

基于蛋白质组学的中等强度有氧运动对大鼠心房肌物质能量代谢蛋白差异表达的研究*

彭 勇^{1,2} 史绍蓉^{1,3} 黄思敏¹ 徐 哲¹ 郭远盘¹

摘要

目的:基于蛋白质组学的研究技术与方法,研究4周中等强度有氧运动对大鼠心房肌蛋白质组差异表达的影响,揭示中等强度有氧运动对心房肌物质能量代谢影响的规律。

方法:建立速度24m/min、持续时间40min(负荷强度相当于60%—70%VO_{2max}),持续训练4周的中等强度有氧运动实验动物模型。应用双向凝胶电泳技术(2-DE)分离心房肌蛋白质点,串联飞行时间质谱仪技术鉴定电泳结果中表达量上调≥5倍以上,下调至1/5以下的13个备选目标蛋白质点。

结果:鉴定结果有7个与心房肌细胞物质能量代谢相关的蛋白或酶,其中线粒体乌头酸水合酶上调5.7倍,丙酮酸脱氢酶E1α1表达量上调6.4倍,线粒体琥珀酸脱氢酶黄素蛋白亚基下调6.9倍,甲基丙二酸半醛脱氢酶[酰基]上调6.3倍,异戊酰辅酶A脱氢酶下调6.9倍,线粒体二氢硫辛酸脱氢酶下调5.7倍,细胞质苹果酸脱氢酶表达量下调7.3倍。

结论:①中等强度有氧运动诱导心房肌蛋白质组表达量与强度出现显著变化,同时诱发心脏出现生理性肥大。②筛选出甲基丙二酸半醛脱氢酶[酰基],该蛋白在运动生物医学领域尚未展开深入研究,为运动改善心房肌物质能量代谢的研究带来新的研究内容。③中等强度有氧运动可能改善心房肌物质氧化代谢水平,上述差异蛋白是否具有运动依赖性和蛋白之间的联系还需进一步验证。

关键词 蛋白质组;有氧运动;心肌能量代谢;质谱鉴定;双向凝胶电泳

中图分类号:R743.3,R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2019)-05-0521-06

The influence of moderate aerobic exercise on the differential expression of energy metabolic protein in rat atrial muscle by based on proteomics research/PENG Yong,SHI Shaorong,HUANG Simin,et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2019, 34(5): 521—526

Abstract

Objective:To examine the effect of the 4 weeks of moderate intensity aerobic exercise on the differential expression among rat atrial muscle proteome and screen out the target protein spots in atrial muscle which are closely related to the aerobic exercise adaptation, and the effects of moderate intensity aerobic exercise on the metabolism of substance and energy in atrial muscle were revealed

Method: We established a experimental animal model with 24m/min×40min sports load intensity training, which lasted for four weeks of aerobic exercise(load intensity equivalent to 60%—70%VO_{2max}). 6 hours after the last training, we extracted the total protein from atrial tissue and the protein was separated by two-dimensional gel electrophoresis(2-DE). 13 target protein spots with more than 5 times increase or decrease to less than 1/5 will be identified by tandem time-of-flight mass spectrometer .

Result: The identification results revealed 7 proteins or enzymes that related with atrial muscle cell energy metabolism: mitochondrial aconitate hydratase with 5.7 times increase, pyruvate dehydrogenase E1α1 with 6.4

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2019.05.005

*基金项目:湖南省科技厅计划项目(2007FJ3075)

1 湖南师范大学体育学院; 2 南京体育学院运动健康科学系; 3 通讯作者

作者简介:彭勇,男,实验师; 收稿日期:2017-12-13

times increase, mitochondrial succinate dehydrogenase flavoprotein subunit with 6.9 times decrease, methylmalonic semialdehyde dehydrogenase [acyl] up with 6.3 times increase, ISO isoamyl acyl coenzyme A dehydrogenase with 6.9 times decrease, mitochondrial dihydrolipoate acid dehydrogenase with 5.7 times decrease, cytoplasmic malate dehydrogenase expression with 7.3 times decrease.

Conclusion: ①The moderate intensity aerobic exercise induced a significant change in the expression and intensity of atrial muscle proteome, while induced physiological hypertrophy in the heart.②It was found that the methyl malonate semialdehyde dehydrogenase [acyl] has not been involved in the sports medicine research. Intensive research for this protein will bring new research contents.③Moderate intensity aerobic exercise can improve the level of oxidative substance metabolism in atrial muscle. It is necessary to verify the exercise dependency and the connection between the difference protein in the future.

