

- [5] 韩鹏军, 薛志峰, 张丽娜, 等. 3 种中药颗粒剂的吸湿性及数学模型拟合 [J]. 天津中医药大学学报, 2018, 37 (4): 326-331.
- [6] 杨薇, 王雅洁, 汤成成, 等. 三七提取物吸湿性及其数学模型

- 研究 [J]. 中药材, 2018, 41 (3): 670-676.
- [7] 王珊, 李洪军, 贺稚非, 等. 干鱿鱼 Peleg 复水模型的建立与复水品质特性 [J]. 食品科学, 2015, 36 (21): 56-61.

• 基础研究 •

血清 VEGF、BDNF 水平与老年糖尿病大鼠认知功能障碍相关性研究

福建医科大学临床医学部 (福州 350108) 林燕玲 叶静 黄淑玲 刘辉阳 张伟生 涂文劭¹

【摘要】 目的 探讨血清血管内皮生长因子 (VEGF)、脑源性神经营养因子 (BDNF) 表达水平与老年糖尿病 (DM) 大鼠认知功能障碍相关性, 为老年 DM 认知功能障碍患者早期诊断和治疗提供参考依据。方法 将 40 只 18~20 个月龄清洁级老年雄性 SD 大鼠随机分为两组: 对照组 (C 组) 和糖尿病组 (T 组)。C 组 (n=10): 为老年非 DM 大鼠; T 组 (n=30): 采用高糖高脂饲料喂养+腹腔内注射链脲佐菌素方法建立老年 DM 大鼠模型, 根据成模后高血糖持续时间长短将 T 组进一步随机分为 3 个亚组: T1 (1 周)、T2 (3 周)、T3 (6 周), 每组 10 只。采用 Morris 水迷宫测试各组大鼠认知水平, 酶联免疫吸附法测定各组大鼠血清 VEGF、BDNF 表达水平, 应用 Pearson 相关分析法分析血清 VEGF、BDNF 表达水平与老年 DM 大鼠 Morris 水迷宫测试指标的关系。结果 老年糖尿病大鼠血清 VEGF、BDNF、120 s 内目标象限停留时间和穿越原平台位置的次数随着高血糖持续时间的延长而降低, 而潜伏期随着高血糖持续时间的延长而延长 ($P < 0.05$)。经 Pearson 相关分析可知, 血清 VEGF、BDNF 表达水平与潜伏期呈负相关, 而与 120 s 内目标象限停留时间和穿越原平台位置的次数呈正相关 ($P < 0.05$)。结论 血清 VEGF、BDNF 表达降低水平与老年 DM 大鼠认知功能障碍严重程度正相关, 临床上检测血清 VEGF、BDNF 表达水平对早期诊断和预防老年 DM 认知功能障碍发生有重要的参考意义。

【关键词】 老年; 糖尿病; 认知功能; VEGF; BDNF

【中图分类号】 R587.1 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2022)02-0123-03

Correlation between serum levels of VEGF and BDNF and cognitive dysfunction in elderly diabetic rats LIN Yanling, YE Jing, HUANG Shuling, LIU Huiyang, ZHANG Weisheng, TU Wenshao. Department of Clinical Medicine, Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350108, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the correlation between serum levels of VEGF and BDNF and cognitive dysfunction in elderly diabetic rats, so as to provide reference for early diagnosis and treatment of elderly DM patients with cognitive dysfunction. **Methods** Forty 18 to 20-month-old clean male SD rats were randomly divided into two groups as control group (group C) and diabetic group (group T). Group C (n=10): Aged rats without diabetes; Group T (n=30): The aged DM rat model was established by feeding a high sugar and fat diet to the rats, combined with the intraperitoneal injection of streptozotocin, according to the duration of hyperglycemia after modeling, group T was further randomly divided into three subgroups: T1 (1 week), T2 (3 weeks), and T3 (6 weeks), with 10 rats in each subgroup. Morris water maze was used to test the cognitive level, enzyme-linked immunosorbent assay was used to determine the serum levels of VEGF and BDNF. Pearson correlation was used to analyze the relationship between the serum levels of VEGF and BDNF and Morris water maze test parameters in elderly diabetic rats. **Results** The serum levels of VEGF and BDNF, the residence time of target quadrant and the times of crossing the original platform within 120 s decreased with the extension of hyperglycemia duration, while the latency prolonged with the extension of hyperglycemia duration ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that the serum levels of VEGF and BDNF were negatively correlated with the latency, but positively correlated with the residence time in the target quadrant and the times of crossing the original platform within 120 s ($P < 0.05$). **Conclusion** The decreased expression of serum VEGF and BDNF are positively correlated with the severity of cognitive dysfunction in elderly DM rats. Clinically, the detection of the expression levels of serum VEGF and BDNF has important reference significance for early diagnosis and prevention of cognitive impairment in elderly DM patients.

