

大鼠脑缺血/再灌注过程中脑型葡萄糖转运体 在缺血半影区的表达

李方成, 陶宗玉, 刘安民, 李军亮, 吴中华, 林吉惠
(中山大学附属第二医院神经外科, 广东 广州 510120)

摘要:【目的】研究大鼠局灶性脑缺血不同缺血时间和不同再灌注时间的脑梗死体积比、皮质半影区脑型葡萄糖转运体 (GLUT1、GLUT3) 转录水平和蛋白水平的表达。【方法】用线栓法复制大鼠局灶性脑缺血模型, 用 Kontron IBAS2.5 全自动图像分析系统检测脑梗死体积比; 剥取缺血半影区皮质组织, 采用逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR), 测定 GLUT1、GLUT3 mRNA 水平的变化; 用免疫组织化学半定量测定 GLUT1、GLUT3 蛋白水平的变化。【结果】脑缺血 1 h 后再灌注 (MCAO1h/R) 较缺血 3 h 再灌注 (MCAO3h/R) 脑梗死体积明显减小。MCAO1h/R 组 GLUT1、GLUT3 mRNA 缺血后升高, 24 h 到达高峰, 但 GLUT1 比 GLUT3 提前升高, 且升高的幅度更大。MCAO3h/R 组 GLUT1 在 3 h 开始升高, 24 h 到高峰; GLUT3 在缺血 3 h 有一下降点, 然后升高, 24 h 到高峰, 一周恢复正常, 同样 GLUT1 比 GLUT3 提前升高, 且升高的幅度更大。MCAO3h/R 组较 MCAO1h/R 组的 GLUT1、GLUT3 峰值低。GLUT1、3 蛋白水平的表达与 mRNA 相符合。【结论】GLUT1、GLUT3 在缺血半影区的表达上调, 可能是机体对缺血/再灌注损伤的保护性反应。

关键词: 脑缺血-再灌注; 皮质半影区; 葡萄糖转运体 1; 葡萄糖转运体 3

中图分类号: R743.9

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2005)05-0506-05

Expression of Brain-type Glucose Transporters in Cerebral Ischemic/reperfusion Penumbra in Rats

LI Fang-cheng, TAO Zong-yu, LIU An-min, LI Jun-liang, WU Zhong-hua, LIN Ji-hui

(Department of Neurosurgery, The Second Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract:【Objective】To investigate the volume percentage of infarct and transcription of brain-type glucose transporters (GLUT1, GLUT3) and the expression of GLUT1, GLUT3 protein at different ischemic time and different reperfusion time in rats' focal cerebral ischemic penumbra. 【Methods】Focal ischemic models of middle artery occlusion (MCAO) in rats were made by insertion of nylon thread. Brain samples were harvested from ischemic penumbra. Infarct volume was analyzed quantitatively by Kontron IBAS 2.5 image auto-analyses system. The change of GLUT1 and GLUT3 mRNA was assessed by RT-PCR. The expression of GLUT1 and GLUT3 protein were assessed by immunohistochemistry. 【Results】The infarction volume in MCAO1h/R group was obviously smaller than that in MCAO3h/R group. GLUT1 and GLUT3 began to increase after infarction in MCAO1h/R group, climbed to climax in 24 hours. But GLUT1 increased ahead of GLUT3 and the increasing range of the former was greater than that of the latter. In contrast, in the MCAO3h/R group, GLUT1 began to increase in 3 hours, climbed to climax in 24 hours. GLUT3 began to ascend in 3 hours in MCAO1h/R group, reached to climax in 24 hours and remained higher than normal in 1 week. Meanwhile, GLUT1 increased ahead of GLUT3 and the increasing range of former was greater than that of the latter. The peak value of GLUT1 and GLUT3 in MCAO3h/R group were lower than that in MCAO1h/R. The expression levels of GLUT1 and GLUT3 protein were consistent with the corresponding mRNA. 【Conclusions】GLUT1 and GLUT3 expression were notably up-regulated in the penumbra region after focal cerebral ischemia; it may be a protective reaction against ischemic injury.

