

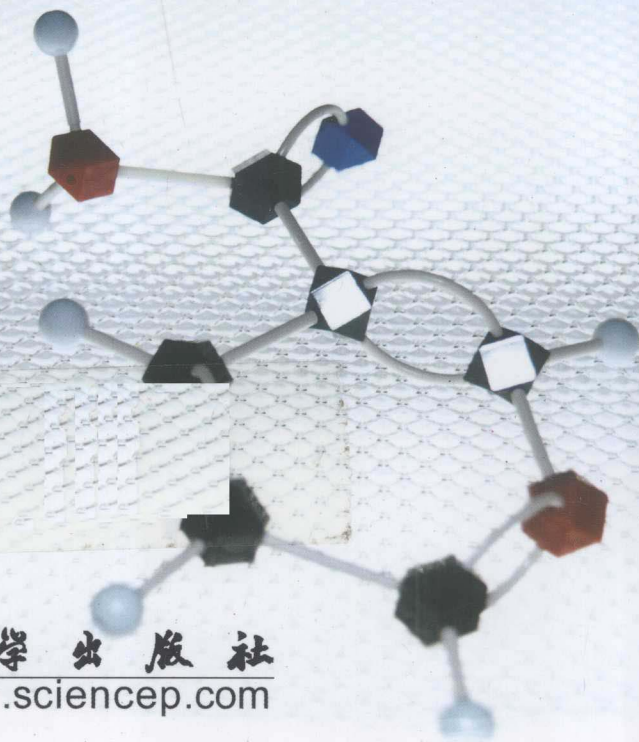
The Biological Research of Free Radical in Exercise

运动 自由基生物学研究

熊正英 著



科学出版社
www.sciencep.com



陕西师范大学学术著作出版基金资助

运动自由基生物学研究

熊正英 著

科学出版社

北京

内 容 简 介

自由基生物学不仅在临床医学的理论与实践中有广泛的用途,而且在运动医学领域也有良好的研究与应用前景。本书是作者 10 余年来在这方面的科研成果的总结。全书共 12 章,主要内容包括运动与自由基,常用抗氧化剂,抗氧化剂与抗氧化酶活性及丙二醛含量,抗氧化剂与不同组织超微结构及血清酶活性,抗氧化剂与细胞凋亡,抗氧化剂与激素,抗氧化剂与免疫机能,抗氧化剂与糖、脂类和蛋白质代谢,抗氧化剂与大鼠脑组织氨基酸类神经递质含量,抗氧化剂与 NO 含量及 NOS 活性,抗氧化剂对神经递质代谢相关酶与股四头肌 *TfR* 基因表达的影响,抗氧化剂与训练大鼠 ATPase 活性等。书末附有主要参考文献以及作者发表的关于运动自由基生物学研究的主要论著和获得专利目录等。

本书可作为研究生的教材,并可供体育科技工作者,生物学与医学科技工作者,高等院校体育、运动医学和运动人体科学等专业的教师及学生参考。

图书在版编目(CIP)数据

运动自由基生物学研究/熊正英著. —北京:科学出版社,2010
ISBN 978-7-03-027439-7

I. ①运… II. ①熊… III. ①运动生物化学 IV. ①G804.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 080933 号

责任编辑:李 晓 陈珊珊/责任校对:鲁 素

责任印制:钱玉芬/封面设计:鑫联必升

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

发 行 所 刷 厂 印 刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2010 年 5 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2010 年 5 月第一次印刷 印张:21 1/4

印数:1—1 500 字数:482 000

定价:75.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

作者从事自由基生物学研究始于1988年,当时在陕西师范大学生物学系工作,承担和参加国家“七五”、“八五”科研项目相关课题,主要研究植物水分胁迫条件自由基代谢规律,先后发表近10篇论文,并获陕西省科技进步奖。1992年调至陕西师范大学体育系工作,计划将运动胁迫条件下机体自由基代谢的规律,或自由基代谢对运动能力的影响作为科研方向。但因当时身兼数职,加之实验条件尚不完善,所以无实质性研究。1997年陕西师范大学体育系开始招收第一届研究生,为实施科研计划提供了很好的平台和基础。在华东师范大学博士生导师、著名运动生物化学家许豪文教授和国家体育总局陆绍中教授,华南师范大学博士生导师、著名运动生理学家邓树勋教授的关心指导下,作者开始了这方面的研究。

10余年过去了,运动生物化学与营养方向已培养硕士研究生60余名,也完成了一批省部级和校级重点研究课题。本书汇集了作者从事运动自由基生物研究的成果,也包含课题组同仁及十余届研究生的辛勤劳动和智慧。鉴于本书的系统性和连贯性的需要,并力求反映该领域最新研究成果的需要,书中部分内容尚未公开发表。在本书撰写过程中,还参考了国内外诸多研究成果和资料。在此一并向他们表示深深的谢意。

在本书出版过程中,科学出版社做了大量细致的工作,并给予了热情的支持与帮助,在此也深表谢意。

衷心感谢陕西师范大学学术著作出版基金给予的资助与支持。

由于水平有限,书中难免有不足之处,恳请专家、学者及同行们不吝赐教。

熊正英

2009年6月

目 录

前言	
引言	1
第一章 运动与自由基	13
第一节 自由基的概念及性质	13
一、自由基的概念	13
二、自由基的性质	13
第二节 生物体内自由基的产生与种类	14
一、自由基的产生	14
二、生物体内自由基种类	15
三、影响机体产生自由基的因素	15
第三节 自由基对生物分子的损伤及其危害	16
一、自由基对生物分子的损伤	16
二、自由基对机体的危害	19
第四节 运动与自由基代谢	20
一、运动时自由基产生增加的理论分析	20
二、不同运动强度对机体自由基代谢的影响	22
三、自由基代谢与运动性疲劳	25
四、自由基对运动能力的影响	25
五、自由基清除系统的作用与运动能力	27
第五节 自由基及其代谢产物测定	29
一、自由基测定	29
二、自由基代谢产物测定	31
第二章 常用抗氧化剂	33
第一节 植物提取物	33
一、沙棘油	33
二、芦荟提取物	34
三、迷迭香提取物	35
四、姜黄提取物	35
五、白藜芦醇	36
六、蒺藜提取物	37
第二节 维生素	38
一、胡萝卜素与维生素 A	38
二、维生素 C	40

