

糖脂清方通过保护海马神经元对提高2型糖尿病大鼠学习记忆能力的影响

杨晓青, 王旭*, 邵鑫

(南京中医药大学第一临床医学院, 南京 210029)

[摘要] **目的:**观察糖脂清方提高2型糖尿病大鼠学习记忆能力,保护海马神经元的作用。**方法:**SD雄性大鼠,采用高糖高脂饲料加链脲佐菌素(30 mg·kg⁻¹)腹腔注射制作2型糖尿病模型。将造模大鼠随机分为模型组、糖脂清高、中、低(12, 6, 3 g·kg⁻¹)剂量组,另设正常组。连续灌胃8周后进行水迷宫行为学测试,结束后处死取材。苏木-伊红(HE)染色观察海马组织病理形态学结构,原位末端转移酶标记技术(TUNEL)检测海马神经元细胞凋亡情况。**结果:**与模型组比较,糖脂清方能明显降低2型糖尿病大鼠血糖($P < 0.05$, $P < 0.01$),明显缩短逃避潜伏期,增加穿越平台次数、原平台游泳路程及游泳时间($P < 0.05$, $P < 0.01$);显著改善海马组织病理情况,更加显著地降低海马神经元细胞凋亡指数($P < 0.01$)。**结论:**糖脂清方可以显著降低高糖高脂饮食加小剂量链脲佐菌素诱导的2型糖尿病大鼠模型的血糖水平,改善胰岛素抵抗,提高大鼠学习记忆能力,减少海马神经元细胞凋亡,并具有保护作用。

[关键词] 糖脂清方; 糖尿病; 认知功能障碍; 海马神经元; 凋亡

[中图分类号] R22;R24;R2-0;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)11-0144-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181054

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180309.1058.044.html>

[网络出版时间] 2018-3-9 13:10

Protective Effect of Tangzhiqing Formula on Learning and Memory Ability and Apoptosis of Hippocampal Neurons in Type 2 Diabetic Rats

YANG Xiao-qing, WANG Xu*, SHAO Xin

(Clinical Hospital, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** This experiment was used to investigate the protective effect of Tangzhiqing formula (TZQ), clearing prescription on learning, memory ability and apoptosis of hippocampal neurons in type 2 diabetic rats. **Method:** SD male rats were fed with high glucose and high fat diet and streptozotocin (STZ) (30 mg·kg⁻¹) intraperitoneal injection to produce type 2 diabetes mellitus model. The model rats were randomly divided into model group, high, middle and low dose group, the daily dose was 12, 6, 3 g·kg⁻¹, compared with normal control group. After 8 weeks, the Morris maze test was conducted. The pathological structure of hippocampus was observed by hematoxylin-eosin (HE) staining, and the apoptosis of hippocampal neurons was detected by TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) staining. **Result:** Compared with the model group, TZQ could significantly reduce the blood glucose of type 2 diabetic rats ($P < 0.05$, $P < 0.01$); reduce latency of escape ($P < 0.05$, $P < 0.01$); increase the number of crossing platform, the platform of swimming distance and

[收稿日期] 20171125(003)

[基金项目] 江苏省自然科学基金项目(BK20151572);南京中医药大学科技创新风险基金项目(CX201506)

[第一作者] 杨晓青,在读硕士,从事内分泌与代谢疾病方向研究, E-mail:903388349@qq.com

[通信作者] *王旭,教授,主任医师,博士生导师,从事内分泌与代谢疾病的临床与实验研究, Tel:025-85811627, E-mail:njzywangxu@126.com

swimming time ($P < 0.05$, $P < 0.01$); improve pathological of hippocampus tissue; significantly reduce the apoptotic index of hippocampal neurons ($P < 0.01$). **Conclusion:** TZQ could significantly reduce the high glucose of type 2 diabetes model rats fed with high fat diet and injected low dose streptozotocin. TZQ improved insulin resistance, learning and memory ability in rats. TZQ also could protect hippocampal neurons and reduce apoptosis.

