

· 基础研究 ·

功能性电刺激对急性脑梗死大鼠运动功能及室管膜下区的溴氧尿嘧啶核苷⁺/神经胶质纤维酸性蛋白⁺细胞表达的影响

刘慧华 燕铁斌 李胜活 赵俊红 郑修元 何晓阔

【摘要】目的 观察不同时间点功能性电刺激(FES)对急性脑梗死大鼠神经功能和室管膜下区(SVZ)溴氧尿嘧啶核苷(BrdU)⁺/神经胶质纤维酸性蛋白(GFAP)⁺细胞表达的影响,探讨 FES 治疗急性脑梗死的可能机制。**方法** 采用大脑中动脉阻塞(MCAO)法制作急性脑梗死大鼠模型,制模成功 72 只。按随机数字表法分为对照组、安慰组和 FES 组,每组各 24 只。3 组再按治疗时间分为 1、3、7 和 14 d 四个亚组,每个亚组 6 只。对照组没有进行任何治疗;安慰组大鼠瘫痪侧前肢仅贴附表面电极,连接 FES 治疗仪,关闭机器电源;FES 组制模成功后第 3 天开始以表面电极刺激瘫痪侧前肢,治疗强度以引起瘫痪侧出现伸腕伸指动作为准(约 4~5 mA),每次治疗 15 min,1 次/日。治疗前及治疗各时间点(1、3、7 和 14 d)采用改良神经功能损害评分法(mNSS)对大鼠神经功能变化评分;使用免疫组织荧光化学法检测缺血侧 SVZ 表达 5-BrdU 以及 GFAP 细胞数目的改变。**结果** 治疗 7 d 和 14 d 后,FES 组大鼠 mNSS 评分较其它 2 组明显改善($P < 0.05$),其中运动功能评分改善尤为明显($P < 0.05$)。治疗第 3 天 FES 组 BrdU 阳性细胞、BrdU⁺/GFAP⁺ 双标阳性细胞数及阳性率与其它 2 组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);治疗第 7 天各组 BrdU 阳性细胞、双标阳性细胞数均达到峰值,FES 组 BrdU 阳性细胞、双标阳性率与其它 2 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗第 14 天 FES 组 BrdU 阳性细胞、双标阳性率与其它 2 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** FES 治疗能明显改善急性脑梗死大鼠神经功能,促进 SVZ 神经干细胞的增殖和分化。

【关键词】 功能性电刺激; 脑梗死; 神经可塑性; 室管膜下区

Effects of functional electrical stimulation on motor function and the expression of bromodeoxyuridine⁺ and glial fibrillary acid protein⁺ cells in the subventricular zone after cerebral infarction LIU Hui-hua^{*}, YAN Tie-bin, LI Sheng-huo, ZHAO Jun-hong, ZHENG Xiu-yuan, HE Xiao-kuo.

^{*} Department of Rehabilitation Medicine, Sun Yat-sen Memorial Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China

Corresponding author: YAN Tie-bin, Email: dr.yan@126.com

【Abstract】Objective To investigate the effects of functional electrical stimulation (FES) on motor function and the expression of bromodeoxyuridine (BrdU)⁺ and glial fibrillary acid protein (GFAP)⁺ in the subventricular zone (SVZ) of rats with acute cerebral infarction, and to explore its mechanism. **Methods** A rat model of cerebral infarction was established using Longa's technique for middle cerebral artery occlusion (MCAO) with an intraluminal filament. The rats were randomly divided into a FES group, a placebo stimulation group and a control group. In each group, rats were randomly allocated into 1 d, 3 d, 7 d and 14 d subgroups (6 rats/subgroup). Superficial electrodes were pasted on the paralyzed forelimbs of rats in the FES group for connecting with the FES instrument, and FES treatment was carried out with a current of 4-5 mA for 15 min on the third day after the MCAO operation to produce extension of the wrist and the digits of the paralyzed forelimb. The rats in the placebo stimulation group were pasted with electrodes, but no FES was administered and they received no other treatment. Neurological deficits were evaluated using the modified neurological severity score (mNSS) before treatment and on the 1st, 3rd, 7th, and 14th day after treatment. BrdU and GFAP positive cells in the SVZ were detected by immunofluorescence techniques. **Results** After 7 or 14 days the motor function of rats in the FES group had improved significantly compared with the placebo stimulation and control groups. Compared with the other two groups, the expression levels of BrdU⁺ and GFAP⁺ cells in the ischemic SVZ in the FES group were significantly higher at the 3rd, 7th and 14th day.

