

·基础研究·

不同形式的运动训练对血管性痴呆大鼠学习记忆及海马区突触可塑性的影响*

董军涛¹ 林阳阳² 燕铁斌^{1,7} 梁慧英³ 吕 晓⁴ 何晓阔⁵ 眭明红⁶

摘要

目的:观察自主运动、强迫运动和功能电刺激诱导的运动对血管性痴呆(vascular dementia, VD)大鼠学习记忆、海马区突触可塑性的影响。

方法:成年Wistar雄性大鼠,体重250—300g;用10%水合氯醛(300mg/kg)行腹腔注射麻醉,采用双侧颈总动脉永久性结扎法制作血管性痴呆模型。造模成功后大鼠在跑轮中适应3天(剔除运动量不能达到每天270m的大鼠),采用随机数字法分为假手术组、模型组、自主运动组、强迫运动组和功能电刺激组,每组各8只。假手术组:仅暴露双侧颈总动脉,但不结扎,术后大鼠置于笼中自由活动;模型组:采用双侧颈总动脉永久性结扎法制作VD模型,术后大鼠置于笼中自由活动;自主运动组:造模1周后大鼠在跑轮(直径31.8cm,宽度10cm,旋转阻力约相当于100g物体的重力)上自由活动,用传感器记录跑过的圈数,每天270圈;强迫运动组:造模1周后大鼠在电动跑轮(直径31.8cm,长度40cm,转速9r/min)上运动,每天治疗30min;功能性电刺激组:造模1周后开始治疗,诱导大鼠前肢产生以9m/min行走时的动作,每天治疗30min。以上五组于治疗14d后,采用新奇事物识别实验测试大鼠学习记忆能力。取大鼠海马组织采用Western blot技术检测上述各组SYN、SYP、PSD-95及MAP-2、TAU蛋白表达。采用免疫组织化学染色法检测海马CA1区微管结合蛋白的变化。

结果:①新奇事物识别实验:训练阶段各组大鼠对两个相同物体的探寻指数无显著性差异,24h后进行测试,自主运动组、强迫运动组和功能电刺激组新奇事物认知指数与模型组比较,差异均具有显著性($P<0.05$),自主运动组新奇事物认知指数与强迫运动组、功能性电刺激组比较,差异均有显著性($P<0.05$),而功能性电刺激组与强迫运动组比较无显著性差异。②海马区SYN、SYP、PSD-95、MAP-2、TAU蛋白表达水平:自主运动组、强迫运动组和功能电刺激组SYN、PSD-95、MAP-2、TAU蛋白表达水平均明显高于模型组($P<0.05$),功能性电刺激组、自主运动组和强迫运动组两两比较无显著性差异;上述5组SYP蛋白表达组间无显著性差异。

结论:自主运动、强迫运动和功能电刺激诱导的运动均可促进VD大鼠学习记忆能力的恢复,其可能机制为运动训练促进海马区SYN、PSD-95、MAP-2、TAU蛋白表达,改善海马区突触可塑性。

关键词 血管性痴呆;自主运动;强迫运动;功能性电刺激;突触可塑性;学习;记忆

中图分类号:R749.16;R454.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2016)-07-0716-07

The effect of different types of exercise training on the ability of learning and memory in vascular dementia rats by improving synaptic plasticity in hippocampus/DONG Juntao, LIN Yangyang, YAN Tiebin, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2016, 31(7): 716—722

Abstract

Objective: To observe the effects of voluntary exercise, forced exercise and involuntary exercise through functional electrical stimulation on cognitive function and explore the influence of three types of exercise training

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2016.07.001

*基金项目:国家自然科学基金面上项目(81171863)

1 中山大学孙逸仙纪念医院康复医学科,广州,510120; 2 中山大学附属第六医院康复医学科; 3 中山市人民医院康复医学科; 4 广东三九脑科医院神经康复科; 5 十堰市太和医院康复医学科; 6 深圳市南山区人民医院康复医学科; 7 通讯作者

作者简介:董军涛,男,在读博士研究生; 收稿日期:2015-06-25

on plasticity in hippocampus.

