DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.07.037

论著

文章编号:1000-5404(2001)07-0836-02

大鼠脑损伤后GABA及其受体$GABA_AR$的变化

孟 辉,冯 华,王宪荣 (第三军医大学附属西南医院神经外科,重庆 400038)

提 要:目的 探讨GABA及其受体$GABA_AR$在创伤性脑损伤(TBI)后的变化规律及其在继发性脑损害中的作用。方法 用大鼠颅脑打击伤动物模型、免疫组织化学方法,观察了致伤后不同时相大鼠伤侧及对侧皮层、海马的GABA及$GABA_AR\alpha_1$阳性神经元的表达变化。结果 致伤后伤侧皮层GABA/$GABA_AR\alpha_1$阳性神经元逐渐减少,12 h降至最低,对侧皮层无改变;伤侧海马及对侧海马GABA阳性神经元逐渐减少,12 h降至最低;伤侧海马$GABA_AR\alpha_1$的改变与GABA的改变一致,对侧海马无改变。结论 TBI后脑内抑制性神经递质GABA及其受体$GABA_AR$的表达下调也可能是继发性脑损害的重要因素之一。

关键词:创伤性脑损伤;GABA;$GABA_AR$

中图法分类号:R392.11;R651.15;R971.9 文献标识码:A

Changes of GABA and its receptor $GABA_AR$ in rats after traumatic brain injury

MENG Hui, FENG Hua, WANG Xian Rong (Department of Neurosurgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the pattern of changes of inhibitory neurotransmitter γ-aminobutyric acid (GABA) and its receptor $GABA_AR$ after traumatic brain injury (TBI) and their function in secondary brain injury. Methods The changes of GABA and $GABA_AR\alpha_1$ positive neurones in cortex and hippocampus at different time after TBI were observed in rat model of impact brain trauma by immunohistochemical method. Results GABA/$GABA_AR\alpha_1$ positive neurones reduced gradually in injured side of cortex after brain injury and droped to the bottom at 12 th hour, but cortex of opposite side had no change; GABA positive neurones reduced gradually in hippocampus of the injured side and opposite side and droped to the bottom at 12 th hour; the change of $GABA_AR\alpha_1$ was consistent with GABA in injured side, but had no change in opposite side of hippocampus. Conclusion The decrease of inhibitory neurotransmitter GABA and its receptor $GABA_AR$ might also be one of the important factors in secondary brain injury after TBI.

Key words: TBI; GABA; $GABA_AR$

创伤性脑损伤(Traumatic brain injury, TBI)是临床最常见的脑损伤之一。近年来,很多实验表明兴奋性神经递质谷氨酸(Glutamic acid, Glu)在TBI后继发性脑损害中具有重要作用,而对抑制性神经递质γ-氨基丁酸(Gamma-aminobutyric acid, GABA)及其受体在TBI后的变化及其在继发性脑损害中的作用则研究较少。本实验利用大鼠自由落体撞击伤模型,模拟创伤性脑损伤(Traumatic brain injury, TBI),用免疫组化方法观察了TBI后皮层、海马GABA及$GABA_AR\alpha_1$阳性神经元的表达变化规律,试图进一步阐明TBI后继发性脑损害的机制。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

雄性健康Wistar大鼠30只,随机分为正常对照组($n=5$)、致伤组(分1、4、12、24、72 h 5个时相点,每时相点5只)。

1.2 主要试剂

兔GABA多克隆抗体(Sigma公司),羊$GABA_AR\alpha_1$单克隆抗体(Samtz Cruz公司)。

1.3 实验方法

动物模型:用改良袁绍纪[1]法大鼠颅脑打击伤模型。正常对照组仅钻开颅骨不打击。据预试验,致伤组打击力量2 400 cm·g,于预定时相点(对照组均为1 h),4%多聚甲醛灌注固定。采用S-P法免疫组化染色,在视交叉平面连续冰冻切片,片厚25 μm。一抗浓度:GABA 1∶1 000、$GABA_AR\alpha_1$ 1∶100,由10 mmol/L PBS配制。每只动物取5张切片,镜下计数每个视野免疫阳性反应细胞数(×10)。

