

中华医学会航海医学分会高气压临床医学专业委员会  
中国潜水打捞行业协会潜水职业健康专业委员会  
全军医学会航海医学专业学会高压氧医学专业委员会

潜水和高压医学 2016 年度学术研讨会

征稿通知

---

为促进学术交流，推动高压医学实践和安全保障在特殊环境领域的应用和发展，中华医学会航海医学分会高气压临床医学专业委员会、中国潜水打捞行业协会潜水职业健康专业委员会、中国人民解放军医学会航海医学专业学会高压氧医学专业委员会拟于2016年夏联合召开年度学术研讨会。具体内容如下：

**一、组织机构** 主办：中华医学会航海医学分会、中国潜水打捞行业协会、中国人民解放军医学会航海医学专业学会；承办：第二军医大学海军医学系

**二、时间地点** 初定于2016年8月11~12日于江西省南昌市召开；确切时间和具体地址待第二轮通知确定。

**三、参会代表** 本次会议将邀请本领域的著名专家与会交流；欢迎潜水和高压医学领域的教学、科研、医疗、实践保障、管理人员以及运动潜水研究和技术人员参会交流。三个专委会的委员务请参会。

**四、征稿范围**

1. 高压（包括高压氧）治疗潜水、航海、航空、高原、极地等特殊环境导致的疾病；
2. 高压（包括高压氧）医学临床实践和实验室研究新技术、新方法；
3. 水下和高压环境作业生命保障系统研究与应用；
4. 水下作业安全与医学保障技术、制度和管理规范研究与应用；
5. 潜水和高压作业相关人员医学保障技术培训要求及规范研究；
6. 高压（包括高压氧）医学和生理学的基础研究；
7. 高压（包括高压氧）治疗临床适应症的基础与实践应用；
8. 水下和高压领域的其它相关内容。

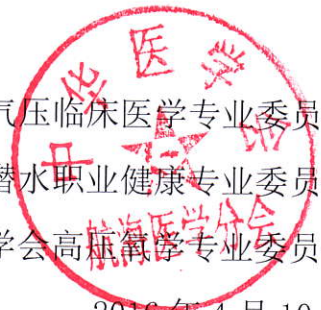
**五、征文要求**

1. 文字简洁，数据准确，重点突出，观点鲜明。
2. 论文全文不超过 5000 字，附 300 字左右的中文摘要；综述、病例报告、短篇报导等可不需摘要。请用 MS word 编辑，格式模板请见附件。
3. 稿件以电子邮件附件方式发送至 [hypermed@163.com](mailto:hypermed@163.com)，注明“2016 会议投稿”。除在稿件中按规定写明作者及单位信息外，请在邮件中附上下面表格中要求的信息。
4. 征文截止日期：2016 年 7 月 25 日。无征文者也欢迎参加会议。

### 六、联系信息

张尉老师：办电 021-81871145（地方）、0531-871145（军线），手机 13564234575；

地址：上海市翔殷路 800 号第二军医大学海军医学系，邮编：200433。



中华医学会航海医学分会高压临床医学专业委员会  
中国潜水打捞行业协会潜水职业健康专业委员会  
中国人民解放军医学分会航海医学专业学会高压医学专业委员会  
2016 年 4 月 10 日

### 回 执

姓名		性别		职称/职务	
单位					
通讯地址				邮编	
电子邮箱				手机	
固话			传真		
论文题目					

（说明：本轮通知主要通过电子邮件方式发送，若需要纸质通知，请联系张尉老师）

格式模板一：

· 实验研究 ·

## Signaling pathways in hyperbaric oxygen-induced HSP32 expression in primary cultured rat spinal neurons

Guoyang Huang, Wei Zhang, Kun Zhang, Hongjie Yi, Xuhua Yu, Chunhua Ji, Long Qing, and  
Weigang Xu\*

\*Corresponding author: [wg\\_hsu@163.com](mailto:wg_hsu@163.com)

