

· 基础研究 ·

运动训练对卒中后抑郁大鼠 PTEN 诱导的炎症通路及海马神经元凋亡的影响

李丛琴 王强 罗路 徐翔宇 刘桐烨 杨迪 张祎辰 胡佳利

青岛大学附属医院康复医学科, 青岛 266000

通信作者: 王强, Email: sakulawangqiang@hotmail.com

【摘要】 目的 比较中等强度持续训练 (MICT) 或高强度间歇训练 (HIIT) 对卒中后抑郁 (PSD) 模型大鼠磷酸酶与张力蛋白同源物 (PTEN) 诱导的炎症通路及海马神经元凋亡的影响, 探讨运动训练治疗 PSD 的可能机制。**方法** 将雄性 Wistar 大鼠随机分为假手术 (SHAM) 组、PSD 组、中等强度持续训练 (MICT) 组和和高强度间歇训练 (HIIT) 组。除 SHAM 组以外, 通过阻塞大脑中动脉闭塞 (MCAO) 诱导脑缺血 90 min 后再灌注 (reperfusion), 然后给予慢性不可预测的温和刺激 (CUMS) 以诱导大鼠抑郁样行为。造模成功后 24 h, MICT 组和 HIIT 组大鼠开始行 28 d 对应强度的跑步训练, 期间以每周测得的乳酸阈值和最大速度为标准调整跑台速度。SHAM 组仅分离颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉, 不做插线处理, 也不给予 CUMS。分别于造模成功后 24 h 及最后 1 次运动训练后 24 h, 采用糖水消耗试验 (SPT)、强迫游泳试验 (FST) 检测大鼠的抑郁情况; 免疫印迹技术检测肿瘤抑制因子 PTEN 以及核转录因子 κ B (NF- κ B) 和炎症小体 Nod 样受体蛋白 3 (NLRP3) 的表达; 免疫组化法检测凋亡关键蛋白半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (Caspase-3) 的表达。**结果** 与 SHAM 组相比, PSD 组大鼠 FST 中的不动时间明显增加 ($P < 0.05$), SPT 中的糖水消耗量明显减少 ($P < 0.05$); 与 PSD 组相比, MICT 组和 HIIT 组大鼠的不动时间明显减少 ($P < 0.05$), 糖水消耗明显增多 ($P < 0.05$), 表明运动训练后大鼠的抑郁程度减轻。免疫印迹技术检测显示, 与 PSD 组相比, MICT 组和 HIIT 组大鼠脑缺血侧海马区的 PTEN、NF- κ B 及 NLRP3 表达均明显减少 ($P < 0.05$), 且 HIIT 组 PTEN、NF- κ B 及 NLRP3 表达均明显低于 MICT 组 ($P < 0.05$)。免疫组化检测显示, 与 PSD 组相比, MICT 组和 HIIT 组海马齿状回 (DG) 的 Caspase-3 表达明显减少 ($P < 0.05$), 且 HIIT 组的 Caspase-3 表达明显低于 MICT 组。**结论** 运动训练通过抑制 PTEN、NF- κ B、NLRP3 通路的激活, 减少海马 DG 区凋亡蛋白的表达, 减轻卒中后抑郁大鼠抑郁程度, 促进神经功能恢复; 且 HIIT 的抗抑郁作用较 MICT 更为明显。

【关键词】 运动; 脑卒中; 抑郁; 磷酸酶与张力蛋白同源物; 炎症**基金项目:** 山东省自然科学基金 (ZR2014JL057)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.07.001

Effects of exercise on inflammation and apoptosis of hippocampal neurons in post-stroke depression

Li Congqin, Wang Qiang, Luo Lu, Xu Xiangyu, Liu Tongye, Yang Di, Zhang Yichen, Hu Jiali

Department of Rehabilitation, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266000, China

