

有氧运动对自发性高血压大鼠骨骼肌毛细血管稀疏的影响

吴聪, 吴迎, 马珮冬, 朱绎桦, 李彦锦, 石丽君

(北京体育大学运动生理教研室, 北京市 100084)

[关键词] 高血压; 有氧运动; 骨骼肌毛细血管; 血管内皮生长因子

[摘要] **目的** 探讨有氧运动对于自发性高血压大鼠(SHR)毛细血管稀疏是否有改善作用以及其作用机制是否与血管内皮生长因子(VEGF)的表达改变有关。**方法** 3月龄雄性WKY和SHR随机分为WKY安静组(WKY-SED)、WKY运动组(WKY-EX)、SHR安静组(SHR-SED)、SHR运动组(SHR-EX),每组各12只。WKY-SED组和SHR-SED组不进行运动干预,WKY-EX组和SHR-EX组进行12周跑台运动(20 m/min,60 min/d,5 d/w,坡度为0,相当于55%~65% VO_{2max})。Western blot测定VEGF蛋白在大鼠腓肠肌中的表达,免疫组织化学观测VEGF在大鼠腓肠肌中的分布变化,HE染色观察各组大鼠腓肠肌石蜡切片中毛细血管的数量。**结果** 免疫组织化学检测结果表明SHR-SED组VEGF在大鼠腓肠肌中的分布显著低于WKY-SED组($P<0.01$),12周有氧运动后,SHR-EX组VEGF在大鼠腓肠肌中的分布显著高于SHR-SED组($P<0.01$)。Western blot结果发现SHR-SED组的VEGF表达量与WKY-SED组差异不显著($P>0.05$),12周有氧运动后,SHR-EX组的VEGF表达量显著高于SHR-SED组($P<0.05$)。HE染色结果发现SHR-SED组的毛细血管与肌纤维数比值(C/F)显著低于WKY-SED组($P<0.01$),12周有氧运动之后,SHR-EX组的C/F值显著高于SHR-SED组($P<0.01$)。**结论**:微血管稀疏是导致高血压的原因之一,有氧运动可以促进VEGF的表达并且促进毛细血管新生。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect of aerobic exercise on microvascular rarefaction in skeletal muscle of spontaneously hypertensive rats

WU Cong, WU Ying, MA Peidong, ZHU Yihua, LI Yanjin, SHI Lijun

(Department of Exercise Physiology, Beijing Sport University, Beijing 100084, China)

[KEY WORDS] hypertension; aerobic exercise; skeletal muscle capillaries; vascular endothelial growth factor

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of aerobic exercise on the microvascular rarefaction in spontaneously hypertensive rats (SHR) and explore whether the mechanism is related to the change of vascular endothelial growth factor (VEGF) expression. **Methods** Male SHR and Wistar-Kyoto rats (WKY), 12 weeks age, were randomly divided into a sedentary group (WKY-SED, SHR-SED), and an exercise group (WKY-EX, SHR-EX). WKY-SED and SHR-SED were used as normotensive control. Exercise groups were subjected to a 12-week treadmill training protocol: 20 m/min (about 55%~65% of maximal aerobic velocity), 0% grade, 60 min/day, 5 d/w. Immunohistochemical staining was used to observe distribution and changing of VEGF in rat gastrocnemius muscle of each group. Western blot was applied to examine the expression level of VEGF in rat gastrocnemius muscle. HE staining was used to observe the skeletal muscle capillaries of each group. **Results** The positive immunoactivity of VEGF in SHR-SED group was significantly lower than WKY-SED group ($P<0.01$). After 12 weeks, exercise training markedly increased the VEGF expression in rat gastrocnemius muscle ($P<0.01$). No significant differences were observed in protein expression of VEGF between SHR-SED and WKY-SED ($P>0.05$). After 12 weeks, the protein expression in SHR-EX was significantly higher than SHR-SED ($P<0.05$). Skeletal muscle capillaries were observed by light microscope, the result showed that the capillary/fiber of SHR-SED was significantly lower than WKY-SED ($P<0.01$). After 12 weeks' training, the capillary/fiber showed an obvious increasing in SHR-EX group. **Conclusions** Microvascular rarefaction is a possible reason that leads to hypertension.

[收稿日期] 2017-12-02

[修回日期] 2018-02-10

[基金项目] 国家自然科学基金(31771312);2015-2016 国家大学生创新创业训练计划资助项目

[作者简介] 吴聪,研究方向为运动与心血管生理学,E-mail为 865953231@qq.com。通信作者石丽君,博士,教授,博士生导师,主要从事运动与心脑血管功能调控相关研究,E-mail为 L_j_shi72@163.com。

Aerobic exercise can effectively increase the expression of VEGF in the skeletal muscle and accelerate angiogenesis, which may be one of the mechanisms of exercise reversing hypertension.

