

丰富环境对新生缺氧缺血性脑损伤大鼠运动控制及海马脑源性神经营养因子和突触蛋白的影响*

凌晨¹ 艾坤¹ 曹倩茹¹ 刘梦君¹ 易细芹^{1,2} 张泓^{1,2}

摘要

目的:探讨丰富环境对新生缺氧缺血性脑损伤大鼠运动控制功能,以及海马区脑源性神经营养因子(BDNF)、酪氨酸激酶受体B(TrkB)、突触蛋白(SYP)表达的影响。

方法:SPF级孕鼠4只,分娩出健康大鼠幼仔45只,将7日龄大鼠幼仔按随机数字表法分为空白组(n=11),假手术组(n=11),剩余23只采用改良Rice法建立新生大鼠HIBD动物模型,从造模成功的模型大鼠中二次随机分为模型组(n=12),丰富环境组(n=11)。丰富环境组在造模后24h予丰富环境刺激,连续干预28d,余组不进行处理。各组大鼠于造模前、造模后7、14、21、28d进行平衡木试验,干预结束后行HE染色观察大鼠海马病理形态变化、荧光定量PCR法检测BDNF、TrkB基因表达量、Western Blot法测定SYP蛋白水平。

结果:模型组HE染色下海马CA1区细胞排列紊乱呈弥漫性分布,神经元数量减少,空泡化增加,出现水肿和坏死细胞;丰富环境组HE染色下海马CA1区细胞排列紊乱情况有所改善,水肿改善明显。与空白组和假手术组相比,模型组造模后21、28d平衡木试验评分升高($P < 0.05$);海马BDNF、TrkB基因相对表达量明显下降($P < 0.01$, $P < 0.05$);SYP蛋白表达降低($P < 0.05$)。与模型组相比,丰富环境组造模后21、28d平衡木试验评分明显降低($P < 0.01$);海马BDNF、TrkB基因相对表达量显著升高($P < 0.01$);SYP蛋白表达升高($P < 0.05$)。

结论:丰富环境可改善新生缺氧缺血性脑损伤大鼠运动控制功能,其机制可能是通过上调海马BDNF、TrkB,促进SYP表达实现的。

关键词 丰富环境;新生缺氧缺血性脑损伤;脑源性神经营养因子;酪氨酸激酶受体B;突触蛋白

中图分类号:R742,R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2022)-04-0451-07

Effects of enriched environment on the motor control and hippocampal brain-derived neurotrophic factor and synaptophysin in newborn rats with hypoxic-ischemic brain injury/LING Chen, AI Kun, CAO Qianru, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2022, 37(4):451—457

Abstract

Objective: To explore the effects of rich environment on the motor control function of newborn rats with hypoxic-ischemic brain injury, as well as brain-derived neurotrophic factor (BDNF), tyrosine kinase B(TrkB), and synaptic protein (SYP) in the hippocampus.

Method: Four SPF pregnant rats and 45 healthy rat pups were delivered. The 7-day-old rat pups were divided into blank group (n=11) and sham operation group (n=11) according to the random number table. The remaining 23 HIBD animal models of newborn rats were established by the modified Rice method, and the successfully modeled rats were randomly divided into a model group (n=12) and an enriched environment group (n=11). The enriched environment group was given enriched environment stimulation 24 hours after the model

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2022.04.003

*基金项目:湖南省残疾人联合会康复科研项目(2019XK017);湖南中医药大学医学技术一流学科开放基金项目(2018YXJS05);湖南中医药大学研究生创新课题(2020CX52)

1 湖南中医药大学,湖南省长沙市,410208; 2 通讯作者

第一作者简介:凌晨,女,硕士研究生; 收稿日期:2021-07-23

was established, and continued for 28 days, while the rest of the group was not treated. The rats in each group were subjected to balance beam test before modeling and 7, 14, 21, and 28 days after modeling. After the intervention, HE staining was performed to observe the pathological changes of rat hippocampus. BDNF and TrkB gene expression were detected by fluorescence quantitative PCR. Western Blot method was used to determine the level of SYP protein.

