

辣木黄酮对糖尿病脑病大鼠认知功能及神经病理指标的影响

朱建忠 赵灿 乔跃兵 刘媛媛 隋月林

沧州医学高等专科学校解剖教研室,河北沧州 061000

通信作者:隋月林, Email: suiuelin@sina.com

【摘要】目的 探讨辣木黄酮对糖尿病脑病(DE)大鼠认知功能障碍及神经病理指标的影响。**方法** 将60只雄性SD大鼠按照随机数字表法分为对照组、模型组、阳性药物组及辣木低、高剂量组,每组10只。高脂高糖饲料持续喂养1周后经腹腔注射链脲菌素(STZ)25 mg/kg建立糖尿病大鼠模型,72 h后尾静脉采血,以2次随机血糖均值 ≥ 16.67 mmol/L、尿糖持续阳性表明糖尿病模型制备成功;对照组给予常规饲料喂养。辣木低、高剂量组大鼠制模成功后,分别每日灌胃4.0 g/kg和8.0 g/kg辣木提取物(辣木黄酮);阳性药物组每日灌胃0.48 g/kg吡拉西坦,模型组和对照组每日灌胃等量生理盐水,均每日1次,持续给药30 d。进行Morris水迷宫实验以评估大鼠认知功能障碍情况。于末次给药后12 h分离大鼠海马组织,采用免疫组化染色检测晚期糖基化终末产物受体(RAGE)和核转录因子- κ B(NF- κ B)表达情况;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测乙酰胆碱酯酶(AChE)、晚期糖基化终末产物(AGE)和乙酰胆碱转移酶(ChAT)含量。**结果** 与对照组相比,模型组大鼠逃避潜伏期、探索距离明显延长,目标象限停留时间明显缩短,脑组织AChE和AGE水平显著升高,ChAT水平显著降低。Morris水迷宫实验显示:与模型组相比,辣木低、高剂量组第3天起大鼠逃避潜伏期($s: 35.07 \pm 7.21, 33.14 \pm 5.35$ 比 43.09 ± 9.83 ,均 $P < 0.05$)和缩短探索距离($m: 8.32 \pm 4.23, 8.10 \pm 4.97$ 比 13.02 ± 3.67)均明显缩短(均 $P < 0.05$),目标象限停留时间明显延长($s: 35.12 \pm 3.12, 41.53 \pm 8.37$ 比 23.15 ± 4.89 ,均 $P < 0.01$)。ELISA结果显示,与模型组比较,辣木低、高剂量组脑组织中AChE和AGE水平显著降低[AChE(U/L): $180.22 \pm 12.03, 142.67 \pm 20.56$ 比 205.27 ± 25.14 ,AGE(μ g/L): $439.10 \pm 25.19, 428.27 \pm 19.14$ 比 501.28 ± 21.53 ,均 $P < 0.05$],ChAT水平显著升高(U/L): $51.95 \pm 5.27, 53.13 \pm 5.04$ 比 37.91 ± 5.10 ,均 $P < 0.01$);辣木低、高剂量组间AChE、AGE和ChAT水平比较差异均无统计学意义。免疫组化结果显示:制模后DE大鼠海马DG区RAGE、NF- κ B阳性细胞明显增多,海马组织RAGE和NF- κ B平均灰度值显著降低;与模型组比较,辣木低、高剂量组RAGE、NF- κ B阳性细胞明显减少,海马组织RAGE和NF- κ B平均灰度值显著升高[RAGE(灰度值): $110.46 \pm 10.04, 117.76 \pm 8.64$ 比 92.19 ± 8.76 ,NF- κ B(灰度值): $109.40 \pm 8.93, 116.59 \pm 7.26$ 比 90.74 ± 13.27 ,均 $P < 0.05$];但辣木低、高剂量组间RAGE和NF- κ B表达水平比较差异均无统计学意义。**结论** 辣木黄酮能明显改善DE大鼠认知功能障碍及记忆能力,改善海马组织病变状况,具有一定脑保护作用。

【关键词】 辣木黄酮; 糖尿病脑病; 神经病理指标; 认知功能; 免疫组化

基金项目: 国家卫健委重点实验室开放性课题(20150002);河北省科技发展计划项目(08276101D-20);河北省沧州市重点研发计划指导项目(204106039)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200330-00459

