

基于 BDNF-TrkB-PI3K-Akt 信号通路探讨黄芪甲苷对糖尿病周围神经病变大鼠的作用机制

邓祥敏^{1*}, 牛敏¹, 吴鑫¹, 华政颖¹, 马艳春^{2*}

1. 江苏护理职业学院 中医药学院, 江苏 淮安 223001

2. 黑龙江中医药大学 学术理论部, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: **目的** 探讨黄芪甲苷调控脑源性神经生长因子(BDNF)-酪氨酸激酶受体 B (TrkB)-磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)-蛋白激酶 B (Akt) 信号通路改善大鼠糖尿病周围神经病变(DPN)的作用机制。**方法** 选用 SPF 级雄性 SD 大鼠, 随机分为对照组、模型组、甲钴胺($0.25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)组以及黄芪甲苷高、中、低剂量(80 、 40 、 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)组, 除对照组外, 采用高脂饲料联合 ip 链脲佐菌素(STZ)法诱导 DPN 大鼠模型, 模型制备成功后, 各给药组 ig 给药, 对照组和模型组大鼠给予相同体积的 0.9% 氯化钠溶液, 每天 1 次, 连续给药 8 周。造模前、造模后、给药后监测各组大鼠空腹血糖(FBG)、热缩足反射潜伏期(TWL); 给药后, 检测各组大鼠坐骨神经传导速度; TUNEL 法分析大鼠背根神经节神经元凋亡水平; 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 和 Western blotting 法检测大鼠背根神经节中 BDNF、TrkB、PI3K、Akt mRNA 和蛋白表达水平。**结果** 与对照组相比, 模型组大鼠 FBG 水平显著升高($P<0.01$), TWL 水平明显下降($P<0.01$), 坐骨神经传导速度明显减慢($P<0.01$), 大鼠背根神经节 BDNF、TrkB、PI3K、Akt mRNA 和蛋白表达水平显著下调($P<0.05$ 、 0.01), 背根神经节神经元出现典型早期凋亡细胞($P<0.01$)。经药物干预后, 与模型组相比, 黄芪甲苷高、中剂量组 FBG 水平平均明显下降($P<0.05$), TWL 水平明显上升($P<0.05$), 黄芪甲苷各剂量组坐骨神经传导速度显著提高($P<0.05$ 、 0.01), 黄芪甲苷各剂量组 BDNF、TrkB、PI3K、Akt mRNA 和蛋白表达水平显著上升($P<0.05$ 、 0.01), 大鼠背根神经节神经元凋亡水平降低显著($P<0.05$ 、 0.01)。**结论** 黄芪甲苷可通过调控 BDNF-TrkB-PI3K-Akt 信号通路, 减轻背根神经节神经元凋亡, 改善大鼠 DPN。

关键词: 黄芪甲苷; 糖尿病周围神经病变; BDNF-TrkB-PI3K-Akt 信号通路; 神经保护; 凋亡

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)07-1780-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.07.008

Based on BDNF-TrkB-PI3K-Akt signal pathway to explore mechanism of astragaloside IV on rats with diabetic peripheral neuropathy

DENG Xiangmin¹, NIU Min¹, WU Xin¹, HUA Zhengying¹, MA Yanchun²

1. School of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu College of Nursing, Huai'an 223001, China

2. Department of Academic Theory Research, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Haerbin 150040, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of astragaloside IV in regulating the brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-tyrosine kinase receptor B (TrkB)-phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)-protein kinase B (Akt) signaling pathway to improve diabetic peripheral neuropathy (DPN) in rats. **Methods** SPF-grade male SD rats were randomly divided into the control group, model group, mecobalamin ($0.25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) group, and astragaloside IV high-, medium-, and low-dose (80 , 40 , and $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) groups. Except for the control group, the DPN rat model was induced by high-fat diet combined with intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ). After successful model establishment, each drug group was ig administered, and the control and model groups were given the same volume of 0.9% sodium chloride solution once a day for eight consecutive weeks. Fasting blood glucose (FBG) and thermal withdrawal latency (TWL) of each group were monitored before modeling, after modeling, and after drug administration. After drug administration,

收稿日期: 2024-12-27

基金项目: 江苏省卫生健康委科研项目(Z2020054); 江苏高校“青蓝工程”资助项目(苏教师函[2023]27号); 江苏省高职院校教师访学研修项目(2024GRFX067)

