

大豆异黄酮对糖尿病大鼠视网膜神经节细胞的保护作用

王烨瑛¹, 李昊彤¹, 李媛媛¹, 寿烨佳¹, 闫海波², 王松涛¹

引用: 王烨瑛, 李昊彤, 李媛媛, 等. 大豆异黄酮对糖尿病大鼠视网膜神经节细胞的保护作用. 国际眼科杂志, 2025, 25(7): 1056-1061.

基金项目: 新乡医学院博士科研基金资助项目 (No. XYB-SKYZZ201510-505119)

作者单位:¹(453003) 中国河南省新乡市, 新乡医学院基础医学院;²(453003) 中国河南省新乡市, 新乡医学院第一附属医院眼科

作者简介: 王烨瑛, 女, 研究方向: 糖尿病视网膜病变的发病机制。

通讯作者: 王松涛, 男, 博士研究生, 副教授, 研究方向: 视网膜疾病的基础与临床. wst921@tom.com

收稿日期: 2025-01-01 修回日期: 2025-05-26

摘要

目的: 初步探讨大豆异黄酮对糖尿病大鼠视网膜神经节细胞(RGCs)损伤的保护作用及相关机制。

方法: 取 4-6 周龄雄性 SD 大鼠 80 只 80 眼, 随机分为对照组、糖尿病组、大豆异黄酮低剂量处理组和大豆异黄酮高剂量处理组, 每组 20 只。其中, 对照组给予普通饲料喂养, 糖尿病组和大豆异黄酮低剂量处理组和高剂量处理组大鼠给予高脂饲料喂养。喂养 4 wk 后, 糖尿病组、大豆异黄酮低剂量组和高剂量处理组大鼠按照 50 mg/kg 剂量的链尿佐菌素进行腹腔注射, 建立糖尿病模型, 对照组给予相同剂量的柠檬酸钠缓冲液。大豆异黄酮低剂量组是对糖尿病模型大鼠每天给予 360 mg/kg 大豆异黄酮灌胃, 高剂量组每天给予 540 mg/kg 大豆异黄酮灌胃, 对照组及糖尿病组每天给予等量的纯水灌胃。分别在处理 4、8 wk 时, 进行体质量和血糖水平的测定。8 wk 时摘取眼球, 剥离视网膜。通过免疫组织化学染色和蛋白质印迹技术检测各组大鼠 RGCs 的数量, 采用组织化学手段检测大鼠视网膜组织超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量。

结果: 与糖尿病大鼠相比, 大豆异黄酮高剂量组处理 8 wk 时, 可以降低糖尿病大鼠的血糖至 8.9 ± 1.23 mmol/L, 提高大鼠视网膜内 SOD 活性至 849.93 ± 63.71 U/mgprot, 降低 MDA 含量至 45.77 ± 0.59 nmol/mgprot, RGCs 的数量与对照组接近, 增多至 76 ± 1 cells/mm² (均 $P < 0.05$)。

结论: 大豆异黄酮处理可以降低糖尿病大鼠视网膜内的氧化应激反应, 发挥对 RGCs 的保护作用。

关键词: 大豆异黄酮; 糖尿病视网膜病变; 视网膜神经节细胞

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2025.7.03

Protection of soy isoflavone on retinal ganglion cells in diabetic rats

Wang Yeying¹, Li Haotong¹, Li Yuanyuan¹, Shou Yejia¹, Yan Haibo², Wang Songtao¹

Foundation item: Doctoral Research Fund Project of Xinxiang Medical College (No.XYBSKYZZ201510-505119)

¹School of Basic Medical Sciences, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China; ²Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China

Correspondence to: Wang Songtao. School of Basic Medical Sciences, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China. wst921@tom.com

Received: 2025-01-01 Accepted: 2025-05-26

Abstract

• AIM: To investigate the protective effects of soy isoflavones on retinal ganglion cells (RGCs) damage in diabetic rats and related mechanisms.

• METHODS: Totally 80 male SD rats (80 eyes), aged 4-6 weeks, were randomly divided into four groups ($n = 20$ per group): a control group, a diabetic model group, a low-dose soy isoflavone treatment group, and a high-dose soy isoflavone treatment group. Among them, the control group was fed normal chow, while the diabetic group, soy isoflavone low-dose-treated group, and soy isoflavone high-dose-treated group were fed high-fat chow. After a feeding period of 4 wk, rats in the diabetic group, as well as those in the soy isoflavone low-dose and high-dose treatment groups, were injected intraperitoneally with streptozotocin (STZ) at a dose of 50 mg/kg to establish a diabetic model. Rats in the control group received an equivalent volume of sodium citrate buffer acid. The soy isoflavone low-dose-treated group was administered 360 mg/kg of soy isoflavones daily *via* gavage, while the soy isoflavone high-dose-treated group received 540 mg/kg of soy isoflavones daily *via* gavage. Both the control group and the diabetic group were given an equal amount of purified water daily *via* gavage. Body weight and blood glucose levels were measured at 4 and 8 wk post-gavage treatment. The eyes were extracted and the retinas were dissected at 8 wk following the gavage treatment. The number of RGCs in each group was determined using immunochemical tissue staining and protein blotting techniques, while the superoxide dismutase (SOD) activity and malondialdehyde (MDA) content of the rat retinal tissue were measured through histochemical methods.

