

实验研究

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2023.11.012

糖痹康对糖尿病模型大鼠坐骨神经氧化应激、线粒体能量代谢及 AMPK/SIRT3 通路的影响



于睿钦¹, 张亚奇¹, 张程斐², 张秋娥³, 穆晓红^{1✉},
白惠中¹, 左心玮¹, 刘港¹, 刘铜华⁴, 秦灵灵⁵

1. 北京中医药大学东直门医院, 北京市东城区海运仓 5 号, 100700; 2. 北京中医药大学生命科学院; 3. 北京中医药大学中医学院; 4. 北京中医药大学教育部中医养生学重点实验室; 5. 北京中医药大学科技处/教育部高等学校学科创新引智基地

[摘要] **目的** 探讨糖痹康对糖尿病坐骨神经病变的影响及可能作用机制。**方法** 60 只雄性 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、硫辛酸组和糖痹康高、中、低剂量组, 每组 10 只。除正常组外, 其余各组大鼠采用高脂高糖饲料饲养+链脲佐菌素腹腔注射建立糖尿病大鼠模型。造模成功后硫辛酸组大鼠予硫辛酸注射液 0.0268 g/(kg·d) 进行腹腔注射, 糖痹康高、中、低剂量组分别予糖痹康颗粒剂 2.5、1.25、0.625 g/(kg·d) 灌胃, 正常组和模型组予生理盐水 10 ml/kg 灌胃, 均连续干预 12 周。各组分别于给药前和给药 4、8、12 周检测血糖、体质量; 给药 12 周后, 检测大鼠热痛阈与坐骨神经运动神经传导速度 (MNCV), 取大鼠坐骨神经检测氧化应激指标 [超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)]、炎症因子 [白细胞介素 1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)]、线粒体能量代谢指标 [烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD⁺)、还原型辅酶 I (NADH⁺)、三磷酸腺苷 (ATP)] 水平; HE 染色检测大鼠坐骨神经切片组织形态, 电镜观察大鼠坐骨神经超微结构; 检测大鼠坐骨神经腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK)/去乙酰化酶 3 (SIRT3) 通路相关蛋白 [磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶 (p-AMPK)、AMPK、过氧化物增殖激活受体协同激活因子 1 α (PGC-1 α)、SIRT3、神经元型一氧化氮合酶 (nNOS)、线粒体转录因子 A (TFAM)] 表达。**结果** 给药 4、8、12 周时糖痹康高、中剂量组血糖显著低于模型组 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。各药物干预组在各个时间点与模型组体质量差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。给药 12 周后, 与正常组比较, 模型组大鼠热痛阈、MDA、IL-1 β 、TNF- α 、NADH⁺ 均升高, MNCV、SOD、NAD⁺、NAD⁺/NADH⁺、ATP 及 PGC-1 α 、SIRT3、TFAM、nNOS 蛋白表达均降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较, 糖痹康各剂量组与硫辛酸组热痛阈、MDA、IL-1 β 、TNF- α 降低, MNCV、SOD 升高, 糖痹康高剂量组在降低热痛阈、IL-1 β 、TNF- α , 升高 MNCV、SOD 方面优于糖痹康中、低剂量组 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较, 各药物干预组 NAD⁺、NAD⁺/NADH⁺、ATP 升高, 硫辛酸组和糖痹康高、中剂量组 PGC-1 α 、SIRT3、TFAM、nNOS 蛋白表达升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 糖痹康高剂量组在升高 NAD⁺/NADH⁺、ATP 方面优于硫辛酸组, 糖痹康高剂量组在升高 PGC-1 α 、TFAM 方面优于糖痹康中、低剂量组 ($P<0.05$)。光镜及电镜结果显示, 模型组大鼠的坐骨神经纤维结构损伤, 线粒体结构紊乱, 髓鞘板层结构严重破坏, 髓鞘出现裂隙与空泡, 脱髓鞘病变明显, 而各药物干预组坐骨神经纤维病理损伤有不同程度的改善, 且以硫辛酸组和糖痹康高剂量组改善明显。**结论** 糖痹康可能通过调控坐骨神经 AMPK/SIRT3 通路, 抑制线粒体氧化应激, 减轻炎症反应, 提高线粒体能量代谢, 从而对糖尿病坐骨神经病变起到修复与神经保护作用。

[关键词] 糖尿病周围神经病变; 糖痹康; 腺苷酸活化蛋白激酶; 去乙酰化酶 3; 线粒体; 能量代谢; 氧化应激; 炎症因子

糖尿病周围神经病变 (diabetic peripheral

neuropathy, DPN) 是糖尿病患者常见的慢性并发症, 其临床表现为疼痛和感觉异常, 还会增加患者其他疾病的发生风险。DPN 以坐骨神经的传导速度

基金项目: 国家自然科学基金 (81874467)

✉ 通讯作者: muxiaohong2006@126.com

减退、坐骨神经功能障碍为主要表现,也是DPN诊断标准之一^[1]。氧化应激是DPN发病机制的研究重点,高糖情况下氧化应激被诱发,可使活性氧簇(ROS)产生过量堆积,损伤蛋白质,诱导神经细胞凋亡^[2]。研究^[3]表明,ROS增多导致线粒体氧化应激是DPN及其并发症发生发展的重要途径。腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)是生物能量代谢调节的关键分子,也是糖尿病等代谢相关疾病的研究核心^[4]。过氧化物增殖激活受体协同激活因子1 α (PGC-1 α)作为线粒体功能的关键因子,对线粒体代谢和氧化应激的调节有着重要作用。AMPK的激活增强了PGC-1 α 的表达^[5],而去乙酰化酶3(SIRT3)蛋白作为PGC-1 α 的下游靶标,参与代谢调节,具有稳定线粒体功能的作用^[6]。研究^[7-8]证实,AMPK/SIRT3通路对调节糖尿病患者的线粒体氧化应激发挥着重要作用。

中药复方糖痹康(已获国家专利:ZL200810167551.1)具有养阴益气、解毒祛瘀的功效,在改善DPN患者的临床症状方面已被证实疗效显著^[9-10]。本研究从线粒体氧化应激及AMPK/SIRT3通路方面探究糖痹康治疗DPN的可能作用机制,为其临床应用提供客观依据。本实验已由北京中医药大学实验动物伦理审查委员会审查通过(伦理批号:BUCM-4-2020101202-4037)。

