

葛根素对糖尿病视网膜病变损伤的保护作用及机制研究进展

邹 华^{1,2}, 游志鹏², 吴晓坚^{1,2}

引用: 邹华, 游志鹏, 吴晓坚. 葛根素对糖尿病视网膜病变损伤的保护作用及机制研究进展. 国际眼科杂志 2023; 23(8): 1295-1298

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No.82260212)

作者单位: ¹(330006) 中国江西省南昌市, 南昌大学; ²(330006) 中国江西省南昌市, 南昌大学附属眼科医院

作者简介: 邹华, 在读硕士研究生, 研究方向: 糖尿病视网膜病变。

通讯作者: 游志鹏, 博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 眼底病. yzp74@sina.com

收稿日期: 2022-10-14 修回日期: 2023-07-06

摘要

在世界范围内, 糖尿病 (DM) 是最常见的慢性消耗性疾病, 且患病率和发病率逐年上升, 严重影响患者生活质量, 尤其是糖尿病并发症——糖尿病视网膜病变 (DR) 可引起的视力下降甚至丧失, 使生活质量直线下降, 因此研究 DR 的发病机制及有效治疗迫在眉睫。葛根是一种多年生豆科植物野葛或干葛藤的干燥根, 也叫葛根黄酮, 为临床常用中药, 其根中主要含有异黄酮类、葛根苷 ABC、三萜类、生物碱等, 具有舒张心脑血管平滑肌, 改善微循环的作用。目前, 葛根已经广泛应用于心脑血管疾病、骨质坏死、DM 及其并发症、神经退行性疾病、子宫内异位症以及肿瘤疾病的治疗。目前的研究表明, 葛根素 (Pue) 可通过抑制视网膜新生血管形成、改善缺血缺氧、降低糖尿病糖基化终末产物水平、提高胰岛素生长因子 (IGF) 表达及降低肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 表达、降低血管内皮生长因子 (VEGF) 的表达水平、减少视网膜神经细胞凋亡、抑制核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NOD-like receptor protein 3, NLRP3) 炎性通路及抑制铁死亡等途径对视网膜进行保护。本文就葛根素对糖尿病视网膜病变损伤的保护作用及机制做一综述, 为葛根素的进一步开发利用提供参考。

关键词: 葛根素; 糖尿病视网膜病变; 治疗方法; 进展

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2023.8.11

Research progress on the protective effect and mechanism of puerarin on diabetic retinopathy

Hua Zou^{1,2}, Zhi-Peng You², Xiao-Jian Wu^{1,2}

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No.82260212)

¹Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China; ²Affiliated Eye Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Zhi-Peng You. Affiliated Eye Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. yzp74@sina.com

Received: 2022-10-14 Accepted: 2023-07-06

Abstract

• Increasing prevalence and incidence of diabetes mellitus (DM) - the most common chronic consumptive disease worldwide - has a devastating impact on people's daily lives, particularly through the deterioration or complete loss of vision brought on by diabetic retinopathy (DR). Therefore, it is imperative to investigate the pathogenesis and effective treatment of DR. Meanwhile, Pueraria lobata is the extensively used dried root of kudzu or dried kudzu, also known as Pueraria flavonoids. Moreover, its roots are primarily composed of isoflavones, Pueroside ABC, triterpenes, and alkaloids, which can calm cardiovascular smooth muscle and enhance microcirculation. Currently, it is widely employed for the treatment of cardiovascular diseases, osteonecrosis, DM and its complications, neurodegenerative disorders, endometriosis and tumor diseases. Inhibiting retinal neovascularization, alleviating ischemia and hypoxia, decreasing advanced glycation end products in diabetes, raising insulin-like growth factor (IGF) expression while decreasing tumor necrosis factor- α (TNF- α) expression, decreasing vascular endothelial growth factor (VEGF) expression, reducing retinal nerve cell death, inhibiting the NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammatory pathway and inhibiting ferroptosis are all mechanisms by which puerarin (Pue) has been found to protect the retina in recent studies. Thus, this article summarizes the current comprehension of the mechanism and protective effect of Pue on diabetic retina, serving as a guidepost for its future development and application.

