

文章编号:1001-6880(2016)10-1639-04

# 大蒜素预处理对大鼠大负荷运动后及恢复期血液抗氧化应激能力的影响

丁海丽\*

成都体育学院运动医学与健康研究所 成都体育学院运动医学系,成都 610041

**摘要:**探讨大蒜素预处理对大鼠大负荷运动后即刻和 12、24 h 血液抗氧化应激能力的影响,并分析其可能机制。将成年雄性 SD 大鼠 64 只,随机分为安慰剂组(C 组)和大蒜素组(D 组),D 组每日定时经口腔灌胃给予大蒜素 30 mg/kg 体重,C 组给予相同体重比例的安慰剂(蒸馏水)。两周后测定运动前及大负荷运动后即刻、运动后 12 h、运动后 24 h 各 4 个时相血清谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)及总抗氧化能力(TAC)的变化。结果发现 D 组 GSH-Px 在运动后即刻、12 h 非常显著高于 C 组( $P < 0.01$ );GSH、SOD 在运动后即刻、12 h 显著高于 C 组( $P < 0.05$ ),MDA 变化则与 SOD 呈相反趋势;TAC 在运动后即刻、12 h、24 h 三个时相均显著高于 C 组。提示大蒜素预处理有助于大鼠大负荷运动后血液抗氧化应激能力的恢复。

**关键词:**大蒜素;大负荷运动;恢复期;氧化应激;总抗氧化能力

中图分类号:R873

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.10.026

## Effect of Allicin Pretreatment on the Ability of Blood Antioxidation of Rats after Heavy Load Exercise and During Recovery Period

DING Hai-li\*

Chengdu Sports College; Department of Sports Medicine, Sichuan Chengdu 610041, China

**Abstract:** This study aimed to probe the effects of allicin preconditioning on plasma antioxidative capacity of rats immediately after exercise as well as in 12 hours and 24 hours after higher loading exercise, and accordingly to analyze the mechanism. Sixty-four male adult SD rats were randomly divided into two groups: placebo group (Group C) and allicin group (Group D). Rats in Group D were fed with allicin on gavage administration and the timing dosage was 30 mg/kg/d. Rats in Group C were fed with placebo (distilled water), whose dosage was the same as that in group D. After two weeks, the contents of plasma glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and the levels of total antioxidative capacity (TAC) were measured in both groups before and immediately after exercise as well as in 12 hours and 24 hours after higher loading exercise. The results showed that the GSH-Px of Group D was significantly increased ( $P < 0.01$ ) compared with that of Group C; the GSH and SOD of Group D were increased ( $P < 0.05$ ) immediately after exercise and in 12 hours after exercise; TAC of Group D was also significantly increased immediately after exercise as well as in 12 hours and 24 hours after exercise; whereas the change of MDA was opposite to SOD. The results indicated that allicin preconditioning was helpful for improving plasma antioxidative capacity in rats after higher loading exercise.

**Key words:** allicin; heavy load exercise; during recovery period; antioxidation; total antioxidant capacity

大运动量训练或大负荷运动时,机体清除活性氧的能力不足以平衡运动应激情况下产生的活性氧,造成抗氧化与氧化系统失平衡,引起运动内源活

性氧产生增多,导致脂质、蛋白质及核酸等多种损伤,此种由运动引发的氧应激可称之为运动氧应激<sup>[1,2]</sup>。大蒜素(allicin)是大蒜中主要生物活性成分的总称,又名大蒜新素,化学名为三硫化二丙烯(二烯丙基三硫化物)。研究发现大蒜素具有抗肿瘤、预防心脑血管疾病、抗衰老、抗微生物、抗溃疡、提高机体免疫力等多种药理作用。亦有研究表明,

收稿日期:2015-07-02 接受日期:2016-05-11

基金项目:国家体育总局运动医学重点实验室(四川省实验教学示范中心)资助项目(2014CTYY010)

\* 通讯作者 Tel:86-28-86412931; E-mail:dingdingtang@163.com

大蒜素对高强度运动机体具有减轻骨骼肌超微结构损伤、降低脂质过氧化反应、提高机体抗氧化能力、减少细胞内容物逸出等作用<sup>[3-5]</sup>。本研究旨在探讨大蒜素预处理对大鼠一次大负荷游泳运动后及恢复期血液抗氧化应激能力的影响,为其作为运动营养补剂的应用提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物与药品

