

有氧运动对自发性高血压大鼠心肌 血红素氧合酶活性及血红素氧合酶-1 mRNA 表达的影响*

任彩玲¹ 余志琪² 张 钧^{3,4}

摘要

目的:观察有氧运动对自发性高血压大鼠(SHR)心肌血红素氧合酶(HO)活性及HO-1 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),雄性自发性高血压大鼠16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方法检测大鼠心脏HO-1 mRNA表达。

结果:与C组相比,S组心肌HO活性显著降低($P<0.05$);与S组相比,T组心肌HO活性显著升高($P<0.05$)。与C组相比,各组心肌HO-1 mRNA表达差异均有显著性意义,S组心肌HO-1 mRNA表达显著升高($P<0.01$);与S组相比,T组心肌HO-1 mRNA表达也显著升高($P<0.01$)。

结论:说明长期有规律的运动可以升高SHR心肌HO活性和HO-1 mRNA表达。

关键词 血红素氧合酶;心肌肥大;有氧运动

中图分类号:R544.1, R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2011)-07-0655-04

Effects of aerobic exercise on activity of heme oxygenase and expression of heme oxygenase-1 mRNA in cardiac muscle of spontaneous hypertensive rats/REN Cailing, YU Zhiqi, ZHANG Jun//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2011, 26(7): 655—658

Abstract

Objective: To investigate the effects of aerobic exercise on activity of heme oxygenase(HO) and expression of HO-1 mRNA in cardiac muscle of spontaneous hypertensive rats(SHR).

Method: Male Wistar rats were assigned as follows: normal control group (C) with: 6 normal rats, SHR group (S) with 8 SHRs, training SHR group (T) with 8 SHRs. T group carried on 60min unloaded swimming 6 times a week for 9 weeks. The rats in all groups were fed with normal feedstuff. Nine weeks later activity of HO and expression of HO-1 mRNA were determined by RT-PCR.

Result: Activity of HO reduced significantly compared with normal control group ($P<0.05$); the expression of HO-1 mRNA in S group increased significantly compared with normal control group ($P<0.01$); Compared with S group, activity of HO and expression of HO-1 mRNA in T group increased obviously($P<0.05$, $P<0.01$).

Conclusion: The long term regular aerobic exercise can increase activity of HO and expression of HO-1 mRNA obviously and improve the development of cardiac hypertrophy induced by hypertension.

Author's address Rehabilitation College of Gannan Medical College, Ganzhou, 341000

Key word heme oxygenase; cardiac hypertrophy; aerobic exercise

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2011.07.013

*基金项目:赣州市指导性科技计划项目

1 赣南医学院康复学院,江西赣州,341000; 2 兰州城市学院体育系; 3 扬州大学体育学院; 4 通讯作者

作者简介:任彩玲,女,硕士; 收稿日期:2010-05-29

血红素氧合酶(Heme Oxygenases, HO)是血红素降解的起始酶和限速酶,它的主要生理功能是降解体内血红素产生等摩尔的内源性一氧化碳(CO)、胆红素和游离铁^[1]。HO有三种同工酶,HO-1、HO-2、HO-3,其中HO-1为诱导型,是一种应激蛋白,可被运动、缺血、pH值变化等多种因素所诱导,在心血管系统有较多的表达。适宜的运动对高血压等心脑血管疾病具有一定防治作用的事实已得到广泛地证实^[2-3],本研究通过观察长期中等强度的有氧游泳运动对SHR心肌HO活性以及HO-1mRNA表达的影响,来探讨运动对SHR心肌HO/CO系统以及HO-1mRNA表达的影响是否与减轻高血压性心肌肥大的发生发展及其作用机制有关。

1 材料与方法

1.1 实验动物与喂养

选用雄性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,正常对照组(C组)Wistar大鼠6只,由北京医科大学动物部提供。按国家标准固定混合饲料分笼饲养,每笼4只,各组大鼠每天自由进食饮水。室温22—24℃,湿度为40%—60%,自然光照。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。

1.2 动物训练模型的建立

T组SHR选用内壁光滑体积为150×60×70cm³、水深60cm的游泳缸进行60min无负重有氧游泳运动,水温31±1℃,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,即刻取大鼠心肌。

1.3 指标的测定

1.3.1 RT-PCR检测大鼠心肌HO-1 mRNA水平:按Qi YF等的方法^[4]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Promege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(HO-1产物)和291bp(β-actin产物)的光密度,以β-actinmRNA标准化。

1.3.2 心肌组织HO活性测定:参照Morita等^[5,6]的方法并稍有改良,利用组织细胞中的氧化还原系统,外源性加入HO的底物血红素、辅酶NADPH和6-磷酸葡萄糖脱氢酶,血红素在HO的作用下最终生成胆红素。胆红素的生成量与HO的活性成正比,HO的活性是这一反应过程的关键限速酶。在紫外分光光度计上测定胆红素的生成量即可反应HO的活性。

1.3.3 心脏系数测量: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

数据采用SPSS15.0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,结果均以均数±标准差表示,统计学有显著差异为 $P<0.05$,有非常显著差异为 $P<0.01$ 。

