

低氧力竭运动后大鼠血清 CK 与骨骼肌 XOD 的活性

杨海平

(肇庆学院 体育学系, 广东 肇庆 526061)

摘 要:使用跑台及低氧舱对 SD 大鼠进行了低氧、力竭实验,同时检测运动后即刻、1、2、4 及 7 d 大鼠血清 CK 和骨骼肌 XOD,以探讨低氧运动对其影响。结果发现:低氧、力竭运动后即刻、1 d 及 2 d 大鼠血清 CK 明显升高,常氧运动组运动后 4、7 d 开始下降;低氧运动组运动后 4 d 时下降,而 7 d 时再次升高;低氧暴露 7 d 后血清 CK 达到最高值。低氧、力竭运动后即刻、1、2 及 4 d 大鼠骨骼肌 XOD 明显升高,运动后 7 d XOD 开始下降;低氧暴露 4 d 后 XOD 达到最高值。提示:XOD 的升高导致自由基生成增加,对骨骼肌产生损伤作用,可能使 CK 漏出,最终导致运动后血清 CK 升高。运动加低氧的双重刺激使大鼠氧化应激作用加强,运动后骨骼肌修复延迟。

关键词:低氧;大鼠;力竭运动;肌酸激酶;黄嘌呤氧化酶

中图分类号:G804.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-7116(2005)05-0043-03

Activities of CK in serum and XOD in skeletal muscles of mice after hypoxic exhaust exercise

YANG Hai-ping

(Department of Physical Education, Zhaoqing Institute, Zhaoqing 526061, China)

Abstract: The author carried out a hypoxic exhaust experiment on mice by using a treadmill and a hypoxic chamber, and measured the CK in serum and XOD in skeletal muscles of the mice immediately, on the 1st, 2nd, 4th, and 7th days, after the exercise, so as to study the effect of hypoxia exercise on the mice. The author revealed the following findings: The CK in serum of the mice showed a significant increase immediately, on the 1st and 2nd days, after hypoxic exhaust exercise, while that of the mice in normoxic exercise group began to decrease 4-7 days after the exercise; the CK in serum of the mice in hypoxic exhaust exercise group decreased 4 days after the exercise, yet it increased again on the 7th day; the CK in serum reached its maximum value 7 days after hypoxia exposure; the XOD in skeletal muscles of the mice showed a significant increase immediately, on the 1st, 2nd and 4th days, after hypoxic exhaust exercise, and began to decrease 7 days after the exercise; the XOD reached its maximum value 7 days after hypoxia exposure. Hints: The rise of XOD would cause hyperplasia of free radicals, damage of skeletal muscles, and possibly CK leakage, eventually causing the rise of CK after exercise; doubled stimulations of exercise plus hypoxia would intensify oxidative reaction of mice, delaying the repair of skeletal muscles after exercise.

Key words: hypoxia; mice; exhaust exercise; CK; XOD

CK(creatine kinase,肌酸激酶)与哺乳动物能量代谢密切相关,亦是一种肌细胞新陈代谢过程中的关键酶。大多数研究表明,剧烈运动后血浆 CK 活性显著升高^[1]。CK 酶活性的升高,因典型地表现在仅从有损伤的肌肉中漏出,故一直作为肌细胞膜损伤或细胞膜渗透性改变的指示剂^[2]。CK 作为肌肉损伤的标志物,在离心运动后出现显著性增加^[2]。而 XOD(xanthine oxidase,黄嘌呤氧化酶)则属需氧脱氢酶类,是体内核酸代谢的重要酶,并对自由基的产生起重要作用。研究表明:运动诱导的骨骼肌损伤与 CK^[3]及 XOD^[4]有着密切

的关系,离心运动后可导致 XOD 升高,与其关联的是血浆 CK 活性也升高^[4]。但低氧、力竭运动后对上述两项指标的影响以及其动态变化却少有研究。本研究的目的是结合“高住低练”,同时利用动物跑台下坡跑模型探讨低氧、力竭运动后 CK、XOD 的动态变化及其相互关系。

