

不同吸氧时间高压氧治疗对脑出血大鼠血肿周围AQP4和SOD表达的影响

赵 龙¹ 李红玲^{1,2} 赵艳颖¹ 陈玉燕¹

摘要

目的:探讨不同吸氧时间高压氧(HBO)治疗对脑出血(ICH)大鼠血肿周围水通道蛋白(AQP4)和超氧化物歧化酶(SOD)表达的影响,从而探讨HBO治疗脑出血的最佳吸氧时间。

方法:正常组Wistar大鼠5只,胶原酶诱导法建立Wistar大鼠脑出血(ICH)模型125只,随机分为对照组(不用高压氧干预,25只)和实验组(ICH后6小时给予高压氧干预,100只),实验组根据吸氧时间不同又分为ICH+HBO 40min组,ICH+HBO 60min组,ICH+HBO 80min组,ICH+HBO 100min组,共4个亚组,各25只。每组大鼠分别在行HBO治疗第1、3、5、7、14天后于相同时间点处死,之后采用干湿比重法测定出血灶周围脑组织含水量,用免疫组化法检测血肿周边脑组织中AQP4蛋白表达情况,黄嘌呤氧化酶法测定SOD活力。

结果:①出血灶周围脑水含量:实验组较对照组相比,各时间点脑组织水含量均减少且有差异($P < 0.05$)。②大鼠脑组织AQP4表达的变化:对照组大鼠的AQP4表达在ICH术后第1天开始升高,第3天持续升高,第5天达到高峰,之后逐渐下降直至第14天。HBO实验组各时间点AQP4的表达较对照组减少,差异有显著性意义($P < 0.05$)。其中ICH+HBO 60min组第7天下降的幅度最大,较其他三组相比具有显著性意义($P < 0.01$)。③大鼠脑组织SOD表达的变化:对照组和实验组SOD上调表达规律与AQP下调表达一致,其中ICH+HBO 60min组回升幅度最大,其在第14天表达的值与其他三组相比均有显著性差异($P < 0.01$)。

结论:HBO可以减轻脑水肿,其中最佳吸氧时间是60min。其机制可能与降低了出血灶周围AQP4表达水平、提高了SOD表达水平有关。

关键词 高压氧;吸氧时间;脑出血;脑水肿;水通道蛋白-4;超氧化物歧化酶

中图分类号:R743.3, R459.6 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2016)-11-1213-006

Effects of different oxygen uptake time of hyperbaric oxygen on perihematomal edema, expression of aquaporin-4 and superoxide dismutase in rats with intracerebral hemorrhage/ZHAO Long, LI Hongling, ZHAO Yanying, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2016, 31(11): 1213—1218

Abstract

Objective: To study the effects of different oxygen uptake time of hyperbaric oxygen on perihematomal edema, expression of aquaporin-4 and superoxide dismutase in rats with intracerebral hemorrhage, for exploring the best oxygen uptake time of hyperbaric oxygen.

Method: 125 model rats were established by collagenase-induced cerebral hemorrhage and 5 Wistar rats served as normal control. 125 ICH rats were randomly divided into the control group (without intervention with hyperbaric oxygen after brain hemorrhage, n=25) and the experimental group (intervention with hyperbaric oxygen after brain hemorrhage, n=100) (divided into ICH+HBO 40min group, ICH+HBO 60min group, ICH+HBO 80min group and ICH+HBO 100min group based on different oxygen uptake time, n=25 for each group). After 1 day, 3 days, 5 days, 7 days or 14 days HBO therapy, rats in each group were executed at the same time

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2016.11.007

1 河北医科大学第二医院,石家庄,050000; 2 通讯作者

作者简介:赵龙,男,硕士研究生; 收稿日期:2015-10-01

point. The drying wet method was used to determine the moisture of brain tissue around the hemorrhagic focus. The immunohistochemistry and xanthine oxidase technique were used to detect the expression of AQP4 and SOD vitality, respectively.