1.4 统计学方法

数据以$\bar{x}\pm s$表示,以第四军医大学SPIM程序作方差分析。

2 结果

2.1 TBI后脑内GABA阳性神经元的表达变化

致伤后伤侧皮层GABA阳性神经元逐渐减少,12 h降至最低,72 h恢复正常;对侧皮层无明显变化。致伤后伤侧及对侧海马GABA阳性神经元逐渐减少,12 h降至最低,24 h恢复正常,见表1。

2.2 TBI后脑内$GABA_AR\alpha_1$阳性神经元的表达变化

致伤后伤侧皮层$GABA_AR\alpha_1$阳性神经元逐渐减少,12 h降至最低,24 h恢复正常;对侧皮层无明显变化。致伤后伤侧海马$GABA_AR\alpha_1$阳性神经元逐渐减少,24 h恢复正常;对侧海马无明显变化,见表2。

作者简介:孟 辉(1969—),男,河南省睢县人,硕士,主治医师,讲师,主要从事神经递质与脑损伤及脑内窥镜在神经外科的临床应用方面的研究,发表论文5篇。电话:(023)68754000-73071

收稿日期:2000-08-28;修回日期:2001-01-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1　TBI 后脑内 GABA 阳性神经元的表达变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1　The expression of GABA positive neurones in brain after TBI($\bar{x}\pm s$)

Location	Control (n=5)	Injury (n=5)				
		1 h	4 h	12 h	24 h	72 h
Cortex of injured side	185±21.13	133±14.24 *	108±16.21 **	92±14.85 **	145±15.45 *	177±17.35
Cortex of opposite side	179±20.82	174±15.56	167±18.37	151±17.68	159±16.02	180±16.66
Hippocampus of injured side	123±15.04	80±10.91 *	72±11.42 **	68±8.77 **	110±10.48	121±12.29
Hippocampus of opposite side	126±15.37	106±12.09	85±7.06 *	78±7.87 *	112±9.33	120±12.30

*: $P<0.05$,　**: $P<0.01$ *vs* control

表 2　TBI 后脑内 $GABA_AR\alpha_1$ 阳性神经元的表达变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　The expression of $GABA_AR\alpha_1$ positive neurones in brain after TBI($\bar{x}\pm s$)

Location	Control (n=5)	Injury (n=5)				
		1 h	4 h	12 h	24 h	72 h
Cortex of injured side	147±11.13	112±9.08 *	98±10.50 **	84±9.90 **	135±14.05	141±13.42
Contex of opposite side	150±10.45	143±9.88	141±12.44	129±10.79	137±12.17	146±13.89
Hippocampus of injured side	82±5.63	57±6.46 *	49±5.02 **	45±5.31 **	73±9.22	70±7.04
Hippocampus of opposite side	75±6.80	78±6.39	64±5.47	70±6.05	79±8.85	83±7.35

*: $P<0.05$,　**: $P<0.01$ *vs* control

3　讨论

GABA 是公认的中枢神经系统内最重要的抑制性神经递质, 其在阻断兴奋的扩散及传导过程中起决定性作用。GABA 和 Glu 作为一对重要的抑制性和兴奋性氨基酸类神经递质, 对维持神经系统兴奋和抑制功能的平衡起至关重要的作用。二者不但在功能上相互协同, 而且在代谢上也可相互转化。实验表明 TBI 可导致细胞外 Glu 过量堆积, 使兴奋性氨基酸受体NMDA 过度表达, 产生“兴奋毒性作用”, 引起继发性脑损害[2]; 而对抑制性氨基酸 GABA 及其受体在 TBI 后的变化及其在继发性脑损害中的作用则研究很少。

