

· 基础研究 ·

运动训练对大鼠新生期惊厥所致认知损害和海马 CaMKII 表达的影响

倪宏 姜玉武 楼江燕 王浙东 吴希如

【摘要】目的 探讨新生期大鼠单次长程或反复惊厥对学习、记忆能力和海马突触后致密物质 CaMKII 表达的影响及运动训练的干预作用。**方法** 生后 6 d 的 SD 大鼠 36 只随机分成单次长程惊厥组(SS 组)、反复惊厥组(RS 组)和对照组,每组 12 只。3 组大鼠分别于生后 27~31 d、58~61 d、80~82 d 进行 3 次 Morris 水迷宫实验。期间于生后 51~56 d 对 SS 组和 RS 组进行踏转轮训练。最后制作脑组织切片观察 CaMKII 在海马中的表达。**结果** ①搜寻策略:第 1 次 Morris 水迷宫实验各组 1~5 d 边缘式搜寻比例均呈逐渐减少趋势,但 RS 组第 3 天~第 4 天边缘式搜寻比例仍明显高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.01$),同时趋向式搜寻比例则均呈逐渐增加趋势,但 RS 组第 3 天~第 4 天趋向式搜寻比例仍明显低于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.01$);而第 2 次和第 3 次水迷宫实验 3 组间趋向式和直线式搜寻策略差异无统计学意义。②记忆实验:RS 组 1~3 d 趋向式搜寻比例均明显低于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。③CaMK II 原位杂交:各组 CaMK II mRNA 在海马均有明显表达,但是在齿状回 RS 组表达明显低于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 新生期反复长程惊厥能学习和记忆功能产生远期损害,可能与海马记忆分子 CaMK II 表达下调有关;而单次长程惊厥对学习记忆无明显影响。早期运动训练能明显改善反复惊厥所致学习能力损害,但对记忆能力效果仍较差。

【关键词】 惊厥; Morris 水迷宫; 运动训练; CaMKII

Long-term effects of neonatal seizures and physical exercise on learning, memory and CaMK II expression in hippocampus of rats NI Hong*, JIANG Yu-wu, LOU Jiang-yan, WANG Zhe-dong, WU Xi-ru. * Institute of Pediatric, Suzhou University Affiliated Children's Hospital, Suzhou 215003, China

【Abstract】 Objective To observe the long-term effects of neonatal seizures and physical exercise on learning, memory and the expression of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII). **Methods** Thirty-six neonatal Sprague-Dawley rats aged 6 days were randomized into 3 groups: the single-seizure group (SS), the recurrent-seizure group (RS) and the control group. The rats in the RS and SS groups were put under forced running exercise program daily for one week once they reached the age of 51 days. Morris water-maze test were performed with the rats when they reach the age of 27-31, 58 to 61 days and 80 to 82 days. In situ hybridization method was used to detect the expression of CaMKII mRNA in hippocampus. **Results** ①Searching strategy: In the first Morris water-maze test, there was a decreasing tendency of marginal strategy and an increasing trend of taxis strategy in three groups, but the frequency of use of marginal strategy was higher and t of taxis strategy was lower in RS group than that in SS and control groups in the third and fourth day ($P < 0.01$). However, there were no significant differences among the three groups in the second and third Morris water-maze test. The escape latency of RS group was much longer than that of SS and control groups. There was no significant difference between the SS group and control group. ②Memory test: the frequency of use of taxis strategy was much lower in RS group than that in SS and control groups in the first to third day ($P < 0.01$). ③In situ hybridization detection showed that the expression of CaMKII mRNA in dentate gyrus was much lower in RS group than that in SS and control groups ($P < 0.01$). **Conclusion** Recurrent but not single prolonged seizures might cause long-term effects on learning and memory, which might be associated with the down-regulated expression of CaMKII mRNA in hippocampus. Physical exercise may improve the learning capacity but not the memory capacity of the rats with recurrent-seizure RS group.

