



4周高强度间歇训练调节海马丙酮酸-乳酸轴代谢稳态改善 CUMS 大鼠抑郁样行为*

韩雨梅^{1)**} 包春辉^{1)**} 张子威¹⁾ 梁家任¹⁾ 向欢¹⁾ 田俊生²⁾ 周石³⁾ 吴爽爽^{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 探讨4周高强度间歇训练 (high-intensity interval training, HIIT) 调节慢性不可预知性温和应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS) 大鼠海马组织中丙酮酸-乳酸轴代谢稳态改善其抑郁样行为的作用机制。方法 48只SPF级8周龄雄性SD大鼠随机分为4组: 正常安静组 (C)、CUMS安静组 (M)、正常运动组 (HC) 和CUMS运动组 (HM)。M组与HM组接受8周CUMS造模; HC组与HM组从第5周开始接受4周HIIT干预 (3 min (85%~90%) Smax+1 min (50%~55%) Smax, 循环3~5次, Smax为最大运动速度)。检测HC组与HM组在第4周安静状态下和运动后第0、2、4、8、12、24 h以及各组第8周安静状态下的血乳酸浓度; 在第4周末和第8周末, 采用糖水偏爱率、旷场实验直立次数与穿越格数等行为学指标评估各组大鼠抑郁样行为。在第8周末行为学测试后采集海马组织, 分别采用液质色谱-质谱法 (LC-MS) 非靶向代谢组学技术、靶标定量技术、ELISA和Western blot检测其代谢物含量、乳酸与丙酮酸浓度、丙酮酸-乳酸轴关键代谢酶含量和单羧酸转运载体 (monocarboxylate transporter, MCTs) 的蛋白质表达水平。结果 4周HIIT干预显著提高了CUMS大鼠糖水偏爱率、旷场实验直立次数和穿越格数; 非靶向代谢组学检测发现M组与C组相比有21种代谢物发生显著变化, 4周HIIT干预后, HC组与C组相比、HM组与M组相比分别有14种和11种差异代谢物得到显著回调; 靶标定量结果显示, 相比于C组, M组海马组织中乳酸浓度显著降低, 丙酮酸浓度显著增加, 4周HIIT干预显著增加HM组海马组织中乳酸、丙酮酸浓度; 血乳酸浓度变化趋势与海马组织乳酸浓度变化一致; 与C组相比, M组LDHB含量显著升高, PKM2和PDH含量以及MCT2与MCT4的蛋白质表达水平显著降低, 4周HIIT干预上调了HM组PKM2和PDH含量以及MCT2与MCT4蛋白质表达水平。结论 4周HIIT干预可以上调CUMS大鼠的血乳酸浓度以及海马组织中PKM2与PDH代谢酶含量, 并上调MCT2与MCT4转运载体蛋白的表达, 促进中枢乳酸的摄取与利用, 从而调节丙酮酸-乳酸轴的代谢稳态, 改善抑郁样行为。

关键词 高强度间歇训练, 丙酮酸-乳酸轴, 抑郁症, 慢性不可预知性温和应激, 单羧酸转运体

中图分类号 Q493.9, R749.4

DOI: 10.16476/j.pibb.20240449

CSTR: 32369.14.pibb.20240449

抑郁症因其高患病率、高复发率以及高自杀率, 已成为近几十年来全球主要的公共卫生问题之一^[1]。研究发现, 抑郁症运动疗法的效果可媲美药物治疗, 并且具有成本低、无副作用的优点, 应用前景乐观^[2]。运动改善抑郁的相关机制研究主要聚焦在中枢系统的适应性变化, 包括改变神经递质释放、抑制炎症通路、改善线粒体功能、抑制海马神经元细胞凋亡等几个方面, 随着组学技术的发展, 中枢能量代谢在其中的重要作用逐渐被揭示, 但具体机制仍不清晰^[3-6]。高强度间歇训练 (high-

intensity interval training, HIIT) 是一种省时高效的运动方式, 由短时间持续高强度运动 ($\geq$ 无氧阈或最大乳酸稳态) 和短时间静息或低强度运动交替组成^[7], 它对于促进心脏康复、改善学习与记忆

* 国家自然科学基金 (82374153), 山西省基础研究计划 (202103021224027) 和2023年山西省研究生科研创新项目 (2023KY078) 资助。

** 并列为第一作者。

*** 通讯联系人。

Tel: 15513671855, E-mail: 894973234@qq.com

收稿日期: 2024-10-29, 接受日期: 2024-12-24

功能等方面均发挥重要作用^[8-9]。同时有报道称, HIIT可能是改善抑郁症中枢能量代谢紊乱的有效干预手段^[10]。

丙酮酸-乳酸轴代谢稳态是指机体中葡萄糖在糖酵解作用下经丙酮酸代谢为乳酸, 同时乳酸作为能量底物经丙酮酸进入三羧酸循环 (tricarboxylic acid cycle, TCA 循环) 途径进行氧化代谢的动态平衡过程^[11]。大量证据表明, 抑郁症患者常伴有糖酵解与 TCA 循环等代谢途径障碍, 丙酮酸-乳酸轴作为糖酵解与 TCA 循环的代谢枢纽, 在抑郁症发病机制中发挥关键作用^[12-14]。丙酮酸-乳酸轴受多种代谢酶的调控, 这些代谢酶的基因突变或表达异常与抑郁症的发生发展密切相关^[13, 15]。

研究表明, 中枢神经系统中星形胶质细胞-神经元-乳酸穿梭 (astrocyte neuron lactate shuttle, ANLS) 过程受损是引发抑郁症的关键因素之一^[16]。ANLS 是指星形胶质细胞产生的乳酸被转运至神经元内进行氧化代谢, 以满足神经元能量需求的过程^[17]。单羧酸转运载体 (monocarboxylate transporter, MCTs) 参与 ANLS 过程, 它们依靠细胞内外乳酸浓度及质子梯度对乳酸进行跨膜运输, 对于维持中枢丙酮酸-乳酸轴的代谢稳态具有重要作用。MCTs 共有 14 种亚型, 中枢神经系统主要表达 MCT1、MCT2 与 MCT4, 其中 MCT1 与 MCT4 表达于胶质细胞, MCT2 表达于神经元^[18]。研究表明, MCTs 的异常表达可能导致 ANLS 受损从而引发抑郁症^[19]。海马是调控学习、记忆与情绪的重要脑区, 与抑郁症的发生发展密切相关, 外部应

激作用导致大鼠海马组织体积缩小, 海马神经元发生凋亡、能量代谢障碍、突触可塑性降低^[12, 20-21]。然而, 运动干预可以有效调节 CUMS 大鼠海马组织能量代谢并改善大鼠抑郁样行为^[22]。

综上所述, 丙酮酸-乳酸轴可能是治疗抑郁症的重要潜在靶点, 然而 HIIT 能否调控抑郁大鼠海马组织中丙酮酸-乳酸轴代谢稳态, 进而改善抑郁样行为, 其作用机制尚不明确。因此, 本研究首先基于液质色谱-质谱法 (LC-MS) 非靶向代谢组学技术筛选 HIIT 改善抑郁症的差异代谢物, 然后采用靶标定量技术对关键差异代谢物乳酸与丙酮酸进行精准定量, 最后对调控丙酮酸-乳酸轴的关键代谢酶与 MCTs 进行整体分析, 深入探究丙酮酸-乳酸轴在 HIIT 改善抑郁症中的潜在作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

48 只 8 周龄雄性 SD 大鼠, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司 (动物许可证号: SCXK (京) 2021-0006)。饲养环境为温度 (25±2) °C, 湿度 50%±20%, 光暗周期 12 h。大鼠适应性饲养 1 周后, 将其随机分为正常安静组 (C) 和正常运动组 (HC), CUMS 安静组 (M) 和 CUMS 运动组 (HM), 每组 12 只。M 组与 HM 组接受 8 周 CUMS 造模, HC 组与 HM 组从第 5 周开始接受 4 周 HIIT 干预, 具体流程如图 1。实验方案已经由山西大学科学研究伦理委员会批准 (SXULL2022069), 实验过程中遵循动物护理和使用指南。

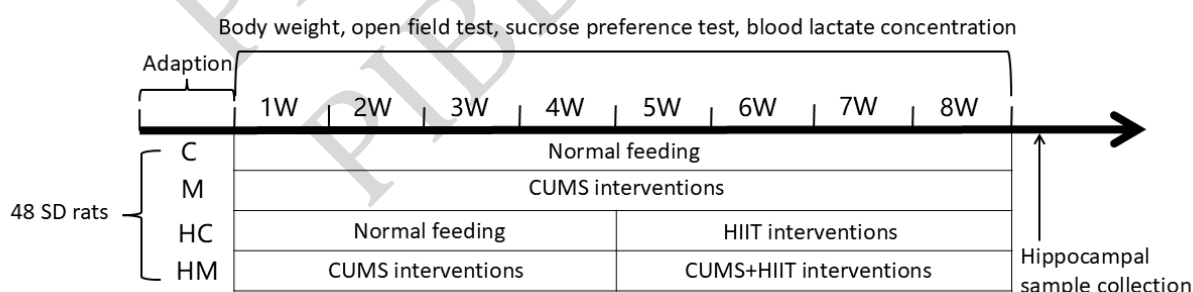


Fig. 1 Flow of animal experiment

1.2 CUMS抑郁模型建立方案

M组与HM组在造模期间进行孤养, 并且每天随机给予一种刺激, 这些刺激包括: 昼夜颠倒、超声波、束缚、冰水浴、热刺激、夹尾以及足底电

击, 持续 8 周, 每周末进行行为学测试。CUMS 模型的复制过程参照课题组前期已建立的成熟方法^[23]。

1.3 HIIT干预方案

确定最大运动速度 (maximum movement speed, S_{max}): HC组与HM组在实验第4周接受适应性训练, 具体内容为周一、周三、周五、周六分别以 15 m/min、20 m/min、25 m/min、25 m/min 的速度运动 20 min。适应性训练结束后, 以 20 m/min 的速度运动 5 min 后休息 4 min, 然后以此速度进行运动, 每 3 min 速度增加 5 m/min, 大鼠力竭