2 结果

见表1。各组高血压组大鼠的心系数、心肌HO活性及HO-1mRNA表达有显著性差异。S组大鼠的心系数显著高于C组($P<0.01$),T大鼠的心系数显著低于S组($P<0.01$)。与C组相比,S组心肌HO活性显著降低($P<0.05$);与S组相比,T组心肌HO活性显著升高($P<0.05$)。与C组相比,S组心肌HO-1 mRNA表达显著升高($P<0.01$);与S组相比,T组心肌HO-1 mRNA表达也显著升高($P<0.01$)。说明运动可以升高高血压大鼠心肌HO-1 mRNA表达(见表1)。琼脂糖电泳凝胶成像及扫描图像(见图1)。

3 讨论

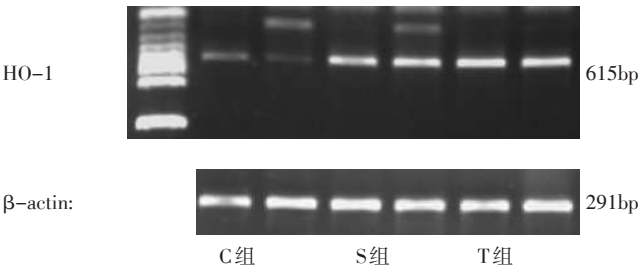
在原发性高血压患者中,由于高血压增加了心脏的后负荷,高血压患者常出现左心室肥厚。心肌肥厚是一个对血液体积和血压超负荷的代偿性变化过程,其发生的主要因素很多,其中由于血压升高、心肌负荷的增加是促使心肌肥大的重要原因,大量的体内外研究表明其发生过程错综复杂。

表1 大鼠心脏系数和心肌HO活性及HO-1 mRNA表达的变化 (x±s)

组别	鼠数	心脏系数 (mg/g)	HO 活性(pmol/mg/h)	HO-1 mRNA/β-actin
正常对照组 (C组)	6	2.62±0.151	1102.31±192.293	42.03±8.890
高血压组 (S组)	8	3.49±0.396 ^①	636.74±129.982 ^③	81.22±3.171 ^①
高血压运动组 (T组)	8	3.13±0.169 ^②	1017.92±152.393 ^④	88.41±4.863 ^②

①与正常对照组比较 P<0.01;②与高血压组比较 P<0.01;③与正常对照组比较 P<0.05;④与高血压组比较 P<0.05

图1 琼脂糖电泳凝胶成像及分析扫描



HO-1 的分泌对组织的大小起着决定性的作用,包括细胞增殖、细胞凋亡和心肌肥大^[7]。目前有关 HO/CO 系统在心肌中的作用研究尚少, Seki T 等^[8-11]第一个研究发现 HO 的诱导可以减弱 SHR 负荷性心肌肥大, HO-1 的缺乏可以导致肾血管性高血压和心肌肥大,先天性心脏病患者肥大的心肌细胞 HO-1 表达增高,表明 HO-1 对组织损伤的应激有保护作用。本实验研究显示,与正常 Wistar 相比, SHR 心肌 HO-1 mRNA 表达增高,与上述结果一致。高血压时机体内抗氧化系统活性降低,有细胞毒性作用的活性氧族 (reactive oxygen species, ROS) 产生增加, HO-1 mRNA 表达增高可能是对组织损伤 ROS 的应激反应。本实验研究还发现,与正常 Wistar 相比, SHR 心肌 HO 活性是降低的,这可能是抗氧化的结果。Hu 等^[12]通过体内外实验研究了 Ang-II 诱导的心肌肥大中 HO-1 的表达,发现 HO-1 能减弱 Ang-II 诱导的心肌肥大,可能是 HO-1 抑制了由 Ang-II 刺激所产生的氧自由基的结果; Tongers J^[13]研究发现 HO-1 可以抑制 ET-1 诱导的心肌肥大,胆绿素和 CO 在 HO-1 这种抗心肌肥大效应中起主要作用。有关运动对心脏平滑肌 HO/CO 系统影响的研究,国内外尚未见报道。本实验通过对 SHR 进行 9 周 60min 运动研究发现,与 SHR 组相比,运动 SHR 组心脏 HO-1mRNA 表达和 HO 活性显著升高 ($P<0.01$, $P<0.05$)。提示适宜的运动可以诱导 SHR 心脏 HO-1 mRNA 表达和 HO 活性的增高,

这可能是适宜的运动防止和减轻高血压性心肌肥大的途径之一。其作用机制可能为:①运动可诱导上调 HO-1 的活性,增加内源性 CO 的产生,提高机体环鸟苷酸 (cGMP) 的含量,发挥它的第二信使作用,降低蛋白激酶的活性,抑制 Ca^{2+} 的内流^[14]来调节。②运动可诱导上调 HO-1 的活性,增加胆绿素和内源性 CO 的产生,胆绿素和 CO 抑制了胞外信号调节激酶 (ERK1/ERK2) 和 MAPK^[15]。MAPK 激活在 Ang-II 导致的心肌肥大反应中具有重要作用,丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶-1 通过使活化丝裂原激活蛋白激酶去磷酸化而使其失活,从而参与对心肌肥大反应的调节。

长期适宜的运动提高 SHR 心肌 HO 活性和 HO-1 mRNA 的表达,从而预防和减轻高血压及高血压性心肌肥大的发展。

参考文献

[1] Wang CY, Chau LY. Heme oxygenase-1 in cardiovascular diseases: molecular mechanisms and clinical perspectives. [J]. Chang Gung Med J. 2010,33(1):13—24.