• **RESULTS:** Compared with diabetic rats, treatment with high-dose soy isoflavones for 8 wk resulted in a reduction of blood glucose to 8.9 ± 1.23 mmol/L, an increase in intraretinal SOD activity to 849.93 ± 63.71 U/mgprot, a decrease in MDA content to 45.77 ± 0.59 nmol/mgprot, and an increase in the number of RGCs to 76 ± 1 cells/mm², which is comparable to the control group's data (all $P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** Soy isoflavones can reduce retinal oxidative stress in diabetic rats and protect RGCs.

• **KEYWORDS:** soy isoflavone; diabetic retinopathy; retinal ganglion cells

Citation: Wang YY, Li HT, Li YY, et al. Protection of soy isoflavones on retinal ganglion cells in diabetic rats. Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci), 2025,25(7):1056–1061.

0 引言

糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 常见的微血管并发症之一,也是目前导致成人失明的主要原因。随着社会的发展,DM 患者发病率逐年升高,患者中大约有 50% 会发生视网膜病变,因此糖尿病视网膜病变的发病人数也在不断增多^[1]。2020 年,全球约有 1.031 亿人患有糖尿病视网膜病变,预计到 2045 年将增加至 1.605 亿人^[2]。研究表明,氧化应激与 DM 患者大多数并发症有关,该类患者出现视网膜病变时,视网膜内氧自由基显著增加,氧化应激增强,造成视网膜神经元损伤^[3-4]。因此,开发具有抗氧化作用且安全性较高的天然提取物,用于治疗糖尿病视网膜病变成了近年来科研人员关注的热点^[5]。大豆异黄酮是多酚类的混合物,具有抗肿瘤、心血管疾病防护等特殊的药理作用^[6-7],由于大豆异黄酮是从植物中提取,与雌激素有相似结构,因此又称植物雌激素^[8]。体内实验证实,口服或静脉注射大豆异黄酮对活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 诱导的一系列慢性疾病有一定的保护作用^[9-10]。但其对糖尿病视网膜病变是否有保护作用及相关机制尚不明确。本研究通过静脉注射链脲佐菌素以及高脂高糖饲料喂养诱导糖尿病大鼠模型^[11],在部分动物模型中使用低剂量和高剂量的大豆异黄酮进行灌胃处理,探讨大豆异黄酮能够对糖尿病大鼠的视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGCs) 发挥保护作用,以及对氧化应激作用的影响,以期对糖尿病视网膜病变的临床治疗提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 实验动物及分组:取 80 只 80 眼 4-6 周龄,体质量在 170-190 g 的 SD 大鼠,由新乡医学院实验动物部提供[许可证号:SCXK(京)2019-0010],购买自斯贝福生物技术有限公司。将其随机分为对照组 (Con 组)、糖尿病组 (Mod 组)、大豆异黄酮低剂量组 (Soy-iso360 组) 和大豆异黄酮高剂量组 (Soy-iso540 组),每组 20 只 20 眼,一共 4 组。本研究经新乡医学院医学伦理委员会审核批准 (审批号:XYLL-20240365),实验动物喂养与使用符合实验动物管理条例的规定。

1.1.2 主要试剂与仪器 仪器:体式显微镜、倒置荧光显微镜 (日本 Nikon 公司),冰冻切片机 (德国 Leica 公司),水

平电泳仪 (美国 BIO-RAD 公司),动物呼吸麻醉机 (中国瑞沃德公司)。一抗:兔源抗 Brn3a 抗体 (英国 Abcam 公司),鼠源抗 GAPDH 抗体 (武汉三鹰技术有限公司)。其他试剂:4',6-二脒基-2 苯基吡啶 (DAPI) (德国 Sigma 公司),Alexa Fluor 488 IgG (美国 invitrogen 公司),超氧化物阴离子荧光探针 (中国 Byotime 公司),辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 (中国 Beyotime 公司),0.4% 奥布卡因滴眼液 (日本参天株式会社);改良眼球固定液由上海市五官科医院病理科提供。鼠普通饲料与高脂饲料,链脲佐菌素注射液 (streptozotocin) (中国 Phygene 公司),丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性检测试剂盒 (中国 Solarbio 公司),分光光度计 (上海仪电分析仪器公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立 对照组大鼠予以普通饲料喂养,糖尿病组、大豆异黄酮低剂量组和大豆异黄酮高剂量组予以高脂饲料喂养,连续喂养 4 wk 后,禁食 12 h,将 10 g/L 链脲佐菌素溶于 0.1 mol/L 柠檬酸钠缓冲液,以 50 mg/kg 的剂量给予糖尿病组、大豆异黄酮低剂量组和大豆异黄酮高剂量组大鼠腹腔注射链脲佐菌素,对照组给予腹腔注射同体积柠檬酸钠缓冲液,连续注射 3 d,末次注射 72 h 后采尾静脉血,测量每组大鼠血糖,对照组大鼠血糖水平正常,糖尿病组、大豆异黄酮低剂量组和大豆异黄酮高剂量组大鼠血糖水平 ≥ 11.10 mmol/L,视为大鼠患有糖尿病,连续诱导 2 wk,禁食 12 h 后测糖尿病组、大豆异黄酮低剂量组和大豆异黄酮高剂量组大鼠尾静脉血,血糖水平 ≥ 16.70 mmol/L,眼球也发生相应病变 (大鼠的眼球发生了视网膜水肿),糖尿病视网膜病变模型成功率为 80% 维持 1 wk 以上,视为糖尿病视网膜病变模型建立成功^[12]。

