

# 尾部悬吊对达乌尔黄鼠比目鱼肌形态及 mATP 酶活性的影响\*

王琦<sup>1,2</sup> 高云芳<sup>1\*\*</sup> 樊小力<sup>3</sup>

1. 西北大学生命科学学院, 西安 710069

2. 陕西理工学院生物系, 陕西汉中 723000

3. 西安交通大学医学院生理教研室, 西安 710061

**摘要** 采用尾部悬吊法建立后肢骨骼肌废用的动物模型, 以肌球蛋白 ATP 酶 (mATPase) 法测定比目鱼肌的 mATPase 活性, 依据 mATPase 染色结果进行肌纤维分型, 并测量肌纤维横截面积 (Cross-section area, CSA), 首次观察了尾部悬吊对达乌尔黄鼠比目鱼肌湿重、CSA 和梭内肌、梭内肌纤维 mATPase 活性的影响, 并与尾部悬吊大鼠进行了比较。旨在探讨冬眠动物骨骼肌在废用状态下的变化。结果显示, 尾部悬吊 14 d 可使大鼠比目鱼肌湿重体重比下降 35.52% ( $P < 0.001$ ), I 型肌纤维 CSA 和 II 型肌纤维 CSA 分别下降 18.91% 和 20.68% ( $P < 0.05$ ); 肌纤维平均 CSA 减少 20.45% ( $P < 0.01$ )。比目鱼肌中 I 型肌纤维的构成比由对照组的 80.61% 降低为 66.83%, II 型肌纤维的构成比由 19.39% 增加到 33.17% ( $P < 0.001$ ); 梭内肌纤维 mATPase 活性增强, 核袋 1 纤维的 mATPase 染色由阴性 (-) 转变为强阳性 (+++), 核袋 2 纤维和核链纤维由阳性 (++) 转变为强阳性 (+++)。而达乌尔黄鼠在尾部悬吊 14 d 后, 比目鱼肌湿重仅比对照组下降 0.05%, I、II 型肌纤维 CSA 与平均 CSA 分别比对照组减少 0.84%、0.63% 和 0.37%, 均无明显差异 ( $P > 0.05$ ); 与对照组相比, 比目鱼肌中 I 型肌纤维的构成比从 82.55% 减少到 77.30%, II 型肌纤维的构成比由 17.45% 增加到 22.70% ( $P < 0.05$ ); 梭内肌纤维 mATPase 活性亦明显升高, 核袋 1 纤维的 mATPase 染色由对照组的阴性 (-) 转化为强阳性 (+++), 核袋 2 纤维及核链纤维则由对照组的阳性 (++) 转化为核袋 2 纤维呈阳性 (++) , 核链纤维则呈弱阳性 (+)。结果表明: 尾部悬吊可致大鼠比目鱼肌明显萎缩; 达乌尔黄鼠比目鱼肌则无明显萎缩; 两者比目鱼肌梭内、外肌 mATPase 活性均明显升高 [动物学报 53(1): 116–122, 2007]。

**关键词** 达乌尔黄鼠 大鼠 比目鱼肌 肌梭 肌球蛋白 ATP 酶

## Effects of tail suspension upon the morphology and myosin ATPase activities of the soleus muscle of the Dauria ground squirrel *Spermophilus dauricus*\*

WANG Qi<sup>1,2</sup>, GAO Yun-Fang<sup>1\*\*</sup>, FAN Xiao-Li<sup>3</sup>

1. College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China

2. Department of Biology, Shaanxi University of Technology, Shaanxi Hanzhong 723000, China

3. Department of Physiology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

**Abstract** The wet weight and the cross-section area (CSA) of the Dauria ground squirrel's soleus muscle were measured after 14 days' tail suspension, and compared with those of tail-suspended rat. Meanwhile, myosin adenosine triphosphatase (mATPase) activities of intrafusal and extrafusal fibers in soleus were also detected and then compared with its corresponding control. These aimed to explore effects of tail suspension on morphology, microstructure, mATPase activities of intrafusal and extrafusal fibers in

2006-08-24 收稿, 2006-10-04 接受

\* 国家自然科学基金 (No.30300106) 及西北大学自然科学基金资助 (No.04NW39) [This research was funded by the National Natural Science Foundation of China (No.30300106) and Natural Science Foundation of Northwest University (NO.04NW39)]

