

地榆皂苷 II 通过 PI3K/Akt/mTOR 通路在体内外减轻糖尿病视网膜病变的作用机制研究

李光云¹, 周霖^{2*}, 李鹏³, 叶柳², 胡柱晴²

1. 新乡医学院第一附属医院 临床药学学部, 新乡 河南 453100

2. 郑州大学第一附属医院 药学部, 郑州 河南 450052

3. 郑州大学第一附属医院 康复医学科, 郑州 河南 450052

摘要: 目的 探讨地榆皂苷 II 通过 PI3K/Akt/mTOR 通路对链脲佐菌素诱导的大鼠视网膜病变的影响。方法 通过 ip 链脲佐菌素 35 mg/kg 建立糖尿病大鼠模型, 通过高糖诱导的 Müller 细胞建立糖尿病细胞模型。采用 ELISA 法检测血清、视网膜和细胞上清液中细胞因子水平。采用试剂盒检测血清胰岛素和口服葡萄糖耐量 (OGTT)、血清超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和丙二醛 (MDA) 含量。通过苏木精-伊红 (HE) 染色评估视网膜组织的病理变化。采用 Western blotting 检测糖尿病小鼠视网膜组织和高糖诱导的 Müller 细胞中的磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 信号通路蛋白表达水平。**结果** 与模型组相比, 地榆皂苷 II 显著降低血清胰岛素水平并改善 OGTT; 显著增加血清、视网膜和 Müller 细胞中的 SOD 并降低 MDA 水平。地榆皂苷 II 还显著降低糖尿病大鼠和高糖诱导的 Müller 细胞中的血清和视网膜细胞因子。**结论** 地榆皂苷 II 可抑制视网膜组织和高糖诱导的 Müller 细胞中的 PI3K/Akt/mTOR 信号通路, 从而改善糖尿病视网膜病变。

关键词: 地榆皂苷 II; 视网膜病变; 磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K); 蛋白激酶 B (Akt); 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2024)10-2470-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.10.003

Ziyuglycoside II alleviates diabetic retinopathy in diabetes *in vitro* and *in vivo* based on PI3K/Akt/mTOR pathway

LI Guangyun¹, ZHOU Lin², LI Peng³, YE Liu², HU Zhuqing²

1. Department of Clinical Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453100, China

2. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

3. Department of Rehabilitation Medicine, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Abstract: Objective To explore the effect of ziyuglycoside II on diabetic retinopathy in streptozotocin-induced rats based on PI3K/Akt/mTOR pathway. **Methods** Rat model of diabetic retinopathy was established by intraperitoneal injection of streptozotocin 35mg/kg. Cell model of diabetic retinopathy was established by glucose-induced Müller cell. The levels of cytokines in serum, retina and cell supernatant were detected by ELISA. Serum insulin and OGTT, serum SOD activity and MDA content were measured by the kit. The pathological changes of retinal tissue were evaluated by HE staining. Western blotting was used to detect the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in retinal tissues of diabetic mice and Müller cells induced by high glucose. **Results** Compared with model group, ziyuglycoside II significantly decreased serum insulin level and improved OGTT. SOD levels in serum, retina and Müller cells were significantly increased and MDA levels were decreased. ziyuglycoside II also significantly reduced serum and retinal cytokines in diabetic rats and high-sugar-induced Müller cells. **Conclusions** Ziyuglycoside II could inhibited PI3K/Akt/mTOR signal pathway in retina tissue and glucose-induced Müller cell. ziyuglycoside II may improve retinopathy in diabetic retinopathy, oxidative stress and inflammation in the retina tissue of rats and glucose-induced Müller cell.

Key words: ziyuglycoside II; diabetic retinopathy; PI3K; Akt; mTOR; SOD; MDA

收稿日期: 2024-08-17

基金项目: 河南省科技攻关计划项目 (242102311261); 河南省高等学校重点科研项目 (23A360018)

