

熊果酸调控 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路改善 GDM 大鼠 糖脂代谢及炎症反应和氧化应激

罗 艳, 李玉林, 尹 恒

(湖北省妇幼保健院, 湖北 武汉 430070)

[摘 要]目的 探讨熊果酸(UA)基于 Toll 样受体 4(TLR4)/髓样分化因子 88(MyD88)/核因子- κ B(NF- κ B)通路对于妊娠期糖尿病(GDM)大鼠糖脂代谢、炎症反应和氧化应激的作用。方法 建立妊娠期糖尿病大鼠模型,随机分为模型组(GDM 组)、UA 低剂量组(UA-L 组)、UA 中剂量组(UA-M 组)、UA 高剂量组(UA-H 组)和二甲双胍组,另设置普通饲料喂养的正常组(NC 组),每组 10 只。收集样本测定空腹血糖(FBG)、空腹胰岛素(FINS)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、肝酯酶(HL)、脂蛋白酯酶(LPL)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-4(IL-4)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)水平和过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)及 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路蛋白水平。结果 与 NC 组比较,GDM 组 FBG、TG、TC、LDL-C、TNF- α 、IL-2、IL-1 β 和 MDA 水平和 TLR4、MyD88 和 p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 蛋白表达水平显著升高,FINS、HL、LPL、IL-4、CAT、SOD、GSH-Px 水平和 PPAR γ 蛋白表达显著下降,差异具有统计学意义($P < 0.05$);与 GDM 组比较,UA 各组及二甲双胍组 FBG、TG、TC、LDL-C、TNF- α 、IL-2、IL-1 β 、MDA 水平和 TLR4、MyD88、p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 蛋白表达水平显著下降,FINS、HL、LPL、IL-4、CAT、SOD、GSH-Px 水平和 PPAR γ 蛋白表达显著上升,差异具有统计学意义($P < 0.05$);各组 HDL-C 水平无显著差异($P > 0.05$);二甲双胍组与 UA-H 组上述指标均无显著差异($P > 0.05$)。结论 UA 可能通过下调 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路蛋白表达,改善 GDM 大鼠糖脂代谢、炎症反应和氧化应激。

[关键词]熊果酸;糖脂代谢;炎症反应;氧化应激

Doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2024.01.002

[中图分类号]R714

[文献标识码]A

[文章编号]1673-5293(2024)01-0006-07

Improving effect of ursolic acid on glycolipid metabolism, inflammatory reaction and oxidative stress in pregnant GDM rats by regulating TLR4/MyD88/NF- κ B pathway

LUO Yan, LI Yulin, YIN Heng

(Hubei Provincial Maternal and Child Health Hospital, Hubei Wuhan 430070, China)

[Abstract] **Objective** To investigate improving effect of ursolic acid (UA) on glycometabolism and lipid metabolism, inflammatory reaction and oxidative stress in pregnant rats with gestational diabetes mellitus (GDM) by regulating Toll like receptor 4 (TLR4)/myeloid differentiation factor 88 (MyD88)/nuclear factor- κ B (NF- κ B) pathway. **Methods** The rats model of GDM was established. The rats with GDM were divided into six groups: GDM group, low dose UA group (UA-L group), medium dose UA group (UA-M group), high dose UA group (UA-H group), metformin group and normal control group of rats fed with regular feed (NC group), with 10 rats in each group. The fasting blood glucose (FBG) level was tested by blood glucose meter, fasting insulin (FINS) was tested by radioimmunoassay, the levels of blood lipids profile as triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were tested by automatic biochemical analyzer. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect lipid metabolism related enzymes as hepatic lipase (HL) and lipoprotein lipase (LPL) levels, and serum inflammatory factors including serum tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-2 (IL-2) and interleukin-4 (IL-4) levels. The levels of oxidative stress factors as malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) were detected by micro method. Western blot method was used to detect peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ) and TLR4/MyD88/NF- κ B pathway protein of the rats. **Results** Compared with the NC group, the levels of FBG, TG, TC, LDL-C, TNF- α , IL-2, IL-1 β , and MDA, and expression levels of TLR4,

[收稿日期]2023-07-18

[基金项目]湖北省卫生计生委 2018 年度第二批联合基金立项项目[IEC(LW066)]

