

长期高温预处理对机体抗氧化和抗损伤能力的影响

林燕荣

(广东外语艺术职业学院 基础部, 广东 广州 510507)

摘 要: 通过一次递增负荷至力竭运动对机体血清中自由基代谢、CK 和 LDH 活性的影响, 观察运动后恢复期的变化; 给受试者 1 个月高温预处理, 即发生热休克反应, 之后再进行一次递增负荷, 检测机体血清中自由基代谢、CK 和 LDH 的活性, 从而探讨在递增负荷运动中, 长期高温预处理对机体抗氧化和抗损伤能力的影响。结果发现: 1 个月高温预处理后与预处理前比较, 安静时 MDA 含量减少且差异有显著性($P<0.05$), SOD 活性有上升趋势, 但差异无显著性($P>0.05$), LDH 活性下降且差异有非常显著性($P<0.01$); 力竭运动后即刻, 血清 MDA 含量减少且差异有非常显著性($P<0.01$), SOD 活性升高且差异有非常显著性($P<0.01$), CK 活性下降且差异有显著性($P<0.05$); 力竭运动后 1 h, MDA 含量减少且差异有非常显著性($P<0.01$), SOD 活性升高且差异有非常显著性($P<0.01$)。研究表明, 长期高温预处理能提高机体抗氧化能力, 减轻自由基所致损伤, 对急性运动所致机体损伤具有一定的保护作用。

关 键 词: 运动生物化学; 长期高温预处理; 自由基代谢; 激酸激酶; 乳酸脱氢酶

中图分类号: G807 文献标识码: A 文章编号: 1006-7116(2010)07-0090-05

Effects of long-term hyperthermic preconditioning on the body's oxidation and injury resistance capacities

LIN Yan-rong

(Basic Department, Guangdong Teachers College of Foreign Language and Arts, Guangzhou 510507, China)

Abstract: In order to observe the effects of one load increment to exhausted exercising on the free radical metabolism and CK and LDH activities in the body's blood serum as well as changes made in recovery period after exercising, the author provided the testees with 1-month hyperthermic preconditioning, i.e. to produce a thermal shock reaction, then made one load increment, tested the free radical metabolism and CK and LDH activities in the body's blood serum, thus probed into the effects of long-term hyperthermic preconditioning in load increased exercising on the body's oxidation and injury resistance capacities, and revealed the following findings: as compared with the same before conditioning, after 1-month hyperthermic preconditioning, the MDA content in a calm condition decreased and the difference was significant ($P<0.05$), the SOD activity showed an increasing trend, but the difference was not significant ($P>0.05$), the LDH activity decreased and the difference was very significant ($P<0.01$); immediately after exhausted exercising, the MDA content in blood serum decreased and the difference was very significant ($P<0.01$), the SOD activity increased and the difference was very significant ($P<0.01$), the CK activity decreased and the difference was very significant ($P<0.05$); in 1 hour after exhausted exercising, the MDA content decreased and the difference was very significant ($P<0.01$), the SOD activity increased and the difference was very significant. The said findings indicated that long-term hyperthermic conditioning can enhance the body's oxidation resistance capacity and reduce injury caused by free radicals, having a certain protection function on acute body injury caused by exercising.

Key words: sports biochemistry; long-term hyperthermic preconditioning; free radical metabolism; CK; LDH

高温预处理(HPC)指预先让机体经历亚致死剂量的高热处理(40~42 °C 15 min),可诱导机体对随后的致死性损伤产生延迟的耐受性。HPC调动了机体内源性抗损伤机制,使机体产生主动的适应性反应,起到内源性保护作用。这种保护作用一般在HPC后24~48 h出现,持续3~4 d^[1]。

近年来,关于长期高温预处理对机体运动能力影响方面的研究很少报道。因此,本试验通过对10名体育系学生,采用1个月高温预处理方式,从而研究长期高温预处理对机体运动能力及机体抗损伤能力的影响。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

本次实验的研究对象为华南师范大学体育科学学院体育系2007级男生10名,身高(171.25 ± 5.49) cm,体重(61.66 ± 5.50) kg,年龄(20 ± 0.79)岁。经询问病史、面谈了解身体及精神情况,体格检查,确定受试者身体健康、精神状态良好、无任何病史。

