

·基础研究·

负重跑训练延缓大鼠骨骼肌衰变效果的研究*

贾 华¹ 刘丰彬² 黄丽敏^{1,3} 王 峰¹ 赵 斌^{1,4}

摘要

目的:研究负重跑训练延缓大鼠骨骼肌衰变的作用效果。

方法:3月龄SD雄性大鼠36只,随机分为5组:6周安静组(n=6)、6周模型组(n=6)、12周模型组(n=8)、大负重组(n=8)和小负重组(n=8)。另外14月龄SD雄性大鼠8只作为自然衰老组。分别于第6周末和第12周末处死大鼠,测试各项指标。

结果:与6周安静组相比,6周模型组大鼠血清超氧化物歧化酶(SOD)活力显著降低,血清丙二醛MDA和骨骼肌脂褐素含量均显著升高;12周模型组和自然衰老组在血清及骨骼肌的相关指标均出现了不同程度的衰变表现,大、小负重两种训练方式均可以有效逆转以上的趋势,表现为显著提高血清SOD活力,以及SOD/MDA、骨骼肌总蛋白含量,降低血清MDA含量和骨骼肌脂褐素含量。

结论:6周负重跑训练可以有效地延缓D-半乳糖大鼠骨骼肌衰变的进程。

关键词 负重跑训练;骨骼肌;D-半乳糖;衰变

中图分类号:R493,R681 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2010)-12-1166-04

The effect of loading run training on postponing skeletal muscle decay in rats/JIA Hua, LIU Fengbin, HUANG Limin, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2010, 25(12):1166—1169

Abstract

Objective: To study the effect of loading run training on postponing skeletal muscle decay in rats.

Method: Thirty-six 3-month male SD rats were randomly assigned into five groups: 6-week control group(n=6), 6-week model group (n=6), 12-week model group (n=8), large loading run training group (n=8) and little loading run training group (n=8). Eight 14-month male SD rats were taken as natural aging group. By the end of the 6th week and the 12th week, the rats were sacrificed. and the indicators were tested.

Result: Comparing with 6-week control group, the activity of serum superoxide dismutase (SOD) in 6-week model group decreased, the content of serum malondialdehyde (MDA) and skeletal muscle lipofuscin increased. The indicators of serum and skeletal muscle in 12-week model group and natural aging group showed decay appearances on different levels. Large and little loading run training could reverse the changes effectively, increase the activity of serum SOD ratio of SOD/MDA and total protein level of skeletal muscle and decrease the content of serum MDA and lipofuscin of skeletal muscle.

Conclusion: Six-week loading run weight training can postpone the skeletal muscle decay process of D-galactose rats effectively.

Author's address Dept. of Physical Education, Hebei Normal University, Shijiazhuang, 050016

Key words loading run training; skeletal muscle; D-galactose; decay

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2010.12.010

* 基金项目:河北省自然科学基金(C2008000177),河北师范大学研究生基金(200801017)

1 河北师范大学体育学院,河北石家庄,050016; 2 大连大学体育学院; 3 哈尔滨学院体育学院; 4 通讯作者

作者简介:贾华,男,在读硕士生; 收稿日期:2009-09-23

有关衰老和衰变相关疾病的研究历来就是世界性的医学课题。随着研究的深入,许多学者特别是体育科学方面的学者将目光投向了骨骼肌衰变的研究^[1-2]。如何通过运动这种既经济又安全的方式来延缓骨骼肌的衰变进程,减少其消极的作用,已成为近期学者关注的热点。

本研究运用医学研究中常用的D-半乳糖皮下注射的方法,复制大鼠亚急性骨骼肌衰变模型,观察血清和骨骼肌生化指标的变化,判断成模与否。在造模成功后,进行6周负重跑的运动干预,通过观察各组血清和骨骼肌等相关指标的变化,分析负重跑训练对延缓骨骼肌衰变进程的作用效果,为接下来的后续研究积累一定的经验和实验数据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

SD雄性健康大鼠44只,其中3月龄36只,平均体重300g左右,清洁级,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供[SCXK(京)2007-0001],14月龄8只,平均体重500g左右,清洁级,由河北省动物实验中心提供[SCXK(冀)2003-1-003]。大鼠分笼饲养,每笼3—4只,室温控制在 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$,相对湿度控制在55%左右,每天自然光照,自由饮水摄食。动物饲料选用国家标准啮齿类动物混合饲料由河北省动物实验中心提供。

