

甘糖酯对糖尿病大鼠视网膜病变中炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 表达的影响

周玮琰¹, 王洪亚², 杜秀娟³, 董卫红¹

基金项目: 山东省科学技术发展计划 (No. 2010G0020239); 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金 (No. BS2014YY060)

作者单位: (250021) 中国山东省济南市, 山东大学附属省立医院¹眼科; ²检验科; ³(250002) 中国山东省济南市, 山东中医药大学眼科中心 山东施尔明眼科医院

作者简介: 周玮琰, 博士, 主治医师, 研究方向: 糖尿病视网膜病变的基础与临床研究。

通讯作者: 董卫红, 硕士, 主任医师, 研究方向: 眼底病。dongwh69@163.com

收稿日期: 2016-03-31 修回日期: 2016-07-07

Effects of propylene glycol mannite sulfate on the expression of tumor necrosis factor- α and interleukin - 1 β in the rat with diabetic retinopathy

Wei-Yan Zhou¹, Hong-Ya Wang², Xiu-Juan Du³, Wei-Hong Dong¹

Foundation items: Science and Technology Development Plan of Shandong Province (No. 2010G0020239); Shangdong Province Young and Middle-Aged Scientists Research Awards Fund (No. BS2014YY060)

¹Department of Ophthalmology; ²Department of Clinical Laboratory, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, Shandong Province, China; ³Eye Center of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Shandong Shierming Eye Hospital, Jinan 250002, Shandong Province, China

Correspondence to: Wei - Hong Dong. Department of Ophthalmology, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, Shandong Province, China. dongwh69@163.com

Received: 2016-03-31 Accepted: 2016-07-07

Abstract

• **AIM:** To investigate the influence of propylene glycol mannite sulfate (PGMS) on the expression of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β), in diabetic retinopathy by a rat model, to study the mechanism of PGMS against diabetic retinopathy, and provide a reliable theoretical and experimental evidence for the PGMS to be applied to clinical prevention and treatment of diabetic retinopathy.

• **METHODS:** Male Wistar rats were randomized into 4 groups, normal control group, diabetic control group and PGMS in group, the PGMS in groups included the doses of 50mg/kg and 100mg/kg. 1% streptozotocin

(STZ) of 60 mg/kg was intraperitoneally injected in rats to establish the diabetic models. The PGMS with the doses of 50mg/kg and 100mg/kg were used to gavage in different groups of models for 12wk. Twelve weeks later, the animals were sacrificed and retinas were isolated. The aqueous humors and serums were taken, expressions of TNF- α and IL-1 β protein in retinas, aqueous humors and serums were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), respectively. The location and the expression of TNF- α and IL-1 β protein in retina tissue was detected by immunohistochemistry.

• **RESULTS:** Twelve weeks after the use of PGMS, the level of blood glucose was not changed. ELISA showed that the expression of TNF- α and IL-1 β protein in serum and retina was significantly increased in diabetic control group than in normal control group ($P < 0.05$), but in the groups which PGMS was given reduced, lower than those in diabetes mellitus (DM) group, especially as the concentration of PGMS increased ($P < 0.05$). But the levels of aqueous humor's TNF- α and IL-1 β proteins in PGMS group were not reduced. Immunohistochemistry showed that the TNF- α protein was almost not expressed in normal control group. But the TNF- α protein was highly expressed in diabetic control group. The expression mainly located in the ganglion cell layer, the inner plexiform layer, outer plexiform layer and pigment epithelium. The TNF- α protein was weakly expressed at the group of 50mg/kg PGMS, the TNF- α protein was almost not expressed at the group of 100mg/kg PGMS. When the normal control group was detected, the IL-1 β protein was weakly expressed in the outer plexiform layer. But the IL-1 β protein was also highly expressed in diabetic control group. The expression mainly located in the inner plexiform layer, outer plexiform layer and pigment epithelium. The IL-1 β protein was weakly expressed at the group of 50mg/kg and 100mg/kg PGMS.

• **CONCLUSION:** PGMS can treat the diabetic retinopathy by downregulating the expressions of TNF- α and IL-1 β in early diabetic retinopathy. PGMS maybe have a good control effect on early diabetic retinopathy.

