

不同持续时间的跑台训练对慢性脑缺血大鼠学习记忆功能的影响

郭雅碧 刘佩军 郑彩霞 黄海龙 陆敏

【摘要】 目的 探讨不同持续时间的跑台训练对慢性脑缺血大鼠学习记忆功能的影响。**方法** 将入选的雄性 SD 大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组和跑台训练组, 每组 30 只, 采用双侧颈总动脉永久性结扎法制备脑缺血模型, 术后观察 3 d, 造模成功的各组大鼠再根据训练时间的不同又分为 7、14 和 28 d 三个亚组, 每亚组 10 只。跑台训练的速度为 10 m/min, 斜度 0°, 训练强度为每日训练 30 min。跑台训练各亚组分别进行 7、14 和 28 d 的跑台训练, 假手术组和模型组大鼠每日仅固定于跑台训练装置, 但不进行跑台训练。采用 Morris 水迷宫方法检测大鼠的空间学习记忆能力, 用尼氏染色法检测大鼠海马 CA1 区锥体神经元的存活率。**结果** 经跑台训练后, 跑台训练组的逃避潜伏期[第 7 天(43.84±4.98) s、第 14 天(37.18±2.17) s、第 28 天(30.72±4.56) s] 随着训练时间的延长逐渐缩短($P<0.05$), 而其跨越平台的次数[(1.95±0.26) 次、(2.05±0.13) 次、(2.75±0.26) 次] 则逐渐增多($P<0.05$)。跑台训练组在训练第 14 天和第 28 天时的逃避潜伏期较同时时间点的模型组[(48.91±8.52) s 和 (48.64±7.61) s] 明显缩短($P<0.05$), 而跨越平台次数较同时时间点的模型组[(1.07±0.15) 次和 (1.25±0.50) 次] 明显增加($P<0.05$)。尼氏染色发现, 假手术组仅可见少量凋亡神经元, 训练第 14 天和第 28 天时, 模型组大鼠的受损神经元较假手术组明显增多, 而跑台训练组大鼠的受损神经元数量明显少于模型组大鼠。模型组海马 CA1 区锥体神经元存活率在第 14 天亚组和第 28 天亚组分别为 (0.55±0.05)% 和 (0.50±0.03)%, 较同时时间点假手术组[(0.77±0.04)% 和 (0.70±0.02)%] 明显降低($P<0.05$); 而跑台训练组的大鼠神经元存活率[(0.62±0.07)% 和 (0.60±0.07)%] 明显高于模型组($P<0.05$)。**结论** 跑台训练 14 d 和 28 d 均可以改善慢性脑缺血大鼠的空间学习记忆能力, 跑台训练 28 d 时作用更为显著。

【关键词】 脑缺血; 跑台训练; 学习记忆

基金项目: 湖北省自然科学基金面上项目(2015CFB468)

Effects of treadmill training on learning and memory after cerebral ischemia Guo Yabi*, Liu Peijun, Zheng Caixia, Huang Hailong, Lu Min. * Department of Rehabilitation Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Corresponding author: Lu Min, Email: lumin.tj@gmail.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of exercise on learning and memory after cerebral ischemia. **Methods** Ninety Sprague-Dawley rats were randomly divided into a sham-operated group, a model group and a treadmill training group ($n=30$ for each), which were further subdivided into groups to receive 7 days, 14 days or 28 days of training with 10 rats in each. The training was treadmill running at 10 m/min for 30 min a day. Cerebral ischemia was induced in the model and training groups using permanent, bilateral common carotid artery occlusion. The training began three days after the operation. Morris water maze tests were used to measure the rats' learning and memory ability, and Nissl staining was employed to detect the survival rates of pyramidal neurons in the CA1 area of the hippocampus. **Results** The average escape latency in the treadmill trained group had shortened significantly by day 7, then further by days 14 and 28. It was significantly shorter than the model group's average at each time point. The average platform crossing time increased significantly compared with the model group's average. Few dead neurons were observed in the sham-operated group. On days 14 and 28 the average survival rate of pyramidal neurons in the model group was significantly lower than in the treadmill training group or the sham-operated group, though there was no significant difference on day 7. **Conclusion** Treadmill training can improve learning and memory after cerebral ischemia, at least in rats. Better effects can be observed after longer training.