64只成年雄性SD大鼠,体重( $227 \pm 23.3$  g),购自四川大学华西医学中心实验动物中心。室温 $28 \sim 31$  °C,相对湿度40%~60%,自然光照。大蒜素购自浙大药业有限公司,批号:20080802。大鼠用药溶解成浓度3 mg/mL,溶剂为蒸馏水。

### 1.2 分组及处理因素

实验大鼠适应性喂养2日后,随机分为安慰剂组(C组, $n = 32$ )和大蒜素组(D组, $n = 32$ )两组。两组又各分为运动前对照对照( $C_0, D_0$ )、运动后即刻( $C_1, D_1$ )、运动后12 h( $C_2, D_2$ )、和运动后24 h( $C_3, D_3$ )、4个不同时相组,每个时相组8只。D组两周内每日定时经口腔灌胃给药30 mg/kg体重,C组以同样方式给予相同体重比例的安慰剂(蒸馏水)。正式实验前,所有动物进行适应性游泳训练,时间为10 min。两周后,除 $C_0, D_0$ 组外其余各组进行一次大负荷游泳运动。采用驱赶法使大鼠负重游泳至运动终止,负重量为大鼠自身体重的5%,水温 $30 \pm 1$  °C,水深60 cm。终止运动标准:大鼠沉入水

表1 两组大鼠运动前后血清GSH含量变化情况( $\bar{x} \pm s$ , nmol/mL)

Table 1 Variation of serum GSH content at different phases between groups ( $\bar{x} \pm s$ , nmol/mL)

| 组别<br>Group | 运动前<br>Pre-exercise ( $C_0, D_0$ ) | 运动后 Post-exercise        |                           |                          |
|-------------|------------------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
|             |                                    | 0 h ( $C_1, D_1$ )       | 12 h ( $C_2, D_2$ )       | 24 h ( $C_3, D_3$ )      |
| 安慰剂 Placebo | $8.51 \pm 1.37$                    | $5.7 \pm 0.67^*$         | $6.31 \pm 0.79^*$         | $7.83 \pm 0.95^{\Delta}$ |
| 大蒜素 Allicin | $8.90 \pm 2.01$                    | $6.99 \pm 0.99^{\Delta}$ | $7.79 \pm 0.68^{\bullet}$ | $8.01 \pm 1.09$          |

注:与 $C_0$ 比较, $^*P < 0.05$ , $^{**}P < 0.01$ ;与 $C_1$ 比较, $^{\Delta}P < 0.05$ , $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ ;与 $C_2$ 比较, $^{\bullet}P < 0.05$ , $^{\bullet\bullet}P < 0.01$ ;与 $C_3$ 比较, $^{\blacksquare}P < 0.05$ ;与 $D_0$ 比较, $^{\star}P < 0.05$ , $^{\star\star}P < 0.01$ 。下同

Note: Compared with  $C_0$ ,  $^*P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ ; compared with  $C_1$ ,  $^{\Delta}P < 0.05$ ,  $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ ; Compared with  $C_2$ ,  $^{\bullet}P < 0.05$ ,  $^{\bullet\bullet}P < 0.01$ ; Compared with  $C_3$ ,  $^{\blacksquare}P < 0.05$ ,  $^{\blacksquare\blacksquare}P < 0.01$ ; compared with  $D_0$ ,  $^{\star}P < 0.05$ ,  $^{\star\star}P < 0.01$ . Same as below.

