

DOI: 10.3969/j.issn.1006-9771.2013.06.008

·基础研究·

## 补充肌酸对老龄大鼠骨骼肌收缩特性的影响

杨霖, 高前进

**[摘要]** 目的 研究补充肌酸对老年大鼠骨骼肌收缩特性的影响。方法 18 月龄雄性 Sprague-Dawley 大鼠 20 只, 分为对照组和肌酸补充组(0.3 g/kg), 每组 10 只。使用高效液相色谱法测定肌组织中肌酸和磷酸肌酸含量; 离体比目鱼肌和趾长伸肌 30 °C 灌流方法, 测量其单次收缩和强直收缩力。结果 肌酸补充组大鼠比目鱼肌和趾长伸肌中肌酸和磷酸肌酸含量比对照组增加( $P<0.05$ )。比目鱼肌最大收缩力( $P_i$ )和最大强直收缩力( $P_o$ )增大, 达到最大收缩力使用时间(TPT)以及最大收缩力舒张一半时间( $TPR_{50}$ )缩短, 但只有  $TPR_{50}$  与对照组具有显著性差异( $P<0.05$ )。趾长伸肌  $P_i$  和  $P_o$  增大、TPT 缩短, 且与对照组具有显著性差异( $P<0.05$ ), 时间参数  $TPR_{50}$  虽缩短, 但与对照组无显著性差异( $P>0.05$ )。肌酸补充组比目鱼肌抗疲劳性提高( $P<0.05$ ), 而趾长伸肌的抗疲劳性没有明显提高。但是在抗疲劳测试中, 在刺激开始的 20~30 s 肌酸补充组趾长伸肌张力增加幅度大于对照组( $P<0.05$ )。结论 肌酸补充对老年大鼠比目鱼肌和趾长伸肌收缩特性具有良好的作用, 但影响具有肌纤维类型依赖性。

**[关键词]** 补充肌酸; 比目鱼肌; 趾长伸肌; 收缩特性

**Effects of Creatine Supplements on Contractile Properties of Skeletal Muscle in Elder Rats** YANG Lin, GAO Qian-jin. *Sport Physical-ity Science Experimental Center of Shijiazhuang College, Shijiazhuang 050035, Hebei, China*

**Abstract:** **Objective** To investigate the effects of creatine supplement on contractile properties of soleus (SOL) and extensor digitorum longus (EDL) in elder rat. **Methods** 20 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into control group and creatine supplement group with 10 rats in each group. After 6 weeks, the content of creatine and phosphocreatine were detected by high performance liquid chromatography, and contractile properties were examined in SOL and EDL in vitro at 30 °C. **Results** The content of creatine and phosphocreatine both in SOL and EDL were higher in the creatine supplement group than in the control group ( $P<0.05$ ). In SOL, creatine supplements increased the maximum twitch tension ( $P_i$ ), maximum titanic tension( $P_o$ ), decreased time to maximum twitch tension (TPT), but only time from maximum twitch to half relaxation ( $TPR_{50}$ ) significantly decreased, compared with the control group. In EDL, creatine supplements significantly increased  $P_i$ ,  $P_o$  and decreased TPT ( $P<0.05$ ). But there was no significant difference in  $TPR_{50}$  between 2 groups ( $P>0.05$ ). Creatine supplements significantly increased the fatigue resistance of the SOL and there was no significant effect on EDL. The force potentiation which occurred in EDL during the initial 20~30 s of the fatigue test significantly increased ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Creatine supplement is effective on the contractile properties of SOL and EDL in elder rats, but the effect is dependent on the fiber types.

