

·运动人体科学·

不同运动强度对肾上腺原癌基因 C - fos 蛋白表达的作用

郭林¹, 曹建民², 田敏³, 徐晓阳⁴, 王琳², 周铁民²

(1. 山东师范大学 体育学院, 山东 济南 250014; 2. 北京体育大学 北京 100084;

3. 山东体育学院 山东 济南 250014; 4. 华南师范大学 体育科学学院 广东 广州 510631)

摘 要 通过观察在3种不同运动强度下,大鼠肾上腺原癌基因 C - fos 蛋白表达的变化、尿总蛋白(TP)排泄率的变化和相互关系,研究运动强度对肾上腺 C - fos 蛋白表达的影响,以及 C - fos 蛋白表达的变化在运动性疲劳、恢复及机能评定中的意义。结果表明,运动强度越大,肾上腺 C - fos 蛋白表达增加也大,且运动后恢复期恢复时间越长,肾上腺 C - fos 蛋白表达量越大。研究中第4次 C - fos 表达测定都比第一次测定显著升高($P < 0.05$)。在尿 TP 排泄率早已恢复的情况下,代表肾上腺结构、机能状态的 C - fos 表达却持续升高,表明利用肾上腺 C - fos 蛋白表达来进行运动性疲劳、恢复的判断及机能评定时,应注意肾上腺 C - fos 蛋白表达的时间特性。

关键词 肾上腺; C-fos 蛋白; 尿 TP; 运动强度

中图分类号: G804.7 文献标识码: A 文章编号: 1006-7116(2002)03-0033-03

Effects of different exercise intensities on the expression of adrenal gland C - fos protein in rats

GUO Lin¹, CAO Jian-min², TIAN Min³, XU Xiao-yang⁴, WANG Lin², ZHOU Tie-min²

(1. Institute of Physical Education Shandong Teachers University, Jinan 250014, China; 2. Beijing University of Physical Education, Beijing 100084, China; 3. Shandong Institute of Physical Education, Jinan 250014, China;

4. Institute of Physical Education, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract This research was designed to observe the changes of expression of adrenal gland C - fos protein, excretion rate of urinary TP and its relation, and to study the influence of exercise intensity on the expression of adrenal gland C - fos protein, as well as the significance in the judgment of sports fatigue, recovery and function evaluation. The results indicated that the higher exercise intensity and longer recovery period after exercise, the higher increase in the expression of adrenal gland C - fos. The expression increased more significantly at the 4th test than it at 1st test among the three groups ($P < 0.05$). On the condition of the recovery of urinary TP excretion rate, the C - fos which representing the structure and function of adrenal gland still increased. It indicated attention must be paid to the time profile of the C - fos expression when the expression of adrenal gland C - fos was used to judge sports fatigue, recovery and function evaluation.

Key words exercise intensity; C - fos; urinary TP; adrenal gland

原癌基因是一类广泛存在于原核细胞和真核细胞基因组内高度保守的基因,原癌基因及其表达的蛋白产物不仅参与细胞的正常生长、分化过程,而且作为核内信使参与细胞内的信息传递过程。C - fos 作为原癌基因家族中即刻早期基因家族的成员,一些伤害刺激如疼痛刺激、电刺激可以引起 C - fos 蛋白的表达,即伤害性刺激可引起 C - fos 蛋白的表达,从而显示伤害性刺激对细胞的影响^[1]。不适宜的运动可导致运动性疲劳,此作为一种伤害性刺激对 C - fos 蛋白表

达的影响是应该存在的。肾上腺在机体运动及疲劳的产生上发挥着重要的作用,其分泌的激素能促使机体产生“应激反应”及调节机体蛋白质的分解与合成代谢,影响着运动性疲劳的产生^[2,3]。所以本研究旨在通过观察在不同的运动强度下,肾上腺原癌基因 C - fos 蛋白表达的变化及尿总蛋白(TP)排泄率的变化和相互关系,研究运动强度对肾上腺 C - fos 蛋白表达的影响以及 C - fos 蛋白表达的变化在机能状态评价中的意义。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

