

# 长期运动训练对机体血清中 AMPK 水平的影响

李爽<sup>1</sup> 李燕舞<sup>2△</sup> 王蕾<sup>1</sup> 阿拉木斯<sup>1</sup> 林艳<sup>1</sup>

(1 广州大学体育学院 广东 广州 510006 2 广州中医药大学 广东 广州 510405)

**摘要** 目的 探讨长期运动训练对机体血清中磷酸化腺苷活化蛋白激酶(AMPK)水平的影响。方法 采用双抗体两步夹心酶联免疫吸附法(ELISA)测定 29 名专业运动员(运动组)和 26 名健康志愿者(对照组)血清中 AMPK 水平。结果 运动组和对照组血清中 AMPK 浓度值分别为  $211.00 \pm 13.68$  U/L 和  $9.70 \pm 2.45$  U/L, 组间比较具有显著性差异( $P < 0.01$ )。结论 长期运动训练能显著提高机体血清中 AMPK 水平,有效增加组织的能量代谢。

**关键词** AMPK; 运动训练; 血清

中图分类号 R87 文献标识码 A 文章编号 1673-6273(2012)24-4698-03

## The Effects of Long-Term Exercise Training on the AMPK Level in the Serum

LI Shuang<sup>1</sup>, LI Yan-wu<sup>2△</sup>, WANG Lei<sup>1</sup>, ALA Mu-si<sup>1</sup>, LIN Yan<sup>1</sup>

(1 Institute of Physical Education, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China;

2 Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the effects of long-term exercise training on the human phosphorylated adenosine monophosphate activated protein kinase (AMPK) level in the serum. **Methods:** The AMPK levels of 29 professional athletes (exercise group) and 26 healthy volunteers (control group) were determined by using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results:** The AMPK levels of exercise group and control group were  $211.00 \pm 13.68$  U/L and  $9.70 \pm 2.45$  U/L, the difference of two groups was distinct ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Long-term exercise training could markedly elevate the AMPK level in the serum, and raise energy metabolism.

**Key words:** AMPK; Exercise training; Serum

**Chinese Library Classification(CLC):** R87 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2012)24-4698-03

腺苷酸激活蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 是属于丝/苏氨酸蛋白激酶家族成员,广泛存在于真核生物的细胞中<sup>[1]</sup>。AMPK 作为一种重要的蛋白激酶参与机体的多种代谢过程,其活性受到 ATP/AMP 比值的调控,对高能磷酸化合物浓度的变化非常敏感,被称为真核细胞的“代谢感受器”或调控细胞 ATP 和 AMP 水平的“燃料开关”。AMPK 在机体能量代谢中起着举足轻重的作用,是细胞及全身组织器官能量平衡的调节器和总开关,当细胞受到任何引起 ATP 生成减少与消耗增加的应刺激(如运动)时,ATP/AMP 比值下降,AMPK 被激活。活化的 AMPK 激活下游靶蛋白酶,开启分解代谢,关闭合成代谢,即通过抑制糖类、脂质及胆固醇的合成等,使 ATP 的消耗减少,同时通过促进脂肪酸氧化和葡萄糖转运,在呼吸链中上调线粒体解耦联蛋白 3(UCP3)和一些线粒体氧化酶的表达,使 ATP 的生成增加<sup>[2]</sup>。AMPK 是细胞能量的调节器,具有开启、关闭和调节机体能量代谢的“阀门”作用,目前认为 AMPK 所介导的信号通路可能在运动引起的机体能量代谢的变化方面具有重要的调节功能<sup>[3]</sup>。本研究以血清中 AMPK 水平作为切入点,分析长期运动训练的能量代谢效应,以期能进一步阐明运动训练机体的适应机制,为相关研究提供数据支

持。

### 1 对象与方法

#### 1.1 研究对象

研究对象共 55 名,其年龄为 20-35 岁,均健康状况良好,无生长发育方面的缺陷,无内分泌代谢疾病,而且均未服用过影响能量代谢的药物。运动组为 29 名省队专业运动员组成,专业运动年限  $\geq 5$  年;对照组由 26 名健康自愿者构成,无长期运动史。

