

## · 研究论文 ·

## Z-十八碳-9-烯-丙磺酰胺对糖尿病认知功能障碍小鼠学习记忆功能的影响

王翠宝<sup>1</sup>, 李莹<sup>2\*</sup>, 卢华辉<sup>1</sup>, 魏南服<sup>1</sup>, 黄硕<sup>1</sup>, 王韵<sup>1</sup>, 饶荣<sup>1</sup>,  
许淑珍<sup>1</sup>, 任桐<sup>3\*</sup>

(1. 厦门市第五医院麻醉科, 福建 厦门 361000; 2. 厦门医学院药理学系, 福建 厦门 361023;  
3. 厦门大学医学院, 福建 厦门 361105)

**摘要:** 探索新化合物 Z-十八碳-9-烯-丙磺酰胺 (N15) 对糖尿病认知功能障碍 (DACD) 小鼠学习记忆功能的作用及机制。采用链脲佐菌素 (STZ) 连续小剂量腹腔注射以及高脂高糖加 STZ 诱导 2 型糖尿病小鼠模型, N15 (50 和 100 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) 连续灌胃给药 6 周, 于给药末期进行跳台、避暗以及 Morris 水迷宫测试以评价小鼠学习记忆功能; 对海马内葡萄糖和乳酸水平进行测定; 通过 real time PCR 测定海马内突触生长相关蛋白-43 (GAP-43)、突触素 (SYN)、脑源性生长因子 (BDNF) 和神经营养因子-3 (NT-3) mRNA 的表达。结果表明, N15 可显著改善模型小鼠学习记忆能力, 降低海马内葡萄糖和乳酸含量, 显著上调海马内 GAP-43、SYN、BDNF 和 NT-3 mRNA 表达水平。上述结果表明, 新型化合物 N15 具有改善糖尿病认知功能障碍的作用, 其机制可能与增加海马内突触生长相关因子和神经营养因子表达相关。

**关键词:** Z-十八碳-9-烯-丙磺酰胺; 糖尿病认知功能障碍; 海马; 神经保护

中图分类号: R964

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 09-1504-07

## Effects of Z-9-octadecenyl-2-propanesulfonamide on the learning and memory function of diabetes-associated cognitive decline

WANG Cui-bao<sup>1</sup>, LI Ying<sup>2\*</sup>, LU Hua-hui<sup>1</sup>, WEI Nan-fu<sup>1</sup>, HUANG Shuo<sup>1</sup>, WANG Yun<sup>1</sup>,  
RAO Rong<sup>1</sup>, XU Shu-zhen<sup>1</sup>, REN Tong<sup>3\*</sup>

(1. Department of Anesthesiology, Xiamen Fifth Hospital, Xiamen 361000, China; 2. Department of Pharmacy, Xiamen Medical College, Xiamen 361023, China; 3. Medical College, Xiamen University, Xiamen 361105, China)

**Abstract:** This study was designed to investigate the therapeutic effect of novel compound Z-9-octadecenyl-2-propanesulfonamide (N15) on diabetes-associated cognitive decline (DACD). Type 2 diabetes (T2DM) mice models were established with multiple injection of low doses of streptozotocin (STZ) in mice on high fat diet (HFD). Vehicle and different concentrations of N15 (50 and 100 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) were administrated orally for 6 weeks. The step-down test, dark avoidance task and Morris water maze were conducted at the 6<sup>th</sup> week. The level of glucose and lactic acid in hippocampus were determined and mRNA of growth associated protein-43 (GAP-43), synaptophysin (SYN), brain derived neurotrophic factor (BDNF) and neurotrophins-3 (NT-3) in hippocampus were analyzed by real time PCR. The beneficial effects of N15 on learning and memory were

收稿日期: 2018-04-13; 修回日期: 2018-06-06.

基金项目: 福建省教育厅资助项目 (JAT160583).

\*通讯作者 Tel: 86-592-2188676, E-mail: renentt615516@163.com;

Tel: 86-592-2103085, E-mail: yinnlee@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0344

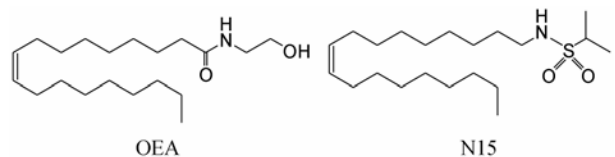
found in the test of step-down, dark avoidance and Morris water maze. N15 reduced the level of glucose and lactic acid in hippocampus of HFD+STZ-induced diabetic encephalopathy model mice. Additionally, the mRNA expression of GAP-43, SYN, BDNF and NT-3 in hippocampus of HFD+STZ-induced diabetic encephalopathy mice were significantly increased by N15 ( $P < 0.01$ ). These results suggest that the novel compound N15 can ameliorate diabetes-associated cognitive decline and the potential mechanism may be associated with the expressions of increased synaptic-related factors and neurotrophic factor in the hippocampus of diabetes-associated cognitive decline in mice.

