

糖痹康对糖尿病周围神经病变大鼠氧化应激及细胞凋亡的影响

易文明 孙文 郭翔宇 吕翠岩 刘铜华

【摘要】 目的 观察糖痹康对糖尿病性周围神经病变大鼠相关的活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、半胱天冬酶-3(caspas-3)、坐骨神经细胞凋亡的影响,探讨其对氧化应激及细胞凋亡作用的神经保护机制。**方法** 使用 60 只高脂饲料喂养后小剂量链脲佐菌素(streptozotoin, STZ)腹腔注射而诱发的 2 型糖尿病大鼠动物模型,8 周造模成功后按体重随机分为模型组、 α -硫辛酸——糖痹康低、中、高剂量组,另外单独设 10 只大鼠为正常组,模型组和正常组予蒸馏水灌胃,糖痹康组和 α -硫辛酸组分别予不同剂量糖痹康和 α -硫辛酸灌胃,每 4 周测 1 次体重、空腹血糖,16 周后取大鼠一侧坐骨神经,检测其 ROS(比色法)、MDA(硫代巴比妥酸法)、SOD(黄嘌呤氧化酶法)含量,酶联免疫吸附法检测 caspas-3 蛋白表达,末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记测定法[terminal deoxynucleotidyl transferase(TdT)-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL]检测细胞凋亡。**结果** 与正常组比较,各组大鼠 SOD 显著下降,MDA、ROS 显著升高,Caspase-3 蛋白表达水平显著升高,TUNEL 检测阳性细胞显著增多;与模型组比较, α -硫辛酸组和糖痹康中、高剂量组 ROS、MDA 含量明显减少,SOD 含量明显升高($P<0.05$);TUNEL 检测 α -硫辛酸组和糖痹康高剂量组与模型组相比阳性细胞数减少($P<0.05$),糖痹康高剂量组与 α -硫辛酸组比较,阳性细胞数稍多于 α -硫辛酸组($P<0.05$); α -硫辛酸组、糖痹康高剂量组大鼠坐骨神经组织 Caspase-3 蛋白表达显著少于模型组($P<0.05$),两组间 Caspase-3 蛋白表达无明显差异($P>0.05$)。**结论** 糖痹康可能通过提高 SOD,清除过多 MDA、ROS,缓解糖尿病性周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)的氧化应激损伤,减少神经细胞凋亡,延缓 DPN 的进展。

【关键词】 糖痹康; 糖尿病性周围神经病变; 坐骨神经; 氧化应激; 细胞凋亡

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2015.07.010

Effects of Chinese herbal compound Tangbikang on oxidative stress and apoptosis in rats with diabetic peripheral neuropathy Yi Wen-ming, SUN Wen, GUO Xiang-yu, et al. Department of Endocrinology, Dongfang Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China. Corresponding author: LIU Tong-hua, E-mail: Tonghualiu@tom.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of Chinese herbal compound Tangbikang on ROS, MDA, SOD, caspas-3, sciatic nerve cell apoptosis in rats with diabetic peripheral neuropathy, and to explore its neuroprotective mechanism against oxidative stress and apoptosis. **Methods** 60 high fat forage and small dose of streptozotocin intraperitoneal injection induced animal models of type 2 diabetic rats, after 8 weeks, were randomly divided into model group, alpha lipoic acid group, Tangbikang low, medium and

基金项目:北京中医药大学自主选题(2013-JYBZZ-JS-159);北京中医药大学创新团队项目(2011-CXTD-19)

作者单位:100078 北京中医药大学东方医院内分泌科(易文明、郭翔宇);北京中医药大学研究生院(孙文、刘铜华);首都医科大学附属北京中医医院肾内科(吕翠岩)

作者简介:易文明(1980-),博士,主治医师。研究方向:糖尿病及其并发症临床及机制研究。E-mail: yiwennming33@sina.com

通讯作者:刘铜华(1963-),博士,博士后,教授,主任医师,博士生导师。研究方向:糖尿病及其并发症临床及机制研究。E-mail: Tonghualin@tom.com

