基础研究 文章编号:0253-3626(2010)09-1327-05

创伤性脑损伤后高血糖对脑神经元损害作用的研究

王 亮,陈 亮,杨 刚,唐文渊
(重庆医科大学附属第一医院神经外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨大鼠创伤性脑损伤后高血糖对神经元的损害作用。方法:成年雄性 SD 大鼠随机分成正常对照组,创伤性脑损伤(Traumatic brain injury,TBI)组和胰岛素治疗组。每组伤侧及健侧皮层设立自身对照。分别测定各组伤前伤后各时间点血糖值,逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)测定伤后伤侧及健侧皮层葡萄糖转运蛋白 3(Glucose transporter 3,GLUT-3)基因表达,Western-blot 法测定伤后伤侧及健侧皮层 GLUT-3 蛋白表达,免疫荧光法测定伤后各组伤侧及健侧皮层单个神经元神经特异性烯醇化酶(Neuronspecificenolase,NSE)表达量和 NSE 阳性染色细胞数,longa 评分、平衡木试验、网屏试验综合评定伤后各组神经功能。结果:正常对照组各时间点血糖值,GLUT-3 表达量,单个神经元 NSE 表达量及 NSE 阳性细胞数均未见明显变化;TBI 组动物伤后血糖升高,伤侧皮层 GLUT-3 表达增加,单个神经元 NSE 表达量增加而 NSE 阳性染色细胞数明显减少神经瘫裂较重;胰岛素治疗组伤后血糖变化不明显,伤后 12、24、48、72 h GLUT-3 表达量,单个神经元 NSE 表达量及 NSE 阳性染色细胞数均明显多于 TBI 组神经瘫裂程度明显轻于 TBI 组。各组健侧皮层 GLUT-3 和单个神经元 NSE 表达量,NSE 阳性染色细胞数均未见明显变化。结论:TBI 后高血糖可加重神经元损伤,其机制可能与 TBI 后高血糖抑制伤后神经元 GLUT-3 的表达,增加伤后神经元葡萄糖代谢障碍有关。

【关键词】创伤性脑损伤;高血糖;葡萄糖转运蛋白 3;神经元特异性烯醇化酶
【中国图书分类法分类号】R741.02;R361 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-11-02

The damage of hyperglycemia to the neurons following traumatic brain injury

WANG Liang, et al
(*Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To explore the damage of hyperglycemia to the neurons. *Methods*: Adult male SD rats were randomly divided into 3 groups: normal control group, traumatic brain injury group and insulin treated group, the blood glucose concentrations of the rats were measured before injury and when they were killed. The method of RT-PCR was applied to detect the expression of GLUT-3 genes. The change of GLUT-3 protein was detected by western-blot. The changes of NSE and NSE positive- Staining cells were examined by immunofluorescence staining Longa, balance test and screen test score were used to assess neural fnuctional defect. *Results*: The blood glucose concentration only increased markedly in traumatic brain injury group. through the expression of GLUT-3 and single cell NSE increased in the injured cortical both in traumatic brain injury group and insulin treated group, there was much more expression of GLUT-3 and single cell NSE but less NSE positive-Staining cells and neural functional defect in the insulin treated group at 12, 24, 48, 72 h after injury. Meanwhile there were no changes were found in the uninjured side of each group. *Conclusion*: The hyperglycemia after traumatic brain injury increased the damage to the neurons by decreasing the expression of GLUT-3.

【Key words】Traumatic brain injury; Hyperglycemia; Glucose transporter 3; Neuronspecificenolase

