

doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2015.20.1082 doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2015.20.1082 •论著•

维生素 E 联合按摩 对徒步行军后骨骼肌损伤的保护作用及其作用机制

宁 实¹, 李 欣², 邰 贺³, 杨 光⁴

(1. 武警辽宁省总队第二支队卫生队, 辽宁 沈阳 110034;

2. 武警辽宁省总队沈阳市支队卫生队, 辽宁 沈阳 110034;

3. 武警辽宁省总队医院内一科, 辽宁 沈阳 110034;

4. 沈阳师范大学体育科学院, 辽宁 沈阳 110034)

【摘要】目的 研究新训期间维生素E联合按摩对徒步行军后骨骼肌的保护作用及其保护机制。**方法** 选取平素身体健康且无正规体育训练史的60名男性新兵随机分为A组(空白对照组)、B组(维生素E组)、C组(维生素E联合按摩组),每组均为20名,其中B、C组连续7 d服用维生素E($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),A组给予相同体积的橄榄油,7 d后让60名新兵进行90 km(3 d走完)徒步行军,行军过程中C组给予腿部按摩(20 min/次,2/d),A、B两组不做任何处理,徒步行军结束后2 h、3 h、6 h、24 h测量外周血清肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、超氧化物歧化酶(SOD)、活性氧类物质(ROS)、丙二醛(MDA)浓度的变化。**结果** A组外周血清CK、LDH、ROS、MDA值各个时间点均高于其他两组,而GSH-PX、SOD活性值各个时间点均低于其他两组,差异均有统计学意义($P<0.05$);B组外周血清CK、LDH、ROS、MDA值各个时间点均高于C组,而GSH-PX、SOD活性值各个时间点均低于C组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。三组的外周血清GSH-PX、SOD活性均于行军后开始下降,6 h达到最低值,24 h开始升高;三组新兵外周血ROS、MDA均于行军后开始升高,行军结束后6 h达到高峰,行军结束后24 h开始下降。**结论** 维生素E联合按摩能通过调节氧化与抗氧化平衡来抑制长时间运动中所导致的肌肉损伤。

【关键词】 徒步行军; 肌酸激酶; 乳酸脱氢酶; 维生素E; 肌肉损伤; 按摩; 氧化

【中图分类号】 R685.4 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2015)20—2970—04

Protective effect of Vitamin E combined with massage on skeletal muscle injury caused by march and its mechanism. NING Shi¹, LI Xin², TAI He³, YANG Guang⁴. 1. Health Team, Second Military Detachment, Liaoning Provincial Corps of Chinese People's Armed Police Forces, Shenyang 110034, Liaoning, CHINA; 2. Health Team, the Shenyang Military Detachment, Liaoning Provincial Corps of Chinese People's Armed Police Forces, Shenyang 110034, Liaoning, CHINA; 3. First Department of Internal Medicine, Liaoning Provincial Corps Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Shenyang 110034, Liaoning, CHINA; 4. Department of Physical Education, Shenyang Normal University, Shenyang 110034, Liaoning, CHINA

[Abstract] **Objective** To observe the effect of Vitamin E combined with massage on skeletal muscle injury caused by march. **Methods** Sixty new recruits who was not formally disciplined were randomly divided into three groups (every group include 20 recruits), group A (control group), group B (given Vitamin E), group C (given Vitamin E and massage). New recruits in group B and group C took Vitamin E ($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) for 7 days, while those in group A were given olive oil. Then the recruits marched 90 km for 3 days. The recruits in group C were given massage (20 min one time, twice a day) in leg. Creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), Glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD), reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA) in the three groups were detected 2 h, 3 h, 6 h and 24 h after march. **Results** The activity of CK, LDH, ROS and the concentration of MDA in group A all time points were higher than those in other two groups after march ($P<0.05$), while the GSHG-PX, SOD at all time points were lower than those in other two groups after march ($P<0.05$). The activity of CK, LDH, ROS and the concentration of MDA in group B at all time points were higher than those in group C ($P<0.05$), while the GSHG-PX, SOD at all time points were lower than those in group C at all time points ($P<0.05$). The activity of GSH-PX, SOD were reduced after march, reached the bottom at 6 h, and then increased at 24 h in the three groups. The activity of ROS, LDH, ROS and the concentration of MDA were increased after march, reached the peak at 6 h after march, and decreased at 24 h after march in the three groups. **Conclusion** Vitamin E combined with massage can inhibit muscle injury during long movement through balancing oxidation and antioxidation.

