

跑步运动对小鼠端粒长度和体内氧化抗氧化的影响

张淑静 王 玥 周雨玫 陈 琳 高誉珊 黄 翔 孙 燕 郑丰杰 李宇航

(北京中医药大学中医学院, 100029)

摘要 目的:观察跑步运动对小鼠端粒长度和体内氧化抗氧化的影响,探讨中医学“流水不腐,户枢不蠹”运动养生观的现代生物学机制。方法:选取并将8周龄雄性ICR小鼠随机分为3组(未施加运动组,运动1组,运动2组),两运动组按2种不同的运动量,每天跑步,共运动8周后取材。荧光定量PCR的方法检测血液细胞和肝脏组织中基因端粒的长短变化,化学法测定试剂盒检测肝脏组织中还原型胱甘肽(GSH)/氧化型谷胱甘肽(GSSG)比值的变化,总超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、心肌组织中蛋白质羰基和丙二醛(MDA)的水平,用酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒检测心肌组织中8-异前列腺素F2 α (Direct 8-iso-PGF2 α 8)的水平 and 8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)的水平。结果:运动1组和运动2组血液细胞中端粒的长度均长于未施加运动组,差异有统计学意义($P < 0.05$);肝脏组织中端粒的长度,虽长于未施加运动组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。运动1组与未施加运动组比较,小鼠肝组织中GSH/GSSG的比值变大,差异有统计学意义($P < 0.05$),运动2组与未施加运动组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);运动1组和运动2组与未施加运动组比较,肝组织中过氧化氢酶(CAT)的水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),3组小鼠肝组织中总超氧化物歧化酶(SOD)水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。运动1组和运动2组与未施加运动组比较,8-OHdG水平、蛋白质羰基水平、异前列腺素F2 α 水平均降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。运动1组与未施加运动组比较,丙二醛水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),运动2组与未施加运动组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论:一定强度的运动可以升高抗氧化防御作用,降低氧化损伤,减缓端粒的缩短速度。

关键词 中医养生;跑步运动;端粒;氧化抗氧化水平;氧化损伤;小鼠;过氧化氢酶;氧化物歧化酶

Effects of Running on Telomere Length and Oxidative Antioxidant Level in Mice

Zhang Shujing, Wang Yue, Zhou Yumei, Chen Lin, Gao Yushan, Huang Xiang, Sun Yan, Zheng Fengjie, Li Yuhang

(School of Preclinical Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract Objective: To observe the effects of running exercise on telomere length and the oxidation and antioxidation level in mice, and to explore the modern biological mechanism of exercise in the traditional Chinese medicine. **Methods:** Eight-week-old male ICR mice were randomly divided into three groups (no exercise group, exercise group 1, and exercise group 2). The two exercise groups were given different amount of daily running for 8 weeks. The quantitative real-time PCR method was used to detect the change of telomere length in blood cells and liver tissue. The chemical assay kit was used to detect the change of glutathione (GSH)/oxidized glutathione (GSSG) in liver tissue, and to detect the change in total superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), protein carbonyl and malondialdehyde (MDA) content in myocardial tissue. The content of 8-isoprostaglandin F2 α and 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) in cardiac muscle tissue were detected using the ELISA kits. **Results:** Compared with the non-exercise group, the length of telomere in the blood cells of exercise group 1 and exercise group 2 was significantly longer than that of the no exercise group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Although longer than the no exercise group, the length of telomeres in liver was not statistical significant. The ratio of GSH/GSSG in liver tissue of mice in exercise group 1 was higher than that in no exercise group, and there was no significant difference between exercise group 2 and non-exercise exercise group. Compared with the non-exercise group, the contents of catalase (CAT) in the liver tissue were significantly higher in exercise group 1 and exercise group 2, the difference was statistically significant ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). No significant difference was found in the total superoxide dismutase (SOD) content in the tissues. Compared with no exercise group, the levels of 8-OHdG, protein carbonyl, and isoprostaglandin F2 α in exercise group 1 and exercise 2 group were significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the no exercise group, the content of malondialdehyde in the exercise group 1 was decreased, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$), while there was no significant difference between the exercise group 2 and the no exercise exercise group. **Conclusion:** A certain intensity of exercise can increase the antioxidant defenses, reduce oxidative damage, and slow down the telomere's shortening.