时的速度定义为 S_{max} 。大鼠受到电刺激 10 s 仍不继续进行运动时定义为力竭。

正式干预方案: 采用 3 min 高速运动结合 1 min 低速恢复运动, 开始时以 15 m/min 的速度进行 5 min 热身, 结束时以 15 m/min 的速度放松 5 min, 跑台坡度为 0°。每周训练 5 d, 休息 2 d, 训练进行 4 周, 具体见表 1^[24-25]。

Table 1 HIIT intervention programs

Week	High-speed training			Low-speed training			Total training time/min
	Speed	Time/min	Cycle	Speed	Time/min	Cycle	
Week 5	85% S_{max}	3	4	50% S_{max}	1	3	25
Week 6	85% S_{max}	3	4	50% S_{max}	1	3	25
Week 7	90% S_{max}	3	5	55% S_{max}	1	4	29
Week 8	90% S_{max}	3	5	55% S_{max}	1	4	29

1.4 血乳酸检测

在实验第4周, 检测 HC 组与 HM 组适应性训练后 24 h 内的血乳酸浓度变化, 以确定海马组织样本的最佳取材时间。分别在大鼠安静状态下、运动后第 0、2、4、8、12、24 h, 使用采血笔刺破大鼠尾静脉, 将乳酸传感器插入分析仪 (Lactate Scout4, EKF Diagnostics, 德国) 并吸取 0.2 μ l 血液, 静待 10 s 后读取乳酸浓度。

在实验第8周, 检测各组安静状态下的尾静脉血乳酸浓度, 检测方法同上。

1.5 行为学检测

在每周末进行行为学测试, 包括糖水偏爱实验和旷场实验, 上述行为学实验具体操作参考课题组前期方法^[23]。

1.6 LC-MS代谢组学检测

代谢组学检测仪器主要为高分辨液质联用仪 (UPLC-Q-Exactive HF, Thermo Fisher Scientific, 美国)。

1.6.1 非靶向代谢组学检测

样本预处理: 取 20 mg 海马组织加入 200 μ l 纯水, 在低温下均质组织并进行蛋白质沉淀。离心后取上清液用真空浓缩器蒸发至干。用 100 μ l 乙腈: H_2O ($v: v, 1: 1$) 重组干燥样品, 涡旋 30 s, 水浴 4 $^{\circ}C$ 超声处理 10 min 后, 再次离心后取上清液置 LC 样品瓶中用于 LC-MS 分析。

液相条件: 流动相 A, 纯水 (含 10 mmol/L 乙酸铵, 0.1% 氨水溶液); 流动相 B, 乙腈。采用不同的洗脱梯度, 流速为 0.3 ml/min, 进样量 2 μ l,

柱温 40 $^{\circ}C$ 。

质谱条件: 离子源采用 HESI 并以负离子模式检测。鞘气流速、辅助气流速、以及喷雾电压精确调控。毛细管温度为 320 $^{\circ}C$, 辅助气体加热器温度为 450 $^{\circ}C$, 扫描范围为 60~900 m/z ; 分辨率为 35 000。

数据处理: 采用 Compound Discoverer 2.0 软件对原始数据进行分析, 将各组样本峰值面积数据进行归一化后使用 SIMCA-P 14.1 软件进行多元统计分析。结合变量投影重要性 (variable importance in projection, VIP) 与 P 值确定组间差异代谢物, 通过 Metabo Analyst 5.0 进行通路富集分析。

1.6.2 靶标定量检测

标准品配置: 精密称取乳酸与丙酮酸标准品 (B21929, $\geq 98\%$; B24354, $\geq 98\%$), 使用乙腈水溶液 ($v: v, 1: 1$) 配置成 100 mmol/L 的乳酸标准品溶液与 100 μ mol/L 的丙酮酸标准品溶液。量取各标准储备液适量混合以制备混合标准溶液, 混合标准溶液中乳酸浓度分别为 0.5、1、2、5、10 mmol/L, 丙酮酸浓度分别为 0.5、1、2、5、10 μ mol/L。

样本预处理、液相条件与质谱条件与非靶向代谢组学检测条件相同。

数据处理: 通过 Xcalibur 软件提取乳酸与丙酮酸的保留时间、峰面积以及质荷比等, 建立标准品序列以及标准曲线, 对乳酸与丙酮酸进行定量。

1.7 ELISA

采用ELISA双抗夹心法检测大鼠海马组织中乳酸脱氢酶A (lactate dehydrogenase A, LDHA)、乳酸脱氢酶B (lactate dehydrogenase B, LDHB)、丙酮酸激酶同工酶2 (pyruvate kinase isozyme type M2, PKM2)、谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、丙酮酸脱氢酶 (pyruvate dehydrogenase, PDH) 和丙酮酸羧化酶 (pyruvate carboxylase, PC) 等代谢酶含量, 具体操作参照试剂盒说明书进行 (F8505-A; F8504-A; F30819-A; F21296-A; F9052-A; F21631-A; 上海科兴商贸有限公司)。

1.8 Western blot

取50 mg海马组织, 加入RIPA裂解液进行匀浆后, 以12 000 rpm、4 °C离心10 min, 收集上清, 使用BCA试剂盒 (G2026, Servicebio) 对总蛋白进行定量。通过10% SDS-PAGE分离蛋白质后进行转膜, 封闭。使用一抗溶液孵育过夜, 各指标抗体孵育浓度均为1: 1 000。TBST漂洗后孵育二抗, 再次洗涤后使用超敏ECL化学发光试剂盒, 于发光成像系统中曝光成像。使用AI WB well™分析软件进行数据分析, 目的蛋白与内参蛋白之间的灰度值比值用来表示目的蛋白的表达水平。

1.9 统计学分析

运用IBM SPSS Statistic 26与GraphPad Prism 10.1软件进行数据统计分析与绘图。第4周数据使用单因素方差分析 (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周数据进行正态分布以及方差齐性检验后, 使用双因素方差分析 (two-way ANOVA), 并采用Bonferroni进行事后检验。所有数据以平均值±标准差 (means±SD) 表示, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 4周HIIT干预改善CUMS大鼠抑郁样行为

糖水偏爱实验与旷场实验主要测试动物是否存在快感缺失行为以及自发活动和探索行为。CUMS造模4周后, 相比于C组, M组与HM组的体重、糖水偏爱率、直立次数与穿越格数均显著降低 ($P<0.01$, $P<0.05$, 图2), 表明CUMS模型复制成功。

4周HIIT干预后, 相比于C组, M组与HC组体重显著降低 ($P<0.01$), HM组体重显著低于M组 ($P<0.01$) (图2a); 在糖水偏爱实验中, M组糖

水偏爱率显著低于C组 ($P<0.05$), 4周HIIT后, HM组糖水偏爱率显著回调 ($P<0.05$) (图2b); 旷场实验结果显示, 与C组相比, M组直立次数与穿越格数显著降低, HC组直立次数显著升高 ($P<0.01$), 4周HIIT干预后, HM组直立次数与穿越格数显著高于M组 ($P<0.05$, $P<0.01$) (图2c, d)。上述结果说明, 4周HIIT能够有效缓解CUMS大鼠的抑郁样行为。

2.2 4周HIIT干预改善CUMS大鼠海马丙酮酸-乳酸轴代谢稳态

2.2.1 4周HIIT干预调节CUMS大鼠海马丙酮酸代谢与糖酵解/糖异生代谢通路

a. 多元统计分析

正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal PLS-DA, OPLS-DA) 是一种具有监督模式的多元统计分析方法, 能有效剔除与研究无关的影响, 了解各组样本的总体代谢差异以及组间差异。在各组OPLS-DA得分图中, C组和M组显著分离, 且QC样品聚类良好 (图3a), 表明分析方法稳定可靠, 满足大批量进样的分析要求。采用偏最小二乘法判别分析 (PLS-DA) ($n=200$) 检验上述模型是否存在过拟合现象, 结果显示 $R^2=0.723$, $Q^2=-0.329$ (图3b), 表明模型稳定可靠, 不存在过拟合现象。OPLS-DA结果显示, C组与M组显著分离 (图3c), 表明CUMS大鼠海马代谢轮廓发生显著变化; C组与HC组显著分离 (图3e), 表明4周HIIT干预能显著改变大鼠海马代谢轮廓; M组与HM组明显分开 (图3g), 表明4周HIIT干预能够显著调节CUMS大鼠海马组织代谢物。

b. 差异代谢物分析

结合S-Plot图中 $VIP>1$ 及 $P<0.05$ 筛选各组之间差异代谢物 (图3d, f, h) 发现, 与C组相比, M组丙氨酸、丙酮酸、油酰左旋肉碱等17种代谢物水平显著升高, 乳酸、乙醇酸和苏氨酸等4种代谢物水平显著降低; 与M组相比, HM组顺丁烯二酸、乳酸和丙酮酸等5种代谢物显著上调, 丙氨酸、胆碱和牛磺酸等6种代谢物显著下调 (表2)。与C组相比, HC组乳酸、丙酮酸、肌酐等7种代谢物水平显著升高, 次黄嘌呤、双乙酰、 α -羟基戊二酸等7种代谢物显著降低 (表3)。

上述结果表明, CUMS大鼠海马组织中共有21种差异代谢物含量发生显著变化, 4周HIIT干预显著回调其中11种代谢物。此外, 正常大鼠在4周HIIT干预后, 有14种代谢物发生显著变化。这表

