

菊苣酸调节 Sirt1/FoxO1 信号通路对糖尿病脑病大鼠认知功能的影响及作用机制

常 琼^{1,2}, 左小芹^{1,2}, 李英莲^{1,2}, 王学通¹, 吴 穹^{3*}

1. 青海大学附属医院 老年病科, 青海 西宁 810000

2. 青海大学 临床医学院, 青海 西宁 810000

3. 青海大学 医学院, 青海 西宁 810016

摘要: **目的** 探究菊苣酸调节沉默信息调节因子 1 (Sirt1)/叉头框蛋白 O1 (FoxO1) 通路对糖尿病脑病大鼠认知功能的影响。**方法** 构建糖尿病脑病大鼠模型后, 将其随机分为模型组、菊苣酸 (10、20、40 mg/kg) 组、菊苣酸+EX527 组, 每组 12 只, 另取 12 只大鼠作为对照组。Morris 水迷宫实验检测大鼠空间记忆能力; 旷场实验检测大鼠运动探索能力; 血糖仪检测空腹血糖 (FBG) 水平; 采用 ELISA 试剂盒检测空腹胰岛素 (FINS)、炎症指标和氧化应激指标 [超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)] 水平; 试剂盒检测活性氧 (ROS) 水平; 计算胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR); 采用苏木素-伊红 (HE) 染色观察海马组织病理变化, Western blotting 检测凋亡及 Sirt1/FoxO1 通路相关蛋白表达水平。**结果** 菊苣酸 (10、20、40 mg/kg) 组海马组织结构呈现出逐渐恢复的趋势, 神经细胞形态的破坏程度得到改善; 菊苣酸+EX527 组海马组织结构破坏程度有所增加。相较于模型组, 菊苣酸 (10、20、40 mg/kg) 组逃避潜伏期、FBG、FINS、HOMA-IR、肿瘤坏死因子 (TNF- α)、白细胞介素 (IL)-1 β 、IL-6、ROS、MDA 水平, 半胱氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3) 表达, Ac-FoxO1/FoxO1 值降低; 穿越平台次数、平均速度、行走总路程、穿越中心区次数、SOD 水平、Sirt1 蛋白表达升高 ($P < 0.05$); 相较于菊苣酸 40 mg/kg 组, 菊苣酸+EX527 组逃避潜伏期、FBG、FINS、HOMA-IR、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ROS、MDA 水平、Caspase-3 表达、Ac-FoxO1/FoxO1 值升高, 穿越平台次数、平均速度、行走总路程、穿越中心区次数、SOD 水平、Sirt1 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)。**结论** 菊苣酸可能通过调节 Sirt1/FoxO1 信号通路改善糖尿病脑病大鼠认知功能。

关键词: 菊苣酸; 糖尿病脑病; 沉默信息调节因子 1/叉头框蛋白 O1 信号通路; 认知功能; 空间记忆能力; 运动探索能力
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2025)07-1608-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.07.002

Effects and mechanism of cichoric acid on cognitive function of diabetic encephalopathy rats by adjusting Sirt1/FoxO1 signaling pathway

CHANG Qiong^{1,2}, ZUO Xiaoqin^{1,2}, LI Yinglian^{1,2}, WANG Xuotong¹, WU Qiong³

1. Department of Geriatrics, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining 810000, China

2. College of Clinical Medical, Qinghai University, Xining 810000, China

3. College of Medical, Qinghai University, Xining 810016, China

Abstract: Objective To explore the effect of cichoric acid on cognitive function in diabetic encephalopathy rats by adjusting Sirt1/FoxO1 pathway. **Methods** A diabetic encephalopathy rat model was constructed and randomly grouped, divided into model group, cichoric acid (10, 20, 40 mg/kg) group, and cichoric acid + EX527 group, each had 12 rats: Another 12 rats were taken as the control group. Morris water maze experiment was performed to test the spatial memory ability of rats. The open field experiment was performed to test the motor exploration ability of rats. The blood glucose meter was used to detect FBG. ELISA kits were used to detect the FINS, inflammatory markers, and oxidative stress markers (SOD, MDA). ROS reactive oxygen species detection kit was used to detect ROS. HOMA-IR was calculated. HE staining and Western blotting was used to observe the pathological changes of hippocampal tissues and detect apoptosis and proteins related to the Sirt1/FoxO1 pathway. **Results** The hippocampal tissue structure of the control

收稿日期: 2025-05-08

基金项目: 青海省科技厅应用基础研究项目 (2021-ZJ-771)

