论著

文章编号:1000-5404(2005)11-1078-05

谷氨酸兴奋毒性及牛磺酸干预对大鼠视网膜GFAP表达的影响

许红霞,糜漫天,朱俊东,周 永,郎海滨,徐朝霞,陈 卡 (第三军医大学军事预防医学院营养与食品卫生学教研室,重庆 400038)

提 要: 目的 探讨谷氨酸兴奋毒性对大鼠视网膜神经胶质原纤维酸性蛋白(glial fibrillary acid protein, GFAP)的影响及牛磺酸干预对此的作用。**方法** 于大鼠玻璃体内单眼一次注射40 nmol谷氨酸制备视网膜谷氨酸兴奋毒性模型,60只雄性SD大鼠随机分为6组:正常对照组,溶剂(玻璃体内注射PBS)对照组,谷氨酸组,牛磺酸干预高、低剂量组(分别于腹腔注射25 mg/kg及5 mg/kg牛磺酸),阳性对照组(腹腔注射0.5 mg/kg MK-801-NMDA受体特异拮抗剂)。通过免疫组化、免疫印迹、RT-PCR检测玻璃体注射后24 h、3、7 d的大鼠视网膜谷氨酸、GFAP的蛋白及mRNA表达。**结果** 玻璃体注射谷氨酸使视网膜内谷氨酸、GFAP的蛋白及mRNA表达量于注射后24 h迅速升高,注射后3、7 d逐渐下降。25 mg/kg牛磺酸可有效拮抗24 h时的视网膜谷氨酸、GFAP蛋白及mRNA升高,并使GFAP的蛋白及mRNA水平于注射后24 h、3、7 d逐渐上升。低剂量牛磺酸作用不明显。**结论** 视网膜谷氨酸兴奋毒性使胶质细胞反应性一过性增强。一定剂量牛磺酸可降低视网膜谷氨酸含量,并使胶质细胞反应性逐渐上调,可能有助于削弱谷氨酸兴奋毒性。

关键词: 牛磺酸;谷氨酸;兴奋毒性;神经胶质原纤维酸性蛋白;视网膜

中图法分类号: R151.2; R322.91; R394.2 **文献标识码**: A

Effects of glutamate excitotoxicity and taurine intervention on retinal expression of glial fibrillary acid protein in rats

XU Hong-xia, MI Man-tian, ZHU Jun-dong, ZHOU Yong, LANG Hai-bin, XU Zhao-xia, CHEN Ka (Department of Nutrition and Food Hygiene, College of Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the effects of glutamate excitotoxicity and taurine intervention on retinal expression of glial fibrillary acid protein (GFAP) in rats. **Methods** The rat model of retinal glutamate excitotoxicity was established with an intravitreal injection of 40 nmol glutamate to one eye of the rats. 60 male adult Sprague-Dawlay rats were randomly divided into 6 groups: normal control group, vehicle control group (an intravitreal injection), glutamate treatment group, small dose taurine (5 mg/kg) intervention group, large dose taurine (25 mg/kg) intervention group and positive control group (an intraperitoneal injection of 0.5 mg/kg MK-801, a NMDA receptor antagonist). The glutamate content and expression of GFAP were determined with immunohistochemistry, Western blotting and RT-PCR respectively. **Results** Elevation of glutamate content, GFAP immunoreactivity (IR) and GFAP mRNA were found in 24 h after glutamate injection. Reduction of glutamate content, GFAP IR and GFAP mRNA occurred on day 3 and 7 after injection. Administration of 25 mg/kg of taurine partly abolished the elevation of glutamate content, GFAP IR and GFAP mRNA. Then GFAP IR and GFAP mRNA content returned to a gradual increase in a time-dependent manner. Injection of 5 mg/kg taurine failed to show any effect. **Conclusion** Glutamate temporarily excites glial activity. A certain amount of taurine such as 25 mg/kg can reduce the glutamate content in the retina and gradually improve the glial reactivity which is helpful to reduce excitotoxicity of glutamate.

