

异荭草素对2型糖尿病大血管病变小鼠主动脉的保护作用及机制研究

谭娟^{1,2}, 车奎³, 迟静薇³, 王颜刚^{1*}

¹青岛大学附属医院内分泌与代谢病科, 山东 青岛

²临沂市中心医院内分泌科, 山东 临沂

³青岛大学附属医院医学研究中心, 山东 青岛

收稿日期: 2022年9月16日; 录用日期: 2022年10月5日; 发布日期: 2022年10月14日

摘要

目的: 探讨异荭草素对T2DM大血管病变小鼠主动脉的保护作用及机制。方法: C57BL/6J雄性小鼠随机分为正常对照组(NC组)和实验组。以高脂饲料(含量60%)喂养和链脲佐菌素(STZ)腹腔注射制备2型糖尿病大血管病变模型。将成模的T2DM大血管病变小鼠随机分成模型组和异荭草素治疗组。异荭草素治疗组再分低、中、高剂量, 分别按照10、20、40 mg·kg⁻¹剂量腹腔注射给药。正常组、模型组给予腹腔注射等量溶剂0.5%羧甲基纤维素钠。实验期间观察动物一般状况并测血糖。8周后处死小鼠取胸主动脉标本。光镜下观察其病理结构, ELISA检测血管组织中AGEs水平, RT-qPCR检测RAGE、IL-6、P65、TNF- α 、Vcam-1mRNA的表达水平。结果: 镜下观察, 与模型对照组相比, 异荭草素各治疗组内膜增厚、弹力纤维断裂、泡沫细胞聚集明显减轻。与模型对照组相比, 异荭草素干预后随机血糖显著下降(F = 82.20, P < 0.001), 血管中AGEs浓度显著降低(F = 60.180, P < 0.001), 异荭草素各治疗组血管中RAGE、IL-6、NF- κ B p65、TNF- α 、Vcam-1等因子的表达水平显著下降(F = 68.05~1692, P < 0.01)。结论: 异荭草素可通过抑制炎症反应, 改善糖尿病大血管病变。

关键词

T2DM, 异荭草素, 大血管病变, 炎症

To Investigate the Protective Effect and Mechanism of Isoorientin on Aortic in T2DM Macrovascular Disease Mice

Juan Tan^{1,2}, Kui Che³, Jingwei Chi³, Yangang Wang^{1*}

¹Department of Endocrine and Metabolic Diseases, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

*通讯作者 Email: wangyg1966@126.com

文章引用: 谭娟, 车奎, 迟静薇, 王颜刚. 异荭草素对 2 型糖尿病大血管病变小鼠主动脉的保护作用及机制研究[J]. 临床医学进展, 2022, 12(10): 9140-9146. DOI: 10.12677/acm.2022.12101321

²Department of Endocrinology, Linyi Central Hospital, Linyi Shandong

³Medical Research Center, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

Received: Sep. 16th, 2022; accepted: Oct. 5th, 2022; published: Oct. 14th, 2022

Abstract

Objective: To investigate the protective effect and mechanism of isoorientin on macrovascular diseases in T2DM mice. **Methods:** Male C57BL/6J mice were randomly divided into normal control group (NC group) and experimental group. Type 2 diabetic macroangiopathy model was established by feeding high-fat diet (60%) and intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ). Model T2DM macrovascular disease mice were randomly divided into model group and isoorientin treatment group. Isoorientin treatment group was divided into low, medium and high doses by intraperitoneal injection of 10, 20 and 40 mg·kg⁻¹ respectively. Normal group and model group were intraperitoneally injected with 0.5% sodium carboxymethyl cellulose. During the experiment, the general condition of animals was observed and blood glucose was measured. After 8 weeks, the mice were sacrificed for thoracic aorta specimens. The pathological structure was observed under light microscope, AGEs levels in vascular tissues were detected by ELISA, and mRNA expression levels of RAGE, IL-6, P65, TNF- α and VCAM-1 were detected by RT-qPCR. **Results:** Compared with the model control group, the endometrial thickening, elastic fiber fracture and foam cell aggregation in isoorientin treatment groups were significantly reduced. **Results:** Compared with the model control group, the isoorientin treatment groups random blood glucose decreased significantly ($F = 82.20, P < 0.001$) and the concentration of AGEs in blood vessels decreased significantly ($F = 60.18, P < 0.001$). Compared with the model control group, the isoorientin treatment groups also had significant decreases in the expression levels of RAGE, IL-6, NF- κ B p65, TNF- α , and Vcam-1 in blood vessels ($F = 68.05\sim 1692, P < 0.01$). **Conclusion:** Isoorientin can improve diabetic macroangiopathy by inhibiting the inflammatory response.

