

甘氨酸补充对一次性力竭运动小鼠 运动能力和免疫功能的影响

樊晓飞¹, 李良菊², 肖德生², 徐姿², 马斌²

(江苏大学 1.体育部; 2.基础医学与医学技术学院, 江苏 镇江 212013)

摘 要: 为探讨甘氨酸补充对运动能力及免疫功能是否具有调节作用, 将30只小鼠随机分成力竭游泳运动组(E1)、甘氨酸补充后力竭游泳组(E2)和静息正常对照组(S), 每组10只。在E2组补充甘氨酸, 其余两组给予生理盐水, 处理4周后, E1组和E2组均做力竭性游泳运动。采用微量CH₅₀溶血法分析补体活性, 采用MTT法定量分析脾脏淋巴细胞增殖能力。结果显示, 与E1组比较, E2组游泳至力竭的时间显著延长($P < 0.01$)。E1组血清总补体活性显著低于S组($P < 0.01$), E2组显著高于E1组($P < 0.01$), 但仍显著低于S组($P < 0.05$)。在脾脏淋巴细胞增殖试验中观察到, E1组显著低于S组, E2组显著高于E1组但仍显著低于S组。结果表明, 补充甘氨酸可提高运动能力; 力竭游泳可降低血清补体活性及T细胞免疫功能, 补充甘氨酸可部分地抑制这些变化。

关 键 词: 甘氨酸; 运动功能; 补体活性; 淋巴细胞

中图分类号: G804.7 文献标识码: A 文章编号: 1006-7116(2008)11-0109-04

Effects of glycine supplementation on sports performance and immune functions of mice doing a one time exhaustive exercise

FAN Xiao-fei¹, LI Liang-ju², XIAO De-sheng², XU Zi², MA Bin²

(1. Department of Physical Education; 2. School of Medical and Laboratory Medicine, Jiangsu University,
Zhenjiang 212013, China)

Abstract: In order to probe into whether glycine supplementation plays an adjusting role in sports performance and immune functions, the authors divided 30 mice randomly into an exhaustive exercising group (E1), glycine supplemented exhaustive exercising group (E2) and a normal resting control group (S), with 10 mice in each group, supplemented glycine to mice in group E2 and physiological saline to mice in the other two groups, let mice in groups E1 and E2 do an exhaustive swimming exercise 4 weeks later, applied the trace CH₅₀ hemolysis method to analyze supplement activity, applied the MTT method to perform a quantitative analysis on the lymphopoiesis ability of spleen, and thus revealed the following findings: compared with mice in group E1, the time taken by mice in group E2 to swim to an exhausted state is significantly longer ($P < 0.05$); total supplement activity in blood serum of mice in group E1 is significantly lower than the same of mice in group S ($P < 0.01$), and total supplement activity in blood serum of mice in group E2 is significantly higher than the same of mice in group E1 ($P < 0.01$), but still significantly lower than the same of mice in group S ($P < 0.05$); as observed from the test of the lymphopoiesis ability of spleen, the lymphopoiesis ability of spleen of mice in group E1 is significantly lower than the same of mice in group S, and the lymphopoiesis ability of spleen of mice in group E2 is significantly higher than the same of mice in group E1, but still significantly lower than the same of mice in group S. The said findings indicate the followings: supplementing glycine can enhance sports performance; exhaustive swimming can lower supplement activity of blood se-

收稿日期: 2008-08-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270639, 30570894); 江苏省社会发展计划项目(BS2003022)。

作者简介: 樊晓飞(1980-), 男, 讲师, 硕士, 研究方向: 体育教育与训练学。通讯作者: 肖德生。

rum and weaken immune functions of T cells; supplementing glycine can partially restrain these changes.

Key words: glycine; sports performance; complement activity; lymphocyte

甘氨酸不仅参与机体蛋白质的构成,而且是很多重要物质如蛋氨酸、胆碱、一些重要的激素以及脱氧核糖核酸的基本结构,此外,甘氨酸不仅自身可作为一种抑制性或兴奋性神经递质^[1],而且既可作为其它某些神经递质合成的原料,又可作为某些神经递质的调制物。由于人体或其他哺乳动物自身能够合成甘氨酸,它作为非必需氨基酸,可以不依赖于从肠道吸收,因此,理论上补充这种氨基酸不会表现出其生物学作用,但大量研究表明,在某些病理情况下甘氨酸可表现出抗损伤、抗炎、免疫调节和细胞保护等作用^[2-5]。最近还有研究表明^[6-7],如果给予大鼠高剂量的甘氨酸,还可以升高脑内甘氨酸含量,同时还观察到胶质细胞发生形态学改变,似乎表明了甘氨酸补充也可表现出生理学作用。此外,在运动情况下甘氨酸是作为人体重要能源物质——肌酸的重要原料,因此,有人推测,甘氨酸补充有助于提高运动人体的运动能力,但是,迄今为止还未有确切证据支持。为探讨甘氨酸补充是否对运动能力及免疫功能具有调节作用,本研究在给予小鼠补充甘氨酸后,观察了一次性力竭游泳时间、补体活性和淋巴细胞增殖功能的变化。

