

芍药苷调控 PI3K/Akt 信号通路对糖尿病视网膜病变大鼠炎症反应的影响

朱昭亮,白淑玮,段鹏,宋虎平,陈涛

引用:朱昭亮,白淑玮,段鹏,等. 芍药苷调控 PI3K/Akt 信号通路对糖尿病视网膜病变大鼠炎症反应的影响. 国际眼科杂志, 2025,25(3):365-371.

基金项目:陕西省重点研发计划项目(No.2024SF-YBXM-327)

作者单位:(710004) 中国陕西省西安市人民医院(西安市第四医院) 陕西省眼科医院

作者简介:朱昭亮,男,硕士研究生,副主任医师,研究方向:眼外伤、眼底病。

通讯作者:段鹏,男,硕士研究生,副主任医师,研究方向:眼外伤. 313553234@qq.com

收稿日期:2024-04-30 修回日期:2025-02-05

摘要

目的:探讨芍药苷调控磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路对糖尿病视网膜病变大鼠炎症反应的影响。

方法:选取 SPF 级雄性 SD 大鼠 70 只,随机选择 12 只大鼠作为对照组(生理盐水灌胃),余 58 只大鼠采用高糖高脂饮食联合腹腔注射链脲佐菌素(STZ)法构建糖尿病大鼠模型。将造模成功的糖尿病视网膜病变大鼠 48 只随机分为模型组(生理盐水灌胃)、芍药苷低剂量组(100 mg/kg 芍药苷灌胃)、芍药苷高剂量组(200 mg/kg 芍药苷灌胃)、二甲双胍组(100 mg/kg 二甲双胍灌胃),每组 12 只。比较各组大鼠体质量;HE 染色观察大鼠视网膜组织病理学变化;全自动生化仪检测大鼠空腹血糖、糖化血红蛋白、血清高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、总胆固醇、甘油三酯水平;酶联免疫吸附法检测大鼠血清超氧化物歧化酶(SOD)、活性氧(ROS)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)、白介素-1 β (IL-1 β)水平;Western blot 检测大鼠视网膜组织紧密连接蛋白-1(ZO-1)、闭合蛋白(Occludin)、血管内皮钙黏蛋白(VE-Cadherin)、磷酸化 PI3K(p-PI3K)、磷酸化 Akt(p-Akt)表达。

结果:芍药苷低剂量组、芍药苷高剂量组大鼠 Occludin、ZO-1、VE-Cadherin 表达水平高于模型组,血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达水平低于模型组,且芍药苷高剂量组明显优于芍药苷低剂量组(均 $P < 0.05$)。

结论:芍药苷可能通过抑制 PI3K/Akt 信号通路来减轻糖尿病视网膜病变大鼠炎症反应。

关键词:芍药苷;糖尿病视网膜病变;磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt);炎症反应

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2025.3.05

Effect of paeoniflorin regulating PI3K/Akt signaling pathway on inflammatory response in diabetic retinopathy rats

Zhu Zhaoliang, Bai Shuwei, Duan Peng, Song Huping, Chen Tao

Foundation item: Shaanxi Key Development and Research Plan Project (No.2024SF-YBXM-327)

Xi'an People's Hospital (Xi'an Fourth Hospital); Shaanxi Eye Hospital, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Duan Peng. Xi'an People's Hospital (Xi'an Fourth Hospital); Shaanxi Eye Hospital, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China. 313553234@qq.com

Received:2024-04-30 Accepted:2025-02-05

Abstract

• **AIM:** To investigate the effect of paeoniflorin on the inflammatory response of diabetic retinopathy rats by regulating phosphatidylinositol-3 kinase/protein kinase B (PI3K/Akt) signaling pathway.

• **METHODS:** A total of 70 SPF male SD rats were selected, and 12 rats were randomly selected as the control group (normal saline gavage). The remaining 58 rats were fed with high-sugar and high-fat diet combined with intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) to establish diabetic rat models. Rats with diabetic retinopathy were randomly divided into model group (normal saline), paeoniflorin low-dose group (100 mg/kg paeoniflorin), paeoniflorin high-dose group (200 mg/kg paeoniflorin) and metformin group (100 mg/kg metformin), with 12 rats in each group. The body mass of the rats in each group were compared. HE staining was used to observe the pathological changes of the rat retina. Automatic biochemical analyzer was used to detect the levels of fasting blood glucose, glycosylated hemoglobin, serum high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), total cholesterol and triglyceride in the rats. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the levels of serum superoxide dismutase (SOD), reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-PX), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-1 β (IL-1 β) in the rats. Western blot was used to detect the expressions of Occludin, p-PI3K, tight junction protein-1

(ZO-1), p-Akt and VE-Cadherin in the rat retina.

• **RESULTS:** The expression levels of Occludin, ZO-1 and VE-cadherin in low-dose and high-dose paeoniflora groups were higher than those in the model group, while the expression levels of TNF- α , IL-6, IL-1 β , p-PI3K and p-Akt in serum were lower than those in the model group. The high-dose group of paeoniflorin was significantly better than the low-dose group of paeoniflorin (all $P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** Paeoniflorin may reduce inflammatory response in diabetic retinopathy rats by inhibiting PI3K/Akt signaling pathway.

• **KEYWORDS:** paeoniflorin; diabetic retinopathy; phosphatidylinositol-3 kinase/protein kinase B (PI3K/Akt); inflammatory response

Citation: Zhu ZL, Bai SW, Duan P, et al. Effect of paeoniflorin regulating PI3K/Akt signaling pathway on inflammatory response in diabetic retinopathy rats. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2025, 25(3):365-371.