1.2.2 药物干预及取材处理 糖尿病视网膜病变模型建立成功后,大豆异黄酮低剂量组每天给予 360 mg/kg 大豆异黄酮溶解于一定纯水中灌胃,大豆异黄酮高剂量组每天给予 540 mg/kg 大豆异黄酮溶解于同体积纯水中灌胃,对照组及糖尿病组大鼠每天给予同剂量纯水灌胃^[13]。灌胃处理 8 wk 后,对各组大鼠给予腹腔注射 2 mL 10% 水合氯醛,过量麻醉处死大鼠 10 只 10 眼,迅速摘取右侧眼球,置入改良眼科固定液固定 12 h,然后置入 15% 蔗糖溶液过夜,次日换入 30% 蔗糖溶液脱水,再用 OCT (optical cutting temperature compound) 包埋剂包埋,行冰冻切片,厚度 10 μ m,用于免疫荧光染色;另 10 只 10 眼过量麻醉处死后,摘取右侧眼球,迅速在体视显微镜下分离视网膜,置入磷酸盐缓冲液 (PBS) 清洗,其中 5 只大鼠的视网膜放入 EP 管-80 $^{\circ}$ C 冰箱保存,用于蛋白质的提取,浓度测定,调平以及后续蛋白质印迹技术检测;另外 5 只大鼠的视网膜加入 EP 管进行研磨匀浆,4 $^{\circ}$ C 离心 10 min,取上清液,用于 SOD 活性和 MDA 含量的检测。

1.2.3 大鼠体质量和空腹血糖水平的测量 大豆异黄酮处理 4,8 wk 时,取各组大鼠进行称重并记录数据,然后禁食 12 h,再放入呼吸麻醉箱,异氟烷麻醉 10 min,尾静脉采血,用血糖仪测定血糖水平。

1.2.4 视网膜组织中 SOD 活性和 MDA 含量检测 为了检测视网膜组织内的氧化应激水平,我们分别检测了 SOD 活性和 MDA 含量。将视网膜组织匀浆上清液从-80 $^{\circ}$ C 冰箱取出,按照 SOD、MDA 试剂盒说明书操作,测定 SOD 活性及 MDA 含量。

1.2.5 Western blot 检测 RGCs 特异蛋白的表达情况

Western blot 测定各组 RGCs 特异表达蛋白 Brn3a 的表达情况。从-80 ℃取出视网膜组织,称重后加入组织裂解液 RIPA 以及对应比例的蛋白酶抑制剂 PMSF(100:1),经匀浆离心后取上清液,使用 BCA 法对蛋白质浓度进行测定。电泳时,设定电压 80-120 V,约 90 min 后进行转膜,冰浴条件 300 mA 下转膜 90 min;取出 PVDF 膜,裁取目的条带部位,置于脱脂奶粉内封闭 2 h;1×TBST 漂洗 3 次,每次 10 min;加入一抗 Brn3a 孵育液(1:1 000)4 ℃过夜。次日取出,1×TBST 洗 3 次,每次 10 min 再加入 HRP 标记的二抗,室温孵育 2 h;后用 1×TBST 洗 3 次,每次 10 min。最后利用 ECL 发光试剂盒显影拍照,结果使用 Image J 软件进行分析处理。

1.2.6 免疫荧光染色检测大鼠视网膜 RGCs 数量 免疫荧光染色检测各组大鼠视网膜内 RGCs 的数量。将玻片从-80 ℃冰箱取出,复温 30 min,干燥后放入 PBS 缓冲液水化 5 min 洗去 OCT;换入 0.3% Triton X-100 破膜 15 min, PBS 洗 3 次,每次 5 min;放入盛有枸橼酸钠溶液的容器内行微波炉加热修复抗原;自然冷却至室温后 PBS 洗 3 次,每次 10 min;加入血清封闭 30 min;再滴加一抗 1:200 稀释的兔源抗 Brn3 a 抗体,置于湿盒内 4 ℃冰箱孵育过夜;次日取出复温 30 min,PBS 洗 3 次;加入 1:1000 稀释的荧光二抗 Alexa Fluor 488 IgG 和 DAPI,避光孵育 1 h,PBS 清洗后放荧光淬灭封片剂封片。干燥后在荧光显微镜下观察,选取距离视盘 0.8-1.2 mm 处的视网膜拍照,每个切片随机选取 3 个视野,对阳性的 RGCs 计数 3 次计算平均值。

