



高糖饮食对青年小鼠初级视觉皮层的功能损伤及其机制*

徐珑玲 周逸峰** 徐光威**

(中国科学技术大学生命科学与医学部, 合肥 230026)

摘要 目的 诸多研究证实高糖饮食会对视觉功能造成损伤, 但是目前关于高糖饮食对视觉功能影响的研究主要聚焦于视觉通路前端, 集中在眼球系统和视神经节部分, 对于视觉通路的后端如中枢皮层还未有过相关报道。为了更全面地了解高糖饮食对视觉功能的影响, 本文补充高糖饮食对视觉中枢皮层影响的研究。**方法** 本研究利用 GO/NO-GO 方位辨别任务的行为学范式、在体多通道电生理技术探究了高糖饮食对青年小鼠初级视觉皮层的影响。**结果** 行为学结果表明, 经历了2个月高糖喂养的青年小鼠, 方位辨别能力下降。通过电生理技术分析初级视觉皮层(V1)单个神经元的反应特性, 发现高糖饮食小鼠初级视觉皮层单个神经元的方位调谐能力下降, 神经元的反应变异性增加、信噪比明显降低。神经元噪音相关性分析结果表明, 高糖饮食组小鼠初级视觉皮层的噪音相关性表现出明显的上调。进一步分析群体水平上信噪比和反应变异性的变化, 结果表明群体水平上信噪比明显下降而反应变异性明显上升。**结论** 高糖饮食通过影响初级视觉皮层单个神经元的感受野特征以及群体神经元的的信息处理能力, 损伤了青年小鼠的方位辨别能力。

关键词 高糖饮食, 初级视觉皮层, 在体电生理, 方位辨别

中图分类号 K826.15

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0013

近年来, 青少年日常饮食中对单糖的摄入越来越高^[1], 而已经有很多研究证明, 高糖饮食(high sugar diet, HSD)会引起肥胖等健康问题^[2-3], 更为严重的是HSD会对青少年大脑产生诸多危害, 对青少年的感知造成损伤^[4-5]。

视觉系统是人类感知外部世界最重要的窗口之一, 人类超过80%的信息都来自于视觉系统^[6]。视觉系统从视网膜接收外部视觉刺激, 通过视神经传递到外侧膝状体最后到达视觉皮层^[7]。其中, 视觉中枢皮层作为大脑皮层中负责处理视觉信息最主要的部分, 对青少年的感知能力至关重要^[8]。

目前已经有不少研究证实, HSD会对视觉功能造成损伤, 如Bejarano等^[9]表明, HSD会导致晚期糖基化终产物(advanced glycation end products, AGEs)的积累, 诱导眼组织功能障碍和眼部疾病。Zhou等^[10]探究了高血糖水平影响视网膜神经节细胞的视觉反应特性, 结果显示, 高血糖水平降低了视网膜神经节细胞(retinal ganglion cell, RGC)的感受野中心尺寸, 抑制了亮度阈值,

并衰减了对比度增益。Farnoodian等^[11]报道, 高血糖条件下, 视网膜色素上皮细胞(retina pigment epithelium, RPE)迁移和增殖加快, 导致增殖性玻璃体视网膜病变, 视网膜变性脱离以及视网膜外层血液屏障破坏。但是目前所报道的对于视觉功能的损伤基本聚焦在视觉系统通路的前端, HSD对视觉中枢的影响及其机制还未曾有过报道。Pérez-Corredor等^[12]证实, HSD会对青少年的海马区域产生损伤, 由于海马与视觉皮层发育的同源性, 推测HSD可能会损伤视觉中枢皮层, 进而影响视觉功能。对糖尿病的研究表明, 糖尿病在诱发视网膜病变之前, 就对视觉皮层产生了损伤^[13], 这表明高血糖会对视觉中枢产生影响。

* 国家自然科学基金(32200789)和安徽省教育厅高校自然科学基金(2022AH052326)资助项目。

** 通讯联系人。

周逸峰 Tel: 13033082368, E-mail: zhouy@ustc.edu.cn

徐光威 Tel: 18655182170, E-mail: weixu@ustc.edu.cn

收稿日期: 2023-01-10, 接受日期: 2023-03-15

为了探究HSD对视觉中枢的影响, 本文选择青年小鼠初级视觉皮层(V1)作为研究对象。V1是视觉中枢的第一站, 接受来自视网膜到外膝体视觉信息的输入, 并将视觉信息处理加工后传递到更为高级的视觉皮层, 在视觉信息处理中处于关键地位^[14]。方位调谐能力是初级视觉皮层最为典型的特征^[15], 是视觉感知中方位辨别的基础, 决定了动物对物体边界的识别、轮廓感知。本研究通过探究HSD对青年小鼠初级视觉皮层单个神经元感受野和群体信息处理能力的影响, 发现HSD减弱了视觉中枢对视觉信息的处理能力, 揭示出HSD损伤视觉功能的可能视觉中枢机制。

1 材料与方法

1.1 动物

本试验采用野生型(c57BL/6, WT)雄性小鼠(年龄: 3周; 体重: (18 ± 2) g), 按照标准饲养动物按照12 h: 12 h的光照: 黑暗循环, 饲养于恒温($23 \sim 25^{\circ}\text{C}$)恒湿(60%)的无特定病原体(specific pathogen free, SPF)环境, 除了在行为学训练和测试期间, 食物和水自由获得。

1.2 饮食

适应1周后, 小鼠被随机均分为两组。对照组($n=40$): 0%单糖含量的饲料喂养; HSD组($n=40$): 25%单糖含量的饲料喂养。两组饲料总热量和三大物质(蛋白质、脂肪、碳水)组成基本相同, 只是在碳水结构上有所差异。0%饲料的单糖热量占比为0%, 与普通饲料的成分接近; 25%饲料单糖(葡萄糖: 果糖=1: 1)热量占比25%, 模仿青少年喜爱的含糖饮料的成分。所有饲料均购自南京特洛菲。两组小鼠从断乳后饲喂不同饲料, 贯穿整个实验过程。期间, 小鼠自由获得食物和水。

1.3 代谢指标检测

糖诱导疾病相关的代谢指标, 包括体重、葡萄糖耐量试验(IPGTT)和胰岛素耐量试验(ITT)。

1.3.1 体重检测

自小鼠适应1周后(年龄: 4周)开始, 按照两周1次的频率, 监测两组中每只小鼠的体重变化, 持续8周。

1.3.2 腹腔注射葡萄糖耐量试验(IPGTT)和胰岛素耐量试验(ITT)

小鼠喂养至成年时(年龄: 8~9周)开始对两

组小鼠进行腹腔葡萄糖耐量试验(对照组: $n=10$, HSD组: $n=10$)和胰岛素耐量试验(对照组: $n=10$, HSD组: $n=9$), 两次实验间隔1周, 计算曲线下面积定量评估葡萄糖耐受和胰岛素耐受情况。

