

基于AGEs/RAGE信号通路探究葛根素改善大鼠糖尿病周围神经病变的机制研究



郝璐¹, 史名扬², 陈妍³, 杨珊⁴

1. 新疆医科大学第二附属医院医学影像中心(乌鲁木齐 830063)
2. 新疆医科大学第二附属医院急诊科(乌鲁木齐 830063)
3. 新疆医科大学第二附属医院药学部(乌鲁木齐 830063)
4. 新疆医科大学第二附属医院教学科研管理办公室(乌鲁木齐 830063)

【摘要】目的 探究葛根素对大鼠糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)的改善作用及其可能的作用机制。方法 将50只SD大鼠随机分为对照组、模型组(构建DPN模型)、葛根素低剂量组(构建DPN模型后腹腔注射20 mg/kg葛根素)、葛根素高剂量组(构建DPN模型后腹腔注射40 mg/kg葛根素)、RAGE抑制剂组(构建DPN模型后腹腔注射0.5 mg/kg FPS-ZM1),每组10只。给药结束后检测各组大鼠空腹血糖、血脂和血清中炎症因子水平,并检测各组大鼠机械痛阈值、热痛阈值、运动神经传导速度(MNCV)及感觉神经传导速度(SNCV),HE染色和透射电镜观察各组大鼠坐骨神经病理形态变化,比色法和Western blot分别检测各组大鼠坐骨神经中糖基化终末产物(AGEs)含量和糖基化终末产物受体(RAGE)表达。结果 与对照组比较,模型组大鼠空腹血糖及总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)等血脂指标显著升高,高密度脂蛋白(HDL)水平显著降低,白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎症因子浓度显著增加,机械痛阈值、MNCV、SNCV显著降低,热痛阈值显著升高,大鼠坐骨神经中神经损伤和髓鞘病理变化增多,坐骨神经中AGEs含量和RAGE蛋白相对表达量显著增加($P < 0.05$);与模型组比较,葛根素低剂量组、葛根素高剂量组和RAGE抑制剂组的大鼠空腹血糖、TC、TG及LDL水平均显著降低,HDL水平显著升高,IL-1 β 、IL-6、TNF- α 浓度显著减少,机械痛阈值、MNCV、SNCV显著升高,热痛阈值显著降低,大鼠坐骨神经损伤情况和髓鞘病理结构均有不同程度的改善,坐骨神经中AGEs含量和RAGE蛋白相对表达量显著减少($P < 0.05$);且相较于葛根素低剂量组,葛根素高剂量组和RAGE抑制剂组的作用效果更为明显。结论 葛根素可以改善DPN大鼠血糖、血脂水平,减轻血清炎症因子、神经功能损伤及组织学损害,该作用机制可能与抑制AGEs/RAGE信号通路的激活有关。

【关键词】糖尿病周围神经病变;葛根素;糖基化终末产物;糖基化终末产物受体;作用机制;坐骨神经

【中图分类号】 R 587.2 **【文献标识码】** A

Explore the mechanism of puerarin to improve diabetic peripheral neuropathy in rats based on AGEs/RAGE signaling pathway

HAO Lu¹, SHI Mingyang², CHEN Yan³, YANG Shan⁴

DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202410034

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目面上项目(2022D01C271)

通信作者:杨珊,副主任医师,Email: joyys229935@163.com

1. Medical Imaging Center, The Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830063, China

2. Department of Emergency, The Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830063, China

3. Department of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830063, China

4. Teaching and Research Management Office, The Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830063, China

Corresponding author: YANG Shan, Email: joyys229935@163.com

【Abstract】Objective To explore the ameliorative effect of puerarin on diabetic peripheral neuropathy (DPN) in rats and its possible mechanism. **Methods** A total of 50 SD rats were randomly divided into control group, model group (DPN model was constructed), low-dose puerarin group (20 mg/kg puerarin was intraperitoneally injected after DPN model was constructed), high-dose puerarin group (40 mg/kg puerarin was intraperitoneally injected after DPN model was constructed), RAGE inhibitor group (0.5 mg/kg FPS-ZM1 was intraperitoneally injected after DPN model was constructed), with 10 rats in each group. After administration, the fasting blood glucose, blood lipid index and inflammatory index of rats in each group were measured, and mechanical pain threshold, thermal pain threshold, motor nerve conduction velocity (MNCV) and sensory nerve conduction velocity (SNCV) were detected, the pathological changes of sciatic nerve in each group were observed through HE stain and transmission electron microscope. The content of AGEs and the expression of receptor for advanced glycation end products (RAGE) in sciatic nerve of rats in each group was detected by colorimetry and Western blot. **Results** Compared with the control group, fasting blood glucose, total cholesterol (TC), triglyceride (TG) and low-density lipoprotein (LDL) levels of rats in model group were significantly increased, high-density lipoprotein (HDL) levels were significantly decreased, the levels of inflammatory factors such as interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were significantly increased, mechanical pain threshold, MNCV and SNCV were significantly decreased, heat pain threshold was significantly increased, the injury of sciatic nerve and pathological change of myelin sheath were obvious, AGEs content and RAGE protein relative expression level in sciatic nerve were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with model group, fasting blood glucose, TC, TG and LDL levels were significantly decreased, HDL levels were significantly increased, IL-1 β , IL-6 and TNF- α contents were significantly decreased, mechanical pain threshold, MNCV and SNCV were significantly increased, and thermal pain threshold was significantly decreased, the injury of sciatic nerve and the pathological structure of myelin sheath of rats were improved to varying degrees, AGEs content and RAGE protein relative expression in sciatic nerve were decreased significantly ($P < 0.05$) in low-dose puerarin group and high-dose puerarin group. Compared with the puerarin low dose group, the effect of puerarin high-dose group and RAGE inhibitor group was more obvious. **Conclusion** Puerarin can improve blood glucose and blood lipid levels in DPN rats, reduce serum inflammatory factors, neurological damage and histological damage, and this mechanism may be related to inhibiting the activation of AGEs/RAGE signaling pathway.