【Key words】 Seizure; Morris water-maze; Physical exercise; CaMKII

基金项目:国家自然科学基金(30470555);江苏省高校自然科学基金资助(07KJB320103)

作者单位:215003 苏州,苏州大学附属儿童医院儿科研究所(倪宏),神经内科(楼江燕、王浙东);北京大学第一医院儿科神经组(姜玉武、吴希如)

新生儿期惊厥是十分常见的临床病症,常常是不良神经后遗症的先兆^[1]。临床资料显示,新生儿期反复惊厥后,除了增加癫痫的发生率之外,有 20% ~ 40% 出现残障,在早产儿中几乎达到 90%,尤其可致智力障碍^[2]。因此,对发育期惊厥后脑兴奋毒性损伤后引起的远期预后的研究,尤其是分子机制及其干预的研究具有重要的临床意义。

在我们的前期基础研究发现,生后 6 d 的大鼠采用三氟乙醚吸入建立新生大鼠长程或反复惊厥模型,于发育中不同时间点直到成年期检测行为改变,发现惊厥阈下降,学习记忆和活动水平受到损害,并且与海马 NMDA 受体和 GABA 受体亚基表达异常相关^[3,4]。本研究在上述工作基础上进一步探讨运动训练对发育期惊厥性脑损伤的认知功能影响及其机制。因为新近研究表明,运动训练可以改善儿童脑可塑性。本研究拟以 Morris 水迷宫搜寻策略指标为行为学观测指标,以记忆分子 CaMKII 为分子标记物,于大鼠海马组织观察其齿状回区 CaMKII mRNA 阳性细胞的数目,从而探讨运动训练对新生儿期惊厥所致认知和 CaMKII 表达的影响,为脑性瘫痪儿童的临床康复提供理论依据。

材料与方法

一、实验材料

1. 实验动物:日龄 6 d 的 SD 大鼠 36 只,体重 8.30 ~ 15.30 g,清洁级,由浙江省医学科学院实验动物中心提供。所有大鼠在避强光、24 h 昼夜循环、避噪音、自由饮食和进水条件下饲养。

2. 主要试剂:三氟乙醚 (Aldrich Chem. Co., P. O. Box355) 密封避光保存;两端标记寡核苷酸探针干粉、寡核苷酸探针稀释液、寡核苷酸探针预杂交液、复合消化液、生物素标记的小鼠抗地高辛、高敏过氧化物酶链亲和素复合物、二乙基焦磷酸胺 (diethyl pyrocardonate, DEPC)、二氨基联苯胺 (3,3'-diaminobenzidine-tetrachloride, DAB) 试剂盒、蛋白酶 K、乙二胺四乙酸二钠 (ethylene diaminetetracetic acid, EDTA)、曲拉通 X-100,均为 TBD 公司产品。

二、行为学训练器材

1. Morris 水迷宫:包括一个盛有水的圆形水池、隐藏在水面下的平台及一套图像自动采集和处理系统 (摄像机、录像机、显示器和分析软件等)。水池直径为 1.2 m,高为 0.5 m,内置一高为 0.3 m 的平台,水池内加入水量稍没过平台,使平台位于水下 2 cm,另外加入脱脂奶粉使液体呈乳白色,从而使动物在行为训练时无法看见平台。在水池边缘上等距离设 4 个标记点,将水池等分为 4 个象限,平台置于第三象限的中

央,并隐藏于水面下 2 cm,水温 (25 ± 1) °C。

2. 踏转轮训练仪器:包括同步低频电动机、变频调速器和钢质转轮三部分。转轮直径为 21 cm、宽为 26 cm、周长为 63 cm,可在同步低频电动机的驱动下进行转动,转动的快慢可由变频调速器来控制。用秒表记录转轮转动 1 周的时间,根据周长计算出转轮的速度。

三、实验动物操作方法

1. 三氟乙醚致新生儿期大鼠惊厥模型的制作^[3]:取日龄 6 d 的 SD 大鼠 36 只,根据随机数字表法对实验动物进行随机化区组设计,将实验动物分为对照组、单次长程惊厥组 (SS 组) 和反复惊厥组 (RS 组),每组 12 只。将 SS 组和 RS 组仔鼠放置于 40 cm × 20 cm × 20 cm 的实验舱中,通过舱顶的注射孔滴入 0.1 ml 三氟乙醚,封闭实验舱,从仔鼠出现惊厥开始计时,30 min 后取出仔鼠,观察仔鼠 4 h。仔鼠每天诱导惊厥 1 次,SS 组诱导 1 d,RS 组连续诱导 6 d。对照组仔鼠除不给予三氟乙醚外,其他处理与 SS 组和 RS 组完全相同。

