

·基础研究·

# 大鼠脑组织总超氧化物歧化酶、锰超氧化物歧化酶和铜锌超氧化物歧化酶活性在不同训练条件下的变化\*

于利人<sup>1</sup> 周蔚<sup>2</sup> 陈立军<sup>2,3</sup> 靳秋月<sup>2</sup> 史娜<sup>2</sup>

## 摘要

**目的:**通过建立SD大鼠跑台运动模型,观察不同训练负荷条件下大鼠脑组织总超氧化物歧化酶(T-SOD),锰超氧化物歧化酶(Mn-SOD)和铜锌超氧化物歧化酶(CuZn-SOD)活性的变化。

**方法:**实验建立有氧、无氧、有氧和无氧交替运动SD大鼠跑台运动训练模型,有氧运动组采用递增负荷训练,无氧运动组采用高速间歇训练,交替运动组采用有氧运动与无氧运动交替训练,每组24只大鼠,均训练6周,并设立正常对照组(8只大鼠)。各组大鼠每训练2周处死8只,然后用机器匀浆法提取大鼠脑组织匀浆介质,可见分光光度计检测大鼠脑组织T-SOD, Mn-SOD和CuZn-SOD活性。

**结果:**训练2周后,无氧组大鼠脑组织T-SOD水平低于正常对照组( $P<0.05$ ),但随着训练周期的延长,其T-SOD水平逐渐增加( $P<0.05$ );交替组大鼠脑组织T-SOD和Mn-SOD活性在训练2周时最高( $P<0.05$ ),之后随着训练周期的延长逐渐降低;各运动大鼠脑组织CuZn-SOD活性与正常对照组相比并无显著差异( $P>0.05$ )。

**结论:**无氧运动训练一定时间后可以增加大鼠脑组织T-SOD的活性,交替运动大鼠训练2周对提高脑组织T-SOD和Mn-SOD活性最佳,运动对大鼠脑组织CuZn-SOD活性并无显著影响。

**关键词** 跑台运动;大鼠;脑组织;超氧化物歧化酶

**中图分类号:**R493,R473.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2011)-06-0546-04

Changes of activities of total-superoxide dismutase, manganese-superoxide dismutase and copper zinc-superoxide dismutase in rat's brain at different training intensities/YU Liren, ZHOU Wei, CHEN Lijun, et al.//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2011, 26(6): 546—549

## Abstract

**Objective:** To observe the changes of activities of total-superoxide dismutase (T-SOD), manganese-superoxide dismutase (Mn-SOD) and copper zinc-superoxide dismutase (CuZn-SOD) in rat's brain via constructing motion models of aerobic exercise, anaerobic exercise as well as aerobic and anaerobic alternative treadmill exercise training.

**Method:** Aerobic exercise group was constructed by progressive load exercise, anaerobic exercise group treated with high-speed interval training, alternative exercise group treated with aerobic exercise and anaerobic exercise alternatively(24 rats in each group, training for 6 weeks). Meanwhile, normal control group was established(8 rats). After every 2 weeks training 8 rats were sacrificed in each group. Activities of T-SOD, Mn-SOD and CuZn-SOD in rat's brain were measured.

**Result:** Content of T-SOD in rat's brain in anaerobic exercise group was less than that in normal control group after training two weeks( $P<0.05$ ). However, with extension of training periods, the level of T-SOD increased gradually( $P<0.05$ ). After two weeks training activities of T-SOD and Mn-SOD in rat's brain in alternative training group were the highest( $P<0.05$ ), then it decreased following extension of training periods. There was no signifi-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2011.06.012

\*基金项目:军队科研项目(WKH2009Z02)

1 武警医学院训练部临床管理处,天津,300162; 2 武警医学院生物化学教研室; 3 通讯作者  
作者简介:于利人,男,硕士,副教授; 收稿日期:2010-12-30

cant difference of activities of CuZn-SOD in rat's brain among exercise groups and normal control group ( $P > 0.05$ ). Conclusion: Anaerobic exercise for a certain period can increase the activity of T-SOD in rat's brain. Alternative training for two weeks may be the best for increasing the activities of T-SOD and Mn-SOD in rat's brain. This experiment suggested that exercise would not markedly influence the activity of CuZn-SOD in rat's brain.

