·基础研究·

“黑质/苍白球-丘脑-皮质”通路5-羟色胺$_{1B}$受体及多巴胺1型受体在大鼠运动疲劳调控中的作用*

胡琰茹[1,2] 刘晓莉[1] 乔德才[1,3]

摘要

目的：通过观察运动大鼠力竭前后“黑质/苍白球-丘脑-皮质”通路各核团5-羟色胺$_{1B}$受体（5-HT$_{1B}$）及多巴胺1型受体（D$_1$DR）的蛋白表达水平，探讨“黑质/苍白球-丘脑-皮质”通路调控运动疲劳发生、发展的中枢机制。

方法：24只雄性Wistar大鼠，随机分为安静对照组、力竭即刻组、恢复90min组，每组8只。采用免疫组织化学技术对不同组别5-HT$_{1B}$和D$_1$DR的蛋白表达水平进行检测。

结果：与安静组对照组相比，力竭即刻组、恢复90min组大鼠黑质网状部及苍白球内侧部5-HT$_{1B}$受体阳性细胞R值及平均光密度（AOD）值均显著减少（$P<0.05$），D$_1$DR受体阳性细胞R值及AOD值均显著增加（$P<0.05$）；力竭即刻组、恢复90min组大鼠丘脑腹外侧核5-HT$_{1B}$受体阳性细胞R值及AOD值均显著增加（$P<0.05$，$P<0.01$）；在大鼠皮质辅助运动区，力竭即刻组、恢复90min组5-HT$_{1B}$受体阳性细胞R值及AOD值均显著增加（$P<0.05$），D$_1$DR受体阳性细胞R值及AOD值均显著减少（$P<0.05$）。

结论：力竭运动过程中“黑质网状部/苍白球内侧部-丘脑-皮质”各核团5-HT$_{1B}$及D$_1$DR受体蛋白表达变化引起神经递质释放量改变，进而影响神经元电活动兴奋性，可能是“黑质网状部/苍白球内侧部-丘脑-皮质”通路调节运动疲劳及运动能力的重要途径之一。

关键词 大鼠；力竭运动；“黑质/苍白球-丘脑-皮质”通路；5-羟色胺$_{1B}$受体；多巴胺$_1$型受体

中图分类号：R493 文献标识码：A 文章编号：1001-1242（2017）-05-0501-08

The modulating effect of 5-HT$_{1B}$ and D$_1$DR receptors in neurons within “SNr/GPi-VL-SMA” pathway on exercise induced fatigue/ HU Yanru, LIU Xiaoli, QIAO Decai//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2017, 32(5):501—508

Abstract

Objective: To observe the changes of 5-HT$_{1B}$ and D$_1$DR expression in nucleus of “SNr/GPi-VL-SMA” pathway in pre and post-exhaustive exercise, and investigate the central mechanism of “SNr/GPi-VL-SMA” pathway modulating the occurrence and development of exercise-induced fatigue.

Method: Twenty-four male Wistar rats were randomly divided into control group (CG), immediately after exhaustion group (EG), and 90min after recovery group (RG), each consists of 8 rats. The expression level of 5-HT$_{1B}$ and D$_1$DR receptors in each group were observed with the immunohistochemistry technique.

Result: Compared with CG, the positive cell area/scanning area value (R value) and the average optical density value (AOD value) of 5-HT$_{1B}$ receptor in SNr and GPi of the EG and RG rats both decreased significantly ($P<0.05$), while the R value and AOD value of D$_1$DR both increased significantly($P<0.05$). The R value and AOD value of 5-HT$_{1B}$ receptor in VL of EG and RG rats increased significantly($P<0.05$, $P<0.01$). In SMA, the R value and AOD value of 5-HT$_{1B}$ receptor of EG and RG rats increased significantly ($P<0.05$), while,

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2017.05.002

*基金项目：国家自然科学基金资助项目（31171138）；湖南省体育科学学会重点资助项目（2015HN016）

1 北京师范大学体育与运动学院，北京，100875；2 中南大学体育教研部；3 通讯作者

作者简介：胡琰茹，博士，讲师；收稿日期：2016-02-26

the R value and AOD value of D_1DR receptor decreased significantly ($P<0.05$).

Conclusion: Changes of 5-HT_{1B} receptor and D_1DR receptor expression in the nuclei of ‘SNr/GPi-VL-SMA’ pathway caused the changes of the neurotransmitters release, thus affecting the excitability of the electrical activity of neurons, this might be one of the important ways for ‘SNr/GPi-VL-SMA’ pathway modulating the exercise-induced fatigue and exercise performance.