Result: ①The water content of brain tissue around the hemorrhagic focus: The experimental groups has the less water content of brain tissue when compared with the control groups at each time point ($P < 0.05$). ②The expression of AQP4: In the control, the expression of AQP4 increased at the 1st day after ICH and reached the peak at the 5th day after ICH. After that, the expression of AQP4 presented decreased trend. At each time point, the HBO experimental groups showed less expression of AQP4 compared with the control groups ($P < 0.05$). There was the largest decline at the 7th day for the ICH+HBO 60min group, which produced the statistically significant difference compared with the other three groups($P < 0.01$). ③SOD content: For the control and experimental groups, the SOD showed the increased trend that was consistent with the decreased trend of the AQP4. The ICH+HBO 60min group has the largest rise and shows significant difference at the 14th day when compared with the other three groups ($P < 0.01$).

Conclusion: HBO can reduce perihematomal edema and the best oxygenuptake time is 60 mins. It may be related to the decreased AQP4 expression and the increased SOD level.

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

Key word hyperbaric oxygen; oxygen uptake time; intracerebral hemorrhage; brain edema; aquaporin-4; superoxide dismutase

脑水肿是脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)后最主要的继发性病理生理改变^[1-2],研究表明高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)可以通过减轻ICH后的脑水肿达到改善功能的目的^[3-5]。水通道蛋白(aquaporins, AQP)是一种位于细胞膜上转运水分子的膜蛋白,其中AQP4主要分布在脑组织中,尤其在毛细血管、血管周围的胶质细胞上表达丰富。目前发现水通道蛋白-4(aquaporin-4, AQP4)参与了ICH后脑水肿的形成^[6],并且ICH后脑水肿形成和继发脑损伤与自由基氧化损伤亦有着密切联系^[7-8]。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是一类广泛分布于组织细胞内的金属酶,用于催化超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)发生歧化反应,它对平衡机体氧化与抗氧化系统、免除自由基损伤起着至关重要的作用。

目前临床上,有关脑出血的高压氧治疗方案多种多样,如高压氧的治疗压力、高压氧介入的早晚以及吸氧的时间等^[9-12],没有统一标准。我们课题组前期研究显示^[13-14,16]:经HBO预处理、在2.0绝对大气压(atmosphere absolute, ATA)压力、脑出血6小时的介入时间行HBO干预等均可以通过下调ICH大鼠血肿周围AQP4的表达从而有效减轻脑水肿。至于HBO治疗ICH时的吸氧时间,临床应用多采用

40—100min不等,但到底多长时间的吸氧对脑出血患者更有益,其作用机制又如何,目前尚鲜有报道。本研究目的是通过建立大鼠脑出血模型,观察不同吸氧时间HBO治疗对脑出血周围脑组织的水含量、AQP4及SOD表达的影响,探索高压氧治疗脑出血的最佳吸氧时间,并探讨其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 主要器材及试剂

大鼠脑立体定向仪(美国STOELTING公司)、高压氧舱(烟台冰轮高压氧舱有限公司YC3200/22VII)、尖头改锥(自制)、Ⅶ型胶原酶(美国Sigma公司)、兔抗大鼠多克隆AQP-4抗体(武汉博士德生物工程有限公司)、超氧化物歧化酶(SOD)(武汉博士德生物工程有限公司)、免疫组化试剂盒及DAB显色试剂盒(河北世纪康为生物工程有限公司)、医用光学显微镜及BX41显微照相机(日本OLYMPUS公司)。

1.2 实验动物与分组

Wistar雄性大鼠(清洁级)130只(模型未成功者已除外),体重在245—265g,由河北医科大学动物实验中心提供,分笼饲养于河北医科大学第二医院神经病学实验室动物房内,以标准饲料喂养并饮用

