

姜黄素对糖尿病并发抑郁症模型大鼠的改善作用及机制^Δ

张洪艳^{1*}, 张玉平², 张燕娇¹, 郑静静¹, 卞睿¹, 李文慧³, 任卫东⁴ (1. 河北北方学院附属第一医院神经内三科, 河北 张家口 075000; 2. 河北北方学院病理生理教研室, 河北 张家口 075000; 3. 河北北方学院附属第二医院心血管内科, 河北 张家口 075100; 4. 河北北方学院附属第一医院内分泌科, 河北 张家口 075000)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2024)08-0942-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.08.08



摘要 **目的** 基于环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(CREB)/脑源性神经营养因子(BDNF)信号通路,研究姜黄素对糖尿病并发抑郁症模型大鼠的改善作用及潜在机制。**方法** 采用高脂高糖饲料喂养+腹腔注射链脲佐菌素+慢性不可预测性应激致郁的方法构建糖尿病并发抑郁症模型大鼠。将造模成功的大鼠随机分成模型组,阳性对照组(0.18 g/kg 二甲双胍和1.8 mg/kg 氟西汀,灌胃),姜黄素低、高剂量组(30、60 mg/kg,灌胃)和姜黄素高剂量+CREB抑制剂组[60 mg/kg 姜黄素(灌胃)+5 mg/kg CREB抑制剂666-15(腹腔注射)],每组12只。另选取12只健康大鼠作为正常组。各组大鼠给予相应干预4周后,检测大鼠空腹血糖并对其抑郁症状进行评估;检测大鼠血清中皮质酮(CORT)、炎症因子[肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素1 β (IL-1 β)、IL-6]水平和海马组织中去甲肾上腺素(NE)、5-羟色胺(5-HT)水平;观察大鼠海马组织病理学变化并检测神经元凋亡情况;检测大鼠海马组织中CREB、BDNF mRNA及蛋白的表达水平。**结果** 与正常组相比,模型组大鼠海马组织损伤严重,神经元分散;空腹血糖,强迫游泳不动时间和悬尾不动时间,血清中CORT、TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平,神经元凋亡指数均显著升高或延长($P<0.05$);海马组织中NE、5-HT水平,存活神经元数以及CREB、BDNF mRNA及蛋白表达水平均显著降低或减少($P<0.05$)。与模型组相比,阳性对照组和姜黄素各剂量组大鼠海马组织损伤有所减轻,各定量指标均显著改善($P<0.05$),且姜黄素高剂量组的改善效果显著优于低剂量组($P<0.05$);CREB抑制剂可显著逆转高剂量姜黄素对模型大鼠的改善作用($P<0.05$)。**结论** 姜黄素可改善糖尿病并发抑郁症模型大鼠的抑郁症状,减轻神经元损伤和炎症反应,其作用可能与激活CREB/BDNF信号通路有关。**关键词** 姜黄素;糖尿病;抑郁症;CREB/BDNF信号通路;炎症反应;海马组织;神经元

Ameliorative effect and mechanism of curcumin on diabetes model rats with depression

ZHANG Hongyan¹, ZHANG Yuping², ZHANG Yanjiao¹, ZHENG Jingjing¹, BIAN Rui¹, LI Wenhui³, REN Weidong⁴ (1. Dept. of Third Neurology, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Hebei Zhangjiakou 075000, China; 2. Dept. of Pathophysiology, Hebei North University, Hebei Zhangjiakou 075000, China; 3. Dept. of Cardiovascular Medicine, the Second Affiliated Hospital of Hebei North University, Hebei Zhangjiakou 075100, China; 4. Dept. of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Hebei Zhangjiakou 075000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To study the ameliorative effect and potential mechanism of curcumin on diabetes model rats with depression based on cAMP response element binding protein (CREB)/brain-derived neurotrophic factor (BDNF) signaling pathway. **METHODS** The diabetes model rat with depression was established by high fat and high sugar diet+intraperitoneal injection of streptozotocin+chronic unpredictable stress-induced depression. The successfully modeled rats were randomly divided into model group, positive control group (0.18 g/kg metformin and 1.8 mg/kg fluoxetine, gavage), curcumin low-dose and high-dose groups (30, 60 mg/kg, gavage) and curcumin high-dose+CREB inhibitor group [60 mg/kg curcumin (gavage)+5 mg/kg CREB inhibitor 666-15 (intraperitoneal injection)], with 12 rats in each group. Another 12 healthy rats were selected as the normal group. Each group was given a corresponding intervention for 4 weeks, the fasting blood glucose level of rats was detected, and the depression of rats was assessed. The levels of corticosterone (CORT) and inflammatory factors [tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6] in serum, and the levels of norepinephrine (NE) and 5-hydroxytryptamine (5-HT) in hippocampal tissue were determined. The pathological changes and neuronal apoptosis were observed in the hippocampal tissue of rats in each group; the expression levels of CREB, BDNF mRNA and protein in hippocampal tissue were detected. **RESULTS** Compared with the normal group, the hippocampal tissue of rats in the model group was severely damaged, and neurons were scattered, while the fasting blood glucose, the forced swimming immobility time, the tail suspension immobility time, serum levels of CORT, TNF- α , IL-1 β and IL-6, and neuron apoptosis indexes were all increased or prolonged significantly ($P<0.05$). The levels of NE and 5-HT, the number of surviving neurons, and the expression levels of CREB and BDNF mRNA and protein in hippocampal tissue were decreased significantly ($P<0.05$). Compared with the model group, the damage to hippocampal tissue was relieved