【Key words】 March; Creating kinase; Lactate dehydrogenase; Vitamin E; Muscle injury; Massage; Oxidize

基金项目:国家社会科学基金青年项目(编号:11CTY023)

通讯作者:邰贺。E-mail: www.tai_he83@126.com.

新兵入伍后首先要经过严格的强化军事训练以为今后能更好地适应执勤处突,近年来已经将冬季野营拉练徒步行军已经录入军事训练大纲,但是新兵往往无体能训练的经验,过强、过久训练易诱发骨骼肌疲劳性损伤,严重影响训练效果^[1]。骨骼肌疲劳性损伤后,肌细胞内的酶释放入血清,肌酸激酶(Creatine kinase, CK)与乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH)为肌损伤的标志性酶^[2]。本课题组已经证实维生素E(4 mg·kg⁻¹·d⁻¹)能在徒步行军过程中保护骨骼肌细胞^[3]。而在以往的实验证实通过按摩能很好促进骨骼肌细胞的修复^[4]。但针对维生素E联合按摩对骨骼肌的保护作用方面的研究,以往还未有报道,值得我们去进一步研究。

1 资料与方法

1.1 实验人群 2014年11月冬季野营拉练期间,随机选取60名青年男性新兵,入伍前未经过正规体育训练、近1年无手术外伤史,近期无传染病史接触史、无肝肾、心脏功能异常,年龄18~20岁,体重55~70 kg,身高165~175 cm,均为高中学历,所有青年士兵均经签署知情同意书,本实验已经过院医学伦理委员批准。

1.2 方法

1.2.1 实验士兵分组 按照随机数表法随机分为A、B、C三组,每组均为20名,正常睡眠、饮食。徒步行军进行前A组口服相同ml/kg的橄榄油;B、C两组均口服维生素E(4 mg·kg⁻¹·d⁻¹),维生素E用橄榄油配成混悬液,浓度为24 mg/ml,配好后4℃低温避光保存,尽量做到现用现配。

1.2.2 实验士兵处理 将A、B、C三组的所有士兵于每日早饭后10 min按上述分组要求服用维生素E(Sigma公司产品)混悬液,连续服用7 d,最后一次服用2 h后开始进行90 km徒步行军,每日行走30 km,3 d走完,每日行军过程中,上午、下午各休息1次,每次20 min,午餐时间为30 min,其中C组行军过程中给予按摩(每日午餐时给予1次,每日行军结束后给予第2次,每次均为20 min,由专业按摩师行双腿按摩),徒步行军结束后抽取三组新兵静脉血,检测相关指标。

1.2.3 取材与样本检测 分别在行军结束后2 h、3 h、6 h、24 h抽取静脉血检测CK活性、LDH活

性(活性检测试剂盒均为南京建成生物科技公司产品);谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)活性、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量、活性氧类物质(Reactive oxygen species, ROS)活性(活性检测试剂盒均为南京建成生物科技公司产品)。将血清在离心机10 000~15 000 r/min离心(ASD-310S型低温离心机由美国Sigma公司产品),匀浆时间10 s/次,间隙30 s,连续3~4次,温度4℃,按试剂盒说明测定CK活性、LDH活性、GSH-Px、SOD与ROS活性并检测MDA含量。所取标本均在1周内测定。

