

virus vector group, but no hydraulic shock was applied. The rats in the TBI-siRNA group and TBI-empty virus vector group were injected with 10 μ L Elk1-siRNA lentivirus expression vector and empty avirus vector respectively in lateral ventricles at 24 hours before modeling. The rats in the sham operation group and TBI group were injected with 10 μ L phosphate buffer. The neural function of rats in each group were assessed by Shapira and Wahl method at 12, 24 and 72 hours after brain injury. The rats were sacrificed by rapid decapitation (5 rats in each group at each time point) after the nerve function score, and the brain tissues were taken. The expression of Elk1 mRNA was detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction. The expression of Elk1 protein in brain tissues was detected by Western blot. The activity of Caspase-3 in brain tissues was detected by colorimetry. At 24 hours after brain injury, 5 rats in each group were decapitated and their brain tissues were taken out, then the number of necrotic neurons was counted by Fluoro-Jade staining. **Results** At 12, 24 and 72 hours after brain injury, the score of nerve function in the TBI group and TBI-empty virus vector group was significantly lower than that in the sham operation group ($P < 0.05$), the score of nerve function in the TBI-siRNA group was higher than that in the TBI-empty virus vector group and TBI group ($P < 0.05$), but there was no significant difference in the score of nerve function between the TBI-empty virus vector group and TBI group ($P > 0.05$). At 12, 24 and 72 hours after brain injury, the relative expression of Elk1 mRNA and protein in contusion penumbra tissues of rats in the TBI group and TBI-empty virus vector group was significantly higher than that in the sham operation group ($P < 0.05$), the relative expression of Elk1 mRNA and protein in contusion penumbra tissues of rats in the TBI-siRNA group was significantly lower than that in TBI group and TBI-empty virus vector group ($P < 0.05$), but there was no significant difference in the relative expression of Elk1 mRNA and protein in contusion penumbra tissues of rats between the TBI-empty virus vector group and TBI group ($P > 0.05$). At 24 hours after brain injury, the number of necrotic neurons in contusion penumbra tissues of rats in the sham operated group, TBI group, TBI-empty virus vector group and TBI-siRNA group was 4.0 ± 1.0 , 32.0 ± 4.0 , 33.0 ± 3.0 and 16.0 ± 2.0 , respectively. The number of necrotic neurons in contusion penumbra of rats in the TBI group and TBI-empty virus vector group was significantly higher than that in the sham operation group ($P < 0.05$), the number of necrotic neurons in contusion penumbra of rats in the TBI-siRNA group was significantly less than that in the TBI group and TBI-empty virus vector group ($P < 0.01$), but there was no significant difference in the number of necrotic neurons in contusion penumbra of rats between the TBI-empty virus vector group and TBI group ($P > 0.05$). At 12, 24, 72 hours after brain injury, the Caspase-3 activity in contusion penumbra of rats in the TBI-empty virus vector group and TBI group was significantly higher than that in the sham operation group ($P < 0.05$), the Caspase-3 activity in contusion penumbra of rats in the TBI-siRNA group was significantly lower than that in the TBI group and TBI-empty virus vector group ($P < 0.01$), but there was no significant difference in the Caspase-3 activity in contusion penumbra of rats between the TBI-empty virus vector group and TBI group ($P > 0.05$). **Conclusion** The expression of Elk1 is up-regulated in contusion penumbra of TBI rats. Inhibiting Elk1 expression can reduce the necrosis of neurons in the contusion penumbra and improve the neural function.

