

减量训练对大鼠骨骼肌 PI3K/Akt 表达的影响

郑媛

北京市朝阳区体育科研所, 北京朝阳, 100020;

摘要: 目的: 本研究的核心要义在于, 通过构建大鼠减量训练模型的方式, 深入探研高强度运动量训练与减量训练对大鼠骨骼肌中 PI3K/Akt/GSK3 β 信号传导路径相关蛋白表达状况的具体作用程度。方法: 精心选取 8 周龄的雄性 SD 大鼠, 待这些大鼠完成适应性训练流程后, 采用随机分组的方式, 将其划分为 8 个组别。这其中有安静状态下的对照组 (C1) 以及经历了 3 周高强度运动量训练的实验组 (E1), 还有安静状态对照组 (C2) 和先进行高强度运动量训练、随后展开为期 3 天减量训练的实验组 (E2), 以及安静状态对照组 (C3) 与先实施高强度运动量训练、接着进行为期 6 天减量训练的实验组 (E3), 还有安静状态对照组 (C4) 和先执行高强度运动量训练、而后进行为期 13 天减量训练的实验组 (E4)。需特别指出的是, 每个组别都包含 6 只大鼠个体。于整个实验过程中, 运用 Westernblot 技术, 对大鼠骨骼肌中 PI3Kp85、PI3Kp110 α 以及 Akt 蛋白的表达水平予以精确测定, 且针对 Akt (Ser473) 和 GSK3 β (Ser9) 的磷酸化表达情况实施细致的检测。结果: 高强度运动量训练致使大鼠骨骼肌中 PI3Kp110 α 、PI3Kp85 蛋白的表达水平呈下降趋势, GSK3 β (Ser9) 的磷酸化表达亦随之降低, 而 Akt 蛋白以及 Akt (Ser473) 的磷酸化表达也同样显著下降 ($P < 0.05$)。结论: 高强度运动量训练会对运动骨骼肌 PI3K/Akt/GSK3 β 信号传导通路产生抑制效果, 而减量训练则能够显著促进该信号传导通路的表达, 这对于肌肉蛋白的合成进程有着积极正向的益处。

关键词: 减量训练; 骨骼肌; PI3K; Akt; GSK3 β

DOI:10.69979/3029-2808.24.11.007

大运动量及减量训练是赛前常采用的训练方法。Houmard 等研究减量训练对长跑运动员成绩的影响, 发现 7 天的减量跑步训练能提高运动员跑步速度, 且持续一定时间的、合理的周期性减量训练能保持长跑运动员的成绩。金雯等^[1]研究减量训练对骨骼肌供能系统的影响, 结果表明以原训练强度的 80% 减量训练降低机体的磷酸原供能系统, 改善其有氧代谢能力。此外, 减量训练能改善损伤的骨骼肌细胞结构, 有利于骨骼肌细胞结构的恢复, 提高骨骼肌有氧代谢能力和抗氧化能力^[2]。然而关于减量训练对骨骼肌 PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路的影响研究甚少。

PI3K/Akt 信号转导途径在细胞的凋亡、存活和增殖等活动中发挥重要生物学功能。PI3K 是 Akt 的上游信号, 激活 Akt 后, 活化的 Akt 调控其下游信号分子: 一是通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路促进蛋白合成; 二是通过 PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路, 通过磷酸化 GSK3 β 使其失活, 达到促进蛋白质合成的效果。目前, 减量训练对骨骼肌 PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路的影响机制仍不清楚。本研究通过建立大鼠减量运动模型, 探讨大运动量训练再减量训练对大鼠骨骼肌 PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路中蛋白及磷酸化表达的影响, 为减量训练及运动恢复