[**Key words**] Tangzhiqing formula; diabetic; learning and memory; hippocampal neurons; apoptosis

2型糖尿病是严重威胁国际公共卫生健康的慢性病之一,由其引发的各种并发症是导致糖尿病患者致死和致残的重要原因^[1]。糖尿病可造成以获得性认知和行为缺陷为特征的认知功能障碍^[2],这是糖尿病脑病最主要的表现。目前,关于糖尿病合并认知功能障碍的复杂病因和发病机制尚未明确,并且没有非常有效的治疗手段。因此,如果能够在本病发生的早期采用一系列手段,干预或预防其发生、发展,具有重大的意义。海马接受多种感觉信息,参与外界信息向中枢传导的整合,是研究大脑学习记忆功能的理想模型。研究表明,持续的高糖状态,会造成海马组织的退行性改变^[3]。海马中神经元的异常凋亡也是糖尿病脑病的一个重要病理学现象^[4]。糖脂清方由王旭教授根据多年临床经验总结创制,在临床应用中取得了满意疗效,现已获得国家专利(101829271A)。本方由黄精、炙僵蚕、鬼箭羽、枸杞子、泽兰组成。方中黄精益气养阴,经现代研究证实具有降血糖、降血脂、延缓衰老、调节免疫、抗肿瘤等作用^[5]。鬼箭羽活血化瘀,现代研究表明不但能够刺激胰岛素分泌,而且还能增加外周组织对葡萄糖的利用,提高胰岛素与受体的亲和力,降低血脂,延缓动脉粥样硬化^[6]。僵蚕有祛风解痉、活血通络、化痰散结之功,具有明显的降糖、抗凝、抗血栓、抑制体内胆固醇合成、促进胆固醇的排泄的作用,可明显降低总胆固醇^[7]。泽兰活血祛瘀,利尿消肿,具有改善微循环障碍,抑制血小板聚集,降血脂的作用^[8]。枸杞子滋补肝肾,具有明显的降糖、降脂功效^[9-10]。全方具益气、养阴、益肾、养肝、活血、化痰、通络等功效。前期临床研究发现糖脂清方能够有效改善糖、脂代谢,对糖尿病心肌病具有显著疗效。本研究在高糖高脂饮食加腹腔注射链脲佐菌素(STZ)诱导的2型糖尿病大鼠模型基础上,观察中药复方糖脂清方的降糖作用,对海马神经元的保护作用,以及对2型糖尿病大鼠认知、学习能力的影

1 材料

1.1 动物 SPF级SD雄性大鼠,8周龄,体质量180~220 g,由昭衍(苏州)新药研究中心有限公司

提供,动物实验符合南京中医药大学伦理委员会标准,编号201606982,合格证号SCXK(苏)2013-0003,在屏障环境下,饲养于南京中医药大学实验动物中心,分笼饲养,每笼5只,湿度维持在40%~55%,温度维持在18~24℃,12 h/12 h昼夜交替光照,自由进食、进水。

1.2 药物与试剂 糖脂清方组成为黄精150 g,炙僵蚕150 g,鬼箭羽225 g,枸杞子180 g,泽兰180 g,全部药材购自南京市中医院药剂科,经南京中医药大学狄留庆教授鉴定均为正品,符合2015年版《中国药典》规范。称取一定量药材,常规煎煮,收集并合并滤液,浓缩至含生药 $1.2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的药液,4℃保存备用。STZ(美国Sigma公司,批号s-0130),原位末端转移标记技术(TUNEL)试剂盒(瑞士Roche公司,批号11684795910),胰岛素试剂盒(上海西唐生物科技有限公司,批号1600202)。

1.3 高糖高脂饲料 20%蔗糖,3%蛋黄粉,18%猪油,59%基础饲料,由南京青龙山动物养殖场提供。

1.4 仪器 强生稳豪倍优型血糖仪及同批号血糖试纸[强生(中国)医疗器材有限公司],7060型全自动多功能生化仪(日本日立公司),Morris型水迷宫设备(上海玉研科学仪器有限公司),Z36H型超高速低温离心机(德国Hermle公司),Ti型倒置荧光显微镜(日本尼康公司)。

2 方法

2.1 模型建立 大鼠适应性喂养1周后随机分为正常组(15只)和造模组(60只)。正常组喂以普通饲料,造模组喂以高糖高脂饲料,饲养6周后,禁食、不禁水8 h,腹腔注射2% STZ($30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),72 h后尾静脉采血测血糖,随机血糖 $\geq 16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,则造模成功^[11]。

