

## 外源性磷酸肌酸对力竭运动小鼠的影响

姜茜<sup>1a</sup>, 刘艳环<sup>2</sup>, 刘丽红<sup>1b</sup>, 殷林波<sup>1a</sup>, 马集<sup>1a</sup>, 卢畅<sup>1a</sup>, 阎萍<sup>1b</sup>, 马国栋<sup>2</sup>, 刘彦娜<sup>1b</sup>, 刘克敏<sup>1b</sup>

**【摘要】** 目的:观察外源性磷酸肌酸对一次性力竭运动小鼠的影响,探讨其抗疲劳的作用机制。方法:采用小鼠负重游泳建立力竭运动小鼠模型。将小鼠分为力竭给药组(A组)、力竭不给药组(B组)、游泳 8min 不给药组(C组)、游泳 8min 给药组(D组)。实验前 20min, A、D组小鼠按 1000mg/Kg 体质量腹腔注射磷酸肌酸钠, B、C组腹腔注射同等剂量的生理盐水。力竭游泳实验按每只小鼠体质量的 6%负重进行。用生化比色法检测血清超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量,并记录小鼠的力竭时间。结果:A、C、D组的 SOD 活性较 B组显著升高( $P < 0.05, 0.01$ ), D组较 A组明显升高( $P < 0.05$ )。B组的 MDA 含量较 C组明显升高( $P < 0.01$ ), A组较 D组明显升高( $P < 0.05$ )。B组游泳至力竭的时间明显短于 A组( $P < 0.05$ )。结论:外源性磷酸肌酸增强机体抗疲劳的机制可能与其增强 SOD 活性、降低 MDA 含量有关,通过增强自由基的清除来提高机体的抗疲劳能力。

**【关键词】** 磷酸肌酸;力竭游泳;血清;SOD;MDA

**【中图分类号】** R49 **【DOI】** 10.3870/zgkf.2013.01.002

**Effect of exogenous phosphocreatine on exhaustive exercise mice** JIANG Qian, LIU Yan-huan, LIU Li-hong, et al. Department of Sports Medicine, Dalian Medical University, Dalian 116027, China

**【Abstract】** Objective: To observe the influence of exogenous phosphocreatine on exhaustive exercise mice, and research the mechanism of antifatigue. Methods: The method of mice weight-loading swimming was used to set up the model of exhaustive exercise. The mice were divided into group of exhaustion with medicine as group A, group of exhaustion without medicine as group B, group of swimming for 8 min without medicine as group C, and group of swimming for 8 min with medicine as group D. Twenty min before the experiment, mice in the groups A and D were intraperitoneally injected with creatine phosphate sodium by the standard of 1000mg/kg, and those in the groups B and C were intraperitoneally injected with the same volume of normal saline. The exhaustive swimming experiment was conducted on the loading weight with 6% of the weight of each mouse. Serum SOD activity and MDA content were determined by using biochemistry colorimetry, and the exhaustive time was recorded. Results: The SOD activity in groups A, C and D was stronger than in group B ( $P < 0.05, 0.01$ ), and stronger in group D than in group A ( $P < 0.05$ ). The MDA content in group B was higher than in group C ( $P < 0.01$ ), and higher in group A than in group D ( $P < 0.05$ ). The time from swimming to exhaustion in group B was significantly shorter than in group A ( $P < 0.05$ ). Conclusion: The mechanism by which exogenous phosphocreatine strengthens the ability of organisms to fight against fatigue may be related to the enhancement of SOD activity and reduction of MDA content, which improves the organism's ability to resist fatigue by enhancing the removal of the free radicals.

