

褪黑素对妊娠期糖尿病大鼠胰腺自噬的影响及其机制

郑晴晴^{1,2} 李超³ 李岩³ 乔炳龙⁴ 马春玲³

(1 青岛大学医学部, 山东 青岛 266071; 2 枣庄市市中区妇幼保健院妇产科;

3 青岛大学附属医院产科; 4 青岛大学附属医院放射科)

[摘要] **目的** 探讨褪黑素对妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)大鼠胰腺自噬的影响及其机制。**方法** 将 28 只大鼠随机分为正常妊娠组(A 组)、GDM 组(B 组)、GDM 褪黑素低剂量组(C 组)及 GDM 褪黑素高剂量组(D 组), 每组 7 只。检测各组大鼠血清中葡萄糖、胰岛素及糖化血红蛋白水平, 并制作各组大鼠胰腺组织病理切片, HE 染色观察各组大鼠胰腺组织病理变化, Tunel 染色检测胰腺细胞凋亡情况, 透射电镜检测胰腺组织自噬情况, 免疫印迹法检测胰腺组织中自噬相关蛋白微管相关蛋白 1 轻链 3(LC3)、Beclin1、磷酸化磷脂酰肌醇-3-激酶(p-PI3K)、磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)、磷酸化蛋白激酶 B(p-AKT)、蛋白激酶 B(AKT)、磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的表达水平。**结果** 各组大鼠血清葡萄糖、胰岛素及糖化血红蛋白水平比较均有显著差异($F=52.26\sim 66.73, P<0.05$); 与 A 组相比, B 组大鼠血清葡萄糖、胰岛素及糖化血红蛋白水平显著升高($t=-14.45\sim 7.23, P<0.05$); 与 B 组相比, C 组、D 组大鼠血清葡萄糖、胰岛素及糖化血红蛋白含量显著降低($t=-5.32\sim 10.02, P<0.05$)。HE 染色、Tunel 染色及透射电镜观察结果显示, 与 A 组大鼠相比, B 组大鼠胰腺组织病理损伤及细胞凋亡加重, 胰腺组织自噬水平增加; 与 B 组大鼠相比, C、D 组大鼠胰腺组织病理损伤及细胞凋亡减轻, 胰腺组织自噬水平降低。免疫印迹法结果显示, 各组大鼠胰腺组织中 LC3 II/LC3 I、p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-mTOR/mTOR 水平以及 Beclin1 相对表达量比较差异均具有显著性($F=27.68\sim 67.72, P<0.05$); 与 A 组大鼠相比, B 组大鼠胰腺组织 LC3 II/LC3 I 水平和 Beclin1 相对表达量均显著升高($t=-8.13\sim -6.83, P<0.05$), p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-mTOR/mTOR 水平显著下降($t=8.83\sim 14.05, P<0.05$); 与 B 组大鼠相比, C、D 组大鼠胰腺组织 LC3 II/LC3 I 水平和 Beclin1 相对表达量均显著下降($t=3.36\sim 6.95, P<0.05$), p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-mTOR/mTOR 水平均显著升高($t=-9.64\sim -3.51, P<0.05$)。**结论** 褪黑素能改善 GDM 大鼠胰腺组织的病理损伤, 其具体机制可能与调控 PI3K/AKT 通路抑制 GDM 大鼠胰腺组织自噬有关。

