

静态负荷致肌肉损伤的生物标志物探讨

张强¹, 韩长磊²

(1. 济宁医学院职业卫生与环境医学研究所, 山东 济宁 272013 2. 山东大学公共卫生学院, 山东 济南 250012)

摘要: 目的 探讨静态负荷致肌肉损伤的生物标志物。方法 建立静态负荷动物模型, 测定家兔腰肌线粒体膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP酶活性、血清丙二醛 (MDA) 含量、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性变化。结果 施加静态负荷 2 周后, 实验组 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP酶活性与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 实验组家兔血清 MDA 含量显著升高, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 第 1 周时, 实验组家兔血清 GSH-Px 活性显著升高, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 第 2 周时 GSH-Px 活性稍降低, 与对照组比较差异仍有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 静态负荷对肌肉造成一定程度的损伤, MDA 及 GSH-Px 可作为静态负荷致肌肉损伤的生物标志物。

关键词: 静态负荷; 肌肉损伤; Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP酶; 丙二醛; 谷胱甘肽过氧化物酶; 生物标志物

中图分类号: R135.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X(2008)03-0176-02

Studies on the biomarkers of muscle injury induced by static load

ZHANG Qiang, HAN Changlei

(1. Institute of Occupational Health and Environmental Medicine, Jining Medical College, Jining 272013, China

2. School of Public Health, Shandong University, Jinan 250012, China)

Abstract: Objective To study the biomarkers of muscle injury caused by static load. Methods Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase activity in rabbit psoas, serum activity of glutathione peroxidase (GSH-Px) and the contents of malondialdehyde (MDA) in serum were measured in the rabbits established static load. Results The psoas Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase activity was significantly higher than that of control group after 2 weeks of static load ($P < 0.05$) and the serum MDA content was also significantly risen compared with control group ($P < 0.05$). So did in the serum activity of GSH-Px ($P < 0.05$). Conclusion MDA and GSH-Px could be the biomarkers of muscle injury induced by static load.

Key words: Static load; Muscle injury; Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase; Malondialdehyde (MDA); Glutathione peroxidase (GSH-Px); Biomarker

职业性肌肉骨骼损伤是常见的工作有关疾病, 受累的主要是肌肉组织, 其次是相关的韧带及肌腱。流行病学及有关的生物力学研究已经证实, 肌肉损伤的主要原因是静态负荷或反复用力^[1,2], 但其损伤的机制尚不十分清楚。我们采用静态负荷动物模型, 观察静态负荷致肌肉损伤过程中家兔骨骼肌线粒体膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP酶活性、血清丙二醛 (MDA) 含量、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性的变化情况, 以探讨静态负荷所致肌肉损伤的生物标志物。

1 材料与方法

1.1 实验动物

使用山东鲁抗医药公司实验动物中心提供的健康成年家兔 16 只, 雌雄各半, 体重 2 100 ~ 2 500 g。

1.2 实验方法

将 16 只家兔随机分为 1 个实验组和 1 个对照组, 每组 8 只, 各组家兔体重差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。分笼饲养, 每笼 1 只, 自由饮食、饮水。实验时将家兔固定在特制的笼子内, 一兔一笼, 使其腰部处于最大生理弯曲状态, 每日上、下午各 4 h。实验组固定 2 周, 对照组不固定, 其他条件与实验组相同。实验结束后处死动物。

1.3 线粒体膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP酶活性测定

动物处死后, 迅速取出腰部 L4 ~ L5 处最长肌肌肉, 放入冷生理盐水中漂洗, 除去血液及结缔组织。取 1 肌肉在冰水中剪碎, 倒入预冷的 0.86% 冷生理盐水中制备 10% 匀浆, 匀浆操作在盛有冰水混合物的器皿中进行, 以差速离心法分离线粒体。线粒体膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP酶活性测定用南京建成生物工程研究所提供的 ATP 酶测试盒提供的方法。

1.4 血清 MDA 含量、GSH-Px 活性的测定

采用南京建成生物工程研究所提供的 MDA、GSH-Px 测定试剂盒提供的方法。

1.5 统计方法

使用统计分析软件 SPSS 13.0 对数据进行检验。

2 结果

2.1 线粒体膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP酶活性

固定 2 周后, 家兔腰肌线粒体膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP酶活性 [$\mu\text{mol}(\text{Pi} \cdot \text{mg protein})^{-1} \cdot \text{hour}^{-1}$] 实验组 (5.46 ± 0.92), 与对照组 (6.32 ± 0.56) 比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 血清 MDA 含量

固定第 1、2 周时, 实验组家兔血清 MDA 含量显著升高, 与对照组比较差异有统计学意义 (见表 1)。

2.3 血清 GSH-Px 活性

固定第 1 周时, 实验组家兔血清 GSH-Px 活性显著升高,

与对照组比较差异有统计学意义；固定第 2周时 GSH-Px活性 稍降低，与对照组比较差异仍有统计学意义（见表 1）。

表 1 不同时间静态负荷对血清 MDA含量、GSH-Px活性的影响

组别	n	MDA含量			GSH-Px活性		
		固定前	固定后第一周	固定后第二周	固定前	固定后第一周	固定后第二周
对照组	8	8.65±2.27	7.26±1.32	8.29±1.68	114.29±259.82	945.71±168.49	924.29±171.75
实验组	8	8.08±3.20	10.00±2.83*#	11.51±2.24**#	1017.14±175.36	1520.00±308.66***#	1210.00±144.23**#

