

· 论著 ·

西格列汀对高糖环境下胎鼠海马神经元的影响

熊丽娇^{1,2} 陈丽莉¹ 蔡霞³ 邹玲婷¹ 万绍媛¹ 王萍¹ 许荣¹ 曾治平^{1,2}

¹赣南医学院第一附属医院, 赣州 341000; ²国家老年疾病临床医学研究中心江西分中心, 赣州 341000; ³赣南卫生健康职业学院, 赣州 341000

通信作者: 陈丽莉, Email: c15179718189@163.com

【摘要】 目的 观察西格列汀对高糖环境下胎鼠海马神经元的影响。**方法** 原代胎鼠海马神经元细胞培养 7 d, 分为对照组 (Con 组)、高糖模型组 (Mod 组)、西格列汀组 (Sita 组) 和甘露醇组 (MT 组)。Con 组不处理, Sita 组及 Mod 组使用高糖环境 (100 mmol/L), Sita 组加入 100 μ mol/L 西格列汀, MT 组加入 4.5% 甘露醇, 处理 24 h。应用噻唑蓝 (MTT) 法测细胞活力, 原位末端转移酶标记技术 (TUNEL) 染色及膜连蛋白 V/碘化丙啶 (AnnexinV-FITC/PI) 流式细胞术测细胞凋亡, 蛋白质免疫印迹技术测定 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因 (Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白基因蛋白 (Bax)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3 (Caspase-3) 的表达, 测定丙二醛 (MDA) 含量及超氧化物歧化酶 (SOD) 活性。**结果** MT 组存活率、凋亡率、MDA、SOD 及各蛋白表达与对照组比差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。Mod 组较 Con 组海马神经元细胞存活率下降 ($P < 0.05$), 凋亡率升高 ($P < 0.05$), Bax、Caspase-3 表达和 MDA 含量增加 (P 均 < 0.05), Bcl-2 表达和 SOD 活力降低 (P 均 < 0.05)。Sita 组较 Mod 组存活率上升 ($P < 0.05$), 凋亡率下降 ($P < 0.05$), Caspase-3、Bax 表达和 MDA 含量降低 ($P < 0.05$), Bcl-2 表达和 SOD 活力增加 (P 均 < 0.05)。**结论** 在细胞水平西格列汀可抑制高糖环境下海马神经元细胞凋亡和氧化应激, 具有神经保护作用。

【关键词】 西格列汀; 糖尿病; 海马神经元; 细胞凋亡; 氧化应激

基金项目: 江西省教育厅科技项目 (GJJ201545); 赣南医学院科研课题 (YB201808); 赣州市指导性科技计划 (GZ2018ZSF010); 赣南医学院第一附属医院院级科技计划 (YJZD202011)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20200602-06003

Effects of sitagliptin on hippocampal neuronal apoptosis in high glucose environment Xiong Lijiao^{1,2}, Chen Lili¹, Cai Xia³, Zou Lingting¹, Wan Shaoyuan¹, Wang Ping¹, Xu Rong¹, Zeng Zhiping^{1,2}. ¹The First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou 341000, China; ²Jiangxi Branch Center of National Geriatric Disease Clinical Medical Research Center, Ganzhou 341000, China; ³Gannan Healthcare Vocational College, Ganzhou 341000, China

Corresponding author: Chen Lili, Email: c15179718189@163.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of sitagliptin on hippocampal neurons in fetal rats under a high glucose environment. **Methods** Primary fetal hippocampal neurons were cultured for 7 days and divided into control group (Con group), high glucose model group (Mod group), sitagliptin group (Sita group) and mannitol group (MT group). The Con group was not treated. The Sita group and the Mod group were treated with high glucose (100 mmol/L). The Sita group was treated with 100 μ mol/L sitagliptin. MT group was treated with 4.5% mannitol. All of them were treated for 24 h. Cell viability was measured by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) method, and apoptosis rate was measured by Terminal-deoxynucleotidyl Transferase Mediated Nick End Labeling (TUNEL) staining and AnnexinV-FITC/PI flow cytometry. B-cell lymphocyte/leukemia-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein gene protein (Bax), and Caspase-3 protein expression were measured by Western-blot method. Malondialdehyde (MDA) content and superoxide dismutase (SOD) activity were measured. **Results** There were no significant differences in apoptosis rate, MDA, SOD and protein expression between MT group and Con group (all $P > 0.05$). Compared with Con

