

·基础研究·

急性跑台运动对骨骼肌氧化应激及 Fas/FasL、Bcl-2/Bax 基因表达的影响*

钱帅伟¹ 漆正堂² 丁树哲^{2,3}

摘要

目的:通过检测急性跑台运动中骨骼肌氧化应激情况以及 Fas/FasL、Bcl-2/Bax 等凋亡调控基因表达的动态变化,探究急性跑台运动诱导骨骼肌细胞凋亡的分子机制。

方法:以小鼠急性递增负荷跑台运动为实验模型,连续观察与分别测定安静组(Con)、急性跑台运动 45min 组(E45)、90min 组(E90)、120min 组(E120)和 150min 组(E150)的腓肠肌丙二醛(MDA)、过氧化氢(H₂O₂)、一氧化氮(NO)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性变化以及 Fas/FasL、Bcl-2/Bax 基因表达水平。

结果:①骨骼肌 MDA 和 H₂O₂ 含量在急性跑台运动第 45 分钟时显著升高($P < 0.05$),维持一段时间后又稳步下降,直到运动结束;骨骼肌 SOD 活性却呈现与之基本相反的变化态势;骨骼肌 NO 含量在急性跑台运动第 45 分钟时显著升高($P < 0.01$),并始终维持较高水平,直到运动结束。②骨骼肌 Fas/FasL mRNA 表达水平在急性跑台运动第 90—120 分钟时显著上升($P < 0.01$),随后有稳步下降态势;骨骼肌 Bcl-2 mRNA 表达水平在急性跑台运动第 90—120 分钟时显著降低($P < 0.05$),随后有稳步上升态势;骨骼肌 Bax mRNA 表达水平在急性跑台运动第 45 分钟时显著上升($P < 0.05$),在第 90 分钟时达到峰值($P < 0.01$),维持到第 120 分钟($P < 0.05$)后呈现下降态势;Bcl-2/Bax 比率在急性跑台运动第 45 分钟时显著降低($P < 0.05$),在 90min 时达最低水平($P < 0.01$),维持到第 120 分钟($P < 0.05$)后呈现上升态势。

结论:急性跑台运动可使骨骼肌 MDA、H₂O₂、NO 含量显著上升、SOD 活性下降,致使自由基过度生成与聚集,氧化应激水平提高。急性跑台运动可显著增强骨骼肌 Fas/FasL 和 Bax 基因表达、降低 Bcl-2 基因表达和 Bcl-2/Bax 比率,使骨骼肌细胞发生凋亡,这可能与自由基过度聚集,氧化应激水平提高有关。

关键词 骨骼肌;氧化应激;细胞凋亡;急性跑台运动;Fas/FasL;Bcl-2/Bax

中图分类号:R87, R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2014)-01-0020-06

Effects of acute treadmill exercise on oxidative stress and apoptosis regulating gene expressions in skeletal muscle/QIAN Shuaiwei, QI Zhengtang, DING Shuzhe//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2014, 29(1): 20—25

Abstract

Objective: To measure oxidative stress as well as dynamic changes of Fas/FasL, Bcl-2/Bax gene expressions in skeletal muscle, and investigate the mechanism of apoptosis in skeletal muscle during acute treadmill exercise.

Method: The different phase models of acute load treadmill exercise were setting up, and the mice were divided into control group (Con), acute treadmill exercise for 45min group (E45), 90min group (E90), 120min group (E120) and 150min group (E150). Microplate reader was used to measure the levels of melondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H₂O₂), nitric oxide (NO) and superoxide dismutase (SOD), quantitative real-time PCR technique was used to detect Fas/FasL, Bcl-2/Bax gene expressions in skeletal muscle.

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2014.01.005

*基金项目:国家自然科学基金资助项目(31171142;30871212);烟台大学青年基金资助项目(TY12Z08)

1 烟台大学体育学院运动医学教研室,烟台,264005; 2 华东师范大学“青少年健康评价与运动干预”教育部重点实验室; 3 通讯作者
作者简介:钱帅伟,男,硕士,助教; 收稿日期:2013-05-15

