

高强度间歇游泳训练对衰老小鼠骨骼肌蛋白质合成的影响研究*

尤莉蓉¹ 赵艳² 夏志^{2,3}

摘要

目的:探讨高强度间歇训练对衰老小鼠快缩骨骼肌蛋白质合成的影响。

方法:16月龄雄性C57BL/6小鼠,20只据体重随机纳入对照组(C组)与高强度间歇运动干预组(CE组)。CE组小鼠每周一至周五晚七点进行高强度间歇训练,为期8周。训练时小鼠在尾根绑缚相当于10%体重的负荷,游泳20s后休息10s,重复4组。每周增加1组训练,第8周时每次训练12组。实验前及训练后第2、4、6、8周的周日采用抓握力计测定肌力。末次训练24h后处死全部小鼠,同位素示踪法测定腓肠肌蛋白质合成率,Bradford法测定总蛋白、肌原纤维与肌浆蛋白浓度,Western blotting法检测mTOR^{Ser2448}、4E-BP1^{Thr37/46}与p70S6K^{Thr389}磷酸化率及MHC II蛋白表达。

结果:8周高强度间歇训练导致腓肠肌蛋白质合成率、肌原纤维、肌浆蛋白含量及蛋白质总量增加,mTOR^{Ser2448}、p70S6K^{Thr389}及4E-BP1^{Thr37/46}磷酸化率与MHC II蛋白表达均升高,后肢抓握力亦有增长,且变化均具有显著性意义($P=0.000$)。

结论:高强度间歇训练能够显著促进衰老小鼠腓肠肌骨骼肌蛋白质合成,并最终导致肌力增长,具有干预衰老性肌肉萎缩的潜力,其作用机理涉及骨骼肌内mTOR^{p70S6K}/4E-BP1的活化。

关键词 高强度间歇训练;衰老;骨骼肌;蛋白质合成

中图分类号:R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2019)-01-0027-07

Effects of high-intensity interval swimming exercise training on protein synthesis in aging skeletal muscle of aged mice/YOU Lirong,ZHAO Yan,XIA Zhi,et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2019, 34 (1): 27—33

Abstract

Objective: To explore the protective effect and mechanism of regularly high-intensity interval training on protein synthesis in fast-twitch skeletal muscle of aging mice.

Method: Twenty sixteen-month-old male C57/BL mice were randomly divided into control group and high-intensity interval training group by body weight. Mice in training group received 8 wks incremental swimming exercise training from Monday to Friday. These CE group mice repeated 4 sets of 20 seconds swimming at 10 seconds intervals with a workload of 10% body weight attached to the tails. The training sets were increased by 1 set per wk, with the last wk having 12 sets. The grip strength was measured pre-study, and on Sunday of the second, fourth, sixth and eighth week post-intervention by using grip strength meter. Twenty four hours post the final exercise bout, mice were all sacrificed. The protein synthesis rate was measured using isotopic tracing. The total protein, myofibrillar protein and sarcoplasmic protein concentration in gastrocnemius muscles were detected by commercial Bradford protein assay kit. The phosphorylation rate of mTOR^{Ser2448}, p70S6K^{Thr389}, 4E-BP1^{Thr37/46} and the protein expression of MHC II were determined by using the Western blotting. The muscle strength was measured by the grip strength meter.

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2019.01.007

*基金项目:江西省教育厅科技计划项目(GJJ160738)

1 长江大学体育学院,荆州,434023; 2 井冈山大学体育学院; 3 通讯作者

作者简介:尤莉蓉,女,硕士研究生,讲师; 收稿日期:2017-03-14

Result: When compared with mice in control group, 8 wks high-intensity interval training increased the protein synthesis rate, the total, myofibrillar and sarcoplasmic protein content ($P=0.000$), and elevated the phosphorylation rate of $mTOR^{Ser2448}$, $p70S6K^{Thr389}$, $4E-BP1^{Thr37/46}$, the protein expression of MHC II and the hind limb grip strength with statistical significance ($P=0.000$).

Conclusion: High-intensity interval training significantly promotes protein synthesis in gastrocnemius muscles of aging mice and finally leads to the elevated muscle strength. The $mTOR^{p70S6K}/4E-BP1$ pathway contributes to this effect. It's reasonable to believe that high-intensity interval training has the potential to treat the sarcopenia.

