

张梦雅,赵名,江亚群,等.慢性高原低氧暴露对小鼠神经行为学的影响[J].中国比较医学杂志,2023,33(4):28-35.
Zhang MY, Zhao M, Jiang YQ, et al. Effects of chronic high-altitude hypoxia exposure on neurobehavior in mice [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(4): 28-35.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.04.004

慢性高原低氧暴露对小鼠神经行为学的影响

张梦雅^{1,2}, 赵 名², 江亚群^{1,2}, 史子毕², 成 祥², 李云峰^{1,2}, 朱玲玲^{1,2*}

(1.南华大学药学院,湖南 衡阳 421001;2.军事医学研究院军事认知与脑科学研究所,北京 100850)

【摘要】 目的 观察高原低氧暴露4周对小鼠神经行为学的影响。**方法** C57BL/6J小鼠随机分为2组:对照组和低压低氧组,其中低压低氧组模拟海拔6000 m,暴露时长为4周。低压低氧暴露后每周进行一次体重测量;暴露4周后,开场、悬尾和高架十字迷宫实验用于检测小鼠情绪行为的变化;负重游泳和转棒实验用于检测小鼠体能的变化;新物体识别、Y迷宫和Morris水迷宫实验用于检测小鼠认知及学习记忆的变化。**结果** 与对照组相比,低氧暴露1周引起小鼠体重显著下降($P<0.001$),且低氧组小鼠体重增长缓慢。开场实验结果显示低氧暴露对小鼠的自发活动没有影响,悬尾和高架十字迷宫实验显示低氧暴露小鼠未见明显的负性情绪。负重游泳实验结果显示低氧后小鼠力竭潜伏期缩短($P<0.01$),转棒实验结果显示两组之间没有统计学差异。新物体识别实验结果显示低氧后小鼠对新事物、新环境的探索时间减少,认知指数下降($P<0.05$),Y迷宫实验中工作记忆显著降低($P<0.05$),空间学习记忆两组之间没有差异。**结论** 模拟高原低氧暴露4周可对小鼠神经行为学的多个指标产生影响,其中力竭游泳实验中的力竭潜伏期、新物体识别实验中的认知指数和Y迷宫实验中进入新开放臂次数的百分比是较为敏感的指标。

【关键词】 高原低氧;神经行为;认知

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 04-0028-08

Effects of chronic high-altitude hypoxia exposure on neurobehavior in mice

ZHANG Mengya^{1,2}, ZHAO Ming², JIANG Yaqun^{1,2}, SHI Zibi², CHENG Xiang², LI Yunfeng^{1,2}, ZHU Lingling^{1,2*}

(1. School of Pharmaceutical Sciences, University of South China, Hengyang 421001, China. 2. Institute of Military Cognition and Brain Sciences, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850)

【Abstract】 Objective To observe the effects of high-altitude hypoxia exposure for 4 weeks on neuroethology in mice. **Methods** C57BL/6J mice were randomly divided into two groups: control group and hypobaric hypoxia group. Mice in the hypobaric hypoxia group were put in a hypobaric hypoxia chamber that simulated an altitude of 6000 m for 4 weeks of exposure. Body weight was measured once a week. An open field test, tail-suspension test, and elevated plus maze test were used to detect changes to the emotional behaviors of mice. A weight-bearing swimming test and rotarod test were used to detect changes in the physical fitness of the mice. A new object recognition test, Y maze test, and Morris water maze test were used to detect changes to cognition, learning, and memory. **Results** Compared with the weights of the control group, the weight of mice exposed to hypoxia decreased significantly in the first week ($P<0.001$). The open field test showed that hypoxia exposure had no effect on the spontaneous activities of mice, and the tail-suspension and elevated plus maze tests showed that there was no obvious negative emotion in hypoxia-exposed mice. The weight-bearing swimming test showed that the exhaustion latency of mice was shortened after hypoxia ($P<0.01$), but there was no

【基金项目】 国家自然科学基金(81773708,81173036)。

【作者简介】 张梦雅(1997—),女,硕士研究生,研究方向:药学。E-mail:1184893896@qq.com

【通信作者】 朱玲玲(1966—),女,博士,研究员,研究方向:高原医学。E-mail:linglingzhuamms@126.com

significant difference between the two groups in the rotarod test. The new object recognition test showed that the time to explore new things and new environments decreased, and the recognition index decreased after hypoxia ($P < 0.05$). Working memory decreased significantly in the Y maze test after hypoxia ($P < 0.05$), and there was no difference in spatial learning or memory between the two groups. **Conclusions** Four weeks of exposure to simulated high-altitude hypoxia affected many neuroethological indexes in the mice, among which exhaustion latency in the exhaustion swimming test, the cognitive index in the new object recognition test, and the percentage entering the new open arm in the Y maze test were the most sensitive indexes.

