

引文格式: 王冠锦, 赵暘. 黄芪甲苷对力竭运动致大鼠骨骼肌损伤及细胞凋亡的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2023, 38(1): 80–86. DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).202205049

黄芪甲苷对力竭运动致大鼠骨骼肌 损伤及细胞凋亡的影响*

王冠锦¹, 赵 暘^{2**}

(1. 北京体育大学 研究生院, 北京 100084; 2. 北京交通大学 体育部, 北京 100044)

摘要:【目的】研究黄芪甲苷对力竭运动致大鼠骨骼肌损伤及细胞凋亡的影响。【方法】将 40 只 SD 大鼠随机分为安静对照组、力竭运动组及黄芪甲苷 100 和 200 mg/kg 组, 除安静对照大鼠外, 均需通过跑步训练建立力竭运动模型, 黄芪甲苷组大鼠给予药物干预。【结果】与安静对照组比较, 力竭运动组大鼠乳酸脱氢酶(LDH)和肌酸激酶(CK)活性、丙二醛(MDA)含量、骨骼肌细胞凋亡率及 Bcl-2 相关 X 蛋白(*Bax*)和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (*caspase-3*) mRNA 表达均极显著增加 ($P<0.01$), 过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)活性、B 淋巴细胞瘤-2 (*Bcl-2*) mRNA 及磷脂酰肌醇 3 激酶 p85 亚基 (PI3Kp85)、磷酸化蛋白激酶 B (p-Akt) 和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 表达均极显著降低 ($P<0.01$); 与力竭运动组比较, 黄芪甲苷 100 和 200 mg/kg 组大鼠的 LDH 和 CK 活性、MDA 含量、骨骼肌细胞凋亡率及 *Bax* 和 *caspase-3* mRNA 表达均显著或极显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), CAT 和 SOD 活性、*Bcl-2* mRNA 及 PI3Kp85、p-Akt 和 mTOR 蛋白表达均显著或极显著增加 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。【结论】黄芪甲苷对力竭运动致大鼠骨骼肌损伤具有保护作用, 该作用与抑制氧化应激及通过激活 PI3K/Akt/mTOR 通路抑制骨骼肌细胞凋亡有关。

关键词: 黄芪甲苷; 损伤; 凋亡; PI3K/Akt/mTOR 通路; 力竭运动

中图分类号: S567.201 文献标志码: A 文章编号: 1004-390X (2023) 01-0080-07

Effects of Astragaloside IV on Damage and Cell Apoptosis of Skeletal Muscle Induced by Exhaustive Exercise in Rats

WANG Guanjin¹, ZHAO Yang²

(1. Graduate School, Beijing Sport University, Beijing 100084, China;

2. Sports Department, Beijing Jiaotong University, Beijing 100044, China)

Abstract: [Purpose] To study the effect of astragaloside IV on damage and cell apoptosis of skeletal muscle in rats induced by exhaustive exercise. [Method] Forty SD rats were randomly divided into a quiet control group, an exhaustive exercise group, and astragaloside IV 100 mg/kg and 200 mg/kg groups. Except for the quiet control rats, the exhaustive exercise model was established by running training, rats in the astragaloside IV groups were given drug intervention. [Results] Compared with the quiet control group, the activities of lactic dehydrogenase (LDH) and creatine kinase

收稿日期: 2022-05-26 修回日期: 2022-12-05 网络首发日期: 2023-02-20

*基金项目: 首都高校重点培育专项研究项目(2014JBW002)。

作者简介: 王冠锦(1989—), 男, 河南登封人, 在读博士研究生, 主要从事运动医学、体育教育训练学和民族传统体育学研究。E-mail: wangguanjin2020@163.com

**通信作者 Corresponding author: 赵暘(1977—), 男, 天津人, 硕士, 副教授, 主要从事运动医学、体育教育训练学和体育人文社会学研究。E-mail: zhaoyang19771977@163.com

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20230220.0838.001.html>



(CK), the content of malondialdehyde (MDA), and the expression levels of skeletal muscle cell apoptosis rate, Bcl-2 associated X protein (*Bax*) and *caspase-3* mRNA were extremely significantly increased in exhaustive exercise group ($P<0.01$), the activities of catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD), the expression levels of B cell lymphoma 2 (*Bcl-2*) mRNA, and phosphatidylinositol 3 kinase p85 (PI3Kp85), phosphorylate protein kinase B (p-Akt) and mammalian target of rapamycin (mTOR) protein were extremely significantly decreased ($P<0.01$); compared with the exhausted exercise group, the activities of LDH and CK, the content of MDA, the expression levels of skeletal muscle cell apoptosis rate, and *Bax* and *caspase-3* mRNA were significantly or extremely significantly decreased in the 100 mg/kg and 200 mg/kg astragaloside IV groups ($P<0.05$ or $P<0.01$), the activities of CAT and SOD, the expression levels of *Bcl-2* mRNA, and PI3Kp85, p-Akt and mTOR protein were significantly or extremely significantly increased ($P<0.05$ or $P<0.01$). [Conclusion] Astragaloside IV has a protective effect on skeletal muscle injury induced by exhaustive exercise in rats, which is related to inhibiting oxidative stress and inhibiting skeletal muscle cell apoptosis by activating the PI3K/Akt/mTOR pathway.