【Keywords】 Diabetic peripheral neuropathy; Puerarin; Advanced glycation end products; Receptor for advanced glycation end products; Mechanism of action; Sciatic nerve

糖尿病是一种与高血糖相关的慢性代谢性疾病，由于胰岛素分泌和（或）胰岛素活性受损而导致，最终因糖脂代谢紊乱、循环和神经系统受损而引起一系列并发症。糖尿病现已成为严重威胁人类健康的世界性公共卫生问题^[1]。糖尿病周围神经病变（diabetic peripheral neuropathy，

DPN）是因高血糖所导致的神经损伤，属于糖尿病常见的微血管并发症。据统计，大约一半的糖尿病患者会出现 DPN，且患病风险随着年龄的增长而增加^[2]。DPN 主要影响身体的感觉神经，伴随不同程度的自主神经及运动神经受累，这也是导致糖尿病患者死亡和残疾的主要原因^[3]。

葛根素是从传统中药葛根植物的根部提取的一种异黄酮化合物,在传统医学和现代药理学中广泛应用。目前,葛根素已用于治疗神经系统疾病、心血管疾病、肿瘤、糖尿病及糖尿病相关并发症^[4-6]。多项研究证实,葛根素可通过改善胰岛 β 细胞功能缺陷、抑制炎症因子释放、减少胰岛素抵抗等途径降低血糖水平,延缓糖尿病及其并发症的发生发展^[7-8]。且已有研究表明,葛根素注射液治疗糖尿病患者能够减轻周围神经病变引发的肢体麻木、疼痛等症状,改善患者生活质量,提示葛根素对 DPN 具有良好的治疗作用^[9]。然而,葛根素在 DPN 中发挥作用的详细机制尚未完全阐明。研究发现,晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)及其受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)通路在糖尿病及其并发症的发展中起着关键作用^[10]。AGEs 通过与细胞膜上的受体 RAGE 结合,诱导细胞内信号通路激活,导致细胞应激和凋亡,引发炎症反应,从而促进糖尿病及其并发症的发生。因此,通过抑制 AGEs 生成或加速其清除以及抑制 AGEs/RAGE 通路的激活,可以改善糖尿病相关并发症。本研究旨在探索葛根素对 DPN 大鼠的改善作用及其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性无特定病原体级 SD 大鼠共 50 只,体重 180~220 g,购于新疆医科大学动物实验中心,动物质量合格证号:SYXK(新)2023-0003,生产许可证号:SCXK(新)2023-0001。在温度 25 °C、相对湿度 50%、明暗交替(12 h/12 h)的环境下饲养,期间给予充足的食物和水分,由大鼠自由摄取,喂养 7 d 后用于实验。本研究经新疆医科大学实验动物伦理委员会审批(批号:IACUC-JT-20230830-54)。

1.2 主要试剂

葛根素(纯度 \geq 98%,货号 S30646)购于上海源叶生物科技有限公司,RAGE 抑制剂 FPS-ZM1(货号 M05743-OSX)购于北京百奥莱博科技有限公司,链脲佐菌素(货号 S0130-1G)和聚偏二氟乙烯膜(货号 182702-100g)购于美国 Sigma 公司,IL-1 β (货号 LM3018)、IL-6(货

号 LM3269)、TNF- α (货号 LM5127)等 ELISA 测定试剂盒购于上海联迈生物工程有限公司,HE 染色试剂盒(货号 DH0006)购于北京雷根生物技术有限公司,戊二醛(货号 P1116)和钼酸(货号 P109046)购于江西江蓝纯生物试剂公司,环氧树脂(货号 30186850)购于深圳海思安生物技术有限公司,醋酸铀(货号 ZTL-U-011001)购于上海甄准生物科技有限公司,柠檬酸铅(货号 L26640-5g)购于上海吉至生化科技有限公司,AGEs 检测试剂盒(货号 JK--ELISA-11485)购于上海晶抗生物工程有限公司,RIPA 裂解液(货号 WLA016a)购于沈阳万类生物科技有限公司,BCA 蛋白浓度测定试剂盒(货号 YT8173)购于北京伊塔生物科技有限公司,超敏型化学发光液(货号 P0018M)购于上海碧云天生物技术研究所,兔抗 RAGE 多克隆抗体(货号 ab216329)、兔抗 GAPDH 多克隆抗体(货号 ab181602)和抗生素偶联的山羊抗兔 IgG 抗体(货号 ab172730)购于英国 Abcam 公司。

