

运动训练对发育期惊厥性脑损伤大鼠搜寻策略及大脑皮质可塑性相关分子-1 表达的影响

殷小平 李超 周保健 倪宏

【摘要】 目的 将发育期大鼠制成青霉素诱发反复惊厥模型,探讨运动训练对实验大鼠水迷宫搜寻策略和脑皮质可塑性相关分子 PRG-1 表达的远期影响。**方法** 采用随机数字表法将出生 21 d(P21)的 SD 大鼠分为空白对照组、训练对照组、单纯惊厥组及惊厥训练组。采用青霉素腹腔注射将单纯惊厥组及惊厥训练组大鼠制成反复惊厥动物模型;空白对照组、训练对照组则给予等量生理盐水腹腔注射。各组大鼠分别于 P39~P43、P61~P64 期间进行 Morris 水迷宫策略分析,检测大鼠学习及记忆功能。P49~P54 期间训练对照组及惊厥训练组大鼠给予踏转轮训练,每天训练 1 次,每次训练 30 min,连续训练 6 d。待 Morris 水迷宫测试结束后(P66)采用荧光定量 RT-PCR 法观察各组大鼠可塑性相关基因-1(PR-1)在大脑皮质中的表达。**结果** ①搜寻策略:各组大鼠边缘式搜寻比例均呈逐渐减少趋势,而趋向式和直线式搜寻比例均呈逐渐增加趋势。Ridit 秩和检验显示第 1 次 Morris 水迷宫实验两惊厥组第 2 天及第 4 天成绩均明显落后于两对照组 ($P<0.05$);第 2 次水迷宫实验发现惊厥训练组第 2 天以后成绩明显提高,第 4 天时训练对照组及惊厥训练组成绩均明显优于单纯惊厥组 ($P<0.05$)。②记忆实验:对各组大鼠搜寻策略进行 Ridit 秩和检验,发现第 1 次水迷宫测试两惊厥组成绩均明显落后于两对照组 ($P<0.05$);第 2 次水迷宫测试单纯惊厥组搜寻策略明显落后于其它组 ($P<0.05$),而惊厥训练组成绩显著提高,与训练对照组无显著差异。③RT-PCR:训练对照组、单纯惊厥组、惊厥训练组 PRG-1 表达均明显高于空白对照组 ($P<0.05$);此外惊厥训练组 PRG-1 表达较单纯惊厥组有降低趋势,但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论** 运动训练能显著改善发育期反复长程惊厥所致认知损伤,其治疗机制可能与调节脑皮质 PRG-1 表达有关。

【关键词】 惊厥; 运动训练; 发育; 可塑性相关分子; 认知

基金项目:国家自然科学基金(81471337);江苏省卫生厅重点人才资助

Effects of physical exercise on seizure-induced cognitive deficits Yin Xiaoping*, Li Chao, Zhou Baojian, Ni Hong. *Pediatrics Department, Taixing People's Hospital Affiliated to Yangzhou University, Taixing 225400, China
Corresponding author: Ni Hong, Email: nhdoctor@163.com

【Abstract】 Objective To explore the long-term effects of physical exercise on learning, memory and the expression of plasticity-related gene-1 (PRG-1) in the cerebral cortex of rats with penicillin-induced developmental seizures. **Methods** Twenty-four 21-day Sprague-Dawley rats were randomly divided into a control group (CONT1), an exercised control group (CONT2), a seizure group (EXP1) and a seizure plus exercises group (EXP2), each of 6 using a random number table. Penicillin was injected intraperitoneally to the rats in the EXP1 and EXP2 groups to induce seizures, while those in the CONT1 and CONT2 groups received saline injections. Morris water-maze tests were performed to evaluate spatial learning and memory capacity. The rats in the CONT2 and EXP2 groups were administered an aerobic exercise program 30 min per day for 6 consecutive days. The other groups were maintained on the treadmill for the same time but without exercising. Real-time polymerase chain reactions were used to quantify the expression of PRG-1 mRNA in the cerebral cortex. **Results** There was a decreasing trend in marginal searching and increasing taxis and linear searching in all four groups. Ridit analysis showed that in the water-maze tests on days 2 and 4 the average scores of the control groups were significantly higher than those of the EXP1 and EXP2 groups. However, significant increases in the average scores were observed in the maze tests of the EXP1 group after day 2 and with the EXP2 group from day 4 on. The average scores of the control group were significantly lower than those of the other 3 groups. In the first maze test, the average memory scores of the two seizure groups were

significantly lower than those of the controls. In the second maze test, however, only the EXP1 group's average score was significantly worse than those of the other groups. That of the EXP2 group had improved significantly, and was not significantly different from that of the CONT2 group. The expression of PRG-1 was much higher in the CONT2, EXP1 and EXP2 groups than in the CONT1 group. The average expression of PRG-1 in the EXP2 group was not significantly different from that in the EXP1 group. **Conclusions** Physical exercise can significantly relieve the cognitive deficits induced by long-term seizures, which may be associated with the regulation of PRG-1 expression in the cerebral cortex.