Author's address Dept. of Health Sports Science, Nanjing Sport Institute, Nanjing, Jiangsu Province, 210014

Key word proteomics; aerobic exercise; myocardial energy metabolism; mass spectrometry; two-dimensional gel electrophoresis

步入后基因时代以来,基于双向凝胶电泳和质谱鉴定技术的运动心脏重塑蛋白质组学研究已经逐渐开展,国际上关于该领域的研究主要集中在运动对左心室和心肌线粒体蛋白质组的差异表达的影响。Sun、Bansal、Kavazis、Ferreira等^[1-4]分别研究了长期的游泳运动和跑台运动对左心室、心肌线粒体蛋白质的影响,结果发现有氧运动能够促使心肌组织中的ATP合成酶(ATPsynthase)、NADH(Nicotinamide adenine dinucleotide)脱氢酶亚基等能量代谢相关蛋白表达上调,提高心肌细胞葡萄糖、脂肪酸等物质有氧代谢能力,改善心肌线粒体功能,促进心肌细胞呼吸,使心脏功能节省化,提高心脏的泵血功能,适应运动过程的需求。

史绍蓉、裘丽、刘建荣等^[5-7]研究了一次性力竭、8周的逐级递增负荷、8周中等强度运动(70%—80%VO₂max)有氧运动诱导大鼠心房肌蛋白质组差异表达特征,发现3种不同生理负荷运动刺激均诱导大鼠心房肌蛋白质组发生特征性差异表达,一次性力竭和递增负荷大强度运动诱发大鼠心房肌蛋白质组出现数个蛋白质点“缺失”,而在中等强度运动心房肌中未发现缺失或新增的蛋白质点,从心房肌蛋白质组的差异表达特征分析,运动心脏的重塑过程中,运动负荷强度、持续时间、训练周期等因素会影响心房肌蛋白质组的差异表达。综上所述,运动心脏的重塑过程可能通过诱发心肌蛋白质组的重塑而实现心脏形态、结构、生理功能上的重塑。鉴此,本实验研究4周中等强度有氧运动对心房肌蛋白质组的影

响,探讨中等强度有氧运动对心房肌物质、能量代谢蛋白质组的影响规律,为运动心脏重塑、运动心脏康复的生物机制研究提供新实验依据与方向。

1 材料与方法

1.1 实验对象与分组

20只雄性SD大鼠购于湖南农业大学实验动物部,2月龄,体重为232±8.3g,清洁级实验动物。按国家标准啮齿类动物饲料喂养,自由进食和饮水。适应性训练1周后,20只大鼠按体重和运动能力配对随机分为对照组和实验组,每组10只。

1.2 实验动物运动模型的建立

参考Hsieh和Bedford^[8-9]建立4周中等强度有氧运动实验动物模型。大鼠购入后第1周进行5天适应性跑台训练(跑台坡度为0°),实验组正式训练每天速度为24m/min,训练持续40min(运动负荷强度相当于60%—70%VO₂max),持续训练4周,每周训练6天,周日休息。

适应性训练方案:第1天10min×10m/min,第2天10min×15m/min,第3天18min×15m/min,第4天21min×20m/min,第5天24min×20m/min。

1.3 仪器与试剂

主要仪器设备和试剂参考史绍蓉、万莉莉的相关研究文献^[10-13]。主要实验仪器有实验动物跑台(国产,型号:BW-BTW-703)、蛋白质分离等电聚焦电泳系统(美国GE Healthcare公司;型号:Ettan-IP-GPhor 3)、聚丙烯酰胺凝胶电泳垂直平板电泳系统

(美国Bio-Rad公司;型号:Powerpac Universal)、基质辅助激光解析串联飞行时间质谱仪(MALDI-TOF/TOF)(德国Bruker;型号:ultraflex)紫光图像扫描仪(清华紫光;型号:Uniscan-D3000)、低温冷却液循环泵郑(国产;型号:DLSB-210)。

主要实验试剂有固相pH梯度等电聚焦干胶条(Amersham公司, Immobilized dry strip pH3—10 L、长度18cm), TEMED(美国、LOT: C78-33)、BIS-Acrylamide 购于 Amersham Pharmacia 公司(LOT: 189713011); IAA、DTT、硫脲均购于 Sigma 公司(LOT分别为:43214、56432、67890); APS、溶解酵素购于 Bio-rad 公司; 尿素、NP-40、载体两性电解质(Parmalyte 3—10)、PMSF、CHAPS、SDS、丙烯酰胺均购于 Amersham Pharmacia 公司。

