

糖尿病周围神经病变发病机制及中药复方筋脉通胶囊对其干预作用的研究进展

吴群励 梁晓春

糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)发病率高,有超过 50%的糖尿病患者会出现该并发症,是糖尿病患者致残和死亡的主要原因之一。DPN 的发病机制迄今尚未阐明,现有的治疗手段仅能改善 DPN 的临床症状,并不能有效消除其病因和阻止病情的进展^[1]。中医中药对 DPN 的防治有一定的疗效和优势。本文重点综述近年来有关 DPN 的发病机制进展,并对中药复方筋脉通胶囊防治 DPN 的机制研究进行归纳和概述。

1 DPN 的发病机制

1.1 代谢途径

1.1.1 多元醇通路 在高血糖情况下,细胞内过多的葡萄糖被分流向多元醇通路,产生过多的山梨醇在细胞内大量积聚,引起细胞渗透压增高,降低了肌醇的表达和摄取,使钠离子-钾离子-ATP 酶的活性下降,神经细胞的能量供应减低,细胞膜的结构和功能受损,细胞肿胀、变性和坏死;消耗胞质里的还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)和还原型谷胱甘肽,使细胞容易遭受自由基的损伤^[2]。而果糖的形成,可促使糖基化,消耗 NADPH,进一步加剧氧化还原反应的失衡。此外,醛糖还原酶的激活还可增加二酰基甘油的形成,并激活蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)途径。

1.1.2 己糖胺通路 正常时约有 3%的总葡萄糖转向己糖胺通路,产生葡萄糖胺-6-磷酸盐,进而生成二磷酸尿苷葡萄糖醛酸,高糖状态下此分流被放大^[3]。Brownlee M 等^[4]研究发现,高糖使二磷酸尿苷葡萄糖醛酸表达增多,激活转录因子-特异性 B1 糖蛋白,其与糖尿病并发症相关,负责许多葡萄糖介导的“管家基因”的表达,包括转化生长因子 β_1 (transfor-

ming growth factor β_1 , TGF- β_1)、纤溶酶原激活物抑制因子 1(plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1)等。TGF- β_1 和 PAI-1 可导致微血管壁基膜增厚、内皮细胞肿胀变性、糖蛋白沉积、管腔狭窄以及血管阻力增加,造成神经低灌注和神经内膜缺氧,进而发生神经变性、坏死,引起 DPN。

1.1.3 蛋白激酶 C 通路 慢性高血糖血症可刺激二酰基甘油的产生,后者反过来促进 PKC 的生成。一般而言,PKC 的异常激活对 DPN 的作用集中在影响神经血流和神经传导速度方面。PKC 通路一旦激活,在影响血管收缩和毛细血管渗透性的同时,造成缺氧、基膜增厚和内皮增殖。PKC 通路很可能是造成神经血管内血流动力学改变的主要原因^[3]。在体外,PKC 激活可引起核因子 κ B(NF- κ B)活化、血浆 PAI-1 及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)过表达,还可减少 Zucker 肥胖大鼠一氧化氮(NO)的产生^[5]。PCK β 可引起钠离子-钾离子-ATP 酶的活性降低,导致神经传导速度和神经再生下降。用 PCK β 抑制剂治疗链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病大鼠,可改善其运动神经传导速度,使其神经血流正常化,并恢复钠离子-钾离子-ATP 酶活性^[3]。

1.1.4 晚期糖基化终末产物通路 晚期糖基化终末产物(AGEs)一般通过以下 3 种机制损伤细胞:(1)改变胞内蛋白的生物学功能,促进细胞凋亡;(2)修饰细胞外基质的成分如层粘连蛋白和纤连蛋白,导致 DPN 累及神经的侧枝发芽和轴突再生不良;(3)修饰血浆蛋白生成配体,与巨噬细胞、平滑肌细胞、血管内皮细胞及雪旺细胞上的 AGEs 受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)相结合,使活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成增多,激活 NF- κ B,导致内皮细胞通透性增强,平滑肌细胞和成纤维细胞增生,细胞外基质降解,细胞因子分泌,促进凝血和细胞凋亡。研究发现在糖尿病患者的体内组织中,AGEs 和 RAGE 表达增加;由 AGEs 所介导的生化损伤,可导致神经血供受损,神经营养支持降低^[1,3]。