作者简介: 李光云, 女, 主管药师, 研究方向为临床药学。E-mail: liguangyun136@126.com

*通信作者: 周霖, 男, 副主任医师, 博士, 研究方向为中药药理学。E-mail: fcczhou@zzu.edu.cn

糖尿病视网膜病变是糖尿病最常见的微血管并发症之一，也是全球范围内导致成年人视力损害和失明的重要眼病^[1]。其发生与糖尿病病程及患者自身血糖控制的满意度密切相关^[2]。糖尿病视网膜病变的发生和发展是一个涉及许多细胞因子并由信号转导代谢酶、炎症和离子通道控制的复杂过程。其中，磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 通路的主要功能是调节细胞生长、增殖和分化^[3]。其完全激活是一个复杂的多步骤过程。身体组织微环境中的多种细胞因子可以通过其相应受体结合发送信号激活 PI3K。PI3K 激活后，在质膜上产生第二信使磷脂酰肌醇 3 激酶 (PIP3)，PIP3 与含有 PH 结构域的 Akt 和丙酮酸脱氢酶激酶同工酶 1 (PDK1) 结合，PDK1 将 Akt 蛋白的 Ser308 位点磷酸化导致 Akt 激活。Akt 激活后，通过磷酸化激活或抑制下游的一系列靶蛋白，包括 Bad、Caspase-9、和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 等，从而调节细胞的增殖、凋亡和迁移^[4]。mTOR 是一种非典型的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。作为生物体细胞中 ATP、氨基酸和激素的受体，它在细胞生长的调节中起着重要作用。PI3K/Akt 信号通路参与葡萄糖转运、糖原蛋白质合成和分解等一系列代谢过程^[5]。在糖尿病的发生和发展过程中，持续的高血糖可促进 PI3K/Akt 信号通路的激活，进而导致各种细胞因子的合成和释放上调，最终加速糖尿病视网膜病变的发展^[6]。

地榆作为蔷薇科的一员，具有多种药理特性，如抗氧化^[7]。作为地榆的主要活性化合物，地榆皂苷 II 具有抗肿瘤特性^[8]，可抑制细胞生长并诱导细胞凋亡、抗血管生成、以及调节炎症因子的产生^[9]，通常用于内出血和炎症治疗，并具有止血、抗菌、消炎和抗氧化等临床效果。研究发现地榆具有显著的降血糖作用。地榆多糖对 α -葡萄糖苷酶具有很强的抑制活性，有研究探索 14 味中草药水提物对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用，结果显示地榆多糖对酵母 α -葡萄糖苷酶活性的 IC₅₀ 为 1.69 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，属于竞争性抑制；对 SD 大鼠体外小肠黏膜 α -葡萄糖苷酶活性的 IC₅₀ 为 1.51 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。地榆皂苷 II 可以降低 2 型糖尿病小鼠模型的血糖、糖化血红蛋白水平，达到降低血糖的作用；经过结构修饰的地榆皂苷 II 不仅具有更好的抗糖尿病活性，还对 2 型糖尿病有肝肾保护作用^[10]。这些潜在的降血糖机制为进一步研究地榆皂苷 II 在糖尿病相关并发症，如糖尿病视网膜病变中的应用提供了一定的理论基础。如前所

述，PI3K/Akt 信号通路与糖尿病视网膜病变高度相关，然而，地榆皂苷 II 是否可以通过 PI3K/Akt 信号通路治疗糖尿病视网膜病变尚未得到证实。因此，本研究目的是研究地榆皂苷 II 对糖尿病视网膜病变的作用机制，为糖尿病视网膜病变的治疗提供科学参考，具有重要的临床意义和社会价值。

1 材料

1.1 试剂与细胞

地榆皂苷 II (质量分数 $\geq 95\%$ ，货号 PHL84270) 和链脲佐菌素 (货号 S0130) 购自 Sigma 公司。BCA 蛋白定量试剂盒 (P0012S 武汉，货号 Bosch)。葡萄糖 (货号 D9434) 购自法国西格玛。超氧化物歧化酶 (SOD，货号 A001-3-2) 和丙二醛 (MDA，货号 A003-1-2) 试剂盒由南京建成生物工程研究所生产。血糖试剂盒 (货号 F96028) 购自上海晶科生物公司。细胞因子试剂盒 (货号 #E-EL-49c, #E-EL-42, #E-EL-43c) 购自北京天来生物技术有限公司。p-PI3K (货号 #17366)、PI3K (货号 #4249)、p-Akt (货号 #4685)、Akt (货号 #4060)、p-mTOR (货号 #5530)、mTOR (货号 #2983) 和甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH，货号 #5174) 购自 Santa Cruz Biotechnology Co., Ltd. 二抗 (HRP) (Servicebio, 货号 GB23303) 购自武汉塞维尔生物科技有限公司。视网膜 Müller 细胞系 (MIO-M1) 购自上海六鑫生物技术有限公司。

1.2 动物

50 只雄性 SD 大鼠，2 月龄，体质量 200~250 g，购自河南省实验动物中心。本实验遵循《实验动物管理和使用指南》，且实验方案经新乡医学院第一附属医院伦理委员会批准 (伦理批准号 2023-KY-0050)。