Key words: taurine; glutamate; excitotoxicity; glial fibrillary acid protein; retina

神经胶质原纤维酸性蛋白(glial fibrillary acid protein, GFAP)是构成细胞骨架中间丝的主要成分,主要存在于中枢神经系统的星形胶质细胞中[1]。神经系统损伤时胶质细胞功能的改变常表现为胶质细胞免疫反应性的改变。在许多神经变性疾病均发现GFAP免疫

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39900120)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (39900120)
作者简介:许红霞(1970-),女,重庆市人,博士,讲师,主要从事营养与视功能方面的研究。电话:(023)68752291
通讯作者:糜漫天,电话:(023)68752292
收稿日期:2005-01-06;修回日期:2005-03-25

反应性的改变，它被认为是中枢神经损伤的灵敏指示剂[2]。视网膜胶质细胞以 Müller 细胞和星形胶质细胞为主，它们可将突触间隙的谷氨酸摄入，有助于防止视网膜谷氨酸兴奋毒性损伤。

牛磺酸是视网膜含量最丰富的游离氨基酸，有研究表明牛磺酸在体外可削弱谷氨酸对培养神经元的兴奋毒性损伤[3]，本研究室也发现牛磺酸对视网膜谷氨酸兴奋毒性损伤有明显的防护作用[4]，但目前尚不清楚视网膜谷氨酸兴奋毒性时胶质细胞的反应性发生了怎样的改变以及牛磺酸干预对此有何影响。本研究对此进行了初步探索。

1　材料与方法

1.1　实验动物及模型建立

成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠 60 只，体质量 200～250 g(第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供)。腹腔注射速眠新注射液(0.1 ml/100 g)麻醉大鼠，5%托品酰胺散瞳，1%利多卡因进行角膜表面麻醉，用微量注射器向模型眼注入 10 μl 4 mmol/L 的谷氨酸(共 40 nmol 谷氨酸)，从颞上方角膜缘外 3 mm 处巩膜进针，见针尖到达玻璃体中后部后，缓慢推注液体。洁霉素眼药水滴眼预防感染。

1.2　实验分组

60 只 SD 大鼠用随机数字表法分为 6 组：①正常对照组；②溶剂对照组；③谷氨酸组；④谷氨酸＋牛磺酸干预低剂量组；⑤谷氨酸＋牛磺酸干预高剂量组；⑥谷氨酸＋MK-801 组(阳性对照组，MK-801 为 NMDA 受体特异拮抗剂)每组 10 只。牛磺酸及 MK-801 干预采用腹腔给药，在眼内注射药物前 1 h 及其后每天，分别于腹腔注射低剂量、高剂量牛磺酸(分别为 5、25 mg/kg，无菌 0.1 mol/L PBS 稀释)或 MK-801 (0.5 mg/kg，无菌 0.1 mol/L PBS 稀释)[5]。溶剂对照组于玻璃体内注射 10 μl 0.1 mol/L 无菌 PBS。分别在注射后 24 h、3、7 d 观察各项指标变化。

1.3　免疫组织化学染色检测视网膜谷氨酸、GFAP 表达

4 ℃预冷的 4%多聚甲醛灌注固定大鼠，取眼球后固定 4～6 h，30%蔗糖 4 ℃过夜，经视神经乳头处行系列冰冻切片(－20 ℃，10 μm)。免疫组化方法参照北京中山公司的 S-P9001 试剂盒说明进行，分别以 1∶1 000稀释的抗谷氨酸单抗(Sigma 公司产品)、1∶100 稀释的抗-GFAP(博士德公司产品)为一抗，最后 DAB 显色，观察。脱水封片并照相。

