

## · 基础研究 ·

## 成对关联刺激对脑梗死大鼠突触可塑性和神经元凋亡及脑源性神经营养因子的影响

张香玉<sup>1,2</sup> 胡艳<sup>1,3</sup> 郭铁成<sup>1</sup> 鲁银山<sup>1,4</sup> 张秀娟<sup>1</sup> 张松<sup>1</sup><sup>1</sup>华中科技大学同济医学院附属同济医院康复医学科,武汉 430030; <sup>2</sup>郑州大学第五附属医院肌肉骨骼疼痛康复科; <sup>3</sup>武汉大学中南医院康复医学科; <sup>4</sup>武汉大学人民医院康复医学科  
通信作者:郭铁成,Email: pmr@tjh.tjmu.edu.cn

**【摘要】 目的** 观察成对关联刺激(PAS)对缺血性脑梗死大鼠缺血半暗带皮质突触超微结构、神经元凋亡的影响,并探讨其可能作用机制。**方法** 健康雄性 Sprague-Dawley 大鼠 45 只,随机分为三组:假手术组、手术对照组及 PAS 组,每组 15 只。手术对照组和 PAS 组采用线栓法行右侧 MCAO 造模,假手术组行同样操作,但不栓塞大脑中动脉。造模成功后 24 h, PAS 组给予 0.05 Hz、共 90 对脉冲的 PAS 干预,持续 30 min,每天 1 次,连续 28 d(周围神经电刺激强度为 6 mA,波宽 200  $\mu$ s;经颅磁刺激强度 120% RMT),手术对照组及假手术组大鼠正常饲养但不给予任何干预。术后 28 d 取大鼠脑组织,采用透射电镜观察缺血半暗带皮质突触超微结构的变化、TUNEL 法检测缺血半暗带皮质神经元凋亡情况、实时荧光定量 PCR(RT-PCR)检测缺血半暗带皮质 BDNF mRNA 表达水平。**结果** ①术后 28 d,与假手术组相比,手术对照组和 PAS 组突触界面曲率、突触活性区长度及突触后膜致密物质厚度减小( $P<0.05$ );与手术对照组相比, PAS 组突触界面曲率、突触活性区长度及突触后膜致密物质厚度增加( $P<0.05$ )。②术后 28 d,与假手术组相比,手术对照组和 PAS 组皮质神经元凋亡比率明显增加( $P<0.05$ ); PAS 组皮质神经元凋亡比率明显低于手术对照组( $P<0.05$ )。③术后 28 d, PAS 组 BDNF mRNA 表达水平明显高于假手术组及手术对照组( $P<0.05$ ),手术对照组 BDNF mRNA 表达水平显著低于假手术组( $P<0.05$ )。**结论** PAS 可调节缺血性脑梗死大鼠神经可塑性、抑制神经元凋亡,而上调缺血半暗带皮质 BDNF mRNA 的表达水平可能是其作用机制之一。

**【关键词】** 成对关联刺激; 突触超微结构; 凋亡; 脑源性神经营养因子**基金项目:**国家自然科学基金面上项目(81272156)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2019.11.003

**Effects of paired associative stimulation on synaptic ultrastructure, neuron apoptosis and BDNF in rats with cerebral infarct**Zhang Xiangyu<sup>1,2</sup>, Hu Yan<sup>1,3</sup>, Guo Tiecheng<sup>1</sup>, Lu Yinshan<sup>1,4</sup>, Zhang Xiujuan<sup>1</sup>, Zhang Song<sup>1</sup><sup>1</sup>Department of Rehabilitation Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China; <sup>2</sup>Department of Rehabilitation Medicine, the 5th Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 470000, China; <sup>3</sup>Department of Rehabilitation Medicine, Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan 430071, China; <sup>4</sup>Department of Rehabilitation Medicine, Renmin Hospital, Wuhan University, Wuhan 430060, China  
Corresponding author: Guo Tiecheng, Email: pmr@tjh.tjmu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To observe the effects of paired associative stimulation (PAS) on synaptic ultrastructure, neuron apoptosis and BDNF in rats with cerebral infarct, and explore the possible underlying mechanisms. **Methods** Forty-five male Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups: a sham operation group, a model group and a PAS group, with 15 rats in each. All the rats underwent a surgical operation for transient middle cerebral artery occlusion (MCAO) on the right side to model focal cerebral ischemia, with those in the sham operation group left without real occlusion. PAS treatment was given to rats in the PAS group 24h after MCAO model was successfully established, while no special intervention was given to those in the sham operation group and model group. After 28 days of treatment, transmission electron microscopy was used to investigate the ultrastructure of the ischemic penumbra, TUNEL was used to observe the apoptosis of cortex neurons, and real time-PCR to investigate BDNF mRNA expression. **Results** It was found that after 28 days treatment: ①The synaptic curvature, the synapse length and the post-synaptic density (PSD) decreased significantly in the rats of model group in contrast to those of the sham control group ( $P<0.05$ ). And compare to model group, the synaptic curvature, the synapse length and the PSD increased significantly in the rats of PAS group ( $P<0.05$ ). ②Compare to sham control group, the apoptosis rate