• **KEYWORDS:** propylene glycol mannite sulfate; tumor necrosis factor- α ; interleukin-1 β ; diabetic retinopathy

Citation: Zhou WY, Wang HY, Du XJ, *et al.* Effects of propylene glycol mannite sulfate on the expression of tumor necrosis factor- α and interleukin - 1 β in the rat with diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2016;16(8):1444-1448

摘要

目的:探讨甘糖酯对糖尿病大鼠视网膜病变中炎症因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α) 和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 表达变化的影响,为将甘糖酯应用于临床上防治糖尿病视网膜病变提供可靠的理论和实验依据。

方法:选取清洁级雄性成年 Wistar 大鼠,随机分为正常对照组、糖尿病组、50mg/kg 甘糖酯治疗组和 100mg/kg 甘糖酯治疗组。大鼠采用链脲佐菌素 (STZ) 60mg/kg 一次性腹腔内注射制作糖尿病模型,甘糖酯治疗组的给药方法为甘糖酯溶液灌胃,持续 12wk。给药 12wk 后处死各组大鼠并分离视网膜,取房水、血清,用 ELISA 法检测大鼠视网膜组织、房水及血清中 TNF- α 和 IL-1 β 蛋白的表达变化,免疫组织化学检测大鼠视网膜 TNF- α 和 IL-1 β 蛋白表达的变化。

结果:给药 12wk 后大鼠糖尿病视网膜病变模型中,甘糖酯对糖尿病大鼠的血糖没有影响;ELISA 检测表明,糖尿病组大鼠血清与视网膜中的 TNF- α 和 IL-1 β 含量增加,与正常对照组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);甘糖酯干预后血清及视网膜中 TNF- α 和 IL-1 β 显著降低,与糖尿病组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$),且甘糖酯浓度越高,降低越明显。但是甘糖酯干预组房水中 TNF- α 和 IL-1 β 蛋白的产生无明显变化。免疫组织化学检测表明,正常对照组视网膜中几乎不表达 TNF- α 蛋白,糖尿病组 TNF- α 蛋白呈高表达状态,主要位于视网膜神经节细胞层内丛状层、外丛状层及色素上皮层;50mg/kg 甘糖酯干预组 TNF- α 弱表达,100mg/kg 甘糖酯干预组 TNF- α 几乎不表达。而在正常对照组视网膜中 IL-1 β 在外核层微量表达,糖尿病组 IL-1 β 在内丛状层、外丛状层及色素上皮层高表达;50mg/kg 甘糖酯干预组及 100mg/kg 甘糖酯干预组 IL-1 β 呈低表达。

结论:甘糖酯能抑制大鼠早期糖尿病视网膜病变中的炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 的产生,提示其可能对糖尿病视网膜病变起着防治作用。

关键词:甘糖酯;肿瘤坏死因子- α ;白细胞介素-1 β ;糖尿病视网膜病变

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2016.8.10

引用:周玮琰,王洪亚,杜秀娟,等.甘糖酯对糖尿病大鼠视网膜病变中炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 表达的影响.国际眼科杂志 2016;16(8):1444-1448

0 引言

糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是一种糖尿病病变中最常见的并发症,也是糖尿病导致患者视力下降的重要原因。该病具体发病机制目前还不清楚,越来越多的文献报道,炎症反应以及炎症因子在糖尿病视网膜病变中起着重要作用^[1-2],而且其被认为是一种低度慢性炎症性疾病^[3]。

炎症因子肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF- α)、白细胞介素 (interleukin-1 β , IL-1 β) 被认为是在炎症反应过程中出现最早、最为重要的因子,具有重要的免疫调节作用。目前已有大量的文献报道这两个因子参与了早期 DR 的发生,并在其发展中起着重要作用^[4]。甘糖酯 (propylene glycol mannite sulfate, PGMS) 是一种最近合成