[关键词] 糖尿病, 妊娠; 褪黑素; 胰腺; 磷酸肌醇 3-激酶类; 原癌基因蛋白质 c-akt; 自噬; 大鼠

[中图分类号] R714.256 **[文献标志码]** A

EFFECT OF MELATONIN ON PANCREATIC AUTOPHAGY IN RATS WITH GESTATIONAL DIABETES MELLITUS AND THE MECHANISM ZHENG Qingqing, LI Chao, LI Yan, QIAO Binglong, MA Chunling (Faculty of Medicine, Qingdao University, Qingdao 266071, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of melatonin on pancreatic autophagy in rats with gestational diabetes mellitus (GDM) and the underlying mechanism. **Methods** Twenty-eight rats were randomly divided into A group (rats with normal pregnancy), B group (rats with GDM), C group (low-dose melatonin administration for rats with GDM), and D group (high-dose melatonin administration for rats with GDM), with seven rats in each group. All the groups were examined for the serum levels of glucose, insulin, and glycosylated hemoglobin. Pancreatic tissue slices were prepared to examine the pathological changes of the pancreas with hematoxylin-eosin (HE) staining, the apoptosis of pancreatic cells with TUNEL staining, and the autophagy of the pancreatic tissue with transmission electron microscopy. Western blot was used to measure the expression of autophagy-related proteins in the pancreatic tissue: microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3), Beclin1, phosphorylated phosphatidylinositol 3-kinase (p-PI3K), PI3K, phosphorylated protein kinase B (p-AKT), AKT, phosphorylated mammalian target of rapamycin (p-mTOR), and mTOR. **Results** There were significant differences in serum glucose, insulin, and glycosylated hemoglobin levels between different groups ($F=52.26\sim 66.73, P<0.05$). Compared with those of group A, the levels of serum glucose, insulin, and glycosylated hemoglobin in group B were significantly increased ($t=-14.45\sim 7.23, P<0.05$). Compared with group B, groups C and D showed significantly decreased serum glucose, insulin, and glycosylated hemoglobin levels ($t=-5.32\sim 10.02, P<0.05$). The results of HE staining, TUNEL staining, and transmission electron microscopy revealed that compared with group A, group B showed increased levels of pathological damage, apoptosis, and autophagy in the pancreatic tissue; groups C and D showed reduced pathological damage, apoptosis, and autophagy in the pancreatic tissue than group B. Western blot detected significant differences in the levels of LC3 II/LC3 I, p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, and p-mTOR/mTOR and the relative expression of Beclin1 in the pancreatic tissue between different groups ($F=$

[收稿日期] 2023-01-11; **[修订日期]** 2023-02-27

[基金项目] 山东省医药卫生科技发展项目(2016WS0274)

[通讯作者] 李超, Email: Lichaoqy@126.com

27.68—67.72, $P < 0.05$). Compared with group A, group B showed significantly increased levels of LC3 II/LC3 I and Beclin1 ($t = -8.13 - -6.83, P < 0.05$) and significantly decreased levels of p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, and p-mTOR/mTOR in the pancreatic tissue ($t = 8.83 - 14.05, P < 0.05$). Compared with group B, groups C and D showed significantly reduced levels of LC3 II/LC3 I and Beclin1 ($t = 3.36 - 6.95, P < 0.05$) and significantly increased levels of p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, and p-mTOR/mTOR in the pancreatic tissue ($t = -9.64 - -3.51, P < 0.05$). **Conclusion** Melatonin can relieve pancreatic damage in rats with GDM, which may be through regulating the PI3K/AKT pathway to inhibit the autophagy of the pancreatic tissue.

[KEY WORDS] Diabetes, gestational; Melatonin; Pancreas; Phosphatidylinositol 3-kinases; Proto-oncogene proteins c-akt; Autophagy; Rats

妊娠期糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 在世界范围的发病率约为 16%, 一旦发病会明显增加不良妊娠结局的发生率^[1-2]。炎症反应、滋养细胞功能障碍等是影响 GDM 进程的因素^[3-4]。近年来研究表明机体自噬水平变化对 GDM 的进展也起到一定作用^[5]。目前胰岛素注射为 GDM 的主要治疗方式, 但其存在使用不便、注射依从性差等缺点^[6]。而褪黑素在部分实验中被证实可控制血糖浓度及调节机体的自噬水平^[7-8]。但目前关于褪黑素对 GDM 中胰腺组织自噬影响的研究较少, 本研究首次探讨了褪黑素对 GDM 大鼠胰腺自噬的影响及其机制。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂

褪黑素购自美国 MCE 生物技术有限公司, HE 染色液购自北京索莱宝科技有限公司, 葡萄糖及糖化血红蛋白检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所, 胰岛素试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物有限公司, Tunel 细胞凋亡染色液购自上海碧云天生物技术有限公司, 兔单抗甘油醛 3-磷酸脱氢酶 (GAPDH)、微管相关蛋白 1 轻链 3 (LC3)、Beclin1、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B (AKT) 均购买于武汉爱博泰克生物技术有限公司, 兔多抗磷酸化 PI3K (p-PI3K) 购自英国 Abcam 生物技术有限公司, 兔单抗磷酸化 AKT (p-AKT)、雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 及磷酸化 mTOR (p-mTOR) 购自美国 CST 生物技术有限公司。