Keywords: astragaloside IV; damage; apoptosis; PI3K/Akt/mTOR pathway; exhaustive exercise

运动负荷超出机体生理能力承受极限时容易引发运动性损伤,尤以骨骼肌损伤最为常见^[1]。研究表明:人体在力竭运动时会产生诱发氧化应激的活性氧(reactive oxygen, ROS),主要包括超氧阴离子自由基、单线态氧、过氧化氢及羟自由基等,线粒体进行有氧呼吸时,少量的氧也可被还原成超氧阴离子;此外,在力竭运动后缺血组织的血液再灌注也会使ROS的产生增加^[2]。运动性骨骼肌损伤的主要机制为ROS大量生成,促使氧化应激水平增加,导致骨骼肌氧化性损伤发生,进而引发和诱导骨骼肌细胞发生凋亡^[3-4]。

黄芪甲苷也被称为黄芪皂苷IV,其抗氧化应激及抑制凋亡作用多见报道^[5-6]。黄芪甲苷可以通过缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 通路改善野百合碱诱导的肺动脉高压大鼠的氧化应激水平^[7];具有保护糖尿病大鼠视网膜病变的作用,与抑制核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 表达和增加核因子E2相关因子2 (nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2) 表达有关,进而可减轻氧化应激损伤^[8]。研究发现:黄芪甲苷对血管紧张素II诱导心肌H9c2细胞凋亡的抑制作用与降低ROS水平及调控Nrf2/HO-1信号相关^[9];此外,黄芪甲苷还能增强H₂O₂作用下血管内皮细胞的抗氧化能力,降低凋亡率,从而对血管内皮细胞发挥保护作用^[10]。截至目前,黄芪甲苷对力竭运动致大鼠骨骼肌损伤及细胞凋亡

是否有影响尚未可知。因此,本研究探讨了黄芪甲苷对力竭运动致大鼠骨骼肌损伤及细胞凋亡的影响,初步分析黄芪甲苷在防治运动性骨骼肌损伤方面的潜在应用价值。

1 材料与方法

1.1 试验动物及其分组、模型建立和药物干预

清洁级雄性成年SD大鼠40只,体质量(200 $\pm$ 20) g,购于北京科兴中维公司,许可证号:SYXK(京)2020-0054。大鼠分笼饲养(5只/笼),12 h光照/12 h黑暗循环交替,饲养于相对湿度45%~60%及恒温(25 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C条件下,饲养3 d开始试验。

按照随机数字表法将40只SD大鼠平均分为安静对照组、力竭运动组及黄芪甲苷100和200 mg/kg组。除安静对照组外,剩余各组大鼠在动物跑步机上训练30 min,跑步机参数设置为速率20 m/min、坡度0 $^{\circ}$,每天训练1次,持续训练6 d;休息1 d后,调整跑步机参数为速率30 m/min、坡度5 $^{\circ}$,跑步训练直至力竭;此过程持续6周。在训练的同时进行药物干预,于每次跑步训练完成2 h后灌胃给药,安静对照组和力竭运动组大鼠灌胃等体积的生理盐水。

1.2 指标检测

1.2.1 血清乳酸脱氢酶和肌酸激酶活性检测

末次给药结束后禁食不禁水24 h,腹腔注射

3 mL/kg 的 20% 乌拉坦溶液麻醉大鼠, 通过腹主动脉取血, 5 000 r/min 离心 10 min (TGL-16M 型离心机, 上海卢湘仪离心机仪器公司) 后制备血清。采用酶联免疫吸附测定法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 按照试剂盒说明书的操作步骤分别测定血清乳酸脱氢酶 (lactic dehydrogenase, LDH) 和肌酸激酶 (creatin kinase, CK) 活性。

1.2.2 骨骼肌形态检测

腹主动脉取血完成后颈椎脱臼法处死大鼠, 迅速分离骨骼肌。取相同位置处骨骼肌, 在 4% 多聚甲醛中固定, 常规方法制作石蜡切片后进行苏木素伊红 (hematoxylin eosin, HE) 染色, 镜下检测骨骼肌形态。