2. Morris 水迷宫实验^[5]:① Morris 水迷宫实验方法。水迷宫设备由圆形水池和自动录像及分析系统两部分组成。将每只动物头部染黑,于象限边 1/2 弧度处将动物头朝池壁入水,60 s 未找到平台者,将其引至平台。每次训练后大鼠在平台停留 20 s,再进行下一次训练。Morris 水迷宫测试程序主要包括定位航行试验和空间探索实验两个部分。其中定位航行实验 (place navigation) 历时数天。空间探索实验 (spatial probe) 是在定位航行实验后去除平台,然后任选一个入水点将大鼠放入水池中,记录其在一定时间内的游泳轨迹,考察大鼠对原平台的记忆。② 观察指标。以搜索策略为观测指标。大鼠搜寻平台的策略分直线式 (straight)、趋向式 (taxis)、随机式 (random) 和边缘式 (marginal)。直线式指以入水点与平台中点连线为中轴线,大鼠沿近似于直线的运动轨迹搜寻平台;趋向式类似于直线式,只是偏离上述的中轴线较多;边缘式是以大鼠运动区域的中点为圆心,取一定半径作圆,大鼠的大部分运动轨迹均落在圆以外,近似于大鼠沿池内壁做环绕平台的边缘运动;随机式指不符合以上任何一种搜索策略的运动方式。从搜寻平台的效率看,直线式 > 趋向式 > 随机式 > 边缘式。

3 组大鼠在生后 27 d 始行第一次 Morris 水迷宫实验,每天 2 次,训练大鼠寻找水下平台,每次随机选择入水象限,连续 5 d。最后一天去除平台再进行一次空间探索实验。

3. 踏转轮运动训练^[5]:生后 51 d ~ 56 d,将 SS 组和 RS 组动物置于转轮中,转轮速度为 8 ~ 9 m/min,每

天训练 1 次,每次训练 30 min,连续 6 d;将对照组动物同样置于转轮中,速度为 0,放置时间与次数同前。

4. 第二、三次水迷宫实验:在生后 58 d ~ 61 d、80 d ~ 82 d 再进行第二、三次水迷宫实验,操作方法同第一次。

5. 石蜡标本制作:生后 82 d 大鼠用复合麻醉剂腹腔注射(3ml/kg 体重)麻醉 2 h 后,经左心室插管至主动脉,用血管钳固定,用小剪刀剪开右心耳。先灌流生理盐水 50 ml,再用 4℃、4% 多聚甲醛(paraformaldehyde, PFA)50 ml 缓慢灌流。立即断头取脑。脑组织在 4% PFA 后固定 24 h,20% 蔗糖溶液 24 h,取海马部分组织块。室温下进行梯度酒精脱水:70% 乙醇 120 min,80% 乙醇 180 min,95% 乙醇 180 min,95% 乙醇 840 min(过夜),100% 乙醇 60 min,100% 乙醇 60 min;二甲苯透明;石蜡包埋;轮转式切片机切片,切片厚度为 3 μ m。

6. 切片 mRNA 原位杂交步骤:Dig-标记的单核苷酸 CaMKII 探针序列为 5'-AACCA GCAAG ATATA CAGGA TGACG CCACA GG-3',采用 TBD 的原位杂交试剂盒。具体步骤为:石蜡切片脱蜡至水;置打孔液中室温 10 min;过氧化氢封闭液室温 20 min;复合消化工作液室温 10 min;预杂交工作液 37℃ 湿盒孵育 2 h;0.2 $\times$ SSC 室温洗 3 次,每次 5 min;杂交工作液 37℃ 湿盒孵育 4 h;2 $\times$ SSC 37℃ 洗 3 次,每次 5 min;滴加小鼠抗地高辛生物素标记的抗体工作液(现用现配);滴加高敏过氧化物酶链亲和素复合物工作液(现用现配);DAB 显色,细胞浆显棕黄色颗粒为阳性反应。80% 乙醇 $\rightarrow$ 90% 乙醇 $\rightarrow$ 无水乙醇 $\rightarrow$ 二甲苯脱水,每步须 3 ~ 5 min,中性树胶封片保留。