Key words: cerebral ischemia-reperfusion; penumbra; GLUT1; GLUT3

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2005, 26(5): 506-510]

葡萄糖易化扩散通过细胞膜, 是细胞进行糖代

谢及产生能量的重要前提, 这一过程是在葡萄糖转

收稿日期: 2004-10-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39900048); 广东省自然科学基金资助项目 (010721)

作者简介: 李方成 (1964-), 男, 湖南汨罗人, 博士, 副教授. E-mail: sjwklfc@yahoo.com.cn

运体 (glucose transporter, GLUT) 介导下完成的^[1]。在脑组织中分布的葡萄糖转运体主要是 GLUT1 和 GLUT3。GLUT1 分布在构成血脑屏障的内皮细胞上,负责将葡萄糖从血液中跨血脑屏障转运至脑细胞外间隙; GLUT3 又称神经元葡萄糖转运体,主要分布在神经元细胞膜上,负责将葡萄糖从细胞外间隙转运至神经元内^[2]。因此,常将 GLUT1、GLUT3 统称为脑型葡萄糖转运体。为进一步探讨局灶性脑缺血/再灌注过程中 GLUT1、GLUT3 表达的变化,本研究用线栓法复制大鼠大脑中动脉阻塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 模型,采用全自动图像分析系统算出不同时间点的梗死体积比,采用 RT-PCR 检测 GLUT1、GLUT3 mRNA 在不同缺血时间点半影区的表达,免疫组织化学方法检测不同时间点的 GLUT1、GLUT3 蛋白水平的变化。

1 材料和方法

1.1 动物与分组

健康雄性 SD 大鼠,质量(300 ±10)g(中山大学实验动物中心提供)。随机分成 3 组:缺血 1 h 再灌注组 (MCAO1h/R) 56 只 (GLUT1、GLUT3 各 28 只);缺血 3 h 再灌注组 (MCAO3h/R) 48 只 (GLUT1、GLUT3 各 24 只);假手术对照组 (Pseudo operation) 8 只 (GLUT1、GLUT3 各 4 只)。第 1 组自缺血开始分别选取 1、3、6、12、24、72 h 和 1 周 7 个时间点为 7 小组,每组 4 只,第 2 组除无 1 h 时间点外与第 1 组相同,第 3 组只作切口,不作插线。

1.2 主要药物与试剂

氯化三苯基四唑氮 (TTC) 为 Genetime 公司产品。兔抗鼠 GLUT1、GLUT3 多克隆抗体为 Chemicon 公司产品。免疫组化试剂盒由武汉博士德生物工程技术有限公司提供。GLUT1、GLUT3、-actin 扩增引物均由上海生物工程有限公司合成。Trizol 为 Invitrogen 公司产品。逆转录酶为 Promega 公司产品。Oligo(dT)、RNase 抑制剂和 dNTP 由上海申能博彩生物科技有限公司提供。

1.3 脑缺血/再灌注动物模型的制作

水合氯醛(100 mg/mL)腹腔内注射麻醉(3 mL/kg),仰卧位固定,颈正中切口,长约 3 cm,逐层分离,暴露右侧颈总动脉、颈内动脉和颈外动脉;为避免刺激迷走神经,电凝切断颈外动脉分支,结扎并游离颈外动脉主干的一段备用;沿颈内动脉头端分离、显露并结扎翼腭动脉,在颈外动脉残端剪一小口,注入 0.3 mL 肝素钠溶液(2.4 ×10⁶ U/L),用

直径 0.25 mm 的尼龙线栓(预先用硅胶均匀涂于头端 5 mm)插入颈外动脉,经颈总动脉分叉置入颈内动脉,深度(18 ±0.5)mm,直到有轻微阻力感为止。再灌注时,将尼龙线栓退至颈外动脉残端,即可恢复大脑中动脉血供^[3]。