1.3 统计学方法 应用SPSS17.0软件对数据进行统计学分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,三组间同一时间点数据的两两比较采取单因素方差分析,组内各个时间点的比较采用组内重复测量方差分析法,以 $P<0.05$ 表示为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 三组新兵的外周血清GSH-PX和SOD活性比较 A组新兵的外周血清GSH-PX、SOD值各个时间点均低于B组和C组,且差异均有统计学意义($P<0.05$);B组外周血清GSH-PX、SOD值各个时间点均低于C组,且差异具有统计学意义($P<0.05$),三组新兵外周血两酶活性均于行军结束后开始降低,行军结束后6 h达低谷,行军结束后24 h开始升高,见表1。

2.2 三组新兵的外周血清ROS活性和MDA含量比较 A组外周血清ROS、MDA值各个时间点均高于B、C组,且差异有统计学意义($P<0.05$),B组外周血清ROS、MDA值各个时间点均高于C组,且差异具有统计学意义($P<0.05$),三组新兵外周血两酶活性均于行军结束后开始升高,行军结束后6 h达高峰,行军结束后24 h开始下降,见表2。

2.3 三组新兵的外周血清CK和LDH活性比较 A组外周血清CK、LDH值各个时间点均高于B、C组,且差异有统计学意义($P<0.05$),B组外周血清CK、LDH值各个时间点均高于C组,且差异具有统计学意义($P<0.05$),三组新兵外周血两酶活性均于行军结束后开始升高,行军结束后6 h达高峰,行军结束后24 h开始下降,见表3。

表1 三组新兵的外周血清GSH-PX和SOD活性比较($\bar{x}\pm s$)

组别	GSH-PX(μmol/L)				SOD(U/ml)			
	2 h	3 h	6 h	24 h	2 h	3 h	6 h	24 h
A组	17.32±2.32	16.14±2.22 ^a	15.45±3.12 ^b	18.32±2.3 ^{abc}	189.54±21.32	180.43±28.54 ^a	175.54±18.43 ^{ab}	194.43±19.43 ^{abc}
B组	19.11±2.05 ^d	18.98±2.11 ^{ad}	17.54±1.64 ^{abd}	20.11±2.31 ^{abcd}	197.21±19.33 ^d	188.43±18.43 ^{ad}	179.52±19.43 ^{abd}	201.43±22.32 ^{abcd}
C组	19.88±1.97 ^{dc}	19.32±1.43 ^{adc}	18.77±2.12 ^{abdc}	23.78±2.05 ^{deabc}	206.43±19.33 ^{de}	198.56±21.54 ^{adc}	191.54±19.11 ^{abde}	214.53±21.54 ^{abcd}

注:(1)组内各个时间点比较:^a与运动结束后2 h比较, $P<0.05$;^b与运动结束后3 h比较, $P<0.05$;^c与运动结束后6 h比较, $P<0.05$ 。(2)组间比较:^d与同时间点的A组比较, $P<0.05$;^e与同时间点的B组比较, $P<0.05$ 。

表 2 三组新兵的外周血清 ROS 活性和 MDA 含量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	ROS (U/ml)				MDA (nmol/ml)			
	2 h	3 h	6 h	24 h	2 h	3 h	6 h	24 h
A 组	740.43±65.43	745.48±71.32 ^a	752.43±68.21 ^{ab}	723.42±65.43 ^{abc}	68.87±7.43	71.78±6.65 ^a	75.61±6.65 ^{ab}	69.78±6.02 ^{abc}
B 组	733.43±71.43 ^d	741.43±71.32 ^{ad}	750.54±74.67 ^{abd}	709.54±67.34 ^{abcd}	69.76±7.11 ^d	77.43±8.43 ^{ad}	81.79±8.54 ^{abd}	67.76±8.54 ^{abcd}
C 组	721.54±65.21 ^{dc}	733.11±68.43 ^{adc}	742.11±80.43 ^{abdc}	703.18±69.54 ^{abdc}	65.43±8.43 ^{dc}	73.21±7.43 ^{adc}	77.54±7.11 ^{abdc}	64.46±9.54 ^{abdcde}