**【Key words】** phosphocreatine; exhaustion swimming; serum; SOD; MDA

延缓运动性疲劳一直是运动医学研究的难点和热点。自由基和脂质过氧化损伤与运动性疲劳的发生密切相关,体内超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性和丙二醛(malondialdehyde, MDA)是疲劳机制和抗疲劳研究的常用指标<sup>[1]</sup>。已有研究提示,补充肌酸可提高机体的骨骼肌、心肌、平滑肌、眼、脑、神经系统在运动中的能力<sup>[2]</sup>,但外源性磷酸肌酸在机体

力竭运动中的影响较少报道。本实验采用小鼠负重游泳运动建立力竭运动动物模型,观察外源性磷酸肌酸对实验小鼠血清 SOD 活性和 MDA 含量的影响,探讨外源性磷酸肌酸抗运动性疲劳的作用机制。

### 1 材料与方法

1.1 材料 ①实验动物:昆明种雄性小鼠 50 只,8 周龄,体质量 33.3~46.5g,自由饮食。②仪器及试剂:721 型分光光度计;总 SOD、MDA 试剂盒由南京建成生物工程研究所提供;秒表、水桶。

1.2 方法 ①分组:适应性饲养 2 周后,进行适应性

收稿日期:2012-07-17

作者单位:1. 大连医科大学 a. 检验医学院 2009 级, b. 运动医学教研室, 辽宁 大连 116027; 2. 山东理工大学体育学院, 山东 淄博 255049

作者简介:姜茜(1990-),女,本科在读,主要从事运动医学方面的研究。

通讯作者:刘克敏,讲师;刘彦娜,讲师。

游泳,剔除不会游泳或者游泳能力较差的小鼠6只。将剩余44只小鼠分为4组,力竭给药组12只(A组)、力竭不给药组12只(B组)、游泳8min不给药组10只(C组)、游泳8min给药组10只(D组)。<sup>②造模</sup>:参考文献制作小鼠力竭运动模型<sup>[3]</sup>。各组小鼠自然光照,饲养温度为 $(26.5 \pm 1.2)^\circ\text{C}$ 。<sup>③干预</sup>:前期大量预实验表明经腹腔给药较其他方式更符合磷酸肌酸的药理学特性。A、D组小鼠在实验前20min按1000mg/kg体重进行腹腔注射磷酸肌酸钠<sup>[4]</sup>,B、C组腹腔注射同等剂量的生理盐水。按每只小鼠体质量的6%进行负重,在水温 $(28.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 、水深30cm的条件下进行力竭游泳实验,力竭标准为小鼠沉入水中10s不能自主浮上水面且放在平面无法完成翻正反射<sup>[5]</sup>。

1.3 检测指标 <sup>①力竭时间</sup>:从小鼠开始运动到力竭标准出现的时间。<sup>②血清SOD活性和MDA含量测定</sup><sup>[1-2]</sup>:力竭运动后将小鼠立即断颈处死,心脏取血,制备血清。待血凝固后,用移液枪提取血清,置于低温冷冻离心机以3000r/min离心15min,低温保存备用。SOD和MDA的检测采用化学比色法,采用硫代巴比妥酸法测定血清中MDA的含量;采用黄嘌呤氧化酶法测SOD。

1.4 统计学方法 采用SPSS 13.0统计学软件进行分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,t检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

A、C及D组的SOD活性较B组显著升高( $P < 0.05, 0.01$ );D组较A组明显升高( $P < 0.05$ );C、D组比较差异无统计学意义,A组的MDA含量较B组略有下降,D组的MDA含量较C组也略微下降,但差异均无统计学意义;B组的MDA含量较C组明显升高( $P < 0.01$ ),A组较D组明显升高( $P < 0.05$ )。见表1。

B组游泳至力竭的时间为 $(18.11 \pm 9.56)$ min,明显短于A组 $(26.70 \pm 7.49)$ min( $P < 0.05$ )。

表1 干预后4组小鼠血清SOD及MDA含量的比较  $\bar{x} \pm s$

指标	A组(n=12)	B组(n=12)	C组(n=10)	D组(n=10)
SOD(U/ml)	101.48±20.67 <sup>a</sup>	83.99±13.02	115.79±24.28 <sup>b</sup>	116.29±14.95
MDA(nmol/ml)	22.98±6.94 <sup>c</sup>	26.32±5.08	18.31±6.53 <sup>d</sup>	17.73±3.23

