



4周高强度间歇训练调节乳酸介导的突触可塑性 改善 CUMS 大鼠抑郁样行为*

韩雨梅^{1)**} 张子威^{1)**} 梁家任¹⁾ 包春辉¹⁾ 田俊生²⁾ 周石³⁾ 向欢^{1)***} 杨永红^{4)***}

(¹⁾ 山西大学体育学院, 太原 030006; (²⁾ 山西大学中医药现代研究中心, 太原 030006;

³⁾ Faculty of Health, Southern Cross University, NSW 2480, Australia; ⁴⁾ 山西省体育科学研究所, 太原 030006)

摘要 **目的** 探究4周高强度间歇训练 (high-intensity interval training, HIIT) 对慢性不可预知性温和应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS) 大鼠前额叶皮质 (prefrontal cortex, PFC) 突触可塑性的影响及其可能的作用机制。**方法** 48只雄性 Sprague-Dawley 大鼠随机分为对照组 (C组)、模型组 (M组)、对照运动组 (HC组) 以及模型运动组 (HM组)。M组和HM组采用8周CUMS建立抑郁模型, HC组和HM组从第5周开始接受4周HIIT干预, HIIT方案为3 min 高速 (85%~90% S_{max}) 和1 min 低速 (50%~55% S_{max}) 无间歇重复训练 (S_{max} 为最大训练速度), 每次训练循环3~5组, 每周训练5 d。分别于第4周和第8周末评价大鼠行为学变化, 并检测尾静脉血乳酸含量。干预结束后取大鼠PFC, 用高尔基染色检测突触形态学变化, 酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 测定脑源性神经营养因子 (BDNF)、单羧酸转运蛋白1 (MCT1)、乳酸和谷氨酸含量以及血清中5-羟色胺 (5-HT) 含量, 蛋白质印迹法 (Western blot) 检测突触可塑性相关蛋白 c-Fos、Arc 以及 N-甲基-D-天冬氨酸受体1亚单位 (NMDAR1) 的表达水平。**结果** 与C组相比, M组大鼠糖水偏爱率、穿越格数、直立次数、进入开放臂的次数和时间均显著降低; PFC中突触棘密度显著下降, c-Fos、Arc、NMDAR1 表达以及乳酸和谷氨酸含量均显著升高, BDNF 和 MCT1 含量显著降低。血清中5-HT含量显著降低。与M组相比, HIIT能够显著改善HM组大鼠行为学指标, 上调PFC中MCT1和乳酸含量, 并回调PFC中c-Fos、Arc、NMDAR1 表达水平以及谷氨酸和BDNF含量, 突触棘密度显著增加。**结论** 4周HIIT干预可能通过增加CUMS大鼠PFC的乳酸含量, 降低谷氨酸浓度从而回调NMDAR 过度表达, 减轻其神经兴奋性毒性, 增强突触可塑性进而改善大鼠抑郁样行为。

关键词 高强度间歇训练, 乳酸, 谷氨酸, 突触可塑性, 抑郁症

中图分类号 Q42, R749, R87

DOI: 10.16476/j.pibb.2025.0129

CSTR: 32369.14.pibb.20250129

突触可塑性是神经元之间突触连接强度受外界刺激发生动态调节的特性, 是大脑神经网络发育的重要生理基础^[1]。抑郁症的神经可塑性假说认为, 抑郁症的发生发展与情绪和认知脑区的神经萎缩或退化有关^[2]。抑郁症患者大脑中可见前额叶皮质 (prefrontal cortex, PFC) 体积减小, 突触数量减少^[3]; 在慢性应激动物模型中同样发现, 大脑中神经元发生萎缩^[4], 突触兴奋减弱并伴随着 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDAR) 表达水平下降^[5] 以及脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor, BDNF) 的表达减少, 进而导致突触可塑性下降及神经元受损^[6]。

已知运动疗法能够改善抑郁症引起的认知功能

障碍, 具有良好的抗抑郁效果^[7]。本课题组前期研究已发现, 有氧和抗阻运动均能够促进慢性不可预知性温和应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS) 大鼠海马中 PGC-1 α -FNDC5-BDNF 通路蛋白质的表达^[8], 表明运动干预可能对 CUMS 大鼠大脑突触可塑性起到了重要调节作用。高强度间歇训练 (high-intensity interval training, HIIT) 是近年来较为流行的一种锻炼方式, 能在较短的时间内

* 国家自然科学基金 (82374153) 和山西省基础研究计划 (202103021224027) 资助项目。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

杨永红 Tel: 0351-7686484, E-mail: 50763199@qq.com

向欢 Tel: 0351-7010611, E-mail: xianghuan0327@sxu.edu.cn

收稿日期: 2025-03-27, 接受日期: 2025-04-26

获得与有氧和抗阻运动同样的健康受益。研究已证实, HIIT也能改善CUMS小鼠抑郁样行为^[9]。

新近研究发现, 乳酸在改善学习和记忆、促进神经发生和神经保护方面发挥着重要作用^[10]。在正常生理条件下, 当NMDAR被激活时, 乳酸能够促进 Ca^{2+} 流入并增强内向电流, 使细胞膜电位去极化, 同时NMDAR和下游的细胞外信号调节激酶(ERK1/2)之间的信号转导被激活, 促进细胞骨架活性调节蛋白(activity-regulated cytoskeleton-associated protein, Arc)、BDNF和c-Fos等突触可塑性相关基因的表达增加^[11-13]。Carrard等^[14]发现, 腹腔注射乳酸能够提高海马乳酸水平, 并调节下游信号分子和靶基因, 在不同抑郁动物模型中产生抗抑郁作用。在HIIT期间, 血液乳酸水平能够快速升高3~5倍, 并通过单羧酸转运蛋白1(monocarboxylate transporters, MCT1)转运进入脑部^[15]。然而, HIIT的抗抑郁效果是否与乳酸介导的大脑突触可塑性有关尚不明确。

因此, 本研究通过建立CUMS抑郁模型, 并

对CUMS大鼠进行4周HIIT干预, 通过观察干预前后大鼠行为学以及PFC中突触的形态学变化, 检测PFC中乳酸水平、Arc和c-Fos蛋白及NMDAR1的表达情况, 深入阐释HIIT改善大鼠抑郁样行为的中枢乳酸机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

8周龄SPF级Sprague-Dawley雄性大鼠48只, 体质量170~200 g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司(实验动物生产许可证号: SCXK(京)2021-0006)。实验过程中, 大鼠在 $(23 \pm 3)^\circ\text{C}$, 湿度30%~60%, 12 h昼夜节律光照的动物房中饲养, 动物饲养按照中华人民共和国国家科学技术委员会“实验动物管理条例”的规定进行。实验方案经山西大学科学研究伦理委员会批准(SXULL2022069), 大鼠适应环境1周后进行实验。实验流程见图1。

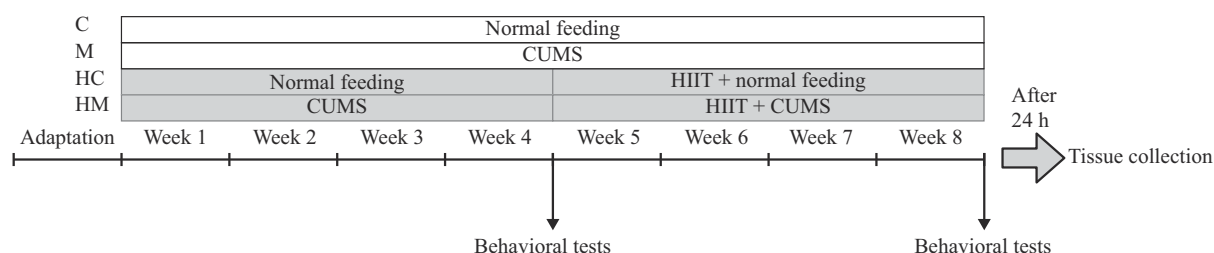


Fig. 1 Flow chart of the experiment

Animals were randomly divided into a control group (Group C), a model group (Group M), a control exercise group (Group HC), and a model exercise group (Group HM), with 12 animals in each group. Groups M and HM underwent 8 weeks of CUMS to establish a model of depression, while Groups HC and HM underwent 4 weeks of HIIT intervention starting from week 5.