^Δ 基金项目 河北省医学科学研究课题计划项目(No.20200529);
河北省中医药类科研计划项目(No.2021189)

* 第一作者 主治医师,硕士。研究方向:抑郁症等精神心理疾病的治疗。E-mail: zhanghy294@163.com

in the positive control group and curcumin groups, while the above indexes were improved significantly ($P<0.05$). The improvement effect of curcumin high-dose group was better than that of curcumin low-dose group ($P<0.05$). CREB inhibitor could significantly reverse the ameliorative effect of high-dose curcumin on the model rats ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Curcumin can improve the depression of diabetes model rats with depression, and relieve neuronal damage and inflammatory response, the mechanism of which may be associated with activating CREB/BDNF signaling pathway.

KEYWORDS curcumin; diabetes; depression; CREB/BDNF signaling pathway; inflammation reaction; hippocampal tissue; neurons

糖尿病是一种常见的代谢性疾病,可引发多种并发症。抑郁症作为常见的糖尿病并发症之一,在发展中国家发病率较高,可双向诱发疾病,严重时可导致线粒体功能障碍和神经系统损伤,造成患者心理紊乱和焦虑^[1]。药物治疗是糖尿病并发抑郁症的主要治疗方法之一,常用药物包括抗抑郁药物和抗精神病药物。但此类药物价格高昂,容易产生依赖性和肝肾毒性^[2]。因此,开发新的糖尿病并发抑郁症治疗药物具有重要意义。

脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)是神经元分化、生长等一系列活动所必需的物质,可改善神经损伤,促进突触形成,进一步参与海马神经元的恢复^[3-4]。环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)是一种转录因子,可进入细胞核,与DNA特定序列结合,从而启动或增强BDNF的表达,进而加速神经元生长,对神经损伤引起的学习能力减退具有良好的改善作用^[5]。相关研究显示,激活CREB/BDNF信号通路可有助于药物发挥改善神经损伤、抗抑郁的作用^[6-7]。由此可知,该信号通路可能是糖尿病并发抑郁症的重要干预靶点。

姜黄素作为一种常见的多酚化合物,主要从天南星科植物中提取而得,具有抗炎、降血脂、抗肿瘤等多种药理活性,对神经损伤也有较好的保护作用^[8]。由此推测,姜黄素可能对糖尿病并发抑郁症引起的神经损伤具有改善作用。基于此,本研究拟基于CREB/BDNF信号通路,初步探讨姜黄素对糖尿病并发抑郁症模型大鼠的改善作用及潜在机制,以期对糖尿病并发抑郁症的治疗提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

Biosen C_Line型血糖仪购自郑州尊铂商贸有限公司;DM6B型显微镜、AC-4型荧光定量聚合酶链式反应(PCR)仪均购自杭州秋籁科技有限公司;E5001-SDB型凝胶成像系统购自北京中科欣业科技有限公司。

1.2 主要药品与试剂

姜黄素原料药(批号151-7-9,纯度99.5%)购自陕西建和生物技术有限公司;盐酸二甲双胍片(批号20210714,规格0.85 g)购自中美上海施贵宝制药有限公司;盐酸氟西汀片(批号20210813,规格10 mg)购自常州四药制药有限公司;CREB抑制剂666-15试剂盒(批号M00714)购自美国AbMole公司;链脲佐菌素、Nissl染色液、TUNEL染色液、反转录试剂盒、发光染色液(批号分别是S81335、S83279、S90157、S15274、S51273)均购自

武汉博士德生物工程有限公司;大鼠去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、皮质酮(corticosterone, CORT)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号分别是ml002873、ml059511、ml002859、ml037361、ml102828、ml002893)均购自上海酶联生物科技有限公司;Trizol试剂以及兔源甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、CREB、BDNF抗体(批号分别是EX-109-1、EX-107-1、EX-116-2、EX-118-3)均购自武汉市亦新生物技术有限公司;PCR试剂盒、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗(批号分别是TX191、TX207)均购自深圳市台欣生物技术有限公司。

1.3 实验动物及饲料

本研究所用动物为雄性SPF级SD大鼠,体重264~283 g,10周龄,购自湖南嘉泰实验动物有限公司,动物生产许可证号为SCXK(湘)2020-0006。大鼠均饲养在相对湿度(51 $\pm$ 5)%、温度(24 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C、每12 h明暗交替的环境中。本研究方案经河北北方学院附属第一医院伦理委员会批准,批准号为附一院(伦审)-2023-3。高脂高糖饲料(批号S74549)购自武汉博士德生物工程有限公司。