***通信作者:** 邓祥敏, 女, 硕士研究生, 副教授, 主要从事中药药理学研究。E-mail: dengxiangmin163@sina.com

马艳春, 博士, 研究员, 主要从事慢性病中医药防治研究。E-mail: yanchunma@163.com

the sciatic nerve conduction velocity of each group was detected. The apoptosis level of dorsal root ganglion neurons was analyzed by TUNEL method. The mRNA and protein expression levels of BDNF, TrkB, PI3K, and Akt in the dorsal root ganglion were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) and Western blotting. **Results** Compared with the control group, the FBG level of the model group was significantly increased ($P < 0.01$), the TWL level was significantly decreased ($P < 0.01$), and the sciatic nerve conduction velocity was significantly slowed down ($P < 0.01$). The mRNA and protein expression levels of BDNF, TrkB, PI3K, and Akt in the dorsal root ganglion were significantly down-regulated ($P < 0.05, 0.01$), and typical early apoptotic cells appeared in the dorsal root ganglion neurons ($P < 0.01$). After drug intervention, compared with the model group, the FBG levels of the astragaloside IV high- and medium-dose groups were significantly decreased ($P < 0.05$), the TWL levels were significantly increased ($P < 0.05$), the sciatic nerve conduction velocity of each astragaloside IV dose group was significantly improved ($P < 0.05, 0.01$), the mRNA and protein expression levels of BDNF, TrkB, PI3K, and AKT in each astragaloside IV dose group were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$), and the apoptosis level of dorsal root ganglion neurons was significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Astragaloside IV can improve DPN in rats by regulating the BDNF-TrkB-PI3K-Akt signaling pathway, reducing the apoptosis of dorsal root ganglion neurons.

Key words: astragaloside IV; diabetic peripheral neuropathy; BDNF-TrkB-PI3K-Akt signaling pathway; neuroprotection; apoptosis

糖尿病是由遗传和生活行为等多因素引起的一种代谢性疾病,近年来全球糖尿病患病率逐年攀升,我国 18 岁以上人群患病率已达到 11.2%^[1-2]。在糖尿病人群中,有 60% 以上的患者存在不同程度的糖尿病周围神经病变(DPN),是糖尿病最为常见的慢性并发症之一^[3]。DPN 会导致人体周围神经损伤,进而形成一系列的临床症状,表现为对称性疼痛和感觉异常,严重者出现足部溃疡与坏疽等,致残率较高,甚至有 10%~15% 患者有截肢的可能,严重影响患者的生活质量^[3-4]。目前临床主要通过抗氧化药物、改善代谢紊乱、营养神经细胞等方法治疗,但临床疗效不理想^[5-6]。

DPN 归属于中医“消渴”的范畴,主要病机为气血亏虚,黄芪为中医临床中用于治疗 DPN 频次最高的药物^[7],黄芪为传统补气药,而气能生血,因此被广泛应用于 DPN 的治疗。现代药理学研究证实,其主要有效成分黄芪甲苷具有确切的抗炎、神经保护等作用^[8-9]。脑源性神经生长因子(BDNF)在 DPN 发展过程中发挥着重要的作用,大量研究显示 BDNF 与其高亲和性受体酪氨酸激酶受体 B (TrkB) 结合后,可以通过磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 信号传导通路增强神经发生生长、调控蛋白表达、抑制细胞凋亡等来发挥神经保护作用^[10-11]。基于此,本研究以 BDNF-TrkB-PI3K-Akt 信号通路为切入点,探讨黄芪甲苷对 DPN 大鼠的神经保护作用及机制,为黄芪甲苷的进一步开发和应用于 DPN 的临床治疗提供参考。

1 材料

1.1 实验动物

5 周龄雄性健康 SD 大鼠,SPF 级,体质量 160~

180 g,由苏州华测生物技术有限公司提供,实验动物使用许可证号 SYXK(苏)2023-0079,饲养环境温度 20~22 °C,湿度 40%~60%,常规饲料喂养,自由摄食饮水适应性饲养 1 周后进行实验。实验过程完全遵守《关于善待实验动物的指导性意见》,黑龙江中医药大学实验动物伦理委员会审查批准号为 2020110201。

1.2 药品与主要试剂

黄芪甲苷(成都科程生物科技发展有限公司,批号 180619,质量分数≥98%);甲钴胺(辰欣药业有限公司,批号 U23122621g);4%多聚甲醛(上海懋康生物科技有限公司);磷酸盐缓冲液(PBS,武汉普诺赛生命科技有限公司);戊巴比妥钠注射液(哈药集团三精制药股份有限公司);BCA 蛋白质测定试剂盒、TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);Trizol 试剂盒, BDNF、TrkB、Akt 一抗,辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 二抗(Thermo Fisher 公司);引物(上海生工生物工程股份有限公司);RIPA 蛋白裂解液、山羊血清封闭液(上海 Beyotime Biotechnology 公司);ECL 显色试剂盒(上海西唐生物科技有限公司)。

1.3 主要仪器

YLS-6B 型智能热板仪(华西科创科技有限公司);TG18.5 台式高速离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司);G-423D 血糖仪(爱奥乐医疗器械有限公司);Leica DMi8 光学显微镜(德国 Leica 公司);BL420 生物技能实验系统(成都泰盟软件有限公司);SDS-PAGE 凝胶电泳仪(美国 Bio-rad 公司);GeneExplorer 型 PCR 仪(杭州 Bioer Technology 公司);SLAN 全自动荧光定量 PCR 检

