

谷胱甘肽对感染性脑损伤小鼠悬尾行为的影响^①

戚大石^{1,2}, 李曼^{1,2}, 刘永民³, 刘红芝², 宋远见^{1,2}, 吴健^{1,4②}

[1. 江苏省脑病生物信息重点实验室(徐州医科大学), 江苏 徐州 221004

E-mail:qidashi@126.com;

2. 徐州医科大学基础医学院遗传学教研室, 江苏 徐州 221004;

3. 徐州医科大学公共教育学院化学教研室, 江苏 徐州 221004;

4. 徐州医科大学基础医学院细胞生物学与神经生物学教研室, 江苏 徐州 221004]

摘要:目的 观察谷胱甘肽(GSH)对脂多糖(LPS)诱导的脑损伤小鼠悬尾行为的影响,以探讨GSH是否对感染性脑损伤引起的抑郁行为有保护作用。方法 取60只3周龄的ICR小鼠,随机均分为生理盐水组(saline组)、脂多糖组(LPS组)、脂多糖+谷胱甘肽组(LPS+GSH组)和脂多糖+溶剂组(LPS+water组),每组15只。应用ANY-maze视频分析系统检测接受生理盐水或LPS处理6h、12h及24h后各组小鼠在4min的悬尾实验过程中累积静止的时间。结果 生理盐水或LPS处理后6h,各组小鼠的悬尾行为差异无统计学意义($P>0.05$)。但是12h和24h后,与saline组比较,LPS组和LPS+water组小鼠累积静止的时间均显著增加;与LPS组相比,谷胱甘肽处理的小鼠累积静止时间明显缩短($P<0.05$)。结论 GSH可以显著减少感染性脑损伤小鼠在悬尾实验中累积静止的时间,对其引起的小鼠抑郁状态有一定的改善作用。

关键词: 谷胱甘肽;脂多糖;感染性脑损伤;悬尾实验

中图分类号: R742 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2016)06-0578-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2016.06.007

感染性脑损伤对社会危害极大,但发生机制尚不明确,积极探索感染性脑损伤机制以及治疗靶点具有重要的社会意义和医疗价值^[1-2]。谷胱甘肽(glutathione, GSH)具有解毒、抗氧化等多种生物学功效。有研究表明GSH过氧化物酶参与创伤性脑损伤过程^[3-4],但是GSH是否对感染性脑损伤动物的行为有影响,目前尚未见报道。本研究通过建立脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)诱导的感染性脑损伤小鼠模型,观察GSH对其行为学变化的影响,有助于掌握和分析该动物行为学变化的规律,从而为感染性脑损伤的诊断、治疗及康复提供新的思路和方法。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器和试剂 LPS购自Sigma公司。GSH购自郑州荔诺生物科技有限公司。悬尾实验记录分析软件为Stoelting公司的ANY-maze system 4.72。

1.2 动物分组及处理 60只3周龄左右、雄性健康ICR小鼠,体重在8~11g范围,全部由徐州医科大学实验动物中心提供,饲养在安静环境,可以自由取食饮水,人工昼夜节律(光照12h;黑暗12h)环境,温度恒定25℃,动物适应环境一周后进行实验。将以上健康

ICR小鼠随机均分为4组,每组15只;正常对照组(saline组)、模型组(LPS组)、给药组(LPS+GSH组)和LPS+溶剂对照组(LPS+water组)。正常对照组小鼠腹腔注射生理盐水;模型组腹腔注射LPS生理盐水溶液,剂量为2.5mg/kg;给药组:先腹腔注射LPS(剂量同模型组),注射LPS半小时后,再腹腔注射GSH水溶液(剂量为80mg/kg);溶剂对照组先腹腔注射LPS(剂量同模型组),再给予等体积去离子水替代GSH注射。该实验室得到江苏省以及徐州医科大学伦理委员会的批准,以上小鼠全部得到很好的饲养,我们尽最大的能力将小鼠的损伤降到最低。

