

• 实验研究 •

心肌肽抗氧化作用的实验研究

Experimental study on antioxidative effect of myocardial peptide

吴翊馨, 张海平, 苏胜林

WU Yi-xin, ZHANG Hai-ping, SU Sheng-lin

(沈阳体育学院运动人体科学系, 辽宁 沈阳 110102)

摘要: 为探讨不同剂量心肌肽对小鼠的抗氧化作用, 分别以低、中、高 [120、230、690 mg/(kg·d)] 三个剂量的心肌肽给予小鼠连续灌胃 20 d, 对照组灌胃蒸馏水 0.2 ml/d, 20 d 后测定小鼠的负重耐力游泳时间、定量运动负荷后的肝糖原(Gn)含量、血浆尿素氮(BUN)含量、股四头肌超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量。结果显示, 低、中、高剂量组小鼠的负重耐力游泳时间均不同程度延长, 运动后 BUN 含量降低、肝 Gn 含量提高, 且呈现剂量-反应关系。低、中、高剂量心肌肽均显著增加运动后股四头肌 SOD 活性, 减少股四头肌 MDA 含量, 且呈剂量-反应关系。负重耐力游泳时间与 SOD 活性呈正相关, 与 MDA 含量呈负相关。提示心肌肽作为一种新型抗疲劳营养补剂具有重要的应用前景。

关键词: 心肌肽; 营养补剂; 抗疲劳; 抗氧化作用

中图分类号: R874 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2013)05-0361-02

心肌肽的化学名称为 β -丙氨酸 L-组氨酸, 是普遍存在于哺乳动物体内的内源水溶性二肽, 尤其是骨骼肌和脑组织, 通常以毫摩尔浓度存在。心肌肽具有广泛的生物学功能, 尤其是具有很强的抗氧化活性。近年来, 心肌肽作为一种新型的食品添加剂、药用试剂已经引起广泛关注和应用, 但在运动科学领域尚少见报道。本实验拟通过动物运动实验模型, 检测相关抗疲劳、抗氧化生理生化指标, 旨在探讨不同剂量的心肌肽对小鼠抗氧化作用的影响, 为运动实践应用这种无毒无副作用的营养补剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与分组

8 周龄健康昆明种雄性小白鼠 72 只, 体重 (20 ± 2) g, 购自沈阳医学院医学实验动物中心。适应性喂养 1 周后, 72 只小鼠随机分为 2 批。第一批 32 只, 随机分为 4 组, 每组 8 只, 分别为运动对照组和低、中、高 3 个心肌肽剂量实验组, 实验目的为负重耐力游泳时间测定, 运动方式为负重游泳至力竭。第二批 40 只, 随机分为 5 组, 每组 8 只, 分别为安静对照组、运动对照组和低、中、高 3 个心肌肽剂量实验组, 实验目的为肝糖原(Gn)含量、血浆尿素氮(BUN)含量、股四头肌的超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)

含量等指标测定, 运动方式为负重游泳 90 min。

1.2 心肌肽的施加方案

依据心肌肽提供的成人剂量, 参考《动物方法学》规定的人与动物用药剂量及比例要求, 以每只小鼠标准体重 20 g 计算, 将低剂量组 [120 mg/(kg·d)]、中剂量组 [230 mg/(kg·d)] 和高剂量组 [690 mg/(kg·d)] 每日所需的心肌肽制成 0.2 ml 的制剂, 每天经口灌胃 1 次, 安静对照组和运动对照组相应每天灌胃蒸馏水 0.2 ml, 均连续灌胃 20 d。心肌肽由沈阳市海汇天成生物技术公司提供, 白色粉末状, 心肌肽纯度为 96.3%。

1.3 负重耐力游泳时间测定

末次灌胃 30 min 后, 置游泳箱中强迫游泳, 水深约 50 cm, 水温 28 ~ 30 °C, 小鼠尾根部负荷 3% 体重的铅皮, 不时搅动水, 使小鼠四肢保持运动, 记录自游泳开始至力竭, 以沉水底 10 s 不再浮起的时间为其负重耐力游泳时间。

1.4 Gn 含量、BUN 含量、SOD 活性和 MDA 含量测定

末次灌胃 30 min 后, 将小鼠置于 30 °C 的游泳箱中负重游泳 90 min, 然后断头取肝脏、血液、股四头肌, 分别采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒测定 Gn 含量、BUN 含量、SOD 活性和 MDA 含量, 操作过程严格按照说明书执行。