2 方法

2.1 动物实验

2.1.1 造模、分组及给药 适应性喂养 1 周后，取其中 40 只大鼠构建糖尿病模型，喂食高脂饮食 (MS1606-10，上海茂康生物技术有限公司)，10 只作为对照组喂食正常饮食。4 周后，模型组大鼠 ip 链脲佐菌素 35 mg/kg，对照组大鼠给予柠檬酸盐缓冲液，1 周后监测大鼠全血血糖和血清胰岛素水平。如大鼠空腹血糖 $\geq 11.2 \text{ mmol/L}$ ，且经病理学确认视网膜损伤，则视为造模成功。最终符合模型要求的大鼠数量为 32 只。将符合模型要求的糖尿病大鼠

分为模型组、二甲双胍 (184 mg/kg) 组、地榆皂苷 II (50、100 mg/kg) 组^[11-12]。对照组大鼠随意给予正常饮食和饮水, 而模型组大鼠喂食高脂饮食直至第 15 周结束。二甲双胍组和地榆皂苷 II 组分别从第 6 周开始每天 ig 给予二甲双胍 184 mg/kg 及地榆皂苷 II 50、100 mg/kg, 直至第 15 周结束。

血清收集: 大鼠禁食 16 h 后给予 30%葡萄糖 1.5 g/kg, 进行口服葡萄糖耐量试验 (OGTT)。将大鼠倒置, 压迫颈部, 使眼球突出充血, 沿眼角将毛细管插入眼底静脉丛, 在 0、30、60、90、120 min 采集血液。样品在 4 °C 下以 3 000×g 离心 8 min, 所得血清用自动生化检测仪检测。

视网膜组织收集: 实验结束后, 首先对大鼠进行全身麻醉并固定在手术台上, 剪开眼睑暴露眼球, 分离眼球周围组织后取出眼球放入培养皿。接着在显微镜下于眼球壁剪小口, 分离巩膜和脉络膜等组织以暴露视网膜。最后用镊子小心将视网膜从眼球壁剥离下来放入固定液。

2.1.2 视网膜 HE 染色 获取视网膜组织, 用 4%多聚甲醛固定液固定以保持组织形态。然后依次将组织放入 70%、80%、90%、95%、100%乙醇溶液中进行脱水处理, 逐步脱去组织中的水分。接着使用二甲苯进行透明处理, 使组织变得透明。之后将组织浸入石蜡中进行包埋, 制成蜡块以便于切片。切片厚度通常为 4~6 μm, 将薄片贴附在载玻片上, 使用二甲苯脱蜡, 再依次用 100%、95%、90%、80%、70%乙醇溶液进行水化。随后用苏木精染液对细胞核进行染色, 染色时间为 5~15 min。再用伊红染液对细胞质进行染色, 伊红染液可选用水溶性伊红染液, 染色时间为 1~5 min。最后经过脱水 (依次用 70%、80%、90%、95%、100%乙醇溶液)、透明 (二甲苯) 等步骤后, 用中性树胶封片, 制成可供观察的视网膜 HE 染色玻片。

2.1.3 视网膜标志物水平测定 获取视网膜组织, 加入适量的生理盐水制成组织匀浆。采用 ELISA 法, 按照试剂盒说明书检测视网膜组织中 SOD、MDA、肿瘤坏死因子-α (TNF-α)、白细胞介素 (IL)-1β 和 IL-6 的含量。

2.1.4 血清标志物水平测定 取血后, 静置 2 h 后, 4 °C 以离心半径 13.5 cm, 转速 3000 r/min 离心 15 min, 取上清, 按试剂盒说明书进行实验操作, 检测血清中的 SOD、MDA、TNF-α、IL-1β 和 IL-6 水平。

2.1.5 Western blotting 分析 使用 RIPA 裂解液裂

解组织, 离心后收集上清液即为蛋白样品。对蛋白样品进行定量, 可采用 BCA 法, 确定蛋白浓度。然后进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 根据蛋白相对分子质量大小选择合适浓度的分离胶和浓缩胶, 将蛋白样品与上样缓冲液混合后加入凝胶加样孔中, 在电场作用下使蛋白分离。电泳结束后, 将蛋白转印至 PVDF 膜上, 采用湿转法利用转膜装置在恒流 200~300 mA 进行转膜 2 h 左右。转膜完成后, 用含 5% 脱脂奶粉或封闭 PVDF 膜, 以减少非特异性结合。封闭后, 将膜与一抗在 4 °C 下孵育过夜。洗去未结合的一抗, 再加入二抗室温下孵育 1 h。二抗孵育结束后, 再次洗去未结合的二抗, 最后使用 ECL 发光液处理 PVDF 膜, 使用成像系统采集图像, 根据图像中蛋白条带的灰度值进行定量分析。