#### 1.2 研究方法

采取受试者晨起空腹安静时的静脉血 2mL,经离心处理,取血清备用。采用双抗体两步夹心酶联免疫吸附法(ELISA)测定 55 名研究对象血清中 AMPK 水平。AMPK 定量检测试剂盒购于广州有田生物科技有限公司。将标准品、待测样本加入到预先被纯化的 AMPK 抗体包被微孔板中,再与 HRP 标记的 AMPK 抗体结合,形成抗体-抗原-酶标抗体复合物,经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色,并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的 AMPK 呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度(OD 值),通过标准曲线计算样品中 AMPK 浓度。

#### 1.3 统计学分析

实验数据均以均数  $\pm$  标准误表示,采用 SPSS17.0 统计软件进行独立样本 T 检验,  $P < 0.05$  为差异有显著性意义。

**作者简介** 李爽(1970-),女,博士,副教授,研究方向 运动医学,电话:13622767199, E-mail: superb116@163.com

**△通讯作者** 李燕舞, E-mail: lyw\_7614@126.com

(收稿日期 2012-01-23 接受日期 2012-02-18)

## 2 结果

长期从事运动训练的专业运动员在基础状态下血清中的

AMPK 的浓度为  $211.00 \pm 13.68$  U/L,而在相同状态下,同年龄组普通健康人血清中的 AMPK 的浓度为  $9.70 \pm 2.45$  U/L,组间比较具有显著性差异( $P < 0.01$ ),见表 1。

表 1 运动训练对机体血清中 AMPK 水平的影响  
Table 1 The changes of Exercise Training on the AMPK Level in the Serum

组别 (Group)	样本数 (The numbers of sample)	AMPK 浓度(U/L) (AMPK Level in the Serum)	组间 P (The data of P between groups)
运动组 (Exercise training group)	29	$211.00 \pm 13.68$ (U/L)	<0.01
对照组 (Control group)	26	$9.70 \pm 2.45$ (U/L)	

## 3 讨论

AMPK 普遍存在于真核细胞内,它是一个异源三聚体蛋白,AMPK 全酶由催化亚基  $\alpha$ 、调节亚基  $\beta$  和  $\gamma$  三个亚基组成<sup>[2]</sup>。AMPK 是细胞能量的感受器,具有开启、关闭和调节能量代谢的“阀门”作用。运动与 AMPK 有着十分紧密的联系。有研究报道 AMPK 可以在 AMP 和 ATP 变化检测不到的水平上被激活而发挥调节作用<sup>[4]</sup>。运动与 AMPK 相互作用关系的研究已成为目前运动医学领域的热点研究项目之一,AMPK 具有调节糖和脂肪等代谢的生物效应。AMPK 自身的变化,特别是一些重要位点的突变,能直接影响运动能力和运动效应。另一方面,运动本身包含有多种刺激 AMPK 的信号,例如运动中能量代谢的变化(AMP 上升,ATP 下降,肌酸上升,磷酸肌酸下降)、需氧量的变化( $\text{CO}_2/\text{O}_2$  的变化)能够对 AMPK 的活性、磷酸化以及基因和蛋白表达等产生多方面产生深刻的影响。这些问题的研究对于运动防治慢性代谢性疾病(糖尿病、肥胖等)的设计具有重要意义。同时,运动与 AMPK 的研究对提高运动训练水平,更新训练理论和改进训练方法也具有不可估量的作用。本文以血清中 AMPK 水平作为切入点,分析 AMPK 与运动的相互关系,以期能为 AMPK 与运动的相关性研究提供数据支持。

