·基础研究·

不同疗程高压氧治疗对脑出血大鼠血肿周围AQP4和SOD表达的影响

王 晶[1] 李红玲[1,2] 赵 龙[1] 池 林[1]

摘要

目的:探究不同疗程高压氧(HBO)治疗对脑出血(ICH)大鼠血肿周围水通道蛋白(AQP4)及超氧化物歧化酶(SOD)表达的影响。

方法:将52只雄性SD大鼠随机分为3组,正常组(12只)、脑出血组(20只)和高压氧治疗组(20只),脑出血模型采用胶原酶诱导法制备。各组大鼠根据不同高压氧治疗疗程再分为4个亚组:1周组、2周组、3周组和4周组,正常组每组3只大鼠,脑出血组和高压氧治疗组每组5只大鼠。高压氧治疗组于脑出血术后6h对模型制备成功的大鼠给予压力为2.0ATA,稳压吸氧时间60min的HBO治疗,1次/d,每周7次。正常组和脑出血组不予任何干预措施,所有大鼠饲养在正常环境中,各组大鼠分别在对应治疗周期结束后采用断头取脑法保留血肿周围脑组织留取标本。采用干湿比重法测定脑组织的水含量,免疫组化法测定AQP4的表达,黄嘌呤氧化酶法测定SOD的活力。

结果:①脑组织的水含量:脑出血组及高压氧治疗组脑组织的水含量在1—3周均高于正常组($P<0.05$);高压氧治疗组较脑出血组脑组织的水含量均减少($P<0.05$);高压氧治疗组间1周、3周、4周脑组织水含量均低于2周($P<0.05$),该三组之间差异不明显($P>0.05$)。②脑组织AQP4的表达:脑出血组及高压氧治疗组脑组织AQP4表达在1—3周均高于正常组($P<0.05$);高压氧治疗组较脑出血组1—3周脑组织AQP4表达均减少($P<0.05$);高压氧治疗组间第1周及第3周与第2周相比表达较低($P<0.05$)。③脑组织SOD的表达:脑出血组及高压氧治疗组SOD表达在1—3周均高于正常组($P<0.05$),高压氧治疗组较脑出血组相比SOD表达均有增加($P<0.05$);高压氧治疗组间SOD表达1周、2周、3周均高于4周($P<0.05$),该3组之间相比无差异($P>0.05$)。

结论:高压氧治疗可下调AQP4表达减少血肿周围脑组织水含量,上调SOD表达,且连续高压氧治疗4周优于其他疗程。

关键词 高压氧;疗程;脑水肿;水通道蛋白-4;超氧化物歧化酶

中图分类号:R459.6,R743.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2018)-01-029-07

Effects of different hyperbaric oxygen treatment courses on perihematomal edema and expression of aquaporin-4 and superoxide dismutase in rats with intracerebral hemorrhage/WANG Jing,LI Hongling,ZHAO Long, et al.//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine,2018, 33(1): 29—35

Abstract

Objective: To explore the effects of different courses of hyperbaric oxygen (HBO) treatment on the expression of water channel protein (aquaporin-4, AQP4) and superoxide dismutase (SOD) in the rats with intracerebral hemorrhage (ICH).

Method: A total of 52 male SD rats were randomly divided into 3 groups, normal group (12 rats), intracerebral hemorrhage group (20 rats) and hyperbaric oxygen therapy group (20 rats).The cerebral hemorrhage model was induced by collagenase. The rats according to different hyperbaric oxygen treatment were further divided into 4 subgroups: 1 week group, 2 weeks group, 3 weeks group and 4 weeks group with 3 rats in each nor-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2018.01.006

1 河北医科大学第二医院康复医学二科(高压氧治疗室),河北省石家庄市,050000; 2 通讯作者

作者简介:王晶,女,住院医师(现工作单位:广东省韶关市粤北人民医院); 收稿日期:2017-01-16

mal group and 5 rats in each cerebral hemorrhage group and the hyperbaric oxygen treatment group. Hyperbaric oxygen therapy was given to the rats in 6h after the model was successfully prepared with the pressure 2.0ATA, stabilized oxygen time HBO 60min, 1 times /d, 7 times a week. Normal group and cerebral hemorrhage group were not given any intervention and all rats were kept in normal environment. The rats in each group were cut off the head to retain brain tissue around hematoma. The water content of brain tissue was measured by dry wet weight method. The expression of AQP4 was detected by immunohistochemical staining and SOD was determined by xanthine oxidase activity. The results of the experiment were processed by statistical analysis with SPSS19.0 software.