1.3 方法

1.3.1 动物造模、分组及给药

参考文献^[11]中方法构建 DPN 模型,给予高脂高糖饲料(1%胆酸钠、2.5%胆固醇、10%猪油、20%蔗糖、66.5%基础饲料)喂养;5 周后,对照组大鼠通过腹腔注射枸橼酸缓冲液,造模大鼠腹腔注射 35 mg/kg 链脲佐菌素,每日 1 次,连续注射 1 周。于注射结束后 72 h、96 h 检测大鼠空腹血糖,当血糖 $>$ 16.7 mmol/L,并在造模结束 1 周后监测到运动神经传导速度(motor nerve conduction velocity, MNCV)、感觉神经传导速度(sensory nerve conduction velocity, SNCV)低于对照组且差异具有统计学意义时,视为 DPN 大鼠造模成功。将 50 只大鼠采用随机数表法随机分为 5 组,每组 10 只,各组处理措施如下:①对照组,给予普通饲料喂养,通过腹腔注射生理盐水;②模型组,构建 DPN 模型,通过腹腔注射生理盐水;③葛根素低剂量组,构建 DPN 模型,通过腹腔注射 20 mg/kg 葛根素;④葛根素高剂量组,构建 DPN 模型,通过腹腔注射 40 mg/kg 葛根素;⑤ RAGE 抑制剂组,构建 DPN 模型,通过腹腔注射 0.5 mg/kg FPS-ZM1。参考文献^[12]设置葛根素低、高剂量及给药时间,各组给药均为每日 1 次,连续注射 5 d。

1.3.2 大鼠血糖和血脂水平检测

末次给药后, 各组大鼠禁食 12 h 后, 收集尾静脉血, 利用动物血糖仪检测大鼠空腹血糖; 将血液静置 30 min 后离心, 吸取上清, 利用全自动生化分析仪测定大鼠总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)及高密度脂蛋白(HDL)水平。

1.3.3 ELISA 测定炎症因子水平

收集各组大鼠血清, 采用 ELISA 法测定大鼠血清中 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α , 参照试剂盒说明书操作, 绘制标准曲线, 应用酶标仪检测光密度值, 计算各样本中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度。

1.3.4 大鼠机械痛阈值和热痛阈值检测

将大鼠置于实验台上适应 30 min 后, 使用 Von Frey 纤维丝垂直接触大鼠后肢足底, 期间施加刺激压力, 观察并记录大鼠出现缩足或抬起肢体时该纤维丝对应的力值, 即为机械痛阈值。将热板仪温度设定为 55 $^{\circ}\text{C}$, 启动热板仪器计时, 将大鼠放置在加热的板面上, 使其足底接触热板, 并罩上透明罩固定大鼠, 观察大鼠在接触热板后的行为反应, 记录出现舔足、抬足或跳跃的时间, 即为热痛阈值。每只大鼠重复监测 3 次, 结果取平均值。

1.3.5 大鼠坐骨神经传导速度检测

通过腹腔注射 3% 戊巴比妥钠麻醉大鼠, 分离坐骨神经, 连接多通道生理记录仪(美国 BIOPAC 公司 MP160 型), 记录坐骨远端神经肌肉动作电位潜伏期与感觉神经电位潜伏期, 测量两个记录电极之间的距离, 分别计算 MNCV 与 SNCV。

1.3.6 HE 染色观察坐骨神经病理学变化

从大鼠中取坐骨神经组织, 放入固定液固定过夜。将组织样本进行脱水与透明化处理, 石蜡渗透后, 制成组织切片。依次使用苏木素、伊红染料染色, 冲洗染色后的切片, 透明化后封片, 在光学显微镜下观察并评估坐骨神经内神经纤维、髓鞘和其他组织结构的病理变化, 摄像系统采集图片。

1.3.7 透射电镜观察坐骨神经超微结构

将大鼠坐骨神经组织裁剪为 1 mm³ 的小块, 依次用 2.5% 戊二醛、1% 四氧化锇固定, 脱水后包埋, 制成超薄切片, 用醋酸双氧铀和柠檬酸铅溶液染色, 冲洗染色后的切片, 滤纸吸干, 通过透射电子显微镜(日本 JEOL 公司 JEM-1011 型)观察坐骨神经内髓鞘、轴突等超微结构, 成像系

统拍摄高分辨率图像。

1.3.8 比色法测定坐骨神经中 AGEs 含量

取大鼠坐骨神经, 加入 PBS 制备匀浆液, 12 000 r/min 离心 5 min, 吸取上清, 根据 AGEs 检测试剂盒说明书操作, 测定各样本中 AGEs 含量。

1.3.9 Western blot 检测坐骨神经中 RAGE 蛋白表达

在大鼠坐骨神经中加入液氮研磨, 采用 RIPA 裂解液分离总蛋白, BCA 法检测上清液蛋白浓度。蛋白加热变性, 取等量 30 μg 样品进行电泳分离, 将蛋白印迹转至聚偏二氟乙烯膜, 5% 脱脂奶粉封闭后, 加入 RAGE 抗体(1:1 000), 4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床中孵育过夜, 次日, 加入抗生素偶联的山羊抗兔 IgG 抗体(1:5 000), 室温孵育 1 h, 滴加超敏型化学发光液显像, Image J 软件分析各组蛋白条带的灰度值, 以 GAPDH 作为内参对 RAGE 蛋白表达水平进行量化。

