

## ·基础研究·

# 高频重复经颅磁刺激对大鼠脑梗死后学习记忆功能及pCREB、bcl-2、bax表达的影响\*

赵秀秀<sup>1</sup> 韩肖华<sup>1</sup> 张靖慧<sup>1,2</sup> 黄晓琳<sup>1,3</sup>

## 摘要

**目的:**研究高频重复经颅磁刺激(rTMS)对脑梗死大鼠学习记忆的影响,并探讨其可能机制。

**方法:**采用大脑中动脉栓塞再灌注方法建立脑梗死模型,给予7d的20Hz重复经颅磁刺激治疗,采用Morris水迷宫评定大鼠学习记忆功能变化,并观察磁刺激组与模型组、给予阻滞剂H89与给予生理盐水(NS)组间蛋白激酶A-环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(pCREB)、B细胞淋巴瘤/白血病基因2(bcl-2)、bcl基因相关蛋白(bax)的表达变化。

**结果:**①模型组大鼠与正常组相比逃避潜伏期明显延长( $P=0.001$ ),磁刺激组逃避潜伏期较模型组大鼠明显缩短( $P=0.017$ )。②磁刺激组的pCREB和bcl-2表达较模型组增加( $P<0.01$ ),bax则较模型组减少( $P<0.01$ ),bcl-2与bax的比值磁刺激组大于模型组( $P<0.01$ )。rTMS+H89组的pCREB和bcl-2表达较rTMS+NS组降低( $P<0.01$ ),bax的表达则较rTMS+NS组增加( $P<0.01$ ),rTMS+H89组bcl-2与bax的比值较rTMS+NS组亦降低( $P<0.05$ )。

**结论:**高频重复经颅磁刺激能够改善脑缺血后学习记忆功能并促进海马神经元的存活,抑制凋亡;磁刺激促进脑缺血后海马神经元存活的作用可能通过影响p-CREB通路的表达来实现。

**关键词:** 脑梗死;重复经颅磁刺激;学习记忆;蛋白激酶A-环磷酸腺苷反应元件结合蛋白;凋亡

中图分类号:R743.3,R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2012)-12-1087-06

**Effects of high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation on learning and memory of rats with cerebral infarction/ZHAO Xiuxiu, HAN Xiaohua, ZHANG Jinghui, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2012, 27(12): 1087—1092**

## Abstract

**Objective:** To investigate the effects of high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) on learning and memory ability and its mechanism in rats with cerebral infarction

**Method:** Reperfusion model with middle cerebral artery occlusion (MCAO) was established. The rTMS of 20Hz was given to successful models for 7d. Learning and memory changes of rats were observed with Morris water maze. Expression changes of protein kinase A-cyclic adenosine monophosphate response element binding protein (pCREB), B cell lymphoma/Leukemia gene2(bcl-2) and bcl2-associated protein X(bax) were investigated between model control group and rTMS group or blocker(H89) injection group and normal saline(NS) injection group.

**Result:** ①The escape latency in model control group delayed more than that in blank control group( $P=0.001$ ). The escape latency in rTMS group decreased less than that in model control group ( $P=0.017$ ). ②The pCREB and bcl-2 expressions in rTMS group increased more than that in model group ( $P<0.01$ ). The bax expression in rTMS group decreased less than that in model group ( $P<0.01$ ). The ratio of bcl-2 and bax (bcl-2/bax) in the rTMS group increased more than that in model group ( $P<0.01$ ). The pCREB and bcl-2 expressions in blocker injection group decreased more than that in NS injection group( $P<0.01$ ). The bax expression increased in blocker H89 in-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2012.12.001

\*基金项目:教育部高等学校博士学科点专项科研基金(20090142110013);国家自然科学基金(81071601);国家自然科学基金(81171858)

1 华中科技大学同济医学院附属同济医院康复医学科,湖北武汉,430030; 2 中山大学附属第三医院康复医学科; 3 通讯作者

作者简介:赵秀秀,女,硕士研究生; 收稿日期:2012-09-17

jection group more than that in NS injection group ( $P<0.01$ ). The ratio of bcl-2 and bax (bcl-2/bax) in blocker H89 injection group reduced compared with that in NS injection group ( $P=0.02$ ).

