

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.46.010 [http://www.crter.org]  
张彩, 杨华元. 跑台训练建立过度训练大鼠模型[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(46):8036-8042.

## 跑台训练建立过度训练大鼠模型\*☆

张彩, 杨华元(上海中医药大学体育部运动医学教研室, 上海市 201203)

### 文章亮点:

1 目前开展的各项研究中, 通过跑台建立过度训练模型所采用方案有所差别, 确定造模是否成功的标准不同。多通过主观观察运动机体状态与运动能力的变化判断造模是否成功, 缺乏客观判断标准。而客观上能够反映运动机能的常见指标包括血红蛋白、血尿素氮、肌酸激酶、血清睾酮。血红蛋白下降、血尿素氮升高、肌酸激酶升高、血清睾酮下降等均提示机体运动机能下降。

2 试验参考 Bedford 理论及其他相关研究, 从主观行为学改变与客观运动相关指标的变化趋势两个角度建立过度训练大鼠模型, 实现了建立过度训练大鼠模型标准的客观化。

### 关键词:

组织构建; 组织构建实验造模; 过度训练; 大鼠模型; 行为学改变; 运动生化指标; 血红蛋白; 血清肌酸激酶; 血清尿素氮; 血清睾酮; 省级基金

### 主题词:

体育和训练; 大鼠; 模型, 动物; 行为学科和活动; 血红蛋白类; 血尿素氮

### 基金资助:

上海市体育局科技腾飞计划项目(09Tf015)\*

### 摘要

**背景:** 过度训练是运动负荷与机体机能不相适应, 以至疲劳连续累积而引起的一系列功能紊乱或病理状态。目前建立过度训练大鼠模型的常用训练方法有跑台、游泳、爬杆等方式, 但国际上比较认可跑台法。

**目的:** 通过动态监测运动大鼠的生化指标, 同时观察其行为学改变, 确立建立过度训练大鼠模型的建模标准, 实现过度训练大鼠模型建模客观化。

**方法:** 16只SD大鼠随机均分为模型组与空白对照组。模型组按训练计划进行运动训练, 大鼠适应性喂养后开始训练, 每周训练6d, 休息1d, 采用递增强度跑台运动, 从训练第1周起, 逐渐递增速度、坡度和跑步时间; 而空白对照组常规饲养, 不进行训练。

**结果与结论:** 运动5周后大鼠出现过度训练行为学改变。训练过程中, 血清肌酸激酶持续增加, 5周后高于基础水平( $P < 0.01$ ); 血清尿素氮持续增加, 3周后高于基础水平( $P < 0.05$ ); 而大鼠血红蛋白、血清睾酮呈现先升高后下降的趋势, 8周后显著低于基础水平( $P < 0.05$ )。大鼠行为学上出现过度训练状态, 同时血红蛋白、血清睾酮显著低于基础水平, 血清肌酸激酶、血清尿素氮显著高于基础水平, 提示运动机体处于过度训练状态。实验确立了过度训练大鼠的建模标准。按照实验训练方案, 跑台速度为30 m/min、每次训练时间为110 min、坡度为15°时, 训练持续至第8周可以建立过度训练大鼠模型。

## Establishment of an overtraining rat model on the treadmill

Zhang Cai, Yang Hua-yuan (Office of Sports Medicine, Department of Physical Education, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

### Abstract

**BACKGROUND:** Overtraining is a series of functional disorder or pathological state induced by continuous fatigue accumulation because exercise load and body function are incommensurate to each other. At present, commonly used methods for establishing rat models of overtraining included treadmill, swimming and climbing rod, but treadmill is comparatively accepted in the world.

**OBJECTIVE:** To establish the standard of overtraining rat model and to implement objective of model establishment by dynamically monitoring biochemical indexes and observing behavioral changes.

**METHODS:** A total of 16 Sprague-Dawley rats were randomly assigned to model and blank control groups. The model group received movement training according to the plan. After adaptable feeding, training was performed, 6 days every week, with a rest of 1 day. Increasing intensity on treadmill was used. From the first week of training, the speed, gradient and running time were gradually increased. However, the blank control group was conventionally fed, without any training.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Behavior changes of the training rats were arisen after five weeks. Serum creatine kinase levels increased continuously in training process, and higher than basic levels at 5 weeks ( $P < 0.01$ ). Serum urea nitrogen levels persistently increased, and higher than basic levels at 3 weeks ( $P < 0.05$ ).

