BRIEF REPORT

Effects of Taurine on Phosphorylated Tau Protein Level in the Hippocampus of Scopolamine-Treated Adult Male Rats

Zeinab Asadi[1],
Mehrdad Jahanshahi[2],
Gholamhassan Vaezi[3],
Seyed Mehran Hosseini[4]

[1] MSc Student in Physiology, Department of Physiology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
[2] Professor, Neuroscience Research Center, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran
[3] Professor, Department of Physiology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
[4] Associate Professor, Neuroscience Research Center, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

(Received November 27, 2017 ; Accepted February 26, 2018)

Abstract

Background and purpose: Taurine has many biological functions such as antioxidant and anti-inflammatory activities and acts as a neurotransmitter. But its effects on the tau phosphorylated protein levels require further studies. The aim of this study was to evaluate the protective and therapeutic effects of taurine on the level of tau phosphorylated protein in the hippocampus of rats treated with scopolamine.

Materials and methods: In this research, 72 male Wistar rats were randomly divided into three groups: control, protection, and treatment groups. Protective and therapeutic groups were treated with different doses of taurine (25, 50, 100 mg/kg/day) for 14 days before or after injection of scopolamine (3 mg/kg). After the end of treatment, the extract of homogenized hippocampus tissue was collected to measure the level of tau phosphorylated protein using ELISA technique.

Results: Protective injection of different doses of taurine significantly reduced the level of tau phosphorylated protein in the hippocampus compared to that in the protective sham group ($p<0.001$). Therapeutic injection of taurine at 50 mg/kg significantly decreased the level of tau phosphorylated protein compared with that of the therapeutic sham group.

Conclusion: Protective and therapeutic injection of taurine can reduce the tau phosphoryl protein levels in the hippocampus of rats before or after the injection of scopolamine.

Keywords: taurine, scopolamine, phosphorylated tau protein level, hippocampus

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28 (164): 152-157 (Persian).

* **Corresponding Author: Mehrdad Jahanshahi -** Neuroscience Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran (E-mail: mejahanshahi@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هشتم شماره ۱۶۴ شهریور سال ۱۳۹۷ (۱۵۷-۱۵۲)

بررسی اثر تورین بر میزان پروتئین tau فسفریله در هیپوکامپ موش‌های صحرائی نر بالغ تیمار شده با اسکوپولامین

زینب اسدی[۱]
مهرداد جهانشاهی[۲]
غلامحسن واعظی[۳]
سید مهران حسینی[۴]

چکیده

سابقه و هدف: تورین در بسیاری از اعمال زیستی مانند آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و انتقال عصبی نقش دارد. اما اثرات آن بر سطح پروتئین tau فسفریله به مطالعات بیش‌تری نیاز دارد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات حفاظتی و درمانی تورین بر سطح پروتئین tau فسفریله در هیپوکامپ موش‌های صحرایی تیمار شده با اسکوپولامین بود.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، ۷۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به ۳ گروه کنترل، حفاظتی و درمانی تقسیم شدند. گروه‌های حفاظتی و درمانی با دوزهای مختلف تورین (25, 50, 100 mg/kg/day) به مدت ۱۴ روز، قبل و یا بعد از تزریق اسکوپولامین (3 mg/kg) تیمار شدند. پس از پایان تیمار دارویی، عصاره حاصل از هموژنیزه کردن هیپوکامپ، برای سنجش سطح پروتئین tau فسفریله در هیپوکامپ به وسیله تکنیک الایزا جمع‌آوری گردید.

یافته‌ها: تزریق حفاظتی دوزهای مختلف تورین، سطح پروتئین tau فسفریله را در هیپوکامپ به‌طور معناداری نسبت به گروه شم حفاظتی کاهش داد($p < ۰/۰۰۱$). تزریق درمانی تورین فقط با دوز 50 mg/kg باعث کاهش معنی‌دار سطح پروتئین tau فسفریله نسبت به گروه شم درمانی در هیپوکامپ گردید.

