

低频经颅磁刺激对缺血缺氧脑损伤大鼠学习记忆及体外培养缺血缺氧神经元谷氨酸释放的影响*

江山¹ 李娅娜¹ 王会会¹ 曹岚¹ 王一鸣¹ 李玲^{1,2}

摘要

目的:观察低频经颅磁刺激(TMS)对缺血缺氧脑损伤(HIBI)大鼠学习记忆能力的影响,同时探讨低频TMS对体外培养的缺血缺氧(HI)大鼠神经元谷氨酸释放的影响。

方法:选用成年SD大鼠,制作缺血缺氧模型,将模型大鼠分为如下三组:HIBI组,TMS+HIBI组以及正常对照组。采用水迷宫来评估大鼠的学习记忆能力。与此同时,我们还体外培养大鼠海马区神经元,同样将其分为HI组、TMS+HI组以及正常对照组。采用氧气葡萄糖剥夺法制作细胞缺血缺氧模型,测定细胞外液谷氨酸及乳酸脱氢酶(LDH)浓度(与神经元损伤呈正相关),同时观察细胞存活率。

结果:①HIBI后,WM结果显示大鼠的学习记忆能力受损,与正常对照组相比较,有显著差异($P < 0.05$)。②经过TMS刺激14d后,TMS+HIBI组大鼠的学习记忆能力高于HIBI组($P < 0.05$)。③HI刺激后,体外培养的神经元细胞外液谷氨酸及LDH浓度升高,显著高于正常对照组($P < 0.05$),而神经元存活率则显著下降,低于正常对照组($P < 0.05$)。④TMS+HI组神经元细胞外液谷氨酸和LDH浓度低于HI组($P < 0.05$),神经元存活率也显著上升,高于HI组($P < 0.05$)。

结论:①HIBI后,大鼠学习记忆能力显著下降,而低频TMS可以显著改善HIBI大鼠的认知功能;②HI诱导体外培养的神经元损伤,谷氨酸释放增加,细胞存活率降低,而低频TMS可以抑制HI诱导的神经元损伤以及谷氨酸释放,减轻谷氨酸毒性作用,同时增加神经元存活率。这可能与低频TMS改善学习记忆能力有关,这为缺血缺氧脑损伤的治疗提供了新的思路。

关键词 低频经颅磁刺激;缺血缺氧脑损伤;学习记忆能力;谷氨酸;乳酸脱氢酶

中图分类号:R651,R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2019)-12-1397-06

The effect of low-frequency transcranial magnetic stimulation on the learning and memory ability of rats with hypoxia-ischemic brain injury and glutamate release by cultured neuron after hypoxia-ischemia/
JIANG Shan, LI Yana, WANG Huihui, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2019, 34(12): 1397—1402

Abstract

Objective:To investigate the effect of low-frequency transcranial magnetic stimulation(TMS) on the learning and memory ability of rats with hypoxia-ischemic brain injury(HIBI) and glutamate release by cultured neuron after hypoxia-ischemia(HI).

Method:SD rats were randomly divided into three groups($n=6$): HIBI group, HIBI+TMS group and control group. Morris water maze was used to evaluate the learning and memory capacity. Furthermore, we also cultured the hippocampal neuron of rats in vitro and the HI model was made by oxygen glucose deprivation (OGD). We detected the glutamate and lactate dehydrogenase (LDH) levels in extracellular fluid. And at the

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2019.12.002

*基金项目:国家自然科学基金(81472168);北京市自然科学基金(7172208)

1 解放军总医院第四医学中心,北京市,100048; 2 通讯作者

作者简介:江山,男,副主任医师; 收稿日期:2018-09-18

same time cell survival rate was also observed.

Result:①Learning and memory capacity of rats significantly decreased after HIBI($P < 0.05$, vs control group). ②After TMS treatment for 14 days, the learning and memory capacity significantly increased for HIBI rats($P < 0.05$, HIBI+TMS group vs HIBI group). ③For cultured neurons after HI, the levels of glutamate and LDH in extracellular fluid increased, but accompanied by the decrease of cell survival rate($P < 0.05$, vs control group). ④As in vivo, the levels of glutamate and LDH exhibited the decreased trend and the cell survival rate also increased after TMS treatment($P < 0.05$, TMS+HI group vs HI group).