张彩☆, 女, 1979年生, 2012年上海中医药大学毕业, 博士, 讲师, 主要从事针灸、运动医学方面的研究。

13795464728@163.com

通讯作者: 杨华元, 教授, 上海中医药大学体育部运动医学教研室, 上海市 201203

yhyabcd@sina.com

中图分类号:R318

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2013)46-08036-07

修回日期: 2013-08-27

(20130615/D·Q)

Zhang Cai☆, Lecturer, Studying for doctorate, Office of Sports Medicine, Department of Physical Education, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China  
13795464728@163.com

Corresponding author: Yang Hua-yuan, Professor, Office of Sports Medicine, Department of Physical Education, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China  
yhyabcd@sina.com

Accepted: 2013-08-27

Hemoglobin and serum testosterone levels increased and then decreased, and significantly lower than basic levels at 8 weeks ( $P < 0.05$ ). Behaviorally, overtraining appeared. Simultaneously, hemoglobin and serum testosterone levels were significantly lower than basic levels. Serum creatine kinase and serum urea nitrogen levels were significantly higher than basic levels. These results indicated that the body was in overtraining state. The standard of overtraining rat model was established in this study. The overtraining rat model was established according to the training program when the training was lasted for 8 weeks, the training speed was 30 m/min; every training time was 110 minutes, and the gradient was 15°.

**Subject headings:** physical education and training; rats; models, animal; behavioral disciplines and activities; hemoglobins; blood urea nitrogen

**Funding:** the Science and Technology Liffoff Project of Bureau of Physical Education of Shanghai City, No. 09Tf015\*

Zhang C, Yang HY. Establishment of an overtraining rat model on the treadmill. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(46):8036-8042.

## 0 引言 Introduction

过度训练是运动负荷与机体机能不相适应,以至疲劳连续累积而引起的一系列功能紊乱或病理状态<sup>[1-2]</sup>。目前建立过度训练大鼠模型的常用训练方法有跑台<sup>[3]</sup>、游泳<sup>[4]</sup>、爬杆等方式<sup>[5]</sup>,但国际上比较认可跑台法。目前开展的各个研究中,通过跑台建立过度训练模型所采用方案有所差别<sup>[6-8]</sup>,确定造模是否成功标准不同。多通过主观观察运动机体状态与运动能力的变化判断造模是否成功,缺乏客观判断标准。课题将反映运动机能状态的客观生化指标纳入建立过度训练大鼠模型的判断体系。而客观上能够反映运动机能的常见指标包括血红蛋白、血尿素氮、肌酸激酶、血清睾酮<sup>[9]</sup>。血红蛋白下降、血尿素氮升高、肌酸激酶升高、血清睾酮下降等均提示机体运动机能下降,机体出现疲劳连续累积,处于过度训练状态<sup>[10]</sup>。

实验参考Bedford理论及其他相关研究<sup>[11-12]</sup>,从主观行为学改变与客观运动相关指标的变化趋势两个角度建立过度训练大鼠模型,克服了既往仅通过主观观察运动机体的行为学改变建立过度训练模型的局限,实现建立过度训练大鼠模型标准的客观化。造成运动机体过度训练的运动包括爆发性运动、耐力性运动,而这次实验主要观察耐力性运动项目-跑台建立过度训练大鼠模型的方法。

## 1 材料和方法 Materials and methods

**设计:** 动物实验观察。

**时间及地点:** 实验于2011年10月至2012年1月于上海中医药大学动物实验中心完成。

**材料:**

**实验动物:** 健康雄性SD大鼠16只,雄性,2月龄,体质量(120±10)g,清洁级,由中国科学院实验动物中心提供,许可证编号为SCXK(沪2008-0016),实验过程中对动物的处置符合医学伦理学标准。

训练过程,剔除出现以下2种情况的动物:①连续

3 d都不能适应跑台的大鼠。②在训练过程中,损伤严重的大鼠,包括肢体有严重损伤、出血,短期内不能完全恢复的动物。

通过跑台建立过度训练大鼠模型实验的试剂:

试剂	来源
3%戊巴比妥钠(给药剂量: 45 mg/kg)	上海中医药大学实验动物中心配制
肌酸激酶(CK)试剂盒(批号: 20101030);	南京建成生物研究所
尿素氮(BUN)试剂盒(批号: 20101221)	
睾酮(T)试剂盒(批号: 110420,110520)	北京北方生物技术研究所

通过跑台建立过度训练大鼠模型实验的主要实验仪器与设备:

仪器与设备	来源
五分类全自动血球仪(产品型号: ADVIV 120)	德国拜尔公司
全自动血生化分析仪(产品型号: 日立 7080)	日本株式会社
睾酮(T)试剂盒(批号: 110420,110520)	北京北方生物技术研究所
智能化γ计数器(型号: FT646A3 型)	北京核仪器厂
冷冻离心机(型号: J-26XPI)	美国贝克曼公司
六通道动物跑台(型号: SLY-RTML)	东西仪器科技有限公司

**实验方法:**

**实验分组:** 16只SD大鼠随机均分为模型组与空白对照组。模型组按训练计划进行运动训练,而空白对照组常规饲养,不进行训练。

**训练模式:** 参考既往过度训练建模方式<sup>[5-7]</sup>,初步制定训练方案。

大鼠适应性喂养后开始训练,每周训练6 d,休息1 d,采用递增强度跑台运动。从训练第1周起,逐渐递增速度、坡度和跑步时间。跑台速度从15 m/min,每周增加5 m/min,增加到30 m/min,稳定速度后不再增加;坡度从0°开始,每周增加5°,增加至15°后不再增加;训练时间从30 min,每周增加20 min,增加到110 min后稳定训练时间,不再增加。训练周数逐渐增加,直至第N周,建模成功。具体方案,见表1。

