

竹叶提取物对力竭训练大鼠脏器组织自由基代谢的影响

刘利江¹, 熊正英^{2*}, 吴传保³

(1. 九江学院体育学院, 江西 九江 332005; 2. 陕西师范大学体育学院, 西安 710062;
3. 九江学院化学与环境工程学院, 江西 九江 332005)

[摘要] **目的:**探讨服用竹叶提取物对大强度耐力训练大鼠组织自由基代谢的影响。**方法:**24 只 SD 大鼠随机分为安静组、运动组和运动加药组, 每组 8 只。运动组进行 6 周大强度跑台训练, 运动加药组除大强度跑台训练外, 按 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 的用量灌服竹叶提取物水分散液; 安静组和运动组灌服同体积的蒸馏水。6 周后, 测量各实验组大鼠心肌、肝、肾组织的超氧化物歧化酶(SOD), 总抗氧化能力(T-AOC), 过氧化氢酶(CAT), 丙二醛(MDA), 还原性谷胱甘肽(GSH)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等生化指标; 测量运动组和运动加药组的运动能力。**结果:**力竭运动引起大鼠心、肝、肾组织 SOD, CAT, T-AOC, GSH-Px 和 GSH 等生化指标显著下降, MDA 含量显著上升, 而服用竹叶提取物可以抑制各种抗氧化酶活性的下降趋势, 降低组织 MDA 含量, 使大鼠力竭运动时间提高 28.87%。**结论:**补充竹叶提取物可以促进力竭运动大鼠的自由基代谢, 提高其运动能力, 适于作为抗运动疲劳补剂的原料。

[关键词] 竹叶提取物; 耐力训练; 抗氧化; 运动能力

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0268-04

[doi] 10.11653/syfyj2013160268

Study on the Effect of Bamboo Leaves Extract on Free Radical Metabolism of Rats Experiencing Exhaustive Exercise

LIU Li-jiang¹, XIONG Zheng-ying^{2*}, WU Chuan-bao³

(1. College of Physical Education, Jiujiang University, Jiujiang 332005, China;

2. Institute of Physical Education, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China;

3. College of Chemistry and Environmental Engineering, Jiujiang University, Jiujiang 332005, China)

[Abstract] **Objective:** To broaden the application field of bamboo leaf extract and enrich the type of anti-fatigue supplements for sports training, the effect of bamboo leaf extract on free radical metabolism of rats experiencing high-intensity endurance training were studied. **Method:** Twenty-four SD rats were randomly divided into quiet control group, sport control group and dosed sport group, with 8 rats in each. Sport control group experienced 6 week treadmill training. Dosed sport group experienced 6 week treadmill training and were fed $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ bamboo leaf extract suspension. Quiet control group and sport control group were fed with the same volume of distilled water. After six weeks, the content or activity of Superoxide Dismutase (SOD), Total Antioxidant Capacity (T-AOC), catalase (CAT), Malondialdehyde (MDA), Reduced Glutathione (GSH), Glutathione Peroxidase (GSH-Px) in heart, liver and kidney of all groups and sport ability of sport control group and dosed sport group were measured. **Result:** The content or activity of SOD, T-AOC, CAT, GSH and GSH-Px in heart, liver and kidney significantly decrease and MDA content significantly increase, but taking bamboo leaf extract can inhibit the downward trend of antioxidant enzyme activities, reduce the content of MDA and increase

[收稿日期] 201300402(112)

[基金项目] 江西省科技支撑计划项目(20121BBE50008)

[第一作者] 刘利江, 硕士, 从事运动人体科学及体育教育相关研究, Tel:0792-8501025, E-mail:liulijiang0128@163.com

[通讯作者] *熊正英, 教授, 从事运动人体科学研究, Tel:029-85308851, E-mail:zxy5201@yahoo.com.cn

exhaustive exercise time by 28.87%. **Conclusion:** Taking bamboo leaf extract can promote the metabolism of free radicals in rats experiencing high intensity exercise and improve their athletic ability. So it is suitable as raw material of anti-exercise fatigue supplements.