group, the cell viability of hippocampal neurons in Mod group was decreased ($P < 0.05$) and the apoptosis rate was increased ($P < 0.05$). Caspase-3, Bax expression and MDA content in Mod group were increased compared with Con group (all $P < 0.05$), and the expressions of Bcl-2 and SOD activity were decreased (all $P < 0.05$). The survival rate of Sita group was higher than that of Mod group (all $P < 0.05$), and the apoptosis rate was lower ($P < 0.05$). Caspase-3, Bax expression and MDA content in Sita group were significantly lower than those in Mod group ($P < 0.05$). In contrast, Bcl-2 expression and SOD activity expressions were substantially higher than those in Mod group (all $P < 0.05$). **Conclusion** Sitagliptin could play a neuroprotective role by inhibiting apoptosis and oxidative stress in hippocampal neurons under high glucose environment at the cellular level.

【Keywords】 Sitagliptin; Diabetes; Hippocampal neurons; Apoptosis; Oxidative stress

Fund program: Jiangxi Provincial Department of Education Research Fund (GJJ201545); Research Fund of Gannan Medical University (YB201808); Ganzhou Guiding Science and Technology Project (GZ2018ZSF010); Science and Technology Project of The First Affiliated Hospital of Gannan Medical University (YJZD202011)

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20200602-06003

糖尿病是认知功能障碍的独立危险因素,长期高血糖导致神经行为和认知缺陷,甚至发展为痴呆^[1]。西格列汀(sitagliptin)是二肽基肽酶-4(DPP-4)抑制剂,通过抑制DPP-4延长内源性胰高血糖素样肽-1(GLP-1)活性进而促进胰岛素分泌。研究显示,西格列汀能够改善2型糖尿病(T2DM)和脑卒中后轻度认知功能障碍患者的认知功能,其机制可能与减轻炎症反应有关^[2]。本研究观察西格列汀对高糖环境下胎鼠海马神经元细胞的影响,报道如下。

1 实验材料

1.1 实验动物 孕17 d Sprague-Dawley(SD)大鼠,购自北京维通利华公司。

1.2 主要试剂 达尔伯克改良伊格尔培养基(DMEM)、神经细胞基础(neurobasal)培养基、胎牛血清(FBS)、马血清、B27神经细胞生长添加剂、胰酶、青霉素、链霉素购自美国Gibco公司。噻唑蓝(MTT)、多聚L赖氨酸、二甲基亚砷(DMSO)、牛血清白蛋白(BSA)、西格列汀、原位末端转移酶标记技术(TUNEL)及膜连蛋白V/碘化丙啶(AnnexinV-FITC/PI)试剂盒购自美国sigma公司。B细胞淋巴瘤/白血病-2基因蛋白(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白基因蛋白(Bax)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(Caspase-3)多克隆兔抗体购自英国Abcam公司。重组人β-肌动蛋白(β-actin)多克隆鼠抗、羊抗兔、羊抗鼠二抗购自中国中杉金桥公司。丙二醛(MDA)及超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

2 实验方法

2.1 原代胎鼠海马神经元的培养 实验获赣南医

学院动物伦理委员会批准。原代海马神经元取自孕17 d SD大鼠胚胎。解剖显微镜解剖大鼠海马,加入0.125%胰酶,37℃水浴18 min,10%胎牛血清终止消化。1 500 r/min离心5 min,重悬,1 × 10⁵/ml接种于多聚赖氨酸(0.1 g/L)包被培养板,37℃5% CO₂培养箱培养。培养液加入青霉素100 U/ml、链霉素100 U/ml、10%胎牛血清和10%马血清。24 h后全量换液,更换为neurobasal + B27无血清培养体系(葡萄糖浓度为25 mmol/L),每3 d半量换液。神经元细胞第7天时实验。

2.2 神经纤维丝(NF)染色鉴定神经元 吸出培养基,磷酸盐缓冲液(PBS)洗3次×5 min,4%多聚甲醛1 ml固定30 min,0.2%曲拉通(Triton)0.5 ml固定30 min,10%山羊血清封闭1 h,加入一抗NF 37℃孵育2 h,PBS洗3次×5 min,加二抗(山羊抗鼠1:500)避光37℃孵育1 h,PBS洗3次×5 min,加二胺基苯基吡啶(DAPI)(1:1 000),5 min后荧光显微镜拍照。