Effects of Moringa flavone on cognitive function and neuropathological indexes in diabetic encephalopathy rats

Zhu Jianzhong, Zhao Can, Qiao Yuebing, Liu Yuanyuan, Sui Yuelin

Department of Anatomy, Cangzhou Medical College, Cangzhou 061000, Hebei, China

Corresponding author: Sui Yuelin, Email: suiuelin@sina.com

【Abstract】Objective To investigate the effect of Moringa flavone on cognitive impairment and neuropathological indexes in diabetic encephalopathy (DE) rats. **Methods** Sixty male Sprague-Dawley (SD) rats were divided into control group, model group, positive drug group, Moringa low-dose and high-dose groups according to the random number table method, with 10 rats in each group. Diabetic rat model was established by intraperitoneal injection of 25 mg/kg streptozotocin (STZ) after continuous feeding of high fat and high sugar diet for one week. Blood was collected from the tail vein after 72 hours, the mean value of twice random blood glucose was ≥ 16.67 mmol/L, and the continuous positive urine glucose showed that the diabetes model was successfully prepared. The control group was fed with conventional feed. After successful model establishment, the rats in the Moringa low and high dose groups were given 4.0 g/kg and 8.0 g/kg Moringa extract (Moringa flavone) by gavage everyday, the rats in the positive drug group were given piracetam 0.48 g/kg, and the rats in the model group and control group were given the same amount of normal saline once a day for 30 days. Morris water maze was used to evaluate the cognitive impairment of the rats. The hippocampus of the rats was harvested 12 hours after the last administration, and the advanced glycation end product receptor (RAGE) and nuclear factor- κ B (NF- κ B) were detected by immunohistochemistry. The contents of acetylcholinesterase (AChE), advanced glycation end product (AGE) and choline acetyl transferase (ChAT) were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Compared with the control group, the escape latency and the exploration

distance in model group were extended, target quadrant stay time was shortened, the levels of AChE and AGE in brain tissue were significantly increased, and ChAT level was significantly decreased. Morris water maze experiment showed that compared with the model group, in the Moringa low and high dose groups from the 3rd day, the escape latency (s: 35.07 ± 7.21 , 33.14 ± 5.35 vs. 43.09 ± 9.83 , both $P < 0.05$) and the exploration distance (m: 8.32 ± 4.23 , 8.10 ± 4.97 vs. 13.02 ± 3.67) were significantly shortened (both $P < 0.05$). The target quadrant stay time was extended (s: 35.12 ± 3.12 , 41.53 ± 8.37 vs. 23.15 ± 4.89 , both $P < 0.01$). The results of ELISA showed that compared with the model group, the levels of AChE and AGE in brain tissue of the Moringa low and high dose groups were significantly decreased [AChE (U/L): 180.22 ± 12.03 , 142.67 ± 20.56 vs. 205.27 ± 25.14 , AGE ($\mu\text{g/L}$): 439.10 ± 25.19 , 428.27 ± 19.14 vs. 501.28 ± 21.53 , both $P < 0.05$], and the levels of ChAT were significantly increased (U/L: 51.95 ± 5.27 , 53.13 ± 5.04 vs. 37.91 ± 5.10 , both $P < 0.01$). There were no significant differences in AChE, AGE or ChAT between the Moringa low and high dose groups. The results of immunohistochemistry showed that the number of RAGE and NF- κB positive cells in DG area of hippocampus increased significantly, and the average gray values of RAGE and NF- κB decreased significantly. Compared with the model group, the RAGE and NF- κB positive cells in the Moringa low and high dose groups were significantly reduced, and the average gray values of RAGE and NF- κB in hippocampus were significantly increased [RAGE (gray value): 110.46 ± 10.04 , 117.76 ± 8.64 vs. 92.19 ± 8.76 , NF- κB (gray value): 109.40 ± 8.93 , 116.59 ± 7.26 vs. 90.74 ± 13.27 , all $P < 0.05$]. There were no significant differences in the expressions of RAGE or NF- κB between the Moringa low and high dose groups. **Conclusion** Moringa flavonoids could obviously improve the cognitive dysfunction and memory ability of DE model rats, improve the pathological changes of hippocampus, and have a certain protective effect on brain.