自来水。5只作为正常组,125只制作成脑出血模型后随机分组,分为实验组(100只,高压氧干预)和对照组(25只,无高压氧干预)。实验组又根据稳压时段的吸氧时间不同分为吸氧40min,60min,80min和100min 4个亚组,每组25只Wistar大鼠,均在脑出血6h后行HBO治疗^[16],压力均为2.0ATA^[14],1次/日。每组中各取5只分别在HBO治疗第1天、第3天、第5天、第7天、第14天后处死,留取标本。正常组和对照组大鼠在正常环境下饲养,不予任何处理,处死时间与实验组相同,之后留取标本。

1.3 模型制备及大鼠神经功能障碍评分

依据参考文献^[13,15]采用胶原酶Ⅶ定位注射诱发大鼠尾壳核脑出血模型。在动物模型制备6h后观察大鼠行为学变化,按Longa EZ评分法评分^[17]:0分,无体征;1分,不能完全伸展对侧肢体(左侧);2分,对侧肢体瘫痪,向对侧转圈,有追尾现象;3分,不能站立倒向对侧;4分,意识障碍。2分以上认为造模成功。

1.4 高压氧治疗

高压氧治疗:高压氧治疗组大鼠于手术6小时后评分确定造模成功后进舱治疗。将动物放置于特制的木箱中,将木箱置于高压氧舱内,压力设定为2.0ATA,加压30min,稳压前5min采用直排式给动物箱内充氧,氧流量设定为10L/min(稳压时氧浓度可达85%),稳压吸氧时间根据试验组(40min、60min、80min、100min)不同设定,然后减压,减压20min,1次/日。

1.5 血肿周围AQP4和SOD测定

AQP4测定参照本课题组的试验方法^[14,16]。SOD测定:各组大鼠达到相应时间点,处死动物,开颅取血肿周围脑组织一或两块称重,加生理盐水配成质量浓度30g/L脑组织匀浆,将匀浆以4000r/min离心10min,取上清液于-20℃下保存,成批检测SOD,严格按使用说明书操作。

1.6 血肿周围脑组织水分含量测定

采用干湿比重法测定出血灶周围脑组织含水量^[14,16]:脑组织含水量=(脑组织湿重-脑组织干重)/湿重×100%。

1.7 统计学分析

实验结果采用SPSS 13.0软件进行统计分析处理。所有数据采用均数±标准差表示,应用*t*检验进

行两组间的比较,应用ANOVA对多组间的计量资料均数进行方差分析。

2 结果

2.1 脑水含量比较

2.1.1 高压氧实验组与对照组间的比较:HBO实验组和对照组各个时间点水含量均高于正常组(74.35±0.67)%,差异有显著性意义($P < 0.05$)。对照组大鼠的脑组织水含量在ICH第1天开始升高,第3天达到高峰(与第1天相比有显著性差异, $P < 0.05$),第3天—第7天持续在较高水平(第3天和第7天组间无显著性差异, $P > 0.05$),第14天时基本恢复到第1天水平($P > 0.05$)。HBO各实验组不同时间的变化趋势和对照组大致相同,只是脑组织水含量比对照组更低,且第14天时脑水含量仍在减少,与第1天比有显著性差异($P < 0.05$)。见表1。

2.1.2 高压氧实验组各亚组间含水量比较:在ICH+HBO 40min、60min、80min和100min组含水量从第3天开始减少,直至第14天,但只有在第7天时表现明显,与第1天、第3天、第5天比较有显著性差异($P < 0.05$),而ICH+HBO 60min组与其他三组比较不同含水量较少的更明显,并可持续到第14天($P < 0.05$)。见表1。

