

宫内膜基底层血管及卵巢激素水平无影响,而且在国内报道中显示双侧子宫动脉栓塞术后妊娠和分娩是较安全的,但由于本研究随访时间不长,样本量较少,获得相关资料有限,尤其是对于患者生育功能的影响,该研究仅有 1 例患者成功受孕至分娩,然而 UAE 对由于子宫肌瘤所致的不孕的临床效果仍需要进一步的临床的研究证实^[12,13]。

综上所述,本研究结果与国内外大多数临床研究结论相符,随访至患者术后 1 年的子宫体积及肌瘤体积均较术前明显减小,术后月经量较前明显减少,贫血、压迫症状也较术前有了明显改善,患者的生活质量也有了很大提高,治疗期间并无任何严重并发症。综上所述,UAE 治疗子宫肌瘤,可减少患者的月经量、缩小子宫体积及肌瘤体积,保持生育器官完整性,且对卵巢功能影响不大,值得推广普及。但是,想要取得较好的临床效果,应严格掌握其适应证和禁忌证,同时,UAE 也存在感染、泌尿系统损伤的风险,是否会影响患者的生育能力及影响的程度仍需大样本量及长期的临床研究来证实。

参考文献

- 冯丽霞,张胜华,辛玲丽,等. 子宫动脉栓塞术治疗症状性肌壁间子宫肌瘤的疗效及对卵巢功能的影响[J]. 中国微创外科杂志, 2012,12(9): 808-810
- 廖小萍. 介入治疗对子宫肌瘤血供变化的影响[J]. 中国医药指南, 2012,10(18): 259-260
- Ravina JH,Herbreteau D,Ciraru Vigneron N,et al. Arterial embolization to treat uterine myomata[J]. Lancet, 1995,346(6976): 671-672
- 傅才英,吴佩煜,翁霞云. 妇产科手术学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2009: 492-493
- Goodwin SC,McLucas B,Lee M,et al. Uterine artery embolization for the treatment of uterine leiomyomata midterm results[J]. J Vase Interv Radiol,1999,10: 1159-1165
- 李晓伟,王建六. 子宫肌瘤的病因[J]. 中国计划生育和妇产科, 2012,4(3): 15-16
- 杨娟. 不同术式对子宫肌瘤患者内分泌功能及性功能的影响[J]. 中国妇幼保健,2011,26(31): 4822-4824
- 姚莉,许博. 子宫动脉栓塞术治疗子宫肌瘤 100 例临床分析[J]. 中国实用医药,2012,7(22): 54-55
- Albanito L,Lappano R,Madeo A,et al. Effects of atrazine on Estrogen receptor - α - and G protein - coupled receptor 30 - mediated signaling and proliferation in a normal cells and cancer - associated fibroblasts [J]. Environ Health Perspect,2015,123(5): 493-499
- Aditiawarman. The role of albumin and endoplasmic reticulum in pathogenesis Preeclampsia. Changes of GRP78 and placental VEG pre-eclampsia [J]. 2014,4(3): 247
- 畅俊平,王丽霞,赵玉山,等. 子宫动脉栓塞治疗子宫肌瘤对卵巢功能影响的分析[J]. 中国药物与临床,2014,14(9): 1238-1239
- 聂岚,林春丽,肖立志. 子宫动脉栓塞治疗子宫肌瘤的疗效观察[J]. 医学临床研究, 2014,31(5): 997-998
- 陈春林. 子宫动脉栓塞术治疗子宫肌瘤[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2012,1(12): 911-913

(收稿日期:2016-09-29)

(修回日期:2016-10-07)