Result: ①Brain tissue water content: the water content of the brain tissue in cerebral hemorrhage group and hyperbaric oxygen treatment group was higher than that in the normal group in 1—3 weeks($P < 0.05$). Moreover, the water content in the hyperbaric oxygen treatment group was lower than that in the cerebral hemorrhage group($P < 0.05$). After 1 week, 3 weeks and 4 weeks hyperbaric oxygen treatment, the water content were all lower than that after 2 weeks hyperbaric oxygen treatment($P < 0.05$)②Expression of AQP4 in brain tissues: The expression of AQP4 in the cerebral hemorrhage group and the hyperbaric oxygen treatment group was higher than that in the normal group in 1—3 weeks($P < 0.05$), The expression of AQP4 in the hyperbaric oxygen treatment group was lower than that in the cerebral hemorrhage group in 1—3 weeks ($P < 0.05$). Compared with the 2 weeks hyperbaric oxygen treatment group, the level of AQP4 was lower than that in the 1 week and 3 weeks hyperbaric oxygen treatment group($P < 0.05$).③Expression of SOD in brain tissues: The expression of SOD in the cerebral hemorrhage group and hyperbaric oxygen therapy group was higher than that in the normal group at 1—3 weeks($P < 0.05$). Compared with the cerebral hemorrhage group, the expression of SOD in hyperbaric oxygen therapy group increased compared with that in the treatment group($P<0.05$). The SOD expression in 1 week, 2weeks, 3 weeks hyperbaric oxygen treatment group was higher than that in 4 weeks hyperbaric oxygen treatment group ($P<0.05$) and no significant difference was found between the 3 groups ($P>0.05$).

Conclusion: Hyperbaric oxygen therapy can down-regulate the expression of AQP4, reduce the water content of the brain tissue around hematoma-up-regulate the expression of SOD. Moreover, the continuous hyperbaric oxygen treatment for 4 weeks is better than other treatment courses.

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

Key word hyperbaric oxygen;treatment course;brain edema;aquaporin-4;superoxide dismutase

脑出血(intracerebral hemorrhage,ICH)是指原发性非外伤性脑实质内出血[1],是脑卒中疾病的一种,亚洲脑出血占脑卒中总体的20%—30%,且具有较高的病死率[2]。脑水肿是ICH后引起的继发性病理的过程[3],通常有继发的脑水肿、缺氧-脑水肿-缺氧、缺氧-脑水肿-颅高压等恶性循环,使得治疗效果不尽如人意。经国内外学者研究,高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)治疗对脑出血有明确疗效[31],HBO可减轻脑出血后脑水肿,进而改善神经功能障碍[4—5]。但关于高压氧治疗的疗程仍有较大的争议。大多数学者主张高压氧治疗的疗程为2—4周[11—12],且相关文献较少。

水通道蛋白(aquaporin-4,AQP4)主要分布于脑组织,室管膜细胞外侧基膜及星形胶质细胞膜表面表达尤其丰富。研究发现AQP4参与脑出血后脑水肿的恶化及持续,且脑出血后脑水肿的形成与继发性脑损伤和自由基氧化损伤有着较大关联[6]。本课题的研究小组在前期实验中表明[7—10]:脑出血大鼠高压氧治疗在脑出血后6h介入,压力在2.0ATA(Atmosphere absolute, ATA),吸氧时间为60min的条件下,脑出血大鼠进行HBO治疗能最大程度的下调血肿周围AQP4的表达,进而有效减轻脑水肿。

本文针对当前高压氧治疗疗程从2—4周不等[11—12]且相关基础研究较少的问题,在前期研究的基础上,通过改变大鼠脑出血后治疗的疗程,以检测脑组织水含量、AQP4及SOD表达为判断依据,寻找

HBO治疗对脑出血大鼠的最佳治疗疗程。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

医用高压氧舱(烟台冰轮高压氧舱有限公司)、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)、WH-43电热恒温干燥箱(天津泰斯特仪器公司)、5147R台式冷冻高速离心机(德国Eppendorf公司)、超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司)、DK 600型温浴箱(上海精宏实验设备有限公司)、BX41纤维照相仪及医用光学显微镜(日本OLYMPUS公司);Ⅶ型胶原酶(美国Sigma公司)、兔抗大鼠多克隆AQP4抗体及DAB试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)、大鼠SP试剂盒(河北博海生物工程有限公司)、超氧化物歧化酶(SOD)(南京建成生物工程研究所)。