【Keywords】 high altitude hypoxia; neurobehavior; cognition

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

高原环境以低压低氧(hypobaric hypoxia, HH)为主要特征,高原环境下随着海拔高度的升高,氧分压降低,会引起机体组织器官不同程度的损伤^[1-5]。脑作为机体对低氧最敏感的器官,急性或慢性高原低氧暴露,都会导致脑功能受到不同程度的影响^[6-8],尤其是认知功能^[9]。随海拔高度的升高,机体会出现复杂反应时间延迟、精神运动障碍、学习和空间记忆受损、记忆提取障碍,甚至可能出现幻觉^[10]。目前,急性低氧暴露对实验动物的行为学研究已有多篇报道,然而慢性低氧对实验动物神经行为学影响的研究相对较少,且由于实验装置、具体参数、观察指标的不同,结果存在较大差异^[11],其全面、综合性的评价尚未见报道^[12]。在本研究中,我们利用 C57BL/6J 小鼠建立慢性低氧暴露模型,通过多种行为学方法探讨其对小鼠运动、认知及学习记忆、情绪行为的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 C57BL/6J 小鼠雄性、8 周龄,体重 18~20 g,20 只,购于斯贝福(北京)生物技术有限公司[SCXK(京)2019-0010]。小鼠饲养于室温(23 ± 2)℃,湿度 50%~70%,光照与黑暗交替时间为 12 h/12 h,可自由饮水摄食。所有的实验动物管理及实验操作均遵守军事医学研究院实验动物管理条例[SYXK(军)2017-0023]。本研究经军事医学研究院实验动物伦理委员会批准(IACUC-DWZX-2022-523),按照实验动物使用的 3R 原则给予了人道关怀。

1.2 主要仪器

低压低氧动物实验舱(型号 DYC-DWI)购于贵州风雷航空军械有限公司;Morris 水迷宫动物行为学分析系统购于中国北京鼎大软件技术有限公司;ANY-maze 动物行为分析系统购于美国 Stoeling 公

司;转棒实验装置(XR-YLS-4C)购于上海欣欣信息科技有限公司;小鼠悬尾与负重游泳实验装置购于深圳瑞沃德生命科技有限公司;开场实验箱、新物体识别箱(60 cm×60 cm×17 cm)小鼠高架十字迷宫装置两个开臂(open arms,30 cm×5 cm)和两个闭臂(closed arms,30 cm×5 cm)、Y 迷宫装置及圆形游泳缸由军事医学研究院仪器厂定制。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组以及模型的建立

将 C57BL/6J 小鼠随机分为 2 组($n = 10$):对照组(Control)、低压低氧组(Hypobaric hypoxia)。低压低氧组小鼠被放置于高原环境模拟舱中,湿度维持在 40%~50%,温度为(23 ± 1)℃,海拔上升速度为 30 m/s,海拔高度上升至 6000 m 以后开始计时,连续暴露 4 周。对照组小鼠放置在同一房间内。

1.3.2 体重测量

实验开始前,其体重记为起始值;实验开始后,每周测量 1 次体重。

1.3.3 开场实验

采用课题组已经建立的实验方法^[13]:将小鼠头朝外从某一固定角落放入开场箱中,开场实验测试时间为 5 min,上面有摄像头并用 Smart 3.0 软件记录小鼠进入中心区的次数、中心区的停留时间及总运动距离,实验结束后及时清理小鼠排泄物,并用 75%乙醇擦拭开场箱,避免气味的干扰。

1.3.4 悬尾实验

采用课题组已经建立的实验方法^[14]:以间隔板分成 25 cm×25 cm×35 cm 小室,小室后侧为白色背景板,小室顶板中绳连一小挂钩,以悬挂小鼠。测试时间持续共 6 min,其中前 2 min 为适应期,记录后 4 min 小鼠的不动时间即可反映小鼠的抑郁状态。判定小鼠不动的标准是动物静止不动、停止挣扎,身体呈垂直倒悬状态。实验后及时清理小鼠排泄物以避免气味干扰。

1.3.5 高架十字迷宫实验

采用课题组已经建立的实验方法^[15],待测小鼠放置于高架十字迷宫开臂与闭臂的交汇处,头部面向闭臂,尽量背向实验员,测试 10 min,上面有摄像头并用 Smart 3.0 软件记录进入开臂及进入闭臂的时间和次数,进入开臂的标准为动物四肢全部进入或者身体 80% 进入开臂内,每结束一只务必清除粪便尿液,并用 75% 乙醇擦拭实验装置,避免气味的干扰。

1.3.6 转棒实验

小鼠提前 3 d 进行 15 r/min 至 30 r/min 的梯度训练,每天训练 20 min,最终目的是通过适应训练,让小鼠能够在测试转速 30 r/min 转棒爬行。正式测试时,调节速度为 30 r/min,测定小鼠第 3 次从转棒仪跌落的时间;若小鼠在 120 min 内未掉落,则记录其在棒时间为 120 min。

1.3.7 负重游泳实验

设定圆形游泳缸(直径 18 cm×高 50 cm)的水深为 30 cm,水温为(21±1)℃。小鼠尾部负重 8% 的铅块后放入游泳缸中,使其自由游泳。小鼠头部没入水中>10 s 且不再浮出水面的时间为小鼠的力竭潜伏期。

