

高压氧对两种实验性脑出血大鼠模型出血灶周围水肿及水通道蛋白-4表达的影响

房金勇¹ 李红玲^{1,4} 纪庆红² 陈玉燕³

摘要

目的:探讨高压氧(HBO)对两种实验性脑出血大鼠模型水肿周围水肿及水通道蛋白-4(AQP-4)表达的影响。

方法:将126只健康雄性SD大鼠随机分为5组:①假手术组6只(SHG);②自体血诱导脑出血(A-ICH)对照一组30只;③胶原酶诱导脑出血(C-ICH)对照二组30只;④A-ICH模型加高压氧治疗(A-ICH+HBO)实验一组30只;⑤C-ICH模型加高压氧治疗(C-ICH+HBO)实验二组30只,后4组又随机分为术后24h、48h、72h、5d、7d五个时间点组,每组6只大鼠。高压氧治疗自术后24h开始,1次/d。于相应时间点将大鼠处死,进行脑水肿和AQP-4的测定。

结果:A-ICH模型成功率为65%,C-ICH模型成功率为75%。两对照组和两实验组大鼠脑组织含水量各时间点均高于假手术组,(A-ICH+HBO)经高压氧治疗后各时间点(24h、48h、72h、5d、7d)含水量均低于(A-ICH组),差异除24h组外均有显著性意义($P<0.05$)。(C-ICH+HBO)经高压氧治疗后仅在ICH后48h和5d两个时间点与C-ICH对照组差异有显著性意义($P<0.05$)。A-ICH+HBO和C-ICH+HBO组相比,前者水肿改善更早、更明显,尤其在72h时,差异显著($P<0.05$)。脑出血后大鼠脑组织中AQP-4在各组均有表达,假手术组呈低表达状态,A-ICH和C-ICH两个对照组在脑出血后24h开始升高,48h达到高峰,72h后开始逐渐降低,7d时表达水平同假手术相近,但仍高于假手术组,A-ICH组与C-ICH组相比AQP-4表达更显著,但除72h组外其他时间点两组间无显著性差异($P>0.05$)。(A-ICH+HBO)组各个时间点脑出血周围AQP-4的表达与A-ICH比较显著降低,差异具有显著性意义($P<0.05$)。但(C-ICH+HBO)组AQP-4低表达仅在48h和72h与C-ICH组有差异($P<0.05$)。A-ICH+HBO组与C-ICH+HBO组相比AQP-4改善的较早、且明显,尤其在48h和72h差异显著($P<0.05$)。

结论:HBO通过下调AQP-4的表达可有效减轻脑水肿。比较两种ICH模型发现,A-ICH模型在高压氧治疗中的敏感性更高,更适合高压氧在治疗脑出血水肿方面的研究。

关键词 高压氧;脑出血;脑水肿;水通道蛋白-4

中图分类号:R459.6 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2012)-11-987-06

Effects of hyperbaric oxygen on brain edema and expression of aquaporin-4 surrounding brain tissue of hemorrhagic focus following experimental intracerebral hemorrhage in two kinds of rat models/FANG Jin-yong, LI Hongling, JI Qinghong, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2012, 27(11): 987-992

Abstract

Objective:To study the effects of hyperbaric oxygen (HBO) on brain edema and expression of aquaporin-4 (AQP-4) surrounding brain tissue of hemorrhagic focus following experimental intracerebral hemorrhage(ICH) in two kinds of rat models.

Method:A total of 126 rats were randomly divided into five groups: sham-operated group(SHG, 6 rats); control-1 group (autologous blood induced intracerebral hemorrhage model, A-ICH, 30 rats), control-2 group (collagenase-induced intracerebral hemorrhage model, C-ICH, 30 rats), trial-1 group (A-ICH+HBO, 30 rats), trial-2 group (C-ICH+HBO, 30 rats). HBO therapy was intervened at 24h after operation, once a day. All rats were sacrificed at 24h, 48h,

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2012.11.001

1 河北医科大学第二医院,石家庄,050000; 2 河北省儿童医院; 3 河北医科大学研究生学院学生; 4 通讯作者

作者简介:房金勇,男,住院医师; 收稿日期:2012-03-10

72h, 5d,7d post operation(each time point 6 rats). Brain edema and expression of AQP-4 were tested.

