

牛磺酸对锰致大鼠空间记忆能力衰退的影响

郭 敏¹, 程莉霞², 王培福¹

(1. 航天中心医院, 北京 100049, 2. 承德市第六医院, 河北 承德 100191)

[摘 要] 目的: 探讨牛磺酸对锰致大鼠空间记忆能力衰退的改善作用。方法: 选取健康 SD 雄性大鼠 42 只, 随机均分为对照组、锰组、牛磺酸组; 锰组和牛磺酸组腹腔注射氯化锰溶液 15 mg/(kg · d), 每周 5 d, 共 3 周, 牛磺酸组同期皮下注射牛磺酸溶液 200 mg/(kg · d) 每周 5 d, 共 3 周, 对照组同期腹腔注射 0.9% NaCl 溶液 30 mg/(kg · d); Morris 水迷宫记录各组大鼠的空间探索时间及搜索次数, 以评价大鼠的空间记忆能力; 行为学实验后取各组大鼠海马, 检测谷氨酸相关酶、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)及超氧化物歧化酶(SOD)水平。结果: 与对照组相比, 锰组逃避潜伏期、游泳总路程均明显延长($P < 0.05$), 谷氨酰胺合成酶、谷氨酰胺酶、谷氨酸脱羧酶明显减少($P < 0.05$), MDA 含量、GSH-Px 活性明显增加, SOD 含量明显减少($P < 0.05$); 与锰组相比, 牛磺酸组逃避潜伏期、游泳总路程均明显缩短($P < 0.05$), 谷氨酰胺合成酶、谷氨酰胺酶、谷氨酸脱羧酶明显增多($P < 0.05$), MDA 含量、GSH-Px 活性明显减少, SOD 含量明显增加($P < 0.05$)。结论: 牛磺酸减少锰致大鼠的神经细胞损害, 改善了空间记忆能力, 减少了氧化损伤。

[关键词] 牛磺酸; 锰; 空间记忆; 作用; 丙二醛; 谷胱甘肽过氧化物酶; 超氧化物歧化酶; Morris 水迷宫

[中图分类号] R595 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2018)02-0184-03

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2018.02.011

The Effect of Taurine in Improving Spatial Memory Ability of Rats Affected by Manganese

GUO Min¹, CHENG Lixia², WANG Peifu¹

(1. Aerospace Center Hospital, Beijing 100049, China; 2. The Sixth Hospital of Chengde. Chengde 100191, Hebei, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of taurine in improving the spatial memory ability of rats that affected by manganese. **Methods:** Forty-two healthy SD male rats were chosen and randomly divided into control group (group C), manganese group (group M), and taurine group (group T) with 14 in each group. Rats in groups M and T were injected intra-peritoneally with manganese chloride solution 15 mg/(kg · d) or taurine 200 mg/(kg · d) respectively, five days a week for 3 weeks, while rats in group C were injected with 0.9 NaCl solution 30mg/(kg · d) instead for the same course. Morris water maze test and diving tower test were performed to evaluate special memory ability. Finally, hippocampus of rats were taken out and glutamine-related enzymes and MDA, gsh-px and SOD levels were detected. **Results:** Compared with those in group C, the escape latency and swimming distance in group M were significantly longer ($P < 0.05$), and the glutamine synthetase, glutaminase, glutamic acid decarboxylase in group M decreased significantly ($P < 0.05$). In group M, MDA contents and GSH-Px activity were higher and SOD content was lower than those in group C significantly ($P < 0.05$). Compared with those in group M, escape latency and swimming total distance in group T were obviously shorter ($P < 0.05$). The glutamine synthetase, glutaminase, glutamic acid decarboxylase and SOD content in group T were significantly higher than those in group M ($P < 0.05$), while the MDA content and GSH-Px activity of group T was obviously lower than those in group M. **Conclusion:** Taurine could reduce damage in nerve cells of rats, improve spatial memory and reduce oxidative damage.