1.4 样品制备

1.4.1 取材:持续训练4周,末次训练结束后6h,实验组、对照组大鼠称重后并适量麻醉,打开胸腔暴露心脏,使用4℃的生理盐水对活体心脏进行灌流之后并迅速摘除心脏,用4℃冷生理盐水反复冲洗干净,滤纸充分吸干水分并称量心脏重量,分离心房肌组织并放置液氮中冷冻贮存备用。

1.4.2 蛋白提取:心房肌组织的样品蛋白提取方法与技术参考文献^[10-13],采用Bradford^[14]法对样品蛋白质含量进行测定,运动组样品蛋白含量32.86μg/μl,对照组样品蛋白含量31.57μg/μl,将样品以1mg量分装EP管,在-70℃冰箱中保存备用。

1.5 双向凝胶电泳方法与图像分析

参考Gorg^[15]的方法和IPGhor等电聚焦系统操作指南进行固相-pH梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳(2-DE)操作,2-DE凝胶染色采用改良的考马斯亮蓝染色法。清华紫光D3000图像扫描仪透射扫描凝胶所获得图谱,ImageMaster 2D Platinum图像分析软件进行详细分析,分析比较对照组和实验组图谱上蛋白质斑点差异。

1.6 质谱鉴定分析

应用串联飞行时间质谱蛋白质仪器进行蛋白质的质谱鉴定,选取一级质谱的肽质量指纹图谱上峰值较高的肽段峰进行二级质谱鉴定,以对一级质谱鉴定的蛋白质进行进一步的确证。

1.7 统计学分析

蛋白质点的数目、心脏重量用平均数±标准差统计描述,大鼠心重指数用百分数统计描述,实验组与对照组间的差异比较采用双侧 t 检验, $P<0.05$ 为差异具有显著性意义。

2 结果

2.1 大鼠心脏重量变化

实验组大鼠心脏重量和心脏重量指数(心脏重量/体重)与对照组对比,百分率数值分别增加6.2%、13.7%(表1),心脏重量和心脏重量指数增加的差异具有显著性意义($P<0.05$),提示:4周的中等强度有氧运动已经诱发使大鼠的心脏发生肥大。

表1 两组大鼠心脏重量与心重指数的变化 (n=10)

测量指标	心脏重量(mg)	心重指数(mg/g)
对照组	970±210	2.48±0.19
实验组	1030±90	2.82±0.14 ^①
变化率(%)	6.2%	13.7%

①与对照组比较 $P<0.05$

2.2 中等强度有氧运动后心房肌2-DE图谱

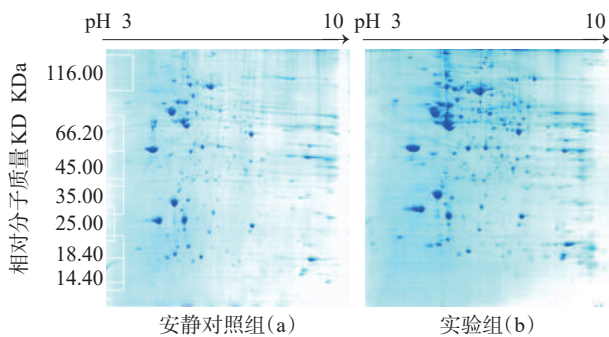
对照组、实验组各重复进行3次电泳,对照组、实验组的3张电泳图谱平均匹配率分别为64.57%±2.35%、62.48%±1.5%。通过ImageMaster 2D Platinum软件分析图谱,对照组、实验组分别平均检测到370±35个蛋白质点、422±7个蛋白质点,具体蛋白质点表达分布情况如图1所示。

本实验结果显示,4周中等强度有氧运动后,与对照组对比,实验组大鼠心房肌未出现“缺失”、“新增”的蛋白点,共筛选比对出53个差异表达蛋白质点。其中运动后表达量增强2倍以上有29个,其中表达量增强5倍以上的点有5个,下降至50%以下的蛋白质点有23个,下调至20%以下的蛋白质点8个。