Corresponding author: Wang Qiang, Email: sakulawangqiang@hotmail.com

【Abstract】 Objective To compare using a rat model of post-stroke depression (PSD) the effect of 28 days of high-intensity interval training (HIIT) with that of medium-intensity continuous training (MICT) on inflammation and neuron apoptosis induced by phosphatase and the deletion of a tensin homolog on chromosome ten (PTEN). **Methods** Male Wistar rats were randomly divided into a SHAM, a PSD, an MICT and an HIIT group. Except in the SHAM group, blood flow in the middle cerebral artery was blocked for 90 minutes followed by reperfusion. Repeated but unpredictable mild stimulation was then applied to induce depression. The rats in the HIIT and MICT groups started 28 days of training 24 hours after the successful modeling. The running platform speed was adjusted according to the lactic acid threshold and the maximum speed was measured weekly. In the SHAM group the common carotid artery, internal carotid artery and external carotid artery were only separated without occlusion and there was no depressive stimulation. Any improvements in depression were detected using the sucrose preference test and the forced swimming test. The expression of PTEN, nuclear factor kappa B (NF- κ B) and nod-like receptor protein 3 (NLRP3) were detected using western blotting. The expression of cysteine-containing, aspartate-specific proteases (caspase-3) was detected immunohistochemically. **Results** Compared with the SHAM group, the PSD group's average immobility time in the swimming test was significantly longer and its average sucrose consumption

was significantly less. Compared with the PSD group, the rats in the MICT and HIIT groups showed, on average, significantly more sucrose consumption and shorter immobility time, indicating that their depression was ameliorated. The expression of PTEN, NF- κ B and NLRP3 in the MICT and HIIT groups was, on average decreased significantly compared with the PSD group. The HIIT group's averages were at the same time significantly lower than those of the MICT group. Average caspase-3 levels in the dentate gyrus of the MICT and HIIT group rats were significantly lower than in the PSD group, with the HIIT group's average significantly lower than that of the MICT group.

Conclusions Both high- and medium-intensity interval training show neuroprotective effects. They inhibit activation of the PTEN/NF- κ B/NLRP3 pathway, reducing the expression of apoptotic proteins in the hippocampus. Higher intensity training has a more obvious antidepressant effect.

【Key words】 Exercise; Stroke; Depression; PTEN phosphohydrolase; inflammation

Funding: Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2104JL057)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.07.001

脑卒中是继癌症和心脏病之后的第三大死因,是许多国家成人残疾的主要原因,其中缺血性卒中占脑卒中患者的 80% 以上^[1];抑郁症是缺血性卒中最常见的并发症之一,大约 1/3 的患者受到卒中后抑郁(post-stroke depression, PSD)的影响^[2-3],而 PSD 病理机制尚不清楚。抑郁症的常规药物为选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂(selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs),然而 SSRIs 仅对 1/3 的 PSD 患者有效^[4]。越来越多的证据表明,运动训练作为一种非药理学方法,可以增加大脑中的神经营养因子,从而改善记忆^[5-7]。已有研究表明中等强度的游泳训练^[5-6]、自愿车轮训练(voluntary exercise)^[6]和跑步机训练^[7-8]等均可提高成年^[5-6]和老年动物^[7]的海马脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)含量。然而传统中等强度运动对于功能恢复、有氧适能和生活质量的有益作用研究仍然不足并存在争议。本研究旨在探究 PSD 模型大鼠的炎症反应以及一种已知的肿瘤抑制因子磷酸酶与张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)是否参与调节该炎症反应,并比较中等强度持续训练(moderate intensity continuous training, MICT)和高强度间歇训练(high intensity interval training, HIIT)治疗 PSD 的疗效,探讨运动训练治疗 PSD 的可能机制。

材料与方法

一、实验动物及分组

性成熟的雄性白化 Wistar 大鼠(250~280 g, 育龄 2~3 个月)若干只,由青岛大任富城畜牧有限公司提供。饲养环境通风良好、无阳光直射及噪音,维持(22±2)℃ 室温,光照周期 12 h,自由进食取水。所有操作均经青岛大学动物学科伦理小组委员会批准(QYFYWZLL25834),并符合实验动物的护理及道德使用指南。

根据大鼠 PDS 造模及训练方法的不同,按随机

数字表法将入选的大鼠分为假手术(SHAM)组、PSD 组、MICT 组和 HIIT 组,最终每组纳入 10 只并完成本研究。

二、大鼠 PSD 模型制备

本研究所有的采集和分析均采用双盲法。对 PSD 组、MICT 组和 HIIT 组大鼠行大脑中动脉闭塞后再灌注(middle cerebral artery occlusion/reperfusion, MCAO/r)制作脑卒中模型,然后采用慢性不可预测的温和刺激(chronic unpredictable mild stimulation, CUMS)方案诱导大鼠抑郁样行为制作 PSD 模型大鼠;SHAM 组接受无脑缺血的手术造模。具体制作方法如下。