**Abstract Introduction/Background:** Our previous study found that HBO preconditioning significantly protected the primary cultured rat spinal neurons via HSP32 against oxidative insult and oxygen glucose deprivation, which are two pivotal mechanisms involved in the physiopathology of decompression sickness spinal cord injury. In this study, the molecular mechanisms were further investigated. **Materials and Methods:** After HBO exposure, the production or expression of ROS, NO and the related key signaling molecules were determined by fluorescent probe, protein microarray and western blotting in primary cultured spinal neurons. The participation and sequence of ROS, NO and activated signaling molecules in the signaling cascade from HBO to HSP32 were evaluated using specific inhibitors or gene knockdown. **Results:** A single exposure of HBO (280 kPa, 60 min) significantly increased levels of intracellular ROS and NO and activated ERK1/2, p38MAPK, CREB and Nrf2. The expression of HSP32 by HBO was significantly reversed by pretreatment with ROS scavenger NAC, p38MAPK inhibitor SB203580 or Nrf2 knockdown, enhanced by ERK1/2 inhibitor U0126. Pretreatment with NAC significantly inhibited the activation of ERK1/2, p38 MAPK, and Nrf2. SB203580 inhibited the activation of Nrf2. **Conclusion:** HBO induces HSP32 expression through the ROS/p38MAPK/Nrf2 pathway in primary cultured rat spinal neurons, and ERK1/2 pathway may contribute to a negative regulating mechanism. Further investigation is in progress.

**Keyword** hyperbaric oxygen, spinal cord injury, heat shock protein 32, reactive oxygen species.

### Introduction

Spinal cord injury (SCI) is an unpredictable and disastrous disease, which maybe a complication of surgical operations on the spinal column or thoracoabdominal aorta, or result from decompression sickness (DCS) associated with sport or commercial diving (19,26). Many therapies have been suggested to protect against SCI, including hypothermia, anti-excitotoxic agent, calcium channel blockers, N-methyl-D-aspartate receptor antagonists, and cerebrospinal fluid drainage, but the improvement in outcome is marginal (27). Novel effective therapies are in desperate needed to prevent SCI.

The pathological sequence of SCI is mainly mediated by edema, inflammation, excitotoxicity, ischemia-reperfusion injury, and oxidative cell damage (9,18). Concerning the inadequacy blood supply and high content of lipid in spinal cord, which is damaged easily by free radicals, ischemia-reperfusion injury and oxidative stress are two critical mechanisms of SCI (9,27). Our

previous work found that hyperbaric oxygen preconditioning (HBO) significantly protected the primary cultured rat spinal neurons from oxidative insult and oxygen glucose deprivation (a cell model of ischemia-reperfusion injury) via up-regulating the heat shock protein (HSP) 32 expression (6).

.....

## Materials and Methods

### Materials

.....

### Animals

.....

### Cell culture

.....

### Hyperbaric oxygen preconditioning

.....

### Bio-Plexphosphoprotein Detection

.....

### Measurement of intracellular ROS and NO generation

.....

### Nrf2 and CREB knockdown by shRNAinfection

.....

### Western blot

.....

### Statistical analysis

The results are presented as mean±standard deviation (SD). Statistical analysis was performed with SPSS software (version 16.0), using one-way ANOVA followed by LSD.  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

## Results

### HBO increased intracellular ROS and NO levels

In this study, we firstly observed the effects of HBO on intracellular ROS and nitric oxide (NO) levels, immediately after HBO exposure, using 2,7-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA,.....

