

随意跑轮运动对自发性高血压大鼠功能性抗交感的影响

贵永玲

【摘要】 目的 观察 8 周跑轮运动对自发性高血压大鼠功能性抗交感的影响并探讨一氧化氮(NO)信号途径在其中的作用机制。**方法** 将 30 只自发性高血压大鼠随机分为安静组及运动组,另选取 15 只健康 Wistar 大鼠纳入对照组。运动组大鼠进行 8 周随意跑轮运动,安静组及对照组大鼠饲养期间均无特殊干预。通过电刺激(频率包括 1 Hz、2.5 Hz 和 5 Hz)大鼠腰部交感神经诱导缩血管反应,电刺激胫神经诱发小腿三头肌收缩,记录安静时及肌肉收缩时交感神经电刺激引发的股动脉血管电导(FAVC)变化,功能性抗交感用肌肉收缩时 FAVC 对交感神经电刺激反应的变化率(%FAVC)与安静时变化率的差值表示($\Delta\%FAVC = \%FAVC_{肌肉收缩} - \%FAVC_{安静}$)。灌注一氧化氮合酶抑制剂 NG-硝基-L-精氨酸甲酯(L-NAME)后重复上述实验并测定 FAVC 变化。**结果** 安静组 $\Delta\%FAVC$ 明显低于对照组[1 Hz 电刺激时:安静组(1.1±1.6)% VS 对照组(13.5±2.3)%, $P<0.05$;2.5 Hz 电刺激时:安静组(7.8±2.1)% VS 对照组(21.6±3.9)%, $P<0.05$;5 Hz 电刺激时:安静组(11.6±2.8)% VS 对照组(25.5±4.5)%, $P<0.05$];运动组 $\Delta\%FAVC$ 明显高于安静组[1 Hz 电刺激时:运动组(11.5±3.0)% VS 安静组(1.1±1.6)%, $P<0.05$;2.5 Hz 电刺激时:运动组(18.9±4.3)% VS 安静组(7.8±2.1)%, $P<0.05$;5 Hz 电刺激时:运动组(32.5±5.8)% VS 安静组(11.6±2.8)%, $P<0.05$];运动组 $\Delta\%FAVC$ 与对照组间差异无统计学意义($P>0.05$)。灌注 L-NAME 后,发现对照组及运动组 $\Delta\%FAVC$ 均明显降低[对照组灌注前为(26.1±3.9)%,灌注后为(14.3±2.0)%, $P<0.05$;运动组灌注前为(31.4±4.1)%,灌注后为(13.2±2.8)%, $P<0.05$],安静组 $\Delta\%FAVC$ 则无显著变化。**结论** 随意跑轮运动可能通过 NO 依赖性信号途径改善自发性高血压大鼠功能性抗交感。

【关键词】 运动; 高血压; 大鼠; 功能性抗交感; 一氧化氮

基金项目:河南省科技厅重点科技攻关项目(182102310046)

Ad libidum exercise improves functional sympatholysis in rats with spontaneous hypertension via the nitric oxide signal pathway Gui Yongling. School of Physical Education, Zhengzhou Shengda University of Economics Business & Management, Zhengzhou 451191, China

Corresponding author: Gui Yongling, Email: guiyonglingzz@126.com

【Abstract】 Objective To explore the effect of exercise on functional sympatholysis in rats modeling spontaneous hypertension and the role of the nitric oxide signal pathway. **Methods** Thirty Wistar rats with spontaneous hypertension were randomly divided into a sedentary group and an exercise group, each of 15, while another fifteen healthy rats acted as controls. The exercise group performed eight weeks of voluntary wheel running exercise while the other two groups did not. The rats were instrumented to stimulate the lumbar sympathetic chain (at 1 Hz, 2.5 Hz or 5 Hz) to induce vasoconstriction and the triceps surae muscle group was forced to contract by stimulating the tibial nerve electrically. The change in the femoral artery vascular conductance (FAVC) in response to sympathetic stimulation was recorded at rest and during contraction. The functional sympatholysis was calculated as the percentage difference in FAVC ($\Delta\%FAVC$) in response to sympathetic stimulation during muscular contraction and at rest ($\Delta\%FAVC = \%FAVC$ during contraction - $\%FAVC$ at rest). After administration of the nitric oxide synthase inhibitor NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), changes in FAVC were repeatedly determined. **Results** The average $\Delta\%FAVC$ of the sedentary group was significantly lower than that of the control group at all stimulation frequencies, while the average $\Delta\%FAVC$ in the exercise group was significantly higher than in the sedentary group. There were no significant differences between the exercise and control groups. After the administration of L-NAME, significant decrease was observed in the average