基金项目:北京中医药大学“经方现代应用关键科学问题的基础研究”创新团队(2011-CXTD-04);国家自然科学基金项目(81373503)

作者简介:张淑静(1984.09—),女,硕士,实验师,研究方向:中医辨证论治规律研究,E-mail:jingshuzhang@126.com

通信作者:李宇航(1960.08—),男,博士,教授,博士研究生导师,研究方向:中医辨证论治规律研究,E-mail:liyuhang@bucm.edu.cn

Key Words Traditional Chinese medicine regimen; Running; Telomere; Oxidation and antioxidant level; Oxidative damage; Mice; Catalase; Oxide dismutase

中图分类号:R228 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.02.016

后汉著名医家华佗曾创“五禽戏”防病治病,他说:“人体欲得劳动,但不当使极尔,动摇则气气得消,血脉流通,病不得生,譬犹户枢不朽是也”^[1]。《吕氏春秋》中亦有类似记载:“流水不腐,户枢不蠹,动也。形气亦然,形不动则精不流,精不流则气郁”^[2]。均在强调运动与健康的关系,运动能促使经脉内气血通畅,使人体各个部位都得到气血津液的滋养。如果缺乏运动,就会像《素问·调经论篇》指出:“血气不和,百病乃变化而生”。由此可见,中医强调运动养生对于保持健康、延年益寿等具有重要意义。

端粒是真核生物染色体末端的一种保护性帽状结构,它是一段 DNA 重复序列,随着细胞分裂逐渐缩短。端粒长度在出生时最大,随着年龄的增长而逐渐减小,当端粒长度缩短到某一数值时,细胞会停止分裂、走向凋亡^[3-4],因此被认为是年龄老化的生物标志物。端粒长度的变化对于确定个体的寿命和年龄相关疾病的变化是非常重要的,最近有研究发现白细胞和骨骼肌细胞的端粒长度可能与健康运动生活正相关,并与包括癌症^[5],心血管疾病^[6],肥胖^[7],糖尿病^[8-11],慢性疼痛和压力在内的几种与年龄相关的疾病风险有一定的负相关^[12-14]。流行病学研究显示,运动员与经常参加体育锻炼者较其他人群拥有更长的端粒^[15],既往研究亦表明,适量的运动可以提高人体功能,增强人体免疫力,改善身体健康,与老龄化和一些慢性病风险密切相关^[16]。因此,基于端粒长度在衰老中的重要性以及与健身运动活动的关联性,本研究通过对比检测不同跑步运动强度下,小鼠端粒长度的变化,小鼠体内氧化抗氧化水平的变化,探讨运动后小鼠端粒长短的变化的可能的作用机制以及与中医理论的相关性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 选取 8 周龄的 ICR 小鼠,雄性,21 只,体质量 20~22 g,购置斯贝福(北京)生物技术有限公司,动物合格证号 SCXK(京)2016-0002:适应性饲养 7 d,自由饮水和进食。运动组小鼠每 d 运动 1 次,每周运动 6 d,期间自由饮水和进食,运动 8 周。

1.1.2 试剂与仪器 血液细胞基因组提取试剂盒购自天根生物(货号:DP304-02),POWER SYBR-

GREEN(货号:4367659)购自 Invitrogen 公司,应用 Primer5 软件设计引物并交由上海英潍捷基生物技术有限公司合成。GSH/GSSG 检测试剂盒购自碧云天生物(货号:S0053),总超氧化物歧化酶(SOD)(货号:A001-3)、过氧化氢酶(CAT)(货号:A007-2)、丙二醛(MDA)(货号:A003-1)和蛋白质羰基含量测定试剂盒(货号:A087-2)购自南京建成生物制品研究所,8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)ELISA 检测试剂盒为 abcam(货号:ab201734)、Direct 8-iso-PGF2 α ELISA 试剂盒购自 ENZO 公司(货号:ADI-900-091)、小鼠的运动在平板跑步机上进行,小鼠跑步机为众实迪创跑步机(型号:ZS-PT 型)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 选取并将 8 周龄雄性 ICR 小鼠 21 只并随机分为 3 组,未施加运动组,运动 1 组,运动 2 组,每组 7 只。根据 Hafstad 等^[17]及 Kemi 等^[18]小鼠运动的耗氧量参数,制定中等强度持续训练(Moderate Intensity Continuous Training, MIT)及高强度间歇训练(High Intensity Interval Training, HIT),设计了运动 1 组及运动 2 组。

