

氨基胍改善创伤性脑损伤大鼠对急性低压低氧的耐受性

毛 燕 陶 磊 张国荣

摘要 目的 观察氨基胍(AG)对创伤性脑损伤(TBI)大鼠在急性低压低氧(AHH)处理后的行为学变化并探讨其机制。方法 雄性 Wistar 大鼠 49 只,分两部分进行实验,每个部分随机分为对照组、单纯颅脑损伤(FPI)组、AHH 组和 AG 预处理组。采用液压打击法制作大鼠 TBI 模型,模拟海拔 5 000 m 持续 8 h 低压低氧处理。采用转棒和 Morris 水迷宫进行行为学观察,采用 RT-PCR 法检测 Bcl-2 及 Bax 的基因表达,生化法测血浆一氧化氮(NO)及抗氧化酶类水平,染色法检测脑细胞死亡情况。结果 与对照组相比,FPI 组及 AHH 组转棒成绩及水迷宫潜伏期时间差异有统计学意义($P < 0.05$),表明其空间记忆和运动能力受损,而行为学检测结果提示 AG 预处理组大鼠空间记忆和运动能力有一定改善,差异有统计学意义($P < 0.05$);第二部分实验结果显示与对照组相比,AHH 组 NO 水平显著上升,过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)及谷胱甘肽(GSH)等抗氧化物下降($P < 0.05$),Bcl-2 基因表达下降,Bax 基因表达提高($P < 0.05$);而 AG 预处理组可逆转 AHH 造成的损伤效果。结论

AHH 加重 TBI 大鼠学习记忆及运动能力的损害,AG 对此有明显抑制作用,其机制在于对诱导型一氧化氮合酶活性的抑制,并与上调 Bcl-2 基因的表达,调节抗氧化能力,抑制脑细胞凋亡有关。

关键词 低压低氧;创伤性脑损伤;氨基胍;一氧化氮;细胞凋亡

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)11-1604-06

2014-07-14 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:毛 燕,女,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

创伤性脑损伤(trumatic brain injury,TBI)是死亡和致残的主要原因之一,如何快速有效的进行救治及空运后送是现代医学发展的要求^[1]。大脑是对缺氧最敏感的器官,在空运后送过程中的高海拔环境下,大脑得不到充足的氧气供应必然造成脑组织的损伤,并对包括认知能力、学习与记忆能力以及运动协调等大脑功能产生影响^[2]。有资料^[3-5]显示该作用与 NO 爆发性增加,加重脑组织氧化应激反应,促进神经元凋亡有关。人体内的 NO 主要由 L-精氨酸在一氧化氮合酶(nitric oxide synthase,NOS)作用下生成,NOS 有 3 个不同的类型,其中诱生型 NOS(inducible nitric oxide synthase,iNOS)在缺血缺氧的后期(24 h)催化大量 NO 的生成,过量的 NO 与超氧离子反应产生毒性更大的过氧化离子,引起脂质过氧化,破坏线粒体结构,其机制与调节 Bax 和 Bcl-2 基因表达,诱导 caspase-3 途径凋亡有关^[6]。该研究采用选择性 iNOS 抑制剂氨基胍(aminoguanidine,AG)进行干预,从行为学、组织学、生化及基因表达等方面探讨低压低氧环境对 TBI 大鼠的影响。

1 材料与方法

1.1 实验试剂和仪器 水合氯醛(上海展云化工有限公司);AG(美国 Sigma 公司);氰基丙烯酸盐粘合剂(WEICON VA 2500 HT,批号:12550030);自凝型牙托粉(上海二医,批号:130120)和自凝型牙托水(上海二医,批号:121128)。HPD-1700 型液压撞击仪及 TDS1002 数字存储示波器(美国 DRAGON-FLY 研究与发展公司);DWDYC2013-1 动物低压低

group L and group M($P < 0.05$). After the rats exposed to PFIB, the values of PH and partial pressure of oxygen were decreasing, and the values of carbon dioxide partial pressure were improving. With the treatment of aprotinin, all the values could improve towards a good situation. Histopathology of lung tissue showed that aprotinin could significantly improve lung tissue damage, with high doses of the most. Lung tissue histopathology showed aprotinin could significantly reduce lung tissue damage and high-dose aprotinin was most effective. **Conclusion** Aprotinin, the protease inhibitor, could relieve inflammation in the lungs of rats with ALI induced by PFIB though blocking the excess release of cytokines and inflammatory mediators.