1 资料与方法

1.1 动物与饲料

SPF级雄性SD大鼠60只,体质量180~200 g,实验动物生产许可证号:SCXK(京)2021-0006,购自北京维通利华实验动物技术有限公司。大鼠在SPF级环境下饲养,温度(22 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C、湿度60% $\pm$ 10%,12 h/12 h光照黑暗循环。高脂高糖饲料(67%基础料+10%猪油+20%蔗糖+2.5%胆固醇+0.5%胆酸钠,2.5 kg/袋,货号:20201116),由斯贝福(北京)生物技术有限公司提供。

1.2 药物

糖痹康(组成:黄芪15 g,女贞子10 g,桂枝9 g,赤芍9 g,黄芩5 g,黄连3 g,水蛭1 g,鸡血藤15 g,醋延胡索5 g)颗粒剂(3.5 g/袋,货号:20210328),北京康仁堂药业有限公司。硫辛酸注射液(6 ml:0.15 g,批号:20940432),重庆药友制药有限责任公司。

1.3 主要试剂及仪器

链脲佐菌素(STZ,批号:S0130),美国Sigma

公司;戊巴比妥钠(货号:57330)、枸橼酸铅染色液(货号:38ZA4036738),德国默克公司;超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)测试盒(货号分别为A001-3-2、A003-1-2),南京建成生物科技有限公司;白细胞介素1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)酶联免疫测定试剂盒(货号分别为JM-01454R2、JM-01587R1),江苏晶美生物科技有限公司;烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)、还原型辅酶I(NADH⁺)比色试剂盒、三磷酸腺苷(ATP)试剂盒(货号分别为20211019、20211019、20211018),北京华英生物技术研究所;苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(货号:G1003),武汉塞维爾生物科技有限公司;活性蛋白提取试剂盒(货号:KGP10100),江苏凯基生物科技股份有限公司;RIPA裂解缓冲液(货号:C1053),北京普利莱基因技术有限公司;AMPK、磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶(p-AMPK)、SIRT3、神经元型一氧化氮合酶(nNOS)抗体、山羊抗兔IgG二抗(货号分别为5831S、2535S、2627S、4231S、7054),美国CST公司;PGC-1 α 、线粒体转录因子A(TFAM)、GAPDH(货号分别为ab54481、ab272885、ab8245),英国Abcam公司;醋酸双氧铀(货号:20211210),美国SPI公司。

血糖仪(GT-1941型),爱科来日本株式会社;电子天平(JE1001型),杭州恒仪仪表科技有限公司;智能热板仪(RB-200型),成都泰盟科技有限公司;神经传导测试仪器(Keypoint型),丹麦丹迪公司;脱水机(型号Donatello),意大利DIAPATH公司;凝胶成像系统(ChemiDoc TMXRS+with Image LabTM Software型)、垂直电泳仪(Mini-PROTEAN Tera System型),美国Bio-Rad公司;台式高速冷冻离心机(3K15型),德国Sigma公司;超微量分光光度计(NanoDrop2000型),美国Thermo公司;光学显微镜(BX53型),日本Olympus公司;电子显微镜(H-7650型),日本日立公司。

1.4 造模与分组

60只SD大鼠采用随机数字表法随机抽取10只大鼠作为正常组,给予普通饲料喂养。其余50只大鼠采用高脂高糖饲料饲养+STZ腹腔注射建立糖尿病大鼠模型^[11]:予高脂高糖饲料自由喂养8周后,大鼠禁食12 h后予2% STZ(35 mg/kg)腹腔注射,注射72 h后测量大鼠尾尖血糖水平,血糖 $\geq$ 16.7 mmol/L的大鼠视为糖尿病造模成功^[11]。50只大鼠均造模成功,然后采用随机数字表法分为模型

组、硫辛酸组及糖痹康高、中、低剂量组，每组 10 只。

1.5 给药方法

造模成功后，按照动物与人的表面积剂量体积换算法^[12]，硫辛酸组大鼠予硫辛酸注射液 0.0268 g/(kg·d) 腹腔注射，糖痹康高、中、低剂量组（糖痹康中剂量为临床等效剂量）参照前期研究^[13]分别予糖痹康颗粒剂 2.5、1.25、0.625 g/(kg·d) 进行灌胃。正常组和模型组予生理盐水 10 ml/kg 灌胃。各组均连续干预 12 周，此期间模型组和各给药组大鼠仍采用高脂高糖饲料喂养，正常组给予普通饲料喂养。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 血糖、体质量测定 分别于给药前及给药 4、8、12 周用血糖仪测定大鼠尾尖血血糖，用电子天平测量体质量。

1.6.2 热痛阈检测 给药 12 周后，采用智能热板仪测量大鼠的热痛阈：将热板仪加热到 55.0℃ 恒温后，将大鼠放入热板上，观察大鼠抬脚或舔足反应时间，每只监测 3 次，单次测量最长不超过 30 s，中间间隔 15 min，取 3 次监测的均值作为热痛阈值。

1.6.3 坐骨神经运动神经传导速度(MNCV)检测

测完热痛阈后大鼠用 1% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉 (45 mg/kg)，分离右侧坐骨神经，采用神经传导测试仪测量 MNCV。将刺激电极针置于坐骨神经尾椎端（坐骨神经近心端，记为 S 通道），沿坐骨神经将记录电极针置于同侧腓肠肌的肌腹处（坐骨神经远心端，记为 R 通道），参考电极针置于记录电极针与刺激电极针之间。沿坐骨神经经过部位和方向，测量自然状态下，在动物体表两通道电极间距离 d (mm)。记录坐骨神经远端的肌肉动作电位 (CMAP) 的潜伏期 t (ms)。计算 $MNCV$ (m/s) = d (mm)/ t (ms)。

1.6.4 坐骨神经 SOD、MDA、IL-1 β 、TNF- α 含量检测 取各组大鼠坐骨神经 50 mg，加入 1 ml 的匀浆缓冲液，用匀浆器充分匀浆，3000 r/min、4℃ 离心（离心半径 13.5 cm）15 min 后取上清液，采用比色法检测 SOD、MDA 的含量，采用 ELISA 试剂盒检测 IL-1 β 、TNF- α 含量，检测均严格按照试剂盒说明操作。

1.6.5 坐骨神经线粒体能量代谢指标检测 取各组大鼠坐骨神经 50 mg，加入 1 ml 的匀浆缓冲液，用匀浆器充分匀浆，3000 r/min、4℃ 离心（离心半

径 13.5 cm）15 min 后取上清液，采用比色法检测 NAD⁺、NADH⁺ 以及 ATP 的含量，检测均严格按照试剂盒说明操作。

1.6.6 坐骨神经 HE 染色 取大鼠坐骨神经长度为 1 cm，采用全自动脱水机脱水后行石蜡包埋，制作石蜡切片，片厚 5 μ m。行 HE 染色，封片后于光学显微镜下扫描观察。