1.2.2 干预方法 1)运动 1 组:选取小鼠最大耗氧量的 65%~70% 的速度中间值,即 15 m/min,每天运动 2 h,每周运动 6 d。2)运动 2 组:选取小鼠最大耗氧量的 85%~90% 的速度中间值,即 21 m/min。由于小鼠难以维持此速度进行运动,因此选取了间歇运动法,即 16 m/min 运动 5 min 后升高速度至 26 m/min,5 min 后减速到 16 m/min,循环进行,总运动时间为 2 h,每周运动 6 d。

小鼠跑步运动过程,经实验人员设置参数并监视下,在跑步机上完成。小鼠运动期间自由饮水和进食,运动 8 周。

1.2.3 检测指标与方法 1)标本的采集 运动 8 周后,采用小鼠摘眼球取血法,4℃静置 2 h 后,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清和血细胞;冰上打开腹腔、胸腔,分离小鼠肝脏、心脏组织置于冻存管中,保存于 -80℃低温保存箱。

2)荧光定量 PCR 检测端粒长短 用 DNA 提取试剂盒提取全血细胞和肝组织中的 DNA,测浓度后配平,用荧光染料 POWER SYBRGREEN 进行实时荧光定量 PCR 实验,PCR 反应体系为 20 μ L:其中

SYBRGREEN 10 μL 、上下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各 0.4 μL , DNA 原液(2 μg)稀释 10 倍后加入 2 μL , ddH₂O 7.2 μL 。PCR 反应条件如下:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s(退火同时读取荧光数值), 共 40 个循环。熔解曲线:扩增循环结束后, 95 $^{\circ}\text{C}$, 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$, 1 min(读取荧光数值); 从 60 $^{\circ}\text{C}$ 至 95 $^{\circ}\text{C}$, 每增加 0.3 $^{\circ}\text{C}$, 读取 1 次吸光度值, 最后 95 $^{\circ}\text{C}$, 15 s。读取 Ct 值, 计算 ΔCt 值($\text{Ct}_{\text{目的基因}} - \text{Ct}_{\text{内参ACTIN}}$)、 $\Delta\Delta\text{Ct}$ 值($\Delta\text{Ct}_{\text{处理}} - \Delta\text{Ct}_{\text{对照}}$)、 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 值[相对表达量(Relative Qualification, RQ)]。荧光定量 PCR 引物如下: Tel, Forward Primer 5'-CGGTTTGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTT-3', Reverse Primer 5'-GGCTTGCCTTACCCCTTACCCCTTACCCCTTACCCCTTACCCCT-3'; 36B4, Forward Primer 5'-ACTGCTCTAGGACCCGAGAAG-3', Reverse Primer 5'-TCAATGGTGCCTCTGGAGATT-3'。

3) 化学法测定肝组织中还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)比值变化、总超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)的水平 10% 肝组织匀浆的制备:用生理盐水制备 10% 肝组织匀浆, 3 000 r/min, 离心 10 min, 取上清。还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)比值的测定:取上清加入相关试剂在 412 nm 处检测吸光度值, 与标准曲线比较, 得到总谷胱甘肽含量, 另一部分加入 GSH 清除试剂后, 在 412 nm 处检测吸光度值, 获得 GSSG 含量。SOD 测定过程:取 1 cm 光径石英比色皿, 紫外 240 nm, 双蒸水调零备用。取经过处理的肝组织匀浆(稀释 10 倍)20 μL 加入比色皿底部, 用移液器加入 3 mL 底物反应溶液, 快速冲入比色皿中, 240 nm 处立即测定吸光度, 记下 OD1 值, 1 min 后再次测一次吸光度, 记下 OD2 数值, 按照公式计算 SOD 浓度。CAT 测定过程:按照南京建成研究所说明书测定孔和测定空白孔各加入 20 μL 待测肝组织上清, 测定孔加入 20 μL 酶工作液, 测定空白孔加入 20 μL 酶稀释液; 然后每孔加入 200 μL 底物应用液, 混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min, 450 nm 测定吸光度值并计算 CAT 的浓度。

