

## 葛根素通过激活 PI3K/Akt 信号通路减轻 2 型糖尿病大鼠 心肌缺血再灌注损伤

李兵达<sup>1</sup>, 程欣<sup>2</sup>, 周山庚<sup>3</sup>, 木沙江·艾尼<sup>4</sup>, 贺应林<sup>5</sup>, 涂赞<sup>6</sup>

(1. 江西省肿瘤医院肿瘤内科, 江西 南昌 330029; 2. 克孜勒苏中医医院内科; 3. 克孜勒苏中医医院外科;  
4. 克孜勒苏中医医院维医科, 新疆 阿图什 845350; 5. 江西中医药大学附属医院肛肠科, 江西 南昌 330006;  
6. 江西省肿瘤医院消化肿瘤内科, 江西 南昌 330029)

**摘要:**目的: 观察葛根素(Puerarin, Pue)对 2 型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)大鼠心肌缺血再灌注(Ischemia/reperfusion, I/R)损伤的保护作用, 并探讨其对 PI3K/Akt 信号通路的调控机制。方法: 建立 T2DM 雄性 SD 大鼠模型, 取 16 周龄 T2DM 雄性 SD 大鼠 30 只, 随机分为假手术组(Sham 组)、缺血再灌注组(I/R 组)和葛根素预处理组(I/R+Pue 组), 每组 10 只。I/R+Pue 组腹腔注射葛根素 50 mg/(kg·d), 连续 3 d, Sham 组与 I/R 组以等量生理盐水替代, 末次给药 24 h 后构建心肌 I/R 模型(左冠状动脉前降支结扎 30 min, 再灌注 2 h)。葛根素给药前 1 d、给药 3 d 后监测空腹血糖(Fasting blood glucose, FBG)。超声心动图测量心脏射血分数(EF), ELISA 检测血清心肌损伤标志物(CK、LDH、cTnI)及肝肾功能指标, HE 染色和 TUNEL 染色分别评估心肌病理损伤和细胞凋亡, Western blot 检测 PI3K、p-Akt 蛋白表达。结果: 与 Sham 组比较, I/R 组给药前 1 d 及给药 3 d 后血清 FBG、ALT、AST、BUN、Cr 差异无统计学意义( $P>0.05$ ), CK、LDH 及 cTnI 水平均显著升高, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与 I/R 组比较, I/R+Pue 组血清 ALT、AST、BUN、Cr 差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 给药 3 d 后 FBG、CK、LDH、cTnI 水平均显著降低, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。HE 染色显示, Sham 组大鼠心肌细胞形态规则、排列整齐、横纹清晰, 未见细胞水肿及炎症浸润。I/R 组心肌细胞形态不规则, 排列紊乱, 局部肌纤维横纹消失, 可见明显炎症细胞浸润及细胞质水肿, 部分细胞出现变性坏死。与 I/R 组比较, I/R+Pue 组心肌组织损伤程度明显减轻, 炎症细胞浸润减少, 心肌细胞结构相对完整。TUNEL 染色显示, Sham 组心肌细胞凋亡极少, I/R 组出现大量 TUNEL 阳性细胞(绿色荧光), 与 Sham 组比较, I/R 组 TUNEL 阳性细胞比例显著升高( $P<0.05$ ), 与 I/R 组比较, I/R+Pue 组 TUNEL 阳性细胞比例显著降低( $P<0.05$ )。Western blot 结果显示, 与 Sham 组比较, I/R 组心肌 PI3K 和 p-Akt 水平显著降低( $P<0.05$ ), 与 I/R 组比较, I/R+Pue 组 PI3K 和 p-Akt 水平显著升高( $P<0.05$ )。结论: 葛根素可显著减轻 T2DM 大鼠心肌 I/R 损伤并改善心脏收缩功能, 其机制可能与激活 PI3K/Akt 信号通路、抑制心肌细胞凋亡有关。

**关键词:** 葛根素; 缺血再灌注损伤; 2 型糖尿病; PI3K/Akt 信号通路; 心肌保护

中图分类号: R541.8 文献标志码: A 文章编号: 2097-7174(2026)08-0695-06

DOI: 10.3969/j.issn.2097-7174.2026.08.001

## Puerarin attenuates cardiac ischemia/reperfusion injury in type 2 diabetic rats by activating the PI3K/Akt signaling pathway