2.2 细胞实验

2.2.1 细胞培养 Müller 细胞系在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 (DMEM 培养基+10%胎牛血清), 当细胞覆盖约 80%瓶底时进行传代培养。首先, 丢弃原培养基, 用 PBS 冲洗细胞 2 次, 然后完全去除胎牛血清, 用 0.25%胰蛋白酶/0.02% EDTA 混合物消化细胞约 2 min。当细胞边界清晰、折光性明显增强、细胞体变圆、间隙增大时, 丢弃消化液, 静置, 加入培养基直至大部分细胞脱落, 用吸管吹打细胞团, 按照 1:3 的比例进行传代培养。然后进行下一步实验。

2.2.2 MTT 法检测细胞活力 将处于对数生长期的 Müller 细胞悬液调整为 1×10⁴ 个/200 μL, 接种于 96 孔板中培养, 实验分为对照组、模型组 (葡萄糖 30 mmol/L)、地榆皂苷 II (40 μg/mL) 组^[9], 每组设 5 个复孔。培养 24 h 后, 视网膜 Müller 细胞在葡萄糖和地榆皂苷 II 中培养 3 d。培养第 3 天, 更换相应的 100 μL 无血清培养基。3 h 后, 加入浓度为 5 mg/mL 的 20 μL MTT 溶液。3 h 后, 弃去溶液, 加入 DMSO 并摇匀, 使蓝色结晶完全溶解。用酶联免疫检测仪检测各孔在 490 nm 波长处的 A 值, 根据以下公式计算细胞活力。

$$\text{细胞活力} = A_{\text{给药}} / A_{\text{对照}}$$

2.2.3 血清指标检测 收集对数期细胞, 1 000 r/min 离心 5 min, 去除细胞沉淀后收集上清液, 将细胞上清在 2 000 r/min 转速下离心 15 min, 取上清。随后采用 ELISA 法, 按照试剂盒说明书对细胞 SOD 活性、MDA 含量以及炎症因子 (TNF-α、IL-1β 和 IL-6) 进行检测。

2.2.4 细胞蛋白表达水平检测 从细胞裂解液中提取总蛋白, 并使用 BCA 蛋白检测试剂盒进行蛋白定量, 其余操作同 2.1.4 项下, 加相应的抗体 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、p-mTOR、mTOR, 蛋白以内参 GAPDH 进行相对定量分析。

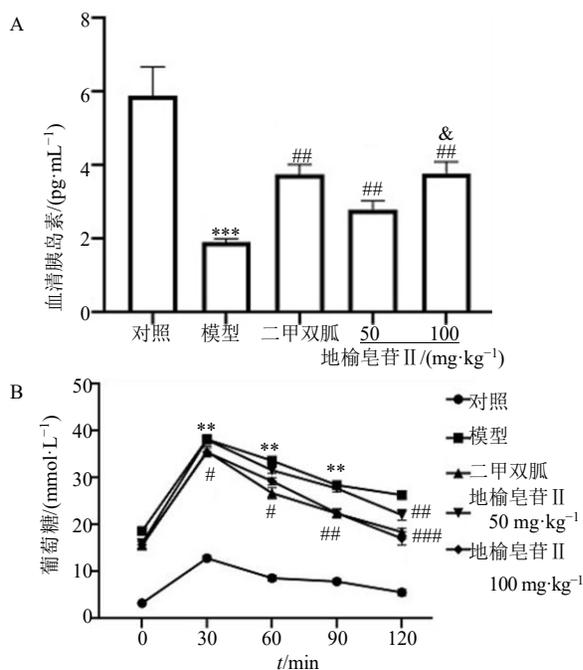
2.3 统计学分析

使用 SPSS 24.0 统计软件分析数据, 测量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用方差分析进行多组比较。

3 结果

3.1 地榆皂苷 II 对大鼠血清胰岛素、口服糖耐量水平的影响

与对照组相比, 模型组大鼠血清胰岛素显著降低 ($P < 0.001$)。与模型组相比, 地榆皂苷 II 显著增加了大鼠血清胰岛素水平 ($P < 0.01$), 且呈剂量相关性。在 OGTT 试验中, 模型组大鼠的血糖在 30、60、90 min 内显著高于对照组大鼠 ($P < 0.01$), 而地榆皂苷 II 50、100 mg/kg 组显著逆转了上述变化 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 见图 1。



与对照组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$; 与地榆皂苷 II 50 mg·kg⁻¹ 组比较: & $P < 0.05$.
** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group; & $P < 0.05$ vs ziyuglycoside II 50 mg·kg⁻¹ group.