1.3.8 Y 迷宫实验

根据参考文献^[16-18]的方法进行改良。实验分为探索期和测试期两个阶段。探索期:将迷宫的一个臂封锁,在另一个臂远离中心的位置放置动物,让小鼠在其它两个臂自由探索 5 min。2 h 后进行正式测试:将封锁的臂打开,在同一位置放置小鼠,使其自由活动 5 min。迷宫上方有摄像机并采用 Smart 3.0 软件同步记录小鼠运动的总路程,进入未开放臂潜伏期,每个臂滞留时间及次数。进入新开放臂的标准为动物四肢全部进入或者身体 80% 进入臂内,可通过总运动距离来排除无意愿运动的小鼠。实验结束后及时清理小鼠排泄物,并用 75% 乙醇擦拭装置,避免气味对小鼠的干扰。

1.3.9 新物体识别实验

采用课题组已建立的实验方法^[19]进行新物体识别实验。箱体为亚克力树脂材料制作的灰白色不透明开场箱,底部划线分割成 16 个等大方格。第 1 天适应期:将小鼠放入新物体识别箱中,使其自由探索 5 min,以适应环境。第 2 天探索期:在箱子中放入 2 个相同的物体,物体距离侧壁 10 cm,将小鼠背朝物体从距物体等距离处放入装箱中,小鼠自由

探索 5 min。第 3 天测试期:将两个相同物体中的一个物体替换成一个新的不同物体,用摄像头及 Smart 3.0 软件记录小鼠在每个物体上的探索时间,记录 5 min 内小鼠分别探索新、旧物体的次数、时间以及运动的距离。实验结束后及时清理小鼠排泄物,并用 75% 乙醇擦拭开场箱,避免气味对小鼠的干扰。认知指数(recognition index, RI)计算公式为:RI=新物体/(新物体+旧物体)×100 %。

1.3.10 Morris 水迷宫实验

依参考文献^[20-21]建立的实验方法并进行改良, Morris 水迷宫实验装置主要是一个直径 120 cm、高 50 cm 的圆形水池,分 4 个象限,目标象限中央放 1 个直径 9 cm、高 27 cm 的圆形隐藏平台,平台位于水下 1 cm,水温(21±1)℃相对四个象限的外周帘子上各贴有一个形状、颜色、大小均不相同的标志,作为小鼠空间记忆的参照物。水池上方有摄像机并采用 ANY-MAZE 软件同步记录小鼠整个实验期间的运动轨迹。

实验分为定位航行和空间搜索两个阶段。定位航行实验:训练小鼠寻找水迷宫中的隐藏平台,训练时间持续 5 d,每天训练 4 次,将动物分别从四个象限放入水中,让动物自由活动寻找平台。若小鼠找到平台:记录时间,让动物在平台停留 10 s,观察周围环境并记忆周围和环境中的参照物;若小鼠未找到平台:动物自由寻找 1 min 后,将小鼠引导至平台所在处,并停留 10 s,让小鼠观察并记忆周围环境。每只小鼠训练间隔 1 h,避免小鼠因疲劳而干扰实验结果。

空间搜索实验:检测小鼠对隐藏平台的记忆能力。训练实验结束后,将平台撤离,选距离平台最远的象限将小鼠背对实验者放入水中,每只小鼠在水中游泳的时间上限 60 s,记录小鼠在 60 s 内首次找到平台所在位置时间、穿越平台所在位置的次数。

1.4 统计学方法

在本实验中所有数据采用 Graph pad Prism 8.0 软件进行分析和做图,数据采用平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,正态分布采用 Shapiro-Wilk 检验,两组比较采用 *t* 检验。在所有分析中 $P < 0.05$ 表明差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 低压低氧暴露引起小鼠体重下降

低氧暴露前小鼠体重均衡,但低氧暴露 1 周后,

与对照组相比,低压低氧组小鼠体重显著降低($P<0.001$)(表 1)。并且,在低压低氧暴露 2~4 周内小鼠体重增长缓慢,与对照组相比均具有显著差异($P<0.001$)(表 1)。以上结果提示模拟海拔 6000 m 的低压低氧暴露会对小鼠体重造成明显变化。

2.2 低压低氧暴露对小鼠自发活动的影响

在开场实验中,两组小鼠活动的总路程没有差异(图 1A),虽然低压低氧组小鼠较对照组小鼠对中心区的探索时间的百分比以及探索次数(图 1B、1C)有增加的趋势,但无统计学意义,该结果表明模拟高原海拔 6000 m 低压低氧暴露 4 周后,小鼠的自发活动未受影响。

2.3 低氧暴露 4 周对小鼠情绪行为的影响

在悬尾实验中,两组小鼠悬尾的挣扎时间(图 2A)和不动时间(图 2B)无显著差异。高架十字迷宫实验结果显示,低压低氧组小鼠较对照组对开臂和开臂探索的总次数(图 2C)以及对开臂探索时间的百分比(图 2D)均显著增加,具有统计学差异,结果提示模拟高原海拔 6000 m 低压低氧暴露 4 周对小鼠的情绪行为无负性影响。