Author's address School of Physical Education Yangtze University, Jingzhou, Hubei Province, 434023

Key word high-intensity interval training; aging; skeletal muscle; protein synthesis

骨骼肌随年龄增长而出现进行性萎缩,并随衰老进程的发展而逐渐加剧^[1]。尽管这一现象是可由体力活动减少、内分泌紊乱等多种因素所诱发^[2-3],但近年来的研究表明,骨骼肌蛋白质平衡的紊乱才是其发生与发展的直接原因,且主要表现为蛋白质合成的减少^[2,4]。

运动是骨骼肌蛋白质合成的有力刺激因素。一直以来学界将抗阻运动视为诱导衰老骨骼肌蛋白质合成的重要手段,且越来越多的学者发现,有氧运动同样可以导致蛋白质合成的增加^[5],而我们前期的研究亦佐证了这一观点^[6]。近来,有零星研究认为高强度间歇训练(high-intensity interval training, HIIT)亦可产生类似效果,具有改善骨骼肌肌病的潜力^[7-8]。但其对衰老骨骼肌的长期干预效果究竟如何?能否通过促进骨骼肌蛋白质合成而最终导致功能改善?其可能涉及的作用机制又如何?目前均不明确。基于这一考虑,本研究拟对衰老小鼠施加HIIT干预,从骨骼肌蛋白质合成率、蛋白质含量、II型肌球蛋白重链(MHC II)与 $mTOR^{p70S6K}/4E-BP1$ 通路蛋白功能表达变化分别直接和间接评价其对骨骼肌蛋白质合成的作用,以最大抓握力量变化评价其骨骼肌功能改善作用。一方面证实衰老骨骼肌是否仍然具有响应HIIT等运动刺激的蛋白质合成能力;另一方面则为发展可增加肌肉质量和功能的运动处方提供更多参考性依据。

1 材料与方法

1.1 动物与分组

16月龄SPF级C57BL/6雄性小鼠20只,体重46.7—49.3克,单笼饲养,自由摄食饮水,采用区间

分组法据体重随机纳入空白对照组(C)与高强度间歇训练组(CE),每组10只。

1.2 训练方案

训练参考Takeda等报道的方案而略作修改^[9]。CE组小鼠于每周一至五晚七点进行训练,周六与周日休息,为期8周。训练采用游泳方式以减少应激。训练在 $100\text{cm}\times 70\text{cm}\times 60\text{cm}$ 的玻璃泳缸中进行,水温 $30\pm 2^\circ\text{C}$,水深约35cm。训练时专人负责进行监控,若小鼠出现漂浮和“集团游泳”现象则进行驱赶,迫使其持续游泳。训练为递增强度运动模式,第1周训练时小鼠在尾根绑缚相当于10%体重的铅皮,以不影响尾巴摆动和局部血供为度,游泳20s后休息10s,重复4组。每周增加1组训练,第8周时每次训练12组。

1.3 取材

CE组小鼠末次训练后24h,全部小鼠以 80mg/kg.bw 剂量腹腔注射苯巴比妥钠麻醉后处死,期间禁食6h以减少末次进食时间差异的影响。迅速完整分离腓肠肌,剥尽筋膜,生理盐水清洗血液与毛发,滤纸吸干后称重。 -80°C 冻存待测。

1.4 主要仪器与试剂

主要仪器:MultiSkan3型酶标仪购自Thermo公司;电泳仪购自Bio-Rad公司;Mini P-4电泳槽购自北京凯元公司;YLS-13A大小鼠抓握力计购自济南益延科技公司。主要试剂:L-[3H]-Phe购自PerkinElmer公司(货号NET1122);Bradford蛋白浓度测定试剂盒购自碧云天公司(货号P0006); $mTOR^{Ser2448}$ (货号5536S、2983S)、 $p70S6K^{Thr389}$ (货号2708S、9234S)、 $4E-BP1^{Thr37/46}$ (货号2855S、9644S)的蛋白总量与磷酸化表达一抗均购自Cell Signaling

公司,快缩肌球蛋白重链 MHC II (货号 Ab51263) 一抗购自 Abcam 公司;HRP-标记二抗(货号 111-035-003、115-035-003)均购自 Jackson 公司;蛋白 marker (货号 SM6210) 购自 Fermentas 公司;ECL Plus(货号 WBKLS0010)购自 Millipore 公司。

1.5 主要测试方法

蛋白质合成率参考 Vary 等^[10]的报道进行测定,将待测肌样置于 Krebs-Henseleit 缓冲液中于 37℃ 孵育 30min,持续搅拌并以 95% O₂ 和 5% CO₂ 进行处理。加入 5 μCi L-[3H]-苯丙氨酸/ml 同位素作为示踪剂,去除气体处理后继续孵育 2h。将肌样在 30% TCA 中匀浆并以 4℃、100,000×g 转速离心 10min,收集沉淀物在 10% TCA 中清洗后,在 1N NaOH 中制成悬浊液并测定蛋白含量。总β射线放射性于液闪仪上用β计数器测定。

