

· 综述 ·

微透析技术在运动医学研究中的应用进展

钟兴明¹ 周 军¹

微透析技术(Microdialysis, MD)是一种微创并连续在线监测取样活体内完整细胞间液物质的实验技术方法。1972年美国耶鲁大学首次报道了猴脑的MD研究,最初主要用于研究脑内神经递质的释放,随后迅速发展成为生物化学研究的新领域,成为神经生理学和神经化学研究的重要工具之一。它可提供生物活性物质释放、摄取和代谢的必要信息,阐明许多神经生理活动中生化物质的变化规律。可在麻醉或清醒的生物体上使用,特别适合于深部组织和重要器官的活体生化研究。随着MD采样技术和检测技术的不断提高,从20世纪90年代起,MD在生命科学研究中的应用进入高潮,已从基础研究发展到临床应用,使临床监测从生理水平上升到生化水平,为临床提供了一种全新监测和治疗手段^[1]。

1 微透析技术概述

1.1 微透析技术的原理

MD是以透析原理作为基础,基于推挽灌注技术发展而来的,它模拟体内的毛细血管。将带有半透膜的微透析探头插入组织间隙中,用微蠕动泵连续灌注如生理盐水、人工脑

脊液或含有治疗药物的溶液等中性溶液,微透析管上带有半透膜,截留相对分子量的分子。根据渗透和扩散原理,灌注埋入组织中的微透析探针,组织中的待测物质沿浓度梯度扩散进入透析液,连续收集透析出来的样品,检测样品中待测物的浓度,达到从活体组织中动态取样、在线监测的目的。

1.2 微透析系统的构成

微透析系统一般由微透析探针、连接管、样品收集器、灌注液和微量蠕动泵以及定量分析仪等组成。其关键技术在于微透析探针(dialysis probe),它是由导入管、导出管、中空纤维管(shaft)和透析膜(dialysis membrane)连接而成。微透析管因实验对象不同而形状大小各异,目前同心型探针应用最多,采用管内套管的设计使探针直径很小,极大地减少了对组织的损伤。一般微透析探针的外径只有300μm,要根据取样部位选择有效透析膜的长度和探头直径,并按照待测化合物选择其截留分子量。商品化探针的截留分子量一般在5000—50000道尔顿,常用9000—18000道尔顿。微透析探针半透膜材料有较好的生物相容性和稳定性,不会与体内成分发生反应(见表1)。

表1 微透析探针半透膜材料特性及用途

半透膜材料	直径(mm)	截流分子量 (道尔顿)	探头形状	用途
聚碳酸酯 Polycarbonate	0.5	20000	U型或I型	麻醉或清醒动物的脑部组织
聚醚砜(PES)Polyethersulfone	0.5	100000	U型或I型	软组织;肌肉、心脏、皮肤、脂肪组织、血管、眼球玻璃体等
铜纺 Cuprophane	0.24	6000	U型或I型	脑部和脊髓组织;腹部组织;血管内
聚酰胺 Polyamide	0.6,0.9	20000	U型或I型	动物经皮及皮下组织;胆管
聚丙烯腈(PAN)	0.32	20000 3000	线型 线型或环型	动物皮下软组织;骨骼

1.3 微透析样品的收集

微透析实验用的透析液采用生理性溶液,如生理盐水、人工脑脊液、含有治疗药物的溶液等中性溶液,要求与细胞外液渗透压相等。微透析是在非平衡取样条件下取样,因此所测透析液中化合物的浓度只是探针周围基质中该化合物实际浓度的一部分,透析液中待测化合物的浓度与其在样品基质中浓度之比称为探针回收率(extraction efficiency,EE)。要了解待测部位的实际浓度就须测定回收率,在实验前以及监测过程中都要测定其回收率,以防微透析探针在组织中因

堵塞而影响所测物质浓度。一般反复使用的微透析探针回收率<75%时,该探针不能再使用。探针回收率的测定方法有体外回收率法、体内内标法、体内反透析法、体内低流速法等。