的新型低分子量酸性多糖类药物,有研究表明其具有抗炎的作用,在糖尿病肾病中该药起着抑制炎症因子的作用,但其在糖尿病视网膜病变中的治疗作用及机制尚未见系统的研究报道。根据甘糖酯的抗炎药理作用,并针对炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 在早期糖尿病视网膜病变中的作用,本研究应用甘糖酯干预 STZ 诱导的糖尿病大鼠,研究甘糖酯是否通过调节糖尿病大鼠模型中 TNF- α 和 IL-1 β 蛋白的表达以抑制糖尿病视网膜病变的进展,旨在进一步探讨 DR 的炎症发病机制及甘糖酯对其的早期保护作用。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 山东大学实验动物中心提供的雄性 Wistar 大鼠 60 只,体质量约为 180 ~ 200g,所有大鼠购买后适应性饲养 7d 后用于实验,实验前断尾取血,血糖仪测末梢血糖,排除患病大鼠,裂隙灯显微镜检查眼部排除眼部疾病。于山东中医药大学眼科研究所动物实验中心进行饲养。饲养条件:室温 23 $^{\circ}$ C \pm 2 $^{\circ}$ C,光照不超过 300lx,光照/黑暗时间 12h/12h。

1.1.2 药物及主要试剂 链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ)、柠檬酸、柠檬酸三钠 (美国 Sigma 公司);甘糖酯 (青岛海尔药业);TNF- α 多克隆抗体 (美国 Immunoway);IL-1 β 多克隆抗体 (美国 Immunoway);山羊抗兔 IgG 试剂盒 (美国 Immunoway);免疫组织化学试剂盒、DAB 显色试剂盒 (北京中杉金桥生物公司),大鼠 TNF- α ELISA 试剂盒 (深圳欣博盛生物科技有限公司),大鼠 IL-1 β ELISA 试剂盒 (武汉博士德生物有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠糖尿病动物模型的建立及分组取材 取新鲜配制的 1% STZ 溶液腹腔注射,剂量为 60mg/kg,对照组则注射 1.2mL 无菌柠檬酸钠缓冲液。STZ 注射 48h 后,断尾取血检测末梢血糖,以后每周测量大鼠餐后末梢血糖,记录体质量、饮水量和尿量,当血糖 > 16.7mmol/L 时,尿糖 > +++,且有多饮、多食、多尿的大鼠即为造模成功。观察大鼠的生长状态,裂隙灯显微镜观察前节情况,散瞳后用直接眼底镜检查后节情况。按血糖随即分成正常对照组、糖尿病组、甘糖酯治疗组 (50mg/kg 组、100mg/kg 组),方法为甘糖酯溶液灌胃,持续 12wk。造模过程中有 6 只大鼠注射 STZ 后糖尿病模型造模未成功,实验过程中大鼠死亡 4 只,最终每组各选 12 只大鼠进入实验。于造模 12wk 腹腔内注射质量分数 10% 水合氯醛处死各组大鼠,摘除大鼠右眼备用。各组大鼠摘除眼球后,暴露心脏,用 10mL 注射器从心尖进针左心室抽吸血液,离心后收集血清, -70 $^{\circ}$ C 冰箱中备存待用。

1.2.2 ELISA 法测定大鼠视网膜组织、房水及血清中 TNF- α 和 IL-1 β 蛋白含量 取出眼球后置于冰块上,抽取前房水后沿正中失状轴偏颞侧切开,去除晶状体和玻璃体,剥取视网膜,加入含 1 μ g/L 蛋白酶抑制剂的冰缓冲液,匀浆器将标本制成 100g/L 匀浆液,3 000r/min 离心 20min,收集上清。按前述方法取出的视网膜上清液、前房水、血清严格按试剂盒说明书的检测步骤进行检测,用酶标仪在 450nm 波长处测量各孔吸光度 (A_{450}) 值,再乘以稀释倍数,即为样本的质量浓度。

1.2.3 免疫组织化学观察大鼠视网膜 TNF- α 和 IL-1 β 蛋白表达 以上各组在造模成功后 12wk 摘取眼球投入

表1 ELISA检测各组大鼠血清、房水、视网膜中TNF-α蛋白的含量 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	眼数	血清	房水	视网膜
正常对照组	6	23.71±1.86	11.36±1.98	27.76±1.52
糖尿病组	6	26.25±2.57 ^a	11.77±2.07 ^c	59.83±5.78 ^a
50mg/kg 甘糖酯组	6	23.85±1.88 ^{a,c}	10.92±2.00 ^{a,b}	46.25±3.59 ^{a,c}
100mg/kg 甘糖酯组	6	22.93±1.76 ^{a,c}	10.39±1.79 ^{a,b}	37.11±2.03 ^{a,c}
<i>F</i>		30.64	20.75	97.25
<i>P</i>		0.01	0.13	<0.01