【Key words】 Moringa flavone; Diabetic encephalopathy; Neuropathological index; Cognitive function; Immunohistochemistry

Fund program: Open Project of Key Laboratory of Family Planning and Eugenics of National Health and Family Planning Commission (20150002); Science and Technology Research and Development Plan Project of Hebei Province of China (08276101D-20); Key Research and Development Project in Cangzhou, Hebei Province (204106039)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200330-00459

据统计, 2013年我国成人2型糖尿病患病率为10.4%, 各民族差异较大, 呈现逐年上升的趋势, 糖尿病对中枢神经系统的影响已引起人们的广泛关注^[1]。糖尿病脑病(DE)是糖尿病的主要并发症之一, 以认知功能障碍及脑神经生理及结构改变为主要特征, 且发病机制复杂^[2]。针对DE的治疗, 传统的降血糖药物难以解决血栓堵塞和血管脆性问题。

辣木(*Moringa oleifera* Lam.)为辣木科辣木属多年生热带落叶乔木, 现代化学成分分析表明, 辣木含有的黄酮类、多糖类、蛋白质类成分均显示出很好的降低血糖作用^[3]。进一步研究证实, 辣木降血糖作用可能与抗氧化应激、改善胰岛功能、抗炎及调节机体免疫等相关^[4]。同时辣木及其提取物还在抗肿瘤治疗、保护肝肾功能、延缓衰老、提高机体免疫力等方面显示了独特的效果^[5-6]。本研究通过提取辣木活性成分辣木黄酮, 观察不同剂量辣木黄酮对DE大鼠认知功能及神经病理指标的影响, 以探讨其可能的神经保护机制, 为辣木的临床推广使用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物、药物及主要试剂: 清洁级健康雄性SD大鼠, 体重(220 ± 20)g, 由河北医科大学动物实验中心提供(动物合格证号: 医动字第04057号)。实验前将大鼠在动物房中适应性饲养7d。辣木黄酮提取物由本实验中心制备, 棕色粉末, 采用氯化铝方法对辣木中黄酮类成分含量进行测定, 总黄酮含

量为28.88%。链脲菌素(STZ, 美国Sigma公司); 乙酰胆碱酯酶(AChE)、晚期糖基化终末产物(AGE)和乙酰胆碱转移酶(ChAT)检测试剂盒(南京建成生物制药有限公司); 吡拉西坦(天津金世制药有限公司, 国药准字H12020667); 晚期糖基化终末产物受体(RAGE)和核转录因子- κB (NF- κB)免疫组化试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.2 动物分组及糖尿病大鼠模型建立: 60只大鼠按随机数字表法分为对照组、模型组、阳性药物组及辣木低、高剂量组, 每组10只。大鼠禁食、不禁水16h后给予高脂高糖饲料持续喂养1周, 经腹腔注射2% STZ 25 mg/kg 制备糖尿病大鼠模型, 72h后尾静脉采血, 以2次随机血糖均值 ≥ 16.67 mmol/L、尿糖持续阳性视为糖尿病模型制备成功; 对照组大鼠常规饲料喂养。制模成功后辣木低、高剂量组分别灌胃4.0 g/kg、8.0 g/kg辣木黄酮; 阳性药物组灌胃0.48 g/kg吡拉西坦, 模型组和对照组灌胃等量生理盐水, 均每日给药1次, 连续给药30d。各组动物在给药期间均自由进食水。

本实验中动物处置方法符合动物福利与伦理学标准, 并经沧州医学高等专科学校伦理委员会审批(审批号: 2018415)。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 Morris水迷宫实验: 水迷宫呈圆形, 直径1.5 m, 水深30 cm, 水温维持在22℃, 平台直径12 cm。将大鼠放入水池中自由游泳5~10 min以熟悉迷宫环

境。训练或测定时大鼠头朝池壁,分别从4个不同的标记点(在4个象限中平均分布)放入池中,选择一个象限放置圆形平台。记录大鼠90 s内爬到平台所需的时间(逃避潜伏期)及搜索距离;若大鼠在120 s内未能上台,引导其登上平台,放置30 s引导其学习与记忆。每只大鼠每日实验1次,共进行5 d,第5天撤除平台;数据采集及图像分析均由图像自动监视和处理系统完成。

