

· 基础研究 ·

低氧及跑台运动对大鼠内皮素和降钙素基因相关肽的影响*

佟长青¹ 赵娟¹ 李海英¹ 薄海¹

摘要

目的:观察低氧低氧和跑台训练对大鼠血浆内皮素和降钙素基因相关肽的影响,为高原低氧训练适应的习服提供实验数据。

方法:40只雄性SD大鼠随机分为常氧对照组、常氧运动组、低氧对照组、低氧运动组。用MPA-心功能分析系统记录血压和心率,用放射免疫法测血浆和心肌匀浆中内皮素和降钙素基因相关肽。

结果:①与常氧对照组比较,常氧运动组体重减少($P<0.05$),血浆中的内皮素(ET)降低($P<0.05$),血浆中和心肌匀浆中降钙素基因相关肽(CGRP)升高($P<0.001, P<0.01$);②与低氧对照组比较,低氧运动组体重减少($P<0.01$),血浆中的ET降低($P<0.01$),CGRP的差异不显著;③与常氧运动组比较,低氧运动组心肌匀浆中的ET降低($P<0.05$),血浆中的CGRP也降低($P<0.001$)。

结论:运动使血浆中的ET降低,CGRP升高;低氧使血浆中的ET升高,CGRP降低;低氧和运动双重刺激使心肌匀浆中的ET和血浆中的CGRP降低。

关键词 低氧;运动;内皮素;降钙素基因相关肽;大鼠

中图分类号:G804.2 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2010)-06-0540-04

Effects of hypoxia and treadmill running on endothelin and calcitonin gene-related peptide in rats/TONG Changqing,ZHAO Juan, LI Haiying, et al.//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2010, 25(6): 540-543

Abstract

Objective: To study the influence of hypobaric hypoxia and treadmill running on endothelin (ET) and calcitonin gene-related peptide(CGRP) in rats, and provide experimental data for acclimatizing to plateau hypoxia training.

Method: Forty male Sprague Dawley (SD) rats were randomly divided into normoxia control group, normoxia training group, hypoxia control group, and hypoxia training group. Blood pressure and heart rate were recorded with MPA-heart function analytical system. ET and CGRP in plasma and myocardium homogenate were measured by radioimmunoassay.

Result: ① Compared with normoxia control group, body weight in normoxia training group decreased ($P<0.05$), ET in plasma decreased ($P<0.05$), while CGRP in plasma and myocardium homogenate increased ($P<0.001, P<0.01$); ② Compared with hypoxia control group, body weight and ET in hypoxia training group reduced ($P<0.01$), change of CGRP was not significant. ③ Compared with normoxia training group, in hypoxia training group ET in myocardium homogenate($P<0.05$) and CGRP in plasma($P<0.001$) reduced.

Conclusion: Training can induce ET in plasma decreasing and CGRP increasing. Hypoxia can cause ET increasing and CGRP decreasing. Double stimulation of both training and hypoxia result in decrease of ET in myocardium homogenate and CGRP in plasma.

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2010.06.011

* 基金项目:武警医学院科研立项课题重点项目(WKH2008Z01)

1 武警医学院生理学与病理生理学教研室,天津,300162

作者简介:佟长青,男,教授;收稿日期:2009-06-26

Author's address Department of Physiology and Pathophysiology, Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin,300162

Key words hypoxia; exercises; endothelin; calcitonin gene-related peptide; rat

内皮素(endothelin,ET)是日本学者 Yanagisawa 等首先在猪的主动脉内皮细胞培养上清液中分离、纯化出来的一种具有多生物学效应的血管活性肽,在体内广泛分布,是目前已知的体内缩血管作用最强、作用时间最久的活性物质。降钙素基因相关肽(calcitonin gene related peptide,CGRP)是 Amara 等 1982 年发现的,1983 年 Rosefeld 等证实 CGRP 在人和动物体内的存在。与 ET 作用相反,CGRP 是目前已知的最强的扩血管物质。在生理状态下,ET 和 CGRP 浓度保持相对平衡,从而维持心血管功能的稳定。跑台运动对大鼠血清胰岛素样生长因子^[1],游泳运动对大鼠血浆心钠素、内皮素^[2],低氧与运动联合对大鼠结缔组织生长因子^[3]的研究已有报道,但在低氧和运动状态下对 ET 和 CGRP 含量的变化所知尚少,本文检测了低氧及跑台运动训练过程中 ET 和 CGRP,以期高原训练提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

雄性 SD 大鼠 40 只(中国军事医学科学院动物实验中心提供),清洁型,体质量 240—280g,分笼饲养,以国家标准啮齿类动物饲料喂养,自由饮食,室内空气流通。经跑步筛选具有良好跑步能力随机分为 4 组。常氧对照组(normoxia control group)11 只、常氧运动组(normoxia training group)9 只、低氧对照组(hypoxia control group)11 只、低氧运动组(hypoxia training group)9 只。