**Key words:** Z-9-octadecenyl-2-propanesulfonamide; diabetic encephalopathy; hippocampus; neuroprotection

2型糖尿病 (type 2 diabetes, T2DM) 是一种由高糖长期、慢性作用引发的以胰岛素抵抗症状为主要特征并伴有多种并发症的代谢性疾病。随着社会老龄化的加剧和糖尿病人群的扩大,糖尿病患者相关认知功能下降 (diabetes-associated cognitive decline, DACD), 又称为糖尿病认知功能障碍或糖尿病脑病 (diabetic encephalopathy, DE), 其病理改变主要包括认知功能障碍、脑信号传导异常、神经传递及突触可塑性减弱以及底层结构大脑的异常等<sup>[1]</sup>。糖尿病并发中枢系统病理损伤时释放大量炎症因子促使神经细胞的损伤和凋亡,加重了由脑信号传导异常而引发的认知功能障碍及缺血性脑卒中的风险<sup>[2]</sup>。糖尿病诱发的微血管病变所致的脑供血不足和脑萎缩症状等都是引起认知功能障碍的危险因素。近几年很多研究提出糖尿病状态下的高血糖及胰岛素抵抗是阿尔茨海默病发病的独立危险因素,也有很多研究提出阿尔茨海默病可作为3型糖尿病进行研究<sup>[3]</sup>,但是对于糖尿病认知功能障碍的病理生理机制尚未阐明,临床特效治疗手段和靶点药物仍然缺乏,所以深入研究其病理机制,寻找治疗糖尿病认知功能障碍的药物具有重要的临床和社会意义。

Z-十八碳-9-烯-丙磺酰胺 (Z-9-octadecenyl-2-propanesulfonamide, N15), 为油酰乙醇胺 (oleoylethanolamide, OEA) 结构类似物 (化学结构如图1所示), 经过化学改造后其抗水解能力要强于 OEA, 即增强了口服吸收效果。本课题组前期的研究显示, N15 通过激活 PPAR $\alpha/\gamma$  双靶点改善2型糖尿病的胰岛素抵抗和糖异生<sup>[4]</sup>。研究表明, 在兴奋性脑损伤如脑外伤后, 脑内的神经元释放 OEA, 且发挥明显的神经保护作用, 其机制可能部分与其抑制谷氨酸能神经递质的释放有关<sup>[5]</sup>, 这提示 OEA 具有应激性神经保护功能, 先前的研究表明 OEA 对急慢性脑缺血损伤均具有保护作用<sup>[6]</sup>。本课题组的研究结果发现, N15 可显著改善小鼠脑卒中后的神经功能、减小脑梗死体积、减轻脑水肿和血脑屏障破坏程度<sup>[7]</sup>; 显著降

低脑卒中后的海马小胶质细胞以及体外单核细胞内 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 等炎症因子 mRNA 和蛋白的表达<sup>[7,8]</sup>。而 T2DM 后神经元及胶质细胞内 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 表达量的增加与 DE 的发生发展具有重要的关联作用<sup>[9]</sup>。综上所述研究结果表明, N15 具有明显的抗炎作用和抗糖尿病作用, 但 N15 对 DE 是否具有改善作用以及改善机制尚不明确, 因此本文旨在对新化合物 N15 对 T2DM 诱发 DE 后认知障碍的影响及作用机制进行探索。



**Figure 1** The structure of oleoylethanolamid (OEA) and N-(Z)-9-octadecenyl-2-propanesulfonamide (N15)

## 材料与方法

**药品与试剂** N15 由本实验室自行合成; 链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ)、柠檬酸和柠檬酸钠购自美国 Sigma 公司; 高脂高糖饲料购自北京维通利华有限公司; 荧光定量 PCR 试剂盒 (美国 Promega 生物技术有限公司); 葡萄糖、乳酸试剂盒购自南京建成公司。

**动物实验** 40 只 SPF 级雄性 KM 小鼠 [25 g, 合格证号为 SCXK (京) 2016-0027] 和 40 只 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠 [25 g, 合格证号为 SCXK (京) 2016-0041] 购自北京维通利华实验动物技术有限公司。啮齿类动物常规饲料, 自由饮水, 室温 20~24 °C, 12 h 明暗循环环境下适应性喂养 1 周后禁食不禁水 12 h。KM 小鼠随机选取 10 只设为对照组, 其余 30 只腹腔注射 60 mg·kg<sup>-1</sup> STZ (临用前溶解于 0.1 mol·L<sup>-1</sup>、pH 4.2 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲溶液, 现配现用, 置于冰上), 连续注射 3 天。C57BL/6 小鼠随机选取 10 只设为对照组, 其余 30 只给予高脂高糖 (30% 脂肪、20% 糖、15% 蛋白质、2.5% 胆固醇、1% 胆酸钠和