Conclusion:①HIBI decreases the learning and memory ability, while TMS could alleviate this effect. ②HI increases the release of glutamate and decreases the cell survival rate, which could be inhibited by TMS. Thus, the present study makes a novel idea for the treatment of cognitive disorders after HIBI.

Author's address The First Affiliated Hospital, Chinese PLA General Hospital, Beijing, 100048

Key word low-frequency transcranial magnetic stimulation; hypoxia-ischemic brain injury; learning and memory capacity; glutamate; lactate dehydrogenase

近年来,缺血缺氧脑损伤(hypoxia-ischemic brain injury, HIBI)的发生率呈现直线上升趋势。缺血缺氧脑损伤可以致使患者出现严重的认知能力障碍^[1],其中,学习记忆能力障碍最为常见,这严重阻碍患者重返家庭、社会和工作。因此,如何提高缺血缺氧脑损伤患者的学习记忆能力是目前HIBI治疗的重点及难点之一。

低频经颅磁刺激(transcranial magnetic stimulation, TMS)是一种无创的治疗方法,被广泛的应用于临床,治疗缺血缺氧脑损伤性疾病。大量的临床研究表明,低频TMS能够改善缺血缺氧脑损伤患者的学习记忆能力,提高他们的日常生活能力^[2-3],但其具体机制尚不清楚。

本课题组近期的研究发现,缺血缺氧脑损伤后,大鼠脑组织的谷氨酸含量和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)浓度均明显升高,而TMS可以降低该升高趋势。这提示我们,TMS改善HIBI后的学习记忆能力,可能是通过抑制HIBI后大脑神经元谷氨酸以及LDH的过度释放来完成的。

因此,本研究采用动脉夹闭法制作大鼠HI模型,给予低频TMS刺激,采用神经行为学方法观察低频TMS对HIBI大鼠学习记忆能力的影响。此外,为了进一步探求低频TMS的作用机制,我们还体外培养大鼠海马区神经元,制作缺血缺氧(hypoxia-ischemia, HI)模型,观察低频TMS对其谷氨酸释放的影响,以期探讨低频TMS改善HIBI大鼠认知功能的机制,为加强临床HI患者的治疗提供依据,

具有重要的理论和临床应用价值。

1 材料与方法

1.1 材料

经颅磁刺激仪购自武汉依瑞德公司(CCY-I型),胰酶为Sigma公司产品,DMEM(seurm-Dulbecco's modified eagle medium, S-DMEM)液为Invitrogen公司产品,多聚赖氨酸为Sigma公司产品,Neurobasal-A培养液为Gibco公司产品,兔抗 β -III微管蛋白(β -III tubulin)抗体为Promega公司产品,荧光二抗购自Jackson公司,高效液相色谱仪购自Waters公司,Σ960型酶联免疫检测仪购自MeterechInc公司。

1.2 方法

1.2.1 缺血缺氧损伤模型大鼠制作:实验动物为二级SD大鼠,平均体重 210 ± 10 g,雄性,年龄8—10周,由解放军总医院实验动物中心提供。将大鼠随机分为如下3组:HIBI组,TMS+HIBI组,以及正常对照组。每组大鼠各6只($n=6$)。其中HIBI组仅仅给予大鼠缺血缺氧刺激,TMS+HIBI组则是在缺血缺氧刺激后,再给予大鼠低频TMS刺激,正常对照组大鼠则不给予任何处理。

按文献所述的方法制作大鼠缺血缺氧损伤模型^[4]:采用10%水合氯醛麻醉大鼠,麻醉后取大鼠颈部正中切口,分离双侧颈总动脉,然后用动脉夹夹闭颈总动脉制造缺血。2h后去除动脉夹,缝合皮肤,休息2h后,再将大鼠置于低氧控制箱内,箱内氧气浓度维持在8%左右,同时通入92%的氮气,制造缺