1.4　免疫印迹(Western blotting)分析视网膜谷氨酸、GFAP 含量

大鼠视网膜组织蛋白提取见文献[6]，用核酸蛋白定量仪(美国 Eppendorf 公司)经 Lowry 法测定视网膜蛋白质浓度，蛋白提取液调整各组蛋白含量为 5 μg/μl，分装后于－70 ℃保存。参照《分子克隆》第 3 版，蛋白经 10% SDS-PAGE 电泳，用电转移法将蛋白转移至 PVDF 膜(美国 OSMONES 公司产品)，1% BSA 封闭过夜，经一定比例稀释的一抗(同免疫组化部分)37 ℃孵育 2 h，S-P9001 试剂盒中的二抗 37 ℃孵育 1 h，DAB 显色，膜经 BIO-RAD 图像分析仪扫描，其配套的 Quality One 软件进行数据分析，以正常对照组蛋白表达量为对照，各组蛋白灰度值与正常对照组的比值为 IOD 值计算结果。

1.5　RT-PCR 检测视网膜 GFAP 的 mRNA 水平

视网膜总 RNA 提取：大鼠脱臼断头处死，取眼球，用眼科剪沿角膜缘剪开，去除角膜、晶状体、玻璃体，将视杯翻转，钝性分离视网膜，同一只大鼠的两个视网膜为 1 个样本加入 1 ml Tripure 试剂(美国 Roche 公司)，冰浴匀浆，提取总 RNA。核酸蛋白定量仪检测 RNA 纯度及含量。逆转录：总 RNA 3 μg，加入 Oligo(dT)18 0.5 μg，加无菌水至 11 μl，75 ℃ 5 min 后，置于冰上加 RNA 酶抑制剂 20 U、10 mmol/L dNTP 2 μl、5×缓冲液 4 μl、加水至 19 μl，于 37 ℃ 5 min，再加入 M-MuLV 逆转录酶 200 U(总体积 20 μl)，42 ℃反应 60 min，最后 70 ℃ 10 min 灭活逆转录酶，终止反应，－20 ℃保存。PCR 扩增：GFAP 引物(序列号：U03700)，上游引物 5′-ACATCGAGATCGCCACCTAC-3′，下游引物 5′-ACATCACATCCTTGTGCTCC-3′，扩增片段长度为 219 bp。β-actin 引物序列：上游引物：5′-GTGGGTATGGGTCAGAAGGA-3′，下游引物：5′-AGCGCGTAACCCTCATAGAT-3′，扩增片段为 380 bp。各引物浓度均为 0.3 μmol/L，GFAP、β-actin 的 $MgCl_2$ 缓冲液终浓度分别为 1.5、2.0 mmol/L，模板 DNA 3 μl，*Taq* DNA 聚合酶终浓度为 0.1 U/μl，dNTP 终浓度为 0.2 mmol/L，加入 10×PCR 缓冲液，反应总体积 50 μl。反应参数为 94 ℃ 1 min，60 ℃ 1 min，72 ℃ 1 min，共 35 个循环，最后 72 ℃延伸 3 min，退火至 60 ℃。取 5 μl 扩增产物在 1.2%琼脂糖凝胶上电泳，溴化乙锭染色，鉴定 RT-PCR 产物。结果用 Kodak Digital Science 凝胶成像系统照相，BIO-RAD Quality One 数据分析软件分析光密度值。以每组的 GFAP mRNA 的 PCR 产物条带与其相应的 β-actin 条带的光密度比值作为 GFAP mRNA 表达的相对量，进行组间比较。

1.6　统计学方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 10.0 统计软件行单因素方差分析分析和 q 检验。

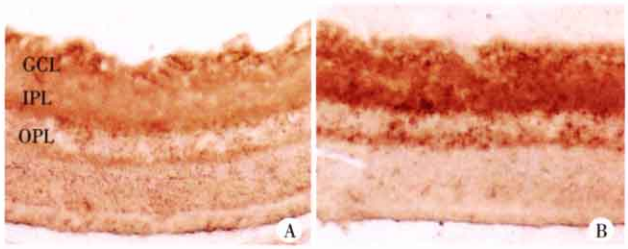
2　结果

2.1　玻璃体注射谷氨酸及牛磺酸干预对大鼠视网膜谷氨酸免疫反应的影响

免疫组化检测显示：各组大鼠视网膜谷氨酸的免疫反应均出现在外网状层(outer plexiform layer, OPL)、内网状层(inner plexiform layer, IPL)、节细胞层(ganglion cell layer, GCL)及神经纤维层(nerve fiber layer, NFL)。玻璃体注射谷氨酸后 24 h，免疫反应较正常对照组增强，高剂量牛磺酸干预组的免疫反应较谷氨酸组明显减弱，低剂量牛磺酸干预组与谷氨酸组无明显差别，MK-801 干预组的谷氨酸免疫反应较正常对照组增强(图 1)。玻璃体注射 PBS 对照组与正常对照组无明显差别。