测系统（上海宏石医疗科技有限公司）。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

大鼠随机分为对照组、模型组、甲钴胺（ $0.25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ）组以及黄芪甲苷高、中、低剂量（ 80 、 40 、 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ）组，对照组大鼠饲喂普通饲料，保持自由摄食饮水；其余各组大鼠采用高脂饲料联合 ip 链脲佐菌素（STZ）法诱导糖尿病大鼠模型，给予连续饲喂高脂饲料（配方：普通饲料 70%、猪油 10%、蔗糖 20%）和水，8 周后，禁食 12 h，自由饮水，于大鼠左下腹腔按剂量 $35\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 单次 ip 体积分数为 2% 的 STZ 溶液，用药 72 h 后，于尾尖处取血测空腹血糖（FBG）， $\text{FBG}\geq 16.7\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 可认为糖尿病模型构建成功^[12]。2 周后对糖尿病大鼠进行热缩足阈值检测，大鼠热缩足反射潜伏期（TWL）延长 20% 以上者认为 DPN 造模成功^[13]。DPN 模型制备成功后，各给药组 ig 给药，对照组和模型组大鼠给予相同体积的 0.9% 氯化钠溶液，每天 1 次，连续给药 8 周。

2.2 FBG 测定

分别于造模前、造模后、给药结束后，大鼠尾静脉采血，用血糖仪检测 FBG 值。

2.3 TWL 测定

采用热辐射法测定大鼠 TWL，将大鼠置于加热好的热板仪，温度设置为（ 55.0 ± 0.2 ）℃ 中，盖好上方盖子，记录大鼠撤足或舔足反应时间，记为 TWL，每只大鼠测定 3 次^[14]，2 次测定之间间隔 20 min，取其平均值作为测得实际 TWL 值。

2.4 坐骨神经传导速度测定

大鼠 ip 10% 水合氯醛麻醉后仰位固定^[15]，分离坐骨神经，在其近心端和远心端放置参考电极，固定在距记录针电极 1 cm 处。打开 BL-420 生物机能实验系统，采用单刺激的方法，每 2 个刺激之间间隔 5 s，测量刺激与记录电极之间的距离，测定 3 次，取其平均值。

2.5 样本采集

处死大鼠，在显微镜下剥离双侧腰椎背根神经节，一部分置于 4% 多聚甲醛固定液中，用于病理形态学检测；另一部分置于冻存管 -80℃ 冰箱保存，用于分子生物学检测。

2.6 大鼠背根神经节神经元凋亡水平检测

取大鼠背根神经节进行冰冻切片，PBS 洗涤 1 次；加入含 0.1% Triton X-100 的 PBS，冰浴孵

育 2 min；用 PBS 洗涤 2 次；滴加 50 μL TUNEL 检测液，37℃ 避光孵育 60 min；PBS 洗涤 3 次；用抗荧光淬灭封片液封片后荧光显微镜下观察。

2.7 实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）检测

取大鼠双侧腰椎背根神经节，使用 TRIzol 试剂提取总 RNA，使用 RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit 将总 RNA 逆转录为 cDNA。以逆转录产生的 cDNA 为模板，GAPDH 为内参，对其进行 PCR 扩增，扩增反应程序为：预变性 95℃，2 min，循环 1 次；55℃ 复性，60 s，循环 35 次；72℃ 延伸，5 min，循环 1 次。实验重复 6 次，并根据反应情况计算相应的 C_t 值，各基因相对表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算。引物序列见表 1。

表 1 引物序列信息

Table 1 Primer Sequence Information

基因	引物序列（5'→3'）
BDNF	F-GCTAGGCAGTAGCAGACTGC
	R-CGGATAGCGGCTAGTACGGT
TrkB	F-TAGACTGCTCGAGAGACATC
	R-AGAGCTACTGGCATGTCCTC
PI3K	F-ACCATGAGAAGAACGTGATG
	R-CCTGGAGTAGACGTCATGAT
Akt	F-TCGGTACAGATCGCACCCT
	R-ACCGACTTCTCCTATCACCG

2.8 Western blotting 检测

取大鼠背根神经，经过研磨、加 RIPA 蛋白裂解液裂解、 $10\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 高速离心 10 min 等步骤提取总蛋白，BCA 法测定总蛋白浓度，随后十二烷基硫酸钠（SDS）-聚丙烯酰胺（PAGE）凝胶电泳、转膜、密封避光孵育 2 h，加入稀释后的 BDNF、TrkB、PI3K、Akt 一抗（1：1 000），4℃ 孵育过夜；次日 TBST 洗膜 3 次，加入二抗（1：5 000），室温孵育 1 h，TBST 洗膜 4 次，ECL 试剂盒显色、Bio-Rad 凝胶成像系统拍照，分析灰度值，计算各组大鼠 BDNF、TrkB、PI3K、Akt 蛋白表达水平。

2.9 统计学方法分析

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，数据的整理和分析采用 SPSS 24.0 软件，采用单因素方差分析（one-way ANOVA），组间比较采用 LSD 法检验。

3 结果

3.1 各组大鼠 FBG 比较

与对照组比较，造模后模型组 FBG 水平显著升高（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，干预后黄芪甲苷高、中剂量组 FBG 水平明显下降（ $P<0.05$ ）。见

