

本文引用: 马 静, 阿曼古丽·苏力唐, 藏 登, 李 惠, 徐利娟, 铁 玲, 王 冲, 王先敏, 马 丽. 温通活血乳膏调控 PERK-eIF2 α 通路介导内质网应激改善糖尿病周围神经病变的研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(3): 464-471.

温通活血乳膏调控 PERK-eIF2 α 通路介导内质网应激改善糖尿病周围神经病变的研究

马 静¹, 阿曼古丽·苏力唐², 藏 登², 李 惠², 徐利娟², 铁 玲², 王 冲¹, 王先敏², 马 丽^{2*}

1.新疆医科大学第四临床医学院, 新疆 乌鲁木齐市 830099; 2.新疆维吾尔自治区中医医院, 新疆 乌鲁木齐市 830099

〔摘要〕 目的 本研究旨在探讨温通活血乳膏对糖尿病周围神经病变(DPN)大鼠坐骨神经内质网应激信号通路的影响,以揭示该药物在改善糖尿病引起的周围神经病变中的潜在作用机制。方法 研究取 60 只 SD 大鼠,采用随机数字表法,随机挑选 10 只大鼠设为空白组,给予基础饲料。其余大鼠给予高糖高脂饲料 6 周,给予链脲佐菌素腹腔注射建立糖尿病模型,成模后继续给予高糖高脂饮食 8 周,当双下肢坐骨神经的感觉或运动传导速度减缓超过 11 %,则判定为 DPN 大鼠模型。将大鼠随机分为 5 组:模型组,模型+空白乳膏组,模型+温通活血乳膏低剂量组(WTHX 低剂量组),模型+温通活血乳膏中剂量组(WTHX 中剂量组),模型+温通活血乳膏高剂量组(WTHX 高剂量组),每组 10 只,中药干预 4 周。本次实验观测各组大鼠一般情况,检测治疗前后血糖水平;治疗结束后,进行热甩尾实验;并采用光镜观察坐骨神经病理变化,电镜观察坐骨神经、腓肠肌的超微结构变化;Western bolt 检测坐骨神经中磷酸化蛋白激酶 R 样内质网激酶(p-PERK)、PERK、磷酸化真核翻译起始因子 2 α 激酶(p-eIF2 α)、eIF2 α 、活化转录因子 4(ATF4)、C/EBP 同源蛋白(CHOP)、胱天蛋白酶 3(Caspase-3)蛋白表达水平;TUNEL 法检测坐骨神经细胞凋亡情况。结果 与空白组相比,模型组对热敏感性降低、潜伏期延长($P<0.001$);坐骨神经及腓肠肌病理变化和超微结构发生明显改变;p-PERK、p-eIF2 α 、ATF4、CHOP、Caspase-3 蛋白的表达水平均过表达($P<0.001$)。与模型组相比,WTHX 低、中、高剂量组热甩尾时间缩短($P<0.01$),并有效改善坐骨神经及腓肠肌病理损伤与超微结构紊乱。WTHX 高剂量组可显著下调坐骨神经中 p-PERK、p-eIF2 α 、ATF4、CHOP、Caspase-3 蛋白表达水平($P<0.01$),减轻内质网应激水平。结论 温通活血乳膏通过调控 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 通路抑制内质网应激相关凋亡,进而发挥对 DPN 神经与肌肉的双重保护作用。

〔关键词〕 糖尿病周围神经病变;温通活血乳膏;内质网应激;细胞凋亡;PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 通路

〔中图分类号〕 R285.5

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.03.005

Wentong Huoxue Ointment ameliorates diabetic peripheral neuropathy by regulating PERK-eIF2 α pathway-mediated endoplasmic reticulum stress

MA Jing¹, Amanguli Suletang², ZANG Deng², LI Hui², XU Lijuan², TIE Ling², WANG Chong¹,
WANG Xianmin², MA Li^{2*}

1. The Fourth Clinical Medical College of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830099, China; 2. Xinjiang
Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi, Xinjiang 830099, China

〔Abstract〕 **Objective** To investigate the effects of Wentong Huoxue (WTHX) Ointment on the endoplasmic reticulum stress signaling pathway in the sciatic nerve of rats with diabetic peripheral neuropathy (DPN), and to explore its potential mechanism of action in alleviating diabetes-induced peripheral neuropathy. **Methods** Sixty SD rats were used in the study, and 10 rats were randomly selected as the blank group and given basic diet by using the random number table method. The other rats were given high sugar and high-fat diet for 6 weeks, and streptozotocin was injected intraperitoneally to establish the diabetes model. After the model was established, the rats were given high sugar and high-fat diet for 8 weeks. When the sensory or