1.1.5 聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶通路 聚腺

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81001580)

作者单位:中国医学科学院北京协和医院中医科(北京 100730)

通讯作者:梁晓春, Tel:010-69155331, E-mail: xcliang@vip.sina.com

na.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.11.1401

苷二磷酸-核糖聚合酶(poly-ADP-ribose polymerase, PARP)可引起氧化应激,并被氧化应激所激活。PARP 已被证实与神经传导速度降低、神经血管功能失调、热性与机械性痛觉过敏/减退、触痛超敏以及有髓神经纤维缺失有关。在病程 4 周的糖尿病大鼠坐骨神经及体外培养的雪旺细胞中,聚 ADP-核糖基化蛋白增多。PARP-1 基因敲除小鼠并未出现小纤维神经病变,进一步支持了 PARP 激活在 DPN 发病中的作用^[6,7]。

1.2 氧化应激 高血糖与受损的血供,共同导致线粒体的代谢和自然抗氧化能力超负荷,引起氧化应激^[4],产生过多的 ROS 和活性氮(reactive nitrogen species, RNS),造成轴突变性和死亡以及神经纤维的功能减退、损害和缺失,与 DPN 的发生、发展密切相关^[1,3]。RNS 可引起一系列的细胞毒损伤,包括蛋白亚硝基化和 PARP 激活。研究发现,糖尿病动物模型的感觉神经元胞体和周围神经的蛋白质硝基化增加;诱导型一氧化氮合成酶较神经源型一氧化氮合成酶对 DN 神经症状的发生和发展更为关键。采用从糖尿病大鼠或小鼠分离培养的感觉神经元或背根神经节模型,证实了长期糖尿病可降低内线粒体膜电位和呼吸链活性,使储备呼吸容量下降;线粒体超负荷与感觉神经元的线粒体蛋白质组学如链接氧化磷酸化、辅酶 Q₁₀ 合成、三羧酸循环及抗氧化保护(如 MnSOD)的多种蛋白质的降低有关^[8,9]。高血糖应激对原代培养的胚胎感觉神经元的许多线粒体蛋白质的翻译起着负面作用^[10]。

1.3 炎症、脂代谢异常 研究发现糖尿病患者血中的炎症因子如 C 反应蛋白和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)水平增高,这些炎症因子与 DPN 的发生有密切关系,且 TNF- α 的水平与患者的自觉疼痛严重程度呈正相关。基因敲除或应用 TNF- α 及环氧化酶-2(COX-2)抑制剂,均可防止 DPN 的发生^[11-13]。在内皮细胞、雪旺细胞和神经元上,由 NF- κ B 介导的炎症细胞因子可引起巨噬细胞募集至糖尿病神经。巨噬细胞可通过多种机制促进糖尿病神经病变,包括产生 ROS、细胞因子和蛋白酶,导致髓鞘分解和细胞氧化应激损伤;过多的巨噬细胞募集还有可能损伤糖尿病神经病变的神经再生过程^[1,3]。血脂代谢异常与 DPN 密切相关,可能的机制包括:游离脂肪酸直接损伤体外培养的雪旺细胞,产生全身效应如促使炎症细胞因子从脂肪细胞和巨噬细胞释放,被氧化或糖基化所修饰了的低密度脂蛋白(LDLs)可与细胞外受体相结合,启动信号级联反应,激活 NAD-

PH 氧化酶,引起氧化应激;胆固醇可被氧化成羟固醇,引起神经元的细胞凋亡^[14,15]。

1.4 胰岛素信号受损 虽然胰岛素并不参与神经元对糖的摄取过程,但其被证实具有营养神经作用,可促进神经的生长和存活。胰岛素受体在背根神经节和分布于表皮的外周轴突的神经细胞上均有丰富表达,在外周神经受损和糖尿病时表达增多。因胰岛素缺乏(1 型糖尿病)或者胰岛素抵抗(2 型糖尿病)而导致的神经营养信号减弱,参与了糖尿病神经病变的发生。神经元的胰岛素抵抗缘于 PI3K/Akt 信号通路被抑制,与肌肉和脂肪组织的胰岛素抵抗相类似。该通路受损可引起线粒体功能障碍和氧化应激,进一步促进神经病变^[16]。