**Conclusion:** The rTMS of 20Hz could promote hippocampus neuronal survival after cerebral ischemia and inhibit apoptosis. Its affect on the pathway of PKA-CREB might be one of the mechanisms.

**Author's address** Department of Rehabilitation Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430030

**Key word** cerebral infarction; repetitive transcranial magnetic stimulation; learning and memory; PKA-CREB; apoptosis

脑缺血引起的学习记忆功能损害是神经病学和康复医学领域常见的功能障碍,直接影响到患者的康复治疗效果和生存质量。脑缺血会导致海马神经元死亡,而海马是学习记忆的关键部位。蛋白激酶A-环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(protein kinase A - cyclic adenosine monophosphate response element binding protein, PKA-CREB,pCREB)信号转导通路能促进神经细胞的存活、再生、分化等,与突触的可塑性和学习记忆功能有着密切的关系<sup>[1]</sup>,研究发现急性脑缺血激活了内源性保护机制PKA-CREB信号转导通路<sup>[2]</sup>。重复经颅磁刺激(repetitive transcranial magnetic stimulation,rTMS)是一种现代无创、无痛、安全的新技术。近年来,人们发现磁刺激还可以改善记忆功能障碍老年人的记忆<sup>[3]</sup>和提高慢性中风患者的运动学习技能<sup>[4]</sup>。本研究应用Morris水迷宫观察高频rTMS在改善脑缺血引起的学习记忆功能损害中的作用并探讨其可能的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物分组

健康成年雄性SD大鼠62只,SPF(specified pathogen free)级,体重 $250 \pm 20$ g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司[许可证号:SCXK(湘)2009-0004]。实验动物分为两部分,第一部分30只,只参与Morris水迷宫实验,随机分为正常组、模型组和rTMS组,其中正常组6只,模型组和rTMS组各12只,模型组制作大脑中动脉栓塞缺血再灌注模型,rTMS组在模型制作的基础上进行rTMS治疗,正常组不做任何处理;第二部分32只,不参与Morris水迷宫实验,进行Western blot和免疫组化检测,随机分为模型组、rTMS组、rTMS+H89(N-[2-(p-bro-

mocinnamylamino)ethyl]-5-isoquinolinesulfonamide·2HCl hydrate)组和rTMS+NS(normal saline)组,每组8只,rTMS+H89组和rTMS+NS组在分别给予侧脑室注射药物H-89和NS后复制大脑中动脉栓塞缺血再灌注模型制作,并接受rTMS治疗。

### 1.2 实验动物模型的建立

**1.2.1 侧脑室注射:**rTMS+H89组和rTMS+NS组大鼠称重后,腹腔注射10%水合氯醛(3ml/kg)麻醉,在头顶局部常规备皮、消毒,头顶正中矢状切开约1cm,3%H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>棉球擦拭使前囟暴露清晰,于前囟后0.8mm、前囟所在矢状线右侧1.5mm处用自制钴钻一小孔。用微量注射器取2g/L的H89或NS 10μl进针至硬膜下约4.5mm,缓慢脉冲式注入,分2—3次完成,每只约为5min。注射完毕后留针10min,再缓慢退针,以防药物沿针道返流。术后局部涂抹青霉素粉末,缝合消毒皮肤预防感染。侧脑室注射完成后,立即进行大脑中动脉缺血再灌注模型的制作。