استنتاج: تزریق حفاظتی و درمانی تورین می تواند سطح پروتئین tau فسفریله را در هیپوکامپ موش‌های صحرایی قبل و یا بعد از تزریق اسکوپولامین کاهش دهد.

واژه های کلیدی: تورین، اسکوپولامین، سطح پروتئین tau فسفریله، هیپوکامپ

مقدمه

بیماری آلزایمر با کم شدن هوشیاری، کاهش عملکرد و تخریب نورون‌های کولینرژیکی، رسوب پلاک آمیلوئید β و تجمع درون سلولی پروتئین tau هایپرفسفریله، به طور عمده در هیپوکامپ و قشر مغز مشخص می‌شود(۲،۱). در همه بیماری‌های تخریب عصبی، tau به صورت غیرطبیعی فسفریله می‌شود(۳). وقتی که هومئوستاز فسفریلاسیون و دفسفریلاسیون در نورون دچار اختلال می‌شود، tau توانایی خود را در اتصال به

مولف مسئول: مهرداد جهانشاهی- گرگان: دانشگاه علوم پزشکی گلستان، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشکده پزشکی E-mail: mejahanshahi@yahoo.com
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. استاد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران
۳. استاد، گروه فیزیولوژی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۴. دانشیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۶/۹/۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۶/۹/۲۱ تاریخ تصویب : ۱۳۹۶/۱۲/۷

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

میکروتوبول‌ها از دست داده و هایپرفسفریلاسیون tau باعث دژنره شدن نورون‌ها به واسطه تخریب اسکلت سلولی می‌شود(۴). اسکوپولامین، به عنوان مدل بیماری آلزایمر به طور گسترده‌ای در مطالعات استفاده می‌شود. اسکوپولامین باعث توقف فعالیت گیرنده استیل کولینی موسکارینی،کاهش تعداد نورون‌های بیان‌کننده‌گیرنده M1 موسکارینی، نقص در حافظه، افزایش استرس اکسیداتیو، افزایش رسوب β آمیلوئید و افزایش فسفریلاسیون پروتئین tau می‌شود(۸-۵). اسکوپولامین میزان بیان mRNA و پروتئین tau را در مغز موش‌های صحرایی افزایش می‌دهد(۱۰،۹،۶). تورین، در بافت‌هایی مثل کبد، مغز، قلب و شبکیه چشم وجود دارد(۱۱). تورین در اعمال زیستی مانند آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و انتقال عصبی نقش دارد(۱۲). هم‌چنین سطح تورین در بیماری‌هایی مثل آلزایمر، هانتینگتون و پارکینسون کاهش می‌یابد، یعنی کمبود تورین باعث آسیب‌پذیر شدن نورون‌ها می‌شود(۱۳). تورین پلیمریزاسیون قطعات پروتئین tau دارای ناحیه اصلی درگیر در اتصال میکروتوبول‌ها را القاء می‌کند(۱۴)؛ اما مطالعات در مورد اثرات تورین بر فسفریلاسیون tau بسیار اندک می‌باشد(۱۴). هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات حفاظتی و درمانی تورین بر سطح پروتئین tau فسفریله در هیپوکامپ موش‌های صحرایی تیمار شده با اسکوپولامین بود.

مواد و روش ها

در تحقیق تجربی حاضر از تعداد ۷۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به وزن تقریبی ۲۰±۲۰۰ گرم (انستیتو پاستور تهران، ایران) استفاده شد. موش‌ها در حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی گلستان در دمای ۲۲±۳ °C در سیکل ۱۲:۱۲ ساعت در روشنایی/تاریکی و با دسترسی آزادانه به آب و غذای مخصوص موش نگهداری شدند. همه آزمایشات براساس دستورالعمل کار با حیوانات آزمایشگاهی توصیه شده توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گلستان انجام شد.