2.2 AQP4表达变化的测定

2.2.1 高压氧实验组与对照组间的比较:正常组大鼠的脑组织AQP4含量8.93%±2.62%,对照组和高压氧实验组各个时间点AQP4含量均高于正常组,差异有显著性意义($P < 0.05$)。对照组大鼠的AQP4表达在ICH术后第1天开始升高,第3天持续升高,第5天达到高峰,之后逐渐下降,第7天回复到第3天水平,第14天时回复到第1天水平。高压氧实验各组AQP4表达的变化规律与对照组大致相同,但整体趋势较对照组的表达更低,尤其在第5天—第7天AQP4下调明显,第14天时表达低于第1天组,差异具有显著性意义($P < 0.05$)。见表2。

2.2.2 高压氧实验组间的比较:ICH+HBO 40min、60min、80min和100min组AQP4表达从第1天开始上升,第5天时最明显,第7天时又开始回降,第14天时大部分降至第3天或第1天水平。其中ICH+HBO 60min组在第7天下调AQP4的幅度最大,表

达值较其他三组均低($P < 0.01$),且随着高压氧治疗时间延长AQP4持续下降,在第14天时基本回复到正常水平,ICH+HBO 80min组也有类似表达,但不如60min组显著。第14天时AQP4的表达值HBO 60min组与HBO 40min和HBO 60min组有显著性差异($P < 0.05$),与ICH+HBO 80min组差异不明显($P > 0.05$)。见表2。

2.3 SOD表达变化

正常组大鼠脑组织SOD含量 $125.60\% \pm 6.35\%$,高压氧实验组和对照组各个时间点SOD含量均高于正常组,差异有显著性意义($P < 0.05$)。对照组脑组织中ICH后第1天即有SOD表达,但第3天时开始下降,持续到第5天(第3天和第5天与第1天相比均有显著性差异, $P < 0.05$),第7天至第14天逐渐回升到第1天水平(第7天和第14天与第1天相比均无

显著性差异, $P > 0.05$)。高压氧实验组SOD变化与对照组表达趋势一致,但其回升幅度明显,与对照组相比差异显著($P < 0.01$)。见表3。

实验组各个亚组之间,大多在第14天时上调SOD表达最明显,与第3天组及第5天组表达差异有显著性意义($P < 0.01$)。ICH+HBO 60min组在第5天—第7天及第7天—第14天回升幅度相较于其他实验组变化更明显,其在第14天表达的值与其他三组均有差异且具有显著性意义($P < 0.01$)。其余各组间差异不明显,无显著性意义($P > 0.05$)。见表3。

3 讨论

ICH后由于血肿对脑组织的直接压迫和血肿释放血管的活性物质会诱发周围脑组织形成继发性的缺血缺氧,这种继发性缺血缺氧是造成ICH后脑组

表1 不同组之间脑组织水含量的比较

($\bar{x} \pm s$, n=3,%)

组别	1st day	3rd day	5th day	7th day	14th day
ICH Control	83.32±2.13	84.06±2.34	82.86±1.62 ^②	82.59±1.71 ^②	82.49±2.25 ^{③④⑤}
ICH+HBO 40min	80.70±1.85 ^①	80.72±1.79 ^①	79.98±1.74 ^①	78.94±1.68 ^{②③⑥}	78.31±1.63 ^{①④⑤⑦}
ICH+HBO 60min	79.42±2.17 ^①	80.08±1.77 ^①	79.77±1.68 ^①	77.92±1.55 ^{①②③④}	77.86±1.60 ^{①②③④}
ICH+HBO 80min	79.47±1.73 ^①	80.45±1.81 ^①	79.87±1.69 ^①	78.46±2.27 ^{①③④⑥}	78.13±1.82 ^{①②③}
ICH+HBO 100min	80.49±1.78 ^①	80.22±1.76 ^①	79.47±1.67 ^①	78.93±1.74 ^{①②③⑥}	78.73±1.75 ^①
正常组	74.22	73.43	74.17	74.69	75.26

①与ICH Control相比($P < 0.05$);②与同组内ICH 1d group相比($P < 0.05$);③与同组内ICH 3d group相比($P < 0.05$);④与同组内ICH 5d group相比($P < 0.05$);⑤与同组内ICH 7d group相比($P < 0.05$);⑥其余3个7d实验组与ICH+HBO 60min 7d group相比($P < 0.05$);⑦其余3个14d实验组与ICH+HBO 60min 14d group相比($P < 0.05$)