of model group and PAS group increased significantly ( $P<0.05$ ). And the apoptosis rate of PAS group decreased significantly in contrast to those of model group ( $P<0.05$ ). ③ Compare to sham control group, BDNF mRNA expression of the PAS group increased significantly ( $P<0.05$ ), while BDNF mRNA expression of the model group decreased significantly ( $P<0.05$ ). BDNF mRNA expression of the PAS group increased significantly in contrast to those of model group ( $P<0.05$ ). **Conclusion** PAS promotes neural plasticity and inhibits apoptosis of cortex neurons of the ischemic penumbra in rats with ischemic cerebral infarction. One of the underlying mechanisms might be related to the up-regulation of BDNF mRNA expression.

**[Key words]** Paired associative stimulation; Synaptic ultrastructure; Apoptosis; BDNF

**Funding:** Natural Science Foundation of China (No. 81272156)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2019.11.003

脑卒中是我国成年人群致死、致残的首要病因,其中 70%~80% 的脑卒中患者会因此丧失独立生活能力<sup>[1-4]</sup>。脑卒中发生后正常神经元在数秒内即可出现功能丧失,2 min 内发生结构变化,且由于能量供给障碍和跨膜离子通道异常,导致神经元膜内外离子、水失衡,引发神经元凋亡、坏死,进而产生相应的症状和体征<sup>[5]</sup>。

脑卒中后功能恢复赖以发生的重要基础是神经可塑性,即中枢神经系统因应局部损伤或外部环境的变化而发生结构和功能重组的能力<sup>[6]</sup>,以结构和功能重塑为主要表现形式<sup>[7]</sup>,其中结构重塑是功能重塑的物质基础<sup>[8]</sup>。然而,卒中后的自发性神经重塑是有限的。因此,在临床康复实践中,采取了多种康复治疗措施促进卒中后神经可塑性的发生,其中以经颅直流电刺激(transcranial direct current stimulation, tDCS)、重复性经颅磁刺激(repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS)、经颅电刺激(transcranial electrical stimulation, TES)及成对关联刺激(paired associative stimulation, PAS)等<sup>[9]</sup>为代表的无创性脑部刺激(non-invasive brain stimulation, NIBS)可直接调控大脑皮质兴奋性并进而诱导神经重塑,目前已广泛应用于临床康复和基础研究中。

PAS 是一种结合了周围神经电刺激或磁刺激和脑部经颅磁刺激(transcranial magnetic stimulation, TMS)的新兴 NIBS 模式<sup>[10]</sup>,由 Stefan 等首次提出并应用于健康受试者。临床研究发现,PAS 可调节健康受试者及脑卒中患者、灵长类动物及啮齿类动物的大脑皮质兴奋性,诱导产生长时程抑制(long-term depression, LTD)或长时程易化(long-term potential, LTP)样功能性神经可塑性,进而促进脑卒中患者运动功能、吞咽功能的康复,以及缺血性脑梗死大鼠的功能恢复<sup>[10-18]</sup>。然而,作为功能性神经可塑性形成的物质基础的结构可塑性在 PAS 干预后的变化的相关研究却鲜有报道。

本课题组前期研究结果表明:当作用于周围神经和中枢的刺激二者之间的刺激间隔(inter-stimulus interval, ISI)为 15 ms 时,PAS 可对大鼠大脑皮质兴奋性产生易化作用<sup>[14]</sup>。ISI 为 15 ms 的 PAS (记作

PAS15)应用于缺血性脑梗死大鼠,其可促进缺血性脑卒中大鼠半暗带皮质 MAP-2、GAP-43 的表达及感觉运动功能恢复<sup>[15]</sup>。本研究拟在前期研究结果的基础上,将 PAS15 应用于缺血性脑梗死大鼠,通过观察 PAS15 对缺血半暗带皮质突触超微结构、神经元凋亡及脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)表达的影响,进一步探讨 PAS 调节缺血性脑梗死大鼠大脑皮质兴奋性、促进其功能恢复的可能作用机制。