3月龄大鼠购回后适应性饲养1周,随机分5组:6周安静组(C6)6只,常规饲养6周;6周模型组(M6)6只,6周皮下注射D-半乳糖造模;12周模型组(M12)8只,6周造模后,常规饲养6周;大负重(B12)和小负重组(S12)各8只,6周造模后,分别进行相应的跑台大、小负重跑训练。14月龄组大鼠8只作为自然衰老组(OC),常规饲养6周。

1.2 动物模型建立及运动方案

参考吴国明等^[3]的方法进行大鼠亚急性骨骼肌衰变模型的复制,D-半乳糖溶液(5%)按200mg/kg/d在大鼠颈背部进行皮下注射,每天1次,连续6周。

所有大鼠进行跑台无负重适应性训练1周,正式跑台负重跑训练方案参考Bedford等^[4]和闫万军等^[5]的方法,跑速15m/min,坡度 0° ,跑2min,休息2min为1组,连续训练6组,每天1次,周日休息,

共6周。大负重相当于大鼠最大负重70%,小负重相当于大鼠最大负重30%。

1.3 动物取材及样本处理

分别于第6周末和第12周末,最后一次运动之后,分别对C6及M6组大鼠和其余各组大鼠禁食12h进行取材。1%戊巴比妥钠溶液(50mg/kg)麻醉,心尖取血,分离血清, -30°C 保存待测血清生化指标。取少许腓肠肌组织,在 4°C 条件下,按照1:9(W/V)的比例制备上清匀浆液, -30°C 保存待测骨骼肌组织生化指标。

1.4 测试指标及方法

1.4.1 血清指标:血清超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)采用黄嘌呤氧化酶法,血清丙二醛(malondialdehyde, MDA)采用硫代巴比妥酸法,均在TU-1810型紫外可见分光光度计上按照试剂盒要求测试。试剂盒均由南京建成生物工程研究所第一分所提供。

1.4.2 骨骼肌组织匀浆指标:骨骼肌组织总蛋白含量测定,采用考马斯亮蓝法,在TU-1810型紫外可见分光光度计上按照试剂盒要求测试。骨骼肌组织脂褐素(lipofuscin)含量测定,采用荧光比色法,在F-4500型荧光分光光度计上按照试剂盒说明要求测试。试剂盒均由南京建成生物工程研究所第一分所提供。

1.5 统计学分析

数据用平均值 $\pm$ 标准差表示,用SPSS 11.5统计软件进行统计分析。C6和M6组数据比较采用独立样本 t 检验。多组间数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),如果有显著性差异,则用Scheffe法进行多重比较。显著性水平为 $P<0.05$,非常显著性水平为 $P<0.01$ 。

2 结果

2.1 第6周末组生化指标比较

M6组大鼠血清SOD活力显著低于C6组($P<0.05$),血清MDA含量和骨骼肌组织脂褐素含量均显著高于C6组($P<0.01$)。提示:采用6周D-半乳糖皮下注射造模的方法,可以成功复制大鼠亚急性骨骼肌衰变模型。见表1。

2.2 12周末血清SOD活力和MDA含量比较

与 M12 组相比,OC 组大鼠血清中 SOD 活力、MDA 含量,以及 SOD/MDA 无显著性差异($P>0.05$)。两种负重跑训练能使衰老大鼠血清中 SOD 活力显著升高($P<0.01$ 和 $P<0.05$),MDA 含量显著降低($P<0.01$),从而使 SOD/MDA 显著升高($P<0.01$),基本以 S12 组更为明显。见表 2。

2.3 第 12 周末骨骼肌组织总蛋白含量比较

与 M12 组相比,OC 组大鼠骨骼肌组织总蛋白含量无显著性差异($P>0.05$)。两种负重跑训练能使衰老大鼠骨骼肌中总蛋白含量显著升高($P<0.01$),以 S12 组更为明显。见表 3。

2.4 第 12 周末骨骼肌组织脂褐素含量比较

与 M12 组相比,OC 组大鼠骨骼肌组织中脂褐素含量差异无显著性($P>0.05$)。小负重跑训练能使衰老大鼠骨骼肌中脂褐素含量显著下降($P<0.05$),B12 组有下降的趋势,但差异无显著性($P>0.05$)。见表 3。

表 1 第 6 周末大鼠生化指标比较

	C6 组	M6 组
例数	6	6
血清 SOD(U/ml)	121.60±7.45	70.88±5.43 ^①
血清 MDA(nmol/ml)	1.21±0.32	3.43±0.25 ^②
骨骼肌脂褐素(μg/g)	0.08±0.02	0.32±0.03 ^②

