

# 运动对小鼠自由基代谢及衰老的影响

毛文慧

(南京师范大学体育科学学院,南京 210097)

[摘要] 通过对造衰小鼠进行 12 周不同负荷的游泳训练,观察血清和组织线粒体中的丙二醛、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶以及脑组织中的脂褐素的变化,结果发现不同负荷运动对抗氧化酶的活性和丙二醛的含量以及脑组织中的脂褐素的水平影响不同。

[关键词] 运动;衰老;自由基;超氧化物歧化酶;过氧化氢酶

[中图分类号] G804.7 [文献标识码] A; [文章编号] 1001-4616(2001)02-0099-05

## 0 引言

随着社会进入老龄化社会,人们越来越注重通过运动、饮食、医药等途径实现增强体质、防病延衰。“生命在于运动”,许多研究表明运动训练对抵抗和延缓衰老有显著作用,但目前有关运动对衰老的影响的研究还处于刚刚起步阶段,对运动影响衰老的研究与分析还较少。本文尝试观察小鼠在不同负荷的运动后,其不同组织线粒体内自由基水平和几种主要抗氧化酶活性的变化,来分析运动对自由基代谢和衰老的影响,这将为人类通过运动实现增强体质、延缓衰老提供一定的实用与实验研究基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物和实验条件

健康雌性昆明种小白鼠,体重  $16 \pm 3$  g,由南京医科大学动物中心提供,分笼饲养,自由饮食,室温  $20^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度 50%,光照时间 12h。动物饲养房及笼具,饮水瓶等隔天消毒 1 次。游泳池呈圆形,内壁光滑,直径 40 cm,水深 40 cm,水温  $31^{\circ}\text{C}$  左右。

### 1.2 动物运动模型的建立

小鼠购进后,先适应性饲养 2 周,经游泳淘汰异常者,然后按体重分组,随机分为 6 组:

(1)对照组(C):12 只。造衰老,常规饲养,当训练组小鼠训练时,对照组小鼠放入条件相同的浅水中,不运动,以减低水温对各组的影响。

(2)适量负荷游泳训练组(NS):12 只。造衰老,进行中等强度的训练,每周连续训练 5d,每天上午游泳 1 次,第 1 天下水游 10min,此后逐日累加 5min 达 20min 维持量,第 2 周逐日累加 5min 至 40min 维持量,直至游满 12 周。

(3)适量负荷游泳训练组+停止组(NSPS):12 只。造衰老,前 6 周训练安排同 NS 组,后 6

收稿日期 2001-01-11

作者简介:毛文慧,1973—,女,硕士,南京师范大学体育科学学院助教,从事人体解剖学和运动生物化学的教学。

周安排同C组。

(4)过度负荷游泳训练组(O):15只。造衰老,前2周训练安排同NS组,第3周继续每天累加5min,第3周末时游1h,第4周开始高强度训练,开始时负0.5%体重,每天游1h,第5周开始负重1%体重,每天游1h;第6周开始负重1.5%体重,游1h,维持这一强度,直至游满12周。在训练中如发现有力竭表现,则停止训练。

(5)小负荷游泳训练组(S):12只。每天上午游10min,持续12周。

(6)造模空白组(NR):10只。安排同对照组(C),但不注射造衰。

### 1.3 力竭标准

小鼠沉入水下10s不浮出水面<sup>[1]</sup>。

### 1.4 衰老模型的建立

采用‘亚急性衰老模型’<sup>[2]</sup>,从训练开始之日起,除造模空白组外,其余各组小鼠每晚颈背皮下注射5%D-半乳糖0.5mL,连续造模8周。

### 1.5 样品制备

12周训练后48h取样品。采用眼眶取血法各鼠取出1份血样,离心后,取血清。然后将小鼠拉断脊柱处死,除造模空白组外,取其余各鼠右侧后腿的股四头肌、左心室肌、肝脏各1份,剔除结缔组织,用生理盐水清洗,放在滤纸上吸干后,称重,以冷生理盐水为介质,在冰水浴中制成5%的组织匀浆,依文献方法<sup>[3]</sup>,用差速离心法在0~4℃分离出线粒体,各样品制备后,低温冷藏,待测。以上各样品测定MDA、SOD、CAT。同时,全部小鼠取脑组织,剔除结缔组织,清洗、吸干、称重、匀浆、冷藏,以测定脂褐素。蛋白定量采用考马斯亮蓝法。

