

· 综述 ·

丰富环境与缺血性脑损伤后线粒体功能的相关性探讨

余克威 吴毅

缺血性脑损伤是导致人类死亡的三大疾病之一,也是中老年人致残、死亡的主要原因;并且随着世界人口老龄化进程加快,其威胁及危害程度将越来越严重,对患者家庭及社会均造成沉重负担。目前临床对于缺血性脑损伤后遗症尚缺乏特异性治疗手段,因此针对该类疾病发病机制的研究应给予高度重视,从而为脑损伤患者康复治疗提供理论基础。目前有研究发现,丰富环境(enriched environment)及细胞线粒体在缺血性脑损伤康复中均具有重要作用^[1]。本文通过分析近年来相关文献,初步探究丰富环境与缺血性脑损伤后线粒体修复、再生及功能恢复间的关联性。现报道如下。

丰富环境对缺血性脑损伤的康复作用

一、丰富环境的定义

丰富环境概念首次出现于 Hebb 的研究中^[2-3],丰富环境通常与标准环境进行比较,前者要求在加强物理训练同时,还要注重社会刺激和人际交往等多方面因素的影响^[4-5]。在二十世纪六十年代早期,Rosenzweig 等就丰富环境对大脑发育及认知功能的影响进行了一系列研究,如丰富环境组每笼舍饲养 8~12 只大鼠,提供可相互交往的舒适环境,笼舍较常规尺寸偏大,并且笼舍内放置丰富多样的物体,如盒子、链条、玻璃杯、植物等;这些物品均以一定频率更换,以保持新鲜感,大鼠可在笼内进行各种活动^[6]。可见丰富环境不仅提供了多感官刺激和运动的机会,而且还赋予了相互间交往的可能及情感体验。尽管目前对丰富环境还没有明确定义,但总的原则应该是增加多感官刺激、物理运动、社会性刺激及人际交往等行为。

二、丰富环境对脑损伤的保护作用

在过去十多年来,关于大脑可塑性的研究已取得巨大进步^[7-8]。大量证据显示,脑和脊髓具有再生潜能^[9],而这种潜能是建立在神经可塑性基础之上;如人们通过制作各种脑损伤动物模型并给予丰富环境刺激后,发现无论是原发性或是继发性脑损伤,无论是灵长类动物或是非灵长类动物,早期给予丰富环境刺激均可在一定程度上促进脑功能恢复^[10],这可能与脑损伤后给予丰富环境刺激,可减轻脑损伤程度、抑制海马神经元自发性凋亡、增加非损伤区树突分支及侧棘数量、增强非损伤区神经元代偿功能有关^[11]。有学者比较了老年和青年大鼠海马齿状回区(dentate gyrus, DG)神经发生情况,发现老年大鼠海马 DG 区新生细胞数量明显少于青年大鼠,但通过给予丰富环境刺激后,无论是老年或是青年大鼠海马 DG 区新生细胞数量均较对

照组显著增加^[12],提示丰富环境刺激对各年龄段大鼠神经系统可塑性均具有积极作用。Kohl 等^[13]对出生后 7~21 d 的新生小鼠给予丰富环境刺激,于 4 个月后发现其自主运动功能明显优于对照组,造成该结果的原因可能是断奶前小鼠运动量较小,而断奶后小鼠在丰富环境中的运动量显著增加,提示运动量增加很可能是丰富环境促进神经发生的重要因素。关于丰富环境对持续性局部脑缺血或全脑缺血的影响也见诸多报道^[14-16],如大脑中动脉梗死大鼠模型经丰富环境刺激一段时间后,其受损前肢功能获得明显改善;与对照组比较,将脑缺血大鼠暴露于丰富环境中,其未受损侧皮质有较多神经突起;同时丰富环境刺激还有助于脑缺血大鼠运动功能改善^[17],而运动活动又可作为康复治疗手段用以促进脑损伤功能恢复,从而形成良性循环。有研究发现,简单运动方式(如跑笼等)可促进大鼠脑血管生成^[18],而复杂技巧训练如转棒或杂技(acrobatic task)等可增加脑皮质突触数量^[19]。以上研究均表明,丰富环境可作为一种脑损伤康复手段,甚至较传统康复治疗更有益于脑的发育或脑损伤修复;而且丰富环境刺激还可加速各种促神经生长因子合成,包括脑源性神经营养因子、神经生长因子^[20]、胶质细胞源性神经生长因子^[21]、血管内皮细胞生长因子^[22]等。由此可见,丰富环境与神经可塑性间具有密切联系。

