

有氧训练改善额叶损伤大鼠认知灵活性的机制研究*

田 亮¹ 叶祥明¹ 周 亮¹ 田智慧¹ 程瑞动¹ 李厥宝¹ 孙 鹏^{1,2}

摘要

目的:探讨有氧训练改善额叶损伤大鼠认知灵活性的机制。

方法:按照随机数字表法将30只雄性SD大鼠分为假模组、有氧训练组和模型组,每组10只。使用eCCI-6.3装置制备大鼠额叶损伤模型,假模组大鼠不接受额叶撞击,仅行开颅去骨瓣手术。有氧训练组给予每周6次,共持续9周的游泳训练;干预结束后三组大鼠均进行注意定势转移任务测试,额叶组织取材后应用TUNEL法检测神经细胞凋亡情况、应用免疫组化染色检测多巴胺受体DR1的表达,应用高效液相色谱分析法检测多巴胺含量。

结果:有氧训练组的简单辨别(10.37 ± 1.29)次、复杂辨别(15.11 ± 3.55)次、逆反学习1(16.76 ± 1.78)次、内维度转换(11.76 ± 1.65)次、逆反学习2(12.02 ± 0.91)次、外维度转换(10.19 ± 2.01)次和逆反学习3(13.19 ± 2.01)次成绩均显著优于模型组(分别为: 14.20 ± 0.98 , 19.01 ± 2.89 , 21.30 ± 1.56 , 14.36 ± 2.01 , 16.58 ± 1.12 , 15.45 ± 1.11 , 18.78 ± 3.01)次,且持续性错误数量(4.03 ± 0.87)次显著低于模型组(10.02 ± 1.04)($P < 0.05$);与模型组相比,有氧训练组额叶组织神经细胞凋亡率(32.12 ± 2.57 , 11.57 ± 2.89 ; $P < 0.001$)明显减少,DRD1的表达(0.13 ± 0.04 , 0.29 ± 0.03 ; $P < 0.001$)及多巴胺含量(136.88 ± 5.82 , 213.77 ± 8.27 ng/ml; $P < 0.001$)显著增加。

结论:有氧训练对额叶损伤大鼠的认知灵活性障碍具有改善作用,其机制与其可以减少额叶组织神经细胞凋亡、增加多巴胺含量及DRD1表达有关。

关键词 有氧训练;额叶损伤;认知灵活性

中图分类号: R493 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1242(2022)-01-0027-07

Effects of aerobic training on cognitive flexibility in rats with frontal lobe injury/TIAN Liang, YE Xiang-ming, ZHOU Liang, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2022, 37(1): 27—33

Abstract

Objective: To explore the mechanism of "aerobic training" improving the cognitive flexibility of frontal lobe injury rats.

Method: Thirty male SD rats were divided into false modules, aerobic training group and model group according to the random number table ($n=10$, respectively). The fake module only underwent craniotomy to remove the bone flap and no impact was performed on the frontal lobe. The model group and aerobic training group were established by eCCI-6.3 device. The aerobic training group were administrated moderate-intensity aerobic training program 6 times a week for 9 weeks. After the intervention, the cognitive function was evaluated by the attentional set-shifting task (AST). TUNEL was used to detect the apoptosis of nerve cells, immunohistochemical staining was used to detect the expression of dopamine receptor DR1, and high-performance liquid chromatography was used to detect dopamine content.

Result: The cognitive flexibility of rats in aerobic training group was significantly improved than the model group, and the number of persistent errors was significantly lower than the model group. Compared with the model group, the rate of apoptosis of nerve cells in frontal lobe tissue in aerobic training group decreased,

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2022.01.006

*基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2015KYB023, 2020KY435)

1 浙江省人民医院(杭州医学院附属人民医院)康复医学科,浙江省杭州市,310014; 2 通讯作者

第一作者简介:田亮,男,副主任医师; 收稿日期:2020-07-09

and the expression and dopamine content of DRD1 increased.

Conclusion: Aerobic training could effectively improve the cognitive flexibility of rats with frontal lobe injury. The mechanism of aerobic training maybe associated with reduced the apoptosis of nerve cells in frontal lobe tissue, increased dopamine content and DRD1 expression.