2.3 MTT法测细胞活性 分为对照组(Con组)、高糖模型组(Mod组)和西格列汀组(Sita组)。细胞培养第7天,对照组不处理,Mod组采用含100 mmol/L葡萄糖培养液,Sita组采用含100 mmol/L葡萄糖+3/10/100 μmol/L Sita培养液,另采用甘露醇(MT)作为高渗对照,采用4.5% MT培养液,分别培养处理24 h。每孔加入0.5 g/L的MTT,培养4 h后弃培养液,每孔加150 μl DMSO,震荡10 min,570 nm处测光吸收值(OD)。细胞存活率=(实验组OD平均值/对照组OD平均值)×100%。

2.4 TUNEL测细胞凋亡 5 × 10⁵/L接种于24孔

板,孔底放包被多聚赖氨酸的盖玻片,分为 Con 组、Mod 组、Sita 组 (100 $\mu\text{mol/L}$),处理同 MTT。根据 TUNEL 试剂盒说明进行 TUNEL、PI 及 DAPI 染色,荧光显微镜观察。随机计数 20 个视野,细胞凋亡率 = 凋亡细胞数/细胞总数 $\times 100\%$ 。

2.5 Annexin V-FITC/PI 流式细胞仪检测凋亡

1.5×10^6 个/孔接种于 6 孔板,培养 7 d 后处理方法同 TUNEL,按 Annexin V-FITC/PI 双染试剂盒说明操作,加入 5 μl Annexin V-FITC 和 10 μl PI 染色液,混匀后 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光染色 15 min,30 min 内上机检测。每组 4 个复孔,实验重复 3 次。

2.6 用 Western-blot 测 Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 蛋白表达 $1.5 \times 10^6/\text{ml}$ 接种于培养瓶,处理方法同 TUNEL,蛋白定量,取等量蛋白样品行 12% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE),转膜,5% 脱脂奶粉 4 $^{\circ}\text{C}$ 封闭过夜,Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 一抗稀释于 0.5% BSA 液与印迹膜室温孵育 2 h,洗膜

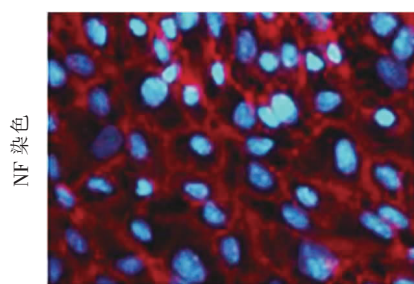
缓冲液 (TBST) 洗膜 10 min $\times 3$ 次,0.5% BSA 稀释二抗与印迹膜室温孵育 2 h,TBST 液洗膜 15 min $\times 3$ 次,化学发光 (ECL) 试剂发光,凝胶成像仪观察处理。

2.7 测 MDA 量和 SOD 活性 细胞培养及处理同 Western-blot 法,收集后采用超声波破碎 (功率 300 W,破碎 25 s,间歇 25 s)。离心收集上清,根据试剂盒说明检测 MDA 量和 SOD 活性,蛋白含量采用 brandford 法进行测定。

2.8 统计学处理 应用 SPSS 19.0 统计软件进行数据处理。正态分布资料统计描述用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) Tukey's 法进行多重比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

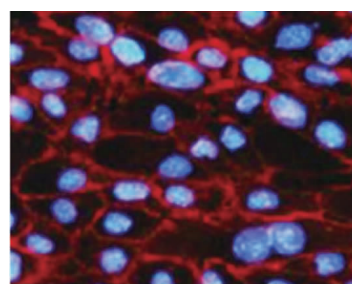
3 结果

3.1 原代胎鼠海马神经元细胞鉴定 胎鼠海马神经元行 NF 与 DAPI 荧光双染,胎鼠海马神经元阳性率达 $(98.1 \pm 0.6)\%$,见图 1。



第 4 天

注: NF: 神经纤维

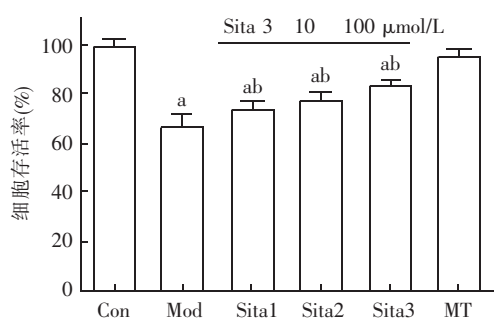


第 7 天

图 1 海马神经元细胞神经纤维免疫荧光染色鉴定 ($\times 200$)

