

FICM 干预对急性运动大鼠抗氧化能力的影响

何建伟^{1,2}, 刘学谦², 林秋华³, 许 剑², 詹金添¹, 吴朱艳⁴

(1. 莆田学院体育学院, 福建 莆田 351100; 2. 广州大学体育学院, 广东 广州 510006;

3. 厦门大学体育教学部, 福建 厦门 361005; 4. 集美大学体育学院, 福建 厦门 361021)

摘要:目的:探讨远红外陶瓷微珠对大鼠一次性力竭运动后血清 SOD、GSH-Px、MDA 含量的影响。方法:将 88 只雄性 SD 大鼠分为安静对照组(A组)、模型组(B组)、模型+热水组(C组)、(模型+陶瓷微珠组 D组)。B、C、D 组大鼠利用下坡跑台一次性运动至力竭。各组大鼠分别于安静时与运动后即刻、24h、48h、72h 取心脏血,分离血清测定 SOD、GSH-Px、MDA 含量。结果:D 组运动后各时相血清 SOD、GSH-Px 含量均高于 B 组与 C 组同时相($P < 0.05$), D 组运动后各时相血清 MDA 含量均低于 B 组与 C 组同时相($P < 0.05$)。结论:陶瓷微珠干预手段具有抑制急性运动后机体氧自由基生成,减少过氧化损伤的作用。

关键词:远红外陶瓷微珠;超氧化物歧化酶;骨骼肌微损伤;谷胱甘肽

中图分类号:G804.5

文献标识码:A

文章编号:1007-7413(2018)05-0072-06

Effect of Antioxidant Capacity in Acute Exercise Rats on FICM Intervention

HE Jian-wei^{1,2}, LIU Xue-qian², LIN Qiu-hua³, XU Jian², ZHAN Jin-tian¹, WU Zhu-yan⁴

(1. Department of P. E. Putian University, Putian 351100, China;

2. P. E. School of Guangzhou University, Guangzhou 510006, China;

3. Department of P. E. Xiamen University, Xiamen 361005, China;

4. P. E. School of Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: Objective: Applying for infrared ceramic beads as a once exhaustive exercise intervention study on rats skeletal muscle SOD, GSH-Px, MDA indicators. Methods: 88 male SD rats were divided into Group A: control group; Group B: natural recovery after exercise, model group; Group C: model group + hot water 3 sets; Group D: far-infrared ceramic beads after exercise intervention group, model group + ceramic beads. Each phase of the measurement data for analysis which taking the treadmill exercise to experimental rats exhaustion, every group rats respectively in a quiet, immediately after exercise, exercise after 24h, 48h and 72h. Result: Group B, C recovery after 24 h and 48 h phase of blood SOD, GSH-Px enzyme activities were lower than group D, that of MDA was more than recovery group D ($P < 0.05$). Conclusions: Far infrared ceramic beads interventions can inhibit the body's free radical production, reduce free radical damage body.

Key words: Far Infrared Ceramic Microspheres (FICM); SOD; Skeletal muscle micro-damage; GSH-Px

长期的运动训练和比赛易导致的骨骼肌纤维微细损伤,骨骼肌损伤后的康复治疗一直是运动医学的热门话题。清华大学新型陶瓷与精细工艺国家重点实验室 863 项目研制的 YL-2.0-1 型远红外陶瓷微珠 (Far Infrared Ceramic Microspheres, FICM)^[1],通过发射波长为 8~14 μm 的远红外线,使生物分子能级

激发而处于较高的共振能级,产生良好的热效应和共振效应^[2],从而改善人体微循环,促进人体血液循环和新陈代谢。该产品作为一种新型的理疗、康复材料,凭借其良好性能及简便易行的优点,已在临床和运动医学界得到广泛推广和应用。在 2008 年北京奥运会期间,受到运动员、教练员的一致好评^[3]。本文

收稿日期:2018-05-02

基金项目:福建省科技厅省自然科学基金项目(2016J01404);莆田学院育苗基金项目(2017014);莆田学院国家基金预研项目(2016076);. 国家体育总局科技服务项目(2017HT008)

第一作者简介:何建伟(1973—),男,福建莆田人,副教授,博士。研究方向:人体机能监控、运动性疲劳恢复、运动损伤防治与康复材料研究。

利用远红外陶瓷微珠作为干预手段,探究动物一次性力竭运动后骨骼肌处于微损伤状态下,大鼠体内自由基的生成变化及降低对机体的损害的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验对象与分组

