

朱紫约,王路,姚俊鹏,等. 2型糖尿病周围神经病变动物模型评价的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(1): 139-145, 157.
Zhu ZY, Wang L, Yao JP, et al. Research progress in evaluation of type 2 diabetic peripheral neuropathy animal model [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(1): 139-145, 157.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.01.018

2型糖尿病周围神经病变动物模型评价的研究进展

朱紫约¹,王 路¹,姚俊鹏¹,刘辉麟¹,李艳秋¹,李 瑛²,张 微^{3*}

(1.成都中医药大学针灸推拿学院,成都 610075;2.成都中医药大学研究生院,成都 610075;
3.成都中医药大学资产与实验室管理处,成都 611137)

【摘要】 糖尿病周围神经病变是糖尿病常见并发症之一,目前对其发病机制的认识不够明确,且缺乏有效治疗手段,需要利用动物实验进行深入研究。造模成功与否的判定标准和周围神经功能恢复的评价方法是开展糖尿病周围神经病变动物实验的关键,但对于2型糖尿病周围神经病变模型评价方法的整理分析较缺乏。因此笔者查阅近年资料,从小神经纤维和大神经纤维两方面总结分析了2型糖尿病周围神经病变动物模型评价方法,并提出未来可能的发展方向,以期为相关研究提供参考。

【关键词】 糖尿病周围神经病变;动物模型;评价;研究进展;综述

【中图分类号】R-33 【文献标识码】A 【文章编号】1671-7856(2024)01-0139-07

Research progress in evaluation of type 2 diabetic peripheral neuropathy animal model

ZHU Ziyue¹, WANG Lu¹, YAO Junpeng¹, LIU Huilin¹, LI Yanqiu¹, LI Ying², ZHANG Wei^{3*}

(1. School of Acupuncture-Moxibustion, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China.

2. Graduate School, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075. 3. Office of Asset and Laboratory Management, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137)

【Abstract】 Diabetic peripheral neuropathy is a common diabetic complication. Presently, our understanding of its pathogenesis is incomplete, and there are no effective treatment options. In-depth research requires the use of animal experiments. The criteria for modeling success and the evaluation method for peripheral nerve function recovery are critical for carrying out animal experiments into type 2 diabetic peripheral neuropathy. However, but there has been a lack of systematic interrogation and analysis of the evaluation method used with type 2 diabetic peripheral neuropathy models. Therefore, the author reviewed the recent data, summarized and analyzed the evaluation method used for animal models of type 2 diabetic peripheral neuropathy of small and large nerve fibers, and proposed future directions for development, providing a reference for related research.

【Keywords】 diabetic peripheral neuropathy; animal model; evaluation; research progress; review

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)是糖尿病常见并发症之一,会影

响约50%糖尿病患者^[1]。由于对周围神经产生损害,患者常会因感觉异常、运动能力下降等而影响

【基金项目】国家自然科学基金青年基金(81603706);四川省自然科学基金(2023NSFSC5364)。

【作者简介】朱紫约(1999—),男,硕士研究生,研究方向:循证医学与针灸临床疗效评价。E-mail:2274826024@qq.com

【通信作者】张微(1985—),女,博士,高级实验师,研究方向:针刺防治周围神经病变的作用机制。E-mail:745507756@qq.com

日常生活,甚至出现远端肢体溃烂。然而,糖尿病特征(如高血糖、高血脂等)与神经病变间复杂的机制关系尚不明确,且缺乏有效的治疗手段,尤其对于 2 型 DPN,改善生活方式和严格控制血糖等传统治疗手段的效果仍不能令人满意^[2]。因此需要利用动物实验深入研究 2 型 DPN 发生发展机制,寻找效果更好的治疗方法。

动物实验的开展需要科学合理的动物模型评估体系,其是判定造模成功与否和干预手段疗效的关键。2 型 DPN 动物模型评价包括 2 型糖尿病成模检测和周围神经病变成模检测,前者大多以空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG) ≥ 11.1 mmol/L,结合胰岛素敏感指数下降为标准^[3]。后者的标准种类繁多且各实验间并不统一,缺乏相关文章对其进行归纳总结。故笔者查阅近年资料,基于受损神经纤维直径的不同,从小神经纤维和大神经纤维两方面将周围神经病变的评价方法综述如下,以期为今后研究提供参考。