2 方法

2.1 造模、分组及给药

参考文献[9]方法建立糖尿病并发抑郁症大鼠模型,具体操作如下:以高脂高糖饲料连续喂养大鼠8周后,一次性腹腔注射链脲佐菌素35 mg/kg,3 d后采用血糖仪检测其空腹血糖,若空腹血糖 >16.7 mmol/L即表明糖尿病大鼠模型复制成功;继续采用慢性不可预测性应激致郁的方法[应激方式包括昼夜颠倒、鼠笼反复倾斜(角度 $>45^{\circ}$)、4 $^{\circ}$ C冰水游泳5 min、打湿垫板、行为约束、噪声刺激、夹尾3 min,每天选取其中1种]连续刺激28 d。末次刺激后进行强迫游泳实验及悬尾实验,记录大鼠强迫游泳不动时间、悬尾不动时间,若两者均超过2 min即表明糖尿病并发抑郁症大鼠模型复制成功。将造模成功的大鼠随机分为模型组,阳性对照组,姜黄素低、高剂量组和姜黄素高剂量+CREB抑制剂组,每组12只。同时,选取12只健康大鼠作为正常组。阳性对照组大鼠灌胃0.18 g/kg二甲双胍和1.8 mg/kg氟西汀^[9];姜黄素低、高剂量组大鼠分别灌胃30、60 mg/kg姜黄素^[10];姜黄素高剂量+CREB抑制剂组大鼠灌胃60 mg/kg姜黄素,并腹腔注射5 mg/kg CREB抑制剂666-15(CREB抑制剂的

给药剂量依据相应试剂盒要求设置);模型组和正常组大鼠灌胃等体积生理盐水;每天1次,连续4周。给药期间,正常组大鼠以普通饲料喂养,其余各组大鼠以高脂高糖饲料喂养,且不再给予应激刺激。

2.2 大鼠空腹血糖检测及抑郁症状评估

末次给药后24 h,检测各组大鼠空腹血糖值,然后进行强迫游泳实验及悬尾实验以评估大鼠抑郁症状。(1)强迫游泳实验:实验用水桶高为50 cm,直径为30 cm,向桶中加入清水(水深为30 cm,水温保持22℃),将各组大鼠放于水中,确保其前肢不依附桶壁,后肢不依靠桶底支撑,游泳5 min,利用影像记录各组大鼠的不动时间。(2)悬尾实验:大鼠尾部悬挂置于高50 cm的空间内,确保其不能通过四肢接触物体,持续悬挂6 min,利用影像记录各组大鼠的不动时间。大鼠上述实验不动时间越长表示抑郁症状越严重。

2.3 大鼠血清中CORT和炎症因子水平检测

上述行为学实验完成后,大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉,于腹主动脉取血,离心后分离血清,采用ELISA法检测大鼠血清中CORT和炎症因子(TNF-α、IL-1β、IL-6)水平。

2.4 大鼠海马组织中NE、5-HT水平检测

取血完成后,处死大鼠,迅速取脑并分离海马组织,将部分海马组织置于4%多聚甲醛中固定,部分用液氮处理后置于-70℃冰箱中保存备用;剩余海马组织制成组织匀浆,离心后取上清液,采用ELISA法检测大鼠海马组织中NE、5-HT水平。

2.5 大鼠海马组织病理学观察及神经元凋亡检测

取在4%多聚甲醛中固定24 h的各组大鼠海马组织,以不同体积分数乙醇梯度脱水,经二甲苯透明后制作常规石蜡切片(厚度4 μm),脱蜡至水后按照相应试剂盒说明书方法分别进行Nissl染色、TUNEL染色。随机选取5个视野,分别记录存活神经元数和凋亡神经元数(均取平均值),计算凋亡指数(凋亡指数=凋亡神经元数/神经元总数×100%)。

2.6 大鼠海马组织中CREB、BDNF mRNA水平检测

取冻存的各组大鼠海马组织适量,通过Trizol法提取总RNA,按照反转录试剂盒说明书方法将其反转录成cDNA,然后进行PCR扩增。本研究所用引物由北京擎科生物技术有限公司设计、合成。β-肌动蛋白(β-actin)正向引物为5'-TCAGGTCATCACTATCGGCAAT-3',反向引物为5'-AAAGAAAGGGTGTAAAACGCA-3'; CREB正向引物为5'-CCCCGATTACCAAAGTAG-3',反向引物为5'-TGCTTCAATGTTCTTCATT-3'; BDNF正向引物为5'-GACAAGGCAACTTGGCCTAC-3',反向引物为5'-CCTGTACACACGCTCAGCTG-3'。反应体系和反应条件均参照PCR试剂盒说明书设置,采用2^{-ΔΔCt}法计算CREB、BDNF mRNA的表达水平,结果以正常组为参照进行归一化处理。

2.7 大鼠海马组织中CREB/BDNF信号通路相关蛋白表达检测

取冻存的各组大鼠海马组织适量,研磨后加入蛋白裂解液,充分振荡混匀,加入蛋白提取液,静置5 min,于4℃下以1 500 r/min离心5 min,收集上清液;取适量上清液(200 μL)与上样缓冲液混合后加热变性,然后取变性蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,转膜后,以5%脱脂奶粉封闭2 h;加入CREB、BDNF、GAPDH一抗(稀释度均为1:1 100),4℃孵育过夜;弃去封闭液,用TBST缓冲液清洗5 min×3次,加入相应二抗(稀释度为1:1 650),常温孵育30 min;用TBST缓冲液清洗5 min×3次,用发光染色液浸泡染色60 s,取出后吸去多余水分,置于凝胶成像系统上成像,以目的蛋白与内参蛋白(GAPDH)的条带灰度值比值表示目的蛋白的表达水平。

