

芹菜素通过PI3K/Akt通路对妊娠期糖尿病大鼠胰岛素抵抗的作用

赵 岗¹, 杨 丽², 樊秀梅¹

1. 邢台市第三医院 产科, 河北 邢台 054000

2. 邢台市妇幼保健院 产科, 河北 邢台 054000

摘要:目的 探究芹菜素对妊娠期糖尿病(GDM)大鼠胰岛素抵抗的影响,并初步探究可能的作用机制。方法 于大鼠妊娠第5天,一次性尾iv 35 mg/kg链脲佐菌素混悬液制备GDM模型大鼠,随机分为模型组及芹菜素低、中、高剂量(10、20、40 mg/kg)组和二甲双胍(阳性对照,20 mg/kg),另设置正常妊娠大鼠为对照组,每组均12只。检测大鼠空腹血糖(FBG)、胰岛素(FINS)水平、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR);全自动生化检测血清三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL-C)水平;硫代巴比妥酸法检测血清丙二醛(MDA)水平;氮蓝四唑比色法检测血清超氧化物歧化酶(SOD)水平;HE染色观察胰岛组织病理形态学变化;半定量评分评估胰岛组织损伤情况;Western blotting法检测胰岛组织磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)、p-PI3K、蛋白激酶B(Akt)、p-Akt蛋白表达。结果 与对照组比较,模型组FBG、FINS、HOMA-IR显著升高,血清TC、TG、HDL-C水平显著升高,SOD水平显著降低,MDA水平显著升高,胰岛组织病理学评分显著升高,胰岛组织PI3K、Akt蛋白磷酸化水平显著降低($P<0.05$);与模型组比较,芹菜素低、中、高剂量组与阳性对照组FBG、FINS、HOMA-IR显著降低,血清TC、TG、HDL-C水平显著降低,SOD水平显著升高,MDA水平显著降低,胰岛组织病理学评分显著降低,胰岛组织PI3K、Akt蛋白磷酸化水平显著升高($P<0.05$)。结论 芹菜素能够改善大鼠血糖、血脂,降低胰岛素抵抗、保护胰岛组织,其机制可能与激活PI3K/Akt信号通路有关。

关键词:妊娠期糖尿病;胰岛素抵抗;芹菜素;磷脂酰肌醇激酶/蛋白激酶B信号通路

中图分类号: R965

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2020)03-0417-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.03.009

Effects of apigenin on insulin resistance and PI3K/Akt pathway in gestational diabetic rats

ZHAO Gang¹, YANG Li², FAN Xiumei¹

1. Department of Obstetrics, Xingtai Third Hospital, Xingtai 054000

2. Department of Obstetrics, Xingtai Maternal and Child Health Hospital, Xingtai, Hebei 054000

Abstract: Objective To investigate the effect of apigenin on insulin resistance in gestational diabetes mellitus (GDM) rats, and to explore the possible mechanism. **Methods** On the 5th day of pregnancy, GDM model rats were prepared by tail iv 35 mg/kg streptozotocin suspension, GDM model rats were randomly divided into model group, apigenin low, medium and high dose (10, 20 and 40 mg/kg) group and metformin group (positive control, 20 mg/kg). Normal pregnant rats were set as control group, with 12 rats in each group. The levels of fasting blood glucose (FBG), insulin (FINS), insulin resistance index (HOMA-IR) and serum triglyceride (TG), total cholesterol (TC) and high density lipoprotein (HDL-C) were measured by automatic biochemical method, the level of malondialdehyde (MDA) was measured by thiobarbituric acid method, superoxide dismutase (SOD) was detected by azo-blue tetrazole colorimetry, histopathological changes of islets were observed by HE staining, semi-quantitative scoring was used to evaluate islet tissue injury, and the expressions of phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K), p-PI3K, protein kinase B (Akt) and p-Akt in islet tissues were detected by Western blotting. **Results** Compared with control group, FBG, FINS and HOMA-IR increased in GDM group, TC, TG and HDL-C increased, the level of SOD decreased, the level of MDA increased, the histopathological score of islets increased, and the phosphorylation levels of PI3K and Akt proteins in islet tissue decreased ($P<0.05$). Compared with GDM group, FBG, FINS and HOMA-IR decreased in Apigenin low, medium and high dose groups and Metformin group, TC, TG and HDL-C

