

# 有氧运动训练对老年大鼠线粒体 DNA 含量、呼吸链复合酶活性的影响

赖红梅<sup>1</sup> 陈彩珍<sup>2</sup> 蒋慧萍<sup>3</sup>

**摘要 目的:** 研究长时间有氧运动训练对老年大鼠心肌、脑组织线粒体 DNA 含量及线粒体呼吸链酶复合体的影响。**方法:** 将大鼠随机分为 3 组: 青年组、老年对照组、老年运动训练组, 运动组大鼠在水中 90d 渐进游泳训练, 测定心脏、脑组织线粒体 DNA 含量、线粒体复合体 I、IV 的活性。**结果:** ①与青年组相比老年对照组心肌线粒体 DNA 含量升高 ( $P<0.01$ )、线粒体复合体 I、IV 活性明显降低 ( $P<0.05-0.01$ ), 脑组织线粒体 DNA 含量升高 ( $P<0.01$ )、线粒体复合体 I、IV 活性明显降低 ( $P<0.05-0.01$ )。②与老年对照组相比老年运动训练组心肌线粒体 DNA 含量明显降低 ( $P<0.05$ )、线粒体复合体 I、IV 活性明显升高 ( $P<0.05-0.01$ ), 脑线粒体 DNA 含量没有显著变化 ( $P>0.05$ )、线粒体复合体 I、IV 活性明显升高 ( $P<0.05-0.01$ )。**结论:** 长时间有氧运动训练可以降低老年大鼠心肌线粒体 DNA 含量, 增加线粒体呼吸链复合酶活性, 延缓衰老过程中线粒体功能的退行性变化。

**关键词** 老年; 线粒体 DNA 含量; 有氧运动

**中图分类号:** R493 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1242(2009)-12-1109-03

**The long time aerobic training effect on the mitochondrial DNA content and the activity of mitochondrial respiratory chain complexes in aging rats/LAI Hongmei, CHEN Caizhen, JIANG Huiping//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2009, 24(12):1109—1111**

**Abstract Objective:** To study long time aerobic training effect on mitochondrial DNA (mtDNA) content and activities of mitochondrial respiratory chain complexes in the myocardium and brain tissues of aged rats. **Method:** Forty-five rats were randomly divided into three groups Group A ( $n=15$ ) younger rats did not received training; Group B ( $n=15$ ) old rats did not received training; Group C ( $n=15$ ) old rats received gradually training for 90 days. the mtDNA content were determined by methods of Yan etc, the activity of mitochondrial respiratory chain complexes in myocardium and brain tissues were determined by methods of Wu etc. **Result:** The mitochondrial DNA content in myocardium and brain tissues significantly increased ( $P<0.01$ ) and the activity of mitochondrial respiratory chain complexes in myocardium and brain tissues significantly decreased ( $P<0.05-0.01$ ) in the aging control group as compared with those in the young group. The mitochondrial DNA content in myocardium significantly decreased ( $P<0.05$ ), while there was no significant difference in brain. The activity of mitochondrial respiratory chain complexes in myocardium and brain tissues significantly increased ( $P<0.05-0.01$ ) in the aging training group as compared with those in the aging control group. **Conclusion:** the long time aerobic training could decline the mitochondrial DNA content and increase the activity of mitochondrial respiratory chain complexes in myocardium and brain tissues in aging rats.

**Author's address** East China University of Political Science and Law, Shanghai, 200042

**Key words** aging; the content of mitochondrial DNA; aerobic training

研究衰老的最终目的是为了延缓衰老, 这不仅是基础医学和预防医学研究的热点, 也是运动医学所关注的研究领域。尽管有关衰老的学说众说纷纭, 尚无定论, 但线粒体功能的改变在细胞、组织和器官衰老过程中的作用和意义是不容忽视的。研究表明在衰老的过程中线粒体膜结构和功能损伤, 使呼吸链功能逐渐下降, 使能量转换不足, 或诱发细胞凋亡, 是机体衰老的重要原因之一, 表现出衰老的症状, 并且在每种组织中线粒体变化是不同的, 以心、脑、骨骼肌中变化明显<sup>[1-2]</sup>, 运动医学领域大量研究

证实长期有氧运动训练, 可使线粒体产生适应变化, 提高氧化磷酸化功能。本实验旨在通过观察有氧运动训练对老年大鼠线粒体 DNA 含量 (mitochondrial DNA, mtDNA)、呼吸链复合酶活性的影响, 探讨有氧运动延缓衰老的作用及机制。