神经元作自身糖原及能量底物贮备量极低,需通过持续摄入血液葡萄糖代谢供能才能维持其结构和功能的完整。葡萄糖是极性分子,必需通过特异性分布于神经元胞膜的葡萄糖转运蛋白 3(Glucose transporter 3,GLUT-3)介导才能从其胞外转运至胞内[1]。目前研究显示脑内 GLUT-3 表达可能受周围葡萄糖浓度的影响,但这种影响具有明显的不固定性,同等程度高血糖或低血糖在不同时间[2]和不同疾病模型中[3,4]对其表达影响明显不同。临床研究显示创伤性脑损伤(Traumatic brain injury,TBI)后会有不通程度的血糖升高[5],且其升高水平直接预示着患者的预后[6]。能量代谢障碍是 TBI 后一切继发性损伤的根源,TBI 后高血糖是否通过影响伤后 GLUT-3 的表达,影响 TBI 后神经元能量代谢,加重脑损伤,目前国内外均未见相关文献报道。故本文以伤后神经元为研究对象,通过观察伤后皮层神经元 GLUT-3,单个神经元神经元特异性烯醇化酶(Neuronspecificenolase,NSE)表达及 NSE

作者介绍:王 亮(1983-),男,硕士,
研究方向:创伤性脑损伤后脑能量代谢变化及相关机制。
通讯作者:唐文渊,男,教授,E-mail:wld730@163.com。

阳性染色细胞数和伤后大鼠神经功能的变化，探讨 TBI 后高血糖对神经元的损害作用。

1 材料及方法

1.1 实验动物及分组

清洁级雄性 SD 大鼠，体重（250.49 ± 12.81）g，随机数字抽样法分成正常对照组，TBI 组，胰岛素治疗组，每组又各设正常，伤后 6、12、24、48、72 h 6 个时间点，每组每个时间点各 10 只，5 只用于免疫荧光标本的采集，5 只用于 RT-PCR 及 Western-blot 用标本的采集。各鼠均取造模前及处死前尾静脉血，采用 Johnson 公司 One-Touch Ⅱ型微型血糖仪测其血糖值。

1.2 主要仪器及试剂

脑外伤头颅打击器；紫外分光光度计；PCR 仪；凝胶成像仪；半干转机仪；LEICA 显微镜；NSE，GLUT-3 和 β-actin 抗体；FITC 标记山羊抗兔 IgG，Trizol 试剂；RT-PCR 试剂盒；SABC 法免疫组化试剂盒；BCA 蛋白浓度测定试剂盒；ECL 化学发光试剂盒；中效低精蛋白锌胰岛素。

1.3 动物模型的制作和标本的收集

伤前动物禁食禁水 8 h。采用刘媛等人[7]的方法制作中型 TBI 模型。伤后动物均采用鼻饲法喂养。胰岛素治疗组大鼠于伤后即刻皮下注射中效低精蛋白锌胰岛素 1.0 U，后每 12 h 追加 1.0 U，同时每天测随机血糖 4 次，如遇血糖降低即刻腹腔注射 10% 葡萄糖液予以纠正，以维持血糖在伤前正常范围。正常对照组动物不做致伤处理，但禁食禁水和鼻饲法喂养同 TBI 组和胰岛素治疗组。选取伤侧损伤周围 2 mm 内及健侧对称部位脑皮层为观测区[8]，免疫组化标本经心灌注 4%冷多聚甲醛固定后断头取脑，以前后囟连线中点为基线冠状位切取 4 mm 厚（基线前后各 2 mm）完整脑片按常规制作成石蜡包埋块。RT-PCR 及 Western blot 用标本于深度麻醉动物后断头取脑，迅速选取损伤周围 2 mm 范围内及健侧对称部位皮层脑组织均分两份置于液氮中保存。

1.4 相关指标的测定方法及步骤

1.4.1 RT-PCR 法测观测区皮层神经元 GLUT-3mRNA 表达测定 按 Trizol 试剂说明书步骤提取总 RNA，紫外分光光度计分析纯度后 -80℃保存备用。采用 Primer5 引物设计软件设计 GLUT-3 和 β-actin 上下游引物（见表 1），委托上海生物技术有限公司合成。RT 扩增条件：30℃ 10 min，50℃ 30 min，94℃ 5 min；PCR 扩增条件：94℃ 2 min，94℃ 30 s，55℃ 30 s，72℃ 30 s，循环 30 次。产物经琼脂糖凝胶电泳分离；采用 Quanity-one 图像分析软件测定 RT-PCR 产物带吸光度、本底吸光度和条带面积，计算出条带积分光密度，用 GLUT-3 条带积分光密度值与内参 β-actin 积分光密度值比值表示该样本 GLUT3 mRNA 的表达水平。

