

柠檬苦素对妊娠期糖尿病大鼠肾脏病变及糖代谢、炎症和氧化应激的影响及机制[△]

曲 娜^{1*}, 张 凯¹, 那丽莎¹, 崔 莹^{2,3#}(1. 牡丹江医科大学附属红旗医院药学部, 黑龙江 牡丹江 157000; 2. 牡丹江医科大学附属红旗医院妇产科, 黑龙江 牡丹江 157000; 3. 牡丹江医科大学第一临床医学院, 黑龙江 牡丹江 157000)

中图分类号 R285; R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)09-1082-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.09.11



摘要 目的 探究柠檬苦素对妊娠期糖尿病大鼠肾脏病变及糖代谢、炎症、氧化应激的影响及可能机制。方法 采用腹腔注射链脲佐菌素法构建妊娠期糖尿病大鼠模型。将妊娠大鼠分为模型组(灌胃并尾静脉注射等体积生理盐水), 柠檬苦素低、中、高剂量组(灌胃 12.5、25.0、50.0 mg/kg 柠檬苦素并尾静脉注射等体积生理盐水), 联合组[灌胃 50.0 mg/kg 柠檬苦素+尾静脉注射 2 mg/kg c-Jun 氨基端激酶(JNK)激活剂 Anisomycin], 每组 12 只; 另取 12 只妊娠大鼠作为对照组(灌胃并尾静脉注射等体积生理盐水); 每天 1 次, 连续 14 d。末次给药后, 检测空腹血糖(FBG)值, 检测血清中空腹胰岛素(FINS)、白细胞介素 1β(IL-1β)、IL-6、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)水平, 检测肾组织中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、血尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)水平, 观察肾组织病理变化, 检测肾组织中 JNK/核因子 κB(NF-κB)信号通路相关蛋白的表达。结果 与对照组比较, 模型组大鼠肾组织出现肾小球萎缩、肾小管上皮细胞水肿等病理损伤; FBG、FINS、IL-1β、IL-6、TNF-α、MDA、BUN、Cr 水平, HOMA-IR 和 JNK、NF-κB p65 蛋白的磷酸化水平均显著升高($P < 0.05$); SOD、GSH-Px 水平均显著降低($P < 0.05$)。与模型组比较, 柠檬苦素各剂量组大鼠肾组织病变程度均减轻, 上述指标均显著改善($P < 0.05$), 且存在明显的量效关系($P < 0.05$)。与柠檬苦素高剂量组比较, 联合组大鼠肾组织病变程度相对加重, 上述指标变化被显著逆转($P < 0.05$)。结论 柠檬苦素对妊娠期糖尿病大鼠肾脏病变及糖代谢、炎症、氧化应激具有一定的改善作用, 其机制可能与抑制 JNK/NF-κB 信号通路有关。

关键词 柠檬苦素; 妊娠期糖尿病; 糖代谢; 炎症; 氧化应激; 肾脏病变; JNK/NF-κB 信号通路

Effects and mechanism of limonin on renal lesion, glucose metabolism, inflammation and oxidative stress in gestational diabetic rats