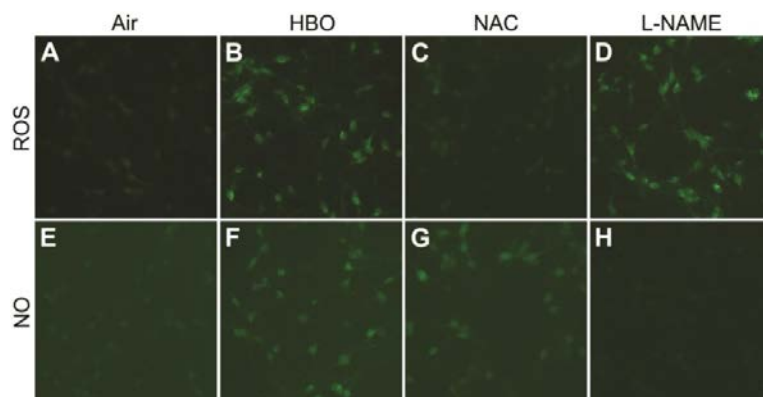


Figure1.Effects of HBO on intracellular ROS and NO levels in spinal neurons.

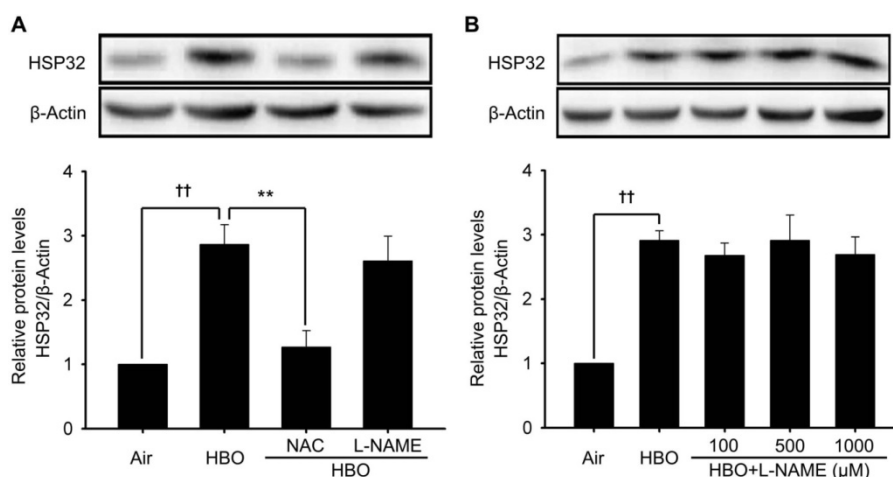


Figure 2. Effects of ROS or NO inhibiting on HBO induced HSP32 expression. Significance compared with Air group, †† $p < 0.01$ ; significance compared with HBO group, \*\* $p < 0.01$ .

### ROS is responsible for HBO mediated HSP32 induction.

后面结果略

### Discussion

Our previous study indicated that HBO may be an effective prevention measure against SCI. In this study, we further investigated the mechanism of HBO mediated induction of HSP32 in spinal neuron. The results showed that the induction of HSP32 by HBO is through the p38 MAPK/Nrf2 signaling pathway and is dependent on the production of ROS.

.....

### Acknowledgments

This work was supported by the Chinese National Natural Science Foundation No. 81171873.

### Reference

1. Baranano DE, Wolosker H, Bae BI, Barrow RK, Snyder SH, Ferris CD. A mammalian iron ATPase induced by iron. *J Biol Chem* 275: 15166-73, 2000.
2. Ding Z, Tong WC, Lu XX, Peng HP. Hyperbaric oxygen therapy in acute ischemic stroke: a review. *Interv Neurol* 2: 201-11, 2014.
3. Elbirt KK, Whitmarsh AJ, Davis RJ, Bonkovsky HL. Mechanism of sodium arsenite-mediated induction of heme oxygenase-1 in hepatoma cells. Role of mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem* 273: 8922-31, 1998.
4. He X, Xu X, Fan M, Chen X, Sun X, Luo G, Chen L, Mu Q, Feng Y, Mao Q, Chao Z. Preconditioning with hyperbaric oxygen induces tolerance against renal ischemia-reperfusion injury via increased expression of heme oxygenase-1. *J Surg Res* 170: e271-7, 2011.
5. Hsieh HL, Wang HH, Wu CY, Yang CM. Reactive Oxygen Species-Dependent c-Fos/Activator Protein 1 Induction Upregulates Heme Oxygenase-1 Expression by Bradykinin in Brain Astrocytes. *Antioxid Redox Signal* 13: 1829-44, 2010.

