

张艳红,王柯静,李丽娟,等. 葫芦巴碱对妊娠期糖尿病大鼠血脂代谢及胰岛素抵抗的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(8): 68-74.

Zhang YH, Wang KJ, Li LJ, et al. Effects of trigonelline on lipid metabolism and insulin resistance in gestational diabetes mellitus rats [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(8): 68-74.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.08.009

葫芦巴碱对妊娠期糖尿病大鼠血脂代谢及胰岛素抵抗的影响

张艳红^{1*}, 王柯静¹, 李丽娟², 李 果¹

(1. 郑州工业应用技术学院妇产科教研室, 河南 新郑 451100; 2. 新郑市公立人民医院产一科, 河南 新郑 451150)

【摘要】 目的 探讨葫芦巴碱(trigonelline, TRG)对妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)大鼠血脂代谢及胰岛素抵抗的影响。**方法** 随机选取 8 只雌性 Wistar 大鼠普通喂养, 剩余大鼠高脂喂养 8 周, 均合笼交配确认妊娠后, 取普通喂养大鼠作为对照组, 高脂喂养大鼠腹腔注射小剂量链脲佐菌素(streptozotocin, STZ) 35 mg/kg 诱导构建 GDM 模型, 成模大鼠随机分为模型组、TRG 低剂量组(15 mg/(kg·d))、TRG 高剂量组(45 mg/(kg·d))及盐酸二甲双胍(MH)(200 mg/(kg·d))组, 每组各 8 只, 对照组及模型组大鼠仅灌胃给药等量生理盐水, 连续 14 d。称重并测量大鼠空腹血糖(fasting blood glucos, FBG)水平及 24 h 尿白蛋白(albumin, Alb)含量; 收集血液, 检测血脂(高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG))、肝功能(天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT))及肾功能(血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(serum creatinine, SCr)); 检测各组大鼠空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)含量; 计算胰岛素抵抗指数(HOMA-insulin resistance index, HOMA-IR)及胰岛素敏感指数(HOMA-insulin sensitivity index, HOMA-ISI); 观察大鼠胰腺组织病理学变化; 检测胰腺组织中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)及白细胞介素 6(interleukin 6, IL-6)水平。**结果** 成功构建 GDM 大鼠模型; 与对照组比较, 模型组、TRG 低、高剂量组及 MH 组大鼠 BM、24 h Alb、AST、ALT、BUN 及 SCr、FBG 水平、血清 LDL-C、TC 和 TG 含量、FINS、HOMA-IRI 值、胰腺组织中 MDA、TNF- α 和 IL-6 水平升高, 血清 HDL-C 含量、HOMA-ISI 值及胰腺组织中 SOD、CAT 活性水平降低($P<0.05$), 胰腺组织见有不同程度的病理变化; 与模型组比较, TRG 低、高剂量组及 MH 组大鼠 BM、24 h Alb、AST、ALT、BUN 及 SCr、FBG 水平、血清 LDL-C、TC 和 TG 含量、FINS、HOMA-IRI 值、胰腺组织中 MDA、TNF- α 和 IL-6 水平降低, 血清 HDL-C 含量、HOMA-ISI 值及胰腺组织中 SOD、CAT 活性水平升高($P<0.05$), 胰腺组织病理损伤逐渐减轻; TRG 低、高剂量组及 MH 组作用效果逐渐增强($P<0.05$)。**结论** TRG 可降低 GDM 大鼠血糖水平, 改善肝肾功能及异常血脂代谢, 减轻胰岛素抵抗并提高胰岛素敏感性, 其作用效果可能与降低炎性及氧化水平有关。

【关键词】 葫芦巴碱; 妊娠期糖尿病大鼠; 血脂代谢; 胰岛素抵抗

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 08-0068-07

Effects of trigonelline on lipid metabolism and insulin resistance in gestational diabetes mellitus rats

ZHANG Yanhong^{1*}, WANG Kejing¹, LI Lijuan², LI Guo¹

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Zhengzhou Institute of Industrial Application Technology, Xinzheng 451100, China.
2. Department of Obstetrics and Gynecology, Xinzheng Public People's Hospital, Xinzheng 451150)

