

# 植物雌激素对去卵巢血管性痴呆大鼠认知功能和海马胆碱乙酰转移酶表达的影响

陈明<sup>1</sup> 宋焱峰<sup>2</sup> 侯一平<sup>2</sup> 刘增平<sup>3</sup> 高晓兰<sup>4</sup>

## 摘要

**目的:**观察植物雌激素对去卵巢血管性痴呆(VD)大鼠海马胆碱能神经元表达的影响,探讨植物雌激素对去卵巢VD大鼠的脑保护作用及可能机制。

**方法:**60只雌性Wistar大鼠经水迷宫筛选随机分为4组。I组(sham组):VD大鼠,未去除卵巢;II组(OVX组):VD大鼠,去除卵巢;III组(OVX+est组):VD大鼠,去除卵巢,给予化学雌激素喂养;IV组(OVX+phy组):去除卵巢,给予植物雌激素喂养。4组大鼠VD手术前后分别应用Morris水迷宫检测法进行大鼠空间认知功能的评价。采用胆碱乙酰转移酶(ChAT)免疫组织化学ABC法,观察去卵巢VD大鼠各组海马胆碱能神经元的数目。

**结果:**与OVX组相比,OVX+est组及OVX+phy组的大鼠海马胆碱能神经元数目明显升高( $P<0.05$ ),且在水迷宫中找到水下平台的时间、距离明显缩短( $P<0.05$ ),而与sham对照组差别不明显,且OVX+est组和OVX+phy组相比较,无显著性差异( $P>0.05$ )。

**结论:**植物雌激素具有雌激素样作用,能增强大鼠海马胆碱能神经元的ChAT表达,对血管性痴呆大鼠的记忆损害有一定程度的保护作用。

**关键词** 植物雌激素;胆碱乙酰转移酶;海马;去卵巢大鼠;血管性痴呆

中图分类号:R749.16 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2011)-04-0351-06

Effect of phytoestrogen on choline-acetyltransferase in hippocampus and cognizing ability of ovariectomized and vascular dementia rats/CHEN Ming, SONG Yanfeng, HOU Yiping, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2011, 26(4): 351—356

## Abstract

**Objective:** To study the effect of phytoestrogen on cholinergic neurons in hippocampus formation of ovariectomized and vascular dementia (VD) rats in order to explore the protection; on mechanism of phytoestrogen on the central nervous system.

**Method:** Sixty female Wistar rats were randomly divided into 4 groups. Sham group: treated with sham operation of ovariectomy; OVX group: ovariectomized and made into the model of VD; OVX+estrogen group: ovariectomized and made into the model of VD, and supplied with estrogen; OVX+phytoestrogen group: ovariectomized and made into the model of VD, and fed with phytoestrogen. Cognizing memory ability of rats was tested respectively in Morris water maze before and after operation of VD. The amount of cholinergic neurons was observed by using choline-acetyltransferase(ChAT) immunohistochemical SABC methods in CA1 region of hippocampus formation.

**Result:** The amount of cholinergic neurons in sham group, OVX+estrogen group, OVX+phytoestrogen group was significantly higher than that in OVX group in CA1 region of hippocampus formation in central nervous system of rats( $P<0.05$ ). Morris water maze test showed that latency, swimming distance for searching submerged platform de-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2011.04.012

1 兰州大学第一医院核医学科,730000; 2 兰州大学基础医学院解剖学教研室; 3 兰州大学第二医院耳鼻喉科; 4 甘肃中医学院解剖学教研室

作者简介:陈明,男,主治医师,医学硕士; 收稿日期:2010-03-25

creased significantly( $P<0.05$ ). The amount of cholinergic neurons and the data of latency, swimming distance for searching submerged platform in sham group, OVX+estrogen group, OVX+phytoestrogen group were not different significantly( $P>0.05$ ).

**Conclusion:** The results indicated that phytoestrogen and estrogen replacement therapy could obviously elevate cholinergic neurons expression in hippocampus of ovariectomized VD rats, so phytoestrogen could protect the damage of cognizing memory ability in VD rats.

