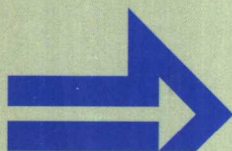


DOCTORAL DISSERTATION

北京体育大学博士学位论文丛书

运动对大鼠雄激素水平、代谢及
某些组织雄激素受体影响的研究

THE EFFECT OF EXERCISE TO THE
ANDROGEN LEVEL, METABOLISM
AND ITS RECEPTOR BINDING
CAPACITY IN SOME TISSUES



Handwritten signature in blue ink.



北京体育大学博士学位（毕业）论文

运动对大鼠雄激素水平、代谢及某些组织雄激素受体影响的研究

专 业：运动生理学

指导教师：佟启良教授

何洛文教授

王耐勤教授

博士研究生：陆一帆

策 划:田麦久

审稿编辑:鲁 牧

绘 图:宇 奕

责任编辑:宇 奕

责任校对:古 稀

责任印制:青 山 陈 莎

图书在版编目(CIP)数据

运动对大鼠雄激素水平、代谢及某些组织雄激素受体影响的研究/陆一帆著. - 北京:北京体育大学出版社,2003.1
ISBN 7-81051-450-4

I. 运… II. 陆… III. 褐家鼠-运动生理-研究
IV. Q959.83

中国版本图书馆 CIP 数据核字(1999)第 87661 号

**运动对大鼠雄激素水平、代谢
及某些组织雄激素受体影响的研究**

陆一帆 著

北京体育大学出版社出版发行
(北京海淀区中关村北大街 邮编:100084)

新华书店总店北京发行所经销
北京市昌平阳坊精工印刷厂印刷

开本:850×1168 毫米 1/32

印张:6.875

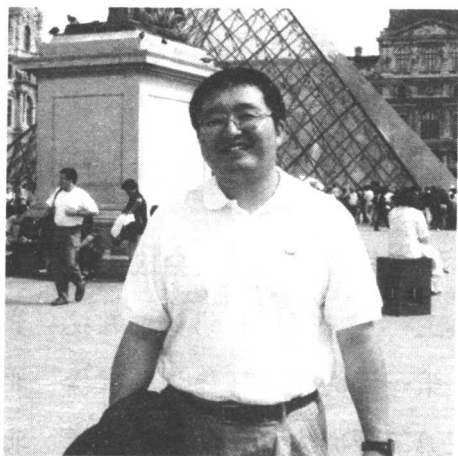
定价:15.00 元

2003 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

ISBN 7-81051-450-4/G·384

(本书因装订质量不合格本社发行部负责调换)

简 历



陆一帆,男,1963年7月出生于浙江杭州市。1981年入北京体育学院基础理论系运动医学专业学习,1986年毕业。后任北京体育大学人体运动科学系(原基础理论系)运动医学教研室教师,1996年被破格提升为副教授。1989年考入北京体育大学研究生部师从陈民艺副教授就读运动解剖学硕士研究生,1992年获硕士学位。1993年考入北京体育大学研究生部就读运动生理学博士研究生,导师为佟启良先生,1996年获博士学位。

博士学位答辩委员会成员

指导教师：佟启良教授 何洛文教授 王耐勤教授

博士学位答辩委员会成员：

主 席：杨锡让 教授 北京体育大学

第一评阅人：冯炜权 教授 北京体育大学

第二评阅人：彭晓君 教授 北京军区总医院肝病研究所

委 员：彭晓君 教授 北京军区总医院肝病研究所

冯炜权 教授 北京体育大学

李国盛 教授 北京体育大学

田 野 教授 北京体育大学

张问礼 教授 北京体育大学

秘 书：王从容 讲师 北京体育大学

博士学位证书授予人：北京体育大学校长 金季春

摘 要

雄激素对机体的影响主要是对靶器官的雄性作用及对雄激素敏感组织的同化作用。运动对激素作用的影响在运动生理学中有着重要的地位,尤其是运动系统(如肌肉)中激素的作用及不同方式的运动对这些激素作用的调节及影响,目前仍不清楚。雄激素、雄激素调节及雄激素的受体等多因素以及运动对这些因素的影响有着系统的研究意义。基于进一步了解运动对雄激素及其相关的因素影响,了解不同激素状态对激素受体的影响,进行了有关运动对雄激素水平、代谢及某些组织雄激素受体的研究。