表 2。

3.2 各组大鼠 TWL 变化

与对照组相比,造模后模型组 TWL 水平显著

下降($P<0.01$);与模型组相比,黄芪甲苷高、中剂量组和甲钴胺组 TWL 水平明显上升($P<0.05$)。结果见表 3。

表 2 黄芪甲苷对大鼠 FBG 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of astragaloside IV on FBG in rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	FBG/(mmol·L ⁻¹)		
		造模前	造模后	干预后
对照	—	5.98±1.12	5.95±0.98	6.14±1.20
模型	—	6.04±1.13	22.27±1.37**	22.31±2.15**
甲钴胺	0.25	6.32±1.36	21.93±2.24**	20.13±1.94
黄芪甲苷	80	6.40±0.92	22.15±1.08**	14.89±1.26 [#]
	40	6.25±2.72	23.39±2.31**	17.34±3.05 [#]
	20	6.77±1.83	22.94±3.05**	22.27±2.28

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$ 。

** $P<0.01$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs model group.

表 3 黄芪甲苷对大鼠 TWL 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of astragaloside IV on TWL in rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	TWL/s		
		造模前	造模后	干预后
对照	—	16.36±0.18	16.64±0.51	16.19±1.20
模型	—	16.82±1.03	8.27±0.75**	8.19±1.14**
甲钴胺	0.25	16.42±0.89	8.09±0.94**	12.73±1.74 [#]
黄芪甲苷	80	16.75±0.52	8.84±1.31**	13.31±0.59 [#]
	40	16.60±1.09	8.73±0.74**	11.68±0.75** [#]
	20	16.09±1.85	8.51±0.58**	9.06±0.97**

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$ 。

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs model group.

3.3 各组大鼠坐骨神经传导速度比较

如表 4 所示,与对照组相比,模型组大鼠坐骨神经传导速度明显减慢($P<0.01$);与模型组相比,黄芪甲苷高、中、低剂量组和甲钴胺组坐骨神经传导速度显著提高($P<0.05、0.01$),且黄芪甲苷作用呈剂量相关性,说明黄芪甲苷可以改善 DPN 大鼠坐骨神经传导速度的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Effect of astragaloside IV on sciatic nerve conduction velocity in rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	坐骨神经传导速度/(m·s ⁻¹)
对照	—	52.78±2.59
模型	—	26.11±3.02**
甲钴胺	0.25	33.05±4.53***
黄芪甲苷	80	37.66±1.98***
	40	35.91±1.46***
	20	32.27±1.23** [#]

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$ *** $P<0.01$ 。

** $P<0.01$ vs control group; [#] $P<0.05$ *** $P<0.01$ vs model group.

鼠的神经传导速度。

3.4 各组大鼠背根神经节神经元的凋亡比较

与对照组比较,模型组大鼠背根神经节中凋亡细胞数明显增多,有显著性差异($P<0.01$);与模型组比较,黄芪甲苷高、中、低剂量组和甲钴胺组凋亡细胞数明显减少,在显微镜下观察可见绿色荧光强度降低,有显著性差异($P<0.05、0.01$),黄芪甲苷作用呈剂量相关性。结果见图 1、表 5。

3.5 各组大鼠背根神经节中 BDNF、TrkB、PI3K、Akt mRNA 表达水平比较

与对照组比较,模型组大鼠背根神经节中 BDNF、TrkB、PI3K、Akt mRNA 表达水平显著下调($P<0.01$);与模型组相比,甲钴胺和黄芪甲苷高、中、低剂量组 BDNF、TrkB、PI3K、Akt mRNA 表达水平显著上升($P<0.05、0.01$),且黄芪甲苷作用呈现剂量相关性,其中黄芪甲苷高剂量组大鼠背根神经节中 BDNF、TrkB、PI3K mRNA 表达水平均与

