

## 早期和晚期有氧运动对野百合碱诱导肺动脉高压大鼠右心衰竭的影响

孙园<sup>1</sup>, 王庆博<sup>2</sup>, 皮亦华<sup>2</sup>, 陆春敏<sup>2</sup>, 徐传仪<sup>2</sup>, 张艳<sup>2</sup><https://doi.org/10.12307/2023.851>

投稿日期: 2022-10-24

采用日期: 2022-11-30

修回日期: 2023-01-31

在线日期: 2023-02-14

中图分类号:

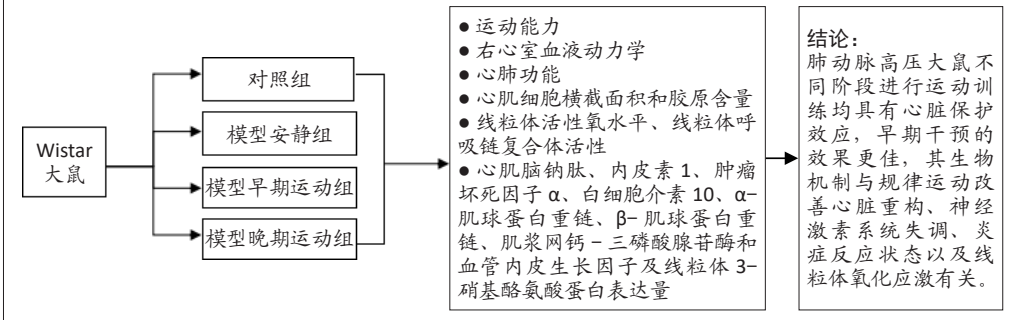
R459.9; R-331; R541.5

文章编号:

2095-4344(2024)02-00177-09

文献标识码: B

文章快速阅读: 早期或晚期有氧运动训练干预肺动脉高压所致右心衰竭



文题释义:

**有氧运动:** 是指全身主要肌群参与的、持续时间较长、以有氧代谢提供运动中所需能量的运动方式, 对改善心肺疾病、代谢性疾病等慢性非传染性疾病具有一定疗效, 是疾病临床治疗与康复的重要手段。

**肺动脉高压:** 因肺血管重构导致肺动脉压力异常, 右心室后负荷持续增高, 最终引起右心功能衰竭乃至死亡的常见疾病。肺动脉高压患者早期诊断困难, 治疗棘手, 预后差。右心衰竭是肺动脉高压最严重的并发症, 是肺动脉高压致残和致死的主要原因, 也是患者短期生存的决定性因素。

摘要

**背景:** 临床研究表明, 有氧运动是肺动脉高压患者临床治疗的重要补充, 能够缓解病情、增加运动耐力并改善生活质量。然而, 尚不清楚处于肺动脉高压不同阶段的患者是否可以从运动训练中同等受益。

**目的:** 对比早期或晚期有氧运动训练对肺动脉高压大鼠右心衰竭的干预效果, 并探讨其可能机制。

**方法:** 将 60 只雄性 Wistar 大鼠按照随机数字表法分为对照组、模型安静组、模型早期运动组和模型晚期运动组, 每组 15 只。除对照组外, 其余 3 组通过腹腔注射野百合碱(60 mg/kg)制作肺动脉高压模型。模型早期运动组造模后进行 8 周的跑台有氧运动(60%最大跑速, 60 min/d, 5 d/周), 模型晚期运动组造模后 2 周进行 6 周的跑台有氧运动, 对照组和模型安静组在鼠笼内安静饲养 8 周。训练结束后, 进行运动能力、右心室血液动力学、心肺功能、心肺病理组织学、心肌线粒体活性氧水平、心肌线粒体呼吸链复合体活性及心肌组织蛋白表达检测。

**结果与结论:** ①与模型安静组比较, 模型早期、晚期运动组大鼠的运动能力和右心室功能改善( $P < 0.05$ ), 心肌胶原含量及内皮素 1、肿瘤坏死因子 $\alpha$ /白细胞介素 10 比值、 $\beta$ -肌球蛋白重链/ $\alpha$ -肌球蛋白重链比值下降( $P < 0.05$ ), 血管内皮生长因子和肌浆网钙-三磷酸腺苷酶的蛋白表达量升高( $P < 0.05$ ), 线粒体活性氧免疫荧光强度和 3-硝基酪氨酸的蛋白表达量下降( $P < 0.05$ ), 复合体 I、II、IV 和 V 活性升高( $P < 0.05$ ), 然而右心室最大压力、肺动脉加速时间和肺动脉管壁面积/血管总面积比值无明显变化( $P > 0.05$ ); ②与模型晚期运动组比较, 模型早期运动组进一步改善了大鼠的运动能力和右心室功能, 并下调心肌胶原含量、脑钠肽蛋白表达量及肿瘤坏死因子 $\alpha$ /白细胞介素 10 比值、 $\beta$ -肌球蛋白重链/ $\alpha$ -肌球蛋白重链的比值( $P < 0.05$ ); ③结果显示, 尽管肺动脉高压大鼠肺血管重构和右心超负荷持续存在, 但在疾病不同阶段进行有氧运动训练均具有心脏保护作用, 其机制与改善心脏重构、神经激素系统失调、炎症反应以及线粒体氧化应激有关, 在疾病早期阶段开始运动获益更大。

**关键词:** 肺动脉高压; 有氧运动; 心脏重构; 炎症; 氧化应激; 运动能力; 右心衰竭

## Effects of early and late aerobic exercise on right heart failure induced by monocrotaline in rats with pulmonary hypertension

Sun Yuan<sup>1</sup>, Wang Qingbo<sup>2</sup>, Pi Yihua<sup>2</sup>, Lu Chunmin<sup>2</sup>, Xu Chuanyi<sup>2</sup>, Zhang Yan<sup>2</sup><sup>1</sup>Lianyungang Normal College, Lianyungang 222006, Jiangsu Province, China; <sup>2</sup>Department of Sports, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Sun Yuan, Master, Lecturer, Lianyungang Normal College, Lianyungang 222006, Jiangsu Province, China

**Corresponding author:** Zhang Yan, Master, Associate professor, Department of Sports, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Abstract

**BACKGROUND:** Clinical studies have shown that aerobic exercise is an important supplement to the clinical treatment of patients with pulmonary hypertension, which can alleviate the disease condition, increase exercise tolerance and improve the quality of life. However, it is not clear whether patients at different stages of pulmonary hypertension can benefit equally from exercise training.

**OBJECTIVE:** To compare the intervention effects of early or late aerobic training on right heart failure in rats with pulmonary hypertension and explore its possible mechanism.

<sup>1</sup>连云港师范高等专科学校, 江苏省连云港市 222006; <sup>2</sup>广西中医药大学体育部, 广西壮族自治区南宁市 530021

第一作者: 孙园, 女, 1988 年生, 江苏省徐州市人, 硕士, 讲师, 主要从事运动健康促进研究。

通讯作者: 张艳, 硕士, 副教授, 广西中医药大学体育部, 广西壮族自治区南宁市 530021

<https://orcid.org/0000-0002-1480-1373> (孙园)

基金资助: 广西教育科学“十三五”规划课题(2017C386), 项目负责人: 张艳

引用本文: 孙园, 王庆博, 皮亦华, 陆春敏, 徐传仪, 张艳. 早期和晚期有氧运动对野百合碱诱导肺动脉高压大鼠右心衰竭的影响 [J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(2):177-185.



**METHODS:** Sixty male Wistar rats were randomly divided into control group, model sedentary group, model early exercise group and model late exercise group, with 15 rats in each group. The model of pulmonary hypertension was established by intraperitoneal injection of monocrotaline (60 mg/kg) in the latter three groups. The model early exercise group was given 8 weeks of treadmill aerobic exercise (60% maximum running speed, 60 minutes per day, 5 days a week) after modeling, while the model late exercise group was trained for 6 weeks after 2 weeks of modeling. The control and model sedentary groups were fed quietly in the rat cage for 8 weeks. After training, the exercise performance, right ventricular hemodynamics, cardiopulmonary function, cardiopulmonary histopathology, reactive oxygen species level in mitochondria, activity of mitochondrial respiratory chain complex and expressions of myocardial tissue proteins were detected.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Compared with the model sedentary group, exercise performance and right ventricular function improved ( $P < 0.05$ ), myocardial collagen content, endothelin-1, tumor necrosis factor- $\alpha$ /interleukin-10 ratio and  $\beta$ -myosin heavy chain/ $\alpha$ -myosin heavy chain ratio decreased ( $P < 0.05$ ), vascular endothelial growth factor and sarcoplasmic reticulum calcium-adenosine triphosphate enzyme expression increased ( $P < 0.05$ ), immunofluorescence intensity of mitochondrial reactive oxygen species and the protein expression of 3-nitrotyrosine decreased ( $P < 0.05$ ), the activities of complex I, II, IV and V increased in the model early exercise and model late exercise groups ( $P < 0.05$ ), but there were no significant changes in right ventricular maximum pressure, pulmonary acceleration time and pulmonary artery wall area/total vascular area ratio ( $P > 0.05$ ). Compared with the model late exercise group, the model early exercise group further improved exercise performance and right ventricular function, and downregulated collagen content, brain natriuretic peptide protein expression, tumor necrosis factor- $\alpha$ /interleukin-10 ratio and  $\beta$ -myosin heavy chain/ $\alpha$ -myosin heavy chain ratio ( $P < 0.05$ ). To conclude, although pulmonary vascular remodeling and right ventricular overload persist in rats with pulmonary hypertension, exercise training at different stages of the disease has a cardioprotective effect. The mechanism is related to the improvement of cardiac remodeling, neurohormone system imbalance, inflammatory response and mitochondrial oxidative stress. Greater benefit is gained from initiating exercise in the early stage of the disease.