作者简介: 常 琼, 女, 副主任医师, 硕士, 研究方向为老年内分泌临床和基础研究。E-mail: yidk58@163.com

*通信作者: 吴 穹, 男, 博士, 研究方向为高原神经内分泌疾病病理生理。E-mail: 13997126828@163.com

group was intact, with tightly arranged and orderly nerve cells and round nuclei. The hippocampal tissue structure of the model group was severely damaged, with disordered arrangement of nerve cells and abnormal morphology. The hippocampal tissue structure in the cichoric acid (10, 20, 40 mg/kg) groups showed a gradually recovering trend, and the degree of damage to the morphology of nerve cells was improved. The degree of hippocampal tissue structure damage in the cichoric acid + EX527 group increased. Compared with the model group, cichoric acid (10, 20, 40 mg/kg) group showed decreases in escape latency, FBG, FINS, HOMA-IR, TNF- α , IL-1 β , IL-6, ROS, MDA, Caspase-3, and Ac-FoxO1/FoxO1 ratio, and the number of platform crossings, increases in average speed, total walking distance, number of crossings through the central area, SOD, and Sirt1 protein ($P < 0.05$). Compared with cichoric acid 40 mg/kg group, cichoric acid + EX527 group showed increases in escape latency, FBG, FINS, HOMA-IR, TNF- α , IL-1 β , IL-6, ROS, MDA, Caspase-3, and Ac-FoxO1/FoxO1 ratio, and the number of platform crossings, decreases in average speed, total walking distance, number of crossings through the central area, SOD, and Sirt1 protein ($P < 0.05$). **Conclusion** Cichoric acid may improve cognitive function in diabetic encephalopathy rats by adjusting Sirt1/FoxO1 signaling pathway.

Key words: cichoric acid; diabetic encephalopathy; Sirt1/FoxO1 signaling pathway; cognitive function; spatial memory ability; motor exploration ability

据流行病学统计数据显示,我国成人糖尿病患病率 11.2%,70 岁以上群体患病率为 28.8%,并随着人口老龄化进程加快,其发病率逐渐升高^[1]。糖尿病脑病为糖尿病患者较为常见的并发症,其症状表现与阿尔茨海默病极为相似,包括学习能力低下、存在情绪功能障碍等,对患者的生活质量造成严重影响。由于糖尿病脑病发病机制涉及氧化应激、神经炎症、细胞凋亡等多通路交互作用,目前缺乏其有效治疗方案,因此,探寻有效改善糖尿病脑病患者认知功能的药物至关重要。

菊苣酸是从菊科植物紫锥菊中成功分离得到的一种咖啡酸衍生物,已有大量研究证实,菊苣酸具有丰富的药理活性,包括有抗炎、降血糖、抗氧化以及抗菌等^[2-4]。在糖尿病及其并发症领域,菊苣酸展现出显著治疗潜力,李俊强等^[5]研究表明菊苣酸能够参与包括糖尿病在内的代谢性疾病的治疗过程。在糖尿病肾病小鼠中,菊苣酸可减轻其氧化应激损伤^[6]。在糖尿病脑病发病过程中,氧化应激与炎症反应贯穿始终,可诱导神经元凋亡,而菊苣酸具备的抗氧化、抗炎特性与糖尿病脑病病理机制高度契合,推测菊苣酸可能改善糖尿病脑病进程。

沉默信息调节因子 1 (Sirt1)/叉头框蛋白 O1 (FoxO1) 通路是调节机体氧化应激、炎症反应以及细胞凋亡的重要信号通路^[7]。研究显示,在脓毒症小鼠中,瑞马唑仑可通过调控 Sirt1/FoxO1 通路,有效抑制氧化应激与神经炎症,减少神经元凋亡^[8]。鉴于菊苣酸在其他糖尿病并发症中展现的抗氧化能力及 Sirt1/FoxO1 通路在神经保护中的作用,推测菊苣酸可能通过调控该通路,减轻氧化应激与神经炎症,改善糖尿病脑病大鼠认知功能。因此,本

研究旨在探究菊苣酸调节 Sirt1/FoxO1 信号通路对糖尿病脑病大鼠认知功能的影响。

1 材料

1.1 动物

95 只 6 周龄 SD 雄性 SPF 级大鼠(体质量 190~240 g)购自青海喜马拉雅动物实验中心有限公司,生产许可证号 SCXK(青)2024-0001。大鼠生长环境为温度 24~26 °C、相对湿度 50%~60%,光周期 12 h,且大鼠自由进食。本研究经青海大学附属医院实验动物伦理委员会审核批准(SL-2024092)。

1.2 药品与试剂

菊苣酸(质量分数 99.3%,批号 PRF8042705)购自成都普瑞法科技开发有限公司;Sirt1 抑制剂 EX527(批号 EY-20097)购自上海一研生物科技有限公司;链脉佐菌素(批号 S80001)购自北京普西唐生物科技有限公司;空腹胰岛素(FINS)ELISA 试剂盒(批号 F3565-A)购自深圳市康初源有限公司;肿瘤坏死因子- α (TNF- α)ELISA 试剂盒(批号 EK-R38696)、白细胞介素(IL)-1 β ELISA 试剂盒(批号 A1172)、IL-6 ELISA 试剂盒(批号 A1202)、超氧化物歧化酶(SOD)ELISA 试剂盒(批号 A1925)购自上海酶研生物科技有限公司;活性氧(ROS)活性氧检测试剂盒(批号 BTK023)购自武汉贝莱茵生物科技有限公司;丙二醛(MDA)ELISA 试剂盒(批号 YLK-E3495D)购自优利科(上海)生命科学有限公司;半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3,批号 ab208161)、Sirt1(批号 ab189494)、FoxO1(批号 ab79450)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH,批号 ab128915)抗体购自英国 Abcam 公司;Ac-FoxO1(批号 PA5-104560)抗体购自美国 Thermo Fisher

Scientific 公司。

1.3 仪器

Nikon Eclipse CI 显微镜（日本尼康公司）；BS 810 IS 凝胶成像系统（美国 Fisher Scientific 公司）。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