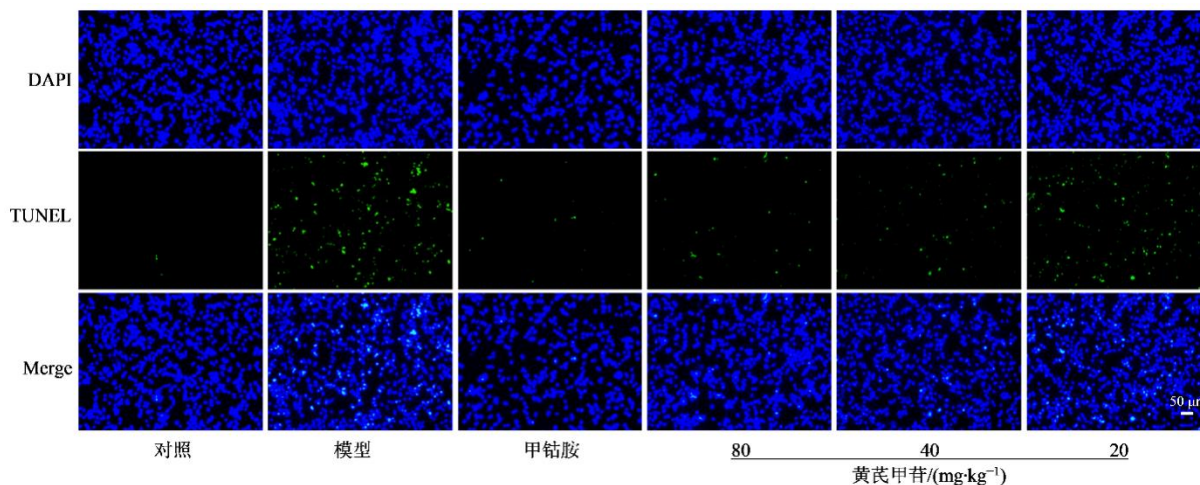


图 1 各组背根神经节神经元细胞凋亡情况 (×20)
Fig. 1 Perimortality of dorsal root ganglion neurons in each group (×20)

表 5 各组大鼠背根神经节中凋亡细胞数比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Table 5 Comparison of number of apoptotic cells in dorsal root ganglia among different groups of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	每个视野凋亡细胞数
对照	—	25.32±2.14
模型	—	117.47±7.73**
甲钴胺	0.25	45.36±5.32***
黄芪甲苷	80	58.62±7.19***
	40	70.64±6.96***
	20	94.40±8.03***

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$ 。
** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group.

表 6 各组大鼠背根神经节中 *BDNF*、*TrkB*、*PI3K*、*Akt* mRNA 表达结果比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Table 6 Comparison of mRNA expressions of *BDNF*, *TrkB*, *PI3K*, and *Akt* in dorsal root ganglia of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	mRNA相对表达量			
		<i>BDNF</i>	<i>TrkB</i>	<i>PI3K</i>	<i>Akt</i>
对照	—	1.17±0.08	1.08±0.19	1.07±0.06	1.31±0.12
模型	—	0.34±0.03**	0.37±0.05**	0.47±0.04**	0.52±0.06**
甲钴胺	0.25	0.82±0.09***	0.79±0.04***	0.76±0.14***	1.08±0.07***
黄芪甲苷	80	0.85±0.11***	0.87±0.04***	0.82±0.12***	0.95±0.13***
	40	0.69±0.06***	0.71±0.13***	0.68±0.07***	0.84±0.10***
	20	0.49±0.05***	0.50±0.08***	0.57±0.11***	0.69±0.03***

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$ 。
* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group.

4 讨论

DPN 属现代医学概念,中医将其归属于“消渴”“痹证”“血痹”等范畴,病机以气虚为核心,表现为气血运行不畅,导致络脉失养,进而引发肢体麻木、疼痛等症状^[16]。气虚导致推动血液运行的力

量减弱,血行不畅则形成血瘀,瘀阻经络,使得四肢失于温养。此外,气虚还可能导致水液代谢失常,

3.6 各组大鼠背根神经节中 *BDNF*、*TrkB*、*PI3K*、*Akt* 蛋白表达比较

Western blotting 检测结果可见,与对照组比较,模型组大鼠背根神经节中 *BDNF*、*TrkB*、*PI3K*、*Akt* 蛋白含量显著下调 ($P<0.01$);与模型组相比,黄芪甲苷高、中、低剂量组 *BDNF*、*TrkB*、*PI3K*、*Akt* 蛋白含量显著上升 ($P<0.05$ 、 0.01),且黄芪甲苷作用呈现剂量相关性,其中黄芪甲苷高剂量组大鼠背根神经节中 *TrkB*、*PI3K*、*Akt* 蛋白含量与甲钴胺组相当。见图 2。

