

葛根素对体内外晚期糖基化终末产物形成的抑制作用

袁媛^{1,2}, 侯雪峰^{3,4}, 封亮^{3*}, 贾晓斌³, 王永庆^{1*}

1. 南京医科大学第一附属医院, 江苏 南京 210029

2. 镇江市第四人民医院 药剂科, 江苏 镇江 212001

3. 江苏省中医药研究院 国家中医药管理局中药释药系统重点实验室, 江苏 南京 210028

4. 安徽中医药大学, 安徽 合肥 230012

摘要: 目的 研究葛根素对体内外晚期糖基化终末产物(AGEs)形成的影响。方法 C57BL/6 小鼠采用高糖高脂饲料联合链脲佐菌素(40 mg/kg)构建糖尿病模型。造模成功后随机分为模型组, 氨基胍组(100 mg/kg), 葛根素低、中、高剂量(50、100、200 mg/kg)组, 另设对照组。连续给药8周后, 检测空腹血糖(FBG)、口服糖耐量(OGTT)、糖化血清蛋白(GSP)及血清 AGEs 水平。此外将不同浓度的葛根素(0.5、1.0、2.0 mmol/L)与丙酮醛和牛血清白蛋白共孵育 144 h, 建立体外非酶糖基化反应模型, 用荧光光度法测定 AGEs 的荧光值, 考察葛根素体外抑制 AGEs 生成的规律。结果 葛根素能够显著降低糖尿病小鼠的 FBG, 改善 OGTT, 抑制 GSP 及血清 AGEs 的生成。葛根素在体外非酶糖基化反应体系中抑制 AGEs 的生成, 并有一定的剂量依赖性。结论 葛根素可以显著降低糖尿病小鼠的 FBG, 对体内外 AGEs 的形成具有明显的抑制作用。

关键词: 葛根素; 非酶糖基化反应; 晚期糖基化终末产物; 糖尿病; 糖化血清蛋白

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)07-1386-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.07.021

Inhibition of puerarin on formation of advanced glycation end products *in vivo* and *in vitro*

YUAN Yuan^{1,2}, HOU Xue-feng^{3,4}, FENG Liang³, JIA Xiao-bin³, WANG Yong-qing¹

1. The First Affiliated Hospital with Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

2. The Fourth People's Hospital of Zhenjiang, Zhenjiang 212001, China

3. Key Laboratory of New Drug Delivery System of Chinese Materia Medica, Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

4. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

Abstract: Objective To study the influence of puerarin on advanced glycation end products (AGEs) formation *in vivo* and *in vitro*. **Methods** C57BL/6 mice were fed with high fat diet and injected with streptozotocin (40 mg/kg) to establish diabetic model. After modeling, mice were randomly divided into blank control group, model group, aminoguanidine group (100 mg/kg), low-, mid-, and high-dose puerarin (50, 100, and 200 mg/kg) groups. After treatment of eight weeks, the levels of fasting blood-glucose (FBG), oral glucose tolerance test (OGTT), glycosylated serum protein (GSP), and AGEs in serum were detected. To establish non-enzymatic glycation reaction model *in vitro*, glucose and bovine serum albumin (BSA) were incubated with puerarin at different concentrations respectively for 144 h. The productivity of non-enzymatic advanced glycation end products was detected by spectrophotometer. **Results** Puerarin can significantly lower the level of FBG and oral glucose tolerance in diabetic mice, and inhibit the productivity of GSP and AGEs in serum. Besides, puerarin also significantly inhibits the productivity of AGEs *in vitro* in a concentration-dependent manner. **Conclusion** Puerarin possesses significant inhibitory effect on the productivity of AGEs *in vivo* and *in vitro*.

Key words: puerarin; non-enzymatic glycosylation; advanced glycosylation end products; diabetes mellitus; glycosylated serum protein

收稿日期: 2016-09-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81473394); 镇江市 2015 年第四批科技计划(重点研发计划——社会发展)项目(SH2015068); 江苏省青年医学人才项目(QNRC2016634); 江苏省“333 高层次人才培养工程”项目; 江苏省“六大高峰人才”项目(YY-012)