表2 两组大鼠运动前后血清GSH-Px活性变化情况( $\bar{x} \pm s$ , U/mL)

Table 2 Variation of serum GSH-Px activity at different phases between groups ( $\bar{x} \pm s$ , U/mL)

| 组别<br>Group | 运动前<br>Pre-exercise ( $C_0, D_0$ ) | 运动后 Post-exercise                    |                                    |                                 |
|-------------|------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
|             |                                    | 0 h ( $C_1, D_1$ )                   | 12 h ( $C_2, D_2$ )                | 24 h ( $C_3, D_3$ )             |
| 安慰剂 placebo | $45.12 \pm 11.06$                  | $26.33 \pm 7.13^{**}$                | $31.69 \pm 8.52^{**}$              | $41.31 \pm 9.97^{\Delta\Delta}$ |
| 大蒜素 allicin | $47.35 \pm 10.99$                  | $39.60 \pm 5.25^{\star\Delta\Delta}$ | $42.67 \pm 10.75^{\bullet\bullet}$ | $43.12 \pm 8.64$                |

下无法返回水面超过10 s,捞出休息2 min后继续运动,如此反复三次后终止运动。

### 1.3 取材与指标检测

运动终止后取各组大鼠股右侧动脉血,离心管收集血样后离心(4 °C, 3000 rpm, 10 min),分离血清,比色法检测谷胱甘肽(glutathione, r-glutamyl cysteine + glycine, GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)、总抗氧化能力(total antioxidant capacity, TAC)、黄嘌呤氧化酶法检测超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、硫代巴比妥酸法检测丙二醛(Malondialdehyde, MDA)。

### 1.4 统计学分析

采用SPSS17.0软件对实验结果进行统计学分析,所有数据用平均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用方差分析和组间两两显著性t检验;显著性差异水平为 $P < 0.05$ ,非常显著性差异水平为 $P < 0.01$ 。

## 2 实验结果

### 2.1 各组大鼠不同时相血清GSH、GSH-Px变化

C组GSH含量在运动后即刻、运动后12 h均显著低于运动前水平,运动后24 h有所恢复;D组各时相组间比较无显著性差异;比较C组与D组运动后对应时相的GSH含量时发现,D组运动后即刻、运动后12 h均显著高于C组同时相。C组GSH-Px活性在运动后即刻、运动后12 h均非常显著低于运动前;D组GSH-Px活性在运动后即刻显著低于运动前水平;比较C组与D组运动后对应时相的

含量变化情况( $\bar{x} \pm s$ , nmol/mL)

GSH-Px 活性时发现,D 组运动后即刻、运动后 12 h 非常显著高于 C 组同时相,运动后 24 h 接近运动前水平(见表 1、表 2)。

## 2.2 各组大鼠不同时相血清 SOD 活性、MDA 含量变化

C 组 SOD 活性在运动后即刻非常显著低于运动前水平,运动后 12 h 显著低于运动前水平;D 组各时相比较无显著性差异。比较 C 组与 D 组运动后对应时相的 SOD 活性时发现,D 组运动后即刻、

运动后 12 h 均显著高于 C 组同时相。C 组 MDA 含量在运动后即刻非常显著高于运动前水平,运动后 12 h 和 24 h 显著高于运动前水平;D 组 MDA 含量仅在运动后即刻显著高于运动前水平,其余则无显著性差异;比较 C 组与 D 组运动后对应时相的 MDA 含量时发现,D 组运动后即刻非常显著低于 C 组同时相、运动后 12 h 和 24 h 显著低于 C 组同时相(见表 3、表 4)。

表 3 两组大鼠运动前后血清 SOD 活性变化情况( $\bar{x} \pm s$ , U/mL)

Table 3 Variation of serum SOD activity at different phases between groups ( $\bar{x} \pm s$ , U/mL)

| 组别<br>Group | 运动前<br>Pre-exercise ( $C_0, D_0$ ) | 运动后 Post-exercise          |                              |                     |
|-------------|------------------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------|
|             |                                    | 0 h ( $C_1, D_1$ )         | 12 h ( $C_2, D_2$ )          | 24 h ( $C_3, D_3$ ) |
| 安慰剂 placebo | $181.15 \pm 2.50$                  | $150.66 \pm 9.13^{**}$     | $157.11 \pm 4.12^*$          | $174.21 \pm 6.16$   |
| 大蒜素 allicin | $181.89 \pm 2.62$                  | $17.83 \pm 6.91^{\bullet}$ | $173.11 \pm 11.17^{\bullet}$ | $179.00 \pm 5.50$   |

表 4 两组大鼠运动前后血清 MDA 含量变化情况( $\bar{x} \pm s$ , nmol/mL)