1 华东政法大学刑事司法学院, 上海, 200042

2 华东师范大学人体健康学院

3 上海国际和平妇幼保健院

作者简介: 赖红梅, 女, 博士, 副研究员

收稿日期: 2009-05-22

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SD 纯系大鼠, 雄性(购自上海), 3 月龄大鼠 20 只作为青年组, 体重  $300 \pm 40.89\text{g}$ ; 18—19 月龄大鼠 30 只作为老年组, 体重  $703 \pm 89.8\text{g}$ 。饲养环境温度为  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , 光照时间 12h, 自由饮食(饲料由中英合资上海西浦儿公司提供)。

### 1.2 动物分组及运动方式

将大鼠随机分为 3 组: 青年安静组( $n=15$ )、老年安静对照组( $n=15$ )、老年运动训练组( $n=15$ ), 运动组大鼠在  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  水中进行渐进游泳训练, 共 90d, 每周训练 5 次, 每次训练的时间以每周递增的方式(每周递增 5min), 从开始的 30min 到最后的 50min。

### 1.3 大鼠心肌、脑组织线粒体含量的检测

大鼠游泳训练 90d, 处死, 迅速取出心肌、双侧大脑半球, 液氮速冻,  $-80^\circ\text{C}$  冰箱保存备用。用于测定 mtDNA 含量。具体操作参考阎华超等<sup>[3]</sup>提取线粒体 DNA 方法。

### 1.4 标本检测

心肌细胞、脑细胞 mtDNA 相对含量: 取  $100\mu\text{l}$  溶解物放入比色杯中, 1cm 光径, TE 调零, 用紫外分

光光度计测定 A260nm 和 A280nm 值计算 DNA 含量。

心肌、脑组织线粒体呼吸链酶复合体活力测定: 参照伍期专等<sup>[4]</sup>的方法进行。

### 1.5 统计学分析

所有数据用均数 $\pm$ 标准差表示。使用 SPSS10.1 软件, 组间比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有显著性意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠心肌、脑组织线粒体呼吸链酶复合体活力比较

见表 1。老年大鼠心肌、脑组织线粒体复合体 I 和 IV 活力明显降低( $P < 0.05—0.01$ ), 老年运动组线粒体复合体 I 和 IV 活力与老年对照组相比有明显升高( $P < 0.05—0.01$ )。

### 2.2 各组大鼠心肌、脑组织线粒体 DNA 含量比较

见表 2。老年大鼠心肌和脑组织线粒体 DNA 含量明显高于青年组( $P < 0.01$ ), 老年运动组心肌线粒体 DNA 含量明显低于老年对照组( $P < 0.05$ ), 脑组织线粒体含量变化差异没有显著性( $P > 0.05$ )。

表 1 各组大鼠心肌、脑组织线粒体呼吸链酶复合体活力比较

( $\bar{x} \pm s, n=15, \text{ukat/g}$ )

| 组别    | 心肌                     |                       | 脑组织                    |                        |
|-------|------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
|       | 复合体 I                  | 复合体 IV                | 复合体 I                  | 复合体 IV                 |
| 青年组   | $0.078 \pm 0.0053$     | $0.408 \pm 0.018$     | $0.046 \pm 0.0103$     | $0.929 \pm 0.1338$     |
| 老年对照组 | $0.051 \pm 0.0065^{①}$ | $0.309 \pm 0.021^{②}$ | $0.024 \pm 0.0058^{①}$ | $0.550 \pm 0.0335^{②}$ |
| 老年运动组 | $0.063 \pm 0.0054^{④}$ | $0.338 \pm 0.023^{④}$ | $0.0364 \pm 0.021^{③}$ | $0.664 \pm 0.0443^{④}$ |

与青年组比较: ① $P < 0.05$ , ② $P < 0.01$ ; 与老年对照组比较: ③ $P < 0.05$ , ④ $P < 0.01$

表 2 各组大鼠心肌、脑组织线粒体

DNA 含量比较 ( $\bar{x} \pm s, n=15, \mu\text{g/ml}$ )

| 组别    | 心肌                  | 脑                   |
|-------|---------------------|---------------------|
| 青年组   | $2.87 \pm 0.44$     | $1.60 \pm 0.26$     |
| 老年对照组 | $4.03 \pm 0.57^{①}$ | $3.96 \pm 0.54^{①}$ |
| 老年运动组 | $2.22 \pm 0.61^{②}$ | $3.25 \pm 0.47$     |