.....

## 格式模板二：

· 实验研究 ·

### 高压氧治疗在急性一氧化碳中毒后大鼠皮层不同细胞中的功能研究

薛莉, 王文岚, 李娅, 谢小萍, 暴军香, 常耀明, 李金声

第四军医大学航空航天医学系, 陕西西安, 710032

**【摘要】目的：**通过研究高压氧（HBO）治疗急性 CO 中毒大鼠皮层不同细胞构筑在神经细胞凋亡中的差别，探讨 HBO 治疗急性 CO 中毒的机理及靶向定位。**方法：**利用雄性 SD 大鼠，建立急性 CO 中毒模型。应用免疫组织化学以及免疫荧光的方法，测定在 CO 中毒和 HBO 治疗 1d、3d、7d、14d 和 21d 后 caspase-3、NeuN 和 MMP-9 的表达变化。**结果：**急性 CO 中毒后，皮层神经细胞凋亡随中毒后时间延长而加重；不同细胞构筑发生凋亡程度不同，内颗粒层和内锥体细胞层最明显；caspase-3 与 MMP-9 在内颗粒层与内锥体细胞层变化最明显，在 1d 开始增多，3d 达到最大值，7d 开始减少；HBO 治疗后，MMP-9 和 caspase-3 降低，尤其以内颗粒层与内锥体细胞层最明显；且 HBO 治疗 7d 后，降低最明显。**结论：**急性 CO 中毒后，皮层各层神经细胞均发生凋亡现象，内颗粒层和内锥体细胞层最明显；凋亡可能与 MMP-9 降解神经细胞周围的基质，caspase-3 促进凋亡有关；HBO 治疗可能是通过调控复杂的蛋白表达机制，调节 MMP-9 以及 caspase-3 的表达水平，最终抑制神经细胞的凋亡；HBO 治疗 7d 对凋亡的作用最明显。

**【关键词】**高压氧治疗；急性一氧化碳中毒；基质金属蛋白酶-9；神经细胞凋亡

### Neuronal apoptosis analyzing on cortex different cell architectural of acute CO poisoned rat and HBO therapy

XUE Li, WANG Wen-lan, LI Ya, REN Jie, LI Jin-sheng, CHANG Yao-ming, XIE Xiao-ping  
Department of Aerospace Medicine, the Fourth Military University, Xi'an, Shaanxi, 710032

**AbstractObjective:**To investigate the effects and mechanism on neuronal apoptosis of cortex different cell architectural after acute carbon monoxide (CO) poisoning and hyperbaric oxygen (HBO) therapy. **Methods:**The animal model of acute CO poisoning was established. Then the SD rats were treated with hyperbaric oxygen therapy. Immunohistochemistry and immunofluorescence were used to determine the expression level of caspase-3, NeuN and MMP-9 at 1d, 3d, 7d, 14d and 21d. **Results:**Different cell of rat cortex involved in neuronal apoptosis after acute CO poisoning and HBO therapy; the internal-granular layer and internal-pyramidal layer of cortex most sensitivity in apoptosis after acute CO poisoning. Caspase-3 and MMP-9 regulates neuronal apoptosis: it began to increase at 1d, reached the maximum at 3d, started to decrease at 7d; for the CO poisoning rats treated with HBO therapy, MMP-9 and caspase-3 in cortex were obviously decreased, especially in internal-granular layer and internal-pyramidal layer. On 7 day, the inhibitory effect of HBO therapy is the most obvious. **Conclusions:**Neuronal apoptosis of cortex depend on different cell architectural, internal-granular layer and internal-pyramidal layer

are most sensitive in the 6 layers. MMP-9 expression may responsible on the apoptosis and may related with matrix degradation. Also, the expression of caspase-3 and MMP-9 may related with the function of neurons. HBO therapy may control the expression of apoptosis related proteins and reduce the expression of MMP-9 and caspase-3, then inhibit neuronal apoptosis.