Method: Male Wistar rats (SPF grade), weighting 250—300g, were anaesthetized with 10% chloral hydrate (300mg/kg), permanent ligation of bilateral common carotid artery (2-VO) was produced. After the model was successfully established, rats received 3 days accommodation (rats that failed to run 270m daily in the wheel were excluded) and randomly assigned to the sham (n=8) and four 2-VO groups (n=32): ①Control vascular dementia group (VD, n = 8), ②Voluntary exercise group (V-Ex, n=8), ③Forced wheel exercise group (F-Ex, n=8), ④Involuntary exercise group (I-Ex, n=8). After 2-VO, rats in model group and sham-operation group can freely exercise in a cage without any treatment. A week after surgery, V-Ex rats were free to run 270m a day on a running wheel (diameter: 31.8 cm, thickness: 10cm, freely rotates against a resistance of 100g). F-EX rats were forced to run 270m a day on an electric wheel (diameter: 31.8cm, length: 40cm) at a speed of 9m/min. I-EX rats were stimulated for 30 minutes every day. The stimulation pattern imitated the gait pattern of forelimb running at the speed of 9m/min. After 14 days, learning and memory test was performed by means of novel object recognition test. Western-blotting technique was used to detect the SYN, SYP, PSD-95, MAP-2 and Tau expression in the hippocampus. Immunohistochemical staining was used to detect the MAP-2 expression in the hippocampal CA1 zone.

Result: ①Novel object recognition test: In the training session, all rats showed no significant preference for two familiar objects. In the testing session (24h), novel object recognition indexes in V-Ex, F-Ex and I-Ex groups were also significantly higher than those in VD group. Novel object recognition index in V-Ex group was significantly higher than those in I-Ex and F-Ex groups. However, there was no significant difference between I-Ex and F-Ex groups. ②SYN, SYP, PSD-95, MAP-2 and Tau expression in hippocampus. The expression levels of SYN, PSD-95, MAP-2 and Tau in V-Ex, F-Ex and I-Ex groups were significantly higher than those in VD group. However, there were no significant differences among three groups. The SYP expressed in each group showed no statistical differences.

Conclusion: Voluntary exercise, forced exercise and involuntary exercise through functional electrical stimulation can equally improve the ability of learning and memory in vascular dementia rats by improving the expression levels of SYN, PSD-95, MAP-2 and TAU and inducing plasticity in hippocampus.

Author's address Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou, 510120

Key word vascular dementia; voluntary exercise; forced exercise; functional electrical stimulation; synaptic plasticity; learning; memory

血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 是由各种急、慢性脑血管疾病所导致的严重认知障碍综合征, 目前以药物治疗为主, 但治疗效果不理想, 且存在不同程度的副作用^[1]。研究发现, 康复治疗特别是运动训练对血管性痴呆的改善具有独特的作用, 无论是抗阻运动、有氧运动还是强迫运动都有促进认知功能恢复的作用, 其作用机制已成为研究的热点。目前认为运动训练改善认知的可能机制: ①可促进海马齿状回细胞增殖^[2]; ②可通过促进脑源性神经生长因子表达, 以改善海马区突触可塑性^[3]; ③可使海马和小脑区树突棘密度发生使用依赖性增高^[4]; ④运动时血液循环中儿茶酚胺类物质增多, 可促进内皮修复和血管再生^[5]。

功能性电刺激 (functional electrical stimulation, FES) 是利用一定强度的低频脉冲电流, 通过预先设定的程序来刺激一组或多组肌肉, 诱发肌肉运动或模拟正常的运动, 以达到改善或恢复被刺激肌肉或肌群功能的目的^[6]。功能性电刺激可以促进脑卒中患者偏瘫侧肢体运动功能的恢复^[7]; 基础研究发现, 功能性电刺激可以减轻脑组织损伤, 促进肢体功能恢复^[8]; 此外, 功能性电刺激可以上调海马区谷氨酸的表达水平, 促进突触素的表达, 改善突触可塑性^[9]。然而, 功能性电刺激诱导的运动能否通过改善海马区突触可塑性, 以产生类似于自主运动和强迫运动的效应, 目前仍尚不明确。本实验采用双侧颈总动脉永久性结扎法制作 VD 模型, 采用新奇事物

识别实验比较各组大鼠的学习记忆能力,采用Western blot技术比较各组大鼠海马组织SYN、SYP、PSD-95及MAP-2、TAU蛋白表达量,采用免疫组织化学染色法检测海马CA1区微管结合蛋白的变化,旨在探讨不同形式的运动训练对血管性痴呆大鼠学习记忆及海马区突触可塑性的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