Author's address College of Physical Education and Sports, Beijing Normal University, Beijing, 100875

Key word rat; exhausting exercise; “SNr/GPi-VL-SMA” pathway; 5-HT_{1B}; D_1DR

中枢神经系统对躯体运动的调节是通过锥体系和锥体外系的下行传导来完成的。作为锥体外系传导通路中的重要核团,基底神经节接受来自大脑皮质的大量信息传入,然后再将处理整合后的信息反馈给大脑皮质,在运动调控中发挥重要作用[1]。基底神经节是从端脑衍生出的皮质下神经核团的总称,包括:纹状体、丘脑底核、苍白球和黑质等核团。基底神经节的各核团通过直接通路、间接通路、超直接通路完成信息的传导,这三条通路最后均经黑质网状部/苍白球内侧部复合体—丘脑腹外侧核的传递到达皮质辅助运动区,因此,“黑质/苍白球-丘脑-皮质”通路是基底神经节信息的最后输出通路,该通路各核团神经元兴奋性的变化及相互作用可以反映基底神经节对运动的调控作用[2]。本实验室前期研究也发现,黑质网状部和苍白球内侧部神经元兴奋性的增强抑制丘脑腹外侧核的神经元兴奋性,对皮质辅助运动区神经元产生去兴奋作用,“黑质/苍白球-丘脑-皮质”通路功能失调是导致疲劳产生及运动能力下降的重要因素之一[3—4]并进一步证实该通路各核团胞外神经递质谷氨酸(glutamic acid, Glu)、γ-氨基丁酸(gamma-aminobutyric acid, GABA)浓度的变化及其相应受体谷氨酸离子型2B受体(N-methyl-D-aspartate receptor 2B precursor, NR2B)、γ-氨基丁酸A受体α1亚基(gamma-aminobutyric acid A receptor alpha 1 precursor, GABAA-1)蛋白表达的改变是导致神经元兴奋性变化的递质性因素和受体性因素之一[5—6]。早在1987年,Newsholme等[7]就通过实验研究证实5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)在中枢神经系统中参与疲劳的发生,并首次提出“中枢疲劳”的假设。近年来的研究也证实,5-HT[8]、多巴胺(dopamine, DA)[9]是脑内重要的单胺类神经递质,与其特异性受体结合在调控神经元电活动中发挥重要作用。研究发现,5-羟色胺$_{1B}$受体(5-HT_{1B})可通过自身受体调节5-HT的释放和异身受体调节Glu、GABA等神经递质的释放,进而影响神经元的兴奋性[10],在运动功能的调控中发挥重要作用。多巴胺1型受体(D_1DR)主要作用于基底神经节的直接通路,通过激活腺苷酸环化酶增加黑质网状部/苍白球内侧部GABA的释放量,进而对皮质神经元电活动产生去兴奋作用[11]。为此,本实验采用免疫组织化学技术(immunohistochemistry technique),对一次性力竭运动前后及恢复90min时大鼠“黑质网状部/苍白球内侧部-丘脑-皮质”各核团神经元5-HT_{1B}及D_1DR受体蛋白表达水平进行观察,试图从单胺类神经递质受体的角度进一步揭示“黑质网状部/苍白球内侧部-丘脑-皮质”通路在运动疲劳中枢调控中的作用及其可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验动物为24只雄性Wistar大鼠,清洁级,购自北京维通利华实验动物技术有限公司(许可证号:SCXK(京)2002-2003),体重(290±20)g,分笼饲养,自来水饮水,每只大鼠每天进食20g,自然光照,动物房内温度(20±3)℃,相对湿度为(50±10)%。随机将大鼠分为安静对照组(CG)、力竭即刻组(EG)、恢复90min组(RG)3组,每组8只。本实验在北京师范大学体育与运动学院运动生理学实验室完成。

1.2 主要实验试剂及其配置

正常山羊血清(原液):购自北京博奥森生物工程有限公司(C-0005);Triton X-100:购自北京博奥森生物工程有限公司(C-0089);5-HT_{1B}一抗试剂盒:购自北京博奥森生物工程有限公司,兔多克隆抗体(bs-1125R);D_1DR一抗试剂盒:购自北京博奥森生物工程有限公司,兔多克隆抗体(bs-1007R);二抗试剂盒:购自北京博奥森生物工程有限公司,羊抗兔

IgG(bs-0295G);辣根酶标记链霉卵白素工作液:购自北京博奥森生物工程有限公司(S-A/HRP);DAB显色试剂盒:购自北京博奥森生物工程有限公司(C-0010);苏木素-伊红染色试剂盒:购自北京博奥森生物工程有限公司(C-0021);10%甲醛溶液:将40%甲醛溶液与蒸馏水按1∶3混合。

0.01M PBS缓冲液(pH7.25—7.35):先将12.48g $NaH_2PO_4\cdot 2H_2O$溶于400ml蒸馏水配制成0.2M NaH_2PO_4溶液400ml,再将128.9g $Na_2HPO_4\cdot 12H_2O$溶于1800ml蒸馏水配制成0.2M Na_2HPO_4溶液1800ml。取300ml NaH_2PO_4溶液和1700ml Na_2HPO_4溶液混匀,用剩余的溶液调pH至7.4。按以上方法配制完成的为pH 7.4的0.2M 磷酸盐缓冲液(PB)。称量9g NaCl,50ml 0.2M 的PB,加入烧杯中,加适量蒸馏水溶解后在量杯中用蒸馏水定容至1000ml,即为PBS缓冲液。