**Author's address** Dept. of nuclear medicine of the first hospital of Lanzhou University, 730000

**Key word** phytoestrogen; choline-acetyltransferase; hippocampus; ovariectomized rats; vascular dementia

随着疾病谱的变化,人口老龄化的发展和疾病诊断水平的提高,血管性痴呆(vascular dementia, VD)发病率逐年升高,占痴呆病例的60%以上<sup>[1-2]</sup>。在我国北方脑卒中高发区,VD是最常见的痴呆类型。它不仅给患者带来了长期的痛苦,严重影响其生存质量,而且给家庭社会造成沉重负担,已成为威胁老年人健康与生存质量的重要疾病之一。目前,国内外对VD的治疗或控制病情进展尚未有肯定效果的方法和药物<sup>[3]</sup>。植物雌激素(phytoestrogen)在治疗心血管疾病、骨质疏松以及肿瘤等方面做了大量的研究,但对中枢神经系统作用的研究比较少,而且国内外尚未见有对VD患者的应用报道或基础性研究资料。本研究通过植物雌激素对去卵巢VD大鼠空间认知功能和大脑海马胆碱能神经元的影响,来探讨植物雌激素对去卵巢VD大鼠的脑保护作用及可能机制。

## 1 对象与方法

### 1.1 实验动物及药品

①动物:选用普通级3月龄健康雌性Wistar大鼠60只,体质量230—280g;②药品:ChAT多克隆抗体,浓缩型SABC配套试剂盒等均购于武汉博士德公司,大豆异黄酮购于威海清华紫光科技开发有限公司,苯甲酸雌二醇购于上海第九制药厂。

### 1.2 动物分组和去卵巢VD动物模型的建立

60只健康Wistar雌性大鼠在10%水合氯醛麻醉下仰卧固定,常规消毒,离耻骨联合上缘正中约2cm处沿腹中线切开皮肤,进入腹腔,于两侧肠管后侧找到输卵管,沿输卵管向上找到双侧卵巢,行双侧卵巢切除(OVX)、结扎残端(其中假手术组15只,不做卵巢切除,仅摘除卵巢周围的少许脂肪组织),缝合腹腔切口,术毕。将大鼠分为4组:Ⅰ组(15只,sham

组):假手术,进行普通食物喂养;Ⅱ组(15只,OVX组):去卵巢,普通食物喂养;Ⅲ组[15只,OVX+est(estrogen)组]:去卵巢,普通食物喂养加苯甲酸雌二醇(45 $\mu$ g/kg)隔日皮下注射;Ⅳ组[15只,OVX+phy(phytoestrogen)组]:去卵巢,普通食物喂养加每天大豆异黄酮灌胃,大豆异黄酮灌胃每次120mg/(kg·d)。术后第2天即开始按照分组情况喂养并给药。

VD大鼠模型制备:去卵巢术后饲养3周,采用王蕊等<sup>[4]</sup>改进的方法将大鼠用10%水合氯醛腹腔注射麻醉后,仰卧固定在手术台上,常规消毒,颈正中切口,分离双侧颈总动脉。各模型组在夹闭双侧颈总动脉之前,腹腔注射硝普钠(北京双鹤药业公司生产,用无菌蒸馏水稀释)2.5mg/kg,随即用无创动脉夹夹闭双侧颈总动脉10min后,开通10min,再夹闭10min,再开通后缝合伤口,放回笼中保温饲养。在造模全过程中,保持动物直肠温度在(37 $\pm$ 0.2) $^{\circ}$ C,以防止低温对脑缺血损伤的保护作用。

### 1.3 Morris水迷宫训练及检测

1.3.1 水迷宫测试系统购自北京Genheart公司,由数码摄录机、A/D转换卡及与其相连的计算机、相关软件等组成。水迷宫提供的主要参数有:游泳距离(distance),指找到平台的游泳曲线距离;潜伏期(latency),指大鼠入水到找到平台的时间;游泳速度(velocity)等,速度由前两项相除计算获得。