Result: The cell arrangement disorder in the hippocampus CA1 area of the model group was diffusely distributed under HE staining, the number of neurons was reduced, vacuolation increased, and edema and necrotic cells appeared; the cell arrangement disorder in the hippocampus CA1 area of the rich environment group was improved by HE staining, and edema improved. Compared with the blank group and the sham operation group, the balance beam test scores of the model group increased at 21 and 28 days after modeling ($P < 0.05$); the relative expression of hippocampal BDNF and TrkB genes decreased ($P < 0.01$, $P < 0.05$); The expression of SYP protein was reduced ($P < 0.05$). Compared with the model group, the scores of the balance beam test in the rich environment group were significantly reduced at 21 and 28 days after modeling ($P < 0.01$); the relative expression of hippocampal BDNF and TrkB genes was significantly increased ($P < 0.01$); the expression of SYP protein was increased ($P < 0.05$).

Conclusion: Enriched environment can improve the motor control function of neonatal rats with hypoxic-ischemic brain injury. The mechanism may be up-regulating hippocampal BDNF and TrkB and promoting the expression of SYP.

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

Key word enriched environment; hypoxic ischemic brain damage; brain-derived neurotrophic factor; tyrosine kinase B; synaptophysin

新生儿缺氧缺血性脑损伤(hypoxic ischemic brain damage, HIBD)是由于围产期窒息而引起的大脑缺氧缺血性损伤^[1],研究表明^[2-3],大脑缺氧缺血后引起的学习记忆和行为异常与神经元丢失、突触连接及数量减少密切相关。

丰富环境是康复治疗的一种新技术,是指在温馨的生活环境的基础上,同时提供视觉、味觉、嗅觉、听觉及平衡感觉等多感觉刺激,已被证实具有增加突触连接、促进突触重塑和神经元的修复再生的作用,能够促进脑损伤的恢复^[4-5]。与成人相比,未成熟大脑对外部刺激更为敏感、更具可塑性,通常被认为更有利于脑功能恢复及脑神经网络重建^[6]。丰富环境能够建立有效的突触连接,促进突触重塑,具有恢复新生儿缺氧缺血性脑损伤所致的学习记忆及行为异常的康复潜力。

脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)是神经系统发育过程中的重要信号分子,与酪氨酸激酶受体B(tyrosine kinase B, TrkB)特异性结合后,启动一系列信号通路,从而促进突触蛋白(synaptophysin, SYP)上调^[7-8],增加突

触连接,实现突触重塑。

本研究通过观察丰富环境对新生HIBD模型大鼠运动控制功能和海马形态改变、BDNF、TrkB基因及SYP表达的影响,探讨丰富环境对HIBD大鼠的脑功能康复作用及其可能的突触重建机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

实验动物为SPF级SD孕鼠4只,孕15天,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物许可证号为SYXK(湘)2019—0009。饲养孕鼠至分娩,共娩出大鼠幼仔48只,于7日龄进行称重,平均体质量(12—17)g,雌雄不限,排除体质量异常、精神状态不佳的大鼠幼仔3只,采用随机数字表法将余下45只大鼠幼仔随机分为空白组11只,假手术组11只,造模组23只。动物实验过程获得湖南中医药大学动物伦理委员会批准,实验动物护理及实验按照国家科技部《关于善待实验动物的指导性意见》进行。

1.2 主要实验试剂及仪器

异氟烷(深圳瑞沃德生命科技公司,中国);10%

水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司,中国);HE染料、RNA提取液、SYBR Green qPCR Master Mix(Servicebio公司,中国);SYP多克隆一抗、 β -actin多克隆一抗(Affinity Biosciences公司,美国)、HRP山羊抗兔二抗(BBI公司,中国);荧光定量PCR仪、化学发光凝胶成像仪(Bio-rad公司,美国);8% O_2 +92% N_2 混合气体(长沙方翌气体有限公司,中国);电凝笔(Gutta Cutter公司,德国)。