1 小神经纤维的评估

1.1 伤害性刺激测试

小神经纤维指直径 $< 7 \mu\text{m}$,包括薄髓鞘 A δ 、无髓鞘 C 的一类神经纤维,其源于背根神经节发出的感觉神经,能接收并传导外界对皮肤的刺激。糖尿病早期常累及周围小神经,使局部炎症因子大幅释放促进外周敏化,并改变电压门控离子通道表达,导致受损纤维和相邻未受损神经纤维异位放电^[4],从而降低伤害感受器激活阈值,表现出痛觉过敏/超敏、感觉异常等现象。目前根据伤害刺激类型的不同,主要分为机械刺激、温度刺激、电流刺激和化学刺激 4 种。

1.1.1 机械刺激

外周 C 纤维受损会诱导负责低阈值轻触觉的 A β 纤维,从脊髓背角深层芽生至浅层,并在此处与传导痛觉的 C 纤维相连的突触建立新的连接,使轻触觉异常感知为机械性痛觉,从而表现为机械痛觉敏感^[5]。Von Frey 细丝试验是目前 2 型 DPN 机械痛觉评价中应用最广的方法,将使老鼠出现缩后爪反应的细丝重量定义为缩爪阈值,其下降体现机械痛觉过敏。但各实验间所选择的记录标准并不统一。有实验仅记录第一次满足阳性条件的阈值^[6],也有实验计算多次测量的平均值作为缩爪阈值^[7]。

1.1.2 温度刺激

冷热觉分别由 A δ 纤维和 C 纤维传导,冷热痛

觉由 A δ 纤维和 C 纤维共同传导,其中热痛更多由 C 纤维负责,因此温度刺激的方法也可衡量小神经纤维功能,主要包括甩尾实验、平板实验和 Hargreaves 法。甩尾实验^[8-9]以水温测试甩尾潜伏期(tail flick latency, TFL)即甩尾动作出现的时间;平板实验^[10-11]将动物置于温度恒定的平板上观测缩爪潜伏期(paw withdrawal latency, PWL)即后爪缩爪或挣扎出现的时间;Hargreaves 法^[12-13]以热辐射为热源,TFL 和 PWL 均可通过此方法观测。糖尿病周围神经病变模型动物常表现为 TFL 和 PWL 的显著下降。但部分实验观察到热刺激感受减退^[14],这可能与其造模时间较长有关。此外,有学者根据丙酮极易挥发带走热量的特点,用来评估小鼠的冷觉感受,将丙酮施加于后爪观察大鼠首次出现伤害性反应所需的时间^[15]。综上所述,温度刺激的方法种类繁多,寻找一种更具优势的评价方法有利于统一各实验间的选择,增强结果的可比性。有研究显示尾部是测量热敏感性行为更理想的部位^[16],但测量甩尾潜伏期时需束缚小鼠,易出现由于应激而产生的混杂因素,因此权衡好二者之间的利弊关系或许是未来的发展方向之一。

1.1.3 电流刺激

电流感觉阈值测定是临床上一种神经感觉测定方法,通过测定引起感觉的最小电流强度定量评估神经纤维状态,可调整正弦交流电的频率激活特定类型神经纤维产生动作电位^[17],从而特异性地研究某一类或几类纤维的感觉变化。通过比较引起动物出现伤害性反应的最小电流强度可判断 2 型 DPN 模型是否出现痛觉过敏现象。有研究发现在 2 型 DPN 模型中,用 250 Hz 电流刺激 A δ 纤维时始终可观察到痛觉过敏现象,但用 5 Hz 电流刺激 C 纤维时,造模一段时间后观察到模型痛觉显著减退,这提示由痛觉过敏到痛觉减退,纤维的特异性机制可能比时间依赖性转变更为重要^[18]。这也侧面反映出特异电流刺激在研究 2 型 DPN 机制时存在巨大潜力。

1.1.4 化学刺激

福尔马林可打开瞬时受体电位香草酸 1 型通道增加神经元的敏感性,而诱导疼痛^[19]。记录注射福尔马林后 60 min 爪退缩的次数,也可作为一种伤害性反应的评估方法^[20]。

1.2 小神经纤维病理变化观察

1.2.1 表皮内神经纤维密度测定

表皮内神经纤维(intraepidermal nerve fiber,

IENTF),由真皮神经丛向上发出穿过真皮-表皮交界处而形成,在周围神经受损初期 IENTF 密度即可下降,被认为是评估小神经纤维病变的金标准^[21]。又因其能反映 2 型糖尿病中胰岛 β 细胞损伤情况^[22],故在 2 型 DPN 模型小纤维的评价中有重要意义。PGP 9.5 是一种泛素羧基水解酶,广泛存在于神经元、神经纤维、神经内分泌细胞等处,利用抗 PGP 9.5 抗体能标记所有无髓鞘和有髓鞘 PGP 9.5 阳性纤维,从而观察组织切片中 IENTF 密度。Li 等^[23]线性定量 2 型 DPN 小鼠后爪足垫 IENTF 密度,观测到其较对照组显著下降。