**Author's address** Department of Clinical Management, Department of Biochemistry, Armed Police Medical College, Tianjin, 300162

**Key word** treadmill exercise; rat; brain tissue; superoxide dismutase

机体氧代谢过程中会产生少量的氧自由基,它虽然参与有利于机体的某些生命环节,但更与生物机体衰老,以及心血管病和癌症等一系列病理损害有关。机体防御能力下降,体内抗氧化酶活性降低,大量氧化产物堆积,抗氧化酶的消耗增多,如此反复形成恶性循环,使细胞受到损伤而衰老和死亡。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, 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,它可对抗与阻断因氧自由基对细胞造成的损害,并及时修复受损细胞,复原因自由基造成的细胞损害<sup>[1-5]</sup>。SOD以多个常见形式存在:它们以铜和锌,或锰、铁,或镍作为辅因子。锰超氧化物歧化酶(manganese superoxide dismutase, Mn-SOD)存在于线粒体和过氧化物酶体;铁超氧化物歧化酶(Fe-SOD)主要位于叶绿体,但在过氧化物酶体中也能够被检测到;铜锌超氧化物歧化酶(copper zinc superoxide dismutase, CuZn-SOD)则定位于原生质、叶绿体、过氧化物酶体和质外体中<sup>[6-7]</sup>。

有研究表明适度训练可以增加机体SOD活性,有利于机体内积聚的氧自由基的清除,保护细胞免受其损害,在机体的防病抗衰中起着极为重要的作用<sup>[8-9]</sup>。但是,何种训练以及如何训练才能最大限度地增加机体SOD活性又给机体以最小的损害,这需要进一步进行探讨。实验参照 Bedford等<sup>[10]</sup>的方法,建立有氧、无氧、有氧和无氧交替运动的跑台运动训练模型,并于训练2周、4周和6周分别采集标本,检测大鼠脑组织 T-SOD, Mn-SOD 和 CuZn-SOD 的活性改变,观察不同负荷条件下运动对机体SOD的影响,探讨运动训练对机体防病抗衰老的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物分组

健康雄性SD大鼠80只,鼠龄2个月,体质量( $214.65 \pm 11.24$ )g,由北京大学医学部实验动物科学部提供(许可证号:SCXK2002-0001),动物房维持在温度( $23 \pm 2$ )℃,湿度40%—60%,每日按自然昼夜照明,自由进食饮水。实验对动物的处理方法符合中华人民共和国科学技术部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》<sup>[11]</sup>。

实验使用成都泰盟科技有限公司的FT-200三通道大鼠跑步机进行跑台训练。每次由专人在同一时间对大鼠进行训练,训练时间从8:00开始。按体质量(组间体质量无显著性差异)将SD大鼠80只随机分为正常对照组8只、有氧组24只、无氧组24只、交替组24只。按训练周期长短各运动组再分为训练2周、4周和6周组,8只/组。

### 1.2 建模方法

正常对照组大鼠正常笼内生活,不运动。运动模型的构建参照 Bedford等<sup>[10]</sup>的方法,有氧运动组采用递增负荷训练,起始速度为15m/min,每间隔5min速度增加3m/min,运动至速度为20m/min后维持此速度并增加跑台坡度为5%,时间60min,运动强度为64%—76%  $VO_{2max}$ 。

无氧运动组训练速度为50m/min,时间6min,休息5min后,继续依此训练3次,运动强度  $> 80\% VO_{2max}$ <sup>[12-13]</sup>。

