

# 有氧运动对自发性高血压大鼠心肌 BNP mRNA 表达的影响\*

任彩玲<sup>1</sup> 李万伟<sup>2</sup> 张 钧<sup>3</sup>

**摘要** 目的:观察有氧运动对自发性高血压大鼠(SHR)心肌 BNP mRNA 表达的影响,探讨适宜的有氧运动对高血压性心肌肥大的防治作用及机制。方法:雄性 Wistar 大鼠 6 只为正常对照组(C组), 雄性 SHR16 只,随机分为高血压组(S组)和高血压运动组(T组)。T组每日进行 60min 无负重游泳,每周 6 次,共 9 周,用 RT-PCR 方法检测大鼠心肌 BNP mRNA 表达。结果:与 C 组相比,S 组心肌 BNP mRNA 表达显著升高 ( $P<0.01$ ); 与 S 组相比,T 组心肌 BNP mRNA 表达非常显著降低( $P<0.01$ )。结论:长期规律的适宜运动可以明显降低 SHR 心肌 BNP mRNA 表达,改善由高血压引起的心肌肥大。

**关键词** 脑钠素;心肌肥大;运动;自发性高血压

中图分类号:R493,R544 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2007)-08-0699-03

**Aerobic exercise effects on expression of BNP protein in the cardiac muscle of spontaneous hypertension rats(SHR)/REN Cailing, LI Wanwei, ZHANG Jun//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2007,22(8): 699—701**

**Abstract Objective:**To investigate the effect of aerobic exercise on expression of BNP mRNA in the cardiac muscle of SHR. **Method:** The grouping and processions were as follows. Normal control group(C):6 male Wistar rats. SHR group (S): 8 male SHRs. Train SHR group (T):8 male SHRs. S group carried on 60 minutes unloaded swimming 6 times a week for 9 weeks. The rats in all groups were fed on normal feedstuff. After 9 weeks BNP mRNA was determined by RT-PCR. **Result:** The expression of BNP mRNA in S group exhibited a significant increase compared with normal control group ( $P<0.01$ ); Compared with S group, the expression of BNP mRNA in T group descended obviously ( $P<0.01$ ). **Conclusion:** The aerobic exercise can reduce the expression of BNP mRNA obviously improve the development of cardiac hypertrophy induced by hypertension.

**Author's address** Physical Department of Gannan Medical College, Ganzhou, 341000

**Key words** brain natriuretic peptid; cardiac hypertrophy; exercise; spontaneous hypertension

心肌肥大是高血压最常见的并发症, 脑钠素 (brain natriuretic peptid, BNP) 是心肌肥大标志性活性多肽分子, 主要起利尿、利钠、扩张血管、抑制血管平滑肌细胞和成纤维细胞增殖的作用, 功能上与血管紧张素-II (angiotensin II, AngII) 相互拮抗, 在调节血压和心肌肥厚过程中起了重要的作用<sup>[1]</sup>。有实验研究表明<sup>[2]</sup>, BNP 在运动性心肌肥大的发生发展过程中起到一定的作用, 而且 BNP mRNA 的表达具有一定的时相性; 那么运动对高血压大鼠的心肌 BNP mRNA 的表达有何影响呢? 因此, 本实验通过建立运动动物模型, 观察有氧运动对自发性高血压大鼠 (spontaneous hypertension rats, SHR) 心肌 BNP mRNA 表达的影响, 探讨适宜的有氧运动对高血压性心肌肥大的防治作用及机制, 为高血压性心肌肥大的预防和治疗提供理论依据。

## 1 材料及方法

### 1.1 实验动物与分组

选用正常对照组(C组)Wistar 大鼠 6 只, 由北京医科大学动物部提供, 雄性 SHR 大鼠 16 只, 6 周龄, 体重 170—200g, 由中科院上海实验动物中心提供, 随机分为两组即高血压组(S组)8 只, 60min 高血压运动组(T组)8 只, 分笼饲养, 每笼 4—5 只, 饲养笼选用塑料制品并配不锈钢罩、玻璃吸水瓶和不锈钢吸水管, 按国家标准固定混合饲料喂养, 各组大鼠每天自由进食饮水。室温 22—24°C, 湿度为 40%—60%, 自然光照。

### 1.2 运动方式

高血压运动组 SHR 进行 60min 无负重有氧运

\* 基金项目: 赣南医学院立项课题(2006062)