Key words aprotinin; perfluoroisobutylene; acute lung injury

氧舱(空军航空医学研究所);DMS-2 型 Morris 水迷宫和 DXP-3 型大小鼠转棒仪(中国医学科学院药物研究所);BX51 荧光显微镜(日本奥林巴斯公司);7160 全自动生化仪(日本日立公司);STAT FAX 2100 全自动酶标仪(Awareness Technology Inc,美国);UV-2201 紫外分光光度计(日本岛津公司);高速台式冷冻离心机(德国 Heraeus 公司);定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司);TRIzol 试剂(Invitrogen 公司,英国);逆转录试剂盒、PCR 试剂盒(天根生物公司)。根据 GenBank HSP70 基因序列信息,由上海生工生物工程技术有限公司运用 Primer Premier5.0 设计并合成,见表 1。

表 1 RT-PCR 引物序列

基因	引物序列	片段大小 (bp)
Bcl-2	Forward:5'-ATG TGT GTG GAG AGC GTC AAC C-3'	174
	Reverse:5'-CCA GGA GAA ATC AAA CAG AGG C-3'	
Bax	Forward:5'-GCG ATG AAC TCG ACA ACA T-3'	153
	Reverse:5'-TAG CAA AGT AGA AAA GGG CAA CC-3'	
β -actin	Forward:5'-CAC CCG CGA GTA CAA CCT TC-3'	207
	Reverse:5'-CCC ATA CCC ACC ATC ACA CC-3'	

1.2 实验动物与分组 清洁级 2 月龄雄性 Wistar 大鼠共计 49 只,250 ~ 300 g,由解放军总医院第一附属医院动物中心提供,实验分为两个独立部分分别进行,行为学实验部分为 29 只大鼠,随机分为 4 组:对照组($n=5$)、单纯颅脑损伤(fluid percussion injury, FPI)组($n=8$)、急性低压低氧(acute hypobaric hypoxia, AHH)处理组($n=8$)、AG 预处理组($n=8$)。动物经过 1 周的适应性喂养及 3 d 的转棒训练后建立颅脑损伤模型。RT-PCR 实验部分为 20 只大鼠,随机分为 4 组:对照组($n=5$)、FPI 组($n=5$)、AHH 组($n=5$)、AG 预处理组($n=5$)。动物经过 1 周的适应性喂养后建立颅脑损伤模型。

1.3 颅脑损伤模型的建立 采用液压打击法制备大鼠颅脑损伤模型^[7-8]。方法如下:用 10% 水合氯醛腹腔注射(0.3 g/kg)麻醉满意后,将大鼠固定在脑立体定位仪上。取正中中线切开头皮并剥离骨膜,切口长 2 cm,暴露右顶骨,用牙科钻于冠状缝后 1.5 mm,中线右旁 2.5 mm 处钻一直径为 4 mm 的圆形骨窗,保持硬脑膜完整,用氰基丙烯酸酯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。将连接帽与液压颅脑损伤仪连接,以 1.5 ~ 2.0 标准大气压峰值冲击压力,造成中度颅脑损伤,打击后迅速

去除打击装置和义齿基托树脂,骨蜡封闭骨窗,缝合切口。对照组仅切开头皮,开骨窗,不进行液压打击,余同其他 3 组一致。

1.4 AHH 处理 颅脑损伤后将大鼠放入动物低压低氧舱,模拟海拔 5 000 m,压力 53 kPa,氧分压 5.6 kPa,舱内温度 28 ~ 30 °C,湿度 55% ~ 60%,上升和下降到模拟海拔的速度维持在 300 m/min,处理 8 h,对照组及 FPI 组仅将大鼠置于舱内(气压与外界相通)8 h,动物与舱内可自由进食和饮水。AG 预处理组大鼠于进舱前腹腔注射 AG 100 mg/kg。

