糖络宁对糖尿病大鼠坐骨神经 MnSOD,CuZnSOD,GPx 抗氧化酶基因表达的影响

邹大威[1],高彦彬[1*],朱智耀[2],李敏州[2],马鸣飞[2], 李步满[2],李勤[2],王金羊[1],赵轩[1]
(1. 首都医科大学中医药学院,北京 100069; 2. 北京中医药大学东方医院,北京 100078)

[摘要] **目的**:初步探讨中药复方糖络宁改善氧化应激的分子机制。**方法**:8 周龄雄性 SD 大鼠随机选取 15 只为正常对照组,余大鼠禁食 12 h 后腹腔注射链脲佐菌素(STZ)60 $mg \cdot kg^{-1}$ 建立糖尿病模型,72 h 后大鼠禁食 8 h 断尾取血,测定血糖≥16.7 $mmol \cdot L^{-1}$ 视为糖尿病(DM)模型建立成功。成功后随机分为模型组(M 组)、糖络宁 10 $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ 组(TLN 组)、α-硫辛酸 0.02 $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ 组(LA 组)各 15 只,连续给药 8 周后,采用实时定量荧光 PCR(Real-time PCR)技术检测各组大鼠坐骨神经锰超氧化物歧化酶(MnSOD)、铜锌超氧化物歧化酶(CuZnSOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)基因表达量,动态监测血糖、冷热刺激反应时间和热痛阈值。**结果**:STZ 建立糖尿病模型后,坐骨神经组织的抗氧化酶 MnSOD,CuZnSOD,GPx 基因表达均增加;糖络宁连续给药 8 周后,冷热刺激反应时间明显缩短($P < 0.05$),痛阈值明显延长($P < 0.05$),MnSOD, CuZnOD, GPx 基因表达量均明显升高($P < 0.05$)。**结论**:糖络宁能够改善 STZ 糖尿病大鼠痛觉过敏、感觉迟钝症状,并能通过提高坐骨神经 MnSOD, CuZnSOD,GPx 基因表达减轻氧化应激。

[关键词] 糖尿病周围神经病变; 锰超氧化物歧化酶 mRNA; 铜锌超氧化物歧化酶 mRNA; 谷胱甘肽过氧化物酶 mRNA; 糖络宁; 氧化应激

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)01-0175-05

[网络出版地址] http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121029.1648.010.html

[网络出版时间] 2012-10-29 16:48

[收稿日期] 20120809(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30873253/H2708)

[第一作者] 邹大威,医学博士,从事中医药防治糖尿病及其并发症研究,E-mail:taotaosweety@163.com

[通讯作者] * 高彦彬,博士生导师,教授,从事中医药防治糖尿病及其并发症研究,E-mail:dfyynfm@163.com

骨髓 SCF 浓度及血清 GATA-1 浓度方面效果均优于其余各配伍组。

[参考文献]

[1] 范颖,乔铁,腾飞.黄芪功效主治衍化及其应用与研究 [J].中华中医药杂志,2010,17(25):1164.
[2] 孙振球.医学统计学[M].3 版.北京:人民卫生出版社,2010:544.
[3] 张红梅,范颖,林庶茹.黄芪不同有效部位配伍对骨髓抑制模型小鼠粒系调控因子的影响 [J].中国实验方剂学杂志,2011,17(22):17.
[4] 杜强,贾丽艳. SPSS 统计分析[M].北京:人民邮电出版社,2009:556
[5] 程萍,哈斯叶,任勇.黄芪注射液治疗妇产科失血性贫血疗效观察 [J].新疆中医药,2004,22(3):18.
[6] 祝晓玲,祝彼得.黄芪注射液影响贫血小鼠粒单系、红系造血及作用机制的探讨[J].中国中西医结合急救杂志,2001,8(5):284.
[7] 全宏勋,邹丹,胡群员,等.黄芪对辐射小鼠红系造血功能的影响[J].中国公共卫生,2001,17(5):393.
[8] 吕艳,冯雪梅,祝彼得.黄芪注射液对骨髓抑制性贫血小鼠造血调控的实验研究[J].中药材,2005,28(9):791.
[9] 陈国辉,黄文冈.黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J].中国新药杂志,2008,17(17):1480.
[10] 谭艳芳,殷小成,熊玉娟,等.黄芪甲甙对大鼠骨髓间充质干细胞多种造血相关因子表达的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(10):1817.
[11] 翁玲,刘学英,刘彦,等.黄芪多糖对小鼠骨髓及外周血造血干细胞的增殖及动员作用[J].基础与临床,2003,23(3):306.