1.2.3 骨骼肌氧化应激指标检测

取部分骨骼肌组织, 用预冷的生理盐水漂洗, 滤纸拭干后精确称量; 剪碎骨骼肌组织后与适量裂解液混合倒入匀浆管中, 在冰上充分匀浆, 转入离心管内, TGL-16M 型离心机 12 000 r/min 离心 10 min 制备骨骼肌匀浆液。按照试剂盒说明书的操作步骤, 分别采用硫代巴比妥酸法、钼酸铵法和嘌呤氧化酶法测定骨骼肌丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量及过氧化氢酶 (catalase, CAT) 和超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性等氧化应激指标。

1.2.4 骨骼肌细胞凋亡检测

取部分骨骼肌组织, 用剪刀剪碎后经胰蛋白酶消化成单层细胞, 在 4 ℃ 条件下用 TGL-16M 型离心机 12 000 r/min 离心 10 min, 收集细胞。用结合缓冲液 100 μ L 重悬细胞, 再加入膜联蛋白 V (annexin V)—异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC) 和碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 各 5 μ L, 轻轻混匀后, 在避光条件下常温孵育 15 min, 用 FACSCalibur 型流式细胞仪 (美国 BD 公司) 检测骨骼肌细胞凋亡率。

1.2.5 骨骼肌凋亡相关基因表达检测

采用 TRIzol 法提取总 RNA, 用反转录试剂盒将其逆转录为 cDNA, 按照试剂盒说明书配制 qPCR 反应液, 在 RG-3000 型实时定量 PCR 仪 (德国 Qiagen 公司) 中进行检测。PCR 扩增条件为: 94 ℃ 预变性 3 min; 95 ℃ 变性 30 s, 65 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 1 min, 共循环 35 次; 72 ℃ 继续放置 10 min 后, 4 ℃ 储存。以甘油醛 3 磷酸

脱氢酶 (glyceraldehyde 3 phosphate dehydrogenase, GAPDH) 为内参基因, 按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 B 淋巴细胞瘤-2 (B cell lymphoma 2, Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax) 及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (caspase-3) 等凋亡相关基因相对于内参基因的表达水平。所需引物由北京三博远志生物公司合成, 序列见表 1。

表 1 qPCR 引物序列

Tab. 1 The sequence of qPCR primer

基因 gene	引物序列 (5'→3') primer sequence	长度/bp length
<i>Bcl-2</i>	F: CCGGGAGAACAGGGTATGATAA R: CCGGGAGAACAGGGTATGATAA	218
<i>Bax</i>	F: TGGCAGCTGACATGGTTTCTGAC R: CGTCCCAACCAGGGTCT	195
<i>caspase-3</i>	F: GCAGCAGCCTCAAATTGTTGAC R: TGCTCCGGCTCAAACCATC	243
<i>GAPDH</i>	F: CGAAGTCAACGGATTGGTTCGTAT R: AGCCTTCTCCATGGTGGTGAAGAC	306

1.2.6 骨骼肌 PI3K/Akt/mTOR 通路相关蛋白表达检测

通过蛋白免疫印迹法检测骨骼肌 PI3K/Akt/mTOR 通路相关蛋白磷脂酰肌醇 3 激酶 p85 亚基 (phosphatidylinositol 3 kinase p85, PI3Kp85)、蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、磷酸化 Akt (phosphorylate Akt, p-Akt) 和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 的表达。按 1.2.3 节的方法制备骨骼肌匀浆液, 采用二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 法测定总蛋白含量。使用十二烷基磺酸钠 (sodium dodecyl sulfonate, SDS)—聚丙烯酰胺凝胶电泳 (polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE) 分离目的蛋白, 采用半干法将其转移至聚偏二氟乙烯膜上。经 5% 脱脂奶粉封闭 2 h 后加入稀释的一抗 (1 : 1000) 孵育 24 h, 漂洗后加入稀释的二抗 (1 : 2500) 孵育 2 h; 漂洗后加入增强型化学发光 (enhanced chemiluminescence, ECL) 试剂显色。分析各蛋白条带灰度值, 以 GAPDH 为内参蛋白, 计算各目的蛋白的相对表达量。

1.3 数据统计与分析

所有数据均采用“平均值 $\pm$ 标准差”表示, 并通过 SPSS 20.0 软件进行统计学处理。单因素方差分析用于多组间均数的比较, t 检验用于两组间均数的比较, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表明差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 黄芪甲苷对各组大鼠血清 LDH 和 CK 活性的影响