1.2 抑郁模型的建立

动物随机分为对照组(C组)、模型组(M组)、对照运动组(HC组)以及模型运动组(HM组), 每组12只。在本研究中M组和HM组采用孤养法结合慢性不可预知温和应激法(CUMS)建立抑郁大鼠模型, 造模过程依据课题组前期方法^[16]进行, 刺激因子包括禁食24 h、禁水24 h、4°C冰水浴5 min、45°C热刺激10 min、夹尾2 min、电击足底5 min、超声刺激3 h, 共7种, 1种/d, 每种刺激随机实施6~8次, 造模持续56 d, 对照组不给予任何刺激, 保持正常饮水和喂养。

1.3 HIIT干预方案

本研究采用的运动方案参照相关文献^[17]进行。为了减少高强度运动对大鼠产生刺激, 在正式运动干预前对HC组和HM组的大鼠进行3 d的适应性训练以熟悉跑台, 跑台坡度为1°。在适应性训练最后一天测定大鼠的最大训练速度($S_{\max}$), 递增负荷训练以20 m/min的速度开始, 并且每3 min以5 m/min的速度增加, 直到大鼠力竭。力竭被定义为大鼠不再能适应跑台速度并因此受到电击10 s仍不继续运动的时刻。

在适应性训练中达到的 $S_{\max}$ 用于标定HIIT方案中的训练强度。正式训练开始时以15 m/min速度

进行5 min热身。热身结束后, 采用3 min高速结合1 min低速无间歇重复训练, 结束时以15 m/min跑速进行5 min放松。训练5 d/周, 休息2 d, 训练进行4周。在第6周末对HC组和HM组大鼠进行 S_{max} 测试, 以调整跑速。训练计划见表1。

Table 1 HIIT intervention program

	Intensity (% S_{max})	High-speed training duration/min	Number of cycles	Intensity (% S_{max})	Low-speed training duration/min	Number of cycles	Total training time/min
Week 5	85	3	4	50	1	3	25
Week 6	90	3	4	50	1	3	25
Week 7	90	3	5	55	1	4	29
Week 8	90	3	5	55	1	4	29

1.4 行为学评定

1.4.1 旷场实验

将大鼠放置在露天的金属笼子(100 cm×100 cm×40 cm)中, 四周和底部为黑色金属材质。笼子底部被分成25个相等的正方形, 并用白线标记。测试在安静的环境中进行, 测试前将所有大鼠放置在测试环境中3 h以适应。首先将每只大鼠放置在笼子的中央方格中并让大鼠适应环境1 min, 然后记录接下来的4 min内穿过不同方格的次数和两只前爪抬离旷场底部直立的次数, 每只大鼠测试后使用乙醇溶液对笼子进行擦拭。

1.4.2 糖水偏爱实验

各组大鼠在第4周和第8周的周日进行糖水偏爱实验。正式实验前, 将每只大鼠单独放入笼中, 禁食禁水12 h。然后正式进行糖水偏爱实验, 给予预先称重的一瓶1%蔗糖溶液和一瓶纯净水。蔗糖溶液瓶放置在笼子的一侧, 纯净水瓶放置在另一侧。12 h后测量糖和水的消耗量。糖水偏爱率=(糖水消耗量/ml)/(总水消耗量/ml)×100%。总水消耗量是两瓶消耗量的总和。

1.4.3 高架十字迷宫实验

各组大鼠在第4周和第8周使用高架十字迷宫分析系统中进行测试。测试时提前将大鼠放置在测试环境中3 h以适应, 随后将大鼠轻轻放置于高架十字迷宫的中央, 使其头部朝向开臂区, 释放大鼠后通过摄像头和高架十字迷宫视频分析软件同步记录大鼠在5 min内的进入开臂次数和时间比例。

1.5 血乳酸检测

第8周运动结束后, 取大鼠尾静脉血0.2 μ l, 使用血乳酸分析仪(Lactate Scout 4, EKF

Diagnostics, 德国)检测乳酸浓度。

1.6 动物取材与处理

1.6.1 样本收集

第8周行为学测试结束后所有大鼠禁食过夜, 次日麻醉大鼠后, 将其仰卧位固定住, 抽取腹主动脉血, 3 000 r/min离心20 min收集血清, 置于-80℃冰箱冷冻待测。大鼠断头处死后在冰上快速取脑并分离前额叶皮质, 将其置于冻存管中, -80℃冷冻保存备用。

1.6.2 高尔基染色

分离出的前额叶皮质经蒸馏水快速洗去表面的血液后, 将组织直接放入高尔基染色固定液中, 常温保存。组织完全固定后更换高尔基染色液将组织块完全浸没, 放置阴凉通风处26℃避光处理14 d。染色完成以后, 更换组织处理液处理1 h后更换1次组织处理液, 4℃避光处理3 d。将组织黏在振动切片机的托盘上, 并以组织处理液浸没进行切片, 厚度为60 μ m。滴加高尔基显影液显影后封片。

将制备好的染色切片, 放置在扫描仪切片载盘上。操作Pannoramic scanner扫描软件选择明场扫描模式, 点击开始扫描, 扫描仪自动聚焦采集合成图像, 使用CaseViewer 2.4扫描软件选取脑组织的区域进行400和800倍成像。成像完成后使用Fiji分析软件, 统一以 μ m作为标准单位。测量树突棘长度及计数该长度内树突棘数量, 并计算树突棘密度。使用Fiji分析软件中进行Sholl分析, 以胞体为中心做间距为10 μ m的10个同心圆, 计数树突与同心圆的交点数, 并计算出10个交点数之和, 从而定量分析神经元形态特征, 反映神经元的复杂程度^[18]。

1.7 检测指标与方法

1.7.1 酶联免疫吸附分析(ELISA)试剂盒测定

将前额叶皮质匀浆后离心,取上清液,按照试剂盒说明书测定前额叶皮质中BDNF(Andy gene公司,AD3269Ra)、谷氨酸(Andy gene公司,AD3298Ra)、乳酸(Andy gene公司,AD3646Ra)和MCT1(Andy gene公司,AD2089Ra)含量以及大鼠腹主动脉血清中5-羟色胺(5-HT)(Andy gene公司,AD2930Ra)含量。

1.7.2 蛋白质印迹法(Western blot)

