

## 不同运动强度的热应激效应对大鼠海马区自由基代谢的影响

李翰, 肖国强, 朱轶

(华南师范大学 体育科学学院, 广东 广州 510006)

**摘 要:** 探讨高温预处理与不同强度的一次性急性运动共同干预下所诱导的热休克蛋白 70, 对大鼠海马区自由基以及钙 ATP 酶的影响。将 3 月龄 SD 大鼠 48 只, 分为室温安静组、室温 15 m/min 运动组、室温 27 m/min 运动组, 高温安静组、高温 15 m/min 运动组和高温 27 m/min 运动组等 6 组, 每组 8 只。高温组大鼠经高温预处理 24 h 后, 与其他运动组进行一次急性运动 60 min 后即刻取材检测海马区热休克蛋白 Hsp70、丙二醛(MDA)含量, 超氧化物歧化酶 SOD、Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性。结果发现室温 27 m/min 运动组较之室温安静组, 其大鼠海马区 Hsp70 的表达水平明显升高 ( $P < 0.05$ ); 高温预处理各组的 Hsp70 表达水平, 显著高于室温各组 ( $P < 0.05$ ); 与室温运动组比较, 高温预处理运动组海马 SOD 的活性提高极明显 ( $P < 0.01$ ); 各高温组 MDA 含量随运动强度增大而降低, 但组间差异无显著性 ( $P > 0.05$ ); 高温预处理各组 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性均显著高于室温各组 ( $P < 0.05$ )。结果说明: 高温预处理诱导 Hsp70 的大量表达可提高运动时海马的 SOD 活性, 降低 MDA 含量, 提高 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性。提示 Hsp70 可能通过提高抗氧化能力, 以减少自由基对海马区的损害, 对神经系统具有一定的保护意义。

**关 键 词:** 运动生物化学; 热激蛋白 70; 高温预处理; 海马区; 自由基; Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶; 大鼠  
中图分类号: G804.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-7116(2012)03-0140-05

### Influence of the heat stress effect of different exercise intensities on free radical metabolism in the hippocampus area of rats

LI Han, XIAO Guo-qiang, ZHU Shi

(School of Physical Education, South China Normal University, Guangzhou 510006, China)

**Abstract:** In order to probe into the influence of heat shock protein 70 induced by the joint intervention of high temperature pretreatment and one-time acute exercising with different intensities on free radicals and Ca<sup>2+</sup>-ATPase in the hippocampus area of rats, the authors divided 48 SD 3-month old rats into 6 groups: a room temperature calm group, a room temperature 15m/min exercising group, a room temperature 27m/min exercising group, a high temperature calm group, a high temperature 15m/min exercising group, and a high temperature 27m/min exercising group. 24h after the rats in high temperature groups (8 in each group) were pretreated by high temperature, they did a 60min one-time acute exercise together with the rats in other exercising groups, and immediately after that, hot shock protein Hsp70 and MDA contents as well as SOD and Ca<sup>2+</sup>-ATPase activities in the hippocampus were sample taken and tested. The results were as follows: comparing the rats in the room temperature 27m/min exercising group with the rats in the room temperature calm group, the level of expression of Hsp70 in the hippocampus area rose significantly ( $P < 0.05$ ); the levels of expression of Hsp70 of the rats in groups pretreated by high temperature were significantly higher than those of the rats in room temperature groups ( $P < 0.05$ ); as compared with the rats in room temperature exercising groups, the SOD activity of hippocampus of the rates in exercising groups pretreated by high temperature increased extremely significantly ( $P < 0.01$ ); the MDA contents of the rats in high temperature

groups decreased as exercise intensity increased, but showed no significant difference; the  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activities of the rats in groups pretreated by high temperature were all significantly higher than those of the rats in room temperature groups ( $P < 0.05$ ). The results indicated the followings: a lot of Hsp70 expression induced by high temperature pretreatment can boost the SOD activity of hippocampus during exercising, lower MDA content, and boost  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity. It is suggested that Hsp70 can reduce the damage to the hippocampus area caused by free radicals by enhancing antioxidation ability, thus it is provided with certain significance in protecting the nervous system.