1.4 脑梗死体积的计算

分别在各检测时间点以水合氯醛腹腔麻醉后断头取脑,放入-30℃冰箱中冷冻 10 min 后取出,自嗅球后 2 mm 处开始作脑连续冠状切片,然后迅速放入已配好的 1%TTC 溶液中,37℃恒温箱中孵育 30 min,正常脑组织被染成红色,缺血坏死的脑组织因线粒体被破坏不着色而成白色,取出脑片放至 40 mL/L 甲醛溶液中固定。用全自动图像分析系统进行图像分析,分别测出梗死的体积和鼠脑的总体积,最后算出梗死体积比。

1.5 RT-PCR 检测 GLUT1、GLUT3 mRNA 表达

缺血侧大脑半球距离嗅球尖端 7~11 mm,矢状裂至外侧裂下 2/3 的皮质由于仅有大脑中动脉供血,梗死出现早而完全,代表缺血中心区;上 1/3 皮质由大脑前动脉和大脑中动脉双重血供,缺血较轻,代表缺血半影区。取缺血半影区皮层,用 Trizol 提取总 RNA,用核酸序列分析软件(Primer 5)设计引物序列。GLUT1 上游引物为 5'-CACAT CCTTCTTTGCCAAG-3';下游引物为 5'-TCTATAC ACAGCAGGGCAGGA-3',片段长度为 389 bp;GLUT3 上游引物为 5'-ATGATAGGCCTGGGAGG CAT-3';下游引物为 5'-TCGAAAGTCCTGCC TTTGG T-3',片段长度为 370 bp;内参照 -actin 上游引物为 5'-CTCTTTGATGTACAGCACCATTTC-3';下游引物为 5'-ATCGTGGGCCGCTCTAGG CACC-3',片段长度为 512 bp。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳分离;根据图像分析仪测定的 RT-PCR 产物带、本底吸光度和条带面积计算出条带吸光度 $A = (\text{条带平均吸光度} - \text{本底平均吸光度}) \times \text{条带面积}$,葡萄糖转运体条带的 A 值与内参照 -actin 的 A 值表示该样本 GLUT1、3 mRNA 的表达水平。

1.6 免疫组织化学方法检测 GLUT1、3 蛋白表达

采用链霉素抗生物素蛋白过氧化酶(SP)技术。标本用甲醛固定,石蜡包埋,行 5 μm 厚连续切片。常规脱腊水化,30 mL/L 过氧化氢阻断内源性过氧化物酶 30 min,加一抗 4℃过夜,然后加入二抗,底物用二氨基联苯胺显色。最后以苏木素复染,中性树胶封片,光镜下观察。每张切片随机选取 3 个高倍镜视野,利用全自动图像分析系统算出阳性单位^[4]。

1.7 统计学方法

全部数据采用 SPSS 11.5 for Windows 统计软件包进行统计学分析,所有计量资料用均数 ±标准差表示,同一时间点上两组 1 h 和 3 h 各指标的比较采用独立样本的 t 检验,方差不齐时用 t' 检验,各指标各时间点与假手术组的比较采用方差分析,组间比较采用 SNK-q 检验,取 =0.05。

2 结果

2.1 脑梗死体积测定结果

脑缺血 1 h 后再灌注组梗死体积 12 h 以后不再扩大。脑缺血 3 h 后再灌注组梗死体积随时间延长梗死体积逐渐增大,至 24 h 才稳定。缺血 1 h 再灌注组梗死体积与缺血 3 h 再灌注组相比,梗死体积明显缩小,在相应的时间点经独立样本均数 t 检验,除 12 h 组外差异有统计学意义(表 1)。

