·基础研究·

有氧运动对慢性缺血性认知障碍模型大鼠海马组织pCREB、PICK1及GluR2蛋白表达的影响*

张 泓[1] 黄桂兰[2] 谭 洁[1,3] 黎 帅[1] 邓多喜[1] 刘桐言[1] 刘家庆[1] 郭奎奎[1] 肖 瑶[1]

摘要

目的:观察有氧运动对慢性缺血性认知障碍模型大鼠学习记忆能力及海马组织中磷酸化环磷腺苷反应元件结合蛋白(pCREB)、蛋白激酶C相互作用蛋白1(PICK1)及谷氨酸受体2(GluR2)表达的影响,探讨其部分作用机制。

方法:56只SD雄性大鼠按照随机数字表法分成4组,假手术组、模型组、药物组及有氧运动组,每组14只。模型组、药物组及有氧运动组按照双侧颈总动脉永久结扎法制备模型,所有大鼠于造模前、造模后及治疗后进行3次Morris水迷宫评估,运用尼氏染色法观察海马CA1区病理形态学改变、Western Blot法测定大鼠海马组织pCREB、PICK1及GluR2蛋白的表达情况。

结果:①Morris水迷宫评估结果显示:与假手术组比较,模型组的平均逃逸潜伏期时间明显延长、平台搜索次数显著减少(P<0.01);与模型组比较,有氧运动组及药物组大鼠找到平台所需时间减少(P<0.01),平台搜索次数增加(P<0.05,P<0.01);而有氧运动组和药物组比较,无显著性意义(P>0.05)。②尼氏染色光镜下,模型组、有氧运动组及药物组尼氏小体数量减少,排列紊乱疏松,细胞结构出现不同程度的损害,而有氧运动组及药物组损害较模型组轻。③Western Blot法测定结果显示:模型组大鼠海马组织pCREB、GluR2蛋白表达含量与假手术组相比明显减少(P<0.01),PICK1蛋白表达量明显增加,差异均有显著性意义(P<0.01);与模型组相比,有氧运动组和药物组大鼠海马组织pCREB(P<0.01,P<0.05)、GluR2蛋白表达量均增加(P<0.05,P<0.01),PICK1蛋白表达量均明显减少(P<0.01);而有氧运动组和药物组在以上蛋白表达上无差异(P>0.05)。

结论:有氧运动能有效提高慢性缺血性认知障碍大鼠的学习、记忆能力,其治疗效果与单唾液酸四己糖神经节苷脂钠注射液相当。上调海马组织内pCREB、GluR2蛋白,下调PICK1蛋白的表达可能是其治疗慢性缺血性认知障碍的部分机制之一。

关键词 有氧运动;认知障碍;血管性痴呆;模型大鼠

中图分类号:R493,R749.16 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2018)-07-0777-06

Effects of aerobic exercise on the expression of PCREB, PICK1 and GluR2 proteins in hippocampus of rats with ischemic cognitive impairment/ZHANG Hong,HUANG Guilan,TAN Jie, et al.//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2018, 33(7): 777—782

Abstract

Objective: To investigate the influence of aerobic exercise on memory ability and the expression of pCREB, PICK1 and GluR2 on hippocampus in rats with ischemic cognitive disorder.

Method: Fifty-six male Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups: sham-operation group, model group,medicinal group and aerobics group according to the numeration table(n=10 in each group). In model group,medicinal group and aerobics group,common carotid arteries were ligated to establish the model. All groups were evaluated by Morris water maze three times,before the models,after the models and after the treatment.The pathomorphological changes of CA1 areas in hippocampus was observed by Nissl staining and

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2018.07.005

*基金项目:湖南省教育厅优秀青年项目(16B197);湖南省"十二五"重点学科针灸推拿学开放基金重点资助项目(2015-02)

1 湖南中医药大学,湖南长沙,410208; 2 南京医科大学附属无锡同仁(国际)康复医院; 3 通讯作者

作者简介:张泓,男,博士研究生导师,教授; 收稿日期:2017-06-23

the impression of pCREB,PICK1 and GluR2 was also measured by Western Blot.