1.2 实验动物分组

52只SPF级SD雄性大鼠于相同环境中饲养3天后随机分组,分为正常组(12只)、高压氧治疗组(20只)和脑出血组(20只)。高压氧治疗组又根据疗程不同分为1周、2周、3周、4周组4个亚组,每组5只SD大鼠,均在脑出血6h后行HBO治疗[9],压力均为2.0ATA[8],稳压吸氧时间为60min[10],1次/d。每组中分别在HBO治疗1周、2周、3周、4周后处死,留取标本。脑出血组共20只,每组5只,脑出血后在正常环境下饲养,正常组大鼠12只,每组3只,不予任何处理,同样饲养在正常环境中,处死时间与高压氧治疗组相同,之后留取标本。

1.3 动物脑出血模型的制备及神经功能评定

依据参考文献[13]采用胶原酶Ⅶ定位注射诱发大鼠右侧尾壳核脑出血模型。大鼠称重后,10%水合氯醛(0.4ml/100g)腹腔内注射麻醉,保证手术操作期间大鼠有自主呼吸,俯卧固定于立体定位仪上,使前后囟位于同一水平。头顶常规备皮消毒,于颅正中矢状切开约1.5cm,盐水棉球擦拭使前囟清晰暴露。依照立体定位图谱进行定位,于前囟后1mm、矢状线右侧3mm处(尾壳核定位处)以尖头改锥于颅骨上钻一直径约1mm的小孔,深达骨膜。将含有0.6U胶原酶Ⅶ/3μl生理盐水微量注射器垂直固定于立体定位仪上,使针头与小孔在同一直线上,进针约6mm(尾壳核位置),然后缓慢匀速推注5min,留针10min,缓慢出针5min,共计20min。骨蜡封住颅孔,缝合皮肤切口,再次消毒创处,置于空笼内待大鼠苏醒。

在大鼠脑出血模型制备之后6h,观察大鼠行为学及神经功能缺损评分方法进行神经功能缺损评分。按LongaFZ评分法法则进行评分[29]:0分,无神经功能缺陷体征;1分,进针对侧肢体(左侧)不能完全伸展(为轻度局灶神经功能缺损);2分,向进针对侧转圈,进针对侧肢体瘫痪,有追尾现象(为中度局灶神经功能缺损);3分,向进针对侧倾倒,不能站立(为重度局灶神经功能缺损);4分,不能自发行走,昏睡等意识障碍。2分以上认为造模成功。

1.4 高压氧治疗方法

高压氧治疗组大鼠于术后6h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(稳压时测得木箱排气口氧浓度可达85%),稳压吸氧时间60min,然后减压20min,1次/d,每周7天。根据不同分组给予1周、2周、3周、4周治疗。

1.5 出血灶周围脑组织水含量的测定

于术后1周、2周、3周、4周后各组大鼠于相应的时间点(对应当日下午15:00—16:00点)将10%水合氯醛(0.4ml/100g)注入大鼠腹腔内麻醉,用剪心脏放血法处死后,采用断头取脑留取标本。采用干湿比重法测定出血灶周围脑组织水含量:去除额极后,取病变侧2mm厚脑组织,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120℃烘干8h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×100%,用字母表示为:(B-C)/(B-A)×100%。

1.6 脑组织中AQP4的测定

各组大鼠于相应的时间点处死,取针眼后4mm脑组织,用4%多聚甲醛固定1周后,浸蜡,石蜡包埋,制备蜡块,石蜡切片机制备约5μm的石蜡切片待用。通过免疫组化ABC法进行染色,采用Image