实验选用SPF级成年Wistar 雄性大鼠60只,体重250—300g,由中山大学实验动物中心提供(实验动物质量合格证明编号:44008500002702)。所有大鼠均饲养于清洁级环境中,环境温度控制在22—24℃,湿度控制在50%—60%,光/暗环境12—12h(07:00—19:00)由电脑自动控制,4只/笼,自由进食、进水。本实验造模成功且存活40只,按随机数字表法分为五组,分别为假手术组、模型组、自主运动组、强迫运动组和功能电刺激组,每组各8只。

1.2 主要试剂及仪器

兔来源SYN、SYP、PSD-95、TAU单克隆抗体、鼠来源MAP-2单克隆抗体、鼠来源磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehydes phosphate dehydrogenase, GADPH)单克隆抗体、 α tubulin单克隆抗体、羊抗兔IgG、兔抗鼠IgG(Abcam,美国),化学发光显影液(Millipore,美国),电泳仪、电转化仪、凝胶成像系统(Bio-Rad,美国)。SABC免疫组化试剂盒、DAB(Abcam,美国)、光学显微镜(Olympusch-2,日本)、电热恒温培养箱(上海仪器厂)、超薄切片机(LKB-1,瑞典)、透射电镜(JEM-1200EX,日本)、显微显像分析仪(Olympus,日本)、显微照相设备(Olympus-vanox,日本)。

1.3 血管性痴呆模型的建立

实验采用双侧颈总动脉永久性结扎法制作血管性痴呆模型^[10],具体步骤叙述如下:①大鼠在禁食12h后,用10%水合氯醛(300mg/kg)腹腔注射麻醉;完全麻醉后,将大鼠取仰卧位放置于手术台上(25cm×30cm木板),用棉线将大鼠的四肢及头部固定好,并予肌注青霉素预防感染。②剪去颈部鼠毛,用碘伏消毒手术区,行颈正中切口,钝性分离皮下筋膜及甲状腺等组织,沿胸锁乳突肌肌腱向下分离双

侧颈总动脉,以“0”号线分别结扎动脉的近端和远端,并从中间剪短,阻断双侧颈总动脉的血流,甲状腺复位,逐层缝合皮肤切口并用碘伏再次消毒。③为补充术中大鼠体液流失,术后予大鼠腹腔注射2.0ml生理盐水;注意保持大鼠呼吸通畅,并用电热毯保暖,维持肛温在36—37℃。

1.4 FES治疗组电极的植入

2-VO模型制作完成后,剃去大鼠前肢毛发,显露前肢皮肤,在大鼠前肢行纵形切口,长度约2—3cm;将四根圆形绝缘电极线分别由大鼠颈后部沿皮下穿至两前肢皮肤切口处,用FES治疗仪定位前肢指总伸肌和桡侧腕长伸肌的位置,将电极线的一段分别固定于指总伸肌和桡侧腕长伸肌肌腹处,另一端缝于大鼠颈后部皮下并留少许暴露于皮外。

1.5 治疗方法

①自主运动组:大鼠在跑轮(直径31.8cm,宽度10cm,周长1m,旋转阻力约相当于100g物体的重力)上自由运动,通过传感器记录运动的圈数,270m/d。②强迫运动组:大鼠在电动跑轮(直径31.8cm,长度40cm,周长1m,转速9m/min)上运动,每天治疗30min,每治疗10min,中间休息10min,270m/d。③功能性电刺激组:频率100Hz,脉宽300 μ s,波升:波降=1:1,通:断=1:1,电流强度为4—6mA,每天总治疗时间为30min,每治疗10min,中间休息10min,模拟大鼠前肢在跑轮上以9m/min行走时的动作。模型组及假手术组:不做任何治疗,大鼠始终置于笼中自由活动。

1.6 大鼠行为学评定方法

采用新奇事物识别实验评定大鼠的学习记忆能力^[11]。实验所用的敞箱由黑色不反光的有机材料制成,其长、宽、高分别为80cm、80cm、60cm。选择“不同颜色的可乐罐”(有一定的重量,不会被大鼠推动)作为供大鼠识别的物体,分成A、B两组,每组各两个(分别标记为A₁、A₂、B₁、B₂),物体A、B形态相似,物体A₁、A₂或B₁、B₂完全相同,且大鼠在生活环境中从未见过。敞箱放置在固定光源的下方,在整个实验过程中保持位置及光源不变。为保证环境安静,实验过程中尽量减少室内各种声源。在实验开始的前两天,每天在固定时间将实验大鼠放于空箱中,自由活动一次,每次10min,最后一次放入空敞箱24h