Keywords

T2DM, Isoorientin, Macroangiopathy, Inflammation

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

目前全球糖尿病患病率居高不下,患病人数已达 4.63 亿,其中 2 型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)占 95%。大血管病变成为 2 型糖尿病主要致残和致死原因[1],文献报道近 75%的 T2DM 者死于心脑血管事件等大血管病变。积极寻求有效治疗或延缓大血管病变的药物,是当前糖尿病学界关注的焦点之一。糖尿病大血管病变主要病理表现为动脉粥样硬化(AS)和血管内皮功能障碍[2]。AS 与血管内皮炎症反应、氧化应激以及胰岛素抵抗密切相关[3] [4] [5] [6]。多项研究发现,糖尿病状态下晚期糖基化终末代谢产物(AGEs)与其受体(RAGE)结合,激活 NF- κ B 通路,上调 IL-6、NF- κ Bp65、VCAM-1、TNF- α 等炎症因子表达介导的内皮细胞功能损害[7] [8] [9],在大血管病变发生发展过程中至关重要。异荜草素(ISO)广泛存在于多种药用植物中,是一种木犀草素糖苷类黄酮化合物。大量研究发现,它在减轻胰岛素抵抗,

促进胰岛素分泌、影响葡萄糖吸收等方面发挥一定作用[10][11][12][13][14], 但是否调控 T2DM 状态下炎症因子表达, 进而影响其血管内皮功能, 尚未见报道。

在上述背景下, 本研究以 T2DM 小鼠为研究对象, 旨在探讨异荳草素对 T2DM 患者大血管病变的保护作用及可能机制, 为异荳草素及相关药物或制剂的临床应用提供实验基础。

2. 实验材料与方法

2.1. 主要材料

SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠 46 只, 4~5 周龄, 体重(25 ± 3) g, 购自维通利华实验动物技术有限公司, 生产许可编号 SCXK(京) 2016-0006。异荳草素(纯度 > 98%), 购自北京普天同创生物科技有限公司; 链脲佐菌素(STZ)购自美国的 MedChem Express 公司; TRIzol 产自美国 Invitrogen 公司; $2 \times$ Sybr Green qPCR Mix 荧光定量检测试剂购自湖南艾科瑞生物工程有限公司; PCR 实验所需引物由北京六合华大基因科技有限公司提供。

2.2. 实验方法

2.2.1. 造模及药物干预

SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠分笼饲养, 每笼 4~5 只, 正常饲料适应性喂养 1 周。随机分出正常对照组, 以普通饲料喂养; 其余 37 只为实验组, 以含量 60% 的高脂饲料喂养。4 周后连续 5 次小剂量 STZ ($30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 腹腔注射, 每周定时尾部采血测随机血糖, 血糖 2 次 $> 16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为 2 型糖尿病小鼠造模成功。继续上述喂养 8 周, 构建小鼠 T2DM 合并大血管病变模型。将造模成功的小鼠随机分为: 模型对照组和异荳草素 ISO 低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组。各干预组分别予以 ISO 10、20、40 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 腹腔注射给药。正常对照组和模型对照组给予腹腔注射等量溶剂 5 g/L 羧甲基纤维素钠。以造模成功当天作为第 0 天, 每周定时测血糖, 用药 8 周后处死小鼠, 留取主动脉根部至髂动脉的整条血管组织, 部分组织于 4% 多聚甲醛中固定, 其余的放在去 RNA 酶的 EP 管中 -80°C 的冰箱保存。

2.2.2. HE 染色观察动脉粥样硬化情况

从 4% 多聚甲醛中取适量血管组织块, 经脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、贴片制成组织切片。HE 染色, 脱蜡、脱水、染色、脱水、透明、封固, 光镜下采图观察动脉粥样硬化情况。