2.4 低压低氧暴露引起小鼠体能耐力下降

在模拟高原海拔 6000 m 低压低氧环境下暴露 4 周后用负重游泳以及转棒实验来检测小鼠的抗疲

劳能力。在负重游泳实验中(图 3A),与对照组相比,低压低氧组小鼠的力竭潜伏期显著降低,从(284.4 ± 71.07)s 降至(157.5 ± 66.42)s,具有统计学意义($P<0.05$)。在转棒实验中(图 3B),低压低氧组小鼠绕棒爬行的时间较对照组小鼠有降低的趋势,但无统计学意义。以上结果表明低压低氧暴露 4 周能够降低小鼠的抗疲劳能力。

2.5 低压低氧暴露对小鼠工作记忆的影响

在模拟高原海拔 6000 m 低压低氧环境下暴露 4 周后用 Y 迷宫实验来检测低压低氧暴露对小鼠工作记忆的影响,在 Y 迷宫实验中,小鼠在新臂停留时间及次数可以用来反映小鼠的工作记忆能力。与对照组相比,低压低氧组小鼠进入新臂的次数的百分比显著降低(图 4A)($P<0.05$);对新臂探索时间的百分比均有减少的趋势,但无统计学意义(图 4B)。小鼠对于新环境探索次数降低,提示低压低氧暴露 4 周对小鼠的工作记忆有一定的影响。

2.6 低压低氧暴露降低小鼠的认知指数

在模拟高原海拔 6000 m 低压低氧环境下暴露 4 周后用新物体识别实验来检测低压低氧暴露对小鼠认知功能的影响,小鼠对新物体探索的相对时间减少,认知功能受损,认知指数降低。与对照组相比,低压低氧组小鼠的认知指数 RI 显著降低(图 5)

表 1 低压低氧暴露对小鼠体重的影响($n=10$)

Table 1 Effect of hypobaric hypoxia exposure on the mice body weight

组别 Groups	低氧前 0 week	低氧 1 周 1 st week	低氧 2 周 2 nd week	低氧 3 周 3 rd week	低氧 4 周 4 th week
对照组 Control	22.66±1.03	23.89±0.72	24.39±1.04	24.85±1.25	25.35±1.33
低压低氧组 Hypobaric hypoxic	22.52±0.90	19.34±0.35***	20.98±0.48***	21.42±0.43***	21.31±0.63***

注:与对照组相比,*** $P<0.001$ 。

Note. Compared with the control group, *** $P<0.001$.

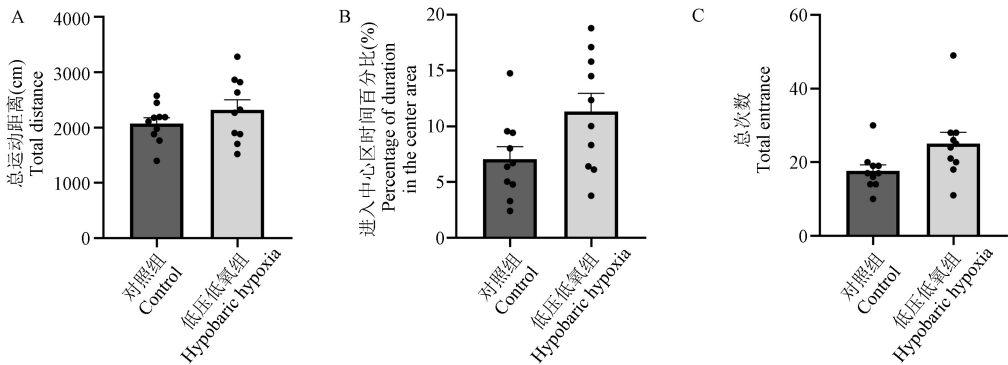
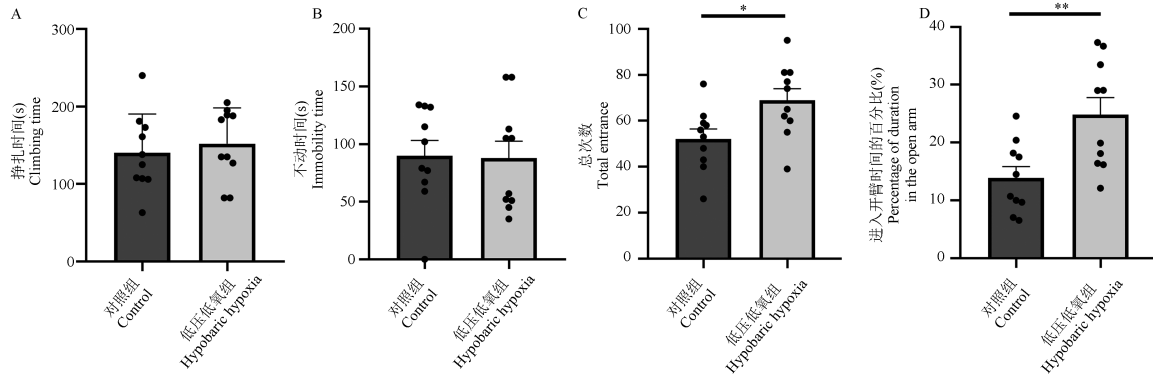