收稿日期: 2019-09-16

基金项目: 河北省邢台市科技计划项目(2018ZC154)

第一作者: 赵 岗(1982—),女,本科,河北省邢台市威县,主治医师,研究方向为妇产科。

decreased, the level of SOD increased, the level of MDA decreased, the histopathological score of islets decreased, and the phosphorylation levels of PI3K and Akt proteins in islet tissue increased ($P < 0.05$). **Conclusions** Apigenin can improve blood glucose and blood lipid, reduce insulin resistance and protect islet tissue. Its mechanism may be related to activation of PI3K / Akt signal pathway.

Key words: gestational diabetes mellitus; insulin resistance; apigenin; phosphatidylinositol stimulation/protein kinase B signaling pathway

妊娠期糖尿病 (Gestational diabetes mellitus, GDM) 属于孕期并发症之一, 发病率为 3%~5%, 严重影响母体及胎儿的健康^[1]。研究发现, 孕妇存在胰岛素抵抗, 而在 GDM 孕妇中胰岛素抵抗更为严重^[2]。近年来胰岛素增敏剂在糖尿病的治疗中应用较广, 如罗格列酮等, 但具有一定的副作用, 孕期使用受限, 因此寻找安全有效的药物对于提高新生儿预后具有重要的意义。

芹菜素属于黄酮类化合物, 存在较多水果、蔬菜中, 能够调节血糖、血脂水平, 基础研究发现, 芹菜素能够降低糖尿病大鼠血糖水平, 对肝、肾具有一定的保护作用^[3]。目前研究发现, 糖尿病的发病机制可能与氧化应激有关, 磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路参与胰岛素信号传导, 当通路传导出现异常后会扰乱胰岛素合成进而影响葡萄糖代谢, 诱发糖尿病的发生, 因此该信号通路可能为 GDM 治疗的靶点^[4]。然而 PI3K/Akt 是否参与芹菜素对糖尿病的调控过程, 目前尚不明确。本研究通过复制 GDM 大鼠给予芹菜素干预, 旨在探究其可能的作用机制。

1 材料

1.1 实验动物

清洁级 SD 大鼠, 雄性 80 只, 雌性 160 只, 体重 200~220 g, 8 周龄, 购于河南省实验动物中心, 实验动物生产许可证号 SYXK(豫)2018-0008; 饲养环境: 相对空气湿度 40%~70%, 室温控制 22~25 °C, 严格按照《实验动物管理条例》饲养, 经本院动物伦理委员会批准同意。

1.2 药物与主要试剂

芹菜素(批号 180516, 质量分数 ≥98%), 购于陕西惠科植物开发公司; 枸橼酸-磷酸氢二钠(批号 94046)、链脲佐菌素 (Streptozotocin, STZ, 批号 S0130), 购于美国 Sigma 公司; 二甲双胍(批号 B14202003084, 规格 0.5 g), 购于中美上海施贵宝制药有限公司; 苏木素-伊红染液、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)检测试剂盒, 购自碧云天生物技术有限公司; 兔抗鼠 PI3K (MAB6638)、p-PI3K (AF2998)、β-actin (MAB8929) 一抗, 购于美国

R&D 公司; 兔抗鼠 Akt(ab179463)、p-Akt(ab8805) 一抗、HRP 标记二抗(ab20272) 购于英国 Abcam 公司。

1.3 主要仪器

光学显微镜(BX43), 购于奥林巴斯公司; 蛋白凝胶成像仪(Alpha), 购于美国 ProteinSimple 公司; 垂直电泳仪(Mini-Sub Cell), 购于美国 Bi-Rad 公司。

2 方法

2.1 动物模型制备^[5]

在大鼠动情期将雌性与雄性大鼠按照 1:2 比例合笼, 次日清晨采用阴道涂片法检测, 存在精子则确定为妊娠。妊娠第 5 天, 一次性尾 iv 35 mg/kg STZ 混悬液, 72 h 后对空腹血糖(Fasting blood glucose, FBG) 水平进行检测, FBG 水平 ≥ 13.5 mmol/L 表明糖尿病模型大鼠制备成功, 造模成功大鼠共 60 只。另选取正常妊娠大鼠 12 只, 仅尾 iv 等体积枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液。

