



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2023.09.015

<http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2023.09.015>

· 临床研究 ·

# 硒减轻高糖诱导的血管平滑肌钙化的机制研究

方灿 夏豪 周文杰

**[摘要]** **目的** 探讨硒通过抑制线粒体分裂而减轻血管平滑肌钙化的作用机制。**方法** 将大鼠平滑肌细胞分为低糖组、高糖组、低糖+硒组及高糖+硒组。低糖组用低糖培养液培养细胞,高糖组用高糖培养液培养细胞,低糖+硒组用低糖培养液和亚硒酸钠共培养细胞,高糖+硒组用高糖培养液和亚硒酸钠共培养细胞,每组细胞均培养 14 d。采用茜素红染色检测钙沉积情况、碱性磷酸酶(ALP)活性试剂盒检测细胞 ALP 活性、荧光定量 PCR 检测平滑肌细胞收缩表型  $\alpha$ -SMA、成骨表型 RUNX2、OCN 及线粒体分裂因子 Drp1、融合因子 Mfn1 相对表达水平,用 DCFH-DA 探针检测细胞内活性氧(ROS)的生成情况。**结果** 茜素红染色结果显示,高糖组细胞钙沉积明显高于低糖组及高糖+硒组。低糖组、高糖组及高糖+硒组细胞 ALP 活性逐渐下降( $P < 0.05$ )。高糖组细胞成骨表型 RUNX2、OCN 相对表达水平均显著高于低糖组,收缩表型  $\alpha$ -SMA 相对表达水平明显低于低糖组;高糖+硒组细胞收缩表型  $\alpha$ -SMA 相对表达水平明显高于高糖组,但低于低糖+硒组,成骨表型 RUNX2、OCN 相对表达水平均明显低于高糖组,但高于低糖+硒组( $P < 0.05$ )。高糖组细胞线粒体分裂因子 Drp1 相对表达水平显著高于低糖组,而线粒体融合因子 Mfn1 相对表达水平显著低于低糖组;低糖+硒组细胞 Drp1 相对表达水平明显低于低糖组,而线粒体融合因子 Mfn1 相对表达水平明显高于低糖组;高糖+硒组细胞线粒体分裂因子 Drp1 相对表达水平显著低于高糖组,而线粒体融合因子 Mfn1 相对表达水平显著高于高糖组,但低于低糖+硒组( $P < 0.05$ )。DCFH-DA 检测结果显示,高糖组细胞 ROS 荧光信号显著多于低糖组及高糖+硒组,而加入 Drp1 抑制剂 Mdivi-1 后,仅高糖组细胞 ROS 荧光信号较同组加入前明显降低。**结论** 硒通过抑制高糖诱导的线粒体分裂而稳定线粒体动力学变化,进而减少细胞内氧化应激的产生,最终有效抑制血管平滑肌钙化的进展。

**[关键词]** 硒; 线粒体功能障碍; 血管钙化; 氧化应激

**[中图分类号]** R543.1

**[文献标识码]** A

**Mechanism study of selenium alleviating vascular smooth muscle calcification induced by high glucose** Fang Can, Xia Hao, Zhou Wenjie. Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the mechanism of selenium (se) alleviating vascular smooth muscle calcification by inhibiting mitochondrial division fission. **Methods** Rat smooth muscle cells were divided into low glucose group, high glucose group, low glucose + se group and high glucose + se group. The cells in low glucose group were cultured with low glucose culture medium, the cells in high glucose group were cultured with high glucose culture medium, the cells in low glucose + se group were cultured with low glucose medium and sodium selenite, the cells in the high glucose + se group were cultured with high glucose medium and sodium selenite, the cells in each group were cultured for 14 days. Alizarin red staining was used to detect calcium deposition, alkaline phosphatase (ALP) activity kit was used to detect cell ALP activity, the expression levels of contraction-phenotype  $\alpha$ -SMA, osteoblastic phenotype RUNX2, OCN, mitochondrial fission factor Drp1 and fusion factor Mfn1 were detected by fluorescence quantitative PCR. The production of intracellular reactive oxygen species (ROS) was detected by DCFH-DA probe. **Results** Alizarin red staining results showed that calcium deposition in high glucose group was significantly higher than those in low glucose group and high glucose + se group. The ALP activity of cells in low glucose group, high glucose group and high glucose + se group decreased gradually ( $P < 0.05$ ). The

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81270184)