**Key words:** pulmonary hypertension; aerobic exercise; cardiac remodeling; inflammation; oxidative stress; exercise performance; right heart failure

**Funding:** Guangxi Provincial Education Science "13<sup>th</sup> Five-Year Plan" Project, No. 2017C386 (to ZY)

**How to cite this article:** SUN Y, WANG QB, PI YH, LU CM, XU CY, ZHANG Y. Effects of early and late aerobic exercise on right heart failure induced by monocrotaline in rats with pulmonary hypertension. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2024;28(2):177-185.

## 0 引言 Introduction

肺动脉高压是一种以肺动脉压进行性升高并最终导致不同程度右心功能衰竭甚至死亡的一种慢性进展性疾病，该病预后差，约 75% 患者在诊断后 5 年内死亡，症状出现后的平均生存期为 1.9 年，并严重影响患者身心健康和生活质量<sup>[1]</sup>。美国胸科医师学院在最新版肺动脉高压诊治指南中提出了综合治疗策略，包括：药物治疗、心肺康复、姑息治疗、支持治疗和预防<sup>[2]</sup>。近年来，以运动训练为主的心肺康复治疗日益受到重视。研究证实，规律运动训练可改善肺动脉高压患者运动耐量、延缓临床恶化时间、减少住院次数、降低病死率，并提高患者生活质量<sup>[3]</sup>。运动产生上述益处确切机制尚不清楚，可能与骨骼肌功能、肺血管系统及心功能改善有关<sup>[4]</sup>。

右心室重构导致的右心衰竭是肺动脉高压患者最严重的并发症，也是患者致残和致死的主要原因<sup>[5]</sup>。右心室重构的发生机制极为复杂，包括心肌细胞表型改变、细胞外基质沉积及神经激素系统激活、炎症反应、线粒体损伤、氧化应激等<sup>[6]</sup>。既往针对左心衰竭的研究证实，规律运动训练能够抑制左心室病理性重构并改善心功能，然而右心衰竭时进行运动康复是否同样受益尚不得而知<sup>[7]</sup>。目前临床医生一般鼓励肺动脉高压患者进行早期运动<sup>[8]</sup>，然而动物实验表明，运动训练并未改善晚期肺动脉高压大鼠右心室重构<sup>[9]</sup>，这可能与该研究采用的运动方式（自主跑轮）以及训练负荷（训练量和训练强度）较低等因素有关，因此，疾病晚期进行运动干预的疗效仍缺乏证据。基于此，此次实验通过野百合碱腹腔注射制作肺动脉高压大鼠模型，利用跑台运动方式并参照课题组前期研究方案制定运动处方，旨在观察长期有氧运动对疾病不同阶段（早期、晚期）右心室重构的影响并探讨其可能机制，阐明不同阶段运动疗法的作用及机制有助于为肺动脉高压患者制定最佳康复策略提供理论依据、干预靶点和有效方法，同时对于改善患者预后具有重要意义。

## 1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验，组间比较采用单因素方差分析，多重比较使用 LSD 检验。

1.2 时间及地点 实验于 2021 年 7-12 月在广西中医药大学运动生理实验室完成。

### 1.3 材料

1.3.1 主要试剂 野百合碱 (Sigma-Aldrich 公司, 美国); 戊巴比妥钠 (江苏恒瑞医药有限公司); MitoSox Red (Thermo Fisher, 美国); 多聚甲醛溶液 (南京建成生物工程研究所, 中国); 5% 牛血清白蛋白 (武汉博士德生物工程有限公司, 中国);  $\alpha$ -肌球蛋白重链一抗、 $\beta$ -肌球蛋白重链一抗、甘油醛-3-磷酸脱氢酶一抗、细胞色素 c 氧化酶 IV 一抗、内皮素 1 一抗 (Abcam 公司, 英国); 脑钠肽一抗、肿瘤坏死因子  $\alpha$  一抗、肌浆网钙三磷酸腺苷酶一抗、血管内皮生长因子一抗、3-硝基酪氨酸一抗、白细胞介素 10 一抗 (Santa cruz 公司, 美国); 辣根过氧化物酶标记的 IgG 二抗 (武汉博士德生物工程有限公司, 中国)。

1.3.2 主要仪器 FT-200 小动物跑台 (成都泰盟公司, 中国); 低温冰箱 (Thermo, 美国); 小动物超声影像系统 (VisualSonics Vevo 3100, 加拿大); 小动物呼吸机 (Harvard Apparatus 683, 美国); 生物信号采集处理系统 (AD Instruments ML880, 澳大利亚); 病理切片机 (RM2255, 德国); 倒置相差显微镜 (IX71, 日本); 共聚焦显微镜 (Leica TCS SPE, 德国); 紫外可见分光光度计 (UVmini-1240, 日本); 凝胶成像系统 (ChemIDoc XRS, 美国)。

1.3.3 实验动物和分组 60 只雄性 Wistar 大鼠, 6 周龄, 体质量 180-200 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号: SCXK(京)2018-0027。大鼠饲养环境: 12 h/12 h 明暗周期, 温度 (24 $\pm$ 2)  $^{\circ}$ C, 湿度 (60 $\pm$ 5)%, 分笼饲养 (5 只/笼), 自由进食水。将动物按照随机数字表法分为对照组、模型安静组、模型早期运动组与模型晚期运动组, 每组 15 只。实验获得广西中医药大学伦理委员会批准 (批准号: E2021-03-005)。实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。动物实验实施过程中, 饲养者和研究者均施以盲法 (避免实施偏倚), 数据分析与结果评价时同样施盲 (避免测量偏倚)。

### 1.4 实验方法

1.4.1 实验分组干预 对照组整个实验过程中在鼠笼内安静饲养 8 周。模型安静组、模型早期运动组与模型晚期运动组

均进行肺动脉高压造模，造模后模型安静组在鼠笼内安静饲养 8 周；模型早期运动组造模后即开始有氧运动训练，共训练 8 周；模型晚期运动组造模后 2 周开始有氧运动训练，共训练 6 周。

**造模方法：**利用野百合碱制作肺动脉高压模型，是肺动脉高压最简单、应用最广泛且成功率极高的造模方法。将野百合碱溶解在 0.5 mmol/L 盐酸中，标定至 100 mg/mL，然后用 0.5 mmol/L 氢氧化钠调节 pH 值至 7.4，并使用无菌生理盐水将溶液浓度调至 12.5 mg/mL 备用。对造模大鼠一次性腹腔注射野百合碱 (60 mg/kg)，根据体质量 (4.8 mL/kg) 向对照组注射等量无菌生理盐水。造模 14 d 后，造模大鼠肺动脉压和右心室压力 (导管法检测) 较对照组显著升高表明模型成功<sup>[9]</sup>。

#### 组织工程实验动物造模过程中的相关问题：

造模目的	阐明肺动脉高压大鼠不同疾病阶段进行有氧运动训练对右心衰竭的干预效果及其可能机制
选择动物的条件	6 周龄雄性 Wistar 大鼠，体质量 180–200 g
模型与所研究疾病的关系	大鼠单次腹腔注射野百合碱 (60 mg/kg)，2 周左右即可发生和临床肺动脉高压患者相似的血流动力学和病理学特征，因此是制作肺动脉高压的理想动物模型
动物来源及品系	雄性 Wistar 大鼠，购自北京维通利华实验动物技术有限公司
造模技术描述	将野百合碱溶解在 0.5 mmol/L 盐酸中，标定至 100 mg/mL，然后用 0.5 mmol/L 氢氧化钠调节 pH 值至 7.4，并使用无菌生理盐水将溶液浓度调至 12.5 mg/mL 备用。各模型组大鼠一次性腹腔注射野百合碱 (60 mg/kg)，根据体质量向对照组注射等量 (4.8 mL/kg) 的无菌生理盐水
动物数量及分组方法	60 只 6 周龄雄性 Wistar 大鼠按照随机数字表法分为对照组、模型安静组、模型早期运动组和模型晚期运动组，每组 15 只
造模成功评价指标	造模 14 d 后，肺动脉压和右心室压力 (导管法检测) 较对照组显著升高表明模型成功
造模后观察指标	运动能力，右心室血液动力学，心功能，心肌细胞横截面积和胶原含量，线粒体活性氧水平，线粒体呼吸链复合体活性，心肌钠肽、内皮素 1、肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白细胞介素 10、 $\alpha$ -肌球蛋白重链、 $\beta$ -肌球蛋白重链、肌浆网钙-三磷酸腺苷酶和血管内皮生长因子以及线粒体 3-硝基酪氨酸的蛋白表达量
造模后动物处理	对照组整个实验过程中在鼠笼内安静饲养 8 周；模型安静组造模后在鼠笼内安静饲养 8 周；模型早期运动组于造模后即开始运动训练，共 8 周；模型晚期运动组于造模后 2 周开始进行 6 周的运动训练
伦理委员会批准	实验获得广西中医药大学伦理委员会批准 (批准号：E2021-03-005)，实验过程中对动物处置符合动物伦理学要求

**运动能力测试与运动方案：**先按照课题组建立的递增负荷跑台运动实验方案测定动物运动能力<sup>[10]</sup>：起始负荷为 5 m/min，每 2 min 增加 1.5 m/min (坡度始终为 0°)，直至力竭。力竭判定标准为：大鼠跑台姿势由蹬地式变为伏地式，滞留于跑道末端不能继续跑动超过 5 s，且毛刷驱赶无效。记录最后一级负荷对应的跑速 (最大跑速)，同时记录力竭时间和最大距离。随后开始正式训练：2 个运动组进行中等强度 (60% 最大跑速)、坡度 0°、60 min/d、5 d/周 (周六和周日休息) 的跑台 (FT-200 动物跑步机) 有氧运动<sup>[10]</sup>。分别于实验前 (造模后) 以及末次训练后测定运动能力。