2.2 动物给药与分组

将制备成功的妊娠糖尿病大鼠分为模型组及芹菜素低、中、高剂量(10、20、40 mg/kg^[6]) 组和二甲双胍(阳性药, 20 mg/kg^[7]) 组, 每组 12 只, 造模成功后, 各组均 ip 给药, 对照、模型组 ip 等体积生理盐水。

2.3 观察指标与检测方法

2.3.1 标本采集 末次给药后, 所有大鼠禁食 10 h, 麻醉后处死, 采集尾静脉血 1 mL, 置于抗凝管, 3 000×g 离心 5 min 后分离血清, 用于血糖血脂、氧化应激指标的检测; 获取胰岛组织, 一部分置于 4% 多聚甲醛溶液中过夜固定用于病理学检测, 另一部分置于 -80 °C 冰箱用于蛋白检测。

2.3.2 大鼠血糖、胰岛素水平的检测 采用全自动生化检测仪对大鼠 FBG 水平进行测定; 采用酶联免疫吸附法(Elisa)检测血清中胰岛素(Fasting insulin, FINS) 水平, 计算胰岛素抵抗指数(Homeostasis model assessment for insulin resistance, HOMA-IR)。

$$\text{HOMA-IR} = \text{FBG} \times \text{FINS} / 22.5$$

2.3.3 血脂水平检测 采用全自动生化检测血清三酰甘油(Triglyceride, TG)、总胆固醇(Total

cholesterol, TC)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)水平。

2.3.4 胰岛组织中氧化应激指标的检测 取出适量胰岛组织,添加9倍体积生理盐水,在匀浆机中制备胰岛组织匀浆液,离心后获取上清,采用硫代巴比妥酸法检测MDA水平,氮蓝四唑比色法检测SOD水平。

2.3.5 HE染色观察胰岛组织病理形态学变化 取出固定胰岛组织,制备石蜡组织切片,经脱蜡、脱水后,对切片进行苏木素-伊红染色,经脱水、透明、封片后,在倒置光学显微镜下观察胰岛组织病理形态学,参照Schmidt^[8]等评分,对胰岛组织出血、水肿、炎症浸润、坏死等方面评估,评分0~4分,评分越高说明组织损伤越严重。

2.3.6 免疫印迹法检测胰岛组织中PI3K/Akt蛋白表达 取出适量胰岛组织,研磨后加入RIPA裂解液冰上裂解30 min,12 000×g离心后获得上清,采用BCA法检测上清蛋白总含量,同一定量40 μg总蛋

白,进行SDS-PAGE分离目的蛋白转移到PVDF膜上,经脱脂奶粉封闭后,4℃下用PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt一抗孵育膜过夜,清洗后,加入HRP标记二抗后室温下孵育2 h,经漂洗、显影后,在凝胶成像仪中采集蛋白条带,用Image-J软件定量分析各蛋白相对表达量。

2.4 统计学方法

本研究数据采用SPSS 22.0软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述,多组间比较行单因素方差分析,进一步两两对比采用SNK-*q*检验。

3 结果

3.1 芹菜素对妊娠期糖尿病大鼠FBG、胰岛素抵抗的影响

与对照组比较,模型组FBG、FINS、HOMA-IR显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,芹菜素低、中、高剂量组与阳性对照组FBG、FINS、HOMA-IR显著降低($P < 0.05$)。结果见表1。

表1 各组FBG、FINS、HOMA-IR水平比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 1 Comparison of FBG, fins and HOMA-IR levels in each group($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	FBG/(mmol·L ⁻¹)	FINS/(mU·L ⁻¹)	HOMA-IR
对照	—	5.84±0.85	1.26±0.28	0.32±0.04
模型	—	15.65±1.48*	3.56±0.75*	2.47±0.13*
芹菜素	10	13.52±1.73 [#]	2.87±0.35 [#]	1.74±0.06 [#]
	20	12.64±1.34 [#]	2.28±0.45 [#]	1.29±0.11 [#]
	40	11.48±1.51 [#]	1.79±0.41 [#]	0.63±0.08 [#]
二甲双胍	20	10.55±1.16 [#]	1.65±0.37 [#]	0.58±0.06 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group