## 材料和方法

### 一、实验动物及分组

45 只健康雄性 SD 大鼠,体重(230±20)g,SPF 级,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。所有动物置于动物饲养中心适应 3~5 d,适应期间室温控制在 25±2℃,光照—黑夜循环 12 h,自由摄食及饮水。采用随机数字表法将大鼠分为假手术组、手术对照组及 PAS 组,每组 15 只。

### 二、主要仪器及试剂

YRD CCY-IV 磁刺激仪(武汉依瑞德医疗设备新技术有限公司)、实时荧光定量 PCR 仪(ABI7900)、逆转录试剂盒、扩增试剂盒、β-actin 及 BDNF 引物由 TAKARA 设计并合成、HT7700 透射电镜(日本日立)、TUNEL 试剂盒(Roche)。

### 三、动物模型建立

参照 Longa 等<sup>[19]</sup>方法,采用线栓法对手术对照组及 PAS 组大鼠行右侧大脑中动脉栓塞术(middle cerebral artery occlusion, MCAO)。假手术组线栓插入深度约为 1 cm,未阻断大脑中动脉供血,余手术操作与手术对照组、PAS 组相同。麻醉清醒后观察各组大鼠行为学改变,采用 Longa 评分评定大鼠功能,评定标准:0 级——行为无明显变化;1 级——左前肢屈曲,左后肢伸展;2 级——有左侧追尾现象,左转圈;3 级——爬行困难,身体向右侧倾倒;4 级——不能自发爬行,意识不清。将 1、2、3 级定为 MCAO 造模成功大鼠,并纳入本实验。模型制备完成后大鼠虽有脑缺血症状,

但伴有下列情形之一者不纳入实验:①取脑时发现蛛网膜下腔出血者;②未到观察时间点已死亡者。由于上述因素导致的各实验组动物样本量不足预定数量者,则根据随机抽样原则补齐样本量。

#### 四、PAS15 干预

1. 确定最佳刺激点:以前囟为参照点,线圈以 0.5 cm 间距向头、尾方向或者向右外侧移动,直至用最小的刺激强度可在左侧腓肠肌(gastrocnemius muscle)记录到最大波幅的运动诱发电位(motor evoked potential, MEP),则此时线圈的位置为最佳刺激点,通常位于前囟旁开 0.5 cm 处,采用黑色记号笔标记,确保实验过程中刺激位置的一致性。

2. 周围神经电刺激(peripheral nerve electrical stimulation, PNS):采用环状电极,刺激强度为 6 mA,方波,波宽 200  $\mu$ s,刺激部位为左侧胫神经,阴极置于左侧后肢内踝上 0.3 cm,阳极置于内踝下 0.3 cm。

3. TMS:采用“8”字形线圈,线圈直径 7 cm,脉冲磁场峰值强度为 6.0 T。磁刺激强度设置为 120% RMT,线圈位置置于最佳刺激点,即手柄向后并和头皮呈切线位,侧面观其与矢状面呈 45°角。

造模成功 24 h 后,PAS 组给予 PAS15 干预,共 90 对脉冲,0.05 Hz,每天 1 次,每次持续 30 min,连续 28 d。治疗过程中采用柔软型大鼠固定器固定大鼠,治疗期间尽量保持环境安静。

#### 五、脑组织取材及观察指标

1. 透射电镜及 TUNEL 标本取材:术后 28 d 治疗结束后 24 h,各组随机选取 10 只,采用 10% 水合氯醛(0.3~0.35 ml/100 g)腹腔注射麻醉,经心脏依次快速灌注预配置的 500 ml 生理盐水、4% 对聚甲醛 250 ml,断头取脑。每组随机选取 5 只,采用透射电镜观察其大脑皮质缺血半暗带区的突触超微结构变化情况,各组其余 5 只采用 TUNEL 法观察神经元凋亡情况。

2. 透射电镜观察:于大鼠右侧大脑半球缺血梗死灶边缘取 2 mm×2 mm×5 mm 组织,并将所取组织切成 1 mm×1 mm×1 mm 的小块后进行下列处理:①置于 2.5% 的戊二醛·0.1 M 磷酸缓冲液(pH7.4)4℃固定 2~4 h;②置于 0.1 M 磷酸缓冲液(pH7.4)漂洗 3 次,每次 15 min;③置于 1% 的锇酸·0.1 M 磷酸缓冲液(pH7.4)室温下固定 2 h,漂洗后梯度酒精脱水;④常规电镜包埋、切片(厚度 60~80 nm)、醋酸铀和枸橼酸铅双染;⑤每份标本制作 2 张铜网并沿对角线方向移动,采用 HT7700 型透射电镜观察并随机摄取突触图片 6 张,5000 倍显微照片,再光学放大至 15000 倍。

