

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.01.006

人参皂苷 Rb1 调节 SIRT1/Nrf2 信号通路对妊娠期糖尿病大鼠氧化应激损伤的影响*

贺毅林¹, 伍梅芳¹, 谢杜红¹, 邓娅莉^{2△}

1. 长沙卫生职业学院临床学院, 湖南长沙 410605; 2. 中南大学湘雅二医院妇产科, 湖南长沙 410000

摘要:目的 分析人参皂苷 Rb1 调节沉默信息调节因子 2 相关酶 1(SIRT1)/核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)信号通路对妊娠期糖尿病(GDM)大鼠氧化应激损伤的影响。方法 选取 39 只妊娠 SD 大鼠通过腹腔注射链脲佐菌素诱导制备 GDM 模型, 将造模成功的 36 只大鼠随机分为模型组(腹腔注射 10 mL/kg 生理盐水)、人参皂苷 Rb1 低剂量组(腹腔注射 1.4 mg/mL 的人参皂苷 Rb1 溶液)、人参皂苷 Rb1 高剂量组(腹腔注射 2.8 mg/mL 的人参皂苷 Rb1 溶液)、人参皂苷 Rb1 高剂量+EX-527 组(腹腔注射 2.8 mg/mL 的人参皂苷 Rb1 及 5.0 mg/mL 的 EX-527 混合溶液), 每组 9 只。另取 9 只妊娠 SD 大鼠腹腔注射等剂量柠檬酸盐缓冲液设为对照组。检测各组大鼠血清空腹血糖(FBG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、甘油三酯(TG)水平及母体体质量、胎鼠存活率; 采用原位末端凋亡法染色检测各组大鼠胎盘细胞凋亡率; 检测各组大鼠血清与胎盘组织丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)水平; 采用免疫印迹法检测各组大鼠胎盘组织 SIRT1/Nrf2 信号通路相关蛋白表达水平。结果 与对照组比较, 模型组大鼠血清 FBG、TC、LDL-C 及 TG 水平, 母体体质量, 胎盘细胞凋亡率, 血清与胎盘组织 MDA 水平明显升高($P < 0.05$), 血清 HDL-C 水平, 胎鼠存活率, 血清与胎盘组织 GSH、SOD 及 CAT 水平, 胎盘组织 SIRT、Nrf2 及血红素加氧酶-1(HO-1)蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$); 与模型组比较, 人参皂苷 Rb1 低剂量组、人参皂苷 Rb1 高剂量组大鼠血清 FBG、TC、LDL-C 及 TG 水平, 母体体质量, 胎盘细胞凋亡率, 血清与胎盘组织 MDA 水平均降低($P < 0.05$), 血清 HDL-C 水平, 胎鼠存活率, 血清与胎盘组织 GSH、SOD 及 CAT 水平, 胎盘组织 SIRT、Nrf2 及 HO-1 蛋白表达水平均升高($P < 0.05$)。与人参皂苷 Rb1 低剂量组比较, 人参皂苷 Rb1 高剂量组大鼠血清 FBG、TC、LDL-C 及 TG 水平, 母体体质量, 胎盘细胞凋亡率, 血清与胎盘组织 MDA 水平均降低($P < 0.05$), 血清 HDL-C 水平, 胎鼠存活率, 血清与胎盘组织 GSH、SOD 及 CAT 水平, 胎盘组织 SIRT、Nrf2 及 HO-1 蛋白表达水平均升高($P < 0.05$)。与人参皂苷 Rb1 高剂量组比较, 人参皂苷 Rb1 高剂量+EX-527 组大鼠血清 FBG、TC、LDL-C 及 TG 水平, 母体体质量, 胎盘细胞凋亡率, 血清与胎盘组织 MDA 水平明显升高($P < 0.05$), 血清 HDL-C 水平, 胎鼠存活率, 血清与胎盘组织 GSH、SOD 及 CAT 水平, 胎盘组织 SIRT、Nrf2 及 HO-1 蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$)。结论 高剂量人参皂苷 Rb1 的干预效果优于低剂量人参皂苷 Rb1, 且 EX-527 可减弱高剂量人参皂苷 Rb1 对 GDM 大鼠的干预效果。人参皂苷 Rb1 可能通过激活 SIRT1/Nrf2 信号通路而增强 GDM 大鼠抗氧化功能, 改善其糖脂代谢, 进而抑制胎盘细胞凋亡并改善母体肥胖及不良妊娠结局, 最终减轻其氧化应激损伤。

关键词: 人参皂苷 Rb1; 沉默信息调节因子 2 相关酶 1/核因子 E2 相关因子 2 信号通路; 妊娠期糖尿病; 大鼠; 糖脂代谢; 凋亡; 氧化应激

中图法分类号: R587.1; R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2025)01-0029-08

Effect of ginsenoside Rb1 regulating SIRT1/Nrf2 signaling pathway on oxidative stress injury in gestational diabetes mellitus rats*

HE Yilin¹, WU Meifang¹, XIE Duhong¹, DENG Yali^{2△}

1. Clinical School, Changsha Health Vocational College, Changsha, Hunan 410605, China;

2. Department of Obstetrics and Gynecology, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan 410000, China

Abstract: Objective To investigate the effects of ginsenoside Rb1 regulating silencing information regulator 2 related enzyme 1 (SIRT1)/nuclear factor E2 related factor 2 (Nrf2) signaling pathway on oxidative

