

·基础研究·

不同强度运动对大鼠自由基代谢影响的研究 *

闻剑飞¹ 刘玉倩² 王海涛¹ 袁克星¹ 问亚飞¹

摘要 目的:研究不同强度运动对大鼠血清、骨骼肌、心肌、肝脏中自由基代谢的变化。方法:18只雄性Wistar大鼠随机分为安静对照组(CG)、适度运动组(MG)和运动性低血色素组(SG),每组6只。5周递增负荷跑台运动后测定血清、腓肠肌、心肌、肝脏丙二醛(MDA)、总抗氧化能力(T-AOC)。结果:经5周递增负荷跑台运动后,MG组T-AOC活性在血清、腓肠肌、肝脏中显著高于CG组($P<0.01$);SG大鼠各组织中MDA含量明显高于CG和MG($P<0.01$),T-AOC活性(除心肌外)明显低于MG($P<0.01$)。结论:①适度运动可提高大鼠各组织总抗氧化能力,增强机体清除自由基的能力。②长时间高强度递增负荷跑台运动导致的总抗氧化能力下降,脂质过氧化反应增强是引起运动性低血色素的重要原因之一。

关键词 运动;自由基;代谢;血红蛋白;丙二醛;总抗氧化能力

中图分类号:R34,R493 文献标识码:A 文章编号: 1001-1242(2009)-12-1080-03

Research on the metabolism of free radicals in rats after different intensity exercises training/WEN Jianfei, LIU Yuqian, WANG Haitao, et al//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2009, 24(12):1080—1082

Abstract Objective: To investigate the metabolism of free radicals in rats after different intensity exercises training. **Method:** Eighteen male Wistar rats were randomly divided into three groups: control group (CG), moderate exercises group (MG) and exercises-hypochrosis group (SG). The serum, heart, gastrocnemius and liver were sampled after 5-week different intensity treadmill exercises. The Hb, malonaldehyde (MDA) and total-antioxidant capacity (T-AOC) were measured. **Result:** The T-AOC of serum, gastrocnemius, liver in MG increased significantly than that in CG and SG($P<0.01$). The MDA of serum, heart, gastrocnemius and liver in SG increased significantly compared with that in CG and MG($P<0.01$). While the T-AOC in SG decreased significantly compared with that in MG ($P<0.01$). **Conclusion:** ①The total antioxidant capacity and free radical scavenging ability of the body enhanced after moderate exercises. ②The decreased total antioxidant capacity and the heightened free radical metabolism was one of the important causes of exercises-induced hypochrosis.

Author's address Department of Physical Education, Hebei Normal University, Shijiazhuang, 050016

Key words exercises;free radicals;metabolism; hemoglobin; malonaldehyde; total antioxidant capacity

适度有氧运动可提高机体抗氧化系统活性,抑制自由基的产生,而长时间高强度运动可引起机体氧化与抗氧化系统失调,导致脂质、蛋白质及核酸等多种氧化损伤。由过度运动引起的循环血中红细胞数量的减少或红细胞内血红蛋白(hemoglobin, Hb)不足称为运动性低血色素,严重时会发展成运动性贫血。运动性低血色素是影响运动能力的重要因素之一^[1]。有学者认为^[2],运动导致的自由基增多,脂质过氧化反应增强是发生运动性贫血的重要原因。本研究通过观察不同强度的递增负荷跑台运动对大鼠血清、骨骼肌、心肌及肝组织中自由基代谢的变化,阐明不同强度运动对机体抗氧化能力的影响,以期为运动性低血色素的防治及大众健身提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性Wistar大鼠18只,体重(300±10)g(河北医科大学动物养殖中心),选用国家标准啮齿类动物干饲料喂养,自由饮水。环境温度22—24℃,相对湿度为45%—55%。大鼠随机分为安静对照组(control group,CG)、适度运动组(moderate exercises group, MG)和运动性低血色素组(exercises hypochrosis group, SG),每组6只。所有动物实验前均无跑台运动史。

1.2 实验方案

运动组大鼠在实验前均在跑台上进行两天适应性运动,速度为10m/min,时间为10min,坡度为零,跑台为ZH-PT型大鼠跑台。大鼠在进行适应性运动

* 基金项目:国家自然科学基金(30700390);河北师范大学基金(L2008Y07);河北省自然基金(C2009000291)