[责任编辑 聂淑琴]

Effects of Tangluoning Formula on Gene Expression of MnSOD, CuZnSOD and GPx in Sciatic Nerve of Diabetic Rats

ZOU Da-wei[1], *GAO Yan-bin*[1*], *ZHU Zhi-yao*[2], *LI Min-zhou*[2], *MA Ming-fei*[2], *LI Bu-man*[2], *LI Qin*[2], *WANG Jin-yang*[1], *ZHAO Xuan*[1]

(1. *Chinese Medicine Academy of Capital Medical University*, *Beijing* 100069, *China*; 2. *Dongfang Hospital of Beijing University of Chinese Medicine*, *Beijing* 100078, *China*;)

[**Abstract**] **Objective**: To explore possible molecular mechanism of Tangluoning (TLN) formula in improving oxidative stress. **Method**: The SD rats were divided into control group, the others were given intraperitoneal injection of streptozocin (STZ) (60 $mg \cdot kg^{-1}$) after 12 hours of fasting to build diabetic model. The rats with blood glucose level being more than 16.7 $mmol \cdot L^{-1}$ after stop 8 hours of fasting were regarded as modelling successfully after 3 days. The rats modeling successfully were randomly divided into the model group, TLN group and alpha-lipoic acid group (LA), 15 in each group. Drugs were administrated orally for 8 weeks after the STZ treatment. Blood glucose, cool or thermal response time, thermal threshold were determined during the experimental process. After eight weeks of treatment, Real-time PCR technology was employed to measure Mn superoxide dismutase (SOD) mRNA, CuZnSOD mRNA and glutathione peroxidase (GPx) mRNA expression in the sciatic nerve. **Result**: The expression of MnSOD mRNA, CuZnSOD mRNA and GPx mRNA was increased after STZ treatment. Compared with the model group, the cool or thermal response time was decreased, the thermal threshold was increased, the gene expression of MnSOD, CuZnSOD and GPx was increased by TLN. **Conclusion**: Tangluoning formula could improve hyperalgesia, dysesthesia, increase antioxidant enzymes gene expression to improve oxidative stress.

[**Key words**] diabetic peripheral neuropathy; MnSOD mRNA; CuZnSOD mRNA; GPx mRNA; Tangluoning formula; oxidative stress.

目前公认的糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)的发病机制是氧化应激[1],氧化应激是指当多种原因导致体内的反应性氧化物活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)及相关物质产生时的细胞内外状态,是细胞 ROS 生成和防止 ROS 损伤的抗氧化能力之间失去平衡。抗氧化酶超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)是机体非常重要的抗氧化防御体系之一,在细胞氧化应激中发挥着重要作用。糖络宁是导师高彦彬教授在临床上应用多年治疗 DPN 的有效方剂,临床研究表明[2-3],糖络宁能够明显改善糖尿病患者下肢麻木、疼痛的临床症状,并能提高神经传导速度。前期研究证实[4]糖络宁能够通过提高抗氧化酶活性、清除丙二醛(MDA)减轻糖尿病大鼠坐骨神经的氧化应激和细胞凋亡,本实验主要探讨糖络宁减轻氧化应激的分子机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠,体重 180 ~ 220 g (8 周龄),生产许可号 SCXK(京)2006-0009,购自北京维通利华实验动物技术有限公司。

1.2 药物 糖络宁(主药为黄芪、狗脊、生地黄、丹参,购自北京中医药大学东方医院)由北京中医药大学东方医院制剂室制成含生药质量浓度为 3 $g \cdot mL^{-1}$的浓煎液,α-硫辛酸(购自 Puritan's Pride 公司)。

1.3 试剂 链脲佐菌素(STZ, Sigma 公司),Trizol 试剂盒(Invitrogen,批号 51941204),M-MLV 反转录试剂盒(Takara,批号 CK901H),SYBR Mix(Takara,批号 B4002-1),Agarose(Promega,批号 106480)。