1.3 悬尾实验行为研究 悬尾实验装置采用力传感器原理,检测实验动物在悬挂过程中所产生的相应张力变化。悬尾箱的设计采用自然光线,最大程度上避免环境其它因素对实验的干扰,尽量降低实验过程中所产生的误差。在满足实验需求的基础上,尽量实行多样本同时检测。在悬尾实验装置中尽量实现动物同时悬挂的自动化,节省人力,从而保证实验数据的客观性。首先将以上各组小鼠绑尾倒悬于横杆下适应2min,再记录随后4min的行为,用ANY-maze system

① 基金项目:国家自然科学基金(81371300、81500977),江苏省自然科学基金(BK20161154),江苏省高校自然科学基金(14KJB180022),江苏省脑病生物信息重点实验室自然科学基金(JSBL1505),江苏省麻醉学重点实验室自然科学基金资助(KJS1502)资助

② 通信作者, E-mail:912459355@qq.com

软件记录分析各组生理盐水或 LPS 处理后 6 h、12 h 和 24 h 小鼠累积静止时间。

1.4 统计学方法 实验数据采用 SPSS 13.0 统计软件分析。所得数据以($\bar{x} \pm s$)表示。不同实验组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LPS 处理 6 h 后各组小鼠悬尾实验行为结果比较 LPS 处理 6 h 后, 各组小鼠在悬尾实验中的行为学数据见图 1。LPS 处理 6 h 后, 各组小鼠在 4 min 的记录时间内平均的累积静止时间为 53 s~73 s, 各组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

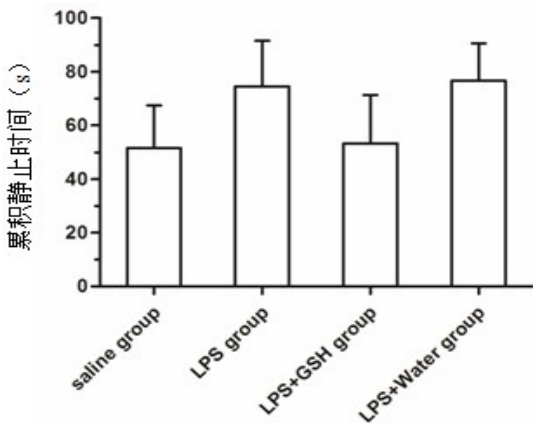


图 1 LPS 处理 6 h 后小鼠在悬尾实验中行为学的变化

2.2 LPS 处理 12 h 后各组小鼠悬尾实验行为的比较

LPS 处理 12 h 后, 各组小鼠悬尾实验行为的数据见图 2。saline 组、LPS 组、LPS + GSH 组以及 LPS + water 组的小鼠平均的累积静止时间分别为 53 s、107 s、68 s 以及 106 s。与 saline 组相比, LPS 组和 LPS + water 组小鼠平均的累积静止时间显著增加 ($P < 0.05$); 与 LPS 组相比, LPS + GSH 组小鼠平均累积静止时间显著缩短 ($P < 0.05$), LPS + water 组小鼠平均累积静止时间与 LPS 组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