1.2.2 角膜神经纤维定量测定

由于角膜缺乏直接的血管供应,使得存在其中的大量小神经纤维极易遭受代谢紊乱、免疫反应等的破坏^[24]。角膜共聚焦显微镜 (corneal confocal microscopy, CCM) 使用激光为光源,利用共聚焦原理和装置使照明点和探测点共焦,阻挡除该探测点以外的所有光线,从而提高图像质量,是一种非侵入无创、重复性好、精确灵敏的观测角膜神经纤维方法,已被证明可作为临床上诊断 2 型糖尿病小纤维神经病变的合理指标^[25],其诊断参数主要为角膜神经纤维密度、角膜神经纤维长度、角膜神经分支密度和角膜神经纤维迂曲度。有学者利用此技术观察到 2 型 DPN 造模后动物角膜上皮小神经纤维长度和密度出现显著下降^[26-27]。

2 大神经纤维的评估

2.1 行为学改变

大神经纤维由轴突、髓鞘、神经膜构成,按功能可分为运动神经和感觉神经。运动神经将中枢神经系统发出的信息传递至外周,可以支配神经末端相连的肌肉等组织器官;感觉神经将来自肌肉、肌腱、关节等的电信号经薄束和楔束上传至大脑而形成平衡觉、位置觉等深感觉。2 型 DPN 中大神经纤维轴突和髓鞘结构因氧化应激反应、微循环障碍等而损伤,导致大神经传导功能障碍,使动物出现运动能力下降、平衡感失常的行为学改变,可用高梁测试^[28]与旋转杆测试^[29]观察。患病动物常表现为动物通过高空中横梁的时间显著增加和在不断旋转的杆上站立的时间下降。值得关注的是,在测试前需对动物进行适应和引导训练。

2.2 神经传导速度检测

轴突上钠、钾离子通道的开关是神经动作电位产

生的分子基础,动作电位产生后沿髓鞘间的无髓鞘郎飞结处跳跃式传导,极大地提高了有髓神经传导速度。通过神经电生理技术测定动作电位波幅、潜伏期,并利用动作电位传导的距离除以潜伏期计算神经传导速度,病理状态下传导速度的减慢可反映轴突和髓鞘损失情况,常作为评价 2 型 DPN 的重要指标。

2.2.1 运动神经传导速度

运动神经传导速度 (motor nerve conduction velocity, MNCV) 通过刺激神经近端并在远端支配的肌肉处观察复合肌肉动作电位 (compound muscle action potential, CMAP) 潜伏期来计算。但 CMAP 潜伏期不仅包括神经传导时间,还有神经肌肉接头传递时间和肌肉纤维上的传导时间,故大多实验在距离记录电极一近一远两点进行刺激,通过刺激电极间距离除以两点潜伏期差值计算 MNCV^[30],以避免非神经传导时间对结果的影响。但也有实验仅使用单个刺激电极,于踝关节坐骨神经处记录动作电位,直接计算传导速度,也能良好地识别 2 型 DPN 造模后 MNCV 的下降^[31]。这可能是因为踝关节解剖位置明确,记录电极易直接定位于坐骨神经上,所记录的动作电位潜伏期不包括神经肌肉接头和肌肉纤维上的时间^[32]。此外,还有学者将坐骨神经分离,在神经干上直接测定传导速度^[33],这种方法最为直观、准确,但不适用于需多次观测的实验。

2.2.2 感觉神经传导速度

与运动潜伏期不同,感觉潜伏期只包括动作电位在感觉纤维上传导的时间,因此在测定感觉神经传导速度 (sensory nerve conduction velocity, SNCV) 时只需一个刺激点和一个记录点。根据电极摆放的位置,可分为正向测定和逆向测定。正向测定即沿感觉神经传导的生理方向测定,刺激电极置于远端而记录电极置于近端,逆向测定中电极的摆放则相反。在 2 型 DPN 中二者均可评估 SNCV^[34-35]。与正向测定相比,逆向测定可以诱发更大的感觉神经动作电位 (sensory nerve action potential, SNAP) 幅度,但其也会因同时诱发 CMAP 和 SNAP 而破坏远端反应的测定,故在测量时需仔细观察波形的特征及持续时间以避免其影响结果^[36]。

2.3 病理学观察

施万细胞形成的髓鞘包绕大神经纤维轴突,具有保护神经纤维、促进轴突再生等作用。有学者用光镜观察 2 型 DPN 坐骨神经组织病理变化,发现模型组神经纤维数量减少,神经内膜水肿,髓鞘损失、