作者单位:430060 武汉,武汉大学人民医院心内科 武汉大学心血管病研究所 心血管病湖北省重点实验室

通讯作者:夏豪, E-mail: xiahao1966@163.com; 周文杰, E-mail: wenjie210@163.com

relative expression levels of osteoblastic phenotype RUNX2 and OCN in high glucose group were significantly higher than those in low glucose group, and the relative expression levels of contractile phenotype  $\alpha$ -SMA were significantly lower than that in low glucose group; The relative expression level of  $\alpha$ -SMA in high glucose + se group was significantly higher than that in high glucose group, but lower than that in low glucose + se group; The relative expression levels of osteoblastic phenotype RUNX2 and OCN were significantly lower than that in high glucose group, but higher than that in low glucose + se group ( $P < 0.05$ ). The relative expression level of mitochondrial division factor Drp1 in high glucose group was significantly higher than that in low glucose group, while the relative expression level of mitochondrial fusion factor Mfn1 was significantly lower than that in low glucose group; the relative expression level of Drp1 in low glucose + se group was significantly lower than that in low glucose group, while the relative expression level of Mfn1 was significantly higher than that in low glucose group; The relative expression level of mitochondrial division factor Drp1 in the high glucose + se group was significantly lower than that in high glucose group, while the relative expression level of mitochondrial fusion factor Mfn1 was significantly higher than that in the high glucose group, but lower than that in low glucose + se group ( $P < 0.05$ ). DCFH-DA detection results showed that the ROS fluorescence signal in high glucose group was significantly higher than that in low glucose group and high glucose + se group, but after adding Drp1 inhibitor Mdivi-1, only the ROS fluorescence signal in high glucose group was significantly lower than that before adding. **Conclusion** Se stabilizes mitochondrial dynamics by inhibiting high-glucose-induced mitochondrial fission, thereby reducing the production of intracellular oxidative stress, and finally effectively inhibiting the progression of vascular smooth muscle calcification.

[**Key words**] Selenium; Mitochondrial dysfunction; Vascular calcification; Oxidative stress

血管钙化表现为钙磷等物质在血管壁内异常沉积,使血管壁僵硬增加且弹性降低,从而易造成血栓形成和血管破裂,因此血管平滑肌钙化被认为是评估机体发生心血管死亡风险的重要指标<sup>[1-2]</sup>。过去研究认为,血管钙化是血管衰老的病理过程;而越来越多的研究表明,血管钙化不是单纯的细胞老化过程,而是在缺氧、高糖、氧化应激等各种病理刺激下受到信号分子严密调控而主动发生的,表现为平滑肌细胞由收缩表型转换为成骨表型<sup>[3-4]</sup>,但其调控机制尚不清楚。硒是人体必需的微量元素之一,通过日常膳食被摄取并以硒蛋白的形式发挥作用,是体内许多抗氧化酶的重要组成部分<sup>[5]</sup>。氧化应激是心血管疾病的主要发病基础之一,表现为细胞内过多的氧自由基累积<sup>[6-7]</sup>;而线粒体被认为是细胞内氧自由基产生的主要场所<sup>[6]</sup>,当病理刺激过强或持久超出线粒体的自我调节能力时,其结构和功能受损,最终导致细胞内氧化应激损伤的发生<sup>[8]</sup>。近几年的研究结果表明,线粒体功能障碍与血管钙化密切相关;Wang 等<sup>[9]</sup>发现动力相关蛋白 1 (Drp1) 的过度激活会促使线粒体分裂和线粒体膜电位下降,最终导致血管平滑肌钙化的发生;Zhu 等<sup>[10]</sup>认为线粒体过度分裂和自噬障碍是导致慢性肾病中血管钙化发生的重要机制;此外,硒的抗氧化作用已被证实<sup>[11-12]</sup>,但其维持线粒体功能的作用机制尚不清楚,硒是否通过调控线粒体的分裂与融合而减轻氧化应激损伤,从而减缓血管钙化的进展还有待进一步研究,这些问题的阐明将为心血管疾病的预防及治疗提供理论依据,对降低恶性心血管事件的发生率和死亡率具有重要意义。