2.2.3. ELISA 检测血管组织中 AGEs 水平

BCA 法检测血管组织中蛋白含量。经预实验选择总蛋白浓度为 0.1 g/L 进行测定。严格按照 ELISA 试剂盒操作步骤, 检测样本中 AGEs 浓度。

2.2.4. RT-qPCR 法检测血管组织中 VCAM-1、RAGE、NF- κ B p65、IL-6 及 TNF- α mRNA 表达水平

Trizol 法提取血管组织总 RNA, 反转录成 cDNA。取 2 μl cDNA, 以 β -actin 为内参, 置于荧光定量 PCR 仪器中反应。每样品设 2 复孔, 若出现主复孔偏差过大, 考虑操作不稳定所致, 需要重复实验以取得较为稳定的结果。待反应结束, 对扩增及融解曲线确认, 进行标准曲线分析, 计算 mRNA 相对表达量。引物序列见表 1。

2.3. 统计学处理

所采集的数据在实验完成后, 基于 SPSS23.0 工具, 对各项指标进行描述性统计, 计量数据均采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析(One Way-ANOVA), 组间两两比较采用 Bonferroni (B) 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

Table 1. RT-qPCR primer sequences
表 1. RT-qPCR 引物序列

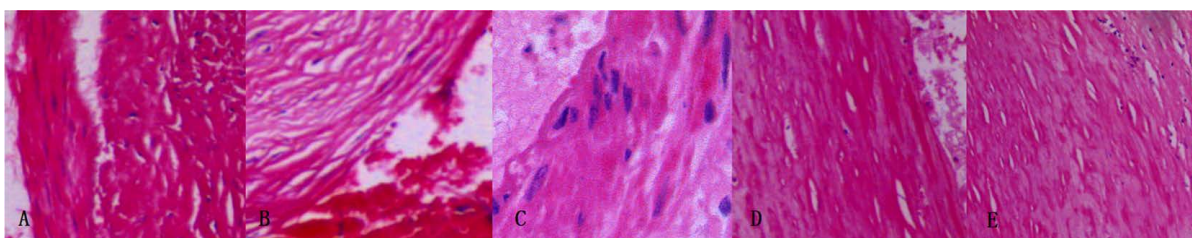
基因 Gene	引物序列 Primer sequece
RAGE	Upstream primer F: 5'-CCACTGGAATTGTCGATGAGG-3' Downstream primer R: 5'-CTCGGACTCGGTAGTTGGACT-3'
NF-κB p65	Upstream prime F: 5'-TTCCCTCAGAGCCAGCCCAGG-3' Downstream primer R: 5'-TAGCGGAATCGCATGCCCCG-3'
IL-6	Upstream prime F: 5'-TAGTCCTTCCTACCCCAATTTCC-3' Downstream primer R: 5'-TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC-3'
TNF-α	Upstream prime F: 5'-CAGGCGGTGCCTATGTCTC-3' Downstream primer R: 5'-CGATCACCCCGAAGTTCAGTAG-3'
VCAM-1	Upstream prime F: 5'-TTGGGAGCCTCAACGGTACT-3' Downstream primer R: 5'-GCAATCGTTTGTATTACAGGGGA-3'
β-actin	Upstream prime F: 5'-AGGGTGTGATGGTGGGAAT-3' Downstream primer R: 5'-CTCGGTGAGCAGCACAGG-3'

3. 结果

3.1. 小鼠一般状况和血管组织病理学改变

正常对照组小鼠的一般情况良好,对刺激反应敏锐,皮毛有光泽,毛发均匀浓密。其余各组小鼠呈现不同程度的精神萎靡,懒动、脱毛等症状,进食量及饮水量明显增加。经异苾草素干预各组的一般状况较模型对照组不同程度改善,ISO 中、高剂量治疗组改善较明显。

HE 染色镜下观察:正常对照组小鼠血管组织结构完整,内膜光滑,中膜无增厚,平滑肌细胞排列规则整齐;模型对照组血管内膜可见明显增厚,局部见内皮及沉积物向管腔内突出,内皮细胞出现破损,与其内皮下层结构分界不清;ISO 各治疗组病变情况改善,低剂量组动脉内膜明显增厚、粗糙,结构紊乱,平滑肌细胞排列不规则,中膜增厚;中剂量组动脉内膜增厚,中膜结构较为松散,内膜下层见增厚;高剂量组的血管内皮结构大致正常,弹力层连续性完整,平滑肌细胞排列整齐。见图 1。



A: 模型组; B: ISO 低剂量; C: ISO 中剂量; D: ISO 高剂量; E: 对照组

Figure 1. Comparison of histopathological changes in macrovascular (HE 400×)

图 1. 各组小鼠血管组织病理学观察(HE 400×)