1.3.2 脑组织 RAGE 和 NF-κB 表达测定:于末次给药结束后12 h 乙醚麻醉断颈处死大鼠,4%多聚甲醛0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.4)灌注固定,开颅,脑冠状位取3~4 mm 组织块置于磷酸盐缓冲液中4℃固定1周,常规石蜡包埋,组织切片,免疫组化染色观察 RAGE 和 NF-κB 的表达情况,分别选取不重叠的8个视野,用系统分析处理软件进行分析,根据结果计算平均灰度值。

1.3.3 脑组织 AChE、AGE 和 ChAT 表达测定:取大鼠海马组织,冰浴下进行匀浆裂解,加入1 mL TRIzol 充分研磨,取匀浆液4℃离心10 min,取上清液,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定 AChE、AGE 和 ChAT 含量。

1.4 统计学方法:采用 SPSS 16.0 统计软件处理数据。正态分布计量数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 *t* 检验。*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠体重、血糖及胰岛素水平比较(表1):对照组大鼠空腹血糖(FBG)水平正常,无明显变化。与对照组比较,模型组大鼠体重明显下降,FBG 水平显著升高(均 *P* < 0.01),表明

糖尿病模型制备成功。与模型组比较,不同剂量辣木黄酮治疗30 d后大鼠FBG水平均显著下降,胰岛素水平均明显升高(均 *P* < 0.05);其中辣木高剂量组大鼠体重较模型组和辣木低剂量组明显增加(均 *P* < 0.01)。

2.2 辣木黄酮对各组大鼠认知功能的影响(表2~3): Morris 水迷宫实验前2 d,各组大鼠探索距离、逃避潜伏期比较差异均无统计学意义(均 *P* > 0.05);与对照组相比,模型组第3天起探索距离、逃避潜伏期显著延长(均 *P* < 0.01),直至第5天,提示 STZ 诱导所致糖尿病大鼠学习和记忆能力呈下降趋势;阳性药物组及辣木低、高剂量组第3天起探索距离和逃避潜伏期较模型组显著缩短(均 *P* < 0.05),且与对照组相比差异无统计学意义(均 *P* > 0.05)。与对照组相比,模型组目标象限停留时间明显缩短(*P* < 0.01);与模型组比较,阳性药物组及辣木低、高剂量组目标象限停留时间明显延长(均 *P* < 0.05),提示辣木黄酮可以有效缓解大鼠记忆能力损伤。而辣木低、高剂量组间认知功能差异无统计学意义。

表1 各组大鼠体重、血糖及胰岛素水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	体重(g)	FBG (mmol/L)		胰岛素(mU/L)
			给药前	给药后	
对照组	10	350.32 ± 31.25	5.36 ± 0.39	5.31 ± 0.21	21.39 ± 2.90
糖尿病模型组	10	320.50 ± 27.91 ^a	19.33 ± 3.12 ^a	21.52 ± 3.45 ^a	16.03 ± 2.10 ^a
阳性药物组	10	321.78 ± 33.98	19.54 ± 2.17	18.34 ± 4.10	16.13 ± 1.57
辣木低剂量组	10	332.45 ± 24.38	21.05 ± 3.12 ^a	13.27 ± 2.15 ^b	19.10 ± 3.11 ^c
辣木高剂量组	10	348.13 ± 33.01 ^{bd}	20.12 ± 3.09 ^a	11.21 ± 2.11 ^b	20.80 ± 2.39 ^b

注: FBG 为空腹血糖;与对照组比较,^a*P* < 0.01;与糖尿病模型组比较,^b*P* < 0.01,^c*P* < 0.05;与辣木低剂量组比较,^d*P* < 0.05

表2 各组大鼠 Morris 水迷宫实验中探索距离比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	探索距离(m)				
		第1天	第2天	第3天	第4天	第5天
对照组	10	17.23 ± 3.17	16.87 ± 3.02	6.57 ± 2.33	5.77 ± 2.10	5.08 ± 1.09
糖尿病模型组	10	20.35 ± 4.21	16.45 ± 4.21	13.02 ± 3.67 ^a	12.87 ± 3.65 ^a	12.02 ± 2.11 ^a
阳性药物组	10	19.15 ± 3.87	17.21 ± 2.09	9.54 ± 3.10 ^b	6.12 ± 4.38 ^c	5.24 ± 2.17 ^b
辣木低剂量组	10	19.01 ± 2.98	16.16 ± 3.76	8.32 ± 4.23 ^b	5.65 ± 2.16 ^b	5.35 ± 1.69 ^b
辣木高剂量组	10	18.92 ± 3.15	16.01 ± 2.85	8.10 ± 4.97 ^b	5.35 ± 1.87 ^c	5.23 ± 2.17 ^b