**Key words:** sports biochemistry; heat stress protein 70; high temperature pretreatment; hippocampus area; free radical;  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase; rats

当细胞暴露于约比正常生长温度高 5 °C 的亚致死温度后,可诱导 Hsp70 等热激蛋白(The heat shock proteins, HSPs)一类高度保守的保护性蛋白大量表达<sup>[1]</sup>,使细胞获得更高的热耐受力(Thermotolerance)<sup>[2]</sup>。除热应激外,细胞也对诸如自由基、缺血、低氧、重金属和细胞毒素等其他应激产生交叉耐受现象(Cross-tolerance)<sup>[3]</sup>,以减轻受不良环境胁迫所引起的伤害。中枢神经系统的海马区,是与情绪、认知、学习记忆密切相关的关键脑区,对应激变化甚为敏感。运动作为一种应激源,大强度急性运动产生的大量氧自由基是运动机体神经组织损伤的主要原因之一。此外,神经元钙超载是导致神经细胞信号传导异常的主要因素,是脑细胞死亡的中心环节。高温预处理和急性运动的双重干预,对大脑海马区是否产生交叉耐受,进而对神经组织产生保护作用,目前的研究尚没有明确结论。因此,本实验旨在通过预处理后进行不同强度的一次性急性运动,观察 Hsp70 的表达对海马区自由基代谢与  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 的影响,以探讨高温预处理与一次性急性运动对神经系统区的神经保护作用,为科学训练提供新的方法和实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

雄性 SD 大鼠 50 只,3 月龄,体重 300~350 g,SPF 级,购自广州中医药大学实验中心,合格证:SCXK(粤)2008-0020。动物购入后适应性饲养 1 周。室温( $22 \pm 2$ ) °C,湿度( $60 \pm 5$ )%。昼夜 12 h/d 节律变化,自由饮食,灭菌水饲养,饲料为标准啮齿类饲料。

### 1.2 实验训练与分组

大鼠进行为期 1 周的适应性跑台训练,坡度为 0°,跑速为 10 m/min,1 d/次,每次 8 min。训练结束后剔除不合格的大鼠,再随机分 6 组:室温安静组、室温 15 m/min 运动组(NS<sub>15</sub>)、室温 27 m/min 运动组(NS<sub>27</sub>);高温安静组(HS)、高温 15 m/min 运动组(HS<sub>15</sub>)、高温 27 m/min 运动组(HS<sub>27</sub>),每组 8 只,共 48 只,运动时间为 1 h。按 Bedford<sup>[4]</sup>方法改进运动方案:坡度 0°,跑速

15 m/min,为(50~60)% $\text{VO}_{2\text{max}}$ 中等运动强度;跑速 27 m/min,为 80%~90%  $\text{VO}_{2\text{max}}$ 大运动强度。

### 1.3 高温预处理模型与取材

高温预处理方案:用质量分数为 1%戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔注射麻醉后,将大鼠置于恒温箱(45 °C)中,监测肛温升至( $42 \pm 0.5$ ) °C并持续 15 min。再将大鼠置于室温环境,恢复至正常体温。高温安静组经热预处理 24 h 后麻醉取材。高温运动组则经热预处理 24 h 后,与其他运动组大鼠运动 1 h,运动后即刻麻醉取材。室温安静组只需麻醉至自行苏醒 24 h 后再麻醉取材。每只大鼠分离、称取双侧海马 0.12 g。经 4 °C 预冷的生理盐水清洗,滤纸吸干后锡纸包裹,液氮速冻,于 -80 °C 超低温冰箱冻存备用。

### 1.4 主要试剂和实验仪器

鼠抗人 Hsp70(小鼠 IgG,抗 Hsc73 和 Hsp72)、HRP 标记的羊抗鼠 IgG(均购自 Sigma),考马斯亮兰蛋白测定试剂盒、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 试剂盒、SOD 试剂盒、MDA 试剂盒(均购自南京建成生物工程公司),SDS 凝胶配制试剂盒(购自 Sigma)、转染蛋白分子量标准(碧云天生物技术研究所)。

垂直平板电泳仪(Apollo,美国)、半干印迹转移槽(OWL,英国)、凝胶成相分析系统(GeneGenius,英国)、超低温冰箱(Therm Forma 725,美国)、722 紫外分光光度计(上海精工仪器有限公司)。

### 1.5 测试指标与方法

#### 1)测定大鼠海马区 Hsp70。

(1)大鼠海马区蛋白质的提取。准确称取海马组织 0.03 g,用预冷的 PBS 缓冲液洗涤,5 000 r/min 离心 5 min。弃上清液,加入约 10 倍沉淀物体积的 RIPA 细胞裂解液(使用前数分钟内加入 PMSF,使 PMSF 的最终浓度为 1 mmol/L),充分匀浆,直至细胞彻底裂解。再 10 000 r/min 离心 5 min,取上清液,置于 -20 °C 冰箱待测。