QU Na¹, ZHANG Kai¹, NA Lisha¹, CUI Ying^{2,3}(1. Dept. of Pharmacy, Hongqi Hospital Affiliated to Mudanjiang Medical University, Heilongjiang Mudanjiang 157000, China; 2. Dept. of Obstetrics and Gynecology, Hongqi Hospital Affiliated to Mudanjiang Medical University, Heilongjiang Mudanjiang 157000, China; 3. First Clinical Medical College, Mudanjiang Medical University, Heilongjiang Mudanjiang 157000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To explore the effects of limonin on renal lesions, glucose metabolism, inflammation, and oxidative stress in gestational diabetic rats and its possible mechanisms. **METHODS** The model of gestational diabetic rats was established by intraperitoneal injection of streptozotocin. The diabetic rats were divided into the model group (intragastrical administration and tail vein injection of equal volume of normal saline), limonin low-, medium-, and high-dose groups (intragastrical administration of limonin, at doses of 12.5, 25.0 and 50.0 mg/kg, and equal volume of normal saline into the tail vein), and combination group [intragastrical administration of limonin 50.0 mg/kg + tail vein injection of c-Jun N-terminal kinase (JNK) activator Anisomycin 2 mg/kg], with 12 rats in each group. In addition, 12 pregnant rats were selected as the control group (intragastrical administration and tail vein injection of equal volume of normal saline). They were given relevant medicine, once a day, for 14 consecutive days. After the last administration, fasting blood glucose (FBG), the levels of fasting insulin (FINS), interleukin-1β (IL-1β), IL-6, and tumor necrosis factor-α (TNF-α) in the serum were detected; the levels of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-Px), blood urea nitrogen (BUN), and creatinine (Cr) in the renal tissue were detected; the pathological changes of renal tissue were observed; the expressions of proteins related to the JNK/nuclear factor-κB (NF-κB) signaling pathway in the renal tissue were detected. **RESULTS** Compared with control group, in model group, the rats showed pathological injuries in the kidney tissue, such as glomerular atrophy, edema of renal tubular epithelial cells; the levels of FBG, FINS, IL-1β, IL-6, TNF-α, MDA, BUN and Cr, HOMA-IR, as well as the phosphorylation levels of JNK and NF-κB p65 proteins were increased significantly ($P < 0.05$), while the levels of SOD and GSH-Px were decreased significantly ($P < 0.05$). Compared with model group, in each dose group of

△基金项目 黑龙江省中医药科研项目(No.ZHY2022-042)

*第一作者 主管药师,硕士。研究方向:临床和基础药学。电话:0453-6602005。E-mail:mcvi45@163.com

#通信作者 副主任医师,博士。研究方向:妇科疾病诊疗及机制。电话:0453-6602036。E-mail:cqnj53@163.com

limonin, the degree of renal tissue lesions in rats was alleviated, and the above-mentioned indicators were significantly improved ($P<0.05$), showing an obvious dose-effect relationship ($P<0.05$). Compared with high-dose limonin group, in the combination group, the degree of renal tissue lesions in rats was relatively aggravated, and the changes in the above-mentioned indicators were significantly reversed ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Limonin has a certain improvement effect on renal lesions, glucose metabolism, inflammation, and oxidative stress in pregnant rats with gestational diabetes. Its mechanism may be related to the inhibition of the JNK/NF- κ B signaling pathway.

KEYWORDS limonin; gestational diabetes; glucose metabolism; inflammation; oxidative stress; renal lesions; JNK/NF- κ B signaling pathway

妊娠期糖尿病是妊娠期常见合并症,其发生主要与肥胖、超重及既往病史有关^[1]。妊娠期糖尿病的发生不仅会增加不良妊娠结局的风险,还会增加产妇晚年患心血管疾病及糖尿病的风险^[2-3]。相关报道显示,炎症、氧化应激等因素在妊娠期糖尿病的病理生理过程中发挥着重要作用^[4]。因此,组织器官中炎症及氧化应激指标的改变,可以作为反映妊娠期糖尿病进展的关键标志。*c-Jun*氨基端激酶(*c-Jun N-terminal kinase*,JNK)和核因子 κ B(*nuclear factor- κ B*,NF- κ B)是细胞内重要的信号传导途径,是炎症相关通路^[5],广泛参与炎症反应、氧化应激等生理病理过程的调控。有研究表明,JNK/NF- κ B信号通路与肝脏胰岛素抵抗相关^[6]。

柠檬苦素是一种具有抗炎、抗氧化、清除自由基等多重功效的三萜类化合物,广泛分布于柑橘类果实中^[7-8]。已有研究发现,柠檬苦素可通过激活蛋白激酶B(protein kinase B)/核转录因子红系2相关因子2(nuclear factor-erythroid 2-related factor 2,Nrf2)信号通路,抑制高糖诱导的髓核细胞凋亡及氧化应激^[9]。但柠檬苦素是否可以通过调控JNK/NF- κ B信号通路,影响妊娠期糖尿病患者的糖代谢、炎症、氧化应激,尚不明确。因此,本研究通过建立妊娠期糖尿病大鼠模型,考察柠檬苦素对模型大鼠肾脏病变及糖代谢、炎症、氧化应激的影响,并探讨其作用机制是否与调控JNK/NF- κ B信号通路有关,为治疗妊娠期糖尿病的新药研发提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有:SpectraMax iD3型酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)、Ti2-E 型光学显微镜(日本 Nikon 公司)、SmartGelTM型凝胶成像系统(美国 ScienceCell 公司)。