2.2 GLUT1、GLUT3 mRNA 的表达

大鼠缺血脑组织所提取的总 RNA 经琼脂糖

凝胶电泳,可见 28 S、18 S、5 S 三条清晰的条带,且 28 S 的显色强度约为 18 S 的两倍,表明 RNA 无降解、完整性好; A₂₆₀/A₂₈₀ 的比较值在 1.8~2.0 之间。由电泳图(图 1-4)可见各样本在约 512 bp(内参照扩增产物)、389 bp (GLUT1 扩增产物) 和 370 bp (GLUT3 扩增产物) 处均有清晰的目标条带,无非特异性条带。图像分析仪的结果表明, GLUT1 mRNA 的表达自 1 h 即开始升高,24 h 到达高峰,1 周时仍高于假手术对照组;缺血 3 h 再灌注组在 3 h 开始升高,24 h 达高峰,1 周后仍高于正常,经方差分析差异有统计学意义。MCAO1h/R 组与 MCAO3h/R 组在相应的各时间点比较, GLUT1 升高幅度差异有统计学意义(表 2)。GLUT3 自 3 h 即开始升高,24 h 到达高峰,1 周时仍高于假手术对照组;缺血 3 h 再灌注组在 3 h 有一下降点,然后升高,24 h 到高峰,1 周恢复至对照组水平,经方差分析差异有统计学意义。MCAO1h/R 组与 MCAO3h/R 组在其它相应的各时间点比较, GLUT3 升高幅度差异有统计学意义(见表 3)。

表 1 缺血不同时间再灌注各时间点鼠脑梗死体积与脑总体积比

Table 1 The volume percentage of infarct over complete brain at different ischemic time point

Group	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h	72 h	1 week
MCAO1h/R	0.02 ±0.01	0.03 ±0.01	0.04 ±0.01	0.07 ±0.02	0.07 ±0.03	0.07 ±0.03	0.07 ±0.02
MCAO3h/R		0.08 ±0.03	0.13 ±0.05	0.14 ±0.06	0.24 ±0.08	0.23 ±0.07	0.24 ±0.07
t	-	3.2	3.5	2.2	4.0	3.7	4.0
P		< 0.05	< 0.05	> 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

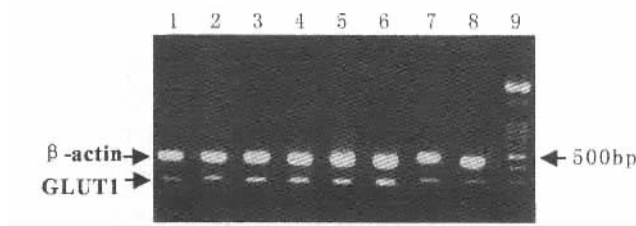


图 1 MCAO1h/R 组鼠脑半影区 GLUT1 mRNA 的表达
Fig.1 The expression of GLUT1-mRNA in MCAO 1h/R penumbra

1: control; 2: 1 h; 3: 3 h; 4: 6 h; 5: 12 h; 6: 24 h; 7: 72 h; 8: 1 week; 9: marker

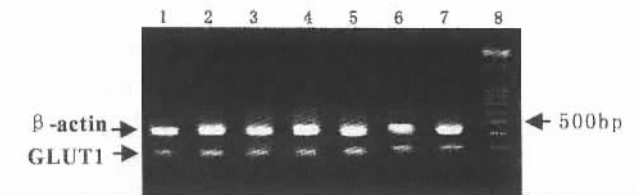


图 2 MCAO3h/R 组鼠脑半影区 GLUT1 mRNA 的表达
Fig.2 The expression of GLUT1-mRNA in MACO 3h/R penumbra

1: control; 2: 3 h; 3: 6 h; 4: 12 h; 5: 24 h; 6: 72 h; 7: 1 week; 8: marker

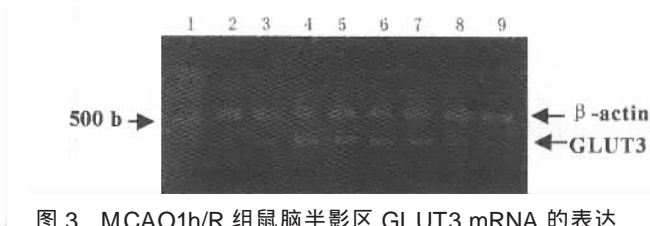


图 3 MCAO1h/R 组鼠脑半影区 GLUT3 mRNA 的表达
Fig.3 The expression of GLUT3 mRNA in MACO 1h/R penumbra