作者简介: 袁媛(1983—), 主管药师, 研究方向为中药对糖尿病及其并发症防治研究。E-mail: douyuan123@163.com

***通信作者** 王永庆(1972—), 主任药师, 硕士研究生导师, 研究方向为临床药理与药物代谢。E-mail: wangyongqing@jsph.org.cn

封亮(1981—), 副研究员, 硕士研究生导师, 研究方向为糖尿病及其微血管并发症的防治研究。E-mail: wenmoxiushi@163.com

糖尿病是一种以糖代谢障碍为主的严重危及人类健康的全身性慢性代谢性疾病,它的发生发展往往伴随多种并发症,如心脑血管、肾脏、眼底及神经系统等慢性的病变,其中糖尿病血管病变是糖尿病患者的主要死亡原因^[1]。近年来,随着我国人民生活质量的不断提高以及人口老龄化问题的出现,糖尿病及其血管并发症已经成为危害公众健康的重大疾病之一。

非酶糖基化是诱发糖尿病血管病变的主要发病机制之一^[2],它是由蛋白质或游离氨基酸中的氨基基团在还原糖及活性羰基的作用下通过非酶促糖化作用形成分子内或分子间交联,最终不可逆转地产生晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)。研究表明这种不可逆性的AGEs在体内累积可通过破坏与其交联的蛋白质结构,促进机体氧化应激反应引发糖尿病血管并发症的发生和发展^[3]。活性二羰基化合物是形成AGEs的前体,属于高反应活性糖基化因子^[4],许多中药活性成分可通过阻止糖化氧化或者清除活性二羰基化合物等途径抑制AGEs形成^[5]。

葛根素是多年生豆科落叶藤本植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 根中的主要活性成分,它是葛根提取物中较强的抗氧化剂,具有降血糖、改善血液微循环、保护内皮细胞等作用^[6-10]。本研究研究了葛根素对糖尿病小鼠空腹血糖值(FBG)、口服糖耐量(OGTT)、糖化血清蛋白(GSP)及血清AGEs形成的影响,并考察其对丙酮醛-牛血清白蛋白非酶糖基化反应的抑制作用,为探究中药防治糖尿病血管病变的研究提供新的思路。

1 材料

1.1 药品与试剂

葛根素(中国食品药品检定研究院,批号110752-201514,质量分数98.0%);链脲佐菌素(STZ,上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号C1616118,质量分数98.0%);罗氏全活力型血糖试纸(罗氏诊断产品上海有限公司);氨基胍盐酸盐(AG,国药集团化学试剂有限公司,批号20150725,质量分数98.0%);GSP试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号20160328);高糖高脂饲料(10%蔗糖、10%蛋黄粉、5%猪油、1%胆固醇、0.2%胆盐);丙酮醛(MGO,上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号H1215022,质量分数40%);牛血清白蛋白(BSA,上海阿拉丁生化科技股份有

限公司,批号A116563,质量分数96.0%);叠氮化钠(上海远慕生物科技有限公司,批号20150910,质量分数98.0%);乙酸(美国TEDIA,批号15050423,质量分数99.0%);磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、柠檬酸、柠檬酸钠均为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司;实验所用水为自制纯化水。

1.2 仪器

F-4500 FL 荧光分光光度计(日本日立公司);AL204 电子天平(美国梅特勒-托利多公司);CHA-S 数显气浴恒温振荡器(金坛市双捷实验仪器厂);DNG-9070A 电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);Five Easy 型 pH 计(美国梅特勒-托利多公司);HH-4 数显恒温搅拌循环水浴锅(常州国华电器有限公司)。

1.3 动物

实验所用 SPF 级 C57BL/6 雄性小鼠,8 周龄,体质量为 18~22 g,由南通大学实验动物中心提供,饲养于江苏省中医药研究院实验动物中心,许可证编号 SCXK(苏)2014-0001。

2 方法

2.1 动物模型的制备

糖尿病模型小鼠的制备参照文献方法^[11]稍作修改。健康 C57BL/6 雄性小鼠 70 只,适应性饲养 1 周,随机选取 8 只作为对照组,其余作为造模组,造模组小鼠采用高糖高脂饲料喂养,对照组采用普通饲料喂养。饲养 4 周后禁食 12 h,造模组小鼠按照 40 mg/kg 一次性 ip STZ 柠檬酸钠缓冲溶液(0.1 mol/L, pH 4.4,冰浴配制现配现用),对照组 ip 等体积柠檬酸钠缓冲溶液。于注射后第 7 天测定 FBG,取 FBG>11.11 mmol/L 的未死亡小鼠作为糖尿病模型小鼠。造模过程中死亡小鼠 18 只,造模未成功 4 只。