氧环境。

1.2.2 缺血缺海马神经元模型制作:体外培养大鼠海马区神经元,同样分为三组:HI组、TMS+HI组以及正常对照组。各组细胞处理方法同动物实验。

海马神经元体外培养:孕12—14天SD大鼠,0.1%戊巴比钠麻醉,大鼠腹部消毒(碘酒、酒精),取出胎鼠,体视显微镜下,分离取出海马,剥除脑膜,D-HANKS液清洗两遍,虹膜剪剪碎组织,加入0.125%的胰酶,37℃,消化20min,含20%胎牛血清的高糖DMEM培养液终止消化10min,吸出组织置新的培养液,火焰抛光的吸管吹打,制备单细胞悬液,血球计数板计数,将细胞悬液接种于铺有多聚赖氨酸的24孔板中($1 \times 10^5/\text{cm}^2$),放入CO₂培养箱(37℃,5%CO₂)孵育。接种24h后,培养液换为含2% B27的Neurobasal-A培养液,抑制非神经元的增殖。以后每周更新2次新鲜培养液,每次更换一半。接种3d后加入阿糖胞苷(终浓度10μmol/L)以抑制神经胶质细胞的过度增殖。5—7天后,经抗β-tubulin染色,显示纯度为85%—90%的神经元单层培养。

神经元缺血缺氧模型:采用氧气葡萄糖剥夺法制作神经元缺血缺氧模型^[5]。将制备好的神经元全部更换培养液(2%B27Neurobasal-A培养液),培养4d后,将培养液更换为低糖的DMEM培养液,然后将各组细胞同时移至恒温培养箱内(37℃),充以无氧气体(90%N₂、10%CO₂),在缺糖缺氧条件下培养12h后,全量换液换为含2% B27的Neurobasal-A培养液,并放入CO₂培养箱(37℃,5%CO₂)培养6d,以模拟体外缺血缺氧过程。

1.2.3 低频经颅磁刺激方案:大鼠低频TMS刺激方案:采用武汉依瑞德CCY-I型经颅磁刺激仪,将线圈中央对准大鼠矢状缝中央点,使线圈平面与顶骨平行,确保线圈表面紧贴大鼠头皮组织,主要作用于顶叶。磁刺激方案:1Hz、70%最大输出强度、1个脉冲刺激/s,连续作用500个脉冲刺激,1次/日,连续14d。

体外培养神经元TMS刺激方案:采用武汉依瑞德CCY-I型经颅磁刺激仪,TMS刺激于细胞缺糖缺氧24h后进行,磁头距细胞约1cm(距离细胞培养板1cm)^[6]。磁刺激方案:1Hz、70%最大输出强度、1个脉冲刺激/s,连续作用500个脉冲刺激,1次/日,连续5d。

1.2.4 水迷宫评估大鼠学习记忆能力:本研究采用Morris水迷宫检测大鼠的学习记忆能力^[7]。Morris水迷宫为一盛水的黑色圆形水池,水深约为37cm,直径约为178cm。水温控制在21—24℃。水池被等分为A、B、C、D共4个象限。在C象限,距池壁约28cm处放置一直径约10.2cm的透明有机玻璃平台,固定后使平台没于水面下2cm处。

大鼠造模3d后进行水迷宫测试。测试方法如下^[7]:①定位航行实验:每日上午把各组大鼠从4个象限随机选择一个入水点,将大鼠面向池壁放入水中,观察并记录大鼠寻找且爬上站台所需时间,该时间称之为潜伏期。如果大鼠2min内找不到站台,则将其引至站台上30s后放回笼中,此时潜伏期记为120s。该实验持续13d,其中第6和7d,大鼠休息不进行实验。因此该实验的第一部分(1—5d)是为了测定大鼠的记忆获取能力,而第二部分(8—13d)是为了测定大鼠的记忆保持能力。②空间探索实验。在第14d,撤走平台,从4个象限将大鼠面朝池壁放入水中,记录其在120s内穿越平台所在区域的次数。以上数据均采用Ethovision系统进行检测记录。

1.2.5 细胞外液谷氨酸及LDH浓度测定:HI组和低频TMS+HI组细胞在HI刺激后6d(TMS刺激了5d)统一提取细胞培养液,离心4min后,取上清,采用高效液相色谱来测定细胞外液谷氨酸浓度,而应用酶法测定细胞外液LDH浓度。具体方法详见既往文献^[5,8]。

1.2.6 细胞存活率测定:细胞刺激后6d,采用四甲基偶氮唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)法测定细胞存活情况。应用Σ960型酶联免疫检测仪于550nm波长处读取光密度(optical density, OD)值。具体方法详见既往文献^[5]。

