

●综述与进展●

实验性糖尿病大鼠周围神经病变形成及发病机制研究进展

马丽¹ 李涛² 指导老师:胡晓灵¹

(1 新疆医科大学附属中医医院 乌鲁木齐 830000;2 新疆药物研究所 乌鲁木齐 830000)

关键词:糖尿病周围神经病变;实验研究;发病机制;综述

中图分类号:R 587.2

文献标识码:A

文献编号:1671-4040(2006)02-0089-03

糖尿病周围神经病变(DPN)是糖尿病最常见的并发症之一,也是引起糖尿病患者致残的主要原因。糖尿病性神经病变可累及神经系统任何部位,中枢神经及周围神经均可累及,而糖尿病性周围性神经病变发病率最高^[1]。主要表现为对称性疼痛、感觉异常、间歇性或持续性发作,呈电击样、烧灼样,静止时或夜间加剧,出现感觉麻木、迟钝或关节麻痹。糖尿病并发慢性神经病变的机制至今尚未完全阐明,近年来大量临床和实验研究证明,DPN 以高血糖为始动因素外,遗传因素、代谢障碍、微循环异常、环境等诸多因素相互影响致运动、感觉、自主神经功能缺失。影响因素则与患者年龄、高血糖控制程度、病程和局部神经供血情况等有关。因此,本文对实验性糖尿病大鼠周围神经病变的发病机制研究现状及进展综述如下:

1 实验性糖尿病大鼠周围神经病变模型

糖尿病并发症的模型是观察疾病病理过程、发病机制及评定药物疗效的关键。目前糖尿病动物模型主要有 4 类^[2],包括化学物质诱导的动物模型、自发性遗传性动物模型、胰腺部分切除动物模型和转基因动物模型。糖尿病周围神经病变的大鼠模型多建立在化学物质诱导的基础上,由于药物诱导的糖尿病模型具有发病率高、造模时间短、发病时间整齐和病情的严重程度较统一等特点,近年来发展了一些方法诱导出类似人类糖尿病的模型,提高了研究结果的实用价值,是目前应用较为广泛的糖尿病周围神经病变的模型^[3]。

DPN 的实验研究中多用链脲佐菌素(STZ)或四氧嘧啶,制备成糖尿病(DM)大鼠的基础而成。常用的方法有张蜀平等^[4]将 STZ 溶于 0.1mol/L, pH4.5 的枸橼酸钠缓冲液中,按 75mg/kg 剂量经腹腔 1 次注射,48h 后尾静脉取血,血糖 >13.9mmol/L 确定为 DM 模型。衡先培等^[5]用注射用水将四氧嘧啶配制成 60mg/mL 的混悬液,按 3mL/kg 剂量分 2 次皮下注射,每日 1 次,共 2d,5d 后尾静脉采血,血糖 >16.7mmol/L 视为 DM 大鼠。

从众多文献中,可以看出糖尿病成模 4 周后即可出现 DPN 的病理改变,在 STZ 大鼠和 BB 大鼠最早期可见结周肿胀,导致持续的朗飞结变构、轴索-胶质连接不良及结周脱髓鞘^[6],随着病程延长其病变程度加重。神经传导速度及定量感觉试验可作为早期发现 DPN 的手段^[7]。目前,针对 DPN 的实验研究较多,尤其是药物对糖尿病并发症的预防和治疗研究。但是基于 DPN 造模试验周期过长、造模无统一经典的方法及判定标准。因此,不同程度的影响了药物的药效判断和作用机制的明确。故此建立一种既符合人类 1 型、2 型糖尿病的发病特点,而又简单、经济的动物模型仍是当前研究糖尿病及其并发症发病机制及研发糖尿病及并发症药物亟待解决的问题。

