

## · 基础研究 ·

# 控制性皮质撞击法制备颅脑创伤后长期认知功能障碍模型的评价

韩梦琪 张皓 张小年 孙新亭

**【摘要】目的** 通过控制性脑皮质撞击法(CCI)制备大鼠颅脑创伤(TBI)后长期认知功能障碍动物模型并探讨其可能病理机制。**方法** 采用随机数字表法将 60 只雄性 SD 大鼠分为假手术组( $n=10$ )、对照组( $n=10$ )及 CCI 组( $n=40$ )。CCI 组大鼠应用控制性皮质撞击法制作双侧额叶打击 TBI 动物模型;假手术组大鼠进行开颅去骨瓣手术,未给予皮质打击;对照组大鼠未给予任何特殊处理。于 CCI 制模 8 周后进行水迷宫测试;于水迷宫测试结束后取各组大鼠脑组织进行尼氏染色及前额叶、海马脑源性神经生长因子(BDNF)、高亲和力受体酪氨酸蛋白激酶 B(TrkB)基因测定。**结果** CCI 组大鼠死亡率为 12.5%,死亡率较低。Morris 水迷宫测试结果可见 CCI 组大鼠逃避潜伏期较对照组及假手术组明显延长( $P<0.05$ ),CCI 组目标象限停留时间占总时间百分比亦显著低于对照组及假手术组( $P<0.05$ )。尼氏染色结果可见对照组及假手术组脑皮质基本正常,而 CCI 组额叶皮质缺损明显,额叶皮质及海马 CA1 区尼氏体数量均显著减少。基因检测结果显示 CCI 组前额叶及海马区 BDNF、TrkB mRNA 表达均较对照组及假手术组明显减弱( $P<0.05$ )。**结论** 应用 CCI 造模法可制作大鼠 TBI 后长期认知功能障碍模型,具有稳定性好、死亡率低、可重复性佳等优点。CCI 造模可损害 TBI 大鼠长期认知功能,且诱发 TBI 大鼠脑组织病理学改变,其作用机制可能与前额叶及海马区 BDNF、TrkB 基因表达变化有关。

**【关键词】** 动物模型; 颅脑创伤; 认知障碍; 脑源性神经生长因子; 高亲和力受体酪氨酸蛋白激酶 B

## Evaluation of long term cognitive disorder after traumatic brain injury models by controlled cortical impact

Han Mengqi\*, Zhang Hao, Zhang Xiaonian, Sun Xinting. \* Department of Rehabilitation Medicine, Beijing Jishuitan Hospital, Beijing 100035, China

Corresponding author: Zhang Hao, Email: zh1665@163.com

**【Abstract】Objective** To evaluate the method of controlled cortical impact(CCI) on long term cognitive disorder after traumatic brain injury(TBI) and to investigate the possible pathological mechanism. **Methods** Sixty male SD rats were randomly assigned into 3 groups: sham surgery group( $n=10$ ), control group( $n=10$ ) and CCI group( $n=40$ ). CCI application was used to make the bilateral frontal lobe controlled cortical impact model (depth: 1.5 mm, velocity = 3.5 m/s, dwell time = 400 ms). Morris water maze test and Nissl's staining was used to assess the cognitive function and pathological changes after 8 weeks of CCI. The expressions of brain derived neurotrophic factor (BDNF) and tyrosine protein kinase B (TrkB) mRNA in frontal lobe and hippocampus tissue was detected by reverse transcription polymerase chain reaction(RT-PCR). **Results** The mortality in CCI group was only 12.5%. Morris water maze test results showed the escape latency in CCI group was longer than that in sham surgery and control groups( $F=51.784, P<0.05$ ). Percent of time spend in goal quarter during probe trial in CCI group was significantly less than that in sham surgery and control groups( $F=13.468, P<0.05$ ). Nissl's staining showed frontal lobe had obviously defects; Nissl's bodies of frontal cortex and CA1 region in hippocampus reduced. The expressions of BDNF and TrkB mRNA in frontal lobe and hippocampus were significantly less than those in sham surgery and control groups( $P<0.05$ ). **Conclusions** The CCI model can be applied for study on long term cognitive disorder after TBI with good stability and repeatability. Using the experimental parameters of CCI can damage the long term cognitive function after TBI in rats, and lead the pathology changes of brain tissue clearly. This may have some relationship with

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2015.01.001

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2012CZ-5)

作者单位:100035 北京,北京积水潭医院物理康复科(韩梦琪);首都医科大学康复医学院中国康复研究中心(张皓、张小年、孙新亭);

通信作者:张皓,Email:zh1665@163.com

the expressions of BDNF and TrkB mRNA.