1.3 模型制备

造模组参照改良Rice法^[9]建立新生大鼠HIBD动物模型。7日龄大鼠异氟烷吸入麻醉,用医用胶布固定四肢,铺上无菌手术巾,充分暴露大鼠颈部,75%乙醇常规消毒后,剪破颈部皮肤,剥开周围组织并分离左侧颈总动脉,使用电凝笔电凝^[10]左侧颈总动脉,确保颈总动脉永久性阻断,倒入青霉素,缝合皮肤,手术时间控制在5min内。术后保温苏醒1h,将大鼠置于37℃缺氧舱内,予恒流、湿润的8%氧气和92%氮气的混合气体缺氧2h,置于带有母鼠气味的垫料中10min再回笼饲养。假手术组仅暴露血管,不结扎、剪断,不予缺氧处理。

缺氧过程中观察大鼠,是否出现震颤、抽搐、自发左旋或夹尾尖叫等行为表现,待大鼠清醒后采用Longa评分法^[11]进行神经行为学评定,得分达到2分以上并出现上述情况视为造模成功。造模组23只均造模成功,进行二次随机分组分为模型组12只,丰富环境组11只。

1.4 丰富环境设计及干预方法

丰富环境设计:参照Nithianantharajah等^[12]研究自制长宽高70cm×60cm×50cm的有机玻璃丰富环境笼,底部铺垫料,放置不同质感的砂纸、树叶予触觉刺激;放置柠檬味、草莓味的浴砂以及柠檬、橙子等水果味觉及嗅觉刺激;另外配以不同颜色的转盘、斜坡、钻筒、平衡木、台阶、楼梯,同时配合明暗交替、不同颜色的灯光照射来提供运动觉、视觉刺激;播放轻柔舒缓的音乐及 α 脑波音乐予听觉刺激;放置凉席、冰凉金属及暖宝宝进行温度刺激。每日干预后清理笼内卫生,每3天更换一次环境布置。

干预方法:造模后24h,丰富环境组予丰富环境刺激。其中前7d予早期抚触干预,使用不同材质、大小及软硬的毛刷,沾染不同味道的浴盐给大鼠从

头到尾刷毛,15min/次,4次/d,上、下午各2次;自第8d起,将大鼠放入丰富环境笼内,2h/次,1次/d。空白组、假手术组、模型组置于无特殊刺激的标准环境中饲养。饲养温度:23℃—26℃、湿度:50%—70%,4组大鼠均持续干预28d。

1.5 行为学测试—平衡木试验

利用平衡木试验来测试大鼠的平衡协调、运动整合及空间记忆能力^[13]。参照Fenney等^[14]的研究自制长宽为120cm×2cm的方木棒,平放在距离地面约7cm处,让大鼠在上面行走。在造模前、造模后7、14、21、28d进行测试,每只大鼠测3次,每次2min,取平均值。评分标准^[14]共分6个等级,得分越高说明损伤越严重,具体评分细则见表1。

表1 平衡木试验评分细则

分数	评分细则
0分	能在平衡木上面行走不会跌倒
1分	能在平衡木上面行走,跌倒机会少于50%
2分	能在平衡木上面行走,跌倒机会大于50%
3分	在健侧后肢帮助下能跳上平衡木; 但受累的瘫侧后肢不能帮助向前移动
4分	在平衡木上不能行走,但可坐在上面
5分	将大鼠放在平衡木上会掉下来

1.6 HE染色

造模后28d,空白组、假手术组、丰富环境组各取2只大鼠,模型组取3只大鼠,腹腔注射10%水合氯醛使大鼠深度麻醉后,在1—3min内取脑,置于4%多聚甲醛中固定48h,进行梯度乙醇脱水、浸蜡、石蜡包埋,再行石蜡连续切片,厚度为4 μ m,切片后HE染色,显微镜下400倍观察左侧海马CA1区染色情况并分析。