高脂饮食大鼠肾脏 HMGCS2 表达及调控研究

廖丹 章小艳 童晓清 斯彩娟 余小龙 束龙 张伦 王卫光 高蔚 郑培奋

摘要 目的 探讨高脂饮食大鼠肾脏 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 合成酶 2(HMGCS2)表达及可能调控机制。方法 断乳 Wistar 雄性大鼠 27 只分为 3 组:正常对照组(CON)、高脂组(HFG)、绿茶多酚(green tea polyphenols, GTPs)组(G)。CON 组大鼠喂养普通饲料,HFG 组及 GTPs 组给予高脂饲料,GTPs 组同时自由摄取绿茶多酚浓度为 1.6g/L 水溶液。26 周后测定空腹血糖(FPG)、血清胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)。免疫印迹法测定肾脏 HMGCS2 和 Sirt3 蛋白表达水平。**结果** 与 CON 组比较,HFG 组大鼠体重和脂肪系数升高,血清 FPG、TC、TG、LDL-C/HDL-C 均升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 HFG 组比较,GTPs 降低大鼠体重和脂肪系数,差异有统计学意义($P < 0.05$),GTPs 组血清 FPG、TC、TG、LDL-C/HDL-C 均不同程度降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 CON 组比较,肾脏组织 HMGCS2 的表达降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 HFG 组比较,GTPs 组增加肾脏 HMGCS2 的表达,差异有统计学意义($P < 0.05$)。高脂饮食、正常饮食和 GTPs 干预后,大鼠肾脏组织 Sirt3 蛋白表达差异无统计学意义。**结论** 高脂饮食可降低肾脏组织 HMGCS2 表达,绿茶多酚可逆

基金项目:浙江省卫生厅厅级培育项目(2014PYA002)

作者单位:310013 杭州,浙江医院

通讯作者:廖丹,电子信箱:376599136@qq.com;郑培奋,电子信箱:kuaidou09@163.com

转此效应;高脂饮食及绿茶多酚对肾脏组织 HMGCS2 表达的调控不经 Sirt3 途径。

关键词 高脂饮食 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 合成酶 2 (HMGCS2) 绿茶多酚 (GTPs)

中图分类号 R1

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.05.018

Expression of Renal HMGCS2 in Rats Fed With High Fat Diet. Liao Dan, Zhang Xiaoyan, Tong Xiaoqing, et al. Nutritional Department of Zhejiang Hospital, Zhejiang 310013, China

Abstract Objective To study the expression of renal HMGCS2 in rats fed with high fat diet and its mechanism. **Methods** Male Wistar rats were divided into three groups: normal control group (CON), high fat group (HFG), GTPs group (G), with 9 in each group. The CON group rats were fed a normal diet, the HFG group fed a high fat diet while the GTPs group fed the same high fat diet with drinking water containing GTPs. After 26 weeks, serum concentrations of fasted glucose, total cholesterol, triglyceride, LDL and HDL were measured by ELX 800 using their corresponding commercial kits. The expressions of HMGCS2 and Sirt3 were determined by western blot. **Results** Serum levels of TC, TG, LDL-C, FPG content in HFG group were higher than those of CON group ($P < 0.05$). Compared with HFG group, serum TC, TG, LDL-C levels and FPG in GTPs group were decreased. The expressions of renal HMGCS2 protein were decreased in HFG group. In GTPs treated group, the expressions of HMGCS2 were increased in contrast to HFG group. Meanwhile, the expressions of Sirt3 had no significance among the three groups. **Conclusion** The expression of renal HMGCS2 in rats fed with high fat diet was decreased. Green tea polyphenols may protect the kidneys through regulating blood glucose and lipids, and up-regulation of HMGCS2 protein expression.

Key words High fat diet; HMGCS2; Green tea polyphenols

酮体是一种肝内产生肝外利用的能量物质,在饥饿、长时间运动、能量限制、高脂低碳水化合物饮食的情况下体内酮体生成量明显增加。近来关于阿尔茨海默、帕金森、癫痫和脑卒中的动物实验结果显示,酮体在神经系统和肾脏组织中发挥抗氧化保护作用,其具体的机制尚不清楚^[1]。3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 合成酶 2 (HMGCS2) 为酮体生成唯一关键酶,主要存在于肝脏、肾脏及神经细胞等的线粒体中。

