

· 基础研究 ·

行为学训练对海马梗死大鼠齿状回区神经干细胞分化能力的影响

李娅娜 李玲 袁华 牟翔 江山

【摘要】目的 研究行为学训练对海马梗死大鼠齿状回区神经干细胞分化能力的影响。**方法** 将 78 只 SD 大鼠随机分为梗死训练组、单纯梗死组及正常对照组。采用光化学法将梗死训练组及单纯梗死组大鼠制成单侧海马梗死模型,梗死训练组大鼠于造模结束后次日给予水迷宫训练,单纯梗死组大鼠于造模结束后正常饲养,未给予水迷宫训练。采用免疫荧光双标法观察各组大鼠不同时间点海马齿状回区溴脱氧尿嘧啶核苷(BrdU)、神经元核心抗原(NeuN)及胶质纤维酸性蛋白(GFAP)的标记情况。**结果** 正常对照组海马齿状回区可见少量 BrdU/NeuN、BrdU/GFAP 阳性双标染色;在术后 14~35 d 期间,梗死训练组及单纯梗死组大鼠海马齿状回区 BrdU/NeuN、BrdU/GFAP 阳性双标染色均较正常对照组显著增强(均 $P < 0.05$);并且以梗死训练组 BrdU/NeuN、BrdU/GFAP 的增强幅度较显著,与单纯梗死组比较,组间差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论** 行为学训练能促进脑缺血大鼠海马神经干细胞向神经元及星形胶质细胞分化,对改善其学习、记忆功能具有重要作用。

【关键词】 大鼠; 海马齿状回; 溴脱氧尿嘧啶核苷; 神经元核心抗原; 胶质纤维酸性蛋白; 神经干细胞; 分化

The effect of behavioral training on neural stem cell differentiation in the dentate gyrus of rats with hippocampal infarction Li Ya-na*, Li Ling, YUAN Hua, MU Xiang, JIANG Shan. * Department of Physiotherapy and Rehabilitation, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China
Corresponding author: LI Ling, Email: liling0519@126.com

【Abstract】 Objective To explore the effect of behavioral training on the differentiation of neural stem cells in the dentate gyrus (DG) in rats with hippocampus infarction. **Methods** Seventy-eight Sprague-Dawley rats were randomized into infarction plus behavior training group, infarction group and control group. Photochemistry method was used to induce hippocampal infarction in rats of the infarction plus behavioral training group and infarction group. At 1 day after surgery, Morris water maze training was used for infarction plus behavioral training group, free-movement without training was performed for infarction group. Double staining immunofluorescence was used to detect the co-expression of bromodeoxyuridine (BrdU) with neuronal nuclei (NeuN) or glia fibrillary acidic protein (GFAP) in the DG at different time points. **Results** Few BrdU/NeuN and BrdU/GFAP double staining cells were observed in the DG of control rats. In the infarction group and infarction plus behavioral training group the number of BrdU/NeuN and BrdU/GFAP double-stained cells increased in the DG on the opposite side compared with the control group on 14th, 21st, 28th and 35th days after surgery ($P < 0.05$). There observed significantly more BrdU/NeuN and BrdU/GFAP double-stained cells in the infarction plus behavioral training group than that in the infarction group on the 14th, 21st, 28th and 35th days after surgery ($P < 0.05$). **Conclusion** Behavioral training can accelerate the differentiation of neural stem cells to neuron and astrocyte, by which to promote the recovery of neural functions.

【Key words】 Rats; Dentate gyrus; BrdU; NeuN; GFAP; Neural stem cell; Differentiation

Reynolds 等^[1]于 1992 年采用表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)从胎鼠纹状体中诱导出神经干细胞(neural stem cells, NSCs),并发现内源性 NSCs

参与脑梗死修复进程;另有研究发现,行为学训练能够促进内源性 NSCs 增殖及迁移^[2]。本研究采用溴脱氧尿嘧啶核苷(bromodeoxyuridine, BrdU)、神经元核心抗原(neuronal nuclei, NeuN)及胶质纤维酸性蛋白(glia fibrillary acidic protein, GFAP)分别标记 NSCs、成熟神经元及星形胶质细胞,通过观察海马梗死大鼠经行为学训练后其海马齿状回(dentate gyrus, DG)区 BrdU/NeuN 和 BrdU/GFAP 双标阳性细胞的变化情况,从而

