

低压低氧后处理对创伤性脑损伤大鼠神经功能预后的影响

陶磊 毛燕 张国荣

摘要 目的 探讨低压低氧后处理(HHP)对创伤性脑损伤(TBI)大鼠神经功能预后的影响。方法 48只Wistar大鼠随机分为假手术组(sham组, $n=12$)、单纯颅脑创伤组(fpi组, $n=18$)和HHP组($n=18$)。fpi组和HHP组采用液压冲击损伤(FPI)的方法建立TBI模型,HHP组于建模后3h进行为期3d,每天2h的HHP干预。通过Morris水迷宫(MWM)、转棒和旷场实验检测大鼠学习记忆、运动协调能力和焦虑抑郁样行为;利用尼氏染色法检测海马神经元的存活情况。结果 MWM实验中fpi组大鼠学习记忆能力低于sham组和HHP组($F=4.2576, P<0.05$),HHP组和sham组差异无统计学意义($P>0.05$);转棒实验中,HHP组大鼠运动协调能力低于sham组($F=4.335, P<0.05$),fpi组和sham组差异无统计学意义($P>0.05$);旷场实验中fpi组大鼠表现出典型的焦虑抑郁样行为,HHP组和sham组大鼠表现差异无统计学意义($P>0.05$);海马尼氏染色结果显示3组大鼠建模后3d伤侧海马CA1和CA3区存活神经元数量差异无统计学意义($P>0.05$);fpi组建模后24d伤侧海马CA1和CA3区存活神经元数量较sham组和HHP组减少($F=46.758, 5.486, P<0.05$)。结论 TBI可造成大鼠学习记忆损害和焦虑抑郁,并导致海马神经元死亡。首次发现HHP对TBI大鼠的神经功能预后具有双重作用,虽能消除TBI后的学习记忆损害和焦虑抑郁样行为,降低海马神经元死亡,但同时也会损害大鼠的运动协调能力。

关键词 低压低氧;缺氧后处理;脑损伤;记忆;行为学;海马
中图分类号 R 493; R 594.3; R 651.15

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)07-0872-07

创伤性脑损伤(trumatic brain injury, TBI)是死亡率和致残率最高的疾病之一,随着临床医疗水平的日益提高,TBI的抢救与治疗有了很大的进展,死亡率明显下降,但TBI所造成的各种感觉、运动、学习记忆等功能障碍不仅给患者带来巨大的身心痛苦,也给社会和家庭带来沉重的经济和精神负担。大量研究^[1-3]表明低压低氧预处理不仅能够降低缺血再灌注和严重低氧(severe hypoxia, SH)损伤,还具有抗抑郁和焦虑的作用。与低压低氧预处理相

比,低压低氧后处理(hypobaric hypoxia postconditioning, HHP)可在脑损伤发生后实施,具有潜在的临床应用前景。该研究通过建立大鼠液压脑损伤(fluid percussion injury, FPI)模型,观察HHP是否可以改善TBI脑损伤大鼠神经功能预后。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 清洁级2月龄成年雄性Wistar大鼠48只,250~300g,购自解放军304医院实验动物中心。实验大鼠在实验动物中心对新环境适应1周,在此期间实验员每天对其进行抓取和抚摸,使大鼠适应实验研究的操作。大鼠自由进食饮水,光照节律12h明暗交替(6:00~18:00),室温(22 ± 1)℃,相对湿度50%~60%,室内保持安静。

1.1.2 主要仪器和试剂 HPD-4700型液压撞击仪及TDS1002数字存储示波器(美国DRAGONFLY研究与发展公司);DWDYC2013-1动物低压舱(空军航空医学研究所);DMS-2型Morris水迷宫(Morris water maze, MWM)和大小鼠转棒仪(DXP-3)(中国医学科学院药物研究所);旷场装置;BX51荧光显微镜(日本奥林巴斯株式会社)。水合氯醛(上海展云化工有限公司,批号:1209017);尼氏染色液(北京雪邦科技有限公司,批号: SJ00035);注射用青霉素钠(哈药集团制药总厂,批号: A120202916);氰基丙烯酸盐粘合剂[WEICON VA 2500 HT(德国威肯公司),批号: 12550030];自凝型牙托粉(批号: 130120)和自凝型牙托水(批号: 121128)均购于上海二医。

1.2 方法

1.2.1 动物分组和大鼠液压打击模型制备 大鼠适应1周后,随机分为3组:单纯TBI组(fpi组)、TBI低压低氧后处理组(HHP组)和假手术组(sham组)。fpi组和HHP组,每组各18只,sham组12只。大鼠采用液压冲击硬脑膜的方式建立TBI模型。10%水合氯醛0.3g/kg经腹腔内注射麻醉,头皮正中切口,暴露冠状缝与人字缝之间的颅骨。用牙科钻于右侧冠状缝旁1.5mm,矢状线旁2.5mm处,开一直径为4mm的圆形骨窗,保持硬膜完整,用氰

2014-03-20 接收

基金项目:全军“十二五”课题(编号:CKJ11J020)

作者单位:安徽医科大学空军临床学院,北京 100142

作者简介:陶磊,男,硕士研究生;