表 1 RT-PCR 用 GLUT-3 及 β-actin 引物序列及片段大小

基因	引物序列	片段长度（bp）
GLUT-3	上游：5'-AGCGGAGTCGGTTGAAAT-3' 下游：5'-CCTCAGAGCCCAGAATAAAG-3'	206 bp
β-actin	上游：5'-TCAGGTCATCACTATCGGCAAT-3' 下游：5'-AAAGAAAGGGTGTAAAACGCA-3'	483 bp

1.4.2 Western-blot 法检测各组观测区皮层神经元 GLUT-3 表达 脑组织加人细胞裂解后冰上匀浆，按 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度，加入 2×SDS 加样缓冲液，经煮沸和超声粉碎，离心，每个泳道上样 50 μg 总蛋白，进行 SDS-PAGE 凝胶电泳，再将蛋白带半干电转移到 PVDF 膜上，用含 50 g/L 脱脂奶粉的 TBSB 缓冲液室温下封闭膜 2 h，后加入 1/300 稀释的 GLUT-3 或 1/400 稀释的 β-actin 抗体 4℃ 过夜，再加 1/2 000 稀释的山羊抗兔二抗室温孵育 1 h，ECL 法显影，采用凝胶成像系统分析条带吸光值。

1.4.3 免疫荧光法测观测区皮层单个神经元 NSE 表达量及 NSE 阳性染色细胞数 石蜡包埋块 5 μm 厚冠状位切片，常规脱蜡至水，微波修复抗原，3‰Triton X-100 破膜 30 min，BSA 封闭液 37℃ 40 min，不洗，直接滴加 1/200 稀释的 NSE 多克隆抗体 4℃ 过夜，37℃复温 45 min，PBS 洗涤 5 min 3 次，滴加 FITC 标记山羊抗兔 IgG，避光 37℃作用 40 min，避光 PBS 洗涤 5 min 3 次，封片后荧光倒置显微镜下观查摄像并保存，采用 impro-plus6.0 图像分析软件分析每个视野平均荧光强度（Mean density，MD）和阳性染色细胞数，并以此计算出单个神经元 MD 值（视野平均荧光强度/阳性染色细胞数）。各组阴性对照用 PBS 代替一抗，其余步骤同前。

1.4.4 大鼠神经功能评定 采用 Longa 评分法、平衡木实验、网屏实验评定动物神经瘫痪程度，具体评分标准。Longa 评分法：0 分，正常；1 分，不能完全伸展左前肢，轻度神经功能缺损；2 分，行走时向侧转圈，中度神经功能缺损；3 分，行走时向左侧跌倒，重度神经功能缺损；4 分，不能行走及意识水平下降。平衡木实验评分标准：0 分，能跳上平横木，在上面行走不会跌倒；1 分，能跳上平横木，在上面行走，跌倒机会小于 50%；2 分，能跳上平横木，在上面行走，跌倒机会大于 50%；3 分，在健侧后肢帮助下能跳上平横木，但受累的瘫侧后肢不能帮助向前移动；4 分，在平衡木上不能行走，但可坐在上面；5 分，将鼠放在平衡木上会掉下来。网屏实验评分标准：0 分：前爪握住网屏大于 5 s，不会掉下来；1 分；暂时握住网屏，滑落一段距离，但没有掉下来；2 分，在 5 s 内掉下来；3 分：网屏转动里，鼠即刻掉下来。

1.5 统计学分析

计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 13.0 统计软件进行处理，两组间均数比较采用 t 检验，多组间均数间比较采用方差分析，GLUT-3 表达量与 NSE 阳性表达的相关性采用相关分析。

2 结 果

2.1 创伤性脑损伤后血糖值变化

各组伤前血糖差异不明显（$P>0.05$）；TBI 组血糖于伤后

6 h 开始升高，24 h 达到顶峰，48 h 开始下降，72 h 仍高于正常水平；胰岛素治疗组和正常对照组伤后各时间点血糖变化不明显（$P>0.05$），见图 1。