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2012.03.001

作者单位:510120 广州,中山大学孙逸仙纪念医院康复医学科(刘慧华、燕铁斌、李胜活、赵俊红、郑修元、何晓阔);广州医学院第二附属医院康复医学科(李胜活)

通信作者:燕铁斌,Email:dr.yan@126.com

Conclusion FES can improve motor function after acute cerebral infarction and also promote the proliferation and differentiation of neural stem cells in the SVZ.

【Key words】 Functional electrical stimulation; Cerebral infarction; Neural plasticity; Subventricular zone

功能性电刺激 (functional electrical stimulation, FES) 是利用一定强度的低频脉冲电流,通过预先设定的刺激程序刺激一组或多组肌肉,诱发肌肉运动或模拟正常自主运动,达到改善或恢复被刺激肌肉或肌群功能的目的^[1]。诸多研究报道显示脑梗死急性期使用 FES 可以明显改善脑卒中患者的运动功能^[2]。作者在临床工作中也发现,FES 治疗可促进脑卒中急性期患者运动功能的恢复^[3],但其机制目前尚不十分清楚。脑损伤后,神经干细胞被激活,继而发生增殖分化并迁移至损伤侧,发挥修复作用是脑卒中后神经功能恢复的重要机制之一^[4]。本研究观察不同时间点 FES 对急性脑梗死大鼠神经功能和室管膜下区 (subventricular zone, SVZ) 溴氧尿嘧啶核苷 (bromodeoxyuridine, BrdU) ⁺/神经胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acid protein, GFAP) ⁺ 细胞表达的影响,旨在探讨 FES 治疗缺血性脑卒中的可能机制。

材料与方法

一、局部脑缺血模型的建立

雄性 SD 大鼠 110 只,体重 250 ~ 300 g,9 ~ 10 周龄,由中山大学北校区实验动物中心提供。鱼线购于北京沙东生物技术有限公司,直径 0.26 mm,长 40 mm,线头直径 (0.36 ± 0.02) mm。参照改良的 Longa 线栓法^[5]制作右侧大脑中动脉阻塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 模型。

制模方法:大鼠以 10% 水合氯醛 (350 mg/kg) 腹腔注射麻醉,沿气管右侧切开颈部皮肤,分离右侧颈总动脉 (common carotid artery, CCA)、颈外动脉 (external carotid artery, ECA) 及颈内动脉 (internal carotid artery, ICA),在 CCA 处做一切口,将鱼线从 CCA 分叉处进入 ICA 约 18 ~ 20 mm,经 ICA 送入直到遇到阻力为止。结扎 CCA, ECA 远心端,缝合皮肤。动物直肠温度维持在 37 ~ 38 ℃。动物清醒后出现提尾时左侧前肢屈曲内收,爬行时向左转圈为模型制作成功。

制模后第 3 天采用改良神经功能损害评分^[6] (modified neurological severity score, mNSS) 量表评定损害程度,评分为 7 ~ 12 分的大鼠入选本实验,共 78 只大鼠制模成功并纳入本研究,实验过程中有 6 只死亡,最终 72 只大鼠完成实验。

二、实验动物分组

将制模成功大鼠采用随机数字法分为对照组、安

慰组和 FES 组,每组 24 只,制模成功后第 3 天开始进行治疗。再按治疗时间分为 1、3、7 和 14 d 四个亚组,每个亚组 6 只大鼠。

对照组没有进行任何治疗;安慰组大鼠瘫痪侧前肢仅贴附表面电极,连接 FES 治疗仪,关闭机器电源;FES 组大鼠给予瘫痪侧前肢电刺激治疗,每次 15 min,1 次/日。

三、FES 治疗

采用英国 Verity Medical 公司生产的 FES 治疗仪 (型号 Neuro TracTM Contenance)。FES 的参数设置为强度以出现前肢能发生明显的伸腕、伸趾动作为宜,频率为 100 Hz,脉宽为 250 ms,波形为双相对称性方波^[7]。以表面电极刺激瘫痪侧前肢,1 次/日。