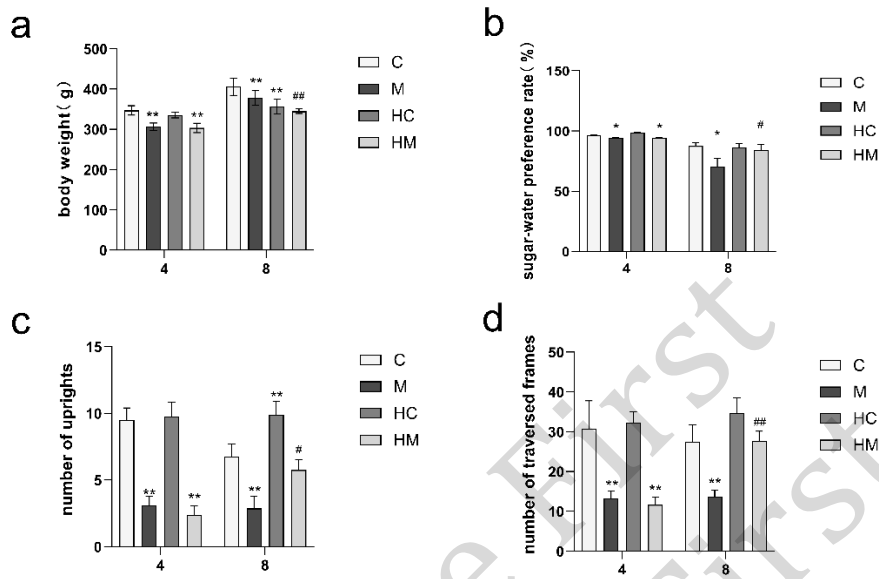


Fig. 2 Analysis of behavioral indexes of rats

Body weight and behavioral test results of rats in each group at week 4 vs. week 8. (a) Body weight; (b) sugar-water preference rate; (c) number of uprights in the open field test; (d) number of traversed frames in the open field test. Comparison with group C: * $P<0.05$, ** $P<0.01$; comparison with group M: # $P<0.05$, ## $P<0.01$, $n=10$.

明, 4周HIIT干预能够显著调节大鼠海马组织中的 代谢轮廓。

Table 2 Differential metabolites between groups C and M and between groups M and HM

Serial number	Metabolite name	VIP	P	M/C	HM/M
1	Choline	13.731 5	0.035 0	↑ *	↓ ##
2	Creatine	10.459 7	0.017 1	↑ *	—
3	Taurine	7.123 7	0.013 5	↑ *	↓ #
4	Carnitine	6.847 2	0.033 2	↑ *	—
5	Oleic acid	4.844 7	0.036 1	↑ *	—
6	Phyto sphingosine	4.047 5	0.004 2	↑ **	↑ ##
7	Lactate	3.642 2	0.001 6	↓ **	↑ ###
8	4-Guanidinobutyric acid	2.980 9	0.025 0	↑ *	↓ #
9	Glycolic acid	2.535 3	0.035 4	↓ *	↑ ##
10	Pyruvate	2.206 7	0.019 3	↑ *	↑ #
11	Ethyl icosapentate	1.552 57	0.021 6	↑ *	↓ ##
12	Pentoxyl	1.538	0.025 4	↑ *	—
13	Dihomo-gamma-linolenic acid	1.297	0.034 1	↑ *	↓ ##
14	Pentoxyl	1.287 5	0.006 8	↑ **	—
15	Malonic acid	1.244 4	0.010 9	↓ *	—
16	Threonic acid	1.199	0.035 4	↓ **	—
17	Oleoyl-L-carnitine	1.185 3	0.000 6	↑ ***	—
18	Maleic acid	1.150 1	0.019 9	↑ *	↑ ###
19	Niacinamide	1.096 53	0.007 7	↑ **	—
20	Alanine	1.06	0.002 4	↑ **	↓ #
21	Histidyl histidine	1.038 3	0.001 2	↑ **	—

Notes: Comparison with group C: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$; comparison with group M: # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$.

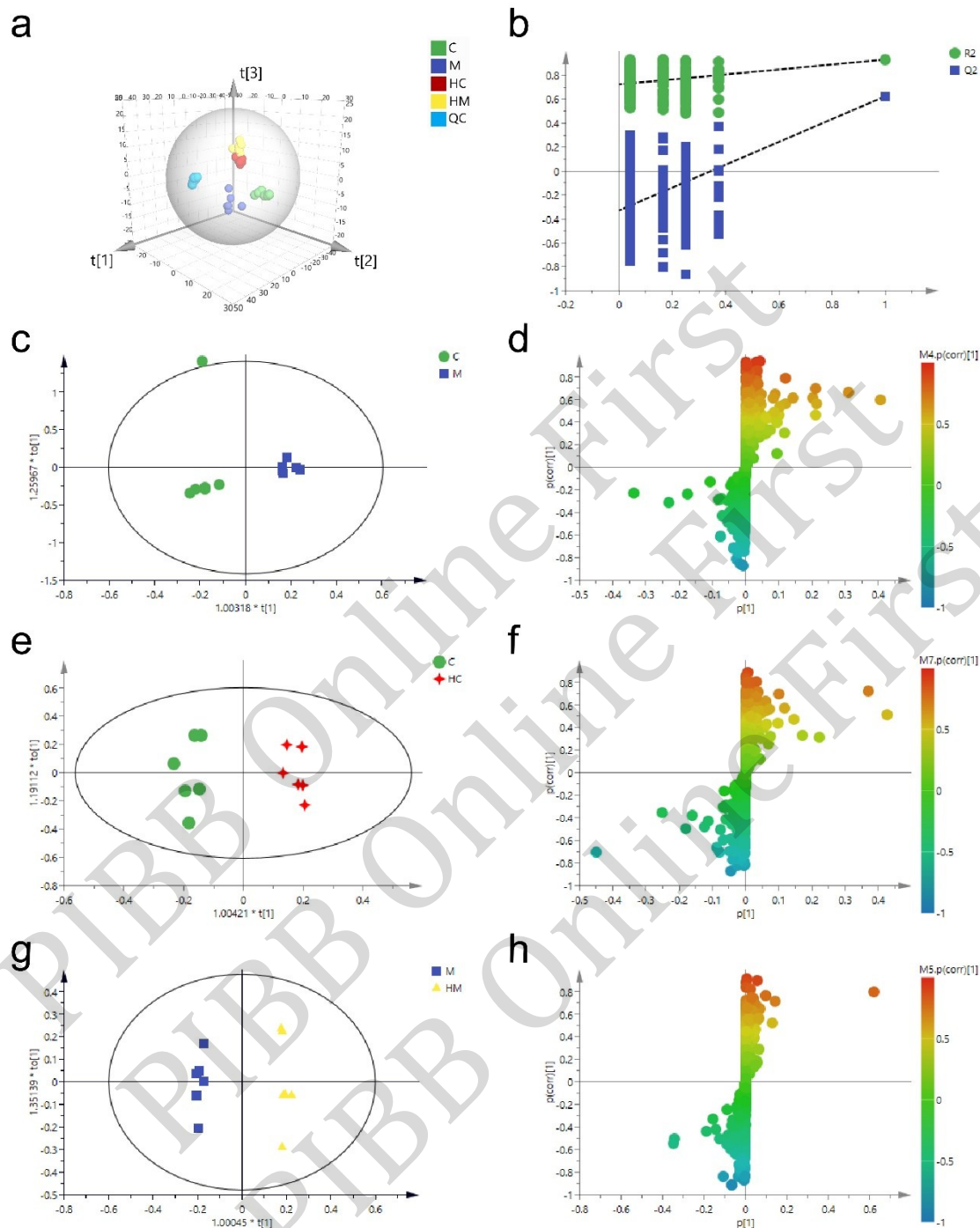


Fig. 3 Multivariate statistical analysis of LC-MS untargeted metabolomics

Metabolomics multivariate statistical analyses were performed to test the reliability of metabolomics assay parameters as well as hippocampal metabolic profiles in each group of rat hippocampi (of which the QC group is a sample used for quality control) ($n=6$). (a) 3D plots of OPLS-DA scores for each group; (b) PLS-DA model validation plots; (c) plots of OPLS-DA scores for group C vs. group M; (d) S-Plot plots for group C vs. group M; (e) plots of OPLS-DA scores for group C vs. group HC; (f) S-Plot plots for group C vs. group HC; (g) plots of OPLS-DA scores for group M vs. group HM; (h) S-Plot plots for group M vs. group HM.

c. 代谢通路分析

使用 Metabo Analyst 5.0 对上述差异代谢物进行代谢通路分析, 代谢通路影响值 (impact value)

> 0.1 被视为贡献值最大的代谢通路。结果显示, CUMS 抑郁模型主要影响丙酮酸代谢、糖酵解/糖异生代谢、牛磺酸和亚牛磺酸代谢、烟酸和烟酰胺

Table 3 Differential metabolites between groups C and HC

Serial number	Metabolite name	VIP	P	HC/C
1	Hypoxanthine	15.86	0.008 0	↓ *
2	Lactate	14.19	0.037 2	↑ *
3	Creatinine	11.29	0.018 4	↑ *
4	N-Acetyl-L-glutamate 5-semialdehyde	3.11	0.018 7	↑ *
5	Pyruvate	3.53	0.011 6	↑ *
6	Biacetyl	2.99	0.019 1	↓ *
7	Dehydroascorbic acid	2.35	0.035 3	↓ *
8	2-Keto-glutaramic acid	1.88	0.041 3	↑ *
9	Oleoyl lysolecithin	1.50	0.019 0	↓ *
10	Heptane-1-thiol	1.46	0.000 6	↓ ***
11	Alpha-hydroxyglutarate	1.44	0.023 7	↓ *
12	Cyclacillin	1.36	0.049 6	↑ *
13	Threonic acid	1.336	0.002 6	↓ **
14	Histidyl histidine	1.13	0.000 6	↑ ***