2.2 创伤性脑损伤后观测区皮层神经元 GLUT-3mRNA 表达

见表 2。正常对照组伤侧观测区皮层脑组织各时间点神经元 GLUT-3 表达变化不明显（$P>0.05$）；TBI 组伤侧观测区皮层神经元 GLUT-3 表达于伤后 12 h 开始增加，一直持续到伤后 72 h 胰岛素治疗组伤后 12、24、48、72 h 伤侧观测区皮层神经元 GLUT-3 表达明显高于 TBI 组；各组健侧皮层相应部位皮层神经元 GLUT-3 表达变化不明显（$P>0.05$）。

2.3 创伤性脑损伤后观测区皮层神经元 GLUT-3 蛋白表达

见表 3。正常对照组各时间点 GLUT-3 表达变化不明显（$P>0.05$）；TBI 组大鼠 GLUT-3 表达于伤后 12 h 开始升高，持续增高致伤后 72 h；胰岛素治疗组伤后 12、24、48、72 h 神经元 GLUT-3 表达均明显高与 TBI 组伤后各组各时间点健侧皮层神经元 GLUT-3 表达变化不明显（$P>0.05$）。

2.4 创伤性脑损伤后观测区皮层单个神经元 NSE 表达

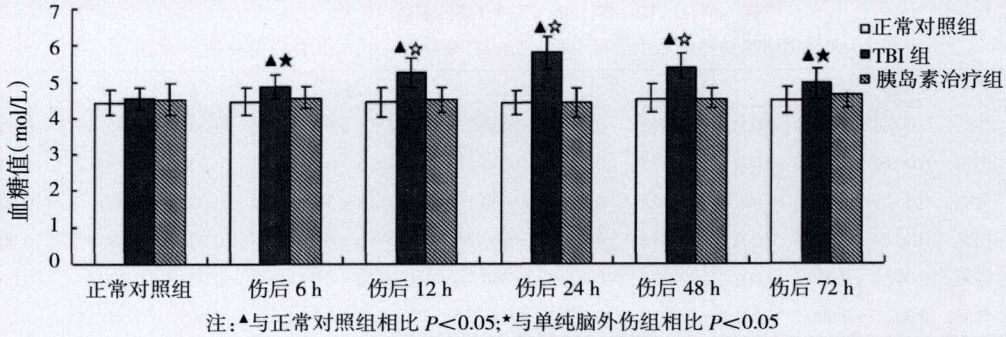
各组各时间点健侧观测区皮层单个神经元 NSE 表达差异不明显；正常对照组各时间点伤侧观测区皮层单个神经元 NSE 表达变化不明显；TBI 组和胰岛素治疗组伤侧观测区皮层单个神经元 NSE 表达都于伤后 12 h 开始升高，持续高表达致伤后 72 h，胰岛素治疗组伤后 12、24、48、72 h 单个神经元 NSE 表达量明显高于 TBI 组，如表 3。

2.5 创伤性脑损伤后观测区皮层神经元 NSE 阳性染色细胞数变化

正常情况下，NSE 分布于神经元胞浆，免疫荧光可见神经元胞浆有绿色荧光标记，如图 2。各组伤后健侧观测区皮层 NSE 阳性染色细胞数差异不明显；正常对照组各时间点伤侧及健侧观测区皮层 NSE 阳性染色细胞数差异不明显；TBI 组和胰岛素治疗组动物伤侧观测区皮层 NSE 阳性染色细胞数均于伤后 6 h 开始降低，持续降低致伤后 72 h，但胰岛素治疗组伤后 12、24、48、72 h NSE 阳性染色细胞数显多于 TBI 组。如表 4。