雄性 SD 大鼠 72 只(由山东大学动物实验室提供),体重为 155 ± 15 g,鼠龄 60~90 d。分笼饲养(每笼 6 只),国家标准啮齿类动物饲料喂养,自由饮食,动物室内温度 $21 \sim 24^\circ\text{C}$,相对湿度 45%~60%,每天光照时间为 12 h。

1.2 实验方法

(1)分组与运动安排。72 只大鼠随机分为 3 组:运动 1 组(组 A, $n = 18$ 只),运动 2 组(组 B, $n = 18$ 只)及运动 3 组(组 C, $n = 18$ 只)。3 个运动组再分别随机分为运动结束即刻组(A_1, B_1, C_1)、运动结束 12 h 组(A_2, B_2, C_2)、运动结束 24 h 组(A_3, B_3, C_3)及运动结束 36 h 组(A_4, B_4, C_4)。运动方式采用在 PT98 型鼠类跑台上进行运动时间为 45 min 的跑台运动。A 组大鼠运动强度为 18 m/min, B 组为 28 m/min 及 C 组为 38 m/min。

(2)取材制备与测试。大鼠分别在运动结束即刻、运动结束后 12、24 及 36 h 断头处死,迅速打开腹腔取尿液和肾上腺。取尿液用 4 号针头及干燥针筒抽尽膀胱尿液,并测定尿量对尿液进行预处理。TP 测定采用 DS-CBC 测定法^[4]。肾上腺取出后立即放入 $W = 4\%$ 多聚甲醛液内固定 12 h,再浸入 $\omega = 20\%$ 蔗糖 PBS 液中 24 h,待组织下沉后,取出并在恒温切片机上切片,切片后再入 $\omega = 4\%$ 多聚甲醛液中固定,然后以免疫组化法操作程序进行制片。封片后光镜下观察,肾上腺组织中出现橙黄色染色为 C-fos 蛋白表达阳性。将所制片用 Miss-2000 图象分析系统进行真彩色图象分析、目标面积量化处理并进行结果分析。

(3)统计学处理。数据均采用平均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,显著性检验为 t 检验,显著性水平定在 $P < 0.05$ 。

2 实验结果

2.1 不同运动强度对肾上腺 C-fos 蛋白表达的影响

运动大鼠肾上腺均有 C-fos 蛋白的表达,但不同运动强度运动后即刻 3 组大鼠肾上腺 C-fos 蛋白表达均无显著性差异。随恢复时间的延长,3 组大鼠肾上腺 C-fos 蛋白表达均呈现增加趋势,每组大鼠 36 h 第 4 次测定相比运动后即刻第一次测定,肾上腺 C-fos 蛋白表达都明显增加($P < 0.05$)。C 组大鼠肾上腺 C-fos 蛋白表达第 4 次测定值比 A 组大鼠显著增加($P < 0.05$),但 A、B 组两组大鼠第 4 次测定值肾上腺 C-fos 蛋白表达无显著性差异($P > 0.05$) (表 1)。

2.2 不同运动强度对尿 TP 排泄率的影响

所有运动大鼠运动后即刻尿 TP 排泄率都明显升高,但在运动后 12 h 第 2 次测定时就基本恢复,第 4 次测定时已完全恢复(表 2)。

3 讨论

不同运动强度导致大鼠肾上腺 C-fos 蛋白表达的差异。运动后第一次测定值 A 组大鼠肾上腺 C-fos 蛋白表达最低, C 组大鼠 C-fos 蛋白表达最高,虽无显著性差异,但也表

明运动强度对肾上腺 C-fos 蛋白表达具有作用。随着运动后恢复期的延长,3 组大鼠肾上腺 C-fos 蛋白表达逐渐增加,第 4 次测定值都比第 1 次测定值 C-fos 蛋白表达具有显著性增加($P < 0.05$)。有学者研究指出,在完整的动物身上, C-fos 蛋白表达的模式慢而复杂,伤害诱导的 C-fos 蛋白表达的时间超过 24 h^[5]。本研究的第 4 次测定时间为 36 h,测定结果与以上研究相吻合。从不同运动强度导致第 4 次测定值来看, C 组大鼠肾上腺 C-fos 蛋白表达相比 A 组显著升高($P < 0.05$),而 B 组大鼠肾上腺 C-fos 表达与 A 组大鼠相比,无显著性差异($P > 0.05$)。但第一次测定值 3 组大鼠肾上腺 C-fos 也无显著性差异,说明运动强度对大鼠肾上腺 C-fos 的表达具有作用,但必须建立在“时间”的基础上,提示我们如果以 C-fos 蛋白表达作为评价运动性疲劳及恢复的研究指标,必须重视 C-fos 指标的测定时间应该在运动结束后的 24 h 以后。