**【Key words】** Animal model; Traumatic brain injury; Cognitive disorder; Brain derived neurotrophic factor; Tyrosine protein kinase B

颅脑创伤 (traumatic brain injury, TBI) 在全世界范围内属于多发性疾病, 其致死率及致残率均居于创伤首位, 男性患者数量较女性多 23 倍, 患者年龄以 15 ~ 45 岁居多<sup>[1]</sup>。虽然近年来 TBI 总体死亡率有所降低, 但存活患者中多遗留永久残疾<sup>[2]</sup>, 其中认知功能障碍是中重度 TBI 患者最为常见的症状之一, 对 TBI 患者康复疗效及预后均产生不良影响。

由于临床研究的局限性, 动物模型已成为深入研究 TBI 发生及恢复机制的重要工具。目前制备 TBI 动物模型的方法很多, 但没有一种方法能完全复制人类 TBI 的各种损伤类型。控制性脑皮质撞击法 (controlled cortical impact, CCI) 因其精确性、可控性及重复性较好, 已成为当前最常用的 TBI 造模方法之一<sup>[3]</sup>。由于既往 TBI 动物模型研究多关注急性期病理生理变化及神经功能障碍, 缺少对 TBI 恢复期的关注, 而临床上有大量遗留长期神经功能障碍的中、重度 TBI 患者需要康复治疗。基于上述背景, 本研究利用 CCI 方法选择合适的打击部位及打击参数制备长期认知功能障碍大鼠 TBI 模型, 为探讨 TBI 后认知障碍的发病及恢复机制提供参考资料。

## 材料与方法

### 一、实验动物及分组

共选取 3 月龄、体重 (275 ± 25) g 的健康清洁级雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 60 只 (购于中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心)。大鼠饲养条件: 温度 (21 ± 1) °C, 光/暗周期为 12 h/12 h, 光照时间为 7:00 ~ 19:00, 术前、术后均每日给予充足水分及食物, 术前禁食 8 h。采用随机数字表法将上述大鼠分为假手术组 (10 只)、对照组 (10 只) 及 CCI 组 (40 只)。

### 二、主要实验设备

主要实验设备包括 eCCI-6.3 型打击装置 (美国 New York University)、XR-XM101 型 Morris 水迷宫 (上海欣软信息科技有限公司)、动物行为学分析系统 (美国 Stoelting 公司)、BioMate 核酸分析仪 (美国 Thermo Fisher 公司)、DYY-7C 型核酸水平电泳仪 (北京六一仪器厂)、DYY-III 蛋白垂直电泳仪 (北京六一仪器厂)、RT-PCR 逆转录试剂盒和扩增试剂盒 (美国 Invitrogen 公司)、上下游引物 (北京雷根生物技术有限公司)、TL988-II 型荧光定量 PCR 仪及检测系统 (西安天隆公司) 等。

### 三、TBI 模型建立

参照 Dixon 等<sup>[4]</sup> 描述的程序采用 eCCI-6.3 型打

击装置进行造模, 实验大鼠经 10% 水合氯醛腹腔麻醉后固定于 Kopf 立体定向装置上, 整个手术过程大鼠均保持麻醉状态, 大鼠经消毒剃毛后沿头部正中线做一 3 cm 长切口, 固定双侧头皮, 剥离骨膜, 暴露双侧额叶骨质, 在前囟门及人字缝之间距中线 3 mm 区域进行去骨瓣手术, 术中注意不要损伤硬脑膜, 且骨瓣直径需大于打击器头部直径 (5 mm) 以保证打击脑组织时不会触碰周边骨组织。打击前将打击器头部垂直接触大鼠暴露的皮质表面, 设置打击参数如下: 打击速度为 3.5 m/s, 打击深度为 1.5 mm, 打击停留时间为 400 ms<sup>[5]</sup>; 对照组大鼠未给予任何特殊处理; 假手术组大鼠进行开颅去骨瓣手术操作, 不给予皮质打击<sup>[6]</sup>。整个手术过程持续 15 ~ 20 min, 手术过程中注意保持大鼠体温恒定, 术后把大鼠放置在温暖的毛毯上 1 h, 然后再放回各自笼内。