肾脏是代谢综合征 (metabolic syndrome, MS) 的重要靶器官之一,氧化应激在其发病过程起着重要作用。GTPs 是从绿茶中分离提取的一类多羟基酚类化合物的总称,是茶叶中的主要活性成分。GTPs 具有很强的抗氧化、减轻自由基损伤、降血脂等多种生物学作用,能明显改善长期高脂饮食大鼠肾脏组织的氧化应激状态^[2,3]。因此,本研究拟采用高脂饮食大鼠复制代谢综合征模型,观察高脂饮食及 GTPs 处理后肾脏组织中 HMGCS2 表达的变化,探讨 HMGCS2 在高脂饮食大鼠肾脏中的表达及可能调控机制。

对象与方法

1. 对象:SPF 级断乳雄性 Wistar 大鼠 (27 只)。

2. 方法:27 只 SPF 级断乳雄性 Wistar 大鼠适应性喂养 1 周后,测初始血糖、胆固醇和甘油三酯,综合体重和血糖、胆固醇和甘油三酯结果后分为 3 组:正常对照组 (CON)、高脂组 (HFG)、GTPs 干预组 (G 组)。CON 组大鼠喂养标准饲料, HFG 组大鼠喂养高

脂饲料, GTPs 干预组大鼠喂以高脂饲料的同时给予添加 GTPs (纯度 > 98%, 福州日冕科技开发有限公司) 的饮水 (G: 3.2g/L), CON 组和 HFG 组大鼠自由饮水。标准饲料三大营养素的比例为:碳水化合物 72.06%, 脂肪 7.05%, 蛋白质 20.99%。高脂饲料三大营养素比例为:碳水化合物 53.02%, 脂肪 32.17%, 蛋白质 14.81%。高脂饲料:以标准饲料为基础,添加猪油、蔗糖、蛋黄粉、花生粉、酪蛋白、奶粉等原料^[4]。其具体构成重量比为:标准饲料 0.60, 猪油 0.12, 蔗糖 0.10, 蛋黄粉 0.08, 花生粉 0.06, 酪蛋白 0.03, 奶粉 0.01。采用笼养方式,相对湿度 40% ~ 50%, 室温 22 ~ 26℃, 定期记录体重。喂养 26 周后处死所有大鼠,断头取血,分离血清,待测,另留部分 -80℃ 冻存。立刻分离肾脏,保存于 -80℃ 待用。血清胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白 (LDL)、高密度脂蛋白 (HDL) 及空腹血糖 (FPG) 测定按中生北控生物科技股份有限公司试剂盒说明书操作。制备好的肾脏蛋白样品定量后,蛋白质凝胶电泳分离 (SDS-PAGE) 和免疫印迹检测肾脏组织中 HMGCS2 和 Sirt3 蛋白的表达 (HMGCS2 抗体来自美国 Santa Cruz 公司; Sirt3 抗体来自 Cell Signal 公司; β -actin 抗体来自美国 Sigma 公司;辣根过氧化物酶标记的抗兔二抗来自美国 Sigma 公司)。免疫印迹条带用 ECL 显影剂 (美国 Milipore 公司) 检测,以 Gel Pro 4.0 图形分析软件对 Western blot 法蛋白条带定量分析积分光密度值。目的蛋白表达水平以各蛋白

同其 β -actin 的条带积分光密度值比值表示。采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析,实验数据用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用单因素方差分析作假设检验,两两比较用 $LSD-t$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. GTPs 对高脂饮食大鼠体重和脂肪系数的影响,如表 1 所示,经过 26 周的高脂饲料喂养后,与 CON 组比较,HFG 组大鼠体重升高,脂肪系数升高,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 HFG 组比较,G 组大鼠体重和脂肪系数都降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 GTPs 对高脂饮食大鼠体重和脂肪系数的影响
($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	体重(g)	脂肪系数(%)
正常对照组	399.75 $\pm$ 32.33	25.17 $\pm$ 4.79
高脂组	468.38 $\pm$ 35.1 *	45.10 $\pm$ 9.42 *
绿茶多酚组	426.25 $\pm$ 26.36 #	32.01 $\pm$ 7.17 #