图 1 地榆皂苷 II 对血清胰岛素水平 (A) 以及口服葡萄糖耐量 (B) 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 1 Effects of ziyuglycoside II on serum insulin level (A) and oral glucose tolerance (B) ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

3.2 地榆皂苷 II 对血清和视网膜组织中 SOD 活性和 MDA 含量以及细胞因子的影响

与对照组相比, 模型组大鼠血清和视网膜组织中的血清 SOD 活性显著降低, MDA 含量显著升高 ($P < 0.001$)。与模型组相比, 地榆皂苷 II 50、100 mg/kg 组显著增加了大鼠血清中的 SOD 活性并降低了 MDA 含量 ($P < 0.05$ 、0.01)。

与对照组相比, 模型组大鼠血清和视网膜组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平显著增加 ($P < 0.001$)。与模型组相比, 地榆皂苷 II 50、100 mg/kg 组显著降低了大鼠血清和视网膜组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 见图 2。

3.3 HE 染色结果

对照组大鼠视网膜盘结构清晰, 各层细胞排列整齐。模型组大鼠一些视网膜细胞出现水肿, 层次模糊, 排列稀疏紊乱, 盘间隙出现空泡状外观, 核染色质密集, 视网膜神经节细胞丰富。地榆皂苷 II 50、100 mg/kg 组显著逆转了上述视网膜病理变化, 见图 3。

3.4 地榆皂苷 II 对视网膜组织中 PI3K/Akt/mTOR 通路的影响

如图 4 所示, 与对照组相比, 模型组大鼠视网膜组织中 p-PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 蛋白相对表达水平显著增加 ($P < 0.001$)。与模型组相比, 地榆皂苷 II 50、100 mg/kg 显著降低了大鼠视网膜组织中 p-PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 蛋白相对表达水平 ($P < 0.01$ 、0.001)。

3.5 地榆皂苷 II 对细胞活力、SOD 活性、MDA 含量以及炎症因子的影响

与对照组相比, 模型组细胞活力显著降低 ($P < 0.001$); 地榆皂苷 II 组显著增加了细胞活力 ($P < 0.01$)。与对照组相比, 模型组 SOD 活性显著降低, MDA 含量增加 ($P < 0.01$ 、0.001); 而地榆皂苷 II 组细胞 SOD 活性显著升高, MDA 含量显著降低 ($P < 0.01$)。与对照组相比, 模型组细胞中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平显著增加 ($P < 0.001$)。与模型组相比, 地榆皂苷 II 组显著降低了细胞中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平 ($P < 0.01$), 见图 5。

3.6 地榆皂苷 II 对细胞中 PI3K/Akt/mTOR 通路的影响

与对照组相比, 模型组细胞中 p-PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 的蛋白相对表达水平显著增加 ($P < 0.001$)。与模型组相比, 地榆皂苷 II 组显著降低了细