1. MCAO/r: 借鉴 Longa 于 1986 年进行的 MCAO/r 诱导的局灶性缺血性脑卒中大鼠模型^[9]制作方法,手术模仿 Ke 等^[10]的做法,最初用 5% 氟烷诱导麻醉大鼠,然后用 1% 氟烷(70% N₂O 和 30% O₂ 混合液)在自然呼吸条件下维持,将聚乙烯导管(PE-50)插入尾动脉以监测平均动脉血压^[11],并于颈部正中偏右约 2~3 mm 处切口以暴露颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉;用非创伤性动脉瘤夹夹闭右侧颈总动脉,行颈外动脉局部动脉切开后,将尖端直径为(0.36±0.02) mm 的 MCAO 栓线(北京西浓科技提供)插入颈内动脉,推动至远颈总动脉分叉约 20 mm 处,使血流在大脑中动脉起始端被阻断 90 min 后,退出栓线使其再灌注;24 h 后,使用 Longa 检查法^[9]检查大鼠的神经功能缺损水平,行为学评分 1~3 分的大鼠纳入本研究。SHAM 组大鼠仅分离颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉,但不阻塞大脑中动脉。

Longa 检查法:将大鼠置于桌面,观察大鼠肢体活动功能的变化并进行记分。0 分,无神经功能缺损,肢体活动正常;1 分,轻度局灶性损伤,不能伸展左前肢;2 分,中度局灶性损伤,向左侧划圈;3 分,重度局灶性损伤,向左侧倾倒;4 分,极重度局灶性损伤,无自主行走及意识障碍。

2. CUMS: 采用 CUMS 方案诱导 PSD 组、MICT 组

和 HIIT 组大鼠产生抑郁样行为^[12-13],即将大鼠单独饲养(1 只/笼)每天接受下列不同的压力因素之一:倾斜鼠笼 24 h,4 ℃冷水中游泳 5 min,45 ℃热水中游泳 5 min,潮湿环境(每 100 g 垫料加水 200 ml),禁食 24 h,禁水 24 h,摇动 5 min,夹尾 1 min,将光/暗光线循环倒置 24 h;循环 4 周,相邻两日不施用相同刺激。SHAM 组仅单笼饲养,不给予其它刺激。CUMS 造模 28 d 后给予行为学实验检测,大鼠行为学指标在造模前后差异有统计学意义,如强迫游泳实验中不动时间增多,则认为造模成功^[14]。

剔除标准:①身体极度虚弱;②跑步机上跑不动或不能跑;③CUMS 造模前后行为学检测结果差异无统计学意义;④死亡。

三、运动训练方案

1. 乳酸阈值及最大速度测定:大鼠以 9 m/min 的速度热身 5 min,然后每 3 min 速度增加 3 m/min,直到用软毛刷轻微刺激大鼠仍不能适应递增的速度,此时的速度被认为是大鼠的最大速度($S_{\max}$)。采用动物模型专用的便携式设备(Lactate Scout⁺, EKF[®], 德国)测量大鼠血液乳酸浓度(mmol/L)。每次加速之前检测乳酸阈值,当连续 2 次测量血乳酸浓度有明显拐点或增加 1 mmol/L 以上时,记为乳酸阈值,乳酸阈值对应的跑步机速度记为乳酸阈值速度(speed of lactate threshold, SLT)。

2. 运动训练: MICT 组和 HIIT 组大鼠在造模成功后 24 h 开始行跑步训练,首先熟悉实验室环境并在电动跑步机(ZH-PT 型动物实验跑台,淮正华生物仪器设备有限公司提供)上试行适应跑步(每日 5 min,速度 9 m/min)3 d。由对分组不知情的熟练研究人员每周 1 次测定行为学评分以及 SLT 和 $S_{\max}$,以改善运动强度处方和评估有氧训练计划的有效性。参照 Pin-Barre 等^[15]的研究,2 组大鼠均以 5 min 的预热开始,速度为 SLT 的 70%。当需要大鼠跑步时,使用软毛刷(而不是电刺激)刺激大鼠尾巴。

MICT 组:运行速度固定在 SLT 的 80%,参照 Pin-Barre 等^[15]和 Luo 等^[16]的方案制订运动时间,以避免乳酸堆积为原则,每次持续训练 35~45 min,每日 1 次,7 次/周,共训练 4 周。

HIIT 组:每组训练由 4 min 高速跑步[速度为 $SLT+60\% \sim 70\% (S_{\max}-SLT)$]和 3 min 的主动恢复(速度固定在 SLT)组成,4 组/次,每日 1 次,5 次/周,共训练 4 周。

为使随机误差最小化,每只大鼠在整个训练计划期间在固定的跑道中运动。SHAM 组和 PSD 组大鼠每天被放置在跑步机上但不进行运动训练,待 MICT 组和 HIIT 组大鼠运动结束后取出。