### 四、水迷宫测试

各组大鼠均于 CCI 制模 8 周后进行标准化水迷宫测试, 测试时水迷宫水温控制在 (28 ± 1) °C, 水中加入黑色素使水质浑浊<sup>[7]</sup>。定位航行实验: 将平台置于水迷宫任意一个象限中央并低于水面 2 cm, 将大鼠头朝池壁随机放入除平台象限以外的其他三个象限之一, 如果大鼠入水超过 60 s 仍找不到隐藏平台, 则由实验者将其引导至平台上并停留 10 s。每只大鼠每天训练 4 次, 每次训练结束后间隔 15 ~ 20 min 进行下一次训练, 连续训练 3 d, 大鼠从入水到找到平台所需时间记录为逃避潜伏期<sup>[8]</sup>。空间探索实验: 待 3 d 定位航行实验结束后次日, 将大鼠置入原先平台对侧象限水中, 记录大鼠 60 s 内在原先平台放置象限游泳时间占总时间的百分比。

### 五、尼氏染色

各组经水迷宫行为学测试结束后分别取一半大鼠采用多聚甲醛溶液灌注并取脑, 随后将脑组织置于含 30% 蔗糖溶液中脱水沉降, 然后进行冰冻切片处理 (片厚 10 μm)。应用焦油固紫 (美国 Sigma 公司) 进行工作液配液, 并按无水乙醇 (无水乙醚: 氯仿为 1:1) 比例进行特殊分色液配液; 切片经染色 30 min 后采用蒸馏水洗涤, 随后经 95% 酒精洗去背景色、100% 酒精脱水、二甲苯透明 5 min、中性树胶封片后置于镜下观察。

### 六、实时定量荧光 PCR 检测

各组剩余大鼠经水迷宫行为学测试结束后次日断头取脑, 于低温环境下快速提取脑组织, 并在冰面上分离海马、基底前脑及前额叶脑组织, 随后置于液氮中冻

存;提取总 RNA,采用核酸定量仪对每份 RNA 标本 (2  $\mu$ l) 进行浓度测定,经逆转录反应获得 cDNA 后,参考 NCBI 中 SD 大鼠脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、高亲和力受体酪氨酸蛋白激酶 B (tyrosine protein kinase B, TrkB) 基因序列,通过比对选出保守序列进行 Real-time PCR 引物设计,内参采用 SD 大鼠 GAPDH 基因, GAPDH 上游引物序列为 5'-gctggcattgctctcaatg-3', 下游引物序列为 5'-cctctctctgctctcag-3', BDNF 上游引物序列为 5'-ctgcgccatgaagaag-3', 下游引物序列为 5'-attcctccagcagaaaga-3', TrkB 上游引物序列为 5'-acggagtaccacggctg-3', 下游引物序列为 5'-gcaatcaccaccacggca-3', 利用 Taq 酶的核酸外切酶活性进行扩增。具体反应条件如下: 95  $^{\circ}$ C 反应 2 min, 94  $^{\circ}$ C 反应 30 s, 54  $^{\circ}$ C 反应 30 s, 72  $^{\circ}$ C 反应 30 s, 于 72  $^{\circ}$ C 处读取荧光值,共进行 45 个循环。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  值法计算 Ct 值的相对比值;选用 TL988 型 PCR 仪软件采集数据并用其自带软件进行数据分析。

### 七、统计学分析

本研究所得数据以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,采用 SPSS 16.0 版统计学软件包进行数据分析,各时间点水迷宫测试潜伏期结果进行重复测量方差分析,相同时间点各组间比较采用单因素方差分析,空间探索实验结果比较采用单因素方差分析,组间比较采用最小显著差异法 (least-significant difference, LSD) 检验;实验大鼠各部位 BDNF、TrkB mRNA 比较采用秩和检验,当差异有统计学意义时,将结果排秩次后采用参数检验中的方差分析法进行比较,组间比较采用 LSD 检验,  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、实验大鼠一般情况分析