**1.2.2 大鼠大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)缺血再灌注模型的建立:**参照Takano等<sup>[5]</sup>的方法线栓法制备模型,将大鼠颈部正中切开,长约1cm,暴露右侧颈总动脉和颈外动脉,丝线结扎颈外动脉。分离颈总动脉,在距颈总动脉分叉处近端0.5cm处结扎颈总动脉,在结扎线的远端置丝线备用。用微小动脉夹夹闭颈内动脉,在备用线的近端用眼科剪剪口,将前端涂有牙胶的尼龙线线栓插进切口,至动脉夹处,稍系紧备用线,后松开动脉夹,将线栓沿颈总动脉、颈内动脉顺行向上插入至大脑中动脉起始部,遇阻力时停止,从颈总动脉分叉处计算插入深度为( $1.9 \pm 0.1$ )cm,造成大脑中动脉供血阻断,60min后将线栓拔出,结扎丝线,缝合伤口,消毒皮肤,完成脑缺血再灌注模型。正常组不作任何处理。观察大鼠清醒后行为学改变。采用

Bederson评分方法,标准:0分,无明显神经功能缺失表现;1分,提尾悬空时左前肢屈曲;2分,向左侧行走;3分,向左侧转圈,成追尾状。将1、2、3分的动物纳入本实验。

### 1.3 重复经颅磁刺激

YRDCCY-I型磁刺激仪(武汉依瑞德医疗设备新技术有限公司生产),圆形刺激线圈,直径为60mm,脉冲磁场峰值强度为3.5T。模型制作第1天起rTMS组、rTMS+H89组和rTMS+NS组大鼠清醒状态下置于自制固定器中,圆形线圈磁场边缘置于大鼠梗死侧大脑上方,线圈边缘距离颅骨1cm,与头皮相切。刺激参数参考严莉等<sup>[6]</sup>的研究,频率为20Hz,强度为33%最大输出强度,刺激脉冲持续5s,间歇60s,每个序列100个脉冲,共10个序列,每天刺激1次,连续7d。

### 1.4 Morris水迷宫实验

采用Morris水迷宫(中国医学科学院生产)进行行为学检测。模型制作的第5天开始,第一部分正常组、模型组和rTMS组大鼠进行水迷宫实验,共5次,4d内完成,第1天训练2次。圆形平台固定放置于第三象限中心,放入适量水使平台低于水平面3cm。前4次为训练,每次分别从3个象限(除平台所在象限)的中点将大鼠逐一面向池壁放入水中,设定大鼠在平台上停留3s为找到平台,记录大鼠在水中寻找并爬上平台的时间,即逃避潜伏期。如果大鼠在60s内未找到平台,则将其引导至平台,停留20s以熟悉环境,此时逃避潜伏期记为60s。最后一次为检测,撤去平台,于第1象限入水点处将大鼠面向池壁放入水中,记录大鼠60s内第一次穿过平台的搜索时间(逃避潜伏期)。将最后一次成绩进行统计分析,以此来评价大鼠的空间学习记忆能力。

### 1.5 蛋白免疫印迹(Western blot)

rTMS治疗结束后模型组、rTMS组、rTMS+H89组、rTMS+NS组各随机取大鼠4只,麻醉后处死,断头取梗死侧海马,裂解、匀浆,取上清液,蛋白定量后进行聚丙烯酰胺凝胶电泳、电转移和膜封闭,封闭结束后分别用抗大鼠pCREB、bcl-2和bax抗体溶液室温孵育。pCREB抗体购自Santa公司,bcl-2和bax抗体购自CST公司。二抗孵育后显色、曝光、显影,以Gel pro4.0版凝胶光密度分析软件进行分析,测

其累积光密度值(integrated optical density, IOD),以GAPDH为内参照,求得比值,即相对光密度值,并计算bcl-2与bax的比值,进行半定量分析。