1.7 荧光定量PCR法

造模后28d,各组取9只大鼠左侧海马组织,进行总RNA的抽提,制备逆转录反应体系,加入相应引物,进行荧光定量PCR的分析检测。以GAPDH为内参,检测BDNF、TrkB的表达。引物序列见表2。PCR扩增反应条件:95℃,15s;60℃,30s,均循环40次。按照公式 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算BDNF、TrkB的基因相对表达量。

1.8 Western Blot

造模后28d,各组取9只大鼠左侧海马组织,加入适量裂解液,在冰上提取蛋白原液,使用BCA法

表2 引物序列

基因	引物序列 (5'—3')	产物长 度(bp)	退火温 度(°C)
BDNF	上游 GTGTGACAGTATTAGCGAGTGGG	221	60
	下游 ACGATTGGGTAGTTCGGCATT		
TrkB	上游 TAATGGAGACTACACCCTAATGGC	276	60
	下游 AGCAGGCAGAATCCTACCACAG		
GAPDH	上游 CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG	138	60
	下游 GGTGGAAGAATGGGAGTTGCT		

测定蛋白浓度,配制蛋白上样液,待 100°C 高温变性后加入到凝胶上样孔进行电泳,使用 PVDF 膜进行湿转,在 TBST 配制的 5% 脱脂牛奶中封闭 1h, TBST 清洗后加入 SYP 一抗 (1:1000 稀释), 4°C 孵育过夜。TBST 清洗后,加入适量 HRP 山羊抗兔二抗 IgG (1:10000 稀释), 37°C 孵育 1h, TBST 洗膜后滴加 ECL 发光液,使用化学发光凝胶成像仪进行显影。以 β -actin 为内参蛋白,使用 Image Lab3.0 测量灰度值,用突触蛋白 SYP 与内参的比值进行半定量分析,计算各组突触蛋白 SYP 的相对表达量。

1.9 统计学分析

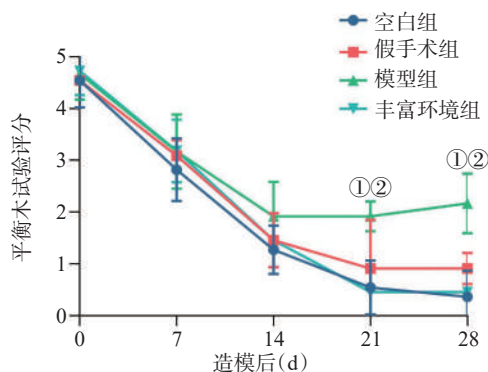
采用统计学软件 SPSS 21.0 进行数据分析,计量资料以均值 $\pm$ 标准差表示,符合正态性且方差齐采用单因素方差分析,不符合正态性使用非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 平衡木试验

造模前、造模后 7、14d 各组大鼠平衡木试验评分无明显差异 ($P > 0.05$)。与空白组和假手术组相比,模型组造模后 21、28d 平衡木试验评分升高 ($P < 0.05$),平衡能力较差。与模型组相比,造模后 21、28d,丰富环境组平衡木试验评分显著降低 ($P < 0.01$),平衡能力较好。见图 1。因大鼠的平衡功能随

图1 各组大鼠平衡木试验评分



注:①模型组与空白组和假手术组相比 $P < 0.05$;②丰富环境组与模型组相比 $P < 0.01$ 。

自身年龄增长有所改善,未进行各组大鼠纵向比较。

2.2 HE 染色观察海马 CA1 区病理形态变化情况

空白组大鼠海马 CA1 区细胞排列整齐,细胞形态结构完整,层次清晰,无水肿、坏死情况;假手术组海马 CA1 区细胞排列疏松,部分间隙增宽;模型组大鼠海马 CA1 区细胞排列紊乱呈弥漫性分布,神经元数量减少,空泡化增加,出现水肿和坏死细胞;丰富环境组海马 CA1 区细胞排列紊乱情况有所改善,水肿改善明显,见图 2。

