

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.000612

磷酸二酯酶抑制剂对癫痫持续状态后未成熟脑认知功能的影响

唐小菊, 蒋 莉, 王敏建, 罗媛媛, 陈恒胜, 程 莉

(重庆医科大学附属儿童医院神经内科、儿童发育疾病研究教育部重点实验室、儿科学重庆市重点实验室、
重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地, 重庆 400014)

【摘要】目的:探讨磷酸二酯酶抑制剂罗利普兰(Rolipram)对癫痫持续状态(status epilepticus, SE)后未成熟脑认知功能的影响。**方法:**选取日龄 21 d 雄性 SD 幼鼠 96 只, 按随机数字法分为正常对照(N+Veh)组、正常+Rolipram 干预(N+Ro)组、SE 对照(SE+Veh)组、SE+Rolipram 干预(SE+Ro)组, 其中 SE 组采用氯化锂-匹罗卡品建立癫痫持续状态模型; Rolipram 干预组给予 Rolipram 0.03 mg/kg 腹腔注射, 连续 2 周; 对照组予含 5%DMSO 的生理盐水。采用水迷宫和避暗实验检测大鼠的认知功能, 神经电生理水平采用膜片钳技术记录海马脑片长时程增强(long-term potentiation, LTP)变化, 蛋白免疫印迹方法检测海马内磷酸化的环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(phosphorylated cAMP response element binding protein, pCREB)水平的变化情况。**结果:**SE 后 2 周, SE+Veh 组与 N+Veh 组相比较水迷宫定位航行实验中寻台潜伏期延长(第 3 天和第 4 天分别为: $P<0.01$; $P<0.05$); 探查实验在目标象限探索时间缩短($P<0.01$), 跨平台次数减少($P<0.05$); 避暗实验逃避潜伏期缩短($P<0.001$); LTP 中高频刺激后 30 min 场兴奋性突触后电位(field excitatory postsynaptic potential, fEPSP)斜率比值减小($P<0.05$); 海马 pCREB 表达量下降($P<0.01$)。Rolipram 处理后, SE+Veh 组与 SE+Ro 组相比较在水迷宫定位航行实验中寻台潜伏期缩短(第 4 天, $P<0.05$); 探查实验在目标象限探索时间延长($P<0.05$), 跨平台次数增加($P<0.05$); 避暗实验逃避潜伏期延长($P<0.01$); LTP 高频刺激后 30 min 的 fEPSP 斜率比值增大($P<0.01$); 海马 pCREB 表达量升高($P<0.01$)。**结论:**Rolipram 能改善 SE 所致的认知功能障碍, 其机制可能与增加 pCREB 的表达量有关。

【关键词】癫痫持续状态; 认知; 罗利普兰; 磷酸化的环磷酸腺苷反应元件结合蛋白**【中图分类号】**R741; R748; R741.05**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2014-12-06

Effects of Rolipram on cognitive impairments induced by epilepticus status in the immature brain

Tang Xiaoju, Jiang Li, Wang Minjian, Luo Yuanyuan, Chen Hengsheng, Chen Li

(Department of Neurology, the Children's Hospital of Chongqing Medical University, Ministry of Education, Key Laboratory of Child Development and Disorders, Key Laboratory of Pediatrics in Chongqing, Chongqing International Science and Technology Cooperation Center for Child Development and Disorders)

【Abstract】Objective: To explore the effects of Rolipram on cognitive impairments induced by epilepticus status in the immature brain.

Methods: Ninety six P21 SD male rats were randomly divided into four groups: N+Vehicle(N+Veh), N+Rolipram(N+Ro), SE+Vehicle(SE+Veh) and SE+Rolipram(SE+Ro). LiCl-Pilo was used to build the SE model. The animals received vehicle (5% DMSO) or Rolipram (0.03 mg/kg) once a day(ip) for two week. The cognitive functions were tested by Morris water maze, step-through test and hippocampus long-term potentiation; the phosphorylated cAMP response element binding protein (pCREB) levels were evaluated by Western blot. **Results:** Compared with those of (N+Vehicle) group, in the Morris water maze test, the (SE+vehicle) group's escaping latency period was significantly longer (the third day and fourth day: $P<0.01$ and $P<0.05$); the time in the target quadrant was longer in probe trail ($P<0.01$), cross-platform times were decreased ($P<0.05$); in the step-through test, the (SE+vehicle) group's escape latency was shorter ($P<0.001$); the slope of fEPSP in hippocampus long-term potentiation was reduced at 30 min after HFS ($P<0.05$); in Western blot test, pCREB levels were decreased ($P<0.001$); and all of these were rescued with Rolipram treatment. Compared with those of