Result: ①Morris water maze assessment showed, The average escape latency was significantly longer and the platform search frequency decreased significantly in model group than in sham-operation group(P<0.01).The required time to find the platform(P<0.01)and the platform search frequency(P<0.05, P<0.01)was shorter in aerobic exercise group and medicinal group than in model group,but there was no significant difference between aerobic exercise group and medicinal group(P>0.05).②The number of Nissl bodies in the neurons decreased,the arrangement was chaotic and loose and the cell structure was damaged in different degrees in model group,aerobic exercise group and medicinal group.The damage in aerobic exercise group and medicinal group was lighter than in model group.③Western Blot assessment showed, The pCREB and GluR2 protein levels was significantly lower and GluR2 protein levels was significantly higher in model group than in sham-operation group(P< 0.01).Compared with the model group, the expressions of pCREB and GluR2 protein in the hippocampus of the aerobic exercise group and the medicinal group were increased(P<0.01,P<0.05), The expression of PICK1 protein decreased obviously(P<0.01).But there was no significant difference between aerobic exercise group and medicinal group(P>0.05).

Conclusion: The aerobic exercise can effectively enhance the learning and memory ability of rats with chronic ischemic cognitive disorder,The therapeutic effect is comparable to that of single sialic acid and four hexose ganglioside sodium injection.The up-regulated expression of pCREB and GluR2 and The down-regulated expression of PICK1 may be one of the mechanisms in the treatment of chronic ischemic cognitive impairment.

Author's address Hunan University of Traditional Chinese Medicine, 410208

Key word aerobic exercise; cognitive impairment; vascular dementia; model rats

认知障碍是脑血管疾病常见并发症之一[1—2],其中缺血性脑血管疾病占脑血管病总发病率的75%—80%,缺血性脑血管病所引发认知功能障碍,发病率逐年上升,严重的影响了中老年人群的健康和生存质量[3—4]。有氧运动训练作为康复治疗的重要组成部分,安全、无副作用,在神经康复领域中的应用日趋广泛[5],且其治疗认知障碍的疗效已被临床实践和实验研究所证实[6—7],但目前仍较缺乏深入的理论研究。有研究表明pCREB可调控 PICK1蛋白介导突触膜上GluR2的内化和循环的过程,在缺血性损伤致兴奋性毒性作用中担任关键角色,对增强神经突触可塑性有着重要的作用与意义[8]。而神经突触可塑性被认为是反应学习与记忆功能的重要细胞学基础[9]。本研究主要通过观察缺血性认知障碍大鼠的行为学及形态学变化,及海马组织中pCREB、PICK1及GluR2蛋白的表达情况,探讨有氧运动参与脑缺血致认知功能障碍的作用靶点及机制,进一步探索防治缺血性认知功能障碍的有效途径。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

健康SPF级SD雄性大鼠56只,体质量(200±20)g,由湖南斯莱克景达实验动物有限责任公司提供,质量合格证码:43004700025547,饲养于湖南中医药大学动物实验中心,许可证号:SYXK(湘)2013-0005。大鼠给予标准饲料和饮水,自然节律光照,温度22—25℃,湿度50%—70%,在实验前适应性喂养1周后,对所有大鼠进行Morris水迷宫测试,以每只大鼠平均逃避潜伏期作为衡量标准,剔除部分游泳能力差或基础认知功能差的大鼠,最终筛选出合格大鼠56只,在其尾部进行标记(1—56号),按随机数字表法分为4组,即假手术组、模型组、药物组及有氧运动组各14只,实验过程对动物处置严格遵守国家科技部2006年发布的《关于善待实验动物的指导性意见》[10]。

1.2 主要实验试剂与仪器

动物行为学习记忆系统(法国View-point公司);台式冷冻离心机TGL-18R(中国深圳黑马);单唾液酸四己糖神经节苷脂钠注射液(规格:2ml:20mg,批号:国药准字H20093712,西南药业股份有限公司),兔抗大鼠pCREB、GluR2、PICK1抗体(美国proteintech);水合氯醛(批号20151121:国药集团化学试剂