铬矾明胶溶液:先使用少许蒸馏水溶解0.1g铬矾后,再加入1g明胶及200ml蒸馏水置于电动磁力搅拌器上加热至70℃,持续搅拌均匀,过滤使用。

1.3 大鼠力竭运动方案

当大鼠能够以20m/min速度持续运动30min时,进行正式实验。力竭运动方案是采用本实验室前期根据Bedford方法改建的递增负荷跑台运动方案[12],运动负荷分为三级:Ⅰ级:10m/min,15min;Ⅱ级:15m/min,15min;Ⅲ级:20m/min,运动至力竭。大鼠的跑步姿势由蹬地式变为伏地式,滞留在跑道的后1/3处,且通过轻微声、光、电的刺激后仍不能维持预定的运动强度,即判定大鼠力竭,停止运动。

1.4 样本的制备

CG、EG、RG大鼠分别在安静、力竭即刻以及力竭后恢复90min时,使用戊巴比妥钠(50mg/kg,Fluka公司)腹腔麻醉,固定大鼠,从大鼠两肋骨下部正中线处挑着皮毛向前剪开,并将左右肋从中部向左右将皮毛剪开,剪破腹膜,然后用镊子夹住腹肌中部挑着剪至颈部,将左右肋部的胸肌层剪开,用两把止血钳夹住左右胸部皮肉,然后剪破心包膜和胸膜,从左心室心尖处下侧插管至主动脉弓,并用止血钳固定,剪破右心耳。先用200ml 37℃预温的0.9% NaCl溶液快速灌流,再用200ml 4℃预冷的10%甲醛溶液灌流,灌流结束后,断头取脑,将取好的脑置于10%甲醛溶液中固定24h。使用梯度乙醇对组织进行脱水,透明,渗透,石蜡包埋,连续冠状切片,切片厚度为5μm。将切好的脑片4℃保存。

1.5 免疫组织化学技术

石蜡切片常规脱蜡、脱水;PBS缓冲液洗3次,每次10min;3% Triton室温孵育30min,增加细胞通透性;PBS缓冲液洗3次,每次10min;3% H_2O_2室温孵育15min,消除内源性过氧化物酶;PBS缓冲液洗3次,每次10min;正常羊血清37℃封闭30min;去除血清,PBS缓冲液洗3次,每次10min;一抗4℃摇床孵育12h;PBS缓冲液洗3次,每次10min;二抗室温摇床孵育2h;PBS缓冲液洗3次,每次10min;辣根酶标记链霉卵白素工作液室温摇床孵育2h;PBS缓冲液洗3次,每次10min;DAB显色,避暗室温15min;PBS缓冲液洗3次,每次10min;贴片;苏木素复染5min,蒸馏水冲洗,1%的盐酸酒精溶液分化30s,蒸馏水冲洗5min蓝化;梯度乙醇脱水:95%Ⅰ、95%Ⅱ、100%Ⅰ、100%Ⅱ、100%Ⅲ各1min;透明,二甲苯Ⅰ、二甲苯Ⅱ各3min;中性树胶封片;光学显微镜下观察染色结果并拍照。阴性对照使用PBS代替。

1.6 统计学分析

分别从大鼠黑质网状部(A:-5.0, L:2.0, H:-7.5)、苍白球内侧部(A:-2.8, L:2.7, H:-7.5)、丘脑腹外侧核(A:-2.5, L:2.0, H:-5)及皮质辅助运动区(A:3.7, L:1.4, H:-0.5)不同组别的相同层面的连续切片中选取5张切片[13],并从每张切片中选取5个相同部位的视野,Image-Pro Plus 6.0真彩色病理图像分析系统分析阳性反应细胞面积/扫描面积(R)及阳性细胞平均光密度(average optical density, AOD)。所有数据均用均数±标准差表示,应用SPSS 13.0统计软件进行单因素 ANOVA分析。

2 结果

2.1 大鼠黑质网状部$5\text{-}HT_{1B}$及D_1DR蛋白表达水平的变化

$5\text{-}HT_{1B}$与D_1DR免疫组化染色结果表明,染色具有特异性,阴性对照均未见阳性染色。力竭运动前后及恢复90min大鼠黑质网状部均可观察到$5\text{-}HT_{1B}$及D_1DR的阳性染色(图1)。箭头所标示的棕黄色或者棕褐色的物质为阳性反应产物。对R值及

AOD进行统计分析，结果发现，EG组大鼠黑质网状部5-HT_{1B}阳性细胞R值(0.0497±0.0097)，阳性细胞AOD值(0.0045±0.0014)以及RG组大鼠R值(0.0362±0.0083)，阳性细胞AOD值(0.0037±0.0011)均显著低于CG组(R：0.0866±0.0131，AOD：0.0096±0.0049)($P<0.05$)。EG组大鼠黑质网状部D_1DR阳性细胞R值(0.1742±0.0089)，阳性细胞AOD值(0.0098±0.0023)以及RG组大鼠R值(0.1847±0.0231)，阳性细胞AOD值(0.0102±0.0019)均显著高于CG组(R：0.1085±0.0177，AOD：0.0056±0.0009)($P<0.05$)。见表1。