注:^a*P*<0.05 vs 正常对照组;^c*P*<0.05 vs 糖尿病组;^b*P*>0.05 vs 正常对照组;^a*P*>0.05 vs 糖尿病组。

表2 ELISA检测各组大鼠血清、房水、视网膜中IL-1β蛋白的含量 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	眼数	血清	房水	视网膜
正常对照组	6	33.74±2.76	29.53±1.88	47.76±1.45
糖尿病组	6	37.23±2.36 ^a	31.64±2.17 ^c	69.83±2.36 ^a
50mg/kg 甘糖酯组	6	33.52±2.98 ^{a,c}	30.87±2.11 ^{c,b}	56.25±1.58 ^{a,c}
100mg/kg 甘糖酯组	6	32.96±2.57 ^{a,c}	30.59±1.67 ^{c,b}	49.11±3.29 ^{a,c}
<i>F</i>		45.35	38.70	78.59
<i>P</i>		0.01	0.10	<0.01

注:^a*P*<0.05 vs 正常对照组;^c*P*<0.05 vs 糖尿病组;^b*P*>0.05 vs 正常对照组;^a*P*>0.05 vs 糖尿病组。

4%多聚甲醛固定液中,固定24h。酒精梯度脱水,石蜡包埋切片,脱蜡至水,抗原热修复,过氧化氢封闭,正常山羊血清工作液封闭,分别滴加兔抗鼠TNF-α抗体(1:100)、兔抗鼠IL-1β抗体(1:200)4℃过夜,复温冲洗后滴加生物素化山羊抗兔IgG,室温孵育15min,冲洗后滴加试剂SABC室温孵育30min,PBS冲洗后DAB染色后苏木素复染,脱水,透明,封片。每只眼球选取2张结构完整的视网膜切片,每张切片随机选取5个视野,图像处理分析软件分析各组染色区的光密度(OD)值。

统计学分析:采用SPSS 17.0统计学软件进行统计分析。采用完全随机独立分组单因素多水平的实验设计,各组均数经Shapiro-Wilk检验(*w*检验)呈正态分布(均*P*>0.05),经Bartlett检验方差齐(均*P*>0.05),所有检测指标的数据资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组之间比较采用单因素方差分析,组间多重比较采用SNK-*q*检验。以*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠血清、房水、视网膜中TNF-α蛋白含量测定

ELISA法检测结果显示,糖尿病组大鼠血清与视网膜中的TNF-α蛋白含量较正常对照组增加,差异有统计学意义(*P*<0.05),甘糖酯干预后血清及视网膜中TNF-α蛋白较糖尿病组显著降低,差异有统计学意义(*P*<0.05),其中100mg/kg甘糖酯对TNF-α蛋白的降低作用较50mg/kg甘糖酯作用强(*P*<0.05);房水中TNF-α蛋白各组比较差异没有统计学意义(*P*>0.05,表1)。

2.2 大鼠血清、房水、视网膜中IL-1β蛋白含量测定

ELISA法检测结果显示,糖尿病组大鼠血清与视网膜中的IL-1β蛋白含量较正常对照组增加,差异有统计学意义(*P*<0.05),甘糖酯干预后血清及视网膜中IL-1β蛋白较糖尿病组显著降低,差异有统计学意义(*P*<0.05),其中100mg/kg甘糖酯对IL-1β蛋白的降低作用较50mg/kg甘糖酯作用强(*P*<0.05);房水中IL-1β蛋白各组比较差异没有统计学意义(*P*>0.05,表2)。

2.3 各组大鼠视网膜TNF-α免疫组织化学结果 免疫组织化学检测结果显示正常对照组几乎不表达TNF-α蛋白,糖尿病组TNF-α蛋白呈高表达状态,主要位于视网膜神经节细胞层内丛状层、外丛状层及色素上皮层;50mg/kg甘糖酯干预组TNF-α蛋白呈弱表达;100mg/kg甘糖酯干预组TNF-α蛋白几乎不表达(图1,表3)。