注:与对照组比较,^a*P* < 0.01;与糖尿病模型组比较,^b*P* < 0.05,^c*P* < 0.01

表3 各组大鼠 Morris 水迷宫实验中逃避潜伏期及目标象限停留时间比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	逃避潜伏期(s)					目标象限停留时间(s)
		第1天	第2天	第3天	第4天	第5天	
对照组	10	112.33 ± 10.62	96.25 ± 12.03	32.12 ± 7.03	21.09 ± 4.17	11.35 ± 2.71	43.07 ± 5.12
糖尿病模型组	10	115.35 ± 13.77	113.26 ± 21.56	43.09 ± 9.83 ^a	37.11 ± 8.14 ^a	31.19 ± 6.55 ^a	23.15 ± 4.89 ^a
阳性药物组	10	109.89 ± 17.21	107.17 ± 13.76	33.14 ± 8.32 ^b	24.24 ± 5.01 ^b	13.35 ± 5.52 ^b	42.18 ± 5.16 ^b
辣木低剂量组	10	115.75 ± 12.98	111.08 ± 10.87	35.07 ± 7.21 ^b	28.12 ± 4.89 ^c	14.43 ± 3.62 ^c	35.12 ± 3.12 ^c
辣木高剂量组	10	120.60 ± 18.46	107.13 ± 12.42	33.14 ± 5.35 ^b	22.10 ± 5.10 ^c	12.15 ± 5.76 ^c	41.53 ± 8.37 ^c

注:与对照组比较,^a*P* < 0.01;与糖尿病模型组比较,^b*P* < 0.05,^c*P* < 0.01

2.3 辣木黄酮对各组大鼠脑组织 AChE、AGE 和 ChAT 的影响(表 4):与对照组比较,模型组 AChE 和 AGE 水平显著升高,ChAT 水平显著降低(均 $P < 0.01$)。与模型组比较,阳性药物组及辣木低、高剂量组 AChE 和 AGE 水平显著降低,ChAT 水平显著升高(均 $P < 0.05$)。而辣木低、高剂量组间 AChE、AGE、ChAT 水平比较差异均无统计学意义。

表 4 各组大鼠脑组织 AChE、AGE 和 ChAT 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	AChE(U/L)	AGE(μg/L)	ChAT(U/L)
对照组	10	131.02 ± 17.21	337.82 ± 12.17	63.10 ± 7.01
糖尿病模型组	10	205.27 ± 25.14 ^a	501.28 ± 21.53 ^a	37.91 ± 5.10 ^a
阳性药物组	10	142.32 ± 30.12 ^b	432.01 ± 17.11 ^b	53.17 ± 6.25 ^b
辣木低剂量组	10	180.22 ± 12.03 ^c	439.10 ± 25.19 ^c	51.95 ± 5.27 ^b
辣木高剂量组	10	142.67 ± 20.56 ^b	428.27 ± 19.14 ^b	53.13 ± 5.04 ^b

注:AChE 为乙酰胆碱酯酶,AGE 为晚期糖基化终末产物,ChAT 为乙酰胆碱转移酶;与对照组比较,^a $P < 0.01$;与糖尿病模型组比较,^b $P < 0.01$,^c $P < 0.05$

2.4 各组大鼠海马组织 RAGE、NF-κB 表达(表 5;图 1 ~ 2):免疫组化染色显示,模型组大鼠海马 DG 区 NF-κB、RAGE 阳性细胞明显增多,RAGE 和 NF-κB 平均灰度值较对照组显著降低(均 $P < 0.05$)。与模型组相比,阳性药物组及辣木低、高剂量组 NF-κB、RAGE 阳性细胞明显减少,RAGE 和 NF-κB 平均灰度值显著升高(均 $P < 0.05$)。而辣木低、高剂量组间脑组织 RAGE、NF-κB 表达差异均无统计学意义。