2 实验性糖尿病大鼠周围神经病变的发病机制研究

2.1 自由基代谢与 DPN 糖尿病时,神经组织内超氧离子(O_2^-)增多。 O_2^- 通过使 PGI_2 合成酶失活而导致 PGI_2 生成减少,此时 TX 合成酶却不易被 O_2^- 失活,故 PGI_2 / TX 比值减低,可引起血管收缩。糖尿病时葡萄糖和其他糖类的自身氧化过程也可产生大量的超氧化物和过氧化氢。这些自由基高度活性,通过自由基链反应(free-radical chain reactions)使神经细胞膜上的磷脂内不饱和磷脂酸发生过氧化反应,生成脂质过氧化物及高活性的丙二醇(MDA)。这些活性物质与其他磷脂、蛋白、核酸及酶发生反应,形成交联单元,导致一系列生化异常和结构改变,如细胞增殖、DNA 损害、 Na^+ - K^+ /ATPase 和 Ca^{2+} ATPase 抑制,抗坏血酸诱导的胶原和原胶原 α_1 的表达增加。 O_2^- 还能使一氧化氮(NO)失活,从而影响神经、血管功能^[7]。

2.2 多元醇代谢与 DPN 细胞多元醇代谢亢进是较为肯定的 DPN 发生原因之一,特别是多元醇代谢亢进如触发器,连锁性的引起其他代谢异常,影响了自身细胞的功能和结构,山梨醇是此代谢中葡萄糖转化为果糖的中间产物,所以山梨醇是反应多元醇通路活性的良好指标^[8]。杨光燃等^[9]在实验中发现糖尿病大鼠成模后 6 个月,其神经组织山梨醇水平明显高于正常对照组动物,且与血糖、糖化血红蛋白呈显著正相关,提示糖尿病时高血糖激活多元醇途径,使组织山梨醇蓄积。并且神经纤维的减少与神经山梨醇异常呈密切相关。大量的临床和动物研究已证实^[10-12],醛糖还原酶抑制剂不仅可以有效地改善糖尿病的多元醇代谢紊乱,提高 Na^+ - K^+ /ATP 酶活性,并可减轻神经组织的一些结构和功能的异常,这些间接证实了多元醇途径在糖尿病神经病变发生、发展中具有重要作用。杨竞等^[13]也通过实验研究证实糖尿病大鼠 FBG、RBCS 含量明显高于正常组($P<0.01$)。薛红丽^[14]在链脲佐菌素建立糖尿病大鼠模型,造模四周后,发现 DM 大鼠神经传导速度减慢,坐骨神经和红细胞山梨醇水平升高;红细胞和坐骨神经山梨醇水平呈正相关;感觉神经传导速度与坐骨神经和红细胞山梨醇水平呈负相关,H 反射与坐骨神经和红细胞山梨醇水平呈正相关;运动神经传导速度与坐骨神经和红细胞山梨醇水平无明显相关。由此得出结论:DM 时红细胞山梨醇水平可反映坐骨神经山梨醇水平,亦能反映周围神经的病变程度。郑承红^[15]在其实验中阐述到多元醇通路由 2 个关键酶组成,即醛糖还原酶和山梨醇脱氢酶。高糖时激活醛糖还原酶,产生大量山梨醇,山梨醇脱氢酶活性下降,从而干扰肌醇的代谢,降低神经组织中 Na^+ - K^+ /ATP 酶活性,使神经传导速度减慢。

2.3 微血管及血液动力学改变与 DPN DPN 发病与微血管病变密切相关。糖尿病时的高血糖环境使神经组织对缺血的

敏感性增加,且高黏滞、高凝状态使神经微血管的血流减慢,神经组织血供减少,神经内膜缺血缺氧,致使神经受到损害。卜献春等^[10]在实验中发现糖尿病大鼠造模 1 月后,糖尿病大鼠下肢所测得的血流量有明显下降;且血液黏滞度增高,血液流变性降低。这与临床上糖尿病引发的末梢神经炎的机制是密切相关的。