Result: ① The contents of MDA and H_2O_2 in skeletal muscle both rose quickly at the early stage of acute treadmill exercise, and were significantly higher than the control group at the 45th min ($P<0.05$), after maintained for a few minutes, they began to decrease until the exercise was over. The activity of SOD was basically revised to the contents of MDA and H_2O_2 . The content of NO rose quickly at the 45th min ($P<0.05$), and maintained time until the exercise was over. ② The levels of Fas/FasL mRNA expressions in skeletal muscle increased significantly at the 90th—120th min ($P<0.01$) during acute treadmill exercise, and then began to drop steadily. The level of Bcl-2 mRNA expression decreased significantly at the 90th—120th min ($P<0.05$), and then began to rise steadily. The level of Bax mRNA expression increased significantly at the 45th min ($P<0.05$), and reached the peak at the 90th min ($P<0.01$), and maintained until the 120th min ($P<0.05$), it began to drop steadily. The ratio of Bcl-2/Bax decreased significantly at the 45th min ($P<0.05$), and reached the lowest level at the 90th min ($P<0.01$), and maintained until the 120th min ($P<0.05$), it began to rise steadily.

Conclusion: Acute treadmill exercise could significantly increase the contents of MDA, H_2O_2 and NO, as well as decrease the activity of SOD in skeletal muscle. Eventually, free radicals assembled and the level of oxidative stress improved. Acute treadmill exercise could significantly improve the levels of Fas/FasL and Bax mRNA expressions in skeletal muscle, decrease the level of Bcl-2 mRNA expression as well as the ratio of Bcl-2/Bax, and eventually increase the apoptosis, which were related to the excessive accumulation of free radicals and improvement of oxidative stress.

Author's address School of Physical Education, Yantai University, Yantai, 264005

Key word skeletal muscle; oxidative stress; apoptosis; acute treadmill exercise; dynamic change; Fas/FasL; Bcl-2/Bax

细胞凋亡(apoptosis)是一种由基因控制的细胞自主性死亡,即程序性细胞死亡。它是机体生长、发育和维持内部平衡过程中发生的正常细胞生理性死亡现象。近年来,细胞凋亡一直是运动医学领域研究的热点。在细胞凋亡进程中,Fas/FasL是最重要的凋亡信号通路,Fas可通过与其配体FasL结合,向细胞转导死亡信号,导致细胞凋亡^[1]。Bcl-2/Bax是非常重要的凋亡调控基因,属于Bcl-2大家族,Bcl-2在骨骼肌细胞遭受各种应激刺激时可抑制细胞凋亡,而Bax则是细胞凋亡的促进因子,Bcl-2/Bax比率是决定骨骼肌细胞是否凋亡以及凋亡程度的重要参照标准^[2]。细胞凋亡的诱因很多,包括外源性化学物质、电离辐射、病毒感染和氧化应激等^[3]。氧化应激是细胞在遭受多种内源或外源性应激刺激时,内源性抗氧化系统(CAT、GSH-Px、SOD等)与氧化系统(MDA、 H_2O_2 、NO等)之间的平衡被打破,自由基的产生能力超过其清除能力,致使细胞氧化损伤。氧化应激可通过线粒体、内质网应激、死亡受体等途径介导细胞凋亡,也可通过激活丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)通路、激活 caspases、活化核转录因子 κB (nuclear

factor- κB , NF- κB)等多种途径诱导细胞凋亡^[4]。其中,线粒体途径是介导细胞凋亡的主要信号途径。

本研究通过建立急性递增负荷跑台运动的动态变化模型,并选取骨骼肌MDA、SOD、 H_2O_2 、NO等氧化应激指标以及Fas/FasL、Bcl-2/Bax等凋亡相关基因,以期通过检测骨骼肌氧化应激和凋亡调控基因表达水平的时相性变化,探讨急性跑台运动诱导骨骼肌细胞凋亡的分子机制,为科学合理地进行运动训练提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

健康雄性ICR小鼠40只,7—8周龄,体重19—21g,由上海斯莱克实验动物有限公司提供。动物饲料和垫料由上海生工生物技术有限公司提供,自由饮水、饮食,相对湿度50%—70%,饲养温度20—23℃。随机分为5组:安静组(Con)、急性跑台运动45min组(E45)、90min组(E90)、120min组(E120)、150min组(E150),每组均8只。

1.2 运动方案

各实验组均进行适应性跑台运动(乔山跑步机

改装),坡度0°,速度0.8km/h,持续时间5min,共训练3d。正式运动遵循以下程序:第1级负荷:1km/h,各组运动时间均为15min;第2级负荷:1.2km/h,各组运动时间均为15min;第3级负荷:1.4—1.5km/h,各组运动时间分别为15min、60min、90min、120min。