1.4 微透析样品的分析

一般透析膜截留相对分子量≤20000道尔顿的分子,通过微透析膜的筛分作用,只有小分子能透过而不允许酶等生物大分子物质通过。透析液仍然是含有多种小分子物质的混合物,成分复杂,样品量少(一般为ml级),浓度低(1×10⁻⁶—1×10⁻¹²mol/L以下),对分析仪器的精密度要求很高。常用的分

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2010.04.026

1 首都体育学院理论学科部体育保健康复教研室,北京,100088

作者简介:钟兴明,男,讲师;收稿日期:2009-04-21

析系统为高效液相色谱、毛细管电泳和液相色谱-质谱联用,检测系统可选用电化学、普通荧光、化学发光、激光诱导荧光和质谱等检测仪。在动物研究的报道中所检测的生化指标主要有兴奋性和抑制性氨基酸、神经递质、低分子量蛋白质、无机离子等;临床上目前只有葡萄糖、乳酸、丙酮酸、甘油、尿素和谷氨酸等几种指标的研究报道。

2 微透析技术在运动医学研究中的应用进展

MD 应用于大脑活体功能研究已有 25 年的历史,近年来已发展用于外周组织研究。广泛用于生物学和医学领域,几乎应用于人体所有器官和组织,包括脑、血液、心脏、肝脏、肾脏、胆汁、肺、骨骼、眼、皮肤、肌肉、乳腺,以及胰腺、耳朵、脾脏、黄体、睾丸、肠、腹膜腔、前列腺、胃和子宫等。在运动医学的基础和临床研究中也得到广泛应用,具体介绍如下。

2.1 国外研究进展及分析

国外自 90 年代开始将 MD 应用于运动研究。微透析导管就象一条人造血管可以放置于各种组织细胞外空间,特别适合运动中对肌肉、脂肪进行原位监测。在微透析液中加入流量标记物(通常是酒精)还可用于运动局部组织血流研究。近来多项运动与骨骼肌和脂肪组织的脂解作用,糖代谢和血流变化,持续监测组织间隙营养素和代谢物质变化等研究成果均是应用 MD 完成,充分展示了 MD 应用于运动医学领域研究的价值。

2.1.1 运动与大脑神经递质、脊髓神经调控的研究:微透析能够收集自由活动动物大脑释放的任何真实的物质,监测大脑局部与运动有关的神经递质释放。在过去的 5—10 年 MD 已成功应用于运动神经递质释放,运动性中枢疲劳研究^[1]。相对于我们对运动与外周组织适应的了解,运动与大脑适应的了解还很少,MD 为我们深入了解运动和中枢神经系统的关系打开了一扇窗户。例如将微透析探针植入不同脑区监测跑台运动后神经递质改变与运动功能脑区(纹状体,海马,伏核,额皮质,脊髓),食物刺激功能脑区(下丘脑,海马,额皮质),温度调节功能脑区(海马)的关系;监测评估 6-羟多巴胺受损大鼠在多巴胺能移植后大鼠运动能力缺陷和提高^[2]。有趣的是上述研究通过观察运动对神经递质释放的影响,已证明运动开始和运动控制与纹状体神经递质功能有密切关系,运动治疗可能成为行为或心理障碍病人的治疗模式。Leung LY 等^[3]通过 MD 发现运动和神经肌肉电刺激后下丘脑区产生递质氨基酸的神经化学效应对缺血性脑损伤患者的康复有重要影响。多项研究认为神经递质浓度与运动性疲劳发生以及对外周激素和对体温调节均产生影响^[4-6]。Pagliari R 等通过 MD 观察到运动刺激使外周儿茶酚胺分泌与中枢去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)释放伴随发生,中枢 NE 活性与外周血肾上腺素(E)和 NE 之间存在密切联系,提示循环系统中 E 水平是运动引发中枢神经化学、心理和认知行为变化

的直接或间接调节因素。1994 年 Gerin C 等通过长期(40d)植入微透析探针到脊髓腹侧角监测大鼠运动后 5-羟色胺(5-HT)的释放,以期找到运动神经元兴奋与 5-HT 释放关系的直接证据,发现运动中脊髓腹侧角 5-HT 释放没有增加,但是运动后休息期明显降低。