LI Bingda<sup>1</sup>, CHENG Xin<sup>2</sup>, ZHOU Shangeng<sup>3</sup>, ANI Musajiang<sup>4</sup>, HE Yinglin<sup>5</sup>, TU Yun<sup>6</sup>

(1. Department of Oncology, Jiangxi Provincial Cancer Hospital, Nanchang, Jiangxi 330029; 2. Department of Internal Medicine, Kizilsu Traditional Chinese Medicine Hospital; 3. Department of Surgery, Kizilsu Traditional Chinese Medicine Hospital; 4. Department of Uyghur Medicine, Kizilsu Traditional Chinese Medicine Hospital, Atushi, Xinjiang 845350; 5. Department of Anorectal, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang, Jiangxi 330006; 6. Department of Gastrointestinal Oncology, Jiangxi Provincial Cancer Hospital, Nanchang, Jiangxi 330029)

**Abstract: Objective:** To investigate the protective effect of puerarin (Pue) against cardiac ischemia/reperfusion (I/R)

基金项目: 江西省中医药管理局科技计划项目(2021B123)

通信作者: 涂赞, 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 肿瘤诊断和治疗。E-mail: 13907093822@qq.com

injury in type 2 diabetic (T2DM) rats and to explore its regulatory mechanism on the PI3K/Akt signaling pathway. **Methods:** A T2DM male SD rat model was established by selecting 30 sixteen-week-old T2DM male SD rats, which were randomly divided into three groups: sham group (Sham), ischemia-reperfusion group (I/R), and puerarin pretreatment group (I/R+Pue), with 10 rats in each group. The I/R+Pue group received intraperitoneal injections of puerarin at 50 mg/(kg·d) for three consecutive days, while the Sham and I/R groups received an equal volume of saline instead. Twenty-four hours after the final drug administration, myocardial I/R model was established by ligating the left anterior descending coronary artery for 30 minutes followed by 2 hours of reperfusion. Fasting blood glucose (FBG) levels were monitored one day before puerarin administration and three days after treatment. Echocardiography was used to measure left ventricular ejection fraction (EF). Serum levels of myocardial injury markers (CK, LDH, cTnI) and liver/kidney function indicators were assessed by ELISA. Myocardial pathological damage and apoptosis were evaluated using hematoxylin-eosin (HE) staining and TUNEL assay, respectively. Western blot analysis was performed to detect protein expression of PI3K and p-Akt. **Results:** Compared with the Sham group, there was no statistically significant difference in serum FBG, ALT, AST, BUN, and Cr levels between the I/R group before drug administration and 3 days after administration ( $P>0.05$ ), while CK, LDH, and cTnI levels were significantly elevated, showing statistical significance ( $P<0.05$ ). Compared with the I/R group, the I/R+Pue group showed no significant differences in serum ALT, AST, BUN, and Cr levels ( $P>0.05$ ), but FBG, CK, LDH, and cTnI levels were significantly reduced 3 days after administration, with statistical significance ( $P<0.05$ ). HE staining revealed that myocardial cells in the Sham group had regular morphology, orderly arrangement, and clear striations, without cellular edema or inflammatory infiltration. In contrast, myocardial cells in the I/R group exhibited irregular shapes, disordered arrangement, loss of striations in some areas, obvious inflammatory cell infiltration, cytoplasmic edema, and degeneration or necrosis in some cells. Compared with the I/R group, the I/R+Pue group showed significantly reduced myocardial tissue damage, less inflammatory cell infiltration, and relatively intact myocardial cell structure. TUNEL staining showed minimal apoptosis in the Sham group, whereas numerous TUNEL-positive cells (green fluorescence) were observed in the I/R group. The proportion of TUNEL-positive cells was significantly higher in the I/R group compared with the Sham group ( $P<0.05$ ), and significantly lower in the I/R+Pue group compared with the I/R group ( $P<0.05$ ). Western blot results indicated that, compared with the Sham group, PI3K and p-Akt levels in the I/R group were significantly decreased ( $P<0.05$ ), whereas in the I/R+Pue group, these levels were significantly increased compared with the I/R group ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Puerarin can significantly attenuate myocardial I/R injury and improve cardiac contractile function in T2DM rats, and the underlying mechanism may involve activation of the PI3K/Akt signaling pathway and inhibition of cardiomyocyte apoptosis.