后进行实验。

整个实验分为两个阶段:训练阶段、测试阶段,时间间隔为24h。训练阶段:开始前在敞箱一面的两个固定位置(距边缘20cm处)各放置一个供大鼠识别的物体A₁和A₂,动物背对物体放入敞箱内,自由活动5min,之后将大鼠放回原笼饲养。测试阶段:将物体A₁或A₂换成另一个识别物体B,大鼠背对识别物体放入敞箱内,计时5min。

大鼠探索“识别物体”行为的判断标准:大鼠直接用鼻子、胡须、前肢触碰识别物体,或鼻子或胡须与识别物体的间隔 ≤ 2 cm。大鼠趴在“识别物体”上向四周空间探索或在识别物体附近转身、下蹲均不作为探索行为。在敞箱的正上方安放摄像机,记录大鼠在敞箱内的活动情况。实验结束后由其他实验人员根据录像分析大鼠探索物体的行为,使用秒表分别记录探索左、右物体的时间(单位为秒)。大鼠在训练阶段探索物体A₁、A₂的时间,记录为a₁、a₂,探寻指数以ia₁、ia₂表示,ia₁=a₁/(a₁+a₂),ia₂=a₂/(a₁+a₂);在测试阶段探索物体A、B的时间,记录为a、b,认知指数以ia、ib表示,ia=a/(a+b),ib=b/(a+b),结果以均数 $\pm$ 标准差表示。

1.7 免疫印迹法检测大鼠海马组织 SYN、SYP、PSD-95 及 MAP-2、TAU 蛋白表达水平、免疫组织化学染色法检测海马 CA1 区 MAP-2 蛋白表达水平

1.7.1 各组均取4只大鼠在治疗14天后,采用10%水合氯醛过量麻醉的方法处死大鼠并迅速取脑,分离大脑海马组织,按100mg/ml的比例添加由1%蛋白酶抑制剂和1%磷酸酶抑制剂组成的裂解液,超声匀浆裂解,离心,吸取上清液,分装后置于-80℃超低温冰箱中保存待用。采用二辛可宁酸(bicinchoninic acid,BCA)法测定蛋白浓度。用微量加样器吸取25 μ l样品,在10%的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺中电泳,并将蛋白转移至聚偏氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上,将膜置于5%BSA封闭液中,室温封闭1h,切割所需分子量处的PVDF膜,放入一抗离心管内4℃摇床上过夜;用吐温-三羟甲基氨基甲烷缓冲盐溶液(tris buffered saline with tween 20,TBST)漂洗3次,放入二抗离心管内室温孵育1h。应用底物化学发光显示反应产物,bio-medical凝胶成像系统显影。采用Image J图像分析系统对各条带进行灰度

分析,目标蛋白条带的灰度值与内参GADPH、 α tubulin灰度值的之比即该蛋白的光密度比值。

1.7.2 各组均取4只大鼠于相应时间点取材,腹腔注射10%水合氯醛(350mg/kg),待大鼠麻醉完全后,开胸充分暴露心脏,经左心室插管至升主动脉,固定插管并剪开右心耳,经插管灌注生理盐水至右心耳流出的液体澄清后,再用50ml 4%多聚甲醛固定透心灌注,速度先快后慢,断头取脑,置于4%多聚甲醛中固定,常规梯度酒精脱水后用石蜡包埋,7 μ m厚连续冠状位切片,裱于经多聚赖氨酸处理过的清洁玻片上,放在60℃烤箱内烘烤2h后备用。切片经脱蜡、水化后用蒸馏水冲洗,PBS浸泡5min,3% H₂O₂室温下孵育10min,去除内源性过氧化物酶,切片用微波进行抗原修复,然后进行免疫组织化学ABC法染色。用兔抗鼠MAP-2作为一抗、生物素化的羊抗兔IgG作为二抗,工作浓度为1:200,加DAB显色液显色5—10min。加一抗、二抗与ABC复合物后,于37℃分别孵育2h、1h和1h,各步骤间用PBS震荡洗涤3次,每次5min。用正常羊血清代替一抗作为阴性对照。应用Mias 2000医学图像分析系统(由中山大学孙逸仙纪念医院实验中心提供)分析MAP-2阳性反应的面积和灰度值。每张切片在相同结构部位随机选取4个视野进行测量,取其平均值。