表2 不同组之间脑组织AQP4含量的比较

($\bar{x} \pm s$, n=3,%)

组别	1st day	3rd day	5th day	7th day	14th day
ICH Control	14.89±1.33	17.34±1.42 ^②	19.89±1.28 ^{②③}	18.18±1.18 ^②	15.75±1.57 ^{③④⑤}
ICH+HBO 40min	13.76±5.22 ^①	14.12±7.44 ^①	16.96±2.08 ^{①②③}	16.11±2.18 ^{①②③⑥}	14.32±5.45 ^{①④⑦}
ICH+HBO 60min	13.39±2.98 ^①	14.49±6.63 ^①	15.97±3.60 ^{①②③}	10.56±2.21 ^{①②③④}	8.25±2.31 ^{①②③④⑤}
ICH+HBO 80min	13.59±3.19 ^①	14.17±3.94 ^①	16.12±3.43 ^{①②}	14.41±0.97 ^{①④⑥}	10.38±2.28 ^{①②③}
ICH+HBO 100min	13.96±1.27 ^①	14.87±2.21 ^①	16.21±2.01 ^{①②}	15.56±3.29 ^{①②⑥}	14.25±2.71 ^{①⑤⑦}
正常组	8.53	9.24	7.78	6.99	8.15

①与ICH Control相比($P < 0.05$);②与同组内ICH 1d group相比($P < 0.05$);③与同组内ICH 3d group相比($P < 0.05$);④与同组内ICH 5d group相比($P < 0.05$);⑤与同组内ICH 7d group相比($P < 0.05$);⑥其余3个7d实验组与ICH+HBO 60min 7d group相比($P < 0.01$);⑦其余3个14d实验组与ICH+HBO 60min 14d group相比($P < 0.05$)

表3 不同组之间脑组织SOD含量的比较

($\bar{x} \pm s$, n=3,%)

组别	1st day	3rd day	5th day	7th day	14th day
ICH Control	106±14.74	94±10.77 ^②	95±12.46 ^②	99±15.12	101±12.77
ICH+HBO 40min	115±12.68 ^①	98±16.59 ^{①②}	102±13.36 ^{①②}	105±12.21 ^{①②}	109±12.11 ^{①③④⑥}
ICH+HBO 60min	111±12.08 ^①	101±16.63 ^{①②}	103±13.63 ^①	108±12.21 ^{①③}	116±12.37 ^{①②③④⑤}
ICH+HBO 80min	113±13.19 ^①	102±13.84 ^{①②}	101±13.87 ^{①②}	105±17.95 ^{①②}	110±12.78 ^{①③④⑥}
ICH+HBO 100min	109±11.87 ^①	99±12.45 ^{①②}	100±12.21 ^{①②}	103±3.29 ^①	107±15.76 ^{①③④⑥}
正常组	121	117	132	128	130

①与ICH Control相比($P < 0.05$);②与同组内ICH 1d group相比($P < 0.05$);③与同组内ICH 3d group相比($P < 0.05$);④与同组内ICH 5d group相比($P < 0.05$);⑤与同组内ICH 7d group相比($P < 0.05$);⑥其余3个7d实验组与ICH+HBO 60min 7d group相比($P < 0.05$);⑦其余3个14d实验组与ICH+HBO 60min 14d group相比($P < 0.01$)