高血压是世界范围内最常见的慢性疾病,也是心脑血管及外周血管病的最主要危险因素。高血压的患病率一直呈现出上升趋势。《中国心血管病报告 2013》^[1]显示,我国成年人高血压患病率为 18.8%,约为 50 年前的 4 倍(5.11%)。几乎每 10 个成年人中就有 2 个人患高血压,长期高血压可引起血管内皮功能受损、毛细血管稀疏、小动脉的壁腔比值增加及管腔内径缩小等,会导致心、脑、肾组织缺血,功能障碍^[1]。因此研究高血压时微循环功能的改变对高血压的防治具有十分重要的意义。目前,通过药物干预控制血压是治疗高血压病的主要方法,但是研究发现,现阶段常用降压药都有其不良反应,药物带来的不良反应可能会对身体造成其他负担。近年,“运动是良医”的概念逐渐进入公众视野,运动锻炼也开始作为慢性疾病的一种非药物性治疗手段。诸多研究也证实适度的有氧运动对于高血压有一定的控制作用。相比于药物,有氧运动具有可以避免药物副作用,增强体质,提高机体的心肺能力,使人产生幸福感、满足感等种种优点。

微循环障碍也是高血压的临床表现。高血压会造成心、脑、肾等器官的微循环障碍^[2]。有研究显示脑部微血管病变有可能是认知功能受损和痴呆的发病机制。也有研究证实,微血管病变可引起大脑记忆力渐进性减退,定向障碍致步态不稳,以及语言表达能力降低^[3]。高血压对微循环结构与功能的影响至少有以下三点:第一,血管舒缩张力调节机制可能存在缺陷。第二,毛细血管前阻力血管结构可能存在解剖学改变。第三,微血管网水平可能发生了改变。据研究显示,稀疏过程可能分为两期:第一期,功能性稀疏,指从微血管收缩到无灌注;随后进入第二期,即结构性或解剖性稀疏。

临床上,有许多关于改善微血管稀疏的研究,旨在通过改善微血管稀疏,降低外周阻力,从而达到治疗高血压的目的。适度的有氧运动有降低血压的作用,而有氧运动是否可以通过改善微血管稀疏从而降低血压尚没有文献报道。本研究旨在通过对自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rat, SHR)进行有氧运动干预,通过比较运动前后大鼠腓肠肌单位面积内毛细血管数/肌纤维数(capillary/fiber, C/F)和机制指标血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的检测来观察大鼠腓肠肌微血管稀疏的改善情况,如果该

实验证明有氧运动能够改善自发性高血压大鼠腓肠肌血管稀疏,那么我们将可以把适当的有氧运动作为辅助治疗高血压的一种方法,这也将是医学和体育学科的一种结合。

1 材料和方法

1.1 研究对象

选取 3 月龄雄性 WKY 大鼠(Wistar Kyoto, WKY)和 SHR 各 24 只,随机分为 WKY 安静组(WKY-SED)、WKY 运动组(WKY-EX)、SHR 安静组(SHR-SED)和 SHR 运动组(SHR-EX),每组各 12 只,各组间体重差异无显著性。实验动物均由北京维通利华实验动物中心提供,动物许可证号:SYXK(京)2016-0033。用国家标准啮齿类动物饲料,分笼饲养,4 只/笼,自由饮食,温度维持在 22~24 °C,相对湿度 40%~60%,昼夜节律人工控制光照(光照时间为 6:00 至 18:00)^[4]。动物实验的处理方法符合北京体育大学动物福利伦理委员会的相关规定。

1.2 运动方案

WKY(24 只)和 SHR(24 只)自购买后,适应环境数天,随后,将 SHR 和 WKY 按照上述方法分组。WKY-SED 组和 SHR-SED 组的大鼠不进行任何运动干预,饲养 12 周。SHR-EX 组和 WKY-EX 组大鼠按照以下跑台运动方案进行有氧运动训练:坡度为 0,速度为 20 m/min,每周连续 5 天跑台运动,每次跑台训练持续 1 h,周六、日不训练,为期 12 周。

1.3 大鼠体重、血压测量

运用 BP-2010A 大鼠智能无创血压测试仪(软隆科技有限公司,日本)无创测试大鼠血压。软件根据大鼠脉搏曲线自动计算出大鼠的收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)、平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)和心率(heart rate, HR)。12 周后测量大鼠体重(body weights, BW)。

1.4 免疫组织化学染色

12 周后处死大鼠,取大鼠右侧腓肠肌,4%多聚甲醛固定;常规石蜡包埋,横切组织,切片厚 5 μm,然后进行以下步骤:(1)脱蜡及水化。(2)灭活内源性过氧化物酶。(3)抗原修复。(4)膜打孔。(5)封闭。(6)免疫反应:滴加一抗:将一抗用 1% BSA 按照一定比例稀释[anti-VEGFA(1:250)],滴加在

切片上,4℃冰箱过夜;滴加二抗:将切片在冰箱拿出恢复室温,滴加辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育 1 h,PBS 洗 3 次,每次洗 5 min。(7)DAB 显色。(8)苏木素复染。(9)中性树脂封片。(10)拍片:每片随机抽取 3 个不相重叠的视野,1X71 倒置相差显微镜(Olympus,Japan)拍照。Image Pro Plus 软件进行平均光密度分析。