1.6.7 坐骨神经电镜观察 取大鼠坐骨神经长度为 1 cm，固定于 3% 戊二醛中 2 h，1% 锇酸 1.5 h，醋酸双氧铀染色 1 h，脱水后经环氧树脂包埋，制备超薄切片 50~70 nm，醋酸双氧铀-枸橼酸铅染色，电子显微镜下观察并拍照。

1.6.8 坐骨神经 AMPK/SIRT3 通路相关蛋白表达检测 各组采用随机数字表法选取 3 只大鼠坐骨神经组织，研磨后加入适量 RIPA 裂解液裂解，提取组织总蛋白上清液，采用 BCA 法测定蛋白浓度。每组取等量蛋白上样，电泳转膜后，5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h。分别滴加一抗（AMPK、p-AMPK、PGC-1 α 、SIRT3、TFAM、nNOS 稀释浓度均为 1:1000），过夜后 TBST 冲洗，加入相应二抗（1:4000）室温孵育 1 h。ECL 发光法行胶片曝光，利用 Image J 1.8.0 软件进行灰度值的测定。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计分析。计量资料均符合正态分布以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示，方差齐性采用单因素方差分析，方差不齐采用 Dunnett- T^* 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠不同时间血糖水平比较

表 1 示，与正常组同时时间比较，其余各组大鼠在各个时间点血糖均显著升高 ($P<0.01$)。与模型组同时时间比较，各给药组大鼠给药 4 周时血糖均降低；给药 8、12 周时糖痹康高、中剂量组血糖降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与硫辛酸组同时时间比较，在给药 4 周时糖痹康各剂量组血糖均降低，在给药 8 周时糖痹康高、中剂量组降低，在给药 12 周时仅糖痹康高剂量组降低 ($P<0.05$)。糖痹康低剂量组在给药 8、12 周时血糖均显著低于糖痹康中、高剂量组，糖痹康中剂量组在给药 12 周时血糖低于糖痹康高剂量组 ($P<0.05$)。

2.2 各组大鼠不同时间体质量比较

表 2 示，给药前各组大鼠体质量比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。给药 4、8、12 周时，其

表 1 各组大鼠不同时间血糖水平比较

Table 1 Comparison of blood glucose levels in each group of rats at different timepoints (mmol/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	给药前	给药 4 周	给药 8 周	给药 12 周
正常组	10	3.55±0.30	3.46±0.30	3.91±0.32	3.83±0.43
模型组	10	22.35±1.49 ^{a)}	25.64±0.62 ^{a)}	29.08±1.25 ^{a)}	28.94±1.45 ^{a)}
硫辛酸组	10	22.19±1.76 ^{a)}	22.13±5.94 ^{a) b)}	26.52±5.26 ^{a)}	25.56±4.81 ^{a)}
糖痹康高剂量组	10	22.66±1.69 ^{a)}	17.25±4.99 ^{a) c) d)}	24.38±4.81 ^{a) c) d)}	23.30±5.85 ^{a) c) d)}
糖痹康中剂量组	10	22.77±1.81 ^{a)}	18.93±6.66 ^{a) b) d)}	22.00±4.23 ^{a) c) d)}	24.39±6.91 ^{a) c) e)}
糖痹康低剂量组	10	22.87±2.36 ^{a)}	17.27±5.92 ^{a) b) d)}	25.61±4.73 ^{a) c) f)}	26.40±5.11 ^{a) e) f)}

注：a) 与正常组同时时间比较， $P<0.01$ ；b) 与模型组同时时间比较， $P<0.05$ ；c) 与模型组同时时间比较， $P<0.01$ ；d) 与硫辛酸组同时时间比较， $P<0.05$ ；e) 与糖痹康高剂量组同时时间比较， $P<0.05$ ；f) 与糖痹康中剂量组同时时间比较， $P<0.05$ 。

表 2 各组大鼠不同时间体质量比较

Table 2 Comparison of body weight in each group of rats at different timepoints (g, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	给药前	给药 4 周	给药 8 周	给药 12 周
正常组	10	481.80±35.54	536.20±44.86	551.20±45.35	583.20±46.15
模型组	10	432.90±45.51	455.60±61.16 ^{a)}	433.60±43.68 ^{b)}	405.90±43.37 ^{b)}
硫辛酸组	10	440.20±37.82	436.60±53.40 ^{b)}	433.80±50.66 ^{b)}	393.80±51.97 ^{b) c)}
糖痹康高剂量组	10	440.10±61.35	437.00±60.23 ^{b)}	447.50±34.94 ^{b)}	437.10±46.32 ^{b)}
糖痹康中剂量组	10	427.20±52.58	434.20±46.81 ^{b)}	433.80±35.61 ^{b)}	396.30±40.26 ^{b) c)}
糖痹康低剂量组	10	435.60±35.18	436.30±28.31 ^{b)}	430.60±30.18 ^{b)}	407.70±41.70 ^{b) c)}

注：a) 与正常组同时时间比较， $P<0.05$ ；b) 与正常组同时时间比较， $P<0.01$ ；c) 与糖痹康高剂量组同时时间比较， $P<0.05$ 。

余各组大鼠在各个时间点体质量均显著低于同时时间正常组 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)；模型组和各药物干预组大鼠体质量差异无统计学意义 ($P>0.05$)。给药 12 周时，糖痹康高剂量组大鼠体质量高于硫辛酸组和糖痹康中、低剂量组 ($P<0.05$)。

2.3 各组大鼠坐骨神经热痛阈、MNCV 水平比较

表 3 示，与正常组比较，除糖痹康中剂量组外，其余各组大鼠热痛阈均升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)；模型组大鼠 MNCV 降低 ($P<0.01$)。与模型组比较，各药物干预组大鼠的热痛阈均降低，MNCV 均升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。糖痹康低剂量组热痛阈高于其余各药物干预组，糖痹康高剂量组 MNCV 显著高于其余各药物干预组 ($P<0.05$)。