1.2 主要药品与试剂

本研究所用主要药品与试剂有:柠檬苦素对照品(上海抚生实业有限公司,批号 A130911,纯度 $\geq 98\%$),JNK 激活剂 Anisomycin 对照品(上海联迈生物工程有限公司,批号 LM0132-10mM,纯度 $\geq 99\%$),空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)、白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)酶联免疫吸附试验

(ELISA)试剂盒(上海烜雅生物科技有限公司,批号分别为 XYR2592A、XYR1619A、XYR1876A、XY-SJH-3864、XYR2920A、XY-SJH-3495、XYR2637A),血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, Cr)ELISA 试剂盒(温州科森生物科技有限公司,批号分别为 KMERa011734、KMEoT011545),JNK、磷酸化 JNK(p-JNK)、NF- κ B p65、磷酸化 NF- κ B p65(p-NF- κ B p65)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)一抗和 IgG 二抗(英国 Abcam 公司,批号分别为 ab88076、ab1640、ab32536、ab239882、ab9485、ab205718)。

1.3 动物

本研究所用动物为健康 SPF 级 SD 大鼠,共 108 只,8~9 周龄,其中雌性 72 只(体重 195~250 g)、雄性 36 只(体重 290~380 g),购自江苏华创信诺医药科技有限公司[实验动物生产许可证号:SCXK(苏)2020-0009;实验动物合格证号:B202408050338]。所有大鼠均饲养于相对湿度(45 \pm 5)%、温度(24 \pm 2)℃、昼夜等长的环境中,饲养期间自由饮水、摄食。本研究已获得牡丹江医科大学附属红旗医院伦理委员会批准(编号:20240076)。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

参考文献[10]建立妊娠期糖尿病大鼠模型:所有大鼠先适应性饲养 1 周,之后雄性大鼠饲喂普通饲料,雌性大鼠饲喂高糖高脂饲料。饲喂 8 周后,将雌雄大鼠按 2:1 的比例进行合笼交配,次日利用显微镜对雌性大鼠阴道涂片进行检查以确认是否受孕,以检出阴道栓为受孕成功标志,记为妊娠第 1 天。妊娠大鼠禁食 12 h 后,以 45 mg/kg 的剂量腹腔注射链脲佐菌素,72 h 后测定空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)值,若 FBG ≥ 16.6 mmol/L 视为造模成功^[10]。

将造模成功的 60 只大鼠按照随机数字表法分为模型组,柠檬苦素低、中、高剂量组和联合组,每组 12 只;另取同期饲喂普通饲料的按上述方法进行交配的 12 只妊娠大鼠作为对照组。柠檬苦素低、中、高剂量组大鼠分别灌胃 12.5、25.0、50.0 mg/kg 柠檬苦素^[11],并尾静脉注射等体积生理盐水;联合组大鼠在灌胃 50.0 mg/kg 柠檬苦素的同时尾静脉注射 2 mg/kg JNK 激活剂 Anisomycin^[12];对照组、模型组大鼠灌胃并尾静脉注射等体积生理盐水;每天 1 次,连续 14 d。

2.2 样本采集及 FBG 测定

末次给药后,大鼠禁食不禁水12 h,随后以戊巴比妥钠麻醉,腹主动脉采血。部分血液用于FBG测定;剩余部分血液经离心分离后制备血清,然后将其置于-20 °C冰箱中保存备用。采血完成后,颈椎脱臼处死大鼠,打开腹腔分离肾组织,将其分为2份(每份包括6只大鼠的样本),置于-80 °C冰箱中保存备用。