从以上研究可以看出,丰富环境刺激对脑发育及脑损伤修复均具有显著促进作用;而脑发育及脑损伤修复的理论基础是神经可塑性。神经可塑性是机体的一种生命活动形式,需要相关能量支持,而生命体最基本的能量来源于线粒体的氧化磷酸化反应,所以线粒体功能正常是神经可塑性的前提,也是丰富环境促进脑发育及脑损伤修复的重要基础。

线粒体的生理特点及功能

光镜下线粒体呈线状、粒状或杆状,直径 0.5~1.0 μm 左右,不同功能状态或不同类型细胞其线粒体形态、大小、数量及排列分布各异,例如在高渗环境下,线粒体会失水伸长呈线状;当处于低渗环境中,线粒体会吸水膨胀呈泡状;另外细胞内渗透压及 pH 值不同对线粒体形态也有影响,如酸性时线粒体膨胀,碱性时线粒体呈粒状。线粒体数量与细胞本身代谢活动有关,当细胞代谢旺盛时,线粒体数量较多,反之线粒体数量较少。由于线粒体平均寿命只有 10 d 左右,衰亡的线粒体由保留的线粒体直接分裂予以补充^[23]。通过显微镜追踪观察活体细胞时发现,线粒体在其生命过程中呈现动态变化过程,包括不间断的融合、分裂、运动、分配及形态改变等。

线粒体具有多种生理功能,能进行三羧酸循环、脂肪酸氧化、氨基酸代谢、尿素合成及 DNA 或 RNA 合成等,但其最主要的功能是进行氧化磷酸化反应,通过改变能量形式,使之转变为细胞能直接利用的各种形式能量。线粒体之所以具有上述功能,主要是由于其基质中含有多种功能的酶。动物细胞中大部分能量(ATP)的生成及氧化反应均发生在线粒体内,可见线粒

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2011.09.022

基金项目:国家高新技术计划(863计划)资助项目(2007AA02Z482),上海市科委生物医药重大课题资助项目(10DZ1950800),国家自然科学基金资助项目(81171856)

作者单位:200040 上海,复旦大学附属华山医院康复医学科

通信作者:吴毅,Email:wuyi3000@yahoo.com.cn

体是细胞生命活动中的重要细胞器之一。

当前有学者认为,线粒体也是决定细胞死亡的一个重要调控因素。如近年来研究发现,线粒体在整合各种死亡信号刺激、决定细胞命运的过程中具有枢纽作用,线粒体通过释放细胞色素 C 及其它相关凋亡因子,启动 Caspase 蛋白酶级联反应,诱导细胞凋亡;也可通过大量产生自由基、破坏呼吸链电子传递而造成 ATP 合成障碍,诱导细胞坏死性死亡。大量证据显示线粒体是控制细胞死亡的中心环节之一,如许多细胞死亡的共同特征是在死亡前均有线粒体膜通透性改变,这也是预测细胞死亡的重要指标之一;另外有学者发现,加大凋亡效应物的作用剂量,也会诱导细胞线粒体膜通透性发生改变^[24]。因此有学者提出了与线粒体有关的细胞死亡的三个时限:①线粒体前期,即诱导细胞死亡的因子通过信号转导途径或损伤途径被激活的过程,由于不同诱导因子间具有不同作用途径,故该阶段也属于私有途径;②线粒体期,该时期线粒体膜通透性发生改变,这是线粒体控制细胞死亡的关键时期,一旦进入该阶段,细胞将不可避免发生后续死亡过程,故亦称效应期或决定期;③线粒体后期,也称降解期,从线粒体降解释放的蛋白质能激活相关蛋白酶和核酸酶,从而介导后续死亡过程^[24]。由此可见为了阻止细胞死亡,应在线粒体前期时即开始干预,以预防线粒体发生不可逆转的后续降解过程。