施万细胞数量减少^[29];在电镜下观察其超微结构,发现髓鞘薄片分层,轴突萎缩和神经纤维变形。此外,除定性的病理描述,还可利用轴突与髓鞘间面积的比值、直径与外径的比值来客观定量地分析大神经纤维病理变化^[37-38],在 2 型 DPN 中可见前者减小,后者增加。

3 讨论

3.1 评价 2 型 DPN 模型的标准

通过查阅整理文献发现,部分实验在 Von Frey 细丝试验中明确了具体的刺激部位(表 1),实验前后刺激相同部位可以避免因刺激位置不同而产生的可能混杂因素。然而,短时间内对同一部位的重复刺激、不同部位的痛阈差异是否会对结果产生一定影响,尚需验证。未来可根据后爪的解剖特点、神经分布、活动着力点等,结合适宜的刺激间隔时间,探索更完善的伤害性刺激方法。此外,部分实验在检测感觉神经传导功能时,并未选择常见的坐骨神经(表 2),这可能具备以下优势。第一,神经位置较浅,电极更易接近神经;第二,肌肉浅薄,可一定程度避免 CMAP 对 SNAP 的影响;第三,位于坐骨神经远端,或可更早表征出 2 型 DPN 动物异常的神经传导功能。最近的研究发现,尾神经因长度和位置最远端,在表征轴突损伤的长度依赖性和严重程度具备独特优势^[46],且其神经结构简单,更能准确地测量刺激电极与记录电极间的距离以便于计算 NCV,因此尾神经或许是未来发展更精准测量方法的潜在方向。而在追求客观精准的评价方法时,也应注意其是否具有普及性。如前所述的 CCM,虽然兼具即时观测、无创、精确等优势,但其仪器造价昂贵且操作难度高,很难在

动物实验中广泛应用,因此需要利用其优势寻找可推广的替代评价方法,平衡好精确性与普及性。如利用高渗滴眼液评估角膜敏感性以反映角膜神经纤维变化^[47]。

值得注意的是,各实验观察记录的时间节点有所区别^[48-49],而研究发现,2 型 DPN 鼠的疼痛行为会因时间的不同而发生变化^[50],这提示观察记录时间应尽量统一。此外,在记录动物行为学情况时,应注意记录标准对结果的影响,如阳性反应的界定等。有国外学者制定了评估小鼠冷觉感受的评分系统,这使得对动物行为学变化的观察记录更加稳定可控,有利于统一各实验间的评价标准^[51]。

综上所述,目前各实验间存在评价同一变化但选择的方法不同,选择了同一方法但记录标准不同的问题,这降低了实验的可比性和可重复性,尚需要摸索出一套科学、统一的评价体系。

3.2 小结

目前,评估 2 型 DPN 大小神经纤维情况的方法以行为学观察、病理变化观察、电生理检测为主,评价较单一,缺乏深度。未来可从以下角度入手探索更为丰富、科学的评价方法。第一,寻找客观的生物指标。2 型 DPN 起病隐匿,在发病早期常无明显症状,寻找相关的生物指标在临床早期诊断及预防上存在一定价值,相关研究进展见表 3。而动物实验中,合适的生物指标可使模型评价方法更为客观具体,但目前相关研究较为缺乏。有研究认为血脂对 2 型 DPN 进展十分重要,早在血糖明显升高之前小神经纤维就已出现损伤,这可能与血脂异常密切相关^[59]。因此血脂或许不应只局限为评价 2 型糖尿病的辅助指标,研究血脂与 2 型 DPN 发生的相关性,对于更早地量化评估神经纤维损伤情况具有一

表 1 Von Frey 细丝试验刺激部位
Table 1 Stimulation site of Von Frey test

品种 Species	刺激位置 Stimulation site
SD 大鼠、C57BL/6 小鼠 ^[39-40] Sprague Dawley (SD) rats, C57BL/6 mice	后爪足底中心 Middle of the plantar surface of the hind paw
SD 大鼠 ^[13] Sprague Dawley (SD) rats	足底脚跟的脂肪部分 Fat part of both plantar heels
SD 大鼠 ^[41] Sprague Dawley (SD) rats	后爪食物垫的掌部区域 Planter region of hind paw food pad
db/db 小鼠、C57BL/6J 小鼠 ^[42] db/db mice, C57BL/6 mice	后爪掌腹内侧的足底表面 Plantar surface of the ventral-medial hind paw
SD 大鼠 ^[43] Sprague Dawley (SD) rats	第三和第四跖骨间 Between the third and fourth metatarsus of the hind paw