2.2 大鼠苍白球内侧部5-HT_{1B}及D_1DR蛋白表达水平的变化

力竭运动前后及恢复90min大鼠苍白球内侧部均可观察到5-HT_{1B}及D_1DR的阳性染色(图2)。箭头所标示的棕黄色或者棕褐色的物质为阳性反应产物。对R值及AOD进行统计分析，结果发现，EG组大鼠苍白球内侧部5-HT_{1B}阳性细胞R值(0.0325±0.0045)，阳性细胞AOD值(0.0034±0.0012)以及RG组大鼠R值(0.0289±0.0033)，阳性细胞AOD值(0.0038±0.0008)均显著低于CG组(R：0.0756±0.0067，AOD：0.0085±0.0023)($P<0.05$)。EG组大鼠苍白球内侧部D_1DR阳性细胞R值(0.0355±0.0025)，阳性细胞AOD值(0.0037±0.0009)以及RG组大鼠R值(0.0685±0.0053)，阳性细胞AOD值(0.0081±0.0021)均显著高于CG组(R：0.0327±0.0024，AOD：0.0034±0.0010)($P<0.05$)。见表2。

2.3 大鼠丘脑腹外侧核5-HT_{1B}及D_1DR蛋白表达水平的变化

力竭运动前后及恢复90min大鼠丘脑腹外侧核均可观察到5-HT_{1B}的阳性染色(图3-A)，而各组均未观察到D_1DR的阳性染色(图3-B)。箭头所标示的棕黄色或者棕褐色的物质为阳性反应产物。对R值及AOD进行统计分析，见表3，图3，EG组大鼠丘脑腹外侧核5-HT_{1B}阳性细胞R值(0.0655±0.0045)，阳性细胞AOD值(0.0085±0.0029)以及RG组大鼠R值(0.0875±0.0068)，阳性细胞AOD值(0.00102±0.023)均显著高于CG组(R：0.0347±0.0028，AOD：0.0047±0.0012)($P<0.05$)。EG组大鼠丘脑腹外侧核D_1DR阳性细胞R值(0.0013±0.0001)，阳性细胞AOD值(0.0007±0.0001)以及RG组大鼠R值(0.0009±0.0001)，阳性细胞AOD值(0.0009±0.0001)与CG组(R：0.0012±0.0001，AOD：0.0006±0.0001)相比，差异不具有显著性意义($P>0.05$)。见表3。

2.4 大鼠皮质辅助运动区5-HT_{1B}及D_1DR蛋白表达水平的变化

力竭运动前后及恢复90min大鼠皮质辅助运动区均可观察到5-HT_{1B}及D_1DR的阳性染色(图4)。箭头所标示的棕黄色或者棕褐色的物质为阳性反应产物。对R值及AOD进行统计分析，结果发现，EG组大鼠皮质辅助运动区5-HT_{1B}阳性细胞R值(0.0712±0.0043)，阳性细胞AOD值(0.0076±0.0021)以及RG组大鼠R值(0.0883±0.0059)，阳性细胞AOD值(0.0089±0.0018)均显著高于CG组(R：0.0385±0.0031，AOD：0.0034±0.0015)($P<0.05$)。EG组大鼠皮质辅助运动区D_1DR阳性细胞R值(0.0367±0.0039)，阳性细胞AOD值(0.0045±0.0015)以及RG组大鼠R值(0.0264±0.0028)，阳性细胞AOD值(0.0038±0.0015)均显著低于CG组(R：0.0892±0.0056，AOD：0.0097±0.0027)($P<0.05$)。见表4。

3 讨论

3.1 5-HT_{1B}在力竭运动大鼠"黑质/苍白球-丘脑-皮质"通路的神经调控作用

5-HT是广泛存在于中枢神经系统中的一种抑制性神经递质[14]，通过与其特异性受体结合实现生

表1 大鼠黑质网状部5-HT_{1B}及D_1DR受体阳性细胞表达水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	5-HT1B R	5-HT1B AOD	D_1DR R	D_1DR AOD
CG组	8	0.0866±0.0131	0.0096±0.0049	0.1085±0.0177	0.0056±0.0009
EG组	8	0.0497±0.0097①	0.0045±0.0014①	0.1742±0.0089①	0.0098±0.0023①
RG组	8	0.0362±0.0083①	0.0037±0.0011①	0.1847±0.0231②	0.0102±0.0019①

与CG组相比：①$P<0.05$；②$P<0.01$

表2 大鼠苍白球内侧部5-HT$_{1B}$及D$_1$DR受体阳性细胞表达水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	5-HT$_{1B}$		D$_1$DR	
		R	AOD	R	AOD
CG组	8	0.0756±0.0067	0.0085±0.0023	0.0327±0.0024	0.0034±0.0010
EG组	8	0.0325±0.0045①	0.0034±0.0012①	0.0355±0.0025	0.0037±0.0009
RG组	8	0.0289±0.0033①	0.0038±0.0008①	0.0685±0.0053①	0.0081±0.0021②