四、神经功能评定

在治疗前、治疗后 1、3、7 和 14 d 时采用 mNSS 评分标准分别给予功能评定。mNSS 量表评分标准包括 4 个项目:运动实验、感觉实验、平衡木实验、反射丧失及不正常运动实验,4 个项目的总和为最终评分。评分 13 ~ 18 分为重度损伤,7 ~ 12 分为中度损伤,1 ~ 6 分为轻度损伤。对 3 组大鼠各时间点的神经功能和运动功能进行评分,并对其神经功能评分进行组间比较。

五、BrdU 注射及冰冻切片制作

各时间点大鼠处死前 12 h 每 4 h 腹腔注射 1 次 BrdU (50 mg/kg),最后 1 次注射后 4 h 给予大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 (350 mg/kg) 麻醉,先后给予 4 ℃ 生理盐水,4% 多聚甲醛左心室灌注。断头取脑,取前囟前 2 mm 至前囟后 2 mm 的冠状切脑组织 (侧脑室水平),取出脑组织置于 4% 多聚甲醛中固定过夜。继而入 15% 蔗糖脱水至沉底,再入 30% 蔗糖脱水至沉底后取出滤纸吸干表层水分,包埋制备冰冻切片 (厚度 10 μm)。切片每 3 张取 1 张。

六、免疫组织荧光染色检测 BrdU⁺/GFAP⁺ 细胞

取出组织切片,室温风干 15 min 后,用 PAP 笔在脑切片周围画圈,PBS 漂洗;柠檬酸盐缓冲液微波抗原修复,自然冷却至室温;PBS 漂洗,滴加 2N HCl,37 ℃ 30 min 进行 DNA 变性;10% 驴血清 + 0.3% Triton X-100 封闭非特异抗原及破膜 (30 min) 后,直接滴加 BrdU (绵羊多抗,1:200,Abcam 公司生产),4 ℃ 孵育过夜 (20 ~ 24 h);PBS 洗 3 次 (每次 5 min),滴加荧光二抗 (驴抗绵羊,AF555,1:400,Invitrogen 公司生产),室温避光孵育 60 min;继而 10% 山羊血清 + 0.3% Triton

X-100 封闭非特异抗原并破膜 (30 min) 后,滴加 GFAP (兔多抗,1:1000,Abcam 公司生产)一抗,4 ℃ 过夜;山羊抗兔二抗 (AF488,1:400,Invitrogen 公司生产)避光室温 60 min;PBS 洗 3 次 (每次 5 min),防荧光淬灭液封片,镜下观察。

七、统计学分析

采用 SPSS 15.0 软件对神经功能评分结果进行统计学分析,采用单因素方差分析比较不同时间点组间的差异。免疫荧光图片采用计算机图像分析系统软件 (Image-Pro Plus Version 6.0) 进行合成处理;计数不同时间点缺血侧 SVZ 的 BrdU⁺/GFAP⁺ 细胞数。每个切片选取 6 个视野 (×200),计算双标阳性细胞数及 BrdU⁺/GFAP⁺ 细胞占有 BrdU⁺ 细胞的比率。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、FES 对大鼠缺血脑损伤不同时间点神经功能评分的影响

制模成功大鼠出现不同程度的神经功能缺陷,分为 3 组分别给予不同治疗,治疗前评分组间无明显差异 ($P > 0.05$),3 组之间具有可比性;治疗第 1 天和第 3 天,3 组大鼠评分组间差异不明显 ($P > 0.05$);治疗第 7 天和第 14 天 FES 组评分分别与其它 2 组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),单独进行运动功能分项的评分比较,治疗前及治疗第 1 天和第 3 天,3 组评分各时间点组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$);治疗第 7 天和第 14 天,FES 组评分分别与其它 2 组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。详见表 1 和表 2。

二、FES 对大鼠缺血脑损伤 SVZ 神经干细胞增殖、分化的影响

治疗第 3 天 FES 组 BrdU 阳性细胞、双标阳性细胞

数及阳性率均与其它 2 组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);治疗第 7 天各组 BrdU 阳性细胞及双标阳性细胞数均达到峰值,FES 组 BrdU 阳性细胞、双标阳性率与其它 2 组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);治疗第 14 天 FES 组 BrdU 阳性细胞、双标阳性率与其它 2 组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。详见图 1 和表 3。