2.4 各组大鼠坐骨神经 SOD、MDA、IL-1β、TNF-α 含量比较

表 4 示，与正常组比较，除硫辛酸组 MDA 含量外，其余各组大鼠 SOD 含量均降低，MDA、IL-1β、TNF-α 含量均升高 ($P<0.01$)。与模型组比较，各药物干预组大鼠 SOD 含量均升高，MDA、IL-1β、TNF-α 含量均降低 ($P<0.01$)。与硫辛酸组比较，其余各药物干预组 SOD 含量均降低，MDA、IL-1β、TNF-α 含量均升高 ($P<0.01$)。与糖痹康高剂量组比较，糖痹康中、低剂量组 SOD 含量均降低，IL-1β、TNF-α 含量均升高，糖痹康低剂量组 MDA 含量升

表 3 各组大鼠热痛阈、坐骨神经 MNCV 水平比较

Table 3 Comparison of thermal pain threshold and sciatic nerve MNCV level in each group of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	热痛阈/s	MNCV/m·s ⁻¹
正常组	10	6.49±1.05	43.46±4.19
模型组	10	13.19±2.25 ^{a)}	25.66±3.46 ^{a)}
硫辛酸组	10	8.32±1.20 ^{b) c)}	38.49±10.03 ^{d) f)}
糖痹康高剂量组	10	8.19±1.07 ^{b) c)}	44.13±14.30 ^{d)}
糖痹康中剂量组	10	7.98±1.95 ^{c)}	38.75±8.51 ^{d) f)}
糖痹康低剂量组	10	10.40±2.07 ^{a) c) e) f) g)}	35.23±6.90 ^{d) f)}

注：MNCV，运动神经传导速度。

a) 与正常组比较， $P<0.01$ ；b) 与正常组比较， $P<0.05$ ；c) 与模型组比较， $P<0.01$ ；d) 与模型组比较， $P<0.05$ ；e) 与硫辛酸组比较， $P<0.05$ ；f) 与糖痹康高剂量组比较， $P<0.05$ ；g) 与糖痹康中剂量组比较， $P<0.05$ 。

高 ($P<0.05$)。与糖痹康中剂量组比较，糖痹康低剂量组 SOD 含量降低、TNF-α 含量升高 ($P<0.01$)。

2.5 各组大鼠坐骨神经线粒体能量代谢指标比较

表 5 示，与正常组比较，除硫辛酸组 NAD⁺ 外，其余各组大鼠 NAD⁺、NAD⁺/NADH⁺、ATP 均降低，NADH⁺ 升高 ($P<0.01$)。与模型组比较，各药物干预组大鼠 NAD⁺、NAD⁺/NADH⁺、ATP 均升高，糖痹康各剂量组 NADH⁺ 降低，硫酸锌组 NADH⁺ 升高 ($P<0.01$)。与硫辛酸组比较，糖痹康各剂量组 NAD⁺、NADH⁺ 均降低，糖痹康高剂量组 NAD⁺/

表4 各组大鼠坐骨神经SOD、MDA、IL-1 β 、TNF- α 含量比较Table 4 Comparison of SOD, MDA, IL-1 β and TNF- α contents in sciatic nerve of rats in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	SOD/U $\cdot$ mg ⁻¹	MDA/nmol $\cdot$ mg ⁻¹	IL-1 β /pg $\cdot$ ml ⁻¹	TNF- α /pg $\cdot$ ml ⁻¹
正常组	10	18.56 $\pm$ 0.97	3.47 $\pm$ 0.46	12.93 $\pm$ 0.96	34.10 $\pm$ 1.22
模型组	10	8.26 $\pm$ 0.64 ^{a)}	6.86 $\pm$ 0.32 ^{a)}	75.24 $\pm$ 6.08 ^{a)}	73.06 $\pm$ 2.98 ^{a)}
硫辛酸组	10	17.21 $\pm$ 0.58 ^{a) b)}	3.90 $\pm$ 0.39 ^{b)}	15.84 $\pm$ 1.33 ^{a) b)}	38.54 $\pm$ 1.03 ^{a) b)}
糖痹康高剂量组	10	15.97 $\pm$ 0.87 ^{a) b) c)}	4.46 $\pm$ 0.27 ^{a) b) c)}	31.79 $\pm$ 1.72 ^{a) b) c)}	46.87 $\pm$ 1.26 ^{a) b) c)}
糖痹康中剂量组	10	13.87 $\pm$ 0.66 ^{a) b) c) d)}	4.78 $\pm$ 0.35 ^{a) b) c)}	37.95 $\pm$ 5.49 ^{a) b) c) d)}	51.45 $\pm$ 2.36 ^{a) b) c) d)}
糖痹康低剂量组	10	10.52 $\pm$ 0.80 ^{a) b) c) d) e)}	5.51 $\pm$ 0.87 ^{a) b) c) d)}	41.25 $\pm$ 1.49 ^{a) b) c) d)}	57.53 $\pm$ 4.34 ^{a) b) c) d) e)}

注: SOD, 超氧化物歧化酶; MDA, 丙二醛; IL-1 β , 白细胞介素 1 β ; TNF- α , 肿瘤坏死因子 α 。

a) 与正常组比较, $P<0.01$; b) 与模型组比较, $P<0.01$; c) 与硫辛酸组比较, $P<0.01$; d) 与糖痹康高剂量组比较, $P<0.05$; e) 与糖痹康中剂量组比较, $P<0.01$ 。

表5 各组大鼠坐骨神经NAD⁺、NADH⁺、NAD⁺/NADH⁺、ATP水平比较Table 5 Comparison of NAD⁺, NADH⁺, NAD⁺/NADH⁺ and ATP levels in sciatic nerve of rats in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	NAD ⁺ /nmol $\cdot$ mg ⁻¹	NADH ⁺ /nmol $\cdot$ mg ⁻¹	NAD ⁺ /NADH ⁺	ATP/ μ g $\cdot$ g ⁻¹
正常组	10	0.26 $\pm$ 0.02	0.08 $\pm$ 0.01	3.19 $\pm$ 0.33	3.13 $\pm$ 0.26
模型组	10	0.12 $\pm$ 0.02 ^{a)}	0.15 $\pm$ 0.01 ^{a)}	0.85 $\pm$ 0.11 ^{a)}	1.47 $\pm$ 0.23 ^{a)}
硫辛酸组	10	0.24 $\pm$ 0.01 ^{b)}	0.16 $\pm$ 0.01 ^{a) b)}	1.48 $\pm$ 0.09 ^{a) b)}	2.49 $\pm$ 0.32 ^{a) b)}
糖痹康高剂量组	10	0.21 $\pm$ 0.01 ^{a) b) c)}	0.13 $\pm$ 0.01 ^{a) b) c)}	1.62 $\pm$ 0.60 ^{a) b) c)}	2.75 $\pm$ 0.15 ^{a) b) c)}
糖痹康中剂量组	10	0.19 $\pm$ 0.01 ^{a) b) c) d)}	0.12 $\pm$ 0.01 ^{a) b) c)}	1.63 $\pm$ 0.20 ^{a) b)}	2.08 $\pm$ 0.18 ^{a) b) c) d)}
糖痹康低剂量组	10	0.15 $\pm$ 0.01 ^{a) b) c) d) e)}	0.11 $\pm$ 0.01 ^{a) b) c) d)}	1.48 $\pm$ 0.18 ^{a) b)}	1.86 $\pm$ 0.14 ^{a) b) c) d) f)}