• KEYWORDS: puerarin; diabetic retinopathy; therapeutic method; progress

Citation: Zou H, You ZP, Wu XJ. Research progress on the protective effect and mechanism of puerarin on diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023; 23(8): 1295-1298

0 引言

糖尿病(diabetic mellitus, DM)是一种终身性分泌疾病,具体发病机制尚未完全清楚,以慢性高血糖为主要病变特征,目前首要的致盲眼病是糖尿病并发症之一——糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR),以视网膜神经节细胞凋亡、毛细血管内皮损害、血-视网膜屏障(blood-retinal barrier, BRB)功能失代偿等多种细胞的结构和功能的异常为主要表现^[1-2]。DR的病因及机制十分复杂,长期的高血糖环境会损伤敏感的视网膜细胞从而造成视力损害,早期诊断及治疗对于DR的预后十分重要,严格控制血糖和血脂能够有效延缓病变进展^[3]。目前临床上的主要治疗DR方法有光动力学疗法、激光光凝、玻璃体切除手术、眼内注射抗血管内皮生长因子药物等,但因常并有黄斑病变、玻璃体黄斑牵引、黄斑前膜等结构变化,预后亦很差^[4]。目前关于葛根素对DR疗效的报道仍不充足,且机制尚未完全阐明。本文将对葛根及主要有效成分葛根素对DR损伤的保护作用及机制的研究做一综述。

1 DR

DR作为糖尿病最常见的微血管并发症之一,一直是老年人可预防性致盲的主要原因,对血糖、血压以及血脂的合理控制,仍是降低DR发展风险的基础^[5]。即使国内外对DR的研究很多,但对其临床预防和治疗仍未达到预期。

DR的发生发展是十分复杂的过程,其中发病机制相互作用。目前研究发现,在糖尿病及其微血管并发症中,内质网应激发挥着重要作用,且糖尿病患者视网膜及其毛细细胞血管中的活性氧(reactive oxygen species, ROS)升高,从而进一步损害线粒体DNA和蛋白,导致电子传递链(electronic toll collection, ETC)系统异常继续产生大量的ROS,形成恶性循环,导致糖尿病患者视网膜氧化应激损伤^[6]。DR早已不是单一的高糖下视网膜微血管病变,研究发现在DR的早期,视网膜即存在神经元退行性病变,且贯穿疾病始终,但神经元退行性病变与DR微血管病变的发生可能并无关联^[7]。此外,表观遗传修饰、“代谢记忆”及其分子机制、硝基化应激以及基质金属蛋白酶等都参与DR的致病机制^[8]。

2 葛根素

2.1 葛根的成分及药理作用 葛根是豆科植物野葛的干燥根,属于药食同源中药,具有极高的研究价值,性味甘、辛、平、入脾胃二经,为阳明经药,主要分布在我国华北地区,华中地区和华东地区。《中国药典》中指出葛根具有解肌清热、生津止渴、透疹、升阳止泻、通经活络、解酒毒的疗效。葛根最主要的有效成分是葛根素,主要化学成分是黄酮类、有机酸类、三萜类及三萜皂苷类,还有少量的草素类和去甲木脂素^[9]等以及一些生物碱和其他成分,包括氯化胆碱鞣质、乙酰胆碱、胡萝卜苷等^[10]。葛根的药理作用有抗糖尿病、改善心脑血管疾病、抗心律失常、改善肺功能、预防骨质疏松、抗氧化、改善缺氧、促癌细胞凋亡、提高代谢功能、神经保护、增强免疫力、雌激素样作用及解酒保肝作用^[11-13]。

2.2 葛根素的临床应用 目前,葛根素在临床已有广泛的

应用,葛根素可以改善心脑血管疾病,Zhou等^[14]研究提示葛根素治疗心脑血管疾病具有很好的预防和疗效,王华玲^[15]研究表明葛根素在冠状动脉硬化性心脏病的临床治疗中发挥了重要作用,能够缓解疾病的进展,具有显著的临床疗效。此外,有研究发现葛根素能够降低脑血管痉挛发生的风险,对蛛网膜下腔出血后血管痉挛有很好的防治作用^[16],并对缺血性心脑血管疾病患者的预后起到一定的改善作用^[17]。另外,葛根素能明显抑制破骨形成,能有效预防去卵巢后引起的骨质疏松症,这一研究提示葛根素对绝经后骨质疏松症具有肯定的疗效^[18]。葛根素内的皂苷类化合物能够有效逆转化学诱导的肝纤维化,诱导肝星状细胞凋亡,缓解炎症因子对肝脏的损伤,发挥保肝作用^[19]。葛根素因其能减少视网膜氧化应激损害,抑制视网膜新生血管形成^[20],改善视网膜微循环,在眼科疾病中也应用广泛,如青光眼、视网膜缺血性病变、视网膜静脉阻塞及DR等。