1 研究方法

1.1 研究对象和运动方案

7 周龄雌性 SD 大鼠 128 只,体重(220±25)g,动物分批

购入,分笼饲养。适应 2 d,每天 1 次 5~10 min 跑台运动,以便熟悉跑台,速度为 5~10 m/min,坡度为 0°。2 d 后随机分成常氧和低氧两大组,常氧组设安静对照组(exhausting control, EC)和一次性力竭(normal oxygen exhausting group, OE)运动后即刻、1、2、4 和 7 d 组(分别表示为 OE₀、OE₁、OE₂、OE₄ 和 OE₇)。低氧组动物在低氧舱适应 3 d 后再进行分组,分为低氧安静对照(hypoxic control, HC)即刻、1、2、4 和 7 d 组(分别表示为 HC₀、HC₁、HC₂、HC₄ 和 HC₇)和低氧力竭运动(hypoxic exhausting group, HE)后即刻、1、2、4 和 7 d 组(分别表示为 HE₀、HE₁、HE₂、HE₄ 和 HE₇)。动物分组共计 16 组,每组 8 只。常氧组动物饲养环境温度为(22±3)℃,自然光照。低氧组动物放置在氧分压为 12.7%的低氧舱中(相当于海拔 4 000 m 高度)。低氧和常氧运动组大鼠一次性力竭运动均在常氧环境下进行。力竭模式采用跑台运动,动物在跑台上进行下坡跑,跑台的坡度 -16°,速度 16 m/min,运动至力竭。运动中采用声、光刺激或毛刷机械刺激鼠尾部,或中间适当休息 2~4 min,在整个运动过程中无电刺激。当动物出现卧位跑、反应迟钝、“逃避反应”极差,短时间休息后(低于 10 min)仍无法持续运动,则视为力竭^[5]。

实验组所有动物均自由饮食,动物及饲料由河北医科大学实验动物中心提供。

1.2 取材与指标测试

各组动物均于安静状态下,先用质量分数为 2%的戊巴比妥钠腹腔麻醉,腹腔动脉取血。取血静置 30 min 后,3 000 r/min 离心 10 min 分离血清用于测试 CK 活性。取左侧比目鱼肌用于测试骨骼肌 XOD 活性。

血浆 CK 活性测定:酶动力学方法。采用北京中生生物工程高技术公司生产的 CK 检测试剂盒。

骨骼肌 XOD 活性测定:化学比色法。采用南京建成生物工程研究所生产的 XOD 测定试剂盒。

上述两项指标均使用 Chemistry Analyzer,美国 Rayto Electronics 公司制造。

低氧舱使用 HYPOXIC TRAINING SYSTEMS(HTS)低氧舱

系统设备,美国 Hypoxico 公司制造。

1.3 数据处理

数据均使用 SPSS11.5 统计软件进行处理,测试结果以“平均数±标准差”表示,采用单因素方差分析进行各组间及组内的差异显著性检验。显著性检验水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 血清 CK

由表 1 可知,急性力竭运动后即刻组 OE₀、HE₀ 的 CK 活性均较对照组 EC 及 HC₀ 有明显升高,且差异有非常显著性意义($P < 0.01$),其他组间比较差异无显著性意义;运动后 1 d 组的比较结果类似于即刻组;运动后 2 d 组,OE₂、HE₂ 组 CK 活性高于 EC 组,且差异有显著性意义,同时 HE₂ 高于 HC₂ 组;4 d 组间比较差异无显著性意义;7 d 组间比较为 HC₇ 及 HE₇ 均高于 EC,且差异有显著性意义($P < 0.05$)。