统计学分析:使用 GraphPad Prism 9 统计学软件进行统计分析。数值用均值±标准差表示,重复测量数据采用重复测量的方差分析,进一步两两比较采用 Tukey 检验;各组间整体比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠体质量的变化 为了检测糖尿病以及大豆异黄酮处理是否对大鼠的体质量有影响,分别在灌胃处理第 4、8 wk 时,测定各组大鼠的体质量情况,并进行统计分析。结果表明,不同时间各组大鼠体质量比较,组间和交互差异有统计学意义($F_{\text{组间}}=3.231, P_{\text{组间}}=0.0442; F_{\text{交互}}=2.987, P_{\text{交互}}=0.0087$),时间差异无统计学意义($F_{\text{时间}}=1.117, P_{\text{时间}}=0.3474$)。灌胃处理 4、8 wk 时,与 Con 组相比,Mod 组大鼠随病程增加体质量有下降趋势,而大豆异黄酮处理组大鼠体质量下降的趋势逐渐得到改善,见表 1。

2.2 大鼠空腹血糖的测定 为了检测大豆异黄酮处理是否对糖尿病大鼠的血糖是否有改善作用,分别在灌胃处理第 4、8 wk 时,测定各组大鼠鼠尾静脉的血糖水平并进行统计分析。结果表明,不同时间各组大鼠血糖比较,差异有统计学意义($F_{\text{组间}}=165.32, F_{\text{时间}}=128.5, F_{\text{交互}}=27.4$,均 $P<0.001$)。灌胃处理 4、8 wk 时,与 Con 组相比,Mod 组大鼠随病程增加血糖仍较高。而与 Mod 组相比,处理 4 wk 时,Soy-iso360 组和 Soy-iso540 组的血糖水平仍维持较高水平。但在处理 8 wk 时,与 Mod 组血糖水平相比,Soy-iso360 组和 Soy-iso540 组分别从灌胃 4 wk 时的 $18.37 \pm 2.34, 20.72 \pm 1.78$ mmol/L 降低至 $9.23 \pm 1.27, 8.90 \pm 1.23$ mmol/L,差异具有统计学意义($t=-19.8, -20.7$,均 $P<0.001$),接近 Con 组水平,见表 2。表明大豆异黄酮处理能够降低对糖尿病大鼠的血糖水平。

表 1 各组大鼠体质量比较 ($\bar{x} \pm s, g$)

组别	<i>n</i>	造模前	灌胃 4 wk	灌胃 8 wk
Con 组	20	230.2±19.3	232.5±20.3	236.7±20.5
Mod 组	20	240.5±18.2	210.3±15.5	214.8±18.5 ^a
Soy-iso360 组	20	234.6±20.6	226.6±18.7	225.5±23.4
Soy-iso540 组	20	236.4±23.5	228.8±25.9	229.2±19.7

注:Con 组为对照组;Mod 组为糖尿病组;Soy-iso360 组为大豆异黄酮低剂量组;Soy-iso540 组为大豆异黄酮高剂量组。^a*P*<0.05 vs 同时间 Con 组。

表 2 各组大鼠空腹血糖比较 ($\bar{x} \pm s, mmol/L$)

组别	<i>n</i>	造模前	灌胃 4 wk	灌胃 8 wk
Con 组	20	6.30±0.51	7.26±0.24	6.89±0.51
Mod 组	20	6.65±0.34	17.87±1.85 ^{a, c}	18.30±1.62 ^{a, c}
Soy-iso360 组	20	6.52±0.67	18.37±2.34 ^{a, c}	9.23±1.27 ^{a, c}
Soy-iso540 组	20	6.43±0.43	20.72±1.78 ^{a, c}	8.90±1.23 ^{a, c}

注:Con 组为对照组;Mod 组为糖尿病组;Soy-iso360 组为大豆异黄酮低剂量组;Soy-iso540 组为大豆异黄酮高剂量组。^a*P*<0.05 vs 同时间 Con 组;^c*P*<0.05 vs 同组造模前。

2.3 大鼠 RGCs 的检测 为了明确大豆异黄酮能否对糖尿病大鼠视网膜发挥保护作用,在灌胃处理 8 wk 时,利用 RGCs 标记物 Brn3a 对各组大鼠视网膜组织切片进行了免疫荧光染色,利用视网膜切片分层计数的方法对 RGCs 的数量进行了统计和比较。染色结果显示,Con 组大鼠视网膜神经节细胞层(ganglioncell layer, GCL)细胞排列连续整齐,Mod 组大鼠视网膜 GCL 层细胞排列中断,而 Soy-iso360 组和 Soy-iso540 组大鼠视网膜 GCL 层细胞排列中断区域明显减少(图 1)。统计结果显示,与 Con 组大鼠 RGCs 数量(82 ± 1 cells/mm²)相比,Mod 组的 RGCs 数量(55 ± 1 cells/mm²)减少较多,差异有统计学意义($t=-31.7, P<0.001$)。而与 Mod 组的 RGCs 数量相比,Soy-iso360 组和 Soy-iso540 组大鼠视网膜中 RGCs 数量($65 \pm 1, 76 \pm 1$ cells/mm²)显著增多,差异具有统计学意义($t=10.7, 21.0$,均 $P<0.001$)。