**1.4.2 测试方案与取材** 末次训练后 48 h 重复进行递增负荷运动实验，测定大鼠运动能力。运动能力测试后 48 h 进行超

声心动图检测和血液动力学评估。随后麻醉动物并取心脏和肺脏，分离左右心室并称质量；分离右肺进行病理组织学观察；将右心室分为 2 部分，一部分进行病理组织学观察，另一部分投入液氮中并转入 -80 °C 低温冰箱待测蛋白表达量。

**1.4.3 超声心动图检测** 用 0.4% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 腹腔注射麻醉后暴露大鼠左侧胸部。采用小动物超声影像系统检测心肺功能，使用 15 Hz 大鼠超声探头，经胸二维、M 型及脉冲波多普勒模式获取三尖瓣和肺动脉瓣超声心动图。检测参数包括：心率、肺动脉加速时间，心输出量、三尖瓣环收缩期位移、三尖瓣环收缩期峰值速度、等容收缩期心肌加速度、等容舒张时间和偏心指数。连续测量 3 个心动周期，取平均值。

**1.4.4 血液动力学评估** 超声心动图检测后行气管插管，利用小动物呼吸机进行机械通气 (呼吸频率 100 次/min)。右颈静脉插管输液 (预热的生理盐水)。分离右颈总动脉，插入 2F Millar 压力容积导管，连接 PowerLab 16/30 生物信号采集处理系统，采样频率为 1 000 Hz。将压力容积导管沿右颈总动脉分别送入左右心室 (术中根据生理记录仪压力波形变化判断导管位置)，用 PVAN 3.5 P-V 分析软件记录稳定状态下压力-容积波形的变化。分别获取以下参数：左右心室最大压力、舒张末期压力、压力最大上升速率、压力最大下降速率；右心室收缩末期压力-容积关系、动脉弹性、舒张末期压力-容积关系。

**1.4.5 病理组织学检测** 取右心室和右肺组织，以体积分数 10% 甲醛固定，石蜡包埋，制作 4  $\mu$ m 厚度切片。对于肺组织，苏木精-伊红染色后每张切片随机选取直径 50–100  $\mu$ m 肺小动脉 10 支，用图像分析软件测定肺动脉管壁面积/血管总面积作为评价肺小血管重构的指标。对于右心室，石蜡切片脱蜡后分别行苏木精-伊红染色和 Masson 染色，显微镜下选取 10 个高倍 ( $\times 400$ ) 视野，用图像分析软件 (Image-Pro Plus 6.0, 美国) 获取心肌细胞横截面积和胶原含量 (胶原含量 = 胶原面积 / 所测视野面积  $\times 100\%$ )，分别作为心肌肥大和心肌纤维化的指标。

**1.4.6 心肌线粒体活性氧检测** 参照文献 [11]，利用免疫荧光法检测右心室心肌细胞线粒体活性氧水平。取心脏组织，利用酶消化法分离心肌细胞，将细胞浓度稀释至  $5 \times 10^7$  L<sup>-1</sup> 接种于共聚焦小皿，每孔 500  $\mu$ L，每孔加入 2.5  $\mu$ mol/L 的 MitoSox Red (一种线粒体荧光探针，被活细胞线粒体内的超氧化物氧化后与核酸结合产生红色荧光) 工作液重悬细胞悬液，加入 Hoechst 染料 (1  $\mu$ g/mL) 37 °C 避光孵育 15 min 后加入抗荧光淬灭剂，以 PBS 洗涤 2 次。共聚焦显微镜下观察、拍照，通过 Image-Pro Plus 6.0 软件测定细胞内红色荧光强度反映线粒体内活性氧的含量。

**1.4.7 右心室线粒体制备与呼吸链复合体活性测定** 采用差速离心法分离心肌线粒体<sup>[12]</sup>，Bradford 法测定线粒体蛋白浓度，用分光光度法测定线粒体呼吸链复合体 I、II、III、IV、V 活性 (分别测定 340, 600, 550, 550 和 340 nm 处 3 min 吸光度值<sup>[13]</sup>)，严格按照试剂盒说明书进行。测试仪器

为 UVmini-1240 日本岛津紫外可见分光光度计。

1.4.8 心肌组织蛋白表达量检测 采用 Western Blot 法检测心肌组织脑钠肽 (稀释比例 1 : 500)、内皮素 1(稀释比例 1 : 1 000)、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (稀释比例 1 : 2 000)、白细胞介素 10(稀释比例 1 : 2 000)、 $\alpha$ -肌球蛋白重链 (稀释比例 1 : 5 000)、 $\beta$ -肌球蛋白重链 (稀释比例 1 : 5 000)、肌浆网钙 - 三磷酸腺苷酶 (稀释比例 1 : 1 000) 和血管内皮生长因子 (稀释比例 1 : 2 000) 以及线粒体 3- 硝基酪氨酸 (稀释比例 1 : 500) 的蛋白表达量。

分别提取心肌总蛋白以及线粒体总蛋白, 采用 Bradford 法测定蛋白浓度。取 50  $\mu$ g 蛋白样品在垂直电泳仪上经 SDS-PAGE 分离, 随后转移至聚偏二氟乙烯膜上。4  $^{\circ}$ C 一抗静置孵育过夜, 二抗 (辣根过氧化物酶标记的 IgG, 稀释比例 1 : 5 000) 室温孵育 1 h。充分洗涤后, 增强型化学发光试剂发光成像, 扫描各条带灰度值。内参蛋白为 GAPDH(胞浆蛋白) 或细胞色素 c 氧化酶 IV (线粒体蛋白), 将目的蛋白灰度值与内参蛋白的比值作为相对表达量, 计算各组各蛋白相对表达量与对照组的比值作为相对表达率。

1.5 主要观察指标 各组大鼠运动能力、右心室血液动力学、心肺功能、心肺病理组织学、心肌线粒体活性氧水平、心肌线粒体呼吸链复合体活性及心肌组织蛋白表达。

1.6 统计学分析 使用 SPSS 20.0 统计软件包对实验结果进行统计分析和处理。所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。各参数组间比较使用单因素方差分析, 多重比较使用最小显著性差异法检验。 $P < 0.05$  为差异有显著性意义。该文统计学方法已经广西中医药大学生物统计学专家审核。

## 2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验实施过程中, 对照组死亡 0 只, 模型安静组死亡 6 只, 模型早期运动组死亡 1 只、拒跑 1 只, 模型晚期运动组死亡 4 只、拒跑 2 只, 因此最终纳入统计的样本量  $n=46$ , 分别为对照组 ( $n=15$ )、模型安静组 ( $n=9$ )、模型早期运动组 ( $n=13$ ) 和模型晚期运动组 ( $n=9$ )。

2.2 各组大鼠运动能力的比较 见表 1。

表 1 | 训练结束后各组大鼠运动能力的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 1 | Comparison of rat exercise performance between groups after training

变量	对照组 ( $n=15$ )	模型安静组 ( $n=9$ )	模型早期运动组 ( $n=13$ )	模型晚期运动组 ( $n=9$ )
最大跑速 (m/min)	28.63 $\pm$ 4.32	14.31 $\pm$ 3.18 <sup>a</sup>	30.83 $\pm$ 4.64 <sup>bc</sup>	23.83 $\pm$ 3.91 <sup>b</sup>
力竭时间 (min)	17.83 $\pm$ 2.10	9.46 $\pm$ 1.87 <sup>a</sup>	19.22 $\pm$ 3.53 <sup>bc</sup>	14.60 $\pm$ 3.21 <sup>b</sup>
最大距离 (m)	381.04 $\pm$ 49.55	212.27 $\pm$ 40.13 <sup>a</sup>	425.08 $\pm$ 62.25 <sup>bc</sup>	337.55 $\pm$ 51.23 <sup>b</sup>

表注: 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型安静组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与模型晚期运动组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

训练结束后, 与对照组比较, 模型安静组大鼠的最大跑速、力竭时间和最大距离均下降 ( $P < 0.05$ )。与模型安静组比较, 模型早期、晚期运动组大鼠的各运动能力参数均升高 ( $P < 0.05$ )。与模型晚期运动组比较, 模型早期运动组大鼠的各运动能力参数增加 ( $P < 0.05$ )。

2.3 各组大鼠体质量、心脏质量与肺脏质量的比较 见表 2。

表 2 | 训练结束后各组大鼠体质量、心脏质量与肺脏质量的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 2 | Comparison of body mass, heart mass and lung mass of rats between groups after training

变量	对照组 ( $n=15$ )	模型安静组 ( $n=9$ )	模型早期运动组 ( $n=13$ )	模型晚期运动组 ( $n=9$ )
体质量 (g)	325.61 $\pm$ 41.03	274.10 $\pm$ 38.22 <sup>a</sup>	320.74 $\pm$ 45.51 <sup>bc</sup>	286.90 $\pm$ 35.08 <sup>a</sup>
心脏质量 (g)	0.89 $\pm$ 0.21	0.97 $\pm$ 0.17	1.05 $\pm$ 0.16	0.93 $\pm$ 0.22
心脏质量 / 体质量 (mg/g)	2.72 $\pm$ 0.36	3.53 $\pm$ 0.47 <sup>a</sup>	3.21 $\pm$ 0.41 <sup>a</sup>	3.36 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>
肺脏质量 (g)	1.46 $\pm$ 0.22	2.17 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>	2.05 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	2.15 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>
肺脏质量 / 体质量 (mg/g)	4.39 $\pm$ 0.87	7.89 $\pm$ 1.25 <sup>a</sup>	6.40 $\pm$ 1.09 <sup>abc</sup>	7.51 $\pm$ 1.32 <sup>a</sup>
右心室质量 (g)	0.18 $\pm$ 0.02	0.28 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.30 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.27 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
右心室质量 / 体质量 (mg/g)	0.55 $\pm$ 0.11	1.01 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	0.93 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	0.94 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>
左心室质量 (g)	0.58 $\pm$ 0.14	0.55 $\pm$ 0.10	0.60 $\pm$ 0.21	0.56 $\pm$ 0.18
左心室质量 / 体质量 (mg/g)	1.78 $\pm$ 0.34	1.98 $\pm$ 0.41	1.87 $\pm$ 0.37	1.95 $\pm$ 0.43