1.5 行为学实验

1.5.1 转棒实验 所有大鼠在进行 3 d 的转棒训练(将大鼠放置于转速为 3 r/min 的转棒上,直至大鼠能够在 3 r/min 的转棒上坚持 60 s 不掉落为训练完成)后建立颅脑损伤模型,并于术后 1、3、7、14 d 测定转棒成绩。实验在固定时间点于安静环境下进行,将转棒式疲劳仪初始转速调整为 3 r/min,后将大鼠轻放至转棒上,开始计时,30 s 后调整转速至 6 r/min,10 s 后调整为 9 r/min,10 s 后再调整为 12 r/min,以此类推。转棒仪最大转速设定为 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。

1.5.2 Morris 水迷宫实验 水迷宫为一圆形水池(150 cm × 50 cm,水深 30 cm),水池第一象限中央放置一平台,并在水中加入墨汁至不能见到平台为止,用加热器保持水温(25 ± 1) °C。实验历时 5 d,前 4 d 为定位巡航实验,用于测量大鼠对水迷宫学习记忆的获取能力。每天训练 4 次,分别从 4 个不同的入水点将大鼠面向池壁放入水中,如果大鼠在 120 s 内未找到平台(逃避潜伏期记为 120 s),需将其引至平台,大鼠站立于平台 10 s 后,按序由下一象限入水进行下一次试验。观察并记录 4 d 训练期间大鼠每次寻找平台所需的逃避潜伏期。第 5 天为空间探索实验,撤去水下平台,选择第 3 象限池壁中点作为入水点,将大鼠面向池壁放入水中,测定 120 s 内大鼠穿过第一象限的时间。

1.6 组织学检查 水迷宫实验结束后各组随机取大鼠 3 只,10% 水合氯醛麻醉后经左心室插管,依次行预冷生理盐水、4% 多聚甲醛溶液灌注,以鼠尾及四肢僵直发硬表明灌注成功,断头取完整脑组织,常规石蜡包埋、切片,HE 染色,光镜下观察脑组织病理学变化。

1.7 血液 NO 及抗氧化物指标的测定 所有大鼠

在 AHH 处理 24 h 后,使用 10% 水合氯醛腹腔注射 (0.3 g/kg) 麻醉,开腹经下腔静脉采集静脉血 2~4 ml,使用酶免法和比色法检测血液中 NO 及抗氧化酶的含量。

1.8 RT-PCR 检测 Bcl-2、Bax mRNA 表达 各组实验动物于放血后断头处死,分离出两侧大脑皮层、海马以及小脑组织,所取样本放入液氮冻存储备。实验时取出冻存脑组织,用 TRIzol 提取总 RNA,检测样品纯度和浓度,按照逆转录试剂盒说明进行反转录。以合成的 cDNA 为模板,按照 SYBR Green 说明书配好反应体系,把配制好的反应体系放入荧光定量 PCR 仪中进行扩增,反应条件设为:95 ℃ 预变性 10 min;然后变性 95 ℃ 15 s,退火 55 ℃ 15 s,延伸 72 ℃ 45 s,共 40 个循环。当反应结束后,再运行熔解曲线的程序:95 ℃ 15 s,55 ℃ 15 s,95 ℃ 15 s。通过熔解曲线来判定扩增产物的异性,记录每个反应管中的荧光信号到达所设立的阈值时所经历的循环数即 Ct 值,将原始数据取 3 次重复的平均值后用内参基因进行归一化,每份样本以其对应的 β -actin 为内参基因进行校正,采用相对定量 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析基因的相对表达量,各目的基因表达水平的差异比较:变化倍率 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$, $\Delta\Delta Ct = (Ct_{\text{实验组目的基因}} - Ct_{\text{实验组内参基因}}) - (Ct_{\text{对照组目的基因}} - Ct_{\text{对照组内参基因}})$,进行数据分析处理。

1.9 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 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,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)。