Key words: traumatic brain injury; contusion penumbra; ETS-domain containing protein; Elk1; apoptosis; neural function

创伤性脑损伤 (traumatic brain injury, TBI) 后数小时至数天的继发性脑损伤 (secondary brain injury, SBI) 的变化与发展决定伤情及预后^[1]。STOFFEL 等^[2]研究显示, TBI 后 24 h 内损伤灶体积可扩大至 1.5 倍, 炎症、兴奋性氨基酸毒性作用及代谢紊乱等是损伤灶增大的主要原因, TBI 后 SBI 动态演变形成的损伤半暗带是实验研究的焦点及临床治疗靶点。有研究显示, 损伤中心灶周边存在血流/代谢不匹配区域, 证实了损伤半暗带的存在, 损伤半暗带代谢/血流紊乱, 距离损伤灶越近的脑组织, 其血流量、氧解离分数、脑氧代谢率和葡萄糖脑代谢率越低, 并呈现时间依赖性^[3]。研究显示, 约 90% 的 TBI 病程中呈现缺血性脑血管事件, 伤后 24 h 内脑血流量降低约 50%, 损伤中心灶及半暗带血流量均减少, 但距中心灶远隔区域的血流量则逐渐增加, 且与距离呈正比^[4]。SALVADOR 等^[5]研究显示, 神经元氧-

葡萄糖剥夺 (oxygen-glucose deprivation, OGD) 是 TBI 后出现半暗带最关键的病理机制。ETS 结构域包含蛋白 Elk1 是可被磷酸化并促进转录活性, 调节细胞增殖、凋亡、分化的转录因子, 在人微血管内皮细胞内由缺氧激活, Elk1 过表达可诱导原代神经元坏死, 抑制 Elk1 表达可减少氧化型低密度脂蛋白诱导的内皮细胞凋亡^[6]。研究显示, 大鼠大脑皮层神经元 OGD 后 24 h Elk1 mRNA 和蛋白表达显著升高, 大脑中动脉栓塞大鼠大脑皮层中 Elk1 mRNA 表达也显著升高, 抑制 Elk1 表达可显著减轻大脑皮层神经元损伤^[7]。本研究进一步探讨 TBI 大鼠损伤半暗带脑组织中 Elk1 的表达及作用, 旨在为 TBI 临床研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 80 只 4 月龄无特定病原级

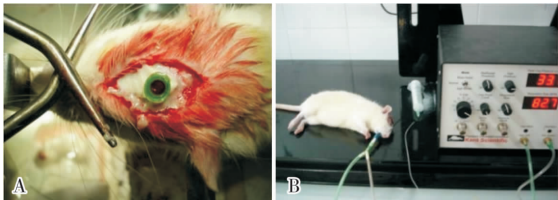
雄性 Sprague Dawley 大鼠购自河南科技大学实验动物中心,体质量 305 ~ 335 (320.0 ± 15.0) g;饲养于 12 h/12 h 明暗交替环境,温度保持在 25 ℃;术前 12 h 禁食,6 h 禁水。将大鼠随机分为假手术组、TBI 组、TBI-siRNA 组和 TBI-空病毒载体组,每组 20 只。