[作者简介]罗 艳(1986—),女,主治医师,主要从事高危妊娠研究。

[通讯作者]尹 恒,副主任医师。

MyD88,p-NF-κB p65/NF-κB p65 proteins of the rats in the GDM group were significantly higher,while their levels of FINS,HL,LPL,IL-4,CAT,SOD and GSH-Px,and expression of PPARγ protein were significantly lower,the differences were significant (all $P<0.05$).Compared with the GDM group,the levels of FBG,TG,TC,LDL-C,TNF-α,IL-2,IL-1β,MDA,expressions of TLR4,MyD88,p-NF-κB p65/NF-κB p65 proteins of the rats in the metformin group and different UA doses groups were significantly lower,while their levels of FINS,HL,LPL,IL-4,CAT,SOD,GSH-Px,and expression of PPARγ protein were significantly higher,and the differences were significant (all $P<0.05$).There was no significant difference in HDL-C level among all groups ($P>0.05$),and also there were no significant differences in the above indexes between the metformin group and UA-H group (all $P>0.05$). **Conclusion** UA could improve glucose metabolism and lipid metabolism,inflammatory reaction and oxidative stress in the GDM rats by down-regulating expression of TLR4/MyD88/NF-κB pathway proteins.

[Key words] ursolic acid;glycolipid metabolism;inflammation;oxidative stress

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus,GDM)是指在妊娠期间发病或首次发现的糖耐量异常,妊娠期间胰岛素抵抗以及胰腺β细胞功能障碍均可引起的妊娠期糖尿病,对妊娠过程及胎儿的发育造成不良影响,也影响着孕妇的健康^[1]。引起胰岛素抵抗的因素复杂多样,其中肥胖导致的血糖血脂水平过高、氧化应激和炎症反应均会产生并加重胰岛素抵抗,而胰岛素抵抗会导致 GDM 发生发展^[2]。GDM 患者发生炎症反应会进一步加重胰岛素抵抗,从而加剧 GDM 严重程度,Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4,TLR4),髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor 88,MyD88)及核因子-κB (nuclear factor-κB,NF-κB)通路被认为是常见的炎症通路。已有研究表明 TLR4 和 MyD88 的蛋白低表达以及 NF-κB 的磷酸化水平的降低,可以降低炎症因子 TNF-α 的表达进而改善胰岛素抵抗^[3]。

熊果酸(ursolic Acid,UA)提取于中药植物熊果,是天然三萜类化合物,具有抗炎、抗氧化、免疫调节等生物活性^[4]。目前研究证明,UA 可以降低由高脂饮食和链脲佐菌素(streptozotocin,STZ)诱导的糖尿病大鼠的血糖和血脂的水平,缓解胰腺组织中的氧化应激效应,并促进胰腺β细胞的再生,以确保胰岛素的合成与分泌,从而发挥预防和治疗糖尿病的积极作用^[5]。另外,UA 通过抑制 TLR4/MyD88/NF-κB 炎症通路可能改善胰岛素抵抗,达到缓解 GDM 的目的。因此,本研究基于 UA 的抗炎、抗氧化活性,探讨 UA 介导 TLR4/MyD88/NF-κB 炎症通路,对 GDM 大鼠糖脂代谢、炎症反应和氧化应激的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

本实验使用 SPF 级 SD 雌性大鼠 65 只,6 周龄,

体重约为 160~180g 和雄性大鼠 130 只,6 周龄,体重约为 200~220g,所有实验大鼠均购自北京维通利华实验动物技术有限公司上海分公司,许可证号:SCXK(沪)2022-0007。所有实验大鼠均饲养于本院动物实验中心,自由饮食水,12/12h 光暗交替培养,国家标准饲料喂养一周,经检查无异常后,用于后续实验。

1.2 试剂与仪器

试剂:UA(分析标准品,HPLC≥98%)、STZ 购自上海源叶生物科技有限公司,白细胞介素-1β(interleukin-1β,IL-1β)、白细胞介素-2(interleukin-2,IL-2)、白细胞介素-4(interleukin-4,IL-4)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor-α,TNF-α)的酶联免疫吸附(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)试剂盒均购自上海酶联生物科技有限公司,丙二醛(malondialdehyde,MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)、过氧化氢酶(catalase,CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathion peroxidase,GSH-Px)试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司,一抗过氧化物酶体增殖物激活受体γ(peroxisome proliferator activated receptor γ,PPARγ)、TLR4、MyD88,p-NF-κB p65、NF-κB p65、β-actin 和二抗均购自艾博抗(上海)贸易有限公司。

