

· 基础研究 ·

新生儿缺血缺氧脑损伤大鼠早期认知功能的实验研究

林晓燕 任素伟 梁艳苓 陈翔 涂丰霞 刘婵 张浣

【摘要】目的 探讨不同日龄的新生大鼠缺血缺氧脑损伤后早期认知功能的改变。**方法** 选取 SD 新生大鼠 46 只,按照后期测试时间的不同,分为 21 日龄的大鼠 23 只(21 日龄组),31 日龄的大鼠 23 只(31 日龄组),2 组按照随机数字标法根据是否制备缺氧缺血模型分成 21 日龄造模组 12 只,21 日龄假手术组 11 只,31 日龄造模组 12 只,31 日龄假手术组 11 只。采用改良 Rice 模型方法将 21 日龄造模组和 31 日龄造模组制成新生儿大鼠早期认知功能障碍模型,假手术组均模拟皮肤切开分离颈总动脉,但不结扎,无缺氧。4 组大鼠造模成功后采用 Morris 水迷宫测试空间定位学习能力及空间记忆水平。结束水迷宫测试后断头取脑,进行电镜及尼氏染色观察脑组织细胞形态及尼氏小体定量-神经细胞活力分析。**结果** 经 Morris 水迷宫实验发现,21 日龄造模组和 21 日龄假手术组平均逃避潜伏期均明显落后于 31 日龄造模组和 31 日龄假手术组,差异有统计学意义($P < 0.05$),另 2 个造模组平均逃避潜伏期亦明显落后于相应的假手术组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。4 组大鼠的平均穿台次数和平均台周 I 区活动时间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),而 21 日龄造模组平均台周 I 区活动路程明显低于 21 日龄假手术组,差异有统计学意义($P < 0.05$),同时 21 日龄 2 组大鼠的平均台周 I 区活动路程明显低于相应的 31 日龄 2 组大鼠,差异有统计学意义($P < 0.05$)。31 日龄造模组平均台周 I 区活动路程亦明显低于 31 日龄假手术组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。电镜观察显示,2 个假手术组缺血侧的海马组织神经细胞结构正常,突触前膜内少见线粒体,2 个造模组神经细胞有不同程度核固缩表现及内质网扩张等,海马突触内见较多线粒体。经尼氏小体定量-神经细胞活力分析发现,2 个造模组的右大脑皮质活力较相应的假手术组显著下降,差异有统计学意义($P < 0.01$);31 日龄组均较相应 21 日龄组升高($P < 0.01$)。**结论** 早期缺血缺氧脑损伤大鼠存在认知功能障碍,31 日龄大鼠的空间定位学习及空间记忆明显优于 21 日龄大鼠,可能与日龄的增加有关。

【关键词】 早期认知; 缺血缺氧脑损伤; Morris 水迷宫; 新生大鼠

Early cognitive function of rats with ischemic hypoxic brain injury during the neonatal period LIN Xiao-yan, REN Su-wei, LIANG Yan-lin, CHEN Xiang, TU Feng-xia, LIU Chan, ZHANG Shuang. Rehabilitation centre, the Second Affiliated Hospital & Yuying Children's Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China

Corresponding author: CHEN Xiang, Email: chenxiangnj2005@yahoo.com.cn

【Abstract】Objective To establish an early cognitive disorder model in rats and investigate the early cognitive functioning after ischemic hypoxic brain injury during the neonatal period. **Methods** Forty-six newborn Sprague-Dawley rats were randomized into a 21-d-old group and a 31-d-old group. These 2 groups were then subdivided into model and sham-operated subgroups (M21, $n = 12$; SH21, $n = 11$; M31, $n = 12$; SH31, $n = 11$). A model of neonatal early cognitive disorder was established in the rats of the M21 and M31 groups using a modification of Rice's method. Rats in the SH21 and SH31 groups received skin incisions and common carotid artery separation without ligation or hypoxia. Each group was tested with a Morris water maze. The rats were sacrificed after testing, and brain tissue was examined under the electron microscope. Nissl staining allowed Nissl body quantification and neurocyte activity analysis. **Results** ①The Morris water maze (a) Spatial localization learning: The average escaping latency in the M21 group was significantly longer than in the SH21 group. The 31-d-old subgroups had shorter average escaping latencies than the corresponding 21-d-old subgroups. (b) Spatial memory: The average platform times, I region times and I region distances showed no significant differences among groups. ②Brain pathology (a) Gross appear-

