

高压氧预处理对小鼠运动耐力的影响

彭兆云, 杜 晶, 孙学军*, 陈箫莹, 刘 昀, 练庆林, 蒋春雷

(第二军医大学海军医学系潜水医学教研室, 上海 200433)

[摘要] **目的:**探讨高压氧预处理对小鼠运动耐力和运动后血乳酸水平及自由基代谢的影响。**方法:**60只昆明种小白鼠随机分为3组,每组20只:高压氧预处理组(HBO)、常氧高氮对照组(HPA)、空白对照组(NPA)。经过5d暴露后每组取10只进行游泳力竭时间测定,另外10只进行游泳90min后,采用对羟基联苯比色法测定血浆乳酸(LD)水平、TBA比色法测定丙二醛(MDA)、邻苯三酚自氧化法测定超氧化物歧化酶(SOD)。**结果:**与HPA组相比,NPA组小鼠的游泳力竭时间无统计学差异,而HBO组小鼠的游泳力竭时间明显延长($P<0.05$),经过相同游泳时间后血浆乳酸水平较低($P<0.05$);各组间血浆MDA含量及SOD活力无显著差别。**结论:**高压氧预处理可提高小鼠运动耐力且具有增强乳酸清除能力及抗疲劳作用,该作用与抗氧化酶活力及自由基代谢可能无关。

[关键词] 高压氧;运动耐力;乳酸;丙二醛;超氧化物歧化酶

[中图分类号] R 804.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2006)01-0062-03

Effects of hyperbaric oxygen preconditioning on physical stamina in mice

PENG Zhao-yun, DU Jing, SUN Xue-jun*, CHEN Xiao-ying, LIU Yun, LIAN Qing-lin, JIANG Chun-lei (Department of Nautical Medicine, Faculty of Navy Medicine, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] **Objective:** To investigate the effect of hyperbaric oxygen (HBO) on the physical stamina in mice. **Methods:** Sixty Kunming mice were randomly assigned into 3 groups: HBO group, high pressure air (HPA) group, and normal pressure air (NPA) group. After 5 days' exposure, 30 mice (10 in each group) were subjected to forced swimming test (FST) to measure the exhaustive swimming time. Blood lactate (LA), malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) were measured in another 10 mice after 90 min swimming. **Results:** Compared to HPA group, HBO group had obviously longer exhaustive swimming time ($P<0.05$). The blood LA in HBO group was lower than that in HPA group and NPA group after 90 min swimming ($P<0.05$); there was no significant difference in SOD activity and MDA content between 3 groups. **Conclusion:** HBO can markedly improve the physical stamina in mice, which may not be related with the activity of anti-oxidation enzyme and metabolism of oxygen free radical.

[KEY WORDS] hyperbaric oxygenation; physical stamina; lactic acid; malondialdehyde; superoxide dismutase

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(1): 62-64]

目前在运动生物学和运动训练、竞赛中大多应用药物及低氧训练方法提高运动员抗疲劳及耐缺氧能力,高压氧作为运动疲劳的恢复手段已有报道^[1],但将高压氧作为提高运动耐力和预防运动疲劳的手段,目前国内外均未见报道。本研究采用高压氧预处理观察其对小鼠游泳力竭时间、氧化损伤程度和抗氧化酶的影响,为高压氧预处理提高运动耐力提供理论依据和实验支持。

1 材料和方法

1.1 动物分组 实验用健康雄性昆明种小鼠60只。体质量(22.35±2.31)g,由复旦大学医学院实验中心提供。标准啮齿类动物饲料喂食,自由饮食,动物室温度控制在22~28℃。实验动物按体质量采用随机数字法随机分为3组(每组20只):高压氧预处理组(HBO),常氧高氮对照组(HPA),空白对

照组(NPA)。

1.2 高压氧暴露 HBO组动物置加压舱,舱底置新鲜钠石灰,纯氧洗舱10min,以0.1MPa/min的速率加至0.25MPa(绝对压),高压停留60min(期间以纯氧通风10min,使舱内O₂浓度>98%,CO₂浓度<0.05%),舱内温度维持在22~24℃。暴露结束后,匀速减压15min至常压出舱。每日2次,进舱时间分别为8:00和15:00,连续暴露5d。HPA组动物操作方法,除使用空气加压及通风外,其余处理同HBO组。NPA组亦置于加压舱内,仅使用空气通风但不加压,模拟除压力和氧浓度外的

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(30500579). Supported by National Natural Science Foundation of China General Program (30500579).