有限公司)。

1.3 模型制作

模型组、药物组及有氧运动组采用双侧颈总动脉永久结扎法制备模型[11—12]:造模前所有大鼠禁食12h,10%水合氯醛(300mg/kg)腹腔注射麻醉,将大鼠仰卧位固定于鼠板,颈部去毛备皮,强力碘消毒,以颈部正中做长约1.5cm的纵向切口,钝性分离皮下组织,找到斜方肌及气管边缘肌肉的夹角,轻轻捏起两侧肌肉,暴露颈总动脉,分离迷走神经,用4号线分别结扎颈总动脉远、近端,并从中间剪断,以确保阻断颈总动脉血流。术中注意避免损伤迷走神经,严密观察呼吸变化,保证有自主呼吸。术后用适量抗生素敷撒创面,预防感染,缝合皮肤,假手术组仅分离颈总动脉和迷走神经,不结扎。

成模标准[13]:造模后,连续进行水迷宫测试6天,以假手术组大鼠隐匿平台逃避潜伏期的平均值作为参考值,计算结扎大鼠隐匿平台逃避潜伏期平均值与参考值之差占该鼠平均逃避潜伏期的比值,若该值大于20%,则为认知障碍大鼠造模成功。

1.4 干预方法

有氧运动治疗:对有氧运动组大鼠进行无负重游泳训练,即在120cm×80cm×70cm的长方体塑料水桶中进行,水桶四壁光滑,确保大鼠无法通过尾尖支撑桶底而进行休息,水深40cm,水温33±2°C,大鼠首先适应性游泳1周后进行正式训练,每天1次,每次运动20min,连续进行4周[14—15]。游泳训练时注意观察大鼠的状态,预防溺水死亡,并及时捞出大鼠粪便,保持池水清洁。

药物治疗:给予药物组大鼠单唾液酸四己糖神经节苷脂钠[16—17],按0.33mg/kg的量模拟人体表面积换算进行腹腔注射,一天1次,连续4周。

1.5 指标检测

1.5.1 Morris水迷宫评估行为测试:本研究主要通过Morris水迷宫试验对认知障碍模型大鼠的空间学习能力以及记忆能力进行研究。Morris水迷宫试验包括定位航行试验和空间搜索试验,具体方法为:于造模前、造模后及治疗后进行3次Morris水迷宫评估,进行水迷宫评估时,加入水约25—30cm深,水中加入适量二氧化钛粉适量,以水面呈乳白色,不能见底为宜。将水池等分为四个象限,选第三象限的正中部放一高约24cm、半径约5cm的平台,要求水面高出平台约2cm。调试水迷宫上方与计算机连接的摄像机到合适照射范围及清晰度,将大鼠在第1象限入水点放入池的同时进行软件计时,并利用与Morris水迷宫相连的计算机软件记录大鼠游经的路线。测试时注意保持室内安静,光照均匀,避免影响大鼠测试结果及计算机识别大鼠游泳路线的能力。

定位航行试验:定位航行试验是反映大鼠空间学习能力的主要试验,逃避潜伏期时间短说明大鼠学习能力好,即记录2min内大鼠寻找平台的时间,即逃避潜伏期,若大鼠未能在2min时间内顺利找到平台,由实验员用木棒引导大鼠爬上平台,并停留10s,时间记为2min。历时5d,1次/d。

空间搜索试验:空间搜索试验是衡量大鼠记忆及判断能力的主要试验,穿越平台的次数多说明大鼠记忆能力好。即在定位航行试验后去掉平台,计算机记录大鼠2min内穿越平台的次数。

1.5.2 大鼠海马组织CA1区形态学观察:最后一次水迷宫评定后进行取材,大鼠脱颈致死后,立即断头取脑,将标本置入4%多聚甲醛溶液中后固定约48h,常规60℃烤片脱水、石蜡包埋后进行切片,切片后置于二甲苯中脱蜡,梯度酒精进行再脱水,尼氏染色液染色,中性树胶封片,显微镜下观察大鼠海马组织的病理变化情况。

1.5.3 Western Blot法检测:最后一次水迷宫评定后进行取材,处死大鼠,立即断头取脑组织,冰上快速剥离一侧海马组织,置于5ml冷冻管,转入液氮中5—10min,最后转入-80℃冰箱冷冻保存。剪取0.25g组织,加入300μl RIPA裂解液,经冰上蛋白裂解,离心后进行BCA法测定蛋白浓度,分别切胶pCREB(37KD)、PICK1(47KD)、GluR2(99KD)及β-actin(42KD),转移至PVDF膜上,分别置于一抗、二抗中孵育,ECL显色曝光。采用计算机成像软件分析目的蛋白表达情况,以相关蛋白与内参β-actin蛋白灰度值的比值作为pCREB、PICK1及GluR2蛋白的相对表达水平。