2.2 分组与给药 造模成功后,造模组的大鼠随机分为模型组、糖脂清高、中、低剂量组,每组各15只。糖脂清高、中、低剂量组每日给药剂量分别为12,6,3 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,模型组及正常组给予相应体积的生理盐水,连续灌胃8周(给药剂量按陈奇主编的《中药药理研究方法学》^[12]剂量折算公式换算)。

2.3 Morris水迷宫测试 糖脂清方灌胃8周后,

每只大鼠先适应性训练 1 d, 再进行水迷宫实验。整个实验分为定位航行、空间探索 2 个阶段。将每只大鼠分别从 4 个象限的入水点面向池壁放入水中, 每天训练 1 次, 连续进行 5 d。如果大鼠在 60 s 内找到平台, 记录找寻平台所用时间, 作为逃避潜伏期。如果未找到平台, 逃避潜伏期记录为 60 s, 并将其拿到平台上, 停留 15 s 后, 再进行下一个象限。第 6 天撤去平台, 将各组大鼠仅从第 I 象限入水点放入, 记录其在 60 s 内的穿越平台次数、目标象限活动时间和距离百分率, 分析大鼠的空间记忆能力。

2.4 海马组织标本取材 大鼠处死后取出完整的脑组织, 分离出海马组织, 并将海马组织投入 4% 多聚甲醛溶液中充分固定 24 h, 脱水、固定、透明, 石蜡浸泡, 包埋。切片进行苏木-伊红 (HE) 染色, 光学显微镜下观察海马组织病理情况并拍照^[13]。

2.5 血清葡萄糖、胰岛素测定 血清葡萄糖用血糖仪检测。胰岛素用酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 测定。按以下公式计算胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR) 和胰岛素敏感指数 (ISI), $HOMA-IR = \text{空腹血糖 (fasting plasma glucose, FBG)} \times \text{空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS)} / 22.5$; $ISI = [1 / \text{FBG} \times \text{FINS}] \times 100$ 。

2.6 TUNEL 细胞凋亡检测 取海马组织制作石蜡切片, 经脱蜡、水合、细胞通透, 加 TUNEL 反应液并与底物反应显色, 最后以光学显微镜计数并拍照。在高倍显微镜下, 观察海马细胞着色情况。阳性凋亡细胞的细胞核呈棕黄色, 正常细胞核呈蓝色, 每张切片随机选取 5 个高倍视野 ($\times 200$), 用 Image Pro Plus 6 图像分析软件计数凋亡细胞和正常细胞, 以凋亡细胞核与正常细胞核的比值平均值作为凋亡指数 (AI), $AI = \text{凋亡细胞核数} / \text{总细胞核数} \times 100\%$ ^[14]。

2.7 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析, 全部实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用方差分析和 *t* 检验处理。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对各组大鼠 FBG, FINS 的影响 经过糖脂清方治疗, 与糖尿病模型组比较, 糖脂清方各剂量组 FBG 均下降 ($P < 0.01$), 且糖脂清中、高剂量组 FBG 改善情况更明显 ($P < 0.01$)。但糖脂清各剂量组及糖尿病模型组的 FINS 水平与正常组无明显差异。说明糖尿病模型组无明显高胰岛素血症, 而糖脂清方能降低 FBG, 但并不依靠促进胰岛素分泌发挥降血糖的作用。见表 1。

表 1 糖脂清方对各组大鼠 FBG, FINS 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Table 1 Effect of TZQ on FBG and FINS of each group rats ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	空腹血糖/mmol·L ⁻¹	空腹胰岛素/mU·L ⁻¹
正常	-	7.94 ± 0.24	19.36 ± 1.25
模型	-	34.06 ± 0.76 ²⁾	19.46 ± 1.47
糖脂清	3	24.38 ± 1.89 ⁴⁾	16.79 ± 0.47
	6	17.00 ± 2.42 ^{4,6)}	18.72 ± 0.98
	12	18.40 ± 2.38 ^{4,6)}	15.45 ± 0.87 ³⁾

注: 与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$; 与糖脂清低剂量组比较⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$ (表 2~5 同)。