三、维生素 E	41
四、辅酶 Q	41
第三节 含硫化合物	44
一、牛磺酸	44
二、二硫苏糖醇	45
三、半胱氨酸	46
四、硫辛酸	47
第四节 代谢促进物质与自由基清除	48
一、戊糖磷酸途径	48
二、HMP 与自由基清除	49
三、促进 HMP 的物质	50
第五节 模拟抗氧化酶	51
一、Ebselen 化学	51
二、二碲桥联环糊精与 6 位硒桥联 β -环糊精	52
三、硒代谷胱甘肽	53
第六节 菌藻类	54
一、雨生红球藻粉	54
二、螺旋藻	55
第七节 色素类	56
一、番茄红素	56
二、黑米色素	57
第八节 蜂胶	58
一、蜂胶的理化性质及生物学功能	59
二、蜂胶抗氧化作用	59
第九节 金属硫蛋白	61
一、MT 的发现及研究历史	61
二、MT 的特征、结构及分型	61
三、MT 的分布、诱导、降解及检测	62
四、锌与 MT	63
五、MT 与自由基代谢	64
六、运动与 Zn-MT	67
第三章 抗氧化剂与抗氧化酶活性及丙二醛含量	69
第一节 抗氧化酶	69
一、超氧化物歧化酶	69
二、过氧化氢酶	73
三、谷胱甘肽过氧化物酶	75
第二节 脂质过氧化与丙二醛	78
一、脂质氧化的主要终产物——丙二醛的生成	78

二、脂质过氧化作用对机体的损伤	80
第三节 辅酶 Q 与抗氧化酶活性和丙二醛、超氧阴离子含量	81
一、辅酶 Q ₁₀ 对大鼠不同组织总超氧化物歧化酶活性的影响	81
二、辅酶 Q ₁₀ 对大鼠不同组织总抗氧化能力的影响	82
三、辅酶 Q ₁₀ 对与大鼠不同组织 CAT 活性的影响	83
四、辅酶 Q ₁₀ 对大鼠不同组织谷胱甘肽过氧化物酶活性的影响	84
五、辅酶 Q ₁₀ 对实验大鼠不同组织丙二醛含量的影响	84
六、辅酶 Q ₁₀ 对大鼠不同组织超氧阴离子含量的影响	85
第四节 黄精与抗氧化酶活性和丙二醛含量	86
一、黄精对大强度耐力训练大鼠总超氧化物歧化酶活性的影响	86
二、黄精对大强度耐力训练大鼠铜、锌-超氧化物歧化酶活性的影响	87
三、黄精对大强度耐力训练大鼠锰-超氧化物歧化酶的影响	89
四、黄精对大强度耐力训练大鼠 CAT 的影响	90
五、黄精对大强度耐力训练大鼠总抗氧化能力的影响	91
六、黄精对大强度耐力训练大鼠谷胱甘肽过氧化物酶的影响	92
七、黄精对大强度耐力训练大鼠 MDA 含量的影响	93
第五节 锌-金属硫蛋白与抗氧化酶活性和丙二醛含量	94
一、Zn-MT 对急性大强度训练大鼠不同组织 T-SOD 活性的影响	94
二、Zn-MT 对急性大强度训练大鼠不同组织 CAT 活性的影响	96
三、Zn-MT 对急性大强度训练大鼠不同组织 GSH-Px 活性的影响	97
四、Zn-MT 对急性大强度训练大鼠不同组织 GSH 含量的影响	98
五、Zn-MT 对急性大强度训练大鼠不同组织 T-AOC 活性的影响	100
六、Zn-MT 对急性大强度训练大鼠不同组织 MDA 含量的影响	101
第四章 抗氧化剂与不同组织超微结构及血清酶活性	103
第一节 不同运动组织超微结构及血清酶活性	103
一、运动与不同组织超微结构	103
二、运动与血清酶活性	103
第二节 沙棘油与运动训练小鼠不同组织超微结构及血清酶活性	105
一、沙棘油口服液对运动训练小鼠肝脏超微结构的影响	106
二、沙棘油口服液对运动训练小鼠心肌组织超微结构的影响	107
三、沙棘油口服液对运动训练小鼠脑组织超微结构的影响	108
四、沙棘油口服液与运动训练大鼠血清酶活性	108
第三节 芦荟与运动训练对小鼠肝脏、心肌细胞超微结构及血清酶活性	109
一、芦荟对运动训练小鼠心肌细胞超微结构的影响	110
二、芦荟对运动训练小鼠肝脏细胞超微结构的影响	111
三、芦荟对运动训练小鼠血 ALT、AST、LDH、CK 活性的影响	112
第四节 Ebselen 与运动训练大鼠不同组织透射电镜观察及血清酶活性	114
一、Ebselen 对运动训练大鼠心肌细胞超微结构的影响	114