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2010.10.002

基金项目:浙江省教育厅项目(20020448),浙江省科技厅钱江人才计划项目(2009R10024)

作者单位:325027 温州,温州医学院附属第二医院暨育英儿童医院康复中心

通信作者:陈翔,Email:chenxiangnj2005@yahoo.com.cn

ance; Obvious ischemic hemisphere atrophy was observed in the M group, and no abnormality was observed in the SH group. (b) Electron microscopic observation: In the SH group cell ultrastructures in the ischemic hippocampus were normal. Karyopyknosis and dilated endoplasmic reticulum were found in the M group. More mitochondria were found in the presynaptic membranes of the ischemic hippocampus in the M group than that in the SH group. (c) Nissl body quantification and neurocyte activity analysis: Significantly less activity in the ischemic cortex was found in the M21 group compared to the SH21 group. More activity was observed in the 31-d-old subgroups than in the corresponding 21-d-old subgroups. **Conclusions** ①The neonatal rats with ischemic hypoxic brain injury had prolonged average escaping latency and depressed neuronal activity. ②The 31-d-old rats had better spatial localization learning ability than the 21-d-old rats.

【Key words】 Early cognition; Ischemic hypoxic brain damage; Morris water maze; Neonatal rats

新生儿缺血缺氧性脑损伤是由于各种围生期因素引起的脑血流减少或暂停以及缺氧而导致胎儿和新生儿的脑损伤。国内外学者报道在存活的新生儿缺氧缺血性脑病(hypoxic ischemic encephalopathy, HIE)中 25% 遗留脑性瘫痪、精神发育迟滞、癫痫、学习困难等永久性的神经功能缺陷^[1-2]。认知功能是感觉、知觉、学习、记忆、思维等一系列心理过程的统称,早期认知功能的正常发育是保证日后健康生活、学习、工作的前提。大脑发育的关键时期是指胎儿中期到出生后 4 岁,避免这个阶段内许多致病因素的影响,是小儿的正常发育的关键。婴幼儿脑发育具有较好的可塑性,通过科学的方式实施早期教育和干预可促进小儿认知功能的良性发育^[3]。儿童的认知过程主要涉及到视听觉、空间定位觉、注意力、感觉性记忆、形象思维等初级认知阶段^[4]。学龄前的认知发育研究是目前国内外心理学领域的研究热点。围生期(妊娠 28 周到出生后 4 周)缺血缺氧性脑损伤导致早期认知功能障碍的研究是一个极富挑战性的课题,难点在于缺乏理想的动物疾病模型和适合的认知检测技术。大鼠具有运动学习感知自己的空间位置的能力^[5-6],空间定位觉是感知觉的主要内容,是反映早期认知功能的主要指标之一。有文献报道,大鼠出生后第 21~25 日龄,31~35 日龄大致相当于人类认知发育的幼儿期(2~3 岁)和学龄期(8~12 岁)^[7-9]。本研究采用改良 Rice 法 7 日龄新生大鼠缺血缺氧脑损伤模型^[10-11],通过 Morris 水迷宫(morris water maze, MWM)实验^[12]分别观察 21 日龄和 31 日龄大鼠早期认知功能的变化,测试大鼠的空间定位学习能力(位置觉和方向觉)和记忆能力,观察大鼠脑组织结构变化及神经细胞活力,探讨新生大鼠缺血缺氧脑损伤对早期认知功能的影响及可能的机制。