**确立造模成功方法:** 在训练过程中,一方面观察运动大鼠行为学改变,另一方面动态监测运动相关生化指标的变化趋势。

表1 过度训练建模大鼠跑台训练计划

Table 1 Treadmill training program in rat models of overtraining

实验周次(周)	速度(m/min)	时间(min)	坡度(°)
1	15	30	0
2	20	50	5
3	25	70	10
4	30	90	15
5	30	110	15
6	30	110	15
7	30	110	15
⋮	⋮	⋮	⋮
⋮	⋮	⋮	⋮
N	30	110	15

过度训练行为学改变<sup>[13]</sup>: ①一般状况: 即动物的“表情”和“逃避”反应, 脱毛现象加剧, 神情倦怠, 食欲降低, 对外界刺激反应迟钝, 探究行为明显减少等。②跑步姿势: 观察大鼠后蹬地不积极, 吃力或无力, 腹部与跑道面时有接触或一直接触(由蹬地跑变为半卧位或卧位跑)等。③运动能力: 大鼠不能维持原来的运动强度, 刺激频率增加, 刺激时间延长等。

客观指标检测: 训练开始前, 进行尾静脉抽血, 检测血红蛋白、肌酸激酶、血尿素氮、血清睾酮, 作为基础水平。实验过程中, 每隔2周进行1次尾静脉抽血, 检测血红蛋白、肌酸激酶、血尿素氮、血清睾酮, 观察其变化趋势。

实验过程中, 动态观察大鼠行为学改变与客观指标变化。观察大鼠行为学, 出现疲劳迹象后, 跟踪监测血红蛋白、肌酸激酶、血尿素氮、血清睾酮。当血红蛋白下降, 肌酸激酶升高, 血尿素氮升高, 血清睾酮下降, 各指标与基础水平比较, 差异均有显著性意义, 记录运动参数, 确定造模成功。最后运动参数为: 第N周, 跑台速度为30 m/min, 每次训练时间为110 min, 坡度为15°。

#### 确定造模成功标准:

主观指标: 出现过度训练行为学改变, 大鼠神情倦怠、脱毛严重、反应迟钝、腹部紧贴跑道、刺激频率与时间均延长仍不能维持原来的运动强度等症状。

客观指标: 血红蛋白下降, 肌酸激酶升高, 血尿素氮升高, 血清睾酮下降, 各指标与基础水平比较有显著性差异。当主客观均出现过度训练迹象, 记录运动参数, 第N周, 跑台速度为30 m/min, 每次训练时间为110 min, 坡度为15°。

大鼠尾静脉取血方法: 固定动物并露出鼠尾, 将鼠尾在45℃温水中浸泡数分钟, 用二甲苯等化学药物涂擦, 使局新血管扩张。将鼠尾擦干, 乙醇消毒, 采用针管进行抽血。每次抽取1 mL, 如果一条静脉取血量不足,

则从另外三条尾静脉继续抽取。取血后, 棉球压迫止血<sup>[14]</sup>。

各种指标检测方法: 取血后, 采用五分类全自动血球仪, 取全血后放入抗凝管, 直接测量血红蛋白(Hb)。部分血液室温自然凝固10–20 min, 3 600 r/min, 离心10 min左右, 仔细收集上清。ELISA法-双抗体夹心法测定血清肌酸激酶水平, 采用比色法-二乙酰-一脒法检测血清尿素氮水平, 放射免疫法检测睾酮含量。

主要观察指标: ①过度训练大鼠行为学观察。②大鼠体质量变化。③大鼠血液生化指标变化。

统计学分析: 采用SPSS 13.0进行一般描述性分析与方差分析, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 纳入16只大鼠, 分为模型组与空白对照组, 每组8只, 模型组疲劳试验模型成功率100%, 实验过程中两组大鼠均无脱失现象, 均进入结果分析。

2.2 行为学观察结果 实验中行为学观察结果主要包括: 一般状况、跑步姿势与运动能力观察。

模型组实验开始时大鼠表现活泼, 将其放进跑道, 均能在短时间内适应跑道, 跟上跑步机的节奏, 很少出现逃避反应, 没有脱毛现象, 神情活跃, 食欲旺盛, 反应灵敏, 毛发光亮顺滑。根据大鼠行为学观察结果, 可以看到大鼠在训练前3周基本能够顺利完成训练计划。训练5周后, 逐渐出现疲劳现象。当训练持续到第6周出现体力不支, 不能完成训练任务, 并且需要刺激的强度与持续时间也在不断增加。训练到第7周, 大鼠已经处于过度训练状态。