研究提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

本次实验筹备之际, 首要之务即为对合适的实验动物予以精心挑选。经多方面审慎考量, 最终确定选用由北京维通利华实验动物有限公司所供应的 SPF 级 7 周龄雄性 SD 大鼠。此类大鼠体重处于 261.4 ± 14.3 g 这一范围, 此体重区间契合实验对于动物身体状况一致性之要求, 可为后续实验数据的准确性奠定基础保障。大鼠进入实验场地后, 饲养工作极为关键。依每笼 4 只的标准实施分笼饲养, 给大鼠提供了相对惬意且互不干扰的生活空间。所采用的饲料为严格依循国家标准的啮齿类动物专用饲料, 可充分满足大鼠生长与活动所需的各类营养物质。同时, 使大鼠享有自由进食和饮水的条件, 以保障它们在自然状态下进行日常生理活动。针对饲养环境, 亦设定了严苛的参数标准, 温度恒定保持于 23°C 至 25°C 之间, 相对湿度维持在 40% 至 60% 的范围, 这般适宜的环境条件有利于大鼠保持优良的生理状态, 防止因环境因素对实验结果造成干扰。在正式展开实验之前, 安排了为期一周的适应性训练阶段。于大鼠而言,

这一阶段极为关键，其旨在促使大鼠渐渐熟悉实验环境、饲养模式以及后续或许会遭遇的各类操作流程，如此便能切实减少由陌生环境与突发状况所导致的应激反应，保证大鼠在后续实验时可维持稳定的生理和心理状态，给获取可信的实验数据筑牢根基。适应性训练完毕，即进入分组阶段。分组乃是依据大鼠的体重，经由对体重数据的缜密分析，把体重相近的大鼠划分至同一层级。其后，采用科学的随机分配方式，把所有大鼠划分成 8 个小组，每个小组皆涵盖 6 只大鼠。具体的分组状况如下：其一为经历 3 周高强度运动量训练的实验组，标识为 E1，而与之相对应的则是处于安静状态且未进行任何训练干预的对照组，标记为 C1；其二是先进行 3 周高强度运动量训练，而后紧接着实施 3 天减量训练，记作 E2 组，其对应的安静对照组为 C2；其三是在完成 3 周高强度运动量训练后，进行为期 6 天的减量训练，即 E3 组，与之配套的安静对照组为 C3；其四是在实施 3 周高强度运动量训练后，开展 13 天的减量训练，此为 E4 组，相对应的安静对照组为 C4。如此细致且具科学性的分组设计，可在最大程度上保障实验结果的准确性与可靠性，为后续深入探讨高强度运动量训练以及减量训练对大鼠骨骼肌中相关蛋白表达的影响给予有力支撑。

1.2 动物运动方案

1.2.1 适应性训练

在正式开启训练流程之前，需让动物于跑台上进行为期六天的适应性训练。于这一阶段，训练强度呈渐进式提升，首日仅需动物于跑台上进行短时间的缓慢行走，而后每日适度延长运动时长并提升速度，其旨在使动物逐步适应跑台运动，以锻炼其肌肉力量与运动协调性，进而为后续的高强度训练筑牢根基。在完成六天的适应性训练后，给予动物一天的休息时间，此乃为使动物的身体自训练所带来的疲劳中得以恢复，对身体机能予以调节，从而以更优的状态去迎接后续训练。先进行适应性训练，再给予休息时间，这样的顺序乃是保障后续训练效果的关键前提。

1.2.2 大运动量训练和减量训练

当动物得以顺利完成适应性训练后，便正式迈入高强度运动量训练的阶段。于此三周内，训练强度呈阶梯式增长，每周逐步加大训练时长与强度，对现实中运动员逐步提升训练负荷的过程予以模拟，从而充分激发动物

物的体能极限。三周高强度训练完毕后，执行为期三天的减量训练规划。在这三天中，训练强度与时长呈递减态势，助力动物身体从高强度训练的疲劳中恢复，对身体的代谢和机能进行调整，以利于研究不同运动强度变化给动物身体带来的影响。