〔收稿日期〕 2025-10-23

〔基金项目〕 新疆维吾尔自治区重点研发项目(2023B03002-3);新疆医科大学附属中医医院重点项目(ZYY2023ZD3)。

〔通信作者〕 * 马 丽,女,教授,博士,E-mail:malixj322122@163.com。

motor conduction velocity of sciatic nerve in both lower limbs slowed down by more than 11%, it was judged as the DPN rat model. DPN rats were randomly divided into five groups: model group, model + blank cream group, model + Wentong Huoxue cream low-dose group (WTHX low-dose group), model + Wentong Huoxue cream medium dose group (WTHX medium dose group), model + Wentong Huoxue cream high-dose group (WTHX high-dose group), 10 rats in each group, with drug intervention for 4 weeks. In this experiment, the general conditions of rats in each group were observed, and blood glucose levels were measured before and after treatment. After treatment completion, the hot plate tail-flick test was performed. Pathological changes in the sciatic nerve were observed under light microscopy, and ultrastructural changes in the sciatic nerve and gastrocnemius muscle were examined under electron microscopy. The protein expression levels of p-PERK, PERK, p-eIF2 α , eIF2 α , ATF4, CHOP, and Caspase-3 in the sciatic nerve were detected by Western blot. Cell apoptosis in the sciatic nerve was assessed using the TUNEL method. **Results** Compared with the blank group, the model group showed reduced thermal sensitivity and prolonged tail-flick latency ($P<0.001$). Significant pathological and ultrastructural changes were observed in the sciatic nerve and gastrocnemius muscle. The expression levels of p-PERK, p-eIF2 α , ATF4, CHOP, and Caspase-3 proteins were significantly upregulated ($P<0.001$). Compared with the model group, the low-, medium-, and high-dose WTHX groups exhibited shortened tail-flick latency ($P<0.001$) and significantly ameliorated pathological damage and ultrastructural disorders in the sciatic nerve and gastrocnemius muscle. The high-dose WTHX group significantly downregulated the expression levels of p-PERK, p-eIF2 α , ATF4, CHOP, and Caspase-3 proteins in the sciatic nerve ($P<0.01$), thereby alleviating endoplasmic reticulum stress. **Conclusion** WTHX Ointment exerts dual protective effects on nerves and muscles in DPN by regulating the PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP pathway to inhibit endoplasmic reticulum stress-related apoptosis.

[**Keywords**] diabetic peripheral neuropathy; Wentong Huoxue Ointment; endoplasmic reticulum stress; apoptosis; PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP pathway

糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)是糖尿病患者中最常见的慢性并发症之一,不仅影响患者的生活质量,同时也增加了社会及家庭的经济负担。据估计,约有 50%的糖尿病患者最终会发展为 DPN^[1]。DPN 可能导致足部溃疡、坏疽,甚至截肢,这些并发症对患者的健康构成严重威胁。因此,将 DPN 防治关口前移,对于改善患者的预后具有重要意义^[2]。

根据 DPN 的病证特点,本病应归属于“痹证”“消渴痹证”范畴。其核心病机是消渴日久,气阴暗耗,气虚无力推动血行,导致血行凝滞、脉络瘀阻。现代医学揭示,DPN 病理机制主要有持续高糖引起的微血管功能障碍、神经缺血缺氧,更可激活内质网应激反应通道^[3]。蛋白激酶 R 样内质网激酶(protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase, PERK)/真核翻译起始因子 2 α 激酶(eukaryotic initiation factor 2 α , eIF2 α)/活化转录因子 4(activating transcription factor 4, ATF4)/C/EBP 同源蛋白(C/EBP-homologous protein, CHOP)通路是内质网应激时发挥关键作用的通路,PERK 蛋白磷酸化 eIF2 α ,选择性地诱导 ATF4 的 mRNA 转录,ATF4 持续过表达则会激活 CHOP 等基因的表达,CHOP 是诱导内质网应激凋亡途径的关键因子,从而诱导细胞凋亡,导致 DPN

发生^[4]。温通活血乳膏(简称 WTHX)为新疆医科大学附属中医医院多年院内制剂,由川芎、红花、桂枝、细辛、白芷、地龙、辣椒这 7 味草药组成,整方具有温经通络、活血散瘀、消肿止痛之效。前期临床观察表明,WTHX 能有效改善 DPN 患者临床症状及神经传导速度^[5],并在一定程度上延缓糖尿病引起的周围神经病变的进展^[6]。基础研究表明,WTHX 具有抑制细胞凋亡的作用^[7],而内质网应激是诱发细胞凋亡的关键上游通路^[8]。为深入探究其作用机制,本研究通过建立 DPN 大鼠模型,观察温通活血乳膏对减轻 DPN 所致运动功能障碍、感觉异常以及神经结构损伤的作用,并从内质网应激途径揭示其发挥神经保护作用的分子机制,旨在为临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物来源

选取 60 只 8 周龄健康雄性 SPF 级 SD 大鼠,体质量 200~250 g,均由新疆医科大学实验动物研究中心提供[生产许可证号:SCXK(新)2011-0001]。动物实验伦理批号:IACUC-20210805-5。

1.2 药物及主要试剂

温通活血乳膏[由川芎、红花、桂枝、地龙等药物

制成,为已注册的医疗机构制剂,批准文号:新药制字(新疆)Z20052604,执行制剂标准:ZZJ-0009-2009];空白乳膏(不含上述中药组方的基质膏剂)。

链脲佐菌素[西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司,批号:2014122901];p-eIF2 α 抗体(美国 Cell Signaling Technology 生物技术公司,货号:3398T);PERK 抗体(货号:ab229912)、eIF2 α 抗体(货号:ab169528)均购自艾博抗(上海)贸易有限公司;p-PERK 抗体(货号:82534-1-RR)、山羊抗兔(货号:SA00001-2)、山羊抗鼠(货号:SA00001-1)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;ATF4 抗体(货号:GB11813-50)、CHOP 抗体(货号:GB115762-50)、Caspase-3 抗体(货号:GB11767C-50)、 β -actin 抗体(货号:GB12001-100)、超敏 ECL 化学发光试剂盒(货号:G2020-50 mL)、一步法 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(货号:GDP1042)均购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.3 主要仪器