1.2 主要试剂与仪器 Elk1 siRNA 慢病毒载体购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司,Elk1-siRNA 购自美国 Invitrogen 公司,TRizol 试剂和聚二氟乙烯 (polyvinylidene difluoride, PVDF) 膜购自美国 Sigma 公司,反转录试剂盒购自大连 Takara Biotechnology 公司,聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增试剂盒和磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH) 引物购自上海生工生物工程股份有限公司,SYBR Green Real Time PCR Master Mix 购自美国 Promega 公司,二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 蛋白定量试剂盒购自美国 Pierce 公司,抗 GAPDH、抗 Elk1 抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司;脑立体定位仪购自上海玉研科学仪器有限公司,液压脑损伤仪购自美国弗吉尼亚大学医学工程部,微量注射立体定向仪、动物用呼吸机购自美国 Kent Scientific 公司,动物多导生理记录仪购自美国 Biopac 公司,LightCycler 2.0 全自动定量 PCR 系统购自美国 Roche 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 大鼠中度液压脑损伤模型的建立 TBI 组、TBI-siRNA 组和 TBI-空病毒载体组大鼠参照文献 [8] 方法建立中度液压脑损伤模型 (图 1)。大鼠以 20 g · L⁻¹ 戊巴比妥钠 (50 mg · kg⁻¹) 腹腔注射麻醉,头部固定于动物立体定位仪,备皮消毒。头皮正中切口 2.5 cm,剥离骨膜,前凶人字缝尖连线中点偏左 4 mm 颅骨钻孔,骨窗直径约 4.8 mm,暴露完整硬脑膜。颅骨固定螺丝 2 枚,置入内径 2.6 mm 打击管,牙科骨水泥牢固固定后缝合、消毒头皮切口。对侧剪毛后消毒头部皮肤,定位右侧尾侧至前凶点 0.8 mm 处,中线旁开 1.5 mm,颅骨下 2.0 mm 置入内径 0.7 mm 不锈钢导管,将内径 0.35 mm 注射导管插入颅骨下 5 mm 处右侧脑室,微量注射泵连接注射导管。手术结束后将大鼠置于动物间饲养,光照/黑暗 = 12 h/12 h,自由进食、水。术后 24 h 给予乙醚吸入,气管插管,股动脉置管,动物多导生理记录仪监测动物血压、心率变化。动物出现夹足反应时,使用液压脑损伤仪 (压力 1.9 ~ 2.0 atm, 1 atm = 101.325 kPa) 造成中度脑损伤。打击后即刻给予呼吸机辅助通气,至自主呼吸完全恢复。手术过程中使用温度计和脑温仪监测肛温和颞肌温度。假手术组大鼠仅放置液压打击管及侧脑室注射导管模拟打

击步骤而不实施打击。假手术组大鼠手术步骤与 TBI 组、TBI-siRNA 组和 TBI-空病毒载体组相同,但未实施液压冲击。手术过程中使用加热毯维持大鼠体温正常。



A: 液压脑损伤打击管植入; B: 液压伤后呼吸机辅助呼吸。

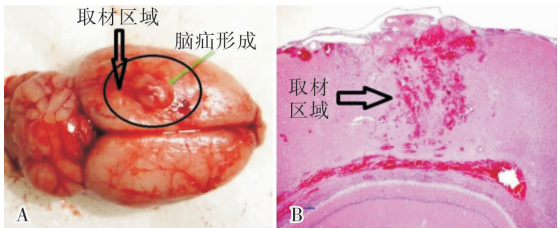
图 1 大鼠液压脑损伤模型制作

Fig. 1 Establishment of rat model of hydraulic brain injury

1.3.2 Elk1-siRNA 慢病毒表达载体构建及在体转染 参照文献 [7] 方法构建 Elk1-siRNA 慢病毒表达载体。Elk1-siRNA (5'-AACCACCCGCCACTCTTCCT-3') 的慢病毒表达载体与空慢病毒载体 5 μL, 应用在体转染试剂稀释相同体积至 10 μL; 脑损伤前 24 h, 使用微量注射器分别对 TBI-siRNA 组及 TBI-空病毒载体组大鼠侧脑室缓慢注射 Elk1-siRNA 慢病毒表达载体和空慢病毒载体, 注射速度 1 μL · min⁻¹, 注射结束后导管留置 30 s, 防止药物倒流。假手术组和 TBI 组大鼠侧脑室同样方法注射 10 μL 磷酸盐缓冲液。

1.3.3 神经功能评估 分别于 TBI 后 12、24、72 h, 每组选取 5 只大鼠, 采用 Shapira 和 Wahl 大鼠脑损伤神经功能评分法 [8] 评估神经功能, 评分越高, 表明神经功能越好。

1.3.4 标本取材 各组大鼠分别于脑损伤 12、24、72 h 行神经功能评估后快速断头处死 (每个时间点每组选取 5 只大鼠), 完整取出脑组织, 于冰块上围绕损伤中心灶迅速分离大脑皮层损伤半暗带组织 (图 2), 准确标记并保存在清洁 Eppendorf 管内, 迅速置于液氮 (-190 ℃) 中保存备检。