\*\* 通讯作者 (Corresponding author). E-mail: gaoyunf@nwu.edu.cn

© 2007 动物学报 Acta Zoologica Sinica

the soleus muscle of ground squirrels under conditions of muscle disuse. In rats, compared with the control group, the 14 d tail suspension group showed a significant difference in the ratios of wet muscle weight to body weight, decreasing 35.52% ( $P < 0.001$ ); the CSA of type I and type II fibers decreased 18.91% and 20.68% ( $P < 0.05$ ) respectively; the average CSA decreased 20.45%. The constituent ratio of type I fibers decreased from 80.61% to 66.83%, while that of type II fibers rose from 19.39% to 33.17% ( $P < 0.001$ ). The activities of mATPase of intrafusal fibers exhibited higher histochemical activities after 14 days of tail suspension. Bag 1 intrafusal fibers of the rat showed strong activity (+++) as compared with the control group, Bag 2 intrafusal fibers and chain fibers showed strong activity (+++) instead of intermediate activity (++) . In tail-suspended ground squirrels, the ratio of wet muscle weight to body weight only decreased 0.05%, while CSA of type I, II, fibers and average CSA decreased 0.84%, 0.63% and 0.37%, respectively. There were no significant differences, compared with controls. The ratio of type I fiber decreased to 77.30%, as compared with the control (82.55%), while that of type II fiber increased from 17.45% to 22.70% ( $P < 0.05$ ). mATPase activities of intrafusal fibres in tail-suspended ground squirrel also changed. Bag 1 intrafusal fibers showed strong activity (+++) compared with negative (-) of the controls, Bag 2 intrafusal fibers retained intermediate activity (++) . Chain fibers retained intermediate activity (++) or showed weak activity (+) compared with controls. We can conclude that, tail suspension might lead to significant muscle atrophy only in the rat; after 14 days of tail suspension, the mATPase activities of intrafusal and extrafusal fibers in the soleus muscle all increased both in the rat and in the ground squirrel [*Acta Zoologica Sinica* 53 (1): 116–122, 2007].

**Key words** Dauria ground squirrel, *Spermophilus dauricus*, Rat, *Rattus norvegicus*, Soleus muscle, Muscle spindle, Myosin adenosine triphosphatase (mATPase)

骨骼肌废用(不活动、卧床与失重) 10 d 左右, 即可使骨骼肌特别是下肢抗重力肌出现明显的废用性萎缩。航天与临床上许多疾病(如瘫痪、肌肉拉伤、骨折固定)常并发废用性肌萎缩, 对于患者的肌力、运动能力乃至行走能力等均有较大影响。关于废用性肌萎缩的预防和治疗, 一直是临床医学、运动医学、康复医学及航天医学等领域亟待解决的重要课题之一。

达乌尔黄鼠(*Spermophilus dauricus*) 在长达 5 至 6 个月的冬眠中, 其骨骼肌无疑处于废用状态, 但出眠时动物并未发生明显的骨骼肌萎缩现象, 如四肢软弱无力、行走困难, 甚至不能行走等。那么, 在废用(如尾部悬吊)条件下, 这些冬眠动物的骨骼肌到底发生了什么改变? 是否有肌肉萎缩发生? 这方面的研究非常少见, 仅见到有关尾部悬吊对冬眠动物仓鼠(*Mesocricetus auratus*)比目鱼肌的影响, 该研究认为废用状态下仓鼠的比目鱼肌并未像大鼠那样发生明显的萎缩(Nagano et al., 2003), 这一报道使我们对黄鼠在废用状态下可能发生的变化充满好奇。

废用状态下人和大鼠(*Rattus norvegicus*)的骨骼肌萎缩以肌肉湿重与肌纤维横截面积(Cross-section area, CSA)的改变最为显著, 骨骼肌的肌纤维类型也出现由慢缩型(I型)向快缩型(II型)转化的趋势(Tisher et al., 1993; Blakemore et al., 1996; 马永烈、孙亚志, 1997; 郟淑燕、岳寿伟, 2003; 高云芳等, 2005a)。利用肌球蛋白 ATP 酶法(Myosin adenosine triphosphatase, mATPase)染色, 可以反映骨骼肌纤维 mATPase 活性的高低, 并据此区分肌纤维类型、测定肌纤维 CSA, 从而判定

肌肉萎缩的发生与否及 mATPase 活性的高低(Havenith et al., 1990; 吴苏娣等, 2001; 高云芳等, 2005b; 王琦等, 2006)。

本研究首次以尾部悬吊法建立达乌尔黄鼠后肢骨骼肌废用模型, 研究了达乌尔黄鼠在肌肉废用条件下比目鱼肌梭内、外肌形态结构及代谢类型的变化, 并与后肢废用大鼠进行比较。旨在为冬眠动物肌肉生理的研究提供新的实验资料。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

**1.1.1 大鼠** 选用成年健康的雌性 SD 大鼠, 体重 190–220 g, 由西安交通大学医学院实验动物中心提供(陕动字第 08-005 号)。选择雌性大鼠主要是为了避免雄性大鼠尾部悬吊时, 由于睾丸供血障碍或睾丸回缩入腹腔影响雄激素分泌水平, 进而影响骨骼肌的合成代谢。