3. 突触超微结构参数的测量:运用 HT7700 图像分析系统测量突触间隙宽度、突触后膜的弧长和弦长、突触后膜致密物(postsynaptic density, PSD)厚度及突

触活性区长度等超微结构参数。其中突触活性区长度及 PSD 厚度参考 Guldner<sup>[20]</sup>方法进行测量;突触界面曲率的测量参照 Jones 等<sup>[21]</sup>的方法进行,即突触界面曲率等于突触活性区弧长与相应弦长的比值;突触间隙宽度通过测量多个突触间隙宽度取其均值,每组共 30 张图片。

4. TUNEL 染色:取出大鼠组织后置于 4% 多聚甲醛固定 24 h,常规脱水、透明、浸蜡及包埋,切片(厚度 4  $\mu$ m),每间隔 12  $\mu$ m 选取 1 张切片,每个脑组织选取 2 张切片用于 TUNEL 染色,具体按照试剂盒说明书进行操作。封片后在 400 倍光学显微镜下,每张切片分别摄取梗死边缘皮质图像,随机选取 3 个视野进行拍照。采用 Image-Pro Plus 6.0 软件对每张图片上的凋亡细胞数和细胞总数进行计数,并计算凋亡比率,即凋亡比率等于凋亡细胞数/细胞总数,并计算 3 个不同视野下的神经元凋亡比率的均值。

5. RT-PCR 检测标本采集:术后 28 d 治疗结束后 24 h,各组剩余的 5 只大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛(0.3~0.35 ml/100 g)麻醉,断头,于冰上迅速分离右侧大脑缺血半暗带,置于 EP 管内,储存于-80℃冰箱中备用。

6. RNA 提取及 RT-PCR 检测:取各组大鼠缺血半暗带皮质适量组织,加入 Trizol 裂解液,匀浆器研磨成浆,提取 RNA,采用逆转录试剂盒并按照说明书将 RNA 逆转录为 cDNA,扩增条件严格按照扩增试剂盒说明书设定。大鼠引物序列见表 1。

表 1 引物序列表

| 名称                | 引物 | 序列                             |
|-------------------|----|--------------------------------|
| 大鼠 $\beta$ -actin | 上游 | 5'-CACGATGGAGGGCCGACTCATC-3'   |
|                   | 下游 | 5'-TAAAGACCTCTATGCCAACACAGT-3' |
| 大鼠 BDNF           | 上游 | 5'-CAAGGCAACTTGGCTTACCC-3'     |
|                   | 下游 | 5'-GAGCATCACCCGGGAAGTGT-3'     |

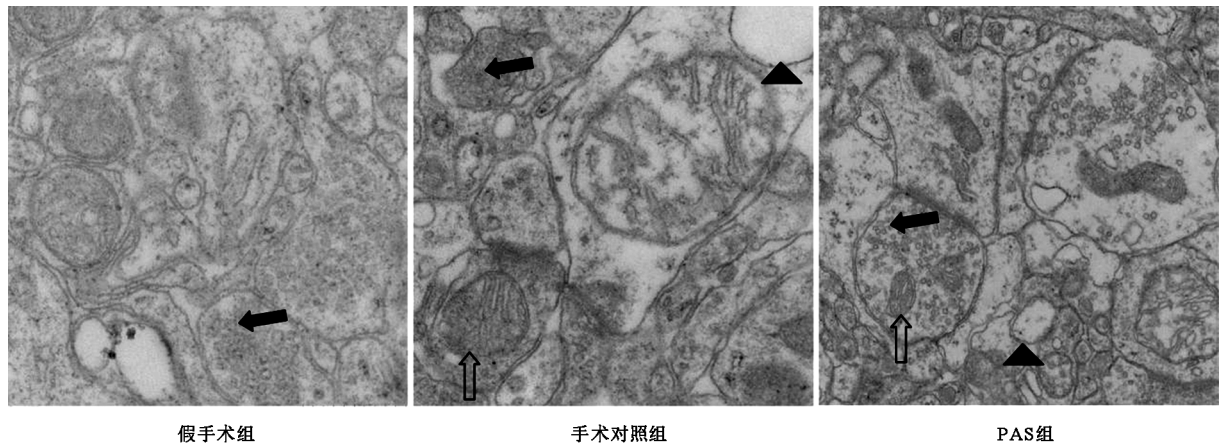
#### 六、统计学方法

使用 SPSS 18.0 版统计软件包进行统计学分析处理。数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )的形式表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 结 果