1 河北师范大学体育学院,河北省石家庄市裕华东路113号,050016

2 通讯作者

作者简介:闻剑飞,男,硕士研究生

收稿日期:2009-02-15

后,进行为期5周的跑台训练,每周训练6d,周日休息。MG组起始速度为15m/min,时间为30min,坡度为零。随后每周速度递增1m/min,第5周速度为19m/min。SG组跑台训练依照赵杰修等训练方法^[3]:速度为30m/min,坡度为零,前2周每天训练1次,后3周每天早晚各1次。第1次训练时间为1min,之后以2min/次的速度递增,最后1次训练时间为95min。SG组大鼠如果训练过程中出现力竭症状(连续施加机械刺激大鼠不能继续跑动、下跑台后腹部触地严重,呈“甲鱼状”),则允许其休息2—5min。

1.3 取材

末次运动结束36h后取材,以消除急性运动的影响。取材前禁食16h。左心室取全血1.5ml,845g/min,4℃离心10min取上清,-70℃保存以备血清检测。主动脉去离子水配制后理盐水灌流后,迅速取同侧腓肠肌、心肌、肝组织,用冰生理盐水清洗,滤纸吸干水分后置于塑料离心管管中投入液氮中冷冻,然后放入-30℃冰箱保存待测。

1.4 测定指标及方法

丙二醛(malonaldehyde, MDA)含量测定:采用硫代巴比妥酸荧光(TBA)法,蛋白浓度采用考马斯亮兰法,总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC,或称为total antioxidant activity, TAA)测定采用比色法,试剂盒由南京建成生物工程研究所提供,按实验流程操作。紫外-可见分光光度计(UV-VIS,TU-1810)测定。

1.5 统计学分析

所得数据采用SPSS 11.5进行单因素方差分析,用Student-Newman-Keuls(SNK)法进行多重比较。实验数据以平均数±标准差表示,显著性水平为P<0.05,非常显著性水平为P<0.01。

2 结果

2.1 不同强度递增负荷跑台运动对大鼠血清及组织过氧化的影响

经5周递增负荷跑台运动后,与CG组相比, MG组大鼠Hb浓度升高,具有显著性差异(P<0.05)。与CG、MG组相比,SG组大鼠Hb明显下降,且呈非常显著性差异(P<0.01)。与CG、MG组相比, SG大鼠血清、腓肠肌、心肌、肝脏组织中MDA含量均明显升高,除肝脏外(P<0.05),其他组织均呈非常显著性差异(P<0.01)。与CG组相比, MG组大鼠各组织MDA含量无明显变化(P>0.05)。

2.2 不同强度递增负荷跑台运动对大鼠血清及组织抗氧化能力的影响

经5周递增负荷跑台运动后,与CG组相比, MG组大鼠血清、腓肠肌、肝脏组织中T-AOC活性均明显升高,且在血清、肝脏中具有非常显著性差异(P<0.01);SG组大鼠腓肠肌、肝脏组织中T-AOC活性均明显降低,且具有非常显著性差异(P<0.01),血清、心肌组织中T-AOC活性虽降低但不具有显著性。与MG组相比,SG组血清、腓肠肌、肝脏组织中T-AOC的活性均降低,具有非常显著性差异(P<0.01),心肌组织中T-AOC活性虽降低但不具有显著性。见表1—2。

表1 不同强度递增负荷跑台运动对大鼠Hb及血清、组织MDA含量的影响(n=6)(x±s)

	CG组	MG组	SG组
血红蛋白 Hb(g/L)	152.56±5.46	163.00±7.82 ^①	103.67±14.49 ^{②④}
血清 MDA(nmol/ml)	2.91±0.53	3.35±0.36	4.93±0.61 ^{②④}
腓肠肌 MDA 含量 (nmol/mgprot)	5.38±0.62	6.39±0.52	7.83±1.68 ^{②④}
心肌 MDA 含量 (nmol/mgprot)	4.52±0.87	4.02±0.54	6.86±0.88 ^{②④}
肝脏 MDA 含量 (nmol/mgprot)	1.54±0.46	1.54±0.32	2.28±0.55 ^{①③}