(2)Western blotting 测定 Hsp70。通过 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(分离胶 10%,浓缩胶 5%)分离蛋白质。电泳 2 h 完毕后,取出凝胶转膜行电转移,0.8 mA/cm<sup>2</sup>,3 h。再取出硝酸纤维膜,用 TBS 清洗 2 次,然后置于

封闭液(含 20 mL 15% BSA 的 TBS)中,室温下封闭 2 h。弃封闭液,用 TBS 洗膜 3 次,每次 10 min,加入一抗,鼠抗人 Hsp70 抗体稀释(为体积比 1:700),于脱色摇床上温和摇动孵育过夜。弃一抗溶液,用 TBS 洗膜 2 次,每次 10 min,再加入羊抗鼠二抗稀释(为体积比 1:800),孵育 2 h。弃二抗溶液,用 TBS 洗膜 3 次,每次 10 min。弃 TBS, DAB 显色,室温显色 15 min,再用双蒸水洗膜终止显色。采用 GeneGenius 系列的 Syngene 凝胶成像分析系统分析 Hsp70 水平,以积分光密度表示蛋白表达量,测试灰度值。

## 2)大鼠海马区 SOD、MDA 和 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 的测试。

准确称取海马组织 0.09 g,迅速剪碎后放入玻璃匀浆器中,加入约 10 倍组织体积的预冷生理盐水进行匀浆。将制备好的 10%匀浆液进行离心(3 000 r/min, 15 min),取上清液用于指标测定。SOD、MDA 和 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 的测试,测定过程严格按照南京建成生物工程研究所提供的试剂盒说明书进行操作。其中 SOD 活性采用酶标法进行检测、MDA 含量采用 TBA 法测定、Ca<sup>2+</sup>-ATPase 采用比色法测定其酶活力。

## 1.6 统计学处理

实验数据均以均值 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用 SPSS14.0 统计软件进行 *t* 检验。差异具显著性意义为  $P < 0.05$ ,非常显著性意义为  $P < 0.01$ 。

表 1 不同组在两种状态下海马 Hsp70 表达水平( $\bar{x} \pm s$ )的变化<sup>1)</sup>

组别	n/只	安静	15 m/min 运动	27 m/min 运动
室温组	8	673.18±11.53	682.17±15.26	686.06±10.57 <sup>2)</sup>
高温预处理组	8	690.06±11.17 <sup>2)</sup>	699.81±12.53 <sup>4)5)</sup>	705.85±14.63 <sup>3)</sup>

1)Hsp70 表达水平的值以点阵灰度值/单位面积表示; 2)与室温安静组比较,  $P < 0.05$ ; 3)与高温安静组比较,  $P < 0.05$ ; 4)与室温 15 m/min 运动组比较,  $P < 0.05$ ; 5)与室温 27 m/min 运动组比较,  $P < 0.05$

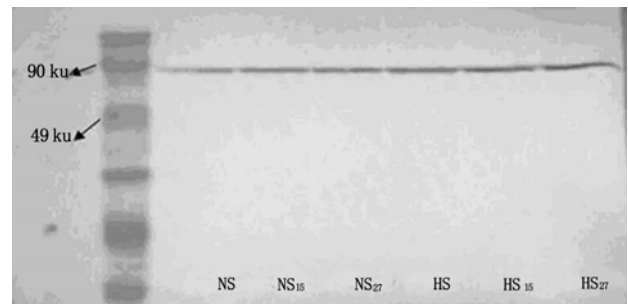
## 2.2 大鼠海马区 SOD 活性的变化

表 2 结果显示,与相同状态下各室温组比较,高温

## 2 结果及分析

### 2.1 高温预处理对不同强度急性运动大鼠海马区 Hsp70 表达的影响

图 1、表 1 显示,与室温安静组比较,高温安静组与室温 27 m/min 运动组,两组大鼠海马的 Hsp70 表达量均显著增高, ( $P < 0.05$ );与高温安静组比较,高温 27 m/min 运动组的 Hsp70 表达量升高, ( $P < 0.05$ ); 27 m/min、15 m/min 的高温预处理运动组各组的 Hsp70 表达量,均显著高于相同运动强度的室温运动组各组( $P < 0.05$ )。