high dose groups according to body weight. Another 10 normal rats were set as normal group. Rats in model group and normal group were given distilled water, while *Tangbikang* groups and alpha lipoic acid group were treated with different doses of *Tangbikang* and alpha lipoic acid by gastric perfusion. Body weight and fasting blood glucose were measured every 4 weeks, one side of sciatic nerve of rats was taken out after 16 weeks, to detect ROS (colorimetric method), MDA (thiobarbituric acid method), SOD(Xanthine oxidase method). Enzyme-linked immune adsorption method was used to detect the caspas-3 protein expression and TUNEL method to detect apoptosis. **Results** Compared with the normal group, SOD level was significantly decreased, MDA, ROS levels were significantly increased, the expression level of Caspase-3 protein was significantly increased, and TUNEL positive cells increased significantly in the other groups. Compared with the model group, in the alpha lipoic acid group and *Tangbikang* high dose group, ROS, MDA levels were significantly decreased, SOD content increased obviously ($P<0.05$), with no statistical significance between the two groups. TUNEL detection of alpha lipoic acid group and *Tangbikang* high dose group compared with model group, the number of positive cells decreased ($P<0.05$). Comparison of *Tangbikang* high dose group and alpha lipoic acid group, the number of positive cells was slightly more than alpha lipoic acid group ($P<0.05$). Expression of protein Caspase-3 in alpha lipoic acid group and *Tangbikang* high dose group in sciatic nerve tissue was significantly less than in the model group ($P<0.05$), but there was no significant difference between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion** The Chinese herbal compound *Tangbikang* can relieve the oxidative stress injury of diabetic peripheral neuropathy, reduce the apoptosis of nerve cells, and delay the development of DPN by improving SOD level and removing overabundant MDA, ROS.

【Key words】 Chinese herbal compound *Tangbikang*; Diabetic peripheral neuropathy; Sciatic nerve; Oxidative stress; Apoptosis

糖尿病性周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)是糖尿病经常出现的慢性并发症之一,它很容易造成糖尿病足及截肢,有症状的发病率波动在 50% ~ 70%,甚至更高,由于诊断方法不统一,有的报道发病率可高达 90% 以上^[1-2],基于 DPN 非常高的发病率和致残率,DPN 的预防和治疗已经成为学科内研究的重点领域。目前西药治疗 DPN 尚缺乏有效手段,而中医药治疗 DPN 积累了丰富的经验,疗效确切,但作用机制亟待阐明。中药复方糖痹康经过了多年的临床应用,疗效较好,目前已获发明专利(专利申请号:200810167551.1)。本实验研究是在既往研究的基础上,选用 SPF 级 SD 大鼠,通过高脂饲料喂养后,采用小剂量链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)腹腔注射诱发 2 型糖尿病,构建 DPN 动物模型^[3],紧紧围绕 DPN 核心发病机制——氧化应激与细胞凋亡,观察与其密切相关的活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、Caspase-3 蛋白酶等与 DPN 的关系,探讨糖痹康治疗 DPN 的作用机理,为临床推广应用提供理论依据,为以改善神经病变为目的的新药研发探索新靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物

60 只纯系 SPF 级 SD 雄性大鼠,体质量(180 ± 20)g,7 周龄,从北京维通利华动物实验中心购买,生产许可证:SCXR(京)2004-0006。

1.2 材料及仪器

糖痹康(黄芪 30 g、女贞子 15 g、桂枝 10 g、赤芍 10 g、黄芩 10 g、黄连 10 g、水蛭 6 g,由北京中医药大学中药学院提供); α -硫辛酸购自 Puritan's Pride 公司(100 mg \times 60 粒,生产批号:250597-09 EXP 10/17);高脂饲料,购自北京华阜康生物科技有限公司;罗氏活力型血糖仪(购自美国罗氏公司,型号:ACCU-CHEK);丙二醛(MDA)试剂盒(购自南京建成生物工程研究所);超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(购自南京建成生物工程研究所);活性氧簇(ROS)试剂盒(购自南京建成生物工程研究所);VC-10(日本光电)记忆示波器,PowerLab 多功能生理信号采样分析系统,SEN-3201 电刺激器(购自日本光电);TUNEL 试剂盒(购自美国 Upstate 公司);大鼠 Caspase-3 试剂盒(购自美国 GBD 公司);荧光显微镜(购自德国 Zeiss 公司)等。