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2009.04.002

作者单位:710032 西安,陕西省西安市第四军医大学西京医院康复与理疗科(李娅娜、袁华、牟翔、江山);解放军总医院第一附属医院理疗科(李玲)

通信作者:李玲;Email: liling0519@126.com

探讨行为学训练对 NSCs 分化能力的影响。现报道如下。

材料与方法

一、实验动物及主要试剂、设备

共选取 2 级雄性 SD 大鼠 78 只, 体重 (230 ± 10) g, 8~10 周龄, 由本校实验动物中心提供。主要实验试剂包括: 四氯四碘荧光素钠(虎红, RB, 北京化工厂生产, 批号 870672) 密封避光保存, 使用前用生理盐水稀释至 2.5%; 小鼠抗 GFAP 抗体、小鼠抗 NeuN 抗体(美国 Sigma 公司产品); 兔抗 BrdU 多克隆抗体(美国 Abcam 公司产品); 山羊抗兔 FITC、山羊抗小鼠 TRITC(中杉公司产品)。实验所用光源由本科室与中国科学院西安光学精密机械研究所联合研制, 光源为一充气氙灯, 输出功率为 $0.008 \sim 0.370 \text{ W/cm}^2$, 输出波长为 $490 \sim 530 \text{ nm}$, 输出端与一直径 0.6 mm 的石英光纤管相连。

二、动物分组及制模

将上述大鼠随机分为梗死训练组(36 只)、单纯梗死组(36 只)及正常对照组(6 只)。采用我科自行研制的光化学法将梗死训练组及单纯梗死组大鼠制成左侧海马梗死模型^[3], 制模方法如下: 采用 1% 戊巴比妥钠按 50 mg/kg 体重行腹腔注射麻醉, 待麻醉剂生效后将其固定于大鼠脑立体定位仪上, 沿头颅正中切开头皮暴露颅骨, 于前囟后 4.8 mm、中线向左旁开 3.5 mm 处用牙科钻钻一直径 1 mm 骨窗, 将光纤尾端插至皮质下 4.0 mm 处(相当于海马 CA1 区); 此时向大鼠股静脉注射虎红(注射剂量为 70 mg/kg 体重)并立即通过光纤照射左侧海马组织, 光照强度为 0.37 W/cm^2 , 照射时间为 30 min, 待光照结束后缝合大鼠头皮并正常喂养。

三、行为学训练

梗死训练组大鼠于造模后次日即进行 Morris 水迷宫训练, 该水迷宫为一直径 150 cm、高 70 cm 圆形水池, 内盛有乳白色液体, 水深 47 cm, 水温控制在 $21 \sim 24 \text{ }^\circ\text{C}$, 池壁四周分别标有东、西、南、北共 4 个入水点, 将水池分为四个象限, 将直径 8 cm、高 45 cm 的乳白色站台随机置于水池中任一象限并固定, 站台没于水面下 2 cm 处, 训练期间保持周围参照物位置不变。首先让大鼠自由游泳适应 2 min, 然后从水迷宫站台所在象限以外区域随机选择入水点, 将大鼠面向池壁放入水中, 记录大鼠寻找并爬上站台所需时间, 如大鼠在入水 2 min 内找不到站台, 则将其引至站台上持续 30 s 后放回笼中, 此时潜伏期计为 120 s。上述 Morris 水迷宫训练每天上午进行 3 次, 每次间隔 10 min。单纯梗死组大鼠于造模结束后正常饲养, 未给予行为学训练。