* 基金项目: 2022 年度湖南省自然科学基金面上项目(2022JJ30802)。

作者简介: 贺毅林, 女, 副主任医师, 主要从事中西医结合临床及教学方向的研究。△ 通信作者, E-mail: dengyali7767@163.com。

stress injury in rats with gestational diabetes mellitus (GDM). **Methods** A total of 39 pregnant SD rats were selected to induce GDM model by intraperitoneal injection of streptozotocin, and a total of 36 rats with successful modeling were randomly divided into model group (intraperitoneal injection of 10 mL/kg normal saline), low-dose ginsenoside Rb1 group (intraperitoneal injection of 1.4 mg/mL ginsenoside Rb1 solution) and high-dose ginsenoside Rb1 group (intraperitoneal injection of 2.8 mg/mL ginsenoside Rb1 solution), ginsenoside Rb1 high-dose + EX-527 group (intraperitoneally injected 2.8 mg/mL ginsenoside Rb1 and 5.0 mg/mL EX-527 mixed solution), 9 patients in each group. Another 9 pregnant SD rats were intraperitoneally injected with the same dose of citrate buffer as the control group. The levels of serum fasting blood glucose (FBG), total cholesterol (TC), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and triglyceride (TG), maternal body weight and fetal rat survival rate in each group were measured. The ratio of placental cells in each group was detected by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling staining. The levels of malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in serum and placental tissues of rats in each group were measured. The expression of SIRT1/Nrf2 pathway associated protein in placental tissue of rats in each group was detected by immunoblotting. **Results** Compared with control group, the levels of FBG, TC, LDL-C and TG, maternal body weight, placental cell apoptosis ratio, serum and placental tissue MDA levels in model group were significantly increased ($P < 0.05$), serum HDL-C, fetal rat survival rate, serum and placental tissue GSH, SOD and CAT levels, placental tissue SIRT, Nrf2 and heme oxygenase-1 (HO-1) protein expression levels were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with model group, FBG, TC, LDL-C and TG levels, maternal body weight, placental cell apoptosis ratio, serum and placental tissue MDA levels in low-dose ginsenoside Rb1 group and high-dose ginsenoside Rb1 group were decreased ($P < 0.05$), while serum HDL-C, fetal rat survival rate, serum and placental tissue GSH, SOD and CAT levels, placental tissue SIRT, Nrf2 and HO-1 protein expression levels were increased ($P < 0.05$). Compared with low-dose ginsenoside Rb1 group, FBG, TC, LDL-C and TG levels, maternal body weight, placental cell apoptosis ratio, serum and placental tissue MDA levels in high-dose ginsenoside Rb1 group were decreased ($P < 0.05$), and serum HDL-C, fetal rat survival rate, serum and placental tissue GSH, SOD and CAT levels, placental tissue SIRT, Nrf2 and HO-1 protein expression levels were increased ($P < 0.05$). Compared with high-dose ginsenoside Rb1 group, the levels of serum FBG, TC, LDL-C and TG, maternal body weight, placental cell apoptosis ratio, serum and placental tissue MDA levels in ginsenoside Rb1 high-dose + EX-527 group were significantly increased ($P < 0.05$), and serum HDL-C, fetal rat survival rate, serum and placental tissue GSH, SOD and CAT levels, placental tissue SIRT, Nrf2 and HO-1 protein expression levels were significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** The intervention effect of high-dose ginsenoside Rb1 is better than that of low-dose ginsenoside Rb1, and EX-527 can weaken the intervention effect of high-dose ginsenoside Rb1 on GDM rats. Ginsenoside Rb1 may enhance antioxidant function and improve glucose and lipid metabolism of GDM rats by activating SIRT1/Nrf2 signaling pathway, thereby inhibiting placental apoptosis, improving maternal obesity and adverse pregnancy outcomes and finally alleviating oxidative stress injury.

Key words: ginsenoside Rb1; silence information regulatory factor 2-related enzyme 1/nuclear factor E2 related factor 2 signaling pathway; gestational diabetes mellitus; rat; glycolipid metabolism; apoptosis; oxidative stress

妊娠期糖尿病(GDM)是妊娠期间发生的一种糖代谢异常病症,糖脂代谢异常、胎盘功能受损、胰岛素抵抗等是其病理特征,可增加孕妇不良妊娠结局、肥胖和代谢综合征等发生风险,导致新生儿畸形、死亡,对母婴健康造成极大威胁^[1-2]。有研究发现,糖脂代谢紊乱、慢性炎症反应、氧化应激均是导致GDM发生及病情进展的病理因素,其中氧化应激是造成胎

盘细胞损伤的主要原因^[3-4]。沉默信息调节因子2相关酶1(SIRT1)是一种去乙酰化酶,可通过调控核因子E2相关因子2(Nrf2)的表达来介导氧化应激及细胞凋亡等病理过程,上调SIRT1/Nrf2信号通路相关蛋白表达可通过抑制氧化应激增强人牙髓基质细胞成骨能力^[5]。有研究表明,SIRT1和Nrf2表达在GDM患者体内均下调,导致其对氧化应激的防御能

力减弱^[6-7],增强 SIRT1 蛋白表达并诱导 Nrf2 信号通路激活,可通过减轻胎盘炎症和氧化应激来减轻高脂饮食诱导的大鼠胎盘功能障碍,进而改善胎鼠宫内生长迟缓^[8],由此可知,SIRT1/Nrf2 信号通路是预防 GDM 患者氧化应激损伤的潜在作用靶点。人参皂苷 Rb1 是人参中含有的一种天然皂苷化合物,且是其主要起效成分之一,而人参已被证实可广泛应用于糖尿病及其并发症的治疗中,且疗效显著,研究表明人参皂苷 Rb1 可减轻糖尿病大鼠抑郁症状^[9],可通过上调 SIRT1 和 Nrf2 蛋白表达增强抗氧化酶活性并降低脂质过氧化水平,进而通过抑制氧化应激和神经炎症反应而缓解慢性社交失败应激诱导的小鼠抑郁症状^[10]。人参皂苷 Rb1 还可影响卵母细胞的成熟和发育,较低剂量的人参皂苷 Rb1 可明显促进小鼠卵母细胞成熟、体外受精和受精后的早期胚胎发育^[11]。因此,推测人参皂苷 Rb1 可能通过调控 SIRT1/Nrf2 信号通路来治疗 GDM。本研究通过制备 GDM 大鼠模型,分析人参皂苷 Rb1 调节 SIRT1/Nrf2 信号通路对氧化应激损伤的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选取上海昇敞生物科技有限公司[生产许可证号:SCXK(沪)2021-0002]培育的 SD 大鼠(雄性 25 只,体质量为 250~300 g,周龄 7~8 周;雌性 50 只,体质量 210~240 g,周龄 7~8 周)在标准环境条件下(温度 21~26 °C,黑暗和光照各 12 h,湿度 55%~65%)饲养,自由饮水进食,适应性饲养 1 周后用于实验。