免疫印迹结果显示：玻璃体注射谷氨酸后 24 h，视网膜谷氨酸含量明显升高，注射后 3、7 d，谷氨酸含量逐渐下降，但仍然高于正常对照组($q = 16.3$，$P < 0.05$)。高剂量牛磺酸干预组于注射后 24 h 的谷氨酸升高明显低于谷氨酸组($q = 18.5$，$P < 0.05$)，同样于注射后 3、7 d 逐渐下降，至 7 d 下降至正常对照组水平。低剂量牛磺酸干预组、MK-801 干预组的结果与谷氨酸组一致(图 2)。

上述结果表明，玻璃体注射谷氨酸使视网膜谷氨酸含量于注射后 24 h 显著增加，随时间进展增加的谷氨酸逐渐下降；牛磺酸干预削弱了各时相点视网膜谷氨酸的增加，而 MK-801 干预对谷氨酸增加无明显影响。



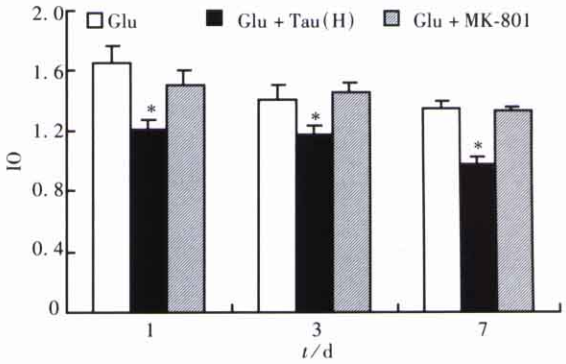
A: Normal control; B: Glutamate group. OPL: Outer plexiform layer; IPL: Plexiform layer; GCL: Ganglion cell layer

图 1 大鼠视网膜谷氨酸免疫组化染色(24 h) (S-P×200)

Fig 1 Immunohistochemical staining of glutamate in rat retinas at 24 h (S-P×200)

2.2 玻璃体注射谷氨酸及牛磺酸干预对视网膜 GFAP 蛋白及 mRNA 表达的影响

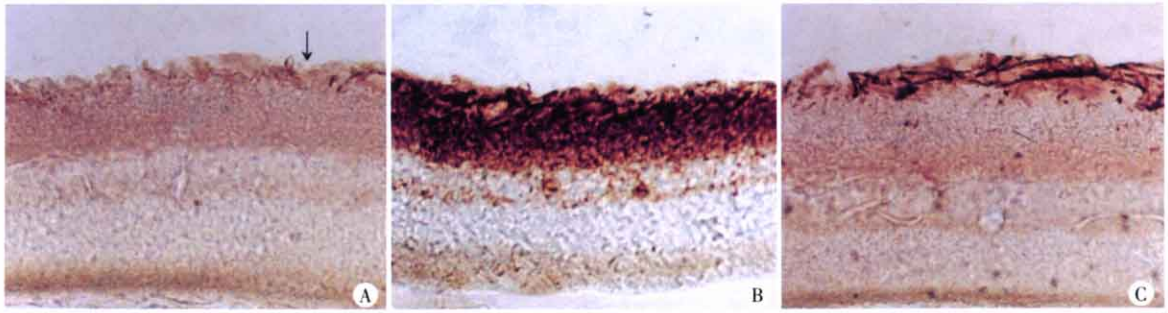
免疫组化结果显示：正常视网膜的 GFAP 免疫反应出现在内网状层、节细胞层及神经纤维层，在内界膜表达最清楚。玻璃体注射谷氨酸后 24 h，除上述部位外，GFAP 免疫反应还出现在外网状层，且各部位染色强度均较正常组增强。给予高剂量牛磺酸干预，GFAP 阳性染色明显弱于谷氨酸组，但较正常组稍强，以内界膜的表达最强。MK-801 干预组的染色特征与牛磺酸组类似，在神经纤维层有较多阳性细胞。玻璃体注射 PBS 对照组与正常对照组无明显差异(图 3)。