材料与方法

一、实验动物及分组

选取 7 日龄新生 SD 大鼠 5 窝,每窝约 8~10 只新生鼠(带母鼠),雌雄不限,体重 12~18 g,清洁级,共

46 只,由温州医学院实验动物房提供。根据后期测试时间的不同,将入组时达 21 日龄的 23 只大鼠设为 21 日龄组,31 日龄的 23 只大鼠设为 31 日龄组,2 组按照随机数字表法根据是否制备缺氧缺血模型分成 21 日龄造模组 12 只,21 日龄假手术组 11 只,31 日龄造模组 12 只,31 日龄假手术组 11 只。

二、造模方法

1. 缺氧装置的制备:实验装置由缺氧瓶、恒温槽、低浓度氧气源以及出气水封瓶共 4 个部分组成。

2. 模型制备:21 日龄造模组和 31 日龄造模组大鼠于称重、记录性别后,随机编号。10% 水合氯醛(0.3~0.35 ml/100 g 体重)麻醉后,仰卧固定于手术板上,常规消毒,颈部正中切口,切开皮肤长约 0.3 cm,分离、暴露颈动脉三角,分离右侧颈总动脉后用 0 号无创缝合线双重结扎,再一次性缝合切口。术后 2 组大鼠均于开始活动后返回母鼠身边,次日再放入 37℃ 的恒温密闭的透明缺氧瓶中,吸入 8% 的氧和 92% 的氮气的混合气体,缺氧 1 h 后返回母鼠身边。21 日龄假手术组和 31 日龄假手术组模拟皮肤切开分离颈总动脉,但不结扎,随即缝合伤口,无缺氧处理,直接返回母鼠身边。

三、Morris 水迷宫测试

1. 空间定位学习(逃避潜伏期):所有实验大鼠均参加水迷宫测试,每只大鼠进行每天 3 次的游泳训练,连续训练 5 d。记录大鼠找到隐匿平台的时间,记为逃避潜伏期,至 120 s 找不到平台,将其引上平台,逃避潜伏期记为 120 s。大鼠每次爬上或被引上平台后,休息 30 s 开始下 1 次训练。

2. 空间记忆(穿台次数及台周 I 区活动路程和时间):空间定位学习实验结束后,当天下午进行空间搜索实验,撤除平台,记录 120 s 内穿过原平台位置的次数(穿台次数)及台周 I 区活动路程和时间,考察大鼠对原平台的记忆。

四、电镜和光镜检测

1. 取材:4 组大鼠均于结束水迷宫测试后第 2 日经麻醉、固定、灌注后,快速断头取脑,仔细分离颅骨、

脑膜后取缺血侧大脑半球,根据光镜、电镜取材要求取材、固定。电镜标本进行半薄切片定位,EPON812 包埋,LKB-V2088 超薄切片机切片,H-7500 型透射电镜观察并摄片。光镜及尼氏染色标本经脱水行石蜡包埋,常规制备石蜡切片,片厚约 5 μm ,尼氏染色(Nissl stain)观察。

2. 尼氏小体定量-神经细胞活力分析:取材方法同光镜检测标本的方法。尼氏染色完成后,光镜下取每张大脑皮质 5 个视野(10×20),然后用 Image-Pro Plus 5.0 (IPP5.0) 彩色医学图像分析系统统计每个视野的尼氏小体数目,用尼氏小体的数目/相应的面积(mean area)来反映相应脑组织的神经元活力。

五、统计学分析

统计学分析采用 SPSS 11.5 版统计软件进行处理数据,数据以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间的比较采用单因素方差(One-way ANOVA)分析,两两比较方差齐者用 LSD 检验,方差不齐者用 Dunnett'T3 检验。两样本比较采用 t 检验,相关分析采用 Pearson 直线相关,率的比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、Morris 水迷宫测试

1. 空间定位学习成绩(平均逃避潜伏期):经 Morris 水迷宫测试,21 日龄造模组平均逃避潜伏期与 21 日龄假手术组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);31 日龄造模组平均逃避潜伏期与 31 日龄假手术组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表 1。