**1.1.2 达乌尔黄鼠** 2005 年 10 月中旬自陕西省渭南地区采集。带回实验室饲养, 供应大鼠颗粒饲料及胡萝卜, 提供棉絮, 锯末作为巢材和垫料。待其适应一周后选取体重为 280–300 g 的动物进行实验。两组动物分别按体重配对原则分为大鼠对照组(Rat in the control group, RC)、大鼠尾吊组(Rat in the tail suspension group, RTS)和达乌尔黄鼠对照组(Ground squirrel in the control group, GC)、达乌尔黄鼠尾吊组(Ground squirrel in the tail suspension group, GTS)。

### 1.2 肌肉废用模型的建立

采用陈杰等(1993)改良式大鼠尾部悬吊法建立后肢骨骼肌废用模型。大鼠、达乌尔黄鼠各自单

笼饲养，尾部悬吊，前肢着地，后肢悬空，身体长轴与水平面呈 30°角，在笼内可自由活动、进食、饮水。室温 15℃ - 17℃。人工控制室内照明，每昼夜均保持 12 h 光明和黑暗交替循环。

### 1.3 标本制备

**1.3.1** 分别以 45 mg/kg、90 mg/kg 的 3% 戊巴比妥钠腹腔注射，麻醉大鼠与达乌尔黄鼠，迅速取出左侧比目鱼肌，切除两端肌腱，选取肌腹中段长约 5 mm 的组织块，投入预冷的 300 g/L 蔗糖溶液中至完全沉底。用 OCT 包埋剂垂直包埋组织块，在 -25℃ 恒冷箱切片机 (HM505E, 德国 Zeiss 公司) 切片，切片厚度 10 μm。用涂有 10 g/L 多聚赖氨酸的载玻片裱片，室温晾干。

**1.3.2** 取出右侧比目鱼肌，称重，所得数据以 100 g 体重标化，作为比目鱼肌的湿重/体重。

### 1.4 组织化学染色

pH 9.4 条件下的 mATPase 是糖酵解的标志酶，因此，mATPase 法是有关肌纤维分型的主要方法之一 (Nemeth et al., 1979; Havenith et al., 1990; 杜卓民, 1998)，mATPase 法染色的深浅即反映了 mATPase 的活性，染色呈阴性的为 I 型肌纤维，呈强阳性的为 II 型肌纤维。

染色方法根据杜卓民 (1998) 的钙 - 钴法稍作改良，步骤如下。

1) 取 2 片冰冻切片于 4℃ 固定液 (多聚甲醛 4 g, 蔗糖 8 g, 加 0.1 mol/L 的 PB (pH 7.2) 至 100 ml, 重新调节 pH 至 7.2, 固定 10 min。

2) 充分洗于冷双蒸水后入 pH 10.4 的预孵育液 (0.1 mol/L 巴比妥钠溶液 2 ml, 0.18 mol/L 氯化钙溶液 2 ml, 加双蒸水 6 ml 调至 pH 10.4), 37℃ 孵育 15 min。

3) 切片依次经 pH 9.4 的 mATPase 作用液 (0.1 mol/L 巴比妥钠溶液 2 ml, 0.18 mol/L 氯化钙溶液 1 ml, ATP 二钠盐 25 mg, 加双蒸水 7 ml 调至 pH 9.4) 孵育 45 min, 1% 氯化钙溶液洗 3 次, 每次 3 min, 2% 氯化钴溶液洗 3 min, 1% 硫化铵 1 min 呈色。

4) 冲洗、脱水、透明、树胶封固。

ATP 二钠盐 (ATP Na<sub>2</sub>3H<sub>2</sub>O) 由 Genview 公司分装，产品编号：DH034。

### 1.5 数据采集与统计分析

各组动物每例随机抽取一张接近肌腹中部染色效果较好的组织切片，在光镜下观察，根据

mATPase 染色强度确认 I 型和 II 型肌纤维，并计算出各类纤维的构成比；利用 MoticaM1000 图像分析系统测量单根肌纤维 CSA。同法计算出每张切片的 CSA 均值及 I、II 型肌纤维比例，然后计算出各组的均值。

所得数据以均数  $\bar{x} \pm s$  表示，采用 SPSS10.0 统计软件进行统计分析，利用 *t* 检验检测各组间差异的显著性，取  $P < 0.05$  作为差异显著性的界值。

## 2 结果

### 2.1 比目鱼肌的湿重/体重

对照组大鼠比目鱼肌呈长扁条状，红润饱满，富有弹性。尾吊 14 d 后，大鼠比目鱼肌发生明显萎缩，肌肉变薄变细，呈长薄片状，色泽苍白，弹性减退，重量减轻。尾吊组大鼠比目鱼肌的平均湿重/体重较对照组减少了 35.52% ( $P < 0.001$ )，达乌尔黄鼠经过 14 d 尾部悬吊，比目鱼肌外部形态未见明显改变，色泽红润，饱满，与对照组相比，尾吊组达乌尔黄鼠比目鱼肌的湿重/体重较对照组下降了 0.05%，无统计学差异 ( $P > 0.05$ )，见表 1。

表 1 尾部悬吊对大鼠和达乌尔黄鼠比目鱼肌重量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Table 1 Effects of tail suspension on the weight of rat and ground squirrel soleus ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

组别	比目鱼肌湿重/体重 (g/100 g)
Group	Soleus weight g/100 g body weight
RC	0.041 ± 0.002
RTS	0.027 ± 0.002*
GC	0.039 ± 0.006
GTS	0.037 ± 0.012

\* 分别与各自的对照组相比， $P < 0.001$ 。\* Compared with corresponding control,  $P < 0.001$ .