3.2 MTT 测海马神经元细胞存活率 以 Con 组存活率为 100%, Mod 组存活率为 $67.23\% \pm 7.74\%$, Sita 组 3/10/100 $\mu\text{mol/L}$ 分别为 $74.29\% \pm 4.71\%$ 、 $78.4\% \pm 3.659\%$ 和 $83.64\% \pm 3.51\%$, MT 组为 $96.04\% \pm 4.62\%$ 。与 Con 组相比, Mod 组及 Sita 组存活率明显下降 (P 均 < 0.05); 而 MT 组较 Con 组略有下降,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 说明高渗环境对海马神经元无明显影响。Sita 组较 Mod 组存活率呈浓度依赖性上升 ($P < 0.05$)。后续研究采用 100 $\mu\text{mol/L}$ 作为实验浓度,见图 2。

3.3 TUNEL 及流式测凋亡率 TUNEL 染色绿色, PI 染色红色, DAPI 染色蓝色, TUNEL/DAPI 阳性细胞数即细胞凋亡率,测得 Con 组凋亡率为 $1.3\% \pm 0.3\%$, Mod 组为 $27.6\% \pm 3.2\%$, Sita 组为 $11.6\% \pm 1.4\%$, MT 组为 $2.7\% \pm 0.7\%$ 。Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞仪检测 Con 凋亡率为 $1.7\% \pm 0.4\%$, Mod 组 $31.3\% \pm 3.2\%$, Sita 组 $15.1\% \pm 1.9\%$, MT



注: Con: 对照组; Mod: 高糖模型组; Sita1/2/3: 西格列汀组 1/2/3; MT: 甘露醇组; Sita: 西格列汀; 与对照组相比, $^a P < 0.05$; 与 Mod 组相比, $^b P < 0.05$