1.8 统计学分析

应用SPSS 17.0统计软件进行统计学处理,数据以均数 $\pm$ 标准差表示,经方差齐性及正态性检验后,各组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD检验,设置P<0.05为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 新奇事物识别实验

见表1。训练阶段:各组大鼠对左右两相同物体的探寻指数间差异无显著性意义(P>0.05,n=8)。测试阶段:假手术组、功能性电刺激组、强迫运动组和自主运动组大鼠对A、B的探寻指数间差异有显著性意义(P<0.05,n=8),模型组大鼠对A、B的探寻指数间差异无显著性意义(P>0.05,n=8)。自主运动组、强迫运动组和功能电刺激组大鼠新奇事物认知指数均较模型组明显增大,差异均有显著性意义(P<0.05,n=8),自主运动组与强迫运动组比

较,差异有显著性意义($P < 0.05$, $n=8$),自主运动组与功能性电刺激组比较,差异有显著性意义($P < 0.05$, $n=8$),大小关系为:自主运动组>功能性电刺激组>强迫运动组。

2.2 海马区 SYN、SYP、PSD-95、MAP-2、TAU 蛋白表达水平

见表2,图1—3。图1示自主运动组、功能性电刺激组、强迫运动组 PSD-95 表达水平均较模型组明显升高($P < 0.05$),差异有显著性意义;而自主运动组、强迫运动组、功能性电刺激组两两比较,差异均无显著性意义($P > 0.05$)。自主运动组、功能性电刺激组、强迫运动组 SYN 表达水平均较模型组明显升高($P < 0.05$),差异有显著性意义;而自主运动组、强迫运动组、功能性电刺激组两两比较,差异均无显著性意义($P > 0.05$)。自主运动组、强迫运动组、功能性电刺激组大鼠 SYP 表达水平均较模型组有所升高,但差异均无显著性意义($P > 0.05$)。

图2示自主运动组、功能性电刺激组 MAP-2 表达水平均较模型组明显升高($P < 0.05$),差异有显著性意义;自主运动组与功能性电刺激组比较,差异均无显著性意义($P > 0.05$)。自主运动组、功能性电刺激组、强迫运动组 TAU 表达水平均较模型组明显升高($P < 0.05$),差异有显著性意义;上述3组之间两两比较,差异均无显著性意义($P > 0.05$)。

图3示自主运动组、功能性电刺激组、强迫运动组 MAP-2 表达水平均较模型组明显升高($P < 0.05$),差异有显著性意义;上述3组之间两两比较,差异均

无显著性意义($P > 0.05$)。

3 讨论

记忆是人脑对经验过事物的识记、保持、再现或再认,它是进行思维、想象等高级心理活动的基础,初始的记忆处于易变状态,而后通过分子结构的修饰加以强化,记忆痕迹变得稳固^[12]。记忆痕迹的处理至少分为两个阶段:短期记忆(0—3h),持续数分钟至数小时的非依赖蛋白质合成阶段;长期记忆,持续数小时至数天的依赖蛋白质合成阶段^[13]。

Berlyne RA 等^[14-15]研究发现,大鼠在探寻新旧两个物体时,会花费更多的时间探寻新物体,据此 Ennaceur 等于1988年设计了“新奇事物识别实验”,该实验过程中不存在电击、强迫游泳等强迫性行为,也无需禁食,完全依赖于动物的天性。首先让大鼠接触两个形状、重量、朝向相同的物体 A₁、A₂,间隔一定的时间后再次接触物体 A 及一个不熟悉的物体 B,大鼠会花费大量的时间探寻先前没有见过的物体 B,而对于熟悉的物体 A 则较少探寻;通过比较大

表1 5组大鼠行为学测试指数 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	探寻指数 ia ¹	探寻指数 ia ²	认知指数 ia	认知指数 ib
假手术组	0.51±0.12	0.48±0.15	0.26±0.05	0.74±0.05 ^①
模型组	0.52±0.13	0.48±0.11	0.51±0.04	0.49±0.04
功能性电刺激组	0.49±0.16	0.51±0.12	0.37±0.02	0.63±0.02 ^①
强迫运动组	0.52±0.14	0.48±0.13	0.41±0.03	0.59±0.03 ^①
自主运动组	0.51±0.11	0.49±0.18	0.28±0.03	0.72±0.03 ^②