موش‌های صحرایی به طور تصادفی به ۹ گروه ذیل تقسیم شدند:

- گروه کنترل (n =۸): بدون دریافت دارو
- گروه شم حفاظتی (n =۸): ابتدا تزریق نرمال سالین به مدت ۱۴ روز و بعد تزریق اسکوپولامین (Tocris,UK) با تک دوز (3 mg/kg) برای یک نوبت(۱۵)
- ۳ گروه آزمایشی حفاظتی (n= ۸): ابتدا تزریق تورین (Sigma, Japan) با دوزهای (۵۰،۲۵ mg/kg و ۱۰۰) (۱۷،۱۶) به مدت ۱۴ روز و سپس تزریق تک دوز اسکوپولامین (۳ mg/kg) برای یک نوبت
- گروه شم درمانی (n= ۸): ابتدا تزریق تک دوز اسکوپولامین (۳ mg/kg) برای یک نوبت و روز بعد تزریق نرمال سالین به مدت ۱۴ روز
- ۳ گروه آزمایشی درمانی (n =۸): ابتدا تزریق تک دوز اسکوپولامین (۳mg/kg) برای یک نوبت و روز بعد تزریق تورین با دوزهای(۵۰،۲۵mg/kg و ۱۰۰) به‌مدت ۱۴روز

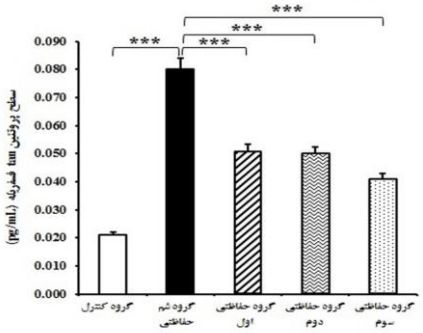
اسکوپولامین و تورین در نرمال سالین حل شده و به طور درون صفاقی به موش‌ها تزریق گردید. بعد از اتمام تزریق داروها، موش‌های صحرایی توسط کلروفرم بیهوش شده و ناحیه هیپوکامپ از مغز جدا شده و با افزودن محلول PBS، بر اساس وزن هیپوکامپ هموژنیزه گردید. عصاره حاصل، برای ۲۰ دقیقه با دور 5000 rpm سانتریفیوژ شده و سوپرناتانت برای انجام ELISA درفریزر۲۰°C- نگهداری شد. سپس کیت ELISA با نام Rat Phosphorylated Microtubule Associated Protein Tau (pTau/pMAPT) از شرکت ZellBio Gmbh,Germany (cat number: ZB-1320-R9648) تهیه گردید. با توجه به دستورالعمل ارایه شده در کیت، در نهایت میزان OD در 450 nm توسط دستگاه ELISA reader خوانده شد.

نتایج به وسیله نرم افزار SPSS و واریانس یک طرفه و با تست تکمیلی Tukey به عنوان Post Hoc جهت مقایسه میانگین ها مورد آنالیز آماری قرار گرفت. (p <۰/۰۵) معیار معنی‌دار بودن محسوب شد.

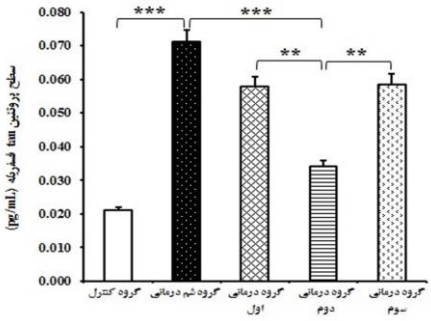
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

یافته ها و بحث

یافته‌های این مطالعه نشان داد که تزریق اسکوپولامین (در گروه‌های شم حفاظتی و درمانی)، سطح پروتئین tau فسفریله را در هیپوکامپ در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌دهد (نمودارهای شماره ۱ و ۲، p <۰/۰۰۱). تزریق حفاظتی تورین به‌طور معناداری سطح پروتئین tau فسفریله را نسبت به گروه شم حفاظتی کاهش داد (نمودار شماره ۱، p <۰/۰۰۱). هر چند تزریق درمانی تورین منجر به کاهش سطح پروتئین tau فسفریله در هیپوکامپ در مقایسه با گروه شم درمانی شد، اما فقط بین گروه درمانی تورین با دوز 50 mg/kg و گروه شم درمانی تفاوت معنی‌داری وجود داشت (نمودار شماره ۲، p <۰/۰۰۱).