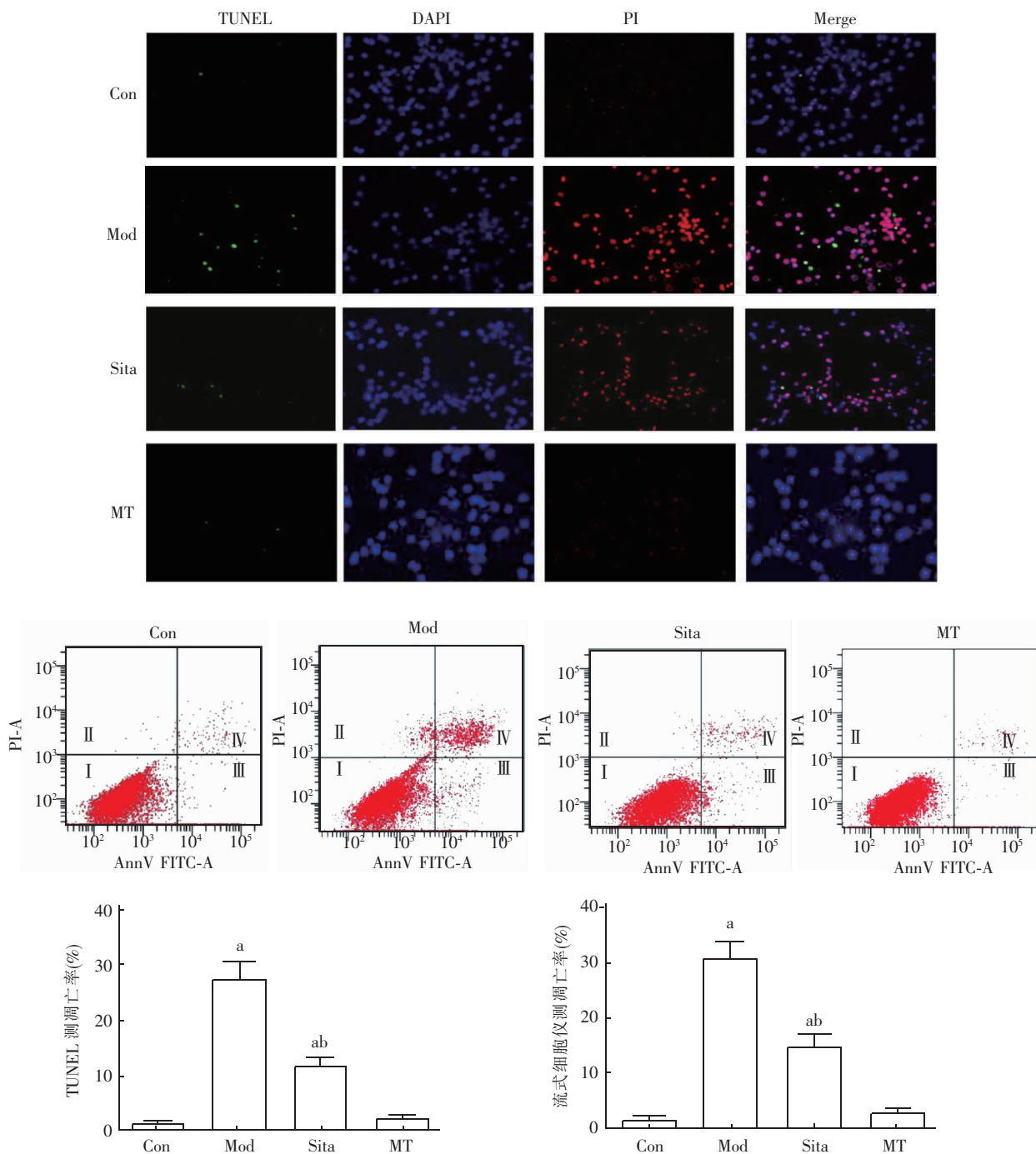
图 2 MTT 测西格列汀对高糖环境下海马神经元细胞存活率的影响

组为 $3.0\% \pm 0.6\%$ 。Mod 组凋亡率较 Con 组显著增加 ($P < 0.05$), Sita 组较 Mod 组凋亡率显著降低 ($P < 0.05$)。MT 组凋亡率较 Con 组略增加,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3.4 应用 Western-blot 测 Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 蛋

白表达 Mod 组和 Sita 组 Bax 和 Caspase-3 蛋白表达高于 Con 组 (P 均 <0.05), 而 Bcl-2 蛋白低于 Con 组 (P 均 <0.05); Sita 组与 Mod 组相比, Bax 和 Caspase-3 蛋白表达降低 (P 均 <0.05), 而 Bcl-2 蛋白显著增加 (P 均 <0.05); MT 组各蛋白表达与 Con 组相比无统计学差异 ($P > 0.05$)。见图 4 及表 1。

3.5 各组 MDA 含量及 SOD 活力 Mod 组 MDA 含量较 Con 组显著升高 ($P < 0.05$), Sita 组 MDA 含量较 Mod 组显著降低 ($P < 0.05$)。SOD 活力 Mod 组较 Con 组显著降低 ($P < 0.05$), Sita 组 SOD 活力较 Mod 组显著升高 ($P < 0.05$); MT 组 MDA 和 SOD 与对照组相比无统计学差异 ($P > 0.05$)。见图 5 及表 1。