正常对照组大鼠则不给予任何特殊处理。

四、各组大鼠标本取材

梗死训练组和单纯梗死组大鼠分别于术后 1, 7, 14, 21, 28 及 35 d 时各取 6 只取材, 正常对照组大鼠于喂养 35 d 后取材。大鼠取材前按 50 mg/kg 体重腹腔注射 BrdU(用生理盐水将其稀释至 5 mg/ml), 每 4 h 注射 1 次, 共注射 3 次, 待最后 1 次 BrdU 注射 4 h 后, 采用 1% 戊巴比妥钠按 50 mg/kg 体重行腹腔注射麻醉, 于麻醉剂生效后打开胸腔、拨开心包膜暴露心脏, 剪开右心房放出血液, 再剪开左心室将灌注针插入主动脉并用动脉夹固定, 先输入 150 ml 生理盐水将血管组织内血液冲洗干净, 然后再注入 4% 多聚甲醛 500 ml (前 200 ml 快速灌注, 后 300 ml 缓慢灌注, 共持续 1.5 h), 灌注完毕后用咬骨钳咬破颅骨并取出脑组织, 将其置于 4% 多聚甲醛液中固定 2 h, 然后放入 20% 蔗糖溶液中于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱内保存直至标本沉底。切开大鼠脑组织标本, 可见其海马或邻近区域有直径约 3 mm 的圆形梗死灶, 提取海马部位标本进行连续冠状冰冻切片, 片厚约 50 μm , 隔五取一, 保存于 0.10 mol/L PBS 液中。

五、免疫荧光双标染色

首先将各组大鼠标本切片置入 0.01 mol/L KPBS 液中清洗 3 次, 10 min/次, 然后放入含 0.30% Triton X-100 的 KPBS 液中浸泡 30 min (室温环境下), 再用 0.01 mol/L KPBS 液清洗 3 次, 10 min/次; 依次加入 2XSSC (反应 5 min)、50% 甲酰胺 ($65 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下反应 2 h) 及 2XSSC (反应 5 min), 再置入 2 mol/L 盐酸中 (于 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 环境下) 反应 30 min; 紧接着加入 0.1 mol/L 硼酸 (pH 值为 8.5), 待反应 10 min 后再加入 0.10% Triton X-100 及 0.10% PBS 液反应 1 h (在室温条件下), 接下来加入兔抗 BrdU 及小鼠抗 NeuN、抗 GFAP 抗体, 于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下孵育 24 h; 完毕后用 0.01 mol/L KPBS 液清洗 3 次, 10 min/次, 然后加入山羊抗兔 FITC 和山羊抗小鼠 TRITC 于室温环境下孵育 2~4 h, 再用 0.01 mol/L KPBS 液清洗 3 次, 10 min/次, 最后贴片、封片。

六、数据采集与统计学分析

将各组大鼠标本切片置于激光共聚焦荧光显微镜下观察并采集图像, 从每只大鼠切片中挑选 3 张切片, 于高倍镜 ($\times 400$) 下选取海马 DG 区 3 个视野, 计数每视野中 BrdU/NeuN 和 BrdU/GFAP 阳性细胞数量, 所得数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示; 采用 Image-Pro Plus 5.0 版软件进行图像处理, 各组大鼠 BrdU/NeuN 和 BrdU/GFAP 阳性细胞数量选用 SPSS 11.0 版统计学软件包进行方差分析, 多样本均数间两两比较采用 LSD 法, 计数资料比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差

异具有统计学意义。

结 果

一、各组大鼠脑梗死侧(左侧)海马 DG 区 BrdU/GFAP 表达

各组大鼠海马 DG 区均有 BrdU/GFAP 双标阳性细胞表达(图 1a、b),其中正常对照组大鼠海马 DG 区颗粒层 BrdU/GFAP 双标阳性细胞计数为(1.21 ± 0.52)个/每视野;梗死训练组与单纯梗死组大鼠 DG 区 BrdU/GFAP 阳性表达水平于脑梗死后第 7 天时开始增高,但此时与正常对照组比较,组间差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);梗死训练组 BrdU/GFAP 阳性表达水平与单纯梗死组间差异亦无统计学意义($P > 0.05$);随着时间延长,发现梗死训练组大鼠 BrdU/GFAP 阳性表达水平逐渐增强,并于术后第 35 天时达到峰值,而单纯梗死组大鼠 BrdU/GFAP 阳性表达增高幅度相对较弱;进一步分析发现,在实验进行 14~35 d 期间,梗死训练组 BrdU/GFAP 阳性表达水平均显著高于单纯梗死组及正常对照组(均 $P < 0.05$)。