与B组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与D组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ,<sup>d</sup> $P < 0.01$

## 3 讨论

机体运动时,肌肉的能量物质(ATP、磷酸肌酸、糖、脂肪等)大量消耗,肌肉的工作能力下降,不能完成预定的运动强度,出现不同程度的疲劳,其能量物质的

消耗有所不同,在短时间大强度的运动时,肌肉中的ATP和磷酸肌酸等高能磷酸物含量的降低对运动疲劳的影响很大。疲劳状态时,肌肉中的磷酸肌酸含量仅相当于运动前的20%。磷酸肌酸在肌细胞内作为高能磷酸基团的储存库,与肌酸一起构成肌酸-磷酸肌酸能量穿梭系统,将线粒体有氧代谢所产生的能量输送到需要的部位<sup>[6]</sup>。游泳至力竭的时间是反映运动能力的常用指标,而运动能力的提高是机体抗疲劳能力加强最有力的宏观体现。本实验发现,A组的游泳时间远大于B组,表明磷酸肌酸含量的增加提高了肌肉的最大收缩力,保证肌细胞有更多的能量供应,使运动时间明显延长,同时缓解了体内酸性物质的积累,对推迟pH值达到较低水平的时间有一定的作用,从而减轻了机体的疲劳程度,使运动时间延长。

SOD是体内超氧阴离子的有效清除剂,其活性的变化可间接反映机体内自由基的生成和代谢<sup>[7]</sup>。Qiao等<sup>[8]</sup>研究发现,间断厌氧运动可增加小鼠肌肉和心脏的SOD活性。朱红军等<sup>[9]</sup>也认为运动训练可引起自由基的生成增多,SOD活性增强是对运动训练的适应,被认为是机体抗自由基损伤及延缓疲劳发生的机制之一。本实验发现,与C组比较,B组的SOD活性显著下降,说明力竭运动对小鼠体内的抗自由基水平产生了作用。有研究认为,氧自由基生成增多可诱导SOD等酶活性增高,但过多的氧自由基则会灭活SOD而使SOD活性下降<sup>[10]</sup>。A组的SOD活性较B组的显著升高,表明小鼠机体的抗氧化能力增强。可能是外源性磷酸肌酸在机体内的ATP和高能磷酸肌酸消耗后发挥作用,使得ATP能快速的生成,减少了氧自由基的产生。C、D组SOD活性比较差异无统计学意义,提示在固定的8min游泳时间里,小鼠机体的氧化与抗氧化系统仍然可以保持一定的平衡。

细胞膜磷脂中多聚不饱和脂肪酸和脂肪酸的不饱和和双键极易受到氧自由基的攻击,导致脂质的过氧化反应,激起自由基的连锁、增值反应,形成一系列的脂质自由基及其降解产物MDA<sup>[11]</sup>。MDA作为自由基与不饱和脂肪酸反应生成的代谢产物,常被用来间接反映机体的自由及代谢变化,它作为机体内脂质过氧化反应的主要代谢产物,对细胞具有很严重的损伤作用<sup>[12]</sup>。本实验发现,与C、D组比较,A、B组的MDA含量略高,表明运动时间越长,MDA含量越高,脂质过氧化水平越高,细胞受到损伤的程度也就越大。分析可能是由于氧自由基的生成使得SOD活性下降,这可引起膜脂质发生过氧化损伤,从而生成大量的MDA<sup>[13]</sup>。A组较B组、D组较C组的MDA含量略下降,但差异均无统计学意义,提示脂质过氧化水平无

显著性差异,外源性磷酸肌酸对减弱脂质过氧化作用有微弱的效果。实验证明,外源性磷酸肌酸可以延长机体的运动时间,提高机体对疲劳的耐受力;外源性磷酸肌酸能增强 SOD 活性,降低 MDA 含量,通过增强自由基的清除来提高机体的抗疲劳能力。