本文以国产氚标记睾丸酮(^3H -Testosterone, ^3H -T)对肌肉组织胞浆液中的雄激素(Androgen receptor, AR)进行结合容量测定,研究表明,肌肉中的 AR 以 ^3H -T 为标记物的 DCC 法结合测定过程,其温度应控制在 4°C 的环境进行, ^3H -T 的饱和浓度为 50pmol/ml 反应体系,肌肉组织的稀释度约为 $1:8(\text{w/v})$,胞浆液的提取的离心条件是 $108000\times g$ 。测定过程中,同位素的最佳孵育时间是 $18\sim 24$ 小时, DCC 液浓度为 3% 。 ^3H -T 对肌肉 AR 结合的解离常数为 $2.8\times 10^{-9}\text{M}$,表现出高亲和力、低结合容量的特点。单点法测定与多点法测定的差异不显著,因而可以单点法进行 AR 结合容量的测定。

本研究对大鼠各组织的 AR 结合容量及其不同条件下的变化进行测定。实验表明,机体各组织的 AR 结合容量与 T 水平并非一定是平行的,AR 的结合容量反映了组织的一定生理状态。在本实验中,前列腺及肝脏具有高 AR 结合容量。

运动对机体内脏组织及运动器官的 AR 结合容量的影响较为复杂,受到多种因素的相互作用。一次力竭运动可使肝脏组织及前列

腺组织的 AR 结合容量下降,股四头肌、提肛肌组织的 AR 结合容量升高,而对心肌、脑组织、肾脏组织的 AR 结合容量影响不大;长期力竭运动可使脑、提肛肌组织的 AR 结合容量上升,而肝脏、肾脏、前列腺组织的 AR 结合容量下降。然而,一次力竭运动对股四头肌、心肌的 AR 结合容量影响不大;长期适宜运动可提高脑、肝脏、肾脏、提肛肌及股四头肌组织的 AR 结合容量,降低前列腺组织的 AR 结合容量。外源性的补充 HCG,对脑组织、心肌组织、肾脏组织、提肛肌组织的 AR 结合容量有提高的作用,但对股四头肌的 AR 结合容量的作用并不明显,与此同时,大鼠腹腔注射 HCG 4 天对 AR 结合容量的影响大于注射 HCG 8 天。因而,加强肌肉的同化作用必须考虑到 AR 的结合容量,单纯的提高同化激素水平是难以产生相应的作用强度。

通过实验,我们测定了大鼠在各条件下的血清及脑、心、肝、肾、前列腺、提肛肌、股四头肌组织的睾丸酮(Testosterone, T)浓度水平。结果表明,机体各组织的 T 浓度水平不一致,与组织对 T 的生物依赖程度及 T 的组织代谢程度密切相关。大鼠一次力竭性运动,减少心肌、肝脏、前列腺、股四头肌 T 的分布,而对脑组织、肾脏组织、提肛肌组织的 T 分布影响不大;长期力竭运动可使心脏、肾脏的 T 分布水平下降,提高前列腺组织的 T 分布水平,但对脑组织、肝脏、提肛肌、股四头肌组织的分布影响不大;长期适宜运动可以升高提肛肌组织的 T 分布,减少肝脏组织的 T 分布,对其余各组织的 T 分布影响不大。