1.4 仪器 Real-time PCR 仪(美国 ABI 7500)。

2 方法

2.1 模型建立和动物分组 大鼠适应性喂养 1 周后,随机选取 15 只为正常对照组(CTL 组),余大鼠禁食不禁水 12 h 后,予 STZ 60 $mg \cdot kg^{-1}$ ip,72 h 后大鼠禁食 8 h 断尾取血,测血糖≥16.7 $mmol \cdot L^{-1}$视为糖尿病模型建立成功。结果 45 只大鼠造模成功,随

机分为模型组(M 组)15 只、糖络宁组(TLN 组)15 只、α 硫辛酸组(LA 组)15 只。

2.2 给药 造模成功次日开始给药,糖络宁组按 $10\ g\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$ 剂量 ig;α-硫辛酸组按 $20\ mg\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$ 剂量 ig;模型组予等量蒸馏水 ig。每 2 周动物称重 1 次,调整用药量。实验期间自由饮食饮水,连续给药 8 周。

2.3 热刺激和冷刺激反应时间 将大鼠置于大鼠固定器内,暴露整个尾部,静置 2 min,将大鼠尾部末端 1/3 置于(43 ± 0.5) ℃的恒温水中,立即用秒表计时,记录大鼠第 1 次甩尾时间,作为大鼠的热刺激反应时间;以同样方法测定大鼠对(10 ± 0.5) ℃冷水刺激的甩尾时间作为大鼠的冷刺激反应时间[5]。每月测定 1 次。

2.4 痛阈测定 在安静条件下,将大鼠置于(50 ± 0.1) ℃的自动热板仪上测定痛阈值,大鼠足部接触热板,受热刺激后大鼠出现舔后足反应,以大鼠从双后足接触热板到出现舔后足的时间,即舔后足的潜伏期作为疼痛反应指标,即痛阈值。每只大鼠重复测定 3 次,每次测定间隔时间为 5 min,取其平均值[6]。每 2 周测定 1 次。

2.5 MnSOD,CuZnSOD, GPx1 mRNA 检测

2.5.1 标本采集 给药 8 周后所有大鼠以 10% 水合氯醛为麻醉剂,根据大鼠体重,按 $350\ mg\cdot kg^{-1}$ ip 麻醉,待大鼠熟睡后,剖开大鼠暴露坐骨神经,迅速取下坐骨神经,用预冷的生理盐水洗去血渍和杂质,用滤纸吸干后,迅速放入冻存管中在 −196 ℃液氮中保存,待用。

2.5.2 引物设计 根据 GeneBank 提供的基因序列,由生工生物工程上海有限公司用 Primer Premier 5.0 软件设计合成,见表 1。

表 1 MnSOD,CuZnSOD, GPx1 基因引物序列

基因名称	基因库编号	引物序列	基因长度/bp
SOD2	47575854	F:5′-CTGGCCAAGGGAGATGTTAC-3′	167
		R:5′-AAAGACCCAAAGTCACGCTT-3′	
SOD1	8394327	F:5′-GAACCAGTTGTGGTGTCAGG-3′	172
		R:5′-GGTCTCCAACATGCCTCTCT-3′	
GPx1	145275164	F:5′-CATCAGGAGAATGGCAAGAA-3′	106
		R:5′-TCACCTCGCACTTCTCAAAC-3′	
Gapdh	110347607	F:5′-CAACTCCCTCAAGATTGTCAGCAA-3′	128
		R:5′-GGCATGGACTGTGGTCATGA-3′	

注:F 为上游引物;R 为下游引物; SOD2(MnSOD). 锰超氧化物歧化酶基因; SOD1(CuZnSOD)为铜锌超氧化物歧化酶基因; GPx 为谷胱甘肽过氧化物酶基因。

2.5.3 总 RNA 提取 采用 Trizol 法,取大鼠坐骨神经 100 mg,放入液氮中研成粉末,加入 1 mL Trizol 提取 RNA。

2.5.4 RNA 的体外反转录 在 0.5 mL 的离心管中加入 RNA 3 μL,Oligo(dT) 1 μL,dd H_2O(DEPC 处理)9.5 μL,以上首先 70 ℃孵育 5 min,然后迅速放在冰上。然后加入 5 × Buffer 5 μL,dNTP(10 $mmol\cdot L^{-1}$) 5 μL,Ribonuclease inhibitor 0.5 μL,M-MLV RT 1 μL 构成共 25 μL 的反应体系,以上反应体系 42 ℃孵育 60 min,然后 70 ℃ 10 min,获得反应产物 cDNA。