1.2 大鼠低氧模型的建立

低氧大鼠模型在自制低压低氧舱中采取台阶式进行。第 1 周,实验的第 1—3 天,低氧对照组,低氧运动组在模拟大气压约 674mmHg,大气氧分压约 141mmHg(相当于海拔 1000m)的低氧舱低氧 2h/d;第 4—6 天,低氧对照组,低氧运动组在模拟大气压约 596mmHg,大气氧分压约 125mmHg(相当于海拔 2000m)的低氧舱低氧 2h/d;第 7 天,低氧对照组,低氧运动组在模拟氧分压约 125mmHg(相当于海拔 2000m)的低氧舱低氧 4h/d。第 2 周,低氧对照组,低

氧运动组在模拟大气压约 530mmHg,大气氧分压约 111mmHg,气体流量 0.14—0.16m³/h(相当于海拔 3000m,玻璃转子流量计计数)的低氧舱低氧 4h/d,7d/周。以后缺氧条件同第 2 周,共缺氧 7 周。

1.3 大鼠跑台训练模型的建立

常氧运动组和低氧运动组大鼠的运动训练在动物跑步机上进行(FT-200,成都泰盟科技有限公司)。以速度 15m/min,坡度 5°,45min/d 的条件训练,6d/周,共运动 7 周。

1.4 实验指标的测定

实验实施 7 周后,大鼠称重,以 25%氨基甲酸乙酯溶液 50mg·kg⁻¹腹腔内注射麻醉。动物麻醉后取仰卧位,颈部切开,暴露右侧颈总动脉,将充满 1%肝素的聚乙烯管插入右颈总动脉,用 MPA-心功能分析系统(MPA-CFS,上海奥尔科特生物科技有限公司)记录血压和心率,纳入数据统计的大鼠 38 只。

血浆及心肌匀浆标本的制备:从颈总动脉采血 4ml。采血前试管内注入 30μl EDTANa₂ 和 40μl 抑肽酶,用 TGL-16G-A 型离心机(上海产)4℃3000r/min 离心 10min,分离血浆并置于-70℃冰箱保存待测。将心肌组织在 100℃水浴中煮沸 10min,用 DY89-1 电动玻璃匀浆机匀浆,然后以 4℃3000r/min 离心 15min,取上清,所有样品于-70℃保存。

用放免分析法测定血浆和心肌匀浆中的内皮素和降钙素基因相关肽,操作按说明书进行。试剂盒由天津九鼎医学生物工程有限公司提供。

1.5 统计学分析

所有数据均用 SPSS11.5 统计学软件分析,用方差分析进行组间差异比较。

2 结果

2.1 低氧及跑台运动训练对大鼠体重、血压和心率的影响

与常氧对照组比较,常氧运动组、低氧运动组大鼠体重减少($P<0.05$, $P<0.001$);与低氧对照组比较,低氧运动组大鼠的体重减少($P<0.01$)。4 组间收缩

压(SBP)、舒张压(DBP)、平均动脉压(MAP)及心率的差异均无显著性意义(表1)。

2.2 低氧及跑台运动训练对大鼠 ET 的影响

血浆中:①与常氧对照组比较,常氧运动组的 ET 降低($P<0.05$),低氧对照组的 ET 升高($P<0.05$);②与低氧对照组比较,低氧运动组的 ET 降低($P<0.01$),常氧运动组的 ET 也降低($P<0.001$);③与常氧运动组比较,低氧运动组的 ET 差异不显著。

心肌匀浆中:①与常氧对照组比较,常氧运动组的 ET 升高($P<0.01$),低氧对照组的 ET 也升高($P<0.01$);②与低氧对照组比较,低氧运动组的 ET 降低

($P<0.05$);③与常氧运动组比较,低氧运动组的 ET 降低($P<0.05$);见表2。

2.3 低氧及跑台运动训练对大鼠 CGRP 的影响

血浆中:①与常氧对照组比较,常氧运动组的 CGRP 升高($P<0.001$),低氧对照组的 CGRP 降低($P<0.05$);②与低氧对照组比较,常氧运动组的 CGRP 升高($P<0.001$);③与常氧运动组比较,低氧运动组的 CGRP 降低($P<0.001$)。

心肌匀浆中:与低氧对照组比较,常氧运动组的 CGRP 升高($P<0.05$),其他组间的差异不显著(表2)。

表1 实验大鼠的体重、血压和心率

($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	体重(g)	SBP(mmHg)	DBP(mmHg)	MAP(mmHg)	HR(次/min)
常氧对照组	10	497.0±57.6	111.5±17.2	94.6±17.8	100.2±17.3	392.3±54.6
常氧运动组	8	453.8±20.1 ^①	121.1±29.0	95.5±26.5	104.1±27.0	383.8±82.9
低氧对照组	11	490.9±27.0	123.6±13.3	102.1±12.3	109.3±11.9	373.9±55.2
低氧运动组	9	425.6±53.7 ^{②③}	130.0±13.6	102.9±15.0	93.9±16.0	338.4±38.5