1: control; 2: 1 h; 3: 3 h; 4: 6 h; 5: 12 h; 6: 24 h; 7: 72 h; 8: 1 week; 9: marker

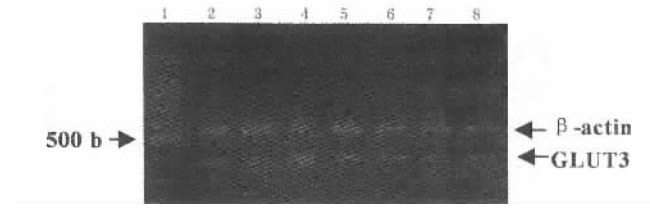


图 4 MCAO3h/R 组鼠脑半影区 GLUT3 mRNA 的表达
Fig.4 The expression of GLUT3-mRNA in MACO 3h/R penumbra

1: control; 2: 3 h; 3: 6 h; 4: 12 h; 5: 24 h; 6: 72 h; 7: 1 week; 8: marker

表 2 GLUT1 mRNA 在缺血再灌注不同时间点半影区表达的吸光度

Table 2 The absorbance of expression of GLUT1 mRNA at penumbra at different ischemic time

Group	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h	72 h	1 week	F	P
MCAO1h/R	0.41 ±0.03 ¹⁾	0.50 ±0.04 ¹⁾	0.55 ±0.04 ¹⁾	0.60 ±0.02 ¹⁾	0.86 ±0.02 ¹⁾	0.78 ±0.03 ¹⁾	0.50 ±0.02 ¹⁾	163	< 0.05
MCAO3h/R	-	0.32 ±0.02 ¹⁾	0.38 ±0.03 ¹⁾	0.41 ±0.02 ¹⁾	0.53 ±0.01 ¹⁾	0.46 ±0.03 ¹⁾	0.33 ±0.01 ¹⁾	61.9	< 0.05
t	-	8.05	6.8	13.44	29.52	15.08	15.2		
P		< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05		

1) compared with pseudo-operation group(0.23 ±0.04), P< 0.05

表 3 GLUT3 mRNA 在缺血再灌注不同时间点半影区表达的吸光度

Table 3 The absorbance of expression of GLUT3 mRNA at penumbra at different ischemic time

Group	1 h	3 h	6 h ¹⁾	12 h	24 h	72 h	1 week	F	P
MCAO1h/R	0.33 ±0.02	0.42 ±0.02 ²⁾	0.46 ±0.27	0.53 ±0.02 ²⁾	0.68 ±0.02 ²⁾	0.60 ±0.02 ²⁾	0.42 ±0.03 ²⁾	212	< 0.05
MCAO3h/R	-	0.19 ±0.02 ²⁾	0.31 ±0.25	0.36 ±0.02 ²⁾	0.45 ±0.04 ²⁾	0.38 ±0.04 ²⁾	0.30 ±0.02 ²⁾	99.5	< 0.05
t	-	16.26	0.815	12.02	10.29	9.83	6.66		
P		< 0.05	>0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05		

1)because of heterogeneity of variance, the data of 6 h were not included in the ANOVA; 2)compared with pseudo-operation group(0.32 ± 0.01), P< 0.05

2.3 GLUT1、GLUT3 蛋白的表达

GLUT1 阳性细胞表现为在血管内皮细胞胞浆或胞膜上黄褐色颗粒的表达, 而阴性对照片中无阳性信号出现。MCAO1h/R 组与 MCAO3h/R 组 GLUT1 蛋白上调幅度不同, 在各时间点进行比较有统计学意义。GLUT3 阳性细胞表现为胞浆或胞膜上黄褐色颗粒的表达, GLUT3 主要在神经细胞