31.5% 碳水化合物) 饲料喂养 6 周后禁食不禁水 12 h 腹腔注射 40 mg·kg<sup>-1</sup> STZ (配置方法同上)。两种小鼠经过以上处理后, 禁食 12 h 尾尖取血检测小鼠空腹血糖, 血糖浓度 ≥ 11.1 mmol·L<sup>-1</sup> 即为 2 型糖尿病模型造模成功, 选取血糖浓度 11.1~20.0 mmol·L<sup>-1</sup> 为实验组, 对照组给予 pH 4.2 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲溶液腹腔注射。将所选实验组小鼠随机分成 3 组, 即模型组、N15 低、高剂量组。对照组和模型组给予生理盐水 0.2 mL·kg<sup>-1</sup> 灌胃处理, N15 低、高剂量组分别给予 N15 50 和 100 mg·kg<sup>-1</sup> 灌胃处理, 每日 1 次。于给药第 6 周, KM 小鼠进行跳台和避暗实验, C57BL/6 小鼠进行 Morris 水迷宫实验。

**跳台实验** 实验前先将小鼠放入跳台中适应 10 min, 通电 36 V, 小鼠受电击会跳上平台躲避电击, 间隔一段时间再次跳下, 训练时间 5 min。24 h 后重测, 在通电情况下先将小鼠放在平台上, 记录潜伏期和跳下次数。

**避暗实验** 实验前先将小鼠放入避暗仪反应箱中适应 10 min, 通电 36 V, 小鼠受电击会逃到明室躲避电击, 间隔一段时间再次钻进暗室, 训练时间 5 min。24 h 后重测, 在通电情况下先将小鼠放在明室内, 记录潜伏期和跳下次数。

### Morris 水迷宫实验

**定位航行实验** 迷宫水温 (23 ± 2) °C, 水深淹没平台, 水中加入牛奶遮掩住气味和老鼠的视野, 小鼠适应环境 1 天后, 训练第 1 天将小鼠面朝水池壁放入水迷宫中, 记录小鼠找到平台的时间 (潜伏期), 如 1 min 内仍未游出潜伏期则以 60 s 计算, 小鼠在平台上停留需 ≥ 10 s, 如此反复训练小鼠 4 次 (每象限 1 次), 取平均潜伏期进行统计, 如此连续测试 5 天, 考察各组小鼠的学习记忆能力。

**空间探索实验** 第 5 天撤去平台, 将小鼠从平台象限对侧入水点放入, 对每只小鼠 60 s 内穿越原平台的次数 (crossing times)、原平台区域游泳时间 (time in target) 和距离 (distance in target)、原平台象限游泳时间 (time in target quadrant) 和距离 (distance in target quadrant) 进行记录分析。

**海马葡萄糖、乳酸含量测试** 水迷宫实验后, 各组小鼠断头取脑, 冰上剥离双侧海马组织, 用预冷 PBS 冲洗后, 按照说明书操作, 检测海马组织内葡萄糖和乳酸含量。

**Real time PCR 法检测** 水迷宫实验后, 各组小鼠断头取脑, 冰水剥离双侧海马组织加入 Trizol 匀浆, 完全裂解组织后加入氯仿 200 μL 振荡, 离心 10 min 弃去上清, 预冷的 75% 乙醇清洗沉淀, 离心 5 min 弃上清。沉淀晾干后 RNase free water 溶解 RNA 沉淀。逆转录体系, PCR 反应体系扩增条件: 94 °C 变性 45 s, 退火 45 s, 周期为 40 个循环, 最后 72 °C 延伸 45 s。内参为 GAPDH, 引物序列见表 1。Real time PCR 定量分析基因表达水平: 按照荧光定量 PCR 检测试剂盒 (Taq Man<sup>®</sup> 2×Universal PCR Master Mix, No Amp Erase<sup>®</sup> UNGb) 的说明进行实验, 整个操作在冰上进行, 注意避光。PCR 结束后得到扩增曲线和 Ct 值,  $\Delta\Delta Ct = (Ct_{目的基因} - Ct_{管家基因})_{实验组} - (Ct_{目的基因} - Ct_{管家基因})_{对照组}$ , 基因差异表达水平用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法计算。

**统计学方法** 采用 Graphpad Prism 5 软件进行分析, 实验结果以 (mean ± SEM) 表示, 多组间比较采用 one way-ANOVA, 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 结果

