

·运动人体科学·

有氧耐力训练大鼠定量运动后红细胞的氧化应激

李 敏¹, 曹志发²

(1. 苏州大学 体育学院, 江苏 苏州 215021; 2. 徐州师范大学 体育学院, 江苏 徐州 221008)

摘 要: 为了解耐力训练大鼠进行一次定量运动后红细胞的运动氧化应激是否降低以及是否减轻了自由基对其的影响。将60只SD大鼠随机分为不训练组(C)、每次训练20 min组(T₁)和每次训练40 min组(T₂)。训练组在跑台上以28 m/min的速度训练6周。取样前各组又随机分为安静组和定量运动组,测试大鼠红细胞中GPX、SOD及Na⁺-K⁺-ATP酶活性和MDA含量。结果发现定量运动后,未训练大鼠SOD、GPX活性及MDA含量升高,Na⁺-K⁺-ATP酶活性下降;20 min训练大鼠SOD及Na⁺-K⁺-ATP酶活性下降,MDA含量和GPX活性升高且变化程度较未训练大鼠小;40 min训练大鼠各指标变化不大。结果提示有氧耐力运动训练能降低定量运动后红细胞的氧化应激,减轻自由基对红细胞的损伤。

关 键 词: 红细胞;自由基;氧化应激;有氧耐力训练;大鼠

中图分类号:G804.7 文献标识码:A 文章编号:1006-7116(2006)04-0050-03

Oxidative stress of erythrocytes in aerobic endurance trained rats after quantified exercising

LI Min¹, CAO Zhi-fa²

(1. School of Sports Science, Soochow University, Suzhou 215021, China;

2. School of Sports Science, Xuzhou Normal University, Xuzhou 221000, China)

Abstract: In order to know about whether the kinetic oxidative stress of erythrocytes in aerobic endurance trained rats is lowered or has abated the effect of free radicals on the rats after they have done a quantified exercise, the authors divided 60 SD rats randomly into a group not trained (C), a group trained for 20 minutes each time (T₁), and a group trained for 40 minutes each time (T₂). The rats in the trained groups were trained for 6 weeks, running on the run track at a speed of 28m/min. Before sampled, the rats in each group was randomly divided again into a rest group and a quantified exercising group, and then the activity of GPX, SOD and enzyme Na⁺-K⁺-ATP and the content of MDA in erythrocytes in the rats were tested. The results revealed the following findings: As for the untrained rats, the activity of GPX and SOD as well as the content of MDA are heightened, while the activity of enzyme Na⁺-K⁺-ATP is lowered; as for the rats trained for 20 minutes, the activity of SOD and enzyme Na⁺-K⁺-ATP is lowered, while the content of MDA and the activity of GPX are heightened and such changes are less significant than those occurred to the untrained rats; as for the rats trained for 40 minutes, various indexes do not change much. The results indicate that aerobic endurance exercising training can lower the oxidative stress of erythrocytes after quantified exercising and abate the damage of free radicals on erythrocytes.

Key words: erythrocyte; free radical; oxidative stress; aerobic endurance training; rat

急性力竭运动^[1]和中等强度运动^[2]都能使机体产生氧化应激。训练能增加健康男性学生^[3]、长跑运动员^[4]及专业自行车运动员^[5]红细胞抗氧化酶的含量。但训练后增加的抗氧化酶能否减轻急性运动后红细胞氧化应激损伤还不清楚,由于红细胞持续暴露于氧、其高含量的不饱和脂肪酸、血红素铁及处于血液活性氧的包围之中等特点使其易受到氧化损伤。大强度耐力训练能减轻力竭运动后红细胞的运动氧化应激^[6],那么中等强度有氧耐力训练大鼠进行一次定量运动后红细胞氧化应激水平是如何变化尚不清楚。本研究对大

鼠进行不同时间负荷有氧耐力训练后进行定量运动来观察上述变化,并通过测试红细胞膜Na⁺-K⁺-ATP酶活性的变化来观察氧化应激变化对红细胞功能蛋白的影响。

1 对象与方法

1.1 实验动物分组

健康雄性SD大鼠60只,12周龄,个体差异不大。随机分为不训练组(C组)、每次训练20 min组(T₁组)和每次训练40 min组(T₂组)。取样前,各组又随机分为定量运动组和不