0 引言

糖尿病视网膜病变是由于长期糖代谢异常造成的视网膜组织病变,也是常见的糖尿病微血管并发症^[1]。研究表明,约50%的糖尿病患者随着病程迁延会发生糖尿病视网膜病变^[2]。目前,临床上主要通过眼内注射类固醇、抗血管内皮生长因子治疗糖尿病视网膜病变,但治疗效果不稳定且副作用较大,故而寻找安全有效的新型药物具有重要意义^[3]。药理学研究表明,芍药苷是芍药的主要活性成分,在抗炎、抗氧化、调节糖脂代谢等方面发挥着重要作用^[4]。研究表明,芍药苷可以调节视网膜血管内皮细胞的增殖、迁移等能力,对糖尿病视网膜病变有一定治疗作用^[5]。研究表明,糖尿病视网膜病变的主要病理机制包括炎症反应、氧化应激以及神经节细胞凋亡^[6-7]。磷脂酰肌醇-3激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路在细胞中广泛存在,激活状态下可促进内皮细胞生存周期、增强细胞迁移、增殖能力,诱导新生血管形成,是一种促存活信号通路^[8]。但芍药苷是否可以通过调控PI3K/Akt信号通路对糖尿病视网膜病变大鼠炎症反应有较好的治疗作用,还不够明确,因此,本文以糖尿病视网膜病变大鼠为研究对象,观察芍药苷对其影响,并探讨其相关机制。

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级雄性SD大鼠70只[购自上海灵畅生物科技有限公司,动物生产许可证号为生产许可SCXK(沪)2023-0003],体质量约190-210 g。所有动物均饲养于温度25℃、相对湿度55%、昼夜交替并定期以紫外线消毒的动物房内。所有实验均按照《实验动物管理及使用指南》进行,并经西安市人民医院(西安市第四医院)动物伦理委员会批准(审批号:202302270016)。芍药苷(纯度 $\geq 98\%$,上海源叶生物科技有限公司,批号24512-63-8),盐酸二甲双胍片(上海信谊天平药业有限公司,国药准字H31020246,规格为每片0.25 g),紧密连接蛋白-1(ZO-1)、闭合蛋白(Occludin)、血管内皮钙黏蛋白

(VE-Cadherin)、磷酸化PI3K(p-PI3K)、磷酸化Akt(p-Akt)、 β -actin抗体(美国Thermo公司,批号ab307799、ab216327、ab241069、ab302958、ab181602、ab171006);超氧化物歧化酶(superoxidedismutase, SOD)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、丙二醛(malonaldehyde, MDA)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathioneperoxidase, GSH-Px)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,批号:ml093002、ml098763、ml061196、ml098760、ml067543、ml062517、ml098416);苏木素-伊红(HE)试剂盒(江苏凯基生物技术股份有限公司,批号:JL-RHE2-2);RIPA裂解液(默克生命科学有限公司,批号:HZ-57004),石蜡(瑞沃德生命科技有限公司,批号:20200709),Zeiss Axio Image型光学显微镜(德国Carl Zeiss公司),SPecraMax i3X型多功能酶标仪(美国Thermo Fisher Scientific公司),Olympus IX71型荧光显微镜(日本Olympus公司),Amersham Imager600RGB型超灵敏多功能成像仪(美国GE Healthcare公司)等。

1.2 方法

1.2.1 造模及分组 随机选择12只大鼠作为对照组,余58只大鼠采用高糖高脂饮食联合腹腔注射链脲佐菌素(STZ)构建糖尿病大鼠模型^[9],注射3 d后连续监测空腹血糖,血糖(GLU) ≥ 16.7 mmol/L,则为糖尿病模型造模成功。在成功建立糖尿病模型后,采用微量进样器经睫状体平坦部向玻璃体腔内注射0.05 μ g血管内皮生长因子,4 wk后对造模大鼠进行眼底荧光造影检查,若发现血管扩张迂曲、新生血管、背景荧光增强等情况,视为糖尿病视网膜病变造模成功。剔除造模失败大鼠5只,死亡大鼠5只,将剩余造模成功的48只大鼠随机分为:模型组、芍药苷低剂量组、芍药苷高剂量组、二甲双胍组,每组12只。药物灌胃量按照人与大鼠药物剂量折算公式^[9]计算,芍药苷低剂量组、芍药苷高剂量组大鼠分别按100、200 mg/kg的剂量进行灌胃处理,二甲双胍组大鼠按100 mg/kg的剂量进行灌胃处理,每日灌胃量均为2 mL,每天1次,连续8 wk。对照组和模型组大鼠灌胃等体积的生理盐水,每天1次,连续8 wk。

1.2.2 观察指标 第8 wk灌胃给药结束后,尾静脉取血,离心后置于-80℃环境中待检,通过BS-600全自动生化仪(北京迈瑞医疗公司)检测大鼠空腹血糖、糖化血红蛋白、血清高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、总胆固醇、甘油三酯水平,严格按照检测试剂盒的步骤操作。采用酶联免疫吸附法检测大鼠血清氧化应激指标(SOD、ROS、MDA、GSH-PX)水平以及炎症因子指标(TNF- α 、IL-6、IL-1 β)水平。使用过量异氟烷将大鼠安乐死,并分离视网膜组织,用4%多聚甲醛溶液固定好后,常规石蜡包埋,连续5 μ m切片,载玻片用甲苯脱蜡2次、乙醇脱水、蒸馏水洗涤,用苏木精染色;洗涤后用1%盐酸酒精分色、伊红染色、蒸馏水洗涤10 min;二甲苯脱水并用中性胶密封,完成苏木素-伊红(HE)染色后,使用显微镜观察视网膜组织病理学变化。匀浆后,从视网