4) 化学法测定心肌组织中丙二醛(MDA)和蛋白质羰基水平 MDA 测定过程:取 40 mg 心肌组织放入含有蛋白去除试剂的试管内, 制备成 10% 的组织匀浆, 经 3 000 r/min, 离心 15 min 后, 取组织匀浆上清, 按照南京建成丙二醛测试盒进行, 在 532 nm 处测得吸光度值, 计算丙二醛水平。蛋白质羰基水平检测:取 40 mg 心肌组织, 按试剂盒中提供的试剂

一制备 10% 的匀浆, 冰水浴条件下机械匀浆, 2 500 r/min, 离心 10 min, 取上清进行测定。部分上清按照南京建成试剂盒步骤进行操作后, 370 nm 波长测定各管吸光度值, 并计算蛋白质羰基水平。

5) 用 ELISA 试剂盒检测心肌组织中异前列腺素(Direct 8-iso-PGF₂ α 8)和羟基脱氧鸟苷(8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, 8-OHdG)水平 异前列腺素的检测按照 ENZO 公司 ELISA 试剂盒的操作进行。制备 10% 的心肌组织匀浆, 取上清 100 μL 加入 50 μL 10N 氢氧化钠, 45 $^{\circ}\text{C}$ 温育 2 h 后加入 50 μL 37% 盐酸, 调整 pH 值至 6~8。样品稀释 10 倍后加入试剂盒内提供的 96 孔板中, 放入抗体后室温孵育 2 h。洗涤 3 次后加入显色剂, 室温孵育 45 min 后立刻加入 50 μL 的终止液来终止反应, 405 nm 测得吸光度并计算心肌中异前列腺素水平。羟基脱氧鸟苷的检测按照 Abcam 的 ELISA 试剂盒操作进行。配置标准品, 样品稀释 100 倍后加入试剂盒提供的 96 孔板中, 加入抗体后室温孵育 1 h 后洗涤 3 次, 加入显色剂避光孵育 30 min 后, 立刻加入 50 μL 的终止液, 450 nm 测得吸光度值并计算心肌组织中 8-OHdG 水平。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件处理数据。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 3 组间比较采用方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组小鼠全血细胞中端粒长短比较 血液细胞中端粒的长度, 运动 1 组和运动 2 组与未施加运动组比较, 均显著变长, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。肝脏组织中端粒的长度, 运动 1 组和运动 2 组与未施加运动组比较, 虽有变长的趋势, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。小鼠的全血细胞和肝组织中 DNA 端粒(Tel)基因和 36B4 基因的 qRT-PCR 的扩增曲线和熔解曲线。见图 1。

表 1 3 组小鼠血液细胞端粒长度和肝组织端粒长度比较($\bar{x} \pm s$, kb, $n = 7$)

组别	血液细胞端粒长度	肝脏组织端粒长度
未施加运动组	9.56 $\pm$ 1.696	9.45 $\pm$ 1.239
运动 1 组	12.5 $\pm$ 1.304 *	10.51 $\pm$ 2.397
运动 2 组	13.12 $\pm$ 2.00 *	10.97 $\pm$ 2.746

注:与未施加运动组比较, * $P < 0.05$

2.2 3 组小鼠肝组织中氧化/抗氧化比较 3 组小鼠肝组织中 GSH/GSSG 比值, 运动 1 组与未施加运动组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。运动 2 组