酶标仪(型号:xMark™)、蛋白转膜仪(型号:Mini-PROTEAN Tetra system)、PowerPac™ 垂直电泳仪(型号:1658029)均购自伯乐生命医学产品(上海)有限公司;电子天平(型号:DY15K,上海菁海仪器有限公司);台式高速冷冻离心机[型号:S-79904,赛默飞世尔科技(中国)有限公司];研磨仪(型号:KZ-III-FP)、多功能摇床(型号:DS-3D100)均购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

2 方法

2.1 造模

本研究根据课题组之前的研究方法^[9],采用计算机生成的随机数字表法,随机挑选 10 只大鼠设立空白组,给予基础饲料,其余大鼠则给予高糖高脂饲料(由 70%常规饲料、20%蔗糖和 10%猪油组成),持续 6 周。诱发胰岛素抵抗后继以单次小剂量的链脲佐菌素腹腔注射(剂量为 35 mg·kg⁻¹),空白组仅给予柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液平行进行实验。在注射后的第 7 天,从各组大鼠的尾尖处抽取血液,以测空腹血糖值 ≥ 11.1 mmol·L⁻¹ 为糖尿病大鼠模型建立成功。造模成功后,继续维持高糖高脂饮食,持续 8 周。当双下肢坐骨神经的感觉或运动传导速度减慢超过 11%,则判定为 DPN 大鼠模型^[9]。

2.2 分组与给药

将成模的 DPN 大鼠随机分为 5 组,分别为模型组、模型+空白乳膏组、模型+温通活血乳膏低剂量组(WTHX 低剂量组)、模型+温通活血乳膏中剂量组(WTHX 中剂量组)、模型+温通活血乳膏高剂量组(WTHX 高剂量组)。实验过程中,对所有大鼠的后肢进行剃毛处理后施加药物。空白组和模型组的大鼠均涂抹 0.8 g 的空白乳膏,WTHX 低、中、高剂量组分别涂抹 0.2、0.4、0.8 g 的温通活血乳膏。各组大鼠在涂抹药物后,采用颈圈固定其头部,经过 4 h 后则用温水清洗施用的药物。在整个实验期间,药物的给药频率为每天 1 次,持续时间为 4 周。

2.3 标本取材与处理

给药 4 周后,各组大鼠经腹腔注射麻醉后统一取材,所有组织标本均于冰上操作,严格遵循无菌、低温原则,具体取材部位及处理方式如下:

坐骨神经组织:分离大鼠双侧坐骨神经。左侧坐骨神经分为两段,一段置于 4%多聚甲醛固定液中,用于光镜观察及 TUNEL 细胞凋亡检测;另一段置于 2.5%戊二醛固定液中,用于电镜超微结构观察。右侧坐骨神经迅速置于液氮中冷冻,随后转移至-80℃冰箱保存,用于 Western blot 检测蛋白表达。

腓肠肌组织:分离大鼠右侧腓肠肌,取肌腹部位组织,置于 2.5%戊二醛固定液中,用于电镜超微结构观察。

2.4 一般情况观察

实验期间观察各组大鼠的精神状态、毛发颜色、质量、身体灵活性及检测治疗前后血糖水平。

2.5 热甩尾实验

热甩尾实验:使用 49℃的恒温热水作为刺激源,每只实验动物仅进行一次测试。将大鼠的尾部浸入预设温度的恒温热水中,记录其尾部从接触热水到抽离水面的时长,此段时间为热甩尾潜伏期。通过热甩尾实验测定大鼠的热痛潜伏期时间参数^[10],能够客观量化其痛觉敏感性,潜伏期的改变直接反映了大鼠对伤害性热刺激的感知能力。

2.6 光镜观察大鼠坐骨神经病理变化

将 4%多聚甲醛固定的坐骨神经组织梯度脱水,随后进行石蜡包埋。对包埋后组织进行切片制备,经过脱水及清洗等步骤后,进行 HE 染色处理切

片。最后,将切片进行封固,并在光学显微镜下观察并采集图像数据。

2.7 电镜观察大鼠坐骨神经及腓肠肌病理组织超微结构

将置于 2.5%戊二醛固定液中保存的坐骨神经、腓肠肌组织,染色,脱水,环氧树脂包埋。使用超薄切片机制备 50~70 nm 超薄切片,醋酸铀-枸橼酸铅双重染色后,于透射电子显微镜对组织的超微结构进行成像。

2.8 Western blot 检测大鼠坐骨神经内质网应激核心蛋白表达情况

取-80℃保存的坐骨神经组织,液氮中充分研磨,以提取总蛋白。采用 BCA 法测定蛋白浓度并进行定量。取 20 μg 蛋白样品,进行 SDS-PAGE 电泳分离,随后通过半干转印法将蛋白转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。随后,使用封闭液对转膜进行 1 h 的封闭处理,在 4℃下孵育一抗过夜,所用一抗及稀释比例如下:p-PERK(1:2 000)、PERK(1:1 000)、p-eIF2α(1:1 000)、eIF2α(1:1 000)、ATF4(1:1 000)、CHOP(1:1 000)、Caspase-3 (1:1 000) 及内参β-actin (1:5 000)。次日洗膜后,加入二抗(1:5 000),在室温下孵育 1 h。再次洗膜后,使用 ECL 化学发光试剂显影,通过化学发光仪采集图像。以 β-actin 作为内参,通过 ImageJ 等软件分析目标蛋白条带的灰度值,计算其相对表达水平。