1.2 实验方法

1) 高温预处理。

高温预处理在桑拿房进行,频率为每星期2次,每次间隔时间为3 d,每次高温预处理时间为1 h(温度46 °C,湿度90%),体重下降1.5%~2.0%。预处理时有1名实验人员陪同进入桑拿房,观察和不时询问受试者情况,于高温预处理前、0.5 h和1 h记录被试者直肠温度。1 h后,受试者出桑拿房,测试其他指标,进行适当恢复后离开。其余时间受试者个人照常进行日常活动。受试者来自同一班级,日常生活、学习统一安排,并控制日常活动量。在19:00~20:00,分两组进行,整个高温预处理阶段为1个月。

2) 运动测试。

运动负荷1:受试者在实验期间禁止饮酒,常规活动。进行实验时,要求穿运动鞋、短裤和短袜。受试者于通知实验1周后,在跑台上采用Bruce方法进行一次递增负荷运动至力竭。力竭标准为受试者出大汗、呼吸困难,经反复鼓励再不能继续完成运动;心率已达本人最大心率的90%以上,吸氧量不继续增加而出现平台;呼吸熵达到1.1以上。

运动负荷2:受试者在运动负荷1结束3 d后,进行定量负荷运动。运动方案为:在同一跑台上,进行75%最大摄氧量强度运动,运动时间为9 min。运动强度根据实验测试得出最大摄氧量,找出75%最大摄氧量强度负荷对应的运动等级。

第1次运动负荷测试后进行为期1个月的高温预

处理,在进行最后一次高温预处理恢复24 h后,受试者再进行第2次运动负荷测试,测试项目为递增负荷至力竭运动和定量负荷运动。

3) 指标测试。

SOD(超氧化物歧化酶)、MDA(丙二醛)、CK(肌酸激酶)、LDH(乳酸脱氢酶)的检测:分别于安静、运动后即刻、运动后1 h采肘部静脉血,用EDTA-K₂抗凝,按购自南京建成生物工程有限公司测试盒说明要求对各指标进行测定。

1.3 数据处理

实验结果采用Excel2003进行常规的处理,并同同时用SPSS12.0进行统计学处理,所有数据结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,显著性采用SPSS12.0进行paired-samples T-test来检验,差异显著性为 $P < 0.05$,差异非常显著性为 $P < 0.01$ 。

2 结果与讨论

2.1 高温预处理和运动对机体自由基代谢与抗氧化能力的影响

自由基是机体正常的代谢产物^[2],对维持机体正常代谢有一定的促进作用。在正常情况下,自由基不断产生,不断被清除。维持低水平、稳定平衡的自由基浓度,是机体很多生理生化反应所必需的^[3]。但是在内外环境刺激下,如剧烈运动时自由基产生过多,而机体对自由基的清除能力下降,就形成了氧化应激。MDA作为脂质过氧化的代表产物,是衡量机体自由基代谢的敏感指标,其含量能客观地反映机体产生清除自由基的水平。而SOD是酶类抗氧化剂中比较重要的一种,SOD能清除超氧阴离子,保护细胞免受损伤,对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用。

1982年Davies等^[4]首次应用电子自旋共振技术(ESR)直接证实了力竭运动后肝脏、肌肉中自由基明显增多,从而找到了运动诱发自由基生成增多的最直接的证据。随后众多人体和动物的研究证实,急性剧烈运动时,机体清除自由基的能力不足以平衡运动应激情况下产生的自由基,机体细胞内则处于氧化应激状态,从而导致细胞损伤。

大量文献报道了一次性高温预处理的研究,而长期高温预处理这方面的研究却很少见报道。朱轶^[5]的研究结果发现一次性高温预处理后,安静组的SOD活性非常显著高于室温安静组($P < 0.01$);MDA含量与室温组相比,有下降趋势,提示高温预处理可以提高大鼠海马回抗氧化酶活性,对抗自由基损伤。本试验虽然与其试验方案不同,是1个月的长期高温预处理,但实验结果有相同的趋势,受试者进行1个月高温预处

理后,无论是在安静、力竭运动后即刻还是力竭运动后 1 h,血清 MDA 浓度较高温预处理之前减少都有非常显著性($P<0.01$)。与此同时,安静时血清 SOD 活性较高温之前有上升趋势,但差异无显著性($P>0.05$),在力竭运动后即刻、力竭运动后 1 h,血清 SOD 活性较

