

· 基础研究 ·

密穗马先蒿对耐力运动小鼠红细胞参数、抗氧化和免疫功能的影响*

文质君¹ 陈筱春¹ 朱梅菊¹ 赖小兵²

摘要 目的:研究密穗马先蒿对耐力运动小鼠红细胞形态参数、红细胞抗氧化和免疫黏附功能的影响。方法:4周龄昆明种小鼠随机分为对照组、运动组、阳性对照组、密穗马先蒿组。运动组、阳性对照组和密穗马先蒿组进行6周的游泳训练,最后一次进行力竭游泳。力竭游泳后采用眼球取血,EDTA抗凝,测定红细胞参数、红细胞抗氧化功能及红细胞免疫黏附功能等指标。结果:实验6周后,密穗马先蒿组小鼠RBC、Hb、HCT、RBC-SOD活性和RBC-C3bR明显高于运动组($P<0.05$),而MCV、RDW、RBC-ICR和RBC-MDA含量低于运动组($P<0.05$)。结论:密穗马先蒿具有改善耐力运动引起的小鼠红细胞的损伤,保护小鼠红细胞的完整性,提高耐力运动小鼠红细胞的抗氧化能力和免疫功能等作用。

关键词 密穗马先蒿;红细胞参数;红细胞自由基代谢;红细胞免疫黏附功能

中图分类号:G804.7.R49

文献标识码:A

文章编号:1001-1242(2008)-11-1022-03

Effects of pedicularis densispica on morphology parameters, antioxidation and immunity capacity in erythrocyte of mice performing endurance exercises/WEN Zhijun, CHEN Xiaochun, LAI Xiaobing//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2008, 23(11): 1022—1024

Abstract Objective: To study the effects of pedicularis densispica on erythrocyte parameters, antioxidation and immunity capacity in endurance exercises mice. **Method:** The four-week old mice were divided randomly into 4 groups: control group, training group, positive control group and pedicularis densispica group. The mice in training group, positive control group and pedicularis densispica group had swimming exercises for 6 weeks, and at the last times they swam exhaustively. The morphology parameters of erythrocyte, function of erythrocyte immune and antioxidation were tested after swimming exhaustively. **Result:** It showed that the pedicularis densispica was effective in increasing RBC, Hb, HCT, RBC-C3bR and the activity of RBC-SOD ($P<0.05$), and decreasing MCV, RDW, RBC-ICR and RBC-MDA content ($P<0.05$), comparing to training group. **Conclusion:** It indicated that pedicularis densispica was effective to protect morphological integrity of erythrocyte from injury by endurance exercises, and improved antioxidation and immunity capacity of erythrocyte of mice after endurance exercises.

Author's address Zhanjiang Normal University, 524048

Key words pedicularis densispica; morphology parameters of erythrocyte; free radical metabolism of erythrocyte; immune adhesive function of erythrocyte

马先蒿属植物药用种类繁多,有的种类在民间应用历史悠久,疗效显著。近年来,该属植物的药用价值引起研究者的重视,已经从中分离得到了生物碱、环烯醚萜苷、苯丙素苷、黄酮等多类化合物^[1]。这类化合物是该属植物的特征性化合物,具有多种生理活性而备受青睐。药理研究显示,苯丙素苷类有清除自由基、延缓骨骼肌疲劳、抗肿瘤、促进DNA碱基修复、抗溶血、抗ADP诱导的血小板凝聚等多种生理活性。环烯醚萜苷类提高机体免疫力、保肝、降压、利尿等多种生理活性^[2]。马先蒿属植物被运用于运动医学领域的研究报道尚不多见,因此,本实验以小鼠递增负荷游泳训练为模型,观察马先蒿属中的密穗马先蒿对耐力运动小鼠红细胞形态学参数、抗氧化和免疫黏附功能的影响,为进行密穗马先蒿抗运动

性疲劳活性成分的分离提取提供有益实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

昆明种4周龄健康雄性小鼠40只,体重(25±3.65)g,由广东医学院实验动物中心提供(粤监证字:2005 A024号)。实验动物适应性喂养2d后,随机分为对照组、运动组、阳性对照组(人参提取物+运动)、密穗马先蒿组(密穗马先蒿+运动),每组10只,

* 基金项目:湛江师范学院自然科学基金资助项目(L0519)