2.9 TUNEL 检测大鼠坐骨神经细胞凋亡

将坐骨神经石蜡切片脱蜡水化,用 20 μg·mL⁻¹ 的免疫染色洗涤液,37℃下处理 15 min。随后,应用过氧化物酶抑制剂进行 20 min 的孵育。避光条件添加 50 μL 生物素标记的反应液,于 37℃下反应 60 min。加入 50 μL 链霉亲和素-HRP 复合物,继续室温孵育 30 min。最后,使用 DAPI 进行复染,并通过荧光显微镜进行成像。

2.10 统计学方法

数据分析作图使用 Graphpad Prism 9.5 统计软件,实验数据以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,符合正态性及方差齐性的两组间差异比较采用 *t* 检验,多组间比较采用 *F* 检验,*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况观察

造模过程中,空白组的大鼠精神状态良好;模型组大鼠则出现多尿现象,毛发颜色呈现暗黄色,活动能力下降,部分大鼠出现眼底病变(眼底区域出现白色浑浊,且无光感反应);模型+空白乳膏组大鼠一般情况与模型组相近,未观察到明显改善作用;各给药组大鼠上述症状在干预期间较模型组略有改善。

3.2 各组大鼠血糖情况比较

与空白组比较,模型组及各用药组大鼠治疗前后血糖明显升高(*P*<0.001);与模型组比较,各用药组差异无统计学意义(*P*>0.05)。详见表 1。

表 1 各组大鼠治疗前后血糖比较($\bar{x}\pm s$, *n*=10)

Table 1 Comparison of blood glucose levels among different groups of rats before and after treatment ($\bar{x}\pm s$, *n*=10)

组别	治疗前/(mmol·L ⁻¹)	治疗后/(mmol·L ⁻¹)
空白组	5.09±0.38	5.40±0.54
模型组	28.77±3.26***	30.68±3.10***
模型+空白乳膏组	28.80±4.54***	30.74±2.39***
WTHX 低剂量组	28.98±3.20***	30.94±2.30***
WTHX 中剂量组	29.55±4.39***	29.03±3.89***
WTHX 高剂量组	29.06±3.84***	30.98±2.20***
<i>F</i> 值	52.43	121.48
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001

注:与空白组比较,****P*<0.001。

3.3 各组大鼠热甩尾实验结果比较

与空白组比较,模型组热甩尾时间延长(*P*<0.001);与模型组相比,模型+空白乳膏组热甩尾时间差异无统计学意义(*P*>0.05),WTHX 低、中、高剂量组热甩尾时间缩短(*P*<0.01, *P*<0.001)。详见图 1。

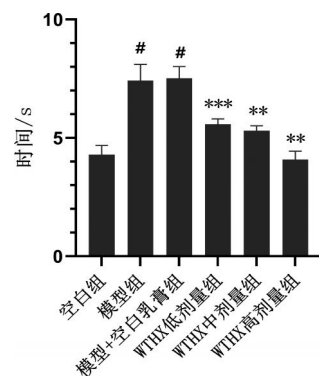


图 1 各组大鼠热甩尾时间

Fig.1 Thermal tail-flick latency of rats in each group

注:与空白组比, #*P*<0.001,与模型组比, ***P*<0.01, ****P*<0.001。

3.4 各组大鼠坐骨神经病理变化

空白组坐骨神经纤维排列致密,轴突形态完整,髓鞘结构清晰,施万细胞分布均匀;模型组神经纤维结构紊乱,轴突肿胀萎缩,部分髓鞘崩解,间质水肿明显;模型+空白乳膏组及 WTHX 低剂量组可见坐骨神经纤维呈现扭曲现象,部分神经纤维出现变性和萎缩;WTHX 中剂量组坐骨神经纤维呈现比较饱满且均匀,髓鞘连续性改善;WTHX 高剂量组,坐骨神经纤维排列较为致密,髓鞘厚度均匀,与空白对照组接近。详见图 2。

3.5 各组大鼠坐骨神经超微结构变化

空白组大鼠坐骨神经横截面髓鞘结构均匀致密,轴突形态正常。模型组大鼠坐骨神经髓鞘结构紊乱,

并向轴突和基质侧扩展,形成髓鞘内折现象,部分出现髓鞘间隙增加,形成空泡;模型+空白乳膏组仅有轻微改善。WTHX 各剂量组则呈现显著的剂量依赖性修复作用,具体表现为髓鞘脱失减轻、轴突形态恢复,其中 WTHX 高剂量组的神经纤维结构已接近空白组水平。详见图 3。

3.6 各组大鼠腓肠肌超微结构变化

空白组大鼠腓肠肌肌丝排列整齐、致密,线粒体排列正常,而模型组腓肠肌纤维出现明显损伤,线粒体出现了空泡增大、Z 线断裂,肌丝排列紊乱;模型+空白乳膏组肌纤维损伤改善不明显,WTHX 低、中剂量组对肌纤维损伤稍有改善作用,而 WTHX 高剂量组显著改善了大鼠腓肠肌纤维结构及线粒体形