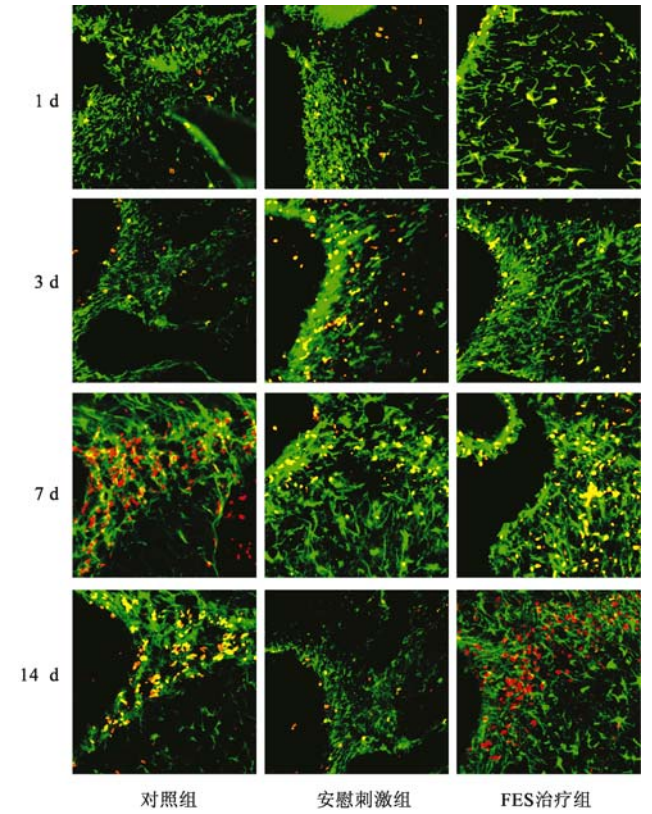


图 1 治疗不同时间点 3 组大鼠梗死侧 SVZ 的 GFAP⁺/BrdU⁺ 细胞免疫荧光双重染色 (绿色荧光为 GFAP 阳性细胞,红色荧光为 BrdU 阳性细胞,黄色为两种荧光重合,×200)

表 1 3 组大鼠不同时间点神经功能总评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	治疗前	治疗后各时间点			
			第 1 天	第 3 天	第 7 天	第 14 天
对照组	24	9.2 ± 2.4	8.7 ± 1.0	8.2 ± 2.1	6.9 ± 1.9 ^a	6.5 ± 1.3 ^a
安慰组	24	9.3 ± 1.3	8.5 ± 1.8	7.1 ± 1.8	6.6 ± 1.0 ^a	5.5 ± 1.0 ^a
FES 组	24	9.2 ± 2.1	8.4 ± 2.0	6.9 ± 1.5	4.7 ± 1.7	3.5 ± 1.5

注:与 FES 组同时间点比较,^a $P < 0.05$

表 2 3 组大鼠不同时间点运动功能评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	治疗前	治疗后各时间点			
			第 1 天	第 3 天	第 7 天	第 14 天
对照组	24	4.2 ± 1.4	4.7 ± 1.5	4.2 ± 1.1	3.9 ± 1.5 ^a	3.5 ± 1.1 ^a
安慰组	24	4.0 ± 1.3	4.5 ± 1.7	4.1 ± 1.5	4.0 ± 1.0 ^a	3.5 ± 1.5 ^a
FES 组	24	4.2 ± 1.1	4.4 ± 2.0	3.9 ± 1.5	2.7 ± 1.5	2.5 ± 1.3