2 结果

2.1 AG 改善 TBI 大鼠低压低氧对运动功能的损害 采用重复测量方差分析比较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 ($F = 4.256, 3.358, P < 0.01$),实验组和时间点之间有交互作用 ($F = 3.358, P < 0.01$);FPI 组及 AHH 组大鼠转棒实验成绩显著低于对照组,而 AG 预处理组大鼠在转棒上的停留时间明显延长。经多因素方差分析,术后第 1 天和第 3 天,对照与 FPI 组及 AHH 组差异有统计学意义;术后第 3 天和第 7 天,AHH 组与 AG 预处理组差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 1。

2.2 AG 保护 TBI 大鼠低压低氧后的空间学习记忆能力 对照组、FPI 组及 AHH 组大鼠历时 4 d 水

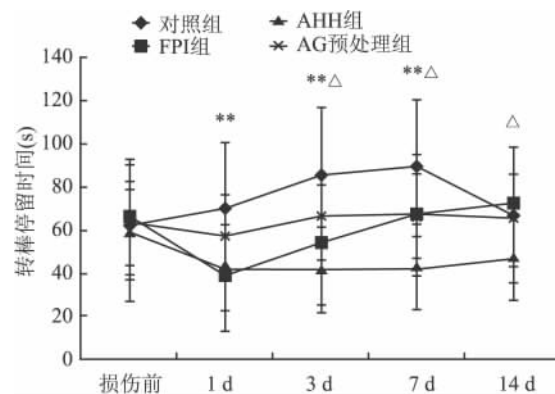


图1 各组大鼠转棒实验成绩

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与 AHH 组比较: $\Delta P < 0.05$

迷宫训练后,寻找水下平台潜伏期均逐日缩短,表明大鼠空间学习记忆能力能随训练次数增加而有所增强。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 ($F = 33.414, 5.294, P < 0.01$),实验组和时间点之间无交互作用 ($F = 0.723, P > 0.05$);然而,AHH 组大鼠平均潜伏期较对照组显著延长,表明 AHH 可明显降低大鼠空间学习记忆能力。而 AG 预处理组的大鼠空间学习记忆能力优于 AHH 组,各组别各时间点差异有统计学意义 ($P < 0.01$),组间多重比较结果表明,术后 14 d,AHH 组与 AG 预处理组大鼠逃避潜伏期差异有统计学意义;术后第 16 天,对照组与 FPI 及 AHH 组;AG 预处理组与 FPI 及 AHH 组间差异均有统计学意义;术后第 18 天的空间探索实验中,FPI 与 AG 组差异有统计学意义。表明经过 AG 预处理的大鼠的学习记忆能力有所改善 ($F = 2.195, P < 0.05$)。见图 2。

2.3 脑组织形态改变 以 200 倍光学显微镜观察大鼠海马 CA3 区脑组织形态学改变,HE 染色切片可见,光镜下对照组大鼠脑组织结构清晰完整,神经细胞排列密集整齐,形态结构正常。FPI 组和 AHH 组切片可见损伤区域神经细胞胞体肿胀,脑组织有出血灶,神经细胞固缩,部分细胞溶解,空泡变性明显。而 AG 预处理组大鼠脑组织病理学改变较为轻微,见图 3。

2.4 血液中抗氧化物及抗氧化酶水平的变化 与对照组相比,AHH 组 NO 显著上升,抗氧化酶类:过氧化氢酶 (catalase, CAT)、超氧化物歧化酶 (super oxide dismutase, SOD)、次黄嘌呤氧化酶 (xanthine oxidoreductase, XOD)、谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 及氧化型谷胱甘肽 (glutathionedisulfide, GSSG) 水平

表2 AHH及AG预处理对TBI大鼠氧化应激的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	NO($\mu\text{mol/g HB}$)	CAT(U/mg HB)	SOD(U/mg HB)	XOD(U/mg HB)	GSH($\mu\text{mol/g HB}$)	GSSG($\mu\text{mol/g HB}$)
对照	4.28 $\pm$ 0.28	5.69 $\pm$ 0.18	16.27 $\pm$ 0.65	7.14 $\pm$ 0.20	7.38 $\pm$ 0.43	1.10 $\pm$ 0.06
FPI	4.09 $\pm$ 0.23	4.98 $\pm$ 0.21	14.89 $\pm$ 0.59	6.72 $\pm$ 0.22	6.98 $\pm$ 0.65	1.11 $\pm$ 0.05
AHH	15.12 $\pm$ 0.57 ^{**##}	4.69 $\pm$ 0.09 ^{**}	14.90 $\pm$ 0.61 ^{**}	7.09 $\pm$ 0.20	6.62 $\pm$ 0.52 [*]	1.08 $\pm$ 0.07
AG 预处理	4.08 $\pm$ 0.44 ^{$\Delta\Delta$}	5.08 $\pm$ 0.46 ^{Δ}	16.06 $\pm$ 0.53 ^{$\Delta\Delta##$}	7.85 $\pm$ 0.52 ^{$\Delta\Delta$}	7.45 $\pm$ 0.22 ^{Δ}	1.18 $\pm$ 0.03 ^{Δ}

