

硒对慢性应激小鼠行为、海马神经元及脑 LPO 的影响

胡旺平¹ 金延安¹ 李 云² 舒思洁³ 化长林¹

1 咸宁医学院生理学教研室, 咸宁 437100

2 咸宁医学院病理学教研室, 咸宁 437100

3 咸宁医学院临床药学系药理学教研室, 咸宁 437100

摘 要 **目的:**探讨硒对应激损伤的作用。**方法:**建立束缚悬吊应激模型。采用旷场行为测定法、Nissl 染色法和 TBA 比色法测定亚硒酸钠对慢性应激小鼠的行为、海马神经元和脑 LPO 的影响。**结果:**饮入亚硒酸钠的慢性应激小鼠脑 LPO 含量明显降低, 海马神经元丢失减少, 行为活动明显增多。**结论:**硒对应激引起的海马神经元损伤和抑郁样行为具有保护作用, 该作用可能与其抗应激动物脑脂质过氧化有关。

关键词 硒;慢性应激;行为;海马神经元;脑 LPO

中图分类号 F338.1

Effect of Selenium on Behavior, Hippocampus Neuron and Brain Lipid Peroxide in Chronic Stress Mice

Hu Wangping, Jin Yan, an, Li Yun et al

Department of physiology, Xianning Medical College, Xianning 437100

ABSTRACT **Objective** To research the effect of selenium on stressful damage. **Methods** The mouse experimental model was established by restraining and suspending. The effects of Na_2SeO_3 on the behavior, hippocampus neuron and brain lipid peroxide of chronic stress mice were observed and studied by open - field test, Nissl dye and TBA colorimetry. **Results** The content of lipid peroxide in brain decreased significantly, the loss of hippocampus neuron decreased, and behavior activity increased obviously after drinking the Na_2SeO_3 in chronic stress mice. **Conclusion** Selenium has a protective effect on hippocampus neuron damage and depressive behavior induced by chronic-stress, this effect may be related to the selenium's anti LPO function in brain.

KEY WORDS Selenium; Chronic stress behavior; Hippocampus neuron; Brain lipid peroxide

据 Stein - Behrens 报道^[1], 慢性躯体和心理应激可引起海马神经元形态改变或细胞丢失。我们以往的研究证实存在该现象, 并发现应激动物行为发生改变, 且与海马神经元变化时程相近^[2]。其具体机制是否与慢性应激引起的脑组织脂质过氧化增强有关, 尚不清楚。本实验研究了抗氧化、清除自由基能力较强的亚硒酸钠(Na_2SeO_3)对束缚悬吊应激小鼠脑脂质过氧化(LPO)、海马神经元及行为活动的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

选用雄性 5~6 月龄, 体重 $29.7 \pm 3.5\text{g}$, 昆明品系小鼠 45 只(由本院动物室提供), 随机分成三组, 每组 15 只。对照组: 第 1~14 天(D1~14)喂低硒饲料 + 双蒸水, D15~21 白天同 D1~14, 晚 8:00~次晨 8:00 停食和水; 应激组: D15~21 晚 8:00~次晨 8:00 将动物束缚悬吊应激, 其余时间同对照组; 加硒组: D15~21 晚 8:00~次晨 8:00 同应激组, 其余时间喂低硒饲料 + $2\text{mg/LNa}_2\text{SeO}_3$ 溶液。

1.2 行为测定(open-field test)^[3]

分别在 D14, D21 晨 8:00 将动物置于高 40cm, 直径 80cm, 周壁为黑色, 底面积相等的 25 块组成的旷场里, 观察者在行为实验室外用摄像系统记录动物 3min 的行为, 以穿越底面的块数为穿梭运动得分(Crossing), 以直立的次数为探究行为得分(Rearing)。

1.3 海马神经元计数

动物在 D21 行为测定完毕后立即快速断头, 剥离脑组织, 分左右两半, 右半脑甲醛固定, Nissl 染色, 冠状切片, 每只动物取 6 片, 光镜下(40×10 倍)对海马 CA_3 区一个视野内的细胞双盲法计数。以 Nissl 体为准, 形态退变细胞不计, 取 6 张切片细胞数目的平

均值作为该动物的海马神经元数量。

1.4 LPO 测定^[4]

TBA 比色法测定左半脑 LPO 含量。

1.5 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 结果比较采用双测 t 检验法。

2 结果

2.1 各组动物实验期间的行为变化

应激前(D14), 三组动物穿梭运动和探究行为均无明显差别, 应激后(D21), 应激组动物穿梭运动和探究行为明显减少, 而加硒组动物较应激组增加, 呈显著差异(见表 1)。

表 1 各组动物实验期间的行为变化
($n = 15, \bar{x} \pm s$)

