

游泳运动对大鼠心房肌细胞超微结构的影响

韦晓英^{1,2} 马 彬¹ 吴洪海¹ 陈应柱³ 朱永泽^{1,4}

摘要

目的:探讨不同运动量游泳运动对大鼠心房肌细胞超微结构的影响,以期运动对心肌的生理和病理变化研究提供参考资料。

方法:SD大鼠分为不同运动量运动组和力竭运动组,前者进行12周的低、中和高运动量游泳运动,后者进行1次力竭游泳运动。取右心房肌组织进行常规透射电镜样品制备,透射电镜观察心房肌细胞超微结构的变化。

结果:低和中运动量运动可使肌原纤维排列整齐,Z线变粗,I带增宽;线粒体数量增加,嵴密集排列;内质网和高尔基体丰富,合成大量心钠肽,并快速地分泌到细胞外;细胞连接增强。高运动量运动,导致肌原纤维部分Z线紊乱,核膜内陷,线粒体嵴疏松,细胞连接减弱。力竭运动对肌原纤维损伤较重,细胞核染色质固缩凝集,线粒体形态改变,嵴消失;但肌原纤维和线粒体的形态结构在力竭后24h得以部分恢复。

结论:高运动量和力竭运动可以导致心房肌超微结构破坏。

关键词 游泳运动;大鼠;心房肌;超微结构

中图分类号:R542.2, R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2013)-04-0319-06

Effect of swimming exercise on ultrastructure of atrial muscle of rat/WEI Xiaoying, MA Bin, WU Hong-hai, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2013, 28(4):319—324

Abstract

Objective: To explore the effects of different loading swimming exercises on structure of atrial muscle in rat, so as to provide some information for the changes of physiology and pathology by exercise-induced injury and recuperation of cardiac muscle.

Method: SD rats were randomly divided into two groups: different loading exercise group and exhaustive exercise group. In the different loading exercise group, the 12-week low, moderate and high loading swimming model was carried out in rats. In the exhaustive exercise group, single exhaustive swimming was carried out in rats. After exercises, rat's atrial muscles were cut off, and treated with routine procedures of transmission electron microscopy before observing the structure of atrial muscle under transmission electron microscope.

Result: In low and moderate loading swimming exercise rats, the muscle fibrils arranged orderly, the "Z" lines became thicker and the "I" bands became wider. The quantities of mitochondria increased, and their cristae arranged densely. The endoplasmic reticulum and Golgi complex revealed high metabolic activity, atrial natriuretic peptide was synthesized and secreted to the outside of cell. The cell junction enhanced. In high loading swimming exercise rats, the "Z" lines of some muscle fibrils became disordered, the nuclear envelope invaginated, the mitochondrion cristae loosened, and the cell junction weakened. For exhaustive swimming exercise rats, the structure of muscle fibrils injured seriously, chromatin condensed, the morphology of some mitochondria changed and their cristae disappeared, while the intact structure of muscle fibrils and mitochondria recovered partly at 24 hours after exhaustive swimming exercise.

Conclusion: High loading and exhaustive exercises could destroy the ultrastructure of atrial muscle.

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2013.04.009

1 扬州大学医学院,扬州,225001; 2 扬州大学医疗中心; 3 江苏省苏北人民医院; 4 通讯作者

作者简介:韦晓英,女,主治医师; 收稿日期:2012-05-29

Author's address Medical College, Yangzhou University, Yangzhou, 225001

Key word swimming exercise; rat; atrial muscle; ultrastructure

运动作为一种刺激会对心脏产生双向的影响。适宜的运动训练可对心脏产生良好的影响,否则将反之,这是长久以来为人们所公认的事实。但究竟什么样的运动形式,多大的运动强度,会对心脏产生什么样的影响,目前研究结果不甚一致。因此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^[1-3]。有关不同负荷运动和力竭运动对心脏微结构影响的研究主要集中在左心室肌细胞中^[4-14],但对心房肌细胞超微结构的影响相关文献报道较少。心脏的结构与功能较复杂,作为一个整体,功能上的影响必然会在结构上有所表现。右心房收纳全身静脉血的回流,右心房周围有重要的心脏传导系统窦房结,窦房结对心率的控制有一定的影响。另外,右心房还有重要的分泌功能,其中心钠肽是右心房心肌细胞分泌的重要调节性多肽。本实验通过建立大鼠不同运动量和力竭游泳运动模型,利用常规透射电镜技术,观察右心房肌细胞的超微结构变化,旨在从形态学角度,在细胞超微结构水平探讨运动对心房肌的影响,从运动对右心房的影响方面来评价心脏功能的改变,为运动训练与心脏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清洁级大鼠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),低运动量运动组(low loading exercise group, LG),中运动量运动组(moderate loading exercise, MG),高运动量