为了进一步验证上述免疫染色结果,在处理 8 wk 时,对各组大鼠的视网膜组织中神经节细胞特异标志物的蛋白表达情况进行了检测。结果表明,与 Con 组大鼠相比,Mod 组大鼠视网膜 Brn3a 蛋白表达量明显降低,差异有统计学意义($t=13.32, P<0.0001$),见图 2。而与 Mod 组相比,Soy-iso360 组大鼠视网膜 Brn3a 蛋白表达显著增加,差异有统计学意义($t=28.10, P<0.0001$),Soy-iso540 组大鼠视网膜 Brn3a 蛋白表达也显著增加,差异有统计学意义($t=112.8, P<0.0001$),表明大豆异黄酮对糖尿病大鼠视网膜的 RGCs 有保护作用。

2.4 各组大鼠视网膜组织 SOD 活性及 MDA 含量 为明确大豆异黄酮发挥保护作用是否和其抗氧化应激作用有关,在灌胃处理 8 wk 时,利用 ELISA 检测灌胃处理 8 wk 时各组大鼠视网膜内的 SOD 和 MDA 含量。结果显示,与 Con 组 SOD 活性和 MDA 含量相比,Mod 组大鼠视网膜的 SOD 活性降低($t=-10.2, P<0.001$),MDA 含量则显著升高($t=40.1, P<0.001$)。而与 Mod 组大鼠相比,Soy-iso360 组大鼠的 SOD 活性升高($t=6.1, P<0.001$),而 MDA 含量则显著减低($t=-18.6, P<0.001$),且 Soy-iso540 组 SOD 活性升高($t=14.7, P<0.001$)和 MDA 含量降低($t=-22.3, P<0.001$)更明显,见表 3。

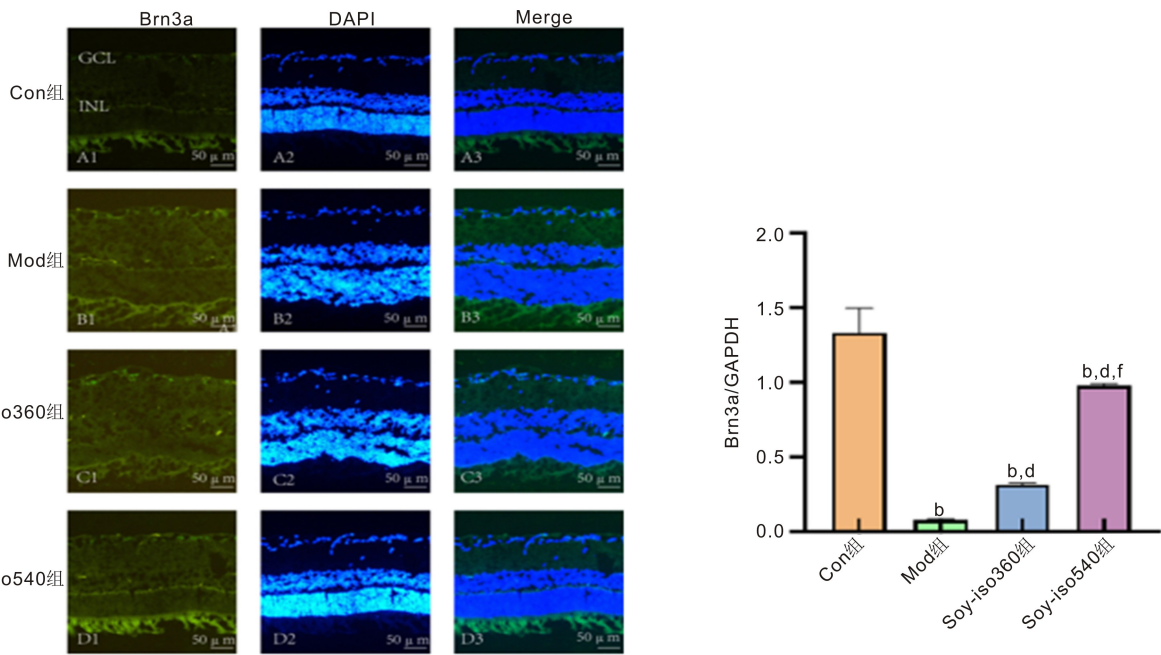


图1 各组大鼠 RGCs 免疫荧光染色结果 RGCs 用 Brn3a 标记(绿色),DAPI 衬染细胞核(蓝色)。GCL:神经节细胞层;INL:内核层。^b*P*<0.01 vs Con 组;^d*P*<0.01 vs Mod 组;^f*P*<0.01 vs Soy-iso360 组。