图 1 低压低氧暴露对小鼠开场实验的影响($n=10$)

Figure 1 Effects of hypobaric hypoxia exposure on the open field test in mice

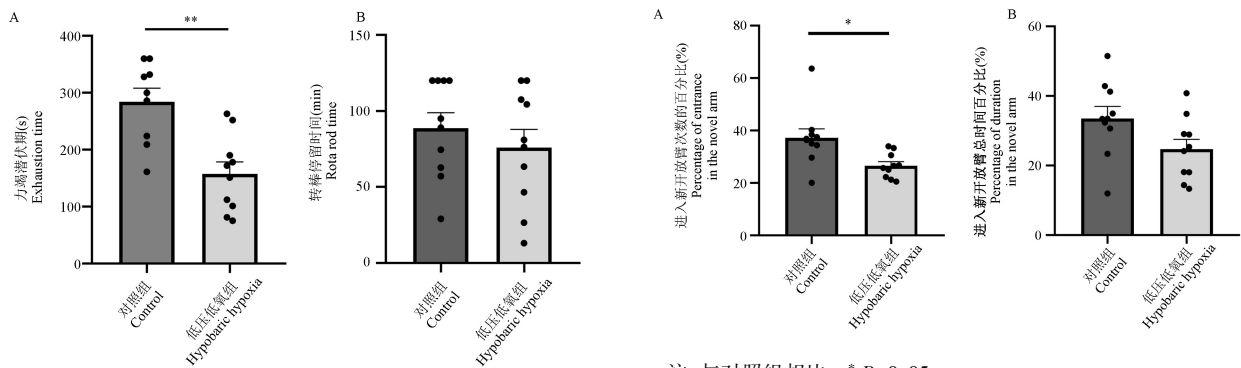


注:与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 2 低压低氧暴露对小鼠悬尾及高架十字迷宫实验的影响 ($n = 10$)

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 2 Effects of hypobaric hypoxia exposure on the tail-suspended test and elevated-plus maze test in mice

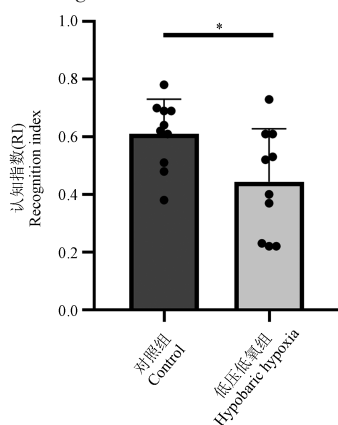


注:与对照组相比, ** $P < 0.01$ 。

图 3 低压低氧暴露对小鼠负重游泳及转棒实验的影响 ($n = 10$)

Note. Compared with the control group, ** $P < 0.01$.

Figure 3 Effects of hypobaric hypoxia exposure on the loaded swimming test and rota-rod test in mice



注:与对照组相比, * $P < 0.05$

图 4 低压低氧暴露对小鼠 Y 迷宫实验的影响 ($n = 10$)

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$

Figure 4 Effects of hypobaric hypoxia exposure on the Y maze test in mice

($P < 0.05$)。该结果表明低压低氧暴露 4 周可引起小鼠对新物体探索时间的减少,认知功能受损。

2.7 低压低氧暴露对小鼠空间学习记忆的影响

在模拟高原海拔 6000 m 低压低氧环境下暴露 4 周后用 Morris 水迷宫实验来衡量实验动物空间学习记忆能力的变化。与对照组相比,低压低氧组小鼠在连续 5 d 的定位航行过程中搜索到平台的潜伏期没有差异,提示小鼠的空间学习能力没有受到影响(图 6A)。在空间搜索测试中,低压低氧组小鼠对原平台的搜索次数(图 6B)和搜索时间(图 6C)并未出现明显的降低,低压低氧暴露对小鼠空间记忆没有影响。同时,两组小鼠游泳总距离也没有差异(图 6D),表明低压低氧暴露 4 周小鼠的运动能力未受影响。

注:与对照组相比, * $P < 0.05$

图 5 低压低氧暴露对小鼠新物体识别实验的影响 ($n = 10$)

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$

Figure 5 Effects of hypobaric hypoxia exposure on the novel object recognition in mice