1.6 统计学分析

采用SPSS 21.0软件进行统计分析,计量资料用均数±标准差表示。大鼠体重情况、各组大鼠Morris水迷宫组间比较及海马组织pCREB、PICK1

及GluR2蛋白的表达情况的组间比较均采用单因素方差分析(One-way ANOVA),多重比较方差齐者用LSD检验,方差不齐者用Dunnett T3法;不符合正态分布者时,采用秩和检验。显著性水平为α=0.05。

2 结果

2.1 一般情况

造模前大鼠状态活跃,饮食饮水正常,昼夜活动节律正常。造模后大鼠表现为兴奋性减弱、对外界的各种刺激敏感性差、少动喜卧,目光呆滞、体重增加缓慢,治疗后状态有所好转。造模前一天及造模后每周对实验大鼠进行称重,如表1所示,假手术组大鼠的体重呈稳步上升的趋势,而其余三组在造模后第2天出现体重下降,随后逐渐上升,各组体重无显著性差异(P>0.05),说明有氧运动训练对体重无明显影响,见表1。

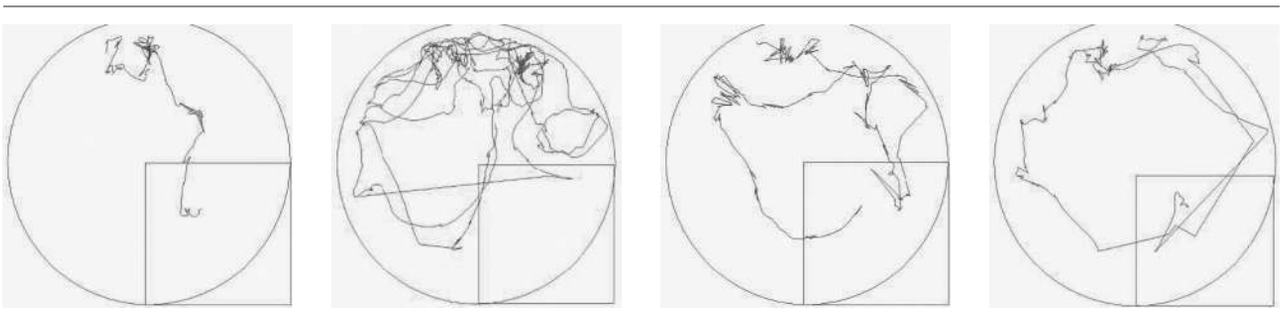
表1 各组大鼠体重情况 (n=14)

测试时间	假手术组	模型组	药物组	有氧运动组
-1d	218.2±6.2	219.2±7.1	214.7±11.4	215.2±5.9
2d	223.4±4.5	203.3±9.0	197.0±7.6	199.4±6.6
7d	230.3±7.4	210.7±8.3	212.9±8.2	202.3±4.7
14d	245.3±8.2	226.9±10.2	225.4±7.8	218.3±7.9
21d	263.8±6.3	238.5±6.9	247.3±7.4	235.8±8.0
28d	279.6±9.0	250.4±8.0	265.0±9.5	265.8±7.8
35d	297.9±10.1	261.3±7.3	383.0±10.6	285.6±9.6
42d	319.1±6.8	285.7±8.4	305.9±8.6	303.9±10.5
49d	338.1±9.4	310.4±6.6	322.0±9.9	321.1±8.7
56d	350.8±8.0	327.9±8.6	339.3±6.3	335.1±9.8

2.2 各组大鼠Morris水迷宫结果

2.2.1 各组大鼠游泳轨迹结果:如图1所示,可见假手术组游泳路线更有趋向性、直线性、目的性;模型组大鼠游泳路线为随机式的方式更明显,轨迹集中于周边区域,且路线长而迂折,属于边缘式游泳搜索策略;而药物组及有氧运动组大鼠游泳轨迹也稍趋于边缘区域,但路径较模型组更短。