肌原纤维蛋白与肌浆蛋白含量参考 Koopman 等^[11]的报道进行测定,肌样在 5% 预冷缓冲液中匀浆,缓冲液含 0.25 M 蔗糖、2mM EDTA 与 10mM pH 为 7.4 的 Tris-HCl,匀浆以 600×g 转速离心 20min,收集含肌原纤维蛋白的沉降物。上清于 4℃ 以 100,000×g 转速离心 60min 分离肌浆蛋白,Bradford 法分别进行蛋白定量。

蛋白表达采用 Western Blotting 法进行分析,抽提蛋白后 Bradford 法定量。检验方法参照我们的前期报道^[6,12-13],取 100mg 腓肠肌加入蛋白提取试剂 500ul,肌样剪成 1—2mm³ 碎粒后匀浆,吸取混悬液于 4℃ 以 10,000×g 离心 20min 取上清。Bradford 法蛋白定量后以每次上样 120μg 的标准进行分装,PBS 补足 20μl。加入 5X 蛋白上样缓冲液 5μl 后变性 10min。配置 5% 浓缩胶与 15% 分离胶,浓缩胶 80V 恒压 30—40min,分离胶 120V 恒压,溴酚蓝至板底后停止。湿转法转膜,恒流 300mA,转膜时间根据目的蛋白分子量大小与实际情况进行相应调整。其中 MHC II 总量表达的转膜时间为 2.5h,稀释比 1:3000;mTOR 总量与 Ser2448 位点磷酸化表达转膜时间为 2h,稀释比 1:1000;P70S6K 总量与 Thr389 位点磷酸化表达转膜时间为 1h,稀释比分别为 1:2000 和 1:500;4E-BP1 总量与 Thr37/46 位点磷酸化表达转膜时间为 0.5h,稀释比为 1:1000。

实验前测定小鼠后肢抓握力,训练后第 2、4、6、

8 周的周日进行重复测量。测试前,用塑料管套住小鼠前肢使其不能用前肢抓握,此后提起小鼠尾尖使其后肢抓紧测力板上的金属栏,并缓慢水平向后拉动直至其同时松开双侧后肢,记录显示器上的数值,所测得肌力用克表示。每只小鼠重复测定 10 次,记录最大值^[14]。

1.6 统计学分析

所有数据均采用 SPSS 13.0 进行统计分析。行独立样本 *t* 检验进行各指标组间比较,差异据方差齐性选择相应 *P* 值判断。小鼠抓握力时程变化则采用重复测量方差分析进行统计。所有数据均以均值±标准差形式表示,*P* 值小于 0.05 时认为差异具有显著性意义。

2 结果

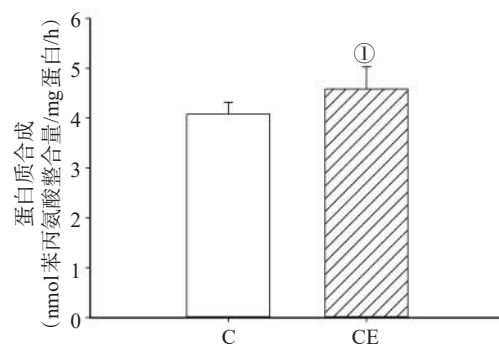
2.1 HIIT 对骨骼肌蛋白质合成率的影响

合成率采用每毫克沉淀蛋白每小时所结合的苯丙氨酸 nmol 数表示。见图 1,8 周 HIIT 游泳训练后衰老小鼠腓肠肌蛋白总量增加 12.3% ($F=2.407$, $df=18.000$, $t=-3.145$, $P=0.006$),组间差异具有显著性意义。

2.2 HIIT 对骨骼肌蛋白质总量、肌原纤维与肌浆蛋白含量的影响

蛋白含量均采用毫克蛋白/克湿肌重表示。见图 2-A,8 周训练干预后衰老小鼠腓肠肌蛋白总量增加 17.9% ($F=0.566$, $df=18.000$, $t=-4.435$, $P=0.000$),组间差异具有显著性意义。图 2-B 与 2-C,CE 组小鼠肌原纤维蛋白增幅为 39.9% ($F=0.537$, $df=18.000$, $t=-8.569$, $P=0.000$),肌浆蛋白增幅为 30.0% ($F=$