#### 一、PAS15 干预对缺血半暗带突触超微结构的影响

假手术组突触内线粒体等细胞器结构基本完整,突触囊泡数目较多,肿胀小泡少见;手术对照组突触内线粒体肿胀,可见肿胀小泡,突触囊泡数目明显减少;而 PAS 组突触结构损伤程度较手术对照组轻微,突触囊泡数目相对增加,线粒体等细胞器肿胀程度明显缓解(图 1)。



注：↑所指为突触囊泡，∩所指为线粒体，▲所指为肿胀小泡  
图 1 各组缺血半暗带皮质突触超微结构(×15000)

术后 28 d,与假手术组比较,手术对照组及 PAS 组突触界面曲率、突触活性区长度及突触后膜致密物质厚度减小,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与手术对照组相比,PAS 组突触界面曲率、突触活性区长度及突触后膜致密物质厚度增加,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。详见图 2。

二、PAS15 干预对缺血半暗带皮质神经元凋亡的影响

术后 28 d,与假手术组比较,手术对照组和 PAS 组皮质神经元凋亡比率均明显增加,差异有统计学意义( $P<0.05$ );PAS 组皮质神经元凋亡比率明显低于手术对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。详见表 2 和

图 3。

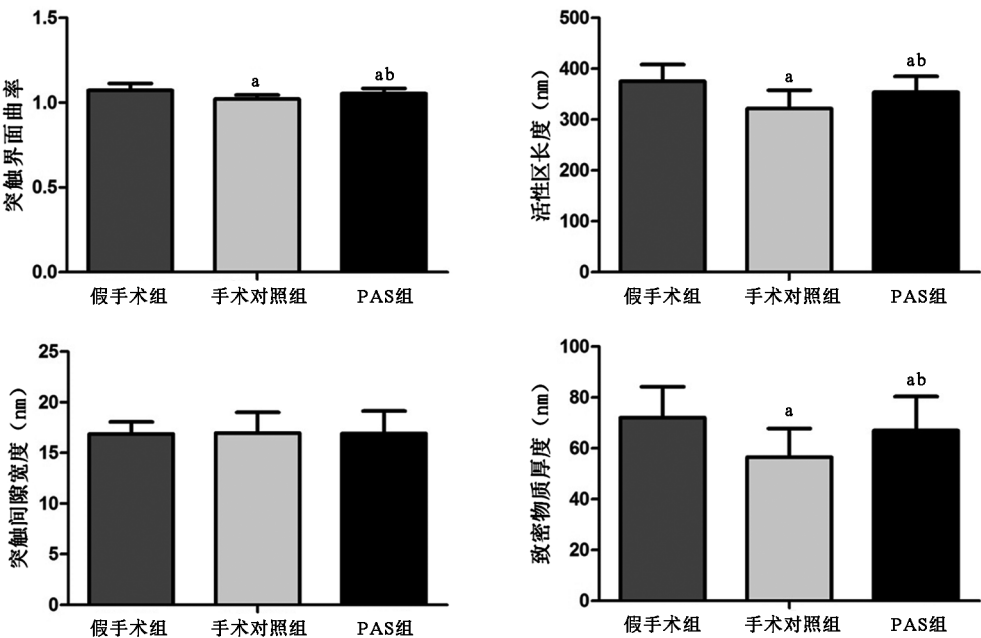
表 2 各组缺血半暗带皮质神经元凋亡比率( $\bar{x}\pm s$ )

|         | 假手术组      | 模型组                    | PAS 组                   |
|---------|-----------|------------------------|-------------------------|
| 凋亡比率(%) | 5.23±0.03 | 51.4±1.32 <sup>a</sup> | 33.5±0.83 <sup>ab</sup> |

注:与假手术组相比,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;于模型组相比,<sup>b</sup> $P<0.05$