1.3 动物处死及取材

安静组于安静状态,运动组于运动中相应时间点断颈椎处死,迅速取下腓肠肌,切分若干份后装入冻存管,迅速置液氮速冻,之后转到-80℃超低温冰箱保存。

1.4 生化指标检测

蛋白定量采用考马斯亮蓝法,MDA、SOD、H₂O₂、NO的检测均参照南京建成生物工程研究所提供的试剂盒说明书。酶标仪检测吸光度,按照给定公式计算。

1.5 基因表达检测

实时荧光定量PCR检测骨骼肌Fas/FasL、Bcl-2/Bax基因表达水平,引物序列由Invitrogen(上海)设计与合成。具体为:

Fas上游引物:5'GCAT CTGG ACCC TCCT ACCT CTG3',

下游引物:5'GACA AAGC CACC CCAA GTTA GA3'。

FasL上游引物:5'TTCT GGTT GCCT TGGT AGGA TTG3',

下游引物:5'ACCT TGAG TTGG ACTT GCCT GTT3'。

Bcl-2上游引物:5'GCTA CGAG TGGG ATAC TGGA GATG A3',

下游引物:5'ATCC CTGA AGAG TTCC TCCA CCAC C3';

Bax上游引物:5'CAGG GTTT CATC CAGG ATCG AGCA G3',

下游引物:5'GGCG GTGA GGAC TCCA GCCA CAAA G3'。

β-actin上游引物:5'TGTT ACCA ACTG GGAC GACA3',

下游引物:5'CTAT GGGG GAAC GGCA GAAG3'。

取部分腓肠肌样品,RNA抽取步骤按照Trizol试剂盒说明书进行。取RNA样品5μl,以oligo dT为随机引物进行反转录,合成cDNA。10μl反应体系中含有:5×RT Buffer 2μl,RT Enzyme Mix

0.5μl,Primer Mix 0.5μl,RNA 5μl,Nuclease-free Water 2μl。反应条件:37℃,15min;然后98℃,5min;-20℃冰箱保存。

cDNA样品按以下反应体系进行:SYBR green PCR Master Mix(TOYOBO)10μl,上下游引物各0.8μl,ddH₂O 6.4μl,cDNA模板2μl。总反应体积20μl。反应条件,第一步:预变性(95℃,60s);第二步:40个循环(95℃,15s;61℃,30s;72℃,45s);第三步:建立PCR产物溶解曲线,变性(95℃,15s),退火(55℃,60s),从55℃缓慢加热到95℃,15s;每1℃收集荧光一次。溶解曲线只有一个主波峰,说明扩增特异性高,符合荧光定量PCR的要求。PCR仪输出CT值,β-actin基因为内参,根据公式2-ΔCT计算样品目的基因相对表达量。

1.6 统计学分析

各数据均采用均数±标准差的形式表示,实验数据采用Excel 2003软件初步整理,SPSS 17.0统计软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 急性跑台运动对骨骼肌MDA、NO、H₂O₂含量和SOD活性的影响

与Con组相比,E45、E90组MDA含量明显增加,差异具有显著性($P < 0.05$),与E45或E90组相比,E150组MDA含量明显下降,差异具有显著性($P < 0.05$)。与Con组相比,E90组SOD活性明显减弱,差异具有显著性($P < 0.05$),其他各组SOD活性虽然均有一定程度减弱,但差异不具显著性($P > 0.05$)。与Con组相比,E45组H₂O₂浓度明显增加,差异具有显著性($P < 0.05$),E90、E120组H₂O₂浓度虽有一定增加,但差异不具显著性($P > 0.05$),与E45组相比,E90、E120、E150组H₂O₂浓度明显下降(分别 $P < 0.05$; $P < 0.05$; $P < 0.01$)。与Con组相比,E45、E150组NO含量明显增加,差异具有非常显著性($P < 0.01$),E90、E120组含量也明显增加,差异具有显著性($P < 0.05$)。见表1。

2.2 急性跑台运动对骨骼肌Fas/FasL、Bcl-2/Bax基因表达的影响

与Con组相比,E90、E120组Fas mRNA表达均明显上升,差异具有非常显著性($P < 0.01$),与E120

组相比,Fas mRNA表达明显下降,差异具有显著性($P < 0.05$)。与Con组相比,E90、E120组FasL mRNA表达均明显上升,差异具有非常显著性($P < 0.01$),与E45组相比,E120组FasL mRNA表达明显