3.2 芹菜素对妊娠期糖尿病大鼠血脂水平的影响

与对照组比较,模型组TC、TG、HDL-C显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,芹菜素低、中、高剂量组与阳性对照组TC、TG、HDL-C显著降低($P < 0.05$)。结果见表2。

3.3 芹菜素对妊娠期糖尿病大鼠氧化应激水平的影响

与对照组比较,模型组SOD水平显著降低,MDA水平显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,芹菜素低、中、高剂量组与阳性对照组SOD水

表2 各组TC、TG、HDL-C水平比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 2 Comparison of TC, TG and HDL-C levels in each group($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	HDL-C/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	1.42±0.19	0.62±0.13	0.86±0.16
模型	—	6.51±0.48*	1.31±0.47*	1.65±0.19*
芹菜素	10	5.42±0.61 [#]	1.08±0.25 [#]	1.44±0.28 [#]
	20	5.08±0.45 [#]	0.92±0.16 [#]	1.24±0.37 [#]
	40	4.16±0.39 [#]	0.72±0.15 [#]	1.09±0.28 [#]
二甲双胍	20	3.95±0.43 [#]	0.64±0.12 [#]	1.05±0.17 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group

平显著升高,MDA水平显著降低($P<0.05$)。结果见表3。

表3 各组SOD、MDA平比较($\bar{x}\pm s, n=12$)

Table 3 Comparison of SOD and MDA levels in each group($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	剂量/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	SOD/ ($\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$)	MDA/ ($\text{nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$)
对照	—	28.62 ± 4.13	2.56 ± 0.28
模型	—	$14.54\pm 2.18^*$	$4.67\pm 0.39^*$
芹菜素	10	$18.16\pm 2.27^{*#}$	$3.73\pm 0.25^{*#}$
二甲双胍	20	$22.24\pm 2.05^{*#}$	$3.46\pm 0.32^{*#}$
	40	$25.27\pm 1.87^{*#}$	$3.22\pm 0.26^{*#}$
	20	$27.08\pm 1.59^{*#}$	$3.06\pm 0.19^{*#}$

与对照组比较: $^*P<0.05$; 与模型组比较: $^{\#}P<0.05$

$^*P<0.05$ vs control group; $^{\#}P<0.05$ vs model group

3.4 芹菜素对妊娠期糖尿病大鼠胰岛组织病理形态学的影响

HE染色显示,对照组胰岛组织结构完整、形态饱满,边界清晰,细胞分布均匀且数量较多。模型组胰岛组织边界不清晰,数量明显减少,体积降低,出现炎症细胞浸润;经芹菜素干预后,胰岛组织结构逐渐恢复正常,细胞数量有所增加,炎症浸润程度降低,其中高剂量组与二甲双胍改善最为显著。与对照组比较,模型组胰岛组织病理学评分显著升高($P<0.05$);与模型组比较,芹菜素低、中、高剂量组与阳性对照组组织病理学评分显著降低($P<0.05$)。结果见图1、表4。

3.5 芹菜素对妊娠期糖尿病大鼠胰岛组织PI3K/Akt通路蛋白表达的影响

与对照组比较,模型组胰岛组织PI3K、Akt蛋白

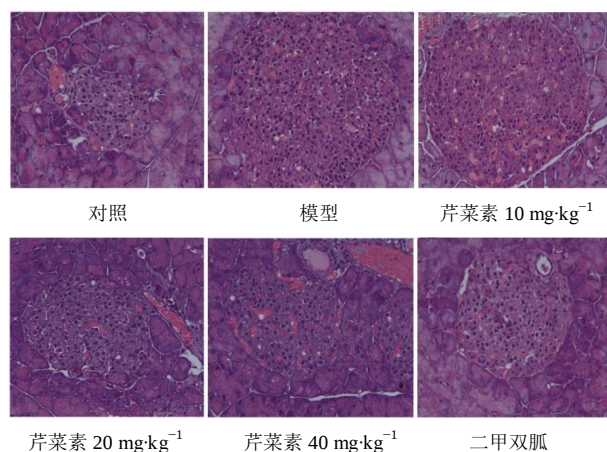


图1 HE染色观察胰岛组织形态学变化($\times 200$)