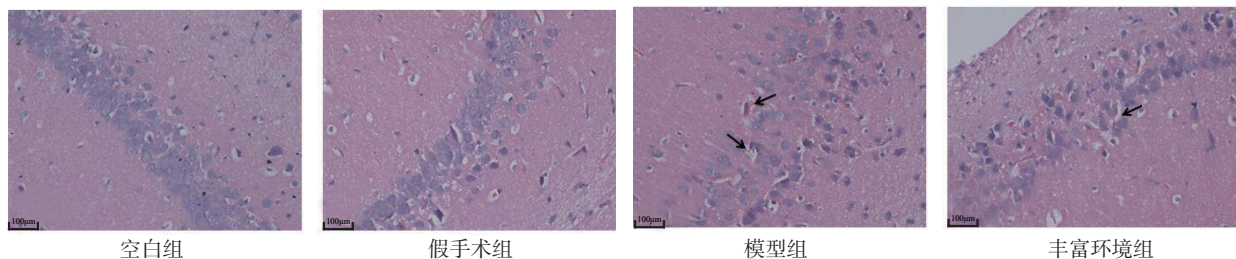
2.3 荧光定量 PCR 法检测海马 BDNF、TrkB 表达

与空白组和假手术组相比,模型组 BDNF、TrkB 基因表达量不同程度降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$);与模型组相比,丰富环境组 BDNF、TrkB 基因表达量均显著升高 ($P < 0.01$)。见图 3。

2.4 Western Blot 法检测海马 SYP 表达

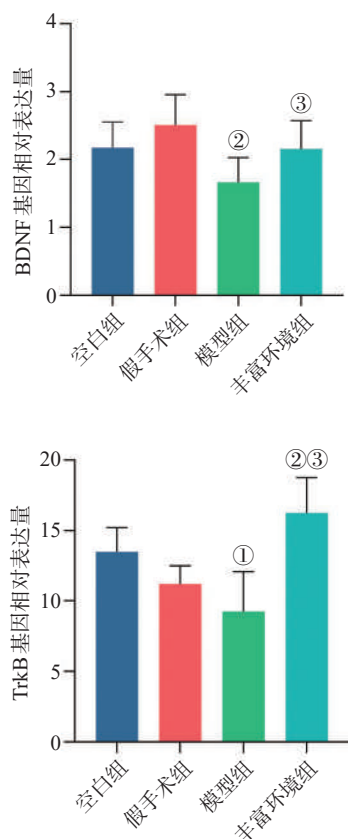
与空白组和假手术组相比,模型组 SYP 表达降低 ($P < 0.05$);与模型组相比,丰富环境组 SYP 表达增高 ($P < 0.05$)。见图 4。

图2 各组大鼠海马 CA1 区病理形态比较

(HE 染色, $\times 400$)