### 3.1 运动对 AMPK 水平的影响

AMPK 作为机体的能量代谢开关,在能量代谢中发挥着中心控制的作用。大量研究<sup>[5-7]</sup>证明肌肉收缩、运动能激活 AMPK,其原因涉及缺血、低氧、糖酵解、磷酸肌酸分解改变等多种因素。运动或骨骼肌收缩可以通过多种途径激活 AMPK<sup>[8,9]</sup>。(1)变构激活途径:运动导致代谢应激,从而引起组织中 AMP/ATP 的升高和磷酸肌酐/肌酐(PCr/Cr)的降低,变构激活 AMPK。(2)共价激活途径:AMPK 可以通过 AMPK 激酶(AMPKKs)磷酸化而被共价激活,AMPK $\alpha$  亚单位中的数个位点(苏氨酸 172、苏氨酸 258、丝氨酸 485 等)均可被磷酸化。其中苏氨酸 172 位点是 AMPK 上游激酶(AMPKK)磷酸化的重要位点,它是 AMPK 活性的关键,而  $\beta$  和  $\gamma$  亚单位则是该酶的调节成分。AMPKKs 的活性同样也受到 AMP 的变构调节,当 AMPK 与 AMP 结合时更容易被 AMPKKs 共价激活。(3)糖原的调节途径:运动条件下,糖原含量不同的骨骼肌,其 AMPK $\alpha 2$  活性不同,推测糖原可能参与 AMPK 的调节,最近有研究发现 AMPK $\beta$  亚基中存在一个糖原结合域(GBD),可能与糖原的调节作用有关。(4)其

他途径:另有研究发现,运动时骨骼肌释放的白细胞介素(IL)-6 可能也参与 AMPK 的激活;运动造成的细胞内高钙浓度触发的钙调蛋白激酶激酶(CaMKK)也可以激活 AMPK。运动激活 AMPK 后,会引起组织的各种适应性反应。有文献研究<sup>[10]</sup>指出:运动尤其是耐力运动,能增加肝脏和骨骼肌组织中 AMPK 的活性,这可能与运动改变了组织中  $\text{H}^+$  有关。AMPK 的活性主要受细胞中 ATP/AMP 比值的调节。当运动过程中 AMP 含量增高时,AMP 与 AMPK 的  $\gamma$  亚基相结合,使 AMPK 变构被激活,产生 10 倍的生物学活性,同时 AMP 还可以与 AMPK 的激酶结构域结合,使 AMPK 的  $\alpha$  亚单位上的苏氨酸 172 磷酸化,从而激活 AMPK,使其生物活性迅速提高 100 倍。以上两种方式共同作用激活 AMPK,打开产能的分解代谢通路,关闭耗能的合成代谢通路,来维持细胞能量的供应<sup>[2]</sup>。有研究结果显示<sup>[5]</sup>,在一次性大强度运动后即刻,大鼠腓肠肌 AMPK 分别增加 80%以上。有报道指出<sup>[4,11]</sup>对进行 3 周单腿伸展耐力训练的健康青年男性,在训练后 15 小时的肌肉活检中发现,训练腿 AMPK $\alpha 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\gamma 1$  蛋白表达分别增加了 41%、34%和 26%,AMPK $\alpha 1$  和  $\alpha 2$  的活性分别增加 94%和 49%,对另外 4 名受试者进行相同训练,在运动结束后 55 小时,也观察到相似的结果。文献研究提出<sup>[12]</sup>受试者以 70% $\text{VO}_2\text{max}$  运动,当糖原含量低于其原来水平时,AMPK 活性和肌肉葡萄糖摄取增加。人类的股四头肌在低强度(67% $\text{VO}_2\text{max}$ , 90min)长时间运动,AMPK 的活性逐渐增加,在运动 30min 时,可达到 30 倍<sup>[13]</sup>。刘无逸的实验结果表明<sup>[7]</sup>,适当的耐力训练可增加肌肉 AMPK 活性,过度训练时肌肉 AMPK 活性受到抑制,对机体糖代谢可能产生负调节作用。研究显示训练不仅能够改变 AMPK 活性,而且能够改变 AMPK 的基因表达以适应运动训练<sup>[6,14]</sup>。张国华的研究表明<sup>[15]</sup>,中到大强度的运动才能激活 AMPK,而且 AMPK 水平呈强度依赖性升高。运动激活 AMPK 的机制主要受 AMP/ATP 比值升高调控,AMP 的增加起了关键性的作用。运动后 AMPK 活性的回复滞后于 AMP/ATP 比值的恢复。本研究结果显示,在基础状态时,长期进行运动训练的专业运动员血清中 AMPK 水平是普通健康人的 21 倍,与文献报道一致。运动训练不仅可以增加运动时的能量消耗,使机体中的 AMPK 水平大幅度提高,保证运动过程中的能量平衡,同时还能使运动结束后组织代谢仍保持较高水平直至 24h,即运动后过量氧耗,使运动后组织中的 AMPK 水平仍维持较高的水平。运动或者肌肉收缩均可