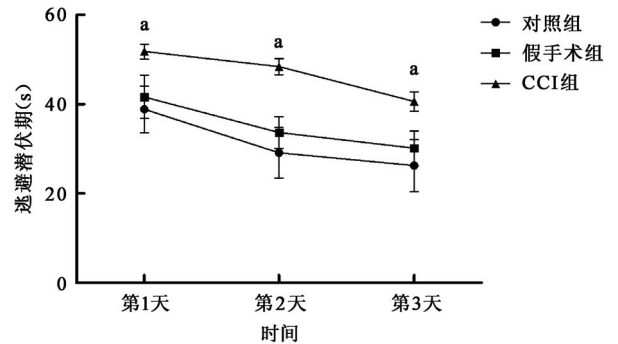
在 8 周饲养过程中,对照组及假手术组各死亡 1 只大鼠,其死亡率均为 10.0%, CCI 组共死亡 5 只大鼠,其死亡率为 12.5%。死亡大鼠实验数据不纳入最终统计分析。经造模处理后 CCI 组大鼠蜷缩为团状,立位欠稳,刺激反应减弱;制模后 1~3 d 食欲较制模前减少,反应变迟钝,体重相对减轻。假手术组及对照组大鼠身体状态良好,饮食、反射及运动功能均正常。

### 二、制模后各组大鼠水迷宫测试结果比较

CCI 制模 8 周后各组大鼠水迷宫逃避潜伏期变化情况详见图 1,图中数据经统计学比较,发现各组大鼠水迷宫逃避潜伏期在 CCI 制模 8 周后均有显著变化,并以 CCI 组大鼠逃避潜伏期较对照组及假手术组明显延长 ( $F = 51.784, P < 0.05$ )。

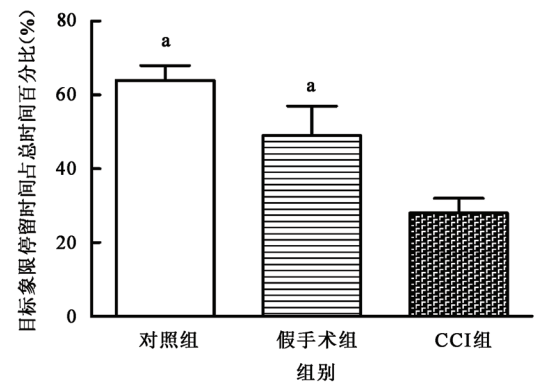
CCI 制模 8 周后各组大鼠水迷宫目标象限停留时间占总时间百分比结果详见图 2,图中数据经统计学

比较,发现制模 8 周后 3 组大鼠目标象限停留时间占总时间百分比组间差异具有统计学意义 ( $F = 13.468, P < 0.05$ ),以 CCI 组大鼠目标象限停留时间占总时间百分比显著低于对照组及假手术组。