Result:The success rates of A-ICH model and C-ICH model were 65% and 75% respectively. Brain edema content of A-ICH, C-ICH, A-ICH+HBO and C-ICH+HBO groups were significant higher than that of SHG group($P<0.05$).The cerebral edema of A-ICH+HBO and C-ICH+HBO groups alleviated obviously compared with A-ICH and C-ICH groups, and the difference was significant respectively at 48h,72h,5d,7d and 48h,5d post operation($P<0.05$). The brain edema of A-ICH+HBO group alleviated more early and obviously than that of C-ICH+HBO group, especially at 72h post operation($P<0.05$).The expression of AQP-4 appeared in all rats brain tissue,but expression of AQP-4 in SHG group was lower.That of A-ICH and C-ICH groups started rising at 24h post operation,the peak appeared at 48h,then dropped at 72h,but there were still significant different compared with SHG group at 7d post operation($P<0.05$).The difference between A-ICH group and C-ICH group was significant at 72h post operation($P<0.05$),and the difference between A-ICH+HBO group and A-ICH group was significant at all time points post operation($P<0.05$). but the difference between C-ICH+HBO group and C-ICH group was significant only at 48h and 72h post operation($P<0.05$). Compared with C-ICH +HBO group, expression of AQP-4 in A-ICH+HBO group was more obvious and early,especially at 48h and 72h post operation($P<0.05$).

Conclusion:HBO might play neuroprotection role by relieving brain edema and down-regulating AQP-4 expression. A-ICH model was more fit for brain edema study of ICH rat.

Author's address Department of Rehabilitation, The Second Hospital of the Hebei Medical University, Shijiazhuang, 050000

Key word hyperbaric oxygen; intracerebral hemorrhage; brain edema; aquaporin-4

脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)是指非外伤性脑实质出血,致死率及致残率较高,是一种严重危害人民健康的疾病。脑出血后继发的脑水肿是脑出血患者急性期病情恶化和死亡的主要原因之一。高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)疗法是指机体处于高压的环境中,呼吸与环境等压的高压纯氧或高压混合氧($97\%O_2 + >3\%CO_2$)从而达到治疗各种疾病的目的^[1]。临床上应用HBO治疗缺血缺氧性脑病已经得到认同^[2],但在治疗脑出血方面仍存有不同见解。新近研究发现HBO可以显著的减轻脑出血患者脑水肿的程度和范围,连续HBO治疗可有效减轻迟发性脑水肿,从而有利于患者神经功能的恢复^[3],但其具体机制尚未明确。本研究就高压氧对两种实验性脑出血大鼠血肿周围水肿及水通道蛋白(aquaporin, AQP-4)表达情况进行观察,以探讨高压氧治疗脑出血的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂:Ⅶ型胶原酶(美国Sigma公司),兔抗大鼠多克隆AQP-4抗体(美国Santa Cruze 公司),大鼠SP试剂盒(北京中杉生物工程有限公司),DAB试

剂盒(河北博海生物工程有限公司),其他试剂来自北京化工厂和天津化学试剂厂。

1.1.2 主要仪器:医用单体婴幼儿氧舱YL0.5/1.2型(武汉船舶设计研究所),BX41显微照相仪(日本OLYMPUS公司),医用光学显微镜(日本OLYMPUS公司),立体定向仪(美国STOELTING公司),石蜡切片机(德国Leica公司),HM-200电子天平(日本三洋公司),100 μ l微量注射器(北京博奥森试剂有限公司),SZ双重纯水整流器(上海亚荣生化),WH-43电热恒温干燥箱(天津泰斯特仪器公司)。