运动组(high loading exercise group, HG)和力竭运动组(exhaustive exercise group, EG)。

运动模型的建立参考王鑫等的方法进行^[15],具体如下: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^[16]。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%(3次)乙醇脱水,每次20min。样品最后经环氧丙烷置换后, 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。

2 结果

2.1 不同运动量游泳运动对大鼠右心房肌细胞超微结构的影响

动量运动组和高运动量运动组大鼠的右心房肌细胞超微结构进行比较,结果见图1。

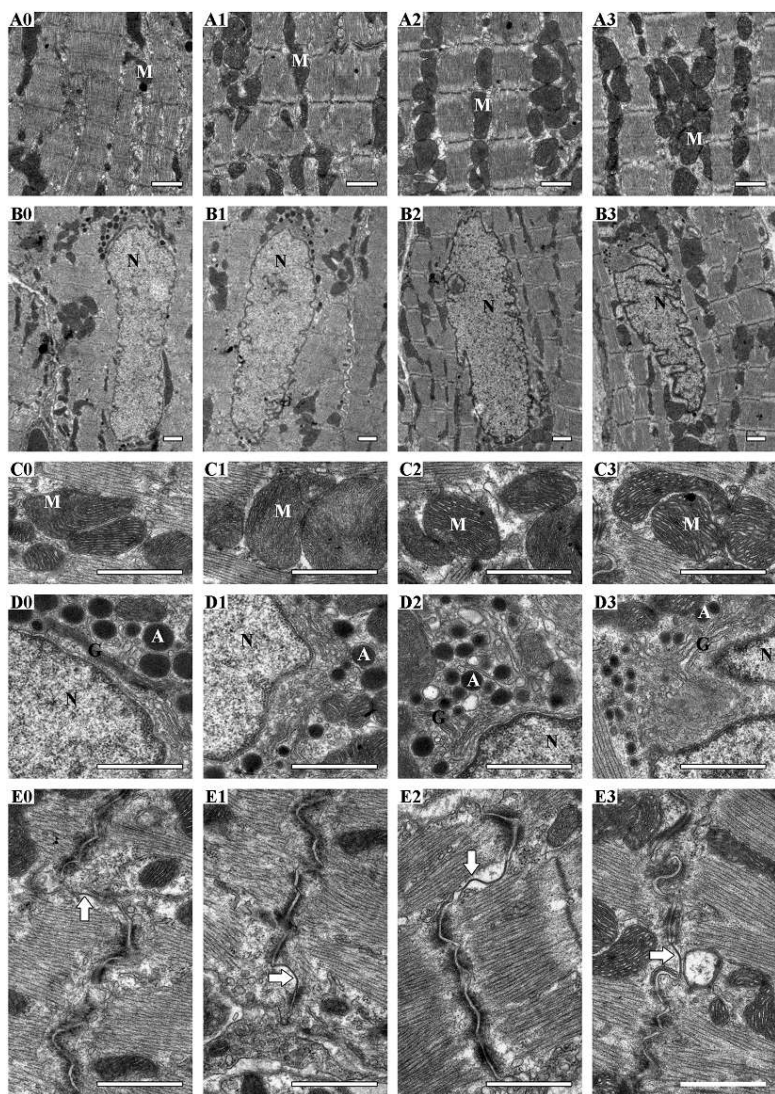
肌细胞含有许多肌原纤维,负责肌肉的收缩。

肌原纤维由整齐排列,明暗相间的肌节所组成,每个肌节分为明带(I)和暗带(A)。在明带中央有1条暗线,称为Z线;在暗带中央有一条明带,称为H带;H带中央有1条暗线,称为M线(图1-A)。CG组肌原纤维排列整齐;肌节结构完整,形态正常,I带、A带、H带、Z线和M线清晰可见(图1-A0)。LG组肌原纤维排列比CG组整齐,肌节Z线增粗变宽,I带比CG组明显(图1-A1)。MG组肌原纤维排列更整齐,肌节Z线排列在同一平面上,I带变宽(图1-A2)。HG组肌原纤维排列虽然整齐,但Z线不在同一平面,肌节错落不齐,I带比MG组变窄(图1-A3)。上述结果表明,低和中运动量运动可以使肌原纤维排列整齐,Z线变粗,并排列在一个平面上,I带增宽;而高运动量运动可以使部分肌原纤维Z线错乱。