清洁级标准健康 8 周龄雄性 SD 大鼠 88 只,每组 8 只,共 11 组,专用大鼠、饲料均由北京维通利华公司提供。饲养条件:室内温度 18 ~ 22 °C,湿度 30 ~ 50 %,通风良好,大鼠分笼饲养,每笼 8 只,自由进食。适应性喂养 3 周后随机分组,体重 280 ± 20g,并在正式试验前进行多次 5 ~ 10 min 的跑台适应性运动,运动组大鼠在下坡跑动物跑台上进行一次性力竭运动,跑台速度为 16 ~ 20 m/min,坡度为 -16°,大鼠每运动 5 min,中间休息 2 min,运动时间为 120 min;运动过程中大鼠如不能坚持完成运动,休息 2 min 后继续跑足 120 min, A 组对照组大鼠不进行运动。动物实验共分四组:

A 组:安静对照组; 1 组

B 组:运动后自然恢复组,即模型组; 4 组

C 组:运动后 + 热水组,即模型 + 热水组; 3 组

D 组:运动后远红外陶瓷微珠干预组,即模型 + 陶瓷微珠组; 3 组

共计:1 + 4 + 3 + 3 = 11 组,按实验设计 D 组将加热至 45 °C 的远红外陶瓷微珠装入自制袋中,透明胶布绑于双腿上热敷 15 min,休息 10 min;热水组 C 组大鼠一次性运动力竭后,将 45 °C 的热水装入自制热水袋中,透明胶布绑于双腿上热敷 15 min,休息 10 min。

1.2 样本时相点的选取、采集、处理和测试

按实验要求取每组大鼠安静时,运动后即刻、24 h、48 h、72 h 共 5 个时相点,用 2% 戊巴比妥钠(25 ml/kg 体重)腹腔注射麻醉大鼠并取心脏血。取血 1 管 5 ml,静置 30 min 后 3 000 r/min 离心 15 min,分离血清,用来检测血清 SOD、GSH-Px、MDA。

1.3 实验检测指标具体方法

血清超氧化物歧化酶(SOD)、血清丙二醛(MDA)、血清谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px):比色法。以血清 SOD 为例(其他按试剂盒说明书严格执行),实验方法按以下程序严格进行。

(1)检测程序:

试剂盒的组成与配制:测定时使用的试剂盒由南

京建成生物工程研究所生产、提供,试剂盒的具体成分与实验要求一致。

(2)操作方法

在此过程中需要进行两步反应,分别是酶促反应和显色反应,具体操作见表 1、2。

表 1 酶促反应

加入物	非酶管	酶管
1 mmol/LGSH 溶液/ml	0.2	0.2
最佳取样浓度血清(浆)/ml		0.1
37 °C 水浴预温 15 min		
试剂一(37 °C 预温)/ml	0.1	0.1
37 °C 水浴准确反应 5 分钟		
试剂二/ml	2	2
最佳取样浓度血清(浆)/ml	0.1	
混匀,3500 ~ 4000r/min,离心 10 分钟,取上清 1ml 作显色反应		

表 2 显色反应

加入物	空白管	标准管	非酶管	酶管
GSH 标准品溶剂应用液(ml)	1			
20 umol/L GSH 溶液(ml)		1		
上清液(ml)			1	1
试剂三(ml)	1	1	1	1
试剂四(ml)	0.25	0.25	0.25	0.25
试剂五(ml)	0.05	0.05	0.05	0.05
混匀,15 min 后,412 mm 处,1 cm 光径比色杯蒸馏水调零,测各管 OD 值				

注:1. 空白管、标准管一般只需 1 ~ 2 支;

2. 最佳取样量以及最佳取样浓度因样品种类不同,其 GSH-Px 活力不一,根据酶的百分抑制率与酶活力呈抛物线关系,各组测定样品取样浓度不一样,在每测定一种新的样品前最好选一种最佳取样量以及最佳取样浓度

1.4 分析与处理

所有数据通过 SPSS 16.0 进行统计分析,实验结果以 $M \pm SD$ 表示,组内、组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行统计,显著性差异以 $P < 0.05$ 表示,非常显著性差异以 $P < 0.01$ 表示。

2 实验结果

2.1 血清 SOD 的变化

B 组运动后即刻 SOD 均降到最低,非常显著低于对照组($P < 0.01$),其后逐渐升高;运动后 24 h, B、C 两组 SOD 仍处于较低状态,还是非常显著低于对