1.1.3 实验动物选择:健康成年雄性SD大鼠126只,体重350—380g,由河北医科大学动物实验中心提供,清洁级别,在恒温20—25℃环境中,分笼饲养于河北医科大学第二医院动物实验中心,以标准饲料喂养并饮用自来水。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组:将126只健康雄性SD大鼠随机分为5组:①假手术组6只(SHG);②自体血诱导脑出血(autologous blood induced intracerebral hemorrhage, A-ICH)对照一组30只;③胶原酶诱导脑出血(collagenase induced intracerebral hemorrhage, C-ICH)对照二组30只;④(A-ICH+HBO)实

验一组 30 只;⑤(C-ICH+HBO)实验二组 30 只,后 4 组又随机分为术后 24h、48h、72h、5d、7d 五个时间点组,每组 6 只大鼠。

1.2.2 动物模型的建立方法:①A-ICH 模型:参照张祥建^[4]等的方法,将大鼠用水合氯醛麻醉后,固定在立体定向仪上,暴露前卤,在前卤前 0.5mm,中线右侧旁开 3mm 钻一小孔,用微量注射器取动脉血 50 μ l,插入钻好的小孔内,进针深度 5.8mm(尾状核位置),注射时间 10min,留针 5min,之后用骨蜡密封进针孔,缝合皮肤后消毒。②C-ICH 模型:方法同自体血注入模型,但注入脑内的是胶原酶(浓度为 0.2U/ μ l 生理盐水)2.5 μ l。③假手术组模型:方法同自体血注入模型,但注入脑内的只是生理盐水 50 μ l。

1.2.3 高压氧处理:采用单体婴幼儿高压氧舱对实验组大鼠(术后 24h)进行高压氧暴露,加压时间为 15min,治疗压力为 0.10MPa,容器内氧浓度控制在 90%以上,持续吸氧 60min,减压时间为 25min,每日一次,治疗次数依实验时间点而定,舱内温度控制在 24℃左右。对照组不做高压氧治疗。

1.2.4 神经功能评定:术后 24h 对各组大鼠应用改良的 Longa 分级法^[5]进行行为学评分:0 分,无神经缺陷症状;1 分,不能伸展手术对侧前肢;2 分,手术对侧前肢屈曲;3 分,轻度向手术对侧转圈;4 分,严重向手术对侧转圈;5 分,向手术对侧跌倒。得分 1 分以上为实验模型成功。

1.2.5 脑组织含水量测定:采用干湿重法测定脑出血灶周围脑组织含水量:去除额极后,取病变侧 2mm 厚脑组织测定其含水量。①将脑组织放入事先称重的锡纸(A)中,然后立即称重,将其重量用(B)表示,B-A 即是脑组织湿重;②将脑组织用锡纸包裹,放入烤箱内 100℃烘干 24h 后取出,恢复到室温称重(C),用 C-A 即是其干重。③将数据代入公式:脑组织含水量=(脑组织湿重-脑组织干重)/湿重 $\times$ 100% 用字母表示为:(B-C)/(B-A) $\times$ 100%。

1.2.6 脑组织标本处理:将实验所用动物按照不同的处死时间,用水合氯醛麻醉后,取各组大鼠脑组织,用 4%的多聚甲醛固定后,以 0.01M PBS 冲洗,在常规梯度乙醇溶液中脱水,二甲苯透明,经石蜡包埋制备蜡块,用组织切片机制备厚度为 5 μ m 组织切

片。

1.2.7 脑组织中 AQP4 的测定:采用免疫组化 ABC 法进行染色,其操作步骤严格按照说明进行。每只大鼠选择三张脑组织片,每张免疫组化染色切片在 400 倍镜下随机选择取 5 个不同视野进行观察,对阳性细胞(AQP-4 阳性表现为胞浆呈棕黄色,)进行计数,并计算其在脑组织中的阳性细胞表达率。