### 【参考文献】

- [1] 张陵,万宁. 氧自由基脂质过氧化反应所致运动性疲劳产生机制研究进展[J]. 中国实验诊断学,2006,10(9):1104-1108.
- [2] 冯连世,李开刚. 运动员机能评定常用生理生化指标测试方法与应用[M]. 北京:人民体育出版社,2008,81-81.
- [3] 傅晓龙,刘洪珍. 急性力竭运动大鼠肾组织总抗氧化能力及自由基代谢的变化[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2007,11(30):6016-6018.
- [4] 邹玲莉,李秋莎,韩国柱,等. 外源性磷酸肌酸在大鼠体内的药代动力学和代谢处置[J]. 药理学学报,2011,46(1):75-80.
- [5] 张全江,李秋霞,熊正英. 耐力训练后再力竭运动对小鼠血液部分生化指标的影响[J]. 陕西师范大学学报,2004,32(1):98-101.
- [6] 陈祥塔,赖月波. 运动性疲劳的产生和消除[J]. 中国临床康复,2006,10(48):171-174.
- [7] 梁宜,方剑乔,王存信,等. 经皮穴位电刺激对力竭运动大鼠血浆超氧化物歧化酶和丙二醛的影响[J]. 针刺研究,2008,33(2):120-123.
- [8] Qiao D, Hou L, Liu X. Influence of intermittent anaerobic exercise on mouse physical endurance and antioxidant components[J]. Br J Sports Med, 2006, 40(3):214-218.
- [9] 朱红军,江钟立. 运动与氧化应激的预适应[J]. 中国康复医学杂志,2003,18(2):122-124.
- [10] 吴兴曲,杨来启,王晓峰,等. 睡眠剥夺对大鼠脑损害的生化研究[J]. 中华精神科杂志,2003,36(2):101-104.
- [11] Long J, Liu C, Sun L, et al. Neuronal mitochondrial toxicity of malondialdehyde: inhibitory effects on respiratory function and enzyme activities in rat brain mitochondria[J]. Neurochemical Research, 2009, 34(4):786-794.
- [12] 张尧天,吕国枫,宫德正,等. 急性运动对小鼠心肌线粒体功能的影响[J]. 中国康复,2006,21(6):366-367.
- [13] 罗荣保,刘文峰,曾盛誉,等. 睡眠剥夺对力竭运动大鼠胸腺谷胱甘肽、丙二醛、超氧化物歧化酶的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2007,11(26):5186-5189.

作者·读者·编者

## 本刊对来稿中统计学处理的有关要求

1. 统计研究设计:应交代统计研究设计的名称和主要做法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性或横断面调查研究);实验设计(应交代具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等);临床试验设计(应交代属于第几期临床试验,采用了何种盲法措施等)。主要做法应围绕4个基本原则(随机、对照、重复、均衡)概要说明,尤其要交代如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

2. 资料的表达与描述:用  $\bar{x} \pm s$  表达近似服从正态分布的定量资料,用  $M(Q_R)$  表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的含义表达清楚;用统计图时,所有统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则;用相对数时,分母不宜小于20,要注意区分百分率与百分比。

3. 统计分析方法的选择:对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选用合适的统计分析方法,不应盲目套用  $t$  检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件以及分析目的,选用合适的统计分析方法,不应盲目套用  $\chi^2$  检验。对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型,不应盲目套用简单直线回归分析,对具有重要实验数据的回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系作出全面、合理的解释和评价。

4. 统计结果的解释和表达:当  $P < 0.05$  (或  $P < 0.01$ ) 时,应说明对比组之间的差异有统计学意义,而不应说对比组之间具有显著性(或非常显著性)的差别;应写明所用统计分析方法的具体名称(如:成组设计资料的  $t$  检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的  $q$  检验等),统计量的具体值(如  $t = 3.45$ ,  $\chi^2 = 4.68$ ,  $F = 6.79$  等),应尽可能给出具体  $P$  值(如  $P = 0.0238$ );当涉及到总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,再给出95%可信区间。

《中国康复》编辑部