与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与高脂组比较,# $P < 0.05$

2. GTPs 对高脂饮食大鼠血糖、血脂的影响:如表 2 所示,与 CON 组比较,HFG 组大鼠 FPG、TC、TG、LDL-C/HDL-C 均升高,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 HFG 组比较,G 组大鼠 FPG、TC、TG、LDL-C/HDL-C 均不同程度降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 2 GTPs 对高脂饮食大鼠血糖和血脂的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	FPG (mmol/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	LDL-C/HDL-C
正常对照组 (CON)	5.55 $\pm$ 0.48	1.06 $\pm$ 0.10	0.51 $\pm$ 0.07	0.53 $\pm$ 0.02
高脂组 (HFG)	6.4 $\pm$ 0.16 *	1.46 $\pm$ 0.04 *	0.73 $\pm$ 0.14 *	1.86 $\pm$ 0.29 *
绿茶多酚组 (G)	5.40 $\pm$ 0.46 *#	0.73 $\pm$ 0.12 *#	0.43 $\pm$ 0.12 #	0.31 $\pm$ 0.08 *#

与 CON 组比较,* $P < 0.05$;与 HFG 组比较,# $P < 0.05$

3. 肾脏组织 HMGCS2 蛋白表达水平的变化:如图 1 所示,与 CON 组比较,HFG 组肾脏 HMGCS2 蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$),而 G 组与 HFG 组比较,HMGCS2 蛋白表达水平上升 ($P < 0.05$)。

4. Western blot 法测定肾脏组织 Sirt3 蛋白表达结果:如图 2 所示,高脂饮食、正常饮食和 GTPs 干预大鼠肾脏组织 Sirt3 蛋白表达影响差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

