

壳聚糖对运动训练大鼠骨骼肌和 肝脏线粒体自由基代谢的影响

熊静宇, 文质君, 李红, 陈筱春

(湛江师范学院体育系, 广东湛江 524048)

摘 要:了解壳聚糖对大鼠耐力运动中自由基代谢的影响。大鼠进行4周跑台耐力训练,以0.5 g/kg壳聚糖灌胃,测定骨骼肌和肝脏线粒体中丙二醛(MDA)和活性氧的含量。结果表明:服药组与运动组比较骨骼肌和肝脏线粒体中MDA含量显著降低($P < 0.05$);服药组骨骼肌活性氧含量显著低于运动组($P < 0.05$);肝脏活性氧没有明显的变化。壳聚糖能有效地减轻运动所产生的内源性自由基对大鼠的伤害,增强大鼠运动能力,延缓疲劳的发生。

关键词:大鼠;壳聚糖;耐力运动;线粒体;自由基代谢

中图分类号:G804.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-7116(2003)06-0053-02

The effect of chitosan on the free radical metabolism in rats muscle and liver

XIONG Jing-yu, WEN Zhi-jun, LI Hong, CHEN Xiao-chun

(Department of Physical Education, Zhanjiang Normal College, Zhanjiang 524048, China)

Abstract: To study the effect of chitosan on the delay of fatigue in rats. The rats were divided randomly into four groups: control group, exercise group, and chitosan group (0.5g/kg. b. w. chitosan). The exercise time of rat was determined 4 weeks; to test the content of muscle and liver mitochondria MDA and ROS. Compared with exercise group. The content of MDA were decreased ($P < 0.05$) in chitosan group; the content of muscle ROS were decreased ($P < 0.05$) in chitosan group. Conclusion: Chitosan had a significant effect on anti-free-radical, raising exercise endurance and delaying fatigue in rats.

Key words: rat; chitosan; exercise endurance; mitochondria; free radical metabolism

壳聚糖(Chitosan)是甲壳素(Chitin)的脱乙酰化产物。目前主要从海洋生物蟹和虾的壳中提取,是自然界中产量仅次于纤维素的天然多糖。也是迄今为止唯一发现的阳离子动物纤维碱性多糖。这类多糖既可生物合成,又可生物降解,与动物的器官组织及细胞有良好的相容性,无毒。甲壳素(壳聚糖)能增加人体免疫力、抑制肿瘤、调节血脂和血压等作用^[1,2]。也有作者研究了甲壳素(壳聚糖)抗自由基损伤^[3,4],通过促进受损线粒体的结构和功能的恢复,促进脂肪的氧化分解^[5]。但尚未见有关壳聚糖对骨骼肌和肝脏线粒体自由基代谢影响的报道,本研究通过灌服壳聚糖,测定大鼠运动训练后骨骼肌和肝脏线粒体MDA(丙二醛)和活性氧的含量。探讨壳聚糖在运动性疲劳发生中的作用。

1 材料方法

1.1 实验动物及分组

3月龄SD大鼠24只,体重(246.39 ± 31.89)g,由广东医

学院实验动物中心提供,按完全随机方法分为3组,Ⅰ组为对照组,Ⅱ组为运动组,Ⅲ组为运动+0.5 g/kg壳聚糖组。每组8只,分笼饲养,自由饮食,室温18~24℃。

1.2 运动方式

在实验前3d,Ⅱ、Ⅲ组大鼠每天进行30min跑台(天津运动医学研究所研制的MB-Ⅱ型小动物跑台)适应性训练,坡度5°,速度14~20 m·min⁻¹。实验时采用5级递增负荷模式进行运动。跑台坡度均为5°,15 m·min⁻¹ × 5 min, 18 m·min⁻¹ × 5 min, 21 m·min⁻¹ × 10 min, 24 m·min⁻¹ × 10 min, 28 m·min⁻¹ × 60 min。每天训练1次共90min,每周6d,共4周。对照组不作任何处理。于运动训练结束后次日取材。

1.3 药物及给药方法

壳聚糖(救护善)粉剂,脱乙酰度≥95%。批号:卫食健字(1998)第198号。购自广东湛江安泰生物技术有限公司。服药组采用灌胃法,按体表面积比率折算等效剂量^[6],用药剂量为每kg体重0.5g,每天运动训练前灌胃1次,实验时间

为 4 周。

1.4 取材和组织匀浆制备

4 周末用质量分数 25% 氨基甲酸酯 (4 mL/kg) 经腹腔注射麻醉方法处死动物。迅速取出肝脏和左侧腓肠肌, 以 4℃ 生理盐水冲洗并以滤纸吸干表面水分后分别称重, 冰浴中将各器官研磨, 用质量分数 0.9% NaCl 定溶成 10% (W/V) 的组织匀浆 (pH=7.2)。取组织匀浆 5 mL, 以 1 000 r/min 离心 10 min, 取上清液以 10 000 r/min, 4℃ 离心 10 min, 去除上清液, 沉淀物为线粒体。将分离的线粒体用 4℃ 生理盐水制备成混悬液, 反复冻融 4 次, 使线粒体破碎, 以备测定用。

1.5 指标测定

MDA 的测定方法为硫代巴比妥酸 (TBA) 法; 活性氧的测定为邻菲罗啉化学发光法。试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供, 操作严格按试剂盒说明进行。线粒体蛋白定量用考马斯亮蓝蛋白定量法。