## 材料与方法

1. 材料:实验动物:6 只雄性 SD 大鼠(6~8 周龄,160~180 g)购自三峡大学实验动物中心[动物生产许可证号:SYXX(鄂)2019-0106],饲养条件:温度 24~26℃、环境湿度 55%~60%、光/暗周期 12 h/12 h,可自由饮水和进食。实验材料:亚硒酸钠(Sigma),高糖 DMEM(Hyclone,SH30022.01),低糖 DMEM(Hyclone,SH30021.01),胎牛血清(Bioexplorer,BS1612-109),磷酸盐缓冲液(PBS,Solarbio);青链霉素混合液(P/S,Solarbio),0.25%胰蛋白酶(Solarbio,T1300),多聚甲醛(Servicebio),茜素红染料(Solarbio),2',7'-二氯荧光素二乙酸酯(DCFH-DA),碱性磷酸酶(ALP)活性检测试剂盒(Beyotime),Trizol(TAKARA),SYBR Green PCR Master Mix(Servicebio);SweScript RT I First Strand cDNA Synthesis Kit(Servicebio),Mdivi-1 抑制剂(Beyotime)。

## 2. 方法

(1)大鼠原代主动脉平滑肌细胞培养、钙化模型的构建及分组处理:SD 大鼠腹腔注射 3%戊巴比妥钠(50 mg/kg),麻醉固定、备皮消毒,从剑突处打开胸腔,再将大鼠调整至右侧卧位,取出胸主动脉置于含有 PBS 的无菌培养皿中,用巴氏吸管反复冲洗,清除残留血液;再将主动脉转移至另一含 PBS 皿中,在超净工作台中剥离血管外结缔组织,沿纵轴剪开血管,将其转移至含 0.25%胰蛋白酶的无菌皿中,内皮面朝下并消化 1 min 使内皮脱落;再将其转移另一低糖培养液(低糖 DMEM + 10% FBS + 1% P/S)的皿中剪碎,铺在培养瓶中并加入 5 ml 培养液,将培养瓶直立放入 37℃、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中,1 h 后若剪碎的组织块周围液体蒸

干,再将培养瓶轻轻放平。5 d 后首次换液,显微镜下观察到平滑肌细胞已从组织块中爬出,而后每隔 1 d 换液直至细胞长满至 80%~90% 进行传代,传至 3~5 代用于后续实验。将 3~5 代细胞分为 4 组:低糖组继续采用低糖培养液培养;高糖组采用高糖培养液(高糖 DMEM + 10% FBS + 1% P/S)诱导钙化,当细胞生长达到 80% 汇合时,用胰蛋白酶消化收集细胞调整细胞悬液水平,接种于 6 孔板中,待细胞贴壁融合至 80% 时采用高糖培养液处理平滑肌细胞,每隔 1 d 换液;低糖 + 硒组用低糖培养液加亚硒酸钠(200 nmol/L)共培养细胞;高糖 + 硒组用高糖培养液和亚硒酸钠(200 nmol/L)共培养细胞。每组细胞均培养 14 d,所有细胞在下一步处理前均需用 PBS 洗 3 遍。

(2)茜素红染色:4 组细胞分别加入 4% 多聚甲醛固定 20 min,吸去多余多聚甲醛溶液,每孔加 1 ml 茜素红染液,5 min 后用蒸馏水轻轻洗净,再移至倒置显微镜下观察钙沉积情况。

(3)ALP 的活性检测:4 组细胞分别于每孔加入 150 μl 样品裂解液,用枪吹打数下,使样品裂解液和细胞充分接触。根据试剂说明书测定 ALP 活性。

(4)荧光定量 PCR (qPCR):采用 Trizol 法提取 RNA,反转录为 cDNA,以 cDNA 为模板,进行实时荧光定量 PCR 扩增。反应程序为:95 ℃,30 s;95 ℃,15 s;60 ℃,10 s;72 ℃,30 s;95 ℃,15 s,60 ℃,1 min,95 ℃,15 s,循环 40 次。以 2-ΔΔCt 法计算平滑肌细胞的收缩表型 α-SMA、成骨表型 RUNX2、OCN 及线粒体分裂因子 Drp1、融合因子 Mfn1 相对表达水平。

(5)活性氧(ROS)检测:4 组细胞及加入 Drp1 抑制剂 Mdivi-1(50uM)48h 后的细胞用不含血清的低糖培养液按 1:1 000 比例稀释 DCFH-DA 探针,再将稀释后的 DCFH-DA 以每孔 1 ml 加入孔中覆盖细胞,轻轻摇晃 6 孔板使细胞与探针充分接触,然后置于 37 ℃ 细胞培养箱内孵育 20 min。最后用无血清细胞培养液洗涤细胞 3 次,以充分去除未进入细胞内的 DCFH-DA。用倒置荧光显微镜观察并采集图像。