腹腔注射葡萄糖耐量试验和胰岛素耐受试验根据文献报道的方法进行^[16-17]。在注射葡萄糖耐量试验中, 禁食前, 将小鼠转移到洁净笼内并做好编号标记, 防止旧笼内有食物残留, 小鼠在笼内可以自由获取水源。小鼠隔夜禁食(22:00~次日8:00), 测试时按照1 g/kg腹腔注射20%的葡萄糖溶液。每一只鼠更换注射器。采用尾静脉取血, 使用锋利的剪刀剪断约1 mm的鼠尾尖, 剪刀在使用前需酒精消毒。在0、15、30、60、90、120 min分别测量血糖。在进行血糖测定之前, 需要擦除第一滴血液, 以免溶血或污染的血液影响测试结果准确性。在胰岛素耐受试验中, 分笼禁食5 h(10:00~15:00), 期间小鼠在笼内自由获取水。按照0.75 U/kg腹腔注射胰岛素。尾静脉取血, 在0、15、30、45、60 min测量血糖。

1.4 行为学检测

1.4.1 手术

行为学需要固定小鼠头部, 因此需要在小鼠头部进行贴片。将小鼠称重后按照20 μg 的剂量腹腔注射三溴乙醇进行麻醉, 头部和嘴部分别用耳杆和嘴夹进行固定。消毒后的手术剪剪去头部部分皮毛, 用双氧水去除小鼠颅骨表面的结缔组织, 充分暴露颅骨表面, 将组织胶涂抹在创口处, 止血并闭合伤口。利用牙科丙烯酸树脂将钛合金贴片固定于颅骨上。术后将小鼠放在电热毯上进行恢复至其苏醒重新放入SPF环境恢复1周, 在此期间小鼠自由获取水和食物。

1.4.2 GO/NO-GO方位辨别任务

小鼠贴片恢复1周后, 将小鼠放入行为学实验间适应1周, 并调整其昼夜节律, 按照黑暗(8:00~22:00)光照(22:00~次日8:00)进行调整。调整1周后, 限制小鼠饮水, 保证小鼠的最低饮水量为1 ml/d, 维持小鼠正常生命活动的需要。小鼠在限水初始体重会下降, 待其体重下降到初始体重的80%时开始进行行为学训练(对照组: $n=10$, HSD组: $n=9$)^[18], 具体方法见文档S1。

1.5 在体多通道麻醉电生理

1.5.1 手术

用异氟烷麻醉小鼠后,通过耳夹、嘴夹将小鼠头部固定在电生理架上,手术剪消毒后剪去头部表面皮毛,剪开小鼠头皮。通过立体定位仪定位,找到小鼠两侧的V1皮层(前囟往后3.5 mm,中缝左右2.5 mm)所在位置,将多通道电极植入到小鼠V1。

1.5.2 在体多通道电生理记录

在与小鼠头部夹角45°、垂直于小鼠单侧眼30 cm处的地方放置CRT显示屏(Sony Multi Scan G 220, Sony),呈现漂移的光栅作为视觉刺激,用1×32线性阵列电极(A1×32, poly 2, electrode array width-50 μm , site area 177 μm^2 , Neuro Nexus, Ann Arbor, MI, USA; ASSY-37-32-5, 8.3 mm, Acute 32 channel assembly, LOTUSBIOCHIPS, Diagnostic biochips, USA)对小鼠视皮层进行神经元的胞外电生理记录。所有神经信号经过前端放大器的滤波和放大(截止频率为10 kHz, 1 000 Blackrock, Salt Lake City, UT, USA)传递至神经信号处理系统(采样频率为30 kHz, 16 bit, Blackrock),神经信号处理系统将所记录的电信号转化为数字信号并被保存。

1.6 视网膜检测

1.6.1 眼底微血管检查

腹腔注射三溴乙醇麻醉小鼠后,将阿托品滴在小鼠眼睛上,等待3 min,小鼠瞳孔完全散开后,用欧堡眼底照相仪检测小鼠眼底微血管病变情况。

1.6.2 苏木精-伊红(HE)染色

具体内容见文档S1。

1.7 统计和数据分析

数据结果使用Offline Sorter x64 V3软件,通过波形特征(峰值、面积、谷值、峰谷比、峰宽等)手动分选和识别单个unit,使用Matlab工具包、NeuroExplorer5x64进行拟合、分析,GraphPad Prism 9进行数据统计,采用非配对双尾 t 检验(unpaired two-tailed t -test),曼惠特尼 u 检验(Mann-Whitney u -test),ANOVA分析,显著性水平 α 设定为0.05,当 P 值小于0.05被认为具有显著差异。本实验分析了高糖饮食组和对照组的神经元反应强度、初级视觉皮层单个神经元的方位选择

性、信噪比、反应变异性以及多神经元放电活动(multi-unit activity, MUA)水平上的信噪比和反应变异性、噪音相关性。计算方法见文档S1。

2 结 果

2.1 HSD造成青年小鼠体重上升、葡萄糖、胰岛素耐受性下降

从小鼠出生后4周开始喂养高糖饲料,喂养至12~13周时通过腹腔注射葡萄糖耐量检测(IPGTT)和胰岛素耐量检测(ITT)检测小鼠葡萄糖耐受性和胰岛素抵抗功能的变化,喂养期间每间隔两周对小鼠的体重进行称重直至成年(图1a)。经过2个月的喂养之后,两组小鼠在体重、葡萄糖耐受性和胰岛素耐受性方面均出现不同程度的改变。相比于对照组,HSD组小鼠的体重上升较快(图1b),并且成年后的体重明显高于对照组(图1c)。为了探究小鼠的糖代谢能力是否发生了改变,通过腹腔注射葡萄糖耐量试验检测了两组小鼠葡萄糖耐受,胰岛素耐受试验检测了胰岛素耐受的情况。统计结果显示,HSD组小鼠的葡萄糖耐受性、胰岛素耐受性均出现了下降(图1d~g),但远未达到糖尿病水平^[13]。这些结果说明,HSD确实会导致小鼠体重上升,引起葡萄糖耐受性、胰岛素耐受性下降等代谢问题,但远未达到糖尿病的标准,排除了后期视觉功能的变化是由于糖尿病损伤造成。

2.2 HSD造成小鼠方位辨别能力下降

为了探究HSD对视觉方位辨别能力是否造成影响,在喂养小鼠至3个月大时,采用GO/NO-GO舔水实验检测两组小鼠方位辨别能力是否发生改变(图2a)。在本研究中,两组同龄小鼠接受了GO/NO-GO舔水任务训练。结果表明,相比于对照组小鼠的 d' 值(1.27±0.24),HSD组的小鼠 d' 值(0.67±0.08)明显下降(图2c)。这表明,HSD会引起行为学层面上小鼠方位辨别能力的下降。为了探究HSD引起的小鼠方位辨别能力是否与视网膜损伤有关,检测了小鼠视网膜的微血管是否出现了损伤,并在测试结束后进行了视网膜切片HE染色,进一步检测小鼠视网膜是否出现了病变。结果显示,HSD组小鼠的视网膜相比于对照组小鼠的视网膜的各个细胞层的厚度没有出现显著差异(图2b, d)。

