

论著 · 基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.22.006

元宝枫油对一次性力竭运动大鼠氧化应激和炎症反应的影响*

李 彤,孙红伟

(哈尔滨医科大学附属第一医院神经内科,哈尔滨 150001)

[摘要] 目的 探讨元宝枫油对一次性力竭运动大鼠氧化应激和炎症反应的影响,为元宝枫油用于预防运动损伤提供科学依据。方法 30 只健康 SD 雄性大鼠根据体质量随机分为安静对照组(A 组,正常饮食+每天生理盐水灌胃),力竭组(B 组,正常饮食+每天生理盐水灌胃)和元宝枫油力竭组(C 组,每天元宝枫油 0.21 mL/kg 灌胃),6 周后进行一次性力竭游泳运动,测定大鼠血清中肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)的活性及炎症因子白细胞介素(IL)-1 β 、IL-10 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的水平;测定肌肉匀浆中丙二醛(MDA)、还原性谷胱甘肽(GSH)水平及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性。结果 力竭运动后,B 组与 A 组相比,血清中 CK、LDH 水平及 IL-1 β 、TNF- α 、IL-10 水平均显著升高($P < 0.05$),IL-10/TNF- α 比值差异无统计学意义($P > 0.05$),大鼠腓肠肌中 MDA 水平显著升高($P < 0.05$),GSH 水平与 GSH-Px 活性显著下降(均 $P < 0.05$),SOD 活性与 CAT 活性差异无统计学意义($P > 0.05$);C 组与 B 组相比,血清中 CK、LDH 水平及 IL-1 β 、TNF- α 显著下降(均 $P < 0.05$),IL-10 差异无统计学意义($P > 0.05$),IL-10/TNF- α 比值显著上升($P < 0.05$),腓肠肌中 MDA 水平明显下降($P < 0.05$),GSH 水平及 SOD、CAT、GSH-Px 活性均显著升高(均 $P < 0.05$)。结论 元宝枫油可明显减轻力竭运动引起的氧化应激和炎症反应,对骨骼肌具有保护作用。

[关键词] 氧化性应激;大鼠;元宝枫油;力竭运动;炎症反应

[中图法分类号]

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)22-3043-03

Effects of Acer truncatum oil on oxidative stress and inflammatory reaction in rats undergoing one-time exhaustive exercise*

Li Tong, Sun Hongwei

(Department of Neurology, Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

[Abstract] Objective To explore the effects of Acer truncatum oil on oxidative stress and inflammatory reaction in rats after exhaustive exercise to provide a scientific basis for the prevention of sports injury by Acer truncatum oil. Methods Thirty healthy male SD rats were randomly divided into control group (A, normal diet + saline every day), exhaustive group (B, normal diet + saline daily) and exhaustive with Acer truncatum oil group (C, 0.21 mL/kg daily Acer truncatum oil gavage), 6 weeks later, the rats performed once exhaustive swimming exercise, then the creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), cytokine interleukin (IL-1 β , IL-10) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in the serum; malondialdehyde (MDA) homogenate reduction glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) in muscle were measured. Results After exhaustive exercise, when compared with the group A, the serum levels of CK, LDH, IL-1, TNF- α and IL-10 were significantly higher than in the group B($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.05$), IL-10/TNF- α ratio had no statistically significant difference($P > 0.05$), the level of MDA in gastrocnemius muscle increased significantly ($P < 0.05$), GSH level and GSH-Px activity decreased significantly ($P < 0.05$, $P < 0.01$), SOD and CAT activity were not statistically significant ($P > 0.05$). when compared with the group B, serum CK, LDH level and IL-1 β , TNF- α were significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.05$), IL-10 had no statistical significance ($P > 0.05$), a significant increase in IL-10/TNF- α ($P < 0.05$), the level of MDA of gastrocnemius muscle decreased significantly ($P < 0.05$), the level of GSH and SOD, CAT and GSH-Px were significantly increased ($P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$). Conclusion Acer truncatum oil can significantly reduce oxidative stress and inflammatory reaction caused by the exhaustive exercise, which has a protective effect on skeletal muscle.