对所有大鼠进行适应性饲养 1 周后，取 83 只大鼠投喂 60%普通饲料+5%胆固醇+15%蔗糖+10%蛋白粉+10%猪油形成的高糖高脂饲料，持续 4 周后，一次性 ip 35 mg/kg 链脲佐菌素，注射第 3 天，对大鼠空腹血糖（FBG）水平进行检测，糖尿病大鼠建模成功的标志为随机 2 次 FBG 值高于 16.7 mmol/L。造模成功的大鼠继续喂养 6 周高糖高脂饲料，借助 Morris 水迷宫实验评估大鼠的认知与记忆能力，若其实验结果与健康大鼠存在差异，则认为糖尿病脑病模型构建成功^[9]。共有 60 只大鼠造模成功，糖尿病脑病模型成功率为 72.29%。将造模成功 60 只大鼠随机分为模型组、菊苣酸（10、20、40 mg/kg）组、菊苣酸+EX527 组，每组 12 只。另取 12 只大鼠投喂 4 周普通饲料后，一次性 ip 等量生理盐水，注射后，继续用普通饲料投喂 6 周，作为对照组。造模成功后次日，根据预实验及参考文献报道^[10]菊苣酸（10、20、40 mg/kg）组大鼠分别 ip 菊苣酸 10、20、40 mg/kg[菊苣酸给药溶液配制方法：先以少量二甲基亚砜（DMSO）助溶菊苣酸，再用生理盐水稀释至目标浓度，经 0.22 μm 滤膜过滤除菌，现配现用，避光冷藏保存]，1 次/d，连续 4 周。菊苣酸+EX527 组 ip 菊苣酸 40 mg/kg 和 Sirt1 抑制剂 EX527 5 mg/kg^[7]，1 次/d，连续 4 周。对照组、模型组 ip 等量的生理盐水（含与药物组等量的 DMSO）。

2.2 Morris 水迷宫实验检测大鼠空间记忆能力

末次给药结束后，对大鼠进行 5 d 训练，实验装置为圆形水池，划分为 4 个均等象限，池内设有逃生平台。第 1 天为引导性游泳训练，大鼠依次从 A、B、C、D 4 个象限入水，大鼠需 90 s 内游至逃生平台，从入水至逃生平台的所有时间为逃避潜伏期。在后续训练中，每天大鼠入水象限顺序都会随机调整。若大鼠 90 s 内未能找到平台，逃避潜伏期记为 90 s。第 5 天，撤去逃生平台开展隐藏逃避平台测试，以此评估大鼠的空间学习记忆能力。测试时，将大鼠从距离原平台较远的位置放入水中，记录 90 s 内大鼠到平台区域时间及穿越平台次数。

2.3 旷场实验检测大鼠运动探索能力

Morris 水迷宫实验结束后，把大鼠轻轻放置于黑色方形开场仪（100 cm×100 cm×40 cm）的中心位置，在距离墙 10 cm 处构建 1 个边长 80 cm 的正方形区域作为中心区域。测试时，将大鼠轻轻放置于开场仪中心位置，头部朝向侧壁，在视频跟踪系统的作用下，设定采样频率为 30 帧/s，记录大鼠在测试时间（5 min）内的平均速度、行走总路程以及穿越中心区具体次数。

2.4 ELISA 试剂盒检测 FBG、FINS 并计算胰岛素抵抗指数（HOMA-IR）

行为学检测后，大鼠尾静脉取血，血糖仪检测 FBG 水平。随后 ip 10%水合氯醛麻醉大鼠，腹主动脉取血至含肝素钠的离心管，离心（4 ℃、3 000 r/min、15 min）取上清，根据 ELISA 试剂盒说明书检测 FINS 水平，并根据公式胰岛素抵抗指数（HOMA-IR）。

$$\text{HOMA-IR} = \text{FINS} \times \text{FBG} / 22.5$$

2.5 试剂盒检测炎症指标和氧化应激指标

取血结束后，采用颈椎脱臼法断头处死大鼠，迅速取脑并分离海马组织，将每组 12 只大鼠海马组织分成 2 份，每份 6 只大鼠海马组织。取第 1 份部分海马组织，剪碎后按质量体积比 1：9 加入预冷的生理盐水制成匀浆液，离心（4 ℃、3 000 r/min、15 min）取上清，ELISA 检测炎症指标（TNF-α、IL-1β、IL-6）和氧化应激指标（SOD、MDA）水平，试剂盒检测活性氧（ROS）水平。

2.6 HE 染色观察海马组织病理变化

取 2.5 项下第 2 份海马组织，4%多聚甲醛固定 48 h，进行乙醇梯度脱水，二甲苯透明 2 次（20 min/次），浸蜡（60 ℃、3 次、1 h/次）包埋，制成 4 μm 切片，60 ℃烘干 2 h，再经二甲苯透明 2 次（5 min/次）和乙醇梯度复水后，行苏木素-伊红（HE）染色，封片，观察海马组织病理学变化。

2.7 Western blotting 检测凋亡及 Sirt1/FoxO1 通路相关蛋白

取 2.5 项下第 1 份剩余海马组织，加入 RIPA 裂解液制匀浆液，离心（4 ℃、12 000 r/min、15 min）取上清进行蛋白提取，BCA 法测定蛋白浓度。取 30 μg 蛋白样品电泳分离后转膜，5%脱脂奶粉封闭 1 h。将膜与一抗 Caspase-3（1：1 000）、Sirt1（1：1 000）、Ac-FoxO1（1：1 000）、FoxO1（1：1 000）、GAPDH（1：5 000）在 4 ℃孵育过夜，8 h 后洗膜，