织水肿和神经功能障碍的关键因素^[17]。

脑水肿是ICH后颅内神经元经受第二次打击的中心环节^[18],也是ICH后继发性脑损伤的主要标志,通过恶化脑组织的血供和神经细胞内环境紊乱等加重神经细胞损伤。Zhao等^[19]通过对脑损伤后AQP4表达的测定发现在脑创伤后的皮质和血脑屏障两侧AQP4的表达增强,表明其在介导水分子通过血脑屏障过程中的作用。Warth A等^[20]研究发现AQP4表达水平的上调与血脑屏障通透性的增加和脑水肿的形成有关。研究显示局灶性脑缺血及脑外伤引起的血管源性脑水肿与AQP4表达水平的上调有关。细胞毒性脑水肿是脑出血早期脑水肿主要的病理生理改变并持续到血脑屏障完整性逐渐恢复,而AQP4表达的升高促进了细胞毒性脑水肿模型脑组织的肿胀。Gu YT等^[21]通过自体血建立大鼠脑出血模型,发现AQP4参与脑出血后脑水肿的形成,应用AQP4抑制剂可以减轻血肿周围的脑水肿。其他研究也发现^[14,19],HBO可以有效减轻脑组织脑出血后出血灶周围的水肿,其机制可能与抑制脑组织出血灶周围AQP4的表达水平有关。

本实验发现,各组大鼠ICH后第1天AQP4表达开始升高,出血后第3天达到峰值,之后逐渐下降。与水含量变化趋势一致,进一步验证了AQP4在ICH后脑水肿的形成过程中发挥着重要的作用。而高压氧治疗组较ICH对照组的脑组织水含量及AQP4表达明显减少($P < 0.05$)。表明高压氧治疗抑制了ICH大鼠模型出血灶周围AQP4的表达,减轻了出血灶周围脑组织的脑水含量。其机制可能与高压氧治疗抑制AQP4的表达,降低AQP4对血脑屏障的破坏作用^[12],减轻因血脑屏障破坏而引起的血管源性脑水肿有关。

有研究显示^[22],脑出血后脑水肿及周围缺血可造成局部自由基水平增高,自由基氧化损伤可促使脑水肿加重。自由基产生增加又导致脑出血后继发脑损伤,使神经功能障碍进一步加重。SOD对平衡机体氧化与抗氧化系统、免除自由基损伤起着至关重要的作用。人体中SOD水平与自由基含量呈负相关,其水平的高低可间接反映机体内自由基的含量。有实验性研究表明高压氧可以通过调节SOD水平减少脑出血后自由基的产生^[23-24],抑制脑出血

后NO的过量生成,增强ATP酶活性,从而进一步减轻脑水肿的发生。刘伟国等^[25]探讨重型颅脑损伤患者高压氧治疗对外周血红细胞SOD等的含量变化及与预后关系的实验提示,高压氧能显著影响重型颅脑损伤患者SOD含量,通过减少或抑制自由基产生而实现其治疗效果,为临床上高压氧治疗在自由基方面提供了理论基础。

在本实验中,SOD表达与AQP4呈现“负”一致性,即各组在ICH第1天SOD有所表达,ICH第3天—第5天时下降至谷底,之后缓慢上升。刚好和急性期大量自由基的释放且SOD与之对抗消耗大量SOD相一致,从实验组中可以看到,经高压氧治疗后能迅速改善这种情况,提高SOD水平,对抗自由基,防止进一步脑损伤。而正常大鼠SOD与AQP4保持相对平衡稳定状态,变化基本不大。

研究发现^[26],早期高压氧治疗可以抑制脑组织损伤急性期促炎因子的释放,抑制凋亡基因的表达,并且通过增加SOD的含量,加快自由基的清除,减轻神经的损伤,促进脑损伤后的神经功能的恢复。

研究认为^[5],HBO治疗在对治疗脑水肿等方面是很重要的保护剂,其机制可能在于快速到达受损的脑组织,缓解脑组织缺氧状态。通过改善微循环,减轻水肿,提高有氧代谢,调节SOD表达水平,提高Bcl-2表达来起到抗自由基损伤与抗凋亡的作用。高压氧已经在实验中和临床上证实可以在脑损伤后,尤其是脑损伤早期可以改善预后^[27]。姚维成等^[28]的脑出血动物模型在HBO治疗后ICH周围脑组织AQP4的表达降低,脑水含量也下降,提示HBO在防止急性和迟发性血脑屏障的破坏,维持血管通透性的稳定及减轻脑水肿方面起到关键作用。我们前期的研究也证实这一观点。