**Keywords** HBO therapy, Carbon monoxide poisoning, MMP-9, Neuronal apoptosis

急性一氧化碳中毒 (Acute Carbon monoxide poisoning, CO poisoning) 后迟发型脑病 (Delayed encephalopathy, DNS) 的发生率为 30% 左右, 其临床表现主要为严重的精神异常、锥体外系功能障碍、性格改变和记忆力障碍, 有时亦可出现痴呆、癫痫、帕金森综合征和失明等<sup>[1-2]</sup>。急性 CO 中毒后基质金属蛋白酶 (Matrix Metalloproteinases, MMPs) 的表达增高, 加重脑损伤, MMPs 通过对 ECM 成分的降解, 破坏细胞-基质间相互作用, 诱导神经细胞死亡, 以及髓鞘脱失, 白质损伤<sup>[3-4]</sup>。Caspase-3 (cysteiny l aspartate specific proteinase-3, 含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3) 与真核细胞凋亡密切相关, 并参与细胞的生长、分化与凋亡调节<sup>[5]</sup>; caspase-3 的级联放大反应能够诱导细胞凋亡的发生, 是细胞凋亡的标记基因<sup>[4]</sup>。高压氧 (Hyperbaric oxygen therapy, HBO) 是急性 CO 中毒和 DNS 治疗的主要措施, 能够减轻脑损伤, 降低 DNS 的发生率<sup>[1,6]</sup>。在我们初步的研究中发现, 在急性 CO 中毒后, 大鼠大脑皮层和海马区的神经细胞都发生了凋亡现象。大鼠大脑皮层不同细胞构筑将皮层分为了 6 个层次, 从外向里依次是分子层、外颗粒细胞层、外锥体细胞层、内颗粒细胞层、内锥体细胞层以及多形细胞层<sup>[7-8]</sup>, 我们推测不同的细胞构筑在大脑急性 CO 中毒和高压氧治疗后可能有不同的分工。因此我们研究了皮层不同层次在迟发型脑病以及高压氧治疗过程中凋亡程度的差别, 为迟发型脑病的靶向治疗提供研究基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物和分组 成年健康雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 90 只, 由第四军医大学实验动物中心提供, 清洁级, 体质量 (190±10) g, 合格证编号为 SCXK (军) 2002005。实验期间动物自由进食进水。预饲养 7d 后, 随机分为三组: 正常对照组 (Normal control, NC 组, 未进行任何处理), 急性 CO 中毒组 (Carbon monoxide poisoning, CO 组, 分为 1d、3d、7d、14d、21d 组) 和染毒后 HBO 治疗 (Hyperbaric oxygen therapy, HBO 组, 分为 1d、3d、7d、14d、21d 组); 每组每个时间点 6 只动物。

1.1.2 实验仪器和试剂 上海 DWC450-1150 型动物实验舱; Olympus BX51 双目显微镜; 莱卡 CM1900 冰冻切片机; 兔抗大鼠 NeuN 多克隆抗体 (Millipore, ABN78); 小鼠抗 MMP-9 单克隆抗体 (Millipore, IM37); 小鼠抗 caspase-3 多克隆抗体 (abcam, AB47131), 生物素化羊抗兔 IgG; 生物素化羊抗鼠 IgG; SABC 免疫组化染色试剂盒。

### 1.2 方法

1.2.1 急性一氧化碳中毒模型 建立急性 CO 中毒模型 (参照 Stephen<sup>[9]</sup> 的方法)。将清醒大鼠置于动物实验高压氧舱内 (每次 6 只), 加入 1000 ppm CO 浓度下染毒 40 min, 追加