Fig. 1 Morphological changes of islets observed by HE staining ($\times 200$)

磷酸化水平显著降低($P<0.05$);与模型组比较,芹菜素低、中、高剂量组与阳性对照组胰岛组织PI3K、Akt蛋白磷酸化水平显著升高($P<0.05$)。结果见图2、表5。

表4 各组胰岛组织病理形态学评分比较($\bar{x}\pm s, n=12$)

Table 4 Comparison of histopathological scores of islets in each group($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	剂量/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	组织病理学评分
对照	—	0
模型	—	$3.62\pm 0.54^*$
芹菜素	10	$3.89\pm 0.34^{*#}$
	20	$3.24\pm 0.37^{*#}$
	40	$2.78\pm 0.26^{*#}$
二甲双胍	20	$2.52\pm 0.28^{*#}$

与对照组比较: $^*P<0.05$; 与模型组比较: $^{\#}P<0.05$

$^*P<0.05$ vs control group; $^{\#}P<0.05$ vs model group

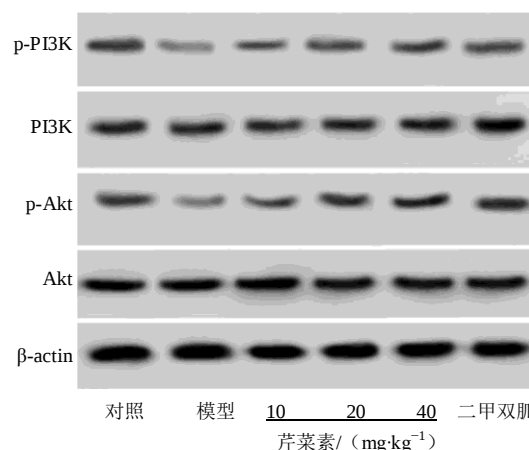


图2 Western blotting法检测胰岛组织PI3K、Akt蛋白表达
Fig. 2 Expression of PI3K and Akt in islets detected by Western blotting

表5 免疫印迹法检测胰岛组织PI3K、Akt蛋白表达($\bar{x}\pm s, n=12$)

Table 5 Expression of PI3K and Akt protein expression in islet tissues detected by Western blotting($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	剂量/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	PI3K/p-PI3K	Akt/p-Akt
对照	—	1.05 ± 0.17	0.95 ± 0.07
模型	—	$0.25\pm 0.03^*$	$0.19\pm 0.03^*$
芹菜素	10	$0.47\pm 0.05^{*#}$	$0.31\pm 0.05^{*#}$
二甲双胍	20	$0.65\pm 0.06^{*#}$	$0.49\pm 0.06^{*#a}$
	40	$0.87\pm 0.09^{*#}$	$0.63\pm 0.09^{*#}$
	20	$0.89\pm 0.09^{*#}$	$0.61\pm 0.06^{*#}$

与对照组比较: $^*P<0.05$; 与模型组比较: $^{\#}P<0.05$

$^*P<0.05$ vs control group; $^{\#}P<0.05$ vs model group

4 讨论

GDM是指妊娠过程中发生糖尿病、糖耐量受损,此过程中胰岛B细胞分泌大量胰岛素进而损伤细胞,加重糖尿病病情。STZ具有较高的毒性,释放大量自由基损伤 β 细胞,进而影响胰岛素合成,降低机体胰岛素水平,从而造成糖尿病及其并发症的发生^[9]。本研究尾iv STZ制备GDM大鼠,结果显示,模型组FBG、FINS、HOMA-IR升高,说明大鼠胰岛素分泌不足,胰岛可能受损。过往研究发现,糖尿病患者胰岛素水平下降可能上调血脂水平,进一步引发胰岛素抵抗,影响胰岛组织摄取葡萄糖,造成胰岛 β 细胞功能障碍,加重病情^[10]。本研究发现,模型组TC、TG、HDL-C水平明显升高,提示GDM大鼠血脂代谢紊乱。进一步采用HE染色发现胰岛组织边界不清晰,数量明显减少,体积降低,出现炎症细胞浸润,进一步提示,GDM大鼠胰岛组织受损,与糖尿病大鼠模型制备特征相似^[11],GDM模型大鼠复制成功。