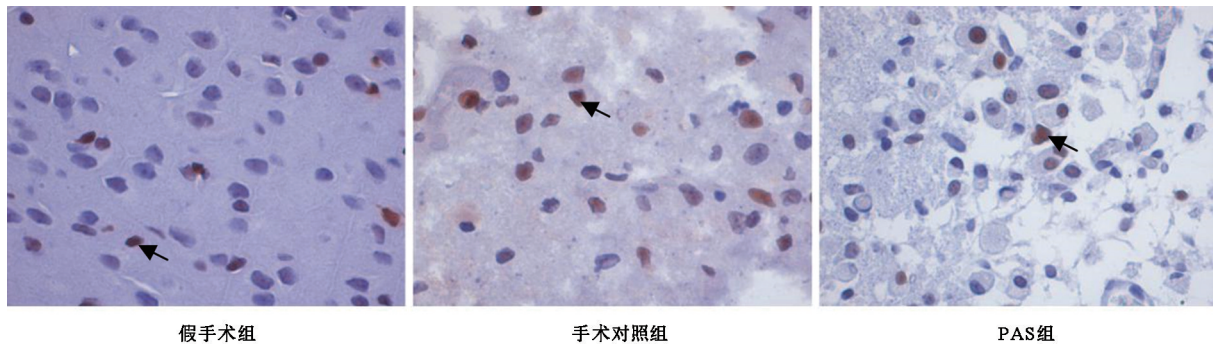
三、PAS15 干预对缺血半暗带皮质 BDNF mRNA 表达水平的影响

术后 28 d,PAS 组 BDNF mRNA 表达水平明显高于假手术组及手术对照组( $P<0.05$ ),手术对照组 BDNF mRNA 表达水平显著低于假手术组( $P<0.05$ )。详见图 4。

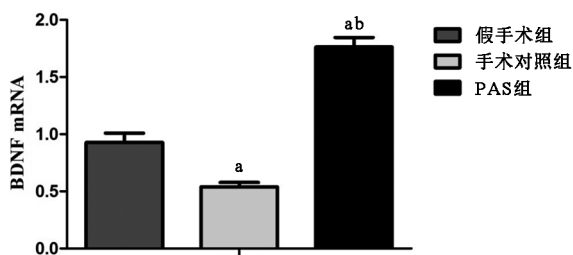


注:与假手术组相比,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组相比,<sup>b</sup> $P<0.05$

图 2 各组缺血半暗带皮质突触超微结构参数



注: ↑ 所指为凋亡神经元  
图 3 各组缺血半暗带皮质神经元凋亡情况(TUNEL 法, ×400)



注: 与假手术组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组相比, <sup>b</sup> $P < 0.05$   
图 4 各组大鼠缺血半暗带皮质 BDNF mRNA 表达水平(RT-PCR)

## 讨 论

本研究采用透射电镜观察 PAS 干预后脑梗死大鼠缺血半暗带皮质突触超微结构的变化情况,从突触结构的角度探讨 PAS 对缺血再灌注损伤后神经可塑性的影响。结果显示, PAS 对缺血再灌注损伤后结构性神经可塑性具有调节作用。与假手术组相比,手术对照组和 PAS 组缺血半暗带皮质突触界面曲率、突触活性区长度及突触后膜致密物质厚度明显减小;与手术对照组相比, PAS 组缺血半暗带皮质突触界面曲率、突触活性区长度及 PSD 厚度明显增加。然而,不同组间突触间隙宽度并未发生显著变化。已有研究显示<sup>[22-23]</sup>, rTMS、运动训练均可促进脑梗死大鼠缺血半暗带皮质突触超微结构的可塑性变化,而突触超微结构的变化与缺血性脑损伤后的运动功能及学习记忆能力的恢复密切相关<sup>[23-24]</sup>。结合本课题组前期工作中 PAS 可促进脑梗死大鼠感觉运动功能恢复的研究所见<sup>[15-16]</sup>,我们推测缺血半暗带皮质突触超微结构的变化可能是 PAS 促进缺血性脑梗死大鼠功能恢复的作用机制之一。然而,本研究中并未发现突触间隙宽度在 PAS 干预后有明显变化,这与毕研贞等<sup>[23]</sup>的结果相同,可能是因为突触间隙本身变化范围有限,或突触间隙并不是反映结构性神经突触可塑性变化的特征性参数。

一般认为,脑卒中后缺血侧皮质在数分钟内即可出现神经细胞凋亡<sup>[5]</sup>。本研究结果显示: PAS 降低了

缺血半暗带皮质神经元的凋亡比率。有研究表明, TMS 可抑制大鼠神经干细胞及海马区神经元凋亡,改善脑梗死大鼠的学习记忆能力,可能与 B 细胞淋巴瘤/白血病基因 2 (bcl-2)、抑制 bcl 基因相关蛋白 (bax) 及 p-CREB 通路有关<sup>[25-26]</sup>; PNS 也可通过降低神经元凋亡比率发挥神经保护作用<sup>[27]</sup>。而 PAS 作为一种结合了 TMS 和 PNS 的新型神经调制技术,理应具有神经保护作用,对神经元凋亡的抑制作用即是其表现之一。