张国荣,男,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: gr.99@live.cn

基丙烯酸盐粘合剂将塑料连接帽粘合于钻孔处,连接帽周围再灌注由牙托粉和牙托水配制好的义齿基托树脂以加强固定。连接好液压损伤仪打击管和连接帽,给予致伤峰值压力为 1.5 ~ 2.0 atm 打击,制作中度脑损伤模型。打击后迅速去除打击装置和义齿基托树脂,用骨蜡封闭骨窗并缝合切口,待麻醉复苏后放置笼中饲养。青霉素 8×10^4 IU 腹腔注射,连续 3 d,每天 1 次。sham 组只开骨窗,不行液压打击,手术操作过程与前两组完全相同。

1.2.2 HHP 实验 HHP 组大鼠于造模后 3 h 行 HHP,将大鼠放置于低压低氧舱内,自由进食和饮水,以 300 m/min 的速度匀速减压至 360 Torr,稳压 2 h,再以 300 m/min 的速度增压至室内压力,每天 1 次,连续 3 d。fpi 组和 sham 组大鼠除了不接受低压低氧处理外,其他处理均与 HHP 组相同。

1.2.3 行为学实验

1.2.3.1 MWM 实验 水迷宫为直径 150 cm,高 50 cm 的黑色圆形水池,水深 29 cm,水温保持 $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$,水中倒入墨汁以减少大鼠视觉对记忆实验的影响。水池有 N、S、W、E、NE、NW、SW、SE 8 个入水点,其中 N、S、W、E 将水池等分为四个象限,分别称为西北象限(NW)、东北象限(NE)、西南象限(SW)及东南(SE)象限。标准水迷宫(standard Morris water maze sMWM)实验中,在 NE 象限正中处放一直径为 10 cm、高 28 cm 的黑色圆形平台;反转水迷宫(reversal Morris water maze rMWM)实验中平台放置在 SW 象限正中,与 sMWM 中平台呈 180° 。sMWM 和 rMWM 实验的入水点分别为 W、S、NW、SE 和 N、E、NW、SE,见图 1。仪器配套有摄像头和采集分析软件,同步记录大鼠运动轨迹。实验期间迷宫外参照物保持不变。各组大鼠均于造模后 14 ~ 23 d 进行 MWM 实验,依次进行 sMWM 和 rMWM 实验,rMWM 的平台位置与 sMWM 呈 180° 。两次实验均由定位航行实验和空间探索实验构成。① 定位航行实验:共 4 d,每天 4 次,每天固定时间段进行试验。每次实验 4 个入水点不同,每只大鼠随机选择入水点顺序入水,入水时将大鼠面向池壁轻柔放入水中,计算机采集分析记录大鼠寻找并爬上平台所需的时间即逃离潜伏期和游泳速度。每次实验的时间限制为 120 s,在 120 s 内大鼠找到平台或超过 120 s 未找到平台,都将其放在平台上休息 15 s,然后进行下一次实验。如果大鼠在 120 s 内未找到平台,潜伏期则记为 120 s。② 空间探索实验:在定位航行实验结束后 24 h 进行,撤去平台,两次实验分别选择

NE 或 SW 为入水点,记录大鼠在 120 s 内停留在各象限的时间百分比(%)和游泳速度。

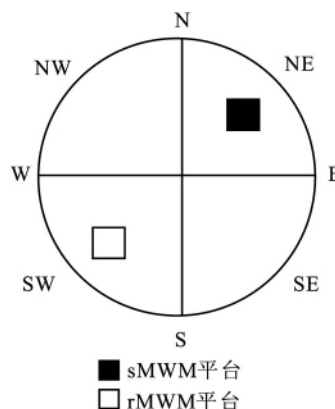


图 1 水迷宫示意图

1.2.3.2 转棒实验 转棒实验分为训练实验和正式实验两部分。训练实验在造模前 3 d 进行,共 3 d,每天训练 3 次,每次训练时将大鼠放置于转速为 3 r/min 的转棒上,直至大鼠能够在转棒上坚持 60 s 不掉落为训练完成。正式实验在造模后 1、3、7、14 d 安静环境下进行,将大鼠轻柔放置于转棒上并开始计时,初始转速为 3 r/min,30 s 后将转速增加至 6 r/min,此后每 10 s 增加 3 转转速,最大转速为 30 r/min,最长时间为 140 s。每只大鼠测试 3 次,每次记录其在转棒上停留时间(超过 140 s,记为 140 s),取 3 次平均值为当日成绩。

1.2.3.3 旷场实验 实验装置为 100 cm × 100 cm × 45 cm 内壁涂黑的无盖方箱,底面在计算机软件中被平均分为 25 个小方格,正上方 2 m 处架一摄像机,镜头对准箱底。实验在造模后 21 d 于安静环境下进行,抓住大鼠尾根部 1/3 处,轻轻放入旷场实验箱中央,同时采用荷兰 Noldus 公司动物运动轨迹采集分析系统(EthoVision XT)记录分析大鼠在 5 min 内的动作行为表现。观察指标:① 水平穿越格数;② 直立次数:两前肢离地 1 cm 以上的次数;③ 修饰次数:理毛、抓痒、洗脸、舔足的次数;④ 大便颗粒数。每只大鼠测试完成后,用 75% 酒精清洗方箱内壁及底面,以免上次大鼠余留的信息影响下次测试结果。每只动物只测 1 次,实验采用单盲法。