Glu: Glutamate; Tau: Taurine; H: High dose. *: $P<0.05$, *vs* Glu group

图 2 Western blotting 检测视网膜谷氨酸的表达

Fig 2 Glutamate expression in rat retinas with Western blotting test



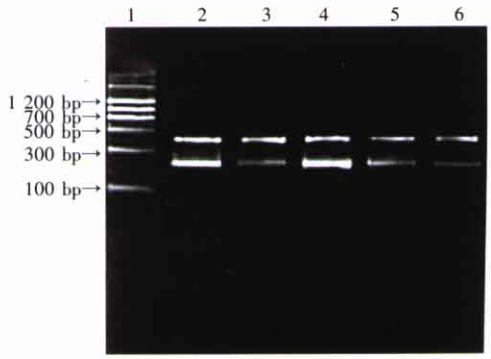
A: Normal control; B: Glutamate group; C: Glutamate + 25 mg/kg taurine group; ↓: Inner limiting membrane

图 3 视网膜 GFAP 免疫组化染色(24 h) (S-P×200)

Fig 3 Immunohistochemical staining of GFAP in rat retinas at 24 h (S-P×200)

RT-PCR 结果显示，注射谷氨酸后 24 h，GFAP 的 mRNA 表达较正常对照组显著上升，注射后 3、7 d 又逐渐下降，至 7 d 下降至正常对照组水平(图 4)。牛磺酸干预 24 h 的 mRNA 水平明显低于谷氨酸组，注射后 3 d 逐渐升高，与谷氨酸组水平相当。MK-801 组 24 h 即显著上调 GFAP mRNA 水平，与谷氨酸组相当(图 5)。

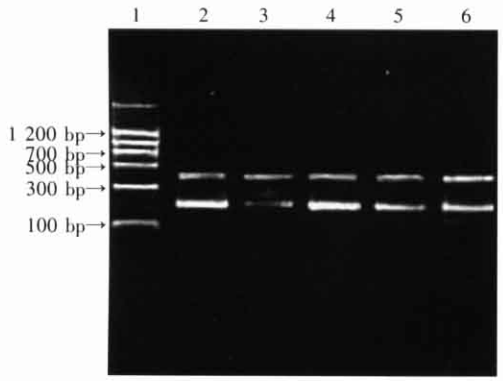
免疫印迹结果显示，玻璃体注射谷氨酸后 24 h，GFAP 蛋白表达量较正常组明显增加，注射后 3、7 d 又逐渐下降，注射后 7 d 水平与正常组一致；牛磺酸干预组于 24 h 的 GFAP 蛋白增加不如谷氨酸组，注射后 3、7 d 逐渐有增加($P<0.05$)；MK-801 干预组在 24 h 有增加，与谷氨酸组水平相当，注射后 3、7 d 有逐渐下降(图 6)。



1: PCR marker; 2: PBS control at 7 d; 3: Normal control at 24 h; 4: Glutamate group at 24 h; 5: Glutamate group at 3 d; 6: Glutamate group at 7 d