注:(1)组内各个时间点比较:与运动结束后 2 h 比较,^aP<0.05;与运动结束后 3 h 比较,^bP<0.05;与运动结束后 6 h 比较,^cP<0.05。(2)组间比较:与同时间点的 A 组比较,^dP<0.05、与同时间点的 B 组比较,^eP<0.05。

表 3 三组新兵的外周血清 CK 和 LDH 活性比较($\bar{x}\pm s$)

组别	CK (U/L)				LDH (U/L)			
	2 h	3 h	6 h	24 h	2 h	3 h	6 h	24 h
A 组	511.23±36.25	532.54±65.43 ^a	588.43±76.32 ^{ab}	434.54±17.2 ^{abc}	321.54±65.54	346.65±43.54 ^a	387.65±43.54 ^{ab}	311.54±54.11 ^{abc}
B 组	452.32±53.43 ^d	473.43±51.43 ^{ad}	508.67±65.54 ^{abd}	411.32±43.75 ^{abcd}	303.21±43.43 ^d	324.23±43.56 ^{ad}	354.54±41.56 ^{abd}	266.54±31.47 ^{abcd}
C 组	422.43±56.43 ^{de}	444.43±32.76 ^{ade}	474.54±76.43 ^{abdc}	321.54±47.54 ^{abdc}	265.43±32.52 ^{de}	283.45±31.43 ^{ade}	311.54±42.54 ^{abdc}	212.43±32.54 ^{abdcde}

注:(1)组内各个时间点比较:与运动结束后 2 h 比较,^aP<0.05;与运动结束后 3 h 比较,^bP<0.05;与运动结束后 6 h 比较,^cP<0.05;(2)组间比较:与同时间点的 A 组比较,^dP<0.05,与同时间点的 B 组比较,^eP<0.05。

3 讨论

有关运动后外周血清酶活性改变的研究,本课题组及其他学者在以往研究中均已证实维生素 E 能保护剧烈运动及其徒步行军过程中的骨骼肌,并研究了运动后骨骼肌标志酶的变化情况,但未对具体机制及其酶学指标时间变化趋势进行研究^[3,5]。外周血清乳酸(LD)浓度随着运动强度加大与持续时间的延长而升高,机体在剧烈运动过程中,机体氧供给量不足,处于相对缺氧状态,要通过无氧酵解提供部分能量,无氧酵解使血 LD 水平升高,机体无氧代谢能力的常用 LDH 活性来评价,长时间运动导致细胞组织中 LDH 活性升高,且细胞膜通透性增强(肌细胞膜发生氧化损伤所致),进而导致血清中 LDH 活性升高^[6-7]。CK 能催化三磷酸腺苷和磷酸肌酸之间形成、转移高能磷酸键、参与糖酵解、线粒体内呼吸与提供肌肉收缩能量,是机体 ATP-CP 系统代谢的关键酶。广泛存在于骨骼肌、心肌、脑、视网膜及精液中,血清 CK 多来源于运动密切的骨骼肌细胞^[8]。关于运动后血清 CK 浓度升高的研究很多,其活性与运动时间及强度有关,临床中以该酶为骨骼肌损伤标志酶^[9]。

线粒体是细胞内呼吸的主要场所,参与能量生成与储备,对缺氧较敏感,徒步行军时气温低,腿部骨骼肌运动量较大,耗氧量较多易导致缺氧。正常生理状态下,氧化与抗氧化体系处于平衡状态,SOD、GSH-PX 及其其他的脂肪酶、蛋白酶、DNA 修复酶都是人体内重要的抗氧化酶,此外维生素 E、维生素 C 等也参与机体抗氧化功能,当氧化与抗氧化处于平衡状态时细胞不受损伤,相对缺氧时线粒体不能进行充分的有氧氧化,ATP 生成减少导致供能减少,然而再灌注血液突然大量进入细胞后所带来的氧气能导致蛋白激酶 C、髓化过氧化物酶、黄嘌呤氧化酶形成过