从左至右分别为:室温安静组(NS)、室温 15 m/min 运动组(NS<sub>15</sub>)、室温 27 m/min 运动组(NS<sub>27</sub>)、高温安静组(HS)、高温 15 m/min 运动组(HS<sub>15</sub>)、高温 27 m/min 运动组(HS<sub>27</sub>)

图 1 Western-blotting 测得各组大鼠脑部海马区 Hsp70 的变化

预处理各组大鼠海马区的 SOD 活性增强均呈极显著性( $P < 0.01$ )。

表 2 不同组在两种状态下 SOD 活性( $\bar{x} \pm s$ )的变化

组别	n/只	安静	15 m/min 运动	27 m/min 运动	nU/mg
室温组	8	49.50±11.78	63.12±20.96	63.87±11.80	
高温预处理组	8	76.79±12.03 <sup>1)</sup>	97.89±12.22 <sup>1)</sup>	92.11±13.35 <sup>1)</sup>	

1)与相同状态下各室温组比较,  $P < 0.01$

## 2.3 大鼠海马区 MDA 含量的变化

表 3 结果显示:与相同状态下各室温组比较,高温预处理各组大鼠海马区的 MDA 含量均有下降趋势;

高温预处理各组 MDA 质量摩尔浓度随运动强度增大而降低,但各组间差异不明显( $P > 0.05$ )。

表 3 不同组在两种状态下 MDA 质量摩尔浓度( $\bar{x} \pm s$ )的比较<sup>1)</sup>

组别	n/只	安静	15 m/min 运动	27 m/min 运动	nmoL/mg
室温组	8	4.45±2.15	4.96±2.13	4.03±1.17	
高温预处理组	8	3.60±0.61	3.45±1.01	3.39±0.88	
下降百分率/%		19.10	30.40	15.90	

1)各组之间比较,  $P > 0.05$

## 2.4 大鼠海马区 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的变化

表4结果显示,室温状态下,27 m/min 运动组大鼠海马区的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性明显高于安静组( $P<0.05$ );而

在高温状态下,与安静组比较,27 m/min 运动组的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性也显著增强( $P<0.05$ );27 m/min 运动强度下,高温预处理组的活性明显高于室温组( $P<0.05$ )。

表4 不同组在两种状态下  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性( $\bar{x} \pm s$ )的变化

组别	n/只	安静	15 m/min 运动	27 m/min 运动
室温组	8	1.89±0.45	1.73±0.36	1.48±0.58 <sup>1)</sup>
高温预处理组	8	2.14±0.39	1.96±0.34	1.81±0.63 <sup>2)3)</sup>

1)与室温组比较,  $P<0.05$ ; 2)与高温安静组比较,  $P<0.05$ ; 3)与室温组比较,  $P<0.05$

## 3 讨论

研究表明,运动能诱导机体的 Hsp70 的表达,且与运动时间和强度密切相关<sup>[5]</sup>。本实验以一次性不同强度急性运动 60 min 为运动模式,结果显示,室温下大鼠海马区 Hsp70 的表达量随运动强度的增大而升高,其中室温 27 m/min 运动组的 Hsp70 表达水平显著高于室温安静组( $P<0.05$ ),结论与前人研究相似<sup>[6]</sup>。推测不同的运动强度刺激下,大强度运动对海马区 Hsp70 的诱导更为明显。

急性运动时骨骼肌收缩引起代谢加强,体内温度上升,使线粒体氧化磷酸化解耦联<sup>[7]</sup>,产生过量氧自由基和  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。同时脑内血液重新分配造成海马区暂时性缺血缺氧,引起蛋白质受损变构、乳酸代谢物的累积使血液酸碱度失衡<sup>[8]</sup>等,导致海马区 Hsp70 显著表达,以适应内环境的刺激,维持机体内稳态。