对于血清激素,大鼠一次力竭性运动可以降低血清 T 的水平,升高 FSH 的水平,但对 LH 的水平影响不大;长期力竭运动对其血清 T 的水平影响不大,但可以使 FHS、LH 的水平显著下降;长期适宜运动对血清 T、FSH、LH 的影响均不大。而外源性补充 HCG 则可提高血清 T 浓度水平,抑制 FSH 及 LH 的水平;短期补充外源性 HCG 可提高各组织 T 的浓度,但长期的补充效果值得考虑。

研究中我们采用薄层层析技术,对各组织的 5 α -还原酶(5 α -reductase,)的活性进行分析,以测定 T 在组织中的代谢降解率。结果

表明,肌肉组织及脑组织的 5α -reductase 的活性未被检出,可能由于其 5α -reductase 水平过于低下的原因。对与肝脏、肾脏及前列腺组织的 5α -reductase 活性分析表明,运动可以抑制前列腺组织的 5α -reductase 的活性,促进肝脏、肾脏的 5α -reductase 的活性。

目 录

摘 要

1. 运动对雄激素的影响及雄激素调节代谢的某些相关因素	(1)
1.1 雄激素的生理生化性状及分子生物学特点	(1)
1.2 机体雄激素的代谢及调节	(10)
1.3 运动对机体雄激素水平的影响	(12)
总 结	(14)
参考文献	(15)
2. 组织雄激素受体的分布、调节及运动的影响	(23)
2.1 AR 的分子生物学研究及理化特性	(23)
2.2 运动对骨骼肌 AR 的影响	(29)
2.3 肌肉组织 AR 的测定方法学研究	(30)
总 结	(31)
参考文献	(33)
3. 国产氘标睾酮试剂对大鼠骨骼肌组织的雄激素受体结合 容量测定的方法学研究	(41)
3.1 前 言	(41)
3.2 实验方法	(44)

3.3	[³ H]T 和 [³ H]5 α -DHT 标记肌肉胞浆 AR 的测定	
	结果与分析	(47)
3.4	Scatchard 法与单点法测定的比较	(54)
3.4	讨 论	(55)
3.5	结 论	(60)
	致 谢	(61)
	参考文献	(61)
4.	运动对大鼠骨骼肌及某些器官组织雄激素受体结合容量的影响	(64)
4.1	前 言	(65)
4.2	研究方法	(66)
4.3	结 果	(68)
4.4	讨 论	(75)
	结 论	(88)
	致 谢	(89)
	参考文献	(89)
5.	运动对大鼠血清睾酮、组织胞浆睾酮水平以及某些相关激素的影响	(93)
5.1	前 言	(93)
5.2	研究方法	(94)
5.3	结 果	(96)
5.4	讨 论	(105)
	结 论	(116)
	致 谢	(117)
	参考文献	(117)

6.运动对肝脏、肾脏及前列腺组织中 5 α -还原酶的影响	(121)
6.1 前 言	(121)
6.2 研究方法	(122)
6.3 结 果	(125)
6.4 讨 论	(129)
6.5 结 论	(132)
致 谢	(133)
参考文献	(133)

1. 运动对雄激素的影响及雄激素调节代谢的某些相关因素

人类对雄激素的认识有着漫长的历史,在本世纪的 20 年代人们对雄激素的研究发生了突破性进展。1927 年,美国 Macgee 等人从牛的睾丸中成功的提取出雄激素,1928 年,Loewe 等人发现在动物尿液中有雄激素,并且 Bu-tenandt 等人于 1931 年从人尿液中提取出了雄激素的结晶,在 1935 年证实了睾丸酮(Testosterone, T)的结构,同时,人工合成了 T。进入 50 年代后,由于生物化学、生物物理学技术的发展,诸如电泳、层析、超速离心、放射性同位素应用技术、生物免疫技术等多种现代生物研究技术的出现和成熟,使得对雄激素的作用机制、调节机制、影响因素等的认识得到全面的发展。在运动生理学范畴,雄激素与疲劳、雄激素与运动能力、雄激素与某些运动性疾病、雄激素与身体机能等方面研究进展迅速。本综述就近年对雄激素的研究进行回顾。

