

·基础研究·

低氧及跑台运动对大鼠左心室肌线粒体超微结构的影响*

赵娟¹ 李海英¹ 薄海¹ 佟长青^{1,2}

摘要

目的:观察低氧及低氧复合跑台运动后大鼠左心室肌细胞内线粒体超微结构的变化,探讨低氧及运动训练对心肌线粒体的影响。

方法:成年雄性SD大鼠40只,随机分为4组:常氧对照组、常氧运动组、低氧对照组及低氧运动组。用MPA-心功能分析系统记录血压和心率,用透射电镜观察各组大鼠心肌线粒体的超微结构。

结果:常氧对照组:线粒体结构完整,平行排列。常氧运动组:线粒体数量增加,体积增大,轻度水肿。低氧对照组:线粒体排列紊乱,挤压变形,嵴断裂,外膜增厚。低氧运动组:线粒体平行排列,基质增多,部分线粒体结构不清,肌膜尚清晰。

结论:低氧导致左心室肌线粒体结构严重破坏,运动使线粒体数量增加,体积增大。适度的运动训练可明显改善低氧对大鼠心肌线粒体的损伤,对心脏有一定的保护作用。

关键词 低氧;运动;线粒体;超微结构

中图分类号:R339.5, R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2011)-12-1104-03

**Effect of hypoxia and treadmill exercise on ultrastructure of mitochondria in left ventricle of rats/
ZHAO Juan, LI Haiying, BO Hai, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2011, 26(12): 1104-1107**

Abstract

Objective: To study the changes in mitochondrial ultrastructure in left ventricle of rats after hypoxia and treadmill exercise.

Method: Forty adult male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 4 groups: normoxia control group, normoxia exercise group, hypoxia control group and hypoxia exercise group. Blood pressure and heart rate were recorded with MPA-heart function analysis system.

Result: In normoxia control group, mitochondria showed normal appearance and high organization. In normoxia exercise group, quantity and volume of mitochondria increased, with light swelling. In hypoxia control group, mitochondria arranged disorderly and extruded deformedly, mitochondrial cristae broke and outer membrane thickened. In hypoxia exercise group, mitochondria arranged regularly, matrix increased, structures of partial mitochondria were unclear, sarcolemma were almost clear.

Conclusion: Hypoxia destroys the mitochondrial ultrastructures in left ventricle, while exercise training can increase the amount and volume of mitochondria. Moderate exercise can relieve the hypoxia-induced mitochondrial damages and exerts a protective effect on damaged myocardium.

Author's address Medical College of the Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin, 300162

Key word hypoxia; exercise; mitochondria; ultrastructure

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2011.12.003

*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; 2 通讯作者

作者简介:赵娟,女,硕士,讲师; 收稿日期:2011-03-14

人从平原进入高原低氧地区,机体由于整体或局部缺氧而引起一系列代偿适应性反应,以适应高原环境,这个过程称之为习服。有部分人由于代偿适应性反应不足或过于强烈而引起各种急、慢性高原病。有研究报道^[1]适当的运动训练可以增强心、肺功能,改善机体对氧的摄取、运输和利用,提高机体最大用氧能力。心肌是机体摄氧量高而又对缺氧十分敏感的组织之一,缺氧不仅可引起心肌代谢及功能的改变,而且对心肌细胞的超微结构亦可产生不同程度的影响。线粒体是细胞能量的供应站,心脏功能与心肌线粒体的能量代谢状况密切相关。本文作者前期工作表明,低氧对大鼠右心室线粒体的超微结构有一定的损伤,低氧及游泳运动对大鼠右心室线粒体超微结构有明显改善^[2]。本研究旨在探讨低氧及低氧复合跑台运动对大鼠左心室肌线粒体超微结构的影响。

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,体重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的大鼠随机分为4组,分别为常氧对照组、常氧运动组、低氧对照组以及低氧运动组。电镜标本取材7例,常氧运动组、低氧对照组、低氧运动组各2例,常氧对照组1例。

1.2 方法

1.2.1 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,低氧对照组及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)的低氧舱中低氧2h/d;第4—6天,低氧对照组及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)的低氧舱中低氧2h/d;第7天,低氧对照组及低氧运动组在模拟大气氧分压约125mmHg(相当于海拔2000m)的低氧舱低氧4h/d。第2周,低氧对照组及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)的低氧舱中低氧4h/d,7d/w,以后缺氧条件同第2周,共缺氧7w^[3]。