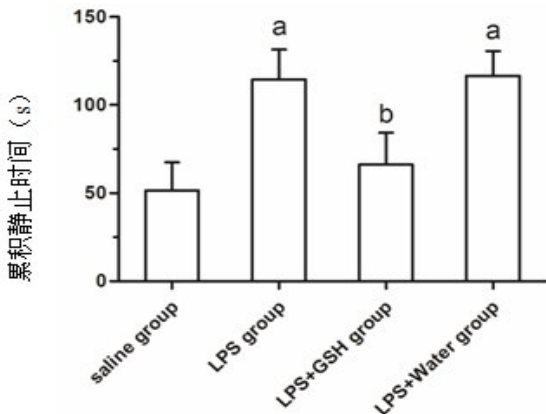


图 2 LPS 处理 12 h 后小鼠在悬尾实验中行为学的变化

注:与 saline 组比较, a: $P < 0.05$; 与 LPS 组比较, b: $P < 0.05$

2.3 LPS 处理 24 h 后各组小鼠悬尾实验行为的比较

LPS 处理 24 h 后各组小鼠悬尾实验行为的数据见图 3。saline 组、LPS 组、GSH + LPS 组以及 LPS + water 组的小鼠平均的累积静止时间分别为 53 s、123 s、69 s 以及 122 s。与 saline 组相比, LPS 组小鼠平均的累积静止时间显著增加 ($P < 0.05$); 与 LPS 组相比, LPS + GSH 组小鼠平均累积静止时间显著缩短 ($P < 0.05$); LPS + water 组小鼠平均累积静止时间与 LPS 组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

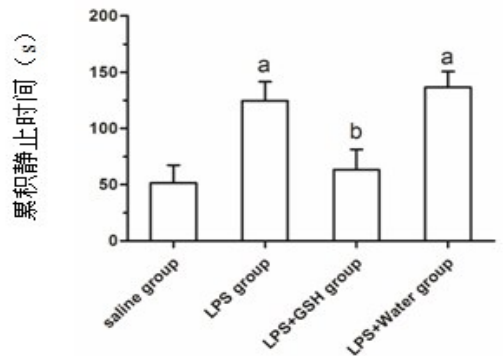


图 3 LPS 处理 24 h 后小鼠在悬尾实验中行为学的变化

注: saline 组比较, a: $P < 0.05$; 与 LPS 组比较, b: $P < 0.05$

3 讨论

脑损伤包括脑细胞受损或退化而致的脑损伤、创伤性脑损伤、中风和小儿获得性脑损伤, 其为当今科学界研究热点之一^[5]。脑损伤引发的脑功能障碍主要表现为四大症状: 脑性瘫痪即运动功能障碍、智力低下、癫痫及行为情绪异常。截至目前, 对脑损伤后运动功能障碍、智力低下及癫痫的研究相对较多, 而行为情绪的异常受到的关注相对较少。对脑损伤后行为情绪的异常是本研究的关注点之一。

检测小鼠的行为学改变是判断脑功能改变的一项极其重要的指标参数。小鼠的悬尾实验是通过将小鼠的尾部固定, 从而使其头向下悬挂。在该环境中小鼠极力挣扎试图摆脱此种困境但又无法逃脱, 从而造成一种无可回避的压迫环境, 记录一段时间内处于该压迫环境的小鼠产生绝望的不动状态过程中的一系列参数。小鼠在此环境中表现出来的典型的“不动状态”, 反映了一种被称之为“行为绝望状态”, 此种动物行为绝望模型与抑郁症类似, 对绝大多数抗抑郁药物敏感, 而且其药效与临床药效显著相关, 所以被广泛用于抗抑郁药物的初选。

LPS, 又称为内毒素, 是位于革兰氏阴性细菌细胞壁最外层的一层较厚(8~10 nm)的类脂多糖类物质, 由类脂 A、核心多糖和 O-特异侧链 3 部分组成。由于小儿的血脑屏障发育不全, 相对成人更容易被细菌或

(下转第 582 页)

2014,36(2):267-269.

- [5] 牛业来,宋伟,王国强,等. DX方案与DF方案治疗老年进展期胃癌的对比研究[J]. 右江民族医学院学报,2015,37(4):548-551.
- [6] 陈凇,崔建新. 75岁以上老年胃癌患者的发病特征及外科治疗对策[J]. 中华胃肠外科杂志,2016,19(5):490-494.
- [7] 胡祥. 胃癌分期的变迁——转化医学的重要成果[J]. 中国实用外科杂志,2012,32(1):31-35.
- [8] 陆文明. 临床胃肠疾病超声诊断学[M]. 西安:第四军医大学出版社,2004:56-88.
- [9] 舒娜. 探讨超声造影剂在胃癌临床分期中的诊断价值[J]. 中国实用医刊,2016,14(2):60-61.
- [10] 杨红梅,赵小东,饶静,等. 超声造影在胃癌诊断中的应用价值[J]. 临床超声医学杂志,2013,15(10):701-703.