2.4 各组大鼠视网膜IL-1β免疫组织化学结果 正常对照组视网膜IL-1β蛋白在外核层微量表达,糖尿病组IL-1β蛋白表达在内丛状层、外丛状层及色素上皮层高表达;50mg/kg甘糖酯组及100mg/kg甘糖酯组IL-1β都较糖尿病组低表达(图2,表3)。

3 讨论

DR是糖尿病最常见的微血管并发症,它的危害性也越来越被广泛地关注,然而目前对其治疗多不理想,主要为早期视网膜光凝以及晚期玻璃体切割术进行治疗,而有效的药物治疗尚处于探索阶段。近年的许多观点认为DR是一种炎症相关性疾病,高血糖导致白细胞在视网膜组织内聚集增加,产生相应的炎症因子,诱发随后的炎症反应^[5],炎症因子在其中起着重要作用。炎症因子过度表达引起的炎症反应能导致糖尿病视网膜的损伤,文献报道炎症因子IL-1β、TNF-α被认为与DR发生发展密切相关^[6]。

IL-1β是IL-1基因家族成员之一,是一种在DR发生发展中起关键作用的致炎因子,能够协同其他的细胞因子促进B细胞活化,在白细胞的激活、趋化、附壁及渗出等各个阶段都发挥重要作用^[7]。胡毅等认为糖尿病视网膜病变可诱导IL-1β产生,产生的IL-1β则可以通过促进黏附分子表达、氧自由基的释放、钙超载等途径加重糖尿病视网膜病变^[8]。TNF-α是一种具有很多功能的炎症因子,其由单核细胞或巨噬细胞活化后产生。研究发现TNF-α表达增加可以用来监测DR疾病的严重程度^[9]。该因子可以刺激炎症反应,促进白细胞黏附以及聚集,最终导致视网膜炎症反应的加重^[10-11]。其也可以促进血管

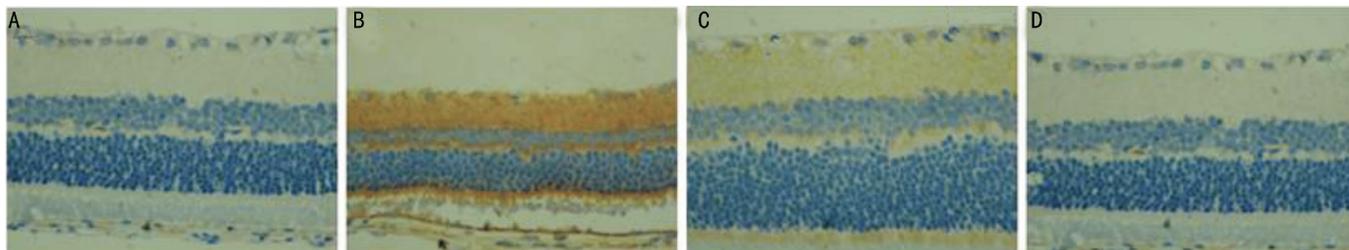


图1 免疫组织化学检测各组大鼠视网膜 TNF- α 蛋白的变化 (DAB, $\times 400$) A: 正常对照组; B: 糖尿病组; C: 50mg/mL 甘糖酯组; D: 100mg/mL 甘糖酯组。

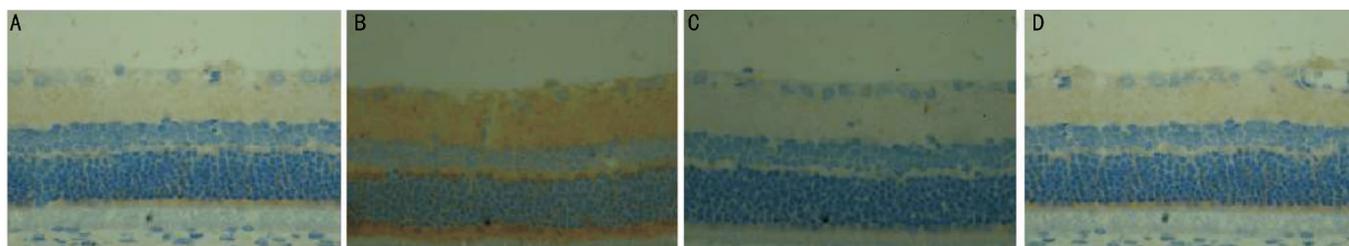


图2 蛋白免疫组织化学各组大鼠视网膜 IL-1 β 蛋白的变化 (DAB, $\times 400$) A: 正常对照组; B: 糖尿病组; C: 50mg/mL 甘糖酯组; D: 100mg/mL 甘糖酯组。

