木犀草素对妊娠糖尿病大鼠胎盘功能障碍的改善作用及机制Δ

胡殿鹏[1*]，张　举[2]，侯奕忻[1]，程　琳[1]，卢佳璐[1]（1.南阳医学高等专科学校基础医学部，河南 南阳　473000；2.南阳医学高等专科学校第一附属医院产科，河南 南阳　473000）

中图分类号　R965；R714.256　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）22-2763-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.22.10

摘　要　目的　基于hedgehog（Hh）信号通路探讨木犀草素（Lut）对妊娠糖尿病（GDM）大鼠胎盘功能障碍的改善作用及潜在机制。**方法**　随机选择雌鼠20只作为对照组，以正常饲料喂养。剩余雌鼠以高脂高糖饲料喂养8周后与雄性大鼠合笼，取妊娠大鼠，腹腔注射35 mg/kg的链脲佐菌素以构建GDM雌鼠模型；将造模成功的雌鼠随机分为模型组、SAG组（Hh信号通路激活剂SAG 50 mg/kg）、Lut低剂量组（Lut 40 mg/kg）、Lut高剂量组（Lut 80 mg/kg）、Lut高+ITR组（Lut 80 mg/kg+Hh信号通路拮抗剂伊曲唑康50 mg/kg），每组20只。各药物组雌鼠灌胃相应药液，每天1次，持续19 d。末次给药后，检测各组雌鼠的糖脂代谢参数（空腹血糖、空腹胰岛素水平和胰岛素抵抗指数）、胎盘质量和通透性[以伊文思蓝（EB）含量表示]，观察其胎盘组织病理变化，检测其胎盘组织中超氧化物歧化酶（SOD）活性及丙二醛（MDA）、还原型谷胱甘肽（GSH）含量以及Sonic Hh（Shh）、Patched-1（Ptch1）、Smoothened（Smo）、Gil家族锌指蛋白1（Gli1）的表达水平。**结果**　与对照组相比，模型组大鼠胎盘组织中毛细血管管腔狭窄，血管周围可见纤维化区域；其糖脂代谢参数、胎盘质量、EB及MDA含量均显著升高，SOD活性、GSH含量及Shh、Ptch1、Smo、Gli1蛋白的表达水平均显著降低（$P<0.05$）。与模型组相比，SAG组和Lut低、高剂量组大鼠胎盘组织中毛细血管管腔变宽，血管周围纤维化明显减少；糖脂代谢参数、胎盘质量、EB及MDA含量均显著降低，SOD活性、GSH含量及Shh、Ptch1、Smo、Gli1蛋白的表达水平均显著升高（$P<0.05$）；且Lut高剂量组上述参数与SAG组相比差异均无统计学意义（$P>0.05$）。Hh信号通路拮抗剂伊曲唑康可显著逆转Lut对上述指标的改善作用（$P<0.05$）。**结论**　Lut可改善GDM大鼠的糖代谢参数，降低胎盘通透性，减轻其胎盘组织病理损伤和氧化应激，上述作用可能与激活Hh信号通路有关。

关键词　木犀草素；妊娠糖尿病；胎盘功能障碍；hedgehog信号通路

Improving effect and its mechanism of luteolin on placental dysfunction in rats with gestational diabetes mellitus

HU Dianpeng[1], ZHANG Ju[2], HOU Yixin[1], CHENG Lin[1], LU Jialu[1] (1. Dept. of Basic Medicine, Nanyang Medical College, Nanyang Henan 473000, China; 2. Dept. of Obstetrics, the First Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, Nanyang Henan 473000, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To explore the improving effect of luteolin (Lut) on placental dysfunction in rats with gestational diabetes mellitus (GDM) and its potential mechanism based on hedgehog (Hh) signaling pathway. **METHODS** Twenty female rats were randomly selected as a control group and fed a normal diet. The remaining female rats were fed a high-fat and high-sugar diet for 8 weeks and then caged with male rats. Pregnant rats were administered 35 mg/kg streptozotocin intraperitoneally to establish GDM models. Successfully modeled female rats were randomly allocated to model group, SAG group (Hh signaling pathway activator SAG 50 mg/kg), Lut low-dose group (Lut 40 mg/kg), Lut high-dose group (Lut 80 mg/kg), and Lut high+ITR group (Lut 80 mg/kg+Hh signaling pathway antagonist itraconazole 50 mg/kg), with 20 rats in each group. Female rats in each drug group were intubated with the corresponding drug solution once a day for 19 days. After the final administration, the serum glucose-fat metabolic parameters (levels of fasting blood glucose and fasting insulin, insulin resistance index), placental quality, placental permeability [Evan's blue (EB) content], and pathological changes in placental tissue were observed. The activities of superoxide dismutase (SOD), the contents of malondialdehyde (MDA) and reduced glutathione (GSH), and the protein expressions of Sonic Hh (Shh), Patched-1 (Ptch1), Smoothened (Smo) and Gli family zinc finger-1 (Gli1) in placental tissue were detected. **RESULTS** Compared with the control group, rats in the model group showed narrow capillary lumens, perivascular