3 葛根素对DR损伤的保护机制

3.1 葛根素具有抗血管内皮生长因子作用 已有大量的文献证实抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在DR的发生发展中起着十分重要的作用,并可能参与DR发生发展的各个环节。陈放等^[21]研究表明葛根素对视网膜的保护作用可能是通过其他机制抑制VEGF的表达,而不是直接通过降低血糖的作用,并证实DR的发生发展中晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)发挥一定的作用,首次提出葛根素对视网膜上的AGEs及特异性AGEs受体(RAGE)具有抑制作用。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活化可以清除超氧化物自由基,具有抗氧化损伤能力,SOD活性反应了组织的抗氧化能力,研究表明葛根素可提高视网膜SOD活性,降低膜脂质过氧化(lipid peroxidation, LPO),下调视网膜晚期糖基化终末产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)和VEGF的表达水平,抑制AGEs的产生,降低糖尿病诱导的视网膜超氧化物的积累,从而可以在一定程度上保护视网膜^[22-23],且有研究证明AGEs的特异性信号转导受体是RAGE,RAGE在DR的发生发展中起着关键作用^[24]。另有研究指出AGEs可使VEGF mRNA的表达明显增加,且VEGF与AGEs呈正相关,这进一步提示葛根素可能是通过阻断AGE-RAGE的结合从而降低VEGF的表达,对DR损伤起到保护作用^[25]。

3.2 葛根素抑制炎症反应及氧化应激 有研究表示在DR的发生发展中,Nrf-2/ERK信号通路发挥重要作用,尤其是其介导的炎症反应和氧化应激反应^[26]。此外,研究发现白介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等炎性细胞因子在DR中高表达,导致炎症反应促进DR的发生发展^[27-28]。杨丽等^[29]研究发现,葛根素可以通过提高胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)的表达及降低TNF- α 的表达。张启明等^[30]对葛根素对糖尿病大鼠视网膜病变的保护作用及机制进行探讨,将60只SPF级健康Wistar大鼠随机分成三组:糖尿病模型建立成功后给予葛根素组大鼠20

只单侧腹腔注射葛根素治疗,正常对照组和模型组同等方式注射等量生理盐水,结果显示葛根素组大鼠视网膜组织中 IL-1 β 、TNF- α 和丙二醛 (malonaldehyde, MDA) 的水平低于模型组,超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 水平高于模型组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。葛根素组大鼠神经节细胞凋亡指数低于模型组,但是高于对照组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);葛根素组大鼠 Nrf2/ERK 蛋白的表达水平低于模型组,而模型组的高于对照组,且差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);葛根素组大鼠 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (Bcl-2) 表达水平干预模型组,且模型组低于正常对照组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。此研究提示 Nrf-2/ERK 信号通路的激活可能参与 DR 大鼠的视网膜的炎症反应和氧化应激损伤,葛根素可抑制视网膜神经节细胞凋亡,通过抑制 Nrf-2/ERK 信号通路减轻 DR 的炎症反应及氧化应激损伤从而对视网膜起到保护作用。高血糖导致视网膜氧化应激增强,这是 DR 的重要病因^[31],研究表明葛根素可以通过抑制 caspase 家族蛋白和凋亡诱导因子 (apoptosis inducing factor, AIF) 的表达来减弱链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 诱导的糖尿病小鼠的胰腺细胞凋亡,葛根素激活腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 的磷酸化,增加葡萄糖消耗和三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 产生,并最终导致血糖下降^[32],在一定程度上抑制高血糖引起的氧化应激反应^[33],延缓 2 型糖尿病 (T2DM) 的进展,从而保护视网膜。Matsuoka 等^[34]在糖尿病大鼠视网膜中检测到各黏附分子表达上调,视网膜内皮中的血管细胞黏附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 表达的增加导致白细胞黏附,在视网膜血管生成和增殖性 DR 的发展中发挥重要作用^[35],而葛根素可以通过抑制细胞黏附分子的表达,下调 VCAM-1 和细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 的表达水平,显著减弱白介素-1 β (IL-1 β) 介导的白细胞对视网膜内皮细胞的黏附,有效减轻视网膜血管炎症反应^[36]。