表 2 感觉神经传导检查测量位置
Table 2 Measured site for sensory nerve conduction test

刺激位置 Stimulation site	记录位置 Recorded location	测量神经 Measured nerve
脚踝处 ^[44] Ankle	足背处 Dorsum of the foot	腓肠神经 Sural nerve
尾基底部远端 3.5 cm 处 ^[45] 3.5 cm segment from the base of the tail	尾基底部 Base of the tail	尾神经 Caudal nerve
第二脚趾 ^[28] Second toe	内踝后方 Behind the median malleolus	趾神经 Digital nerve

表 3 临床相关生物学指标
Table 3 Clinically relevant biomarkers

生物指标 Biomarker	水平 Level	相关病理表现 Associated pathological manifestations	可能机制 Potential mechanisms
甘油三酯 ^[52] Triglycerides	↑	腓总神经、腓肠神经、胫神经 NCV ↓、动作电位 ↓ Peroneal nerve, sural nerve, tibial nerve NCV ↓, action potential ↓	微血管或神经内脂质沉积 Microvascular or intraneural lipid deposition
胆固醇 ^[53] Cholesterol	↓	腓总神经、腓肠神经、胫神经 NCV ↓、动作电位 ↓; 胫骨近端神经 MCA ↑ Peroneal nerve, sural nerve, tibial nerve NCV ↓, action potential ↓; MCA of the proximal tibial nerve ↑	外周神经再生受损 Percussion of peripheral nerve regeneration
游离三碘甲状腺原氨酸 ^[54] FT3	↓	尺神经、正中神经、腓总神经、腓浅神经、胫神经 NCV ↓、振幅 ↓ Ulnar nerve, median nerve, peroneal nerve, superficial peroneal nerve NCV ↓, amplitude ↓	微血管内皮细胞变性 Endothelial cells of micro-vessels degeneration
转化生长因子 β1 ^[55] TGF-β1	↑	尺神经、腓总神经、胫后神经 NCV ↓ Ulnar nerve, peroneal nerve, posterior tibial nerve NCV ↓	诱导施万细胞凋亡 Induction of Schwann cell apoptosis
镁水平 ^[56] Magnesium levels	↓	尺神经、腓肠神经、胫神经振幅 ↓ Ulnar nerve, sural nerve, tibial nerve amplitude ↓	诱发轴突变性 Induction of axonal degeneration
高敏肌钙蛋白 T ^[57-58] High-sensitivity Troponin T	↑	腓总神经、腓肠神经、胫神经 NCV ↓、动作电位 ↓、振幅 ↓; 坐骨神经 FA ↓; 外周神经灌注 ↓ Peroneal nerve, sural nerve, tibial nerve NCV ↓, amplitude ↓; FA of the sciatic nerve ↓; peripheral nerve perfusion ↓	神经毛细血管通透性降低及毛细血管外细胞间隙容积分数下降 Decrease in nerve capillary permeability and reduction of the extracapillary extracellular volume fraction

注:MCA:mean cross-sectional area,平均横截面积,表示神经肿胀程度;FA:fractional anisotropy,部分各向异性分数,表示神经结构完整程度。
Note. MCA, Mean cross-sectional area,expressing the degree of neural swelling. FA, Fractional anisotropy, expressing the degree of neural structural integrity.

定意义,并可能为 DPN 的机制研究、治疗方式带来新的途径。但由于雌激素水平等因素,雌、雄鼠间脂质代谢紊乱的发展进程有所差异,故在研究时需注意性别的影响^[60]。此外,肠道菌群与机体代谢关系密切,且有证据支持其通过调节代谢影响 2 型 DPN 的发生发展^[61],因此推测相关菌群在评估,尤其是预防、干预糖尿病及其并发症中可能存在巨大潜力。第二,结合患者的常见症状。如 DPN 患者常伴抑郁焦虑样表现,尤其对于神经性疼痛明显的患者^[62],因此在评价 DPN 模型时也可引入心理相关的行为学检测。第三,落实于更微观的分子层面。

有研究发现来自不同供货商的相同品系小鼠由于遗传差异而出现不同的疼痛行为学改变^[63],提示未来或可从基因组学、转录组学、蛋白组学等新兴组学技术入手深入挖掘该差异背后机制,为后续 2 型 DPN 动物模型相关研究提供参考。

参考文献:

[1] Iqbal Z, Azmi S, Yadav R, et al. Diabetic peripheral neuropathy: epidemiology, diagnosis, and pharmacotherapy [J]. Clin Ther, 2018, 40(6): 828-849.
[2] Elafros MA, Andersen H, Bennett DL, et al. Towards prevention of diabetic peripheral neuropathy: clinical