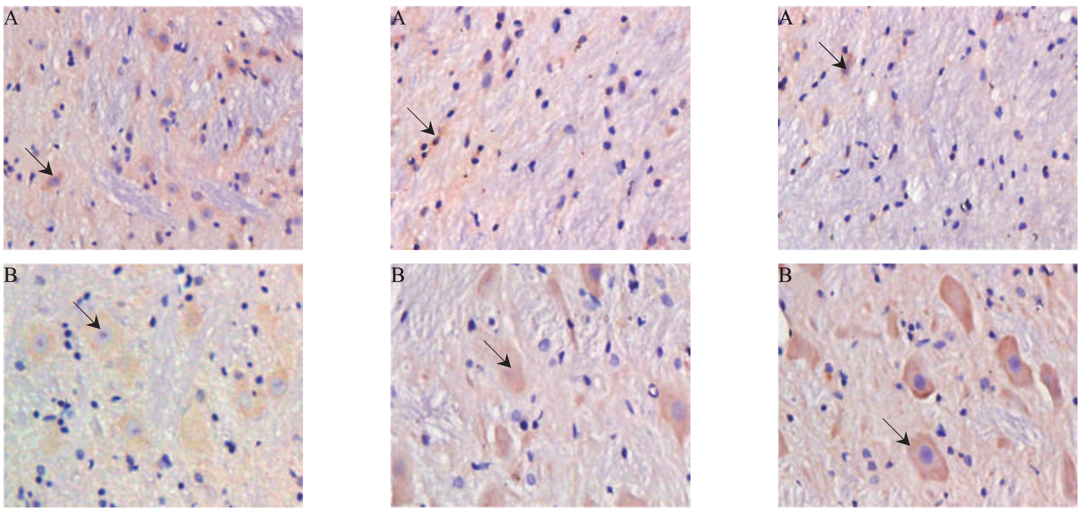
与CG组相比：①$P < 0.05$；②$P < 0.01$

表3 大鼠丘脑腹外侧核5-HT$_{1B}$及D$_1$DR受体阳性细胞表达水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	5-HT1B		D$_1$DR	
		R	AOD	R	AOD
CG组	8	0.0347±0.0028	0.0047±0.0012	0.0012±0.0001	0.0006±0.0001
EG组	8	0.0655±0.0045①	0.0085±0.0029①	0.0013±0.0001	0.0007±0.0001
RG组	8	0.0875±0.0068①	0.00102±0.023①	0.0009±0.0001	0.0009±0.0001

与CG组相比：①$P < 0.05$

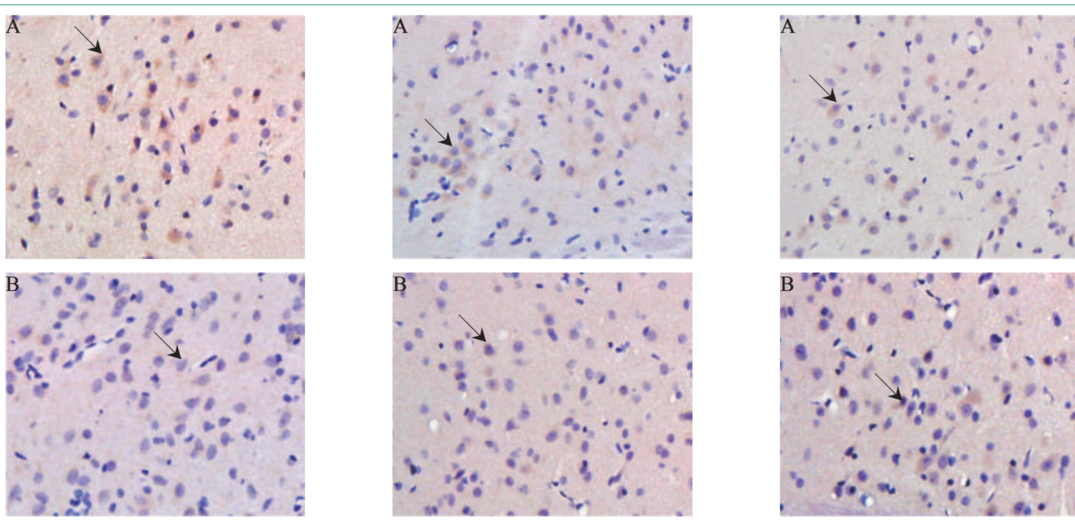
图1 大鼠黑质网状部5-HT$_{1B}$及D$_1$DR受体阳性表达 （免疫组化染色，×200）