1.2 动物造模和分组

SPF 级的 Wistar 大鼠购自湖北实验动物研究中心 [动物许可证号 SCXK (鄂) 2020-0018], 体质量 250~270 g。将大鼠在温度 (23.0 ± 2.0) °C、湿度 (52.5 ± 12.5)% 的条件下适应性饲养 7 d 以后造模^[9-10]。造模前大鼠禁食不禁水 12 h, 然后测定大鼠空腹血糖, 选取血糖值 ≤ 6.1 mmol/L 的雌性大鼠共 28 只纳入实验, 并随机分为正常妊娠组 (A 组)、

GDM 组 (B 组)、GDM 褪黑素低剂量组 (C 组) 以及 GDM 褪黑素高剂量组 (D 组), 每组 7 只。将各组雌性大鼠与雄性大鼠按 2:1 比例进行合笼, 次日取雌性大鼠阴道分泌物制作涂片, 通过显微镜检测有无精子, 涂片有精子的雌性大鼠记做妊娠第 0 天, 无精子的雌性大鼠重复上述合笼步骤直至受孕。妊娠第 0 天, A 组大鼠腹腔注射枸橼酸盐缓冲液, 其余组大鼠腹腔注射 45 mg/kg 链脲佐菌素溶液诱导 GDM 模型。妊娠第 3 天, A 组大鼠正常饲养, B~D 组大鼠麻醉后用医用棉片消毒鼠尾, 剪去尾尖, 弃掉第一滴血后检测血糖浓度, 血糖浓度 ≥ 16.7 mmol/L 的大鼠即造模成功。造模结束后, A、B 组大鼠每天灌胃 10 mL/kg 生理盐水, C、D 组大鼠每天分别灌胃 5、10 mg/kg 褪黑素^[11], 各组每天均灌胃 1 次, 连续灌胃 14 d 后以戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 经腹腔注射麻醉后处死各组大鼠, 剪开大鼠胸腔取左心室血 5 mL 于 4 °C 下保存。随后剪开各组大鼠腹腔, 取各组大鼠胰腺样本, 将每只大鼠的胰腺样本分为 3 份, 1 份于 40 g/L 多聚甲醛中室温保存用于病理染色, 1 份于戊二醛中于 4 °C 下保存用于电镜检查, 1 份于 -80 °C 冻存用于后续免疫印迹检测。

1.3 各组大鼠血清葡萄糖、胰岛素及糖化血红蛋白水平检测

取各组大鼠的血液样本, 以 3 000 r/min 离心 10 min, 吸取上层血清样本。根据相应商品试剂盒说明书对血清葡萄糖、胰岛素及糖化血红蛋白含量进行测定。

1.4 HE 染色观察各组大鼠胰腺组织病理变化

取各组大鼠的胰腺组织, 在 40 g/L 多聚甲醛中浸泡固定 48 h, 再通过乙醇梯度脱水、石蜡包埋及切片后通过苏木素染色, 1% 盐酸乙醇分化, 伊红复染封片后显微镜下采集图片。

1.5 Tunel 染色观察各组大鼠胰腺细胞凋亡情况

取各组大鼠胰腺组织, 在 40 g/L 多聚甲醛中浸泡固定 48 h 后, 通过乙醇梯度脱水、石蜡包埋及切片后加蛋白酶 K 室温孵育 20 min, Tunel 细胞凋亡

染色液暗室孵育 60 min, DAPI 染色液染核, 荧光封片剂封片后显微镜下拍照观察胰腺细胞凋亡情况。

1.6 透射电镜观察各组大鼠胰腺组织细胞自噬

取各组大鼠胰腺组织, 于电镜固定液固定, 脱水后树脂渗透包埋, 随后制备切片进行醋酸铀和柠檬酸铅各染色 5 min, 透射电镜下观察拍照。

1.7 免疫印迹法检测各组大鼠胰腺组织自噬相关蛋白的表达情况

将少量剪碎的一组大鼠胰腺组织匀浆、裂解后, 提取总蛋白检测蛋白浓度。取 30 μg 蛋白样品在 SDS-PAGE 上电泳, PVDF 转膜, 封闭液室温中孵育 2 h, 添加 LC3、Beclin1、p-PI3K、PI3K、p-AKT、AKT、p-mTOR 和 mTOR 及 GAPDH 一抗于 4 °C 摇床孵育 12 h, 添加二抗室温孵育 2 h, ECL 化学发光显影, 通过 Image J 软件分析各个蛋白条带的灰度值, 并计算目的蛋白相对表达量。每组实验重复 3 次, 结果取均值。