取各组大鼠前额叶皮质,用预冷的PBS洗涤2~3次,剪成小块置于匀浆管中,加入10倍组织体积的裂解液进行匀浆匀浆后放置冰上裂解液30 min确保组织完全裂解,离心后收集上清;加入5×上样缓冲液,沸水浴15 min,进行SDS-PAGE,电泳完毕,半干转至PVDF膜,5%牛奶室温封闭30 min后加入配置好的一抗,4℃孵育摇床过夜。TBST漂洗后孵育二抗,再洗涤。之后在化学发光仪中使用ECL发光液曝光。使用AIWBwell™分析软件进行数据分析。相关抗体信息如下:NMDAR1(BIOSS, bs-2175R, 1:1 000)、Arc(BIOSS, bs-0385R, 1:1 000)、C-FOS(BIOSS, bs-0469R, 1:1 000)、GAPDH(Servicebio, GB15004, 1:1 000)、Goat Anti-Rabbit IgG(Servicebio, GB23303, 1:5 000)。

1.8 统计学方法

采用IBM SPSS 26.0软件进行数据分析,结果用mean±SEM表示。第4周数据单因素方差分析(one-way ANOVA),组间多重比较使用LSD检验,不符合正态分布的数据使用Kruskal-Wallis检验。第8周数据进行方差齐性检验后,使用双因素方差分析(two-way ANOVA),事后检验采用Bonferroni检验。使用GraphPad Prism 10.0软件生成图形。

2 结 果

2.1 4周HIIT干预前后CUMS大鼠抑郁样行为的变化

4周CUMS造模后,与C组比较,M组和HM组体重、糖水偏爱率、穿越格数和直立次数以及高架十字迷宫实验中进入开放臂的次数与时间占比显著降低($P<0.01$),表明CUMS模型复制成功。4周HIIT干预后,与M组相比,HM组糖水偏爱率显著升高($P<0.01$)(图2a),穿越格数与直立次数

($P<0.01$)显著上升(图2b, c),进入开放臂的时间和次数占比($P<0.01$)显著上升(图2d, e)。体重方面,与C组相比,M组($P<0.01$)和HM组($P<0.01$)体重显著下降,且HM组体重略低于M组(图2f)。

双因素方差分析结果表明,CUMS和HIIT干预对大鼠糖水偏爱($F=35.350$, $P<0.01$)、穿越格数($F=11.820$, $P<0.01$)、直立次数($F=5.600$, $P<0.05$)、进入开放臂次数($F=7.597$, $P<0.05$)和进入开放臂时间($F=14.577$, $P<0.01$)均具有交互作用。

2.2 4周HIIT干预前后CUMS大鼠突触形态的变化

对各组大鼠前额叶皮层树突形态进行高尔基染色观察(图3a)发现,与C组相比,M组前额叶皮层树突棘数量减少,树突棘密度显著降低($P<0.01$),在4周HIIT干预后,HC组较C组树突棘密度显著提高($P<0.05$),HM组较M组得到显著回调($P<0.05$),表明HIIT干预显著改善CUMS大鼠树突棘密度(图3c);对各组大鼠神经元进行Sholl分析(图3b),结果显示,相比于C组,M组树突分支与同心圆交点数减少,HM组在运动后交点个数得到回调,但均无显著差异(图3d)。这表明HIIT干预能够增加CUMS大鼠前额叶皮层树突分支数量,改善神经元复杂性。

双因素方差分析结果表明,CUMS和HIIT干预对大鼠PFC树突棘密度($F=0.197$, $P>0.05$)和神经元交点个数($F=0.41$, $P>0.05$)均无交互作用。

2.3 4周HIIT干预对CUMS大鼠乳酸代谢与前额叶皮质神经递质水平的影响

在第8周运动结束后采集大鼠尾静脉血检测血乳酸含量,结果发现,与C组相比,M组血乳酸含量显著降低($P<0.05$),HC组显著升高($P<0.05$),HM组较M组血乳酸含量显著升高($P<0.05$)(图4a)。BDNF通常被认为是运动在神经发育过程产生有益效果的生物标志物,本研究中,与C组比较,M组大鼠前额叶皮层BDNF含量显著下降($P<0.01$),与M组相比,HM组前额叶皮层BDNF含量显著升高($P<0.01$)(图4b)。与C组比较,M组血清中5-HT水平显著降低($P<0.01$),4周HIIT干预后,与M组相比,HM组5-HT水平显著升高($P<0.05$)(图4c)。对MCT1含量检测发现,M组较C组显著降低($P<0.01$),HC组较C组显著升高($P<0.01$),HM组较M组显著升高($P<0.01$)

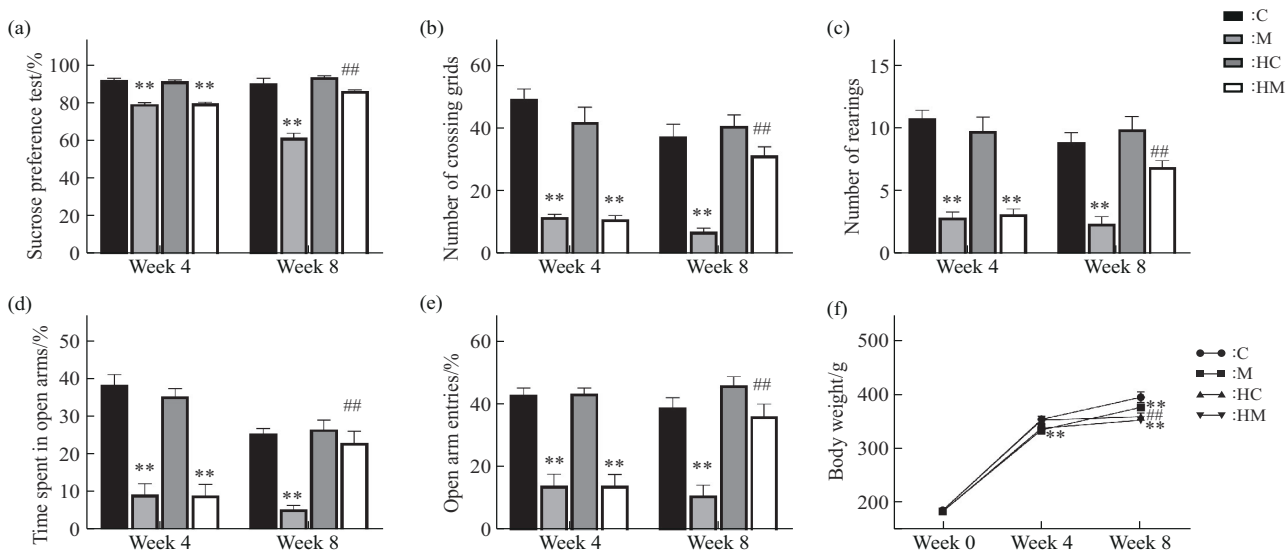


Fig. 2 Behavioral comparisons in each group

(a) Sucrose water preference ratio in each group in the fourth and eighth weeks. (b) Number of crossing grids in the open field experiment in each group in the fourth and eighth weeks. (c) Number of upright times in the open field experiment in each group in the fourth and eighth weeks. (d) Percentage of time in the elevated plus maze to enter the open arm in each group in the fourth and eighth weeks. (e) Percentage of entries in the elevated plus maze to enter the open arm in each group in the fourth and eighth weeks. (f) Body weight of rats in each group in weeks 4 and 8. Data were presented as mean±SEM, $n=8$. ** $P<0.01$ vs group C; ## $P<0.01$ vs group M.