芹菜素属于天然黄酮化合物,药理学研究发现,其具有抗肿瘤、抗炎症、降血脂、抗血栓、抗动脉硬化、抗焦虑、抗氧化、抗病毒等作用^[12]。Mahajan等^[13]研究发现,芹菜素通过激活PPAR- γ 途径降低糖尿病大鼠血糖、血脂水平,同时缓解心肌损伤。刘俊法^[14]研究发现芹菜素可降低糖尿病大鼠血糖水平,降低氧化应激水平发挥糖尿病大鼠的保护作用。本研究发现,经芹菜素干预后,FBG、FINS、HOMA-IR降低,TC、TG、HDL-C降低,胰岛组织结构逐渐恢复正常,胰岛细胞数量有所增加,炎性浸润程度降低,提示芹菜素能够提缓解GDM大鼠胰岛损伤,改善胰岛素抵抗、降低血糖、血脂水平,然而具体机制尚不清楚。

PI3K/Akt属于胰岛素信号转导中重要通路之一,胰岛素与胰岛素受体结合后可激活PI3K,使其发生磷酸化,进而催化PIP2产生PIP3,进一步活化Akt使其发生磷酸化,调节下游因子发挥相应的生物学功能。正常生理状况下,胰岛素与受体结合后可通过活化PI3K/Akt信号通路进而启动胰岛素通路,维持血糖平衡、脂类代谢,当胰岛素分泌不足后,PI3K/Akt信号通路受抑制,会导致血糖、血脂代谢紊乱,进一步促使胰岛素抵抗,导致糖尿病的发生^[15]。Dai等^[16]研究发现,六味地黄汤可通过激活2型糖尿病大鼠的PI3K/Akt信号通路来干预2型糖尿病胰岛素抵抗。Yang等^[17]研究发现利拉鲁肽通过激活IRS2/PI3K/AKT信号通路改善糖尿病小鼠血

糖、胰岛素抵抗,延缓非酒精性脂肪肝的发展。Liao等^[18]研究发现,葵多糖可通过PI3K/Akt信号通路降低T2DM大鼠血糖,发挥抗T2DM作用。本研究发现,与对照组比较,模型组大鼠胰岛组织中PI3K、Akt蛋白磷酸化水平均显著降低,推测PI3K/AKT信号通路的抑制可能与T2DM胰岛素抵抗有关。采用芹菜素干预后胰岛组织中PI3K、Akt蛋白磷酸化水平均显著升高,提示胰岛素可能通过激活PI3K/AKT信号通路,进而缓解血糖、血脂、胰岛素抵抗,发挥对GDM的保护作用。

氧化应激与糖尿病的发生密切相关,持续高糖刺激可使机体自由基水平升高,抗氧化能力减弱,因此提高糖尿病患者抗氧化能力是治疗的主要靶点之一。研究发现,T2DM患者血清中SOD水平降低,MDA等氧化物质水平升高,提示存在氧化应激损伤^[19]。Liu等^[20]研究发现,芹菜素通过提高T2DM大鼠抗氧化能力,进而降低血糖、减轻STZ诱导的糖尿病心肌病。本研究发现,与对照组比较,GDM胰岛组织匀浆SOD水平降低,MDA水平升高,给予芹菜素处理后胰岛组织匀浆中SOD水平升高,MDA水平降低,提示芹菜素可能通过降低胰岛组织氧化应激水平进而发挥抗胰岛抵抗作用。

芹菜素能够改善大鼠血糖、血脂,降低胰岛素抵抗、保护胰岛组织,发挥抗氧化作用,其机制可能与激活PI3K/AKT信号通路有关,然而GDM发病机制较复杂,芹菜素是否还会通过影响其他通路发挥作用,这还有待后续深入探究。