①与青年组比较  $P < 0.01$ ; ②与老年组对照组比较  $P < 0.05$

## 3 讨论

衰老涉及机体的多个系统和器官, 是一个多基因、多因素参与的复杂过程<sup>[17]</sup>, 自 1989 年有学者提出线粒体衰老假说, 人们就关注线粒体与衰老关系的研究。体细胞 mtDNA 裸露于基质, 缺乏结合蛋白的保护, 最易受到伤害, 引起线粒体膜和功能受损, 是机体衰老的重要原因之一。体细胞线粒体以往的研究大都关于突变, 与年龄增长相关的 mtDNA 含量的变化报道较少<sup>[5]</sup>, 本研究结果表明, 老年大鼠心肌和脑组织中 mtDNA 的含量明显高于青年组 ( $P < 0.01$ ), 由此推测线粒体 mtDNA 含量在老年期是增多的。吴小晶等<sup>[6]</sup>认为其含量增加的可能机制为: ①代

谢反馈机制。认为与衰老相关的线粒体功能的缺陷, 一方面通过增加未受损的正常线粒体工作量来进行代偿, 另一方面反馈刺激细胞增加线粒体的含量来代偿。②快速复制机制。不同类型的线粒体 DNA 的缺失, 使其基因组减少, 而这种较正常线粒体 DNA 短而有缺失的线粒体 DNA, 具有一种复制的优势, 结果造成细胞内大量无功能线粒体 DNA 堆积。③调节失控机制。野生型线粒体 DNA 顺式控制作用因基因突变而被抑制或失活, 这样突变型线粒体 DNA 的量就超过野生型, 导致与细胞能量状态及代谢无关的突变型线粒体 DNA 的量就超过野生型, 导致与细胞能量状态及代谢需要无关的突变型线粒体 DNA 的过度增殖。由于线粒体 DNA 中各基因排列紧密利用率高, 因而线粒体 DNA 任何部位的突变都会累积到基因中的一个重要功能区域, 最终使氧化磷酸化功能受损。

呼吸链功能下降, 直接会引起 ATP 合成量下降, 细胞所需能量不足, 从而发生一系列衰老表现, 尤其是心、脑等以 ATP 为主要能源的代谢旺盛器

官,首先表现衰老<sup>[7,18]</sup>。另外呼吸链功能下降尤其复合体 I 和 IV 下降可以加速自由基生成<sup>[8]</sup>,自由基生成又可引发线粒体 DNA 氧化损伤,如 8-OH-dG 的产生,导致线粒体 DNA 突变。线粒体 DNA 突变进一步导致电子传递链缺陷,使自由基生成增加,产生更多的 8-OH-dG 并使线粒体 DNA 突变进一步增加,形成恶性循环,加速机体的衰老<sup>[9-10]</sup>。

线粒体 DNA 参与编码氧化呼吸链组成成分的多个蛋白质亚单位,如复合酶 I 的 7 个亚单位、复合酶 IV 的 3 个亚单位和复合酶 V 的 2 个亚单位等,因此线粒体 DNA 损伤后可引起呼吸链有关蛋白质亚单位合成障碍,形成有缺陷的呼吸链。大量研究表明,人体和动物组织线粒体呼吸链酶活性随年龄增加而降低。人骨骼肌线粒体呼吸链复合体 I、II、IV 活性与年龄呈负相关<sup>[11-12]</sup>。大鼠、猴等动物骨骼肌、心肌线粒体呼吸链复合体 I、IV 活性亦随年龄而下降<sup>[13]</sup>。本研究也表明老年大鼠线粒体复合体 I、IV 活性与青年组相比有明显降低( $P<0.05-0.01$ )。

运动医学研究表明,有氧运动可以提升机体的有氧代谢水平,增进有氧工作能力,使线粒体产生适应的变化,从而提高线粒体氧化磷酸化能力,ATP 生成增加,阻碍自由基的进一步生成,在抗衰老中起一定的作用<sup>[14-15,19]</sup>。

本研究表明,老年运动组大鼠心脏和脑组织线粒体复合体 I、IV 活性与老年对照组相比有明显升高( $P<0.05-0.01$ ),这与 Berthon 等<sup>[16]</sup>的结果相一致。老年运动大鼠心脏线粒体 DNA 含量与老年对照组比较有明显的降低( $P<0.05$ ),但在脑组织线粒体 DNA 含量的变化差异没有显著性。