2. 空间记忆成绩(平均穿台次数、平均台周 I 区活动时间和平均台周 I 区活动路程):经 Morris 水迷宫测试,4 组大鼠的平均穿台次数和平均台周 I 区活动时间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),而 21 日龄造模组平均台周 I 区活动路程明显低于 21 日龄假手术组,差异有统计学意义($P < 0.05$),同时 21 日龄 2 组大鼠的平均台周 I 区活动路程明显低于 31

日龄 2 组大鼠,差异有统计学意义($P < 0.05$)。31 日龄造模组平均台周 I 区活动路程亦明显低于 31 日龄假手术组,差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表 1。

二、大鼠脑组织病理学改变

1. 海马突触结构电镜观察:大鼠缺血侧大脑海马经固定、包埋、切片后,于 H-7500 型透射电镜下观察并摄片。21 日龄及 31 日龄假手术组突触联接较多,形态小,突触间隙不宽,界面平直,突触前膜内突触小泡数量一般,少见线粒体,致密板厚度一般(图 1)。21 日龄及 31 日龄造模组突触结构数量减少,突触间隙较正常组变宽,突触前膜内突触小泡丰富,线粒体多见,致密板厚度一般(图 2)。

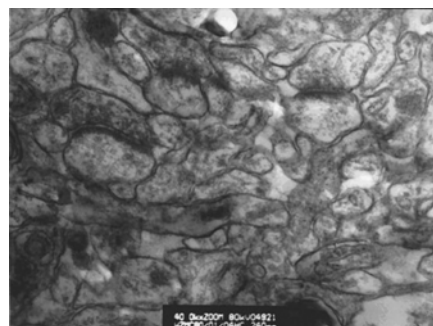


图 1 21 日龄假手术组突触结构(钨酸染色, $\times 40\,000$)

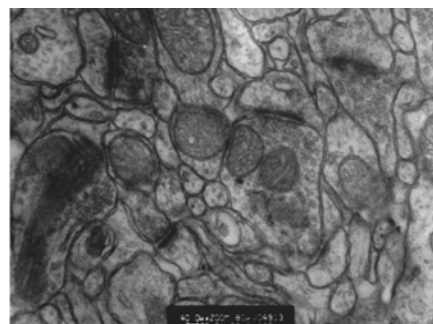


图 2 21 日龄造模组突触结构(钨酸染色, $\times 40\,000$)

2. 尼氏小体定量-神经细胞活力分析:2 造模组的右大脑皮质活力较相应的假手术组显著下降,差异有统计学意义($P < 0.01$);31 日龄组均较相应 21 日龄组升高($P < 0.01$),详见表 2。

表 1 4 组大鼠 Morris 水迷宫测试成绩比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	平均潜伏期 (s)	站台穿越次数 (次)	台周 I 区活动 时间(s)	台周 I 区活动 路程(mm)
21 日龄造模组	12	44.24 $\pm$ 17.93	5.11 $\pm$ 1.97	22.19 $\pm$ 7.07	4393.22 $\pm$ 1871.66
21 日龄假手术组	11	23.84 $\pm$ 11.05 ^a	5.50 $\pm$ 2.07	24.44 $\pm$ 5.03	4954.02 $\pm$ 954.64 ^a
31 日龄造模组	12	16.35 $\pm$ 4.94	6.89 $\pm$ 1.69	24.92 $\pm$ 4.00	5370.60 $\pm$ 1293.53 ^a
31 日龄假手术组	11	13.50 $\pm$ 4.18 ^b	6.09 $\pm$ 3.42	25.54 $\pm$ 9.51	5862.87 $\pm$ 2449.36 ^b

注:与 21 日龄造模组比较,^a $P < 0.05$,与 31 日龄造模组比较,^b $P < 0.05$

表 2 对不同日龄组大鼠神经细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	mean area
21 日龄造模组	12	136.70 $\pm$ 2.98 ^b
21 日龄假手术组	11	157.75 $\pm$ 14.96 ^a
31 日龄造模组	12	190.97 $\pm$ 6.03 ^{ab}
31 日龄假手术组	11	210.18 $\pm$ 10.90 ^{bc}