2.6 大鼠神经功能评定结果

TBI 组大鼠神经功能评定结果于伤后 6 h 开始降低，持续降低至伤后 72 h；胰岛素治疗组伤后 12、24、48、72 h 大鼠



注：▲与正常对照组相比 $P<0.05$；★与单纯脑外伤组相比 $P<0.05$

图 1 大鼠创伤性脑损伤后血糖值变化

表 2 大鼠创伤性脑损伤急性期皮层 GLUT-3 mRNA 表达（$\bar{x}\pm s$，$n=5$）

组别	项目	正常	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
正常对照组	健侧	0.28 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.30 ± 0.01	0.29 ± 0.03
	伤侧	0.30 ± 0.04	0.28 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.29 ± 0.02	0.31 ± 0.01	0.29 ± 0.02
单纯脑外伤组	健侧	0.30 ± 0.03	0.31 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.30 ± 0.01
	伤侧	0.29 ± 0.01	0.31 ± 0.02	0.34 ± 0.03▲	0.40 ± 0.02▲	0.43 ± 0.02▲	0.35 ± 0.03▲
伤后胰岛素处理组	健侧	0.29 ± 0.01	0.30 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.31 ± 0.03	0.30 ± 0.02
	伤侧	0.30 ± 0.02	0.32 ± 0.02	0.38 ± 0.01▲★	0.43 ± 0.02▲★	0.46 ± 0.01▲★	0.40 ± 0.03▲★

注：▲与正常对照组相比 $P<0.05$；★与单纯脑外伤组相比 $P<0.05$

表 3 大鼠创伤性脑损伤急性期皮层 GLUT-3 蛋白表达（$\bar{x}\pm s$，$n=5$）

组别	项目	正常	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
正常对照组	健侧	0.17 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.18 ± 0.01	0.19 ± 0.03
	伤侧	0.20 ± 0.04	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.18 ± 0.02	0.17 ± 0.01	0.20 ± 0.03
单纯脑外伤组	健侧	0.19 ± 0.03	0.18 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.18 ± 0.01
	伤侧	0.20 ± 0.01	0.19 ± 0.02	0.31 ± 0.03▲	0.41 ± 0.01▲	0.50 ± 0.02▲	0.58 ± 0.02▲
伤后胰岛素处理组	健侧	0.19 ± 0.01	0.18 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.20 ± 0.03	0.19 ± 0.02
	伤侧	0.20 ± 0.03	0.20 ± 0.02	0.42 ± 0.02△★	0.54 ± 0.03▲★	0.70 ± 0.02▲★	0.85 ± 0.04▲★