二、Ebselen 对运动训练大鼠骨骼肌细胞超微结构的影响	115
三、Ebselen 对运动训练大鼠肝组织细胞超微结构的影响	116
四、Ebselen 与运动训练大鼠血清酶活性	117
第五节 核糖与运动训练大鼠红细胞形态及膜 ATPase 活性	119
一、核糖与运动训练大鼠红细胞形态	119
二、核糖与训练大鼠红细胞膜 ATPase 活性	121
第五章 抗氧化剂与细胞凋亡	123
第一节 细胞凋亡	123
一、细胞凋亡及其形态变化	123
二、细胞凋亡与程序性死亡	124
第二节 凋亡细胞的生物化学与形态学变化	124
一、细胞凋亡的生化改变	124
二、细胞凋亡的形态学观察	125
三、细胞凋亡的调控	126
第三节 运动、自由基与细胞凋亡	129
一、自由基与细胞凋亡	129
二、运动与细胞凋亡	130
第四节 运动与 Ebselen 对细胞凋亡的影响	130
一、Ebselen 对大强度耐力训练大鼠部分组织自由基代谢的影响	130
二、Ebselen 和细胞凋亡	132
三、Ebselen 对大强度耐力训练大鼠不同组织细胞凋亡影响分析	134
第六章 抗氧化剂与激素	137
第一节 激素概述	137
一、激素概念	137
二、激素的种类	137
三、激素的生理作用	137
四、激素的作用特点	138
五、激素的代谢	139
六、激素的作用机制	140
第二节 蒺藜提取物与激素水平	141
一、蒺藜提取物与血睾酮、皮质醇激素含量	142
二、蒺藜提取物与蛋白质类激素含量	144
第三节 雨生红球藻粉与睾酮、皮质醇及蛋白质类激素	145
一、雨生红球藻粉与血清睾酮、皮质醇含量	145
二、雨生红球藻粉与蛋白质类激素含量	146
第四节 迷迭香提取物与大鼠胆固醇类及蛋白质类激素	147
一、迷迭香提取物对运动训练大鼠胆固醇类激素含量的影响	147

二、迷迭香提取物对运动训练大鼠蛋白质类激素含量的影响	148
第五节 沙苑子提取物与大鼠胆固醇类及蛋白质类激素	150
一、沙苑子对运动训练大鼠血清胆固醇类激素含量的影响	150
二、沙苑子对运动训练大鼠血清蛋白质激素含量的影响	151
第七章 抗氧化剂与免疫机能	154
第一节 运动与免疫	154
一、免疫学基本理论	154
二、运动与免疫研究	154
第二节 运动免疫增强营养补剂	156
一、免疫增强剂与运动免疫	156
二、免疫营养补剂与体育运动实践	158
第三节 抗氧化物质与免疫能力	159
一、抗氧化维生素对运动能力的影响	159
二、竞技体育对运动员免疫力的影响	160
三、抗氧化维生素对运动员免疫力的调节机制	161
第四节 谷氨酰胺	163
一、谷氨酰胺代谢概况	163
二、Gln 在临床医学上的应用和研究进展	164
第五节 Gln 的抗氧化功能与机体免疫能力	166
一、Gln 对机体抗氧化能力的影响	166
二、Gln 对运动机体免疫功能的影响	166
三、Gln 对运动机体免疫功能影响的实验研究	167
四、Gln 及耐力训练对大鼠心系数和肝、脾、胸腺指数的影响	169
五、Gln 及耐力训练对大鼠脾淋巴细胞免疫水平影响的分析	169
第八章 抗氧化剂与糖、脂类和蛋白质代谢	172
第一节 自由基清除剂与糖原合成	172
一、迷迭香提取物与大鼠体内糖储备和血糖含量	172
二、竹叶提取物与大鼠体内糖储备和血糖含量	174
三、黄精提取物与大鼠体内糖储备和血糖含量	176
四、辅酶 Q ₁₀ 对实验大鼠血糖及糖原含量的影响	177
第二节 自由基清除剂与血脂代谢	179
一、姜黄素与血脂	180
二、黄精提取物与大鼠 FFA 含量	182
第三节 抗氧化剂与蛋白质降解	184
一、迷迭香与大强度耐力训练大鼠 Hb 和 BU 含量	184
二、竹叶提取物与大强度耐力训练大鼠 Hb、BU 含量	185
三、辅酶 Q ₁₀ 与大强度耐力训练大鼠 Hb、BU 含量	187

第九章 抗氧化剂与大鼠脑组织氨基酸类神经递质含量	189
第一节 氨基酸类递质与中枢疲劳研究	189
一、中枢疲劳机制.....	189
二、中枢疲劳与神经递质.....	189
三、5-HT 与中枢疲劳.....	189
四、Glu、Asp 及 GABA 与中枢疲劳.....	193
五、氨基酸类神经递质与运动性中枢疲劳.....	197
六、神经递质的释放与失活.....	199
第二节 中医药消除运动性疲劳的研究	200
一、中医对运动性疲劳机理的认识.....	200
二、中药对中枢单胺类神经递质的影响作用.....	200
第三节 沙苑子对运动训练大鼠 BCAA、AAA 及相关氨基酸含量的影响	201
一、沙苑子概述.....	201
二、沙苑子与大鼠血清 BCAA 及相关氨基酸含量.....	202
三、沙苑子与大鼠海马、间脑 BCAA、AAA 和相关氨基酸含量.....	204
四、沙苑子与大鼠脑组织 5-HTP、5-HT、5-HIAA 含量.....	205
五、沙苑子及运动训练对大鼠 BCAA、AAA 及相关物质含量变化影响的机制分析.....	206
第四节 沙苑子及运动训练对大鼠 GABA、EAA 和 IAA 含量的影响	215
一、沙苑子对大鼠海马 EAA 和 IAA 含量的影响.....	215
二、沙苑子对大鼠间脑 EAA 和 IAA 含量的影响.....	215
三、沙苑子对大鼠海马、间脑 Glu/GABA 值的影响.....	216
四、沙苑子对大鼠海马、间脑 L-Arg 含量的影响.....	216
五、沙苑子及运动训练对大鼠 EAA、IAA 和相关氨基酸含量影响的机制分析.....	217
第十章 抗氧化剂与 NO 含量及 NOS 活性	221
第一节 NO 的生理功能	221
一、NO 在心血管系统中的作用.....	221
二、NO 在神经系统中的作用.....	222
三、NO 在免疫系统中的作用.....	222
四、NO 对呼吸系统的作用.....	223
五、NO 对消化系统的作用.....	223
第二节 运动与 NO	223
一、运动中 NO 含量变化.....	223
二、运动促进 NO 生成的机制分析.....	224
三、NO 对运动系统的作用.....	225
第三节 NOS 及其基因表达及调控	225
一、NOS 的分类及基因定位.....	225
二、NOS 基因表达调控.....	226