1.5 蛋白免疫印迹

大鼠处死后,取右侧腓肠肌,置于冰上分离去除筋膜,用锡纸包裹置于液氮中暂时保存,然后置于-80℃冷冻保存,利用液氮将腓肠肌研磨成粉末状,然后称重,以 1:6 的比例加入细胞裂解液,摇床摇 1 h;将裂解好的骨骼肌细胞放在高速离心机中离心,转速为 12000 r/min,温度为 4℃,时间为 30 min,离心后取上清液;然后进行以下步骤:(1)测定蛋白含量。(2)SDS-PAGE 电泳。(3)免疫反应:用 5% BSA 溶液封闭 2 h;加入一抗(anti-VEGFA,1:1500),4℃孵育过夜;第 2 天待复温后加二抗(anti-mouse IgG-HRP,1:10000)孵育 1 h。(4)化学发光液显影:滴加发光液,置于 Bio-Rad ChemiDoc XRS+曝光。(5)软件半定量分析:用 Image LabTM Software 软件进行条带的灰度值分析。

1.6 HE 染色

取大鼠右侧腓肠肌,4%多聚甲醛固定;常规石蜡包埋,横切组织,切片厚 5 μm;然后进行以下步骤:(1)脱蜡及水化;(2)染色;(3)脱水;(4)透明;

(5)中性树脂封片;(6)镜检:切片室温干燥过夜后,每片随机抽取 3 个不相重叠的视野,1X71 倒置相差显微镜(Olympus,Japan)拍照,计数毛细血管,毛细血管的判断标准为:镜下见单层扁平内皮细胞形成的窦状、条索状及单个单层扁平内皮细胞围绕成印戒状毛细血管^[5]。并用 Image Pro Plus 软件计数肌纤维数。

1.7 数据处理及统计学处理方法

应用 SPSS19.0 软件对数据进行处理。实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,采用单因素方差分析法(ANOVA)对实验数据进行分析, $P < 0.05$ 表示所测定指标在组与组之间差异有显著性。采用 SigmaPlot 12.5 作图。

2 结果

2.1 有氧运动对大鼠体重、心率及血压的影响

有氧运动前各组间大鼠体重差异无显著性,12 周有氧运动后,WKY-EX 组和 SHR-EX 组大鼠体重均显著低于相应安静组($P < 0.05$)。有氧运动前 WKY-EX 组和 SHR-EX 组 HR、SBP、DBP 和 MAP 与相应安静组比较差异均无显著性;12 周有氧运动后,SHR-SED 组 HR、SBP、DBP 和 MAP 显著高于 WKY-SED 组($P < 0.01$),SHR-EX 组 HR、SBP 和 MAP 显著低于 SHR-SED 组($P < 0.01$),WKY-EX 组 SBP 低于 WKY-SED 组($P < 0.05$;表 1)。

表 1. 有氧运动对各组大鼠体重及 HR、SBP、DBP 和 MAP 的影响

Table 1. Effect of aerobic exercise on the rats body weight, heart rate and blood pressure

指标		WKY-SED(<i>n</i> =12)	WKY-EX(<i>n</i> =12)	SHR-SED(<i>n</i> =12)	SHR-EX(<i>n</i> =12)
体重(g)	运动前	263±20	271±13	267±13	273±8
	运动后	375±27 ^d	354±18 ^{ad}	376±27 ^d	344±19 ^{cd}
HR(次/分)	运动前	357±23	355±27	431±10	435±35
	运动后	366±25	341±30	461±24 ^b	425±13 ^c
SBP(mmHg)	运动前	144±13	149±8	209±14 ^b	207±11
	运动后	156±12	132±14 ^a	222±11 ^b	196±18 ^c
DBP(mmHg)	运动前	101±12	105±6	140±20 ^b	142±14
	运动后	110±13	99±4	159±16 ^b	136±3
MAP(mmHg)	运动前	118±13	119±6	173±9 ^b	174±7
	运动后	123±13	115±5	186±9 ^b	162±3 ^c

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与 WKY-SED 组相比; c 为 $P < 0.01$, 与 SHR-SED 组相比; d 为 $P < 0.01$, 与运动前相比。

2.2 有氧运动对 VEGF 表达的影响

首先利用免疫组织化学方法观察了各组大鼠 VEGF 在腓肠肌中的表达和分布情况,结果发现 SHR-SED 组 VEGF 在大鼠腓肠肌中的分布显著低

于 WKY-SED 组($P < 0.01$),12 周有氧运动后,SHR-EX 组 VEGF 在大鼠腓肠肌中的分布显著高于 SHR-SED 组($P < 0.01$;图 1)。