1.3 测试样本采集和处理

进行样本取材之前，需对动物予以 12 小时的禁水禁食举措。之所以对此环节严格把控，乃是为确保所采集样本免受食物与水分摄入的干扰，以保障样本的纯净性，从而为后续检测分析奠定精准可靠的数据基础。当禁水禁食时间达到标准后，依据每 100 克体重注射 0.5 毫升的剂量准则，通过腹腔向动物注射 20%乌拉坦溶液以实施麻醉。该注射操作务必严格遵循无菌流程，以保证剂量精确无误，维护动物麻醉过程的安全与稳定。在动物成功麻醉后，需迅速通过腹主动脉取血的方式将其处死，此整个过程要求操作既迅速又精准，需最大程度地减少动物所承受的痛苦，同时降低样本遭受污染的风险。待动物被处死后，应即刻取出后肢右腓肠肌的白肌部分。在提取之时，操作人员必须格外谨慎，以防对组织造成损伤。将白肌取出后，要细致剔除其中的筋膜、脂肪等结缔组织以及红肌部分，这些杂质的清除对于保证样本纯净度以及检测结果的准确性有着极为关键的作用。在杂质清理完毕后，需使用干净的滤纸吸去白肌表面的水分，以防水分对样本保存和后续检测产生不利影响。随后，对白肌样本以锡纸予以严密包裹，因锡纸可有效隔绝外界环境因素，故而能对样本的完整性起到保护作用。完成包裹后，即刻将样本置入液氮中，由于液氮的超低温环境，可迅速实现对样本的冷冻，从而最大程度地保留样本的生物活性。最后，把样本存放于 -80°C 的冰箱中进行保存，以做好后续各项检测分析的准备工作，保障样本的可用性以及研究的科学性。

1.4 指标测试方法

主要采取提取蛋白、蛋白浓度测定（BCA 法）和 Western blotting 测试方法。

1.5 数据统计方法

实验数据处理应用 SPSS 13.0 软件，计量实验结果用平均值 $\pm$ 标准差表示，两组间比较采用独立样本 t 检验分析。显著性检验水平以 $P < 0.05$ 表示具有显著性差异， $P < 0.01$ 表示具有非常显著性差异。

2 结果

2.1 减量训练对大鼠体重的影响

大运动量训练和减量训练后大鼠体重变化见表 1。3 周大运动量训练后, E1 组大鼠体重下降约为 6%, 极显著低于 C1 组 ($P < 0.01$); 与相应安静组 C2、C3、C4 组相比, E2、E3 组体重分别下降约 7% 和 4%, 而 E4 组体重约增加 1%, E3 组体重下降百分率低于 E1、E2 组, 减量训练组 E2、E3 和 E4 体重和相应安静组之间没有显著性差异。说明大运动量训练明显抑制大鼠体重增加, 而减量训练有促进体重恢复的趋势。

2.2 减量训练对大鼠骨骼肌 PI3K 表达的影响

减量训练显著促进骨骼肌 PI3K p110 α ($P < 0.05$) 和 PI3K p85 ($P < 0.01$) 蛋白表达, 大运动量训练对 PI3K p110 α 和 PI3K p85 蛋白表达都有下降的趋势 ($P > 0.05$)。具体表现为 E3 组的 PI3K p110 α 非常显著 ($P < 0.01$) 高于 C3 组 (为 32%), E2 组和 E4 组均显著 ($P < 0.05$) 高于 C2 组和 C4 组 (分别为 18% 和 20%)。E3 组和 E4 组的 PI3K p85 均非常显著 ($P < 0.01$) 高于 C3 组和 C4 组 (分别为 21% 和 26%)。

PI3K p85 是 Ia 类 PI3Ks 的调节亚基, 一般用其蛋白表达量来表示 Ia 类 PI3Ks 总蛋白含量, PI3K p110 α /PI3K p85 的比值更能反映 PI3K p110 α 的相对含量, 体现 PI3K 的活化程度。实验结果表明 PI3K p110 α /PI3K p85 的比值在减量训练第 3 天达到峰值, 为安静组的 1.15 倍, 具有显著性差异 ($P < 0.05$), 随着减量训练的逐渐回落到安静水平。E1 组和 E3 组的 PI3K p110 α /PI3K p85 比值高于 C1 组和 C3 组 (分别为 4% 和 10%), E4 组下降了约 4%, E1、E3、E4 组与安静组相比均无显著性差异 ($P > 0.05$)。