1.1.2 主要仪器与试剂 DMi1 倒置显微镜、RM2035 轮转式石蜡切片机购自德国徕卡公司;JC-1086A 酶标分析仪购自青岛聚创环保集团有限公司;BK-200 全自动生化分析仪购自济南童鑫生物科技有限公司;165-8033 垂直电泳套装购自美国伯乐公司。人参皂苷 Rb1(批号:G0777,纯度 \geq 98.00%)购自上海西格玛奥德里奇贸易有限公司;EX-527 抑制剂(批号:M00182,纯度为 99.69%)购自北京百奥莱博科技有限公司;链脲佐菌素(批号:CLS-S0130,纯度为 99.00%)购自上海创赛科技有限公司;丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所有限公司;兔源抗大鼠血红素加氧酶-1(HO-1)、SIRT1、GAPDH 及 Nrf2 一抗、辣根过氧化物酶(HRP)标记驴抗兔二抗均购自英国 Abcam 公司。

1.2 方法

1.2.1 GDM 大鼠模型的制备及分组给药 参照文献^[4]制备 GDM 大鼠模型;将雌性与雄性大鼠以 2:1 的比例合笼交配,过夜后进行阴道灌洗涂片,观察到

精子存在提示大鼠成功怀孕,计为妊娠第 0 天,共获得 48 只孕鼠,取 39 只孕鼠。于妊娠第 8 天尾静脉注射 40 mg/kg 溶于柠檬酸盐缓冲液中的链脲佐菌素,在 48 h 后收集尾静脉血用于检测空腹血糖(FBG),当 FBG $>$ 6.67 mmol/L 时表明 GDM 造模成功,共成功造模 36 只,随机分为模型组、人参皂苷 Rb1 高剂量组、人参皂苷 Rb1 低剂量组、人参皂苷 Rb1 高剂量+EX-527 组,每组 9 只,另取 9 只妊娠 SD 大鼠腹腔注射等剂量柠檬酸盐缓冲液设为对照组。以生理盐水溶解人参皂苷 Rb1 和 EX-527,将人参皂苷 Rb1 配制成 1.4、2.8 mg/mL 的人参皂苷 Rb1 溶液,将 2.8 mg/mL 的人参皂苷 Rb1 及 5.0 mg/mL 的 EX-527 混合备用。于妊娠第 10 天开始分组处理大鼠:给人参皂苷 Rb1 低剂量组、人参皂苷 Rb1 高剂量组大鼠分别腹腔注射 1.4、2.8 mg/mL 的人参皂苷 Rb1 溶液 10 mL^[12],人参皂苷 Rb1 高剂量+EX-527 组大鼠腹腔注射 2.8 mg/mL 的人参皂苷 Rb1 及 5.0 mg/mL 的 EX-527 混合溶液 10 mL^[13],模型组、对照组大鼠均腹腔注射生理盐水 10 mL/kg,各组大鼠均每天处理 1 次,持续至妊娠第 20 天。

1.2.2 测定大鼠母体体质量、糖脂代谢指标、胎鼠存活率并采集标本 于妊娠第 21 天采用乙醚麻醉各组大鼠,测量其体质量后断尾采集尾静脉血 1.0 mL,使用全自动生化分析仪测定各组大鼠血中 FBG、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、甘油三酯(TG)水平;断头处死后立即开腹,取腹主动脉血 1.5 mL,在 4 °C 环境下以 2 000 r/min 离心 10 min,取上层血清并标记组别,置于-80 °C 冰箱中保存备用。纵向切开大鼠腹腔及子宫后取出胎鼠、胎盘,通过观察胎鼠呼吸或自主活动情况判断其是否存活,计数总着床点数(大鼠总胚胎数)和存活胎鼠数(存在呼吸或可自主活动),计算各组大鼠的胎鼠存活率,胎鼠存活率=存活胎鼠数/总胚胎数 \times 100%。取 0.6 g 胎盘组织剪碎后放入 RA-PI 裂解液内,高速研磨匀浆后,置于 4 °C 环境中以 3 000 r/min 离心 20 min,取上清液,获得各组大鼠胎盘组织样品液,采用二喹啉甲酸(BCA)法测出其中总蛋白浓度并进行分组标记,然后保存在-80 °C 冰箱中备用。剩余胎盘组织以蒸馏水清洗,10%甲醛固定,30%蔗糖脱水,热石蜡包埋,于轮转式石蜡切片机中进行连续切片,获得厚 5 μ m 的石蜡组织并切片备用。

1.2.3 原位末端凋亡法(TUNEL)染色检测 各组大鼠胎盘细胞凋亡情况 取出 1.2.2 中的胎盘石蜡组织切片浸入二甲苯中脱蜡,再分别用 95%、85%、75% 的乙醇溶液水化后进行 TUNEL 染色,具体染色步骤遵照苏木精-伊红(HE)染色试剂盒说明书进行,然后以 80%、85%、95% 及 100% 乙醇溶液脱水,二甲苯透

明,中性树脂封片,在显微镜下观察并拍照,以 Image J 软件定量各组图像中胎盘组织凋亡细胞(染为棕色)数与总细胞数,计算各组胎盘细胞凋亡率,胎盘细胞凋亡率=凋亡细胞数/总细胞数 \times 100%。

1.2.4 测定各组大鼠血清与胎盘组织 MDA、GSH、SOD、CAT 水平 将 1.2.2 中的各组大鼠胎盘组织样品液与血清取出后在 4℃ 冰箱中缓慢解冻,每组取出 400 μ L 胎盘组织样品液与 400 μ L 血清,采用相应的测定试剂盒分别测定其 MDA、GSH、SOD、CAT 水平。