Pro Plus 6.0全自动图像分析系统，测每高倍镜（10×40倍）下采集的图像中AQP4的平均光密度（optical density,OD）值。

1.7 脑组织中SOD的测定

制备组织匀浆，测定其蛋白浓度。根据说明书步骤通过酶标仪测量OD值，并通过公式计算各样本SOD活力值。

1.8 统计学分析

实验结果采用SPSS19.0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 脑组织水含量测定

与正常组相比，脑出血组1周末含水量开始增加，第2周达高峰、第3周逐渐下降，第4周基本恢复至正常水平。脑出血组第1周、第2周、第3周脑组织含水量均高于正常组，且差异有显著性意义（$P<0.05$）。第4周脑组织含水量与正常组相比差异不明显（$P>0.05$）。脑出血组组内比较：除第1周和第4周之间差异不明显外（$P>0.05$），其余各亚组之间相比均有显著性差异（$P<0.05$）；高压氧治疗组各时间点脑组织水含量变化趋势与脑出血组一致，但较脑出血组相比均有降低，且差异有显著性意义（$P<0.05$）。4个亚组之间脑组织水含量虽然从数据上看每个时间点数值都有变化，但除了第1周、第3周、第4周与第2周相比均有差异（$P<0.05$）外，该三组之间差异不明显（$P>0.05$），见表1。

2.2 AQP4表达测定的结果

与正常组相比，脑出血组大鼠在脑出血后第1周末AQP4表达开始增加，第2周达到顶峰，第3周开始逐渐下降，直至第4周基本恢复至正常水平。脑出血组第1周、第2周、第3周的脑组织AQP4的表达均高于正常组，且差异有显著性意义（$P<0.05$）。脑出血组第4周脑组织AQP4的表达与正常组相比差异不明显（$P>0.05$）。脑出血组中四个亚组之间相比均有显著性差异（$P<0.05$）；高压氧治疗组各时间点AQP4表达变化趋势与脑出血组相一致，且较脑出血组相比均有所降低。在第1周、第2周、第3周差异有显著性意义（$P<0.05$），但在第4周高压氧治疗组与脑出血组之间差异不明显（$P>0.05$）。高压氧治疗组4个亚组之间AQP4表达虽然在数据上看每个时间点数值均有变化，但第1周与第3周之间相比差异较小，无显著性意义（$P>0.05$），但该两组与第2周及第4周之间两两比较均有显著性差异（$P<0.05$）；见表2和图1。

2.3 SOD含量的测定

2.3.1 T-SOD：与正常组相比，脑出血组T-SOD表达在前3周均增加，第2周表达达高峰，第4周表达活性最低，下降至基本正常水平。脑出血组1周、2周、3周的T-SOD均高于正常组，且差异有显著性意义（$P<0.05$）。脑出血组第4周T-SOD与正常组相比差异不明显（$P>0.05$）。脑出血组内相比：1—3周各组之间相比无差异（$P>0.05$），但与第4周相比均有显著性差异（$P<0.05$）。高压氧治疗组各时间点SOD表达变化趋势与脑出血组一致，但较脑出血组相比均有增加，且差异有显著性意义（$P<0.05$）。高压氧治疗组4个亚组之间SOD表达，虽然从数据上看每个时间点数值都有变化，但除了第1周、第2周、

表1 脑组织水含量比较 （$\bar{x}\pm s$,%）

组别	例数	第1周	第2周	第3周	第4周
正常组	3	79.89±1.32①	80.08±0.57①	80.13±1.67①	79.98±2.05
脑出血组	5	80.48±1.85①	100.00±0.01①	79.27±0.32①	80.28±3.07
高压氧治疗组	5	79.35±0.40①	87.02±4.10①②	79.75±0.13①	79.82±1.69