1.3 统计学分析

所有测试数据均以均数±标准差表示。数据采用SPSS13.0统计软件包进行统计学分析。采用多个样本均数比较的方差分析及多重比较的LSD-*t*检验进行统计学分析。*P*<0.05认为差异具有显著性意义。

2 结果

2.1 HIBI降低了大鼠的学习记忆能力

如图1所示,在水迷宫定位航行实验中,从第1

至第5d, HIBI组大鼠的潜伏期显著大于正常对照组($P < 0.05$)($n=6$), 例如实验第4d, HIBI组和正常对照组的潜伏期分别为93s和44s, HIBI组显著高于正常对照组($P < 0.05$)($n=6$), 这说明HIBI组大鼠的记忆获取能力(即学习能力)降低。而实验的第8至13d, HIBI组大鼠的潜伏期也显著长于正常对照组($P < 0.05$)($n=6$), 例如实验第10d, HIBI组和正常对照组的潜伏期分别为78s和21s, HIBI组显著高于正常对照组($P < 0.05$)($n=6$)。这说明, HIBI后大鼠的记忆保持能力也显著下降。此外, 如图2所示, 在空间探索实验中, HIBI组大鼠的平台位置穿越次数为4次, 而正常对照组的为11次, 二者间有显著性差异($P < 0.05$)($n=6$)。这说明, HIBI显著降低了大鼠的空间探索能力。以上结果提示, HIBI降低了大鼠的学习记忆能力。

2.2 低频TMS改善HIBI大鼠的学习记忆能力

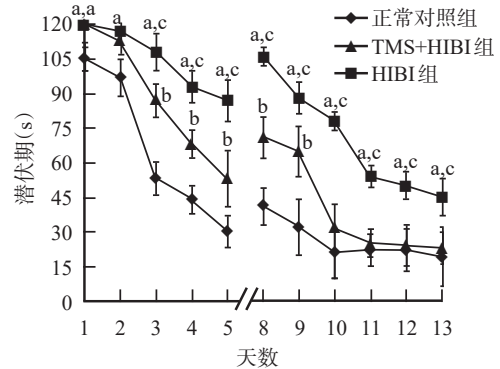
如图1和图2所示, 给予HIBI大鼠连续14d的低频经颅磁刺激后, 水迷宫结果显示, 在定位航行实验中, 从第3d起, TMS+HIBI组大鼠的潜伏期就低于HIBI组大鼠($P < 0.05$)($n=6$), 例如实验第4d, TMS+HIBI组和HIBI组大鼠的潜伏期分别为68s和93s, TMS+HIBI组低于HIBI组($P < 0.05$)($n=6$), 而从实验第10d起, TMS+HIBI组大鼠的潜伏期与正常对照组之间已无显著性差异($P > 0.05$)($n=6$)。这说明, 低频TMS能改善HIBI大鼠的记忆获取及保持能力。而在空间探索实验中, TMS+HIBI组大鼠的平台位置穿越次数显著高于HIBI组大鼠($P < 0.05$)($n=6$), 与正常对照组之间无显著差异($P > 0.05$)($n=6$)。以上结果说明, 低频TMS能显著改善HIBI大鼠的学习记忆能力。

2.3 HI刺激升高海马神经元细胞外液谷氨酸和LDH浓度, 同时降低细胞存活率

在动物实验的基础上, 我们体外培养海马(学习记忆中枢)神经元, 以探讨HIBI损害大鼠学习记忆能力的机制。

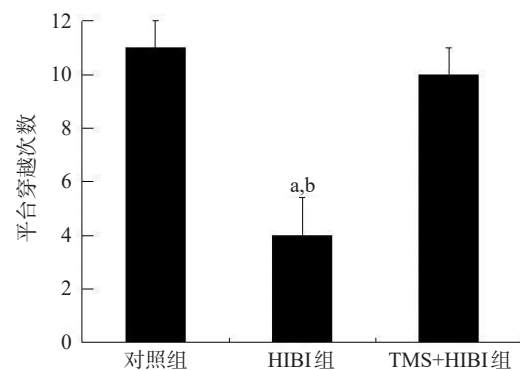
我们采用高效液相色谱, 测定了细胞外液谷氨酸的浓度, 采用酶法测定了细胞外液LDH浓度。结果: 正常状态下(正常对照组), 细胞外液谷氨酸浓度大致为 $2.67 \pm 0.21 \text{ nmol/mL}$ ($n=6$), 而LDH的浓度为 $30.12 \pm 6.13 \text{ U/L}$ ($n=6$)。而HI刺激后, 细胞外谷氨酸