二、各组大鼠脑梗死侧(左侧)海马 DG 区 BrdU/NeuN 表达

各组大鼠海马 DG 区均有 BrdU/NeuN 双标阳性细胞表达(图 1c、d),其中正常对照组大鼠海马 DG 区颗粒层 BrdU/NeuN 双标阳性细胞计数为(1.63 ± 0.13)个/每视野;梗死训练组与单纯梗死组大鼠 DG 区 BrdU/NeuN 阳性表达水平均于脑梗死后第 7 天时开始增高,但此时与正常对照组比较,组间差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);梗死训练组 BrdU/NeuN 阳性表达水平与单纯梗死组间差异亦无统计学意义($P > 0.05$);随着时间延长,发现梗死训练组大鼠 BrdU/NeuN 阳性表达水平逐渐增强,并于术后第 35 天时达到峰值,而单纯梗死组大鼠 BrdU/NeuN 阳性表达增高幅度相对较弱;进一步分析发现,在实验进行 14~35 d 期间,梗死训练组大鼠 BrdU/NeuN 阳性表达水平均显著高于单纯梗死组及正常对照组(均 P

< 0.05)。

三、各组大鼠 BrdU 阳性细胞分化结果比较

对各组大鼠 BrdU 阳性细胞分化结果比较后发现,梗死训练组及单纯梗死组大鼠均于术后 35 d 时分化达到峰值,术后 35 d 时各组大鼠 BrdU 阳性细胞分化结果详见表 2,表中数据显示,梗死训练组大鼠分化细胞数量、BrdU/NeuN 及 BrdU/GFAP 双标阳性细胞所占百分比与单纯梗死组比较,组间差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);另外各组实验大鼠 BrdU/NeuN 双标阳性细胞所占百分比均显著高于 BrdU/GFAP 双标阳性细胞所占百分比(均 $P < 0.05$)。

讨 论

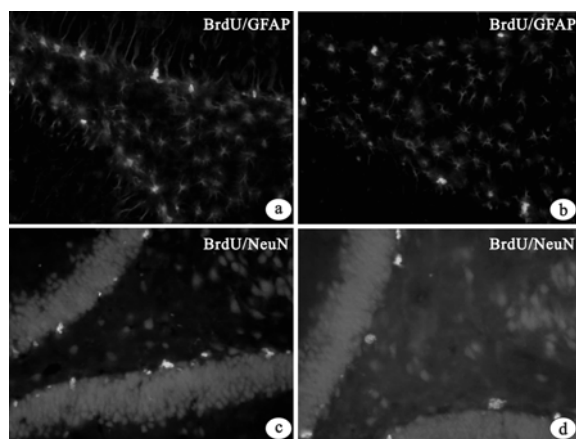
目前有大量研究证实,脑梗死能激活成年动物脑内源性 NSCs,从而诱导神经组织再生^[3];脑梗死后神经组织再生包括 NSCs 增殖、迁移及分化三个基本过程,内源性 NSCs 通过增殖并向损伤区迁移,分化产生新的细胞加快受损神经组织修复进程,其中 NSCs 分化是神经再生的最后关键步骤之一^[3]。NSCs 分化能力最终决定神经组织修复程度,所分化产生的细胞决定神经组织的修复水平及修复方式^[4],故如何提高 NSCs 的分化能力已成为目前研究的热点。

本研究采用 BrdU 标记 NSCs,采用 NeuN 和 GFAP 分别标记成熟神经元和胶质细胞,以观察行为学训练对 NSCs 分化能力的影响。BrdU 是一种胸腺嘧啶脱氧核苷类似物,在有丝分裂 S 期整合入 DNA,是增殖活性细胞的标志物^[4],只要细胞不消亡,BrdU 在胞核 DNA 中持续存在,近年来 BrdU 被广泛用于标记增殖及分化的 NSCs。NeuN 是一种可溶解核蛋白,也是神经系统特异性核调节因子之一^[5],其免疫反应性在成熟神经元中有表达,在未成熟神经元中无表达,因此可作为检测细胞发育成熟度的主要指标^[6]。GFAP 为胶质细胞中间丝蛋白,是星形胶质细胞的最重要细胞骨架成分,也是星形胶质细胞的重要标志物之一。