Author's address Zhejiang Provincial People's Hospital(People's Hospital Affiliated to Hangzhou Medical College), Hangzhou 310014

Key word aerobic training; frontal lobe injury; cognitive flexibility

在全世界范围内创伤性脑损伤非常常见,有研究统计,创伤性脑损伤的致死率和致残率位于创伤性疾病的首位^[1]。而额叶受损的发生率又居创伤性脑损伤的首位,特别是前额叶,因其特殊的位置,决定了其更容易受损,所以执行功能障碍在创伤性脑损伤患者中非常常见,即使损伤程度较轻,但执行功能异常仍较明显^[2]。作为执行功能主要成分的认知灵活性,是指个体自由改变认知以应对不同刺激或变化的能力,它的生理机制与大脑前额叶有关,该能力受损,对个体能力发展和对环境适应能力将产生严重影响^[3]。目前针对前额叶损伤所致的认知灵活性障碍的药物治疗效果不确切,更多的关注就集中在非药物治疗方法上。如谷斌亮等^[4]证实,有氧训练能够显著提高中度颅脑外伤患者的神经行为认知状况测试量表成绩。Gladstone E等^[5]的一篇临床研究也显示有氧训练可以提高轻度颅脑外伤患者的生活质量和认知功能,但以上研究范围较局限,并未涉及脑外伤后的认知灵活性,因此,有必要对有氧训练是否可以提高颅脑外伤后的认知灵活性进行研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物:雄性健康清洁级SD大鼠30只,质量(280±15)g,3月龄,购自昭衍(苏州)新药研究中心有限公司(动物质量合格证:SCXK(苏)2013-0003),饲养于浙江中医药大学动物实验中心SPF级动物房,饲养条件为温度(21±1)℃、光照时间7:00—19:00、光/暗周期12h/12h。本实验过程中对实验动物的处理完全符合浙江中医药大学医学研究伦理委员会标准。

1.1.2 试剂与仪器:①主要试剂:美多巴(上海罗氏SH2661)、多巴胺ELISA试剂盒(森贝伽SBJ-R0055)、TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(Roche Ap-

plied Science 11684817910)、DRD1抗体(Affinity DF7097)、浓缩型DAB试剂盒(北京索莱宝科技有限公司DA1010)。②主要仪器:ELISA检测仪(RAY-TO)、Leica RM 2016型病理切片机(德国徕卡)、BX53型显微镜(奥林巴斯)、JT-12J型脱水机(武汉俊杰)、R35型切片刀(日本羽毛);注意定势转移测试箱,长方形的测试箱由木板制成(70cm×40cm×35cm),木制分隔板把测试箱一分为二,前1/3为起始区,后2/3为测试区,分隔板具备活动性,根据试验需要可垂直拉起,测试区的后1/3被木板再一分为二,每个区均放置一高6cm,直径7cm的陶瓷罐;AR1140/C型电子分析天平,奥豪斯(上海)公司产品。

1.2 分组、模型制备及干预方法

1.2.1 分组:按照随机数字表法将经过适应性喂养后1周的30只雄性SD大鼠分为假模组、有氧训练组和模型组,每组10只。

1.2.2 模型制备:参照Carlson SW等^[6]学者的操作方法,使用eCCI-6.3装置制作脑额叶损伤模型。造模术前大鼠禁食禁水8h,用10%水合氯醛按0.3ml/100g作腹腔注射麻醉后行去骨瓣手术,骨瓣直径≥5mm,手术的位置位于距中线3mm的前囟及人字缝之间,设置好CCI打击器的参数后(速度:3.5m/s,深度:1.5mm,停留时间:400ms)对大鼠的前额叶皮质进行撞击。动物伤后呈昏迷状态,平均昏迷时间4—6min(翻正反射和/或自行爬动出现即认为清醒),大体形态观察可见前额叶损伤灶,有局限性浅表少量出血和挫裂伤伴局限性蛛网膜下腔出血,即认为造模成功,造模成功后适应性喂养。

1.2.3 干预方法:①造模成功后,有氧训练组使用有氧训练疗法进行干预,有氧训练采用游泳方式,在池水深70cm、水温控制在(35±2)℃、长宽高为150cm×60cm×90cm的玻璃水池中进行。首先是无负重游泳的适应性训练,10min/d,共1周。然后是无负重递增

负荷的游泳治疗性训练,6次/周,共持续8周。从50min/d开始,按照每周递增10min/d标准进行递增,直至完成运动训练方案时,运动量为120min/d。期间为保证足够的负荷,需要使用木棒驱赶迫使大鼠保持持续游泳。②模型组造模成功后不给予治疗干预,常规饲养9周;③假手术组只做开颅去骨瓣手术,不使用eCCI-6.3装置对其进行撞击,成功后常规饲养9周。