上述研究结果为我们进一步了解运动与大脑、脊髓神经调控及其机制提供了更多的证据和方法。

2.1.2 运动与大脑能量代谢关系研究:MD 为运动与大脑能量代谢研究提供了最直接的方法。Béquet F 等^[7]应用 MD 监测大脑葡萄糖效应的增强对运动鼠海马区 5-HT 水平影响,发现大脑葡萄糖起到 5-羟色胺能作用,防止运动引起的 5-HT 水平提高,结果还提示大脑葡萄糖不对 5-HT 合成起作用,但可能对释放/重吸收系统起作用。随后他通过 MD 监测大鼠大脑海马区葡萄糖代谢和复合胺发现:运动前、运动中补葡萄糖可以修正运动引起的大脑葡萄糖和 5-HT 水平改变,有利于提高运动成绩,但是对运动后恢复的质量将产生负面影响。2000 年 Béquet F 用分光光度计检测外周血糖,同时采用 MD 及核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)同步观察禁食/运动对大鼠皮质葡萄糖代谢的影响,结果表明运动中外周血与大脑皮质葡萄糖水平存在联系,还发现运动后尽管外周出现低血糖症,大脑仍表现为运动诱导的葡萄糖水平增加,提示运动中大脑皮质葡萄糖代谢存在某种特殊的调节机制。

Korf J 等利用微透析在体监测压力、运动、电休克和缺血中大脑内乳酸变化,结果在压力、刺激、运动中大脑细胞外液(特别是鼠海马区)乳酸水平提高,提示乳酸可以用来跟踪大脑胶原细胞和神经细胞代谢变化。Cheng SM^[8]等研究发现补充硫酸镁可以增强短期阻力游泳鼠大脑葡萄糖代谢。

2.1.3 运动与肌肉代谢、血流研究:运动中代谢物质的变化应该被精确的监测。Desvigne N^[9]等认为 MD 是唯一可用于监测细胞外液代谢物质浓度的技术,MD 能够用于监测运动中肌肉代谢物质的快速变化。研究的重点集中在运动后延迟性肌肉酸痛症(DOMS)的致病原因探讨。降血钙素基因相关肽(CGRP)和神经肽 Y(NPY),分别代表感觉神经系统和植物神经系统活性。Jonhagen S^[10]等在八位健康人股外侧肌远端插入微透析探针分别在离心运动后,运动后 2d 和安静下检测降血钙素基因相关肽和神经肽 Y。结论表明运动后 CGRP 的检出性明显增加可能与运动后疼痛增加有关系,大强度离心运动后 CGRP 的产生可能与延迟性肌肉酸痛症的调节有关,也可能与组织再生的刺激有关。Karamouzis M^[11]等通过 MD 研究人递增动力运动后肌肉间隙前列腺素 E(2)(PGE(2))、前列环素 I(2)(PGI(2)) 增加,而血栓素 A(2)(TXA(2))减少,为运动引起肌肉中生物化学变化提供了更多证据。Tegeder L 等^[12]在开始微透析 24h 前采取向心/离心腓肠肌收缩制作 DOMS 模型,微透析过程中,继续通过腓肠肌肌肉收缩(足背伸和跖

屈)刺激疼痛。结果发现 DOMS 腿中,腓肠肌和血清中乳酸增加,而且透析液体中谷氨酸盐,前列腺素 E(PGE2),P 物质浓度增加(峰值浓度分别为 $125 \pm 20 \mu\text{M}$, $239 \pm 45 \text{ pg/ml}$ 和 $60 \pm \text{pg/ml}$),而对照腿中上述物质的水平没有增加。DOMS 腿中的 NO 浓度比对照腿低,特别在开始的 4h 的透析液中。结果证明离心运动后引起的肌肉疼痛可能与炎症反应有关。