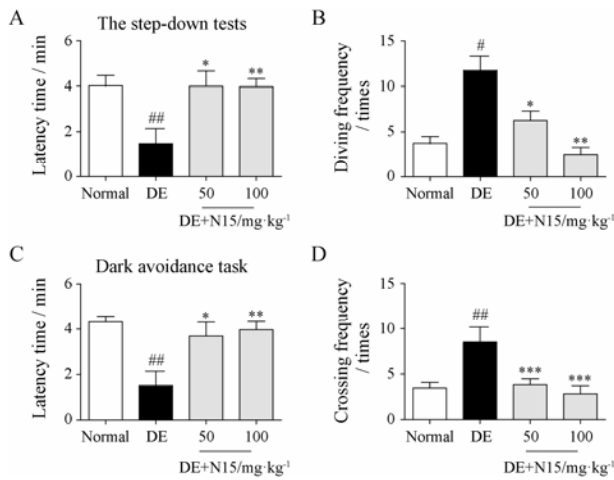
### 1 N15 可明显改善 2 型糖尿病认知功能障碍小鼠学习记忆能力

**1.1 跳台实验** 由图 2A、B 可知, 与对照组相比, 模型组小鼠在跳台上的潜伏期明显减少 ( $P < 0.01$ ), 且错误次数明显增多 ( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 在给予 50 和 100 mg·kg<sup>-1</sup> N15 后, 小鼠在跳台上的潜伏期明显增加 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 错误次数明显减少 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。

**1.2 避暗实验** 由图 2C、D 可知, 与正常组相比, 模型组小鼠的潜伏期明显减少 ( $P < 0.01$ ), 且错误次数明显增多 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比, 在给予 50 和 100 mg·kg<sup>-1</sup> N15 后, 小鼠在明室内的潜伏期明显增加 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 错误次数明显减少 ( $P < 0.001$ )。

**Table 1** Primer sequences used for qPCR. GAP-43: Growth associated protein-43; SYN: Synaptophysin; BDNF: Brain derived neurotrophic factor; NT-3: Neurotrophins-3

Gene	Primer sequence (5'→3')	Primer sequence (3'→5')
GAP-43	GCTAGCTTCCGTGGACACAT	CTTCTCCACACCATCAGCAA
SYN	TCCTCGGCTGAATTCTTTGT	TGGCCCTTTGTGTTCTCT
BDNF	GTA AACGTCCACGGACAAGG	AGTGTCAGCCAGTGATGTCG
NT-3	TGCAACGGACACAGAGCTAC	TGCCCACATAATCCTCCAT