仪器:全自动酶标仪购自赛默飞世尔科技中国有限公司,全自动生化仪购自北京普朗新技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 造模与分组

造模参考以往研究^[6]进行,雌性大鼠经过高糖高脂喂养 8 周后与雄性大鼠 1:2 合笼制备孕鼠,第二天检查阴道涂片,观察到精子记为妊娠第 1 天(共

60 只雌鼠检测到精子),在妊娠第 5 天,腹腔注射 35mg/kg STZ 构建 GDM 模型,注射 STZ 后的 24h 和 72h 检测空腹血糖(fasting blood glucose,FBG),若 FBG 值>13.5mmol/L,即为造模成功。将造模大鼠随机分为模型组(GDM 组)、UA 低剂量组(UA-L 组)、UA 中剂量组(UA-M 组)、U 高剂量组(UA-H 组)^[7]和二甲双胍组^[8],另设置普通饲料喂养的大鼠作为正常组(NC 组),每组 10 只。GDM 组和 NC 组给予生理盐水灌胃,UA-L、M、H 组分别给予对应剂量的 25mg/kg、50mg/kg 和 100mg/kg UA,二甲双胍组给予 200mg/kg 的二甲双胍。一天一次,连续给药 16 天。

1.3.2 样本采集

末次给药结束后,禁食 12h,麻醉大鼠,采集腹主动脉全血,离心后,保留血清备用。采血结束后,处死大鼠,剥离胎盘组织,冻存备用。

1.3.3 血糖指标检测

取保存的血清,利用血糖仪测定空腹血糖(FBG)水平和放射免疫法测定空腹胰岛素(fasting insulin,FINS)水平。

1.3.4 血脂指标检测

取保存的血清,利用全自动生化仪测定甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)。脂代谢相关酶,即肝酯酶(hepatic lipase, HL)和脂蛋白酯酶(lipoprotein lipase, LPL)检测采用 ELISA 法。

1.3.5 血清炎症因子检测

取保存的血清,根据 ELISA 试剂盒说明书测定血清中 TNF-α、IL-1β、IL-2、IL-4 水平。

1.3.6 氧化应激因子检测

取保存的血清,使用各因子对应的试剂盒,按照微量法检测 MDA、SOD、GSH-Px、CAT 水平。

1.3.7 Western blot 法检测蛋白表达

取保存的胎盘组织剪碎,液氮研磨后,加入 RIPA 裂解液,反应一段时间后,离心收集上清,测定总蛋白含量。取 30μg 蛋白上样,进行 SDS-PAGE 电泳,电泳结束后转移至硝酸纤维素酶膜,脱脂牛奶封闭后,洗膜加入一抗 PPARγ(1 : 1 000)、TLR4(1 : 1 000)、MyD88(1 : 1 000)、p-NF-κB p65(1 : 1 000)、

NF-κB p65(1 : 1 000)、内参 β-actin(1 : 5 000),4℃ 孵育过夜,洗膜,加入二抗(1 : 2 000),室温孵育 2h 后,PBS 缓冲液清洗,加入 ECL 显色,各蛋白与内参的条带灰度比值为蛋白相对表达量。

1.4 统计分析

采用 SPSS 26.0 进行数据分析,计量数据采用平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两间比较采用 SNK-*q* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 UA 对大鼠血糖和胰岛素水平的影响

与 NC 组比较,GDM 组大鼠 FBG 水平升高,FINS 水平下降,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。与 GDM 组比较,UA-M、H 组与二甲双胍组大鼠 FBG 水平均下降,FINS 水平升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。UA-L 组与 GDM 组差异无统计学意义($P > 0.05$),二甲双胍组与 UA-H 组差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 各组大鼠血糖和胰岛素水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Comparison of FBG and FINS levels of rats among the six groups ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	FBG(mmol/L)	FINS(mIU/L)
NC 组	5.74±0.56	15.85±2.13
GDM 组	16.78±2.35 ^a	4.53±0.76 ^a
UA-L 组	15.39±1.55	5.68±0.70
UA-M 组	13.21±1.28 ^{bc}	7.27±0.76 ^{bc}
UA-H 组	10.01±1.30 ^{bcd}	9.49±1.01 ^{bcd}
二甲双胍组	8.43±0.86 ^b	10.67±1.13 ^b