肌肉组织局部代谢变化与肌肉疲劳,肌肉疼痛发展、交感神经调节等有密切关系。运动中肌间隙 K^+ 浓度动态变化对于研究神经-肌肉调节以及肌肉运动性疲劳具有重要意义。MD 技术使 K^+ 浓度动态监测成为现实,Juel C^[13] 等在人股外侧肌植入微透析探针监测单腿膝关节伸展递增动力练习中肌间隙 K^+ 浓度,发现同样负荷强度下,肌间隙 K^+ 浓度明显高于静脉 K^+ 浓度,提示肌间隙 K^+ 浓度对血流和疲劳的潜在影响。MacLean DA 等采用 MD 监测动力递增运动中骨骼肌间隙葡萄糖和乳酸浓度,发现休息期间和运动中肌间隙葡萄糖浓度均低于血浆水平,表明肌肉间隙葡萄糖转运在休息期处于有限流量,而运动中骨骼肌收缩导致葡萄糖和乳酸扩散系数增加。Rosendal L^[14] 等将 19 名慢性职业性斜方肌疼痛妇女和 20 名健康女性作对照,分别在安静下,20min 重复低阻力运动以及恢复 2h,插入微透析探针到斜方肌检测肌间隙 5-HT,谷氨酸,乳酸,丙酮酸盐。结果表明安静下实验组检测结果均高于对照组。5-HT,谷氨酸增高与疼痛强度显著相关。运动后两组疼痛程度和谷氨酸均增加,仅在实验组乳酸和丙酮酸显著增加。实验组 5-HT,谷氨酸增高并与肌肉疼痛强度显著相关。Vissing J^[15] 等通过 MD 发现 McArdle's 病患者和健康组在运动中和运动后肌间隙乳酸和氢氧化铵浓度与肌肉交感神经活性和血压都处于暂时分离。提示肌肉酸化和组织间隙氢氧化铵浓度变化不是运动中交感神经活性的调节因素。

Trappe T^[16] 等应用 MD 观察年龄和抗阻运动对人骨骼肌蛋白质水解作用,结果表明肌球蛋白和肌动蛋白在抗阻运动第一个 24h 内没有明显增加,而且这样的变化不因年龄改变。而组织间隙 3-甲基组氨酸浓度在老年人中增加,提示两种主要收缩蛋白水解增加,这与随着年龄增长肌肉萎缩有关系。而 Haus JM 等^[17] 则应用 MD 观察了有氧运动对人骨骼肌肌纤维蛋白质水解的影响,发现运动后肌纤维蛋白的明显净增高补偿了运动中的肌蛋白水解。

早在 1994 年 Hickner RC 等就 MD 用于监测运动肌肉血流建立了实验方法,2004 年 Boushel R^[18] 等应用 MD 研究运动中结合一氧化氮抑制剂和前列腺素对减少组织间隙微血管血流的影响进行了研究。Jackson MJ 等^[19] 通过 MD 发现补充抗氧化剂可提高运动诱导人骨骼肌线粒体解偶联蛋白 3 和内皮一氧化氮合酶 mRNA 含量。2009 年 Mortensen SP 等^[20] 采用 MD 监测发现腺苷通过刺激前列腺素和一氧化氮的合成来调节人运动大腿骨骼肌血流。

由此可见 MD 已广泛地应用于研究运动后肌肉生理活

性物质、离子浓度、代谢物质监测。并在运动与肌肉疲劳、延迟性肌肉酸痛症、能量代谢、肌肉血流变化等方向的动态研究方面发挥独到优势。

2.1.4 运动对肌腱腱鞘生理病理影响的研究:MD 技术应用之前,机械负荷和运动中肌腱周围组织代谢变化未曾有报道,而这过程对于了解过度运动负荷导致的创伤性炎症和损伤的生理病理演变非常重要。