Table 4 Variation of serum MDA content at different phases between groups ( $\bar{x} \pm s$ , nmol/mL)

| 组别<br>Group | 运动前<br>Pre-exercise ( $C_0, D_0$ ) | 运动后 Post-exercise                 |                           |                                  |
|-------------|------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|----------------------------------|
|             |                                    | 0 h ( $C_1, D_1$ )                | 12 h ( $C_2, D_2$ )       | 24 h ( $C_3, D_3$ )              |
| 安慰剂 placebo | $2.20 \pm 0.29$                    | $3.67 \pm 0.35^{**}$              | $3.17 \pm 0.11^*$         | $3.14 \pm 0.76^*$                |
| 大蒜素 allicin | $2.17 \pm 0.33$                    | $2.54 \pm 0.28^{*\bullet\bullet}$ | $2.37 \pm 0.21^{\bullet}$ | $2.26 \pm 0.63^{\bullet\bullet}$ |

## 2.3 各组大鼠不同时相血清 TAC 水平变化

C 组 TAC 水平在运动后即刻显著高于运动前水平,其余则无显著性差异;D 组 TAC 水平在运动后即刻非常显著高于运动前水平,运动后 12 h 和 24

h 显著高于运动前水平;比较 C 组与 D 组运动后对应时相的 TAC 水平时发现,D 组运动后即刻、运动后 12 h、运动后 24 h 均显著高于 C 组同时相(见表 5)。

表 5 两组大鼠运动前后血清 TAC 水平变化情况( $\bar{x} \pm s$ , U/mL)

Table 5 Variation of myocardial levels of TAC at different phases between groups ( $\bar{x} \pm s$ , U/mL)

| 组别<br>Group | 运动前<br>Pre-exercise ( $C_0, D_0$ ) | 运动后 Post-exercise                         |                             |                          |
|-------------|------------------------------------|---|-----------------------------|--------------------------|
|             |                                    | 0 h ( $C_1, D_1$ )                        | 12 h ( $C_2, D_2$ )         | 24 h ( $C_3, D_3$ )      |
| 安慰剂 placebo | $19.95 \pm 1.87$                   | $24.23 \pm 3.14^*$                        | $22.13 \pm 2.14$            | $20.20 \pm 0.92$         |
| 大蒜素 allicin | $19.01 \pm 1.90$                   | $28.01 \pm 1.72^{*\bullet\bullet\bullet}$ | $27.17 \pm 1.01^{*\bullet}$ | $24.28 \pm 2.34^{\star}$ |

## 3 讨论与结论

机体在大负荷运动过程中,需要细胞有氧呼吸提供能量,细胞在有氧呼吸过程中同时会产生大量自由基、活性氧成分。当体内产生的氧自由基、活性氧成分远远大于机体自身清除能力时,这时机体氧化与抗氧化系统就会失去平衡,引起运动性内源活性氧产生增多,导致脂质、蛋白质及核酸等多种损伤<sup>[6,7]</sup>,此种由运动引发的氧应激可称之为运动氧

应激。这种剧烈运动诱导的氧应激状态,不仅表现在运动中和运动后即刻,而且在运动结束后的恢复期也极为明显。GSH、GSH-Px、SOD、MDA 与 TAC 均为判断运动机体氧化应激水平的有效指标。GSH 以及 GSH-Px 在清除自由基,保护细胞和组织免受氧化应激损伤方面具有重要的作用,GSH-Px 是机体内广泛存在的一种重要的酶,它能特异性的催化还原型谷胱甘肽变为氧化型谷胱甘肽,清除超氧阴离子  $O_2^-$ 、羟自由基 ·OH 和过氧化氢  $H_2O_2$ ,减轻和阻

断脂质过氧化物的损害。SOD 是清除超氧自由基的内源性金属离子的有效清除剂,其活性的变化可间接反映氧化应激中自由基生成量和体内物质代谢情况。由于超氧阴离子是活性氧生成过程中的初始产物,因此 SOD 也被看作是活性氧防御的第一线。MDA 是机体脂质过氧化反应的重要代谢产物,其大小反映了脂质过氧化程度,可作为细胞被氧自由基攻击的定量指标,其含量越高,脂质过氧化程度也越高。TAC 则反映了机体综合酶促与非酶促体系的总抗氧化、清除自由基的能力。