2.5.5 实时定量荧光 PCR 检测(Real-time PCR) 在实时荧光定量 PCR 仪上扩增并检测荧光,反应体系 20 μL[cDNA 1.5 μL,上游引物(10 $\mu mol\cdot L^{-1}$) 0.5 μL,下游引物(10 $\mu mol\cdot L^{-1}$) 0.5 μL,SYBR mix 10 μL,dd H_2O 7.5 μL]加入 0.2 mL 的离心管中混匀。反应条件:94 ℃预变性 15 min,94 ℃ 15 s,60 ℃ 34 s,72 ℃ 15 s,40 个循环,72 ℃延伸 10 min。每个样本均做 3 次,取平均值减少误差,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法对 Mn-SOD,CuZn-SOD,GPx mRNA 的表达水平进行定量。

2.6 统计方法 采用 SPSS 13.0 软件进行数据分析,计算 $\bar{x} \pm s$,进行单因素方差分析,$P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠不同时点血糖的比较 STZ 建立糖尿病模型后,与 CTL 组相比,各组大鼠的血糖值均明显升高($P < 0.05$),提示糖尿病模型建立成功。糖络宁连续给药 8 周后,与 M 组相比,TLN 组大鼠的血糖值明显降低($P < 0.05$),与 LA 组相比亦降低($P < 0.05$)。见表 2。

3.2 各组大鼠热刺激和冷刺激反应时间的比较 糖尿病模型建立第 8 周,与 CTL 组相比, M 组大鼠热刺激、冷刺激时间均延长($P < 0.05$);与 M 组相比,LA 组和 TLN 组大鼠的热刺激、冷刺激时间均缩短($P < 0.05$);与 LA 组相比,TLN 组大鼠的热刺激时间亦缩短($P < 0.05$);冷刺激时间 LA 组和 TLN 组比较无差异。见表 3。

3.3 各组大鼠不同时点痛阈的比较 从造模后第 4 周开始,与 CTL 组相比,各组大鼠痛阈值明显降低($P < 0.05$)。与 M 组相比,连续给药第 8 周,LA 组和 TLN 组的痛阈值均明显升高($P < 0.05$),LA 组和 TLN 组比较无差异。见表 4。

3.4 各组大鼠坐骨神经 MnSOD,CuZnSOD,GPx1

表 2 各组大鼠不同时点血糖比较($\bar{x} \pm s$, $n=15$) mmol·L^{-1}

组别	剂量/g·kg^{-1}·d^{-1}	血糖				
		0 周	2 周	4 周	6 周	8 周
正常对照	–	5.15 ± 0.69	5.18 ± 0.71	5.23 ± 0.62	5.25 ± 0.55	5.24 ± 0.69
模型	–	25.47 ± 4.57$^{1)}$	25.78 ± 4.11$^{1)}$	25.56 ± 4.86$^{1)}$	25.35 ± 3.98$^{1)}$	25.49 ± 4.57$^{1)}$
α-硫辛酸	0.02	25.63 ± 4.61$^{1)}$	25.09 ± 4.88$^{1)}$	25.53 ± 4.32$^{1)}$	25.24 ± 4.66$^{1)}$	25.22 ± 4.31$^{1)}$
糖络宁	10	26.04 ± 3.97$^{1)}$	25.54 ± 4.27$^{1)}$	25.16 ± 4.12$^{1)}$	24.87 ± 4.61$^{1)}$	22.03 ± 3.42$^{1,2,3)}$

注:与正常对照组比较$^{1)}$ $P<0.05$,与模型组比较$^{2)}$ $P<0.05$,与 α-硫辛酸组比较$^{3)}$ $P<0.05$(表 3 ~5 同)。

表 3 各组大鼠热刺激和冷刺激反应时间比较($\bar{x} \pm s$, $n=15$) s

组别	剂量/g·kg^{-1}·d^{-1}	热刺激反应时间		冷刺激反应时间	
		4 周	8 周	4 周	8 周
正常对照	–	21 ± 14	24 ± 12	24 ± 16	26 ± 16
模型	–	38 ± 14$^{1)}$	85 ± 28$^{1)}$	32 ± 20	80 ± 31$^{1)}$
α-硫辛酸	0.02	41 ± 14$^{1)}$	53 ± 25$^{1,2)}$	29 ± 21	61 ± 29$^{1,2)}$
糖络宁	10	46 ± 22$^{1)}$	41 ± 19$^{1,2,3)}$	28 ± 18	60 ± 25$^{1,2)}$