1.1 雄激素的生理生化性状及分子生物学特点

1.1.1 雄激素的生理生化性状^[1,2,3]

孕激素、糖皮质激素、盐皮质激素、雄激素、雌激素这五种主要的甾体激素的前体均是胆固醇,见图 1。

天然雄激素是一类由 19 个碳原子组成的甾体激素,其分子中的第 17 位羟基与第 3 位的酮基决定了它的生物活性。雄激素负责雄性的第二性征的发育,主要由睾丸分泌(约 95%),少量是由肾上腺

分泌(约5%)。雄激素的合成从黄体酮的羟化开始,产生雄烯二酮,然后雄烯二酮被还原而形成T。T在NADPH和 O_2 的参与下,失去甲基并形成芳香A环而合成雌激素,雌酮由雄烯二酮演变而来, E_2 则由T形成。雄激素的作用与其他的激素作用方式不同,它并不是引起酶的活力或转运的功能过程的改变,而是引起基因的表达的变化,因而雄激素的作用时间及反应时间较肽类激素要慢^[4]。

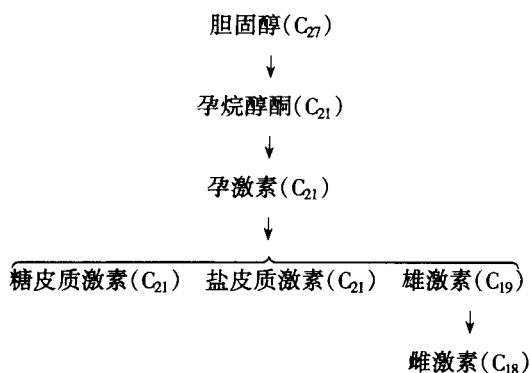


图 1-1

天然雄激素主要有T、雄烯二酮(A)、去氢表雄酮、雄酮和苯胆烷醇酮,其中以T的活性相对较高,而雄酮和苯胆烷醇酮的生物活性较低,是尿液中排泄的主要代谢产物,雄烯二酮是中间产物,其生物活性介于T和雄酮之间。在一些雄激素靶器官中,T被细胞内的 5α -还原酶(5α -reductase)还原为 5α -双氢睾酮(5 α -Dihydrotestosterone, 5 α -DHT),其活性较T更高,但这依赖于作用器官种类。

雄激素被分泌后,一部分进入曲细精管,大部分进入血液,血液中的雄激素97%~99%是以与性激素结合球蛋白(Sex Hormone Binding Globulin, SHBG)结合的形式或与血浆白蛋白以非共价键结合的形式存在,仅有1%~3%的T处于游离状态。一般认为,只有游离的雄激素才具有生物活性。

雄激素主要存在于机体的血清,在雄激素的靶器官及雄激素敏感组织中由于存在雄激素受体(Androgen receptor, AR),因而也有雄激素的分布,但组织中的雄激素的半衰期很短,仅几分钟至几十分钟就被代谢,典型的雄激素的靶器官包括有睾丸、前列腺、性器官等,雄激素敏感组织包括肾脏、肝脏、心肌、骨骼肌、脑组织,甚至皮肤毛发等,近年有人认为几乎全身的所有组织均存在 AR,也就是说均有可能对雄激素产生敏感。

机体雄激素水平具有年龄及性别特点。性别是影响血清 T 的最显著因素,在青春期前,性别的差异不大,但到青春期前男性血浆 T 水平升高加速,随年龄的增长而提高,20~30 岁为一生的最高峰,40 岁以后逐渐下降,但仍维持一定的水平,70 岁时仅为 20 岁的一半,80 岁时的水平是最高峰的 1/5,由此,雄激素的水平也反映了人的衰老情况。女性体内的 T 水平在青春期前达到最高峰,青春期后维持在一个成年女性的基本水平,各年龄组间无明显的差异,女性的 T 水平相当于男性的 1/10,这是决定男女性别差异的本质因素,同时也对男女成人的生理和运动能力差别的形成起了相当重要的作用。