7. 图像分析:采用德国产 LEICA QWin 图像处理与分析系统对标本图像进行分析,分别于每只大鼠切片中选取呈典型反应的 2 张切片检测其海马结构及海马齿状回区 CaMKII mRNA 阳性反应的灰度值,另外再测其周边背景灰度值,两值相减后的平均值为其最终灰度值。

四、统计学分析

数据以($\bar{x} \pm s$)表示,原位杂交灰度数值用 SAS 软件按完全随机成组设计资料进行方差分析,多个样本均数间两两比较采用 *t* 检验;搜寻策略数值采用 RIDIT 分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、第一次水迷宫实验

从 5 d 的搜寻策略来看,各组边缘式搜寻比例均呈逐渐减少趋势,但 RS 组第 3 天 ~ 第 4 天边缘式搜寻

比例仍明显高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.01$,图 1,2),到第五天接近正常水平。另一方面,各组趋向式搜寻比例均呈逐渐增加趋势,但 RS 组第 3 天 ~ 第 4 天趋向式搜寻比例仍明显低于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.01$,图 3)。

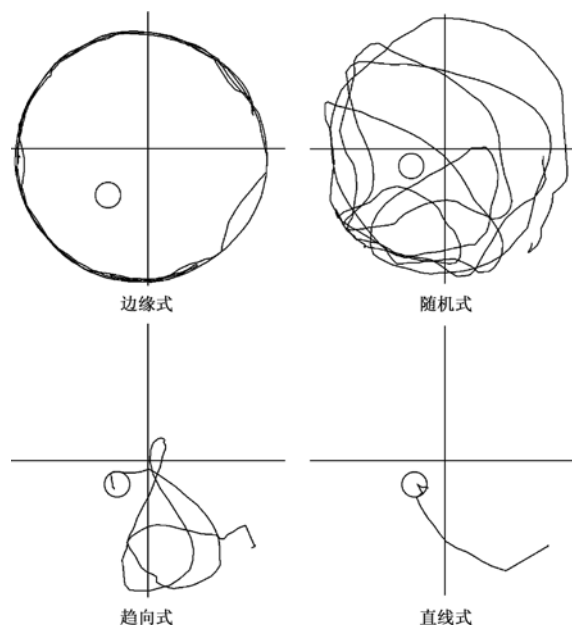
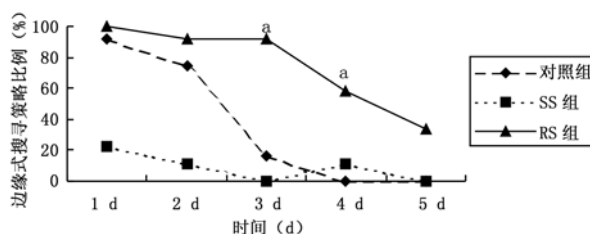
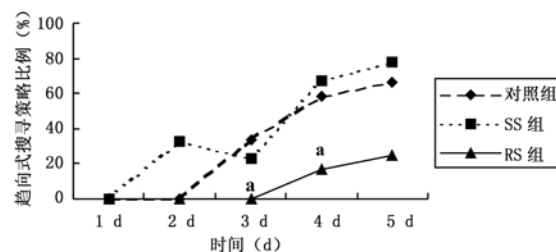


图 1 Morris 水迷宫实验中 4 种搜寻策略示意图



注:各组边缘式搜寻比例均呈逐渐减少趋势,但 RS 组第 3 天 ~ 第 4 天边缘式搜寻比例仍明显高于对照组,^a $P < 0.01$

图 2 第一次 Morris 水迷宫实验各组 1 ~ 5 d 天边缘式搜寻策略变化趋势图



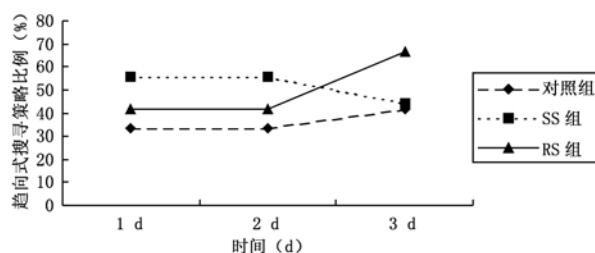
注:各组趋向式搜寻比例均呈逐渐增加趋势,但 RS 组第 3 天 ~ 第 4 天趋向式搜寻比例仍明显低于对照组,^a $P < 0.01$

