

不同运动量游泳运动对大鼠心房肌细胞心钠素颗粒的影响*

韦晓英^{1,2} 马 彬¹ 吴洪海¹ 朱永泽^{1,3}

摘要

目的:探讨不同运动量游泳运动对大鼠右心房肌细胞心钠素颗粒的影响,以期运动对心肌的生理和病理变化研究提供形态学依据。

方法:SD大鼠分为安静对照组、不同运动量运动组和力竭运动组。不同运动量运动组进行12周的低、中和高运动量游泳运动,力竭运动组进行1次力竭游泳运动。取右心房肌进行常规透射电镜样品制备,观察心房肌细胞内心钠素颗粒的数量和分布,并统计分析心钠素颗粒大小。

结果:安静对照组的右心房肌细胞中心钠素在内质网合成后,经高尔基复合体加工和分泌,形成高尔基分泌小泡,分泌小泡相互融合,形成大的心钠素颗粒。不同运动量运动组的结果表明,随着运动量的增加,心钠素颗粒形成逐渐增加,并迅速分泌到细胞外。力竭运动组的结果表明,力竭运动后即刻,有心钠素颗粒的形成和分泌,而力竭运动后不同时间内,心钠素颗粒被快速分泌到细胞外,而没有增加心钠素颗粒的形成。

结论:运动可以诱导心钠素颗粒的形成和分泌,随着运动量的增加,心钠素颗粒的形成和分泌增加。力竭运动后逐渐诱导心钠素颗粒的分泌。

关键词 游泳运动;大鼠;心房肌;心钠素颗粒

中图分类号: R493,R541.4 文献标识码: A 文章编号: 1001-1242(2012)-02-0107-04

Effects of different loading swimming exercises on granules of atrial natriuretic peptide in atrial muscles of rats/WEI Xiaoying, MA Bin, WU Honghai, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2012, 27 (2): 107—110

Abstract

Objective: To explore the effects of different loading swimming exercises on the granules of atrial natriuretic peptide in rat's right atrial muscles, so as to provide some morphological basis of the changes of physiology and pathology by exercise-induced injury and recuperation of cardiac muscles.

Method: SD rats were randomly divided into three groups: control group, different loading exercises group and exhaustive exercises group. In different loading exercises group, 12-week low, moderate and high loading swimming models were carried out in rats. In exhaustive exercises group, single exhaustive swimming was carried out in rats. After exercises, rat's right atrial muscles were cut off, and treated with regular procedures of transmission electron microscopy. The quantities and distributions of granules of atrial natriuretic peptide were observed, and their sizes were analyzed.

Result: In control group atrial natriuretic peptides were synthesized in endoplasmic reticulum, processed and secreted via Golgi apparatus, and formed small secreted vesicles in right atrial muscles. These small vesicles were fused into the granules of atrial natriuretic peptide. The results of different loading exercises group indicated that

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2012.02.003

*基金项目:江苏省教育厅自然科学基金项目(05KJD31026)

1 扬州大学医学院,225009; 2 扬州大学医疗中心; 3 通讯作者

作者简介:韦晓英,女,硕士研究生,主治医师; 收稿日期:2011-06-23

the formation of granules of atrial natriuretic peptide increased gradually and secreted out of cells with increasing exercises loads. The results of exhaustive exercise group showed that the granules of atrial natriuretic peptide secreted out of cells, but its formation did not increase.

Conclusion: The granules of atrial natriuretic peptide were induced to form and secrete by increasing loading of exercises, while exhaustive exercises singly induced the formation of these granules.