1.2.5 大鼠胎盘组织 SIRT1/Nrf2 信号通路相关蛋白表达 采用免疫印迹法检测大鼠胎盘组织 SIRT1/Nrf2 信号通路蛋白表达水平。取出 1.2.4 中剩余的各组胎盘组织样品液,在沸水浴内变性其中的蛋白,每组取出 20 μ g 蛋白样品,进行电泳使其在分离胶中按相对分子质量大小分散开,然后进行湿转,将其自分离胶中移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,在 5% 的脱脂奶粉溶液中封闭膜上蛋白,从膜上裁下 Nrf2、SIRT、 β -actin 及 HO-1 蛋白条带,分别以相对应的一抗和二抗进行孵育,采用化学发光试剂使各组蛋白显色后拍照,运用 Quantity One 软件定量图像中各组 Nrf2、SIRT、 β -actin 及 HO-1 蛋白灰度值后,以 β -actin 为标准量化各组 Nrf2、SIRT 及 HO-1 蛋白相对表达水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS26.0 统计软件分析数据。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,多组内两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组 GDM 大鼠糖脂代谢指标比较 模型组大鼠血清 FBG、TC、LDL-C、TG 水平高于对照组($P < 0.05$),HDL-C 水平低于对照组($P < 0.05$);人参皂苷 Rb1 低剂量组、人参皂苷 Rb1 高剂量组大鼠血清 HDL-C 水平高于模型组($P < 0.05$),FBG、TC、LDL-C、TG 水平低于模型组($P < 0.05$);人参皂苷 Rb1 高剂量组血清 HDL-C 水平高于人参皂苷 Rb1 低剂量组($P < 0.05$),FBG、TC、LDL-C、TG 水平低于人参皂苷 Rb1 低剂量组($P < 0.05$);人参皂苷 Rb1 高剂量+EX-527 组大鼠血清 HDL-C 水平低于人参皂苷 Rb1 高剂量组($P < 0.05$),FBG、TC、LDL-C、TG 水平高于人参皂苷 Rb1 高剂量组($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 各组 GDM 大鼠母体体质量、胎鼠存活率比较 模型组胎鼠存活率低于对照组($P < 0.05$),母体体质量高于对照组($P < 0.05$);人参皂苷 Rb1 低剂量组、人参皂苷 Rb1 高剂量组胎鼠存活率高于模型组($P < 0.05$),母体体质量低于模型组($P < 0.05$);人参皂苷 Rb1 高剂量组胎鼠存活率高于人参皂苷 Rb1 低剂量组($P < 0.05$),母体体质量低于人参皂苷 Rb1 低剂量组($P < 0.05$);人参皂苷 Rb1 高剂量+EX-527 组胎鼠存活率低于人参皂苷 Rb1 高剂量组($P < 0.05$),母体体质量高于人参皂苷 Rb1 高剂量组($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 各组 GDM 大鼠糖脂代谢指标比较($\bar{x} \pm s$, mmol/L, $n=9$)

组别	FBG	TC	HDL-C	LDL-C	TG
对照组	4.87 \pm 1.41	1.23 \pm 0.19	2.91 \pm 0.30	0.87 \pm 0.16	0.61 \pm 0.10
模型组	19.36 \pm 2.10 ^a	4.49 \pm 0.45 ^a	1.28 \pm 0.13 ^a	2.46 \pm 0.32 ^a	1.59 \pm 0.17 ^a
人参皂苷 Rb1 低剂量组	12.19 \pm 1.84 ^b	2.87 \pm 0.30 ^b	2.01 \pm 0.14 ^b	1.69 \pm 0.20 ^b	1.13 \pm 0.13 ^b
人参皂苷 Rb1 高剂量组	5.42 \pm 1.43 ^{bc}	1.42 \pm 0.21 ^{bc}	2.84 \pm 0.16 ^{bc}	0.98 \pm 0.15 ^{bc}	0.68 \pm 0.11 ^{bc}
人参皂苷 Rb1 高剂量+EX-527 组	17.21 \pm 1.97 ^d	4.26 \pm 0.34 ^d	1.34 \pm 0.18 ^d	2.29 \pm 0.24 ^d	1.51 \pm 0.14 ^d
<i>F</i>	125.539	215.354	149.934	96.325	106.138
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与人参皂苷 Rb1 低剂量组比较,^c $P < 0.05$;与人参皂苷 Rb1 高剂量组比较,^d $P < 0.05$ 。

2.3 各组 GDM 大鼠胎盘细胞凋亡率比较 对照组[(10.86 \pm 1.62)%]、模型组[(35.41 \pm 2.80)%]、人参皂苷 Rb1 低剂量组[(23.93 \pm 2.13)%]、人参皂苷 Rb1 高剂量组[(12.32 \pm 1.76)%]、人参皂苷 Rb1 高剂量+EX-527 组[(33.29 \pm 2.57)%]GDM 大鼠胎盘细胞凋亡率比较,差异均有统计学意义($F=237.747$, $P < 0.001$)。模型组大鼠胎盘细胞凋亡率高于对照组($P < 0.05$);人参皂苷 Rb1 低剂量组、人参皂苷 Rb1

高剂量组大鼠胎盘细胞凋亡率低于模型组($P < 0.05$);人参皂苷 Rb1 高剂量组胎盘细胞凋亡率低于人参皂苷 Rb1 低剂量组($P < 0.05$);人参皂苷 Rb1 高剂量+EX-527 组大鼠胎盘细胞凋亡率高于人参皂苷 Rb1 高剂量组($P < 0.05$)。见图 1。

2.4 各组 GDM 大鼠血清氧化应激因子水平比较 模型组大鼠血清 MDA 水平高于对照组($P < 0.05$),GSH、SOD、CAT 水平低于对照组($P <$

0.05); 人参皂苷 Rb1 低剂量组、人参皂苷 Rb1 高剂量组大鼠血清 GSH、SOD、CAT 水平高于模型组 ($P < 0.05$), MDA 水平低于模型组 ($P < 0.05$); 人参皂苷 Rb1 高剂量血清 MDA 水平低于人参皂苷 Rb1 低剂量组 ($P < 0.05$), GSH、SOD、CAT 水平高于人参皂苷 Rb1 低剂量组 ($P < 0.05$); 人参皂苷 Rb1 高剂量 + EX-527 组大鼠血清 GSH、SOD、CAT 水平低于人参皂苷 Rb1 高剂量组 ($P < 0.05$), MDA 水平高于人参皂苷 Rb1 高剂量组 ($P < 0.05$)。见表 3。