上升,差异具有非常显著性($P < 0.01$),与E120组相比,E150组FasL mRNA表达明显下降,差异具有显著性($P < 0.05$)。与Con组相比,E90、E120组Bcl-2 mRNA表达均明显下降,差异具有显著性($P < 0.05$),与E45组相比,E90组Bcl-2 mRNA表达明显下降,差异具有显著性($P < 0.05$)。与Con组相比,E45、E90、E120组Bax mRNA表达均显著性上升(分别 $P < 0.05$; $P < 0.01$; $P < 0.05$),与E90组相比,E120、E150组Bax mRNA表达均显著性下降(分别 $P < 0.05$; $P < 0.01$)。与Con组相比,E45、E90、E120组Bcl-2/Bax比值均显著性下降(分别 $P < 0.05$; $P < 0.01$; $P < 0.05$)。见表2。

表1 急性跑台运动中骨骼肌MDA、SOD、H₂O₂、NO动态变化情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	MDA (nmol/mg prot)	SOD (U/mg prot)	H ₂ O ₂ (mmol/g prot)	NO (μ mol/g prot)
Con组	7.221±0.346	45.39±3.866	63.93±5.111	0.804±0.090
E45组	12.75±2.387 ^①	40.40±10.08	101.7±19.11 ^①	2.337±0.237 ^②
E90组	13.14±3.259 ^①	29.67±5.185 ^①	65.40±11.22 ^③	2.315±0.487 ^①
E120组	10.98±2.758	36.33±8.296	64.81±11.91 ^③	2.313±0.499 ^①
E150组	7.182±0.888 ^{③⑤}	35.61±10.02	54.89±6.019 ^④	2.385±0.510 ^②

与Con组比较:① $P < 0.05$;② $P < 0.01$;与E45组比较:③ $P < 0.05$;④ $P < 0.01$;与E90组比较:⑤ $P < 0.05$

表2 急性跑台运动中骨骼肌Fas/FasL、Bcl-2/Bax基因表达的动态变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Fas	FasL	Bcl-2	Bax	Bcl-2/Bax
Con组	0.853±0.116	0.777±0.203	1.093±0.279	0.857±0.150	1.103±0.270
E45组	1.435±0.124	1.343±0.228	0.916±0.256	1.702±0.215 ^①	0.584±0.112 ^①
E90组	2.362±0.201 ^②	2.032±0.298 ^②	0.475±0.133 ^{③④}	2.299±0.286 ^②	0.447±0.109 ^②
E120组	2.853±0.226 ^②	2.471±0.246 ^{②④}	0.526±0.153 ^①	1.588±0.220 ^{③⑤}	0.510±0.124 ^①
E150组	1.342±0.135 ^⑦	1.447±0.360 ^⑦	0.725±0.209	1.191±0.220 ^⑥	0.669±0.219

与Con组比较:① $P < 0.05$;② $P < 0.01$;与E45组比较:③ $P < 0.05$;④ $P < 0.01$;与E90组比较:⑤ $P < 0.05$;⑥ $P < 0.01$;与E120组比较:⑦ $P < 0.05$

3 讨论

骨骼肌细胞中同时存在内源性抗氧化系统(CAT、GSH-Px、SOD等)与氧化系统。正常的生理情况下,二者之间处于动态平衡状态。MDA是脂质过氧化反应的重要产物,可衡量脂质过氧化程度。SOD是氧自由基防御体系中重要的抗氧化酶,可通过歧化方式清除氧自由基,减轻细胞氧化损伤和凋亡。H₂O₂是线粒体产生的活性氧,可分解成氧自由基,通过对生物膜多不饱和脂肪酸的过氧化而引起脂质过氧化反应,导致细胞氧化损伤和凋亡。NO是一种多功能因子(氮自由基),可参与细胞多种生理功能的调节。生理水平的NO可减少细胞凋亡,过量则促进细胞凋亡^[5]。NO发挥抗凋亡还是促凋亡作用取决于其局部浓度。通过检测骨骼肌MDA、H₂O₂、NO含量和SOD活性变化可衡量细胞氧化应激程度。

目前的研究已经充分证实,急性大强度运动可使骨骼肌MDA、H₂O₂、NO含量显著升高,SOD活性下降。这是因为,急性运动是一种短时间、大强度的应激刺激,细胞调节机制尚未及时启动,氧化还原平