Author's address Medical College of Yangzhou University, Jiangsu, 225009

Key word swimming exercise; rat; atrial muscle; granule of atrial natriuretic peptide

运动引起心脏结构与功能改变及调节机制等方面的研究,一直是众多学者探讨的热点问题^[1]。心钠素是主要产生于右心房肌的一种内分泌多肽,它对心脏本身具有稳态调节作用^[2-3]。目前,关于运动训练与心钠素关系的研究中,主要是检测血浆心钠素水平的变化^[3-5],但此改变不能真正代表运动时心房肌心钠素产生的情况。本实验通过建立大鼠不同运动量和力竭游泳运动模型,利用透射电镜技术,观察右心房肌的心钠素颗粒的变化,旨从形态学角度,在细胞超微结构水平探讨运动对心肌心钠素的影响,为运动训练与心脏内分泌调节功能关系的研究,合理制订运动训练强度,提供必要的形态学资料。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康SD大鼠73只,8周龄,体重(180 ± 25)g,雌雄各半,由扬州大学医学院实验动物中心提供。分笼饲养,每笼5只,自然光照,国家标准固体混合饲料喂养,自由饮水。

1.2 游泳运动及分组

大鼠购进后,适应性喂养3d,所有大鼠均在1周内适应性游泳3次,每次15min。游泳池为300L塑料水箱,四壁光滑,水深为60cm,约为大鼠身长的2倍,水温控制在(30 ± 1)℃。最后一次游泳后,将大鼠随机分为安静对照组(control group, CG)、不同运动量运动组(different loading exercise group)和力竭运动组(exhaustive exercise group, EG)。其中不同运动量运动组又分为低运动量运动组(low loading exercise group, LG)、中运动量运动组(moderate loading exercise, MG)和高运动量运动组(high loading exercise group, HG)。CG组12只,自由进食饮水,平时不运动。LG组12只,自由进食饮水,每天游泳45min,每周游6次,共12周。MG组12只,自由

进食饮水,每天游泳90min,每周游6次,共12周。HG组12只,自由进食饮水,每天游泳150min,每周游6次,共12周。EG组25只,自由进食饮水,平时不运动,在第12周进行一次力竭游泳运动前,做2次负重适应性游泳,尾部负重重量为体重的2%(用柔软的金属丝缠绕在大鼠尾巴根部),每次30min。力竭运动时,对在短时间内力竭的大鼠,捞出休息5min后,再进行游泳运动。

力竭判断的标准按照Thomas的标准,即大鼠连续3次沉入水底,每次超过10s,不能自主浮上水面;协调运动丧失,放在平面无法完成翻正反射^[6]。EG组分别在运动后即刻0h (E0G)、1h (E1G)、3h (E3G)、12h (E12G)和24h (E24G)取材,每次取5只大鼠。每次游泳后捞出大鼠,迅速用干抹布擦干水分,电暖风机吹干后,置于笼中休息。

1.3 心肌材料的制备与观察

大鼠先用2%的戊巴比妥钠腹腔麻醉,仰卧固定,剪开胸壁取其心脏,在低温下用锋利的剪刀和刀片剪去心尖,剪取右心房肌组织,迅速浸在2.5%戊二醛固定液中(0.1M, pH7.2磷酸钠缓冲液配制),4℃冰箱中保存。样品经0.1M, pH7.2磷酸钠缓冲液室温清洗3次,每次20min。1%四氧化锇固定液(0.1M, pH7.2磷酸钠缓冲液配制)室温后固定3h,然后用缓冲液清洗3次,双蒸水清洗3次,每次20min。样品经30%、50%、70%、90%、100%乙醇脱水,每次20min。样品经环氧丙烷置换后,Epon 812树脂渗透和包埋,60℃下聚合48h,获得样品树脂包埋块。树脂包埋块在Leica U6超薄切片机上,先用玻璃刀修块,再用钻石刀切取70nm的超薄切片。超薄切片经醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色后,在Philips Tecnai 12透射电子显微镜下观察与拍照。

1.4 统计学分析

心房肌心钠素颗粒的大小分析采用捷达JD801

形态图像分析系统软件(1.0)测量颗粒的直径,选取放大倍数为20k的心房肌照片,每组测定心钠素颗粒100个。采用SPSS11.0软件进行数据分析,计算平均值和标准差。组间差异比较采用 t 检验, $P<0.01$ 为有显著性差异。