表注: 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型安静组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与模型晚期运动组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

训练结束后, 与对照组比较, 模型安静组大鼠体质量下降 ( $P < 0.05$ ), 心脏质量 / 体质量、肺脏质量、肺脏质量 / 体质量、右心室质量和右心室质量 / 体质量增加 ( $P < 0.05$ ); 模型早期、晚期运动组大鼠心脏质量 / 体质量、肺脏质量、肺脏质量 / 体质量、右心室质量和右心室质量 / 体质量增加 ( $P < 0.05$ ), 模型晚期运动组大鼠体质量下降。与模型安静组比较, 模型早期运动组大鼠体质量增加 ( $P < 0.05$ ), 肺脏质量 / 体质量下降 ( $P < 0.05$ ); 模型晚期运动组各参数无明显变化 ( $P > 0.05$ )。与模型晚期运动组比较, 模型早期运动组大鼠体质量增加 ( $P < 0.05$ ), 肺脏质量 / 体质量下降 ( $P < 0.05$ )。

2.4 各组大鼠超声心动参数的比较 见表 3。

表 3 | 训练结束后各组大鼠超声心动参数的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 3 | Comparison of echocardiographic parameters in rats between groups after training

变量	对照组 ( $n=15$ )	模型安静组 ( $n=9$ )	模型早期运动组 ( $n=13$ )	模型晚期运动组 ( $n=9$ )
心率 (次 / min)	382.53 $\pm$ 43.21	359.64 $\pm$ 51.10	379.25 $\pm$ 49.55	355.71 $\pm$ 56.03
肺动脉加速时间 (ms)	28.34 $\pm$ 4.13	17.22 $\pm$ 3.26 <sup>a</sup>	19.12 $\pm$ 4.70 <sup>a</sup>	21.20 $\pm$ 5.34 <sup>a</sup>
心输出量 (mL/min)	47.67 $\pm$ 5.79	17.91 $\pm$ 3.64 <sup>a</sup>	36.52 $\pm$ 4.88 <sup>abc</sup>	26.47 $\pm$ 4.01 <sup>ab</sup>
三尖瓣环收缩期位移 (mm)	1.91 $\pm$ 0.32	1.02 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	2.02 $\pm$ 0.38 <sup>bc</sup>	1.33 $\pm$ 0.30 <sup>a</sup>
三尖瓣环收缩期峰值速度 (cm/s)	0.08 $\pm$ 0.02	0.03 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.06 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.04 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
等容收缩期心肌加速度 (m/s <sup>2</sup> )	9.75 $\pm$ 2.31	3.18 $\pm$ 0.98 <sup>a</sup>	8.35 $\pm$ 1.99 <sup>b</sup>	7.89 $\pm$ 2.02 <sup>b</sup>
等容舒张时间 (ms)	16.82 $\pm$ 3.94	29.51 $\pm$ 4.43 <sup>a</sup>	15.18 $\pm$ 3.12 <sup>b</sup>	18.72 $\pm$ 4.03 <sup>b</sup>
偏心指数	1.05 $\pm$ 0.21	1.76 $\pm$ 0.43 <sup>a</sup>	1.13 $\pm$ 0.29 <sup>b</sup>	1.22 $\pm$ 0.31 <sup>b</sup>

表注: 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型安静组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与模型晚期运动组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

训练结束后, 与对照组比较, 模型安静组大鼠肺动脉加速时间、心输出量、三尖瓣环收缩期位移、三尖瓣环收缩期峰值速度和等容收缩期心肌加速度下降 ( $P < 0.05$ ), 等容舒张时间和偏心指数升高 ( $P < 0.05$ ); 模型早期运动组大鼠肺动脉加速时间和心输出量下降 ( $P < 0.05$ ); 模型晚期运动组大鼠肺动脉加速时间、心输出量、三尖瓣环收缩期位移和三尖瓣环收缩期峰值速度下降 ( $P < 0.05$ )。与模型安静组比较, 模型早期运动组大鼠心输出量、三尖瓣环收缩期位移、三尖瓣环收缩期峰值

速度和等容收缩期心肌加速度升高 ( $P < 0.05$ ), 等容舒张时间和偏心指数下降 ( $P < 0.05$ ); 模型晚期运动组大鼠心输出量和等容收缩期心肌加速度升高 ( $P < 0.05$ ), 等容舒张时间和偏心指数下降 ( $P < 0.05$ )。与模型晚期运动组比较, 模型早期运动组大鼠心输出量和三尖瓣环收缩期位移增加 ( $P < 0.05$ )。

2.5 各组大鼠血液动力学参数的比较 见表 4。

表 4 | 训练结束后各组大鼠血液动力学参数的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 4 | Comparison of hemodynamic parameters in rats between groups after training

变量	左心室			
	对照组 (n=15)	模型安静组 (n=9)	模型早期运动组 (n=13)	模型晚期运动组 (n=9)
最大压力 (mmHg)	118.52±26.81	92.63±20.12 <sup>a</sup>	106.45±27.31	103.10±31.22
舒张末期压力 (mmHg)	4.11±0.92	5.01±1.17	4.75±0.83	4.92±1.05
压力最大上升速率 (mmHg/s)	8292.06±1533.82	5329.34±1891.01 <sup>a</sup>	6615.30±1722.89	6982.22±2105.63
压力最大下降速率 (mmHg/s)	-9675.31±3122.52	-5912.10±1625.83 <sup>a</sup>	-7522.85±2310.67	-7823.83±2577.44
变量	右心室			
	对照组 (n=15)	模型安静组 (n=9)	模型早期运动组 (n=13)	模型晚期运动组 (n=9)
最大压力 (mmHg)	23.72±4.34	45.91±5.03 <sup>a</sup>	43.93±4.72 <sup>a</sup>	47.93±5.5 <sup>a</sup>
舒张末期压力 (mmHg)	3.52±0.63	6.27±1.22 <sup>a</sup>	3.38±0.58 <sup>b</sup>	3.89±0.49 <sup>b</sup>
压力最大上升速率 (mmHg/s)	1955.13±237.34	2122.47±329.83	2512.74±358.11 <sup>a</sup>	2679.32±401.74 <sup>a</sup>
压力最大下降速率 (mmHg/s)	-1577.21±259.62	-1839.64±311.71	-2275.80±466.94 <sup>a</sup>	-1910.85±378.12
收缩末期压力 - 容积关系 (mmHg/RVU)	4.92±1.61	12.8±3.9 <sup>a</sup>	7.12±1.89 <sup>b</sup>	7.23±2.28 <sup>b</sup>
动脉弹性 (mmHg/RVU)	3.67±0.63	8.95±3.52 <sup>a</sup>	7.34±2.90 <sup>a</sup>	6.98±1.89 <sup>a</sup>
收缩末期压力 - 容积关系 / 动脉弹性比值	1.21±0.45	1.31±0.61	0.99±0.38	1.07±0.40
舒张末期压力 - 容积关系 (mmHg/RVU)	1.78±0.34	4.65±1.98 <sup>a</sup>	1.36±0.41 <sup>b</sup>	1.55±0.52 <sup>b</sup>

表注: 1 mmHg=0.133 kPa; RVU 为相对容积单位。与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型安静组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

训练结束后, 与对照组比较, 模型安静组大鼠左心室最大压力、压力最大上升速率和压力最大下降速率下降 ( $P < 0.05$ ), 右心室最大压力、舒张末期压力、收缩末期压力 - 容积关系、动脉弹性和舒张末期压力 - 容积关系升高 ( $P < 0.05$ ); 模型早期运动组大鼠右心室最大压力、压力最大上升速率、压力最大下降速率和动脉弹性升高 ( $P < 0.05$ ); 模型晚期运动组大鼠右心室最大压力、压力最大上升速率和动脉弹性升高 ( $P < 0.05$ )。与模型安静组比较, 模型早期运动组和模型晚期运动组右心室舒张末期压力、收缩末期压力 - 容积关系和舒张末期压力 - 容积关系下降 ( $P < 0.05$ )。与模型晚期运动组比较, 模型早期运动组左右心室各参数无明显变化 ( $P > 0.05$ )。

2.6 各组大鼠肺脏和右心室组织病理学变化

肺小动脉苏木精 - 伊红染色: 对照组大鼠肺小动脉管腔直径较大, 血管壁较薄; 模型安静组、模型早期运动组和模型晚期运动组大鼠肺动脉平滑肌细胞增生、胞核增大、排列

紊乱, 肺小动脉管腔明显狭窄, 血管管壁显著增厚, 见图 1。与对照组比较, 模型安静组、模型早期运动组和模型晚期运动组大鼠肺动脉管壁面积 / 血管总面积比值均显著性升高 ( $P < 0.05$ ), 各模型组间比较无显著性意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 2。

右心室心肌苏木精 - 伊红染色: 胞浆呈红色, 胞核呈蓝色。对照组大鼠心肌细胞形态正常、结构完整、排列紧凑、分布均匀; 模型安静组大鼠心肌细胞肿胀肥大、增宽, 细胞间距增大, 排列稀疏杂乱; 模型早期、晚期运动组大鼠心肌细胞较模型安静组心肌肥大程度虽未减轻, 但排列致密有序, 见图 3。与对照组比较, 模型安静组、模型早期运动组和模型晚期运动组心肌细胞横截面积均显著性升高 ( $P < 0.05$ ), 各模型组间比较无显著性意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 4。