四、行为学测试

分别于造模成功后 24 h 及最后 1 次运动训练后 24 h,通过糖水消耗试验(sucrose preference tests, SPT)、强迫游泳试验(forced swimming test, FST)评估各组大鼠的抑郁情况。所有测评由 3 位研究人员完成,取评分平均值行统计学分析。

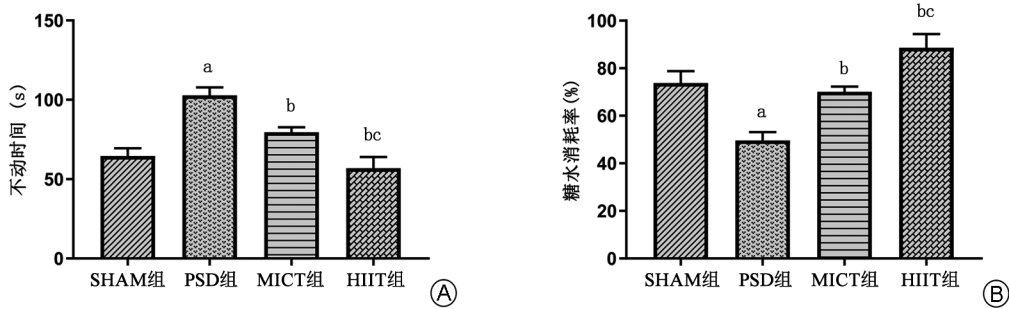
1. SPT 评定:第 1 天给大鼠 2 瓶 1%蔗糖水,自由饮;第 2 天同时给大鼠 1%蔗糖水和自来水,自由饮;第 3 天剥夺水和食物;第 4 天给予 1%蔗糖水和自来水。在实验前先对水瓶称重,2 h 后对换水瓶位置,4 h 后再次对水瓶称重,2 次称重结果相减得到糖水消耗量和自来水消耗量,并计算蔗糖偏好(蔗糖偏好率=蔗糖消耗量/总液体消耗量 $\times 100\%$)。蔗糖水消耗量越少,代表大鼠越抑郁。

2. FST 评定:准备直径 37 cm 高 80 cm 的深桶,放入 60 cm 深的水,将水温调整在 $(23\pm 2)^\circ\text{C}$;然后让大鼠放于其中,强迫游泳 5 min。通过自动录像及分析系统记录,记录和分析大鼠不动的总时间。强迫游泳中不动时间越长,大鼠的抑郁情绪越严重。

五、蛋白质免疫印迹(Western blot)检测

为消除最后 1 次运动的影响,分别于运动干预第 28 天大鼠行为学测试结束后 48 h,每组各取 4 只大鼠,异氟烷麻醉后断头处死,迅速在冰盘上剪开颅盖和脑膜,无菌条件下分离海马置于液氮中,并于 -80°C 保存备用。以鉴定海马 PTEN、核转录因子(nuclear factor-kappa B, NF- κB)、Nod 样受体蛋白 3(nod-like receptor protein 3, NLRP3)蛋白表达水平。

以 100 $\mu\text{L}/\text{mg}$ 组织的预冷裂解液(北京普利莱基因科技有限公司)裂解组织,匀浆器混匀后冰上裂解 15 min,漩涡震荡 30 s,冰上裂解 15 min。置于 4 ℃离心机上,12000 r/min 离心 10 min 取上清。根据二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)试剂盒(上海碧云天生物科技有限公司)定量后,加入上样缓冲液调整蛋白浓度至 2.5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 。蛋白样本经 100 ℃孵育 5 min 变性, -80°C 冻存备用。用 10%聚丙烯酰胺凝胶电泳 120 min;将蛋白转移至聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜(德国 Millipore 公司)上。转膜完成后采用 5%的脱脂奶粉溶液室温封闭 1 h 后加入特异性一抗(抗 PTEN, 1 : 10000, ab32199, 美国 Abcam 公司;抗 NF- κB p65, 1 : 2000, ab16502, 美国 Abcam 公司;抗 NLRP3, 1 : 1000, ab214185, 美国 Abcam 公司;抗 β -actin, 1 : 3000, Bioss, 中国)孵育,置于缓慢摇床上 4 ℃过夜。第 2 天在洗膜缓冲液(tris-buffered saline tween, TBST)中洗涤 3 次,每次 10 min;特异性二抗孵育 2 h 后用超敏发光显色液(enhanced chemicoilluminescences, ECL)孵育 1 min,在凝胶成像系统(美国