【基金项目】 河南省 2020 年科技发展规划(202102310067)。

【作者简介】 张艳红(1982—), 女, 主治医师, 研究方向: 中西医结合妇产科相关疾病诊断与治疗。E-mail: hn93716950@163.com

[Abstract] Objective To investigate the effects of trigonelline (TRG) on lipid metabolism and insulin resistance in gestational diabetes mellitus (GDM) rats. **Methods** Eight female Wistar rats were randomly selected for normal feeding, and the remaining rats were fed a high fat diet for 8 weeks. After cage mating to confirm pregnancy, normal fed rats were used as the control group, and the high fat fed rats were intraperitoneally injected with 35 mg/kg streptozotocin to induce the GDM model. Model rats were randomly divided into model, TRG low-dose (15 mg/(kg · d)), TRG high-dose (45 mg/(kg · d)) and metformin hydrochloride (MH) (200 mg/(kg · d)) groups with eight rats in each group. Control and model groups were treated with the same amount of normal saline by intragastric administration for 14 consecutive days. Weigh and the fasting blood glucose (FBG) were measured. BM and the contents of 24 h Alb, AST, ALT, BUN, and SCr, serum high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), total cholesterol (TC), and triglyceride (TG) were measured. Fasting insulin (FINS) content was measured in each group. Insulin resistance index (HOMA-IR) and insulin sensitivity index (HOMA-ISI) were calculated. Histopathological changes of the pancreas in rats were observed. Levels of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), malondialdehyde (MDA), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interleukin 6 (IL-6) in pancreatic tissues were measured. **Results** The GDM rat model was successfully established. Compared with the findings in the control group, FBG, serum LDL-C, TC and TG, FINS, HOMA-IRI, MDA, and TNF- α and IL-6 levels in pancreatic tissue were increased, serum HDL-C content, HOMA-ISI, and SOD and CAT activities in pancreatic tissue were decreased in model, TRG low-dose, TRG high-dose, and MH groups ($P < 0.05$), and pathological changes of various degrees were found in pancreatic tissue. Compared with the findings in the model group, in TRG low-dose, TRG high-dose, and MH groups, FBG, serum LDL-C, TC and TG, FINS, HOMA-IRI, MDA, and TNF- α and IL-6 levels in pancreatic tissue were decreased, serum HDL-C content, HOMA-ISI, and SOD and CAT activities in pancreatic tissue were increased ($P < 0.05$), and pathological injury of pancreatic tissue was gradually decreased. The effect of TRG in low-dose, high-dose, and MH groups was gradually enhanced ($P < 0.05$). **Conclusions** Trigonelline reduces the blood glucose level, improves liver and kidney functions, and abnormal blood lipid metabolism, reduces insulin resistance and improves insulin sensitivity in GDM rats. Its effect may be related to reducing inflammation and oxidization.

[Keywords] trigonelline; gestational diabetes rats; lipid metabolism; insulin resistance

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

妊娠期糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 是一种以胰岛素抵抗和糖脂代谢改变为特征的代谢性疾病^[1], 发病机制复杂, 其危险因素包括超重和肥胖、高龄产妇以及家族史或任何形式的糖尿病, 可增加早产和流产发生率^[2]。二甲双胍是一种口服双胍类抗高血糖药物, 可减少肝脏葡萄糖的产生, 增强外周胰岛素敏感性, 并刺激脂肪氧化, 减少脂肪合成和储存^[3], 已被作为一种有效且安全的 GDM 女性替代疗法, 但其可能引起分娩时胎儿胎龄略低, 早产率高^[4], 因此积极探究 GDM 新型治疗药物对 GDM 患者及胎儿具有重要意义。葫芦巴碱 (trigonelline, TRG) 是一种两性化合物, 具有降血糖、降血脂和抗肿瘤等药理活性^[5], 研究发现, 其可提高 2 型糖尿病模型中胰岛素敏感性, 改善葡萄糖/脂质稳态^[6], 但关于其对 GDM 的相关作用报道较少, 故本研究拟构建 GDM 大鼠模型, 通过 TRG 干预并以盐酸二甲双胍 (metformin hydrochloride, MH) 片治疗作为阳性对照, 检测并观察相关代谢指标及组织病理学变化, 以期探讨 TRG 对 GDM 血脂代谢及胰

岛素抵抗的影响, 并为 GDM 预防或治疗相关研究提供一定的参考资料。

1 材料和方法

1.1 实验动物

实验动物为由济南朋悦实验动物繁育有限公司提供的 Wistar 大鼠 (♀ 50, ♂ 25) [SCXK (鲁) 2019-0003], SPF 级, 体重 (180±20) g, 6 周龄, 饲养于郑州工业应用技术学院医药学院动物实验房 [SYXK (豫) 2020-0014], (25±1) °C, 50% 湿度环境下普通饲养, 12 h/12 h 光/暗循环, 适应 1 周。经郑州工业应用技术学院医药学院实验动物伦理委员会批准 (IACU2020124)。实验符合 3R 原则并给予人道主义关怀。