【Key words】 Cerebral ischemia; Treadmill training; Learning and memory; Exercise

Fund program: Natural Science Foundation of Hubei Province (General Program, grant No. 2015CFB468)

慢性脑缺血 (chronic cerebral ischemia) 是神经系统的一种常见病理状态,是血管性认知障碍发生与发展的重要因素。慢性脑缺血最早是由日本厚生省于 1990 年提出,国内报道中也出现过如慢性低灌注状态、慢性脑血管功能不全、脑供血不足以及慢性脑动脉硬化等类似名称,若不及时治疗和控制将会导致持久性或进展性的认知、神经功能障碍^[1-2]。早期对慢性脑缺血患者进行有效的干预和治疗,对改善患者认知功能,提高患者生活质量有着重大的意义。临床上运动训练大多用于肢体及运动功能障碍的患者,但有研究表明,运动训练可以增加大脑脑血管的活性,增加齿状回颗粒下区神经干细胞的增殖和神经再生,从而促进学习和记忆功能^[3]。海马区的神经元是学习记忆的结构基础^[4],慢性脑缺血会造成海马区神经元损伤^[5],而缺血后的海马区细胞元数量丢失则是认知功能障碍的重要致病环节^[6]。经长期反复验证,双侧颈总动脉结扎是目前公认最常用的制作慢性脑缺血模型的经典方法^[7]。本研究中对双侧颈总动脉永久性结扎的大鼠进行不同周期的跑台运动训练,通过 Morris 水迷宫实验^[8]评价各组动物的行为学改变,并采用尼氏染色观察海马 CA1 区神经元的数量,旨在探讨跑台训练对慢性脑缺血后学习记忆能力恢复的作用以及时间相关性。

材料与方法

一、主要实验试剂和仪器

焦油紫:武汉博士德生物有限公司;多聚甲醛:武汉博士德生物有限公司;中性树胶:武汉博士德生物有限公司;Morris 水迷宫:同济医学院药理实验室;动物实验跑台:北京兴远天地科技有限公司。

二、实验动物及分组

选取 SPF 级雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 100 只,体重 250~300 g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供。将大鼠按随机数字表法分为假手术组 (30 只)、模型组 (35 只) 和跑台训练组 (35 只)。造模前,所有大鼠均在屏障环境下饲养, (21±2)℃ 恒温,12 h 昼夜节律。自由饮水饮食,并适应性喂养 1 周。

模型组和跑台训练组的大鼠分别进行双侧颈总动脉结扎手术制模,术后各有 5 只大鼠死亡,死因包括发生呼吸抑制 3 只,术后不进食 3 只,肠梗阻 2 只,癫痫 1 只,结扎时颈总动脉断裂 1 只。连续观察 3 d,大鼠饮食饮水正常,无其他异常表现时,各组大鼠再根据训练

时间的不同又分为 7、14 和 28 d 三个亚组,每亚组 10 只大鼠。

三、动物模型制备方法

术前所有大鼠禁食 12 h,禁水 4 h;腹腔注射 10% 水合氯醛 (3 ml/kg) 麻醉大鼠后,将大鼠仰卧位固定,颈前部去毛备皮,常规碘伏局部消毒后,行颈正中中线切口,长约 2 cm 左右,止血钳分离皮下组织,暴露出双侧胸锁乳突肌后,分离出双侧颈总动脉,分离颈总动脉时小心谨慎,不能触到迷走神经而导致其损伤。模型组和跑台训练组大鼠分离出颈总动脉后,使用手术线结扎好双侧颈总动脉的远、近心端,结扎好后仔细观察大鼠的呼吸是否正常及是否出现抽搐的现象,以此判断是否失误将迷走神经结扎,确保无误后,从结扎的中间剪断血管,以完全阻断颈总动脉血流,用无菌生理盐水清洁伤口,检查伤口,无明显出血后缝合切口;假手术组仅分离出颈总动脉,不结扎血管。

手术过程中注意保护迷走神经,严密观察大鼠的呼吸变化,注意无菌操作,保持大鼠肛温约在 36.5℃。待大鼠苏醒后将其放回独立通风笼中饲养,术后每日腹腔注射青霉素 20 万 U/kg,连续 3 d,防止术后感染。