A: 大鼠脑大体标本, 箭头所指为取材部位; B: 病理标本 (苏木精-伊红染色, ×20); 箭头所指为取材部位。

图 2 大鼠脑组织取材部位

Fig. 2 Brain tissue sampling site of rats

1.3.5 实时荧光定量 PCR 检测大鼠脑组织中 Elk1 mRNA 表达 应用 TRizol 提取脑组织总 RNA, 使用 Prime Script™ 第 1 链 cDNA 合成试剂盒

反向转录为 cDNA,以 cDNA 为模板进行扩增。Elk1 正义链引物序列为 5'-GTAGAAGGGCCCAAG-GAAGAGTTG-3',反义链引物序列为 5'-CTGGGCGCT-GCCACTGGATGCAAAGCTGGAA-3'。以 GAPDH 为内参,其正义链引物序列为 5'-CGTCTTCACCACCATG-GAGA-3',反义链引物序列为 5'-CGGCCATCACGCCA-CAGTTT-3'。使用 Roche LightCycler 2.0 进行实时荧光定量 PCR 检测,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 Elk1 mRNA 相对表达量。

1.3.6 Western blot 法检测大鼠脑组织中 Elk1 蛋白表达 取脑损伤后 12、24、72 h 各组大鼠脑组织,应用三去污裂解液匀浆,吸出上清液,BCA 法蛋白定量。100 g · L⁻¹十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜,封闭。分别加一抗(Elk1:1:700,GAPDH:1:500)、二抗(1:1 000)孵育,增强化学发光法显影成像,Labwork4.0 图像分析软件扫描,蛋白表达量以目标蛋白吸光度与 GAPDH 吸光度比值表示。

1.3.7 Fluoro-Jade 染色法计数坏死神经元 大鼠脑损伤后 24 h(每组取 5 只),应用 100 g · L⁻¹水合氯醛腹腔注射麻醉,快速暴露心脏剪开右心耳,灌注针经左心室插入至升主动脉,恒速泵灌注 200 mL 冰生理盐水后再灌注 40 g · L⁻¹多聚甲醛溶液 400 mL。断头取脑组织,自头端前凶点开始做 2 mm 冠状切面并准确标记;制作损伤半暗带脑组织石蜡切片(厚约 6 μm)。参照文献[8]方法,应用 Fluoro-Jade 染色液对坏死神经元进行染色并计数。

1.3.8 比色法检测大鼠半暗带脑组织中 Caspase-3 活性 Caspase-3 活性检测参照文献[8]方法进行。取脑损伤后 12、24、72 h 各组大鼠脑组织,匀浆。96 孔板中用 50 μL 匀浆液与 50 μL 缓冲液混合。室温下使用分光光度计(激发光 380 nm,发射光 460 nm)检测底物片段,降解产物每 2 min 检测 1 次,持续 1~2 h,根据整体反应曲线计算最大反应速度,7-氨基-4-甲基香豆素标准反应曲线在同样反应缓冲液中检测,每个样本检测 3 次,取均值。

1.4 统计学处理 应用 SPSS19.0 软件进行数据统计与分析,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两两比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组大鼠神经功能评分比较 结果见表 1。大鼠脑损伤后 12、24、72 h,TBI-空病毒载体组、TBI 组

大鼠神经功能评分显著低于假手术组,TBI-siRNA 组大鼠神经功能评分高于 TBI-空病毒载体组和 TBI 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);TBI-空病毒载体组与 TBI 组大鼠神经功能评分比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 不同时间点 4 组大鼠神经功能评分比较
Tab. 1 Comparison of neural function scores of rats among the four groups at different time points ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	神经功能评分		
		脑损伤后 12 h	脑损伤后 24 h	脑损伤后 72 h
假手术组	5	8.85 ± 0.11	8.88 ± 0.12	8.82 ± 0.11
TBI 组	5	6.25 ± 1.11 ^a	6.33 ± 0.12 ^a	6.70 ± 0.41 ^a
TBI-空病毒载体组	5	6.21 ± 1.01 ^a	6.30 ± 1.11 ^a	6.80 ± 0.31 ^a
TBI-siRNA 组	5	7.75 ± 0.21 ^b	7.83 ± 0.12 ^b	8.21 ± 0.61 ^b