### 1.6 免疫组化

rTMS治疗结束后模型组、rTMS组、rTMS+H89组、rTMS+NS组各取剩余大鼠4只,灌注多聚甲醛固定,断头取脑,常规梯度酒精脱水、石蜡包埋,5mm厚连续冠状切片,在海马互抱平面间隔3张取1张,每个脑组织取3张,采用标准SP法进行染色,DAB显色,其中pCREB无苏木精复染,bcl-2、bax复染,检测大鼠海马各区(CA1、CA3、DG)pCREB、bcl-2、bax蛋白表达情况。每张脑片各区随机选取2个视野,采用HPIAS-1000高清晰度彩色病理图文分析系统测定免疫产物的IOD。

### 1.7 统计学分析

采用SPSS17.0统计软件,所得数据以均数±标准差表示。水迷宫实验各组比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD检验;Western blot和免疫组化检测两组间采用独立样本t检验,P<0.05表示具有显著性意义。

## 2 结果

### 2.1 Morris水迷宫测试

对参与水迷宫实验的各组统计分析发现,与正常组相比,模型组大鼠的逃避潜伏期明显延长( $P=0.001$ ),rTMS组与正常组相比差异则无显著性( $P=0.096$ ),而模型组较磁刺激组的逃避潜伏期则明显延长( $P=0.017$ ),见表1。

### 2.2 Western blot检测结果

Western blot结果显示,模型组、rTMS组、rTMS+H89组和rTMS+NS组均表达一定量的pCREB、bcl-2、bax(图1)。对无侧脑室注射过程的模型组和rTMS组各蛋白相对光密度值进行统计分析,见表2,rTMS组的pCREB和bcl-2表达较模型组增加,bax

表1 重复经颅磁刺激对脑梗死大鼠  
Morris水迷宫行为学的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数	逃避潜伏期(s)
正常组	6	$19.35 \pm 12.62$
模型组	12	$49.76 \pm 13.27^{\textcircled{1}}$
刺激组	12	$33.13 \pm 19.46^{\textcircled{2}}$

<sup>①</sup>与正常组相比P<0.05;<sup>②</sup>与模型组相比P<0.05

**表2 各组海马不同区域pCREB、bcl-2、bax  
相对光密度值的比较** ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数	pCREB	bcl-2	bax	bcl-2/bax
模型组	4	0.12 ± 0.02	0.38 ± 0.09	0.72 ± 0.15	0.57 ± 0.25
rTMS组	4	0.37 ± 0.05 <sup>①</sup>	0.68 ± 0.10 <sup>①</sup>	0.21 ± 0.03 <sup>①</sup>	3.24 ± 0.34 <sup>①</sup>
rTMS+H89组	4	0.20 ± 0.03 <sup>②</sup>	0.20 ± 0.03 <sup>②</sup>	0.67 ± 0.06 <sup>②</sup>	0.29 ± 0.02 <sup>③</sup>
rTMS+NS组	4	0.36 ± 0.03	0.61 ± 0.10	0.28 ± 0.11	2.43 ± 0.95

①与模型组相比  $P < 0.01$ ; ②与 rTMS+NS 组相比  $P < 0.01$ ; ③与 rTMS+NS 组相比  $P < 0.05$

则较模型组减少,且均有显著性意义,bcl-2 与 bax 的比值(bcl-2/bax)两组比较具有显著性差异,rTMS 组大于模型组。

对进行侧脑室注射的 rTMS+H89 组和 rTMS+NS 组各蛋白相对光密度值进行统计分析,见表 2。rTMS+H89 组的 pCREB 和 bcl-2 表达较 rTMS+NS 组减少,bax 则较 rTMS+NS 组增加,且均有显著性意义,bcl-2 与 bax 的比值(bcl-2/bax)rTMS+H89 组较 rTMS+NS 组小,也具有显著性差异。

