

李亚娟, 王佳佳, 张才, 等. 海参酶解液对斑马鱼糖尿病并发抑郁样行为的改善作用[J]. 广东海洋大学学报, 2019, 39(1): 84-89.

## 海参酶解液对斑马鱼糖尿病并发抑郁样行为的改善作用

李亚娟, 王佳佳, 张才, 杨隆恩, 古敏晴, 唐海婷, 宋采

(广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524088; 广东海洋大学深圳研究院, 广东 深圳 518120)

**摘要:**【目的】探究海参酶解液对高糖高脂所致的斑马鱼抑郁样行为的改善作用。【方法】将斑马鱼随机分为对照组、模型组各 1 组, 和海参酶解液高剂量 (1.0 mL/L) 治疗组、低剂量 (0.5 mL/L) 治疗组各 1 组。每天利用高浓度葡萄糖 (质量分数 2%) 系统浸泡及高胆固醇 (质量分数 10%) 饲料饲喂诱导斑马鱼高糖高脂模型, 高低浓度海参酶解液浸泡治疗。14 d 后进行新鱼缸潜水行为实验, 取鱼体匀浆进行组织各生化指标的检测, 包括葡萄糖 (Glucose, Glu)、总胆固醇 (Total cholesterol, TC)、皮质醇 (Cortisol, Cor) 浓度。【结果】新鱼缸行为实验中, 与对照组相比较, 模型组斑马鱼的行为学实验都有明显差异, 其中焦虑型行为潜伏期、冻结次数和冻结时间等抑郁型行为增加, 探究型行为顶部转移和顶部时间减少, 而 1.0 mL/L 高剂量海参酶解液可以逆转这些变化。模型组葡萄糖、总胆固醇、皮质醇浓度相比对照组显著升高, 而给予海参酶解液治疗后, 高剂量治疗组对模型组的葡萄糖、总胆固醇及皮质醇浓度均有显著降低的作用。【结论】海参酶解液可以通过改善高糖高脂诱导的糖尿病模型中糖脂水平来改善抑郁样行为和应激激素。

**关键词:** 海参酶解液; 高糖高脂; 糖尿病; 抑郁样行为

中图分类号: TS201.4

文献标志码: A

文章编号: 1673-9159 (2019) 01-0084-06

Doi: 10.3969/j.issn.1673-9159.2019.01.013

## Effect of Sea Cucumber Hydrolysis Extract on Depression-like Behavior of Zebrafish Induced by Diabete

LI Ya-juan, WANG Jia-jia, ZHANG Cai, YANG Long-en, GU Ming-qing, TANG Hai-ting, SONG Cai  
(Laboratory of Ocean Remote Sensing & Information and Technology, Guangdong Ocean University,  
Zhanjiang 524088, China; Shenzhen Institute of Guangdong Ocean University, Shenzhen 518120,  
China)

**Abstract:** 【Objective】 To explore the effect of sea cucumber enzymatic hydrolysate (SCEH) on the depression-like behavior in the diabetic model of zebrafish induced by high sugar and high fat. 【Methods】 Zebrafish were randomly divided into the control group, model group, model plus sea cucumber high (1.0 mL/L) and low dose (0.5 mL/L) treatment groups. The fish was systemically soaked in high concentration glucose (2%), and was fed by high cholesterol (10%) to induce a diabetic mode. Then, high and low doses of SCEH were used for treatment by soaking. After 14 days, behavioral tests in Novel Tank Test (NTT) were carried out. The fish body was used to detect the biochemical indicators, including concentrations of glucose (Glu), total cholesterol (TC), and cortisol (Cor). 【Results】

收稿日期: 2018-11-21

基金项目: 深圳市大鹏新区产业发展专项资金科技扶持项目(KY20170210); 研发改善记忆、抗抑郁和焦虑及防治精神和神经退行性疾病的海参活性组分产品(B16074); 湛江市科技攻关计划项目“脑健康海洋药物与营养品重点实验室”。