与 C6 组比较:① $P<0.05$,② $P<0.01$

表 2 第 12 周末血清 SOD 活力、MDA 含量及 SOD/MDA 比较 (n=8, $\bar{x}\pm s$)

组别	SOD(U/ml)	MDA(nmol/ml)	SOD/MDA
M ₁₂	58.32±7.48	3.31±0.26	17.70±5.46
B ₁₂	73.66±8.82 ^{①③}	1.44±0.22 ^{②④}	52.57±8.17 ^{②④}
S ₁₂	86.84±9.55 ^{②④}	1.54±0.31 ^{②④}	58.34±10.04 ^{②④}
OC	60.93±6.91	3.13±0.28	19.81±5.74

与 M12 组比较:① $P<0.05$,② $P<0.01$;与 OC 组比较:③ $P<0.05$,④ $P<0.01$

表 3 第 12 周末骨骼肌组织总蛋白及脂褐素含量比较 (n=8, $\bar{x}\pm s$)

组别	总蛋白(g/L)	脂褐素(μg/g)
M12	0.50±0.04	0.45±0.04
B12	0.66±0.04 ^{①②}	0.36±0.05
S12	0.73±0.06 ^{①②}	0.33±0.04 ^③
OC	0.46±0.07	0.44±0.03

与 M12 组比较:① $P<0.01$;与 OC 组比较:② $P<0.01$;③与 M12、OC 组比较 $P<0.05$

3 讨论

进行长期、适宜的体育锻炼,能够延缓衰老、衰变的进程,这已为众多的研究所证实^[6-7]。目前,针对

运动干预衰变的研究,多数停留在机体各器官系统整体功能方面,缺少针对机体衰变重要表现之一骨骼肌衰变的具体研究,选择形式也以有氧耐力训练为主,对骨骼肌刺激更为明显的负重或抗阻训练的研究较少^[8-9]。

本研究借鉴我们前期的研究成果^[10-11],继续采用基础医学关于衰变研究中常用的 D-半乳糖皮下注射的方法,建立大鼠亚急性骨骼肌衰变模型。在成功造模后,运用大鼠背部捆绑重物的方式施加不同负重,参考相应的训练原则,最终确定了本实验的动物训练方案。

本研究结果表明:与 C6 相比,M6 组大鼠血清 SOD 活力显著降低,血清 MDA 含量显著升高,骨骼肌组织脂褐素含量显著升高,这些都是骨骼肌衰老典型的生化改变,与国内多位学者的研究相一致^[2,12]。以上指标充分说明,本研究成功的复制了大鼠亚急性骨骼肌衰老模型。

SOD 作为有机体内最重要的抗氧化酶之一,在一定程度上反映了机体抗氧化能力和清除自由基的能力;MDA 作为机体脂质过氧化的降解产物,其含量客观地反映机体产生自由基的水平。因此,很多研究将血清 SOD 活力和血清 MDA 含量作为衰老与抗衰老的观测指标之一^[12-14]。脂褐素是机体脂质过氧化产物,其在组织中含量的多少成为判断该组织是否衰老的重要指标^[15]。

本研究的结果显示,12 周实验结束时,M12 组和 OC 组的 SOD 活力、MDA 含量和骨骼肌脂褐素含量都没有显著性差异。提示:进行 6 周的 D-半乳糖皮下注射后,使机体处于衰老的过程中,可以造成大鼠机体内出现自由基产物堆积和代谢紊乱的情况。负重跑训练这种运动干预方式能够逆转上述情况,提高 D-半乳糖衰老大鼠血清中 SOD 活力,降低血清 MDA 含量,提高 SOD/MDA 的比值,降低骨骼肌组织中脂褐素的含量,并且以小负重组表现更为明显。提示:负重跑训练特别是长时间中低强度的负重刺激,可以有效提高机体抗氧化酶的含量和活力,加快自由基的清除,减轻自由基及其产物对大鼠机体的消极影响,一定程度上延缓骨骼肌衰老。