图 4 玻璃体注射谷氨酸对大鼠视网膜 GFAP mRNA 表达的影响

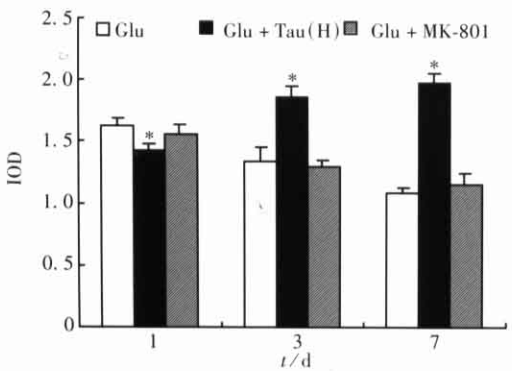
Fig 4 Effect of intravitreal injection of glutamate on expression of GFAP mRNA in rat retinas



1: PCR marker; 2: Glutamate group at 24 h; 3: Glutamate + 25 mg/kg taurine group at 24 h; 4: Glutamate + MK-801 group at 24 h; 5: Glutamate group at 3 d; 6: Glutamate + 25 mg/kg taurine group at 3 d

图 5　牛磺酸对玻璃体注射谷氨酸大鼠视网膜 GFAP mRNA 表达的影响

Fig 5　Expression of GFAP mRNA in rat retinas after glutamate injection and 25 mg/kg taurine intervetion



*: $P<0.05$, *vs* Glu group

图 6　Western blot 检测视网膜 GFAP 蛋白表达

Fig 6　GFAP expression in rat retinas with Western blot test

3　讨论

3.1　玻璃体注射谷氨酸及牛磺酸干预对视网膜谷氨酸含量的影响

谷氨酸是视网膜主要的兴奋性神经递质，本研究用谷氨酸单克隆抗体的免疫组织化学技术显示，谷氨酸在视网膜免疫阳性反应主要在 OPL、IPL、GCL 及 NFL，与以往的研究相符[7]。视网膜内过量的谷氨酸可引起兴奋毒性损伤，后者是青光眼、糖尿病视网膜病变、老年性黄斑变性、视网膜缺血、缺氧等多种疾病的视网膜神经元死亡的主要机制之一。玻璃体内注射谷氨酸及其类似物 N-甲基-D-天(门)冬氨酸(N-methyl-D-aspartate, NMDA)、红藻氨酸(kainate acid, KA)等是制备视网膜兴奋毒性损伤的主要动物模型。本实验表明玻璃体注射谷氨酸后，大鼠视网膜谷氨酸免疫反应增加，表明玻璃体内的谷氨酸越过内界膜进入了视网膜内，过量的谷氨酸可造成视网膜兴奋毒性损伤。随着时间进展，视网膜内增加的谷氨酸逐渐下降，提示机体对视网膜内过多的谷氨酸进行了代谢。视网膜内谷氨酸的代谢主要有两种途径：①经谷氨酸转运体摄入胶质细胞(主要是 Müller 细胞)后，在谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)的作用下生成谷氨酰胺而发挥保护神经元对抗兴奋毒的作用。研究表明[8]，谷氨酸激活谷氨酸受体可以反应性的诱导胶质细胞表达 GS。②谷氨酸在谷氨酸脱羧酶(glutamate decarboxylase, GD)作用下脱羧基生成 γ-氨基丁酸(gamma-aminobutyric acid, GABA)，使谷氨酸水平下降，而 GABA 作为抑制性的神经递质可以拮抗谷氨酸的兴奋毒性。

本室以往研究表明腹腔注射 25 mg/kg 的牛磺酸对视网膜谷氨酸兴奋毒性损伤有明显的防护作用[4]，而本研究表明，该剂量的牛磺酸能部分拮抗玻璃体注射谷氨酸引起的视网膜谷氨酸含量升高，推测牛磺酸的保护作用可能与其降低视网膜谷氨酸含量有关。在视网膜，作为具有神经活性的氨基酸，牛磺酸与谷氨酸及 GABA 的关系密切，它们均由 Müller 摄取而进行代谢[9]。在大脑中，牛磺酸可以激活 GD，从而促进谷氨酸转化为 GABA，降低谷氨酸含量。而谷氨酸的激动剂可以增加细胞牛磺酸的释放。Dahchour 等[10]研究发现，乙醇依赖大鼠一旦停用乙醇后，神经核的谷氨酸含量增加，腹腔急性注射牛磺酸可以完全抑制谷氨酸的升高。牛磺酸可能通过刺激 Ca^{2+} 储存池间接抑制 Ca^{2+} 依赖的谷氨酸释放。体内的牛磺酸由半胱氨酸经半胱亚磺酸脱羧酶(cysteine sulfinic acid decarboxylase, CSD)代谢而来。CSD 和 GD 辅酶均是磷酸吡哆醛，因而牛磺酸和谷氨酸还可能在代谢途径发生相互关联。本室曾发现[11]，大鼠饲料中添加牛磺酸可使血浆中的谷氨酸含量下降。增加牛磺酸摄入与机体谷氨酸含量下降之间的关系值得进一步关注。