[**Key words**] taurine; manganese; spatial memory; effect; malondialdehyde; glutathion peroxidase; superoxide dismutase; Morris water maze

锰在人体内是必需的微量元素,但过量的锰会造成锥体外系神经损害,临床表现为认知功能下降、学习记忆能力减退及方向辨别能力下降等^[1];过量的锰还会损害大脑边缘系统,造成情绪改变,表现为孤独自闭、烦躁、胆小、悲伤等。海马是大脑边缘系统重要的功能部位,主要参与空间方向辨别、学习记忆功能、情感控制等方面调节^[2]。牛磺酸具有促进脑发育,改善学习记忆能力,提高神经纤维传导,抗脂质过氧化能力,保护神经细胞的作用^[3]。染锰对运动、行为的影响已有不少报道,但牛磺酸治疗锰致空间记忆改变的相关报道较少,本研究观察牛磺酸对锰致大鼠空间记忆能力改变的影响,为牛磺酸的临床治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物、试剂及仪器

北京维通利华实验动物公司提供的健康 SD 雄性大鼠 42 只,体质量(250 ± 30) g,合格证号 SCKX(京)2002-0003。饲养环境温度控制在(22 ± 2)℃,湿度(50 ± 15)%,自由饮食饮水。氯化锰($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$,天津博迪化工有限公司,分析纯),牛磺酸(美国 Sigma 公司),谷氨酰胺合成酶、谷氨酰胺酶、谷氨酸脱羧酶的试剂盒均由武汉华美有限公司生产,丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)及超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒均由南京建成生物研究所生产。Morris 水迷宫记录仪、DT-200 跳台仪(成都泰盟科技有限公司),Z323K 台式高速冷冻离心机(德国 Hermle 公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组 大鼠适应性饲养 7 d,按照随机数字表法分为对照组、锰组、牛磺酸组,每组 14 只。其中,对照组腹腔注射 0.9% NaCl 溶液 30 mg/(kg·d),每周 5 d,共 3 周;锰组和牛磺酸组,腹腔注射氯化锰溶液 15 mg/(kg·d),每周 5 d,共 3 周,其中牛磺酸组同期给予皮下注射牛磺酸溶液 200 mg/(kg·d) 每周 5 d,共 3 周。

1.2.2 大鼠的空间记忆能力评价 Morris 水迷宫实验:水迷宫由圆形水池、安全平台组成,池水混入

奶粉后不透明颜色;水池划分为四个象限,大鼠沿池壁分别放在不同象限内,记录大鼠在 120 s 内找到平台的时间(逃避潜伏期)及游泳总路程,连续测试 5 d。

1.2.3 氧化应激指标检测 行为学实验后处死大鼠,取出脑组织,分离海马组织,制成 10% 的匀浆,采用酶联免疫吸附 ELISA 法依次检测海马组织中谷氨酰胺合成酶、谷氨酰胺酶、谷氨酸脱羧酶。MDA 采用硫代巴比妥酸法检测,GSH-Px 活性采用 5,5-二硫对硝基苯甲酸(DTNB)法检测,SOD 采用黄嘌呤氧化酶法检测。按照试剂盒说明书进行操作。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计分析,计量资料用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,数据比较采用单因素方差分析比较,组间比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Morris 水迷宫逃避潜伏期结果

与对照组相比,锰组逃避潜伏期均明显延长($P < 0.05$);与锰组相比,牛磺酸组逃避潜伏期均明显缩短($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 Morris 水迷宫游泳总路程结果

与对照组相比,锰组游泳总路程均明显延长($P < 0.05$);与锰组相比,牛磺酸组游泳总路程均明显缩短($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 海马组织中谷氨酸酶水平

与对照组相比,锰组谷氨酰胺合成酶、谷氨酰胺酶、谷氨酸脱羧酶明显减少($P < 0.05$);与锰组相比,牛磺酸组谷氨酰胺合成酶、谷氨酰胺酶、谷氨酸脱羧酶明显增多($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 海马组织中 MDA、GSH-Px 及 SOD 水平

与对照组相比,锰组 MDA 含量、GSH-Px 活性明显增加,SOD 含量明显减少($P < 0.05$);与锰组相比,牛磺酸组 MDA 含量、GSH-Px 活性明显减少,SOD 含量明显增加($P < 0.05$)。见表 4。