3.3 葛根素抑制细胞凋亡 研究表明 IL-1 β 可以上调 BAX 的表达,下调 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (Bcl-2) 的表达以及有效激活半胱氨酸天冬氨酸氨基转移酶-3 (caspase-3),经葛根素处理后 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 Associated X Protein, BAX)、Bcl-2 和 caspase-3 的表达水平明显逆转,且呈剂量依赖关系,提示葛根素显著抑制 IL-1 β 诱导的细胞凋亡,减轻视网膜内皮细胞损伤^[36]。

目前已证实,DR 状态下高血糖和氧化应激的主要靶点的是核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B),陈放等^[37]研究发现葛根素对 DM 大鼠神经视网膜的保护作用可能是因为抑制了 DM 引起的视网膜中 NF- κ B 的活化,而 DM 大鼠视网膜中氧自由基的产生与 NF- κ B 的活化有关,葛根素可抑制 NF- κ B 的活化,减少氧自由基的产生,减轻氧化应激反应,抑制视网膜神经细胞的凋亡从而发挥保护视网膜的作用。

3.4 葛根素抑制 NLRP3 炎症小体 NLRP3 炎症小体是由 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein

containing a CARD, ASC) 以及 caspase-1 前体组成的大型多聚体蛋白复合物,是一种细胞质传感器^[38]。在高糖环境下,NLRP3 炎症小体被激活,招募后的 caspase-1 通过近程诱导的自催化而被激活,进而触发 Pro-IL-18 和 Pro-IL-1 β 转变为 IL-18 和 IL-1 β ,导致视网膜功能改变^[39]。而 Lian 等^[40]研究表明葛根素能够降低 NLRP3 蛋白,抑制 NLRP3 炎症激活并降低随后的 caspase-1 激活,通过减少 ROS 的产生来触发高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group protein, HMGB1) 的释放,但其只研究了葛根素通过降低 NLRP3 炎症小体对心血管疾病方面的保护机制,葛根素通过抑制 NLRP3 炎症小体信号通路从而对 DR 损伤的保护作用及具体机制还有待进一步研究。

3.5 葛根素抑制铁死亡 铁死亡作为一种新型的细胞程序性死亡,和凋亡、坏死及自噬有所不同,具有铁依赖性,目前认为是由于细胞内铁超载导致脂质过氧化物增加,使细胞膜解体,从而造成细胞损伤引发程序性死亡^[41]。高糖环境下,细胞内促氧化蛋白 TXNIP 表达提高,导致视网膜细胞线粒体障碍,从而导致细胞铁死亡^[42]。近年研究表明葛根素可以明显得纠正视网膜中的铁超载状况,抑制铁沉积,抗氧化应激及穿透血-房水屏障,对 DR 损伤发挥有效的保护作用^[43]。

4 小结

随着对葛根素对 DR 损伤保护作用的深入了解,针对不同的通路和作用靶点的治疗方法也逐渐出现在人们的视野。在本综述中,我们总结了葛根素通过血管炎症、氧化应激、新生血管形成、细胞凋亡及细胞程序性死亡等途径对 DR 发挥治疗作用。作为代谢性疾病,DR 的致病因素复杂多样,葛根素对 DR 损伤的保护作用是肯定的,但是葛根素中多种成分对 DR 的机制研究仍不足,因此,深入研究葛根素及其活性成分对 DR 的作用机制十分有必要。同时相应的临床研究仍不够完善,使得葛根素在临床的应用仍不够广泛。

值得一提的是葛根素在治疗其他眼部疾病上也有着很好的应用前景,不仅局限于 DR,还能应用于青光眼、视网膜静脉阻塞及其他的眼病^[44]。在未来的研究中,需要更多的实验来确定葛根素在人眼组织中发挥的具体作用机制,更多的潜在治疗靶点仍有待发现。