注: NAD⁺, 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸; NADH⁺, 还原型辅酶 I; ATP, 三磷酸腺苷。

a) 与正常组比较, $P<0.01$; b) 与模型组比较, $P<0.01$; c) 与硫辛酸组比较, $P<0.01$; d) 与糖痹康高剂量组比较, $P<0.01$; e) 与糖痹康中剂量组比较, $P<0.01$; f) 与糖痹康中剂量组比较, $P<0.05$ 。

NADH⁺、ATP升高, 糖痹康中、低剂量组ATP降低($P<0.01$)。与糖痹康中剂量组比较, 糖痹康低剂量组NAD⁺、ATP降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

2.6 各组大鼠坐骨神经HE染色结果比较

正常组大鼠的坐骨神经纤维结构整齐, 排列紧密; 髓鞘结构清晰, 着色均匀。模型组大鼠的坐骨神经纤维结构松散、分布稀疏, 髓鞘变性、密度不均。硫辛酸组与糖痹康高剂量组大鼠坐骨神经纤维结构接近正常, 排列较整齐, 轴索结构较为完整, 虽存在脱髓鞘表现, 但程度较模型组轻, 病理损伤有一定程度的改善。糖痹康中、低剂量组存在不同程度的坐骨神经纤维排列分散、轴索肿胀、脱髓鞘, 但较模型组程度较轻。各组大鼠坐骨神经HE染色图见图1(彩图请扫描本文二维码获取)。

2.7 各组大鼠坐骨神经电镜观察结果

正常组大鼠坐骨神经电镜下髓纤维分布均匀, 髓鞘结构完整、致密、厚度均匀, 线粒体排列规律结构完整。模型组大鼠坐骨神经电镜见髓鞘板层结构严重破坏, 髓鞘出现裂隙与空泡, 线粒体结构紊乱, 脱髓鞘病变明显。硫辛酸组髓鞘板层密度均匀, 线粒体结构完整。糖痹康高、中剂量组髓鞘板层密度欠均匀, 空泡状结构消失, 线粒体结构基本

完整, 脱髓鞘程度有所改善。糖痹康低剂量组仍有髓鞘板层结构破坏, 但较模型组略有改善。各组大鼠坐骨神经电镜图见图2。

2.8 各组大鼠坐骨神经组织AMPK/SIRT3通路相关蛋白表达比较

各组大鼠坐骨神经组织AMPK、p-AMPK、SIRT3、TFAM、nNOS蛋白表达电泳图见图3。表6示, 与正常组比较, 模型组大鼠PGC-1 α 、SIRT3、TFAM、nNOS蛋白表达降低, 糖痹康中、低剂量组PGC-1 α 、TFAM蛋白表达降低, 各药物干预组nNOS蛋白表达亦降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较, 糖痹康高剂量组p-AMPK/AMPK显著升高, 硫辛酸组和糖痹康高、中剂量组PGC-1 α 、SIRT3、TFAM、nNOS蛋白表达升高, 糖痹康低剂量组nNOS蛋白表达升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与硫辛酸组比较, 糖痹康中、低剂量组PGC-1 α 、TFAM、nNOS蛋白表达降低, 糖痹康低剂量组SIRT3蛋白表达降低($P<0.05$)。与糖痹康高剂量组比较, 糖痹康低、中剂量组PGC-1 α 、TFAM蛋白表达降低, 糖痹康低剂量组SIRT3蛋白表达降低($P<0.05$); 与糖痹康中剂量组比较, 糖痹康低剂量组PGC-1 α 、SIRT3蛋白表达降低($P<0.05$)。

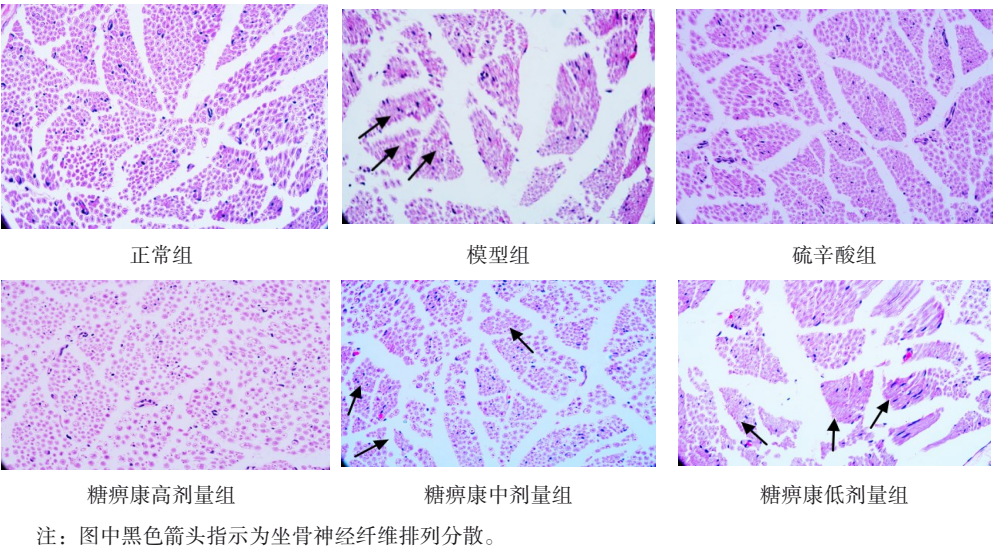
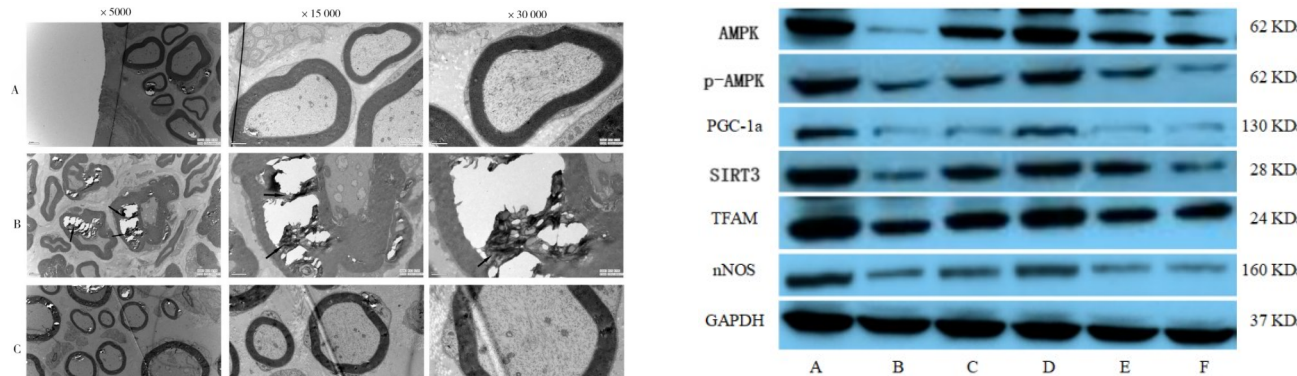