نمودار شماره ۱: اثر حفاظتی تورین بر میانگین سطح پروتئین tau فسفریله در هیپوکامپ. (***) بیانگر p <۰/۰۰۱.



نمودار شماره ۲: اثر درمانی تورین بر میانگین سطح پروتئین tau فسفریله در هیپوکامپ. (**) بیانگر p <۰/۰۱ و(***) بیانگر p <۰/۰۰۱.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق حفاظتی تورین با دوز 100 mg/kg و تزریق درمانی تورین با دوز 50mg/kg، موثرترین دوزهای تورین در کاهش سطح پروتئین tau فسفریله هستند.

مطالعات گذشته نشان داده اند که تزریق اسکوپولامین به موش های صحرایی با دوز 2 mg/kg برای ۴ و یا ۶ هفته منجر به افزایش سطوح mRNA و پروتئین tau در قشر(۶) و هیپوکامپ(۹)، و نیز سطح پروتئین tau فسفریله در هیپوکامپ موش صحرایی می‌شود(۹، ۱۸). به علاوه، تزریق اسکوپولامین با دوز 1 mg/kg برای ۲ هفته، باعث هایپرفسفریلاسیون tau در هیپوکامپ موش سوری می‌شود(۱۹). همسو با این یافته ها، مطالعه ما نشان داد که تزریق اسکوپولامین به موش های صحرایی با تک دوز 3 mg/kg، سطح پروتئین tau فسفریله را در ناحیه هیپوکامپ افزایش می‌دهد. زارشات اندکی در مورد اثر تورین بر سطح پروتئین tau فسفریله وجود دارد. تنها در یک مطالعه، گزارش شده تورین (in vitro, 1mM) تشکیل پلیمرهای tau را القاء نموده اما بر فسفریلاسیون پروتئین tau اثری نداشت(۱۴). مطالعه ما نشان داد تورین می تواند سطح پروتئین tau فسفریله را در مغز موش های صحرایی تیمار شده با اسکوپولامین کاهش دهد. در مورد مکانیسم اثر تورین بر تعدیل tau به وسیله گلیکوژن سنتاز کیناز 3β، نیز مطالعاتی صورت گرفته که حاکی از عدم تاثیر تورین بر بیان گلیکوژن سنتاز کیناز 3β بود(۱۲، ۱۴). در مطالعات آینده بایستی مکانیسم های اساسی دخیل در کاهش سطح پروتئین tau فسفریله متعاقب تیمار با تورین بررسی شود. ما نتیجه گرفتیم که تزریق حفاظتی و درمانی تورین می تواند سطح پروتئین tau فسفریله را در هیپوکامپ موش‌های صحرایی قبل و یا بعد از تزریق اسکوپولامین کاهش دهد.

سپاسگزاری

این مطالعه حاصل از پایان نامه کارشناسی ارشد سرکار خانم زینب اسدی است که بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب با شماره طرح ۹۵۰۹۳۰۲۲۶ مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی درمانی گلستان می‌باشد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