1.3 海马尼氏染色 动物标本取材:两批大鼠分别于造模后 3 d 和 24 d,腹腔水合氯醛注射麻醉后,用 200 ml 4% 多聚甲醛经左心室行心脏灌注后断头取脑,分离出脑组织常规石蜡包埋切片后备用。尼氏染色:切片脱蜡,梯度乙醇溶液脱水后入蒸馏水。焦

油紫染液染色 30 min(37 °C 温箱中染色 10 min) 后, 以蒸馏水洗涤, 用 95% 乙醇溶液分色, 镜检尼氏体呈紫色, 细胞核呈淡紫色, 胶质细胞呈淡紫色。无水酒精脱水, 二甲苯透明后封片, 置于光镜下观察。在光学显微镜下观察海马神经元, 以锥体神经元染色界限清晰为标准, 计数海马 CA1 区和 CA3 区存活神经元的数目(×400), 每只大鼠计数 3 张不连续切片, 每张切片计数 6 700 μm² 范围内存活神经元的数目, 取平均值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。数据以均数 ± 标准误 (mean ± SEM) 表示。水迷宫和转棒实验资料采用重复测量方差分析, 其余资料采用单因素方差分析或 Kruskal-Wallis 非参数检验 (不满足方差分析条件时), 组间两两比较采用 LSD 检验 (方差齐性时) 或 Dunnett's T3 检验 (方差不齐时) 及 Kruskal-Wallis 单因素 ANOVA (k 样本) (不满足方差分析条件时)。

2 结果

2.1 MWM 实验

2.1.1 sMWM 定位航行实验 对逃离潜伏期进行重复测量方差分析, 结果显示: 逃离潜伏期在不同时间点和不同实验组之间的差异均有统计学意义 ($F = 47.706, 7.476, P < 0.01$), 不同实验组和时间点之间无交互作用 ($F = 1.119, P > 0.05$); 多重比较显示, HHP 组和 sham 组之间平均逃离潜伏期的差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但均短于 fpi 组 ($P < 0.05$); 调用多因素方差分析比较不同时间点上各组间逃离潜伏期的差异, 见图 2。

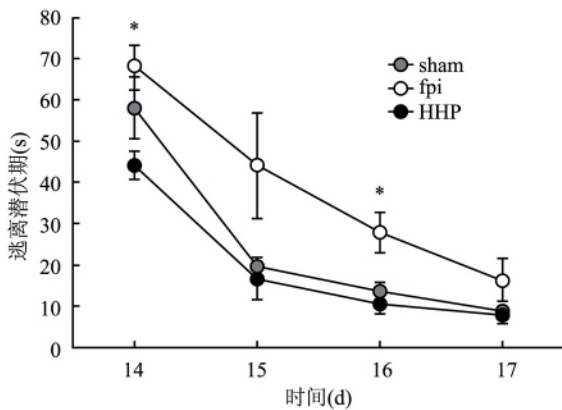


图2 sMWM 定位航行实验各组大鼠不同时间点的逃离潜伏期变化 sham (n=5) fpi (n=8) HHP (n=8); 与 HHP 组比较: * P < 0.05

对游泳速度进行重复测量方差分析, 结果显示:

游泳速度在不同时间点和不同实验组之间的差异均有统计学意义 ($F = 7.722, 10.465, P < 0.01$), 不同实验组和时间点之间有交互作用 ($F = 2.5, P < 0.05$); 多重比较显示, sham 组和 fpi 组之间平均游泳速度的差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但均慢于 HHP 组 ($P < 0.05$); 用多因素方差分析比较不同时间点上各组间游泳速度的差异, 结果见图 3。

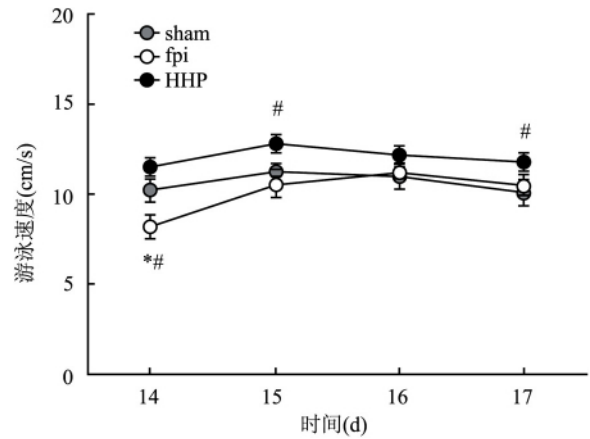


图3 sMWM 定位航行实验各组大鼠不同时间点的游泳速度变化 sham (n=5) fpi (n=8) HHP (n=8); 与 HHP 组比较: * P < 0.05; 与 sham 组比较: # P < 0.05