细胞核是细胞内重要的细胞器,在右心房肌细胞中呈短棒形(图1-B)。CG组肌细胞细胞核结构完整,核质正常,核膜基本不内陷(图1-B0)。LG组和MG组肌细胞细胞核膜局部开始内陷,但核质正常(图1-B1,1-B2);而HG组肌细胞细胞核膜内陷加剧,局部还形成一些核残体(图1-B3)。上述结果表明,尽管细胞核核质正常,但随着运动量的增加,核膜内陷加剧。

线粒体是细胞能量转换的细胞器,肌细胞中线粒体含量较多,为肌细胞的运动提供能量(图1-C)。CG组肌细胞线粒体分散在肌原纤维中间(图1-A0),线粒体膜结构完整,嵴密集平

图1 不同运动量游泳运动大鼠右心房肌细胞超微结构比较



(A):肌原纤维比较;(B):细胞核比较;(C):线粒体比较;(D):高尔基体和心钠素颗粒比较;(E):细胞连接比较

(0):安静对照组;(1):低运动量运动组;(2):中运动量运动组;(3):高运动量运动组

A:心钠素颗粒;G:高尔基体;M:线粒体;N:细胞核

箭头示缝隙连接;标尺=1mm

大鼠右心房肌细胞含有大量的肌原纤维,线粒体、高尔基体和心钠素颗粒比较丰富。从肌原纤维、细胞核、线粒体、高尔基体和心钠素颗粒、细胞连接等几个方面,对安静对照组、低运动量运动组、中运

行排列于线粒体基质中(图1-C0)。LG组肌细胞线粒体数量开始增加(图1-A1),结构完整,嵴变得较密集(图1-C1)。MG组肌细胞线粒体数量进一步显著增加,整齐排列于肌纤维之间(图1-A2),线粒体膜结构完整,但线粒体基质间隙比LG组大(图1-C2)。HG组肌细胞线粒体数量增加非常显著,有些线粒体形态变得不规则(图1-A3),线粒体膜结构仍然完整,嵴排列整齐,但线粒体基质稀疏(图1-C3)。上述结果表明,随着运动量的增加,线粒体数量显著增加,低和中运动量运动线粒体嵴密集排列,但高运动量运动线粒体嵴较疏松。

右心房除参与运动外,还具有重要的分泌功能,其中心钠肽是右心房肌细胞分泌的重要调节性多肽。心钠肽在右心房肌细胞中的内质网合成后,经高尔基体加工,在高尔基体成熟面分选形成电子致密小泡,这些电子致密小泡相互融合,形成较大的由单层膜包围的心钠肽颗粒,位于细胞核旁和肌原纤维之间,因此心房肌细胞富含高尔基体和心钠肽颗粒(图1-D)。CG组肌细胞核旁有丰富的内质网和高尔基体,在高尔基体附近有体积较大的心钠肽颗粒(图1-D0)。但随着运动量的增加,心房肌细胞内的内质网、高尔基体数量明显增加,高尔基体衍生的电子致密小泡也增加,但心钠肽颗粒的数量和体积逐渐降低(图1-D1—图1-D3)。上述结果表明,随着运动量的增加,心房肌细胞中内质网和高尔基体变得比较活跃,合成大量心钠肽,并快速地分泌到细胞外。

右心房肌细胞之间通过细胞连接联系在一起,以锚定连接(包括黏着带和桥粒)和缝隙连接为主(图1-E)。CG组肌细胞之间的细胞连接呈波浪状,以桥粒连接为主(图1-E0)。LG组肌细胞连接较为紧密,桥粒数量明显增加,间隙连接也较多(图1-E1)。MG组细胞连接呈直线排列在一个平面上,锚定连接和缝隙连接发达(图1-E2)。HG组细胞连接呈锯齿状,锚定连接不发达,但缝隙连接丰富(图1-E3)。上述结果表明,随着运动量的增加,细胞连接增强,尤其是缝隙连接显著增多,但高运动量运动,细胞连接不整齐,锚定连接减弱。