图1 各组大鼠坐骨神经 HE 染色图 (×400)

Figure 1 HE staining pictures of sciatic nerve of rats in each group



注：A，正常组；B，模型组；C，硫酸组；D，糖痹康高剂量组；E，糖痹康中剂量组；F，糖痹康低剂量组；黑色箭头指示为髓鞘板层结构破坏。

注：A，正常组；B，模型组；C，硫酸组；D，糖痹康高剂量组；E，糖痹康中剂量组；F，糖痹康低剂量组；p-AMPK，磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶；AMPK，腺苷酸活化蛋白激酶；PGC-1α，过氧化物增殖激活受体协同激活因子1α；SIRT3，去乙酰化酶3；nNOS，神经元型一氧化氮合酶；TFAM，线粒体转录因子A。

图3 各组大鼠坐骨神经 AMPK、p-AMPK、PGC-1α、SIRT3、TFAM、nNOS 蛋白表达电泳图

Figure 3 Electrophoresis of AMPK, p-AMPK, PGC-1α, SIRT3, TFAM and nNOS protein expression in sciatic nerve of rats in each group

注：A，正常组；B，模型组；C，硫酸组；D，糖痹康高剂量组；E，糖痹康中剂量组；F，糖痹康低剂量组；黑色箭头指示为髓鞘板层结构破坏。

图2 各组大鼠坐骨神经电镜观察结果

Figure 2 Electron microscopy of sciatic nerve of rats in each group

3 讨论

DPN 是糖尿病最常见的并发症之一，以痛、麻、凉、痿为主要临床表现，属中医学“消渴病”范畴，气虚、阴虚、血瘀是其发病关键^[14]。糖痹

康方中黄芪益气固表，桂枝通阳、温通经脉，二者合用可温阳补气，调营通络，固表不留邪，散邪而不伤正；女贞子滋补肝肾之阴，与黄芪同用气阴双补；赤芍活血祛瘀止痛；水蛭通经逐瘀消癥；黄芩、黄连可清热燥湿，泄火解毒；鸡血藤祛瘀生新；延胡索活血行气止痛。前期通过对 35 例 DPN 患者进行自身对照研究^[15]，发现糖痹康可以有效改善临床症状，提高感觉与运动神经的传导速度。硫辛酸作为一种抗氧化剂，对能量代谢起到关键作用，已经被广泛用于 DPN 的治疗^[16]，故本研究将

表 6 各组大鼠坐骨神经 AMPK/SIRT3 通路相关蛋白表达比较

(灰度值, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	p-AMPK/AMPK	PGC-1 α	SIRT3	TFAM	nNOS
正常组	3	0.51 $\pm$ 0.03	0.18 $\pm$ 0.02	0.31 $\pm$ 0.06	0.76 $\pm$ 0.16	0.28 $\pm$ 0.02
模型组	3	0.27 $\pm$ 0.11	0.03 $\pm$ 0.01 ^{a)}	0.04 $\pm$ 0.01 ^{b)}	0.15 $\pm$ 0.06 ^{a)}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{a)}
硫辛酸组	3	0.50 $\pm$ 0.14	0.17 $\pm$ 0.04 ^{c)}	0.25 $\pm$ 0.03 ^{d)}	0.67 $\pm$ 0.22 ^{c)}	0.11 $\pm$ 0.01 ^{a) d)}
糖痹康高剂量组	3	0.57 $\pm$ 0.17 ^{d)}	0.20 $\pm$ 0.02 ^{c)}	0.31 $\pm$ 0.03 ^{d)}	0.78 $\pm$ 0.15 ^{c)}	0.13 $\pm$ 0.02 ^{b) d)}
糖痹康中剂量组	3	0.46 $\pm$ 0.22	0.11 $\pm$ 0.02 ^{a) c) e) f)}	0.21 $\pm$ 0.02 ^{d)}	0.43 $\pm$ 0.04 ^{a) d) e) f)}	0.09 $\pm$ 0.01 ^{a) d) e)}
糖痹康低剂量组	3	0.38 $\pm$ 0.15	0.06 $\pm$ 0.02 ^{a) c) e) f) g)}	0.05 $\pm$ 0.00 ^{e) f) g)}	0.28 $\pm$ 0.05 ^{a) e) f)}	0.04 $\pm$ 0.00 ^{a) c) e)}

注: p-AMPK, 磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶; AMPK, 腺苷酸活化蛋白激酶; PGC-1 α , 过氧化物增殖激活受体协同激活因子 1 α ; SIRT3, 去乙酰化酶 3; nNOS, 神经元型一氧化氮合酶; TFAM, 线粒体转录因子 A。

a) 与正常组比较, $P < 0.01$; b) 与正常组比较, $P < 0.05$; c) 与模型组比较, $P < 0.01$; d) 与模型组比较, $P < 0.05$; e) 与硫辛酸组比较, $P < 0.05$; f) 与糖痹康高剂量组比较, $P < 0.05$; g) 与糖痹康中剂量组比较, $P < 0.05$ 。