2.2 动物分组与给药

将造模成功的小鼠根据 FBG 值随机分为 5 组,每组 8 只,分别为模型组,氨基胍(100 mg/kg)组,葛根素低、中、高剂量(50、100、200 mg/kg)组,自造模后第 8 天开始,连续 ig 给药 8 周,模型组以及对照组小鼠期间给予相同体积的生理盐水。给药第 8 周末,小鼠禁食 12 h,摘眼球取血 0.8 mL,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清。

2.3 指标的测定

2.3.1 FBG 的测定 分别在给药的第 0、7、14、28、42、56 天采用剪尾法取血,取血前禁食 12 h,

测定其 FBG。

2.3.2 OGTT 试验 于给药第 56 天进行 OGTT 试验。小鼠先剪尾取血测定 FBG 值, 然后 ig 葡萄糖 2.0 g/kg, 测定给予葡萄糖后 0.5、1、2 h 的血糖值, 根据下列公式计算曲线下面积 (AUC, $AUC=0.5 \times FBG \text{ 值} + 0.5 \text{ h 血糖值} + 1.5 \times 1 \text{ h 血糖值} + 2 \text{ h 血糖值}$)^[12]。

2.3.3 血清 AGEs 的测定 取血清 100 μL 加双蒸水稀释 10 倍置于比色皿中, 设置荧光分光光度计激发光波长 370 nm, 发射光波长 440 nm, 狭缝间隙 4 nm, 测定荧光强度。AGEs 定量以 1.0 g/L 牛血清白蛋白的 PBS 荧光值 1 个自定义荧光单位 (AU), 以此折算样品的 AGEs 生成量。每毫升样品中所含荧光强度为一个任意单位。

2.3.4 GSP 的测定 采用果糖胺法严格按照试剂盒操作说明测定小鼠血清中 GSP。取 0.1 mL 血清样品加入 2.0 mL 显色剂氯化硝基四氮唑蓝 (NBT) 液中, 混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 15 min。在 530 nm 波长、1 cm 光径的条件下, 测定吸光度 (A) 值, 按试剂盒说明书计算样品 GSP 浓度。

2.4 丙酮醛-牛血清白蛋白 (MGO/BSA) 体外非酶糖基化反应体系的建立

参照文献方法^[13], 并稍作修改。将 100 mg BSA、75 μL MGO 及 20 mg 叠氮化钠 (用于抑菌) 溶于 100 mL 的 PBS 缓冲溶液 (pH 7.4, 0.2 mol/L), 得到终浓度为 1 g/L BSA、5 mmol/L MGO 的反应体系。

2.5 葛根素与体外非酶糖基化反应体系共孵育

每组取 10 mL MGO/BSA 反应液置于离心管中, 再分别加入不同量葛根素使得终浓度分别为 0.5、1、2 mmol/L, 同时设置氨基胍 (1 mmol/L)

作为阳性对照组; 不加药的非酶糖基化反应液作为反应对照组。将各组反应液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 144 h, 在 0、6、12、24、48、72、96、120、144 h 分别取孵育液 200 μL , -20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存, 每组实验平行重复 5 次。

2.6 体外 AGEs 抑制率的测定

各组样本解冻后参考“2.3.3”项方法测定各样品荧光强度 (F), 按照下列公式计算反应 144 h 后各组 AGEs 抑制率 ($\text{AGEs 抑制率} = 1 - F_{\text{药物}}/F_{\text{对照}}$)。

2.7 统计分析

所有数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 结果采用 SPSS 17.0 统计软件包进行方差分析, 组间比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 葛根素对糖尿病小鼠 FBG 的影响

模型组小鼠的 FBG 值显著高于对照组 ($P < 0.01$), 说明糖尿病小鼠模型制备成功。与模型组比较, 不同剂量葛根素组均有降低糖尿病小鼠 FBG 水平的作用, 葛根素高剂量组 FBG 在给药后 28 d 开始显著降低 ($P < 0.05$), 葛根素中、低剂量组在给药后 42 d 开始, FBG 显著降低 ($P < 0.05$)。给药后 56 d 葛根素低、中、高剂量组的小鼠 FBG 分别为 (17.99 ± 2.22)、(16.65 ± 2.67)、(13.88 ± 1.95) mmol/L, 可见葛根素降糖作用与剂量呈正相关, 见表 1。