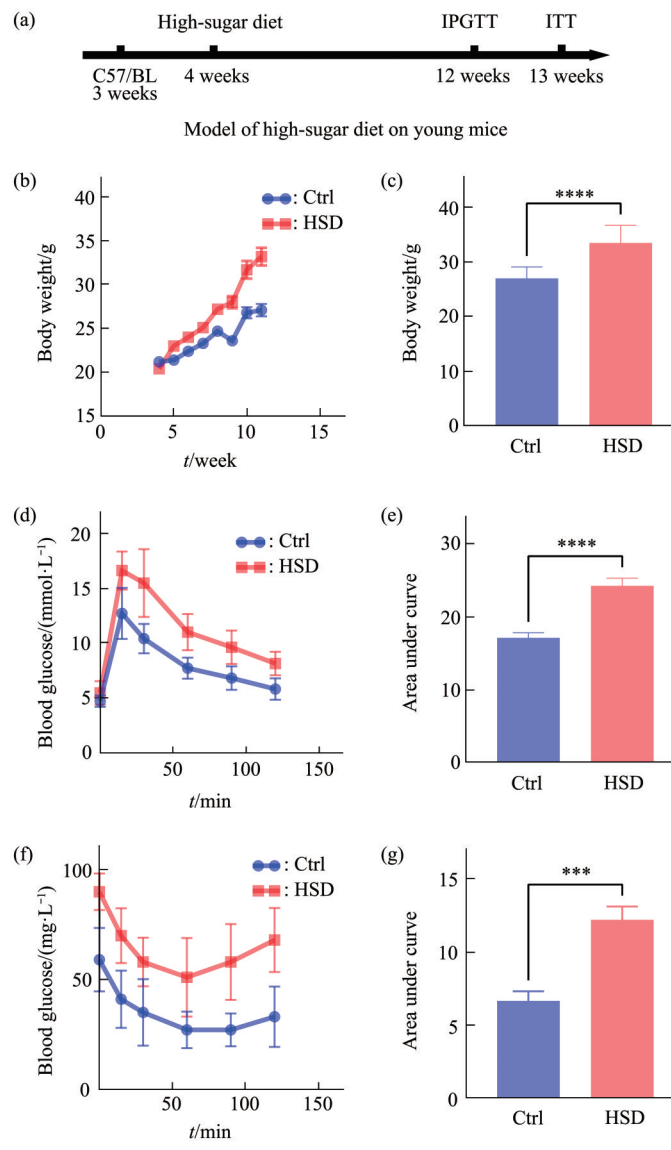


Fig. 1 Changes in body weight, glucose resistance, and insulin resistance of high-sugar diet mice

(a) High-sugar diet feeding and metabolic detection timeline: C57/BL male mice were fed with different diet for one month, the group of high-sugar diet was fed with a monosaccharide content of 25% (glucose:fructose=1:1), and the control group was fed with a monosaccharide content of 0%. The composition and proportion of the three major substances of the two feeds are identical, and only the carbohydrate composition is different. (b) Curve of mice weight. Both groups of mice are weighed once a week. (c) Body weight after two months of feeding. HSD ($n=13$), Ctrl ($n=13$). (d) Blood glucose curves in mice during IPGTT detection. After overnight fasting, mice were injected with 20% glucose solution at a dose of 1 g/kg, and their blood glucose concentrations were measured after 0, 15, 30, 60, 90, and 120 min, respectively. (e) Area under the curve of IPGTT. (f) Blood glucose curves in mice during ITT detection. Mice are fasted for 5 h (10:00–15:00), during which only water is provided. Mice were injected intraperitoneally with insulin at a dose of 0.75 U/kg. The blood glucose concentration was measured after 0, 15, 30, 60, 90 and 120 min, respectively. (g) Area under the curve of ITT. The data are expressed as $mean \pm SEM$. *** $P < 0.001$ and **** $P < 0.0001$, Mann-Whitney U test.

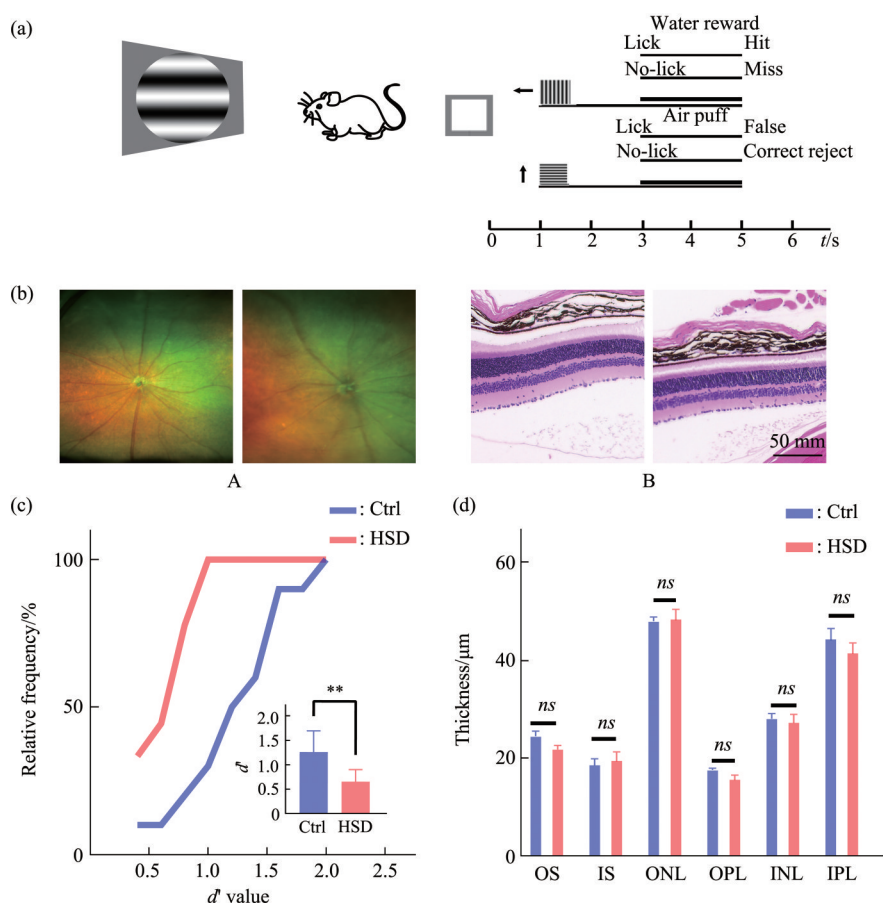


Fig. 2 The orientation discrimination ability decreased in mice by a high-sugar diet

(a) Schematic diagram of mice performing GO/NO-GO orientation discrimination licking task. Mice need to respond to the stimuli presented on the screen (licking water or not licking water). Visual stimulation begins to appear 1 s after the bright screen stimulation prompt, the first 2 s of visual stimulation are non-response windows, and the last 2 s are response windows. In the response window, when the GO stimulus (vertical grating) appears, the mouse licking water that is the water reward is recorded as hit, and if it is not licked and not given water, it is recorded as miss; when NO-GO stimuli (non-vertical gratings) appear, mice lick to give jet punishment, recorded as False, not licking without reward, recorded as Correct reject. (b) Retinal detection. A: Panoramic fundus photography to detect changes in retinal micro vessels in mice. B: Schematic diagram of HE staining of mice retinal sections. The left figure shows the control group ($n=5$) and the right figure shows the high-sugar diet group ($n=5$). (c) Differences in orientation discrimination between the high-sugar diet group ($n=9$) and the control group ($n=10$). The orientation difference of the visual stimulus during the test phase is 15° . (d) Comparison of thickness of each cell layer stained by HE of retinal section. Data are expressed as $mean \pm SEM$, *ns*, no significant difference, $**P < 0.01$, Mann-Whitney *U* test.