其作为对照药物。本研究结果显示, 经干预后糖痹康各剂量组大鼠血糖均较模型组有所降低, 以给药 4 周时最为显著, 给药 12 周时糖痹康高剂量组大鼠血糖降低较为明显, 表明糖痹康对于改善血糖具有良好的效果, 且高剂量的效果更佳。虽然各药物干预组与模型组大鼠在各时间点体质量差异无统计学意义, 但在给药 12 周时糖痹康高剂量组大鼠体质量显著高于硫辛酸组和糖痹康中、低剂量组, 提示糖痹康高剂量在提高大鼠体质量方面有一定效果。硫辛酸组大鼠血糖则变化较小, 但硫辛酸组和糖痹康各剂量组大鼠的热痛阈及 MNCV 较模型组均有所改善, 也从侧面证明了硫辛酸可治疗 DPN 的感觉异常, 而糖痹康可同时降低血糖、改善热痛阈及 MNCV, 其中糖痹康高剂量组在改善 MNCV 方面最为明显。

氧化应激指细胞的促氧化与抗氧化平衡失调, 产生了过多的高活性分子如 ROS, 引起氧化应激反应, 最终导致神经细胞损害^[17]。细胞内的 ROS 主要来源于线粒体的呼吸链, ROS 过多会抑制线粒体相关活性, 导致线粒体功能异常^[18]。MDA 是 ROS 作用于脂质发生过氧化反应的最终产物, 会引起蛋白质、核酸等大分子的交联耦合, 具有细胞毒性, 是客观反应氧化应激程度的指标^[5]。SOD 是一种抗氧化酶, 可有效去除 ROS, SOD 越高, 氧化应激反应越轻^[19]。NAD⁺与 NADH⁺参与的多辅酶氧化还原反应是生物线粒体能量代谢的基础, 二者是一对氧化还原对, NAD⁺是氧化形态, NADH⁺是还原形态, NAD⁺/NADH⁺的比值降低 (细胞处于过氧化) 会激活多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 (PARP), 促成线粒体氧化应激, 引起某些促炎因子的表达和细胞凋亡^[20]。本研究结果显示, 糖痹康各剂量与硫辛酸都可以促进 SOD 表达, 减少 MDA, 提高 NAD⁺/NADH⁺比值以及 ATP 的合成, 并且有效抑制坐骨神

经组织内促炎因子 IL-1 β 、TNF- α 的表达, 减轻线粒体氧化应激。同时电镜观察坐骨神经的形态学改善方面, 也证明糖痹康各剂量与硫辛酸可不同程度减轻脱髓鞘病变, 抑制炎症细胞浸润。其中硫辛酸组在降低炎症因子、改善氧化应激方面效果最好, 糖痹康随其剂量增高效果越好。

AMPK/SIRT3 通路与线粒体氧化应激关系密切, AMPK 可以促进线粒体 ATP 合成, PGC-1 α 是线粒体代谢的重要内源性调节因子, 在 mRNA 和蛋白质水平上促进 SIRT3 的表达^[21]。研究^[22]表明, 糖尿病状态下骨骼肌中 SIRT3 水平降低是糖尿病发病机制的主要组成部分, SIRT3 水平降低导致线粒体功能改变, 增加 ROS 产生氧化应激, 最终出现胰岛素抵抗的情况。本研究结果显示, 糖痹康和硫辛酸都可以激活 AMPK/SIRT3 通路信号轴, 促进 PGC-1 α 、SIRT3、TFAM 与 nNOS 的蛋白表达, 其中糖痹康高剂量组和硫辛酸组的效果要优于糖痹康中、低剂量组, 表明糖痹康高剂量与硫辛酸都可以改善线粒体功能, 减少线粒体损伤, 抑制线粒体氧化应激, 从而促进糖尿病大鼠坐骨神经修复。

综上所述, 糖痹康可能通过调控坐骨神经 AMPK/SIRT3 通路, 抑制线粒体氧化应激, 减轻炎症反应, 从而对 DPN 起到修复与神经保护作用。本研究的不足之处在于未设计体外实验, 以及需要使用更具有胰岛素抵抗特点的 ZDF 大鼠, 这还需我们后续进一步进行实验探究。

参考文献

- [1] TESFAYE S, BOULTON A, DYCK P, et al. Diabetes neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments[J]. Diabetes Care, 2010, 33(10):2285-2293.
- [2] MARITIM AC, SANDERS RA, WATKINS JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review[J]. J Biochem

- Mol Toxicol, 2003, 17(1):24-38.
- [3] YE D, FAIRCHILD TJ, VO L, et al. Painful diabetic peripheral neuropathy: role of oxidative stress and central sensitisation[J]. Diabet Med, 2021, 39(1):e14729.
- [4] ASLAM M, LADILOV Y. Emerging role of cAMP/AMPK signaling[J]. Cells, 2022, 11(2):308.
- [5] BELL E, GUARENTE L. The SirT3 divining rod points to oxidative stress[J]. Mol Cell, 2011, 42(5):561-568.
- [6] SCHWER B, NORTH BJ, FRYE RA, et al. The human silent information regulator (Sir) 2 homologue hSIRT3 is a mitochondrial nicotinamide adenine dinucleotide-dependent deacetylase[J]. J Cell Biol, 2002, 158(4):647-657.
- [7] HAO J, CUI H, ZHANG L, et al. OM2, a Novel Oligomannuronate-chromium(III) complex, promotes mitochondrial biogenesis and lipid metabolism in 3T3-L1 adipocytes via the AMPK-PGC1 α pathway [J]. PLoS One, 2015, 10(7):e0131930.
- [8] RATO L, DUARTE AI, TOMÁS GD, et al. Pre-diabetes alters testicular PGC1- α /SIRT3 axis modulating mitochondrial bioenergetics and oxidative stress [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1837(3):335-344.
- [9] 易文明. 糖痹康治疗糖尿病周围神经病变的疗效观察及机制研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2015.
- [10] 吕翠岩. 糖痹康干预糖尿病周围神经病变临床及作用机制研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2014.
- [11] YANG XW, LIU FQ, GUO JJ, et al. Antioxidation and anti-inflammatory activity of Tang Bi Kang in rats with diabetic peripheral neuropathy [J]. BMC Complement Altern Med, 2015, 15(1): 66.
- [12] 熊远珍. 实验动物与人用药量的新换算[J]. 江西医学院学报, 1997(4):41.
- [13] 张岩. 基于调控 NF- κ B/Nrf2 信号通路糖痹康改善糖尿病周围神经病变作用机理研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2016.
- [14] 中华中医药学会. 糖尿病周围神经病变中医防治指南 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2011, 9(22):119-121.
- [15] 吕翠岩, 张胜容, 赵文景, 等. 糖痹康治疗糖尿病周围神经病变的临床研究[J]. 天津中医药, 2016, 33(1): 5-9.
- [16] 聂竹青. 糖尿病周围神经病变中西医药物治疗研究进展[J]. 实用中西医结合临床, 2022, 22(22):125-128.
- [17] BROWNLEE M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications [J]. Nature, 2001, 414(6865): 813-820.
- [18] ARNOULT D, RISMANCHI N, GRODET A, et al. Bax/bak-dependent release of DDP/TIMM8a promotes drp1-mediated mitochondrial fission and mitoptosis during programmed cell death [J]. Current Biology, 2005, 15(23):2112-2118.
- [19] HAMID E, ALI WH, AZMY A, et al. Oxidative stress and anti-oxidant markers in premature infants with respiratory distress syndrome [J]. Open Access Maced J Med Sci, 2019, 7(17):2858-2863.
- [20] NISHIKAWA T, ARAKI E. Mechanism-based antioxidant therapies promise to prevent diabetic complications? [J]. J Diabets Investig, 2013, 4(2):105-107.
- [21] GUAN Y, CUI ZJ, SUN B, et al. Celastrol attenuates oxidative stress in the skeletal muscle of diabetic rats by regulating the AMPK-PGC1 α -SIRT3 signaling pathway [J]. Int J Mol Med, 2016, 37(5):1229-1238.
- [22] JING E, EMANUELLI B, HIRSCHHEY MD, et al. Sirtuin-3 (Sirt3) regulates skeletal muscle metabolism and insulin signaling via altered mitochondrial oxidation and reactive oxygen species production [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(35):14608-14613.

