

# 4周抗阻训练缓解低氧诱导大鼠肌萎缩中不同肌纤维类型的敏感性差异

付鹏宇<sup>1, 2a</sup>, 于加倍<sup>3</sup>, 朱榕鑫<sup>4</sup>, 李燕春<sup>2a</sup>, 龚丽景<sup>2a, 2b</sup>

1. 西北工业大学体育部, 陕西 西安 710072
2. 北京体育大学 a. 中国运动与健康研究院 b. 运动与体质健康教育重点实验室, 北京 100084
3. 北京市体育科学研究所, 北京 100075
4. 上海市体育科学研究所 (上海市反兴奋剂中心), 上海 200030

## 摘要:

**[背景]** 低氧暴露可导致骨骼肌质量的丢失, 而不同纤维类型的肌肉对低氧的敏感性可能存在差异。

**[目的]** 探讨抗阻训练缓解低氧诱导大鼠不同纤维类型肌肉萎缩的效果。

**[方法]** 40只雄性SD大鼠随机分为常氧安静组、常氧训练组、低氧安静组和低氧训练组。训练各组隔天进行递增负重爬梯训练; 各低氧组生活在氧质量分数为12.4%的低氧房中。4周后, 用双能X射线测试体成分; 称量比目鱼肌(SOL)、腓肠肌(GAS)、趾长伸肌(EDL)、肱二头肌(MBB)湿重; HE染色观察肌纤维形态; 免疫荧光染色层黏连蛋白, 统计肌纤维横截面积; 免疫印记法测试肌球蛋白、肌肉特异性环指蛋白1、肌萎缩F-box蛋白的表达。

**[结果]** 干预期间, 各组大鼠体重整体呈现持续增加趋势 ( $P < 0.05$ )。干预4周后, 低氧安静组的体重 [(341.20±16.75) g] 低于常氧安静组 [(377.50±10.75) g] ( $P < 0.01$ ); 常氧训练组瘦体重百分比 [(72.54±2.09) %] 高于常氧安静组 [(69.19±4.67) %], 低氧安静组瘦体重百分比 [(67.08±2.55) %] 低于常氧安静组, 低氧训练组瘦体重百分比 [(70.90±1.24) %] 高于低氧安静组 ( $P < 0.05$ )。低氧安静组的GAS、EDL和MBB的肌肉湿重百分比 [(6.29±0.31) %、(6.12±0.24) %和(6.31±0.23) %] 低于常氧安静组 [(6.67±0.42) %、(6.55±0.23) %和(6.63±0.37) %], 常氧训练组EDL湿重百分比 [(6.96±0.21) %] 高于常氧安静组, 低氧训练组EDL湿重百分比 [(6.49±0.28) %] 高于低氧安静组 ( $P < 0.05$ )。低氧安静组GAS、EDL和MBB的肌纤维横截面积低于常氧安静组 (分别下降10.4%、12.0%、10.6%), 低氧训练组EDL的肌纤维横截面积高于低氧安静组 (增加11.4%) ( $P < 0.05$ )。低氧安静组GAS和EDL中肌球蛋白相对含量低于常氧安静组 (GAS: 0.68±0.25 vs. 1; EDL: 0.75±0.15 vs. 1), 低氧训练组MBB中肌球蛋白相对含量高于低氧安静组 (1.26±0.12 vs. 1.01±0.15) ( $P < 0.05$ )。低氧安静组SOL、GAS和EDL中肌肉特异性环指蛋白1相对含量高于常氧安静组 (SOL: 1.26±0.18 vs. 1; GAS: 1.47±0.21 vs. 1; EDL: 1.27±0.14 vs. 1), 低氧训练组EDL中肌肉特异性环指蛋白1相对含量低于低氧安静组 (0.74±0.11 vs. 1.27±0.14) ( $P < 0.05$ ); 低氧安静组SOL、GAS和EDL中肌萎缩F-box蛋白相对含量高于常氧安静组 (SOL: 1.26±0.10 vs. 1; GAS: 1.36±0.21 vs. 1; EDL: 1.30±0.22 vs. 1), 低氧训练组SOL和EDL中肌萎缩F-box蛋白相对含量低于低氧安静组 (SOL: 0.89±0.14 vs. 1.26±0.10; EDL: 0.73±0.14 vs. 1.30±0.22) ( $P < 0.05$ )。

**[结论]** 4周抗阻训练可有效缓解低氧所致的大鼠骨骼肌萎缩, 对EDL作用尤为明显。

**关键词:** 低氧; 抗阻训练; 骨骼肌萎缩; 肌纤维类型

**Differential sensitivity of muscle fiber types to hypoxia-induced muscle atrophy in rats relieved by 4-week resistance training** FU Pengyu<sup>1, 2a</sup>, YU Jiabei<sup>3</sup>, ZHU Rongxin<sup>4</sup>, LI Yanchun<sup>2a</sup>, GONG Lijing<sup>2a, 2b</sup> (1. Department of Physical Education, Northwestern Polytechnical University, Xi'an, Shaanxi 710072, China; 2.a. China Institute of Sport and Health Science b. Key Laboratory of Physical Fitness and Exercise, Ministry of Education, Beijing Sport University, Beijing 100084, China; 3. Beijing Research Institute of Sports Science, Beijing 100075, China; 4. Shanghai Research Institute of Sports Science (Shanghai Anti-Doping Center), Shanghai 200030, China)

## Abstract:

**[Background]** Hypoxia can lead to loss of skeletal muscle mass, and the sensitivity of different

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2021.21016

## 基金项目

中央高校建设世界一流大学 (学科) 和特色发展引导专项基金项目 (21GH031119); 国家自然科学基金项目 (31771317); 中央高校基本科研业务费专项资金项目 (校2019PT003)

## 作者简介

付鹏宇 (1991—), 女, 博士, 助理教授; E-mail: 1402884452@qq.com

## 通信作者

龚丽景, E-mail: lijing.gong@bsu.edu.cn

## 伦理审批

已获取

利益冲突 无申报

收稿日期 2021-01-08

录用日期 2021-07-09

文章编号 2095-9982(2021)08-0901-09

中图分类号 R135

文献标志码 A

## ►引用

付鹏宇, 于加倍, 朱榕鑫, 等. 4周抗阻训练缓解低氧诱导大鼠肌萎缩中不同肌纤维类型的敏感性差异 [J]. 环境与职业医学, 2021, 38(8): 901-909.

## ►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21016

## Funding

This study was funded.

## Correspondence to

GONG Lijing, E-mail: lijing.gong@bsu.edu.cn

**Ethics approval** Obtained

**Competing interests** None declared

**Received** 2021-01-08

**Accepted** 2021-07-09

## ►To cite

FU Pengyu, YU Jiabei, ZHU Rongxin, et al. Differential sensitivity of muscle fiber types to hypoxia-induced muscle atrophy in rats relieved by 4-week resistance training [J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2021, 38(8): 901-909.

## ►Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21016

fiber types to hypoxia may vary.