1.3 统计学分析

对所有资料录入微机,建立数据库,采用 SPSS13.0 统计软件进行统计分析。计量资料所有数据以均数 $\pm$ 标准差表示, $P<0.05$ 即认为有显著性意义,应用 ANOVA 对多组计量资料间均数进行方差分析。

2 结果

2.1 实验动物模型制备的成功率

A-ICH 模型成功率为 65%,C-ICH 模型成功率为 75%,相对高于 A-ICH 模型。实验动物死亡时间多为模型制备后的 48—72h,死亡率达 25%—35%。

2.2 脑组织含水量的测定

对照组和实验组大鼠脑组织含水量各时间点均高于假手术组,对照组自术后 24h 开始出现脑水肿,48(A-ICH 组)—72h(C-ICH 组)水肿达高峰,5d 后开始减轻,但 7d 时仍不能完全恢复正常。对照组 C-ICH 脑组织含水量好像较 A-ICH 组数值高,但无显著性意义($P>0.05$)。实验组(A-ICH+HBO)经高压氧治疗后脑水肿明显减轻,各时间点(24h、48h、72h、5d、7d)含水量均低于对照组(A-ICH 组),差异除 24h 组外均有显著性意义($P<0.05$)。实验组(C-ICH+HBO)经高压氧治疗后脑水肿同样出现减轻,但不如 A-ICH+HBO 组显著,仅在 ICH 后 48h 和 5d 两个时间点与 C-ICH 对照组差异有显著性意义($P<0.05$),72h 水肿仍改善不著。A-ICH+HBO 和 C-ICH+HBO 组相比,前者水肿改善更早、更明显,尤其在术后 72h 时,差异显著($P<0.05$),见表 1。

2.3 脑组织出血灶周围 AQP-4 表达的测定

脑出血后大鼠脑组织中 AQP-4 在各组中均有表达,假手术组呈低表达状态,对照组在脑出血 24h 后开始升高(见图 1—2),48h 达到高峰,72h 后开始

逐渐降低,术后7d时表达水平同假手术相近,但仍高于假手术组,A-ICH组与C-ICH组相比AQP-4表达更显著,但除72h组外其他时间点两组间无显著性差异($P>0.05$)。实验(A-ICH+HBO)组各个时间点脑出血周围AQP-4的表达与对照组A-ICH比较显著降低,差异具有显著性意义($P<0.05$)。但实验

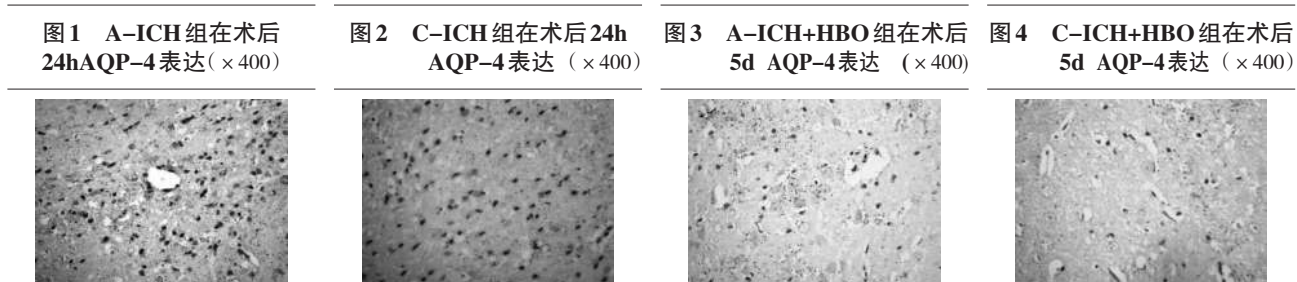
(C-ICH+HBO)组AQP-4表达降低的不是太明显,仅在术后48h和72h与C-ICH对照组有差异($P<0.05$)。A-ICH+HBO组与C-ICH+HBO组相比AQP-4改善得较早、且明显,尤其在术后48h和72h差异有显著性意义($P<0.05$)。见表2及图3—4。