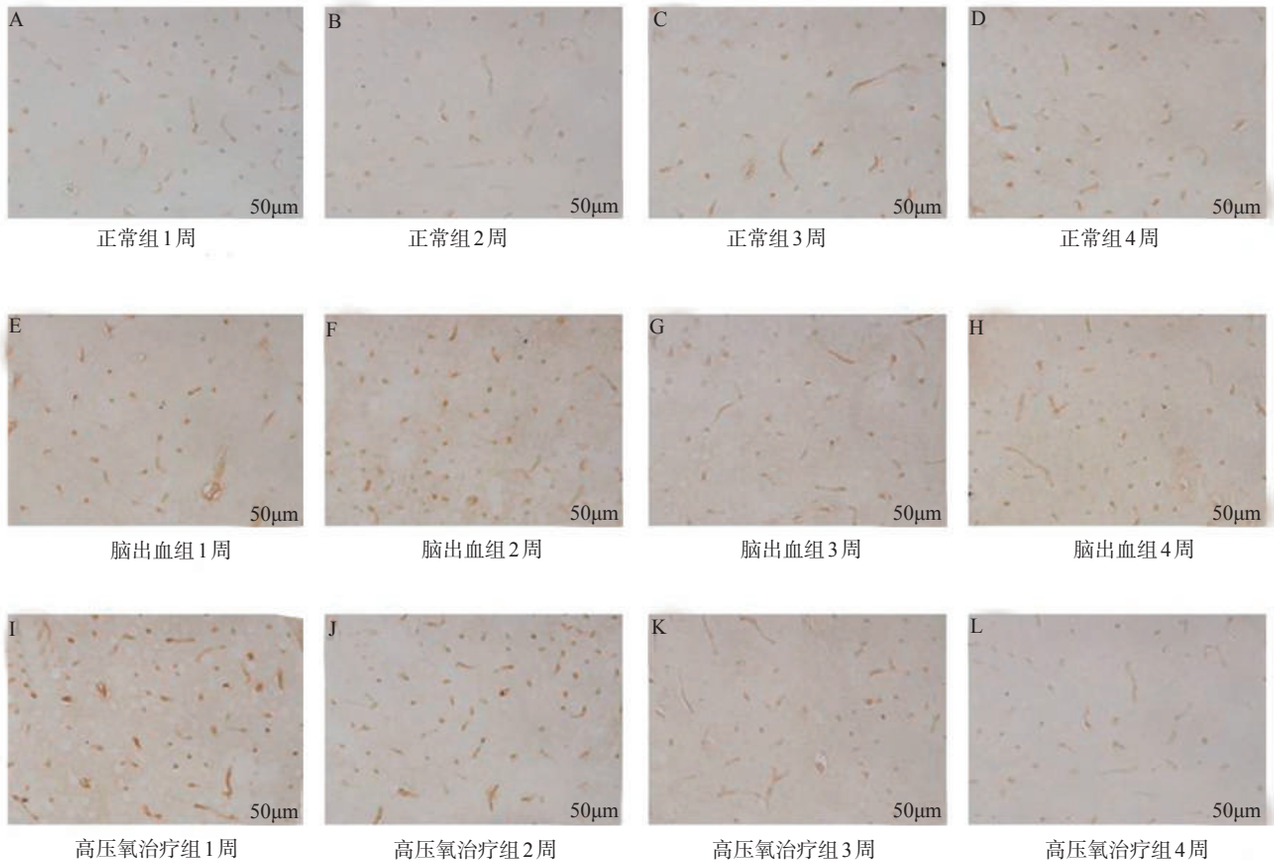
注：①脑出血组、高压氧治疗组和正常组之间相同时间点两两比较均$P<0.05$；②与同组其他时间点比较$P<0.05$

表2 脑组织AQP4表达比较 （$\bar{x}\pm s$,%）

组别	例数	第1周	第2周	第3周	第4周
正常组	3	12.59±0.19③	11.83±0.16①	12.71±0.13①	11.97±0.17①
脑出血组	5	15.71±0.22②④	18.21±0.15①	14.98±0.17①	12.66±0.20①
高压氧治疗组	5	13.59±0.21①⑧	17.29±0.19①	14.12±0.19①②	12.69±0.21①③

注：①脑出血组、高压氧治疗组和正常组之间相同时间点两两比较均$P<0.05$；②与同组其他时间点比较$P<0.05$；③与同组第一周比较$P>0.05$

图1 AQP4免疫组化图 (×400)



第3周与第4周相比均有显著性差异(P<0.05)外,该3组之间相比无差异(P>0.05)。表3。

2.3.2 Cu-ZnSOD:与正常组相比,脑出血组Cu-ZnSOD表达均增加,第3周表达最多。脑出血组各亚组的Cu-ZnSOD表达活性均高于正常组,且差异有显著性意义(P < 0.05)。脑出血组相比:脑出血组各亚组之间相比无差异(P>0.05);高压氧治疗组各时间点Cu-ZnSOD表达变化趋势与脑出血组一致,但较脑出血组相比均有增加,且差异均有显著性意义(P<0.05)。虽然从数据上看每个时间点数值都有变化,但4个亚组之间相比差异不明显(P>0.05)。表3。

3 讨论

本研究通过4周的研究观察发现,高压氧治疗组与脑出血组相比前3周高压氧治疗均使AQP4表达下降,直到第4周,两者恢复至基本正常水平;且脑出血大鼠在脑出血后第2周AQP4为表达高峰,并在本实验过程中先后出现10只脑出血组大鼠死亡,