(SE+Vehicle) group, in the Morris water maze test, the (SE+Rolipram) group's escaping latency period was significantly shorter (the fourth day: $P<0.05$); the time in the target quadrant was shorter in probe trail ($P<0.05$), cross-platform times were increase ($P<0.05$); in the step-through test, the (SE+Rolipram) group's escape latency was longer ($P<0.01$); the slope

作者介绍: 唐小菊, Email: tangxj2272@163.com,

研究方向: 癫痫与认知。

通信作者: 蒋 莉, Email: dr_jiangli@hotmail.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 81371452)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150405.2057.011.html>

(2015-04-05)

of fEPSP in hippocampus long-term potentiation was increased at 30min after HFS ($P < 0.01$); in Western blot, pCREB levels were increased ($P < 0.01$). **Conclusion:** These results indicate that the PDE4 inhibitor rolipram rescues cognitive impairments after SE, and this may be mediated through increased pCREB levels.

【Key words】status epilepticus; cognitive; rolipram; phosphorylated cAMP response element binding protein (pCREB)

癫痫持续状态(status epilepticus, SE)是儿科常见的急症之一,长时间痫性发作可因神经元兴奋毒性损伤导致不可逆的脑损伤,可能遗留认知功能损害,对日后的生活、工作造成困扰^[1]。因此,如何改善儿童癫痫尤其是 SE 后认知功能损害已成为儿童癫痫治疗中应该积极关注的问题。研究表明 4 型磷酸二酯酶抑制剂罗利普兰(Rolipram)能改善药物或者遗传所致的记忆损害,但是对 SE 所致的认知损害是否也有作用尚无报道。本研究通过建立大鼠癫痫持续状态模型,观察 Rolipram 对大鼠癫痫持续状态后未成熟脑认知功能的影响,并探讨其可能机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级日龄 21 d 健康雄性 SD 大鼠(重庆医科大学实验动物中心提供,许可证(SYXK(渝)2012-0001)。体质量在 45~55 g 之间,置于 SPF 级动物实验室饲养。

1.1.2 实验试剂 氯化锂、匹罗卡品、Rolipram(美国 Sigma-Aldrich 公司);DMSO(北京索莱宝公司);pCREB 抗体(Ser-133 位点)、PVDF 膜(美国 Millipore 公司);BCA 法蛋白定量试剂盒(美国 Thermo scientific 公司);超敏 ECL 化学发光试剂盒(美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组及模型制备 动物按照随机数字法分为 4 组,每组 24 只,分别为正常对照(N+Veh)组、正常+Rolipram 干预(N+Ro)组、SE 对照(SE+Veh)组、SE+Rolipram 干预(SE+Ro)组其中模型组共有动物 59 只,建模成功 51 只,成功率为 86.4%,死亡 3 只,死亡率为 5.8%。正常对照组动物共有 48 只,无死亡。采用氯化锂-匹罗卡品建立癫痫持续状态模型(氯化锂 127 mg/kg, 18~20 h 后,匹罗卡品 30 mg/kg,均腹腔注射)。按照 Racine^[2]分级法分级,当发作达到 IV 级或 V 级并持续 1 h 为癫痫持续状态,发作 15 min 后腹腔注射硫酸阿托品(10 mg/kg)拮抗其 M 胆碱能样作用,发作 1 h 后给予安定(10 mg/kg)止惊。Rolipram 干预组在建模后当天给予 Rolipram (0.03 mg/kg 腹腔注射连续 2 周),对照组给予 5% DMSO 的生理盐水(2 ml/kg)。各组大鼠分别用于水迷宫实验 8 只,结束后取免疫荧光标本;避暗实验 8 只,结束后取蛋白免疫印迹标本;膜片钳 8 只。