1.3 行为学测试

实验干预9周后,开始进行注意定势转移任务(attentional set-shifting, AST)测试^[7],采取限制摄食的方式把大鼠的体重降低至限食前的80%—85%,限食从测试前一周即开始,约(10—15)g/d,但可以自由饮水。参考曹爱华等^[8]所采用的方法,从限食第5天开始,每只大鼠均进行如下两阶段的测试:①习惯阶段:即大鼠的适应阶段,适应实验箱中的环境和训练大鼠学会从陶瓷罐中取食;②实验阶段:测试包含7个连续的,难度不断增加的任务测试:简单辨别、复杂辨别、第一次逆反学习、内维度转换、第二次逆反学习、外维度转换和第三次逆反学习。上述7个测试依次进行。在大鼠取食过程中,若第一次陶瓷罐中无诱饵,则记录一次错误,并将大鼠拉回等待间。要求每轮操作均达到连续6次正确取食,然后转至下一阶段任务。每个阶段所记录的指标为:各组大鼠连续6次正确完成各阶段任务的达标训练次数和持续性错误数。整个测试程序见表1所示^[9]。第一阶段为简单辨别(simple discrimination, SD)阶段,两个陶瓷罐分别以丁香和肉豆蔻气味标记,填充物为垫料。以其中一种气味(如丁香)为正性线索,奖赏物始终放在此陶瓷罐中。大鼠学习依据正性线索寻找奖赏物,标准为直到达到连续6次正确反应。第二阶段为复杂辨别(compound discrimination, CD)阶段,引入非相关维度线索(新的填充物两种),使之与两种气味的陶瓷罐随机配对呈现,但其正性线索(气味)与SD阶段任务一致。第三阶段为第一次逆反学习(reversal learning 1, RL1)阶段,使用与CD阶段任务中相同的气味和填充物,但之前的正性气味线索和负性气味线索进行互换;第四阶段为内维度转换(intra-dimensional shifting, IDS)阶段,气味依然为相关刺激维度,填充物则作为非相关刺激维度,但此任务同时变换两种

新的气味(如迷迭香和肉桂)及两种新的填充物(如塑料珠和木珠)。以其中一种气味(如迷迭香)为正性线索,其他与CD阶段任务相同。第五阶段为第二次逆反学习(reversal learning 2, RL2)阶段,与RL1阶段任务类似,把原来在IDS阶段任务中的正性线索和负性线索互换。第六阶段为外维度转换(extra-dimensional shifting, EDS)阶段,更换新的填充物(如褶皱纸条和白纸条)及气味(如百里香和香茅)。同时,此任务中填充物由不相关刺激维度转换为相关刺激维度,其中一种填充物(如褶皱纸条)作为正性线索,气味则变为非相关刺激维度。第七阶段为第三次逆反学习(reversal learning 3, RL3)阶段,与RL1和RL2类似,但EDS任务中正、负性线索互换。为了抑制线索和位置偏好,测试过程中,随机选择相关维度的配对刺激物中的一个作为正性线索。同时,每次任务中陶瓷罐的位置随机放置在测试区的两侧。

1.4 标本采集与指标检测

1.4.1 组织切片制备:大鼠饲养8周后,异氟烷麻醉断头处死,4℃冰上取脑组织分离损伤区前额叶组织,将组织放置于4%多聚甲醛溶液(国药集团10009218)中固定24h。随后将组织放于不同浓度的酒精脱水盒脱水处理。脱水后将组织放入未凝固的蜡块中,然后于-20%冷冻台冷却,凝固后取出修整蜡块,放置于切片机40μm连续切片,将切片放置载玻片上62℃烘箱内蜡烤化后常温备用。

表1 注意定势转移任务(AST)测试程序

阶段	维度		线索组合	
	相关	无关	正性线索	负性线索
SD	气味		丁香/垫料	肉豆蔻/垫料
CD	气味	填充物	丁香/化妆棉片 丁香/百洁布片	肉豆蔻/百洁布片 肉豆蔻/化妆棉片
RL1	气味	填充物	肉豆蔻/化妆棉片 肉豆蔻/百洁布片	丁香/百洁布片 丁香/化妆棉片
IDS	气味	填充物	迷迭香/木珠 迷迭香/塑料珠	肉桂/塑料珠 肉桂/木珠
RL2	气味	填充物	肉桂/木珠 肉桂/塑料珠	迷迭香/塑料珠 迷迭香/木珠
EDS	填充物	气味	褶皱纸条/香茅 褶皱纸条/百里香	白纸条/百里香 白纸条/香茅
RL3	填充物	气味	白纸条/百里香 白纸条/香茅	褶皱纸条/香茅 褶皱纸条/百里香