造模成功标准:①结扎过程中未过度刺激迷走神经致大鼠出现呼吸抑制症状 (如三凹征、口鼻出现粉红色分泌物等);②大鼠术后四肢运动能力完全正常;③术后逐渐恢复正常饮食饮水,体重逐渐增加;④无癫痫发作。最终完成实验的模型组和跑台训练组大鼠均造模成功。

四、跑台训练方法

跑台参数设置为 10 m/min,斜度 0°,训练强度为 30 min/d。造模前 2 d,将跑台训练组大鼠置于跑台上进行适应性训练,每天 10 min,连续训练 2 d。造模术后所有大鼠给予正常饮食饮水,观察 3 d 后,跑台训练组大鼠开始正式接受跑台训练,跑台训练各亚组分别进行 7、14 和 28 d 的跑台训练。假手术组和模型组大鼠每日仅固定于跑台训练装置,但不进行跑台训练。

五、观察指标及检测方法

1. Morris 水迷宫实验:测试程序包括定位航行和空间搜索这两个部分的实验,定位航行实验用于测试大鼠的学习能力,主要检测逃避潜伏期和探索路径长度这两个指标;空间探索实验用于测试大鼠的记忆能力,主要记录大鼠跨越平台次数^[8]。各组第 7、14 和 28 天亚组大鼠分别从实验第 5、12 天和 26 天开始进行水迷宫测试 (包括 5 次定位航行实验和 1 次空间探索实验),每天上午和下午各一次,共测试 3 d。

具体实验操作:①定位航行实验——将各组大鼠头部,面朝着池壁从 4 个象限内任意点放入水中,观察大鼠寻找到平台所需时间,并记录下时间,即为逃避潜伏期;如果大鼠未能在 60 s 内找到隐藏平台,潜伏期则记录为 60 s,并由实验者将其引领至隐藏平台上,让其在平台上停留 10 s,如果 60 s 内找到隐藏平台,则让其停留 5 s;②空间探索实验——进行 5 次定位航行试验后,将平台撤除,开始 60 s 的探索训练;此测试方法是将原先平台象限的对侧象限作为大鼠入水点,将大鼠面朝池壁放入水池中,记录大鼠 60 s 内穿越原平台位置的次数,以此作为空间探索的检测指标,穿越原平台的次数越多,则反映空间探索能力越强。

2. 尼氏染色:Morris 水迷宫实验结束后,随机抽取各亚组 5 只大鼠,腹腔注射 10%水合氯醛(3 ml/kg)麻醉大鼠,剪开肋骨并暴露心脏,在左心室壁上剪开切口,将针头小心送至升主动脉,在升主动脉看到针尖后,用剪刀在右心耳处剪一小口;先以 0.9%生理盐水自左心室快速灌注将血液冲洗干净,直至右心耳流出清亮的液体,迅速以 4%的多聚甲醛液替换生理盐水,先快后慢,直至大鼠全身变僵硬。然后断头取脑,依次行后固定、脱水、透明、浸蜡、直至石蜡切片。连续做冠状切片,片厚 5 μm。切片放入尼氏染色液充分染色后行脱水、透明和封片。

在 400 倍镜下拍摄各亚组大鼠海马 CA1 区尼氏染色图像,借助 Image Pro Plus 6.0 软件对各组大鼠海马 CA1 区存活神经元数量及神经元总数计数,神经元存活率为正常神经元数量与神经元总数的比值。

六、统计学方法

使用 SPSS 19.0 版统计软件包对各组数据进行统计学分析处理,实验数据以 ($\bar{x} \pm s$) 形式表示。采用单因素方差分析,两两比较使用 Dunnett-t 检验法,数据结果均采用 Graphpad Prism 6 绘制。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、3 组大鼠不同时间点的逃避潜伏期比较

实验第 7、14 和 28 天时,模型组大鼠寻找平台路线和时间明显延长,呈现显著的无序性(图 1),且其逃避潜伏期明显高于假手术组($P < 0.05$);跑台训练组大鼠寻找平台路线和时间亦明显高于假手术组但短于模型组(图 1),其逃避潜伏期亦明显高于假手术组($P < 0.05$)。随着时间的推移,跑台训练组的逃避潜伏期逐渐缩短,到第 14 天和第 28 天时,跑台训练组的逃避潜伏期明显低于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$),到实验第 28 天时,跑台训练组的逃避潜伏期明显低于组内第 7 天和组内第 14 天($P < 0.05$)。详见表 1。