【Key words】 Seizures; Exercise; Plasticity-related genes; Cognition

Fund program: National Natural Science Foundation of China (grant 81471337)

相关临床及基础研究均表明,运动训练能显著提高脑内可塑性相关分子释放,改善脑可塑性,修复脑损伤所造成的认知功能下降,促进功能恢复^[1-3]。目前运动训练作为一种临床非药物辅助手段,已应用于多种疾病(如脑卒中、脑外伤、脆性 X 综合征、精神分裂症和阿尔茨海默病等)康复治疗^[4-6]。在成年期局灶性脑缺血动物模型中发现,运动训练能减少脑梗阻面积,减轻运动功能损伤,抑制脑出血后血肿周围神经细胞凋亡及氧化应激,促进血管再生,提高脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)表达,从而改善神经功能^[7-8]。余茜等^[9]采用滚筒式网屏对右侧大脑中动脉缺血梗死模型成年大鼠进行训练,发现运动训练组大鼠脑皮质及海马突触界面率、突触后致密物质密度、穿孔性突触数量均明显增加。贾杰等^[10]发现运动训练能显著抑制缺血再灌注所致谷氨酸(glutamic acid)过度释放。

目前有关运动训练对发育期大脑康复作用的研究相对较少。在新生期缺氧缺血大鼠模型中发现,早期运动训练可减轻学习记忆损伤,增强突触可塑性,提高脑皮质、海马突触素及 c-fos 表达^[11-12]。本课题组开展了运动训练对发育期惊厥性脑损伤早期干预的基础研究,初步发现运动训练可改善发育期惊厥性脑损伤大鼠学习能力,并且可能与调节神经可塑性相关分子如钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II (Ca²⁺/calmodulin kinase II, CaMK II) 表达有关^[13-14]。本研究在上述工作基础上拟进一步分析 Morris 水迷宫搜寻策略指标,并采用实时荧光定量 RT-PCR 检测大鼠脑皮质新型可塑性相关基因(plasticity-related gene 1, PRG-1)表达,以期从动物行为学和分子生物学角度深入探讨运动训练对发育期惊厥所致认知功能损伤的影响及相应分子机制,为临床应用提供理论依据。

材料与方法

一、实验动物分组与制模

选取健康雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 40 只,体重(56±4)g,21 日龄,由浙江省医学科学院实验动物中心提供。在可控环境条件(06:00~18:00 白天,20±2℃)下饲养大鼠,饲养期间大鼠自由摄食、

饮水。采用随机数字表法将上述大鼠分为空白对照组、训练对照组、单纯惊厥组及惊厥训练组,每组 10 只大鼠。

将单纯惊厥组及惊厥训练组大鼠制成癫痫大鼠模型,根据本课题组前期实验数据,大鼠于出生 24 d (P24)时按 450 万单位/kg 体重标准,于每天上午 08:00 起开始进行青霉素溶液(由华北制药股份有限公司生产,规格为 80 万单位/瓶,用生理盐水配成浓度为 57 万单位/ml 溶液待用)腹腔注射,隔日注射 1 次,连续注射 6 次,注射后连续观察 60 min 并记录;空白对照组及训练对照组大鼠则同期给予等量生理盐水腹腔注射。大鼠行为分级标准依据 Racine 提出的方案分为 5 级^[15]:0 级为无惊厥;I 级表示面部阵挛,包括动须、节律性咀嚼、湿狗样颤动;II 级表示面部阵挛加节律性点头;III 级表示在 II 级基础上增加前肢阵挛;IV 级表示在 III 级基础上增加后肢站立;V 级表示在 IV 级基础上增加摔倒或全身抽搐、四处窜动等。凡已获得连续 3 次 II 级或 II 级以上发作者,即被认为完全点燃(癫痫制模成功)。在模型制备过程中共有 4 只大鼠死于癫痫持续状态(status epilepticus, SE),依照上述操作重新补足大鼠数量。

二、踏转轮运动训练

训练对照组及惊厥训练组大鼠于第 1 次水迷宫测试 72 h 后进行为期 6 d (P49-P54)踏转轮运动训练,训练器材主要部件为微型电机驱动的圆形滚筒(直径 21 cm,长度 26 cm),该滚筒由钢条组成,钢条间距 2 cm。滚筒在电机驱动下进行旋转,转速及旋转方向均可调控。训练时将实验大鼠置于滚筒内部,随着滚筒转动,大鼠则进行踏转轮训练。该训练每天上午、下午各进行 1 次,每次持续 30 min,训练期间大鼠每跑转轮 10 min 则休息 1 min,连续训练 6 d。空白对照组及单纯惊厥组大鼠亦于相同时间段内置于滚筒内,但该期间并不启动滚筒电机。