1 湛江师范学院体育系,广东,524048

2 湛江师范学院体育系04级运动人体科学专业

作者简介:文质君,女,副教授

收稿日期:2008-03-19

分笼饲养, 自由饮食, 室温(18—24)℃。

1.2 药物处理及给药方法

密穗马先蒿采于滇西北中甸地区, 由中国科学院昆明植物研究所提供。精确称取密穗马先蒿干燥粉末 100g, 用 10 倍量 95% 乙醇热提取 3 次, 将提取液减压回流浓缩, 至浸膏状, 按 10g 生药/kg·d 的剂量配成相应浓度的水溶液, 冷藏备用。使用灌胃法, 每天灌胃 1 次; 对照组、运动组以等体积生理盐水灌胃, 阳性对照组以等体积人参提取物(人参提取物的提取方法同上)灌胃, 实验时间 6 周。

1.3 运动方式

运动组、阳性对照组、密穗马先蒿组分别于灌胃后 3h 进行无负重游泳, 水温 28±2℃, 水深 35cm, 每周游 6d。第 1、2 周每天 30min, 第 3 周每天 60min, 第 4 周后每天 90min, 共 6 周。第 6 周末进行一次力竭性游泳, 记录力竭时间。力竭标准为小鼠沉入水中超过 10s, 且小鼠在平面上无法完成翻正动作。

1.4 实验取材

小鼠于力竭游泳结束后 12h, 用 25% 乌拉坦, 按 0.05ml/10g 体重的剂量将小鼠进行腹腔麻醉, 眼球取血, 将血液分装于无菌真空 EDTA 抗凝管, 进行相关指标检测。

1.5 检测指标及其方法

1.5.1 红细胞参数的检测:取 EDTA 抗凝血, 用日本产 Symsex K-4500 血细胞分析仪进行检测。测定的项目包括: 红细胞计数(RBC)、血红蛋白(Hb)、红细胞压积(HCT)、红细胞平均体积(MCV)、红细胞平均血红蛋白(MCH)、红细胞体积分布宽度(red blood cell volume distribution width, RDW)。

1.5.2 RBC-SOD 活性和 RBC-MDA 含量的测定:SOD 活性采用黄嘌呤氧化酶法测定。MDA 含量采用

TBA 法测定。蛋白质含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定。SOD 测试盒及 MDA 测试盒为南京建成生物工程研究所产品, 所有操作均严格按照操作书说明进行。

1.5.3 红细胞 C3b 受体花环率和红细胞免疫复合物花环率的检测:按照郭峰等^[3]建立的红细胞 C3b 受体花环和免疫复合物花环实验, 分别测定红细胞 C3b 受体花环率 (RBC-C3bR) 和红细胞免疫复合物花环率 (RBC-ICR)。以 RBC 黏附 2 个以上(含 2 个)酵母多糖为一朵花环, 均衡计数 200 个 RBC, 计算出花环率。酵母多糖冻干试剂由第二军医大学长海医院血液免疫室提供。

1.6 统计学分析

所有数值以均数±标准差表示。用 SPSS11.5 软件完成统计分析。组间比较采用方差分析, 方差具有齐次性时, 用 least -significant difference (LSD) 复选项进行多重比较, 方差不具有齐次性时, 用 Tamhane's T2 法复选项进行各组均值多重比较。显著性水平设置为 $P=0.05$ 。

2 结果

2.1 对耐力运动小鼠红细胞参数的影响

密穗马先蒿组 RBC、Hb 和 HCT 较运动组显著增高($P<0.05$), 而 MCV 和 RDW 则显著低于运动组($P<0.05$); 以上指标密穗马先蒿组与对照组和阳性对照组比较差异无显著性($P>0.05$)。MCH 各组间比较无显著性差异($P>0.05$)(表 1)。提示大强度耐力运动造成了红细胞的损伤, 使其相关红细胞参数发生改变, 而密穗马先蒿能减轻耐力运动所致的红细胞损伤, 维持红细胞数量和红细胞形态参数在正常范围之内。