**Key words:** creatine supplements; soleus; extensor digitorum longus; contractile properties

**[中图分类号]** R746.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1006-9771(2013)06-0527-05

**[本文著录格式]** 杨霖, 高前进. 补充肌酸对老龄大鼠骨骼肌收缩特性的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2013, 19(6): 527-531.

肌肉衰减症(sarcopenia)是由增龄引起骨骼肌肌肉量减少, 导致肌肉力量减弱和活动受限, 受伤的危险性增高<sup>[1]</sup>。事实上从 40 岁起, 人的骨骼肌就开始不断衰减, 并且衰减速度随增龄而增加。有研究报道 70 岁以下老年人群中 13%~24% 患有肌肉衰减症, 而 80 岁以上的老年人中则超过 50%<sup>[2]</sup>, 给社会及家庭带来沉重的负担。

目前治疗肌肉衰减症的常用办法是抗阻力训练和注射睾酮<sup>[3-4]</sup>。然而, 睾酮对老年人有副作用, 不主张广泛使用<sup>[5]</sup>。服用肌酸可能是一种安全、有效且经济的治疗手段, 补充肌酸能够减少因增龄引起的肌肉质量下降, 增加肌肉力量<sup>[6]</sup>和 II 型肌纤维直径<sup>[7]</sup>。

有众多研究反复报导肌酸能够增加 35 岁以下成年人肌肉功能, 尤其结合抗阻力训练效果更好<sup>[8]</sup>。然

而, 肌酸对老年人骨骼肌影响的研究却较少, 而且大多数研究侧重于补充肌酸后的生化变化<sup>[9-10]</sup>, 对于补充肌酸前后肌肉收缩特性的变化缺乏深入的研究。因此, 本实验通过观察补充肌酸前后骨骼肌收缩特性等参数的变化, 寻求提高老年人骨骼肌功能的方法, 对提高老年人生活质量、节省医疗资源具有一定的现实意义, 同时对老年肌肉衰减症治疗方法的研究也具有一定的价值。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验动物

雄性清洁级 Sprague-Dawley 大鼠 20 只, 18 月龄(相当于人 55~60 岁<sup>[11]</sup>), 体重(404±8.10) g, 购自河北医科大学实验动物中心, 选用国家标准啮齿类动物干饲料喂养, 自由饮食, 自然光照, 室温 18~22 °C, 湿

作者单位: 石家庄学院运动人体科学实验中心, 河北石家庄市 050035。作者简介: 杨霖(1982-), 男, 汉族, 河北丰润县人, 硕士研究生, 主要研究方向: 运动与康复。通讯作者: 高前进(1968-), 男, 汉族, 河北石家庄市人, 博士, 主要研究方向: 提高骨骼肌功能的方法与理论。

度40%~45%。随机分为对照组和肌酸补充组(0.3 g/kg·d<sup>[12]</sup>)，每组10只。饲养6周于末次灌胃后取材。实验在河北医科大学病理生理学实验室完成。

### 1.2 大鼠体重与肌肉湿重测量

6周后戊巴比妥钠40 mg/kg麻醉大鼠，分别称量对照组和肌酸补充组大鼠体重。取右侧比目鱼肌和趾长伸肌测量湿重后用于肌酸和磷酸肌酸的测量；左侧比目鱼肌和趾长伸肌用于离体收缩功能测量。心脏取血2 ml，3000 r/min，4℃离心10 min，取上清液，-70℃保存。

### 1.3 肌磷酸肌酸、肌酸的测定

**1.3.1 仪器和试剂** 惠普1050型高效液相色谱仪，包括惠普1050系列自动进样系统、四元梯度泵、DAD二极管阵列检测器及HP3D化学工作站软件：美国惠普公司；Eyela FD冻干机：日本Rikakikai公司；Nissei AM-6高速组织匀浆机：日本Ace公司；METTLER电子分析天平：瑞士梅特勒-托利多公司；J2-21型低温超速离心机：美国Beckman公司；超低温冰箱：日本三洋；ZBE30-107制冰机：ZIEGRA公司。

分析纯磷酸和磷酸肌酸：美国SIGMA公司；分析纯 $\beta$ -硫代巴比妥酸(2-thiobarbituric acid, TBA)、高压液相级乙腈、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、NaOH、HClO<sub>4</sub>：天津化学试剂二厂。