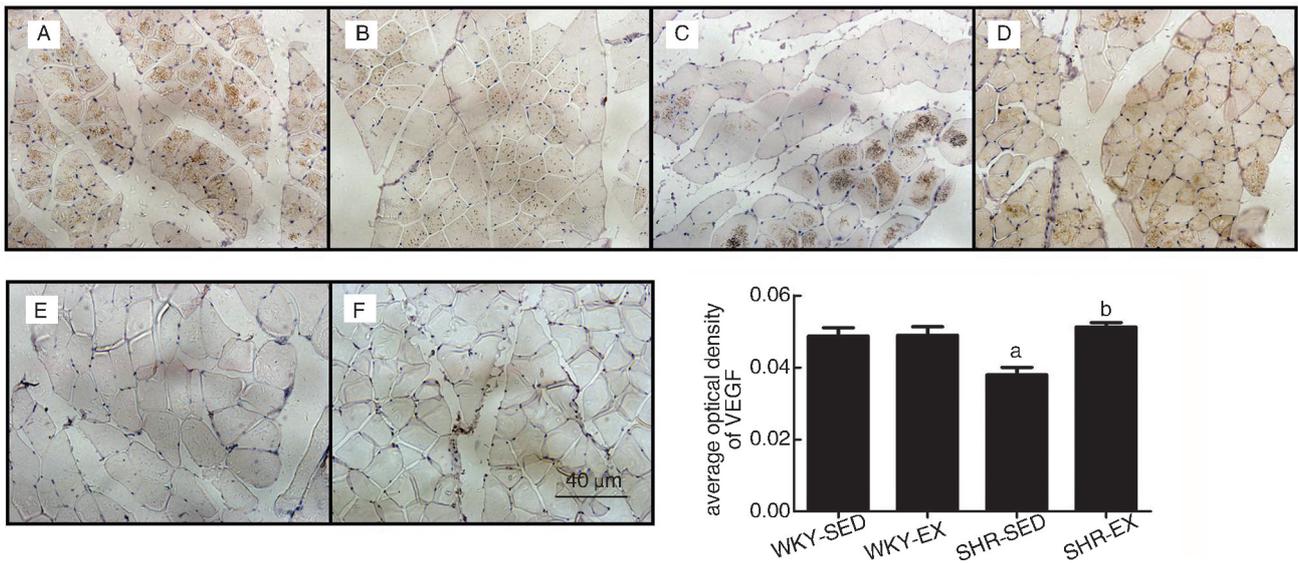


图 1. 有氧运动对各组大鼠腓肠肌 VEGF 表达及分布的影响 A 为 WKY-SED 组, B 为 WKY-EX 组, C 为 SHR-SED 组, D 为 SHR-EX 组, E 为阴性对照(未加一抗), F 为阴性对照(未加二抗)。a 为 $P < 0.01$, 与 WKY-SED 组相比; b 为 $P < 0.01$, 与 SHR-SED 组相比。

Figure 1. Effect of aerobic exercise on distribution and expression of VEGF in gastrocnemius muscle of rats in each group

然后利用 Western blot 方法检测各组大鼠腓肠肌中 VEGF 表达量, 结果发现 SHR-SED 组 VEGF 表达量与 WKY-SED 组差异无显著性 ($P > 0.05$)。12 周有氧运动后, SHR-EX 组的 VEGF 表达量显著高于 SHR-SED 组 VEGF 表达量 ($P < 0.05$; 图 2)。

蜡切片中单位面积内毛细血管数与肌纤维数的比值 (C/F), 结果发现 SHR-SED 组的 C/F 值显著低于 WKY-SED 组 ($P < 0.01$), 12 周有氧运动之后, SHR-EX 组的 C/F 值显著高于 SHR-SED 组 ($P < 0.01$; 图 3)。

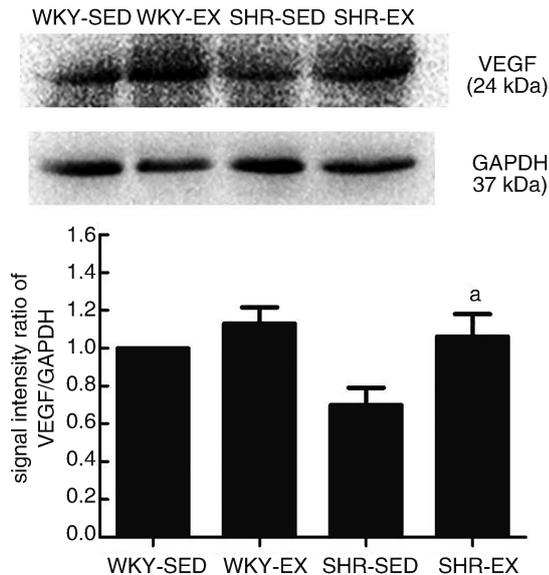


图 2. 有氧运动对各组大鼠 VEGF 蛋白表达的影响 a 为 $P < 0.05$, 与 SHR-SED 组比较。

Figure 2. Effect of aerobic exercise on expressions of VEGF in gastrocnemius muscle of rats in each group

2.4 有氧运动对毛细血管新生的影响

用 HE 染色的方法观察并计算了大鼠腓肠肌石

3 讨论

本研究高血压模型是自发性高血压大鼠, 同龄雄性正常血压大鼠作为正常血压对照组, 采用免疫组织化学、Western blot 和 HE 染色等方法, 观察有氧运动对 SHR 大鼠腓肠肌毛细血管密度以及 VEGF 表达的影响, 探讨有氧运动降低血压的机制, 为运动预防和治疗高血压提供一定的实验依据。