HRP 标记二抗 (1:5000), 37 °C 孵育 1 h, 化学发光试剂盒显色, Image Lab™ 软件定量蛋白条带。

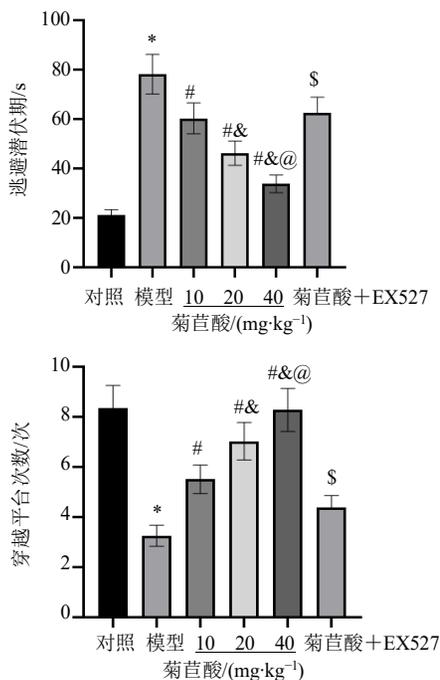
2.8 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.0 进行统计分析, 计量资料符合正态分布用 $\bar{x} \pm s$ 描述, 多组比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。

3 结果

3.1 菊苣酸对大鼠空间记忆能力的影响

如图 1 所示, 相较于模型组, 菊苣酸 (10、20、40 mg/kg) 组大鼠逃避潜伏期显著降低, 穿越平台次数显著升高 ($P < 0.05$), 且呈剂量相关性; 相较于菊苣酸 40 mg/kg 组, 菊苣酸+EX527 组逃避潜伏期增加, 穿越平台次数显著降低 ($P < 0.05$)。



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与菊苣酸 10 mg·kg⁻¹ 组比较: & $P < 0.05$; 与菊苣酸 20 mg·kg⁻¹ 组比较: @ $P < 0.05$; 与菊苣酸 40 mg·kg⁻¹ 组比较: \$ $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; & $P < 0.05$ vs cichoric acid 10 mg·kg⁻¹ group; @ $P < 0.05$ vs cichoric acid 20 mg·kg⁻¹ group; \$ $P < 0.05$ vs cichoric acid 40 mg·kg⁻¹ group.

图 1 菊苣酸对大鼠空间记忆能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 1 Effect of cichoric acid on the spatial memory ability of rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

3.2 菊苣酸对大鼠运动探索能力的影响

如图 2 所示, 相较于模型组, 菊苣酸 (10、20、40 mg/kg) 组大鼠平均速度、行走总路程、穿越中心区次数显著升高 ($P < 0.05$), 且呈剂量相关性; 相较于菊苣酸 40 mg/kg 组, 菊苣酸+EX527 组大鼠

平均速度、行走总路程、穿越中心区次数显著降低 ($P < 0.05$)。

3.3 菊苣酸对大鼠 FBG、FINS、HOMA-IR 的影响

如图 3 所示, 相较于模型组, 菊苣酸 (10、20、40 mg/kg) 组大鼠 FBG、FINS、HOMA-IR 均显著降低 ($P < 0.05$), 且呈剂量相关性; 相较于菊苣酸 40 mg/kg 组, 菊苣酸+EX527 组 FBG、FINS、HOMA-IR 显著升高 ($P < 0.05$)。

3.4 菊苣酸对大鼠炎症指标的影响

如图 4 所示, 相较于模型组, 菊苣酸 (10、20、40 mg/kg) 组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平均显著降低 ($P < 0.05$), 且呈剂量相关性; 相较于菊苣酸 40 mg/kg 组, 菊苣酸+EX527 组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平均显著升高 ($P < 0.05$)。

3.5 菊苣酸对大鼠氧化应激指标的影响

如图 5 所示, 相较于模型组, 菊苣酸 (10、20、40 mg/kg) 组 ROS、MDA 水平显著降低, SOD 水平升高 ($P < 0.05$), 且呈剂量相关性; 相较于菊苣酸 40 mg/kg 组, 菊苣酸+EX527 组 ROS、MDA 水平升高, SOD 水平降低 ($P < 0.05$)。