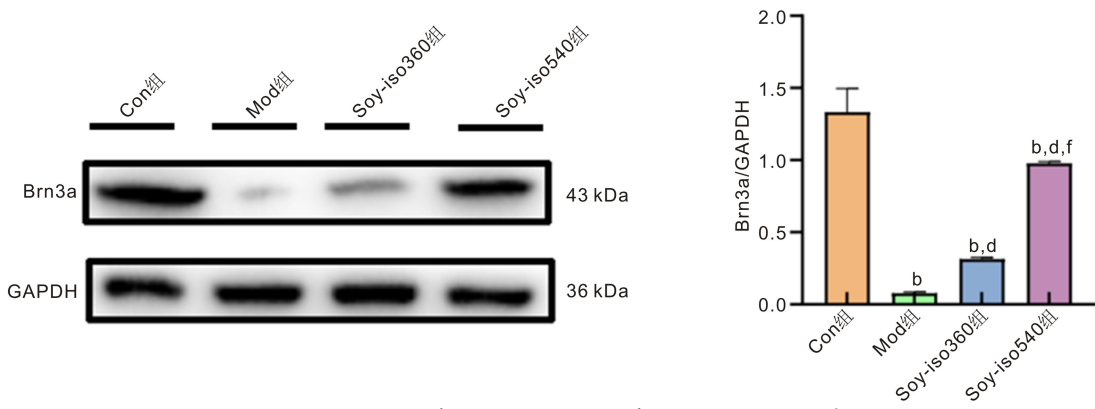


图2 各组大鼠视网膜 Brn3a 蛋白表达 ^b*P*<0.01 vs Con 组;^d*P*<0.01 vs Mod 组;^f*P*<0.01 vs Soy-iso360 组。

表 3 各组大鼠视网膜组织 SOD 活性及 MDA 含量 $\bar{x}\pm s$		
组别	SOD 活性(U/mgprot)	MDA 含量(nmol/mgprot)
Con 组	652.93±72.86	20.58±1.03
Mod 组	397.41±36.35	94.74±1.26
Soy-iso360 组	584.28±56.80	53.93±0.77
Soy-iso540 组	849.93±63.71	45.77±0.59

注:Con 组为对照组;Mod 组为糖尿病组;Soy-iso360 组为大豆异黄酮低剂量组;Soy-iso540 组为大豆异黄酮高剂量组。

3 讨论

糖尿病视网膜病变作为糖尿病最常见的微血管并发症之一,其发生与发展与长期高血糖状态诱导的代谢紊乱、病情进展、遗传因素和糖尿病控制情况密切相关,如果不及治疗,DR 可导致进行性视网膜神经退行性变及病理性新生血管形成,最终引发不可逆性视力损伤甚至失明^[14],严重损害患者生存质量。目前临床治疗策略以血糖控制为核心,联合抗血管内皮生长因子(anti-VEGF)药物及视网膜光凝术等延缓病情进展后期对患者视力及代谢功能进行改善,包括以视网膜光凝术为基础的综合治疗和玻璃体切割手术等方法,保留有用视力,最大限度恢复

和改善视功能,降低致盲率^[15]。然而,现有疗法难以逆转已发生的视网膜神经元损伤,因此探索具有神经保护功能的干预药物及其作用靶点,成为 DR 防治研究的重要方向。

糖尿病视网膜病变发展过程中与视网膜内氧化应激的增加^[16]以及 RGCs 的损伤^[17-18]和功能障碍等密切相关。研究人员发现三七三醇皂苷、红参、天麻素、黄芪甲苷、银杏提取物等对糖尿病视网膜中残余 RGCs 有一定的保护作用,这些药物或提取物来源有限,相关机制并不明确。相比之下,大豆异黄酮作为大豆中富含的植物雌激素类化合物,因其来源广泛、肠道吸收率高及多靶点调控特性受到关注。该化合物可通过选择性结合雌激素受体(ERα/ERβ),发挥抗氧化、调节糖脂代谢及抑制细胞凋亡等生物学效应。研究表明,大豆异黄酮已经被证实具有植物雌激素和抗氧化功能,在多种疾病中具有保护作用,如骨质疏松^[19]、痴呆认知能力下降^[20]、冠心病^[21]等。然而,大豆异黄酮是否通过调控视网膜氧化应激微环境参与糖尿病视网膜病变进程,尤其对 RGCs 的保护作用我们进行了初步探讨。