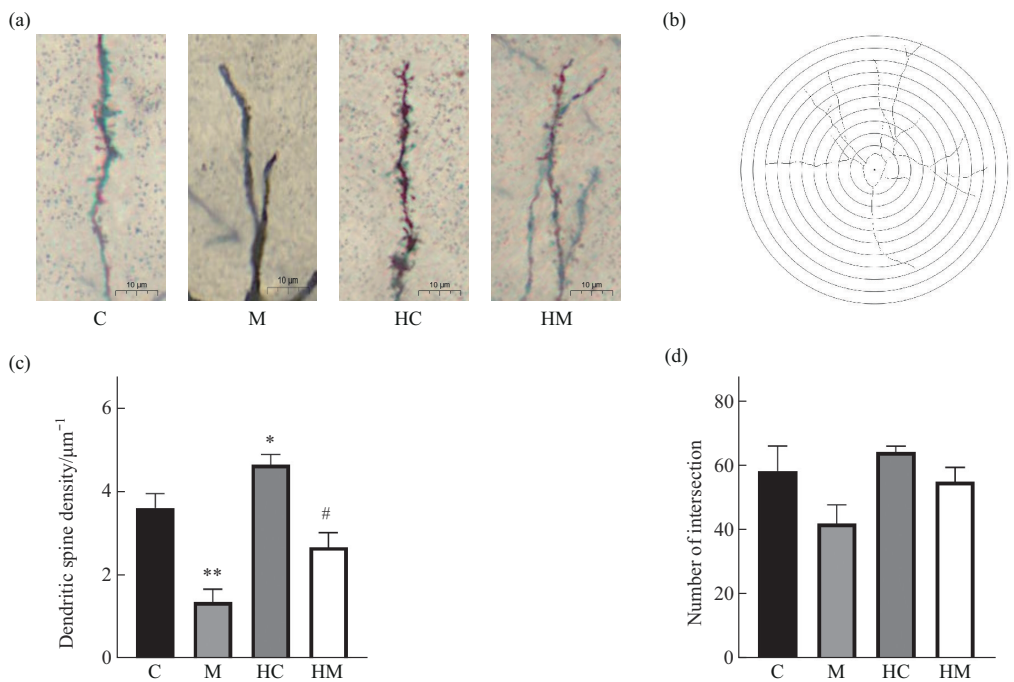


Fig. 3 Comparison of synaptic spine density and sholl analysis results in each group

(a) Golgi staining results of prefrontal cortex in each group. (b) Schematic diagram of sholl analysis. (c) Statistics of dendritic spine density in prefrontal cortex in each group. (d) Results of sholl analysis in each group. Data were presented as mean±SEM, $n=3$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs group C; # $P<0.05$ vs group M.

(图4d)。对PFC中乳酸含量进行检测发现,与C组比较,M组和HC组皮层乳酸显著升高($P<0.01$, $P<0.01$),而HM组较M组显著升高($P<0.01$) (图4e)。与C组相比,M组谷氨酸含量

显著升高 ($P<0.01$); 4周HIIT干预显著升高HC组谷氨酸含量 ($P<0.01$), HM组较M组降低, 但无

显著性差异 (图4f)。

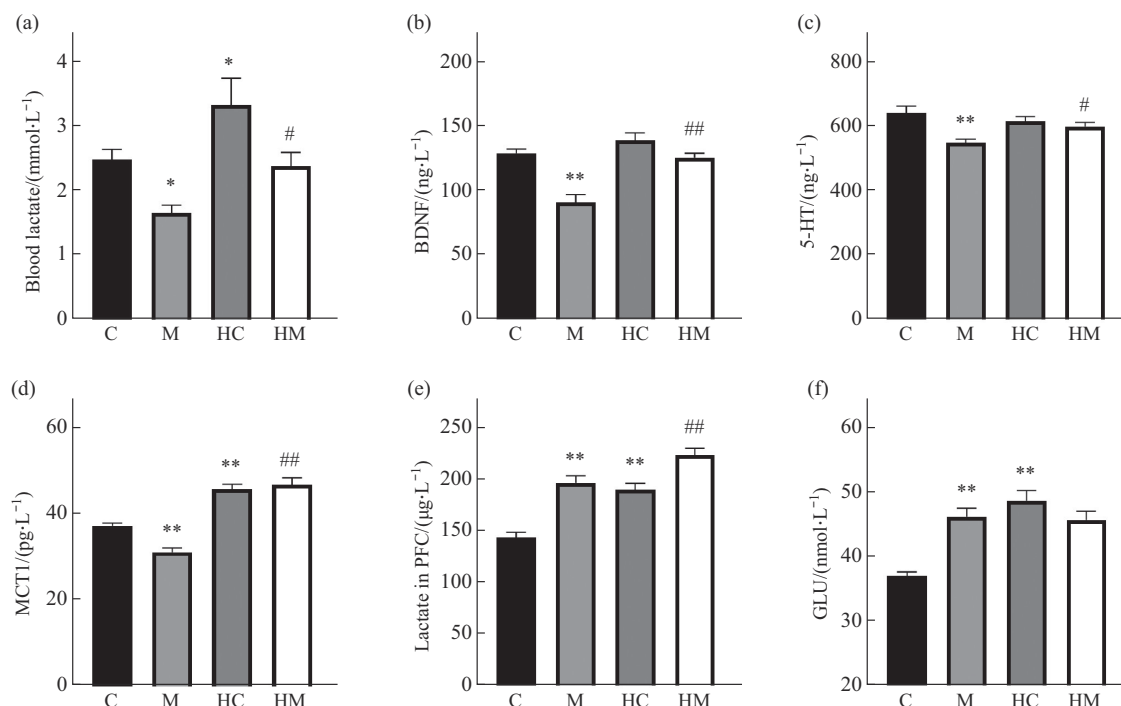


Fig. 4 Lactate metabolism and neurotransmitter levels in the prefrontal cortex in each group

(a) Blood lactate. (b) BDNF in prefrontal cortex. (c) Serum 5-HT. (d) MCT1 in prefrontal cortex. (e) Lactate in prefrontal cortex. (F) Glutamate in prefrontal cortex. Data were presented as mean $\pm$ SEM, $n=6$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs group C; # $P<0.05$, ## $P<0.01$ vs group M.

双因素方差分析表明, CUMS和HIIT干预对大鼠血乳酸 ($F=0.062$, $P>0.05$)、皮层乳酸 ($F=0.226$, $P>0.05$)、血清 5-HT ($F=3.795$, $P>0.05$) 均无交互作用, 对大鼠皮层 BDNF ($F=7.042$, $P<0.05$)、MCT1 ($F=9.693$, $P<0.01$) 和谷氨酸 ($F=13.114$, $P<0.01$) 具有交互作用。

2.4 4周HIIT干预前后CUMS大鼠突触可塑性相关蛋白的变化

Western blot结果显示, 与C组相比, M组前额叶皮质 c-Fos 和 Arc 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.01$), 4周HIIT能够显著回调HM组 c-Fos 和 Arc 蛋白表达 ($P<0.01$, $P<0.05$) (图5a~c)。与C组相比, M组大鼠前额叶皮质 NMDA 受体表达显著升高, 4周HIIT干预后, HC组较C组 NMDA 受体表达显著下降 ($P<0.01$), HM组较M组显著下降 ($P<0.01$) (图5d, e)。

双因素方差分析表明, CUMS和HIIT干预对大鼠 c-Fos ($F=6.244$, $P<0.05$)、Arc ($F=5.469$, $P<0.05$) 和 NMDAR1 ($F=14.277$, $P<0.01$) 均具