- presentation, pathogenesis, and new treatments [J]. *Lancet Neurol*, 2022, 21(10): 922-936.
- [3] 王璇, 徐斌. 2 型糖尿病周围神经病变动物模型的建立及检测指标分析 [J]. *中国医学科学院学报*, 2020, 42(5): 658-666.
- Wang X, Xu B. Establishment and validation of animal models of peripheral diabetic neuropathies [J]. *Acta Acad Med Sin*, 2020, 42(5): 658-666.
- [4] 薛松, 孙涛. 小胶质细胞介导脊髓损伤后神经病理性疼痛机制研究进展 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2022, 28(3): 165-172.
- Xue S, Sun T. Research progress on the mechanism of microglia in neuropathic pain after spinal cord injury [J]. *Chin J Pain Med*, 2022, 28(3): 165-172.
- [5] 黄响, 张雅君. 错误连接和终末器官靶向异常导致的神经病理性疼痛 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2023, 29(1): 2-5.
- Huang Y, Zhang YJ. Neuropathic pain caused by misconnection and abnormal end organ targeting [J]. *Chin J Pain Med*, 2023, 29(1): 2-5.
- [6] Lin JY, He YN, Zhu N, et al. Metformin attenuates increase of synaptic number in the rat spinal dorsal horn with painful diabetic neuropathy induced by type 2 diabetes: a stereological study [J]. *Neurochem Res*, 2018, 43(12): 2232-2239.
- [7] Sajic M, Rumora AE, Kanhai AA, et al. High dietary fat consumption impairs axonal mitochondrial function *in vivo* [J]. *J Neurosci*, 2021, 41(19): 4321-4334.
- [8] 杨丹, 崔雅忠, 张倩, 等. 1 型与 2 型糖尿病大鼠周围神经病变的比较 [J]. *基础医学与临床*, 2019, 39(1): 27-31.
- Yang D, Cui YZ, Zhang Q, et al. Comparison of peripheral neuropathy between type 1 and type 2 diabetes mellitus rats [J]. *Basic Clin Med*, 2019, 39(1): 27-31.
- [9] 何洋, 黄源达, 关焕玉, 等. 复方龙芪汤对 2 型糖尿病大鼠周围神经病变的作用和机制 [J]. *中华中医药学刊*, 2019, 37(11): 2694-2698.
- He Y, Huang YD, Guan HY, et al. Effect of compound Long-Qi decoction on peripheral neuropathy in type 2 diabetic rats [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2019, 37(11): 2694-2698.
- [10] Wu Y, Gu Y, Shi B. miR-590-3p Alleviates diabetic peripheral neuropathic pain by targeting RAP1A and suppressing infiltration by the T cells [J]. *Acta Biochim Pol*, 2020, 67(4): 587-593.
- [11] Ma J, Yu H, Liu J, et al. Metformin attenuates hyperalgesia and allodynia in rats with painful diabetic neuropathy induced by streptozotocin [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 764: 599-606.
- [12] Tsybalyuk O, Gerzanich V, Mumtaz A, et al. SUR1, newly expressed in astrocytes, mediates neuropathic pain in a mouse model of peripheral nerve injury [J]. *Mol Pain*, 2021, 17: 17448069211006603.
- [13] Chandrasekaran K, Najimi N, Sagi AR, et al. NAD⁺ precursors repair mitochondrial function in diabetes and prevent experimental diabetic neuropathy [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 4887.
- [14] Jolivald CG, Aghanoori MR, Navarro-Diaz MC, et al. Enhancement of mitochondrial function by the neurogenic molecule NSI-189 accompanies reversal of peripheral neuropathy and memory impairment in a rat model of type 2 diabetes [J]. *J Diabetes Res*, 2022, 2022: 8566970.
- [15] Naseem N, Ahmad MF, Malik S, et al. The potential of esculin in ameliorating-type-2 diabetes mellitus induced neuropathy in Wistar rats and probing its inhibitory mechanism of insulin aggregation [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 242 (Pt 1): 124760.
- [16] Schaumburg HH, Zotova E, Raine CS, et al. The rat caudal nerves: a model for experimental neuropathies [J]. *J Peripher Nerv Syst*, 2010, 15(2): 128-139.
- [17] Shimo K, Ogawa S, Niwa Y, et al. Inhibition of current perception thresholds in a-delta and C fibers through somatosensory stimulation of the body surface [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 13705.
- [18] Ueda H, Neyama H, Matsushita Y. Lysophosphatidic acid receptor 1- and 3-mediated hyperalgesia and hypoalgesia in diabetic neuropathic pain models in mice [J]. *Cells*, 2020, 9(8): 1906.
- [19] Guo Z, Li HL, Cao Z, et al. Spinophilin negatively controlled the function of transient receptor potential vanilloid 1 in dorsal root Ganglia neurons of mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 863: 172700.
- [20] García G, Gutiérrez-Lara EJ, Centurión D, et al. Fructose-induced insulin resistance as a model of neuropathic pain in rats [J]. *Neuroscience*, 2019, 404: 233-245.
- [21] Preguiça I, Alves A, Nunes S, et al. Diet-induced rodent models of diabetic peripheral neuropathy, retinopathy and nephropathy [J]. *Nutrients*, 2020, 12(1): 250.
- [22] Guo D, Mizukami H, Osonoi S, et al. Beneficial effects of combination therapy of canagliflozin and teneligliptin on diabetic polyneuropathy and β -cell volume density in spontaneously type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats [J]. *Metabolism*, 2020, 107: 154232.
- [23] Li J, Liu HQ, Li XB, et al. Function of adenosine 2A receptor in high-fat diet-induced peripheral neuropathy [J]. *J Diabetes Res*, 2020, 2020: 7856503.
- [24] Petropoulos IN, Ponirakis G, Khan A, et al. Corneal confocal microscopy: ready for prime time [J]. *Clin Exp Optom*, 2020, 103(3): 265-277.
- [25] Jin Y, Wang W, Chen W, et al. Corneal confocal microscopy: a useful tool for diagnosis of small fiber neuropathy in type 2 diabetes [J]. *J Diabetes Investig*, 2021, 12(12): 2183-2189.
- [26] Coppey LJ, Shevalye H, Obrosova A, et al. Determination of peripheral neuropathy in high-fat diet fed low-dose streptozotocin-treated female C57Bl/6J mice and Sprague-Dawley rats [J]. *J Diabetes Investig*, 2018, 9(5): 1033-1040.
- [27] Yorek MS, Obrosova A, Shevalye H, et al. Early *vs.* late intervention of high fat/low dose streptozotocin treated C57BL/6J mice with enalapril, α -lipoic acid, menhaden oil or their combination: effect on diabetic neuropathy related endpoints [J]. *Neuropharmacology*, 2017, 116: 122-131.