3.2　谷氨酸兴奋毒性对大鼠视网膜 GFAP 的蛋白及 mRNA 水平的影响及牛磺酸的作用

GFAP 是一个 50×10^3 的胞质内丝状蛋白，是构成中间纤维的主要成分，存在于中枢神经系统不同的胶质细胞中。视网膜胶质细胞包括：星形胶质细胞、Müller 细胞和小胶质细胞。小胶质细胞的数量很少，星形胶质细胞主要存在于 GCL 及内界膜，Müller 细胞自外界膜纵向伸展，穿过整个视网膜至内界膜，其胞体在内核层。除了一般的支持和营养作用外，胶质细胞

在保持视网膜内环境稳定中担任了重要角色[12]。胶质细胞尤其是 Müller 细胞上存在谷氨酸转运体，它将突触间隙的谷氨酸摄入，从而防止细胞外的谷氨酸浓度上升到神经毒水平。有研究表明，在神经信号传递间隙，谷氨酸浓度未正常下降不是由于突触囊泡释放的谷氨酸增加，而是由于 Müller 细胞对谷氨酸的重摄取障碍[13]。与 Müller 细胞一起培养的视网膜神经节细胞比单独培养的节细胞对缺氧及高浓度谷氨酸所引起的损伤有更大的抵抗力。

神经系统损伤时星形胶质细胞以一种特定的方式发生反应性变化，称为反应性胶质化(astrogliosis)，主要表现为 GFAP 的快速合成，因而 GFAP 免疫反应性的改变被认为是中枢神经损伤的灵敏指示剂。神经细胞受到谷氨酸兴奋毒性损伤时，GFAP 蛋白表达增加，胶质细胞增生肥大，可能有助于清除过量的谷氨酸，削弱兴奋毒性。研究表明[14]，在视网膜损伤和缺血后，Müller 细胞中 GFAP 的表达增加，正常视网膜中 GFAP 仅出现于内界膜，腹腔注射 KA 造成视网膜兴奋毒性后 48 h，GFAP 在 Müller 表达。Nakamichi 等[15]发现，玻璃体内注射 NMDA 上调节 GFAP 的蛋白及 mRNA 水平。新的研究表明[16,17]，视神经横断、玻璃体内注射 NMDA 及缺血预适应甚至可能通过上调节 GFAP 的蛋白及 mRNA 表达，上调 Müller 细胞功能，而对光诱导感光细胞损伤有保护作用。

本实验显示，玻璃体注射谷氨酸使 GFAP 免疫反应性及 mRNA 水平于注射后 24 h 增加，随时间进展又逐渐下降，表明谷氨酸兴奋毒性损伤引起胶质细胞反应性升高，随着机体对过量谷氨酸的清除(有胶质细胞的作用参与)，兴奋毒性损伤对胶质细胞反应性的刺激减弱。而牛磺酸干预在注射谷氨酸后 24 h 可能通过降低视网膜谷氨酸含量而减少了神经元的损伤，从而较少刺激胶质细胞的反应性，但随时间进展，可能由于牛磺酸未能产生完全的保护作用(可能由于牛磺酸的剂量不足，也可能由于牛磺酸本身仅能产生部分保护作用)，因而胶质细胞仍出现了反应性升高的现象。另一方面，牛磺酸使 GFAP 的蛋白及 mRNA 水平逐渐上升，可能有助于胶质细胞摄取谷氨酸，降低谷氨酸兴奋毒性。牛磺酸对胶质细胞的作用可能是间接的，牛磺酸可能通过调节胞内 Ca^{2+} 水平，抑制 Ca^{2+} 依赖的谷氨酸释放，而降低兴奋毒性引起的胶质细胞反应性上调。

参考文献：

[1] Eng L F, Ghirnikar R S, Lee Y L. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969 - 2000)[J]. Neurochem Res, 2000, 25(9-10): 1439 - 1451.