有交互作用。

3 讨论

3.1 4周HIIT干预改善CUMS大鼠抑郁样行为

CUMS是经典的抑郁动物模型之一^[19], 糖水偏爱实验以动物的蔗糖偏嗜度为指标检测动物是否出现快感缺失, 旷场实验用于检测动物在陌生环境中的自发活动行为和探索行为^[20], 高架十字迷宫实验则利用大鼠进入开放臂次数和时间比例反映大鼠的焦虑情绪^[21], 上述行为学测试常用于评价大鼠的抑郁焦虑样行为。本研究发现, 4周HIIT显著增加了CUMS大鼠的糖水偏爱率、旷场实验中的直立次数和穿越格数以及进入开放臂的次数和时间, 表明HIIT干预能够显著提高CUMS大鼠活动和探索能力。

5-HT系统功能低下是抑郁症发病的重要机制之一^[22]。研究发现, 现有的抗抑郁药几乎均靶向增强神经递质 5-HT 系统功能, 增加海马树突棘密度, 提高神经再生能力^[23]。本研究中, CUMS大

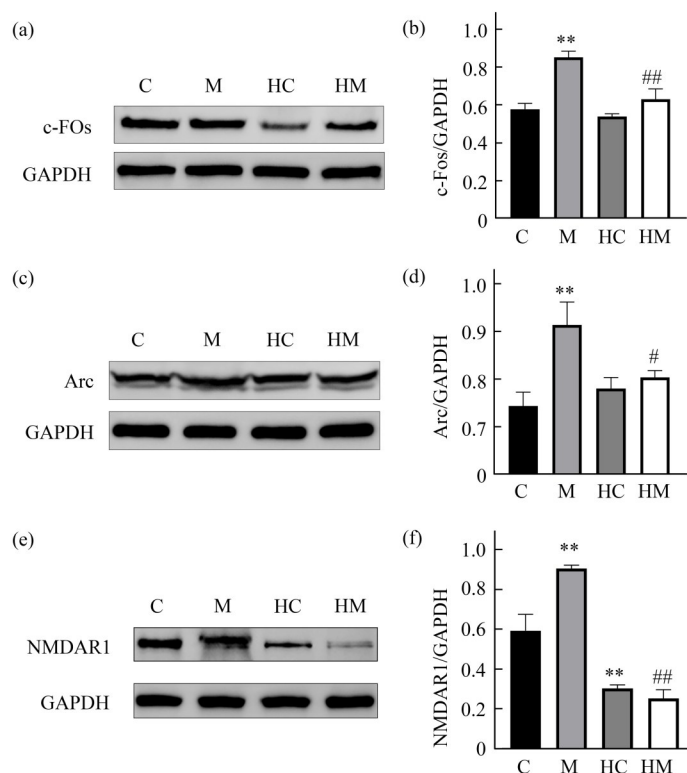


Fig. 5 Expression of synaptic plasticity-related proteins in the prefrontal cortex in each group

(a) Representative Western blot images of c-Fos. (b) Protein expression level of c-Fos. (c) Representative Western blot images of Arc. (d) Protein expression level of Arc. (e) Representative Western blot images of NMDAR1. (f) Protein expression level of NMDAR1. Data were presented as mean ± SEM, $n = 3$. ** $P < 0.01$ vs group C; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs group M.

鼠血清 5-HT 含量显著降低, 4 周 HIIT 干预后, HM 组得到显著回调。上述结果均表明, 4 周 HIIT 干预能够缓解 CUMS 大鼠抑郁症状, 改善其抑郁样行为。

3.2 4周HIIT干预显著改善CUMS大鼠的突触可塑性

突触可塑性反映了大脑感知以及对后续相关刺激做出适当反应的能力, 这种能力在短期和长期记忆中都起着重要作用^[3]。本研究中, CUMS 大鼠树突棘密度显著降低, 树突分支减少, 表明大鼠前额叶皮层突触形态在慢性应激后受损, 经过 4 周 HIIT 干预后, HM 组大鼠树突棘密度以及树突分支增加, 树突复杂性得到改善。BDNF 在突触发育和可塑性中发挥重要作用, 也是判断抑郁症治疗疗效的关键因素^[24]。已有证据表明抑郁症患者脑内 BDNF 表达水平下降^[25], 本研究发现, CUMS 大鼠 PFC 中 BDNF 含量显著降低, 4 周 HIIT 干预后, HM 组 BDNF 含量显著回调。结合大鼠行为学和突触形态学的变化, 提示慢性应激可以引起大鼠 PFC

中 BDNF 的表达水平显著下降, 进而影响树突棘发育, 参与抑郁症的发生发展。而 4 周 HIIT 能够调节 BDNF 水平, 改善抑郁大鼠突触形态, 从而发挥抗抑郁作用。

Arc 蛋白是一类即刻早期基因 (immediate-early gene, IEG), 参与调节突触可塑性, 在记忆和皮质发育中起着关键作用, 其异常表达会影响突触可塑性。有证据表明, NMDAR 的激活可以诱导 Arc 的表达^[26]。研究发现, Arc 的过度表达可能通过促进 AMPA 受体的内吞, 削弱突触传递效率, 从而降低突触功能可塑性^[27]。孔俊虹等^[28]发现, CUMS 应激小鼠海马组织中 Arc 蛋白表达显著升高, 经药物治疗后得到回调。c-Fos 蛋白也是一类 IEG, 参与细胞外刺激后的细胞增殖和分化, 在大脑发育和神经发生的过程中发挥重要作用。研究发现, 慢性束缚应激抑郁模型中外侧缰核神经元 c-Fos 表达增加^[29], 此外, 在慢性社交挫败应激抑郁模型中发现腹侧被盖区 c-Fos 表达显著升高^[30]。与这些结果类似, 本研究发现, CUMS 大鼠 PFC 中

Arc蛋白表达水平升高,而HIIT干预显著降低其表达。PFC中Arc的异常表达可能通过介导突触长时程抑制^[31],造成突触可塑性减弱。此外,本研究中慢性应激还引起大鼠PFC中c-Fos蛋白表达显著升高,这表明抑郁状态时PFC神经元活动增加。值得注意的是,有研究发现高强度有氧运动能够持续诱导大鼠PFC和海马中c-Fos蛋白表达^[32]。Tsai等^[33]也发现,低强度跑台运动可以诱导边缘系统和运动相关皮质和皮质下区域的c-Fos表达。在本研究中观察到4周HIIT干预能够下调c-Fos表达水平,其机制可能还需要在转录水平进一步的研究。