[Key words] 氧化性应激;大鼠;acer truncatum oil;exhaustive exercise;inflammatory reaction

元宝枫(acer truncatum bunge)属于槭树科槭属多年生乔木,是我国特有的品种,多见于安徽南部、甘肃南部、吉林以南及内蒙古等地。元宝枫油中脂肪酸含量为 92%,是一种不饱和脂肪酸含量很高的功能性油脂^[1],其含有的特殊功能成分——神经酸安全无毒,抗氧化性能好。王性炎^[2]的研究证

明,元宝枫油可作为化妆品工业的原料,并符合目前化妆品行业绿色、天然、安全和环保的要求。高丽芳等^[3]的研究证实元宝枫叶提取物未显示有急性毒性、遗传毒性、亚慢性毒性。目前关于元宝枫油成品应用的分析还较少,本研究将元宝枫油力竭运动大鼠,探索其对大鼠氧化应激和炎症反应指标的影响,

* 基金项目:2015 年哈尔滨应用技术研究与开发项目计划项目(2015RAQYJ097)。作者简介:李彤(1985—),住院医师,本科,主要从事神经内科卒中的研究。

为其用于预防运动损伤提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料 选用7周龄SPF级健康SD雄性大鼠30只,体质量(270±30)g,由长沙天勤生物技术有限公司提供,许可证编号:scxk(湘)2014-0010,采用国家标准啮齿类动物饲料喂养,每笼5只,自由饮水进食,室温控制在(25±2)℃,相对湿度控制在45%~60%,每2~3天更换一次垫料,并对动物房进行消毒。元宝枫油由陕西泰克生物科技有限公司提供。实验用试剂盒均由齐一生物科技(上海)有限公司提供。

1.2 实验分组和喂养方案 将大鼠适应性饲养5d后,按照体质量随机分为无差异的A、B、C组,每组10只,其中A组为安静对照组,B组为力竭组,C组为元宝枫油力竭组。C组大鼠按每天0.21mL/kg的剂量进行元宝枫油灌胃,A组和B组使用相同剂量的生理盐水灌胃;每周测量1次大鼠体质量并及时调整灌胃剂量,每天灌胃1次,持续6周。3组大鼠的鼠龄、体质量、窝别等差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.3 运动方案 A组大鼠不进行任何运动干预,B组和C组大鼠灌胃结束前4d每天进行25min的无负重适应性游泳训练,持续3d。游泳池为长25cm,宽20cm,深45cm的塑料桶,水温为30~32℃。B、C组于实验最后1d尾部负体质量5%的负荷,游泳3h至力竭状态。

1.4 样本采集与保存 A组大鼠于实验最后1d,B、C组于力竭运动后即刻用乙醚麻醉后解剖,在冰上迅速取下右腿腓肠肌,投入液氮30min后移入-80℃的冰箱中备用。同时制备血清用于测定肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)活性及炎症因子白细胞介素(IL)-1β、肿瘤坏死因子α(TNF-α)、IL-10的水平。取出肌肉,剪取0.3~0.5g,加1mL的生理盐水,充分匀浆后,3000r/min,离心10min,留取上清液测定其中丙二醛(MDA)、还原性谷胱甘肽(GSH)水平及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)的活性。全部测定均严格按照试剂盒配套说明书,由具有两年以上工作经验的检验医师操作完成。

1.5 统计学处理 应用SPSS 22.0统计分析软件处理实验数据,所有数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用t检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 元宝枫油对力竭运动大鼠血清CK、LDH活性的影响 B组与A组相比,血清CK、LDH水平显著升高;C组与B组相比,血清CK、LDH水平均显著下降,见表1。

表1 3组大鼠血清CK、LDH活性比较($U/L, \bar{x}\pm s$)

组别	n	CK	LDH
A组	10	1 582.36±316.58	1 136.12±324.27
B组	10	1 992.29±386.05 ^a	1 899.35±382.51 ^c
C组	10	1 611.74±259.21 ^b	1 229.03±304.33 ^d

^a: $t=2.597, P=0.024$,与A组相比;^b: $t=2.588, P=0.026$,与B组相比;^c: $t=4.813, P=0.001$,与A组相比;^d: $t=4.336, P=0.001$,与B组相比

2.2 元宝枫油对力竭运动大鼠血清促/抗炎因子水平的影响 B组与A组相比,血清中IL-1β、TNF-α、IL-10均显著升高,IL-10/TNF-α比值略有下降,但差异无统计学意义;C组与B组相比,血清中IL-1β、TNF-α比值均显著下降,IL-10/TNF-α比值显著上升,IL-10略有上升,但差异无统计学意义。见表2。

2.3 元宝枫油对力竭运动大鼠氧化应激指标的检测结果的影响 B组与A组相比,腓肠肌中MDA水平显著升高,GSH、GSH-PX活性水平显著下降,SOD活性略有升高,CAT活性略有下降,但差异都无统计学意义;C组与B组相比,腓肠肌中MDA水平明显下降,GSH、SOD、CAT及GSH-PX水平均显著上升。见表3。