3.6 菊苣酸对大鼠海马组织病理变化的影响

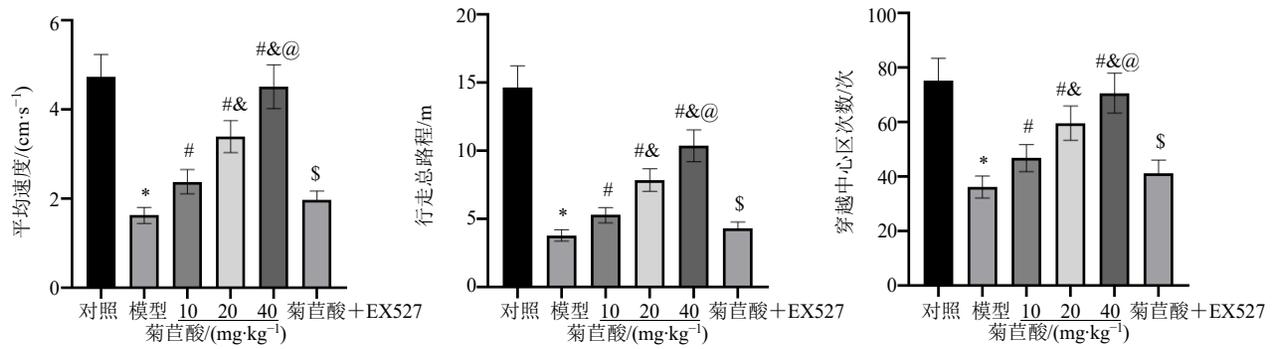
如图 6 所示, 对照组海马组织结构完整, 神经细胞排列紧密有序, 细胞核圆润; 模型组海马组织结构遭到严重破坏, 神经细胞排列毫无秩序, 且形态异常; 相较于模型组, 菊苣酸 (10、20、40 mg/kg) 组海马组织结构呈现出逐渐恢复的趋势, 神经细胞形态的破坏程度得到改善; 菊苣酸+EX527 组海马组织结构破坏程度有所增加。

3.7 菊苣酸对大鼠凋亡及 Sirt1/FoxO1 通路相关蛋白的影响

如图 7、8 所示, 相较于模型组, 菊苣酸 (10、20、40 mg/kg) 组 Sirt1 表达升高, Caspase-3 表达、Ac-FoxO1/FoxO1 值降低 ($P < 0.05$); 相较于菊苣酸 40 mg/kg 组, 菊苣酸+EX527 组 Sirt1 表达降低, Caspase-3 表达、Ac-FoxO1/FoxO1 值升高 ($P < 0.05$)。

4 讨论

糖尿病脑病是临床中常见糖尿病引发的中枢神经系统并发症, 现有研究推测, 氧化应激和神经炎症等多元机制共同作用, 促使其发病^[11-12]。由于目前对糖尿病脑病潜在的病理生理机制认识有限, 仍缺乏行之有效的方法改善糖尿病脑病患者病情。因此, 积极探寻其潜在治疗药物十分重要。

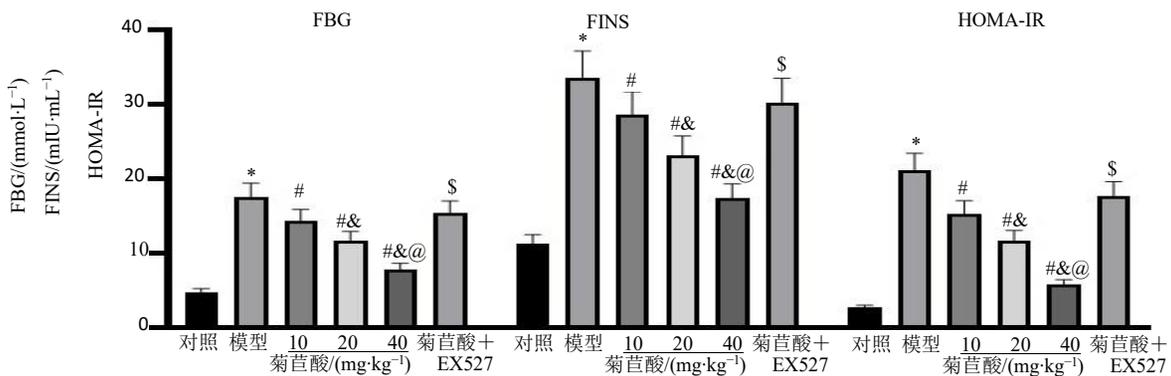


与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与菊苣酸 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$; 与菊苣酸 20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组比较: @ $P < 0.05$; 与菊苣酸 40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组比较: \$ $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; & $P < 0.05$ vs cichoric acid 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ group; @ $P < 0.05$ vs cichoric acid 20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ group; \$ $P < 0.05$ vs cichoric acid 40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ group.

图 2 菊苣酸对大鼠运动探索能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 2 Effect of cichoric acid on the exercise exploration ability of rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

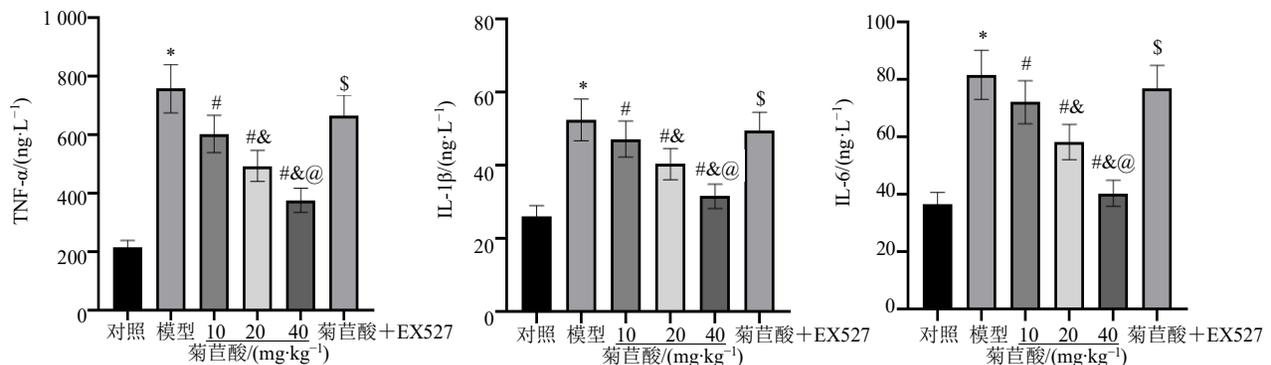


与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与菊苣酸 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$; 与菊苣酸 20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组比较: @ $P < 0.05$; 与菊苣酸 40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组比较: \$ $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; & $P < 0.05$ vs cichoric acid 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ group; @ $P < 0.05$ vs cichoric acid 20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ group; \$ $P < 0.05$ vs cichoric acid 40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ group.