**[Objective]** This study intends to explore the effects of resistance training on alleviating hypoxia-induced muscle atrophy of different fiber types in rats.

**[Methods]** Forty male SD rats were randomly divided into a normoxic control group, a normoxic training group, a hypoxic control group, and a hypoxic training group. The training groups took incremental weight-bearing ladder training every other day; the hypoxia groups were placed in a hypoxic chamber with an oxygen concentration of 12.4%. After 4 weeks, body composition was tested by dual-energy X-ray (DEXA); wet weights of soleus (SOL), gastrocnemius (GAS), extensor digitorum longus (EDL), and musculus biceps brachii (MBB) were weighed; muscle fiber morphology was observed after HE staining; muscle fiber cross-sectional area (FCSA) was measured after immunofluorescent staining of laminin; expressions of myosin, muscle-specific ring finger protein 1 (MuRF1), and muscle atrophy F-box protein (Atrogin1) were tested by Western blotting.

**[Results]** During the 4-week intervention, the body weight of each group was continuously increased ( $P < 0.05$ ). After the intervention, the weight of the hypoxia control group [(341.20±16.75)g] was lower than that of the normoxic control group [(377.50±10.75)g] ( $P < 0.05$ ); the percentage of lean body mass (LBM%) in the normoxic training group [(72.54±2.09)%] was higher than that of the normoxic control group [(69.19±4.67)%], the LBM% in the hypoxic control group [(67.08±2.55)%] was lower than that in the normoxic control group, and the LBM% in hypoxic training group [(70.90±1.24)%] was higher than that in the hypoxic control group ( $P < 0.05$ ). The percentages of wet muscle mass (WMM%) of GAS, EDL, and MBB of the hypoxic control group [(6.29±0.31)%, (6.12±0.24)%, and (6.31±0.23)% respectively] were lower than those of the normoxic control group [(6.67±0.42)%, (6.55±0.23)%, and (6.63±0.37)% respectively]; the WMM% of EDL of the normoxic training group [(6.96±0.21)%] was higher than that of the normoxic control group; the WMM% of EDL of the hypoxic training group [(6.49±0.28)%] was higher than that of the hypoxic control group ( $P < 0.05$ ). The FCSAs of GAS, EDL, and MBB in the hypoxic control group were lower than those in the normoxic control group (reduced by 10.4%, 12.0%, and 10.6%, respectively), and the FCSA of EDL in the hypoxic training group was higher than that in the hypoxic control group (reduced by 11.4%) ( $P < 0.05$ ). The myosin protein relative expression levels in GAS and EDL in the hypoxic control group were lower than those in the normoxic control group (GAS: 0.68±0.25 vs. 1; EDL: 0.75±0.15 vs. 1), and the level in MBB in the hypoxic training group was higher than that in the hypoxic control group (1.26±0.12 vs. 1.01±0.15) ( $P < 0.05$ ). The MuRF1 protein expression levels in SOL, GAS, and EDL in the hypoxic control group were higher than those in the normoxic control group (SOL: 1.26±0.18 vs. 1; GAS: 1.47±0.21 vs. 1; EDL: 1.27±0.14 vs. 1), and the level in EDL in the hypoxic training group was lower than that in the hypoxic control group (0.74±0.11 vs. 1.27±0.14) ( $P < 0.05$ ). The Atrogin1 protein relative expression levels in SOL, GAS, and EDL in the hypoxic control group were higher than those in the normoxic control group (SOL: 1.26±0.10 vs. 1; GAS: 1.36±0.21 vs. 1; EDL: 1.30±0.22 vs. 1), and the levels in SOL and EDL in the hypoxic training group were lower than those in the hypoxic control group (SOL: 0.89±0.14 vs. 1.26±0.10; EDL: 0.73±0.14 vs. 1.30±0.22) ( $P < 0.05$ ).

**[Conclusion]** The designed 4-week resistance training could effectively alleviate rat skeletal muscle atrophy caused by hypoxia, particularly on EDL.

**Keywords:** hypoxic; resistance training; skeletal muscle atrophy; muscle fiber type

高原训练作为提高运动员氧运输能力、心脏供血能力及最大摄氧量的有效训练手段,其效果已得到普遍肯定。但教练员和运动员们在训练实践中发现,高原环境下运动员的肌肉质量和力量明显下降,这影响了运动员高原训练效果和返回平原的竞技水平<sup>[1]</sup>。同时,随着高原旅游和低氧减脂的兴起<sup>[2]</sup>,世居平原者进入高原后发生的肌肉萎缩现象也会影响体质健康状况<sup>[3]</sup>。抗阻训练是一种促进肌肉肥大,增强肌肉力量的有效训练方式,已经作为一种非药物性手段用于治疗增龄性、营养性疾病(如糖尿病)和脊髓损伤所致的肌萎缩<sup>[4]</sup>。前期研究发现,12名世居平原的男性大学生在海拔3700m的高原居住10d后,安静对照组体重、全身瘦体重、腿部瘦体重和大腿横断面积均下降,而抗阻训练组的各项指标尚可保持平原水平,提示抗阻训练可作为改善高原环境所致的骨骼肌质量丢失和力量下降的有效手段<sup>[5]</sup>。

骨骼肌由特异性分化的肌纤维组成,在特定的肌

球蛋白重链(myosin heavy chain, MHC)同种型表达的基础上,成年哺乳动物骨骼肌纤维可分为I型(慢缩氧化型)、IIa型(快缩氧化型)、IIx/d型(快缩氧化酵解型)和IIb型(快缩酵解型)。不同类型的肌纤维在形态、代谢和收缩特性等方面存在较大差异。研究显示,急性质量分数10%氧暴露可导致腓肠肌(混合型肌)中IIa和IIb型肌纤维的损伤;质量分数12.7%氧暴露28d后,MHC IIa蛋白表达下降,MHC IIx和MHC IIb蛋白表达升高<sup>[6]</sup>。不同海拔(0、2200、3500m)暴露6周后,大鼠比目鱼肌(典型的慢肌)中IIa型肌纤维含量随海拔高度的增加而减少,IIx/d型肌纤维含量则逐渐增加;而趾长伸肌(典型的快肌)中IIa和IIb型肌纤维含量随海拔高度的增加而减少,IIx/d型肌纤维含量逐渐增加<sup>[7]</sup>,提示低氧暴露所致肌萎缩的肌纤维选择性尚存争议。不同类型肌肉对抗阻训练的敏感性也存在差异,虽然以耐力为主的I型肌纤维和以力量为主的II型肌纤维都可发生适应性肥大,但快肌纤维发

生肥大的可能性高于慢肌<sup>[8]</sup>。然而,有关低氧环境下抗阻训练对不同纤维类型骨骼肌的影响目前未见报道。因此,本研究以负重爬梯训练作为抗阻训练模型,观察低氧暴露下大鼠不同纤维类型肌肉的形态和功能的改变,明确抗阻训练缓解低氧诱导肌萎缩中纤维类型的敏感性差异,以期在竞技体育中探寻或改进高原训练方式,为普通大众提供对抗肌萎缩的锻炼指导及为“运动药丸”等药物的开发提供靶点。