注:同一天 3 组大鼠逃避潜伏期组间比较,  $^a P < 0.05$

图 1 CCI 制模 8 周后各组大鼠水迷宫逃避潜伏期变化情况分析



注:与 CCI 组比较,  $^a P < 0.05$

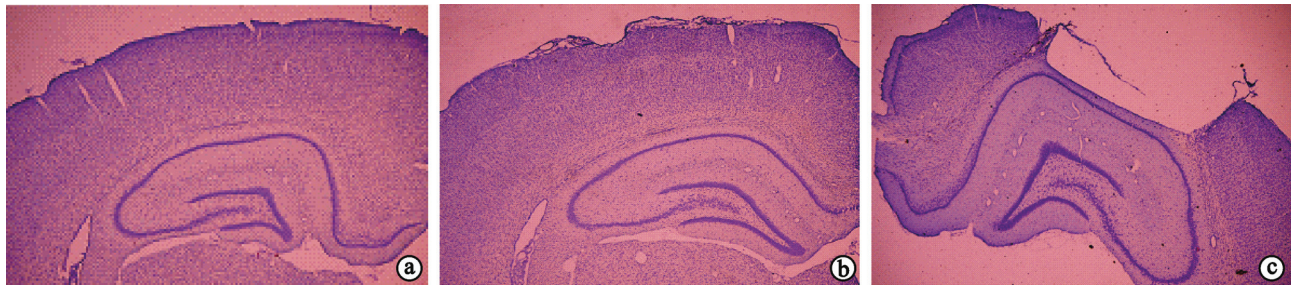
图 2 CCI 制模 8 周后各组大鼠目标象限停留时间占总时间百分比分析

### 三、制模后各组大鼠脑组织病理形态学改变

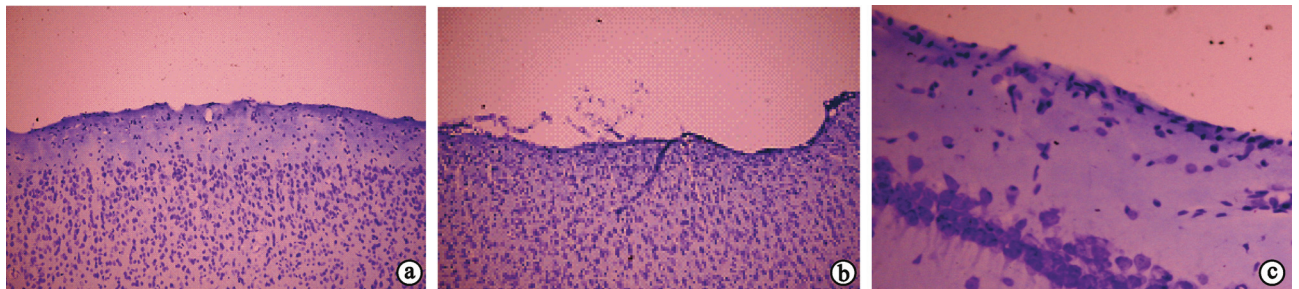
通过观察各组大鼠脑组织尼氏染色发现,对照组大鼠脑组织完整,皮质连续性良好;假手术组大鼠脑皮质略有损伤;CCI 组大鼠额叶皮质缺损明显,皮质连续性遭到显著破坏。对照组及假手术组额叶皮质及海马 CA1 区神经元呈三角形或锥体形,胞核呈圆形或椭圆形,尼氏体清晰可辨,形态较大且数量较多,胞核、核仁清晰,锥体形神经元细胞可见突起,神经胶质细胞核深染、胞浆少;CCI 组额叶皮质组织受累,尼氏体数量明显减少,海马 CA1 区染色可见尼氏体数量减少,胞核、核仁模糊,轴突、树突辨认不清。具体情况见图 3~5。

### 五、制模后各组大鼠前额叶、海马组织 BDNF、TrkB 基因表达结果分析

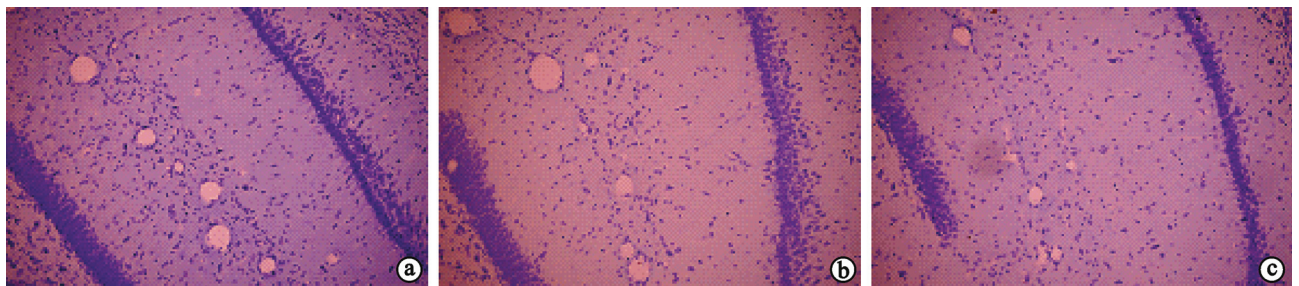
通过实时荧光 PCR 检测发现,制模 8 周后 CCI 组大鼠前额叶及海马区 BDNF、TrkB mRNA 表达均较对照组及假手术组明显减弱,组间差异均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。具体数据见图 6。



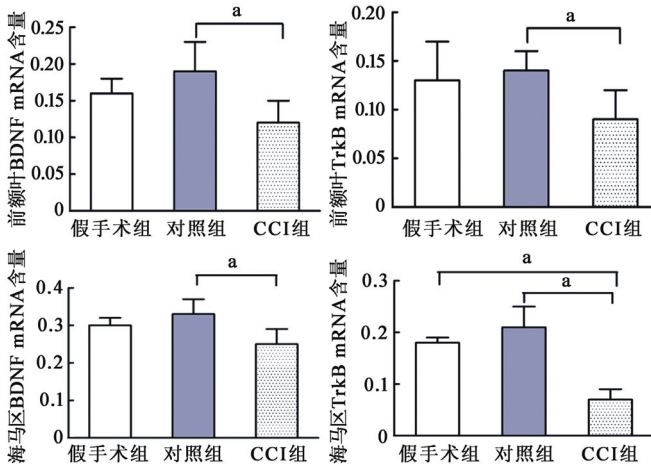
注:a 为对照组, b 为假手术组, c 为 CCI 组  
 图 3 CCI 制模 8 周后各组大鼠大体尼氏染色结果比较(尼氏染色, ×4)