①与模型组比较 $P < 0.05$; ②与功能性电刺激组和强迫运动组比较 $P < 0.05$ 。

表2 海马区 SYP、SYN、PSD-95、MAP-2、TAU 相对表达量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	SYP/ α tublin	SYN/ α tublin	PSD-95/ α tublin	MAP-2/GADPH	TAU/GADPH
假手术组	8	1.49±0.09	0.68±0.06	1.21±0.07	0.81±0.06	0.65±0.06
模型组	8	1.40±0.08	0.56±0.05 ^②	0.58±0.15 ^②	0.42±0.07 ^②	0.34±0.06 ^②
功能性电刺激组	8	1.35±0.10	0.74±0.06 ^①	1.07±0.09 ^①	0.56±0.08 ^①	0.66±0.08 ^①
强迫运动组	8	1.52±0.09	0.76±0.07 ^①	0.95±0.15 ^①	0.51±0.07	0.69±0.15 ^①
自主运动组	8	1.45±0.08	0.87±0.07 ^①	1.00±0.05 ^①	0.56±0.08 ^①	0.77±0.12 ^①

①与模型组比较 $P < 0.05$; ②与假手术组比较 $P < 0.05$ 。

图1 海马区 SYN、SYP、PSD-95 蛋白表达水平

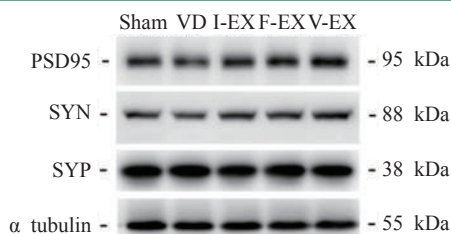


图2 海马区 MAP-2、TAU 蛋白表达水平

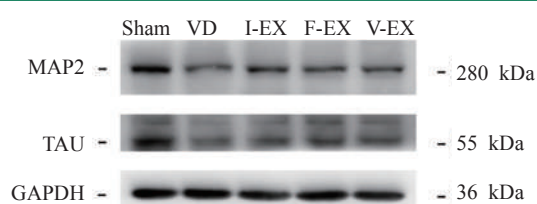
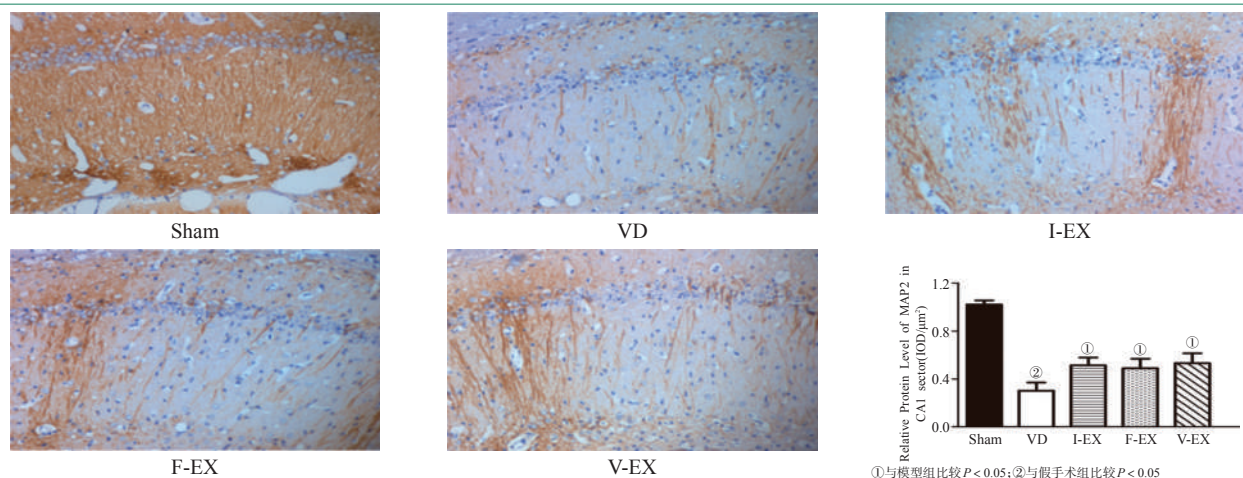


图3 海马CA1区MAP-2表达水平

(免疫组化染色, ×200)