注:与假手术组比较^a $P < 0.05$;与 TBI 空病毒载体组及 TBI 组比较^b $P < 0.05$ 。

2.2 4 组大鼠损伤半暗带脑组织中 Elk1 mRNA 及蛋白相对表达量比较 结果见表 2 和图 3。大鼠脑损伤后 12、24、72 h,TBI 组和 TBI-空病毒载体组大鼠损伤半暗带脑组织中 Elk1 mRNA 及蛋白相对表达量显著高于假手术组,TBI-siRNA 组大鼠损伤半暗带脑组织中 Elk1 mRNA 及蛋白相对表达量显著低于 TBI 组和 TBI-空病毒载体组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);TBI-空病毒载体组与 TBI 组大鼠损伤半暗带脑组织中 Elk1 mRNA 及蛋白相对表达量比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 不同时间点 4 组大鼠损伤半暗带脑组织中 Elk1 mRNA 及蛋白相对表达量比较
Tab. 2 Comparison of relative expression of Elk1 mRNA and protein in contusion penumbra of rats among the four groups at different time points ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Elk1 mRNA	Elk1 蛋白
假手术组			
脑损伤后 12 h	5	1.4 ± 0.3	1.1 ± 0.2
脑损伤后 24 h	5	1.5 ± 0.1	1.0 ± 0.2
脑损伤后 72 h	5	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1
TBI 组			
脑损伤后 12 h	5	5.6 ± 1.2 ^a	3.5 ± 1.0 ^a
脑损伤后 24 h	5	6.1 ± 1.1 ^a	3.8 ± 1.1 ^a
脑损伤后 72 h	5	5.8 ± 1.0 ^a	3.9 ± 1.0 ^a
TBI-空病毒载体组			
脑损伤后 12 h	5	5.5 ± 1.1 ^a	3.8 ± 1.1 ^a
脑损伤后 24 h	5	5.3 ± 1.0 ^a	3.6 ± 1.0 ^a
脑损伤后 72 h	5	5.2 ± 1.2 ^a	3.6 ± 1.1 ^a
TBI-siRNA 组			
脑损伤后 12 h	5	1.8 ± 0.2 ^b	1.2 ± 0.2 ^b
脑损伤后 24 h	5	1.7 ± 0.1 ^b	1.3 ± 0.1 ^b
脑损伤后 72 h	5	1.7 ± 0.2 ^b	1.2 ± 0.1 ^b

注:与假手术组比较^a $P < 0.05$;与 TBI 组和 TBI-空病毒载体组比较^b $P < 0.05$ 。

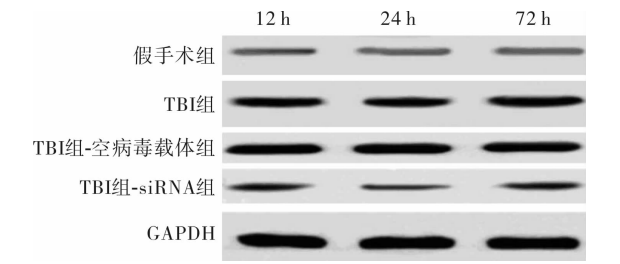
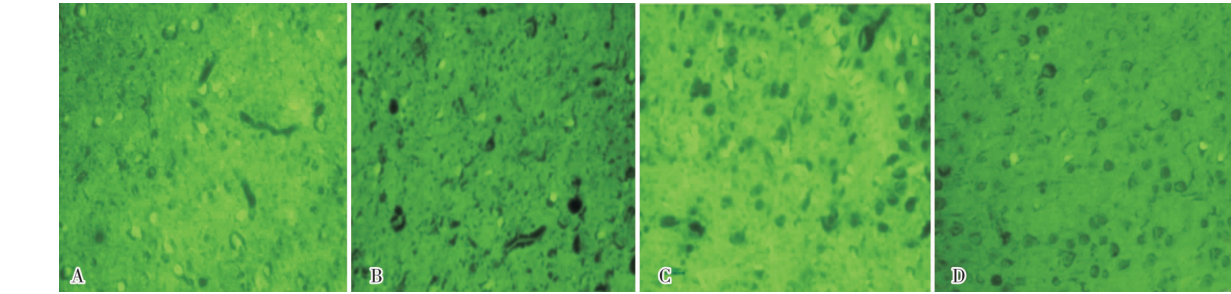