注:与 21 日龄造模组比较,^a $P < 0.01$,与 31 日龄造模组比较,^b $P < 0.01$,与 21 日龄假手术组比较,^c $P < 0.01$

讨 论

围生期脑损伤是导致儿童脑性瘫痪、残疾、精神发育迟滞等疾病的最常见的原因。例如缺血、缺氧、早产、出血、感染、黄疸等均是围生期主要的致脑损害的危险因素。一项前瞻性研究发现,早产儿 3~4 岁时的认知功能发育评分均低于正常儿童对照组,这些认知功能包括智能、语言理解力和表达力、知觉和视觉运动能力、操作记忆力、注意力和行为问题等^[13]。此外,25%~50% 围生期高危儿日后将出现某些微细的精细动作和认知功能障碍,导致学习困难或社会交流障碍。同样发现部分足月高危儿围生期脑损伤的成活儿存在严重的认知和感觉障碍^[14],尽管其发病率较早产儿低。因此,围生期的保健与监护、缺血与缺氧等危害因素的预防和早期干预及减轻缺血缺氧脑损伤的病理学损伤,是改善早期认知功能、预防儿童残障发生的关键。

从胎儿期经婴幼儿期、儿童期到青年期是个体功能逐渐走向成熟的过程。整个儿童阶段一直是处在不断生长发育的过程中,其生理、病理等方面都与成人不同,年龄愈小与成人的差异愈大,绝非成人的缩影。在研究不同年龄大鼠对多发刺激的应答实验中发现婴幼儿期大鼠和成年大鼠的学习存在明显的差异^[5]。本研究在 Rice 模型基础上,选择 21 日龄和 31 日龄大鼠作为观察研究的对象,探讨新生大鼠缺血缺氧脑损伤后早期认知功能的改变及可能发生的相关机制,为临床研究提供实验依据。

一、新生大鼠缺血缺氧脑损伤模型的建立

动物的选择及大鼠模型特点:对于围产期缺血缺氧脑损伤的研究,发现大鼠无论是生殖生理还是神经解剖,都与新生儿及生后早期的婴儿具有很大的相似性^[15]。大鼠繁殖力强,具有对新环境易适应、易训练、对惩罚和暗示敏感等特性,能够进行行为学和高级神经活动的研究。大鼠的平均寿命 2~3 年,新生大鼠中枢神经系统发育不成熟,通常认为大鼠 6~10 日龄相当于人类新生儿期。Rice 模型是在 Levine 模型(结扎成年大鼠一侧颈总动脉及全身缺氧造成缺血缺氧脑损伤)基础上,选用 7 日龄新生大鼠,结扎一侧颈总动脉

造成一侧大脑缺血,然后再给予缺氧,这个病理过程类似胎儿或新生儿脐带绕颈导致缺血缺氧脑损伤。虽然此模型主要造成一侧大脑缺血,不同于临床缺血造成全脑缺血和缺氧以及全身多器官功能障碍的病理生理改变,但建模后脑组织的损伤是一个动态变化过程,包括行为学、外形特征、物质分布(如尼氏小体等)都在随时间发生变化,在这过程中,脑血流改变、细胞代谢紊乱与新生儿缺氧缺血脑损伤均有很多相似之处。此外,该模型具有较典型的行为改变,造模过程相对简单,鼠源丰富低廉,适合进行神经保护药物干预的研究及测试大鼠的学习、记忆等神经行为学变化^[16-17]。二十多年来,有关该模型的研究证实其造成的永久性缺血缺氧脑损伤的病理改变类似于围生期脑损伤,也是目前唯一可以进行长时间观察并评估神经病理学及功能改变的动物模型^[18]。