表 5 各组大鼠脑组织 RAGE、NF-κB 表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	RAGE(灰度值)	NF-κB(灰度值)
对照组	10	127.65 ± 10.12	120.83 ± 12.34
糖尿病模型组	10	92.19 ± 8.76 ^a	90.74 ± 13.27 ^b
阳性药物组	10	109.18 ± 7.29 ^c	118.38 ± 10.29 ^d
辣木低剂量组	10	110.46 ± 10.04 ^c	109.40 ± 8.93 ^c
辣木高剂量组	10	117.76 ± 8.64 ^d	116.59 ± 7.26 ^d

注:RAGE 为晚期糖基化终末产物受体,NF-κB 为核转录因子-κB;与对照组比较,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$;与糖尿病模型组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

3 讨论

糖尿病是一种常见的代谢紊乱性疾病,是引起心脑血管疾病的高危因素。DE 临床上主要表现为认知功能障碍、学习能力和记忆力减退及相应的大脑形态学和生理学改变,被认为是诱导阿尔茨海默病的主要原因之一^[7]。辣木黄酮为从辣木中提取的有效活性成分,现代药理学研究证实,辣木黄酮能改善睡眠质量,提高机体免疫力,延缓衰老^[8]。本研究通过 Morris 水迷宫实验对大鼠神经认知功能进行可行性评估,结果显示,不同剂量辣木组能明显缩短糖尿病大鼠逃避潜伏期、探索距离,延长目标象限停留时间,提示辣木黄酮能改善糖尿病大鼠的记忆能力及空间学习能力。

DE 发病机制尚未完全明确,临床上以血糖持续升高作为诊断标准,以高胰岛素血症和胰岛素抵抗为病理基础。本研究中采用高脂高糖饲料持续喂养大鼠,经腹腔注射 STZ 建立糖尿病大鼠模型。在给予持续 30 d 低、高剂量辣木黄酮治疗后,糖尿病大

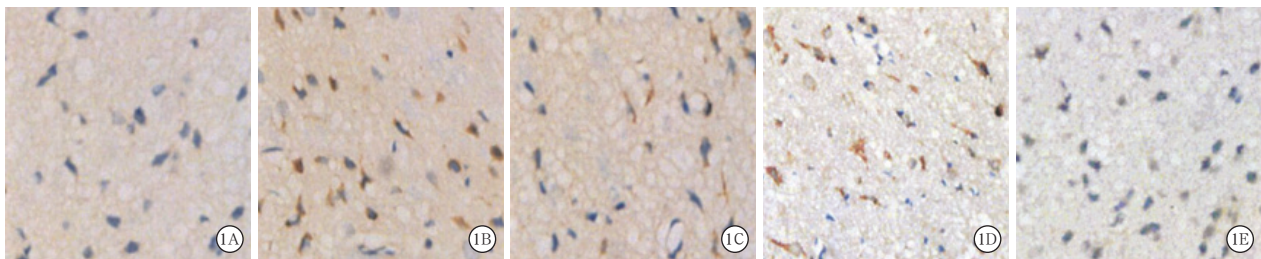


图 1 荧光显微镜下观察各组大鼠海马组织核转录因子-κB(NF-κB)表达情况 细胞核呈棕黄色染色为 NF-κB 阳性细胞。对照组(1A)神经元细胞呈圆形、椭圆形或锥形,着色均匀为浅蓝色,核仁明显;糖尿病模型组(1B)NF-κB 阳性细胞明显增多;阳性药物组(1C)、辣木低剂量组(1D)、辣木高剂量组(1E)阳性细胞较糖尿病模型组(1B)明显减少,以辣木高剂量组为甚 免疫组化染色 中倍放大