【Key words】 aged; diabetic; cognitive function; VEGF; BDNF

近年来, 老年糖尿病 (DM) 患者发病率逐年升高, 研究发现长期控制不良的高血糖可直接损害中枢神经系统, 导

基金项目: 福建医科大学大学生创新创业训练计划资助项目 (C20039)

¹ 通信作者, 福建医科大学省立临床医学院 福建省立医院麻醉科 (福州 350001), Email: 648065953@qq.com

致患者认知功能障碍发生率升高、症状加重^[1]；但其发病机制尚未完全明确，临床上也缺乏相关指标指导该疾病早期诊断和治疗。研究发现，血管内皮生长因子（VEGF）、脑源性神经营养因子（BDNF）在维持大脑结构和功能中发挥着重要作用，并与学习过程和记忆形成密切相关^[2]。因此，笔者拟通过建立老年 DM 大鼠模型，探讨血清 BDNF、VEGF 表达水平与老年糖尿病大鼠认知功能障碍相关性，旨在为临床老年 DM 认知功能障碍患者早期诊断和治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料：

1.1.1 动物：18~20 个月龄的健康老年雄性 SD 大鼠，体重质量（375.0±75.0）g，清洁级，杭州医学院动物实验中心提供。生产许可证号：SCXK（浙）2019-0002；质量合格证号：20200916-Aazz0100000613；使用许可证号：SYXK（闽）2016-0010。

1.1.2 试剂：链脲菌素（STZ）（厦门泰京生物技术有限公司）；柠檬酸和柠檬酸钠（厦门泰京生物技术有限公司）；生物化学制品磷酸盐缓冲液（PBS）（厦门鹭隆生物科技发展有限公司）。

1.1.3 仪器：Morris 水迷宫（型号：KW-MWM，南京卡尔文生物科技有限公司）；离心管（福州欣鸿博仪器仪表有限公司）。

1.2 方法：

1.2.1 大鼠的饲养和分组：将所有老年大鼠按 12/12 h 昼夜交替适应性饲养 1 周后，选择反应良好的大鼠连续进行水迷宫训练 3 d，4 次/d，训练结束后，将所有大鼠随机分为两组：对照组（C 组）和糖尿病组（T 组）。C 组：采用普通饲料喂养 1 周后，禁食禁饮 24 h，腹腔内注射等容量柠檬酸-柠檬酸钠溶液，继续普通饲料喂养 3 d，选择空腹血糖 4~6 mmol/L 10 只大鼠入组。T 组：建模成功的老年 DM 大鼠 30 只，根据成模后高血糖持续时间长短进一步将 T 组随机分为 3 个亚组：T1（1 周）、T2（3 周）、T3（6 周），每组 10 只。

1.2.2 老年 DM 大鼠模型的构建：老年糖尿病大鼠模型构建参考郑晓春团队建模方法^[3]，采用高糖高脂饲料喂养复合腹腔内注射 STZ 法，3 d 后测定空腹尾静脉血糖浓度 ≥16.7 mmol/L 即为老年 DM 大鼠模型建立成功。

1.3 指标测定：

1.3.1 采用 Morris 水迷宫测试评估学习记忆能力，采用动物行为视频跟踪分析系统（上海吉量软件科技有限公司）记录和分析：1）定位航行实验：将各组大鼠从同一入水点放入水池，观察和记录大鼠寻找到平台的路线图和所需时间，即为潜伏期时间。2）空间探索实验：定位航行实验结束后，撤去平台，将各组大鼠从同一入水点放入水池中，观察和记录 120 s 内运动轨迹、目标象限停留时间（A1）和穿越原平台位置的次数（A2）。

1.3.2 血清 VEGF、BDNF 含量测定 Morris 水迷宫测试结束后，抽取 4 组大鼠尾静脉血，4℃ 下 3 000 r/min 离心 15 min 分离血清，于 -80℃ 冰箱中保存待测。应用酶联免疫吸附法在 405 nm 波长下检测受试溶液的 OD 值，建立标准曲线换算血清中 VEGF、BDNF 浓度。BDNF、VEGF 试剂