丰富环境与线粒体的相关性分析

一、丰富环境对线粒体的作用

目前国内、外尚无特效方法抑制缺血性脑损伤导致的神经元坏死,这可能与患者神经元线粒体功能降低或损伤具有一定关系。过氧化物酶体增殖物激活受体 α 辅激活因子-1 (peroxisome proliferator-activated receptor-coactivator-1 α , PGC-1 α) 是线粒体再生途径中的重要因子,并且也是过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR) 的共同催化剂^[25],它可促进核呼吸因子-1 α (nuclear respiratory factor-1 α , NRF-1 α)、核呼吸因子-2 (nuclear respiratory factor-2, NRF-2) 合成,这些均是涉及线粒体再生的重要因子;尤其是 NRF-2,该因子能显著促进呼吸链相关基因-线粒体转录因子 A (mitochondrial transcription factor A, TFAM) 表达,而 TFAM 是刺激线粒体 DNA 复制、转录的强有力因子^[25];也就是说当线粒体再生时,首先激活 PGC-1 α ,接着导致 NRF-1 α 等活化,然后 TFAM 等相关因子合成增加,最后成功进行线粒体 DNA 复制、转录及翻译;并且 PGC-1 α 还具有潜在改善转录因子多样性等生物学作用,能刺激线粒体生物表达,提高线粒体氧化磷酸化功能^[26-27]。

目前有研究发现,一氧化氮 (nitric oxide, NO) 可诱导机体 PGC-1 α 表达,从而促进细胞线粒体生物合成^[28];而丰富环境可促进大脑皮质 NO 生成并提高其活性^[1,29],由此推测丰富环境能间接促进 PGC-1 α 表达,从而加速线粒体生物合成;另外有大量学者研究后发现,运动能活化线粒体再生途径,认为运动诱导骨骼肌细胞线粒体的生物合成与 PGC-1 α 有关,不同运动强度、不同持续时间的耐力训练均可诱导 PGC-1 α mRNA 及相关蛋白表达增加^[30];同时运动医学领域也有大量研究证实,长期有氧训练可促使线粒体产生适应性改变,提高其氧化磷酸化功能。Myers 等^[31]证实有氧运动能延长生命体寿命,这可能也是有氧运动促进线粒体功能的结果。由于有氧运动是丰富环境组成因

子之一,所以在一定层面上提示丰富环境能促进线粒体合成并改善其功能。

另外有学者在研究有氧运动训练对老年大鼠线粒体 DNA 含量、呼吸链复合酶活性的影响时发现,老年大鼠脑组织中线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 含量明显高于青年组大鼠,并推测 mtDNA 在老年人群中是普遍增多的^[32],吴小晶等^[33]认为,造成该现象的原因主要是代谢反馈机制,即机体一方面通过增加未受损线粒体工作量来代偿与衰老相关线粒体的功能缺陷,另一方面则反馈刺激细胞并增加线粒体数量。这也提示我们可从减轻半影区线粒体 DNA 氧化性损伤,或者加强未受损线粒体功能、或者诱导线粒体增生等方面来研究丰富环境对缺血脑卒中后线粒体功能的影响。

EI Idrissi 等^[34]报道,脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 能促进小脑颗粒细胞线粒体活性;Markham 等^[35]研究后也发现,BDNF 能提高线粒体氧化呼吸功能,并且该作用与 BDNF 呈浓度依赖性关系;而丰富环境刺激可促进 BDNF 合成,由此可见丰富环境可通过 BDNF 途径间接增强线粒体功能;并且大鼠经丰富环境刺激后,其脑细胞线粒体呼吸链中复合物 I 含量明显增加,认知行为能力也随之改善^[29,36]。