$\Delta\%$ FAVCs of the control and exercise groups, but there was no significant change in the sedentary group.

Conclusion Voluntary exercise may improve functional sympatholysis in rats with spontaneous hypertension through improving NO-dependent signalling.

【Key words】 Exercise; Hypertension; Functional sympatholysis; Nitric oxide

Fund program: Henan Project for Science and Technology Development (grant 182102310046)

交感神经对心血管系统具有重要调节作用,包括增加心输出量、提高内脏器官和非运动肌血管阻力等^[1]。非运动肌交感活性增加有利于心输出量向运动肌重新分配以及维持血压水平,同时运动肌由于受局部代谢产物影响,其血管收缩反应受到抑制。学者们将运动肌交感缩血管反应减弱现象称之为“功能性抗交感”^[2]。相关研究证实^[1],功能性抗交感是机体运动时工作肌保持最佳血流量以及防止血压过度升高的重要生理机制。有研究显示,高血压患者运动时由交感神经介导的血压反应异常升高,可能与功能性抗交感受损有关。功能性抗交感异常可导致运动肌供氧量与需氧量之间的动态平衡破坏,继而造成氧供不足以及组织缺氧^[3]。另外有研究发现^[1],一氧化氮(nitric oxide, NO)对维持正常的功能性抗交感效应具有重要作用。孙一等^[4]证实,8周耐力训练能改善正常血压水平大鼠功能性抗交感作用并呈现运动强度依赖性,而其干预机制可能与NO介导的信号转导途径诱导血管舒张反应有关。然而规律运动是否能够改善高血压患者异常的功能性抗交感效应目前尚未明确。基于此,本研究拟观察8周规律运动对自发性高血压大鼠功能性抗交感的影响并探讨NO信号途径在其中的作用机制。

动物与方法

一、动物及分组干预

选取15只雄性健康Wistar大鼠和30只自发性高血压大鼠,均为8周龄,均购自军事医学科学院实验动物中心,分笼饲养(每笼5只)于动物房内(环境温度保持22~24℃),期间大鼠自由进食饮水,每12h光暗交替。采用随机数字表法将30只自发性高血压大鼠分为安静组及运动组,每组15只;另选取15只Wistar健康大鼠纳入对照组。运动组大鼠进行8周随意跑轮运动,即在鼠笼内安装一直径11.5cm并能自由转动的转轮,大鼠可自由进行转轮运动,不控制运动强度及运动时间,每周运动5d(休息日则将转轮固定),记录运动日转轮转动圈数,大鼠运动距离= $\pi \times$ 转轮直径 \times 转轮圈数。安静组、对照组大鼠饲养期间均未给予特殊干预。

二、手术处理

于实验进行8周后采用异氟醚麻醉大鼠,气管插

管行机械通气,于左侧颈动脉置管并与MLT0380/D型压力换能器(美国产)连接以连续监测动脉血压,于右侧颈静脉置管用于药物(抗凝)灌注。分离大鼠右侧小腿三头肌,切断右侧跟骨,将跟腱连于FT-10型张力换能器(美国产)以检测肌张力;将MA1PRB型探头(美国产)置于右侧股动脉并连接T402型流量计(美国产)以监测血流量。打开大鼠腹腔暴露右侧腰部交感神经干并与不锈钢金属丝电极相连,以备交感神经电刺激;充分暴露右侧胫神经,将其与双极电极相连,以备肌肉收缩电刺激,上述被刺激神经及电极均用硅树脂覆盖以绝缘固定。待上述外科操作完成后再次麻醉大鼠,通过颈静脉按每千克体重每小时3~5ml速度持续静脉点滴林格溶液(将2ml 1M NaHCO₃和10ml 5%葡萄糖溶于38ml林格溶液中)以保持体液平衡并维持基础血压。于术后1.5~2.0h进行交感神经和肌肉收缩电刺激实验^[5]。

