

抗阻训练对小鼠骨骼肌 DNA 损伤、脂质过氧化及 抗氧化能力的影响

王立丰¹, 李海鹏², 王静¹, 马景亮¹, 陈彩珍¹, 卢健¹

(1.华东师范大学 体育与健康学院, 上海 200241; 2.中国矿业大学 体育学院, 江苏 徐州 221116)

摘 要: 采用负重爬梯模型进行抗阻训练, 观察年龄和抗阻训练对 SAMP-8 小鼠体重、SI 及骨骼肌氧化应激的影响。40 只雄性 SAMP-8 小鼠随机分成青年安静组(YC)、青年抗阻组(YR), 老年安静组(OC)和老年抗阻组(OR)。抗阻训练组进行 8 周爬梯运动, 每周 3 次。通过比色法检测 T-AOC、SOD 活性和 MDA 含量, ELISA 试剂盒测定 8-OH-dG 的含量。结果: 各组的体重均没有明显的差异, 而 YC 组的 SI 明显高于 OC 组($P<0.05$), 其它各组之间没有明显的差异; YC 组总 SOD 活性和 T-AOC 高于 OC 组($P<0.05$), YR 组的总 SOD 活性和 T-AOC 明显低于 YC 组($P<0.05$), 而 OR 组的总 SOD 活性高于 OC 组($P<0.05$), T-AOC 却与之相反($P<0.05$); OC 组的 8-OH-dG 的质量浓度明显高于 YC 组($P<0.05$), YC 组与 YR 组的 8-OH-dG 的浓度无显著差异, 而 OR 组的 8-OH-dG 的质量浓度明显低于 OC 组($P<0.05$), YC 组 MDA 的质量摩尔浓度低于 OC 组($P<0.05$), YR 组和 OR 组 MDA 的质量摩尔浓度低于 YC 组和 OC 组($P<0.05$)。结果说明: 1)在衰老过程中, SAMP-8 小鼠的体重未发生明显的变化, SI 却有明显的变化, 表现出了骨骼肌衰减的特征, 而抗阻运动对于体重、骨骼肌质量的改变均没有影响。2)衰老时, 骨骼肌的抗氧化水平明显地降低, 而氧化损伤却显著增高, 通过抗阻训练可以明显逆转这一状况。

关 键 词: 运动生物化学; 骨骼肌衰减征; 抗阻训练; DAN 损伤; 8 羟基脱氧鸟苷

中图分类号: G804.4 文献标识码: A 文章编号: 1006-7116(2010)08-0107-05

Effects of anti-resistance training on the DNA damage, lipid peroxidation and anti-oxidation capacity of skeletal muscles of mice

WANG Li-feng¹, LI Hai-peng², WANG Jing¹, MA Jing-liang¹, CHEN Cai-zhen¹, LU Jian¹

(1.School of Physical Education & Health, East China Normal University, Shanghai 200241, China;

2.School of Physical Education, China University of Mining and Technology, Xuzhou 221116, China)

Abstract: By using a load bearing ladder climbing model to conduct anti-resistance training, the authors observed the effects of age and anti-resistance training on the weight, SI and skeletal muscle oxidation stress of SAMP-8 mice. 40 male SAMP-8 mice were randomly divided into a youth calm (YC) group, a youth anti-resistance (YR) group, an old calm (OC) group, and an old anti-resistance (OR) group. The anti-resistance groups performed ladder climbing for 8 weeks, 3 times a week. The authors measured the T-AOC, SOD activity and MDA content by means of colorimetry, and measured the content of 8-OH-dG by using an ELISA kit. Results: there was no significant difference in weight between mice in various groups, while the SI of mice in the YC group was significantly higher than that of mice in the OC group ($P<0.05$), and there was no significant difference in SI between mice in other groups; the total SOD activity and T-AOC of mice in the YC group were higher than those of mice in the OC group ($P<0.05$), the total SOD activity and T-AOC of mice in the YR group were significantly lower than those of mice in