目前探究高压氧吸氧时间的文献较少,临床上高压氧治疗脑外伤等吸氧时间多为60—80min^[12],在治疗急性缺血性脑卒中的研究中高压氧吸氧时间大多为60min^[12]。回顾性研究发现在颅脑损伤(trumatic brain injury, TBI)的治疗中1.5ATA条件下吸纯氧60min是相对安全的^[24]。

曾有文献通过观察不同时程HBO治疗对脑外伤大鼠顶叶皮质神经元超微结构的影响^[11],得出30—60min吸氧时间优于吸氧时间90min,因为吸氧

时间 90min 大鼠神经元的超微结构仍有损伤, 30—60min 吸氧时间大鼠神经元基本已恢复, 考虑可能因为吸氧时间较长和过氧化损伤有关。本研究发现, 虽然实验组大鼠各指标均优于对照组, 但吸氧时间相对短的 40min 组各指标变化幅度不如其他组, 这可能与吸氧时间短即高压氧治疗时间短未达到最佳的治疗效果有关; 而吸氧时间相对较长的 100min 组反而没 60min、80min 组 AQP4 表达程度降低的幅度大及 SOD 表达程度增加的幅度大, 分析原因, 可能与上述研究提到的过氧化和氧化应激有关。但本实验未做电镜下超微结构观察, 只能根据 AQP4 和 SOD 的表达进行推测, 明确的原因还有待于进一步研究。本研究发现 60min 吸氧时间组中 AQP4 表达程度相比于其他组最低, SOD 表达程度相比于其他组最高, 提示在吸氧时间 60min 时, 能更好地降低脑水肿同时减轻自由基对脑组织的损伤, 80min 组在减轻水肿、AQP4 表达及增加 SOD 表达方面的变化, 作用次于 60min 组, 但优于 40min、100min 吸氧时间。

本实验结果表明高压氧治疗对减轻出血性脑卒中血肿周围脑水肿有明确疗效, 其可能机制与降低出血灶周围脑组织 AQP4 的表达和提高 SOD 表达有关, 并且提示在脑出血 6h 行高压氧治疗, 在 2.0ATA 治疗压力下, 60min 吸氧时间优于 40min、80min 及 100min 吸氧时间。

参考文献

[1] Calvert JW, Cahill J, Zhang JH. Hyperbaric oxygen and cerebral physiology[J]. *Neurol Res*, 2007, 29(2):132—141.
[2] Staykov D, Wagner I, Volbers B, et al. Natural course of perihemorrhagic edema after intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2011, 42(9):2625—2629.
[3] He Y, Karabiyikoglu M, Hua Y, et al. Ischemic preconditioning attenuates brain edema after experimental intracerebral hemorrhage[J]. *Transl Stroke Res*, 2012, 3(1 Suppl 1):180—187.
[4] Qin Z, Hua Y, Liu W, et al. Hyperbaric oxygen preconditioning activates ribosomal protein S6 kinases and reduces brain swelling after intracerebral hemorrhage[J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2008, (102):317—320.
[5] Rockswold SB, Rockswold GL, Defillo A. Hyperbaric oxygen in traumatic brain injury[J]. *Neurol Res*, 2007, 29(2):162—172.
[6] 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(2):159—163.
[7] Martz D, Beer M, Betz AL. Dimethylthiourea reduces ischemic brain edema without affecting cerebral blood flow[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1990, 10(3):352—357.
[8] Chan PH, Schmidley JW, Fishman RA, et al. Brain injury, edema, and vascular permeability changes induced by oxy-