二、线粒体对丰富环境疗效的影响

丰富环境促进缺血性脑损伤修复的基础是神经可塑性,神经可塑性及神经修复活动必须由线粒体提供必要的能量支持,所以丰富环境作为康复手段发挥疗效的前提,必须保证线粒体功能正常。由于脑组织对缺血、缺氧十分敏感,脑缺血、缺氧一定时间后,最直接的变化就是脑内能量供应急剧减少,从而加剧脑组织损伤,尤其是脑细胞线粒体损伤,如线粒体通透性改变,其形态、结构破坏及功能障碍等。大脑进行生命活动所需能量均由线粒体经有氧代谢产生,线粒体损伤后不能正常进行氧化磷酸化反应,将导致能量生成障碍,这样会进一步加剧脑损伤,从而形成恶性循环,所以保证线粒体功能正常是缺血损伤修复的必要前提,也是丰富环境促进脑缺血损伤修复的基本保证。从上述研究结果可以看出,丰富环境与线粒体之间存在着某种联系,而这种相互作用机制将是下一步研究的重点方向之一。

结 语

线粒体不仅是机体产生能量的细胞器,而且在神经细胞凋亡及坏死中均发挥重要作用。目前大量研究证实,丰富环境可促进脑缺血后神经细胞功能修复,其确切机制尚未明了。由于神经细胞的修复或再生需要能量支持,只有在充足能量供应下,神经细胞的一系列活动(如线粒体修复或再生、蛋白质翻译等)才能顺利进行。目前,关于丰富环境影响脑缺血后线粒体功能的研究还偏少,现存文献均提示丰富环境对线粒体具有积极作用,如提高线粒体数量、增强其功能、促进能量合成等,但具体机制还未明确。因此在以后研究中,应将丰富环境与脑缺血后线粒体修复或再生的联系作为切入点,明确其作用途径,从而进一步阐明缺血性脑损伤康复治疗的相关机制。