注:^a与 NC 组比较, $P < 0.05$;^b与 GDM 组比较, $P < 0.05$;^c与 UA-L 组比较, $P < 0.05$;^d与 UA-M 组比较, $P < 0.05$ 。

2.2 UA 对大鼠血脂水平的影响

与 NC 组比较,GDM 组大鼠 TG、TC、LDL-C 水平升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。与 GDM 组比较,UA-M、H 组与二甲双胍组大鼠 TG、TC、LDL-C 水平均下降,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。UA-L 组与 GDM 组差异无统计学意义($P > 0.05$),二甲双胍组与 UA-H 组差异无统计学意义($P > 0.05$),各组 HDL-C 水平差异性比较均无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

2.3 UA 对大鼠脂代谢酶水平的影响

与 NC 组比较,GDM 组大鼠 HL、LPL 水平下

降,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与 GDM 组比较,UA-M、H 组与二甲双胍组大鼠 HL、LPL 水平升高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。UA-L 组与

GDM 组差异无统计学意义($P>0.05$),二甲双胍组与 UA-H 组差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 2 各组大鼠血脂水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Comparison of blood lipid levels of the rats among the six groups ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	TG(mmol/L)	TC(mU/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)
NC 组	0.54±0.10	1.45±0.13	0.88±0.13	0.65±0.10
GDM 组	2.78±0.21 ^a	3.02±0.39 ^a	0.84±0.17	1.28±0.19 ^a
UA-L 组	2.72±0.15	2.78±0.21	0.85±0.10	1.21±0.12
UA-M 组	2.15±0.12 ^{bc}	2.20±0.16 ^{bc}	0.88±0.16	1.02±0.10 ^{bc}
UA-H 组	1.47±0.13 ^{bcd}	1.75±0.13 ^{bcd}	0.86±0.11	0.78±0.13 ^{bcd}
二甲双胍组	1.12±0.16 ^b	1.70±0.12 ^b	0.90±0.10	0.69±0.13 ^b

注:^a与 NC 组比较, $P<0.05$;^b与 GDM 组比较, $P<0.05$;^c与 UA-L 组比较, $P<0.05$;^d与 UA-M 组比较, $P<0.05$ 。

表 3 各组大鼠脂代谢酶水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Comparison of lipid metabolism related enzymes levels of the rats among the six groups ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	HL(U/L)	LPL(U/L)	分组	HL(U/L)	LPL(U/L)
NC 组	1.72±0.21	1.51±0.23	UA-M 组	1.23±0.18 ^{bc}	1.18±0.20 ^{bc}
GDM 组	0.61±0.13 ^a	0.72±0.13 ^a	UA-H 组	1.45±0.20 ^{bc}	1.40±0.16 ^{bc}
UA-L 组	0.78±0.12	0.82±0.15	二甲双胍组	1.54±0.28 ^b	1.38±0.13 ^b

注:^a与 NC 组比较, $P<0.05$;^b与 GDM 组比较, $P<0.05$;^c与 UA-L 组比较, $P<0.05$;^d与 UA-M 组比较, $P<0.05$ 。

2.4 UA 对大鼠血清炎症因子水平的影响

与 NC 组比较,GDM 组大鼠 TNF- α 、IL-2、IL-1 β 水平上升,IL-4 水平下降,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与 GDM 组比较,二甲双胍组与 UA-L、

M、H 组大鼠 TNF- α 、IL-2、IL-1 β 水平下降,IL-4 水平上升,差异具有统计学意义($P<0.05$)。二甲双胍组与 UA-H 组差异无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

表 4 各组大鼠血清炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Comparison of serum levels of inflammatory factors of the rats among the six groups ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	TNF- α (pg/mL)	IL-2(pg/mL)	IL-4(pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)
NC 组	66.32±4.42	85.40±2.36	60.23±1.45	39.75±5.32
GDM 组	101.58±6.23 ^a	152.32±3.15 ^a	36.24±2.03 ^a	105.25±6.33 ^a
UA-L 组	94.32±5.21 ^b	131.25±4.03 ^b	42.32±1.88 ^b	82.64±4.45 ^b
UA-M 组	85.12±3.44 ^{bc}	119.32±2.41 ^{bc}	49.52±2.06 ^{bc}	73.24±6.41 ^{bc}
UA-H 组	73.15±4.77 ^{bcd}	90.22±3.36 ^{bcd}	58.45±3.04 ^{bcd}	56.45±5.25 ^{bcd}
二甲双胍组	70.59±5.34 ^b	91.68±2.01 ^b	55.63±2.47 ^b	58.24±6.12 ^b