与常氧对照组比较:① $P<0.05$;② $P<0.01$;与低氧对照组比较:③ $P<0.01$

表2 大鼠血浆与心肌匀浆中的 ET 和 CGRP 含量

($\bar{x}\pm s$)

组别	ET(pg/ml)		CGRP(pg/ml)	
	血浆	心肌匀浆	血浆	心肌匀浆
常氧对照组	197.48±36.04	11.31±3.88	84.66±36.44	307.52±42.79
常氧运动组	158.01±33.61 ^{①④}	17.92±4.05 ^③	158.56±49.0 ^{②④}	411.54±194.46
低氧对照组	228.43±32.79 ^①	17.71±5.01 ^③	44.01±16.28 ^①	291.35±58.4 ^⑤
低氧运动组	182.80±28.62 ^③	12.71±3.64 ^{⑤⑦}	60.01±31.90 ^⑥	372.08±75.19

与常氧对照组相比:① $P<0.05$,② $P<0.001$;与低氧对照组相比:③ $P<0.01$,④ $P<0.001$;与常氧运动组相比:⑤ $P<0.05$,⑥ $P<0.001$;与低氧运动组相比:⑦ $P<0.05$

3 讨论

3.1 运动与内皮素

低氧训练指在运动训练周期中持续或间断利用高原自然低氧或人工低氧环境,配合运动训练来增加运动机体的低氧程度,从而产生一系列有利于机体抗缺氧的生理反应和适应能力,调动体内的功能潜力,进而达到提高运动能力的训练方法。血浆中 ET 作为一种内源性血管活性物质,是表达血管功能的重要指标。运动对 ET 影响的研究已有不少,但尚无一致的结论。赵峰等报道^[4],长期中等负荷的运动训练后大鼠血浆 ET 含量增加,长期大负荷运动训练会导致血浆 ET 显著增加。金其贯等指出^[5],中小强度的运动训练可抑制 ET 的分泌,而长时间的大强度运动训练,可使机体分泌 ET 增多。看来血浆 ET 水平与运动强度、负荷方式有一定关系。

3.2 低氧与内皮素

ET 可能是机体一种内源性损伤因子,不仅在多种心脑血管疾病中起重要作用,缺氧也可影响 ET 的产生、释放和代谢。滕长青等认为^[6],血浆 ET 随着海拔升高而升高,CGRP 随着海拔升高而降低。随着海拔的增高缺氧状态的血管内皮细胞可大量分泌 ET,而 CGRP 虽应激性增加,但由于 ET 的异常改变已超过 CGRP 的调节能力,则 CGRP 不但未升高反而随着海拔增高及缺氧的加重而降低。与常氧对照组比较,低氧对照组血浆中 ET 升高,可引起肺血管持久性收缩,成为肺动脉高压的重要致病因素。如果长期低氧可使肺血管出现形态学改变,表现为肺小动脉中层肥厚,无肌型肺小动脉出现平滑肌层,而成为新肌化血管,从而促使肺动脉压力增加。肺动脉压力的持续增加将会引起右心室负荷加重,从而导致右室肥厚。一氧化氮(NO)、ET 是肺循环中重要的内皮依赖性舒缩因子,它们之间存在着负反馈调节机

制。长期低氧能损害内皮细胞的分泌功能,NO产生机制受到抑制^[7],这可能是低氧时ET升高的原因之一。袁志明等^[8]报道,慢性间歇低氧可引起大鼠ET过度表达和血循环ET水平升高,并认为可通过ET过度表达和血循环ET水平升高而导致高血压形成。赵海燕^[9]也指出,间歇低氧可引起ET水平升高,提示ET在间歇低氧并发高血压中可能起重要作用。健康人急性暴露到高原低压低氧环境,肺动脉高压的程度与血浆ET升高有关^[10]。

3.3 运动与降钙素基因相关肽

运动对血浆中CGRP含量的影响,结果还不一致。但多数结果认为运动使血浆CGRP含量显著增加,其作为保护机制参与心血管内分泌系统的适应性调节。马延超^[11]指出,运动心脏重塑过程中,大鼠心室肌组织CGRP mRNA表达量无明显变化。孙晓娟等^[12]报道,长期中等强度运动使心脏CGRP表达增加,改善了冠状循环和心肌血液供应,对心肌细胞具有保护作用;长期大强度运动使心脏CGRP对心肌细胞的保护作用减弱,可能是导致心肌发生缺血缺氧损伤的重要原因之一。运动训练对CGRP的影响多集中在血浆,对心肌组织中CGRP含量的研究较少。关宇光等^[13]的研究结果,有氧运动对心肌组织中CGRP的影响并不显著。可见,研究结果的不同可能与运动的时间、运动强度及对心肌损伤的程度有关。谭建新报道^[14],CGRP的介入能稳定心肌细胞形态,减轻或逆转心肌细胞损伤。