1 研究对象与方法

1) 动物。

昆明种雄性小鼠,鼠龄 6 周,体重(20±2) g。将小鼠随机分为力竭性游泳运动组(E1)、甘氨酸+力竭性游泳运动组(E2)和静息对照组(S),每组 10 只,按国家饲料标准喂饲,自由饮食。对 E2 组用甘氨酸(10 mg/kg·d⁻¹, 0.5 mL)每天一次性灌胃,甘氨酸用生理盐水配制,其余组用相同体积的生理盐水一次性灌胃。连续处理 4 周后, E1 组和 E2 组均做一次性力竭游泳^[8]。游泳池长 70 cm、宽 60 cm、高 48 cm,水深 35 cm,水温(30±2) °C。力竭性游泳的判断标准是,游泳一

段时间后下沉水中,经 10 s 仍不能自主返回水面视为力竭,分别记录各组小鼠游泳时间。

2) 补体溶血活性试验。

各组小鼠摘眼球采血,放室温待血液凝固收缩后,2 000 r/min 离心 20 min,将血清吸出,立即采用微量 CH₅₀ 溶血法测定补体溶血活性,因补体溶血曲线为 S 型,故以 50%溶血作为判断终点^[9]。

3) 淋巴细胞增殖试验。

以无菌操作取脾脏分离淋巴细胞,用含 10%小牛血清的 RPMI1640 细胞培养液(Gibco 公司)调整细胞浓度,分别为 1×10⁷/mL 及 5×10⁶/mL,将两种浓度的细胞悬液分别加入 96 孔细胞培养板,每孔 100 μL,细胞终浓度为 1×10⁶/孔及 5×10⁵/孔,各试验孔每孔加入 100 μg/mL 的刀豆蛋白 A(ConA, Sigma 公司)溶液 10 μL,同时设不加 ConA 的对照孔,然后在 CO₂ 细胞培养箱(37 °C)培养 72 h。在培养结束前 4 h,每孔加 10 μL 四甲基噻唑蓝(0.01 mol/L, MTT, Sigma 公司),在 37 °C 下继续培养剩余 4 h。在各孔加入质量分数 30%二甲亚砜 100 μL,用微型振荡器振荡 1 min,在静置 10 min 后,用酶标检测仪检测吸光度值(*a*_{570nm})。

4) 统计学处理。

在补体活性试验中数据用几何均数±*s*表示,力竭性游泳时间和 T 淋巴细胞增殖试验中的 *a*_{570nm} 用算术均数±*s*表示,采用 *t* 检验或方差分析进行显著性检验,*P*<0.05 为显著性水平。

2 结果与分析

2.1 甘氨酸补充对力竭性游泳时间的影响

如表 1 所示, E2 组比 E1 组游泳时间显著延长(*t*=14.9, *P*<0.01)。结果表明,甘氨酸补充 4 周可显著增强小鼠的最大运动能力。

表 1 甘氨酸补充对小鼠力竭游泳时间、血清总补体溶血活性(CH₅₀)、淋巴细胞增殖能力(*a*_{570nm}) ($\bar{x} \pm s$) 的影响

组别	<i>n</i> /只	力竭游泳时间/min	CH ₅₀ /(U·mL ⁻¹)	<i>a</i> _{570nm} (5×10 ⁵)	<i>a</i> _{570nm} (5×10 ⁶)
对照组(S)	10		22.63±1.44	0.279±0.014	0.292±0.010
运动组(E1)	8	134.8±4.3	5.28±1.43 ¹⁾	0.205±0.010 ¹⁾	0.260±0.010 ¹⁾
甘氨酸补充运动组(E2)	10	152.0±14.5 ¹⁾	14.67±1.28 ¹⁾²⁾	0.258±0.012 ¹⁾³⁾	0.274±0.006 ¹⁾²⁾