3.2 对各组大鼠 HOMA-IR 和 ISI 的影响 与正常组比, 糖尿病模型组 HOMA-IR 显著升高, 而 ISI 显著降低 ($P < 0.01$)。经糖脂清方治疗 8 周后, 糖脂清各剂量组 HOMA-IR 与糖尿病模型组比较明显降低, 有显著性差异 ($P < 0.01$), 且糖脂清高、中剂量组改善优于糖脂清低剂量组 ($P < 0.05$); 治疗后糖脂清高、中剂量组 ISI 与糖尿病模型组比, 有显著性差异 ($P < 0.01$), 说明模型组与正常组胰岛素水平虽然接近, 但胰岛素抵抗程度更为明显, 糖脂清方能够降低血糖的作用, 是通过改善胰岛素抵抗, 而非增加胰岛素水平实现的。见表 2。

表 2 糖脂清方对各组大鼠 HOMA-IR, ISI 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Table 2 Effect of TZQ on homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and insulin sensitivity index (ISI) of each group rats ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	HOMA-IR	ISI
正常	-	6.44 ± 0.46	0.72 ± 0.06
模型	-	29.25 ± 2.09 ²⁾	0.15 ± 0.01 ²⁾
糖脂清	3	18.20 ± 0.64 ⁴⁾	0.25 ± 0.01
	6	13.25 ± 2.28 ^{4,5)}	0.46 ± 0.08 ^{4,5)}
	12	12.62 ± 1.88 ^{4,5)}	0.43 ± 0.07 ^{4,6)}

3.3 对各组大鼠 Morris 水迷宫行为学测试的影响
3.3.1 对各组大鼠水迷宫实验中逃避潜伏期的影响 与正常组比较, 糖尿病模型组大鼠逃避潜伏期更高 ($P < 0.05$), 提示糖尿病模型组学习、记忆能力明显下降; 糖脂清各剂量组潜伏期均小于模型组 ($P < 0.05, P < 0.01$), 但组间比较, 糖脂清各剂量逃避潜伏期无显著性差异, 提示糖脂清各剂量组大鼠的学习、记忆能力较模型组恢复明显, 但与糖脂清剂量无明显相关性。见表 3。

表 3 糖脂清方对各组大鼠水迷宫实验中逃避潜伏期的影响($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Table 3 Effect of TZQ on escape latencies of each group rats in water maze($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
正常	-	46.09 ± 2.70	31.77 ± 2.81	21.39 ± 2.20	15.57 ± 2.08	14.50 ± 2.04
模型	-	55.19 ± 2.98 ¹⁾	42.71 ± 3.11 ¹⁾	35.81 ± 0.76 ¹⁾	27.24 ± 2.30 ¹⁾	21.94 ± 2.25 ¹⁾
糖脂清	3	47.19 ± 3.16	33.28 ± 3.29 ³⁾	28.82 ± 2.58 ³⁾	19.50 ± 2.44 ³⁾	15.31 ± 2.39 ³⁾
	6	44.39 ± 2.98 ³⁾	29.94 ± 3.11 ⁴⁾	22.16 ± 2.44 ⁴⁾	18.25 ± 2.30 ⁴⁾	13.33 ± 2.25 ³⁾
	12	45.30 ± 2.83 ³⁾	33.35 ± 2.95 ³⁾	21.88 ± 2.31 ⁴⁾	16.98 ± 2.18 ⁴⁾	14.00 ± 2.14 ³⁾

3.3.2 对各组大鼠水迷宫实验中空间探索实验的影响 与正常组比较,模型组穿越平台次数、原平台游泳路程及游泳时间均有所减少($P < 0.01$)。糖脂清各剂量组与糖尿病模型组比,穿越平台次数、原平台游泳路程及游泳时间均有所增加($P < 0.05, P < 0.01$),其中糖脂清中剂量组增加更为明显($P < 0.01$)。见表 4。

表 4 糖脂清方对各组大鼠水迷宫实验中空间探索实验的影响($\bar{x} \pm s, n = 15$)