[2] Sun MW, Zhong MF, Gu J, et al. Effects of different levels of exercise volume on endothelium-dependent vasodilation: roles of nitric oxide synthase and heme oxygenase.[J] Hypertens Res, 2008,31(4):805—16.

[3] Fornitz GG. Platelet function and fibrinolytic activity in borderline and mild hypertension. The influence of age, exercise, smoking and antihypertensive therapy[J]. Dan Med Bull, 2002, 49(3):210—226.

[4] 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.

[5] Ou HS, Yang J, Dong LW, et al. Role of endogenous carbon monoxide in hypertension pathogenesis of rats[J]. Sheng Li Xue Bao, 1998, 50(6):643—648.

[6] Christodoulides N, Durante W, Kroll MH, et al. Aascular smooth muscle cell heme oxygenases generate guanylyl cyclase-stimulatory carbon monoxide[J]. Circulation, 1995, 91(9):

- 2306—2309.
- [7] Durante W. Heme oxygenase-1 in growth control and its clinical application to vascular disease[J]. *Cell Physiol*, 2003, 195(3):373—382.
- [8] Seki T, Naruse M, Naruse K, et al. Induction of heme oxygenase produces load-independent cardioprotective effects in hypertensive rats[J]. *Life Sci*, 1999, 65(10):1077—1086.
- [9] Wiesel P, Patel AP, Carvajal IM, et al. Exacerbation of chronic renovascular hypertension and acute renal failure in heme oxygenase-1-deficient mice[J]. *Circ Res*, 2001, 88(10):1088—1094.
- [10] Goto J, Ishikawa K, Kawamura K, et al. Heme oxygenase-1 reduces murine monocrotaline-induced pulmonary inflammatory responses and resultant right ventricular overload[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2002, 4(4):563—568.
- [11] Takeuchi M, Takahashi T, Taga N, et al. Right ventricle of patients undergoing congenital cardiac surgery differentially expresses heme oxygenase-1 and heat shock protein 70 genes[J]. *J Int Med Res*, 2003, 31(5):413—417.
- [12] Tongers J, Fiedler B, König D, et al. Heme oxygenase-1 inhibition of MAP kinases, calcineurin/NFAT signaling, and hypertrophy in cardiac myocytes[J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 63(3):545—552.
- [13] Maulik N, Sharma HS, Das DK. Induction of the haem oxygenase gene expression during the reperfusion of ischemic rat myocardium[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1996, 28:1261—1270.
- [14] 许松,符民桂,许玉凤,等.钙调神经磷酸酶在血管紧张素Ⅱ刺激的心脏成纤维细胞增殖中的作用[J].*生理学报*,2000,52(4):305—307.
- [15] Cocceani F, Kelsey L, Seidlitz E, et al. Carbon monoxide formation in the ductus arteriosus in the lamb: implications for the regulation of muscle tone[J]. *Br J Pharmacol*, 1997, 120(4):599—608.

(上接第629页)

- [9] Nys GM, van Zardvoort MJ, van der Worp HB, et al. Early cognitive impairment predicts long-term depressive symptoms and quality of life after stroke[J]. *J Neurol Sci*, 2006, 25:149—156.
- [10] Cabeza R. Commentary: neuroscience frontiers of cognitive ageing: approaches to cognitive neuroscience of ageing. In: Dixon R, Bäckman L, Nilsson L, eds. *New frontiers in cognitive ageing*[M]. Oxford: Oxford University Press, 2004, 179—198.
- [11] Maylor EA, Carter SM, Hallett EL. Preserved olfactory cuing of autobiographical memories in old age[J]. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci*, 2002, 57(1):P41—46.
- [12] Fujiwara Y, Watanabe S, Kumagai S, et al. Prevalence and characteristics of older community residents with mild cognitive decline[J]. *Geriatr Gerontol Int*, 2002, 2:57—67.
- [13] 路微波,胡永善,吴毅.社区康复干预对脑卒中恢复期患者认知及日常生活活动能力影响的研究[J].*中国康复医学杂志*,2009,24(11):1030—1031.
- [14] 戴晓阳.护理心理学[M].北京:人民卫生出版社,1998.6—10.
- [15] 程绍忠,辛奎波,李清华,等.急性脑卒中后抑郁焦虑的发生率及相关因素研究[J].*山东精神医学*,2002,15(1):19—21.
- [16] 卢爱兰,孙杭生.综合性医院老年与非老年患者精神康复会诊的对照分析[J].*中国康复医学杂志*,2009,24(9):829—831.