1.4 统计学分析

使用 SPSS 23.0 软件对实验数据进行统计学分析, 并用 GraphPad 8.0 软件绘制相关图片。计量数据以均数和标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组内两两比较采用 LSD-t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血糖与血脂水平比较

模型组空腹血糖、TC、TG、LDL 水平显著高于对照组, HDL 水平显著低于对照组($P < 0.05$); 与模型组比较, 葛根素低剂量组、葛根素高剂量组和 RAGE 抑制剂组的空腹血糖、TC、TG、LDL 水平均显著降低, HDL 水平显著升高($P < 0.05$); 此外, 葛根素高剂量组和 RAGE 抑制剂组的空腹血糖、TC、TG、LDL 水平显著低于葛根素低剂量组, HDL 水平显著高于葛根素低剂量组($P < 0.05$) (表 1)。

2.2 各组大鼠血清炎症因子水平比较

与对照组比较, 模型组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量显著增加($P < 0.05$); 与模型组比较, 葛根素低剂量组、葛根素高剂量组和 RAGE 抑制剂组的 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量显著减少($P < 0.05$)。此外, 葛根素高剂量组和 RAGE 抑制剂组的 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 含量均显著低于葛根素低剂量组($P < 0.05$) (表 2)。

表1 各组大鼠血糖、TC、TG、LDL及HDL水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 1. Comparison of the levels of blood glucose, TC, TG, LDL and HDL in rats of each group ($\bar{x} \pm s$)

分组	血糖 (mmol/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	LDL (mmol/L)	HDL (mmol/L)
对照组	4.63 ± 4.79	1.45 ± 0.15	0.76 ± 0.08	0.62 ± 0.06	0.98 ± 0.10
模型组	24.85 ± 2.51*	4.42 ± 0.47*	1.65 ± 0.18*	1.23 ± 0.13*	0.63 ± 0.06*
葛根素低剂量组	22.67 ± 2.38#	3.80 ± 0.41#	1.18 ± 0.13#	1.05 ± 0.10#	0.73 ± 0.07#
葛根素高剂量组	18.79 ± 1.93# [△]	2.51 ± 0.26# [△]	0.89 ± 0.10# [△]	0.85 ± 0.09# [△]	0.89 ± 0.09# [△]
RAGE抑制剂组	18.80 ± 1.86# [△]	2.73 ± 0.29# [△]	0.82 ± 0.09# [△]	0.87 ± 0.09# [△]	0.91 ± 0.10# [△]

注: *与对照组相比, $P < 0.05$; #与模型组相比, $P < 0.05$; [△]与葛根素低剂量组相比, $P < 0.05$ 。表2 各组大鼠血清IL-1 β 、IL-6及TNF- α 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 2. Comparison of the levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in the serum of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

分组	IL-1 β (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	TNF- α (pg/mL)
对照组	45.89 ± 4.73	86.77 ± 8.95	66.81 ± 7.04
模型组	92.56 ± 9.54*	158.90 ± 17.34*	173.67 ± 18.98*
葛根素低剂量组	80.65 ± 8.31#	136.76 ± 15.03#	159.61 ± 16.75#
葛根素高剂量组	64.67 ± 6.70# [△]	102.34 ± 12.72# [△]	92.05 ± 9.56# [△]
RAGE抑制剂组	62.94 ± 6.52# [△]	104.02 ± 11.93# [△]	91.90 ± 9.51# [△]

注: *与对照组相比, $P < 0.05$; #与模型组相比, $P < 0.05$; [△]与葛根素低剂量组相比, $P < 0.05$ 。

2.3 各组大鼠机械痛阈值、热痛阈值及坐骨神经传导情况比较

大鼠机械痛阈值、热痛阈值及坐骨神经传导检测结果显示, 模型组的机械痛阈值、MNCV、SNCV 显著低于对照组, 热痛阈值显著高于对照组 ($P < 0.05$); 葛根素低剂量组、葛根素高剂量组和 RAGE 抑制剂组的机械痛阈值、MNCV、SNCV 显著高于模型组, 热痛阈值显著低于模型组 ($P < 0.05$)。此外, 葛根素高剂量组和 RAGE 抑制剂组的机械痛阈值、MNCV、SNCV 均

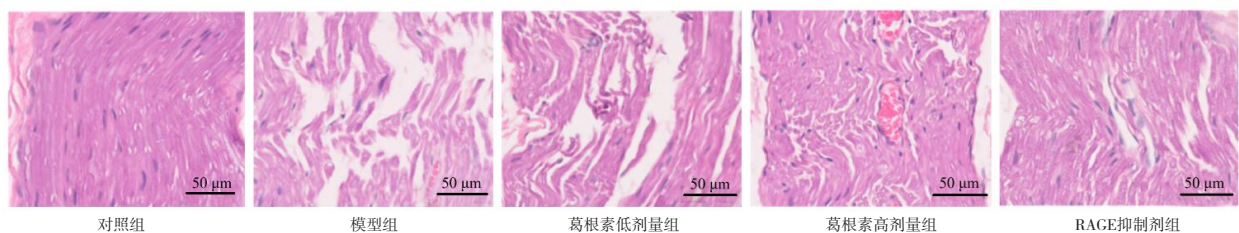
显著高于葛根素低剂量组, 热痛阈值显著低于葛根素低剂量组 ($P < 0.05$) (表3)。