Notes: Comparison with group C: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

代谢4条代谢通路(图4a), 4周HIIT干预能够显著回调CUMS大鼠丙酮酸代谢、糖酵解/糖异生代谢、牛磺酸和亚牛磺酸代谢3条代谢通路(图4b), 以及回调正常大鼠丙酮酸代谢与糖酵解/糖异生代谢通路(图4c)。

为了进一步确定4周HIIT干预对CUMS大鼠海马能量代谢调节的潜在靶点, 将C组与M组之间差异代谢物、M组与HM组之间差异代谢物以及C组与HC组之间差异代谢物进行对比分析, 发现三者的交集为乳酸与丙酮酸2种代谢物(图4d)。上述结果提示, 乳酸与丙酮酸可能是HIIT发挥抗抑郁作用的关键代谢物。

2.2.2 4周HIIT干预提高CUMS大鼠海马乳酸与丙酮酸含量以及血乳酸含量

a. 海马乳酸与丙酮酸含量变化

上述研究结果提示乳酸与丙酮酸是各组之间的关键差异代谢物, 因此对二者进行靶标定量分析以探究4周HIIT干预对CUMS大鼠海马组织丙酮酸-乳酸轴的影响。LC-MS靶标定量结果显示, 乳酸与丙酮酸在各自出峰位置峰形对称, 响应良好(图5a, b)。

相比于C组, M组海马组织中乳酸浓度显著降低($P<0.05$), 丙酮酸浓度显著升高($P<0.05$), 4周HIIT干预后, 相比于M组, HM组乳酸浓度和丙酮酸浓度显著升高($P<0.05$, $P<0.01$); HC组与C组相比, 乳酸浓度与丙酮酸浓度均显著升高($P<0.05$)(图5c, d)。上述结果表明, CUMS大鼠海马组织中丙酮酸-乳酸轴失衡, 4周HIIT干预可以

增加乳酸与丙酮酸浓度, 改善该代谢轴稳态。

b. 血乳酸变化

对正常大鼠在运动干预后24 h内的血乳酸浓度变化进行检测。结果显示, 在干预后的8 h内血乳酸浓度较安静时显著增加($P<0.01$), 运动后24 h血乳酸浓度恢复至安静水平(图5e)。结合其他研究报道^[26], 本研究确定运动干预后的第24小时是海马组织的最佳取材时间。

为进一步探究4周HIIT干预引起的海马组织乳酸浓度增加是否来源于外周, 对各组安静时血乳酸浓度进行检测, 结果显示, M组血乳酸浓度显著低于C组($P<0.05$), 4周HIIT干预后, HM组血乳酸浓度得到显著回调($P<0.05$)(图5f)。结果表明, 4周HIIT干预可以显著回调CUMS大鼠血乳酸浓度, 提示血乳酸可能参与了HIIT诱导的海马组织乳酸浓度增加。

2.3 4周HIIT干预提高CUMS大鼠海马丙酮酸-乳酸轴关键代谢酶PKM2与PDH含量

LDHA与LDHB是调控丙酮酸-乳酸轴的关键代谢酶, 检测LDHA与LDHB两种代谢酶的含量变化发现, 各组之间的LDHA含量未发生显著变化(图6a), 而相比于C组, M组和HC组LDHB含量显著增加($P<0.05$, $P<0.01$), 4周HIIT干预未显著回调CUMS大鼠LDHB含量(图6b)。相比于C组, HC组LDHA/LDHB显著降低($P<0.05$)(图6c), 但M组与HM组之间没有显著变化。上述结果表明, CUMS大鼠的LDHB含量异常升高, 导致丙酮酸-乳酸轴失衡, 而4周HIIT干预对CUMS大

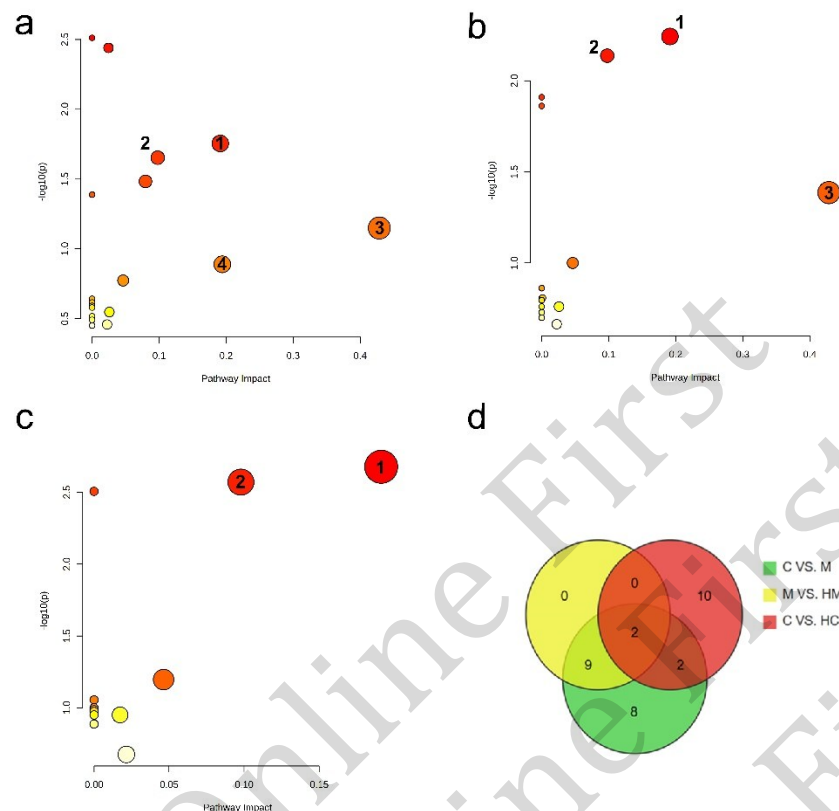


Fig. 4 LC-MS untargeted metabolomics differential metabolite and metabolic pathway analysis

Metabolic pathway analysis was performed using Metabo Analyst 5.0 to compare the differential metabolites between groups C and M, between groups M and HM, and between groups C and HC, and Wayne's analysis was performed for all three. (a) Metabolic pathway changes between groups C and M; (b) metabolic pathway changes between groups M and HM; (c) metabolic pathway changes between groups C and HC; (d) metabolite Wayne diagrams of the differences between groups C and M, between groups M and HM, and between groups C and HC. 1: pyruvate metabolism; 2: glycolysis/glycolysis metabolism; 3: taurine and taurine metabolism; 4: niacin and nicotinamide metabolism.

鼠的LDHA和LDHB含量以及二者之间的比值没有显著影响。

PKM2是糖酵解途径中将磷酸烯醇式丙酮酸转化为丙酮酸的代谢酶，也是丙酮酸-乳酸轴的上游通路中关键限速酶。图6d显示，相比于C组，M组PKM2含量显著降低 ($P < 0.05$)，4周HIIT干预能够显著回调HM组PKM2含量 ($P < 0.05$)。ALT催化丙酮酸与丙氨酸之间的可逆反应，结果显示ALT在各组之间未发生显著变化 (图6e)。

PDH催化丙酮酸氧化生成乙酰辅酶A，促进丙酮酸-乳酸轴的下游代谢途径TCA循环代谢，从而为机体提供能量。图6f显示，M组中PDH含量显著低于C组 ($P < 0.05$)，而HM组显著回调PDH水平 ($P < 0.01$)。PC催化丙酮酸转化为草酰乙酸后，促进草酰乙酸进入TCA循环，从而参与糖异生途

径和能量生产过程。图6g表明，HC组的PC含量显著高于C组 ($P < 0.01$)，在其他组之间没有显著变化。上述结果提示，4周HIIT干预可能通过调控代谢酶PKM2与PDH的含量改善CUMS大鼠丙酮酸-乳酸轴的代谢稳态。

2.4 4周HIIT干预上调CUMS大鼠海马单羧酸转运载体MCT2与MCT4的蛋白表达

MCTs调控乳酸在各器官、组织以及细胞之间的转运，乳酸能否被运输至特定位置发挥作用与MCTs的表达密切相关。检测海马组织中MCTs蛋白表达水平，结果显示，MCT1在各组之间未发生显著变化，而M组MCT2蛋白表达水平与MCT4蛋白表达水平显著低于C组 ($P < 0.05$)；4周HIIT后，HM组显著回调MCT2水平与MCT4水平 ($P < 0.05$) (图7a~d)。上述结果表明，4周HIIT干预通过上调