光镜观察及尼氏小体定量-神经细胞活力分析:尼氏小体是对损伤产生反应非常敏感的部分,特别是当轴突受到损害时,神经细胞内的尼氏小体趋向溶解或消失^[19]。本实验发现模型组、假手术组大鼠缺血侧皮质的尼氏染色都很明显,细胞内均可见较多深蓝色尼氏小体,即使模型组的胶质细胞,也有较深的染色,表明大鼠脑内细胞活力良好,增生活跃,与脑缺血后急性期和术后 7~14 d 尼氏小体明显减少完全不同^[20],可能与本模型观察时间较长、以及与 Morris 水迷宫学习记忆的训练,促使脑内代谢加快,细胞蛋白合成增加,尼氏小体再生活跃等因素有关。尼氏小体是神经细胞功能活性的形态指标,用尼氏小体的数目/相应的面积可反映相应脑组织的神经细胞活力。结果显示 21 日龄模型组的尼氏染色小体数目较相应假手术组明显较少,31 日龄组的尼氏小体活跃增多($P < 0.05$),提示尼氏小体是对缺血缺氧损害敏感的细胞器,并参与恢复过程细胞代谢、蛋白合成。

电镜观察:微观细胞形态或功能的改变能够直接反映组织的生理病理变化。组织损伤早期主要表现出细胞及其内部细胞器的变化,包括细胞水肿、细胞器数量功能变化以及胞核的改变。本实验主要表现出细胞核的固缩、细胞增殖以及突触形态数量的差异。突触的发育及可塑性与学习记忆、儿童早期智力开发、衰老和神经损伤的修复和再生有关,突触的数量、形态与功能状态是反映神经系统功能状态的重要参数^[21]。实验发现模型组缺血缺氧侧海马突触前膜线粒体较假手术组增多,将在以后的实验中进一步探讨。

二、水迷宫实验与认知功能

Morris 水迷宫是英国心理学家 Morris 于 20 世纪 80 年代初设计并应用于学习记忆脑机制研究,所测试的空间位置认知是有关知觉的实验参数,能够系统全

面地考察实验动物空间认知加工的过程,客观地反映其认知水平^[22]。目前已经广泛用于测试评定实验动物的认知功能。根据皮亚杰认知发育的阶段理论,儿童认知按照年龄大致分为四个阶段,0~2 岁为感知运动阶段,此阶段主要通过感觉动作来认识外部世界;3~7 岁为前运算阶段,这个时期儿童可以利用表象符号代替外界事物,进行表象思维;8~11 岁为具体运算阶段,此阶段儿童可以进行完整的逻辑思维活动,但他们的思维活动仅限于比较具体的问题,还不能对假设进行思维;12 岁至成人成为逻辑运算阶段,能对事物进行非常抽象的系统的和稳定的逻辑思维。本研究选择大鼠出生后 21 日龄和 31 日龄两个时间段在 Morris 水迷宫中检测其认知功能,分别相当于人认知发育的幼儿期和学龄期。婴幼儿最先发育而且发育最快的是感知觉,婴幼儿通过感知觉获取周围环境的信息并适应周围环境,学龄期儿童从表象思维发展到逻辑思维,并具有良好的具体记忆功能。因此,婴幼儿有较好的感知觉发育,而记忆功能发育较低。

本实验结果显示,21 日龄缺血缺氧脑损伤大鼠空间定位学习能力下降、神经细胞活力减低,表明新生期缺血缺氧脑损伤大鼠存在早期空间定位学习障碍。且 21 日龄及 31 日龄缺血缺氧脑损伤大鼠均空间记忆水平下降,提示新生期缺血缺氧脑损伤大鼠也存在早期空间记忆障碍,两者共同说明早期缺血缺氧脑损伤大鼠存在早期认知功能障碍。31 日龄大鼠的空间定位学习及空间记忆明显优于 21 日龄大鼠,这可能与大鼠早期的认知水平随日龄增加而提高有关,符合一般认知发育规律。