注:a 为对照组, b 为假手术组, c 为 CCI 组  
 图 4 CCI 制模 8 周后各组大鼠额叶皮质尼氏染色结果比较(尼氏染色, ×20)



注:a 为对照组, b 为假手术组, c 为 CCI 组  
 图 5 CCI 制模 8 周后各组大鼠海马 CA1 区尼氏染色结果比较(尼氏染色, ×20)



注:<sup>a</sup> $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义  
 图 6 制模 8 周后各组大鼠前额叶、海马区 BDNF、TrkB mRNA 表达结果比较

## 讨 论

### 一、TBI 造模方法、打击参数及打击部位的选择

目前 TBI 的造模方法有自由落体、液体冲压、旋转加速法及控制性皮质撞击法等,各种方法均有利弊,如自由落体 TBI 造模有动物死亡率高、脑局部受压时间及受力大小不一致等缺点<sup>[9]</sup>;旋转加速 TBI 造模有施加外力与实际致伤机制及方式存在差异等不足<sup>[4]</sup>。CCI 模型被描述为较为精确的 TBI 模型,是通过压缩气击器产生高速运动的空气冲击硬脑膜及其下脑组织制作 TBI 模型<sup>[10]</sup>,此模型可精确控制脑打击动力学参数,包括打击速度、停留时间、打击深度及打击部位等,可复制不同程度脑损伤,受个体差异因素影响较小,如根据打击深度不同,可分为轻、中及重度损伤(其打击深度多设定为 1.0 mm、1.5 mm 及 2.0 mm)。有学者通过实验证实,当打击深度为 1.5 mm 时即可造成明显脑皮质丧失<sup>[5]</sup>,且预实验显示该打击深度实验动物存活

率较高。基于上述背景,故本研究采用文献[11]介绍的打击参数(停留时间为 400 ms,打击速度为 3.5 m/s,打击深度为 1.5 mm)制作 TBI 模型。目前已确定与认知功能相关的脑区有海马、纹状体、基底前脑及新皮质结构等部位,新皮质特定区域损伤会影响水迷宫行为学表现,前额叶皮质损伤会出现认知功能缺陷,而顶叶损伤则不会<sup>[12]</sup>,故本研究选取 SD 大鼠双侧额叶皮质进行打击。

## 二、大鼠认知功能测定方法的选择

Morris 水迷宫实验主要考察实验动物寻找水池中隐藏平台来进行自救的行为学能力,从而测定实验动物记忆功能,最初用于研究脑内结构对学习及记忆的调节作用,后来逐步发展成为目前在神经行为学及神经药理学中评价动物空间学习与记忆功能的最常用方法。Crabbe 等<sup>[13]</sup>比较了水迷宫实验各项指标,认为逃避潜伏期是最少受外界环境影响的指标,并且不受动物年龄、品系等因素影响,故本研究选择逃避潜伏期作为最主要评价大鼠空间学习能力的指标;而空间探索实验中目标象限停留时间是测试空间记忆能力的重要指标,有大量研究证实其敏感性及准确性均较高<sup>[14]</sup>,故本研究也对制模前、后大鼠目标象限停留时间进行了观察分析。

## 三、本研究造模方法的评价分析

对本研究结果分析后发现,各组大鼠在制模 8 周后其 Morris 水迷宫实验逃避潜伏期及目标象限停留时间占总时间百分比均有显著变化,并且 CCI 组逃避潜伏期较对照组及假手术组明显延长,并且该组大鼠目标象限停留时间占总时间百分比亦显著减少,证实在合适打击参数前提下,通过 CCI 法进行双侧前额叶打击可造成大鼠长期空间学习及记忆能力受损。另外本研究中实验大鼠在制模 8 周时的死亡率仅为 12.5%,同时均无明显意识障碍和运动功能障碍,可完成水迷宫测试,并且可重复性较好,进一步证明 CCI 模型是较理想的长期认知功能障碍动物模型。需要指出的是,本研究造模方法也存在一些缺点及不足,如需要去除大鼠部分颅骨再进行打击,操作上较复杂,而且大鼠在制模后的认知障碍恢复情况也需要长期跟踪观察。