氧化物质同时产生大量氧化物,产生的 ROS、MDA 产生,超出了 SOD、GSH-PX 等酶的清除能力,导致氧化物剩余而损伤细胞,特别是富含脂肪酸神经组织,易受自由基攻击^[10-12]。

维生素 E 是天然存在的抗氧化剂已广泛应用于医学保健、治疗。在人体内维生素 E 存在于细胞膜内部。维生素 E 的结构包括一个色满环和一个植醇支链,抗氧化主要通过色满环来捕捉自由基而形成生育酚半醌自由基,通过保护膜上的多烯脂肪酸免受自由基的攻击来维持膜的完整性。长时间训练后机体内氧自由基含量升高,肌肉细胞中的 CK、LDH 活力降低导致其能量供给减少,而血清中两酶的活性升高,进一步证实长时间运动产生大量氧自由基而破坏细胞膜导致其通透性增强,酶释放到血清^[13]。而以往通过动物实验证实按摩能通过改善骨骼肌血供修复骨骼肌细胞^[4]。本实验结果显示:A 组外周血清 CK、LDH、ROS、MDA 值各个时间点均高于其他两组(P<0.05),而 GSH-PX、SOD 活性值各个时间点均低于其他两组(P<0.05);B 组外周血清 CK、LDH、ROS、MDA 值各个时间点均高于 C 组(P<0.05),而 GSH-PX、SOD 活性值各个时间点均低于 C 组(P<0.05)。三组的外周血 GSH-PX、SOD 活性均于行军后开始下降,6 h 达到最低值,24 h 开始升高;三组新兵外周血 ROS、MDA 均于行军后开始升高,6 h 达到高峰,24 h 开始下降。与李焕春等^[7]结果相同。

本实验结果为新兵新训期间训练伤的防治提供了一定的理论依据。而新训期间抑郁、紧张、恐惧、厌训练情绪发生率较高,而这些情绪往往导致训练伤的发生,此外新训期间能量消耗较大易导致营养物质缺乏,因此不良心理因素及其营养因素对训练效果往往产生一定影响,这些因素对骨骼肌损伤的影响将在今后的实验中进一步明确。

doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2015.20.1083

·论著·

星形细胞上调基因-1在膀胱癌中的表达及意义

李生华¹, 钟腾飞², 张鑫², 熊天华², 刘柳², 蒋一强², 陈罡²(广西医科大学第一附属医院泌尿外科¹、病理科², 广西 南宁 530021)

【摘要】目的 探讨星形细胞上调基因-1(AEG-1)在膀胱癌组织中的表达及其临床意义。**方法** 采用免疫组织化学法检测224例膀胱癌组织及56例正常膀胱组织中AEG-1表达的差异及其与相关临床病理参数间的关系。**结果** AEG-1在膀胱癌组织中的表达显著高于正常膀胱组织($P<0.01$);男性膀胱癌患者AEG-1的表达明显高于女性膀胱癌患者($P<0.05$);膀胱癌高级别组中的表达显著高于低级别组($P<0.01$);膀胱癌Ⅲ、Ⅳ期者显著高于Ⅰ、Ⅱ期者($P<0.01$);伴有淋巴结转移者AEG-1的表达显著高于无淋巴结转移者($P<0.01$);肿瘤直径 ≥ 3 cm组AEG-1的表达显著高于肿瘤直径 <3 cm组($P<0.01$)。膀胱癌复发组AEG-1的表达显著高于无复发组($P<0.01$)。**结论** AEG-1的高表达与膀胱癌的发生与演变密切相关。

【关键词】 星形细胞上调基因-1; 膀胱癌; 免疫组化

【中图分类号】 R737.14 【文献标识码】 A 【文章编号】 1003—6350(2015)20—2973—03

Expression and clinical significance of AEG-1 in bladder cancer tissues. LI Sheng-hua¹, ZHONG Teng-fei², ZHANG Xin², XIONG Tian-hua², LIU Liu², JIANG Yi-qiang², CHEN Gang². Department of Urinary Surgery¹, Department of Pathology², the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, CHINA