1.3.2 测试方法:水迷宫训练在VD术前和术后分别进行,每次连续4d。训练在每天8:00—13:00间进行。方法参照文献<sup>[5]</sup>,预先将迷宫任意分为4个象限。平台在训练的4d中位置一直保持不变。计算机自动跟踪计时,允许在120s内找到平台,找到后在平台上保持15s。若在120s内找不到,则将大鼠引导到平台上并保持15s。连续4d训练期间,迷宫周围的参照(包括灯光、周围的器物等)必须保持不

变。同时实验者每次将动物放入水中后应立即退出,尽量避免人为因素的干扰。

1.4 免疫组化研究

1.4.1 取材和切片:VD术后饲养7周后常规麻醉灌注固定,充分固定后迅速开颅取出脑组织,用4%多聚甲醛PBS(0.01, pH 7.4, 4℃)溶液固定6—8h,后依次放入15%、20%、30%蔗糖PBS缓冲液中过夜直至鼠脑沉入瓶底。在液氮中冻结,用冰冻切片机冠状切片,制成10μm厚连续切片,每5张切片中取1张。4℃冰箱保存备用。共4套分别进行免疫组化染色。

1.4.2 免疫组化反应:采用常规SABC法进行胆碱乙酰转移酶(choline-acetyltransferase, ChAT)的免疫组化染色,反应终止后,常规脱水-透明-封胶,镜下观察并拍照。

1.4.3 免疫组化结果观察:ChAT阳性细胞及神经纤维为棕褐色,每片随机选取5个高倍视野,计数阳性细胞数,光密度值结果行t检验。

1.5 统计学分析

数据用SPSS10.0统计软件系统处理,并以均

数±标准差表示。

2 结果

2.1 大鼠一般行为学的变化

实验初期大鼠对水中游泳环境不习惯,特别是第1天有明显的恐惧感,随着次数的增加,大鼠明显适应了环境,习惯了每日的游泳程序,活动度明显增加。经过不同手术及不同的喂养后,各组大鼠行为基本正常,对抓摸等刺激较适应,配合良好。

2.2 各组大鼠在迷宫各入水点搜索平台的结果

见表1—6。OVX、sham、OVX+phy、OVX+est各组大鼠VD手术之前在水迷宫寻找水下平台的游泳距离4d,各组大鼠游泳距离统计学比较无显著性差异(P>0.05)。VD手术之后从第2天起,OVX组大鼠游泳距离明显较同日的其他3组游泳距离延长,比较有显著性差异(P<0.05)。

OVX、sham、OVX+phy、OVX+est各组大鼠在VD术前、术后的游泳速度在4天的实验过程中,各组大鼠游泳速度始终保持在较高的水平,各组之间比较没有显著性差异(P>0.05)。

表1 各组大鼠VD术前寻找水下平台的游泳距离

( $\bar{x}\pm s, cm$ )

组别	鼠数	第1天	第2天	第3天	第4天
sham组	15	2579.14±189.56	1189.32±98.36	619.35±85.36	495.65±64.36
OVX组	15	2650.86±216.37	1086.89±96.26	583.25±79.39	542.95±61.68
OVX+phy组	15	2645.98±162.69	1250.35±102.65	710.89±84.96	458.26±60.36
OVX+est组	15	2583.54±198.23	1265.26±116.37	629.35±77.69	389.26±59.39

表2 各组大鼠VD术后寻找水下平台的游泳距离

( $\bar{x}\pm s, cm$ )

组别	鼠数	第1天	第2天	第3天	第4天
sham组	15	885.95±125.68	485.32±79.58	358.98±98.65	159.68±65.23
OVX组	15	955.65±164.56	689.35±89.58	669.45±114.32	419.65±56.39
OVX+phy组	15	768.26±98.56	456.59±64.26	269.85±45.89	98.45±15.68
OVX+est组	15	689.21±86.95	369.45±59.68	298.45±51.23	125.69±26.89

OVX、sham、OVX+phy、OVX+est 4组大鼠VD术前游泳潜伏期随着训练天数的增加,各组大鼠寻找水下平台的潜伏期逐渐缩短,但各组之间统计学比较差异无显著性(P>0.05)。而VD术后第1天各组大鼠之间寻找水下平台的潜伏期无显著性差异(P>0.05)。实验第2天、第3天、第4天寻找水下平台的潜伏期OVX组明显大于其他3组,差异比较有显著性意义(P<0.05)。