3.2. 小鼠血糖和 AGEs 水平比较

实验第 8 周,模型对照组血糖水平较正常对照组显著升高,ISO 低、中、高剂量组血糖水平较模型对照组显著降低,差异均具有统计学意义($F = 82.20, P < 0.001$)。且 ISO 作用呈剂量依赖性。模型对照组 AGEs 浓度较正常对照组显著升高,ISO 低、中、高剂量组血糖水平较模型对照组显著降低,有统计学意义($F = 60.180, P < 0.001$)见表 2。

Table 2. Comparison of Glu and AGEs levels among five groups ($\bar{x} \pm s$)**表 2.** 各组血糖和 AGEs 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	随机血糖(mmol/L)	AGEs 浓度($\mu\text{g/ml}$)
正常对照组	9	4.53 \pm 0.98	178.64 \pm 60.81
模型对照组	9	32.78 \pm 0.73*	1195.69 \pm 97.73*
ISO 低剂量组	9	29.63 \pm 2.6*#	749.03 \pm 213.42*#
ISO 中剂量组	9	21.29 \pm 5.18*#	496.92 \pm 21.24*#
ISO 高剂量组	10	14 \pm 6.47*#	348.7 \pm 77.38*#
F		82.20	60.18
P		<0.001	<0.001

注：与正常对照组相比，*P < 0.05；与模型对照组相比，#P < 0.05。

3.3. 各组小鼠血管组织中 IL-6、P65、TNF- α 、RAGE、VCAM-1 mRNA 表达水平比较

与正常对照组相比，模型对照组血管组织中炎症因子 RAGE、VCAM-1、IL-6、TNF- α 及 NF- κ B p65 mRNA 表达量明显升高；与模型组相比，ISO 高剂量干预后小鼠血管组织中 RAGE、VCAM-1、IL-6、TNF- α 及 NF- κ B p65 mRNA 表达水平显著降低，差异有统计学意义(F = 68.05~1692, P < 0.001)，且异苾草素的作用与剂量明显相关。见表 3。

Table 3. Comparison of inflammatory indexes of vascular tissue in mice of each group ($\bar{x} \pm s$)**表 3.** 各组小鼠血管组织炎症指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	RAGE	NF- κ B p65	IL-6	TNF- α	VCAM-1
正常组	0.67 \pm 0.07	0.01 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.74 \pm 0.04
模型组	1.64 \pm 0.28*	1.03 \pm 0.04*	1.07 \pm 0.04*	1.07 \pm 0.06*	1.33 \pm 0.06*
ISO 低剂量	1.24 \pm 0.03*#	0.38 \pm 0.14*#	1.00 \pm 0.00*#	1.00 \pm 0.01*#	1.10 \pm 0.02*#
ISO 中剂量	1.07 \pm 0.01*#	0.08 \pm 0.03*#	0.33 \pm 0.05*#	0.50 \pm 0.21*#	0.95 \pm 0.01*#
ISO 高剂量	0.93 \pm 0.01*#	0.02 \pm 0.01*#	0.12 \pm 0.05*#	0.13 \pm 0.02*#	0.90 \pm 0.15*#

注：与正常对照组相比，*P < 0.01；与模型组相比，#P < 0.01。

4. 讨论

糖尿病大血管病变是 2 型糖尿病常见的慢性并发症之一，其病理基础是动脉粥样硬化。随着 2 型糖尿病发病率的不断升高，给社会造成了沉重的负担。T2DM 大血管病变的发病机制目前尚不十分明确，包括炎症反应、脂质积聚、氧化应激等。目前广泛认为高血糖所诱导的内皮功能紊乱，是糖尿病大血管病变重要的启动因素，而炎症反应作为动脉粥样硬化的关键环节，贯穿于发生发展的整个过程。目前临床上对糖尿病所导致的动脉粥样硬化无特效办法，只能采用降糖、改善循环、降压、调节血脂为主的综合对症治疗，无法从根本上预防和治疗 AS 的发生及发展。既往研究显示，2 型糖尿病患者血糖波动可影响到血管炎性状态及内皮功能改变[15] [16] [17] [18]，但是单纯降糖难以有效改善糖尿病大血管病变患者预后，新型糖尿病血管病变防治药物研发已成为该领域的新热点。