进行定量运动组。大鼠单笼饲养,自然光照,通风条件良好,室温 18~25℃,相对湿度 50%~55%,国家标准啮齿类动物固体混合饲料喂养,自由进食、饮水。

1.2 运动训练方案

开始时训练大鼠在水平跑台上进行适应性慢跑 1 周,速度为 15 m/min,每天 10 min。第 2 周每天递增 3 m/min,到该周末为 28 m/min,每天运动 15 min。第 3 周至第 7 周, T₁ 和 T₂ 组每天以 28 m/min 的速度分别持续运动 20 min 和 40 min,每周训练 5 d,周末休息 2 d。

1.3 取材及指标的测定

经过 7 周饲养和训练后,各对照组(C_R、T_{1R}、T_{2R})于最后一次训练结束后 24 h,摘眼球取血。定量运动组(C_E、T_{1E}、T_{2E})最后一次训练结束后 24 h 以 28 m/min 的速度定量运动 40 min 后即刻摘眼球取血。取样前,腹腔注射质量分数 20% 氨基甲酸乙酯(1.5~2 g/kg)麻醉,肝素抗凝。用试剂盒测试各大鼠红细胞中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活性,丙二醛(MDA)含量及红细胞膜 Na⁺-K⁺-

ATP 酶活性。以上试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,严格按试剂盒要求进行操作。

1.4 数据处理

结果采用平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,所有数据用 SPSS10.0 统计软件包处理,方差分析,检验标准 0.05。

2 结果

训练后大鼠 SOD 和 GPX 活性升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。T_{2R} 组 MDA 浓度下降($P < 0.05$),而 T_{1R} 组变化不大($P < 0.05$)。T_{2R} 组比 T_{1R} 组 SOD 活性高($P < 0.01$)。定量运动后与相应安静组相比,未训练组 SOD 和 GPX 酶活性及 MDA 含量升高(均为 $P < 0.01$),Na⁺-K⁺-ATP 酶活性下降($P < 0.05$)。20 min 训练大鼠 SOD 及 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性下降($P < 0.05$),MDA 含量和 GPX 酶活性升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。T_{2E} 各项指标变化不大($P < 0.05$)。定量运动组之间, T_{1E} 组比 C_E 组 MDA 含量低($P < 0.01$),其它各指标差异不大($P > 0.05$)。T_{2E} 分别与 C_E 及 T_{1E} 组相比 SOD 活性高,MDA 含量低($P < 0.01$),GPX 酶活性差异不大($P > 0.05$) (见表 1)。

表 1 各组大鼠红细胞 Na⁺-K⁺-ATP 酶、SOD、GPX 活性及 MDA 浓度($\bar{x} \pm s$)变化

组别	Na ⁺ -K ⁺ -ATPase/($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	SOD/(U·g ⁻¹)	GPX/(U·g ⁻¹)	c(MDA)/(nmol·mL ⁻¹)
C _R	10.94 ± 2.07	18 879.51 ± 1 833.15	19.27 ± 3.03	16.44 ± 2.29
C _E	8.63 ± 1.63 ¹⁾	23 599.39 ± 2 353.93 ⁵⁾	24.38 ± 2.22 ⁵⁾	31.50 ± 3.55 ⁵⁾
T _{1R}	11.17 ± 2.12	25 739.93 ± 2 508.28 ²⁾	23.03 ± 3.70 ¹⁾	16.06 ± 1.59
T _{1E}	8.82 ± 1.66 ⁴⁾	22 783.01 ± 2 011.86 ⁴⁾	27.37 ± 4.36 ⁴⁾	24.40 ± 2.41 ^{5 6)}
T _{2R}	13.36 ± 2.53 ¹⁾	31 213.36 ± 3 023.94 ^{2 3)}	24.49 ± 3.90 ²⁾	14.02 ± 1.99 ¹⁾
T _{2E}	12.27 ± 3.05 ⁶⁾	29 779.79 ± 2 967.74 ^{6 7)}	25.32 ± 3.58	15.33 ± 2.05 ^{6 7)}

T_{1R}、T_{2R}与 C_R 比较: 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$; T_{2R}和 T_{1R} 组的比较: 3) $P < 0.01$; C_E、T_{1E}和 T_{2E}与相应安静组比较:

4) $P < 0.05$, 5) $P < 0.01$; T_{1E}、T_{2E}分别与 C_E 比较: 6) $P < 0.01$; T_{2E}与 T_{1E} 比较: 7) $P < 0.01$