注:此表格以从气味维度辨别任务开始为例。正性线索与食物位置关联,其所在维度为相关维度;而负性线索与食物位置无关,其所在维度为无关维度。

1.4.2 TUNEL 染色:取备用切片置于湿盒中,加入 50 μ L 过氧化物酶(POD), 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 30min。随后 PBS 冲洗 3 次,每次 5min。继续加入 DAB 底物溶液 100 μ L 孵育 10min, PBS 冲洗 3 次,苏木素复染 4min,盐酸乙醇分色 30s,随后将切片房屋不同浓度的酒精中脱水处理,最后封片待用。阴性对照组不加入末端脱氧核苷酸转移酶,其他步骤同上。显微镜下可见阳性神经细胞细胞核棕黄色,核固缩深染,体积变小,形状三角形或扇形,核内染色质浓聚,染色质浓集于核周,呈新月形、环形、长条形、块状小体,甚至形成核碎片,而阴性细胞的细胞核不显示棕黄色,形态正常。分别计数 5 个不同的视野(左、右、上、下、中)的总细胞数目和凋亡细胞数目,然后根据其数目计算细胞凋亡率。

1.4.3 免疫荧光染色:将脑组织放入 4%多聚甲醛溶液固定 24h 后,石蜡包块切片,脱蜡后抗原修复,后浸入 TBS 溶液冲洗,每次 5min。为阻断内源性过氧化物酶,将切片放入 3% H_2O_2 溶液室温孵育 10min,后 TBS 冲洗 3 次,每次 5min。将切片用 BSA 溶液封闭,随后加入小鼠抗兔一抗(1:50), 4 $^{\circ}$ C 过夜避光孵育。次日将切片复温 30min,用 TBS 冲洗 3 次,每次 5min,加入羊抗兔 IgG 二抗(1:200), 37 $^{\circ}$ C 孵育 50min,最后二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)染色, TBS 冲洗,苏木素复染,封片后显微镜观察并拍照留存。应用 Image-pro plus(IPP) 6.0 图像分析软件和 Alpha Ease FC(Fluorchem FC 2)软件并根据以下公式计算多巴胺 D1 受体的表达水平:

平均光密度=累计强度(IntDen)/面积(Area)

1.4.4 高效液相分析:大鼠深度麻醉断头后冰上快速取额叶脑组织,称重后置于-80 $^{\circ}$ C 保存。将组织置于加入 1ml 0.05mol/L 高氯酸的裂解液中制成匀浆,

冰上孵育 30min, 12000r/min 离心 5min,离心后取上清液 20ml 检测。流动相缓冲液为柠檬酸-乙酸钠缓冲液:甲醇(体积比 87:13)(pH3.8),流速为 1.0ml/min,发射波长(EM)为 330nm,激发波长(EX)为 280nm,检测灵敏度为 0.01AU,最后以峰面积 X 为横坐标、以进样浓度 Y(ng/g)为纵坐标作图,检测线性范围,进行线性回归,计算多巴胺含量(ng/ml)。

1.5 统计学分析

Image-pro plus(IPP) 6.0 图像分析软件和 Alpha Ease FC(Fluorchem FC 2)软件用于对图像进行分析处理;使用 SPSS 22.0 软件包进行统计分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示,单因素方差分析用于多组间比较,组内两两比较采用 LSD-*t* 法。以 $P < 0.05$ 认为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 各组大鼠注意定势转移任务测试的达标训练次数比较

纳入实验的所有大鼠均顺利完成测试,所有大鼠全部存活。各组大鼠在完成不同阶段任务的达标训练次数之间差异有显著性($P < 0.05$)。组间两两比较显示:模型组与另外两组相比,其在 7 个阶段的达标训练次数明显多于其他两组,差异具有显著性意义。而有氧训练组与假模组之间比较,尽管在简单辨别、复杂辨别、第一次逆反学习和内维度转换四个阶段,有氧训练组的正确完成操作任务所需要的次数明显多于假模组,差异具有显著性意义,但在逆反学习 2、逆反学习 3 和外维度转换阶段,两组之间并没有显示出统计学差异。见表 2。