注:与 FES 组同时间点比较,^a $P < 0.05$

表 3 各组不同时间点 BrdU 阳性和双标阳性细胞数及阳性率比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	第 1 天			第 3 天			第 7 天			第 14 天		
		BrdU ⁺	GFAP ⁺ / BrdU ⁺	阳性率 (%)	BrdU ⁺	GFAP ⁺ / BrdU ⁺	阳性率 (%)	BrdU ⁺	GFAP ⁺ / BrdU ⁺	阳性率 (%)	BrdU ⁺	GFAP ⁺ / BrdU ⁺	阳性率 (%)
对照组	24	29.3 ± 6.7	13.7 ± 1.2	47.9 ± 9.7	56.0 ± 3.1 ^a	21.0 ± 5.6 ^a	37.6 ± 11.1 ^a	100.0 ± 14.5 ^a	40.0 ± 9.9	39.6 ± 9.8 ^a	74.0 ± 8.2 ^a	22.5 ± 10.1	30.4 ± 8.0 ^a
安慰组	24	29.7 ± 6.2	13.0 ± 1.9	47.2 ± 8.9	50.0 ± 5.0 ^a	19.0 ± 5.6 ^a	37.8 ± 9.1 ^a	102.7 ± 4.5 ^a	38.0 ± 10.4	36.8 ± 9.1 ^a	70.8 ± 4.8 ^a	24.3 ± 17.4	33.8 ± 4.6 ^a
FES 组	24	30.7 ± 9.2	15.0 ± 1.7	51.2 ± 11.9	83.0 ± 2.6	31.7 ± 2.7	28.3 ± 10.8	205.7 ± 11.6	46.0 ± 12.2	22.6 ± 7.1	172.5 ± 7.5	32.3 ± 13.4	18.6 ± 8.6

注:与 FES 组同时时间点比较,^a $P < 0.05$

讨 论

FES 自 20 世纪 60 年代开始用于治疗脑卒中慢性期患者^[1],此后,临床应用逐渐受到重视^[8]。近年来国内、外大量文献报道显示,不论在脑卒中急性期还是慢性期,应用 FES 治疗均能明显改善卒中后运动功能障碍^[3,9]。由于脑卒中后运动功能在发病后最初几周恢复最快^[10],因此急性期应用 FES 效果相较于恢复期更明显^[11]。但目前关于 FES 治疗机制的研究仍较少见。

Barsi 等^[12]观察电刺激抓握功能训练对皮质兴奋性改变的影响。结果显示,治疗性 FES 强化自主运动使得大脑皮质运动诱发电位(motor evoked potential, MEP)波幅升高明显,提示治疗性 FES 伴自主活动可诱发运动皮质兴奋性改变,进而影响其可塑性改变。国内研究者采用经颅磁刺激(transcranial magnetic stimulation, TMS)检测 FES 治疗前后健康人及脑卒中患者皮质 MEP 的改变^[13-14],同样观察到 FES 治疗侧对应皮质兴奋性增高。李群等^[15-16]关于脊髓干细胞的研究发现,脊髓本身电活动性的变化影响脊髓内神经干细胞(neural stem cell, NSC)的生成,NSC 增生和分化具有很明显的电活动依赖性;而影响中枢神经系统电活动变化的途径包括适当的神经兴奋剂、长期的被动性肢体运动和锻炼、某种程度的电流刺激。已有 FES 的研究亦证实了其具有兴奋皮质的作用,因此,有理由相信 FES 可以通过影响大脑皮质电兴奋性改变进而影响内源性神经干细胞的增殖分化。

近年来,神经系统康复领域中最为重要的研究成果之一是认识到中枢神经系统在损伤后具有结构和/或功能上的重组能力,中枢神经系统具有高度的可塑性^[17]。脑的可塑性是脑卒中后功能康复的重要机制之一。内源性神经干细胞在损伤或炎症状态下增殖分化产生新的功能细胞(神经元细胞,星形胶质细胞,少突胶质细胞等)是脑可塑性的重要途径之一。SVZ 是目前公认的成年哺乳动物神经系统中神经干细胞最为集中的部位^[18],脑缺血可以激活 SVZ 内源性神经干细胞的增殖,并向缺血损伤的部位迁移和分化,以试图代偿和修复受损的神经组织,从而在一定程度上改善神

经功能的缺损^[19-20]。

星形胶质细胞是中枢神经系统内数量最多的神经细胞,它包绕神经元,不仅对神经元有支持和营养作用,还可能主动参与中枢神经系统对内外环境改变所发生的反应^[21]。文献报道,星形胶质细胞能够从脑脊液、血液内递质、调质、因子等的改变,以及外周传入纤维电兴奋信号变化获取信息,进而影响神经元突触的形成和可塑性改变,提高神经元突触传递的效率^[22]。星形胶质细胞还可以释放神经营养因子,而神经营养因子作为神经细胞生长调节信号能有效调节神经细胞构筑、存活及可塑性变化。星形胶质细胞能够诱导细胞再生修复物质合成增加,参与内源性修复^[23]。总之,星形胶质细胞在中枢神经系统损伤修复过程中起着非常重要的作用。