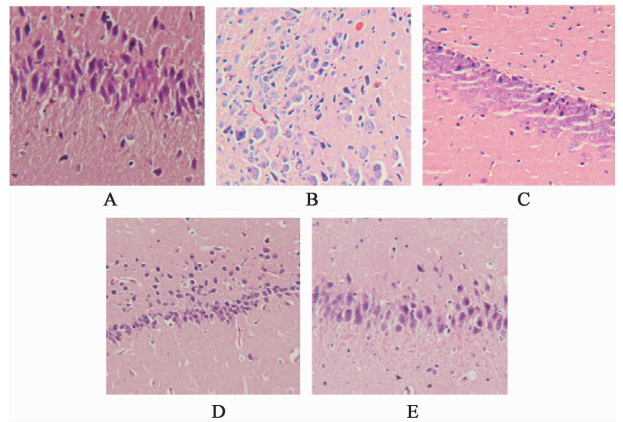
Table 4 Effect of TZQ on spatial probe trial of each group rats in water maze($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	穿越平台次数/次	原平台象限游泳路程/总路程/%	原平台象限游泳时间/总时间/%
正常	-	2.82 ± 0.38	40.59 ± 2.65	40.74 ± 2.74
模型	-	1.11 ± 0.35 ²⁾	27.20 ± 2.42 ²⁾	27.30 ± 2.59 ²⁾
糖脂清	3	2.50 ± 0.60 ³⁾	35.43 ± 2.82 ³⁾	36.64 ± 3.00 ³⁾
	6	2.67 ± 0.33 ⁴⁾	43.36 ± 3.21 ⁴⁾	41.93 ± 3.17 ⁴⁾
	12	2.36 ± 0.19 ³⁾	36.64 ± 1.38 ³⁾	36.28 ± 2.04 ³⁾

3.4 对各组大鼠海马组织病理的影响 可见正常组海马 CA1 区神经元排列规则整齐,细胞带较完整,形态正常,糖尿病模型组细胞排列散乱,层次不清,分布不均匀,胞体缩小,正常形态神经细胞数量明显减少。与模型组比较,糖脂清各剂量组大鼠海马组织均有不同程度的改善,其中糖脂清中、高剂量组改善作用更为明显。见图 1。

3.5 对各组大鼠海马神经元凋亡情况的影响 正常组海马 CA1 区神经元细胞罕见棕黄色阳性凋亡细胞,糖尿病模型组可见大量的棕黄色凋亡细胞,糖脂清各剂量组阳性细胞数较糖尿病模型组少见,且糖脂清中、高剂量组减少更为明显。见图 2。

3.6 对各组大鼠海马神经细胞 AI 的影响 与正常组比较,糖尿病模型组海马神经元凋亡指数明显升高($P < 0.01$)。与糖尿病模型组比较,糖脂清各剂



A. 正常组;B. 模型组;C. 糖脂清低剂量组;D. 糖脂清中剂量组;E. 糖脂清高剂量组(图 2 同)

图 1 糖脂清方对各组大鼠海马组织病理的影响(HE, ×200)

Fig.1 Effect of TZQ on hippocampal pathology in each group rats (HE, ×200)

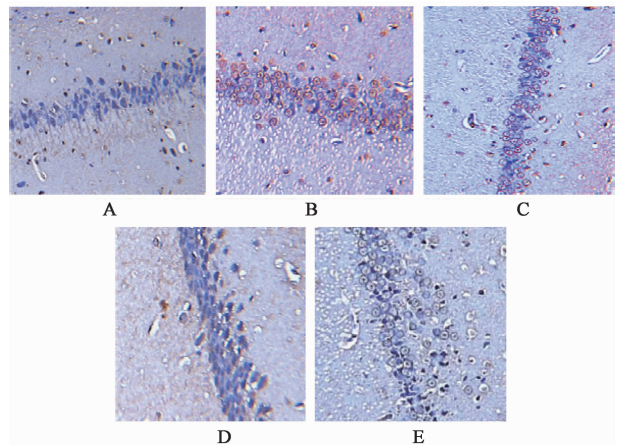


图 2 糖脂清方对各组大鼠海马神经元凋亡情况的影响(TUNEL, ×200)

Fig.2 Effect of TZQ on apoptosis of hippocampal neurons in each group rats(TUNEL, ×200)