三、交感神经和肌肉收缩电刺激

依次进行以下2个实验。实验1:检测大鼠安静时以及肌肉收缩时交感缩血管反应。分别于安静状态下以及肌肉收缩时进行腰部交感神经电刺激(1ms脉冲,1.5V电压,刺激频率分别为1Hz、2Hz及5Hz,持续刺激时间为1min)并检测交感缩血管反应,以5倍运动阈值(即刺激肌肉收缩所需的最小电流强度)电刺激胫神经(100ms脉冲,刺激频率为30trains/min)诱导肌肉收缩,待肌肉血液动力学稳定(即肌肉收缩后约6min)后再进行交感神经电刺激^[4]。实验2:灌注一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)抑制剂NG-硝基-L-精氨酸甲酯(NG-nitro-L-arginine methyl ester, L-NAME)后检测大鼠安静时及肌肉收缩时交感缩血管反应。待实验1结束1h后,按每千克体重5mg从颈静脉灌注非选择性NOS抑制剂L-NAME。待大鼠血液动力学稳定后(约15min)再次于安静状态及肌肉收缩时进行腰部交感神经电刺激,并检测交感缩血管反应,具体检测方法同实验1。待上述所有实验结束后,通过过度麻醉处死大鼠,取心脏并称量,计算心指数(心指数=心脏重量/体重)。

四、数据采集及统计学分析

利用LabChart数据软件(美国)采集、记录、分析各组大鼠平均动脉压(mean arterial pressure,

MAP)、股动脉血流量(femoral artery blood flow, FABF)以及肌肉收缩力量;股动脉血管电导(femoral artery vascular conductance, FAVC) = FABF/MAP。MAP、FABF 及 FAVC 均取每 1 秒数据均值进行分析,以 30 s 基线数据均值作为基础值。交感缩血管反应应用交感神经电刺激时 FAVC 峰值较安静值的变化率表示,即 $\%FAVC = (FAVC_{\text{峰值}} - FAVC_{\text{安静值}}) / FAVC_{\text{安静值}} \times 100\%$;功能性抗交感用肌肉收缩时 FAVC 对交感神经电刺激反应的变化率与安静时变化率的差值表示,即 $\Delta\%FAVC = \%FAVC_{\text{肌肉收缩}} - \%FAVC_{\text{安静}}$;肌肉收缩峰值张力用肌肉收缩时峰值与基础张力的差值表示。

本研所得计量数据以($\bar{x} \pm s$)表示,组间基础变量比较使用单因素方差分析,血液动力学参数比较使用双因素方差分析,交感缩血管反应参数比较使用三因素方差分析,若交互作用和主效应具有统计学差异,则选用最小显著差异法(least-significant difference, LSD)进行多重比较, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、3 组大鼠体重、心脏重量、心指数及肌肉收缩峰值张力比较

在整个实验过程中,由于拒跑、手术失败、数据倚倚等原因最终对照组、安静组及运动组分别有 14 只、13 只及 11 只大鼠纳入实验。各组大鼠体重、心脏重量、心指数及肌肉收缩峰值张力等基线变量参数详见表 1,表中数据显示,3 组大鼠体重、肌肉收缩峰值张力组间差异均无统计学意义($P > 0.05$);安静组心脏重量、心指数均显著大于对照组($P < 0.05$),运动组心脏重量、心指数均显著大于对照组及安静组($P < 0.05$)。运动组大鼠每周运动距离逐渐增加,第 1 周为(2122 ± 368) m,第 4 周为(3095 ± 426) m,第 6 周为(5133 ±