1.8 统计学分析

通过 SPSS 26.0 软件进行统计学分析, 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, 两两比较采用 LSD-*t* 法。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血清葡萄糖、胰岛素及糖化血红蛋白水平比较

单因素方差分析显示, 各组大鼠血清葡萄糖、胰

岛素及糖化血红蛋白水平比较均有显著差异 ($F = 52.26 \sim 66.73, P < 0.05$)。与 A 组相比, B 组大鼠血清葡萄糖、胰岛素及糖化血红蛋白水平均显著上升 ($t = -14.45 \sim 7.23, P < 0.05$); 与 B 组相比, C、D 组大鼠血清中葡萄糖、胰岛素及糖化血红蛋白水平显著下降 ($t = -5.32 \sim 10.02, P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠血清葡萄糖、胰岛素及糖化血红蛋白水平比较 ($n=7, \bar{x} \pm s$)

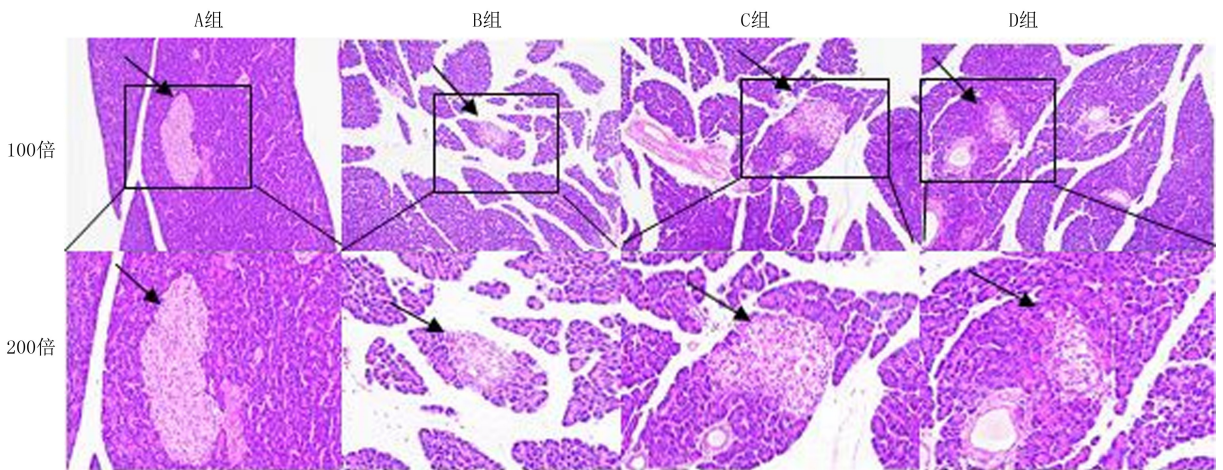
组别	葡萄糖 ($\rho/g \cdot L^{-1}$)	胰岛素 ($\rho/\mu g \cdot L^{-1}$)	糖化血红蛋白 ($\rho/g \cdot L^{-1}$)
A 组	0.93±0.12	1.96±0.17	19.35±2.17
B 组	2.92±0.21	4.05±0.29	47.78±2.63
C 组	2.22±0.23	3.13±0.16	31.72±2.77
D 组	1.73±0.14	2.56±0.21	26.92±2.59

2.2 各组大鼠胰腺组织病理变化比较

HE 染色结果显示, A 组大鼠胰腺组织中胰岛形态规则, 细胞排列有序; B 组大鼠胰岛组织形态结构不规则, 细胞间排列紊乱, 胰岛边界不清晰, 部分胰岛细胞浆出现空泡变性; C 组大鼠胰岛形态趋于规则, 细胞排列较为整齐, 胰岛与外分泌腺界限较为清晰; D 组大鼠胰岛形态规则, 细胞排列整齐, 胰岛与外分泌腺界限清晰。见图 1。

2.3 各组大鼠胰腺组织细胞凋亡情况比较

Tunel 染色结果显示, 与 A 组相比, B 组大鼠胰腺组织细胞凋亡增加; 与 B 组相比, C、D 组大鼠胰腺组织细胞凋亡减少, 且 D 组的细胞凋亡减少更加明显。