收稿日期: 2010-01-13

基金项目: 教育部博士点基金项目(200802690017)。

作者简介: 王立丰(1982-), 男, 博士研究生, 研究方向: 运动与骨骼肌衰老。通讯作者: 卢健。

the YC group ($P<0.05$), while the total SOD activity of mice in the OR group was higher than that of mice in the OC group ($P<0.05$), yet the T-AOC of mice in the OR group was lower than that of mice in the OC group ($P<0.05$); the concentration of 8-OH-dG of mice in the OC group was significantly higher than that of mice in the YC group ($P<0.05$), and there was no significant difference in the concentration of 8-OH-dG of mice in the YC group and YR group, while the concentration of 8-OH-dG of mice in the OR group was significantly lower than that of mice in the OC group ($P<0.05$), the MDA concentration of mice in the YC group was lower than that of mice in the OC group ($P<0.05$), and the MDA activity of mice in the YR group and OR group was lower than that of mice in the YC group and OC group ($P<0.05$). The results indicated the followings: 1) in the process of aging, there was no significant change to the weight of SAMP-8 mice, yet there was a significant change to SI, which showed the characteristics of sarcopenia, while the anti-resistance exercise had no effect on the change of the weight and skeletal muscle quality; 2) when aging, skeletal muscles' anti-oxidation performance lowered significantly, yet their oxidative damage increased significantly; such a condition can be significantly reversed by anti-resistance training.

Key words: sports biochemistry; sarcopenia; anti-resistance training; DNA damage; 8-OH-dG

骨骼肌衰减(Sarcopenia)已经成为影响老年人生活质量的重要因素, 它的发生给家庭、社会带来巨大的经济和社会的负担。Sarcopenia 的发生机制尚不明确, 只是从不同的研究方向来探讨其发生的可能机制, 其发生可能机制包括: 运动神经元的丢失、骨骼肌功能蛋白合成降解之间的不平衡、氧化应激、激素水平的变化以及细胞凋亡(apoptosis)等^[1-2]。随年龄的增长, 活性氧(ROS)造成骨骼肌纤维氧化损伤的累积效应与 Sarcopenia 的发生有密切的关系。抗阻训练作为一种行之有效的的手段能够明显延缓 sarcopenia 的发生, 同时也能够缓解骨骼肌的氧化损伤^[3]。本研究通过动物实验, 意在了解抗阻训练对衰老骨骼肌的总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和 8 羟基脱氧鸟苷(8-OH-dG)的影响, 为抗阻训练缓解衰老过程中的氧化应激提供理论的基础。

1 研究材料和方法

1.1 实验动物及分组

雄性 SAMP-8(senescence accelerated mice prone-8)小鼠 40 只, 购自天津中医药大学第一附属医院实验动物中心(实验动物饲养许可证编号: W-J 津实动质 M 准字第 006 号)。在 IVC 独立送风饲养系统中分笼饲养, 每日自由饮水, 喂食标准饲料, 12 h 光照, 饲养环境温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 湿度 40%~60%。所有 SAMP-8 小鼠经过 1 周适应性饲养并进行 3 d 适应性训练, 随后进行随机分组, 即青年安静组(YC)、青年爬梯组(YR)、老年安静组(OC)和老年爬梯组(OR), 每组 10 只。

1.2 运动方案

动物在暗周期(18: 00~20: 00)进行训练, 以小鼠尾部负重爬梯方式进行抗阻训练, 每周训练 3 次, 隔天训练, 每天 3 组。训练方案见表 1。

表 1 爬梯运动训练方案

周次	负重		组×重复次数
	重量/g	体重百分比/%	
1	15	~ 50	3×3
2	15	~ 50	3×4
3	20	~ 66	3×4
4	25	~ 83	3×4
5	30	~ 100	3×4
6	30	~ 100	3×4
7	30	~ 100	3×4
8	25	~ 83	3×4

1.3 取材

最后 1 次训练结束后 24 h 后, 断头处死, 迅速取 SAMP-8 小鼠双侧股四头肌, 放入液氮中速冻, 之后转移至 -80°C 超低温冰箱保存, 待检测。

1.4 主要仪器和试剂

T-AOC、SOD、MDA、8-OH-dG 及考马斯亮蓝检测试剂盒购自南京建成生物工程公司。酶标仪: Tecan Infinite M200 型; 洗板机: Tecan Columbus 型; 离心机: Eppendorf 5804/ R 型。