2.3 海马ChAT免疫组化的结果

组织切片见图1—5。免疫组化染色后各组大鼠海马CA I区均可见ChAT阳性颗粒,为海马ChAT阳性神经元。胞浆和突起浓染,大部分集中于锥体细胞层和颗粒细胞层内或边缘,胞体多为锥形或梭形。sham组、OVX+phy组和OVX+est组与OVX组比较,sham组、OVX+phy组和OVX+est组大鼠海马CA1区阳性细胞分布稠密,数目明显多于OVX组。

光密度值检测:sham组阳性细胞光密度值为0.3967±0.0187, OVX+phy组阳性细胞光密度值为

0.3892±0.0192, OVX+est 组阳性细胞光密度值为 0.3996±0.0189, OVX 组阳性细胞光密度值为 0.3478±0.0106。光密度值检测经统计学分析, OVX+phy 组、OVX+est 组和 sham 组的光密度值高于 OVX 组,有显著性差异( $P<0.05$ )。而 sham 组、OVX+phy 组、OVX+est 组三组之间两两比较无显著性差异( $P>0.05$ )。

### 3 讨论

自 1926 年首次报道一种植物提取物表现出雌性激素样效应以来,国内外科学家开始关注这种结构与雌激素相似,并且具有雌激素效能的天然化合物。它们主要存在于豆类植物以及齿状类植物富含纤维的种籽中,这类物质已被科学家命名为植物雌激素<sup>[6]</sup>,目前植物雌激素在中枢神经系统的研究还比较少,有研究报道指出,口服大豆植物雌激素 8 周后,可发现 ChAT mRNA 在老龄组大鼠前皮质较对照组有明显升高<sup>[7]</sup>。NGF mRNA 在年青组老鼠中海