2.3 减量训练对大鼠骨骼肌 Akt 表达的影响

减量训练显著促进骨骼肌 Akt 蛋白 ($P < 0.05$) 表达, 大运动量训练显著降低 Akt ($P < 0.05$) 蛋白表达; E3 组的 Akt ($P < 0.05$) 显著高于 C3 组 (17%), E2 组和 E4 组的 Akt 蛋白表达量高于 C2 和 C4 组 (分别为 14% 和 9%), 但无显著性差异 ($P > 0.05$)。减量训练有促进 Akt (Ser473) 磷酸化表达的趋势, 大运动量训练显著降低 Akt (Ser473) ($P < 0.05$) 磷酸化表达。E2、E3 和 E4 组的 Akt (Ser473) 高于 C1、C2 和 C3 组 (分别为 14%、27% 和 3%), 但减量训练组与安静组差异不显

著。

运动诱导 Akt 蛋白表达和 Akt 磷酸化表达同时增加, 二者的比值才能更准确的反映 Akt 的活化程度。3 周大运动量训练后, p-Akt/Akt 比值显著性下降 ($P < 0.05$), 约为安静组的 0.79 倍。减量训练 p-Akt/Akt 比值开始增加, 且在减量训练第 6 天达到峰值, 显著高于安静组 (23%) ($P < 0.05$), 减量训练 13 天 p-Akt/Akt 比值低于正常水平, 但无显著性差异。

2.4 减量训练对大鼠骨骼肌 GSK3 β (Ser9) 磷酸化表达的影响

减量训练 E3 组和 E4 组的 GSK3 β (Ser9) 磷酸化表达量呈增加趋势, 高于 C3 组和 C4 组 (分别为 8% 和 24%), 但无显著性差异 ($P > 0.05$)。大运动量组 E1 和减量训练组 E2 的 GSK3 β (Ser9) 磷酸化表达量呈下降趋势, 低于 C1 组和 C2 组 (分别为 12% 和 6%), 但差异不显著 ($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 减量训练对大鼠体重的影响

本研究结果表明, 3 周的大运动量训练, 已经超出未训练大鼠的承受能力, 使其达到运动疲劳, 与安静组相比, 运动组大鼠体重极显著下降约 6% ($P < 0.01$)。这与李奕^[3]等研究结果相近, 即大鼠经过中等强度的跑台训练后, 运动组体重显著低于安静组 ($P < 0.01$)。减量训练 3 天组, 6 天组和 13 天组体重与安静组无显著性差异, 且有相对恢复的趋势。由于本实验缺少耐力训练后的停训组, 关于减量训练和停训对机体恢复的影响, 有待进一步研究。

3.2 大运动量训练和减量训练对 PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路的影响

磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K) 作为细胞内处于关键地位的信号转导蛋白, 于细胞的存续、分裂增殖、分化演变以及物质代谢等一系列核心生命活动进程中均担当着至关重要的角色, 其不仅深度介入细胞内膜泡的运输调控以及细胞骨架架构的重塑, 还与细胞的存活维系、肿瘤的起始发展以及细胞对抗凋亡的机制密切相关, 在众多生理与病理现象中发挥着不可替代的作用。就其结构而言, PI3K 是由调节亚基与催化亚基共同构成的异质二聚体。在哺乳动物细胞的环境中, 能够被细胞

