

· 基础研究 ·

预运动训练对大鼠脑梗死后脑内谷氨酸水平动态变化的影响

贾杰 胡永善 吴毅 刘罡 于惠贤 夏春梅 曹志娟

【摘要】目的 研究预先电动跑台运动训练对大鼠脑梗死后大脑中枢兴奋性氨基酸水平变化的影响,探讨预运动对缺血脑损伤保护作用的机制。**方法** 将 Sprague-Dawley 大鼠随机分为 5 组(每组实验用时均为 4 周):运动 1 周组(运动训练 1 周,在第 4 周实施)、运动 2 周组(运动训练 2 周,在后 2 周实施)、运动 4 周组(运动训练 4 周)、假手术组和缺血组。各组大鼠在实验 4 周后,于脑内纹状体留置微透析管,进行大脑中动脉缺血术,采用微透析技术收集大鼠缺血前、缺血期间(40,80 和 120 min)和再灌注后(40,80,120,160,200 和 240 min)的脑细胞外液。测定大脑兴奋性氨基酸含量的变化,选取谷氨酸(Glu)含量作为兴奋性氨基酸的主要参考值。同时测量缺血再灌注 24 h 时的脑梗死体积。**结果** 缺血再灌注 24 h 时不同组间脑梗死体积变化差异有统计学意义($P < 0.05$)。2 周和 4 周的预先电动跑台运动训练可显著下调因缺血而过度升高的 Glu 浓度($P < 0.01$)。**结论** 至少 2 周的预运动训练对随后发生的脑损伤缺血期及再灌注期间,大脑内重要的兴奋性氨基酸递质——Glu 的过度释放有一定程度的抑制作用,这可能是运动对早期脑缺血损伤的保护机制之一。

【关键词】 脑内微透析; 脑梗死; 预运动; 谷氨酸

Effects of preconditioning treadmill exercise on the dynamic changes of brain glutamate level after cerebral infarction in rats JIA Jie*, HU Yong-shang, WU Yi, LIU Gang, YU Hui-xian, XIA Chun-mei, CAO Zhi-juan.

* Department of Rehabilitation, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

Corresponding author: HU Yong-shan, Email: drhys@sina.com

【Abstract】 Objective To study the effects of preconditioning treadmill exercise on excitatory amino acid changes in rats after the cerebral infarction and the protective effects against cerebral ischemia brain injury.

Methods Thirty Sprague-Dawley rats were used in this study. Twenty-five rats were subject to an operation to establish the animal model of middle cerebral artery occlusion and divided into a ischemia group, an 1-week exercise group (trained in the 4th week), a 2-week exercise group (trained in the 3rd and 4th weeks) and a 4-week exercise group (trained for 4 weeks), while the remaining 5 rats were subject to sham operation, and served as the controls. After 4 weeks of experiment, all the rats were fixed on stereotactic apparatus for the brain microdialysis of the striatum. Then the focal middle cerebral artery ischemia and reperfusion were made with thread occlusion in rats and microdialysis technique was used to collect extracellular fluid in each period of pre-ischemia, ischemia (40, 80 and 120 min), and reperfusion (40, 80, 120, 160, 200 and 240 min) to detect the changes of the excitatory amino acid. At the same time the infarction volume was also measured at 24 hours after ischemia-reperfusion of the brain. **Results** The difference between any two groups was significant with regard to the volume of cerebral infarction ($P < 0.05$). Two weeks and four weeks of the preconditioning treadmill exercise could significantly reduce concentration of Glu excessively released due to the ischemia ($P < 0.01$). **Conclusion** At least two weeks of preconditioning treadmill exercise can inhibit the excessive release of the important excitatory amino acid neurotransmitter glutamate, to some extent, in the process of the subsequent ischemic brain injury and during reperfusion, which might be one of the protective mechanisms of movement against the early ischemic brain injury.