图1 正常对照组、HIBI组及TMS+HIBI组大鼠水迷宫潜伏期的变化情况



注: a: HIBI组 vs 正常对照组, $P < 0.05$; b: TMS+HIBI组 vs 正常对照组, $P < 0.05$; c: HIBI组 vs TMS+HIBI组, $P < 0.05$

图2 正常对照组、HIBI组及TMS+HIBI组大鼠水迷宫穿越次数情况



注: a: HIBI组 vs 正常对照组, $P < 0.05$;
b: HIBI组 vs TMS+HIBI组, $P < 0.05$

浓度为 $5.27 \pm 0.24 \text{ nmol/mL}$ ($n=6$), 而LDH的浓度为 $49.15 \pm 4.56 \text{ U/L}$ ($n=6$), 显著高于正常对照组, 差异有显著性意义($P < 0.05$)。该结果表明, HI刺激可以显著升高细胞外液谷氨酸和LDH水平。提示HI刺激可以促进神经元释放谷氨酸和LDH, 过多释放的谷氨酸会产生兴奋性毒性作用, 而LDH释放的增加又提示细胞出现了不可逆损伤。这可能是HIBI降低学习记忆能力的机制之一。

此外, 我们还采用了MTT法测定了神经元存活率。结果: 正常状态下(正常对照组), 神经元存活率为 0.598 ± 0.101 (OD值), 而HI刺激后, 神经元存活率为 0.135 ± 0.013 (OD值), 显著低于正常对照组($P < 0.01$)。这说明, HI刺激促进了神经元的死亡,

从而降低学习记忆能力。

2.4 低频 TMS 抑制 HI 刺激后细胞外液谷氨酸和 LDH 升高的趋势,同时提高 HI 刺激后神经元存活率

给予 HI 神经元连续 5d 的低频 TMS 后,我们同样测定了细胞外液谷氨酸和 LDH 浓度,以及神经元存活率。细胞外液谷氨酸浓度为 $3.28 \pm 0.15 \text{ nmol/mL}$ ($n=6$),而 LDH 的浓度为 $33.24 \pm 8.17 \text{ U/L}$ ($n=6$),都显著低于 HI 组 ($P < 0.01$),其中 LDH 浓度与正常对照组已无显著性差异 ($P > 0.05$)。而此时,神经元存活率为 0.523 ± 0.091 (OD 值),显著高于 HI 组,与正常对照组无显著性差异 ($P > 0.05$)。

以上结果表明,低频 TMS 能抑制 HI 刺激后神经元释放谷氨酸和 LDH,从而降低 HI 后神经元的兴奋性毒性作用,抑制神经元不可逆损伤,提高神经元存活率。这可能是低频 TMS 改善 HIBI 所致学习记忆能力障碍的机制之一。

3 讨论

近年来,随着人口老龄化程度的加深,缺血缺氧脑损伤的发病率呈现直线上升趋势,是导致患者死亡的主要疾病之一。随着医疗水平的提高,患者的死亡率有所下降,而幸存者却存在各种各样的神经后遗症。其中最为常见的是学习记忆能力的障碍,这严重阻碍患者重返家庭、社会和工作岗位,也给家庭和社会带来沉重的负担^[1]。因此,如何提高 HIBI 患者的学习记忆能力一直是治疗的难点。在本研究中,我们采用 Morris 水迷宫评估学习记忆能力,发现 HIBI 后大鼠的学习记忆能力显著下降,尤其是记忆保持能力与正常大鼠有明显的差异,这提示我们,HIBI 对于学习记忆能力的损伤主要体现在记忆维持方面。Morris 水迷宫是英国心理学家 Morris 及其同事于 20 世纪 80 年代初设计并将其应用于学习记忆脑机制研究中^[9]。该迷宫的优点是能排除实验动物在完成任务过程中所留下的排泄物或分泌物对其他动物作业成绩产生的影响^[10]。