表3 脑组织中SOD表达 ($\bar{x}\pm s$,U/ml)

组别	例数	第1周	第2周	第3周	第4周
T-SOD正常组	3	13.97±0.02①	14.02±0.01①	13.92±0.01①	14.10±0.03
T-SOD脑出血组	5	15.64±0.01①	15.92±0.07①	15.81±0.01①	14.09±0.02①②
T-SOD高压氧治疗组	5	15.88±0.08①	15.98±0.09①	15.90±0.04①	15.60±0.11①②
Cu-ZnSOD正常组	3	8.51±0.19①	8.57±0.23①	8.63±0.17①	8.52±0.04①
Cu-ZnSOD脑出血组	5	7.81±0.01①	7.53±0.01①	9.99±0.01①	8.61±0.01①
Cu-ZnSOD高压氧治疗组	5	9.50±0.53①	10.27±0.50①	10.37±0.33①	9.85±0.05①

注:同类型SOD中:①T-SOD和Cu-ZnSOD脑出血组、高压氧治疗组和正常组之间相同时间点两两比较均P<0.05;②与同组其他时间点比较P<0.05

其中3只死于脑出血后2—4d，7只大鼠死于脑出血后10—13d，解剖后发现大鼠脑组织存在严重脑水肿。说明脑水肿仍是大鼠在脑出血后第2周死亡的主要原因，且在本课题的前期研究发现在脑出血大鼠第3天也有较为明显脑水肿，目前相关文献的研究时间基本限于1周内，所以有关脑出血1周后脑水肿及AQP4表达的规律及其机制尚无文献可参考。通过本研究我们推测：卒中后早期脑水肿形成和血脑屏障通透性增加及AQP4表达上调有密切关系，AQP4表达的上调可以促使细胞毒性脑水肿模型中脑组织的肿胀[17]，本课题组前期研究[8—9]及魏社鹏、陈翰博[14—16]的研究可以说明此情况，而在脑出血后第2周再次出现严重脑水肿，并且与AQP4高表达相关，我们推测：脑卒中后早期脑水肿形成与血脑屏障通透性增加及AQP4表达上调有密切关系，但AQP4是双向水通道蛋白，既有促使脑水肿形成（细胞毒性脑水肿）的作用，也有参与清除脑水肿（血管源性脑水肿）的作用[18]，Kimura等[20—21]在研究中同样发现AQP4有促进多余水清除及促神经再生作用。Miyamoto[19]研究中显示，在自身免疫性脑脊髓炎的小鼠中，AQP4的表达显著增加，且脑中的mRNA在第21天达高峰。因此，我们初步推测AQP4表达的上升既有促使脑水肿形成（细胞毒性脑水肿）的作用，也有参与清除脑水肿（血管源性脑水肿）的作用。至于AQP4升高是否促进神经再生等，我们会在今后的研究中进行探讨。但在本研究结果显示，AQP4上调增加脑水肿严重性，使大鼠病死率增加，弊大于利。本研究结果中高压氧治疗组与脑出血组相比前3周高压氧治疗均使AQP4表达下降，直到第4周，两者恢复至基本正常水平。说明高压氧治疗可通过下调AQP4的表达，减轻脑水肿，降低大鼠病死率。