1.5 血管缺陷及血管营养素 糖尿病性血管神经病变最常见的结构异常为基底膜增厚,其与神经病变的严重程度高度相关。糖尿病神经病变与神经微循环营养血管的局部缺血和缺氧是相伴行的。许多典型的生长因子例如 VEGF、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)和神经生长因子(nerve growth factor, NGF)。IGF、NGF 和成纤维生长因子-2 都具有神经营养和生成血管的双重功效,因而被称为“血管营养素”。如 VEGF 能提高雪旺细胞的迁移和增殖,促进轴突生长及颈上神经节和背根神经节的神经元和雪旺细胞的生存。IGF 可促进神经母细胞瘤细胞的神经突生长,加速感觉和运动神经元的再生。研究表明这些血管营养素水平在糖尿病动物模型是下降的^[17]。

2 中药复方筋脉通胶囊对 DPN 的防治机制研究

DPN 在中医学古籍中并无相应病名,国家中医药管理局 DPN 协作组建议以“消渴”、“痹证”命名。通常认为,本病是因消渴(糖尿病)日久,耗气伤阴,阴阳气血亏虚,血行瘀滞,脉络痹阻所致^[18]。故治疗上多以益气、养阴、温阳、通络来立法,来进行遣方用药。近年来多项随机对照试验表明,补阳还五汤、血府逐瘀汤、当归四逆汤、黄芪桂枝五物汤等经典方剂或自拟方剂如筋脉通胶囊、通络蠲痹方等治疗 DPN 均取得了显著疗效^[19,20]。有关中药复方防治 DPN 的作用机制研究,本院中医科梁晓春教授所带领的课题组对其院内制剂筋脉通胶囊所进行的系列实验较为深入^[21-34]。筋脉通胶囊主要由菟丝子、女贞子、水蛭、桂枝、元胡、细辛等组成,具有补肾活血、温通经络功效。动物实验研究表明,筋脉通胶囊可改善糖尿病大鼠坐骨神经的形态测量学异常,提高神经传导速度;能

够降低 STZ 诱导的糖尿病大鼠的坐骨神经的山梨醇和醛糖还原酶浓度;提高超氧化物歧化酶(SOD)活性,降低丙二醛(MDA)、8-羟基脱氧鸟苷和活化的 caspase-3 水平;减少坐骨神经 AGEs 的生成,下调 RAGE 的异常表达;增加 NGF 及其受体 p75NTR 和 TrkA 的表达;下调神经诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、硝基酪氨酸(NT)、NADPH 氧化酶 p22-phox 亚基和 NF- κ B 的异常高表达,减轻细胞凋亡;还可通过增强背根神经节(DRG)的 Nrf2、HO-1 和 CO 的表达来改善糖尿病大鼠的周围神经痛。细胞实验研究显示,筋脉通含药血清可促进高糖环境培养雪旺细胞(SCs)的增殖能力及其分泌 NGF 水平,减少 SCs 中 ROS 生成,降低 PARP-1 的活性和酶解,减轻细胞 DNA 氧化损伤,抑制 NF- κ B 蛋白及其 mRNA 的表达;能降低高糖 DRG 超氧阴离子、caspase-3 mRNA 及其蛋白表达、细胞凋亡率,升高线粒体膜电位、Bcl-2 mRNA 及其蛋白表达等。

3 总结与展望

综上所述,DPN 的发病机制是十分复杂的,有多种因素共同参与,其中最重要的是高血糖。代谢途径的多元醇通路、己糖胺通路、PKC 通路、AGEs 通路和 PARP 通路等被激活后,产生过多的氧化应激,增加脂质、DNA 和蛋白质的过氧化反应,引起细胞凋亡和神经血供减少。增强了的氧化应激激活 PARP 通路,调节参与炎症反应和神经损伤的基因的表达。神经氧化应激和这 5 条代谢通路是相互影响的,并且是 DPN 神经血管功能障碍的中心病理机制,最终导致了轴突萎缩、脱髓鞘、神经纤维缺失和神经再生不良。脂代谢异常和代谢综合征的其他组分以及胰岛素信号异常等也是 DPN 的重要致病因素。中医中药虽然在防治 DPN 方面有一定疗效并逐步取得可喜进展,但有关中药复方防治 DPN 的作用机制研究还相对薄弱和滞后。应当紧密跟踪西医对 DPN 发病机制的认识,结合中医中药多靶点等综合优势,积极运用现代高科技手段,尽可能阐明中药复方的确切作用机制,为临床应用中药复方提供强有力的基础实验依据。