衡被打破,使自由基过度生成与聚集,当其超过抗氧化系统的清除能力时,就会导致骨骼肌氧化损伤^[6-7]。

本研究结果显示,骨骼肌MDA、H₂O₂含量在急性跑台运动开始时即稳步上升,在45min时显著增高,这种高水平状态维持一段时间后又开始下降,直到运动结束。而骨骼肌SOD活性在急性跑台运动90min时开始显著降低,随后又有所升高,直到运动结束。可知,SOD活性的曲线走向与MDA、H₂O₂含量的变化态势基本相反。而骨骼肌NO含量在急性跑台运动不同时相始终处于较高水平状态。本研究结果与之前的研究结果基本一致。这说明:急性跑台运动作为一种短时间、大强度的应激刺激,打破了骨骼肌氧化/抗氧化系统之间的动态平衡,使内源性抗氧化物不能有效清除自由基,从而引起脂质过氧化反应。因此,本研究认为,骨骼肌氧化应激水平在急性跑台运动45min时显著上升,保持一段时间的高水平状态后又开始稳步下降,直到运动结束。

自由基过度生成引起的氧化应激是诱导细胞凋亡的重要信号途径^[8]。胞浆中大量聚集的自由基可使氧化应激水平上升,通过激活Fas/FasL系统,直接

启动细胞凋亡的死亡信号转导通路^[9]。研究表明^[10], H₂O₂所致的氧化应激可使 c-myc、Fas/FasL 等凋亡基因的表达明显增强,但经过 SOD 处理之后, c-myc、Fas/FasL、NF-κB 的表达明显降低,凋亡指数也随之降低。这说明,氧化应激诱导的细胞凋亡与激活 NF-κB,促进凋亡相关基因 c-myc、Fas/FasL 的表达密切相关。另外,氧化应激还能通过上调 Bax 基因的表达、抑制 Bcl-2 基因的表达,使线粒体膜异位,膜完整性受到破坏,细胞色素 C (cytochrome C, Cyt-C)大量释放,后者通过与凋亡蛋白酶激活因子 (apoptotic protease activating factor 1, Apaf1) 及脱氧三磷酸腺苷结合,激活 caspase 9 并与之协同顺序激活下游 caspase 3 和 caspase 7,最终导致细胞凋亡^[11-13]。

Fas/FasL 系统是骨骼肌细胞中直接启动细胞凋亡的死亡信号转导系统。Fas 又称 Apo-1,属于肿瘤坏死因子受体和神经生长因子受体家族的细胞表面因子,在骨骼肌细胞凋亡中发挥转导凋亡信号的作用。FasL 配体是肿瘤坏死因子受体家族的细胞表面因子。当骨骼肌细胞表面 Fas 表达时,可激活其配体 FasL,导致 Fas 死亡域自聚或者交联,并通过激活神经鞘磷脂酶、酪氨酸蛋白激酶和白介素-1β 转换酶等多种蛋白酶或内源性核酸酶,引起细胞凋亡。Sandri 等^[14]研究表明,一次大强度运动可显著上调 C57BL/6 小鼠骨骼肌 Fas/FasL、Bcl-2 等凋亡相关基因的表达,使骨骼肌细胞凋亡。也有研究表明,大负荷跑台运动 (-10°, 20m/min) 可使腓肠肌 SOD 活性下降、MDA 含量增加, Fas 基因表达显著上调,而原花青素可显著降低氧化应激水平,对腓肠肌微损伤及凋亡有一定的缓解与抑制作用^[15]。姜振等^[16]研究表明,急性力竭运动可使大鼠骨骼肌 Fas mRNA 表达增强、细胞凋亡数量增多,而高压氧疗法可通过增强抗氧化酶系统的活性、降低自由基水平、增加微循环血量、改善机体缺氧状态,从而抑制 Fas mRNA 的表达,减少骨骼肌细胞凋亡,促进骨骼肌疲劳与微损伤的恢复。本研究结果显示,急性跑台运动在诱导骨骼肌氧化应激的同时,还能使骨骼肌 Fas/FasL 基因表达水平在 90min 时显著增加,在 120min 时达到峰值,随后呈现下降态势。这与之前的研究结果基本一致。提示,急性跑台运动时自由基的过度聚