总之,早期缺血缺氧脑损伤大鼠存在认知功能障碍,且大鼠早期的认知水平随日龄增加而提高。

参 考 文 献

- [1] Martinez Lara E, Canuelo AR, Siles E, et al. Constitutive nitric oxide synthases are responsible for the nitric oxide production in the ischemic aged cerebral cortex. *Brain Res*, 2005, 1054: 88-94.
- [2] 韩玉昆. 新生儿缺氧缺血性脑病. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 175-208.
- [3] Weitzdoerfer R, Pollak A, Lubec B. Perinatal asphyxia in the rat has life long effects on morphology, cognitive functions and behavior. *Semin Perinatol*, 2004, 28: 249-256.
- [4] 张莉莉, 蔡玲玲, 张伟. 缺氧缺血性脑病动物模型实验治疗的病理观察. *中华病理学杂志*, 1996, 25: 102-104.
- [5] Brassier SM, Spear NE. Contextual conditioning in infants, but not older animals, is facilitated by CS conditioning. *Neurobiol Learn Mem*, 2004, 81: 46-59.
- [6] Hoeger H, Engidawork E, Stolzlechner D, et al. Long-term effect of moderate and profound hypothermia on morphology, neurological, cognitive and behavioural functions in a rat model of perinatal asphyxia. *Amino Acids*, 2006, 31: 385-396.
- [7] Arteni NS, Salgueiro J, Torres I, et al. Neonatal cerebral hypoxia-ischemia causes lateralized memory impairments in the adult rat. *Brain Res*, 2003, 973: 171-178.
- [8] Dobbing J, Sands J. Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early Hum Dev*, 1979, 3: 79-83.
- [9] Romijn HJ, Hofman MA, Gramsbergen A. At what age is the developing cerebral cortex of the rat comparable to that of the full-term newborn human baby? *Early Hum Dev*, 1991, 26: 61-67.
- [10] 胡志兵, 陆雪芬, 郑得枢. 神经节苷脂 GM1 对缺氧缺血后脑中 HSP70 表达的影响. *卒中与神经疾病*, 2001, 8: 278-281.
- [11] 蒋犁, 汤云珍, 俞咏华. 缺氧缺血对新生大鼠脑皮质细胞凋亡的影响. *新生儿科杂志*, 1998, 13: 117-119.
- [12] Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, et al. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 1982, 297: 681-683.
- [13] Caravale B, Tozzi C, Albino G, et al. Cognitive development in low risk preterm infants at 3-4 years of life. *Arch Dis Child Fetal Neonatal ED*, 2005, 90: 474-479.
- [14] 李树春. 儿童康复医学. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 15-26.
- [15] Vannucci RC. Experimental models of perinatal hypoxic-ischemic brain damage. *APMIS Suppl*, 1993, 40: 89-95.
- [16] Ikeda T, Mishima K, Yoshikawa T. Selective and long-term learning impairment following neonatal hypoxic-ischemic brain insult in rats. *Behav Brain Res*, 2001, 118: 17-25.
- [17] Arteni NS, Salgueiro J, Torres I, et al. Neonatal cerebral hypoxia-ischemia causes lateralized memory impairments in the adult rat. *Brain Res*, 2003, 973: 171-178.
- [18] Ikeda T, Iwasaki K, Aoo N, et al. Rehabilitative training tasks improve spatial learning impairment in the water maze following hypoxic-ischemic insult in neonatal rats. *Pediatr Res*, 2006, 59: 61-65.
- [19] Benali A, Leefken I, Eysel U T, et al. A computerized image analysis system for quantitative analysis of cells in histological brain sections. *J Neurosci Methods*, 2003, 125: 33-34.
- [20] 陈胜利, 李长清, 胡长林. 高压氧治疗对实验型大鼠脑梗死后皮层神经元内尼氏小体的影响. *重庆医学*, 2007, 36: 1249-1250.
- [21] 沈丽, 买鸿宴, 南燕. 大鼠海马突触发育可塑性研究. *北京医科大学学报*, 1999, 31: 209-215.
- [22] 李永军, 王群. 初次搜索策略对大鼠 Morris 水迷宫试验成绩的影响. *中国现代医学杂志*, 2004, 14: 7-14.

(修回日期: 2010-09-02)

(本文编辑: 阮仕衡)