本实验表明,缺血性脑损伤后,SVZ 的细胞发生增殖,增殖细胞在缺血治疗后第 3 天明显增多,治疗第 7 天后增殖达到高峰,治疗 14 d 后仍可以看到细胞增殖,但数量较前明显减少。FES 能促进缺血后第 3、7 和 14 天 SVZ 的 NSC 增殖($P < 0.05$);实验还发现,缺血性脑损伤后,SVZ 的星形胶质细胞增多,FES 治疗后,星形胶质细胞数量较其它 2 组明显增多($P < 0.05$),但随着时间的增加(治疗 7 d、14 d 后)增多的差异并无统计学意义;而且 FES 组治疗 3、7 和 14 d 后 GFAP⁺/BrdU⁺阳性率较其它 2 组下降明显($P < 0.05$),这是因为其 GFAP⁺细胞的绝对数目随着时间变化增加的并不明显,而 BrdU⁺细胞的绝对数目随着时间变化明显增加。可以推测,FES 治疗可加速 SVZ 的 NSC 增殖,但增殖的细胞更多地分化为其它类型的细胞,或者最终凋亡。

FES 能显著改善脑卒中急性期 SD 大鼠神经功能,尤其是其运动功能,且可促进 SVZ 增殖细胞的增多,推测 FES 促进 MCAO 大鼠神经功能的恢复与其促进 SVZ 干细胞增殖的作用有关;本研究同时观察到早期星形胶质细胞明显增多(治疗第 3 天,梗死后 6 d),推测 FES 改善大鼠肢体功能与其促进神经干细胞向星形胶质细胞分化、促进脑保护以及对损伤脑组织尤其是神经元营养和支持作用增强有关;此外,FES 组治疗 3、7 和 14 d 后 GFAP⁺/BrdU⁺阳性率较其它 2 组下降明显

则提示 FES 治疗不仅可促进 NSC 向星形胶质细胞分化,而且可促进更大比例的增殖细胞分化为其他类型的神经细胞。至于 FES 治疗是否可促进 NSC 向功能更重要的神经元细胞分化,则需要进一步的实验研究加以证实。