研究表明,骨骼肌组织总蛋白含量的多少可以反映和评价骨骼肌的代谢状况。随着衰变程度的加

深,骨骼肌组织中蛋白代谢速率下降,蛋白质合成代谢率会逐渐低于分解代谢率,出现所谓的“负氮平衡”,最终导致衰老机体中骨骼肌组织总蛋白含量的减少^[16-18]。

本研究6周D-半乳糖皮下注射后,M12组和OC组大鼠骨骼肌组织中总蛋白含量没有显著性差异,这与以往的研究成果基本一致^[11,18]。提示:造模成功后,大鼠已经达到较深的衰老程度,受到自由基和激素等方面的负面影响,使骨骼肌组织代谢功能下降,肌蛋白分解明显大于合成,导致骨骼肌组织总蛋白含量的降低。负重跑训练干预可以有效提高大鼠骨骼肌组织总蛋白的含量,并以小负重组的效果更为明显。提示:中低强度的负重跑训练对骨骼肌刺激更为明显,特别是对骨骼肌组织蛋白代谢过程产生积极影响,在衰老不断加深的过程中,通过不断增强骨骼肌自身的代谢和提高其抗氧化能力,减少自由基及其代谢产物对肌细胞的攻击,促进蛋白质合成代谢而抑制分解代谢,从而达到延缓大鼠骨骼肌衰老进程的目的,但具体的作用机制,尚待研究。

4 结论

6周D-半乳糖皮下注射造模成功后,再进行6周负重跑训练的运动干预,可以有效地延缓D-半乳糖大鼠骨骼肌衰老的进程,以小负重跑训练效果更为明显,并且可能从纠正机体中自由基代谢紊乱、减轻骨骼肌组织氧化应激、促进蛋白质的合成等方面发挥作用。

参考文献

- [1] Edstrom E, Altun M, Hagglund M, et al. Atrogin-1/MAFbx and MuRF1 Are Downregulated in Aging-Related Loss of Skeletal Muscle [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2006,61(7):663—674.
- [2] Johnston AP, De Lisio M, Parise G. Resistance training, sarcopenia and the mitochondrial theory of aging [J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2008, 33(1):191—199.
- [3] 徐智,吴国明,钱桂生等. 大鼠衰老模型的初步建立[J]. *第三军医大学学报*, 2003,25(4): 312—315.
- [4] Bedford TG, Tipion CM, Nilson NC, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedure[J]. *J Appl Physiol*, 1979, 47(6):1278—1283.
- [5] 闫万军. 负重跑训练改善老龄大鼠肌肉丢失的效果与机理[D]. 石家庄: 河北师范大学, 2008.
- [6] 贾华,赵斌,刘丰彬. 冬泳改善老年人学习记忆能力的作用机制[J]. *河北师范大学学报:自然科学版*, 2009,33(3):406—411.
- [7] Sallinen J, Pakarinen A, Fogelholm M, et al. Dietary intake, serum hormones, muscle mass and strength during strength training in 49–73-year-old men [J]. *Int J Sports Med*, 2007,28(12):1070—1076.
- [8] Visser M, Goodpaster BH, Kritchevsky SB, et al. Muscle mass, muscle strength, and muscle fat infiltration as predictors of incident mobility limitations in well-functioning older persons [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2005,60(3):324—333.
- [9] Morley JE. Weight loss in older persons: new therapeutic approaches[J]. *Curr Pharm Des*, 2007,13(35):3637—3647.
- [10] 刘丰彬,段立公. 骨骼肌的再生和骨骼肌卫星细胞相关研究进展[J]. *中国康复医学杂志*, 2006, 21(5): 475—477.
- [11] 刘丰彬,赵斌,闫万军等. 负重训练和补充大豆多肽干预大鼠骨骼肌衰老过程的实验研究 [J]. *天津体育学院学报*, 2010,25(1): 33—37.
- [12] Bejma J, Ji LL. Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle [J]. *J Appl. Physiol*, 1999,87: 465—70.
- [13] 刘霞,路新国. 茶多酚对运动小鼠心肌钙离子、ATP酶及自由基代谢的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2007,22(12):1062—1063.
- [14] 范建中,杨俊峰,陈景藻,等. 加味补阳还五汤对 8Hz 130dB 次声暴露下小鼠过氧化水平及超微结构的影响 [J]. *中国康复医学杂志*, 2007,22(4):296—298.
- [15] Brunk UT, Terman A. Lipofuscin: mechanisms of age-related accumulation and influence on cell function [J]. *Free Radic Biol Med*, 2002,33(5):611—619.
- [16] Karakelides H, Nair Ks. Sarcopenia of aging and its metabolic impact[J]. *Curr Top Dev Biol*, 2005,68:123—148.
- [17] Morley J, Baumgartner R, Roubenoff R, et al. Sarcopenia[J]. *J Lab Clin Med*, 2001,137(4):231—243.
- [18] Paddon-Jones D. Interplay of stress and physical inactivity on muscle loss: nutritional counter measures [J]. *J Nut*, 2006,136(8):2123—2126.