Δ**基金项目** 南阳市科技计划项目（No.KJGG196）；河南省社会科学界联合会调研课题（No.SKL-2019-589）

＊**第一作者** 实验师，硕士。研究方向：妇幼保健。E-mail：HBB_666@126.com

fibrosis in placental tissue, and a significant increase in serum glucose-fat metabolic parameters, placental quality, contents of EB and MDA, while there was a significant decrease in SOD activity, GSH content, and protein expressions of Shh, Ptch1, Smo and Gli1 ($P<0.05$). Compared with the model group, rats in the SAG group, Lut low-dose and high-dose groups had widened capillary lumens, a significant decrease in perivascular fibrosis in placental tissue, serum glucose-fat metabolic parameters, placental qualities, EB and MDA contents, while there was a significant increase in SOD activities, GSH contents, and protein expressions of Shh, Ptch1, Smo and Gli1 ($P<0.05$), with the high-dose group showing no significant difference compared to the SAG group ($P>0.05$). The Hh signaling pathway antagonist itraconazole could significantly reverse the improving effects of Lut on the above indicators ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Lut can improve glucose metabolism parameters of GDM rats, reduce placental permeability, alleviate pathological damage to placental tissue, and reduce oxidative stress. These effects may be related to the activation of the Hh signaling pathway.

KEYWORDS luteolin; gestational diabetes mellitus; placental dysfunction; hedgehog signaling pathway

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus,GDM)被定义为在妊娠期间发生或被首次识别的任何程度的葡萄糖不耐受,是妊娠期常见并发症之一[1]。胎盘是胎儿的附属物,是连接母体和胎儿的器官,有研究显示,GDM与胎盘发育受损(如胎盘增大、血管生成增多)有关,且胎盘功能障碍会进一步增加母体及胎儿相关并发症的发生风险[2]。可见,胎盘功能障碍对胎儿健康有直接影响,改善胎盘功能受损可能是改善GDM孕妇及后代结局的关键。

木犀草素(luteolin,Lut)是一种天然黄酮类化合物,存在于多种植物中,具有抗糖尿病、保护心血管、抗炎和抗癌等作用[3]。研究表明,Lut能够逆转糖尿病模型动物的葡萄糖耐受不良,延缓肾功能衰退,改善学习和记忆能力,促进伤口愈合[4];此外,Lut还可抑制肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)诱导的胎盘内皮细胞炎症及氧化应激反应,并减少胎盘血管生成[5]。但Lut对GDM的影响尚不明确。hedgehog(Hh)信号通路在胚胎发育过程中具有至关重要的作用,涉及Sonic Hh(Shh)、Indian Hh(Ihh)、Desert Hh(Dhh)等家族成员,其中以Shh分布最广。研究指出,Shh可通过调节自噬来影响胎盘滋养层细胞的生物学功能[6]。此外,二甲双胍可通过激活Hh信号通路来下调自噬,从而减轻高血糖诱导的内皮损伤[7]。基于此,本研究拟探讨Lut能否通过调节Hh信号通路来改善GDM大鼠的胎盘功能障碍,旨在为GDM治疗药物的研发提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括SpectraMax ABS型全波长酶标仪[美谷分子仪器(上海)有限公司]、NE620型光学显微镜(深圳市博视达光学仪器有限公司)、ACCU-CHEK型血糖仪(德国Roche公司)、Mini-PROTEAN Tetra型凝胶电泳仪(美国Bio-Rad公司)、iBright™ CL1500型成像系统(美国Thermo Fisher Scientific公司)等。