**Key words:** Puerarin; Ischemia/reperfusion injury; Type 2 diabetes mellitus; PI3K/Akt signaling pathway; Myocardial protection

2型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)是以慢性高血糖和胰岛素抵抗为特征的代谢性疾病,与多种心血管并发症密切相关。T2DM患者心肌对缺血再灌注(Ischemia/reperfusion, I/R)损伤的耐受性显著降低,这一现象被称为“糖尿病心肌易感性”,其机制可能与氧化应激增强、炎症失调及促存活信号通路抑制有关<sup>[1-3]</sup>。PI3K/Akt信号通路是心肌细胞重要的内源性促存活通路,也是再灌注损伤挽救激酶(Reperfusion injury salvage kinase, RISK)网络的重要组成部分,参与调控葡萄糖摄取、能量代谢、线粒体稳态、炎症反应和细胞凋亡。在糖尿病心脏病状态下,持续高糖、胰岛素抵抗和脂毒性可抑制IRS-1/PI3K/Akt信号传导,降低Akt磷酸化水平,进而促进线粒体通透性转换孔开放、Bax/Bcl-2失衡及caspase级联激活,削弱心肌对I/R应激的内源性保护

反应,从而加重心肌细胞损伤<sup>[3]</sup>。因此,在T2DM合并心肌I/R损伤背景下,恢复或增强PI3K/Akt信号通路可能是改善心肌损伤和心功能的重要干预靶点。

葛根素(Puerarin, Pue)是从豆科植物野葛(*Pueraria lobata*)干燥根中提取的主要异黄酮类活性成分,具有扩张冠状动脉、降低心肌耗氧量、抗氧化、抗炎及改善胰岛素抵抗等多种药理作用<sup>[4-6]</sup>。既往研究证实,Pue对非糖尿病动物模型的心肌I/R损伤具有明确保护作用<sup>[7-8]</sup>,但在T2DM特殊病理背景下能否有效减轻心肌I/R损伤,目前尚缺乏系统研究。

本研究通过建立T2DM大鼠心肌I/R损伤模型,观察Pue干预对心功能、心肌损伤标志物、病理形态、细胞凋亡及PI3K/Akt信号通路的影响,旨在阐明其心肌保护作用及潜在机制,为Pue用于糖尿病合并缺血性心脏病的防治提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 试剂与仪器** 葛根素(纯度 $\geq 98\%$ ,江苏强耀生物科技有限公司,货号:CAS No. 3681-99-0)、链脲佐菌素(STZ)(美国 Sigma-Aldrich 公司);HE 染色试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)、TUNEL 染色试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)、血糖检测试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)、LDH 试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)、BCA 蛋白定量试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)、RIPA 裂解液(上海碧云天生物技术有限公司)、CK 检测试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)、cTnI 检测试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)、ALT 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,货号/批号:C009-2-1)、AST 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)、BUN 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)、Cr 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所);抗 PI3K 抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司)、抗 p-Akt 抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司)、抗  $\beta$ -actin 抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司);小动物超声心动图仪(加拿大 VisualSonics 公司,型号:Vevo 3100)、小动物呼吸机(上海奥尔科特生物科技有限公司,型号:ALC-V8S-651)、凝胶电泳及转膜系统(美国 Bio-Rad 公司,型号:Gel Doc XR+)。

**1.2 实验动物** SPF 级 6 周龄雄性 SD 大鼠,购自长沙天勤生物技术有限公司[许可证号:SCXK(湘)2019-0014],体质量 180~220 g。饲养条件:温度 22~25℃,相对湿度 50%~60%,12 h 明暗循环,自由摄食饮水。本研究经南昌乐悠生物科技有限公司动物伦理委员会批准(批准号:RYE2020091101)。