膜组织中提取总蛋白进行分析。使用 RIPA 裂解缓冲液裂解组织和细胞匀浆,并使用冷却离心机在 4 °C 下以 10 000 r/min 离心 20 min。将蛋白质上样到 10% SDS-PAGE 凝胶上,然后转移到聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上,以 5% 脱脂奶粉封闭 1 h;清洗后,加入 Occludin、p-PI3K、ZO-1、p-Akt、VE-Cadherin 一抗 (1:1000 稀释),4 °C 孵育过夜后,加入相应二抗 (1:2000 稀释),室温孵育 1 h;清洗后,加入 ECL 显色,以 β -actin 为内参蛋白,置于多功能成像仪下成像并采用 Image J 5.0 软件进行分析。

统计学分析:采用 SPSS 21.0 软件对数据进行统计分析。计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,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 各组大鼠体质量和糖化血红蛋白及空腹血糖比较

各组大鼠体质量和糖化血红蛋白及空腹血糖比较差异均有统计学意义 ($P < 0.001$)。模型组、芍药苷低剂量组、芍药苷高剂量组大鼠体质量低于对照组,空腹血糖、糖化血红蛋白水平高于对照组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。二甲双胍组体质量与对照组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),空腹血糖、糖化血红蛋白水平高于对照组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。芍药苷低剂量组、芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠体质量高于模型组,空腹血糖、糖化血红蛋白水平低于模型组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠体质量高于芍药苷低剂量组,空腹血糖、糖化血红蛋白水平低于芍药苷低剂量组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。二甲双胍组体质量高于芍药苷高剂量组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),空腹血糖、糖化血红蛋白水平与芍药苷高剂量组比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 1。

表 1 各组大鼠体质量和糖化血红蛋白及空腹血糖比较

($n = 12, \bar{x} \pm s$)

组别	体质量 (g)	糖化血红蛋白 (%)	空腹血糖 (mmol/L)
对照组	310.58±24.24	4.73±0.64	10.19±2.07
模型组	234.42±20.39 ^a	9.81±0.58 ^a	26.53±4.66 ^a
芍药苷低剂量组	274.00±22.42 ^{a,c}	8.12±0.73 ^{a,c}	20.79±4.10 ^{a,c}
芍药苷高剂量组	298.50±25.04 ^{a,c,e}	7.39±0.62 ^{a,c,e}	14.28±3.28 ^{a,c,e}
二甲双胍组	312.42±26.01 ^{c,e,g}	7.23±0.70 ^{a,c,e}	14.07±3.15 ^{a,c,e}
<i>F</i>	22.710	93.713	39.541
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

注:^a $P < 0.05$ vs 对照组;^c $P < 0.05$ vs 模型组;^e $P < 0.05$ vs 芍药苷低剂量组;^g $P < 0.05$ vs 芍药苷高剂量组。

表 2 各组大鼠血脂水平比较

($n = 12, \bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$)

组别	LDL-C	HDL-C	甘油三酯	总胆固醇
对照组	0.47±0.10	0.85±0.16	0.84±0.19	1.30±0.32
模型组	0.86±0.15 ^a	0.31±0.09 ^a	2.25±0.40 ^a	2.18±0.43 ^a
芍药苷低剂量组	0.73±0.13 ^{a,c}	0.64±0.13 ^{a,c}	1.57±0.33 ^{a,c}	1.84±0.37 ^{a,c}
芍药苷高剂量组	0.61±0.11 ^{a,c,e}	0.76±0.14 ^{a,c,e}	1.14±0.32 ^{a,c,e}	1.63±0.28 ^{a,c}
二甲双胍组	0.65±0.10 ^{a,c,e}	0.72±0.15 ^{a,c,e}	1.19±0.35 ^{a,c,e}	1.67±0.25 ^{a,c,e}
<i>F</i>	17.548	27.919	31.676	10.999
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:^a $P < 0.05$ vs 对照组;^c $P < 0.05$ vs 模型组;^e $P < 0.05$ vs 芍药苷低剂量组。

2.2 各组大鼠血脂水平比较 各组大鼠血清 LDL-C、HDL-C、甘油三酯、总胆固醇水平比较差异均有统计学意义 ($P < 0.001$)。模型组、芍药苷低剂量组、芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠血清 HDL-C 水平低于对照组,血清 LDL-C、甘油三酯、总胆固醇水平高于对照组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。芍药苷低剂量组、芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠血清 HDL-C 水平高于模型组,血清 LDL-C、甘油三酯、总胆固醇水平低于模型组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠血清 HDL-C 水平高于芍药苷低剂量组,血清 LDL-C、甘油三酯、总胆固醇水平低于芍药苷低剂量组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。二甲双胍组大鼠血清 LDL-C、HDL-C、甘油三酯、总胆固醇水平与芍药苷高剂量组比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 2。