3.4 低氧与降钙素基因相关肽

高芬等^[15]报道,健康人进入海拔2260m时血浆CGRP已达峰值,进入海拔3780m第1天开始下降,第5天静脉血浆浓度不再减少,动脉血浆浓度则持续降低,第15天时至谷底。Keith等报道^[16],新生大鼠暴露到15%的低氧环境21d引起持续性肺动脉高压,肺动脉高压与血液中CGRP减少呈高度相关($r=-0.81, P=0.000$)。短时间缺氧后血浆和心肌组织中CGRP水平均高于正常,但随着缺氧时间延长,心肌组织CGRP释放增多,血浆CGRP水平逐渐下降。心肌损伤越严重,血浆CGRP水平越低,心肌组织损伤程度和血浆CGRP呈负相关。缺氧时血浆和心肌组织中CGRP的代偿性升高,以减轻心肌损伤程度。提示内源性CGRP有显著的心肌保护作用。

有文献指出,ET、CGRP参与了人体肺循环对低氧的生理性调节,CGRP作用于缺氧的初期肺循环的扩血管调节反应,ET含量则随缺氧时间延长和海拔升高而增加^[17]。但二者在低氧下运动的关系尚需进一步探讨。

参考文献

- [1] 荣湘江,张娟,梁丹丹.运动对大鼠胰岛素样生长因子-I影响的研究[J].中国康复医学杂志,2008,23(5):423—425.
- [2] 李伟,肖琳,谭欢,等.力竭性运动对大鼠血浆心钠素、内皮素及心肌血供的影响[J].中国康复医学杂志,2008,23(5):426—428.
- [3] 刘静,薄海,李雪华,等.低氧联合运动对大鼠肺血管重构的保护作用及结缔组织生长因子表达的影响[J].中国康复医学杂志,2009,24(7):593—596.
- [4] 赵峰,李建平.不同负荷的运动训练对大鼠血浆ADM、ET含量变化的影响及意义[J].北京体育大学学报,2005,28(5):631—633.
- [5] 金其贯,李宁川,孙新荣,等.不同负荷的运动训练对大鼠心血管系统调节肽分泌的影响[J].浙江体育科学,2000,22(1):53—56.
- [6] 滕长青,朱爱琴,娄明远,等.高海拔地区健康人血浆内皮素和降钙素基因相关肽水平的变化[J].中华医学研究杂志,2004,4(10):871—873.
- [7] 马兰,格日力.高原鼠兔低氧适应分子机制的研究进展[J].生理科学进展,2007,38(2):143—146.
- [8] 袁志明,王佩显,陈宝元,等.间歇低氧对大鼠内皮素及其受体基因表达的影响[J].中华急诊医学杂志,2005,14(9):738—741.
- [9] 赵海燕,陈宝元,冯靖,等.间歇低氧对人脐静脉内皮细胞中内皮素的影响[J].中国心血管病杂志,2007,12(2):93—95.
- [10] Modesti PA, Vanni S, Morabito M, et al. Role of endothelin-1 in exposure to high altitude: Acute mountain sickness and endothelin-1(ACME-1)study [J].Circulation,2006,114(13):1410—1416.
- [11] 马延超,常芸,张纛.运动心脏重塑过程中降钙素基因相关肽基因的表达[J].中国运动医学杂志,2006,25(2):168—170.
- [12] 孙晓娟,潘姗姗.不同强度运动对大鼠心脏降钙素基因相关肽的影响[J].中国运动医学杂志,2006,25(4):416—419.
- [13] 关宇光,谢业琪,李翠霞.有氧运动对大鼠动脉粥样硬化发生发展过程中心肌CGRP、Ang II的影响[J].北京体育大学学报,2006,29(3):337—339.
- [14] 谭建新,李岩松,黄宇戈,等.降钙素基因相关肽对大鼠心肌缺血损伤的影响[J].中国病理生理杂志,2000,16(3):226—228.
- [15] 高芬,张林彬,关巍,等.高原低氧对血浆降钙素基因相关肽含量的影响[J].基础医学与临床,2006,26(2):207—208.
- [16] Keith IM, Tjen-A-Looi S, Kraiczi H, et al. Three-week neonatal hypoxia reduces blood CGRP and causes persistent pulmonary hypertension in rats [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2000,279(4):H1571—H1578.
- [17] 高芬,周青玉,张林彬,等.高原低氧对CNP、ET和CGRP血浆含量的影响[J].放射免疫学杂志,2005,18(2):101—103.