注:^a与 NC 组比较, $P<0.05$;^b与 GDM 组比较, $P<0.05$;^c与 UA-L 组比较, $P<0.05$;^d与 UA-M 组比较, $P<0.05$ 。

2.5 UA 对大鼠氧化应激水平的影响

与 NC 组比较,GDM 组大鼠 MDA 水平上升,SOD、GSH-Px、CAT 水平下降,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与 GDM 组比较,二甲双胍组与 UA-L、M、H 组大鼠 MDA 水平下降,SOD、GSH-Px、CAT 水平升高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。二甲双胍组与 UA-H 组差异无统计学意义($P>$

0.05),见表 5。

2.6 UA 对大鼠 PPAR γ 及 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路蛋白表达水平的影响

大鼠 PPAR γ 及 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路蛋白条带,见图 1。与 NC 组比较,GDM 组大鼠 PPAR γ 蛋白表达下降,TLR4、MyD88、p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 蛋白表达上升,差异具有统计学意

义($P<0.05$)。与 GDM 组比较,二甲双胍组与 UA-L、M、H 组大鼠 PPAR γ 蛋白表达上升,TLR4、MyD88、p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 蛋白表达下降,差

异具有统计学意义($P<0.05$)。二甲双胍组与 UA-H 组差异无统计学意义($P>0.05$),见表 6。

表 5 各组大鼠氧化应激因子水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 5 Comparison of oxidative stress factors' levels of the rats among the six groups ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	MDA(mmol/L)	SOD(U/mL)	GSH-Px(U/mL)	CAT(U/mL)
NC 组	5.36 $\pm$ 0.39	51.46 $\pm$ 1.01	232.20 $\pm$ 5.87	21.35 $\pm$ 1.21
GDM 组	18.41 $\pm$ 1.03 ^a	19.40 $\pm$ 0.98 ^a	70.33 $\pm$ 8.32 ^a	4.82 $\pm$ 1.03 ^a
UA-L 组	14.16 $\pm$ 0.98 ^b	24.62 $\pm$ 0.56 ^b	115.36 $\pm$ 9.36 ^b	10.32 $\pm$ 1.23 ^b
UA-M 组	11.03 $\pm$ 1.02 ^{bc}	32.44 $\pm$ 1.03 ^{bc}	150.56 $\pm$ 7.22 ^{bc}	13.35 $\pm$ 1.44 ^{bc}
UA-H 组	6.36 $\pm$ 0.58 ^{bcd}	45.44 $\pm$ 1.30 ^{bcd}	201.45 $\pm$ 11.52 ^{bcd}	18.75 $\pm$ 1.63 ^{bcd}
二甲双胍组	7.45 $\pm$ 0.78 ^b	44.21 $\pm$ 1.42 ^b	195.36 $\pm$ 9.45 ^b	17.33 $\pm$ 1.54 ^b

注:^a与 NC 组比较, $P<0.05$;^b与 GDM 组比较, $P<0.05$;^c与 UA-L 组比较, $P<0.05$;^d与 UA-M 组比较, $P<0.05$ 。

表 6 各组大鼠 PPAR γ 及 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路蛋白水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 6 Comparison of protein bands of PPAR γ and TLR4/MyD88/NF- κ B pathway of the rats among the six groups ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	PPAR γ / β -actin	TLR4/ β -actin	MyD88/ β -actin	p-NF- κ B p65/NF- κ B p65
NC 组	0.95 $\pm$ 0.12	0.94 $\pm$ 0.02	0.78 $\pm$ 0.02	0.23 $\pm$ 0.03
GDM 组	0.40 $\pm$ 0.05 ^a	2.45 $\pm$ 0.32 ^a	2.31 $\pm$ 0.52 ^a	0.91 $\pm$ 0.08 ^a
UA-L 组	0.51 $\pm$ 0.04 ^b	1.94 $\pm$ 0.18 ^b	1.92 $\pm$ 0.14 ^b	0.80 $\pm$ 0.11 ^b
UA-M 组	0.62 $\pm$ 0.06 ^{bc}	1.53 $\pm$ 0.17 ^{bc}	1.68 $\pm$ 0.27 ^{bc}	0.65 $\pm$ 0.06 ^{bc}
UA-H 组	0.85 $\pm$ 0.09 ^{bcd}	1.11 $\pm$ 0.29 ^{bcd}	1.25 $\pm$ 0.20 ^{bcd}	0.42 $\pm$ 0.05 ^{bcd}
二甲双胍组	0.88 $\pm$ 0.10 ^b	1.05 $\pm$ 0.15 ^b	1.20 $\pm$ 0.16 ^b	0.45 $\pm$ 0.06 ^b