CG EG RG

注：A为5-HT$_{1B}$受体阳性表达；B为D$_1$DR受体阳性表达

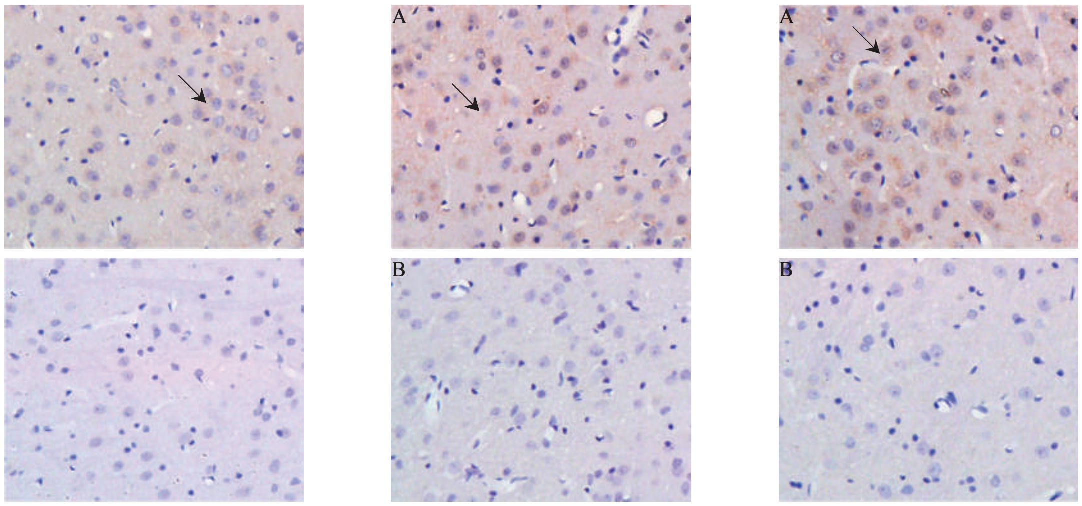
图2 不同组别大鼠苍白球内侧部5-HT$_{1B}$及D$_1$DR受体阳性表达 （免疫组化染色，×200）



CG EG RG

注：A为5-HT$_{1B}$受体阳性表达；B为D$_1$DR受体阳性表达

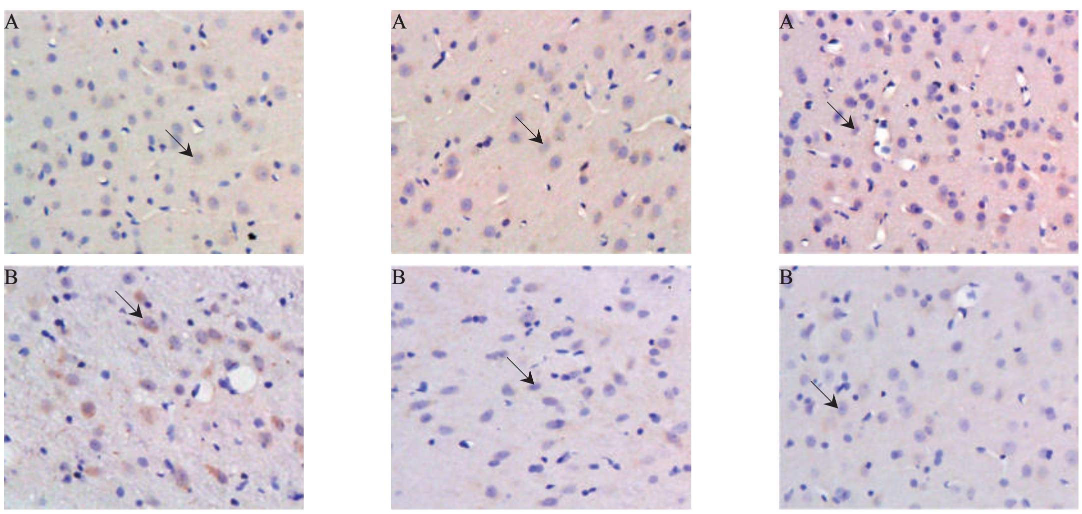
图3 大鼠丘脑腹外侧核5-HT$_{1B}$及D$_1$DR受体阳性表达 （免疫组化染色，×200）



CG EG RG

注：A为5-HT$_{1B}$受体阳性表达；B为D$_1$DR受体阳性表达

图4 大鼠皮质辅助运动区5-HT$_{1B}$及D$_1$DR受体阳性表达 （免疫组化染色，×200）



CG EG RG

注：A为5-HT$_{1B}$受体阳性表达；B为D$_1$DR受体阳性表达

表4 大鼠皮质辅助运动区5-HT$_{1B}$及D$_1$DR受体阳性细胞表达水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	5-HT$_{1B}$		D$_1$DR	
		R	AOD	R	AOD
CG组	8	0.0385±0.0031	0.0034±0.0015	0.0892±0.0056	0.0097±0.0027
EG组	8	0.0712±0.0043①	0.0076±0.0021①	0.0367±0.0039①	0.0045±0.0015①
RG组	8	0.0883±0.0059①	0.0089±0.0018①	0.0264±0.0028①	0.0038±0.0015①

与CG组相比：①$P<0.05$

物学作用。5-HT受体可分为5-HT$_1$、5-HT$_2$、5-HT$_3$、5-HT$_4$、5-HT$_5$、5-HT$_6$、5-HT$_7$等7种，其中5-HT$_1$分为5-HT$_{1A}$、5-HT$_{1B}$、5-HT$_{1D}$、5-HT$_{1E}$、5-HT$_{1F}$等5种亚型；5-HT$_2$分为5-HT$_{2A}$、5-HT$_{2B}$、5-HT$_{2C}$等3种亚型；5-HT$_5$分为5-HT$_{5A}$和5-HT$_{5B}$两种亚型[15]。其中5-HT$_{1B}$受体在运动调控中发挥着至关重要的功能[16]。5-HT$_{1B}$属于