根据训练大鼠行为学改变, 建立过度训练大鼠模型, 训练时间需要持续6周以上。空白对照组, 饮食、生活行为均正常。

2.3 大鼠体质量的变化 模型组训练前5周大鼠体质量逐渐增加, 训练至第5周实验大鼠体质量平均达到最高, 训练进行到第6周体质量开始逐渐下降。空白对照组训练过程中, 体质量逐渐增加。训练前, 两组大鼠体质量比较, 差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。训练至第7周, 模型组大鼠体质量显著低于空白对照组, 差异有显著性意义( $P < 0.01$ )。见表2。

#### 2.4 大鼠血液生化指标变化

大鼠血清肌酸激酶的变化: 模型组大鼠血清肌酸激酶的浓度不断增加, 第5周大鼠血清肌酸激酶的浓度与基础值比较, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。训练到第6, 7, 8周, 血清肌酸激酶的浓度持续增加。空白对照组血清肌酸激酶浓度变化不大, 前后比较差异无显著性意

义。实验前两组大鼠血清肌酸激酶比较差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。训练至5周后, 模型组血清肌酸激酶明显高于空白对照组, 差异有非常显著性意义( $P < 0.01$ )。见表3。

表2 过度训练前后大鼠体质量的变化

Table 2 Changes of body weight in rats before and after overtraining ( $\bar{x} \pm s$ , g)

训练周次	n	模型组	空白对照组
训练前	8	243.125±12.229	241.875±6.512
训练第1周	8	281.625±12.374 <sup>a</sup>	277.125±9.731 <sup>a</sup>
训练第3周	8	328.500±13.877 <sup>ab</sup>	318.750±21.015 <sup>ab</sup>
训练第5周	8	430.250±15.854 <sup>abc</sup>	401.375±22.360 <sup>abce</sup>
训练第7周	8	415.125±20.476 <sup>abcd</sup>	442.250±27.049 <sup>abcd</sup>
训练第8周	8	398.125±21.283 <sup>abcd</sup>	464.750±31.413 <sup>abcd</sup>

与训练前比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 与训练第1周比较, <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与训练第3周比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$ ; 与第5周比较, <sup>d</sup> $P < 0.01$ ; 与第7周比较, <sup>e</sup> $P < 0.05$ ; 与空白对照组比较, <sup>f</sup> $P < 0.05$ 。

注: 训练前, 两组体质量差异无显著性意义。模型组训练前5周大鼠体质量逐渐增加, 训练至第5周实验大鼠体质量平均达到最高, 从体质量的变化, 可以看到训练持续到第6周慢慢出现疲劳迹象, 到第7周动物处于过度训练状态。

表3 过度训练前后大鼠血清肌酸激酶的变化趋势

Table 3 Changes of serum creatine kinase in rats before and after overtraining ( $\bar{x} \pm s$ , nkat/L)

训练周次	n	模型组	空白对照组
训练前	8	6 963.292±2 888.278	7 005.317±2 823.081
训练3周	8	7 649.196±2 857.238	7 821.481±2 838.834
训练5周	8	18 618.306±7 987.447 <sup>ab</sup>	8 616.306±7 987.447 <sup>c</sup>
训练7周	8	19 544.825±4 217.688 <sup>ab</sup>	9 542.825±4 271.688 <sup>c</sup>
训练8周	8	22 458.658±4 681.503 <sup>ab</sup>	8 668.400±2 743.365 <sup>c</sup>

与训练前比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 与训练3周比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与空白对照组比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$ 。

注: 实验前两组大鼠血清肌酸激酶差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。模型组大鼠血清肌酸激酶的浓度不断增加, 持续至8周。训练至5周后, 模型组血清肌酸激酶明显高于空白对照组, 差异有显著性意义( $P < 0.01$ )。可见训练至5周, 大鼠已经进入过度训练状态。

**大鼠血清尿素氮的变化:** 模型组大鼠训练到第3周时, 大鼠血清尿素氮明显升高, 与训练前比较, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。训练持续到第5, 7, 8周, 血清尿素氮的水平持续增加, 没有回落迹象, 提示训练大鼠已经处于过度训练状态。根据大鼠血清尿素氮变化趋势, 训练到第5周已经处于过度训练状态。空白对照组尿素氮较平稳, 整个实验过程没有显著性变化。实验

前两组大鼠尿素氮差异无显著性意义( $P > 0.05$ ), 提示两组基础水平相同。训练至第7周, 模型组大鼠尿素氮含量显著高于空白对照组( $P < 0.05$ ), 提示模型组处于过度训练状态。见表4。

表4 过度训练前后大鼠血清尿素氮的变化趋势

Table 4 Changes of the serum urea nitrogen in rats before and after overtraining ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)