由表 2 可知: 与安静对照组相比, 力竭运动组大鼠血清 LDH 和 CK 活性极显著增加 ($P<0.01$); 与力竭运动组相比, 黄芪甲苷 100 和 200 mg/kg 组大鼠血清 LDH 和 CK 活性显著或极显著降低

表 2 黄芪甲苷对各组大鼠血清乳酸脱氢酶 (LDH) 和肌酸激酶 (CK) 活性的影响

Tab. 2 Effects of astragaloside IV on the serum lactic dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK) activities in rats of each group U/L

分组 groups	LDH活性 LDH activity	CK活性 CK activity
安静对照组 quiet control group	978.11±103.42	1 446.23±165.43
力竭运动组 exhaustive exercise group	2 105.51±247.29**	3 836.07±429.86**
黄芪甲苷100 mg/kg组 astragaloside IV 100 mg/kg group	1 872.89±166.17#	2 542.15±286.02##
黄芪甲苷200 mg/kg组 astragaloside IV 200 mg/kg group	1 673.72±185.35##	2 239.61±258.49##

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与安静对照组比较; # $P<0.05$, ## $P<0.01$, 与力竭运动组比较; 下同。
Note: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, compared with the quiet control group; # $P<0.05$, ## $P<0.01$, compared with the exhaustive exercise group; the same as below.

($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

2.2 黄芪甲苷对各组大鼠骨骼肌形态的影响

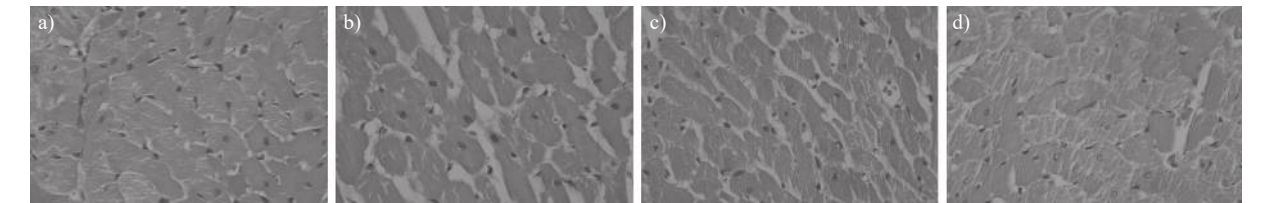
由图 1 可知: 安静对照组大鼠骨骼肌纤维排列均匀、整齐, 横纹清晰, 细胞核完整; 力竭运动组大鼠骨骼肌纤维排列紊乱、不规则, 出现不同程度损伤, 且有炎性细胞大量浸润; 黄芪甲苷 100 和 200 mg/kg 组大鼠骨骼肌病理形态均有好转迹象, 肌纤维排列整齐, 肿胀得到改善, 炎性细胞浸润减少。

2.3 黄芪甲苷对各组大鼠骨骼肌氧化应激指标的影响

由表 3 可知: 与安静对照组相比, 力竭运动组大鼠骨骼肌 MDA 含量极显著增加 ($P<0.01$), CAT 和 SOD 活性极显著降低 ($P<0.01$); 与力竭运动组相比, 黄芪甲苷 100 和 200 mg/kg 组大鼠骨骼肌 MDA 含量极显著降低 ($P<0.01$), CAT 和 SOD 活性极显著增加 ($P<0.01$)。

2.4 黄芪甲苷对各组大鼠骨骼肌细胞凋亡的影响

由图 2 可知: 安静对照组、力竭运动组及黄芪甲苷 100 和 200 mg/kg 组大鼠骨骼肌细胞的凋亡率分别为 $(3.26\pm0.35)\%$ 、 $(25.72\pm3.75)\%$ 、 $(19.95\pm2.56)\%$ 和 $(10.39\pm1.67)\%$ 。与安静对照组相比, 力竭运动组大鼠骨骼肌细胞凋亡率极显著增加



注: a) 安静对照组; b) 力竭运动组; c) 黄芪甲苷 100 mg/kg 组; d) 黄芪甲苷 200 mg/kg 组; 下同。
Note: a) quiet control group; b) exhaustive exercise group; c) astragaloside IV 100 mg/kg group; d) astragaloside IV 200 mg/kg group; the same as below.