表2 3组大鼠血清促/抗炎因子水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	IL-1β(ng/L)	TNF-α(ng/L)	IL-10(ng/L)	IL-10/TNF-α
A组	35.89±1.58	125.72±12.41	74.66±5.54	0.59±0.05
B组	37.82±1.94 ^a	152.65±13.29 ^c	83.27±8.97 ^e	0.55±0.06 ^g
C组	34.76±2.23 ^b	140.36±11.37 ^d	85.49±7.32 ^f	0.61±0.03 ^h

^a: $t=2.439, P=0.030$,与A组相比;^b: $t=3.274, P=0.004$,与B组相比;^c: $t=4.683, P=0.001$,与A组相比;^d: $t=2.222, P=0.045$,与B组相比;^e: $t=2.583, P=0.026$,与A组相比;^f: $t=0.606, P=0.576$,与B组相比;^g: $t=1.620, P=0.143$,与A组相比;^h: $t=2.828, P=0.012$,与B组相比

表3 3组大鼠氧化应激指标的检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	MDA(nmol/mg)	GSH(U/mg)	SOD(U/mg)	CAT(U/mg)	GSH-PX(U/mg)
A组	1.79±0.46	0.67±0.06	11.18±0.55	6.97±0.62	79.64±3.43
B组	2.32±0.38 ^a	0.61±0.05 ^c	11.27±0.63 ^e	6.85±0.72 ^g	73.85±3.21 ⁱ
C组	1.91±0.32 ^b	0.72±0.06 ^d	12.18±0.49 ^f	7.68±0.57 ^h	80.28±3.14 ^j

^a: $t=2.809, P=0.014$,与A组相比;^b: $t=2.610, P=0.018$,与B组相比;^c: $t=2.429, P=0.031$,与A组相比;^d: $t=4.454, P=0.001$,与B组相比;^e: $t=0.340, P=0.785$,与A组相比;^f: $t=3.606, P=0.002$,与B组相比;^g: $t=0.399, P=0.788$,与A组相比;^h: $t=2.858, P=0.011$,与B组相比;ⁱ: $t=3.898, P=0.001$,与A组相比;^j: $t=4.528, P=0.001$,与B组相比

3 讨 论

有研究证实规律的体育运动可预防多种疾病,如心血管疾病、呼吸系统疾病、血流动力学障碍等^[4]。然而,力竭运动却可能导致机体的氧化应激、炎症反应和肌细胞结构损伤^[5~6],使血清中CK和LDH活性增加^[7]。本研究结果显示,力竭运动后B组大鼠血清中CK和LDH水平较A组显著升高,与吴秀琴

等^[8]的研究结果一致。这是由于剧烈运动时,骨骼肌遭受到不同程度机械性损伤,使细胞膜的通透性发生改变,进而胞内蛋白酶渗出到血液中,从而引起血清中CK、LDH的水平升高。本组研究显示,与B组相比,C组大鼠血清CK、LDH水平均显著下降($P<0.05$),提示元宝枫油能够降低力竭运动大鼠的血清CK、LDH水平,而力竭运动的CK、LDH主要是骨骼肌产

生,因此,可以推测元宝枫油对力竭运动大鼠骨骼肌具有一定保护作用。

肌肉的损伤会引起促炎因子如 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的释放^[9-10],继而激活抗炎因子 IL-10 及 IL-1 受体拮抗剂的产生,而抗炎因子的激活又可抑制炎症细胞的活动从而减轻炎症反应。有文献认为 IL-10/TNF- α 比值是衡量炎症反应程度的重要指标,高比值被称为抗炎比值,低比值则说明存在炎症反应^[11]。本研究结果发现,力竭运动后 B 组大鼠血清中 IL-1 β 、TNF- α 、IL-10 均较 A 组显著升高,与运动时促炎因子和抗炎因子之间的平衡假设一致^[12],但用元宝枫油灌胃的大鼠血清中 IL-1 β 、TNF- α 比值下降,IL-10/TNF- α 比值却显著上升,说明元宝枫油的使用可降低促炎因子的水平,从而减轻炎症反应。

本研究结果显示,力竭运动后大鼠腓肠肌中 MDA 水平显著上升,而抗氧化指标 GSH 和 CAT、GSH-PX 等的水平却下降,说明力竭运动后大鼠体内发生了脂质过氧化和细胞损伤,与已有研究结果一致^[13-15]。但是,力竭运动后大鼠腓肠肌中 SOD 略有升高,与文献[16-18]的研究结果不同,可能原因是大鼠在适应性游泳训练中,代偿性的增强抗氧化酶的活性来抵制过氧化反应。在使用元宝枫油大鼠的腓肠肌中,其 MDA 水平显著下降,抗氧化指标 GSH、SOD、CAT 和 GSH-PX 均显著升高,说明元宝枫油可加强机体的抗氧化状态,从而抵制过氧化等导致的损伤,对细胞具有保护作用。