训练周次	n	模型组	空白对照组
训练前	8	4.300±0.307	4.216±0.285
训练3周	8	5.050±0.672 <sup>a</sup>	4.025±0.486
训练5周	8	5.538±0.776 <sup>b</sup>	5.068±0.541
训练7周	8	5.818±0.564 <sup>bd</sup>	4.597±0.369 <sup>f</sup>
训练8周	8	6.475±0.889 <sup>bce</sup>	4.216±0.285 <sup>f</sup>

与训练前比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与训练3周比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$ ; 与训练5周比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$ , <sup>e</sup> $P < 0.01$ ; 与训练7周比较, <sup>f</sup> $P < 0.05$ ; 与空白对照组比较, <sup>f</sup> $P < 0.05$ 。

注: 训练前两组大鼠尿素氮差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。模型组大鼠训练到第3周时, 大鼠血清尿素氮明显升高, 训练持续到第5, 7, 8周, 血清尿素氮的水平持续增加, 训练至第7周, 模型组大鼠尿素氮含量显著高于空白对照组( $P < 0.05$ ), 尿素氮主要反映运动强度, 说明本实验制定的训练方案属于大强度运动。按照尿素氮的变化趋势提示训练至第5周, 大鼠已经处于过度训练状态。

**血红蛋白的变化:** 模型组从训练开始到第5周, 血红蛋白持续升高, 与训练前水平比较, 差异具有显著性意义( $P < 0.05$ )。当训练到第7周时, 血红蛋白开始下降, 明显低于基础水平( $P < 0.05$ ), 提示从第7周开始, 大鼠处于过度训练状态。空白对照组第5周与第7周时血红蛋白含量, 显著低于模型组( $P < 0.05$ ); 但第8周则显著高于模型组( $P < 0.05$ )。见表5。

表5 过度训练前后大鼠血红蛋白的变化趋势

Table 5 Changes of hemoglobin in rats before and after overtraining ( $\bar{x} \pm s$ , g/L)

训练周次	n	模型组	空白对照组
训练前	8	142.75±3.99	145.25±4.87
训练3周	8	153.29±5.59 <sup>a</sup>	150.25±5.21
训练5周	8	164.83±15.96 <sup>a</sup>	149.25±4.18 <sup>c</sup>
训练7周	8	160.67±12.73 <sup>a</sup>	150.59±5.12 <sup>c</sup>
训练8周	8	125.83±2.23 <sup>ab</sup>	168.00±4.20 <sup>c</sup>

与训练前比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与训练3周比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与空白对照组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

注: 模型组从训练开始到第5周, 血红蛋白持续升高, 到第7周时, 血红蛋白开始下降, 与训练前比较, 差异有显著性意义。提示从第7周开始, 大鼠处于过度训练状态。

**大鼠睾酮的变化:** 模型组大鼠血清睾酮水平呈现先升高后下降的趋势。训练到第3周, 睾酮水平达到最高, 与训练前比较, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。训练5周后, 血清睾酮开始下降。训练到第8周, 血清睾酮持续下降, 明显低于训练前( $P < 0.01$ )。空白对照组大鼠血清睾酮含量平稳中有所增加。实验前, 两组血清睾酮含量差异无显著性意义。训练5周后, 空白对照组大鼠血清睾酮含量逐渐高于模型组, 训练至第8周, 两组差异仍有显著性意义( $P < 0.05$ )。见表6。

表6 过度训练前后大鼠睾酮变化趋势

Table 6 Changes of testosterone in rats before and after overtraining ( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$ )

训练周次	n	模型组	空白对照组
训练前	8	0.865±0.249	0.965±0.387
训练3周	8	1.919±0.705 <sup>a</sup>	1.018±0.597
训练5周	8	1.088±0.539 <sup>c</sup>	1.227±0.872
训练7周	8	0.821±0.342 <sup>b</sup>	1.197±1.081
训练8周	8	0.453±0.177 <sup>acd</sup>	1.480±0.782 <sup>ae</sup>

与训练前比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与训练3周比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ , <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与训练5周比较, <sup>d</sup> $P < 0.01$ ; 与空白对照组比较, <sup>e</sup> $P < 0.05$ 。

注: 模型组大鼠血清睾酮水平呈现先升高后下降的趋势。空白对照组大鼠血清睾酮含量平稳中有所增加。实验前, 两组血清睾酮含量差异无显著性意义。训练5周后, 空白对照组大鼠血清睾酮含量逐渐高于模型组, 训练至第8周, 两组差异仍有显著性意义( $P < 0.05$ )。通过分析血清睾酮的变化趋势, 提示建立过度训练模型, 其训练周期至少持续8周。

### 3 讨论 Discussion

大鼠体质量的变化由表2提示, 模型组前5周大鼠体质量逐渐增加, 训练进行到第6周, 体质量开始逐渐下降。体质量下降超过1/30时, 常被作为判断过度训练的依据<sup>[15]</sup>。而本实验大鼠训练到第7周, 平均体质量下降1/30, 第8周平均体质量下降7%。而空白对照组大鼠体质量逐渐增加, 训练至第7周空白对照组大鼠体质量显著高于模型组, 也提示训练至7周可以建立过度训练大鼠。这主要是因为模型组大鼠进行大运动量训练, 促进物质代谢, 消耗能量, 引起的体质量下降。从体质量的变化, 可以看到训练持续到第6周慢慢出现疲劳迹象, 到第7周动物处于过度训练状态。根据体质量的变化趋势提示建立过度训练大鼠模型, 训练周期至少持续7周以上。