研究发现,大豆异黄酮处理 8 wk 时,与 Mod 组大鼠相

比,Soy-iso360 组和 Soy-iso540 组大鼠的空腹血糖水平均明显下降,与 Con 组大鼠相近。表明大豆异黄酮处理也有助于糖尿病模型血糖的控制,并起到降血糖的作用;RGCs 的检测结果表明,Soy-iso360 组 RGC 数量增加了 18.2%,高剂量组增加了 38.2%,表明大豆异黄酮对糖尿病视网膜病变中的 RGCs 有明确的保护作用。此外,大豆异黄酮处理对视网膜内的氧化应激环境有没有改变,我们也对各组大鼠视网膜组织内的 SOD 活性和 MDA 含量进行了测定,结果发现,与 Con 组相比,Mod 组大鼠视网膜 SOD 活性显著降低和 MDA 含量显著升高;而处理 8 wk 时,与 Mod 组大鼠相比,Soy-iso360 组大鼠视网膜的 SOD 活性明显升高,MDA 含量则显著降低,且这种 SOD 活性升高和 MDA 含量降低在 Soy-iso540 组更明显,Soy-iso540 组的相应改变最明显。该结果证实大豆异黄酮处理可以降低糖尿病大鼠视网膜内的氧化应激水平。

本研究首次证实大豆异黄酮可通过双重机制改善糖尿病视网膜病变进程:系统性调控血糖代谢,缓解糖尿病原发病理;局部抑制视网膜氧化应激,保护 RGCs 免受氧化损伤。结合既往研究,我们推测其分子机制可能涉及以下通路:激活 Nrf2 信号轴^[22],上调 SOD、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)等内源性抗氧化酶表达;抑制 NADPH 氧化酶(NOX)介导的 ROS 爆发,阻断线粒体依赖性凋亡通路^[23];通过雌激素受体依赖性途径调控 PI3K/Akt 及 ERK/MAPK 信号,促进 RGCs 存活^[24]。然而,本研究尚未明确大豆异黄酮的具体作用靶点,后续需通过基因敲除模型或特异性抑制剂进一步验证。

本研究与文献[25]的研究结果类似,经采取措施后视网膜组织的 SOD 明显升高,MDA 水平明显降低,一致性的原因为本研究和该篇文章均以减少氧化应激,对视网膜的保护作用作为治疗靶点,改善了疾病对大鼠视网膜细胞的伤害性。而文献[25]明确信号通路探讨药物的有效性,本研究尚未明确大豆异黄酮的具体作用靶点,后续需通过基因敲除模型或特异性抑制剂进一步验证。且本研究的样本量较少,后续应扩大样本量,进一步展开实验验证。文献[26]从分子角度出发,本研究与之研究视角不同,提供了对于糖尿病视网膜病变的不同治疗方案,但本研究的安全性较高(大豆异黄酮是日常食物的提取物),临床价值较高。本文使用免疫荧光染色观察 RGCs 的数量,进而得出最终结论,比文献[27]在研究方法上创新。

综上所述,大豆异黄酮通过降低糖尿病视网膜的氧化应激水平,减轻对 RGCs 的损伤,从而对糖尿病视网膜发挥一定的保护作用,该研究可能对糖尿病视网膜病变的临床治疗提供新思路。

利益冲突声明: 本文不存在利益冲突。

作者贡献声明: 王烨瑛、李昊彤、李媛媛论文选题与修改,初稿撰写;闫海波、寿烨佳文献检索,数据分析;王松涛选题指导,论文修改及审阅。所有作者阅读并同意最终的文本。

参考文献

[1] Vujosevic S, Aldington SJ, Silva P, et al. Screening for diabetic retinopathy: new perspectives and challenges. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2020,8(4):337-347.
[2] Teo ZL, Tham YC, Yu M, et al. Global prevalence of diabetic retinopathy and projection of burden through 2045: systematic review and