**1.3.2 色谱条件固定相** 色谱柱为YWG-C 18(5  $\mu$ m, 250×4.6 mm I.D.)：大连化学物理研究所；流动相：所有流动相均用双蒸水配置。流动相A为含有0.1 mol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>和2 g/L TBA的混合液，然后用2 mol/L NaOH调pH至5.5；流动相B为流动相A和乙腈按75:25体积比混合的混合液。实验当天流动相经孔径为0.45  $\mu$ m的微孔滤膜过滤。磷酸肌酸与肌酸的检测波长为210 nm；检测灵敏度0.01 AUFS，检测进样量为5  $\mu$ l。

**1.3.3 标本处理** 从液氮中取出骨骼肌标本，置于冻干机中过夜冻干，然后做成冻干粉。把肌肉粉末倒入小试管中，编号，加盖密封，置于-80℃低温冰箱中保存。测定前准确称取骨骼肌冻干粉60 mg左右，放入5 ml聚乙烯微离心管中，然后滴入预冷的浓度为0.4 mol/L的过氯酸2 ml，用预冷的电动高速匀浆机匀浆2 min，然后低温离心10 min；吸取400  $\mu$ l上清液放入另一试管中，加入2 mol/L的KHCO<sub>3</sub> 80  $\mu$ l，然后再低温离心10 min，取上清液200  $\mu$ l保存于-80℃低温冰箱中待分析<sup>[13]</sup>。

### 1.4 收缩功能测量<sup>[14-15]</sup>

剪开后肢小腿皮肤，轻轻游离比目鱼肌，用0号

丝线行近心端肌腱结扎，置于氧合的Krebs-Henseleit溶液中清洗肌肉表面血液，水平置于容量为1 ml的肌槽中；近心端肌腱用丝线结扎固定于等长张力传感器(TB-651日本光电)的不锈钢钩上，远心端肌肉则被夹于弹簧夹中。用27℃ Krebs-Henseleit溶液按10 ml/min行非循环灌流。灌流液组成：120.0 mmol/L NaCl，4.7 mmol/L KCl，1.2 mmol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>，1.2 mmol/L MgSO<sub>4</sub>，2.5 mmol/L CaCl<sub>2</sub>，20.0 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>，10.0 mmol/L葡萄糖。以95% O<sub>2</sub>和5% CO<sub>2</sub>的混合气体充分氧合，使pH维持在(7.4±0.20)。电刺激器(SEN-3301，日本光电)输出脉宽20 ms、间隔20 ms与电压为6 V的方波脉冲刺激。先平衡约20 min，然后以0.1 mm增量，逐步拉伸比目鱼肌至等长收缩张力为最大时的肌肉初长L<sub>max</sub>位置，平衡10 min，记录肌肉长度与张力，接下来所有值的测量都在肌肉初长度L<sub>max</sub>位置测量。再以0.5 V的步幅，逐步降低刺激电压至3 V，在每一新电压刺激点平衡3 min后，记录收缩张力。

强直收缩时，以脉宽5 ms、间隔40 ms与电压为6 V的方波脉冲刺激45 s，使肌肉产生高频强直收缩，强直收缩最大张力用P<sub>0</sub>表示。比目鱼肌试验完成后，取趾长伸肌，按相同方法固定与平衡，采用脉宽10 ms、间隔20 ms与电压为6 V的方波脉冲刺激。

10 min后，肌肉抗疲劳性测量使用低频疲劳方案30 Hz，300 ms，每次刺激2 s，共5 min。为了更好地比较肌肉抗疲劳特征，肌肉张力值被标准化，都用百分比表示，以初始测得的张力值为标准(100%)，所有刺激产生的张力除以初始张力值，乘以100%。刺激时间点，前60 s分别在第8、16、24、32、40、48、56秒刺激，然后分别在第60、120、180、240、300秒刺激。