注:与 SHAM 组相比,^a $P<0.05$;与 PSD 组相比,^b $P<0.05$;与 MICT 组相比,^c $P<0.05$

图 1 各组大鼠的游泳不动时间(图 A)和糖水消耗率(图 B)比较

UVP 公司)中显色,采用 Image J 图像分析软件(Rawak Software 公司,德国)进行图像灰度值分析。

六、免疫组织化学检测

每组各取 6 只大鼠,用多聚甲醛灌注取脑后制作石蜡切片,片厚约 4 μm ,经脱蜡脱水、抗原修复、血清封闭后,加入特异性一抗半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (cysteine-containing aspartate-specific proteases, Caspase-3) (1:500,美国 Abcam 公司)37 $^{\circ}$ 孵育 2 h;洗涤 3 次 (10 min/次)。加入特异性二抗(羊抗兔 IgG 抗体,1:300,美国 Abcam 公司)37 $^{\circ}$ 孵育 30 min。经免疫组化染色后,用 Image J 图像分析软件(Rawak Software 公司,德国)进行分析。

七、统计学方法

使用美国 Graphpad 公司统计软件 Graphpad Prism7.0 对所得数据进行分析,计量资料均以($\bar{x}\pm s$)表示。组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和 Tukey 事后检验(post-hoc test)进行分析。方差齐性检验采用 Levene's 法(若方差不齐则采用秩和检验分析)。显著性水平设定为 $P<0.05$ 。

结 果

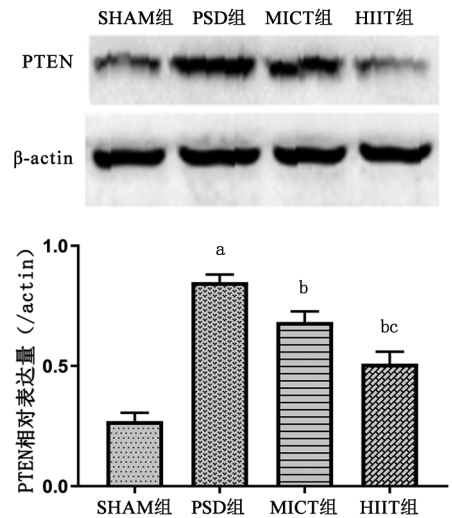
一、4 组大鼠行为学功能表现

与 SHAM 组相比,PSD 组大鼠 FST 中的不动时间显著增加($P<0.05$),SPT 中的糖水消耗量显著减少($P<0.01$);经 28 d 运动训练后,与 PSD 组相比,MICT 组和 HIIT 组大鼠的不动时间显著减少($P<0.05$),且 HIIT 组的不动时间少于 MICT 组($P<0.05$),如图 1A 所示;MICT 组和 HIIT 组大鼠的糖水消耗显著增加($P<0.05$),且 HIIT 组蔗糖消耗多于 MICT 组,如图 1B 所示。

二、4 组大鼠缺血侧海马 PTEN 表达

PSD 组大鼠脑缺血侧海马 PTEN 表达水平较 SHAM 组明显增高($P<0.001$);MICT 组和 HIIT 组大鼠经运动训练 28 d 后,其海马区的 PTEN 表达均显著减少($P<0.05$),且 HIIT 组 PTEN 表达水平较 MICT 组下