1.5 T-AOC、SOD 活性, MDA 以及 8-OH-dG 含量的检测

按常规方法制备组织匀浆, 蛋白定量采用考马斯亮蓝法。T-AOC、SOD、MDA 检测按南京建成生物工程公司提供的试剂盒说明书进行, 用酶标仪检测吸光度, 按给定公式计算各样品中 T-AOC、SOD 活性、MDA 质量摩尔浓度。8-OH-dG 的质量浓度是通过 Elisa 的方法检测, 通过给定的标准品制定标准曲线来计算样品中的 8-OH-dG 的质量浓度。

1.6 统计学分析

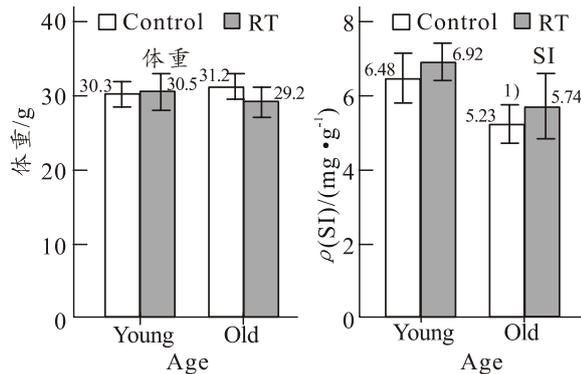
采用 SPSS15.0 软件对结果进行统计学处理, 各组结果均用以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分

析, 以 $P < 0.05$ 为差异显著性标准。

2 结果与分析

2.1 体重及 SI 的变化

各组之间的体重均没有显著性的差异, OC 组的 SI 是明显小于 YC 组 ($P < 0.05$), YR 组相对于 YC、OR 组相对于 OC 组虽然都有一定的上升, 但差异却没有显著性 ($P > 0.05$) (见图 1)。

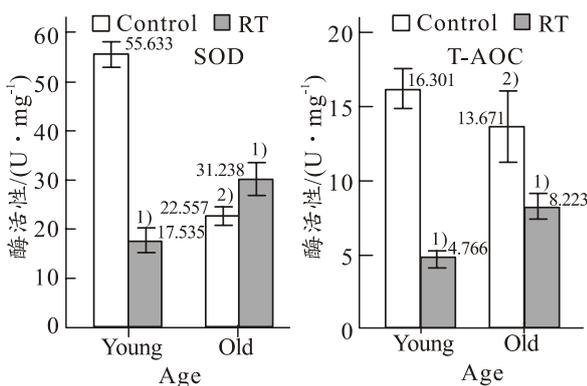


1) OC 与 YC 的比较, $P < 0.05$

图 1 年龄与抗阻训练对体重和 SI 的影响

2.2 超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性和总抗氧化能力 (T-AOC)

YC 组 SOD 活性和 T-AOC 高于 OC 组的 ($P < 0.05$), YR 组的 SOD 活性和 T-AOC 明显的低于 YC 组 ($P < 0.05$), 而 OR 组的 SOD 活性高于 OC 组 ($P < 0.05$), OR 组 T-AOC 却低于 OC 组 ($P < 0.05$) (见图 2)。



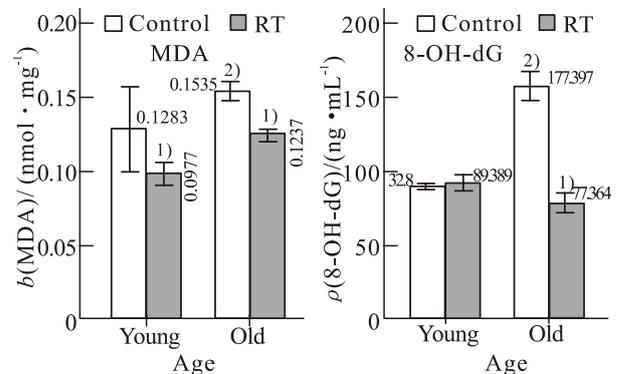
1) RT 与 Control 比较 ($P < 0.05$); 2) OC 与 YC 的比较 ($P < 0.05$)