2.2 力竭游泳运动对大鼠右心房肌细胞超微结构的影响

对力竭运动即刻(0h)、1h、3h、12h和24h的大鼠右心房肌细胞进行超微结构观察,结果见图2。从肌原纤维、细胞核和线粒体三个方面分析力竭运动对右心房肌细胞超微结构的影响。

力竭即刻组肌原纤维排列较整齐,肌节虽然可以分辨,但A带、I带、H带、Z线和M线不清晰(图2-A0)。力竭1h,肌原纤维仍然存在,但不清晰(图2-A1)。力竭3h,肌原纤维很难分辨(图2-A2)。力竭12h,肌原纤维损伤加剧,排列紊乱,Z线、M线均消失(图2-A3)。力竭24h,肌原纤维又重新出现,A带、I带和Z线清晰可见(图2-A4)。上述结果表明,力竭运动对肌原纤维损伤较重,而肌原纤维在休息以后较长时间内可以恢复。

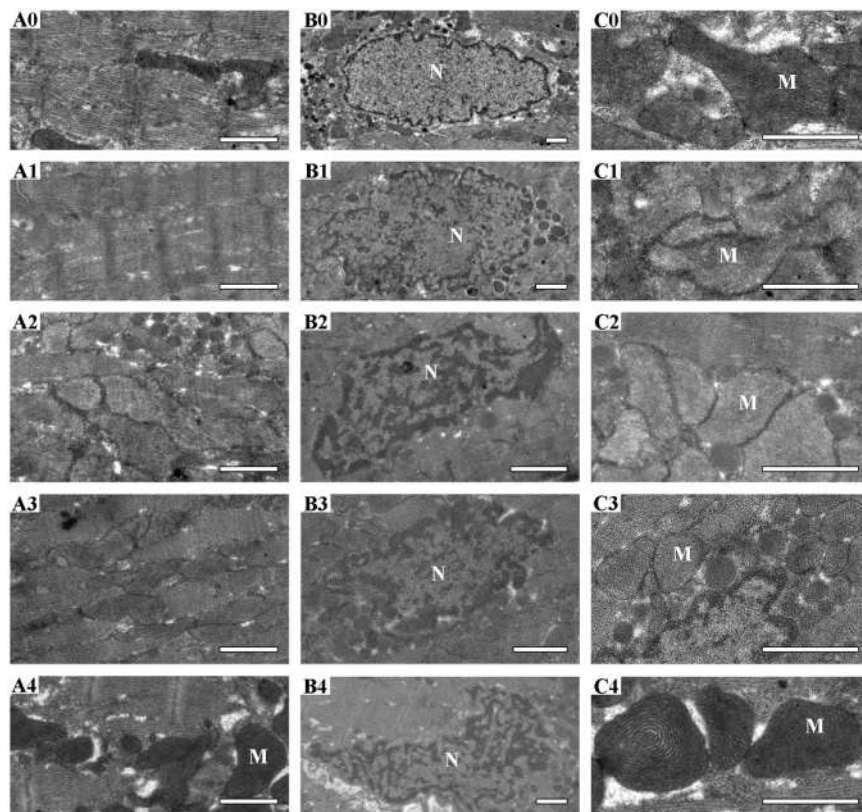
力竭运动后不同时间内,心房肌细胞核的变化较明显。力竭即刻,细胞核形态和核质正常,但核膜内陷,周围有心钠素颗粒(图2-B0)。力竭后1h,肌细胞核膜内陷加剧,核质开始凝集,核周围有心钠素颗粒(图2-B1)。伴随力竭后时间的延长,细胞核中的染色质逐渐呈现异固缩现象,表现为凋亡细胞核的特征,核周围心钠素颗粒消失(图2-B2—图2-B4)。上述结果表明,力竭运动诱导肌细胞核染色质凝集固缩。

力竭后不同时间,肌细胞线粒体结构变化较显著(图2-C)。力竭即刻,肌细胞部分线粒体结构完整,嵴清晰可见,而部分线粒体嵴模糊不清(图2-C0)。力竭1h,肌细胞线粒体形状虽然可以分辨,但嵴模糊难辨(图2-C1)。力竭3h,肌细胞线粒体形态发生显著改变,嵴模糊难辨(图2-C3)。力竭12h,肌细胞线粒体虽然形状可以分辨,但嵴消失(图2-C3)。力竭24h,肌细胞线粒体重新恢复到正常的形态结构,线粒体膜结构完整,嵴密集,平行排列于线粒体基质中(图2-C4)。上述结果表明,力竭运动对线粒体的结构损伤较严重,但力竭后较长时间内,线粒体结构可以恢复。