2.2 三组大鼠注意定势转移任务测试持续性错误

表 2 在 AST 实验中三组大鼠各阶段所需达标训练次数的比较

($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	简单辨别(次)	复杂辨别(次)	逆反学习 1(次)	内维度转换(次)	逆反学习 2(次)	外维度转换(次)	逆反学习 3(次)
假模组	8.12 $\pm$ 1.10 ^①	12.33 $\pm$ 3.24 ^①	11.14 $\pm$ 3.06 ^①	8.25 $\pm$ 1.38 ^①	11.86 $\pm$ 0.80 ^①	9.13 $\pm$ 1.22 ^①	11.57 $\pm$ 2.67 ^①
模型组	14.20 $\pm$ 0.98	19.01 $\pm$ 2.89	21.30 $\pm$ 1.56	14.36 $\pm$ 2.01	16.58 $\pm$ 1.12	15.45 $\pm$ 1.11	18.78 $\pm$ 3.01
有氧训练组	10.37 $\pm$ 1.29 ^{②②}	15.11 $\pm$ 3.55 ^{②②}	16.76 $\pm$ 1.78 ^{②②}	11.76 $\pm$ 1.65 ^{②②}	12.02 $\pm$ 0.91 ^①	10.19 $\pm$ 2.01 ^①	13.19 $\pm$ 2.01 ^①
F 值	73.931	10.740	51.926	32.544	79.151	50.834	21.221
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
P12	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
P23	<0.001	0.012	<0.001	<0.002	<0.001	<0.001	<0.001
P31	<0.001	0.046	<0.001	<0.001	0.710	0.126	0.174

注:① $P < 0.001$ VS 模型组;② $P < 0.001$ VS 假模组;P12:假模组 VS 模型组,P23:模型组 VS 有氧训练组,P31:有氧训练组 VS 假模组

数比较

三组大鼠的持续性错误数之间差异有显著性意义,多重两两比较显示:有氧训练组(4.03 ± 0.87)次与模型组(10.02 ± 1.04)次相比,有氧训练组的持续错误明显减少,差异具有显著性意义。见图1。

2.3 三组大鼠额叶组织细胞凋亡情况比较

相比假模组,模型组大鼠额叶组织细胞凋亡比例显著增加。与模型组相比,接受有氧训练治疗后的大鼠额叶组织中细胞凋亡不同程度的减少,差异具有显著性意义。见图2和表3。

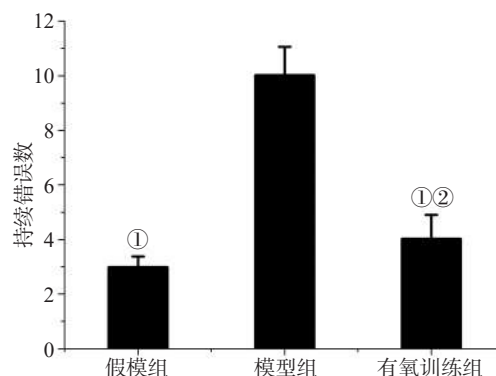
2.4 三组大鼠额叶组织中DA含量比较

相比假模组,模型组大鼠额叶组织中多巴胺含量明显减少。与模型组相比,经有氧训练后的大鼠额叶组织中多巴胺含量明显的上升,差异具有显著性意义。见表3。

2.5 三组大鼠额叶组织中DRD1的表达的比较

相比假模组,模型组大鼠额叶组织DRD1表达显著减少。与模型组相比,经有氧训练后的大鼠额叶组织中DRD1表达不同程度的增加,差异具有显著性意义。见图3和表3。

图1 大鼠在注意定势转移实验中错误类型的比较($\bar{x} \pm s$)



注:①与模型组比较 $P < 0.05$; ②与假模组比较 $P < 0.05$

图2 大鼠额叶组织神经细胞凋亡情况

(TUNEL染色, $\times 100$)