1)与 S 组比较, *P*<0.01; 2)与 E1 组比较, *P*<0.05; 与 E1 组比较, *P*<0.01。

2.2 运动对血清总补体溶血活性(CH₅₀)的影响及甘氨酸的作用

如表 1 所示, E1 组补体活性显著低于 S 组(*P*<0.01), E2 组显著高于 E1 组(*P*<0.01),但仍显著低

于 S 组($P<0.05$)。结果表明, 力竭运动可抑制小鼠补体活性, 甘氨酸补充 4 周有助于对抗运动期间补体活性的降低。

2.3 运动对 T 淋巴细胞增殖的影响及甘氨酸的作用

如表 1 所示, 采用两种不同浓度淋巴细胞悬液(5×10^5 /孔、 1×10^6 /孔), 在 ConA 诱导下增殖试验结果均显示, E1 组与 S 组相比, T 淋巴细胞增殖受到显著抑制(均为 $P<0.01$), E2 组与 E1 组相比, T 淋巴细胞增殖显著增强(分别为 $P<0.01$ 和 $P<0.05$), 但与 S 组比较仍显著低下(均为 $P<0.01$)。结果表明, 力竭运动可抑制小鼠 T 淋巴细胞增殖活性, 甘氨酸补充 4 周有助于对抗运动期间 T 淋巴细胞增殖活性的降低。

3 讨论

本研究观察到, 甘氨酸预先补充 4 周可显著延长力竭性游泳的时间, 反映了甘氨酸补充能够增强小鼠的最大操作能力。对于这种效应发生的机制目前尚难以解释。近年来有研究发现, 甘氨酸在细胞 ATP 耗竭性损伤中对细胞的保护作用^[10], 在该研究中, 将犬近曲小管上皮细胞在无糖的细胞培养液内培养, 通过缺氧、中毒等多种因素造成细胞内 ATP 耗竭时, 加入甘氨酸可增加复能后细胞存活的机会, 防止细胞膜通透性增加, 提高受损细胞的增殖活性和代谢潜能。在本研究中, 力竭性游泳可伴随机体组织细胞缺氧和细胞内 ATP 耗竭, 但是否具有上述实验观察中的严重程度以及相同机制在当前尚不清楚。

在本研究中观察到, 力竭运动显著抑制补体的活性, 此外, 还观察到甘氨酸预先补充 4 周显著对抗但仅是部分对抗了力竭运动期间补体活性的降低。因此, 力竭运动抑制补体的活性既不完全由补体系统由于受到高度激活而被大量消耗所致, 也不完全是由于“大量消耗”和力竭性运动时由于血流重新分布引起的血清补体含量降低两方面的综合结果, 而是包含了一种可被甘氨酸对抗的抑制途径。尽管当前尚不了解该途径, 但可以推测该途径位于血清中, 有可能与补体激活速率或效率有关^[11-12]。

补体在机体免疫功能中发挥极其重要的作用, 不仅参与非特异性免疫反应, 也参与特异性免疫应答, 因此, 对于力竭运动抑制补体活性的后果, 必然是广泛性抑制特异性和非特异性免疫功能。然而, 力竭运动还可直接作用于 T 淋巴细胞。先前许多报道中已经观察到一次性剧烈运动引起 T 淋巴细胞转化率明显减低^[13-18], 在本研究中也观察到这种现象, 说明力竭运动对细胞特异性免疫具有抑制作用。本研究还发现甘氨酸预先补充 4 周可显著对抗力竭运动期间 T 淋

巴细胞增值或转化能力的改变, 对细胞免疫功能发挥了调节作用。但是, 当前尚不知道甘氨酸补充是如何对力竭运动时 T 淋巴细胞功能发挥作用的。

有文献报道, 支链氨基酸补充可以对抗运动员耐力运动引起的免疫抑制作用^[19]。甘氨酸预先补充不仅可以阻止机体补体活性的大幅度下降和 T 淋巴细胞转化活性的下降, 而且还提升了操作能力。甘氨酸补充的这些反应, 可能是通过提高血浆甘氨酸水平发挥作用。需要进一步调查的是: (1) 饲料或肠道中是否存在抑制甘氨酸吸收的因素? 如果抑制因素存在, 补充甘氨酸可增加吸收量, 从而对运动发挥其效应。(2) 血浆或组织细胞中是否存在抑制因素, 甘氨酸补充后增加了机体内甘氨酸含量, 从而提高了竞争能力? 已经清楚, 血浆中精氨酸的浓度虽然远高于—氧化氮合成酶的饱和水平, 但在多种情况下包括运动时饮食补充可增加机体—氧化氮合成^[20], 已知这种矛盾现象与血浆中的精氨酸抑制物有关。(3) 补充甘氨酸是否通过谷氨酸受体水平调制谷氨酸递质从而改变运动能力?^[15-6](4) 是否由于力竭运动提高了甘氨酸代谢系统的活性导致分解代谢加速, 或者被组织细胞用于合成调节物或其他氨基酸, 使组织细胞包括骨骼肌对该氨基酸的需求增加? 如果这些作用存在, 那么, 经肠道补充的效应可通过增加组织细胞甘氨酸的供给发挥作用。无论如何, 甘氨酸虽然在营养学上被列为非必需氨基酸, 但是, 机体自身的合成或肠道食物来源可能只是用于满足基本的生理需求, 但在运动应激下甘氨酸的合成和分解及其平衡可能受到影响, 从而可表现出明显的补充效应。