### 2.2 肌纤维横截面积

尾吊 14 d 后，大鼠比目鱼肌的 I 型肌纤维 CSA 和 II 型肌纤维 CSA 分别比对照组下降了 18.91% 和 20.68% ( $P < 0.05$ )；肌纤维平均 CSA 减少了 20.45% ( $P < 0.01$ )。尾吊组达乌尔黄鼠比目鱼肌的 I 型肌纤维 CSA 与对照相比减少 0.84%，II 型肌纤维 CSA 与平均 CSA 比对照组分别减少了 0.63% 和 0.37%，统计学检验均无显著差异 ( $P > 0.05$ )，见表 2。

表 2 尾部悬吊对大鼠和达乌尔黄鼠单根肌纤维 CSA 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )Table 2 Effects of tail suspension on the CSA of rat and Dauria ground squirrel soleus fibers ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

组别	I 型肌纤维平均横截面积	II 型肌纤维平均横截面积	平均横截面积
Group	CSA of type I fibers ( $\mu\text{m}^2$ )	CSA of type II fibers ( $\mu\text{m}^2$ )	Average CSA ( $\mu\text{m}^2$ )
RC	1 960.83 $\pm$ 325.62	1 836.51 $\pm$ 334.34	1 904.32 $\pm$ 336.34
RTS	1 590.01 $\pm$ 183.01*	1 456.79 $\pm$ 156.02*	1 524.91 $\pm$ 184.97**
GC	1 837.82 $\pm$ 158.68	1 880.06.78 $\pm$ 161.91	1 852.11 $\pm$ 154.43
GTS	1 822.34 $\pm$ 308.19	1 868.21 $\pm$ 282.25	1 845.27 $\pm$ 282.77

\* 分别与各自的对照组相比。Compared with corresponding control. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

### 2.3 比目鱼肌梭外肌纤维构成比

在 pH 9.4 的条件下, 对照组大鼠 I 型肌纤维 mATPase 染色呈阴性, II 型肌纤维则呈强阳性, 染为棕黑色。与对照组相比, 尾吊组大鼠比目鱼肌中 I 型肌纤维比例明显降低, II 型肌纤维的比例明显升高 ( $P < 0.01$ ) (图版 I: 1、2); 尾吊组达乌尔黄鼠比目鱼肌肌纤维构成比与对照组相比也表现为 I 型肌纤维比例明显降低, II 型肌纤维比例明显升高 ( $P < 0.05$ ) (图版 I: 3、4), 见表 3。

表 3 尾部悬吊对大鼠和达乌尔黄鼠比目鱼肌中 I、II 肌纤维比例的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )Table 3 Effects of tail suspension on the ratio of type I and II fibers in rat and Dauria ground squirrel soleus muscle ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

组别	I 型肌纤维构成比	II 型肌纤维构成比
Group	Percentage of type I fibers (%)	Percentage of type II fibers (%)
RC	80.61 $\pm$ 4.36	19.39 $\pm$ 4.36
RTS	66.83 $\pm$ 3.03**	33.17 $\pm$ 3.03**
GC	82.55 $\pm$ 3.15	17.45 $\pm$ 3.15
GTS	77.30 $\pm$ 2.76*	22.70 $\pm$ 2.76*

分别与各自的对照组相比。Compared with corresponding control.

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

### 2.4 比目鱼肌梭内肌纤维 mATPase 活性

肌梭由结缔组织囊包裹数条梭内肌纤维而成, 组织切片上辨认肌梭的标志是囊状结构包裹数条直径明显比梭外肌纤维细的肌纤维 (梭内肌纤维)。其中 2 条为核袋纤维, 较粗的是核袋 2 纤维, 较细的是核袋 1 纤维。核链纤维多为 2-3 条, 其直径明显小于核袋纤维。

对照组大鼠肌梭的核袋 1 纤维 mATPase 染色呈阴性 (-), 核袋 2 纤维及核链纤维则呈阳性 (++) , 尾吊 14 d 后, 梭内肌纤维 mATPase 活性增强, 核袋 1 纤维 mATPase 染色由阴性 (-) 转变为强阳性 (+++), 核袋 2 纤维和核链纤维由阳性