### 2.3 免疫组化检测结果

免疫组织化学染色检测模型组、rTMS 组、rTMS+H89 组和 rTMS+NS 组大鼠海马 pCREB、bcl-2、bax 蛋白在不同区域的表达(见图 2—3),光镜下观察,海马各区均可见阳性细胞,pCREB 位于细胞核内,bcl-2 和 bax 主要位于细胞浆和突起,各蛋白主要分布于锥体细胞层和颗粒细胞层,齿状回区较密集,阳性均呈棕黄色。对无侧脑室注射过程的模型组与 rTMS 组各蛋白在不同区域的累积光密度值进行统计分析,见表 3。磁刺激组 CA1 区的 pCREB 表达较模型组增多,有显著性意义,bcl-2、bax 表达未见统计学差异;CA3 和 DG 区 pCREB、bcl-2、bax 各蛋白表达比较均未见显著性差异。

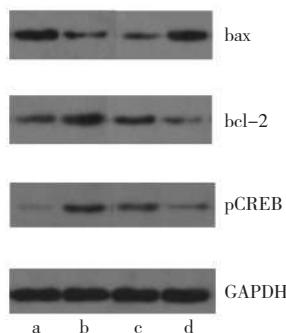
对进行侧脑室注射的 rTMS+H89 组和 rTMS+NS 组各蛋白不同区域的相对光密度值进行统计分析,见表 3。rTMS+H89 组的 pCREB 蛋白在 CA1、CA3 和 DG 各区表达均较 rTMS+NS 组减少,差异有显著性;rTMS+H89 组的 bcl-2 在 DG 区表达比 rTMS+NS 组减少,且表现出统计学差异,在 CA1 和 CA3 区则无差异;两组的 bax 在各区均无差异。

**表3 各组海马不同区域pCREB、bcl-2、bax 累积光密度值的比较** ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数	pCREB			bcl-2			bax		
		CA1	CA3	DG	CA1	CA3	DG	CA1	CA3	DG
模型组	4	23.50 ± 6.54	24.05 ± 9.29	48.58 ± 14.95	16.76 ± 6.98	25.55 ± 11.20	34.70 ± 13.20	16.66 ± 7.29	21.52 ± 9.80	47.33 ± 31.74
rTMS组	4	34.23 ± 11.37 <sup>①</sup>	27.97 ± 9.51	57.20 ± 22.81	16.94 ± 5.82	22.51 ± 4.60	26.89 ± 14.23	20.03 ± 8.25	25.19 ± 6.94	49.88 ± 17.15
rTMS+H89组	4	28.01 ± 6.36 <sup>②</sup>	25.76 ± 4.17 <sup>②</sup>	53.52 ± 12.10 <sup>②</sup>	25.68 ± 13.46	36.42 ± 16.97	29.00 ± 20.64 <sup>②</sup>	26.38 ± 16.46	34.55 ± 8.07	43.93 ± 22.46
rTMS+NS组	4	40.55 ± 9.17	36.41 ± 7.94	83.49 ± 17.04	23.04 ± 8.42	30.26 ± 4.76	52.87 ± 10.04	28.58 ± 10.89	33.99 ± 12.13	52.35 ± 17.01

①与模型组相比  $P < 0.01$ ; ②与 rTMS+NS 组相比  $P < 0.01$

**图1 各组大鼠海马 Western blot 检测结果**



a:模型组;b:rTMS组;c:rTMS+NS组;d:rTMS+H89组

### 3 讨论

急性缺血性卒中后很多患者遗留学习记忆障碍<sup>[7]</sup>,rTMS 有助于提高急性脑梗死患者的学习记忆能力,

改善神经功能缺损<sup>[8]</sup>,因此,rTMS 可能是一种改善脑缺血患者学习记忆障碍的有效方法。本研究采用 Morris 水迷宫实验来观察学习记忆功能的改变,结果发现,模型组大鼠逃避潜伏期较正常组明显延长( $P < 0.05$ ),经过磁刺激治疗的 rTMS 组逃避潜伏期较模型组则明显缩短,与正常组相比则无差异( $P > 0.05$ ),说明 rTMS 可以有效改善脑缺血大鼠的学习记忆功能。Wang 等<sup>[9]</sup>也发现高频 rTMS(5Hz)能够显著改善脑缺血后的学习记忆功能障碍,不同的是所研究的实验动物是血管痴呆型大鼠。