1.3 模型建立及分组

大鼠常规饲养 1 周后,按体重随机选择 10 只为正常组,采用普通饲料饲养,其它组大鼠采用高脂饲料喂养,8 周后,禁食 12 小时后准备造模,造模药物链脲霉素用 0.1 mmol/L 枸橼酸缓冲液 (pH 4.4) 配成 1% 的浓度,剂量以 35 mg/kg 进行腹腔注射,72 小时后检测大鼠血糖值(尾部血管取血),血糖 ≥ 16.7 mmol/L 以上者视为造模成功,按大鼠体重随机分为模型组、 α -硫辛酸组、糖痹康低、中、高剂量组,每组 10 只。

1.4 给药方法

模型复制成功 3 天后开始大鼠灌胃,剂量为糖痹康低剂量组 4.175 g/(kg·d),糖痹康中剂量组 8.35 g/(kg·d),糖痹康高剂量组 16.7 g/(kg·d), α -硫辛酸组灌服 α -硫辛酸 20 mg/(kg·d),每天 1 次,连续给药 16 周。实验期间各组大鼠均自由取食、饮水。

1.5 指标检测及方法

1.5.1 体重、血糖检测 灌胃前和灌胃后的第 4、8、12、16 周末,禁食 6 小时,大鼠称重及检测血糖。

1.5.2 神经电生理 检测大鼠右侧坐骨神经运动神经传导速度(motor nerve conduction velocity, MNCV)。大鼠麻醉后,以俯卧位固定好,开始将刺激针电极放置在踝关节内侧面,其次放置在坐骨切迹处,波宽为 0.1 ms,强度为超强刺激,用针电极记录,保持每 2 个刺激之间的间隔时间在 5 s 以上,反复测定 7~10 次,算出平均值。扫描速度保持在 2 ms/cm,记录频率 3~10000 Hz,放大倍数 2 mv/cm。使大鼠后肢以自然状态与后背脊柱成 45° 夹角,然后向斜后方拉直,顺着坐骨神经方向,测出大鼠体表两个刺激点之间的长度,从而计算出 MNCV。

1.5.3 黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 含量 第 16 周末,用 10% 水合氯醛以 0.4 mg/100 g 剂量腹腔注射麻醉大鼠,大鼠固定于鼠板上,先切开双侧后腿中

外 1/3 处皮肤,接着钝性分离出肌肉组织,将坐骨神经充分暴露,旁边肌肉去除,取出尽可能长的坐骨神经,用 0.9% 的生理盐水冲洗干净,天平称其质量后放入冻存管内,于冰壶内冷冻,最后放入 -80 °C 冰箱保存。采用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 含量(按照试剂盒提供的操作流程进行)。

1.5.4 硫代巴比妥酸法测 MDA 含量 16 周末,取材方法同上,按照试剂盒提供的操作流程进行。

1.5.5 比色法检测 ROS 含量 16 周末,取材方法同上,按照试剂盒提供的操作流程进行。

1.5.6 酶联免疫吸附法测定坐骨神经 caspas-3 蛋白表达水平 16 周末,取材方法同上,按照试剂盒提供的操作流程进行。

1.5.7 TUNEL 法测定细胞凋亡 16 周末,取材方法同上,按照试剂盒提供的操作流程进行。

1.6 统计学分析

各组数据用 SPSS 19.0 统计软件分析进行数据处理,计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,本实验数据方差齐,两两比较用 LSD-*t* 检验分析, $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

造模 72 小时后,大鼠表现出多食多尿,体质量下降,精神萎靡,体毛色泽干枯,活动变得迟缓,在 14 周后还出现了身体溃疡等情况,而在 α -硫辛酸组和中药糖痹康高剂量组以上情况出现的较少。

2.2 体质量称量

和正常组相比,从 8 周开始,模型组大鼠的体质量较前轻度下降($P<0.05$);在 16 周后,模型组大鼠体质量明显下降($P<0.01$)。和模型组比较,16 周后,糖痹康低、中剂量及 α -硫辛酸组体质量明显增加($P<0.01$)。见表 1。

表 1 不同时间点各组 DPN 大鼠体质量的比较(g, $n=10$, $\bar{x}\pm s$)