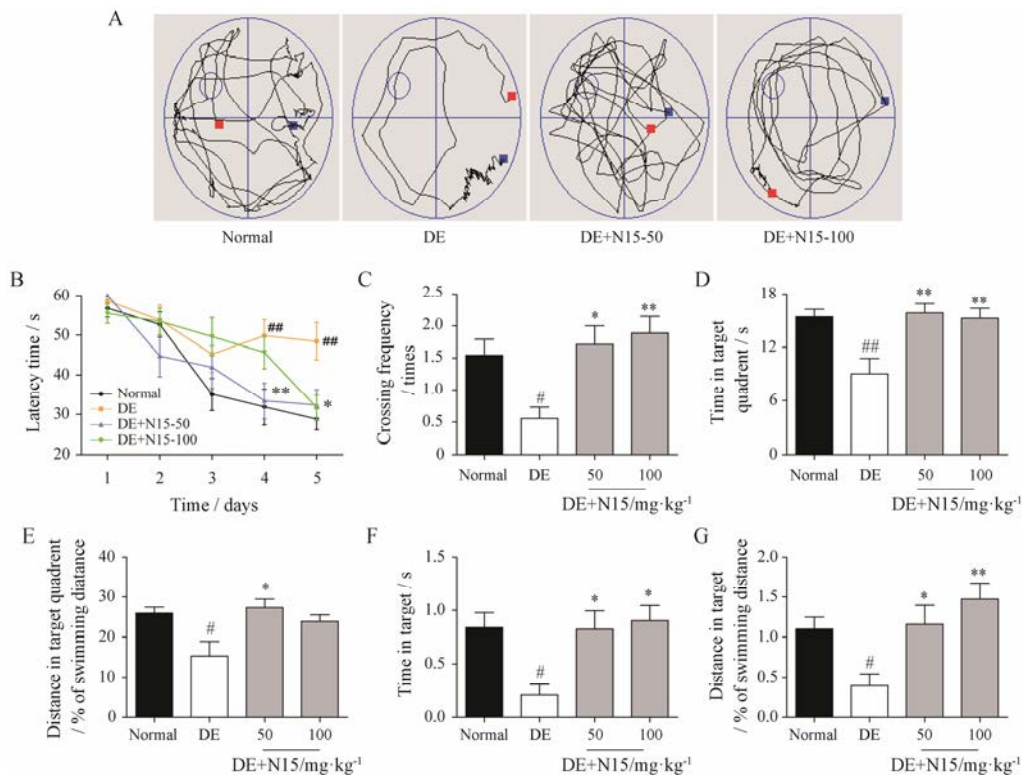


**Figure 2** Effect of N15 on escaping reaction acquisition in step-down test and dark avoidance task of the streptozotocin (STZ)-induced diabetic encephalopathy (DE) model mice. DE mice were treated with saline or N15 at doses of 50 or 100 mg·kg<sup>-1</sup> once a day for 6 weeks. The step-down test and dark avoidance task was measured at the 6<sup>th</sup> week. A: The latency time of step-down tests; B: The diving times of step-down tests; C: The latency time of dark avoidance task; D: The diving times of dark avoidance task. Mean ± SEM, *n* = 10. <sup>#</sup>*P* < 0.05, <sup>##</sup>*P* < 0.01 vs normal group; <sup>\*</sup>*P* < 0.05, <sup>\*\*</sup>*P* < 0.01, <sup>\*\*\*</sup>*P* < 0.001 vs DE group

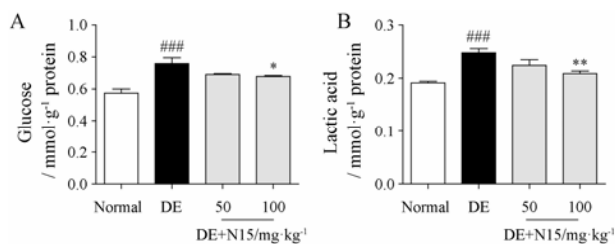
**1.3 水迷宫实验** 由图 3 所示, 随着测试天数的增加, 各组小鼠的潜伏期均有缩短, 相比对照组, 模型组小鼠于训练第 4 和第 5 天出现显著差异 (*P* < 0.01); 与模型组相比, 在给予 50 和 100 mg·kg<sup>-1</sup> N15 后, 小鼠寻找平台的潜伏期明显缩短 (*P* < 0.05, *P* < 0.01), 说明 N15 可明显提高 2 型糖尿病的学习能力。空间探索实验结果显示, 与对照组相比, 模型组小鼠穿越平台的次数明显减少 (*P* < 0.05), 在目标象限以及目标区域所停留时间及游泳距离也明显减少 (*P* < 0.05, *P* < 0.01); 与模型组相比, 在给予 50 和 100 mg·kg<sup>-1</sup> N15 后, 小鼠穿越平台的次数明显增加 (*P* < 0.05, *P* < 0.01), 在目标所在象限以及目标区域停留的时间及游泳距离也明显增加 (*P* < 0.05, *P* < 0.01), 说明 N15 可明显提高 2 型糖尿病的记忆能力。

## 2 N15 可明显降低 2 型糖尿病认知功能障碍小鼠海马内葡萄糖和乳酸含量

由图 4 可知, 与对照组相比, 模型组小鼠海马内葡萄糖和乳酸含量明显增加 (*P* < 0.001), 给予 100 mg·kg<sup>-1</sup> N15 治疗后, 小鼠海马内葡萄糖和乳酸含量明显降低 (*P* < 0.05, *P* < 0.01), 即 N15 改善高



**Figure 3** Beneficial effects of N15 on learning and memory in HFD+STZ-induced DE model mice. DE mice were treated with saline or N15 at doses of 50 or 100 mg·kg<sup>-1</sup> once a day for 6 weeks. The Morris water maze was measured at the 6<sup>th</sup> week. A: Representative path traces in each quadrant during the probe trail; B: The escape latency during acquisition training; C: The crossing times in the hidden platform trails; D: The time spent in the target quadrant; E: The distance spent in the target quadrant; F: The time spent in the target; G: the distance spent in the target. Mean ± SEM, *n* = 10. <sup>#</sup>*P* < 0.05, <sup>##</sup>*P* < 0.01 vs normal group; <sup>\*</sup>*P* < 0.05, <sup>\*\*</sup>*P* < 0.01 vs DE group



**Figure 4** Effect of N15 on the level of glucose and lactic acid in hippocampus of HFD+STZ-induced DE model mice. DE mice were treated with saline or N15 at doses of 50 or 100 mg·kg<sup>-1</sup> once a day for 6 weeks. The level of glucose (A) and lactic acid (B) were measured at the 6<sup>th</sup> week. Mean ± SEM, n = 10. <sup>###</sup>P < 0.001 vs normal group; <sup>\*</sup>P < 0.05, <sup>\*\*</sup>P < 0.01 vs DE group