## 1 对象与方法

### 1.1 主要仪器和试剂

SPF级雄性SD大鼠[北京维通利华实验动物中心,动物使用许可证号:SCXK(京)2015-0001]。

低氧设备:制氮机(北京创文气体有限公司,中国),冻干机(杭州超滤,中国)和空气压缩机(英格索兰,美国);自制大鼠抗阻训练爬梯;双能X射线吸收测量法体成分分析仪(XR-46, Norland, 美国);近红外光谱检测系统(Odyssey CLX, LI-COR, 美国)。

层黏连蛋白抗体(ab11575, Abcam, 美国);肌球蛋白(myosin)抗体(ab124205, Abcam, 美国); $\alpha$ -微管蛋白( $\alpha$ -tubulin)(T6074, Sigma, 德国);肌肉特异性环指蛋白1(muscle RING-finger protein 1, MuRF1)抗体(ab172479, Abcam, 美国);肌萎缩F-box蛋白1(Atrogin1)抗体(ab74023, Abcam, 美国);荧光二抗(山羊抗兔)(GB21303, Servicebio, 中国);二抗(山羊抗兔)(926-68071, LI-COR, 美国);多聚甲醛(国药集团化学试剂有限公司, 中国);质量分数4%~12% Bis-Tris/3%~8% Tris Acetate 梯度胶(NW04125/EA03755, Invitrogen, 美国);MES/Tris-Acetate SDS Running Buffer(B0002/LA0041, Invitrogen, 美国);NC Regular Stack(IB23001, Invitrogen, 美国);封闭液(LI-COR, 美国)。

### 1.2 研究对象及分组

40只健康SPF级雄性SD大鼠,起始体重为(236.40±10.69)g,随机分为4组:常氧安静组、常氧训练组、低氧安静组、低氧训练组,每组10只。饲养环境为北京体育大学动物实验室[SYXK(京)2016-0033],环境

温度为(22±2)°C,相对湿度为50%~70%,12h昼/12h夜循环照明。对骨骼肌影响最大的是低氧浓度,为了控制常氧和低氧环境的其他变量,本实验设定相同的相对湿度、光照等,保证氧浓度的差异。本研究通过北京体育大学运动科学实验伦理委员会批准(批准号:2017009)。

### 1.3 干预方案

正式干预开始前,所有大鼠在常氧环境中预适应3d。常氧和低氧训练组大鼠在正式训练开始前,在常氧环境中预训1周,负重由0%逐天递增至自身体重的50%,目的是使大鼠学习爬梯。

正式干预开始后,将低氧安静和训练组大鼠置于氧质量分数为12.4%低氧房中(模拟海拔4000m,24h·d<sup>-1</sup>),常氧和低氧训练组开始进行正式抗阻爬梯训练(低氧训练组的训练在低氧环境中进行),所有干预共持续4周。爬梯长度为1.2m,与地面呈85°放置,大鼠的有效攀爬高度为1m,将大鼠置于梯子底部,在其尾部给予适当的刺激,使大鼠从梯子底部爬到顶部,即为一次训练,控制每次攀爬时间在10s内完成。负重方法:在大鼠尾根部黏贴胶带后系橡皮筋,在50mL离心管中增减钢珠调整负重量,在离心管的管口处缠绕钢丝,制成钩状,以便钩在尾部的橡皮筋上。每日的训练量为5次×3组,组间休息1min。抗阻训练方法、组数、递增负荷参照Lee等<sup>[9]</sup>的研究模型。本实验室前期采用了多种抗阻训练方式,测试训练前后大鼠的瘦体重、肌肉湿重和肌纤维横截面积的改变,结果显示Lee的方案在促进肌肉肥大方面的效果最为明显,且该方案是大鼠爬梯训练模拟抗阻运动的常用实验模型。大鼠爬梯训练负重安排见表1。

### 1.4 大鼠体成分测试

干预期间每天称量并记录各组大鼠的摄食量和体重;各抗阻训练组在末次训练后恢复24h,以消除运动应激的刺激。禁食12h后,腹腔注射质量分数为3%的戊巴比妥钠(3mL·kg<sup>-1</sup>)麻醉,双能X射线吸收测量法测试体成分。

### 1.5 取材及称量肌肉湿重

麻醉大鼠,腹主动脉取血处死,分离两侧比目

表1 大鼠爬梯训练负重安排

Table 1 Weight-bearing ladder training protocol for rats

负重量	预训		正式训练							
	第1~7天	第1天	第3天	第5天	第7天	第9天	第11天	第13天	第15天	第17~27天
体重百分含量/%	0~50	50	60	70	80	90	100	110	120	130



鱼肌 (soleus, SOL)、趾长伸肌 (extensor digitorum longus, EDL)、腓肠肌 (gastrocnemius, GAS) 和肱二头肌 (musculus biceps brachii, MBB), 拍照并称量同侧各肌肉湿重, 而后放入质量分数为4%的多聚甲醛固定液中固定; 另一侧肌肉置于  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。

### 1.6 苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色法观察肌纤维形态

肌肉在4%多聚甲醛固定24h后, 经过浸蜡、包埋、切片后, 进行二甲苯脱蜡、梯度乙醇浸泡、Harris 苏木素和0.5%伊红分别染色、梯度乙醇浸泡、封片, 显微镜下观察并拍照。

### 1.7 免疫荧光染色计算肌纤维横截面积

石蜡切片后过梯度乙醇, 蒸馏水冲洗后进行抗原修复、淬灭自发荧光、血清封闭、孵育层黏连蛋白一抗过夜、孵育荧光二抗50min, 封片后镜检拍照, Image Pro Plus 6.0 软件统计肌纤维横截面积。

### 1.8 免疫印迹法检测 myosin、MuRF1、Atrogin1 蛋白表达

提取各肌肉组织的蛋白质, 二喹啉甲酸法测定蛋白浓度, 调整上样量为  $20\mu\text{g}$ 。梯度胶电泳分离蛋白, 转膜仪转移至NC膜上, 根据Marker条带及目的蛋白的分子量裁膜, 封闭1h, 孵育 myosin、MuRF1、Atrogin1 和 tubulin 抗体  $4^{\circ}\text{C}$  过夜, TBST 洗涤后, 室温孵育山羊抗兔二抗1h, TBS 洗涤, 使用 Image Studio Ver 5.2 软件和近红外光谱检测系统对条带的信号值进行相对定量分析。

### 1.9 统计学分析

计量结果用  $\bar{x}\pm s$  表示。所有数据均用 SPSS 19.0 软件分析, 用 GraphPad Prism 8.0 软件作图。采用 Shapiro-Wilk 检验对数据进行正态分布检验。利用卡方检验对干预期间大鼠体重和摄食量的差异进行比较, 趋势检验对变化趋势进行分析; 多组间比较使用双因素方差分析, 若两因素间有交互作用, 使用简单效应检验; 若无, 则采用最小显著性差异法进行组间检验。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 体重变化