表1 不同组别术后不同时间点大脑含水量比较					
(x±s, %)					
组别	24h	48h	72h	5d	7d
SHG	76.83 ± 2.61	76.83 ± 2.61	76.83 ± 2.61	76.83 ± 2.61	76.83 ± 2.61
A-ICH	83.14 ± 3.29 ^①	86.12 ± 2.10 ^①	85.58 ± 4.74 ^①	82.78 ± 3.84 ^①	81.91 ± 2.67 ^①
A-ICH+HBO	81.26 ± 3.37 ^①	83.05 ± 1.09 ^{①②}	80.55 ± 2.85 ^{①②}	79.99 ± 3.06 ^{①②}	77.30 ± 4.67 ^{①②}
C-ICH	84.51 ± 1.15 ^①	87.92 ± 2.34 ^①	88.12 ± 1.93 ^①	83.02 ± 2.04 ^①	82.20 ± 3.80 ^①
C-ICH+HBO	82.15 ± 2.97 ^①	84.78 ± 2.01 ^{①②}	86.23 ± 3.05 ^{①③}	80.48 ± 3.65 ^{①②}	78.66 ± 3.44 ^①

注:①各组与假手术组比 $P<0.05$;②实验组(A-ICH+HBO,C-ICH+HBO)与对照组(A-ICH,C-ICH)相比 $P<0.05$;③实验组之间(A-ICH+HBO,C-ICH+HBO)相比 $P<0.05$

表2 不同组别术后不同时间点AQP-4比较					
(x±s, %)					
组别	24h	48h	72h	5d	7d
SHG	39.45 ± 5.67	39.45 ± 5.67	39.45 ± 5.67	39.45 ± 5.67	39.45 ± 5.67
A-ICH	45.06 ± 3.36 ^①	52.76 ± 5.16 ^①	49.07 ± 2.80 ^①	47.59 ± 4.82 ^①	44.68 ± 3.77 ^①
A-ICH+HBO	43.39 ± 2.97 ^{①②}	46.64 ± 3.08 ^{①②}	44.59 ± 1.95 ^{①②}	42.49 ± 4.78 ^{①②}	39.87 ± 2.60 ^{①②}
C-ICH	47.92 ± 4.61 ^①	60.47 ± 5.38 ^①	57.83 ± 3.51 ^①	53.72 ± 4.07 ^①	46.88 ± 5.63 ^①
C-ICH+HBO	46.93 ± 0.56 ^{①②}	49.42 ± 4.72 ^{①②③}	47.17 ± 3.96 ^{①②③}	43.59 ± 4.23 ^{①②③}	40.38 ± 4.64 ^{①②}

注:①各组与假手术组比 $P<0.05$;②实验组(A-ICH+HBO,C-ICH+HBO)与对照组(A-ICH,C-ICH)相比 $P<0.05$;③实验组之间(A-ICH+HBO,C-ICH+HBO)相比 $P<0.05$



3 讨论

临床实验表明高压氧对于减轻脑出血后继发性脑水肿有显著效果,但其作用机制尚不明确,缺乏循证医学证据。朱向阳^[6-8]等发现高压氧能减少ICH患者血清基质金属蛋白酶-9、细胞间黏附分子-1和高敏C反应蛋白的表达,降低血浆纤维蛋白原、D-二聚体、神经元特异性烯醇化酶的浓度,改善脑出血患者的血液流变性,减轻出血后的炎症激活程度,从而减轻脑水肿。Qin^[9]等采用自体血、凝血酶、二价铁诱导大鼠ICH模型发现:高压氧能减少自体血诱导的ICH模型中热休克蛋白-3的表达,从而起到减轻脑水肿的作用,但是其治疗机制却与二价铁无关。

实验同时还显示,凝血酶诱导的脑出血模型经高压氧治疗后其水肿程度不仅没减轻,反而加重了。因此探讨高压氧治疗脑出血理论依据的条件首先是要选择好适合于研究高压氧治疗的ICH模型。

