·基础研究·

跑台运动训练对大鼠脑组织抗氧化能力的影响*

周 蔚[1] 陈立军[1,2] 张 敏[1] 靳秋月[1] 谢 红[1] 史 娜[1]

摘要

目的:建立大鼠跑台运动模型,观察不同训练负荷对大鼠脑组织总抗氧化能力(T-AOC),过氧化氢酶(CAT),羟自由基($OH^{\cdot}$)的影响。

方法:建立有氧、无氧、有氧和无氧交替运动大鼠跑台运动训练模型,有氧运动时采用递增负荷训练,无氧运动时采用高速间歇训练,并设立正常对照组。各组大鼠训练结束后用机器匀浆法提取大鼠脑组织匀浆介质,紫外分光光度计检测大鼠脑组织T-AOC,CAT活性和$OH^{\cdot}$抑制能力。

结果:有氧组大鼠$OH^{\cdot}$抑制能力要低于其他各组($P<0.05$),但训练6周后,和其他组相比差异无显著性意义;交替组大鼠脑组织CAT活性要高于其他三组($P<0.05$),而无氧组偏低($P<0.01$);有氧运动组大鼠脑组织T-AOC要高于正常对照组($P<0.01$)。

结论:有氧运动的氧化损伤要强于其他各组,但是随着训练时间的延长,其抗氧化能力也随之加强。长期坚持适度的有氧运动将有利于机体提升抗氧化损伤的能力。

关键词 跑台运动;脑组织;总抗氧化能力;过氧化氢酶;羟自由基

中图分类号:R322.81, R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2011)-05-0447-04

Effect of treadmill exercises on antioxidant capacity in the brain of rats/ ZHOU Wei, CHEN Lijun, ZHANG Min, et al.//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2011, 26(5): 447—450

Abstract

Objective: To establish a rat treadmill exercises model and to investigate the activity changes of total antioxidant capacity (T-AOC), catalase (CAT) and hydroxyl free radical($OH^{\cdot}$) in rat brain after treadmill exercises training of different intensity.

Method: Eighty male SD rats were randomly divided into four groups: normal control group, aerobic exercises group (incremental load exercise), anaerobic exercises group (high-speed intermittent training) and alterntive-training group aerobic and anaerobic alternative training. The activity of T-AOC, CAT and the inhibition ability of $OH^{\cdot}$ were measured after every training period.

Result: The inhibition ability of $OH^{\cdot}$ of rat brain in aerobic exercise group was lower than that in the other groups ($P<0.05$). However, after six-week training, there was no significant difference between four groups. Activity of CAT rat brain in alternative-training group was higher than that in the other three groups ($P<0.05$), and it was low in anaerobic group ($P<0.01$). The T-AOC of rat brain in aerobic exercise group was higher compared with normal control group ($P<0.01$).

Conclusion: Oxidative damages of aerobic exercise were heavier than the other groups. But with the extension of training period, the antioxidant capacity increased. It suggested that after moderate aerobic exercises for a long term organism's antioxidant activity would be enhanced.

Author's address Department of Biochemistry, Armed Police Medical College, Tianjin, 300162

Key word treadmill exercise; brain tissue; total antioxidant capacity; catalase; hydroxyl free radical

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2011.05.012

*基金项目:军队科研项目(WKH2009Z02)

1 武警医学院生物化学教研室,天津,300162; 2 通讯作者

作者简介:周蔚,男,硕士研究生; 收稿日期:2010-11-20

氧代谢过程中可以产生少量的氧自由基，包括有 O^-_2、H_2O_2 和羟自由基（hydroxyl free radical, $OH^·$）。自由基具有细胞毒性作用，可引起细胞膜发生脂质过氧化作用，导致组织细胞损伤[1—5]。过氧化氢酶（catalase, CAT）是一种酶类清除剂，它可以清除体内过多的 $OH^·$[6—7]。运动能够提高机体抗氧化能力[8—9]，但是目前关于不同时期不同负荷条件的运动对机体影响的研究较少。

实验参照Bedford等[10]的方法，建立有氧、无氧、有氧和无氧交替运动跑台运动训练模型，并于训练2周、4周和6周采集标本，检测大鼠脑组织总抗氧化能力（total antioxidant capacity, T-AOC）、过氧化氢酶活性以及羟自由基抑制能力，探讨不同负荷条件下运动对机体抗氧化能力的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康雄性SD大鼠80只，鼠龄2个月，体重(214.65 ± 11.24)g，由北京大学医学部实验动物科学部提供（许可证号：SCXK2002-0001），动物房维持在温度（23 ± 2）℃，湿度40%—60%，每日按自然昼夜照明，自由进食饮水。实验对动物的处理方法符合中华人民共和国科学技术部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》[11]。