[**Key words**] bamboo leaf extract; endurance training; antioxidation; athletic ability

竹子盛产于我国南方,近年来竹叶的生理学功能、药用价值和滋补活性成为天然产物领域的一项研究、开发热点^[1-3]。竹叶提取物正逐渐地被开发作为食品添加剂、营养食品、化妆品、药品等产品。

竹叶中含有大量的黄酮、酚酸、萜醌类化合物、生物活性多糖、特种氨基酸、芳香成分和锰、锌等微量元素,具有抗氧化、抗衰老、抗自由基、抗菌、抗病毒、增强免疫力、保护心血管及防腐等生物学功效^[4]。研究证明黄酮类化合物有类似 SOD(超氧化物歧化酶)和 GSH-Px(谷胱甘肽过氧化物酶)的作用,即有清除人体内活性自由基,防止生物膜脂质被超氧自由基和羟基自由基氧化的功能。竹叶黄酮及其苷类是竹叶主要提取物,有清除活性氧自由基的作用,尤其是抗超氧阴离子自由基^[5],且稳定性好。

运动训练疲劳的产生机制之一是机体遭受氧化损伤,因此抗疲劳剂基本上都含有抗氧化剂。中药天然药物是在抗疲劳补剂开发研究的重要方向^[6]。鉴于竹叶提取物具有较好抗氧化作用,本文主要观察竹叶提取液对力竭大鼠的干预作用,为竹叶提取物抗疲劳提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SD 雄性健康大鼠 30 只,体重(180 ~ 220)g,由西安交通大学医学院实验动物中心提供。国家标准啮齿类动物干燥饲料喂养,自由饮食,动物室温度(23 ± 5)℃,相对湿度 40% ~ 70%,分笼饲养备用。

1.2 药物与试剂 竹叶提取物购自浙江大学,棕黄色粉末,总黄酮糖苷含量 ≥ 24%。超氧化物歧化酶(SOD)、总抗氧化能力(T-AOC)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、还原性谷胱甘肽(GSH)、过氧化氢酶(CAT)等的测试盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器 DSPT-202 鼠类跑台,中国杭州段氏制作,TGL-16G 台式高带冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂,721B 型分光光度计,上海第三分析仪器厂,751B 型紫外分光光度计,上海第三分析仪器厂,DK-98-1A 恒温浴锅,天津泰斯特有限公司,R-200D 电子天平,德国 Sartorius 公司。

2 方法

2.1 模型制备及分组 动物适应性饲养 7 d 后,以 15 m·min⁻¹,5 min·d⁻¹ 运动量对动物进行为期 3 d 的筛选,淘汰个别不适应跑台训练者。将剩余大鼠随机分为 3 组:安静组 8 只、运动组 8 只、运动加药组 8 只。力竭判定标准^[7]为,动物跟不上预定速度,大鼠臀部压在笼具后壁,后肢随转动皮带后拖达 30 s,毛刷刺激驱赶无效。行为特征为呼吸深急、幅度大,神情疲倦,俯卧位,垂头,刺激后无反应。每天训练前以 15 m·min⁻¹ 的速度做适应运动 5 min 后正式训练,训练模型基于 Bedford^[8] 模型结合实际略加调整,共训练 6 周。参考文献方法^[9-10],并根据竹叶提取物中的黄酮含量,确定竹叶提取物的用量为 300 mg·kg⁻¹·d⁻¹,将竹叶提取物分散于 2 mL 蒸馏水中,灌喂给运动加药组,其他两组灌服同等体积的蒸馏水作为对照。训练方案见表 1。

表 1 实验动物运动方案($\bar{x} \pm s$)

时间 /周	速度 /m·min ⁻¹	坡度 /°	运动时间 /min·d ⁻¹	运动强度 /VO ₂ max
1	15	0	20	33.3
2	15.2	5	20	58.4 ± 1.7
3	15.2	5	30	58.4 ± 1.7
4	26.8	5	20	74.3 ± 2.9
5	26.8	5	30	74.3 ± 2.9
6	26.8	10	20	81.0 ± 3.5