降更为明显($P<0.05$),详见图 2。



注:与 SHAM 组相比,^a $P<0.05$;与 PSD 组相比,^b $P<0.05$;与 MICT 组相比,^c $P<0.05$

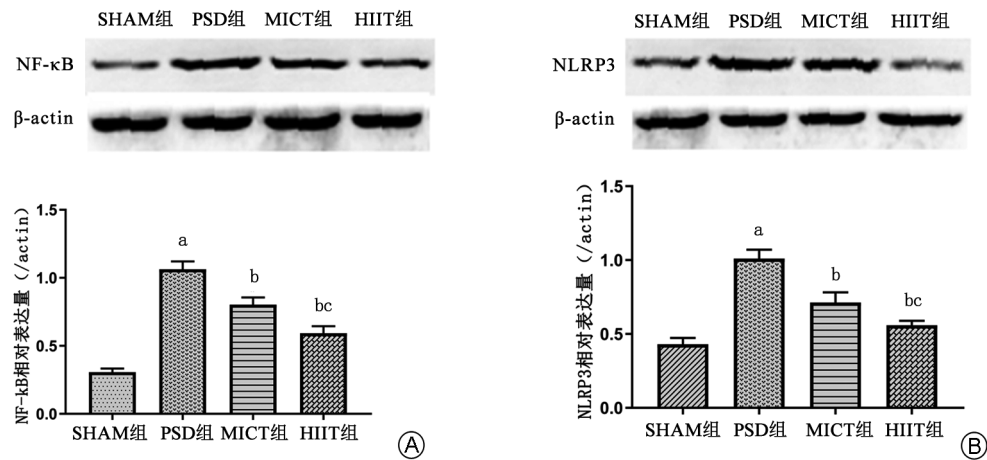
图 2 各组大鼠海马 PTEN 蛋白相对表达量比较

三、4 组大鼠缺血侧海马炎症因子 NF- κ B 和炎症小体 NLRP3 的表达

MICT 组和 HIIT 组大鼠经运动训练 28 d 后,其缺血侧海马的炎症因子 NF- κ B (图 2A) 和炎症小体 NLRP3 (图 2B) 的表达均明显减少($P<0.05$);且 HIIT 组的 NF- κ B 和 NLRP3 下降幅度较 MICT 组更为明显($P<0.05$)。如图 3 所示。

四、4 组大鼠缺血侧海马齿状回(dentate gyrus, DG) Caspase-3 表达

免疫组化染色后观察发现,SHAM 组凋亡细胞较少,而 PSD 组可见大量凋亡细胞,凋亡细胞的细胞核呈棕黄色,细胞体积缩小,呈三角形或扇形,尼氏小体消失,核固缩深染,染色质呈新月形,边集于核膜,有的整个细胞崩解为大小不一的凋亡小体(图 4)。MICT 组的凋亡细胞较 PSD 模型组低($P<0.05$),HIIT 组的 Caspase-3 蛋白表达低于 MICT 组,差异有统计学意义($P<0.05$),如图 4 所示。



注:与 SHAM 组相比,^a $P<0.05$;与 PSD 组相比,^b $P<0.05$;与 MICT 组相比,^c $P<0.05$

图3 各组大鼠海马 NF-κB 和 NLRP3 蛋白相对表达量比较

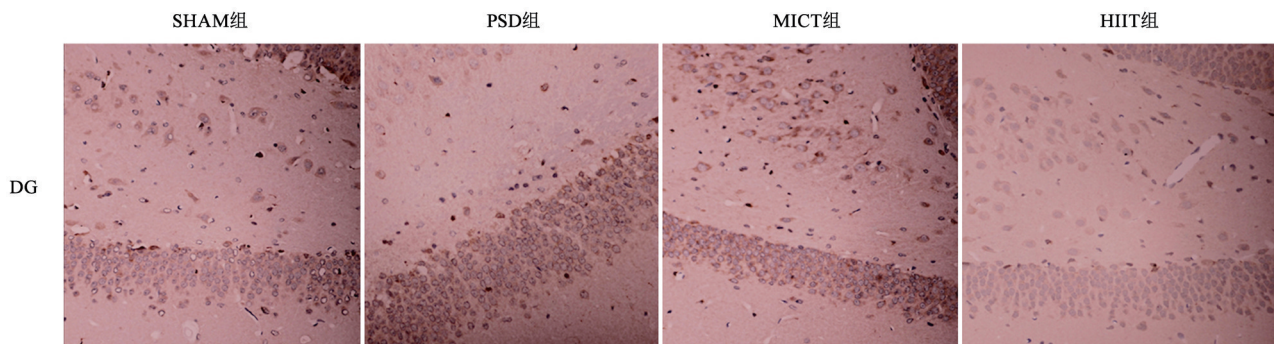


图4 各组大鼠海马 DG 区 Caspase-3 免疫组化染色比较(放大倍数 400)

讨论

PTEN 最初被鉴定为肿瘤抑制因子^[17]。已有研究表明,PTEN 的下调可以促进神经元的存活,而 PTEN 的上调可以通过调节蛋白激酶 B 依赖的信号转导途径促进神经元的凋亡^[18]。有研究表明,尽管 PTEN 的脂质磷酸酶活性参与抑制蛋白激酶 B 活化,但 PTEN 的蛋白磷酸酶活性通过蛋白质相互作用活化突触外 N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid)受体,这可导致海马中的缺血性神经元凋亡。总之,PTEN 上调可使得凋亡发生增多。本研究中,PSD 模型大鼠中海马细胞凋亡很可能与 PTEN 表达增多从而促进神经元凋亡相关。推测运动训练可以通过下调海马中 PTEN 表达,减少炎症反应的激活,从而抑制了神经元的凋亡。本研究结果显示,MCAO 和 CUMS 刺激导致大鼠海马 PTEN 高表达,而 MICT 和 HIIT 两种运动方式都在一定程度上逆转了 PSD 大鼠 PTEN 蛋白表达的升高。