图1 各组大鼠游泳轨迹比较



假手术组　　模型组　　药物组　　有氧运动组

2.2.2 各组大鼠学习、记忆能力结果:如表2,与假手术组比较,模型组的平均逃逸潜伏期时间明显延长、平台搜索次数显著减少(P<0.01);与模型组比较,有氧运动组及药物组大鼠找到平台所需时间减少(P<0.01,P<0.01),平台搜索次数增加(P<0.05,P<0.01);而有氧运动组与药物组相比,无显著性意义(P>0.05)。

表2 各组大鼠逃逸潜伏期及穿越平台次数的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	逃逸潜伏期	穿越平台次数
假手术组	14	36.07±6.80	5.71±0.99
模型组	14	64.50±6.44①	3.43±0.76①
药物组	14	55.43±4.96②	4.57±0.94②
有氧运动组	14	51.57±5.18②	4.50±1.24③
F		56.58	13.90
P		0.00	0.00

注:与假手术组比较①P<0.01;与模型组比较②P<0.01,③P<0.05

2.3 各组大鼠海马组织CA1区形态学的观察

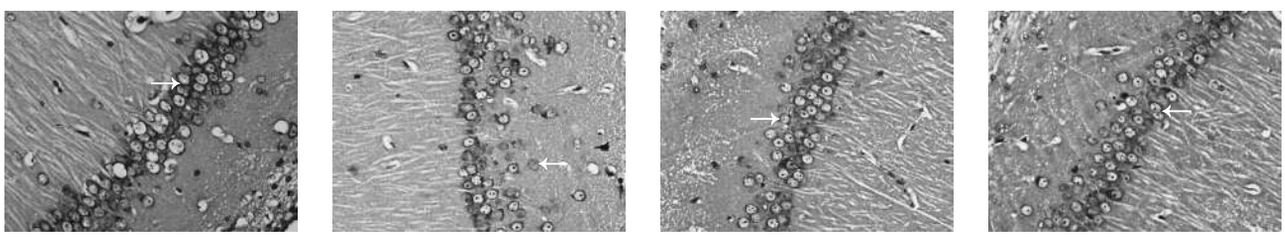
如图2,假手术组大鼠海马CA1区神经细胞数量较多,排列整齐紧密,结构形态完整;而模型组大鼠海马组织细胞丢失明显,结构不清晰,细胞排列疏松,且尼氏小体数量明显减少;有氧运动组和药物组则区别不大,表现为细胞结构部分损伤,尼氏小体数量较模型组稍增加。

2.4 各组大鼠海马组织pCREB、PICK1及GluR2蛋白表达水平比较

如表3可见,模型组大鼠海马组织pCREB、GluR2蛋白表达含量较假手术组相比明显减少(P<0.01),PICK1蛋白表达量明显增加,差异均有显著性意义(P<0.01);与模型组相比,有氧运动组和药物组大鼠海马组织pCREB表达量均增加(P<0.01,P<

0.05),GluR2蛋白同样增加(P<0.05,P<0.01),PICK1蛋白表达量均明显减少(P<0.01);而有氧运动组和药物组在以上蛋白表达上无显著性意义(P>0.05)。见图3。

图2 各组大鼠海马组织形态学改变 (尼氏染色,×400)



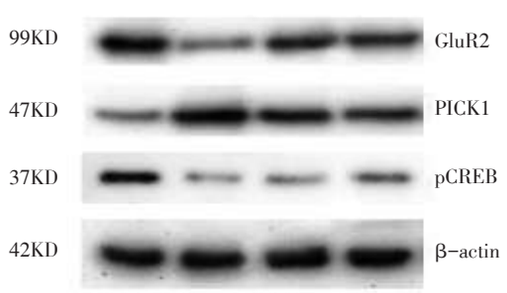
假手术组 模型组 药物组 有氧运动组

表3 各组大鼠pCREB、PICK1及GluR2蛋白表达 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	pCREB	PICK1	GLUR2
假手术组	6	0.275±0.045	0.420±0.073	0.623±0.075
模型组	6	0.142±0.025①	0.662±0.021①	0.318±0.073①
药物组	6	0.192±0.016③	0.552±0.063②	0.480±0.080②
有氧运动组	6	0.180±0.057②	0.542±0.078②	0.443±0.086③
F		21.859	14.856	15.230
P		0.000	0.000	0.000