分析大鼠血液生化指标变化, 大鼠骨骼肌、心肌、脑中均有含有肌酸激酶, 尤其骨骼肌中的含量最为丰富, 占全身总量的96%。肌酸激酶在肌肉收缩中的作用十分重要, 它催化腺苷二磷酸、磷酸肌酸生成三磷酸腺

苷, 以保证肌肉收缩时的能量供应以及运动后三磷酸腺苷和磷酸肌酸的再合成。

正常血清中的肌酸激酶由骨骼肌或心肌细胞透过细胞膜进入血液而形成。血清肌酸激酶也是监测运动强度、运动性疲劳的常用指标。血清肌酸激酶的浓度变化可以反映大强度运动训练造成的骨骼肌细胞的损伤情况<sup>[16]</sup>。适当的降低血清肌酸激酶可以在一定程度上缓解运动性疲劳, 提高运动机能<sup>[17]</sup>。表3提示模型组大鼠训练过程中, 肌酸激酶的浓度不断增加, 训练至第5周肌酸激酶显著高于与基础值。之后肌酸激酶继续持续增加, 提示疲劳连续累积, 骨骼肌损伤继续加重, 导致过度训练发生。而空白对照组大鼠肌酸激酶一直较平稳, 5周后显著低于模型组。通过观察血清肌酸激酶的浓度变化趋势, 按照本研究的训练计划, 训练至5周, 大鼠已经进入过度训练状态。

尿素氮是机体蛋白质代谢的产物, 正常主要由肾脏排泄, 与运动机体的机能状态、疲劳程度以及运动负荷的大小有关<sup>[18]</sup>。运动强度增大时, 蛋白质及氨基酸的分解代谢加强, 血尿素氮生成增多。机体本质上尽量保护蛋白质, 不采用蛋白质参与物质代谢, 只有在进行运动持续时间较长(>30 min), 强度较大时蛋白质代谢才较明显, 但是其供能比例不超过18%, 所以可以用血尿素氮评定运动负荷的强度<sup>[19]</sup>。在训练周期内, 测定血尿素氮水平的动态变化, 一般有几类类型: 第一、在训练中血尿素氮含量不变, 说明训练负荷太小; 第二、在训练初期上升, 然后逐渐恢复正常, 提示训练负荷合适; 第三、在整个训练周期中, 血尿素氮一直上升, 提示训练强度过大, 机体处于过度训练状态。表4实验结果说明模型组大鼠血尿素氮含量不断增加, 提示模型组大鼠疲劳连续累积, 训练至第5周显著高于基础水平, 至第7周显著高于空白对照组。而血尿素氮主要反映运动强度, 说明本实验制定的训练方案属于大强度运动。按照尿素氮的变化趋势提示训练至第5周, 大鼠已经处于过度训练状态。

血红蛋白的主要功能是为红细胞运输氧气和部分 $\text{CO}_2$ , 同时又有维持体液酸碱平衡的作用, 故能直接影响体内的物质代谢与能量代谢, 从而影响机体机能及运动能力<sup>[20]</sup>。血红蛋白与运动负荷关系密切, 大负荷运动时, 由于红细胞被破坏较多, 会出现血红蛋白下降现象, 导致过度训练综合症的发生, 因此常用血红蛋白来评定运动负荷<sup>[21]</sup>。血红蛋白持续下降, 提示运动负荷过大。升高血红蛋白或防止血红蛋白下降, 均可以防治过度训练综合症的发生, 提高运动机能<sup>[22]</sup>。表5显示模型组大鼠血红蛋白先升高后降低, 这主要是因为适当的训练可以提高运动机体血红蛋白的水平, 而过度训练则可以降低血红蛋白含量。当训练到第7周时血红蛋白开始下降, 提示从第7周开始, 大鼠处于过度训练状态。空白对照

组第5周与第7周时血红蛋白含量, 显著低于模型组; 至第8周则显著高于模型组。这主要是因为模型组前5周, 受运动训练的刺激, 反而增加了血红蛋白; 5周后, 模型组血红蛋白开始下降, 而空白对照组平稳中有所上升; 第8周, 空白对照组已经显著高于模型组, 说明模型组训练至5周, 便出现疲劳的连续累积, 7周后已经处于过度训练状态。