2.3 各组大鼠视网膜组织病理结果比较 对照组大鼠视网膜组织结构,细胞形态正常。模型组大鼠视网膜组织厚度变薄,细胞形态改变且排列紊乱,基底膜增厚,毛细血管内膜增生,神经节细胞层可见空泡样改变。与模型组相比,芍药苷低剂量组、芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠视网膜组织病理损伤减轻,视网膜厚度明显增加,且细胞排列基本规则,神经节细胞数量明显增加,见图 1。

2.4 各组大鼠氧化应激相关指标水平比较 各组大鼠血清 SOD、GSH-Px、MDA、ROS 水平比较差异均有统计学意义 ($P < 0.001$)。模型组和芍药苷低剂量组大鼠血清 SOD、GSH-Px 水平低于对照组,血清 MDA、ROS 水平高于对照组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。芍药苷高剂量组和二甲双胍组大鼠 SOD、GSH-Px、MDA、ROS 水平与对照组比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。芍药苷低剂量组、芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠血清 SOD、GSH-Px 水平高于模型组,血清 MDA、ROS 水平低于模型组,差异均

有统计学意义($P<0.05$)。芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠血清 SOD、GSH-Px 水平高于芍药苷低剂量组,血清 MDA、ROS 水平低于芍药苷低剂量组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。二甲双胍组血清 SOD、GSH-Px、MDA、ROS 水平与芍药苷高剂量组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

2.5 各组大鼠炎症反应相关因子水平比较 各组大鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平比较差异均有统计学意义($P<0.001$)。模型组、芍药苷低剂量组大鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平与对照组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。芍药苷低剂量组、芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平低于模型组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。芍药苷高剂量组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平低于芍药苷低剂量组,差异均有统计学意义($P<0.05$),IL-6 水平与芍药苷低剂量组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),二甲双胍组大鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平低于芍药苷低剂量组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。二甲双胍组大鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平与芍药苷高剂量组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

2.6 各组大鼠 Occludin 和 ZO-1 及 VE-Cadherin 蛋白表达水平比较 各组大鼠 Occludin 和 ZO-1 及 VE-Cadherin 蛋白表达水平比较差异均有统计学意义($P<0.001$)。模

型组、芍药苷低剂量组、芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠 Occludin、ZO-1、VE-Cadherin 蛋白表达水平低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。芍药苷低剂量组、芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠 Occludin、ZO-1、VE-Cadherin 蛋白表达水平高于模型组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠 Occludin、ZO-1、VE-Cadherin 蛋白表达水平高于芍药苷低剂量组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。二甲双胍组大鼠 Occludin、ZO-1、VE-Cadherin 蛋白表达水平高于芍药苷高剂量组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 5,图 2。

2.7 各组大鼠 p-PI3K 和 p-Akt 蛋白表达水平比较 各组大鼠 p-PI3K 和 p-Akt 蛋白表达水平比较,差异均有统计学意义($P<0.001$)。模型组、芍药苷低剂量组、芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠 p-PI3K、p-Akt 蛋白表达水平高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。芍药苷低剂量组、芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠 p-PI3K、p-Akt 蛋白表达水平低于模型组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。芍药苷高剂量组、二甲双胍组大鼠 p-PI3K、p-Akt 蛋白表达水平低于芍药苷低剂量组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。二甲双胍组大鼠 p-PI3K、p-Akt 蛋白表达水平与芍药苷高剂量组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 6,图 3。

3 讨论

糖尿病视网膜病变是糖尿病患者视力低下和失明的主要原因,可严重影响全世界所有年龄段的人群,在 40 岁

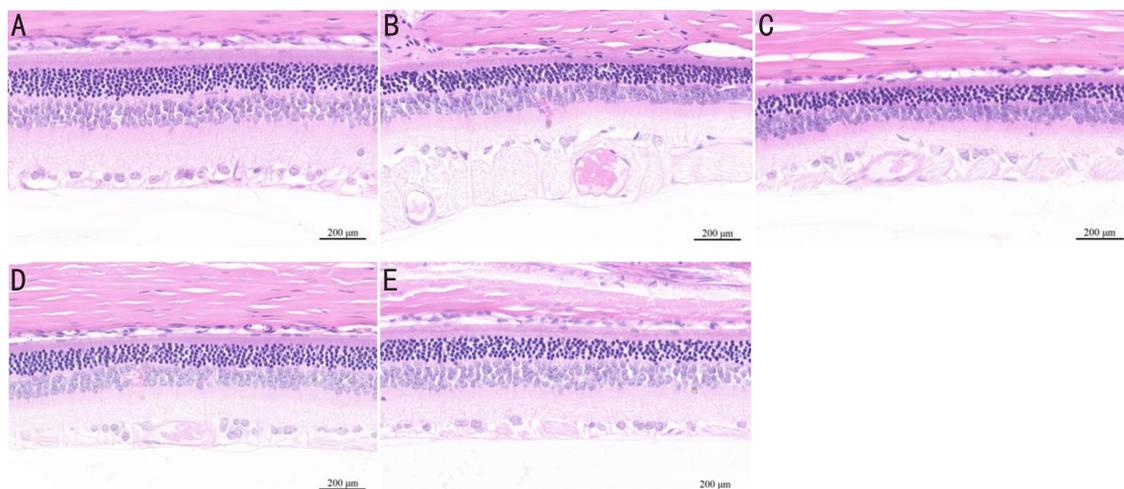


图 1 HE 染色检测各组大鼠视网膜组织病理变化 A: 对照组; B: 模型组; C: 芍药苷低剂量组; D: 芍药苷高剂量组; E: 二甲双胍组。

表 3 各组大鼠氧化应激相关指标水平比较

($n=12, \bar{x} \pm s$)