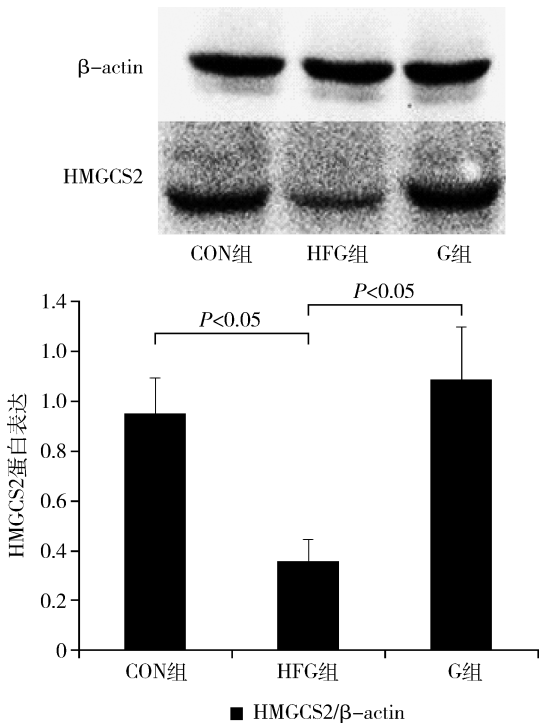


图 1 大鼠肾脏组织 HMGCS2 蛋白表达变化 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

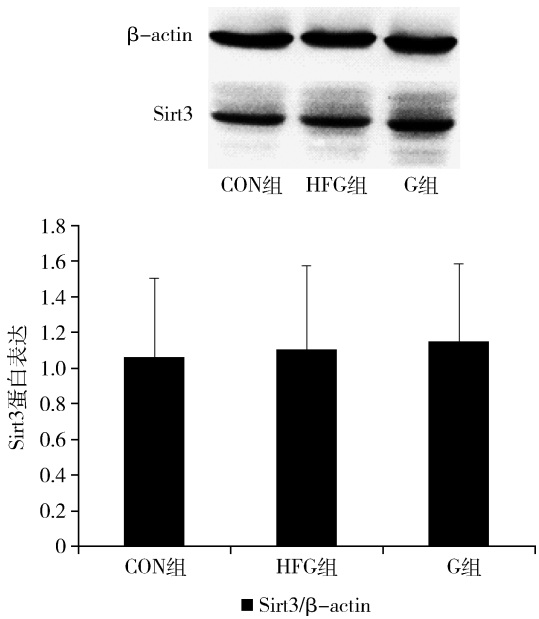


图 2 肾脏组织 Sirt3 蛋白表达改变 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

讨 论

代谢综合征 (MS) 是以高血压、糖尿病、高血脂及低密度脂蛋白胆固醇血症为特点的一系列血糖血脂

代谢紊乱综合征。能量摄入过多及其导致的氧化应激在发病过程中起着至关重要的作用^[5,6]。本研究采用高脂饮食诱导代谢综合征模型,大鼠体重和脂肪系数、血糖(FPG)、血脂(TC、TG、LDL-C/HDL-C)均升高,与对照组差异有统计学意义($P < 0.05$),这些数据已成功建立代谢综合征大鼠模型。在此研究中,绿茶多酚干预发挥了减重及调节血糖血脂的积极效应。这与以前的报道一致^[7]。

本研究发现,高脂饮食大鼠肾脏组织中 HMGCS2 表达水平低于正常饮食组大鼠,GTPs 能上调其表达。新近研究表明,酮体可以通过降低活性氧化物而抑制下游的氧化应激,从而达到对神经系统的保护作用^[8]。蛋白组学研究证实,脑卒中易感型自发性高血压大鼠肾脏组织 HMGCS2 蛋白表达明显低于自发性高血压大鼠,氯贝特能上调其表达,增加其肾脏组织的抗氧化能力,并提高其存活率^[9]。由此可见,HMGCS2 作为生酮过程关键酶,不仅与抗氧化关系密切,还可能与生存有关。

为进一步探索 HMGCS2 蛋白表达的调控机制,笔者的研究中还检测了 HMGCS2 的上游蛋白-Sirt3 的表达。Sirt3 是主要的线粒体去乙酰化酶,能够对乙酰化的线粒体蛋白进行脱乙酰基,维持和调节线粒体的正常生理功能,对于缓解和降低因氧化应激负荷引起的疾病发生具有重要意义。Sirt3 主要位于肾脏、肝脏等的线粒体中,研究证明,HMGCS2 的乙酰化受 Sirt3 控制,Sirt3^{-/-}小鼠饥饿时生酮水平降低^[10]。在笔者的研究水平下,未发现 Sirt3 蛋白表达差异有统计学意义。