与CG比较:^①P<0.05,^②P<0.01;与MG比较:^③P<0.05,^④P<0.01

表2 不同强度运动对大鼠血清、组织T-AOC活性的影响(n=6)(x±s)

	CG组	MG组	SG组
血清 T-AOC 活性(U/ml)	8.00±0.88	10.61±1.32 ^②	7.65±1.70 ^③
腓肠肌 T-AOC 活性 (U/mgprot)	6.84±0.37	7.99±0.65 ^①	4.34±0.57 ^{②③}
心肌 T-AOC 活性 (U/mgprot)	6.21±1.12	6.97±1.62	5.61±1.37
肝脏 T-AOC 活性 (U/mgprot)	1.33±0.31	1.79±0.54 ^②	0.88±0.15 ^{②③}

与CG比较:^①P<0.05,^②P<0.01;与MG比较:^③P<0.01

3 讨论

实验结果表明,适度运动组大鼠保持了较高的Hb(P<0.01),这与运动中机体对氧的需求量增高是相适应的,更多的氧有助于机体通过有氧氧化产生能量。同时较高的Hb也会增加机体运送CO₂等代谢产物的能力,对酸性物质起到较好的缓冲作用,调节体内的酸碱平衡。而长时间大强度的递增负荷跑台运动引起大鼠Hb浓度显著低于对照组和适度运动组(P<0.01),造成机体出现运动性低血色素。Hb是机体运氧的主要载体,Hb的浓度与运动能力呈正比。降低的Hb会使机体的运氧能力显著下降,使机体在运动中不能充分利用有氧氧化产生充足ATP,导致机体运动能力下降。同时,降低的Hb不能把机体代谢产生的CO₂通过血液循环尽快运走,易导致局部酸性物质堆积,诱发运动性疲劳。

研究表明,长时间大强度的运动可通过酶系统和非酶系统引起机体内产生大量的自由基。自由基

能攻击细胞膜中的多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA),引发脂质过氧化反应,形成脂质过氧化物(lipid peroxide, LOOH),LOOH代谢后可产生MDA,MDA可以进入血液循环与各组织器官的蛋白质、核酸、氨基磷脂交联形成希夫氏碱,使细胞功能丧失^[4]。因此MDA可以反映体内脂质过氧化的程度,间接反映出细胞受损伤的程度。本实验结果表明,经5周长时间大强度递增负荷跑台训练后,运动性低血色素组大鼠血清、腓肠肌、心肌、肝脏组织中MDA含量比对照组及适度运动组均明显升高($P<0.01$),说明运动性低血色素发生中,机体各组织细胞的脂质过氧化反应增强。以往的研究也表明,在这个过程中,红细胞本身的脂质过氧化反应也会增强,加剧溶血,加重运动性低血色素程度^[5-6]。Brzeszczynska等^[7]利用顺磁共振光谱学研究发现过度运动会降低红细胞膜的流动性,加剧膜蛋白质构象改变。衣雪洁^[8]等研究也发现,力竭游泳后红细胞膜上的脂质过氧化物MDA在运动后即刻及1h显著高于对照组,且膜的流动性和变形性降低,提示力竭游泳后自由基大量生成,脂质过氧化反应增强是发生运动性低血色素的重要原因之一。

机体内存在着清除自由基的抗氧化酶类和非酶类防御机制,使体内自由基的形成和清除处于一种动态平衡中。机体中的许多抗氧化物质均能使 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} ,T-AOC则反映了这些抗氧化物质的活性,比单个的抗氧化物质测定能更好地反映机体抗氧化系统的总体水平^[9]。实验结果表明,适度运动组大鼠血清、腓肠肌、肝脏组织中T-AOC活性均升高,与此相应的是适度运动组MDA含量与对照组相比无明显差别,但均明显低于运动性低血色素组。结果提示适度的运动可提高机体抗氧化酶活性,防止运动引起细胞脂质过氧化加剧。González等^[10]的研究也表明,有氧运动会增加血清T-AOC,抑制脂质过氧化物产生。Brooks等^[11]的研究表明重复的有规律的有氧运动会加速机体清除自由基的能力或降低骨骼肌自由基的产生。