组别	SOD (U/mL)	GSH-Px ($\mu\text{mol/L}$)	MDA (nmol/mL)	ROS (U/mL)
对照组	82.15 \pm 11.64	90.33 \pm 10.48	3.42 \pm 0.47	29.54 \pm 2.79
模型组	32.73 \pm 6.98 ^a	46.79 \pm 8.94 ^a	5.68 \pm 0.40 ^a	54.79 \pm 3.63 ^a
芍药苷低剂量组	61.66 \pm 8.27 ^{a,c}	73.80 \pm 9.26 ^{a,c}	4.23 \pm 0.38 ^{a,c}	37.16 \pm 3.08 ^{a,c}
芍药苷高剂量组	80.96 \pm 10.35 ^{c,e}	92.04 \pm 11.52 ^{c,e}	3.75 \pm 0.33 ^{c,e}	28.13 \pm 2.94 ^{c,e}
二甲双胍组	79.48 \pm 10.92 ^{c,e}	91.51 \pm 10.69 ^{c,e}	3.72 \pm 0.35 ^{c,e}	29.04 \pm 2.67 ^{c,e}
F	55.795	43.622	63.345	164.382
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: ^a $P<0.05$ vs 对照组; ^c $P<0.05$ vs 模型组; ^e $P<0.05$ vs 芍药苷低剂量组。

表4 各组大鼠炎症反应相关因子水平比较

(n=12, $\bar{x}\pm s$, pg/mL)

组别	TNF- α	IL-6	IL-1 β
对照组	25.79 \pm 5.43	108.44 \pm 21.57	15.26 \pm 3.12
模型组	41.84 \pm 6.15 ^a	143.70 \pm 22.68 ^a	24.95 \pm 3.74 ^a
芍药苷低剂量组	32.52 \pm 5.19 ^{a,c}	120.56 \pm 24.52 ^{a,c}	18.63 \pm 3.36 ^{a,c}
芍药苷高剂量组	24.36 \pm 4.83 ^{c,e}	104.93 \pm 27.35 ^c	14.84 \pm 3.57 ^{c,e}
二甲双胍组	25.13 \pm 4.62 ^{c,e}	110.78 \pm 31.49 ^{c,e}	15.73 \pm 3.08 ^{c,e}
F	23.733	4.430	18.695
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:^aP<0.05 vs 对照组;^cP<0.05 vs 模型组;^eP<0.05 vs 芍药苷低剂量组。

表5 各组大鼠 Occludin 和 ZO-1 及 VE-Cadherin 蛋白表达水平比较

(n=12, $\bar{x}\pm s$)

组别	Occludin/ β -actin	ZO-1/ β -actin	VE-Cadherin/ β -actin
对照组	0.64 \pm 0.07	0.61 \pm 0.07	0.69 \pm 0.06
模型组	0.31 \pm 0.03 ^a	0.20 \pm 0.02 ^a	0.24 \pm 0.03 ^a
芍药苷低剂量组	0.42 \pm 0.03 ^{a,c}	0.33 \pm 0.04 ^{a,c}	0.39 \pm 0.04 ^{a,c}
芍药苷高剂量组	0.50 \pm 0.05 ^{a,c,e}	0.42 \pm 0.03 ^{a,c,e}	0.46 \pm 0.05 ^{a,c,e}
二甲双胍组	0.57 \pm 0.06 ^{a,c,e,g}	0.51 \pm 0.04 ^{a,c,e,g}	0.59 \pm 0.06 ^{a,c,e,g}
F	75.434	146.042	139.227
P	<0.001	<0.001	<0.001

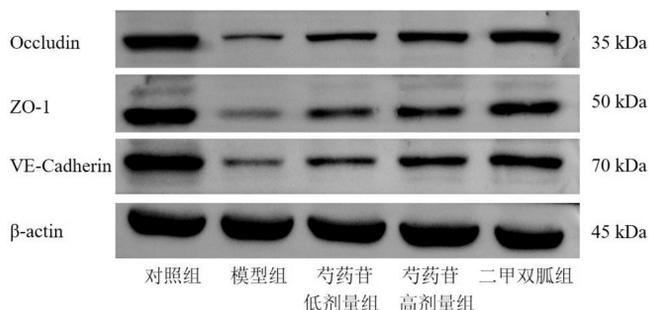
注:^aP<0.05 vs 对照组;^cP<0.05 vs 模型组;^eP<0.05 vs 芍药苷低剂量组;^gP<0.05 vs 芍药苷高剂量组。

图2 各组大鼠 Occludin 和 ZO-1 及 VE-Cadherin 蛋白表达图。

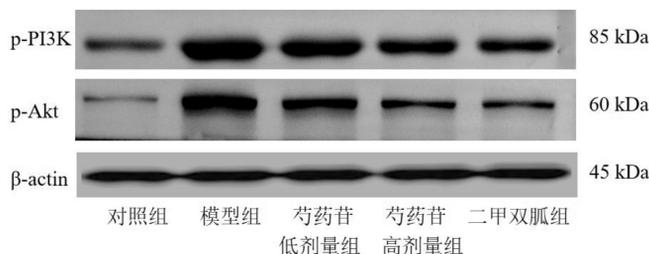


图3 各组大鼠 p-PI3K 和 p-Akt 蛋白表达图。

表6 各组大鼠 p-PI3K 和 p-Akt 蛋白表达水平比较

($\bar{x}\pm s$, n=12)