第四节 NO、NOS 与心血管	227
一、NO 在心血管中的释放	227
二、eNOS 基因多态性与心血管疾病	229
第五节 不同抗氧化剂与 NOS 合酶活性和 NO 含量	231
一、 α -LA 与运动训练大鼠部分组织 NOS 合酶活性和 NO 含量	231
二、仙人掌提取物与运动训练大鼠部分组织 NO 含量与 NOS 活性	235
第十一章 抗氧化剂对神经递质代谢相关酶与股四头肌 <i>TfR</i> 基因表达的影响	240
第一节 沙苑子与大鼠脑组织 TPH、MAO-A mRNA 的表达	240
一、沙苑子及运动训练对大鼠脑组织自由基代谢的影响	240
二、沙苑子及运动训练对大鼠海马 TPH、MAO-A mRNA 表达的影响	242
三、沙苑子及运动训练对大鼠间脑 TPH、MAO-A mRNA 表达的影响	242
四、沙苑子对大鼠脑组织 TPH mRNA 表达影响的机制分析	243
第二节 沙苑子与大鼠脑组织 GAD67、GABA-T 和 SSADH mRNA 的表达	248
一、沙苑子及运动训练对大鼠海马、间脑 GAD67 mRNA 表达的影响	248
二、沙苑子及运动训练对大鼠海马、间脑 GABA-T mRNA 表达的影响	249
三、沙苑子及运动训练对大鼠海马、间脑 SSADH mRNA 表达的影响	250
四、沙苑子及运动训练对大鼠脑组织 GAD67、GABA-T 和 SSADH mRNA 表达影响的机制分析	250
第三节 葛根总黄酮对运动训练大鼠股四头肌 <i>TfR</i> 基因表达的影响	254
一、实验概述	254
二、研究结果	256
三、葛根总黄酮对运动训练大鼠股四头肌 <i>TfR</i> 基因表达影响的机制分析	258
第十二章 抗氧化剂与训练大鼠 ATPase 活性	259
第一节 ATPase	259
一、ATPase 的类别及其功能	259
二、运动与 ATPase 活性	259
第二节 沙苑子与训练大鼠 ATPase 活性	260
一、沙苑子与运动训练大鼠不同组织 ATPase 活性	261
二、沙苑子对运动训练大鼠不同组织 ATPase 活性影响的机制分析	264
第三节 黄精提取物对耐力训练大鼠 ATPase 活性影响的研究	267
一、黄精提取物与耐力训练大鼠不同组织总 ATPase 活性	268
二、黄精提取物对耐力训练大鼠不同组织 ATPase 活性影响的机制分析	270
第四节 茜草提取物对大强度耐力训练大鼠不同组织 ATPase 活性影响的研究	274
一、茜草提取物与训练大鼠不同组织 ATPase 活性	275
二、茜草对训练大鼠不同组织 ATPase 活性影响的机制	277
主要参考文献	281
附录 I 作者在运动自由基生物学领域发表的主要论著和获得专利目录	309
附录 II 缩写符号及中英文对照	314

引言

1900年, M. Gomberg 第一次得到三苯甲基自由基, 从而确定了自由基 (free radical) 的概念。1929年, 研究者又得到了寿命更短的甲基自由基和乙基自由基, 使自由基的存在得到进一步的确认。1937年, 科学家们认识到自由基可作为一类化学实体参与化学反应, 这就是 M. S. Kharach 第一次发现所谓“过氧化物效应” (peroxide effect), 创立了现在所谓的自由基化学。自由基化学的发展为自由基生物学的建立奠定了基础。自由基学说是 Harman 在分子生物学基础上于 1956 年首先提出来的。随着分子生物学的发展以及自由基研究技术和方法的突破, 自由基生物学有了很大的发展。1968年, Cord 和 Fridovich 发现了超氧化物歧化酶 (SOD) 及其重要的生物学作用, 是自由基生物学发展史上的里程碑。进入 20 世纪 80 年代后, 在生物和医学领域内有关自由基反应的研究更是突飞猛进, 专门的学术期刊和专著相继创刊和出版。大量研究表明, 自由基参与了许多病理过程, 如某些心脑血管疾病、肿瘤和细胞增殖等。同时自由基生物学理论和技术也向运动医学渗透。1978年, Dillard 首次将自由基理论引入运动医学领域, 自由基在运动性疲劳中的重要意义已越来越受到人们的重视。1982年, Davies 等首次应用电子自旋共振技术 (ESR) 观察到力竭运动后肝脏、心肌中自由基明显增多, 确定了运动诱发自由基生成增多的直接证据, 从而大大推进了运动医学的发展。