1 赣南医学院运动人体科学系, 江西省赣州, 341000

2 潍坊医学院预防系

3 扬州大学体育学院

作者简介: 任彩玲, 女, 硕士, 助教

收稿日期: 2006-10-16

动游泳, 游泳缸体积为 150cm×60cm×70cm, 水深 60cm, 内壁光滑, 水温 31℃±10℃, 高血压运动组 SHR 适应性游泳 1 周, 时间分别为 10、20、30、40、50、60min, 以后每次游泳 60min, 每周 6 次, 直至游满 9 周。

### 1.3 指标的测定

**1.3.1 RT-PCR 检测大鼠心肌 BNP mRNA 水平:**按 Qi YF 等<sup>[3]</sup>的方法用 Trizol 一步法提取实验各组大鼠心肌总 RNA, 紫外分光光度计(SDU-68 型)定量。反应按 Promega 公司 RT-PCR 试剂盒说明进行, 反应终体积 50μl, 94℃变性 4min, 94℃ 30s, 56℃ 30s, 72℃ 30s, 热循环 35 次, 最后一次 72℃ 10min 反应结束。取 PCR 的产物 5μl, 以 1.5% 琼脂糖电泳分离和溴乙锭染色后, 用凝胶成像及分析扫描仪测 256bp (BNP 产物) 和 291bp (β-actin 产物) 的光密度, 以 β-actin mRNA 标准化。

**1.3.2 心脏系数:**用普鲁卡因腹腔麻醉大鼠, 称体重后即可取心脏, 在 0℃ 生理盐水中冲洗心室内残留血液, 去掉左右心耳, 用滤纸吸干后称重, 最后计算心脏系数:

$$\text{心脏系数} = \text{心脏重量}(\text{mg}) / \text{体重}(\text{g})$$

### 1.4 统计学分析

实验结果以均数±标准差表示, 统计学分析采用 SPSS11.0 统计分析软件进行单因素方差分析, 均数的两两比较用 SNK-q 检验; 实验前后比较进行配对 *t* 检验, 显著性为  $P < 0.05$ , 非常显著性为  $P < 0.01$ 。

## 2 结果

由表 1 可见, 高血压组大鼠的心系数和心肌 BNPmRNA 表达显著高于正常对照组 ( $P < 0.01$ ), 高血压运动组大鼠的心系数和心肌 BNPmRNA 表达显著低于高血压组 ( $P < 0.01$ ), 说明运动可以降低高血压大鼠心肌 BNP mRNA 表达。琼脂糖电泳凝胶成像及分析扫描图像见图 1。

表 1 大鼠心系数和心肌 BNP mRNA 表达的变化

组别	鼠数	心系数 (mg/g)	BNP mRNA/β-actin
正常对照组	6	2.62±0.15	48.9±1.92
高血压组	8	13.49±0.396 <sup>①</sup>	77.6±2.88 <sup>①</sup>
高血压运动组	8	3.13±0.169 <sup>②</sup>	55.6±6.09 <sup>②</sup>

①与正常对照组比较  $P < 0.01$ ; ②与高血压组比较  $P < 0.01$

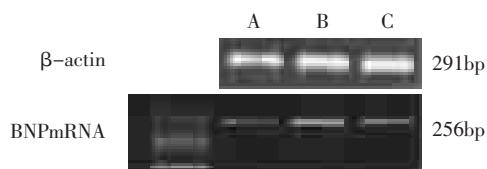


图 1 大鼠心肌 BNPmRNA 的表达

A: 正常对照组; B: 高血压组; C: 高血压运动组

## 3 讨论

心肌肥厚是高血压最常见的并发症, 也是发生心血管事件的独立危险因素。高血压心肌肥大的发生发展与血流动力学、神经、体液及内分泌等因素密切相关。高血压时, 长期的机械刺激及异常的神经体液因素如血管紧张素 II (Ang II)、内皮素、儿茶酚胺等可通过各种不同的中介环节导致有丝分裂素激活蛋白激酶的激活, 活化的 MAPK 通过核转位调节核内转录因子, 引起细胞增殖和生长反应, 导致心肌肥厚<sup>[4]</sup>。本实验结果显示, 高血压组大鼠的心脏系数明显高于正常 Wistar 大鼠 ( $P < 0.01$ ), 说明 SHR 出现高血压性心肌肥大现象; 而高血压运动组大鼠的心脏系数明显低于 SHR 组 ( $P < 0.01$ ), 提示适度运动有利于防止或减轻高血压性心肌肥大的发展。