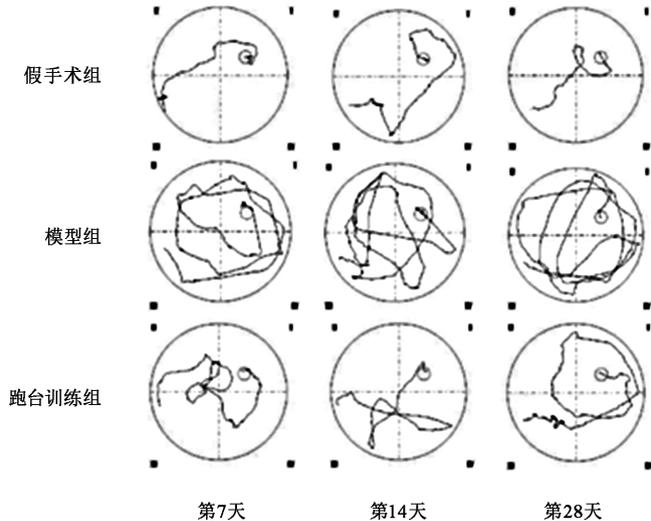


图 1 3 组大鼠定位航行实验时寻找平台的轨迹图

表 1 3 组大鼠的逃避潜伏期比较 (s, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	逃避潜伏期		
		第 7 天	第 14 天	第 28 天
假手术组	10	25.56±3.00	26.78±5.41	23.56±3.00
模型组	10	44.14±8.29 ^a	48.91±8.52 ^a	48.64±7.61 ^a
跑台训练组	10	43.84±4.98 ^a	37.18±2.17 ^{ab}	30.72±4.56 ^{abcd}

注:与同时点假手术组比较,^a $P < 0.05$;与同时点模型组比较,^b $P < 0.05$;与组内第 7 天时比较,^c $P < 0.05$;与组内第 14 天时比较,^d $P < 0.05$

二、3 组大鼠不同时间点的跨越平台次数比较

实验第 7、14 和 28 天时,模型组大鼠的跨越平台次数明显少于假手术组($P < 0.05$);实验第 7 天时,跑台训练组大鼠的跨越平台次数与模型组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),而在第 14 天和第 28 天时,跑台训练组大鼠的跨越平台次数明显高于模型组($P < 0.05$);实验第 7 天和第 14 天时,跑台训练组大鼠的跨越平台次数与假手术组比较,明显降低($P < 0.05$),但到第 28 天时组间差异无统计学意义($P > 0.05$);跑台训练组大鼠第 28 天时的跨越平台次数明显多于第 7 天和第 14 天,组内比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。详见表 2。

表 2 各组大鼠的跨越平台次数比较(次, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	跨越平台次数		
		第 7 天	第 14 天	第 28 天
假手术组	10	2.97±0.50	2.86±0.13	3.05±0.50
模型组	10	1.75±0.16 ^a	1.07±0.15 ^a	1.25±0.50 ^a
跑台训练组	10	1.95±0.26 ^a	2.05±0.13 ^{ab}	2.75±0.26 ^{bcd}

注:与假手术组同时点比较,^a $P < 0.05$;与模型组同时点比较,^b $P < 0.05$;与同组第 7 天时比较,^c $P < 0.05$;与同组第 14 天时比较,^d $P < 0.05$

三、大鼠海马 CA1 区神经元存活率

训练第 7、14、28 天时,假手术组的大鼠海马 CA1 区神经元细胞膜完整,细胞呈梭形,体积大,可见丰富

的尼氏体,呈深蓝色,同时核膜完整,胞核呈浅蓝色,核仁清晰。假手术组仅可见少量凋亡神经元,表现为细胞呈不规则形,胞浆皱缩,体积变小,尼氏体数量减少,胞核界限不清。在第 14、28 天时,模型组大鼠的正常神经元数量较假手术组均明显减少,受损神经元明显增多;而跑台训练组大鼠的正常神经元数量较同时间点模型组的大鼠均明显增多。详见图 2。