三、Morris 水迷宫行为测定

本研究所用 Morris 水迷宫由中国军事医学科学院药物研究所设计并制造,其构造包括圆形水池、图像采集系统及操作系统(微机和应用软件)等。水迷宫圆形水池直径 120 cm、高 50 cm,注水至 40 cm 处,水温控

制在(23±2)℃,池水用牛奶染成白色。池壁上标有东、南、西、北共 4 个人水点,将水池等分为 4 个象限,任选其中一个象限,于其正中放置一直径 11 cm、高 38 cm 圆形透明平台,平台低于水面 2 cm。水迷宫正上方安置带有显示系统的摄像机,同步记录大鼠运动轨迹。训练期间水迷宫外参照物保持不变。每次水迷宫检测共分为两项,分别是定位航行实验(place navigation)和空间搜索实验(spatial probe test)。

各组大鼠于 P39-P43 日龄时进行第 1 次 Morris 水迷宫定位航行实验,共持续 5 d,间隔 1 d 后(P45)进行空间搜索实验;于 P61-P64 日龄时进行第 2 次 Morris 水迷宫定位航行实验,间隔 1 d 后(P66)进行空间搜索实验。定位航行实验主要用于检测大鼠对水迷宫的学习能力,第 1 天让每只大鼠在水池中自由游泳 5 min 以熟悉水池及周围环境。第 2~6 天期间每天上午、下午各训练 1 次,每次分别选择不同入水点将大鼠面向池壁放入水中,观察并记录大鼠寻找并爬上平台的路线及搜寻策略。如大鼠在 60 s 内未找到平台,则将其引上平台并休息 60 s,其潜伏期计为 60 s。空间搜索实验主要用于检测大鼠学会寻找平台后对平台空间位置的记忆能力,该实验于定位航行实验结束 24 h 后进行。开始实验时撤去训练用的平台,然后任选一入水点将大鼠面向池壁放入水中,观察其 60 s 内游过原平台所在位置(直径 11 cm)的搜寻策略(search strategy)。大鼠搜寻站台的策略分为直线式(straight)、趋向式(taxis)、随机式(random)和边缘式(marginal)。直线式指以入水点与站台中点连线为中轴线,大鼠沿近似于直线的运动轨迹搜寻站台;趋向式类似于直线式,只是运动轨迹偏离中轴线较多;边缘式是以大鼠运动区域中点为圆心,取一定半径作圆,大鼠大部分运动轨迹均落在圆以外,近似于大鼠沿池内壁进行环绕站台的边缘运动;随机式指不符合以上任何一种搜寻策略的运动方式。搜寻站台的效率排序如下,直线式>趋向式>随机式>边缘式。

四、PRG-1 检测

于第 2 次水迷宫测试后(P66)每组各取 6 只大鼠(每组余 4 只用于组织学检测)腹腔注射 4% 水合氯醛(按 10 ml/kg 体重标准),待麻醉致深昏迷后断头取脑,取大脑皮质置于 EP 管中并迅速放入-70℃冰箱内保存。组织细胞总 RNA 提取采用 Trizol 一步法,以所得细胞总 RNA 作为模板,使用 Promega 公司提供的试剂盒进行荧光实时定量(real-time)RT-PCR 反应,得到组织基因 cDNA。通过 cDNA 浓度梯度的 log 值对 ΔCT 值作图,比较目的基因(PRG-1)和 β-actin 扩增效率,具体方法参照文献[13]。具体反应条件如下:52℃反应 2 min,94℃预变性 10 min,94℃反应 15 s,

60℃反应 60 s,重复 45 个循环。

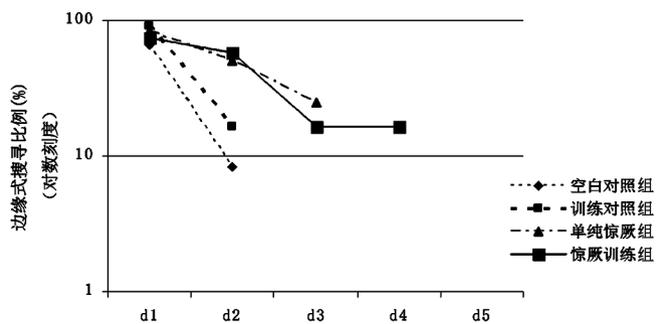
五、统计学处理

本研究所得计量数据以($\bar{x} \pm s$)表示,穿越平台象限次数和采用 2^{-ΔCT}法处理的 RT-PCR 数据采用 ANOVA 进行两组间显著性检验,搜寻策略数据比较采用等级资料卡方检验,P<0.05 表示差异具有统计学意义。