3 讨论

运动作为一种特殊的应激源,适度的运动可引起心脏形态机能产生良好的适应性改变,因此不同负荷运动对心肌超微结构的影响是运动生理学中研究得较为深入的一个课题^[1-3]。一系列的研究表明,

图2 大鼠力竭游泳运动后不同时间的右心房肌细胞超微结构比较



(A):肌原纤维比较;(B):细胞核比较;(C):线粒体比较

(0):力竭即刻组;(1):力竭后1h组;(2):力竭后3h组;(3):力竭后12h组;(4):力竭后24h组

M:线粒体;N:细胞核;标尺=1mm

小负荷和中负荷运动导致心肌细胞线粒体数量增加,肌纤维排列整齐,细胞连接增强,并认为这是心肌对运动训练的良好适应;而大负荷运动对肌细胞产生损伤,如部分肌原纤维断裂,闰盘失去台阶状结构,线粒体肿胀,空泡状,核凋亡等^[4-10]。上述研究结果都是来自不同负荷运动对左心室的研究,而运动对右心房的影响报道较少。本文的研究表明,低和中运动量运动有利于右心房肌细胞肌纤维排列整齐,线粒体数量增加,嵴密集,细胞连接发达等,这与前人对左心室肌细胞的观察结果基本一致。本文的高运动量运动对右心房肌细胞损伤影响不大,这与前人对左心室的研究结果有差异,分析原因可能是与左心室和右心房的功能不同有关;在血液循环中,左心室比右心房产生的收缩力要大得多有关。心房肌细胞不仅参与肌肉收缩,而且还具有重要的分泌功能。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,小泡融合形成分泌泡^[17]。因此,本文观察到心房肌细胞中含有丰富的内质网、发达的高尔基体及独特的心钠肽颗粒。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^[18]。本文在不同运动量运动大鼠的右心房肌中观察到随运动量的增加,内质网和高尔基体数量增加,高尔基体分泌小泡也增加,心钠素颗粒体积变小,表明运动诱导心钠素颗粒的合成和分泌,这从微结构角度支持了前人对运动与心钠素关系的研究结果。

大量实验证明,力竭性游泳运动后,大鼠左心室肌细胞超微结构出现损伤性变化,而且这种损伤变化还表现出一种延迟性,即在运动后的中期,这种损伤性变化表现得更为显著;在运动后的后期,损伤情况开始好转^[11]。说明力竭性游泳运动对大鼠的左心室肌细胞超微结构造成了一定的损伤,这种损伤具有在运动后恢复时间中可变性的特点。本文的结果

表明,力竭运动对大鼠右心房的损伤与前人报道的左心室损伤相似,也表现为力竭运动后的中期(力竭即刻到力竭运动后12h)损伤加剧,而在力竭运动后期(力竭运动后24h),右心房肌细胞微结构得以恢复。研究发现,心肌缺血期和缺血再灌注期,心肌细胞的超微结构也发生损伤性变化^[19]。本实验力竭运动对右心房损伤结果可能与力竭运动造成心肌在一定程度上的缺血有关。这种缺血不是绝对意义上的心肌缺血,而是由于运动使得心肌需血量剧增,此时心肌供血又无法满足,造成的“相对心肌缺血”^[20-21]。心肌超微结构的变化可能与运动后心肌“相对性缺血再灌注损伤”和自由基损伤、蛋白水解酶等多种因素有关^[22-23]。力竭运动停止后期,心脏的血供开始增加,又形成了一种“相对性缺血再灌注”^[22-23]。研究证明,大鼠经力竭游泳后,心肌中自由基丙二醛含量显著上升,而清除自由基的SOD活性明显下降,心肌组织受损。而在缺血期和再灌注初期,心肌中 Ca^{2+} 浓度升高,某些蛋白酶被激活,这些都是加剧超微结构损伤的因素^[22-23]。随着时间的推移,大鼠心肌中清除自由基的防御系统逐渐恢复,缺血以及缺血再灌注损伤得以改善,细胞胞浆中 Ca^{2+} 逐渐开始恢复到正常水平^[22-23],因而,心肌微结构得以恢复。