图 1 HIIT 对衰老小鼠腓肠肌蛋白质合成率的影响



①与 C 组比较, $P<0.01$; C 组:空白对照组; CE 组:高强度间歇训练组

1.153, $df=18.000$, $t=-10.706$, $P=0.000$), 增幅均具有显著性意义。

2.3 HIIT对促蛋白质合成信号通路蛋白表达的影响

图3A, CE组mTOR^{Ser2448}磷酸化率较C组上调, 由于数据不满足方差齐性条件, 故采用自动校正后的结果: $F=12.632$, $df=5.000$, $t=-8.434$, $P=0.000$, 认为组间差异具有显著性意义。如图3B, CE组4E-BP1^{Thr37/46}磷酸化水平同样较C组上调, 变化亦具有显著性意义 ($F=15.542$, $df=5.000$, $t=-9.396$, $P=0.000$)。如图3C所示, CE组p70S6K^{Thr389}蛋白磷酸化率较C组升高, 且具有显著性意义 ($F=8.267$, $df=5.000$, $t=-7.348$, $P=0.001$)。就MHC II蛋白表达而言, CE组亦较C组增高, 增幅具有显著性意义 ($F=13.943$, $df=5.000$, $t=-8.491$, $P=0.000$)。

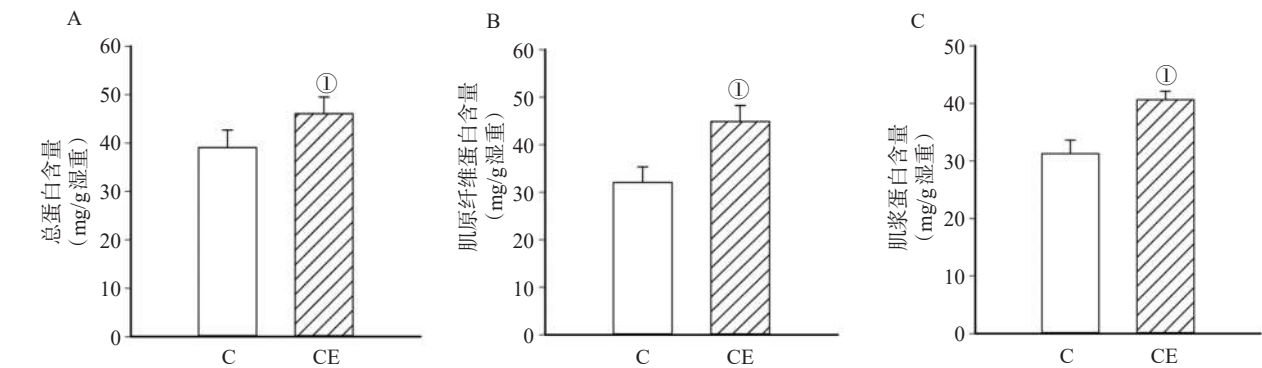
2.4 HIIT对衰老小鼠肌力的影响

图4, C组小鼠抓握力在整个研究周期内呈下降趋势, 直至第8周时最大抓握力较研究前产生了具有显著性意义的差异 (121.5 ± 13.1 vs 116.6 ± 14.6 , $P=0.022$), 而CE组小鼠经过HIIT训练干预之后肌力呈相反变化趋势, 末次抓握力较研究前的增长幅度亦具有显著性意义 (120.5 ± 12.0 vs 130.0 ± 11.8 , $P=0.000$)。就各时点组间差异而言, 第8周时两组小鼠的最大抓握力亦产生了具有显著性意义的组间差异 (116.6 ± 14.6 vs 130.0 ± 11.8 , $P=0.000$)。

3 讨论

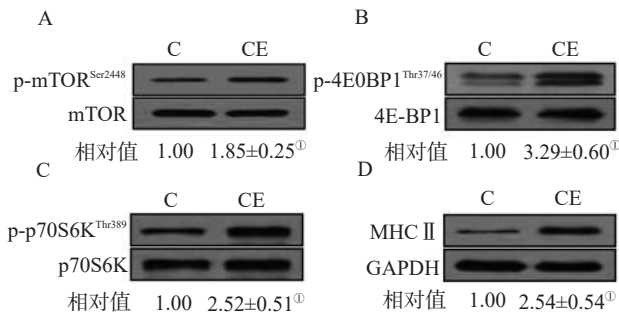
鼠类啮齿动物是老年医学领域最为常用的动物种属, 其中小鼠平均寿命较大鼠更短且进入老年期时间相对较早, 从而在相关研究中应用广泛。大鼠与人体寿命之间的换算及其成年、老年期判断目前已有明确的计算方法^[15-16]。但就小鼠的各阶段分期

图2 HIIT对衰老小鼠腓肠肌蛋白总量、肌原纤维与肌浆蛋白含量的影响



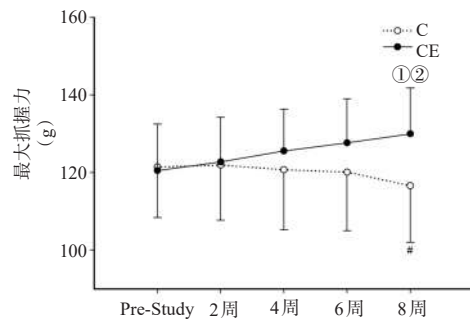
①与C组比较, $P<0.01$; C组: 空白对照组; CE组: 高强度间歇训练组