有氧与无氧交替运动组起始速度为15m/min,5min后,增至18m/min,再过5min,增至20m/min,坡度提为5%,训练35min。休息10—15min后,以50m/min训练6min。训练时使用电刺激或毛刷刺激,维持大鼠在跑台跑道前1/3处,以保证运动强度恒定。每次实验后均检查动物是否受伤,如有受伤则及时治疗 and 休息调整。训练6周,每周6d。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 匀浆介质的制备:**将 Tris 1.21g 及 EDTA-2Na 37.23mg 加蒸馏水 500ml,再用 200mmol/L HCl 进行滴定至 pH7.4,然后加入 3.42g 蔗糖,8g NaCl,再用蒸馏水补充至 1000ml,放入盐水瓶中,高温高压消毒后,4℃冰箱保存备用。

**1.3.2 大鼠脑组织的采集及处理:**每训练完 2 周,每个运动组即刻处死 8 只大鼠,断颈取脑,放在冰盘上,用冷生理盐水漂洗,除去血液,用滤纸拭干,称重,加入 9 倍于脑组织重量的冰匀浆介质,冰浴下用玻璃匀浆器(DY89-II 电动玻璃匀浆器,宁波新芝公司)将脑组织匀浆 5min,制备好的 10%匀浆用低温离心机(5417R 低温离心机,德国 Eppendorf 公司)2000r/min 左右离心 10—15min,取上清进行测定。使用 BCA 法进行蛋白定量(BCA 蛋白定量试剂盒,碧云天生物技术公司)。

**1.3.3 检测指标与方法:**用 UV 2100 紫外/可见分光光度计(日本 Shimadzu 公司)检测大鼠脑组织 T-SOD, Mn-SOD 和 CuZn-SOD 活性。使用 SOD(测分型)测定试剂盒(南京建成生物科技公司)进行检测,SOD 的检测采用黄嘌呤氧化酶法,抽提法检测 CuZn-SOD。

**1.4 统计学分析**

实验数据采用统计软件包 SPSS 13.0 进行处理,实验计量资料以均数 ± 标准差表示。组间差异比较采用单因素方差分析,若方差不齐,采用秩和检验。若方差齐,则采用 SNK-q 检验进行各组均值的多重比较。

**2 结果**

**2.1 实验动物数量分析**

共纳入大鼠 80 只,全部进入结果分析,无脱失值。

**2.2 不同负荷、不同周期跑台训练对大鼠脑组织 T-SOD 活性的影响**

训练 2 周,无氧组大鼠脑组织 T-SOD 水平要低于正常对照组和交替组( $P < 0.05$ ),但随着训练周期的延长,无氧组大鼠脑组织 T-SOD 水平逐渐增加( $P < 0.05$ )。交替组大鼠脑组织 T-SOD 水平训练 2 周要高于训练 4 周和 6 周( $P < 0.05$ )。见表 1。

**2.3 不同负荷、不同周期跑台训练对大鼠脑组织**

**CuZn-SOD 活性的影响**

运动后,各组大鼠脑组织 CuZn-SOD 活性与正常对照组相比,并无显著性差异( $P > 0.05$ )。见表 2。

**2.4 不同负荷、不同周期跑台训练对大鼠脑组织 Mn-SOD 活性的影响**

训练 2 周,交替组大鼠脑组织 Mn-SOD 水平要高于正常对照组、有氧组和无氧组( $P < 0.05$ )。训练 4 周、6 周,三个运动组大鼠脑组织 Mn-SOD 水平和正常对照组相比,无显著性差异。见表 3。

**表 1 不同负荷跑台训练后大鼠脑组织 T-SOD 活性的变化 ( $\bar{x} \pm s, 10^3$  nkat/mgprot)**

组别	2 周	4 周	6 周
正常对照组	1.62 ± 0.02		
有氧运动组	1.47 ± 0.07	1.67 ± 0.14	1.39 ± 0.06
无氧运动组	1.37 ± 0.12 <sup>①</sup>	1.59 ± 0.01 <sup>②</sup>	1.69 ± 0.05 <sup>②③</sup>
交替运动组	1.74 ± 0.04 <sup>②</sup>	1.43 ± 0.06 <sup>④</sup>	1.45 ± 0.11 <sup>④</sup>