注: 黑色箭头所指为胰岛

图 1 HE 染色观察各组大鼠胰腺组织病理变化

2.4 各组大鼠胰腺组织自噬情况比较

透射电镜观察结果显示, A 组大鼠胰腺组织中可见明显且清晰的线粒体及内质网等细胞器结构,

无明显的自噬体出现; B 组大鼠胰腺组织中可见细胞核出现固化、碎裂, 核膜皱缩不清, 出现明显自噬体; C、D 组可见细胞质中线粒体、内质网、细胞核等

结构基本正常,并有少量自噬体。见图 2。

2.5 各组大鼠胰腺组织中自噬相关蛋白的相对表达水平比较

免疫印迹法检测结果显示,各组大鼠胰腺组织中 LC3 II/LC3 I、p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-mTOR/mTOR 水平及 Beclin1 相对表达量比较均有显著差异($F = 27.68 \sim 67.72, P < 0.05$),与 A 组相比,B 组大鼠胰腺组织中 LC3 II/LC3 I 水平和

Beclin1 相对表达量显著上升($t = -8.13 \sim -6.83, P < 0.05$),p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-mTOR/mTOR 水平则均显著下降($t = 8.83 \sim 14.05, P < 0.05$);与 B 组相比,C、D 组大鼠胰腺组织中 LC3 II/LC3 I 水平和 Beclin1 相对表达量均显著下降($t = 3.36 \sim 6.95, P < 0.05$),而 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-mTOR/mTOR 的水平则均显著上升($t = -9.64 \sim -3.51, P < 0.05$)。见表 2。

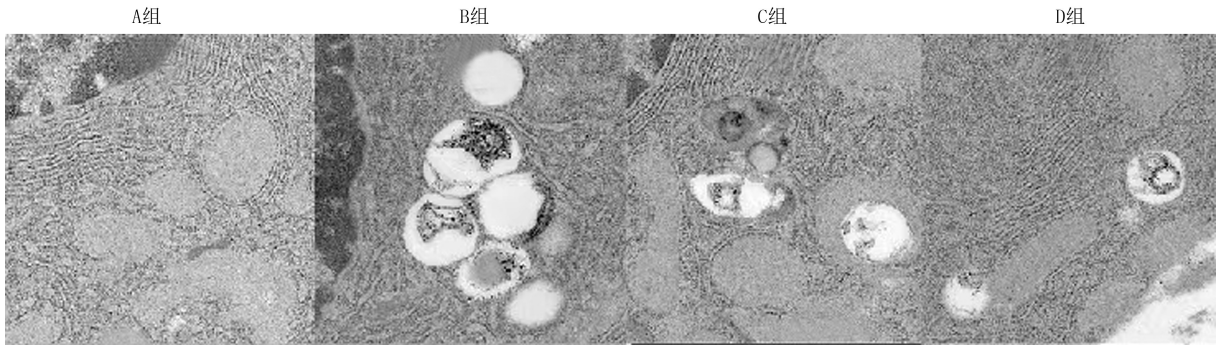


图 2 透射电镜观察各组大鼠胰腺组织自噬情况(7 800 倍)

表 2 各组大鼠胰腺组织自噬相关蛋白表达水平比较 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

组别	LC3 II / LC3 I	p-PI3K / PI3K	p-AKT / AKT	p-mTOR / mTOR	Beclin1
A 组	1.68 ± 0.25	0.59 ± 0.08	0.67 ± 0.04	0.78 ± 0.07	0.29 ± 0.04
B 组	4.69 ± 0.72	0.18 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.24 ± 0.03	0.64 ± 0.07
C 组	3.28 ± 0.34	0.34 ± 0.05	0.48 ± 0.03	0.50 ± 0.03	0.52 ± 0.03
D 组	2.21 ± 0.26	0.46 ± 0.06	0.56 ± 0.05	0.61 ± 0.06	0.40 ± 0.04