2.3 质谱鉴定结果

4周中等强度有氧运动后大鼠心房肌中表达量差异变化≥5倍的13个备选目标蛋白质点采用串联飞行时间质谱仪进行检测与鉴定,所获得的肽谱和肽段氨基酸数据结果在ncbi蛋白数据库中检索,最终鉴定出11个蛋白质和一个等电点是6.21、分子量是(Mr)54.669 KDa,运动后表达量下调10.9倍的未知蛋白,其中7个蛋白是与心肌细胞物质能量代谢有关的蛋白或酶(表2)。

图1 大鼠4周运动后心房肌蛋白质2-DE代表图谱



107号点是线粒体乌头酸水合酶,等电点(pI)7.87,分子量(Mr)86.121 KDa,运动后表达量上调5.7倍。165号点是线粒体琥珀酸脱氢酶黄素蛋白亚基,等电点(pI)6.75,分子量(Mr)72.596Kda,运动后表达量下调6.9倍。236号点是线粒体二氢硫辛酸脱氢酶,等电点(pI)5.88,分子量(Mr)54.574,运动后表达量下调5.7倍。244号点为甲基丙二酸半醛脱氢酶[酰基],等电点(pI)8.44,分子量(Mr)58.396 KDa,运动后表达量上调6.3倍。265号点为丙酮酸脱氢酶E1 α 1,等电点(pI)8.49,分子量(Mr)43.872 KDa,运动后表达量上调6.4倍。393号点为异戊酰辅酶A脱氢酶,等电点(pI)6.12,分子量(Mr)46.862KDa,运动后表达量下调6.9倍。449号点为细胞质苹果酸脱氢酶,等电点(pI)6.16,分子量为(Mr)36.631KDa,运动后表达量下调7.3倍。

图2—3分别为265号点丙酮酸脱氢酶E1 α 1(Pyruvate dehydrogenase E1 alpha 1)的一级、二级质谱图,二级质谱图是一级质谱图中选取若干肽段进行再次质谱鉴定获得,其中二级质谱图的肽段峰值为1540.720,图中的横坐标、纵坐标分别代表肽段(分子离子的质荷比)、肽段峰值(相对丰度)。

表2 筛选出与心肌物质能量代谢相关的目标蛋白质点的质谱鉴定结果

SSP	Protein name	Mr (KDa)	pI	Variation
107	线粒体乌头酸水合酶	86.121	7.87	up 5.7倍
165	线粒体琥珀酸脱氢酶黄素蛋白亚基	72.596	6.75	down 6.9倍
236	线粒体二氢硫辛酸脱氢酶	54.574	5.88	down 5.7倍
244	甲基丙二酸半醛脱氢酶[酰基]	58.396	8.44	up 6.3倍
265	丙酮酸脱氢酶E1 α 1	43.872	8.49	up 6.4倍
393	异戊酰辅酶A脱氢酶	46.862	6.16	down 6.9倍
449	细胞质苹果酸脱氢酶	36.631	6.35	down 7.3倍

图2 265号点丙酮酸脱氢酶E1 α 1的一级质谱图

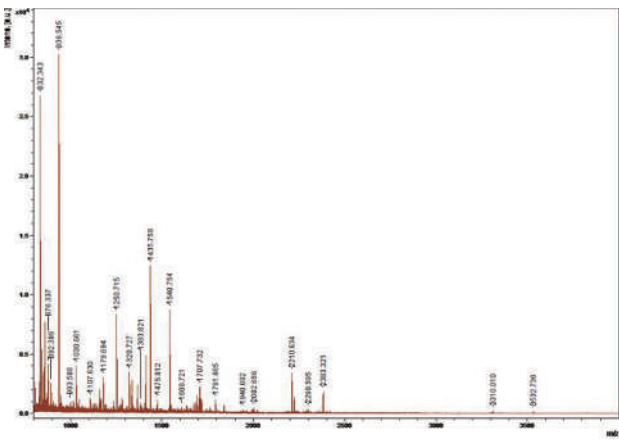
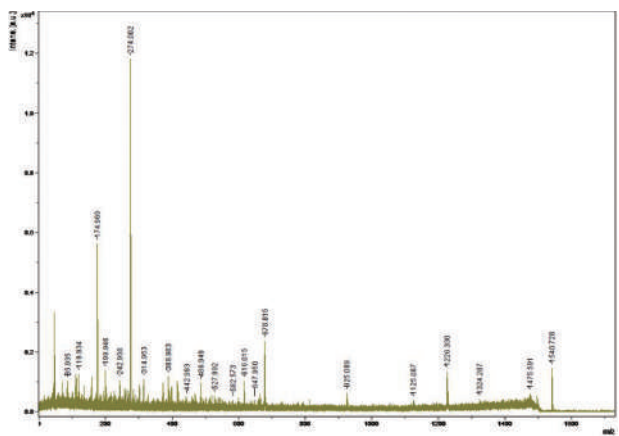