2.3 HSD造成小鼠初级视觉皮层神经元方位选择性下降

为了探究HSD引起小鼠方位辨别能力下降的神经元层面的机制, 通过在体电生理技术, 检测小鼠初级视觉皮层单个神经元的活性以及方位调谐能力 (图3a)。不同朝向的光栅刺激会使视皮层神经元产生不同强度的反应, 这种响应差异被称为方位

调谐。如果刺激图形的朝向与神经元的偏好方位相同, 那么此时的神经元反应最为强烈, 如果刺激图形的朝向与神经元的偏好方位垂直, 那么神经元反应最弱 (图3b)。结果发现, 相比于对照组, HSD组小鼠的自发发放升高而在最优视觉刺激下反应活性降低 (图3c, d), 表明HSD改变了静息状态下视觉皮层神经网络的平衡以及对视觉刺激的反应强

度。采用方位偏好指数 (orientation bias index, OB) 表征细胞方位调谐能力的强弱, OB 值越大, 说明细胞方位调谐能力越强。反之, OB 值越小, 细胞方位调谐能力越差。在对照组和实验组中分别

获得 323 和 555 个神经元进行分析, 结果显示, 与对照组相比, HSD 组的 OB 显著下降 (图 3e, f), 这表明 HSD 损伤了初级视觉皮层单个神经元的方位调谐能力。

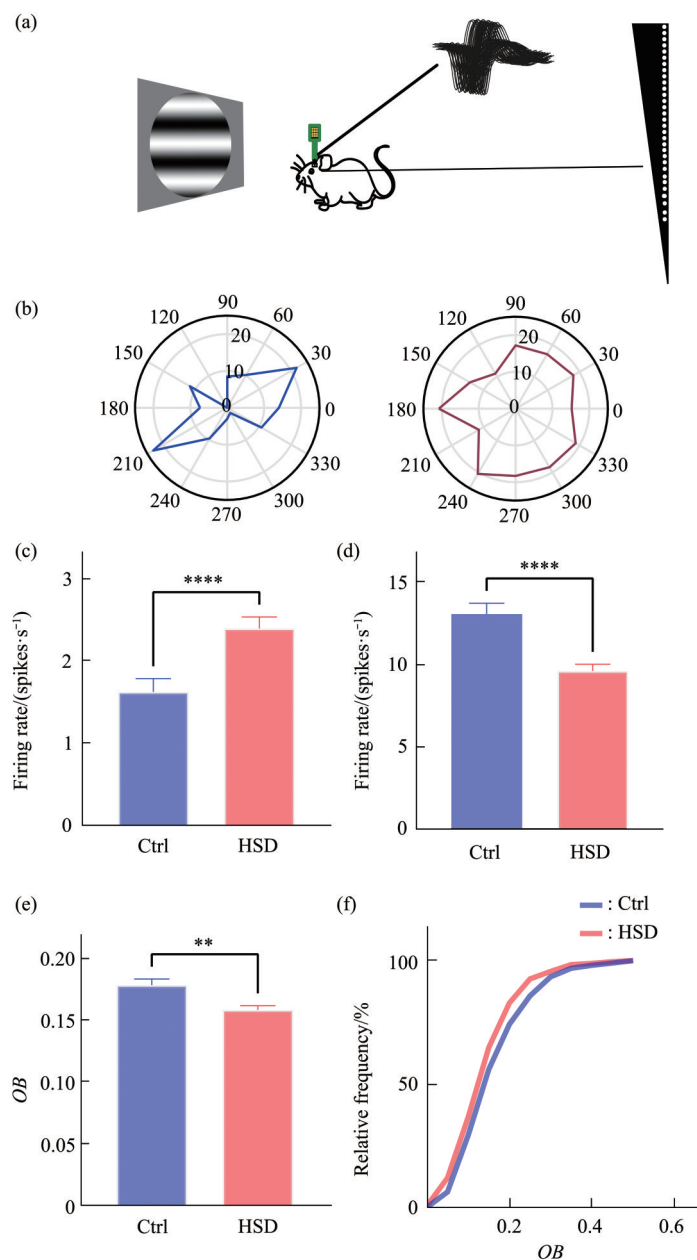


Fig. 3 Receptive field properties of neurons in primary visual cortex by electrophysiology recording *in vivo*

(a) Schematic diagram of *in vivo* electrophysiological recordings. The V1 cortex (depth 900 μm) is implanted using 1×32 multichannel electrodes and the visual stimulus is a drift grating with 95% contrast. Before starting data recording, the optimal spatial and temporal parameters have been determined, with a total of 10 cycles of visual stimulation, with random movement in 12 different directions in each cycle (0–330° at 30° intervals, and a blank stimulus for recording spontaneous activity). (b) Schematic diagram of orientation tuning. The left panel shows the control group mice, and the right panel shows the mice in the high-sugar diet group. The better the orientation tuning, the narrower the orientation tuning curve. (c) Statistical comparison of neuronal spontaneous emission in V1 region. (d) Statistical comparison of neuronal evoked emission in V1 region. (e, f) Statistical comparison of the orientation selectivity of neurons in the V1 region. The orientation selectivity is characterized by OB, the more OB value tends to 1, the stronger the preference of neurons for a certain orientation, and the stronger the orientation selectivity of neurons. HSD: $n=5$, Ctrl: $n=5$, the data are expressed as $\text{mean} \pm \text{SEM}$, ** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$, Mann-Whitney U test.

2.4 HSD降低了小鼠初级视觉皮层神经元的信息传递能力

方位调谐能力的下降可能与神经元信息传递能力有关。单个神经元接受相同的刺激时产生的放电频率并非完全一致，因此其在传递信息中就会产生噪音（图4a），也称为反应变异性，用法诺因子（Fano factor, FF）衡量，法诺因子越大，反应变异性越大。神经元准确提取并传递信息的能力就称为信噪比（signal-noise ratio, SNR），对于一些差异较小的刺激的分辨能力就会降低，这也是方位辨别能力下降的一个重要因素。本文比较了两组小鼠初级视觉皮层单个神经元反应变异性、信噪比。结

果显示，HSD组小鼠的反应变异性明显上升，信噪比明显下降（图4b, c）。同样，分析了群体神经元的的信息处理能力是否发生改变。用多神经元活动（multi-unit activity, MUA）反应群体神经元反应变化。多单位放电活动是所记录到的局部神经元的信号总和，能反映一定范围内神经元群体的特征。结果显示，相比于对照组小鼠，HSD组小鼠的多神经元上信噪比下降（图4d），反应变异性上升（图4e）。这些结果说明，HSD降低了小鼠初级视觉皮层单个神经元和神经元群体的信息处理能力。