参 考 文 献

- [1] Farmer KL, Li C, Dobrowsky RT. Diabetic peripheral neuropathy: should a chaperone accompany our therapeutic approach[J]. *Pharmacol Rev*, 2012, 64(4): 880-900.
- [2] Nayak B, Kondeti VK, Xie P, et al. Transcriptional and post-translational modulation of myo-inosi-

- tol oxygenase by high glucose and related pathological stresses[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(31): 27594-27611.
- [3] Edwards JL, Vincent AM, Cheng HT, et al. Diabetic neuropathy: mechanisms to management[J]. *Pharmacol Ther*, 2008, 120(1): 1-34.
- [4] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications[J]. *Nature*, 2001, 414(6865): 813-820.
- [5] Madonna R, De Caterina R. Cellular and molecular mechanisms of vascular injury in diabetes - part I: pathways of vascular disease in diabetes[J]. *Vascul Pharmacol*, 2011, 54(3-6): 68-74.
- [6] Homs J, Ariza L, Pages G, et al. Comparative study of peripheral neuropathy and nerve regeneration in NOD and ICR diabetic mice[J]. *J Peripher Nerv Syst*, 2011, 16(3): 213-227.
- [7] Dieckmann A, Kriebel M, Andriambeloson E, et al. Treatment with Actovegin® improves sensory nerve function and pathology in streptozotocin-diabetic rats via mechanisms involving inhibition of PARP activation[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2012, 120(3): 132-138.
- [8] Chowdhury SK, Dobrowsky RT, Fernyhough P. Nutrient excess and altered mitochondrial proteome and function contribute to neurodegeneration in diabetes[J]. *Mitochondrion*, 2011, 11(6): 845-854.
- [9] Urban MJ, Pan P, Farmer KL, et al. Modulating molecular chaperones improves sensory fiber recovery and mitochondrial function in diabetic peripheral neuropathy[J]. *Exp Neurol*, 2012, 235(1): 388-396.
- [10] Zhang L, Zhao H, Blagg BS, et al. C-terminal heat shock protein90 inhibitor decreases hyperglycemia-induced oxidative stress and improves mitochondrial bioenergetics in sensory neurons[J]. *J Proteome Res*, 2012, 11(4): 2581-2593.
- [11] Purwata TE. High TNF-alpha plasma levels and macrophages iNOS and TNF-alpha expression as risk factors for painful diabetic neuropathy[J]. *J Pain Res*, 2011, 4: 169-175.
- [12] Yamakawa I, Kojima H, Terashima T, et al. Inactivation of TNF- α ameliorates diabetic neuropathy in mice[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2011, 301(5): E844-E852.
- [13] Kellogg AP, Wiggin TD, Larkin DD, et al. Protective effects of cyclooxygenase-2 gene inactiva-