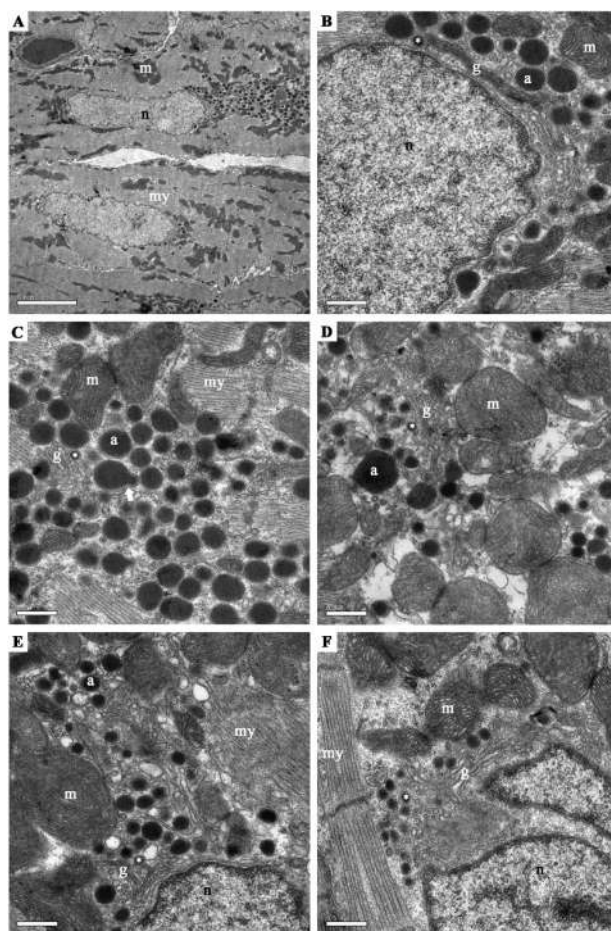
2 结果

2.1 不同运动量运动对大鼠右心房肌细胞心钠素颗粒的影响

心钠素颗粒为电子致密颗粒,有较光滑的膜,颗粒内容物呈现均质性,主要分布在细胞核的周围和肌原纤维之间(图1)。安静对照组的大鼠右心房肌细胞细胞核的周围有丰富的内质网和高尔基体,心钠素在内质网合成以后,经高尔基体加工和分泌,形成致密小泡,这些小泡相互融合形成体积较大的心钠素颗粒,贮存在细胞核旁边和肌原纤维之间(图1,A-C)。低运动量运动大鼠右心房肌细胞内的心钠素颗粒数量明显减少,且体积较小,但高尔基体较多(图1,D)。中运动量运动大鼠右心房肌细胞内的心钠素颗粒数量和体积进一步减少,而高尔基体数量增加(图1,E)。高运动量运动大鼠右心房肌细胞内的心钠素颗粒数量显著降低,其体积也较小,分布在高尔基复合体旁边(图1,F)。对不同运动量运动大鼠右心房肌细胞内的心钠素颗粒的大小进行统计分析,安静对照组心钠素颗粒大小为 $292.2 \pm 71.4\text{nm}$,低运动量运动大鼠心钠素颗粒大小为 $204.2 \pm 94.0\text{nm}$,中运动量运动大鼠心钠素颗粒大小为 $184.5 \pm 45.2\text{nm}$,高运动量运动大鼠心钠素颗粒大小为 $116.8 \pm 17.2\text{nm}$ 。组间心钠素颗粒大小差异比较表明,低和中运动量运动大鼠心钠素颗粒显著比安静对照组小,高运动量运动大鼠心钠素颗粒显著比低和中运动量运动大鼠小。组间心钠素颗粒大小比较表明,随运动时间的增加,心钠素颗粒的大小逐渐减小(图1)。心钠素是一种内分泌多肽,上述结果表明,心钠素合成后,以电子致密颗粒的形式存在于细胞中,运动量增加可以诱导心钠素颗粒分泌到细胞外,胞内心钠素颗粒数量的降低,进一步诱导心钠素的合成,因此随着运动时间的增加,心房肌细胞内心钠素颗粒数量和大小降低,高尔基复合体增多。

