizsgálata során a Th2 sejtarány életkorral járó emelkedett szintjének

(kivágva az a) további emelkedését írtuk le, melynek pontos értelmezése további vizsgálatokat igényel. Fontos azonban, hogy az immunszuppresszív hatású CD4+CD127-CD25^{bright} Treg sejtek szintje szignifikáns csökkenést mutatott a mozgásprogram végeztével az idősokban, a CD4+IL-4+ Th2 sejteké pedig emelkedést. A regulatórikus T-sejtek a T-limfocitáknak egy olyan alcsoportja, mely CD4 és CD25 markert is hordoz a felszínén. Érésükben a FoxP3 transzkripciós faktor játszik kulcsszerepet [PAPP et al., 2017]. Bár gátló működésüknek pontos mechanizmusa még nem teljesen tisztázott terület, a solubilis mediátorok termelésén túl szerepet játszik direkt sejt-sejt kapcsolat is szuppresszor hatásuk közvetítésében. A Treg sejtek aktiválhatóak antigén-specifikus módon, de nem-antigén-specifikusan fejtik ki szuppresszív hatásukat [THORNTON – SHEVACH, 2000]. Sokféle anti-inflammatorikus citokint termelnek, többek között TGF- β 1-et, IL-10- et és IL-35-öt is, amelyekkel down-regulálják az immunválaszt [COLLISON et al., 2007]. Bár a szuppresszor aktivitás vizsgálatát célzó in vitro funkcionális tesztek a munkánk következő szakaszában végezzük el, feltételezhető, hogy a Treg sejteket érintő kvantitatív változások az immunválasz erősödéséhez vezethet. Összességében a kutatásunk során megfigyelt változások az immunreaktivitás fokozódását és az immunrendszer erősödő válaszkészségét tükrözhetik, mely változások az idősebb korosztályban különösen előnyösek lehetnek.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00062 azonosító számú, „Életminőség fejlesztése Kelet-Magyarországon: Táplálkozás-, teljesítménybiológiai és biotechnológiai experimentális kutatások és eszközfejlesztések a humán megbetegedések megelőzésére és kezelésére” című projekt keretében történt.

A kutatás a GINOP 2.3.3.-15-2016-22 azonosító számú „A rendszeres fizikai aktivitás preventív szerepe az aktív idősödés életminőséget meghatározó fiziológiai és molekuláris biológiai kutatásokat megalapozó, infrastrukturális fejlesztésekhez” című projekt keretében történt.

Papp Gábor munkája a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíjának, illetve az Innovációs és Technológiai Minisztérium Bolyai+ Felsőoktatási Fiatal Oktatói és Kutatói Ösztöndíjának (Új Nemzeti Kiválóság Program - ÚNKP-19-4-DE-35) támogatásával valósult meg.

Berki Alexandra Réka és Arany Attila Csaba az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 azonosító számú „Debrecen Venture Catapult Program” keretében megvalósuló Hallgató Tehetséggondozó Program ösztöndíjában részesültek.

Irodalomjegyzék

- Booth, FW., Roberts, CK., Thyfault, JP., Ruegsegger, GN., & Toedebusch, RG. (2017). Role of Inactivity in Chronic Diseases: Evolutionary Insight and Pathophysiological Mechanisms. *Physiol Rev*; 97(4):1351-1402.
- Burns, EA. (2000). Aging, immunity and cancer. *Cancer Control*, 7(6):513-22.
- Collison, LW., et al. (2007). The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature*. 450(7169):566–569. doi: 10.1038/nature06306.
- Kruijssen-Jaarsma, M et al., (2013). Effects of exercise on immune function in patients with cancer: A systematic review. *Exerc Immunol Rev* 19:120-143.
- Laaksonen, DE., Lakka, HM., Salonen, JT., Niskanen, LK., Rauramaa, R., & Lakka TA. (2002). Low levels of leisure-time physical activity and cardiorespiratory fitness predict development of the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 25(9):1612–8.
- Mekkel, G., Barta, Zs., & Bakó, Gy. (2004). Immunológiai változások időskorban. *Hun Immunol* 3(4):21-8.
- Nieman, DC. (1990). Marathon training and immune function. *Sports Med* 2007;37:412-415.
- Nieman, DC et al., (2007). The effects of moderate exercise training on natural killer cells and acute upper respiratory tract infections. *Int J Sports Med* 11:467-473.
- Nieman, DC et al., (2012). Variance in the acute inflammatory response to prolonged cycling is linked to exercise intensity. *J Interferon Cytokine Res* 32:12-17.
- Ostapiuk-Karolczuk, J. (2012). Cytokines and cellular inflammatory sequence in non-athletes after prolonged exercise. *J Sports Med Phys Fitness*. 52(5):563-8.
- Papp, G., Boros, P., Nakken, B., Szodoray, P., & Zeher M. (2017). Regulatory immune cells and functions in autoimmunity and transplantation immunology. *Autoimmun Rev*. 16(5): 435-444.
- Rink, L. (1997). Characteristics of immunologic test values in the elderly. *Z Gerontol Geriatr* 30(3):220-5.
- Robson-Ansley, P et al., (2012). Prevalence of allergy and upper respiratory tract symptoms in runners of the london marathon. *Med Sci Sports Exerc* 44:999-1004.
- Ronsen, O., Pedersen, BK., Oritsland, TR., Bahr, R., Kjeldsen-Kragh, J. (2001). Leukocyte counts and lymphocyte responsiveness associated with repeated bouts of strenuous endurance exercise. *J Appl Physiol* 91:425-434
- Sármay, G. (2006). Az ellenanyagválasz általános sajátosságai. *Immunbiológia*. Szerk.: Gergely J., Erdei A. Budapest: Medicina Könyvkiadó Zrt.
- Stacy, S. (2002). Immunological memory and late onset autoimmunity. *Mech Ageing Dev* 123(8):975-85.

Thornton, AM., & Shevach, EM. (2000) Suppressor effector function of CD4+CD25+ immunoregulatory T cells is antigen nonspecific. *J Immunol.* 164(1):183–190.

WHO. (2018). Global action plan on physical activity 2018–2030: more active people for a healthier world. WHO/NMH/PND/18.5 - *At-A-Glance brochure.* 1-104.

Yan, H et al., (2001). Effect of moderate exercise on immune senescence in men. *Eur J Appl Physiol* 86:105-111.

Zheng, Q et al., (2015). Regular Exercise Enhances the Immune Response Against Microbial Antigens Through Up-Regulation of Toll-like Receptor Signaling Pathways. *Cell Physiol Biochem.* 37(2):735-46.