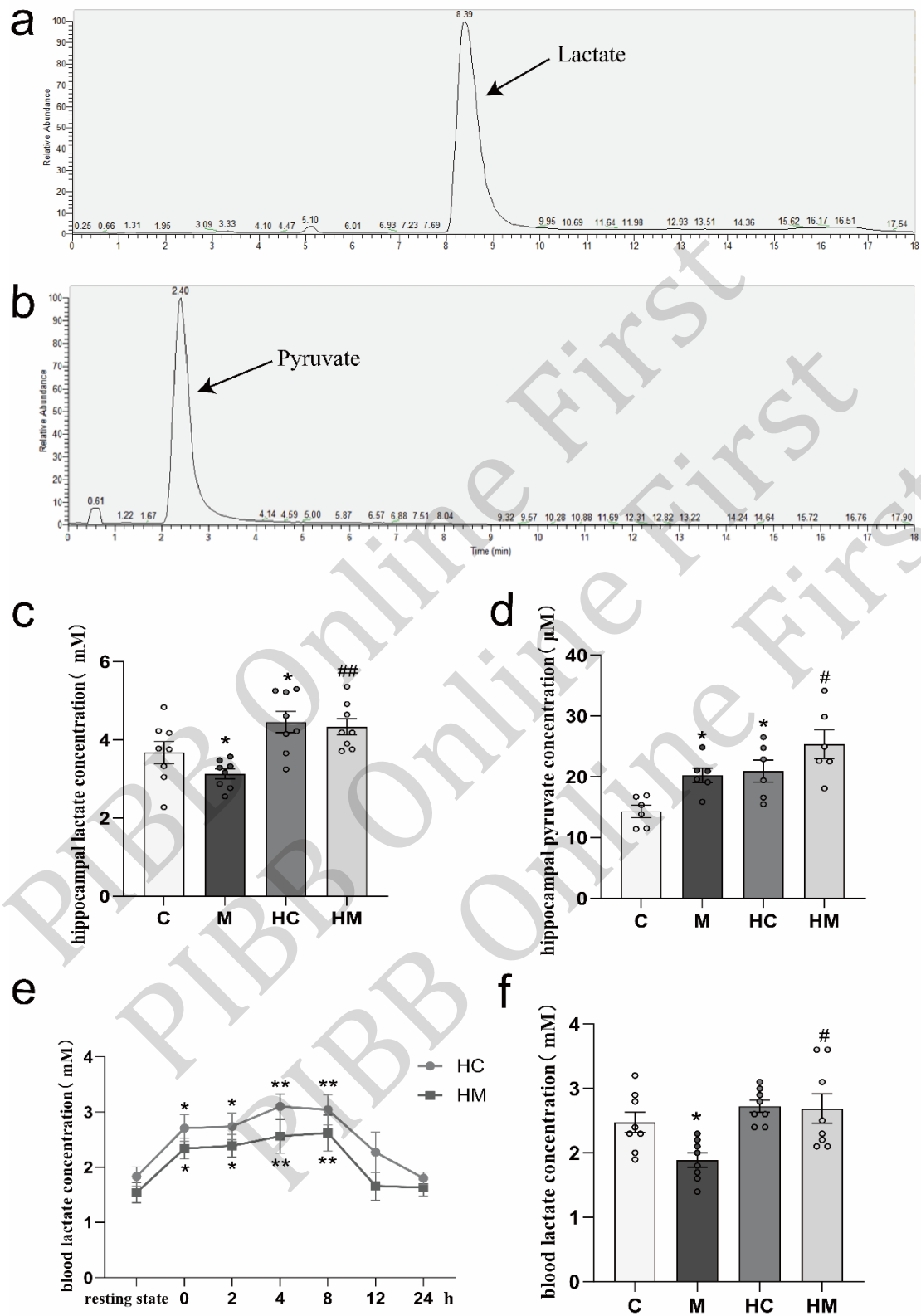


Fig. 5 LC-MS target quantification and blood lactate results

Hippocampal lactate and pyruvate levels and blood lactate levels were measured using targeted quantitative metabolomics technology with a lactate analyzer. (a) Lactate chromatogram; (b) pyruvate chromatogram; (c) hippocampal lactate concentration ($n=8$); (d) hippocampal pyruvate concentration ($n=6$); (e) changes in blood lactate concentration within 24 h after exercise in rats ($n=8$) (Comparison with the resting state: $*P<0.05$, $**P<0.01$); (f) blood lactate concentration in the quiet state of rats in each group at week 8 ($n=8$). Comparison with group C: $*P<0.05$, $**P<0.01$; comparison with group M: $\#P<0.05$, $\#\#P<0.01$.

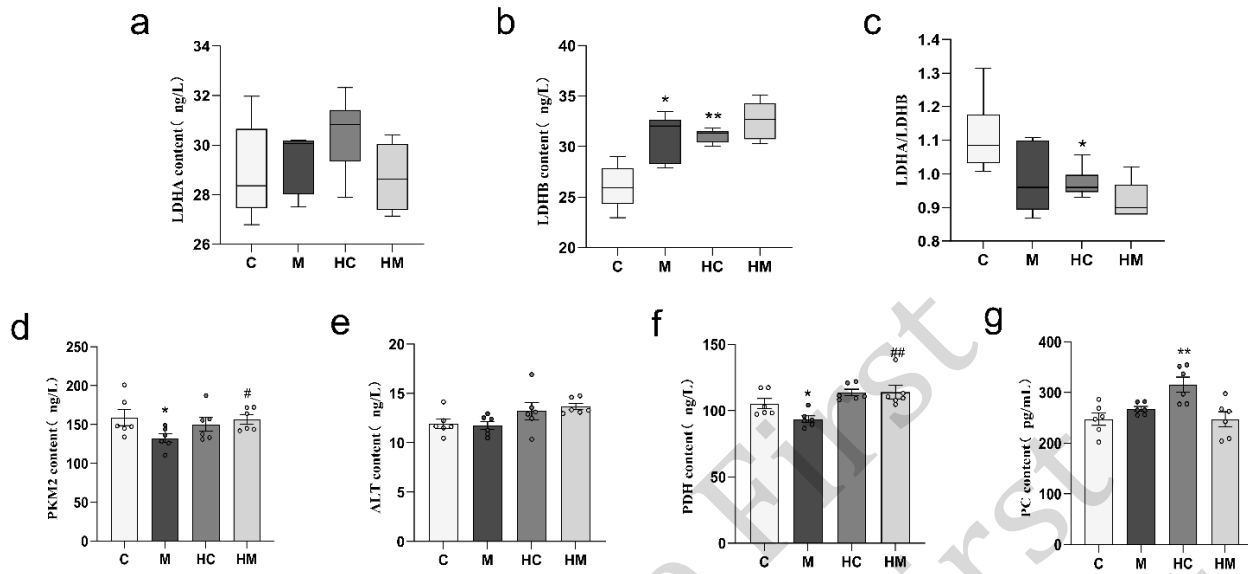


Fig. 6 Detection of key metabolic enzymes of pyruvate-lactate axis

Changes in the content of the hippocampal pyruvate-lactate axis and its upstream and downstream key metabolic enzymes in rats of all groups ($n=6$). (a) LDHA content; (b) LDHB content; (c) Ratio of LDHA to LDHB content; (d) PKM2 content; (e) ALT content; (f) PDH content; (g) PC content. Comparison with group C: * $P<0.05$, ** $P<0.01$; comparison with group M: # $P<0.05$, ## $P<0.01$.

CUMS 大鼠 MCT2 与 MCT4 蛋白表达水平，从而促 稳态。
进乳酸的转运与利用，改善丙酮酸-乳酸轴的

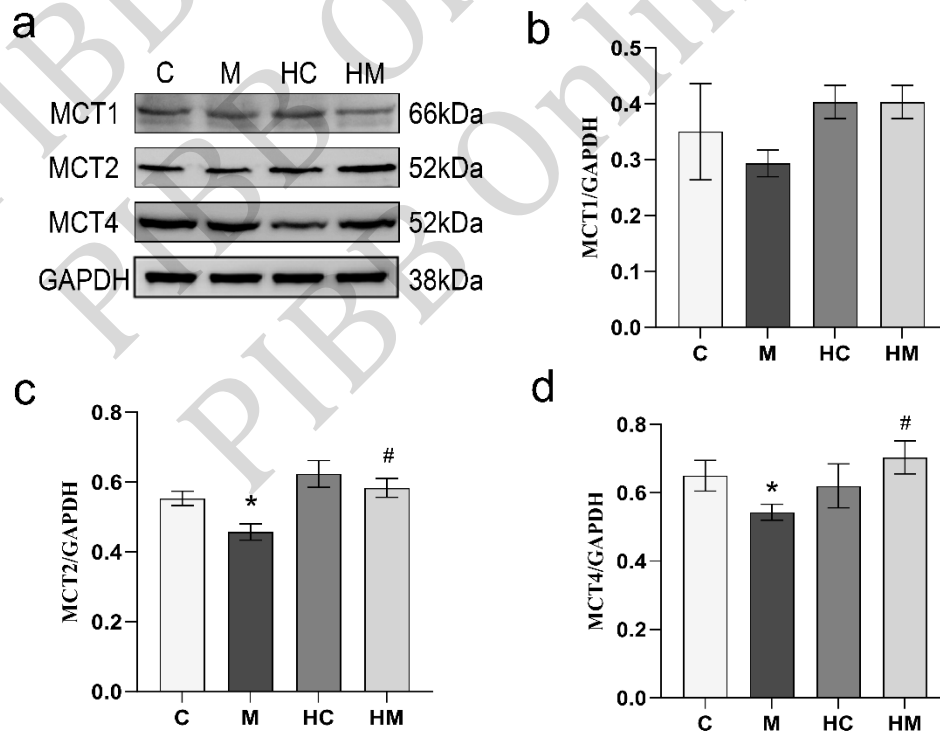


Fig. 7 Protein expression of MCTs

(a - d) Protein expression of MCT1, MCT2 and MCT4 in hippocampal tissue ($n=3$). Comparison with group C: * $P<0.05$; comparison with group M: # $P<0.05$.