2.4 各组大鼠坐骨神经病理形态变化比较

HE 染色后通过显微镜观察大鼠坐骨神经组织 (图1)。与对照组比较, 模型组坐骨神经中神经纤维排列稀疏、紊乱, 数量明显减少, 间隙增大, 髓鞘变性、肿胀或溶解; 与模型组比较, 葛根素低剂量组、葛根素高剂量组和 RAGE 抑制剂组坐骨神经损伤情况得到不同程度的改善, 神经纤维和髓鞘病变均减轻, 葛根素高剂量组和

表3 各组大鼠机械痛阈值、热痛阈值、MNCV及SNCV比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 3. Comparison of mechanical pain threshold, thermal pain threshold, MNCV and SNCV in rats of each group ($\bar{x} \pm s$)

分组	机械痛阈值	热痛阈值	MNCV (m/s)	SNCV (m/s)
对照组	13.25 ± 1.43	5.39 ± 0.56	57.48 ± 5.86	63.62 ± 6.59
模型组	4.02 ± 0.45*	13.87 ± 1.64*	34.69 ± 3.70*	32.45 ± 3.61*
葛根素低剂量组	6.17 ± 0.63#	10.75 ± 1.23#	39.72 ± 3.98#	38.78 ± 4.05#
葛根素高剂量组	10.78 ± 1.14# [△]	7.40 ± 0.76# [△]	50.17 ± 5.40# [△]	48.90 ± 5.12# [△]
RAGE抑制剂组	10.61 ± 1.09# [△]	7.73 ± 0.78# [△]	51.33 ± 5.51# [△]	49.16 ± 5.07# [△]

注: *与对照组相比, $P < 0.05$; #与模型组相比, $P < 0.05$; [△]与葛根素低剂量组相比, $P < 0.05$ 。图1 各组大鼠坐骨神经病理学变化检测 (HE染色, $\times 100$)Figure 1. Detection of pathological changes of sciatic nerve in rats of each group (HE staining, $\times 100$)

RAGE 抑制剂组的改善效果更加明显。

透射电镜观察大鼠坐骨神经组织超微结构 (图 2)。与对照组比较,模型组坐骨神经横截面层状断裂,髓鞘肿胀,轴突收缩,线粒体嵴溶解或空泡化;与模型组比较,葛根素低剂量组、葛根素高剂量组和 RAGE 抑制剂组髓鞘病理结构均有不同程度的改善。其中,葛根素高剂量组和 RAGE 抑制剂组趋近于正常形态。

2.5 各组大鼠坐骨神经中AGEs/RAGE信号通路相关蛋白表达比较

大鼠坐骨神经中 AGEs 含量、RAGE 蛋白表达测定结果显示,模型组大鼠坐骨神经中 AGEs

含量较对照组显著增加 ($P < 0.05$);葛根素低剂量组、葛根素高剂量组和 RAGE 抑制剂组坐骨神经中 AGEs 含量较模型组显著减少 ($P < 0.05$);葛根素高剂量组和 RAGE 抑制剂组坐骨神经中 AGEs 含量要显著少于葛根素低剂量组 ($P < 0.05$),见图 3-A。同时,模型组 RAGE 蛋白相对表达量较对照组也显著上调 ($P < 0.05$);与模型组比较,葛根素低剂量组、葛根素高剂量组和 RAGE 抑制剂组 RAGE 蛋白相对表达量显著下调 ($P < 0.05$);与葛根素低剂量组比较,葛根素高剂量组和 RAGE 抑制剂组 RAGE 蛋白相对表达量显著下调 ($P < 0.05$),见图 3-B。

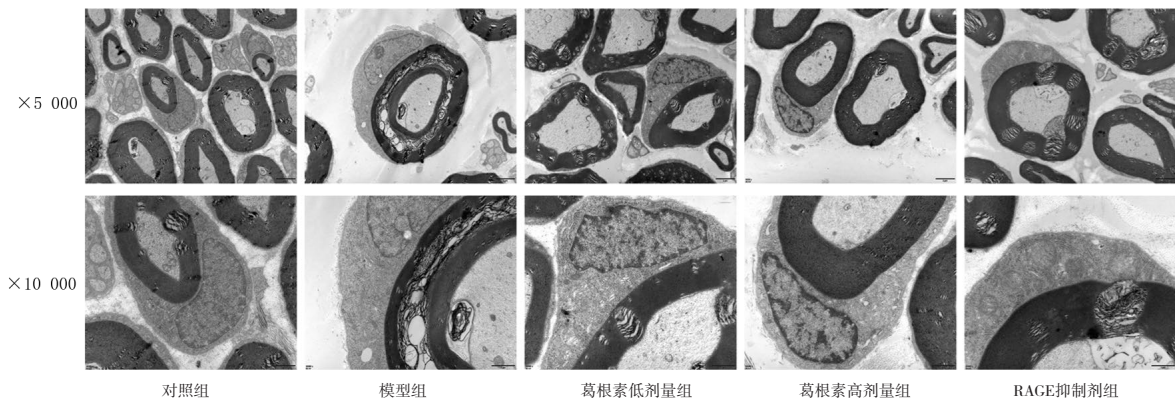


图2 各组大鼠坐骨神经超微结构观察结果

Figure 2. Ultrastructural observation results of sciatic nerve in rats of each group