2.1.2 sMWM 空间探索实验 组内比较, 3 组大鼠在平台象限 (NE 象限) 的时间百分比均高于其他三个象限 ($P < 0.05$)。组间比较, 与 fpi 组比较, sham 组和 HHP 组大鼠在 NE 象限的时间百分比均提高 ($F = 4.257, P < 0.05$), 而 HHP 组和 sham 组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 4。3 组大鼠的游泳速度差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 5。

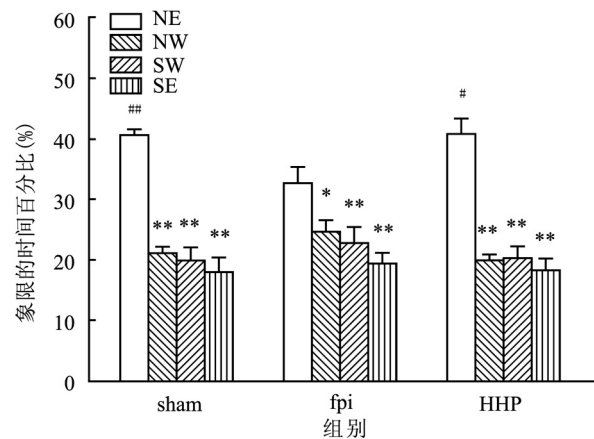


图4 sMWM 空间探索实验各组大鼠在不同象限的时间百分比 sham (n=5) fpi (n=8) HHP (n=8); 与 NE 象限比较: * P < 0.05, ** P < 0.01; 与 HHP 组比较: # P < 0.05; 与 sham 组比较: ## P < 0.01

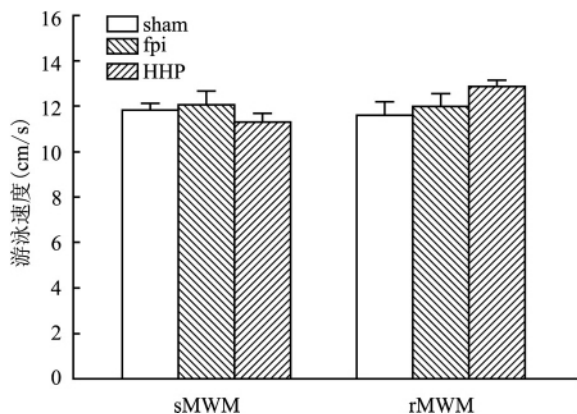


图5 sMWM 和 rMWM 空间探索实验各组大鼠的游泳速度 sham (n=5) fpi (n=8) ,HHP (n=8)

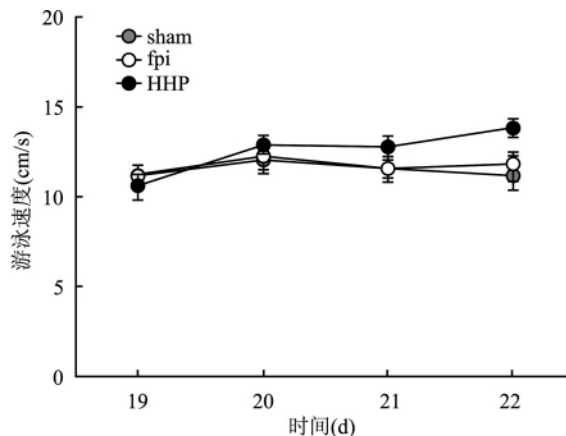


图7 rMWM 定位航行实验各组大鼠不同时间点的游泳速度变化 sham (n=5) fpi (n=8) ,HHP (n=8)

2.1.3 sMWM 定位航行实验 对逃离潜伏期进行重复测量方差分析 结果显示:逃离潜伏期在不同时间点之间的差异有统计学意义 ($F = 21.766, P < 0.01$) ,但不同实验组间差异无统计学意义 ($F = 1.26, P > 0.05$) ,不同实验组和时间点之间无交互作用 ($F = 1.096, P > 0.05$) ,见图6。

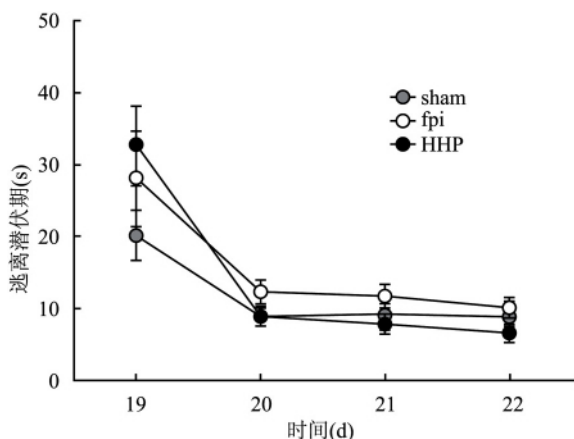


图6 rMWM 定位航行实验各组大鼠不同时间点的逃离潜伏期变化 sham (n=5) fpi (n=8) ,HHP (n=8)

对游泳速度进行重复测量方差分析 结果显示:游泳速度在不同时间点之间的差异有统计学意义 ($F = 5.737, P < 0.01$) ,但不同实验组之间差异无统计学意义 ($F = 1.82, P > 0.05$) ,不同实验组和时间点之间有交互作用 ($F = 2.721, P < 0.05$) ,见图7。