综上所述,高脂饮食大鼠肾脏 HMGCS2 蛋白表

达水平会降低,绿茶多酚干预能增加其表达从而发挥对肾脏的抗氧化保护作用,关于 HMGCS2 表达调控的具体机制还需进一步探索。

参考文献

- 1 Shaafi S, Mahmoudi J, Pashapour A, *et al.* Ketogenic diet provides neuroprotective effects against ischemic stroke neuronal damages [J]. *Adv Pharm Bull*, 2014, 4(2):479-481
- 2 Kang MY, Park YH, Kim BS, *et al.* Preventive effects of green tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*) on diabetic nephropathy [J]. *Yonsei Med J*, 2012, 53(1):138-144
- 3 张婉慧,叶晓蕾,田翀,等.绿茶多酚对高糖高脂饮食大鼠肾纤溶酶原激活物抑制剂表达的影响[J]. *营养学报*, 2011,33(3):270-273
- 4 Marinou K, Tousoulis D, Antonopoulos AS, *et al.* Obesity and cardiovascular disease: from pathophysiology to risk stratification [J]. *Int J Cardiol*, 2010,138(1):3-8
- 5 Chen Y, Gu L, Zhou C, *et al.* Relapsed APL patient with variant NPM-RARalpha fusion responded to arsenic trioxide-based therapy and achieved long-term survival [J]. *Int J Hematol*, 2010, 91(4):708-710
- 6 Huang Y, Li W, Su ZY, *et al.* The complexity of the Nrf2 pathway: beyond the antioxidant response [J]. *J Nutr Biochem*, 2015, 26(12):1401-1413
- 7 Sae-Tan S, Grove KA, Lambert JD. Laboratory studies on weight control and prevention of metabolic syndrome by green tea [J]. *Pharmacol Res*. 2011, 64(2):146-154
- 8 Kim DY, Abdelwahab MG, Lee SH, *et al.* Ketones prevent oxidative impairment of hippocampal synaptic integrity through KATP channels [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4):e0119316-e0119329
- 9 Ying Chen-Jiang, Noguchi Takanori, Aso Hiroaki, *et al.* The role of cytochrome p-450 in salt-sensitive stroke in stroke-prone spontaneously hypertensive rats [J]. *Hypertens Res*, 2008, 31(9):1821-1827
- 10 Tadahiro Shimazu, Matthew D. Hirschey, *et al.* SIRT3 deacetylates mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA synthase 2 and regulates ketone body production [J]. *Cell Metabolism*, 2010, 12(6):654-661

(收稿日期:2016-10-23)

(修回日期:2016-11-01)

(接第 108 页)

- 4 Roelens J, Reuschenbach M, von Knebel Doeberitz M, *et al.* p16INK4a immunocytochemistry versus human papillomavirus testing for triage of women with minor cytologic abnormalities: a systematic review and meta-analysis [J]. *Cancer Cytopathol*, 2012, 120(5):294-307
- 5 宗丽菊,张友忠.关于女性下生殖道 HPV 相关鳞状上皮病变术语的解读[J]. *现代妇产科进展*, 2015,2:138-139
- 6 Huang MZ, Li HB, Nie XM, *et al.* An analysis on the combination expression of HPV L1 capsid protein and p16INK4a in cervical lesions [J]. *Diagn Cytopathol*, 2010,38(8):573-578
- 7 冷海娜,高清梅,张艳. HPV L1 壳蛋白在预测宫颈上皮内瘤变转归中的价值探讨[J]. *中国实用医刊*, 2015,42(9):66-67
- 8 Alshenawy HA. Evaluation of p16, human papillomavirus capsid protein L1 and Ki-67 in cervical intraepithelial lesions: potential utility in diagnosis and prognosis [J]. *Pathol Res Pract*, 2014, 210(12):916-921
- 9 Ungureanu C, Socolov D, Anton G, *et al.* Immunocytochemical expression of p16INK4a and HPV L1 capsid proteins as predictive mark-

ers of the cervical lesions progression risk [J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2010,51(3):497-503

- 10 李俐,黄文斌,黄悦,等. 子宫颈病变中 HPV L1 蛋白和 p16 的表达 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2009,25(6):576-579
- 11 宋艳,李青,李凌,等. L1 壳蛋白和 p16INK4a 蛋白在宫颈病变中的表达及意义 [J]. *中华肿瘤学杂志*, 2013,34(5):352-355
- 12 欧雪峰. 子宫颈病变中 HPV L1 蛋白和 p16 的表达与临床意义 [J]. *海南医学院学报*, 2011,17(5):592-597
- 13 Izadi-Mood N, Sarmadi S, Eftekhari Z, *et al.* Immunohistochemical expression of p16 and HPV L1 capsid proteins as predictive markers in cervical lesions [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2014, 289(6):1287-1292
- 14 Negri G, Bellisano G, Zannoni GF, *et al.* p16 ink4a and HPV L1 immunohistochemistry is helpful for estimating the behavior of low-grade dysplastic lesions of the cervix uteri [J]. *Am J Surg Pathol*, 2008,32(11):1715-1720

(收稿日期:2016-09-30)

(修回日期:2016-10-06)