干预期间, 各组大鼠体重整体呈现持续增加趋势 ( $P<0.05$ )。4周干预后, 低氧安静组的体重低于常氧安静组 ( $P<0.01$ ), 低氧训练组较常氧训练组也有下降, 但差异无统计学意义。见表2。

表2 干预期间各组大鼠体重 ( $n=10$ )

Table 2 Body weight of rats in each group during intervention ( $n=10$ )  
单位 (Unit): g

干预天数	常氧安静组	常氧训练组	低氧安静组	低氧训练组
1d	242.5±11.8	243.7±12.5	242.8±10.3	240.0±14.0
3d	255.8±10.3	258.6±12.3	247.4±11.5	248.0±12.6
5d	266.2±11.3	267.5±13.6	250.3±12.1	253.0±12.1
7d	278.3±13.9	271.9±13.7	255.8±10.7	259.9±11.2
9d	284.7±10.6	285.0±11.1	269.7±12.3	268.3±13.1
11d	290.1±12.7	296.4±12.6	272.0±12.4	272.1±11.2
13d	306.4±14.7	301.9±11.1	281.9±13.2*	278.4±12.2
15d	313.3±16.1	309.0±11.3	289.7±11.3*	286.3±15.1
17d	328.3±14.7	317.6±14.5	297.7±14.5*	297.9±15.4
19d	342.9±14.9	333.4±15.2	308.3±13.2*	308.1±14.4
21d	352.0±16.0	343.0±15.7	318.6±11.0*	320.8±14.8
23d	359.4±14.2	352.1±17.2	327.6±13.9*	327.1±15.1
25d	368.6±12.5	365.9±15.2	336.9±15.8**	334.7±13.8
27d	377.5±10.7	376.2±16.9	341.2±16.8**	348.8±11.3

[注] 与同期常氧安静组相比, \* :  $P<0.05$ , \*\* :  $P<0.01$ 。

### 2.2 摄食量变化

低氧暴露初期, 低氧各组的摄食量下降: 第1天, 低氧安静组较常氧安静组下降9.1%, 低氧训练组较常氧训练组下降16.7%; 第3天起摄食量下降百分比逐渐减少, 至4周干预结束各组摄食量接近。见表3。

表3 干预期间各组大鼠摄食量 ( $n=10$ )

Table 3 Food intake of rats in each group during intervention ( $n=10$ )  
单位 (Unit): g

干预天数	常氧安静组	常氧训练组	低氧安静组	低氧训练组
1d	26.4±3.12	26.3±2.49	24.0±3.20	21.9±2.51
3d	28.7±3.94	26.8±4.51	26.9±3.93	24.3±4.24
5d	29.3±4.54	28.3±5.29	27.1±4.31	27.8±4.95
7d	29.0±5.27	27.7±4.97	27.3±4.68	27.0±5.18
9d	29.1±5.49	28.3±5.15	28.8±5.39	27.5±5.37
11d	29.7±5.46	28.4±5.26	27.9±4.95	27.2±5.38
13d	29.0±5.59	28.3±5.39	27.1±4.92	26.5±5.25
15d	28.6±4.29	27.7±5.29	27.0±4.67	26.8±5.16
17d	28.8±5.39	28.0±5.39	27.9±4.69	25.9±5.27
19d	28.8±4.83	28.0±4.29	28.0±5.25	27.6±4.82
21d	29.9±5.69	27.5±4.87	29.0±5.49	28.3±5.29
23d	31.0±6.29	30.0±5.73	30.4±5.96	29.7±6.14
25d	30.0±6.25	29.2±5.68	29.5±5.30	28.9±5.94
27d	30.6±6.39	29.8±5.58	29.6±5.56	28.9±5.58

### 2.3 体成分

4周干预后, 低氧安静组体重和瘦体重低于常氧安静组 (分别减少9.6%、12.9%) ( $P<0.01$ ); 低氧训练组瘦体重高于低氧安静组 (增加8.5%) ( $P<0.05$ ), 脂肪总量各组间差异无统计学意义; 常氧训练组瘦体重百分比 (瘦体重/体重) 高于常氧安静组, 低氧安静组瘦体重百分比低于常氧安静组, 低氧训练组瘦体重百分比高于低氧安静组 ( $P<0.05$ )。见表4。

表4 干预后各组大鼠体重、瘦体重、脂肪总量和瘦体重百分比 (n=10)

Table 4 Body weight, lean body mass, fat mass, and lean body mass percentage of rats in each group after intervention (n=10)

体成分指标	常氧安静组	常氧训练组	低氧安静组	低氧训练组
体重/g	377.50±10.75	376.17±16.87	341.20±16.75**	348.80±11.30
瘦体重/g	260.50±9.35	272.83±6.84	226.83±8.33**	246.17±4.71 <sup>#</sup>
脂肪总量/g	108.33±18.04	97.33±10.01	105.67±5.32	93.50±7.79
瘦体重百分比/%	69.19±4.67	72.54±2.09 <sup>*</sup>	67.08±2.55 <sup>*</sup>	70.90±1.24 <sup>#</sup>

[注] 与常氧安静组相比, \* : P<0.05, \*\* : P<0.01 ; # : 与低氧安静组相比, P<0.05。

### 2.4 肌肉湿重

4周干预后,常氧训练组 SOL 湿重高于常氧安静组,低氧安静组的 GAS 湿重和 EDL 湿重低于常氧安静组,低氧训练组的 MBB 湿重高于低氧安静组 (P<0.05 或 P<0.01) ;低氧安静组的 GAS、EDL 和 MBB 的肌肉湿重百分比 [各肌肉湿重/瘦体重,即 GAS%、EDL% 和 MBB%, 分别为 (6.29±0.31)%、(6.12±0.24)% 和 (6.31±0.23)%] 低于常氧安静组 [分别为 (6.67±0.42)%、(6.55±0.23)% 和 (6.63±0.37)%] (P<0.05) ;常氧训练组 EDL% 高于常氧安静组,低氧训练组的 EDL% 高于低氧安静组 (P<0.05)。见表5。

### 2.5 肌纤维形态和肌纤维横截面积

2.5.1 肌纤维形态观察 4周干预后,各组大鼠 SOL、GAS、EDL 和 MBB 的肌纤维 HE 染色结果见图1。常氧训

练组 4 种肌肉肌纤维直径有所增加,肌纤维形态与常氧安静组差别不大;低氧安静组 4 种肌肉肌纤维的肌间隔增加,同一视野的肌纤维形状、大小不一,肌纤维开始出现分裂,且细胞核出现内移;低氧训练组 4 种肌肉肌纤维直径有所增加,且形态与常氧安静组接近。