表 1 密穗马先蒿对耐力运动小鼠红细胞参数的比较

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

组别	RBC($\times 10^{12}/L$)	Hb(g/L)	HCT(%)	MCV(fL)	MCH(pg)	RDW(%)
对照组	9.60±0.98	148.02±15.79	0.502±0.05	50.15±1.21	14.10±1.01	8.50±1.41
运动组	7.43±1.13 ^①	108.56±30.54 ^①	0.334±0.11 ^①	58.05±2.20 ^①	10.12±1.10 ^②	12.13±1.60 ^①
阳性对照组	8.85±0.72	142.11±23.50	0.450±0.15	51.05±1.50	13.15±0.91	9.05±1.09
密穗马先蒿组	9.05±0.87 ^③	131.05±18.20 ^③	0.505±0.08 ^③	49.05±1.80 ^③	12.65±1.11 ^③	9.25±1.31 ^③

与对照组、阳性对照组、密穗马先蒿组比较: ① $P<0.05$, ② $P>0.05$; 与对照组、阳性对照组比较: ③ $P>0.05$

2.2 对耐力运动小鼠红细胞自由基代谢和免疫功能的影响

表 2 显示, 密穗马先蒿组 RBC-SOD 活性较运动组显著增高($P<0.05$), 而 RBC-MDA 含量则显著低于运动组($P<0.05$); 但与对照组和阳性对照组比较差异无显著性($P>0.05$)。

密穗马先蒿组 RBC-C3bR 显著高于运动组($P<0.05$), 与对照组比较亦有差异($P<0.05$), 与阳性对照组比较差异无显著性($P>0.05$)。而 RBC-ICR 显著

表 2 密穗马先蒿对力竭运动小鼠红细胞

自由基代谢和免疫功能的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	RBC-SOD (U/g Hb)	RBC-MDA (nmol/ml)	RBC-C3bR (%)	RBC-ICR (%)
对照组	22075.70±850.71	1.35±0.09	13.00±0.93	12.57±1.39
运动组	18713.56±789.54 ^①	2.58±0.12 ^①	8.43±1.13 ^①	17.14±1.22 ^①
阳性对照组	21669.97±826.21	1.29±0.11	16.08±1.28	11.43±1.33
密穗马先蒿组	21716.14±813.12 ^②	1.32±0.16 ^②	16.85±1.17 ^{②③}	12.15±1.18 ^②

与对照组、阳性对照组、密穗马先蒿组比较: ① $P<0.05$; 与阳性对照组比较: ② $P>0.05$; 与对照组比较: ③ $P<0.05$

低于运动组($P<0.05$),与其他2组比较差异无显著性($P>0.05$)。说明密穗马先蒿具有提高耐力运动小鼠 RBC-SOD 活性和 RBC-C3bR 的黏附活性,降低 RBC-MDA 含量和降低循环免疫复合物的作用。

3 讨论

红细胞是人体血液中的主要有形成份,重要功能是运输氧和二氧化碳。在运动过程中它是决定运动员最大摄氧量的主要因素,其次是对酸碱变化起一定的缓冲作用,这两种作用都是通过血红蛋白来实现的,但是血红蛋白只有存在于红细胞内才能发挥作用,如果红细胞数量变化将会影响血红蛋白的变化。故 RBC 能直接影响体内物质代谢和能量代谢,从而影响人体的身体机能和运动能力。但所有这些功能的发挥,主要依赖于红细胞正常的结构和形态,一旦红细胞受到损害,红细胞的运氧能力下降,机体容易产生疲劳,严重影响运动能力。本实验观察到喂饲密穗马先蒿小鼠的 RBC、Hb 和 HCT 较运动组高,而 MCV 和 RDW 较运动组低。RBC、Hb、HCT 是医学界公认的诊断贫血的重要标准之一^[4]。MCV 和 RDW 是国内外作为观察红细胞形态的重要指标,能准确反映由大负荷运动引起的红细胞变形及损伤程度^[5-6]。长期递增负荷训练可使红细胞数量和血红蛋白含量降低及细胞体积增大,继而出现红细胞形态的改变。提示密穗马先蒿能提高耐力运动小鼠红细胞数量,维持血红蛋白含量,同时对大强度运动所致的红细胞变形与损伤有一定的保护作用。

运动训练中耗氧增多,氧自由基的生成也增多,被认为是运动性疲劳甚至是运动损伤的产生原因。经6周耐力运动小鼠 RBC 中 MDA 含量增多,支持了这一观点。RBC 中 SOD 活性增加却是机体对运动的适应性反应,可能是机体抗自由基损伤及延缓疲劳发生的一个防御机制或实现抗疲劳的机制^[7],本实验密穗马先蒿组 RBC 中 SOD 活性较运动组增高,而 RBC 中 MDA 含量降低,表明密穗马先蒿在维持 RBC 抗氧化酶活性,减轻 RBC 脂质过氧化反应中有良好的作用。