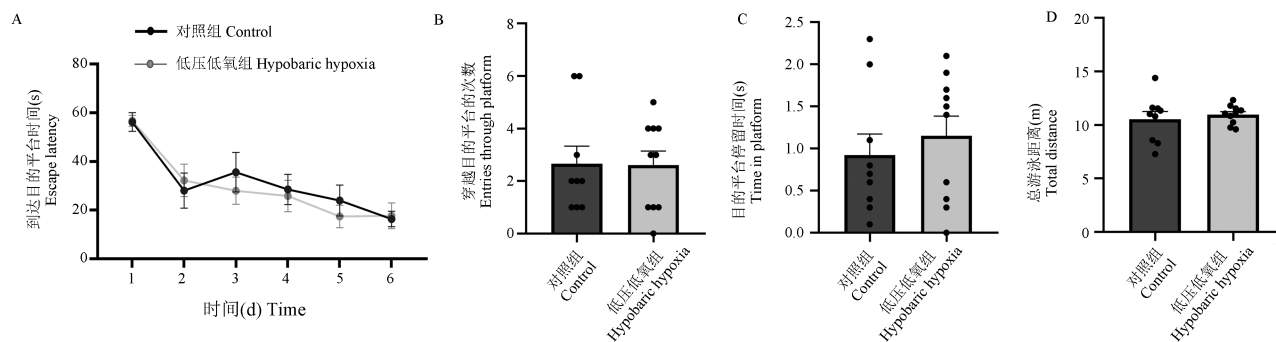
图6 低压低氧暴露对小鼠 Morris 水迷宫实验的影响 ($n=10$)

Figure 6 Effects of hypobaric hypoxia exposure on the Morris water maze test in mice

3 讨论

随着经济建设以及旅游业的发展,越来越多的人旅居高原,长期暴露于高原低氧环境。慢性高原低氧对神经行为学影响的研究已经成为高原医学研究的热点之一。研究表明慢性低压低氧对中枢神经系统产生多方面的影响,包括大脑自我调节障碍所引起病理性改变^[22-23]、氧化应激^[24]和神经炎症的活化^[25],最终导致神经行为的变化^[26]。随海拔高度的升高,机体的认知会出现一系列的变化^[27],例如复杂反应时间延迟、精神运动障碍、学习和空间记忆受损、记忆提取障碍,甚至可能出现幻觉^[10,28]。神经行为学实验结果均已证实慢性低氧暴露可对实验动物的认知功能造成不同程度的影响。

在连续 4 周的低压低氧暴露过程中,小鼠体重呈现出先降低后增加的趋势。小鼠低压低氧暴露 1 周后体重下降最明显,可能是由于缺氧导致小鼠进食明显下降,活动强度降低。但随着暴露时间的延长,小鼠逐渐适应低压低氧环境,活动明显增加,小鼠体重开始稳定增长,小鼠体重增长的过程也反映了小鼠对低氧环境适应的过程,与以前的研究报道一致。前期实验研究结果同样发现 SD 大鼠在模拟海拔 7000 m 环境下在 1~3 d 体重下降明显,第 4 天始体重开始增长,但增长速度与对照组相比较缓慢,3~7 d 后大鼠的活动逐渐增多,饮食饮水增加^[29]。实验动物体重降低与低氧造成的食欲不振等胃肠不良反应有关。但随着暴露时间的延长,小鼠逐渐适应低压低氧环境,实现代谢重塑,小鼠体重开始稳定增长。

关于慢性低压缺氧暴露引起认知障碍的研究,在已有的研究报道中,实验结果存在较大的差异,

同时也有文献报道慢性低氧环境暴露对认知功能的影响与低氧程度^[30]、暴露时间^[31-33]、实验动物的种类等有关。Zhou 等^[8]发现模拟海拔 6000 m 低氧暴露 30 d 小鼠对于新物体探索的时间明显减少,引起认知障碍。有研究发现,模拟海拔 6000 m,慢性低氧暴露 5~7 d 均可引起 SD 大鼠空间学习记忆能力的下降^[34-36]。Hota 等^[37]研究中发现 80 只雄性 SD 大鼠在 7600 m 中分别暴露了 3、7 和 14 d,结果显示大鼠在低压低氧暴露 14 d 后记忆功能下降严重,研究认为低氧暴露造成的记忆障碍及认知障碍可能与暴露时间正相关;而在 Maiti 等^[38]研究海拔 6100 m 低氧暴露 3、7、14 d 后,通过水迷宫实验发现大鼠的空间记忆受损,但在 HH 暴露 21 d 后,随着低氧暴露时间的延长,可能产生环境适应,空间学习记忆能力略有恢复。在本研究中,我们通过 Y 迷宫实验、新物体识别实验和 Morris 水迷宫实验综合评价了慢性低氧暴露(模拟海拔 6000 m)对小鼠认知行为的影响。在 Y 迷宫实验结果中,两组小鼠进入新开放臂次数的百分比有统计学差异;在新物体识别实验中,低压低氧组小鼠的认知指数显著降低,有统计学差异;在 Morris 水迷宫实验慢性低氧未引起明显的小鼠空间学习记忆损伤。由此可以看出 Y 迷宫实验以及新物体识别实验是衡量高原环境下小鼠认知功能变化的较为敏感的行为学方法。