综上所述,食用元宝枫油可减少 CK、LDH 等胞内酶的渗出,减少炎症因子的释放,提高抗氧化功能酶的活性,对运动的骨骼肌具有保护作用。

参考文献

- [1] 赵艳,朱晶,王向东. 高速逆流色谱纯化元宝枫神经酸的研究[J]. 食品科技,2016,41(6):251-254.
- [2] 王性炎. 化妆品工业的优质原料——元宝枫油[J]. 中国油脂,2013,38(7):5-7.
- [3] 高丽芳,曹丽歌,田蜜,等. 元宝枫叶提取物的安全性毒理学研究[J]. 首都医科大学学报,2014,35(5):646-652.
- [4] Stanton T, Haluska BA, Leano R, et al. Hemodynamic benefit of rest and exercise optimization of cardiac resynchronization therapy[J]. Echocardiography, 2014, 31(8): 980-988.
- [5] Seo E, You Y, Yoon HG, et al. Rosa rugosa Aqueous Extract Alleviates Endurance Exercise-Induced Stress[J]. J Med Food, 2015, 18(6): 711-713.
- [6] 刘绍东,张彦秋,曹江. 有氧耐力训练对大鼠骨骼肌线粒体功能及 PI3K-Akt 蛋白的表达影响[J]. 中国应用生理学杂志,2016,32(1):55-58.
- [7] Youssef H, Groussard C, Lemoine-Morel S, et al. Aerobic training suppresses exercise-induced lipid peroxidation and inflammation in overweight/obese adolescent girls [J]. Pediatr Exerc Sci, 2015, 27(1): 67-76.
- [8] 吴秀琴,杨威,尹玉娇,等. 茶多酚对一次性力竭运动大鼠氧化应激和炎症反应的影响[J]. 中国体育科技,2016,52(1):92-95.
- [9] Ceci R, Duranti G, Sgrò P, et al. Effects of tadalafil administration on plasma markers of exercise-induced muscle damage, IL6 and antioxidant status capacity[J]. Eur J Appl Physiol, 2015, 115(3): 531-539.
- [10] Lima FD, Stamm DN, Della Pace ID, et al. Ibuprofen intake increases exercise time to exhaustion; A possible role for preventing exercise-induced fatigue[J]. Scand J Med Sci Sports, 2016, 26(10): 1160-1170.
- [11] Molanouri SM, Chekachak S, Soudi S, et al. Combined effect of aerobic interval training and selenium nanoparticles on expression of IL-15 and IL-10/TNF- α ratio in skeletal muscle of 4T1 breast cancer mice with cachexia [J]. Cytokine, 2016, 90(4): 100-108.
- [12] Borges Lda S, Dermargos A, da Silva Junior EP, et al. Melatonin decreases muscular oxidative stress and inflammation induced by strenuous exercise and stimulates growth factor synthesis[J]. J Pineal Res, 2015, 58(2): 166-172.
- [13] Mrakic-Sposta S, Gussoni M, Moretti S, et al. Effects of Mountain Ultra-Marathon Running on ROS Production and Oxidative Damage by Micro-Invasive Analytic Techniques[J]. PLoS One, 2015, 10(11): 1-19.
- [14] Huang S, Lin H, Deng SG. Study of Anti-Fatigue Effect in Rats of Ferrous Chelates Including Hairtail Protein Hydrolysates[J]. Nutrients, 2015, 7(12): 9860-9871.
- [15] Li XD, Sun GF, Zhu WB, et al. Effects of high intensity exhaustive exercise on SOD, MDA, and NO levels in rats with knee osteoarthritis[J]. Genet Mol Res, 2015, 14(4): 12367-12376.
- [16] 王振富,钟灵,肖本见. 富硒板栗对力竭运动大鼠心肌线粒体抗氧化作用的影响[J]. 中国应用生理学杂志,2013,29(2):177-178.
- [17] You Y, Kim K, Yoon HG, et al. Sasa borealis Extract Efficiently Enhanced Swimming Capacity by Improving Energy Metabolism and the Antioxidant Defense System in Mice[J]. J Nutr Sci Vitaminol(Tokyo), 2015, 61(6): 488-496.
- [18] Damirchi A, Saati ZA, Sariri R. Salivary antioxidants of male athletes after aerobic exercise and garlic supplementation on: A randomized, double blind, placebo-controlled study[J]. J Oral Biol Craniofac Res, 2015, 5(3): 146-152.

(收稿日期:2016-12-20 修回日期:2017-03-08)