639) m,第 8 周为(8726 ± 975) m。

表 1 3 组大鼠体重、心脏重量、心指数及肌肉收缩峰值张力比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	体重(g)	心脏重量(g)	心指数(mg/g)	肌肉收缩峰值张力(g)
对照组	14	355.0 ± 85.5	1.33 ± 0.16	3.92 ± 0.95	583.6 ± 105.2
安静组	13	335.6 ± 83.3	1.46 ± 0.20 ^a	4.69 ± 1.71 ^a	565.5 ± 112.3
运动组	11	362.8 ± 53.5	1.82 ± 0.16 ^{ab}	5.09 ± 0.62 ^{ab}	535.8 ± 121.6

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与安静组比较,^b $P < 0.05$

二、3 组大鼠安静时以及肌肉收缩时交感缩血管反应比较

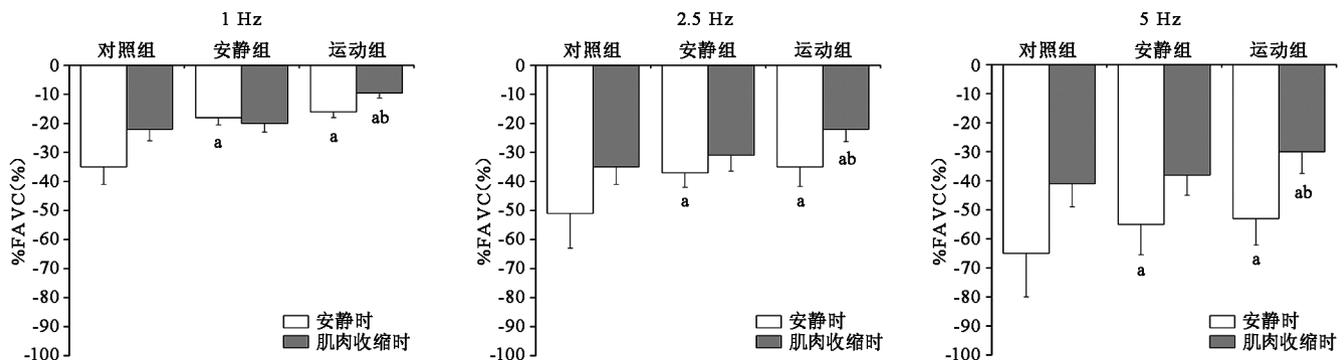
各组大鼠 FAVC 对于腰部交感神经刺激的相对变化率($\%FAVC$,即交感缩血管反应)见图 1。通过分析发现,各组大鼠 $\%FAVC$ 的反应与电刺激频率具有正相关性($P < 0.05$),即随着电刺激频率增加, $\%FAVC$ 则相应上调。肌肉收缩时大鼠 FABF 对于腰部交感神经刺激的反应较安静时减弱($P < 0.05$),并与电刺激频率具有正相关性($P < 0.05$)。通过组间比较发现,安静时对照组 $\%FAVC$ 显著高于安静组及运动组($P < 0.05$),而安静组 $\%FAVC$ 与运动组间差异无统计学意义($P > 0.05$);肌肉收缩时运动组 $\%FAVC$ 则显著低于安静组及对照组水平($P < 0.05$)。

三、各组大鼠功能性抗交感变化分析

各组大鼠功能性抗交感($\Delta\%FAVC$)变化情况详见图 2,可见安静组 $\Delta\%FAVC$ 明显低于对照组($P < 0.05$),运动组 $\Delta\%FAVC$ 则明显高于安静组($P < 0.05$),运动组 $\Delta\%FAVC$ 与对照组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