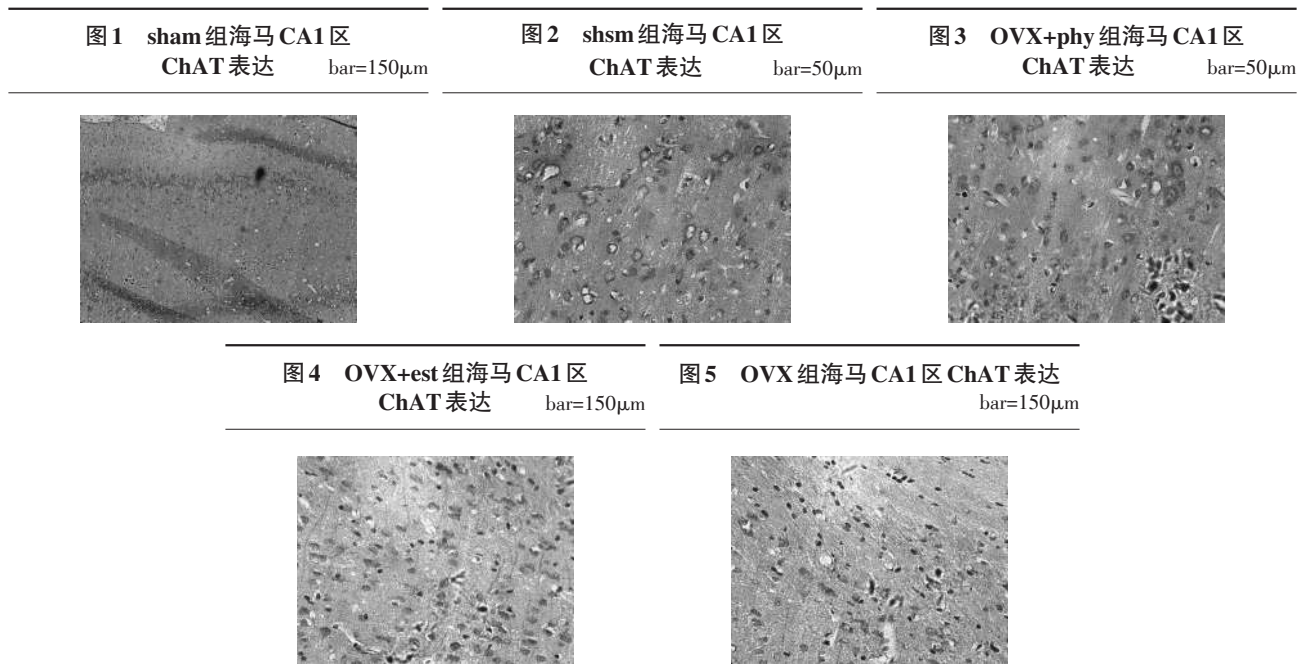


表 3 各组大鼠 VD 术前在迷宫中寻找水下平台的游泳速度

组别	鼠数	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
shsm 组	15	21.56±5.24	20.96±5.15	19.65±4.42	18.63±3.95
OVX 组	15	20.98±5.16	20.38±4.55	18.58±3.89	18.36±3.49
OVX+phy 组	15	20.26±5.06	19.56±4.19	18.47±3.69	18.19±3.26
OVX+est 组	15	19.21±4.09	18.68±3.95	18.76±4.12	17.89±3.05

表 4 各组大鼠 VD 术后在迷宫中寻找水下平台的游泳速度

组别	鼠数	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
sham 组	15	21.39±5.21	20.19±4.75	19.67±4.47	18.51±3.82
OVX 组	15	21.65±5.36	20.36±4.54	19.82±4.49	18.79±4.21
OVX+phy 组	15	19.78±4.78	18.65±3.88	18.78±4.19	18.57±3.88
OVX+est 组	15	20.73±5.10	19.68±4.48	19.01±4.11	17.88±3.01

表 5 各组大鼠 VD 术前在迷宫中寻找水下平台的潜伏期

组别	鼠数	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
sham 组	15	98.79±19.69	65.32±14.65	24.36±7.88	20.89±7.52
OVX 组	15	102.25±20.37	70.89±15.68	27.05±8.58	21.98±7.62
OVX+phy 组	15	97.09±19.68	68.25±14.86	21.45±7.59	19.67±7.39
OVX+est 组	15	98.63±19.72	62.78±14.38	19.95±8.01	18.52±6.98



表6 各组大鼠VD术后在迷宫中寻找水下平台的潜伏期

( $\bar{x} \pm s, s$ )

组别	鼠数	第1天	第2天	第3天	第4天
sham组	15	101.89±20.18	56.32±13.68	27.89±9.01	25.47±7.92
OVX组	15	105.67±21.41	72.19±16.05	61.35±15.32	38.19±12.18
OVX+phy组	15	99.56±19.85	43.59±13.01	20.97±7.49	19.65±7.23
OVX+est组	15	96.15±18.63	40.11±12.76	21.16±7.41	18.79±4.20

马部位有升高,但无明显差异(介于雌二醇和去卵巢组水平之间)。BDNF mRNA在老年鼠前皮质亦有明显升高<sup>[8-9]</sup>。另有实验指出,对去卵巢术后2周的大鼠注射植物雌激素6周后,发现大脑皮质和海马部位相应的酶及受体活性接近正常,并且通过跳台法测试动物被动及主动回避反应,其学习记忆也亦明显改善<sup>[10]</sup>。另有体外细胞培养实验表明,植物雌激素能够拮抗β淀粉样蛋白毒性,并能抑制细胞凋亡途径。可见植物雌激素有可能与雌激素一样,能够通过多种途径,多种机制发挥作用<sup>[11]</sup>。张秋玲等通过观察雌激素替代疗法对去势大鼠脑缺血再灌注所致脑损伤的影响,发现在缺乏雌激素的大鼠体内适当补充雌激素能减少脑细胞的凋亡,增强脑组织对缺血缺氧的耐受性<sup>[12]</sup>。徐杰等<sup>[13]</sup>采用去卵巢大鼠动物模型,发现植物雌激素具有雌激素样作用,能增强基底前脑胆碱能神经元的表达。