结 果

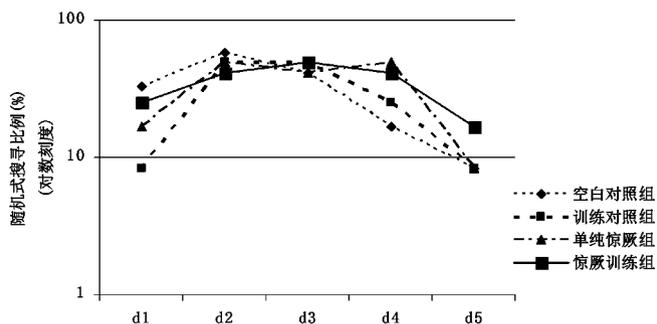
一、各组大鼠第 1 次水迷宫实验搜寻策略结果比较

通过观察大鼠 5 d 搜寻策略发现,各组大鼠边缘式搜寻比例均呈逐渐减少趋势,到第 5 天时消失;另一方面各组大鼠趋向式和直线式搜寻比例均呈逐渐增加趋势,至第 5 天时各组趋于一致(图 1~4)。通过 Ridit 秩和检验发现空白对照组、训练对照组在第 2 天和第 4 天时的成绩均明显优于两惊厥组,差异具有统计学意义(P<0.05),具体情况见图 5。



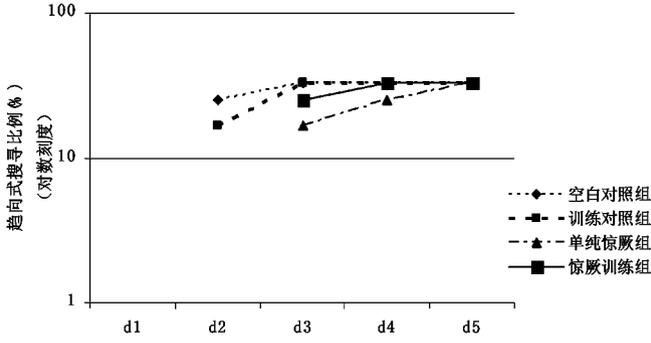
注:各组大鼠边缘式搜寻比例均呈逐渐降低趋势,以空白对照组及训练对照组边缘式搜寻策略消失较早,而单纯惊厥组和惊厥训练组消失较晚,提示惊厥大鼠学习能力下降

图 1 第 1 次 Morris 水迷宫实验各组大鼠 1~5 d 边缘式搜寻策略变化趋势图



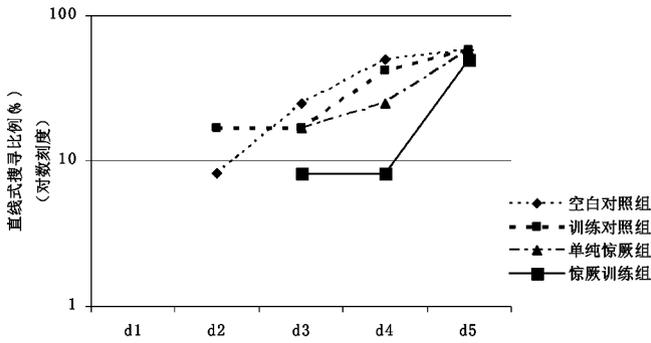
注:各组大鼠随机式搜寻比例均呈先逐渐增加,再逐渐降低趋势;进一步观察发现,空白对照组、训练对照组随机式搜寻策略在第 3 天即开始下降,而单纯惊厥组、惊厥训练组在第 4 天才开始下降,提示惊厥大鼠学习能力下降

图 2 第 1 次 Morris 水迷宫实验各组大鼠 1~5 d 随机式搜寻策略变化趋势图



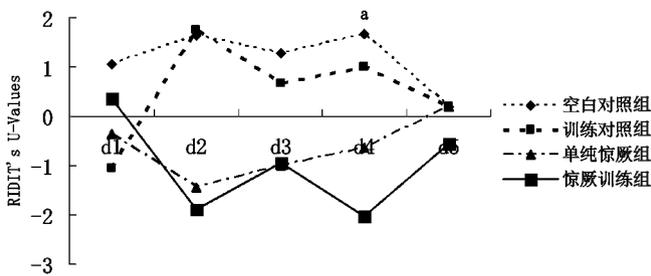
注:各组大鼠趋向式搜寻比例均呈逐渐增加趋势,最后趋于一致;进一步观察发现,空白对照组、训练对照组趋向式搜寻策略在第 2 天即出现,而单纯惊厥组及惊厥训练组在第 3 天才出现趋向式搜寻策略,提示惊厥大鼠学习能力下降