糖和高乳酸对海马区域神经元的损伤。

### 3 N15 可明显增加 2 型糖尿病认知功能障碍小鼠海马内 GAP-43、SYN、BDNF 和 NT-3 mRNA 表达

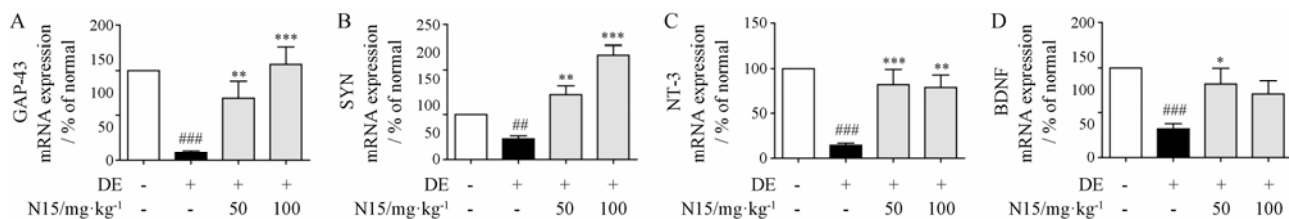
通过 real time-PCR 对小鼠海马内突触成长相关蛋白-43 (GAP-43)、突触素 (SYN)、脑源性生长因子 (BDNF) 和神经营养因子-3 (NT-3) mRNA 表达量进行测定。如图 5 所示, 与对照组相比, 模型组小鼠海马内 GAP-43、SYN、BDNF、NT-3 mRNA 表达量均明显降低 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ), 给予 50 mg·kg<sup>-1</sup> N15 治疗后, 小鼠海马内 GAP-43、SYN、BDNF 和 NT-3 mRNA 明显增加 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ); 在给予 100 mg·kg<sup>-1</sup> N15 治疗后, 小鼠海马内 GAP-43、SYN、NT-3 mRNA 明显增加 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ), 说明 N15 可提高 2 型糖尿病海马内神经营养因子 GAP-43、SYN、BDNF、NT-3 的表达。

### 讨论

糖尿病认知功能障碍是一种以认知功能障碍为主要特点的神经退行性疾病, 大量流行病学研究显示, 慢性高血糖是认知功能障碍和痴呆发病的重要独立危险因素<sup>[10]</sup>, 糖尿病患者发生认知功能障碍的风险是同龄非糖尿病患者的 3 倍<sup>[11]</sup>。海马对血糖浓度的变化非常敏感, 高血糖时神经元会选择性坏死<sup>[12]</sup>,

而反复低血糖也会导致海马萎缩<sup>[13]</sup>。目前对于糖尿病认知功能障碍发病机制主要集中于中枢神经细胞损伤和脑内受体胰岛素抵抗作用, 主要包括: 高糖状态下线粒体功能障碍而导致细胞色素 C 释放激活了凋亡相关蛋白<sup>[14]</sup>; 醛糖还原酶活性增强使葡萄糖转化为山梨醇而引发高渗损伤<sup>[15]</sup>; 晚期糖基化终末产物堆积且与受体结合激发氧化应激反应后促发炎症反应<sup>[16]</sup>;  $\beta$ -淀粉样蛋白堆积构成老年斑核心成分<sup>[17]</sup>; Tau 蛋白的过度磷酸化<sup>[18]</sup>。所以, 降低血糖含量和改善胰岛素抵抗等 2 型糖尿病的基础治疗同样可作为糖尿病认知功能障碍治疗的基础步骤, 在此基础上寻找具有提高学习记忆能力且发挥神经保护性靶点药物, 是糖尿病认知功能障碍药物研究的重要方向之一。

N15 为内源性化合物 OEA 结构类似物, 为脂溶性化合物, 可通过血脑屏障。前期的研究结果已证实 N15 灌胃给药可降低小鼠急性期脑卒中损伤, 改善脑卒中慢性期认知功能障碍, 其机制可能与 PPAR $\alpha/\gamma$  双靶点相关<sup>[7]</sup>, 间接说明 N15 能够在脑内发挥生物学效应。在本研究中, 主要利用小鼠跳台、避暗以及水迷宫实验对小鼠的联想记忆能力以及空间学习记忆能力进行测定。其中跳台和避暗实验是根据小鼠不喜欢平台但喜欢暗室的环境, 故逃离电栅受电击后被动回避性返回平台或明室, 这种被动回避可表现在小鼠受电击后不敢再跳下或逃离电栅或下一次错误跳下平台或返回明室的特点, 即应刺激的学习性和遗忘性, 主要发生部位为大脑皮层<sup>[19]</sup>。实验结果显示, N15 给药后 T2DM 小鼠的潜伏期明显增加, 错误次数明显减少, 说明 N15 治疗可以显著提高糖尿病脑病的联想学习记忆功能。Morris 水迷宫实验的原理是利用小鼠厌恶停留在水中而想要及时找到平台停留, 主要考察的是空间学习记忆能力<sup>[20]</sup>。在本课题研究中, 定位航行训练期间, N15 给药后小鼠寻找平台的潜伏期明显缩短; 空间探索实验中 N15 给药后, 小鼠穿越平台的次数明显增加, 在目标所在象限以及