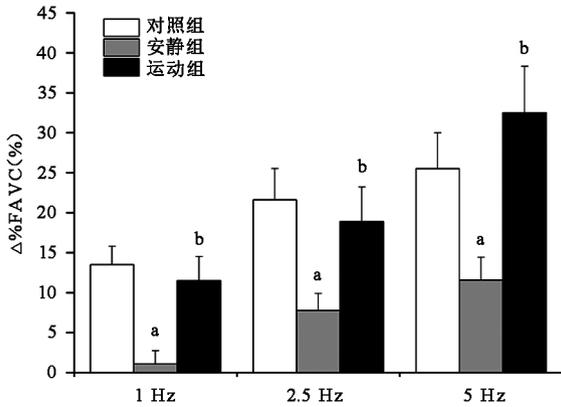
四、NOS 抑制剂 L-NAME 对各组大鼠功能性抗交感的影响

NOS 抑制剂 L-NAME 灌注对各组大鼠功能性抗交感的影响详见图 3,发现灌注 L-NAME 后对照组及运动组 $\Delta\%FAVC$ 均显著降低($P < 0.05$),安静组大鼠 $\Delta\%FAVC$ 则无明显变化($P > 0.05$)。



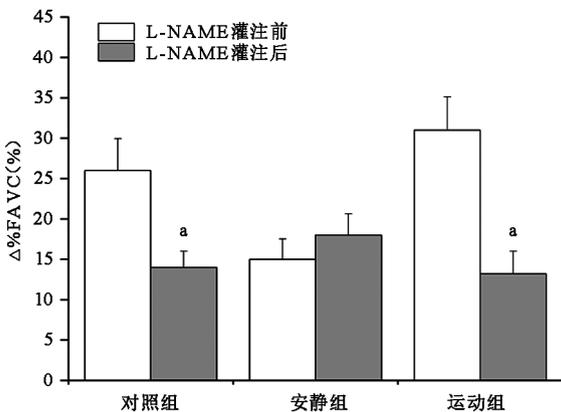
注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与安静组比较,^b $P < 0.05$

图 1 安静时及肌肉收缩时各组大鼠 FAVC 对腰部交感神经电刺激(1 Hz、2.5 Hz 和 5 Hz)的相对变化率($\%FAVC$)分析



注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与安静组比较,^b $P < 0.05$

图 2 各组大鼠功能性抗交感(Δ%FAVC)变化分析



注:与 L-NAME 灌注前组内比较,^a $P < 0.05$

图 3 L-NAME 灌注前、后各组大鼠功能性抗交感(Δ%FAVC)变化分析

讨 论

与 Zhao 等^[6]以高血压大鼠为模型以及 Vongpatanasin 等^[7]以高血压患者为受试对象的研究结果一致,本研究同样发现,安静组大鼠 Δ%FAVC 显著低于对照组,提示高血压大鼠功能性抗交感受损;此外对照组与运动组功能性抗交感作用无显著差异,而 NOS 抑制剂能显著降低对照组大鼠功能性抗交感,但对安静组大鼠无明显影响。上述结果提示,功能性抗交感至少部分是通过 NO 信号通路介导的,而高血压功能性抗交感受损则与 NO 利用度减少密切相关。Fernandes 等^[8]研究显示,自发性高血压大鼠比目鱼肌内皮型 NOS 蛋白表达显著低于正常血压对照大鼠。结合本研究结果推测,NOS 表达下调导致骨骼肌 NO 利用度降低可能是高血压大鼠功能性抗交感作用受损的主要原因。

规律运动是防治高血压的重要非药物手段。孙一等^[4]以健康(血压正常)大鼠作为观察对象,发现 8 周跑台耐力训练可提高功能性抗交感,且该效应呈运动强度依赖性。本研究以自发性高血压大鼠为实验对

象,结果显示运动组大鼠经 8 周随意跑轮运动后,其功能性抗交感较安静组显著改善。然而针对不同群体的人体研究结果显示,健康青年男性对象经短期(2 周)肌肉固定后功能性抗交感受损^[9],规律运动则能改善年轻人以及老年男性功能性抗交感^[9-10];绝经后女性^[11]、心衰患者^[12]以及高血压患者^[13]进行有氧运动后其功能性抗交感效应增强;而运动员经长期运动训练后其功能性抗交感无明显变化^[14-15]。总之,运动对功能性抗交感的影响与受试对象运动经历、体能水平、健康状况以及运动负荷等多种因素有关。