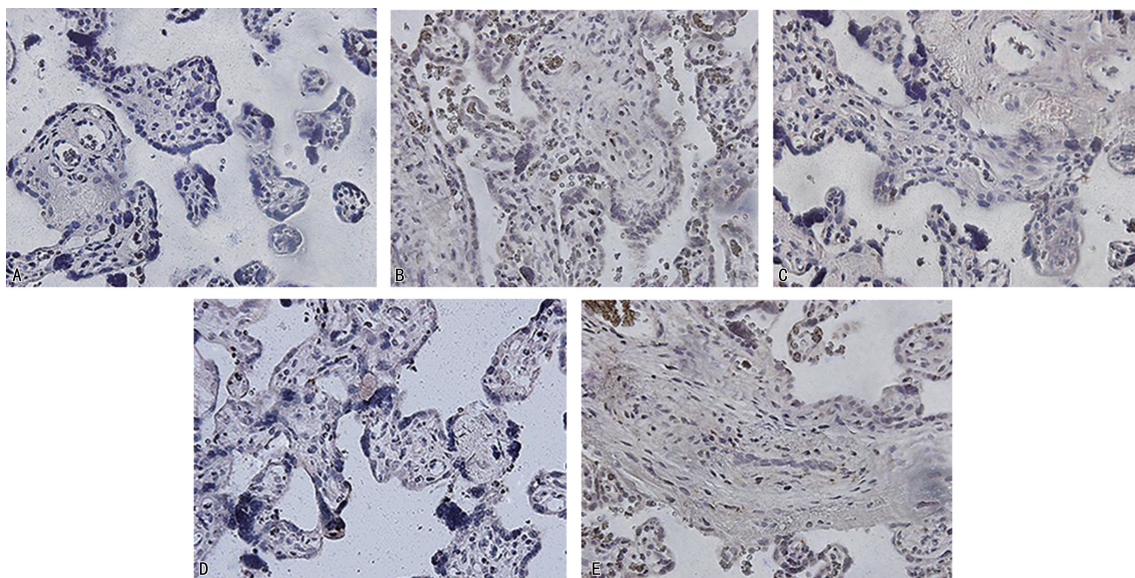
2.5 各组 GDM 大鼠胎盘组织氧化应激因子水平比较 模型组大鼠胎盘组织 GSH、SOD、CAT 水平低于对照组 ($P < 0.05$), MDA 水平高于对照组 ($P < 0.05$); 人参皂苷 Rb1 低剂量组、人参皂苷 Rb1 高剂量组大鼠胎盘组织 MDA 水平低于模型组 ($P < 0.05$), GSH、SOD、CAT 水平高于模型组 ($P < 0.05$); 人参皂苷 Rb1 高剂量组胎盘组织 GSH、SOD、CAT 水平高于人参皂苷 Rb1 低剂量组 ($P < 0.05$), MDA 水平低于人参皂苷 Rb1 低剂量组 ($P < 0.05$);

人参皂苷 Rb1 高剂量 + EX-527 组大鼠胎盘组织 GSH、SOD、CAT 水平低于人参皂苷 Rb1 高剂量组 ($P < 0.05$), MDA 水平高于人参皂苷 Rb1 高剂量组 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 2 各组 GDM 大鼠母体质量、胎鼠存活率比较 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

组别	母体质量 (g)	胎鼠存活率 (%)
对照组	298.76 ± 5.28	98.76 ± 1.13
模型组	361.42 ± 9.13 ^a	69.14 ± 2.05 ^a
人参皂苷 Rb1 低剂量组	335.19 ± 7.61 ^b	81.96 ± 2.14 ^b
人参皂苷 Rb1 高剂量组	305.12 ± 6.12 ^{bc}	94.52 ± 1.56 ^{bc}
人参皂苷 Rb1 高剂量 + EX-527 组	354.20 ± 8.74 ^d	71.28 ± 2.16 ^d
F	126.829	466.531
P	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与人参皂苷 Rb1 低剂量组比较,^c $P < 0.05$;与人参皂苷 Rb1 高剂量组比较,^d $P < 0.05$ 。



注:A 为对照组;B 为模型组;C 为人参皂苷 Rb1 低剂量组;D 为人参皂苷 Rb1 高剂量组;E 为人参皂苷 Rb1 高剂量 + EX-527 组。

图 1 各组 GDM 大鼠胎盘细胞的染色结果 (TUNEL 染色, 200 ×)

表 3 各组 GDM 大鼠血清氧化应激因子水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

组别	MDA (nmol/L)	GSH (U/L)	SOD (U/L)	CAT (U/L)
对照组	2.62 ± 0.19	67.24 ± 5.30	94.81 ± 7.18	40.64 ± 4.17
模型组	5.09 ± 0.35 ^a	39.16 ± 3.48 ^a	58.45 ± 4.76 ^a	19.53 ± 2.62 ^a
人参皂苷 Rb1 低剂量组	3.87 ± 0.26 ^b	52.83 ± 4.12 ^b	74.13 ± 5.22 ^b	28.41 ± 3.10 ^b
人参皂苷 Rb1 高剂量组	2.75 ± 0.20 ^{bc}	64.91 ± 4.95 ^{bc}	89.74 ± 6.34 ^{bc}	37.87 ± 3.93 ^{bc}
人参皂苷 Rb1 高剂量 + EX-527 组	4.92 ± 0.31 ^d	42.27 ± 3.63 ^d	61.27 ± 5.05 ^d	21.03 ± 2.71 ^d
F	167.859	77.203	72.051	72.777
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与人参皂苷 Rb1 低剂量组比较,^c $P < 0.05$;与人参皂苷 Rb1 高剂量组比较,^d $P < 0.05$ 。

2.6 各组 GDM 大鼠胎盘组织 SIRT1/Nrf2 信号通路相关蛋白表达水平比较 模型组大鼠胎盘组织 SIRT、Nrf2、HO-1 蛋白表达水平低于对照组 ($P < 0.05$); 人参皂苷 Rb1 低剂量组、人参皂苷 Rb1 高剂量组大鼠胎盘组织 SIRT、Nrf2、HO-1 蛋白表达水平