目前用于研究脑出血的实验动物模型主要有:自体血模型、胶原酶诱导模型、微球囊模型、自发性出血模型。本研究选择目前应用最广泛的A-ICH和C-ICH模型。结果显示,A-ICH模型成功率为65%,低于国外(71%)和国内(79%)报道的成功率^[10-12]。C-ICH模型成功率为75%,相对于高于A-ICH模型。本实验动物死亡时间多在模型制备后的48—72h,即脑水肿最严重的时间段。影响

模型成功率的因素有^[11-12]:麻醉药物的用量、注入脑内的血液和胶原酶的多少,微量注射器的进针深度、液体推注时间及速度,以及动物生存环境等。本实验时间正好赶在炎热的夏季,试验室距高压氧治疗地0.5h路程,因此,考虑环境因素也许是本研究模型成功率下降的主要原因之一。

A-ICH模型的优点是采用了自体血,能较相似的模拟人类脑出血,对出血后的病理生理变化能较真实的反映出来,其缺点是注入过程中的凝血、注入速度的控制、注入血量的多少、误入蛛网膜下腔等问题会影响模型的成功率^[10]。C-ICH模型优点是操作简单,重复性好,血肿的大小、部位、形态较易控制,其最大的缺点是采用了外源性胶原酶,形成的是一个非完全的血肿,还可引起脑组织的炎症反应,从而影响其同人类脑出血发生时在病理生理等方面的相似性。但该模型在神经功能恢复和评价药物疗效方面的优势,仍不失为一种理想模型的选择^[13-14]。

目前高压氧在实验性大鼠脑出血方面的研究报道尚鲜有报道,至于哪种ICH模型更适合高压氧环境下对不同因子的研究尚无定论。在我们的实验中,通过对大鼠脑组织水肿含量、出血灶周围AQP-4表达的测定发现,A-ICH模型在脑水肿含量及AQP4表达两方面较C-ICH模型更能较早、较明显地反映出这两个指标的变化,说明在研究脑出血导致的脑水肿方面,高压氧对A-ICH模型的敏感度较高,可作为以后相关实验研究的一个理论依据。从数据上看,C-ICH模型的脑水肿和AQP-4表达似较A-ICH模型更明显,但统计学上未发现差异。而经高压氧治疗后,C-ICH模型的水肿改善情况也不如A-ICH模型敏感,分析可能原因是:C-ICH模型产生的出血过程为渗血,引起的炎症反应较剧烈,同时在脑血肿形成过程中,大鼠的血脑屏障被破坏,脑水肿程度相对严重,进而影响AQP-4在脑组织中的表达。

AQP-4是Agre在1988年从红细胞Rh蛋白中分离出的一种功能蛋白,在1992^[15]年被证实AQP-4是一种介导细胞内外水转运的膜蛋白。其在脑组织中的分布特点是:在星形胶质细胞足突形成的胶质界膜和血管周围的星形胶质细胞表面表达最强烈^[16],Warth A等^[17-18]研究发现AQP-4在胶质细胞足突膜

上呈高极性表达分布,其在软脑膜区域的密度是神经纤维网膜的几倍,在脑组织细胞膜上其分布同K⁺通道的极性分布相一致。Venero JL等^[19]还发现其在脉络丛上皮细胞、脑室周围室管膜细胞、软脑膜的表达同脑脊液的重吸收部位相一致。通过上述AQP在脑组织中的分布特点,研究推断出AQP-4在大脑中是脑脊液同细胞之间水转运的结构基础,具有维持细胞内外水、钾离子浓度平衡,参与渗透压调节的作用,是影响中枢神经系统水、电解质的关键因素,从而也为进一步研究其与脑水肿的关系提供了理论依据。