与对照组比较，* P<0.05 ** P<0.01；与固定前比较，# P<0.01

3 讨论

骨骼肌线粒体是肌细胞的呼吸器官，它通过氧化磷酸化生成 ATP供给细胞需要。线粒体又是细胞钙的缓冲器，它通过钙的摄取与释放调节钙含量，以维持细胞的功能。过多的细胞内钙进入线粒体，可造成线粒体内钙稳态破坏，抑制线粒体的氧化代谢酶，使 ATP生成减少，肌细胞能量供给不足。由于能量不足和胞浆 Ca^{2+} 浓度过高，几种膜结构中的 ATP酶的水解速率明显降低，进一步引起胞浆中各种离子浓度失衡和钙超载。以前的研究发现，在静态负荷致肌肉损伤过程中，线粒体发生了损伤性变化，表现为线粒体水肿、坏死及数目减少，细胞钙稳态失调^[3-5]。本研究结果显示，施加静态负荷后，线粒体膜 Ca^{2+} -Mg⁺-ATP酶活性显著降低。

肌肉损伤时线粒体 Ca^{2+} -Mg⁺-ATP酶活性改变的机制尚不清楚，除肌细胞内能量物质缺乏外，自由基大量生成也可能是造成 Ca^{2+} -Mg⁺-ATP酶活性下降的重要原因^[6-8]。本研究结果显示，施加静态负荷后，家兔血清 MDA的含量有不同程度的增加，提示在静态负荷下，家兔体内有大量自由基生成。肌细胞内大量自由基的生成，会引发细胞器膜的脂质过氧化反应，进而导致膜的功能改变，甚至丧失。同时 MDA会不断攻击生物膜上的蛋白质和脂类以及其他巯基酶的巯基蛋白，甚至 DNA RNA等。因此，MDA可反映机体内脂质过氧化的程度，间接地反应出细胞损伤的程度，有可能作为肌肉损伤的生物标志物。

GSH-Px是机体内广泛存在的一种重要的催化过氧化氢分解的酶，它特异的催化还原型谷胱甘肽对过氧化氢的还原反应，可以起到保护细胞膜结构和功能完整的作用。国内研究证实，延迟性肌肉损伤和机体自由基代谢异常有着密切的关系^[9]。当机体在长时间高强度的机械负荷刺激下产生过多的

自由基时，GSH-Px代偿性的增加，并随着负荷刺激的消失，自由基减少而下降。本研究结果显示，GSH-Px活力在施加静态负荷第 1周后显著上升，第 2周即下降。由此可见，GSH-Px活力的剂量-反应关系不甚明显，需进一步探讨 GSH-Px能否作为静态负荷致肌肉损伤的生物标志物。

参考文献：

- [1] 王生, 李莉, 刘家驹. 坐位作业工人腰部负荷的生物力学分析 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1994 12 (1): 29-31
- [2] 何丽华, 王生, 吴道溪, 等. 坐位作业工人颈、肩、腕的肌肉骨骼损伤 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1995 13 (6): 337-339
- [3] 王起恩, 王生, 牛云彤, 等. 强迫体位致骨骼肌线粒体动态变化的研究 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1996 14 (3): 142-144
- [4] 王生, 王起恩, 安中平, 等. 强迫体位引起骨骼肌线粒体超微结构变化的形态计量学研究 [J]. 北京医科大学学报, 1996 28 (1): 62-64
- [5] 王生, 郑强, 何丽华, 等. 静态负荷对家兔骨骼肌胞浆 Ca^{2+} 含量及肌浆网功能的影响 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2000 18 (6): 327-329
- [6] 胡红梅, 许豪文. 运动性内源自由基对大鼠心肌线粒体功能的影响 [J]. 中国运动医学杂志, 1998 17 (1): 23-25
- [7] Armstrong R B, Warren G L, Warren J A. Mechanisms of exercise-induced muscle fibre injury [J]. Sports Medicine, 1991, 12 (3): 184-207
- [8] Kontaris R J, Granger D N, Townsley M J, et al. The role of oxygen-derived free radicals in ischaemia induced increases in canine skeletal muscle vascular permeability [J]. Circulation Research, 1985 57 (4): 599-609
- [9] 陈英杰, 郭庆芳, 赵保路, 等. 延迟性肌肉损伤与自由基代谢异常 [J]. 中国运动医学杂志, 1993 12 (2): 65-68

第五次全国健康监护学术会议征文通知

中华预防医学会职业病专业委员会职业健康监护学组拟于 2008 年 11 月在贵州省贵阳市召开第五次全国健康监护学术交流会，会议论文主要内容包括：（1）《职业健康监护技术规范》实施以来的健康监护工作经验、存在问题及建议；（2）职业健康监护管理，尤其是信息管理；（3）突发性公共卫生事件中的健康监护问题；（4）职业健康监护在流行病学中的应用；（5）职业病防治工作经验与教训。论文必须未公开发表，有一定创新性和学术性。附有：标题、作者及其联系方式（姓名、单位、通信地址、邮编、电话、E-mail）、摘要、关键词、正文及参考文献，统一用 Word 格式，字体限中文或英文，论文可采取邮寄或电子版附件形式提交。投稿邮箱（E-mail）：xfw666@163.com 或 Pjksq2@163.com。邮寄地址：福建省三明市疾病预防控制中心（三明市梅列区杜鹃新村 32 幢，邮编 365000），肖方威收；广州市职业病防治院（广州市黄埔大道西天强路 1 号，邮编 510620），张维森收。征文截止日期：2008 年 9 月 30 日。