### 1.6 观察指标

(1)观察记录精神状态等一般情况,记录训练和运动能力的变化。

(2)脂质过氧化水平的测定:以MDA含量作为脂质过氧化水平的指标,采用硫代巴比孚酸法。

(3)SOD活性的测定:采用亚硝酸盐法。

(4)CAT的测定:CAT的测定用可见光法。

(5)脂褐素的测定:脂褐素的测定采用荧光分光光度法。

### 1.7 数据处理

数据一律以均值±标准差( $\bar{X} \pm SD$ )表示,用方差分析,显著性水平为0.05。

## 2 结果

### 2.1 训练情况及运动能力观察

NS组、NSPS组、S组训练期间均能顺利完成训练任务,小鼠出水后活泼好动,能很快甩干身上的毛。O组小鼠第3、4周时游泳出水后,大口喘气,状态疲惫,第5周负重0.5%时,死亡1只,4只出现力竭现象,不能顺利游完1h,第6周负重1%时,死亡1只,8只出现力竭现象,第7周负重1.5%时,死亡2只,9只出现力竭现象且游泳至力竭的时间缩短。至训练12周结束时又死亡2只。

2.2 生化指标的检测

表 1 游泳后 48h 脑组织脂褐素水平的变化

单位:  $\mu\text{g/g}$

	NR	C	NS	NSPS	S	
脑组织脂褐素	0.79 ± 0.12**	1.16 ± 0.11	0.82 ± 0.09**	1.06 ± 0.16 <sup>△△</sup>	1.28 ± 0.13*	1.04 ± 0.13 <sup>△△△</sup>

\*  $p < 0.05$  与对照组相比, \*\*  $p < 0.01$  与对照组相比, <sup>△</sup>  $p < 0.05$  与 NS 组相比, <sup>△△</sup>  $p < 0.01$  与 NS 组相比。

表 2 运动后 48h 小鼠 MDA 含量

组别	例数	MDA 的含量( $M \pm (SD)$ )			
		左心室肌( $\text{nmol/mg}$ )	肝脏( $\text{nmol/mg}$ )	股四头肌( $\text{nmol/mg}$ )	血清( $\text{nmol/mL}$ )
C	12	0.79 ± 0.12	9.25 ± 1.76	55.85 ± 9.97	15.82 ± 2.52
NS	12	0.56 ± 0.09**	5.41 ± 2.01**	44.75 ± 10.20*	10.62 ± 2.19**
NSPS	12	0.71 ± 0.11 <sup>△△</sup>	8.01 ± 2.53 <sup>△</sup>	55.65 ± 13.28 <sup>△</sup>	13.73 ± 3.61 <sup>△△</sup>
O	9	0.81 ± 0.16	11.29 ± 1.95*	66.48 ± 13.07*	16.01 ± 3.07
S	12	0.65 ± 0.14**	7.52 ± 2.52 <sup>△△</sup>	54.58 ± 11.36 <sup>△</sup>	12.79 ± 2.56 <sup>**△△</sup>

\*\*  $p < 0.01$  与对照组相比, \*  $p < 0.05$  与对照组相比, <sup>△△</sup>  $p < 0.01$  与 NS 组相比, <sup>△</sup>  $p < 0.05$  与 NS 组相比。

表 3 运动后 48h 小鼠 SOD 活性

组别	例数	SOD 活性( $M \pm SD$ )			
		左心室肌( $\text{nU/mg}$ )	肝脏( $\text{nU/mg}$ )	股四头肌( $\text{nU/mg}$ )	血清( $\text{nU/mL}$ )
C	12	118.40 ± 10.49	764.87 ± 124.52	363.21 ± 57.31	232.50 ± 26.24
NS	12	156.31 ± 16.02**	864.83 ± 122.12*	410.02 ± 56.60*	294.21 ± 20.51**
NSPS	12	123.21 ± 10.93 <sup>△△</sup>	766.01 ± 120.93 <sup>△</sup>	376.21 ± 58.36	245.74 ± 20.88 <sup>△△</sup>
O	9	92.35 ± 13.23**	650.20 ± 120.73*	312.72 ± 51.67*	210.97 ± 26.28*
S	12	130.26 ± 10.72 <sup>**△△</sup>	789.92 ± 100.82	381.12 ± 51.64	249.87 ± 25.03 <sup>△△</sup>

\*\*  $p < 0.01$  与对照组相比, \*  $p < 0.05$  与对照组相比, <sup>△△</sup>  $p < 0.01$  与 NS 组相比, <sup>△</sup>  $p < 0.05$  与 NS 组相比。