痰湿内生,进一步加重经络阻塞。治疗原则上,应重视益气健脾,辅以活血化瘀、化痰通络,以恢复气血的正常运行和经络的通畅^[17]。黄芪是中医临

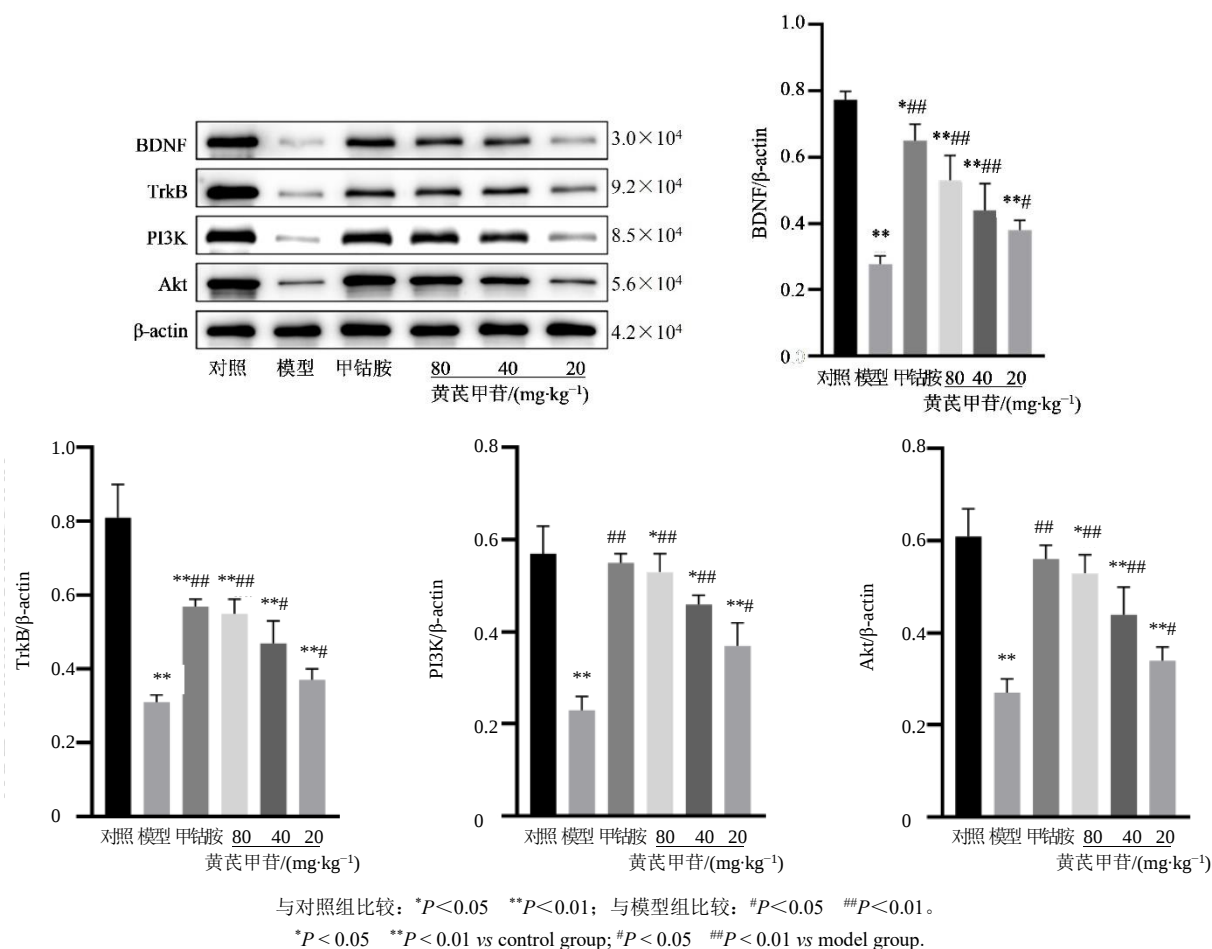


图2 各组大鼠背根神经节中 BDNF、TrkB、PI3K、Akt 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 2 Expressions of BDNF, TrkB, PI3K, and Akt proteins in dorsal root ganglia of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

床中最常用的补气类中药,亦是中医临床用于治疗 DPN 中频次最高的药物,黄芪甲苷是黄芪的主要有效成分,具有缺血保护、心脏保护、抗炎、抗病毒、调节免疫和抗肿瘤等作用^[18-19]。近年来多项研究证明黄芪甲苷在神经保护方面显示出良好的前景。

BDNF 在 DPN 发病过程中发挥着重要的作用^[20],与其高亲和受体 TrkB 结合后,会触发下游信号传导,其中包括 PI3K/Akt 信号通路的激活。PI3K/Akt 信号通路是膜受体信号向胞内转导的重要途径,在多种信号转导通路中起连接作用,发挥着促进细胞生存、抑制凋亡等作用^[21]。具体而言,BDNF 与 TrkB 结合后激活了 TrkB 的酪氨酸激酶活性,导致 TrkB 细胞内结构域中特定酪氨酸残基(如 Y490、Y515 和 Y816)的自身磷酸化,这些磷酸化位点作为下游信号分子的对接位点,招募并激活多种信号蛋白,其中 Y515 位点通过适配蛋白(如 Shc 或 Grb2)与 PI3K 的调节亚基 p85 结合,从而激活 PI3K^[22-24]。PI3K 是一种脂质激酶,能够将细胞膜上

的磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸(PIP2)转化为磷脂酰肌醇三磷酸(PIP3),PIP3 作为第二信使在细胞膜上形成特定的信号平台,招募并激活 Akt^[25-26]。Akt 通过其 PH 结构域与 PIP3 结合,随后在磷酸肌醇依赖性激酶 1(PDK1)和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 2(mTORC2)的作用下,分别在 Thr308 和 Ser473 位点被磷酸化而完全激活。激活的 Akt 可以抑制促凋亡蛋白的表达,如 Bax、Caspase-3 和 Caspase-9,同时增强抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达,从而减少神经元凋亡,保护神经功能^[27-28]。据此推测,黄芪甲苷可能通过促进 BDNF 的合成和释放,增加其与 TrkB 的结合,增强 TrkB 的酪氨酸激酶活性,促进 PI3K 的招募和激活,并提高 Akt 的磷酸化水平,最终增强其抗凋亡和神经保护作用,从而实现对 DPN 的治疗作用。