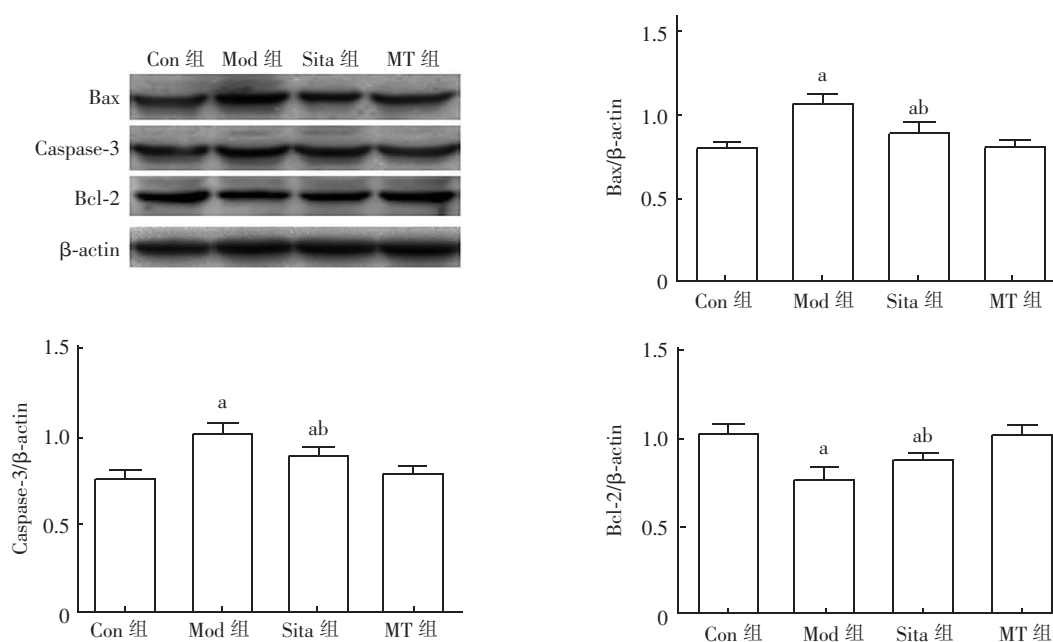
注: TUNEL: 原位末端转移酶标记技术; DAPI: 4,6-二氨基-2-苯基吡啶; PI: 碘化丙啶; Merge: TUNEL、DAPI 和 PI 合并; AnnV: 膜连蛋白 V; Con: 对照组; Mod: 高糖模型组; Sita: 西格列汀组; MT: 甘露醇组; 与对照组相比, $^aP < 0.05$; 与 Mod 组相比, $^bP < 0.05$

图 3 TUNEL 及流式细胞仪测定西格列汀对高糖环境下海马神经元细胞凋亡率的影响

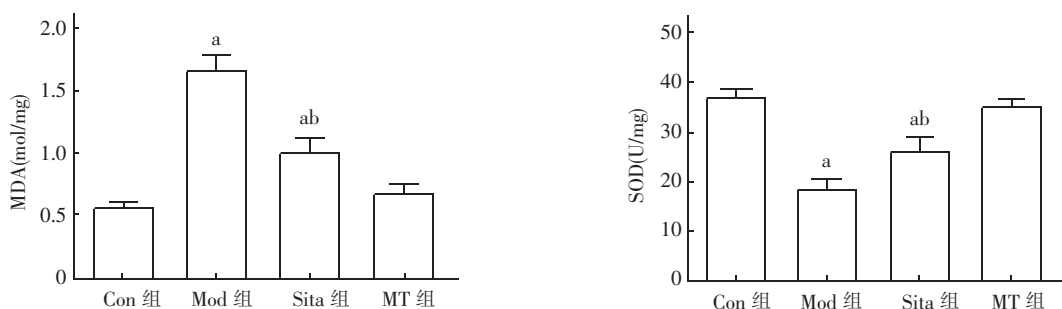
表 1 西格列汀对海马神经元细胞 Bax、Bcl-2、Caspase-3 表达及 MDA/SOD 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

分组	Bax/ β -actin	Caspase-3/ β -actin	Bcl-2/ β -actin	MDA ($\mu\text{mol/g}$)	SOD (U/mg)
Con 组	0.802 \pm 0.041	0.772 \pm 0.061	1.036 \pm 0.092	0.580 \pm 0.056	37.097 \pm 2.271
Mod 组	1.073 \pm 0.110	1.021 \pm 0.095	0.793 \pm 0.085	1.671 \pm 0.212	18.866 \pm 2.740
Sita 组	0.898 \pm 0.082	0.909 \pm 0.052	0.904 \pm 0.032	1.013 \pm 0.184	26.427 \pm 4.089
MT 组	0.815 \pm 0.047	0.803 \pm 0.034	1.035 \pm 0.072	0.645 \pm 0.063	36.105 \pm 2.287
<i>F</i>	8.160	9.241	8.156	34.98	25.85
<i>P</i>	0.008	0.006	0.008	<0.001	<0.001

注: Bax; Bcl-2 相关 X 蛋白基因蛋白; β -actin; 重组 β -肌动蛋白; Bcl-2; B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因; Caspase-3; 含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3; MDA; 丙二醛; SOD; 超氧化物歧化酶; Con 组: 对照组; Mod 组: 高糖环境模型组; Sita 组: 西格列汀组; MT 组: 甘露醇组