[作者简介] 彭兆云,硕士。

* Corresponding author. E-mail: sunxjk@hotmail.com

其他实验过程和环境条件。

1.3 运动耐力试验 每组小鼠各取 10 只,末次高压氧暴露结束后 12 h,将小鼠置入水温 25~27℃、30 cm 水深的游泳槽中游泳,为避免相互影响,每槽放置 1 只动物。以动物无力冲上水面开始下沉判定为耐力终点,从入水至耐力终点记录为游泳力竭时间^[2]。

1.4 生化指标的测定 每组小鼠各取 10 只,小鼠负重游泳 90 min 后,用眼球取血法采血,肝素抗凝,进行生化指标测定。乳酸测定采用对羟基联苯比色法;MDA 测定采用 TBA 比色法;超氧化物歧化酶(SOD)测定采用邻苯三酚自氧化法。均采用南京建成公司试剂盒。测试仪器为 SP-2000UV 型分光光度计(上海光谱仪器有限公司)。

1.5 统计学处理 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *F* 检验。

2 结果

2.1 游泳力竭时间 NPA 组为(166.8±35.1) min,HPA 组为(172.4±31.3) min,HBO 组为(217.5±38.7) min,三组统计学差异非常显著,其中 HPA 组和 NPA 组相比无统计学差异,HPA 组和 HBO 组相比相差显著($P < 0.05$),HBO 组游泳力竭时间明显延长,提示高压氧预处理可以明显提高小鼠运动耐力。

2.2 血浆乳酸、MDA、SOD 水平 见表 1。动物负重游泳 90 min 后检测血浆乳酸、MDA、SOD 水平。血浆乳酸水平 3 组之间统计学差异显著,HPA 组和 HBO 组相比相差显著($P < 0.05$),提示高压氧预处理可降低游泳 90 min 血浆乳酸水平。血浆 MDA 含量 3 组之间无统计学差异。血浆 SOD 含量 3 组之间虽无统计学差异,其中 HBO 组有升高的趋势。

表 1 游泳运动 90 min 后乳酸水平及 MDA 含量、SOD 活力的变化

Tab 1 LD and MDA contents and SOD activity in mice after 90 min swimming

($n=10, \bar{x} \pm s$)

Group	LD ($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$)	MDA ($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$)	SOD ($\text{U} \cdot \text{ml}^{-1}$)
NPA	4.39±0.52	5.37±1.25	92.11±9.01
HPA	4.35±0.48	5.44±1.21	93.28±16.72
HBO	3.56±0.74*	5.52±1.05	97.23±14.71

* $P < 0.05$ vs NPA group

3 讨论

目前提高机体运动耐力、降低运动后血乳酸水平所采取的措施为药物方法及低氧适应性训练方

法。间歇性低氧训练可以提高大鼠抗疲劳作用,明显延长大鼠游泳力竭时间,有效提高运动耐力。健康人经间歇低氧训练后,提高对急性低氧的血氧运输能力,并促进氧的有效利用^[3]。目前,常压间歇低氧刺激已成为常规体力训练中有效的辅助训练手段之一。高压氧和低氧对机体的影响有许多的相似之处,如都能够引起氧化应激、增强机体的抗氧化损伤能力,那么高压氧预处理是否也能够增强机体的耐低氧能力呢?本研究结果表明,反复高压氧预先暴露可以明显延长游泳力竭时间,游泳力竭时间能比较精确地反映机体耐力,因而在评价药物是否抗疲劳效应时广泛用于动物的行为学实验^[4,5]。提示高压氧预处理能够有效提高运动耐力。有研究表明,高压氧预处理对脑缺血具有保护作用,降低局灶性脑缺血梗死体积,减轻脑水肿程度^[6,7]。本研究结果说明,高压氧提高机体运动耐力可能与提高低氧耐力有关。

运动性疲劳与物质代谢关系密切,比较公认观点有能量物质耗竭、代谢产物堆积、内环境平衡失调等 3 种因素。体力活动时,肌肉细胞暂时缺氧,主要靠糖的无氧酵解获得能量,当糖原被大量消耗时,机体活动能力下降,糖酵解的产物乳酸在骨骼肌堆积,同时向血液释放乳酸增加,造成血乳酸水平增高,血乳酸水平可比较精确地反映机体运动疲劳程度^[8,9]。本研究发现,高压氧预处理在提高小鼠游泳力竭时间的同时,具有抑制运动后血乳酸水平升高的作用。结果表明,高压氧预处理提高机体运动耐力可能提高了机体利用氧的能力,降低了无氧酵解程度。其具体作用机制,尚需更多实验研究探讨。

剧烈活动使自由基生成加快,自由基增加可引起一系列病理损伤,是导致运动性疲劳或诱发某些疾病的原因之一。为适应环境的改变,机体可产生较多的消除活性氧自由基的物质,较为典型的有 SOD、CAT、CSH-Px,这些物质可阻止脂质过氧化,保护细胞膜免受损伤。运动过程中产生的自由基氧化也可以被这些物质抑制,从而减少对细胞膜的氧化损伤,维持膜的完整性和正常功能。使用某些药物提高机体运动耐力时能提高机体清除自由基能力,减少运动后 MDA 含量并增加运动后 SOD 活力^[10,11]。本实验观察到 HBO 对运动后血 MDA 及 SOD 活力并无明显影响,提示高压氧提高机体运动耐力可能与氧化损伤和机体抗氧化能力无关。当然也可能与本实验选择的高压氧暴露方案有关。