(++) 转变为强阳性 (+++) (图版 I: 5、6)。

对照组黄鼠的肌梭由结缔组织包裹 4-5 条梭内肌纤维而成。直径最粗的为核袋 2 纤维, mATPase 染色呈阳性 (++) , 直径稍细的为核袋 1 纤维, mATPase 染色呈阴性 (-), 核链纤维 2-3 条, 直径明显小于核袋纤维, mATPase 染色呈阳性 (++)。尾吊 14 d 后, 核袋 1 纤维由阴性 (-) 转化为强阳性 (+++), 核袋 2 纤维仍呈阳性 (++)、核链纤维则染色不变或由阳性 (++) 转化为弱阳性 (+) (图版 I: 7、8), 见表 4。

表 4 尾部悬吊对大鼠和达乌尔黄鼠比目鱼肌梭内肌纤维 mATPase 活性的影响

Table 4 Effects of tail suspension up on mATPase activity in intrafusal fibers of rat and Dauria ground squirrel soleus

组别	核袋 1 纤维	核袋 2 纤维	核链纤维
Group	Nuclear bag 1 fibers	Nuclear bag 2 fibers	Nuclear chain fibers
RC	-	++	++
RTS	+++	+++	+++
GC	-	++	++
GTS	+++	++	+

+++ 染色深 (强阳性); ++ 染色中等 (阳性); + 染色浅 (弱阳性); - 未着色 (阴性)。

+++ strong activity; ++ intermediate activity; + weak activity; - negative.

## 3 讨论

用尾部悬吊法研究大鼠后肢肌肉的废用性萎缩, 一般有两周时间即可出现明显变化, 如果悬吊时间延长, 则应考虑生长等因素对肌肉萎缩的影响 (朱俊铭等, 1992)。因此, 实验中多采用尾部悬吊 14 d 建立废用性肌肉萎缩模型。

根据形态学特征、代谢酶类型以及所含肌球蛋白类型的不同, 骨骼肌纤维可分为 I 型和 II 型两大类, I 型肌纤维肌浆内肌红蛋白和细胞色素含量较多, 能量代谢方式以有氧氧化为主。II 型肌纤维肌浆内肌红蛋白和细胞色素含量较少, 能量代谢方式以糖酵解为主。由于 mATPase (pH 9.4) 是糖酵解

的标志酶。因此不难理解,在 pH 9.4 的条件下, I 型肌纤维 mATPase 染色呈阴性, II 型肌纤维则呈强阳性。

大量研究资料表明,在废用状态下,慢肌(主要由 I 型肌纤维组成)比快肌(主要由 II 型肌纤维组成)萎缩严重,比目鱼肌是典型的慢肌,其 I 型肌纤维约占 85% 左右(Luginbuhl et al., 1984; Thomason and Booth, 1990; 马永烈、孙亚志, 1997; Ganong, 2001; 郗淑燕、岳寿伟, 2003; Alkner and Tesch, 2004), 因此,一般动物实验常以比目鱼肌为代表来观察和研究废用性肌萎缩的发生和发展。

### 3.1 尾部悬吊对大鼠和达乌尔黄鼠比目鱼肌形态结构的影响

大鼠尾吊 14 d 后,比目鱼肌变薄变细,呈薄片状,色泽苍白,弹性减退,重量减轻,比目鱼肌平均湿重/体重较对照组显著减少, I、II 型肌纤维 CSA 及平均 CSA 明显低于对照组。提示大鼠比目鱼肌发生了明显萎缩,这也与本课题组以往的相关结果完全一致(高云芳等, 2005a)。

达乌尔黄鼠尾吊 14 d 后,其比目鱼肌无论色泽、弹性、形状等和对照组几乎没有差别,比目鱼肌湿重和 CSA 与对照组的差异均不显著。说明达乌尔黄鼠在尾吊状态下没有发生明显的肌肉萎缩。前已述及,达乌尔黄鼠在经过 5 至 6 个月的冬眠后并未出现明显的肌萎缩症状,本研究结果表明达乌尔黄鼠在后肢废用 14 d 后也没有像大鼠那样出现肌肉萎缩,这一结果意味深长,显然,达乌尔黄鼠冬眠季抗废用性肌萎缩的机制与冬眠期的低体温无必然联系,可能是一种由肌肉废用所触发的独立机制,本课题组正在对这一命题进行深入研究。

### 3.2 尾部悬吊对大鼠和达乌尔黄鼠比目鱼肌梭外肌 mATPase 活性的影响

实验中测得对照组大鼠比目鱼肌中 80.61% 的肌纤维 mATPase 染色呈阴性,表明其比目鱼肌是以 I 型肌纤维为主的慢肌。这与以往的研究结果及该肌肉的功能特性完全一致。

尾吊 14 d 后,大鼠比目鱼肌的 mATPase 活性明显升高,比目鱼肌的 II 型肌纤维比例明显升高, I 型肌纤维比例明显降低,出现了 I 型肌纤维向 II 型转化的趋势。再次证实了在废用状态下,大鼠骨骼肌的肌纤维代谢类型会发生转变的相关报道(Hagbarth and Macefield, 1995; 吴苏娣等, 2001; 高云芳等, 2005a)。