1.2 主要试剂与仪器

TRG (纯度 ≥ 98%) (ST8260)、链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) (纯度 ≥ 98%) (S8050)、HE 染色试剂盒 (G1120) 购自北京索莱宝科技有限公司; 盐酸二甲双胍 (metformin hydrochloride, MH) (500

mg, 国药准字 H20023370) 购自中美上海施贵宝制药有限公司; 大鼠胰岛素 ELISA 试剂盒 (D731159) 购自生工生物工程 (上海) 股份有限公司; 白蛋白 (albumin, Alb) ELISA 试剂盒 (ZK-R4044) 购自深圳子科生物科技有限公司; 血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN) (BC1535)、血肌酐 (serum creatinine, SCr) (BC4910) 检测试剂盒购自北京索莱宝生物科技有限公司; 大鼠天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) (C010)、丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) (C009)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 测试盒 (A001)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 测试盒 (A007) 和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 测试盒 (A003) 购自南京建成生物工程研究所; 大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) (PT516)、白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6) (PI328) 购自上海碧云天生物技术有限公司。ACCU-CHEK 血糖仪购自罗氏诊断产品 (上海) 有限公司; BK-400 自动生化分析仪购自济南温腾医疗器械有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 造模、分组及给药

随机选取 8 只雌性大鼠普通饲料喂养, 剩余 42 只雌性大鼠给予高脂饲料 (玉米淀粉 24.15%, 酪蛋白 20%, 糊精 13.2%, 糖 10%, 胆固醇 0.1%, 猪油 22%, 纤维素 5%, 矿物质 3.5%, 维生素 1%, 胱氨酸 0.3%, 氯化胆碱 0.25%, 胆盐 0.5%) 喂养 8 周, 所有大鼠禁食 12 h, 排除空腹血糖 (fasting blood glucos, FBG) 水平高于 6.67 mmol/L 的大鼠 (高脂喂养大鼠共排除 2 只)^[7]。通过阴道涂片确定大鼠发情周期, 标记后将发情期大鼠与雄性大鼠按 2:1 合笼交配, 次日镜下若观察到精子或粘液栓即表示大鼠妊娠 (记为妊娠 0 d)。普通喂养大鼠均成功妊娠, 并作为对照组 ($n=8$); 高脂喂养大鼠成功妊娠 37 只; 所有大鼠禁食 12 h, 高脂喂养大鼠腹腔注射 STZ 35 mg/kg 以诱导 GDM 模型^[8], 72 h 后, FBG > 16.7 mmol/L 者视为成模, 成模大鼠共 33 只, 随机剔除 1 只, 剩余大鼠随机分为模型组、TRG 低、高剂量组及 MH 组, 每组各 8 只, 对照组大鼠仅腹腔注射等量枸橼酸盐缓冲液。妊娠 4 d 后给药, 其中 TRG 低、高剂量组大鼠灌胃给药 TRG 15 mg/(kg·d)、45 mg/(kg·d), MH 组大鼠灌胃给药 MH 200 mg/(kg·d)^[8], 对照组及模型组大鼠仅灌胃等量生理盐水。连续 14 d。

1.3.2 检测体重、肝肾功能指标、血糖、血脂及空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS) 水平

末次给药结束后, 观察大鼠一般体征, 称重即为体重 (body weight, BW); 各组大鼠均被放置于单独的代谢笼里, 收集 24 h 尿液以检测尿 Alb 含量; 禁食 12 h, 腹腔注射戊巴比妥钠 40 mg/kg 诱导麻醉并处死, 断尾经尾静脉采血。血糖仪检测 FBG; 尾静脉血促凝后, 4℃ 2000 r/min 离心 20 min, 取血清, 分光光度计检测 AST、ALT、BUN 和 SCr 含量; 全自动生化分析仪检测血清高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、总胆固醇 (total cholesterol, TC) 和甘油三酯 (triglyceride, TG) 水平; 另取血清用于 ELISA 法检测大鼠血清 FINS 在 450 nm 处的吸光度值, 利用标准曲线计算 FINS 血清含量。

1.3.3 计算胰岛素抵抗指数 (HOMA-insulin resistance index, HOMA-IRI) 及胰岛素敏感指数 (HOMA-insulin sensitivity index, HOMA-ISI)

$HOMA-IR = (FBG \times FINS) / 22.5$; $HOMA-ISI = 1 / (\log(FBG) + \log(FINS))$ 。

1.3.4 HE 染色观察胰腺组织病理学情况

取血结束后, 安乐死各组大鼠, 收集胰腺组织, 生理盐水冲洗表面, 一部分于 4% 多聚甲醛中固定 48 h (另一部分保存于液氮中), 常规石蜡包埋并制备为 4 μ m 组织切片, 二甲苯脱蜡, 梯度乙醇水化, 经苏木素伊红染色, 封片后显微镜不观察胰腹组织病理学变化。

1.3.5 检测胰腺组织中氧化应激因子及炎症因子水平

取液氮中适量胰腺组织, 碾碎后加 9 倍生理盐水制成 10% 组织匀浆, 4℃ 下 2500 r/min 离心 10 min 后取上清液。然后严格按照试剂盒说明书操作步骤, 利用比色分析法检测 MDA 含量及 SOD、CAT 活性; ELISA 法检测 TNF- α 及 IL-6 水平。

1.4 统计学方法

本研究所得数据以 SPSS 26.0 处理, 计量结果以平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较分析采用单因素方差 (One-way ANOVA) 分析, 方差齐性时用 LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 时认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血清检验指标