参考文献

- 1 Chiu PY, Chen N, Leong PK, et al. Schisandrin B elicits a glutathione antioxidant response and protects against apoptosis via the redox-sensitive ERK/Nrf2 pathway in H9c2 cells. *Mol Cell Biochem* 2011; 350 (1): 237-250
- 2 凌志红,徐格致,龚红华,等.糖基化终产物对纯化培养大鼠视网膜神经节细胞凋亡的影响. *中华眼科杂志* 2005;41(1):55-57
- 3 Mounirou BAM, Adam ND, Yakoura AKH, et al. Diabetic retinopathy: an overview of treatments. *Indian J Endocrinol Metab* 2022; 26(2):111-118
- 4 Putta S, Yarla NS, Kilari EK, et al. Therapeutic potentials of triterpenes in diabetes and its associated complications. *Curr Top Med Chem* 2016;16(23):2532-2542
- 5 Cheung N, Mitchell P, Wong TY. Diabetic retinopathy. *Lancet* 2010; 376(9735):124-136
- 6 Madsen - Bouterse SA, Zhong Q, Mohammad G, et al. Oxidative damage of mitochondrial DNA in diabetes and its protection by

Manganese superoxide dismutase. *Free Radic Res* 2010;44(3):313-321

7 姜萌萌, 柳林, 张敬法. 神经元退行性病变在糖尿病视网膜病变中的研究进展. *国际眼科杂志* 2021;21(3):442-445

8 张凤俊, 易敬林, 李晶明, 等. 糖尿病视网膜病变发病机制研究进展. *眼科新进展* 2016;36(6):584-587

9 史晨旭, 杜佳蓉, 吴威, 等. 葛根化学成分及药理作用研究进展. *中国现代中药* 2021;23(12):2177-2195

10 施晓伟, 刘文, 王群, 等. 葛根芩连汤的研究进展. *贵阳中医学院学报* 2013;35(1):21-24

11 孙华, 李春燕, 薛金涛. 葛根的化学成分及药理作用研究进展. *新乡医学院学报* 2019;36(11):1097-1101

12 楚纪明, 马树运, 李海峰, 等. 葛根有效成分及其药理作用研究进展. *食品与药品* 2015;17(2):142-146

13 陈艳, 文佳玉, 谢晓芳, 等. 葛根的化学成分及药理作用研究进展. *中药与临床* 2021;12(1):53-60

14 Zhou YX, Zhang H, Peng C. Effects of puerarin on the prevention and treatment of cardiovascular diseases. *Front Pharmacol* 2021;12:771793

15 王华玲. 葛根素注射液治疗冠心病不稳定型心绞痛临床疗效观察分析. *中医临床研究* 2021;13(14):43-46

16 张政国. 葛根素防治蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛的临床及实验研究. *中国实用医药* 2013;8(32):147-148

17 Jiang Z, Cui X, Qu P, et al. Roles and mechanisms of puerarin on cardiovascular disease: a review. *Biomed Pharmacother* 2022;147:112655

18 Xiao L, Zhong MD, Huang Y, et al. Puerarin alleviates osteoporosis in the ovariectomy-induced mice by suppressing osteoclastogenesis via inhibition of TRAF6/ROS-dependent MAPK/NF- κ B signaling pathways. *Aging* 2020;12(21):21706-21729

19 郝原青, 郭晓雪, 丁雅珊, 等. 葛根素对大鼠酒精性肝纤维化的干预作用以及对肝星状细胞增殖活化的影响. *天津中医药大学学报* 2016;35(2):132-135

20 秦魏, 郭蒙, 李欣雨, 等. 中药单体治疗糖尿病视网膜病变的研究进展. *国际眼科杂志* 2021;21(8):1373-1377

21 陈放, 刘开扬, 徐珊, 等. 葛根素对 STZ 诱导的糖尿病大鼠视网膜的保护作用及机制研究. *中国药理学通报* 2011;27(9):1279-1284

22 Chen F, Zhang HQ, Zhu J, et al. Puerarin enhances superoxide dismutase activity and inhibits RAGE and VEGF expression in retinas of STZ-induced early diabetic rats. *Asian Pac J Trop Med* 2012;5(11):891-896

23 Kim KM, Jung DH, Jang DS, et al. Puerarin suppresses AGEs-induced inflammation in mouse mesangial cells: a possible pathway through the induction of heme oxygenase-1 expression. *Toxicol Appl Pharmacol* 2010;244(2):106-113