图 2 年龄与抗阻训练对 SOD 活性和 T-AOC 的影响

2.3 丙二醛 (MDA) 和 8 羟基脱氧鸟苷 (8-OH-dG)

OC 组的 8-OH-dG 的质量浓度明显的高于 YC 组 ($P < 0.05$), YC 组与 YR 组的 8-OH-dG 的质量浓度差异无显著, 而 OR 组的 8-OH-dG 的质量浓度明显的低于

OC 组 ($P < 0.05$), YC 组 MDA 的质量摩尔浓度低于 OC 组 ($P < 0.05$), YR 组和 OR 组 MDA 的质量摩尔浓度低于 YC 组和 OC 组 ($P < 0.05$) (见图 3)。



1) RT 与 Control 比较 ($P < 0.05$); 2) OC 与 YC 的比较 ($P < 0.05$)

图 3 年龄与抗阻训练对 MDA 和 8-OH-dG 的影响

3 讨论

3.1 衰老和抗阻训练对 SAMP8 小鼠体重及骨骼肌湿重的影响

在衰老的过程中, 虽然人体体重不会发生明显的变化 (除一些代谢消耗性的疾病), 但是人体的身体成分会发生相应的变化, 脂肪的比重会增加, 而去脂体重, 即瘦体重的比例会明显的减少, 瘦体重的减少又以骨骼肌质量的减少为主要特征^[4]。机体成分的变化必然会带来功能的改变, 会引起老年人运动能力下降、肌力减退、平衡能力下降、增加跌倒的危险性, 容易发生骨折, 社会参与能力及生活质量下降。本研究采用 SAMP-8 这种快速老化小鼠模型, SAMP-8 小鼠的寿命为 10 个月到 17 个月不等, 8 月龄就表现出明显的衰老现象, 体重在 10 月龄左右开始下降, 到 15 周龄时已经呈显著下降的趋势, 比目鱼肌、胫骨前肌在 15 月龄时同 6 月龄比较也呈现出明显的下降趋势^[5]。本研究中, OC 组的小鼠在处死前其年龄也达到了 10 月龄, 已经进入衰老的阶段, 没有发现小鼠的体重开始下降, 但是 OC 组 SAMP-8 小鼠的 SI 相对于 YC 组明显的下降, 说明 SAMP-8 小鼠身体成分发生了改变, 其中的原因可能是由于身体脂肪含量的升高, 两种原因造成了体重不会发生变化。Lushaj 等^[6]的研究发现, 12 月龄与 33 月龄的棕色挪威大鼠相比较, 体重没有发生明显的变化, 只是到 36~39 月龄体重会明显下降。但发现 33 月龄的大鼠股四头肌的质量与 12 月龄的相比, 明显下降, 36 和 39 月龄会持续的下降。与此同时, 骨骼肌纤维的数量在 33 月龄也明显下降, 而且发现 II 型肌纤维的数量下降更为明显。说明了在衰老的过程中, 骨骼肌质量的下降是以 II 型肌纤维数量的下

降为主。

抗阻训练可以导致骨骼肌的适应性肥大, Blough 等^[7]研究发现通过负重的成年和老年 Fischer 344 大鼠的骨骼肌的质量和横截面积相对于对照组都显著增加, 但是无论是成年大鼠还是老年大鼠的体重没有发生明显的变化。本实验的研究中, 经过 8 周抗阻训练, 无论是青年组还是老年组, 其体重都没有明显的变化, 虽然 SI 没有显著性的增加, 但是青年组和老年组分别增加了 7% 和 10%, 这说明了抗阻训练虽然对体重的变化没有影响, 但是还是一定程度诱导了骨骼肌的肥大, 进而改善了骨骼肌随年龄衰减的现象。Lee 等^[8]利用爬梯作为抗阻运动的一种方式, 经过 8 周的爬梯训练发现 5 月龄的 SD 大鼠, 爬梯组和对照组的体重没有发生变化, 但是拇长屈肌的湿重增加了 17.5%, 横截面积增加 17.4%, 峰强直颤搐收缩张力增加 23.1%。由此可知虽然抗阻运动对体重没有明显的影响, 但是可以增加骨骼肌的质量和力量, 可以延缓骨骼肌随年龄增长而的下降趋势。