第一作者: 李亚娟(1994—), 女, 硕士研究生, 主要从事精神神经免疫学和海洋生物活性物质研究。E-mail: 374359971@qq.com

通信作者: 宋采, 女, 教授, 研究方向为精神神经免疫学和海洋生物活性物质药理学。E-mail: cai.song@dal.ca

In NTT, the behavioral responses from zebrafish in the model group were significantly different from those in the control group. The depression-like behavior in NTT, such as anxiety-like behavior latency, freezing bouts and freezing time were increased, while exploring behavior top transitions and time in top were decreased in the model group. These changes were attenuated by higher dose of SCEH. The concentrations of glucose, total cholesterol and cortisol were significantly increased in the model group, which were significantly reduced by treatment with SCEH at high-dose when compared to the model group.

**【 Conclusion 】**SCEH may improve the depression-like behavior and stress hormone by the improvement of related lipid and sugar parameters in the diabetic model induced by high sugar and high fat.

**Key words:** Sea cucumber hydrolysis solution; Diabetes; Depression-like behavior

糖尿病影响多种生理系统, 损害认知能力, 引发各种神经行为障碍, 包括抑郁症和阿尔茨海默症。研究表明糖尿病并发抑郁症的可能性极高, 是普通人的 3 ~ 5 倍, 且复发率是非糖尿病患者的 8 倍<sup>[1-3]</sup>。然而, 糖尿病和抑郁症之间的病理关系却一直未得到解释, 因此建立新的生物模型来研究糖尿病对中枢神经系统的影响至关重要。斑马鱼属脊椎动物, 其神经系统、心血管系统和代谢系统的解剖结构、生理和分子生物学与哺乳动物具有很高的保守性, 且生长发育过程、器官与组织在结构和功能上与人高度相似, 基因序列相似度高达 87%, 作为新的模式生物已经被广泛用于药物筛选、疾病模型的建立和环境监测等, 是优于小鼠的又一重要的模式生物。所以斑马鱼 (*Danio rerio*) 是研究糖尿病-中枢神经系统相互作用的一个强大的新模型物种<sup>[4-6]</sup>。

目前抑郁症的治疗药物多是基于单胺缺乏抑郁症假说研发的, 但这些药物药效差, 并伴有恶心、呕吐, 心脏毒害性高血压等严重的副作用, 因此寻求一种药效高、毒副作用小, 改善抑郁症患者症状的天然药物具有深远的意义。

近年来海洋药物资源得以开发, 有研究<sup>[7]</sup>表明海洋活性物质, 有抗肿瘤、抗菌、抗炎、中枢神经药理作用等, 对人类多种疾病具有明显的疗效。海参酶解液优于传统海参食品在于利用生物酶法制备将海参大分子蛋白降解成易吸收的小分子蛋白或肽类, 具有降血压、预防心脑血管疾病、提高免疫力、抗肿瘤、抗氧化、延缓衰老等多种生物活性功能<sup>[9]</sup>, 抗疲劳、抗氧化、抗血栓等方面也均有报道<sup>[10]</sup>。因此, 从海参酶解液的降糖降脂以及神经保护作用出发, 通过测定斑马鱼组织的葡萄糖、胆固醇水平研究海参酶解液对糖脂水平的影响, 通过斑马鱼新鱼缸行为学实验和组织皮质醇水平研究海