表 1 3 组大鼠逃避潜伏期结果($\bar{x} \pm s, n = 14, s$)

Tab. 1 The escape tendency of rats in the 3 groups

组别	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
对照组	58.33 ± 1.26	28.96 ± 1.31	18.76 ± 1.53	12.85 ± 1.67	8.04 ± 1.58
锰组	78.59 ± 1.13 ⁽¹⁾	48.46 ± 1.63 ⁽¹⁾	37.35 ± 1.72 ⁽¹⁾	29.43 ± 2.11 ⁽¹⁾	20.32 ± 2.18 ⁽¹⁾
牛磺酸组	61.79 ± 1.37 ⁽²⁾	33.06 ± 1.79 ⁽²⁾	24.43 ± 1.92 ⁽²⁾	16.35 ± 2.47 ⁽²⁾	13.03 ± 2.05 ⁽²⁾

⁽¹⁾ 与对照组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾ 与锰组比较, $P < 0.05$

表 2 3 组大鼠游泳总路程结果($\bar{x} \pm s, n = 14, cm$)

Tab. 2 The swimming total distances of rats in the 3 groups

组别	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
对照组	502.13 ± 1.28	332.26 ± 1.43	209.06 ± 1.41	132.62 ± 1.82	108.25 ± 1.81
锰组	677.23 ± 1.25 ⁽¹⁾	525.36 ± 1.51 ⁽¹⁾	381.25 ± 1.68 ⁽¹⁾	332.15 ± 1.62 ⁽¹⁾	230.46 ± 1.79 ⁽¹⁾
牛磺酸组	538.28 ± 1.33 ⁽²⁾	390.26 ± 1.45 ⁽²⁾	289.51 ± 1.47 ⁽²⁾	178.96 ± 1.75 ⁽²⁾	162.19 ± 1.82 ⁽²⁾

⁽¹⁾ 与对照组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾ 与锰组比较, $P < 0.05$

表 3 3 组海马组织中谷氨酸酶水平

($\bar{x} \pm s, n = 14$)

Tab. 3 The results of glutamic acid enzyme in hippocampus tissue of the 3 groups

组别	谷氨酰胺合成酶 (ng/L)	谷氨酰胺酶 ($\mu g/L$)	谷氨酸脱羧酶 (ng/L)
对照组	178.56 ± 35.48	0.98 ± 0.19	151.87 ± 20.06
锰组	141.73 ± 29.03 ⁽¹⁾	0.69 ± 0.12 ⁽¹⁾	105.98 ± 10.12 ⁽¹⁾
牛磺酸组	165.46 ± 30.25 ⁽²⁾	0.83 ± 0.08 ⁽²⁾	133.27 ± 13.25 ⁽²⁾

⁽¹⁾ 与对照组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾ 与锰组比较, $P < 0.05$

表 4 3 组海马组织中 MDA、GSH-Px、

SOD 水平($\bar{x} \pm s, n = 14$)

Tab. 4 The test results of MDA, GSH-Px, and SOD in hippocampus tissue of rats of the 3 groups

组别	MDA (nmol/mg)	GSH-Px (U/mg)	SOD (U/mg)
对照组	3.78 ± 0.62	18.8 ± 7.8	213.6 ± 49.8
锰组	4.56 ± 0.75 ⁽¹⁾	27.6 ± 11.8 ⁽¹⁾	151.3 ± 54.5 ⁽¹⁾
牛磺酸组	3.38 ± 0.68 ⁽²⁾	15.3 ± 6.2 ⁽²⁾	189.4 ± 37.6 ⁽²⁾

⁽¹⁾ 与对照组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾ 与锰组比较, $P < 0.05$

3 讨论

本研究造模后,经 Morris 水迷宫测试,锰组大鼠的逃避潜伏期、游泳总路程均明显延长,与吴飞盈等^[4]的报道一致,锰导致大鼠海马组织内神经元损害,表现为学习记忆能力减退,证明本研究造模成功。牛磺酸维持人体正常生理功能,尤其在中枢神经系统中起重要作用,它能够促进神经传导、提高智力水平,增强及完善脑组织发育,增强免疫