实验使用成都泰盟科技有限公司的FT-200三通道大鼠跑步机进行跑台训练。每次由专人在同一时间对大鼠进行训练，训练时间从8:00开始。

1.2 主要实验仪器和试剂

DY89-II电动玻璃匀浆器（宁波新芝公司），UV 2100紫外/可见分光光度计（日本Shimadzu公司），5417R低温离心机（德国Eppendorf公司）。T-AOC、CAT、$OH^·$测定试剂盒购于南京建成生物科技公司，BCA蛋白定量试剂盒购于碧云天生物技术公司。

1.3 实验方法

1.3.1 分组和建模：大鼠适应性饲养1周，然后进行3d适应性跑台训练（坡度为0°，速度8.2m/min，10min/d）后，按体重（组间体重无显著性差异）将SD大鼠80只随机分为正常对照组8只、有氧组24只、无氧组24只、交替组24只。按训练周期长短各运动组再分为训练2周、4周和6周组，8只/组。实验参照Bedford等[10]的方法，建立有氧、无氧、有氧和无氧交替运动跑台运动训练模型。

有氧运动组采用递增负荷训练，起始速度为15m/min，每间5min速度增加3m/min，运动至速度为20m/min后维持此速度并增加跑台坡度为5%，时间60min，运动强度为64%—76% VO_2max。

无氧运动组训练速度为50m/min，时间6min，休息5min后，继续依此训练3次，运动强度 > 80% VO_2max[12—13]。

有氧与无氧交替运动组起始速度为15m/min，5min后，增至18m/min，再过5min，增至20m/min，坡度提为5%，训练35min。休息10—15min后，以50m/min训练6min。训练时使用电刺激或毛刷刺激，维持大鼠在跑台跑道前1/3处，以保证运动强度恒定。每次实验后均检查动物是否受伤，如有受伤则及时治疗和休息调整。训练6周，每周6d。

正常对照组大鼠正常笼内生活，不运动。

1.3.2 匀浆介质的制备：将Tris 1.21g及EDTA-2Na 37.23mg加水500ml，再用200mmol/L HCl进行滴定至pH7.4，加入3.42g蔗糖，8g NaCl，再用蒸馏水补充至1000ml，放入盐水瓶中，高温高压消毒后4℃冰箱保存备用。

1.3.3 大鼠脑组织的采集及处理：每训练完2周，每个运动组即刻处死8只大鼠，断颈取脑，放在冰盘上，用冷生理盐水漂洗，除去血液，用滤纸拭干，称重，加入9倍于脑组织重量的冰匀浆介质，冰浴下用玻璃匀浆器将脑组织匀浆5min，制备好的10%匀浆用低温离心机2000转/min离心10—15min，取上清进行测定。使用BCA法进行蛋白定量。

1.3.4 检测指标与方法：用UV 2100紫外/可见分光光度计检测大鼠脑组织T-AOC、CAT活性、$OH^·$抑制能力。T-AOC的检测采用菲林法，CAT活性检测采用紫外分光法，$OH^·$的检测采用Fenton反应。

1.4 统计学分析

实验数据采用统计软件包SPSS 13.0进行处理，实验计量资料以均数 ± 标准差表示。组间差异比较采用单因素方差分析，若方差不齐，采用秩和检验。若方差齐，则采用SNK-q检验进行各组均值的多重比较。

2 结果

2.1 实验动物数量分析

共纳入大鼠80只,全部进入结果分析,无脱失值。

2.2 不同负荷、不同周期跑台训练对大鼠脑组织T-AOC的影响

训练2周,有氧组大鼠脑组织T-AOC高于正常对照组($P<0.01$)。训练6周,无氧组大鼠脑组织T-AOC低于有氧运动组($P<0.05$)。有氧运动组大鼠脑组织T-AOC随着训练周期的延长,呈现一种先降后升的趋势。见表1。

2.3 不同负荷、不同周期跑台训练对大鼠脑组织CAT的影响

训练2周,交替组大鼠脑组织CAT含量高于其他3组($P<0.05$)。训练4周,有氧组大鼠脑组织CAT含量低于其他3组($P<0.05$)。训练6周,无氧组大鼠脑组织CAT水平低于其他3组($P<0.01$);交替组低于正常对照组($P<0.001$)。见表2。