图3 大鼠中度液压脑损伤后皮层半暗带 Elk1 蛋白的表达 (Western blot)

Fig. 3 Expression of Elk1 protein in cortex contusion penumbra of rats with moderate hydraulic brain injury (Western blot)



A: TBI 组; B: TBI-siRNA 组; C: TBI-空慢病毒载体组; D: 假手术组。

图4 大鼠液压脑损伤后 24 h 半暗带脑组织病理组织学变化 (Fluoro-Jade 染色, ×40)

Fig. 4 Histopathological changes of contusion penumbra of rats at 24 hours after moderate hydraulic brain injury (Fluoro-Jade staining, ×40)

2.4 4 组大鼠损伤半暗带脑组织中 Caspase-3 活性比较 结果见表3。脑损伤后 12、24、72 h, TBI-空病毒载体组、TBI 组大鼠大脑皮层半暗带脑组织中 Caspase-3 活性显著高于假手术组, TBI-siRNA 组大鼠损伤半暗带脑组织中 Caspase-3 活性显著低于 TBI 组和 TBI-空病毒载体组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$); TBI-空病毒载体组与 TBI 组大鼠损伤半暗带脑组织中 Caspase-3 活性比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表3 4 组大鼠损伤半暗带脑组织中 Caspase-3 活性比较
Tab.3 Comparison of Caspase-3 activity in contusion penumbra of rats among the four groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Caspase-3 活性		
		脑损伤后 12 h	脑损伤后 24 h	脑损伤后 72 h
假手术组	5	2.4 ± 0.5	2.5 ± 0.4	2.3 ± 0.4
TBI 组	5	11.0 ± 2.2 ^a	21.0 ± 2.1 ^a	19.0 ± 1.8 ^a
TBI-空病毒载体组	5	11.9 ± 2.1 ^a	21.3 ± 2.0 ^a	19.2 ± 1.7 ^a
TBI-siRNA 组	5	7.0 ± 1.2 ^b	13.1 ± 1.9 ^b	10.1 ± 1.2 ^b

注:与假手术组比较^a $P<0.05$;与 TBI-空病毒载体组及 TBI 组比较^b $P<0.05$ 。

3 讨论

TBI 后脑血管自动调节功能受损致脑组织缺血

2.3 4 组大鼠大脑皮层坏死神经元数目比较 结果见图4。脑损伤后 24 h, 假手术组、TBI 组、TBI-空病毒载体组和 TBI-siRNA 组大鼠大脑皮层坏死神经元数目分别为 4.0 ± 1.0 、 32.0 ± 4.0 、 33.0 ± 3.0 、 16.0 ± 2.0 ; TBI 组、TBI-空病毒载体组大鼠大脑皮层半暗带坏死神经元数目显著多于假手术组, TBI-siRNA 组大鼠大脑皮层坏死神经元数目显著少于 TBI 组和 TBI-空病毒载体组, 差异均有统计学意义 ($P<0.01$); TBI 组与 TBI-空病毒载体组大鼠大脑皮层半暗带坏死神经元数目比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