与对照组比较:^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与AHH组比较: ^{Δ} $P < 0.05$, ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$;与FPI组比较:[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

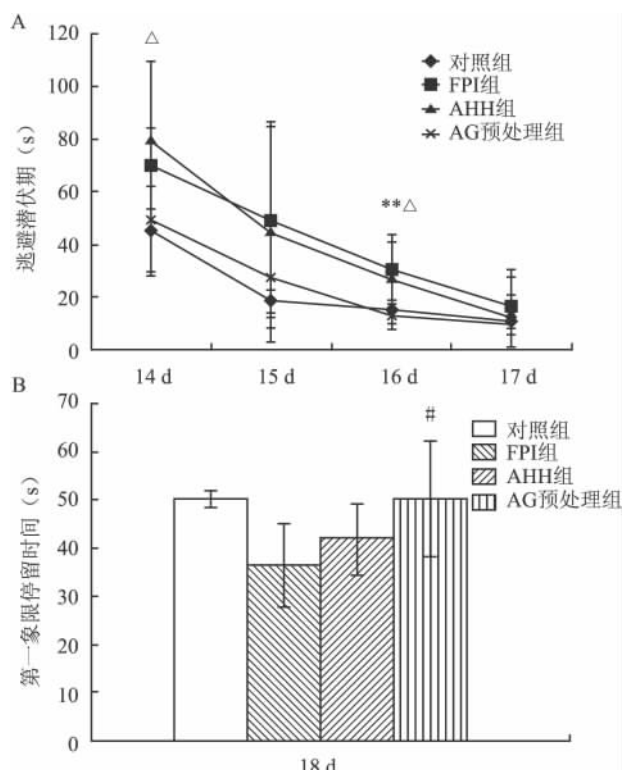
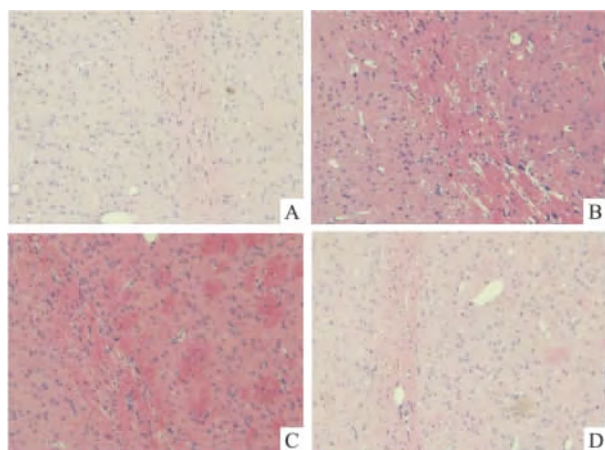


图2 各组大鼠 Morris 水迷宫实验成绩

A: 定位巡航实验; B: 空间探索实验; 与对照组比较:^{*} $P < 0.05$; 与AHH组比较: ^{Δ} $P < 0.05$; 与FPI组比较:[#] $P < 0.05$

图3 各组脑组织光镜表现 $\times 200$

A: 对照组; B: FPI 组; C: AHH 组; D: AG 预处理组

组相比, NO 水平下降, 抗氧化酶水平上升 ($P < 0.05$)。见表2。

2.5 对 Bcl-2、Bax mRNA 表达的影响 在3种不同的脑组织中, FPI 及 AHH 组 Bax mRNA 相对表达量显著增加, 而 AG 预处理组 Bax mRNA 相对表达量较 AHH 组有明显下降 ($P < 0.05$), 见图4。与之对应的, FPI 及 AHH 组抗细胞凋亡基因 Bcl-2 mRNA 相对表达量明显低于对照组, 而 AG 预处理组的大鼠 Bcl-2 mRNA 表达量显著提高 ($P < 0.05$)。见图5。