- [28] Haddad M, Eid S, Harb F, et al. Activation of 20-HETE synthase triggers oxidative injury and peripheral nerve damage in type 2 diabetic mice [J]. *J Pain*, 2022, 23(8): 1371–1388.
- [29] Abdelkader NF, Elbaset MA, Moustafa PE, et al. Empagliflozin mitigates type 2 diabetes-associated peripheral neuropathy: a glucose-independent effect through AMPK signaling [J]. *Arch Pharm Res*, 2022, 45(7): 475–493.
- [30] Paeschke S, Baum P, Toyka KV, et al. The role of iron and nerve inflammation in diabetes mellitus type 2-induced peripheral neuropathy [J]. *Neuroscience*, 2019, 406: 496–509.
- [31] 徐利娟, 冯程程, 阿曼古丽·苏力唐, 等. 温通活血乳膏对 2 型糖尿病周围神经病变模型大鼠背根神经节 ERK1/2 及 p-ERK1/2 的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2019, 37(1): 112–115, 261.
Xu LJ, Feng CC, Amanguli SLT, et al. Treatment of hyperalgesia by Wentong Huoxue cream for type 2 diabetes peripheral neuropathy model rat dorsal root ganglion ERK1/2 and p-ERK1/2 [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2019, 37(1): 112–115, 261.
- [32] 姚鸿萍, 封卫毅, 魏友霞, 等. 大鼠坐骨神经传导速度测定的方法学考察 [J]. *中国药房*, 2011, 22(1): 18–20.
Yao HP, Feng WY, Wei YX, et al. Methodology of the determination of sciatic nerve conduction velocity in rats [J]. *China Pharm*, 2011, 22(1): 18–20.
- [33] 梁晓莹, 肖叶玉, 廖中曦, 等. ¹H-MR 波谱检测腓肠肌细胞内脂质浓度用于早期诊断 2 型糖尿病模型大鼠周围神经病变 [J]. *中国介入影像与治疗学*, 2022, 19(6): 365–369.
Liang XY, Xiao YY, Liao ZX, et al. Intramyocellular lipid concentration of gastrocnemius measured with ¹H-MR spectroscopy for early diagnosis of diabetic peripheral neuropathy in rat models of type 2 diabetes mellitus [J]. *Chin J Interv Imag Ther*, 2022, 19(6): 365–369.
- [34] Wang L, Chopp M, Szalad A, et al. Exosomes derived from schwann cells ameliorate peripheral neuropathy in type 2 diabetic mice [J]. *Diabetes*, 2020, 69(4): 749–759.
- [35] Sirisha A, Gaur GS, Pal P, et al. Effect of honey and insulin treatment on oxidative stress and nerve conduction in an experimental model of diabetic neuropathy Wistar rats [J]. *PLoS One*, 2021, 16(1): e0245395.
- [36] Tavee J. Nerve conduction studies: basic concepts [J]. *Handb Clin Neurol*, 2019, 160: 217–224.
- [37] Wang R, Wang L, Zhang C, et al. L-carnitine ameliorates peripheral neuropathy in diabetic mice with a corresponding increase in insulin-like growth factor-1 level [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(1): 743–751.
- [38] Wang L, Chopp M, Szalad A, et al. Phosphodiesterase-5 is a therapeutic target for peripheral neuropathy in diabetic mice [J]. *Neuroscience*, 2011, 193: 399–410.
- [39] Li Z, Wang W, Meng F, et al. Analgesic and neuroprotective effects of Baimai Ointment on diabetic peripheral neuropathy [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 292: 115122.