与对照组比较, 模型组、TRG 低、高剂量组及

MH 组大鼠 BM、24 h Alb、AST、ALT、BUN、SCr、FBG 水平、LDL-C、TC 和 TG、FINS 含量、HOMA-IRI 值升高,血清 HDL-C 含量、HOMA-ISI 值降低($P<0.05$);与模型组比较,TRG 低、高剂量组及 MH 组大鼠 BM、24 h Alb、AST、ALT、BUN、SCr、FBG 水平、LDL-C、TC 和 TG、FINS 含量、HOMA-IRI 值降低,血清 HDL-C 含量、HOMA-ISI 值升高($P<0.05$),TRG 低、高剂量组及 MH 组大鼠 BM、24 h Alb、AST、ALT、BUN、SCr、FBG 水平、LDL-C、TC 和 TG、FINS 含量、HOMA-IRI 值依次降低,血清 HDL-C 含量、HOMA-ISI 值依次升高($P<0.05$)。见表 1。

2.2 胰腺病理变化

HE 染色结果显示,对照组大鼠胰腺组织细胞形态规则,排列有序,胰岛呈球形团状,边界完整;

模型组大鼠胰腺病理改变明显,炎性细胞严重浸润,胰岛形态不规则,细胞分布稀疏,排列紊乱;与模型组比较,TRG 低、高剂量组及 MH 组大鼠胰腺组织病理损伤减轻,胰岛形态逐渐规则,炎性浸润情况减轻,细胞形态结构逐渐清晰。见图 1。

2.3 胰腺组织中氧化应激及炎症因子水平

与对照组比较(图 2),模型组、TRG 低、高剂量组及 MH 组大鼠胰腺组织中 SOD、CAT 活性水平降低,MDA、TNF- α 和 IL-6 水平升高($P<0.05$);与模型组比较,TRG 低、高剂量组及 MH 组大鼠胰腺组织中 SOD、CAT 活性水平升高,MDA、TNF- α 和 IL-6 水平降低($P<0.05$),TRG 低、高剂量组及 MH 组大鼠胰腺组织中 SOD、CAT 活性水平依次升高,MDA、TNF- α 和 IL-6 水平依次降低($P<0.05$)。

表 1 血糖、血脂、肝功、肾功等检验指标比较($\bar{x}\pm s, n=8$)					
Table 1 Comparison of blood sugar, blood lipid, liver function and kidney function					
指标 Index	对照组 Control group	模型组 Model group	TRG 低剂量组 TRG low dose group	TRG 高剂量组 TRG high dose group	MH 组 MH group
体重(g) Body weight	332.20 $\pm$ 7.03	375.31 $\pm$ 5.99 [*]	363.04 $\pm$ 6.11 ^{*#}	354.01 $\pm$ 5.87 ^{*##}	341.32 $\pm$ 6.54 ^{*##□}
24 h Alb(mg/24 h)	6.12 $\pm$ 0.84	18.05 $\pm$ 2.08 [*]	16.23 $\pm$ 1.56 ^{*#}	13.22 $\pm$ 1.02 ^{*##}	10.01 $\pm$ 0.59 ^{*##□}
AST(U/L)	40.22 $\pm$ 3.58	164.53 $\pm$ 13.02 [*]	140.56 $\pm$ 10.45 ^{*#}	101.85 $\pm$ 8.99 ^{*##}	72.08 $\pm$ 8.21 ^{*##□}
ALT(U/L)	80.02 $\pm$ 18.96	234.11 $\pm$ 27.45 [*]	187.65 $\pm$ 17.63 ^{*#}	130.25 $\pm$ 14.87 ^{*##}	109.23 $\pm$ 12.05 ^{*##□}
BUN(mmol/L)	5.22 $\pm$ 0.91	15.32 $\pm$ 1.86 [*]	13.26 $\pm$ 1.42 ^{*#}	9.87 $\pm$ 1.25 ^{*##}	7.89 $\pm$ 0.91 ^{*##□}
SCr(μ mol/L)	20.34 $\pm$ 2.03	49.88 $\pm$ 4.22 [*]	38.62 $\pm$ 4.05 ^{*#}	29.11 $\pm$ 2.58 ^{*##}	24.02 $\pm$ 2.11 ^{*##□}
FBG(mmol/L)	5.44 $\pm$ 0.23	18.44 $\pm$ 1.10 [*]	14.48 $\pm$ 0.83 ^{*#}	8.05 $\pm$ 0.44 ^{*##}	7.35 $\pm$ 0.47 ^{*##□}
HDL-C(mmol/L)	1.06 $\pm$ 0.13	0.42 $\pm$ 0.05 [*]	0.55 $\pm$ 0.06 ^{*#}	0.85 $\pm$ 0.05 ^{*##}	0.93 $\pm$ 0.08 ^{*##□}
LDL-C(mmol/L)	0.41 $\pm$ 0.04	0.86 $\pm$ 0.04 [*]	0.75 $\pm$ 0.04 ^{*#}	0.56 $\pm$ 0.04 ^{*##}	0.49 $\pm$ 0.03 ^{*##□}
TC(mmol/L)	2.33 $\pm$ 0.12	6.14 $\pm$ 0.22 [*]	5.37 $\pm$ 0.20 ^{*#}	3.18 $\pm$ 0.16 ^{*##}	2.82 $\pm$ 0.14 ^{*##□}
TG(mmol/L)	0.74 $\pm$ 0.04	1.74 $\pm$ 0.08 [*]	1.52 $\pm$ 0.06 ^{*#}	0.98 $\pm$ 0.07 ^{*##}	0.86 $\pm$ 0.08 ^{*##□}
FINS(mIU/mL)	4.57 $\pm$ 0.17	13.13 $\pm$ 0.63 [*]	10.05 $\pm$ 0.51 ^{*#}	6.11 $\pm$ 0.29 ^{*##}	5.22 $\pm$ 0.23 ^{*##□}
OMA-IRI	1.11 $\pm$ 0.06	10.77 $\pm$ 0.95 [*]	6.47 $\pm$ 0.48 ^{*#}	2.18 $\pm$ 0.13 ^{*##}	1.71 $\pm$ 0.17 ^{*##□}
HOMA-ISI	0.72 $\pm$ 0.01	0.42 $\pm$ 0.01 [*]	0.46 $\pm$ 0.01 ^{*#}	0.59 $\pm$ 0.01 ^{*##}	0.63 $\pm$ 0.02 ^{*##□}