在脑缺血研究方面,Taniguchi等^[20]通过MCAO(大脑中动脉闭塞模型)发现在梗死后的1—7d,梗死部位的皮质周围胶质细胞上AQP-4的表达水平增高,其表达高峰同脑水肿高峰相一致,都在梗死后第3天出现,但在梗死灶中心并未见到表达,提示AQP-4的表达上调参与了梗死后水肿的形成,梗死后的病理改变可诱导其表达的增加。Zhao J等^[21]通过对脑损伤后AQP-4表达的测定同样发现在脑创伤后的皮质和血脑屏障两侧AQP-4的表达增强,表明了其在介导水分子通过血脑屏障过程中的作用。因此大部分学者认为AQP-4的表达上调有加重脑水肿或者诱导脑水肿形成的作用,可以通过某些途径影响其表达的上调来控制水肿的产生。其中包括对内环境的改变、大脑中某些蛋白质浓度的调节、外源性的重金属、超低温、激素类药物、大分子的脂类、外源性补体等,这些都能在一定程度上影响水通道蛋白在脑内的表达,其具体影响的途径可能与细胞内外的信号转导有关。King等^[22]在研究水通道蛋白时认为,脑组织对于外界环境的变化包括脑外伤、缺氧、出血、缺血、炎症等,都被作为一种信号刺激而激活AQP-4在血脑屏障、皮质胶质细胞膜上的受体,使其自身发生磷酸化,其具体途径包括了钙离子信号转导、电子的传递、蛋白激酶C的磷酸化等一系列变化。由于其在细胞膜上的分布同K离子通道的存在位点有一致性,在其改变细胞膜结构的同时也影响了K离子通道对钾离子的摄取^[23],增加了细胞膜的通透性,从而导致细胞水肿产生。

但是,由于研究条件及其他因素的影响,有一部分研究者认为AQP-4在脑水肿周围组织中表达增

强,对于受损的脑胶质细胞是一种保护性的适应过程,而在脑水肿达高峰后,AQP-4的表达是为了增加细胞内的水分,改变外环境引起的细胞内离子浓度的变化,通过对细胞内渗透压的调节来维持细胞内环境的稳定,从而对抗脑水肿的进一步加重。虽然观点不同,但都说明了AQP-4的关键作用。

高压氧作为治疗脑水肿的一种有效手段,在国内有报道称高压氧可通过抑制AQP-4的表达减轻脑梗死、蛛网膜下腔出血和颅脑损伤后继发的脑水肿^[24-25],但对脑出血后脑组织中AQP-4的表达有无影响目前尚鲜见报道。本研究显示,高压氧对于两种ICH模型脑水肿及出血灶周围AQP-4的表达都有影响,通过下调AQP-4的表达可有效减轻脑水肿。比较两种ICH模型发现,自体血注入ICH模型在高压氧治疗中的敏感性更高,更适合高压氧在治疗脑出血水肿方面的研究。但本研究不足之处是脑组织中AQP-4未采用计算机图像分析技术测定,结果的客观性可能会受到一定影响。