1.2.2 水迷宫检测大鼠空间学习记忆 水迷宫包括定位航行实验及探查实验,圆形游泳池直径为 150 cm,高度为 80 cm,平台直径为 14 cm。第 1 天为适应训练,将大鼠放入水池中自由游泳 60 s,第 2~5 天即定位航行实验。将大鼠随机选取一个方位头朝池壁放入水中,记录大鼠每次找到水下平台所需时间即寻台潜伏期,寻台潜伏期越短,表明大鼠空间学习记忆能力越强。每次大鼠游上平台,待其在平台上停留 15 s,每天每只大鼠训练 5 次。若潜伏期超过 60 s 则大鼠引导至平台停留 15 s。定位航行实验结束后 24 h 进行探查实验,撤除平台,在平台所在象限的对侧方位将大鼠轻放入水中,观察并记录在平台所在象限探索时间及 60 s 内跨平台次数。目标象限探索时间越长和跨平台次数越多表明大鼠空间学习记忆能力越强。

1.2.3 避暗实验检测大鼠被动回避学习记忆 实验箱由明箱和暗箱两部分组成,中间有一洞口相通,大鼠可以自由通过。实验分为适应、训练和测试 3 个部分。第 1 天将大鼠放入试验箱中适应 2 min,无电击;24 h 后将大鼠放入明箱,10 s 后打开中间的门,大鼠进入暗箱后给予 2 s 的 1.0 mA 电击,10 s 后将大鼠取出;再间隔 24 h 后测试,记录大鼠 540 s 内进入暗箱的逃避潜伏期。逃避潜伏期越长,表明大鼠对于暗室的电击刺激的记忆越好。

1.2.4 膜片钳技术检测海马脑片长时程增强(long-term potentiation, LTP) SE 后 2 周制备大鼠海马脑片行神经电生理实验。实验动物予以 10% 的水合氯醛麻醉后,开胸、夹闭腹主动脉,迅速用 0℃~4℃含 95% O₂ 及 5% CO₂ 的高糖人工脑脊液灌注使脑组织迅速降温后断头取脑,用振荡切片机将脑组织切成 400 μm 厚的海马脑片,迅速将脑片转移到含 95% O₂ 及 5% CO₂ 的记录人工脑脊液中,24℃孵育 2 h 后开始记录。LTP 记录:将双极钨电极置于海马 CA3 区的 Schaffer 侧枝上,玻璃记录电极置于 CA1 区放射层,使用 Multi-Clamp700 放大器放大,应用 pCLAMP 获取兴奋性突触后场电位(field excitatory postsynaptic potential, fEPSP)并分析,刺激强度选用 fEPSP 斜率最大值时电流强度的 40%~50%,基线稳定 0.5 h 后给与 1 s 的 100 Hz 高频刺激(high frequency stimulation, HFS),刺激后其斜率增加大于 20%,持续超过 0.5 h 则诱导成功。长时程增强是突触水平上的一种信息储存方式,为学习和记忆的电生理基础,是研究学习和记忆的理想模型。兴奋性突触后电位是长时程增强的重要参数,表示突触后相邻神经元树突部位电位总和大小,一定程度上反应了参与兴奋突触的数量,它的斜率反应了突触对刺激的响应强度,计算高频刺激后 LTP 斜率与刺激前的比值,比较高频刺激后

30 min 各组间 fEPSP 斜率增加比值的差异,比值越大表明突触可塑性越好。

1.2.5 蛋白免疫印迹测定海马环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)的磷酸化水平 大鼠 10%水合氯醛麻醉后断头取海马,匀浆后行蛋白免疫印迹实验测定海马磷酸化的环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(phosphorylated cAMP response element binding protein, pCREB)及 CREB 的表达水平,用 Image J 软件分析各组间 pCREB、总 CREB 及内参的灰度值,CREB 的磷酸化的水平即用 pCREB/CREB/内参 β -actin 的比值表示。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析,数据以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析进行统计学分析,组间两两比较采用 Tukey-HSD- t 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 水迷宫实验结果