2.1.4 rMWM 空间探索实验 组内比较,仅 HHP 组大鼠,在平台象限 (SW 象限) 的时间百分比均高于其他三个象限 ($P < 0.05$) 。组间比较,3 组大鼠在 SW 象限的时间百分比差异无统计学意义 ($P > 0.05$) ,见图8。3 组大鼠的游泳速度差异无统计学意义 ($P > 0.05$) ,见图5。

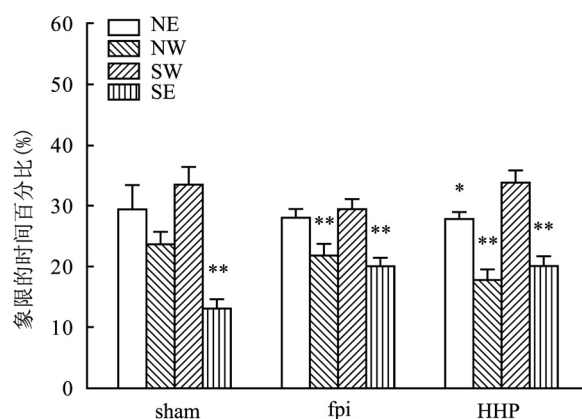


图8 rMWM 空间探索实验各组大鼠在不同象限的时间百分比 sham (n=5) fpi (n=8) ,HHP (n=8) ;与 SW 象限比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.2 旷场实验 fpi 组大鼠与 sham 组和 HHP 组比较,水平穿越格数和直立次数均减少 ($F = 11.379, 12.249, P < 0.01$) ;修饰次数 3 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$) ;大便颗粒数 fpi 组高于 sham 组和 HHP 组,但仅与 HHP 组的差异有统计学意义 ($P < 0.05$) ,见图9。

2.3 转棒实验 对转棒上停留时间进行重复测量方差分析 结果显示:转棒上停留时间在不同时间点和不同实验组之间的差异均有统计学意义 ($F = 6.866, 4.335, P < 0.05$) 不同实验组和时间点之间有交互作用 ($F = 5.838, P < 0.01$) ;多重比较显示, sham 组转棒上停留时间长于 HHP 组 ($P < 0.05$) ,其余组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$) ;用多因素方差分析比较不同时间点上各组间转棒上停留时间的差异 结果见图10。

2.4 海马神经元存活情况 尼氏染色结果显示各组大鼠造模后 3 d,海马 CA1 和 CA3 区组织结构正

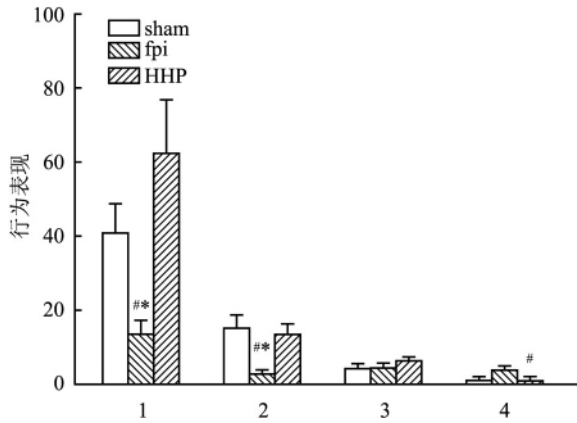


图9 旷场实验各组大鼠的行为表现

1: 水平穿越格数; 2: 直立次数; 3: 修饰次数; 4: 大便颗粒数

sham (n=5), fpi (n=8), HHP (n=8); 与 sham 组比较: * P < 0.05; 与 HHP 组比较: # P < 0.05

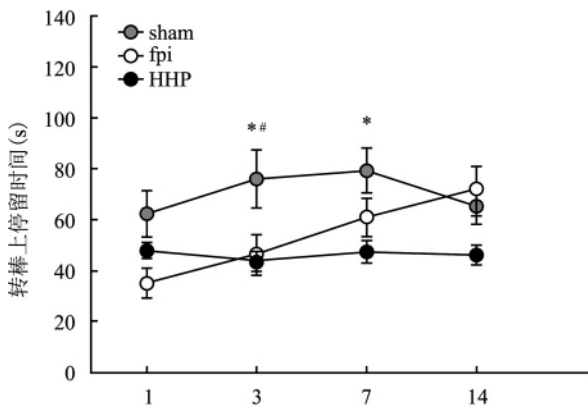


图10 转棒实验各组大鼠不同时间点转棒上停留时间的变化

sham (n=5), fpi (n=8), HHP (n=8); 与 HHP 组比较: * P < 0.05; 与 fpi 组比较: # P < 0.05

常,基本无病理变化,海马锥体细胞排列整齐且紧密,胞质染色清晰,尼氏体丰富。sham 组大鼠造模后 24 d 海马 CA1 和 CA3 区基本无变化。fpi 组大鼠造模后 24 d 海马 CA1 和 CA3 区出现神经细胞变性坏死,海马锥体细胞数目减少,结构模糊,胞体肿胀,排列散乱并且胞质内尼氏体大量丢失。HHP 组大鼠同 fpi 组相比,造模后 24 d 海马区病变减轻,锥体细胞排列较整齐较紧密,胞质内尼氏体较丰富,较清晰,见图 11。