1.5 数据处理

数据用 SPSS 13.0 软件进行处理, 做组间单因素方差分析, 以平均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 显著水平取 0.05。

2 结果

2.1 心肌肽对小鼠负重耐力游泳时间的影响

与运动对照组比较, 中、高剂量组差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 低、中、高三个剂量组之间比较差异无统计学意义, 总体呈现一定的剂量-反应关系 (表 1)。

表 1 心肌肽对小鼠负重耐力游泳时间的影响 min

组别	力竭时间
运动对照组	20.09 ± 3.81
低剂量组	26.25 ± 4.73
中剂量组	28.14 ± 6.42*
高剂量组	31.89 ± 6.18**

注: 与运动对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.2 心肌肽对小鼠肝 Gn 含量和血浆 BUN 含量的影响

由表 2 可见, 肝 Gn、血浆 BUN 安静对照组与运动对照组比较, 差异均有统计学意义。肝 Gn 含量心肌肽各剂量组与运动对照组比较, 不同剂量组间比较, 差异均有统计学意义。血浆 BUN 含量中、高剂量组与运动对照组比较, 不同剂量组

收稿日期: 2013-05-17; 修回日期: 2013-07-22

作者简介: 吴翊馨 (1973—), 女, 博士研究生, 研究方向: 运动对疾病治疗与康复。

间比较,差异亦均有统计学意义。血浆 BUN 含量与肝 Gn 增高趋势相反,其呈现的降低趋势有一定的剂量-反应关系。

表 2 心肌肽对小鼠肝 Gn 含量和血浆 BUN 含量的影响

组别	Gn (mg/g)	BUN (mmol/L)
安静对照组	17.32 ± 0.61**	5.43 ± 0.38**
运动对照组	7.61 ± 0.42	8.73 ± 0.42
低剂量组	8.52 ± 0.68*	8.10 ± 0.61
中剂量组	9.45 ± 0.68***	12.54 ± 0.36***△△
高剂量组	7.84 ± 0.46**	7.09 ± 0.56***△△

注:与运动对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与安静对照组比较,## $P < 0.05$,### $P < 0.01$;与低剂量组比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$ 。表 3 同。

2.3 心肌肽对小鼠股四头肌 SOD 活性和 MDA 含量的影响

由表 3 可见,股四头肌 SOD 活性、MDA 含量心肌肽各剂量组与运动对照组比较,差异均有统计学意义;与运动对照组比较,股四头肌 SOD 活性呈现升高趋势,MDA 含量呈现降低趋势,总体都呈现剂量-反应关系。

表 3 心肌肽对小鼠股四头肌 SOD 活性、MDA 含量的影响

组别	SOD (U/mg prot)	MDA (nmol/mg prot)
安静对照组	93.54 ± 2.01*	44.57 ± 1.28**
运动对照组	87.64 ± 3.42	67.46 ± 1.26
低剂量组	103.01 ± 3.00**	62.43 ± 1.59**
中剂量组	111.32 ± 4.48***	59.64 ± 1.73***
高剂量组	125.85 ± 1.78***△△	48.41 ± 1.72***△△

2.4 心肌肽抗氧化作用各项指标间的相关分析

由表 4 可见,游泳时间与肝 Gn 含量以及股四头肌 SOD 活性成正相关,与血浆 BUN 含量、股四头肌 MDA 含量成负相关;股四头肌 SOD 活性与股四头肌 MDA 含量呈负相关。

表 4 心肌肽抗氧化作用各项指标间的相关分析

指标	游泳时间	SOD	MDA
Gn	0.752	0.839	-0.886
BUN	-0.665	-0.697	0.692
SOD	0.482	—	-0.966
MDA	-0.439	-0.966	—

3 讨论

3.1 心肌肽对小鼠负重耐力游泳时间的影响

运动耐力的提高是机体抗疲劳能力增强最有力的宏观表现。小鼠负重耐力游泳时间的长短将在一定程度上反映其有氧代谢能力的强弱。本实验结果表明,中、高剂量组小鼠游泳至力竭的时间均显著长于对照组,说明心肌肽具有明显延长小鼠负重耐力游泳时间的作用,使小鼠运动耐力得到相应的提高。