右心室心肌 Masson 染色: 胶原纤维染成蓝色, 心肌细胞染成红色。对照组大鼠心肌几乎无胶原纤维, 模型安静组大鼠心肌出现明显胶原过度沉积, 两运动组胶原纤维减少, 见图 5。与对照组比较, 模型安静组大鼠心肌胶原纤维含量增加 ( $P < 0.05$ ); 与模型安静组比较, 模型早期、晚期运动组胶原含量下降 ( $P < 0.05$ ); 与模型晚期运动组比较, 模型早期运动组胶原含量下降 ( $P < 0.05$ ), 见图 6。

2.7 各组大鼠心肌线粒体活性氧、呼吸链复合体活性以及线粒体 3- 硝基酪氨酸蛋白表达量比较 右心室心肌线粒体活性氧免疫荧光染色 (图 7): 线粒体活性氧呈红色, 细胞呈蓝色。与对照组比较, 模型安静组线粒体活性氧免疫荧光强度增加 ( $P < 0.05$ ); 与模型安静组比较, 模型早期、晚期运动组线粒体活性氧免疫荧光强度下降 ( $P < 0.05$ ); 与模型晚期运动组比较, 模型早期运动组线粒体活性氧免疫荧光强度无明显变化 ( $P > 0.05$ ), 见图 8。

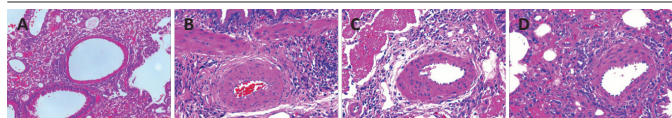
呼吸链复合体活性: 与对照组比较, 模型安静组复合体 I、II、IV 和 V 活性降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型安静组比较, 模型早期、晚期运动组复合体 I、II、IV 和 V 活性升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型晚期运动组比较, 模型早期运动组各参数无明显变化 ( $P > 0.05$ ), 见表 5。

表 5 | 训练结束后各组大鼠呼吸链复合体活性比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $\mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{mg})$ )  
Table 5 | Comparison of respiratory chain complex activity in rats between groups after training

变量	对照组 (n=15)	模型安静组 (n=9)	模型早期运动组 (n=13)	模型晚期运动组 (n=9)
复合体 I	6.75±2.18	2.17±0.76 <sup>a</sup>	5.35±1.88 <sup>b</sup>	4.67±1.75 <sup>b</sup>
复合体 II	2.72±0.59	2.27±0.45	2.89±0.61	2.65±0.53
复合体 III	1.29±0.44	0.67±0.29 <sup>a</sup>	1.36±0.50 <sup>b</sup>	1.21±0.37 <sup>b</sup>
复合体 IV	3.55±1.12	1.21±0.4 <sup>a</sup>	3.09±0.87 <sup>b</sup>	2.87±0.98 <sup>b</sup>
复合体 V	1.95±0.63	0.58±0.21 <sup>a</sup>	2.19±0.88 <sup>b</sup>	1.72±0.56 <sup>b</sup>

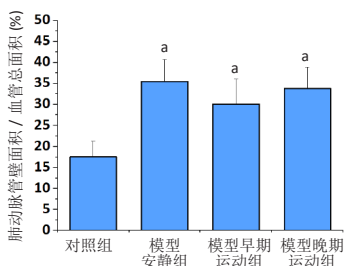
表注: 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型安静组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

心肌线粒体 3- 硝基酪氨酸蛋白表达量: 与对照组比较, 模型安静组心肌线粒体 3- 硝基酪氨酸蛋白表达量上调 ( $P < 0.05$ ); 与模型安静组比较, 模型早期、晚期运动组心肌线粒体 3- 硝基酪氨酸蛋白表达量下调 ( $P < 0.05$ ); 与模型晚期运动组比较, 模型早期运动组心肌线粒体 3- 硝基酪氨酸蛋白表达量无明显变化 ( $P > 0.05$ ), 见图 9。



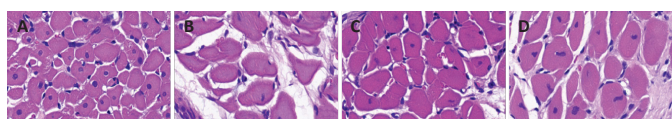
图注：A-D 分别为对照组、模型安静组、模型早期运动组、模型晚期运动组。对照组大鼠肺小动脉管腔直径较大，血管壁较薄；模型安静组、模型早期运动组和模型晚期运动组大鼠肺动脉平滑肌细胞增生、胞核增大、排列紊乱，肺小动脉管腔明显狭窄，血管管壁显著增厚

图 1 | 训练结束后各组大鼠肺组织苏木精-伊红染色 ( $\times 200$ )  
Figure 1 | Hematoxylin-eosin staining of rat lung tissue after training ( $\times 200$ )



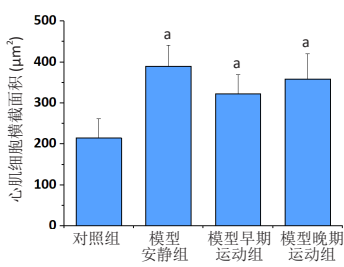
图注：与对照组比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$

图 2 | 训练结束后各组大鼠肺动脉管壁面积/血管总面积比值比较  
Figure 2 | Comparison of pulmonary artery wall area/total vascular area ratio between groups



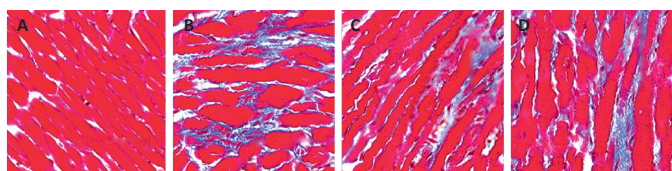
图注：A-D 分别为对照组、模型安静组、模型早期运动组、模型晚期运动组。对照组大鼠心肌细胞形态正常、结构完整、排列紧凑、分布均匀；模型安静组大鼠心肌细胞肿胀肥大、增宽，细胞间距增大，排列稀疏紊乱；模型早期、晚期运动组大鼠心肌细胞较模型安静组心肌肥大程度虽未减轻，但排列致密有序

图 3 | 训练结束后各组大鼠右心室苏木精-伊红染色 ( $\times 400$ )  
Figure 3 | Hematoxylin-eosin staining of the rat right ventricle after training ( $\times 400$ )



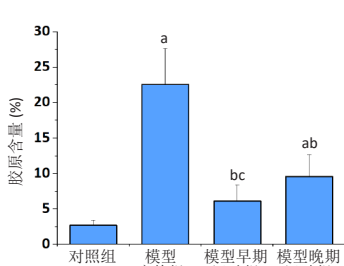
图注：与对照组比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$

图 4 | 训练结束后各组大鼠右心室心肌细胞横截面积比较  
Figure 4 | Comparison of cross-sectional area of right ventricular cardiomyocytes between groups



图注：A-D 分别为对照组、模型安静组、模型早期运动组、模型晚期运动组。对照组大鼠心肌几乎无胶原纤维，模型安静组大鼠心肌出现明显胶原过度沉积，两运动组胶原纤维减少

图 5 | 训练结束后各组大鼠右心室 Masson 染色 ( $\times 400$ )  
Figure 5 | Masson staining of the rat right ventricle after training ( $\times 400$ )



图注：与对照组比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ；与模型安静组比较，<sup>b</sup> $P < 0.05$ ；与模型晚期运动组比较，<sup>c</sup> $P < 0.05$

图 6 | 训练结束后各组大鼠右心室胶原含量比较  
Figure 6 | Comparison of collagen content in the rat right ventricle between groups after training

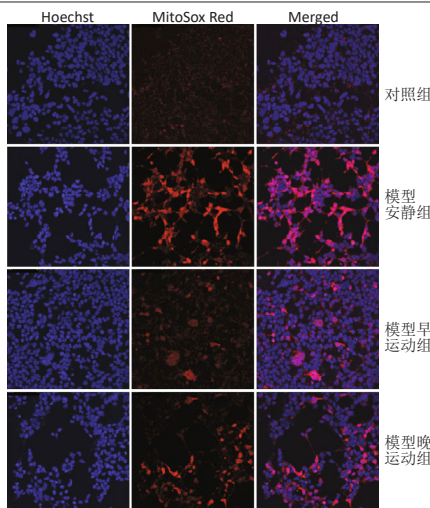
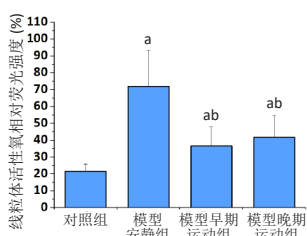
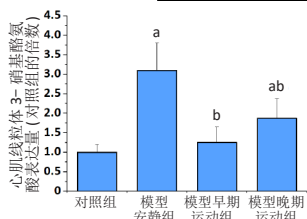
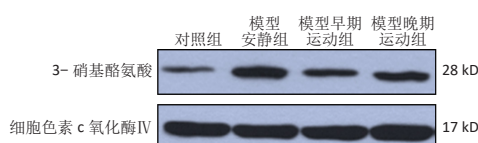


图 7 | 训练结束后各组大鼠心肌线粒体活性氧免疫荧光观察 ( $\times 600$ )  
Figure 7 | Immunofluorescence observation of reactive oxygen species in myocardial mitochondria after training ( $\times 600$ )



图注：与对照组比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ；与模型安静组比较，<sup>b</sup> $P < 0.05$