【Key words】 Brain microdialysis; Cerebral infarction; Preconditioning treadmill exercise; Glutamate

基金项目:中国博士后基金(20070420597);国家自然科学基金(30772300)

作者单位:200040 上海,复旦大学附属华山医院康复医学科,复旦大学神经生物学国家重点实验室,复旦大学上海医学院康复与运动医学系(贾杰、胡永善、吴毅、刘罡、于惠贤);复旦大学医学院生理病理学系(夏春梅);复旦大学药学院药物分析所(曹志娟)

通讯作者:胡永善,Email:drhys@sina.com

有研究显示,预先进行电动跑台运动(简称预运动)训练可使随后发生的因脑缺血而引起的脑梗死体积减小,并证明这种变化可能与脑水肿的减轻有关^[1]。随后又有研究者发现,预运动训练可保持微血管的完整性,并抑制脑卒中后血脑屏障的渗透性升高^[2]。上述研究结果提示,预运动训练对随后发生的脑缺血损伤有一定的保护作用。但是对于该保护作用的机制,却鲜见研究。谷氨酸(glutamate, Glu)等兴奋性氨基酸(excitatory amino acids, EAAs)在脑缺血的神经功能损害中起着关键作用^[3],是引起神经死亡的主要介质。脑缺血期,脑内释放到细胞外液的 EAAs 量显著增加^[4],导致神经病理学和神经学损伤^[5,6]。本研究希望通过观察行预运动训练的脑缺血大鼠急性期/早期缺血侧纹状体区 Glu 含量的动态变化,来探讨预运动对缺血脑损伤的保护机制。

材料与方法

一、实验动物及分组

选取 2~3 个月龄雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 30 只,清洁级,体重 200~300 g,由中国科学院上海实验动物中心提供。随机分为假手术组、缺血组、运动 4 周组、运动 2 周组和运动 1 周组,每组 6 只。

二、预运动训练方法

整个实验历时 4 周。所有运动组大鼠在正式运动训练开始前经历每日 30 min, 5~8 m/min 的 2 d 适应性跑步训练^[7]。跑台参数:平板斜度为 0°,履带传输速度为 20 m/min。运动 4 周组在适应性跑步训练后,开始进行 20 m/min,每日 30 min,每周 5 d 的电动跑台运动训练,共 4 周;运动 2 周组在实验第 3 周开始进行 20 m/min,每日 30 min,每周 5 d 的电动跑台运动训练,共 2 周;运动 1 周组在实验第 4 周开始进行 20 m/min,每日 30 min,每周 5 d 的电动跑台运动训练,共 1 周。假手术组、缺血组大鼠进行 4 周的自由活动。各组大鼠其它生活条件相同。

三、微透析留置管的植入

预运动训练结束后,用体积分数为 12% 的水合氯醛按 0.345 mg/g 体重经腹腔注射麻醉大鼠;大鼠置于立体定位仪上,切开头皮,暴露颅骨;于坐标为前囟向尾侧 4.6 mm,中线偏外侧 4 mm,深 3.0 mm 处钻 1 个直径为 2 mm 大小的孔,将一自制不锈钢套留置管植入大鼠纹状体区,并用牙托粉固定。

四、脑缺血模型的制作

将植入留置管的大鼠仰卧位于头下方有一直径为 2 cm 大小孔洞的木板上(预防留置的透析管脱落)。缺血组和各运动组参照 Longa 等^[8]介绍的方法制备大鼠大脑中动脉梗死(middle cerebral artery occlu-

sion, MCAO)模型。假手术组仅分离颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉,不予结扎和放置线栓。大鼠麻醉清醒后参考 Bederson 等^[9]介绍的方法进行评分:0 分为无神经系统症状;1 分为不能完全伸展对侧前爪;2 分为爬行时转圈;3 分为向对侧倾倒;4 分为不能自行行走,意识丧失。以 1~3 分为造模成功入选标准。

五、微透析采样

1. 人工脑脊液:采用人工脑脊液(每升含 NaCl 7.605 g, KCl 0.223 g, CaCl₂ 0.144 g, MgCl₂ · 6H₂O 0.162 g, NaHCO₃ 2.100 g, Na₂HPO₄ · 12H₂O 0.014 g, NaH₂PO₄ · H₂O 0.072 g, pH 值 7.4)^[10]作为脑内微透析灌流液,用 MD21001 型针管式微量注射泵进样。