1.2 主要药品与试剂

Lut对照品(批号5373-11-5,纯度≥98%)购自四川省维克奇生物科技有限公司;链脲佐菌素(streptozotocin,STZ;货号S8050)购自北京索莱宝科技有限公司;Hh信号通路激活剂SAG的对照品(货号HY-12848,纯度≥98%)、Hh信号通路拮抗剂伊曲康唑(itraconazole,ITR)的对照品(货号HY-17514,纯度≥98%)均购自美国MedChemExpress公司;空腹胰岛素(fasting insulin,FINS)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(货号HAS-50253)购自深圳海思安生物技术有限公司;伊文思蓝(Evans blue,EB)、苏木精-伊红(HE)染色液(货号分别为SY2400、SY2022)均购自北京伊塔生物科技有限公司;大鼠超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)、丙二醛(malondialdehyde,MDA)、还原型谷胱甘肽(reduced glutathione,GSH)检测试剂盒(货号分别为SKT-1507、SKT-1081、SKT-1108)均购自北京凯诗源生物科技有限公司;兔Shh多克隆抗体、兔Hh信号通路跨膜受体Patched-1(Ptch1)和Smoothened(Smo)多克隆抗体、兔Gil家族锌指蛋白1(Gli family zinc finger-1,Gli1)多克隆抗体、兔β-肌动蛋白(β-actin)多克隆抗体(货号分别为ab308225、ab53715、ab236465、ab134906、ab8227)均购自英国Abcam公司;辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗(货号33101ES60)购自翌圣生物科技(上海)股份有限公司。

1.3 实验动物与饲料

SPF级SD大鼠(123只雌鼠和66只雄鼠),6周龄,体重150～180 g,由河南省实验动物中心提供,动物生产许可证号为SCXK(豫)2022-0001。所有大鼠均在温

度23～25 ℃、相对湿度65%～70%的条件下饲养。本研究方案通过南阳医学高等专科学校医学伦理委员会批准（编号2023-伦审-049）。45%高脂高糖饲料（定制）和普通饲料（货号1010088）均购自江苏省协同医药生物工程有限责任公司。

2 方法

2.1 GDM模型建立

在雌鼠中随机选取20只作为对照组，以正常饲料喂养。剩余雌鼠按照相关文献[8]方法以高脂高糖饲料喂养8周后，禁食12 h，剔除体重＜150 g或＞180 g且血糖高于7 mmol/L的雌鼠；随后，将处于发情期的雌鼠与雄鼠大致按2∶1的比例合笼交配，次日若观察到精子（以显微镜观察阴道分泌物样品）或阴道黏液栓（肉眼观察即可），则判定该雌鼠怀孕。禁食12 h后，通过腹腔注射35 mg/kg的STZ来诱导怀孕雌鼠发生GDM。注射72 h后，检测其空腹血糖（fasting blood glucose，FBG），若FBG≥13.5 mmol/L，则表示GDM模型构建成功。造模过程中，3只雌鼠死亡，100只雌鼠成功构建GDM模型。

2.2 分组与给药

将造模成功的雌鼠随机分为模型组、SAG组（Hh信号通路激活剂）、Lut低剂量组、Lut高剂量组、Lut高+ITR组（Lut高剂量+Hh信号通路拮抗剂），每组20只。SAG组雌鼠灌胃50 mg/kg的SAG（以生理盐水为溶剂）[9]；Lut低、高剂量组雌鼠分别为灌胃40、80 mg/kg的Lut（以生理盐水为溶剂）[5]；Lut高+ITR组雌鼠依次灌胃80 mg/kg的Lut和50 mg/kg的ITR（均以生理盐水为溶剂）[10]；对照组和模型组雌鼠灌胃等体积生理盐水。各组雌鼠灌胃均为每天1次，持续19 d，在此过程中所有雌鼠均未分娩。

2.3 雌鼠血清中FBG、FINS水平检测和胰岛素抵抗指数计算

末次给药结束后，各组雌鼠禁食、禁水12 h，采集其空腹尾静脉血适量，置于2 mL离心管中，于4 ℃下以3 000 r/min离心10 min，收集上层血清。采用血糖仪检测其FBG水平，采用ELISA法以酶标仪检测其FINS水平，按下式计算胰岛素抵抗指数（HOMA-IR）：HOMA-IR＝FBG×FINS÷22.5[8]。