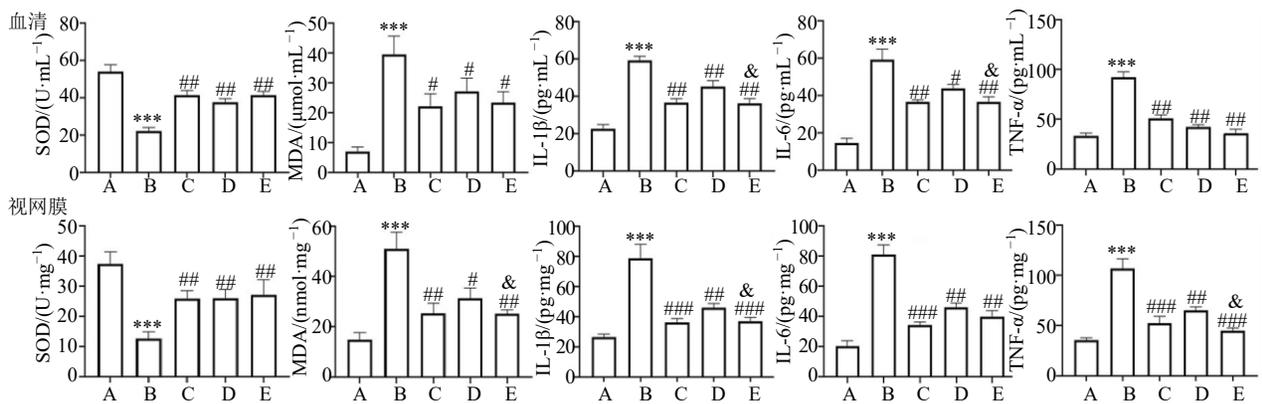


图 2 地榆皂苷 II 对血清和视网膜组织中 SOD 活性和 MDA 含量以及细胞因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Fig. 2 Effects of ziyuglycoside II on SOD activity, MDA content and cytokines in serum and retina ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
 A-对照, B-模型, C-二甲双胍, D-地榆皂苷 II 50 mg·kg⁻¹ 组, E-地榆皂苷 II 100 mg·kg⁻¹ 组; 与对照组比较: ****P* < 0.001; 与模型组比较: #*P* < 0.05 ##*P* < 0.01 ###*P* < 0.001; 与地榆皂苷 II 50 mg·kg⁻¹ 组比较: &*P* < 0.05。
 A-control, B-model, C-metformin, D-ziyuglycoside II 50 mg·kg⁻¹ group, E-ziyuglycoside II 100 mg·kg⁻¹ group; ****P* < 0.001 vs control group; #*P* < 0.05 vs model group; ##*P* < 0.01 vs model group; ###*P* < 0.001 vs model group; &*P* < 0.05 vs ziyuglycoside II 50 mg·kg⁻¹ group.



图 3 HE 染色结果
Fig. 3 HE staining results

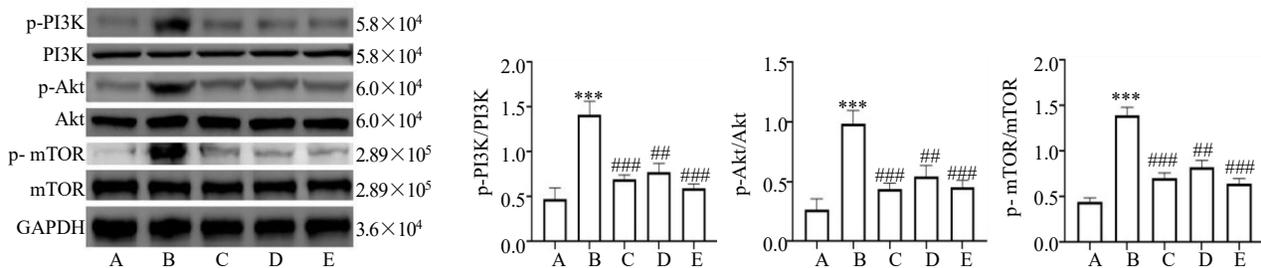


图 4 地榆皂苷 II 对视网膜组织中 PI3K/Akt/mTOR 通路的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Fig. 4 Effect of ziyuglycoside II on PI3K/Akt/mTOR pathway in retinal tissue ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
 A-对照, B-模型, C-二甲双胍, D-地榆皂苷 II 50 mg·kg⁻¹ 组, E-地榆皂苷 II 100 mg·kg⁻¹ 组; 与对照组比较: ****P* < 0.001; 与模型组比较: #*P* < 0.01 ##*P* < 0.001。
 A-control, B-model, C-metformin, D-ziyuglycoside II 50 mg·kg⁻¹ group, E-ziyuglycoside II 100 mg·kg⁻¹ group; ****P* < 0.001 vs control group; #*P* < 0.01 vs model group; ##*P* < 0.001 vs model group.

胞中 p-PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 的蛋白相对表达水平 (*P* < 0.01), 见图 6。

4 讨论

近年来, 地榆皂苷 II 已被证明在降血糖、抗菌、抗增殖、抗凋亡、抗炎、抗氧化、抗凝血、降血脂、抗动脉粥样硬化、抗肿瘤等方面具有良好的药理活性^[13]。已有研究表明地榆皂苷 II 在降血糖方面具有潜在的药理作用, 可能通过调节胰岛素分泌和改善胰岛素抵抗来实现。一方面, 地榆皂苷 II 可能作用于胰岛 β 细胞, 影响胰岛素的合成与释放过程。它可能通过调节转化生长因子-β (TGF-β) 信号通路, 影响胰岛 β 细胞内相关基因的表达, 从而调控胰岛