图 3 菊苣酸对大鼠 FBG、FINS、HOMA-IR 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 3 Effects of cichoric acid on FBG, FINS, and HOMA-IR in rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

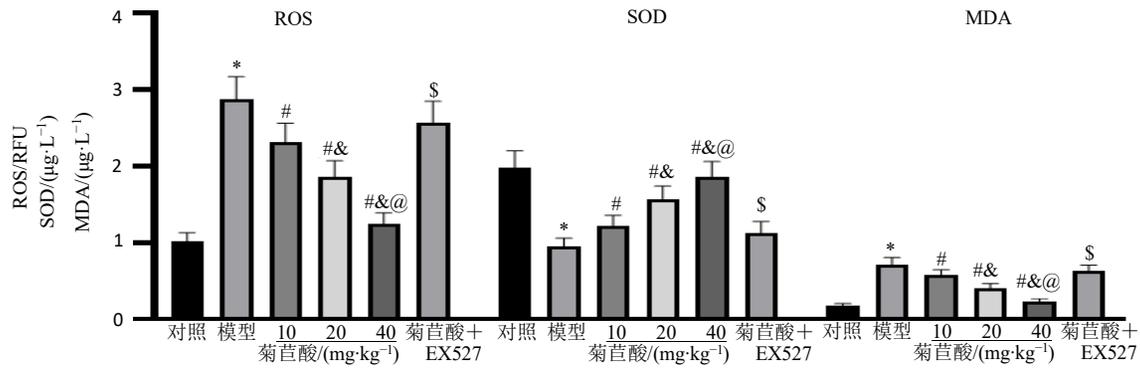


与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与菊苣酸 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$; 与菊苣酸 20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组比较: @ $P < 0.05$; 与菊苣酸 40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组比较: \$ $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; & $P < 0.05$ vs cichoric acid 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ group; @ $P < 0.05$ vs cichoric acid 20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ group; \$ $P < 0.05$ vs cichoric acid 40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ group.

图 4 菊苣酸对大鼠炎症指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Effect of cichoric acid on inflammatory indexes of rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与菊苣酸 10 mg·kg⁻¹ 组比较: & $P < 0.05$; 与菊苣酸 20 mg·kg⁻¹ 组比较: @ $P < 0.05$; 与菊苣酸 40 mg·kg⁻¹ 组比较: \$ $P < 0.05$ 。
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; & $P < 0.05$ vs cichoric acid 10 mg·kg⁻¹ group; @ $P < 0.05$ vs cichoric acid 20 mg·kg⁻¹ group; \$ $P < 0.05$ vs cichoric acid 40 mg·kg⁻¹ group.

图 5 菊苣酸对大鼠氧化应激指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 5 Effect of cichoric acid on oxidative stress indexes of rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

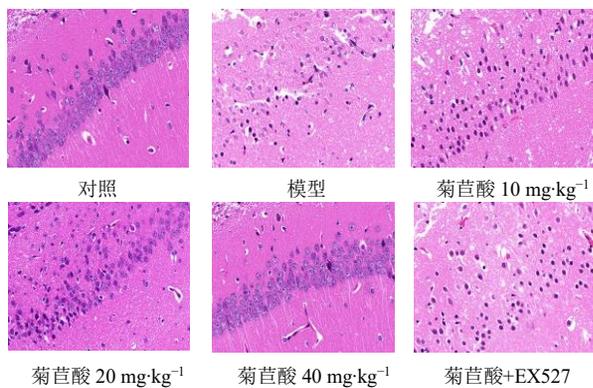


图 6 菊苣酸影响海马组织病理变化 (HE 染色, $\times 200$)
Fig. 6 Effect of cichoric acid on the pathological changes of hippocampal tissue (HE staining, $\times 200$)

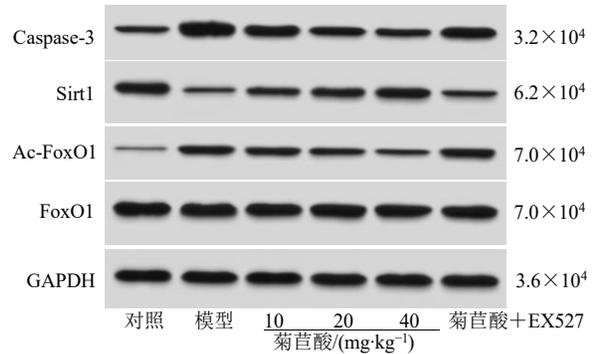
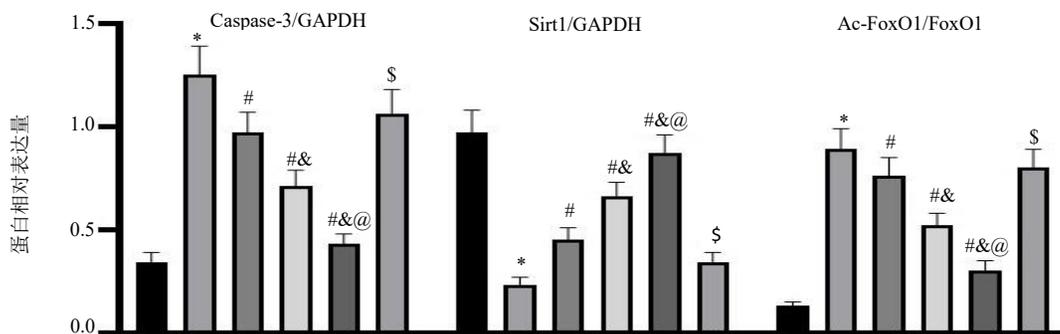