3.3 乳酸对HIIT干预CUMS大鼠突触可塑性的调控作用

抑郁症发病的神经生物学机制异常复杂,研究发现,应激会增加内侧前额叶皮质和海马神经元细胞外的谷氨酸水平^[34],因此有学者认为谷氨酸水平失衡与抑郁症发生有关。NMDAR是一类离子型谷氨酸受体,参与多种生理功能,其功能的破坏可能引发神经精神疾病^[35],大脑中的兴奋性突触传递依赖于突触前末梢释放的谷氨酸,其扩散穿过突触间隙并与突触后的NMDAR结合。已有研究发现,抑郁症患者前额叶皮质中NMDAR活性和携带C1片段的GluN1亚基增加^[36],此外在慢性轻度应激动物模型的PFC中GluN1亚基mRNA过表达^[37]。应激会增加皮层和海马中的细胞外谷氨酸,引起NMDAR的过度激活,引发神经元损伤和死亡,并导致细胞内Ca²⁺超载,进而触发多个下游神经毒性级联反应^[38]。已有研究发现,谷氨酸受体的异常激活可导致兴奋性毒性,破坏突触可塑性,进而引发神经元功能障碍^[39]。本研究中检测到CUMS大鼠PFC中谷氨酸含量显著升高,Western blot结果也显示CUMS大鼠NMDAR1表达增加,表明应激引起的谷氨酸释放增强大量激活了NMDAR,造成CUMS大鼠突触可塑性损伤。而4周HIIT干预显著降低了应激诱导的NMDAR过表达,表明HIIT发挥抗抑郁作用可能是通过下调NMDAR的表达实现的。

在中枢神经系统中,乳酸通过星形胶质细胞-神经元乳酸穿梭机制(astrocyte-neuron lactate shuttle, ANLS)跨越血脑屏障,为神经元提供能量支持^[40]。在正常稳态条件下,大脑的能量供应与神经活动需求高度协调。当神经元释放谷氨酸时,星形胶质细胞会将其摄取,伴随着Na⁺流入,

导致细胞内Na⁺浓度升高。为维持离子稳态,星形胶质细胞需激活Na⁺/K⁺-ATP酶,从而消耗更多ATP^[41]。为满足这一能量需求,星形胶质细胞增强葡萄糖代谢,依靠有氧糖酵解途径合成ATP,同时释放乳酸。随后,这些乳酸通过单羧酸转运蛋白进入神经元,作为氧化代谢的底物,为神经元提供持续的能量支持。这一过程体现了星形胶质细胞与神经元之间的代谢协同,对维持神经元功能稳定和能量平衡至关重要。Ma等^[42]发现,给予乳酸治疗可以减少星形胶质细胞Ca²⁺内流,减轻谷氨酸对星形胶质细胞的损伤,间接增强星形胶质细胞对谷氨酸的摄取,降低脑内谷氨酸浓度,间接减轻谷氨酸对神经元的兴奋毒性。此外,星形胶质细胞摄取谷氨酸的过程中需要大量ATP供能^[43],随着运动产生的大量乳酸转运至PFC,可以增强星形胶质细胞的能量代谢,使其更高效地摄取突触间隙中的谷氨酸,从而加速谷氨酸的清除,改善突触可塑性。还有研究报道,乳酸可以在兴奋性毒性过程等病理环境中充当信号分子,神经元外的乳酸通过P2Y2/K_{ATP}通道超极化神经元,反馈抑制谷氨酸的释放,保护神经元免受兴奋性毒性损伤^[44]。

在本研究中,抑郁大鼠MCT1显著减少,使星形胶质细胞产生的乳酸无法向外转运,造成PFC中乳酸堆积。经过4周HIIT干预后,抑郁大鼠PFC中的MCT1含量显著升高。推测运动后大鼠机体乳酸转运能力增强,将运动产生的一部分外周乳酸转运进大脑,进一步提高了PFC中的乳酸含量。此外,HIIT干预后,大鼠PFC中谷氨酸含量以及NMDAR表达下降,因此推测HIIT干预后抑郁大鼠PFC乳酸升高,一方面反馈抑制神经元释放谷氨酸,另一方面增强星形胶质细胞的能量代谢,使其更高效地摄取突触间隙中的谷氨酸,加速谷氨酸的清除,从而减少了神经兴奋性毒性,发挥神经保护作用。而在CUMS大鼠中,星形胶质细胞为清除过量谷氨酸而增强了有氧糖酵解速率,乳酸生成虽有所增加,但由于MCT1表达下调,乳酸难以有效转运进入神经元,无法反馈抑制谷氨酸的释放。

综上所述,本研究通过CUMS模型验证了HIIT干预对大鼠抑郁样行为的改善作用,并探讨了乳酸代谢及其相关转运机制的潜在调节路径。然而,本研究尽管观察到HIIT干预后PFC乳酸水平升高与NMDAR表达下调及抑郁样行为改善之间的相关性,但尚缺乏更进一步的机制验证,未来研究

将增加相应的药理干预实验及细胞功能验证, 以更系统、深入地阐明乳酸在 HIIT 抗抑郁机制中的作用。

4 结 论

4周 HIIT 干预可能通过增加 CUMS 大鼠 PFC 的乳酸含量, 降低谷氨酸浓度从而回调 NMDAR 过度表达, 减轻其神经兴奋性毒性, 增强突触可塑性进而改善大鼠抑郁样行为。