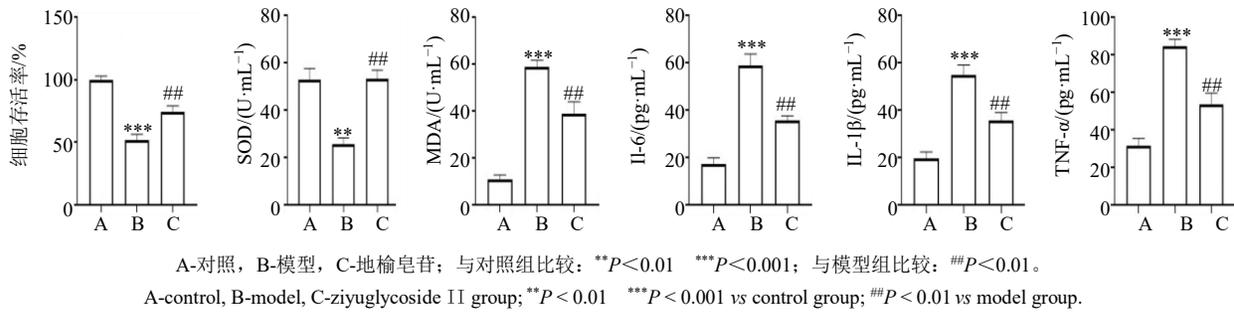


图 5 地榆皂苷 II 对细胞活力、SOD 活性、MDA 含量以及炎症因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Effects of ziyuglycoside II on cell viability, SOD activity, MDA content and inflammatory factors ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

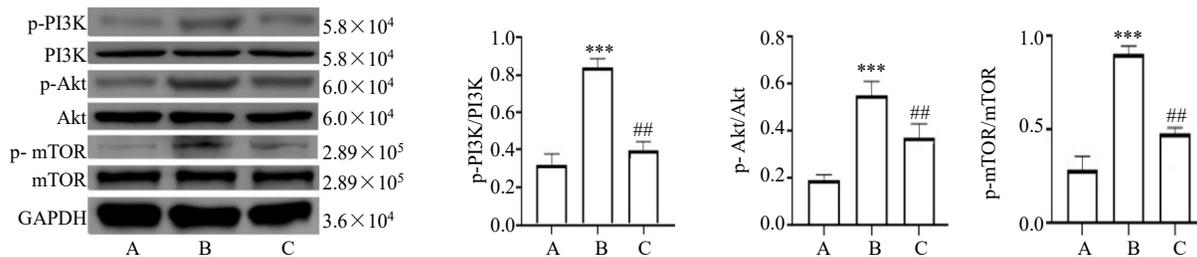


图 6 地榆皂苷 II 对细胞中 PI3K/Akt/mTOR 通路的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Effect of ziyuglycoside II on PI3K/Akt/mTOR pathway in cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

素的合成^[14]。另一方面,地榆皂苷 II 可能改善胰岛素抵抗,通过影响胰岛素信号通路中的关键蛋白糖原合酶激酶 3 (GSK-3) 及葡萄糖转运蛋白 4 (GLUT4) 等,增强胰岛素的敏感性。它可能与胰岛素信号通路中的受体 IR 结合,或者影响下游信号分子的活性,从而促进葡萄糖的摄取和利用^[15]。这些潜在的降血糖机制可能与地榆皂苷 II 对糖尿病视网膜病变的改善作用相关。与先前的报道一致,在本研究中,地榆皂苷 II 显著降低了大鼠血清胰岛素水平并改善了 OGTT。地榆皂苷 II 显著增加了血清和视网膜中的 SOD 活性并降低了 MDA 水平。地榆皂苷 II 还显著降低了糖尿病大鼠的血清和视网膜细胞因子。地榆皂苷 II 能够抑制视网膜组织中的 PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关蛋白的表达。

PI3K/Akt 信号通路可以通过响应细胞外信号通路参与调节体内的氧化应激,并可以促进身体细胞的代谢、增殖和新生血管形成。PI3K 在调节细胞增殖和分化中起着重要作用。激活的 PI3K 蛋白能够进一步招募 Akt 蛋白到质膜上,导致 Akt 蛋白激活,激活的 Akt 蛋白可以促进葡萄糖代谢并调节细胞周期^[16]。

为了解地榆皂苷 II 对糖尿病视网膜病变的影

响,分别通过免疫组织化学和 Western blotting 检测视网膜中 PI3K、Akt、mTOR 蛋白的表达。结果表明,地榆皂苷 II 显著降低了大鼠视网膜组织中 p-PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 的蛋白表达水平,且地榆皂苷 II 显著改善了视网膜组织的病理变化。