海马与学习记忆关系密切,此区神经元对缺血缺氧损伤较敏感,研究者认为全脑缺血后海马锥体细胞发生的迟发性、选择性神经元损伤为迟发性神经元死亡(delayed neuronal death, DND)<sup>[10]</sup>。MCAO

图2 rTMS+H89组和rTMS+NS组pCREB在海马表达 (免疫组化,SP法,×400)

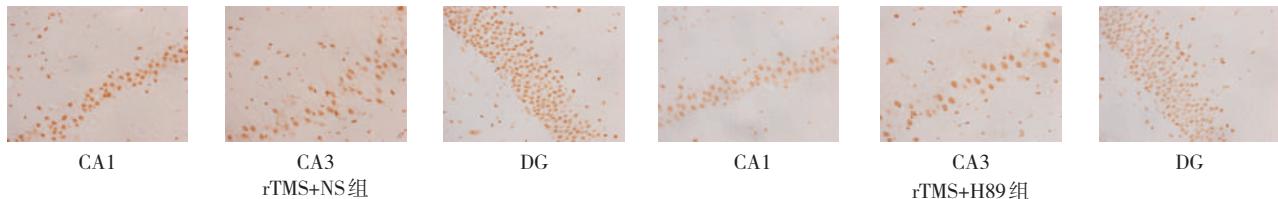
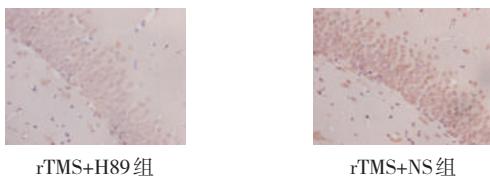


图3 rTMS+H89组和rTMS+NS组bcl-2在海马DG区表达 (免疫组化,SP法,×400)



引起的局灶性脑缺血也可伴海马区DND<sup>[11~12]</sup>,并以凋亡为主<sup>[13]</sup>。参与凋亡现象的主要调控基因包括bcl-2和bax基因,bcl-2基因过度表达可特异性抑制细胞凋亡;而bax基因过度表达则促进细胞凋亡<sup>[14]</sup>。bcl-2/bax比值高,细胞存活率高;比值低,凋亡率高<sup>[15~16]</sup>。rTMS可保护短暂脑缺血发作所诱导的迟发型神经元死亡<sup>[17]</sup>。因此,我们推测rTMS是否可以通过调节海马区细胞凋亡来保护缺血后神经元进而改善大鼠的学习记忆功能。

CREB是一种具有选择性特异结合环磷酸腺苷反应元件(cyclic adenosine monophosphate response element, CRE)的核蛋白,磷酸化的CREB(pCREB)是其活化形式,CRE则是广泛存在于真核生物许多基因启动区的一段DNA序列,磷酸化的CREB与靶基因的CRE结合,调节位于其下游的大量基因如即刻早基因(c-fos等)、bcl-2<sup>[18]</sup>、脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)基因<sup>[19]</sup>等的转录。长时程记忆形成依赖蛋白合成,而转录因子CREB在介导其形成中起关键作用<sup>[20]</sup>。PKA-CREB信号通路是长时程记忆形成的中心分子途径<sup>[21]</sup>。海马PKA-CREB信号通路参与亚精胺诱导的大鼠记忆能力的改善<sup>[22]</sup>。蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)是使其磷酸化激活的主要蛋白激酶,H89则可抑制CREB的磷酸化。因此,在Morris水迷宫实验发现rTMS能够有效改善脑缺血大鼠学习记忆功能基础上,本实验设置模型组和rTMS组,

将两组比较观察rTMS对脑缺血后海马区pCREB和凋亡蛋白的影响,并设置rTMS+H89组和rTMS+NS组,观察注射PKA阻滞剂后这种影响是否变化,进一步探索rTMS的机制。