2. 微透析采样方法:大鼠麻醉后取俯卧位,在麻醉状态下头前倾 45°固定在立体定位仪上取样。①置入微透析探针:将平衡好的微透析探针插入已植入留置管的大鼠脑内,将微透析探头(有效透析膜长度为 4 mm 的不锈钢探针)经留置管插入脑内,入口端通过塑料导管与微透析泵(MD-0100 型,美国产)的注射器相连,出口端通过导管连接 0.5 ml 离心管以收集透析液,用于高效液相的测定。②收集流出液:将平衡好的微透析探针插入已植入留置管的大鼠脑内,在 1 μl/min 流速下平衡 90 min,将流出液收集至一个微量管中,继续平衡 30 min,将所有流出液收集至一个微量管中。③收集对照液:以 2 ml/min 的流速在纹状体区进行微透析,测定透析液中氨基酸含量的变化。每 10 min 收集 1 管透析液,共 20 ml(本实验中所收集的透析液均为 20 ml,以下省略),插入线栓前收集 1 管,插入线栓 40 min 开始每隔 40 min 收集 1 管共 3 管(40, 80 和 120 min),再灌注即刻开始每隔 40 min 收集 1 管共 6 管(40, 80, 120, 160, 200 和 240 min)。整个过程共收集 10 管透析液。

实验结束后,向大鼠体内过量注射麻醉剂处死后断头取脑,脑组织冰冻 5 min 后将前脑切 7 片,向取样部位注入染料以标记,验证取样部位。

六、氨基酸类递质的测定

采用反相高效液相色谱荧光法^[11]测定透析液中氨基酸的含量。

1. 标准品配制:精密称定一定量的 5 种氨基酸(谷氨酸、天门冬氨酸、γ-氨基丁酸、甘氨酸和牛磺酸),加入含 50% 甲醇的 0.1 mol/L 碳酸钾溶液中,配制浓度为 100 mmol/L 的母液, Glu 和高丝氨酸为 10 mmol/L。保持高丝氨酸浓度为 1×10^{-5} mol/L, 配制其它 4 种氨基酸浓度依次为 2×10^{-7} 、 5×10^{-7} 、 1×10^{-6} 、 2×10^{-6} 、 5×10^{-6} 、 1×10^{-5} mol/L 的混合标准品溶液。

2. 色谱条件:色谱柱为 Hypersil ODS23 4.6 ×

250 mm, 5 μ m (日本 GL 公司提供), 荧光检测器配备 3D 色谱工作站; 流动相, 磷酸二氢钾缓冲液 (0.1 mol/L, pH 值为 6.0): 甲醇: 乙腈体积比为 6:3:1, 用孔径为 0.45 μ m 的滤膜过滤, 脱气 15 min 后备用, 临用时配制; 荧光检测激发波长为 340 nm, 发射波长为 455 nm; 流速为 1 ml/min; 柱温为 40 $^{\circ}$ C; 整个色谱分析过程 25 min。

3. 衍生剂配制及柱前衍生: 将 13.4 mg 的邻苯二甲醛溶于 1 ml 乙醇中, 加入 20 μ l 2-巯基乙醇和 4 ml 四硼酸钠缓冲液 (0.1 mol/L, pH 值为 9.6), 密封后低温保存, 隔日加入 20 μ l 的 2-巯基乙醇。标准溶液和预处理样品精密量取 40 μ l, 加入邻苯二甲醛衍生剂 20 μ l, 轻轻混匀, 静置 2 min, 进样 20 μ l 进行高效液相色谱分析。以保留时间作定性分析, 峰面积内标法作定量分析。

七、脑梗死体积的测量

参照 Kano 等^[12]的方法, 于缺血 2 h 再灌注 24 h 后, 所有动物用水合氯醛 (2.0 ~ 2.5 ml) 过量麻醉; 开胸暴露心脏, 切开右心耳, 用生理盐水 20 ml 经左心室灌注; 随后用 20 ml 2% 的氯化三苯四氮唑 (TTC) 灌注, 10 min 后打开颅骨取出整个脑组织。缺血组、运动 4 周组、运动 2 周组和运动 1 周组大鼠右侧大脑半球均有白色梗死灶, 其余脑组织均红染, 假手术组大鼠脑组织均红染。脑组织用 1% 甲醛浸泡 24 h; 将鼠脑冠状切成 6 层, 每层厚 2 mm, 此时缺血组、运动 4 周组、运动 2 周组和运动 1 周组大鼠均可明确见到白色的梗死区, 假手术组则未见梗死灶。选择每一切片的尾侧面, 在 IBAS-2000 通用图像工作站上进行梗死面积的测量, 测量者不知测量的标本属于何组。每一层的梗死面积乘以厚度即为该层的梗死体积, 6 层的梗死体积之和即为总梗死体积。