高于模型组 ($P < 0.05$), 且人参皂苷 Rb1 高剂量组高于人参皂苷 Rb1 低剂量组 ($P < 0.05$); 人参皂苷 Rb1 高剂量+EX-527 组大鼠胎盘组织 SIRT、Nrf2、HO-1 蛋白表达水平低于人参皂苷 Rb1 高剂量组 ($P < 0.05$)。见表 5、图 2。

表 4 各组 GDM 大鼠胎盘组织氧化应激因子水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=9$)

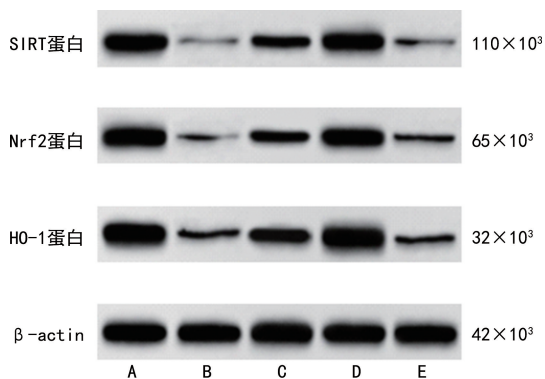
组别	MDA(nmol/mg)	GSH(U/mg)	SOD(U/mg)	CAT(U/mg)
对照组	1.58±0.14	36.25±3.14	51.38±5.11	22.13±2.98
模型组	3.46±0.30 ^a	20.12±1.63 ^a	27.69±3.53 ^a	8.72±1.35 ^a
人参皂苷 Rb1 低剂量组	2.59±0.24 ^b	26.89±2.10 ^b	38.10±4.08 ^b	14.15±1.96 ^b
人参皂苷 Rb1 高剂量组	1.69±0.15 ^{bc}	34.19±2.84 ^{bc}	48.76±4.67 ^{bc}	19.97±2.45 ^{bc}
人参皂苷 Rb1 高剂量+EX-527 组	3.34±0.28 ^d	21.68±1.70 ^d	29.73±3.60 ^d	10.02±1.52 ^d
F	131.453	84.528	57.894	69.151
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与人参皂苷 Rb1 低剂量组比较,^c $P < 0.05$;与人参皂苷 Rb1 高剂量组比较,^d $P < 0.05$ 。

表 5 各组 GDM 大鼠胎盘组织 SIRT1/Nrf2 信号通路相关蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	SIRT1 蛋白	Nrf2 蛋白	HO-1 蛋白
对照组	0.97±0.12	1.08±0.13	1.16±0.15
模型组	0.14±0.04 ^a	0.17±0.05 ^a	0.20±0.06 ^a
人参皂苷 Rb1 低剂量组	0.52±0.07 ^b	0.59±0.08 ^b	0.65±0.10 ^b
人参皂苷 Rb1 高剂量组	0.93±0.09 ^{bc}	1.04±0.11 ^{bc}	1.12±0.14 ^{bc}
人参皂苷 Rb1 高剂量+EX-527 组	0.16±0.05 ^d	0.19±0.06 ^d	0.22±0.07 ^d
F	229.186	210.394	160.842
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与人参皂苷 Rb1 低剂量组比较,^c $P < 0.05$;与人参皂苷 Rb1 高剂量组比较,^d $P < 0.05$ 。



注:A 为对照组;B 为模型组;C 为人参皂苷 Rb1 低剂量组;D 为人参皂苷 Rb1 高剂量组;E 为人参皂苷 Rb1 高剂量+EX-527 组。

图 2 各组 GDM 大鼠胎盘组织 SIRT1/Nrf2 信号通路相关蛋白表达

3 讨论

近年来随着二孩政策的放开和生育年龄的增长,我国 GDM 发生率不断升高,GDM 已成为引发不良妊娠结局的主要妊娠期并发症之一。目前 GDM 主要

的临床治疗手段以控制饮食、口服降糖药、运动及注射胰岛素等对症治疗为主,虽可有效降低血糖水平,但长期应用可能对母婴造成一定危害^[14-15]。因此,寻求一种治疗 GDM 安全有效的新型药物是亟待解决的临床问题之一。中医药在防治糖尿病及相关并发症方面有着丰富的经验,人参作为一种应用广泛的名贵中药材,可用于糖尿病及其多种并发症的治疗。人参皂苷 Rb1 是提取自人参的一种活性成分,可起到明显的抗炎症、抗凋亡、抗氧化、降低血糖等药理作用,能明显改善糖尿病大鼠葡萄糖代谢和胰岛素抵抗,进而减轻其抑郁症状^[9],还可通过抑制氧化应激和炎症反应而减轻糖尿病大鼠内皮细胞损伤及主动脉粥样硬化斑块形成^[16],由此推测人参皂苷 Rb1 可能通过其抗氧化作用防治 GDM。

GDM 发生时,患者糖脂代谢紊乱导致血糖、血脂水平升高,不仅引发母体肥胖,还会引起胎盘细胞损伤、凋亡,进而造成胎儿缺氧、发育受损,最终导致不良妊娠结局。本研究采用向妊娠大鼠腹腔内注射链

豚佐菌素的方法制备 GDM 模型,结果显示,与对照组比较,模型组大鼠血清 TC、LDL-C、TG 水平及母体体质量高于对照组($P < 0.05$),HDL-C 水平及胎鼠存活率低于对照组($P < 0.05$),表明 GDM 模型制备成功。本研究结果显示,与模型组比较,人参皂苷 Rb1 低剂量组、人参皂苷 Rb1 高剂量组大鼠血清 FBG、TC、LDL-C 及 TG 水平及母体体质量均降低($P < 0.05$),血清 HDL-C 水平及胎鼠存活率均升高($P < 0.05$),提示以人参皂苷 Rb1 处理可明显减轻 GDM 大鼠上述病理变化,表明人参皂苷 Rb1 可改善 GDM 大鼠糖脂代谢并提升胎鼠存活率,揭示人参皂苷 Rb1 可明显改善 GDM 大鼠肥胖症状及不良妊娠结局。GDM 发病机制复杂,其中高糖诱发的活性氧过量产生及机体抗氧化功能受损可造成胎盘受损,是 GDM 发生的主要病理机制之一^[17-18]。MDA 是脂类发生过氧化的产物之一,GSH、SOD、CAT 是广泛存在机体内的抗氧化酶,其水平高低可反映机体内氧化应激水平^[19]。本研究结果显示,与对照组比较,模型组 GDM 大鼠血清与胎盘组织 MDA 水平升高,GSH、SOD 及 CAT 水平降低,其体内氧化应激指标明显异常,且胎盘细胞死亡率高于对照组,提示 GDM 发生时妊娠大鼠大量胎盘细胞凋亡。另外本研究结果显示,与模型组比较,人参皂苷 Rb1 低剂量组、人参皂苷 Rb1 高剂量组胎盘细胞死亡率降低($P < 0.05$),血清与胎盘组织 GSH、SOD 及 CAT 水平均升高($P < 0.05$),提示注射人参皂苷 Rb1 可明显减轻 GDM 大鼠上述病理变化,表明人参皂苷 Rb1 可抑制 GDM 大鼠胎盘细胞凋亡并减轻其氧化应激损伤,揭示人参皂苷 Rb1 可通过抑制氧化应激改善 GDM 大鼠不良妊娠结局,保护胎鼠正常发育并促使其存活。