组别	p-PI3K/ β -actin	p-Akt/ β -actin
对照组	0.97 \pm 0.10	0.91 \pm 0.12
模型组	2.18 \pm 0.15 ^a	2.12 \pm 0.17 ^a
芍药苷低剂量组	1.74 \pm 0.18 ^{a,c}	1.69 \pm 0.15 ^{a,c}
芍药苷高剂量组	1.52 \pm 0.15 ^{a,c,e}	1.43 \pm 0.14 ^{a,c,e}
二甲双胍组	1.40 \pm 0.12 ^{a,c,e}	1.35 \pm 0.13 ^{a,c,e}
F	116.160	116.710
P	<0.001	<0.001

注:^aP<0.05 vs 对照组;^cP<0.05 vs 模型组;^eP<0.05 vs 芍药苷低剂量组。

及以上的成年人中患病率为 34.6%^[10]。糖尿病视网膜病变可分为非增生性糖尿病视网膜病变和增生性糖尿病视网膜病变,随着视网膜缺血程度的增加,病理性视网膜新生血管形成,视网膜牵引力脱离,可导致失明^[11]。研究表明,糖尿病患者的慢性炎症会引起体内炎症细胞的反应,进而影响毛细血管功能障碍,最终导致糖尿病视网膜病变

的发生,且慢性低度炎症在糖尿病视网膜膜病变的不同阶段广泛存在^[12-13]。因此,改善炎症反应对糖尿病视网膜膜病变的治疗具有重要意义。目前,临床治疗糖尿病视网膜膜病变多以二甲双胍片控制血糖、普拉洛芬滴眼液缓解患者眼部炎症等,故本研究选择二甲双胍作为阳性对照药物。本研究中,芍药苷高剂量组与二甲双胍组各指标之间的比较均无统计学意义。芍药苷来源于传统中药植物芍药,广泛应用于预防和治疗糖尿病及其并发症,且能抑制糖尿病大鼠视网膜细胞炎症^[14]。本研究成功构建糖尿病视网膜膜病变大鼠模型,并给予相应的药物干预后,与模型组相比,芍药苷低剂量组、芍药苷高剂量组大鼠体质量、血清糖化血红蛋白、空腹血糖、HDL-C、LDL-C、甘油三酯、总胆固醇水平、病理学损伤均得到一定程度的改善,且存在一定剂量依赖性,说明芍药苷对糖尿病视网膜膜病变大鼠的糖脂代谢有一定的治疗作用。

糖尿病患者细胞内葡萄糖水平升高会触发代谢葡萄糖的多元醇途径,这导致糖基化终产物沉积,蛋白激酶 C 激活,糖基化终产物受体和己糖激酶途径上调,从而引发氧化应激,导致细胞内 ROS 上升,并造成无法弥补的细胞损伤^[15-17]。SOD 和 GSH-Px 是机体主要的抗氧化酶,对维持机体抗氧化酶系统和氧化系统的平衡起着重要的作用,MDA 是细胞脂质过氧化的直接产物,其含量可反映机

体氧化应激损伤程度^[18-19]。本研究结果显示,芍药苷可显著升高糖尿病视网膜病变大鼠血清 SOD、GSH-Px 水平,降低血清 MDA、ROS 水平,且有一定的剂量依赖性。研究表明,早期糖尿病中高血糖诱导的循环线粒体 DNA 水平变化可能导致炎症和糖尿病视网膜病变的进展,慢性高血糖和氧化应激以及其他分子介质也可引发慢性炎症,导致糖尿病视网膜病变患者中趋化因子及促炎因子(TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β)水平升高,促进持续的炎症反应^[20-22]。TNF- α 是由巨噬细胞、自然杀伤细胞或 T 细胞产生的一种促炎细胞因子,它与糖尿病密切相关^[23]。研究发现,IL-6 是玻璃体中最显著的促炎因子之一,抑制 IL-6 能减轻糖尿病对视网膜的氧化损害及有助减低血管炎症及内皮屏障问题^[24]。本研究结果显示,芍药苷可显著降低糖尿病视网膜病变大鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平,说明芍药苷可有效减轻糖尿病视网膜病变大鼠的炎症反应及氧化应激反应,进而抑制糖尿病视网膜病变过程中的炎症反应,改善视网膜氧化应激损伤,促进机体抗氧化酶系统和氧化系统的平衡。