有研究发现焦虑等情绪行为在模拟高原低氧环境引起的运动能力损伤过程中起着重要作用。但是, Townes 等^[39]研究证明高海拔暴露引起的长期持续性损伤提示运动能力的损伤是低氧暴露引起的直接结果,而不是焦虑、疲劳等继发性原因引起的。也有文献报道长期低氧暴露不会对情绪产生影响,在刘鹏飞等^[36]的研究中,模拟海拔 6000 m 在低压低氧环境下暴露 7 d,低氧组大鼠未见明显的焦

虑样行为;在本研究中我们发现低氧暴露 4 周后小鼠未见明显的焦虑样行为。例如在高架十字迷宫实验中,低压低氧组小鼠对开放比探索时间和次数没有显著变化。在开场实验中,低压低氧组小鼠的自发活动有所增加,可能原因为长期慢性低氧暴露 4 周小鼠对低氧环境产生适应,从长期低氧到复氧,反而对小鼠产生刺激,使得小鼠的行为反而表现出更加兴奋活跃,其中体重的变化情况也反映了小鼠对于低氧环境的适应过程。

由于个体认知、情绪的复杂性,尚无一项目行为学测试能充分反映神经功能,由于疾病模型的多样性,实验动物也并非对所有的行为学指标均敏感。本研究在检测慢性低氧暴露对小鼠体能、认知及学习记忆、情绪行为的变化的同时,也对相关的行为学方法进行了比较,旨在筛选出适用于慢性低氧暴露模型敏感的神经行为学评价的敏感指标。已有研究表明,用于评价工作记忆能力时 Morris 水迷宫、Y 迷宫均适用,但相对来说 Y 迷宫应激小。通过对比相关的行为学研究结果发现,新物体识别实验及 Y 迷宫实验相对来说可以做到及时快速的指标检测,更适用于高原低压低氧环境下(6000 m)暴露 4 周后的实验动物。体能相关行为学结果表明,转棒实验相较于负重游泳实验更适用于慢性低氧模型动物。本研究结果不仅可以为实验动物慢性低氧暴露致脑损伤的评估,也为高原环境脑功能的防护研究提供有效的技术支撑。

参考文献:

- [1] 范明, 朱玲玲. 低氧研究受到关注 [J]. 生理学报, 2019, 71(5): 806-808.
- [2] 周朱瑛, 毛孙忠, 龚永生, 等. 慢性低氧环境下大鼠肾组织 Apelin-APJ 系统的变化及意义 [J]. 实验动物与比较医学, 2008, 28(4): 251-254.
- [3] 张舒婷, 姚青青, 李宜珊, 等. 慢性低氧性肺动脉高压大鼠动脉血气分析指标的变化及其意义 [J]. 实验动物与比较医学, 2021, 41(1): 27-32, 54.
- [4] 马崑, 姜涛, 张春, 等. 高原低氧适应动物新疆灰旱獭右心室重构的组织学改变 [J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(2): 45-47.
- [5] 陶文存, 是文辉, 许永华, 等. 模拟高原环境下高原肺水肿大鼠模型的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(1): 76-78, 14.
- [6] 田丽珊, 姚艳冬, 周维, 等. 高原驻防驻训官兵睡眠障碍防治研究进展 [J]. 军事医学, 2020, 44(7): 546-551, 558.
- [7] Zhou Y, Lu H, Liu Y, et al. Cirbp-PSD95 axis protects against hypobaric hypoxia-induced aberrant morphology of hippocampal dendritic spines and cognitive deficits [J]. Mol Brain, 2021, 14(1): 129.
- [8] Zhou Y, Huang X, Zhao T, et al. Hypoxia augments LPS-induced inflammation and triggers high altitude cerebral edema in mice [J]. Brain Behav Immun, 2017, 64: 266-275.
- [9] 张广波, 范明, 朱玲玲. 高原低氧对脑影像结构与脑功能的影响 [J]. 军事医学, 2019, 43(8): 625-629.
- [10] Wilson MH, Newman S, Imray CH. The cerebral effects of ascent to high altitudes [J]. Lancet Neurol, 2009, 8(2): 175-191.
- [11] Ginsberg MD. The validity of rodent brain-ischemia models is self-evident [J]. Arch Neurol, 1996, 53(10): 1065-1067.
- [12] Ji W, Zhang Y, Ge RL, et al. NMDA receptor-mediated excitotoxicity is involved in neuronal apoptosis and cognitive impairment induced by chronic hypobaric hypoxia exposure at high altitude [J]. High Alt Med Biol, 2021, 22(1): 45-57.
- [13] Yao JQ, Liu C, Jin ZL, et al. Serotonergic transmission is required for the anxiolytic-like behavioral effects of YL-IPA08, a selective ligand targeting TSPO [J]. Neuropharmacology, 2020, 178: 108230.
- [14] 李改芬, 赵名, 赵彤, 等. 二甲双胍对慢性应激大鼠抑郁行为的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2019, 35(3): 245-249.
- [15] Sun LJ, Zhang LM, Liu D, et al. The faster-onset antidepressant effects of hypidone hydrochloride (YL-0919) [J]. Metab Brain Dis, 2019, 34(5): 1375-1384.
- [16] Deacon RM, Rawlins JN. T-maze alternation in the rodent [J]. Nat Protoc, 2006, 1(1): 7-12.
- [17] d'Isa R, Comi G, Leocani L. Apparatus design and behavioural testing protocol for the evaluation of spatial working memory in mice through the spontaneous alternation T-maze [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 21177.
- [18] Wu CYC, Lerner FM, Couto E Silva A, et al. Utilizing the modified T-maze to assess functional memory outcomes after cardiac arrest [J]. J Vis Exp, 2018, 131: 56694.
- [19] Shang C, Yao RM, Guo Y, et al. Translocator protein-mediated fast-onset antidepressant-like and memory-enhancing effects in chronically stressed mice [J]. J Psychopharmacol, 2020, 34(4): 441-451.
- [20] Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory [J]. Nat Protoc, 2006, 1(2): 848-858.
- [21] Ghasemi R, Zarifkar A, Rastegar K, et al. Insulin protects against A β -induced spatial memory impairment, hippocampal apoptosis and MAPKs signaling disruption [J]. Neuropharmacology, 2014, 85: 113-120.
- [22] Rupp T, Jubeau M, Lamalle L, et al. Cerebral volumetric changes induced by prolonged hypoxic exposure and whole-body exercise [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2014, 34(11): 1802-1809.
- [23] McGuire SA, Sherman PM, Wijtenburg SA, et al. White matter hyperintensities and hypobaric exposure [J]. Ann Neurol, 2021, 89(1): 10-20.