图 8 | 训练结束后各组大鼠心肌线粒体活性氧荧光强度比较  
Figure 8 | Comparison of fluorescence intensity of reactive oxygen species in myocardial mitochondria of rats between groups after training



图注：与对照组比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ；与模型安静组比较，<sup>b</sup> $P < 0.05$

图 9 | 训练结束后各组大鼠心肌线粒体 3-硝基酪氨酸蛋白表达量比较  
Figure 9 | Comparison of 3-nitrotyrosine expression in myocardial mitochondria of rats between groups after training

## 2.8 各组大鼠心肌组织蛋白表达量比较

**神经激素系统：**与对照组比较，模型安静组脑钠肽和内皮素 1 蛋白表达量升高 ( $P < 0.05$ )，血管内皮生长因子蛋白表达量下降 ( $P < 0.05$ )。与模型安静组比较，模型早期运动组脑钠肽、内皮素 1 蛋白表达量降低 ( $P < 0.05$ )，血管内皮生长因子蛋白表达量升高 ( $P < 0.05$ )；模型晚期运动组内皮素 1 蛋白表达量降低 ( $P < 0.05$ )，血管内皮生长因子蛋白表达量升高 ( $P < 0.05$ )。与模型晚期运动组比较，模型早期运动组脑钠肽蛋白表达量下降 ( $P < 0.05$ )，见图 10。

**炎症反应状态：**与对照组比较，模型安静组肿瘤坏死因子  $\alpha$  蛋白表达量及肿瘤坏死因子  $\alpha$ /白细胞介素 10 比值升高 ( $P < 0.05$ )。与模型安静组比较，模型早期运动组白细胞介素 10 蛋白表达量升高 ( $P < 0.05$ )，肿瘤坏死因子  $\alpha$  蛋白表达量和肿瘤坏死因子  $\alpha$ /白细胞介素 10 比值降低 ( $P < 0.05$ )；模型晚期运动组肿瘤坏死因子  $\alpha$  蛋白表达量和肿瘤坏死因子  $\alpha$ /白细胞介素 10 比值降低 ( $P < 0.05$ )。与模型晚期运动组比较，模型早期运动组白细胞介素 10 蛋白表达量升高 ( $P < 0.05$ )，肿瘤坏死因子  $\alpha$  蛋白表达量和肿瘤坏死因子  $\alpha$ /白细胞介素 10 比值降低 ( $P < 0.05$ )，见图 11。

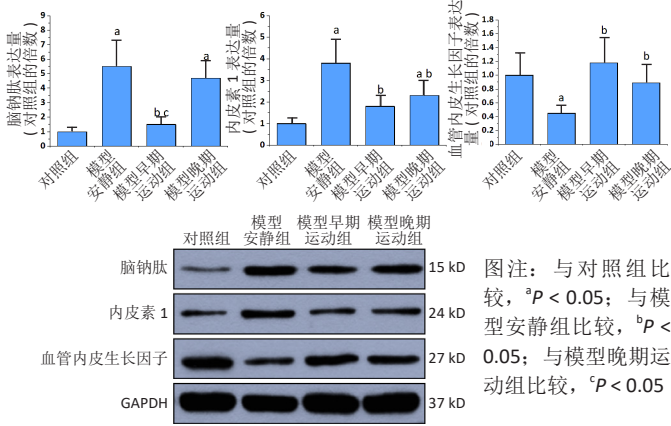


图 10 | 训练结束后各组大鼠心肌组织脑钠肽、内皮素 1 和血管内皮生长因子蛋白表达量比较

Figure 10 | Comparison of protein expression of brain natriuretic peptide, endothelin-1 and vascular endothelial growth factor in rat cardiomyocytes between groups after training

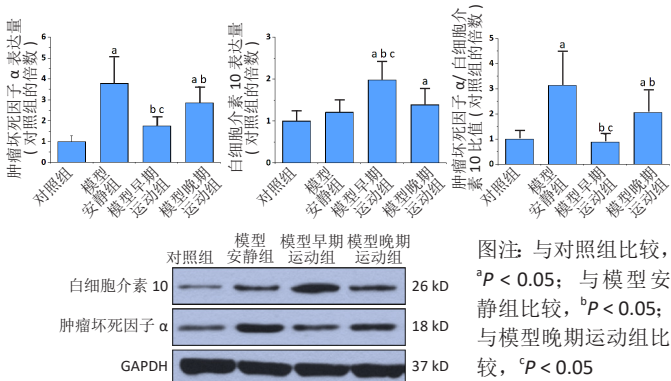


图 11 | 训练结束后各组大鼠心肌组织肿瘤坏死因子 α、白细胞介素 10 蛋白表达量的比较

Figure 11 | Comparison of tumor necrosis factor-α and interleukin-10 protein expression in rat cardiomyocytes between groups after training

**心脏收缩蛋白:** 与对照组比较, 模型安静组 β-肌球蛋白重链蛋白表达量和 β-肌球蛋白重链 / α-肌球蛋白重链比值升高 ( $P < 0.05$ ), α-肌球蛋白重链和肌浆网钙 - 三磷酸腺苷酶蛋白表达量下降 ( $P < 0.05$ )。与模型安静组比较, 模型早期、晚期运动组 α-肌球蛋白重链和肌浆网钙 - 三磷酸腺苷酶蛋白表达量升高 ( $P < 0.05$ ), β-肌球蛋白重链蛋白表达量及 β-肌球蛋白重链 / α-肌球蛋白重链比值下降 ( $P < 0.05$ )。与模型晚期运动组比较, 模型早期运动组 α-肌球蛋白重链蛋白表达量升高 ( $P < 0.05$ ), β-肌球蛋白重链蛋白表达量和 β-肌球蛋白重链 / α-肌球蛋白重链比值下降 ( $P < 0.05$ ), 见图 12。

### 3 讨论 Discussion

此次实验的主要发现是: 尽管肺血管重构和右心超负荷持续存在, 但不同阶段有氧运动均能够对肺动脉高压诱导的右心衰竭具有积极影响, 表现为右心室功能改善、运动耐量增强, 其机制与改善心脏重构、神经-激素系统失调、炎症反应以及线粒体氧化应激有关, 并且肺动脉高压早期开始运动的效果较晚期更佳。

**3.1 运动训练对心脏功能和运动耐量的影响** 此次实验血液动力学和超声心动参数检测结果显示, 在肺动脉高压早期或

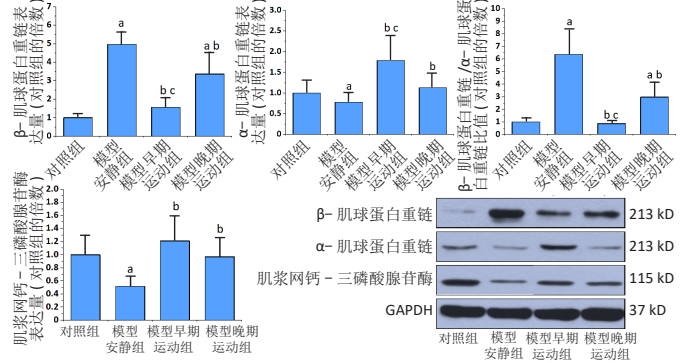


图 12 | 训练结束后各组大鼠心肌组织 α-肌球蛋白重链、β-肌球蛋白重链和肌浆网钙 - 三磷酸腺苷酶蛋白表达量的比较

Figure 12 | Comparison of protein expression of α-myosin heavy chain, β-myosin heavy chain and sarcoplasmic reticulum calcium-adenosine triphosphatase in rat cardiomyocytes between groups after training

晚期开始运动训练均可改善右心室功能。此外, 与模型晚期运动组比较, 模型早期运动组心输出量和三尖瓣环收缩期位移增加, 提示疾病早期阶段开始训练心功能改善效果更佳。值得注意的是, 各模型组右心室最大压力和肺动脉加速时间均较对照安静组升高, 但组间比较并无显著差异, 即右心超负荷持续存在且并未被运动干预所改善, 提示运动对心脏的有益效应可能与心室负荷的变化无关联, 这在一定程度上也印证了 BOGAARD 等<sup>[14]</sup>的假说, 即右心室功能障碍并不完全依赖于心脏超负荷。上述结果表明, 血流动力学指标并不能全面评估运动训练对肺动脉高压的有益影响。此外, 各模型组肺动脉管壁面积 / 血管总面积比值与右心室负荷的变化一致, 提示有氧运动未改善肺血管重构。既往研究显示, 运动训练对肺血管重构的影响仍无定论, 可能改善或无变化<sup>[15]</sup>。此次实验还发现, 表征心室-动脉偶联(指心脏功能与外周血管功能的相互匹配关系, 通过调整相匹配的动脉性能, 即使在病理状态下心脏仍能为外周器官提供充足的血液<sup>[16]</sup>)的指标收缩末期压力-容积关系 / 动脉弹性比值在各组间比较均无显著差异。因此, 虽然 2 个模型运动组心功能改善, 但不能由此推断静息状态下血液能够从右心室更有效地转移至肺循环。然而, 模型安静组收缩末期压力-容积关系和动脉弹性绝对值增加, 提示心血管储备降低。SPRUIJT 等<sup>[17]</sup>的研究表明, 虽然肺动脉高压患者静息状态下的收缩末期压力-容积关系 / 动脉弹性比值保持不变, 但在亚极量运动试验中却表现出右心室收缩力储备下降。收缩末期压力-容积关系 / 动脉弹性比值相似时, 收缩末期压力-容积关系较高者心肌收缩力储备往往不及收缩末期压力-容积关系较低者, 这是由于增加相同的前负荷, 收缩末期压力-容积关系较高者每搏输出量的增加幅度减少。有研究显示, 经过运动训练的肺动脉高压患者在递增负荷力竭试验中的心脏指数和心输出量增加, 进一步支持运动能够提升心血管储备<sup>[18]</sup>。因此可以推测, 模型安静组动物静息状态下右心室已达到最大(或接近最大)收缩力极限, 而模型运动组大鼠仍拥有较高的收缩力储备。