实验结束后，用滤纸吸干肌肉表面附着的水分并称重，再按文献<sup>[16]</sup>公式计算每一肌肉的横截面积，张力数据用横截面积作归一化处理。

### 1.5 统计学分析

用SPSS 10.0统计学软件对结果数据进行统计分析，组间差异比较采用单因素方差分析法，显著性水平 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 体重与肌肉湿重

喂养前大鼠体重为(404.20±8.10) g。喂养6周后，对照组大鼠随年龄增长体重出现明显增加，由喂养前的404.70 g增加到442.70 g；肌酸补充组体重增加更加明显。肌酸补充组比目鱼肌湿重和趾长伸肌湿重均

高于对照组( $P<0.05$ )。见表 1。

2.2 肌酸和磷酸肌酸含量

喂养 6 周后, 肌酸补充组比目鱼肌和趾长伸肌细胞中肌酸和磷酸肌酸含量增加, 与对照组相比有显著性差异( $P<0.05$ )。见表 2。

2.3 收缩特性

与对照组比较, 肌酸补充组比目鱼肌最大收缩力( $P_1$ )增大, 强直最大收缩力( $P_0$ )增大, 达到最大收缩力的时间(TPT)缩短, 从峰值张力舒张一半的时间( $TPR_{50}$ )缩短, 但只有和  $TPR_{50}$  与对照组具有显著性差异( $P<0.05$ ); 肌酸补充组趾长伸肌  $P_1$  增大,  $P_0$  增大, TPT 缩短, 与对照组具有显著性差异( $P<0.05$ )。见表 3。

2.4 比目鱼肌、趾长伸肌抗疲劳性

在前 2 min, 两组张力分别降低到初始张力的( $72\pm5.2$ )%和( $79\pm4.8$ )%; 在后 3 min, 对照组张力继续降低, 而肌酸补充组肌张力没有进一步降低, 第 5 分钟时对照组张力降到初始张力的( $46\pm6.7$ )%, 肌酸补充组张力降到初始张力的( $70\pm6.4$ )%。见图 1。

肌酸对趾长伸肌抗疲劳性有一定影响, 但与对照组比较无显著性差异。5 min 疲劳方案的刺激后, 对照组张力降到初始张力的( $47\pm12.8$ )%, 肌酸补充组张

力降到初始张力的( $55\pm13.4$ )%。在开始刺激后对照组和肌酸补充组张力出现一个渐进性的增加, 这种增加持续 20~30 s, 然后开始降低。120 s 刺激后张力已经回落到初始张力水平(100%)。值得注意的是肌肉张力增加的幅度, 对照组在第 24 秒时达到初始张力的( $164\pm21$ )%, 肌酸补充组达到初始张力的( $190\pm11$ )%, 肌酸补充组张力增加幅度比对照组大, 具有显著性差异( $P<0.05$ )。见图 2。

表 1 两组大鼠体重与肌肉湿重(g)

组别	n	体重	比目鱼肌湿重	趾长伸肌湿重
对照组	10	442.70±22.52	13.28±1.16	14.23±1.02
肌酸补充组	10	460.80±19.13	15.11±1.44	14.81±1.06
<i>F</i>		1.062	1.415	0.214
<i>P</i>		0.002	0.001	0.028

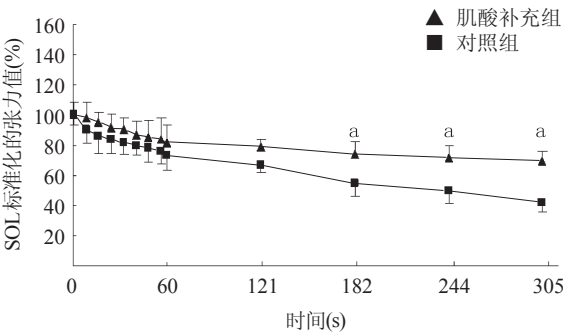
表 2 两组比目鱼肌、趾长伸肌细胞肌酸和磷酸肌酸含量 (mmol/kg 干重)