1.2.2 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)。速度15m/min,坡度5°,45min/d,6d/周,共训练7周。

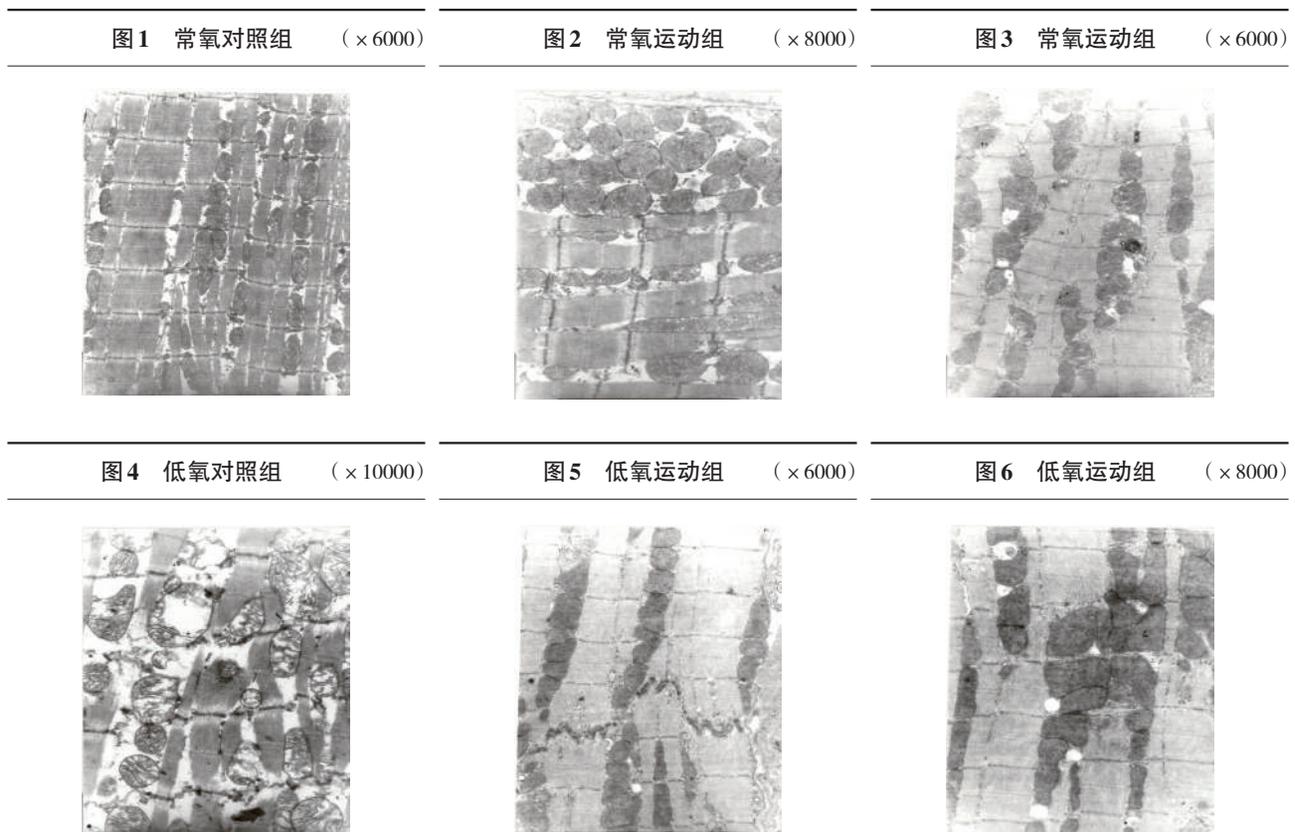
1.2.3 实验指标的测定:实验实施7周后,大鼠称重,25%氨基甲酸已酯溶液50mg/kg体重腹腔内注射麻醉。动物麻醉后取仰卧位,颈部切开,暴露右侧颈总动脉,将充满1%肝素的聚乙烯管插入右颈总动脉,用MPA-心功能分析系统(MPA-CFS,上海奥尔科特生物科技有限公司)记录血压和心率。之后开胸迅速取大鼠左心室中部绿豆大小心肌数块置于2.5%的戊二醛磷酸缓冲液中固定,乙醇逐级脱水,EPON812环氧树脂包埋,瑞典LKB-NOVE型超薄切片机切片,厚度为50—70nm,经醋酸铀、柠檬酸铅双染色,日本电子公司JEM-1010透射电镜观察超微结构并摄片。