2.2 对大鼠右心房肌细胞心钠素颗粒的影响

图1 不同运动量运动大鼠右心房肌细胞超微结构



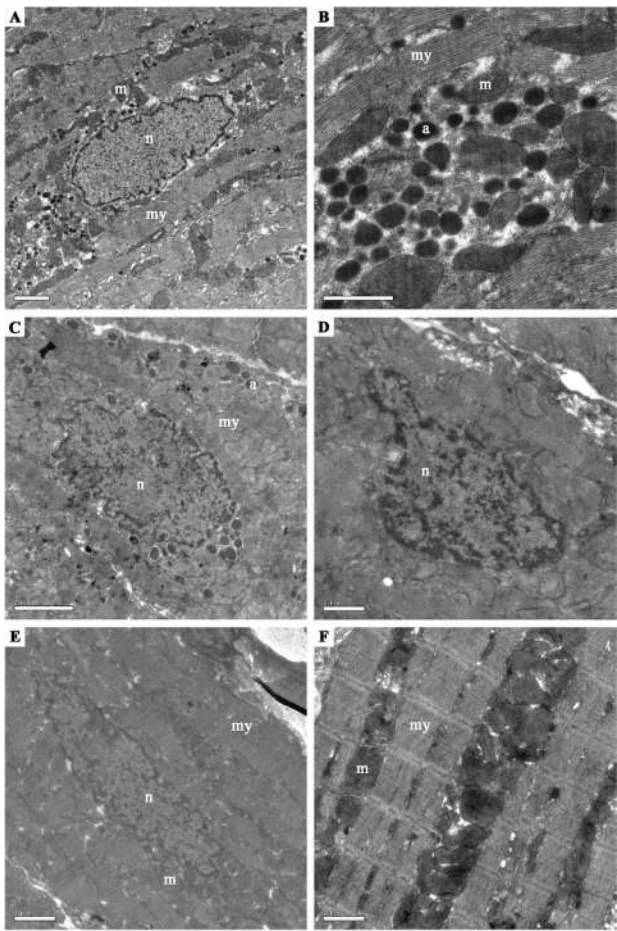
A-C: CG组; D: LG组; E: MG组; F: HG组。标尺A: $5\mu\text{m}$; B-F: $0.5\mu\text{m}$ 。a:心钠素颗粒; g: 高尔基复合体; m: 线粒体; my: 肌原纤维; n: nucleus,细胞核; *: 高尔基复合体分泌小泡; →示小泡融合。

大鼠力竭运动即刻(0h),右心房肌细胞中的心钠素颗粒较多,主要分布在核旁和肌原纤维之间,体积较大(图2,A-B)。大鼠力竭运动1h后,心钠素颗粒移向细胞膜,向外分泌,但体积未变(图2,C)。大鼠力竭运动3h和12h后,右心房肌心钠素颗粒几乎观察不到(图2,D-E)。大鼠力竭运动24h后,少量的心钠素颗粒在肌原纤维间出现(图2,F)。上述结果表明,力竭运动后,心钠素颗粒被快速分泌到细胞外,但没有新的心钠素颗粒形成,直到力竭运动24h后,心钠素颗粒才开始少量形成。

3 讨论

心钠素主要由心房的心肌细胞分泌,具有强大的利钠、利尿、舒张血管、抑制肾素-血管紧张素醛

图2 力竭运动大鼠右心房肌细胞超微结构



A-B: E0G组; C: E1G组; D:1μm E3G组; E: E12G组; F: E24G组。标尺A和C: 2μm; B, D-F: a: 心钠素颗粒; m: 线粒体; my: 肌原纤维; n: 细胞核。