微循环障碍是高血压的临床表现。现有临床及动物模型研究证实, 小动脉、毛细血管稀疏和小动脉重构是高血压的早期标志, 并先于高血压的发生, 另一方面, 微循环障碍是高血压靶器官损害的主要靶点, 如心、脑和肾功能障碍^[2]。Baker 等^[6]对 2211 例老年高血压患者研究结果中, 发现脑微血管病变可能是认知功能受损和痴呆的一个因素。也有其他研究证实, 大脑记忆力渐进性减退、定向障碍致步态不稳、语言表达能力降低等症状可能都与微血管病变有关^[3]。在一系列的动物实验中已发现原发性高血压大鼠的骨骼肌、肠、心肌、肾脏和视网膜的微血管网中有微血管稀疏的现象。并且在患有原发性高血压的人群中也发现了发生在结膜和皮肤的微血管稀疏, 如果得不到有效的治疗, 微

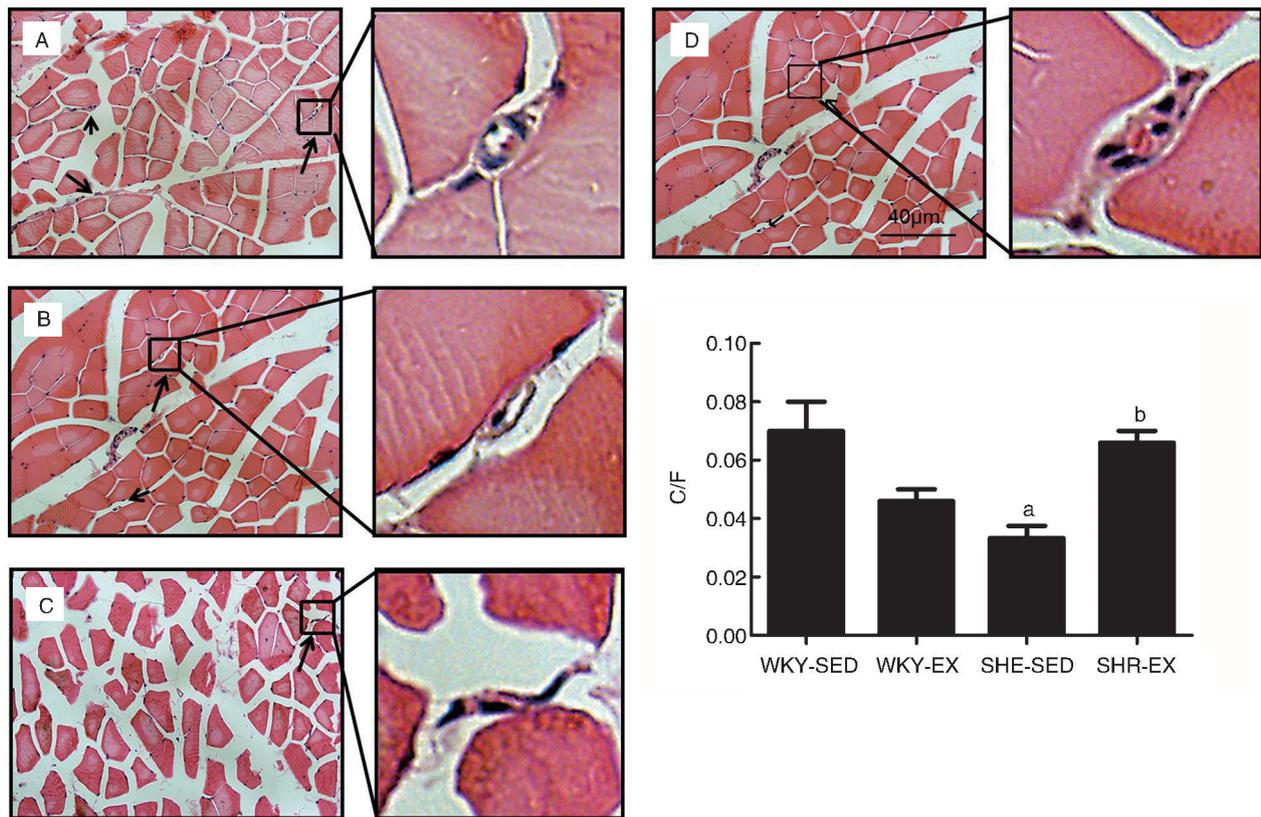


图 3. 有氧运动对各组大鼠腓肠肌毛细血管新生的影响 A 为 WKY-SED 组, B 为 WKY-EX 组, C 为 SHR-SED 组, D 为 SHR-EX 组。左侧图箭头所指处为毛细血管, 右侧图为左侧图框内的局部放大。a 为 $P < 0.01$, 与 WKY-SED 组相比; b 为 $P < 0.01$, 与 SHR-SED 组相比。

Figure 3. Effect of aerobic exercise on gastrocnemius muscle of rats in each group