对各组大鼠的正常神经元数量及神经元总数计数,并计算比值,经统计分析后发现,在第 14 天和第 28 天时,模型组的大鼠神经元存活率较假手术组均显著下降 ($P < 0.05$);跑台训练组的大鼠较模型组神经元存活率均显著增多 ($P < 0.05$),但第 7 天时假手术组、模型组、跑台训练组组间神经元存活率差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。详见表 3。

表 3 各组大鼠海马 CA1 区锥体神经元存活率的比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	神经元存活率		
		第 7 天	第 14 天	第 28 天
假手术组	5	0.78±0.02	0.77±0.04	0.70±0.02
模型组	5	0.65±0.06	0.55±0.05 ^a	0.50±0.03 ^a
跑台训练组	5	0.69±0.04	0.62±0.07 ^b	0.60±0.07 ^b

注:与假手术组同时间点比较,^a $P < 0.05$;与模型组同时间点比较,^b $P < 0.05$

讨 论

慢性脑缺血后,患者存在不同程度的学习记忆

能力障碍^[9]。改善慢性脑缺血患者的学习记忆功能障碍成为临床上重要的研究领域。研究发现,脑组织在慢性脑缺血发生后,导致海马区神经元进行性减少,使海马 CA1 区的锥体细胞产生一系列的损伤改变,表现在行为学上就是长期的学习和记忆能力障碍^[10,11]。结扎大鼠双侧颈总动脉以后,能够导致全脑的血流灌注减少,并且这种状态可以持续存在,造成海马区锥体细胞层神经元凋亡^[12,13]。尼氏体是神经元的特征性结构之一,若神经元损伤不严重或及时消除有害因素,尼氏体可以恢复至一定水平,细胞代谢和神经功能也进一步恢复^[14]。本实验中,观察脑缺血模型组大鼠,发现海马 CA1 区神经元可见较多细胞碎片,同时尼氏体数量明显减少,说明神经元的功能受到严重损伤。本研究中,Morris 水迷宫试验结果显示,脑缺血模型组大鼠较假手术组大鼠逃避潜伏期延长,穿环次数减少,表明大鼠的学习记忆功能发生损害。

多项研究发现,运动对脑缺血有一定影响,包括增强生存率、减少神经损伤,改善功能障碍和维护神经与血管的完整性^[15-19]。跑台训练符合大鼠日常的运动情况,能够精确地调控大鼠的训练强度、改变其坡度和速度等^[20-22]。本研究采用跑台训练作为大鼠的运动方式,在训练后的各个时间点观察,发现跑台训练组大鼠与模型组比较,海马 CA1 区锥体细胞碎片明显减少,尼氏体数量明显增加,说明跑台训练能够改善脑缺