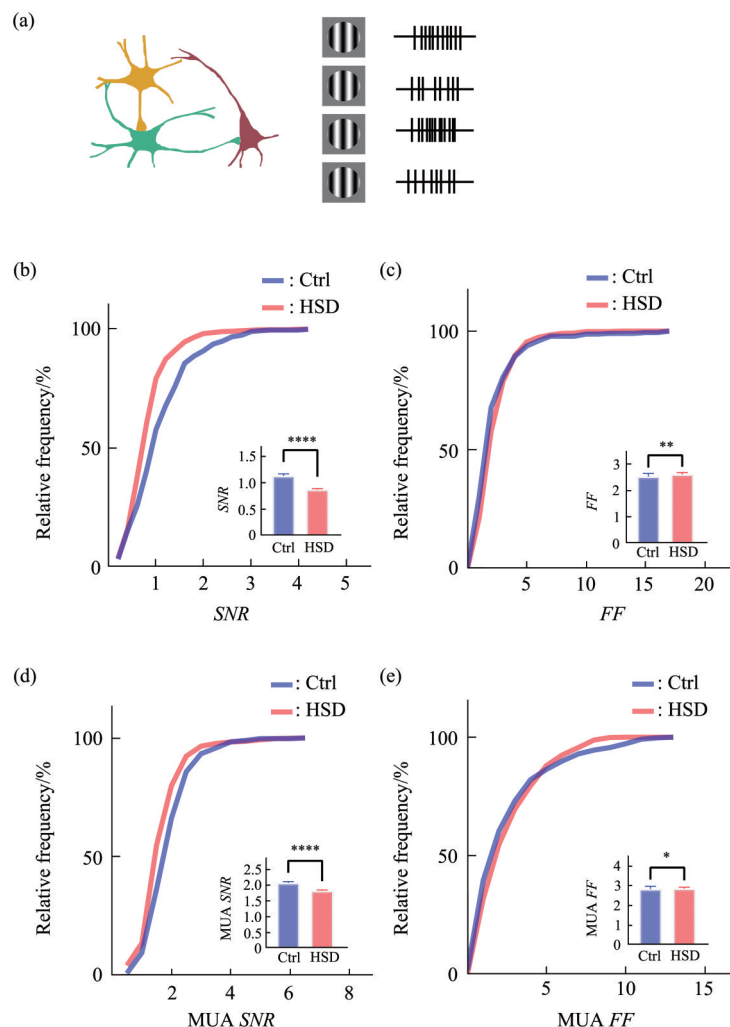


Fig. 4 Information processing ability of neurons in the V1

(a) Schematic diagram of neuronal information processing. When receiving the same visual stimulus, neurons respond differently to noise. (b) Signal-to-noise ratio of individual neurons in the primary visual cortex. (c) Level visual cortex single neuron response variability. Reaction variability is characterized by Fano factor (FF), and the larger the FF, the greater the reaction variability. (d) Signal-to-noise ratio of neuronal populations. (e) Response variability in neuronal populations. HSD: $n=5$, Ctrl: $n=5$. Data are expressed as $mean \pm SEM$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$, Mann-Whitney U test.

2.5 HSD导致小鼠初级视觉皮层神经元之间噪音相关性上升

上述结果提到初级视觉皮层单个神经元以及群体神经元的反应变异性升高, 而反应变异性的升高来源于神经元之间噪音的增强。噪音相关性 (spike count correlation, R_{sc}), 提供了神经元对不同刺激类型平均反应的相似性指数, 表明神经元之间的反应变异性的相似性^[19]。噪音相关性决定了视觉皮层的高精度编码^[20-21]。鉴于多个神经元噪音

相关性升高与群体神经元信息编码能力之间的联系, 本文接下来评估了HSD小鼠和对照组小鼠噪音相关性的变化。基于多通道线性电极阵列的记录位点, 从HSD组小鼠中获得了2 594个神经元对, 从对照组小鼠中获得了5 539个神经对。每对神经元之间的距离由它们在电极阵列距离决定。结果显示, HSD组的小鼠的噪音相关性明显升高 (图5a), 且这种变化体现在不同距离上 (图5b)。

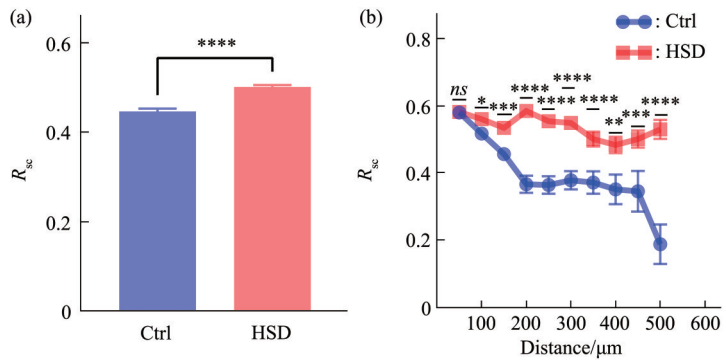


Fig. 5 Neuronal noise correlation of primary visual cortex (V1)

(a) Statistical comparison of noise correlation between neuronal pairs. (b) Statistical comparison of noise correlation between neuronal pairs at different distances. According to the distance of the upper site of the multichannel electrode, the neuronal pairs were divided into 100, 200, 300, 400, 500, and 600 μm respectively to calculate the noise correlation between the neuronal pairs at each distance. HSD: $n=5$, Ctrl: $n=5$, the data are expressed as $mean \pm SEM$, ns, no significant difference, $*P<0.05$, $**P<0.01$, $***P<0.001$, and $****P<0.0001$, Mann Whitney U test.

3 讨 论

本研究使用了GO/NO-GO行为学范式、在体多通道电生理记录等实验技术, 探究了HSD对青年小鼠V1的影响及其机制。行为学的结果表明, HSD降低了青年小鼠方位辨别能力。通过在体多通道电生理技术对小鼠V1神经元的发放速率分析后发现, HSD导致青年小鼠V1单个神经元自发活动水平明显上升而视觉刺激诱发反应明显减弱, 神经元的方位调谐能力变差, 反应变异性增大、信噪比降低, 群体神经元的反应变异性增大、信噪比下降, 神经元对之间的噪音相关性上升, 神经网络的信息处理能力下降。综上所述, HSD损伤了青年小鼠V1的神经元感受野特性和信息处理能力, 进一步影响了行为学水平上小鼠方位辨别的能力。

前人关于HSD对视觉通路影响的研究多是在视觉系统前端, 目前还未有关于HSD对视觉中枢影响的相关报道。本文将目光集中在视觉中枢的第一站——V1, 探究HSD对V1的影响及其