2000 ppm CO 后继续染毒 20 min (染毒过程中随时观察), 20 min 后开舱, 通空气。染毒组于染毒后 1d、3d、7d、14d、21d 分别取材。

1.2.2 高压氧治疗方案 参照任杰等<sup>[10]</sup>的方法对急性 CO 中毒的大鼠进行 HBO 治疗, 每天治疗 1 次, 分别治疗 1d、3d、7d、14d、21d。治疗过程: 20 min 内表压升至 0.15 MPa, 稳压吸氧 1 h, 20 min 内减至常压后大鼠出舱。治疗结束后取材。

1.2.3 标本制作和切片 对各组大鼠进行麻醉, 腹腔注射戊巴比妥钠 (20 g/L, 60 mg/kg 体重质量)。暴露胸腔, 用生理盐水 (9 g/L, 200 mL) 经左心室灌注冲洗 10 min, 再用多聚甲醛 (4 %, 300mL) 缓慢灌注 30 min, 剥离取脑。将取出的脑组织浸入多聚甲醛 (4 %) 中固定 4-6 h。固定好的材料转入 30 %蔗糖溶液中脱水。冰冻切片, 片厚 10  $\mu$ m, -20 $^{\circ}$ C 保存。

1.2.4 HE 染色 石蜡切片脱蜡至水洗, 其具体步骤为: 二甲苯 I 10 min, 二甲苯 II 10 min, 纯酒精 1 min, 80 %酒精 1 min, 70 %酒精 1 min, 自来水洗 5 min。而后常规 H-E 染色, 具体步骤为: 苏木精 3 min, 自来水洗 1 min, 盐酸酒精分化 20 s, 自来水洗 5 min, 蒸馏水洗 1 min, 伊红 2 min, 自来水洗 3 min, 85 %酒精 30 s, 90 %酒精 30 s, 95 %酒精 I 1 min, 95 %酒精 II 1 min, 纯酒精 I 2 min, 纯酒精 II 2 min, 二甲苯 I 2 min, 二甲苯 II 2 min, 二甲苯 III 2 min, 中性树脂封片。

1.2.5 免疫组织化学染色 检测 1d、3d、7d、14d、21d MMP-9、caspase-3 的表达变化。免疫组化步骤包括: PBS 漂洗; 封闭; 加入适当稀释的一抗 (MMP-9 抗体稀释为 1:500, caspase-3 抗体稀释为 1:6000); 4 $^{\circ}$ C 冰箱孵育过夜; 加生物素化二抗和 ABC 复合物孵育; DAB 加硫酸镍铵显色。

1.2.6 免疫荧光双标染色 检测 1d、3d、7d、14d、21d 时间组中 MMP-9 与 NeuN 在海马的表达变化和定位。步骤包括: PBS 漂洗; 封闭; 同时加入两种适当稀释的一抗 (MMP-9 抗体稀释为 1: 500, NeuN 抗体稀释为 1:1000)。

1.2.7 统计学分析 免疫组化染色对每个部位选 6 个高倍视野计数其阳性细胞 (包括 MMP-9, caspase-3 染色的阳性细胞)。采用 SPSS17.0 软件包进行统计学处理, 计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 皮层各层神经细胞损伤程度观察

HE 染色后可以看出: 神经细胞从外向内各层形态不同, 但正常组神经细胞均呈圆形或椭圆形, 核膜完整, 核仁清晰可见, 细胞核呈淡蓝色, 细胞层厚度正常, 细胞排列紧密, 形态正常。染毒 (CO 中毒) 组, 神经细胞凋亡情况在 7d 非常严重, 出现大量变性、坏死的神经元, 主要表现为神经元胞体皱缩, 细胞周围出现空隙, 胞浆呈强烈嗜伊红, 核仁深染偏位, 甚至发生核固缩, 胞质与胞核凝结在一起, 界限不清, 出现红色细胞或黑色细胞。高压氧治疗 (HBO) 组, 随治疗时间延长, 治疗效果越好, 在 7d 恢复明显。这说明 CO 中毒能够造成神经细胞凋亡, HBO 对 CO 中毒所致的神经细胞凋亡有治疗效果。见图 1。