缺氧是 SBI 发病机制的重要环节,原发性神经-血管单元损伤伴随局部血流与代谢不匹配,触发系列细胞毒性病理级联反应启动 SBI,呈现出时间-空间动态进展的特征,主要表现为损伤局部血流量降低及脑部压力自动调节功能丧失,脑血流量与代谢显著不匹配^[9]。损伤中心灶与半暗带是解剖学毗邻而病理学反应及临床转归截然不同的 2 个区域,半暗带是 SBI 随时间发生、发展的核心区域,在损伤数小时到数天时间内体积扩大,临床表现进行性加重,脑损伤体积也与预后密切相关^[10]。组织学研究显示,半暗带损伤相对较轻,以神经细胞凋亡为主,而细胞变性坏死较轻,表现为神经元固缩并随时间进展逐渐加重,脑损伤后 1 h 损伤中心灶周围可见早期凋亡神经元,脑损伤后 12 h 细胞凋亡可达到高峰,越远离中心灶凋亡越显著^[11]。本研究结果显示,大鼠脑损伤后 12、24、72 h, TBI 组、TBI-空病毒载体组大鼠大脑皮层半暗带脑组织中 Caspase-3 活性显著高于假手术组, TBI 组、TBI-空病毒载体组大鼠神经功能评分显著低于假手术组;脑损伤后 24 h, TBI 组、TBI-空病毒载体组大鼠大脑皮层半暗带坏死神经元数目显著多于假手术组;提示 TBI 大鼠损伤半暗带

神经元凋亡增加,大鼠神经功能下降。

NEUHAUS 等^[12]研究显示,OGD 是 TBI 后半暗带的主要损伤机制,OGD 导致的脑血管内皮细胞破坏、紧密连接蛋白减少及炎症因子增加等较原发机械损伤更显著。研究显示,大脑皮层神经元 OGD 损伤后 Elk1 mRNA 和蛋白质表达均显著增加,神经元活力降低,Caspase-3 活性增加,低密度脂蛋白渗漏,丙二醛和超氧化物歧化酶水平升高;而沉默 Elk1 基因表达能够减轻 OGD 损伤后的神经元凋亡,降低 Caspase-3 活性,减少低密度脂蛋白渗漏,降低丙二醛和超氧化物歧化酶水平,增加神经元活力^[7]。QIN 等^[13]研究发现,Elk1 是一种可在人微血管内皮细胞中被缺氧激活的转录因子,Elk1 过表达诱导原代神经元凋亡,Elk1 沉默可抑制氧化低密度脂蛋白诱导的内皮细胞凋亡。GAJAVELLI 等^[14]研究表明,核因子 E2 相关因子 2 (NF-E2-related factor 2, Nrf2)是氧化应激反应抑制剂,Nrf2 敲除小鼠加重 TBI 的氧化应激损伤,TBI 能激活 Nrf2/抗氧化反应元通路,激活后转移至细胞核内,导致下游细胞保护蛋白表达增加,增加细胞对氧化应激损伤的耐受性。本研究结果显示,大鼠脑损伤后 12、24、72 h,TBI 组和 TBI-空病毒载体组大鼠损伤半暗带脑组织中 Elk1 mRNA 及蛋白相对表达量显著高于假手术组,TBI-siRNA 组大鼠损伤半暗带脑组织中 Elk1 mRNA 及蛋白相对表达量显著低于 TBI 组和 TBI-空病毒载体组;TBI-siRNA 组大鼠损伤半暗带脑组织中 Caspase-3 活性显著低于 TBI 组和 TBI-空病毒载体组,TBI-siRNA 组大鼠神经功能评分高于 TBI-空病毒载体组和 TBI 组;脑损伤后 24 h,TBI-siRNA 组大鼠大脑皮层半暗带坏死神经元数目显著少于 TBI 组和 TBI-空病毒载体组;提示 Elk1 可能参与了 TBI 大鼠损伤半暗带的发生、发展过程。MOISENOVICH 等^[15]研究发现,将丝素支架移植入 TBI 大鼠(24 h 后)可显著增加 OGD 后神经元及胶质细胞存活率和代谢活性,显著缩小损伤体积,并改善近期与远期神经功能,认为半暗带区尚存在轴突再生的潜力,提示 Elk1 可作为治疗 SBI 的靶点。