## 四、造成长期认知功能障碍的病理机制分析

目前认为,脑损伤急性期神经递质变化对认知的影响作用可能是暂时的,而恢复期持续认知障碍则可能与脑组织永久性损伤以及长期脑内神经递质系统功能变化密切相关。尼氏体(Nissl body)是胞质内的一种嗜碱性物质,广泛见于各种神经元,通过尼氏染色观察尼氏体有助于了解神经元损伤情况。本研究结果显示,CCI 组大鼠脑组织病理变化严重程度明显超过对照组及假手术组,与该组大鼠空间学习及记忆能力落

后相吻合。有学者<sup>[15]</sup>研究指出,TBI 后认知障碍发病机制可能与脑内出现的炎症反应、乙酰胆碱、氨基酸、五羟色胺、BDNF 等神经递质含量变化有关。有学者制作 TBI 模型并对皮质持续炎性改变观察 3 个月后发现,TBI 会造成长时间皮质下神经元变性及其持续性炎症反应<sup>[16]</sup>。上述结果证实前额叶 CCI 制模操作能造成实验大鼠长期认知功能损害,其病理机制可能与神经元损伤及持续性炎症反应有关。

BDNF 是一种脑保护因子,通过与 TrkB 受体结合,导致该受体自身磷酸化及相关信号转导通路激活,进而易化与学习、记忆相关的神经递质合成及释放,从而对学习、记忆起促进作用,通过调控 BDNF 基因表达可促进蛋白表达及功能<sup>[17]</sup>。有研究报道,成年实验大鼠经 TBI 制模后,其 BDNF mRNA 表达下调与其认知功能障碍具有相关性<sup>[18]</sup>。本研究结果显示,CCI 组大鼠前额叶及海马区 BDNF、TrkB mRNA 表达均显著少于对照组及假手术组水平,提示 TBI 后认知功能障碍与前额叶及海马具有密切联系。许多研究表明 TBI 可造成机体海马神经元损伤,并证实海马神经元在空间记忆获取、储存中发挥重要作用,如 Redish 等<sup>[19]</sup>认为海马在空间探索实验中起定位作用,并且认为机体认知功能依赖于海马的长时程效应。需要指出的是,由于前额叶为打击部位,不能完全排除打击后即刻及长期均有炎症因子释放,会对 BDNF 及 TrkB 表达产生影响,需进一步深入研究以明确其作用机制<sup>[20]</sup>。

## 结 语

本研究采用 CCI 造模方法对实验大鼠进行双侧前额叶打击,能成功制备 TBI 后长期认知功能障碍大鼠模型,且具有存活率高、可重复性好等优点;TBI 后认知功能障碍可能与相关脑组织神经元损伤以及 BDNF、TrkB 基因表达变化有关。

## 参 考 文 献

- [1] 刘波,刘诗翔. 中国人脑外伤的流行病学研究现状[J]. 神经病学与神经康复学杂志, 2005, 3:179-181.
- [2] 张小年,张皓. 创伤性颅脑损伤国内研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2008, 2:101-104.
- [3] Povlishock JT, Hayes RL, Michel ME, et al. Workshop on animal models of traumatic brain injury[J]. J Neurotrauma, 1994, 11:723-732.
- [4] Dixon CE, Clifton GL, Lighthall JW, et al. A controlled cortical impact model of traumatic brain injury in the rat[J]. J Neurosci Methods, 1991, 39:253-262.
- [5] Guseva MV, Hopkins DM, Scheff SW, et al. Dietary choline supplementation improves behavioral, histological, and neurochemical outcomes in a rat model of traumatic brain injury[J]. J Neurotrauma, 2008, 25:975-983.
- [6] Cole JT, Yarnell A, Kean WS, et al. Craniotomy: true sham for traumatic