2.4 雌鼠胎盘质量及通透性检测

采血结束后，从每组雌鼠中随机选取5只，尾静脉注射10 mL/mg的EB染色液[以20%磷酸盐缓冲液（PBS）配制，终质量浓度为5 mg/L]，45 min后处死，剖开腹部并分离胎盘，称重；将胎盘放入甲酰胺溶液1 mL中，于55 ℃下孵育24 h以提取EB；随后，取上述溶液于4 ℃下以12 000 r/min离心30 min，收集上清液，使用酶标仪于630 nm波长处检测EB含量（EB含量越高说明胎盘通透性越高）。

2.5 雌鼠胎盘组织病理变化观察

取剩余15只雌鼠，腹腔注射1%戊巴比妥钠40 mg/kg麻醉后处死，剖开腹部并分离胎盘，从每组中随机选取5个胎盘固定于4%多聚甲醛中，剩余胎盘冻存于－80 ℃备用。取固定24 h后的各组雌鼠胎盘组织适量，以石蜡包埋后连续切片（厚约4 μm），经二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化后，依次进行HE染色、PBS清洗、乙醇水化、二甲苯透明，再用中性树脂封片，在光学显微镜下观察胎盘组织的病理变化。

2.6 雌鼠胎盘组织中SOD活性及MDA、GSH含量检测

取“2.5”项下冻存的雌鼠胎盘组织（从每组中随机选取另5个），以PBS匀浆，于4 ℃下以12 000 r/min离心10 min，收集上清液，按相应检测试剂盒说明书操作，使用微量法以酶标仪测定SOD活性及MDA、GSH含量。

2.7 雌鼠胎盘组织中Shh、Ptch1、Smo、Gli1蛋白表达检测

采用Western blot法检测。取“2.5”项下冻存的雌鼠胎盘组织（取每组剩余的5个），加RIPA蛋白裂解液匀浆，以12 000 r/min离心15 min，收集上清液，用BCA法测定蛋白浓度，并将蛋白煮沸变性。取变性蛋白适量，进行10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离并转移到聚偏二氟乙烯膜上，以5%脱脂牛奶在室温下封闭1 h；洗膜后，加入Shh、Ptch1、Smo、Gli1、β-actin一抗（稀释比例分别为1∶1 000、1∶1 000、1∶300、1∶1 000、1∶1 000），在4 ℃下孵育过夜；洗膜后，加入相应二抗（稀释比例为1∶500），在室温下孵育2 h；洗膜后，用ECL化学发光试剂显色，并置于成像系统下成像。以β-actin为内参，使用Image J软件分析各目的蛋白的表达水平。

2.8 统计学方法

采用SPSS 25.0软件对数据进行统计分析。实验数据以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，两两多重比较采用SNK-q检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 各组雌鼠血清FBG、FINS水平及HOMA-IR比较

与对照组相比，模型组雌鼠FBG、FINS水平及HOMA-IR均显著升高（$P<0.05$）。与模型组相比，SAG组和Lut低、高剂量组雌鼠FBG、FINS水平及HOMA-IR均显著降低（$P<0.05$），且Lut高剂量组上述指标与SAG组相比差异均无统计学意义（$P>0.05$）。与SAG组和Lut高剂量组相比，Lut高+ITR组雌鼠FBG、FINS水平及HOMA-IR均显著升高（$P<0.05$）。结果见表1。

表1　各组雌鼠血清FBG、FINS水平及HOMA-IR比较（$\bar{x}\pm s$，$n=20$）

组别	FBG/（mmol/L）	FINS/（mmol/L）	HOMA-IR
对照组	4.12±0.35	9.73±0.85	1.78±0.12
模型组	16.67±1.72[a]	19.52±1.46[a]	14.46±1.21[a]
SAG组	6.59±0.67[b]	12.96±1.10[b]	3.79±0.27[b]
Lut低剂量组	12.65±1.26[bc]	16.75±1.27[bc]	9.42±0.86[bc]
Lut高剂量组	6.48±0.62[b]	12.31±0.98[b]	3.55±0.24[b]
Lut高+ITR组	16.36±1.53[cd]	19.14±1.25[cd]	13.92±1.03[cd]

a：与对照组相比，$P<0.05$；b：与模型组相比，$P<0.05$；c：与SAG组相比，$P<0.05$；d：与Lut高剂量组相比，$P<0.05$。

3.2　各组雌鼠胎盘质量及通透性比较

与对照组相比，模型组雌鼠的胎盘质量、EB含量均显著升高（$P<0.05$）。与模型组相比，SAG组和Lut低、高剂量组雌鼠的胎盘质量、EB含量均显著降低（$P<0.05$），且Lut高剂量组上述指标与SAG组相比差异均无统计学意义（$P>0.05$）。与SAG组和Lut高剂量组相比，Lut高+ITR组雌鼠的胎盘质量、EB含量均显著升高（$P<0.05$）。结果见表2。