2.8 统计学方法

采用SPSS 25.0软件对数据进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用SNK-*q*检验。检验水准α=0.05。

3 结果

3.1 姜黄素对模型大鼠空腹血糖及抑郁症状的影响

与正常组相比,模型组大鼠的空腹血糖、强迫游泳不动时间、悬尾不动时间均显著升高或延长(*P*<0.05)。与模型组相比,阳性对照组和姜黄素低、高剂量组大鼠的空腹血糖、强迫游泳不动时间、悬尾不动时间均显著降低或缩短(*P*<0.05);且姜黄素高剂量组大鼠上述指标均显著低于或短于姜黄素低剂量组(*P*<0.05)。与姜黄素高剂量组相比,姜黄素高剂量+CREB抑制剂组大鼠的空腹血糖、强迫游泳不动时间、悬尾不动时间均显著升高或延长(*P*<0.05)。结果见表1。

表1 各组大鼠空腹血糖、强迫游泳不动时间、悬尾不动时间比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	空腹血糖/(mmol/L)	强迫游泳不动时间/s	悬尾不动时间/s
正常组	4.51±0.31	61.25±4.26	76.63±5.52
模型组	18.15±0.41 ^a	170.63±7.83 ^a	188.25±7.26 ^a
阳性对照组	7.82±0.52 ^b	102.66±7.52 ^b	114.62±6.63 ^b
姜黄素低剂量组	12.16±0.47 ^b	126.62±6.26 ^b	147.52±7.63 ^b
姜黄素高剂量组	8.08±0.56 ^c	104.34±6.63 ^c	118.15±7.84 ^c
姜黄素高剂量+CREB抑制剂组	11.26±0.63 ^d	124.68±7.63 ^d	144.48±7.52 ^d

a:与正常组相比,*P*<0.05;b:与模型组相比,*P*<0.05;c:与姜黄素低剂量组相比,*P*<0.05;d:与姜黄素高剂量组相比,*P*<0.05。

3.2 姜黄素对模型大鼠血清中CORT和炎症因子水平的影响

与正常组相比,模型组大鼠血清中CORT、TNF-α、IL-1β、IL-6水平均显著升高(*P*<0.05)。与模型组相比,阳性对照组和姜黄素低、高剂量组大鼠血清中上述指标水平均显著降低(*P*<0.05);且姜黄素高剂量组大鼠血清中上述指标水平均显著低于姜黄素低剂量组(*P*<0.05)。与姜黄素高剂量组相比,姜黄素高剂量+CREB抑制剂组大鼠血清中上述指标水平均显著升高(*P*<0.05)。结果见表2。

表2 各组大鼠血清中CORT、TNF-α、IL-1β和IL-6水平比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	CORT/(ng/mL)	TNF-α/(pg/mL)	IL-1β/(pg/mL)	IL-6/(pg/mL)
正常组	35.24±4.69	12.40±2.15	7.31±1.28	21.08±3.47
模型组	82.38±7.05 ^a	97.62±5.03 ^a	65.29±4.54 ^a	85.56±6.15 ^a
阳性对照组	42.60±5.12 ^b	20.75±3.19 ^b	15.47±2.01 ^b	30.61±4.22 ^b
姜黄素低剂量组	66.53±6.34 ^b	54.81±4.76 ^b	44.35±3.63 ^b	59.87±5.35 ^b
姜黄素高剂量组	44.15±5.08 ^{bc}	21.03±3.20 ^{bc}	16.12±2.25 ^{bc}	32.09±4.60 ^{bc}
姜黄素高剂量+CREB抑制剂组	65.96±6.27 ^d	56.59±4.88 ^d	45.95±3.86 ^d	56.70±5.43 ^d

a: 与正常组相比, $P<0.05$; b: 与模型组相比, $P<0.05$; c: 与姜黄素低剂量组相比, $P<0.05$; d: 与姜黄素高剂量组相比, $P<0.05$ 。

3.3 姜黄素对模型大鼠海马组织中NE、5-HT水平的影响

与正常组相比, 模型组大鼠海马组织中NE、5-HT水平均显著降低($P<0.05$); 与模型组相比, 阳性对照组和姜黄素低、高剂量组大鼠海马组织中NE、5-HT水平均显著升高($P<0.05$); 且姜黄素高剂量组大鼠海马组织中上述指标水平均显著高于姜黄素低剂量组($P<0.05$)。与姜黄素高剂量组相比, 姜黄素高剂量+CREB抑制剂组大鼠海马组织中NE、5-HT水平均显著降低($P<0.05$)。结果见表3。

表3 各组大鼠海马组织中NE、5-HT水平比较($\bar{x} \pm s, n=12, \text{ng/g}$)