与正常对照组比:① $P < 0.05$ ;与无氧运动 2 周比:② $P < 0.05$ ;与有氧运动 6 周比:③ $P < 0.05$ ;与交替运动 2 周比:④ $P < 0.05$

**表 2 不同负荷跑台训练后大鼠脑组织 CuZn-SOD 活性的变化 ( $\bar{x} \pm s, 10^3$  nkat/mgprot)**

组别	2 周	4 周	6 周
正常对照组	1.12 ± 0.07		
有氧运动组	1.00 ± 0.02	1.03 ± 0.09	0.98 ± 0.03
无氧运动组	1.11 ± 0.01	1.11 ± 0.05	1.16 ± 0.03
交替运动组	0.97 ± 0.05	0.92 ± 0.02	1.07 ± 0.10

**表 3 不同负荷跑台训练后大鼠脑组织 Mn-SOD 活性的变化 ( $\bar{x} \pm s, 10^3$  nkat/mgprot)**

组别	2 周	4 周	6 周
正常对照组	0.50 ± 0.08		
有氧运动组	0.48 ± 0.07 <sup>①</sup>	0.64 ± 0.06	0.41 ± 0.05
无氧运动组	0.52 ± 0.01 <sup>①</sup>	0.48 ± 0.08	0.53 ± 0.06
交替运动组	0.77 ± 0.08 <sup>②</sup>	0.51 ± 0.07	0.37 ± 0.01

与交替运动 2 周比:① $P < 0.05$ ;与正常对照组比:② $P < 0.05$

**3 讨论**

实验参照 Bedford TG 标准,并根据大鼠在不同负荷条件下的氧耗量<sup>[12-13]</sup>,建立有氧、无氧、有氧和无氧交替运动跑台运动训练模型。有氧运动采用递增负荷训练,无氧运动采用高速间歇训练。前期课题组对三种运动模型血清学指标的检测,证明此跑台运动模型符合有氧、无氧、交替运动的特点<sup>[14]</sup>。本实验检测跑台训练后 2 周、4 周、6 周大鼠脑组织 SOD 活性变化,探讨运动训练对机体 SOD 活性的影响机

制,为如何适度训练并保护机体免受自由基损伤达到防病抗衰作用提供一定理论支持。

脑是机体氧消耗最多的器官之一,氧代谢过程中可以产生少量的氧自由基,包括有 $O_2^-$ 、 $H_2O_2$ 和 $\cdot OH$ 。自由基具有细胞毒性作用,可引起细胞膜发生脂质过氧化作用,导致组织细胞损伤,由于脑组织富含脂质,因此对氧自由基损害尤为敏感<sup>[15-17]</sup>。SOD分为Mn-SOD和CuZn-SOD。CuZn-SOD主要分布于细胞液,细胞器中极少存在。Mn-SOD主要分布于线粒体基质中,在面对应激时表达增强,是歧化线粒体生成的主要抗氧化酶<sup>[5-6]</sup>。SOD作为一种自由基清除剂,对机体的氧化和抗氧化平衡起着至关重要的作用,并且具有清除超氧阴离子和保护细胞免受自由基损伤的功能。SOD活力的高低间接反映了机体清除氧自由基的能力。