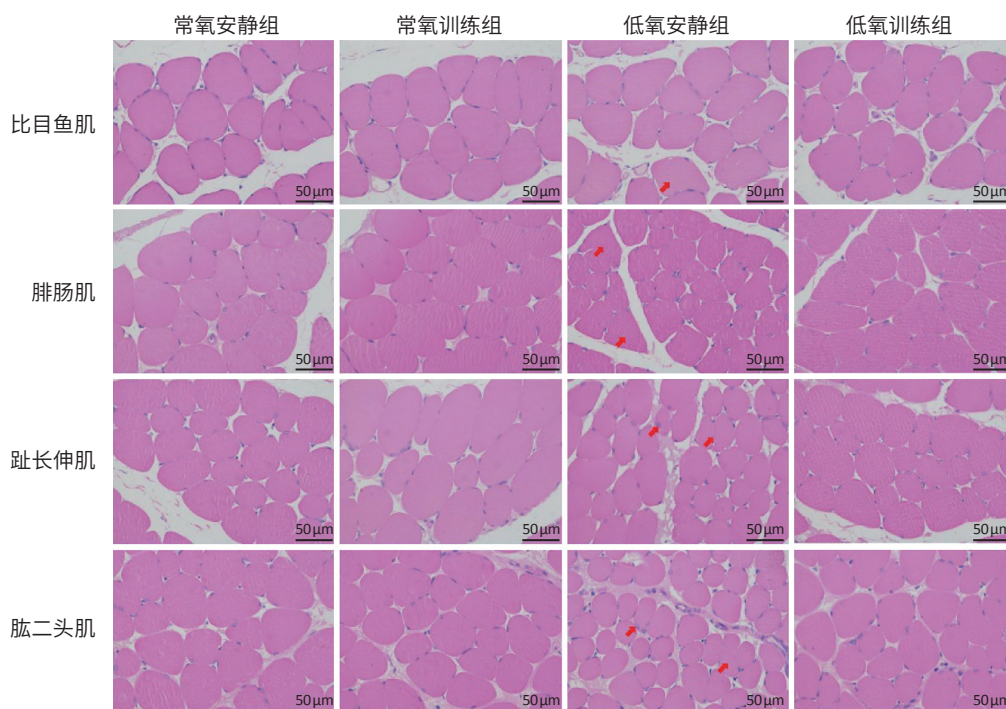
2.5.2 肌纤维横截面积 4周干预后,各组大鼠 SOL、GAS、EDL 和 MBB 的免疫荧光染色结果见图2。低氧暴露后,大鼠肌纤维的肌间隔增加,肌纤维形态不一。低氧安静组 GAS、EDL 和 MBB 的肌纤维横截面积低于常氧安静组 (分别下降 10.4%、12.0%、10.6%),低氧训练组 EDL 的肌纤维横截面积高于低氧安静组 (增加 11.4%) (P<0.05)。见表6。

表5 干预后各组大鼠比目鱼肌、腓肠肌、趾长伸肌和肱二头肌的肌肉湿重及其百分比 (n=10)

Table 5 Wet muscle mass and wet muscle mass percentage in SOL, GAS, EDL and MBB of rats in each group after intervention (n=10)

肌肉湿重指标	常氧安静组	常氧训练组	低氧安静组	低氧训练组
比目鱼肌湿重/mg	152.17±9.97	168.67±7.71 <sup>*</sup>	132.00±8.10	131.83±8.66
比目鱼肌百分比/%	5.74±0.57	5.87±0.38	5.27±0.57	5.48±0.22
腓肠肌湿重/mg	194.37±9.63	189.47±17.27	173.82±14.83 <sup>*</sup>	174.72±11.83
腓肠肌百分比/%	6.67±0.42	6.95±0.68	6.29±0.31 <sup>*</sup>	6.51±0.86
趾长伸肌湿重/mg	165.33±10.59	173.50±8.02	143.83±7.85**	153.50±6.12
趾长伸肌百分比/%	6.55±0.23	6.96±0.21 <sup>*</sup>	6.12±0.24 <sup>*</sup>	6.49±0.28 <sup>#</sup>
肱二头肌湿重/mg	170.50±6.56	184.67±10.56	169.17±7.28	182.17±7.73 <sup>#</sup>
肱二头肌百分比/%	6.63±0.37	6.74±0.52	6.31±0.23 <sup>*</sup>	6.58±0.28

[注] 与常氧安静组相比, \* : P<0.05, \*\* : P<0.01 ; # : 与低氧安静组相比, P<0.05。



[注] 肌纤维周围蓝色点状为苏木精染色的细胞核;红色箭头指示肌纤维形态异常和细胞核内移情况。

图1 干预后各组大鼠比目鱼肌、腓肠肌、趾长伸肌和肱二头肌的肌纤维形态 (HE 染色)

Figure 1 Morphology of SOL, GAS, EDL, and MBB muscle fibers of rats in each group after intervention (HE staining)



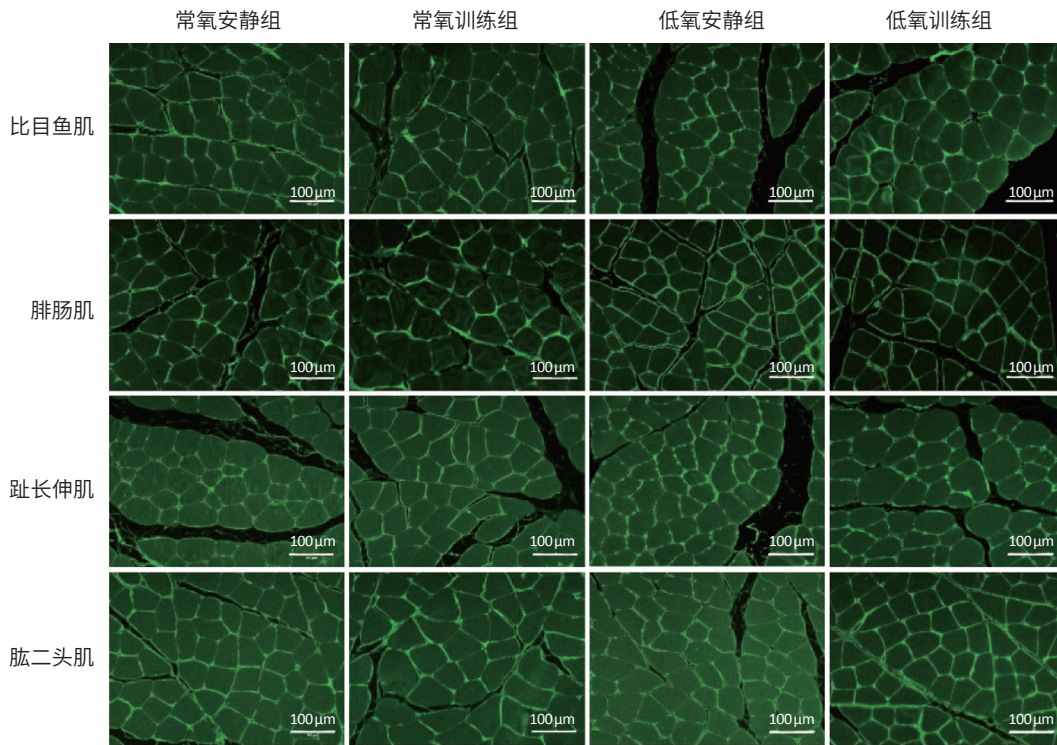


图2 干预后各组大鼠比目鱼肌、腓肠肌、趾长伸肌和肱二头肌的肌纤维层黏连蛋白免疫荧光染色  
Figure 2 Laminin immunofluorescence staining of SOL, GAS, EDL, and MBB muscle fibers of rats in each group after intervention