现已证实,高温预处理或长期运动训练都可诱导海马区细胞 Hsp70 的表达<sup>[9]</sup>,本实验中,高温 27 m/min 运动组 Hsp70 表达量显著高于高温安静组( $P<0.05$ ),且略高于高温 15 m/min 运动组( $P>0.05$ )。高温 15 m/min 运动组的 Hsp70 表达水平也稍高于高温安静组( $P>0.05$ )。这提示,42 °C 的高温预处理可导致海马区神经蛋白质发生变性。为提高细胞的热耐受性,激活诱导 HSPs 表达,生成一定量的 Hsp70 以稳定细胞蛋白构型,防止包括淀粉样纤维等变性不溶物在海马区的聚集和沉积,并促进已经聚集蛋白质的解聚及复性<sup>[10]</sup>,维持神经细胞正常生理功能。后经一次性急性运动刺激,更易活化热休克因子 HSF,启动热休克基因,促进 HSPmRNA 的转录或翻译,使 Hsp70 合成增加。继而通过如线粒体途径抑制应激信号,阻遏 JNK 促凋亡通路的激活,降低线粒体中 Cyt c 的释放,限制 Bax 转移出线粒体膜,并遏制 MPTP 通透性改变,限制 AIF 和 Caspase-9 的活化以阻断凋亡体的形成<sup>[11]</sup>,发挥其负性调节作用保护海马细胞<sup>[12]</sup>。但也可能 Hsp70 的表达,阻碍细胞表面的 Fas/Apo-1 受体与其配体相结合,避免细胞凋亡<sup>[13]</sup>,从而提高暴露于致死性刺激下细胞的存活率。这也提示,运动和高温预处理两种

因素共同作用对 Hsp70 的表达产生累加效应,使海马区获得更强的交叉耐受性,发挥其神经保护作用。

自由基为机体代谢正常的中间产物。机体的抗氧化系统,使自由基的形成和清除处于动态平衡。丙二醛(MDA)是过量自由基攻击生物膜的多不饱和脂肪酸而形成的脂质过氧化物,是衡量机体自由基损伤程度及体内自由基代谢的敏感指标<sup>[14]</sup>。抗氧化酶 SOD 以氧自由基为底物歧化  $\text{O}_2$ ,阻断羟自由基产生,其活性是反映机体抗氧化系统自由基清除能力的重要指标。有证据表明,急性剧烈运动可导致机体细胞自由基剧增,使细胞受损,同时也激活体内抗氧化酶系统,使海马回的 SOD 活性明显增加<sup>[15]</sup>。另有报道指出,高温预处理可使自由基抗氧化系统活性增强<sup>[16]</sup>。本实验中,高温预处理各组的 SOD 活性均极明显高于相同状态下各室温组( $P<0.01$ )。并且在室温下,SOD 活性随运动强度增大而呈增强趋势(但  $P>0.05$ ),与上述研究结论相符。提示,预热应激与大强度运动共同影响下,能进一步增强海马区的 SOD 活性。相反,MDA 含量较为稳定,在各运动组之间均无显著性差异。虽不具统计学意义( $P>0.05$ ),但高温预处理组 MDA 含量也随运动强度的增大而具降低倾向,且室温 27 m/min 运动组的 MDA 含量低于室温 15 m/min 运动组(但  $P>0.05$ )。该结果与 Liu 等<sup>[17]</sup>研究相似,可能是由于大鼠脑部含有较强抗氧化剂,以抵抗自由基造成的损伤,虽经预处理及干预大强度运动,但仍能保持较平稳的水平。

$\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 是维持神经元兴奋传导、突触体传递和离子内环境稳定的物质基础,主要存在于神经元膜上和线粒体内,具能量依赖性。通过水解 ATP,逆电化学梯度转运离子,维持神经元内外的  $\text{Ca}^{2+}$ 浓度。本文在室温组和高温预热组各组的大鼠海马中, $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性均随运动强度的增大而显著降低( $P<0.05$ )。此结果说明大强度运动也可能导致海马区能量代谢障碍,降低胞内的 ATP,使  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 酶活性受抑,引起神经元细胞内的  $\text{Ca}^{2+}$ 超载造成离子内稳态紊乱。进而产生具细胞毒性的游离脂肪酸、溶血磷脂,激活一系列  $\text{Ca}^{2+}$ 依赖性蛋白酶,增强核内钙离子