SIRT1/Nrf2 信号通路可调控活性氧产生、抗氧化酶活性、凋亡信号通路传导等过程,进而通过调控氧化应激反应在 GDM 发病机制中起到关键作用^[6-7],上调 SIRT1 表达可促进人胎盘滋养层细胞生长、侵袭和迁移^[20-22],激活 Nrf2/HO-1 信号通路可明显抑制 GDM 小鼠体内氧化应激反应,提高其抗氧化酶活性,进而改善其生殖结果^[19],JIANG 等^[10]研究表明,人参皂苷 Rb1 可促进 SIRT1 和 Nrf2 蛋白表达并减轻抑郁小鼠氧化应激和神经炎症反应,因此推测 SIRT1/Nrf2 信号通路可能是人参皂苷 Rb1 改善 GDM 大鼠症状的作用靶点。本研究结果显示,模型组大鼠胎盘组织 SIRT、Nrf2 及 HO-1 蛋白表达水平低于对照组($P < 0.05$),与模型组比较,人参皂苷 Rb1 低剂量组、人参皂苷 Rb1 高剂量组大鼠胎盘组织 SIRT、Nrf2 及 HO-1 蛋白表达水平均升高($P < 0.05$),提示注射人参皂苷 Rb1 可逆转上述蛋白表达变化趋势,表明 SIRT1/Nrf2 信号通路参与介导人参

皂苷 Rb1 对 GDM 大鼠氧化应激损伤的缓解作用;本研究结果显示,与人参皂苷 Rb1 高剂量组比较,人参皂苷 Rb1 高剂量 + EX-527 组大鼠血清 FBG、TC、LDL-C 及 TG 水平,母体体质量,胎盘细胞凋亡率,血清与胎盘组织 MDA 水平明显升高($P < 0.05$),血清 HDL-C 水平,胎鼠存活率,血清与胎盘组织 GSH、SOD 及 CAT 水平,胎盘组织 SIRT、Nrf2 及 HO-1 蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$),表明人参皂苷 Rb1 与 SIRT1 抑制剂 EX-527 联合处理,可减弱人参皂苷 Rb1 单独处理对 GDM 大鼠氧化应激的抑制作用,削弱其抑制 GDM 大鼠胎盘细胞凋亡的作用,拮抗其对 GDM 大鼠母体肥胖及不良妊娠结局的改善作用。因此,推测人参皂苷 Rb1 减轻 GDM 大鼠氧化应激损伤是通过抑制 SIRT1 信号通路激活实现的。

综上所述,人参皂苷 Rb1 可上调 SIRT、Nrf2 及 HO-1 蛋白表达,进而增强 GDM 大鼠抗氧化能力并减弱其脂质过氧化反应,降低大鼠体内及胎盘组织氧化应激水平,抑制胎盘细胞凋亡,改善大鼠不良妊娠结局,刺激 SIRT1/Nrf2 信号通路激活可能是人参皂苷 Rb1 抑制 GDM 大鼠氧化应激损伤的药理机制之一。本研究为 GDM 的临床防治提供了一定的思路,为人参皂苷 Rb1 应用于 GDM 的临床防治提供了新的理论依据,并为其在临床中的应用提供了一定的研究基础,但氧化应激损伤的形成机制较复杂,人参皂苷 Rb1 调节 SIRT1/Nrf2 信号通路的作用机制仍需进一步深入研究,人参皂苷 Rb1 增强 GDM 大鼠抗氧化能力可能还涉及其他信号通路,有待后续实验进行分析。

参考文献

- [1] WICKLOW B, RETNAKARAN R. Gestational diabetes mellitus and its implications across the life span[J]. *Diabetes Metab J*, 2023, 47(3): 333-344.
- [2] WANG Y, PAN X F, PAN A. Lipidomics in gestational diabetes mellitus[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2023, 34(1): 1-11.
- [3] SAUCEDO R, ORTEGA C C, FERREIRA H A, et al. Role of oxidative stress and inflammation in gestational diabetes mellitus[J]. *Antioxidants*, 2023, 12(10): 1812.
- [4] 郑艳丽, 胡海燕, 李芬霞, 等. 石榴皮多酚对妊娠期糖尿病大鼠胰岛素抵抗及氧化应激损伤的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2023, 23(13): 2424-2428.
- [5] ZHANG J Y, LI R, MAN K, et al. Enhancing osteogenic potential of hDPSCs by resveratrol through reducing oxidative stress via the SIRT1/Nrf2 pathway[J]. *Pharm Biol*, 2022, 60(1): 501-508.
- [6] ULUBASOGLU H, HANCERLIOGULLARI N, TOKMAK A, et al. Low sirtuin-1 levels are associated with gestational diabetes mellitus[J]. *Minerva Endocrinol (Torino)*, 2023, 48