激活 AMPK ,提高机体的 AMPK 水平 ,而激活的 AMPK 能进而调节能量代谢 ,促进脂肪酸氧化和葡萄糖转运 ,减少骨骼肌中甘油三酯的堆积 ,改善胰岛素抵抗 ,以满足运动所需能量。

### 3.2 AMPK 对运动能力和运动效应的影响

AMPK 作为一个代谢应激信号传感酶 ,在机体运动过程中起到了重要调节作用。近年来 ,关于 AMPK 在运动应激及训练适应过程中的作用日益受到重视 ,运动时能量代谢调控与 AMPK 有着密切的关系 ,AMPK 可以而增加葡萄糖的转运和脂肪酸的氧化 ,其机制并不依赖于胰岛素的作用 ,AMPK 能降低骨骼肌的脂质堆积 ,减少游离脂肪酸进入肝脏 ,改善肝脏的胰岛素抵抗 ,降低肝糖元和极低密度脂蛋白的生成 ,AMPK 的长期激活很可能参与了机体对运动训练的适应性反应<sup>[6,6]</sup>。AMPK 结构或功能上的改变对运动能力会产生重大影响 ,研究表明 AMPK 任何一个亚基的结构改变都会影响机体某些重要器官及其功能。在运动训练过程中 ,AMPK $\alpha$  基因突变组大鼠表现出肌力小 ,疲劳快 ,恢复慢 ,其运动耐力低和自发活动量少的特点<sup>[4]</sup>。作者认为 AMPK $\alpha$  突变基因主要表达在心脏 ,心血管功能受损可能是导致运动能力下降的一个重要原因 ,另外也可能与肌糖原储备大大减少有关。AMPK $\beta$  亚基中存在的糖原结合域 ,为糖原与 AMPK 结合提供了连接空间 , $\beta$  亚基变异则会因为糖调节异常而影响运动能力。AMPK $\gamma$  基因突变后 ,AMPK 则不能激活 AMPK ,机体对糖摄取和利用明显下降 ,会导致心肌和骨骼肌的糖原过量增加 ,严重影响心血管系统的机能和骨骼肌的收缩能力 ,从而影响到人的运动能力。本研究结果提示 ,机体在长期的运动训练后 ,基础状态的 AMPK 明显升高 ,AMPK 水平的提高能刺激产生 ATP 的代谢过程如葡萄糖的转运、糖原的分解、脂肪酸氧化、蛋白质分解 ,并抑制消耗 ATP 的代谢过程如糖原的合成、蛋白合成等 ,以此维持能量代谢的稳定。研究说明专业运动员对长期运动训练具有很强的适应能力 ,机体糖、脂、蛋白质代谢的改善及基础代谢率提高是机体适应训练的结果。