2.2 动物样品制备方法 第 6 周最后 1 天,运动组和运动加药组在力竭运动后,用乙醚进行适度麻醉后断髓处死,迅速取心、肝、肾置于预冷的生理盐水中洗净血污,再用滤纸吸干后置于 -20℃ 冰箱保存备用。称取适量组织(0.2 ~ 1 g)于研钵中,用眼科小剪尽快剪碎组织块,按组织块质量:匀浆介质体积 1:9 的比例加入预冷的匀浆介质(0.9% 的 NaCl 溶液)。先用移液管或移液器取 2/3 匀浆介质于研钵中研磨数次成后倒入准备好的试管,再将剩余 1/3 介质倒入研钵,冲洗残留物后一并移入同一试管,即为组织匀浆(以上全部操作在冰水浴中进行)。手工制备匀浆后,3 000 r·min⁻¹ 低温离心 10 ~ 15 min,分离提取上清液、弃沉淀,置 4℃ 冰箱冷藏或 -20

℃ 冰箱冰冻备用。

2.3 测试方法 SOD 采用黄嘌呤氧化酶法测定, GSH-Px 采用谷胱甘肽氧化法测定, MDA 含量采用硫代巴比妥 (TBA) 法测定, T-AOC 采用 Fe^{2+} -菲啉络合法测定, CAT 采用钼酸铵法测定。以上各指标的测定严格按照南京建成生物工程研究所试剂盒说明书进行。

2.4 统计学处理 由 SPSS 13.0 统计软件进行数据处理, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 进行 *t* 检验, 确定差异的显著性, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 心肌组织的抗氧化能力 6 周实验期后, 不同实验组大鼠心肌组织的生化指标如表 2 所示。由安静组与运动组的对比可见, 力竭运动引起心肌 SOD 活性下降 14.7%, 心肌 T-AOC 下降 19.2%, 心肌 MDA 升高 36.3%, 心肌 CAT 下降 1.9%。由运动加药组与运动组的对比可见, 服用竹叶提取物可以抑制 SOD, T-AOC, CAT 等指标的下降趋势和心肌 MDA 的升高趋势。

3.2 肝组织的抗氧化能力 不同实验组大鼠肝组

织的抗氧化能力及服用竹叶提取物对抗氧化能力的影响如表 3 所示。力竭运动引起运动组肝组织 SOD 活性极显著的下降 ($P < 0.01$), 表明力竭运动使肝组织抗氧化能力降低, 而服用竹叶提取物可以抑制这 SOD 活性的下降趋势, 使其与运动组比较有极显著的升高 ($P < 0.01$)。力竭运动引起运动组肝组织 GSH-Px, GSH 和 T-AOC 极显著下降 ($P < 0.01$), CAT 显著下降 ($P < 0.01$), MDA 极显著升高 ($P < 0.01$), 而服用竹叶提取物提高了 GSH-Px, GSH 和 CAT 的活性, 提高了 T-AOC 的水平, 显著降低了 MDA 含量 ($P < 0.01$)。

3.3 肾组织的抗氧化能力 不同实验组大鼠肾组织的生化指标见表 4。力竭运动引起运动组肾组织 SOD 活性极显著下降 ($P < 0.01$), T-AOC 显著下降 ($P < 0.01$), CAT 极显著下降 ($P < 0.01$), MDA 含量极显著升高 ($P < 0.01$), GSH-Px 和 GSH 含量极显著下降 ($P < 0.01$)。服用竹叶提取物可以抑制上述现象的发生, 提高 T-AOC 和 CAT 水平, 使其与运动组比显著升高, 降低肾脏 MDA 含量, 提高 SH-Px 和 GSH 含量, 并接近安静组水平。

表 2 竹叶提取物对实验组大鼠心肌组织抗氧化能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	SOD/U·mg ⁻¹	T-AOC/U·mg ⁻¹	MDA/nmol·mg ⁻¹	GSH-Px/U·mg ⁻¹	GSH/mg	CAT/U·mg ⁻¹
安静对照	143.78 ± 7.58	1.77 ± 0.19	1.35 ± 0.12	35.44 ± 1.08	115.1 ± 13.97	7.22 ± 0.07
运动对照	122.67 ± 4.73 ²⁾	1.43 ± 0.15 ²⁾	1.84 ± 0.10 ²⁾	33.24 ± 1.53 ¹⁾	82.33 ± 10.33 ²⁾	7.08 ± 0.09 ²⁾
竹叶提取物	134.87 ± 6.79 ⁴⁾	1.69 ± 0.12 ³⁾	1.53 ± 0.11 ⁴⁾	34.22 ± 1.67	94.59 ± 12.41 ²⁾	7.17 ± 0.03 ³⁾