图 1 黄芪甲苷对各组大鼠骨骼肌形态的影响 (200×)

Fig. 1 Effect of astragaloside IV on the skeletal muscle morphology in rats of each group

表 3 黄芪甲苷对各组大鼠骨骼肌氧化应激指标的影响

Tab. 3 Effects of astragaloside IV on the indexes of oxidative stress of skeletal muscle in rats of each group

分组 groups	丙二醛含量/(nmol·mg ⁻¹) content of malondialdehyde (MDA)	过氧化氢酶活性/(U·mg ⁻¹) activity of catalase (CAT)	超氧化物歧化酶活性/(U·mg ⁻¹) activity of superoxide dismutase (SOD)
安静对照组 quiet control group	2.29±0.37	41.68±4.81	18.44±2.05
力竭运动组 exhaustive exercise group	5.86±0.74**	29.40±3.16**	9.32±1.34**
黄芪甲苷100 mg/kg组 astragaloside IV 100 mg/kg group	3.37±0.41##	35.31±4.10##	14.53±1.62##
黄芪甲苷200 mg/kg组 astragaloside IV 200 mg/kg group	3.14±0.53##	40.57±5.48##	16.69±1.45##

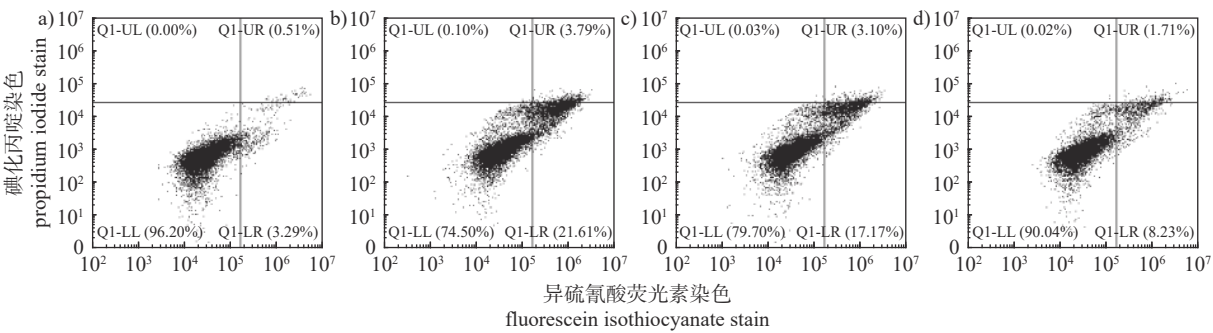


图 2 黄芪甲苷对各组大鼠骨骼肌细胞凋亡的影响

Fig. 2 Effect of astragaloside IV on the apoptosis of skeletal muscle cells in rats of each group

($P<0.01$); 与力竭运动组相比, 黄芪甲苷 100 和 200 mg/kg 组大鼠骨骼肌细胞凋亡率极显著降低 ($P<0.01$)。

2.5 黄芪甲苷对各组大鼠骨骼肌 *Bcl-2*、*Bax* 及 *caspase-3* mRNA 表达的影响

由表 4 可知: 与安静对照组相比, 力竭运动组大鼠骨骼肌 *Bcl-2* mRNA 表达极显著降低 ($P<0.01$), *Bax* 和 *caspase-3* mRNA 表达极显著增加

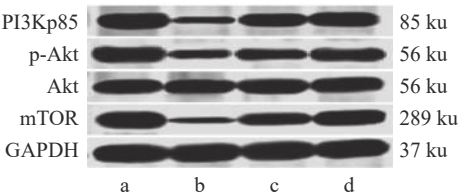
($P<0.01$); 与力竭运动组相比, 黄芪甲苷 100 和 200 mg/kg 组大鼠骨骼肌 *Bcl-2* mRNA 表达显著或极显著增加 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), *Bax* 和 *caspase-3* mRNA 表达极显著降低 ($P<0.01$)。

2.6 黄芪甲苷对各组大鼠骨骼肌 PI3K/Akt/mTOR 通路相关蛋白表达的影响

由图 3 和表 5 可知: 与安静对照组相比, 力竭运动组大鼠骨骼肌 PI3Kp85、p-Akt 及 mTOR 蛋白表达极显著降低 ($P<0.01$), 而 Akt 蛋白表达

表 4 黄芪甲苷对各组大鼠骨骼肌 *Bcl-2*、*Bax* 及 *caspase-3* mRNA 表达的影响

Tab. 4 Effects of astragaloside IV on the <i>Bcl-2</i> , <i>Bax</i> and <i>caspase-3</i> mRNA expressions of skeletal muscle in rats of each group				
分组 groups	<i>Bcl-2</i>	<i>Bax</i>	<i>caspase-3</i>	
安静对照组 quiet control group	1.03±0.12	0.62±0.05	0.34±0.04	
力竭运动组 exhaustive exercise group	0.54±0.07**	1.37±0.14**	0.95±0.12**	
黄芪甲苷100 mg/kg组 astragaloside IV 100 mg/kg group	0.61±0.06#	0.95±0.11##	0.62±0.05##	
黄芪甲苷200 mg/kg组 astragaloside IV 200 mg/kg group	0.86±0.10##	0.79±0.08##	0.57±0.07##	



注: a. 安静对照组; b. 力竭运动组; c. 黄芪甲苷 100 mg/kg 组; d. 黄芪甲苷 200 mg/kg 组。

Note: a. quiet control group; b. exhaustive exercise group; c. astragaloside IV 100 mg/kg group; d. astragaloside IV 200 mg/kg group.