睾酮是一种类固醇激素, 由睾丸或卵巢分泌, 具有维持肌肉强度及质量、维持骨质密度及强度、提神及提高体能等作用。血清睾酮可促进体内的合成代谢, 包括促进蛋白质的合成, 使肌肉壮大, 刺激红细胞合成, 加速血红蛋白的合成, 加速体内抗体的形成, 增强免疫功能和抗感染能力等作用<sup>[23]</sup>。血清睾酮是评定运动员机能状态的重要指标。一般认为, 在训练初期, 运动会引起机体分泌血清睾酮增多, 而随着大负荷训练的持续进行, 血清睾酮消耗增加, 如果运动负荷过大, 会伴随下丘脑-垂体-性腺轴被抑制, 出现运动性低血清睾酮现象, 因此训练过程中血清睾酮显著下降可作为机体过度训练的标志<sup>[24]</sup>。

表6显示模型组大鼠血清睾酮水平呈现先升高后下降的趋势。这是因为实验初期适当的训练可以促进血清睾酮的合成, 提高运动机能, 而血清睾酮的升高也说明机体运动能力的提高。训练5周后, 血清睾酮开始下降, 是大负荷训练导致血清睾酮消耗增加而导致的下降。训练到第8周, 血清睾酮持续下降, 因为持续的大负荷运动训练抑制了下丘脑-垂体-性腺轴的功能, 造成血清睾酮下降。通过分析血清睾酮的变化趋势, 提示建立过度训练模型, 其训练周期至少持续8周。

表6表明空白对照组大鼠血清睾酮含量平稳中有所增加, 这主要是因为本研究采用的研究对象为雄性大鼠, 大鼠进入成年期后, 体内雄性激素-血清睾酮含量会增加。实验纳入的两组大鼠为同一批次大鼠, 日龄相同。训练5周后, 空白对照组大鼠血清睾酮含量逐渐高于模型组, 至第8周模型组显著低于对照组。因为模型组持续的大负荷运动训练抑制了下丘脑-垂体-性腺轴的功能, 造成血清睾酮下降。

实验在既往研究的基础上, 改良过度训练模型。通过检测机体血红蛋白、肌酸激酶、血尿素氮、血清睾酮浓度的客观变化, 结合主观行为学观察, 建立过度训练大鼠模型。量化了建立过度训练模型的建模标准, 克服了既往研究仅通过观察研究对象行为学改变判断造模是否成功的缺陷, 实现过度训练动物模型客观化。按照本研究所设计的实验方案, 通过上文对大鼠行为学改变、生化指标的变化分析, 在训练持续8周后, 大鼠的行为学与客观指标均提示运动机体处于过度训练状态。建立过度训练大鼠模型的最终运动方案, 见表7。

表7 建立大鼠过度训练模型运动方案总结

Table 7 Summary of training program of establishment of rat models of overtraining

实验周次(周)	速度(m/min)	时间(min)	坡度(°)
1	15	30	0
2	20	50	5
3	25	70	10
4	30	90	15
5	30	110	15
6	30	110	15
7	30	110	15
8	30	110	15

血尿素氮、肌酸激酶、血清睾酮、血红蛋白是目前公认的可以客观的反映运动机能的生化指标。其中血尿素氮与肌酸激酶反映运动强度, 训练3-5周后显著低于基础水平, 说明本课题的训练方案属于大强度运动; 而血清睾酮和血红蛋白反应机体的运动机能, 训练7至8周后才显著低于基础水平。在今后相关的科研工作中, 在建立过度训练模型或监测运动训练时, 训练初期或中期可以选择观察血尿素氮、肌酸激酶的变化以调整训练负荷, 训练中期或后期可以开始检测血清睾酮和血红蛋白, 观察机体的运动机能。

过度负荷原则是现代科学训练的重要组成部分, 当这种过度训练负荷超过机体的适应范围, 运动员很容易发生过度训练。尤其当下很多训练队、教练、运动员片面的追求运动成绩, 训练安排缺乏科学性。所以如何防治过度训练是体育科学、运动医学研究的热点。该类研究涉及到机制方面探索, 需要进行动物实验。目前很多科研机构开展了过度训练动物实验研究, 但是建模标准不统一, 缺乏客观考察指标。本课题以此为切入点, 通过观察训练大鼠行为学改变, 并动态监测生化指标变化, 确立了建立过度训练大鼠模型的训练方案, 为今后的相关领域的研究提供量化的建模方案, 实现了建立过度训练大鼠模型客观化。

**致谢:** 感谢马忆南与陈静静两位师妹, 全程协助本人完成本实验研究。

**作者贡献:** 实验设计主要有张彩与杨华元完成; 实施过程主要张彩和实验室的几个老师完成; 实验评估是由杨华元及中医工程的老师完成; 资料收集、文章撰写由张彩完成; 审核由杨华元教授完成; 张彩对文章负责。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理要求:** 实验过程中对动物的处置符合2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