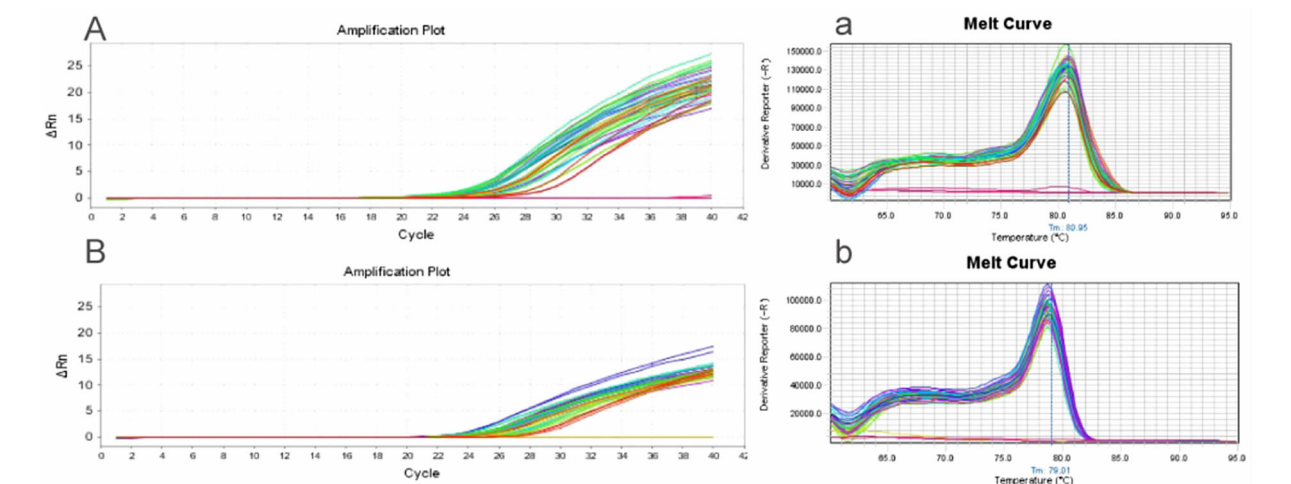


图 1 全血细胞和肝组织中的 DNA 端粒 (Tel) 基因和 36B4 基因的扩增曲线和溶解曲线

注:A:端粒 (Tel) 基因的扩增曲线;a:端粒 (Tel) 基因的溶解曲线;B:36B4 基因的扩增曲线;b:36B4 基因的溶解曲线

表 2 3 组小鼠肝组织中氧化/抗氧化比较($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	GSH/GSSG 比值	SOD 值 (U/mg)	CAT 值 (U/g)
未施加运动组	4.22 ± 0.75	1.09 ± 0.368	85.69 ± 20.640
运动 1 组	5.93 ± 1.52 *	0.93 ± 0.339	114.86 ± 13.090 *
运动 2 组	4.81 ± 1.60	0.82 ± 0.129	120.14 ± 22.428 *

注:与未施加运动组比较, * $P < 0.05$

表 3 3 组小鼠心肌组织中 DNA、蛋白质、脂质氧化损伤指标比较($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	8-OHdG (pg/mg)	蛋白质羰基 (nmol/mg)	异前列腺素 F2α (pg/mg)	丙二醛 (nmol/mg)
未施加运动组	41.77 ± 7.774	2.88 ± 0.67	5256.75 ± 2164.04	5.49 ± 1.002
运动 1 组	31.55 ± 4.247 *	0.96 ± 0.19 *	3073.93 ± 1601.79 *	3.46 ± 1.787 *
运动 2 组	29.19 ± 4.000 *	0.69 ± 0.33 *	2931.61 ± 1273.69 *	4.68 ± 1.870

注:与未施加运动组比较, * $P < 0.05$

与未施加运动组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。3 组小鼠肝组织中 SOD 水平,运动 1 组和运动 2 组与未施加运动组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。3 组小鼠肝组织中 CAT 水平,运动 1 组和运动 2 组与未施加运动组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 3 组小鼠心肌组织中 8-OHdG 含量、小鼠心肌组织中蛋白质羰基含量、小鼠心肌组织中异前列腺素 F2α 水平、小鼠心肌组织中丙二醛 (MDA) 水平比较 心肌组织中 8-OHdG 的表达,运动 1 组和运动 2 组与未施加运动组比较,8-OHdG 的表达降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。蛋白质羰基的表达量,运动 1 组和运动 2 组与未施加运动组比较,蛋白质羰基的表达降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。异前列腺素 F2α 的表达,运动 1 组和运动 2 组与未施加运动组比较,异前列腺素 F2α 的表达降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。丙二醛的表达,运动 1 组与未施加运动组比较,丙二醛的表达降低,差异有