图 3 第一次 Morris 水迷宫实验各组 1 ~ 5 d 趋向式搜寻策略变化趋势图

二、第二次迷宫实验

本次迷宫实验之前进行了踏转轮训练。从搜寻

策略来看,3 组趋向式搜寻比例差异无统计学意义(图 4)。

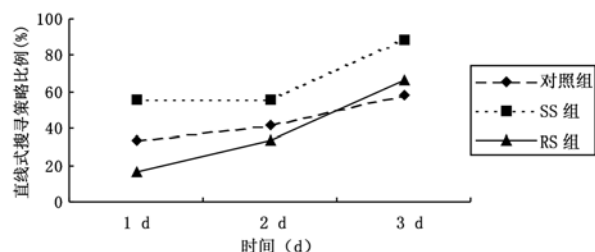


注:各组趋向式搜寻比例差异无统计学意义

图 4 第二次 Morris 水迷宫实验各组 1~3 d 趋向式搜寻策略变化趋势图

三、第三次水迷宫实验

3 组的搜寻策略差异无统计学意义,但是从数值来看,各组直线式搜寻比例有增多趋势(图 5)。

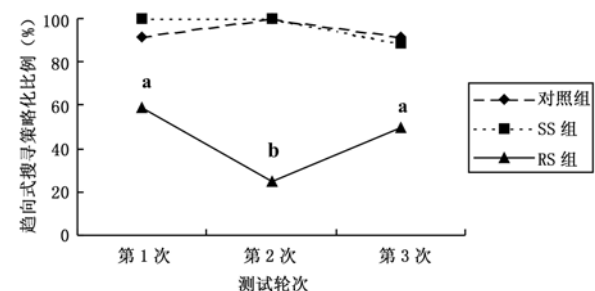


注:各组直线式搜寻比例差异无统计学意义

图 5 第三次 Morris 水迷宫实验各组 1~3 d 直线式搜寻策略变化趋势图

四、三次记忆实验的比较

从趋向式搜寻策略来看,RS 组的搜寻策略最差,1~3 d 趋向式搜寻比例均明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$,图 6)



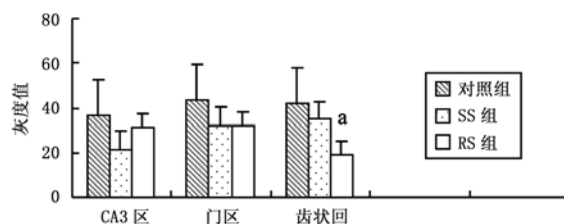
注:RS 组 1~3 d 趋向式搜寻比例均明显低于对照组,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$

图 6 3 次 Morris 水迷宫记忆测试。各组 1~3 d 趋向式搜寻策略变化趋势图

五、CaMK II 原位杂交结果

CaMK II mRNA 阳性神经元呈棕黄色,分布于海马各区。灰度分析显示 RS 组在齿状回表达明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),而在 CA3 区和

门区未见明显差异(图 7,8a-8c)。



注:在齿状回 RS 组表达明显低于对照组,^a $P < 0.01$

图 7 各组 CaMK II mRNA 在海马均有明显表达

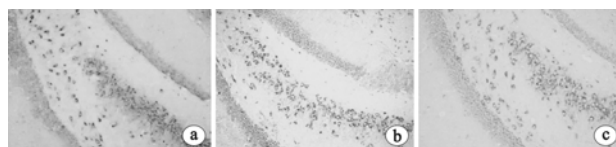


图 8a 对照组 CaMK II mRNA 在海马的表达(原位杂交染色, $\times 100$); 图 8b SS 组 CaMK II mRNA 在海马的表达(原位杂交染色, $\times 100$); 图 8c RS 组 CaMK II mRNA 在海马的表达(原位杂交染色, $\times 100$)