3 讨论

CUMS模型是抑郁症研究领域中的经典动物模型,慢性不可预知温和应激的持续刺激使大鼠出现奖赏反应降低、快感缺乏等抑郁症核心症状,被认为是与人类抑郁症行为最相似的动物模型^[27]。HIIT干预的主要特征为短时间内进行全力、快速、爆发式锻炼,因此,HIIT对机体能量代谢、骨骼肌细胞适应性、线粒体代谢和心肌细胞的含氧量、血供等都有更好的促进作用^[28]。乳酸是HIIT的标志性产物,HIIT期间骨骼肌产生的大量乳酸通过MCTs被各器官与组织吸收,从而调节能量代谢,这提示从能量代谢的角度探索HIIT抗抑郁机制具有重要意义^[10]。本研究对CUMS大鼠进行行为学测试,发现4周HIIT干预有效改善了大鼠快感缺失行为以及自发活动和探索行为。研究表明,这些抑郁样行为的产生与机体中枢系统中代谢物的异常变化密切相关^[29]。本研究基于LC-MS代谢组学技术明确了CUMS大鼠海马组织内的差异代谢物,并揭示了丙酮酸-乳酸轴代谢稳态可能是HIIT发挥抗抑郁作用的潜在靶点。

3.1 4周HIIT干预改善CUMS大鼠海马丙酮酸-乳酸轴代谢稳态

以代谢酶和代谢物为核心的代谢网络是细胞生命活动的物质能量基础,机体在外源性的刺激、环境变化或遗传修饰作用下产生不同的代谢应答,LC-MS代谢组学技术检测机体代谢物的动态变化,从而反映能量代谢状态^[30]。本研究发现,CUMS造模与HIIT干预对大鼠的代谢轮廓产生了显著影响,CUMS干预后大鼠海马组织中有21种代谢物发生显著变化,4周HIIT干预有效调节CUMS大鼠的11种代谢物以及正常大鼠的14种代谢物。这些差异代谢物富集在丙酮酸代谢、糖酵解/糖异生代谢、牛磺酸和亚牛黄酸代谢以及烟酸和烟酰胺代谢通路,其中糖酵解/糖异生代谢与丙酮酸代谢通路是CUMS模型影响最为显著的2条代谢通路。糖酵解代谢是生物体取得能量的主要方式之一,研究发现,在重度抑郁症患者或抑郁模型动物体内糖酵解途径代谢异常^[12, 31]。多项证据表明,抑郁症常伴有中枢乳酸代谢障碍,乳酸作为参与突触可塑性和记忆巩固的神经元主要能量底物,其代谢受损是促进抑郁症发生发展的重要因素^[32-33]。本研究同上述研究结果相似,CUMS大鼠海马组织中乳酸、丙酮酸与丙氨酸等代谢物显著发生变化,表明丙酮酸

代谢与糖酵解/糖异生代谢途径发生障碍,4周HIIT干预显著改善上述2条通路。

值得注意的是,这两条代谢通路存在共同的代谢过程,即丙酮酸-乳酸轴。对各组之间的差异代谢物进行统计分析,发现乳酸与丙酮酸两种代谢物是各组之间的共同差异代谢物,提示4周HIIT干预可能通过调控丙酮酸-乳酸轴代谢稳态缓解CUMS大鼠抑郁样行为。因此,本研究采用LC-MS靶向定量技术与分子生物学技术相结合,旨在进一步剖析HIIT对丙酮酸-乳酸轴的调控作用,阐释HIIT发挥抗抑郁作用的内源性代谢机制。

乳酸参与调控突触可塑性、神经发育及学习记忆等生理过程,是中枢能量代谢的重要底物^[34]。近期一项Meta分析显示,相比于中等强度运动,HIIT改善抑郁症的效果更佳,可能是乳酸在其抗抑郁过程中发挥重要作用^[35-36]。研究表明,人体在静息状态时,大脑以0.05 mmol/min的速度产生乳酸,在HIIT期间,大脑产生乳酸的速度大幅增加^[37]。本研究结果显示,CUMS大鼠海马组织中乳酸浓度显著降低,丙酮酸浓度显著增加,这表明CUMS大鼠海马中乳酸被大量氧化为丙酮酸,导致丙酮酸-乳酸轴失衡。4周HIIT干预后乳酸浓度得到显著回调,而丙酮酸浓度有增加趋势,这提示HIIT有效改善CUMS大鼠海马组织丙酮酸-乳酸轴的代谢稳态。大脑对血乳酸的摄取程度可能与大脑的代谢需求相关,研究表明,当血乳酸浓度在高强度运动后显著升高,并且与大脑乳酸浓度相差超过1.5 mmol/L时,大脑会摄取血乳酸并将其进行氧化代谢^[38]。El Hayek等^[39]发现,当血乳酸进入中枢系统后,通过激活沉默信息调节因子1(silent information regulator 1, SIRT)促进脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的表达,改善学习与记忆功能,从而缓解抑郁症状。本研究中,CUMS大鼠的血乳酸浓度显著降低,在4周HIIT干预后得到显著回调;并且HC组与HM组的血乳酸浓度与海马组织乳酸浓度之间的差值分别为1.734 mmol/L和1.648 mmol/L,均超过1.5 mmol/L,这提示HIIT可能通过促进大脑摄取血乳酸并将其氧化为丙酮酸,从而改善丙酮酸-乳酸轴的代谢平衡。

3.2 4周HIIT干预提高CUMS大鼠海马丙酮酸-乳酸轴关键代谢酶PKM2与PDH含量

乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)是调控细胞能量代谢过程的关键代谢酶,主要有

LDHA 和 LDHB 两种亚型^[40]。其中, LDHA 对丙酮酸具有更高的亲和力, 优先将丙酮酸转化为乳酸, 而 LDHB 优先将乳酸转化为丙酮酸, 二者介导乳酸与丙酮酸的可逆反应, 在维持丙酮酸-乳酸轴稳态过程中发挥重要作用^[41]。此外, LDH 的异常变化与抑郁症的发生发展密切相关, 研究表明, 慢性社交挫败应激 (chronic social defeat stress, CSDS) 引发小鼠中枢系统星形胶质细胞中的 LDHA 蛋白表达显著降低, 导致中枢系统乳酸水平降低与神经元兴奋性受损, 从而引发抑郁样行为^[15]。本实验结果显示, LDHA 水平在各组之间没有显著差异, LDHB 在 CUMS 大鼠中显著升高, LDHA/LDHB 在 CUMS 大鼠中显著降低。这提示 CUMS 大鼠海马组织中丙酮酸-乳酸轴失衡, 可能主要与 LDHB 含量异常升高有关。这与一项全基因组关联研究结果相似, 该研究指出, LDHB 基因与重度抑郁症之间存在显著关联^[42]。本研究中, 正常大鼠进行 4 周 HIIT 后, LDHB 显著升高, LDHA/LDHB 显著降低, 但并未引发丙酮酸-乳酸轴的失衡以及抑郁样行为, 这可能是 HIIT 干预后海马组织乳酸水平急剧升高的适应性反应。

大脑中的丙酮酸激酶 (pyruvate kinase, PK) 主要有 PKM1 与 PKM2 两种亚型, 它们是催化磷酸烯醇式丙酮酸转化为丙酮酸的关键酶, 其中 PKM1 促进丙酮酸进入 TCA 循环, PKM2 促进丙酮酸还原为乳酸, 在调控能量代谢过程中具有重要作用^[43-44]。本研究中, CUMS 大鼠海马组织中 PKM2 含量显著降低, 4 周 HIIT 干预将其显著回调, 说明 4 周 HIIT 干预可能通过上调 CUMS 大鼠 PKM2 含量促进乳酸生成。PDH 催化丙酮酸转化为乙酰辅酶 A, 是疏解丙酮酸的重要代谢途径, PDH 缺失导致神经系统功能障碍^[45]。在本研究中, CUMS 大鼠 PDH 含量显著降低, 抑制了丙酮酸流向 TCA 循环, 而 4 周 HIIT 干预使 CUMS 大鼠中 PDH 含量显著回调, 这表明 4 周 HIIT 干预可能通过上调 PDH 含量缓解 CUMS 大鼠海马组织中丙酮酸堆积, 从而改善 CUMS 大鼠丙酮酸-乳酸轴的代谢稳态。

3.3 4 周 HIIT 干预上调 CUMS 大鼠海马 MCT2 与 MCT4 蛋白表达促进乳酸转运

在哺乳动物中枢神经系统内主要有 MCT1、MCT2 和 MCT4 三种亚型, 星形胶质细胞生成乳酸的能力较强, MCT1 与 MCT4 将星形胶质细胞产生的乳酸运送至细胞外, MCT2 将乳酸运送至神经元内进行氧化代谢为其提供能量^[46]。星形胶质细胞

中糖酵解生成乳酸的过程和神经元因能量需求而利用乳酸的过程使得大脑中乳酸处于相对平衡状态, 而 MCTs 受损会打破这种平衡, 促进抑郁症的发生发展^[47]。研究表明, 社交挫败应激会导致小鼠肝脏组织以及前额叶皮层中 MCT1 的基因转录水平显著降低^[48]。在本实验中, MCT1 的蛋白质表达水平在各组之间未发生显著变化, 这可能与 MCT1 的检测水平和组织特异性有关, MCT1 作为哺乳动物体内表达最为广泛的一种亚型, 不仅存在于中枢系统中, 在骨骼肌与肝脏中丰富表达, 其主要功能是在运动过程中为骨骼肌供能和维持肝脏糖代谢平衡^[49]。此外, 本实验未对海马组织中 MCTs 的基因转录水平进行分析, 若结合基因转录水平与蛋白质表达水平探讨 MCTs 的变化, 可以更加全面地阐释 MCTs 在运动抗抑郁过程中的作用。

研究表明, 运动后海马组织中 MCT2 与 MCT4 的基因转录水平或蛋白质水平升高, 促进中枢系统中线粒体生物发生, 改善认知障碍, 从而缓解阿尔茨海默病与抑郁症等精神障碍疾病^[50-51]。本研究中, MCT2 与 MCT4 的蛋白质表达水平在 CUMS 大鼠中显著降低, 4 周 HIIT 干预明显回调二者水平, 与上述研究结果相似。这提示 HIIT 可能通过增加 MCT2 与 MCT4 水平促进 CUMS 大鼠中枢乳酸的转运与利用, 从而改善丙酮酸-乳酸轴的稳态, 发挥抗抑郁作用。