2.3 血清中糖代谢、炎症相关指标测定

取冻存的血清样本,常规解冻后,采用ELISA法测定血清中FINS和炎症相关指标(IL-1 β 、IL-6和TNF- α)水平,并计算胰岛素抵抗指数(insulin resistance index,HOMA-IR)。 $HOMA-IR=FBG\times FINS/22.5^{[13]}$ 。具体操作严格按照相应试剂盒说明书执行。

2.4 肾组织中氧化应激、炎症相关指标测定

取冻存的肾组织,制成匀浆液,离心取上清后,采用ELISA法检测肾组织中氧化应激相关指标(SOD、MDA、GSH-Px)和炎症相关指标(BUN、Cr)水平。

2.5 肾组织病理变化观察

采用苏木精-伊红(HE)染色法观察。取冻存的肾组织,常规制备石蜡切片(厚度约4 μm)后,行HE染色,利用显微镜观察大鼠肾组织病理变化。

2.6 肾组织中JNK/NF- κ B信号通路相关蛋白表达检测

采用Western blot法检测。取冻存的肾组织,研磨,加RIPA缓冲液提取组织中总蛋白。采用BCA法对总蛋白进行定量,并经高温变性后,进行10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(电压120 V,电泳时间1 h)分离,然后转至聚偏二氟乙烯膜上,用5%脱脂奶粉封闭。将膜与JNK、p-JNK、NF- κ B p65、p-NF- κ B p65、GAPDH(稀释比例均为1:1 000)一抗在4 °C下孵育过夜;洗膜后,与IgG二抗(稀释比例1:2 000)在室温下孵育1 h。采用化学发光法进行显影,采用Image Lab™图像采集和分析软件对蛋白条带进行定量。以目标蛋白与内参蛋白(GAPDH)条带灰度值的比值表示目标蛋白的相对表达量,以p-JNK与JNK、p-NF- κ B p65与NF- κ B p65的比值表示JNK、NF- κ B p65蛋白的磷酸化水平。

2.7 统计学方法

采用SPSS 25.0软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用SNK-q检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 柠檬苦素对大鼠糖代谢相关指标的影响

与对照组比较,模型组大鼠FBG、FINS水平和HOMA-IR均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,柠檬苦素低、中、高剂量组大鼠FBG、FINS水平和HOMA-IR均显著降低($P<0.05$),且存在明显的量效关系($P<0.05$);与柠檬苦素高剂量组比较,联合组大鼠FBG、FINS水平和HOMA-IR均显著升高($P<0.05$)。结果见表1。

表1 各组大鼠糖代谢相关指标比较($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	FBG/(mmol/L)	FINS/(mIU/L)	HOMA-IR
对照组	5.23±0.61	9.16±1.02	2.34±0.35
模型组	18.63±2.11 ^a	21.05±2.39 ^a	12.36±1.46 ^a
柠檬苦素低剂量组	13.03±1.47 ^b	18.56±2.07 ^b	9.89±1.07 ^b
柠檬苦素中剂量组	9.96±1.04 ^{bc}	15.79±1.73 ^{bc}	8.05±0.96 ^{bc}
柠檬苦素高剂量组	6.57±0.73 ^{bcd}	12.43±1.36 ^{bcd}	6.67±0.79 ^{bcd}
联合组	15.26±1.66 ^c	19.67±2.11 ^c	11.16±1.25 ^c

a:与对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与柠檬苦素低剂量组比较, $P<0.05$;d:与柠檬苦素中剂量组比较, $P<0.05$;e:与柠檬苦素高剂量组比较, $P<0.05$ 。

3.2 柠檬苦素对大鼠血清中炎症相关指标的影响

与对照组比较,模型组大鼠血清中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,柠檬苦素低、中、高剂量组大鼠血清中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平均显著降低($P<0.05$),且存在明显的量效关系($P<0.05$);与柠檬苦素高剂量组比较,联合组大鼠血清中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平均显著升高($P<0.05$)。结果见表2。

表2 各组大鼠血清中炎症相关指标水平比较($\bar{x}\pm s, n=12, \text{mg/kg}$)