集、氧化应激水平的提高可能激活 Fas/FasL 凋亡信号调控通路,使骨骼肌细胞发生凋亡。

Bcl-2/Bax 是骨骼肌细胞凋亡过程中具有重要调控作用的基因。Bcl-2 表达的增强可抑制骨骼肌细胞凋亡,而 Bax 的过度表达则促进细胞凋亡。Bcl-2/Bax 比率是决定细胞是否发生凋亡以及凋亡程度的重要标志,因此被称为启动细胞凋亡的“分子开关”。高水平的 Bcl-2/Bax 有助于细胞存活,比率过低则促进细胞凋亡。细胞凋亡与否最终取决于两者之间的平衡结果。跑台训练实验也发现,当骨骼肌细胞发生凋亡时,抗凋亡基因 Bcl-2 和促凋亡基因 Bax 的表达均发生了显著变化,且二者之间的变化趋势恰好相反^[17]。Podhorska-Okolow 等^[18]研究表明,持续一夜的自由跑轮运动可使 C57BL/6 小鼠骨骼肌 Bcl-2/Bax 比率显著降低,导致细胞凋亡信号的启动,但在运动后的恢复期, Bcl-2/Bax 比率反而逐渐升高。王冬梅等^[19]研究发现,一次力竭性游泳运动可使骨骼肌 Bcl-2 mRNA 表达下降 8.6%、Bax mRNA 表达增加 30.5%,并认为,力竭性游泳可使骨骼肌抗凋亡能力减弱,促凋亡能力大大增强,并可能启动线粒体凋亡信号传导途径,引起细胞凋亡,造成骨骼肌疲劳或损伤。柳佳伟等^[20]研究表明,耐力训练可显著提高大鼠腓肠肌 SOD、GSH-Px 活性,降低氧化应激水平,增加 Bcl-2 mRNA 表达,降低 Bax mRNA 表达;但一次力竭运动却可减弱 SOD、GSH-Px 活性,升高自由基水平,降低 Bcl-2 mRNA 表达,增加 Bax mRNA 表达,而一次力竭运动后的补锌可显著提高腓肠肌 GSH-Px 活性和总抗氧化能力 (total antioxidant capacity, T-AOC),增加腓肠肌 Bcl-2 mRNA 表达,但对 Bax mRNA 表达的影响不明显。陈德权等^[21]研究表明,一次高强度的间歇运动可通过增强骨骼肌 Bax mRNA 表达、降低 Bcl-2 mRNA 表达,升高自由基水平,共同使运动能力下降,而长期间歇训练可能通过增强骨骼肌抗氧化能力,上调抗凋亡基因的表达,使运动能力增强。本研究结果显示,急性跑台运动在上调骨骼肌氧化应激水平的同时,还能使骨骼肌 Bcl-2 mRNA 表达水平在 90—120min 时显著降低,随后又呈现上升态势;而 Bax mRNA 表达却在运动 45min 时显著增加,在 90min 时达到峰值,这种高水平态势一直维持到

120min后又开始稳步下降;且Bcl-2/Bax比率在运动45min时显著降低,在90min时达最低水平,维持到120min后呈现上升态势。本研究结果与陈德权等人的研究结果一致。提示,急性跑台运动时自由基的过度生成与聚集、氧化应激水平的提高可能通过调控骨骼肌Bcl-2/Bax基因的表达,促进细胞凋亡。最近王雪芹等^[22]的研究也同样认为,大强度递增负荷跑台运动可使自由基过度生成,抗氧化系统酶活性降低,导致抗凋亡基因Bcl-2 mRNA表达下降,促凋亡基因Bax mRNA表达增加,其寡聚体形成并整合到线粒体上,引起线粒体外膜通透性改变,膜电位下降,游离的Cyt-C释放到胞浆,使线粒体凋亡通路的下游基因发挥凋亡调控作用。

急性跑台运动可使骨骼肌MDA、H₂O₂、NO含量显著上升、SOD活性下降,致使自由基过度生成与聚集,氧化应激水平提高。急性跑台运动可显著增强骨骼肌Fas/FasL和Bax基因表达、降低Bcl-2基因表达和Bcl-2/Bax比率,使骨骼肌细胞发生凋亡,这可能与自由基过度聚集,氧化应激水平提高有关。