鼠对物体B的探寻时间在整个探寻时间的比值,用以判断大鼠的记忆能力。如果大鼠对两个物体的探寻指数无差异,表明大鼠的记忆能力减弱。

本研究发现,训练阶段各组大鼠对两个相同物体的探寻指数差异无显著性意义,这说明各组大鼠对左右两个物体的探寻机会是均等的,不存在倾向性,可以排除因探寻机会不均等所造成的误差。在24h后进行测试,自主运动组、强迫运动组和功能性地电刺激组大鼠的新奇事物认知指数均明显高于模型组,且自主运动组新奇事物认知指数明显高于功能性电刺激组和强迫运动组,说明三种形式的运动训练都可以促进VD大鼠学习记忆的恢复,以自主运动效果最佳,功能性电刺激次之。

学习记忆是大脑最基本的高级功能之一,目前认为与学习记忆相关的脑区包括内侧颞叶系统、前额叶皮质、间脑、杏仁核、小脑、Meynert基底核和纹状边缘区等^[16]。海马是内侧颞叶系统中与学习记忆的关系最密切的结构,直接参与信息的贮存和回忆,对缺血缺氧损伤十分敏感^[17]。在研究人类血管性痴呆的病理生理机制时,常选择双侧颈总动脉永久性结扎法制作动物模型。血管性痴呆引起的认知损害通常与脑组织广泛存在的小缺血灶或血管损害有关,以海马区为著。造模后1—3天海马区出现白质稀疏、神经元萎缩;7天后纹状体出现坏死^[18]。因此,我们选择在造模一周后开始治疗,以保证模型的相对稳定。

突触可塑性是指突触的形态和功能发生较为持

久改变的特性或现象,是学习记忆形成的神经生理学基础^[19]。SYN为突触前膜的标记蛋白,参与囊泡聚集、递质释放、轴突生长和突触联系的维持等,常用来表示突触密度的变化^[20]。突触后致密物-95 (postsynaptic density 95, PSD-95)是突触后致密物的组成蛋白,为突触后膜的标记蛋白,对维持树突棘的稳定具有重要作用^[21]。许多研究证实,运动训练可以促进海马区SYN、PSD-95的表达^[22—24]。本研究发现,无论接受何种形式的运动训练,VD大鼠海马区SYN、PSD-95的表达水平均明显升高,这说明运动训练可通过改善突触可塑性,促进轴突生长,影响VD大鼠学习记忆能力。SYP存在于神经元和神经内分泌细胞的突触前囊泡膜上,与神经递质快速释放和突触小泡的胞吐作用及突触可塑性有关^[25]。文献报道,中等强度的运动训练可改善因年龄增长而造成的SYP水平的降低,可能与神经发芽及新突触形成有关^[26]。本研究自主运动和功能性电刺激诱导的运动使VD大鼠海马区SYP的表达水平有所升高,但未表现出显著性差异,这可能与运动强度及总治疗周期的选择有关,需延长治疗周期或改变运动强度进一步验证。

MAP-2是一种微管结合蛋白,主要存在于神经元的树突,对于树突分支、树突棘生长和突触发生等具有重要作用^[27]。VD大鼠海马区发生的组织学改变常伴有MAP-2、SYN免疫反应性的降低^[28]。TAU为含量最高的微管结合蛋白,主要存在于神经元的轴突,其功能是促进微管蛋白聚合形成微管,维持轴

突微管稳定性^[29]。本研究发现,自主运动、强迫运动和功能性电刺激诱导的运动均可改善海马区突触可塑性,提高VD大鼠的学习记忆能力。

在临床工作中,我们发现血管性痴呆患者自主运动能力明显下降,且常伴有不同程度的运动障碍,上述三种形式的运动训练均可促进认知功能的恢复,因此,我们认为采用功能性电刺激对患者进行康复治疗,不仅可以改善患者的运动功能,还可能会对患者的认知功能产生积极的影响。