2.4 不同负荷、不同周期跑台训练对大鼠脑组织$OH^{\cdot}$抑制能力的影响

训练2周,交替组抑制$OH^{\cdot}$的能力高于其他三组($P<0.01$)。训练4周,有氧组$OH^{\cdot}$的抑制能力要低于其他三组($P<0.05$)。训练6周,运动组抑制$OH^{\cdot}$能力和正常对照组相比,无差异。见表3。

表1 不同负荷跑台训练后大鼠脑组织T-AOC的变化 ($x\pm s$,n=8,nkat/mgprot)

组别	第2周	第4周	第6周
正常对照组	9.64±0.90		
有氧运动组	14.47±0.43①②	6.99±0.92	12.67±1.88②
无氧运动组	9.57±1.21	9.82±1.52	7.16±0.24③
交替运动组	8.94±0.33	7.37±1.81	7.40±0.37

①与正常对照组相比$P<0.01$;②与有氧运动4周相比$P<0.01$;③与有氧运动6周相比$P<0.05$; 1U=(1/60)μkat=16.667nkat

表2 不同负荷跑台训练后大鼠脑组织CAT的变化 ($x\pm s$,n=8,nkat/gprot)

组别	第2周	第4周	第6周
正常对照组	96.75±2.71		
有氧运动组	106.97±8.67①	60.90±1.34②	90.87±3.75③
无氧运动组	98.02±7.39①	92.98±7.29④	77.82±3.32⑤
交替运动组	134.54±2.74②	91.59±2.81④	87.65±0.71③⑤

与交替运动2周相比:①$P<0.05$;与正常对照组相比:②$P<0.05$;③$P<0.01$;与有氧运动4周相比:④$P<0.05$;与无氧运动6周相比:⑤$P<0.01$

表3 不同负荷跑台训练后大鼠脑组织$OH^{\cdot}$抑制力的变化 ($x\pm s$,n=8,10^3 nkat/mgprot)

组别	第2周	第4周	第6周
正常对照组	2.30±0.10		
有氧运动组	2.14±0.27①	1.44±0.05②	2.71±0.18
无氧运动组	2.44±0.26①	2.43±0.39④	2.58±0.21
交替运动组	3.54±0.12③	3.06±0.12④	3.10±0.46

与交替运动2周相比:①$P<0.01$;与正常对照组相比:②$P<0.05$;③$P<0.01$;与有氧运动4周相比:④$P<0.05$

3 讨论

脑是机体氧消耗最多的器官之一,氧代谢过程中可以产生少量的氧自由基。自由基具有细胞毒性作用,可引起细胞膜发生脂质过氧化作用,导致组织细胞损伤,由于脑组织富含脂质因此对氧自由基损害尤为敏感。机体防御体系的抗氧化能力的强弱与健康程度存在着密切联系,该防御体系有酶促与非酶促两个体系,许多酶是以微量元素为活性中心。如CAT,可以清除自由基,防止氧化应激对脑的损伤。非酶促反应体系中主要为维生素、氨基酸和金属蛋白质。这个体系的防护氧化作用主要通过三条途径:①消除自由基和活性氧以免引发脂质过氧化;②分解过氧化物,阻断过氧化链;③除去起催化作用的金属离子。防御体系各成分之间相互起到了协同作用,以及代偿作用与依赖作用。机体中有许多抗氧化物质,能使Fe^{3+}还原成Fe^{2+},后者可与菲林类物质形成稳固的络合物,通过比色可测出其抗氧化能力的高低,T-AOC则反映了这些抗氧化物质的活性,比单个抗氧化物质的测定能更好地反映机体抗氧化系统的总体水平[14]。

$OH^{\cdot}$是化学性质最活泼的活性氧,它几乎与细胞内的每一类有机物如糖、氨基酸、磷脂、核苷酸和有机酸等都能反应,并且有非常高的速度常数,因此它的破坏性极强,但它可以被CAT分解。CAT是一种酶类清除剂,又称触酶,是以铁卟啉为辅基的结合酶。它可促使H_2O_2分解为分子氧和水,清除体内的H_2O_2,从而使细胞免于遭受H_2O_2的毒害,是生物防御体系的关键酶之一[15-16]。几乎所有的生物机体都存在CAT。其普遍存在于能呼吸的生物体内,主要存在于植物的叶绿体、线粒体、内质网、动物的肝和红细胞中,其酶促活性为机体提供了防御机制。