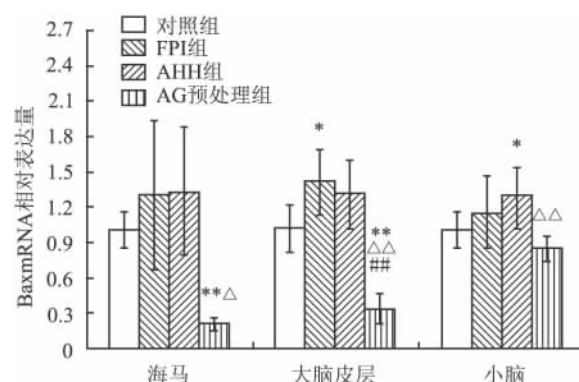


图4 各组3种脑组织中的 Bax mRNA 相对表达量

与对照组比较:^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$; 与AHH组比较: ^{Δ} $P < 0.05$, ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$; 与FPI组比较:[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

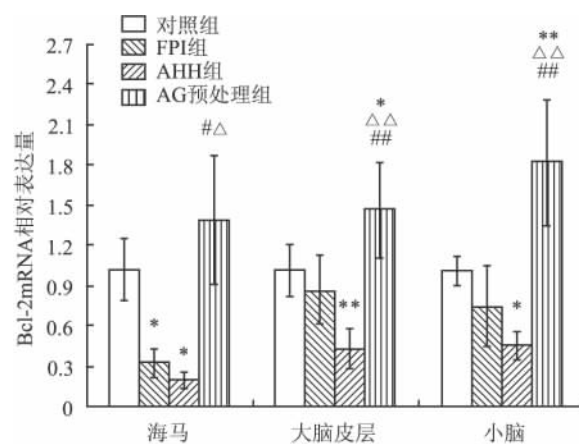


图5 各组3种脑组织中的 Bcl-2 mRNA 相对表达量

与对照组比较:^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$; 与AHH组比较: ^{Δ} $P < 0.05$, ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$; 与FPI组比较:[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

下降 ($P < 0.05$), 而使用 AG 预处理的大鼠与 AHH

3 讨论

本研究显示,TBI大鼠在低压(53 kPa)低氧(5.6 kPa)环境处理8 h后出现学习记忆能力减退,运动能力降低,同时大鼠血液NO含量上升,CAT、SOD及GSH等抗氧化酶系统水平下降,大脑Bcl-2 mRNA表达水平上升,Bax mRNA表达水平下降,海马等脑组织出现细胞病理改变。使用iNOS抑制剂AG预处理可逆转这一系列病理变化,表明病理性的NO增加可促进由Bcl家族蛋白介导的细胞凋亡。这与方迎艳等^[6]的研究结果一致,该研究显示iNOS可破坏线粒体,上调Bax表达,诱导Caspase-3相关的凋亡途径。国内外有大量研究^[9-10]表明,低压低氧环境可导致实验动物学习记忆及运动能力下降,其损伤程序与海拔高度呈正比。有学者认为氧化应激是高原环境诱发认知损害的机制之一,AHH可引发脑组织中氧自由基水平升高和脂质过氧化反应增强等一系列氧化应激反应,以及大鼠大脑海马锥体细胞损伤,海马区、皮质区、纹状体神经元细胞凋亡^[11-12]。而Udayabanu et al^[3]的研究进一步指出,AHH对认知功能的损伤可能与NO及iNOS的作用有关。本研究显示,iNOS介导的NO大量增加,导致与之有关的氧化应激及脂质过氧化作用增强是加重AHH处理的实验动物认知功能障碍的原因之一。