注: Bax; Bcl-2 相关 X 蛋白基因蛋白; Bcl-2; B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因; Caspase-3; 含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3; β -actin; 重组人 β -肌动蛋白; Con 组: 对照组; Mod 组: 高糖环境模型组; Sita 组: 西格列汀组; MT 组: 甘露醇组; 与对照组相比, $^aP < 0.05$; 与 Mod 组相比, $^bP < 0.05$

图 4 Western-blot 法测西格列汀对海马神经元细胞 Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 蛋白的影响


注: MDA; 丙二醛; SOD; 超氧化物歧化酶; Con 组: 对照组; Mod 组: 高糖模型组; Sita 组: 西格列汀组; MT 组: 甘露醇组; 与对照组相比, $^aP < 0.05$; 与 Mod 组相比, $^bP < 0.05$

图 5 可见分光光度法测定西格列汀对高糖环境下海马神经元细胞 MDA 及 SOD 的影响

4 讨论

糖尿病患者认知受损与海马萎缩的程度呈现相关趋势, 海马结构功能的异常改变是糖尿病患者学习和记忆损害的结构基础^[3]。研究表明, 西格列汀可提高老年 T2DM 合并轻度认知功能障碍患者的认知功能, 可能与抑制 β -淀粉样蛋白聚集和降低炎症反应有关^[1]。西格列汀的血糖控制稳定性和内在

机制有助于延缓 T2DM 患者认知障碍^[4]。使用 6 个月的西格列汀可显著提高 T2DM 伴或不伴阿尔兹海默病 (AD) 患者的认知功能, 且优于二甲双胍及胰岛素^[5]。

本研究显示, Sita 引起高糖环境下胎鼠海马神经元凋亡减少, 存活增加, 提示 Sita 具有神经保护作用。多项研究显示: Sita 可以改善糖尿病大鼠的记

忆损害和脑组织结构改变^[6]。Sita 能够上调神经元 DPP-4 表达,改善 AD 的认知功能障碍^[7]。Sita 可增加树突棘密度,减少神经元死亡,改善帕金森病(PD)大鼠记忆缺陷^[8]。Sita 具有抗炎、抗凋亡和神经营养作用,是缓解 PD 潜在药物^[9]。Sita 调控脑内 GLP-1/GLP-1 受体通路,增强脑内微小突触后抑制电流,减轻高热惊厥大鼠癫痫发作的严重程度^[10-11]。Sita 可能通过抗氧化、抗凋亡和自噬途径发挥抗癫痫作用^[12]。

糖尿病认知功能障碍因高糖毒性脑组织呈现氧化应激状态,自由基及炎性因子大量产生,加重神经细胞损伤^[9-10]。本研究示西格列汀降低高糖环境下海马神经元 MDA 含量和 Bax 表达,升高 SOD 活性和 Caspase-3、Bcl-2 表达;说明 Sita 可通过抑制海马神经元凋亡和氧化应激,继而起神经保护作用。其他研究显示:Sita 可减少 AD 大鼠脑淀粉样蛋白积累和神经元氧化应激^[13]。Sita 可通过抗氧化应激减轻心肌梗死大鼠的心肌损伤^[14]。Sita 通过抑制氧化应激和炎性反应减轻慢性脑灌注不足小鼠的脑损伤和认知功能损害^[15]。

本研究显示,Sita 对高糖环境下海马神经元具有神经保护作用,可能与氧化应激、神经细胞凋亡等有关。研究显示,Sita 能够改善糖尿病大鼠认知功能,可能与其调节海马内神经肽有关^[3]。Sita 能够促进脊髓损伤大鼠轴突再生和运动功能修复^[16]。