盒由武汉赛培生物科技有限公司提供，酶标仪由美国 Biotek 公司提供，所有操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理：采用 SPSS 23.0 统计软件进行统计学处理，计量资料以均数±标准差表示，组内和组间比较均采用 *t* 检验，多组比较采用重复测量数据的方差分析进行处理，采用 Pearson 相关分析法分析血清 BDNF、VEGF 表达水平与老年糖尿病大鼠 Morris 水迷宫测试指标相关性。*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组老年大鼠 Morris 水迷宫实验结果比较：老年 DM 大鼠 3 个亚组潜伏期均显著高于对照组，而 120 s 内目标象限停留时间和穿越原平台位置的次数均显著低于对照组（*P* < 0.05）；老年 DM 大鼠潜伏期随着高血糖持续时间的延长而延长，而 120 s 内目标象限停留时间和穿越原平台位置的次数则减少，组内和组间比较，差异均有统计学意义（*P* < 0.05，表 1）。

表 1 各组大鼠 Morris 水迷宫测试结果比较（n=10, $\bar{x} \pm s$ ）

| 组别 | 潜伏期/s | 空间探索实验 | |
|------------|---------------|---------------|--------------|
| | | A1/s | A2/次 |
| C 组 | 7.18±0.42 | 47.11±1.80 | 9.00±0.80 |
| T1 组 | 11.49±0.63* | 33.92±2.34* | 6.60±0.80* |
| T2 组 | 17.28±0.73*# | 26.09±1.52*# | 4.20±0.64*# |
| T3 组 | 27.67±1.51*#△ | 17.15±2.13*#△ | 1.80±0.64*#△ |
| <i>F</i> 值 | 547.840 | 285.631 | 109.367 |
| <i>P</i> 值 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

注：与 C 组比较，**P* < 0.05；与 T1 组比较，#*P* < 0.05；与 T2 组比较，△*P* < 0.05。

2.2 各组老年大鼠血清 VEGF、BDNF 表达水平比较：老年 DM 大鼠 3 个亚组血清 VEGF、BDNF 表达均显著低于对照组（*P* < 0.05，表 2）；老年 DM 大鼠 VEGF、BDNF 表达随着高血糖持续时间的延长而降低，组内和组间比较，差异均有统计学意义（*P* < 0.05，表 2）。

表 2 各组老年大鼠血清 VEGF、BDNF 表达水平比较（n=10, $\bar{x} \pm s$ ）

| 组别 | VEGF/ (pg/mL) | BDNF/ (ng/L) |
|------------|---------------|--------------|
| C 组 | 55.14±1.84 | 25.44±1.59 |
| T1 组 | 39.24±1.09* | 16.21±1.30* |
| T2 组 | 26.08±1.31*# | 10.80±0.81*# |
| T3 组 | 14.83±1.28*#△ | 6.52±0.86*#△ |
| <i>F</i> 值 | 916.027 | 302.247 |
| <i>P</i> 值 | <0.001 | <0.001 |

注：与 C 组比较，**P* < 0.05；与 T1 组比较，#*P* < 0.05；与 T2 组比较，△*P* < 0.05。

2.3 血清 VEGF、BDNF 表达水平与 Morris 水迷宫测试指标的关系研究：经 Pearson 相关分析，血清 VEGF、BDNF 表达水平与 Morris 水迷宫 120 s 内目标象限停留时间（A1）和穿越原平台位置的次数（A2）呈正相关（*P* < 0.05，表

3), 而与潜伏期呈负相关 ($P < 0.05$, 表 3)。

表 3 血清 VEGF、BDNF 与 Morris 水迷宫测试指标的关系研究

| 项目 | 相关性 | 潜伏期 | 空间探索实验 | |
|------|------------|--------|--------|-------|
| | | | A1 | A2 |
| VEGF | <i>r</i> 值 | -0.45 | 0.978 | 0.929 |
| | <i>P</i> 值 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| BDNF | <i>r</i> 值 | -0.900 | 0.961 | 0.924 |
| | <i>P</i> 值 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

3 讨论

研究发现, DM 代谢异常可造成中枢神经系统的损害, 从而导致认知功能下降, 多表现为记忆和学习能力的减退^[1]。长期慢性高血糖导致认知功能损伤的概率是无 DM 老年患者的 1.5 倍, 未来发生痴呆的概率是后者的 1.6 倍^[4]。而老年 DM 认知功能障碍早期症状比较隐匿, 不易觉察, 当患者表现出明显的认知功能障碍时往往症状较重且不可逆。因此, 临床尽早诊断及治疗将有助于预防及延缓老年 DM 认知功能障碍病情进展, 提高患者生活质量。