免疫和炎症反应的过度激活可导致多种中枢神经系统疾病,炎症小体中以 NLRP3 研究得最多,NLRP3

在各种中枢神经系统疾病中发挥作用,如神经退行性疾病、创伤性脑损伤、抑郁^[19]。最近有报道称,电针通过抑制 NLRP3 活化,有助于缓解 CUMS 诱发的抑郁和焦虑样行为^[20]。另一项研究表明,四甲基吡嗪的抗抑郁作用可能与大脑中 NF-κB 或 NLRP3 信号通路抑制有关^[21]。本研究推测在 PSD 中 NF-κB 或 NLRP3 通路同样重要,PSD 模型大鼠海马中 NLRP3 炎症体水平也受到 PTEN 的调控。为明确 PTEN 是否通过 NF-κB 或 NLRP3 缓解抑郁。本研究还检测了 PSD 模型大鼠的 NF-κB 或 NLRP3 的表达量,结果表明,运动训练确实可减少 PSD 大鼠海马 NF-κB 和 NLRP3 的表达,抑制炎症反应。

凋亡是脑缺血后神经元死亡的一种重要形式,Caspase-3 是细胞凋亡蛋白酶级联反应的必经之路^[22]。本研究中,海马 DG 区 Caspase-3 免疫组化染色结果表明,PSD 组可见大量凋亡细胞,这说明 MCAO 与 CUMS 刺激引发一系列病理生理过程,并最终导致神经细胞凋亡,与以往文献报道一致。本研究中,与 PSD 组相比,MICT 组和 HIIT 组的 Caspase-3 阳性细胞数较少,说明两种运动方式抑制了 PSD 大鼠 Caspase-3

蛋白的表达,可能减少了海马细胞凋亡,有利于神经细胞恢复,提示 MICT 和 HIIT 可通过抑制 Caspase-3 蛋白表达而对神经元起保护作用。

本研究大鼠行为学检测结果显示,与 SHAM 组相比,PSD 组 FST 的不动时间显著增加及 SPT 的糖水消耗量显著减少表明 PSD 造模成功;经 28 d 的运动训练后,与 PSD 组相比,MICT 组和 HIIT 组大鼠的不动时间显著减少及糖水消耗显著增加,表明 PSD 大鼠运动训练后抑郁程度减轻;而且 HIIT 组大鼠的不动时间较 MICT 组减少更明显、蔗糖消耗增多亦更显著,表明 HIIT 在改善卒中后抑郁大鼠的抑郁状况方面优于 MICT。

综上所述,相对于传统的中低强度有氧训练,高强度间歇训练更能显著地减轻 PSD 大鼠的抑郁程度,其作用机制可能与高强度间歇训练减少海马 DG 区 PTEN 的表达及 NF- κ B 或 NLRP3 炎性通路的激活有关。为了证明 PTEN 直接参与运动训练对 PSD 的治疗过程,尚需在今后通过慢病毒侧脑室注射等方法上调 PTEN 表达,进而观察运动训练干预后的大鼠炎症因子表达情况。

参 考 文 献

- [1] Espárrago Llorca G, Castilla-Guerra L, Fernández Moreno MC, et al. Post-stroke depression: an update [J]. *Neurologia*, 2015, 30(1): 23-31. DOI: 10.1016/j.nrl.2012.06.008.
- [2] Hackett ML, Pickles K. Part I: frequency of depression after stroke: an updated systematic review and meta-analysis of observational studies[J]. *Int J Stroke*, 2014, 9(8): 1017-1025. DOI: 10.1111/ijls.12357.
- [3] Kendler KS, Gatz M, Gardner CO, et al. A Swedish national twin study of lifetime major depression [J]. *Am J Psychiatry*, 2006, 163(1): 109-114. DOI: 10.1176/appi.ajp.163.1.109.
- [4] Paolucci EM, Loukov D, Bowdish DME, et al. Exercise reduces depression and inflammation but intensity matters [J]. *Biol Psychol*, 2018, 133: 79-84. DOI: 10.1016/j.biopsycho.2018.01.015.
- [5] Radak Z, Toldy A, Szabo Z, et al. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain [J]. *Neurochem Int*, 2006, 49(4): 387-392. DOI: 10.1016/j.neuint.2006.02.004.
- [6] Berchtold NC, Castello N, Cotman CW. Exercise and time-dependent benefits to learning and memory [J]. *Neuroscience*, 2010, 167(3): 588-597. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2010.02.050.
- [7] Marosi K, Felszeghy K, Mehra RD, et al. Are the neuroprotective effects of estradiol and physical exercise comparable during ageing in female rats [J]. *Biogerontology*, 2012, 13(4): 413-427. DOI: 10.1007/s10522-012-9386-3.
- [8] 邓钰.运动训练联合氟西汀对卒中后抑郁大鼠抑郁行为及海马区 BDNF、TrkB 的影响[D].青岛:青岛大学, 2018.
- [9] Hossman KA. Experimental models for the investigation of brain ischemia [J]. *Cardiovasc Res*, 1998, 39(1): 106-120. DOI: 10.1016/