在造模后 3 d 和 24 d,对各组伤侧海马 CA1 和 CA3 区进行存活神经元计数。结果表明造模后 3 d,各组伤侧海马 CA1 区和 CA3 区神经元存活数量差异无统计学意义(P > 0.05)。造模后 24 d, fpi 组伤侧海马 CA1 区存活神经元数量低于 sham 组和 HHP 组(F = 46.758, P < 0.05), HHP 组低于 sham 组(P < 0.05); fpi 组伤侧海马 CA3 区存活神经元数量低于 sham 组和 HHP 组(F = 5.486, P < 0.05), sham 组和 HHP 组差异无统计学意义(P > 0.05)。组内前后时间点比较,结果显示 24 d 较 3 d 相比, fpi 组伤侧海马 CA1 区和 CA3 区存活神经元数量均减少(P < 0.05); HHP 组伤侧海马 CA1 区存活神经元减少(P < 0.05),见图 12、13。

3 讨论

初始 TBI 后幸存患者,病死率或病残率在很大程度上取决于继发性脑损伤进展程度^[4],海马是 TBI 的选择性易损区,在空间信息的获得、检索、巩

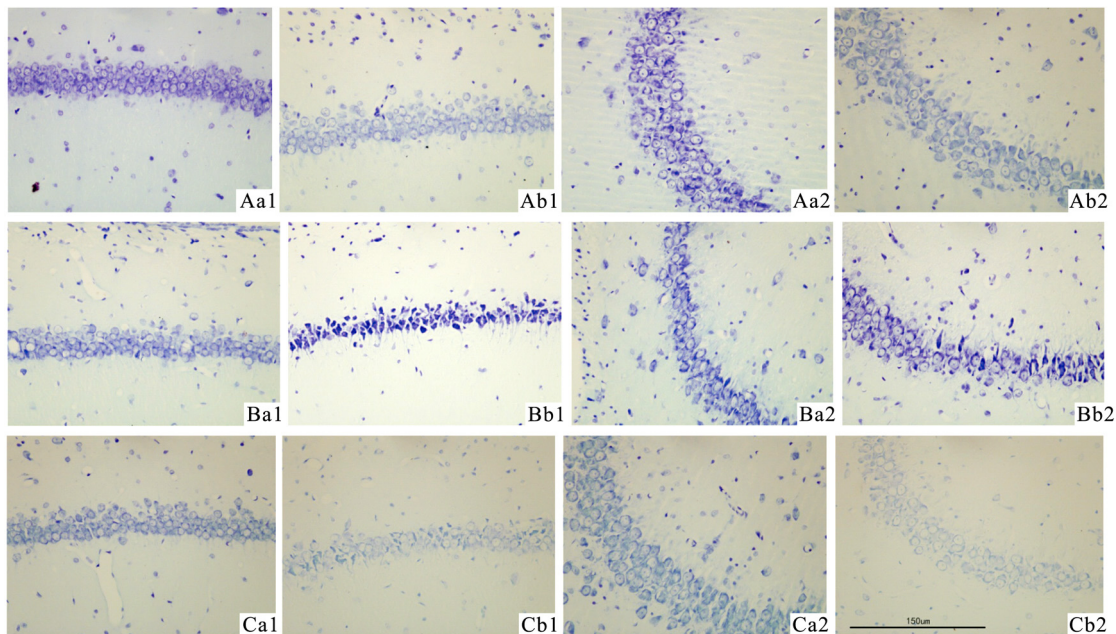


图11 各组大鼠 3 d 和 24 d 海马 CA1 和 CA3 区尼氏染色结果 ×400

A: sham 组; B: fpi 组; C: HHP 组; 1: CA1 区; 2: CA3 区; a: 术后第 3 天; b: 术后第 24 天

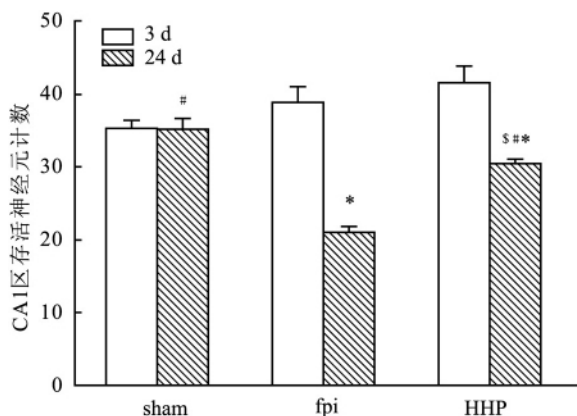


图 12 3 d 和 24 d 各组大鼠伤侧海马 CA1 区存活神经元计数 (mean \pm SEM $n = 3$)

与组内 3 d 比较: * $P < 0.05$; 与 fpi 组 24 d 比较: # $P < 0.05$; 与 sham 组 24 d 比较: \$\$\$ $P < 0.05$