对照组达乌尔黄鼠比目鱼肌中 82.55% 的肌纤

维 mATPase 染色呈阴性,表明该动物的比目鱼肌也是以 I 型肌纤维为主的慢肌,其 I 型肌纤维的比例略高于大鼠。

尾吊 14 d 后,达乌尔黄鼠比目鱼肌中 I 型肌纤维的构成比减少, II 型肌纤维的构成比增加,与对照组比较,差异显著( $P < 0.05$ ),表明梭外肌纤维的代谢类型发生了和大鼠一致的转化趋势,即由 I 型向 II 型转化。这一结果和尾吊仓鼠肌纤维构成比并未发生显著变化的结论显然不同(Nagano et al., 2003)。提示后肢废用对不同冬眠动物的影响可能存在差异。

### 3.3 尾部悬吊对大鼠和达乌尔黄鼠比目鱼肌梭内肌 mATPase 活性的影响

肌梭是骨骼肌内的一种重要的牵张感受器,它在结构上与梭外肌并联,在功能上属于同一个反射弧的组成部分,在重力环境下,肌梭不断地发放冲动传入中枢,从而产生和维持肌紧张,对随意运动进行精细地调节。肌梭由核袋纤维和核链纤维构成。核袋纤维根据其组织化学、超微结构和机械特性的不同,又可区分为核袋 1 纤维(动力性核袋纤维)和核袋 2 纤维(静力性核袋纤维)。核袋 1 纤维 mATPase 活性(pH 9.4)很低,核袋 2 纤维的活性较高,核链纤维的活性最高。mATPase 活性的高低反映了梭内肌纤维的代谢特点,核袋 1 纤维类似慢肌(氧化型),而核袋 2 纤维和核链纤维则类似快肌(酵解型)。尾部悬吊 14 d 后,大鼠梭内肌各纤维的 mATPase 活性均升高,与梭外肌肌纤维由氧化型的慢缩肌向酵解型的快缩肌转化的趋势一致。对照组达乌尔黄鼠比目鱼肌肌梭的形态结构与 mATPase 活性均与对照组大鼠类似。尾部悬吊 14 d 后,比目鱼肌的梭内肌纤维的 mATPase 活性亦发生了与大鼠类似的变化。

我们的研究表明,在废用状态下,达乌尔黄鼠比目鱼肌没有发生明显的肌肉萎缩。但是,梭内、外肌纤维的 mATPase 活性均明显增强,肌纤维类型发生了类似大鼠废用性肌萎缩状态下的转化,即由氧化型的慢缩肌向酵解型的快缩肌转化。

本实验在比较尾部悬吊和后肢制动两种常用的肌肉废用模型后,选择尾部悬吊法首次成功建立了达乌尔黄鼠后肢废用模型;这一模型为研究肌肉废用对达乌尔黄鼠骨骼肌的影响提供了新方法;文中关于达乌尔黄鼠比目鱼肌梭内、外肌 mATPase 活性及其尾部悬吊的影响均为首次报道。这一研究为冬眠动物肌肉生理的研究提供了新的实验资料。