八、统计学分析

应用 SPSS 13.0 版统计软件进行分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。数据描述用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用两因素方差分析, 单个时间点下采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 Tukey 法。

结 果

一、反相高效液相色谱荧光法标准曲线

本实验条件下, 天门冬氨酸 (Asp)、Glu、甘氨酸 (Gly)、 γ -氨基丁酸 (GABA) 4 种待测氨基酸和内标高丝氨酸 (Hse) 在 18 min 内得以很好地分离, 平均回收率在 79.8% ~ 109.3% 之间 (图 1)。

二、各组 Glu 动态变化结果

组别因素差异具有统计学意义 ($P < 0.001$), 时间差异也存在统计学意义 ($P < 0.001$), 组别因素和时间

因素的交互作用差异也存在统计学意义, 具体分析见图 2。

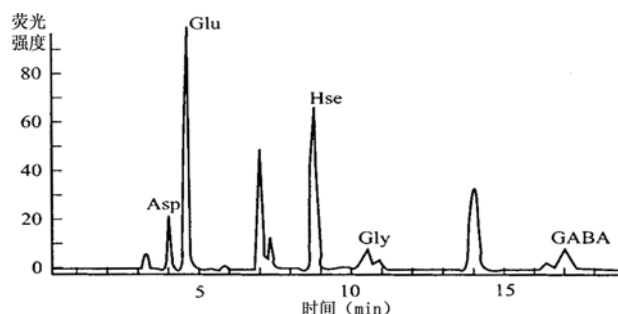


图 1 氨基酸标准品色谱图

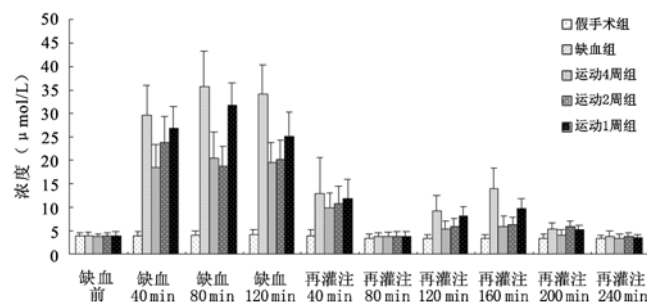


图 2 大鼠脑缺血-再灌注期间纹状体透析液中 Glu 的变化

三、各组不同运动时间的 Glu 水平统计结果分析

假手术组: 横向时间点之间进行比较, $F = 0.634$, $P = 0.763$, 差异无统计学意义, 见图 3, 说明其 Glu 水平未发生变化。

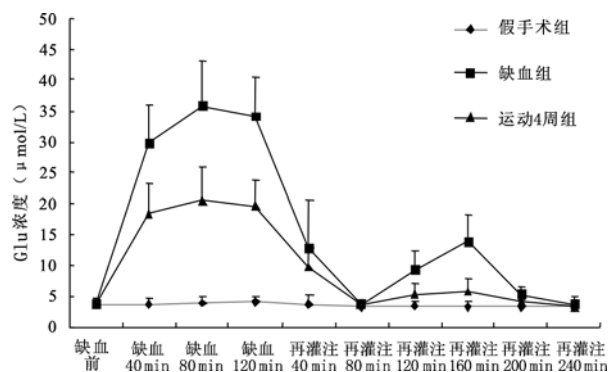


图 3 假手术组、缺血组和运动 4 周组 Glu 水平比较

缺血组: 横向时间点之间进行比较, $F = 44.829$, $P < 0.001$, 差异有统计学意义。再采用 Tukey 法进行组间两两比较, 缺血 40 min 时 Glu 水平开始升高 ($P < 0.001$), 缺血 80 min 升至峰值 ($P < 0.001$), 120 min 仍保持较高水平; 再灌注后 Glu 水平开始下降, 再灌注 80 min 时降至正常水平 ($P < 0.001$), 再灌注 120 min 时 Glu 水平发生第 2 次升高 ($P < 0.001$), 160 min 时达第 2 峰值 ($P < 0.001$), 再灌注 200 min 时又降至正常 ($P < 0.001$), 直至再灌注 240 min 一直保持正常水平 ($P < 0.05$), 见图 3。