而运动性低血色素组大鼠腓肠肌、肝脏组织中T-AOC活性比对照组和适度运动组显著降低($P<0.01$),血清T-AOC活性显著低于适度运动组($P<0.01$)。递增负荷跑台运动导致运动性低血色素大鼠各组织中T-AOC活性降低原因可能是由于长时间递增负荷运动导致机体产生大量自由基,各种抗氧化酶过度消耗,引起氧化与抗氧化系统失衡,最终导致细胞遭受自由基攻击,脂质过氧化反应增强,导致MDA显著增加。

自由基的产生是机体代谢过程的一部分,在体内不断产生的同时,又通过抗氧化防御体系,以多种途径来维持其动态平衡。生理浓度的自由基参与了细胞许多的生理过程,包括细胞增殖、分化和凋亡等,作为信号分子起到转导和调控的作用^[12]。自由基介导的许多信号通路会改变真核细胞基因的转录、翻译及mRNA稳定性。线粒体电子传递链的蛋白、DNA修复蛋白,抗氧化酶、应激蛋白均与过氧化调节的基因改变有关。研究表明大强度运动引起的自由基过度增加会导致肌细胞的蛋白和脂质遭到破坏,诱发骨骼肌疲劳,而生理浓度的自由基有助于提高骨骼肌的收缩力量^[13]。

综上所述,适度的运动可提高大鼠各组织总抗氧化能力,增强机体清除自由基的能力;长时间大强度递增负荷跑台运动导致大鼠血清、骨骼肌、心肌、肝脏中脂质过氧化反应增强,总抗氧化能力下降,同时大鼠出现运动性低血色素,提示自由基代谢紊乱是导致运动性低血色素的原因之一。

参考文献

- [1] Portal S, Epstein M, Dubnov G. Iron deficiency and anemia in female athletes:causes and risks [J]. Harefuah, 2003,142(10):698—703, 717.
- [2] Cazzola R, Russo-Volpe S, Cervato G, et al. Biochemical assessments of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer players and sedentary controls[J]. Eur J Clin Invest, 2003,33(10):924—30.
- [3] 赵杰修,田野,曹建民,等.不同运动方式对大鼠血红蛋白浓度的影响--大鼠运动性贫血模型建立方法探讨[J].中国运动医学杂志,2004,23(4):436—440.
- [4] 许豪文.运动生物化学概论[M].北京:高等教育出版社,2001.336—359.
- [5] 吴杰,赵歌.不同负荷运动训练对大鼠红细胞膜特性的影响[J].天津体育学院学报,2004,19(4):56—59.
- [6] 金丽,田野,赵杰修,等.大鼠运动性贫血时以及营养干预对红细胞膜脂质过氧化的影响[J].体育科学,2005,25(8):75—78.
- [7] Brzeszczynska J, Pieniazek A, Gwozdzinski L, et al. Structural alterations of erythrocyte membrane components induced by exhaustive exercise [J]. Appl Physiol Nutr Metab, 2008,33 (6):1223—31.
- [8] 衣雪洁,常波,许豪文.力竭游泳对红细胞膜的影响[J].中国运动医学杂志,2001,20(2):139—141.
- [9] Blaszcak R, Kujawski K, Kedziora-Kornatowska K, et al. The total antioxidant capacity and low-molecular antioxidant concentration in plasma of type -2 diabetes patients with different stage of metabolic compensation and concomitant diabetic nephropathy[J]. Pol Merkur Lekarski, 2005,18(103):29—32.
- [10] González D, Marquina R, Rondón N, et al. Effects of aerobic exercise on uric acid, total antioxidant activity, oxidative stress, and nitric oxide in human saliva [J]. Res Sports Med, 2008,16(2):128—37.
- [11] Brooks SV, Vasilaki A, Larkin LM, et al. Repeated bouts of aerobic exercise lead to reductions in skeletal muscle free radical generation and nuclear factor kappaB activation [J]. J Physiol, 2008,586(16):3979—90.
- [12] 冯炜权,谢敏豪,王香生,等.运动生物化学研究进展[M].北京:北京体育大学出版社,2006. 229—246.
- [13] Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production [J]. Physiol Rev, 2008,88(4):1243—1276.