注:与对照组比较, $^*P<0.05$;与模型组比较, $^{\#}P<0.05$;与 TRG 低剂量组比较, $^{\ast}P<0.05$;与 TRG 高剂量组比较, $^{\square}P<0.05$ 。
Note. Compared with the control group, $^*P<0.05$. Compared with the model group, $^{\#}P<0.05$. Compared with TRG low dose group, $^{\ast}P<0.05$. Compared with TRG high dose group, $^{\square}P<0.05$.

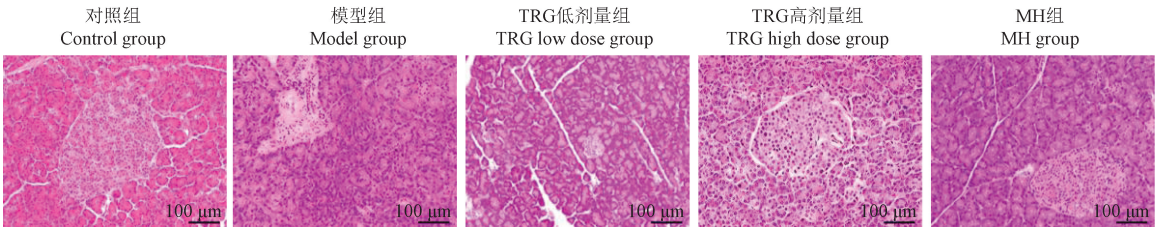


图 1 各组大鼠胰腺组织 HE 染色图
Figure 1 HE staining of pancreatic tissue of rats in each group

表 2 各组大鼠胰腺组织中氧化应激及炎症因子水平比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

指标 Index	对照组 Control group	模型组 Model group	TRG 低剂量组 TRG low dose group	TRG 高剂量组 TRG high dose group	MH 组 MH group
SOD(U/mg)	18.63±1.14	6.39±0.39 [*]	8.78±0.71 ^{*#}	15.17±1.01 ^{*##}	17.09±0.70 ^{*##□}
CAT(U/g)	573.80±51.93	212.68±21.79 [*]	318.15±28.02 ^{*#}	467.17±33.38 ^{*##}	512.45±39.53 ^{*##□}
MDA(μmol/g)	1.06±0.12	5.19±0.21 [*]	4.11±0.14 ^{*#}	2.12±0.14 ^{*##}	1.83±0.09 ^{*##□}
TNF-α(pg/mg)	32.38±4.51	158.14±14.63 [*]	119.08±10.65 ^{*#}	62.98±7.94 ^{*##}	51.32±8.28 ^{*##□}
IL-6(pg/mg)	2.62±0.21	9.93±0.72 [*]	8.17±0.44 ^{*#}	4.09±0.35 ^{*##}	3.75±0.17 ^{*##□}

注:与对照组比较, ^{*} $P<0.05$;与模型组比较, [#] $P<0.05$;与 TRG 低剂量组比较, ^{*} $P<0.05$;与 TRG 高剂量组比较, [□] $P<0.05$ 。
Note. Compared with the control group, ^{*} $P<0.05$. Compared with the model group, [#] $P<0.05$. Compared with TRG low dose group, ^{*} $P<0.05$. Compared with TRG high dose group, [□] $P<0.05$.