4 结论

4 周 HIIT 干预可以上调 CUMS 大鼠的血乳酸浓度以及海马组织中 PKM2 与 PDH 代谢酶含量, 并上调 MCT2 与 MCT4 转运载体的蛋白质表达, 促进中枢乳酸的摄取与利用, 从而调节丙酮酸-乳酸轴的稳态, 改善抑郁样行为。

参考文献

- [1] Almeida O P, Ford A H, Hankey G J, *et al.* Depression, antidepressants and the risk of cardiovascular events and death in older men. *Maturitas*, 2019, 128: 4-9
- [2] Czosnek L, Lederman O, Cormie P, *et al.* Health benefits, safety and cost of physical activity interventions for mental health conditions: A meta-review to inform translation efforts. *Mental Health and Physical Activity*, 2019, 16: 140-151
- [3] Appelbaum L G, Shenasa M A, Stolz L, *et al.* Synaptic plasticity and mental health: methods, challenges and opportunities. *Neuropsychopharmacology*, 2023, 48(1): 113-120
- [4] Kandola A, Ashdown-Franks G, Hendrikse J, *et al.* Physical activity and depression: Towards understanding the antidepressant

- mechanisms of physical activity. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2019, 107: 525-539
- [5] Pietrelli A, Di Nardo M, Masucci A, *et al.* Lifelong Aerobic Exercise Reduces the Stress Response in Rats. *Neuroscience*, 2018, 376: 94-107
- [6] Zhao J, Jung Y-H, Jin Y, *et al.* A comprehensive metabolomics investigation of hippocampus, serum, and feces affected by chronic fluoxetine treatment using the chronic unpredictable mild stress mouse model of depression. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 7566
- [7] Bossmann T, Woll A, Wagner I. Effects of Different Types of High-Intensity Interval Training (HIIT) on Endurance and Strength Parameters in Children and Adolescents. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, 19(11): 6855
- [8] 李婷, 张宪亮, 赵娜, 等. 高强度间歇训练在改善老年人认知功能中的应用及机制研究进展. *中国康复医学杂志*, 2023, 38(12): 1777-1784
LI T, ZHANG X L, ZHAO N, *et al.* Progress in the application and mechanism of high-intensity interval training in improving cognitive function in older adults. *Chinese Journal of Rehabilitation Medicine*, 2023, 38(12): 1777-1784
- [9] 张松江, 李龙洋, 高剑峰. 冠心病患者高强度间歇训练康复的研究进展. *中国老年学杂志*, 2024, 44(09): 2289-2295
ZHANG S J, LI L Y, GAO J F. Research progress of high-intensity interval training rehabilitation in patients with coronary heart disease. *Chinese Journal of Gerontology*, 2024, 44(09): 2289-2295
- [10] Ahmadi A, Sheikholeslami-Vatani D, Ghaeni S, *et al.* The effects of different training modalities on monocarboxylate transporters MCT1 and MCT4, hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α), and PGC-1 α gene expression in rat skeletal muscles. *Mol Biol Rep*, 2021, 48(3): 2153-2161
- [11] Cluntun AA, Badolia R, Lettlova S, *et al.* The pyruvate-lactate axis modulates cardiac hypertrophy and heart failure. *Cell Metabolism*, 2021, 33(3): 629-648.e10
- [12] Linghu T, Gao Y, Li A, *et al.* A unique insight for energy metabolism disorders in depression based on chronic unpredictable mild stress rats using stable isotope-resolved metabolomics. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 191: 113588
- [13] Wang C, Cui C, Xu P, *et al.* Targeting PDK2 rescues stress-induced impaired brain energy metabolism. *Mol Psychiatry*, 2023, 28(10): 4138-4150
- [14] Wen L, Yan C, Zheng W, *et al.* Metabolic Alterations and Related Biological Functions of Post-Stroke Depression in Ischemic Stroke Patients. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2023, 19: 1555-1564
- [15] Yao S, Xu M D, Wang Y, *et al.* Astrocytic lactate dehydrogenase A regulates neuronal excitability and depressive-like behaviors through lactate homeostasis in mice. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 729
- [16] Powell C L, Davidson A R, Brown A M. Universal Glia to Neurone Lactate Transfer in the Nervous System: Physiological Functions and Pathological Consequences. *Biosensors (Basel)*, 2020, 10(11): 183
- [17] Bosshart P D, Kalbermatter D, Bonetti S, *et al.* Mechanistic basis of L-lactate transport in the SLC16 solute carrier family. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2649
- [18] Ivanov A I, Malkov A, Waseem T V, *et al.* Glycolysis and Oxidative Phosphorylation in Neurons and Astrocytes during Network Activity in Hippocampal Slices. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2014, 34: 397-407
- [19] Ding R, Tan Y, Du A, *et al.* Redistribution of Monocarboxylate 1 and 4 in Hippocampus and Spatial Memory Impairment Induced by Long-term Ketamine Administration. *Front Behav Neurosci*, 2020, 14: 60
- [20] Kang J, Wang Y, Wang D. Endurance and resistance training mitigate the negative consequences of depression on synaptic plasticity through different molecular mechanisms. *Int J Neurosci*, 2020, 130(6): 541-550
- [21] 陈敏, 张晓波, 罗玉珍, 等. 运动锻炼改善抑郁症的神经生物学相关机制研究进展. *中国体育科技*, 2021, 57(04): 89-97
CHEN M, ZHANG X B, LUO Y Z, *et al.* Progress in the study of neurobiological mechanisms related to the improvement of depression by sports exercise. *China Sports Science and Technology*, 2021, 57(04): 89-97
- [22] 郑洁, 侯江涛, 向欢, 等. 有氧运动抗抑郁的海马代谢组学机制研究. *山西大学学报(自然科学版)*, 2024, 47(06): 1277-1288
ZHENG J, HOUN J T, XIANG H, *et al.* Hippocampal Metabolomics Mechanism of Aerobic Exercise for Antidepressant. *Journal of Shanxi University (Natural Science Edition)*, 2024, 47(06): 1277-1288
- [23] 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
- [24] 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
- [25] 刘涔涔. HIIT对CUMS大鼠中枢和外周犬尿氨酸代谢通路的影响[D]. 南昌: 体育学院, 2022
LIU C C. Effects of HIIT on central and peripheral kynurenine metabolic pathways in CUMS rats [D], Nanchang: Institute of Physical Education, 2022
- [26] Chen Y, Zhang S, Ye L, *et al.* An Acute Bout of Exercise Suppresses Appetite via Central Lactate Metabolism. *Neuroscience*, 2023, 510: 49-59
- [27] Antoniuk S, Bijata M, Ponimaskin E, *et al.* Chronic unpredictable mild stress for modeling depression in rodents: Meta-analysis of model reliability. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2019, 99: 101-116
- [28] Macinnis M J, Gibala M J. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *J Physiol*, 2017, 595(9): 2915-2930
- [29] Cao X, Li L P, Wang Q, *et al.* Astrocyte-derived ATP modulates depressive-like behaviors. *Nat Med*, 2013, 19(6): 773-777