图3 HIIT对衰老小鼠腓肠肌蛋白质合成相关通路蛋白表达的影响



注: ①与C组比较 $P<0.01$; C组: 空白对照组; CE组: 高强度间歇训练组

图4 HIIT对衰老小鼠最大抓握力的影响



注: ①与C组比较 $P<0.01$; ②与实验前比较 $P<0.01$; C组: 空白对照组; CE组: 高强度间歇训练组

而言,迄今仍无定论。我国学者施新猷^[17]认为小鼠寿命约为24个月,其16月龄相当于人类65岁,属老年期范围。而著名实验室The Jackson Laboratory的数据则指出,小鼠寿命最长可达36月龄,其50%生存率约在28月龄,从而将10—14月龄定义为中年期,18—24月龄定义为老年期。根据我们的前期研究经验,小鼠在10—12月龄即可出现骨骼肌萎缩性变化,至15月龄时则出现显著性萎缩病变如核中移、肌纤维圆形化等^[12]。因此,16月龄小鼠作为衰老动物在学习记忆、免疫、神经机能及骨骼肌变化等研究领域已有广泛应用^[18-19]。

人体骨骼肌质量从40—80岁期间可下降30%—50%^[20],同时伴随着显著功能下降,这一现象被称为衰老性肌萎缩(age-related sarcopenia, ArS),在老龄人群中其流行性可高达33.6%^[21]。ArS在不同性别人群中的流行性仍有争议^[22],目前多认为老龄男性人群的骨骼肌质量衰减率更为明显,且这一差异并非仅因男性初始骨骼肌量相对更大所致^[23]。骨骼肌是人体运动系统的动力来源,骨骼肌的减少及肌力下降将使人体难以维持基本的身体姿态并完成运动,增加老人跌倒、残疾甚至死亡的风险,严重影响其身心健康与生存质量。截止2014年底,我国65岁以上人口占比已达10.1%,早已步入老龄化社会^[24]。随老龄人口日益增加,衰老性骨骼肌萎缩带来的社会经济问题日趋严重:据目前有限的可考数据,2000年美国在衰老性骨骼肌萎缩防治方面的医疗成本即已高达185亿美元,占当年总成本1.5%,若能将其发生率降低10%则每年至少可节省11亿美元^[25]。而近年来的研究亦发现,衰老性骨骼肌萎缩与患者大型手术费用及住院费用的增长直接相关^[26-27]。因此,采用针对性策略有效控制其发生与发展对于促进“健康老龄化”,提高老龄人群生存率,减轻衰老性骨骼肌萎缩造成的社会与经济压力具有重要意义,同时也将是《全民健身计划(2016—2020年)》和《“健康中国”2030规划》顺利推行的重要助力。

衰老性骨骼肌萎缩的发病机制复杂,可由包括营养状态、缺乏体力活动和/或运动、自由基攻击、慢性炎症及内分泌功能改变在内的多种因素所导致^[2-3]。然而,必须要强调的是,蛋白质平衡紊乱才是导致骨

骼肌萎缩的根本原因^[2,4],可能是蛋白质合成率下降、降解率升高或两者共同作用的结果^[28-29]。不同类型骨骼肌萎缩的机制存在差异,如恶病质骨骼肌萎缩主要表现为蛋白质降解的异常增多;而就衰老性骨骼肌萎缩而言,尽管炎性介质活化的泛素-蛋白酶体途径可导致骨骼肌蛋白质降解,但其发生与发展仍主要由蛋白质合成减少所致^[30]。

如ACSM与AMA所倡导的“Exercise is medicine”理念所言,运动带来的健康收益极为显著,现实中运动亦常作为二级预防手段而用于多种慢病干预^[31]。有学者甚至将运动称作“Polypill-多效药物”,视为对抗肌肉萎缩及功能下降最为有效的手段^[32]。其中有氧训练的优势侧重于抗炎效应^[33],但亦可削弱炎性因子所致泛素-蛋白酶体途径活化及对蛋白质合成的抑制,诱导肌肉肥大^[5,28];抗阻训练则在促进蛋白质合成和抑制分解方面均具有良好作用,同时亦有减少炎性细胞因子的效果,并可经此途径不断强化其促蛋白质合成效应^[33-34];近年来的零星研究显示,HIIT较单纯有氧或抗阻训练而言可能导致更为显著的蛋白质正性平衡、骨骼肌肥大及功能促进^[35-36]。