注:^a与 NC 组比较, $P<0.05$;^b与 GDM 组比较, $P<0.05$;^c与 UA-L 组比较, $P<0.05$;^d与 UA-M 组比较, $P<0.05$ 。

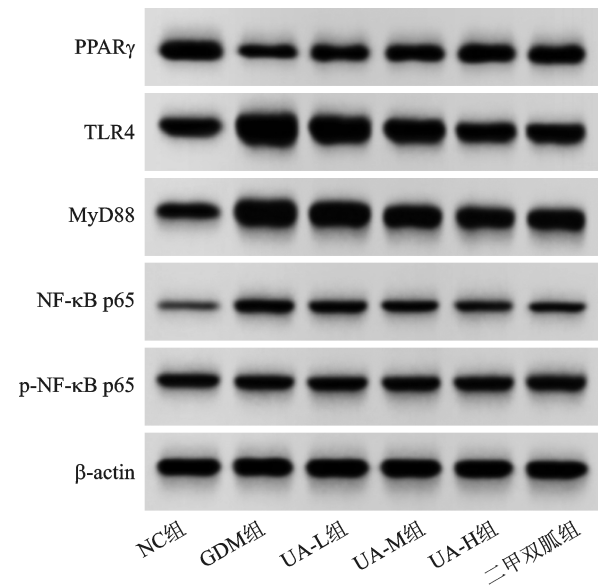


图 1 大鼠 PPAR γ 及 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路蛋白条带
Fig.1 Protein bands of PPAR γ and TLR4/MyD88/NF- κ B pathway of the rats

3 讨论

3.1 GDM 与 UA

GDM 和 2 型糖尿病具有一定的关联性,许多研究认为患有 GDM 的女性未来患 2 型糖尿病的风险升高,并且它也是孕妇及其后代未来患上代谢综合征、心血管疾病、恶性肿瘤、眼科、精神和肾脏疾病的独立危险因素^[9],因此研究 GDM 的发病机制,寻找治疗药物具有重大临床意义。目前关于 GDM 的病理学机制尚不明确,主要与胰岛素水平降低、胰岛素抵抗、代谢紊乱相关^[10]。研究表明 UA 可以显著改善糖尿病大鼠的肥胖、胰岛素抵抗、血脂水平,降低炎性细胞因子表达^[11],提示 UA 具有抗炎特性和调节糖脂代谢的潜力。

3.2 UA 与糖脂代谢

LPL 是一种可以水解 TG 脂蛋白的脂肪酶,介

导 TG 在组织中的传递。HL 是肝脂肪酶, LPL 可通过 HL 作为配体, 促进肝细胞摄取胆固醇, 降低血浆中 TC 和 TG 浓度, 发挥调节机体脂质代谢的作用^[12]。本研究利用高脂高糖饲料喂养并且注射 STZ 的方式建立 GDM 大鼠模型, 研究结果显示 GDM 组血糖和血脂水平显著高于模型组, 胰岛素水平显著下降, 脂代谢酶 LPL 和 HL 活性也显著下降, 出现糖脂代谢紊乱现象, 说明造模成功。经过 UA 处理后血糖、血脂水平显著下降, 胰岛素水平显著上升, LPL 和 HL 活性显著上升, 提示 UA 可以改善 GDM 大鼠的糖脂代谢紊乱现象。