信号,造成了 DNA 的裂解、蛋白质等交联聚合变性,导致神经元细胞水肿,造成脑损伤<sup>[18]</sup>。

此外,本实验发现,高温预处理各组大鼠海马区的 Hsp70 水平与 SOD、Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性的变化趋势基本相一致,多显著高于同等状态下各室温组( $P<0.05$ )。并且高温预处理各组与相同状态下各室温组比较,其 MDA 含量也均有下降趋势,尽管无统计学意义( $P>0.05$ )。这提示 Hsp70 表达水平与 SOD 活性、MDA 含量、Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性之间可能存在平行关系。可能高温预处理诱导 Hsp70 基因表达的增强,合成大量的 Hsp70,通过改变膜结构使电子传递解耦联,影响细胞自由基水平,且与急性运动过程中变化的多种抗氧化酶协同发挥作用,有效地清除了自由基,降低了膜脂质过氧化的水平,对神经细胞起保护作用。同时,Hsp70 表达,可调节肌动蛋白聚合和微丝、中间纤维的连接,维持细胞骨架动力学结构,以防止变性蛋白沉积,同时增强突触蛋白活性,促进轴突运输,维持神经元正常的生理状态与兴奋传导,使细胞中 ATP 的水平显著升高,促进 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性的增强<sup>[9]</sup>,并降低钙超载、抑制自由基及其他毒性中间产物产生,减少细胞水肿,抑制细胞凋亡,也从另一角度保护海马区结构与功能的完整。

### 参考文献:

- [1] Cornelusson R, Spiering W, JHG Weders, et al. Heat shock improves ischemic tolerance of hypertrophied rat hearts[J]. *Am J Phy*, 1994, 267: H1941-H1947.
- [2] Jordan T F Young, John J Heikkila. Proteasome inhibition induces hsp30 and Hsp70 gene expression as well as the acquisition of thermotolerance in *Xenopus laevis* A6 cells[J]. *Cell Stress and Chaperones*, 2010(15): 323-334.
- [3] Michal Horowitz, Halla Assadi. Heat acclimation-mediated cross-tolerance in cardioprotection[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, 2(1188): 199-206.
- [4] Bedford T G, Tipton C M, Wilson N C, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures[J]. *Appl Physiol*, 1979, 47: 1278-1283.
- [5] Milne K J, Noble E G. Exercise-induced elevation of HSP70 is intensity dependent[J]. *J Appl Physiol*, 2002, 9(2): 561-568.
- [6] Joseph R Libonati, Zebulon V Kendrick, Steven R Houser. Sprint training improves postischemic, left ventricular diastolic performance[J]. *J Appl Physiol*, 2005, (99): 2121-2127.
- [7] Salo D C, Donovan C M, Davies K J. Hsp70 and other possible heat shock or oxidative stress proteins are induced in skeletal muscle, heart, and liver during exercise[J]. *Free Radic Biol Med*, 1991, 11(3): 239-246.
- [8] Skidmore. Hsp70 induction during exercise and heat stress in rats: role of internal temperature[J]. *Am J Physiol*, 1995, 268(1-2): 92-97.
- [9] Eduardo E Benarroch. Heat shock proteins multiple neuroprotective functions and implications for neurologic disease[J]. *Neurology*, 2011, 76(15): 660-668.
- [10] Balch W E, Morimoto R I, Dillin A, et al. Adapting proteostasis for disease intervention[J]. *Science*, 2008, 319: 916-919.
- [11] Beere H M, Wolf B B, Cain K, et al. Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome[J]. *Nat Cell Biol*, 2000, 2(8): 469-475.
- [12] Henderson B. Integrating the cell stress response: a new view of molecular chaperones as immunological and physiological homeostatic regulators[J]. *Cell Biochem Funct*, 2010, 28: 1-14.
- [13] Didelot C S, Chmit E, Brunet M, et al. Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2006, 172: 171-198.
- [14] Farombi E O, Ekor M. Curcumin attenuates gentamicin-induced renal oxidative damage in rats[J]. *Food Chem Toxicol*, 2006, 44(9): 1443-1448.
- [15] Davies K J A, Quintanilha T A, Brooks G A, et al. Free radical and tissue damage produced by exercise[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1982, 107(4): 1198-1205.
- [16] Halive H B, Gutteridge J M C. Free radicals in biology and medicine, ind xed[J]. Oxford Clarendon Press, 1989(31): 286-291.
- [17] Jiankang Liu, Helen C Yeo. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2000, 89(1): 21-28.
- [18] Chao Ji, Qing Li, HajiAkber Aisa, et al. Gossypium herbaceam extracts attenuate ibotenic acid-induced excitotoxicity in rat hippocampus[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2009, 16: 331-339.
- [19] Stetler R A, Gan Y, Zhang W, et al. Heat shock proteins: cellular and molecular mechanisms in the central nervous system[J]. *Prog Neurobiol*, 2010, 92: 184-211.