3.2 衰老和抗阻训练对骨骼肌氧化应激的影响

同其它组织相比, 骨骼肌组织的氧耗量大, 产生的氧自由基也就相应多, 同时由于骨骼肌纤维属于有丝分裂后的细胞, 氧化损伤容易累积, 因此骨骼肌的这种随年龄增长而氧化损伤增加的累积效应, 可能是造成 Sarcopenia 发生的原因之一^[9]。衰老过程中, 骨骼肌的氧化应激水平的改变包含了两方面, 一是抗氧化系统中抗氧化酶活性的下降; 二是生物大分子氧化损伤的增加。在正常情况下, 机体内 ROS 的产生和清除系统处于动态平衡状态, 在衰老过程中导致 ROS 产生增多和清除能力的下降, 机体的氧化应激水平升高。本研究中, 以 T-AOC 和总 SOD 为代表的骨骼肌抗氧化能力, OC 组显著低于 YC 组, 而以 MDA 和 8-OH-dG 为代表的骨骼肌氧化损伤分子, OC 组明显的高于 YC 组, 说明了抗氧化能力下降, 脂质过氧化水平和 DNA 损伤的状况明显增加, 结果表明在衰老的过程中骨骼肌的氧化应激水平升高。线粒体本身即是产生 ROS 的主要细胞器, 同时又是 ROS 攻击的主要目标, 线粒体氧化损伤的增加会诱发线粒体介导的细胞凋亡信号通路的激活, 而细胞凋亡也是 Sarcopenia 发生的原因之一^[10]。由于氧化损伤导致了骨骼肌细胞的细胞膜、内质网膜等发生结构与功能的变化, 进而影响 Ca^{2+} 的转运, Ca^{2+} 是诱导线粒体产生 ROS 的主要因素之一, 由于在衰老的过程中骨骼肌内质网摄取 Ca^{2+} 的能力下降, 导致了细胞内和线粒体内 Ca^{2+} 的数量增多, 生成大量的 ROS 进而又加大对骨骼肌的氧化损伤^[11]。因此, 在衰老的过程中骨骼肌内氧化应激水平的增加是导致

Sarcopenia 发生的重要因素。

运动训练后对与组织氧化应激水平的影响是不同的, 而这种不同同时表现在抗氧化能力和氧化损伤两个层面上, 即运动对机体的抗氧化能力和氧化损伤的影响可能表现出非一致性, 这种非一致性可能与抗氧化酶活性的变化是否能够应对 ROS 生成的幅度有关。刘晓莉等^[12]的实验结果表明在间歇运动后小鼠骨骼肌 SOD 活性、T-AOC 和 MDA 的含量均高于安静组, 说明了在抗氧化能力上升的同时没有表现出氧化损伤的下降, 这种非一致性也出现在本研究中, 经过 8 周的抗阻训练, 青年组的 SOD 和 T-AOC 的活性都显著下降, 8-OH-dG 的水平没有发生变化, 但却下调了 MDA, 这表明抗阻训练在一定程度上诱导 ROS 的产生, 使 SOD 和 T-AOC 下降, 但是脂质过氧化水平也显著的下降, 说明了青年组抗阻训练在对抗氧化能力和氧化损伤方面表现出不同的效应, 即抗氧化酶活性下降的同时氧化损伤也表现出下降的趋势, 这可能与运动对氧化应激水平影响的矛盾性, 与诱发抗氧化酶基因表达的阈值以及自由基引发氧化损伤的阈值有关。