3.3 UA 与炎症反应及氧化应激

母体患妊娠糖尿病会对胎盘产生很多不良影响, 胎盘暴露于 GDM 产生的炎症和氧化应激环境中, 影响胎盘发育, 可能导致胎儿后期生长发育异常以及代谢和心血管异常^[13]。因此改善炎症和氧化应激状态对于治疗 GDM 具有重要意义。GDM 的发生发展伴随着全身炎症, 临床体现在血清细胞因子的变化, TNF- α 、IL-2、IL-1 β 等。促炎细胞因子大量释放会使炎性细胞生成, 进而促进炎性因子释放, 导致胰岛素微循环障碍, 引起胰岛素抵抗。炎性因子的刺激还会导致过量 ROS 产生, 导致患者肝脏, 胰腺和大脑损伤, 具体为脂质过氧化物质 MDA 过量生成, 消耗具有抗氧化和清除自由基能力的 SOD、GSH-Px、CAT, 导致机体抗氧化体系失衡, 产生氧化应激^[14]。本研究结果中, GDM 组大鼠促炎因子 TNF- α 、IL-2、IL-1 β 水平上升, 抗炎因子 IL-4 水平下降, 且过氧化物 MDA 含量上升, 抗氧化酶 SOD、GSH-Px、CAT 水平下降, 与前人研究一致^[14]。经过 UA 处理后, 促炎细胞因子水平下降, 抗炎因子水平上升, 并且抗氧化酶活性也显著上升, 说明 UA 发挥了抗炎和抗氧化作用。

3.2 UA 与 PPAR γ 及 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路

胎盘在妊娠期大鼠母体内发挥重要的物质传递和转换作用, 其中 PPAR γ 在胎盘中可以促进脂肪酸摄取、甘油三酯的形成和脂滴的储存, 从而增加胰岛素敏感性和葡萄糖代谢, 对于糖脂代谢平衡具有重要作用, 并且 PPAR γ 还参与代谢紊乱疾病中的抗炎和抗氧化反应^[15]。有研究表明 PPAR γ 通过 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路, 调节脂多糖诱导的细胞炎性损伤和氧化应激, 主要途径是上调 PPAR γ 表达, 影响抗氧化平衡, 抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 通

路蛋白表达, 进而抑制炎性细胞因子释放和炎性细胞生成^[16]。在本研究中, GDM 大鼠 PPAR γ 蛋白表达下调, 而 TLR4/MyD88/NF- κ B 炎性通路蛋白上调, 同时机体炎性细胞因子大量释放, 并且出现高氧化应激状态。经过 UA 处理后, UA 各组大鼠 PPAR γ 蛋白表达上调, 而 TLR4/MyD88/NF- κ B 炎性通路蛋白下调, 同时机体炎性细胞因子水平降低, 恢复氧化平衡, 说明了 UA 可以通过上调 PPAR γ 表达, 抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路来发挥抗炎和抗氧化作用。

综上所述, UA 可能通过抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路表达, 同时在 PPAR γ 蛋白的参与下, 发挥对于 GDM 大鼠代谢紊乱、炎症反应和氧化应激的改善作用。UA 的抗炎和抗氧化机制较为复杂, 是否涉及其他蛋白的参与, 有待进一步深入研究, 以期为 UA 作为 GDM 的临床药物提供更为全面的理论参考。

【参考文献】

- [1] Homayouni A, Bagheri N, Mohammad-Alizadeh-Charandabi S, et al. Prevention of Gestational Diabetes Mellitus (GDM) and Probiotics: Mechanism of Action: A Review[J]. Curr Diabetes Rev, 2020, 16(6): 538-545.
- [2] Yarbeygi H, Farrokhi F R, Butler A E, et al. Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(6): 8152-8161.
- [3] Xu W, Tang M, Wang J, et al. Anti-inflammatory activities of puerarin in high-fat diet-fed rats with streptozotocin-induced gestational diabetes mellitus[J]. Mol Biol Rep, 2020, 47(10): 7537-7546.
- [4] Zhang Y, Li X, Ciric B, et al. A dual effect of ursolic acid to the treatment of multiple sclerosis through both immunomodulation and direct remyelination[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020, 117(16): 9082-9093.
- [5] Tang S, Fang C, Liu Y, et al. Anti-obesity and Anti-diabetic Effect of Ursolic Acid against Streptozotocin/High Fat Induced Obese in Diabetic Rats[J]. J Oleo Sci, 2022, 71(2): 289-300.
- [6] Xu M, Xu Q, Cui C, et al. Protective effect of Ganoderma lucidum polysaccharides on liver injury[J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2020, 36(20): 3242-3245.
- [7] 宋超杰, 张小莉, 陈维维, 等. 熊果酸对 1 型糖尿病大鼠转录因子 T-bet/GATA-3 表达的影响[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(18): 2489-2494.
- [8] 聂晓霞, 王翠香. 葛根素提取物改善妊娠期糖尿病大鼠的氧化应激损伤[J]. 现代食品科技, 2021, 37(2): 44-48, 63.