3. 统计学处理:应用 Graphpad Prism8 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。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

结 果

1.4 组细胞钙沉积情况比较:茜素红染色结果显示,高糖组细胞钙沉积明显高于低糖组及高糖 + 硒组,低糖 + 硒组细胞钙沉积较低糖组无明显变化。见图 1。

2.4 组细胞 ALP 活性比较:低糖组[ (214.00 ± 6.64) U/mg ]、高糖组[ (285.70 ± 1.39) U/mg ] 及高糖 + 硒组[ (196.30 ± 6.89) U/mg ] 细胞 ALP 活性逐渐下降( $P < 0.05$ )。而低糖组与低糖 + 硒组[ (182.40 ± 32.12) U/mg ] 细胞 ALP 活性比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

3.4 组细胞收缩表型 α-SMA 及成骨表型 RUNX2、OCN 相对表达水平比较:高糖组成骨表型 RUNX2、OCN 相对表达水平均显著高于低糖组,收缩表型 α-SMA 相对表达水平明显低于低糖组( $P < 0.05$ )。高糖 + 硒组收缩表型 α-SMA 相对表达水平明显高于高糖组,但低于低糖 + 硒组;成骨表型 RUNX2、OCN 相对表达水平明显低于高糖组,但高于低糖 + 硒组( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 4 组细胞收缩表型 α-SMA 及成骨表型 RUNX2、OCN 相对表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	α-SMA	RUNX2	OCN
低糖组	1.00	1.00	1.00
高糖组	0.65 ± 0.09 <sup>a</sup>	3.79 ± 0.14 <sup>a</sup>	4.37 ± 0.54 <sup>a</sup>
低糖 + 硒组	1.21 ± 0.17	0.94 ± 0.05	0.77 ± 0.15
高糖 + 硒组	0.95 ± 0.03 <sup>bc</sup>	1.27 ± 0.02 <sup>bc</sup>	1.85 ± 0.45 <sup>bc</sup>

注:与低糖组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与高糖组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与低糖 + 硒组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

4.4 组细胞线粒体分裂因子 Drp1 及融合因子 Mfn1 相对表达水平比较:高糖组细胞线粒体分裂因子 Drp1 相对表达水平显著高于低糖组,而线粒体融合因子 Mfn1 相对表达水平显著低于低糖组;低糖 + 硒组细胞 Drp1 相对表达水平明显低于低糖组,而线粒体融合因子 Mfn1 相对表达水平明显高于低糖组;高糖 + 硒组细胞线粒体分裂因子 Drp1 相对表达水平显著低于高糖组,而线粒体融合因子 Mfn1 相对表达水平显著高于高糖组,但低于低糖 + 硒组( $P < 0.05$ )。见表 2。

5.4 组细胞 ROS 情况比较:DCFH-DA 检测结果显示,高糖组细胞 ROS 荧光信号显著多于低糖组及高糖 + 硒组,而加入 Drp1 抑制剂 Mdivi-1 后,仅高糖组细胞 ROS 荧光信号较同组加入前明显降低。见图 2。

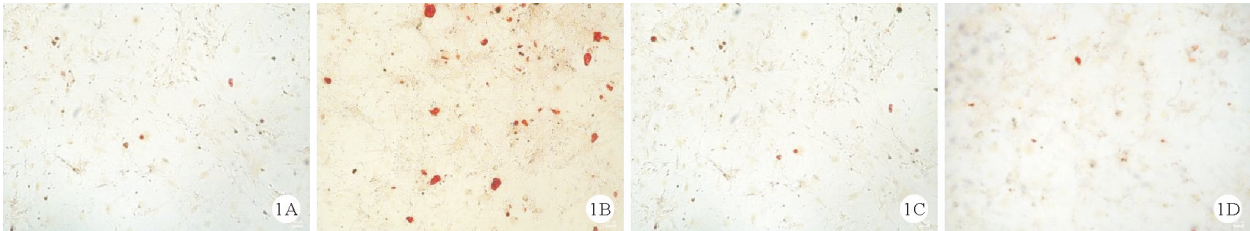


图 1 4 组细胞茜素红染色结果[A:低糖组;B:高糖组;C:低糖 + 硒组;D:高糖 + 硒组;橘红色结节代表钙沉积;×100]