组别	穿梭运动		探究行为	
	D ₁₄	D ₂₁	D ₁₄	D ₂₁
对照组	88 ± 14	93 ± 9	19 ± 7	20 ± 5
应激组	85 ± 8	26 ± 7**	17 ± 5	8 ± 4*
加硒组	92 ± 10	87 ± 15 ^{△△}	22 ± 9	17 ± 5 [△]

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 与对照组比较; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ 与应激组比较

2.2 硒对应激动物海马神经元数量的影响

慢性应激后, 应激组动物海马神经元数量明显减少($P < 0.01$), 加硒组动物较应激组则明显增加($P < 0.05$)见表 2。

表 2 各组动物海马神经元数量及脑 LPO 含量
($n = 15, \bar{x} \pm s$)

组别	海马神经元数量	脑 LPO 含量(nmol/g 湿重)
对照组	132 ± 7	1.378 ± 0.012
应激组	105 ± 11*	2.307 ± 0.019*
加硒组	120 ± 9 [△]	1.744 ± 0.021 ^{△△}

* $P < 0.01$ 与对照组比较; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ 与应激组比较

2.3 硒对慢性应激动物脑 LPO 的影响

慢性应激后, 应激组动物脑 LPO 含量明显增加($P < 0.01$), 而加硒组动物较应激组则明显减少($P < 0.01$)见表 2。

3 讨论

机体长期应激, 一方面, 体内儿茶酚胺释放增多, 可通过 α -肾上腺能受体激活各种控制细胞内 Ca^{2+} 水平机制, 导致细胞内 Ca^{2+} 增加, 从而激活自由基产生过程^[5]; 另一方面, 可致 Se、Zn 及维生素 A、E、C 等抗氧化剂过多消耗, 抗氧化机制削弱。结果破坏了氧化机制和抗氧化机制之间的动态平衡, 导致氧化损伤。本实验也发现应激小鼠脑 LPO 明显增多。硒是生物机体中必需的微量元素, 作为硒依赖的谷胱苷肽过氧化物酶的组成成分, 具抗氧化, 清除自由基能力。本实验在小鼠饮水中补充生理剂量的 Na_2SeO_3 , 应激后脑 LPO 明显减少, 可能是硒通过增强抗氧化酶活性, 清除自由基, 从而减轻应激引起的脂质过氧化损伤。

本实验采用束缚悬吊对小鼠长时间反复应激, 光镜下发现海马 CA_1 区细胞变化不明显, 但 CA_3 区细胞排列不规则, 细胞间隙增大, 并可见固缩的细胞, 经计数发现细胞数量明显减少, 出现了细胞丢失, 与报道一致^[1,2]。而摄入 Na_2SeO_3 的应激小鼠, 其 CA_3 区细胞丢失明显减少, 表明硒对应激引起的海马神经元损害具有保护作用。考虑到硒在体内的主要生物效应是清除自由基, 抗脂质过氧化, 我们推测, 慢性应激动物引起的海马神经元丢失可能与脑脂质过氧化有关。

实验中还观察到, 慢性应激动物穿梭运

动和探究行为明显减少, 出现抑郁样行为活动。一般认为, 运动功能的损害可能与特殊神经元功能的丢失有关。故与运动控制关系密切的海马神经元丢失, 可能是应激引起抑郁样行为的原因^[2]。加硒组动物应激前补充硒未见动物行为改变, 应激后也未出现应激动物的抑郁样行为, 表明生理剂量的硒可增加慢性应激动物的行为活动, 改善抑郁症状, 其作用可能与其抗氧化, 清除自由基, 阻止应激引起的海马神经元丢失有关。至于慢性应激引起脂质过氧化怎样损害海马神经元, 海马神经元如何影响应激动物的行为活动, 详细机制有待进一步研究。

参考文献

- 1 Stein - Behrens BA. Stress exacerbates neuron loss and cytoskeletal pathology in the hippocampus. *J Neuroscience*, 1994;14(9):5373
- 2 胡旺平, 严进, 化长林, 等. 睫状神经营养因子对应激大鼠行为和海马神经元的影响. *咸宁医学院学报*, 1997;11(4):145
- 3 Vecsei L, et al. Effects of cysteamine and pantothenine on open - field behavior, hypothalamic catecholamine concentrations, and somatostatin - induced barrel rat - tion in rats. *Pharmacology Biochemistry L Behavior*. 1989;32(3):629
- 4 向荣, 王鼎年. 过氧化脂质硫代巴比妥酸分光光度法的改进. *生物化学与生物物理进展* 1990;17(3):241
- 5 Slivka SR. α - Adrenergic receptor - mediated phosphoinositide hydrolysis and prostaglandin E_2 formation in mad darty canine kidney cells. *J Biolchem*, 1981;262:4200

(1998-07-01 收稿)