尽管目前人们对运动引起心肌损伤的详细机制还没有完全清楚,但总体来说,比较一致的观点是中低强度运动会心脏产生较好效果,而力竭运动或长期过度训练则起到相反的作用,不仅不利于心脏正常机能的发挥,反而会损害其正常机能,甚至会产生病理性变化,危害健康。本文对不同运动量和力竭游泳运动对大鼠心房肌超微结构影响的观察结果也支持这种观点。此外,比较不同运动量对心脏心室肌与心房肌的影响,从超微结构上来看,还是有差异的,这种差异可能与心室和心房的功能不同有关,这还有待于进一步的研究。

参考文献

- [1] 侍勇.不同强度的运动对心脏的影响[J].南京体育学院学报(自然科学版),2004,3(1):22—25.
- [2] 林晶,李世昌.不同运动负荷对心肌形态结构影响研究进展[J].辽宁体育科技,2008,30(4):20—22.
- [3] 黄丽英.低氧运动对大鼠心肌线粒体结构和功能的影响[J].首都体育学院学报,2009,21(4):462—465.
- [4] 李开刚,陆绍中.不同强度的耐力训练后大鼠心肌超微结构适应性变化的研究[J].中国应用生理学杂志,1997,13(3):193—197.
- [5] 梅焰,毛宗珍,葛新发.不同运动负荷大鼠心肌超微结构变化的研究[J].武汉体育学院学报,2003,37(2):47—79.
- [6] 孙红梅.不同运动负荷对大鼠心肌超微结构及一氧化氮与一氧化氮合酶的影响[J].北京体育大学学报,2008,31(7):936—938.
- [7] 雷志平,王伟,王煜,等.间歇性低氧训练对急性运动大鼠心肌超微结构的影响[J].中国运动医学杂志,2004,23(1):90—93.
- [8] 洪长青,邓树勋.三种训练对大鼠心肌细胞超微结构的影响[J].浙江体育科学,2000,22(3):55—59.
- [9] 宋丹云,张文光,郑敏麟.超负荷训练后小鼠心肌线粒体超微结构的形态计量学研究[J].福建中医学院学报,2004,14(3):20—22.
- [10] 杨忠伟.短期大强度训练对大鼠心脏超微结构和功能变化的影响及Captopril的调节作用[J].中国运动医学杂志,2002,21(2):211—212.
- [11] 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.
- [12] 曹世义,周珍.力竭性游泳对小白鼠心肌线粒体超微结构的影响[J].中国煤炭工业医学杂志,1998,1(1):75.
- [13] 赵敬国,王福文.力竭性运动后不同时相大鼠心肌形态结构的改变观察[J].中国运动医学杂志,2001,20(3):316—317.
- [14] 高瑞芳,常芸,刘云清,等.力竭运动后大鼠心肌组织结构改变及不同时相PPAR α 表达的变化[J].中国运动医学杂志,2009,28(5):264—268.
- [15] 王鑫,徐运,林琳,等.游泳运动对大鼠血管平滑肌细胞中间纤维和超微结构的影响[J].中国伤残医学,2010,18(5):4—7.
- [16] Thomas D P. Effect of acute and chronic exercise on myocardial ultrastructure[J]. Med Sci Sports Exerc, 1985, 17(5):546—553.
- [17] 王金发.细胞生物学[M].北京:科学出版社,2003.
- [18] 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.
- [19] 杨海玉,曾玉杰,黄台军,等.曲美他嗪对心肌缺血时细胞骨架损伤的作用[J].中国心血管杂志,2003,8(6):424—428.
- [20] 刘铁民,张玉泉,孙玉堂,等.过度训练状态下大鼠心肌细胞病理变化的研究[J].四川体育科学,2002,(3):13—15.
- [21] 王福文,胡志力,李杰.力竭性运动致运动性心肌损伤的产生机制[J].中国临床康复,2005,9(8):144—146.
- [22] 毛丽娟,许豪文.长时间力竭游泳对大鼠心肌线粒体膜和基质游离钙的影响[J].体育科学,2001,21(1):55—57.
- [23] Papp Z, van der Velden J, Stienen CJ. Calpain-I induced alterations in the cytoskeletal structure and impaired mechanical properties of single myocytes of the rat heart[J]. Cardio-vasc Res, 2000, 45(4):981—993.