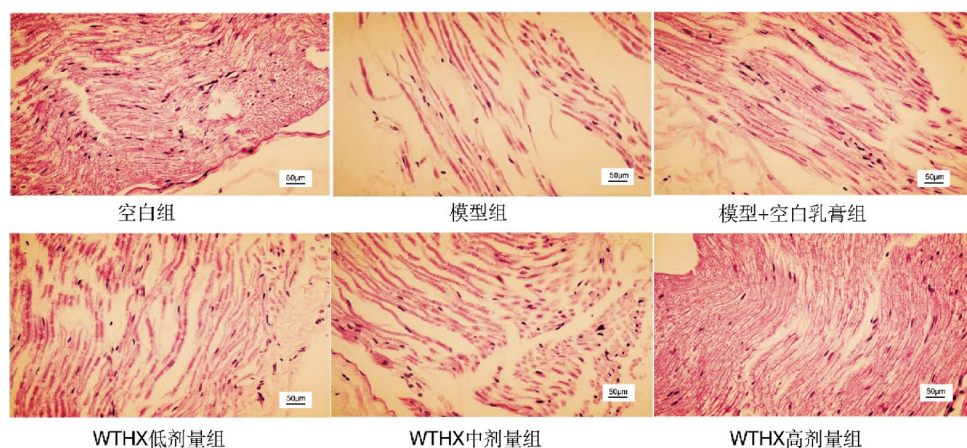


图 2 各组大鼠坐骨神经病理变化(HE, $\times 200$, 标尺=50 μm)

Fig.2 Pathological changes of the sciatic nerve in rats of each group (HE, $\times 200$, scale bar=50 μm)

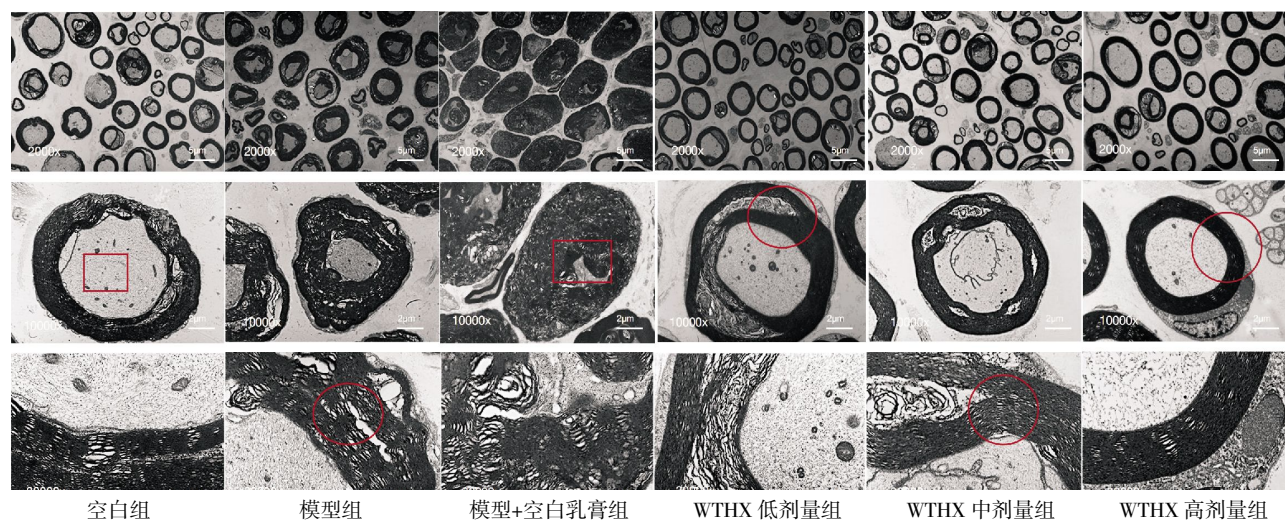


图 3 各组大鼠坐骨神经超微结构(从上至下依次为 $\times 2\,000$ 、 $\times 10\,000$ 、 $\times 30\,000$,标尺=5 μm 、2 μm 、500 nm)

Fig.3 Ultrastructural images of the sciatic nerve in rats of each group (from top to bottom: $\times 2\,000$, $\times 10\,000$, $\times 30\,000$, scale bar=5 μm , 2 μm , 500 nm)

注:红色○表示髓鞘,红色□表示轴突。

态。详见图4。

3.7 各组大鼠坐骨神经中内质网应激核心蛋白表达比较

与空白组比较,模型组及模型+空白乳膏组坐骨神经内质网应激相关蛋白 p-PERK、p-eIF2 α 、ATF4、CHOP、Caspase-3 蛋白的表达水平均显著增

高($P<0.001$)。WTHX 干预后,中、高剂量组可抑制上述蛋白的过度表达($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$),其中 WTHX 高剂量组蛋白表达量下降最为显著($P<0.001$)。详见图5。