高糖诱导的 AGEs-RAGE 途径激活是近期研究较多的机制，该途径通过激活下游多条炎症反应、氧化应激通路，从而启动血管内皮损伤，最终导致动脉粥样硬化的形成。这给未来治疗糖尿病大血管病变

提供了新的研究方向。越来越多的证据表明, AGEs 在糖尿病大血管并发症的发生发展中起着关键作用, 可通过多种途径对血管内皮功能产生破坏作用, 从而导致血管硬化和功能异常, 其中 AGEs-RAGE 途径可加速糖尿病大血管病变的进程。AGEs 属于多配体受体, 广泛存在于血管内皮细胞、神经细胞等多种细胞的表面, 其中 RAGE 被认为是介导 AGEs 信号转导的关键受体。RAGE 广泛分布于多种组织器官中, 正常情况下在机体的表达处于基础水平, 但在糖尿病、炎症、癌症等应激状态下, 特别是 AGEs 表达增多时, 会出现高表达。高糖状态刺激下高表达的 AGEs 可激活 AGEs-RAGE 途径, 诱发持续级联反应, 进一步激活下游 NF- κ B 等通路信号转导, 上调 IL-6、TNF- α 、VCAM-1 等炎症因子的表达; 同时遭到破坏的相关蛋白促使更多炎症因子生成, 加重细胞内炎症反应, 对血管内皮产生“二次打击”, 也就是“二次打击学说”, 加速了动脉粥样硬化的形成[19] [20] [21] [22]。

异荭草素, 一种黄酮类化合物单体, 广泛存在于荞麦芽、西番莲、葫芦果等多种植物中, 研究显示异荭草素具有降糖、抗炎、抗氧化、调脂等功效[13]。本研究通过异荭草素干预 T2DM 大血管病变小鼠模型, 观察其对 AGEs/RAGE/NF- κ B 通路的影响。研究结果显示, ISO 干预后的小鼠血管内皮破坏、结构紊乱、内膜增厚等情况均得到明显改善; 小鼠血管组织中 AGEs 水平以及 RAGE、VCAM-1、IL-6、TNF- α 、NF- κ B p65 的表达量均显著下降($P < 0.01$)。说明异荭草素可减少 2 型糖尿病大血管病变小鼠主动脉中 AGEs 的蓄积及 RAGE 的表达, 减少 AGEs-RAGE 的激活, 进一步抑制 NF- κ B 及其下游致炎因子的表达及炎症反应, 从而改善 2 型糖尿病合并大血管病变模型小鼠的动脉粥样硬化。

综上所述, 本研究显示, 异荭草素可抑制 T2DM 大血管病变小鼠主动脉组织 AGEs/RAGE/NF- κ B 通路, 对动脉粥样硬化的发生发展起到一定的抑制作用, 故应用异荭草素有望成为治疗糖尿病大血管病变的新方法, 但确切的分子机制及单药治疗的降糖效果有限等问题, 尚需进一步研究与完善, 以探讨其临床应用的可行性。

基金项目

山东省重点研发计划项目(2015GSF118007)。

参考文献

- [1] Zheng, Y., Ley, S.H. and Hu, F.B. (2018) Global Aetiology and Epidemiology of Type 2 Diabetes Mellitus and Its Complications. *Nature Reviews Endocrinology*, **14**, 88-98. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.151>
- [2] Madonna, R., Pieragostino, D., Balistreri, C.R., et al. (2018) Diabetic Macroangiopathy: Pathogenetic Insights and Novel Therapeutic Approaches with Focus on High Glucose-Mediated Vascular Damage. *Vascular Pharmacology*, **107**, 27-34. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2018.01.009>
- [3] Wolf, D. and Ley, K. (2019) Immunity and Inflammation in Atherosclerosis. *Circulation Research*, **124**, 315-327. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313591>
- [4] Katakami, N. (2018) Mechanism of Development of Atherosclerosis and Cardiovascular Disease in Diabetes Mellitus. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, **25**, 27-39. <https://doi.org/10.5551/jat.RV17014>
- [5] Scioli, M.G., Cervelli, V., Arcuri, G., et al. (2014) High Insulin-Induced Down-Regulation of Erk-1/IGF-1R/FGFR-1 Signaling Is Required for Oxidative Stress-Mediated Apoptosis of Adipose-Derived Stem Cells. *Journal of Cellular Physiology*, **229**, 2077-2087. <https://doi.org/10.1002/jcp.24667>
- [6] Yuan, T., Yang, T., Chen, H., et al. (2019) New Insights into Oxidative Stress and Inflammation during Diabetes Mellitus-Accelerated Atherosclerosis. *Redox Biology*, **20**, 247-260. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.09.025>
- [7] Akbari, M. and Hassan, Z.V. (2018) IL-6 Signalling Pathways and the Development of Type 2 Diabetes. *Inflammopharmacology*, **26**, 685-698. <https://doi.org/10.1007/s10787-018-0458-0>
- [8] Cui, R., Sun, S.Q., Zhong, N., et al. (2020) The Relationship between Atherosclerosis and Bone Mineral Density in Patients with type 2 Diabetes Depends on Vascular Calcifications and Sex. *Osteoporosis International*, **31**, 1135-1143. <https://doi.org/10.1007/s00198-020-05374-4>
- [9] Luc, K., Schramm-Luc, A., Guzik, T.J., et al. (2019) Oxidative Stress and Inflammatory Markers in Prediabetes and