低频经颅磁刺激是近年来临床广泛应用的生物刺激技术,该技术通过线圈内电流的瞬变从而形成高强度的交变磁场,可在深部脑区产生感应电流,从而影响和改变大脑功能^[11-12]。作为一种新型治疗手段,其疗效在多种神经、精神疾病的治疗中得到肯

定^[11-12]。而对于 HIBI,大量临床研究也已证实,低频 TMS 能有效改善患者的学习记忆能力^[13]。在本研究的动物实验中,我们同样发现低频 TMS 对于学习记忆能力的改善作用,同时还发现,低频 TMS 尤其能够改善 HIBI 后大鼠的记忆获取和记忆维持能力。此外,我们还发现,TMS 治疗几乎完全恢复了大鼠 HIBI 后的学习记忆能力。但目前临床患者中 TMS 治疗效果与大鼠实验中效果存在一定差距。我们认为,原因可能有两点:①人脑组织远较大大鼠大脑复杂,人脑的运行机制也更为复杂^[14-15],因此,TMS 对鼠脑的修复难度要小于人脑。②人脑要远大于鼠脑,而 TMS 的作用深度大约为 $1-1.5 \text{ cm}$ ^[16],因此,磁场实际作用的深度和范围要远小于鼠脑。这样,在人脑,TMS 的磁场很难作用到深部的海马区(学习记忆中枢)。这可能也是大鼠和人接受 TMS 刺激效果存在差别的原因之一。

为了探讨低频 TMS 改善 HIBI 大鼠学习记忆能力的机制,在离体实验中,我们还观察了低频 TMS 对 HI 神经元细胞外谷氨酸浓度的影响。如研究结果所示,低频 TMS 抑制了 HI 后细胞外液谷氨酸浓度升高的趋势。既往研究表明,谷氨酸的兴奋性毒性作用在 HIBI 的神经功能损害中起到了非常关键的作用^[17]。HIBI 时,神经元通过突触末梢释放大量的谷氨酸至突触间隙,同时突触后膜和星形胶质细胞对谷氨酸再摄取作用减弱,致使细胞外液大量的谷氨酸聚集,过度刺激突触后膜的谷氨酸受体引起神经元持续去极化,从而干扰神经元的功能。因此,低频 TMS 可能是通过抑制谷氨酸从神经元的大量释放来发挥作用。

既往研究表明,脑缺血损伤时,神经元大量释放谷氨酸的途径主要有以下几种:① Ca^{2+} 依赖的谷氨酸释放^[18];②谷氨酸转运系统调节的谷氨酸释放,这包括了 Na^{+} 依赖性谷氨酸转运体调节的谷氨酸释放以及胱氨酸—谷氨酸转运体调节的谷氨酸释放^[19];③水肿诱发的谷氨酸释放^[20];④受体调控的谷氨酸释放^[21]。在本研究中,我们尚未探讨低频 TMS 究竟是影响哪种谷氨酸释放途径,从而抑制谷氨酸的释放。但本课题组近期的研究发现,低频 TMS 能够影响神经元代谢型谷氨酸受体 (metabotropic glutamate receptors, mGluRs) 的表达,提示低频 TMS 可

能通过 mGluRs 来抑制谷氨酸的释放。既往研究还表明,脑缺血损伤时,星形胶质细胞也会大量释放谷氨酸,其释放途径为连接子蛋白 43 半通道,这也是造成谷氨酸毒性作用的重要机制之一^[22]。那么低频 TMS 是否会抑制星形胶质细胞谷氨酸的释放?其作用机制是什么?这是我们下一步研究的重点。

本研究还观察了低频 TMS 对细胞存活率和 LDH 的影响。LDH 广泛存在于组织细胞内,其释放与细胞膜完整性相关。因此,LDH 释放越多,细胞受损程度越严重^[5]。本研究的结果说明,低频 TMS 能够升高细胞存活率,降低 LDH 释放量。提示低频 TMS 能够增强细胞膜的完整性,从而降低 HIBI 所致的谷氨酸外泄,进而降低谷氨酸的毒性作用。

4 结论

本研究通过神经药理学、神经行为学技术等发现,低频 TMS 可以抑制 HI 诱导的神经元损伤以及谷氨酸释放,减轻谷氨酸毒性作用,同时增加神经元存活率。这可能是低频 TMS 改善学习记忆能力的机制之一,这为缺血缺氧脑损伤的治疗提供了新的思路。