本次实验以游泳力竭时间及血浆乳酸水平反映运动能力的大小及运动疲劳程度,以血 MDA 含量及 SOD 活力反映机体氧化损伤程度及抗氧化能力。

实验表明高压氧能显著提高机体运动耐力,降低血浆乳酸含量,减轻运动后疲劳程度。提示高压氧有可能作为一种新的提高机体运动耐力的手段运用于运动训练中。本研究还发现,高压氧预处理对机体运动后氧化损伤程度及抗氧化能力无明显影响。有报道高压氧可增加 NO 含量,而吸入低浓度 NO 可提高机体运动耐力^[12]。高压氧究竟通过何种途径影响机体运动耐力尚待深入研究。

[参考文献]

- [1] 陶恒沂,张红星,陶凯忠,等. 高压氧对长跑运动员急性疲劳恢复过程的影响[J]. 中国运动医学杂志,2003,22: 14-17.
- [2] 朱全,浦钧宗. 大鼠游泳训练在运动实验中的应用方法[J]. 中国运动医学杂志,1996,15:125-129.
- [3] 李强,高伟,魏宏文. 间歇性低氧刺激对运动能力影响的实验研究[J]. 体育科学,2001,21:65-70.
- [4] Novelli GP, Falsini S, Bracciotti G. Exogenous glutathione increases endurance to muscle effort in mice[J]. Pharmacol Res, 2001,23:149-155.
- [5] Ozturk N, Husnu-Can-Baser K, Aydin S, et al. Effects of *Gentiana lutea* ssp. *symphyandra* on the central nervous system in mice[J]. Phytother Res, 2002,16:627-631.
- [6] Xiong L, Zhu Z, Dong H, et al. Hyperbaric oxygen preconditioning induces neuroprotection against ischemia in transient not permanent middle cerebral artery occlusion rat model[J]. Chin Med J(Engl), 2000,113:836-839.
- [7] Ostrowski RP, Colohan AR, Zhang JH. Mechanisms of hyperbaric oxygen-induced neuroprotection in a rat model of subarachnoid hemorrhage[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2005, 25:554-571.
- [8] Burr JR, Reinhart GA, Swenson RA, et al. Serum biochemical values in sled dogs before and after competing in long-distance races[J]. J Am Vet Med Assoc,1997,211:175-179.
- [9] Coombes JS, McNaughton LR. Effects of branched-chain amino acid supplementation on serum creatine kinase and lactate dehydrogenase after prolonged exercise[J]. J Sports Med Phys Fitness, 2000,40:240-246.
- [10] 黄增艳,范书铎,张 幡,库页红景天对鼠抗疲劳作用机理的实验研究[J]. 中国医科大学学报,1998,27:123-125.
- [11] Koo HN, Lee JK, Hong SH, et al. Herbikines increases physical stamina in mice[J]. Biol Pharm Bull,2004,27:117-119.
- [12] 王伟,张 芳,哈振德,等. 药物对高原人体运动时血氧饱和度的影响[J]. 高原医学杂志,2003,13:6-8.
- [收稿日期] 2005-05-24 [修回日期] 2005-09-29
[本文编辑] 尹 茶

Successful treatment of experimental autoimmune myocarditis by adenovirus-mediated gene transfer of antisense CIITA

Cai G, Zhang J, Liu L, Shen Q (Department of Laboratory Diagnosis, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] Experimental autoimmune myocarditis (EAM) has been used as a model for human myocarditis in relation to the autoimmune mechanism and proved as a T cell-mediated autoimmune disease. Interaction of T cell receptors (TCR) with its ligand peptide-MHC complex on APCs is critical for antigen-specific T cell activation under physiological and pathological conditions. CIITA is a transcriptional coactivator that functions as a key regulatory factor for MHC-II expression. To achieve effective inhibition of interaction of TCR and peptide-MHC-II complex, adenovirus vectors containing antisense CIITA were constructed and their effects in preventing EAM were examined. Ad-CIITA was injected intravenously into mice on days 0-2 or 14-16 after myosin immunization to study the preventive effects on EAM in the T cell activation phase or inflammatory phase. Disease severity was determined by the microscopic grade of heart check, concentration of plasma cTnI, and cellular and humoral immune responses on day 21. Results show that onset of EAM after Ad-CIITA treatment on days 0-2 was almost completely inhibited and antigen-specific lymphocyte proliferation was significantly reduced in adenovirus treatment group, which demonstrate that this adenovirus vector inhibit auto-responsive T cells activation and proliferation. Moreover, compared with EAM mice, even administered on days 14-16, the Ad-CIITA treated mice achieved significant reduction in disease severity. It indicates the therapeutic potential of blocking T cells activation by gene-transfer in myocarditis.

[J Mol Cell Cardiol, 2005,38: 593-605]