照组($P < 0.01$),而 D 组与 B、C 两组同时相比,有非常显著的升高($P < 0.01$),几乎接近对照组水平;而 B、C 两组运动后 48 h 和 72 h,数值逐渐升高,B、C 组之间相比没有显著性差异($P > 0.05$);与 B、C 两组相比,D 组运动后 48h 血清 SOD 值显著高于 B、C 两组的对应同时相($P < 0.05$),运动后 72 h D 组与 B、C 组相比则没有差异性(见表 3)。

表 3 SOD 值的组间比较(单位:U/L,N=9)

组别	安静	运动后即刻	运动后 24 h	运动后 48 h	运动后 72 h
A 组	121.3 ± 13.1	—	—	—	—
B 组	—	57.4 ± 10.2 ^{###}	62.6 ± 9.3 ^{##}	65.7 ± 9.7 ^{##}	95.7 ± 11.3 ^{***}
C 组	—	—	67.5 ± 8.5 ^{##}	72.7 ± 9.3 ^{##◇}	97.5 ± 9.9 ^{##◇}
D 组	—	—	96.3 ± 10.3 ^{▲▲■}	105.8 ± 10.2 ^{▲▲●}	105.6 ± 11.7 ^{▲▲}

Note: [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, vs A 组对照组; ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, vs B 组运动后即刻; [◇] $P < 0.05$, ^{◇◇} $P < 0.01$, vs C 组运动后即刻; [▲] $P < 0.05$, ^{▲▲} $P < 0.01$, vs D 组运动后即刻; [■] $P < 0.05$, [■] $P < 0.01$, vs B、C 组运动后 24 h; [●] $P < 0.05$, ^{●●} $P < 0.01$, vs B、C 组运动后 48 h

2.2 血清 GSH-Px 指标的变化

B 组运动后即刻 GSH-Px 均降到最低,非常显著低于对照组($P < 0.01$),其后逐渐升高;运动后 24 h, B、C 两组小幅升高,但 GSH-Px 水平仍处于较低状态,还是非常显著低于对照组($P < 0.01$),而 D 组有非常显著的升高($P < 0.01$),甚至高于对照组,与 B、C 组相比有非常显著性差异($P < 0.01$);而 B、C 两组运动后 48 h 和 72 h,数值逐渐升高,与同组运动后即

刻相比有显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$),B、C 组之间相比没有显著性差异($P > 0.05$);与 B、C 两组相比,D 组运动后 48 h 血清 GSH-Px 值显著高于 B、C 两组($P < 0.05$),运动后 72 h D 组与 B、C 组相比略高,但没有显著差异性(见表 4)。D 组在陶瓷微珠干预下,运动后 24 h、48 h、72 h 都处在高位状态,并都略高于安静对照组。

表 4 GSH-Px 值的组间比较(单位:umol/l,N=9)

组别	安静	运动后即刻	运动后 24 h	运动后 48 h	运动后 72 h
A 组	534 ± 45.1	—	—	—	—
B 组	—	342 ± 23.2 ^{###}	368 ± 24.6 ^{##}	455 ± 43.3 [◇]	547 ± 50.6 ^{◇◇}
C 组	—	—	375 ± 27.6 ^{##}	495 ± 37.8 [*]	551 ± 45.7 ^{**}
D 组	—	—	653 ± 60.2 ^{▲▲■}	602 ± 58.2 ^{▲▲●}	612 ± 48.5 ^{▲▲}

Note: [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, vs A 组对照组; [◇] $P < 0.05$, ^{◇◇} $P < 0.01$, vs B 组运动即刻; ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, vs C 组运动后即刻; [▲] $P < 0.05$, ^{▲▲} $P < 0.01$ vs D 组运动后即刻; [■] $P < 0.05$, [■] $P < 0.01$, vs B、C 组运动后 24 h; [●] $P < 0.05$, ^{●●} $P < 0.01$, vs B、C 组运动后 48 h

2.3 血清 MDA 的变化

B 组运动后即刻 MDA 均升到最高,非常显著高于对照组($P < 0.01$),其后逐渐降低;运动后 24h 和 48h, B 组 MDA 仍处于较高状态,还是明显高于对照

组($P < 0.05$),而 C、D 两组与 B 两组同时相相比,有比较明显的降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),而 D 组几乎接近对照组水平;而 D 组运动后 24h、48h 和 72h,数值逐渐降低,24h 就基本达到安静水平,48h、72h 后就