- brain injury, or a sham of a sham[J]. J Neurotrauma, 2011, 28: 359-369.
- [7] D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory[J]. Brain Res Brain Res Rev, 2001, 36: 60-90.
- [8] Kwak MJ, Park HJ, Nam MH, et al. Comparative study of the effects of different growth hormone doses on growth and spatial performance of hypophysectomized rats[J]. J Korean Med Sci, 2009, 24: 729-736.
- [9] 王帅, 王东岩, 曹东辉, 等. 大鼠自由落体脑外伤模型的应用及其针刺治疗的研究进展[J]. 中医药信息, 2008, 2: 49-51.
- [10] Lighthall JW. Controlled cortical impact: a new experimental brain injury model[J]. J Neurotrauma, 1988, 5: 1-15.
- [11] Ommaya AK. Head injury mechanisms and the concept of preventive management: a review and critical synthesis[J]. J Neurotrauma, 1995, 12: 527-546.
- [12] Granon S, Poucet B. Medial prefrontal lesions in the rat and spatial navigation: evidence for impaired planning[J]. Behav Neurosci, 1995, 109: 474-484.
- [13] Crabbe JC, Wahlsten D, Dudek BC. Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment[J]. Science, 1999, 284: 1670-1672.
- [14] D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory[J]. Brain Res Brain Res Rev, 2001, 36: 60-90.
- [15] Truchot L, Costes SN, Zimmer L, et al. Up-regulation of hippocampal serotonin metabolism in mild cognitive impairment[J]. Neurology, 2007, 69: 1012-1017.
- [16] Holmin S, Mathiesen T. Long-term intracerebral inflammatory response after experimental focal brain injury in rat[J]. Neuroreport, 1999, 10: 1889-1891.
- [17] Eastwood SL, Cairns NJ, Harrison PJ. Synaptophysin gene expression in schizophrenia. Investigation of synaptic pathology in the cerebral cortex[J]. Br J Psychiatry, 2000, 176: 236-242.
- [18] Schober ME, Block B, Requena DF, et al. Developmental traumatic brain injury decreased brain derived neurotrophic factor expression late after injury[J]. Metab Brain Dis, 2012, 27: 167-173.
- [19] Redish AD, Touretzky DS. The role of the hippocampus in solving the Morris water maze[J]. Neural Comput, 1998, 10: 73-111.
- [20] Paoletti P, Neyton J. NMDA receptor subunits: function and pharmacology[J]. Curr Opin Pharmacol, 2007, 7: 39-47.

(修回日期: 2014-09-20)

(本文编辑: 易浩)

· 特稿 ·

## 沉痛悼念王培生教授

《中华物理医学与康复杂志》第 4 届、第 5 届编辑委员会委员王培生教授因病医治无效, 于 2014 年 12 月 30 日 22 时逝世, 享年 84 岁。

王培生教授于 1930 年 10 月出生于湖北黄冈, 1949 年 7 月参加革命工作, 1953 年 1 月加入中国共产党。50 年代起, 在湖北医学院第一医院工作, 为医院乃至湖北省的医学学科建设, 发挥了重要、积极作用。1981 年进入华中科技大学同济医学院附属梨园医院工作, 1996 年 1 月离休。曾任湖北医学院附属第一医院医政科科长、华中科技大学同济医学院附属梨园医院副院长、梨园医院老年康复中心主任、湖北省医学会物理医学与康复专业委员会主任委员、湖北省康复医学会副会长。在担任《中华物理医学与康复杂志》编辑委员会委员期间, 为杂志的发展尽心尽力, 做出了卓越贡献。

王培生教授热爱中国共产党, 热爱祖国, 热爱医疗事业。在担任梨园医院副院长期间, 积极开展各项工作, 注重调查研究。他于 1981 年创建了湖北省梨园医院理疗科, 于 1988 年牵头成立了湖北省梨园医院老年康复中心, 并以身作则, 带领大家奋力拼搏, 精益求精, 在短时间内使得理疗科和老年康复中心当时的规模和技术水平达到省内领先地位。他一生致力于康复医学研究, 即便是在离休后, 仍不顾高龄, 继续参与与康复有关的各项学术活动, 倾心培养学科晚辈。特别是在为《中华物理医学与康复杂志》审稿中, 表现出了老一辈康复专家的高风亮节和一丝不苟、不懈追求的严谨学风, 认真对待每一篇稿件, 既实事求是、坚持科学、严把学术质量关, 又不辞辛劳、认真细致、不遗余力地帮助作者和提携学科新人, 深受编辑部编辑和作者们的欢迎与尊敬。

王培生教授一生兢兢业业、勤勤恳恳, 他的离去, 使我们失去了一位深受爱戴的好师长。虽然他离开了我们, 但他所树立的榜样作用将永存于我们的心中, 并将激励我们化悲痛为力量, 勤勉工作, 无私奉献, 为发展我国康复医学事业, 造福于广大患者做出应有的贡献。

王培生教授永垂不朽!

《中华物理医学与康复杂志》编辑委员会  
《中华物理医学与康复杂志》编辑部