参 考 文 献

- [1] Moe JH, Post HW. Functional electrical stimulation for ambulation in hemiplegia. *J Lancet*, 1962, 82:285-288.
- [2] Alon G, Levitt AF, McCarthy PA. Functional electrical stimulation (FES) may modify the poor prognosis of stroke survivors with severe motor loss of the upper extremity: a preliminary study. *Am J Phys Med Rehabil*, 2008, 87:627-636.
- [3] Yan T, Hui-Chan CWY, Li LSW. Functional electrical stimulation improves motor recovery of the lower extremity and walking ability of subjects with first acute stroke: a randomized placebo-controlled trial. *Stroke*, 2005, 36:80-85.
- [4] Zhang RL, Zhang ZG, Chopp M. Ischemic stroke and neurogenesis in the subventricular zone. *Neuropharmacology*, 2008, 55:345-352.
- [5] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*, 1989, 20:84-91.
- [6] Chen JL, Sanberg PR, Li Y, et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats. *Stroke*, 2001, 32:2682-2688.
- [7] Ke Z, Yip SP, Li L, et al. The effects of voluntary, involuntary, and forced exercises on brain-derived neurotrophic factor and motor function recovery: a rat brain ischemia model. *PLoS One*, 2011, 6:e16643.
- [8] Gralla J, Brekenfeld C, Arnold M, et al. Acute stroke: present and future of catheter-based interventions. *Herz*, 2008, 33:507-517.
- [9] Lin Z, Yan T. Long-term effectiveness of neuromuscular electrical stimulation for promoting motor recovery of the upper extremity after stroke. *J Rehabil Med*, 2011, 43:506-510.
- [10] Ng MF, Tong RK, Li LS. A pilot study of randomized clinical controlled trial of gait training in subacute stroke patients with partial body-weight support electromechanical gait trainer and functional electrical stimulation: six-month follow-up. *Stroke*, 2008, 39:154-160.
- [11] Popović DB, Sinkaer T, Popović MB. Electrical stimulation as a means for achieving recovery of function in stroke patients. *NeuroRehabilitation*, 2009, 25:45-58.
- [12] Barsi GI, Popovic DB, Tarkka IM, et al. Cortical excitability changes following grasping exercise augmented with electrical stimulation. *Exp Brain Res*, 2008, 191:57-66.
- [13] 刘非, 刘慧华, 燕铁斌, 等. 功能性电刺激对健康青年受试者体感及运动诱发电位的影响. *中国康复医学杂志*, 2009, 24:790-792.
- [14] 刘慧华, 燕铁斌, 刘非, 等. 功能性电刺激对脑卒中患者上肢体感及运动诱发电位的影响. *中国康复医学杂志*, 2009, 24:793-796.
- [15] 李群. 电刺激促进中枢神经系统内源性神经干细胞的增殖与分化及在脊髓损伤中的作用. *针刺研究*, 2008, 33:34-36.
- [16] Li Q, Brus-Ramer M, Martin JH, et al. Electrical stimulation of the medullary pyramid promotes proliferation and differentiation of oligodendrocyte progenitor cells in the corticospinal tract of the adult rat. *Neurosci Lett*, 2010, 479:128-133.
- [17] Rossini PM, Calautti C, Pauri F, et al. Post-stroke plastic organization in the adult brain. *Lancet Neurol*, 2003, 2:493-502.
- [18] Gould E, Gross CG. Neurogenesis in adult mammals: some progress and problems. *J Neurosci*, 2002, 22:619-623.
- [19] Gage FH. Molecular and cellular mechanisms contributing to the regulation, proliferation and differentiation of neural stem cells in the adult dentate gyrus. *Keio J Med*, 2010, 59:79-83.
- [20] Gage FH. Neurogenesis in the adult brain. *J Neurosci*, 2002, 22:612-613.
- [21] 韩济生. 神经科学原理. 北京:北京医科大学和中国协和医科大学联合出版社, 1999:161-169.
- [22] Araque A, Sanzgiri RP, Parpura V, et al. Astrocyte-induced modulation of synaptic transmission. *Can J Physiol Pharmacol*, 1999, 77:699-706.
- [23] Araque A, Carmignoto G, Haydon PG. Dynamic signaling between astrocytes and neurons. *Annu Rev Physiol*, 2001, 63:795-813.

(修回日期:2012-01-16)

(本文编辑:汪 玲)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

中华医学会杂志社对一稿两投问题处理的声明

为维护中华医学会系列杂志的声誉和广大读者的利益,现将中华医学会系列杂志对一稿两投和一稿两用问题的处理声明如下:

1. 本声明中所涉及的文稿均指原始研究的报告或尽管 2 篇文稿在文字的表达和讨论的叙述上可能存在某些不同之处,但这些文稿的主要数据和图表是相同的。所指文稿不包括重要会议的纪要、疾病的诊断标准和防治指南、有关组织达成的共识性文件、新闻报道类文稿及在一种刊物发表过摘要或初步报道而将全文投向另一种期刊的文稿。上述各类文稿如作者要重复投稿,应向有关期刊编辑部做出说明。

2. 如 1 篇文稿已以全文方式在某刊物发表,除非文种不同,否则不可再将该文投寄给他刊。

3. 请作者所在单位在来稿介绍信中注明文稿有无一稿两投问题。

4. 凡来稿在接到编辑部回执后满 3 个月未接到退稿,则表明稿件仍在处理中,作者欲投他刊,应事先与该刊编辑部联系并申述理由。

5. 编辑部认为文稿有一稿两投嫌疑时,应认真收集有关资料并仔细核实后再通知作者,同时立即进行退稿处理,在做出处理决定前请作者就此问题做出解释。期刊编辑部与作者双方意见发生分歧时,应由上级主管部门或有关权威机构进行最后仲裁。

6. 一稿两用一经证实,期刊编辑部将择期在杂志中刊出其作者姓名和单位及撤销该论文的通告;对该作者作为第一作者所撰写的一切文稿,中华医学会系列杂志 2 年内将拒绝其发表;并就此事件向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报。

中华医学会杂志社