图 3 免疫印迹法检测 PI3Kp85、p-Akt、Akt 及 mTOR 蛋白表达

Fig. 3 The PI3Kp85, p-Akt, Akt and mTOR protein expressions were detected by western blot

表 5 黄芪甲苷对各组大鼠骨骼肌 PI3K/Akt/mTOR 通路相关蛋白表达的影响

Tab. 5 Effects of astragaloside IV on the PI3K/Akt/mTOR pathway related protein expressions of skeletal muscle in rats of each group				
分组 groups	PI3Kp85/GAPDH	p-Akt/Akt	Akt/GAPDH	mTOR/GAPDH
安静对照组 quiet control group	1.21±0.13	0.95±0.10	0.76±0.08	0.83±0.08
力竭运动组 exhaustive exercise group	0.34±0.04**	0.36±0.05**	0.82±0.09	0.19±0.02**
黄芪甲苷100 mg/kg组 astragaloside IV 100 mg/kg group	0.74±0.06##	0.65±0.08##	0.84±0.07	0.58±0.05##
黄芪甲苷200 mg/kg组 astragaloside IV 200 mg/kg group	1.09±0.12##	0.88±0.07##	0.80±0.11	0.75±0.07##

无明显变化 ($P>0.05$);与力竭运动组相比,黄芪甲苷 100 和 200 mg/kg 组大鼠骨骼肌 PI3Kp85、p-Akt 及 mTOR 蛋白表达极显著增加 ($P<0.01$),而 Akt 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$)。

3 讨论

力竭运动可以破坏骨骼肌细胞膜,使细胞内的 LDH 和 CK 渗漏至血液中,导致血清 LDH 和 CK 活性明显升高^[11]。LDH 和 CK 能够反映骨骼肌的细微损伤,是骨骼肌早期损伤的生物标志物;同时,病理诊断也是判断骨骼肌损伤严重程度的主要依据^[12]。本研究发现:大鼠在力竭运动后血清中 LDH 和 CK 活性明显增加;经 100 和 200 mg/kg 的黄芪甲苷干预后,LDH 和 CK 活性显著降低,骨骼肌病理损伤程度也明显减轻,且随着干预剂量的增加效果越明显,表明黄芪甲苷具有保护力竭运动致大鼠骨骼肌损伤的作用。

在正常生理条件下,骨骼肌细胞内 ROS 的产生和清除保持动态平衡,力竭运动会使 ROS 产生增加,氧化应激水平提升,破坏细胞膜通透性,造成细胞内的 CAT 和 SOD 等酶释放至细胞外^[13]。MDA 是脂质过氧化反应的终产物,其含量可以反映机体内脂质过氧化发生的程度。CAT 广泛存在于机体的各个组织中,可以清除体内的 H_2O_2 ,促使其分解成水和分子氧;SOD 是经典的抗氧化酶之一,具有抗氧化活性,可以有效清除 ROS^[14]。研究证明:黄芪甲苷为抗氧化剂,可以抑制还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 2 (NOX2) 和 NOX4 的表达,缓解阿霉素诱导的心肌细胞氧化损伤^[15]。本研究发现:与力竭运动组相比,使用黄芪甲苷干预后,大鼠骨骼肌 MDA 含量降低, CAT 和 SOD 活性增加,说明黄芪甲苷同样可以抑制力竭运动致大鼠骨骼肌氧化应激水平的增加。

细胞凋亡在力竭运动致骨骼肌损伤中起着关键作用^[16]。本研究采用流式细胞术试验发现:力竭运动组大鼠骨骼肌细胞凋亡率增加,而黄芪甲苷组细胞凋亡率降低,提示黄芪甲苷具有抑制骨骼肌细胞凋亡的作用。骨骼肌细胞凋亡进程受凋亡相关基因调控, *Bcl-2* 和 *Bax* 是调控凋亡的主要基因, *Bcl-2* 具有抗凋亡作用,而 *Bax* 则是促凋亡作用; *caspase-3* 是执行凋亡进行的关键基