Effect of *Tangbikang* (糖痹康) on Oxidative Stress, Mitochondrial Energy Metabolism and AMPK/SIRT3 Pathway in Sciatic Nerve of Diabetes Model Rat

YU Ruiqin¹, ZHANG Yaqi¹, ZHANG Chengfei², ZHANG Qiue³, MU Xiaohong¹, BAI Huizhong¹, ZUO Xinwei¹, LIU Gang¹, LIU tonghua⁴, QIN Lingling⁵

1. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100700; 2. School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine; 3. School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine; 4. Ministry of Education Hold Key Laboratory of Health Preservation of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine; 5. Science and Technology Office of Beijing University of Chinese Medicine/Ministry of Education Higher Education Institution Discipline Innovation and Talent Introduction Base, Beijing University of Chinese Medicine

ABSTRACT Objective To observe the effect and possible mechanism of *Tangbikang* (糖痹康) on diabetic sciatic neuropathy in diabetes. **Methods** Sixty male SD rats were randomly divided into normal group, model group, lipoic acid group and *Tangbikang* high-, medium- and low-dose groups, with 10 rats in each group. Except for the normal group, rats were fed with high-fat and high-sugar diet plus intraperitoneal injection of streptozotocin to establish diabetes

model. After successful modeling, corresponding interventions including 0.0268 g/(kg·d) of lipoic acid injection intraperitoneally injected, 2.5, 1.25, and 0.625 g/d of *Tangbikang* granules by gavage, and 10 ml/kg of normal saline by gavage were respectively taken in lipoic acid group, *Tangbikang* high-, medium- and low-dose groups, normal group and model group. All interventions continued for 12 weeks. Before medication and after 4, 8 and 12 weeks of treatment, the blood glucose and body weight of each group were measured. After 12 weeks, the thermal pain threshold and sciatic nerve motor nerve conduction velocity (MNCV) were measured. The sciatic nerves of rats were taken, and the oxidative stress indicators including superoxide dismutase (SOD) and Malondialdehyde (MDA), the inflammatory factors including interleukin-1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α), and mitochondrial energy metabolism indicators including nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺), reduced coenzyme (NADH⁺) and adenosine triphosphate (ATP) were detected. Hematoxylin eosin (HE) staining was used to detect the histological morphology of the sciatic nerve sections, and the ultrastructure of the sciatic nerve was observed by electron microscopy. The expression of adenylate-activated protein kinase (AMPK)/sirtuin 3 (SIRT3) pathway-related proteins in sciatic nerve were detected including phosphorylated AMP-activated protein kinase (p-AMPK), AMPK, peroxisome proliferator-activated receptor coactivator 1 α (PGC-1 α), SIRT3, neuronal nitric oxide synthase (nNOS) and mitochondrial transcription factor A (TFAM). **Results** After 4, 8 and 12 weeks of treatment, the blood glucose of *Tangbikang* high- and medium-groups were significantly lower than that of the model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). There was no significant difference in body weight between all the intervention groups and the model group at each timepoint ($P > 0.05$). After 12 weeks of treatment, the model group had increased thermal pain threshold, MDA, IL-1 β , TNF- α and NADH⁺, as well as decreased MNCV, SOD, NAD⁺, NAD⁺/NADH⁺, ATP levels and protein expressions of PGC-1 α , SIRT3, TFAM and nNOS as compared to the normal group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared to those in the model group, the thermal pain threshold, MDA, IL-1 β and TNF- α levels decreased, while MNCV and SOD levels increased in all *Tangbikang* groups and the lipoic acid group, and *Tangbikang* high-dose group was superior to the medium- and low-dose groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) in the above-mentioned indicators but MDA. Compared to those in the model group, the NAD⁺, NAD⁺/NADH⁺ and ATP in all intervention groups increased; the protein expressions of PGC-1 α , SIRT3, TFAM and nNOS in lipoic acid group and *Tangbikang* high- and medium-dose groups increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); the *Tangbikang* high-dose group was superior to the lipoic acid group in increasing NAD⁺/NADH⁺ and ATP, and was superior to the medium- and low-dose groups ($P < 0.05$) in increasing PGC-1 α and TFAM. Light and electron microscopy showed that in the model group, the structure of the sciatic nerve fibers was damaged, and the mitochondrial structure was disordered, with severely destroyed myelin sheath lamellar structure, cracks and vacuoles appearing in the myelin sheath, and obvious demyelinating lesions; the pathogenic damage of sciatic nerve fibers in all intervention groups was improved to varying degrees, and the lipoic acid group and *Tangbikang* high-dose group improved more significantly. **Conclusion** *Tangbikang* may play repairing and neuro-protecting role in diabetes peripheral neuropathy by regulating the sciatic nerve AMPK/SIRT3 pathway, inhibiting mitochondrial oxidative stress, reducing inflammatory response, and improving mitochondrial energy metabolism.

Keywords diabetic peripheral neuropathy; *Tangbikang* (糖痹康); adenylate-activated protein kinase; sirtuin 3; mitochondria; energy metabolism; oxidative stress; inflammatory factors

(收稿日期: 2022-09-08; 修回日期: 2023-02-13)

[编辑: 邓媛]