讨 论

新生期大鼠三氟乙醚吸入性惊厥具有惊厥诱发迅速、明确、死亡率低等特点,是研究临床新生儿期惊厥的理想动物模型。我们在国内率先开展了新生期三氟乙醚诱发惊厥的系列基础研究,结果表明,在一系列新生期惊厥后,成年期发生了认知缺损并且伴有脑内形态学和相关受体基因表达的改变^[3,4]。Liu 等^[6]发现,发育期反复三氟乙醚惊厥导致成年时学习记忆受损和惊厥阈降低。Sogawa 等^[7]通过生后 9 d 内一连串三氟乙醚惊厥后的研究也发现,数周后大鼠的视觉-空间学习记忆能力受损和惊厥阈下降。本实验的结果与上述研究相一致,但是我们增加了学习记忆的多个测量时间,对发育期惊厥造成的认知损害进行了动态观察,并且增加了运动训练的干预研究,这在国内外研究中是不多见的。本实验表明,发育期反复惊厥可造成严重的远期学习记忆损害,并且早在生后 27 d 就已出现了认知损害。

干预模型较多的都是药物干预,有复方丹参、川芎嗪、鱼肝油或抗癫痫药戊巴比妥、妥泰等^[8,9],这些只针对减少惊厥的发生、保护急性期发作的脑损伤,而对发育期反复惊厥所致认知功能损害,目前仍无理想的非药物干预手段。但是近年来在成年期动物研究中发现,运动训练可以影响脑的可塑性,改善脑损伤引起的认知缺陷。江山等^[10]报道,行为训练能够显著增强成年大鼠海马梗死后齿状回区多聚唾液酸神经细胞黏附分子表达,增强神经干细胞的迁移能力,促进神经功能恢复。谭来勋等^[11]报道,运动训练可促进脑梗死成年

大鼠梗死周边区域突触重建及功能恢复,使星形胶质细胞活性增强并促进胆固醇分泌。杜厚伟等^[12]发现,运动训练可刺激脑缺血成年大鼠功能康复。Arida 等发现^[13],短期运动训练,包括主动的和强迫的,都能增加癫痫大鼠的海马可塑性改变,只是这些变化只发生在癫痫的早期阶段。Setkowicz 等^[14]通过大鼠踏转轮和游泳训练的研究,发现运动训练能降低惊厥易感性。他们的运动干预训练先于惊厥模型的制作,转轮的转速达 12 ~ 18 m/min,持续 14 ~ 20 min,连续 45 d。由于我们进行的是发育期惊厥的早期干预,运动训练时大鼠仍处于发育期,因而我们采取较慢的转速,以减少运动应激造成的脑损伤。本研究踏转轮训练转速 8 ~ 9 m/min,每天持续 30 min,连续 6 d,结果表明,运动训练对发育中惊厥所产生的学习损害有一定的干预效果,但对记忆能力的效果不明显。

为了进一步探讨运动训练对发育期惊厥所致学习记忆损害的分子机制,我们研究了海马部分的 CaMK II 表达情况。CaMK II 即钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II (Ca^{2+} /calmodulin kinase II, CaMK II),位于突触后致密斑(postsynaptic density, PSD),为 PSD 的主要成分。CaMKII 是脑内含量最丰富的激酶之一,尤其在海马中表达丰富。它占脑内总蛋白的 0.5% ~ 1.0%,海马蛋白的 2%,在调节神经兴奋性和神经功能方面起重要作用。海马内 CaMKII 与学习记忆功能关系密切,它在神经递质的合成与释放、骨架蛋白磷酸化、突触可塑性、基因表达及脑内葡萄糖代谢等方面有着重要的生物学作用,是神经信息传导通路中的重要因子^[15-18]。在 Ca^{2+} 、CaM 作用下自身磷酸化激活后能较长时间保持不依赖 Ca^{2+} 的激酶活性,在细胞内 Ca^{2+} 水平恢复正常后仍自动维持磷酸化状态,从而记住曾发生过的强直刺激及其所引起的短暂的细胞内 Ca^{2+} 升高,海马 LTP 产生后, CaMKII 大量增加,因而被称为记忆分子。根据 CaMK II 灰度测定结果,我们发现 RS 组海马齿状回 CaMK II 灰度较对照组明显减低,具有统计学意义。结合行为学测定结果,说明发育期反复惊厥可造成海马齿状回 CaMK II 表达下调,并可能与行为学的变化有关。

综上所述,本研究表明,新生期反复长程惊厥能够学习和记忆功能产生远期的损害,可能与海马记忆分子 CaMKII 表达下调有关;而单次长程惊厥对学习记忆无明显影响。早期运动训练能够明显改善反复惊厥所致学习能力损害,但对记忆能力效果仍较差。

参 考 文 献

[1] Scher MS. Neonatal seizures and brain damage. *Pediatr Neurol*, 2003, 29:381-390.