参酶解液对抑郁样行为的改善, 以期为食源性海参相关保健产品的降糖降脂以及抗抑郁功能评价提供相关数据。

## 1 材料方法

### 1.1 材料

新购入的普通成年雄性斑马鱼均饲养在多水槽自动循环水系统中适应环境 7 d, 水温保持 28 ℃, pH 为 7.0 ~ 7.4, 昼夜循环, 12 h 光照黑暗循环 (8:00—20:00 光照)。无水葡萄糖 (西陇科学股份有限公司), 胆固醇 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司), 2 倍浓缩海参酶解液 (刺参) (山东圣州生物科技有限公司), 质量分数 0.9% 氯化钠注射液 (广西裕源药业有限公司), 葡萄糖测定试剂盒 (上海荣盛生物药业有限公司, 361500), GLU 标准品 (南京建成生物工程研究所), 总胆固醇测试盒 (南京建成生物工程研究所, A111-1), 鱼皮质醇 ELISA 检测试剂盒 (深圳子科生物科技有限公司, REF: ZK-F6221), 电子分析天平 (梅特勒-托利多仪器上海有限公司), 高速冷冻台式离心机 (Beckman 公司), 酶标仪 (Rayto 公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 实验分组与处理** 将斑马鱼随机分成 4 组: 对照组 ( $n = 25$ ), 模型组 ( $n = 25$ ), 0.5 mL/L 低剂量海参酶解液治疗组 ( $n = 25$ ), 1.0 mL/L 高剂量海参酶解液治疗组 ( $n = 25$ )。全部斑马鱼饲养于 25 cm × 19 cm × 16 cm 半透明塑料箱, 以 SB-948 氧气泵提供氧气, 用过滤静置 1 ~ 2 d 的系统水浸泡, 每天换水一次 (4 L); 每天固定时间喂食, 实验周期 14 d。对照组饲以普通饲料, 1 L 系统水浸泡 20 min, 每天 1 次。

**1.2.2 斑马鱼高糖高脂模型的建立** 实验开始, 模

型组和低剂量海参酶解液组均以质量分数 10% 高脂饲料饲喂、质量分数 2% 葡萄糖溶液浸泡 20 min, 每天 1 次; 0.5 mL/L 海参酶解液浸泡组另量取 0.25 mL 2 倍浓缩海参酶解液于 1 L 清水中浸泡 20 min, 每天 1 次; 1.0 mL/L 海参酶解液浸泡组则量取 0.5 mL 2 倍浓缩海参酶解液于 1 L 清水中浸泡 20 min, 每天 1 次。

**1.2.3 行为学实验** 实验开始 2 周后, 过夜禁食 12 h, 使用新鱼缸潜水模型 (Novel Tank Test) 测焦虑样抑郁行为。实验时, 在平行于鱼缸正面 2 m 处进行观察, 实验时间为 5 min。实验开始, 将斑马鱼小心地放入鱼缸中, 斑马鱼从进入鱼缸底部到跨越中线的时间记录为潜伏期 (Latency to top); 斑马鱼跨越鱼缸中线的次数记录为顶部转移 (Top transitions); 斑马鱼在鱼缸中线以上逗留的时间 (不足 2 s 的按 2 s 计) 记录为顶部用时 (Time in tops); 焦虑的斑马鱼可能出现冻结状态, 即斑马鱼停止游动而停留在原地的状态, 记录为冻结次数 (Freezing bouts); 斑马鱼保持冻结状态的时间记录为冻结时间 (Time spent freezing)。实验结束后, 进行取样并做记录。

**1.2.4 生化指标检测** 根据 ELISA 测试说明书测定斑马鱼组织中葡萄糖, 总胆固醇, 皮质醇的含量。

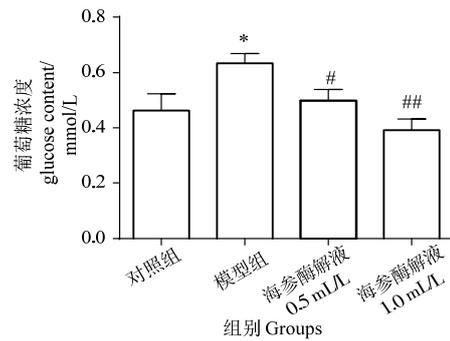
**1.2.5 数据处理** 本实验数据均采用 GraphPad Prism 6 统计软件处理, 结果均以平均值  $\pm$  标准误 ( $\bar{X} \pm \sigma_{\bar{X}}$ ) 表示, 方差齐性数据采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 进行 LSD 检验。方差非齐性数据采用非参数检验 (Kruskal-Wallis)。