组别	n	比目鱼肌		趾长伸肌	
		肌酸	磷酸肌酸	肌酸	磷酸肌酸
对照组	10	41.89±4.75	69.02±7.22	38.39±5.49	79.78±5.57
肌酸补充组	10	43.74±7.52	73.30±5.07	42.51±3.14	84.19±8.87
<i>F</i>		0.635	0.537	0.431	2.871
<i>P</i>		0.048	0.041	0.01	0.032

表 3 肌酸补充对比目鱼肌、趾长伸肌收缩特性的影响

组别	n	$P_1$ (N/cm <sup>2</sup> )	$P_0$ (N/cm <sup>2</sup> )	TPT(ms)	$TPR_{50}$ (ms)
比目鱼肌					
对照组	10	2.95±0.40	11.93±1.12	54.61±2.41	54.22±3.22
肌酸补充组	10	3.18±0.32	12.38±1.16	53.83±4.16	50.53±2.70 <sup>a</sup>
趾长伸肌					
对照组	10	2.93±0.36	11.79±1.82	21.52±4.01	18.49±0.76
肌酸补充组	10	3.21±0.29 <sup>b</sup>	13.57±0.86 <sup>c</sup>	19.46±3.27 <sup>d</sup>	17.85±0.53

注: 与对照组比较, a:  $F=8.359, P=0.001$ ; b:  $F=0.628, P=0.046$ ; c:  $F=1.714, P=0.022$ ; d:  $F=4.179, P=0.043$

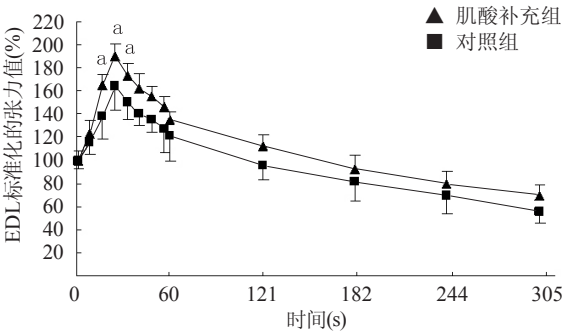


注: 疲劳过程中张力值被标准化, 按初始张力的百分比表示, 初始张力值设为 100%。a: 与对照组比较,  $P<0.05$

图 1 两组比目鱼肌抗疲劳性

3 讨论

本研究主要检查 6 周肌酸补充对老年大鼠比目鱼肌和趾长伸肌收缩特性、抗疲劳特性的影响。实验发



注: 疲劳过程中张力值被标准化, 按初始张力的百分比表示, 初始张力值设为 100%。a: 与对照组比较,  $P<0.05$

图 2 两组趾长伸肌抗疲劳性

现每天 0.3 g/kg 体重的肌酸剂量, 喂养 6 周大鼠体重增加, 比目鱼肌和趾长伸肌湿重增加, 肌肉中肌酸和磷酸肌酸含量比正常对照组增加( $P<0.05$ )。由此看来,



补充肌酸对老龄骨骼肌效果显著。

2000 年 Tarnopolsky 曾提出假设, 补充肌酸对老年人的影响也许比年轻人更大<sup>[17]</sup>, 后来大量支持性文章报道老年人肌细胞内源性总肌酸含量比年轻人低, 含有较低内源性肌酸的个体比含有较高内源性肌酸的个体对补充肌酸反应更大<sup>[18-19]</sup>。已有研究证明 II 型肌纤维横断面积减少是增龄引起肌肉量减少最主要的反应, 肌肉活检发现 II A 和 II B 肌纤维横截面积随增龄降低 15%~25%<sup>[20]</sup>, 肌酸具有恢复老龄肌肉 II 型肌纤维的功效。很多研究认为补充肌酸促进肌肉肥大的机制主要包括: 肌酸使肌细胞肿胀, 这可作为一个信号减少蛋白水解和氨基酸氧化, 改变肌细胞基因转录因子的表达, 增加卫星细胞有丝分裂活动<sup>[21]</sup>, 因此服用肌酸后肌肉湿重增加, 肌纤维增粗。现在普遍认为肌酸提高骨骼肌功能是由于增强磷酸肌酸能量系统, 正如本实验观察到的肌酸和磷酸肌酸含量增高, 磷酸肌酸能量系统功效增强使 ATP 生成增多, 进而个体运动能力增加<sup>[22]</sup>, 受试者能承受高强度、长时间的负荷。