机制。

行为学的结果表明, HSD组的小鼠方位辨别能力出现了明显的下降, 会影响小鼠对物体边界的识别和轮廓感知。通过检查小鼠眼底微血管以及对小鼠眼球HE切片染色都表明HSD引起的方位辨别能力的下降并非是由于视网膜病变引起的, 确定了引起这种变化的原因来自于视觉神经系统, 这与实验室前人研究中所提到的在早期糖尿病小鼠中未观察到视网膜病变是一致的^[22]。同样的, 实验室前人的研究表明, 在对早期糖尿病高血糖小鼠的LGN的在体电生理记录结果分析显示LGN神经元反应特性没有发生显著变化^[22]。Bejarano等^[9]表明, HSD会导致晚期糖基化终产物的积累, 诱导眼组织功能障碍和眼部疾病, Farnoodian等^[11]报道高血糖条件下, 视网膜色素上皮细胞(RPE)细胞迁移和增殖加快, 导致增殖性玻璃体视网膜病变, 视网膜变性与脱离以及视网膜外层血液屏障破坏, 然而本文的结论与他们的结论有所差异。这可能是由于HSD进行的时间以及剂量不同造成, 本

文对小鼠进行高糖喂养的时间只有8周,且单糖含量只占食物总热量的25%,而他们的研究都经历了比较长的周期且饮食中给予的单糖的含量远远超过25%,血糖水平远远超过本研究中小鼠的血糖水平。此外,有研究报道,在糖尿病高血糖小鼠中视神经节细胞的损伤和丢失通常发生在糖尿病持续3个月以后,甚至更长时间^[23-24]。由于微血管损伤的检测以及视网膜组织切片HE染色只能证明眼球结构系统未出现异常,不足以证明是视网膜感光细胞和视神经节细胞的生理功能正常,因而还需后续实验进行验证。

上述结果表明,造成小鼠方位辨别能力降低的原因主要来自于视觉中枢。方位选择性作为V1的重要特性之一,小鼠方位辨别精度的降低更加提示HSD损伤了小鼠V1的可能性。通过对V1在体多通道电生理信号记录与分析,证实了HSD改变了小鼠V1单个神经元反应强度、感受野特征、神经元群体乃至神经网络信息编码和处理能力。单个神经元的自发反应增强而视觉刺激诱发反应减弱,OB显著下降。

感觉神经网络中,单个神经元在接收重复刺激期间的放电的稳定性是高效、可靠传递信息的保证。反应变异性会对神经元自身编码信息以及传递信息的效率产生影响^[25]。当反应变异性较小时,所接收的信息会被编码到更为精确的发放序列中,进而提高传递信息效率。但当反应变异性大时,将信息在大脑中进行叠加平均会更耗时,视觉信息在视觉系统处理过程中损失更大,最终导致传递效率下降^[26]。在自发反应增高的同时,视觉诱发反应下降会导致信噪比的降低,会影响神经元的信息处理能力,降低信息传输的保真度,导致视觉感知进一步受损^[27]。电生理结果显示,V1区神经元的反应变异性升高而信噪比下降,表明HSD确实影响了青年小鼠V1神经元的信息处理能力。单个神经元的功能不足以反映整体水平上的视觉感知,于是进一步分析了神经元之间的协同信息处理的能力。本文检测了神经元群体排除噪音的能力——噪音相关性的改变,并在电极上不同位点分析了不同物理距离上神经元对之间的噪音相关性大小变化。噪音相关性是皮层神经元是神经网络信息处理能力的直接影响因素,直接影响小鼠的神经元信息编码精度。前人的研究已经证实,噪音相关性限制了神经元群体编码的信息量,从而导致信息的丢失影响个人对相似感官刺激的辨别能力^[28]。本研究结果表

明,HSD小鼠的V1神经元对间的噪音相关性出现了明显上升,并且这种上升体现在不同物理距离上。这说明HSD导致神经元群体排除噪音的能力减弱,协同处理视觉信息的能力减弱。在MUA上的结果也支持了这一点。本文发现MUA的反应变异性升高、信噪比降低。MUA是所记录到的多个神经元的信号总和,能反映一定范围内群体神经元的信息处理能力^[29-30]。这与前人在早期糖尿病高血糖小鼠中观察到的结果具有一致性^[22]。神经元层面上感受野特性和信息处理能力的改变与小鼠在行为学层面表现出的方位辨别能力下降不谋而合,证实了HSD确实损伤了青年小鼠的V1的功能特性,并最终影响了动物个体的视觉感知。

之前在青老年猕猴的研究中,Schmolesky等^[31]发现,老化导致初级视皮层神经元的活性升高,方位方向调谐能力退化。Yu等^[32]发现,次级视皮层神经元的活性出现显著性增加的同时,方位选择性降低,并且强方位方向选择性神经元的比例降低。本实验室先前在青老年猕猴上的研究表明,老年猕猴的初级视觉皮层和中颞视区(MT)神经元的反应变异性增加,反应变异性增加,且前人研究表明衰老动物中初级视觉皮层、次级视皮层、中颞视区神经元的信噪比出现了显著下降^[32-33]。 γ 氨基丁酸能(GABAergic)系统的衰退是视觉系统老化的关键特征。在人类与非人灵长类的磁共振成像研究中表明,随着年龄的增长,大脑内侧前额叶、顶叶、后扣带回皮质的GABA水平下降^[34-35]。Leventhal等^[36]利用微电泳,通过在老年猕猴视皮层进行局部施加GABA及GABA受体激动剂,他们发现视皮层神经元的方位、方向选择性改善明显,同时视皮层神经元达到“再年轻化”,在青年猕猴视皮层局部施加GABA及GABA受体拮抗剂,观察到神经元的方位、方向选择性变差。此后,有大量的研究证实了衰老动物中GABA能抑制系统出现了衰退。本研究发现,神经元自发反应升高、变异性增加、方位调谐能力减弱,提示可能与抑制系统的衰退存在联系,HSD可能加速了V1皮层的衰老,或存在与衰老相同的分子机制。当然这些推断都需要实验进一步去证实。

本研究同时对视网膜和视觉皮层进行了检测,没有在视网膜上观察明显的结构性病理变化,却在视觉皮层看到神经元功能的损失,这或许初步说明HSD对视觉中枢的影响要强于外周视觉系统,至少在较早的阶段是这样的。这种看法还需要进一步

对外侧膝状体进行研究比较后才能最终确定。

前人关于HSD研究中大部分单糖含量过高而远远超过人类日常生活中可能摄入的糖含量,而本文使用的高糖饲料是模拟青少年所喜爱的含糖饮料的成分,所使用的单糖含量是在模拟喜爱含糖饮料的人们日常可能摄入的高糖食物的含量在小鼠中的转化,更能模拟人类日常生活中对单糖的摄入情况,因此实验结果更具现实意义。

总之,这些结果表明,HSD中的青年小鼠初级视觉皮层的单个神经元的反应特性以及神经网络信息处理能力受到了损伤,进而影响小鼠个体水平上的方位辨别能力。本研究证实了HSD会对青少年的大脑皮层产生不利影响,对以前研究中证明HSD会影响大脑核团的研究做了皮层方面的补充,也为HSD对青少年视觉通路的影响增添了新证,为进一步探究高糖饮食对V1和其他脑区的影响提供了机制上的见解。