**1.3 T2DM 模型大鼠建立** SPF 级 6 周龄雄性 SD 大鼠适应性饲养 1 周后,检测基础空腹血糖(禁食 8 h)。随后以高脂高糖饲料(含 58% 脂肪、25% 蔗糖)喂养 6 周建立胰岛素抵抗后再予以单次腹腔注射小剂量 STZ(35 mg/kg,溶于 0.1 mol/L 柠檬酸钠缓冲液,pH 4.5)。注射 72 h 后再次检测空腹血糖(禁食 8 h),以血糖 $\geq 11.1$  mmol/L 作为造模成功标准<sup>[9]</sup>。T2DM 模型大鼠继续高脂高糖饲养至第 16 周龄用于实验。

**1.4 实验分组与心肌 I/R 模型构建** 取 16 周龄 T2DM 雄性 SD 大鼠 30 只,按随机数字表法分为 3 组( $n=10$ ):Sham 组、I/R 组、I/R+Pue 组。I/R+Pue 组大鼠腹腔注射 Pue 50 mg/(kg·d),连续 3 d,I/R 组及 Sham 组以等量生理盐水替代,末次注射 24 h 后构建 I/R 模型。各组在葛根素给药前 1 d 以及在连续给药

3 d 后分别检测空腹血糖(Fasting blood glucose,FBG)。

**I/R 模型构建:**以 4% 异氟烷诱导麻醉,大鼠仰卧固定,气管插管后连接小动物呼吸机(潮气量 6 mL/kg,频率 60 次/min),持续监测心电图(Electrocardiogram,ECG)。于第四、五肋间开胸,暴露心脏,以 4-0 丝线结扎左冠状动脉前降支(Left anterior descending,LAD),以心肌颜色变白及 ECG 示 ST 段弓背形抬高确认缺血成功;缺血 30 min 后松开结扎线,以心肌颜色恢复及出现再灌注心律失常确认再灌注,持续 2 h,于负压下逐层关胸。Sham 组穿线绕过 LAD 但不结扎,其余操作相同。

### 1.5 心脏射血分数(Ejection fraction, EF)测定

再灌注结束后,待大鼠完全苏醒 2 h,以小动物超声心动图仪(Vevo 3100)在胸骨旁左室长轴切面进行 M 型超声检查,测量各组左室收缩末期内径和舒张末期内径,计算 EF 值,每只大鼠重复测量 3 次取均值。

**1.6 标本采集** 完成 M 型超声检查后,以 4% 异氟烷诱导麻醉,经心脏穿刺取血,3 000 r/min 离心 10 min 分离血清,-80℃保存备用。随即取出心脏,将左心室心肌横切:一份置 4% 多聚甲醛固定,用于病理学检测;另一份经液氮速冻后转-80℃保存,用于蛋白质检测。

**1.7 ELISA 检测** 按 ELISA 试剂盒说明书检测血清 CK、LDH、cTnI、ALT、AST、BUN、Cr。

**1.8 HE 染色** 取心肌石蜡切片,依次将切片放入二甲苯、乙醇等溶液中脱蜡和水化,随后行苏木素染液染色,自来水冲洗,盐酸酒精分化,氨水返蓝。再入伊红染液中染色。染色后将切片依次放入不同浓度的乙醇和二甲苯中脱水透明,中性树胶封片,于光学显微镜下观察心肌细胞形态及炎症细胞浸润情况。

**1.9 TUNEL 染色** 取心肌石蜡切片,常规脱蜡水化:依次经二甲苯和无水乙醇各洗涤 2 次,再以 95% 和 75% 梯度乙醇各洗涤 1 次。切片经蛋白酶 K 抗原修复后,磷酸盐缓冲液(Phosphate-buffered saline,PBS)清洗;以含 0.5%  $H_2O_2$  的 PBS 溶液室温孵育 20 min,以阻断内源性过氧化物酶活性。按试剂盒推荐比例配制 TdT 酶与荧光标记 dUTP 反应混合液,加至样本上,于 37℃避光孵育 1~2 h;孵育结束后 PBS 充分洗涤,去除未结合的核苷酸与酶。随后滴加辣根过氧化物酶(Horseradish peroxidase,HRP)偶联的抗地高辛抗体,于 37℃湿盒中孵育 30 min。采用二氨基联苯胺(Diaminobenzidine,DAB)底物与  $H_2O_2$  进行显色反应,以过量超纯水终止反应并洗涤。切片经梯度乙醇脱水、二甲苯透明后封片。每张切片于激光