表6 干预后各组大鼠比目鱼肌、腓肠肌、趾长伸肌和肱二头肌的肌纤维横截面积 (n=10)

Table 6 Fiber cross sectional area in SOL, GAS, EDL, and MBB of rats in each group after intervention (n=10)

	单位 (Unit) : 100×μm <sup>2</sup>			
肌纤维横截面积	常氧安静组	常氧训练组	低氧安静组	低氧训练组
比目鱼肌	27.70±3.49	28.77±1.28	26.83±3.42	26.97±1.78
腓肠肌	28.25±2.39	29.77±1.92	25.32±1.72*	27.08±2.29
趾长伸肌	27.10±2.62	27.47±3.27	23.86±1.29*	26.59±1.79#
肱二头肌	28.17±1.92	28.95±2.72	25.17±1.38*	27.84±2.02

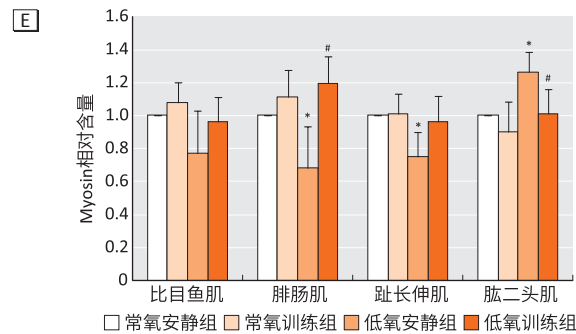
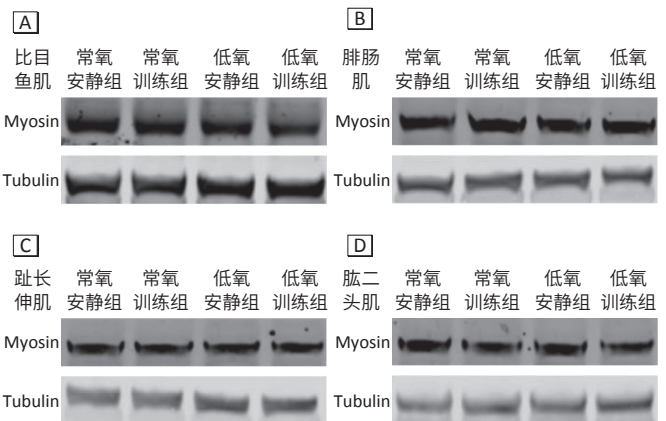
[注] \*: 与常氧安静组相比, P<0.05; #: 与低氧安静组相比, P<0.05。

### 2.6 myosin 蛋白相对含量的变化

4周干预后, 低氧安静组 GAS 和 EDL 中 myosin 相对含量低于常氧安静组, 而 MBB 中 myosin 相对含量高于常氧安静组, 低氧训练组 GAS 中 myosin 相对含量高于低氧安静组, MBB 中 myosin 相对含量低于低氧安静组 (P<0.05)。见图 3。

### 2.7 MuRF1 和 Atrogin1 蛋白相对含量的变化

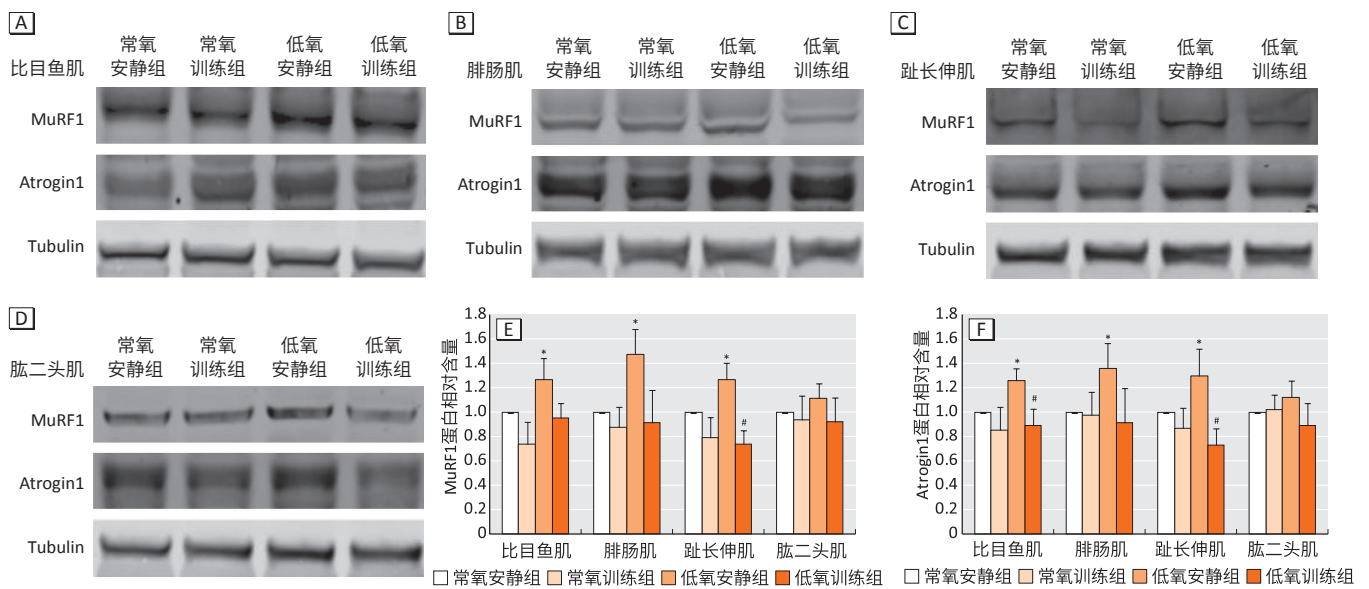
4周干预后, 低氧安静组 SOL、GAS 和 EDL 中 MuRF1 相对含量高于常氧安静组, 低氧训练组 EDL 中 MuRF1 相对含量低于低氧安静组 (P<0.05); 低氧安静组 SOL、GAS 和 EDL 中 Atrogin1 相对含量高于常氧安静组, 低氧训练组 SOL 和 EDL 中 Atrogin1 相对含量低于低氧安静组 (P<0.05)。见图 4。



[注] A~D: 蛋白条带图; E: 蛋白相对含量。\*: 与常氧安静组相比, P<0.05; #: 与低氧安静组相比, P<0.05。

图3 干预后各组大鼠比目鱼肌、腓肠肌、趾长伸肌和肱二头肌中 myosin 蛋白相对含量 (n=10)

Figure 3 Protein relative expression levels of myosin in SOL, GAS, EDL, and MBB of rats in each group after intervention (n=10)