循环障碍将在高血压的发生发展中恶性循环^[7]。目前有研究结果显示, 在 6~8 岁的孩子中, 血压越高, 视网膜小动脉狭窄检出率也越高^[8]。并有报道称毛细血管稀疏与初生儿体质量息息相关^[9-11]。低体质量初生儿发生高血压的风险更高。大量实验表明, 参与有氧运动可以提高血管内皮功能, 改善微血管稀疏, 并且有效降低高血压大鼠的血压^[12-14]。以往研究证实, 有氧耐力运动可调控心脏血管新生相关因子的释放, 促进毛细血管增生^[15]。

3.1 有氧运动对高血压大鼠体重, 心率及血压的影响

本实验测量了各组大鼠的起始心率、血压和 12 周后心率和血压, 结果表明经过 12 周的运动, SHR-EX 组的体重、心率和血压都显著低于 SHR-SED 组, 这表明有氧运动可以有效控制自发性高血压大鼠的体重、心率和血压; WKY-EX 组体重显著低于 WKY-SED 组, 说明有氧运动具有明显降低体重的作用。高血压是危害人类健康的常见心血管疾病, 发病率有逐年上升的趋势。有实验证明与同龄的 WKY 相比, SHR 的心脏重量指数在 9 月和 16 月时显著升高, 说明高血压导致心脏发生肥大, 还可以使动脉管壁不断增厚^[16]。还有实验证明, 有氧

运动可以增加正常大鼠的心脏重量指数, 并且降低安静时的 HR 和收缩压; 有氧运动可以减轻心脏的病理性肥大, 降低因高血压引起的心脏重量指数和 HR 的增加, 同时还可以有效降低收缩压和平均动脉压。有氧运动对于正常血压大鼠有促进其心脏产生运动适应, 形成生理性肥大的作用^[17]。高血压还是冠心病的独立危险因素^[18]。高血压与血管持续紧张收缩、外周阻力增大密切相关^[19]。目前药物治疗为治疗高血压的主要手段, 但如果药物使用不当的话, 会对患者带来较严重的负面影响^[20], 所以现在, 运动作为一种治疗高血压的手段被大众接受。范晓梅等^[21]的实验证明: 8 周有氧运动对压力超负荷高血压具有一定的缓解作用, 可升高压力超负荷高血压大鼠血浆心房钠尿肽 (atrial natriuretic peptide, ANP) 水平, 对血压的升高有重要的代偿作用。林祥芸^[22]通过对文献的分析得出: 长期中等强度的有氧运动能够有效降低高血压患者的血压、调节患者自主神经系统、改善患者内分泌功能, 因此对高血压患者康复有积极的作用。李圳程等^[23]通过研究证实并发现了长期规律的有氧运动训练可降低 SHR 的收缩压, 减弱胸主动脉对缩血管物质的

反应性,其重要机制之一为有氧运动显著抑制高血压诱导的平滑肌细胞 K_v 通道蛋白表达下调。黄雅雯^[24]则通过随机对照临床试验发现,长期有规律的有氧运动(12周运动锻炼)能显著控制高血压,且其疗效与药物控制相当。现在运动疗法作为最有潜力的非药物治疗高血压的方法被社会普遍认可。高血压患者如果能长期进行有规律的体育锻炼或是体育活动的話,不仅能够有效地减轻体重,控制血压,降低高血压和其他心脑血管疾病,最终能够提高患者的生命质量,减轻患者的负担^[22]。

3.2 有氧运动对高血压大鼠 VEGF 表达的影响

VEGF 是目前发现的最强有力的促进血管生成的物质之一。Senger 等^[25]率先从肿瘤患者腹水中发现,VEGF 有强促血管通透性功能,可引起血浆蛋白渗出血管,其效果相当于组织胺的 5000 倍。大量文献显示 VEGF 主要有以下几种生物学作用:促进血管内皮细胞分化增殖,血管生成;促进内皮细胞迁移、形成新血管;促进内皮细胞存活;增加毛细血管通透性;维持血管功能。VEGF 家族由 VEGFA、VEGFB、VEGFC、VEGFD 及 VEGFE 和胎盘生长因子组成,但根据研究显示,只有当 VEGFA 与特异性受体 VEGFR2 结合,才可发挥其生血管作用^[26]。有实验表明,有氧运动可以提高高血压大鼠骨骼肌内 VEGFR2 蛋白的含量^[27]。还有实验表明,间歇运动也可以增加心肌梗死大鼠心肌中 VEGFR2 蛋白的表达量^[28]。

有研究表明,有氧运动对 VEGF 蛋白的水平有升高作用,运动开始时,VEGF 水平上升,血管代偿性增生,运输的氧气增加,组织能吸收更多的氧使微循环改善进而使局部功能增强。随着训练的进行,由于血管新生和血供增加,VEGF 表达上调减弱。通过这些研究我们可以看出,有氧运动与 VEGF 的含量有密切关系,同时 VEGF 含量与毛细血管密度保持正向关联。本研究通过 Western blot 和免疫组织化学两种方法观察了有氧运动对原发性高血压大鼠组织内 VEGF 的影响,分析其与血管生长和血压变化的关系,探索运动降压的分子调节机制。通过检测高血压大鼠腓肠肌中的 VEGF 表达,验证有氧运动是否通过 VEGF 的表达改善毛细血管稀疏。首先用免疫组织化学方法检测 VEGF 在各组大鼠腓肠肌中的分布,结果发现,SHR-SED 组 VEGF 的分布明显低于 WKY-SED 组,说明 SHR 组大鼠分泌 VEGF 的能力不如 WKY 大鼠。SHR-EX 组的 VEGF 分布明显高于 SHR-SED 组,说明有氧运动可以促进 VEGF 的表达,并且从切片中可以看出,