表2　各组雌鼠胎盘质量及通透性比较（$\bar{x}\pm s$，$n=5$）

组别	胎盘质量/g	EB含量/（ng/mg）
对照组	0.29±0.02	0.34±0.02
模型组	0.63±0.04[a]	0.71±0.04[a]
SAG组	0.37±0.02[b]	0.43±0.02[b]
Lut低剂量组	0.48±0.03[bc]	0.56±0.03[bc]
Lut高剂量组	0.35±0.02[b]	0.42±0.02[b]
Lut高+ITR组	0.60±0.04[cd]	0.68±0.04[cd]

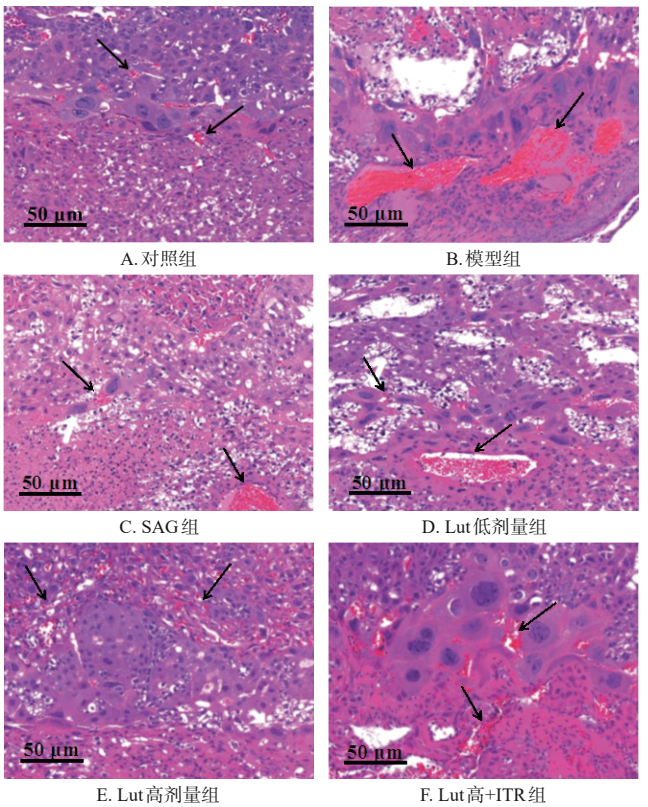
a：与对照组相比，$P<0.05$；b：与模型组相比，$P<0.05$；c：与SAG组相比，$P<0.05$；d：与Lut高剂量组相比，$P<0.05$。

3.3　各组雌鼠胎盘组织病理变化比较

对照组雌鼠胎盘组织中各细胞排列有序，毛细血管分布均匀，无明显纤维化。与对照组相比，模型组雌鼠胎盘组织中毛细血管紊乱，且管腔狭窄，血管周围可见明显的纤维化区域。与模型组相比，SAG组和Lut低、高剂量组雌鼠胎盘组织中毛细血管分布较为均匀，管腔变宽，血管周围纤维化区域明显缩小，且Lut高剂量组雌鼠胎盘组织的病理形态与SAG组相似。与SAG组和Lut高剂量组相比，Lut高+ITR组雌鼠胎盘组织存在明显的病理改变，且与模型组较为相似。结果见图1。

3.4　各组雌鼠胎盘组织中SOD活性及MDA、GSH含量比较

与对照组相比，模型组雌鼠胎盘组织中SOD活性及GSH含量均显著降低，MDA含量显著升高（$P<0.05$）；与模型组相比，SAG组和Lut低、高剂量组雌鼠胎盘组织中SOD活性及GSH含量均显著升高，MDA含量均显著降低（$P<0.05$），且Lut高剂量组上述指标与SAG组相比差异均无统计学意义（$P>0.05$）；与SAG组和Lut高剂量组相比，Lut高+ITR组雌鼠胎盘组织中SOD活性及GSH含量均显著降低，MDA含量显著升高（$P<0.05$）。结果见表3。