乙酰胆碱是迄今发现的与学习记忆关系最为密切的一种神经递质,ChAT是乙酰胆碱的合成酶,它可以催化乙酰辅酶A和胆碱生成乙酰胆碱,因此,ChAT的活力变化可以反映乙酰胆碱在脑中代谢率的变化,可以作为合成乙酰胆碱的指示剂,ChAT表达增强,则乙酰胆碱合成增加;反之,则乙酰胆碱的合成减少,从而学习记忆能力下降<sup>[14]</sup>。

本实验所采用的去卵巢VD动物模型,主要表现为大鼠海马胆碱能神经元退变、功能降低,并出现相应的学习、记忆功能减退,能较好的模拟中枢神经系统病变。记忆活动是在前额叶皮质进行的,而海马则是将短期记忆转换为长期记忆的“通道”,对建立环境的空间位置记忆有特殊作用<sup>[15]</sup>。由于胆碱能神经元的丢失和退变所导致的胆碱能神经元功能降低,被认为是VD患者发病机制之一。Morris迷宫实验表明,雌二醇能显著缩短正常大鼠找到平台的时间,显著增加跨越平台的次数。雌二醇的这种作用可能与海马环路中胆碱能神经元的ChAT活性

增强,进而促使ACh分泌增加有关<sup>[16-17]</sup>。Singh等人的研究证实,卵巢切除5—28周内,大鼠前额皮质区和海马区摄取高亲和力的胆碱能力降低,同时ChAT的活性也下降<sup>[10]</sup>。进一步研究表明,大鼠学习记忆行为出现的可逆性损伤与大鼠海马及前额皮质高亲和力的胆碱摄取及ChAT活性受抑制有关,雌激素对此具有改善作用<sup>[18]</sup>。上述研究表明,雌激素可能是通过作用于胆碱能系统中多个环节而影响学习记忆,如ACh与胆碱受体的结合、ChAT活性、突触前膜对高亲和力胆碱的摄取等。Morris水迷宫作为一种主要用于检测啮齿类动物空间学习能力的试验方法,因其能够全面地考察实验动物空间认知加工的过程,客观地反映其认知水平,被各国神经科学家广泛推广和应用<sup>[19]</sup>。我们利用Morris水迷宫定位航行实验,通过记录大鼠每次的逃避潜伏期反映大鼠对平台空间位置的记忆来评价大鼠的空间学习记忆能力<sup>[20]</sup>。本实验采用去卵巢大鼠动物模型,探讨植物雌激素对海马胆碱能神经元表达的影响。结果OVX、sham、OVX+phy、OVX+est四组大鼠VD术后连续4d寻找水下平台的潜伏期及游泳距离OVX组明显大于其他3组,差异比较有显著性意义( $P < 0.05$ ),而VD术前各组游泳距离、潜伏期及游泳速度(VD术前和术后)统计学比较均无显著性差异( $P > 0.05$ );免疫组化分析结果示,与OVX组比较,sham组、OVX+phy组和OVX+est组大鼠海马CA1区ChAT阳性细胞分布稠密,数目明显多于OVX组( $P < 0.05$ )。同时经统计学分析,OVX+phy组、OVX+est组和sham组的光密度值高于OVX组,有显著性差异( $P < 0.05$ ),而sham组、OVX+phy组、OVX+est组3组之间两两比较无显著性差异( $P > 0.05$ )。

#### 4 结论

本实验测定了各组大鼠海马的ChAT含量,ChAT是生成ACh的限速酶,在胆碱能神经元胞体内

合成,是胆碱能神经元的特殊标志,与ACh的分布平行,故常作为研究胆碱能神经元的标志或估计ACh含量(释放量)的间接指标<sup>[21]</sup>,本实验结果显示,大鼠在经去卵巢、双侧颈动脉结扎再通后,海马的ChAT含量下降,同时出现行为学上的认知记忆障碍,说明胆碱能系统在认知记忆中具有重要作用。本研究提示植物雌激素具有雌激素样作用,能增强大鼠海马胆碱能神经元的ChAT表达,对血管性痴呆大鼠记忆损害有一定程度的保护作用。