Langberg H^[21] 等对 6 位健康人休息和 30min 间歇静力踝关节负重(各自体重)跖曲及运动后 60min,采用 MD 监测跟腱周围组织甘油、葡萄糖、乳酸和前列腺素 E2(PGE2)和血栓素 B2 (TXB2)浓度,以研究间歇等容运动中腱鞘组织代谢和炎症介质的变化。发现运动中跟腱周围甘油和乳酸释放量提高二倍,PGE2 和 TXB2 浓度增加一倍,且 TXB2 的改变有显著差异。提示动力运动负荷中跟腱的脂肪和糖代谢以及炎症活动均加速。同年,为研究运动对腱周组织 I 型胶原的合成和降解的影响,Langberg H 等对 7 位受训跑步运动员 3h 跑(36km)前、后 2h 和 72h,插入微透析探针监测运动后跟腱周围胶原前蛋白(PICP)和胶原降解物质(ICTP)、炎症物质(PGE2)浓度。结果运动后即刻,PICP 浓度在动脉血液和腱周均降低,但是 72h 后腱周水平升高到基线水平的 3 倍,血液中浓度升高 25%;ICTP 浓度在血液中无变化,恢复早期在腱周的浓度下降;PGE2 浓度在血液中增高,恢复期回到基线水平,恢复早期在腱周的浓度高于基线水平。结果提示急性运动引起腱周组织 I 型胶原合成增加。2007 年 Olesen JL 等^[22] 应用 MD 监测人运动后肌腱周围组织中胰岛素样生长因子(IGF-I)、胰岛素样生长因子结合蛋白(IGFBPs)和 I 型胶原的变化,发现急性运动导致全身和腱鞘周围 IGFBP-1 增加,局部通过增加 IGFBP-4 浓度促进胶原合成,提示 IGFBP-4 可能在影响人在体胶原合成的 IGF 轴中起关键作用。

Alfredson H 等^[23] 对离心康复训练治疗慢性跟腱炎病人,应用 MD 对康复训练前后跟腱周围谷氨酸水平与治疗效果进行了前瞻性研究,发现康复效果与低谷氨酸水平无联系,Langberg H^[24] 发现离心康复训练增加跟腱鞘炎患者腱鞘周围 I 型胶原合成。雌激素对绝经后妇女肌腱胶原合成,肌腱结构特征和生物力学特性有重要影响^[25]。

2.1.5 运动与脂肪代谢研究:能量代谢是运动医学研究的热点之一,早在 1994 年开始 MD 就陆续应用于运动和葡萄糖摄取对脂肪代谢影响的研究^[26]。1996 年 Arner P 等应用 MD 研究了运动中脂肪降解调节。2002 年 Lange KH 等^[27] 对 MD 和动静脉(A-V)检测应用于人运动中脂肪组织的脂解作用检测进行了比较研究,表明 MD 的监测结果更具有一致性。

Suljkovicova H 等^[28] 应用 MD 研究安静和运动中饮食宏量营养素成分对脂肪脂解调节的影响,结果表明休息状态下食物宏量营养素成分不会影响脂肪组织肾上腺素能对儿茶酚胺活性。运动中高脂肪饮食(HFD)可加速脂肪脂解作用,

这与高儿茶酚胺反应和低胰岛素血症有关系。

受过运动训练的人比未受过训练的人在次最大强度体力活动中有更高的脂肪氧化。Ormsbee MJ^[29]应用微透析观察久坐瘦和肥胖男性抗阻训练脂肪代谢调节发现抗阻训练提高身体成分的机制部分在于促进腹部皮下脂肪的脂解作用,增加能量消耗和脂肪氧化。为了研究这是否反映了脂肪降解对儿茶酚胺的敏感性,Stallknecht B 等对 6 位运动员和 6 位久坐年轻男子输入肾上腺素(0.3nmol/kg/min)65min,应用 MD 检测腹部皮下脂肪组织细胞外液甘油浓度,同时检测其动脉血甘油浓度,并测量脂肪组织血流。结果发现肾上腺素输入期间,训练组细胞外液甘油浓度低于与久坐组,而血流速度更高,两者差异显著。皮下脂肪甘油输出量和动脉血甘油浓度两组间无差异。结果表明脂肪组织受肾上腺素刺激血流增加,两组脂肪降解对肾上腺素的敏感性相同。近期 De Glisezinski I 等采用 MD 技术发现肾上腺素是人皮下脂肪组织中运动诱导脂解作用的关键因素。