→：纤维化区域。

图1　各组雌鼠胎盘组织病理变化的显微图（HE染色）

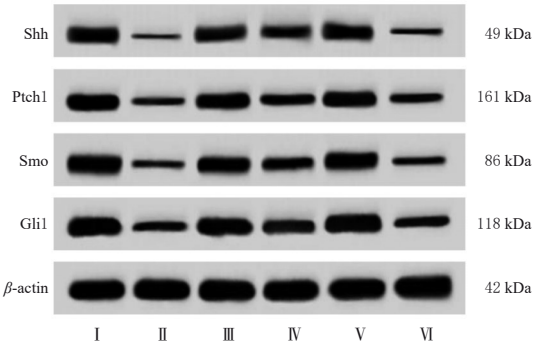
表3　各组雌鼠胎盘组织中SOD活性及MDA、GSH的含量（$\bar{x}\pm s$，$n=5$）

组别	SOD/（U/mg）	MDA/（mmol/mg）	GSH/（μmol/mg）
对照组	62.87±4.12	3.52±0.23	118.54±8.47
模型组	28.64±1.35[a]	9.63±0.87[a]	52.73±4.82[a]
SAG组	54.71±3.56[b]	4.86±0.35[b]	102.62±7.68[b]
Lut低剂量组	43.19±2.87[bc]	7.31±0.62[bc]	82.91±6.54[bc]
Lut高剂量组	56.21±3.43[b]	4.75±0.34[b]	98.43±8.12[b]
Lut高+ITR组	32.42±2.68[cd]	9.18±0.83[cd]	58.35±4.73[cd]

a：与对照组相比，$P<0.05$；b：与模型组相比，$P<0.05$；c：与SAG组相比，$P<0.05$；d：与Lut高剂量组相比，$P<0.05$。

3.5　各组雌鼠胎盘组织中Shh、Ptch1、Smo、Gli1蛋白表达比较

与对照组相比，模型组雌鼠胎盘中Shh、Ptch1、Smo、Gli1蛋白的表达水平均显著降低（$P<0.05$）。与模型组相比，SAG组和Lut低、高剂量组雌鼠胎盘组织中Shh、Ptch1、Smo、Gli1蛋白的表达水平均显著升高（$P<0.05$），且Lut高剂量组上述指标与SAG组相比差异均无统计学意义（$P>0.05$）。与SAG组和Lut高剂量组相比，Lut高+ITR组雌鼠胎盘组织中Shh、Ptch1、Smo、Gli1蛋白的表达水平均显著降低（$P<0.05$）。结果见图2、表4。



Ⅰ：对照组；Ⅱ：模型组；Ⅲ：SAG组；Ⅳ：Lut低剂量组；Ⅴ：Lut高剂量组；Ⅵ：Lut高+ITR组。

图2　各组雌鼠胎盘组织中Shh、Ptch1、Smo、Gli1蛋白表达的电泳图

表4　各组大鼠胎盘组织中Shh、Ptch1、Smo、Gli1蛋白表达水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=5$）

组别	Shh	Ptch1	Smo	Gli1
对照组	0.86±0.05	0.95±0.06	0.91±0.06	0.96±0.06
模型组	0.26±0.02[a]	0.38±0.02[a]	0.34±0.02[a]	0.42±0.02[a]
SAG组	0.72±0.04[b]	0.80±0.04[b]	0.76±0.05[b]	0.83±0.04[b]
Lut低剂量组	0.49±0.02[bc]	0.57±0.03[bc]	0.52±0.03[bc]	0.58±0.03[bc]
Lut高剂量组	0.73±0.04[b]	0.81±0.04[b]	0.78±0.04[b]	0.84±0.04[b]
Lut高+ITR组	0.29±0.02[cd]	0.42±0.02[cd]	0.37±0.02[cd]	0.45±0.02[cd]

a：与对照组相比，$P<0.05$；b：与模型组相比，$P<0.05$；c：与SAG组相比，$P<0.05$；d：与Lut高剂量组相比，$P<0.05$。

4　讨论

GDM是妊娠患者常见的代谢紊乱性疾病之一，其宫内高血糖环境不仅会扰乱胎儿的葡萄糖代谢稳态和胰岛素分泌，而且会影响胎盘的发育和功能[3]。胎盘是母体和胎儿之间进行物质交换的重要器官，对维持孕妇及后代健康至关重要。大多数患有GDM的女性，其胎盘结构及功能均存在明显异常，易发生不良妊娠结局[11]。因此，改善胎盘功能障碍对缓解GDM具有重要意义。本研究以高脂高糖饲料喂养+与雄鼠合笼+STZ腹腔注射构建GDM雌鼠模型，结果显示，模型组雌鼠糖代谢参数（FBG、FINS水平和HOMA-IR）显著高于对照组。研究指出，HOMA-IR是评估患者胰岛素抵抗的重要指标，而长期处于高糖状态下的GDM患者FINS的分泌有所减少，进而导致HOMA-IR升高[12]。本研究结果与上述文献相似，且雌鼠FBG水平＞13.5 mmol/L，表明GDM雌鼠模型复制成功。