几乎处在同一水平,没有变化。C、D 组之间相比没有显著性差异($P > 0.05$),而在 72h, D 组运动后

MDA 值显著低于 B、C 两组的对应同时相($P < 0.05$) (见表 5)。

表 5 MDA 值的组间比较(单位: nmol/ml, N = 9)

组别	安静	运动后即刻	运动后 24 h	运动后 48 h	运动后 72 h
A 组	5.73 ± 0.43	—	—	—	—
B 组	—	7.43 ± 0.31 ^{##}	6.45 ± 0.32 ^{##*}	6.53 ± 0.26 ^{##*}	6.13 ± 0.27 ^{##*}
C 组	—	—	6.11 ± 0.34 ^{#◇■}	6.09 ± 0.28 ^{#◇●}	6.08 ± 0.27 ^{◇◇}
D 组	—	—	5.63 ± 0.26 ^{■▲▲▲}	5.66 ± 0.22 ^{▲▲●●}	5.45 ± 0.21 ^{▲▲△}

Note: [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, vs A 组 对照组; [■] $P < 0.05$, ^{■▲} $P < 0.01$, vs B 组运动后 24 h; [▲] $P < 0.05$, ^{▲▲} $P < 0.01$, vs D 组运动后即刻; [◇] $P < 0.05$, ^{◇◇} $P < 0.01$, vs C 组运动后即刻; ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, vs B 组运动后即刻; [●] $P < 0.05$, ^{●●} $P < 0.01$, vs B 组运动后 48 h; [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$, vs C 组运动后 72 h

3 分析与讨论

当运动负荷超过于机体承受能力而产生的暂时的生理机能减退现象,同时机体疲劳时机体抗氧化系统能力也随之减弱,体内可能大量自由基产生,酸性等物质的大量生成,从而导致骨骼肌的微损伤^[4];本实验大鼠经过一次性 120 分钟的跑台下坡跑之后,动物体内能源耗尽,大鼠骨骼肌处于微损伤模型之中,长时间疲劳积累可能导致肌肉损伤,这些都需要一个科学的、有效的方法来解决。远红外陶瓷微珠红外发射率高,处在 88 ~ 92 % 之间,属强红外健康材料^[5]。傅旭东^[6]等研究表明,远红外线具有两方面生物效应、远红外线热生物效应和非热生物效应,该两种生物效应对疲劳的恢复均有积极作用,有学者研究发现当红外线能量被人体吸收后,可引起肌纤维蛋白质分子中酰胺键的振动,在一次性力竭之后,体内 ATP ~ CP 基本耗完情况下,生物能量补偿顺利地从一个处传递到另一处,从而对消除自由基有积极的意义^[7]。目前国内外关于陶瓷微珠远红外线相关的研究还较少,远红外陶瓷微珠如何清除自由基、延缓疲劳的发生和促进疲劳恢复、促进肌肉损伤的快速恢复、提高运动能力方面进行科学深入的研究有重要的现实意义。

3.1 远红外陶瓷微珠对大鼠血清 SOD、GSH - Px 指标的影响

当机体处于运动应激状态时时,体内脂质过氧化

水平明显升高,而且与运动持续时间和运动强度成正比^[8]。体内多种组织,尤其是骨骼肌内源性自由基将迅速增加,机体内有两大系统对抗自由基。第一是酶促体系:SOD、GSH - Px 等,约占清除自由基功能的 80 %;第二是非酶促体系:维生素 B、C、E 及微量元素等,约占清除自由基功能的 20 %^[9]。SOD 是一种源于生命体的活性物质,能消除生物体在新陈代谢过程中产生的有害物质,SOD 是生物体内重要的抗氧化酶,是生物体内清除自由基的首要物质^[10]。机体发生急性运动后,血清 SOD 活力比运动前有显著性增加,为机体对抗自由基损伤,延缓疲劳出现的一个防御机制^[11]。因此 SOD 也是细胞膜系统结构与功能完整性的保护酶之一。MDA 结合 SOD 一起是反映脂质过氧化程度高低的一对客观指标。MDA 是机体脂质过氧化反应的重要代谢产物,其大小反映了脂质过氧化的程度,可作为细胞被氧自由基攻击的定量指标,间接反映细胞损伤的程度^[12]。GSH - Px 和 SOD 一样(见图 1、2),归属于两大对抗自由基系统中的酶促体系。GSH - Px 是机体内广泛存在的一种重要的酶,它能特异性地催化还原型的谷胱甘肽变为氧化型的谷胱甘肽,清除超氧阴离子 O_2^- 、羟自由基 OH^- 和过氧化氢 H_2O_2 ,减轻和阻断脂质过氧化物的损害,起到保护细胞膜结构和功能完整性的作用。作为酶促体系中的抗自由基指标,SOD、GSH - Px 仅分析了机体某种特定的抗氧化成分,而单一的抗氧化成分难以准确反映生物体实际抗氧化应激能力。