## 2 结果与分析

### 2.1 海参酶解液对斑马鱼组织葡萄糖, 总胆固醇含量的影响

由图 1, 图 2 分析可得, 海参酶解液对斑马鱼组织葡萄糖 ( $F_{(3, 34)} = 4.817, P < 0.01$ ) 和总胆固醇 ( $F_{(3, 41)} = 3.140, P < 0.05$ ) 含量有显著影响。与对照组相比, 模型组斑马鱼葡萄糖 ( $P < 0.05$ ) 和总胆固醇 ( $P < 0.01$ ) 含量显著升高; 海参酶解液低剂量组 ( $P < 0.05$ ) 和高剂量组 ( $P < 0.01$ ) 能够有效地降低葡萄糖含量, 但是对于总胆固醇的含量, 海参酶解液低剂量组改善效果不明显, 而高剂量组能够有效地改善 ( $P < 0.05$ )。结果表明, 海参酶解液通过降低葡萄糖以及总胆固醇的含量对高糖高脂诱

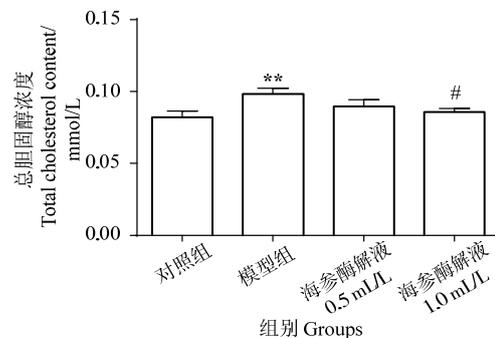
发的斑马鱼糖尿病模型有很好的改善作用。



\*,  $P < 0.05$  vs 对照组; #,  $P < 0.05$  vs 模型组; ##,  $P < 0.01$  vs 模型组  
\*,  $P < 0.05$  vs control group; #,  $P < 0.05$  vs model group; ##,  $P < 0.01$  vs model group

图 1 海参酶解液对高糖高脂诱导的斑马鱼体内葡萄糖含量的改善作用

Fig. 1 Effects of sea cucumber hydrolysis on in zebrafish



\*,  $P < 0.05$  vs 对照组; #,  $P < 0.05$  vs 模型组; ##,  $P < 0.01$  vs 模型组  
\*,  $P < 0.05$  vs control group; #,  $P < 0.05$  vs model group; ##,  $P < 0.01$  vs model group

图 2 海参酶解液对高糖高脂诱导的斑马鱼体内总胆固醇含量的改善作用

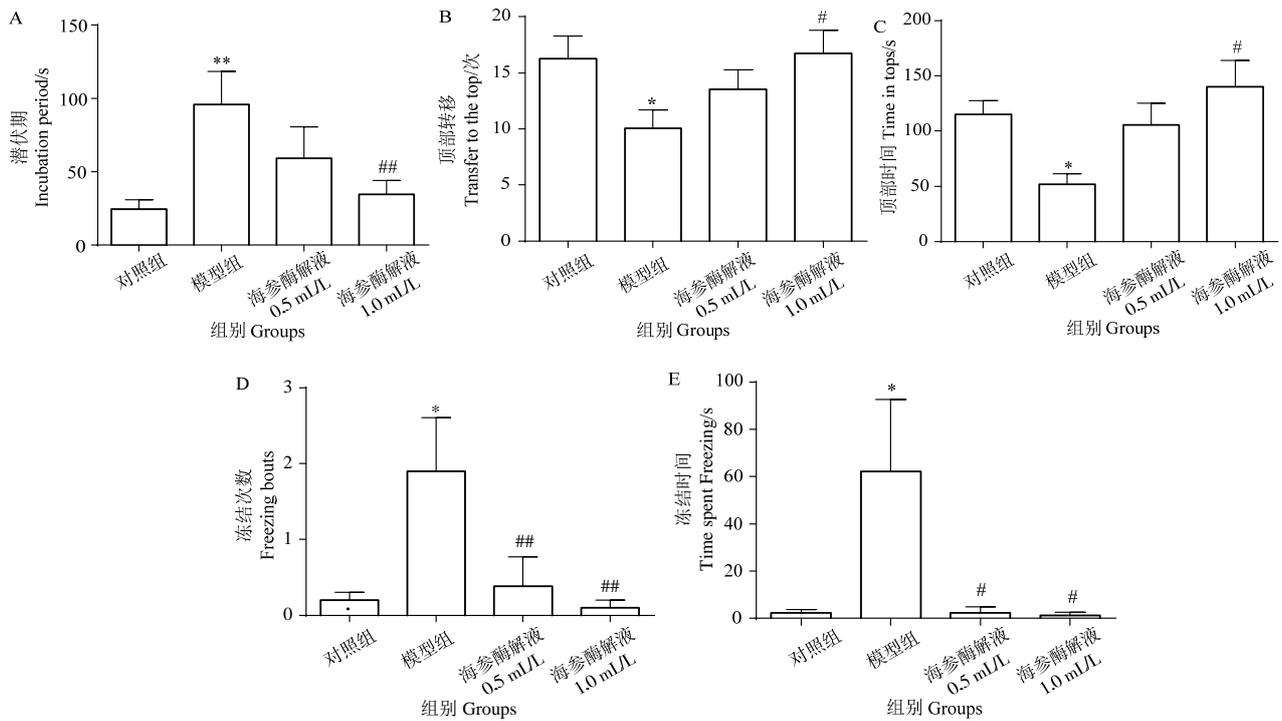
Fig. 2 Effects of sea cucumber hydrolysis on total cholesterol in zebrafish