运动 4 周组:缺血开始时 Glu 水平迅速升高($P < 0.001$),直至缺血 80 min 时达峰值,缺血 120 min 仍处于较高水平;再灌注时 Glu 水平开始下降($P < 0.001$),至再灌注 80 min 时处于最低水平,然后开始回升,再灌注 160 min 时升至第 2 峰值($P < 0.05$)后又下降($P < 0.05$),直至再灌注 240 min 降至最低水平,见图 3。再灌注时,运动 4 周组的 Glu 水平普遍低于缺血组($P < 0.01$),说明了预运动训练 4 周的有效性。

运动 2 周组:缺血开始时 Glu 水平迅速升高($P < 0.001$),直至缺血 40 min 时达峰值,缺血 80 min 和 120 min Glu 水平仍处于较高水平;再灌注时 Glu 水平开始下降($P < 0.001$),至再灌注 80 min 时处于最低水平,然后开始回升,再灌注 160 min 升至第 2 峰值($P < 0.05$)后又下降($P < 0.05$)直至 240 min 降至最低水平,见图 4。再灌注时,运动 2 周组的 Glu 水平普遍低于缺血组($P < 0.05$),但高于运动 4 周组($P < 0.05$),说明预运动训练 2 周的治疗有效,但作用差于预运动训练 4 周。

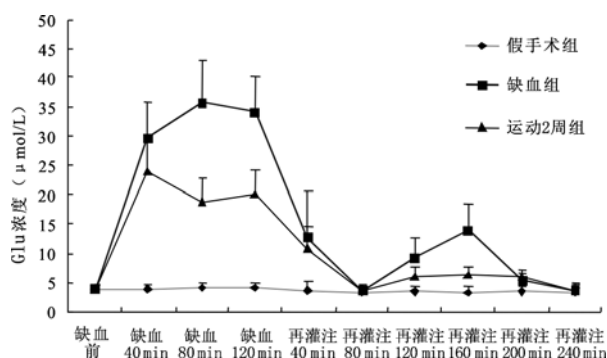


图 4 假手术组、缺血组和运动 2 周组 Glu 水平比较

运动 1 周组:缺血开始时 Glu 水平迅速升高($P < 0.001$),直至缺血 80 min 时达峰值,缺血 120 min 仍处于较高水平;再灌注时 Glu 水平开始下降($P < 0.001$),再灌注 80 min 时降至最低水平,然后开始回升,再灌注 160 min 升至第 2 峰值($P < 0.05$)后又开始下降($P < 0.05$),再灌注 240 min 降至最低水平,见图 5。再灌注时,运动 1 周组的 Glu 水平略低于缺血组,但差异无统计学意义($P > 0.05$),说明预运动 1 周的治疗效果不明显。

由统计分析结果可知,运动 4 周组的治疗效果最好,其次是运动 2 周组,运动 1 周组较差。

四、各组大鼠脑梗死体积的比较

采用单因素方差分析对缺血 24 h 脑梗死体积进行比较; $F = 67.713$,差异有统计学意义;再进行组间两两比较,缺血组的梗死体积最大,运动 4 周组梗死体积最小,其次为运动 2 周组、运动 1 周组,3 个运动组间两两比较,差异均具有统计学意义($P < 0.05$),见图