[Abstract] **Objective** To investigate the expression and clinical significance of AEG-1 in bladder cancer tissues. **Methods** Immunohistochemistry (IHC) was used to detect the expression of AEG-1 in 224 cases of bladder cancer tissues and 56 cases of normal bladder tissues. The relationships between AEG-1 expression and clinical pathological parameters were also analyzed. **Results** The expression of AEG-1 was significantly higher in bladder cancer tissues than in normal bladder tissues ($P<0.01$), in male patients than female patients ($P<0.05$), in higher levels of bladder cancer than lower levels of bladder cancer ($P<0.01$), in bladder cancer tissues of stage III and IV than bladder cancer tissues of stage I and II ($P<0.01$), in patients with lymphatic metastasis than those without lymphatic metastasis ($P<0.001$), in patients with tumor diameter ≥ 3 cm than those with tumor diameter <3 cm ($P<0.01$), as well as in patients with recurrence than those without recurrence ($P<0.001$). **Conclusion** Overexpression of AEG-1 is closely correlated with tumorigenesis and development of bladder cancer.

【Key words】 Astrocyte elevated gene-1; Bladder cancer; Immunohistochemistry

基金项目: 广西大学生创新创业计划(编号: 201410598004); 广西大学生未来学术之星课题(编号: WLXSZX1550)

通讯作者: 陈罡。E-mail: chen_gang_triones@163.com

参考文献

- [1] 徐英杰, 刘林华, 梁咏梅, 等. 2005年解放军某部野营拉练期间伤病情情况调查[J]. 预防医学论坛, 2007, 13(1): 89.
- [2] 田振军, 石磊, 刘小杰, 等. 过度训练对大鼠血清CK、LDH、SOD、SDH活性及UMB含量影响的研究[J]. 中国运动医学杂志, 2000, 19(1): 49-50.
- [3] 杨光, 郁贺, 赵跃萍, 等. 维生素E对徒步行军所致肌肉损伤的作用[J]. 解放军医药杂志, 2013, 25(6): 82-84.
- [4] 谢辉, 唐成林, 陈晓琳, 等. 按摩通过改善VEGF活性及血供促进兔骨骼肌损伤修复[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(12): 6984-6986.
- [5] 张文, 郁贺, 刘乙莹, 等. 维生素E对剧烈运动所致肌肉损伤的保护作用[J]. 武警医学院学报, 2011, 20(9): 726-728.
- [6] 田振军, 石磊, 刘小杰, 等. 过度训练对大鼠血清CK、LDH、SOD、SDH活性及UMB含量影响的研究[J]. 中国运动医学杂志, 2000, 19(1): 49-50.
- [7] 李焕春, 肖国强. 热应激适应与骨骼肌损伤保护[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(11): 2139-2142.
- [8] 夏云建, 张钧, 黄叔怀. 剧烈运动对几种血清酶活性和T细胞的影响[J]. 天津体育学院学报, 1999, 14(1): 75-76.
- [9] 赵福临, 刘瑞学, 徐美华. 乳酸和肌酸激酶及其同功酶监测长跑运动员体能消耗和肌肉损伤[J]. 福建医科大学学报, 2008, 42(4): 359-361.
- [10] 仇万山, 陈亦江. 线粒体结构功能和常用研究方法[J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2007, 28(3): 382-385.
- [11] 俞浩, 张孝林. 昼夜节律对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的影响[J]. 中国实验动物学报, 2015, 29(1): 34-36.
- [12] 胡文, 尹艳艳, 王玉婵, 等. 麝香醒脑滴丸对脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 安徽医药, 2015, 31(1): 67-69.
- [13] 张海平, 高岩. 维生素E对离心运动大鼠骨骼肌超微结构的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(7): 1313-1316.

(收稿日期: 2015-05-20)