组别	干预前	干预后			
		4 周	8 周	12 周	16 周
正常组	409.11 \pm 16.10	429.48 \pm 33.45	459.67 \pm 57.32	481.13 \pm 17.66	512.34 \pm 9.98
模型组	434.20 \pm 15.19	423.32 \pm 14.67	412.69 \pm 31.46 ^a	406.12 \pm 35.34 ^a	349.34 \pm 23.39 ^c
α -硫辛酸组	425.07 \pm 49.69	427.79 \pm 31.94	427.13 \pm 35.66	433.24 \pm 28.68	464.57 \pm 29.67 ^{ab}
糖痹康低	426.03 \pm 19.03	437.12 \pm 20.99	447.38 \pm 35.87	456.33 \pm 37.74	481.76 \pm 35.95 ^b
糖痹康中	415.97 \pm 45.06	422.62 \pm 46.97	441.35 \pm 58.67	449.37 \pm 69.31	483.45 \pm 31.37 ^b
糖痹康高	408.91 \pm 55.96	426.38 \pm 62.24	428.16 \pm 62.93	443.22 \pm 64.84	446.59 \pm 78.76

注:与正常组比较,^a $P<0.05$,^c $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$

表 2 不同时间点各组 DPN 大鼠血糖的比较 (mmol/L, $n=10, \bar{x}\pm s$)

组别	干预前	干预后			
		4 周	8 周	12 周	16 周
正常组	5.68±0.52	5.82±0.79	5.99±0.29	6.17±0.64	6.39±0.41
模型组	20.13±1.57 ^a	21.09±1.61 ^a	21.01±1.58 ^a	22.34±0.98 ^a	22.97±0.79 ^a
α-硫辛酸组	20.99±1.78 ^a	20.78±1.72 ^a	18.74±2.15 ^a	19.92±1.98 ^a	20.84±1.74 ^{ab}
糖痹康低	22.85±1.51 ^a	20.47±0.86 ^a	19.46±2.29 ^a	19.43±2.07 ^a	18.97±2.17 ^{ac}
糖痹康中	20.99±1.88 ^a	18.36±2.13 ^{ac}	15.67±1.74 ^{ab}	15.87±1.74 ^{ab}	14.69±1.67 ^{ac}
糖痹康高	21.27±1.14 ^a	18.65±1.19 ^{ac}	11.78±1.82 ^{ab}	9.98±2.18 ^{ac}	9.24±2.19 ^{ac}

注：与正常组比较，^a $P<0.01$ ；与模型组比较，^b $P<0.05$ ，^c $P<0.01$

表 3 各组 DPN 大鼠坐骨神经传导速度比较 (m/s, $n=10, \bar{x}\pm s$)

组别	4 周	8 周	12 周	16 周
正常组	19.98±1.41	20.32±1.04	21.09±0.99	20.88±1.08
模型组	15.09±1.08 ^a	13.99±1.31 ^a	14.08±0.97 ^a	13.14±1.35 ^a
α-硫辛酸组	15.42±1.51 ^b	16.75±1.43 ^b	16.65±1.21 ^b	16.94±1.21 ^b
糖痹康低	15.23±1.23 ^b	15.09±1.07 ^b	15.67±1.74 ^b	15.89±1.48 ^b
糖痹康中	16.47±1.24 ^b	17.09±1.65 ^b	17.88±1.91 ^b	18.49±1.52 ^b
糖痹康高	16.91±1.87 ^b	19.72±1.27 ^b	19.46±1.76 ^b	20.56±1.53 ^b

注：与正常组比较，^a $P<0.01$ ；与模型组比较，^b $P<0.05$

2.3 血糖检测

和正常组比较，模型组大鼠血糖明显升高 ($P<0.01$)；和模型组比较，干预以后各组大鼠血糖较前都有所改善，其中 α-硫辛酸组 ($P<0.05$) 和糖痹康低剂量组 ($P<0.01$) 在 16 周后有明显差异，而糖痹康中、高剂量组在 4、8、12、16 周都有明显下降 ($P<0.01$)。见表 2。

2.4 右侧坐骨神经运动神经传导速度测定

和正常组比较，模型组大鼠坐骨神经传导速度显著减慢；和模型组比较，糖痹康各剂量组及 α-硫辛酸组都能提高糖尿病大鼠坐骨神经传导速度 ($P<0.05$)，组间比较，糖痹康高剂量组的效果优于 α-硫辛酸组 ($P<0.05$)，糖痹康各剂量组间相对比，高剂量组改善效果更加显著 ($P<0.05$)，提示糖痹康能够提高糖尿病大鼠坐骨神经传导速度。见表 3。