参考文献

- [1] Schabitz WR, Schade H, Heiland S, et al. Neuroprotection by hyperbaric oxygenation after experiment focal cerebra ischemia monitored by MRI[J]. Stroke, 2004, 35(5): 1175—1179.
- [2] Lou M, Eschenfelder CC, Herdegen T, et al. Therapeutic window for use of hyperbaric oxygenation in focal transient ischemia in rats[J]. Stroke, 2004, 35(2): 578—583.
- [3] 周勇, 朱向阳. 高压氧治疗对急性脑出血周围水肿影响的影像学研究[J]. 中华物理医学与康复医学杂志, 2009, 31: 44—46.
- [4] 张祥建, 刘纯燕, 祝春华, 等. 大鼠自体血脑出血动物模型的建立[J]. 脑与神经疾病杂志, 2003, 11(6): 341—344.
- [5] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniotomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84—91.
- [6] 朱向阳, 董政协, 周永, 等. 高压氧对脑出血患者血清基质金属蛋白酶-9、细胞间粘附分子-1及脑水肿的影响[J]. 中华物理医学与康复医学杂志, 2009, 31: 264—266.
- [7] 朱向阳, 李嘉, 周永, 等. 高压氧对脑出血患者高敏C反应蛋白及血糖的影响[J]. 中华航海医学与高压氧医学杂志, 2009, 16(1): 24—26.
- [8] 朱向阳, 董政协, 周永, 等. 高压氧对脑出血患者血浆纤维蛋白原、D-二聚体及神经特异性烯醇化酶含量的影响[J]. 中华航海医学与高压氧医学杂志, 2008, 15(3): 149—151.
- [9] Qin Z, Xi G, Keep RF, et al. Hyperbaric oxygen for experimental intracerebral hemorrhage[J]. Acta Neurochir Suppl, 2008, 105: 113—117.
- [10] Del Bigio MR, Yan HJ, Buist R, et al. Experimental intracerebral hemorrhage in rats: Magnetic resonance imaging and histopathological correlates[J]. Stroke (S0039-2499), 1996, 27(12): 2312—2320.
- [11] Rosenberg GA, Mun-Bryce BS, Wesley M, et al. Collagenase-induced Intracerebral Hemorrhage in Rats[J]. Stroke (S0039-2499), 1990, 21(5): 801—807.
- [12] 李红玲, 樊金兰, 陈维, 等. 脑出血实验动物模型[J]. 神经损伤与功能重建, 2006, 11(1): 238—239.
- [13] Chesney JA, Kondoh T, Conrad JA, et al. Collagenase-induced intrastriatal hemorrhage in rats results in long-term locomotor deficits[J]. Stroke (S0039-2499), 1995, 26(2): 312—316.
- [14] Manley GT, Fujimura M, Ma T, et al. Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke[J]. Nat Med, 2000, 6: 159—163.
- [15] Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, et al. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein[J]. science, 1992, 256(5055): 385—387.
- [16] Neely JD, Christensen BM, Nielsen S, et al. Heterotetrameric composition of aquaporin-4 water channels[J]. Biochemist, 1999, 38(34): 11156—11163.
- [17] Warth A, Mittelbrom M, Wolburg H. Redistribution of the water channel protein aquaporin-4 and the K⁺ channel protein Kir 4.1 differs in low and high-grade human brain tumors[J]. Acta Neuropathol, 2005, 109: 418—426.
- [18] Verkman AS, Binder DK, Bloch O, et al. The distinct roles of aquaporin-4 in brain function revealed by knockout mice[J]. Biochim biophys Acta, 2006, 1758: 1085—1093.
- [19] Venero JL, Vizuete ML, Machado A, et al. Aquaporins in the central nervous system[J]. Prog Neurobiol, 2001, 63(3): 321—336.
- [20] Taniguchi M, Yamashita T, Kumura E, et al. Induction of aquaporin-4 water channel mRNA after focal cerebral ischemia in rat[J]. Brain Res Mol Brain Res, 2000, 78: 131—137.
- [21] Zhao J, Moore AN, Clifton GL, et al. Sulforaphane enhances aquaporin-4 expression and decreases cerebral edema following traumatic brain injury[J]. J Neurosci Res, 2005, 82: 499—506.
- [22] King LS, Agre P. Pathophysiology of the aquaporin water channels[J]. Annu Rev Physiol, 1996, 58: 619—648.
- [23] Reichenbach A, Henke A, Eberhardt W, et al. K⁺ ion regulation in retina[J]. Can J Physiol Pharmacol, 1992, 70(Suppl): S239—S247.
- [24] 赵红, 曹士信, 卢红梅, 等. 高压氧对急性脑缺血再灌注小鼠AQP-4的表达及血脑屏障通透性的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2008, 23(10): 892—895.
- [25] 杨新生, 裴孝忠, 王培嵩, 等. 早期高压氧暴露对大鼠脑外伤后脑组织水通道蛋白-4和半胱天冬酶-3表达的影响[J]. 中华航海医学与高压氧医学杂志, 2006, 13(4): 235—237.