表 4 运动后 48h 小鼠 CAT 活性

组别	例数	CAT 活性( $M \pm SD$ )			
		左心室肌( $\text{U/mg}$ )	肝脏( $\text{U/mg}$ )	股四头肌( $\text{U/mg}$ )	血清( $\text{U/mL}$ )
C	12	2.21 ± 0.26	1.73 ± 0.21	1.51 ± 0.13	0.051 ± 0.010
NS	12	2.72 ± 0.21**	2.21 ± 0.22**	1.65 ± 0.12**	0.061 ± 0.010*
NSPS	12	2.47 ± 0.25 <sup>△△</sup>	1.85 ± 0.23 <sup>△△</sup>	1.60 ± 0.13	0.054 ± 0.012
O	9	1.97 ± 0.26*	1.54 ± 0.21*	1.38 ± 0.11*	0.041 ± 0.008*
S	12	2.49 ± 0.24 <sup>△△</sup>	1.92 ± 0.20 <sup>**△△</sup>	1.62 ± 0.13	0.056 ± 0.007

\*\*  $p < 0.01$  与对照组相比, \*  $p < 0.05$  与对照组相比, <sup>△△</sup>  $p < 0.01$  与 NS 组相比, <sup>△</sup>  $p < 0.05$  与 NS 组相比。

3 讨论

本实验结果显示, C 组同 NR 组相比, 脂褐素水平显著增高, 证明造模成功。

NS 组、S 组、NSPS 组虽然都减少了 MDA 和脂褐素含量, 但程度不同。NS 组减少的幅度最大, 最为显著性。NS 组较 C 组相比, 股四头肌线粒体中 MDA 含量和脑组织脂褐素水平分别有显著性下降(  $p < 0.01$  ), 心肌线粒体、肝脏线粒体和血清 MDA 含量有非常显著性差异(  $p < 0.01$  ), 同时 NS 组与 S 组和 NSPS 组相比, MDA 含量和脂褐素水平也有显著性差异(  $p < 0.01$  )。史亚丽等<sup>[4]</sup>研究也发现, 低强度间歇性有氧运动使衰老小鼠心肌 MDA 含量明显下降。这说明

NS 组能有效地减轻自由基损伤,延缓衰老效果最好。

S 组较 C 组相比,在心肌线粒体和血清中 MDA 含量有非常显著性下降( $p < 0.01$ )。NSPS 组较 C 组相比,MDA 含量没有变化。另外,从脑组织脂褐素水平变化来看,S 组较 C 组有显著性降低,而 NSPS 组较 C 组相比没有显著性差异。这说明,S 组虽然强度小但时间长,也能有效减少细胞脂质过氧化程度,延缓衰老效果较好。而 NSPS 组不能降低细胞 MDA 含量,属于无效的运动模式。O 组 MDA 含量较 C 组相比均有不同幅度的上升,其中在肝脏线粒体和股四头肌线粒体中上升显著( $p < 0.05$ )。这表明,这种运动模式使体内自由基生成和清除失衡,自由基在体内积累,即运动内源自由基增生,过多自由基只能促进机体过劳,加速细胞衰老。

运动对衰老的影响包含两个方面,一方面是对自由基生成量的影响,另一方面是对机体抗氧化能力即自由基消除能力的影响。许多研究已表明运动可使自由基生成增多<sup>[5]</sup>,自由基的产生和消除是同时进行的。如果自由基被及时消除了,那么细胞就会免受自由基的损伤,进而减少细胞脂质过氧化,即细胞受损伤的程度主要与机体防护机制密切相关。运动只能使自由基产生量增多,因而运动对于衰老的影响主要由运动对机体抗氧化能力的影响决定的。

本实验结果发现不同强度的训练对机体内抗氧化酶活性影响不同。NS 组、S 组对于机体内抗氧化酶活性有良性的影响。NS 组较 C 组相比,各部位的 SOD、CAT 活性的提高有统计学意义( $p < 0.05$ )。同时 NS 组与 S 组和 NSPS 组比较也有显著性差异( $p < 0.05$ )。近年来有些研究也有类似结果。Kanter<sup>[6]</sup>等报道,让雄性小鼠进行 9 周游泳训练后,其血液中的 CAT、SOD、GSH-Px 活性出现显著性增加。21 周后,肝组织中的 SOD、CAT 以及心组织中的 CAT 也显著增加。以上实验结果表明,NS 组的自由基水平低主要是因为机体抗氧化酶活性提高,能及时消除自由基,保护细胞免受自由基的损伤,延缓衰老。