因,通过引起级联反应最终导致细胞凋亡^[17]。本研究采用 qPCR 试验发现:与力竭运动组相比,黄芪甲苷组大鼠骨骼肌 *Bcl-2* mRNA 表达增加, *Bax* 和 *caspase-3* mRNA 表达降低,进一步在基因水平证实黄芪甲苷具有抑制骨骼肌细胞凋亡的作用。YANG 等^[6]研究表明:黄芪甲苷可以促进 *Bcl-2* mRNA 表达并降低 *Bax* mRNA 表达,从而抑制星形胶质细胞凋亡,与本研究得出的结论相似。

PI3K/Akt/mTOR 通路在调控包括骨骼肌细胞在内的多种细胞凋亡进程中扮演着重要角色^[18]。PI3K/Akt/mTOR 通路通过活化 PI3K,促使 Akt 发生磷酸化,进一步作用于下游 mTOR 等相关因子,最终发挥抑制骨骼肌细胞凋亡作用^[19]。针刺对超负荷运动致骨骼肌损伤大鼠的治疗作用与活化 PI3K/Akt/mTOR 通路、抑制氧化应激和骨骼肌细胞凋亡有关^[20]。研究发现:黄芪甲苷可以通过激活 PI3K/Akt 通路起到抑制神经元凋亡和保护神经元的作用,也可以通过激活 PI3K/AKT 通路抑制内质网应激和减少凋亡进而发挥保护血管内皮细胞的作用^[10,21]。本研究采用蛋白免疫印迹试验发现:与力竭运动组相比,黄芪甲苷组大鼠骨骼肌 PI3Kp85、p-Akt 及 mTOR 蛋白表达增加,说明激活 PI3K/Akt/mTOR 通路是黄芪甲苷能够抑制骨骼肌细胞凋亡的潜在原因。

4 结论

黄芪甲苷可以保护力竭运动致大鼠骨骼肌损伤,该作用与抑制氧化应激及通过激活 PI3K/Akt/mTOR 通路抑制骨骼肌细胞凋亡有关,表明其在防治运动性骨骼肌损伤方面具有潜在应用价值。

[参考文献]

- [1] ELIA A, WOODS D, BARLOW M, et al. Cerebral, cardiac and skeletal muscle stress associated with a series of static and dynamic apnoeas[J]. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 2022, 32(1): 233. DOI: [10.1111/sms.14067](https://doi.org/10.1111/sms.14067).
- [2] LI J, TANG M X, YANG G T, et al. Muscle injury associated elevated oxidative stress and abnormal myogenesis in patients with idiopathic scoliosis[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2019, 15(12): 2584. DOI: [10.7150/ijbs.33340](https://doi.org/10.7150/ijbs.33340).
- [3] 牛衍龙,曹建民,王祯,等.虾青素对大强度运动致大鼠骨骼肌氧化应激损伤及细胞凋亡的影响[J]. *营养学报*, 2021, 43(3): 274. DOI: [10.13325/j.cnki.acta.nutr.sin.2021](https://doi.org/10.13325/j.cnki.acta.nutr.sin.2021).