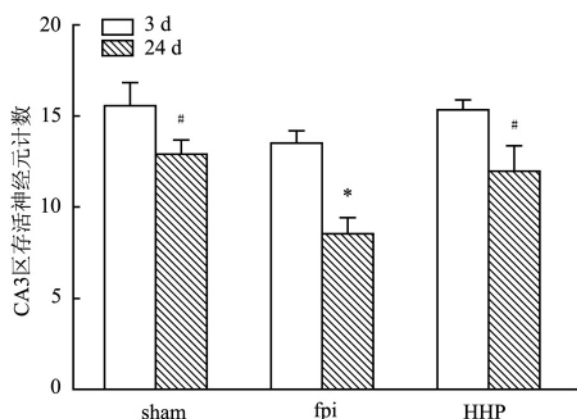


图 13 3 d 和 24 d 各组大鼠伤侧海马 CA3 区存活神经元计数 (mean \pm SEM $n = 3$)

与组内 3 d 比较: * $P < 0.05$; 与 fpi 组 24 d 比较: # $P < 0.05$

固和存储过程中发挥重要作用, TBI 后的海马区神经细胞延迟性死亡将长期影响学习记忆功能^[5]。

低压低氧预处理是将人或动物通过间断或连续地暴露于低压低氧环境, 模拟高原适应, 使机体产生一种对外界伤害刺激的内源性耐受机制^[6]。Zhao et al^[7] 发现了缺血后处理 (ischemic postconditioning, IPO) 现象, 并用实验证实缺血后处理对再灌注后心肌具有与缺血预处理类似的保护效果。同样, 近期研究^[8-9] 表明 HHP 也能够降低 SH 脑损伤, 改善创伤后应激障碍。HHP 可在脑损伤发生后实施, 可操作性强, 更具有临床应用价值。

本研究中, 转棒实验结果表明 TBI 本身并不损害大鼠的运动协调能力, 但 HHP 却损害了 TBI 后大鼠的运动协调能力。旷场实验中 fpi 组大鼠水平穿越格数和直立次数均低于 sham 组和 HHP 组, 大便颗粒数也多于 sham 组(差异无统计学意义) 和 HHP

组, 提示 fpi 组大鼠活动性减少、探索欲望降低、紧张情绪增加, 表现出典型的焦虑抑郁样行为, 而 HHP 可改善 TBI 后大鼠的焦虑抑郁样行为。

MWM 实验由 sMWM 实验和 rMWM 实验构成, rMWM 评估的是抑制性学习能力, 较 sMWM 检测学习记忆缺陷的敏感性更高^[10]。结果显示在 sMWM 定位航行实验中, HHP 组和 sham 组大鼠的平均逃离潜伏期均短于 fpi 组, 但 HHP 组大鼠的游泳速度快于 sham 组和 fpi 组, 因此无法判断 HHP 组大鼠成绩提高的原因是运动能力提高还是学习记忆能力改善; 空间探索实验中, HHP 组和 sham 组大鼠在平台象限时间所占比均高于 fpi 组, 而且平台象限的时间百分比高于其他三个象限更明显, 说明 fpi 组大鼠的学习记忆能力明显损害, 而 HHP 能改善 TBI 后大鼠的学习记忆障碍。rMWM 定位航行实验中, 3 组大鼠平均逃离潜伏期和游泳速度差异无统计学意义, 空间探索实验中组间比较 3 组大鼠平台象限的时间百分比和游泳速度差异均无统计学意义, 组内比较仅 HHP 组大鼠平台象限的时间百分比均高于其他三个象限, 进一步说明 HHP 改善了 TBI 后大鼠的学习记忆障碍。

海马尼氏染色存活神经元计数发现, TBI 可造成大鼠伤侧海马 CA1 和 CA3 区神经元延迟性死亡, 而 HHP 能够降低伤侧海马 CA1 和 CA3 区神经元死亡, 并且对 CA3 区的保护作用优于 CA1 区, 原因可能与海马 CA1 和 CA3 区对缺氧的敏感性不同有关^[11]。

综上所述, TBI 可造成大鼠学习记忆功能障碍和焦虑抑郁并导致海马神经元延迟性死亡, HHP 对 TBI 后大鼠的神经功能预后具有双重作用, 虽能改善 TBI 后大鼠的学习记忆障碍和焦虑抑郁样行为, 降低海马神经元死亡, 但也会损害大鼠的运动协调能力。HHP 是给予低压低氧刺激, 其诱导应激过程终究是一种损伤^[12], 且其效应与低氧的程度、持续时间、方式^[13-14] 及种属特异性有关。未来, 希望能阐明低压低氧的作用机制, 建立一种既不损伤组织又能产生保护效应的低压低氧处理方法来改善或提高机体功能, 预防和治疗疾病。

(致谢: 实验工作得到北京朝阳医院高压氧科高春锦主任、杨晶副主任的热心指导和帮助, 特此致谢!)