图3 265号点丙酮酸脱氢酶E1 α 1的二级质谱图



3 讨论

3.1 心脏重量变化的分析

本实验结果显示,实验组与对照组比较,大鼠心脏重量、心脏重量指数(心脏重量/体重)增加,其中心脏重量和心脏重量指数的增加具有显著性意义。本研究采用心脏重量指数作为判断心脏肥大的指标,拟推测4周中等强度有氧运动可能诱发心脏出现适应性生理性肥大,诱导部分心肌能量代谢蛋白适应性表达,引起心肌能量代谢水平增高,增强心肌收缩力和泵血功能。

3.2 质谱鉴定结果分析

运动心脏重塑过程中,心脏能量代谢途径发生了相适应的变化。本实验结果显示,4周中强度有氧运动诱导大鼠心房肌蛋白质组发生了显著的变化。对其差异量表达变化 ≥ 5 的13个蛋白质点进行

质谱鉴定,筛选了7个与心肌能量代谢有关的蛋白或酶,这些蛋白主要与心肌的有氧氧化代谢中的三羧酸循环和氨基酸代谢过程有关。

3.2.1 中等强度有氧运动对心房肌三羧酸循环的影响:107号点鉴定为线粒体乌头酸水合酶,又称乌头酸酶或柠檬酸(异柠檬酸)水解酶,是三羧酸循环中的重要酶,ACO₂催化活性强,催化柠檬酸氧化形成异柠檬酸,是一种Fe-S蛋白,存在于线粒体。史绍蓉的急性力竭运动对大鼠心房肌蛋白质组影响的研究中发现该蛋白运动后的表达量上调了15.42倍,认为力竭运动迫使心房肌对能量需求增加,机体增加乌头酸酶的活性来加速能量代谢过程,满足力竭运动需求^[16]。相反,徐哲^[17]的研究结果显示8周与本研究相同运动强度的有氧运动后右心室肌中该蛋白表达量下调了11.3倍,认为可能是长期运动促使活性氧产物增加而抑制了该蛋白的表达。本实验结果显示4周中等强度有氧运动诱使心房肌中ACO₂表达量上调了5.7倍,与上述二位研究者的研究结果比较分析,发现ACO₂的表达可能存在不同强度、不同持续训练周期、不同位置心肌的表达量差异,其差异表达的机制还需实验进一步研究。本实验可能通过4周中等强度有氧运动使乌头酸水合酶表达增加,以改善心脏能量供应,增强心房肌收缩能力。

165号点鉴定为线粒体琥珀酸脱氢酶黄素蛋白亚基,主要功能是参与线粒体电子传递链复合体Ⅱ,影响电子从琥珀酸转移到辅酶Q。449号点鉴定为细胞质苹果酸脱氢酶,三羧酸循环的最后一步反映由苹果酸脱氢酶催化苹果酸脱氢生成草酰乙酸,脱下的氢由NAD⁺接受。

马继政、Sun^[18,19]研究了8周大强度游泳有氧训练对大鼠心肌的蛋白质组学的影响,发现心肌线粒体氧化代谢功能增强,苹果酸脱氢酶等相关氧化代谢蛋白大幅度上调。龚丽^[6]等在长期递增负荷训练后大鼠的心肌中同样发现苹果酸脱氢酶的表达量大幅度上调,有利于心肌维持能量供应的同时减少耗氧量,促进心肌对糖的利用,减少脂肪酸参与心肌细胞供能。刘建荣^[7]研究发现12周长期中等强度有氧运动促进心房肌苹果酸脱氢酶表达,改善心肌细胞能量代谢效率。万莉莉^[13]发现4周相同运动强度有氧运动诱导右心室肌线粒体琥珀酸脱氢酶辅酶黄素