总之, 本文研究结果表明, 甘氨酸预先补充后可部分地阻抑机体补体活性的大幅度下降和 T 淋巴细胞转化活性的下降, 并可对操作能力发挥促进作用, 提示甘氨酸在运动情况下可成为特殊的“必需氨基酸”, 应当进一步探讨甘氨酸补充在运动或体能训练、营养支持和疾病康复中的重要性和补充策略。

参考文献:

- [1] Ye J H. Regulation of excitation by glycine receptors[J]. Results and Problems in Cell Differentiation, 2008, 44: 123-143.
- [2] Xu F L, You H B, Li X H, et al. Glycine attenuates endotoxin-induced liver injury by downregulating TLR4 signaling in Kupffer cells[J]. American Journal of Surgery, 2008, 196(1): 139-148.
- [3] Li X, Bradford B U, Wheeler M D, et al. Dietary glycine prevents peptidoglycan polysaccharide-induced

- reactive arthritis in the rat: role for glycine-gated chloride channel[J]. *Infection and Immunity*, 2001, 69(9): 5883-5891.
- [4] Wheeler M D, Rose M L, Yamashima S, et al. Dietary glycine blunts lung inflammatory cell influx following acute endotoxin[J]. *American Journal of Physiology*, 2000, 279(2): 390-398.
- [5] Yamashina S, Ikejima K, Enomoto N, et al. Glycine as a therapeutic immuno-nutrient for alcoholic liver disease[J]. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 2005, 29(11 Suppl): 162-165.
- [6] Shoham S, Javitt D C, Heresco-Levy U. High dose glycine nutrition affects glial cell morphology in rat hippocampus and cerebellum[J]. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 1999, 2(1): 35-40.
- [7] Shoham S, Javitt D C, Heresco-Levy U. Chronic high-dose glycine nutrition: effects on rat brain cell morphology[J]. *Biological Psychiatry*, 2001, 49(10): 876-885.
- [8] McArdle W D, Montoye H J. Reliability of exhaustive swimming in the laboratory rat[J]. *Journal of Applied Physiology*, 1966, 21(4): 1431-1434.
- [9] 郝选明, 万文君, 黄海, 等. 补体系统对有氧运动的免疫应答与适应特征[J]. *中国运动医学杂志*, 1999, 18(3): 242-244.
- [10] 白小明, 潘超, 范乐明, 等. 甘氨酸在细胞 ATP 耗竭性损伤中的保护作用[J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2005, 29(7): 433-436.
- [11] 张玮, 洪熊. 有氧运动对补体的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(30): 6047-6049.
- [12] 陈扬, 艾冬生. 急性运动与特异性免疫[J]. *中国临床康复*, 2003, 7(9): 1466-1467.
- [13] 刘丽霞, 屈红林, 王艳琼. 免疫细胞和免疫分子与过度训练[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(45): 9190-9193.
- [14] 刘莉, 林建棣, 成伟栋, 等. 淋巴细胞及其亚群与运动免疫[J]. *中国临床康复*, 2003, 7(18): 2634-2635.
- [15] Rowbottom D G, Green K J. Acute exercise effects on the immune system[J]. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 2000, 32(7 Suppl): 396-405.
- [16] Hiscock N, Pedersen B K. Exercise-induced immunodepression-plasma glutamine is not the link[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2002, 93(3): 813-822.
- [17] Carlson L A, Headley S, DeBruin J, et al. Carbohydrate supplementation and immune responses after acute exhaustive resistance exercise[J]. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 2008, 18(3): 247-259.
- [18] Hwang H J, Kwak Y S, Yoon G A, et al. Combined effects of swim training and ginseng supplementation on exercise performance time, ROS, lymphocyte proliferation, and DNA damage following exhaustive exercise stress[J]. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 2007, 77(4): 289-296.
- [19] Bassit R A, Sawada L A, Bacurau R F, et al. Branched-chain amino acid supplementation and the immune response of long-distance athletes[J]. *Nutrition*, 2002, 18(5): 376-379.
- [20] Xiao D S, Jiang L, Che L L, et al. Nitric oxide and iron metabolism in exercised rat with L-arginine supplementation[J]. *Molecular & Cellular Biochemistry*, 2003, 252(1-2): 65-72.

[编辑: 郑植友]