参考文献

- [1] 宋名杨,朱路文,叶涛,等.丰富环境对缺血缺氧脑损伤新生大鼠海马脑源性神经营养因子表达及细胞凋亡的影响[J].中国康复医学杂志,2017,32(7):750—755.
- [2] 段丽,丁姝月.TMS对脑梗死后血管性认知功能障碍患者血浆CRP和Fib含量的影响[J].中国实用医药,2016,11(11):41—42.
- [3] Lage C, Wiles K, Sherqill SS, et al. A systematic review of the effects of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation on cognition[J]. J Neural Transm (Vienna), 2016, 123(12):1479—1490.
- [4] 侯伟健,田晓红,柏树令,等.缺氧缺血脑损伤大鼠脑组织Cofilin1与ERK1/2蛋白表达与磷酸化的分析[J].解剖科学进展,2012,18(1):41—45,49.
- [5] 朱波,李兰英,薛玉良,等.纳洛酮对离体人脑神经元缺氧损伤谷氨酸释放的影响[J].中国医学科学院学报,2005,27(2):223—227.
- [6] 杨云凤,吴碧华.磁刺激对体外原代神经元迁移的影响[J].南昌大学学报(医学版),2014,54(2):20—23.
- [7] Johnson EM, Traver KL, Hoffman SW, et al. Environmental enrichment protects against functional deficits caused by trau-

- matic brain injury[J]. Front Behav Neurosci. 2013, 7(4):1—7.
- [8] Jiang S, Yuan H, Duan L, et al. Glutamate release through connexin 43 by cultured astrocytes in a stimulated hypertonicity model[J]. Brain Res, 2011, 1392(5):8—15.
- [9] Moser MB, Moser EI, Forrest E, et al. Spatial learning with a minislab in the dorsal hippocampus[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92(21):9697—9701.
- [10] 江山,李玲,袁华,等.行为学训练对大鼠海马梗死后齿状回区神经干细胞迁移能力的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2006,28(8):510—514.
- [11] Machado S, Arias-Carrión O, Paes F, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation for clinical applications in neurological and psychiatric disorders: an overview[J]. Eurasian J Med, 2013, 45(3):191—206.
- [12] Kedzior KK, Reitz SK. Short-term efficacy of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in depression-reanalysis of data from meta-analyses up to 2010[J]. BMC Psychol. 2014, 2(1):39.
- [13] Antal A, Alekseichuk I, Bikson M, et al. Low intensity transcranial electric stimulation: Safety, ethical, legal regulatory and application guidelines[J]. Clin Neurophysiol, 2017, 128(9):1774—1809.
- [14] 沈政.脑功能理论的当代发展和前沿研究计划[J].科学通讯,2017,62(30):3429—3439.
- [15] 黄秉宪.脑研究的系统科学[J].系统工程理论与实践,1999,6(6):35—39.
- [16] 翁春晓,范肖冬,侯冰.经颅刺激对脑功能的调节作用[J].生物医学工程与临床,2015,19(2):196—200.
- [17] 胡捷先,陈献华.脑缺血后谷氨酸通路及其调控的研究进展[J].复旦学报(医学版),2016,43(6):724—731.
- [18] Ashpole NM, Song W, Brustovetsky T, et al. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) inhibition induces neurotoxicity via dysregulation of glutamate/calcium signaling and hyperexcitability[J]. J Biol Chem, 2012, 287(11):8495—8506.
- [19] Warr O, Takahashi M, Attwell D. Modulation of extracellular glutamate concentration in rat brain slices by cystine-glutamate exchange[J]. J Physiol, 1999, 514(Pt 3):783—793.
- [20] Mongin AA. Volume-regulated anion channel a frenemy within the brain[J]. Pflugers Arch, 2016, 468(3):421—441.
- [21] Moyanova SG, Mastroiacovo F, Kortenska LV, et al. Protective role for type 4 metabotropic glutamate receptors against ischemic brain damage[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2011, 31(4):1107—1118.
- [22] 江山,李娅娜,谢红萍,等.Cx43蛋白在丰富环境改善脑外伤大鼠学习记忆能力中的作用[J].中国康复理论与实践,2014,20(10):924—927.