3.2 心肌肽对运动小鼠肝 Gn 含量的影响

长时间紧张运动中体力的衰竭总是和肌糖原的耗竭同时发生,为维持血糖水平,肝 Gn 储备量减少。本实验结果显示长时间耐力运动使小鼠肝 Gn 含量显著降低,而各剂量心肌肽组小鼠肝 Gn 水平剂量依赖性均显著高于运动对照组,说明心肌肽具有增加机体肝 Gn 储备的作用。其机制可能是心肌肽一方面能有效地促进细胞内糖酵解及氧化磷酸化水平,促进细胞能量代谢;另一方面调节糖原水平,恢复肝 Gn 水平,具有增加血清胰岛素和减少高血糖素等功能^[1-2],推测心肌肽可使

机体更经济地利用 Gn 和三磷酸腺苷(ATP),并能使运动产生的乳酸转变为丙酮酸进而被氧化参与供能。

3.3 心肌肽对运动小鼠血浆 BUN 含量的影响

BUN 是评价机体蛋白质的整体分解代谢情况的常用指标。机体对于运动负荷的适应性越差,蛋白质分解代谢越强,运动生成的 BUN 就越多。本实验研究显示,长时间耐力运动使小鼠血浆 BUN 含量显著增高,而血浆 BUN 在不同剂量组与运动对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.01$),说明心肌肽具有明显降低高强度定量负荷运动后血浆 BUN 水平的作用,提高机体对运动的适应能力。分析心肌肽可能通过舒张血管有效改善血液循环,起到加快机体对 BUN 的输送和代谢的作用,有利于清除血浆 BUN,对抗疲劳是十分重要的^[3];也可能与心肌肽能够促进有氧代谢,使机体更经济地利用 Gn 和三磷酸腺苷(ATP)有关。

3.4 心肌肽对运动小鼠股四头肌 SOD、MDA 水平的影响

大负荷运动训练使运动器官骨骼肌自由基代谢加强,使其产生大量的自由基,血浆 MDA 含量升高,SOD 活性显著降低,机体抗氧化能力下降。本实验中得出的结果与以上研究相一致,小鼠游泳 90 min 后,产生大量的氧自由基和脂质过氧化物分解产物。SOD 活性的降低可能与过量自由基对 SOD 的消耗增多有关。

抗氧化作用是心肌肽的主要生物学功能之一,可以有效地清除活性氧等自由基,并且清除能力呈剂量依赖性。本实验中,长时间耐力运动使股四头肌 SOD 活性显著降低,MDA 含量显著增加;而各实验组心肌肽均可使小鼠肌肉 MDA 生成量减少,SOD 活性水平增高,与对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.01$);而且力竭游泳时间与 SOD 活性呈正相关,与 MDA 含量呈负相关,提示心肌肽能提高机体清除自由基的水平,提高 SOD 的活性,通过发挥其抗氧化作用来保护细胞免受自由基的损伤,进而可以提高机体的抗疲劳能力,而且呈现剂量-反应关系。心肌肽的抗氧化作用的机制可能有以下六个方面^[4-5]:(1) 自由基清除作用;(2) 显著的还原力;(3) 金属离子螯合作用;(4) 缓冲生理 pH 值;(5) 拟 SOD 活性和脂类过氧化物酶活性^[6];(6) 与脂类过氧化物产生反应。

参考文献:

- [1] 包丽芹,邹积宏. 肌肽在医药领域的应用及其研究概况 [J]. 黑龙江医药,2005,18(1): 17-20.
- [2] 周理红,许梓荣. 肌肽的营养研究进展 [J]. 中国饲料,2004,(11): 27-29.
- [3] 郭唯,张培林,张海艳,等. AF-8B 对小鼠机体抗疲劳作用的研究 [J]. 河南科学,2005,23(6): 813-815.
- [4] Dutka T L, Lamb G D. Effect of carnosine on excitation-contraction coupling in mechanically-skinned rat skeletal muscle [J]. Journal of Muscle Research and Cell Motility, 2004, 25: 203-213.
- [5] Horning M S, Blakemore L J, Trombley P Q. Endogenous mechanisms of neuroprotection: role of zinc, copper, and carnosine [J]. Brain Research, 2000, 852: 56-61.
- [6] 韩立强,朱松波,杨国宇. 肌肽——一种有待开发的天然抗氧化剂 [J]. 中国牧业志,2005,41(2): 33-35.