论著

文章编号:1000-5404(2005)21-2128-03

模拟高原运动大鼠心肌重塑与肌球蛋白重链的适应性变化

蔡明春,黄庆愿,高钰琪,高文祥,刘福玉 (第三军医大学高原军事医学系病理生理学与高原生理学教研室,全军高原医学重点实验室,重庆 400038)

提 要:目的 观察缺氧及缺氧复合运动条件下大鼠心肌重塑与肌球蛋白重链(myosin heavy chain ,MHC)异构体组成的变化。**方法** Wisatar大鼠随机分为4组:平原对照组、缺氧组、平原运动组和缺氧复合运动组。缺氧复合运动组大鼠持续暴露于模拟海拔5 000 m高原5周,每天降至4 000 m高原进行游泳运动1 h(6 d/周),运动结束后回升至5 000 m;缺氧组大鼠同时在低压舱内相同海拔高度饲养,但不进行游泳运动;平原运动组和平原对照组在舱外同时饲养,其中平原运动组每天进行游泳运动1 h(6 d/周)。在末次运动结束后24 h处死大鼠,分离左、右心室,称重并计算左、右心室重量指数。用含10%甘油的SDS-PAGE电泳分离左、右心室MHC异构体,观察心室肌MHC异构体组成变化。**结果** 缺氧35 d大鼠右心室重量指数增加,缺氧复合运动组大鼠左、右心室重量指数均增加。缺氧组右室MHC异构体组成比例与平原对照组相比无显著变化,平原运动组右室α-MHC异构体比例显著高于平原对照组,缺氧复合运动组右室α-MHC异构体比例显著高于平原对照组和缺氧组,低于平原运动组。左室MHC异构体组成比例变化趋势与右心室相似。**结论** 缺氧复合运动条件下,心肌纤维MHC异构体由β-MHC向α-MHC转换,可能是缺氧条件下适度运动促进机体对高原习服适应的机制之一。

关键词:高原;缺氧;心脏;运动;肌球蛋白重链;异构体

中图法分类号:R322.11;R339.54;R361 **文献标识码**:A

Hypoxia and combined exercise alter the myosin heavy chain isoform composition in rat heart

CAI Ming-chun, HUANG Qing-yuan, GAO Yu-qi, GAO Wen-xiang, LIU Fu-yu (Department of Pathophysiology, College of High Altitude Military Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of chronic hypobaric hypoxia only or combined with exercise on myosin heavy chain (MHC) profile in the ventricles. **Methods** Wistar rats were randomized into 4 groups: control (C), hypoxic group (H), exercise group (E) and hypoxia-exercise group (HE). Rats of H and HE groups were subjected to simulated 5 000 m hypobaric hypoxia for 5 weeks, except descending to 4 000 m for 1 h/d six times a week and there HE group was forced to swim ceaselessly. C group and E group were kept under normobaric conditions. The swimming program of E group was the same as HE group. In twenty-four hours after the last bout of exercise training, all animals were sacrificed at 4 000 m (H and HE groups) or at sea level (C and E groups), the ventricles were collected and MHC were determined with sodium dodecyl-polyacrylamide gel electrophoresis followed by densitometry analysis. **Results** The weights of right ventricle (RV) were significantly higher in H and HE as compared with C, and the left ventricle (LV) was significantly heavier in HE than C, indicating RV hypertrophy in chronical hypoxia and hypertrophy of both ventricles in hypoxia-exercise condition. The composition of α-MHC and β-MHC in C were 56.98% and 43.02% in RV, and 70.78% and 29.22% in LV, respectively. The percentage of α-MHC isoform in RV was significantly higher in E (90.93%) and HE (82.95%) than C. The alterations of MHC isoform composition in LV were similar to RV. No significant difference of MHC isoform composition in both ventricles was found between H and C. **Conclusion** Moderate exercise under hypoxic environment can induce alterations of the expression of MHC isoforms. This could provide a biochemical basis for the exercise promoting acclimation to high altitude.