共聚焦显微镜下随机选取5个不重叠视野进行观察与图像采集。计算凋亡指数(Apoptotic index, AI)=TUNEL阳性细胞数/总心肌细胞数×100%,并对各组AI进行统计分析。

1.10 Western blot 检测 取心肌组织(约50 mg)加入含蛋白酶及磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液,冰上裂解30 min,4℃、12 000×g离心15 min取上清液,BCA法定量测量蛋白浓度。各组上样量均为30 μg,经10% SDS-PAGE分离后转至PVDF膜,5%脱脂奶粉室温封闭2 h,一抗4℃孵育过夜,HRP标记二抗(1:5 000)室温孵育1 h,ECL化学发光显影。以β-actin为内参,采用Image J软件进行灰度值分析。

1.11 统计学处理 采用SPSS 19.0和GraphPad

Prism 8.0进行统计分析,方差齐性的计量资料以均数±标准差表示,2组间比较采用*t*检验。检验水准α=0.05。

2 结果

2.1 葛根素对T2DM大鼠血清生化指标的影响 与Sham组比较,I/R组给药前1 d及给药3 d后血清FBG、ALT、AST、BUN、Cr差异无统计学意义(*P*>0.05),CK、LDH及cTnI水平均显著升高,差异有统计学意义(*P*<0.05)。与I/R组比较,I/R+Pue组血清ALT、AST、BUN、Cr差异无统计学意义(*P*>0.05),给药后FBG、CK、LDH、cTnI水平均显著降低,差异有统计学意义(*P*<0.05)(表1)。

表1 葛根素对T2DM大鼠空腹血糖、心肌标志物及肝肾功能的影响

| 组别       | <i>n</i> | FBG(mmol/L) |                         | ALT(U/L)   | AST(U/L)   | BUN(mmol/L) |
|----------|----------|-------------|-------------------------|------------|------------|-------------|
|          |          | 给药前1 d      | 给药3 d后                  |            |            |             |
| Sham组    | 10       | 14.81±0.76  | 14.80±0.72              | 30.33±2.60 | 95.82±7.05 | 21.14±2.75  |
| I/R组     | 10       | 15.19±0.49  | 15.19±0.49              | 29.94±2.98 | 94.15±6.36 | 20.36±3.07  |
| I/R+Pue组 | 10       | 15.15±1.00  | 13.33±0.80 <sup>②</sup> | 30.58±5.64 | 97.95±7.06 | 20.17±2.77  |

| 组别       | <i>n</i> | Cr(μmol/L)  | CK(U/L)                      | LDH(U/L)                  | cTnI(ng/mL)            |
|----------|----------|-------------|------------------------------|---------------------------|------------------------|
| Sham组    | 10       | 43.49±6.57  | 1 048.59±40.14               | 275.21±50.29              | 0.03±0.01              |
| I/R组     | 10       | 45.93±8.36  | 1 978.37±131.41 <sup>①</sup> | 789.38±81.33 <sup>①</sup> | 0.34±0.05 <sup>①</sup> |
| I/R+Pue组 | 10       | 41.04±10.84 | 1 463.31±68.27 <sup>②</sup>  | 508.49±36.31 <sup>②</sup> | 0.11±0.03 <sup>②</sup> |

注:FBG:随机血糖,ALT:谷丙转氨酶,AST:谷草转氨酶,BUN:尿素氮,Cr:肌酐,CK:肌酸激酶,LDH:乳酸脱氢酶,cTnI:心肌肌钙蛋白I;与Sham组比较,<sup>①</sup>*P*<0.001;与I/R组比较,<sup>②</sup>*P*<0.001。

2.2 葛根素对T2DM大鼠心脏EF的影响 与Sham组比较,I/R组大鼠EF显著降低(*t*=16.842,*P*<0.001),提示心肌缺血再灌注可显著损害T2DM大鼠左心室收缩功能。与I/R组比较,I/R+Pue组EF显著升高(*t*=-10.889,*P*<0.001)。