**学术术语:** 过度训练-指运动负荷与机体机能不相适应, 以至疲劳连续累积而引起的一系列功能紊乱或病理状态。

**作者声明:** 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

#### 4 参考文献 References

- [1] 王林,王安利.实用运动医学监督.北京:北京体育大学出版社, 2009:34.
- [2] Brooks K, Carter J. Overtraining, Exercise, and Adrenal Insufficiency. J Nov Physiother. 2013;3(125).doi:pii: 11717.
- [3] 郑陆,隋波,潘力平,等.过度训练大鼠骨骼肌总蛋白含量和雄激素受体结合容量的变化[J].中国运动医学杂志,2000,19(2): 145-147.
- [4] 李雪,袁琼嘉,熊若虹,等.过度训练大鼠大脑微血管超微结构和三维构筑变化[J].中国运动医学杂志,2007,26(2):219-221,241.
- [5] 陈松海,刘秋琼,麦颖娟.六味地黄汤对运动性疲劳小鼠的作用及血清乳酸、睾酮的影响[J].中药材,2011,34(11):1769-1770.
- [6] 王茹,陈佩杰.固相酶联免疫斑点技术检测递增负荷过度训练大鼠细胞免疫机能变化研究[J].中国运动医学杂志,2009,28(4): 380-383.
- [7] 刘志元.过度训练大鼠杏仁核NOS变化的实验研究[D].第5届全国青年体育科学学术会议暨第2届中国体育博士高层论坛论文集.
- [8] 蔡浩刚.大鼠运动性疲劳模型建立方法的比较研究[J].商丘职业技术学院学报,2008,7(5):111-113.
- [9] 张蕴琨,丁树哲.运动生物化学[M].北京:北京体育大学出版社, 2007: 195-219.
- [10] 冯炜权.运动疲劳及过度训练的生化诊断-运动生物化学动态之三[J].北京体育大学学报,2000,23(4):498-502.
- [11] Caro P, Gómez J, Sánchez I, et al. Effect of restricting amino acids except methionine on mitochondrial oxidative stress. Rev Esp Geriatr Gerontol. 2009;44(4):194-199.
- [12] 李丽,常波.运动人体科学过度训练动物模型制备的研究进展[J].沈阳体育学院学报,2011,30(5):77-82.
- [13] 仇宏涛.运动性疲劳模型建立的分类研究[J].福建体育科技, 2010,29(6):39-40.
- [14] 房玉杰,陈榕,张洁,等.大鼠尾静脉取血方法介绍[J].临床合理用药杂志,2012,5(7c):167.
- [15] Seger C, Hargrave M, Wang X, et al. Analysis of Pax7 expressing myogenic cells in zebrafish muscle development, injury, and models of disease. Dev Dyn. 2011;240(11): 2440-2451.
- [16] 岑浩望.运动性疾病的国外研究动态[J].中国运动医学杂志,1984: 3(2):106-110.
- [17] 张彩,曹海涛.四君子汤抗小鼠运动性疲劳拆方研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(5):187-189.
- [18] Darvishi L, Ghiasvand R, Hariri M, et al. Quercetin supplementation does not attenuate exercise performance and body composition in young female swimmers. Int J Prev Med. 2013;4(Suppl 1):S43-47.
- [19] 范丽玲,王人卫.男子皮艇运动员周期训练时血红蛋白、CK、血尿素氮的变化特点[J].体育科研,2009,30(1):71-74.
- [20] Burge CM. Hemoglobin in exercise adaptation. Exerc Sport Sci Rev. 2010;38(2):41.
- [21] 冯连世,冯美云,冯炜权.优秀运动员身体机能评定方法[M].北京:人民体育出版社,2003.
- [22] 王莉,贾成文,任国强.电针对运动性疲劳模型大鼠血清CK及Hb的影响[J].中国中医基础医学杂志,2009,15(11):861-863.
- [23] 盛蕾.运动性血红蛋白降低与造血机制研究[M].北京:北京体育大学出版社,2011.
- [24] 张敏,刘洪珍.复方壮阳中药对训练大鼠红细胞及促生成因子影响机制的实验研究[J].淮北师范大学学报(自然科学版),2012, 33(4): 63-67.



ISSN 2095-4344 CN 21-1581/R 2013 年版权归《中国组织工程研究》杂志社所有

#### ● 关于临床注册

#### SCI 数据库收录的《骨关节炎与软骨》杂志对临床试验注册的要求

● *Osteoarthritis and Cartilage* (《骨关节炎与软骨》), SCI收录杂志, ISSN: 1063-4584, 2012年影响因子4.262。主要发表研究原著, 简短报告, 社论, 综述, 系统综述, Meta分析,

给编辑的信等类型稿件。

对临床试验注册的要求:《骨关节炎与软骨》杂志采用国际医学期刊编辑委员会(ICMJE)的提议, 要求临床试验在公共平台(例如:

<http://www.clinicaltrials.gov/> or <http://www.isrctn.com/>)上进行临床试验注册作为临床试验文章出版的一项必要条件。

临床试验注册号要写在文章摘要末尾处。不符合条件的临床文章将会直接返给作者, 不会进入到审稿流程。