References

1. Vlassenko AG, Benzinger TL, Morris JC. PET amyloid-beta imaging in preclinical Alzheimer's disease. Biochim Biophys Acta 2012; 1822(3): 370-379.
2. Bukar Maina M, Al-Hilaly YK, Serpell LC. Nuclear Tau and Its Potential Role in Alzheimer's Disease. Biomolecules 2016; 6(1): 9.
3. Johnson GV, Stoothoff WH. Tau phosphorylation in neuronal cell function and dysfunction. J Cell Sci 2004; 117(24): 5721-5729.
4. Mao P, Reddy PH. Aging and amyloid beta-induced oxidative DNA damage and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease: implications for early intervention and therapeutics. Biochim Biophys Acta 2011; 1812(11): 1359-1370.
5. Seifhosseini S, Jahanshahi M, Moghimi A, Aazami N-S. The effect of scopolamine on avoidance memory and hippocampal neurons in male Wistar rats. BCN 2011; 3(1): 9-15 (Persian).
6. Bihaqi SW, Singh AP, Tiwari M. Supplementation of Convolvulus pluricaulis attenuates scopolamine-induced increased tau and Amyloid precursor protein (AβPP) expression in rat brain. Indian J Pharmacol. 2012; 44(5): 593-598.
7. Jahanshahi M, Nickmahzar EG, Seif-hoseini S, Babakordi F, Moharreri A. Scopolamine Reduces the Density of M1 Muscarinic Neurons in Rats' Hippocampus. International Journal of Morphology 2013; 31(4): 1227-1232 (Persian).
8. Bahadur RD, Himani A. Mechanistic approaches of different models and targets for treatment of Alzheimer's Disease. World J Pharm Pharm Sci 2017; 6(3): 375-391.
9. Hafez HS, Ghareeb DA, Saleh SR, Abady MM, El Demellawy MA, Hussien H, et al. Neuroprotective effect of ipriflavone against scopolamine-induced memory impairment in rats. Psychopharmacol 2017; 234(20): 3037-3053.
10. Hsieh MT, Hsieh CL, Lin LW, Wu CR, Huang GS. Differential gene expression of scopolamine-treated rat hippocampus-application of cDNA microarray technology. Life Sci 2003; 73(8): 1007-1016.
11. Suárez LM, Muñoz M-D, del Río RM, Solís JM. Taurine content in different brain structures during ageing: effect on hippocampal synaptic plasticity. Amino Acids 2016; 48(5): 1199-208.
12. Reeta KH, Singh D, Gupta YK. Chronic treatment with taurine after intracerebroventricular streptozotocin injection improves cognitive dysfunction in rats by modulating oxidative stress, cholinergic functions and neuroinflammation. Neurochem Int 2017; 108: 146-156.
13. Menzie J, Pan C, Prentice H, Wu JY. Taurine and central nervous system disorders. Amino Acids 2014; 46(1): 31-46.
14. Santa-María I, Hernández F, Moreno FJ, Avila J. Taurine, an inducer for tau polymerization and a weak inhibitor for amyloid-β-peptide aggregation. Neurosci Lett 2007; 429(2-3): 91-94.
15. Jahanshahi M, Nickmahzar E, Babakordi F. Effect of Ginkgo biloba extract on scopolamine-induced apoptosis in the hippocampus of rats. Anat Sci Int 2013; 88(4): 217-222.
16. Javed H, Khan A, Vaibhav K, Khan MM, Ahmad A, Ahmad ME, et al. Taurine ameliorates neurobehavioral, neurochemical and immunohistochemical changes in sporadic

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

dementia of Alzheimer's type (SDAT) caused by intracerebroventricular streptozotocin in rats. Neurol Sci 2013; 34(12): 2181-2192.

17. Caletti G, Almeida FB, Agnes G, Nin MS, Barros HMT, Gomez R. Antidepressant dose of taurine increases mRNA expression of GABA A receptor α 2 subunit and BDNF in the hippocampus of diabetic rats. Behav Brain Res 2015; 283: 11-15.
18. Safar MM, Arab HH, Rizk SM, El-Maraghy SA. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells protect against scopolamine-induced Alzheimer-like pathological aberrations. Mol Neurobiol 2016; 53(3): 1403-1418.
19. Kang SW, Kim SJ, Kim MS. Oxidative stress with tau hyperphosphorylation in memory impaired 1, 2-diacetylbenzene-treated mice. Toxicol Lett 2017; 279: 53-59.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]