NO 是调节血管反应及自主神经功能的重要物质。在本研究中,运动组大鼠经灌注 L-NAME 后,发现运动改善功能性抗交感的效应被逆转,提示 NO 信号途径介导功能性抗交感生理过程,运动对高血压大鼠功能性抗交感的良性效应是通过上调 NO 实现的。上述结果与孙一等^[4]和宋广侠等^[5]针对正常血压大鼠的研究结果基本一致。Jonsdottir 等^[16]证实,自发性高血压大鼠经 5 周随意跑轮运动后,其血浆硝酸盐含量升高,提示运动能上调 NO 水平并增加 NO 利用度。此外,运动还能通过上调内皮 NOS 表达量促使自发性高血压大鼠内皮祖细胞数量及功能恢复^[8]。上述研究结果均提示,规律运动诱导的 NOS 表达上调和/或 NO 含量增加可能是高血压大鼠功能性抗交感改善的重要机制之一^[17]。由此推测,除运动干预外,利用其它手段如药物提高 NO 含量可能同样能改善高血压大鼠或高血压患者功能性抗交感,这一推测尚需后续研究进一步验证。

综上所述,本研究结果表明,自发性高血压大鼠存在功能性抗交感受损,而 8 周规律运动可能通过 NO 依赖的信号途径改善高血压大鼠功能性抗交感,其确切作用机制还有待深入探讨。

参 考 文 献

- [1] Hearon CM, Kirby BS, Luckasen GJ, et al. Endothelium-dependent vasodilatory signalling modulates $\alpha 1$ -adrenergic vasoconstriction in contracting skeletal muscle of humans [J]. J Physiol, 2016, 594 (24): 7435-7453. DOI: 10.1113/JP272829.
- [2] Gliemann L, Carter H. Sympatholysis: the more we learn, the less we know [J]. J Physiol, 2018, 596 (6): 963-964. DOI: 10.1113/JP275513.
- [3] Mitchell JH. Abnormal cardiovascular response to exercise in hypertension: contribution of neural factors [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2017, 312(6): 851-863. DOI: 10.1152/ajpregu.00042.2017.
- [4] 孙一, 朱荣, 李学恒, 等. 不同强度运动对骨骼肌功能性抗交感活性的影响[J]. 北京体育大学学报, 2017, 40(10): 50-55. DOI: 10.19582/j.cnki.11-3785 /g8.2017.10.008.
- [5] 宋广侠, 吴江涛, 孙一, 等. 刺五加提取物联合运动改善健康 SD 大