参考文献

- [1] Shukla S, Fujita K, Xiao Q, et al. A shear stress responsive gene product PP1201 protects against Fas-mediated apoptosis by reducing Fas expression on the cell surface[J]. *Apoptosis*, 2011, 16(2):162—173.
- [2] Lim JY, Han TR. Effect of electromyostimulation on apoptosis-related factors in denervation and reinnervation of rat skeletal muscles[J]. *Muscle Nerve*, 2010, 42(3):422—430.
- [3] Zhu X, Smith MA, Honda K, et al. Vascular oxidative stress in Alzheimer disease[J]. *J Neurol Sci*, 2007, 257(1—2):240—246.
- [4] Wu Y, Song W. Regulation of RCAN1 translation and its role in oxidative stress-induced apoptosis[J]. *FASEB J*, 2013, 27(1):208—221.
- [5] Corsetti G, Pasini E, Assanelli D, et al. Acute caffeine administration decreased NOS and Bcl2 expression in rat skeletal muscles[J]. *Pharmacol Res*, 2007, 55(2):96—103.
- [6] 张雪,丁树哲.耐力训练对SD大鼠氧化应激及MAPK1/2的影响[J].*体育科学*,2010,30(5):49—55.
- [7] 熊正英,刘军.Ebselen对大强度耐力训练大鼠肝脏细胞凋亡及自由基代谢的影响[J].*体育科学*,2008,28(11):62—67.
- [8] Heath-Engel HM, Shore GC. Mitochondrial membrane dynamics, cristae remodelling and apoptosis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1763(5—6):549—560.
- [9] Nowak M, Kopp F, Roelofs-Haarhuis K, et al. Oral nickel tolerance: Fas ligand-expressing invariant NK T cells promote tolerance induction by eliciting apoptotic death of antigen-carrying, effete B cells[J]. *J Immunol*, 2006, 176(8):4581—4589.
- [10] Maheshwari A, Misro MM, Aggarwal A, et al. Pathways involved in testicular germ cell apoptosis induced by H₂O₂ in vitro[J]. *FEBS J*, 2009, 276(3):870—881.
- [11] Delivoria-Papadopoulos M, Gorn M, Ashraf QM, et al. ATP and cytochrome c-dependent activation of caspase-9 during hypoxia in the cerebral cortex of newborn piglets[J]. *Neurosci Lett*, 2007, 429(2—3):115—119.
- [12] Roy AM, Baliga MS, Elmets CA, et al. Grape seed proanthocyanidins induce apoptosis through p53, Bax, and caspase 3 pathways[J]. *Neoplasia*, 2005, 7(1):24—36.
- [13] Teijido O, Dejean L. Upregulation of Bcl2 inhibits apoptosis-driven BAX insertion but favors BAX relocalization in mitochondria[J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(15):3305—3310.
- [14] Sandri M, Podhorska-Okolow M, Geromel V, et al. Exercise induces myonuclear ubiquitination and apoptosis in dystrophin-deficient muscle of mice[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1997, 56(1):45—57.
- [15] 闵柱,刘文杰,耿潇,等.原花青素干预大负荷运动大鼠腓肠肌相关凋亡蛋白的表达[J].*中国组织工程研究*,2013,17(2):309—314.
- [16] 姜振,张林,刘鹏程.高压氧对急性力竭运动大鼠骨骼肌Fas-mRNA表达与细胞凋亡的影响[J].*安徽农业科学*,2009,37(22):10520—10521.
- [17] Song W, Kwak HB, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced changes in apoptotic signaling in rat skeletal muscle[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2006, 8(3—4):517—528.
- [18] Podhorska-Okolow M, Sandri M, Zampieri S, et al. Apoptosis of myofibres and satellite cells: exercise-induced damage in skeletal muscle of the mouse[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 1998, 24(6):518—531.
- [19] 王冬梅,董军,漆正堂,等.运动对骨骼肌线粒体通透性转换孔及细胞凋亡的影响[J].*西安体育学院学报*,2011,28(4):471—475.
- [20] 柳佳伟,丁树哲,胡志刚.补锌对耐力训练、力竭运动大鼠腓肠肌超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、总抗氧化能力以及Bax、Bcl-2 mRNA的影响[J].*中国运动医学杂志*,2011,30(8):740—744.
- [21] 陈德权,邓树勋,彭峰林.间歇运动对大鼠骨骼肌凋亡基因Bax、Bcl-2及相关因素的影响[J].*北京体育大学学报*,2008,31(7):922—925.
- [22] 王雪芹,郝选明.6周递增负荷运动对大鼠小肠集合淋巴结细胞线粒体凋亡途径的影响[J].*体育学刊*,2013,20(2):141—144.