表面受体激活的 PI3K, 主要由调节亚基 p85 和催化亚基 p110 所组成。其中, p85 调节亚基在稳定 p110 催化亚基、促使其聚集以及激活 IA 型 PI3K 方面, 是起着不可或缺关键作用的要素。并且, p110 α 只有与 p85 相互结合, 其生物学效能才能够得以顺利发挥, 处于游离状态的 p110 α 稳定性极差, 于 37℃ 这一常规生理温度环境中会快速发生降解。此前, Saengsirisuwan 等科研人员以肥胖 Zucker 大鼠作为实验对象进行跑台训练, 每日设定 60 分钟的训练时长, 历经持续 15 天的运动后, 对大鼠的比目鱼肌予以检测, 结果表明运动可显著增强 PI3K 的活性。本研究中采用的实验方案是先对大鼠进行为期 3 周的大运动量耐力跑台训练刺激, 而后实施减量训练。研究结果显示, 在经过 3 周高强度的大运动量训练后, 大鼠骨骼肌中的 PI3Kp85、PI3Kp110 α 蛋白表达量有显著的下降; 而当进入减量训练阶段时, 这两种蛋白的表达量开始逐渐回升。具体而言, PI3Kp85 蛋白的表达量于减量训练至第 13 天时达至最高值, 和安静对照组相较而言, 其表达量提升至 1.26 倍, 经统计学分析, 存在极显著差异 ($P < 0.01$); 而 PI3Kp110 α 蛋白的表达量则在减量训练至第 6 天时抵达峰值, 是安静对照组的 1.32 倍, 亦存在极显著差异 ($P < 0.01$)。此外, PI3Kp110 α 与 PI3Kp85 的比值于减量训练第 3 天达到最大值, 且显著高于安静对照组 ($P < 0.05$)。综合本实验的各项数据结果能够确切知晓, 减量训练可切实有效地促进骨骼肌中 PI3Kp85 和 PI3Kp110 α 的恢复进程。

本研究结果显示 3 周大运动量训练后大鼠骨骼肌 Akt 蛋白和 Akt (Ser473) 磷酸化表达量显著性下降 ($P < 0.01$), 分别为安静组的 0.89 倍和 0.79 倍。在减量训练过程中, Akt 蛋白和 Akt (Ser473) 磷酸化表达量逐渐增加, Akt 蛋白在减量训练第 6 天达到峰值, 显著高于安静组 ($P < 0.05$), Akt (Ser473) 磷酸化在减量

训练第 6 天达到峰值, 但差异不显著。由于运动诱导 Akt 蛋白表达和 Akt 磷酸化表达同时增加, 所以二者的比值才能更准确的反映 Akt 的活化程度, 大运动量训练组的 p-Akt/Akt 比值显著性降低, p-Akt/Akt 比值在减量训练第 6 天达到峰值, 为安静组的 1.23 倍, 且差异显著 ($P < 0.05$)。本研究结果说明 3 周大运动量训练后 Akt 信号通路受到抑制, 随着减量训练的进行, Akt 蛋白及 Akt 磷酸化表达逐渐增加, 在减量训练第 6 天 Akt 活性达到峰值, 减量训练第 13 天 Akt 的活性恢复到正常范围。综上所述, 大运动量训练抑制了 PI3K/Akt 信号通路, 减量训练激发了 PI3K/Akt 信号通路, 促进了腓肠肌蛋白合成, 同时说明减量训练有助于机体恢复。

4 小结

大运动量训练显著降低大鼠体重, 减量训练有促进大鼠体重恢复的趋势。大运动量训练抑制了运动骨骼肌 PI3K/Akt 信号通路, 减量训练激活了 PI3K/Akt 信号通路, 促进了骨骼肌蛋白合成, 有助于机体恢复。

参考文献

- [1] 金雯, 王煜. 不同强度的减量训练对大鼠骨骼肌供能系统的影响[J]. 北京体育大学学报, 2006, 29(8): 1069-1071.
- [2] 李晓红. 减量训练对大鼠骨骼肌超微结构及酶活性的影响[J]. 西安体育学院学报, 2011, 28(5): 588-593.
- [3] 李奕, 曾凡星, 吴迎, 等. 不同强度运动诱导 Akt/mTOR 信号对心肌肥大的作用研究[J]. 北京体育大学学报, 2013, 36(6): 49-54.

作者简介: 郑媛 (1990—), 女, 汉族, 安徽合肥人, 硕士研究生, 研究实习员, 研究方向: 运动人体科学。