- 鼠骨骼肌功能性抗交感的实验研究[J].天津体育学院学报, 2018, 33(1): 78-85. DOI: 10.13297/j.cnki.issn1005-0000.2018.01.013.
- [6] Zhao W, Swanson SA, Ye J, et al. Reactive oxygen species impair sympathetic vasoregulation in skeletal muscle in angiotensin II-dependent hypertension[J]. Hypertension, 2006, 48(4): 637-643. DOI: 10.1161/01.HYP.0000240347.51386.
- [7] Vongpatanasin W, Wang Z, Arbique D, et al. Functional sympatholysis is impaired in hypertensive humans[J]. J Physiol, 2011, 589(5): 1209-1220. DOI: 10.1113/jphysiol.2010.203026.
- [8] Fernandes T, Nakamura JS, Magalhães FC, et al. Exercise training restores the endothelial progenitor cells number and function in hypertension: implications for angiogenesis[J]. J Hypertens, 2012, 30(11): 2133-2143. DOI: 10.1097/HJH.0b013e3283588d46.
- [9] Mortensen SP, Mørkeberg J, Thaning P, et al. Two weeks of muscle immobilization impairs functional sympatholysis but increases exercise hyperemia and the vasodilatory responsiveness to infused ATP[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2012, 302(10): H2074-2082. DOI: 10.1152/ajpheart.01204.2011.
- [10] Mortensen SP, Nyberg M, Winding K, et al. Lifelong physical activity preserves functional sympatholysis and purinergic signalling in the ageing human leg[J]. J Physiol, 2012, 590(23): 6227-6236. DOI: 10.1113/jphysiol.2012.240093.
- [11] Kruse NT, Hughes WE, Hanada S, et al. Evidence of a greater functional sympatholysis in habitually aerobic trained postmenopausal women[J]. J Appl Physiol, 2018, 124(3): 583-591. DOI: 10.1152/jappl-physiol.00411.2017.
- [12] Munch GW, Iepsen UW, Rysø CK, et al. Effect of 6 wk of high-intensity one-legged cycling on functional sympatholysis and ATP signaling in patients with heart failure[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2018, 314(3): 616-626. DOI: 10.1152/ajpheart.00379.2017.
- [13] 许绍哲, 朱荣. 短期高强度间歇训练对中老年男性原发性高血压患者安静时和握力运动中交感缩血管反应的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2018, 37(6): 468-478. DOI: 10.16038/j.1000-6710.2018.06.002.
- [14] Wray DW, Donato AJ, Nishiyama SK, et al. Acute sympathetic vasoconstriction at rest and during dynamic exercise in cyclists and sedentary humans[J]. J Appl Physiol, 2007, 102(2): 704-712. DOI: 10.1152/jappphysiol.00984.2006.
- [15] Wimer GS, Baldi JC. Limb-specific training affects exercise hyperemia but not sympathetic vasoconstriction[J]. Eur J Appl Physiol, 2012, 112(11): 3819-3828. DOI: 10.1007/s00421-00012-2359-z.
- [16] Jonsdottir IH, Jungersten L, Johansson C, et al. Increase in nitric oxide formation after chronic voluntary exercise in spontaneously hypertensive rats[J]. Acta Physiol Scand, 1998, 162(2): 149-153. DOI: 10.1046/j.1365-1201X.1998.0285f.x.
- [17] Jendzjowsky NG, Just TP, DeLorey DS. Exercise training augments neuronal nitric oxide synthase-mediated inhibition of sympathetic vasoconstriction in contracting skeletal muscle of rats[J]. J Physiol, 2014, 592(21): 4789-4802. DOI: 10.1113/jphysiol.2014.278846.

(修回日期: 2018-10-12)

(本文编辑: 易浩)

· 外刊撷英 ·

Use of a computerized cryotherapy device following total knee arthroplasty

BACKGROUND AND OBJECTIVE The benefits of cryotherapy after orthopedic surgeries such as total knee arthroplasty (TKA) are well-documented, and include reduced surgically-induced intra-articular inflammation, lower post-operative analgesia requirements and shortened post-operative lengths of stay. This study investigated whether a new computerized cryotherapy device with continuous cold flow (cTreatment) could improve post-operative rehabilitation outcomes, as compared to standard cold pack therapy, in patients undergoing TKA.

METHODS This randomized, prospective, single-blind, controlled trial, assigned 97 patients undergoing unilateral TKA to either conventional cold pack therapy (applied for 20 minutes TID) or the cTreatment, which was applied for two hours twice per day, until post-operative day six. Outcome measures included range of motion and pain reduction.

RESULTS As compared to the cold pack group, the cTreatment group showed better improvement in post-operative range of motion ($P=0.021$), and pain scores on post-operative day two ($P=0.034$). There was no significant difference between groups in pain medication requirements. No adverse events were reported for either intervention.

CONCLUSION This study found that a computerized cryotherapy device which regulates temperature can improve post-operative range of motion and pain reduction more than the traditional cold pack.

【摘自: Sadoghi P, Hasenhütl S, Gruber G, et al. Impact of a new cryotherapy device on early rehabilitation after primary total knee arthroplasty (tka): a prospective, randomized, controlled trial. Int Orthop, 2018, 6, 42(6): 1265-1273.】