基于此,本研究通过测定海马区 BDNF-TrkB-PI3K-Akt 信号通路蛋白表达来研究黄芪甲苷治疗 DPN 大鼠的作用机制,结果表明与对照组相比,

DPN 模型组大鼠 FBG 水平明显升高、TWL 水平明显下降、坐骨神经传导速度明显减慢, TUNEL 法定性检测发现大鼠背根神经节神经元出现典型早期凋亡细胞, 背根神经节 BDNF、TrkB、PI3K、Akt mRNA 和蛋白表达水平显著下调。经黄芪甲苷干预后, 黄芪甲苷高、中剂量组 FBG 水平明显下降、坐骨神经传导速度显著提高, 高、中剂量组 TWL 水平明显上升, 在显微镜下观察可见, 黄芪甲苷的应用使大鼠背根神经节神经元凋亡水平显著降低, 背根神经节 BDNF、TrkB、PI3K、AKT mRNA 和蛋白表达水平显著上升, 且黄芪甲苷各剂量组呈现剂量相关性, 其中黄芪甲苷高剂量组 mRNA 和蛋白表达水平与甲钴胺组相当。

本研究结果表明, 黄芪甲苷能够明显改善 DPN, 其作用机制可能是与激活 BDNF-TrkB-PI3K-Akt 信号通路、减轻大鼠背根神经节神经元的凋亡相关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Li Y Z, Teng D, Shi X G, et al. Prevalence of diabetes recorded in mainland China using 2018 diagnostic criteria from the American Diabetes Association: National cross sectional study [J]. *BMJ*, 2020, 369: m997.
- [2] 顾嘉琪, 覃骊兰, 许强. 2 型糖尿病病证结合动物模型研究进展 [J]. *中药物理与临床*, 2024, 40(10): 104-111.
- [3] 姜俊玲, 林寿宁, 朱永苹, 等. 益气养阴活血法治疗糖尿病周围神经病变研究概述 [J]. *广西中医药大学学报*, 2020, 23(2): 61-64.
- [4] Zhang C, Ding M, Liang X W, et al. Application and progress of corneal confocal microscopy in the evaluation of diabetes-related peripheral neuropathy [J]. *Endokrynol Pol*, 2024, 75(4): 395-402.
- [5] Yu Y C. Gold standard for diagnosis of DPN [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 719356.
- [6] Chang M C, Yang S. Diabetic peripheral neuropathy essentials: A narrative review [J]. *Ann Palliat Med*, 2023, 12(2): 390-398.
- [7] 柴一琳, 王国强, 战群, 等. 益气活血类方治疗糖尿病周围神经病变作用机制研究进展 [J]. *长春中医药大学学报*, 2023, 39(7): 822-826.
- [8] Chai Y L, Wang G Q, Zhan Q, et al. Research progress in the mechanism of benefiting *qi* for activating blood circulation prescriptions in the treatment of diabetes peripheral neuropathy [J]. *J Changchun Univ Chin Med*, 2023, 39(7): 822-826.
- [9] 彭婷, 刘圆圆, 靳晓杰, 等. 黄芪防治神经退行性疾病的作用及机制研究进展 [J]. *中国现代应用药理学*, 2023, 40(23): 3308-3317.
- [10] Peng T, Liu Y Y, Jin X J, et al. Research progress on the effect and mechanism of *Astragali Radix* on neurodegenerative diseases [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2023, 40(23): 3308-3317.
- [11] You L Z, Fang Z H, Shen G M, et al. Astragaloside IV prevents high glucose-induced cell apoptosis and inflammatory reactions through inhibition of the JNK pathway in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(3): 1603-1612.
- [12] 覃伊, 林飞, 梁羽冰. 右美托咪定激活 BDNF-TrkB-PI3K/Akt 信号通路减轻异丙酚诱导大鼠海马神经元凋亡 [J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44(19): 4754-4759.
- [13] Qin Y, Lin F, Liang Y B. Dexmedetomidine activates BDNF-TrkB-PI3K/Akt signaling pathway to alleviate propofol-induced apoptosis of hippocampal neurons in rats [J]. *Chin J Gerontol*, 2024, 44(19): 4754-4759.
- [14] Li B, Wang Y X, Yuan X, et al. 6-Shogaol from dried ginger protects against intestinal ischemia/reperfusion by inhibiting cell apoptosis via the BDNF/TrkB/PI3K/AKT pathway [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2023, 67(13): e2200773.
- [15] 罗荔, 罗梅, 张丽, 等. 鞘内转染 AAV6-hNGF β 对糖尿病神经病变大鼠的修复作用 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2019, 18(22): 2373-2377.
- [16] Luo L, Luo M, Zhang L, et al. The rehabilitation effect of intrathecal transfection of AAV6-hNGF β -EGFP in diabetic peripheral neuropathy rats [J]. *J Clin Exp Med*, 2019, 18(22): 2373-2377.
- [17] 安静文, 宋林春, 陈蝶, 等. 探讨补阳还五汤通过 AMPK/ULK1 线粒体自噬通路抑制细胞焦亡治疗糖尿病周围神经病变 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(15): 1-10.
- [18] An J W, Song L C, Chen D, et al. Effect of Buyang Huanwutang in treating diabetic peripheral neuropathy by inhibiting pyroptosis through AMPK/ULK1 mitophagy pathway [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2024, 30(15): 1-10.
- [19] 邓祥敏, 阮仁余, 朱星宇, 等. 基于 BDNF/TrkB/CREB