注:与假手术组比较:①P<0.01;与模型组比较:②P<0.01,③P<0.05

图3 各组大鼠pCREB、PICK1及GluR2蛋白表达条带的密度值比较



假手术组 模型组 药物组 有氧运动组

3 讨论

慢性缺血性认知功能障碍是一种轻度或早期的认知功能障碍,因其病情隐匿往往未被重视,而随着时间推移,大部分将发展为血管性痴呆,影响中老年人的健康和生存质量。学习和记忆是认知功能的重要组成部分,学习记忆的基础在于神经系统发育的可塑性,而突触的细微变化是学习和记忆储存的关键部位。因此,神经突触可塑性被认为是学习与记忆的重要细胞学基础[18]。

研究表明,CREB是细胞内重要的第二信使,其调控的信号通路在学习记忆过程中具有显著的作用。相关实验研究已证实[19],CREB经磷酸化(pCREB)后可抑制长时程记忆的形成,其数量的增加或活性的增强可促进长时程记忆的形成,在神经元再生、突触形成及学习记忆等方面具有重要的调节作用,故可作为判断学习、记忆能力损伤程度的常见指标。近年来,PICK1在慢性缺血性认知障碍中研究越来越多,多项研究表明,PICK1蛋白参与了脑缺血损伤的机制,敲除PICK1能对缺血产生明显的保护机制,PICK1可能是缺血治疗的一个潜在的靶点[20]。另研究显示,AMPA受体在神经突触可塑性的表达中发挥重要作用[21],AMPA受体的主要特征是由GluR2决定,GluR2蛋白表达下调被认为是一种分子开关,阻断或减少GluR2在膜上的表达能增强神经突触可塑性[22]。可见,PCREB、PICK1及GluR2均与认知障碍的形成密切相关,但CREB磷酸化水平与GluR2、PICK1的表达变化有何关系,是怎样调控神经突触可塑性达到改善认知的作用?本实验通过研究发现,有氧运动组大鼠海马组织pCREB、GluR2蛋白表达量较模型组增加,PICK1蛋白表达量明显减少,可见,有氧运动治疗缺血性认知障碍模型大鼠pCREB、GluR2均与PICK1的表达存在负相关的关系。推测部分机制可能是有氧运动疗法促进CREB的磷酸化,从而下调海马组织内PICK1的表达及上调亚基GluR2含量,最终达到促进神经突触可塑性,改善脑学习记忆等认知功能的效果。但由于缺血性脑血管疾病引起的认知障碍机制复杂特性及多靶点特性,其上下游信号转导通路值得进一步研究,以期为有氧运动治疗缺血性认知障碍的临床应用提供明确依据。

本实验采用的造模方法是改良小切口双侧颈总动脉永久性结扎造模方法，课题组前期研究[11]发现，小切口双侧颈总动脉永久性结扎方法具有操作简单、手术死亡率低、生理病理指标稳定、可重复性强的特点。本实验Morris水迷宫评估结果显示，经双侧颈总动脉永久性结扎造模方法的大鼠潜伏期明显延长，穿越平台的次数明显减少，提示经造模后大鼠学习及记忆能力减弱，再次证明小切口双重永久结扎的造模方法的可靠性；而经有氧运动治疗后能有效提高大鼠学习及记忆能力，这也与不少国内外动物实验结果相一致[23—24]。