统计学意义($P < 0.05$);运动 2 组与未施加运动组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

体育锻炼影响端粒长度有几种可能的机制,包括氧化抗氧化失衡,炎症反应和骨骼肌卫星细胞含量的变化等^[15]。由于端粒 DNA 富含极易受到氧化损伤的 GGG 片段,容易遭受损伤,出现双链断裂、长度缩短,因此,氧化抗氧化失衡是影响端粒长度最重要的因素之一。生物体在氧化代谢中会产生一些活性氧基团或分子 (ROS, 包括超氧化物 O_2^- , 氢氧游离基 $OH \cdot$ 等), 这些化合物具有高度的化学反应性,可以破坏细胞中的脂质、蛋白质、DNA, 长期积累,最终造成细胞结构和功能的改变。由于 ROS 是在氧化代谢中产生,生物的新陈代谢速率越高,ROS 产生越多,则老化越快^[19-20]。机体内同时存在抗氧化酶系统,可以还原 ROS, 减少其对机体的损伤。适当的体育运动可能通过高表达抗氧化酶,升高氧化损伤的阈值,起到保护作用。因此运动主要通过

调节氧化-抗氧化水平来达到对端粒的保护作用。

机体内存在的抗氧化酶系统主要包括超氧化物歧化酶(SOD),可以将超氧化物变成过氧化氢(H_2O_2)和氧;过氧化氢酶(CAT),催化过氧化氢生成氧和水;以及谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)等,这些酶降低细胞中ROS水平,减少其对DNA损伤。其中,SOD是生物体有效清除活性氧的重要酶类之一,被称为生物体抗氧化系统的第一道防线^[21]。CAT存在于细胞的过氧化物体内,也是生物防御系统的关键酶之一,其研究可以追溯到19世纪初^[22]。GSH是一种普遍存在的非酶类抗氧化物,它主要用于避免抗坏血酸和 α -生育酚被氧化而失去功能,同时也是两类重要的抗氧化酶家族谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽S-转移酶的辅酶。GSH结构中包含一个活泼的巯基-SH,易被氧化脱氢,可以还原被氧化的物质而自身被氧化成GSSG,因此GSH/GSSG可以体现机体氧化还原的平衡状态,比值的增加通常代表机体抗氧化水平相对氧化水平的升高^[23]。

机体氧化损伤的情况通常测定细胞内DNA、蛋白质、脂质被氧化的程度。8-羟基脱氧鸟苷是活性氧自由基等攻击DNA分子中鸟嘌呤碱基中第8位碳原子而产生的一种氧化物,是国际上公认的评价机体DNA氧化损伤的生物标志物^[24-25]。蛋白质羰基化是蛋白质氧化损伤中的一种,其本身是抗氧化过程中的一种不可逆的化学修饰,指的是氨基酸残基侧链受到氧自由基攻击最后转变成羰基产物^[26],氧化剂包括自由基和一些非自由基物质容易攻击含有碳-碳双键的脂质,特别是多不饱和脂肪酸,丙二醛是脂质过氧化过程中最易生成的产物^[27],异前列腺素F₂ α (8-iso-prostaglandin F₂ α , 8-iso-PGF₂ α)是自由基攻击细胞膜脂质花生四烯酸使其发生裂解所产生的小分子脂类,是一种前列腺素的衍生物^[28]。因此,可以通过检测以上指标来确定体内氧化-抗氧化损伤的状态。

本研究中,我们用实时PCR检测肝组织和血液细胞中端粒的长度,统计分析显示,肝脏组织中端粒的长度,运动1组和运动2组与未施加运动组比较,虽有变长的趋势,但差异无统计学意义;血液细胞中端粒的长度,运动1组和运动2组与未施加运动组比较,均显著变长,差异有统计学意义。提示运动可以减缓端粒的缩短速度。然而运动2组相对于运动1组,强度增加,对端粒的保护作用却并无统计学意义上的升高。