注:与安静组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与运动组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 3-4 同)。

表 3 竹叶提取物对不同实验组大鼠肝组织抗氧化能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	SOD/U·mg ⁻¹	T-AOC/U·mg ⁻¹	MDA/nmol·mg ⁻¹	GSH-Px/U·mg ⁻¹	GSH/mg	CAT/U·mg ⁻¹
安静对照	501.87 ± 5.00	2.37 ± 0.12	1.26 ± 0.13	120.52 ± 4.56	154.90 ± 6.31	50.17 ± 3.51
运动对照	486.70 ± 4.31 ²⁾	2.02 ± 0.20 ²⁾	1.67 ± 0.18 ²⁾	107.91 ± 5.08 ²⁾	118.43 ± 5.32 ²⁾	39.07 ± 3.94 ²⁾
竹叶提取物	494.34 ± 5.72 ^{1,4)}	2.22 ± 0.16 ³⁾	1.44 ± 0.09 ^{1,4)}	114.75 ± 4.24 ³⁾	132.27 ± 8.26 ^{2,3)}	49.18 ± 4.28 ³⁾

表 4 竹叶提取物对不同实验组大鼠肾组织抗氧化能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	SOD/U·mg ⁻¹	T-AOC/U·mg ⁻¹	MDA/nmol·mg ⁻¹	GSH-Px/U·mg ⁻¹	GSH/mg	CAT/U·mg ⁻¹
安静对照	283.82 ± 5.31	3.30 ± 0.09	0.83 ± 0.09	24.58 ± 0.65	77.11 ± 7.32	13.40 ± 1.73
运动对照	268.72 ± 9.06 ²⁾	2.74 ± 0.12 ²⁾	1.01 ± 0.12 ²⁾	22.20 ± 0.31 ²⁾	56.46 ± 6.56 ²⁾	9.97 ± 1.28 ²⁾
竹叶提取物	279.36 ± 8.77 ³⁾	3.13 ± 0.14 ^{1,4)}	0.93 ± 0.07	24.05 ± 1.35 ³⁾	75.63 ± 6.84 ³⁾	13.03 ± 1.25 ³⁾

3.4 服用竹叶提取物对运动能力的影响 运动组力竭时间 (117.08 ± 19.76) min, 加服竹叶提取物后大鼠力竭时间为 (150.88 ± 30.42) min, 两组比较差异显著 ($P < 0.05$), 服用竹叶提取物可以使大鼠的力竭运动时间提高 28.87%。

4 讨论

在长时间大强度的运动中, 机体处于强烈的氧化应激状态, 体内自由基的产生与消除失衡, 自由基增多, 对机体组织的氧化作用增强。当自由基产生过多或/和机体清除能力降低时, 氧自由基可造成许

多生物分子如蛋白质、核酸、膜多不饱和脂肪酸的氧化损伤,导致细胞结构和功能的病理性改变。长期超负荷训练可使机体内自由基产生增加,因而会降低机体的抗氧化能力,导致机体组织细胞膜结构的损伤或引起机体疲劳。物质氧化过程中所产生的氧自由基,可与细胞膜中不饱和脂肪酸结合形成脂质过氧化物(LPO),并不断释放入血和进入组织细胞内而影响细胞活性。LPO的形成包括MDA, Schiff碱复合物等。组织中MDA含量是反映组织细胞中自由基含量高低的一个常用指标。本实验结果可见,无论是心肌组织、肝组织还是肾组织,力竭运动后组织MDA的含量都呈现显著增加,表明机体遭受的自由基损伤程度呈现明显增强,同时表明力竭运动过程中机体自由基产生水平提高,而代谢能力下降^[11-12]。