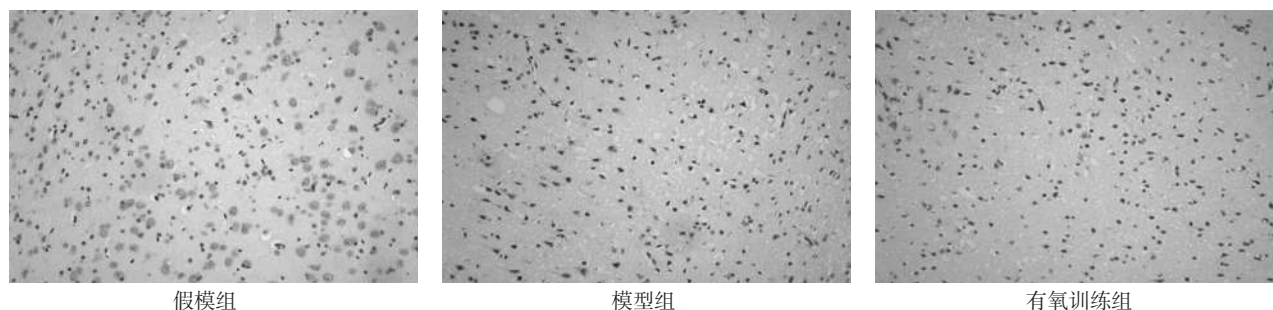
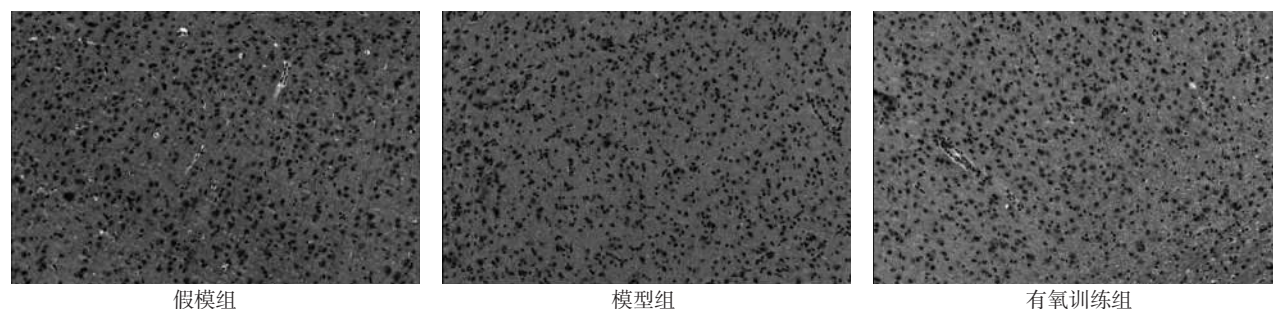


图3 大鼠额叶组织中多巴胺受体D1表达

(免疫组化染色, $\times 200$)



3 讨论

认知灵活性又称为注意定势转移能力,是执行功能的一个核心组分。威斯康星卡片分类测验是用于评价人的注意定势转移能力的,而本研究中所使用的注意定势转移任务测试是 Birrell JM 和 Brown

VJ 根据威斯康星卡片分类测验设计的专用于鼠类的注意力转移能力测验^[10]。在此任务中,被试大鼠需要学会在嗅觉和触觉两个维度组成的数对刺激中寻找奖赏物,但与奖赏物相对应的,自始至终只有单一维度。

表3 三组大鼠额叶组织中神经细胞凋亡率、多巴胺受体D1表达及多巴胺含量的比较 (x±s)

组别	鼠数	体重(g)		神经细胞凋亡率 (%)	多巴胺含量 (ng/ml)	多巴胺受体 D1 表达
		干预前	干预后			
假模组	10	273.67±10.87	356.23±9.49	1.50±0.45	285.06±5.45	0.58±0.07
模型组	10	269.67±13.91	361.37±12.99	32.12±2.57 ^①	136.88±5.82 ^①	0.13±0.04 ^①
有氧训练组	10	286.33±8.14	349.66±10.07	11.57±2.89 ^②	213.77±8.27 ^②	0.29±0.03 ^②
F 值		5.78	1.69	481.972	1248.473	210.946
P 值		>0.05	>0.05	<0.001	<0.001	<0.001
P12				<0.001	<0.001	<0.001
P23				<0.001	<0.001	<0.001
P31				<0.001	<0.001	<0.001

注:①P<0.001 VS 假模组;②P<0.001 VS 模型组;P12:假模组 VS 模型组,P23:模型组 VS 有氧训练组,P31:有氧训练组 VS 假模组

本研究结果显示,使用控制性皮质损伤器制作的额叶损伤动物模型确实存在注意定势转移能力的缺陷,与人类的额叶损伤所表现出的障碍类似,由此可以认为使用该器具制作的额叶损伤模型可以作为研究人类额叶损伤认知灵活性障碍的模型。

本研究考察了有氧训练对额叶损伤大鼠认知灵活性的影响,结果表明额叶损伤大鼠存在认知转换能力障碍,主要表现在认知灵活性测试中,模型组大鼠的整体认知表现差于假模组。而接受有氧训练的大鼠的整体认知表现尽管在简单辨别、复杂辨别、逆反学习1和内维度转换阶段差于假模组,但明显好于模型组;且在逆反学习阶段2、逆反学习阶段3和外维度转换阶段,有氧训练组的达标训练次数和假模组之间的差异无显著性意义,而在注意定势转移测试中逆反学习和外维度转换是认知灵活性评价的核心指标^[11];注意定势转移实验中持续性错误的增加与中央前额叶的损伤有关^[12],通过对持续性错误的分析,我们推测大鼠固执反应的改善得益于有氧训练对前额叶损伤的治疗效应。这即表明,有氧训练对额叶损伤大鼠的认知灵活性障碍具有明显的治疗效应。