高温预处理之前升高都有非常显著性($P<0.01$)(见表 1)。因此可初步得出,长期高温预处理能减少体内自由基的形成,机体出现较低的脂质过氧化水平。出现这种结果的原因,是由于受试者进行高温预处理后发生热休克反应。

表 1 高温预处理及力竭运动前后血清中 4 种指标($\bar{x} \pm s$)变化

组别	c (MDA) / (nmolL ⁻¹)		SOD 活性/(U · mL ⁻¹)		CK 活性/(U · mL ⁻¹)		LDH 活性/(U · L ⁻¹)	
	预处理前	预处理后	预处理前	预处理后	预处理前	预处理后	预处理前	预处理后
安静	4.63±2.48	3.38±0.69 ²⁾	79.99±14.97	83.61±20.15	0.25±0.02	0.17±0.14	1 984.52±251.50	1 765.0±219.82 ²⁾
力竭运动后即刻	5.99±1.08 ¹⁾	3.63±0.64 ⁴⁾	86.81±19.40	100.04±8.35 ²⁾⁴⁾	0.38±0.16 ¹⁾	0.21±0.09 ³⁾	2 430.9±759.21	2 356.0±202.59 ²⁾
力竭运动后 1 h	4.28±1.29 ³⁾	3.37±0.58 ⁶⁾	89.12±18.46 ³⁾	88.81±0.76 ⁴⁾⁶⁾	0.12±0.08 ¹⁾³⁾	0.12±0.82	2 101.5±256.43	1 900.3±244.5 ²⁾⁴⁾⁵⁾

1)与运动前安静比较 $P<0.05$; 2)与运动前安静比较 $P<0.01$; 3)与力竭运动后即刻比较 $P<0.05$; 4)与力竭运动即刻比较 $P<0.01$; 5)与力竭运动后 1 h 比较 $P<0.05$; 6)与力竭运动后 1 h 比较 $P<0.01$

上述的热休克反应,可能与热休克蛋白^[6](heat shock protein, HSP)发生相关。HSP 可抑制产生氧自由基的关键酶,即 NADPH 氧化酶,通过反馈作用减少氧自由基的产生。1962 年 Ritossa 研究果蝇,首次发现热休克反应,并认为热休克反应在自然界中普遍存在,几乎所有细胞和生物体都会产生热休克反应,热休克反应是一种短暂而迅速的细胞反应,主要特征是产生热休克蛋白^[6]。

石真玉^[7]研究了 10 名受试者,在跑台上采用 Bruce 方法进行递增负荷运动至力竭。间隔 1 周,热预处理 1 h(桑拿,温度 45℃,湿度 90%),室温(温度 25℃,湿度 65)恢复 24 h,进行递增负荷运动至力竭。实验结果表明,受试者施以热预处理而造成 HSP70 高表达后,发现力竭运动后即刻 MDA 含量比热预处理前运动后即刻降低,SOD 的活性没有明显的变化,提示热预处理诱导 HSP70 高表达,可能对减少运动中自由基的产生有一定的作用,说明热应激反应预处理能够减少自由基的生成,对急性运动所致心肌损伤具有一定的保护作用^[8]。

分析出现这种现象的原因有几点:(1)可能与机体抗氧化能力的增强有关。一次急性运动对机体造成伤害的一个原因,就是自由基的爆发生成。热休克反应本身能减少 MDA 的产生,而且热休克反应本身能提高细胞内 SOD 的活性^[9];(2)可能与能量供应的改善有关。尽管本实验未涉及,但大量研究表明,与对照组相比,热休克反应可使细胞中 ATP 的水平显著升高,这有利于维持细胞内外的离子梯度,降低钙超载和降低细胞水肿,减轻线粒体的肿胀、破裂,最终可以减少细胞坏死,起到保护细胞的作用^[10];(3)可能与 HSP