表 1 各组大鼠肾上腺 C-fos 蛋白表达 $\bar{x} \pm s$

组别	动物数/只	C-fos 蛋白表达($S_{\text{目标}}/S_{\text{视场}}$)
A ₁	6	$8.902 \times 10^{-3} \pm 2.974 \times 10^{-3}$
A ₂	6	$14.683 \times 10^{-3} \pm 5.269 \times 10^{-3}$
A ₃	6	$18.142 \times 10^{-3} \pm 6.287 \times 10^{-3}$
A ₄	6	$20.176 \times 10^{-3} \pm 6.329 \times 10^{-3}$ ¹⁾
B ₁	6	$11.293 \times 10^{-3} \pm 5.085 \times 10^{-3}$
B ₂	6	$17.498 \times 10^{-3} \pm 4.895 \times 10^{-3}$
B ₃	6	$22.537 \times 10^{-3} \pm 6.712 \times 10^{-3}$
B ₄	6	$24.286 \times 10^{-3} \pm 7.106 \times 10^{-3}$ ¹⁾
C ₁	6	$12.804 \times 10^{-3} \pm 4.963 \times 10^{-3}$
C ₂	6	$20.736 \times 10^{-3} \pm 6.097 \times 10^{-3}$
C ₃	6	$23.471 \times 10^{-3} \pm 7.046 \times 10^{-3}$
C ₄	6	$30.845 \times 10^{-3} \pm 7.684 \times 10^{-3}$ ¹⁾²⁾

1)表示第 4 次测定值比第一次测定值具有显著性差异 $P < 0.05$;
2)表示第 4 次测定值比 A 组第 4 次测定值具有显著性差异 $P < 0.05$

表 2 各组大鼠尿 TP 排泄率 $\bar{x} \pm s$

组别	动物数/只	尿 TP 排泄率/ $\text{ng} \cdot \text{min}^{-1}$
A ₁	6	9.12 ± 1.29
A ₂	6	5.27 ± 0.86
A ₃	6	5.01 ± 0.87
A ₄	6	4.96 ± 0.79
B ₁	6	13.65 ± 2.07
B ₂	6	5.42 ± 1.24
B ₃	6	5.14 ± 1.03
B ₄	6	5.11 ± 0.95
C ₁	6	15.79 ± 2.38
C ₂	6	6.01 ± 1.49
C ₃	6	5.71 ± 1.23
C ₄	6	5.26 ± 0.94

较广泛,主要用于训练强度和机能状况的评定指标。目前,用血乳酸指标主要进行有氧能力的评定。

在补充运动饮料后,功率自行车测定最大摄氧量运动后乳酸值显著下降。安静时乳酸水平也有一定的降低,说明运动中有氧供能占的比重有了显著的提高,间接反映出运动员有氧能力在补充功能性饮料后,体内环境有了良好的改善。

自由基是人体生命活动中产生的代谢产物,过多的自由基会攻击细胞膜,引起组织损伤和疾病的发生。有关运动与自由基生物学的关系近年来颇受重视,运动会使体内产生大量的自由基,直接加重了组织的损伤,导致人体工作能力下降并产生疲劳。自由基在一定程度上可以被视为人体内的“垃圾”,因此,加速自由基清除速度,提高抗氧化防御能力,对于延缓疲劳产生,提高运动能力有重要意义。

饮料中的牛磺酸成份能够提高人体抗氧化的能力,延缓疲劳的出现,促进运动后疲劳的恢复,在国外牛磺酸被作为功能性氨基酸广泛应用于营养药物中。通过牛磺酸的补充,运动员自身的抗氧化能力的指标——谷胱甘肽过氧化物酶的活性在运动前后均有显著提高,说明运动员机体内抗氧化能力的提高,疲劳的恢复过程加快,是一种良好的机能适应。