- 信号通路探讨鼠尾草酸对大鼠抑郁样行为的改善作用[J]. 中成药, 2022, 44(12): 4009-4013.
- Deng X M, Ruan R Y, Zhu X Y, et al. Based on BDNF/TrkB/CREB signaling pathway, the effect of carnosic acid on depression-like behavior in rats was discussed [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(12): 4009-4013.
- [15] 袁久术, 王雪茹, 黄苏苏, 等. 基于 Wnt/ β -catenin 信号通路探讨通络糖泰方对糖尿病周围神经病变 GK 大鼠作用机制 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2023, 25(9): 2950-2958.
- Yuan J S, Wang X R, Huang S S, et al. Based on Wnt/ β -catenin signal pathway to explore the mechanism of Tongluotangtai recipe on GK rats with diabetes peripheral neuropathy [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2023, 25(9): 2950-2958.
- [16] 白先, 宋宗良. 糖尿病周围神经病变的中医药治疗研究进展 [J]. 中医药临床杂志, 2019, 31(11): 2031-2034.
- Bai X, Song Z L. Research progress in treatment of peripheral neuropathy with diabetes mellitus [J]. Clin J Tradit Chin Med, 2019, 31(11): 2031-2034.
- [17] 李惠芳, 王德惠. 王德惠教授治疗早期糖尿病周围神经病变经验 [J]. 内蒙古中医药, 2018, 37(2): 37-38.
- Li H F, Wang D H. Professor Wang Dehui's experience in treating early diabetic peripheral neuropathy [J]. Nei Mongol J Tradit Chin Med, 2018, 37(2): 37-38.
- [18] Li F G, Cao K, Wang M Y, et al. Astragaloside IV exhibits anti-tumor function in gastric cancer via targeting circRNA dihydrolipoamide S-succinyltransferase (circDLST)/miR-489-3p/eukaryotic translation initiation factor 4A1(EIF4A1) pathway [J]. Bioengineered, 2022, 13(4): 10112-10123.
- [19] Liu F, Ran F, He H Q, et al. Astragaloside IV exerts anti-tumor effect on murine colorectal cancer by re-educating tumor-associated macrophage [J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2020, 68(6): 33.
- [20] Yehya A, Altaany Z, Beni-Yonis O. Dual mapping of MTHFR C677T (A1298C) and BDNF G196A (Val66Met) polymorphisms in patients with diabetic peripheral neuropathy [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2023, 27(14): 6682-6690.
- [21] Wang Y J, Liang J, Xu B Y, et al. TrkB/BDNF signaling pathway and its small molecular agonists in CNS injury [J]. Life Sci, 2024, 336: 122282.
- [22] Yang P, Chen H Y, Wang T, et al. Electroacupuncture promotes synaptic plasticity in rats with chronic inflammatory pain-related depression by upregulating BDNF/TrkB/CREB signaling pathway [J]. Brain Behav, 2023, 13(12): e3310.
- [23] Gao L L, Wang Z H, Mu Y H, et al. Emodin promotes autophagy and prevents apoptosis in sepsis-associated encephalopathy through activating BDNF/TrkB signaling [J]. Pathobiology, 2022, 89(3): 135-145.
- [24] 王钦, 蔡萧君, 吴圆圆, 等. 五味子乙素对慢性应激抑郁大鼠海马 BDNF/TrkB/CREB 通路的影响 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(5): 895-901.
- Wang Q, Cai X J, Wu Y Y, et al. Effects of schisandrin B on hippocampal BDNF/TrkB/CREB pathway in rats with chronic stress depression [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(5): 895-901.
- [25] Wang J C, Hu K L, Cai X Y, et al. Targeting PI3K/AKT signaling for treatment of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(1): 18-32.
- [26] Xiao H M, Sun X H, Lin Z Y, et al. Gentiopicroside targets PAQR3 to activate the PI3K/AKT signaling pathway and ameliorate disordered glucose and lipid metabolism [J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(6): 2887-2904.
- [27] Carnero A, Blanco-Aparicio C, Renner O, et al. The PTEN/PI3K/AKT signalling pathway in cancer, therapeutic implications [J]. Curr Cancer Drug Targets, 2008, 8(3): 187-198.
- [28] Lee J, Robinson ME, Ma N, et al. IFITM3 functions as a PIP3 scaffold to amplify PI3K signalling in B cells[J]. Nature, 2020, 588(7838): 491-497.

[责任编辑 兰新新]