参 考 文 献

- [1] 邓洁, 李仲铭, 张航铭, 等. 神经可塑性与认知功能关系研究进展. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2019, **28**(5): 462-466
Deng J, Li Z M, Zhang H M, *et al.* Chin J Histochem Cytochem, 2019, **28**(5): 462-466
- [2] 王珏, 吴俞莹, 张新化. 海马突触可塑性与神经系统相关疾病关系的研究进展. 神经解剖学杂志, 2019, **35**(5): 557-560
Wang J, Wu Y Y, Zhang X H. Chin J Neuroanat, 2019, **35**(5): 557-560
- [3] Duman R S, Aghajanian G K, Sanacora G, *et al.* Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants. Nat Med, 2016, **22**(3): 238-249
- [4] Duman R S, Sanacora G, Krystal J H. Altered connectivity in depression: GABA and glutamate neurotransmitter deficits and reversal by novel treatments. Neuron, 2019, **102**(1): 75-90
- [5] Thompson S M, Kallarackal A J, Kvarita M D, *et al.* An excitatory synapse hypothesis of depression. Trends Neurosci, 2015, **38**(5): 279-294
- [6] Price R B, Duman R. Neuroplasticity in cognitive and psychological mechanisms of depression: an integrative model. Mol Psychiatry, 2020, **25**(3): 530-543
- [7] 钟绮琳, 钟舒明, 赖顺凯, 等. 运动改善抑郁症认知功能障碍的机制研究进展. 中国神经精神疾病杂志, 2022, **48**(11): 701-704
Zhong Q L, Zhong S M, Lai S K, *et al.* Chin J Nerv Ment Dis, 2022, **48**(11): 701-704
- [8] 罗昕. 基于代谢组学研究运动干预 CUMS 大鼠抑郁样行为的肌脑交流机制[D]. 太原: 山西大学, 2021
Luo X. Study on the Mechanism of "Muscle -Brain Crosstalk" of Exercise Intervention on Depression-like Behavior in CUMS Rats Based on Metabonomics[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2021
- [9] 刘家辉, 杨超, 顾秋香, 等. 高强度间歇训练对小鼠抑郁行为的作用及机制. 生理学报, 2022, **74**(2): 165-176
Liu J H, Yang C, Gu Q X, *et al.* Acta Physiol Sin, 2022, **74**(2): 165-176
- [10] Cai M, Wang H, Song H, *et al.* Lactate is answerable for brain function and treating brain diseases: energy substrates and signal molecule. Front Nutr, 2022, **9**: 800901
- [11] Margineanu M B, Mahmood H, Fiumelli H, *et al.* L-lactate regulates the expression of synaptic plasticity and neuroprotection genes in cortical neurons: a transcriptome analysis. Front Mol Neurosci, 2018, **11**: 375
- [12] Yang J, Ruchti E, Petit J M, *et al.* Lactate promotes plasticity gene expression by potentiating NMDA signaling in neurons. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, **111**(33): 12228-12233
- [13] Wang Q, Hu Y, Wan J, *et al.* Lactate: a novel signaling molecule in synaptic plasticity and drug addiction. Bioessays, 2019, **41**(8): e1900008
- [14] Carrard A, Elsayed M, Margineanu M, *et al.* Peripheral administration of lactate produces antidepressant-like effects. Mol Psychiatry, 2018, **23**(2): 488
- [15] Hu J, Cai M, Shang Q, *et al.* Elevated lactate by high-intensity interval training regulates the hippocampal BDNF expression and the mitochondrial quality control system. Front Physiol, 2021, **12**: 629914
- [16] Liu X, Han Y, Zhou S, *et al.* Serum metabolomic responses to aerobic exercise in rats under chronic unpredictable mild stress. Sci Rep, 2022, **12**(1): 4888
- [17] Bittencourt M A, Wanner S P, Kunstetter A C, *et al.* Comparative effects of two heat acclimation protocols consisting of high-intensity interval training in the heat on aerobic performance and thermoregulatory responses in exercising rats. PLoS One, 2020, **15**(2): e0229335
- [18] 周峰, 蔡小青, 汤乔伟, 等. 银染高尔基染色法用于神经元完整结构成像. 应用化学, 2024, **41**(5): 677-686
Zhou F, Cai X Q, Tang Q W, *et al.* Chin J Appl Chem, 2024, **41**(5): 677-686
- [19] 冀翠, 韩雨梅, 赵伟迪, 等. 逍遥散对抑郁大鼠行为学及骨骼肌线粒体结构与功能的影响. 药物评价研究, 2022, **45**(9): 1763-1769
Ji C, Han Y M, Zhao W D, *et al.* Drug Eval Res, 2022, **45**(9): 1763-1769
- [20] 姜宁, 张亦文, 姚彩虹, 等. 大小鼠抑郁行为实验方法概述. 中国实验动物学报, 2021, **29**(6): 830-838
Jiang N, Zhang Y W, Yao C H, *et al.* Acta Lab Animalis Sci Sin, 2021, **29**(6): 830-838
- [21] 许腾, 张潇, 高耀, 等. 柴归颗粒对抑郁症伴发症状的改善作用研究. 中草药, 2019, **50**(16): 3846-3851
Xu T, Zhang X, Gao Y, *et al.* Chin Tradit Herb Drugs, 2019, **50**(16): 3846-3851
- [22] 彭云丽, 王雯英, 蒋春雷, 等. 应激诱发抑郁症的细胞因子机制研究进展. 生理学报, 2013, **65**(2): 229-236
Peng Y L, Wang W Y, Jiang C L, *et al.* Acta Physiol Sin, 2013, **65**(2): 229-236
- [23] 刘瑞莲, 屈红林. 有氧运动干预 CUMS 小鼠海马神经炎症及改善 NF- κ B、TNF- α /IDO/5-HT 信号通路的调控机制研究. 中国免疫学杂志, 2021, **37**(13): 1563-1570
Liu R L, Qu H L. Chin J Immunol, 2021, **37**(13): 1563-1570
- [24] Wang C S, Kavalali E T, Monteggia L M. BDNF signaling in context: from synaptic regulation to psychiatric disorders. Cell, 2022, **185**(1): 62-76
- [25] Castrén E, Monteggia L M. Brain-derived neurotrophic factor signaling in depression and antidepressant action. Biol Psychiatry,

- 2021, **90**(2): 128-136
- [26] Chen Y, Wang X, Xiao B, *et al.* Mechanisms and functions of activity-regulated cytoskeleton-associated protein in synaptic plasticity. *Mol Neurobiol*, 2023, **60**(10): 5738-5754
- [27] Chen X, Jia B, Araki Y, *et al.* Arc weakens synapses by dispersing AMPA receptors from postsynaptic density *via* modulating PSD phase separation. *Cell Res*, 2022, **32**(10): 914-930
- [28] 孔俊虹, 陈弦, 殷建峰, 等. 安寐丹对冠心病合并抑郁症小鼠海马药效学及机制研究. *南京中医药大学学报*, 2025, **41**(1): 86-94
- Kong J H, Chen X, Yin J F, *et al.* *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*, 2025, **41**(1): 86-94
- [29] 杨新江, 李嘉琳, 丁慧, 等. 慢性束缚应激模型诱导抑郁和痛敏的行为学研究. *空军军医大学学报*, 2023, **14**(11): 1059-1063
- Yang X J, Li J L, Ding H, *et al.* *J Air Force Med Univ*, 2023, **14**(11): 1059-1063
- [30] Qi G, Zhang P, Li T, *et al.* NAc-VTA circuit underlies emotional stress-induced anxiety-like behavior in the three-chamber vicarious social defeat stress mouse model. *Nat Commun*, 2022, **13**(1): 577
- [31] Wilkerson J R, Albanesi J P, Huber K M. Roles for Arc in metabotropic glutamate receptor-dependent LTD and synapse elimination: implications in health and disease. *Semin Cell Dev Biol*, 2018, **77**: 51-62
- [32] Cefis M, Prigent-Tessier A, Quirié A, *et al.* The effect of exercise on memory and BDNF signaling is dependent on intensity. *Brain Struct Funct*, 2019, **224**(6): 1975-1985
- [33] Tsai S F, Liu Y W, Kuo Y M. Acute and long-term treadmill running differentially induce c-Fos expression in region- and time-dependent manners in mouse brain. *Brain Struct Funct*, 2019, **224**(8): 2677-2689
- [34] Floriou-Servou A, von Ziegler L, Waag R, *et al.* The acute stress response in the multiomic era. *Biol Psychiatry*, 2021, **89**(12): 1116-1126
- [35] Adell A. Brain NMDA receptors in schizophrenia and depression. *Biomolecules*, 2020, **10**(6): 947
- [36] Calabrese F, Guidotti G, Molteni R, *et al.* Stress-induced changes of hippocampal NMDA receptors: modulation by duloxetine treatment. *PLoS One*, 2012, **7**(5): e37916
- [37] Rodríguez-Muñoz M, Sánchez-Blázquez P, Callado L F, *et al.* Schizophrenia and depression, two poles of endocannabinoid system deregulation. *Transl Psychiatry*, 2017, **7**(12): 1291
- [38] Sattler R, Tymianski M. Molecular mechanisms of glutamate receptor-mediated excitotoxic neuronal cell death. *Mol Neurobiol*, 2001, **24**(1/2/3): 107-129
- [39] Wang Y, Qin Z H. Molecular and cellular mechanisms of excitotoxic neuronal death. *Apoptosis*, 2010, **15**(11): 1382-1402
- [40] 马静, 卜淑敏, 程洋. 运动产生的乳酸在神经系统中的作用及机制. *生物化学与生物物理进展*, 2025, **52**(2): 348-357
- Ma J, Bu S M, Cheng Y. *Prog Biochem Biophys*, 2025, **52**(2): 348-357
- [41] Beard E, Lengacher S, Dias S, *et al.* Astrocytes as key regulators of brain energy metabolism: new therapeutic perspectives. *Front Physiol*, 2022, **12**: 825816
- [42] Ma K, Ding X, Song Q, *et al.* Lactate enhances Arc/arg3.1 expression through hydroxycarboxylic acid receptor 1- β -arrestin2 pathway in astrocytes. *Neuropharmacology*, 2020, **171**: 108084
- [43] 王亚鑫, 夏冬冬, 赵丽. 有氧运动调节AD模型小鼠海马乳酸代谢的适应性变化. *北京体育大学学报*, 2023, **46**(6): 103-112
- Wang Y X, Xia D D, Zhao L. *J Beijing Sport Univ*, 2023, **46**(6): 103-112
- [44] Jourdain P, Allaman I, Rothenfusser K, *et al.* L-Lactate protects neurons against excitotoxicity: implication of an ATP-mediated signaling cascade. *Sci Rep*, 2016, **6**: 21250