4 结论

(1) 运动员补充牛磺酸后 PWC_{170} 、 VO_{2max} 、 VO_{2max}/m 有一定程度的提高,提示长期进行牛磺酸的补充能够提高运动员的有氧耐力水平。

(2) 牛磺酸可以增强机体抗氧化体系的能力,维持运动后血浆中 SOD 的活力,提高血液中 GSH-PX 的活力。

(3) 牛磺酸可以增强糖的有氧代谢的能力,降低运动后乳酸的堆积,维持机体内环境的稳定,延缓疲劳的出现。

(4) 本实验以运动营养补剂的方式进行牛磺酸的补充,在实际工作中取得比较令人满意的效果。

本研究的完成是在深圳市体育发展中心科研处徐处长、惠州市中心人民医院荆国杰主任医生、深圳市体工队科研助教组刘雄弼老师、工作人员谭立宏、陈依华等的热情帮助下完成的,在此表示衷心感谢!

参考文献:

- [1] 曾松令. 运动保健饮料配方与制法[M]. 北京:人民体育出版社,1991.
- [2] (美)梅尔文·威廉.《探索冠军之路》—训练之外的强力手段[A]. 国家体育科技交流专集[C],杨则誉译.北京:人民体育出版社,1990.
- [3] 高言诚. 营养学[M]. 北京:北京体育学院出版社,1992.
- [4] 冯美云. 运动生物化学(全国体育院校通用教材)[M]. 北京:人民体育出版社,1999.
- [5] 蒲钧宗. 优秀运动员机能评定手册[A]. 国家体育科技成果专集[C]. 北京:人民体育出版社,1989.
- [6] 丛湖平. 体育统计[M]. 北京:高等教育出版社,1998.
- [7] 杨锡让. 实用运动生理[M]. 北京:北京体育大学出版社,1998.

[编辑:周 威]

(上接第34页)

从尿 TP 排泄率运动后连续 4 次的测定值动态变化看,第一次测定 3 组升高都较明显,但从 12 h 第 2 次测定值来看,都基本恢复正常。从此值变化情况进行机能评定看,恢复都是比较好的。但如果此值相对于肾上腺 C-fos 蛋白表达来看,两个指标的测定最大值存在着较大时间差距。肾上腺 C-fos 蛋白表达在本次研究中最大值 3 组均出现在第 4 次测定,即运动后 36 h,显示肾上腺正处于最大的运动性伤害中,肾上腺不能稳定地维持其正常结构、机能状况。而此时从尿 TP 排泄率的恢复来看,均已表明良好的恢复。如果此时继续训练,可能会造成对肾上腺过度的运动性刺激,从而导致对其正常结构、功能的过度损害而导致不良的后果^[6]。

以上结果提示,不同的生理、生化指标在表明运动性疲劳、恢复及机能评定方面具有较大的时间差异,在尿 TP 排泄率早已恢复的情况下,代表肾上腺结构、机能状态的 C-fos 蛋白表达却持续升高,显示肾上腺不能维持其正常结构和机能。所以在进行运动性疲劳及恢复的评判和机能评定时,应注意多指标的相互关系和表明的意义,也说明肾上腺 C-fos 蛋白表达对不同运动强度的敏感性,以及利用肾上腺 C-fos 蛋白表达来进行相关的研究时,应注意肾上腺 C-fos 蛋白

表达的时间特性。

参考文献:

- [1] Minkase KJ. The effects and influence of different stimulations on sodium citrate cotransporter in renal microvilli[J]. Am J Physiol, 1985, 247: 282-290.
- [2] Barac M. Effects of PH and succinate on sodium citrate cotransporter in renal microvilli[J]. Am J Physiol, 1985, 247: 282-290.
- [3] Richter EA. Influence of hormones and exercise on metabolism in isolated muscle[J]. Can J Sports Sci, 1993, 12: 108-112.
- [4] 王 健. 尿蛋白 SDS-CBC 测定法[J]. 中国运动医学杂志, 1988, (2): 83-85.
- [5] Diamond JR. The expression of adrenal gland C-fos antigen resulting from exhaustive exercise in rats[J]. J Appl Physiol, 1993, 54: 51-62.
- [6] Jill C. Influence of selenium deficiency chronic training and acute exercise[J]. Arch Biochem Biophys, 1988, 263: 150-181.

[编辑:李寿荣]