各组大鼠在定位航行实验中寻台潜伏期比较结果显示:第 1 天与第 2 天各组间比较无统计学意义(第 1 天: $F=0.275$, $P=0.843$;第 2 天: $F=0.089$, $P=0.965$)。第 3 天各组大鼠间的寻台潜伏期差异具有统计学意义($F=6.42$, $P=0.002$),组间两两比较显示:SE+Veh 组较 N+Veh 组明显延长($P=0.002$)。第 4 天各组大鼠的寻台潜伏期差异具有统计学意义($F=6.85$, $P=0.001$),组间两两比较显示:SE+Veh 组较 N+Veh 组明显延长($P=0.04$),SE+Ro 组较 SE+Veh 组明显缩短($P=0.027$)。见表 1。

表 1 各组大鼠寻台平均潜伏期比较($\bar{x} \pm s, s$)

Tab.1 Comparison of escaping latency period among the groups in water maze ($\bar{x} \pm s, s$)

组别	n	1 d	2 d	3 d	4 d
N+Veh	8	40.90 $\pm$ 14.20	29.88 $\pm$ 7.88	18.46 $\pm$ 4.46	12.03 $\pm$ 3.08
N+Ro	8	44.80 $\pm$ 11.10	31.33 $\pm$ 9.62	20.14 $\pm$ 4.45	11.38 $\pm$ 3.58
SE+Veh	8	45.26 $\pm$ 7.30	31.83 $\pm$ 9.94	28.81 $\pm$ 4.43 ^a	29.34 $\pm$ 13.03 ^b
SE+Ro	8	40.01 $\pm$ 13.6	29.67 $\pm$ 12.40	23.22 $\pm$ 6.84	15.50 $\pm$ 9.20 ^c
F 值		0.275	0.089	6.420	6.850
P 值		0.843	0.965	0.002	0.001

注:a,与 N+Veh 相比, $P<0.01$;b,与 N+Veh 相比, $P<0.05$;c,与 SE+Veh 相比, $P<0.05$

各组大鼠在探查实验中的在目标象限探索时间比较差异有统计学意义($F=9.21$, $P=0.000$),两两比较显示 SE+Veh 组较 N+Veh 组明显减少($P=0.004$),SE+Ro 组较 SE+Veh 组明显缩短($P=0.02$)。跨平台次数比较差异也有统计学意义($F=6.21$, $P=0.002$),两两比较显示 SE+Veh 组较 N+Veh 组明显减少($P=0.014$),SE+Ro 组较 SE+Veh 组明显增加($P=0.014$)。见表 2。

表 2 各组大鼠目标象限探索时间及跨平台次数比较($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Comparison of the time in the target quadrant and cross-platform times among the groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	平均时间(s)	跨平台次数
N+Veh	8	14.15 $\pm$ 2.66	3.00 $\pm$ 0.93
N+Ro	8	11.06 $\pm$ 5.31	3.38 $\pm$ 1.69
SE+Veh	8	5.28 $\pm$ 2.30 ^a	1.00 $\pm$ 0.54 ^c
SE+Ro	8	14.25 $\pm$ 4.17 ^b	3.00 $\pm$ 1.42 ^d
F 值		9.210	6.210
P 值		0.000	0.002

注:a,与 N+Veh 相比, $P<0.01$;b,与 SE+Veh 相比 $P<0.05$;c,与 N+Veh 相比, $P<0.05$;d,与 SE+Veh 相比 $P<0.05$

2.2 避暗实验结果

各组大鼠在避暗室实验中的逃避潜伏期结果显示各组间逃避潜伏期的差异有统计学意义($F=14.98$, $P=0.000$),两两比较显示 SE+Veh 组较 N+Veh 组明显减少($P=0.000$),SE+Ro 组较 SE+Veh 组明显升高($P=0.002$)。见表 3。

表 3 各组大鼠避暗室实验逃避潜伏期的比较($\bar{x} \pm s$)

Tab.3 Comparison of escaping latency period among the groups in the step-through test ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	逃避潜伏期(s)
N+Veh	8	154.49 $\pm$ 31.05
N+Ro	8	166.27 $\pm$ 25.74
SE+Veh	8	77.78 $\pm$ 32.42 ^a
SE+Ro	8	138.85 $\pm$ 25.09 ^b
F 值		14.980
P 值		0.000