创伤性脑损伤有2种神经细胞的损伤方式,一种是原发性的,一种是继发性的,其中细胞凋亡是继发性损伤的重要方式,其直接影响脑创伤的预后^[13]。因此,抑制或减少细胞凋亡可以有效改善脑创伤的预后。在本研究中,使用eCCI-6.3装置对大鼠的前额叶皮质进行撞击制作额叶损伤模型,并在急性创伤的9周后使用Tunel法对3组大鼠的额叶组织的细胞凋亡情况进行检测发现,相比假模组,模型组大鼠额叶组织细胞凋亡比例显著增加,这支持了“急性颅脑外伤后常继发神经细胞凋亡,从而导致

大脑神经细胞的迟发性损伤”的论断^[14]。本研究也发现,与模型组相比,接受有氧训练治疗后的大鼠额叶组织中细胞凋亡显著减少,提示有氧训练可以有效减少额叶组织细胞凋亡数量。本研究小组前期也发现靳三针疗法亦可有效抑制脑创伤后的细胞凋亡,本次研究将为脑外伤后的康复提供又一可供选择的治疗方法^[15]。由于Bcl-2与Bax是细胞凋亡中两个重要基因调控的表达产物,Bcl-2和Bax蛋白之间的比例是决定细胞凋亡或抑制的关键因素,一项关于有氧训练改善AD大鼠认知行为能力的机制研究发现,有氧训练可以抑制阿尔茨海默病大鼠海马神经细胞的凋亡^[16],其中Bcl-2和Bax蛋白之间的比例失调发挥了重要作用,本研究中,有氧训练抑制额叶组织细胞的凋亡是否与以上机制有关,还需要后期进一步研究。

前额叶在人的脑高级认知功能中发挥重要作用^[17]。目前大量研究都支持认知功能障碍与前额叶多巴胺的异常有关^[18],Watanabe等^[19]研究了灵长类执行工作记忆任务时前额叶细胞外DA浓度变化发现:猴的背外侧前额叶皮层细胞外多巴胺水平明显增加发生在猴执行延缓注意任务时,表明背外侧前额叶与工作记忆关系密切。局部微灌流D1受体激动剂于大鼠边缘前内侧脑前额叶外皮(prelimbic medial prefrontal cortex, mPFC)区,大鼠的空间分辨和连续注意能力得到明显增强,而微灌流D1受体拮抗剂于大鼠mPFC区则抑制该作用,说明D1受体与额叶的认知功能存在显著关联^[20]。本研究的结果支持以上结论,本研究发现存在显著注意定势转移能力障碍的额叶损伤大鼠的前额叶组织内多巴胺含量显著减少,且DRD1表达显著减少;而给予有氧训练后,额叶损伤大鼠的注意定势转移能力得到明

改善的同时,其前额叶组织内的多巴胺含量及DRD1表达均显著增加,表明多巴胺功能障碍是额叶组织损伤大鼠注意定势转移能力障碍的重要机制。另有研究表明轻度急性应激损害空间工作记忆,而提前应用D1受体阻断剂可阻断急性应激对空间工作记忆的损害,即说明D1受体机制是应激所致的前额叶皮层认知损害的关键^[21-22],本研究中,注意定势转移任务的损伤是否是通过D1受体机制的还不得而知,因为本研究并没有提前阻断D1受体,这需要后期进一步研究。还有研究认为注意定势注意能力低下与递质不平衡有关^[23],本研究仅考察了多巴胺,未检测其他神经递质,后期可进一步研究额叶损伤大鼠注意定势转移能力紊乱的行为学指标与前额叶多种神经递质的相关性。

综上,额叶损伤大鼠存在明显的认知灵活性障碍,其机制与额叶组织中神经细胞凋亡增多、多巴胺含量及DRD1表达减少有关,而有氧训练可以有效地减少额叶组织神经细胞凋亡、增加额叶组织多巴胺含量及DRD1的表达。