- [30] 刘景芳,李维林,王莉,等.多组学技术及其在生命科学研究中应用概述.生物工程学报,2022,**38**(10):3581-3593
LIU J F, LI W L, WANG L, *et al.* An overview of multi-omics technologies and their applications in life science research. Journal of Bioengineering, 2022, **38**(10): 3581-3593
- [31] Ernst J, Hock A, Henning A, *et al.* Increased pregenual anterior cingulate glucose and lactate concentrations in major depressive disorder. Mol Psychiatry, 2017, **22**(1): 113-119
- [32] Glancy B, Kane D A, Kavazis A N, *et al.* Mitochondrial lactate metabolism: history and implications for exercise and disease. J Physiol, 2021, **599**(3): 863-888
- [33] Bradley K A, Mao X, Case J A, *et al.* Increased ventricular cerebrospinal fluid lactate in depressed adolescents. Eur Psychiatry, 2016, **32**: 1-8
- [34] 雷思,王诗怡,田绍文.乳酸在中枢神经系统中的作用及其与相关疾病的关系.中国生物化学与分子生物学报,2022,**38**(04):418-423
LEI S, WANG S Y, TIAN S W. Role of lactic acid in the central nervous system and its relation to related diseases. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2022, **38**(04): 418-423
- [35] Hashimoto T, Tsukamoto H, Ando S, *et al.* Effect of Exercise on Brain Health: The Potential Role of Lactate as a Myokine. Metabolites, 2021, **11**(12): 813
- [36] Korman N, Armour M, Chapman J, *et al.* High Intensity Interval training (HIIT) for people with severe mental illness: A systematic review & meta-analysis of intervention studies- considering diverse approaches for mental and physical recovery. Psychiatry Res, 2020, **284**: 112601
- [37] Van Hall G, Stromstad M, Rasmussen P, *et al.* Blood lactate is an important energy source for the human brain. J Cereb Blood Flow Metab, 2009, **29**(6): 1121-1129
- [38] Dalsgaard M K, Quistorff B, Danielsen E R, *et al.* A reduced cerebral metabolic ratio in exercise reflects metabolism and not accumulation of lactate within the human brain. J Physiol, 2004, **554**(Pt 2): 571-578
- [39] El Hayek L, Khalifeh M, Zibara V, *et al.* Lactate Mediates the Effects of Exercise on Learning and Memory through SIRT1-Dependent Activation of Hippocampal Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF). J Neurosci, 2019, **39**(13): 2369-2382
- [40] 王思宇,李佳蔚,李程豪,等.乳酸脱氢酶A在消化系统肿瘤中的作用及相关药物研究进展.中国临床药理学与治疗学,2023,**28**(04):445-454
WANG S Y, LI J W, LI C H, *et al.* The role of lactate dehydrogenase A in digestive system tumors and the progress of related drug research. Chinese Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2023, **28**(04): 445-454
- [41] 李响,冯丽丽,闻浩.乳酸脱氢酶A促进恶性肿瘤发生发展机制的研究进展.现代肿瘤医学,2020,**28**(14):2532-2535
LI X, FENG L L, WEN H. Advances in the mechanism of lactate dehydrogenase A promoting the development of malignant tumors. Modern Medical Oncology, 2020, **28**(14): 2532-2535
- [42] Levey D F, Polimanti R, Cheng Z, *et al.* Genetic associations with suicide attempt severity and genetic overlap with major depression. Transl Psychiatry, 2019, **9**(1): 22
- [43] Wei Y, Miao Q, Zhang Q, *et al.* Aerobic glycolysis is the predominant means of glucose metabolism in neuronal somata, which protects against oxidative damage. Nat Neurosci, 2023, **26**(12): 2081-2089
- [44] Traxler L, Herdy J R, Stefanoni D, *et al.* Warburg-like metabolic transformation underlies neuronal degeneration in sporadic Alzheimer's disease. Cell Metabolism, 2022, **34**(9): 1248-1263. e1246
- [45] Pirot N, Crahes M, Adle-Biasette H, *et al.* Phenotypic and Neuropathological Characterization of Fetal Pyruvate Dehydrogenase Deficiency. J Neuropathol Exp Neurol, 2016, **75**(3): 227-238
- [46] Mächler P, Wyss M T, Elsayed M, *et al.* In Vivo Evidence for a Lactate Gradient from Astrocytes to Neurons. Cell Metab, 2016, **23**(1): 94-102
- [47] 曹维,邱俊强.乳酸与运动:是敌是友?.中国体育科技,2023,**59**(05):69-78
CAO W, QIU J Q. Lactic acid and exercise: friend or foe?. China Sports Science & Technology, 2023, **59**(05): 69-78
- [48] Sato S, Yu Z, Sakai M, *et al.* Decreased β -hydroxybutyrate and ketogenic amino acid levels in depressed human adults. Eur J Neurosci, 2023, **57**(6): 1018-1032
- [49] 张佳俐,代鹏,姜雅慧,等.单羧酸转运蛋白1在动物体内的转运调控机制.动物营养学报,2023,**35**(10):6227-6236
ZHANG J L, DAI P, JIANG Y H, *et al.* Mechanism of transport regulation of monocarboxylic acid transporter protein 1 in animals. Journal of Animal Nutrition, 2023, **35**(10): 6227-6236
- [50] Park J, Kim J, Mikami T. Exercise-Induced Lactate Release Mediates Mitochondrial Biogenesis in the Hippocampus of Mice via Monocarboxylate Transporters. Front Physiol, 2021, **12**: 736905
- [51] 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**(06):103-112
WANG Y X, XIA D D, ZHAO L. Aerobic exercise modulates adaptive changes in hippocampal lactate metabolism in AD model mice. Journal of Beijing Sport University, 2023, **46**(06): 103-112

4 Weeks of HIIT Modulates Metabolic Homeostasis of Hippocampal Pyruvate–lactate Axis in CUMS Rats Improving Their Depression–like Behavior*

HAN Yu-Mei^{1)**}, BAO Chun-Hui^{1)**}, ZHANG Zi-Wei¹⁾, LIANG Jia-Ren¹⁾, XIANG Huan¹⁾,
TIAN Jun-Sheng²⁾, ZHOU Shi³⁾, WU Shuang-Shuang^{4)***}

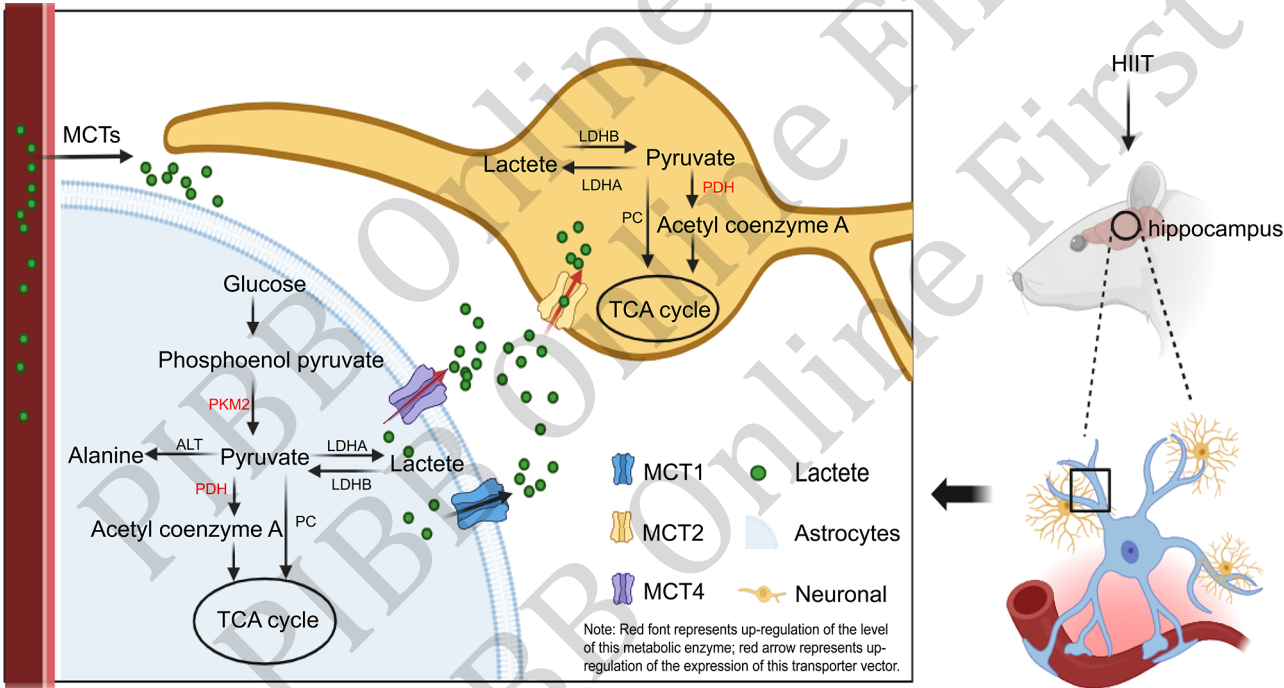
¹⁾School of Physical Education, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;

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



Abstract Objective To investigate the role of 4-week high-intensity interval training (HIIT) in modulating the metabolic homeostasis of the pyruvate-lactate axis in the hippocampus of rats with chronic unpredictable mild stress (CUMS) to improve their depressive-like behavior. **Methods** Forty-eight SPF-grade 8-week-old male SD rats were randomly divided into 4 groups: the normal quiet group (C), the CUMS quiet group (M), the normal exercise group (HC), and the CUMS exercise group (HM). The M and HM groups received 8 weeks of CUMS modeling, while the HC and HM groups were exposed to 4 weeks of HIIT starting from the 5th week (3 min 85% – 90% Smax+1 min 50% – 55% Smax, 3 – 5 cycles, Smax is the maximum movement speed). A lactate analyzer was used to detect the blood lactate concentration in the quiet state of rats in the HC and HM groups at week 4 and in the 0, 2, 4, 8, 12, and 24 h after exercise, as well as in the quiet state of rats in each group at week 8. Behavioral indexes such as sugar-water preference rate, number of times of uprightness and number of traversing frames in the absenteeism experiment, and other behavioral indexes were used to assess the depressive-like behavior of the rats at week 4 and week 8. The rats were anesthetized on the next day after the behavioral test in

week 8, and hippocampal tissues were taken for assay. LC-MS non-targeted metabolomics, target quantification, ELISA and Western blot were used to detect the changes in metabolite content, lactate and pyruvate concentration, the content of key metabolic enzymes in the pyruvate-lactate axis, and the protein expression levels of monocarboxylate transporters (MCTs). **Results** 4-week HIIT intervention significantly increased the sugar-water preference rate, the number of uprights and the number of traversed frames in the absent field experiment in CUMS rats; non-targeted metabolomics assay found that 21 metabolites were significantly changed in group M compared to group C, and 14 and 11 differential metabolites were significantly dialed back in the HC and HM groups, respectively, after the 4-week HIIT intervention; the quantitative results of the targeting showed that, compared to group C, lactate concentration in the hippocampal tissues of M group, compared with group C, lactate concentration in hippocampal tissue was significantly reduced and pyruvate concentration was significantly increased, and 4-week HIIT intervention significantly increased the concentration of lactate and pyruvate in hippocampal tissue of HM group; the trend of changes in blood lactate concentration was consistent with the change in lactate concentration in hippocampal tissue; compared with group C, the LDHB content of group M was significantly increased, the content of PKM2 and PDH, as well as the protein expression level of MCT2 and MCT4 were significantly reduced. The 4-week HIIT intervention upregulated the PKM2 and PDH content as well as the protein expression levels of MCT2 and MCT4 in the HM group. **Conclusion** The 4-week HIIT intervention upregulated blood lactate concentration and PKM2 and PDH metabolizing enzymes in hippocampal tissues of CUMS rats, and upregulated the expression of MCT2 and MCT4 transport carrier proteins to promote central lactate uptake and utilization, which regulated metabolic homeostasis of the pyruvate-lactate axis and improved depressive-like behaviors.

Key words high-intensity interval training, pyruvate-lactate axis, depression, chronic unpredictable mild stress, monocarboxylic acid transporter

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0449

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (82374153), the Shanxi Province Basic Research Program (202103021224027), and 2023 Graduate Student Research and Innovation Program in Shanxi Province (2023KY078).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

Tel: 15513671855, E-mail: 894973234@qq.com

Received: October 29, 2024 Accepted: December 24, 2024