本研究结果显示:运动后大鼠脑组织CuZn-SOD和正常对照组相比,无显著差异,这与曹俊等的研究相一致<sup>[18]</sup>,这可能和CuZn-SOD主要存在于胞浆,而氧化损伤又是一个应激过程有关。交替组Mn-SOD高于其他组,机体清除氧自由基的能力在训练2周时最强,随着训练周期的延长,其水平逐渐降低,说明Mn-SOD对氧自由基的清除是一个应激过程,能在短时间内完成。无氧组大鼠脑组织T-SOD水平要低于正常对照,但随着运动周期的增加,其体内SOD水平可以增加。而交替组T-SOD水平在训练2周时最高,之后降低,说明短期的高强度训练可以提高机体SOD水平,但中长期的训练反而会使大鼠脑组织SOD活性下降。周庆功等<sup>[19]</sup>研究发现力竭运动后即刻,肝、脑、肌肉组织中的SOD水平与安静对照组比较有明显下降,这和本实验SOD活性在训练初期达到最大值,随着训练时间延长发生活性下降相符。有氧运动组大鼠脑组织SOD活性无明显改变,这和以往的研究结果并不一致,多数文献报道,有氧运动训练可以提高SOD活性<sup>[20-21]</sup>。但顾丽燕<sup>[22]</sup>等的研究发现,长期适量的游泳运动后,大鼠血清SOD活性并没有改变,这和本实验结果一致。这可能和训练的类型、强度和持续时间,以及检测部位有关,以往的研究大多检测的是外周血、红细胞、骨骼肌、心肌以及肝脏组织中SOD水平,而本实验检测的是大鼠脑组织SOD活性,因而和以往大多

数文献的结论不一致。在有氧训练过程中,机体耗氧量增加,自由基的生成量增多,细胞内抗氧化酶水平会产生急性适应性变化,但本实验中有氧训练组大鼠SOD活性并无明显改变,这可能是由于此种类型和强度的有氧运动不会使体内产生大量的自由基,或是其他抗氧化酶活性增加消除了过多的氧自由基,从而使SOD的水平无明显改变。

综上所述,实验发现不同训练负荷条件下大鼠脑组织SOD活性的不同变化,证实无氧运动一定时间后,机体SOD水平可以有所提高,而高强度的交替运动只需要2周训练就可以达到较高水平,中长期的训练反而不利于SOD活性的增强,有氧运动训练对大鼠脑组织SOD活性改变无显著性。提示我们在进行有氧康复运动训练时,是否可以适时适量地加入无氧运动或交替运动,使机体在达到训练效果的同时,又可以增加机体抗自由基氧化损伤的能力,从而对机体防病抗衰起到良好作用。

#### 参考文献

- [1] Saravanan R, Pugalendi V. Impact of ursolic acid on chronic ethanol-induced oxidative stress in the rat heart[J]. *Pharmacol Rep*, 2006, 58(1):41—47.
- [2] Sinzato YK, Lima PH, Campos KE, et al. Neonatally-induced diabetes: lipid profile outcomes and oxidative stress status in adult rats[J]. *Rev Assoc Med Bras*, 2009, 55(4):384—388.
- [3] Aiguo Wu, Zhe Ying, Gomez-Pinilla F. Vitamin E protects against oxidative damage and learning disability after mild traumatic brain injury in rats[J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2010, 24(3):290—298.
- [4] Sun XC, Xian XH, Cai JS, et al. Superoxide dismutase participates in p38 MAPK-mediated neuroprotection of limb ischemic preconditioning in global brain ischemic rats[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2007, 21(6):455—461.
- [5] 周红杰,朱洁,王景周,等.依达拉奉对脑出血大鼠脑组织丙二醛含量、超氧化物歧化酶活力及脑水含量的影响[J]. *临床神经病杂志*, 2008, 21(5):563—565.
- [6] Han KH, Shimada K, Sekikawa M, et al. Anthocyanin-rich red potato flakes affect serum lipid peroxidation and hepatic SOD mRNA level in rats[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2007, 71(5):1356—1359.
- [7] Matsunami T, Sato Y, Ariga S, et al. Regulation of oxidative stress and inflammation by hepatic adiponectin receptor 2 in an animal model of nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Int J Clin*

(下转第554页)