BDNF 属于神经营养因子家族,在哺乳动物大脑中广泛表达,其在神经发育及可塑性的过程中发挥着至关重要的作用<sup>[28]</sup>。黄杰等<sup>[22]</sup>研究发现 rTMS 在使突触超微结构发生变化的同时上调了 BDNF 的表达;王菲等<sup>[29]</sup>研究发现 rTMS 在上调 BDNF 表达的同时,也促进了 SYN、NMDAR1 的表达。另外有研究表明维生素 D 的神经保护作用系通过上调 BDNF 和下调 c-fos、bax、caspase-3 表达,进而抑制海马 CA3 区神经元凋亡实现的<sup>[30]</sup>。因此,为了探讨 PAS 调节脑梗死大鼠突触可塑性和神经元凋亡的机制,本研究还检测了 PAS 干预对脑梗死大鼠缺血半暗带皮质内 BDNF 在基因水平的表达情况。结果显示 PAS 可上调脑梗死大鼠缺血半暗带区 BDNF mRNA 的表达。

综上所述, PAS 可能是通过上调 BDNF 的表达诱导缺血半暗带皮质突触结构可塑性的发生、抑制神经元凋亡。未来研究中,可通过观察 PAS 对神经可塑性相关因子(如 Nogo、硫酸软骨素蛋白多糖)及凋亡相关分子(如 bcl-2、bax、细胞色素 C、Caspase-3)的影响,对其机制进行更进一步的探讨。

## 参 考 文 献

- [1] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会神经康复学组, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国脑卒中早期康复治疗指南[J]. 中华神经科杂志, 2017, 50(6): 405-412. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2017.06.002.
- [2] 王陇德, 刘建民, 杨弋, 等. 《中国脑卒中防治报告 2017》概要[J].