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



注:各组大鼠直线式搜寻比例均呈逐渐增加趋势,最后趋于一致;进一步观察发现,空白对照组及训练对照组大鼠直线式搜寻策略在第 2 天即出现,而单纯惊厥组及惊厥训练组在第 3 天才出现,提示惊厥大鼠学习能力下降

图 4 第 1 次 Morris 水迷宫实验各组大鼠 1~5 d 直线式搜寻策略变化趋势图



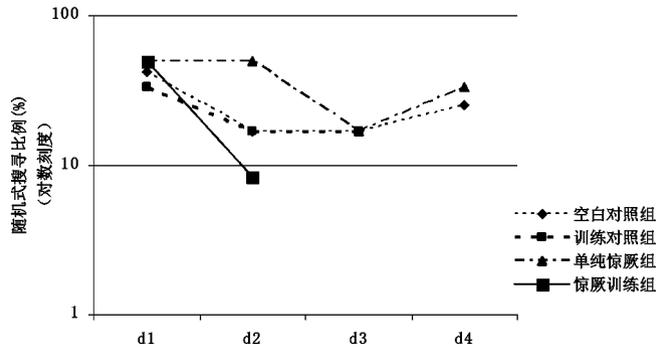
注:可见空白对照组及训练对照组在第 2 天到第 4 天成绩均明显优于两惊厥组($P < 0.05$),第 5 天时趋于一致

图 5 第 1 次 Morris 水迷宫实验各组大鼠 1~5 d 搜寻策略 Ridit 秩和检验结果示意图

二、各组大鼠第 2 次水迷宫实验搜寻策略结果比较

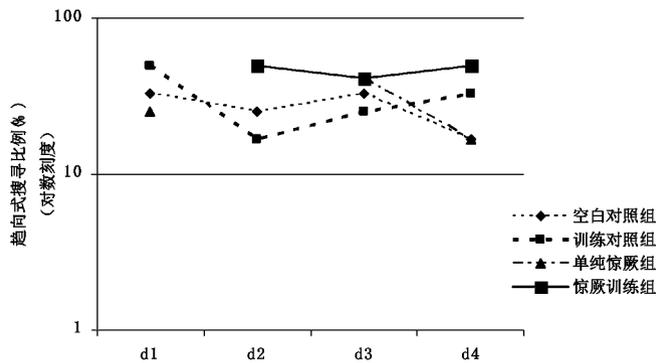
通过观察各组大鼠 4 d 搜寻策略发现,各组大鼠边缘式搜寻比例基本消失,而直线式搜寻比例均呈逐渐增加趋势,至第 5 天时各组大鼠趋于一致(图 6~8)。通过 Ridit 秩和检验发现空白对照组、训练对照组

在第 1 天时的成绩明显优于两惊厥组,而第 2 天以后惊厥训练组成绩则超过空白对照组,第 4 天时训练对照组和惊厥训练组成绩均明显优于单纯惊厥组,组间差异均具有统计学意义($P > 0.05$),具体情况见图 9。



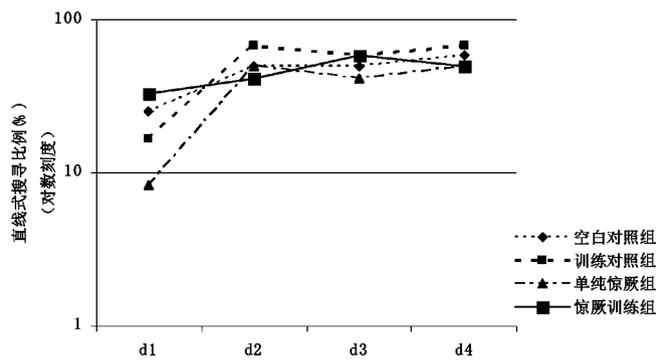
注:可见训练对照组和惊厥训练组随机式搜寻策略消失较早,而空白对照组、单纯惊厥组第 4 天仍可见随机式搜寻策略,提示运动训练能提高大鼠学习能力

图 6 第 2 次 Morris 水迷宫实验各组大鼠 1~4 d 随机式搜寻策略变化趋势图



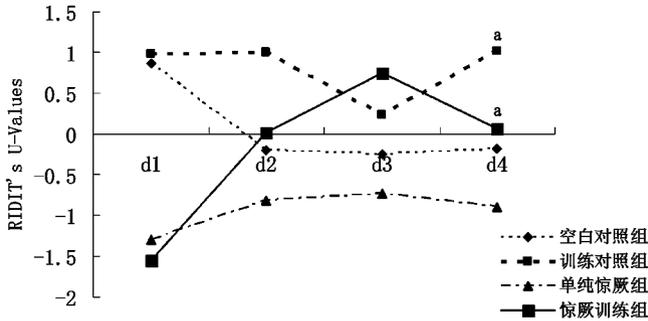
注:可见从第 2 天开始惊厥训练组成绩优于其他各组,提示运动训练能改善惊厥因素对大鼠学习能力造成的损伤