s0008-6363(98)00075-3.

- [10] Ke Z, Yip SP, Li L, et al. The effects of voluntary, involuntary, and forced exercises on brain-derived neurotrophic factor and motor function recovery: a rat brain ischemia model [J]. *PLoS One*, 2011, 6(2): e16643. DOI: 10.1371/journal.pone.0016643.
- [11] Katayama Y, Inaba T, Nito C, et al. Neuroprotective effects of clarithromycin against neuronal damage in cerebral ischemia and in cultured neuronal cells after oxygen-glucose deprivation [J]. *Life Sci*, 2017, 168(1): 7-15. DOI: 10.1016/j.lfs.2016.11.004.
- [12] Chen KT, Wu CH, Tsai MH, et al. Antidepressant-like effects of long-term sarcosine treatment in rats with or without chronic unpredictable stress [J]. *Behav Brain Res*, 2017, 316(1): 1-10. DOI: 10.1016/j.bbr.2016.06.004.
- [13] Hill MN, Hellemans KG, Verma P, et al. Neurobiology of chronic mild stress: parallels to major depression [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2012, 36(9): 2085-2117. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2012.07.001.
- [14] Overstreet DH. Behavioral characteristics of rat lines selected for differential hypothermic responses to cholinergic or serotonergic agonists [J]. *Behav Genet*, 2002, 32(5): 335-348. DOI: 10.1023/a:1020262205227.
- [15] Pin-Barre C, Constans A, Brisswalter J, et al. Effects of high-versus moderate-intensity training on neuroplasticity and functional recovery after focal ischemia [J]. *Stroke*, 2017, 48(10): 2855-2864. DOI: 10.1161/strokeaha.117.017962.
- [16] Luo L, Li C, Deng Y, et al. High-intensity interval training on neuroplasticity, balance between brain-derived neurotrophic factor and precursor brain-derived neurotrophic factor in poststroke depression rats [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2019, 28(3): 672-682. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.11.009.
- [17] Li J, Yen C, Liaw D, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer [J]. *Science*, 1997, 275(5308): 1943-1947. DOI: 10.1126/science.275.5308.1943.
- [18] Gary DS, Mattson MP. PTEN regulates Akt kinase activity in hippocampal neurons and increases their sensitivity to glutamate and apoptosis [J]. *Neuromolecular Med*, 2002, 2(3): 261-269. DOI: 10.1385/NMM.2.3.261.
- [19] Shao BZ, Cao Q, Liu C. Targeting NLRP3 inflammasome in the treatment of CNS diseases [J]. *Front Mol Neurosci*, 2018, 11: 320. DOI: 10.3389/fnmol.2018.00320.
- [20] Sha R, Zhang B, Han X, et al. Electroacupuncture alleviates ischemic brain injury by inhibiting the miR-223/NLRP3 pathway [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 4723-4733. DOI: 10.12659/MSM.917213.
- [21] Fu S, Wang J, Hao C, et al. Tetramethylpyrazine ameliorates depression by inhibiting TLR4-NLRP3 inflammasome signal pathway in mice [J]. *Psychopharmacology*, 2019, 236(7): 2173-2185. DOI: 10.1007/s00213-019-05210-6.
- [22] Faleiro L, Kobayashi R, Fearnhead H, et al. Multiple species of CPP32 and Mch2 are the major active caspases present in apoptotic cells [J]. *EMBO J*, 1997, 16(9): 2271-2281. DOI: 10.1093/emboj/16.9.2271.

(修回日期:2020-06-05)

(本文编辑:汪 玲)