2.1.6 其他研究:De Boer J 等对经皮或皮下 MD 监测人志愿者功率自行车运动中血浆乳酸浓度的可行性进行评估研究,结果在经皮微透析组,透析液乳酸浓度增加超过血浆乳酸浓度,由于运动导致汗液中乳酸分泌。运动中,皮下微透析液乳酸浓度低于血浆乳酸浓度,可能由于乳酸扩散限制或脂肪组织产生了乳酸。结果说明 MD 可以用于在线乳酸监测,但运动中经皮或皮下透析液乳酸浓度与血浆乳酸浓度都不成线性关系。Welch G 等^[30]对皮下 MD 监测发现皮肤或汗腺周围一氧化氮的合成促进了热环境下运动局部出汗率和皮肤的扩张。MD 监测还发现通过前列腺素,一氧化氮和内皮衍生的超极化因子,运动训练影响糖尿病人的皮肤灌注^[31],以及运动预防年龄相关的一氧化氮介导的皮下毛细血管的血管扩张功能的下降^[32]。

2.2 国内研究现状及分析

迄今为止我国在运动医学研究领域开展 MD 研究的报道很少,主要进行了急性运动疲劳与中枢氨基酸神经递质关系和规律运动训练对大脑神经递质与行为关系方面的基础研究。据文献检索,首都体育学院应是率先将 MD 引入运动医学开展运动性疲劳及其恢复过程研究的单位,钟兴明^[33]等在通过植入微透析探针到下丘脑区取样并测定大鼠急性力竭游泳运动前、后及恢复过程中大鼠下丘脑区递质类氨基酸变化,结果表明运动后下丘脑区递质类氨基酸及其衍生物均明显增加,抑制性递质类氨基酸的增加高于兴奋性氨基酸,且谷氨酰胺、天冬酰胺的增加有显著差异。姚鸿恩^[34]等采用规律游泳训练对大鼠操作式条件反射建立开展研究,插入微透析探针至大鼠海马脑区监测神经递质的动态变化,发现接受规律游泳训练大鼠操作式条件反射形成更快,其海马脑区谷氨酸和 GABA 的基础值明显高于对照组。胡永善^[35]等采用微透析动态观察预运动训练对大鼠脑梗死后纹状体处兴奋性

氨基酸水平变化的影响,结果表明至少 2 周的预运动训练对随后发生的脑缺血及再灌注期间,纹状体(尾状核)脑区内兴奋性氨基酸递质谷氨酸(Glu)和天冬氨酸(Asp)的过度释放有一定程度的抑制作用,这种抑制效应对早期缺血脑损伤具有一定的保护作用。

3 微透析技术的展望

首先,MD 最大优势是能实现在体(In Vivo)、实时(Real time)、在线(On line)取样,适用于研究动态的生命过程,所以特别适用于运动研究的动态监测特点。其次,MD 可在清醒、自由活动的动物体内的不同器官以及同一器官的不同部位进行自身对照或多部位连续取样,长期取样。第三,取样量小,对生物体内的平衡干扰小,所得数据可靠。第四,透析样品只含游离态小分子化合物,不含蛋白质、酶等大分子物质,样品稳定性高,不易酶解,因此样品无需前处理可直接检测,避免了样品损失和误差。

MD 的不足之处主要有以下方面:①探针的植入会造成局部组织轻微损伤,对急性实验有一定程度的影响;②由于分子量越大的物质透过膜的效率越低,可检测的化合物受分子量大小限定;③由于样品量少、浓度低,对检测技术要求高。

根据上述对国内、外运动医学研究中 MD 的应用现状,进展分析比较,我们可看到无论是研究的规模、范畴、方法,研究的广度和深度,还是研究成果,我国都明显落后与国外同行,而且缺乏系统性和持续性,在临床应用研究尚属空白。

MD 现已成为一种最重要、最有发展前景的取样技术。该技术的独特优势,无疑会使 MD 在运动医学各领域研究中发挥重要作用。相信在不久的将来,MD 必将在我国运动医学研究中得到更加广泛的应用。