2 结果

电镜结果显示常氧对照组大鼠左心室肌纤维间的线粒体为长圆形,平行排列,肌节清晰,外膜光滑完整,肌间隙中见胶原纤维(图1)。常氧运动组大鼠心室肌细胞外膜尚清晰,肌膜下线粒体较多,体积增大,该视野线粒体轻度水肿,凹陷或空泡,糖原减少(图2)。部分肌纤维与线粒体分布欠规则,线粒体基质增多,脂质体增多(图3)。低氧对照组大鼠心肌纤维分叉或断裂,肌节交错,线粒体肿胀,结构紊乱,挤压变形,嵴断裂,外膜增厚(图4)。低氧运动组大鼠心肌细胞内部分线粒体平行排列,但相互挤压变形,基质增多,结构不清,肌节各带清晰,肌膜尚清晰(图5)。部分线粒体基质增多,凝集变形,可见髓样体,肌质管尚清晰,糖原较丰富(图6)。

3 讨论

线粒体是细胞内一种重要的细胞器,三羧酸循环、电子传递和氧化磷酸化均在线粒体中进行。同时,线粒体也是对各种损伤最为敏感的细胞器之一。人从平原进入高原低氧地区,机体由于整体或局部缺氧使心、脑、骨骼肌等多个部位的线粒体受到



不同程度的影响。通过对小鼠脑组织的研究发现低氧可导致线粒体膜电位明显抑制,功能显著异常,其机制可能与氧化应激反应有关^[4]。慢性缺氧导致大鼠腓肠肌线粒体ST3显著降低,线粒体三磷酸腺苷(ATP)合成能力明显下降^[5]。在大鼠心肌组织上的研究显示缺氧可抑制细胞氧化磷酸化过程,降低线粒体呼吸链复合酶的活性^[6]。Kang等^[7]用无氧液灌流大鼠离体心肌细胞发现缺氧会造成线粒体结构的破坏和数量的减少。本实验通过低压低氧舱建立大鼠低氧模型,左心室肌电镜结果显示低氧导致线粒体结构紊乱,肿胀变形,嵴断裂。线粒体是细胞能量的供应站,线粒体内膜、嵴是细胞氧化磷酸化的重要部位,是产生ATP的场所,内膜面积的增大及嵴的增多,意味着能够固着生物氧化酶系的表面增大,能量转换效率增加,线粒体合成ATP的能力增加。心肌能量代谢以有氧代谢为主,心肌细胞中线粒体的数量及功能结构决定了心脏的能量供应和功能。低氧破坏了线粒体的正常结构,进而影响了线粒体功能的正常发挥,抑制了线粒体氧化磷酸化,ATP产生急剧减少,糖酵解致使各种有害产物堆积,激活某些

内在机制,诱导细胞凋亡或坏死。

运动对心脏以及心肌线粒体的影响与运动量以及运动方式有直接的关系。Pan等^[8]报道在常压常氧条件下,中等强度的耐力训练导致大鼠心肌细胞线粒体明显增生,体积显著增大。赖红梅等^[9]研究发现适度的有氧运动训练可以降低老年大鼠心肌线粒体DNA含量,增加线粒体呼吸链复合酶活性,对线粒体结构的有效维护和功能的适应性有一定保持和增强作用,对延缓衰老过程中线粒体功能的退行性变化具有一定的作用。也有文献^[10-11]报道,超强度的运动训练可导致线粒体结构严重破坏,线粒体膜通透性转换孔开放增加,引起线粒体内膜通透性急剧增加,最终导致细胞损伤或凋亡的发生。本研究结果显示,跑台运动后大鼠心肌线粒体数量增加,体积增大伴轻度水肿。运动量增加时,机体能耗相对增加,同时伴心脏功能的增强,因此作为供能场所的线粒体出现数量增加、体积增大等一系列适应性代偿性改变。至于线粒体轻度水肿可能与水盐平衡有关。由此推测我们所采用的运动方式及运动量适宜,线粒体的适应性变化使心肌有氧代谢功能储备