meta-analysis. *Ophthalmology*, 2021, 128(11):1580-1591.
[3] Rodríguez ML, Pérez S, Mena-Mollá S, et al. Oxidative stress and microvascular alterations in diabetic retinopathy: future therapies. *Oxid Med Cell Longev*, 2019,2019:4940825.
[4] 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.
[5] Khazeei Tabari MA, Mirjalili R, Khoshhal H, et al. Nature against diabetic retinopathy: a review on antiangiogenic, antioxidant, and anti-inflammatory phytochemicals. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022,2022:4708527.
[6] Nakai S, Fujita M, Kamei Y. Health promotion effects of soy isoflavones. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 2020,66(6):502-507.
[7] Sahin I, Bilir B, Ali S, et al. Soy isoflavones in integrative oncology: increased efficacy and decreased toxicity of cancer therapy. *Integr Cancer Ther*, 2019,18:1534735419835310.
[8] Abdelrazek HMA, Mahmoud MMA, Tag HM, et al. Soy isoflavones ameliorate metabolic and immunological alterations of ovariectomy in female wistar rats: antioxidant and estrogen sparing potential. *Oxid Med Cell Longev*, 2019,2019:5713606.
[9] Morvaridzadeh M, Nachvak SM, Agah S, et al. Effect of soy products and isoflavones on oxidative stress parameters: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Food Res Int*, 2020,137:109578.
[10] Pang DJ, Yang CC, Luo QH, et al. Soy isoflavones improve the oxidative stress induced hypothalamic inflammation and apoptosis in high fat diet-induced obese male mice through PGC1- α pathway. *Aging (Albany NY)*, 2020,12(9):8710-8727.
[11] Deeds MC, Anderson JM, Armstrong AS, et al. Single dose streptozotocin-induced diabetes: considerations for study design in islet transplantation models. *Lab Anim*, 2011,45(3):131-140.
[12] Pitale PM, Gorbatyuk MS. Diabetic retinopathy: from animal models to cellular signaling. *Int J Mol Sci*, 2022,23(3):1487.
[13] 黄泓轲,罗健玮,冉华. 大豆异黄酮改善糖尿病心脏病大鼠心功能及心肌纤维化机制的研究. *中国糖尿病杂志*, 2023,31(5):376-381.
[14] Kaur A, Kumar R, Sharma A. Diabetic retinopathy leading to blindness- a review. *Curr Diabetes Rev*, 2024,20(9):e240124225997.
[15] Lin ZC, Deng AJ, Hou N, et al. Advances in targeted retinal photocoagulation in the treatment of diabetic retinopathy. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023,14:1108394.
[16] Kang QZ, Yang CX. Oxidative stress and diabetic retinopathy: molecular mechanisms, pathogenetic role and therapeutic implications. *Redox Biol*, 2020,37:101799.
[17] Zhang J, Liu R, Kuang HY, et al. Protective treatments and their target retinal ganglion cells in diabetic retinopathy. *Brain Res Bull*, 2017,132:53-60.
[18] Adamiec - Mroczek J, Zając - Pytrus H, Misiuk - Hojło M. Caspase-dependent apoptosis of retinal ganglion cells during the development of diabetic retinopathy. *Adv Clin Exp Med*, 2015,24(3):531-535.
[19] 张旭,刘石磊,齐万里. 基于网络药理学及分子对接方法探讨大豆异黄酮治疗骨质疏松的机制. *中药新药与临床药理*, 2023,34(2):214-221.
[20] Sekikawa A, Wharton W, Butts B, et al. Potential protective mechanisms of S-equol, a metabolite of soy isoflavone by the gut microbiome, on cognitive decline and dementia. *Int J Mol Sci*, 2022,23(19):11921.
[21] Sanders TA, Dean TS, Grainger D, et al. Moderate intakes of intact soy protein rich in isoflavones compared with ethanol-extracted soy protein increase HDL but do not influence transforming growth factor beta

(1) concentrations and hemostatic risk factors for coronary heart disease in healthy subjects. Am J Clin Nutr, 2002,76(2):373-377.

[22] 马军, 杨静, 王清, 等. 丹酚酸 B 通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路减轻糖尿病大鼠视网膜损伤. 现代生物医学进展, 2025,25(7):1142-1151.

[23] 梁福珍, 樊芳, 毕萌, 等. 齐墩果酸对糖尿病大鼠视网膜氧化应激反应和视网膜神经节细胞损伤的影响. 眼科新进展, 2023,43(7):526-529.

[24] 张佑靖, 杨明. 红景天苷通过激活 PI3K/AKT 通路抑制氧化应激和免疫炎症反应减轻糖尿病大鼠视网膜病变. 细胞与分子免疫学

杂志, 2023,39(5):404-409.

[25] 李妍, 牟琳, 陈廷. 健脾补肾益视方对小鼠干性年龄相关性黄斑变性的保护作用及其机制. 国际眼科杂志, 2024, 24(7):1032-1037.

[26] 张艳艳, 王彦彦, 邵雪丽, 等. circRNA_0076631 通过调控焦亡介导糖尿病视网膜病变的机制研究. 国际眼科杂志, 2025,25(3):351-358.

[27] 汪小兰, 杨瀚毅, 张益萌, 等. 紫檀芪对高糖介导的人视网膜微血管内皮细胞内皮间充质转化的抑制作用. 国际眼科杂志, 2025, 25(3):359-364.

2024 版《中国科技期刊引证报告》核心版眼科期刊主要指标及排名 (以综合评价总分为序)

期刊名称	核心总被引频次		核心影响因子		综合评价总分	
	数值	排名	数值	排名	数值	排名
中华眼科杂志	2013	2	1.328	1	63.8	1
国际眼科杂志	2806	1	1.125	2	58.2	2
眼科新进展	1208	3	0.826	3	52.7	3
中国眼耳鼻喉科杂志	423	7	0.542	7	40.9	4
中华眼科医学杂志电子版	173	11	0.318	10	32.0	5
中华实验眼科杂志	924	4	0.614	5	30.2	6
中华眼底病杂志	684	6	0.549	6	29.1	7
临床眼科杂志	336	8	0.278	11	23.0	8
中华眼视光学与视觉科学杂志	764	5	0.767	4	22.9	9
眼科	292	9	0.323	9	19.8	10
中国斜视与小儿眼科杂志	236	10	0.385	8	13.4	11

摘编自 2024 版《中国科技期刊引证报告》核心版