实验Western blot检测发现,rTMS组大鼠海马pCREB与bcl-2表达较模型组均明显增加,而bax表达则下降,bcl-2与bax的比值(bcl-2/bax)大于模型组。结果说明rTMS能够促进脑缺血后pCREB的表达。体外研究发现rTMS(5Hz)对来自人体的神经元样细胞进行干预能够诱导环磷酸腺苷的形成及随后的CREB的磷酸化<sup>[23]</sup>,与本研究有相似发现。而且rTMS能够抑制凋亡,这与Gao<sup>[24]</sup>和Yoon等<sup>[25]</sup>的研究结果一致,不同的是本实验发现rTMS对bax也有影响,使其表达下降,这可能是因为所研究大脑部位不同。与rTMS+NS组相比rTMS+H89组的pCREB、bcl-2表达量下降,bax增多,bcl-2与bax的比值(bcl-2/bax)下降,说明注射PKA阻滞剂后CREB的磷酸化被抑制,同时rTMS抑制凋亡的作用减弱。Western blot结果表明磁刺激能够促进脑缺血后海马神经元的存活,抑制凋亡,而且可以通过影响PKA-CREB通路的表达来实现。免疫组化结果显示,rTMS组pCREB在CA1区表达较模型组增加,CA3和DG区则无差异,两组bcl-2和bax表达在各区均无差异;rTMS+H89组pCREB在各区表达均比rTMS+NS组减少,rTMS+H89组bcl-2在DG区表达较rTMS+NS组减少,在CA1和CA3区则无差异,两组bax各区表达均无差异。这可能是因为海马CA1区对缺血较敏感,而齿状回(DG)区对缺血较为耐受<sup>[26]</sup>,此外不同时间检测也许会有不同的发现,海马各区对阻滞剂的敏感性也可能有所不同。

综上,脑梗死后高频重复经颅磁刺激的早期干预可以改善学习记忆功能,而且能够促进pCREB表达抑制凋亡,这种平行的关系使我们重视

PKA-CREB 信号通路在学习记忆功能改善中的作用,学习记忆功能损害直接影响患者的总体康复效果,rTMS 是一种无创的新技术,因此,对其更进一步的精确研究值得期待。本实验的组织化学检测各指标在海马各区未见如 Western blot 检测同样明显的差异,除上述可能外,可能与实验对象数量偏少有关。此外,本研究的后续部分将进一步探讨高频重复经颅磁刺激在改善脑缺血后学习记忆功能中的作用机制,为临床提供理论依据。