机体氧化抗氧化指标中,小鼠肝组织中GSH/

GSSG的比值,运动1组与未施加运动组比较显著升高,运动组2与未施加运动组比较有升高趋势。小鼠肝组织中过氧化氢酶(CAT)水平,运动1组和运动2组与未施加运动组比较均显著升高。GSH/GSSG的比值变大和过氧化氢酶水平升高,说明运动小鼠机体内抗氧化水平的提高。跑步运动组和未施加运动组比较,肝组织中总超氧化物歧化酶(SOD)水平呈减低趋势,差异无统计意义,提示SOD可能并不是运动调节的敏感指标,尚有待进一步研究。

心肌组织中8-OHdG的表达反映DNA氧化损伤程度、蛋白质羰基的表达反映蛋白质氧化损伤程度、异前列腺素F₂ α 的表达反映脂质氧化损伤程度,运动组1和运动组2与未施加运动组比较,此3项指标表达降低,说明适度运动对心肌具有保护作用。丙二醛的表达反映脂质氧化损伤程度,运动组1与未施加运动组比较,表达降低;运动2组与未施加运动组比较,虽差异无统计学意义,但呈下降趋势,同样说明适度运动对心肌具有保护作用。

本实验结果显示,跑步运动的小鼠与未施加运动组比较,端粒相对较长,其机制可能与运动升高体内抗氧化酶的表达、改变氧化-抗氧化平衡、降低氧化损伤有关。下一步本课题组将着眼于运动强度与端粒长度的关系、端粒长度与寿命的关系等开展研究,从而进一步深入探讨中医学“流水不腐,户枢不蠹”运动养生观的现代生物学机制。

参考文献

- [1]陈寿.三国志·魏书·华佗[M].裴松之注.北京:中华书局,2011:669.
- [2]陈奇猷.吕氏春秋校释[M].上海:学林出版社,1984:136.
- [3]Arsenis NC, You T, Ogawa EF, et al. Physical activity and telomere length: Impact of aging and potential mechanisms of action[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(27): 45008-45019.
- [4]Müzeczinler A, Zaineddin AK, Brenner H. A systematic review of leukocyte telomere length and age in adults[J]. *Ageing Res Rev*, 2013, 12(2): 509-519.
- [5]Maxwell F, McGlynn LM, Muir HC, et al. Telomere attrition and decreased fetuin-A levels indicate accelerated biological aging and are implicated in the pathogenesis of colorectal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(17): 5573-5581.
- [6]Riegert-Johnson DL, Boardman LA, Crook JE, et al. Shorter peripheral blood telomeres are a potential biomarker for patients with advanced colorectal adenomas[J]. *Int J Biol Markers*, 2012, 27(4): e375-380.
- [7]Dei CA, Spigoni V, Franzini L, et al. Lower endothelial progenitor cell number, family history of cardiovascular disease and reduced HDL-cholesterol levels are associated with shorter leukocyte telomere length in healthy young adults[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2013, 23