Bcl-2调节细胞凋亡的机制尚不明确,有研究^[13]显示,Bcl-2可作为一种抗氧化剂,抑制氧自由基的产生,抵抗过氧化反应,保护脂质膜,提高细胞GSH水平,从而发挥调节细胞凋亡的作用。另有研究^[14]显示,Bcl-2家族蛋白通过抑制细胞内Ca²⁺超载,减少并抵抗脂质过氧化物对中枢神经系统的毒性作用,保护神经系统免于退化、萎缩等机制调节细胞凋亡。国内外研究^[6,12,15]表明,大鼠海马区神经元因脑缺血缺氧而凋亡坏死,最终导致神经元数目减少,超微结构发生变化,可影响动物的学习、记忆功能。但是,目前缺氧对脑细胞凋亡的作用机制尚不明确,有研究^[16]显示,爆发性增高的NO可破坏线粒体,上调Bax表达,下调Bcl-2表达,诱导Caspase-3相关的凋亡途径,导致组织损伤。而在本研究中使用iNOS抑制剂可减轻AHH的氧化应激损伤并上调Bcl-2基因表达,可进一步证明这一观点。

NO广泛存在于机体的各个组织器官和系统中,生理浓度的NO在中枢系统中具有神经递质和调质等作用,对神经元产生保护作用;而过量的NO在大脑中对神经细胞具有毒性作用^[17-19]。NOS是NO合成的关键酶,L-精氨酸和分子氧在NOS的催化下转化为L-羟基-精氨酸,然后进一步氧化生成L-肌氨酸和NO,因此NOS活性变化将直接调节NO的生成及其生物学效应。NOS家族包括神经型NOS(nNOS)、内皮型NOS(eNOS)和诱导型NOS(iNOS),前两者主要分布在神经组织和血管内皮,产生短时效、少量的NO,作为神经递质和起局部血流调节的作用,介导一系列生理和病理效应;而后者主要由巨噬细胞和肿瘤细胞合成,产生长时效、大量的NO,在不同的微环境发挥不同的作用。

参考文献

- [1] Kelly J F, Ritenour A E, McLaughlin D F, et al. Injury severity and causes of death from Operation Iraqi Freedom and Operation Enduring Freedom: 2003 - 2004 versus 2006 [J]. *J Trauma*, 2008, 64(Suppl2): S21 - 6.
- [2] Virués-Ortega J, Garrido E, Javierre C, et al. Human behaviour and development under high-altitude conditions [J]. *Dev Sci*, 2006, 9(4): 400 - 10.
- [3] Udayabanu M, Kumaran D, Nair R U, et al. Nitric oxide associated with iNOS expression inhibits acetylcholinesterase activity and induces memory impairment during acute hypobaric hypoxia [J]. *Brain Res*, 2008, 1230: 138 - 49.
- [4] Encinas J M, Fernández A P, Salas E, et al. Nitric oxide synthase and NADPH-diaphorase after acute hypobaric hypoxia in the rat caudate putamen [J]. *Exp Neurol*, 2004, 186(1): 33 - 45.
- [5] Serrano J, Encinas J M, Fernández A P, et al. Effects of acute hypobaric hypoxia on the nitric oxide system of the rat cerebral cortex: protective role of nitric oxide inhibitors [J]. *Neuroscience*, 2006, 142(3): 799 - 808.
- [6] 方迎艳, 关宿东, 郭晓磊, 等. 内毒素血症大鼠膈肌iNOS活性和凋亡相关基因表达的变化[J]. *中国应用生理学杂志*, 2013, 29(3): 209 - 12.
- [7] Dixon C E, Lyeth B G, Povlishock J T, et al. A fluid percussion model of experimental brain injury in the rat [J]. *J Neurosurgery*, 1987, 67(1): 110 - 9.
- [8] 林云鹏, 张建宁. 液压打击海马损伤模型的改进及大鼠伤后空间学习能力观察[J]. *天津医科大学学报*, 2009, 15(4): 599 - 602.
- [9] 李景春, 杨俊, 宋永斌, 等. 急性低压低氧对小鼠空间记忆功能及脑组织水肿和氧化应激的影响 [J]. *临床军医杂志*, 2010, 38(4): 486 - 8.
- [10] Ramanathan L, Gozal D, Siegel J M. Antioxidant response to chro-