3 讨论

孕期胰岛素抵抗和胰岛素分泌能力的失衡可导致 GDM^[9], GDM 是妊娠期主要并发症,发生率 9.3%~25.5%,母体胰岛素抵抗增加于妊娠 24~28 周达到高峰,再加上胰岛 β 细胞功能不足,常导致葡萄糖耐受不良^[10]。STZ 是一种 DNA 烷基化试剂,对胰岛 β 细胞有高选择毒性作用,通过小剂量腹腔注射联合高脂喂养,可导致部分胰岛 β 细胞损伤和外周胰岛素抵抗,常用作糖尿病模型诱导^[11]。本研究经高脂联合 STZ 注射后孕鼠发现,与正常妊娠孕鼠比较,模型孕鼠 FBG 水平升高,胰岛素敏感性降低,胰岛素抵抗显著增强,提示成功构建 GDM 大鼠模型;研究表明,血糖参数、脂质参数、促炎细胞因子参数、氧化参数等与 GDM 发病机制有关^[12-13],糖脂代谢异常而导致的氧化应激损伤和炎症反应在肾病并发症发生发展的各个阶段都起着非常关键的作用。本研究结果可见 GDM 大鼠 24 h Alb、血清 BUN、SCr、LDL-C、TC、TG 含量升高及 HLD-C 含量降低,提示糖脂代谢异常及肾损伤;TRG 属于非异喹啉类生物碱,具有抗糖尿病和降胆固醇作用,与胰岛素分泌、糖代谢相关酶的活性及活性氧的生成等有关^[14],据报道,其可抑制肾脏炎症反应减轻妊娠高血压症大鼠模型症状^[15],还可通过减轻肾脏炎症反应、氧化应激及细胞凋亡,保护肾移植后肾功能^[16]。本研究旨在建立 GDM 大鼠模型,根据查阅文献及预实验对大鼠使用不同剂量 TRG 进行干预,探讨其功效及相关机制,结果显示 TRG 可有效调节组织内炎症 TNF-α 和 IL-6 因子及氧化应激因子 MDA 水平和 SOD、CAT 活性,同时减轻 GDM 孕鼠胰腺组织病理损伤,并逆转 GDM 引起的 24 h Alb、血清 BUN、SCr、LDL-C、TC、TG 含量升高及 HLD-C 含量降低,同时 TRG 的效果存在剂量效应,提示 TRG 改善 GDM 孕鼠肾功能异常可能是通过调

节糖脂代谢进而改善机体炎症和氧化应激水平介导的,且高剂量的 TRG 效果更佳。

胰岛素抵抗作为代谢综合征的一个组成部分,与肥胖、血脂异常密切相关,据报道,血脂异常和/或血糖异常人群的胰岛素抵抗明显增加,血脂异常可加重血糖异常患者的胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能障碍^[17];而血脂异常又与肝脂代谢密切相关,AST 和 ALT 是评价肝功能变化的核心指标;另有研究发现,与健康孕妇相比,GDM 组患者 FBG、FINS、HOMA-IRI、TG、TC 及 LDL-C 水平较高,HDL-C 水平较低^[18],提示血脂代谢异常对 GDM 并发症发展具有促进作用。MH 是 2 型糖尿病肥胖患者首选药,可通过降低血糖、血脂和改善胰岛素抵抗作用作为妊娠期 2 型糖尿病女性胰岛素治疗的辅助手段^[19],故本研究以其作为阳性对照。已有报道指出,TRG 可抑制小鼠高胆固醇和高脂肪饮食诱导的肝脂质积累和脂毒性^[20];增加 HOMA-ISI,降低糖尿病大鼠 FBG、TC 及 TG 水平^[21];另有研究结果显示,TRG 可干预胰岛素信号转导途径,逆转导致胰岛素抵抗和葡萄糖不耐受的分子缺陷,并改善体外和体内疾病并发症^[22]。本研究中,与模型组比较,TRG 给药可显著降低 GDM 大鼠 AST 和 ALT、FBG、FINS、HOMA-IRI、TG、TC 及 LDL-C 水平,提高 HDL-C 水平,并存在剂量效应,表明 TRG 可能通过改善血脂代谢异常,减轻 GDM 大鼠胰岛素抵抗,进而发挥对 GDM 肝功能损伤的治疗效果。

高血糖可上调慢性炎症标志物并导致活性氧生成增加^[23],其中促炎细胞因子可损害胰岛素信号传导并抑制胰岛 β 细胞释放胰岛素,通过降低胰岛素受体酪氨酸激酶活性、增加 IRS-1 的丝氨酸磷酸化或通过降解 IRS-1 的 STAT3-SOCS3 途径诱导胰岛素抵抗;氧化应激则可通过干扰蛋白质、脂质和 DNA 状态导致细胞损伤,通过干扰 IRS-1 和 GLUT4 抑制胰岛素刺激的葡萄糖摄取^[2]。据报道,妊娠合