自由基也称游离基, 是指外层电子轨道含未成对电子的基团, 在细胞内、线粒体、内质网、细胞核、质膜和泡液中都可以产生。体内的氧在其吸收电子后先转化为超氧阴离子自由基, 继而产生各种自由基, 如过氧自由基、羟自由基、烷氧自由基等, 这些自由基性质十分活泼, 极易攻击机体组织、腺体、细胞 (膜) 和生物大分子等, 造成氧化性损伤。

运动中或运动后机体的耗氧增加, 或者是特定通路的激活, 是活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 产生的主要来源。目前已经明确运动时细胞内自由基产生的主要来源有线粒体电子传递链、黄嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase, XO) 和中性粒细胞三条途径。①运动可提高线粒体 ROS 生成的依据是有氧运动时组织和整体氧耗的增加与运动强度的增加成正比。有人研究发现, 剧烈运动时内膜损伤和高温可引起线粒体解偶联。但最近有报道称, ROS 可通过对氧化还原敏感的信号转导途径调节抗氧化酶对运动训练的适应。②黄嘌呤氧化酶催化的反应被认为是心脏缺血再灌注时产生自由基的主要来源。现已有研究表明, 大强度运动可模拟心肌缺血再灌注损伤, 并可激活 XO 通道。据报道, 肌肉剧烈收缩后, 嘌呤核苷酸降解可引起次黄嘌呤的堆积, 研究表明人体剧烈运动后血液中次黄嘌呤和黄嘌呤浓度明显增加。骨骼肌被认为是腺嘌呤核苷一磷酸 (AMP) 裂解产生嘌呤代谢物的主要来源。有研究者认为这类酶来自肌肉的内皮细胞, 并在内皮细胞中由黄嘌呤脱氢酶经钙激酶转化为黄嘌呤氧化酶。③不适应的剧烈运动可引起肌肉损伤, 并伴有炎症反应发生, 表现为工作肌肉的蛋白溶酶和溶酶体酶活性增

加,这一反应可在运动后持续数小时到数天,主要取决于运动的强度和时间。研究发现,炎症反应同时伴随着抗氧化酶,如谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)和过氧化氢酶(catalase, CAT)活性的升高。这些发现导致以下假设,即运动后炎症反应和中性粒细胞侵入,可能会引起组织产生氧自由基。炎症反应固然可清除运动损伤的蛋白质,防止细菌和病毒感染,但中性粒细胞释放的氧自由基可能引起继发损伤。急性衰竭运动可显著增加人体白细胞、淋巴细胞和中性粒细胞数量。噬菌实验分析发现运动即刻到运动后24h,上述三类细胞吞噬能力提高,而 O_2^- 的产生在运动后24h最明显。又有报道,白细胞介素-2(IL-2)在长期坐位工作的急性离心运动后明显增高。由于离心运动可引起肌肉组织损伤,而白细胞介素-1(IL-1)可在体外实验中被 O_2^- 诱导,因此这项研究提示白细胞介素可能在肌肉损伤时或损伤后参与动员中性粒细胞。而进一步的研究也表明,在补充维生素E后,这类运动后尿中的脂质过氧化可以减轻,从而证实了原损伤属于氧化损伤。急性中等强度的运动后1h中性粒细胞产生的 H_2O_2 增加3倍,并伴有受体表达的增强。

近年的研究表明,伴随着剧烈运动产生的氧自由基是细胞和组织损伤的主要原因之一。长时间持续性衰竭运动中,氧代谢大大加强,各组织中自由基产生明显增多并大量堆积,超过了伤害“阈值”,可能产生广泛的细胞损伤和组织损伤,并导致多种病理紊乱。过多自由基的产生不仅会导致遗传物质的破坏、蛋白质交联或多肽断裂、一些重要代谢酶因交联聚合而失活,引起一系列病理变化,导致人体衰老;而且自由基还会攻击生物膜上的多不饱和脂肪酸产生脂质过氧化,使生物膜结构和功能改变,表现为生物膜通透性增加,细胞内容物逸出,线粒体膜流动性降低,功能紊乱,造成ATP生成下降,能量供应不足;肌浆网受损、不能正常摄取 Ca^{2+} ,造成胞质 Ca^{2+} 堆积;溶酶体膜的破坏释放大水解酶,从而加重组织的损伤,致使人体工作能力下降,并产生疲劳等。

目前普遍认为自由基的产生与剧烈运动即刻或运动后的许多细胞、组织、器官水平的紊乱有直接关系。脂质的自动氧化也称脂质过氧化作用,一般指多不饱和脂肪酸或脂质的氧化变质(oxidation deterioration)。脂质过氧化物(lipid peroxidation, LPO)与蛋白质发生反应,可形成不易被分解的不溶性聚合物脂褐素(lipofuscin),从而影响RNA代谢,使细胞萎缩、死亡。此外自由基对机体的损伤还与一些疾病,如动脉粥样硬化、糖尿病、肿瘤、胃肠道功能失调、感染、免疫失调等的发生有关。研究发现,运动中自由基的大量产生和血浆LPO水平的显著升高是导致运动性疲劳的重要原因。剧烈运动后,肌纤维膜和内质网的完整性因自由基的攻击而受到损坏,这可能与自由基的产生对 Na^+, K^+ -ATPase的活性产生影响而引起细胞膜的通透性发生改变有关。随着运动强度的增加,血浆LPO水平升高, LPO能对调节 Ca^{2+} 转运的 Ca^{2+} -ATPase活性产生影响,造成细胞中 Ca^{2+} 的堆积,影响肌纤维的兴奋-收缩偶联,使肌肉工作能力下降。LPO的显著升高,还能造成肌肉等组织的损伤,妨碍正常的细胞代谢功能,从而加快运动中疲劳的产生。研究还发现,自由基能使线粒体呼吸链产生ATP的过程受到伤害,从而使细胞的能量生成发生障碍,影响肌纤维的收缩功能。