陈婵等[22]的众多临床研究表明，由于氧的化学特性，氧比较容易接受电子，进而使氧与电子结合形成氧自由基，进一步使机体内氧自由基激增导致自由基过剩，由此引发机体过氧化损伤。尤其是对氧要求高的身体器官，如大脑、心脏等生命重要脏器，由于出血性病伤、缺血或手术治疗，都比较容易发生因缺血再灌注引发（氧自由基）损伤，如果不能够及时清除自由基，会对机体造成严重的伤害。人体中超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）水平与自由基含量的对应关系呈负相关，故通过对SOD的检测，可以间接反映得到体内自由基含量。SOD对免除自由基损伤、平衡机体氧化与抗氧化系统有至关重要作用。自由基的氧化损伤使神经元及其细胞膜上不饱和脂肪酸的破坏和过氧化是引起脑损伤的重要原因。研究发现[23]，高压氧治疗能够加快自由基的清除，增加SOD的含量，此外，高压氧治疗能够有效提高细胞内线粒体有氧工作的能力，加强血肿周围半暗带、缺血地带的供氧量，逆转神经细胞缺氧损伤[24]，有效降低无氧代谢导致的酸性中毒。但高压氧的过度治疗可能会导致氧中毒，机体发生过氧化。故本文应用SD大鼠脑出血模型，观察不同高压氧治疗周期对SOD表达水平变化的影响，以期通过SOD变化总结出HBO对ICH治疗的最佳疗程。高等动物细胞内只有两种SOD（Cu-ZnSOD、Mn-SOD），两者相加即为总SOD（T-SOD）。实验中经样本前处理过的样本中Mn-SOD活力丧失，但Cu-ZnSOD活力不变。在研究结果中可以看到：Cu-ZnSOD的活性表达变化趋势与T-SOD基本一致。与正常组相比，脑出血组1—3周的T-SOD均高于正常组。SOD升高的困难原因主要是由于在急性脑出血后，自发的氧化反应增加，在血管壁产生过量的超氧化物及过氧化物，进而导致SOD的消耗增加，使其含量减少，使得脂质类过氧化物损伤血管内皮细胞，由此刺激机体的应激反应，以增加SOD的含量，消除自由基的损害。高压氧治疗会引起机体的活性氧簇（reactive oxygen species，ROS）的含量增加，继而增加抗氧化物酶（如SOD）的活性，使自由基被更快清除[30]。本实验结果显示，高压氧治疗可使SOD的含量增加，增加机体的抗氧化能力，并持续到第3周。但过量的高压氧治疗又会引起机体的氧化应激（机体的抗氧化防御系统作用不足，体内形成过多的自由基时，氧化剂与抗氧化剂之间的平衡被破坏），而加重脑缺血、缺氧的损害。本研究观察治疗到第4周，以期了解对大鼠脑组织的氧化应激作用，总结高压氧治疗的最佳疗程。本实验中第4周SOD的水平恢复至基本正常水平，但不低于正常。且高压氧治疗组各时间点SOD含量均高于脑出血组，更利于自由基的清除，减轻脑损伤。在本研究中第4周脑组织内SOD含量仍高于脑出血组，由

此可见高压氧质量至第4周机体仍有抗过氧化能力,因此高压氧治疗4周优于其他疗程。

在毛中臣等[25—26]的临床研究中显示高压氧治疗疗程为30天时,对脑出血患者的脑水肿的消除和神经功能恢复较好,这与本实验中AQP4及SOD的表达变化相一致。方琴[27]通过观察患者的日常生活活动变化发现,高压氧治疗脑出血疗效观察>2个疗程的治愈率优于≤2疗程。赖廷海[28]通过观察患者症状和体征显示,高压氧治疗脑出血>3个疗程的治愈率优于≤3疗程。由此可见,一定范围内,适当增加疗程,有利于脑出血后的神经功能恢复。

综上所述,在脑出血6h后实施高压氧治疗,治疗压力为2.0ATA,稳压吸氧时间为60min的情况下,治疗疗程为4周优于其他疗程。本文实验结果表明,高压氧治疗能够有效降低血肿周围脑水肿的严重程度,对治疗出血性脑卒中有较好疗效。其可能机制与提高SOD表达和降低AQP4表达相关,且疗程为4周时优于其他疗程。

参考文献

[1] 贾建平, 崔丽英, 王伟. 神经病学[M].北京:人民卫生出版社, 2009.5.

[2] Van Asch CJ, Luitse MJ, Rinkel GJ,et al. Incidence,case fatality, and functional outcome of intracerebral hemorrhage over time, according to age, sex, and ethnic origin:a systematic review and meta-analysis[J].Lancet Neurol,2010,9:167—176.

[3] Staykov D, Wagner I, Volbers B, et al. Natural course of perihemorrhagic edema after intracerebral hemorrhage[J]. Stroke, 2011, 42(9): 2625—2629.

[4] He Y, Karabiyikoglu M, Hua Y, et al. Ischemic preconditioning attenuates brain edema after experimental intracerebral hemorrhage[J]. Translational Stroke Research, 2012, 3 (1): 180—187.

[5] Rockswold SB,Rockswold GL,Defillo A. Hyperbaric oxygen in traumatic brain injury[J].Neurol Res, 2007,29(2):162—172.