蛋白亚基表达量上调13倍,心肌的有氧代谢供能增强,右心室肌中供应能量结构增多。

在本实验中,心房肌中的线粒体琥珀酸脱氢酶辅酶黄素蛋白亚基下调6.9倍、细胞质苹果酸脱氢酶运动后其表达量下调7.3倍,实验结果的差异可能与运动的强度、运动的持续时间以及不同部位的心肌组织的结构、功能有关。心房肌其主要功能不是收缩泵血,其射血流程短,收缩做功值比心室肌小,此外4周60%—70%VO₂max中等强度有氧运动由于运动强度偏小,运动持续时间偏短,可能机体正处于运动适应阶段,并且可能未产生强烈的氧化应激作用于心房肌细胞,刺激心房肌的苹果酸脱氢酶、线粒体琥珀酸脱氢酶辅酶黄素蛋白亚基增强表达量,但是其表达量下降的原因还需要进一步探讨和验证。

265号点鉴定为丙酮酸脱氢酶E1α1,属于丙酮酸脱氢酶复合体系,丙酮酸脱氢(pyruvate dehydrogenase complex, PDHc)是催化丙酮酸氧化脱羧形成乙酰-CoA的关键酶系,在机体有氧氧化代谢过程中作用重大。

王娟^[19]研究发现丙酮酸脱氢酶E1α1在4周中等强度有氧运动后(70%—80%VO₂max)大鼠右心室肌中“缺失”表达,8周运动后其表达量没有差异变化,12周运动后其表达量上调33.3倍。该蛋白的表达存在时间效应,随着机体慢慢地对运动强度发生适应,最后出现了适应性高表达的表现,以提高心肌氧化代谢能力。徐哲等^[17]发现8周(60%—70%VO₂max有氧)运动后右心室肌中该蛋白表达量上调5.3倍。本实验结果中,4周中等强度有氧运动诱导该蛋白在心房肌、左心室肌表达量分别上调6.4、5.8倍,综合上述研究结果,长期中等强度有氧运动能促进丙酮酸脱氢酶E1α1在各部位心肌组织增强表达量,其结果是加速机体内丙酮酸氧化脱羧基,为心肌三羧酸循环过程提供足够的乙酰-CoA,心脏能量供应得到改善,以增强心脏的收缩泵血能力。

3.2.2 中等强度有氧运动对心房肌氨基酸代谢影响:393号点鉴定为异戊酰辅酶A脱氢酶,参与亮氨酸的代谢分解过程,亮氨酸代谢的重要催化酶。236号点鉴定为线粒体二氢硫辛酸脱氢酶,属于甘氨酸脱氢酶和还原酶多酶复合体,参与甘氨酸的代谢,此外还和丙酮酸脱氢酶、二氢硫辛酸乙酰转移酶等一

起构成丙酮酸脱氢酶复合体,属于FAD依赖型酶。

史绍蓉^[6]研究发现一次急性力竭运动干预后,异戊酰辅酶A脱氢酶在心房肌中为“缺失”表达,可能会导致亮氨酸降解过程中,其代谢产物异戊酸的蓄积,使细胞内pH值升高,心肌细胞能量代谢出现障碍,心肌收缩能力下降。本实验发现4周中等强度运动使心房肌异戊酰辅酶A脱氢酶的表达量下调6.9倍,线粒体二氢硫辛酸脱氢酶的表达量下调5.7倍,分析认为心肌细胞能量代谢活跃,耗氧量需求很大,且成熟的心肌细胞活动能量供应过程主要由糖有氧氧化供给,氨基酸的供能比例很少。Hafstad^[20]的研究显示中等强度跑台运动(65%—70%VO₂max)提高了大鼠心肌葡萄糖的利用率,提高机体有氧能力。因此,本研究4周中等强度有氧运动并不需要大量动员氨基酸供能,可能为了节省机体氨基酸与蛋白质,运动后抑制了心房肌上述2个蛋白的表达。本实验中线粒体二氢硫辛酸脱氢酶的表达量下调也可能与丙酮酸脱氢酶E1 α 的上调有关,为了优化能量供应结构,丙酮酸脱氢酶E1 α 的上调竞争性抑制了二氢硫辛酸脱氢酶,关于它们在心肌细胞物质代谢中联系还需进一步探讨。

244号点鉴定为甲基丙二酸半醛脱氢酶[酰基],在缬氨酸和嘧啶代谢中起作用,属于脱氢酶家族,目前尚未见该蛋白在运动医学研究领域的深入研究。在本实验发现该蛋白的表达水平在4周中等强度有氧运动后上调6.3倍,可能为运动改善心肌物质能量代谢研究带来新的研究内容。