Key words: high altitude; hypoxia; heart; exercise; myosin heavy chain; isoform

基金项目:国家自然科学基金资助面上项目(30200130)

Supported by the General Program of the National Natural Science Foundation of China (30200130)

作者简介:蔡明春(1970-),男,重庆市彭水县人,苗族,博士研究生,讲师,主要从事缺氧的病理生理学方面的研究。电话:(023)68752339-8203

通讯作者:高钰琪,电话:(023)68752331,E-mail:gaoy66@yahoo.com

收稿日期:2005-05-06;**修回日期**:2005-09-12

平原人进入高原后劳动能力降低，这是对高原低氧环境习服不良在整体水平的表现。我们近年的研究发现[1]，在高原低氧环境中进行适当的运动锻炼可有效地促进机体对高原低氧环境的习服，其机制与缺氧复合运动促进组织毛细血管增生、改善心功能和组织细胞对氧的利用等因素有关。缺氧复合运动改善心脏功能的机制目前尚不清楚。心肌肌球蛋白不仅是心肌的重要的结构蛋白和收缩蛋白，而且还具有 ATP 酶活性。它由两条重链及两条轻链组成。人和大鼠心肌中表达两种肌球蛋白重链（myosin heavy chain，MHC）基因，分别为 α-MHC（α-myosin heavy chain）和 β-MHC（β-myosin heavy chain）。虽然 α-和 β-MHC 在结构上具有高度同源性，但它们在功能上差异很大。研究表明 α-MHC 和 β-MHC 的比例是决定心脏收缩速度和收缩力的关键因素[2]，该比例受多种生理性和病理性因素的影响[3]。本研究观察了模拟高原缺氧及缺氧复合运动条件下大鼠心肌 MHC 异构体组成的变化，为深入揭示缺氧复合运动促进高原习服的机制提供实验依据。

1　材料与方法

1.1　动物分组

成年雄性健康 Wistar 大鼠 24 只，体质量（217 ±23）g（第三军医大学实验动物中心提供），随机分为 4 组，每组 6 只：①平原对照组（control，C），②单纯缺氧组（hypoxic group，H），③平原运动组（exercise group，E），④缺氧复合运动组（hypoxia-exercise group，HE）。H 组和 HE 组大鼠置低压氧舱内连续缺氧 5 周（35 d）。HE 组大鼠持续暴露于模拟海拔5 000 m高原 5 周，每周 6 d 降至 4 000 m 高原连续游泳运动 1 h（6 d/周），游泳池大小为 100 cm ×80 cm ×70 cm，水深 50 cm，水温 33 ~35 ℃，运动结束后回升至 5 000 m；H 组大鼠同时在低压舱内相同海拔高度饲养，但不进行游泳运动；E 组和 C 组在舱外同时饲养，其中 E 组每周 6 天进行连续游泳运动 1 h，共 5 周。HE 组大鼠在末次游泳结束 24 h 后与 H 组大鼠一起在模拟海拔 4 000 m 的低压舱内进行取材。E 组大鼠在末次游泳结束 24 h 后与 C 组大鼠一起在平原进行取材。

1.2　心室重量指数测定

大鼠称重，0.03% 的戊巴比妥钠麻醉（3 mg/100 g 大鼠），开胸分离心脏，立刻置于冰冷的生理盐水中，去掉心房，分离右心室游离缘（RV）和左心室（包括室间隔，LV），称重，计算左、右心室重量指数和 Hermann-Willson 指数。左室重量指数 = 左心室重量/体重（LV/BW）；右心室重量指数 = 右心室重量/体重（RV/BW）；Hermann-Willson 指数[右心室重量/左心室 + 室间隔重量]（RV/LV）。

1.3　电泳分离 MHC 异构体

参照文献[4]方法进行。用含有 10% 甘油的 SDS-PAGE 电泳分离左、右心室 MHC 异构体。采用 DYY-Ⅲ28A 型电泳仪（北京六一仪器厂），恒压 14 V/cm 电泳 40 h（0 ~4℃，pH8.5），考马斯亮蓝 R250 染色，生物电泳图像分析系统（复日 FR-980）照相，用 SMART VIEW ANALYSIS PROGRAM 分析软件处理分析，计算 α-MHC 和 β-MHC 所占百分比。

1.4　统计学处理

实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。用 SPSS10.0 统计软件进行单因素方差分析。

2　结果

2.1　缺氧和缺氧复合运动对大鼠左、右心室重量指数的影响

与平原对照组比较，H 组和 HE 组大鼠右心室指数（RV/BW）、Hermann-Willson 指数（RV/LV）显著增加（$P<0.05$，$P<0.01$），HE 组大鼠左心室指数（LV/BW）显著高于平原对照组（$P<0.05$），说明缺氧 35 d 可致大鼠右心室肥大；而缺氧复合运动则导致左、右心室均肥大，见表 1。

表 1　缺氧和缺氧复合运动对大鼠左、右心室重量指数的影响（$n=6$，$\bar{x} \pm s$）

Tab 1　Effects of hypoxia or combined with exercise on ventricle weights（$n=6$，$\bar{x} \pm s$）