表3 各组大鼠视网膜 TNF- α 和 IL-1 β 蛋白免疫组织化学灰度值的变化

分组	眼数	TNF- α	IL-1 β
正常对照组	6	272 \pm 43	197 \pm 16
糖尿病组	6	791 \pm 85 ^a	291 \pm 32 ^a
50mg/kg 甘糖酯组	6	536 \pm 74 ^{a,c}	215 \pm 22 ^{a,c}
100mg/kg 甘糖酯组	6	321 \pm 66 ^{a,c,e}	209 \pm 21 ^{a,c,e}
<i>F</i>		332.27	187.27
<i>P</i>		<0.01	0.01

注: ^a $P < 0.05$ vs 正常对照组; ^c $P < 0.05$ vs 糖尿病组; ^e $P < 0.05$ vs 低甘糖酯组。

内皮生长因子的分泌以及血管内皮细胞的过度生长,加重视网膜新生血管膜的生长。同样文献报道也表明糖尿病患者视网膜中炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 的释放,也可以通过激活小胶质细胞、增加内皮细胞黏附力等方式造成白细胞的聚集和毛细血管的渗漏增加^[12-13],同时也有作者发现 DR 患者血清 IL-1 β 、TNF- α 浓度较正常组升高,这种升高程度与 DR 的病程和严重程度呈正相关。

甘糖酯是由青岛海洋大学海洋药物与食品研究所在藻酸双酯钠(PSS)的基础上研制而成的一种新型低分子量酸性多糖类药物,属线形阴离子多糖。已有实验表明,PGMS 有保护血管内皮细胞免受炎症因子及多种化学物质损伤的作用^[14]。体外培养脐静脉血管内皮细胞的研究发现,甘糖酯能抑制多聚阳离子以及氧自由基对人脐静脉血管内皮细胞炎症的损伤^[15]。同时其能改善糖尿病大鼠体内自由基代谢的紊乱^[16]。已有研究表明,甘糖酯可以抑制糖尿病大鼠肾脏中炎症因子的表达^[17-18],临床上也有较多研究表明甘糖酯可以降低糖尿病患者的血脂及外周血的炎症因子的水平^[19]。巨噬细胞作为较早启动的炎症细胞之一,它们可以分泌炎症因子以及吸引更多的炎症细胞黏附参与炎症反应^[20],而 PGMS 被报道可以稳定巨噬细胞,降低其活化水平。

大量的研究表明,TNF- α 和 IL-1 β 在 DR 发病早期起着重要的作用,但是甘糖醇对其影响作用目前尚未有研究,我们应用 ELISA 及免疫组织化学检测糖尿病大鼠模型,研究结果表明造模成功的糖尿病大鼠在 3mo 时血清及视网膜中的 TNF- α 和 IL-1 β 较正常对照组升高,这种情况与以前的文献是一致的,而给予甘糖酯干预后,这两种炎症因子表达显著降低。同时我们应用 ELISA 检测大鼠房水中 TNF- α 和 IL-1 β 的表达,我们发现糖尿病大鼠房水中 TNF- α 和 IL-1 β 含量与正常对照组对比差异无统计学意义。而甘糖酯干预后,房水中两种因子的表达也无明显变化。我们猜测这可能与早期糖尿病对眼部的损伤集中于玻璃体及视网膜中,晚期时才能引起眼前部损伤有关系,当然这还需要进一步的实验证实。通过实验我们可以看出,甘糖酯能抑制 DR 大鼠血清以及视网膜中炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 蛋白的表达,这种改变可能就是其防治糖尿病视网膜病变的机制所在。

本研究证实,甘糖酯对 DR 大鼠血清及视网膜中炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 蛋白表达有着抑制作用,这可能和甘糖酯抑制糖尿病视网膜病变的发生发展有关系,然而目前关于甘糖酯对 DR 的治疗及作用机制的研究尚处于初级阶段。鉴于糖尿病视网膜病变的发病机制非常复杂,而且炎症反应也只是其复杂发病机制的一种理论,因此,甘糖酯对糖尿病视网膜病变防治作用的具体机制尚待进一步研究,我们将继续为甘糖酯应用于临床上治疗糖尿病视网膜病变提供可靠的理论和实验依据。