参考文献

- [1] Rockwood K, Mitnitski A, Black SE, et al. Cognitive change in donepezil treated patients with vascular or mixed dementia[J]. Can J Neurol Sci, 2013, 40(4): 564—571.
- [2] Uysal N, Tugyan K, Kayatekin BM, et al. The effects of regular aerobic exercise in adolescent period on hippocampal neuron density, apoptosis and spatial memory[J]. Neurosci Lett, 2005, 383(3): 241—245.
- [3] Van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, et al. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(23): 13427—13431.
- [4] Stranahan AM, Lee K, Martin B, et al. Voluntary exercise and caloric restriction enhance hippocampal dendritic spine density and BDNF levels in diabetic mice[J]. Hippocampus, 2009, 19(10): 951—961.
- [5] Rhyu IJ, Bytheway JA, Kohler SJ, et al. Effects of aerobic exercise training on cognitive function and cortical vascularity in monkeys[J]. Neuroscience, 2010, 167(4): 1239—1248.
- [6] Rushton DN. Functional electrical stimulation[J]. Physiol Meas, 1997, 18(4): 241—275.
- [7] Thrasher TA, Popovic MR. Functional electrical stimulation of walking: function, exercise and rehabilitation[J]. Ann Readapt Med Phys, 2008, 51(6): 452—460.
- [8] 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[J]. PLoS One, 2011, 6(2): e16643.
- [9] 金冬梅, 庄志强, 燕铁斌, 等. 功能性电刺激对急性脑梗死大鼠运动功能和缺血半影区与镜区突触素表达的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2009, 24(12): 1061—1064, 1069.
- [10] 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.
- [11] Ennaceur A, Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data[J]. Behav Brain Res, 1988, 31(1): 47—59.
- [12] Kandel ER. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses[J]. Science, 2001, 294(5544): 1030—1038.
- [13] Medina JH, Bekinschtein P, Cammarota M, et al. Do memories consolidate to persist or do they persist to consolidate? [J]. Behav Brain Res, 2008, 192(1): 61—69.
- [14] Bevins RA, Besheer J. Object recognition in rats and mice: a one-trial non-matching-to-sample learning task to study 'recognition memory'[J]. Nat Protoc, 2006, 1(3): 1306—1311.
- [15] Bertaina-Anglade V, Enjuanes E, Morillon D, et al. The object recognition task in rats and mice: a simple and rapid model in safety pharmacology to detect amnesic properties of a new chemical entity[J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2006, 54(2): 99—105.
- [16] 刘永红, 柏林. 学习记忆相关脑区[J]. 第一军医大学分校学报, 2003, 26(2): 153—154.
- [17] Leuner B, Gould E. Structural plasticity and hippocampal function[J]. Annu Rev Psychol, 2010, 61: 111—140.
- [18] Jellinger KA. The enigma of vascular cognitive disorder and vascular dementia[J]. Acta Neuropathol, 2007, 113(4): 349—388.
- [19] Richter JD, Klann E. Making synaptic plasticity and memory last: mechanisms of translational regulation[J]. Genes Dev, 2009, 23(1): 1—11.
- [20] Fornasiero EF, Raimondi A, Guarnieri FC, et al. Synapsins contribute to the dynamic spatial organization of synaptic vesicles in an activity-dependent manner[J]. J Neurosci, 2012, 32(35): 12214—12227.
- [21] Ehrlich I, Klein M, Rumpel S, et al. PSD-95 is required for activity-driven synapse stabilization[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(10): 4176—4181.
- [22] Gomez-Pinilla F, Ying Z, Roy RR, et al. Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity[J]. J Neurophysiol, 2002, 88(5): 2187—2195.
- [23] Vaynman SS, Ying Z, Yin D, et al. Exercise differentially regulates synaptic proteins associated to the function of BDNF[J]. Brain Res, 2006, 1070(1): 124—130.
- [24] Revilla S, Sunol C, Garcia-Mesa Y, et al. Physical exercise improves synaptic dysfunction and recovers the loss of survival factors in 3xTg-AD mouse brain[J]. Neuropharmacology, 2014, 81: 55—63.
- [25] Yong Z, Yan L, Gao X, et al. Effects of thienorphanine on synaptic structure and synaptophysin expression in the rat nucleus accumbens[J]. Neuroscience, 2014, 274: 53—58.
- [26] Chen YC, Chen QS, Lei JL, et al. Physical training modifies the age-related decrease of GAP-43 and synaptophysin in the hippocampal formation in C57BL/6J mouse[J]. Brain Res, 1998, 806(2): 238—245.
- [27] Harada A, Teng J, Takei Y, et al. MAP2 is required for dendrite elongation, PKA anchoring in dendrites, and proper PKA signal transduction[J]. J Cell Biol, 2002, 158(3): 541—549.
- [28] Wang F, Chang G, Geng X. NGF and TERT co-transfected BMSCs improve the restoration of cognitive impairment in vascular dementia rats[J]. PLoS One, 2014, 9(6): e98774.
- [29] Leugers CJ, Lee G. Tau potentiates nerve growth factor-induced mitogen-activated protein kinase signaling and neurite initiation without a requirement for microtubule binding[J]. J Biol Chem, 2010, 285(25): 19125—19134.