组别	IL-1 β	IL-6	TNF- α
对照组	12.36±1.37	9.86±1.27	16.34±1.75
模型组	36.17±3.89 ^a	25.12±2.86 ^a	39.16±4.12 ^a
柠檬苦素低剂量组	30.25±3.21 ^b	21.06±2.34 ^b	32.25±3.51 ^b
柠檬苦素中剂量组	23.69±2.57 ^{bc}	17.35±1.85 ^{bc}	26.38±2.76 ^{bc}
柠檬苦素高剂量组	15.27±1.68 ^{bcd}	12.06±1.36 ^{bcd}	20.55±2.23 ^{bcd}
联合组	32.14±3.35 ^c	23.33±2.51 ^c	35.24±3.71 ^c

a:与对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与柠檬苦素低剂量组比较, $P<0.05$;d:与柠檬苦素中剂量组比较, $P<0.05$;e:与柠檬苦素高剂量组比较, $P<0.05$ 。

3.3 柠檬苦素对大鼠肾组织中氧化应激相关指标的影响

与对照组比较,模型组大鼠肾组织中SOD、GSH-Px水平均显著降低($P<0.05$),MDA水平显著升高($P<0.05$);与模型组比较,柠檬苦素低、中、高剂量组大鼠肾组织中SOD、GSH-Px水平均显著升高($P<0.05$),MDA水平均显著降低($P<0.05$),且存在明显的量效关系($P<0.05$);与柠檬苦素高剂量组比较,联合组大鼠肾组织中SOD、GSH-Px水平均显著降低($P<0.05$),MDA水平显著升高($P<0.05$)。结果见表3。

表3 各组大鼠肾组织中氧化应激相关指标水平比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	SOD/(U/mg)	MDA/(nmol/mg)	GSH-Px/(U/mg)
对照组	22.15±2.57	3.26±0.35	21.06±2.65
模型组	5.07±0.65 ^a	15.67±1.69 ^a	7.23±0.86 ^a
柠檬苦素低剂量组	10.22±1.16 ^b	12.01±1.32 ^b	11.57±1.37 ^b
柠檬苦素中剂量组	15.03±1.72 ^{bc}	8.16±0.94 ^{bc}	14.28±1.65 ^{bc}
柠檬苦素高剂量组	19.75±2.13 ^{bcd}	5.27±0.63 ^{bcd}	19.37±2.11 ^{bcd}
联合组	8.66±0.97 ^c	13.68±1.45 ^c	9.66±1.23 ^c

a:与对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与柠檬苦素低剂量组比较, $P<0.05$;d:与柠檬苦素中剂量组比较, $P<0.05$;e:与柠檬苦素高剂量组比较, $P<0.05$ 。

3.4 柠檬苦素对大鼠肾组织中炎症相关指标的影响

与对照组比较,模型组大鼠肾组织中BUN、Cr水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,柠檬苦素低、中、高剂量组大鼠肾组织中BUN、Cr水平均显著降低($P<0.05$),且存在明显的量效关系($P<0.05$);与柠檬苦素高剂量组比较,联合组大鼠肾组织中BUN、Cr水平均显著升高($P<0.05$)。结果见表4。

表4 各组大鼠肾组织中炎症相关指标水平比较($\bar{x}\pm s, n=6, \text{mmol/L}$)

组别	BUN	Cr
对照组	6.13 ± 0.68	38.16 ± 4.17
模型组	18.56 ± 2.17^a	73.52 ± 8.35^a
柠檬苦素低剂量组	13.29 ± 1.58^b	63.37 ± 6.85^b
柠檬苦素中剂量组	10.31 ± 1.14^c	55.18 ± 5.96^c
柠檬苦素高剂量组	7.28 ± 0.82^{bcd}	44.62 ± 4.91^{bcd}
联合组	15.83 ± 1.77^e	68.73 ± 7.14^e

a:与对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与柠檬苦素低剂量组比较, $P<0.05$;d:与柠檬苦素中剂量组比较, $P<0.05$;e:与柠檬苦素高剂量组比较, $P<0.05$ 。