量组 AI 均明显降低($P < 0.01$),其中糖脂清高、中剂量组比低剂量组降低明显,有显著性差异($P < 0.01$)。见表 5。

4 讨论与结论

糖尿病合并认知功能障碍属于糖尿病慢性并发

表 5 糖脂清方对各组大鼠海马神经元 AI 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)
Table 5 Effect of TZQ on apoptotic index of hippocampus nerve cell in each group rats ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	AI/%
正常	-	7.15 ± 1.26
模型	-	53.19 ± 6.46 ²⁾
糖脂清	3	47.00 ± 2.67 ⁴⁾
	6	30.95 ± 3.07 ^{4,6)}
	12	26.45 ± 2.30 ^{4,6)}

症,是以获得性认知行为缺陷为特征,中医学中没有直接对应的病名,依据其临床表现属于消渴病中出现的“健忘”、“善忘”、“呆病”、“痴呆”、“愚痴”、“文痴”等范畴^[15]。糖脂清方是导师王旭教授根据多年临床观察并结合现代药理学研究创立的,在临床应用于本病的治疗取得了可靠的疗效^[16]。本方由黄精、炙僵蚕、鬼箭羽、枸杞子、泽兰等中药组成,本方药物经现代药理学验证,具有调节血糖、血脂,改善血流动力学等作用^[17]。

本研究结果表明,2 型糖尿病模型组的大鼠饮水量、进食量、尿量明显增加,体毛无光泽,活动减少,精神萎靡,体质量明显下降,然后呈缓慢增长趋势。经糖脂清方治疗后大鼠精神状态好转,体质量稳定增长。糖脂清方能够通过改善胰岛素抵抗而非增加胰岛素含量,有效降低 2 型糖尿病大鼠血糖值。

Morris 水迷宫是英国心理学家 Morris 于 1980 年代初设计并应用于脑学习记忆机制研究的一种实验手段,主要包括定位航行实验和空间探索实验,用于测试实验动物对空间位置觉和方向觉的学习记忆能力^[18],大鼠找到平台的时间和策略反映了空间学习和记忆的能力^[19]。Morris 水迷宫结果提示,糖脂清各剂量组逃避潜伏期小于模型组,而穿越平台的次数、原平台游泳路程及游泳时间均有所增加。HE 染色以及 TUNEL 检测结果显示,本方能够保护大鼠海马细胞,减少海马神经元凋亡,提高 2 型糖尿病大鼠学习、记忆等认知能力。

2 型糖尿病合并认知功能障碍的发病机制复杂,关于本病的发病核心是大脑神经元损伤,功能下调和海马 CA1 区神经元凋亡等^[20],本研究主要从海马神经元凋亡角度研究糖脂清方对 2 型糖尿病大鼠神经保护作用。海马与认知功能密切相关,可直接干预信息贮存和回忆,是缺血损伤最敏感的脑区^[21]。2 型糖尿病病程迁延日久,毛细血管管腔变狭窄,再加上糖尿病患者脂代谢紊乱引起血流减慢,

导致脑血流量减低,脑组织缺血缺氧。缺氧时,神经元所需能量由葡萄糖的无氧酵解提供的少量 ATP 来提供,其代谢终产物也由 CO₂ 和 H₂O 转变为乳酸,能量耗竭和乳酸堆积所致酸中毒可能是海马神经元损伤的原因之一^[22-23]。微血管损伤后,海马缺血缺氧最终导致其神经元损伤、凋亡,认知功能下降。糖脂清方能够保护海马细胞,减少海马神经元凋亡,增强 2 型糖尿病大鼠学习、记忆等认知能力,其作用机制可能与本方有效降糖、降脂、改善高糖环境有关。糖脂清方降低血糖,调节血脂,改善毛细血管狭窄,预防脑组织缺血缺氧,减少海马 CA1 区神经元凋亡和损伤,保护海马细胞。

综上所述,糖脂清方能够有效治疗糖尿病脑病,改善认知功能障碍,但关于本方具体作用机制仍尚不明确,需要进一步实验。只有进一步明确疗效和机制,才能为糖脂清方临床应用提供客观依据,进一步开拓糖尿病脑病治疗新方法。

[参考文献]

[1] Schram M T, Sep S J, van der Kallen C J, et al. The maastricht study: an extensive phenotyping study on determinants of type 2 diabetes, its complications and its comorbidities[J]. Eur J Epidemiol, 2014, 29(6):439-451.

[2] RONG H, WEI H, XIAO J S, et al. Effect of fasudil on cognitive function following status convulsion in rats[J]. Mol Med Reports, 2017, 12(3):1-8.