**Figure 5** Effect of N15 on the mRNA expression of GAP-43, SYN, BDNF and NT-3 in hippocampus of HFD+STZ-induced DE model mice. DE mice were treated with saline or N15 at doses of 50 or 100 mg·kg<sup>-1</sup> once a day for 6 weeks. The values are expressed as percentages compared with the normal group (set to 100%). Mean ± SEM, n = 10. <sup>##</sup>P < 0.01, <sup>###</sup>P < 0.001 vs normal group; <sup>\*</sup>P < 0.05, <sup>\*\*</sup>P < 0.01, <sup>\*\*\*</sup>P < 0.001 vs DE group

目标区域停留的时间及游泳距离也明显增加,提示 N15 可以改善糖尿病脑病的空间学习记忆能力。上述结果显示 N15 对糖尿病动物两种不同学习记忆损伤类型均具有改善作用,提示 N15 对糖尿病认知功能损伤具有改善作用。

海马是脑内学习记忆功能重要区域,2 型糖尿病脑内尤其是海马区域内高糖以及所致高乳酸状态可诱发神经毒性,诱导神经元凋亡,抑制其神经保护功能,最终导致认知功能障碍以及学习记忆能力下降<sup>[21]</sup>。在本研究中,对海马内葡萄糖和乳酸测试结果显示,DE 小鼠海马内葡萄糖和乳酸浓度明显增加。N15 治疗后可明显降低海马内葡萄糖含量和乳酸浓度,减少海马内神经元活动,提示 N15 可通过降低海马内葡萄糖及乳酸水平发挥神经保护功能。GAP-43 是一种神经特异性轴突膜蛋白,在神经元发育和再生过程中以高水平表达<sup>[21]</sup>。SYN 作为另一种突触相关蛋白,参与突触形成和神经细胞发育,发挥神经保护功能<sup>[22]</sup>。GAP-43 和 SYN 是突触可塑性的两个标志物,且均与海马学习记忆功能正相关<sup>[23]</sup>。本研究显示 N15 可明显提高 2 型糖尿病海马内 GAP-43 和 SYN 表达水平,与以往研究结果相似<sup>[24]</sup>,提示 N15 改善 DE 学习记忆功能可能与促进海马突触可塑性有关。神经营养因子是一类对神经元的发育、存活和凋亡起重要作用的蛋白质,其成员包括神经生长因子、BDNF、NT-3 和神经营养因子 4 (NT-4) 等<sup>[3]</sup>,本实验对 BDNF 和 NT-3 进行了检测,结果显示 N15 可明显提高 DE 海马内神经营养因子 BDNF 和 NT-3 的表达。以往的研究表明,2 型糖尿病鼠皮层及海马内突触可塑性相关蛋白和神经营养因子表达均明显减少<sup>[25]</sup>,这与本研究的结果相似,进一步说明 DE 学习记忆能力衰退与突触可塑性和神经营养因子密不可分。此外,前期研究结果显示,N15 为一种新型 PPAR $\alpha/\gamma$  激动剂,并分别通过 PPAR $\alpha$  和 PPAR $\gamma$  靶点发挥脂代谢和糖代谢的调节作用,具有治疗 2 型糖尿病胰岛素抵抗的功效<sup>[4]</sup>,而其是否可通过 PPAR $\alpha$  和 PPAR $\gamma$  靶点发挥糖尿病认知功能障碍保护作用还需要进一步探讨。

综上所述,新型化合物 N15 是一种具有治疗糖尿病认知功能障碍,提高学习记忆功能的新型化合物,在发挥改善糖脂代谢和胰岛素抵抗的同时对糖尿病认知功能障碍也具有治疗作用,具有临床应用的潜在价值。