参 考 文 献

- [1] Lores-Arnaiz S, Lores Arnaiz MR, Czerniczyniec A, et al. Mitochondrial

- function and nitric oxide production in hippocampus and cerebral cortex of rats exposed to enriched environment. *Brain Res*, 2010, 1319:44-53.
- [2] Passineau MJ, Green EJ, Dietrich WD, et al. Therapeutic effects of environmental enrichment on cognitive function and tissue integrity following severe traumatic brain injury in rats. *Exp Neurol*, 2001, 168: 373-384.
 - [3] Ruten A, van Albada M, Silveira DC, et al. Memory impairment following status epilepticus in immature rats; time course and environmental effects. *Eur Neurosci*, 2002, 16:501-513.
 - [4] Van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Neural consequences of environmental enrichment. *Nat Neurosci*, 2000, 3:191-198.
 - [5] Puurunen K, Sivenius J. Influence of enriched environment on spatial learning following cerebral insult. *Rev Neurosci*, 2002, 13:347-364.
 - [6] Will B, Galani R, Kelche C, et al. Recovery from brain injury in animals: relative efficacy of environmental enrichment, physical exercise or formal training. *Prog Neurobiol*, 2004, 72:167-182.
 - [7] Kolb B. Synaptic plasticity and the organization of behaviour after early and late brain injury. *Exp Psychol*, 1999, 53:62-75.
 - [8] Rosenzweig MR, Bennett EL. Psychobiology of plasticity: effects of training and experience on brain and behavior. *Behav Brain Res*, 1996, 78:57-65.
 - [9] Will B, Galani R, Kelche C, et al. Recovery from brain injury in animals: relative efficacy of environmental enrichment, physical exercise or formal training. *Prog Neurobiol*, 2004, 72:167-182.
 - [10] Mohammed AH, Zhu SW, Darmopil S, et al. Environmental enrichment and the brain. *Prog brain Res*, 2002, 138:109-133.
 - [11] Ip EY, Giza CC, Griesbach GS, et al. Effects of enriched environment and fluid percussion injury on dendritic arborization within the cerebral cortex of the developing rat. *J Neurotrauma*, 2002, 19:573-585.
 - [12] Segovia G, Yagüe AG, García-Verdugo JM, et al. Environmental enrichment promotes neurogenesis and changes the extracellular concentrations of glutamate and GABA in the hippocampus of aged rats. *Brain Res Bull*, 2006, 70:8-14.
 - [13] Kohl Z, Kuhn HG, Cooper-Kuhn CM, et al. Prewaning enrichment has no lasting effects on adult hippocampal neurogenesis in four month-old mice. *Genes Brain Behav*, 2002, 1:46-54.
 - [14] Briones TL, Therrien B, Metzger B. Effects of environment on enhancing functional plasticity following cerebral ischemia. *Biol Res Nurs*, 2000, 11:299-309.
 - [15] Biernaskie J, Corbett D. Enriched rehabilitative training promotes improved forelimb motor function and enhanced dendritic growth after focal ischemic injury. *J Neurosci*, 2001, 21:5272-5280.
 - [16] Puurunen K, Jolkonen J, Sirvio J, et al. Selegiline combined with enriched-environment housing attenuates spatial learning deficits following focal cerebral ischemia in rats. *Exp Neurol*, 2001, 167:348-355.
 - [17] Knieling M, Metz GA, Antonow SI, et al. Enriched environment promotes efficiency compensatory movements after cerebral ischemia in rats. *Neuroscience*, 2009, 163:759-769.
 - [18] Adlard PA, Perreau VM, Pop V, et al. Voluntary exercise decreases amyloid load in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 2005, 25:4217-4221.
 - [19] Kleim JA, Jones TA, Schallert T. Motor enrichment and the induction of plasticity before or after brain injury. *Neurochem Res*, 2003, 28:1757-1769.
 - [20] Pham T, Ickes B, Albeck D, et al. Changes in brain nerve growth factor levels and nerve growth factor receptors in rats exposed to environmental enrichment for one year. *Neuroscience*, 1999, 94:279-286.
 - [21] Young D, Lawlor P, Leone P, et al. Environmental enrichment inhibits spontaneous apoptosis, prevents seizures and is neuro protective. *Nat Med*, 1999, 5:448-453.
 - [22] Cao L, Jiao X, Zuzga DS, et al. VEGF links hippocampal activity with neurogenesis, learning and memory. *Nat Genet*, 2004, 36:827-835.
 - [23] 张静波, 林建银, 杨恬. 医学分子细胞生物学. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2002:204.
 - [24] 杨恬. 细胞生物学. 北京: 人民卫生出版社, 2005:169-181.
 - [25] Puisever P, Wu Z, Park CW, et al. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell*, 1998, 92:829-839.
 - [26] Scarpulla RC. Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function. *Physiol Rev*, 2008, 88:611-638.
 - [27] Alaynick WA. Nuclear receptors, mitochondria and lipid metabolism. *Mitochondrion*, 2008, 8:329-337.
 - [28] Nisoli E, Clementi E, Paolucci C, et al. Mitochondrial biogenesis in mammals: the role of endogenous nitric oxide. *Science*, 2003, 299:896-899.
 - [29] Lores A. Exposure to enriched environments significantly increases brain nitric oxide synthase and improves cognitive performance in prepubertal but not in young rats. *Behav Brain Res*, 2007, 184:117-123.
 - [30] 马继政. PGC-1 α 与运动能力. 南京体育学院学报(自然科学版), 2008, 22:1-3.
 - [31] Myers J, Prakash M, Froelicher V, et al. Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. *N Engl J Med*, 2002, 346:793-801.
 - [32] 赖红梅, 陈彩珍, 蒋慧萍. 有氧运动训练对老年大鼠线粒体 DNA 含量、呼吸链复合酶活性的影响. *中国康复医学杂志*, 2009, 24:1109-1111.
 - [33] 吴小晶, 吴丽娟, 李晓东, 等. 线粒体 DNA 定量分析和衰老关系初探. *中国老年医学杂志*, 1999, 19:315-317.
 - [34] El Idrissi A, Trenkner E. Growth factors and taurine protect against excitotoxicity by stabilizing calcium homeostasis and energy metabolism. *J Neurosci*, 1999, 19:9459-9468.
 - [35] Markham A, Cameron I, Franklin P, et al. BDNF increases rat brain mitochondrial respiratory coupling at complex I, but not complex II. *Eur Neurosci*, 2004, 20:1189-1196.
 - [36] Lores AS, Bustamante J, Arismendi M, et al. Extensive enriched environments prevent old rats from the aging dependent impairment of spatial cognition, synaptic plasticity and nitric oxide production. *Behav Brain Res*, 2006, 169:294-302.

(修回日期:2011-07-27)

(本文编辑:易浩)