[注] A~D：蛋白条带图；E~F：蛋白相对含量。\*：与常氧安静组相比， $P < 0.05$ ；#：与低氧安静组相比， $P < 0.05$ 。

图4 干预后各组大鼠比目鱼肌、腓肠肌、趾长伸肌和肱二头肌中MuRF1和Atrogin1蛋白相对含量( $n=10$ )

Figure 4 Protein relative expression levels of MuRF1 and Atrogin1 in SOL, GAS, EDL, and MBB of rats in each group after intervention ( $n=10$ )

### 3 讨论

高原环境会给世居平原的机体带来一系列应激反应，如造成骨骼肌萎缩<sup>[10]</sup>。本研究中，大鼠在低氧环境暴露4周后，摄食量虽逐渐与常氧组趋近，但体重、瘦体重、GAS和EDL湿重、肌纤维横截面积、肌力相关蛋白如myosin表达均降低，肌萎缩相关蛋白如MuRF1和Atrogin1表达升高，肌纤维形态损伤明显，表明低氧暴露可导致骨骼肌质量丢失。低氧诱导肌萎缩现象早期在登山运动中被发现，其原因被认为与食欲抑制和胃肠消化吸收障碍有关。但研究发现，高原环境下为受试者提供其喜爱的食物并鼓励进食也不能避免骨骼肌丢失<sup>[11]</sup>。根据本研究摄食量结果和前期研究可知，低氧暴露所致的摄食量减少和胃肠功能减弱仅发生在暴露初期，不足以诱导肌萎缩发生<sup>[12]</sup>。低氧特异性因素所致的骨骼肌蛋白合成和分解失衡可能是造成肌萎缩的关键因素<sup>[13]</sup>。

快、慢肌纤维在形态、代谢途径和收缩功能上都存在较大差异，对低氧的敏感性也不相同<sup>[14]</sup>。模拟海拔4000m暴露5周和10周，以及模拟海拔5500m暴露4周均可观察到EDL的肌纤维横截面积减少<sup>[15]</sup>。本研究中，低氧暴露后，EDL(后肢典型快肌)和GAS(后肢典型混合型肌)湿重和湿重百分比降低，而SOL(后肢典型慢肌)和MBB(前肢混合型肌)湿重无明显改变；GAS、EDL和MBB的肌纤维横截面积降低，GAS和EDL的myosin含量降低，SOL、GAS和EDL的MuRF1、

Atrogin1含量增加，可知快肌纤维对低氧的敏感性更高，更易发生肌萎缩。研究发现，II型肌纤维的分解途径可被低氧特异性激活。低氧诱导因子1 $\alpha$ (hypoxia inducible factor 1, HIF1 $\alpha$ )是低氧发挥生理调节作用的关键核转录因子，其在II型肌纤维中表达较高，自噬等蛋白质分解相关过程均需要HIF1 $\alpha$ 参与<sup>[16]</sup>。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在I型肌纤维中表达更多<sup>[17]</sup>。慢性低氧可导致肌肉中VEGF表达增加，而糖皮质激素则可抑制VEGF的表达<sup>[18-19]</sup>。由于II型肌纤维对循环皮质醇浓度变化更为敏感，故可降低VEGF的表达，减少血管的生成，导致该型肌纤维对缺氧的适应能力差<sup>[20]</sup>。而I型肌可通过增加毛细血管的接触数量以避免缺氧损伤<sup>[21]</sup>。

在多种运动形式中抗阻训练对骨骼肌的刺激最为强烈，已作为一种抵抗或缓解肌萎缩的非药物性治疗手段<sup>[22-23]</sup>。负重爬梯训练是一种通过诱导刺激使大鼠在尾部负重递增的情况下自觉完成的爬梯训练模型，是目前所知的与人类抗阻运动最接近的方式<sup>[24]</sup>。本研究中，常氧训练组瘦体重百分比和EDL湿重百分比均高于安静组，表明负重爬梯训练可以促进局部肌肉的肥大。研究显示，4周中等强度的抗阻爬梯训练增加大鼠II型肌纤维体积，增加肌肉力量<sup>[25]</sup>，抗阻爬梯训练也可有效对抗增龄及糖尿病所致的肌萎缩<sup>[26]</sup>，但关于抗阻训练对抗低氧暴露下骨骼肌萎缩的研究还鲜有报道。有研究发现，抗阻训练可有效

缓解慢性阻塞性肺疾病患者(机体处于慢性低氧状态)的肌萎缩<sup>[27]</sup>。本团队前期对世居平原的青年男性进行10d海拔3700m的暴露,发现其间进行抗阻训练可有效缓解肌萎缩<sup>[5]</sup>。本研究中,与低氧安静组相比,低氧训练组大鼠的瘦体重、瘦体重百分比、EDL湿重百分比、EDL肌纤维横截面积增加;EDL中MuRF1和Atrogin1的蛋白表达降低,肌纤维的形态趋于正常,提示抗阻训练缓解低氧诱导肌萎缩的作用可能在快肌纤维中更为明显。

综上所述,低氧暴露(质量分数12.4%)可诱导骨骼肌萎缩的发生,其中以快肌纤维为主的EDL对低氧最为敏感;抗阻训练可有效缓解低氧诱导的骨骼肌萎缩现象,且此作用在EDL中最为明显。