注:a,与 N+Veh 相比, $P<0.001$;b,与 SE+Veh 相比 $P<0.01$

2.3 神经电生理结果

以 HFS 前的 fEPSP 斜率值为基础值,比较 HFS 后 30 min 各组大鼠 fEPSP 的斜率值与基础斜率值的比值。方差分析各组间斜率比值的差异有统计学意义($F=6.35$, $P=0.002$),两两比较显示 SE+Veh 组较 N+Veh 组明显减少($P=0.021$),SE+Ro 组较 SE+Veh 组明显升高($P=0.002$)。见表 4 和图 1。

表 4 高频刺激后 30 min 各组大鼠 fEPSP 的斜率增加幅度比较($\bar{x} \pm s$)

Tab.4 Comparison of the slop of fEPSP after HFS 30 min among the groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HFS后 30 min
N+Veh	8	1.56 $\pm$ 0.22
N+Ro	8	1.58 $\pm$ 0.16
SE+Veh	8	1.27 $\pm$ 0.10 ^a
SE+Ro	8	1.64 $\pm$ 0.23 ^b
F 值		6.350
P 值		0.002

注:a,与 N+Veh 相比, $P<0.05$;b,与 SE+Veh 相比, $P<0.01$

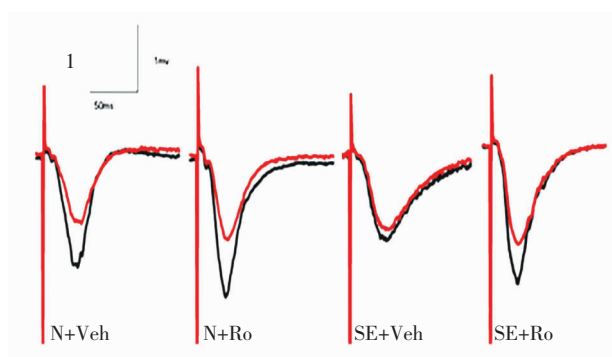


图 1 各组大鼠 HFS 后 30min fEPSP 变化,红色表示基线值,黑色代表高频刺激后

Fig.1 Traces from representative recordings obtained before (red) and 30 min (black) after HFS

2.4 蛋白免疫印迹法结果

蛋白免疫印迹法检测各组大鼠海马 pCREB 蛋白表达水平变化,方差分析各组间 pCREB 蛋白水平表达的差异具有统计学意义 ($F=8.56, P=0.000$),两两比较显示 SE+Veh 组较 N+Veh 组明显减少 ($P=0.004$),SE+Ro 组较 SE+Veh 组明显升高 ($P=0.005$)。见表 5,图 2。

表 5 各组大鼠海马 pCREB 表达量灰度值 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.5 Comparison of expression pCREB in hippocampus of rats among the groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	灰度值
N+Veh	8	0.17 ± 0.02
N+Ro	8	0.18 ± 0.03
SE+Veh	8	0.13 ± 0.02^a
SE+Ro	8	0.17 ± 0.02^b
F 值		8.560
P 值		0.000

注:a,与 N+Veh 相比, $P<0.01$;b,与 SE+Veh 相比, $P<0.01$

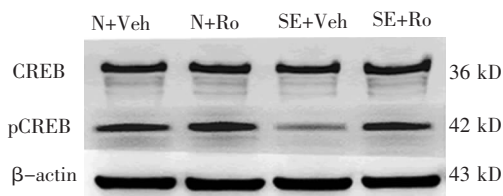


图 2 蛋白免疫印迹检测各组大鼠海马 pCREB 表达

Fig.2 Expression of pCREB in hippocampus of rats among the groups detected by Western blot