图 7 Western blotting 检测 Caspase-3、Sirt1、Ac-FoxO1、FoxO1 蛋白表达

Fig. 7 Western blotting detection of Caspase-3, Sirt1, Ac-FoxO1, and FoxO1 protein expression



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与菊苣酸 10 mg·kg⁻¹ 组比较: & $P < 0.05$; 与菊苣酸 20 mg·kg⁻¹ 组比较: @ $P < 0.05$; 与菊苣酸 40 mg·kg⁻¹ 组比较: \$ $P < 0.05$ 。
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; & $P < 0.05$ vs cichoric acid 10 mg·kg⁻¹ group; @ $P < 0.05$ vs cichoric acid 20 mg·kg⁻¹ group; \$ $P < 0.05$ vs cichoric acid 40 mg·kg⁻¹ group.

图 8 菊苣酸对大鼠凋亡及 Sirt1/FoxO1 通路相关蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 8 Effects of cichoric acid on apoptosis and Sirt1/FoxO1 pathway-related proteins in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

已有报道显示,在糖尿病肾病小鼠中,菊苣酸可促进 PAQR3 泛素化的发生,改善其铁死亡^[13]。Fahmy 等^[14]研究显示,菊苣酸可通过影响神经炎症和细胞凋亡,进而减轻鱼藤酮诱导的小鼠运动功能障碍。据相关报道称,在帕金森病小鼠模型中,菊苣酸可发挥神经保护作用^[15]。糖尿病脑病发生机制中,炎症反应和氧化应激发挥重要作用,长时间的高血糖状态会破坏血管内皮细胞,造成 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等炎症因子的大量释放,进一步加剧炎症反应^[16]。已有研究报道称,糖尿病患者血糖升高,会导致机体内 ROS 过量生成,脑内 SOD 等抗氧化酶活性随之下降,内源性抗氧化防御失衡,引发过氧化反应,产生氧化终产物 MDA,脑内 MDA 过多,进一步造成 SOD 水平更低,在海马区形成氧化应激恶性循环,引发神经炎症,损伤神经元,导致认知障碍^[17]。本研究中,模型组海马组织结构遭到严重破坏,神经细胞排列毫无秩序,且形态异常,逃避潜伏期、FBG、FINS、HOMA-IR 升高,穿越平台次数、平均速度、行走总路程、穿越中心区次数降低,表明模型大鼠血糖代谢、胰岛素分泌异常,胰岛素抵抗加剧,存在空间学习记忆能力、运动探索能力降低和海马组织损伤。TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ROS、MDA 水平、Caspase-3 表达升高,SOD 水平降低,表明模型大鼠炎症反应、氧化应激水平及细胞凋亡增加。菊苣酸干预后,逃避潜伏期、FBG、FINS、HOMA-IR、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ROS、MDA 水平、Caspase-3 表达降低,穿越平台次数、平均速度、行走总路程、穿越中心区次数、SOD 水平升高,表明菊苣酸可减轻 DE 大鼠糖代谢异常、炎症反应、氧化应激、细胞凋亡、海马组织损伤,提升其认知能力。

Sirt1 为关键 NAD⁺依赖性脱乙酰酶,可对氧化应激、炎症、细胞凋亡等过程加以调控,且激活 Sirt1 对神经系统疾病具有保护作用^[18]。Sirt1 的激活,会降低 FoxO1 的乙酰化水平,使 FoxO1 进入细胞核,增强细胞的抗氧化能力^[19]。Ren 等^[20]研究显示,二甲双胍通过对 AMPK/Sirt1-FoxO1 通路进行调控,减缓糖尿病肾病氧化应激。Ren 等^[21]研究显示,姜黄素可通过调节 Sirt1-FoxO1 信号通路减轻糖尿病心肌病的氧化应激。本研究显示,在模型大鼠中 Sirt1 表达降低,Ac-FoxO1/FoxO1 比值升高,表明 Sirt1/FoxO1 信号通路被抑制。用菊苣酸进行干预处理后,Sirt1 表达升高,Ac-FoxO1/FoxO1 比值降低,

说明菊苣酸激活了 Sirt1/FoxO1 信号通路。用菊苣酸和 Sirt1 抑制剂 EX527 处理大鼠显示,逃避潜伏期、FBG、FINS、HOMA-IR、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ROS、MDA 水平、Caspase-3 表达、Ac-FoxO1/FoxO1 比值升高,穿越平台次数、平均速度、行走总路程、穿越中心区次数、SOD 水平、Sirt1 表达降低,提示 EX527 可逆转菊苣酸对模型大鼠炎症反应、氧化应激、细胞凋亡、认知功能和海马组织损伤的减轻作用,进一步验证了菊苣酸可能通过调控 Sirt1/FoxO1 信号通路改善模型大鼠认知功能。