参考文献

- Basu S, Zethelius B, Helmersson J, *et al*. Cytokine-mediated inflammation is independently associated with insulin sensitivity measured by the euglycemic insulin clamp in a community-based cohort of elderly men. *Int J Clin Exp Med* 2011;4(2):164-168
- Sahakyan K, Klein BE, Lee KE, *et al*. Inflammatory and endothelial dysfunction markers and proteinuria in persons with type 1 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol* 2010;162(6):1101-1105

3 鹿秋玉,李才锐,孙曙光. IL-6与糖尿病性视网膜病变的相关研究进展. 国际眼科杂志 2015;15(1):52-54

4 Patel J, Saleh GM, Hykin PG, et al. Concentration of haemodynamic and inflammatory related cytokines in diabetic retinopathy. *Eye (Lond)* 2008;22(2):223-228

5 Adachi T, Yasuda H, Nakamura S, et al. Endoplasmic reticulum stress induces retinal endothelial permeability of extracellular - superoxide dismutase. *Free Radic Res* 2011;45(9):1083-1092

6 Mysliwiec M, Zorena K, Baberska A, et al. The activity of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and tumor necrosis factor-alpha at early stage of diabetic retinopathy development in type 1 diabetes mellitus children. *Clin Biochem* 2006;39(8):851-856

7 Adzura S, Muhaya M, Normalina M, et al. Correlation of serum insulin like growth factor-1 with retinopathy in Malaysian pregnant diabetics. *Int J Ophthalmol* 2011;4(1):69-72

8 Zhang H, Park Y, Wu J, et al. Role of TNF-alpha in vascular dysfunction. *Clin Sci(Lond)* 2009;116(3):219-230

9 Cheung N, Mitchell P, Wong TY. Diabetic retinopathy. *Lancet* 2010;376(9735):124-136

10 Chen HS, Wu TE, Hsiao LC, et al. Interaction between glycaemic control and serum insulin-like growth factor 1 on the risk of retinopathy in type 2 diabetes. *Eur J Clin Invest* 2012;42(4):447-454

11 Burgos R, Mateo C, Cantón A, et al. Vitreous levels of IGF-I, IGF

binding protein1, and IGF binding protein 3 in proliferative diabetic retinopathy: a case-control study. *Diabetes Care* 2000;23(1):80-83

12 Kaul K, Hodgkinson A, Tarr JM, et al. Is inflammation a common retinal-renal-nerve pathogenic link in diabetes? *Curr Diabetes Rev* 2010;6(5):294-303

13 Wilkinson-Berka JL, Tan G, Jaworski K, et al. Identification of a retinal aldosterone system and the protective effects of mineralocorticoid receptor antagonism on retinal vascular pathology. *Circ Res* 2009;104(1):124-133

14 陈晓,路新枝,高焱,等. 甘糖酯抗氧化作用的分子机制. 药学学报 2004;39(1):13-16

15 张平,夏泉,赵新民. 甘糖酯的药理及临床应用研究进展. 江苏药学与临床研究 2001;9(1):36-38

16 巨丹. 甘糖酯对1型糖尿病治疗前后血脂、血液流变学变. 中国血液流变学杂志 2004;14(2):198-216

17 王哲,初奎臣,高聆,等. 甘糖酯对实验糖尿病大鼠粘附分子-CD54、CD106、CD62P的影响. 中国海洋药物 2003;22(3):43-47

18 孔磊,高聆,赵家军. 2型糖尿病患者外周血粘附分子变化及甘糖酯干预治疗的初步研究. 山东医药 2002;42(5):1-3

19 王汝霞,胡建廷,高聆,等. 甘糖酯降低实验性糖尿病大鼠肾脏ICAM-1,VCAM-1表达. 中国海洋药物 2005;24(1):10-16

20 黄瑾,谢莉娜. 甘糖酯对囊袋法培养的兔晶状体上皮细胞增生的抑制作用. 眼科研究 2010;28(7):605-609