3.5 柠檬苦素对大鼠肾组织病理变化的影响

对照组大鼠肾小球、肾组织及肾小管上皮细胞均为标准形态;模型组大鼠肾小球萎缩硬化呈花萼裂状,肾小管上皮细胞水肿且沿管走向排列分布不均,核着色深浅不一,可清晰观察到黏液管型;与模型组比较,柠檬苦素低、中、高剂量组大鼠肾组织病变程度逐渐减轻;与柠檬苦素高剂量组比较,联合组大鼠肾组织损伤程度加重。结果见图1。

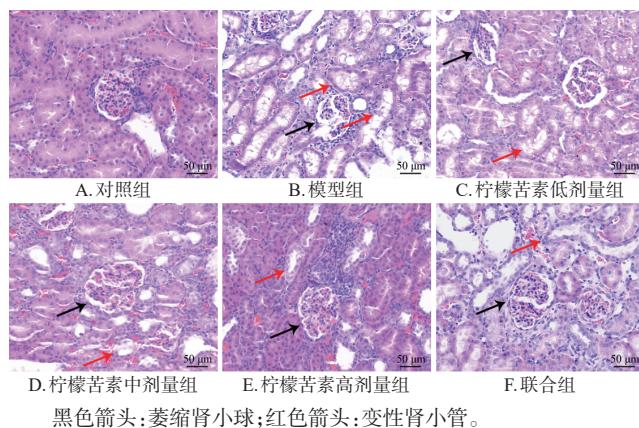
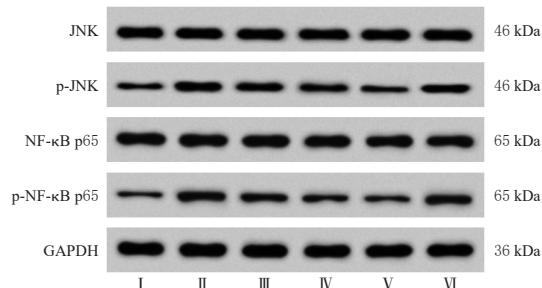


图1 各组大鼠肾组织病理变化显微图(HE染色)

3.6 柠檬苦素对大鼠肾组织中JNK/NF-κB信号通路相关蛋白表达的影响

与对照组比较,模型组大鼠肾组织中JNK、NF-κB p65蛋白的磷酸化水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,柠檬苦素低、中、高剂量组大鼠肾组织中JNK、NF-κB p65蛋白的磷酸化水平均显著降低($P<0.05$),且存在明显的量效关系($P<0.05$);与柠檬苦素高剂量组比较,联合组大鼠肾组织中JNK、NF-κB p65蛋白的磷酸化水平均显著升高($P<0.05$)。结果见图2、表5。



I :对照组; II :模型组; III :柠檬苦素低剂量组; IV :柠檬苦素中剂量组; V :柠檬苦素高剂量组; VI :联合组。

图2 各组大鼠肾组织中JNK/NF-κB信号通路相关蛋白表达检测的电泳图

表5 各组大鼠肾组织中JNK/NF-κB信号通路相关蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	p-JNK/JNK	p-NF-κB p65/NF-κB p65
对照组	0.38 ± 0.04	0.25 ± 0.03
模型组	0.88 ± 0.09^a	0.76 ± 0.09^a
柠檬苦素低剂量组	0.72 ± 0.08^b	0.60 ± 0.07^b
柠檬苦素中剂量组	0.59 ± 0.07^{cd}	0.46 ± 0.06^{cd}
柠檬苦素高剂量组	0.43 ± 0.06^{bcd}	0.31 ± 0.05^{bcd}
联合组	0.78 ± 0.08^e	0.69 ± 0.08^e

a:与对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与柠檬苦素低剂量组比较, $P<0.05$;d:与柠檬苦素中剂量组比较, $P<0.05$;e:与柠檬苦素高剂量组比较, $P<0.05$ 。

4 讨论

妊娠期糖尿病作为一种常见的妊娠并发症,发病机制尚未明确。但已有大量研究数据显示,妊娠期糖尿病患者孕期体内激素变化引发胰岛素抵抗,造成血糖调节失衡;其体内促炎因子大量释放,干扰胰岛素信号传导;且其氧化应激增强造成活性氧增多,进而损伤细胞功能。三者形成恶性循环,导致肾脏等多种组织器官受损^[14]。因此,深入探究柠檬苦素对妊娠期糖尿病大鼠糖代谢、炎症、氧化应激的影响,可为研发相关疾病的治疗药物提供关键理论支撑。