表 1 不同观察时间点各组大鼠脑梗死侧 DG 区 BrdU/GFAP 及 BrdU/NeuN 阳性表达水平比较(个/每视野, $\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	术后 1 d		术后 7 d		术后 14 d	
		BrdU/GFAP	BrdU/NeuN	BrdU/GFAP	BrdU/NeuN	BrdU/GFAP	BrdU/NeuN
梗死训练组	36	1.28 ± 0.46	1.56 ± 0.62	1.56 ± 0.71	2.18 ± 0.71	4.11 ± 0.90^a	7.56 ± 1.25^a
单纯梗死组	36	1.27 ± 0.56	1.33 ± 0.59	1.44 ± 0.71	1.94 ± 0.80	3.00 ± 1.19	4.89 ± 1.28
组 别		术后 21 d		术后 28 d		术后 35 d	
		BrdU/GFAP	BrdU/NeuN	BrdU/GFAP	BrdU/NeuN	BrdU/GFAP	BrdU/NeuN
梗死训练组		5.89 ± 0.90^a	10.39 ± 1.24^a	7.89 ± 1.08^a	12.00 ± 1.13^a	11.61 ± 2.0^a	18.22 ± 1.26^a
单纯梗死组		4.67 ± 0.77	5.94 ± 1.31	7.50 ± 1.25	7.50 ± 1.25	9.39 ± 1.58	10.83 ± 1.43

注:与单纯梗死组比较,^a $P < 0.05$



注:图 a、c 为梗死训练组,图 b、d 为正常对照组

图 1 术后第 35 天时梗死训练组与正常对照组大鼠海马区 BrdU/GFAP(a、b)及 BrdU/NeuN(c、d)阳性表达(免疫组化染色,×400)

表 2 术后 35 d 时各组大鼠脑梗死侧 DG 区 BrdU/GFAP 与 BrdU/NeuN 阳性细胞数量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	分化细胞数量 (个/每视野)	BrdU/GFAP 所占百分比(%)	BrdU/NeuN 所占 百分比(%)
梗死训练组	36	29.83 ± 2.23 ^a	26.61 ± 4.73 ^a	56.83 ± 4.74 ^{ab}
单纯梗死组	36	20.22 ± 2.60	37.17 ± 3.90	49.83 ± 3.90 ^b

注:与单纯梗死组比较,^a $P < 0.05$;与 BrdU/GFAP 所占百分比比较,^b $P < 0.05$

国内、外已有大量关于康复训练治疗脑梗死的基础及临床报道。有研究发现,运动皮质被切除的实验猴经精细运动技巧训练后,可出现邻近皮质功能替代现象^[7];Black 等^[8]研究发现技巧性平衡训练可刺激脑梗死大鼠神经突触增生;Stroemer 等^[9-10]观察到脑损伤大鼠在行为功能恢复同时,其缺血灶同侧及对侧皮质中突触素和生长相关蛋白-43(growth associated protein-43, GAP-43)表达水平增高,提示康复训练能促进轴突生长及神经突触形成;姚志彬等^[11-12]也发现长期运动训练能促进实验大鼠神经元树突出芽及新突触形成,抑制海马突触素减少,并能增加神经突触数量。以上研究结果均表明:康复训练对促进大脑可塑性及受损神经功能恢复具有重要作用。