参考文献

- [1] Bosche B, Dohmen C, Graf R, et al. Extracellular concentrations of non-transmitter amino acids in peri-infarct tissue of patients predict malignant middle cerebral artery infarction[J]. Stroke, 2003, 34(12):2908—2913.
- [2] Meeusen R, Piacentini MF, De Meirleir K. Brain microdialysis in exercise research[J]. Sports Med, 2001, 31 (14):965—983.
- [3] Marques E, Vasconcelos F, Rolo MR, et al. Influence of chronic exercise on the amphetamine-induced dopamine release and neurodegeneration in the striatum of the rat [J]. Ann N Y Acad Sci, 2008, 1139:222—231.
- [4] Leung LY, Tong KY, Zhang SM, et al. Neurochemical effects of exercise and neuromuscular electrical stimulation on brain after stroke: a microdialysis study using rat model [J]. Neurosci Lett, 2006, 397(1-2):135—139.
- [5] Meeusen Romain. Brain microdialysis and its application for the study of neurotransmitter release during exercise[J]. International Journal of Sport & Exercise Psychology, 2005, 1(3):263—284.
- [6] Shibasaki M, Rasmussen P, Secher NH et al. Neural and non-neural control of skin blood flow during isometric handgrip ex-

- ercise in the heat stressed human [J]. *J Physiol*, 2009, 587(Pt 9):2101—2107.
- [7] Béquet F, Gomez-Merino D, Berthelot M, et al. Evidence that brain glucose availability influences exercise-enhanced extracellular 5-HT level in hippocampus: a microdialysis study in exercising rats [J]. *Acta Physiol Scand*, 2002, 176 (1):65—69.
- [8] Cheng SM, Yang DY, Lee CP, et al. Effects of magnesium sulfate on dynamic changes of brain glucose and its metabolites during a short-term forced swimming in gerbils [J]. *Eur J Appl Physiol*, 2007, 99(6):695—699.
- [9] Desvigne N, Barthélémy JC, Bertholon F, et al. Validation of a new calibration method for human muscle microdialysis at rest and during exercise [J]. *Eur J Appl Physiol*, 2004, 92 (3):312—320.
- [10] Jonhagen S, Ackermann P, Saartok T, et al. Calcitonin gene related peptide and neuropeptide Y in skeletal muscle after eccentric exercise: a microdialysis study [J]. *Br J Sports Med*, 2006, 40 (3):264—267.
- [11] Karamouzis M, Karamouzis I, Vamvakoudis E, et al. The response of muscle interstitial prostaglandin E (2) (PGE (2)), prostacyclin I(2)(PGI(2)) and thromboxane A(2)(TXA(2)) levels during incremental dynamic exercise in humans determined by in vivo microdialysis [J]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2001, 64 (4-5):259—263.
- [12] Tegeder L, Zimmermann J, Meller ST, et al. Release of alginate substances in human experimental muscle pain [J]. *Inflamm Res*, 2002, 51(8):393—402.
- [13] Juel C, Pilegaard H, Nielsen JJ, et al. Interstitial K(+) in human skeletal muscle during and after dynamic graded exercise determined by microdialysis [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000, 278 (2):R400—406.
- [14] Rosendal L, Larsson B, Kristiansen J, et al. Increase in muscle nociceptive substances and anaerobic metabolism in patients with trapezius myalgia: microdialysis in rest and during exercise [J]. *Pain*, 2004, 112 (3):324—334.
- [15] Vissing J, MacLean DA, Vissing SF, et al. The exercise metaboreflex is maintained in the absence of muscle acidosis: insights from muscle microdialysis in humans with McArdle's disease [J]. *J Physiol*, 2001, 537 (Pt 2):641—649.
- [16] Trappe T, Williams R, Carrithers J, et al. Influence of age and resistance exercise on human skeletal muscle proteolysis: a microdialysis approach [J]. *J Physiol*, 2004, 554 (Pt 3):803—813.
- [17] Haus JM, Miller BF, Carroll CC, et al. The effect of strenuous aerobic exercise on skeletal muscle myofibrillar proteolysis in humans [J]. *Scand J Med Sci Sports*, 2007, 17(3):260—266.