## 参考文献 (References)

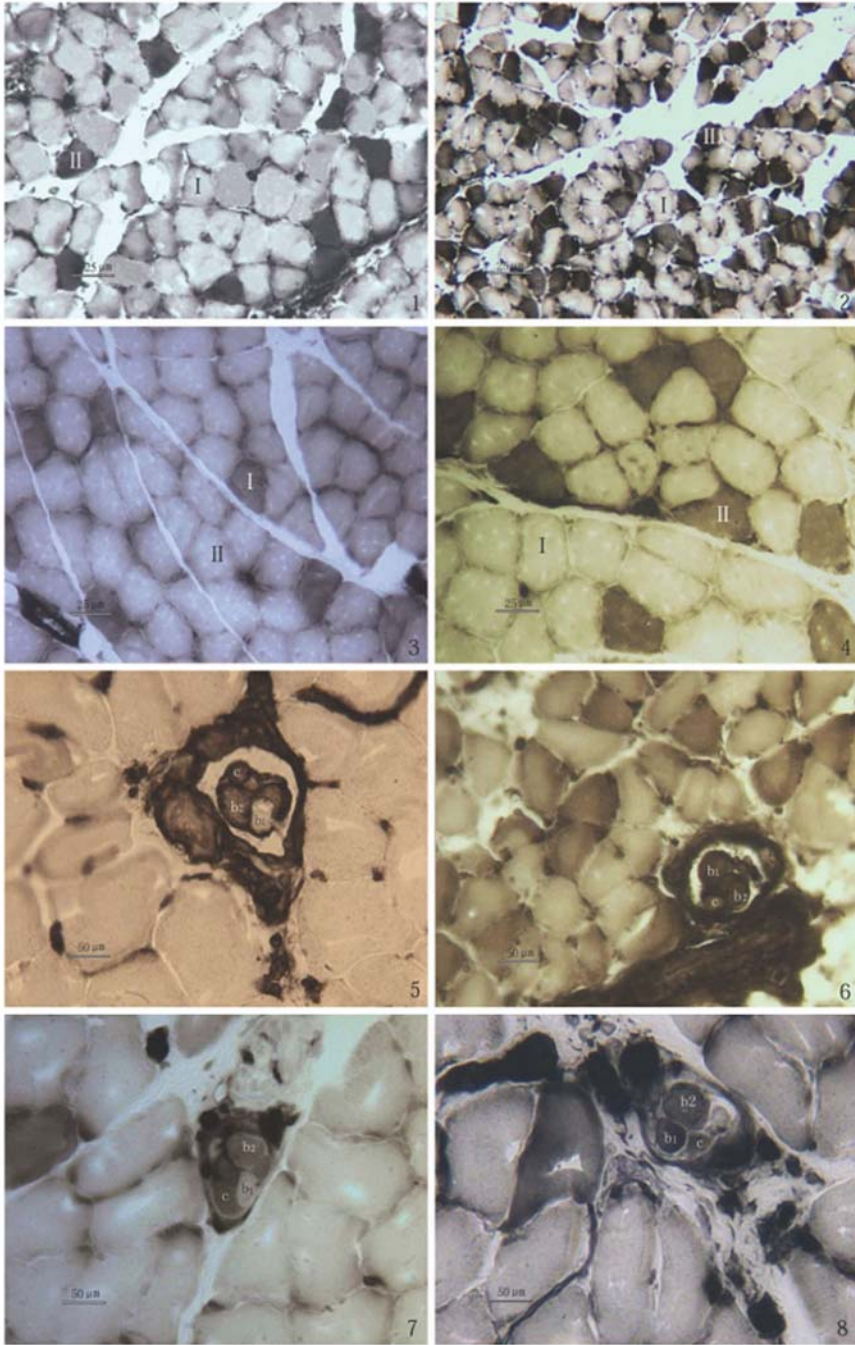
- Alkner BA, Tesch PA, 2004. Knee extensor and plantar flexor muscle size and function following 90 days of bed rest with or without resistance exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.* 93: 294 – 305.
- Blakemore SJ, Rickhuss PK, Watt PW, 1996. Effects of limb immobilization on cytochrome C oxidase activity and activity GLUT4 and GLUT5 protein expression in human skeletal muscle. *Clin. Sci. (Colch)* 91 (5): 591 – 599.
- Chen J, Ma J, Ding ZP, Zhang LF, 1993. A modified tail-suspension model for simulating long-term weightlessness. *Chin. J. Space Sci.* 13 (2): 159 – 162 (In Chinese).
- Du ZM, 1998. *Technique of practical histology*. Beijing: People's Medical Publishing House, 132 – 134 (In Chinese).
- Ganong WF, 2001. *Review of Medical Physiology*. Twentieth edition. McGraw-Hill Companies Inc., 69 – 70.
- Gao YF, Fan XL, He ZX, Wu SD, Song XA, 2005a. Effect of ligustrazine and radix astragali on activities of myosin adenosine triphosphatase of soleus muscle and muscle atrophy in tail-suspended rats. *Space Medicine and Medical Engineering* 18 (4): 262 – 266 (In Chinese).
- Gao YF, He ZX, Fan XL, Hu LL, Song XA, 2005b. Effects of the histochemical mATPase reaction at different pH values on classification of extrafusal fiber in rat soleus. *J. Northwest Univ.* 35 (1): 76 – 78 (In Chinese).
- Hagbarth KE, Macefield VG, 1995. The fusimotor system its role in fatigue. *Adv. Exp. Med. Biol.* 384: 259 – 270.
- Havenith MG, Visser R, Schrijvers-van SJ, 1990. Muscle fiber typing in routinely processed skeletal muscle with monoclonal antibodies. *Histochemistry* 93: 497 – 499.
- Luginbuhl AJ, Dudley GA, Staron RS, 1984. Fiber type changes in rat skeletal muscle after intense interval training. *Histochemistry* 81 (1): 55 – 58.
- Ma YL, Sun YZ, 1997. Recent advances in the study of muscle atrophy in suspended rats. *Space Medicine and Medical Engineering* 10 (2): 149 – 152 (In Chinese).
- Nagano K, Kajihara H, Suzuki E, Suzuo M, Kataoka K, Yoshii M, Ozawa K, 2003. Disuse atrophy alterations in normal and low temperature environments during hindlimb unloading in Syrian hamsters. *CryoLetters* 24 (4): 245 – 252.
- Nemeth P, Hofer HW, Pette D, 1979. Metabolic heterogeneity of muscle fibers classified by myosin ATPase. *Histochemistry* 63 (2): 191 – 201.
- Qie SY, Yue SW, 2003. Advance study of disuse muscle atrophy. *Chin. J. Rehabil.* 7 (5): 710 – 712 (In Chinese).
- Thomason DB, Booth FW, 1990. Atrophy of soleus muscle by hind limb unweighting. *J. Appl. Physiol.* 68: 1 – 12.
- Tisher ME, Heriksen EJ, Munoz KA, 1993. Space on STS-48 and earth-based unweighting produces similar effects on skeletal muscle of young rat. *J. Appl. Physiol.* 74 (5): 2 161 – 2 165.
- Wang Q, He ZX, Gao YF, 2006. On the effects of acid and alkaline preincubations of the histochemical ATPase reaction to the fiber classification of intrafusal muscle fibre in rat soleus. *J. Shannxi Univ. Technol. (Natural Science Edition)* 22 (1): 83 – 86 (In Chinese).
- Wu SD, Fan XL, Tang B, 2001. Changes in activities of myosin adenosine triphosphatase of intrafusal and extrafusal fibers in rat soleus muscle after tail-suspension. *J. Xi'an Med. Univ.* 22 (4): 298 – 300 (In Chinese).
- Zhu JM, Cui J, Jiang C, Zhuang XC, 1992. Observation of dynamic of rat soleus during tail suspension. *Space Medicine and Medical Engineering* 5 (1): 49 – 54 (In Chinese).
- 陈 杰, 马 进, 丁兆平, 张立藩, 1993. 一种模拟失重影响的大鼠尾部悬吊模型. *空间科学报* 13 (2): 159 – 162.
- 杜卓民, 1998. *实用组织学技术*. 北京: 人民卫生出版社, 132 – 134.
- 高云芳, 樊小力, 何志仙, 吴苏娣, 宋新艾, 2005a. 川芎嗪和黄芪对尾部悬吊大鼠比目鱼肌肌球蛋白 ATP 酶活性的影响. *航天医学与医学工程* 18 (4): 262 – 266.
- 高云芳, 何志仙, 樊小力, 胡琳琳, 宋新艾, 2005b. pH 值对应用 mATP 酶法进行梭外肌纤维分型的影响. *西北大学学报* 35 (1): 76 – 78.
- 马永烈, 孙亚志, 1997. 失重/模拟失重下肌肉萎缩的研究进展. *航天医学与医学工程* 10 (2): 149 – 152.
- 王 琦, 何志仙, 高云芳, 2006. pH 值对应用肌球蛋白 ATP 酶法进行梭内肌纤维分型的影响. *陕西理工学院学报 (自然科学版)* 22 (1): 83 – 86.
- 吴苏娣, 樊小力, 唐 斌, 2001. 尾部悬吊对大鼠比目鱼肌 mATP 酶活性的影响. *西安医科大学学报* 22 (4): 298 – 300.
- 鄢淑燕, 岳寿伟, 2003. 废用性肌萎缩研究进展. *中国临床康复* 7 (5): 710 – 711.
- 朱俊铭, 崔 建, 蒋 程, 庄祥昌, 1992. 尾吊大白鼠比目鱼肌特性动态变化过程观察. *航天医学与医学工程* 5 (1): 49 – 54.