- nic hypoxia in the rat cerebellum and pons [J]. *J Neurochem*, 2005, 93(1): 47–52.
- [11] Maiti P, Singh S B, Mallick B, et al. High altitude memory impairment is due to neuronal apoptosis in hippocampus, cortex and striatum [J]. *J Chem Neuroanat* 2008, 36(3–4): 227–38.
- [12] Maiti P, Singh S B, Mallick B, et al. High altitude memory impairment is due to neuronal apoptosis in hippocampus, cortex and striatum [J]. *J Chem Neuroanat* 2008, 36(3): 227–38.
- [13] Métrailler Ruchonnet I, Pagana A, Carnesecchi S, et al. Bcl-2 protects against hyperoxia induced apoptosis through inhibition of the mitochondria dependent pathway [J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, 42(7): 1062–74.
- [14] Bonneau B, Prudent J, Popgeorgiev N, et al. Non-apoptotic roles of Bcl-2 family: The calcium connection [J]. *Biochim Biophys Acta* 2013, 1833(7): 1755–65.
- [15] Shi Q, Fu J, Ge D, et al. Huperzine A ameliorates cognitive deficits and oxidative stress in the hippocampus of rats exposed to acute hypobaric hypoxia [J]. *Neurochem Res* 2012, 37(9): 2042–52.
- [16] Magalhães J, Ferreira R, Neuparth M J, et al. Vitamin E prevents hypobaric hypoxia-induced mitochondrial dysfunction in skeletal muscle [J]. *Clin Sci* 2007, 113(12): 459–66.
- [17] Fricks-Gleason A N, Keefe K A. Evaluating the role of neuronal nitric oxide synthase-containing striatal interneurons in methamphetamine-induced dopamine neurotoxicity [J]. *Neuroto Res*, 2013, 24(2): 288–97.
- [18] Benavides G A, Liang Q, Dodson M, et al. Inhibition of autophagy and glycolysis by nitric oxide during hypoxia-reoxygenation impairs cellular bioenergetics and promotes cell death in primary neurons [J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 65: 1215–28.
- [19] Beray-Berthet V, Palmier B, Plotkine M, et al. Neutrophils do not contribute to infarction, oxidative stress, and NO synthase activity in severe brain ischemia [J]. *Exp Neurol* 2003, 82(2): 446–54.

Beneficial effects of aminoguanidine on tolerability in traumatic brain injury rats with acute hypobaric hypoxia

Mao Yan, Tao Lei, Zhang Guorong

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

Abstract Objective To observe the effect of aminoguanidine (AG) on the traumatic brain injury (TBI) rats after treating as acute hypobaric hypoxia (AHH) and explore its mechanism of behavioral changes. **Methods** A total of 49 rats were randomly divided into two separate experiments, each of them contains 4 groups (control group, brain injury group, acute hypobaric hypoxia group and AG pretreatment group). The model of TBI was made by the method of fluid percussion injury, and then was exposed to acute serious hypobaric hypoxia (5 000 m, 8 h). The neurological function prognosis was evaluated by Morris water maze (MWM), rotarod test and brain tissue HE stain. The Bcl-2, Bax gene expression and the content of nitric oxide (NO), antioxidant enzymes were measured after 24 h. **Results** Compared with control group, learning and memory abilities of rats in AHH group were significantly decreased ($P < 0.05$). AG pretreatment group could reverse the damage caused by acute hypobaric hypoxia effect; and the content of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione (GSH) were significantly decreased in acute hypobaric hypoxia rats while in this group the NO level was the highest among all the four groups ($P < 0.05$). In the hypobaric hypoxia group, Bcl-2 gene expression decreased, Bax gene expression increased ($P < 0.05$). AG pretreatment group could reverse the damage caused by acute hypobaric hypoxia effect. **Conclusion**

The neurological dysfunction of TBI rat after acute hypobaric hypoxia is largely reduced by aminoguanidine, which is involved in its inhibition on brain cell damage from the abnormality expression of Bcl-2 and Bax and oxidative damage due to NO explosion.

Key words hypobaric hypoxia; traumatic brain injury; aminoguanidine; nitric oxide; apoptosis