肌肉收缩特性研究使用离体比目鱼肌和趾长伸肌 30 ℃灌流方法, 测量其单次收缩和强直收缩。实验发现比目鱼肌  $P_i$  和  $P_0$  增大, TPT 及  $TPR_{50}$  缩短, 但只有  $TPR_{50}$  与对照组相比具有显著性差异 ( $P<0.05$ )。趾长伸肌  $P_i$  和  $P_0$  增大、TPT 缩短, 且与对照组相比具有显著性差异 ( $P<0.05$ ), 时间参数  $TPR_{50}$  虽缩短, 但与对照组相比无显著性差异 ( $P>0.05$ )。以上结果说明, 6 周的肌酸补充使老年大鼠骨骼肌收缩特性均出现良好的变化。但是, 肌酸对趾长伸肌影响更显著,  $P_i$ 、 $P_0$  和 TPT 与对照组有显著性差异。分析其原因可能是增龄引起的肌肉量减少主要是由于 II 型肌纤维横截面积减少, 而肌酸能帮助保持 II 型肌纤维质量不随增龄减少。Sipila 等报道, 在不进行训练刺激的情况下, 肌酸补充能够增加 II 型肌纤维直径<sup>[23]</sup>。趾长伸肌主要含有 II 型肌纤维, 是典型的快肌, 肌酸补充能帮助保持趾长伸肌肌纤维质量不随增龄减少, 磷酸肌酸系统功效增强。在运动训练中肌酸常被运动员用作提高短时间爆发力项目的营养补品, 对快肌 (II 型肌纤维) 效果显著。也许这些正是趾长伸肌  $P_i$ 、 $P_0$  显著增强和 TPT 缩短的原因。

6 周的肌酸补充使比目鱼肌  $TPR_{50}$  显著降低的最可能的解释是肌浆网  $Ca^{2+}$  泵活动的改变。 $Ca^{2+}$  泵活动时所需 ATP 主要来自磷酸肌酸, 肌肉磷酸肌酸增加可导致  $Ca^{2+}$  泵活动增强。在培养的骨骼肌细胞, 补充肌酸使磷酸肌酸增加后, 肌浆网  $Ca^{2+}$  泵摄  $Ca^{2+}$  能力明显增强<sup>[24]</sup>。对肌酸补充显著降低比目鱼肌的  $TPR_{50}$ , 而趾长

伸肌的  $TPR_{50}$  没有出现显著性变化, 可能的解释是肌酸对比目鱼肌和趾长伸肌舒张时间的影响可能与不同肌纤维类型上  $Ca^{2+}$  泵的特性有关, 慢肌和快肌上表达不同的  $Ca^{2+}$  泵亚型, 不同  $Ca^{2+}$  泵亚型对调节表现出不同的敏感性<sup>[25]</sup>。所以, 虽然补充肌酸导致在比目鱼肌和趾长伸肌相似的磷酸肌酸增加, 但是两种肌肉类型  $Ca^{2+}$  泵对磷酸肌酸的反应却不同。