G蛋白偶联受体，广泛存在啮齿类动物的基底神经节，特别是在黑质、苍白球、纹状体表达更明显[17]。$5\text{-}HT_{1B}$作用是作为突触前的自身受体调节5-HT的合成和释放以及作为异身受体调控乙酰胆碱（acetylcholine, ACH）、DA、去甲肾上腺素（norepinephrine, NE）、Glu、GABA等多种神经递质释放[10]。本研究结果显示，大鼠出现力竭时，黑质网状部及苍白球内侧部$5\text{-}HT_{1B}$受体蛋白表达降低，丘脑腹外侧核及皮质辅助运动区$5\text{-}HT_{1B}$受体蛋白表达升高。$5\text{-}HT_{1B}$受体可降低神经递质Glu释放，增加神经递质5-HT、GABA释放，从而抑制神经元的兴奋性。前期研究结果发现，大鼠在出现疲劳时，黑质网状部/苍白球内侧部神经元兴奋性增强，胞外神经递质Glu浓度升高，GABA浓度降低；丘脑腹外侧核、皮质辅助运动区神经元兴奋性减弱，胞外神经递质Glu浓度降低，GABA浓度升高。其可能原因是"黑质网状部/苍白球内侧部-丘脑-皮质"通路各核团$5\text{-}HT_{1B}$受体蛋白表达水平的改变引起神经递质释放量的变化，进而调控神经元的兴奋性。帕金森（Parkinson disease, PD）模型大鼠的研究也发现，黑质网状部/苍白球内侧部的$5\text{-}HT_{1B}$受体表达水平降低，减轻对神经递质GABA释放的抑制作用，GABA释放量增加，使得丘脑腹外侧核-皮质神经元兴奋性的减弱，出现运动迟缓或运动不能的PD症状[16]，该结果也从另一个角度证实，"黑质网状部/苍白球内侧部-丘脑-皮质"通路各核团神经元$5\text{-}HT_{1B}$受体在运动功能的调控中发挥重要的作用。

3.2 D_1DR在力竭运动大鼠"黑质/苍白球-丘脑-皮质"通路的神经调控作用

DA是脑内主要的儿茶酚胺类神经递质，通过与其特异性受体结合发挥多种生物学效应。DA受体可以分为D_1样受体和D_2样受体两大类。D_1样受体分为D_1DR和D_5DR两个受体亚型单位，D_2样受体分为D_2DR、D_3DR和D_4DR三个受体亚型单位[18]。其中D_1DR在运动调控中发挥重要作用[19]，且与运动疲劳的发生存在着密切关系[20]。D_1DR存在于基底神经节直接通路上纹状体投射到黑质网状部/苍白球内侧部的中型有棘GABA能神经元上[21]，通过Gs蛋白与腺苷酸环化酶（adenylcyclase, Ac）正性偶联，激活腺苷酸环化酶，使细胞内环化腺苷酸（cyclic adenosine monophosphate, cAMP）水平升高，进一步激活蛋白激酶A（protein kinase A, PKA），磷酸化细胞质和细胞核，使跨膜G蛋白偶联受体去敏感化，促进神经递质的释放[22]。D_1DR对运动功能的调控主要是通过改变突触前Glu能神经元与突触后GABA能神经元之间的神经兴奋性传递来实现的。本研究结果显示，大鼠出现力竭时，黑质网状部及苍白球内侧部D_1DR受体蛋白表达升高，丘脑腹外侧核D_1DR受体蛋白很少或几乎不表达，皮质辅助运动区D_1DR受体蛋白表达降低。D_1DR会增加黑质网状部及苍白球内侧部向丘脑腹外侧核GABA的释放量[11]，从而抑制丘脑腹外侧核神经元兴奋性，进而使得皮质辅助运动区神经元兴奋性下降。相关文献报道[23]，D_1DR受体在丘脑很少或几乎不表达，与本研究结果一致。PD模型大鼠的研究也发现，黑质网状部/苍白球内侧部D_1DR受体蛋白表达增高，增强丘脑腹外侧核传出的GABA能神经元的兴奋性，抑制丘脑-皮质神经通路的兴奋性，进而使得大鼠出现运动不能的临床症状[20]。进一步证实"黑质网状部/苍白球内侧部-丘脑-皮质"通路各核团神经元D_1DR受体蛋白表达水平的改变引起黑质网状部/苍白球内侧部神经递质GABA释放量的变化，进而调控神经元的兴奋性。