S 组和 NSPS 组的结果表明,S 组对抗氧化酶也有良性影响,NSPS 组对抗氧化酶没有影响。S 组较 C 组相比,在心肌线粒体 SOD 以及心肌线粒体和肝线粒体 CAT 活性有显著性升高( $p < 0.05$ )。NSPS 组较 C 组相比酶的活性没有变化。从结果可以看出 S 组较 NSPS 组略好。这说明,小负荷运动也可以有效提高机体抗氧化酶活性,减少细胞脂质过氧化作用,延缓衰老。作为一种有益的运动模式,小负荷运动也不失为一种选择。

而 O 组各酶活性较 C 组相比,均有不同幅度的下降,其中在血清、肝线粒体和肌线粒体中各酶下降都显著( $p < 0.05$ )。因此我们认为,在适量的强度下,机体酶的活性随训练强度增加而增加,超过了这个强度,酶的活性反而降低。由此可以看出,运动训练所引起机体内抗氧化的防护机制的改善是相对的而不是极完整的。当进行大强度有氧运动时,这些抗氧化酶的贮备能力有限,运动引起的自由基升高,使体内抗自由基的酶也相应增加,但酶类的增加并不能完全清除增加的自由基,所以自由基仍对肌肉等组织造成了损伤,尤其是在运动强度极大或运动持续时间极长时,运动性疲劳的发生及对组织细胞的损伤也就自然产生了。胡红梅<sup>[7]</sup>也观察到类似结果,她认为,力竭性游泳运动导致大白鼠心肌线粒体自由基生成和清除失衡,自由基在体内积累,对膜内巯基进行攻击,破坏了膜的完整性,致使线粒体的功能降低。李良呵<sup>[8]</sup>等观察到大鼠力竭性运动后 MDA 增高,认为自由基与生物膜上多不饱和脂肪酸反应,使之过氧化,从而导致生物膜通透性增加,细胞内酶分子漏出。

由上可见,运动对于自由基代谢有正面和负面两方面影响。因而,不能单纯认为所有运动都有益,不同的强度效果不同。对于不同的个体而言,根据自身情况,正确选择合适的运动强度,持之以恒,才能达到抗老防衰目的。本文只就游泳项目对衰老的影响进行了研究,各个运动

项目各有其特点,不同的运动项目,在不同的强度下对自由基代谢的影响和延缓衰老的作用如何还有待于进一步研究.

[ 参考文献 ]

- [ 1 ] Thomas D P. Effects of repeated exhaustive exercise on myocardial subcellar membrane structure[ J ]. Int J Sports Med , 1998 , 9 : 257 .
- [ 2 ] 陈勤. 抗衰老研究实验方法 [ M ]. 北京 : 中国医药科学出版社 , 1996 : 46—47 .
- [ 3 ] 汪谦. 现代医学实验方法 [ M ]. 北京 : 人民卫生出版社 , 1997 : 335—349 .
- [ 4 ] 史亚丽. 轻度间隔性有氧运动的抗氧化及抗衰老作用研究 [ J ]. 北京体育大学学报 , 1999 , 22 ( 4 ) : 45—47 .
- [ 5 ] 李晖. 递增负荷运动至力竭大鼠肾脏自由基产生及氧化抗氧化能力的研究 [ J ]. 中国运动医学杂志 , 1999 , 18 ( 1 ) : 31—33 .
- [ 6 ] Kanter R. The role of superoxide dismutase and catalase in muscle[ J ]. Human kinetics Champain , 1983 , 13 : 467—471 .
- [ 7 ] 胡红梅. 运动内源性自由基对大鼠心肌线粒体功能的影响 [ J ]. 中国运动医学杂志 , 1998 , 17 ( 1 ) : 23—25 .
- [ 8 ] 李良鸣. 补气活血中药和力竭运动对大鼠不同类型肌纤维自由基代谢的影响 [ J ]. 中国运动医学杂志 , 1999 , 18 ( 4 ) : 309—311 .

## Effects of Exercise on Metabolize of Free Radical and Aging of Mice

Mao Wenhui

( Physical Education Science Institute , Nanjing Normal University , Nanjing 210097 , PRC )

**Abstract :** By training aging mice to swim for twelve weeks , the change of malondialdehyde ( MDA ) , superoxide dismutase ( SOD ) and catalase ( CAT ) is observed in the blood serum , tissue mitochondrion as well as that of lipofuscin in brain tissues . The result shows that that different exercise effects the level of lipid peroxidation in the body as well as that of lipofuscin in the brain differently .

**Key words :** exercise ; aging ; free radicals ; superoxide dismutase ; catalase

[ 责任编辑 孙德泉 ]