6。说明 4 周预运动对随后发生的脑缺血预防效果最好,而 1 周的预运动训练对随后发生的脑缺血几乎没有预防效果。

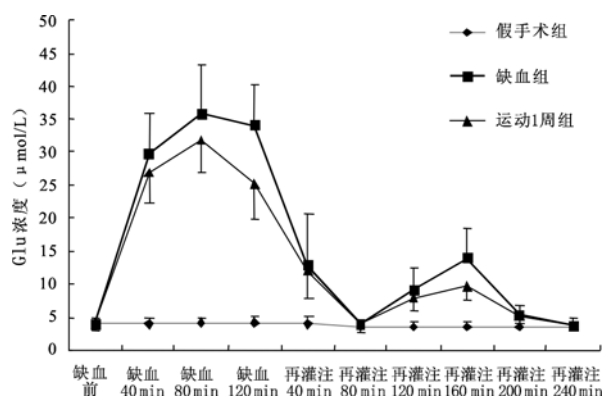


图 5 假手术组、缺血组和运动 1 周组 Glu 水平比较

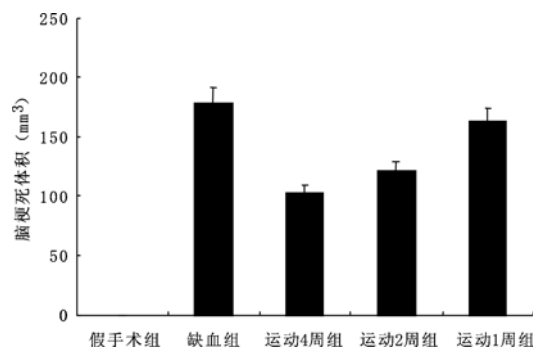


图 6 各组脑梗死体积的比较

讨 论

运动及早期运动训练对缺血性脑血管病的治疗作用已经引起人们的关注^[13,14]。同时,关于发病前预运动训练对随后发生的脑缺血的保护作用也有文献报道,特别是随着缺血预适应研究的展开,正在形成新的热点,但是缺少对其机制的解释,特别是从对氨基酸动态影响角度的研究鲜见报道。Glu 是主要的兴奋性神经递质,其兴奋性神经毒性在急性脑缺血细胞凋亡、再灌注损伤和迟发性神经元死亡中起重要作用,其含量增高及释放增加可导致兴奋性神经毒性作用增强^[15];在缺血早期,Glu 的动态变化对缺血性脑损伤发挥着重要作用^[16,17],对脑缺血损伤后果更有明显影响^[18]。研究 Glu 水平的变化已成为探讨脑缺血损伤机制的热点之一。

我们采用脑内微透析技术研究了预运动训练后,大鼠脑缺血急性期/早期 Glu 这一主要兴奋性氨基酸的动态变化过程。结果表明:假手术组横向时间点之间的 Glu 浓度比较, $F = 0.634$, $P = 0.763$,差异无统计学意义,说明其水平未发生明显变化;缺血组横向时间点之间 Glu 浓度比较,差异有统计学意

义;采用 Tukey 法再进行组间两两比较, Glu 浓度缺血后的升高、缺血再灌注后的下降, 以及缺血再灌注过程中 Glu 浓度再次升高的现象均较明显, 与相关报道的结果一致^[15, 19-22], 进一步证实了本研究方法的可靠性。

本实验主要观察了预运动训练对随后发生的缺血及再灌注期间 Glu 水平的动态影响, 结果显示: 预先运动 4 周、2 周和 1 周均可使 Glu 浓度在横向时间点的动态变化过程中发生下调, 说明预运动训练对随后发生的脑缺血的保护作用机制之一, 可能是在缺血急性期/早期抑制神经毒性递质——Glu 的释放。

组间比较发现, 4 周和 2 周的预运动训练对随后发生的缺血及再灌注期间 Glu 动态变化的影响具有统计学意义 ($P < 0.05$); 而 1 周的预运动训练虽然对随后发生的缺血及再灌注期间 Glu 的动态变化有影响, 但与缺血组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。这说明至少 2 周的预运动训练可明显抑制随后发生的缺血及再灌注期间 Glu 的释放。研究还发现, 预运动训练 4 周和 2 周, 对随后缺血再灌注过程中发生的 Glu 水平再次升高的下调作用均较为明显 ($P < 0.001$)。而脑梗死体积的减小则是上述结果的形态学证据。

综上所述, 预运动训练可使随后发生的脑缺血损伤所致脑梗死面积减小, 对脑缺血损伤具有一定的保护作用。这种保护作用可能是通过下调缺血急性期/早期 Glu 的释放, 从而抑制 Glu 的神经毒性效应。但这种影响还只是一个客观现象的描述, 至于期间与 Glu 相对应的保护性氨基酸递质—— γ -氨基丁酸发生了何种变化, 还有待进一步分析研究, 而 Glu 变化后的受体机制也有待进一步深入探讨。根据上述研究结果, 我们认为科学、合理的预运动训练是一种易于接受且可减轻随后发生脑梗死的有效措施。