[6] Manley GT, Fujiumura M, Ma T, et al. Aquaporin-4 deletion in micereduces bran edema after acute water intoxication and ischemic stroke[J]. Nat Med,2000, 6(2):159—163.

[7] 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.

[8] 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.

[9] 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.

[10] 赵龙, 李红玲, 赵艳颖, 等. 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[J]. 中国康复医学杂志, 2016, 29(9): 810—815.

[11] Michalski D, Heind M, Kacza J, et al. Spatio-temporal course of macrophage-like cell accumulation after experimental embolic stroke depending on treatment with tissue plasminogen activator and its combination with hyperbaric oxygenation[J]. European Journal of Histochemistry, 2012,56: 78—89.

[12] 童晓轩,肖平田,唐涛,等. 高压氧对脑出血大鼠脑内血管新生因子HIF-1α的影响[J]. 中国康复, 2010, 25(6): 419—422.

[13] 李红玲. 胶原酶诱导的脑出血大鼠模型及其行为学改变[J]. 中国康复医学杂志, 2006, 21(11): 977—979.

[14] 魏社鹏,冯波,赵继宗,等.活血散瘀方对创伤性颅脑损伤大鼠脑组织水肿的影响[J].中华神经医学杂志,2014,13(10):1003—1007.

[15] 陈翰博,余化霖,李经辉.水通道蛋白-4在小鼠脑水肿早期中的表达[J].广东医学,2013,34(7):1021—1023.

[16] 李冬梅,张红岩,张立新,等.依达拉奉与甘露醇联合应用对大鼠脑梗死后脑组织内水通道蛋白-4表达的影响[J].医学临床研究,2015,32(10):1882—1885.

[17] Zhao J, Moore AN,Clifton GL,et al. Sulforaphane enhances aquaporin-4 expression and decreases cerebral edema following traumatic brain injury[J].J Neurosci R,2005,82:499—506.

[18] 阮中繁,谢明,武衡.水通道蛋白4在脑水肿形成过程中的作用研究[J].社区医学杂志,2015,13(2):62—64.

[19] Miyamoto K, Nagaosa N, Motoyama M, et al.Upregulation of water channel aquaporin-4 in experimental autoimmune encephalomyelitis[J].J Neural Sci,2009,276(1—2):103—107.

[20] Kimura A, Hsu M, Seldin M,et al.Protective role of aquaporin-4 water channels after contusion spinal coed injury[J]. Annals of Neurology, 2010,67(6):794—801.

[21] Kong H,Sha LL,Fan Y,et al.Requirement of AQP4 for antidepressive efficiency of fluoxetine:implication in adult hippocampal neurogenesis[J].Neuropsychopharmacology,2009,34(5):1263—1276.

[22] 陈婵,邹望远,王锷,等.高压氧与脑缺血再灌注损伤中氧化应激[J].国际神经病学神经外科学杂志,2008,35(4):311—314.

[23] 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, 2012,72(3):650—659.

[24] Mayer SA, Lignelli A, Fink ME, et al. Perilesional blood flow and edema formation in acute intracerebral hemorrhage: a SPET study[J].Stroke,1998, 29:1791—1798.

[25] 何增义,涂晓华, 符晓.高压氧对高血压脑出血术后患者神经功能康复的影响[J].临床合理用药,2010,3(20):29—30.

[26] 毛中臣,苏建,付志新,等.高压氧治疗高血压性脑出血的疗效分析[J].中国实用神经疾病杂志,2014,17(16):78—79.

[27] 方琴,施丽琴,汪瑞忠.高压氧治疗脑出血术后患者疗效观察[J].中国现代医生,2014,52(1):150—153.

[28] 赖廷海,张乃崇,梁淑萍.高压氧综合治疗高血压脑出血临床分析[J].中国实用神经疾病杂志,2010,13(9):45—47.

[29] Longa EZ,Weinstein PR,Carlson S,et al.Reversible middle cerebral artery exclusion without craniectomy in rats[J]. Stroke,1989,20:84—91.

[30] Nemoto EM, Betterman K. Basic physiology of hyperbaric oxygen in brain[J]. J.Neurol Res, 2007, 29(5): 116—126.

[31] Qin Z, Xi G, Keep RF, et al. Hyperbaric oxygen for experimental intracerebral hemorrhage[J]. Acta Neurochir Suppl, 2008, 105: 113—117.