研究表明,运动疲劳状态下,线粒体氧化磷酸化偶联程度和ATP合成能力降低是

运动性疲劳的线粒体膜分子机制之一。而且,线粒体本身的生理特点决定了它易遭受氧化损伤。ROS 损伤表现为以下几个方面。①ROS 对膜的损伤:线粒体内膜是由多不饱和脂肪酸含量丰富的心磷脂组成的,这是它在组成成分上与其他膜结构的显著区别,自由基攻击线粒体内膜,促使心磷脂的不饱和脂肪酸发生脂过氧化反应,丙二醛(malonaldehyde, MDA)水平升高。②ROS 对蛋白质和酶的影响:自由基通过氧化氨基酸,使被氧化修饰的蛋白质等丧失其原有的生理功能而被降解,导致线粒体内多种酶(如 ATP 合成酶系、DNA 修复酶系、抗氧化酶系及其他酶系)活性改变。在力竭运动中,缺血、缺氧可引起心肌线粒体内膜流动性和 NADH- CoQ 还原酶、ATPase 酶活性下降,线粒体脂质过氧化增加,膜磷脂含量下降等反应。ROS 引起某些蛋白激酶活性变化,从而引发一系列蛋白质磷酸化/去磷酸化反应的信号传递;ROS 通过激活蛋白激酶 C (PKC) 引发一系列蛋白质磷酸化的级联信号转导过程。③ROS 对中枢神经系统的影响:ROS 氧化应激损伤在中枢系统中同样发生,运动期间一方面神经元代谢亢进,对能量及氧的需求增加;另一方面中枢供血不能满足需求。在剧烈运动中血液主要分配到四肢的肌肉里,中枢神经系统和内脏脏器呈现部分短时缺血、缺氧状态,血液回流时血氧浓度又瞬时增加,导致电子漏加大,引起 ROS 生成增多。ROS 对神经细胞及其线粒体的膜系、酶系、DNA 造成同样的损伤,影响神经递质的代谢和释放。④ROS 对腺体结构与功能的影响:腺体细胞抗氧化酶(SOD、CAT、GSH-Px)的活性相对较低,因而对 ROS 介导的损害非常敏感。ROS 可直接损伤腺体细胞,影响激素的正常合成和分泌,机体生理调节紊乱,诱导各种疾病。⑤ROS 可作为类似于第二信使的信号分子激活许多氧化还原敏感性信号通路,这些通路激活后,使氧化还原敏感性激酶信号级联活化,从而导致激素信号转导通路中的激素受体(SR)和激素受体底物蛋白质磷酸化增强。不连续磷酸化的增加抑制了激素刺激的酪氨酸磷酸化,激素信号转导通路下游信号分子活性降低,减少了激素的效应,导致激素抵抗。

动物实验观察到运动疲劳时呼吸链电子漏水平明显增高,超出正常的生理水平,线粒体生成活性氧速率加快,数量增大。在运动性疲劳发生的分子机制中,电子漏是运动疲劳发生的根源之一,机体大量耗氧产生 ATP 的同时电子漏加大,引起超氧自由基增多和 ROS 累积,ROS 引起各种运动氧化应激损伤,其中主要是对膜和酶的损伤导致 ATP 合成效率下降,物质代谢异常,抑制性神经递质大量释放,兴奋性神经递质减少,这是运动性疲劳(包括外周和中枢疲劳)发生的直接原因。同时,ATP 合成下降反过来干扰神经递质、酶和细胞结构蛋白的合成和运输以及阳离子在体内转运等需能过程的正常运行,使线粒体修复损伤的能力下降,又增加呼吸链电子漏,产生更多的 ROS,加重氧化应激损伤,形成恶性循环,加剧了运动疲劳的程度和发生速度。

红细胞极易受到氧化损伤。成熟红细胞主要通过氧合血红蛋白自氧化成高铁血红蛋白来产生活性氧,正常情况下,每天虽然约有 3% 的氧合血红蛋白被氧化,但由于高铁血红蛋白还原酶的作用,使得常人血液中的高铁血红蛋白很少,然而氧合血红蛋白持续的自氧化将产生 $O_2^{\cdot -}$, 经一系列反应在 Fe^{3+} 的催化下可产生毒性极大的 $\cdot OH$ 。自由基的产生是有氧代谢的结果,运动中摄氧量增加,血红蛋白自氧化和自由基产量将可能按比例增加,从而导致红细胞氧化损伤加剧。研究发现一次亚极量运动后红细胞氧化应激

脆性增加,但膜结合铁和高铁血红蛋白都没有增加。Gohil 等测定运动后全血还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(glutathione, GSSG),发现前者减少 60%,后者增加 100%,维生素 C 和维生素 E 的消耗也可能是氧化脆性增加的原因,因此补充抗氧化剂有助于减轻红细胞的氧化损伤。长期运动训练可引起红细胞抗氧化系统的适应。耐力训练可增大 GSSG 还原酶和过氧化氢酶的活性,其活性增加还与训练距离有关。训练还可增加抗氧化成分的含量,如 GSH、维生素 E、维生素 C 的含量都高于常人。