注:箭头示细胞空泡化增多。

图3 各组大鼠海马BDNF、TrkB的mRNA相对表达量

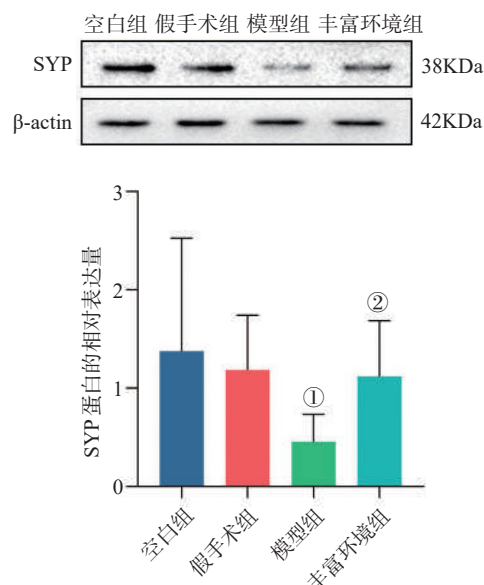


注:与空白组和假手术组相比,① $P < 0.05$,② $P < 0.01$;丰富环境组与模型组相比,③ $P < 0.01$ 。

3 讨论

突触是不同的神经元之间的连接,是大脑中信息传递的基本单位,是脑功能恢复的基础。突触可塑性是指中枢神经系统内在的动态生物能力,其经历成熟、结构和功能上的变化以响应经验并在受伤后进行适应,是通过突触重塑促进神经修复的过程^[15]。新生儿缺氧缺血性脑损伤所致的神经元损伤,会导致突触变性、数量和结构变化及突触蛋白表达异常、突触囊泡减少,致使神经递质释放和结合异常,从而进一步加剧突触功能障碍^[16-17],引起患儿的中枢神经功能异常。Takahashi^[18]发现应用新型突触可塑性增强药物可加速脑损伤的修复,促进功能恢复。通过调节突触可塑性和神经免疫,减少神经元丢失能够改善新生 HIBD 模型大鼠长期预后^[19]。因

图4 各组海马SYP蛋白表达水平



注:①模型组与空白组和假手术组相比, $P < 0.05$;②丰富环境组与模型组相比, $P < 0.05$ 。

此探究促进突触重塑的分子和细胞机制,及其康复价值可能是新生 HIBD 脑功能恢复的研究热点。

丰富环境作为康复医学的一种新治疗技术,相较于标准环境,能够提供多样感官刺激和丰富的社交体验,可以引发大脑的积极反应,促进脑损伤修复^[20-21]。Bayat^[22]认为丰富环境促进脑损伤修复,恢复中枢神经功能的关键在于海马的突触可塑性。其促进 HIBD 神经功能重塑的潜在机制可能与调控突触可塑性相关蛋白、凋亡相关因子、自噬相关因子等,增强突触的形态及功能有关^[23]。

本研究平衡木试验显示,造模后 14、21、28d 模型组平衡木试验评分较高,平衡能力落后,而进行丰富环境干预后,丰富环境组较模型组评分降低,平衡能力有所改善。说明 HIBD 对新生大鼠的平衡协调能力及运动控制功能有所损害,而进行丰富环境干预能增强其运动、协调的控制能力。

新生儿缺氧缺血性脑损伤后,大脑皮质会发生变性和坏死,出现脑室水肿、脑沟宽度增加、神经元丧失等病理改变^[3],并出现星形胶质细胞反应,诱导神经元出现一系列再生、分化活动^[24]。本研究显示,丰富环境干预 28d 后,海马 CA1 区细胞排列紊乱、水肿等组织病理改变有所减轻,提示丰富环境可以减

轻海马病理改变,促进脑功能恢复。

BDNF作为一种突触可塑性相关蛋白,是海马区长时程增强和突触间传递神经化学信号的重要调节因子,能够保护神经元、增加海马突触的数量,促进相应神经环路的发育和成熟^[25]。BDNF与膜结合受体 TrkB 特异性结合促使酪氨酸激酶发生磷酸化^[26],触发胞内信号转导,进一步提高突触联系,促进神经元轴突生长,从而恢复中枢神经功能。既往研究^[27-28]表明,丰富环境能够促进新生 HIBD 模型大鼠海马 BDNF、TrkB 蛋白的阳性细胞表达,抑制海马区细胞凋亡,从而实现神经保护作用,显著改善其空间记忆能力。本研究荧光定量 PCR 结果显示,丰富环境干预新生 HIBD 模型大鼠 28d 后,丰富环境组病灶侧海马 BDNF、TrkB 的 mRNA 基因表达量明显高于模型组,提示丰富环境能够促进 BDNF、TrkB 的 mRNA 转录及基因表达量,增强神经元的抗受损能力,发挥神经保护作用。