3 分析与讨论

在本研究中未训练大鼠定量运动后红细胞抗氧化酶活性升高,但仍不足以平衡运动应激下产生的自由基,脂质过氧化增强。这与以往的一些研究结果相一致^[7]。

训练能增加动物^[8]、健康男学生^[3]、长跑运动员^[4]及专业自行车运动员^[5]的红细胞抗氧化酶的含量。本研究中大鼠 6 周耐力训练后红细胞 SOD 和 GPX 活性升高。每次运动训练时产生的氧化应激诱导抗氧化酶的产生^[9]。20 min 的大鼠定量运动后,与其相应安静组相比 GPX 活性和 MDA 浓度升高,SOD 活性下降。由于运动强度会影响体内活性氧的产生,氧化应激受运动强度和原来红细胞内抗氧化系统的影响^[10],虽然每日训练 20 min 的大鼠红细胞抗氧化酶产生了一定程度上的适应性改变但仍不足以防御大于训练负荷的定量运动下产生的自由基,导致脂质过氧化产物浓度升高,但是定量运动后 20 min 训练组与未训练大鼠运动后相比 MDA 浓度低提示训练大鼠定量运动后红细胞氧化应激水平降低,这可能得益于运动训练。关于训练后进行大于训练负荷的定量运动后红细胞自由基代谢的研究不是很多,训练后进行力竭运动的研究相对较清楚。Nuray^[6] 研究中进行急性力竭运动后未训练大鼠红细胞 MDA 浓度增加而大强度耐力

训练大鼠红细胞 MDA 浓度及 GPX 活性与未急性运动训练大鼠相比变化不大,急性力竭运动未训练大鼠 SOD 活性下降而训练组 SOD 活性升高。Hiromi^[11] 研究中经过 12 周大强度耐力训练健康男性力竭运动后红细胞 SOD 和 GPX 活性变化不大,脂质过氧化产物虽增高但增高程度降低。虽然各研究中由于训练的程度和力竭运动时的负荷不同导致各指标的变化不同,但都表现为氧化应激水平降低,而本研究也认为有氧耐力训练后进行定量运动红细胞氧化应激水平降低。

定量运动后,每日训练 40 min 组与其安静组相比红细胞中各指标变化不大,所以经过 6 周训练后 40 min 训练大鼠红细胞对同样负荷已具有适应性,从大鼠红细胞的自由基代谢角度上也反映了运动训练的刺激—反应—适应的过程。关于训练后进行小于或等同于训练负荷的急性运动的研究较多。胡琪琛^[15] 研究中跑运动员 5 000 m 越野跑后即刻及恢复期 14 h 内红细胞 SOD 的含量及活性无明显改变。陈筱春等^[13] 研究显示男子网球运动员进行每 5 min 增加 50 W,最大功率为 150 W,20 min 定量运动后,红细胞 SOD 活性,MDA 含量无显著变化。不过也有研究结果不同的报道如 Marzatico^[14] 报告马拉松运动员进行半马拉松跑后即刻 SOD 活性也显著上升。而这些不同主要体现在酶活性变化的不同上。

Jr^[15]认为机体内决定抗氧化酶活性变化的一些因素很大程度上取决于细胞内环境和酶分子本身的结构特点,含巯基基团的酶对于氧自由基($O_2^{\cdot -}$)、羟自由基($\cdot OH$)和过氧化氢(H_2O_2)等活性氧更为敏感,酶蛋白分子中巯基基团的氧化可抑制这些酶的活性,红细胞内外环境的变化也有可能加快抗氧化酶(物)的降解,运动时胞浆内氢离子浓度增加而使胞浆中 NADH 和(或)NADPH 浓度降低,也会抑制了抗自由基酶的活性,运动导致红细胞膜通透性增强,一些大分子物质如酶释放进入血液,抗氧化酶也会因此进入血液。在不同运动中各种机制不同程度起作用,而可能出现不同的研究结果。

影响 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活性的因素很多,其中自由基代谢是一重要方面。 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活性下降会使红细胞内渗透压发生改变,致使其破溶或被单核吞噬细胞系统吞噬。许多研究者选取测定其活性来研究一些因素(如自由基)对膜功能蛋白的影响^[16]。有学者认为中等强度的运动就引起红细胞膜蛋白构象的改变^[17]。

李丽娟等^[18]研究发现小鼠游泳 30 min 后各组红细胞膜 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活性明显下降,且与不游泳组相比差异显著。在以人为研究对象时也有同样的报道^[19]。运动中产生的自由基攻击细胞膜,降低膜流动性会使膜上的 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活性下降^[20]。本研究中大鼠定量运动后未训练和每天训练 20 min 大鼠红细胞膜 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活性与其相应安静组相比也下降,虽然每天训练 20 min 大鼠 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活性与未训练大鼠相比未见显著差异但也稍高而且每天训练 20 min 大鼠的抗氧化能力大于未训练大鼠,这提示训练降低了定量运动时红细胞的氧化应激从而减轻了自由基对 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶的损伤。40 min 训练大鼠同样负荷定量运动后红细胞膜 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活性未见显著变化,而这与该组大鼠定量运动后未出现氧化应激相一致,表明自由基未对大鼠膜功能蛋白造成影响一定程度上是由于耐力训练提高了红细胞防御能力的缘故。