2.4 环磷酸腺苷(cAMP)、cGMP、及 Na⁺-K⁺/ATPase 与 DPN cAMP、cGMP 广泛存在于动物机体的各种组织中,cAMP 不仅充当第二信使角色,还具有多种调节功能。神经组织中 cAMP、cGMP 含量下降的同时,Na⁺-K⁺/ATP 酶活性也相应降低,将影响神经的正常动作电位,使神经速度减慢。王昕等^[17]用放射免疫的方法测定 cAMP、cGMP 含量,结果:糖尿病大鼠坐骨神经中 cAMP、cGMP 含量与正常组大鼠相比明显下降(P<0.01)。Na⁺-K⁺/ATPase 广泛分布与各类细胞质膜上,它与神经肌肉兴奋性和传导性的保持,物质吸收和腺体的分泌等生理过程密切相关。王昕等^[18]用链脲佐菌素导致大鼠糖尿病后,其坐骨神经中 Na⁺-K⁺/ATPase 活性显著低于正常组。陆灏等^[19]观察糖尿病大鼠,10 周后模型组大鼠坐骨神经 Na⁺-K⁺/ATPase 活性明显降低,同时血液流变学(全血黏度、血浆黏度、纤维蛋白原)亦明显异常(P<0.01)。王新嘉等^[20]在槲皮素对糖尿病大鼠周围神经病变的保护作用中观察到 DPN 大鼠有神经功能损害和神经解剖异常,在早期就可有 MNCV 急性减慢,主要是与可逆性代谢异常影响了 Na⁺-K⁺/ATPase 活性,以及神经血管通透性降低和神经内膜缺氧等有关^[21],此时的电生理异常是可逆的,随着疾病进展,解剖结构发生改变,MNCV 减慢变为不可逆的^[22]。

2.5 糖基化终产物(AGEs)与 DPN 血糖与蛋白质结合形成糖基化产物。这种非酶性糖基化异常可以影响神经纤维的结构蛋白,从而影响神经功能。神经髓鞘蛋白过度糖基化,被 AGEs 修饰后,可被巨噬细胞识别破坏,造成局部脱髓鞘,神经传导异常,神经再生受损;细胞骨架蛋白,如微管蛋白、神经丝蛋白等过度非酶化糖基化,微管功能受损,轴突萎缩变性,轴索传导异常,进而发生永久性结构改变。因此,AGEs 的积聚和沉积,被认为是糖尿病诸多并发症的重要病因之一。郭赛珊等^[23]在实验中观察 DM 大鼠 12 周,模型组的血糖,坐骨神经 AGEs 相对含量均较正常对照组明显升高。提示:高浓度葡萄糖可使神经组织内蛋白质发生非酶糖基化,轴突的逆行运输出现障碍,干扰神经细胞蛋白质的合成,导致快、慢轴突异常,蛋白质运输减少,轴突萎缩,最终形成神经细胞结构和功能的损害,神经传导障碍。此外,过多的 AGEs 也可通过损害神经内膜血流供给或直接改变细胞基质的成分影响神经内膜的微环境。梁晓春等^[24]采用逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)检测病程 12 周各组大鼠坐骨神经 RAGEmRNA 表达水平,结果糖尿病大鼠坐骨神经 RAGEmRNA 较正常对照组增强。

2.6 神经生长因子(NGF)与 DPN NGF 是胚胎感觉、交感神经生长发育必不可少的物质,对于成年神经的营养作用有人认为 NGF 是通过神经末梢逆转运至核周质,调节神经细丝蛋白 mRNA 的合成,维持轴索直径而发挥的^[25]。此外,NGF 对神经髓鞘的雪旺细胞也有调节作用^[26],由此参与成年神经的功能维持、结构完整以及损伤后的再生。已有实验证明,无论是糖尿病动物模型还是糖尿病神经病变患者,其组织或血中的 NGF 水平均明显降低^[27,28],NGF 在感觉和交感神经轴索