3.2 葛根素对糖尿病小鼠 OGTT 的影响

OGTT 试验结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠各时间点血糖值及 AUC 值均显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 葛根素低、中剂量组小鼠各时间点的血糖值及 AUC 值均有降低 ($P < 0.05$), 葛根素高剂量组降低效果更加显著 ($P < 0.01$), 结果见表 2。

表 1 葛根素对糖尿病小鼠 FBG 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effects of puerarin on FBG in STZ-induced diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	FBG/(mmol·L ⁻¹)					
		给药 0 d	给药 7 d	给药 14 d	给药 28 d	给药 42 d	给药 56 d
对照	—	5.03 ± 0.47	4.77 ± 0.91	4.89 ± 0.83	5.17 ± 0.55	5.36 ± 0.49	5.65 ± 0.46
模型	—	13.91 ± 1.64 ^{###}	16.78 ± 2.77 ^{###}	20.63 ± 3.07 ^{###}	22.48 ± 3.21 ^{###}	23.96 ± 2.49 ^{###}	24.16 ± 3.83 ^{###}
氨基胍	100	14.31 ± 1.93	16.44 ± 2.45	17.57 ± 1.92 [*]	16.33 ± 1.94 [*]	13.28 ± 2.42 ^{**}	12.13 ± 1.86 ^{**}
葛根素	50	14.02 ± 1.88	16.77 ± 2.83	20.79 ± 2.73	20.87 ± 3.58	19.44 ± 2.11 [*]	17.99 ± 2.22 [*]
	100	14.11 ± 2.57	17.01 ± 2.57	21.15 ± 2.64	20.56 ± 3.06	18.26 ± 3.00 [*]	16.65 ± 2.67 [*]
	200	13.89 ± 1.79	16.82 ± 3.13	19.43 ± 2.11	17.99 ± 2.02 [*]	16.47 ± 3.25 [*]	13.88 ± 1.95 ^{**}

与对照组比较: ^{###} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$, 下同

^{###} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below

表 2 葛根素对糖尿病小鼠 OGTT 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of puerarin on OGTT in STZ-induced diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血糖值/(mmol·L ⁻¹)				AUC/(mmol·L ⁻¹)
		0 h	0.5 h	1 h	2 h	
对照	—	5.65±0.46	6.96±0.88	7.83±0.66	6.34±0.57	27.87± 2.57
模型	—	24.16±3.83 ^{##}	28.89±3.34 ^{##}	30.76±2.21 ^{##}	26.07±3.91 ^{##}	113.18±13.37 ^{##}
氨基胍	100	12.13±1.86 ^{**}	16.58±1.57 ^{**}	15.75±1.63 ^{**}	12.87±1.44 ^{**}	59.14± 6.51 ^{**}
葛根素	50	17.99±2.22 [*]	24.65±2.78 [*]	23.72±3.13 [*]	19.87±1.69 [*]	89.10± 9.92 [*]
	100	16.65±2.67 [*]	22.83±2.41 [*]	23.14±2.55 [*]	17.24±1.83 [*]	83.11± 9.46 [*]
	200	13.88±1.95 ^{**}	18.02±1.78 ^{**}	17.24±1.54 ^{**}	14.66±1.73 ^{**}	65.48± 7.00 ^{**}

3.3 葛根素对糖尿病小鼠血清 AGEs 生成量的影响

模型组小鼠血清 AGEs 生成量明显高于对照组 ($P < 0.01$)。给药 56 d 后,不同剂量的葛根素组对小鼠血清 AGEs 的生成均有明显的抑制作用 ($P < 0.05$ 、 0.01),且在一定范围内成剂量依赖性,见图 1。

3.4 葛根素对糖尿病小鼠 GSP 的影响

模型组小鼠的 GSP 量明显高于对照组 ($P < 0.01$)。与模型组相比不同剂量的葛根素组对小鼠 GSP 的产生均有不同程度的下调作用 ($P < 0.05$ 、 0.01),且在一定范围内呈剂量依赖性,提示葛根素有下调小鼠 GSP 的效果,见图 2。

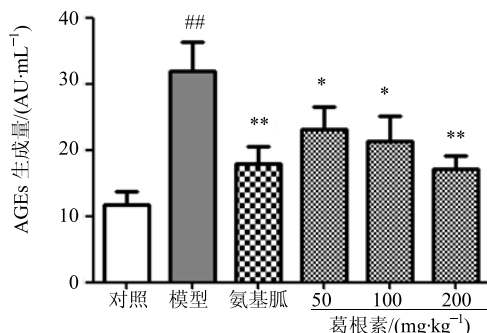


图 1 各组小鼠血清 AGEs 生成量 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 1 Concentration of AGEs in serum of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