- [2] Scher MS, Aso K, Beggarly ME, et al. Electrographic seizures in preterm and full term neonates: clinical correlates, associated brain lesions and risk for neurological sequelae. *Pediatrics*, 1993, 91:128-134.
- [3] Ni H, Jiang YW, Bo T, et al. Long-term effects of neonatal seizures on subsequent N-methyl-D-aspartate receptor-1 and gamma-aminobutyric acid receptor A-alpha 1 receptor expression in hippocampus of the Wistar rat. *Neurosci Lett*, 2004, 368: 254-257.
- [4] Ni H, Jiang YW, Bo T, et al. C-Fos, N-methyl-D-aspartate receptor 2C, GABA-A-alpha 1 immunoreactivity, seizure latency and neuronal injury following single or recurrent neonatal seizures in hippocampus of Wistar rat. *Neurosci Lett*, 2005, 380:149-154.
- [5] Xu WP, Shan LD, Gong S, et al. Forced running enhances neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of adult rats and improves learning ability. *Sheng Li Xue Bao*, 2006, 58:415-420.
- [6] Liu Z, Yang Y, Silveira DC, et al. Consequences of recurrent seizures during early brain development. *Neuroscience*, 1999, 92: 1443-1454.
- [7] Sogawa Y, Monokoshi M, Silveira DC, et al. Timing of cognitive deficits following neonatal seizures: relationship to histological changes in the hippocampus. *Brain Res Dev Res*, 2001, 131:73-83.
- [8] Chen CC, Chaung HC, Chung MY, et al. Menhaden fish oil improves spatial memory in rat pups following recurrent pentylentetrazole-induced seizures. *Epilepsy Behav*, 2006, 8:516-521.
- [9] Lai MC, Holmes GL, Lee KH, et al. Effect of neonatal isolation on outcome following neonatal seizures in rats-the role of corticosterone. *Epilepsy Res*, 2006, 68:123-136.
- [10] 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.
- [11] 谭来勋, 孙圣刚, 张张国. 运动训练诱发大鼠脑梗死周边区域神经突触变化的机制. *中华物理医学与康复杂志*, 2006, 28:433-436.
- [12] 杜厚伟, 刘楠, 陈荣华, 等. 康复训练对脑缺血大鼠神经功能恢复和脑组织中白介素 10 含量变化的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2006, 28:149-152.
- [13] Arida RM, Scorza CA, Scorza FA, et al. Effects of different types of physical exercise on the staining of parvalbumin-positive neurons in the hippocampal formation of rats with epilepsy. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*, 2007, 31:814-822.
- [14] Setkowicz Z, Mazur A. Physical training decreases susceptibility to subsequent pilocarpine-induced seizures in the rat. *Epilepsy Res*, 2006, 71: 142-148.
- [15] Mizuno K, Giese KP. Hippocampus-dependent memory formation: do memory type-specific mechanisms exist? *J Pharmacol Sci*, 2005, 98: 191-197.
- [16] Li L, Sengupta A, Haque N, et al. Memantine inhibits and reverses the Alzheimer type abnormal hyperphosphorylation of tau and associated neurodegeneration. *FEBS Lett*, 2004, 566:261-269.
- [17] Zhu G, Okada M, Yoshida S, et al. Pharmacological discrimination of protein kinase associated exocytosis mechanisms between dopamine and 3,4-dihydroxyphenylalanine in rat striatum using in vivo microdialysis. *Neurosci Lett*, 2004, 363:120-124.
- [18] Lin KF, Chan g RC, Suen KC, et al. Modulation of calcium/calmodulin kinase-II provides partial neuroprotection against beta-amyloid peptide toxicity. *Eur J Neurosci*, 2004, 19:2047-2055.

(修回日期:2007-10-15)

(本文编辑:松 明)