突触可塑性的特异性标志物突触蛋白 SYP,参与突触囊泡转运和神经递质释放,可特异性反映突触的数量、分布和密度^[29]。Wang 等^[30]发现丰富环境显著上调了大鼠海马区突触蛋白和突触后致密蛋白 95 的表达水平,能有效改善永久性大脑中动脉闭塞引起的空间学习和运动障碍。本研究显示,空白组、假手术组、丰富环境组病灶侧海马 SYP 蛋白表达明显高于模型组,提示丰富环境干预 28d 后,BDNF/TrkB 信号通路下游信号分子 SYP 的表达上调。

综上所述,丰富环境可改善新生缺氧缺血性脑损伤大鼠运动控制功能,其机制可能是通过上调海马 BDNF、TrkB 的表达,调控 SYP 表达来实现突触重塑,促进脑功能的恢复。

丰富环境存在治疗新生儿 HIBD 脑损伤的巨大潜力,但过度刺激会产生异常的连接和回路,可能导致癫痫、运动和认知障碍加重^[31],在本研究中暂未发现不良反应,而如何有效的将丰富环境应用于临床,确定合适的干预手段和干预时间,仍需进一步深入研究。

参考文献

- [1] Finder M, Boylan GB, Twomey D, et al. Two-year neurodevelopmental outcomes after mild hypoxic ischemic encephalopathy in the era of therapeutic hypothermia[J]. JAMA Pediatr, 2020, 174(1):48—55.
- [2] Chu X, Cao L, Yu Z, et al. Hydrogen-rich saline promotes microglia M2 polarization and complement-mediated synapse loss to restore behavioral deficits following hypoxia-ischemic in neonatal mice via AMPK activation[J]. J Neuroinflammation, 2019, 16(1):104.
- [3] 闵颖俊, 赵俊雄, 彭行, 等. 小胶质细胞参与新生儿缺氧缺血性脑损伤所致突触异常的研究[J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37(3):385—392.
- [4] Wang C, Zhang Q, Yu K, et al. Enriched environment promoted cognitive function via bilateral synaptic remodeling after cerebral ischemia[J]. Front Neurol, 2019, 10:1189.
- [5] Paul B. Jantz. Implementing environmental enrichment strategies to help children who have sustained a moderate or severe traumatic brain injury[J]. Support for Learning, 2020, 35(3):276—297.
- [6] 李可心, 郑阳, 王晓明. 新生儿缺氧缺血后脑神经网络重建机制研究进展[J]. 中国医学影像技术, 2020, 36(10):1546—1549.
- [7] 杜莹, 张亚茹, 张虎, 等. 硫酸铜染毒对小鼠海马神经细胞突触可塑性相关蛋白表达的影响[J]. 环境与职业医学, 2020, 37(3):249—253.
- [8] Leal G, Comprido D, Duarte CB. BDNF-induced local protein synthesis and synaptic plasticity[J]. Neuropharmacology, 2014, 76 Pt C:639—656.
- [9] Rice JE, Vannucci RC, Brierley JB. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat[J]. Ann Neurol, 1981, 9(2):131—141.
- [10] 陈伟, 陈岚芬, 张梦蓓, 等. 不同褪黑素治疗方案对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠内源性神经干细胞增殖的影响[J]. 中国当代儿科杂志, 2019, 21(8):830—835.
- [11] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1):84—91.
- [12] Nithianantharajah J, Hannan AJ. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system[J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(9):697—709.
- [13] Luong TN, Carlisle HJ, Southwell A, et al. Assessment of motor balance and coordination in mice using the balance beam[J]. J Vis Exp, 2011, 10(49):2376.
- [14] Feeney DM, Gonzalez A, Law WA. Amphetamine, haloperidol, and experience interact to affect rate of recovery after motor cortex injury[J]. Science, 1982, 217(4562):855—857.
- [15] Ismail FY, Fatemi A, Johnston MV. Cerebral plasticity: Windows of opportunity in the developing brain[J]. Eur J