4 结 论

在本课题的研究中,通过定制的高糖饲料(单糖含量为25%,葡萄糖:果糖=1:1,均为热量比值)喂养出生后4周的小鼠直至小鼠青年阶段(约12~15周),使用GO/NO-GO行为学范式结合在体多通道电生理技术,探究了HSD对青年小鼠方位辨别精度的影响及其机制。首先,将C57/BL雄性小鼠随机分为两组,并喂养不同单糖含量的定制饲料,两组小鼠的饲料总热量完全一致,只是在碳水结构做了相应调整。在喂养期间,每隔2周给每组小鼠称体重,并在喂养2月后检测小鼠的葡萄糖耐受和胰岛素耐受的变化情况,发现HSD喂养的小鼠体重上升较快,葡萄糖耐受和胰岛素耐受均出现了下降。代谢指标检测完成后,利用GO/NO-GO行为学范式探究了高糖喂养2~3月的青年小鼠个体水平上方位辨别能力是否发生改变,发现其方位辨别能力相较于正常饮食组小鼠出现了明显下降,这一变化表明HSD降低了青年小鼠的方位辨别精度。随后,利用在体多通道电生理技术,对V1的神经元进行了胞外电生理记录,分析了神经元的反应特性,结果显示HSD喂养的青年小鼠初级视觉皮层神经元的方位选择性出现了明显下降,皮层神经元的自发反应明显增大而视觉诱发反应也低于正常小鼠。进一步分析了神经元信息编码和处理能力的变化,结果显示,相比于正常小鼠,HSD喂养的小

鼠的单个神经元以及群体神经元的反应变异性上升并伴随着信噪比的降低,并且神经元对之间的噪音相关性显著上升。这些结果表明,HSD改变了小鼠的神经元反应特性以及单个神经元和群体神经元的信息编码和处理能力。由于本研究只从功能方面探究了HSD对青年小鼠V1神经元的影响,没有对神经元的结构、突触连接进行研究,其背后的分子机制还未揭示。因此,在以后的探究中,将进一步加强在这些方面的研究与论证。

附件 见本文网络版 (<http://www.pibb.ac.cn> 或 <http://www.cnki.net>):

PIBB_20230013_Doc_S1.pdf

参 考 文 献

- [1] Jung S, Bae H, Song W S, *et al.* Dietary fructose and fructose-induced pathologies. *Annu Rev Nutr*, 2022, **42**(1): 45-66
- [2] Yoshida Y, Simoes E J. Sugar-sweetened beverage, obesity, and type 2 diabetes in children and adolescents: policies, taxation, and programs. *Curr Diab Rep*, 2018, **18**(6): 31
- [3] Malik V S, Hu F B. The role of sugar-sweetened beverages in the global epidemics of obesity and chronic diseases. *Nat Rev Endocrinol*, 2022, **18**(4): 205-218
- [4] Church J S, Renzelman M L, Schwartz J J. Ten-week high fat and high sugar diets in mice alter gut-brain axis cytokines in a sex-dependent manner. *J Nutr Biochem*, 2022, **100**: 108903
- [5] Hirai S, Miwa H, Tanaka T, *et al.* High-sucrose diets contribute to brain angiopathy with impaired glucose uptake and psychosis-related higher brain dysfunctions in mice. *Sci Adv*, 2021, **7**(46): eabl6077
- [6] Atilgan H, Town S M, Wood K C, *et al.* Integration of visual information in auditory cortex promotes auditory scene analysis through multisensory binding. *Neuron*, 2018, **97**(3): 640-655.e4
- [7] von Melchner L, Pallas S L, Sur M. Visual behaviour mediated by retinal projections directed to the auditory pathway. *Nature*, 2000, **404**(6780): 871-876
- [8] Hans Super. Cognitive processing in the primary visual cortex: from perception to memory. *Rev Neurosci*, 2002, **13**(4): 287-298
- [9] Bejarano E, Taylor A. Too sweet: problems of protein glycation in the eye. *Exp Eye Res*, 2019, **178**: 255-262
- [10] Zhou Y, Xiao C, Pu M. High glucose levels impact visual response properties of retinal ganglion cells in C57 mice—an *in vitro* physiological study. *Sci China Life Sci*, 2017, **60**(12): 1428-1435
- [11] Farnoodian M, Halbach C, Slinger C, *et al.* High glucose promotes the migration of retinal pigment epithelial cells through increased oxidative stress and PEDF expression. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2016, **311**(3): C418-C436
- [12] Pérez-Corredor P A, Gutiérrez-Vargas J A, Ciro-Ramírez L, *et al.* High fructose diet-induced obesity worsens post-ischemic brain