参 考 文 献

- [1] Wang RY, Yang YR, Yu SM. Protective effects of treadmill training on infarction in rats. *Brain Res*, 2001, 922:140-143.
- [2] Ding YH, Ding Y, Li J, et al. Exercise preconditioning strengthens brain microvascular integrity in a rat stroke model. *Neurol Res*, 2006, 28:184-189.
- [3] Kanthan R, Shuaib A, Griebel R, et al. Intracerebral human microdialysis; in vivo study of an acute focal ischemic model of the human brain. *Stroke*, 1995, 26:870-873.
- [4] Wei H, Fiskum G, Rosenthal RE, et al. Non-NMDA glutamate receptor binding in canine brain after global cerebral ischemia and reperfusion. *Mol Chem Neuropathol*, 1996, 29:37-52.
- [5] Puka-Sundvall M, Sandberg M, Hagberg H. Brain injury after hypoxia-ischemia in newborn rats: relationship to extracellular levels of excitatory amino acids and cysteine. *Brain Res*, 1997, 750:325-328.
- [6] Rose ME, Huerbin MB, Melick J, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res*, 2002, 935:40-44.
- [7] 郑庆萍, 胡永善, 白玉龙, 等. 康复训练对脑损伤大鼠血管生成素的影响. *中国康复医学杂志*, 2007, 22:193-196.
- [8] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*, 1989, 20:84-91.
- [9] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke*, 1986, 17:472-476.
- [10] 顾拥军, 倪文, 包维丽, 等. 反相高效液相色谱荧光法测定氨基酸类神经递质. *上海医科大学学报*, 1995, 22:210-212.
- [11] 吴强恩, 郑力行, 谢芳, 等. 反相高效液相色谱荧光法测定大鼠脑组织中氨基酸类神经递质. *复旦大学学报*, 2005, 32:255-258.
- [12] Kano M, Moskowitz MA, Yokota M. Parasympathetic denervation of rat pial vessels significantly increases infarction volume following middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1991, 11:628-631.
- [13] 孙莉敏, 郑庆平, 胡永善, 等. 运动对缺血性脑卒中大鼠血管生成素基因表达的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2007, 29:85-88.
- [14] Wang RY, Yu SM, Yang YR. Treadmill training effects in different age groups following middle cerebral artery occlusion in rats. *Gerontology*, 2005, 51:161-165.
- [15] 胡波, 孙圣刚, 梅元武, 等. 亚低温在大鼠脑缺血再灌注中对氨基酸和自由基系统动态平衡的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2003, 25:195-198.
- [16] Melani A, Pantoni L, Corsi C, et al. Striatal out flow of adenosine, excitatory amino acids, γ -aminobutyric acid, and taurine in awake freely moving rats after middle cerebral artery occlusion: correlations with neurological deficit and histopathological damage. *Stroke*, 1999, 30:2448-2454.
- [17] 颜建云, 吴伟康. 脑缺血损伤的分子机制研究进展. *中国病理生理杂志*, 2003, 19:423-426.
- [18] McBurney RN, Daly D, Fischer JB, et al. New CNS-specific calcium antagonists. *J Neurotrauma*, 1992, 9:531-543.
- [19] Lo EH, Pierce AR, Mastumoto K, et al. Alterations in K^+ evoked profiles of neurotransmitter and neuromodulator amino acids after focal ischemia-reperfusion. *Neuroscience*, 1998, 83:449-458.
- [20] 郭铁成, 曹学兵, 朱晓临, 等. rTMS 治疗对实验性家兔脑出血灶周围组织单胺类和氨基酸类神经递质变化的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2004, 26:452-455.
- [21] 刘思渝, 费舟, 章翔, 等. 次声作用下大鼠脑皮层 I、II 组代谢性谷氨酸受体 mRNA 表达的意义. *中华物理医学与康复杂志*, 2001, 23:284-287.
- [22] 胡波, 孙圣刚, 梅元武, 等. 亚低温在大鼠脑缺血再灌注中对氨基酸和自由基系统动态平衡的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2003, 25:195-198.