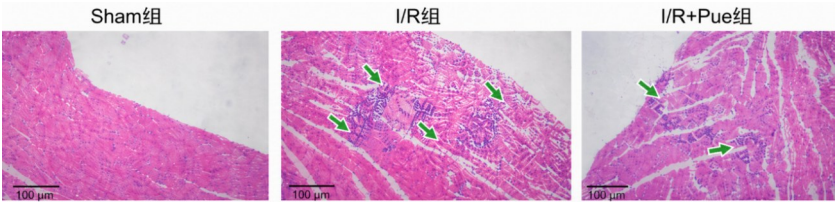
2.3 葛根素对T2DM大鼠心肌病理损伤的影响

HE染色结果显示,Sham组大鼠心肌细胞形态规则、排列整齐、横纹清晰,未见细胞水肿及炎症浸润。I/R组心肌细胞形态不规则,排列紊乱,局部肌纤维横纹消失,可见明显炎症细胞浸润及细胞质水肿,

部分细胞出现变性坏死。与I/R组比较,I/R+Pue组心肌组织损伤程度明显减轻,炎症细胞浸润减少,心肌细胞结构相对完整(图1)。

2.4 葛根素对T2DM大鼠心肌细胞凋亡的影响

TUNEL染色显示,Sham组心肌细胞凋亡极少,I/R组出现大量TUNEL阳性细胞(绿色荧光),提示缺血再灌注导致显著的心肌细胞凋亡。与Sham组比较,I/R组TUNEL阳性细胞比例显著升高(*P*<0.001),与I/R组比较,I/R+Pue组TUNEL阳性细胞比例显著降低(*P*<0.001)(图2)。

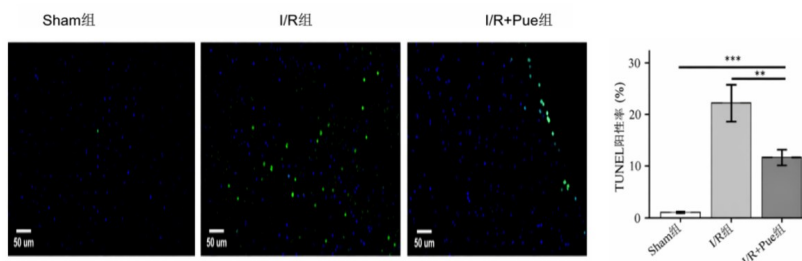


绿色箭头示炎症细胞浸润及局灶性心肌纤维损伤区域。

图1 葛根素对T2DM大鼠心肌病理损伤的影响

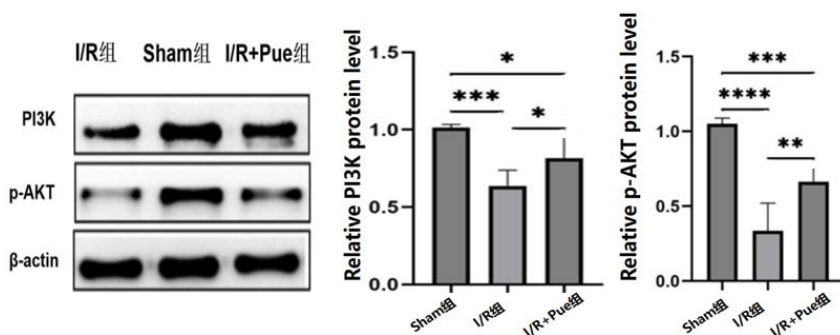
**2.5 葛根素对 T2DM 大鼠心肌 PI3K/Akt 信号通路的影响** 与 Sham 组比较, I/R 组心肌 PI3K 和 p-Akt 蛋白水平显著降低 ( $P<0.001$ ), 提示 I/R 损伤抑制了

PI3K/Akt 促存活信号通路的激活。与 I/R 组比较, I/R+Pue 组 PI3K 和 p-Akt 蛋白水平显著升高 ( $P<0.001$ ) (图 3)。