图 7 第 2 次 Morris 水迷宫实验各组大鼠 1~4 d 趋向式搜寻策略变化趋势图



注:可见各组大鼠直线式搜寻策略逐渐趋于一致,表明经 Morris 水迷宫学习和/或运动训练后,各组大鼠学习能力间的差距逐步缩小

图 8 第 2 次 Morris 水迷宫实验各组大鼠 1~4 d 直线式搜寻策略变化趋势图

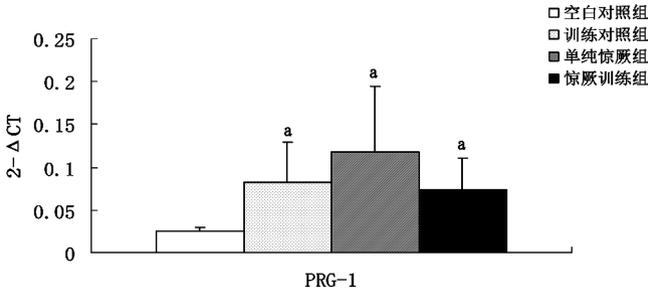


注:可见第 2 天以后训练对照组和惊厥训练组成绩均明显优于空白对照组和单纯惊厥组,第 4 天时训练对照组和惊厥训练组成绩均明显优于单纯惊厥组,差异具有统计学意义 ($^aP<0.05$);提示运动训练能改善惊厥因素对学习能力的损伤

图 9 第 2 次 Morris 水迷宫实验各组大鼠 1~4 d 搜寻策略 Ridit 秩和检验结果示意图

三、各组大鼠 PRG-1 mRNA 检测结果比较

通过方差分析发现训练对照组、单纯惊厥组、惊厥训练组 PRG-1 表达均明显高于空白对照组 ($P<0.05$),见图 10;此外惊厥训练组 PRG-1 表达较单纯惊厥组有降低趋势,但组间差异无统计学意义 ($P>0.05$),上述结果表明运动训练能促进正常大鼠脑皮质 PRG-1 表达上调,而对惊厥引起的 PRG-1 上调又有一定下调作用。



注:训练对照组、单纯惊厥组、惊厥训练组 PRG-1 表达均明显高于空白对照组 ($^aP<0.05$);此外惊厥训练组 PRG-1 表达较单纯惊厥组有降低趋势,但组间差异无统计学意义 ($P>0.05$),表明运动训练本身能促进正常大鼠脑皮质 PRG-1 表达上调,而对惊厥引起的 PRG-1 上调又有一定下调作用

图 10 各组大鼠 PRG-1 检测结果比较

讨 论

大量基础研究证明,发育期反复长程惊厥可改变未成熟大脑发育进程和突触构建方式,导致认知功能远期损伤^[16-17];通过神经功能重塑,使受损神经控制得以恢复或代偿是临床康复主要策略。运动训练是神经功能重塑的主要手段之一,Briones 等^[18]研究发现,运动训练可使成年脑缺血模型大鼠齿状回分子内层和分子外层的突触数量及突触前末梢线粒体数量增加; Crews 等^[19]报道跑轮训练可使成年大鼠海马齿状回溴脱氧尿苷的免疫产物增加,并提高其学习记忆能力。

上述研究表明运动训练能改善成年动物脑可塑性,从而促进学习记忆能力提高。但上述研究对象均是已发育成熟的成年动物,而针对发育期动物的研究较少。娄淑杰等^[20]报道,跑台运动训练在短时间内可明显提高幼龄大鼠学习能力,但该研究仅探讨了正常大鼠。本研究采用发育期惊厥性脑损伤大鼠模型作为实验对象,发现运动训练结合 Morris 水迷宫学习对改善发育期脑损伤大鼠学习能力具有显著效果。