行为学训练也是康复运动训练的一种,主要通过训练患者学习、记忆、空间辨别、觅食等本能行为能力,促进其受损行为的功能恢复。有研究发现,当实验大鼠发生海马梗死后,可出现明显学习、记忆功能障碍^[13,14],经行为学训练后,其学习、记忆能力明显改善;在后续实验中还发现,行为学训练可通过增强大鼠海马梗死灶及颞叶皮质 N-甲基-D-天门冬氨酸受体 2B 亚单位(N-methyl-D-aspartate receptor 2B, NR2B)表达来提高学习、记忆功能^[15]。本研究前期实验发现,与模型组脑梗死大鼠比较,训练组降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)、热休克蛋白 70

(heat shock protein 70, HSP70)阳性表达增强^[16,17],一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)阳性神经元数量下降速度延缓,NO 释放增加^[18],DG 区神经生长因子(nerve growth factor, NGF)表达上调等^[19],提示行为学训练可通过多条途径促进脑缺血后神经组织再生。

Liu 等^[20]研究后发现,实验大鼠 NSCs 数量在脑缺血后 14 d 时达到峰值,细胞增殖数量在脑缺血后 3~5 周时下降至对照组水平,推测 NSCs 具有“内源性修复时间窗”,在该“时间窗”内采取措施调控 NSCs 增殖、迁移及分化功能,可能对提高大脑可塑性、促进神经功能恢复具有重要作用。本研究通过观察术后 1~35 d 期间行为学训练对大鼠 NSCs 分化能力的影响,发现梗死训练组和单纯梗死组大鼠海马 DG 区 BrdU/NeuN 和 BrdU/GFAP 阳性表达水平平均高于正常对照组,提示实验大鼠发生脑梗死后,其 NSCs 分化为成熟神经元及星形胶质细胞的数量增多,可能与脑梗死作为一种刺激因素促进海马 DG 区 NSCs 增殖、迁移及分化有关。随着时间进展,发现梗死训练组大鼠 BrdU/NeuN 和 BrdU/GFAP 阳性细胞表达水平均显著高于单纯梗死组,其可能原因包括以下方面:①行为学训练提高了 NSCs 分化功能;②行为学训练促进大鼠海马 DG 区 NSCs 增殖、迁移,从而使参与分化的 NSCs 数量增加;③行为学训练促进星形胶质细胞增殖,而星形胶质细胞的前体放射状胶质细胞在 NSCs 向梗死灶迁移过程中发挥重要作用,间接促进了 NSCs 迁移^[21];其次星形胶质细胞也能逆分化为 NSCs,从而使参与分化的 NSCs 数量增加。此外,本研究还观察到各组大鼠 BrdU/NeuN 和 BrdU/GFAP 双标阳性细胞表达水平在术后 28 d 时开始增强,于术后 35 d 时达到峰值,这与 Iwai 等^[22]的研究结果基本一致。本研究各组大鼠 BrdU/NeuN 双标阳性细胞比例均明显高于 BrdU/GFAP 双标阳性细胞比例,提示实验大鼠发生海马梗死后,大多数 NSCs 分化为成熟神经元;至于新分化神经元的存活时间及如何与其它神经细胞建立突触联系并参与功能修复还有待进一步研究。

综上所述,本研究结果表明,行为学训练能提高单侧海马梗死大鼠 DG 区 BrdU/NeuN 和 BrdU/GFAP 阳性表达,促进 NSCs 分化,对改善脑缺血大鼠学习、记忆功能具有显著促进作用。

参 考 文 献

- [1] Reynolds BA, Fetalaff W, Weiss SA. Multipotent EGF-responsive striatal embryonic progenitor cell produces neurons and astrocytes. J Neurosci, 1992, 12:4565-4574.
- [2] 江山, 李玲, 袁华, 等. 行为学训练对大鼠海马梗死后齿状回区神经干细胞迁移能力的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2006, 28: 510-514.