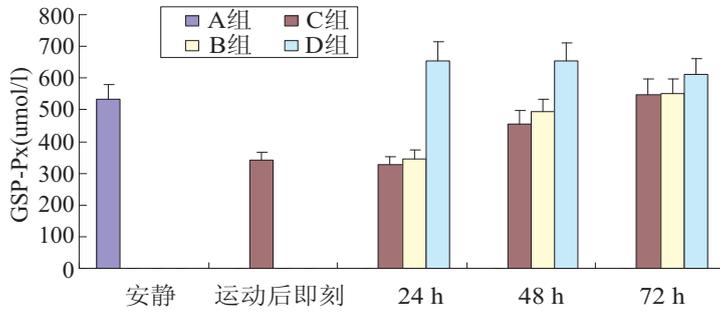


图 1 SOD 值得组间比较

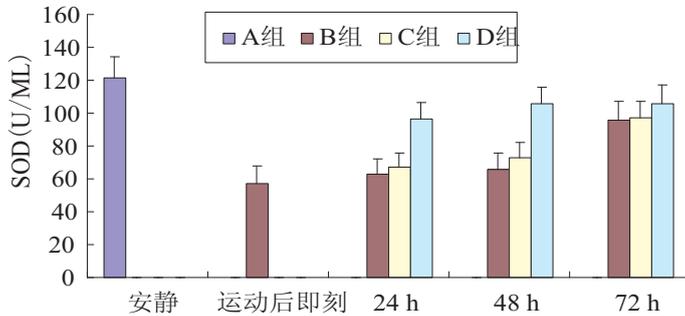


图 2 GSH - Px 值得组间比较

3.2 远红外陶瓷微珠对大鼠血清 MDA 指标的影响

正常情况下,机体内的自由基生成过程与清除过程呈平衡状态。然而,在大强度运动中,机体耗氧量大于摄氧量,机体缺氧,为了保证 ATP 的再合成,酵解作用加强,乳酸生成增多,并在体内堆积,乳酸还原

使胞浆烟酰胺嘌呤二核苷酸浓度下降,抑制体内自由基清除酶活性,造成自由基大量产生,引起细胞损伤^[13]。大量研究表明,大强度离心运动后机体血 SOD、GSH - Px 指标显著降低,而 MDA (见图 3) 指标则显著升高^[14]。

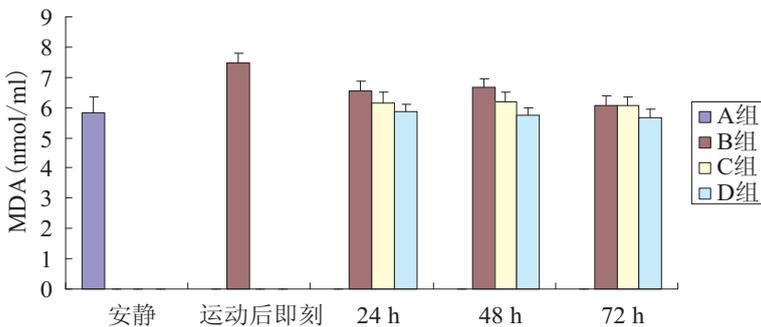


图 3 MDA 值的组间比较

在本研究中,一次大强度离心运动后大鼠血 SOD、GSH - Px (见图 1、2) 均呈逐渐上升趋势,而运动后 72h 时相血 MDA 低于运动后其他各时相。运动后各时相 SOD 均显著低于安静对照组,血 MDA 运动后各时相均高于安静对照组,其中运动后 24h 与 48h 时相呈显著性差异。而运动后 24h 血 SOD、GSH - Px 均显著低于安静对照组,运动后 72h 恢复至安静时水平。以上结果提示,一次大强度离心运动可引起机体