1981 年由英国心理学家 Morris 设计的 Morris 水迷宫是一种研究大鼠空间学习记忆功能的经典工具。通过对大鼠进行数天寻找隐蔽平台训练,不仅能观察不同处理组大鼠学习和记忆能力,同时也是一种理想的学习训练,尤其对脑损伤模型大鼠具有良好效果。国内、外研究主要以逃避潜伏期作为评判学习能力的指标,但潜伏期受游泳速度的影响较大,而游泳速度的影响因素较多,速度快慢与学习能力间并没有直接联系。此外对于轻微认知损伤,逃避潜伏期可能不敏感,因此仅用逃避潜伏期作为指标并不能客观反映认知功能变化。游泳策略分析是一种直观的图像分析方法,可弥补潜伏期不足。有研究发现策略分析较潜伏期更加灵敏,当潜伏期尚未检测到显著变化时,策略分析结果就已出现明显差异^[21]。本研究第 1 次 Morris 水迷宫实验搜寻策略数据显示,各组边缘式搜寻比例均呈逐渐减少趋势,同时趋向式和直线式搜寻比例均呈逐渐增加趋势,Ridit 分析显示空白对照组、训练对照组在第 2 天和第 4 天的成绩均明显优于单纯惊厥组和惊厥训练组,说明发育期脑损伤模型大鼠经一系列水迷宫训练后,其学习能力会明显提高,但仍落后于正常大鼠,这与以往研究结果基本一致。第 2 次 Morris 水迷宫实验搜寻策略数据显示,各组边缘式搜寻比例基本消失,直线式搜寻比例均呈逐渐增加趋势,Ridit 分析显示空白对照组、训练对照组在第 1 天的成绩明显优于单纯惊厥组及惊厥训练组,而第 2 天以后发现惊厥训练组成绩超过单纯对照组,第 4 天时训练对照组及惊厥训练组成绩亦明显优于单纯惊厥组,表明运动训练对惊厥大鼠学习能力具有显著提高作用。对各组大鼠记忆测试结果比较后发现,第 1 次水迷宫实验单纯惊厥组及惊厥训练组成绩均明显不及空白对照组和训练对照组,说明惊厥对大鼠远期记忆功能造成损伤;第 2 次水迷宫实验发现单纯惊厥组搜寻策略明显落后于其它组,而惊厥训练组成绩大幅提高,表明运动训练可在一定程度上改善惊厥大鼠记忆功能。

目前关于运动训练改善认知功能的分子机制研究相对较少。最新研究表明运动训练对认知功能的改善作用与促进脑内神经可塑性相关分子表达有关^[3]。可塑性相关基因家族(plasticity-related genes, PRGs)是

新近发现的一类脂质磷酸酶/磷酸转移酶类超家族新成员,目前发现的可塑性相关基因包括 PRG-1~PRG-4,上述基因在丝状伪足形成、轴突延伸、轴突路径选择及损伤后重组方面均发挥重要作用^[22]。在可塑性相关基因家族中,PRG-1 在细胞可塑性调节中起着非常重要的作用^[23]。PRG-1 缺失会使大脑皮质神经元过度释放谷氨酸,打破兴奋/抑制平衡,导致神经元超兴奋^[24]。Tokumitsu 等^[25]发现 PRG-1 在前脑内可作为钙调蛋白(calmodulin, CaM)的结合蛋白并调节细胞内 Ca²⁺信号通路,从而调控学习记忆功能。本研究结果显示,训练对照组和单纯惊厥组 PRG-1 表达均明显高于单纯对照组,说明运动训练、惊厥均能促使远期大脑皮质 PRG-1 表达上调;惊厥训练组 PRG-1 表达虽较空白对照组显著增加,但并未出现叠加增高现象,而是略低于单纯惊厥组水平(其差异无统计学意义),提示运动训练本身能促进正常大鼠脑皮质 PRG-1 表达上调,而对惊厥引起的 PRG-1 上调又具有一定下调作用,这可能是运动训练改善发育期惊厥所致远期认知功能损伤的内在分子机制之一。

综上所述,本研究结果表明,运动训练能明显改善发育期惊厥大鼠远期学习及记忆功能,其治疗机制可能与调控大脑皮质 PRG-1 表达有关。

参 考 文 献

[1] Heijnen S, Hommel B, Kibele A, et al. Neuromodulation of aerobic exercise—a review [J]. *Front Psychol*, 2016, 6: 1890. DOI: 10.3389/fpsyg.2015.01890.

[2] Kreber LA, Griesbach GS. The interplay between neuropathology and activity based rehabilitation after traumatic brain injury [J]. *Brain Res*, 2016, 1640: 152-163. DOI: 10.1016/j.brainres.2016.01.016.

[3] Hamilton GF, Rhodes JS. Exercise regulation of cognitive function and neuroplasticity in the healthy and diseased brain [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2015, 135: 381-406. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2015.07.004.

[4] Lee M, Won J, Lee S, et al. Benefits of physical exercise for individuals with fragile X syndrome in humans [J]. *J Lifestyle Med*, 2015, 5(2): 35-38. DOI: 10.15280/jlm.2015.5.2.35.

[5] Pin-Barre C, Laurin J. Physical exercise as a diagnostic, rehabilitation, and preventive tool: influence on neuroplasticity and motor recovery after stroke [J]. *Neural Plast*, 2015, 2015: 608581. DOI: 10.1155/2015/608581.