Four Weeks of HIIT Modulates Lactate-mediated Synaptic Plasticity to Improve Depressive-like Behavior in CUMS Rats*

HAN Yu-Mei^{1)**}, ZHANG Zi-Wei^{1)**}, LIANG Jia-Ren¹⁾, BAO Chun-Hui¹⁾, TIAN Jun-Sheng²⁾,
ZHOU Shi³⁾, XIANG Huan^{1)***}, YANG Yong-Hong^{4)***}

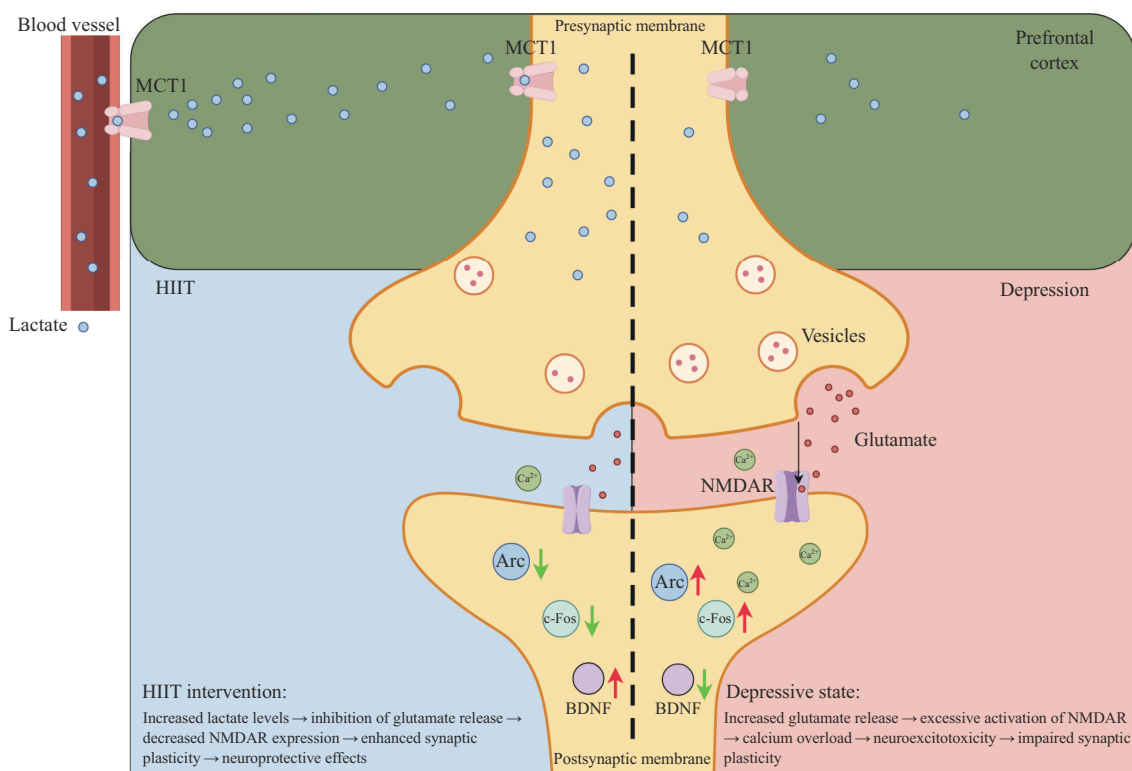
¹⁾School of Physical Education, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;

²⁾Modern Research Center of Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;

³⁾Faculty of Health, Southern Cross University, NSW 2480, Australia;

⁴⁾Shanxi Institute of Sports Science, Taiyuan 030006, China)

Graphical abstract



* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (82374153) and the Shanxi Province Basic Research Program (202103021224027).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

YANG Yong-Hong. Tel: 86-351-7686484, E-mail: 50763199@qq.com

XIANG Huan. Tel: 86-351-7010611, E-mail: xianghuan0327@sxu.edu.cn

Received: March 27, 2025 Accepted: April 26, 2025

Abstract Objective This study aimed to investigate the effects of 4-week high-intensity interval training (HIIT) on synaptic plasticity in the prefrontal cortex (PFC) of rats exposed to chronic unpredictable mild stress (CUMS), and to explore its potential mechanisms. **Methods** A total of 48 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 4 groups: control (C), model (M), control plus HIIT (HC), and model plus HIIT (HM). Rats in groups M and HM underwent 8 weeks of CUMS to establish depression-like behaviors, while groups HC and HM received HIIT intervention beginning from the 5th week for 4 consecutive weeks. The HIIT protocol consisted of repeated intervals of 3 min at high speed (85%–90% maximal training speed, $S_{\max}$) alternated with one minute at low speed (50%–55% $S_{\max}$), with 3 to 5 sets per session, conducted 5 d per week. Behavioral assessments and tail-vein blood lactate levels were measured at the end of the 4th and 8th weeks. After the intervention, rat PFC tissues were collected for Golgi staining to analyze synaptic morphology. Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) were employed to detect brain-derived neurotrophic factor (BDNF), monocarboxylate transporter 1 (MCT1), lactate, and glutamate levels in the PFC, as well as serotonin (5-HT) levels in serum. Additionally, Western blot analysis was conducted to quantify the expression of synaptic plasticity-related proteins, including c-Fos, activity-regulated cytoskeleton-associated protein (Arc), and N-methyl-D-aspartate receptor 1 (NMDAR1). **Results** Compared to the control group (C), the CUMS-exposed rats (group M) exhibited significant reductions in sucrose preference rates, number of grid crossings, frequency of upright postures, and entries into and duration spent in open arms of the elevated plus maze, indicating marked depressive-like behaviors. Additionally, the group M showed significantly reduced dendritic spine density in the PFC, along with elevated levels of c-Fos, Arc, NMDAR1 protein expression, and increased concentrations of lactate and glutamate. Conversely, BDNF and MCT1 contents in the PFC and 5-HT levels in serum were significantly decreased. Following HIIT intervention, rats in the group HM displayed considerable improvement in behavioral indicators compared with the group M, accompanied by significant elevations in PFC MCT1 and lactate concentrations. Furthermore, HIIT notably normalized the expression levels of c-Fos, Arc, NMDAR1, as well as glutamate and BDNF contents in the PFC. Synaptic spine density also exhibited significant recovery. **Conclusion** Four weeks of HIIT intervention may alleviate depressive-like behaviors in CUMS rats by increasing lactate levels and reducing glutamate concentration in the PFC, thereby downregulating the overexpression of NMDAR, attenuating excitotoxicity, and enhancing synaptic plasticity.

Key words high-intensity interval training, lactate, glutamate, synaptic plasticity, depression

DOI: 10.16476/j.pibb.2025.0129

CSTR: 32369.14.pibb.20250129