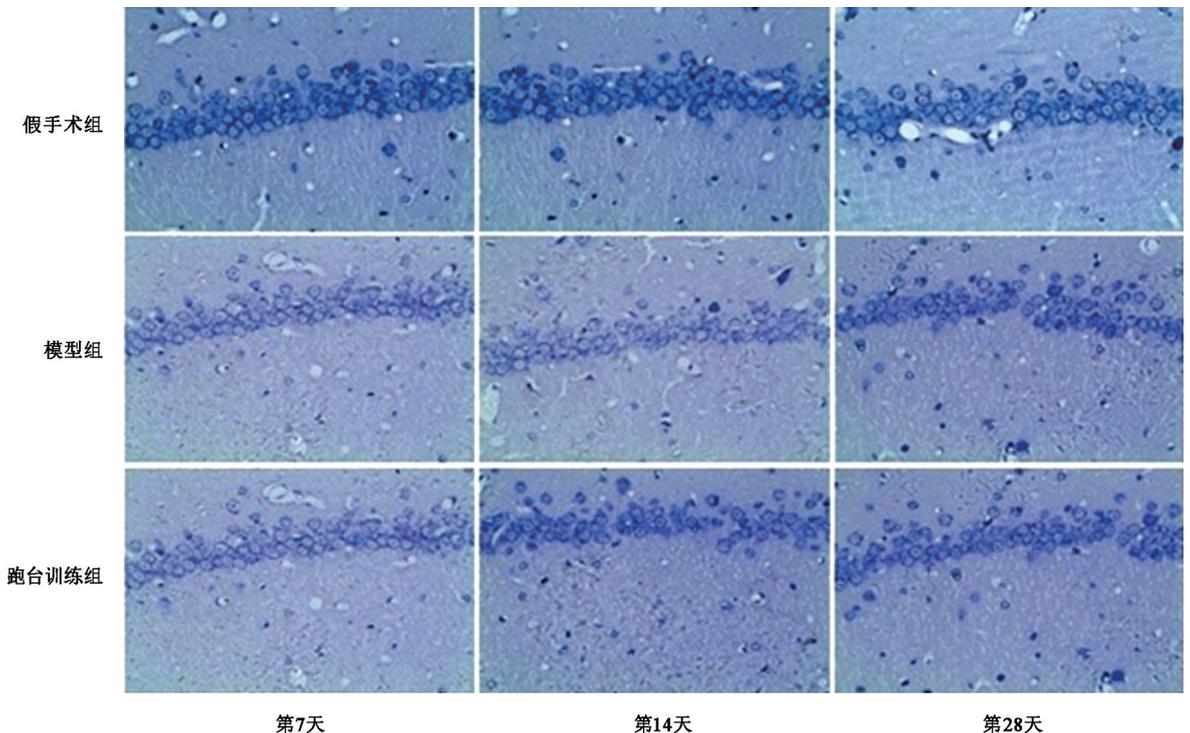


图 2 各组大鼠海马 CA1 区不同时间点的组织形态学表现(尼氏染色,×400)

血引起的神经元损害。跑台训练组的逃避潜伏期与模型组比较明显缩短,且随着训练时间的延长,这种趋势越明显。在空间探索实验中,模型组跨越平台次数降低,跑台训练组大鼠跨越平台次数与模型组相比增多。从大鼠寻找平台的轨迹图来看,跑台训练组大鼠更有目的性,明显优于模型组,并且随着训练时间的延长,大鼠的搜寻更快,经历较短的搜寻轨迹就能找到平台。

综上所述,本研究通过对慢性脑缺血大鼠跑台训练结果的观察,从形态学和行为学改变分析,发现跑台训练可以减少脑缺血后海马区神经元的丢失,改善大鼠的学习记忆能力,并且随着训练时间的延长,学习记忆能力的改善更加明显。运动训练可以成为慢性脑缺血后一种有效的治疗手段,促使学习记忆功能恢复。在我们研究的时间点,虽然发现随着训练时间的延长,学习记忆的改善越明显,但是由于脑部血供不足持续长久存在,长期的影响如何,还需要进一步的研究观察。