据报道，Lut常通过改善血脂异常、氧化应激和炎症反应来治疗各种疾病，且具有良好的抗糖尿病作用[5]。本研究结果显示，与模型组相比，SAG组和Lut低、高剂量组雌鼠的糖代谢参数（FBG、FINS水平和HOMA-IR）及胎盘质量、胎盘屏障通透性（EB含量）均显著降低，提示Lut可能通过改善GDM雌鼠血糖水平和胰岛素抵抗，降低胎盘质量和胎盘屏障通透性来发挥抗GDM作用。随后，本研究通过观察各组雌鼠胎盘组织的病理变化发现，模型组雌鼠的胎盘组织中毛细血管管腔狭窄，血管周围可见明显的纤维化区域；而SAG组和Lut各剂量组胎盘组织中毛细血管管腔变宽，血管周围纤维化区域明显缩小，提示Lut能够减轻GDM雌鼠胎盘组织的病理损伤，改善其胎盘结构。

有研究报道，GDM患者体内存在氧化应激反应，其抗氧化能力显著降低；同时，高血糖可增加活性氧的生成，而过量的活性氧又可进一步诱发高血压、胰岛素抵抗和高血糖[13]。可见，抗氧化对于GDM的改善也十分重要。SOD和GSH能清除体内过量的自由基，保护细胞免受氧自由基的侵害，反映了机体的抗氧化能力；MDA则是反映脂质过氧化和组织损伤程度的重要指标[14]。本研究结果显示，模型组雌鼠胎盘组织中SOD活性及GSH含量均较对照组显著降低，MDA含量较对照组显著升高，这与已有研究结果相似[13]。经药物干预后，SAG组和Lut低、高剂量组雌鼠胎盘组织中SOD活性及GSH含量均较模型组显著升高，MDA含量均较模型组显著降低，提示Lut可能通过抑制GDM雌鼠胎盘组织内的氧化应激来发挥其抗氧化作用。

Hh是高度保守的信号通路，在人和小鼠胚胎形成和维持组织稳态过程中具有关键作用[15]。Ptch（含Ptch1、Ptch2两种形式）和Smo是Hh信号通路的跨膜受体，存在于靶细胞膜上，是Hh信号通路活化所必需的生物受体[16]。研究指出，当Hh信号通路被激活时，Ptch1会解除对Smo的抑制，激活的Smo可促使Gli1易位至细胞核内，并作为转录因子来调节下游靶基因的转录[17]；此外，Hh信号通路也参与了机体的氧化应激过程，抑制该信号通路可促进多囊卵巢综合征大鼠卵巢颗粒细胞的氧化应激[18]。本研究结果显示，SAG组和Lut低、高剂量组雌鼠胎盘组织中Shh、Ptch1、Smo、Gli1蛋白的表达均显著高于模型组，且高剂量Lut的作用与SAG相当；进一步加入Hh信号通路拮抗剂ITR后发现，Lut对GDM雌鼠糖代谢参数及胎盘功能的改善作用均被逆转，提示Lut减轻GDM大鼠胎盘功能障碍的作用可能与Hh信号通路被激活有关，但Lut能否直接作用于胎盘细胞还需进一步探究。

综上所述，Lut可改善GDM大鼠的糖代谢参数，降低胎盘通透性，减轻胎盘组织病理损伤和氧化应激，上述作用可能与激活Hh信号通路有关。但GDM的发生发展涉及多种生理病理途径，机制较为复杂，且对后代可能具有长期影响，故Lut的抗GDM作用及机制尚有待进一步研究。

参考文献

[1] SUN D G, TIAN S, ZHANG L, et al. The miRNA-29b is downregulated in placenta during gestational diabetes mellitus and may alter placenta development by regulating trophoblast migration and invasion through a HIF3A-dependent mechanism[J]. Front Endocrinol, 2020, 11: 169.