表 4 各组大鼠不同时点痛阈值比较($\bar{x} \pm s$, $n=15$) s

组别	剂量/g·kg^{-1}·d^{-1}	2 周	4 周	6 周	8 周
正常对照	–	9.17 ± 1.56	9.56 ± 1.48	9.38 ± 1.01	9.78 ± 1.69
模型	–	8.54 ± 1.11	6.35 ± 1.66$^{1)}$	5.74 ± 1.53$^{1)}$	4.64 ± 1.38$^{1)}$
α-硫辛酸	0.02	8.90 ± 1.26	6.45 ± 0.78$^{1)}$	6.67 ± 1.34$^{1)}$	7.32 ± 1.45$^{1,2)}$
糖络宁	10	8.77 ± 1.35	6.70 ± 1.03$^{1)}$	6.89 ± 1.18$^{1)}$	7.67 ± 0.91$^{1,2)}$

基因表达的比较 与 CTL 组相比,M 组的 MnSOD,CuZnSOD,GPx1 基因表达水平均升高 ($P<0.05$);与 M 组相比,TLN 组的 MnSOD,CuZn-SOD 基因表达水平分别升高了 32.63%,24.43%,具有显著统计学差异($P<0.05$);与 M 组相比,LA 组,TLN 组的 GPx1 基因表达水平分别升高了 34.27%,43.48%,具有显著统计学差异($P<0.05$)。见表 5。

表 5 各组大鼠坐骨神经 MnSOD,GPx1,Cat 基因相对表达量比较($\bar{x} \pm s$, $n=15$) $2^{-\Delta\Delta Ct}$

组别	剂量/g·kg^{-1}·d^{-1}	MnSOD	CuZn-SOD	GPx1
正常对照	–	0.625 ± 0.118	0.649 ± 0.151	0.609 ± 0.156
模型	–	0.996 ± 0.120$^{1)}$	0.917 ± 0.132$^{1)}$	0.966 ± 0.072$^{1)}$
α-硫辛酸	0.02	1.142 ± 0.326$^{1)}$	0.999 ± 0.309$^{1)}$	1.297 ± 0.132$^{1,2)}$
糖络宁	10	1.321 ± 0.131$^{1,2)}$	1.141 ± 0.162$^{1,2)}$	1.386 ± 0.173$^{1,2)}$

4 讨论

本实验通过腹腔注射大剂量 STZ 建立糖尿病模型,实验期间每两周监测一次血糖,发现 STZ 造模后糖尿病大鼠血糖维持在较高水平,并出现痛觉过敏、感觉迟钝的表现。连续给药 8 周后,与模型组相比,糖络宁能够降低血糖,缩短冷热刺激反应时间,延长热痛阈值,改善糖尿病大鼠出现的痛觉过敏、感觉迟钝症状。前期研究表明,糖络宁能够通过提高抗氧化酶活性、清除丙二醛改善氧化应激[4]。本次实验主要采用 Realtime PCR 的方法检测了 STZ 糖尿病大鼠坐骨神经组织抗氧化酶 MnSOD,CuZnSOD 和 GPx1 mRNA 水平,旨在观察糖络宁能否通过调控抗氧化酶基因表达减轻坐骨神经氧化应激。

2005 年 Brownlee[1] 提出了糖尿病并发症的统一机制学说——氧化应激,认为高血糖诱导的线粒体电子传递链中过氧化物产生过量,是导致糖尿病各种并发症的不同发病机制的关键。线粒体是细胞内合成 ATP 的中心,消耗氧气的同时产生了代谢产物自由基,机体的抗氧化防御系统能够清除自由基,从而保持自由基产生和清除处于动态平衡状态。糖尿病时,抗氧化酶活性降低,导致自由基代谢产物增