BNP 是 1988 年日本学者 Sudoh 首先从猪脑中分离出来的<sup>[5]</sup>, 属利钠多肽系统, 心脏中 BNP 的含量最高, 其合成分泌的主要部位是心室。有很多因素影响 BNP 的释放, 其中最有效的刺激就是容量负荷引起的心室压力改变以及室壁张力的增加。Larkin 等<sup>[6]</sup>发现注射 AngII 后, 大鼠心肌组织和血中 BNP 水平均增加。朱建华等<sup>[7]</sup>研究发现, SHR 左心室心肌组织 BNP mRNA 和 LVW/BW (left ventricular weight/body weight) 都高于正常血压的 WKY 大鼠, 可能是因为体内高水平的 AngII, 通过 1 型 (AngII type 1, AT1) 受体激活 ERK 信号途径, 使 p-ERK 水平升高, 从而导致心肌细胞增生与肥厚。本实验研究结果和上述结果一致, 高血压组大鼠心肌 BNP mRNA 表达显著高于正常 Wistar 大鼠, 可能是由于 SHR 心肌组织 AngII 长期处于较高水平, 使得 BNP 合成释放相应增加; SHR 心肌组织 BNP mRNA 表达升高, 可能是机体维持内在自稳状态的结果。本研究还发现, 高血压运动组 SHR 心肌 BNP mRNA 表达显著低于高血压组, 提示适宜的有氧运动可以降低 SHR 心肌 BNP mRNA 的表达, 心肌 BNP mRNA 表达和心肌肥大呈正相关, 由此可以说明, 适宜的运动可以减轻高血压性心肌肥大的发生发展。运动改善高血压心肌肥大机制是多种活性因子通过自分泌和旁分泌途径综合调节的结果, 可能有: ①经过运动后, SHR 心肌局部活性多肽因子 (AngII、内皮素、儿茶酚胺、心钠素等) 含量及其基因表达均明显改变<sup>[8]</sup>, 从而改善高血压性心肌肥大的发生发展; ②运动可在结构、功能和代谢方面改善高血压肥大心脏的细胞表型<sup>[9]</sup>, 并可逆转高血压肥大心脏心肌肌球蛋白重链改变<sup>[10-11]</sup>, 从基因转录水平改变高血压心肌肥大的调节。其具体的作用机制还有待进一步的研究。

## 4 结论

长期规律的适宜运动可以明显降低 SHR 心肌 BNP mRNA 表达, 防治高血压性心肌肥大的发生, 为高血压性心肌肥大的预防和治疗提供理论依据。

## 参考文献

[1] Li JS, Touyz RM, Schiffrin EL. Effects of AT1 and AT2 angiotensin receptor antagonists in angiotensin- II infused rats[J]. Hypertension, 1998, 31(1Pt2):487—492.  
 [2] 聂晶, 吴纪饶, 常芸. 耐力训练过程中大鼠心肌组织心钠素、脑钠素基因的表达[J]. 中国运动医学杂志, 2005, 24(5):541—545.  
 [3] Qi YF, Dong LW, Pan CS, et al. Adrenomedullin induces heme oxygenase-1 gene expression and cGMP formation in rat vascular smooth muscle cells[J]. Peptides, 2005, 26(7):1257—1263.  
 [4] Bueno OF, Molkentin JD. Involvement of extracellular signal regulated kinases 1/2 in cardiac hypertrophy and cell death [J]. Circ Res, 2002, 91(9): 776—781.  
 [5] Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, et al. Brain natriuretic

peptide-32: N-terminal six amino acid extended form of brain natriuretic peptide identified in porcine brain [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1988, 15, 155(2):726—732.  
 [6] Larkin JE, Frank BC, Gaspard RM, et al. Cardiac transcriptional response to acute and chronic angiotensin- II treatments [J]. Physiol Genomics, 2004, 18(2):152—166.  
 [7] 朱建华, 刘忠, 黄朝阳, 等. 氯沙坦对自发性高血压大鼠细胞外信号调节酶活性和 B 型利钠肽表达的影响 [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2005, 19(3): 181—185.  
 [8] 李维根, 李昭波, 高云秋, 等. 运动对自发性高血压大鼠心肌血管内皮生长因子及其基因表达的影响 [J]. 中国运动医学杂志, 1999, 18(2):115—116.  
 [9] 李昭波, 高云秋, 刘秀华, 等. 运动性和病理性心肌肥大肌球蛋白  $\alpha$  和  $\beta$  重链变化比较 [J]. 体育科学, 1997, 17(1):50.  
 [10] 李昭波, 高云秋, 庞永正, 等. 运动逆转自发性高血压大鼠左心室肌球蛋白  $\alpha$  和  $\beta$  重链变化的作用 [J]. 中国运动医学杂志, 1998, 17(1):2.  
 [11] 李昭波, 高云秋, 唐朝枢. 自发性高血压大鼠运动后心肌 c fos 和心钠素基因表达的变化 [J]. 中国应用生理学杂志, 1999, 15(3): 242—244.