- [9] Farahvar S, Walfisch A, Sheiner E. Gestational diabetes risk factors and long-term consequences for both mother and offspring: a literature review[J]. *Expert Rev Endocrinol Metab*, 2019, 14(1): 63-74.
- [10] Szmuiłowicz E D, Josefson J L, Metzger B E. Gestational Diabetes Mellitus[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2019, 48(3): 479-493.
- [11] González-Garibay A S, López-Vázquez A, García-Bañuelos J, et al. Effect of Ursolic Acid on Insulin Resistance and Hyperinsulinemia in Rats with Diet-Induced Obesity: Role of Adipokines Expression[J]. *J Med Food*, 2020, 23(3): 297-304.
- [12] Fowler A, Sampson M, Remaley A T, et al. A VLP-based vaccine targeting ANGPTL3 lowers plasma triglycerides in mice[J]. *Vaccine*, 2021, 39(40): 5780-5786.
- [13] Bedell S, Hutson J, de Vrijer B, et al. Effects of Maternal Obesity and Gestational Diabetes Mellitus on the Placenta: Current Knowledge and Targets for Therapeutic Interventions[J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2021, 19(2): 176-192.
- [14] Singh V, Ubaid S. Role of Silent Information Regulator 1 (SIRT1) in Regulating Oxidative Stress and Inflammation[J]. *Inflammation*, 2020, 43(5): 1589-1598.
- [15] Montaigne D, Butruille L, Staels B. PPAR control of metabolism and cardiovascular functions[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2021, 18(12): 809-823.
- [16] Tian M, Li N, Liu R, et al. The protective effect of licochalcone A against inflammation injury of primary dairy cow claw dermal cells induced by lipopolysaccharide[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 1593.

[专业责任编辑:李春芳]

[中文编辑:向婉婉;英文编辑:杨周岐]

《中国妇幼健康研究》杂志简介

《中国妇幼健康研究》杂志是妇幼卫生专业学术性刊物,主要以专家论坛、专题研究、临床研究、妇幼营养研究、妇幼卫生服务研究、出生缺陷预防、妇幼卫生教学研究等栏目形式,向读者介绍国内外妇幼卫生专业方面的新进展,妇女及儿童各阶段疾病预防的新经验,妇幼心理行为及健康指导、围产医学、优生、遗传等方面的新理论和实验研究新动向的原创性文章。《中国妇幼健康研究》是国家级期刊,国际标准连续出版物号:ISSN 1673-5293;国内统一连续出版物号:CN 61-1448/R。现为月刊,每月下旬出版(年定价:240元)。2007年已被评为中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊),已取得《中国期刊网》和《中国学术期刊(光盘版)》全文收录,并作为“中国学术期刊综合评价数据库”“中国科学引文数据库”来源期刊。同时被《中文医学科学核心期刊要目总览》、《中国生物医学文献光盘数据库》(CBMdisc)、《中文生物医学期刊目次数据库》(CMCC)、《中国科技期刊篇名数据库》及两种书本式检索刊《中国科技资料目录》(医药卫生)、《中国医药文献》进行目次、文摘或全文的收录,现已在微信平台发布,并被中国知网及万方数据——数字化期刊群全文收录。2009年以来多次获中国高校科技期刊质量奖、优秀奖及省科协“学会创新和服务能力提升”项目优秀科技期刊奖,2020年又获中国高校科技期刊优秀奖和省科技期刊优秀奖。

主管单位:中华人民共和国教育部

主办单位:西安交通大学、中国妇幼健康研究会

地址:西安市雁塔西路76号(西安交通大学医学部)009号信箱

电话:(029)82655049

邮政编码:710061

国内邮发代号:52-135

海外发行代号:BM6616

在线投稿网址:mchchina.xjtu.edu.cn

电子信箱:bjblm@mail.xjtu.edu.cn