氧化应激在视网膜组织损伤中起着重要作用,氧化应激增加神经元膜脂质过氧化,导致视网膜组织损伤和细胞凋亡。氧化应激参与糖尿病诱导的视网膜病变的病理生理反应^[17]。糖尿病生物体中的过度氧化应激会损害视网膜组织细胞。MDA 是氧化应激的重要指标,也是体内过度氧化的重要指标。SOD 是清除体内自由基的重要酶。与先前的报道一致,本实验结果表明地榆皂苷 II 显著降低了糖尿病大鼠血清中的 MDA 含量,增加了糖尿病大鼠的 SOD 活性^[18]。

总之,地榆皂苷 II 可以改善糖尿病引起的视网膜病变,其机制可能与调节视网膜组织 PI3K/Akt/mTOR 信号通路有关。本研究将为糖尿病视网膜病变的药物开发和治疗提供新的借鉴思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 周雷,赵越. 2 型糖尿病性视网膜病变住院患者中西医

- 诊治特点分析 [J]. 长春中医药大学学报, 2024, 40(8): 888-891.
- [2] 张好, 胡玥, 韩沛琳, 等. 基于数据挖掘分析中药专利复方治疗糖尿病视网膜病变的用药规律 [J]. 中国中医眼科杂志, 2024, 34(8): 730-736.
- [3] 李钺, 孙红玲, 顾超, 等. 白花丹素通过调控 PI3K/AKT/GLUT1 通路对舌鳞状细胞癌细胞增殖的作用及机制 [J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(15): 3794-3797.
- [4] 李楠, 刘师伟, 段瑞雪, 等. 鸢尾素经 PI3K/AKT/mTOR 通路调节自噬对 2 型糖尿病大鼠胰岛 β 细胞功能的影响 [J]. 中国生物制品学杂志, 2024, 37(5): 577-586.
- [5] 高彩玲, 朱玲玲, 邱洁, 等. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨白芷颗粒对糖尿病视网膜病变的影响 [J]. 中草药, 2024, 55(11): 3749-3758.
- [6] 逢瑞丰, 王肖焱, 宣金雨, 等. 基于 PI3K-AKT-mTOR 信号通路探讨灵芝孢子对 2 型糖尿病大鼠睾丸的保护作用 [J]. 黑龙江医药科学, 2024, 47(1): 1-5.
- [7] 尹小溪, 陈孜旋, 袁漪, 等. 地榆通过影响 PPAR γ 和 SLC7A11/GPX4 表达减轻溃疡性结肠炎小鼠损伤 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(7): 20-28.
- [8] 朱晓敏, 钟颖, 黄娜娜, 等. 基于 Akt/mTOR 通路研究地榆皂苷 II 诱导肝癌细胞凋亡和自噬作用机制 [J]. 中草药, 2024, 55(11): 3726-3734.
- [9] 张子桦, 吴金婵, 余咏诗, 等. 地榆皂苷 II 对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抗菌活性及作用机制研究 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(1): 103-108.
- [10] 吴龙龙, 徐昊阳, 张刘强, 等. 地榆化学成分及药理作用研究进展 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2022, 24(1): 360-378.
- [11] Nam S H, Lkhagvasuren K, Seo H W, *et al.* Antiangiogenic effects of ziyuglycoside II, a major active compound of *Sanguisorba officinalis* L [J]. *Phytother Res*, 2017, 31(9): 1449-1456.
- [12] Gorbatenko V O, Goriainov S V, Babenko V A, *et al.* Anti-inflammatory properties of metformin during cultivation of primary rat astrocytes in a medium with high glucose concentration [J]. *Biochemistry*, 2022, 87(7): 577-589.
- [13] 代良敏, 熊永爱, 范奎, 等. 地榆化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(20): 189-195.
- [14] Jang E, Inn K S, Jang Y P, *et al.* Pharmacological activities and mechanisms of *Sanguisorba officinalis*: A review [J]. *Am J Chin Med*, 2018, 46(2): 299-318.
- [15] Yaluri N, Modi S, Kokkola T. Simvastatin induces insulin resistance in L6 skeletal muscle myotubes by suppressing insulin signaling, GLUT4 expression and GSK-3 β phosphorylation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 480(2): 194-200.
- [16] 孙冠聪, 焦丹, 谢忠奎, 等. PI3K/AKT 通路在动物葡萄糖代谢中的研究进展 [J]. 生命科学, 2021, 33(5): 653-666.
- [17] 于欢, 李敏, 马晓昀. 视网膜神经节细胞氧化应激损伤的药物治疗研究进展 [J]. 临床眼科杂志, 2023, 31(4): 378-383.
- [18] 聂淑琴. 地榆提取物对老化加速小鼠抗氧化保护能力的影响 [J]. 国外医学: 中医中药分册, 2001, 2: 89-90.

[责任编辑 高源]