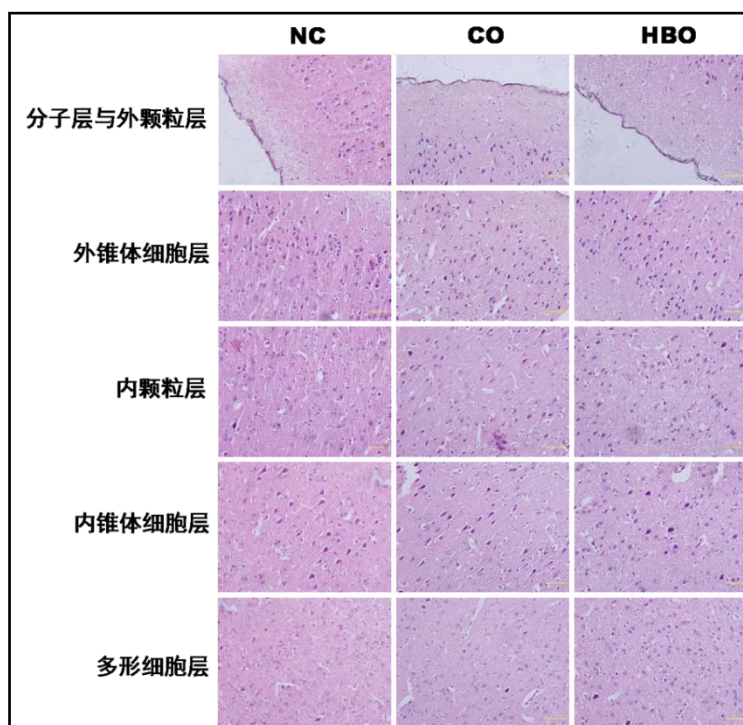


图 1 大鼠急性 CO 中毒和 HBO 治疗 7 天后皮质不同分层 HE 染色(400×)

Fig1. H-E staining in 7day group of different stratification of rat cortex after acute CO poisoning and HBO therapy(400×)

## 2.2 MMP-9 在急性 CO 中毒及 HBO 治疗后皮质各层的定位及表达变化检测

用免疫组化染色观察发现,在正常的大鼠皮质从外向里的六层中, MMP-9 表达量都非常小,能够被染色的细胞数目非常少。

在 CO 中毒组,从 1d 就能够看出,在外锥体细胞层和内锥体细胞层部位, MMP-9 表达增高明显,可以被染色的细胞比正常对照组多;皮质各层 MMP-9 的表达均随着中毒时间延长而增多,表达 MMP-9 的细胞数目也增多;中毒 7d 后,表达的 MMP-9 增高明显,与正常组差异显著。

在 HBO 治疗组,治疗效果随着治疗次数的增多,效果明显更好;治疗 7d 后, MMP-9 表达被抑制明显,治疗效果最明显,能够染色的细胞与中毒组差异明显,与正常组差异不明显(图 2)。

后面结果略

## 3 讨论

根据细胞构筑的不同,大鼠大脑皮质从外向内可以分成六层,分别是分子层、外颗粒细胞层、外锥体细胞层、内颗粒细胞层、内锥体细胞层以及多形细胞层<sup>[1]</sup>。分子层细胞小而少,主要是水平细胞和星形细胞组成;外颗粒层包含许多星形细胞和少量小锥体细胞;外锥体细胞层由许多中、小型锥体细胞和星形细胞组成;内颗粒层的细胞密集,多是星形细胞;内锥体细胞层由大、中型锥体细胞组成;多形细胞层由梭形细胞为主,还有锥体细胞和颗粒