高,结果造成线粒体结构的损伤,氧化呼吸传递链传递受阻,使自由基的生成量进一步增加,过氧化物产生过量,形成恶性循环,进一步加重细胞损伤。

酶类抗氧化剂是机体非常重要的抗氧化防御系统,主要包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GPx)等。SOD 在清除活性氧反应过程中第一个发挥作用,它将超氧阴离子自由基($O_2^- \cdot$)快速歧化为过氧化氢(H_2O_2)和分子氧。目前,已知的 SOD 基因类型有 6 种:CuZnSOD 基因、MnSOD 基因、FeSOD 基因、NiSOD 基因、MnFeSOD 基因和 FeZnSOD 基因[7]。CuZnSOD 基因主要存在于真核生物细胞中,又称 SOD1;MnSOD 基因主要存在于线粒体,又称 SOD2。GPx 广泛分布于机体各器官,主要存在于人体细胞的胞浆内,是由几种 GPx 同工酶组成的一个同工酶超家族,GPx-1 是该家族中分布最广泛的酶,可以清除体内的 H_2O_2 及 MDA,清除 ROS、阻断 ROS 对机体的进一步损伤,它与糖尿病及其并发症密切相关[8]。

Pallav 使用 STZ 诱导雄性褐家鼠 6 周后,肾皮质 CuZnSOD,GPx 基因 mRNA 水平均明显增加[7]。实验研究发现 STZ 造模的糖尿病大鼠外周血氧自由基水平升高,抗氧化酶基因 SOD,GPx 表达增加,同时抗氧化酶 GPX,SOD 活性降低[9]。本次实验结果表明经 STZ 建立糖尿病模型后,坐骨神经 CuZnSOD mRNA,MnSOD mRNA,GPx1 mRNA 相对表达量均明显升高,与上述研究是一致的。提示糖尿病时机体处于氧化应激状态,抗氧化酶如 SOD,GPx 被大量消耗和灭活,机体需要更多的 SOD,GPx 来维持自由基产生和清除的平衡状态,虽然基因水平表达增加,但酶活性仍降低。经糖络宁干预后,与模型组相比,CuZnSOD,MnSOD,GPx1 mRNA 相对表达量均明显升高($P<0.05$),抗氧化酶 SOD 活性升高,MDA 含量下降[4],表明糖络宁能够通过提高坐骨神经 MnSOD,CuZnSOD,GPx 基因表达减轻氧化应激状态,与抗氧化剂 α-硫辛酸无差异($P<0.05$)。近年,氧化应激是比较公认的的糖尿病及其并发症的发病机制,其他中药复方对糖尿病大鼠肝脏、血清氧化应激作用机制的研究亦有报道[10-11],但因糖尿病发病机制多重复杂[12],糖络宁能否通过影响糖尿病的其他发病机制有待我们的进一步研究。

[参考文献]

[1] Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications A unifying mechanism [J]. Diabetes, 2005, 54 (6):1615.

[2] 高彦彬,吕仁和,于秀辰,等. 糖络宁治疗糖尿病周围神经病变临床观察[J]. 北京中医药大学学报,1997,20(4):50.

[3] 周晖,高彦彬,刘铜华,等. 糖络宁治疗糖尿病性周围神经病变的临床观察[J]. 北京中医药大学学报,2002,25(4):59.

[4] 邹大威,朱智耀,高彦彬. 糖络宁对糖尿病大鼠坐骨神经氧化应激及超微结构的影响[J]. 中华中医药杂志,2012,27(5):1253.

[5] 徐淑云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2002:887,884.

[6] 蓝星莲,潘龙瑞,兰鸿,等. 小檗碱对 2 型糖尿病周围神经病变大鼠 IL-1β,TNF-α 的影响[J]. 陕西医学杂志,2009,38(4):392.

[7] 张克烽,张子平,陈芸,等. 动物抗氧化系统中主要抗氧化酶基因的研究进展[J]. 动物学杂志,2007,42(2):153.

[8] 刘丽梅. 谷胱甘肽过氧化物酶-1 在糖尿病及其血管并发症中的研究进展[J]. 上海医学,2007,30(12):942.

[9] 杨红英. 实验性糖尿病大鼠脑组织病变与氧化应激关系的研究[D]. 昆明:昆明医学院,2009.

[10] 付莹坤,倪青,林兰. 清润方对糖尿病大鼠炎症反应及氧化应激的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(7):202.

[11] 李进,黄学宽,任凌燕,等. 楂芪降糖汤对实验性糖尿病大鼠血糖及氧化应激的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(13):124.

[12] Stavniichuk R, Drel V R, Shevalye H, et al. Baicalein alleviates diabetic peripheral neuropathy through inhibition of oxidative nitrosative stress and p38 MAPK activation[J]. Exp Neurol,2011,230(1):106.

[责任编辑 聂淑琴]