在衰老的过程中, 骨骼肌质量和力量下降, 对氧化损伤的反应变得敏感, 如进行运动又可能加重氧化损伤, 但是有规律的运动诱发的氧化应激水平的变化可以激发一系列的细胞信号通路使抗氧化酶表达增加, 从而降低氧化损伤。魏优秀等^[13]发现不同的运动形式可以降低衰老小鼠骨骼肌 MDA 的含量, 同时可以上调 SOD、CAT 以及 GPx 的活性, 而通过跑台运动, 老年跑台运动组相对于安静组骨骼肌的 8-OH-dG 的含量明显减少, 其 DNA 损伤的修复系统与运动能力也增加^[14]。在本研究中, 老年组经过抗阻训练, 8-OH-dG 和 MDA 的含量均表现出明显的下降, SOD 的活性显著升高而 T-AOC 却表现出明显的下降, 表明在衰老的过程中, 抗阻训练能够明显缓解衰老骨骼肌的氧化损伤, 抗氧化能力虽表现出一定矛盾性, 但总体表现为一种增加的趋势。由此可以看出, 抗阻训练能够缓解在衰老过程中骨骼肌的氧化损伤, 一定程度上提高了抗氧化能力。

4 结论

1) 在衰老过程中, SAMP-8 小鼠的体重未发生明显的变化, SI 却有明显的变化, 表现出了骨骼肌衰减的特征, 而抗阻运动对于体重、骨骼肌质量的改变均没有影响。

2) 衰老时, 骨骼肌的抗氧化水平明显降低, 而氧化损伤却显著的增高, 而通过抗阻训练可以明显逆转这一过程。

参考文献:

- [1] Greenlund L J S, Nair K S. Sarcopenia-consequences, mechanisms, and potential therapies[J]. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2003(124): 287-299.
- [2] 李海鹏, 卢健, 陈彩珍. Sarcopenia 机制研究进展[J]. *体育科学*, 2007, 27(11): 66-69.
- [3] Adam P W Johnston, Michael De Lisio, Gianni Parise. Resistance training, sarcopenia, and the mitochondrial theory of aging [J]. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 2008, 33(1): 191-199.
- [4] Marjolein V, Bret H G, Stephen B K, et al. Muscle mass, muscle strength, and muscle fat infiltration as predictors of incident mobility limitations in Well-functioning older persons [J]. *Journal of Gerontology*, 2005, 60A(3): 324-333.
- [5] Wim Derave, Bert O E, Monique R, et al. Soleus muscles of SAMP-8 mice provide an accelerated model of skeletal muscle senescence [J]. *Experimental Gerontology*, 2005(40): 562-572.
- [6] Entela B L, Jody K J, Debbie McKenzie, et al. Sarcopenia accelerates at advanced ages in fisher 3 443 Brown norway rats[J]. *Journal of Gerontology : Biological Sciences*, 2008, 63(9): 921-927.
- [7] Blough E R, Linderman J K. Lack of skeletal muscle hypertrophy in very aged male Fischer 344×Brown Norway rats[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2000(88): 1265-1270.
- [8] Sukho L, Roger P F. Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat [J]. *Jersey Evening Post Online*, 2003, 6(2): 80-87.
- [9] Full E S, Protasi F, Tano G D, et al. The contribution of reactive oxygen species to Sarcopenia and muscle aging [J]. *Experimental Gerontology*, 2004(39): 17-24.
- [10] Marzetti E, Wohlgemuth S E, Lees H A, et al. Age-related activation of mitochondrial caspase-independent apoptotic signaling in rat gastrocnemius muscle[J]. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2008(129): 542-549.
- [11] Kim Jeong-Su, Jacob M W, Lee Sang-Rok. Dietary implications on mechanisms of sarcopenia: roles of protein, amino acids and antioxidants[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2010, 21(1): 1-13.
- [12] 刘晓莉, 侯莉娟, 刘赞, 等. 间歇性无氧运动对小鼠脑、心肌、骨骼肌抗氧化能力及脂质过氧化损伤的影响[J]. *中国运动医学杂志*, 2004, 23(4): 390-394.
- [13] 魏优秀, 雷晓妮, 刘平, 等. 间歇运动对老龄小鼠骨骼肌组织自由基代谢的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2009, 29(22): 2895-2896.
- [14] Zsolt Radák, Hisashi Naito, Takao Kaneko, et al. Exercise training decreases DNA damage and increases DNA repair and resistance against oxidative stress of proteins in aged rat skeletal muscle[J]. *European Journal of Physiology*, 2002(445): 273-278.