### 参考文献(References)

- [1] 周亮,魏源,唐晖,等.一磷酸腺苷活化蛋白激酶与运动相关性骨骼肌能量代谢研究进展[J].中国运动医学杂志,2008,27(1):121-125
- [2] 刘文倩,艾华.AMPK 与肥胖和减肥关系研究进展[J].中国运动医学杂志,2008,27(6):789-793
- [3] 李娟娟,凌文华.AMPK 与肥胖 [J]. 国际内科学杂志,2007,34(11):649-653.  
Li Juan-juan, Ling Wen-hua. AMPK and Obesity [J]. International Journal of Internal Medicine, 2007,34(11):649-653
- [4] 潘志军.腺苷活化蛋白激酶与运动研究进展[J].山东体育学院学报,2006,22(6):59-63  
Pan Zhi-jun. Development of AMP-activated protein kinase and exercise [J]. Journal of Shandong Institute of Physical Education and Sports, 2006,22(6):59-63
- [5] 张国华,朱一力,曾凡星.2 周耐力训练削弱骨骼肌 5'- 一磷酸腺苷激活的蛋白激酶信号对急性运动的反应 [J]. 中国运动医学杂志, 2008,27(6):694-696  
Zhang Guo-hua, Zhu Yi-li, Zeng Fan-xing. Endurance Training Attenuated the AMPK Signaling Response of Rat s Skeletal Muscle to Acute Exercise [J]. Chinese Journal of Sports Medicine, 2008,27(6): 694-696
- [6] 宫克城,丁树哲.AMPK 与 2 型糖尿病的关系及其在运动介导下的研究[J].辽宁体育科技,2009,31(3):47-50  
Gong Ke-cheng, Ding Shu-zhe. An analysis on the relationship of the AMPK and type-2 diabetes under the exercise intervening [J]. Liaoning Sport Science and Technology, 2009,31(3):47-50
- [7] 刘无逸,陆爱云.过度训练对大鼠骨骼肌糖原含量、AMPK 活性及肌膜 GLUT4 的影响[J].中国运动医学杂志,2006,25(6):668-673  
Liu Wu-yi, Lu Ai-yun. Effect of Overtraining on Skeletal Muscle Glycogen, AMPK Activity and Sarcolemma GLUT4 Protein Content in Rats[J]. Chinese Journal of Sports Medicine, 2006,25(6):668-673
- [8] 李雪梅,王正珍.运动与骨骼肌葡萄糖转运通路研究进展[J].北京体育大学学报,2010,33(12):72-76  
Li Xue-mei, Wang Zheng-zhen. Progress of the Research on the Relations between Sport and Glucose Transport in Skeletal Muscle [J]. Journal of Beijing Sport University, 2010,33(12):72-76
- [9] 刘敏. AMPK 在运动介导的骨骼肌糖脂代谢中的作用[J].国内外内分泌分册,2005,25(3):205-207
- [10] 高彩霞,丁树哲,刘圣广,等.应激和运动条件下 AMPK 在组织中的调节[J].中国运动医学杂志,2006,25(1):72-74
- [11] 李勇俊.运动防治糖尿病骨骼肌病变的分子机制研究进展[J].辽宁体育科技,2011,33(2):46-49  
Li Yong-jun. The study progress of numerator mechanism of exercises prevention and cure diabetes skeletal muscle s diseases [J]. Liaoning Sport Science and Technology, 2011,33(2):46-49
- [12] 潘志军.葡萄糖转运蛋白 4 与运动[J].中国体育科技,2006,42(2):118-121  
Pan Zhi-jun. Glucose Transport Protein 4 and Exercise [J]. China Sport Science and Technology, 2006,42(2):118-121
- [13] 马继政,孙飘.AMPK 调节运动中骨骼肌细胞代谢研究进展[J].中国运动医学杂志,2010,29(5):611-614
- [14] 龚豪杰,陈大鹏,张楠,等.不同强度运动对 AMPK $\alpha$ 2 基因敲除小鼠骨骼肌葡萄糖载体 4 表达的影响 [J]. 中国运动医学杂志, 2010,29(4):467-471
- [15] 张国华,朱一力,曾凡星.不同强度运动对大鼠骨骼肌 AMP/ATP 比值和 AMPK 活性的影响[J].中国体育科技,2008,44(4):19-23
- [16] 赵志萍,刘素筠,冯艳凌.腺苷活化蛋白激酶在改善胰岛素抵抗中的作用[J].医学综述,2008,14(10):1543-1544  
Zhao Zhi-ping, Liu Su-jun, Feng Yan-ling. Effect of AMP-activated Protein Kinase in Improving Insulin Resistance[J]. Medical Recapitulate, 2008,14(10):1543-1544
- [17] 李良鸣,杨则宜.运动诱导骨骼肌葡萄糖摄取的细胞内机制[J].中国运动医学杂志,2004,23(3):323-328