组别	NE	5-HT
正常组	135.25±20.43	207.08±23.61
模型组	70.69±11.51 ^a	109.53±11.79 ^a
阳性对照组	124.33±15.08 ^b	189.52±20.07 ^b
姜黄素低剂量组	95.50±12.60 ^b	150.19±16.17 ^b
姜黄素高剂量组	122.85±14.76 ^{bc}	191.02±20.58 ^{bc}
姜黄素高剂量+CREB抑制剂组	96.42±16.15 ^d	151.73±17.95 ^d

a: 与正常组相比, $P<0.05$; b: 与模型组相比, $P<0.05$; c: 与姜黄素低剂量组相比, $P<0.05$; d: 与姜黄素高剂量组相比, $P<0.05$ 。

3.4 姜黄素对模型大鼠海马组织病理学变化及神经元凋亡的影响

正常组大鼠海马组织中神经元结构完整, 有丰富的尼氏小体。与正常组相比, 模型组大鼠海马组织损伤严重, 神经元分散, 尼氏小体数量减少; 存活神经元数显著减少, 凋亡指数显著升高($P<0.05$)。与模型组相比, 阳性对照组和姜黄素低、高剂量组大鼠海马组织损伤有所改善, 神经元分散现象逐渐缓解, 尼氏小体数量增多; 存活神经元数显著增加, 凋亡指数显著降低($P<0.05$); 且姜黄素高剂量组大鼠海马组织存活神经元数显著高于姜黄素低剂量组, 凋亡指数显著低于姜黄素低剂量组($P<0.05$)。与姜黄素高剂量组相比, 姜黄素高剂量+CREB抑制剂组大鼠海马组织中神经元较为分散, 尼氏小体数量较少; 存活神经元数显著减少, 凋亡指数显著升高($P<0.05$)。结果见图1、图2、表4。