Groups	LV/BW (mg/g)	RV/BW (mg/g)	RV/LV Hermann-Willson index
C	2.27 ±0.14	0.72 ±0.08	0.32 ±0.027
H	2.29 ±0.20	1.30 ±0.30 *	0.56 ±0.080 **
E	2.35 ±0.17	0.80 ±0.11	0.33 ±0.037
HE	2.50 ±0.12 *	1.40 ±0.17 **	0.56 ±0.057 **△△

BW：body weight，LV：left ventricle，RV：right ventricle；C：control；H：hypoxic group；E：exercise group；HE：hypoxia-exercise group；*：$P<0.05$，**：$P<0.01$，*vs* C；△△：$P<0.01$，*vs* E

2.2　左、右心室 MHC 异构体组成变化

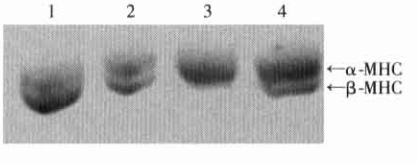
平原运动组右室 α-MHC 异构体比例显著高于平原对照组（$P<0.01$），缺氧组 MHC 异构体组成比例与平原对照比较无显著变化，缺氧复合运动组右室 α-MHC 异构体比例显著高于平原对照组和缺氧组（$P<0.01$）。左室 MHC 异构体组成比例各组变化趋势与右心室相似，与平原对照比较，缺氧组左室 β-MHC 增加，但无显著统计学差异；缺氧复合运动组 α-MHC 异构体与缺氧组比较显著增加（$P<0.05$），但显著低于平原运动组（$P<0.05$），见表 2、图 1。

表 2　左、右心室 α-MHC 和 β-MHC 的组成（$n=6$，$\bar{x} \pm s$）

Tab 2　Relative composition of α-MHC and β-MHC in right and left ventricles（$n=6$，$\bar{x} \pm s$）

Groups	RV		LV	
	α-MHC(%)	β-MHC(%)	α-MHC(%)	β-MHC(%)
C	56.98 ±12.26	43.02 ±12.26	70.78 ±11.54	29.22 ±11.54
H	57.62 ±7.49	42.38 ±7.49	57.93 ±21.62	42.07 ±21.62
E	90.93 ±18.15 **	9.07 ±18.15 **	96.92 ±7.55 **	3.08 ±7.55 **
HE	82.95 ±3.71 **##	17.05 ±3.71 **##	75.75 ±5.80#△	24.25 ±5.80#△

C：control；H：hypoxic group；E：exercise group；HE：hypoxia-exercise group；**：$P<0.01$，*vs* C；#：$P<0.05$，##：$P<0.01$，*vs* H；△：$P<0.05$，*vs* E



1：Control；2：Hypoxic group；3：Exercise group；4：Hypoxia-exercise group

图 1　SDS-PAGE 分离右心室肌 MHC 异构体

Fig 1　SDS-PAGE separation of MHC isoform in right ventricles

3 讨论

在平原进行运动训练可显著增强心脏功能，但在高原特别是进入高原后的早期阶段进行适当的运动训练，能否增强心脏功能国内外研究较少。我室通过对人体和大鼠的研究表明，在低氧习服过程中进行适当的运动锻炼，可显著增强左、右心室舒缩速度，提高心输出量[5]，说明在低氧条件下进行适当的运动锻炼，可增强心脏功能。

心肌肌球蛋白是心肌细胞的主要结构蛋白，由两条重链及两条轻链组成。心肌中表达两种 MHC 基因，分别为 α-MHC 和 β-MHC，两种基因表达产物在肌球蛋白分子中形成二聚体，其蛋白分子质量均为 200 $\times 10^3$ 左右，二者相差仅 4 个氨基酸，具有高度同源性。但它们在功能上差异很大。α-MHC 型 ATP 酶活性较 β 型高 3～4 倍。哺乳动物心室肌球蛋白异构体存在着年龄、种属等差异。我们的结果显示成年 Wistar 大鼠，左、右心室 α-MHC 的比例分别为 70%、57% 左右。该结果表明心肌 MHC 异构体组成是与其功能相适应的。