## 参考文献

- [1] Heyward P. Presenilin dysfunction leads to memory and plasticity defects[J]. Lancet Neurol, 2004, 3(6):327.
- [2] Zhu DY, Lau L, Liu SH, et al. Activation of cAMP-response-element binding protein(CREB) after focal cerebral ischemia stimulates neurogenesis in the adult dentate gyrus[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(25):9453—9457.
- [3] Sole-Padulles C, Bartres-Faz D, Junque C, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation effects on brain function and cognition among elders with memory dysfunction. A randomized sham controlled study [J]. Cereb Cortex, 2006, 16(10): 1487—1493.
- [4] Kim YH, You SH, Ko MH ,et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation-induced corticomotor excitability and associated motor skill acquisition in chronic stroke[J]. Stroke, 2006, 37(6), 1471—1476.
- [5] Takano K, Tatlisumak T, Bergmann AG, et al. Reproducibility and reliability of middle cerebral artery occlusion using a silicone-coated suture (Koizumi) in rats[J]. J Neurol Sci, 1997, 153(1): 8—11.
- [6] 严莉,丰宏林,崔丽英.经颅重频磁刺激对大鼠脑缺血再灌注损伤后运动皮质兴奋性和神经功能的影响[J].中国临床康复,2006,10(18):79—81.
- [7] Tatemichi TK, Desmond DW, Mayeux R, et al. Dementia after stroke: baseline frequency, risks, and clinical features in a hospitalized cohort[J]. Neurology, 1992, 42(6): 1185—1193.
- [8] Sole-Padulles C, Bartres-Faz D, Junque C, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation effects on brain function and cognition among elders with memory dysfunction. A randomized sham controlled study[J]. Cereb Cortex, 2006, 16(10): 1487—1493.
- [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.
- [10] Kirino T. Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia[J]. Brain Res, 1982, 239(1):57—69.
- [11] Butler TL, Kassed CA, Sanberg PR, et al. Neurodegeneration in the rat hippocampus and striatum after middle cerebral artery occlusion[J]. Brain Res, 2002, 929(2):252—260.
- [12] Wang W, Redecker C, Bidmon HJ, et al. Delayed Neuronal Death and Damage of GDNF Family Receptors in CA1 following Focal Cerebral Ischemia [J]. Brain Res, 2004, 1023 (1): 92—101.
- [13] Jourdain P, Nikonenko I, Alberi S, et al. Remodeling of hippocampal synaptic networks by a brief anoxia-hypoglycemia [J]. J Neurosci, 2002, 22(8): 3108—3116.
- [14] Brooks C, Dong Z. Regulation of mitochondrial morphological dynamics during apoptosis by Bcl-2 family proteins: a key in Bak [J]. Cell Cycle, 2007, 6(24): 3043—3047.
- [15] Shibata M, Murray M, Tessler A, et al. Single injections of a DNA plasmid that contains the human bcl-2 gene prevent loss and atrophy of distinct neuronal populations after spinal cord injury in adult rats [J]. Neurorehabil Neural Repair, 2000, 14(4) : 319—330.
- [16] Genovese T, Esposito E, Mazzon E. Absence of endogenous interleukin-10 enhances secondary inflammatory process after spinal cord compression injury in mice[J]. J Neurochem, 2009, 108(6) : 1360—1372.
- [17] Altuwairji S, Chuang KH, Lai KP. Susceptibility to autoimmunity and B cell resistance to apoptosis in mice lacking androgen receptor in B cells [J]. Mol Endocrinol, 2009, 23 (4): 444—453.
- [18] Fujii M, Kobayashi H, Abe T, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation for protection against delayed neuronal death induced by transient ischemia[J]. J Neurosurg, 2003, 99 (6):1063—1069.
- [19] Meller R, Minami M, Cameron JA, et al. CREB-mediated Bcl-2 protein expression after ischemic preconditioning[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2005, 25(2):234—246.
- [20] Van den Berg M, Verbaarschot P, Hontelez S, et al. CREB expression in the brains of two closely related parasitic wasp species that differ in long-term memory formation[J]. Insect Mol Biol, 2010, 19(3): 367—379.
- [21] Hawk JD, Abel T. The role of NR4A transcription factors in memory formation[J]. Brain Res Bull, 2011, 85(1—2); 21—29.
- [22] Guerra GP, Mello CF, Bochi GV, et al. Hippocampal PKA/CREB pathway is involved in the improvement of memory induced by spermidine in rats[J]. Neurobiol Learn Mem, 2011, 96 (2), 324—332.
- [23] Hellmann J, Juttner R, Roth C, et al. Repetitive magnetic stimulation of human-derived neuron-like cells activates cAMP-CREB pathway[J]. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci, 2012, 262 (1): 87—91.
- [24] Gao F, Wang S, Guo Y, et al. Protective effects of repetitive transcranial magnetic stimulation in a rat model of transient cerebral ischaemia: a microPET study[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2010, 37(5):954—961.
- [25] Yoon KJ, Lee YT, Han TR. Mechanism of functional recovery after repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in the subacute cerebral ischemic rat model: neural plasticity or anti-apoptosis[J]. Exp Brain Res. 2011, 214(4):549—556.
- [26] Walton MR, Dragunow I. Is CREB a key to neuronal survival [J]. Trends Neurosci, 2000, 23(2): 48—53.