3.5 姜黄素对模型大鼠海马组织中CREB、BDNF mRNA表达的影响

与正常组相比, 模型组大鼠海马组织中CREB、BDNF mRNA表达水平均显著降低($P<0.05$)。与模型组相比, 阳性对照组和姜黄素低、高剂量组大鼠海马组

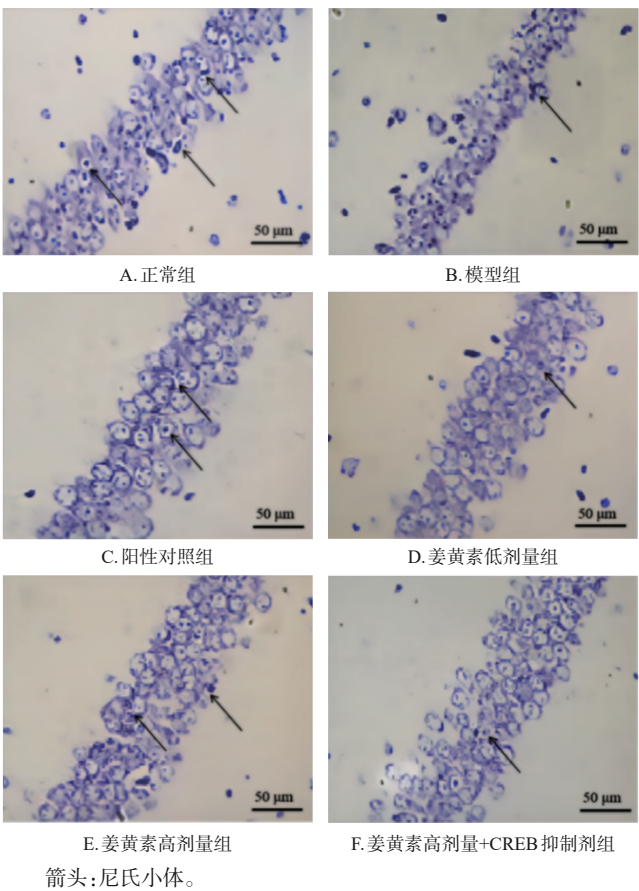


图1 各组大鼠海马组织的Nissl染色结果

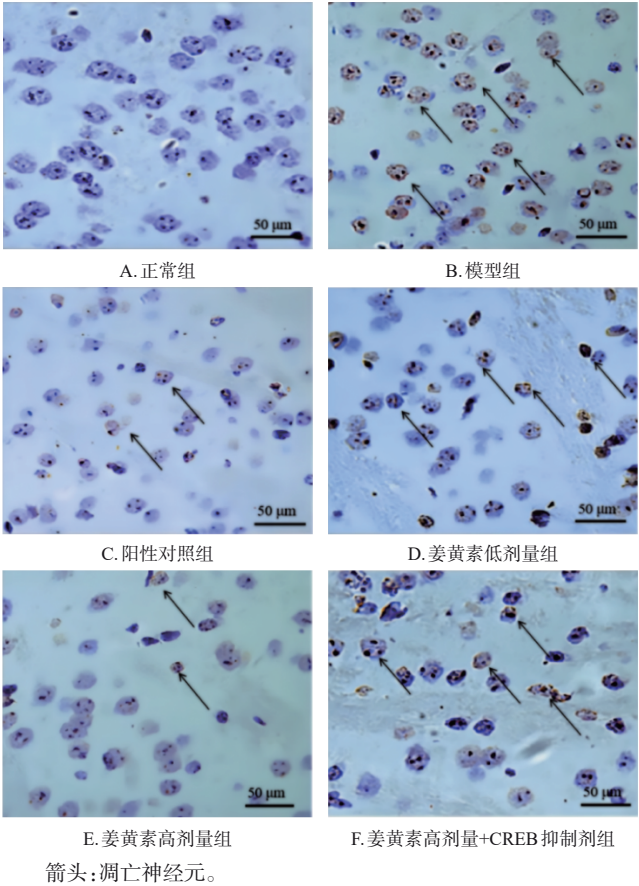


图2 各组大鼠海马组织的TUNEL染色结果

表4 各组大鼠海马组织神经元存活和凋亡情况($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	存活神经元/个	凋亡指数/%
正常组	70.63 $\pm$ 5.26	4.63 $\pm$ 0.73
模型组	19.24 $\pm$ 3.34 ^a	52.56 $\pm$ 6.73 ^a
阳性对照组	54.42 $\pm$ 6.63 ^b	14.63 $\pm$ 3.32 ^b
姜黄素低剂量组	35.63 $\pm$ 5.74 ^b	36.52 $\pm$ 4.43 ^b
姜黄素高剂量组	52.88 $\pm$ 6.47 ^{bc}	14.35 $\pm$ 3.73 ^{bc}
姜黄素高剂量+CREB抑制剂组	34.46 $\pm$ 5.70 ^d	37.73 $\pm$ 3.76 ^d

a: 与正常组相比, $P<0.05$; b: 与模型组相比, $P<0.05$; c: 与姜黄素低剂量组相比, $P<0.05$; d: 与姜黄素高剂量组相比, $P<0.05$ 。

织中 CREB、BDNF mRNA 表达水平均显著升高 ($P<0.05$); 且姜黄素高剂量组大鼠海马组织中上述指标表达水平均显著高于姜黄素低剂量组 ($P<0.05$)。与姜黄素高剂量组相比, 姜黄素高剂量+CREB 抑制剂组大鼠海马组织中 CREB、BDNF mRNA 表达水平均显著降低 ($P<0.05$)。结果见表5。

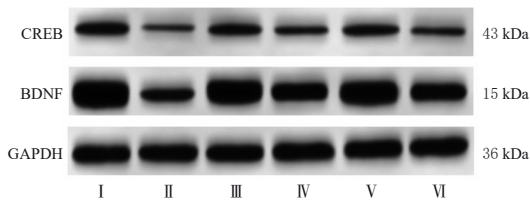
表5 各组大鼠海马组织中 CREB、BDNF mRNA 和蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	CREB		BDNF	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
正常组	1.01 $\pm$ 0.07	0.78 $\pm$ 0.10	1.02 $\pm$ 0.05	2.26 $\pm$ 0.25
模型组	0.24 $\pm$ 0.03 ^a	0.21 $\pm$ 0.03 ^a	0.31 $\pm$ 0.04 ^a	0.78 $\pm$ 0.11 ^a
阳性对照组	0.81 $\pm$ 0.12 ^b	0.64 $\pm$ 0.09 ^b	0.78 $\pm$ 0.11 ^b	1.72 $\pm$ 0.21 ^b
姜黄素低剂量组	0.54 $\pm$ 0.08 ^b	0.42 $\pm$ 0.06 ^b	0.49 $\pm$ 0.07 ^b	1.16 $\pm$ 0.16 ^b
姜黄素高剂量组	0.78 $\pm$ 0.10 ^{bc}	0.61 $\pm$ 0.08 ^{bc}	0.82 $\pm$ 0.12 ^{bc}	1.70 $\pm$ 0.19 ^{bc}
姜黄素高剂量+CREB抑制剂组	0.55 $\pm$ 0.07 ^d	0.39 $\pm$ 0.05 ^d	0.47 $\pm$ 0.06 ^d	1.17 $\pm$ 0.15 ^d

a: 与正常组相比, $P<0.05$; b: 与模型组相比, $P<0.05$; c: 与姜黄素低剂量组相比, $P<0.05$; d: 与姜黄素高剂量组相比, $P<0.05$ 。

3.6 姜黄素对模型大鼠海马组织中 CREB、BDNF 蛋白表达的影响

与正常组相比, 模型组大鼠海马组织中 CREB、BDNF 蛋白表达水平均显著降低 ($P<0.05$)。与模型组相比, 阳性对照组和姜黄素低、高剂量组大鼠海马组织中 CREB、BDNF 蛋白表达水平均显著升高 ($P<0.05$); 且姜黄素高剂量组大鼠海马组织中上述蛋白表达水平均显著高于姜黄素低剂量组 ($P<0.05$)。与姜黄素高剂量组相比, 姜黄素高剂量+CREB 抑制剂组大鼠海马组织中 CREB、BDNF 蛋白表达水平均显著降低 ($P<0.05$)。结果见图3、表5。