肌酸对比目鱼肌和趾长伸肌产生不同影响也表现在对肌肉抗疲劳性影响方面。肌酸补充后趾长伸肌抗疲劳性显著提高, 而趾长伸肌的抗疲劳性没有明显提高。实验采用的低频刺激方案由重复的亚极量强度强直刺激组成。刺激导致的低频疲劳使无机磷酸盐和  $H^+$  增加<sup>[26]</sup>; 无机磷酸盐和  $H^+$  降低肌原纤维对  $Ca^{2+}$  的敏感性, 由此导致疲劳性的张力降低<sup>[27]</sup>。这种类型的疲劳方案导致的张力降低也与肌肉的有氧供能能力相关。高有氧供能能力的肌肉更具有抗疲劳性。肌酸补充后比目鱼肌抗疲劳性增强与增加的有氧供能能力相关, 与 Brannon<sup>[18]</sup>报道的结果相一致。Brannon 的研究证实补充肌酸增加了慢缩的比目鱼肌有氧供能能力, 而没有增加快缩的股外侧肌的有氧能力, 说明影响是有肌纤维类型依赖性的。这些研究结果也许可以解释为什么本研究观察到肌酸使比目鱼肌抗疲劳性显著增加而趾长伸肌没有显著增加。

但是在疲劳测试中, 肌酸增加了趾长伸肌肌张力短时间增加的幅度 (图 2), 肌肉张力增加的幅度, 对照组在第 24 秒时达到初始张力的 (164±21)%, 肌酸补充组达到初始张力的 (190±11)%, 肌酸补充组张力增加幅度比对照组大 ( $P<0.05$ )。产生这种影响的机制我们认为这是由于增加了磷酸肌酸, 而趾长伸肌是快肌, 对磷酸肌酸非常敏感, 磷酸肌酸能增强快肌短时间爆发式用力的能力。

本实验研究发现, 补充肌酸能够安全地增强老年骨骼肌的收缩力量, 使肌肉肥大, 增加肌肉的抗疲劳能力, 不同的肌纤维类型影响不同。结合文献与我们的研究结果, 我们强烈推荐肌酸是安全、经济、有效的营养剂, 可以延缓因老龄引起的肌肉废用, 尤其推荐在服用时结合抗阻力训练效果更好。将来的研究应该关注影响肌酸转运进入骨骼肌的因素, 例如肌酸转运蛋白的浓度及口服吸收量, 还应研究老年人服用肌酸时理想的剂量和服用次数, 以及与蛋白质结合使用等问题, 以期老年骨骼肌康复作出贡献。总之, 补充肌酸对老年骨骼肌具有良好的营养作用。

#### [参考文献]

- [1] Taaffe DR. Sarcopenia-exercise as a treatment strategy [J].