### 2.2 海参酶解液对斑马鱼新鱼缸潜水行为的影响

新鱼缸潜水模型实验结果如图 3 所示, A 图为潜伏期, 单因素方差分析结果显示 ( $F_{(3, 50)} = 4.070, P < 0.05$ ), 与对照组相比, 模型组斑马鱼潜伏期显著延长 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比, 低剂量实验组潜伏期呈降低趋势, 高剂量实验组潜伏期显著降低 ( $P < 0.01$ ), 并接近对照组水平。B 图为顶部转移次数, 单因素方差分析结果显示 ( $F_{(3, 54)} = 2.861, P < 0.05$ ), 与对照组相比, 模型组斑马鱼顶部转移次数显著减少 ( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 低剂量实验组顶部转移次数呈增加趋势, 高剂量实验组则显著增加了斑马鱼顶部转移次数 ( $P < 0.01$ )。C 图为顶部用时, 非参数检验 (Kruskal-Wallis) 结

果显示 ( $H = 12.53, P < 0.01$ ), 与对照组相比, 模型组斑马鱼顶部用时显著减少 ( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 低剂量实验组呈增加趋势, 高剂量实验组则显著增加 ( $P < 0.05$ )。D 图为冻结次数, 非参数检验 (Kruskal-Wallis) 结果显示 ( $H = 14.80, P < 0.01$ ), 与对照组相比, 模型组的冻结次数显著升高 ( $P < 0.05$ ); 而与模型组比较, 海参酶解液高低剂量组都

可以有效地降低斑马鱼的冻结次数 ( $P < 0.01$ )。E 图为冻结时间, 非参数检验 (Kruskal-Wallis) 结果显示 ( $H = 14.10, P < 0.01$ ), 与对照组相比, 模型组的冻结时间显著升高 ( $P < 0.05$ ); 而与模型组比较, 海参酶解液高低剂量组都可以有效地降低斑马鱼的冻结时间 ( $P < 0.05$ )。综上所述, 海参酶解液可有效缓解高糖高脂所诱导的斑马鱼抑郁样行为。



\*,  $P < 0.05$  vs 对照组; #,  $P < 0.05$  vs 模型组, ##,  $P < 0.01$  vs 模型组  
 \*,  $P < 0.05$  vs control group. #,  $P < 0.05$  vs model group. ##,  $P < 0.01$  vs model group

图 3 海参酶解液对高糖高脂诱导的斑马鱼抑郁样行为的改善作用

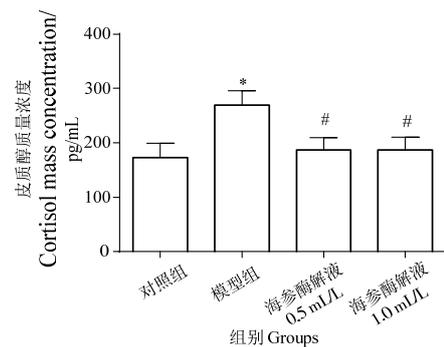
Fig. 3 Effect of sea cucumber hydrolysis solution on depression-like behavior of zebrafish