机体内的自由基在不断产生,同时也不断被清除。体内存在抗氧化酶类及小分子抗氧化剂两类自由基的清除系统。因此在正常生理情况下,各种自由基的浓度维持在一个有利无害的生理性低水平。体内常见的可消除自由基、减轻其危害的抗氧化酶类主要包括 SOD、GSH-Px、CAT。它们通过各自的作用途径消除自由基,但它们并不直接清除 ROS 的单电子还原。这些酶类共同维持着体内自由基产生和消除的动态平衡。非酶促反应体系中的抗氧化剂主要有维生素 E、维生素 C、GSH、尿酸、 β -胡萝卜素、血浆铜蓝蛋白、转铁蛋白、乳铁蛋白、蛋氨酸、色氨酸、组氨酸、半胱氨酸以及葡萄糖等。抗氧化维生素可直接清除 O_2^- 和 $\cdot OH$ 。生物体内的抗氧化剂保护机体、对抗活性氧的毒性作用的机制主要有以下几个方面:①预防活性氧的形成;②接受活性氧的攻击,反应性的代谢产物使活性氧转变成低反应性的分子,或增强对活性氧攻击敏感的生物靶结构及物质的抵抗能力;③避免反应性较低的活性氧(如 O_2^-)转变成成为反应性更强烈的活性氧(如 $\cdot OH$);④有利于修活性氧引起的损伤,激发抗氧化剂蛋白质类密码基因表达;⑤为其他抗氧化剂能发挥有效机能提供有利的环境,即作为辅助因子或维持其他抗氧化剂在还原状态。

氧自由基在体内大量积累,攻击膜多不饱和脂肪酸(PUFA),使膜 PUFA/蛋白质的比例下降;同时其产物 MDA 进入膜水相中,与膜蛋白上的一 NH_2 交联形成席夫碱,降低了细胞膜的流动性和液态性,并使其通透性提高,使细胞内的肌酸激酶、LDH、肌红蛋白等物质逸出细胞,影响能量的代谢过程,使氧化磷酸化解偶联,ATP 的生成进一步减少,造成运动能力的下降。

红细胞膜的流动性是保持机体在运动过程中正常的氧转运和有效微循环的必要条件,因此红细胞膜流动性的下降可能与运动疲劳的发生有关。力竭运动和短时间的极限强度运动均可以使红细胞膜 PUFA 直接暴露在氧分子下,膜蛋白的巯基被氧化生成二硫键,血红蛋白被氧化、珠蛋白链交联沉积于膜内侧,导致了红细胞膜的硬度增加、膜流动性下降,红细胞失去正常变形能力,易受到微血管的挤压而导致溶血,最终诱发疲劳。

肌细胞膜是肌细胞新陈代谢过程中进行细胞内、外物质交换的场所,也是肌细胞兴奋和兴奋传播的部位。大强度的肌肉工作可以产生大量活性氧,与肌肉的疲劳、损伤和过度训练有关。氧自由基可以攻击肌细胞膜 PUFA,破坏其完整性和通透性,使胞内的肌酸激酶、磷酸果糖激酶、磷酸化酶和 ATPase 逸出细胞,从而影响了肌细胞的能量代谢;同时氧自由基也可以直接攻击肌细胞膜的 Na^+, K^+ -ATPase 蛋白,降低钠泵活性,引起肌细胞收缩时 Na^+, K^+ 转运障碍以及膜对 K^+ 的电导增加,因此跨膜电位去极化,增大了肌细胞膜和 T 管去极化的兴奋阈,降低了动作电位的峰高度和传导速度,甚至

可能引起动作电位的完全灭活,影响肌肉收缩时张力的产生,从而诱发疲劳。

自由基所诱发的脂质过氧化作用不但影响细胞膜,而且也影响了亚细胞结构,这是由于亚细胞器的膜磷脂成分比细胞膜含有更多的不饱和脂肪酸,所以对过氧化作用更敏感。在进行运动时骨骼肌、心肌、肝脏的线粒体、微体和过氧化物酶体都易受到脂质过氧化的损伤,线粒体膜的脂质过氧化必然会影响线粒体的呼吸功能及 ATP 的有氧合成。由此可知,运动中产生的大量自由基对生物膜的脂质过氧化作用必然要影响到各器官的功能及整体的运动能力。

线粒体通过内膜呼吸链的氧化磷酸化反应为机体生成 80% 以上的 ATP 作为生理活动的能源。由于大强度或超负荷的运动,机体的氧自由基生成增加,造成线粒体内膜的损伤和功能的下降,不能产生足够的 ATP 供收缩蛋白利用,导致了肌肉的工作能力下降。这可能是诱发运动性疲劳的重要原因。大量的实验研究证实,由于力竭运动后线粒体 LPO 增加,MDA 可以共价结合到线粒体内膜,引起膜蛋白和酶的交联,使呼吸链酶活性下降,膜通透性增加。心磷脂是线粒体特征性膜磷脂,与线粒体膜流动性密切相关,力竭性运动后,心磷脂含量明显下降,从而影响了线粒体膜的完整性和流动性,进而影响呼吸链酶的完整性、电子传递和氧化磷酸化过程。