I: 正常组; II: 模型组; III: 阳性对照组; IV: 姜黄素低剂量组; V: 姜黄素高剂量组; VI: 姜黄素高剂量+CREB抑制剂组。

图3 各组大鼠海马组织中 CREB、BDNF 蛋白表达的电泳图

4 讨论

姜黄素作为多酚化合物, 具有来源广泛、价格便宜等优点, 且生物学功能丰富, 被广泛应用于各医药学研

究领域, 现已证实可保护神经元, 改善中枢神经系统类疾病症状^[11]; 同时, 姜黄素可抑制脑缺血引起的神经元凋亡, 加速神经元再生, 且具有抗抑郁活性^[12-13]。本研究结果显示, 经姜黄素处理后, 模型大鼠空腹血糖、强迫游泳不动时间、悬尾不动时间均显著降低或缩短, 表明姜黄素可降低大鼠血糖, 缓解其抑郁症状。

海马组织是发挥神经功能的重要组织, 糖尿病及抑郁症均可导致海马组织损伤, 引起病理学变化, 因此海马组织的病理特征是判断糖尿病并发抑郁症的重要指标^[14]。研究显示, 长期慢性压力所致的 CORT 过量生成会损害海马神经元并诱发抑郁症状 (如情绪低落、无价值感、失眠、健忘等)^[15]。NE 是一种单胺类神经递质, 其在脑组织中含量降低会导致抑郁症发生; 5-HT 可维持神经稳定、调节情绪, 其水平与抑郁症严重程度呈负相关^[16]。此外, 炎症反应与抑郁症的发生、海马组织的损伤密切相关, 糖尿病并发抑郁症患者血清中促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平较高^[17]。本研究结果显示, 经阳性对照药及低、高剂量姜黄素处理后, 大鼠海马组织中神经元分散现象得以缓解, 存活神经元数和海马组织中 NE、5-HT 水平均显著增加或升高, 神经元凋亡指数和血清中 CORT、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平均显著降低, 表明姜黄素可抑制海马组织神经元凋亡和炎症反应, 保护神经元, 从而减轻糖尿病并发抑郁症引起的神经损伤。

CREB 对神经元具有保护作用, 激活后的 CREB 可促进动物多功能干细胞神经分化, 保护神经功能; 而脑损伤则会抑制 CREB 表达, 加速神经元凋亡^[18]。据报道, 丙泊酚可通过激活 CREB 来缓解脑缺血引起的神经损伤^[19]。BDNF 是受 CREB 调控的下游因子, 激活 CREB/BDNF 信号通路可减轻抑郁症模型大鼠的海马神经元损伤^[7]。研究指出, 在抑郁症模型小鼠中, 药物抗抑郁作用的发挥亦与激活 CREB/BDNF 信号通路有关^[20]。本研究结果显示, 经阳性对照药及低、高剂量姜黄素处理后, 大鼠海马组织中 CREB、BDNF mRNA 及蛋白的表达水平均显著升高。由此推测, 姜黄素可能是通过调节 CREB、BDNF 的表达来发挥神经元保护作用。为了验证此推测, 本研究在高剂量姜黄素的基础上添加了 CREB 抑制剂进行干预, 结果显示, CREB 抑制剂可逆转高剂量姜黄素对糖尿病并发抑郁症模型大鼠的改善作用。

综上所述, 姜黄素可改善糖尿病并发抑郁症模型大鼠的抑郁症状, 减轻神经元损伤和炎症反应, 其作用与激活 CREB/BDNF 信号通路有关。本研究初步证实了姜黄素可通过激活 CREB/BDNF 信号通路来改善糖尿病并发抑郁症大鼠的神经损伤, 然而是否有其他通路间接参与调控神经元损伤, 还有待进一步实验加以证明。

参考文献

[1] PRIGGE R, WILD S H, JACKSON C A. Depression, diabetes, comorbid depression and diabetes and risk of all-cause and cause-specific mortality: a prospective cohort study[J]. Diabetologia, 2022, 65(9): 1450-1460.