2.5 各组大鼠坐骨神经组织 ROS、MDA、SOD 含量测定

与正常组比较，各组大鼠坐骨神经 ROS、MDA 含量显著升高，而 SOD 含量显著降低 ($P<0.01$)，说明糖尿病周围神经病变大鼠存在氧化应激状态，与模型组比较，α-硫辛酸组和糖痹康中、高剂量组 ROS、MDA 含量明显减少，SOD 含量显著增加 ($P<0.05$)，α-硫辛酸组和糖痹康高剂量组相比，ROS、MDA、SOD 含量无明显差异，提示糖痹康可能具有抗氧化应激的作用。见表 4。

表 4 各组 DPN 大鼠 ROS、SOD、MDA 浓度 ($n=10, \bar{x}\pm s$)

组别	ROS (U/mgprot)	SOD (U/mgprot)	MDA (nmol/mgprot)
正常组	160.74±17.97	65.89±8.63	3.91±0.48
模型组	221.31±22.08 ^a	44.34±6.74 ^a	8.67±129 ^a
α-硫辛酸组	167.65±16.76 ^b	59.61±7.12 ^b	4.45±0.37 ^b
糖痹康低	219.98±17.43	43.74±5.76	8.36±0.53
糖痹康中	193.76±19.32 ^b	52.67±4.58 ^b	5.82±0.33 ^b
糖痹康高	175.87±18.92 ^b	58.99±5.46 ^b	5.01±0.62 ^b

注：与正常组比较，^a $P<0.01$ ；与模型组比较，^b $P<0.05$

2.6 TUNEL 法检测神经细胞凋亡

正常组坐骨神经组织 TUNEL 检测没有找到阳性细胞，表明正常组坐骨神经神经元未发生凋亡。与模型组相比，α-硫辛酸组和糖痹康高剂量组发现的阳性细胞数减少 ($P<0.05$)；糖痹康高剂量组与 α-硫辛酸组比较，发现的阳性细胞数略高于 α-硫辛酸组 ($P<0.05$)，提示糖痹康具有抗神经元凋亡的作用。见表 5。

表 5 各组 DPN 大鼠坐骨神经神经元 TUNEL 阳性细胞数 ($n=10, \bar{x}\pm s$)

组别	神经元凋亡数目
正常组	0
模型组	9.39±1.12 ^a
α-硫辛酸组	5.85±2.16 ^{ab}
糖痹康低	9.51±1.03
糖痹康中	8.92±1.91
糖痹康高	6.55±1.89 ^{abc}

注：与正常组比较，^a $P<0.01$ ；与模型组比较，^b $P<0.05$ ；与西药组比较，^c $P<0.05$

2.7 Caspase-3 蛋白表达水平测定

模型组、 α -硫辛酸组和糖痹康组坐骨神经组织 Caspase-3 蛋白明显高于正常组 ($P < 0.05$); α -硫辛酸组、糖痹康高剂量组大鼠坐骨神经组织 Caspase-3 蛋白表达显著低于模型组 ($P < 0.05$), 两组间 Caspase-3 蛋白表达的差异无统计学意义。提示糖痹康可抑制 Caspase-3 蛋白的表达, 具有抗凋亡的作用。见表 6。

表 6 各组 DPN 大鼠坐骨神经 Caspase-3 蛋白表达水平比较 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	Caspase-3 (ng/ml)
正常组	23.18 \pm 4.57
模型组	57.82 \pm 15.21 ^a
α -硫辛酸组	46.24 \pm 13.72 ^{ab}
糖痹康低	55.56 \pm 15.26
糖痹康中	54.89 \pm 15.19
糖痹康高	44.32 \pm 8.99 ^{ab}