## References

- [1] Bogush M, Heldt NA, Persidsky Y. Blood brain barrier injury in diabetes: unrecognized effects on brain and cognition [J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2017, 12: 593–601.
- [2] Duarte AI, Santos MS, Oliveira CR, et al. Brain insulin signalling, glucose metabolism and females' reproductive aging: a dangerous triad in Alzheimer's disease [J]. *Neuropharmacology*, 2018. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2018.01.044.
- [3] Bennett AC, Van Camp A, Lopez V, et al. Sceletium tortuosum may delay chronic disease progression *via* alkaloid-dependent antioxidant or anti-inflammatory action [J]. *J Physiol Biochem*, 2018. DOI: 10.1007/s13105-018-0620-6.
- [4] Ren T, Yang WS, Lin Y, et al. A novel PPAR $\alpha/\gamma$  agonist, propane-2-sulfonic acid octadec-9-enyl-amide, ameliorates insulin resistance and gluconeogenesis *in vivo* and *in vitro* [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 826: 1–8.
- [5] Sihag J, Jones PJH. Oleoylethanolamide: the role of a bioactive lipid amide in modulating eating behaviour [J]. *Obes Rev*, 2018, 19: 178–197.
- [6] Yang LC, Guo H, Zhou H, et al. Chronic oleoylethanolamide treatment improves spatial cognitive deficits through enhancing hippocampal neurogenesis after transient focal cerebral ischemia [J]. *Biochem Pharmacol*, 2015, 94: 270–281.
- [7] Li Y, Xu L, Zeng K, et al. Propane-2-sulfonic acid octadec-9-enyl-amide, a novel PPAR $\alpha/\gamma$  dual agonist, protects against ischemia-induced brain damage in mice by inhibiting inflammatory responses [J]. *Brain Behav Immun*, 2017, 66: 289–301.
- [8] Zhao Y, Yan L, Luo XM, et al. A novel PPAR $\alpha$  agonist propane-2-sulfonic acid octadec-9-enyl-amide inhibits inflammation in THP-1 cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 788: 104–112.
- [9] Zhou X, Zhang F, Hu X, et al. Inhibition of inflammation by astaxanthin alleviates cognition deficits in diabetic mice [J]. *Physiol Behav*, 2015, 151: 412–420.
- [10] Bartsch T, Dohring J, Reuter S, et al. Selective neuronal vulnerability of human hippocampal CA1 neurons: lesion evolution, temporal course, and pattern of hippocampal damage in diffusion-weighted MR imaging [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35: 1836–1845.
- [11] Paul KC, Jerrett M, Ritz B. Type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease: overlapping biologic mechanisms and environmental risk factors [J]. *Curr Environ Health Rep*, 2018, 5: 44–58.
- [12] Gonzalez-Reyes RE, Aliev G, Avila-Rodriguez M, et al. Alterations in glucose metabolism on cognition: a possible link between diabetes and dementia [J]. *Curr Pharm Des*, 2016, 22: 812–818.
- [13] Prasad S, Sajja RK, Naik P, et al. Diabetes mellitus and

- blood-brain barrier dysfunction: an overview [J]. *J Pharmacovigil*, 2014, 2: 125.
- [14] Rogers NH, Walsh H, Alvarez-Garcia O, et al. Metabolic benefit of chronic caloric restriction and activation of hypothalamic AGRP/NPY neurons in male mice is independent of ghrelin [J]. *Endocrinology*, 2016, 157: 1430–1442.
- [15] Bahmani F, Bathaie SZ, Aldavood SJ, et al. Glycine therapy inhibits the progression of cataract in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Mol Vis*, 2012, 18: 439–448.
- [16] Endo M. Effects of vanadate on glucose metabolism of the streptozotocin-diabetic rat lens [J]. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, 1993, 97: 333–339.
- [17] Pintana H, Apaijai N, Kerdphoo S, et al. Hyperglycemia induced the Alzheimer's proteins and promoted loss of synaptic proteins in advanced-age female Goto-Kakizaki (GK) rats [J]. *Neurosci Lett*, 2017, 655: 41–45.
- [18] Sciacca MFM, Tempura C, Scollo F, et al. Amyloid growth and membrane damage: current themes and emerging perspectives from theory and experiments on Aβ and hIAPP [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2018. DOI: 10.1016/j.bbame.2018.02.022.
- [19] Tucker LB, Velosky AG, McCabe JT. Applications of the Morris water maze in translational traumatic brain injury research [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2018, 88: 187–200.
- [20] Brandewiede J, Schachner M, Morellini F. Ethological analysis of the senescence-accelerated P/8 mouse [J]. *Behav Brain Res*, 2005, 158: 109–121.
- [21] Kandimalla R, Manczak M, Fry D, et al. Reduced dynamin-related protein 1 protects against phosphorylated Tau-induced mitochondrial dysfunction and synaptic damage in Alzheimer's disease [J]. *Human Mol Genet*, 2016, 25: 4881–4897.
- [22] Long ZM, Zhao L, Jiang R, et al. Valproic acid modifies synaptic structure and accelerates neurite outgrowth *via* the glycogen synthase kinase-3β signaling pathway in an Alzheimer's disease model [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2015, 21: 887–897.
- [23] Levesque L, Annaert W, Craessaerts K, et al. Developmental expression of wild-type and mutant presenilin-1 in hippocampal neurons from transgenic mice: evidence for novel species-specific properties of human presenilin-1 [J]. *Mol Med*, 1999, 5: 542–554.
- [24] Abdelwahed OM, Tork OM, Gamal El Din MM, et al. Effect of glucagon-like peptide-1 analogue; exendin-4, on cognitive functions in type 2 diabetes mellitus; possible modulation of brain derived neurotrophic factor and brain visfatin [J]. *Brain Res Bull*, 2018, 139: 67–80.
- [25] Tian X, Liu Y, Ren G, et al. Resveratrol limits diabetes-associated cognitive decline in rats by preventing oxidative stress and inflammation and modulating hippocampal structural synaptic plasticity [J]. *Brain Res*, 2016, 1650: 1–9.