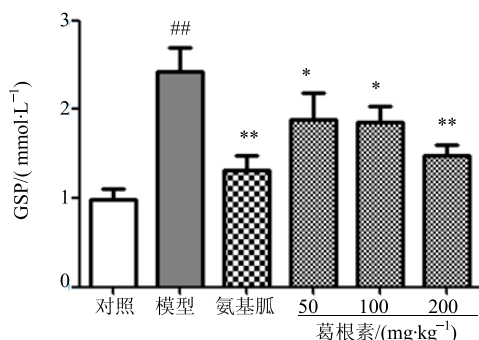


图 2 各组小鼠血清 GSP 水平 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 2 Concentration of glycated serum protein of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

3.5 葛根素在体外非酶糖基化反应体系中对 AGEs 生成的影响

体外非酶糖基化反应显示,反应进行前 48 h,丙酮醛与牛血清白蛋白作用产生的 AGEs 量逐渐增加,随时间反应进行 48 h 以后,各组 AGEs 生成量趋于平缓,变化不大,这说明 MGO/BSA 非酶糖基化反应在 48 h 内就基本反应完全了。AGEs 抑制率实验结果表明,不同浓度葛根素 (0.5、1、2 mmol/L) 均有一定的体外抑制 AGEs 生成的作用,AGEs 抑制率分别为 (45.4±4.5)%、(70.3±5.5)%、(78.9±7.8)%,并呈现出剂量依赖性,其中葛根素高剂量组抑制率略低于氨基胍组 (86.5±6.7)%,见图 3。

4 讨论

AGEs 是由体内的葡萄糖、果糖等多种酮糖分子中活性羰基基团与体内多种蛋白质中的还原性氨基经非酶催化的糖基化作用而形成的,它是公认的糖尿病血管病变的致病因子,糖尿病患者体内的糖基化速度显著高于正常人,血浆和组织中的 AGEs 量也往往较高^[14]。研究表明,AGEs 可通过与血管壁中的蛋白形成共价交联,导致血管结构和功能的损害^[15],从而引发血管病变。此外 AGEs 还能引起血管内皮细胞膜上阴离子多糖蛋白的降解,致使血管通透性增大,破坏血管内皮的屏障作用^[16]。因此,开发 AGEs 抑制剂,探究抑制 AGEs 形成的机制,对于防治糖尿病血管病变具有重要意义。

非酶糖基化和氧化反应关系密切,氧化反应参与了糖基化反应,糖基化反应又促进了氧化反应的发生,因此抗氧化剂可以抑制 AGEs 的形成。氨基胍对 AGEs 的产生有着良好的抑制效果,却由于不良反应严重限制了其临床应用。现代药理学研究认为葛根素具有较强的抗氧化作用,作为一种天然的对人体危害很小的活性成分,葛根素颇具研究价值。本实验研究证实葛根素对 STZ 诱导的糖尿病小鼠有显著的降血糖功效,可以改善 OGTT、降低

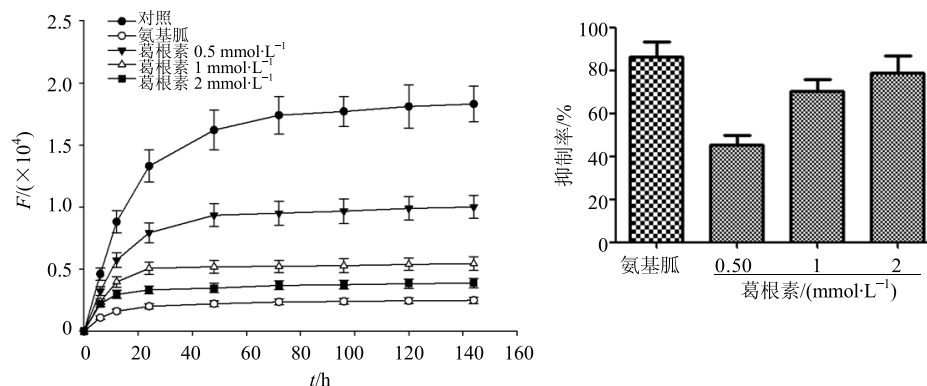


图 3 葛根素在体外 MGO/BSA 体系中对 AGE 生成的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 3 Inhibitory effects of puerarin against AGEs formation in BSA/MGO system ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