运动性自由基生成的增加与线粒体电子漏和质子漏水平有关。大强度运动时,随着自由基生成增加,线粒体呼吸链的电子漏水平升高,从而影响了电子偶联传递,导致了 ATP 的合成效率下降。以化学发光法直接且定量地对递增复合力竭运动模式下大鼠骨骼肌、心肝脏线粒体的生成进行了观察,发现力竭运动后大鼠骨骼肌和肝脏线粒体生成显著增加,提示运动性疲劳状态下,呼吸链的电子漏水平增大。由于力竭运动引起机体的自由基代谢增强,线粒体的电子漏水平增加,引起质子漏(质子不通过 F_0F_1 -ATPase 进行 ATP 的合成,而直接通过线粒体内膜回到基质的过程)增加,导致了 ΔP (质子化学势能)降低,进而影响 H^+ -ATPase 合成的活力,降低了线粒体的氧化磷酸化功能,从而影响 ATP 的合成,所以 O_2^- 生成的增多导致质子漏增加是运动性疲劳状态下线粒体氧化磷酸化偶联下降的重要原因。在运动过程中,ATP 消耗的增加、ATP 含量的减少、活性氧的产生、pH 的下降、肌肉温度的升高和自由基的产生等均可影响 ATPase 的活性。目前研究较多的是自由基的影响。自由基损害 ATPase 的途径有两个方面,一方面,自由基直接作用于 ATPase 的活性基团,引起基团结构变化,导致 ATPase 活性的改变;另一方面,可能是自由基作用于酶蛋白周围的脂类,引起这些脂类过氧化,使 ATPase 活性发生改变,肌球蛋白-ATPase (m-ATPase) 活性则易于受到多种因素的调节而发生改变,因而是影响心肌收缩性能很重要的一个方面。高强度运动时,心室后负荷急剧增大,长时间剧烈运动后,体内能量代谢增加,组织、器官的耗氧量也增加,是安静时的 20~40 倍,红细胞中血红蛋白运送氧分子活动频率和数量都增加,自由基的生成概率和数量也显著增加,使大量的自由基不能被及时清除,而造成对红细胞膜的攻击,容易导致内环境失调,运动能力下降。而 ATPase 在这一代谢过程中对维持细胞膜的正常功能,发挥着重要作用。

激素的种类很多,生理作用复杂,其中研究较多、与运动有密切关系的激素是甲状腺素、肾上腺素、去甲肾上腺素、胰岛素、胰高血糖素、生长激素、各种性激素和糖皮

质激素。这些激素被称为运动的“应激激素”。体育运动或训练使激素调节的总体效应表现为增强（或减弱）某些细胞中激素的代谢活动，有利于身体机能充分发挥。在运动前，机体处于能源物质的吸收、积累阶段，这时胰岛素分泌增多，促进葡萄糖转运进肌肉和脂肪细胞，使糖原和脂肪的合成加强。胰岛素对肌细胞吸收氨基酸有敏感性，故能促进蛋白质合成。当吸收阶段结束，机体处于吸收后休息阶段，体内能源物质的合成相对稳定，胰高血糖素在肾上腺素、甲状腺素等影响下，使肝脏糖异生作用及肝糖原分解加速，在多种激素调节下，保持血糖水平恒定。胰高血糖素还具有间接地促进脂肪水解而起到节省机体糖储备的作用，使血糖主要被神经组织利用，而其他组织，包括肌肉，基本上由脂肪代谢供应能量。运动时，血浆胰岛素浓度降低，肾上腺素、糖皮质激素、胰高血糖素、生长激素等激素分泌加强，总体效应是加速糖原分解、脂肪动员、促进糖异生作用。随着运动强度的增大，对肌糖原依赖性的加强，体内储存的肌糖原、肝糖原被大量动用，持续长时间运动，体内缺糖原时，糖皮质激素、甲状腺素和生长激素等作用加强，可加速氨基酸尤其是支链氨基酸的转氨过程，发挥氨基酸氧化供能的潜在力量，以保证运动过程三大能源物质能协调、有效地发挥作用。由于抗氧化剂对腺体结构的保护作用，使各腺体能够正常分泌相关激素，以维持对机体的调节作用。

运动训练实践表明，适宜强度和时间的运动可在一定程度上提高机体的免疫功能，而大强度或长时间的过度训练则导致生物体特异性或非特异性免疫功能受损。同时，机体在运动过程中生成大量的自由基，造成机体抗氧化能力随之下降。最新研究表明，谷氨酰胺（Gln）是一种条件必需氨基酸，免疫系统是 Gln 的主要代谢场所，淋巴细胞具有很高的 Gln 代谢率。Gln 作为谷氨酸（Glu）代谢的前体物质，是血液循环及游离氨基酸池中含量最丰富的一种氨基酸，Gln 具有维持体内酸碱平衡、保持绒毛上皮的结构与功能、维持组织抗氧化剂储备、增强免疫反应等功能。运动引发机体自由基大量生成，脂质过氧化反应加强。尤其是大强度有氧运动时自由基增加，对组织细胞可能造成不利影响而引起运动性疲劳，甚至发生运动性疾病和免疫机能下降。Gln 作为 Glu 代谢和 GSH 合成所需的前体物质，是血液循环及游离氨基酸池中含量最丰富的一种氨基酸，可有效地穿过细胞膜，在线粒体内合成 Glu 进入胞质参与 GSH 的储备，进而减少和对抗自由基对机体组织器官的损伤，提高机体的抗氧化水平和免疫水平，提高运动能力。

运动尤其是力竭运动，对人体和动物来说是一种生理逆境，会引起体内生成大量自由基，自由基进而攻击细胞膜上的不饱和脂肪酸，引起脂质过氧化反应，破坏了膜的完整性、流动性及通透性，导致运动能力下降，诱发运动性疲劳产生。抗氧化剂对某些脏器细胞的保护作用已有报道，但其对不同运动状态下小鼠肝、心和脑组织细胞结构的影响，目前国内外还少见系统报道。研究采用透射电镜技术，观察耐力训练和力竭状态下抗氧化剂对肝、心、骨骼肌和脑等组织细胞结构的变化。未经训练的大鼠在活动跑道上跑 1h 后即刻取股肌标本，在电镜下观察到肌细胞纤维最低程度的局灶变性，主要表现为肌肉横纹增宽，纤维排列紊乱，同时还出现单核细胞积聚，这种变化 2~3h 后在光学显微镜下也能发现，24~48h 最明显，随后出现肌纤维再生性变化。对运动后人体肌肉的观察也发现有肌纤维超微结构的异常变化。而给予抗氧化剂后，上述症状可缓解或