在糖尿病视网膜病变中患者玻璃体产生局部炎症反应加剧,血管内皮间隙增加,视网膜屏障被破坏,而 Occludin、ZO-1、VE-Cadherin 蛋白表达水平是评估血-视网膜屏障通透性的重要指标^[25]。PI3K/Akt 信号通路与多种组织器官的炎症反应、氧化应激损伤密切相关,在糖尿病及其并发症的发生发展中起到重要作用^[26]。核因子- κ B 是炎症反应主要介质,它可以调节多种炎症细胞因子及氧化应激因子的表达,抑制 Akt 活性可抑制核因子- κ B 启动子活性^[27]。视网膜毛细血管内皮细胞和周细胞中 PI3K/Akt 通路激活后,Akt 磷酸化水平升高,其下游靶基因 VEGF 的表达量增加,可介导内皮细胞增殖、迁移及新生血管生成过程;此外,PI3K/Akt 与其另一下游靶点哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)形成的通路在 ROS 诱导的视网膜毛细血管周细胞凋亡的早期病变中发挥作用,可引起毛细血管通透性增加、血浆渗出,使血-视网膜屏障完整性遭到破坏^[28-29]。Ran 等^[30]发现,姜黄素具有类似 PI3K 抑制剂的作用,可对 ROS/PI3K/Akt/mTOR 信号通路的表达产生干扰,抑制高糖诱导的视网膜色素上皮细胞中 ROS 的形成,降低 PI3K 及 Akt、mTOR 磷酸化水平,减少 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的分泌,从而减轻视网膜色素上皮细胞的炎症损伤和氧化应激。研究表明,抑制 PI3K/Akt 信号通路活化,可延缓糖尿病视网膜病变的病变进程^[31]。另有研究表明,芍药苷通过抑制血管内皮生长因子受体 2 介导的 PI3K/Akt 通路改善糖尿病肾病小鼠的肾损伤,从而恢复自噬并抑制细胞凋亡^[32]。本研究结果显示,芍药苷可显著升高糖尿病视网膜病变大鼠血清 Occludin、ZO-1、VE-Cadherin 蛋白表达水平,降低 p-PI3K、p-Akt 蛋白表达水平,且有一定的剂量依赖性。这表明芍药苷可有效改善糖尿病视网膜病变大鼠的视网膜屏障通透性,且与 PI3K、Akt 蛋白表达密切相关。上述研究结果说明,PI3K/Akt 信号通路可能是芍药苷改善及治疗糖尿病视网膜病变的作用靶点。Giurdanella 等^[33]研究发现,在高糖条件下,芍药苷可通过抑制 AGE-RAGE 通路下调血管内皮生长因子表达,并抑制炎症因子释放及血

管形成,进而发挥糖尿病视网膜病变保护作用。Zhu 等^[34]研究发现,在糖尿病视网膜病变中,芍药苷可通过上调 SOCS3 抑制 TLR4/NF- κ B 通路,抑制高糖诱导的视网膜小胶质细胞 MMP-9 表达及炎症反应。

综上所述,芍药苷可以减轻糖尿病视网膜病变大鼠炎症反应、氧化应激损伤,改善大鼠糖脂代谢水平,其作用机制可能与 PI3K、Akt 蛋白表达有关。本研究创新性的探究了芍药苷给药对糖尿病视网膜病变大鼠模型的保护作用,成功揭示了芍药苷通过抑制 PI3K/Akt 通路激活而改善大鼠炎症反应、氧化应激损伤及糖脂代谢水平,可为糖尿病视网膜病变患者的临床治疗奠定实验基础。然而本研究还存在一定不足,关于芍药苷是通过何种途径抑制 PI3K/Akt 信号通路激活还未完全阐明,在后续研究中将增加相关实验以进一步验证。

利益冲突声明: 本文不存在利益冲突。

作者贡献声明: 朱昭亮论文选题与修改,初稿撰写;宋虎平、陈涛文献检索,数据分析;白淑玮、段鹏选题指导,论文修改。所有作者阅读并同意最终的文本。

参考文献

- [1] 王雅清,王勇,刘永胜. 芦丁调控 miR-155 和 HMGB1/RAGE 通路对糖尿病视网膜病变大鼠炎症性反应的影响. 陕西医学杂志, 2024, 53(2):184-188.
- [2] Bai J, Yang F, Wang RQ, et al. Ghrelin ameliorates diabetic retinal injury: potential therapeutic avenues for diabetic retinopathy. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021:8043299.
- [3] 宋艳,王世娟,王予,等. 凉血散瘀汤联合胰激肽原酶治疗糖尿病视网膜病变临床研究. 新中医, 2024, 56(1):88-93.
- [4] 黄富文,吴文钦,何银英,等. 芍药苷对糖尿病大血管病变模型小鼠的干预作用. 岭南急诊医学杂志, 2022, 27(2):105-107, 111.
- [5] 李景景,凌芸,唐慧新,等. 基于网络药理学探究芍药苷治疗糖尿病视网膜病变的机制. 基因组学与应用生物学, 2024, 43(3):522-533.
- [6] 窦方方,李振通,曹素平,等. 原花青素调控 miR-21 表达对糖尿病视网膜病变大鼠血管内皮细胞功能及视网膜神经节细胞的保护机制研究. 河北医科大学学报, 2020, 41(12):1379-1383, 1388.
- [7] Yue T, Shi Y, Luo SH, et al. The role of inflammation in immune system of diabetic retinopathy: Molecular mechanisms, pathogenetic role and therapeutic implications. *Front Immunol*, 2022, 13:1055087.
- [8] 张悦之,殷小龙,邓燕,等. miR-375 靶向 PI3K/AKT 通路在高糖诱导的人视网膜内皮细胞增殖和血管生成中的作用. 眼科新进展, 2024, 44(2):89-93.
- [9] 张博,李凤君,左中夫. 芍药苷对糖尿病大鼠视网膜 Müller 细胞的保护作用. 中国中医眼科杂志, 2019, 29(1):5-9.
- [10] Lin KY, Hsih WH, Lin YB, et al. Update in the epidemiology, risk factors, screening, and treatment of diabetic retinopathy. *J Diabetes Investig*, 2021, 12(8):1322-1325.
- [11] ValdezGuerrero AS, Quintana-Pérez JC, Arellano-Mendoza MG, et al. Diabetic retinopathy: important biochemical alterations and the main treatment strategies. *Can J Diabetes*, 2021, 45(6):504-511.
- [12] 冯文,高新晓. PDLIM1 通过下调自噬抑制大鼠视网膜新生血管形成的机制研究. 眼科, 2024, 33(4):290-294.
- [13] Kinuthia UM, Wolf A, Langmann T. Microglia and inflammatory responses in diabetic retinopathy. *Front Immunol*, 2020, 11:564077.
- [14] 张博,李凤君,刘学政,等. 芍药苷基于 JAK2/STAT3 信号通

路抑制糖尿病大鼠视网膜细胞炎症的研究. 中国中医眼科杂志, 2023,33(4):305-310.