- tion against peripheral nerve dysfunction and intraepidermal nerve fiber loss in experimental diabetes[J]. *Diabetes*, 2007, 56(12): 2997–3005.
- [14] Vincent AM, Callaghan BC, Smith AL, et al. Diabetic neuropathy: cellular mechanisms as therapeutic targets[J]. *Nat Rev Neurol*, 2011, 7(10): 573–583.
- [15] Nowicki M, Muller K, Serke H, et al. Oxidized low-density lipoprotein (oxLDL)-induced cell death in dorsal root ganglion cell cultures depends not on the lectin-like oxLDL receptor-1 but on the Toll-like receptor-4[J]. *J Neurosci Res*, 2010, 88(2): 403–412.
- [16] Kim B, Feldman EL. Insulin resistance in the nervous system[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2012, 23(3): 133–141.
- [17] Kim H, Kim JJ, Yoon YS. Emerging therapy for diabetic neuropathy: cell therapy targeting vessels and nerves[J]. *Endocr Metab Immune Disorder Drug Targets*, 2012, 12(2): 168–178.
- [18] 庞国明, 闫镛, 朱璞, 等. 糖尿病周围神经病变中医诊疗规范初稿[J]. *中华中医药杂志*, 2010, 25(2): 260–264.
- [19] 黄达, 李鸣镝, 林兰. 中医药治疗糖尿病周围神经病变研究进展[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2013, 19(6): 719–722.
- [20] 吴群励, 梁晓春, 姜楠, 等. 中药筋脉通胶囊治疗糖尿病周围神经病变的临床疗效观察[J]. *世界中西医结合杂志*, 2012, 7(10): 860–865.
- [21] 梁晓春, 张宏, 郭赛珊, 等. 筋脉通对糖尿病大鼠坐骨神经传导速度、醛糖还原酶及山梨醇浓度的影响[J]. *中国糖尿病杂志*, 2000, 8(1): 37–39.
- [22] 郝伟欣, 贾力, 徐惠媛, 等. 筋脉通对大鼠坐骨神经传导速度及红细胞抗氧化作用的影响[J]. *中国新药杂志*, 2003, 12(5): 343–345.
- [23] 黄文智, 梁晓春, 王普艳, 等. 筋脉通对实验性糖尿病大鼠坐骨神经 AGEs 及其受体表达的影响[J]. *中国中医药杂志*, 2011, 26(4): 806–809.
- [24] 李伯武, 梁晓春, 王普艳, 等. 筋脉通对糖尿病大鼠坐骨神经 NADPH 氧化酶 p22-phox 亚基表达的影响[J]. *医学研究杂志*, 2011, 40(5): 43–46.
- [25] 屈岭, 梁晓春, 吴群励, 等. 筋脉通对糖尿病大鼠周围神经组织神经生长因子表达的影响[J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(21): 2539–2544.
- [26] 吴群励, 梁晓春, 高云周, 等. 筋脉通胶囊对糖尿病大鼠坐骨神经生长因子受体 p75NTR 及 TrkA 表达的影响[J]. *北京中医药*, 2013, 32(7): 548–552.
- [27] 孙青, 梁晓春, 王普艳, 等. 筋脉通对糖尿病大鼠周围神经组织诱导型一氧化氮合酶和硝基络氨酸表达的影响[J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(3): 348–352.
- [28] 姜楠, 梁晓春, 屈岭, 等. 筋脉通胶囊对糖尿病大鼠坐骨神经形态测量学及核转录因子 κB 蛋白表达的影响[J]. *环球中医药*, 2012, 5(2): 100–104.
- [29] 张倩, 梁晓春, 孙青, 等. 筋脉通对糖尿病大鼠背根神经节氧化应激的影响[J]. *协和医学杂志*, 2012, 3(4): 441–447.
- [30] 吴群励, 张宏, 朴元林, 等. 筋脉通胶囊通过增强背根神经节 Nrf2 和 HO-1 的表达改善糖尿病大鼠的周围神经痛[J]. *基础医学与临床*, 2014, 34(2): 179–184.
- [31] 石玥, 梁晓春, 张宏, 等. 筋脉通含药血清降低高糖培养大鼠雪旺细胞活性氧水平集 PARP-1 蛋白表达[J]. *基础医学与临床*, 2012, 32(9): 1059–1063.
- [32] 吴群励, 梁晓春, 张宏, 等. 中药筋脉通含药血清对高糖培养雪旺细胞 NF- κB 表达的影响[J]. *世界中西医结合杂志*, 2011, 6(6): 478–481.
- [33] 赵丽, 梁晓春, 张宏, 等. 筋脉通含药血清对高糖培养的 Schwann 细胞诱导型一氧化氮合酶和 NADPH 氧化酶 p22-phox 亚基表达的影响[J]. *中西医结合学报*, 2011, 9(3): 299–305.
- [34] 孙青, 梁晓春, 张宏, 等. 筋脉通含药血清对高糖培养背根神经节神经元氧化应激及细胞凋亡的影响[J]. *中成药*, 2013, 35(7): 1390–1395.

(收稿:2013-03-04 修回:2014-03-14)