- (3):272-278.
- [8] Wu Y, Cui W, Zhang D, et al. The shortening of leukocyte telomere length relates to DNA hypermethylation of LINE-1 in type 2 diabetes mellitus[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(43):73964-73973.
- [9] Ma D, Zhu W, Hu S, et al. Association between oxidative stress and telomere length in Type 1 and Type 2 diabetic patients[J]. *J Endocrinol Invest*, 2013, 36(11):1032-1037.
- [10] Shen Q, Zhao X, Yu L, et al. Association of leukocyte telomere length with type 2 diabetes in mainland Chinese populations[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(4):1371-1374.
- [11] Gallicchio L, Gadalla SM, Murphy JD, et al. The Effect of Cancer Treatments on Telomere Length: A Systematic Review of the Literature[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2018, 110(10):1048-1058.
- [12] Fyhrquist F, Silventoinen K, Saijonmaa O, et al. Telomere length and cardiovascular risk in hypertensive patients with left ventricular hypertrophy: the LIFE study[J]. *J Hum Hypertens*, 2011, 25(12):711-718.
- [13] Wang YY, Chen AF, Wang HZ, et al. Association of shorter mean telomere length with large artery stiffness in patients with coronary heart disease[J]. *Aging Male*, 2011, 14(1):27-32.
- [14] Fan HC, Chen CM, Chi CS, et al. Targeting Telomerase and ATRX/DAXX Inducing Tumor Senescence and Apoptosis in the Malignant Glioma[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(1):200-221.
- [15] Arsenis NC, You T, Ogawa EF, et al. Physical activity and telomere length: Impact of aging and potential mechanisms of action[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(27):45008-45019.
- [16] Bauman AE, Smith BJ. Healthy ageing: what role can physical activity play? [J]. *Med J Aust*, 2000, 173(2):88-90.
- [17] Hafstad AD, Boardman NT, Lund J, et al. High intensity interval training alters substrate utilization and reduces oxygen consumption in the heart[J]. *J Appl Physiol*(1985), 2011, 111(5):1235-1241.
- [18] Kemi OJ, Loennechen JP, Wisløff U, et al. Intensity-controlled treadmill running in mice: cardiac and skeletal muscle hypertrophy[J]. *J Appl Physiol*(1985), 2002, 93(4):1301-1309.
- [19] Sies H, Berndt C, Jones DP, et al. Oxidative Stress[J]. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86:715-748.
- [20] Maes M, Galecki P, Chang YS, et al. A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2011, 35(3):676-692.
- [21] Borgstahl GEO, Oberley-Deegan RE. Superoxide Dismutases (SODs) and SOD Mimetics[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2018, 7(11):156-159.
- [22] Glorieux C, Calderon PB. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach[J]. *Biol Chem*, 2017, 398(10):1095-1108.
- [23] Schmitt B1, Vicenzi M2, Garrel C3, et al. Effects of N-acetylcysteine, oral glutathione (GSH) and a novel sublingual form of GSH on oxidative stress markers: A comparative crossover study[J]. *Redox Biol*, 2015, 6:198-205.
- [24] Dałbrowska N, Wiczowski A. Analytics of oxidative stress markers in the early diagnosis of oxygen DNA damage[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2017, 26(1):155-166.
- [25] Tian F, Tong TJ, Zhang ZY, et al. Age-dependent down-regulation of mitochondrial 8-oxoguanine DNA glycosylase in SAM-P/8 mouse brain and its effect on brain aging[J]. *Rejuvenation Res*, 2009, 12(3):209-215.
- [26] Zheng J, Bizzozero OA. Traditional reactive carbonyl scavengers do not prevent the carbonylation of brain proteins induced by acute glutathione depletion[J]. *Free Radic Res*, 2010, 44(3):258-266.
- [27] Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014:360438.
- [28] Roberts LJ, Morrow JD. Measurement of F(2)-isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo[J]. *Free Radic Biol Med*, 2000, 28(4):505-513.

(2018-04-19 收稿 责任编辑:杨觉雄)

(上接第 329 页)

- [11] 田义超,周静,徐凌云. 银杏内酯 B 注射液对大鼠体外肝微粒体 CYP1A2 活性的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2014, 30(3):204-207.
- [12] 奚丽君. 以半夏药对研究七情配伍对细胞代谢酶 P₄₅₀ 的影响[D]. 南京:南京中医药大学, 2009.
- [13] 梁月华,李薪萍,任红. 寒证热证时中枢、内脏、尿内儿茶酚胺及 5-羟色胺的变化[J]. *中医杂志*, 1991, 32(12):38-40.
- [14] 韦灵玉,张玉杰,魏宝红,等. 黄连黄芩及配伍诱导对大鼠肝微粒体 5 种 CYP₄₅₀ 亚酶活性的影响[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(9):1426-1428.
- [15] 爱德华. 类药性质—概念、结构设计与方法,从 ADME 到安全性优化[M]. 钟大放译. 北京:科学出版社, 2011:186.
- [16] 陈西敬. 药物代谢动力学研究进展[M]. 北京:化学工业出版社, 2008:100.

(2016-11-30 收稿 责任编辑:杨觉雄)