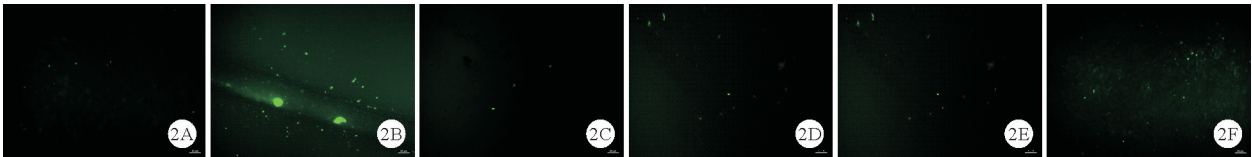


图2 4组细胞 ROS 染色结果[A:低糖组;B:高糖组;C:低糖组 + Mdivi-1;D:高糖组 + Mdivi-1;E:低糖 + 硒组;F:高糖 + 硒组;绿色荧光代表 ROS;×200]

表2 4组细胞线粒体分裂因子 Drp1 及融合因子 Mfn1 相对表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	Drp1	Mfn1
低糖组	1.00	1.00
高糖组	1.84 ± 0.12 <sup>a</sup>	0.45 ± 0.03 <sup>a</sup>
低糖 + 硒组	0.65 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.18 ± 0.05 <sup>a</sup>
高糖 + 硒组	0.88 ± 0.13 <sup>b</sup>	0.64 ± 0.03 <sup>bc</sup>

注:与低糖组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与高糖组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与低糖 + 硒组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

讨 论

既往研究结果认为,血管钙化的发生是在多种病理刺激下受到严密调控的复杂过程,而高糖是血管钙化的重要发病因素之一,学者们发现高糖通过诱发氧化应激损伤而促进血管平滑肌钙化发生,其过程受到 MAPKs、PI3K/AKT 等信号分子调控<sup>[13]</sup>;且还发现高糖和线粒体功能障碍密切相关,其可促进 Drp1 介导的线粒体过度分裂并抑制 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬,从而使线粒体质量控制失调和功能障碍<sup>[14]</sup>。但线粒体功能障碍是否在高糖诱导的血管钙化中扮演重要角色尚不清楚。线粒体是 ROS 的重要来源,线粒体功能障碍可导致细胞内 ROS 水平升高,而硒被认为是体内抗氧化体系的重要组成部分,可通过增强过氧化物酶的活性而促进 ROS 的清除<sup>[15]</sup>。因此,硒能否发挥保护线粒体功能的作用,其作用机制是否与线粒体动力学变化密切相关还有待进一步探究。

因此,在前人研究的基础之上,本研究致力于深入探讨硒在高糖诱导血管平滑肌钙化中的作用机制,首次提出了硒的抗氧化机制与线粒体功能障碍密切相关。本研究首先探讨高糖诱导血管平滑肌钙化的具体机制从而明确发病的关键靶点,结果显示与低糖组相比,高糖组细胞线粒体分裂因子 Drp1 表达显著增高而线粒体融合因子 Mfn1 表达显著降低;同时检测细胞内的活 ROS,结果发现高糖组细胞 ROS 显著增多;说明高糖通过促进线粒体分裂并抑制线粒体融合,进而导致细胞内 ROS 水平升高并促进平滑肌钙化发生;然而加入 Mdivi-1 抑制 Drp1 活性后,高糖组细胞内 ROS 荧光信号较加入前明显降低,提示 Drp1 是高糖诱发平滑肌细胞内氧化应激的关键因子。本研究结果显示与高糖组相比,高糖 + 硒组细胞 Drp1 表达显著减少、Mfn1