gen-derived free radicals[J]. *Neurology*, 1984, 34(3):315—320.
[9] Cummins FJ Jr, Gentene LJ. Hyperbaric oxygen effect on MMP-9 after a vascular insult[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2010, 3(6):683—687.
[10] 金萍. 高压氧治疗脑出血的剂量研究[J]. *中国初级卫生保健*, 2013, 27(6):132.
[11] 徐春江, 周士军, 吴铃妹, 等. 不同时间程高压氧对脑外伤大鼠顶叶皮质神经元超微结构的影响[J]. *中国航海医学与高压医学杂志*, 2006, (13):165—167.
[12] 谭杰文, 龙颖, 宋盼盼. 高压氧治疗急性缺血性脑卒中的剂量优化[J]. *中国康复医学杂志*, 2013, 28(10):934—938.
[13] 李红玲, 房金勇, 纪庆红, 等. 高压氧预处理对实验性脑出血大鼠出血灶周围水肿及水通道蛋白-4 表达的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2011, 27(3):211—215.
[14] 陈玉燕, 李红玲, 牛蕾蕾. 不同压力高压氧对实验性脑出血大鼠出血灶周围水肿及水通道蛋白-4 表达的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2013, 28(5):413—417.
[15] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20(1):84—91.
[16] 牛蕾蕾, 李红玲, 陈玉燕, 等. 不同介入时间高压氧治疗对实验性脑出血大鼠出血灶周围水肿及水通道蛋白-4 表达的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2014, 29(9):810—815.
[17] 谢芹, 尤春景. 高压氧对实验性脑出血大鼠的治疗作用[J]. *中国康复*, 2004, 19(2):75—76.
[18] 陆晖, 肖俊峰. 脑出血后继发血管源性脑水肿的机制研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2007, 5(5):427—429.
[19] 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(4):499—506.
[20] Warth A, Simon P, Capper D, et al. Expression pattern of the water channel aquaporin-4 in human gliomas is associated with blood-brain barrier disturbance but not with patient survival[J]. *J Neurosci Res*, 2007, 85(6):1336—1346.
[21] Gu YT, Zhang H, Xue YX. Dexamethasone treatment modulates aquaporin-4 expression after intracerebral hemorrhage in rats[J]. *Neurosci Lett*, 2007, 413(2):126—131.
[22] 陈秀, 李作孝, 佟琳, 等. 实验性脑出血血肿周围脑组织自由基含量变化研究[J]. *泸州医学院学报*, 2005, 28(5):417—419.
[23] Wada K, Miyazawa T, Nomura N, et al. Mn-SOD and Bcl-2 expression after repeated hyperbaric oxygenation[J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2000, (76):285—290.
[24] Narkowicz CK, Vial JH, McCartney PW. Hyperbaric oxygen therapy increases free radical levels in the blood of humans[J]. *Free Radic Res Commun*, 1993, 19(2):71—80.
[25] 刘伟国, 杨小锋, 龚江标, 等. 高压氧对重型颅脑损伤患者红细胞超氧化物歧化酶和脂质过氧化物的检测及临床意义[J]. *中华检验医学杂志*, 2005, 28(3):283—286.
[26] Lin KC, Niu KC, Tsai KJ, et al. Attenuating inflammation but stimulating both angiogenesis and neurogenesis using hyperbaric oxygen in rats with traumatic brain injury[J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2012, 72(3):650—659.
[27] Zhou Z, Daugherty WP, Sun D, et al. Protection of mitochondrial function and improvement in cognitive recovery in rats treated with hyperbaric oxygen following lateral fluid-percussion injury[J]. *J Neurosurg*, 2007, 106(4):687—694.
[28] 姚维成, 邢如新, 王培嵩, 等. 水通道蛋白-4 在大鼠蛛网膜下腔出血后脑水肿组织中的表达及高压氧对其影响的研究[J]. *中华神经医学杂志*, 2007, 6(8):784—787.