细胞<sup>[12]</sup>。

细胞外基质(extracellular matrix, ECM)由胶原, 非胶原糖蛋白(如纤粘连蛋白、层粘连蛋白), 氨基聚糖与蛋白聚糖, 弹性蛋白等成分组成<sup>[13]</sup>。纤粘连蛋白与其它 ECM (如胶原、蛋白聚糖) 结合, 使细胞外基质形成网络; 有些能与细胞表面的受体结合, 使细胞附着于 ECM 上。层粘连蛋白与IV型胶原一起构成基膜, 分子中至少存在 8 个与细胞结合的位点, 可与神经细胞结合, 并促进神经生长。正常真核细胞, 除成熟血细胞外, 大多须粘附于特定的细胞外基质上才能抑制凋亡而存活, 称为定着依赖性 (anchorage dependence) <sup>[14]</sup>。因此, ECM 成分能够保持中枢神经系统结构的完整性。已有研究表明, ECM 参与细胞增殖、分化和迁移等过程, 处于产生和降解的动态平衡。ECM 在脑创伤的急性期被破坏, 在恢复期重塑<sup>[15-16]</sup>。

.....

#### 参考文献

1. Thom SR, Taber RL, Mendiguren, et al. Delayed neuropsychologic sequelae after carbon monoxide poisoning: prevention by treatment with hyperbaric oxygen [J]. *Ann Emerg Med* 1995, 25(4):474-80.
2. Cho CH, Chiu NC, Ho CS, et al. Carbon monoxide poisoning in children [J]. *Pediatr Neonatol* 2008, 49(4):121-5.
3. Piantadosi CA, Zhang J, Levin ED, et al. Apoptosis and delayed neuronal damage after carbon monoxide poisoning in the rat [J]. *Exp Neurol* 1997, 147(1):103-14.
4. Brvar M, Luzar B, FINDERLE Z, et al. The time-dependent protective effect of hyperbaric oxygen on neuronal cell apoptosis in carbon monoxide poisoning [J]. *Inhal Toxicol* 2010, 22(12):1026-31.
5. Li Y, Zhou C, Calvert JW, et al. Multiple effects of hyperbaric oxygen on the expression of HIF-1 alpha and apoptotic genes in a global ischemia-hypotension rat model [J]. *Exp Neurol* 2005, 191(1):198-210.
6. Kudo K, Otsuka K, Yagi J, et al. Predictors for delayed encephalopathy following acute carbon monoxide poisoning [J]. *BMC Emerg Med* 2014, 14:3.
7. Uhlig M, Lupp H. [Histochemical and biochemical investigations of the hippocampus and neocortex of the Wistar rat. I. Carboxylic ester hydrolases, transmitter enzymes and transmitters of the normal animal (author's transl)] [J]. *Acta Histochem* 1980, 66(1):1-27.
8. Kurotani T, Miyashita T, Wintzer M, et al. Pyramidal neurons in the superficial layers of rat retrosplenial cortex exhibit a late-spiking firing property [J]. *Brain Struct Funct* 2013, 218(1):239-54.
9. Thom SR, Bhopale VM, Fisher D, et al. Delayed neuropathology after carbon monoxide poisoning is immune-mediated [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004, 101(37):13660-5.
10. 任杰, 常耀明, 李金声, 等. 高压氧促进大鼠弥漫性轴突损伤后学习记忆功能恢复的实验研究[J]. *第四军医大学学报* 2002, 12(23):1145-49.
11. Roychowdhury S, Zwierzchowski AN, Garcia-Oscos F, et al. Layer- and area-specificity of the adrenergic modulation of synaptic transmission in the rat neocortex [J]. *Neurochem Res* 2014, 39(12):2377-84.
12. Dykes RW, Lamour Y. An electrophysiological study of single somatosensory neurons in rat granular cortex serving the limbs: a laminar analysis [J]. *J Neurophysiol* 1988, 60(2):703-24.

.....