有学者在认知障碍的研究领域中发现, BDNF 和胰岛素样生长因子 1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1) 与学习、记忆等认知过程密切相关^[5-6]。BDNF 作为神经营养蛋白家族的一员, 为一种小的碱性蛋白质, 是体内含量最多的神经营养因子, 在海马和皮质的含量最高, 能介导神经元生存、对突触可塑性及传递性发挥调节作用, 并在改善学习、记忆及认知能力方面扮演着重要的角色^[2]。

除了 BDNF 外, 临床研究也显示血清 VEGF 表达水平降低程度与认知功能障碍发生密切相关^[7]。VEGF 属胱氨酸生长因子超家族, 分子质量为 34 000~46 000 的低氧诱导的血管神经素, 是重要的血管生成调控因子, 与肿瘤、类风湿性关节炎和糖尿病等疾病密切相关^[8]。

因此, 本研究通过测定血清 BDNF 和 VEGF 表达水平, 并与老年 DM 大鼠认知功能障碍发生严重程度相关性进行对比研究, 结果表明, 与老年非 DM 大鼠比较, 老年 DM 大鼠血清 VEGF、BDNF、120 s 内目标象限停留时间和穿越原平台位置的次数随着高血糖持续时间的延长而降低, 而潜伏期随着高血糖持续时间的延长而延长, 表明血清 VEGF、BDNF 表达水平与老年 DM 大鼠认知功能障碍发生与发展密切相关。经 Pearson 相关分析可知, 血清 VEGF、BDNF 表

达水平与潜伏期呈负相关, 而与 120 s 内目标象限停留时间和穿越原平台位置的次数呈正相关, 考虑其可能的发生机制与长期高血糖可抑制 VEGF、BDNF 表达从而促进中枢神经元凋亡、抑制中枢血管生成、降低突触可塑性及传递功能从而影响神经行为中的学习、认知和记忆等活动有关。本研究结果也提示临床医生可对老年 DM 患者尤其是病情长的患者通过检测血清 VEGF、BDNF 表达水平, 从而提高老年 DM 认知功能障碍患者早期检出率, 并采取积极有效的干预措施。

综上所述, 血清 VEGF、BDNF 表达降低水平与老年 DM 大鼠认知功能障碍严重程度正相关。临床上检测血清 VEGF、BDNF 表达水平对早期诊断和预防老年 DM 认知功能障碍发生有重要的参考意义。

参考文献

- [1] Dominguez R O, Pagano M A, Marschoff E R, et al. Alzheimer disease and cognitive impairment associated with diabetes mellitus type 2: associations and a hypothesis [J]. *Neurologia*, 2014, 29 (9): 567-572.
- [2] 周雪梅, 王丽香, 贾文歆, 等. 非痴呆型血管性认知障碍患者血清 BDNF、GDNF 水平的测定及其临床意义 [J]. *中国实用医药*, 2020, 15 (1): 93-94.
- [3] 郑晓春, 吴桂寿, 涂文劭, 等. 七氟烷对糖尿病相关认知功能下降老年大鼠海马谷氨酸和 γ -氨基丁酸的影响 [J]. *福建医科大学学报*, 2015, 49 (2): 88-91.
- [4] 汪峰, 何玉, 刘宓, 等. 糖尿病认知功能障碍大鼠模型的建立及其认知功能障碍观察 [J]. *重庆医学*, 2015, 44 (16): 2234-2236.
- [5] Pietrelli A, Matkovic L, Vacotto M, et al. Aerobic exercise up-regulates the BDNF-Serotonin systems and improves the cognitive function in rats [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2018, 155: 528-542.
- [6] Maass A, Düzel S, Brigadski T, et al. Relationships of peripheral IGF-1, VEGF and BDNF levels to exercise-related changes in memory, hippocampal perfusion and volumes in older adults [J]. *Neuroimage*, 2016 (131): 142-154.
- [7] 张茗, 纪红, 严之红. 老年 2 型糖尿病认知功能障碍患者血清胃促生长素和血管内皮生长因子水平变化及临床意义 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2019, 33 (12): 1198-1201.
- [8] Mazidi M, Rezaie P, Kengne A P, et al. VEGF, the underlying factor for metabolic syndrome; fact or fiction? [J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2017, 11 (Suppl 1): 61-64.