3 讨论

由于大脑发育的不成熟,儿童时期惊厥易感性高且容易发生癫痫持续状态,并引起未成熟脑损伤,

导致记忆力、注意力、语言表达障碍等长期认知功能损害,对以后的学业及生活造成的负面影响。日龄 21 d 幼鼠相当于人类 1~2 岁,是大脑发育最快也是最关键的时期,故本实验以 21 日龄 SD 大鼠为研究对象,建立癫痫持续状态模型,选用水迷宫、避暗实验和神经电生理检测大鼠认知功能。本研究发现 SE 大鼠在水迷宫定向航行实验中表现为寻台潜伏期延长,探查实验中在目标象限探索时间减少,跨平台次数减少,表明 SE 后大鼠存在空间学习记忆能力受损。避暗室实验中表现为进入暗室的逃避潜伏期缩短,表明 SE 后大鼠被动回避学习能力受损。从行为学水平验证了 SE 可导致大鼠认知功能障碍,与其他研究结果一致^[3-4]。另在神经电生理水平发现 SE 组大鼠在高频刺激后 30 min 存在 fEPSP 斜率比值增加幅度减小,也证实了在大脑发育的关键时期出现癫痫发作能引起认知功能障碍。

癫痫持续状态所致的认知障碍的潜在分子机制尚不清楚,目前认为可能与 SE 后引起海马区神经元的死亡、cAMP/PKA/CREB 信号转导通路异常、脑内神经递质系统紊乱、痫性发作和放电造成代谢紊乱等有关^[5]。对信号通路的研究提示 CREB 是一种重要的核转录因子,能调节包括学习记忆在内的广泛的生物学功能,是细胞内多种信号通路中的关键分子,海马记忆的形成及巩固依赖 CREB 调控的基因表达^[6]。CREB 能被细胞内高浓度的 cAMP、Ca²⁺、ERK1/2 等通路调控刺激使其 133 位丝氨酸磷酸化为 pCREB^[7],pCREB 可激活调节下游的基因转录包括 c-fos、BDNF 和 Arc 等的合成,进一步参与突触的可塑性,加固记忆的形成^[8]。Porte 报道在正常的老龄 129T2/Sv 小鼠 CA1 区 pCREB 的减少与空间学习记忆障碍相关^[9],本研究采用蛋白免疫印迹法发现 SE 后 pCREB 蛋白表达水平较正常对照减低,与 Lou 结果一致^[10],提示 SE 后未成熟大鼠存在认知功能障碍的同时也有 pCREB 蛋白表达水平的降低,pCREB 可能参与调节认知功能。

磷酸二酯酶是特异的 cAMP 和 cGMP 水解酶,能将细胞内的 cAMP 和 cGMP 水解生成相应的无活性的 5'核苷酸,从而发挥其生物性效应,总共 11 个亚型。其中 PDE4 是胞内 cAMP 的特异性水解酶,在大脑中的分布主要集中在海马、皮质、纹状体和丘脑等^[11]。咯利普兰是特异性 PDE4 抑制剂,能通过抑制 cAMP 的水解,增加胞内 cAMP 的浓度^[12],激活

PKA 信号通路使 CREB 的磷酸化增强,从而促进下游基因的表达。

本实验首次发现采用 Rolipram 干预 SE 大鼠后能缩短其在水迷宫定位航行实验中的寻台潜伏期,延长探查实验中目标象限的探索时间,增加跨平台次数;并在避暗实验中延长大鼠进入暗室的平均潜伏期;在神经电生理水平表现为海马脑片长时程增强高频刺激后 30 min fEPSP 斜率比值增大,提示 Rolipram 能改善 SE 大鼠的认知功能;且发现 Rolipram 干预后 SE 大鼠海马区 pCREB 蛋白水平增加。国内外也有关于 Rolipram 改善其他疾病认知的动物实验报道,如 Rolipram 能够改善正常老龄、老年痴呆、麻醉剂等所引起的相关模型动物的记忆缺陷^[13-14],Vecsey 等^[15]发现眠剥夺能损害小鼠海马依赖 cAMP-PKA 通路的突触可塑性,增强 PDE4 活性,而 Rolipram 干预后能逆转这一现象。Titus 等^[16]发现 Rolipram 能改善颅脑损伤其引起的记忆受损和并使 pCREB 的磷酸化增加。Zhang 等^[17]研究发现通过慢病毒载体运用 RNA 干扰技术下调 ICR 小鼠海马区的 PDE4 的含量,能改善淀粉样蛋白- β 42 所致的记忆缺陷,同时检测到 pCREB 水平升高。因此可以得出, Rolipram 改善认知可能与 pCREB 有关。