实验中，交替组大鼠脑组织OH·抑制能力高于其他三组，而有氧运动组大鼠脑组织OH·抑制能力低于其他各组，直到运动6周后，各组间才无显著差异；有氧运动2周和6周组大鼠脑组织CAT活性高于其他各组。有研究报道短时间的低氧暴露也可以增加机体CAT活性，翁锡全[17]等的研究发现低氧刺激可降低运动性贫血机体的脂质过氧化水平，提高机体抗氧化能力。蒋明朗[18]等在进行间歇性低氧暴露对小鼠自由基代谢的影响的实验也有类似结果的报道。实验中有氧运动组大鼠脑组织CAT活性在训练4周时突然降低可能和有氧运动产生的自由基过多，机体超代偿有关，但是随着运动时间的增加，机体抗氧化能力增强，体内自由基含量趋于稳定。有氧运动6周T-AOC强于其他各组，这和Gonzalez等的研究一致，Gonzalez[19]等的研究也表明，有氧运动会增加血清T-AOC，抑制脂质过氧化物的产生，Brooks[20]等的研究表明，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。提示我们，有氧运动会产生过多OH·，但由于机体存在代偿机制，有氧训练一定时间后，机体抗氧化能力增强，体内产生的过多的自由基可以被CAT等抗氧化酶清除，使机体恢复正常。

本实验观测了不同负荷条件下不同时期大鼠脑组织T-AOC、CAT活性以及OH·抑制能力的变化，结果表明有氧运动的氧化损伤较强，但是随着训练时间的延长，其抗氧化能力也随之增强，提示我们长期坚持合理的有氧运动，有利于增强机体抗氧化酶的活性，保护机体不受自由基的氧化损伤和细胞毒作用，为科学训练提供理论基础。

参考文献

[1] Selamoglu Talas Z, Ozdemir I, Yilmaz I, et al. The investigation of the antioxidative properties of the novel synthetic organoselenium compounds in some rat tissues[J]. Exp Biol Med, 2008, 233(5):575—579.

[2] Devrim E, Cetin M, Namuslu M, et al. Oxidant stress due to non ionic low osmolar contrast medium in rat kidney[J]. Indian J Med Res, 2009, 130(4):433—436.

[3] Marmol F, Sanchez J, Lopez D, et al. Role of oxidative stress and adenosine nucleotides in the liver of aging rats[J]. Physiol Res, 2010, 59(4):553—560.

[4] 曹俊,张洪建.运动对糖尿病大鼠脑组织CuZn-SOD、CAT和GSH-Px活性的影响[J].昆明医学院学报,2009,(4):36—39.

[5] Kumar JS, Menon VP. Effect of diabetes on levels of lipid peroxides and glycolipids in rat brain[J]. Metabolism, 1993, 42(11):1435—1439.

[6] Sokolovic D, Djindjic B, Nikolic J, et al. Melatonin reduces oxidative stress induced by chronic exposure of microwave radiation from mobile phones in rat brain[J]. J Radiat Res, 2008, 49(6):579—586.

[7] Kumar A, Malhotra A, Nair P, et al. Protective role of zinc in ameliorating arsenic-induced oxidative stress and histological changes in rat liver[J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol, 2010, 29(2):91—100.

[8] 董改宁,熊正英,刘海英.槲皮素对运动训练大鼠脑组织自由基代谢的影响[J].西北农林科技大学学报,2006,34(3):29—32.

[9] 闻剑飞,刘玉倩,王海涛,等.不同强度运动对大鼠自由基代谢影响[J].中国康复医学杂志,2009,24(12):1080—1082.

[10] Bedford TG, Tipion CM, Nilson NC, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedure[J]. J Appl Physiol, 1979, 47(6):1278—1283.

[11] 中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导意见. 2006.

[12] Shepherd RE, Gollnick PD. Oxygen uptake of rats at different work intensities[J]. Pflugers Arch, 1976, 362(3):219—222.

[13] Levine BD. VO_{2max}: what do we know, and what do we still need to know[J]? J Physiol, 2008, 586(1):25—34.

[14] Blaszczak R, Kujawski K, Kedziora-Kornatowska K, et al. The total antioxidant capacity and low-molecular antixidant 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.

[15] 许豪文.运动生物化学概论[M].北京:高等教育出版社,2001.

[16] 王良春.运动与血清酶[M].山西体育科技,1990,5(3):13.

[17] 裴锡全,林洁如,林文韬,等.低氧暴露对运动性贫血大鼠抗氧化能力的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2007,11(17):3357—3360.

[18] 蒋明朗,雷志平.间歇性低氧暴露对小鼠自由基代谢的影响[J].中国运动医学杂志,2005,24(1):87—88.

[19] Gonzalez D, Marquina R, Rondon 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—137.

[20] 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—3990.