(上接 692 页)

## 2.3 神经递质合成过程中关键酶的表达

免疫组化结果: 镜下观察, 对照组未见 TH、CHAT 和 GAD 阳性表达。NIM 组诱导后 1h、5h 同样未见 TH、CHAT 和 GAD 阳性表达, 1d、5d 出现 TH、CHAT 和 GAD 阳性表达, 图 1—3(见前置彩色插页 8) 可见细胞胞核和胞浆内出现大量棕黄色的颗粒, 但胞核内棕黄色颗粒较胞浆内多, 细胞呈典型神经元样改变。

免疫荧光单标结果: 诱导后的细胞内有 TH、CHAT 和 GAD 表达(图 4—6, 见前置彩色插页 8)。

免疫荧光双标结果: GAD 与 TH、CHAT 与 TH 可同时表达于同一个诱导后的细胞内, 图 7—8(见前置彩色插页 8) 可见在同一细胞内 GAD 和 TH 表达阳性细胞, 图 9—10(见前置彩色插页 8) 可见在同一细胞内 CHAT 和 TH 表达阳性细胞。

## 3 讨论

TH、CHAT 和 GAD 是 DA、Ach 和 GABA 生物合成过程中的限速酶。目前常用 TH、CHAT 和 GAD 分别作为鉴定 DA 能神经元、Ach 能神经元和 GABA 能神经元存在的标志<sup>[5]</sup>。在本实验中, 我们分别采用上述 3 种指标来作为鉴定 ADSCs 诱导分化后的神经细胞是否具有合成神经递质功能。结果显示, 经 NIM 诱导后, ADSCs 可分化为神经细胞。诱导分化后, 1h、5h 未见 TH、CHAT 和 GAD 阳性表达。1d、5d 出现 TH、CHAT 和 GAD 阳性表达。对照组未见 TH、CHAT 和 GAD 阳性表达。结果表明, ADSCs 分化后的神经细胞具有合成神经递质 DA、Ach 和 GABA 的

功能。另外, 传统的神经解剖学认为一个神经元只能释放一种神经递质, 但 Hokfelt 等<sup>[6]</sup>发现在交感神经节内含 NE 和 SOMT, 以后的研究又陆续发现在脑、脊髓和外周神经组织中都有神经肽和经典神经递质共存的现象, 从而产生了神经递质共存的概念。本实验免疫荧光单标结果和免疫组化法结果一致, 即 ADSCs 经诱导分化后的细胞内有 TH、CHAT 和 GAD 表达。在免疫荧光双标结果中, GAD 与 TH、CHAT 与 TH 可同时表达于同一个诱导后的细胞内, 也证明了神经递质的共存。ADSCs 诱导分化后的神经细胞合成的神经递质 DA、Ach 和 GABA, 在细胞内可以共存的具体机制还不清楚, 可能与 ADSCs 具有多向分化潜能或诱导分化的神经细胞仍不完全成熟而具有合成多种递质的潜能有关。

## 参考文献

[1] Kang SK, Lee DH, Bae YC, et al. Improvement of neurological deficits by intracerebral transplantation of human adipose tissue-derived stromal cells after cerebral ischemia in rats [J]. Experimental Neurology, 2003, 183: 355—366.  
 [2] Safford KM, Hicok KC, Safford SD, et al. Neurogenic differentiation of murine and human adipose-derived stromal cells[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2002, 294:371—379.  
 [3] 刘斌, 吴孟海, 张强, 等. 神经节苷脂诱导人脂肪组织来源的基质细胞向神经细胞的分化[J]. 中国临床康复, 2006, 10(29): 7—9.  
 [4] Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies[J]. Tissue Engineering, 2001, 7:211—228.  
 [5] Tashiro Y, Drake JM, Chakrabortly S, et al. Functional injury of cholinergic, GABAergic and dopaminergic systems in the basal ganglia of adult rat with kaolin-induced hydrocephalus[J]. Brain Res, 1977, 770:45—52.  
 [6] Hokfelt T, Holets VR, Staines W, et al. Coexistence of neuronal messengers: An overview[J]. Progress in Brain Research, 1986, 68: 33—70.