注:第一行图比例尺为2 μm,第二行图比例尺为1 μm。

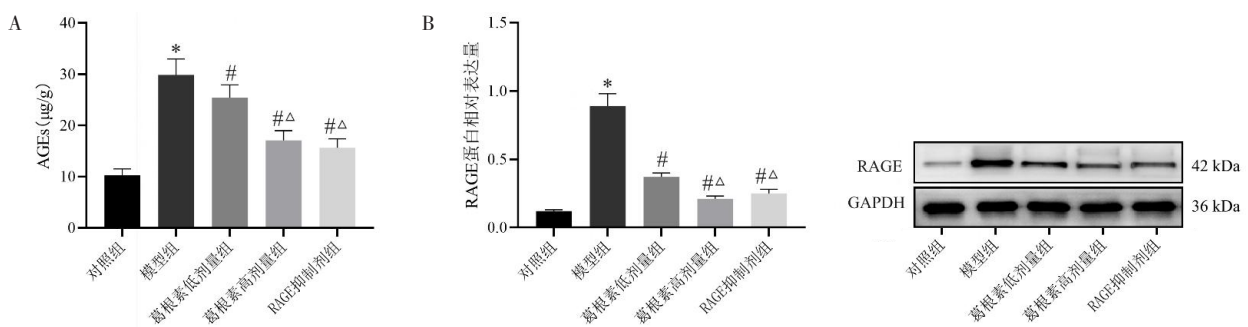


图3 各组大鼠坐骨神经中AGEs含量与RAGE蛋白表达比较

Figure 3. Comparison of AGEs content and RAGE protein expression in sciatic nerve of rats in each group

注: A.各组大鼠坐骨神经中AGEs含量比较; B.各组大鼠坐骨神经中RAGE蛋白表达比较; *与对照组相比, $P < 0.05$; #与模型组相比, $P < 0.05$; Δ与葛根素低剂量组相比, $P < 0.05$ 。

3 讨论

全球糖尿病患病率逐年上升,2021年已达10.5%,约5.366亿人,预计到2045年将增至12.2%^[13]。如果长期血糖控制不佳,糖尿病并发症如糖尿病肾病、糖尿病视网膜病变和DPN也会明显增加。其中,DPN影响多达50%的糖尿病

患者,患病初期较为隐匿,随疾病进展主要表现为双手双足对称性麻木疼痛和感觉异常,进一步引起糖尿病足溃疡甚至致残或死亡^[14]。目前,临床上主要通过控制血糖水平及对症药物来改善糖尿病病程和缓解症状,但尚无针对DPN的有效治疗措施。

本研究在DPN大鼠中检测到坐骨神经中

AGEs 含量和 RAGE 蛋白相对表达量增加,提示 AGEs/RAGE 信号通路被激活,参与 DPN 进程;并观察到 DPN 造模后大鼠出现典型的代谢紊乱、血清炎症因子含量增加、神经功能损伤及组织学损害。AGEs/RAGE 信号通路在 DPN 的发生发展中扮演着关键角色。AGEs 是糖与蛋白质相互聚合产生的有害产物,在正常生理状态下,随着年龄增长会在组织中缓慢产生和积累。而在高血糖环境下,AGEs 的形成速度加快,是糖尿病慢性并发症发生的主要因素^[15]。当 AGEs 与受体 RAGE 结合后,会触发氧化应激和炎症反应,致使神经元功能改变、神经纤维缺失,加速脱髓鞘进程,进一步积累还会导致周围神经组织血液流速减慢,最终引发 DPN^[16-17]。在糖尿病发展进程中,高血糖引起代谢紊乱,导致一系列代谢通路异常,从而激活炎症信号转导机制,促进炎症因子的释放,引发神经功能损伤。研究表明,炎症因子水平与 DPN 的发生密切相关,IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等炎症因子的增加不仅会加剧神经细胞损伤与凋亡,还会引起外周神经元轴突退变和脱髓鞘,破坏髓鞘的正常结构和功能,使神经冲动传导受阻^[18]。