4 结论

①中等强度有氧运动诱导心房肌蛋白质组表达量与强度出现显著变化,同时诱发心脏出现生理性肥大。②筛选出甲基丙二酸半醛脱氢酶[酰基],该蛋白在运动生物医学领域尚未展开深入研究,为运动改善心房肌物质能量代谢的研究带来新的研究内容。③中等强度有氧运动可能改善心房肌物质氧化代谢水平,上述差异蛋白是否具有运动依赖性和蛋白之间的联系还需进一步验证。

参考文献

[1] Sun B, Wang JH, Lv YY, et al. Proteomic adaptation to chronic high intensity swimming training in the rat heart[J].

Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics, 2008, 3: 108—117.

[2] Bansal A, Dai Q, Chiao YA, et al. Proteomic analysis reveals late exercise effects on cardiac remodeling following myocardial infarction[J]. J Proteomics, 2010, 73: 2041—2049.

[3] Kavazis AN, Alvarez S, Talbert E, et al. Exercise training induces a cardioprotective phenotype and alterations in cardiac subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondrial proteins[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 297: H144—H152.

[4] Ferreira R, Vitorino R, Padrao AI, et al. Lifelong exercise training modulates cardiac mitochondrial phosphoproteome in rats[J]. J Proteome Res, 2014, 13: 2045—2055.

[5] 史绍蓉, 龚丽, 任一春, 等. 递增运动负荷后大鼠心房肌蛋白质组的差异性表达[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(7): 1281—1286.

[6] 龚丽, 史绍蓉. 递增负荷运动对大鼠心房肌蛋白质组影响的研究[J]. 中国康复医学杂志, 2008, 23(2): 107—109, 113.

[7] 刘建荣. 运动心脏重塑过程中大鼠心房肌的比较蛋白质组学研究[D]. 湖南师范大学硕士毕业论文, 2008, 6.

[8] Yao-Yuan Hsieh. Effect of exercise training on calpain systems in lean and obese Zucker rats[J]. Int J Biol Sci, 2008, 4(5): 300—308.

[9] Bedford YO, Tipton CM, Wilson NC, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures[J]. The American Physiological Society, 1979, 127: 1277—1283.

[10] 史绍蓉, 刘田, 龚丽, 等. 一次力竭运动后大鼠心室肌蛋白质的差异表达[J]. 中国运动医学杂志, 2008, 27(2): 144—148.

[11] 史绍蓉, 刘田, 龚丽, 等. 力竭运动大鼠心室肌蛋白质组的差异表达[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(43): 8691—8696.

[12] 史绍蓉, 袁爱国, 王娟, 等. 中等强度运动对大鼠心室肌蛋白质组差异表达的影响[J]. 体育科学, 2008, 28(12): 56261.

[13] 万莉莉, 史绍蓉, 王娟, 等. 4周不同强度运动对大鼠右心室肌蛋白质组差异表达的影响[J]. 北京体育大学学报, 2012, 35(1): 55—58.

[14] Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantity of microgram quantities of protein utilizing the principle of Protein Dye Binding[J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248—254.

[15] Gorg A, Obermaier C, Boguth G, et al. The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized phragdients[J]. Electrophoresis, 2000, 21(6): 1037—1053.

[16] 史绍蓉, 刘田, 龚丽, 等. 一次性力竭运动对大鼠心房肌蛋白质组表达的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2009, 28(4): 391—394.

[17] 徐哲, 史绍蓉, 谭军, 等. 中小强度有氧运动后大鼠右心室肌蛋白质组差异性表达的研究[J]. 北京体育大学学报, 2010, 33(10): 48—51.

[18] 马继政, 孙颀, 吕远远. 运动性心肌肥大大鼠心肌蛋白差异表达研究[J]. 西安体育学院学报, 2010, 27(2): 202—205.

[19] 王娟, 史绍蓉, 袁爱国, 等. 运动心脏重塑中大鼠右心室肌的差异蛋白质组学研究[J]. 中国运动医学杂志, 2009, 28(3): 269—277.

[20] Hafstad AD, Lund J, Hadler-Olsen E, et al. High- and moderate-intensity training normalizes ventricular function and mechanoenergetics in mice with diet-induced obesity[J]. Diabetes, 2013, 62(7): 2287—2294.