自由基生成增多,使酶促体系中 SOD、GSH - Px 的消耗增加,不能有效消除大量产生的自由基,从而导致了骨骼肌细胞膜的损伤。随着恢复时间的延长,酶促体系的机能得到了一定恢复,使机体自由基的损伤程度逐渐减轻^[15]。该结果提示,虽然运动后一段时间机体酶促体系中的 SOD、GSH - Px 消耗增多,但总抗氧化、消除自由基的能力却被激发,但随着恢复时间的延长,机体内各种抗氧化物质均受到很大程度地消

耗,抗自由基能力明显减弱。但对照以前研究的 CK、CK - MM 指标的变化趋势发现^[16],大量抗自由基物质的消耗减轻了肌细胞膜的损伤,发挥了消除氧自由基的重要作用。综合各组的实验结果可见,常规恢复组与陶瓷微珠组血 SOD、GSH - Px 运动后各时相均高于运动组,而陶瓷微珠组两指标指标各时相又均高于常规恢复组。而常规恢复组与陶瓷微珠组血 MDA 运动后各时相均低于运动组,而陶瓷微珠组血 MDA 运动后各时相又均低于常规恢复组。该结果提示,热水疗法与陶瓷微珠疗法可能均具有抑制机体自由基生成,减少抗氧化酶及其它抗自由基物质的消耗,从而减轻骨骼肌细胞膜损伤的作用,而陶瓷微珠干预下的作用更为显著。

4 结论

远红外陶瓷微珠组干预恢复后各时相血 SOD、GSH - Px 水平均高于自然恢复组与常规模型组,而 MDA 值均低于自然恢复组与常规模型组,提示远红外陶瓷微珠可能具有抑制机体自由基的生成,减少自由基对身体损伤的作用。

参考文献

- [1]何建伟.远红外陶瓷微珠对骨骼肌损伤的治疗作用及机制研究[D].北京:北京体育大学,2012.
- [2]何建伟,杨金龙,王安利,等.远红外陶瓷微珠干预对主动、被动肌力及 PAR、AAR 和 TDPM 指标效果的量化评价[J].体育科学,2014,34(12):54-62.
- [3]陈婧婧.远红外线对造血干/祖细胞生物学特性的影响[D].上海:上海师范大学,2009.
- [4]曹庆雷,何建伟,杨金龙.远红外陶瓷微珠对大鼠一次性力竭运动骨骼肌 CK、CK-MM、LDH 指标的影响[J].体育学

刊,2013,20(3):125-129.

- [5]何建伟,杨金龙,赵广高.远红外陶瓷微珠对一次性力竭大鼠 IL-6、T-AOC 等指标的影响[J].莆田学院学报,2016,23(2):15-19.
- [6]傅旭东.远红外电热磁中药导入法在治疗运动性疲劳与损伤中的运用[J].福建中医药,2007,38(5):48-49.
- [7]李红涛,刘建学.远红外辐射陶瓷研究的现状及进展[J].陶瓷,2005(4):49-51.
- [8]付德荣,刘承宜,孙小华.运动性骨骼肌损伤的内稳态研究综述[J].体育学刊,2011,18(1):133-138.
- [9]卢鼎厚.骨骼肌损伤的病因和治疗[M].北京:北京体育大学出版社,1993:33-34.
- [10]MARIA FERNSTROM, MICHAL TONKONOGI, et. Effects of Acute and Chronic Endurance Exercise on Mitochondrial Uncoupling in Human Skeletal Muscle [J]. J Physiol, 2003, 554(3):755-763.
- [11]宫霞,卢元芳.银杏叶提取物对小鼠骨骼肌过氧化损伤的保护作用[J].中国运动医学杂志,1998,17(4):35-36.
- [12]CARLSM BM: The regeneration of skeletal muscle-a review [J]. Am J Anat, 2003, 137:119-150.
- [13]Mauro A. Muscle Regeneration [M]. New York: Raven Press, 2009.
- [14]LIU XG, ZHOU YJ, LIU TC, YUAN JQ. Effects of Low-Level Laser Irradiation on Rat Skeletal Muscle Injury after Eccentric Exercise. Photomed Laser Surg [J], 2009, 27(6):863-869.
- [15]刘晓光,周永健,夏义山,等.低强度激光对大鼠力竭运动后骨骼肌自由基、NO 代谢的影响[J].体育学刊,2009,16(6):102-106.
- [16]WORRELL TW: Factors associated with hamstring injuries. An approach to treatment and prevention measures [J]. Sports Med, 2010, 17:338-345.

[责任编辑 魏 宁]