SOD是需氧生物体内唯一以OFR为底物的酶;CAT是清除H₂O₂的主要酶,对调节细胞氧化与抗氧化物质活性的平衡、清除自由基、防止对人体细胞的损害有重要意义;GSH-Px是谷胱甘肽抗氧化系统中主要的酶,其主要作用是以GSH为底物,与SOD, CAT协同清除机体内的H₂O₂和有机过氧化物,保护细胞膜结构和功能的完整性^[9]。T-AOC是用于衡量机体抗氧化系统功能状况的综合性指标,其大小可以代表机体抗氧化酶系统和非酶系统性能的状态,与机体防御体系密切相关,直接反映机体的健康状况。本研究结果显示,运动组与安静组比较,组织SOD, CAT, GSH-Px活性和T-AOC均有显著下降,进一步证明了力竭运动过程中自由基的产生水平提高,机体抗氧化酶来不及清除自由基,造成自由基代谢能力降低,组织损伤程度增加。

运动加药组与运动组比较,所研究的3种组织SOD, CAT, GSH-Px活性和T-AOC均有显著升高,表明竹叶提取物可以使机体抗氧化能力增强;同时自由基进攻细胞膜的副产物MDA显著降低,表明竹叶提取物具有保护组织免受氧化损伤的作用。服用竹叶提取物可以加速自由基代谢,减轻机体氧化损伤,其机制可能包括3个方面:一是竹叶提取物含有能够激活抗氧化酶活性或诱导抗氧化酶合成的物质,从而提高了各组织器官抗氧化酶的基因表达和抗氧化酶的活性;二是竹叶提取物中的竹叶黄酮、特

种氨基酸、鞣质等抗氧化成分清除运动过程中产生的自由基,抑制脂质过氧化,因而减少了清除自由基和脂质过氧化产物而消耗的抗氧化酶,保护了它们的活性;三是竹叶提取物中含有的微量元素Cu, Zn, Mn等保护了抗氧化酶的活性中心,减少了由于微量元素缺失导致的抗氧化酶的失活。

[参考文献]

- [1] 楼鼎鼎, 吴晓琴, 张英, 等. 竹叶抗氧化物(AOB)在膨化食品中的应用[J]. 中国粮油学报, 2005, 20(1):57.
- [2] 王建国, 刘海峰, 王建新. 防晒剂 Parsol I 789 光分解抑制的研究[J]. 香料香精化妆品, 2002, 29(1):17.
- [3] 张英, 吴晓琴, 傅小伟. 强化竹叶提取物对麦乳精抗氧化性能的改进[J]. 食品科学, 2001, 22(6):76.
- [4] 周惠燕, 章辉, 李士敏. 竹叶化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(24):1933.
- [5] 章荣华, 傅剑云, 徐彩菊, 等. 竹叶提取物抗氧化作用研究[J]. 中药药理与临床, 2004, 20(2):22.
- [6] 朱超, 曹建民, 周海涛, 等. 巴戟天对大鼠运动能力和心肌线粒体抗氧化能力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(3):219.
- [7] 肖明珠, 郭庆芳. 动物运动性疲劳方法学研究之一——不同刺激方法对大鼠跑台运动疲劳及恢复糖代谢的影响[J]. 中国运动医学杂志, 1998, 17(4):334.
- [8] Bedford T G, Tipton C M, Wilson N C, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures[J]. J Appl Physiol, 1979, 47(6):1278.
- [9] 张怡, 熊正英, 池爱平, 等. 蕨麻多糖对训练大鼠免疫系统保护作用的实验研究[J]. 山东体育学院学报, 2009, 25(5):33.
- [10] 熊正英, 张婧. 迷迭香提取物及大强度耐力训练对大鼠体内糖储备的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2004, 23(4):431.
- [11] 沈一岚. 沙棘油对SO₂污染环境下运动训练大鼠抗氧化能力的影响[J]. 体育研究与教育, 2012, 27(5):116.
- [12] 赵福临, 陈庆熙. 对运动性疲劳产生机制及恢复方法的研究[J]. 体育世界:学术版, 2007, 12(11):23.

[责任编辑 蔡仲德]