### 2.3 海参酶解液对斑马鱼组织皮质醇含量的影响

由图 4 可以看出, 海参酶解液对斑马鱼皮质醇含量有显著影响 ( $F_{(3, 19)} = 3.198, P < 0.05$ )。与对照组相比, 模型组的皮质醇含量是显著增加的 ( $P < 0.05$ ), 而低剂量及高剂量的海参酶解液对此现象有所改善 ( $P < 0.05$ )。由此可以看出海参酶解液能够有效的降低斑马鱼体内皮质醇的含量。

## 3 讨论

本实验的主要结果, 高糖高脂诱发的内分泌紊乱, 皮质醇水平显著升高, 从而导致斑马鱼出现焦虑及探索能力下降等抑郁症状; 高浓度的海参酶解液不仅可以改善高糖高脂水平, 也可以通过调节皮



\*,  $P < 0.05$  vs 对照组; #,  $P < 0.05$  vs 模型组; ##,  $P < 0.01$  vs 模型组  
 \*,  $P < 0.05$  vs control group; #,  $P < 0.05$  vs model group. ##,  $P < 0.01$  vs model group

图 4 海参酶解液对高糖高脂诱导的斑马鱼体内皮质醇浓度的改善作用

Fig. 4 Effects of sea cucumber hydrolysis on cortisol of zebrafish

质醇水平改善斑马鱼的抑郁样行为。本文将从糖尿病发病诱因以及与抑郁的关系、行为改变、皮质醇、糖脂的指标异常和海参的治疗方面进行讨论。

糖尿病是临床常见的代谢性疾病,具有并发症多、疗程长等特点,研究表明斑马鱼可作为糖尿病研究的理想模型<sup>[11]</sup>。Gleeson 等<sup>[11]</sup>将斑马鱼交替暴露于无葡萄糖的水与含 2% 葡萄糖的水溶液中 28 天建立糖尿病模型,发现斑马鱼每次浸入 2% 葡萄糖溶液中时都会出现血糖峰值。本实验通过质量分数 2% 葡萄糖浓度系统水浸泡,质量分数 10% 高胆固醇饲料饲喂,发现高糖高脂处理可以引起斑马鱼组织中葡萄糖和总胆固醇水平显著升高,表明斑马鱼糖尿病模型建立成功。通过给予不同剂量海参酶解液浸泡治疗,发现海参酶解液具有明显改善高糖高脂的功效,且高剂量效果优于低剂量,具有一定的剂量依赖性。

研究表明,糖尿病患者易出现抑郁、焦虑等负面情绪,而这些负面情绪又可通过神经内分泌、免疫调节等负反馈途径,进一步导致血糖血脂功能障碍<sup>[12]</sup>。Lustman 等<sup>[13]</sup>通过对 20 218 例糖尿病患者的资料进行研究比对后发现,有 11% 的糖尿病患者出现了重度抑郁症状,31% 的糖尿病患者的抑郁症状在病程中逐渐加重。随后,Arigo 等<sup>[13]</sup>提出了“糖尿病合并抑郁”的概念,并且在动物实验中得到证实。

抑郁的症状是多方面的,其中包括焦虑、探索行为下降。这些也是作为判定抑郁模型动物行为的指标。目前对于抑郁模型的研究主要是围绕哺乳动物展开的,而斑马鱼模型较为罕见<sup>[15-17]</sup>。在斑马鱼抑郁模型的行为学测试中,新鱼缸实验常用于评估斑马鱼的焦虑行为及探索能力<sup>[18-20]</sup>。在正常状态下,鱼在新鱼缸底部需要一定的适应(潜伏期)时间,然后逐渐对顶部进行探索(顶部转移以及顶部时间),而处在抑郁状态下的鱼在新鱼缸的潜伏期和在下部的冻结次数及冻结时间会加长,而顶部转移次数及顶部探索时间会减少<sup>[21]</sup>。在本实验中,糖尿病模型的斑马鱼显示了上述抑郁行为,即高糖高脂模型组斑马鱼在新鱼缸顶部转移次数及时间都显著降低,而潜伏期与底部冻结次数和时间都显著增长,这些结果表明高糖高脂诱发的糖尿病伴有抑郁的症状。本实验还证明海参酶解液的治疗可显著改善高糖高脂水平及其诱发的抑郁样行为。