参考文献

- [1] Odgaard L, Aadal L, Eskildsen M, et al. Nursing sensitive outcomes after severe traumatic brain injury: A nationwide study[J]. *J Neurosci Nurs*. 2018, 50(3): 149—154.
- [2] de León JM R, Pedrero-Pérez EJ, Gálvez S, et al. Clinical utility and psychometric properties of Prefrontal Symptoms Inventory (PSI) in acquired brain injury and degenerative dementias[J]. *Rev Neurol*, 2015, 61(9): 387—394.
- [3] Lange F, Kip A, Klein T, et al. Effects of rule uncertainty on cognitive flexibility in a card-sorting paradigm[J]. *Acta Psychol (Amst)*, 2018, 190: 53—64.
- [4] 谷斌亮, 罗杰. 高压氧舱联合有氧训练对中度脑外伤患者认知功能的作用[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2017, 20(23): 43—45.
- [5] Gladstone E, Narad ME, Hussain F, et al. Neurocognitive and quality of life improvements associated with aerobic training for individuals with persistent symptoms after mild traumatic brain injury: secondary outcome analysis of a pilot randomized clinical trial[J]. *Front Neurol*, 2019, 10: 1002.
- [6] Carlson SW, Dixon CE. Lithium improves dopamine neurotransmission and increases dopaminergic protein abundance in the striatum after traumatic brain injury[J]. *J Neurotrauma*, 2018, 35(23): 2827—2836.
- [7] Xu H, Zhang Y, Zhang F, et al. Effects of duloxetine treatment on cognitive flexibility and BDNF expression in the mPFC of adult male mice exposed to social stress during adolescence[J]. *Front Mol Neurosci*, 2016, 9: 95.
- [8] 曹爱华, 张昕婷, 于琳, 等. SHR/WKY/SD大鼠的行为学特征研究[J]. *中国儿童保健杂志*, 2013, 21(7): 704—707.
- [9] 原三娜, 罗晓敏, 张帆, 等. 大鼠注意定势转移任务模型的深入研究: 种系和检测程序的影响[J]. *心理学报*, 2014, (12): 1805—1813.
- [10] Birrell JM, Brown VJ. Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat[J]. *J Neurosci*, 2000, 20(11): 4320—4324.
- [11] Lapiz-Bluhm MD, Bondi CO, Doyen J, et al. Behavioural assays to model cognitive and affective dimensions of depression and anxiety in rats[J]. *J Neuroendocrinol*, 2008, 20(10): 1115—1137.
- [12] Floresco SB, Zhang Y, Enomoto T. Neural circuits subserving behavioral flexibility and their relevance to schizophrenia[J]. *Behav Brain Res*, 2009, 204(2): 396—409.
- [13] Pan MX, Tang JC, Liu R, et al. Effects of estrogen receptor GPR30 agonist G1 on neuronal apoptosis and microglia polarization in traumatic brain injury rats[J]. *Chin J Traumatol*, 2018, 21(4): 224—228.
- [14] Conti AC, Raghupathi R, Trojanowski JQ, et al. Experimental brain injury induces regionally distinct apoptosis during the acute and delayed post-traumatic period[J]. *J Neurosci*, 1998, 18(15): 5663—5672.
- [15] 田亮, 程瑞动, 张劼, 等. "新三针"疗法对额叶损伤大鼠执行功能和空间学习记忆能力的影响及其机制研究[J]. *中华神经医学杂志*, 2018, 17(11): 1089—1096.
- [16] 党琳燕. 不同有氧运动时间对小鼠心肌细胞凋亡的影响[J]. *卫生研究*, 2018, 47(5): 794—797.
- [17] Zhang C, Zhang H, Xu K, et al. Impaired prefrontal cortex-thalamus pathway in intractable temporal lobe epilepsy with aberrant executive control function: MRI evidence[J]. *Clin Neurophysiol*, 2019, 130(4): 484—490.
- [18] Ott T, Nieder A. Dopamine and Cognitive Control in Prefrontal Cortex[J]. *Trends Cogn Sci*, 2019, 23(3): 213—234.
- [19] Watanabe M, Kodama T, Hikosaka K. Increase of extracellular dopamine in primate prefrontal cortex during a working memory task[J]. *J Neurophysiol*, 1997, 78(5): 2795—2798.
- [20] Liu Q, Li X, Zhao Y, et al. Dopamine D1 receptor agonist treatment alleviates morphine-exposure-induced learning and memory impairments[J]. *Brain Res*, 2019, DOI: 10.1016/j.brainres.2019.01.020.
- [21] Papp M, Gruca P, Lason-Tyburkiewicz M, et al. Dopaminergic mechanisms in memory consolidation and antidepressant reversal of a chronic mild stress-induced cognitive impairment[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2017, 234(17): 2571—2585.
- [22] Hurtubise JL, Howland JG. Effects of stress on behavioral flexibility in rodents[J]. *Neuroscience*, 2017, 345: 176—192.
- [23] Chandler DJ, Waterhouse BD, Gao WJ. New perspectives on catecholaminergic regulation of executive circuits: evidence for independent modulation of prefrontal functions by midbrain dopaminergic and noradrenergic neurons[J]. *Front Neural Circuits*, 2014, 8: 53.