GSP、抑制糖尿病小鼠血清 AGEs 的形成, 且在一定范围内与剂量成正相关。

MGO/BSA 非酶糖基化反应结果表明葛根素在体外也能显著抑制 AGEs 的生成, 在一定范围内成剂量依赖性, 这一结果与体内实验结果相符。有文献报道, 黄酮类化合物通过捕获活性二羰基化合物形成加合物, 从而抑制 AGEs 的形成, 推测葛根素抑制 AGEs 的形成的机制可能也与之相似, 但具体作用过程有待进一步实验验证。

参考文献

- [1] Cabassa L J, Blanco C, Lopez-Castroman J, *et al.* Racial and ethnic differences in diabetes mellitus among people with and without psychiatric disorders: results from the national epidemiologic survey on alcohol and related conditions [J]. *Gen Hosp Psychiatry*, 2011, 33(2): 107-115.
- [2] Ojima A, Matsui T, Nishino Y, *et al.* Empagliflozin, an inhibitor of sodium-glucose cotransporter 2 exerts anti-inflammatory and antifibrotic effects on experimental diabetic nephropathy partly by suppressing AGEs-receptor axis [J]. *Horm Metab Res*, 2015, 47(9): 686-692.
- [3] Schalkwijk C G. Vascular AGE-ing by methylglyoxal: the past, the present and the future [J]. *Diabetologia*, 2015, 58(8): 1715-1719.
- [4] Zhuang A, Forbes J M. Diabetic kidney disease: a role for advanced glycation end-product receptor 1 (AGE-R1) [J]. *Glycoconj J*, 2016, 33(4): 645-652.
- [5] 吕兴, 许惠琴, 刘斌, 等. 莫诺昔对晚期糖基化终末产物加重链脲佐菌素诱导糖尿病肾病保护作用及其机制 [J]. *中草药*, 2014, 45(21): 3109-3116.
- [6] Li W, Zhao W, Wu Q, *et al.* Therefore. Puerarin improves diabetic aorta injury by inhibiting NADPH oxidase-derived oxidative stress in STZ-Induced diabetic rats [J]. *J Diabetes Res*, 2016, doi: 10. 1155/2016/8541520.
- [7] 赵艳威, 李宗旻, 宋光明, 等. 葛根素促进人成骨样 MG-63 细胞分化的分子机制研究 [J]. *中草药*, 2014, 45(4): 536-540.
- [8] 杨蕾, 舒变, 姚冬冬, 等. 葛根素对链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠降糖作用 [J]. *中国医院药学杂志*, 2014, 34(16): 1338-1342.
- [9] Hao C H, Wang W T, Shao M X, *et al.* Effects of puerarin on experimental model of retinal vein occlusion in rats [J]. *Chin Herb Med*, 2014, 6(2): 110-114.
- [10] 李会柏, 魏亚超, 刘娇梅. 葛根素对链脲佐菌素诱导妊娠糖尿病大鼠氧化应激损伤的保护作用 [J]. *现代药物与临床*, 2015, 30(7): 774-778.
- [11] 曾位森, 黄源坚, 邵聪文, 等. 高脂饮食诱导的 2 型糖尿病模型小鼠的生化及病理分析 [J]. *南方医科大学学报*, 2014, 34(8): 1115-1120.
- [12] 袁雪海, 吕楠, 靳学海, 等. 新工艺金芪降糖片降糖和调脂作用研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(21): 3219-3222.
- [13] Szawara-Nowak D, Koutsidis G, Wiczowski W, *et al.* Evaluation of the invitro, inhibitory effects of buckwheat enhanced wheat bread extracts on the formation of advanced glycation end-products (AGEs) [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2014, 58(2): 327-334.
- [14] 王亚娇, 苏珂, 龙艳, 等. 2 型糖尿病视网膜病变患者血清超敏 C 反应蛋白与胰岛素抵抗的相关性 [J]. *中国老年学杂志*, 2014(10): 2874-2875.
- [15] Rojas A, Morales M A. Advanced glycation and endothelial functions: A link towards vascular complications in diabetes [J]. *Life Sci*, 2004, 76(7): 715-730.
- [16] Ido Y, Chang K C, Lejeune W S, *et al.* Vascular dysfunction induced by AGE is mediated by VEGF via mechanisms involving reactive oxygen species, guanylate cyclase, and protein kinase C [J]. *Microcirculation*, 2001, 8(4): 251-263.