注：▲与正常对照组相比 $P<0.05$；★与单纯脑外伤组相比 $P<0.05$

神经功能评定结果明显优于 TBI 组。见表 6。

2.7　创伤性脑损伤后观测区皮层神经元 GLUT-3 表达量与 NSE 阳性染色细胞数相关性分析。

TBI 后观测区皮层神经元 GLUT-3 表达量与 NSE 阳性染色细胞数呈正相关（r=0.901，P<0.01）。

3　讨　论

脑内糖原其含量很低[3.3 mmol/(kg·鼠)]，酵解供能仅能维持大脑 5 min 左右正常活动；同时因脑细胞代谢率高，耐受

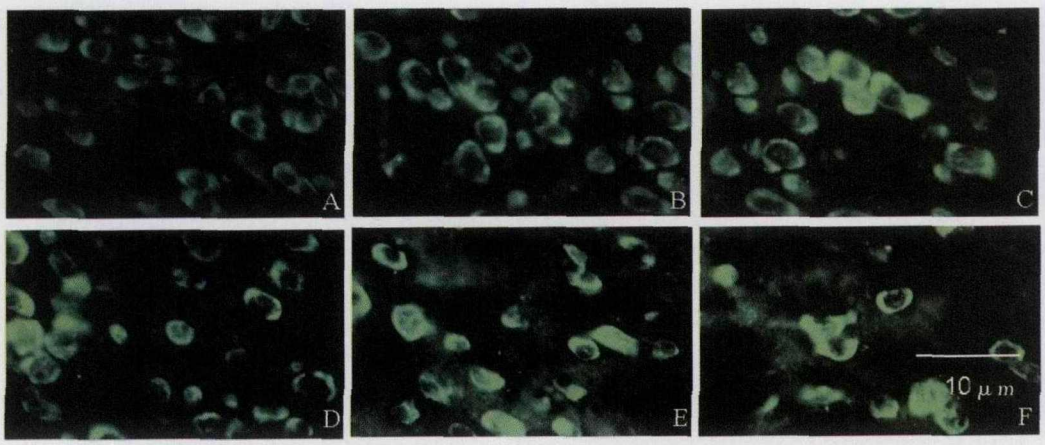


图 2　免疫荧光法测 TBI 组各时间点 NSE 阳性表达数（A、B、C、D、E、F 分别表示 TBI 组正常、伤后 6、12、24、48、72 h NSE 表达）

表 4　大鼠创伤性脑损伤后皮层单个神经元 MD 表达（$\bar{x}\pm s$，n=5，免疫荧光法 ×400）

组别		正常	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
正常对照组	健侧	0.002 3 ± 0.000 2	0.002 2 ± 0.000 2	0.002 3 ± 0.000 2	0.002 1 ± 0.000 2	0.002 2 ± 0.000 1	0.002 0 ± 0.000 3
	伤侧	0.002 5 ± 0.000 4	0.002 4 ± 0.000 3	0.002 4 ± 0.000 2	0.002 3 ± 0.000 3	0.002 2 ± 0.000 1	0.002 4 ± 0.000 2
TBI 组	健侧	0.002 5 ± 0.000 3	0.002 3 ± 0.000 2	0.002 2 ± 0.000 1	0.002 3 ± 0.000 2	0.002 5 ± 0.000 4	0.002 2 ± 0.000 1
	伤侧	0.002 4 ± 0.000 1	0.002 6 ± 0.000 2	0.003 0 ± 0.000 2▲	0.003 5 ± 0.000 2▲	0.004 0 ± 0.000 1▲	0.003 6 ± 0.000 3▲
胰岛素	健侧	0.002 3 ± 0.000 1	0.002 2 ± 0.000 2	0.002 4 ± 0.000 3	0.002 2 ± 0.000 1	0.002 3 ± 0.000 2	0.002 4 ± 0.000 2
治疗组	伤侧	0.002 5 ± 0.000 2	0.002 8 ± 0.000 2	0.003 9 ± 0.000 2▲*	0.004 4 ± 0.000 2▲*	0.005 1 ± 0.000 2▲*	0.004 7 ± 0.000 1▲*

注：▲与正常对照组相比 P<0.05；*与 TBI 组相比 P<0.05

表 5　创伤性脑损伤后观测区皮层 NSE 阳性染色细胞数（$\bar{x}\pm s$，n=5，免疫荧光法 ×400）

组别		正常	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
正常对照组	健侧	45.0 ± 5.2	42.6 ± 4.7	47.1 ± 5.0	43.4 ± 4.5	44.0 ± 4.9	46.9 ± 5.1
	伤侧	40.4 ± 4.6	45.1 ± 3.6	44.9 ± 4.2	49.0 ± 5.5	45.7 ± 5.1	46.0 ± 4.1
TBI 组	健侧	45.4 ± 4.3	44.7 ± 5.4	46.0 ± 5.3	47.4 ± 4.8	49.0 ± 5.5	45.4 ± 4.9
	伤侧	46.6 ± 5.4	36.4 ± 4.9▲	27.2 ± 4.7▲	18.5 ± 3.5▲	10.4 ± 3.0▲	9.0 ± 2.1▲
胰岛素治疗组	健侧	47.1 ± 5.0	46.3 ± 4.0	45.9 ± 4.7	45.1 ± 4.3	46.7 ± 6.0	48.5 ± 5.4
	伤侧	46.1 ± 5.4	38.5 ± 5.1▲	34.6 ± 5.4▲*	28.7 ± 5.0▲*	24.5 ± 4.4▲*	20.6 ± 3.5▲*