### 参考文献

- [1] 陈学诗,张继志,姜佐宁,等.北京市城区老年期精神疾病流行病学调查[J].中华神经精神科杂志,1987,20(3):145.
- [2] 高素英,张力平. 906名老年痴呆调查[J]. 中华老年医学杂志,1989,8(2):75—78.
- [3] 盛树力主编.老年痴呆发病机理与药物研究[M]. 北京科学技术文献出版社,2003:1—18.
- [4] 王蕊,杨秦飞,唐鹏,等.大鼠拟“血管性痴呆”模型的改进[J].中国生理病理杂志,2000,16(10):914—916.
- [5] Youngblood BD, Zhou J, Smagin GN, et al. Sleep deprivation by the "flower pot" technique and spatial reference memory. *Physiol Behav*, 1997, 61(2): 249—256.
- [6] Packard MG. Posttraining estrogen and memory modulation[J]. *Horm Behav*,1998,34(2):126—139.
- [7] Roth A, Schaffner W, Hertel C. Phytoestrogen kaempferol (3,4,5,7-tetrahydroxyflavone) protects PC12 and T47D cells from beta-amyloid-induced toxicity[J]. *J Neurosci Res*,1999,57:399—404.
- [8] Pan Y, Anthony M, Clarkson TB. Effect of estradiol and soy phytoestrogens on choline acetyltransferase and nerve growth factor mRNAs in the frontal cortex and hippocampus of female rats[J]. *Proc Soc Exp Biol Med*,1999,221(2):118—125.
- [9] Pan Y, Anthony M, Clarkson TB. Evidence for up-regulation of brain-derived neurotrophic factor mRNA by soy phytoestrogens in the frontal cortex of retired breeder female rats[J]. *Neurosci Lett*, 1999,261:17—20.
- [10] 郭开华,徐杰.植物雌激素对中枢神经系统作用的研究现状[J].解剖学研究,2002,24(4):132.
- [11] 杨华,屈秋民,郭峰.阿尔茨海默病患者性激素水平变化及其意义[J].西安交通大学学报,2004,25(4): 251.
- [12] 张秋玲,孙远标,王海英,等.雌激素对去势大鼠脑缺血再灌注致脑损伤的保护作用[J].中国康复医学杂志,2008,23(7):638—642.
- [13] 徐杰,郭开华,黄韧. 植物雌激素对去卵巢大鼠基底前脑胆碱能神经元的影响[J].解剖学杂志,2003,26(2):143—146.
- [14] 张军艳,张博爱,朱红灿,等. 学习记忆训练对全脑缺血大鼠认知能力的影响及其胆碱能机制[J]. 中国康复医学杂志, 2008, 23(4):305—308.
- [15] 谢敏,徐波,王泽军. 游泳训练对大鼠空间学习记忆能力与海马、前额叶皮质环磷酸腺苷、环磷酸鸟苷水平的影响 [J]. 中国康复医学杂志,2009,24(11):1002—1005.
- [16] 杨春.雌激素与早老性痴呆病[J].国外医学·临床生物化学与检验学分册,1999,20(3):156.
- [17] Master CL, Simms G, Weinman NA, et al. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,1985,82:4245—4249.
- [18] Wang CN, Chi CW, Lin YL, et al. The neuroprotective effects of phytoestrogens on amyloid beta protein-induced toxicity are mediated by abrogating the activation of caspase cascade in rat cortical neurons[J]. *J Biol Chem*,2001,276: 5287—5295.
- [19] 张丽萍,张曼,陈友友,等.加味温胆汤对抑郁模型大鼠学习记忆能力及海马cAMP-PKA途径的影响[J].中国康复医学杂志, 2008,23(12):1082—1085.
- [20] 韩肖华,黄晓琳,王熠钊,等.电针结合经颅磁刺激对脑缺血大鼠学习记忆功能的影响[J].中国康复医学杂志,2009,24(6):494—497.
- [21] Oda Y. Choline acetyltransferase:the structure,distribution and pathologic changes in the central nervous system[J].*Pathol Int*, 1999,49(11):921—937.