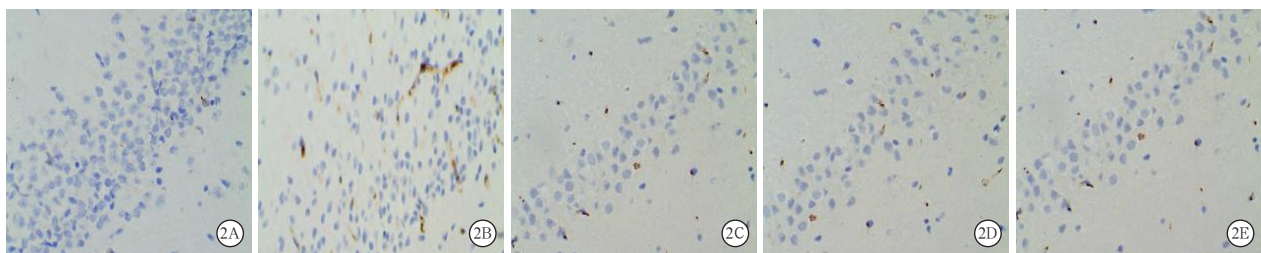


图 2 荧光显微镜下观察各组大鼠海马组织晚期糖基化终末产物受体(RAGE)表达情况 细胞核呈棕黄色染色为 RAGE 阳性细胞。对照组(2A)无 RAGE 阳性细胞;糖尿病模型组(2B)RAGE 阳性细胞数量明显增多,无炎性细胞浸润;阳性药物组(2C)、辣木低剂量组(2D)阳性细胞减少,着色较浅;辣木高剂量组(2E)阳性细胞明显减少 免疫组化染色 中倍放大

鼠血糖和胰岛素水平得到了显著改善,表明辣木黄酮对糖尿病大鼠治疗效果显著,可能与辣木黄酮改善神经病变的机制有一定关系;此外,辣木高剂量组在体重改善方面显著优于低剂量组,也提示辣木黄酮有显著降低糖尿病大鼠血糖的作用,其对糖尿病大鼠体重的改善与给药剂量呈一定相关性。高血糖是导致糖尿病的主要因素,控制血糖水平本身能够有效延缓糖尿病的发生发展。

有研究表明,血糖代谢持续紊乱、血脑屏障结构改变、氧化应激及 AGE 水平升高等均参与 DE 的发病过程^[9]。在中枢神经系统中,海马是记忆回路中的重要结构,在学习、记忆和内脏活动中发挥重要作用。乙酰胆碱被认为是与学习、记忆力联系最为密切的神经递质,其含量的多少与痴呆程度密切相关^[10]。ChAT 为一种神经元胞体内合成酶,常用来标记神经元,可将乙酰辅酶 A 转移到胆碱上,导致神经递质乙酰胆碱的形成^[11]。AChE 是生物神经传导关键性酶,能降解乙酰胆碱,参与细胞的发育和成熟,具有促进神经元发育及再生功能^[12]。AGE 在糖尿病患者组织中缓慢增加,由于机体循环内持续高糖水平加快了 AGE 的产生,使其在体内大量蓄积。本研究显示,与模型组相比,辣木低、高剂量组 AGE 和 AChE 活性下降,ChAT 活性增加,提示辣木黄酮能显著增加乙酰胆碱的合成,减少乙酰胆碱的水解。而辣木低、高剂量组间差异无统计学意义。

糖尿病导致神经细胞凋亡的作用机制复杂,细胞凋亡机制涉及一系列复杂的基因调控,它可以通过不同信号转导系统传递凋亡信号,引起细胞凋亡^[13]。RAGE 是一种新的模式识别受体,广泛参与糖尿病、阿尔兹海默病、肺炎等多种疾病的病理过程。RAGE 在 DE 的发生发展中起重要作用,已成为治疗糖尿病的新靶点^[14]。NF- κ B 蛋白家族可以选择性地结合在 B 细胞 κ -轻链增强子上调控许多基因的表达,参与细胞对外界刺激的影响,在细胞炎症反应、免疫应答中起到关键性作用^[15]。本研究显示,与模型组比较,辣木低、高剂量组大鼠海马组织 DG 区 RAGE、NF- κ B 阳性细胞明显减少,RAGE 和 NF- κ B 平均灰度值显著升高,提示辣木黄酮能改善 DE 大鼠脑部功能,减轻炎症反应,抵抗海马神经元凋亡,其作用机制可能与其减少海马组织中 RAGE 和 NF- κ B 的表达相关。