随着人们对运动免疫研究的深入,红细胞的免疫功能在运动医学领域也逐渐引起了人们的注意。红细胞膜上的天然免疫分子通过促进单个核细胞产生细胞因子参与免疫调节,或通过免疫黏附作用参与免疫复合物的清除^[8-9],是机体天然免疫的一个重要的子系统,是自身免疫平衡和稳定的重要基础,在整个免疫反应中起着重要的作用。有研究发现红细胞和白细胞对补体调理过的免疫复合物(immune

complex, IC)有相同的结合率,但血液循环中90%以上的 C3b 受体存在于红细胞的表面,认为血液循环中被补体调理过的抗原和免疫复合物几乎都与红细胞结合运至肝脏、脾脏被巨噬细胞清除^[10],构成了机体免疫系统的重要组成部分。对于红细胞免疫黏附功能的测定,国内多采用红细胞 C3b 受体花环实验以检测 RBC-C3bR,观察红细胞的黏附活性,根据其活性变化反映红细胞免疫黏附功能的状况;而免疫复合物花环实验以检测 RBC 黏附 IC 的能力,并间接反映循环免疫复合物的水平变化。本研究是通过体外实验来观察红细胞免疫黏附和阻截循环中 IC 的能力。结果显示,实验后密穗马先蒿组 RBC-C3bR 明显高于运动组,而 RBC-ICR 显著降低,说明密穗马先蒿有增强耐力运动小鼠 RBC-C3bR 的免疫黏附活性,降低由运动引起的血液循环中免疫复合物的水平。

综上所述,大强度耐力运动可导致小鼠红细胞形态参数异常改变,红细胞脂质过氧化反应水平增强,红细胞受损,免疫黏附功能相应改变;而密穗马先蒿能维持运动小鼠红细胞形态和数量等参数在正常范围;提高 RBC-SOD 活性和降低 RBC-MDA 含量,减轻红细胞脂质过氧化损伤;增加 RBC-C3bR 花环率,降低 RBC-IC 花环率,增强免疫机能。提示密穗马先蒿对耐力运动小鼠的红细胞损伤具有保护作用,在作为抗运动性疲劳补剂的研究开发上具有一定潜力,但其抗运动性疲劳的效果和作用机制还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 吴臻,李发荣,杨建雄.马先蒿属药用植物研究进展[J].时珍国医国药,2002,13(5):305—307.
- [2] 邱娟,杨建雄,李发荣.马先蒿属三种植物提取物对小鼠氧化损伤的影响[J].陕西师范大学学报,2004,32(3):94—97.
- [3] 郭峰,钱宝华,张乐之.现代红细胞免疫学[M].上海:第二军医大学出版社,2002,262—264.
- [4] 赵杰修,田野,曹建民,等.运动性贫血机理和防治的研究及探讨[J].中国运动医学杂志,2004,23(2):208—211.
- [5] Branch JD 3rd, Pate R, Bourque SP, et al. Exercise training and intensity does not alter vascular volume responses in women[J]. Aviat Space Environ Med, 1999, 70(11):1070—1076.
- [6] Schumacher YO, Schmid A, Grathwohl D, et al. Hematological indices and iron status in athletes of various sports and performance[J]. Med Sci Sports Exerc, 2002, 34(5):869—875.
- [7] 贺洪,汪保和,唐晖,等.人参皂甙 Rg 对小鼠力竭游泳恢复期的抗自由基作用[J].体育科学,2003,22(2):104—107.
- [8] Noor Haslina MN, Ariffin N, Illuni Hayati I, et al. Red cell immunization in multiply transfused malay thalassemic patients[J]. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, 2006, 37(5):1015—1020.
- [9] 吴敏.红细胞的免疫学活性[J].生理科学进展,1992,23(1):78—81.
- [10] Lindorfer MA, Hahn CS, Foley PL, et al. Heteropolymers-mediated clearance of immune complexes via erythrocyte CR1: mechanisms and applications[J]. Immunol Rev, 2001, 183:10—24.