- [18] Boushel R, Kalliokoski K, Langberg H, et al. Spatial Heterogeneity of Microvascular Blood Flow Reduction During Exercise With Combined Inhibition of Nitric Oxide and Prostaglandins Using Microdialysis[J]. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 2004, 29(Suppl): S37.
- [19] Jackson MJ. Microdialysis as a window on interstitial reactive oxygen species in human tissues? A commentary on "Antioxidant supplementation enhances the exercise-induced increase in mitochondrial uncoupling protein 3 and endothelial nitric oxide synthase mRNA content in human skeletal muscle," by Hellsten et al [J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, 43 (3):351—352.
- [20] Mortensen SP, Nyberg M, Thaning P, et al. Adenosine contributes to blood flow regulation in the exercising human leg by increasing prostaglandin and nitric oxide formation [J]. *Hypertension*, 2009, 53(6):993—999.
- [21] Langberg H, Rosendal L, Kjaer M. Training-induced changes in peritendinous type I collagen turnover determined by microdialysis in humans [J]. *J Physiol*, 2001, 534 (Pt 1):297—302.
- [22] Olesen JL, Heinemeier KM, Gemmer C, et al. Exercise-dependent IGF-I, IGFBPs, and type I collagen changes in human peritendinous connective tissue determined by microdialysis [J]. *J Appl Physiol*, 2007, 102 (1):214—220.
- [23] Alfredson H, Lorentzon R. Intratendinous glutamate levels and eccentric training in chronic Achilles tendinosis: a prospective study using microdialysis technique [J]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2003, 11 (3):196—199.
- [24] Langberg H, Ellingsgaard H, Madsen T, et al. Eccentric rehabilitation exercise increases peritendinous type I collagen synthesis in humans with Achilles tendinosis [J]. *Scand J Med Sci Sports*, 2007, 17(1):61—66.
- [25] Hansen M, Kongsgaard M, Holm L, et al. Effect of estrogen on tendon collagen synthesis, tendon structural characteristics, and biomechanical properties in postmenopausal women [J]. *J Appl Physiol*, 2009, 106(4):1385—1393.
- [26] Gustafsson J, Eriksson J, Marcus C. Glucose metabolism in human adipose tissue studied by ¹³C-glucose and microdialysis [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2007, 67(2):155—164.
- [27] Lange KH, Lorentsen J, Isaksson F, et al. Lipolysis in human adipose tissue during exercise: comparison of microdialysis and a-v measurements [J]. *J Appl Physiol*, 2002, 92 (3):1310—1316.
- [28] Suljkovicova H, Marion-Latard F, Hejnova J, et al. Effect of macronutrient composition of the diet on the regulation of lipolysis in adipose tissue at rest and during exercise: microdialysis study [J]. *Metabolism*, 2002, 51(10):1291—1297.
- [29] Ormsbee MJ, Choi MD, Medlin JK, et al. Regulation of fat metabolism during resistance exercise in sedentary lean and obese men [J]. *J Appl Physiol*, 2009, 106(5):1529—1537.
- [30] Welch G, Foote KM, Hansen C, et al. Nonselective NOS inhibition blunts the sweat response to exercise in a warm environment [J]. *J Appl Physiol*, 2009, 106(3):796—803.
- [31] Colberg SR, Azoury KR, Parson HK, et al. Exercise status affects skin perfusion via prostaglandin, nitric oxide, and EDHF pathways in diabetes [J]. *Microvasc Res*, 2009, 77(2):120—124.
- [32] Black MA, Green DJ, Cable NT. Exercise prevents age-related decline in nitric-oxide-mediated vasodilator function in cutaneous microvessels [J]. *J Physiol*, 2008, 586(14):3511—3524.
- [33] 钟兴明, 姚鸿恩, 韩慧婉. 脑内微透析技术及其在运动性疲劳研究中的应用 [J]. *中国运动医学杂志*, 2000, 19 (4):404—405.
- [34] 姚鸿恩, 刘坤, 荣湘江. 规律游泳运动促进大鼠操作式条件反射建立的神经机制研究 [J]. *天津体育学院学报*, 2005, 20(6) : 13—17.
- [35] 胡永善, 贾杰, 吴毅, 等. 预运动训练对脑梗死大鼠脑保护作用的兴奋性氨基酸递质效应 [J]. *中国康复医学杂志*, 2008, 23 (7) : 589—593.