24 Yeh CH, Sturgis L, Haidacher J, et al. Requirement for p38 and p44/p42 mitogen-activated protein kinases in RAGE-mediated nuclear factor- κ B transcriptional activation and cytokine secretion. *Diabetes* 2001;50(6):1495-1504

25 Yokoi M, Yamagishi SI, Takeuchi M, et al. Elevations of AGE and vascular endothelial growth factor with decreased total antioxidant status in the vitreous fluid of diabetic patients with retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2005;89(6):673-675

26 向雪松, 王竹, 祝宇铭, 等. 链脉佐菌素注射剂量对建立 2 型糖尿病大鼠模型的影响. *卫生研究* 2010;39(2):138-142

27 杜倩, 田秋霞, 付莉萍, 等. 银杏叶提取物对糖尿病大鼠视网膜病变的作用. *中国病理生理杂志* 2016;32(7):1323-1326

28 周玮琰, 王洪亚, 杜秀娟, 等. 甘糖酯对糖尿病大鼠视网膜病变中炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 表达的影响. *国际眼科杂志* 2016;16(8):1444-1448

29 杨丽, 常笑语, 石搏. 葛根素对糖尿病大鼠视网膜中 IGF-1 和 TNF- α 表达的影响. *中国实验诊断学* 2016;20(5):697-699

30 张启明, 王辉. 葛根素对大鼠糖尿病视网膜病变的抑制作用. *眼科新进展* 2019;39(1):22-26

31 陈放, 徐珊, 吕伟红, 等. 糖尿病大鼠视网膜氧化应激损伤及葛根素的干预作用. *眼科新进展* 2012;32(1):15-19

32 Hou BY, Zhao YR, Ma P, et al. Hypoglycemic activity of puerarin through modulation of oxidative stress and mitochondrial function via AMPK. *Chin J Nat Med* 2020;18(11):818-826

33 Liang T, Xu X, Ye D, et al. Caspase/AIF/apoptosis pathway: a new target of puerarin for diabetes mellitus therapy. *Mol Biol Rep* 2019;46(5):4787-4797

34 Matsuoka M, Ogata N, Minamino K, et al. Leukostasis and pigment epithelium-derived factor in rat models of diabetic retinopathy. *Mol Vis* 2007;13:1058-1065

35 Olson JA, Whitelaw CM, McHardy KC, et al. Soluble leucocyte adhesion molecules in diabetic retinopathy stimulate retinal capillary endothelial cell migration. *Diabetologia* 1997;40(10):1166-1171

36 Zhu X, Xie M, Wang K, et al. The effect of puerarin against IL-1 β -mediated leukostasis and apoptosis in retinal capillary endothelial cells (TR-iBRB2). *Mol Vis* 2014;20:1815-1823

37 陈放, 刘开扬, 徐珊, 等. 葛根素对糖尿病大鼠视网膜的保护及对 NF- κ B 表达的抑制. *中国药理学与毒理学杂志* 2011;25(3):296-300

38 Horvath GL, Schrum JE, De Nardo CM, et al. Intracellular sensing of microbes and danger signals by the inflammasomes. *Immunol Rev* 2011;243(1):119-135

39 Kelley N, Jeltema D, Duan Y, et al. The NLRP3 inflammasome: an overview of mechanisms of activation and regulation. *Int J Mol Sci* 2019;20(13):3328

40 Lian DW, Yuan HQ, Yin XZ, et al. Puerarin inhibits hyperglycemia-induced inter-endothelial junction through suppressing endothelial Nlrp3 inflammasome activation via ROS-dependent oxidative pathway. *Phytomedicine* 2019;55:310-319

41 Tang D, Kroemer G. Ferroptosis. *Curr Biol* 2020;30(21):1292-1297

42 Singh LP, Yumnamcha T, Devi TS. Mitophagy, Ferritinophagy and Ferroptosis in Retinal Pigment Epithelial Cells Under High Glucose Conditions: Implications for Diabetic Retinopathy and Age-Related Retinal Diseases. *JOJ Ophthalmol* 2021;8(5):77-85

43 Song QT, Zhao Y, Li Q, et al. Puerarin protects against iron overload-induced retinal injury through regulation of iron-handling proteins. *Biomed Pharmacother* 2020;122:109690

44 Meng F, Guo B, Ma YQ, et al. Puerarin: a review of its mechanisms of action and clinical studies in ophthalmology. *Phytomedicine* 2022;107:154465