单唾液酸四己糖神经节苷脂钠是最重要的神经节苷脂之一，临床上常被运用到中枢神经系统疾病中。具有促进神经细胞的分化、神经树突的生长、突触的形成的重要功能，能有效通过血脑屏障，减轻神经细胞水肿，改善脑组织缺血、缺氧状态。临床研究同样表明，单唾液酸四己糖神经节苷脂钠能有效改善脑损伤后认知功能[16—17]。研究结果显示，有氧运动与单唾液酸四己糖神经节苷脂钠治疗认知障碍模型大鼠在逃避潜伏期、穿越平台次数、病理学改变及调节相关蛋白的程度上均无显著性意义（$P>0.05$），说明有氧运动与单唾液酸四己糖神经节苷脂钠在治疗缺血性认知障碍模型大鼠的效果相当。有氧运动训练作为一种独特的康复治疗方法，具有操作简便、成本低廉、不良反应少及无创伤性的独特优势，弥补了一般药物治疗费用贵、副作用大等缺点，而且避免了每日吃药之麻烦和痛苦，减少了就诊次数，因而本研究拟通过有氧训练这一非药物干预方式，来减缓认知障碍患者的进展，以期进一步推广至社区，为认知障碍患者的康复治疗提供一种行之有效的治疗方法。

本研究仍存在一些不足之处，即考虑到一致性，本研究选用的动物均为雄性，不能较全面的反映总体临床相关疾病情况；另外模型成功的评价标准主要采用Morris水迷宫行为试验，下步研究可考虑结合小动物的影像学检查来评价模型，提供更客观更全面的模型评价标准。

参考文献

[1] Chander RJ, Choong A, Lim L, et al. The role of chronic cerebrovascular diseases in the development of post-stroke cognitive impairment[J]. Alzheimers & Dementia the Journal of the Alzheimers Association, 2015, 11(7):811—813.

[2] Ritter A, Pillai JA. Treatment of vascular cognitive impairment[J]. Current Treatment Options in Neurology, 2015, 17(8):367.

[3] 刘群,李欣,黄青云,等.认知训练治疗脑卒中后认知功能障碍的研究进展[J]. 中国康复医学杂志, 2017, 32(2):95—98.

[4] Lee YM, Park JM, Lee BD, et al. Memory impairment, in mild cognitive impairment without significant cerebrovascular disease, predicts progression to Alzheimer's disease[J]. Dementia & Geriatric Cognitive Disorders, 2012, 33(4):240—244.

[5] Ukropcova B, Slobodova L, Vajda M, et al. Combined aerobic-strength exercise improves cognitive functions in patients with mild cognitive impairment[J]. Alzheimers & Dementia, 2015, 11(7):193—198.

[6] Porto FH, Coutinho AM, Pinto AL, et al. Effects of aerobic training on cognition and brain glucose metabolism in subjects with mild cognitive impairment[J]. Journal of Alzheimers Disease, 2015, 46:747—760.

[7] Quaney BM, Boyd LA, Mcdowd JM, et al. Aerobic exercise improves cognition and motor function poststroke[J]. Neurorehabilitation & Neural Repair, 2009, 23(9):879—885.

[8] Benito E, Barco A.CREB's control of intrinsic and synaptic plasticity: implications for CREB-dependent memory models [J]. Trends in Neurosciences,2010,33(5): 230—240.

[9] Shapiro ML, Eichenbaum H. Hippocampus as a memory map: synaptic plasticity and memory encoding by hippocampal neurons[J]. Hippocampus, 2015, 9(4):365—384.

[10] 中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见[Z]. 国科发财字〔2006〕398号, 2006-09-30.

[11] 谭洁, 韩国栋, 张泓,等. 改良大鼠双侧颈总动脉结扎方式建立血管性痴呆模型的评价研究[J]. 中国康复医学杂志, 2017, 32(3):264—268.

[12] Ghanbarabadi M, Iranshahi M, Amoueian S, et al. Neuroprotective and memory enhancing effects of auraptene in a rat model of vascular dementia: Experimental study and histopathological evaluation[J]. Neurosci Lett, 2016, (623):13—21.

[13] 王储蓄. 电针督脉组穴对血管性痴呆大鼠学习记忆与海马VEGF及其受体Flt-1、Flk-1mRNA表达的影响[D]. 安徽中医药大学, 2015.

[14] Pietrelli A, Lopez-Costa J, Goñi R, et al. Aerobic exercise prevents age-dependent cognitive decline and reduces anxiety-related behaviors in middle-aged and old rats[J]. Neuroscience, 2012, 202(2):252—266.

[15] Cetinkaya C, Sisman AR, Kiray M, et al. Positive effects of aerobic exercise on learning and memory functioning, which correlate with hippocampal IGF-1 increase in adoles-

（下转第799页）