参考文献

- [1] 王笑笑,刘 情,张英奎,等. 2016年河北省妊娠期糖尿病患病率和流行病学特点分析 [J]. 中国全科医学, 2018, 21(21): 79-83.
- [2] 吴 英,沈 琼,蒋 联,等. 妊娠糖尿病患者胰岛素抵抗及胰岛 β 细胞功能的初步研究 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2013, 29(11): 945-948.
- [3] Ren B, Qin W, Wu F, et al. Apigenin and naringenin regulate glucose and lipid metabolism, and ameliorate vascular dysfunction in type 2 diabetic rats [J]. Eur J Pharmacol, 2016, 773(2): 13-23.
- [4] Jiang Z, Chen Z, Chen Y, et al. Involvement of pro-inflammatory cytokines in diabetic neuropathic pain via central PI3K/Akt/mTOR signal pathway [J]. Arch Physiol Biochem, 2019, 9(8): 1-9.
- [5] 庄璟怡,应 豪,王德芬. 小剂量链脲佐菌素建立妊娠期糖尿病大鼠模型的研究 [J]. 现代妇产科进展, 2014, 23(8): 607-610.

- [6] 刘 爽, 崔卫正. 芹菜素对链脲佐菌素诱导糖尿病大鼠肝损伤的影响 [J]. 国际中医中药杂志, 2015, (4): 335-338.
- [7] 梅 艳, 欧三桃. 二甲双胍对糖尿病大鼠肾脏的保护作用及其机制研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2017, 27(20): 1-5.
- [8] Schmidt J, Lewandrowsi K, Warshaw A L, et al. Morphometric characteristics and homogeneity of a new model of acute pancreatitis in the rat [J]. Int J Pancreatol, 1992, 12(1): 41-51.
- [9] Naderi A, Zahed R, Aghajani pour L, et al. Long term features of diabetic retinopathy in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats [J]. Exp Eye Res, 2019, 184(7): 213-220.
- [10] Liu H T, Gao Y. Efficacy of short-term intensive treatment with insulin pump to improve islet β -cell function in newly diagnosed type 2 diabetes via inhibition of oxidative stress [J]. Exp Ther Me, 2019, 18(3): 2293-2298.
- [11] 徐玉洁, 郑国华, 胡俊杰, 等. 苦荞种子中性提取物对链脲佐菌素诱导的2型糖尿病模型大鼠的影响 [J]. 中药药理与临床, 2017, (3): 97-100.
- [12] 郭 霜, 张晚霞, 余 薇. 芹菜素药理作用的研究进展 [J]. 湖北科技学院学报: 医学版, 2016, 30(3): 273-276.
- [13] Mahajan U B, Chandrayan G, Patil C R, et al. The protective effect of apigenin on myocardial injury in diabetic rats mediating activation of the PPAR- γ pathway [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(4): 569-576.
- [14] 刘俊法. 芹菜素对糖尿病大鼠降血糖、调节血脂和抗氧化能力的影响 [J]. 中药药理与临床, 2014, (5): 44-47.
- [15] Zhou Y, Zhang Q, Kong Y, et al. Insulin-like growth factor binding protein-related protein 1 activates primary hepatic stellate cells via autophagy regulated by the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. Dig Dis Sci, 2019, 64(8): 2087-2094.
- [16] Dai B, Wu Q, Zeng C, et al. The effect of Liuwei Dihuang decoction on PI3K/Akt signaling pathway in liver of type 2 diabetes mellitus (T2DM) rats with insulin resistance [J]. J Ethnopharmacol, 2016, 192(11): 382-389.
- [17] Yang P, Liang Y, Luo Y, et al. Liraglutide ameliorates nonalcoholic fatty liver disease in diabetic mice via the IRS2/PI3K/Akt signaling pathway [J]. Diabetes Metab Syndr Obe, 2019, 12(7): 1013-1021.
- [18] Liao Z, Zhang J, Liu B, et al. Polysaccharide from Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) improves antioxidant capacity via PI3K/AKT pathways and Nrf2 translocation in a Type 2 diabetes model [J]. Molecules, 2019, 24(10): 1906-1913.
- [19] 庞书勤, 刘玲玉, 林心君, 等. 薯蓣粥对老年2型糖尿病患者血清SOD、GSH-Px的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(13): 3192-3195.
- [20] Liu H J, Fan Y L, Liao H H, et al. Apigenin alleviates STZ-induced diabetic cardiomyopathy [J]. Mol Cell Biochem, 2017, 428(1): 9-21.