固酮等作用的肽类激素。1984年,美国、日本和加拿大的科学家从人和大鼠心房组织中提取分离和纯化出心房利钠因子,可引起快速而强烈的利尿和利钠作用,简称心钠素^[2]。目前已证实心钠素是心房心肌细胞中特殊颗粒的主要成分^[7]。内质网是细胞分泌蛋白和多肽合成的场所,分泌蛋白和多肽经高尔基体加工和修饰后,在高尔基体成熟面分选形成许多小泡^[8]。在本实验中,我们观察到高尔基体成熟面衍生出许多电子致密小泡,这些小泡融合形成心钠素颗粒。

细胞的分泌活动包括组成型分泌途径和调节型分泌途径,前者运输小泡持续不断地从高尔基体运送到细胞质膜,并立即进行膜的融合,将分泌小泡中

的蛋白质释放到细胞外;后者分泌小泡只有在外部信号的诱导下,质膜产生胞内信号后小泡才与质膜融合,分泌内含物,因此又称为诱导型分泌^[8]。研究表明,大鼠经中等强度、中等以上强度及大强度耐力训练后血浆心钠素水平显著性增高^[9],力竭运动大鼠血浆心钠素水平显著高于安静对照组^[10-11],表明心钠素是调节型分泌,可以被运动诱导分泌。本文的超微结构观察结果表明,安静对照组大鼠的心钠素颗粒在核周围和肌原纤维间分布较多;不同运动量运动大鼠的心钠素颗粒的数量明显降低;大鼠力竭运动后心钠素颗粒数量急剧下降,这些结果进一步表明,运动量的增加可诱导心钠素颗粒的分泌。本文在不同运动量运动大鼠的右心房肌中观察到随运动时间的增加,高尔基体分泌小泡增加,心钠素颗粒体积变小,提示运动大鼠由于细胞内心钠素颗粒的分泌,导致细胞内心钠素颗粒的减少,进一步诱导细胞合成更多的心钠素。然而,在力竭运动大鼠右心房内没有观察到高尔基体分泌小泡,表明力竭运动只诱导心钠素的分泌,而没有心钠素的合成。

参考文献

- [1] 王鑫, 陈正东, 吴昊, 等. 力竭游泳运动对大鼠心肌细胞中间纤维和超微结构的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2007, 22(11): 968—970.
- [2] 高维伟, 王悦. 运动与心脏内分泌激素—心钠素[J]. 沈阳体育学院学报, 2004, 23(4): 506—508.
- [3] 杨连梅, 黄元讯, 黄国标. 运动与心钠素[J]. 辽宁体育科技, 2007, 29(2): 26—27.
- [4] 李井平. 运动对血浆心钠素的影响[J]. 体育科研, 2004, 25(2): 39—41.
- [5] 张慧敏, 韩英甲. 运动对心钠素及其基因表达影响的研究[J]. 井冈山学院学报(自然科学), 2007, 28(4): 84—86.
- [6] Thomas DP. Effect of acute and chronic exercise on myocardial ultrastructure[J]. Med Sci Sport Exer, 1985, 17: 546—553.
- [7] Toshimori H, Toshimori K, Matsukura S, et al. Atrial-specific granules in the hearts of normal and water-deprived rats[J]. Cell Tissue Res, 1955, 253: 547—552.
- [8] 王金发. 细胞生物学[M]. 北京, 科学出版社, 2003.
- [9] 常芸, 林福美. 运动心脏实验研究I. 耐力训练后大鼠心房超微结构、心房肽免疫细胞化学及血浆心钠素含量的改变[J]. 体育科学, 1993, 13(2): 47—50.
- [10] 刘霞, 李伟, 徐国栋. 力竭性运动对大鼠血浆心钠素及心肌血供的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(38): 7606—7608.
- [11] 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.