(收稿日期: 2008-04-20)

(本文编辑: 吴 倩)

· 基础研究 ·

有氧运动对高蛋白饮食大鼠血浆 Hcy、T-NOS 和 NO 含量的影响

杨波 罗芳 张钧

【摘要】目的 探讨有氧运动对高蛋白饮食大鼠血浆同型半胱氨酸(Hcy)、总一氧化氮合成酶(T-NOS)和一氧化氮(NO)含量的影响。**方法** 将雄性 Wistar 大鼠随机分为正常饮食对照组(对照组)、高蛋白饮食组(高蛋白组)和有氧运动+高蛋白饮食组(运动加高蛋白组)。对照组喂饲普通饲料,高蛋白组和运动加高蛋白组大鼠喂饲含 3% 蛋氨酸的高蛋白饲料,运动加高蛋白组大鼠每日同时进行 90 min 无负重游泳运动,每周 6 d,共 8 周。采用高效液相色谱法测定各组大鼠血浆 Hcy 含量,采用硝酸酶还原法测定大鼠血浆 NO 含量,采用比色法测定大鼠血浆 T-NOS 含量。**结果** 与对照组相比,高蛋白组血浆 Hcy 含量显著增高($P < 0.01$),达对照组的 2 倍以上,而 T-NOS 与 NO 含量均显著下降($P < 0.01$);与高蛋白组相比,运动加高蛋白组血浆 Hcy 含量显著下降($P < 0.05$),血浆 T-NOS、NO 含量显著提高($P < 0.05$),与对照组相比,上述各项指标差异无统计学意义。**结论** 高蛋白饮食可诱发大鼠高半胱氨酸血症,血浆 NO 和 T-NOS 含量显著下降;适宜的运动可以降低高蛋白饮食大鼠血浆 Hcy 水平,提高 T-NOS 和 NO 含量,预防高半胱氨酸血症。

【关键词】 同型半胱氨酸; 高半胱氨酸血症; 一氧化氮; 运动

Effects of aerobic exercise on the level of plasma homocysteine, total nitric oxide synthase and nitric oxide in rats fed a high methionine diet YANG Bo*, LUO Fang, ZHANG Jun. *Department of Preventive Medicine, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China

【Abstract】Objective To observe the effects of aerobic exercise on the plasma content of homocysteine (Hcy), total nitric oxide synthase (T-NOS) and nitric oxide (NO) in rats fed a high methionine diet. **Methods** A total of 24 male Wistar rats were randomly divided into a normal diet (CR) group, a high methionine diet (MR) group and a high methionine diet plus swimming group (T + MR), and treated accordingly for 8 weeks. At the end of the treatment, all the animals were tested for plasma T-NOS, NO and homocysteine levels. **Results** Plasma homocysteine doubled, whereas T-NOS and NO levels in the MR group decreased significantly as compared with the CR group, suggesting that hyperhomocysteinemia was induced by the high methionine diet. Plasma homocysteine content decreased significantly in the T + CR group, but plasma T-NOS and NO increased significantly compared with the MR group. These indicators were not significantly different for the T + MR group from those of the CR group. **Conclusion** Adequate aerobic exercise can decrease the plasma level of homocysteine in rats fed a high methionine diet, and increase the plasma level of T-NOS and NO, helping prevent the development of hyperhomocysteinemia.

【Key words】 Homocysteine; Hyperhomocysteinemia; Nitric oxide; Aerobic exercise

同型半胱氨酸也称高半胱氨酸(homocysteine, Hcy),是体内蛋氨酸循环代谢形成的中间产物。大量临床研究表明,摄入过多含有蛋氨酸的食品会导致血浆 Hcy 含量升高,超过血浆正常值范围($5 \sim 15 \mu\text{mol/L}$),可能诱发高同型半胱氨酸血症^[1]。高半胱氨酸通过直接或间接作用导致血管内皮功能障碍,影响内皮依赖性舒张因子释放,并促进血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)增殖,导致血管张力调节异常,从而影响动脉粥样硬化(atherosclerotic)等心血管

疾病的发生、发展和转归。适宜运动可以改善血管内皮分泌功能,调节 NO 的分泌与释放状态,从而发挥抗血管痉挛作用,降低心血管疾病的发病率。本研究以高蛋白饮食大鼠为实验对象,探讨适宜运动对血浆总一氧化氮合成酶(total nitric oxide synthetase, T-NOS)和一氧化氮(nitric oxide, NO)含量的影响,以期预防高半胱氨酸血症乃至动脉粥样硬化提供新的研究思路。

材料与方法

一、动物选择与分组

选用健康雄性 8 周龄 Wistar 大鼠 24 只,体重(155

作者单位:325035 温州,温州医学院环境与公共卫生学院预防医学系(杨波);浙江省宁波市妇女儿童医院儿科(罗芳);扬州大学运动医学研究所(张钧)