的逆转运也降低^[29],这种 NGF 合成和转运的缺陷在糖尿病时除可造成神经的营养障碍外,还可能使神经对其他损伤因素更为敏感,提示 NGF 参与 DPN 的发病过程,且有动物实验证实了应用外源性 NGF 和内源性 NGF 刺激物可预防糖尿病神经功能的改变。贾军宏等^[30]采用免疫组化染色结合电子计算机图象分析技术,测定糖尿病大鼠背根神经节结构蛋白-神经细丝蛋白(NF)的相对含量。结果:糖尿病成模后 3 个月,背根神经节 NF 的平均灰度值,糖尿病组明显低于正常对照组(P<0.01)。同时还观察糖尿病大鼠感觉神经的传导物质—P 物质(SP),背根神经节 SP 的平均灰度值,糖尿病组明显低于正常对照组^[31](P<0.001)。

3 结语

综上所述,糖尿病周围神经病变的发病机制十分复杂^[32],有血管、代谢、神经生长因子、血流变、自身免疫及炎症等诸多因素,且这些因素共同作用相互影响。目前,DPN 的发病机制主要涉及血管障碍和代谢障碍已成共识,但较为明确的机制尚未完全阐明,这对药物的研发将带来一定的困难。中药在预防和治疗 DPN 方面可根据中医辨证论治、整体观念的治疗原则,发挥其多靶点、多作用途径、副作用小等优势,对减轻糖尿病神经病变者的痛苦,延缓病情发展,将产生积极的作用。

参考文献

[1] American Diabete Association ,Amecrian Academy of Neurology. Clinical practice recommendations-standardized measures in diabetic neuropathy [J].Dia betes Care,1996,19: 67~71

[2] 张细芝,王燕,余杨佳.实验性糖尿病视网膜病变动物模型研究近况[J].中国中医眼科杂志,1999,9(2): 58~61

[3] 张亚非.Ⅱ型糖尿病实验模型[J].国外医学·卫生学分册,2000,6(27): 328

[4] 张蜀平,陆菊明,潘长玉,等.实验型糖尿病大鼠神经病变的研究[J].西南国防医药,1998,8(2): 68~70

[5] 衡先培,雷纓,张发荣,等.糖络通对糖尿病性周围神经病变大鼠坐骨神经感觉电生理及病理形态的影响[J].中国中医急症,2003,12(1): 64~65

[6] 沈稚舟,吴松华.糖尿病并发症[M].上海:上海医科大学出版社,1999.236,256

[7] 胡仁明,刘瑜.糖尿病慢性并发症[J].中华糖尿病杂志,2004,12(2): 151

[8] NakamuraJR.Pathogenesis and Treatment of Diabetic Neuropathy[J].Saishinigaku,2000,55(3):368~374

[9] 杨光燃,袁申元,朱良湘,等.糖尿病大鼠神经功能和神经山梨醇的变化及黄腐酸钠的作用[J].中华内分泌代谢杂志,2000,16(6): 354~357

[10] Cameron NE ,Cotter MA,Hohman TC, et al.Interactions between essential fatty acid, prostanoid, polyol pathway and nitric oxide mechanisms in the neurovascular deficit of diabetic rats [J].Diabetologia,1996,39: 172~182

[11] Raccah D,Coste T,Cameron NE,et al.Effect of the aldose reductase inhibitor Tolrestat on nerve conduction velocity, Na/K ATPase activity,and polyols in red blood cells,sciatic nerve,kidney cortex,and kidney medulla of diabetic rats[J].J Diab Comp,1998,12(3): 154~162

[12] Sima AAF.Brail V ,et al.Regeneration and repair of myelinated nerve fibers in sural nerve biopsy specimens from patients with diabetic neuropathy treated with sorbinil [J].New J Med,1988,319: 548~555

[13] 杨竞,魏欣冰,丁华,等.糖神散抗糖尿病大鼠周围神经病变的初步研究[J].山东医科大学学报,2001,39(5): 464~465

[14] 薛红丽,王文健,陈剑秋,等.参麦活血饮对糖尿病大鼠坐骨神经和红细胞山梨醇水平及神经功能的影响[J].中华内分泌代谢杂志,

XRCC1 基因多态性与胃癌易感性关系的研究进展

徐加成¹ 刘爱武² 时昌文²

(1 山东中医药大学 济南 250014; 2 山东省千佛山医院 济南 250014)