已有报道称,炎症相关指标IL-1β、IL-6、TNF-α被认为是胰岛素抵抗的重要潜在因素^[15]。戴标等^[16]研究发现,栀子苷能够减少促炎因子IL-1β、IL-6、TNF-α的水平,进而减轻糖尿病肾病小鼠的炎症反应。炎症和氧化应激是影响高血糖的两大主要因素,且其与胰岛素抵抗密切相关^[17]。SOD和GSH-Px是机体主要抗氧化酶,可协同清除体内堆积的氧自由基;MDA为氧化应激产物,其水平变化可反映出氧化应激受损情况^[18]。本研究发现,模型组大鼠出现肾小球萎缩、肾小管上皮细胞水肿等现象,FBG、FINS、IL-1β、IL-6、TNF-α、MDA水平及HOMA-IR显著升高,SOD、GSH-Px水平显著降低。该结果表明,模型大鼠糖代谢异常,炎症反应和氧化应激增加,且肾组织受损。经过不同剂量的柠檬苦素干预后,模型大鼠的糖代谢、炎症及氧化应激得到改善,肾组织损伤程度减轻。

研究发现,多种炎症介质可激活JNK,激活后的JNK通过磷酸化促使更多炎症介质的生成和释放,且造

成NF-κB磷酸化发生,进而推动炎症的发展^[19]。Jeong等^[20]研究发现,JNK/NF-κB信号通路的过度激活可加重糖尿病肾病的肾损伤程度。郭相义等^[21]研究发现,健脾益肾方可通过抑制JNK/NF-κB信号通路改善肾功能,抑制炎症反应,进而提高糖尿病肾病的治疗效果。本研究结果显示,模型组大鼠肾组织中JNK、NF-κB p65蛋白的磷酸化水平显著升高,表明妊娠期糖尿病大鼠JNK/NF-κB信号通路被激活。而柠檬苦素干预后,模型大鼠肾组织中JNK、NF-κB p65蛋白的磷酸化水平显著降低,提示柠檬苦素可能会抑制JNK/NF-κB信号通路的激活。进一步将柠檬苦素和JNK激活剂Anisomycin共同干预后发现,上述指标被显著逆转,这证实了柠檬苦素对妊娠期糖尿病大鼠肾脏病变及糖代谢、炎症、氧化应激及肾脏损伤的影响可能是通过抑制JNK/NF-κB信号通路实现的。

综上所述,柠檬苦素对妊娠期糖尿病大鼠肾脏病变及糖代谢、炎症、氧化应激具有一定的改善作用,其机制可能与抑制JNK/NF-κB信号通路有关。但柠檬苦素是否会通过调控其他通路起到同样的效果并不清楚,后续本课题组将开展更加深入的研究继续探讨。