注：▲与正常对照组相比 P<0.05；*与 TBI 组相比 P<0.05

表 6　控制创伤性脑损伤急性期高血糖地大鼠神经功能的影响

时间	胰岛素治疗组			创伤性脑损伤组		
	Longa 评分	平衡木实验	网屏实验	Longa 评分	平衡木实验	网屏实验
正常	0	0	0	0	0	0
伤后 6 h	3.10 ± 0.35	4.54 ± 0.45	2.95 ± 0.25	3.20 ± 0.44	4.67 ± 0.36	2.91 ± 0.31
伤后 12 h	2.60 ± 0.30▲	3.79 ± 0.30▲	2.17 ± 0.18▲	2.85 ± 0.21	4.34 ± 0.43	2.56 ± 0.24
伤后 24 h	1.79 ± 0.31▲	3.01 ± 0.19▲	1.74 ± 0.23▲	2.08 ± 0.30	3.85 ± 0.14	2.11 ± 0.18
伤后 48 h	1.43 ± 0.35▲	1.65 ± 0.30▲	0.88 ± 0.15▲	1.84 ± 0.27	2.71 ± 0.37	1.39 ± 0.21
伤后 72 h	1.01 ± 0.27▲	0.85 ± 0.15▲	0.43 ± 0.11▲	1.36 ± 0.23	1.21 ± 0.29	0.74 ± 0.13

注：▲P<0.05 与创伤性脑损伤相比

能源缺乏所致损伤的能力极弱，上述原因就使得脑对外来能源物质的依赖性极大，同时也使得伤后能量代谢障碍成为脑一切继发性损害的根源。脑的唯一常规底物葡萄糖是极性分子，其被脑摄取利用必须依赖葡萄糖转运蛋白的介导。TBI 后，脑水肿，血管痉挛等因数的综合作用使得无氧酵解成为局部主要甚至是唯一的供能方式[9]，同时因葡萄糖的摄取是无氧酵解的关键步骤，因此 TBI 后局部葡萄糖蛋白的表达能否相应的增加，也就成为伤后脑组织能否耐受伤后局部能量代谢障碍的关键。NSE 是糖酵解过程中催化 2- 磷酸甘油酸脱水生成磷酸烯醇式丙酮酸的一种关键酶，特异性地存在于神经元胞浆，因其是糖酵解过程中的关键酶，其表达量也就间接反应了神经元糖酵解的强弱；同时因其特异性的存在于神经元胞浆，对其阳性表达细胞计数又可间接反应神经元缺失的程度[10]。TBI 后血糖升高，一方面可增加伤后脑葡萄糖供应量；另一方面高血糖可提高血渗透压，有利于降低伤后脑水肿，因此，从理论上讲，TBI 后高血糖应该对机体有利。然而，Jeremitsky 等人[5]的研究显示外伤后高血糖会对脑有明显损害作用，这种损害是否通过影响神经元 GLUT-3 表达，减少神经元葡萄糖摄取，加重伤后脑能量代谢障碍有关，目前暂未见相关报道。

本研究资料表明，TBI 组伤后伤侧脑 GLUT-3 表达增加，正常对照组伤侧 GLUT-3 表达却未见明显变化，提示 TBI 是导致伤侧 GLUT-3 表达增加的直接原因。TBI 创伤应激可兴奋下丘脑－垂体－肾上腺糖皮质激素系统，产生大量的糖皮质激素，研究显示[11]，糖皮质激素会减弱 GLUT-3 转运葡萄糖的能力，TBI 后 GLUT-3 表达的增加很有可能是脑应对 GLUT-3 转运能力下调所做的一种代偿性反应[12]。应用胰岛素控制 TBI 性高血糖后，伤侧 GLUT-3 表达增加更加明显，说明 TBI 后高血糖有抑制伤后 GLUT-3 表达增加的作用。同时本研究资料亦显示，TBI 后伤侧 GLUT-3 表达增加的同时，健侧神经元 GLUT-3 表达变化并不明显，表明 TBI 后损伤局部可能存在着某些易损因子，其与 TBI 后高血糖协同作用才能抑制伤后 GLUT-3 表达的增加，未损伤侧正是由于缺少这些易损因子，从而就表现出对 TBI 后高血糖调控 GLUT-3 表达作用的耐受性。目前，关于 TBI 后局部易损因子的种类及其与 TBI 后高血糖协同抑制 TBI 后神经元 GLUT-3 表达的相关机制还不清楚。