综上所述，在一次性力竭运动过程中，大鼠在力竭时，黑质网状部/苍白球内侧部$5\text{-}HT_{1B}$受体蛋白表达下降，通过自身受体调节及异身受体调节使该核团Glu释放量增多，5-HT、GABA释放量减少，D_1DR受体蛋白表达升高，该核团GABA的释放量减少，增强该核团神经元的兴奋性，向丘脑腹外侧核释放的GABA量增多，抑制丘脑-皮质通路的Glu能神经投射，对皮质辅助运动区的神经元电活动产生去兴奋作用，导致疲劳产生及运动能力下降。同时，丘脑腹外侧核、皮质辅助运动区$5\text{-}HT_{1B}$受体蛋白表达升高，皮质辅助运动区D_1DR受体蛋白表达下降，也会引起该核团Glu释放量减少，5-HT、GABA释放量增多，抑制丘脑腹外侧核及皮质辅助运动神经元电活动，导致疲劳及运动能力下降的原因之一。力竭运动过程中"黑质网状部/苍白球内侧部-丘脑-皮质"各核团$5\text{-}HT_{1B}$及D_1DR受体蛋白表达变化引起神经递质释放量改变，影响神经元电活动兴奋性，可能是

“黑质网状部/苍白球内侧部-丘脑-皮质”通路调节运动疲劳及运动能力的重要途径之一。

参考文献

[1] Middleton FA, Strick PL. Basal ganglia and cerebellar loops: motor and cognitive circuits[J]. Brain Res Brain Res Rev, 2000, 31(2—3):236—250.

[2] Nybo L, Secher NH. Cerebral perturbations provoked by prolonged exercise[J]. Prog Neurobiol, 2004, 72(4):223—261.

[3] 胡琰茹,乔德才,刘晓莉.力竭运动过程中大鼠苍白球内侧部对皮层的调控作用研究[J].中国运动医学杂志,2013,32(5):416—422.

[4] 胡琰茹,刘晓莉,乔德才.大鼠在力竭运动过程中“黑质-丘脑-皮层”通路的调控作用研究[J].上海体育学院学报,2013,37(5):57—62.

[5] 胡琰茹,刘晓莉,乔德才.力竭运动大鼠苍白球内侧部神经递质浓度及相应受体表达变化研究[J].北京体育大学学报,2015,38(1):57—62,79.

[6] 胡琰茹.在力竭运动过程中大鼠黑质/苍白球-丘脑-皮层通路的调控作用研究[D].北京师范大学,2013.7.

[7] Newsholme EA, Newsholme P, Curi R. The role of the citric acid cycle in cells of the immune system and its importance in sepsis, trauma and burns[J]. Biochem Soc Symp, 1987, 54(3):145—162.

[8] Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function[J]. Neuropharmacology, 1999, 38(8):1083—1152.

[9] Jaber M, Robinson SW, Missale C, et al. Dopamine receptors and brain function[J]. Neuropharmacology, 1996, 35(11):1503—1519.

[10] Hoyer D, Hannon JP, Martin GR. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2002, 71(4):533—554.

[11] Gauchy C, Kemel ML, Desban M, et al. The role of dopamine released from distal and proximal dendrites of nigrostriatal dopaminergic neurons in the control of GABA transmission in the thalamic nucleus ventralis medialis in the cat [J]. Neuroscience, 1987, 22(3):935—946.

[12] 刘晓莉,罗勇,乔德才.大鼠一次性力竭跑台运动模型的建立与动态评价[J].中国实验动物学报,2012,20(3):25—28.

[13] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates[M]. 3rd Edition, San Diego : Academic press, 1997.26.

[14] 章小菊,姚鸿恩.疲劳性运动对血清游离氨基酸和中枢神经递质影响的研究进展[J].中国运动医学杂志,1999,18(2):150—153.

[15] Pauwels PJ. Diverse signalling by 5-hydroxytryptamine (5-HT) receptors[J]. Biochem Pharmacol, 2000, 60(12):1743—1750.

[16] Nicholson SL, Brotchie JM. 5-hydroxytryptamine (5-HT, serotonin) and Parkinson's disease - opportunities for novel therapeutics to reduce the problems of levodopa therapy[J]. Eur J Neurol, 2002, 9(Suppl 3):1—6.

[17] Chennaoui M, Grimaldi B, Fillion MP, et al. Effects of physical training on functional activity of 5-HT_{1B} receptors in rat central nervous system: role of 5-HT-moduline[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2000, 361(6):600—604.

[18] Levey AI, Hersch SM, Rye DB, et al. Localization of D1 and D2 dopamine receptors in brain with subtype-specific antibodies[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, 90(19):8861—8865.

[19] Sidhu A, Niznik HB. Coupling of dopamine receptor subtypes to multiple and diverse G proteins[J]. Int J Dev Neurosci, 2000, 18(7):669—677.

[20] 陈燕,任志华,徐明,等.中枢多巴胺D1和D3受体在运动调控中的作用[J].上海交通大学学报(医学版),2007,27(8):1033—1035.

[21] Yoshii F, Takahashi H, Kumazawa R, et al. Parkinson's disease and fatigue[J]. J Neurol, 2006, 253(Suppl 7):VII48—53.

[22] Hussain T, Lokhandwala MF. Renal dopamine DA1 receptor coupling with G(S) and G(q/11) proteins in spontaneously hypertensive rats[J]. Am J Physiol, 1997, 272(3 Pt 2):F339—F346.

[23] Calabresi P, Pisani A, Centonze D, et al. Role of dopamine receptors in the short- and long-term regulation of corticostriatal transmission[J]. Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi, 1997, 17(2):101—104.