本研究发现经过葛根素治疗 DPN 大鼠后,其空腹血糖、TC、TG 及 LDL 水平均降低,HDL 水平升高,说明其能降低 DPN 大鼠的血糖血脂水平;大鼠机械痛阈值、MNCV、SNCV 均升高,热痛阈值降低,说明葛根素能够改善 DPN 大鼠的坐骨神经功能;此外,坐骨神经损伤情况得到不同程度的改善,神经纤维和髓鞘病变均减轻,进一步表明其对 DPN 大鼠坐骨神经损伤起到治疗作用;且 AGEs 含量和 RAGE 蛋白相对表达量均减少,提示葛根素改善 DPN 大鼠坐骨神经损伤的作用可能与抑制 AGEs/RAGE 信号通路的激活有关。使用 RAGE 抑制剂 FPS-ZM1 干预 DPN 大鼠,发现其与葛根素高剂量具有类似的功效,进一步说明 AGEs/RAGE 信号通路参与 DPN 坐骨神经损伤,也表明葛根素具有抑制 AGEs/RAGE 信号通路激活的效果。近年来,多项研究表明中医药在治疗 DPN 方面已显示出良好的效果,可以通过多个靶点和多种途径来协调治疗疾病^[19]。研究证实,葛根素可以通过增加葡萄糖转运蛋白 4 表达、激活过氧化物酶体增殖物激活受体、促进骨骼肌细胞和脂肪细胞中的脂肪酸氧化来改善胰岛素抵抗并

增强葡萄糖摄取,从而降低血糖^[20]。糖尿病并发症以长期慢性高血糖为基础,会对肾脏、眼睛以及心脏等各器官产生不良影响。此外,高血糖还会诱导周围神经系统中髓鞘细胞异常,使神经纤维脱髓鞘、周围神经再生能力降低和轴突萎缩,从而导致 DPN 的发展^[21]。葛根素对包括 DPN 在内的多种糖尿病并发症均具有良好的改善效果,其能够增加 DPN 患者的 MNCV 和 SNCV,降低血糖水平^[22]。

本研究也存在一定的局限性。本研究仅探讨了 AGEs/RAGE 信号通路,但 DPN 发病机制复杂,可能存在其他机制,这可能导致对葛根素作用机制的理解不够全面。此外,不同剂量葛根素的效果差异仍需进一步研究,目前无法明确最优剂量范围。后续研究将深入探索葛根素对 DPN 的其他作用机制,如氧化应激、凋亡、自噬等多条信号通路,全面解析其作用机制。

综上所述,本研究表明葛根素通过抑制 AGEs/RAGE 信号通路改善 DPN 大鼠症状,该作用涉及降低血糖血脂水平,调节机械痛阈值和热痛阈值,改善坐骨神经传导功能及坐骨神经损伤,为 DPN 的治疗提供新的潜在药物和治疗思路。

伦理声明: 本研究经新疆医科大学实验动物伦理委员会审核批准(批号: IACUC-JT-20230830-54)

作者贡献: 实验操作和数据采集: 史名扬; 数据分析: 陈妍; 论文撰写: 郝璐; 研究设计、论文审定、经费支持: 杨珊

数据获取: 本研究中使用和(或)分析的所有数据均可联系通信作者获取

利益冲突声明: 无

致谢: 不适用

参考文献

- 1 Yu MG, Gordin D, Fu J, et al. Protective factors and the pathogenesis of complications in diabetes[J]. *Endocr Rev*, 2024, 45(2): 227-252. DOI: [10.1210/edrv/bnad030](https://doi.org/10.1210/edrv/bnad030).
- 2 Zhu J, Hu Z, Luo Y, et al. Diabetic peripheral neuropathy: pathogenetic mechanisms and treatment[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2024, 14: 1265372. DOI: [10.3389/fendo.2023.1265372](https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1265372).
- 3 申格格,周洁,付建芳,等. 高尿酸血症在糖尿病周围神经病变发病机制中的研究进展[J]. *医学新知*, 2024, 34(4): 466-472. [Shen GG, Zhou J, Fu JF, et al. Research progress on the pathogenesis of hyperuricemia in diabetic peripheral