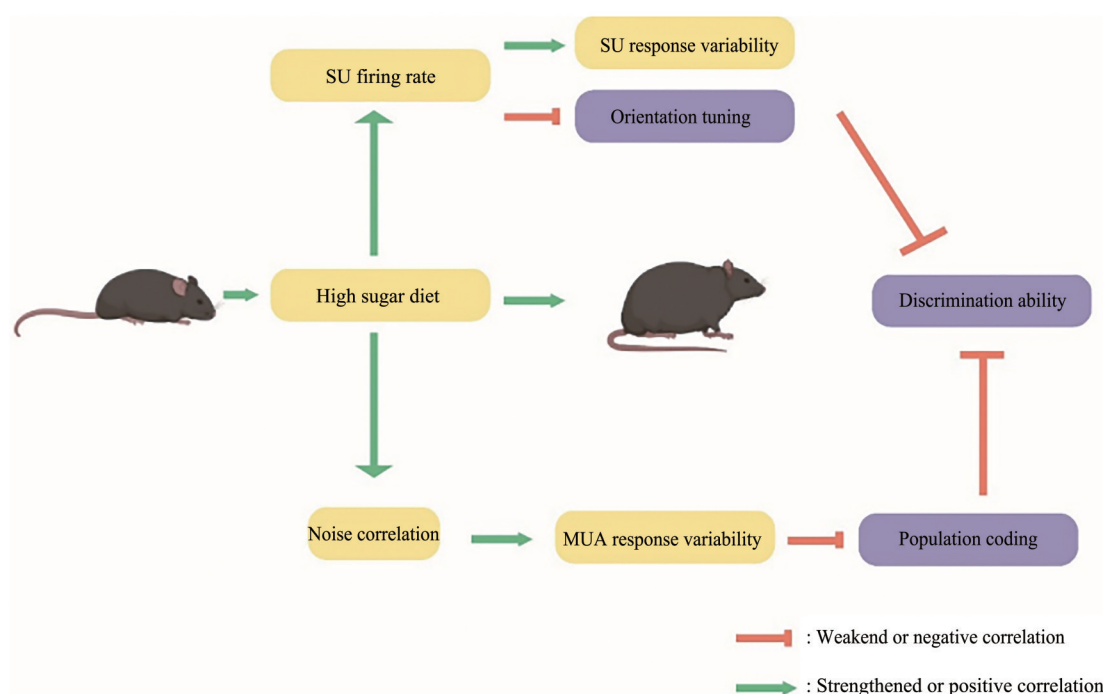
- injury in the hippocampus of female rats. *Nutr Neurosci*, 2022, **25**(1): 122-136
- [13] Chen H, Wang M, Xia L, *et al.* New evidence of central nervous system damage in diabetes: impairment of fine visual discrimination. *Diabetes*, 2022, **71**(8): 1772-1784
- [14] Paradiso MA. Perceptual and neuronal correspondence in primary visual cortex. *Curr Opin Neurobiol*, 2002, **12**(2): 155-161
- [15] Ben-Yishai R, Bar-Or R L, Sompolinsky H. Theory of orientation tuning in visual cortex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**(9): 3844-3848
- [16] Rahimi Ghiasi M, Mohammadi H, Symonds M E, *et al.* Efficacy of insulin targeted gene therapy for type 1 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of rodent studies. *Iran J Basic Med Sci*, 2020, **23**(4): 406-415
- [17] Nagy C, Einwallner E. Study of *in vivo* glucose metabolism in high-fat diet-fed mice using oral glucose tolerance test (OGTT) and insulin tolerance test (ITT). *J Vis Exp*, 2018(131): 56672
- [18] Zhang S, Xu M, Kamigaki T, *et al.* Selective attention. Long-range and local circuits for top-down modulation of visual cortex processing. *Science*, 2014, **345**(6197): 660-665
- [19] Montijn J S, Vinck M, Pennartz C M A. Population coding in mouse visual cortex: response reliability and dissociability of stimulus tuning and noise correlation. *Front Comput Neurosci*, 2014, **8**:58
- [20] Stringer C, Michaelos M, Tsyboulski D, *et al.* High-precision coding in visual cortex. *Cell*, 2021, **184**(10): 2767-2778.e15
- [21] Rumyantsev O I, Lecoq J A, Hernandez O, *et al.* Fundamental bounds on the fidelity of sensory cortical coding. *Nature*, 2020, **580**(7801): 100-105
- [22] Chen H, Wang M, Xia L, *et al.* New evidence of central nervous system damage in diabetes: impairment of fine visual discrimination. *Diabetes*, 2022, **71**(8): 1772-1784
- [23] Fu S, Dong S, Zhu M, *et al.* Müller glia are a major cellular source of survival signals for retinal neurons in diabetes. *Diabetes*, 2015, **64**(10): 3554-3563
- [24] Gastinger M J, Kunselman A R, Conboy E E, *et al.* Dendrite remodeling and other abnormalities in the retinal ganglion cells of Ins2Akita diabetic mice. *Invest Ophthalm Vis Sci*, 2008, **49**(6): 2635-2642
- [25] Rajdl K, Lansky P, Kostal L. Fano factor: a potentially useful information. *Front Comput Neurosci*, 2020, **14**: 569049
- [26] Kostal L, Lansky P, Rospars J P. Neuronal coding and spiking randomness. *Eur J Neurosci*, 2007, **26**(10): 2693-2701
- [27] Ren Z, Zhou J, Yao Z, *et al.* Neuronal basis of perceptual learning in striate cortex. *Sci Rep*, 2016, **6**: 24769
- [28] Kanitscheider I, Coen-Cagli R, Pouget A. Origin of information-limiting noise correlations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(50): E6973-E6982
- [29] Land R, Engler G, Kral A, *et al.* Response properties of local field potentials and multiunit activity in the mouse visual cortex. *Neuroscience*, 2013, **254**: 141-151
- [30] van der Togt C, Spekreijse H, Supèr H. Neural responses in cat visual cortex reflect state changes in correlated activity. *Eur J Neurosci*, 2005, **22**(2): 465-475
- [31] Schmolesky M T, Wang Y, Pu M, *et al.* Degradation of stimulus selectivity of visual cortical cells in senescent rhesus monkeys. *Nat Neurosci*, 2000, **3**(4): 384-390
- [32] Yu S, Wang Y, Li X, *et al.* Functional degradation of extrastriate visual cortex in senescent rhesus monkeys. *Neuroscience*, 2006, **140**(3): 1023-1029
- [33] Yang Y, Liang Z, Li G, *et al.* Aging affects response variability of V1 and MT neurons in rhesus monkeys. *Brain Res*, 2009, **1274**: 21-27
- [34] Gao F, Edden R A E, Li M, *et al.* Edited magnetic resonance spectroscopy detects an age-related decline in brain GABA levels. *Neuroimage*, 2013, **78**: 75-82
- [35] He X, Koo B B, Killiany R J. Edited magnetic resonance spectroscopy detects an age-related decline in nonhuman primate brain GABA levels. *Biomed Res Int*, 2016, **2016**: 6523909
- [36] Leventhal A G, Wang Y, Pu M, *et al.* GABA and its agonists improved visual cortical function in senescent monkeys. *Science*, 2003, **300**(5620): 812-815

Functional Impairment and Mechanism of The Primary Visual Cortex of Young Mice With High-sugar Diet*

XU Long-Ling, ZHOU Yi-Feng**, XU Guang-Wei**

(Department of Life Sciences and Medicine, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China)

Graphical abstract



Abstract Objective Many studies have shown that a high-sugar diet can do a lot of harm to the health of teenagers. As one of the important windows for human to perceive the world, the visual system plays an important role in teenagers' perception ability. Many studies have confirmed that high-sugar diet can damage visual function, but the current research on the effects of high-sugar diet on visual function mainly focuses on the front of the visual pathway, focusing on the eye system and the optic ganglion, the posterior of the visual pathway, such as the visual central cortex, has not been reported. In order to understand the effect of high sugar diet on visual function, the effect of high sugar diet on central cortex was studied. **Methods** In this study, we used the behavioral paradigm of GO/NO-GO orientation discrimination task and *in vivo* multi-channel electrophysiological

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (32200789) and Natural Science Research in Colleges and Universities of Anhui Provincial Department of Education (2022AH052326).

** Corresponding author.

ZHOU Yi-Feng. Tel: 86-13033082368, E-mail: zhouy@ustc.edu.cn

XU Guang-Wei. Tel: 86-18655182170, E-mail: weixu@ustc.edu.cn

Received: January 10, 2023 Accepted: March 15, 2023

techniques to explore the effects of high-sugar diet on the primary visual cortex of young mice. **Results** Behavioral results showed that young mice that had undergone two months of high-sugar diet had a reduced ability to distinguish orientation. The response characteristics of single neurons in the primary visual cortex (V1) were analyzed by electrophysiological techniques. It was found that the ability of orientation tuning of single neurons in the primary visual cortex decreased in mice fed with high-sugar diet, the response variability of neurons increased and the signal-to-noise ratio (SNR) decreased significantly. We further analyzed the changes of SNR and response variability at population level. The results showed that SNR decreased significantly and response variability increased significantly at population level. The results of neuron correlation analysis showed that the noise correlation of primary visual cortex in the high-sugar diet group was significantly up-regulated. **Conclusion** These results suggest that a high-sugar diet impairs the ability of young mice to discriminate orientation by affecting the receptive field characteristics of individual neurons in the primary visual cortex, as well as the information processing capacity of neuronal populations.

Key words high sugar diet, primary visual cortex, *in vivo* electrophysiology, orientation discrimination

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0013