- Diabetes. *Journal of Physiology and Pharmacology*, **70**, 809-824.
- [10] Li, Y., Zhao, Y., Tan, X., *et al.* (2020) Isoorientin Inhibits Inflammation in Macrophages and Endotoxemia Mice by Regulating Glycogen Synthase Kinase 3 β . *Mediators of Inflammation*, **2020**, Article ID: 8704146. <https://doi.org/10.1155/2020/8704146>
- [11] Slim, C., Zaouali, M.A., Nassrallah, H., *et al.* (2020) Protective Potential Effects of Fucoidan in Hepatic Cold Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, **155**, 498-507. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.245>
- [12] Ayissi Owona, B., Angie Abia, W. and Fewou Moundipa, P. (2020) Natural Compounds Flavonoids as Modulators of Inflammasomes in Chronic Diseases. *International Immunopharmacology*, **84**, Article ID: 106498. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106498>
- [13] 万思琦, 刘立亚, 刘梦思, 等. 荜草昔的药理作用机制研究[J]. 医学研究杂志, 2018, 47(6): 183-186.
- [14] Laddha, A.P. and Kulkarni, Y.A. (2019) Tannins and Vascular Complications of Diabetes: An Update. *Phytomedicine*, **56**, 229-245. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.10.026>
- [15] Cornelius, V.A., Yacoub, A., Kelaini, S. and Margariti, A. (2021) Diabetic Endotheliopathy: RNA-Binding Proteins as New Therapeutic Targets. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **131**, Article ID: 105907. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2020.105907>
- [16] Poznyak, A., Grechko, A.V., Poggio, P., *et al.* (2020) The Diabetes Mellitus-Atherosclerosis Connection: The Role of Lipid and Glucose Metabolism and Chronic Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, Article No. 1835. <https://doi.org/10.3390/ijms21051835>
- [17] Yu, Z.W., Zhang, J., Li, X., *et al.* (2020) A New Research Hot Spot: The Role of NLRP3 Inflammasome Activation, a Key Step in Pyroptosis, in Diabetes and Diabetic Complications. *Life Sciences*, **240**, Article ID: 117138. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.117138>
- [18] Ding, S., Xu, S., Ma, Y., *et al.* (2019) Modulatory Mechanisms of the NLRP3 Inflammasomes in Diabetes. *Biomolecules*, **9**, Article No. 850. <https://doi.org/10.3390/biom9120850>
- [19] Shi, Y. and Vanhoutte, P.M. (2017) Macro- and Microvascular Endothelial Dysfunction in Diabetes. *Journal of Diabetes*, **9**, 434-449. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12521>
- [20] Rhee, S.Y. and Kim, Y.S. (2018) The Role of Advanced Glycation End Products in Diabetic Vascular Complications. *Diabetes & Metabolism Journal*, **42**, 188-195. <https://doi.org/10.4093/dmj.2017.0105>
- [21] Zeng, C., Li, Y., Ma, J., *et al.* (2019) Clinical /Translational Aspects of Advanced Glycation End-Products. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, **30**, 959-973. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2019.08.005>
- [22] Wu, N., Shen, H., Liu, H., *et al.* (2016) Acute Blood Glucose Fluctuation Enhances Rat Aorta Endothelial Cell Apoptosis, Oxidative Stress and Proinflammatory Cytokine Expression *in Vivo*. *Cardiovascular Diabetology*, **15**, Article No. 109. <https://doi.org/10.1186/s12933-016-0427-0>