[2] MEYRUEIX L P, GHARAIBEH R, XUE J, et al. Gestational diabetes mellitus placentas exhibit epimutations at placental development genes[J]. Epigenetics, 2022, 17(13): 2157-2177.

[3] QUEIROZ M, LEANDRO A, AZUL L, et al. Luteolin improves perivascular adipose tissue profile and vascular dysfunction in goto-kakizaki rats[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(24): 13671.

[4] XIONG C, WU Q L, FANG M L, et al. Protective effects of luteolin on nephrotoxicity induced by long-term hyperglycaemia in rats[J]. J Int Med Res, 2020, 48(4): 300060520903642.

[5] EDDY A C, RAJAKUMAR A, SPRADLEY F T, et al. Luteolin prevents TNF-α-induced NF-κB activation and ROS production in cultured human placental explants and endothelial cells[J]. Placenta, 2024, 145: 65-71.

[6] YAO Q Y, LIU J, XIAO L, et al. Sonic hedgehog signaling instigates high-fat diet-induced insulin resistance by targeting PPARγ stability[J]. J Biol Chem, 2019, 294(9): 3284-3293.

[7] XIAO Q, ZHAO X Y, JIANG R C, et al. Increased expression of Sonic hedgehog restores diabetic endothelial progenitor cells and improves cardiac repair after acute myocardial infarction in diabetic mice[J]. Int J Mol Med, 2019, 44(3): 1091-1105.

[8] FU S B, FU S Q, MA X N, et al. MiR-875-5p regulates IR and inflammation via targeting TXNRD1 in gestational diabetes rats[J]. Mol Med Rep, 2021, 23(5): 303.

[9] NGUYEN V, CHAVALI M, LARPTHAVEESARP A, et al. Neuroprotective effects of Sonic hedgehog agonist SAG in a rat model of neonatal stroke[J]. Pediatr Res, 2021, 90(6): 1161-1170.

[10] JOHANSSON H K L, TAXVIG C, OLSEN G P M, et al. Effects of the hedgehog signaling inhibitor itraconazole on developing rat ovaries[J]. Toxicol Sci, 2021, 182(1): 60-69.

[11] SHI Y H, QIAN J, ZHANG F, et al. Low molecular weight heparin (nadroparin) improves placental permeability in rats with gestational diabetes mellitus via reduction of tight junction factors[J]. Mol Med Rep, 2020, 21(2): 623-630.

[12] 刘莹莹, 赵一梅, 杨夫艳, 等. 妊娠糖尿病患者血清microRNA-873-5p、ZEB1与胰岛素抵抗、母婴结局的相关性研究[J]. 中国现代医学杂志, 2023, 33(11): 14-19.
LIU Y Y, ZHAO Y M, YANG F Y, et al. Correlation of serum microRNA-873-5p and ZEB1 levels with insulin resistance, maternal, and infant outcomes in patients with gestational diabetes mellitus[J]. China J Mod Med, 2023, 33(11): 14-19.

[13] HUANG T T, SUN W J, LIU H Y, et al. p66Shc-mediated oxidative stress is involved in gestational diabetes mellitus [J]. World J Diabetes, 2021, 12(11): 1894-1907.

[14] WANG H R, CHEN X Z, MIAO X Q, et al. *Dendrobium* mixture improves gestational diabetes mellitus through regulating Nrf2/HO1 signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 155: 113656.

[15] ZHANG L W, FU X J, NI L, et al. Hedgehog signaling controls bone homeostasis by regulating osteogenic/adipogenic fate of skeletal stem/progenitor cells in mice[J]. J Bone Miner Res, 2022, 37(3): 559-576.

[16] SU Y Z, XING H, KANG J, et al. Role of the hedgehog signaling pathway in rheumatic diseases: an overview[J]. Front Immunol, 2022, 13: 940455.

[17] HAN X, LI B. The emerging role of noncoding RNAs in the hedgehog signaling pathway in cancer[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 154: 113581.

[18] XU A R, FAN Y Y, LIU S, et al. GIMAP7 induces oxidative stress and apoptosis of ovarian granulosa cells in polycystic ovary syndrome by inhibiting sonic hedgehog signalling pathway[J]. J Ovarian Res, 2022, 15(1): 141.

（收稿日期：2024-04-17　修回日期：2024-08-20）

（编辑：张元媛）