综上所述,本研究显示在细胞水平,Sita 可通过抑制高糖环境下海马神经元细胞凋亡和氧化应激起到神经保护作用,可能独立于 GLP-1 的作用,详细机制仍有待进一步深入研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Xue J, Wang C, Pan C, et al. Effect of DPP-4 inhibitor on elderly patients with T2DM combined with MCI [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(2):1356-1362. DOI:10.3892/etm.2019.8339.
- [2] Wang Q, Wang D, Cheng A, et al. Comparison between the effects of sitagliptin and liraglutide on blood glucose and cognitive function of patients with both type 2 diabetes mellitus and post-stroke mild cognitive impairment [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2020, 13(2):1219-1227. WOS:000518397600109.
- [3] Campos EJ, Martins J, Brudzewsky D, et al. Neuropeptide Y system mRNA expression changes in the hippocampus of a type I diabetes rat model [J]. *Ann Anat*, 2020, 227:151419. DOI:10.1016/j.aanat.2019.151419.
- [4] Cao B, Rosenblatt JD, Brietzke E, et al. Comparative efficacy and acceptability of antidiabetic agents for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment; a systematic review and network meta-analysis [J]. *Diabetes Obes Metab*. 2018, 20(10):2467-2471. DOI:10.1111/dom.13373.
- [5] Isik AT, Soysal P, Yay A, et al. The effects of sitagliptin, a DPP-4 inhibitor, on cognitive functions in elderly diabetic patients with or without Alzheimer's disease [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2017, 123:192-198. DOI:10.1016/j.diabres.2016.12.010.
- [6] Kumar S, Chowdhury S, Razdan A, et al. Downregulation of candidate gene expression and neuroprotection by piperine in streptozotocin-induced hyperglycemia and memory impairment in rats [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 11:595471. DOI:10.3389/fphar.2020.595471.
- [7] Bernstein HG, Dobrowolny H, Keilhoff G, et al. Dipeptidyl peptidase IV, which probably plays important roles in Alzheimer disease (AD) pathology, is upregulated in AD brain neurons and associates with amyloid plaques [J]. *Neurochem Int*, 2018, 114:55-57. DOI:10.1016/j.neuint.2018.01.005.
- [8] Li J, Zhang S, Li C, et al. Sitagliptin rescues memory deficits in Parkinsonian rats via upregulating BDNF to prevent neuron and dendritic spine loss [J]. *Neurol Res*, 2018, 40(9):736-743. DOI:10.1080/01616412.2018.1474840.
- [9] Badawi GA, Abd El Fattah MA, Zaki HF, et al. Sitagliptin and liraglutide reversed nigrostriatal degeneration of rodent brain in rotenone-induced Parkinson's disease [J]. *Inflammopharmacology*, 2017, 25(3):369-382. DOI:10.1007/s10787-017-0331-6.
- [10] Safar MM, Shahin NN, Mohamed AF, et al. Suppression of BACE1 and amyloidogenic/RAGE axis by sitagliptin ameliorates PTZ kindling-induced cognitive deficits in rats [J]. *Chem Biol Interact*, 2020, 328:109144. DOI:10.1016/j.cbi.2020.109144.
- [11] Zhang Y, Liu Y, Xu J, et al. Inhibition of DPP4 enhances inhibitory synaptic transmission through activating the GLP-1/GLP-1R signaling pathway in a rat model of febrile seizures [J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 156:78-85. DOI:10.1016/j.bcp.2018.08.004.
- [12] Nader MA, Ateyya H, El-Shafey M, et al. Sitagliptin enhances the neuroprotective effect of pregabalin against pentylenetetrazole-induced acute epileptogenesis in mice: implication of oxidative, inflammatory, apoptotic and autophagy pathways [J]. *Neurochem Int*, 2018, 115:11-23. DOI:10.1016/j.neuint.2017.10.006.
- [13] Li Y, Tian Q, Li Z, et al. Activation of Nrf2 signaling by sitagliptin and quercetin combination against β -amyloid induced Alzheimer's disease in rats [J]. *Drug Dev Res*, 2019, 80(6):837-845. DOI:10.1002/ddr.21567.
- [14] Ibrahim MA, Geddawy A, Abdel-Wahab S. Sitagliptin prevents isoproterenol-induced myocardial infarction in rats by modulating nitric oxide synthase enzymes [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 829:63-69. DOI:10.1016/j.ejphar.2018.04.005.
- [15] Tsai T, Sun C, Su C, et al. Sitagliptin attenuated brain damage and cognitive impairment in mice with chronic cerebral hypoperfusion through suppressing oxidative stress and inflammatory reaction [J]. *J Hypertens*, 2015, 33(5):1001-1013. DOI:10.1097/HJH.0000000000000529.
- [16] Han W, Li Y, Cheng J, et al. Sitagliptin improves functional recovery via GLP-1R-induced anti-apoptosis and facilitation of axonal regeneration after spinal cord injury [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(15):8687-8702. DOI:10.1111/jcmm.15501.

(收稿日期:2020-06-02)