[6] Walker JM, Klakotskaia D, Ajit D, et al. Beneficial effects of dietary EGCG and voluntary exercise on behavior in an Alzheimer's disease mouse model [J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 44: 561-572. DOI: 10.3233/JAD-140981.

[7] Otsuka S, Sakakima H, Sumizono M, et al. The neuroprotective effects of preconditioning exercise on brain damage and neurotrophic factors after focal brain ischemia in rats [J]. *Behav Brain Res*, 2016, 303: 9-18. DOI: 10.1016/j.bbr.2016.01.049.

[8] 李红玲, 郭艳苏, 吴冬霞. 运动训练对实验性脑出血大鼠血肿周围组织细胞凋亡及海马 CA1 区超微结构的影响 [J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2008, 30(2): 80-83.

[9] 余茜, 李晓红, 吴士明. 运动训练后脑缺血大鼠学习记忆与健侧脑内突触结构变化的关系 [J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2002, 24(7): 399-402.

[10] 贾杰, 胡永善, 吴毅. 预运动训练对大鼠脑梗死后脑内谷氨酸水平动态变化的影响 [J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2008, 30(6): 361-365.

[11] 李宏, 欧阳福连, 周细中. 早期运动训练改善新生大鼠缺氧缺血性脑损伤远期预后的研究 [J]. *中华神经医学杂志*, 2013, 12(5): 459-465. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2013.05.006.

[12] 陈小璐, 蒋莉. 运动康复对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠空间学习记忆的影响 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2010, 12(5): 363-367.

[13] Ni H, Li C, Tao LY, et al. Physical exercise improves learning by modulating hippocampal mossy fiber sprouting and related gene expression in a developmental rat model of penicillin-induced recurrent epilepticus [J]. *Toxicol Lett*, 2009, 191(1): 26-32. DOI: 10.1016/j.toxlet.2009.07.028.

[14] 倪宏, 王洁英. 泡泡浴对新时期惊厥所致神经行为缺损及海马相关基因表达的远期影响 [J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2012, 34(4): 259-263. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2012.04.006.

[15] Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II motor seizure [J]. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1972, 32(3): 281-294.

[16] Wang J, Jiang Y, Cao H, et al. Long-term effect of early discharge on sEPSC and [Ca²⁺]_i in developing neurons [J]. *Neurosci Lett*, 2006, 397(1-2): 104-109. DOI: 10.1016/j.neulet.2005.12.023.

[17] Jiang Q, Wang J, Wu X, et al. Alterations of NR2B and PSD-95 expression after early-life epileptiform discharges in developing neurons [J]. *Int J Dev Neurosci*, 2007, 25(3): 165-170. DOI: 10.1016/j.ijdevneu.2007.02.001.

[18] Briones TL, Suh E, Jozsa L, et al. Changes in number of synapses and mitochondria in presynaptic terminals in the dentate gyrus following cerebral ischemia and rehabilitation training [J]. *Brain Res*, 2005, 1033(1): 51-57. DOI: 10.1016/j.brainres.2004.11.017.

[19] Crews FT, Nixon K, Wilkie ME. Exercise reverses ethanol inhibition of neural stem cell proliferation [J]. *Alcohol*, 2004, 33(1): 63-71. DOI: 10.1016/j.alcohol.2004.04.005.

[20] 姜淑杰, 刘瑾彦, 杨若愚, 等. 跑台运动促进幼龄大鼠学习能力 [J]. *生理学报*, 2006, 58(4): 365-369.

[21] 李永军, 王群. 初次搜索策略对大鼠 Morris 水迷宫试验成绩的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2004, 14(21): 7-10.

[22] Brauer AU, Nitsch R. Plasticity-related genes (PRGs/LRPs): a brain-specific class of lysophospholipid-modifying proteins [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1781(9): 595-600. DOI: 10.1016/j.bbali.2008.04.004.

[23] Trimbuch T, Beed P, Vogt J, et al. Synaptic PRG-1 modulates excitatory transmission via lipid phosphate-mediated signaling [J]. *Cell*, 2009, 138(6): 1222-1235. DOI: 10.1016/j.cell.2009.06.050.

[24] Vogt J, Yang JW, Mobascher A, et al. Molecular cause and functional impact of altered synaptic lipid signaling due to a prg-1 gene SNP [J]. *EMBO Mol Med*, 2015, 8(1): 25-38. DOI: 10.15252/emmm.201505677.

[25] Tokumitsu H, Hatano N, Tsuchiya M, et al. Identification and characterization of PRG-1 as a neuronal calmodulin-binding protein [J]. *Biochem J*, 2010, 431(1): 81-91. DOI: 10.1042/BJ20100637.

(修回日期: 2017-04-12)

(本文编辑: 易 浩)