与抑郁病人的症状相同,本实验证明糖尿病模

型动物的 HPI 轴分泌皮质醇含量增加,进而诱发抑郁样行为。研究表明糖尿病诱发抑郁症的原因主要有两方面,即神经内分泌异常和血糖紊乱<sup>[22-23]</sup>。多数学者<sup>[24-26]</sup>认为两者共病且相互影响的基础是下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA 轴)。HPA 轴是人或哺乳动物神经内分泌系统的控制中心,其失衡是引发焦虑/抑郁样行为的原因。过高血糖可以导致内分泌系统 HPA 轴的紊乱,从而引起抑郁样行为。有发现 II 型糖尿病患者持续性慢性高血糖水平对海马神经元造成损伤,使海马神经元对 HPA 轴的抑制作用降低,导致皮质醇分泌过多<sup>[27]</sup>。反之,过高的皮质醇不仅促进糖原异生,使血糖水平升高;同时皮质醇可抑制外周组织(如肌肉组织、脂肪组织、淋巴组织、结缔组织等)对葡萄糖的摄取和利用。总之,HPA 轴分泌过高的皮质醇会恶化糖脂代谢。在斑马鱼中,主要是下丘脑-垂体-肾间轴(hypothalamic-pituitary-interrenal, HPI axis)发挥调控作用,在皮质醇释放的时间动力学和行为效应方面与人类的 HPA 轴功能一致。以上研究均表明血糖血脂异常可诱发机体内分泌失衡,激素调控异常,特别是皮质激素水平异常升高,从而诱发抑郁行为。

海参酶解液改善高糖高脂所致斑马鱼的抑郁样行为可能是通过改善异常的糖脂水平,减弱高糖高脂对 HPI 轴的损伤,恢复 HPI 轴反馈功能,使其正常分泌皮质醇,从而改善斑马鱼抑郁样行为。但改善抑郁行为更深层的分子水平机制仍有待研究。

## 参考文献

- [1] DZIEMIDOK P, MAKARA-STUDZIÅ S M, JAROSZ M J. Diabetes and depression: a combination of civilization and life-style diseases is more than simple problem adding - literature review[J]. *Ann Agric Environ Med*, 2011, 18(2): 318-322.
- [2] LEONE T, COAST E, NARAYANAN S, et al. Diabetes and depression comorbidity and socio-economic status in low and middle income countries (LMICs): a mapping of the evidence[J]. *Globalization & Health*, 2012, 8(1): 39-49.
- [3] ROY T, LLOYD C E, PARVIN M, et al. Prevalence of co-morbid depression in out-patients with type 2 diabetes mellitus in Bangladesh[J]. *BMC Psychiatry*, 2012, 12(1):