注: 与正常组比较, ^a $P < 0.05$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$

3 讨论

DPN 的发病机制目前还不是十分清楚, 不能用单一因素来解释, 而应该是多种因素相互作用的结果。其可能发病机制主要包括代谢原因和血管原因, 还有多元醇途径、晚期糖基化终末产物 (advanced glycation endproducts, AGEs) 途径、蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 途径、氨基己糖途径、生长因子缺乏、氧化应激、神经营养因子、免疫因素等等。很多研究提示氧化应激在 DPN 的众多发病机制中占有重要的地位, 可能是糖尿病并发症产生的一个核心通路。大鼠链脲佐菌素 DM 模型的动物实验证明, 糖尿病或高血糖状态下可引起背根神经节中 O^{2-} 、 H_2O_2 及过氧化物增多^[4], Brownlee 提出高血糖时体内氧化应激增强, 造成线粒体中超氧阴离子产生过多, 最终引起包括糖尿病周围神经病变等一系列的慢性并发症^[5]。生理情况下, ROS 在人体内的代谢很稳定, 如果在病理状态下产生了过量的 ROS 导致人体抗氧化系统不能清除过多的 ROS 时, 就会启动氧化应激反应, 造成机体损伤^[6], SOD 是人体一种重要的酶, 它是自由基的清道夫, 它能够将 O^{2-} 转化为 H_2O_2 或者 O_2 , 通过对 SOD 含量进行测定, 可以初步评价高血糖状态下组织抗氧化能力。MDA 是一种自由基影响下多不饱和脂肪酸过氧化物的降解产物, 它的含量可以提示机体脂肪过氧化速率和强度及体内的自由基代谢情况, 也能够推断机体氧化应激受损程度。Caspase 家族被发现与细胞凋亡密切相关, Caspase-3 为 Caspase 家

族中的凋亡执行因子, 被认为是细胞凋亡过程中的关键酶之一^[7-8], Caspase-3 可直接导致细胞凋亡^[9]。课题组认为氧化应激引起的细胞凋亡在促进 DPN 的进展。

课题组前期细胞及动物实验^[10-11]证明, 糖痹康有缓解氧化应激的作用, 阻止和延缓了 DPN 的病变发展进程, 本研究进一步证实糖痹康对糖尿病周围神经病变大鼠的氧化应激和细胞凋亡具有对抗作用, 糖尿病周围神经病变大鼠坐骨神经中 SOD 的含量显著下降而 MAD、ROS 含量明显增高, Caspase-3 蛋白表达增加, 氧化应激启动后细胞凋亡明显增加, 而糖痹康可显著上调糖尿病周围神经病变大鼠 SOD 水平和下调 MAD、ROS 水平, 可抑制 Caspase-3 蛋白的表达, 具有抗氧化应激和细胞凋亡的作用。因此笔者认为, 糖痹康具有的抗氧化应激及细胞凋亡能力可能是其对糖尿病性周围神经病变的神经保护作用的主要机制之一。

参 考 文 献

- [1] 钟历勇. 糖尿病神经病变诊疗原则[J]. 中国疼痛医学杂志, 2006, 12 (4): 196.
- [2] Andrew JM, Boulton, Arthur I. Vinik, Joseph C. Arezzo, et al. Diabetic Neuropathies: A statement by the American Diabetes Association[J]. Diabetes Care, 2005, 28(4): 956-962.
- [3] 吴晏, 韩静, 黄黎明, 等. 高脂喂养合并小剂量链脲佐菌素建立 2 型糖尿病大鼠模型[J]. 中国实验动物学报, 2012, 20 (2): 11-15.
- [4] Hoeldtke RD, Bryner KD, McNeill DR, et al. Nitrosative stress, uric acid, and peripheral nerve function in early type 1 diabetes[J]. Diabetes, 2006, 55(9): 2664.
- [5] Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism[J]. Diabetes, 2005, 54(6): 1615-1625.
- [6] 赵云罡, 徐建兴. 线粒体、活性氧和细胞凋亡[J]. 生物化学与生物物理进展, 2001, 28(2): 168-171.
- [7] Rink A, Fung KM, Trojanowski JQ, et al. Evidence of apoptotic cell death after experimental traumatic brain injury in the rat[J]. Am J Pathol, 1995, 147: 1575-1583.
- [8] Colicos MA, Dash PIL, Trojanowski JQ, et al. Apoptosis morphology of dentate gyms granule cells following experimental cortical impact injury in the rats: possible role in spatial memory deficits[J]. Brain Res, 1996, 739: 120-131.
- [9] Conti AC, Raghupathi IL et al. Experimental brain injury induces regionally distinct apoptosis during the acute and delayed post-traumatic period[J]. J Neurosci, 1998, 18: 5663-5672.
- [10] 张宏, 刘铜华. 糖痹康对高糖损伤人脐静脉内皮细胞的保护作用[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(6): 1248-1251.
- [11] 刘凤琪, 许利平, 郭晶晶, 等. 从抗氧化水平评价糖痹康对糖尿病周围神经病变大鼠的保护作用[J]. 国际中医中药杂志, 2013, 35(5): 406-409.

(收稿日期: 2015-02-15)

(本文编辑: 韩虹娟)