### 参考文献

- [1] PŁOSZCZYCA K, LANGFORT J, CZUBA M. The effects of altitude training on erythropoietic response and hematological variables in adult athletes : a narrative review [J]. *Front Physiol*, 2018, 9 : 375.
- [2] 王航平, 孙振武. 低氧训练对肥胖人群身体成分和血脂影响的meta分析 [J]. *环境与职业医学*, 2019, 36 (2) : 157-163, 169.  
WANG HP, SUN ZW. Effects of hypoxic training on body composition and blood lipid in obese people : a meta analysis [J]. *J Environ Occup Med*, 2019, 36 (2) : 157-163, 169.
- [3] SAKUSHIMA K, YOSHIKAWA M, OSAKI T, et al. Moderate hypoxia promotes skeletal muscle cell growth and hypertrophy in C2C12 cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 525 (4) : 921-927.
- [4] PERRY BD, CALDOW MK, BRENNAN-SPERANZA TC, et al. Muscle atrophy in patients with Type 2 Diabetes Mellitus : roles of inflammatory pathways, physical activity and exercise [J]. *Exerc Immunol Rev*, 2016, 22 : 94-109.
- [5] 王宁琦, 包大鹏, 龚丽景, 等. 短期高原抗阻练习对人骨骼肌的影响及基因芯片分析 [J]. *中国运动医学杂志*, 2021, 40 (2) : 98-108.  
WANG NQ, BAO DP, GONG LJ, et al. The effect of short-term high-altitude resistance exercise on skeletal muscle and its mRNA microarray analysis [J]. *Chin J Sports Med*, 2021, 40 (2) : 98-108.
- [6] CHAILLOU T. Skeletal muscle fiber type in hypoxia : adaptation to high-altitude exposure and under conditions of pathological hypoxia [J]. *Front Physiol*, 2018, 9 : 1450.
- [7] VAN DER ZWAARD S, BROCHERIE F, KOM BL, et al. Adaptations in muscle oxidative capacity, fiber size, and oxygen supply capacity after repeated-sprint training in hypoxia combined with chronic hypoxic exposure [J]. *J Appl Physiol* (1985), 2018, 124 (6) : 1403-1412.
- [8] OGBORN D, SCHOENFELD BJ. The role of fiber types in muscle hypertrophy : implications for loading strategies [J]. *Strength Cond J*, 2014, 36 (2) : 20-25.
- [9] LEE S, KIM K, LAMBRECHT NJ, et al. Interaction of resistance training, electroacupuncture and Huang Qi supplementation on skeletal muscle function and GLUT4 protein concentration in rats [J]. *Acupunct Med*, 2016, 34 (5) : 380-385.
- [10] PARALIKAR SJ. High altitude pulmonary edema-clinical features, pathophysiology, prevention and treatment [J]. *Indian J Occup Environ Med*, 2012, 16 (2) : 59-62.
- [11] KAYSER B, VERGES S. Hypoxia, energy balance and obesity : from pathophysiological mechanisms to new treatment strategies [J]. *Obes Rev*, 2013, 14 (7) : 579-592.
- [12] 付鹏宇, 胡扬, 李燕春, 等. 低氧暴露所致大鼠骨骼肌萎缩的蛋白转化调节机制 [J]. *中国实验动物学报*, 2019, 27 (4) : 423-432.  
FU PY, HU Y, LI YC, et al. Protein turnover regulation mechanism of rat skeletal muscle atrophy induced by hypoxia [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2019, 27 (4) : 423-432.
- [13] PETERS EL, VAN DER LINDE SM, VOGEL IS, et al. IGF-1 attenuates hypoxia-induced atrophy but inhibits myoglobin expression in C2C12 skeletal muscle myotubes [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18 (9) : 1889.
- [14] ÅKRA S, SKÅRN SN, OPSTAD TB, et al. Gene expression of IL-18 and NLRP3 in adipose tissue strongly associate with glucometabolic variables and with the amount of abdominal adipose tissue assessed by CT [J]. *Atherosclerosis*, 2017, 263 : e7-e8.
- [15] AGOSTINI F, LIBERA LD, RITTWEGGER J, et al. Effects of inactivity on human muscle glutathione synthesis by a double-tracer and single-biopsy approach [J]. *J Physiol*, 2010, 588 (24) : 5089-5104.
- [16] ADAMS GR, BAMMAN MM. Characterization and regulation of mechanical loading-induced compensatory muscle hypertrophy [J]. *Compr Physiol*, 2012, 2 (4) : 2829-2870.



- [17] PARK HM, HAN SS, LEE EC, et al. Randomized clinical trial of preoperative skin antiseptics with chlorhexidine gluconate or povidone-iodine [J]. *Br J Surg*, 2017, 104 (2) : e145-e150.
- [18] BREIVIK T, GUNDERSEN Y, GJERMO P, et al. Oral treatment with complement factor C5a receptor (CD88) antagonists inhibits experimental periodontitis in rats [J]. *J Periodontal Res*, 2011, 46 (6) : 643-647.
- [19] BENSALD S, FABRE C, FOURNEAU J, et al. Impact of different methods of induction of cellular hypoxia : focus on protein homeostasis signaling pathways and morphology of C2C12 skeletal muscle cells differentiated into myotubes [J]. *J Physiol Biochem*, 2019, 75 (3) : 367-377.
- [20] BRAND J P, CHEN L, CUI X, et al. An adaptive alpha spending algorithm improves the power of statistical inference in microarray data analysis [J]. *Bioinformatics*, 2007, 1 (10) : 384-389.
- [21] MARTIN N R, AGUILAR-AGON K, ROBINSON G P, et al. Hypoxia impairs muscle function and reduces myotube size in tissue engineered skeletal muscle [J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118 (9) : 2599-2605.
- [22] AKIMA H, KUBO K, IMAI M, et al. Inactivity and muscle : effect of resistance training during bed rest on muscle size in the lower limb [J]. *Acta Physiol Scand*, 2001, 172 (4) : 269-278.
- [23] GORGEY A S, SHEPHERD C. Skeletal muscle hypertrophy and decreased intramuscular fat after unilateral resistance training in spinal cord injury : case report [J]. *J Spinal Cord Med*, 2010, 33 (1) : 90-95.
- [24] ABBOTT R D, PETROVITCH H, WHITE L R, et al. Frequency of bowel movements and the future risk of Parkinson's disease [J]. *Neurology*, 2001, 57 (3) : 456-462.
- [25] BAGCHI M, KIM L A, BOUCHER J, et al. Vascular endothelial growth factor is important for brown adipose tissue development and maintenance [J]. *FASEB J*, 2013, 27 (8) : 3257-3271.
- [26] KIM J, KUNDU M, VIOLLET B, et al. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1 [J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13 (2) : 132-141.
- [27] SILVA B S A, RAMOS D, BERTOLINI G N, et al. Resistance exercise training improves mucociliary clearance in subjects with COPD : A randomized clinical trial [J]. *Pulmonology*, 2019, 25 (6) : 340-347.

(英文编辑：汪源；责任编辑：汪源)

## (上接第 887 页)

- identification of polymers and anthropogenic particles extracted from oceanic water and fish stomach—A Raman micro-spectroscopy study [J]. *Environ Pollut*, 2018, 233 : 1113-1124.
- [9] WAGNER J, WANG Z M, GHOSAL S, et al. Novel method for the extraction and identification of microplastics in ocean trawl and fish gut matrices [J]. *Anal Methods*, 2017, 9 (9) : 1479-1490.
- [10] NUELLE M T, DEKIFF J H, REMY D, et al. A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments [J]. *Environ Pollut*, 2014, 184 : 161-169.
- [11] HIDALGO-RUZ V, GUTOW L, THOMPSON R C, et al. Microplastics in the marine environment : a review of the methods used for identification and quantification [J]. *Environ Sci Technol*, 2012, 46 (6) : 3060-3075.
- [12] TAGG A S, SAPP M, HARRISON J P, et al. Identification and quantification of microplastics in wastewater using focal plane array-based reflectance micro-FT-IR imaging [J]. *Anal Chem*, 2015, 87 (12) : 6032-6040.
- [13] SU L, XUE Y, LI L, et al. Microplastics in Taihu Lake, China [J]. *Environ Pollut*, 2016, 216 : 711-719.
- [14] REN P, DOU M, WANG C, et al. Abundance and removal characteristics of microplastics at a wastewater treatment plant in Zhengzhou [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2020, 27 (29) : 36295-36305.
- [15] LARES M, NCIBI M C, SILLANPÄÄ M, et al. Occurrence, identification and removal of microplastic particles and fibers in conventional activated sludge process and advanced MBR technology [J]. *Water Res*, 2018, 133 : 236-246.
- [16] CARR S A, LIU J, TESORO A G. Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants [J]. *Water Res*, 2016, 91 : 174-182.

(英文编辑：汪源；责任编辑：王晓宇)