- Aust Fam Physician, 2006, 35(3): 130-134.
- [2] Janssen I, Shepard DS, Katzmarzyk PT, et al. The health care costs of sarcopenia in the United States [J]. J Am Geriatr Soc, 2004, 52(1): 80-85.
- [3] Borst SE. Interventions for sarcopenia and muscle weakness in older people [J]. Age Ageing, 2004, 33(6): 548-555.
- [4] Candow DG. Sarcopenia: current theories and the potential beneficial effect of creatine application strategies [J]. Biogerontology, 2011, 12(4): 273-281.
- [5] Calof OM, Singh AB, Lee ML, et al. Adverse events associated with testosterone replacement in middle-aged and older men: a meta analysis of randomized, placebo-controlled trials [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2005, 60(11): 1451-1457.
- [6] Schmitz SM, Hofheins JE, Lemieux R. Nine weeks of supplementation with a multi-nutrient product augments gains in lean mass, strength, and muscular performance in resistance trained men [J]. J Int Soc Sports Nutr, 2010, 7: 40.
- [7] Tarnopolsky MA. Creatine as a therapeutic strategy for myopathies [J]. Amino Acids, 2011, 40(5): 1397-1407.
- [8] Candow DG, Chilibeck PD, Burke DG, et al. Effect of different frequencies of creatine supplementation on muscle size and strength in young adults [J]. J Strength Cond Res, 2011, 20: 378-381.
- [9] Rawson ES, Venezia AC. Use of creatine in the elderly and evidence for effects on cognitive function in young and old [J]. Amino Acids, 2011, 40(5): 1349-1362.
- [10] Gotshalk LA, Kraemer WJ, Mendonca MA, et al. Creatine supplementation improves muscular performance in older women [J]. Eur J Appl Physiol, 2008, 102(2): 223-231.
- [11] 施新猷. 医用实验动物学[M]. 北京:人民军医出版社, 1999: 388.
- [12] Dalbo VJ, Roberts MD, Lockwood CM, et al. The effects of age on skeletal muscle and the phosphocreatine energy system: can creatine supplementation help older adults [J]. Dyn Med, 2009, 8: 6.
- [13] Fürst W, Hallström S. Simultaneous determination of myocardial nucleotides, nucleosides, purine bases and creatine phosphate by ion-pair high-performance liquid chromatography [J]. J Chromatogr, 1992, 578(1): 39-44.
- [14] 高放,余志斌,程九华,等. 4周悬吊大鼠比目鱼肌强直收缩力降低及其机理分析[J]. 航天医学与医学工程, 2002, 15(4): 255-259.
- [15] McGuire M, Bradford A, MacDermott M. The effects of dietary creatine supplements on the contractile properties of rat soleus and extensor digitorum longus muscles [J]. Exp Physiol, 2001, 86(2): 185-190.
- [16] 余志斌,张立藩,陈杰. 模拟失重大鼠左室乳头肌收缩性能及钙反应性的变化[J]. 中国应用生理学杂志, 1994, 10(2): 97-101.
- [17] Tarnopolsky MA. Potential benefits of creatine monohydrate supplementation in the elderly [J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2000, 3: 497-502.
- [18] Brannon TA, Adams GR, Conniff CL, et al. Effects of creatine loading and training on running performance and biochemical properties of rat skeletal muscle [J]. Med Sci Sports Exerc, 1997, 29(4): 489-495.
- [19] Burke DG, Chilibeck PD, Parise G, et al. Effect of creatine and weight training on muscle creatine and performance in vegetarians [J]. Med Sci Sports Exerc, 2003, 35: 1946-1955.
- [20] Coggan AR, Spina RJ, Rogers MA, et al. Histochemical and enzymatic characteristics of skeletal muscle in master athletes [J]. J Appl Physiol, 1990, 68: 1896-1901.
- [21] Cribb PJ, Williams AD, Stathis CG, et al. Effects of whey isolate, creatine, and resistance training on muscle hypertrophy [J]. Med Sci Sports Exerc, 2007, 39(2): 298-307.
- [22] Dalbo VJ, Roberts MD, Lockwood CM, et al. The effects of age on skeletal muscle and the phosphocreatine energy system: can creatine supplementation help older adults [J]. Dyn Med, 2009, 8: 6.
- [23] Sipila I, Rapola J, Simell O, et al. Supplementary creatine as a treatment for gyrate atrophy of the choroid and retina [J]. N Engl J Med, 1981, 304: 867-870.
- [24] Yang Z, Steele DS. Effects of phosphocreatine on SR  $\text{Ca}^{2+}$  regulation in isolated saponin-permeabilized rat cardiac myocytes [J]. J Physiol, 2002, 539(Pt 3): 767-777.
- [25] Hawkins C, Xu A, Narayanan N. Sarcoplasmic reticulum calcium pump in cardiac and slow twitch skeletal muscle but not fast twitch skeletal muscle undergoes phosphorylation by endogenous and exogenous  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase. Characterization of optimal conditions for calcium pump phosphorylation [J]. J Biol Chem, 1994, 269(49): 31198-31206.
- [26] Reid MB, Haack KE, Franchek KM, et al. Reactive oxygen in skeletal muscle. I. Intracellular oxidant kinetics and fatigue in vitro [J]. J Appl Physiol, 1992, 73(5): 1797-1804.
- [27] Fryer MW, Owen VJ, Lamb GD, et al. Effects of creatine phosphate and P(i) on  $\text{Ca}^{2+}$  movements and tension development in rat skinned skeletal muscle fibres [J]. J Physiol, 1995, 482 (Pt 1): 123-140.
- (收稿日期:2012-11-28 修回日期:2013-01-24)