关键词: XRCC1; 基因多态性; 胃癌; 研究进展

中图分类号: R 730.2

文献标识码: A

文献编号: 1671-4040(2006)02-0091-02

胃癌是消化道最常见的恶性肿瘤, 胃癌发生发展与其他恶性肿瘤一样属多因素、多步骤、多阶段和多基因改变过程, 研究显示许多基因在肿瘤的发生发展中起着关键性的作用, DNA 作为一种遗传物质, 承担着传递遗传信息的重要任务, 必须保持相对的稳定性。然而 DNA 是一种相对比较活跃的物质, 会发生自发性的损伤, 另外, DNA 还必须承受来自内外环境的一些伤害, 这些损伤打破了 DNA 的相对稳定性, 就会导致一些突变的积聚, 进而可能导致肿瘤的发生^[1]。DNA 修复系统通过逆转 DNA 损伤, 在维持正常的细胞进程和基因的稳定性方面发挥着关键的作用, 从而保证了生命系统的正常运行。DNA 损伤修复是一个多种酶和蛋白质参与的复杂过程, 一旦相关修复基因发生突变, 就会导致整个基因组 DNA 修复能力下降, 从而引起包括癌变在内的不良后果。DNA 修复基因的多态性可改变修复酶的结构并影响其肿瘤易感性。

人类 X 射线交错互补修复基因 1 (X-ray repair cross complementing gene1, XRCC1) 是第一个分离到的影响细胞对电离辐射敏感性的哺乳动物基因, 它广泛参与 DNA 损伤的修复^[2]。XRCC1 是目前研究较多的一种 DNA 修复基因, 研究显示它的表达异常和多种恶性肿瘤的发生有关。本文就 XRCC1 多态性与胃癌易感性的关系作一综述。

1 XRCC1 的功能

人类 XRCC1 基因位于 19 号染色体的长臂 (q 13.2 q 13.3)^[3], 全长 33kb, 包含 17 个外显子。XRCC1 蛋白质共分

为 3 个功能域, 分别和不同的酶相互作用, 参与基因修复的不同步骤和类型。在 DNA 损伤修复过程中, XRCC1 的 N 末端与弯曲的缺损 DNA 的凹面相连, 而聚合酶 β 与 DNA 的凸面相连, 紧密包裹受损 DNA, 从而调节聚合酶 β 的结合活性和聚合活性, 保证精确有效地识别和修复 DNA^[4]。其它的两个功能域均为 breast cancer susceptibility protein 1 Cterminus (BRCT) 域。BRCT 域是一种低保守性的基序, 介导蛋白间的相互作用^[5]。XRCC1 C 端的 BRCT II 域与 DNA 连接酶 III 作用, XRCC1-DNA 连接酶 III 杂合二聚体通过 BRCT-BRCT 接触表面的盐键和疏水作用调节蛋白的相互作用^[6]。XRCC1 可能在聚合酶 β 与连接酶 III 间起架桥作用, 即通过聚合酶 β 填充核苷酸裂隙, 使连接酶 III 能立即封闭缺口, 完成修复^[7]。另一个功能域是居中的 BRCT-I 域, 研究显示它可以和 poly(ADP ribose) polymerase (PARP) 相互作用。PARP 是一种高丰度的核蛋白, 和断裂的 DNA 双链 (double strands break, DSB) 及单链 (single strand break, SSB) 有极高的亲和性^[8]。

XRCC1 的 3 个功能域的结构和作用提示, XRCC1 主要参与 DNA 修复反应中的碱基切除修复和单链断裂修复, 研究显示, XRCC1 参与稳定 DNA 多聚酶 β , 通过蛋白相互作用参与碱基切除修复、连接及调节 DNA 连接酶 III 的活性, 参与 PARP 的调控。另外, XRCC1 不仅和 DNA 多聚酶 β , DNA 连接酶 III 以及 PARP 单独作用, 还可能介导它们三者间的相互作用, 形成复杂的功能体, 在 DNA 修复体系及其它细胞功能方面起着更为广泛而复杂的作用。