综上所述,辣木黄酮能显著延缓 DE 的发生,改善 DE 大鼠的认知功能障碍,提高记忆能力,其可

能通过降低海马组织中 AGE 水平,减少 RAGE 和 NF- κ B 的表达,从而对脑组织起到一定的保护作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wang L, Gao P, Zhang M, et al. Prevalence and ethnic pattern of diabetes and prediabetes in China in 2013 [J]. JAMA, 2017, 317 (24): 2515–2523. DOI: 10.1001/jama.2017.7596.
- [2] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2017 年版) [J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38 (4): 292–344. DOI: 10.19538/j.nk218040108. Diabetics Branch of Chinese Medical Association. Guidelines for prevention and control of type 2 diabetes in China (2017 Edition) [J]. Chin J Pract Intern Med, 2018, 38 (4): 292–344. DOI: 10.19538/j.nk218040108.
- [3] Attakpa ES, Sangaré MM, Béhanzin GJ, et al. *Moringa oleifera* Lam. stimulates activation of the insulin-dependent Akt pathway. Antidiabetic effect in a diet-induced obesity (DIO) mouse model [J]. Folia Biol (Praha), 2017, 63 (2): 42–51.
- [4] Adisakwattana S, Chanathong B. Alpha-glucosidase inhibitory activity and lipid-lowering mechanisms of *Moringa oleifera* leaf extract [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2011, 15 (7): 803–808.
- [5] Asghari G, Palizban A, Bakshshai B. Quantitative analysis of the nutritional components in leaves and seeds of the Persian *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori. [J]. Pharmacognosy Res, 2015, 7 (3): 242–248. DOI: 10.4103/0974–8490.157968.
- [6] Kochanek PM, Tasker RC. Pediatric neurointensive care: 2008 update for the Rogers' Textbook of Pediatric Intensive Care [J]. Pediatr Crit Care Med, 2009, 10 (4): 517–523. DOI: 10.1097/pec.0b013e3181ab88ed.
- [7] Momoh MA, Chime SA, Kenechukwu FC. Novel drug delivery system of plant extract for the management of diabetes: an antidiabetic study [J]. J Diet Suppl, 2013, 10 (3): 252–263. DOI: 10.3109/19390211.2013.822454.
- [8] 孙羽中, 潘伟娟, 陈富丽, 等. 痛泻要方对肠易激综合征肝郁脾虚证大鼠中枢神经系统 SERT 的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37 (6): 1408–1411. DOI: 10.13193/j.issn.1673–7717.2019.06.032. Sun YZ, Pan WJ, Chen FL, et al. Effect of Tongxieyao on SERT of central nervous system in rats with irritable bowel syndrome of liver depression and spleen deficiency [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2019, 37 (6): 1408–1411. DOI: 10.13193/j.issn.1673–7717.2019.06.032.
- [9] Alsalem M, Saadeh L, Elberson V, et al. Subcutaneous fat necrosis, a rare but serious side effect of hypoxic-ischemic encephalopathy and whole-body hypothermia [J]. J Perinat Med, 2019, 47 (9): 986–990. DOI: 10.1515/jpm-2019-0172.
- [10] Ejsmond MJ, Provenza FD. Is doping of cognitive performance an anti-herbivore adaptation? Alkaloids inhibiting acetylcholinesterase as a case [J]. Ecosphere, 2018, 9 (2): e02129. DOI: 10.1002/ecs2.2129.
- [11] Petrov KA, Kharlamova AD, Lenina OA, et al. Specific inhibition of acetylcholinesterase as an approach to decrease muscarinic side effects during myasthenia gravis treatment [J]. Sci Rep, 2018, 8 (1): 304. DOI: 10.1038/s41598–017–18307–9.
- [12] 郝向波, 房辉, 徐睿哲, 等. 利拉鲁肽对糖尿病大鼠海马神经元的保护作用及可能机制 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2018, 34 (6): 509–515. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000–6699.2018.06.011. Hao XB, Fang H, Xu RZ, et al. Neuroprotective effect and mechanism of liraglutide on hippocampal neurons in diabetic rats [J]. Chin J Endocrinol Metab, 2018, 34 (6): 509–515. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000–6699.2018.06.011.
- [13] Cai XG, Xia JR, Li WD, et al. Anti-fibrotic effects of specific-siRNA targeting of the receptor for advanced glycation end products in a rat model of experimental hepatic fibrosis [J]. Mol Med Rep, 2014, 10 (1): 306–314. DOI: 10.3892/mmr.2014.2207.
- [14] Schmidt AM, Yan SD, Yan SF, et al. The multiligand receptor RAGE as a progression factor amplifying immune and inflammatory responses [J]. J Clin Invest, 2001, 108 (7): 949–955. DOI: 10.1172/JCI14002.
- [15] Napetschnig J, Wu H. Molecular basis of NF- κ B signaling [J]. Annu Rev Biophys, 2013, 42: 443–468. DOI: 10.1146/annurev-biophys-083012–130338.

(收稿日期: 2020–03–30)