图中绿色荧光为 TUNEL 阳性细胞, 蓝色为 DAPI 染核。

图 2 葛根素对 T2DM 大鼠心肌细胞凋亡的影响



\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ , \*\*\*\* $P<0.0001$ 。

图 3 葛根素对 T2DM 大鼠心肌 PI3K/Akt 信号通路的影响

### 3 讨论

根据 2020 年发表在《BMJ》的中国大规模流行病学调查, 我国成年人糖尿病总体患病率为 12.8%, 其中 T2DM 占绝大多数, 且知晓率、治疗率和控制率仍不理想<sup>[10]</sup>。T2DM 患者心血管疾病风险较非糖尿病人群高 2~4 倍, 约 50% 的 T2DM 患者死于心血管疾病, 其中心肌梗死、心力衰竭是主要死因<sup>[11]</sup>。T2DM 患者心肌对缺血再灌注损伤的易感性显著增加, 其发病机制涉及高血糖介导的氧化应激增强、炎症反应持续激活以及促存活信号通路受损等多个层面<sup>[1-3]</sup>。因此, 在 T2DM 背景下寻找有效减轻心肌 I/R 损伤的干预策略具有重要临床意义。

葛根素作为中药葛根的核心活性成分, 其心血管保护和糖代谢调节作用已在大量体外和动物实验中得到证实<sup>[4-6]</sup>。本研究在剂量选择上参考既往文献<sup>[9,12]</sup>, Pue 在糖尿病动物模型中的有效且安全剂量为 50 mg/kg。本案研究结果显示, Pue 干预后各组间 ALT、AST、BUN 及 Cr 水平差异均无统计学意义 (均  $P>0.05$ ), 证实该剂量在发挥药效的同时不引发

明显肝肾毒性, 具有良好安全性, 为后续临床转化提供了初步毒理学依据。

CK、LDH 和 cTnI 是反映心肌细胞损伤与坏死程度的敏感标志物。本研究中, I/R 组上述指标均较 Sham 组显著升高, 而 I/R+Pue 组上述指标较 I/R 组显著降低, 提示葛根素能有效减少心肌细胞膜通透性改变及内容物渗漏。此外, 本研究还发现 Pue 干预可显著降低 T2DM 大鼠的空腹血糖水平, 这与其改善胰岛素抵抗、促进葡萄糖摄取的药理作用相符<sup>[4]</sup>, 提示血糖控制可能是其减轻心肌易感性的重要机制之一。

从组织形态学层面, HE 染色和 TUNEL 染色结果证实了 Pue 的心肌保护效应: I/R+Pue 组心肌炎症浸润和细胞变性明显减轻, 凋亡指数显著降低。这与已有研究<sup>[6,13]</sup>报道 Pue 能通过抑制炎症反应和凋亡通路减轻糖尿病大鼠心肌损伤的结论相一致。从心功能层面, I/R 组 EF 值显著降低, 而 I/R+Pue 组 EF 值得到明显增加, 结合上述组织学改变, 表明葛根素通过减少心肌细胞丢失、维护心肌结构完整性, 最终改善了再灌注后的心脏收缩功能。

PI3K/Akt 信号通路是调控细胞存活和凋亡的

核心通路,也是糖尿病心肌 I/R 损伤中受到抑制的重要促存活信号。该通路激活后可促进 Akt 磷酸化,进一步调控 GSK-3 $\beta$ 、mTOR、Bad、Bcl-2/Bax 及 caspase-3 等下游分子,抑制线粒体通透性转换孔开放,从而对抗 I/R 诱导的心肌细胞凋亡<sup>[14-15]</sup>。本研究发现,I/R 损伤降低了心肌 p-PI3K/PI3K 及 p-Akt/Akt 水平,而葛根素处理后显著上调上述指标,提示其心肌保护机制与恢复 PI3K/Akt 通路磷酸化活化密切相关。这与近年来多项研究报道天然活性成分通过激活 PI3K/Akt 通路发挥心肌保护作用的结果相呼应<sup>[16-18]</sup>。

综上所述,本研究证实葛根素(50 mg/kg)在 T2DM 大鼠心肌 I/R 损伤模型中安全有效,可通过激活 PI3K/Akt 信号通路抑制心肌细胞凋亡,显著减轻心肌损伤、改善心脏收缩功能,并具有降低血糖的协同效应,为其临床应用提供了实验支撑。本研究局限性在于仅采用单一剂量和短期给药方案,且血糖动态变化、代表性超声心动图及 PI3K/Akt 通路完整磷酸化蛋白谱仍需进一步完善;未来需进一步探讨葛根素的量效关系、长期用药安全性及其对 PI3K/Akt 下游凋亡和线粒体功能分子的调控作用。