GABA 的主要生理功能是在突触前抑制兴奋递质的释放, GABA 的抑制调节机制中有两种受体参与, 即 $GABA_A$ 受体和 $GABA_B$ 受体。$GABA_A$ 受体通常位于突触后膜上, 其表面有配合基门控氯离子通路, 当 GABA 与该受体结合后, 可以增加细胞膜对 Cl^- 的通透性, 使氯离子内流, 胞膜超极化, 兴奋性降低形成抑制性突触后电位[3]; $GABA_B$ 受体也位于突触后膜上, 是一种复合的 G 蛋白联合受体。前者介导快抑制反应, 后者介导慢抑制反应。本实验发现 TBI 后大鼠伤侧皮层、海马 GABA 及 $GABA_AR\alpha_1$ 阳性神经元及对侧海马 GABA 阳性神经元的表达逐渐减少, 12 h 降至最低, 与对照组相差显著; 24 h 或 72 h 逐渐恢复正常。TBI 后脑内 GABA 阳性神经元的减少可能由于 GABA 释放、降解增多或合成减少所致: ①GABA 大量释放, 以对抗 Glu 的“兴奋毒性作用”, 使递质“耗竭”[4], 同时由于 GABA 的中间神经元为谷氨酸能神经元, 在过度兴奋后可能有细胞膜结构、功能的暂时障碍, 导致氨基酸合成前体物摄取抑制, 来不及补偿“耗竭”的 GABA; ②TBI 可能导致谷氨酸脱羧酶(Glutamate decarboxylase, GAD)的活性降低, GAD 既是 Glu 的降解酶, 又是 GABA 合成的关键酶, 该酶的抑制导致 Glu 含量增多和 GABA 含量减少[5]。海马的 GABA 神经元主要为固有的中间神经元, 伤后海马 GABA 阳性神经元的减少更明显, 可能是海马 GABA 神经元对损伤更敏感所致。TBI 后脑内 $GABA_AR\alpha_1$ 阳性神经元的减少与 GABA 阳性神经元的减少基本一致, 说明 GABA 的抑制作用主要是由 $GABA_AR$ 介导的。实验发现脑损伤后 GABA 及 $GABA_AR\alpha_1$ 阳性神经元在 12 h 降至最低, 在 24 h 或 72 h 逐渐恢复正常, 表明中等度损伤后脑内 GABA 及其受体 $GABA_AR$ 的变化是可逆的, 提示其改变可能与致伤程度有关, 也提示应用 GABA/$GABA_AR$ 激动剂的时机应在早期。实验提示不仅氨基酸的兴奋毒性作用参与了 TBI 所致的继发性脑损害, 而且抑制性神经递质 GABA 及其受体 $GABA_AR$ 表达下调也可能是 TBI 后继发性脑损害的重要因素之一。为以后利用 GABA/$GABA_AR$ 的激动剂治疗 TBI 所致的脑损害提供了某种可能[6]。

参考文献:

[1] 袁绍纪, 朱　诚, 陈柏林, 等. 大鼠急性创伤性脑水肿模型的建立[J]. 上海医学, 1989, 12(5): 276－278.

[2] Bullock R, Zauner A S, Woodward J J, *et al*. Factors affecting excitatory amino acid release following severe human head injury[J]. J Neurosurg, 1998, 89(4): 507－518.

[3] Luddens H, Korpi E R, Seeburg P H. GABA/Benzodiazepine receptor heterogeneity: neurophysiolgical implications[J]. Neuropharmacology, 1995, 34(3): 245－254.

[4] Nilsson P, Hillered L, Ponton U, *et al*. Changes in cortical extracellular levels of energy-related metabolites and amino acids following concussive brain injury in rats[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1990, 10(5): 631－637.

[5] Phillis J W, Song D, Guyot L L, *et al*. Lactate reduces amino acid release and fuels of function in the ischemic brain[J]. Neurosci Lett, 1999, 272(3): 195－198.

[6] O' Dell D M, Gibson C J, Wilson M S, *et al*. Positive and negative modulation of the GABA(A) recoptor and outcome after traumatic brain injury in rats[J]. Brain Res, 2000, 861(2): 325－332.

(编辑　薛国文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net