雄激素的分泌具有波动性,正常成年男性每天分泌的雄激素水平在 24mg 左右,具有明显的昼夜节律变化,一般认为,睡眠时雄激素的分泌减少,清晨最高,约在 6~8 点钟时,血清 T 水平达到高峰,白天减少,下降幅度约 35%,然后在午夜血清 T 的水平再度上升^[5]。T 的分泌在一天之内的变化较大,由于其波动性可造成几分钟内的血浆 T 水平变化超过 50ng/dL;此外,T 的水平还具有明显的季节波动性,秋末冬初的 T 水平较高,而 4~6 月的水平较低。

1.1.2 雄激素对机体各组织的作用

雄激素在机体中除了作为雄性激素在生殖系统产生作用外,在机体的一般组织作为同化激素作用极大,但 T 在不同的组织其作用的方式有所不同。在雄激素的作用中,最初的几个过程是较为一致

的,这几个最初过程是:1)胞浆受体对 T 的结合与代谢,然后转运至胞核;2)甾体激素—受体复合物插入基因链的特定受点,协助增加 RNA 聚合酶及基因复制;3)增加信使 RNA(mRNA)和蛋白的合成,在某些组织是 DNA 的合成^[6]。依赖组织的不同,决定 T 刺激细胞分裂或引起 mRNA 的增加或蛋白的合成增加,例如,在大鼠肾脏,T可引起 α -glucuronidase 水平上升^[7],而在颌下腺则引起表皮生长因子的水平上升^[8],但 T 对于其他的组织,即使也有上述的功能,也不引起类似的反应。这些结果提示,染色质的结构是不断的变化的,正是这种变化使得激素-受体复合体的作用表现有截然不同的结果,但主要均属同化作用。

T 是通过弥散的方式进入细胞的,在细胞中 T 可以是产生生物效应或被代谢。根据组织的不同,T 可转变为雄性作用更强的雄性甾体物质,也可被转变为雌性激素,或者转变为对生殖系统无活性的雄激素代谢产物。由于 T 的代谢的细胞或组织特点,使得细胞对 T 的反应有着各种不同的变化,其反应过程见下述逆转化方式。雄激素的代谢中有一个重要的途径,即 5α -reductase 的生物活性放大作用^[9]。该酶将 T 转变为 5α -DHT,在某些雄激素靶器官组织中, 5α -DHT 的活性是 T 的 2.5 倍^[9]。在一些特定的组织 5α -DHT 的水平取决于其形成率及 5α -androstane diols 的逆转化率,其逆转化方式为:



Cytoplasm

Blood Nucleus

a T. Ra Responses

mediated

T b 5α -Reductase DHT. Ra by

known

c Aromatase E. Re steroid

receptors

d 5 α -Reductase 5 α . R β

Receptor

e T or metab.