- 2014, 76(5): 719–726.
- [24] Jayalakshmi K, Singh SB, Kalpana B, et al. N-acetyl cysteine supplementation prevents impairment of spatial working memory functions in rats following exposure to hypobaric hypoxia [J]. *Physiol Behav*, 2007, 92(4): 643–650.
- [25] Song TT, Bi YH, Gao YQ, et al. Systemic pro-inflammatory response facilitates the development of cerebral edema during short hypoxia [J]. *J Neuroinflammation*, 2016, 13(1): 63.
- [26] Guo L, Zhu L. Multiple roles of peripheral immune system in modulating ischemia/hypoxia-induced neuroinflammation [J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 752465.
- [27] Wu XH, Ma JL, Ding D, et al. Experimental animal models of pulmonary hypertension: development and challenges [J]. *Animal Model Exp Med*, 2022, 5(3): 207–216.
- [28] 高晨, 凡春玲, 李玉荣, 等. 模拟高原低氧环境下运动疲劳大鼠脑皮层单羧酸转运蛋白的变化及其意义 [J]. *实验动物与比较医学*, 2022, 42(5): 384–392.
- [29] 冯振龙. 高原低氧环境对于大鼠心肌微小 RNA 和 mRNA 表达谱的影响及心肌损伤干预研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2019.
- [30] 仲晓寒, 高梦雅, 娄淑杰. 不同低氧水平暴露对大鼠空间学习记忆、探究能力的影响 [J]. *神经解剖学杂志*, 2015, 31(3): 265–269.
- [31] 徐彤. 高原低氧致认知功能损伤的益生菌干预及其机制研究 [D]. 北京: 军事科学院, 2020.
- [32] 吉维忠, 张亚清, 格日力. 慢性低压低氧暴露对大鼠学习记忆能力及神经元凋亡水平的影响 [J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2021, 23(3): 301–305.
- [33] 徐彤, 王锋, 张瑜杰, 等. 植物乳杆菌 LP45 对低氧致小鼠认知损伤的保护作用研究 [A]. 营养研究与临床实践——第十四届全国营养科学大会暨第十一届亚太临床营养大会、第二届全球华人营养科学家大会汇编 [C]; 2019.
- [34] Muthuraju S, Maiti P, Solanki P, et al. Cholinesterase inhibitors ameliorate spatial learning deficits in rats following hypobaric hypoxia [J]. *Exp Brain Res*, 2010, 203(3): 583–592.
- [35] 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): 2042–2052.
- [36] 刘鹏飞, 胡艳婷, 姜静雯, 等. 通心络胶囊对大鼠低压低氧暴露后炎症反应和脑组织水肿及认知功能的影响 [J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(6): 69–76.
- [37] Hota SK, Hota KB, Prasad D, et al. Oxidative-stress-induced alterations in Sp factors mediate transcriptional regulation of the NR1 subunit in hippocampus during hypoxia [J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 49(2): 178–191.
- [38] Maiti P, Muthuraju S, Ilavazhagan G, et al. Hypobaric hypoxia induces dendritic plasticity in cortical and hippocampal pyramidal neurons in rat brain [J]. *Behav Brain Res*, 2008, 189(2): 233–243.
- [39] Townes B, Hornbein T, Schoene R. Human cerebral function at high altitude [J]. *Bethesda*, 1983, 10: 1031–1036.

[收稿日期]2022-12-08