收稿日期:2016-11-10;修回日期:2016-12-16

(上接第579页)

病毒的感染而发生脑损伤^[6-7]。3周龄刚断奶小鼠给予LPS处理,可以诱导建立可靠的感染性脑损伤动物模型。通过悬尾实验把动物置于特殊的“绝境”,可用于探究动物抑郁样行为,并初步研究神经或精神类药物的作用^[8]。本研究发现,虽然LPS处理后6h小鼠在悬尾实验中尚未表现出行为学改变,但12~24h后小鼠的累积静止时间显著延长,表现出明显的抑郁样行为。由此可见,感染性脑损伤可能引发极其严重的行为情绪异常。

GSH是由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸组成,含有巯基的的三肽,具有广谱解毒、抗氧化作用,能够清除自由基,抗衰老,不仅可用于药物,还可作为功能性食品的基料,制作成具有延缓衰老、增强机体免疫力、抗肿瘤作用的功能性食品而被广泛应用^[9]。新近对GSH的研究还发现其对脑损伤具有保护作用^[10-12]。本研究表明感染性脑损伤后,GSH可缩短小鼠悬尾实验中的累积静止时间,拮抗LPS引起小鼠脑损伤致抑郁的作用。由此可见,GSH很有可能作为治疗感染性脑损伤的潜在药物之一,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Ferriero DM. Neonatal brain injury[J]. N Engl J Med, 2004,351(19):1985-1995.
- [2] Moreno B, Jukes JP, Vergara-Irigaray N, et al. Systemic inflammation induces axon injury during brain inflammation[J]. Ann Neurol, 2011,70(6):932-942.
- [3] Witcher KG, Godbout JP. Can Sustained Glia-Mediated Brain Inflammation After Repeated Concussive Brain Injury Be Detected In Vivo? [J]. JAMA Neurol, 2016Nov28. doi:10.1001/jamaneurol.2016.4539.
- [4] Licastro F, Hrelia S, Porcellini E, et al. Peripheral Inflammatory Markers and Antioxidant Response during the Post-Acute and Chronic Phase after Severe Traumatic Brain Injury[J]. Front Neurol, 2016,7:189.
- [5] 蒋滔滔,高延,罗小杏,等. 脑氧饱和度检测对脑损伤综合征婴儿脑功能的评定[J]. 中国儿童保健杂志,2015,23(5):460-461.
- [6] 那淑芳,姚慧,李杰,等. 脑CYP2E1参与脂多糖诱导的神经元损伤[J]. 中国药理学通报,2016,32(7):932-937.
- [7] 王俨,张军峰,董伟,等. LPS促进舌苔形成相关细胞凋亡的分子机制[J]. 时珍国医国药,2016,27(4):1003-1007.
- [8] 刘玲,李瑞芳,王等等. 芍药苷减轻LPS致小鼠急性脑损伤的抗炎机制[J]. 中药材,2016,39(2):411-415.
- [9] 贾贞,王丹,游松. 谷胱甘肽的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报,2009,26(3):238-242.
- [10] 袁伟燕,黄中伟,陈卫昌,等. 还原型谷胱甘肽对重症急性胰腺炎大鼠脑损伤的作用及其机制探讨[J]. 南京医科大学学报:自然科学版,2009,36(3):298-301.
- [11] 蒙兰青,陆婉杏,黄建敏,等. 三七总皂苷对脑缺血大鼠神经血管单元的影响[J]. 右江民族医学院学报,2014,36(1):7-9.
- [12] 陈壮. 中医药治疗脑血栓的研究近况[J]. 右江民族医学院学报,2014,36(1):100-101.

收稿日期:2016-09-30;修回日期:2016-12-05