的合成增强有关。应激诱导 HSP 合成增强。HSP 是通过稳定蛋白,帮助变性蛋白重新折叠来保护细胞免受氧化损伤的^[11]。

2.2 高温预处理和运动对机体抗损伤能力的影响

CK 是磷酸肌酸激酶,与哺乳动物能量代谢密切相关,亦是一种肌细胞新陈代谢过程中的关键酶。大多数研究表明,剧烈运动后血浆 CK 活性显著升高。CK 酶活性的升高,因典型表现在仅从有损伤的肌肉中漏出,故一直作为肌细胞膜损伤或细胞膜渗透性改变的指示剂^[12],是反映机体组织损伤和修复状况的重要指标之一^[13]。血清 LDH 与 CK 指标相似,正常情况下,细胞膜完整和功能正常保证了 LDH 极少透出细胞膜。大强度运动后,肌内细胞产生一定程度的损伤,肌细胞膜通透性增加,肌肉酶逸出增多,血清 LDH 活性升高。因此血清中 LDH 的活性高低,可以反映组织细胞膜的损伤程度。血清 LDH 与 CK 指标都可作评价负荷强度的指标。安静时 CK 和 LDH 活性可以评价运动员的机能状态。CK 和 LDH 已在体育运动实践中广泛应用^[14]。

实验表明,血清 CK 活性的升高与运动持续的时间、运动对肌肉刺激的程度、肌肉的疲劳及受损程度成正比。运动员在进行了铁人三项赛后 CK 水平显著增加,平均水平为 451 U/L^[5]。在一次短距离大强度自行车训练后,显著提高优秀运动员血清 CK 水平^[16]。Sorichter S 等^[17]报道受试者在 70%VO_{2max} 跑台下坡(16%)跑 20 min,运动后 6 h 血中 CK 水平显著上升。正常情况下,细胞膜的完整和功能正常保证了 CK、LDH 极少透出细胞膜。力竭性游泳后小鼠血清 CK、LDH 活性显著上升,而肌肉中略呈下降。提示力竭运动使肌

组织产生一定程度的损伤,肌细胞膜通透性增加,导致血清 CK、LDH 活性提高。本实验观察到受试者运动后即刻,血清 CK 活性明显高于安静组,血清 LDH 活性较安静时有上升趋势(表 1),说明本实验的力竭运动方式,对机体组织造成了一定的损伤。

目前关于长期高温预处理对血清 CK、LDH 活性方面的研究很少报道,较多的是一次性高温预处理方面的文献。叶春等^[18]实验采用大鼠热休克模型,用物理加热方法,使大鼠体温升高到 40.5~41.5℃,持续 10~15 min,在室温下恢复 24 h 后进行一次性大负荷运动,结果发现,预热组运动后即刻、24 h,血清中 CK 和 LDH 活性均比室温组升高($P<0.05$)。提示热休克对于一次性大负荷运动所致的大鼠骨骼肌运动性损伤具有保护作用,并且能够促进骨骼肌运动性损伤的恢复。徐少华等^[19]探讨不同强度热休克预处理,对氧化应激所致体外培养的乳鼠心肌细胞损伤的影响,结果发现,与对照组比较,过氧化氢组的细胞凋亡率、LDH 活性明显增高($P<0.01$);与 H₂O₂组比较,HSR 15 min+H₂O₂组和 HSR 45 min+H₂O₂组的细胞凋亡率、LDH 活性明显降低($P<0.01$)。提示热预处理能减轻过氧化氢所致体外培养的新生大鼠心肌细胞损伤,且不同强度热预处理对心肌细胞的保护作用不同。与本实验结果有相同的趋势,受试者进行 1 个月高温预处理后,安静时血清 LDH 活性较高温之前下降差异有非常显著性($P<0.01$),力竭运动后即刻血清 CK 活性较高温之前下降,差异有显著性($P<0.05$)。安静时血清 LDH 活性较高温之前非常显著性下降,力竭运动后即刻血清 CK 活性较高温之前下降明显,表明了高温预处理产生的保护机制,对机体的抗损伤有一定的作用。其原因可能在于,本研究给受试者进行高温预处理,发生热休克反应。热休克反应是一种短暂而迅速的细胞反应,主要特征是产生热休克蛋白(HSP)。热预处理导致 HSP70 表达增加,使得机体产生交叉热耐受性,从而减少了机体组织的损伤,保护了机体。Karmozyn 等^[20]以一组小鼠作为对照,另一组经 15 min 42℃ 的热休克刺激,48 h 后使两组小鼠心脏局部缺血 30 min,发现经过热休克刺激的小鼠左心室功能恢复较快,心肌收缩力和心率恢复都较快,心肌 CK 释放较少,因而提出热休克时合成的 HSP,对整个动物的器官都有保护作用,但其具体作用机制仍不清楚。