VEGF 蛋白主要表达在骨骼肌细胞质和毛细血管周围。为了进一步验证这一结果,利用 Western blot 的方法检测了大鼠腓肠肌中 VEGF 的表达情况,结果发现 SHR-SED 组大鼠 VEGF 的表达水平虽低于 WKY-SED 组大鼠,但是差异并不显著,但是 SHR-EX 组大鼠的 VEGF 表达明显高于 SHR-SED 组。血管新生是分为初期、增生期、成熟分化期的一个有序的过程,它是一个涉及许多因素的复杂过程。目前研究发现的血管生长因子除了 VEGF 之外有十几种,比如碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、血管紧张素(Ang)、血小板源生长因子(PDGF)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、低氧诱导因子 1α (HIF- 1α)、胰岛素样生长因子 1(IGF-1)等,现在的研究普遍认为 VEGF 在毛细血管新生过程中起重大作用,但若要进一步研究 VEGF 的表达增加与毛细血管新生的关系,还应进一步从 VEGF mRNA 和 VEGF 的上下游蛋白等方面对有氧运动促进毛细血管新生的机制做进一步的阐述。

3.3 有氧运动对高血压大鼠毛细血管新生的影响

研究表明有氧运动可以提高血管内皮功能,改善微血管稀疏,运动已被证明通过 HIF- 1α , 诱导 VEGF 的转录合成,从而影响心血管生成。本实验通过测量高血压大鼠腓肠肌中毛细血管与肌纤维数的比值(C/F),验证有氧运动是否对高血压大鼠毛细血管稀疏具有改善作用。本研究参照文献^[5,29]使用 HE 染色方法对大鼠腓肠肌石蜡切片进行染色,以单层扁平内皮细胞形成的窦状、条索状及单个单层扁平内皮细胞围绕成印戎状毛细血管为判断标准,然后在光镜下计数视野中毛细血管和肌纤维数量,求出 C/F 值。结果表明,SHR-SED 组大鼠腓肠肌 C/F 值明显低于 WKY-SED 组,说明高血压有可能是导致毛细血管稀疏的原因。SHR-EX 组 C/F 值明显高于 SHR-SED 组,说明运动可能促进了血管新生,改善了毛细血管的稀疏程度。本研究以 C/F 值来反映骨骼肌毛细血管新生状况,毛细血管的新生状况还可以用毛细血管的数量与肌纤维面积的比值来评价,选取不同视野,用交互式半自动分析测量单位面积内毛细血管密度(CD)。若要进一步的分析有氧运动与毛细血管新生的关系,实验还应该从 CD 值的角度进一步探讨。本研究采用了 HE 染色的方法来对骨骼肌切片进行染色,毛细血管染色较好,也可以采用甲苯胺蓝染色 mATP 酶组织化学染色的方法来显示骨骼肌切片上的毛细血管,mATP 染色方法不仅可以显示血管,还可以进行肌纤维分类。虽然现在用平面上的微血管数量代

替微血管密度的测定是主流方法,但是在二维平面上观测到的毛细血管的状况并没有从三维空间上观测毛细血管这么立体、全面、客观。毕竟骨骼肌是一个立体结构,从骨骼肌切片上观测到的毛细血管数量并不能反映在体时毛细血管的开放数量和开放程度。如果要深入探讨大鼠微循环状况的改变,还需结合微血管的管径、微循环的血流速度、微血管内的血流状态等指标作进一步讨论。

在今后的研究中我们将通过测量 HIF-1 α 、VEGF mRNA,并且进一步测量毛细血管密度来更深入的了解有氧运动与大鼠微血管稀疏的影响,探讨其发生机制。

综上所述,微血管稀疏是导致高血压的表现之一,有氧运动可以促进 VEGF 的表达并且促进毛细血管新生。

[参考文献]