所有作者均声明不存在利益冲突关系。

## 参考文献:

- [1] Antoniou S, Naka K K, Papadakis M, et al. Relationship between indices of vascular function and presence of overt cardiovascular disease among persons with poorly controlled type 2 diabetes[J]. J Cardiovasc Dev Dis, 2021, 8(12):185.
- [2] 杨天贵,张大庆. 炎症反应在糖尿病加重心肌缺血/再灌注损伤中作用的研究进展[J]. 实用药物与临床, 2022,25(12):1137-1141.
- [3] Gao S, Qiu Y, Meng Y, et al. Blockage of PHLPP1 protects against myocardial ischemia/reperfusion injury in diabetic mice *via* activation of STAT3 signaling[J]. J Bioenerg Biomembr, 2023, 55(5):325-339.
- [4] 孔令娟,计小清,刘岩,等. 葛根素通过调控 AMPK/GSK-3 $\beta$ / $\beta$ -catenin 信号通路缓解糖尿病大鼠心肌损伤[J]. 中药材, 2023,46(2):474-478.
- [5] Ding Y, Li W, Peng S, et al. Puerarin protects against myocardial ischemia/reperfusion injury by inhibiting ferroptosis[J]. Biol Pharm Bull, 2023,46(4):524-532.
- [6] Guo B Q, Xu J B, Xiao M, et al. Puerarin reduces ischemia/reperfusion-induced myocardial injury in diabetic rats *via* upregulation of vascular endothelial growth factor A/angiotensin-1 and suppression of apoptosis[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(5):7421-7427.
- [7] 张春艳,曹晓璐,刘嵩,等. 基于分子对接和分子动态模拟探讨葛根素缓解大鼠心肌缺血再灌注损伤的作用机制[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2024,53:26-32.
- [8] Xu H, Yu S, Lin C, et al. Roles of flavonoids in ischemic heart disease: cardioprotective effects and mechanisms against myocardial ischemia and reperfusion injury[J]. Phytomedicine, 2024, 126:155409.
- [9] Wang Y, Shou X, Fan Z, et al. A systematic review and meta-analysis of phytoestrogen protects against myocardial ischemia/reperfusion injury: pre-clinical evidence from small animal studies[J]. Front Pharmacol, 2022, 13:847748.
- [10] Li Y, Teng D, Shi X, et al. Prevalence of diabetes recorded in mainland China using 2018 diagnostic criteria from the American Diabetes Association: national cross sectional study[J]. BMJ, 2020, 369:m997.
- [11] Einarson T R, Acs A, Ludwig C, et al. Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007 - 2017[J]. Cardiovasc Diabetol, 2018, 17(1):83.
- [12] Bebrevska L, Foubert K, Hermans N, et al. *In vivo* antioxidant activity of a quantified Pueraria Lobata root extract[J]. J Ethnopharmacol, 2010, 127(1):112-117.
- [13] 张一弛. 糖尿病大鼠心肌损伤的炎性机制及葛根素的干预作用研究[D]. 济南:济南大学, 2012.
- [14] Lei K, Liang R, Liang J, et al. CircPDE5A-encoded novel regulator of the PI3K/AKT pathway inhibits esophageal squamous cell carcinoma progression by promoting USP14-mediated de-ubiquitination of PIK3IP<sub>1</sub> [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2024,43(1):124.
- [15] Ajzashokouhi A H, Rezaee R, Omidkhoda N, et al. Natural compounds regulate the PI3K/Akt/GSK3 $\beta$  pathway in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. Cell Cycle, 2023,22(7):741-757.
- [16] Li J, Guo Y, Yang Y, et al. Preconditioning with acteoside ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury by targeting HSP90AA1 and the PI3K/Akt signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2025,31(3):77.
- [17] Li J, Guo Y, Yang Y, et al. The cardioprotective effects of acteoside in myocardial ischemia reperfusion injury and the underlying mechanism[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2025,25(1):329.
- [18] Li X, Tao Z, Huang R, et al. Corilagin alleviates cardiac ischemia-reperfusion injury by inhibiting ferroptosis *via* PI3K/AKT pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2025, 1006:178158.

(收稿:2026-04-02)(修回:2026-06-10)

(责任编辑:尹丹)