- (3):282-287.
- [7] YIN X X, NIE J, NIE X Q, et al. The relationship between nuclear factor-erythrocyte-related factor 2 and antioxidant enzymes in the placenta of patients with gestational diabetes and the metabolism of umbilical cord endothelial cells [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2022, 68(12): 97-103.
- [8] ZHANG H Q, ZHANG X Y, WANG Y T, et al. Dietary folic acid supplementation attenuates maternal high-fat diet-induced fetal intrauterine growth retarded via ameliorating placental inflammation and oxidative stress in rats [J]. *Nutrients*, 2023, 15(14): 3263.
- [9] ZHANG J H, YANG H Z, SU H, et al. Berberine and ginsenoside Rb1 ameliorate depression-like behavior in diabetic rats [J]. *Am J Chin Med*, 2021, 49(5): 1195-1213.
- [10] JIANG N, ZHANG Y, YAO C, et al. Ginsenosides Rb1 attenuates chronic social defeat stress-induced depressive behavior via regulation of SIRT1-NLRP3/Nrf2 pathways [J]. *Front Nutr*, 2022, 9(5): 868833.
- [11] HUANG C H, WANG F T, CHAN W H. Dosage-related beneficial and deleterious effects of ginsenoside Rb1 on mouse oocyte maturation and fertilization and fetal development [J]. *Environ Toxicol*, 2019, 34(9): 1001-1012.
- [12] LI H S, KUANG J Y, LIU G J, et al. Myostatin is involved in ginsenoside Rb1-mediated anti-obesity [J]. *Pharm Biol*, 2022, 60(1): 1106-1115.
- [13] SIVAKUMAR K K, STANLEY J A, BEHLEN J C, et al. Inhibition of sirtuin-1 hyperacetylates p53 and abrogates sirtuin-1-p53 interaction in Cr(VI)-induced apoptosis in the ovary [J]. *Reprod Toxicol*, 2022, 109(2): 121-134.
- [14] RETNAKARAN R, YE C, HANLEY A J, et al. Treatment of gestational diabetes mellitus and maternal risk of diabetes after pregnancy [J]. *Diabetes Care*, 2023, 46(3): 587-592.
- [15] SIMMONS D, IMMANUEL J, HAGUE W M, et al. Treatment of gestational diabetes mellitus diagnosed early in pregnancy [J]. *N Engl J Med*, 2023, 388(23): 2132-2144.
- [16] WANG Z C, NIU K M, WU Y J, et al. A dual keap1 and p47phox inhibitor ginsenoside Rb1 ameliorates high glucose/ox-LDL-induced endothelial cell injury and atherosclerosis [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(9): 824.
- [17] JIMÉNEZ O A, CARREÓN T E, CORREA S E, et al. Inflammation and oxidative stress induced by obesity, gestational diabetes, and preeclampsia in pregnancy: role of high-density lipoproteins as vectors for bioactive compounds [J]. *Antioxidants*, 2023, 12(10): 1894.
- [18] 于飞, 迟言邦, 孙静莉. 孕前体质指数和体重增加量与糖尿病的发病风险相关性 [J]. *锦州医科大学学报*, 2022, 43(3): 40-44.
- [19] HOU X Z, ZHANG J F, MA H H, et al. Hypoxia-reoxygenation treatment attenuates gestational diabetes mellitus [J]. *Endocr Connect*, 2021, 10(1): 84-91.
- [20] ZHANG Q Y, YE X, XU X, et al. Placenta-derived exosomal miR-135a-5p promotes gestational diabetes mellitus pathogenesis by activating PI3K/AKT signalling pathway via SIRT1 [J]. *J Cell Mol Med*, 2023, 27(23): 3729-3743.
- [21] WATROBA M, SZEWCZYK G, SZUKIEWICZ D. The role of sirtuin-1 (SIRT1) in the physiology and pathophysiology of the human placenta [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(22): 16210.
- [22] LIU H, WANG J, YUE G, et al. Placenta-derived mesenchymal stem cells protect against diabetic kidney disease by upregulating autophagy-mediated SIRT1/FOXO1 pathway [J]. *Ren Fail*, 2024, 46(1): 2303396.

(收稿日期:2024-03-25 修回日期:2024-09-16)

(上接第 28 页)

- catenin 信号通路探讨太白榉木抗去卵巢大鼠骨质疏松症的作用和机制 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2022, 28(5): 648-652.
- [14] 王健, 张驰. 基于 Wnt/ β -连环素通路探讨补骨脂素对骨质疏松症大鼠的影响 [J]. *世界中医药*, 2022, 17(12): 1697-1702.
- [15] 冷明昊, 张卫华, 陈东, 等. 红曲通过激活腺苷酸活化蛋白激酶上调骨形态发生蛋白 2 表达对去卵巢大鼠骨质疏松症的改善作用 [J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2021, 29(3): 7-11.
- [16] 王勤俭, 张睿昕. 益肾补骨汤对骨质疏松症大鼠骨形成和一氧化氮-环磷酸鸟苷信号通路的影响 [J]. *中国医院用药评价与分析*, 2023, 23(1): 21-26.
- [17] 金颖慧, 闫国强, 张倩, 等. 坚骨胶囊调控 Wnt/ β -联蛋白信号通路对骨质疏松症模型大鼠的作用及机制 [J]. *中国药业*, 2023, 32(7): 56-60.
- [18] 马运锋, 韩小飞. 丹参多酚酸酯调控 SMAD2/FKBP1A/NF- κ B 轴对骨质疏松症大鼠破骨细胞分化和骨吸收的影响 [J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2022, 48(1): 111-121.
- [19] 孔令岩, 郝帅, 柴仪, 等. 强骨健脾汤对老年性骨质疏松症大鼠骨密度、骨微结构的影响及其机制 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2022, 31(21): 2951-2955.
- [20] 吕文学, 蔡余力. 益肾健脾方对去卵巢骨质疏松症大鼠 Wnt/ β -catenin 信号通路的调节研究 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2021, 27(8): 1266-1269.
- [21] 王雨榕, 邓强, 李中锋, 等. 温肾强骨丸对脾肾虚型骨质疏松症大鼠骨密度、骨生物力学的影响 [J]. *中成药*, 2021, 43(10): 2851-2853.
- [22] 秧荣昆, 关智宇. 基于肾主骨理论探讨杜仲通过调控 OPG/RANKL/RANK 通路对去势骨质疏松大鼠的影响 [J]. *中成药*, 2023, 45(1): 70-74.

(收稿日期:2024-04-11 修回日期:2024-09-08)