并糖尿病和/或肥胖期间循环促炎细胞因子如 TNF- α 、IL-6 的过度表达以及活性氧的增加可导致代谢发生异常变化^[24]。研究发现,与健康孕妇相比,GDM 受试者促炎分子 IL-6、TNF- α 的水平及 HOMA-IRI 显著升高^[25],降低 FBG 时,MDA、TC 水平降低,SOD、CAT 活性及 HOMA-ISI 值升高^[26],提示 GDM 胰岛素抵抗及血脂代谢异常发生可能与高血糖引起的过度炎症及抗氧化能力不足有关。TRG 除抗糖尿病应用外,还具有抗炎和抗氧化生物活性,可抑制脑部炎症及氧化应激反应^[27],还可调节 1 型糖尿病小鼠炎症及氧化指标,降低 FBG 并减轻胰腺功能障碍^[28]。本研究中,经 TRG 作用 GDM 大鼠后,大鼠胰腺组织中 IL-6、TNF- α 水平及膜脂质过氧化反应产物 MDA 水平下降,抗氧化酶 SOD 及 CAT 活性水平升高,且高剂量的 TRG 较低剂量上述指标改善更明显,结合上述实验结果,提示 TRG 可能通过降低 GDM 大鼠血糖水平,减轻机体炎症及氧化应激反应,进而恢复血脂异常代谢,提高胰岛素敏感性,改善胰岛素抵抗。

综上所述,TRG 可降低 GDM 大鼠血糖水平,改善异常血脂代谢,减轻胰岛素抵抗并提高胰岛素敏感性,其作用效果可能与降低机体炎症水平及抗氧化能力有关。

参考文献:

- [1] Tumorbaatar B, Poole AT, Olson G, et al. Adipose tissue insulin resistance in gestational diabetes [J]. *Metab Syndr Relat Disord*, 2017, 15(2): 86-92.
- [2] Plows JF, Stanley JL, Baker PN, et al. The pathophysiology of gestational diabetes mellitus [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3342.
- [3] Sivalingam VN, Myers J, Nicholas S, et al. Metformin in reproductive health, pregnancy and gynaecological cancer: established and emerging indications [J]. *Hum Reprod Update*, 2014, 20(6): 853-868.
- [4] Huang L, Yue P, Wu X, et al. Combined intervention of swimming plus metformin ameliorates the insulin resistance and impaired lipid metabolism in murine gestational diabetes mellitus [J]. *PLoS One*, 2018, 13(4): e0195609.
- [5] 陈凤真. 葫芦巴碱提取与测定方法研究进展 [J]. *黑龙江农业科学*, 2019, 31(9): 145-149.
- [6] Aldakinah AA, Al-Shorbagy MY, Abdallah DM, et al. Trigonelline and vildagliptin antidiabetic effect: improvement of insulin signalling pathway [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2017, 69(7): 856-864.
- [7] 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.
- [8] Zhou J, Zhe R, Guo X, et al. The role of PPAR δ agonist GW501516 in rats with gestational diabetes mellitus [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther*, 2020, 13: 2307-2316.
- [9] Ducarme G, Desroys du Roure F, Grange J, et al. Predictive factors of subsequent insulin requirement for glycemic control during pregnancy at diagnosis of gestational diabetes mellitus [J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2019, 144(3): 265-270.
- [10] Kijmanawat A, Panburana P, Reutrakul S, et al. Effects of probiotic supplements on insulin resistance in gestational diabetes mellitus: a double-blind randomized controlled trial [J]. *J Diabetes Investig*, 2019, 10(1): 163-170.
- [11] 曾顺, 熊悦, 买文菊, 等. 链脲佐菌素诱导 2 型糖尿病大鼠年龄和剂量的相关性 [J]. *西部医学*, 2021, 33(5): 665-669.
- [12] Schliefssteiner C, Peinhaupt M, Kopp S, et al. Human placental hofbauer cells maintain an anti-inflammatory M2 phenotype despite the presence of gestational diabetes mellitus [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 888.
- [13] Wedekind L, Belkacemi L. Altered cytokine network in gestational diabetes mellitus affects maternal insulin and placental-fetal development [J]. *J Diabetes Complications*, 2016, 30(7): 1393-1400.
- [14] 刘永巧, 魏颖, 高佳琪, 等. 葫芦巴碱对 HepG2 细胞胰岛素抵抗的影响 [J]. *中医药导报*, 2018, 24(4): 7-10.
- [15] 史许锋, 刘侃, 王莉, 等. 葫芦巴碱的预防性使用可减轻妊娠糖尿病模型的症状并保护胎儿生长和血管内皮功能 [J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(7): 62-70.
- [16] 黎忠大, 刘东, 王晓, 等. 葫芦巴碱调节肾移植术后代谢紊乱的应用前景 [J]. *器官移植*, 2021, 12(3): 363-368.
- [17] Ma M, Liu H, Yu J, et al. Triglyceride is independently correlated with insulin resistance and islet beta cell function: a study in population with different glucose and lipid metabolism states [J]. *Lipids Health Dis*, 2020, 19(1): 121.
- [18] Jiang XC, Liang ZD, Chen DL, et al. Correlation of homocysteine, AHSG, CRP with insulin resistance, 25-(OH) $_2$ -VitD, blood lipids in gestational diabetes patients [J]. *Clin Lab*, 2021, 67(2): 312-320.
- [19] Benham JL, Donovan LE, Yamamoto JM. Metformin in pregnancy for women with type 2 diabetes: a review [J]. *Curr Diab Rep*, 2021, 21(10): 36.
- [20] Sharma L, Lone NA, Knott RM, et al. Trigonelline prevents high cholesterol and high fat diet induced hepatic lipid accumulation and lipo-toxicity in C57BL/6J mice, via restoration of hepatic autophagy [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 121: 283-296.
- [21] Zhou J, Zhou S, Zeng S. Experimental diabetes treated with trigonelline: effect on β cell and pancreatic oxidative parameters [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2013, 27(3): 279-287.
- [22] Christodoulou MI, Tchoumtchoua J, Skaltsounis AL, et al.