3.8 各组大鼠坐骨神经细胞凋亡结果

与空白组比较,模型组凋亡细胞数量最多;与模

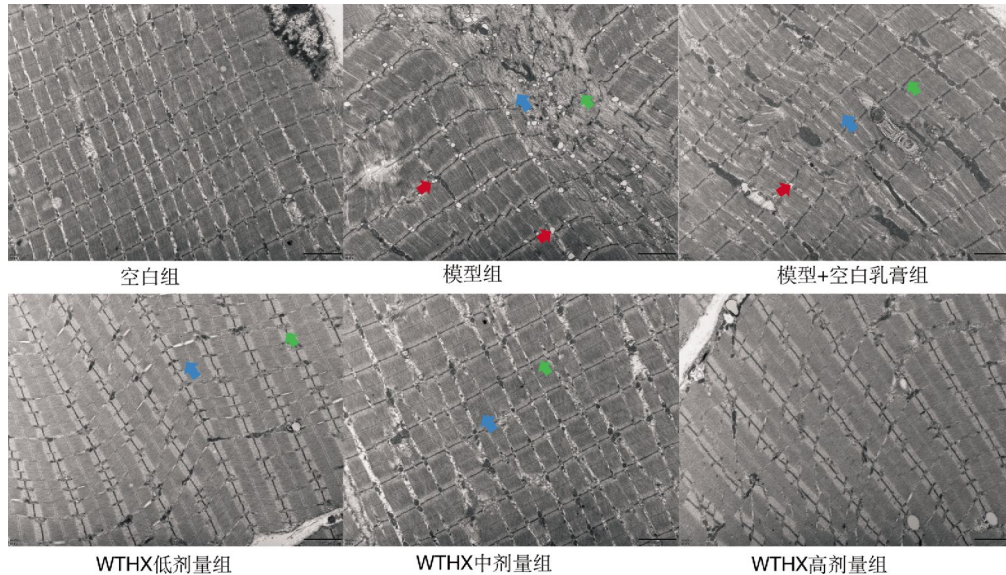


图4 各组大鼠腓肠肌超微结构图($\times 10\ 000$, 标尺=2 μm)

Fig.4 Ultrastructural images of the gastrocnemius muscle in rats of each group ($\times 10\ 000$, scale bar=2 μm)

注:红色箭头表示线粒体空泡;蓝色箭头表示肌丝;绿色箭头表示Z线。

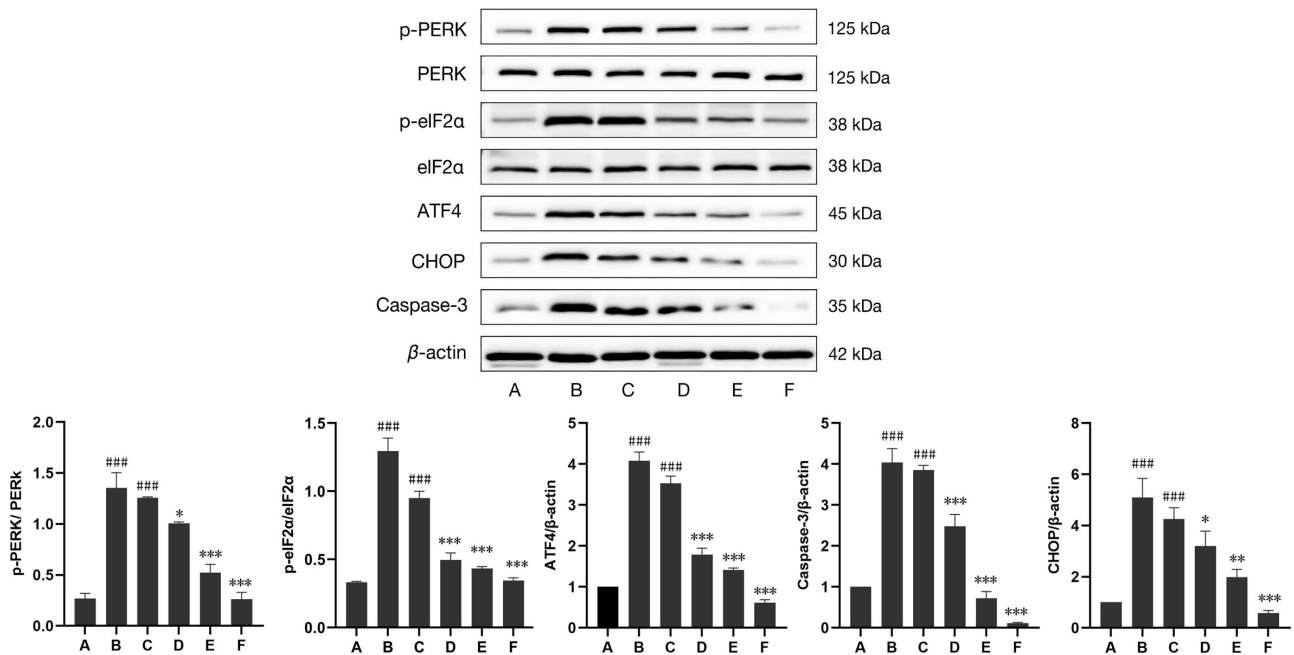


图5 各组大鼠坐骨神经 p-PERK、PERK、p-eIF2 α 、eIF2 α 、ATF4、CHOP 蛋白表达的电泳及柱状图($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig.5 Electrophoresis images and bar graphs of p-PERK, PERK, p-eIF2 α , eIF2 α , ATF4, and CHOP protein expressions in the sciatic nerve of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

注:A.空白组;B.模型组;C.模型+空白乳膏组;D.WTHX 低剂量组;E.WTHX 中剂量组;F.WTHX 高剂量组。与空白组比,### $P<0.001$;与模型组比,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ 。