参考文献

- [1] SZMUILOWICZ E D, JOSEFSON J L, METZGER B E. Gestational diabetes mellitus[J]. Endocrinol Metab Clin N Am, 2019, 48(3):479-493.
- [2] LOWE W L Jr, SCHOLTENS D M, KUANG A L, et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcome follow-up study (HAPO FUS) : maternal gestational diabetes mellitus and childhood glucose metabolism[J]. Diabetes Care, 2019, 42(3):372-380.
- [3] VOUNZOULAKI E, KHUNTI K, ABNER S C, et al. Progression to type 2 diabetes in women with a known history of gestational diabetes: systematic review and meta-analysis[J]. BMJ, 2020, 369:m1361.
- [4] JAMILIAN M, MIRHOSSEINI N, ESLAHI M, et al. The effects of magnesium-zinc-calcium-vitamin D co-supplementation on biomarkers of inflammation, oxidative stress and pregnancy outcomes in gestational diabetes[J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2019, 19(1):107.
- [5] YOUSSEF M, IBRAHIM A, AKASHI K, et al. PUFA-plasmalogens attenuate the LPS-induced nitric oxide production by inhibiting the NF-κB, p38 MAPK and JNK pathways in microglial cells[J]. Neuroscience, 2019, 397: 18-30.
- [6] ZHANG H J, GAO X, LI K L, et al. Sandalwood seed oil ameliorates hepatic insulin resistance by regulating the JNK/NF-κB inflammatory and PI3K/AKT insulin signaling pathways[J]. Food Funct, 2021, 12(5):2312-2322.
- [7] GONG Y H, JIANG T, LU F Y, et al. Limonin delays the progression of intervertebral disc degeneration *in vivo* and *in vitro*: the key role of the MAPK/NF-κB and necroptosis pathways[J]. J Pharm Pharmacol, 2023, 75(5):612-624.
- [8] YANG R Y, SONG C Q, CHEN J X, et al. Limonin ameliorates acetaminophen-induced hepatotoxicity by activating Nrf2 antioxidative pathway and inhibiting NF-κB inflammatory response via upregulating Sirt1[J]. Phyto-medicine, 2020, 69:153211.
- [9] 吕权,高金金,杨玉林,等.柠檬苦素通过调节凋亡及氧化应激减轻高糖对髓核细胞的损伤作用[J].宁夏医科大学学报,2024,46(4):325-330,337.
- [10] 王智,崔颖君.石榴皮多酚对妊娠糖尿病大鼠炎症反应及TLR4/NF-κB信号通路的影响[J].中国优生与遗传杂志,2022,30(5):750-754.
- [11] 刘雪,石柳,林晔,等.基于STAT3信号通路研究柠檬苦素对胃癌模型小鼠免疫因子表达的影响[J].中国老年学杂志,2024,44(6):1458-1461.
- [12] GAO X L, WU X M, YAN J J, et al. Transcriptional regulation of stress kinase JNK2 in pro-arrhythmic CaMK II δ expression in the aged atrium[J]. Cardiovasc Res, 2018, 114(5):737-746.
- [13] 杨娜,肖颖,刘静云.茯苓多糖调控SIRT1/FOXO3a通路对妊娠糖尿病大鼠胰岛素抵抗的影响[J].中国优生与遗传杂志,2022,30(8):1371-1375.
- [14] LIANG W J, FENG Y Y, YANG D M, et al. Oral probiotics increased the proportion of Treg, Tfr, and Breg cells to inhibit the inflammatory response and impede gestational diabetes mellitus[J]. Mol Med, 2023, 29(1):122.
- [15] RANCOURT R C, OTT R, ZISKA T, et al. Visceral adipose tissue inflammatory factors (TNF-α, SOCS3) in gestational diabetes (GDM) : epigenetics as a clue in GDM pathophysiology[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(2):479.
- [16] 戴标,施丽丹,谢鸣部,等.梔子苷改善糖尿病肾病小鼠肾功能的作用[J].解剖学研究,2023,45(1):40-45.
- [17] 李振,王毅,韩森吉,等.吴茱萸碱调节cGAS-STING信号通路对妊娠糖尿病大鼠炎症反应的影响[J].医学研究与战创伤救治,2024,37(9):920-925.
- [18] ZHENG F, WANG Y Z, WU Y X, et al. Effect of stabilization malvids anthocyanins on the gut microbiota in mice with oxidative stress[J]. J Food Biochem, 2021, 45(12) : 4892-4902.
- [19] YU T, DONG D, GUAN J, et al. Alprostadol attenuates LPS-induced cardiomyocyte injury by inhibiting the Wnt5a/JNK/NF-κB pathway[J]. Herz, 2020, 45(Suppl. 1) : 130-138.
- [20] JEONG S R, PARK H Y, KIM Y, et al. Methylglyoxal-derived advanced glycation end products induce matrix metalloproteinases through activation of ERK/JNK/NF-κB pathway in kidney proximal epithelial cells[J]. Food Sci Biotechnol, 2019, 29(5):675-682.
- [21] 郭相义,朱妮妮.基于外周血JNK/NF-κB通路研究健脾益肾方治疗糖尿病肾病的疗效及抗炎作用[J].药物生物技术,2022,29(4):393-396.

(收稿日期:2025-02-05 修回日期:2025-03-20)

(编辑:林 静)