胞表达, 不但在细胞膜上, 在胞浆中也有大量表达; 阴性对照片中无阳性信号出现。MCAO1h/R 组与 MCAO3h/R 组 GLUT3 蛋白上调幅度不同, 在 3 h、12 h、1 周时进行比较有统计学意义, 在 6 h、24 h、72 h 时间点上比较无统计学意义, 但总体趋势 MCAO1h/R 组比 MCAO3h/R 在各时间点上 GLUT1、3 蛋白的表达均高(表 4)。

表 4 GLUT1、3 蛋白在缺血再灌注不同时间点半影区的表达

Table 4 The expression of GLUT1,3 protein at penumbra at different ischemic time points (PU)

Index	Group	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h	72 h	1 week	Pseudo operation
GLUT1 mRNA	MCAO1h/R	10.5 ±1.2	13.1 ±2.1	14.2 ±1.6	15.0 ±0.8	20.0 ±2.6	18.0 ±1.8	13.5 ±1.5	5.6 ±1.1
	MCAO3h/R		8.2 ±2.3	9.6 ±1.2	10.5 ±1.4	13.7 ±1.7	11.3 ±1.9	8.4 ±1.5	5.6 ±1.1
	t	-	3.15	4.60	5.58	4.06	5.11	4.80	
	P		< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	
GLUT3 mRNA	MCAO1h/R	8.1 ±2.7	12.2 ±1.6	12.4 ±1.6	14.9 ±1.9	16.6 ±4.0	14.5 ±3.1	11.7 ±2.6	8.0 ±2.5
	MCAO3h/R		4.2 ±0.8	10.2 ±1.4	11.9 ±1.5	12.5 ±2.2	10.5 ±1.9	7.8 ±1.3	8.0 ±2.5
	t	-	8.94	2.07	2.48	1.80	2.20	2.68	
	P		< 0.05	> 0.05	< 0.05	> 0.05	> 0.05	< 0.05	

3 讨论

本研究发现缺血 3 h 再灌注组脑梗死体积(0.07 ±0.03) 较脑缺血 1 h 后再灌注组脑梗死体积(0.24 ±0.08) 明显减小(相差 3 倍多)。这是因为脑组织对缺血缺氧的耐受性较差, 必须依赖连续的能量供给, 缺血 1 h 比缺血 3 h 尚存的有功能的细胞多, 机体上调葡萄糖转运体的表达也较多, 从而通过能量供给的增加而缩小脑梗死体

积。这与文献报道的结果相一致^[9]。结果同时显示脑缺血 3h 后再灌注组 GLUT1、3 上调不及缺血 1 h 再灌注组上调幅度大(后者约为前者的 1.5 倍); 这可能是由于较长时间缺血造成部分微血管内皮和神经元的破坏, 从而影响 GLUT1、3 的转录和蛋白合成所致。

脑缺血缺氧诱导产生的低氧诱导因子(hypoxia inducible factor 1, HIF) 被认为对调控 GLUT1、3 的表达起决定作用, 缺氧可以引起 HIF-1 的水平急剧增高, HIF-1 可以调控包括 GLUT 基

因在内的数个涉及能量代谢的基因表达,如促红细胞生成素(EPO)、血管内皮生长因子(VEGF)基因等^[6]。Stein 等^[7]研究表明,缺血缺氧后,能量不足可导致能量依赖性离子泵功能下降,从而使细胞外的钾离子浓度增高,细胞膜不稳定,反复的去极化而导致钙离子在细胞内堆积,也激发 GLUT1、3 的表达,显示缺血缺氧后相关区域能量需求加大,缺氧本身也有稳定 GLUT1、3 和 HIF-1 的作用,使 GLUT1、3 mRNA 的转录得以增加。本研究结果发现缺血再灌注后脑局部 GLUT1 首先表达上调,继之出现 GLUT3 表达上调,如缺血 1 h 再灌注组第 1 h GLUT1 值为 (0.41 ± 0.025) , 对照为 (0.23 ± 0.040) , 而 GLUT3 为 (0.33 ± 0.020) , 对照组为 (0.32 ± 0.010) 。说明 GLUT1 比 GLUT3 对缺血更敏感、反应更快,脑缺血后为增加葡萄糖的转运和保证能量供应,机体首先将 GLUT1 激活、进而刺激 GLUT3 的表达增高,从而通过提高葡萄糖摄取来改善能量供应。Sharp 等^[8]研究结果也证实 GLUT1 本身具有刺激机体产生效率更高的 GLUT3 以改善能量代谢的作用。