本研究中观察到,经过8周HIIT后无论是肌原纤维、肌浆蛋白质含量还是蛋白质总量均有显著增长,蛋白质合成率增高,直接反映了腓肠肌内蛋白质合成的促进,与Bell^[35]和Tsitkanou^[36]所报道的研究结果一致。骨骼肌是机体的重要蛋白池,拥有机体总量蛋白的50%—75%储备,受到肌肉蛋白质合成与降解平衡的动态调节,保持这一平衡对于预防萎缩、维护代谢健康至关重要^[37]。如前所述,ArS的重要特点与关键诱因即在于蛋白质合成的减少,腓肠肌蛋白质合成率的增加以及蛋白质总量与肌原纤维、肌浆蛋白含量的增多表明HIIT干预具有延缓与改善ArS的重要潜力。

如前所述,衰老性骨骼肌萎缩变化主要发生于快缩型骨骼肌内。骨骼肌收缩表型及纤维类型主要由肌球蛋白重链MHC亚型I、IIa和IIx的相对表达所决定^[38],因此腓肠肌内MHCII的表达变化亦从一定程度反映了蛋白质合成的改变。本研究发现,所施加的HIIT干预诱使衰老小鼠腓肠肌MHCII表达显著上调,佐证了HIIT的促骨骼肌蛋白质合成潜力。

衰老骨骼肌蛋白质合成的调节机制亦以mTORC1为中心,主要经Akt依赖途径发挥作用。合成代谢刺激,尤其是运动训练可经mTOR介导调节这一过程。由此可见,蛋白质合成减少直接导致衰老性骨骼肌萎缩的发生与发展,针对这一关键因素给予特异性干预,可能是防治衰老性骨骼肌萎缩的有效途径^[28]。mTOR是mTORC1复合物的核心,其介导的信号转导通路直接控制翻译的起始与延伸,因此在蛋白质合成调节方面发挥重要作用,特异性阻断mTOR的功能表达甚至会抑制95%的适应性肌肉肥大效应^[39]。mTOR下游靶标蛋白在蛋白质合成调节过程中亦发挥调节作用,其中p70S6K将磷酸化rPS6,进而控制5'端含末端寡聚嘧啶的一类mRNAs的翻译效率。4E-BP1的磷酸化则促进了eIF4F的装配,对于帽依赖性翻译的起始具有关键作用。因此,就骨骼肌蛋白质合成而言,mTOR-p70S6K/4E-BP1信号通路的活化亦被视为蛋白质合成促进的间接表现。本研究中观察到,HIIT导致了mTOR^{Ser2448}、p70S6K^{Thr389}与4E-BP1^{Thr37/46}磷酸化表达的显著上调,从而间接表明了衰老小鼠腓肠肌骨骼肌蛋白质合成的增强,而且亦提示该通路在HIIT促进衰老骨骼肌蛋白质合成过程中具有重要作用。但是,mTOR的上游调节子仍需进一步研究以明确。

肌肉力量是评价骨骼肌功能的重要指标。长期以来,抗阻运动被视为促进肌力增长的最佳手段,但HIIT对于衰老机体肌力的作用研究却并不多见。在有限的可考文献线索中,Tsitkanou等^[36]让22例青年男性分别进行8周抗阻运动以及抗阻联合高强度间歇踏车运动,每周训练2次,结果发现被试的腿举与半蹲1RM值及下肢最大等长肌力均出现显著增长。Botonis等^[40]让两组水球运动员分别进行4组4min大强度自由泳或16组100m跑训练,8周干预后发现力量水平分别增长了14%和19%。而Bruseghini等给12例健康老年人(68±4岁)进行为期8周的HIIT踏车训练和腿举力量训练,结果发现HIIT未能像腿举一样造成显著的肌力增长^[41]。此前Hotta采用相同踏车HIIT方案对成年人废用性肌萎缩进行20d干预亦观察到了类似的结果^[42]。尽管如此,本研究却观察到了训练小鼠后肢抓握力的显著

增长,与Tsitkanou^[36]和Botonis^[40]报道的结果一致。笔者认为研究结果产生差异的原因主要在于所施加的干预周期及运动方式:Bruseghini与Hotta均采用了踏车运动且干预时间均较短,本研究虽然亦仅进行8周训练,但较小鼠生命周期而言无疑是更为显著的“慢性干预”。此外,Buckley等采用整合多种运动形式的多模式HIIT对成年女性进行干预则发现被试深蹲(39%)、卧推(27%)和硬拉力量(18%)均有显著提高,亦佐证了HIIT增强肌肉功能的潜力^[43]。

4 小结

HIIT能够上调衰老骨骼肌mTOR-p70S6K/4E-BP1通路功能表达及MHCII相对表达,促进骨骼肌内蛋白质合成,且衰老骨骼肌依然具有响应运动训练刺激的蛋白质合成能力,因此在预防和延缓衰老性骨骼肌萎缩的发生与发展过程中具有重要潜力。但是,HIIT活化mTOR-p70S6K/4E-BP1信号转导通路的具体途径,不同训练强度与间歇时间所产生的不同影响,目前仍不清楚,亟待进一步研究。