- neuropathy[J]. *Yixue Xinzhi Zazhi*, 2024, 34(4): 466–472.] DOI: [10.12173/j.issn.1004-5511.202309078](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-5511.202309078).
- 4 Chauhan P, Wadhwa K, Mishra R, et al. Investigating the potential therapeutic mechanisms of puerarin in neurological diseases[J]. *Mol Neurobiol*, 2024, 61(12): 10747–10769. DOI: [10.1007/s12035-024-04222-4](https://doi.org/10.1007/s12035-024-04222-4).
- 5 Wang D, Bu T, Li YQ, et al. Pharmacological activity, pharmacokinetics, and clinical research progress of puerarin[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(11): 2121. DOI: [10.3390/antiox11112121](https://doi.org/10.3390/antiox11112121).
- 6 Bai YL, Han LL, Qian JH, et al. Molecular mechanism of puerarin against diabetes and its complications[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 12: 780419. DOI: [10.3389/fphar.2021.780419](https://doi.org/10.3389/fphar.2021.780419).
- 7 Wang C, Yao J, Ju L, et al. Puerarin ameliorates hyperglycemia in HFD diabetic mice by promoting β -cell neogenesis via GLP-1R signaling activation[J]. *Phytomedicine*, 2020, 70: 153222. DOI: [10.1016/j.phymed.2020.153222](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153222).
- 8 Hou BY, Zhao YR, Ma P, et al. Hypoglycemic activity of puerarin through modulation of oxidative stress and mitochondrial function via AMPK[J]. *Chin J Nat Med*, 2020, 18(11): 818–826. DOI: [10.1016/S1875-5364\(20\)60022-X](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(20)60022-X).
- 9 曾小红. 葛根素注射液治疗 2 型糖尿病并发周围神经病变的疗效[J]. *深圳中西医结合杂志*, 2020, 30(3): 28–29. [Zeng XH. Efficacy of puerarin injection in the treatment of type 2 diabetes mellitus complicated with peripheral neuropathy[J]. *Shenzhen Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, 2020, 30(3): 28–29.] DOI: [10.16458/j.cnki.1007-0893.2020.03.014](https://doi.org/10.16458/j.cnki.1007-0893.2020.03.014).
- 10 Khalid M, Adem A. The dynamic roles of advanced glycation end products[J]. *Vitam Horm*, 2024, 125: 1–29. DOI: [10.1016/bs.vh.2024.02.008](https://doi.org/10.1016/bs.vh.2024.02.008).
- 11 赵静, 张建, 胡爱民. 补阳还五汤对糖尿病周围神经病变大鼠的止痛作用及机制研究[J]. *广州中医药大学学报*, 2024, 41(4): 1002–1010. [Zhao J, Zhang J, Hu AM. Study on the analgesic effect and mechanism of Buyang Huanwu Decoction on diabetic peripheral neuropathy rats[J]. *Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 41(4): 1002–1010.] DOI: [10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2024.04.028](https://doi.org/10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2024.04.028).
- 12 孔令娟, 计小清, 刘岩, 等. 葛根素通过调控 AMPK/GSK-3 β /catenin 信号通路缓解糖尿病大鼠心肌损伤[J]. *中药材*, 2023, 46(2): 474–478. [Kong LJ, Ji XQ, Liu Y, et al. Puerarin alleviates myocardial damage in diabetic rats by regulating AMPK/GSK-3 β /catenin signaling pathway[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2023, 46(2): 474–478.] DOI: [10.13863/j.issn1001-4454.2023.02.035](https://doi.org/10.13863/j.issn1001-4454.2023.02.035).
- 13 Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF diabetes atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183: 109119. DOI: [10.1016/j.diabres.2021.109119](https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119).
- 14 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. DOI: [10.1016/S1474-4422\(22\)00188-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(22)00188-0).
- 15 Khalid M, Petroianu G, Adem A. Advanced glycation end products and diabetes mellitus: mechanisms and perspectives[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(4): 542. DOI: [10.3390/biom12040542](https://doi.org/10.3390/biom12040542).
- 16 Vitorakis N, Piperi C. Pivotal role of AGE-RAGE axis in brain aging with current interventions[J]. *Ageing Res Rev*, 2024, 100: 102429. DOI: [10.1016/j.arr.2024.102429](https://doi.org/10.1016/j.arr.2024.102429).
- 17 Wang X, Li Q, Han X, et al. Electroacupuncture alleviates diabetic peripheral neuropathy by regulating glycolipid-related GLO/AGEs/RAGE axis[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 655591. DOI: [10.3389/fendo.2021.655591](https://doi.org/10.3389/fendo.2021.655591).
- 18 Cheng Y, Chen Y, Li K, et al. How inflammation dictates diabetic peripheral neuropathy: an enlightening review[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2024, 30(4): e14477. DOI: [10.1111/cns.14477](https://doi.org/10.1111/cns.14477).
- 19 Sun J, Wei N, Yu C, et al. Natural polysaccharides: the potential biomacromolecules for treating diabetes and its complications via AGEs-RAGE-oxidative stress axis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 143(2): 113426. DOI: [10.1016/j.intimp.2024.113426](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.113426).
- 20 Liang T, Xu X, Ye D, et al. Caspase/AIF/apoptosis pathway: a new target of puerarin for diabetes mellitus therapy[J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(5): 4787–4797. DOI: [10.1007/s11033-021-07112-3](https://doi.org/10.1007/s11033-021-07112-3).
- 21 Kaur M, Misra S, Swarnkar P, et al. Understanding the role of hyperglycemia and the molecular mechanism associated with diabetic neuropathy and possible therapeutic strategies[J]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 215: 115723. DOI: [10.1016/j.bcp.2023.115723](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115723).
- 22 Xie B, Wang Q, Zhou C, et al. Efficacy and safety of the injection of the traditional Chinese medicine puerarin for the treatment of diabetic peripheral neuropathy: a systematic review and Meta-analysis of 53 randomized controlled trials[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018: 2834650. DOI: [10.1155/2018/2834650](https://doi.org/10.1155/2018/2834650).

收稿日期: 2024 年 10 月 11 日 修回日期: 2025 年 02 月 25 日
本文编辑: 桂裕亮 曹越

引用本文: 郝璐, 史名扬, 陈妍, 等. 基于 AGEs/RAGE 信号通路探究葛根素改善大鼠糖尿病周围神经病变的机制研究[J]. *医学新知*, 2025, 35(5): 536–543. DOI: [10.12173/j.issn.1004-5511.202410034](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-5511.202410034).
Hao L, Shi MY, Chen Y, et al. Explore the mechanism of puerarin to improve diabetic peripheral neuropathy in rats based on AGEs/RAGE signaling pathway[J]. *Yixue Xinzhi Zazhi*, 2025, 35(5): 536–543. DOI: [10.12173/j.issn.1004-5511.202410034](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-5511.202410034).