## 图 版 说 明

1. 对照组大鼠比目鱼肌梭外肌纤维 mATPase 染色 × 200.
  2. 尾吊组大鼠比目鱼肌梭外肌纤维 mATPase 染色 × 200.
  3. 对照组黄鼠比目鱼肌梭外肌纤维 mATPase 染色 × 200.
  4. 尾吊组黄鼠比目鱼肌梭外肌纤维 mATPase 染色 × 200.
  5. 对照组大鼠比目鱼肌梭内肌纤维 mATPase 染色 × 400.
  6. 尾吊组大鼠比目鱼肌梭内肌纤维 mATPase 染色 × 400.
  7. 对照组黄鼠比目鱼肌梭内肌纤维 mATPase 染色 × 400.
  8. 尾吊组黄鼠比目鱼肌梭内肌纤维 mATPase 染色 × 400.
- I: I 型肌纤维. II: II 型肌纤维. b1: 核袋 1 纤维. b2: 核袋 2 纤维. c: 核链纤维.

## Explanation of Plates

1. Activity of mATPase of extrafusal fibers in the control group of rats × 200.
  2. Activity of mATPase of extrafusal fibers in the tail suspended group of rats × 200.
  3. Activity of mATPase of extrafusal fibers in the control group of ground squirrels × 200.
  4. Activity of mATPase of extrafusal fibers in the tail suspended group of ground squirrels × 200.
  5. Activity of mATPase of intrafusal fibers in the control group of rats × 400.
  6. Activity of mATPase of intrafusal fibers in the tail suspended group of rats × 400.
  7. Activity of mATPase of intrafusal fibers in the control group of ground squirrels × 400.
  8. Activity of mATPase of intrafusal fibers in the tail suspended group of ground squirrels × 400.
- I: type I fibers. II: type II fibers. b1: nuclear bag 1 fibers. b2: nuclear bag 2 fibers. c: nuclear chain fibers.



图版说明见文后 (Explanation at the end of the text)