尽管 5 α -androstane diols 也是一种较强的雄激素,但其生物活性仍依赖于其逆转化为 5 α -DHT 的水平,这已在活体实验上得到证实^[11]。在成年雄性,T 的这种 5 α 还原过程对生殖系统及上皮组织较为重要,因为 5 α -DHT 的水平关系到该组织细胞的增殖分裂。由于上皮组织的易取样,细胞培养也较为简单,所以目前多数的有关人体的 5 α -reductase 与 T 的代谢的研究是利用上皮组织的切片、匀浆,对毛囊或由这些器官的成纤维细胞培养观察的^[9]。Mauvais-Jarvis 等人利用双标记技术将³H-T 及¹⁴C-T 分别经皮和静脉注射观察 T 的代谢状态,反映 5 α -还原酶的解剖分布及激素状态^[12],他们在男女胎儿的生殖器上皮均发现高活性的 5 α -还原酶,尽管此时睾丸组织并无分泌 T。在成年,雄激素刺激 T 的代谢而 5 α -DHT 的水平也表现了 T 的代谢清除率,且男性较女性更活跃^[2]。正如上述逆转化方式所表示的,T 及 DHT 均可与胞浆中的受体结合,无论其受体是否是同一类^[13],均能产生雄激素的效应,但值得讨论的是如果 T 与 DHT 是作用与同一受体,在 5 α -还原酶活性缺乏的男性假两性畸形病人,其血清 T 水平并不一定低于正常,这一点无法解释。因而是否可以认为 T 与 DHT 的作用在不同的组织是不一致的,其受体也有所区别,而代谢的过程及活性也是分别不同的,但这需得以证实。

1.1.2.1 雄激素对脑组织的作用

糖皮质激素、T、雌激素、孕激素对脑组织可产生不同形式及强度的影响,与蛋白质结合类固醇激素不能通过脑血屏障,但由于类固醇的脂溶性,使得其游离的激素可容易的进入大脑,所以有人认为脑组织内有活性的 T 的水平与血液相同^[14]。T 可使刚出生的雄性大鼠的脑雄性化,给出生后 1~2 天的雌性大鼠注射 T,虽未能产生即刻的影响,却能使这些动物在成年期下丘脑分泌 GnRH 呈非周期

性的雄性分泌形式,而且出现雄性性行为^[15]。也有人发现,在雌性大鼠出生 5 天之内,单次注射 T 均可引起脑的雄性化,反之,如对新生的雄性大鼠去势,其成年后则出现周期性的雌性促性腺激素分泌类型和雌性性行为^[9],这与成年大鼠去势后的反应有所不同。

有证据表明雄激素实际上是先芳香化转化为雌激素才引起脑的雄性化,芳香化发生在脑的不同部位,雌激素之所以不能使雌性动物的脑雄性化,是因为幼年的雌性动物血液及组织中有很强的雌激素结合蛋白,而使有活性的雌激素水平过低所造成的,但对此仍有争议^[16]。

众多的材料表明,脑组织中的 5 α -还原酶的分布是不均匀的,下丘脑及中脑的 5 α -还原酶的水平高于脑组织的其他部位。而 Melcangi 等报道,在同一的脑组织部位,其 5 α -还原酶的活性水平也可能不均匀,脑组织中的 5 α -还原酶主要集中于白质,而此部位存在两种主要的细胞:神经细胞和神经胶质细胞,但在神经细胞的 5 α -DHT 水平显著高于胶质细胞^[17]。从亚细胞结构上观察,Verhooven 及 Cheng 均发现似乎 5 α -还原酶在大鼠垂体前叶细胞中主要分布于线粒体及微粒中,而 T 主要位于核^[18,19],由此可见,尽管在脑组织中,T 转化为 5 α -DHT 是一个重要的代谢过程,但其作用是否是唯一的仍难以确定,T 在脑组织中仍有其一定的意义。T 对垂体分泌 LH 及 FSH 的反馈依赖于 5 α -还原酶,因为垂体前叶对 5 α -DHT 的抑制作用更敏感。

总之 T 在脑组织中的代谢有两条途径:被 5 α -还原酶转变为 5 α -DHT 和被芳香化酶(aromatase)转变为 E₂。在脑组织中的雄激素作用主要是使大脑产生雄性化及调节促性激素的分泌。

1.1.2.2 肝组织中的雄激素反应

雄激素在肝脏中的主要意义在于:1)被肝细胞降解;2)对肝组织产生雄激素作用。上述的两种作用依赖于有关甾体激素及某些药物代谢的酶活性。在肝脏内,参与甾体激素及药物代谢的酶的活性根据生物体的性别及种属的不同而有所区别,如羟基化酶(hydroxylase)