以上说明长时间有氧运动训练可以降低老年大鼠心肌线粒体 DNA 含量,增加线粒体呼吸链复合酶活性,对线粒体结构的有效维护和功能的适应性有一定保持和增强作用,对延缓衰老过程中线粒体功能的退行性变化具有一定的作用。

## 参考文献

- [1] 张平. 衰老过程中线粒体的分子病理 [J]. 中华病理学杂志, 1998, 27(1): 68—70.
- [2] 李晓东, 高枫, 陈清棠. Wistar 大鼠不同组织线粒体 DNA 相对含量的测定 [J]. 基础医学与临床, 1999, 19(2): 65—67.
- [3] 阎华超, 贾少波, 许恒龙, 等. 动物线粒体 DNA 提取简易流程及优

- 化 [J]. 生物技术通讯, 2007, 18(1): 95—97.
- [4] 伍期专, 陈燕, 陈清棠. 线粒体肌病患者的线粒体呼吸及呼吸链酶复合体活力的测定 [J]. 中华神经精神科杂志, 1993, 26(5): 212—214.
- [5] 李泽清, 侯天德. 运动性内源氧产生对线粒体 DNA 氧化损害 [J]. 甘肃科技, 2008, 24(22): 100—104.
- [6] 吴小晶, 吴丽娟, 李晓东, 等. 线粒体 DNA 定量分析和衰老关系初探 [J]. 中国老年学杂志, 1999, 19(5): 315—317.
- [7] Drew B, Leeuwenburgh C. Ageing and subcellular distribution of mitochondria: role of mitochondrial DNA deletions and energy production [J]. Acta Physiol Scand, 2004, 182(4): 333—341.
- [8] Borisov VB. Mutations in respiratory chain complexes and human diseases [J]. Ital J Biochem, 2004, 53(1): 333—341.
- [9] Peoples MC, Karnes HT. Recent developments in analytical methodology for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and related compounds [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2005, 827(1): 5—15.
- [10] 张岚. 线粒体氧化损伤与衰老 [J]. 国外医学·卫生学分册, 2005, 32(4): 218—221.
- [11] Boffoli D, Scacco SC, Vergari RG, et al. Decline with age of the respiratory chain activity in human skeletal muscle [J]. Biochim Biophys Acta, 1994, 1226(1): 73—82.
- [12] Boffoli D, Scacco SC, Vergari R, et al. Ageing is associated in females with a decline in the content and activity on the b-CI complex in skeletal muscle mitochondria [J]. Biochim Biophys Acta, 1996, 1315: 66—72.
- [13] Sugiyama S, Takasawa M, Hayakawa M, et al. Changes in skeletal muscle heart and liver mitochondrial electron transport activities in rats and dogs of various ages [J]. Biochem Mol Biol Int, 1993, 30: 937—944.
- [14] 张勇, 时庆德, 聂金雷, 等. 衰老和有氧运动对大鼠肝脏线粒体 DNA 突变的影响 [J]. 中国运动医学杂志, 2001, 20(4): 352—354.
- [15] Shi QD, Yang XR, Zhang Y, et al. The effect of aging and aerobic exercise on mitochondrial DNA deletions in rat liver [J]. The Hongkong Journal of Sports Medicine and Sports Science, 2002, 14: 33—39.
- [16] Berthon P, Freyssen D, Chatard JC, et al. Mitochondrial ATP production rate in 55 to 73-year-old men: effect of endurance training [J]. Acta Physiol Scand, 1995, 154: 269—274.
- [17] 刘崇, 阎芬, 曹冰, 等. 运动延缓老年人平衡能力下降的研究进展 [J]. 中国康复医学杂志, 2009, 24(7): 670—673.
- [18] 赖红梅, 万平, 刘正云, 等. 有氧运动训练对大鼠下丘脑、垂体 IL-1mRNA、IL-6mRNA 的影响 [J]. 中国康复医学杂志, 2007, 23(8): 693—695.
- [19] 吴学敏, 孙启良, 谢欲晓, 等. 运动训练对缓解期老年重度 COPD 患者肺功能和运动耐力的影响及相关性研究 [J]. 中国康复医学杂志, 2009, 24(6): 533—536.