- [3] 潘慧娟,李玲,刘卫,等.光化学法诱导大鼠单侧海马梗死模型的实验研究.中国康复医学杂志,2005,20:87-89.
- [4] Crai RK, Hall L, Edbrooke MR, et al. Partial nucleotide sequence of human calcitonin precursor mRNA identifies flanking cryptic peptides. Nature, 1982, 295:345-347.
- [5] Cole DJ, Drummond JC, Osborne TN, et al. Hypervolemic-hemodilution and hypertension during temporary middle cerebral artery occlusion in rats: the effect on blood-brain barrier permeability. Can J Neurol Sci, 1990, 17:372-377.
- [6] Patel PM, Drummond JC, Cole DJ. Induced hypertension during restoration of flow after temporary middle cerebral artery occlusion in the rat: effect on neuronal injury and edema. J Neurol, 1991, 36:195-201.
- [7] Nudo RJ, Wise BM, Sifuentes F, et al. Neural substrates for the effects of rehabilitative training on motor recovery after ischemic infarct. Science, 1996, 272:1791-1794.
- [8] Black JE, Isaacs KR, Anderson BJ, et al. Learning causes synaptogenesis whereas motor activity causes angiogenesis in cerebellar cortex of adult rats. Proc Nat Acad Sci, 1990, 87: 5568-5572.
- [9] Stroemer RS, Kent TA, Hulsebosch CE. Neocortical neural sprouting, synaptogenesis and behavioral recovery after neocortical infarction in rats. Stroke, 1995, 26:2135-2144.
- [10] Stroemer RS, Kent TA, Hulsebosch CE. Increase in synaptophysin immunoreactivity following cortical infarction. Neurosci Lett, 1992, 147: 21-24.
- [11] 陈运才,姚志彬,陈以慈,等.运动对小鼠小脑皮质和脊髓内突触素年龄变化的影响.解剖学报,1994,25:263-267.
- [12] 洪岸,姚志彬,顾耀铭,等.老年大鼠学习记忆减退与海马结构的突触素改变.解剖学报,1996,27:164-168.
- [13] 李玲,潘慧娟.康复训练对双侧海马梗死大鼠学习记忆功能的影响.第四军医大学学报,2004,25:2102-2104.
- [14] 潘慧娟,李玲,刘卫,等.光化学法诱导大鼠双侧海马梗死模型的建立.中华物理医学与康复杂志,2006,27:645-648.
- [15] 潘慧娟,李玲,杨华,等.行为训练对大鼠海马梗死灶周围及颞叶皮质 NR2B 表达的影响.中国康复理论与实践,2006,12:5-7.
- [16] 李玲,袁华,徐莉.康复训练对大鼠脑梗死后 CGRP 表达的影响.第四军医大学学报,2001,22:1365-1367.
- [17] 李玲,袁华,牟翔,等.康复训练对大鼠脑梗死后 Fos 和 HSP70 表达的影响.第四军医大学学报,2001,22:901-904.
- [18] 李微,李玲,牟翔,等.康复训练对脑梗死大鼠皮质一氧化氮合酶阳性神经元表达的影响.中华物理医学与康复杂志,2001,23: 275-278.
- [19] 江山,李玲,袁华,等.行为学训练对大鼠海马梗死后齿状回区神经生长因子表达的影响.中国康复理论与实践,2006,12:207-209.
- [20] Liu J, Solway K, Messing RO, et al. Increased neurogenesis in the dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils. J Neurosci, 1998, 18:7768-7778.
- [21] 袁华,龙华,李玲.康复训练对脑梗死大鼠皮质 S-100、GFAP 和 BrdU 表达的影响.中华物理医学与康复杂志,2003,25:520-523.
- [22] Iwai M, Sato K, Omori N, et al. Three steps of neural stem cells development in gerbil dentate gyrus after transient ischemia. J Cereb Blood Flow Metab, 2002, 22:411-419.

(收稿日期:2008-09-29)

(本文编辑:易 浩)

《中华物理医学与康复杂志》2009 年第 4 期“继续教育园地”答题卡

(文章见本期 279-281 页,测试题见本期 218 页)

姓 名	_____	性别	_____	1.	A	B	C	D
职 称	_____			2.	A	B	C	D
工作单位	_____			3.	A	B	C	D
联系电话	_____	邮编	_____	4.	A	B	C	D
地 址	_____			5.	A	B	C	D

答题卡请寄: 430030 武汉市解放大道 1095 号同济医院《中华物理医学与康复杂志》编辑部收(该答题卡复印有效)