本研究两缺血组,特别是缺血 3 h 组再灌注早期 GLUT3 水平比正常对照水平还低,而且整个过程中 GLUT1 比 GLUT3 升高的幅度大, GLUT3 峰值比 GLUT1 峰值低。这可能是由于内皮细胞和神经元对缺血的反应不同,缺血后神经元损害较重,神经元细胞死亡较内皮细胞多,进而导致 GLUT3 的表达水平低于 GLUT1。GLUT3 mRNA 缺血 3 h 再灌注组在 3 h 有一下降点,其具体机制不明,尚待进一步研究。研究认为,缺血缺氧时,由于氧和葡萄糖的供应中断,神经元处于能量衰竭状态,在多重因素的作用下,缺血区域已有神经元坏死的发生,从而导致 GLUT3 水平的降低,甚至不能检测到 GLUT3 的存在^[9]。

结果还表明,脑缺血再灌注过程中脑型葡萄糖转运体表达水平先逐渐升高,24 h 到高峰,然后下降,1 周时接近正常或稍高于正常,呈现出先扬后抑的趋势;而且其蛋白水平与 mRNA 表达相一致。这表明缺血后由于能量的供应不足,机体通

过提高 GLUT1 和 GLUT3 转录水平,增加葡萄糖的转运以保证基本的能量供应。GLUTs 表达增加代表了一种防御反应,有助于恢复脑的能量代谢及稳定神经元膜电位,对脑缺血后的脑损伤具有保护作用^[10]。

参考文献:

- [1] McEwen BS, Reagan LP. Glucose transporter expression in the central nervous system: relationship to synaptic function[J]. *Eur J Pharmacol*, 2004, 490(1-3): 13-24.
- [2] Beal MF. Mechanism of excitotoxicity in neurologic diseases[J]. *FASEB J*, 1992, 6(15): 3338-44.
- [3] 李方成,陶宗玉,刘安民,等.大鼠脑缺血/再灌注过程中葡萄糖转运体 1 在缺血半影区的表达[J].*中国病理生理杂志*, 2004, 20(10):1878-81.
- [4] 申洪.免疫组织化学染色定量方法研究(III)[J].*中国组织化学与细胞化学杂志*,1995,4(1):89-91.
- [5] 杨世方,闵宝珍,周锡英,等.大鼠局部脑缺血再灌注的实验研究[J].*临床神经病学杂志*,1997,10(4):204-6.
- [6] Vannucci SJ, Seaman LB, Vannucci RC. Effects of hypoxia-ischemia on GLUT1 and GLUT3 glucose transporters in immature rat brain [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1996, 16(1):77-81.
- [7] Stein I, Neeman M, Sweiki D, et al. Stabilization of vascular endothelial growth factor mRNA by hypoxia and coregulation with other ischemia-induced gene [J]. *Mol Cell Biol*, 1995, 15(10):5363-8.
- [8] Sharp FR, Aigang LU, Yang T, et al. Multiple molecular penumbras after focal cerebral ischemia [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2000, 20(7):1011-23.
- [9] McCall AL, Moholt-Stebert M, Vanburen A, et al. Progressive hippocampal loss of immunoreactive GLUT3, the neuron-specific glucose transporter, after global fore-brain ischemia[J]. *Brain Res*, 1995, 670(1): 29-38.
- [10] Huang LE, Willmore WG, Gu J, et al. Inhibition of hypoxia-inducible factor 1 activation by carbon monoxide and nitric oxide[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(13): 9038-44.

(编辑 刘清海)