由表 1 可知,低氧暴露对照组随着时间的延长血清 CK 活性逐步增加,至第 7 d 时达到最高值,而且 HC₇ 活性高于 EC 及 HC₁ 组,并有统计学意义($P < 0.05$);常氧力竭运动组在运动后即刻达到最高值,随后开始回落,4~7 d 时虽然仍高于安静水平,但差异已不存在统计学意义;低氧力竭运动组与常氧力竭运动组相似。以上结果说明急性力竭运动后即刻、1 及 2 d 时,运动对骨骼肌 CK 活性的影响较大,对运动组而言影响最大的时相表现为运动后即刻,而短时间低氧暴露并未对其造成影响。急性力竭实验第 7 d,常氧运动组 CK 活性基本恢复接近安静水平,而此时低氧暴露及低氧运动组再次升高,说明除了运动对血清 CK 活性产生影响外,低氧暴露亦能使血清 CK 活性升高。刘海平^[6]的研究证实,平原运动员初到高原训练时,由于受到高原缺氧影响,CK 活性明显上升,本实验观察结果与此一致。有关运动对 CK 活性影响的观察结果,与于新凯等^[7]的研究结果相似,运动后大鼠 CK 活性即刻迅速上升,运动后 7 d 虽明显恢复,但仍未恢复到安静值,表明急性力竭运动后对肌肉的损伤较重,需要较长时间才能修复。

表 1 力竭组低氧及跑台训练后各组大鼠血清 CK 活性

组别	n/只	$\bar{x} \pm s, U/L$				
		0 d	1 d	2 d	4 d	7 d
EC 组	8	962.7±538.3				
HC 组	8	1 199.2±500.5	907.6±651.3	1 156.2±338.3	1 401.8±733.5	1 741.1±1 078.6
OE 组	8	5 293.4±3 565.1	2 051.0±872.3	1 703.7±815.4	1 011.4±374.9	1 504.9±592.3
HE 组	8	7 814.7±3 661.3	1 775.2±1 045.5	2 063.1±747.5	970.3±226.2	1 862.7±663.8

2.2 骨骼肌 XOD

由表 2 可知,急性力竭运动后组间比较结果为即刻组 OE₀、HE₀ 的 XOD 活性均较对照组 EC 及 HC₀ 有明显升高,且差异有非常显著性意义($P < 0.001$),其他组间比较差异无显著性意义;1 d 组的比较结果基本类似于即刻组间比较,但值得注意的是 HE₁ 组 XOD 高于 OE₁ 组,且差异有非常显著性意义($P < 0.01$);运动后 2 d 组与即刻组比较结果相似;4 d 组间比较为 HC₄、OE₄、HE₄ 均高于 EC,且差异有非常显著性

意义($P < 0.001$);7 d 组间比较差异无显著性意义。

由表 2 可知,低氧暴露对照组随着时间的延长骨骼肌 XOD 活性逐步增加,至第 4 d 时达到最高值,到 7 d 时下降,虽仍高于安静对照组测值,但差异已无统计学意义;常氧力竭运动组在运动后即刻开始升高,此后一直保持较高水平到第 1、2、4 d,出现一个平台期,4 d 后开始回落,到第 7 d 基本恢复正常;低氧力竭运动组与常氧力竭运动组基本相似,但其在运动后 1 d 升高非常突出。以上结果说明急性力竭运

动后即刻,1、2、4 d时,运动对骨骼肌XOD活性的影响较大,对运动组而言HE₁高于OE₁,可以肯定短时间低氧暴露使骨骼肌XOD活性升高。低氧暴露对照组的变化说明,短期的

低氧暴露可以使骨骼肌XOD活性增高,但动物很快就能产生低氧适应,到第7 d时XOD逐步回落至正常值。

表2 力竭组低氧及跑台训练后各组大鼠骨骼肌XOD活性

组别	n/只	0 d	1 d	2 d	4 d	7 d
EC组	8	0.009 55 ± 0.001 6				
HC组	8	0.009 47 ± 0.009 0	0.009 93 ± 0.001 3	0.013 28 ± 0.002 2	0.015 89 ± 0.002 3	0.010 17 ± 0.001 3
OE组	8	0.014 36 ± 0.001 5	0.016 31 ± 0.001 5	0.016 46 ± 0.002 2	0.015 85 ± 0.001 4	0.010 06 ± 0.001 1
HE组	8	0.0138 7 ± 0.001 1	0.022 47 ± 0.006 6	0.016 12 ± 0.002 3	0.016 15 ± 0.001 7	0.010 50 ± 0.001 0