- [1] 国家心血管病中心. 中国心血管病报告 2013[R]. 北京: 中国大百科全书出版社, 2014.
- [2] Safar ME, Struijker-Boudier HA. Cross-talk between macro and microcirculation[J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2010, 198(4): 417-430.
- [3] Quinque EM, Arélin K, Dukart J, et al. Identifying the neural correlates of executive functions in early cerebral microangiopathy: a combined VBM and DTI study[J]. *Cereb Blood Flow Metab*, 2012, 32(10): 1869-1878.
- [4] 张严焱, 张寒梦, 石丽君, 等. 增龄通过下调平滑肌细胞 BKCa 通道 α 和 β 1 亚基表达改变肠系膜动脉舒缩性[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(8): 757-762.
- [5] 袁红洁. 有氧运动对慢性冠状动脉猪心肌 VEGF 表达的影响[D]. 南京医科大学, 2002.
- [6] Baker ML, Marino Larsen EK, Kuller LH, et al. Retinal microvascular signs, cognitive function, and dementia in older persons: the Cardiovascular Health Study[J]. *Stroke*, 2007, 38(7): 2 041-047.
- [7] Cohuet G, Struijker-Boudier H. Mechanisms of target organ damage caused by hypertension: therapeutic potential[J]. *Pharmacol Ther*, 2006, 111(1): 81-98.
- [8] Chapman N, Mohamudally A, Cerutti A, et al. Retinal vascular network architecture in low-birth-weight men[J]. *Hypertens*, 1997, 15(12 Pt 1): 1449-1453.
- [9] IJzerman RG, van Weissenbruch MM, Voordouw JJ, et al. The association between birth weight and capillary recruitment is independent of blood pressure and insulin sensitivity: a study in prepubertal children[J]. *Hypertension*, 2002, 20(10): 1957-1963.
- [10] Sasongko MB, Wong TY, Wang JJ. Retinal arteriolar changes: intermediate pathways linking early life exposures to cardiovascular disease[J]. *Microcirculation*, 2010, 17(1): 21-31.
- [11] Gopinath B, Baur LA, Wang JJ, et al. Smaller birth size is associated with narrower retinal arterioles in early adolescence[J]. *Microcirculation*, 2010, 17(8): 660-668.
- [12] Hagberg JM, Park JJ, Brown MD. The role of exercise training in the treatment of hypertension: an update[J]. *Sports Med*, 2000, 30(3): 193-206.
- [13] Amaral SL, Zorn TM, Michelini LC. Exercise training normalizes wall-to-lumen ratio of the gracilis muscle arterioles and reduces pressure in spontaneously hypertensive rats[J]. *Hypertens*, 2000, 18(11): 1563-1572.
- [14] Melo RM, Martinho E Jr, Michelini LC. Training-induced, pressure-lowering effect in SHR: wide effects on circulatory profile of exercised and nonexercised muscles[J]. *Hypertension*, 2003, 42(4): 851-857.
- [15] Bellafiore M, Battaglia G, Bianco A, et al. The involvement of MMP-2 and MMP-9 in heart exercise-related angiogenesis[J]. *Transl Med*, 2013, 11: 283.
- [16] 张琳, 廖静雯, 吴迎, 等. 增龄和高血压经 PI3K/Akt 和 MAPK 信号通路间平衡介导调控血管平滑肌细胞的表型转换[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(9): 865-873.
- [17] 张琳, 吴迎, 曾凡星, 等. PI3K/Akt 和 MAPK 信号通路平衡在运动调控高血压血管平滑肌表型转换中的作用[J]. *中国体育科技*, 2017, 53(6): 108-116.
- [18] 柴晓芮, 崔凯, 叶中倪. 高血压患者发生冠心病的相关危险因素分析[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2016, 18(6): 590-592.
- [19] Adebisi A, Thomas-Gatewood CM, Leo MD, et al. An elevation in physical coupling of type 1 inositol 1, 4, 5-trisphosphate (IP3) receptors to transient receptor potential 3 (TRPC3) channels constricts mesenteric arteries in genetic hypertension[J]. *Hypertension*, 2012, 60(5): 1213-1219.
- [20] 常宏. 高血压药物治疗的原则及临床应用进展[J]. *继续医学教育*, 2017, 31(01): 151-153.
- [21] 范晓梅, 李旭辉. 8 周有氧运动对压力超负荷高血压大鼠血浆心房钠尿肽的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2012, 27(12): 1133-1134.
- [22] 林祥芸. 中等强度有氧运动作为康复治疗在原发性高血压患者中的运用研究[J]. *川北医学院学报*, 2013, 28(2): 170-175.
- [23] 李圳程, 鲁妮, 石丽君. 有氧运动抑制自发性高血压大鼠胸主动脉平滑肌 KV 通道蛋白表达下调[J]. *北京体育大学学报*, 2014, 37(6): 49-54.
- [24] 黄雅雯. 有氧运动对高血压及生命质量的影响[J]. *现代预防医学*, 2011, 38(16): 3258-3259, 3262.
- [25] Senger DR, Gallis J, Dvorak AM. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid[J]. *Science*, 1983, 219(4586): 1234-1241.
- [26] Connolly DT, Olander JV, Heuvelman D, et al. Human vascular permeability factor: isolation from U937 cells[J]. *Biol Chem*, 1989, 264(33): 20017-20024.
- [27] 马志勇, 赵永才. 有氧运动对原发性高血压大鼠的降压作用及对骨骼肌 VEGF、eNOS 表达的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2014, 30(4): 320-324.
- [28] 吕志伟, 田振军. 8 周间歇运动和 G-CSF 动员对心梗大鼠心肌组织 VEGF/VEGFR-2 的影响[J]. *北京体育大学学报*, 2015, 38(9): 58-63, 71.
- [29] 王志伟. bFGF 和 G-CSF 促进兔缺血后肢血管新生的实验研究[D]. 郑州大学, 2007.

(此文编辑 许雪梅)