增加,有利于耐力运动时心肌细胞的氧化代谢和能量产生。

低氧复合运动对心肌线粒体的作用逐步受到人们的关注。蔡明春等^[12]通过对人体和大鼠的研究表明缺氧复合运动可改善心肌线粒体3态呼吸,ATP酶表达增加,线粒体膜电位保持稳态,线粒体氧化磷酸化功能维持相对恒定。薄海等^[13]报道耐力训练可抑制低氧诱导的解偶联蛋白3表达上调,提高活性氧清除能力,从而提高骨骼肌线粒体氧化磷酸化效率。本实验从形态学角度观察了低氧同时复合跑台运动对心肌线粒体超微结构的影响,结果显示低氧运动组大鼠心肌线粒体平行排列,部分挤压变形,基质增多,肌膜尚清晰,糖原丰富。所以,低氧复合适度运动后线粒体结构损伤较单纯低氧组减轻。

线粒体结构的完整保证了其功能的正常发挥,而线粒体数量和体积的增加才能使机体的有氧代谢能力得到提高。实验结果提示,适度的运动训练可明显改善低氧对心肌线粒体的损伤作用,进而改善心脏功能,提高机体的最大用氧能力,从而有效地促进机体对低氧环境的习服。

参考文献

- [1] Purkayastha SS, Bhaumik G, Sharma RP, et al. Effects of mountaineering training at high altitude (4,350m) on physical work performance of women[J]. *Aviat Space Environ Med*, 2000, 71(7):685—691.
- [2] 李海英,赵娟,佟长青,等.间歇性低氧及游泳运动对大鼠右心室线粒体超微结构的影响[J].*中国康复医学杂志*,2010,25(7):643—645.
- [3] 佟长青,赵娟,李海英,等.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[J].*中国康复医学杂志*,2010,25(6):540—543.
- [4] 吴彬,金露,王小同,等.慢性低氧高二氧化碳对小鼠大脑线粒体功能的影响[J].*温州医学院学报*,2010,40(2):115—118.
- [5] 蔡明春,黄庆愿,高钰琪.缺氧及缺氧复合运动大鼠骨骼肌线粒体功能的变化[J].*西南国防医药*,2008,18(4):482—484.
- [6] Nouette-Gaulain K, Malgat M, Rocher C, et al. Time course of differential mitochondrial energy metabolism adaptation to chronic hypoxia in right and left ventricles[J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 66(1):132—140.
- [7] Kang PM, Haunstetter A, Aoki H, et al. Morphological and molecular characterization of adult cardiomyocyte apoptosis during hypoxia and reoxygenation[J]. *Circ Res*, 2000, 87(2): 118—125.
- [8] Pan SS. Alterations of atrial natriuretic peptide in cardiomyocytes and plasma of rats after different intensity exercise[J]. *Scand J Med Sci Sports*, 2008, 18(3):346—353.
- [9] 赖红梅,陈彩珍,蒋慧萍.有氧运动训练对老年大鼠线粒体DNA含量、呼吸链复合酶活性的影响[J].*中国康复医学杂志*,2009,24(12):1109—1111.
- [10] 胡亚哲,程邦昌,王和平,等.运动性心脏肥大心肌细胞超微结构改变及意义[J].*中华心血管病杂志*,2005,33(10):936—939.
- [11] 刘铁民,张玉玲.过度训练状态下心肌损伤线粒体机制的研究[J].*中国应用生理学杂志*,2009,25(3):300—302.
- [12] 蔡明春,高文祥,陈建,等.缺氧复合运动大鼠心肌线粒体功能的变化[J].*第三军医大学学报*,2007,29(8):678—680.
- [13] Bo H, Wang YH, Li HY, et al. Endurance training attenuates the bioenergetics alterations of rat skeletal muscle mitochondria submitted to acute hypoxia: Role of ROS and UCP3 [J]. *Sheng Li Xue Bao*, 2008, 60(6):767—776.