[2] Lieth E, Barber A J, Xu B, *et al*. Glial reactivity and impaired glutamate metabolism in short-term experimental diabetic retinopathy. Penn State Retina Research Group[J]. Diabetes, 1998, 47(5): 815 - 820.

[3] Chen W Q, Jin H, Nguyen M, *et al*. Role of taurine in regulation of intracellular calcium level and neuroprotective function in cultured neurons[J]. J Neurosci Res, 2001, 66(4): 612 - 619.

[4] 许红霞，糜漫天，徐朝霞. 牛磺酸对大鼠视网膜谷氨酸兴奋毒性的防护作用研究[J]. 营养学报，2005，27(2)：114 - 118.

[5] Sun Q, Ooi V E, Chan S O. N-methyl-D-aspartate-induced excitotoxicity in adult rat retina is antagonized by single systemic injection of MK-801[J]. Exp Brain Res, 2001, 138(1): 37 - 45.

[6] 许红霞，糜漫天，韦 娜，等. 牛磺酸对光照和暗适应条件下大鼠视杆细胞 Gt1 蛋白 α 亚基的影响[J]. 第三军医大学学报，2000，22(3)：216 - 219.

[7] Fletcher E L, Kalloniatis M. Localization of amino acid neurotransmitters during postnatal development of the rat retina[J]. J Comp Neurol, 1997, 380(4): 449 - 471.

[8] Kosenko E, Llansola M, Montoliu C, *et al*. Glutamine synthetase activity and glutamine content in brain: modulation by NMDA receptors and nitric oxide[J]. Neurochem Int, 2003, 43(4-5): 493 - 499.

[9] Fletcher E L, Kalloniatis M. Neurochemical architecture of the normal and degenerating rat retina[J]. J Comp Neurol, 1996, 376(3): 343 - 360.

[10] Dahchour A, De Witte P. Taurine blocks the glutamate increase in the nucleus accumbens microdialysate of ethanol-dependent rats[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2000, 65(2): 345 - 350.

[11] 黄国荣，糜漫天，许红霞，等. 牛磺酸影响视网膜谷氨酸、γ-氨基丁酸含量[J]. 中国公共卫生，2003，19(12)：1436 - 1437.

[12] Newman E, Reichenbach A. The Muller cell: a functional element of the retina[J]. Trends Neurosci, 1996, 19(8): 307 - 312.

[13] Napper G A, Pianta M J, Kalloniatis M. Reduced glutamate uptake by retinal glial cells under ischemic/hypoxic conditions[J]. Vis Neurosci, 1999, 16(1): 149 - 158.

[14] Kim D, Kim M J, Lee J H, *et al*. Concomitant distribution shift of glial GABA transporter and S100 calcium-binding proteins in the rat retina after kainate-induced excitotoxic injury[J]. Neurosci Lett, 2003, 353(1): 17 - 20.

[15] Nakamichi N, Chidlow G, Osborne N N. Effects of intraocular injection of a low concentration of zinc on the rat retina[J]. Neuropharmacology, 2003, 45(5): 637 - 648.

[16] Casson R J, Chidlow G, Wood J P, *et al*. The effect of retinal ganglion cell injury on light-induced photoreceptor degeneration[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2004, 45(2): 685 - 693.

[17] Casson R J, Wood J P, Melena J, *et al*. The effect of ischemic preconditioning on light-induced photoreceptor injury[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003, 44(3): 1348 - 1354.

(编辑 汪勤俭)