型组相比,模型+空白乳膏组凋亡细胞数据有所减少,而 WTHX 各剂量组随着中药剂量增加细胞凋亡数量逐渐减少,高剂量组凋亡细胞数量最少。详见图 6。

4 讨论

DPN 的典型临床表现包括对称性双侧远端肢体感觉减退、痛觉过敏及感觉异常等^[11],中医在临床辨证时认为此类表现的病机是血行凝滞、脉络瘀阻。温通活血乳膏方中川芎、红花活血化瘀,通络止痛;桂枝、细辛、白芷温经散寒,宣痹止痛;地龙搜风通络;辣椒温中止痛。诸药合用,共奏温经通络、活血散瘀、消肿止痛之功。其以清代王清任《医林改错》之名方“通窍活血汤”为立法基础,并结合我国西北地区寒燥相兼的地域性致病特点进行化裁,主要用于改善消渴病日久所继发的四肢疼痛、麻木、畏寒等症状。现代药理学研究表明,川芎具有调控内源性致痛因子、调节血循环、糖脂代谢、促进神经元再生和修复等作用^[12];红花具有抗凝血、保护神经系统、抗氧化、抗炎、镇痛等作用^[13];桂枝、白芷均具有镇痛、抗炎、抗氧化的作用^[14-16];地龙增强免疫调节^[17];辣椒镇痛^[18]。全方 7 味药共奏温经通络、活血散瘀、消肿止痛功效。

在本研究中,WTHX 各剂量组表现出感觉神经

潜伏期显著缩短、神经传导速度显著提升,并增强了对热刺激的敏感性;其中,WTHX 高剂量组在改善感觉神经传导速度方面的效果尤为突出。DPN 的常规治疗多聚焦于控制血糖,本次研究中 WTHX 对全身血糖水平无显著调节作用,但仍可改善神经功能。这说明 WTHX 并非通过传统降糖途径治疗 DPN,而是直接作用于神经病变的通路。

WTHX 采用乳膏剂型局部外用,可使药物活性成分直接作用于病变肢体,同时减少全身用药的不良反应,尤其适合 DPN 这类以肢体远端为主要病变部位的慢性疾病。从病理机制上看,长期高糖环境下,ERS 影响了细胞内蛋白质的正确折叠和代谢过程,导致未折叠或错误折叠蛋白质的累积^[19]。这种累积会触发未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR),进而可能引发细胞功能障碍乃至程序性细胞死亡^[20-21]。UPR 失衡导致 p-PERK/p-eIF2 α /ATF4/CHOP 信号级联异常活化,进而通过 CHOP 介导的 Bax/Caspase-3 通路触发神经元凋亡^[22-23]。在 DPN 进程中,坐骨神经通过上述通路发生的细胞凋亡可导致轴突退变与脱髓鞘,进而引起神经传导功能障碍,最终引发其所支配的腓肠肌发生神经营养性萎缩。

本实验研究表明,DPN 模型大鼠坐骨神经中与内质网应激相关的 p-PERK、p-eIF2 α 和 ATF4、CHOP、Caspase-3 的蛋白表达显著增加,经 WTHX 干预后,

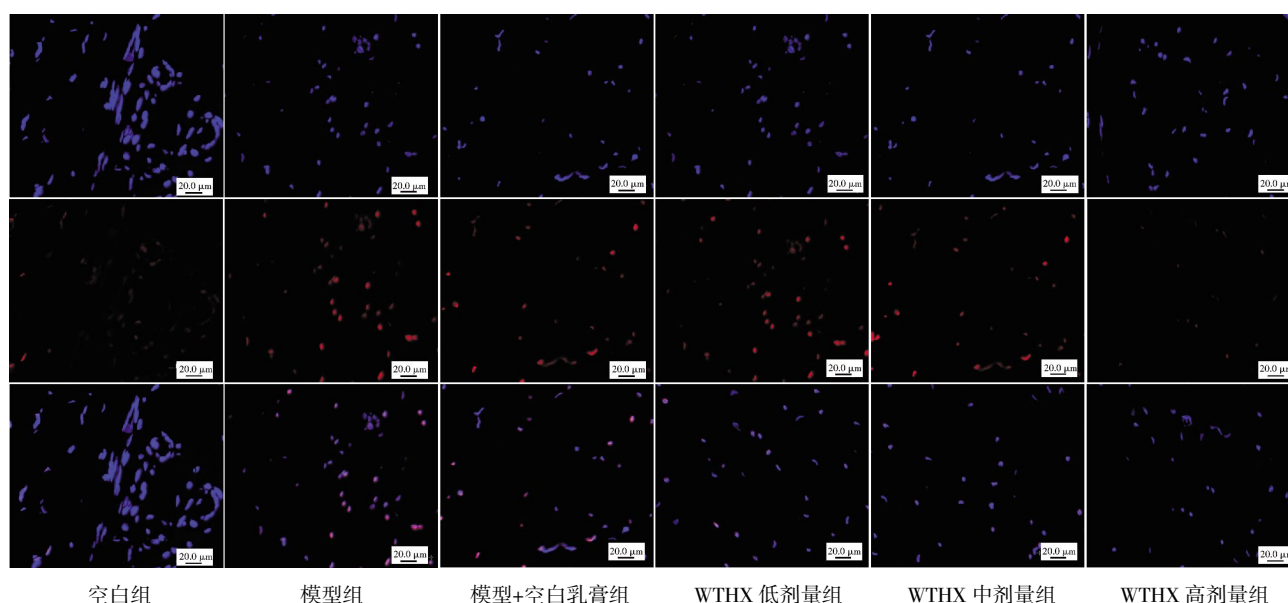


图 6 TUNEL 法检测各组大鼠坐骨神经细胞凋亡图(TUNEL, $\times 50$, 标尺=20 μm)