心肌肌球蛋白异构体组成的改变与心肌收缩功能的变化存在着平行关系。研究表明，在缺血、缺氧、机械牵张等多种病理状态下心肌肌球蛋白异构体由 α-MHC 向 β-MHC 转换，心肌的耗氧量和收缩功能随之而发生改变[3]。Hashimoto 等[6]认为 MHC 异构体比例的改变与长期低压缺氧引起的心室重量增加显著相关。心肌收缩蛋白由 α-MHC 向 β-MHC 转换的意义尚不完全清楚。有的学者认为，长期缺氧条件下，心肌线粒体有氧代谢产能减少，不能满足肥大心肌收缩功能的能量需求，因此，β-MHC 比例相对增加，心肌耗能减少，有利于提高心肌能量利用效率[6]。另一些学者则认为，当心肌因负荷过重的刺激而肥厚时，为了加速蛋白合成，合成的新蛋白即 β-MHC 是胚胎型异构蛋白，寿命较短，易衰竭，从而加速了心肌的疲乏和衰竭[8]。我们的结果显示，模拟海拔 5 000 m 不间断低压缺氧 35 d 大鼠出现右心室肥大，右心室 MHC 异构体组成比例与平原对照组相比无显著差异，与以往文献报道不一致，估计与缺氧时间不长有关[7]，这与我们以往研究[5]的缺氧 35 d 后心功能并无降低的结果一致。该结果还表明心肌肥大与心肌 MHC 异构体组成比例并无密切联系。

与病理状态下的心肌 MHC 异构体变化相反，运动训练可使心肌 α-MHC 表达增加，β-MHC 降低，心脏收缩功能增强。李昭波等[9]研究发现，自发性高血压心肌肥大的大鼠心肌 β-MHC mRNA 增多，α-MHCmRNA 减少，肌原纤维 ATP 酶活性降低。经过游泳耐力训练后，α-MHC 表达增多，β-MHC 表达下降，ATP 酶活性提高，说明运动训练可以通过生理性重塑改善心脏功能。我们的结果显示，平原游泳训练大鼠左、右心室心肌 α-MHC 比例显著高于平原对照组，与文献报道结果一致。

在低氧条件下运动训练心肌 MHC 异构体组成改变的研究报道目前还不多见。最近，王海燕[10]报道在模拟 4 000 m 高原(22 h/d)运动(1 h/d 跑台训练)28 d 大鼠心肌 α-MHC 表达与单纯缺氧组比较降低，β-MHC 表达增加。我们的结果显示缺氧复合运动大鼠左、右心室均显著肥大，右心室 α-MHC 比例(83%)显著高于平原对照组(57%)；左心室 α-MHC 比例(76%)显著高于缺氧组(58%)，但低于平原运动组(97%)，与平原对照比较无显著差异。这一结果揭示在缺氧条件下，适度运动作为一个良性刺激因素，可以逆转缺氧所致心肌重塑，心肌 MHC 异构体组成由 β-MHC 向 α-MHC 转换，有利于改善心脏功能，从而促进机体对高原的习服适应。

参考文献：

[1] 黄庆愿，高钰琪，孙秉庸. 缺氧及缺氧复合运动大鼠骨骼肌组织化学观察[J]. 中国运动医学杂志，2000，19(4)：351－352，372.

[2] Wang J, Guo X, Dhalla N S. Modification of myosin protein and gene expression in failing hearts due to myocardial infarction by enalapril or losartan[J]? Biochim Biophys Acta, 2004, 1690(2): 177－184.

[3] Krenz M, Robbins J. Impact of beta-myosin heavy chain expression on cardiac function during stress[J]. J Am Coll Cardiol, 2004, 44(12): 2390－2397.

[4] Warren C M, Greaser M L. Method for cardiac myosin heavy chain separation by sodium dodecyl sulfate gel electrophoresis[J]. Anal Biochem, 2003, 320(1): 149－151.

[5] 刘福玉，黄庆愿，高钰琪，等. 模拟高原游泳运动对大鼠血液粘滞度及心功能的影响[J]. 中国应用生理学杂志，2004，20(1)：7－10.

[6] Hashimoto T, Sugiyama A, Taguchi S. Myosin heavy chain isoforms expression and cyclic AMP concentrations in hypoxia-induced hypertrophied right ventricle in rats[J]. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 2004, 138(4): 365－370.

[7] Nakanishi K, Nakata Y, Kanazawa F, *et al*. Changes in myosin heavy chain and its localization in rat heart in association with hypobaric hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. J Pathol, 2002, 197(3): 380－387.

[8] Malhotra A, Schaible T F, Capasso J, *et al*. Correlation of myosin isoenzyme alterations with myocardial function in physiologic and pathologic hypertrophy[J]. Eur Heart J, 1984, 5 (Supp F): 61－67.

[9] 李昭波，高云秋，唐朝枢. 运动对高血压性肥大心脏心肌肌球蛋白重链基因表达的影响[J]. 中国应用生理学杂志，1999，15(4)：323－325.

[10] 王海燕. 低氧运动对大鼠心肌肌球蛋白重链及其基因表达的影响[J]. 沈阳体育学院学报，2004，23(3)：455.

(编辑 龙 亮)