肺动脉高压患者生活质量低下的主要表现是运动耐量下

降<sup>[19]</sup>、生存期缩短<sup>[20]</sup>。此次实验证实,经过运动训练的大鼠运动耐力增加,这与先前针对肺动脉高压患者的报道一致<sup>[21]</sup>,其机制可能与最大摄氧量提高有关。最大摄氧量是表征有氧运动能力的金指标,其决定因素包括中枢机制(心肺)和外周机制(骨骼肌)<sup>[22]</sup>。规律运动训练可通过改善心功能并防止骨骼肌萎缩和功能障碍提升最大摄氧量水平<sup>[22]</sup>。此外,运动还能够对肺血管反应性<sup>[23]</sup>、运动过程中的肺气体交换效率产生积极影响,进而上调最大摄氧量。既往研究证实,运动训练能够提高肺动脉高压患者生存率<sup>[9]</sup>。在此次实验中,不同阶段运动干预对大多数功能参数和分子标志物均具有积极影响,但与模型晚期运动组相比,模型早期运动组对心输出量、三尖瓣环收缩期位移和脑钠肽水平的改善幅度更大。上述参数在评估疾病严重程度和死亡率方面具有重要的预测价值<sup>[24]</sup>,据此推断,疾病早期阶段开始运动能够明显改善肺动脉高压患者预后。

HANDOKO等<sup>[8]</sup>报道运动训练并未对晚期肺动脉高压大鼠产生积极作用,然而在此次实验中,模型晚期运动组动物心功能和运动能力较模型安静组提高,研究结果存在差异可能与训练方案不同有关,此次实验制定的训练量(60 min/d vs. 30 min/d)和训练强度(30 m/min vs. 13.3 m/min)均高于HANDOKO等<sup>[8]</sup>的研究。针对左心衰竭的研究表明,运动对心血管功能的改善作用与训练量和/或强度有关<sup>[25]</sup>。HUSSAIN等<sup>[26]</sup>证实训练强度与有氧运动能力呈现剂量-反应关系,高强度运动的的心脏健康效应是中等强度的2倍。课题组前期研究发现,高训练量方案(300 min/周)对于高脂饮食诱导肥胖大鼠的康复治疗效果(改善身体成分、糖脂代谢和血压水平,调节骨骼肌胰岛素信号通路,降低炎症反应等)明显优于低训练量(150 min/周)<sup>[10]</sup>。

**3.2 运动训练介导心脏保护效应的可能机制** 为深入了解运动诱导心脏保护的具体机制,此次实验对右心衰竭的病理组织学特征和分子标记进行了研究。结果发现,模型安静组大鼠右心室发生病理性重构,表现为心肌肥大与心肌纤维化。心脏肥大是肺动脉高压时应对过高室壁应力的代偿反应,但肥大的心肌细胞耗氧量增加,最终发生失代偿(心力衰竭);而心肌纤维化则可导致心脏硬度增加以及心室壁顺应性下降,进而影响心脏舒缩功能<sup>[27]</sup>。经过运动训练后,心肌细胞肥大并未减轻,但心功能改善,提示运动能够诱导肺动脉高压大鼠右心室由病理性肥大向生理性肥大转变,这与运动训练诱导左心室生理性重构的研究结果一致,其机制与运动时心脏前负荷(容量负荷,即回心血量)增加引起心肌细胞肌节串联排列,心腔扩张以适应增加的容量负荷有关<sup>[28]</sup>。此外,2个模型运动组心肌纤维化程度均较模型安静组降低,而早期运动组表现的尤为明显,从而有利于恢复心室舒张期僵硬度和心肌顺应性(舒张末期压力-容积关系和舒张末期压力改善)。

运动的抗纤维化作用与炎症反应状态减轻以及神经激素(脑钠素、内皮素1、血管内皮生长因子)紊乱改善有关。免疫炎症反应在心肌纤维化的过程中发挥重要作用,当心脏损伤时免疫系统激活,释放多种炎症因子,激活心肌成纤维细胞,导致胶原代谢异常,从而引起心肌纤维化<sup>[29]</sup>。肿瘤坏死

因子 $\alpha$ 是最重要的促炎因子,而白细胞介素10则属于抗炎因子,两者比值是促炎/抗炎平衡的标志物<sup>[30]</sup>。此次实验中,模型安静组肿瘤坏死因子 $\alpha$ /白细胞介素10比值升高,而2个模型运动组肿瘤坏死因子 $\alpha$ /白细胞介素10比值均下调,且早期运动组降低幅度更明显,提示早期运动的抗炎效果更佳。内皮素1不仅是最强的内源性缩血管物质,还可促进胶原蛋白表达和右心室纤维化<sup>[31]</sup>。通过野百合碱诱导肺动脉高压大鼠模型发现,双侧心室内皮素1表达均显著上调<sup>[32]</sup>,同时伴随心脏收缩功能下降,给予内皮素受体拮抗剂波生坦治疗后心功能得以恢复<sup>[33]</sup>。因此,此次实验中2个模型运动组内皮素1蛋白水平下调可能是心脏功能改善的重要原因。此外,肺动脉高压时心脏血管内皮生长因子蛋白表达下调,毛细血管生成减少,伴随心肌肥大和间质增生,单位质量心肌毛细血管比例减少,从而增加血管弥散距离并加重心肌缺氧,心肌细胞能量供应障碍,最终影响心肌收缩力<sup>[34]</sup>。经过运动后,血管内皮生长因子蛋白表达上调有助于改善心脏毛细血管密度,减轻心肌缺氧并提高心功能。

肌球蛋白是介导心肌收缩的主要成分,由2条重链( $\alpha$ -和 $\beta$ -肌球蛋白重链)和4条轻链构成。通过比较发现, $\alpha$ -肌球蛋白重链三磷酸腺苷酶活性较 $\beta$ -肌球蛋白重链高出3倍,与肌动蛋白的亲合力更大,因此收缩速度和收缩力更强<sup>[35]</sup>。胚胎期心肌中以 $\beta$ -肌球蛋白重链为主,成年后 $\alpha$ -肌球蛋白重链逐渐占优势<sup>[35]</sup>。心力衰竭时 $\beta$ -肌球蛋白重链表达上调,而 $\alpha$ -肌球蛋白重链表达降低,故 $\alpha$ -肌球蛋白重链向 $\beta$ -肌球蛋白重链亚型转变是心脏病理性重构尤其是心功能失代偿的重要标志<sup>[36]</sup>。在此次实验中,与模型安静组比较,2个模型运动组 $\beta$ -肌球蛋白重链/ $\alpha$ -肌球蛋白重链比值均明显下降,且早期运动组降低更为明显,这在一定程度上也解释了心功能的变化,因为心输出量与肌球蛋白重链含量呈线性关系<sup>[37]</sup>。心肌收缩需要钙离子参与,心肌肌浆网钙-三磷酸腺苷酶在心肌钙调节中发挥重要作用,在心肌舒张期将钙离子从胞浆转运至肌浆网中,从而调节心肌细胞内钙离子浓度并维持心肌正常舒缩功能<sup>[38]</sup>。肌浆网钙-三磷酸腺苷酶表达下调将导致心功能障碍。在此次实验中,2个模型运动组肌浆网钙-三磷酸腺苷酶蛋白表达量均较模型安静组显著性升高并恢复至正常水平,这有利于纠正心肌细胞钙稳态失衡,从而改善心肌舒缩功能。

研究显示,线粒体功能障碍参与肺动脉高压时肺血管及右心室重构,恢复线粒体功能有望成为肺动脉高压治疗的新策略<sup>[39]</sup>。此次实验发现,模型安静组呼吸链复合体活性下调,提示氧化磷酸化功能受损,线粒体能量产生障碍。有趣的是,唯有复合体II活性无明显改变。线粒体蛋白受核基因组与线粒体基因组共同调控,而复合体II则是唯一完全由核编码的复合体,其他复合体均至少有一个亚基是由线粒体基因组编码,因此可以推测,线粒体调节受损可能发生在线粒体基因组水平而非核基因组。经过训练后,2个模型运动组复合体活性升高,线粒体氧化磷酸化功能以及能量产生效率得以恢复。此外,线粒体呼吸链既是自由基(活性氧和活性



氮)的主要来源,同时又极易受到氧化和硝化损伤而出现功能紊乱(尤其是介导氧化磷酸化的复合体V)<sup>[40]</sup>。在肺动脉高压病理过程中,体内产生高浓度的超氧阴离子与一氧化氮发生反应,生成氧化能力更强的过氧亚硝酸盐,从而使蛋白质酪氨酸残基发生硝基化修饰,生成3-硝基酪氨酸,因此,3-硝基酪氨酸是活性氮的生物标志物。蛋白质发生硝基化修饰后可引起其功能受损或者酶活性下降,进而导致线粒体DNA损伤以及细胞凋亡或坏死,与疾病的进展密切相关<sup>[41]</sup>。在此次实验中,模型安静组心肌线粒体中活性氧和3-硝基酪氨酸水平增加,提示呼吸链发生氧化损伤,这可能是氧化磷酸化功能下降的重要原因。经过运动训练后,线粒体活性氧含量以及3-硝基酪氨酸表达量下降,表明心肌细胞线粒体活性氧和活性氮形成减少,这可能是由于运动诱导心脏抗氧化能力增强、自由基生成减少,进而降低氧化应激水平、稳定呼吸链功能并发挥心脏保护效应。