本研究资料亦提示，降低 TBI 后高血糖在增加 GLUT-3 表达增加的同时，单个神经元 NSE 表达增加，NSE 阳性染色细胞数亦明显增加，提示 GLUT-3 表达增加可增加神经元 NSE 表达(无氧酵解强弱的指标)，减轻局部能量供应障碍所致的神经元缺失，对减轻伤后脑功能的损害有明显保护作用，也从神经元的角度应证了临床 TBI 后控制血糖的临床必要性[6]。从理论上讲，无氧代谢增加必然会造成细胞内过多酸性代谢产物的聚集，细胞内酸中毒样又会加重细胞的损害，本实验研究结果却提示，TBI 降糖治疗后无氧代谢的增加(NSE 表达量增加)有利于伤后神经元的保存，其相关机理不明，笔者认为可能与无氧代谢增加 TBI 后脑局部能量供应，相对减轻伤后 Na^+-K^+-ATP 酶 (Na 泵)，Na^+-Ga^{2+}-ATP 酶(Ga 泵)等离子泵活性下降水平[13]，相对增加伤后胞内代谢产物排出率，进而相对减轻细胞内酸中毒水平有关。

参 考 文 献

[1] Vannucci S J.Simpson I A.Developmental switch in brain nutrient transport expression in the rat[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2003, 285(5): z1127-1134.

[2] Das U G, He J, Ehrhardt R A, et al. Time-dependent physiological regulation of ovine placental GLUT-3 glucose transporter protein[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2000, 279(6): R2252-2261.

[3] Bruekner B A, Ammini C V, Otal M P, et al.Regulation of brain glucosetransporters by glucose and oxygen deprivation[J].Metabolism, 1999, 48(4): 422-431.

[4] Russo V C, Kobayashi K, Najdovska S, et al. Neuronal protection from glucose deprivation via modulation of glucose transport and inhibition of apoptosis: a role for the insulin-like growth factor system[J].Brain Res, 2004, 1009(1-2): 40-53.

[5] Jeremitsky E, Omert L A, Dunham C M, et al. The impact of hyperglycemia on patients with severe brain injury[J].Trauma, 2005, 58(1): 47-50.

[6] Salim A, Hadjizacharia P, Dbbose J, et al.Persistent hyperglycemia in severe traumatic brain injury: an independent predictor of outcome[J]. Am surgery, 2009, 75(1): 25-29.

[7] 刘 媛，王 莉，王正国，等.一种改良的创伤性脑损伤模型的建立[J].中国临床神经外科杂志，2008，13(7)：416-419.

[8] 刘 科，唐文渊.创伤性脑损伤后动态 CT 灌注像的实验研究[J].第三军医大学学报，2008，30(13)：1299-1302.

[9] Zygun D A, Steiner L A, Johnston A J, et al.Hyperglycemia and brain tissue pH after traumatic brain injury[J].Neurosurgery, 2004, 55(4): 877-882.

[10] Vos P E, Lamers K J, Hendriks J C, et al.Glial and neuronal proteins in serum predict outcome after severe traumatic brain injury [J].Neurology, 2004, 62(8): 1303-1310.

[11] Virgin C E J, Ha T P, Packan D R, et al. Glucocorticoids inhibit glucose transport and glutamate uptake in hippocampal astrocytes: implications for glucocorticoid neurotoxicity[J].Neurochem, 1991, 57(4): 1422-1428.

[12] Reagan L P, Magariños A M, Lucas L R, et al.Regulation of GLUT-3 glucose transporter in the hippocampus of diabetic rats subjected to stress [J].Am J Physiol.1999, 276(5 Pt 1): 879-886.

[13] 王忠诚.神经外科学[M]. 湖北：湖北科学技术出版社，2005，369-370.

(责任编辑：关蕴良)