1.6 数据处理

所有数据采用 SPSS 计算机软件作统计学处理, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用方差分析进行均数差异显著性检验。

2 结果

2.1 壳聚糖对大鼠骨骼肌和肝脏线粒体 MDA 含量的影响

服药组 MDA 含量低于运动组 ($P < 0.05$), 与对照组比较无差异, 见表 1。

2.2 壳聚糖对大鼠骨骼肌和肝脏线粒体活性氧含量的影响

壳聚糖灌胃 4 周后, 骨骼肌活性氧含量低于运动组 ($P < 0.05$), 与对照组比较无差异; 肝脏的活性氧与运动组和对照组比较均无显著性差异。见表 1。

表 1 壳聚糖对大鼠骨骼肌和肝脏线粒体自由基代谢的影响

分组	n/只	$\bar{x} \pm s$			
		b(MDA)/(nmol·mg ⁻¹)		ρ(活性氧)/(u·mg ⁻¹)	
		骨骼肌	肝脏	骨骼肌	肝脏
对照组	8	4.02±0.59	4.95±0.57	6.79±0.97	20.96±2.01
运动组	8	5.60±0.78 ²⁾	6.44±0.59 ²⁾	13.71±2.39 ²⁾	25.44±2.66 ²⁾
壳聚糖组	8	4.42±0.44 ¹⁾	4.33±0.33 ¹⁾	8.25±0.97 ¹⁾	24.91±3.69

1) 与运动组比较, $P < 0.05$; 2) 与对照组比较, $P < 0.05$

3 讨论

人体长时间的有氧运动至力竭可使机体活性氧自由基增加, 消除能力下降, 导致自由基积累而产生疲劳。线粒体是细胞呼吸的主要场所, 含有氧化磷酸化的重要装置, 在细胞正常的物质和能量代谢中起重要的作用。生物体耗氧量的 90% 以上是在线粒体中用于生物氧化。然而, 线粒体在进行生物氧化生成 ATP 的同时, 约有 2% 的氧接受呼吸链中漏出的电子而生生活性氧 (ROS) 自由基^[7], 因而也是易受自由基攻击的部位。若某种原因使 ROS 产生过多, 将引发生物膜上饱和脂肪酸的过氧化反应^[8], 引起细胞结构的破坏

和功能损害。

适当运动, 机体氧自由基 (oxygen free radicals, OFR) 的生成和清除处于动态平衡状态, 对身体不造成危害。但在持续性剧烈运动时, 能量需要增加, 氧化代谢加强, 耗氧量增加, OFR 生成增加, 超生理浓度的 OFR 将引发脂质过氧化反应和生物大分子的胶联, 破坏细胞组织的结构和功能。有报道运动后线粒体肿胀, 形成巨大线粒体; 线粒体 Ca^{2+} 含量明显增多^[9]; 力竭游泳后大鼠肾脏线粒体中 MDA 含量增加, GSH 含量和 GSH-px 活性降低^[10]。提示急性运动对器官线粒体形态和功能的损害是显著的。

本实验结果显示, 在较大负荷运动后即刻, 肝脏和骨骼肌线粒体中的 MDA、ROS 均显著增加, 而运动加服壳聚糖组大鼠骨骼肌和肝脏线粒体 MDA 与 ROS 含量却未见增加。提示壳聚糖能降低大鼠运动时 ROS 的产生, 提高大鼠抗脂质过氧化物的能力, 延缓大鼠疲劳的发生, 促进运动后的体能恢复。这与黄文聪^[3]报道的壳聚糖对运动过氧化损伤的康复作用研究基本一致。然而, 壳聚糖是作为直接的抗氧化物质还是通过提高体内抗氧化酶的活性而发挥作用, 有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 林友文, 许 晨, 卢灿辉. 甲壳素及其衍生物的医学应用[J]. 福建医科大学学报, 1999, 33(2): 226-228.
- [2] 武雪芬, 孙德梅, 翟建波. 甲壳质对人体生理生化功能的调节作用[J]. 河南中医, 1998, 18(4): 244-245.
- [3] 黄文聪. 壳聚糖对运动过氧化损伤的康复作用研究[J]. 现代康复, 2001, 5(2): 138-139.
- [4] 熊正英, 石 磊, 马亚妮, 等. 几丁质/几丁聚糖对运动训练小鼠肝组织自由基代谢及血清 GPT 活性的影响[J]. 体育科学, 2001, 21(4): 62-64.
- [5] 戚晓红, 蒋 莉, 李晓宇, 等. 壳聚糖对实验性脂肪肝大鼠肝及线粒体的电镜学分析[J]. 中国生化药物杂志, 2001, 22(1): 8-10.
- [6] 贺石林. 中医科研设计与统计[M]. 长沙: 湖南科技出版社, 1989: 55.
- [7] 方允中. 营养与活性氧[J]. 生理科学, 1989, 9(4): 5-9.
- [8] Gardner H W. Oxygen radical chemistry of polyunsaturated fatty acids[J]. Free Rad Biol Med, 1989, 7: 65-86.
- [9] 韩春华, 王起恩, 王 生, 等. 急性运动所致线粒体某些功能的改变及胆红素的保护作用[J]. 中国应用生理学杂志, 2001, 17(1): 72-75.
- [10] 罗 磊, 许晓瑾. 电针对力竭大鼠肾脏线粒体自由基代谢和线粒体功能的影响[J]. 中国针灸, 2001, 21(6): 366-368.

[编辑: 郑植友]