- Paediatr Neurol, 2017, 21(1):23—48.
- [16] Liu N, Tong X, Huang W, et al. Synaptic injury in the thalamus accompanies white matter injury in hypoxia/ischemia-mediated brain injury in neonatal rats[J]. Biomed Res Int, 2019, 2019:5249675.
- [17] Xiong T, Qu Y, Wang H, et al. GSK-3 β /mTORC1 couples synaptogenesis and axonal repair to reduce hypoxia ischemia-mediated brain injury in neonatal rats[J]. J Neuro-pathol Exp Neurol, 2018, 77(5):383—394.
- [18] Takahashi T. Novel synaptic plasticity enhancer drug to augment functional recovery with rehabilitation[J]. Curr Opin Neurol, 2019, 32(6):822—827.
- [19] Tang Z, Cheng S, Sun Y, et al. Early TLR4 inhibition reduces hippocampal injury at puberty in a rat model of neonatal hypoxic-ischemic brain damage via regulation of neuroimmunity and synaptic plasticity[J]. Exp Neurol, 2019, 321:113039.
- [20] Zhang X, Liu JY, Liao WJ, et al. Differential effects of physical and social enriched environment on angiogenesis in male rats after cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. Front Hum Neurosci, 2021, 15:622911.
- [21] Xie H, Yu K, Zhou N, et al. Enriched environment elicits proangiogenic mechanisms after focal cerebral ischemia[J]. Transl Stroke Res, 2019, 10(2):150—159.
- [22] Bayat M, Sharifi MD, Haghani M, et al. Enriched environment improves synaptic plasticity and cognitive deficiency in chronic cerebral hypoperfused rats[J]. Brain Res Bull, 2015, 119(Pt A):34—40.
- [23] 吕富岩, 张雷红, 宫兆帅, 等. 丰富环境促进缺氧缺血性脑损伤神经可塑性的研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2018, 24(5):509—512.
- [24] 宋名杨, 朱路文, 叶涛, 等. 丰富环境促进缺血缺氧性脑损伤修复的研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2016, 22(01):61—64.
- [25] 刘心朗, 周丽丽, 杨占君, 等. 肉苁蓉总苷对 SAMP8 小鼠学习记忆能力及突触可塑性的影响[J/OL]. 中华中医药学刊: 1—11[2021—06—20]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1546.R.20210607.1456.014.html>.
- [26] 王硕, 李伟, 王浩, 等. 基于 BDNF/TrkB 介导的海马突触可塑性研究补肝散对衰老大鼠学习记忆功能的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2021, 44(4):323—331.
- [27] 赵彬, 唐强, 朱路文, 等. 丰富环境对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠海马神经元凋亡及脑源性神经营养因子/酪氨酸蛋白激酶受体信号通路的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2019, 25(12):1418—1424.
- [28] 苑爱云, 孙向峰, 侯梅, 等. 丰富环境对缺氧缺血脑损伤幼鼠空间记忆能力及海马区 BDNF、自噬相关蛋白 LC3 表达的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2020, 35(11):1296—1301.
- [29] Griva M, Lagoudaki R, Touloumi O, et al. Long-term effects of enriched environment following neonatal hypoxia-ischemia on behavior, BDNF and synaptophysin levels in rat hippocampus: Effect of combined treatment with G-CSF[J]. Brain Res, 2017, 1667:55—67.
- [30] Wang CJ, Wu Y, Zhang Q, et al. An enriched environment promotes synaptic plasticity and cognitive recovery after permanent middle cerebral artery occlusion in mice[J]. Neural Regen Res, 2019, 14(3):462—469.
- [31] Dixon BJ, Reis C, Ho WM, et al. Neuroprotective strategies after neonatal hypoxic ischemic encephalopathy[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(9):22368—22401.