3 讨 论

研究表明,全球孕妇中约有 6~9% 患有糖尿病,而其中约 90% 为 GDM 患者^[12]。目前胰岛素治疗 GDM 有较好效果,但胰岛素存在使用不便、成本高昂等缺点^[13],因此探寻 GDM 治疗的新型药物是科研工作者关注的热点。褪黑素可调节多种生命活动,如调节衰老、焦虑和免疫反应等^[14-15]。有研究表明褪黑素对 GDM 具有一定治疗作用。LIU 等^[16]研究表明,褪黑素能调节 ERK 通路诱导神经干细胞增殖,进而能够防止 GDM 小鼠子代神经畸形。DE MELO 等^[17]研究表明,褪黑素能减少 GDM 大鼠胎儿身长及体质量异常。孙平等^[11]研究也表明,褪黑素能下调 GDM 大鼠血清葡萄糖、胰岛素及糖化血红蛋白水平。本研究中,与 B 组相比,D 组大鼠血清葡萄糖、胰岛素及糖化血红蛋白水平下降,胰腺组织病理损伤及凋亡减轻,与既往研究结果类似。血清糖化血红蛋白水平能够反映过去一段时间机体的血糖水平,胰岛素能降低机体血糖含量,GDM 大

鼠血清葡萄糖的降低能一定程度控制疾病的进展。故提示褪黑素能减轻 GDM 大鼠胰腺的损伤。

近年来,胎盘自噬、滋养细胞自噬等在 GDM 疾病的进展中得到越来越多的关注。目前研究最广泛的自噬类型是巨自噬,其为降解受损细胞器和蛋白质的主要途径。基于不同的环境(如缺氧、缺血等),滋养细胞自噬的发生既可一定程度增加细胞的生存能力,也能够诱导细胞死亡^[18]。自噬的调控机制错综复杂,PI3K/AKT/mTOR 通路是其主要调控通路。PI3K/AKT/mTOR 信号通路中 PI3K 能够激活 AKT 磷酸化,继而调节 mTOR 磷酸化,抑制自噬进程^[19]。近年来文献表明,胰岛与 GDM 的进展有着重要的联系,ZHAO 等^[20]研究表明 miRNA-221 可通过靶向 PAK1 调节胰岛 β 细胞的增殖,降低 GDM 诱导的胰岛功能障碍;ZHANG 等^[21]研究表明黄芪甲苷能抑制 GDM 小鼠胰腺中 NLRP3 炎症小体形成;邢宝恒等^[22]研究证明白藜芦醇可以增加 GDM 大鼠胰岛素的分泌,改善胰腺组织病变。但 GDM 与胰腺组织自噬关系的研究报道较少。基于本研究中褪黑素能减轻 GDM 大鼠胰腺损伤的结果,我们进一步检测了 GDM 大鼠胰岛组织中 LC3 II/LC3 I 水平和 Beclin1 相对表达量及自噬经典通路 PI3K/AKT/mTOR 的变化。本研究结果表明,与 B 组大鼠相比较,D 组大鼠 LC3 II/LC3 I 水平及 Beclin1 相对表达量均有显著下降,p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 及 p-mTOR/mTOR 水平升高,说明

褪黑素能激活 GDM 大鼠胰腺组织中 PI3K/AKT/mTOR 信号通路,从而抑制自噬水平。而自噬水平的降低能够一定程度缓解高水平自噬诱导的细胞死亡,从而减轻组织病理损伤^[23-25]。因此上述研究结果表明褪黑素可能通过调节 PI3K/AKT/mTOR 信号通路抑制 GDM 大鼠胰腺组织中过高水平的自噬,从而减轻胰腺组织的病理损伤。

综上所述,褪黑素能够改善 GDM 大鼠血糖浓度以及胰腺组织的病理损伤,其具体机制可能和调控 PI3K/AKT 通路抑制胰腺组织的异常高水平自噬有关。

伦理批准和动物权利声明:本研究涉及的所有动物实验均已通过青岛大学医学部伦理委员会的审核批准(文件号 QYFYECKY-2022-002-11)。所有实验过程均遵照《动物实验管理守则》的条例进行。

作者声明:郑晴晴、李超、李岩、乔炳龙和马春玲参与了研究设计;郑晴晴、李超、李岩参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文。所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

[1] PLOWS J, STANLEY J, BAKER P, et al. The pathophysiology of gestational diabetes mellitus[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11):3342.

[2] MCINTYRE H D, CATALANO P, ZHANG C L, et al. Gestational diabetes mellitus[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1):47.