参 考 文 献

- [1] Lapi D, Colantuoni A. Remodeling of cerebral microcirculation after ischemia-reperfusion[J]. *J Vasc Res*, 2015, 52(1): 22-31. DOI: 10.1159/000381096.
- [2] Kim HA, Miller AA, Drummond GR, et al. Vascular cognitive impairment and Alzheimer's disease: role of cerebral hypoperfusion and oxidative stress[J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2012, 385(10): 953-959. DOI: 10.1007/s00210-012-0790-7.
- [3] Cotman CW, Berchtold NC, Christie LA. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation[J]. *Trends Neurosci*, 2007, 30(9): 464-472. DOI: 10.1016/j.tins.2007.06.011.
- [4] Poucet B, Save E, Lenck-Santini PP. Sensory and memory properties of hippocampal place cells[J]. *Rev Neurosci*, 2000, 11(2-3): 95-111.
- [5] Farkas E, Luiten PG, Bari F. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the rat: a model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases[J]. *Brain Res Rev*, 2007, 54(1): 162-180. DOI: 10.1016/j.brainresrev.2007.01.003.
- [6] 盖祥云, 赵瑛, 刘琳, 等. 脑缺血后神经细胞凋亡致血管性痴呆的研究进展[J]. *中国脑血管病杂志*, 2010, 07(11): 614-616.
- [7] Jiwa NS, Garrard P, Hainsworth AH. Experimental models of vascular dementia and vascular cognitive impairment: a systematic review[J]. *J Neurochem*, 2010, 115(4): 814-828. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2010.06958.x.
- [8] Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat[J]. *J Neurosci Methods*, 1984, 11(1): 47-60.
- [9] Wang F, Geng X, Tao HY, et al. The restoration after repetitive transcranial magnetic stimulation treatment on cognitive ability of vascular dementia rats and its impacts on synaptic plasticity in hippocampal CA1 area[J]. *J Mol Neurosci*, 2010, 41(1): 145-155. DOI: 10.1007/s12031-009-9311-7.
- [10] Cheng O, Li Z, Han Y, et al. Baicalin improved the spatial learning ability of global ischemia/reperfusion rats by reducing hippocampal apoptosis[J]. *Brain Res*, 2012, 1470: 111-118. DOI: 10.1016/j.brainres.2012.06.026.
- [11] Takasaki K, Uchida K, Fujikawa R, et al. Neuroprotective effects of citidine-5-diphosphocholine on impaired spatial memory in a rat model of cerebrovascular dementia[J]. *J Pharmacol Sci*, 2011, 116(2): 232-237.
- [12] Cai Q, Yao Z, Li H. Catalpol promotes oligodendrocyte survival and oligodendrocyte progenitor differentiation via the Akt signaling pathway in rats with chronic cerebral hypoperfusion[J]. *Brain Res*, 2014, 1560: 27-35. DOI: 10.1016/j.brainres.2014.03.001.
- [13] Cai QY, Chen XS, Zhan XL, et al. Protective effects of catalpol on oligodendrocyte death and myelin breakdown in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion[J]. *Neurosci Lett*, 2011, 497(1): 22-26. DOI: 10.1016/j.neulet.2011.04.013.
- [14] Li XH, Xin X, Wang Y, et al. Pentamethylquercetin protects against diabetes-related cognitive deficits in diabetic Goto-Kakizaki rats[J]. *J Alzheimers Dis*, 2013, 34(3): 755-767. DOI: 10.3233/JAD-122017.
- [15] Stetler RA, Leak RK, Gan Y, et al. Preconditioning provides neuroprotection in models of CNS disease: paradigms and clinical significance[J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 114(1): 58-83. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2013.11.005.
- [16] Yang JL, Lin YT, Chuang PC, et al. BDNF and exercise enhance neuronal DNA repair by stimulating CREB-mediated production of apurinic/aprimidinic endonuclease 1[J]. *Neuromolecular Med*, 2014, 16(1): 161-174. DOI: 10.1007/s12017-013-8270-x.
- [17] Zhang Q, Zhang L, Yang X, et al. The effects of exercise preconditioning on cerebral blood flow change and endothelin-1 expression after cerebral ischemia in rats[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2014, 23(6): 1696-1702. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2014.01.016.
- [18] Dornbos DR, Zwagerman N, Guo M, et al. Preischemic exercise reduces brain damage by ameliorating metabolic disorder in ischemia/reperfusion injury[J]. *J Neurosci Res*, 2013, 91(6): 818-827. DOI: 10.1002/jnr.23203.
- [19] Tahamtan M, Allahtavakoli M, Abbasnejad M, et al. Exercise preconditioning improves behavioral functions following transient cerebral ischemia induced by 4-vessel occlusion (4-VO) in rats[J]. *Arch Iran Med*, 2013, 16(12): 697-704. DOI: 10.131612/AIM.004.
- [20] Hayes K, Sprague S, Guo M, et al. Forced, not voluntary, exercise effectively induces neuroprotection in stroke[J]. *Acta Neuropathol*, 2008, 115(3): 289-296.
- [21] De Vasconcellos AP, Zugno AI, Dos SA, et al. Na⁺, K⁺-ATPase activity is reduced in hippocampus of rats submitted to an experimental model of depression: effect of chronic lithium treatment and possible involvement in learning deficits[J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2005, 84(2): 102-110. DOI: 10.1016/j.nlm.2005.05.002.
- [22] Mattson MP, Maudsley S, Martin B. BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders[J]. *Trends Neurosci*, 2004, 27(10): 589-594. DOI: 10.1016/j.tins.2004.08.001.

(修回日期: 2016-11-03)

(本文编辑: 汪 玲)