参考文献

- [1] Nilwik R, Snijders T, Leenders M, et al. The decline in skeletal muscle mass with aging is mainly attributed to a reduction in type II muscle fiber size[J]. *Exp Gerontol*, 2013, 48(5): 492—498.
- [2] 夏志, 赵艳, 尚画雨, 等. 衰老个体骨骼肌蛋白质代谢相关问题[J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(14): 3604—3607.
- [3] Marzetti E, Calvani R, Tosato M, et al. Sarcopenia: an overview[J]. *Aging Clin Exp Res*, 2017, 29(1):11—17.
- [4] Murtion AJ. Muscle protein turnover in the elderly and its potential contribution to the development of sarcopenia[J]. *Proc Nutr Soc*, 2015, 74(4): 387—396.
- [5] Bacurau AV, Jannig PR, de Moraes WM, et al. Akt/mTOR pathway contributes to skeletal muscle anti-atrophic effect of aerobic exercise training in heart failure mice[J]. *Int J Cardiol*, 2016, 214: 137—147.
- [6] Xia Z, Cholewa J, Zhao Y, et al. Hypertrophy-Promoting Effects of Leucine Supplementation and Moderate Intensity Aerobic Exercise in Pre-Senescent Mice[J]. *Nutrients*, 2016, 8(5): E246.
- [7] Tzanis G, Philippou A, Karatzanos E, et al. Effects of High-Intensity Interval Exercise Training on Skeletal Myopathy of Chronic Heart Failure[J]. *J Card Fail*, 2017, 23(1): 36—46.
- [8] Zembron-Lacny A, Dziubek W, Rogowski L, et al. Sarcopenia: monitoring, molecular mechanisms, and physical intervention [J]. *Physiol Res*, 2014, 63(6): 683—691.
- [9] Takeda K, Takemasa T. Expression of ammonia transporters Rhbg and Rhcg in mouse skeletal muscle and the effect of 6-week training on these proteins[J]. *Physiol Rep*, 2015, 3(10): e12596.