2002, 18(6): 484~487

[15] 郑承红. 中药复方治疗大鼠糖尿病及其周围神经病变的实验研究[J]. 中国中医药杂志, 2001, 8(2): 95

[16] 卜献春, 孙兆泉, 首弟武. 足浴疗法对糖尿病鼠的疗效机制探讨[J]. 湖南中医药导报, 1999, 5(1): 33~34

[17] 王昕, 王宏才, 田德泉. 渴痹康对糖尿病大鼠坐骨神经中 cAMP、cGMP 含量的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2000, 6(2): 20~22

[18] 王昕, 张人伶, 孟卓. App17 肽对糖尿病大鼠坐骨神经中钠 - 钾 ATP 酶活性的影响[J]. 基础医学与临床, 2000, 20(4): 30

[19] 陆灏, 叶伟成. 灵异胶囊对糖尿病大鼠坐骨神经 Na^+ - K^+ ATPase 酶活性的影响[J]. 中国临床康复, 2002, 6(20): 3 103~3 105

[20] 王新嘉, 何国芬, 克明, 等. 槲皮素对糖尿病大鼠周围神经病变的保护作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1997, 11(3): 233~234

[21] Kihara M, Schmelzer JD, Poduslo JF, et al. Aminoguanidine effects on nerve blood flow, vascular permeability, electrophysiology, and oxygen free radicals [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88(14): 610~611

[22] Sima AA, Lattimer SA, Yagihashi S, et al. Axo-glial dysjunction A novel structural lesion that accounts for poorly reversible slowing of nerve conduction in the spontaneously diabetic bio-breeding rat[J]. J Clin Invest, 1986, 77(2): 474~484

[23] 郭赛珊, 唐代屹, 梁晓春, 等. 温筋通对链脲佐菌素糖尿病大鼠血糖及坐骨神经终末期糖基化终产物的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2002, 22(2): 119~121

[24] 梁晓春, 唐代屹, 郭赛珊, 等. 温筋通对链脲佐菌素糖尿病大鼠血

糖坐骨神经终末期糖化终产物受体 mRNA 表达的调节[J]. 中国糖尿病杂志, 2002, 10(4): 219~221

[25] Brewster WJ, Fernyhough P, Diemel LT, et al. Diabetic neuropathy, nerve growth factor and other neurotrophic factors [J]. Trends Neurosci, 1994, 17: 321

[26] Thomas PK. Growth factors and diabetic neuropathy [J]. Diabetic Medicine, 1994, 11: 732

[27] Hellweg H, Hartung HD. Endogenous levels of nerve growth factor (NGF) are altered in experimental diabetes mellitus: a possible role for NGF in the pathogenesis of diabetic neuropathy [J]. Journal of Neurosci Res, 1990, 26: 258

[28] Faradjiv, Sotelo J. Lower serum levels of nerve growth factor in diabetic neuropathy [J]. Acta Neurol Scand, 1990, 81: 402

[29] Jakobsen J, Brimijoin S, Skau K, et al. Retrograde axonal transport of transmitter enzymes, fucose-labeled protein and nerve growth factor in streptozotocin diabetic rats [J]. Diabetes, 1981, 30: 797

[30] 贾军宏, 马学毅, 田东华, 等. 神经生长因子对糖尿病大鼠背根神经节神经细胞细丝蛋白变化的影响 [J]. 军医进修学院学报, 1998, 19(4): 259~261

[31] 贾军宏, 马学毅, 田东华, 等. 神经生长因子对糖尿病大鼠背根神经坐骨神经 P 物质变化的影响[J]. 解放军医学杂志, 1998, 23(6): 420~422

[32] 梁晓春. 糖尿病神经病变发病机制及其中西药干预的研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(6): 570~573

(收稿日期: 2005-09-02)