综上所述,菊苣酸可能通过调节 Sirt1/FoxO1 信号通路改善糖尿病脑病大鼠的认知功能。本研究为治疗糖尿病脑病的潜在药物研发提供了一定的理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中华医学会内分泌学分会,中国成人 2 型糖尿病降糖治疗目标研究工作组. 2 型糖尿病患者认知功能障碍防治的中国专家共识 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2022, 38(6): 453-464.
- [2] Peng Y, Sun Q C, Park Y. The bioactive effects of chicoric acid as a functional food ingredient [J]. *J Med Food*, 2019, 22(7): 645-652.
- [3] Janda K, Gutowska I, Geszke-Moritz M, et al. The common cichory (*Cichorium intybus* L.) as a source of extracts with health-promoting properties-a review [J]. *Molecules*, 2021, 26(6): 1814.
- [4] 陈旭,姜建双,李德华,等. HPLC 指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别评价菊苣子质量 [J]. 中草药, 2024, 55(13): 4526-4534.
- [5] 李俊强,崔光志,吴超,等. 菊苣酸治疗代谢性疾病药理作用研究进展 [J]. 中国药事, 2024, 38(7): 821-830.
- [6] 刘勇,周加军,濮之晨. 菊苣酸通过调控 Nrf2/HO-1 对糖尿病肾病氧化应激的抑制作用 [J]. 滨州医学院学报, 2024, 47(3): 181-185.
- [7] 周凡,高扬,胡艳平,等. 葛根素调控 SIRT1-FOXO1 信号通路介导的自噬对类固醇诱导的成骨细胞凋亡的影响 [J/OL]. 中国骨质疏松杂志, 1-11. [2025-07-05]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3701.R.20240920.1616.002.html>.
- [8] 郭小丽,杨昌明,王婵,等. 基于 Sirt1/FoxO1 通路探讨瑞马唑仑减轻脓毒症小鼠脑损伤的机制研究 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(1): 82-90.
- [9] 章梦玲,蔡明,夏文文,等. 桃红四物汤对糖尿病脑病大鼠认知功能的保护作用 [J]. 安徽中医药大学学报,

- 2022, 41(3): 64-70.
- [10] 盛双双, 孙绍欣, 冯帅, 等. 菊苣酸调控 TLR9/NF- κ B 通路改善脓毒症小鼠肠损伤研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(18): 5952-5959.
- [11] Luo Y F, Zhu J X, Hu Z Y, *et al.* Progress in the pathogenesis of diabetic encephalopathy: The key role of neuroinflammation [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2024, 40(6): e3841.
- [12] Zhang X C, Huang S, Zhuang Z Y, *et al.* Lipin2 ameliorates diabetic encephalopathy via suppressing JNK/ERK-mediated NLRP3 inflammasome overactivation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 118: 109930.
- [13] Zhang W W, Liu Y, Zhou J J, *et al.* Chicoric acid advanced PAQR3 ubiquitination to ameliorate ferroptosis in diabetes nephropathy through the relieving of the interaction between PAQR3 and P110 α pathway [J]. *Clin Exp Hypertens*, 2024, 46(1): 2326021.
- [14] Fahmy M I, Elrayess R A, Althobaiti M M, *et al.* Chicoric acid alleviates rotenone-induced motor dysfunction in mice: Targeting PI3K/AKT/caspase-3-associated apoptosis and neuroinflammation [J]. *Arch Pharm*, 2025, 358(3): e2400935.
- [15] Wang N, Feng B N, Hu B, *et al.* Neuroprotection of chicoric acid in a mouse model of Parkinson's disease involves gut microbiota and TLR4 signaling pathway [J]. *Food Funct*, 2022, 13(4): 2019-2032.
- [16] Ishijima T, Nakajima K. Inflammatory cytokines TNF- α , IL-1 β and IL-6 are induced in endotoxin-stimulated microglia through different signaling cascades [J]. *Sci Prog*, 2021, 104(4): 368504211054985.
- [17] 高佳馨, 王建波, 薛亚楠, 等. 基于 PI3K/Akt/GSK-3 β 信号通路探讨七味白术散对糖尿病脑病大鼠认知功能障碍的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(3): 10-17.
- [18] 古春青, 张运克, 杨广华, 等. 虾青素预处理通过调控 Sirt1/miR-134 信号通路改善脑缺血再灌注大鼠认知功能 [J]. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(9): 1620-1627.
- [19] 朱仁英, 郎玉玲, 王久英, 等. 羟基红花黄色素 A 通过调控 Sirt1/FOXO1 信号通路减轻大鼠肝缺血再灌注损伤 [J]. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(6): 1099-1106.
- [20] Ren H W, Shao Y, Wu C, *et al.* Metformin alleviates oxidative stress and enhances autophagy in diabetic kidney disease via AMPK/SIRT1-FoxO1 pathway [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2020, 15: 110628.
- [21] Ren B C, Zhang Y F, Liu S S, *et al.* Curcumin alleviates oxidative stress and inhibits apoptosis in diabetic cardiomyopathy via Sirt1-Foxo1 and PI3K-Akt signalling pathways [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(21): 12355-12367.

[责任编辑 高源]