- 中国脑血管病杂志, 2018, 15 ( 11 ) : 611-617. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5921.2018.11.010.
- [ 3 ] Wang W, Jiang B, Sun H, et al. Prevalence, incidence, and mortality of stroke in China: results from a nationwide population-based survey of 480687 adults[J]. *Circulation*, 2017, 135 ( 8 ) : 759-771. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.025250.
  - [ 4 ] Zhou M, Wang H, Zeng X, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990-2017: a systematic analysis for the global burden of disease study 2017[J]. *Lancet*, 2019, pii: s0140-6736(19)30427-1. DOI: 10.1016/s0140-6736(19)30427-1.
  - [ 5 ] Faralli A, Bigoni M, Mauro A, et al. Noninvasive strategies to promote functional recovery after stroke[J]. *Neural Plast*, 2013, 2013: 1-16. DOI: 10.1155/2013/854597.
  - [ 6 ] Small SL, Buccino G, Solodkin A. Brain repair after stroke--a novel neurological model[J]. *Nat Rev Neurol*, 2013, 9 ( 12 ) : 698-707. DOI: 10.1038/nrneurol.2013.222.
  - [ 7 ] Carmichael ST. Targets for neural repair therapies after stroke[J]. *Stroke*, 2010, 41 ( 10 Suppl ) : S124-S126. DOI: 10.1161/STROKEAHA.110.597146.
  - [ 8 ] 王慧, 孔立红, 李威, 等. 不同频率电针对阿尔茨海默病大鼠海马神经元突触形态可塑性的影响研究[J]. *中医药学报*, 2015 ( 05 ) : 20-23. DOI: 10.19664/j.cnki.1002-2392.2015.05.006.
  - [ 9 ] Volz MS, Volz TS, Brunoni AR, et al. Analgesic effects of noninvasive brain stimulation in rodent animal models: a systematic review of translational findings[J]. *Neuromodulation*, 2012, 15 ( 4 ) : 283-295. DOI: 10.1111/j.1525-1403.2012.00478.x.
  - [ 10 ] Stefan K, Kunesch E, Cohen LG, et al. Induction of plasticity in the human motor cortex by paired associative stimulation[J]. *Brain*, 2000, 123 Pt 3: 572-584. DOI: 10.1093/brain/123.3.572.
  - [ 11 ] Wolters A, Sandbrink F, Schlottmann A, et al. A temporally asymmetric Hebbian rule governing plasticity in the human motor cortex[J]. *Neurophysiol*, 2003, 89 ( 5 ) : 2339-2345. DOI: 10.1152/jn.00900.2002.
  - [ 12 ] Castel-Lacanal E, Marque P, Tardy J, et al. Induction of cortical plastic changes in wrist muscles by paired associative stimulation in the recovery phase of stroke patients[J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2009, 23 ( 4 ) : 366-372. DOI: 10.1177/154596 8308322841.
  - [ 13 ] Amaya F, Paulus W, Treue S, et al. Transcranial magnetic stimulation and PAS-induced cortical neuroplasticity in the awake rhesus monkey[J]. *Clin Neurophysiol*, 2010, 121 ( 12 ) : 2143-2151. DOI: 10.1016/j.clinph.2010.03.058.
  - [ 14 ] Zhang XY, Sui YF, Guo TC, et al. Effect of Paired Associative Stimulation on Motor Cortex Excitability in Rats[J]. *Curr Med Sci*, 2018, 38 ( 5 ) : 903-909. DOI: 10.1007/s11596-018-1960-8.
  - [ 15 ] 胡艳, 张香玉, 鲁银山, 等. 成对关联刺激对脑缺血再灌注大鼠感觉运动功能和 MAP-2、GAP-43 表达的影响[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2018, 40 ( 10 ) : 733-739. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2018.10.003.
  - [ 16 ] 鲁银山, 王杰, 胡婷, 等. 胥神经-M1 区成对关联刺激对缺血性脑卒中大鼠前肢功能障碍恢复的影响及其机制研究[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2018, 40 ( 11 ) : 801-809. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2018.11.001.
  - [ 17 ] Michou E, Mistry S, Rothwell J, et al. Priming pharyngeal motor cortex by repeated paired associative stimulation: implications for dysphagia neurorehabilitation[J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2013, 27 ( 4 ) : 355-362. DOI: 10.1177/1545968312469837.
  - [ 18 ] Shin H, Han T, Paik N. Effect of consecutive application of paired associative stimulation on motor recovery in a rat stroke model: A preliminary study[J]. *Int J Neurosci*, 2009, 118 ( 6 ) : 807-820. DOI: 10.1080/00207450601123480.
  - [ 19 ] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20 ( 1 ) : 84-91. DOI: 10.1161/01.STR.20.1.84.
  - [ 20 ] Guldner FH, Ingham CA. Increase in postsynaptic density material in optic target neurons of the rat suprachiasmatic nucleus after bilateral enucleation[J]. *Neurosci Lett*, 1980, 17 ( 1-2 ) : 27-31. DOI: 10.1016/0304-3940(80)90056-7.
  - [ 21 ] Jones DG. Synaptic plasticity and perforated synapses: their relevance for an understanding of abnormal synaptic organization[J]. *APMIS Suppl*, 1993, 40: 25-34.
  - [ 22 ] 黄杰, 马玉娟, 方征宇, 等. 高频重复经颅磁刺激对脑梗死大鼠缺血半暗带超微结构及脑源性神经营养因子表达的影响[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2011, 33 ( 10 ) : 736-740. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2011.010.004.
  - [ 23 ] 毕研贞, 胡可慧, 姜伟, 等. 运动训练对脑梗死大鼠学习记忆能力和半暗带突触结构的影响[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2008, 30 ( 2 ) : 76-79. DOI: 10.3321/j.issn.0254-1424.2008.02.002.
  - [ 24 ] 龚云. 不同强度跑台运动对大鼠学习记忆能力及海马 CA3 区突触超微结构的影响[J]. *北京体育大学学报*, 2012 ( 03 ) : 63-66. DOI: 10.19582/j.cnki.11-3785/g8.2012.03.013.
  - [ 25 ] 赵秀秀, 韩肖华, 张靖慧, 等. 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[J]. *中国康复医学杂志*, 2012, 27 ( 12 ) : 1087-1092. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2016.01.003.
  - [ 26 ] 柳华, 韩肖华, 陈红, 等. 重复磁刺激对体外培养大鼠神经干细胞分化和凋亡的影响[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2016, 38 ( 1 ) : 13-18. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2016.01.003.
  - [ 27 ] 左健, 贺慧艳, 王倩倩, 等. 三叉神经电刺激对慢性癫痫大鼠癫痫状态所致海马神经元损伤的保护作用观察[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2014, 36 ( 4 ) : 250-254. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2014.04.003.
  - [ 28 ] Fletcher JL, Murray SS, Xiao J. Brain-derived neurotrophic factor in central nervous system myelination: A new mechanism to promote myelin plasticity and repair[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19 ( 12 ) : 3390. DOI: 10.3390/ijms19124131.
  - [ 29 ] 王菲, 耿鑫, 陶华英, 等. 重复经颅磁刺激对血管性痴呆大鼠海马 CA1 区 BDNF、NMDAR1、SYN 表达及超微结构的影响[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2010, 36 ( 7 ) : 397-400. DOI: 10.3969/j.issn.1002-0152.2010.07.004.
  - [ 30 ] Sahin S, Gurgun SG, Yazar U, et al. Vitamin D protects against hippocampal apoptosis related with seizures induced by kainic acid and pentylenetetrazol in rats[J]. *Epilepsy Res*, 2018, 149: 107-116. DOI: 10.1016/j.epilepsyres.2018.12.005.

(修回日期: 2019-10-20)

(本文编辑: 易 浩)