Fig.6 Test of neuronal apoptosis in the sciatic nerve of rats in each group by TUNEL assay (TUNEL, $\times 50$, scale bar=20 μm)

这些蛋白的表达显著降低,细胞凋亡率也随之降低。组织病理学结果同步显示,WTHX能显著修复坐骨神经脱髓鞘病变,减轻腓肠肌组织肌纤维排列紊乱程度,恢复线粒体嵴结构完整性。这些结果提示,温通活血乳膏可能通过抑制 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 信号途径,减轻内质网应激介导的细胞凋亡,不仅直接保护了坐骨神经,也间接阻断了肌肉病变的启动环节,为防治 DPN 提供了新的实验依据。

综上所述,温通活血乳膏依托局部给药优势,直接作用于病变部位,通过调控 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 通路抑制内质网应激相关凋亡,进而发挥神经与肌肉的双重保护作用。

参考文献

- [1] 郭羽乔,李亦梅. 糖尿病周围神经病变治疗研究进展[J]. 临床医学进展, 2023, 13(6): 9013-9022.
- [2] 姜天缘,刘芳. 糖尿病周围神经病变的机制与治疗:最新进展与研究动态[J]. 中华糖尿病杂志, 2024, 16(6): 604-610.
- [3] 曹迪,肖礼祖,樊碧发,等. 糖尿病周围神经病变线粒体机制研究进展[J]. 中国疼痛医学杂志, 2025, 31(3): 164-171.
- [4] WU H, ZHANG Y, LIANG J, et al. Lithium chloride induces apoptosis by activating endoplasmic reticulum stress in pancreatic cancer[J]. Translational Oncology, 2023, 38: 101792.
- [5] 沈玉国,冯程程,马静. 温通活血乳膏治疗早期糖尿病下肢血管病变的疗效观察[J]. 临床医药文献电子杂志, 2016, 3(58): 11653-11654, 1656.
- [6] 李静. 温通活血乳膏治疗气虚血瘀型糖尿病周围神经病变患者的临床疗效观察及对 C 反应蛋白水平的影响[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学, 2020.
- [7] 郭诗韵,冯程程,陈茜,等. 温通活血乳膏对糖尿病周围神经病变大鼠 VEGF 及细胞凋亡的影响[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(9): 4130-4133.
- [8] YIN C, LV J, HUANG S, et al. Therapeutic targets in diabetic peripheral neuropathy: Heat shock proteins[J]. Frontiers in Endocrinology, 2025, 16: 1729488.
- [9] 冯程程,叶婷,徐利娟,等. 温通活血乳膏对 2 型糖尿病周围神经病变大鼠坐骨神经 P-38MAPK 的影响[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(8): 1824-1827.
- [10] 丁晨,陶红蕾,傅之梅,等. 不同神经肽 S 侧脑室注射剂量对瑞芬太尼痛觉敏感小鼠的镇痛效果观察[J]. 中国现代医生, 2020, 58(28): 51-54, 58.
- [11] 于鸿姐,闫英,王羽依,等. 糖尿病高危足的中医认识与证治经验[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(9): 1119-1122.
- [12] 殷越,牟春燕,沈子芯,等. 川芎化学成分及药理作用研究进展[J]. 环球中医药, 2025, 18(3): 635-641.
- [13] 白启荣,郭姣洁,吴娇. 红花的化学成分及药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2024, 41(1): 88-94, 100.
- [14] 李雪,赵婧含,吴文轩,等. 桂枝的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药学报, 2023, 51(5): 111-114.
- [15] 邹菊英,苏维,潘意,等. 白芷化学成分和药理作用研究进展及其质量标志物(Q-marker)的预测分析[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2023, 25(7): 2535-2548.
- [16] 张瑜,张红,李宁,等. 细辛化学成分和药理作用的研究进展及其质量标志物的预测分析[J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(10): 1794-1807.
- [17] 王艳丽,宁宇,丁莹. 地龙的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2022, 39(12): 86-89.
- [18] 邓文溢,文江平. 辣椒的化学成分与药理作用研究进展[J]. 湖北农业科学, 2021, 60(15): 5-10, 75.
- [19] KUMAR PANDEY V, MATHUR A, FAREED KHAN M, et al. Endoplasmic reticulum stress induces degradation of glucose transporter proteins during hyperglycemic hepatotoxicity: Role of PERK-eIF2 α -ATF4 axis[J]. European Journal of Pharmacology, 2022, 926: 175012.
- [20] MUSTAPHA S, MOHAMMED M, AZEMI A K, et al. Current status of endoplasmic reticulum stress in type II diabetes[J]. Molecules, 2021, 26(14): 4362.
- [21] HUGHES A, OXFORD A E, TAWARA K, et al. Endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response in cartilage pathophysiology; contributing factors to apoptosis and osteoarthritis[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(3): 665.
- [22] GUNDU C, ARRURI V K, SHERKHANE B, et al. GSK2606414 attenuates PERK/p-eIF2 α /ATF4/CHOP axis and augments mitochondrial function to mitigate high glucose induced neurotoxicity in N2A cells[J]. Current Research in Pharmacology and Drug Discovery, 2022, 3: 100087.
- [23] HUANG M, LI Z X, CHEN J, et al. Extracts of Bauhinia Championii alleviate acute neuronal injury after ischemic reperfusion by improving endoplasmic reticulum stress-mediated neuronal apoptosis[J]. Current Medical Sciences, 2022, 42(3): 483-490.

(本文编辑 苏维)