[3] 张婧怡,冯玲,贾静,等. miRNA-101 通过调控胎盘滋养细胞功能参与妊娠期糖尿病的发病[J]. *现代妇产科进展*, 2019, 28(7):518-522.

[4] KHAMBULE L, GEORGE J A. The role of inflammation in the development of GDM and the use of markers of inflammation in GDM screening[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1134: 217-242.

[5] JI L L, CHEN Z G, XU Y T, et al. Systematic characterization of autophagy in gestational diabetes mellitus[J]. *Endocrinology*, 2017, 158(8):2522-2532.

[6] JOHNS E C, DENISON F C, NORMAN J E, et al. Gestational diabetes mellitus: Mechanisms, treatment, and complications[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2018, 29(11):743-754.

[7] OWINO S, BUONFIGLIO D D C, TCHIO C, et al. Melatonin signaling a key regulator of glucose homeostasis and energy metabolism[J]. *Front Endocrinol*, 2019, 10:488.

[8] WU J J, BAI Y, WANG Y G, et al. Melatonin and regulation of autophagy: Mechanisms and therapeutic implications[J]. *Pharmacol Res*, 2021, 163:105279.

[9] HE Y J, WU N, YU W S, et al. Research progress on the experimental animal model of gestational diabetes mellitus[J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2020, 13:4235-4247.

[10] 李鑫,杨慧霞. 实验性妊娠糖尿病大鼠模型的研究进展[J]. *现*

代妇产科进展, 2012, 21(8):648-650.

[11] 孙平,乔炳龙,李超,等. 褪黑素抑制氧化应激和铁死亡缓解妊娠糖尿病大鼠病理损伤[J]. *现代妇产科进展*, 2021, 30(3): 171-176.

[12] ENGLAND L J, DIETZ P M, NJOROGI T, et al. Preventing type 2 diabetes: Public health implications for women with a history of gestational diabetes mellitus[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2009, 200(4):365.e1-365.e8.

[13] KINTIRAKI E, GOULIS D G. Gestational diabetes mellitus: Multi-disciplinary treatment approaches [J]. *Metabolism*, 2018, 86:91-101.

[14] FOSTER R G. Melatonin[J]. *Curr Biol*, 2021, 31(22):R1456-R1458.

[15] TORDJMAN S, CHOKRON S, DELORME R, et al. Melatonin: Pharmacology, functions and therapeutic benefits [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2017, 15(3):434-443.

[16] LIU S M, GUO Y J, YUAN Q H, et al. Melatonin prevents neural tube defects in the offspring of diabetic pregnancy[J]. *J Pineal Res*, 2015, 59(4):508-517.

[17] DE MELO I M F, FERREIRA C G M, ALVES É R, et al. Melatonin administration prevents placental and fetal changes induced by gestational diabetes[J]. *Reprod Sci*, 2022, 29(4): 1111-1123.

[18] CAO W Y, LI J H, YANG K P, et al. An overview of autophagy: Mechanism, regulation and research progress[J]. *Bull Cancer*, 2021, 108(3):304-322.

[19] KMA L, BARUAH T J. The interplay of ROS and the PI3K/Akt pathway in autophagy regulation[J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2022, 69(1):248-264.

[20] ZHAO H Q, TAO S J. MiRNA-221 protects islet β cell function in gestational diabetes mellitus by targeting PAK1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 520(1):218-224.

[21] ZHANG R X, ZHANG X L, XING B H, et al. Astragaloside IV attenuates gestational diabetes mellitus via targeting NL- RP3 inflammasome in genetic mice[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2019, 17(1):77.

[22] 邢宝恒,曹亚磊,董秀娟,等. 白藜芦醇对妊娠期糖尿病大鼠胰岛细胞氧化应激损伤的保护作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(16):149-154.

[23] SAHA S, PANIGRAHI D P, PATIL S, et al. Autophagy in health and disease: A comprehensive review[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104:485-495.

[24] ZHANG M, SUI W H, XING Y Q, et al. Angiotensin IV attenuates diabetic cardiomyopathy via suppressing FoxO1-induced excessive autophagy, apoptosis and fibrosis[J]. *Theranostics*, 2021, 11(18):8624-8639.

[25] LUO F, SANDHU A F, RUNGRATANAWANICH W, et al. Melatonin and autophagy in aging-related neurodegenerative diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(19):7174.

(本文编辑 范睿心 厉建强)