3 讨论

正常情况下,CK极少透过细胞膜,低氧、力竭运动后血清CK活性升高,可能是运动引起组织缺氧,能量物质耗竭,酸性代谢产物堆积以及儿茶酚胺类激素分泌增加有关,因为这些因素对组织细胞的刺激可增加细胞膜的通透性,释放大分子酶蛋白^[8]。低氧暴露以及低氧、力竭运动引起自由基生产增多,自由基与生物膜上的不饱和脂肪酸反应,使之过氧化从而导致生物膜通透性增加,细胞内酶分子漏出。也有人认为运动后CK活性增高是由于运动导致肌细胞损伤造成的^[1]。从本实验XOD与CK时相变化来看,低氧对照组XOD在4 d时先于CK而升高,急性低氧、力竭运动组运动后即刻XOD及CK均明显升高,这些结果与上述CK、XOD变化的可能机制基本吻合。有资料报道,XOD可能是肌肉损伤的另一个氧化剂生成的源头,特别是离心运动可导致XOD水平升高,与其关联的是血浆CK大大升高、肌肉酸痛以及局部白细胞入侵^[4]。

黄丽英^[9]的研究证实缺氧造成ATPase活性下降,胞内Ca²⁺超载,Ca²⁺通过蛋白激酶使黄嘌呤脱氢酶转化为黄嘌呤氧化酶,进一步催化黄嘌呤氧化,生成大量ROS。单独低氧或疲劳刺激可以增加ROS的形成,但是,疲劳刺激与低氧的结合可引起更复杂的环境变化^[10],因此,对HE₁及HC₁组血清CK高于EC组,HE₁组骨骼肌XOD高于OE₁组,可以理解为运动加上低氧的双重刺激使大鼠氧化应激作用加强,运动后骨骼肌修复延迟。

参考文献:

[1] 刘振玉.运动训练与肌酸激酶研究进展[J].天津体育学

院学报,1999,14(1):30-32.

[2] Lee J,Goldfarb A H,Rescino M H, et al. Eccentric exercise effect on blood oxidative stress markers and delayed onset of muscle soreness[J]. Med Sci Sports Exerc,2002,34(3):443-448.

[3] Lin Jaung - Geng, Yang Shao - Hui. Effects of acupuncture on exercise - induced muscle soreness and serum creatine kinase activity[J]. American Journal of Chinese Medicine,1999,XXVII(3-4):299-305.

[4] Brickson S, Hollander J, Corr D T, et al. Oxidant production and immune response after stretch injury in skeletal muscle[J]. Med Sci Sport Exerc,2001,33(12):2010-2015.

[5] 田野.运动性骨骼肌疲劳机理研究[M].北京:北京体育大学出版社,1998:1-2.

[6] 刘海平.高原训练期间血清酶活性的变化[J].西安体育学院学报,1998,15(4):73-76.

[7] 于新凯,田野,左群.下坡跑训练对大鼠CK、LDH的影响[J].上海体育学院学报,2000,24(3):29-32.

[8] 崔建华,王引虎,张西洲,等.红景天对高原人体运动后自由基和血清肌酸激酶的影响[J].航天医学与医学工程,2001,14(6):448-451.

[9] 黄丽英.间歇低氧训练对大鼠氧化应激及其低氧适应机制的研究[D].上海:华东师范大学,2003.

[10] Marco P B, Shelia A V L, Leticia S B, et al. Hypoxia/fatigue - induced degradation of troponin I and troponin C: new insights into physiologic muscle fatigue[J]. Pflügers Arch - Eur Physiol,2001,442:738-744.

[编辑:郑植友]