- [2] 司天梅,王振,李凌江. 抗抑郁药品临床综合评价专家共识[J]. 中国药房,2023,34(13):1547-1554.
SI T M, WANG Z, LI L J. Expert consensus on comprehensive clinical evaluation of antidepressant drugs[J]. China Pharm,2023,34(13):1547-1554.
- [3] SHARMA V, SINGH T G, KAUR A, et al. Brain-derived neurotrophic factor: a novel dynamically regulated therapeutic modulator in neurological disorders[J]. Neurochem Res,2023,48(2):317-339.
- [4] DING Y Y, BOTCHWAY B O A, ZHANG Y, et al. Ginsenosides can target brain-derived neurotrophic factor to improve Parkinson's disease[J]. Food Funct, 2023, 14(12):5537-5550.
- [5] BENCHOUA K, PARHAR I S, MADHAVAN P, et al. CREB nuclear transcription activity as a targeting factor in the treatment of diabetes and diabetes complications[J]. Biochem Pharmacol,2021,188:114531.
- [6] 刘洋,李萍,杨蕙,等. 左归降糖解郁方改善糖尿病并发抑郁症大鼠N-甲基D-天冬氨酸受体过激致海马突触损伤的作用机制[J]. 中草药,2023,54(19):6323-6335.
LIU Y, LI P, YANG H, et al. Mechanism of Zuogui jiangtang jieyu formula on improving hippocampal synaptic damage caused by N-methyl-D-aspartate receptor hyperactivity in diabetes with depression rats[J]. Chin Tradit Herb Drugs,2023,54(19):6323-6335.
- [7] 陈笛,温昌明,李祥欣,等. 艾司氯胺酮通过激活CREB/BDNF信号通路减轻抑郁症大鼠海马神经元损伤[J]. 中国老年学杂志,2024,44(2):433-437.
CHEN D, WEN C M, LI X X, et al. Esketamine alleviates hippocampal neuron damage in depressed rats by activating CREB/BDNF signaling pathway[J]. Chin J Gerontol, 2024,44(2):433-437.
- [8] YARDIM A, KANDEMIR F M, ÇOMAKLI S, et al. Protective effects of curcumin against paclitaxel-induced spinal cord and sciatic nerve injuries in rats[J]. Neurochem Res,2021,46(2):379-395.
- [9] 杨蕙,朱青,李薇,等. 左归降糖解郁方对糖尿病并发抑郁症大鼠前额叶皮层IR/IRS-1信号通路和能量代谢的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2022,29(2):74-78.
YANG H, ZHU Q, LI W, et al. Effects of Zuogui jiangtang jieyu formula on IR/IRS-1 signaling pathway and energy metabolism in prefrontal cortex of rats with diabetes complicated with depression[J]. Chin J Inf Tradit Chin Med,2022,29(2):74-78.
- [10] 朱艳娟,程静丽,高忠爱,等. 姜黄素促进骨骼肌GLUT4转位改善糖尿病大鼠胰岛素抵抗[J]. 中华内分泌代谢杂志,2021,37(2):143-148.
ZHU Y J, CHENG J L, GAO Z A, et al. Curcumin ameliorates insulin resistance via enhancing GLUT4 translocation in skeletal muscle in streptozocin-induced diabetic rats[J]. Chin J Endocrinol Metab,2021,37(2):143-148.
- [11] SHARMA N, SHARMA S, NEHRU B. Correction to: curcumin protects dopaminergic neurons against inflammation-mediated damage and improves motor dysfunction induced by single intranigral lipopolysaccharide injection [J]. Inflammopharmacology,2021,29(6):1835-1837.
- [12] 兰晶,潘敬芳. 姜黄素对脑缺血再灌注损伤大鼠PI3K/AKT/mTOR的影响[J]. 重庆医学,2017,46(1):36-39.
LAN J, PAN J F. Effect of curcumin on PI3K/AKT/mTOR in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Chongqing Med,2017,46(1):36-39.
- [13] 汪燕,王金梦,马浩,等. 姜黄素抗抑郁作用的研究[J]. 中国临床药理学杂志,2022,38(13):1461-1465.
WANG Y, WANG J M, MA H, et al. Research of the antidepressant effects of curcumin[J]. Chin J Clin Pharmacol, 2022,38(13):1461-1465.
- [14] ERGENC M, OZACMAK H S, TURAN I, et al. Melatonin reverses depressive and anxiety-like behaviours induced by diabetes: involvement of oxidative stress, age, rage and S100B levels in the hippocampus and prefrontal cortex of rats[J]. Arch Physiol Biochem, 2022, 128(2):402-410.
- [15] 袁小冬,赵俊杰,罗孜贤,等. 牛磺酸对抑郁症大鼠的保护作用及机制研究[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志,2022,29(3):194-198,204.
YUAN X D, ZHAO J J, LUO Z X, et al. Protective effect and mechanism of taurine on depression rats[J]. Chin J Neuroimmunol Neurol,2022,29(3):194-198,204.
- [16] REIF A, BITTER I, BUYZE J, et al. Esketamine nasal spray versus quetiapine for treatment-resistant depression [J]. N Engl J Med,2023,389(14):1298-1309.
- [17] HOSHIKAWA T, OKAMOTO N, NATSUYAMA T, et al. Associations of serum cytokines, growth factors, and high-sensitivity C-reactive protein levels in patients with major depression with and without type 2 diabetes mellitus: an explanatory investigation[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2022,18:173-186.
- [18] JIN Y, ZHANG C, FANG X, et al. SNAP25 protects primary cortical neurons from hypoxic-ischemic injury associated with CREB signal[J]. Ibrain,2021,7(1):1-11.
- [19] 马敏,咸淑悦,曹玥,等. 银杏提取物缓解丙泊酚麻醉大鼠海马组织损伤的机制研究[J]. 中国药师,2019,22(6):1047-1052.
MA M, XIAN S Y, CAO Y, et al. Study on the mechanism of *Ginkgo biloba* extract in alleviating hippocampal tissue injury of anesthetized rats by propofol[J]. China Pharm,2019,22(6):1047-1052.
- [20] YAO W, CAO Q Q, LUO S L, et al. Microglial ERK-NRBP1-CREB-BDNF signaling in sustained antidepressant actions of (R)-ketamine[J]. Mol Psychiatry, 2022, 27(3):1618-1629.

(收稿日期:2023-09-28 修回日期:2024-02-26)

(编辑:唐晓莲)