[15] 马盼, 刘汉滢, 彭美中, 等. 黄芪水提物 3 种效应成分对高糖诱导的内皮细胞损伤的保护作用及机制研究. 北京中医药大学学报, 2024,47(2):188-198.

[16] 毛黔华, 许凤青, 岳芳, 等. 石斛碱对过氧化氢诱导的 RGC-5 细胞氧化损伤的保护作用. 遵义医科大学学报, 2024,47(8):768-774,782.

[17] Kang QZ, Yang CX. Oxidative stress and diabetic retinopathy: molecular mechanisms, pathogenetic role and therapeutic implications. Redox Biol, 2020,37:101799.

[18] Li SY, Lu SH, Wang L, et al. Effects of amygdalin on ferroptosis and oxidative stress in diabetic retinopathy progression *via* the NRF2/ARE signaling pathway. Exp Eye Res, 2023,234:109569.

[19] 钟绍金, 韩珊颖, 黄裕昌. 花色苷对糖尿病视网膜病变模型大鼠视网膜氧化应激损伤拮抗作用研究. 现代中药研究与实践, 2023,37(3):21-25.

[20] 朱素华, 张曼, 徐圣秋. 槲皮素对糖尿病视网膜病变小鼠氧化应激损伤和炎症反应的影响. 药学与临床研究, 2023,31(1):48-52.

[21] Luo R, Li L, Xiao F, et al. LncRNA FLG-AS1 mitigates diabetic retinopathy by regulating retinal epithelial cell inflammation, oxidative stress, and apoptosis *via* miR-380-3p/SOCS6 axis. Inflammation, 2022,45(5):1936-1949.

[22] 张博, 李凤君, 刘学政, 等. Maresin1 通过抑制 JAK2/STAT3 信号通路减轻糖尿病大鼠视网膜神经炎症反应. 神经损伤与功能重建, 2023,18(12):709-713.

[23] 高永强, 梁娜. 血清鸢尾素、FGF-21、TNF- α 、IL-6 联合检测对 2 型糖尿病患者发生视网膜病变的预测价值. 检验医学与临床, 2023,20(20):3037-3040.

[24] Kong H, Zhao HR, Chen TR, et al. Targeted P2X7/NLRP3 signaling pathway against inflammation, apoptosis, and pyroptosis of retinal endothelial cells in diabetic retinopathy. Cell Death Dis, 2022,13(4):336.

[25] 余婧, 祝莹, 孙李永眷, 等. BET 溴域抑制通过阻断 VEGFR2 介导的 PAK1 和 eNOS 激活抑制糖尿病大鼠视网膜病变机制. 临床和实验医学杂志, 2023,22(8):791-795.

[26] 范玲玲, 刘伦. S1PR1 激活 PI3K/Akt 保护高糖环境下视网膜血管内皮细胞的生物学功能. 临床眼科杂志, 2023,31(6):555-560.

[27] 潘艳杰, 张海涛, 查俊华, 等. 芪明颗粒对糖尿病视网膜病变大鼠炎症反应的改善作用及机制. 西北药学杂志, 2021,36(6):940-945.

[28] Cao YL, Liu DJ, Zhang HG. miR-7 regulates the PI3K/AKT/VEGF pathway of retinal capillary endothelial cell and retinal pericytes in diabetic rat model through IRS-1 and inhibits cell proliferation. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018,22(14):4427-4430.

[29] Zeng J, Zhao H, Chen BH. DJ-1/PARK7 inhibits high glucose-induced oxidative stress to prevent retinal pericyte apoptosis *via* the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. Exp Eye Res, 2019,189:107830.

[30] Ran ZL, Zhang YL, Wen XY, et al. Curcumin inhibits highglucose-induced inflammatory injury in human retinal pigment epithelial cells through the ROS-PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. Mol Med Rep, 2019,19(2):1024-1031.

[31] 李宝花, 亢泽峰, 侯昕玥, 等. PI3K/AKT 通路在糖尿病视网膜病变中的调控作用. 国际眼科杂志, 2024,24(9):1426-1431.

[32] Wang X, Jiang L, Liu XQ, et al. Paeoniflorin binds to VEGFR2 to restore autophagy and inhibit apoptosis for podocyte protection in diabetic kidney disease through PI3K-AKT signaling pathway. Phytomedicine, 2022,106:154400.

[33] Giurdanella G, Lazzara F, Caporarello N, et al. Sulodexide prevents activation of the PLA2/COX-2/VEGF inflammatory pathway in human retinal endothelial cells by blocking the effect of AGE/RAGE. Biochem Pharmacol, 2017,142:145-154.

[34] Zhu SH, Liu BQ, Hao MJ, et al. Paeoniflorin suppressed high glucose-induced retinal microglia MMP-9 expression and inflammatory response *via* inhibition of TLR4/NF- κ B pathway through upregulation of SOCS3 in diabetic retinopathy. Inflammation, 2017,40(5):1475-1486.