大蒜素在清除自由基、提高机体抗氧化能力方面具有积极作用,但在运动领域的研究尚有限。本研究中,安慰剂组测试结果表明,经过大负荷运动刺激,在清除自由基、保护机体免受氧化应激损伤方面具有重要作用的 GSH、GSH-Px、SOD 运动后即刻至 12 h 都有不同程度的降低,到运动后 24 h 有所恢复;脂质过氧化反应的重要代谢产物 MDA 则呈相反趋势变化。应用大蒜素干预后,运动后即刻、运动后 12 h 的 GSH 和 GSH-Px 明显高于安慰剂组同时相,SOD 的变化与二者相似,而 MDA 变化则相反。分析以上结果可以推断,大蒜素可以上调大负荷运动后及恢复期 GSH 含量和 GSH-Px 活性,对大负荷运动导致的 SOD 活性下降和 MDA 含量升高具有拮抗作用,从而提高了机体抗氧化应激能力,加速氧化与抗氧化系统平衡状态的恢复。

研究证实,TAC 的高低与机体防御体系密切相关,直接反映机体的健康程度。在应激性疾病、老年性疾病以及慢性炎症性疾病中,TAC 的作用非常重要,对全身和细胞内氧化还原状态的研究,是目前生命科学的研究热点<sup>[8-10]</sup>。本研究可见,大蒜素组运动后即刻、运动后 12 h、运动后 24 h 的 TAC 水平均显著高于安慰剂组同时相,表明大蒜素可使血液 TAC 水平在大负荷运动后 24 h 仍保持在较高水平,提高较 SOD 和 GSH-Px 两种酶促系统更加明显,究其原因是否由于大蒜素可提高机体酶促和非酶促两大系统的抗氧化能力,进而有效应对运动导致的氧化应激,还有待进一步研究证实。

## 参考文献

1 Tian Y(田野). Advance Physiology of Sport and Exercise

- (运动生理学高级教程). Beijing: Higher Education Press, 2003.
- 2 Radak Z, Zhao Z, koltai E, et al. Oxygen consumption and usage during physical exercise;the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 18:1208-1246.
- 3 Cai Q(蔡青), Qin HZ(秦怀洲), Chen KL(陈昆仑). The effect and mechanism of allicin on the migration and invasion properties of human osteosarcoma U87 cells. *J Xi'an Jiaotong Univ, Med Sci*(西安交通大学学报,医学版), 2015, 36:271-274.
- 4 Su QS, Tian Y, Zhang JG, et al. Effects of allicin supplementation on plasma markers of exercise-induced muscle damage, IL-6 and antioxidant capacity. *Eur J Appl Physiol*, 2008, 103:275-283.
- 5 Zhao GG(赵广高), Su QS(苏全生), Fu JM(付近梅). Research advancement of allicin effect on exercise-induced fatigue. *Mod Prevent Med* (现代预防医学), 2014, 41(5):97-80.
- 6 Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*, 2009, 27:120-139.
- 7 Pilger A, Rudiger HW. 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine as a marker of oxidative DNA damage related to occupational and environmental exposures. *Int Arch Occup Environ Health*, 2006, 80:1-15.
- 8 Zhao GG(赵广高), Su QS(苏全生), Li XJ(李新建), et al. Effects of allicin and united anti-oxidant on athlete's serum T-AOC level after one-off high-intensity eccentric exercise. *J Capital Univ Physical Educ Sports*(首都体育学院学报), 2012, 24:189-192.
- 9 Wang CJ(王翠娟), Jing SC(景绍春), Wang R(王锐). Levels of MDA, T-AOC, 25-(OH) D3, related to IR: A study of abdominnal-obesity young men with normal glucose tolerance. *Chin General Pract*(中国全科医学), 2014, 17:2341-2344.
- 10 Liu L(刘磊), Meng CY(孟春阳), Li P(李鹏). Effect of zinc on the ATP enzyme, MAO activity and T-AOC content of rats with spinal cord ischemia-reperfusion injury. *Chin J Lab Diagn*(中国实验诊断学), 2015, 19:10-13.