如何提高运动机体的抗氧化能力和抗损伤能力、减轻自由基所致损伤是亟待解决的重要课题之一。本研究结果表明,长期高温预处理能提高机体抗氧化能力,减轻自由基所致损伤,对急性运动机体具有一定

的抗损伤作用。长期高温预处理产生的内源性保护机制,对机体的抗损伤有一定作用,高温预处理恢复 24 h 后,对机体有明显的保护作用。因此建议,在运动训练中,运动员及教练采用一次性或长期高温处理方案时,最好在 24 h 之后训练或比赛,可能对运动成绩会产生积极影响。

参考文献:

- [1] 李强,陈安. 运动员在热环境运动补充康贝运动饮料的效果观察[J]. 体育科学, 1990, 10(5): 56-58.
- [2] Ji L L. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems[J]. Exere Sport Sci Rev, 1995, 23: 135-166.
- [3] Kukreja R C, Hess M L. The oxygen free radical system, from equations through membrane-protein interactions to cardiovascular injury and protection[J]. Cardiovasc Res, 1992, 26(7): 641-655.
- [4] Davies K J. Free radicals and tissue damage produced by exercise[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1982, 107(4): 1198-1205.
- [5] 朱轶. 高温预处理对不同强度急性运动大鼠海马回细胞 HSP70、抗氧化系统和 Ca²⁺-ATPase 的影响[D]. 广州: 华南师范大学, 2007.
- [6] Chong K Y. Stable overexpression of the constitutive form of heat shock protein 70 confers oxidative protection[J]. J Mol Cell Cardiol, 1998, 30(3): 599-608.
- [7] 石真玉. 热预处理诱导的 HSP70 对机体抗氧化及抗损伤能力的影响[D]. 广州: 华南师范大学, 2004.
- [8] 李建平,张葆欣. 热休克反应对急性运动大鼠心肌自由基代谢的影响[J]. 北京体育大学学报, 2004, 27(2): 209-211.
- [9] Sean Lille, Su Ching-yuan. Induction of heat shock protein 72 in rat skeletal muscle does not increase tolerance to ischemia-reperfusion injury[J]. Muscle Nerve, 1999, 22: 390-393.
- [10] Febbraio M A, Koukoulas I. HSP72 gene expression progressively increases in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise[J]. J Appl Physiol, 2000, 89(3): 1055-1060.
- [11] Locke M. The cellular stress response to exercise: role of stress proteins[J]. Exer Sport Scirev, 1997, 25: 105-136.
- [12] Thomposon H S. Exercise-induced HSP27, HSP70 and MAPK responses in human skeletal muscle[J]. Acta Physiol Scand, 2003, 178(1): 61-72.

- [13] 冯连世, 李开刚. 运动员机能评定常用生理生化指标测试方法及应用[M]. 北京: 人民体育出版社, 2002.
- [14] Marber M S. Myocardial protection after whole body heat stress in the rabbit is dependent on metabolic substrate and is related to the amount of inducible 70kD heat stress protein[J]. *J Clin Invest*, 1994, 93(3): 1087.
- [15] La Gerche. No evidence of sustained myocardial injury following an Ironman distance triathlon[J]. *Int J Sports Med*, 2004, 25(1): 45.
- [16] 邵慧秋. 自行车运动员大强度训练后 CK、LDH 的动态变化及评定[J]. *体育与科学*, 2000, 21(6): 33-35.
- [17] Sorichter S. Release of muscle proteins after downhill running in male and female subjects[J]. *Scand J Med Sci Sports*, 2001(11): 28-32.
- [18] 叶春, 王瑞元, 丁益, 等. 热休克对急性运动大鼠骨骼肌中 MDA 及 SOD 的影响[J]. *中国运动医学杂志*, 2002, 21(5): 253-255.
- [19] 徐少华, 龙明智, 章海燕, 等. 不同强度热休克预处理对氧化应激所致乳鼠心肌细胞损伤的影响[J]. *南京医科大学学报*, 2008, 28(3): 341-342.
- [20] Karmazyn M, Mailer K, Currie R W. Acquisition and decay of heat-shock enhanced postischemic ventricular recovery[J]. *Am J Physiol*, 1990, 259: 424-431.