力,强化记忆力等功能^[5-6]。谷氨酸是大脑能量代谢的重要物质,具有抑制神经传导的作用^[7]。染锰后谷氨酸代谢紊乱,谷氨酸过度激活,产生兴奋性毒性,破坏锥体外系神经元,诱发过氧化反应,产生大量过氧化产物,进一步损害神经系统^[7-12]。牛磺酸参与调节谷氨酸、 γ -氨基丁酸等神经递质的合成,促使谷氨酸合成 γ -氨基丁酸,抑制了神经毒性,维持神经递质平衡;同时牛磺酸维持细胞膜正常运转,抑制细胞凋亡,阻止过氧化反应发生,减少氧自由基,保护神经细胞^[12-13]。MDA 是氧化后产物,SOD 直接清除氧自由基,GSH-Px 是促进氧化物分解的酶,都具有保护细胞作用。本研究结果显示,牛磺酸治疗后染锰大鼠的学习记忆能力明显提高,谷氨酸相关酶:谷氨酰胺合成酶、谷氨酰胺酶、谷氨酸脱羧酶均增多,MDA 含量明显减少,SOD 含量、GSH-Px 活性明显增加。说明牛磺酸通过调节谷氨酸代谢抑制了神经毒性,改善了染锰导致的神经元损害,同时牛磺酸抑制过氧化反应,保护神经元^[14-16]。

综上所述,锰致大鼠神经细胞损害,牛磺酸改善了大鼠空间记忆能力,增加了谷氨酸代谢相关酶的含量,抑制了染锰所致的氧化损伤,保护了神经细胞。

4 参考文献

- [1] 覃丽,郭忠信,杨伯宁. 丰富环境对锰中毒小鼠学习记忆能力和神经发生的影响[J]. 神经解剖学杂志, 2014,30(1):75-80.

(下转第 191 页)

- erogeneity of Parkinson disease in the early clinical stages using a data driven approach[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2005,76(3):343-348.
- [11] 陈慧敏,李芳菲,冯涛. 早发型帕金森病及其基因研究进展[J]. *中华神经科杂志*, 2015,48(8):729-731.
- [12] IREGRAGUI W, LACHHAB L, RAZINE R, et al. Profile of idiopathic parkinson's disease in Moroccan patients [J]. *Int Arch Med*, 2014,7(1):10.
- [13] MEHANNA R, MOORE S, HOU J G, et al. Comparing clinical features of young onset, middle onset and late onset Parkinson's disease [J]. *Parkinsonism & Related Disorders*, 2014,20(5):530-534.
- [14] IREGRAGUI W, LACHHAB L, RAZINE R, et al. Profile of idiopathic parkinson's disease in Moroccan patients [J]. *Int Arch Med*, 2014,7(1):10.
- [15] POST B, SPEELMAN J D, DE HAAN R J, et al. Clinical heterogeneity in newly diagnosed Parkinson's disease [J]. *Journal of Neurology*, 2008,255(5):716-722.
- [16] YUST-KATZ S, TESLER D, TREVES T A, et al. Handedness as a predictor of side of onset of Parkinson's disease [J]. *Parkinsonism & Related Disorders*, 2008,14(8):633-635.
- [17] DJALDETTI R, ZIV I, MELAMED E. The mystery of motor asymmetry in Parkinson's disease[J]. *Lancet Neurol*, 2006,5(9):796-802.
- [18] 王晓,刘卫国,华平,等. 帕金森病运动症状进展分析[J]. *临床神经病学杂志*, 2016,21(9):46-48.
- [19] WARREN OLANOW C, KIEBURTZ K, RASCOL O, et al. Factors predictive of the development of Levodopa-induced dyskinesia and wearing-off in Parkinson's disease [J]. *Mov Disord*, 2013,28(8):1064-1071.
- [20] LIU Z G. Understanding and treatment of the motor complications of Parkinson's disease [J]. *Journal of Clinical Internal Medicine*, 2011,28(12):800-803.
- [21] GAREIA-RUIZ P J, DEL VAL J, FERNANDEZ I M, et al. What factors influence motor complications in Parkinson disease? a 10-year prospective study [J]. *Clin Neuropharmacol*, 2012,35(1):1-5.
- [22] 陈生弟. 帕金森病运动并发症的防治策略[J]. *中华老年医学杂志*, 2016,35(4):343-346.
- [23] 马兆雷,焦玲. 帕金森病患者血尿酸水平分析[J]. *贵阳医学院学报*, 2015,(8):867-869.
- [24] 蔡立君,詹玮,李旭红,等. 3.0T MRI 磁敏感加权成像观察 α -硫辛酸对帕金森病患者黑质的铁螯合作用 [J]. *贵州医科大学学报*, 2016,41(07):821-825.