[3] SU J, ZHOU H. G-CSF protects human brain vascular endothelial cells injury induced by high glucose, free fatty acids and hypoxia through MAPK and Akt signaling[J]. PLoS One, 2015, 10(4):120-127.

[4] 于修芳, 雷霞, 曹玲, 等. 补阳还五汤对阿尔茨海默病小鼠海马凋亡因子及学习记忆能力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(3):109-113.

[5] 赵宏丽, 许燕, 赵红岩, 等. 黄精多糖对 2 型糖尿病大鼠 SREBP-1 和 SCD-1 蛋白表达的影响[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(1):106-109.

[6] 李宇. 鬼箭羽治疗 2 型糖尿病血症证 30 例临床观察[J]. 湖南中医杂志, 2015, 31(6):46-47.

[7] 黄海英, 彭新君, 彭延古. 僵蚕的现代研究进展[J]. 湖南中医学院学报, 2003, 23(4):62-64.

[8] 汪玢, 李伟超, 陶锦松, 等. 菊科植物林泽兰三萜化学成分分离提取与结构[J]. 南昌大学学报:理科版, 2013, 37(3):250-254.

[9] 田春雨, 薄海美, 林飞武, 等. 双益方改善 2 型糖尿病模型大鼠胰岛素抵抗的药效及作用机制[J]. 中国实

- 验方剂学杂志,2017,23(22):137-142.
- [10] 侯学谦,祝婉芳,曲玮,等. 枸杞化学成分及药理活性研究进展[J]. 海峡药学,2016,28(8):1-7
- [11] 孙铮,战丽彬,孙晓昕,等. 滋补脾阴方药对糖尿病认知功能障碍大鼠皮质线粒体功能障碍预防作用机制[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2015,17(8):1639-1645.
- [12] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2011:36-38.
- [13] Ashcroft F M, Rorsman P. Diabetes mellitus and the beta cell; the last ten years [J]. Cell, 2012, 148 (6): 1160-1171.
- [14] 李社芳,苗灵娟,李宁,等. 丹酚酸 B 对糖氧剥夺损伤大鼠海马神经干细胞增殖、凋亡和分化的影响[J]. 中国组织工程研究,2017,21(17):2735-2740.
- [15] 岳仁宋,王帅,陈源,等. 2 型糖尿病认知功能障碍的中医辨治[J]. 新中医,2011,43(6):137-138.
- [16] 王旭,顾震宇,洪兵,等. 糖脂清颗粒对 2 型糖尿病大鼠心肌组织 Bax, Bcl-2 表达的影响[J]. 中医学报,2014,29(12):1733-1736.
- [17] 王旭,徐奚如,洪兵,等. 糖脂清颗粒对 2 型糖尿病大鼠学习记忆及海马 IRS-1 表达的影响[J]. 中国中医基础医学杂志,2014,20(11):1492-1495.
- [18] 王绪平,芮登俊,陈宇,等. Morris 水迷宫实验评价血管性痴呆大鼠模型的学习记忆能力[J]. 中华中医药学刊,2013,31(1):99-100.
- [19] 罗小泉,骆利平,陈海芳,等. Morris 水迷宫检测大鼠记忆力方法的探讨[J]. 时珍国医国药,2010,21(10):2667-2669.
- [20] ZHANG D M, XIAO Q, ZHANG Y. Effects of angiotensin IV on the hippocampus neuronal apoptosis and the cognitive function of diabetic rats [J]. J Chongqing Med Univ,2012,35(7):978-981.
- [21] 李强,颜勇,苏哲君,等. 丝胶对 2 型糖尿病大鼠海马 nNOS 表达的作用[J]. 承德医学院学报,2013,130(2):97-99.
- [22] 张运克,车志英,梅雪蕊. 补阳还五汤联合骨髓间充质干细胞移植对大鼠脑缺血再灌注模型神经细胞凋亡的影响[J]. 中华中医药学刊,2010,27(8):1660-1662.
- [23] Szabadkai G, Kizzuto R. Participation of endoplasmic reticulum and mitochondrial calcium handling in apoptosis: more than just neighborhood [J]. FEBS Lette,2014,567(1):111-115.

[责任编辑 仝燕]