总之,有氧耐力训练提高红细胞的抗氧化酶活性在一定程度上能减轻红细胞在定量负荷运动时的氧化应激,从而能减轻自由基对红细胞膜功能蛋白的负面影响,同时也提示在改善红细胞自由基代谢和膜功能蛋白时最好使用逐级递增负荷进行训练。

参考文献:

- [1] Khanna S, Atalay M, Laaksonen D E, et al. Alpha-lipoic acid supplementation: tissue glutathione homeostasis at rest and after exercise[J]. *J Appl Physiol*, 1999, 86: 1191 - 1196.
- [2] Alessio H M. Exercise-induced oxidative stress[J]. *Med Sci Sports Exerc*, 1993, 25: 218 - 224.
- [3] Ohno H, Yahata T, Sato Y, et al. Physical training and fasting erythrocyte activities of free radical scavenging enzyme systems in sedentary men[J]. *Eur J Appl Physiol*, 1988, 57: 173 - 176.
- [4] Robertson J D, Maughan R J, Duthie G G, et al. Increased blood

antioxidant systems of runners in response to training load[J]. *Clin Sci*, 1991, 80: 611 - 618.

- [5] Mena P, Maynar M, Gutierrez J M, et al. Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle professional racer. Adaptation to training[J]. *Int J Sports Med*, 1991, 12: 563 - 566.
- [6] Nuray O, Seyithan T. Endurance training attenuates exercise-induced oxidative stress in erythrocytes in rats[J]. *European Journal of Applied Physiology*, 2004, 91: 622 - 627.
- [7] 吴玲, 陈吉棣. 硒缺乏和急性运动对大鼠红细胞膜流动性影响的研究[J]. *中国运动医学杂志*, 1995, 14(5): 203 - 206.
- [8] Quintanilha A T. Effects of physical exercise and/or Vitamin E on tissue 11. oxidative metabolism[J]. *Biochem Soc Trans*, 1984, 12: 403 - 404.
- [9] Sen C K. Antioxidant and redox regulation of gene transcription[J]. *FASEB J*, 1996, 10: 709 - 720.
- [10] Tauler P, Aguilo A, Guix P, et al. Pre-exercise antioxidant enzyme activities determine the antioxidant enzyme erythrocyte response to exercise[J]. *Journal of Sports Sciences*, 2005, 23: 5 - 13.
- [11] Hiromi M, Shuji Oh-ishi. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise[J]. *Eur J Appl Physiol*, 2001, 84: 1 - 6.
- [12] 胡琪琛, 陶心铭. 短跑与中跑运动员红细胞超氧化物歧化酶含量及活性初探[J]. *中国运动医学杂志*, 1991, 10(4): 221.
- [13] 陈筱春, 文质君. 点压肾俞、照海穴对网球运动员定量负荷运动后红细胞免疫与抗氧化能力的影响[J]. *中国运动医学杂志*, 2005, 24(1): 30 - 33.
- [14] Marzatico F, Pansarasa O. Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes[J]. *Sports Med Phys Fitness*, 1997, 37: 235 - 239.
- [15] Stratman JI, L F W, Lardy H A. Enzymatic down regulation with exercise in skeletal muscle[J]. *Arch Biochem Biophys*, 1988, 263: 137 - 149.
- [16] 姚景莉, 朱国行. 急性脑梗塞病人的红细胞膜 ATP 酶活性和自由基损伤[J]. *中风与神经疾病杂志*, 1996, 13(3): 143 - 192.
- [17] 辛东. 急性运动及恢复期大鼠 RBCM 蛋白构象改变的 ESR 研究[J]. *中国运动医学杂志*, 1998, 17(3): 265 - 267.
- [18] 李丽娟, 李永渝. 董酒对小鼠耐疲劳及其机制的实验研究[J]. *遵义医学院学报*, 2003, 11(23): 311 - 313.
- [19] 于基国, 车保仁. 运动和运动训练对红细胞的影响[J]. *中国运动医学杂志*, 1997, 18(2): 145 - 147.
- [20] William J, Han Y S, Gary C S. Skeletal muscle force and actomyosin ATPase activity reduced by nitric oxide donor[J]. *Journal of Applied Physiology*, 1997, 83(4): 1326 - 1332.