Natural alkaloids intervening the insulin pathway: new hopes for anti-diabetic agents? [J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(32): 5982-6015.

[23] Luc K, Schramm-Luc A, Guzik TJ, et al. Oxidative stress and inflammatory markers in prediabetes and diabetes [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2019, 70(6).

[24] Formoso G, Baldassarre MPA, Ginestra F, et al. Inositol and antioxidant supplementation: safety and efficacy in pregnancy [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2019, 35(5): e3154.

[25] Ramachandrayya SA, D' Cunha P, Rebeiro C. Maternal circulating levels of Adipocytokines and insulin resistance as predictors of gestational diabetes mellitus: preliminary findings of a longitudinal descriptive study [J]. *J Diabetes Metab Disord*, 2020, 19(2): 1447-1452.

[26] Huang TT, Sun WJ, Liu HY, et al. p66Shc-mediated oxidative stress is involved in gestational diabetes mellitus [J]. *World J Diabetes*, 2021, 12(11): 1894-1907.

[27] Khalili M, Alavi M, Esmacil-Jamaat E, et al. Trigonelline mitigates lipopolysaccharide-induced learning and memory impairment in the rat due to its anti-oxidative and anti-inflammatory effect [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 61: 355-362.

[28] Liu L, Du X, Zhang Z, et al. Trigonelline inhibits caspase 3 to protect β cells apoptosis in streptozotocin-induced type 1 diabetic mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 836: 115-121.

[收稿日期] 2022-06-04

(上接第 14 页)

[7] 黄大敏, 曾维德, 罗雪清, 等. 氟化钠亚慢性染毒致大鼠肺毒性机制的初步研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2023, 58(04): 660-664.

[8] Karimi MY, Fatemi I, Kalantari H, et al. Ellagic acid prevents oxidative stress, inflammation, and histopathological alterations in acrylamide-induced hepatotoxicity in Wistar rats [J]. *J Diet Suppl*, 2020, 17(6): 651-662.

[9] 田应宽, 王霞, 周远忠, 等. 慢性锰暴露对大鼠肾脏氧化损伤和 Nrf2 信号通路的影响 [J]. *环境卫生学杂志*, 2022, 12(3): 170-176.

[10] Zhan Y, Guo Z, Zheng F, et al. Reactive oxygen species regulate miR-17-5p expression via DNA methylation in paraquat-induced nerve cell damage [J]. *Environ Toxicol*, 2020, 35(12): 1364-1373.

[11] Chen X, Chen Y, Chen Y, et al. Protective effect of lutein on oxidative stress damage caused by acute PM2.5 exposure in rats [J]. *Ann Palliat Med*, 2020, 9(4): 2028-2036.

[12] 汪晓宇. L-型钙通道在氟致肾脏损伤中的作用及机理的研究 [D]. 浙江师范大学, 2019.

[13] 田晓琳, 杨玲玲, 赵倩, 等. 氟与砷单独及联合暴露对子代大鼠肾脏毒性损伤与细胞自噬的影响 [J]. *癌变. 畸变. 突变*, 2022, 34(3): 169-177.

[14] 张佳勇, 唐乐, 阮琴, 等. 内质网应激在氟暴露致小鼠睾丸损伤中的作用 [J]. *环境科学学报*, 2020, 40(5): 1865-1872.

[15] 田晓琳. 亚慢性砷氟暴露对大鼠心脏毒性的影响及自噬相关基因的表达变化 [D]. 太原: 山西医科大学, 2019.

[收稿日期] 2022-12-07