- [10] Vary TC, Dardevet D, Grizard J, et al. Differential regulation of skeletal muscle protein turnover by insulin and IGF-I after bacteremia[J]. *Am J Physiol*, 1998, 275(4 Pt 1): E584—593.
- [11] Koopman R, Gehrig SM, Leger B, et al. Cellular mechanisms underlying temporal changes in skeletal muscle protein synthesis and breakdown during chronic β -adrenoceptor stimulation in mice[J]. *J Physiol*, 2010, 588(Pt 23): 4811—4823.
- [12] 夏志, 赵艳, 尚画雨, 等. 膳食补充亮氨酸可通过抑制泛素-蛋白酶体削弱增龄小鼠骨骼肌萎缩[J]. *体育科学*, 2015, 35(6): 49—56.
- [13] 熊伟平, 夏志. 有氧运动促进老年前期小鼠快缩型骨骼肌蛋白质合成代谢的研究[J]. *中国康复医学杂志*, 2016, 31(12): 1311—1317.
- [14] Lee JD, Kamaruzaman NA, Fung JN, et al. Dysregulation of the complement cascade in the hSOD1G93A transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis[J]. *J Neuroinflammation*, 2013, 10(1): 119.
- [15] Andreollo NA, Santos EF, Araujo MR, et al. Rat's age versus human's age: what is the relationship? [J]. *Arq Bras Cir Dig*, 2012, 25(1): 49—51.
- [16] Quinn R. Comparing rat's to human's age: how old is my rat in people years?[J]. *Nutrition*, 2005, 21(6): 775—777.
- [17] 施新猷. 现代医学实验动物学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2000.
- [18] Peterson RL, Parkinson KC, Mason JB. Manipulation of Ovarian Function Significantly Influenced Sarcopenia in Postreproductive- Age Mice[J]. *J Transplant*, 2016, 2016: 4570842.
- [19] Sawaengsri H, Wang J, Reginaldo C, et al. High folic acid intake reduces natural killer cell cytotoxicity in aged mice[J]. *J Nutr Biochem*, 2016, 30: 102—107.
- [20] Patel HP, Syddall HE, Jameson K, et al. Prevalence of sarcopenia in community-dwelling older people in the UK using the European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) definition: findings from the Hertfordshire Cohort Study (HCS) [J]. *Age Ageing*, 2013, 42(3): 378—384.
- [21] Denison HJ, Cooper C, Sayer AA, et al. Prevention and optimal management of sarcopenia: a review of combined exercise and nutrition interventions to improve muscle outcomes in older people [J]. *Clin Interv Aging*, 2015, 10: 859—869.
- [22] Tay L, Ding YY, Leung BP, et al. Sex-specific differences in risk factors for sarcopenia amongst community-dwelling older adults[J]. *Age (Dordr)*, 2015, 37(6): 121.
- [23] Payette H, Roubenoff R, Jacques PF, et al. Insulin-like growth factor-1 and interleukin 6 predict sarcopenia in very old community-living men and women: the Framingham Heart Study[J]. *J Am Geriatr Soc*, 2003, 51(9): 1237—1243.
- [24] 刘长庭. 中华老年医学会呼吸病学组发展24年回顾及老年呼吸病学部分进展[J]. *中华保健医学杂志*, 2016, 18(3): 179—182.
- [25] Janssen I, Shepard DS, Katzmarzyk PT, et al. The health-care costs of sarcopenia in the United States[J]. *J Am Geriatr Soc*, 2004, 52(1): 80—85.
- [26] Friedman J, Lussiez A, Sullivan J, et al. Implications of sarcopenia in major surgery[J]. *Nutr Clin Pract*, 2015, 30(2): 175—179.
- [27] Sousa AS, Guerra RS, Fonseca I, et al. Financial impact of sarcopenia on hospitalization costs[J]. *Eur J Clin Nutr*, 2016, 70(9): 1046—1051.
- [28] Budui SL, Rossi AP, Zamboni M. The pathogenetic bases of sarcopenia[J]. *Clin Cases Miner Bone Metab*, 2015, 12(1): 22—26.
- [29] Konopka AR, Harber MP. Skeletal muscle hypertrophy after aerobic exercise training[J]. *Exerc Sport Sci Rev*, 2014, 42(2): 53—61.
- [30] Cohen S, Nathan JA, Goldberg AL. Muscle wasting in disease: molecular mechanisms and promising therapies[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2015, 14(1): 58—74.
- [31] Coombes JS, Law J, Lancashire B, et al. "Exercise is Medicine": curbing the burden of chronic disease and physical inactivity[J]. *Asia Pac J Public Health*, 2015, 27(2): NP600—605.
- [32] Pareja-Galeano H, Garatachea N, Lucia A. Exercise as a Polypill for Chronic Diseases[J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2015, 135: 497—526.
- [33] Della Gatta PA, Garnham AP, Peake JM, et al. Effect of exercise training on skeletal muscle cytokine expression in the elderly[J]. *Brain Behav Immun*, 2014, 39: 80—86.
- [34] Lira FS, Antunes Bde M, Seelaender M, et al. The therapeutic potential of exercise to treat cachexia[J]. *Curr Opin Support Palliat Care*, 2015, 9(4): 317—324.
- [35] Bell KE, Seguin C, Parise G, et al. Day-to-Day Changes in Muscle Protein Synthesis in Recovery From Resistance, Aerobic, and High-Intensity Interval Exercise in Older Men [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2015, 70(8): 1024—1029.
- [36] Tsitkanou S, Spengos K, Stasinaki AN, et al. Effects of high-intensity interval cycling performed after resistance training on muscle strength and hypertrophy[J]. *Scand J Med Sci Sports*, 2016, [Epub ahead of print].
- [37] Lamon S, Zacharewicz E, Arentson-Lantz E, et al. Erythropoietin does not enhance skeletal muscle protein synthesis following exercise in young and older adults[J]. *Front Physiol*, 2016, 7: 292.
- [38] Bottinelli R. Functional heterogeneity of mammalian single muscle fibres: do myosin isoforms tell the whole story?[J]. *Pflugers Arch*, 2001, 443(1): 6—17.
- [39] Bodine SC, Stitt TN, Gonzalez M, et al. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo[J]. *Nat Cell Biol*, 2001, 3(11): 1014—1019.
- [40] Botonis PG, Toubekis AG, Platanou TI. Concurrent Strength and Interval Endurance Training in Elite Water Polo Players [J]. *J Strength Cond Res*, 2016, 30(1): 126—133.
- [41] Bruseghini P, Calabria E, Tam E, et al. Effects of eight weeks of aerobic interval training and of isoinertial resistance training on risk factors of cardiometabolic diseases and exercise capacity in healthy elderly subjects[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(19): 16998—17015.
- [42] Hotta N, Ishida K, Sato K, et al. The effect of intense interval cycle-training on unloading-induced dysfunction and atrophy in the human calf muscle[J]. *J Physiol Anthropol*, 2011, 30(1): 29—35.
- [43] Buckley S, Knapp K, Lackie A, et al. Multimodal high-intensity interval training increases muscle function and metabolic performance in females[J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2015, 40(11): 1157—1162.