综上所述,Elk1 在 TBI 大鼠损伤半暗带脑组织中表达上调,Elk1 可能参与了 TBI 大鼠损伤半暗带的发生、发展过程;而抑制 Elk1 表达能够减少半暗带神经元坏死及凋亡,改善大鼠神经功能;但其具体的分子机制仍需进一步探讨。

参考文献:

[1] LU Z F,LI B,QIAO P,et al. Surgical treatment of traumatic bifrontal contusions:when and how[J]. *World Neurosurg*,2016,93(3):261-269.

[2] STOFFEL M,PLESNILA N,ERISKAT J,et al. Release of excitatory amino acids in the penumbra of a focal cortical necrosis[J]. *J Neurotrauma*,2002,19(4):467-477.

[3] MOLLAYEVA T,MOLLAYEVA S,COLANTONIO A. Traumatic brain injury:sex,gender and intersecting vulnerabilities [J]. *Nat Rev Neurol*,2018,14(12):711-722.

[4] 夏天光,孔宪斌,王明丽,等. 光遗传技术调控新生神经元电活动对颅脑损伤小鼠认知功能的影响[J]. *新乡医学院学报*,2018,35(10):858-864.

[5] SALVADOR E,BUREK M,FORSTER C Y. Stretch and/or oxygen glucose deprivation (OGD) in an *in vitro* traumatic brain injury (TBI) model induces calcium alteration and inflammatory cascade [J]. *Front Cell Neurosci*,2015,9(21):323-337.

[6] ZEILER F A,THELIN E P,DONNELLY J,et al. Genetic drivers of cerebral blood flow dysfunction in TBI:a speculative synthesis[J]. *Nat Rev Neurol*,2019,15(1):25-39.

[7] LU Z,MIAO Z,ZHU J,et al. ETS-domain containing protein (Elk1) suppression protects cortical neurons against oxygen-glucose deprivation injury[J]. *Exp Cell Res*,2018,371(1):42-49.

[8] 陆兆丰,贾锋,邱永明,等. 亚低温对创伤性脑损伤后线粒体 α -酮戊二酸脱氢酶活性的影响[J]. *中华神经外科杂志*,2006,6(11):659-662.

[9] MAAS A I R,MENON D K,ADELSON P D,et al. Traumatic brain injury:integrated approaches to improve prevention,clinical care, and research[J]. *Lancet Neurol*,2017,16(12):987-1048.

[10] 信军,康乐,张艺森,等. 重组人促红细胞生成素对早产儿脑损伤的防治作用[J]. *新乡医学院学报*,2018,35(10):928-930.

[11] HARISH G,MAHADEVAN A,PRUTHI N,et al. Characterization of traumatic brain injury in human brains reveals distinct cellular and molecular changes in contusion and pericontusion [J]. *J Neurochem*,2015,134(1):156-172.

[12] NEUHAUS W,GAISER F,MAHRINGER A,et al. The pivotal role of astrocytes in an *in vitro* stroke model of the blood-brain barrier[J]. *Front Cell Neurosci*,2014,8:352-368.

[13] QIN B,SHU Y,XIAO L,LU T,et al. MicroRNA-150 targets ELK1 and modulates the apoptosis induced by ox-LDL in endothelial cells[J]. *Mol Cell Biochem*,2017,429(1/2):45-58.

[14] GAJAVELLI S,KENTARO S,DIAZ J,et al. Glucose and oxygen metabolism after penetrating ballistic-like brain injury [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*,2015,35(5):773-780.

[15] MOISENOVICH M M,PLOTNIKOV E Y,MOYSENOVICH A M,et al. Effect of silk fibroin on neuroregeneration after traumatic brain injury[J]. *Neurochem Res*,2019,44(10):2261-2272.

(本文编辑:徐自超)