参考文献

[1] Rybnikova E, Mironova V, Pivina S, et al. Antidepressant-like

- effects of mild hypoxia preconditioning in the learned helplessness model in rats[J]. *Neurosci Lett* 2007 3(417): 234-9.
- [2] Guo H C, Zhang Z, Zhang L N, et al. Chronic intermittent hypobaric hypoxia protects the heart against ischemia reperfusion injury through upregulation of antioxidant enzymes in adult guinea pigs[J]. *Acta Pharmacol Sin* 2009 7(30): 947-55.
- [3] Rybnikova E, Gluschenko T, Galeeva A, et al. Differential expression of ADAM15 and ADAM17 metalloproteases in the rat brain after severe hypobaric hypoxia and hypoxic preconditioning[J]. *Neurosci Res* 2012 4(72): 364-73.
- [4] Sande A, West C. Traumatic brain injury: a review of pathophysiology and management[J]. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*, 2010 20(2): 177-90.
- [5] Hong J, Cui J, Zhou Y, et al. Study on cognition disorder and morphologic change of neurons in hippocampus area following traumatic brain injury in rats[J]. *Chin J Traumatol* 2002 5(1): 36-9.
- [6] 陶磊, 张国荣. 低压低氧预处理保护机制的研究进展[J]. *国际麻醉学与复苏杂志* 2013 34(11): 1020-3.
- [7] Zhao Z Q, Corvera J S, Halkos M E, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003 285(2): H579-88.
- [8] Rybnikova E, Vorobyev M, Pivina S, et al. Postconditioning by mild hypoxic exposures reduces rat brain injury caused by severe hypoxia[J]. *Neurosci Lett* 2012 513(1): 100-5.
- [9] Rybnikova E A, Vorob'ev M G, Samoïlov M O. Hypoxic postconditioning corrects behavioral abnormalities in a model of post-traumatic stress disorder in rats[J]. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova* 2012 62(3): 364-71.
- [10] Zhao Z, Loane D J, Murray M G 2nd, et al. Comparing the predictive value of multiple cognitive affective and motor tasks after rodent traumatic brain injury[J]. *J Neurotrauma* 2012 29(15): 2475-89.
- [11] Kihara S, Shiraiishi T, Nakagawa S, et al. Visualization of DNA double strand breaks in the gerbil hippocampal CA1 following transient ischemia[J]. *Neurosci Lett* 1994 175(1-2): 133-6.
- [12] 陈健, 吴世政, 张淑坤. ASP1、VEGF在不同海拔地区大鼠脑组织中的表达及其与脑储备能力的关系[J]. *实用预防医学* 2011 4(18): 720-3.
- [13] 张浩, 杨长瑛, 王莹萍, 等. 间歇性低压低氧方式对发育大鼠心脏缺血-再灌注损伤的影响[J]. *生理学报* 2007 5(59): 660-6.
- [14] 袁芳, 郭赞, 徐瑛, 等. 间歇性低压低氧与连续性低压低氧对大鼠血液动力学作用的比较[J]. *生理学报* 2008 6(60): 687-94.

Effect of hypobaric hypoxia postconditioning on neurological function prognosis in traumatic brain injury rats

Tao Lei, Mao Yan, Zhang Guorong

(Air Force Clinical College of Anhui Medical University, Beijing 100142)

Abstract Objective To investigate the effect of hypobaric hypoxia postconditioning (HHP) on neurological function prognosis in traumatic brain injury (TBI) rats. **Methods** 48 adult male Wistar rats were randomly divided into sham group ($n = 12$), fpi group ($n = 18$) and HHP group ($n = 18$). The rat model of TBI was made by the method of fluid percussion injury (FPI) and rats in HHP group were submitted to HHP (360 Torr 2 h 3 trails spaced at 24 h) starting 3 h after FPI. The learning and memory ability, motor coordination, anxiety and depression-like behaviors and surviving neurons of ipsilateral hippocampus were evaluated by Morris water maze (MWM), rotarod test, open-field test and hippocampus nissl stain respectively. **Results** Morris water maze: compared with sham and HHP group, learning and memory ability of rats in fpi group were significantly decreased ($F = 4.2576, P < 0.05$), whereas no difference was observed between sham and HHP group ($P > 0.05$); Rotarod test: compared with sham group, motor coordination of rats in HHP group were significantly decreased ($F = 4.335, P < 0.05$), whereas no difference was observed between sham and fpi group ($P > 0.05$); Open-field test: compared with sham group, rats of fpi group showed significant anxiety and depression-like behavioral changes, whereas no difference was observed between sham and HHP group; Nissl stain: No difference of surviving neurons of ipsilateral hippocampus CA1 and CA3 region was observed among three groups at 3 d after FPI ($P > 0.05$). There were significantly fewer surviving neurons of ipsilateral hippocampus CA1 and CA3 region in fpi group than sham and HHP group at 24 d after FPI ($F = 46.7585, 486, P < 0.05$). **Conclusion** TBI induces learning and memory impairment, anxiety and depression-like behaviors and neurons death in hippocampus. HHP was first discovered having double effects on neurological function prognosis in TBI rats. On the one hand, HHP can remove the impairment of learning and memory, anxiety and depression-like behaviors and neurons death in hippocampus; on the other hand, HHP impairs motor coordination at the same time.

Key words hypobaric hypoxia; hypoxia postconditioning; brain injury; memory; behavior; hippocampus