- 03.010.
- [4] 王水元, 杨立志, 李明, 等. 针刺对超负荷运动致骨骼肌损伤大鼠氧化应激损伤、骨骼肌细胞凋亡及相关信号通路的影响[J]. 广西医科大学学报, 2021, 38(11): 2076. DOI: [10.16190/j.cnki.45-1211/r.2021.11.010](https://doi.org/10.16190/j.cnki.45-1211/r.2021.11.010).
 - [5] HUANG X, ZHANG M Z, LIU B, et al. Astragaloside IV attenuates polymicrobial sepsis-induced cardiac dysfunction in rats via IKK/NF-kappaB pathway[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2021, 27(11): 825. DOI: [10.1007/s11655-021-2869-9](https://doi.org/10.1007/s11655-021-2869-9).
 - [6] YANG J T, SHAO C Y, LI W T, et al. Protective effects of astragaloside IV against oxidative injury and apoptosis in cultured astrocytes by regulating Nrf2/JNK signaling[J]. Experimental Brain Research, 2021, 239(6): 1827. DOI: [10.1007/s00221-021-06096-7](https://doi.org/10.1007/s00221-021-06096-7).
 - [7] 龚晓男, 孙洋, 王洪新. 黄芪甲苷通过Calpain-1/HIF-1 α 改善野百合碱诱导的肺动脉高压大鼠氧化应激[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(2): 33. DOI: [10.13412/j.cnki.zyyl.20210322.001](https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyyl.20210322.001).
 - [8] 余婵娟, 赵进东, 杨迪, 等. 黄芪甲苷对糖尿病大鼠视网膜病变的防治作用及对氧化应激通路的影响[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(11): 194. DOI: [10.13193/j.issn.1673-7717.2020.11.047](https://doi.org/10.13193/j.issn.1673-7717.2020.11.047).
 - [9] 聂佩, 孟凡静, 张金国, 等. 黄芪甲苷抑制血管紧张素II诱导的心肌H9c2细胞凋亡[J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(11): 1942. DOI: [10.3969/j.issn.1000-4718.2019.11.004](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-4718.2019.11.004).
 - [10] 崔伟, 王高频, 卢美丽, 等. 黄芪甲苷通过激活PI3K/AKT通路抑制内皮细胞内质网应激介导的细胞凋亡的研究[J]. 中药药理与临床, 2018, 34(5): 39. DOI: [10.13412/j.cnki.zyyl.2018.05.010](https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyyl.2018.05.010).
 - [11] ISLAM H, BONAFI GLIA J T, GIUDICE M, et al. Repeatability of training-induced skeletal muscle adaptations in active young males[J]. Journal of Science and Medicine in Sport, 2021, 24(5): 494. DOI: [10.1016/j.jsams.2020.10.016](https://doi.org/10.1016/j.jsams.2020.10.016).
 - [12] SANTOS M M B, FILHO L F S, DE SOUZA J B, et al. Topical application of (S)-(-)-limonene is as effective as phonophoresis for improving oxidative parameters of injured skeletal muscle in rats[J]. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2020, 393(12): 2293. DOI: [10.1007/s00210-020-01941-y](https://doi.org/10.1007/s00210-020-01941-y).
 - [13] HOU Y, TANG Y, WANG X B, et al. *Rhodiola crenulata* ameliorates exhaustive exercise-induced fatigue in mice by suppressing mitophagy in skeletal muscle[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2020, 20(4): 3161. DOI: [10.3892/etm.2020.9072](https://doi.org/10.3892/etm.2020.9072).
 - [14] XU J S, LI Y. Effects of salidroside on exhaustive exercise-induced oxidative stress in rats[J]. Molecular Medicine Reports, 2012, 6(5): 1195. DOI: [10.3892/mmr.2012.1060](https://doi.org/10.3892/mmr.2012.1060).
 - [15] LIN J M, FANG L J, LI H, et al. Astragaloside IV alleviates doxorubicin induced cardiomyopathy by inhibiting NADPH oxidase derived oxidative stress[J]. European Journal of Pharmacology, 2019, 859: 172490. DOI: [10.1016/j.ejphar.2019.172490](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172490).
 - [16] MA J B, CHEN C, YU Q L, et al. AMP-activated protein kinase contributes to myofibrillar protein hydrolysis in bovine skeletal muscle through postmortem mitochondrial dysfunction-induced apoptosis[J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(1): e14028. DOI: [10.1111/jfbc.14028](https://doi.org/10.1111/jfbc.14028).
 - [17] ZHOU L, HUANG Y F, XIE H, et al. Herbal complex 'Buyang Huanwu Tang' improves motor endplate function of denervated-dependent skeletal muscle atrophy in rat[J]. Journal of Integrative Neuroscience, 2020, 19(1): 89. DOI: [10.31083/j.jin.2020.01.1226](https://doi.org/10.31083/j.jin.2020.01.1226).
 - [18] FERRETTI R, MOURA E G, DOS SANTOS V C, et al. High-fat diet suppresses the positive effect of creatine supplementation on skeletal muscle function by reducing protein expression of IGF-PI3K-AKT-mTOR pathway[J]. PLoS One, 2018, 13(10): e0199728. DOI: [10.1371/journal.pone.0199728](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199728).
 - [19] 吕欣, 周达岸. PI3K/AKT信号通路对骨骼肌再生的影响研究进展[J]. 中国运动医学杂志, 2020, 39(11): 908. DOI: [10.16038/j.1000-6710.2020.11.013](https://doi.org/10.16038/j.1000-6710.2020.11.013).
 - [20] 刘祥华, 罗湘筠, 李文倩. 基于磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B信号通路探讨针刺对超负荷运动致骨骼肌损伤大鼠氧化应激损伤及骨骼肌细胞凋亡的影响[J]. 安徽医药, 2020, 24(12): 2443. DOI: [10.3969/j.issn.1009-6469.2020.12.028](https://doi.org/10.3969/j.issn.1009-6469.2020.12.028).
 - [21] 张天琪, 李传成, 张铁峰, 等. 基于网络药理学和体外实验探讨黄芪甲苷通过激活PI3K/AKT信号通路减轻PC12细胞损伤的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(24): 6465. DOI: [10.19540/j.cnki.cjcmm.20210902.702](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20210902.702).

责任编辑: 何馨成