综上所述,本研究在证实 SE 大鼠存在学习记忆障碍的基础上,发现 PDE4 抑制剂 Rolipram 能改善 SE 所致大鼠的认知障碍,其机制可能与 pCREB 及其相关通路有关。这为临床治疗癫痫引起的认知障碍提供了思路。但是,pCREB 是细胞核内多条信号通路的关键因子,PDE4 抑制剂是否对其他的通路也有影响还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 吴希如,林庆,包新华,等.小儿神经系统疾病基础与临床[M].北京:人民出版社,2009:514-515.
- [2] Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation II Motor seizure[J].Electroencephalogram Clin Neurophysiol,1972,32(3):281-294.
- [3] Müller CJ,Grötcke I,Bankstahl M,et al.Behavioral and cognitive alterations,spontaneous seizures,and neuropathology developing after a pilocarpine-induced status epilepticus in C57BL/6 mice[J].Exp Neurol,2009,219(1):284-297.
- [4] Pearson JN,Schulz KM,Patel M.Specifc alterations in the performance of learning and memory tasks in models of chemoconvulsant-induced status epilepticus[J].Epilepsy Res,2014,108(6):1032-1040.
- [5] 刘璐,周农.癫痫对认知功能影响的研究[J].中华临床医师杂志(电子版),2013,7(14):6554-6556.
- [6] Barco A,Marie H.Genetic approaches to investigate the role of CREB in neuronal plasticity and memory[J].Mol Neurobiol,2011,44(3):330-349.
- [7] Suzuki A,Fukushima H,Mukawa T,et al.Upregulation of CREB-mediated transcription enhances both short- and long-term memory[J].J Neurosci,2011,31(24):8786-8802.
- [8] Korb E,Finkbeiner S.Arc in synaptic plasticity:from gene to behavior[J].Trends Neurosci,2011,34(11):591-598.
- [9] Porte Y,Buhot MC,Mons N.Alteration of CREB phosphorylation and spatial memory deficits in aged 129T2/Sv mice[J].Neurobiol Aging,2008,29(10):1533-1546.
- [10] Lou Y,Wang WP,Li P,et al.Interrelationship between change of cAMP responsive element binding protein(CREB) or N-methyl-D-aspartate receptor (NR1) expressing in hippocampus and impairment of learning and memory after epilepsy[J].Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban,2007,38(6):949-953.
- [11] Rutten K,Vente JD,Sik A,et al.The selective PDE5 inhibitor,sildenafil,improves object memory in Swiss mice and increases cGMP levels in hippocampal slices[J].Behav Brain Res,2005,164(1):11-16.
- [12] Conti M,Richter W,Mehats C,et al.Cyclic AMP-specific PDE4 phosphodiesterases as critical components of cyclic AMP signaling[J].J Biol Chem,2003,278(8):5493-5496.
- [13] Garcia-Osta A,Cuadrado-Tejedor M,Garcia-Barroso C,et al.Phosphodiesterases as therapeutic targets for Alzheimer's disease[J].ACS Chem.Neurosci,2012,3(11):832-844.
- [14] Zhang H,Zhang SB,Zhang QQ,et al.Rescue of cAMP response element-binding protein signaling reversed spatial memory retention impairments induced by sub anesthetic dose of propofol[J].CNS Neurosci Ther,2013,19(7):484-493.
- [15] Vecsey CG,Baillie GS,Jaganath D,et al.Sleep deprivation impairs cAMP signaling in the hippocampus[J].Nature,2009,461(7267):1122-1125.
- [16] Titus DJ,Sakurai A,Kang Y,et al.Phosphodiesterase inhibition rescues chronic cognitive deficits induced by traumatic brain injury[J].J Neurosci,2013,33(12):5216-5226.
- [17] Zhang C,Cheng Y,Wang H,et al.RNA interference-mediated knockdown of long-form phosphodiesterase-4D(PDE4D) enzyme reverses amyloid- β 42-induced memory deficits in mice[J].J Alzheimers Dis,2014,38(2):269-280.

(责任编辑:冉明会)