- [40] Tian J, Song T, Wang H, et al. Toll-like receptor 2 antagonist ameliorates type 2 diabetes mellitus associated neuropathic pain by repolarizing pro-inflammatory macrophages [J]. *Neurochem Res*, 2021, 46(9): 2276–2284.
- [41] Oza Manisha J, Kulkarni Yogesh A. Formononetin ameliorates diabetic neuropathy by increasing expression of SIRT1 and NGF [J]. *Chem Biodivers*, 2020, 17(6): e2000162.
- [42] Griggs RB, Santos DF, Laird DE, et al. Methylglyoxal and a spinal TRPA1-AC1-Epac cascade facilitate pain in the db/db mouse model of type 2 diabetes [J]. *Neurobiol Dis*, 2019, 127: 76–86.
- [43] Sun M, Zhang M, Yin H, et al. Long non-coding RNA MSTRG. 81401 short hairpin RNA relieves diabetic neuropathic pain and behaviors of depression by inhibiting P2X4 receptor expression in type 2 diabetic rats [J]. *Purinergic Signal*, 2023, 19(1): 123–133.
- [44] O'Brien PD, Hinder LM, Rumora AE, et al. Juvenile murine models of prediabetes and type 2 diabetes develop neuropathy [J]. *Dis Model Mech*, 2018, 11(12): dmm037374.
- [45] Leal-Julìà M, Vilches JJ, Onieva A, et al. Proteomic quantitative study of dorsal root Ganglia and sciatic nerve in type 2 diabetic mice [J]. *Mol Metab*, 2022, 55: 101408.
- [46] Pozzi E, Monza L, Ballarini E, et al. *Morpho*-functional characterisation of the rat ventral caudal nerve in a model of axonal peripheral neuropathy [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1687.
- [47] Yorek MS, Davidson EP, Poolman P, et al. Corneal sensitivity to hyperosmolar eye drops: a novel behavioral assay to assess diabetic peripheral neuropathy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57(6): 2412–2419.
- [48] Pérez-Martínez IO, Cifuentes-Mendiola SE, Solís-Suárez DL, et al. Moderate intensity aerobic training reduces the signs of peripheral sensitization in a mouse model of type 2 diabetes mellitus [J]. *Exp Brain Res*, 2022, 240(10): 2747–2756.
- [49] Li S, Sun C, Rong P, et al. Auricular vagus nerve stimulation enhances central serotonergic function and inhibits diabetic neuropathy development in Zucker fatty rats [J]. *Mol Pain*, 2018, 14: 1744806918787368.
- [50] Akamine T, Kusunose N, Matsunaga N, et al. Accumulation of sorbitol in the sciatic nerve modulates circadian properties of diabetes-induced neuropathic pain hypersensitivity in a diabetic mouse model [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(1): 181–187.
- [51] Hiyama H, Yano Y, So K, et al. TRPA1 sensitization during diabetic vascular impairment contributes to cold hypersensitivity in a mouse model of painful diabetic peripheral neuropathy [J]. *Mol Pain*, 2018, 14: 1744806918789812.
- [52] Jende JME, Groener JB, Oikonomou D, et al. Diabetic neuropathy differs between type 1 and type 2 diabetes: insights from magnetic resonance neurography [J]. *Ann Neurol*, 2018, 83(3): 588–598.