(2017-12-08 收稿,2018-01-25 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 丁廷森

(上接第 186 页)

- [2] 张海嵩,徐兆发. 锰致神经毒性中神经递质的改变及其重要意义[J]. *环境与职业医学*, 2008,25(3):320-321.
- [3] 陈曾曾,王凤,于功昌,等. 行为学改变对锰中毒大鼠模型的判别分析[J]. *预防医学论坛*, 2017,23(2):85-88.
- [4] 吴飞盈,邓祥发,姜岳明,等. PAS-Na 对染锰大鼠学习记忆及海马神经微丝蛋白表达的影响[J]. *环境与职业医学*, 2011,28(1):29-31,34.
- [5] 李乐慧,徐兆发,刘巍,等. 牛磺酸对甲基汞致大鼠脑谷氨酸代谢转运障碍的保护作用[J]. *实用预防医学*, 2014,21(3):261-263.
- [6] 何以源,耿立敏,陆彩玲,郭松超. 牛磺酸对染锰大鼠学习记忆功能和谷氨酸相关代谢酶影响研究[J]. *中国职业医学*, 2014,41(01):26-29+41.
- [7] 梁桂强,卿利,张东生,等. 慢性锰染毒对大鼠学习记忆能力及其血浆脑源性神经营养因子含量的影响[J]. *环境与职业医学*, 2014,31(10):776-780.
- [8] 邓小强,徐兆发,邓宇,等. 牛磺酸对急性甲基汞致大鼠脑氧化损伤的影响[J]. *实用预防医学*, 2010,17(1):133-135.
- [9] YE H B, SHI H B, YIN S K. Mechanisms underlying taurine protection against glutamate-induced neurotoxicity [J]. *Can J Neurol Sci*, 2013,40(5):628-634.
- [10] 孙光春,陶成. 牛磺酸对大鼠脑缺血性损伤的保护作用[J]. *贵阳医学院学报*, 2000,25(4):357-359.
- [11] 陆彩玲,宋凌勇,唐深,胡峰,付强,郭松超. 牛磺酸改善染锰大鼠学习记忆能力的海马蛋白质组学研究 [J]. *营养学报*, 2012,34(06):553-557.
- [12] 陆彩玲,卢海艳,黄玲,刘楠楠,黄世文,韦潇湘,唐深,郭松超. 牛磺酸对亚慢性染锰大鼠基底前脑胆碱能神经细胞的干预研究[J]. *毒理学杂志*, 2011,25(06):399-402.
- [13] 姚雪婷,郭松超. 牛磺酸对锰致海马神经元损伤影响 [J]. *中国公共卫生*, 2011,27(12):1586-1588.
- [14] 贾克,徐兆发,徐斌. 地卓西平和牛磺酸对染锰大鼠纹状体 Glu-Gln 环路的影响 [J]. *卫生研究*, 2008,37(1):8-10.
- [15] AHMAD M K, KHAN A A, MAHMOOD R. Taurine ameliorates potassium bromate-induced kidney damage in rats [J]. *Amino Acids*, 2013,45(5):1109-1121.
- [16] 杨曦,陆彩玲,郭松超. 牛磺酸对锰中毒大鼠学习记忆的影响[J]. *中国药物与临床*, 2010,10(02):128-130.

(2017-11-25 收稿,2018-01-31 修回)

中文编辑: 周 凌; 英文编辑: 苏晓庆