- 123-133.
- [4] 施展. 斑马鱼——一只游入人类新药研发领域的小鱼[J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(20): 29-30.
- [5] 刘晓金, 陈华利, 高燕, 等. 斑马鱼模式研究现状及应用情况进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18(4): 125-127.
- [6] 谢静, 王卫庆. 斑马鱼模型和相关技术及其在内分泌系统的应用和前景[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2008, 28(1): 30-32.
- [7] 张朝燕, 吴文惠, 刘克海, 等. 基于海洋药物特色的药剂学综合实验设计[J]. 科技资讯, 2010 (32): 236-236.
- [8] 张梅秀, 王锡昌, 刘源. 海参生物活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(8): 1151-1159.
- [9] 逢龙. 海参主要活性物质对血管内皮细胞的保护作用及抗肿瘤活性的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
- [10] 杨隆恩, 张永平, 张才, 等. 海参酶解液对角叉菜胶所致小鼠血栓形成的抑制作用[J]. 广东海洋大学学报, 2018, 38(4): 57-62.
- [11] GLEESON M, CONNAUGHTON V, ARNESON LS. Induction of hyperglycaemia in zebrafish (*Danio rerio*) leads to morphological changes in the retina[J]. Acta Diabetologica, 2007, 44(3): 157-163.
- [12] 孙宏峰, 杨晓晖. 糖尿病合并抑郁症的诊断和处理[J]. 中华全科医学, 2017, 15(7): 1097-1098.
- [13] LUSTMAN P J, GRIFFITH L S, CLOUSE R E. Depression in adults with diabetes. Results of 5-yr follow-up study[J]. Diabetes Care, 1988, 11(8): 605-616.
- [14] ARIGO D, SMYTH J M, HAGGERTY K, et al. The social context of the relationship between glycemic control and depressive symptoms in type 2 diabetes[J]. Chronic Illness, 2015, 11(1): 33-43.
- [15] ALMEIDA-SOUZA T H, GOES T C, TEIXEIRA-SILVA F. Pharmacological validation of the free-exploratory paradigm in male Wistar rats: A proposed test of trait anxiety[J]. Pharmacology Biochemistry & Behavior, 2015, 135: 114-120.
- [16] HUGHES R N, OTTO M T. Anxiolytic effects of environmental enrichment attenuate sex-related anxiogenic effects of scopolamine in rats[J]. Progress in Neuro-psychopharmacology and Biological Psychiatry, 2013, 40(1): 252-259.
- [17] KANGUSSU L M, ALMEIDA-SANTOS A F, BADER M, et al. Angiotensin-(1-7) attenuates the anxiety and depression-like behaviors in transgenic rats with low brain angiotensinogen[J]. Behavioural Brain Research, 2013, 257(4): 25-30.
- [18] KJÆRSGÅRD I V H, JESSEN F. Proteome analysis elucidating post-mortem changes in cod (*Gadus morhua*) muscle proteins[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2003, 51(14): 3985-3991.
- [19] TEROVA G, ADDIS M F, PREZIOSA E, et al. Effects of postmortem storage temperature on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) muscle protein degradation: analysis by 2-D DIGE and MS[J]. Proteomics, 2011, 11(14): 2901-2910.
- [20] STEWART A, GAIKWAD S, KYZAR E, et al. Modeling anxiety using adult zebrafish: a conceptual review[J]. Neuropharmacology, 2012, 62(1): 135-143.
- [21] DOS M S, DE G M, PRESTES A S, et al. Hyperglycemia elicits anxiety-like behaviors in zebrafish: Protective role of dietary diphenyl diselenide[J]. 2018 S0278-5846(18): 30036-30044.
- [22] LUSTMAN P J, ANDERSON R J, FREEDLAND K E, et al. Depression and poor glycemic control: a meta-analytic review of the literature[J]. Diabetes Care, 2000, 23(7): 934-942.
- [23] TÉLLEZ-ZENTENO J F, CARDIEL M H. Risk factors associated with depression in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Archives of Medical Research, 2002, 33(1): 53-60.
- [24] 贾杰芳, 刘玉美, 陈传刚, 等. 抑郁程度对 2 型糖尿病共病抑郁患者血糖波动与认知功能影响及机制分析[J]. 精神医学杂志, 2017, 30(1): 45-49.
- [25] KATON W, MAJ M, SARTORIUS N. Depression and Diabetes [M]. John Wiley & Sons, 2010: 1-27.
- [26] 徐说, 林文娟. 抗炎性细胞因子与抑郁症[J]. 生物化学与生物物理进展, 2014 (11): 1099-1108.
- [27] CHAN O, CHAN S, INOUE K, et al. Molecular regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in streptozotocin-induced diabetes: effects of insulin treatment[J]. Endocrinology, 2001, 142(11): 4872-4880.

(责任编辑: 刘肱)