**3.3 实验结论、临床意义及建议** 尽管肺动脉高压大鼠肺血管重构和右心超负荷持续存在,但在疾病不同阶段进行运动训练均具有心脏保护作用,其机制与改善心脏重构、神经激素失调、炎症反应以及线粒体氧化应激有关。更为重要的是,在肺动脉高压早期阶段开始运动将获益更大。上述结果提示,运动训练可作为肺动脉高压的重要预防策略,同时也是临床治疗和疾病管理的有益补充,此次实验对于肺动脉高压患者最佳康复方案制定具有一定指导意义。由于早期干预效果更佳,因此今后在研究运动对肺动脉高压患者影响的临床试验中应招募处于疾病早期阶段的患者,同时应进一步深入探索不同训练负荷(包括训练量、训练强度、训练频率)对肺动脉高压的作用及机制,明确运动训练对肺动脉高压患者疗效的剂量-反应关系,以进一步优化康复运动处方。

**作者贡献:** 孙园和张艳进行实验设计,实验实施为王庆博、皮亦华、陆春敏、徐传仪和张艳,实验评估为陆春敏和徐传仪,资料收集为王庆博和皮亦华,孙园成文,张艳审校。

**利益冲突:** 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

**版权转让:** 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

**出版规范:** 该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

#### 4 参考文献 References

- [1] 杨媛华.《中国肺动脉高压诊断与治疗指南(2021版)》解读——肺动脉高压的诊断[J].中国实用内科杂志,2021,41(8):696-699.
- [2] KLINGER JR, ELLIOTT CG, LEVINE DJ, et al. Therapy for pulmonary arterial hypertension in adults: update of the chest guideline and expert panel report. *Chest*. 2019;155(3):565-586.
- [3] BENJAMIN N, MARRA AM, EICHSTAEDT C, et al. Exercise training and rehabilitation in pulmonary hypertension. *Heart Fail Clin*. 2018;14(3):425-430.
- [4] SANTOS-LOZANO A, FIUZA-LUCES C, FERNÁNDEZ-MORENO D, et al. Exercise benefits in pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73(22):2906-2907.
- [5] CASSADY SJ, RAMANI GV. Right heart failure in pulmonary hypertension. *Cardiol Clin*. 2020;38(2):243-255.
- [6] GHIO S, RAINERI C, SCELSI L, et al. Pulmonary hypertension and right ventricular remodeling in HFrEF and HFpEF. *Heart Fail Rev*. 2020;25(1):85-91.
- [7] CHIABRANDO JG, FEOLA M. Exercise and adverse ventricular remodeling: the cornerstone of heart failure. *Minerva Cardiol Angiol*. 2021;69(4):435-437.
- [8] HANDOKO ML, DE MAN FS, HAPPÉ CM, et al. Opposite effects of training in rats with stable and progressive pulmonary hypertension. *Circulation*. 2009;120(1):42-49.
- [9] MEYRICK B, GAMBLE W, REID L. Development of crocotalaria pulmonary hypertension: hemodynamic and structural study. *Am J Physiol*. 1980;239(5):H692-702.
- [10] 张艳,何瑞波,王庆博,等.不同负荷量有氧运动对肥胖大鼠骨骼肌炎症反应和胰岛素信号途径的影响及机制[J].中国组织工程研究,2023,27(8):1237-1244.
- [11] XU X, CHEN C, LU WJ, et al. Pyrroloquinoline quinone can prevent chronic heart failure by regulating mitochondrial function. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2020;10(3):453-469.
- [12] 张昊,王伟伟,薛过,等.运动训练通过诱导自噬、抑制凋亡改善老龄大鼠心脏功能[J].中国病理生理杂志,2014,30(1):11-17.
- [13] 王增喜,李洁,王悦.高强度间歇训练对大鼠心肌线粒体呼吸链复合体活性的影响[J].中国运动医学杂志,2018,37(4):315-322.
- [14] BOGAARD HJ, NATARAJAN R, HENDERSON SC, et al. Chronic pulmonary artery pressure elevation is insufficient to explain right heart failure. *Circulation*. 2009;120(20):1951-1960.
- [15] WEISSMANN N, PETERS DM, KLÖPPING C, et al. Structural and functional prevention of hypoxia-induced pulmonary hypertension by individualized exercise training in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2014;306(11):L986-995.
- [16] SAEED S, HOLM H, NILSSON PM. Ventricular-arterial coupling: definition, pathophysiology and therapeutic targets in cardiovascular disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2021;19(8):753-761.
- [17] SPRUIJT OA, DE MAN FS, GROEPENHOFF H, et al. The effects of exercise on right ventricular contractility and right ventricular-arterial coupling in pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;191(9):1050-1057.
- [18] EHLKEN N, LICHTBLAU M, KLOSE H, et al. Exercise training improves peak oxygen consumption and haemodynamics in patients with severe pulmonary arterial hypertension and inoperable chronic thrombo-embolic pulmonary hypertension: a prospective, randomized, controlled trial. *Eur Heart J*. 2016;37(1):35-44.
- [19] BLANCO I, TORRES-CASTRO R, BARBERÀ JA. Exercise tolerance in pulmonary hypertension. *Arch Bronconeumol*. 2022;58(5):388-389.
- [20] O'CALLAGHAN DS, HUMBERT M. A critical analysis of survival in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir Rev*. 2012;21(125):218-222.
- [21] GRÜNIG E, MACKENZIE A, PEACOCK AJ, et al. Standardized exercise training is feasible, safe, and effective in pulmonary arterial and chronic thromboembolic pulmonary hypertension: results from a large European multicentre randomized controlled trial. *Eur Heart J*. 2021;42(23):2284-2295.
- [22] ROIBAL PRAVIO J, BARGE CABALLERO E, BARBEITO CAAMAÑO C, et al. Determinants of maximal oxygen uptake in patients with heart failure. *ESC Heart Fail*. 2021;8(3):2002-2008.
- [23] KASHIMURA O, SAKAI A, YANAGIDAIRA Y. Effects of exercise-training on hypoxia and angiotensin II-induced pulmonary vasoconstrictions. *Acta Physiol Scand*. 1995;155(3):291-295.
- [24] STĘPNOWSKA E, LEWICKA E, DĄBROWSKA-KUGACKA A, et al. Prognostic factors in pulmonary arterial hypertension: Literature review. *Adv Clin Exp Med*. 2017;26(3):549-553.
- [25] ROGNMO Ø, MOHOLDT T, BAKKEN H, et al. Cardiovascular risk of high- versus moderate-intensity aerobic exercise in coronary heart disease patients. *Circulation*. 2012;126(12):1436-1440.
- [26] HUSSAIN SR, MACALUSO A, PEARSON SJ. High-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training in the prevention/management of cardiovascular disease. *Cardiol Rev*. 2016;24(6):273-281.
- [27] GONZÁLEZ A, SCHELBERT EB, DÍEZ J, et al. Myocardial interstitial fibrosis in heart failure: biological and translational perspectives. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71(15):1696-1706.
- [28] LIAO Z, LI D, CHEN Y, et al. Early moderate exercise benefits myocardial infarction healing via improvement of inflammation and ventricular remodeling in rats. *J Cell Mol Med*. 2019;23(12):8328-8342.
- [29] 王雪芳,谢萍.肺动脉高压与免疫炎症[J].临床心血管病杂志,2019,35(5):397-401.
- [30] KUMARI R, KUMAR S, AHMAD MK, et al. TNF- $\alpha$ /IL-10 ratio: an independent predictor for coronary artery disease in North Indian population. *Diabetes Metab Syndr*. 2018;12(3):221-225.
- [31] NOVOYATLEVA T, SCHYMURA Y, JANSSEN W, et al. Deletion of Fn14 receptor protects from right heart fibrosis and dysfunction. *Basic Res Cardiol*. 2013;108(2):e325.
- [32] FALCÃO-PIRES I, GONÇALVES N, HENRIQUES-COELHO T, et al. Apelin decreases myocardial injury and improves right ventricular function in monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009;296(6):H2007-2014.
- [33] LOURENÇO AP, RONCON-ALBUQUERQUE R JR, BRÁS-SILVA C, et al. Myocardial dysfunction and neurohumoral activation without remodeling in left ventricle of monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291(4):H1587-1594.
- [34] MIAO H, QIU F, ZHU L, et al. Novel angiogenesis strategy to ameliorate pulmonary hypertension. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2021;161(6):e417-434.
- [35] MORKIN E. Control of cardiac myosin heavy chain gene expression. *Microsc Res Tech*. 2000;50(6):522-531.
- [36] JAMES J, HOR K, MOGA MA, et al. Effects of myosin heavy chain manipulation in experimental heart failure. *J Mol Cell Cardiol*. 2010;48(5):999-1006.
- [37] KORTÉ FS, HERRON TJ, ROVETTO MJ, et al. Power output is linearly related to MyHC content in rat skinned myocytes and isolated working hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;289(2):H801-812.
- [38] ZHIIHAO L, JINGYU N, LAN L, et al. SERCA2a: a key protein in the Ca<sup>2+</sup> cycle of the heart failure. *Heart Fail Rev*. 2020;25(3):523-535.
- [39] HSU CH, ROAN JN, FANG SY, et al. Transplantation of viable mitochondria improves right ventricular performance and pulmonary artery remodeling in rats with pulmonary arterial hypertension. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2022;163(5):e361-373.
- [40] PEOPLES JN, SARAF A, GHAZAL N, et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart disease. *Exp Mol Med*. 2019;51(12):1-13.
- [41] JIANG M, ZHAO XM, JIANG ZS, et al. Protein tyrosine nitration in atherosclerotic endothelial dysfunction. *Clin Chim Acta*. 2022;529:34-41.

(责任编辑: GW, ZN, WL, LCH)