表达显著增加;此外,高糖 + 硒组细胞 ROS 荧光信号比高糖组明显降低,说明硒可抑制线粒体分裂因子 Drp1 表达并促进线粒体融合因子 Mfn1 表达,进而减轻氧化应激损伤和血管平滑肌钙化。既往研究结果认为,线粒体分裂伴随着线粒体膜电位的变化,过度线粒体分裂可诱使线粒体膜电位的下降,可能会破坏线粒体膜上的氧化磷酸化和过氧化物酶系,从而促使细胞内 ROS 水平的升高<sup>[16-17]</sup>,由此可见硒可能通过抑制 Drp1 介导的线粒体分裂使线粒体膜电位丢失和抗氧化酶失活,从而减轻氧化应激损伤和平滑肌钙化发生,这表明硒可稳定高糖诱导的线粒体动力学变化进而促进受损线粒体结构和功能的恢复,这对于维持线粒体稳态和阻碍血管平滑肌层功能障碍具有重要意义。此外,本研究发现与低糖组相比,低糖 + 硒组的 Drp1 表达明显降低,而 Mfn1 表达明显增加,说明硒对正常平滑肌细胞也有一定的保护作用,其可抑制正常线粒体分裂并促进线粒体融合,有利于维持线粒体结构和功能完整,对于预防线粒体功能障碍相关疾病的发生具有重要意义。本研究尚存在以下不足之处:(1)仅建立体外钙化模型并验证硒的治疗作用,应构建糖尿病大鼠的血管钙化模型进一步验证硒的治疗作用;(2)本研究采用的药物是亚硒酸钠,而硒在人体中主要以硒蛋白形式发挥作用,因此未能明确硒是通过合成硒蛋白发挥作用还是通过激活受体单独发挥作用;(3)提出硒通过抑制线粒体分裂而减轻血管钙化,却并未上调线粒体分裂因子 Drp1 的表达回复验证硒对线粒体动力学变化的作用。因此,还需开展进一步的基础研究阐明硒和线粒体功能障碍在血管病变发生发展中的重要作用,为临床上研究血管病变的治疗靶点及拓展硒的适应证提供理论基础。

参 考 文 献

[1] Lee SJ, Lee IK, Jeon JH. Vascular Calcification-New Insights Into Its Mechanism[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(8):2685.  
[2] Villa-Bellota R. Vascular Calcification: Key Roles of Phosphate and Pyrophosphate[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(24):13536.  
[3] Demer LL, Tintut Y. Inflammatory, metabolic, and genetic mechanisms of vascular calcification[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34(4):715-723.  
[4] Durham AL, Speer MY, Scatena M, et al. Role of smooth muscle cells in vascular calcification: implications in atherosclerosis and arterial stiffness[J]. Cardiovasc Res, 2018, 114(4):590-600.  
[5] Mangiapane E, Pessione A, Pessione E. Selenium and selenoproteins: an overview on different biological systems[J]. Curr Protein Pept Sci, 2014,



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2023.09.016

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2023.09.016

## · 论著摘要 ·

## 非糖尿病代谢相关脂肪性肝病患者尿液代谢物特征分析

黄艳阳 赵娜 隋国媛 贾连群 权冬梅

[关键词] 代谢相关脂肪性肝病; 尿液代谢物; 代谢组学

[中图分类号] R575.5; R333.4

[文献标识码] A

代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)的主要病理表现为肝细胞的脂肪沉积超过正常范围,与胰岛素抵抗、遗传等关系密切,是一种与代谢关联紧密的疾病<sup>[1-2]</sup>。MAFLD 是一种进行性疾病,可直接导致肝硬化、肝癌等肝病,且可能参与 2 型糖尿病、代谢综合征、动脉粥样硬化性心血管疾病、慢性肾脏病及相关恶性肿瘤的发病<sup>[3-4]</sup>。目前,MAFLD 的全球患病率约为 25% 且呈持续增长趋势,由于其对公众健康的影响日益严重,研究防治 MAFLD 具有重要意义。代谢组学已成为现代研究中发现各个系统疾病相关标志物的新工具<sup>[5-7]</sup>,可更好地阐述机体变化的代谢结果,提供内源性代谢物的全面概况。基于液相色谱-质谱技术(LC-MS)的代谢组学技术已成功应用于涵盖 MAFLD 在内的多领域疾病的研究。本文回顾性将其与生物体中发生的潜在生物过程联系起来,可为临床提供更加客观准确的信息。

## 对象与方法

1. 对象:选取 2019 年 3 月~2020 年 3 月沈阳市第六人民

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81803860);辽宁省自然科学基金资助项目(2022-MS-283);沈阳市中青年科技创新人才支持计划项目(RC210094)

作者单位:110847 沈阳,辽宁中医药大学研究生院(黄艳阳),中医脏象理论及应用教育部重点实验室(赵娜、隋国媛、贾连群);沈阳市第六人民医院消化内科(权冬梅)

通讯作者:隋国媛, E-mail: sgy871008@126.com; 贾连群, E-mail: jllq-8@163.com

医院的非糖尿病 MAFLD 患者 10 例作为 nDM-MAFLD 组,均符合《非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018 更新版)》<sup>[1]</sup> 中 MAFLD 的诊断标准,其中男、女各 5 例,年龄 18~72 岁,平均年龄( $55.3 \pm 9.4$ )岁;再选取同期该院健康体检者 10 例作为健康对照组(对照组),其中男、女各 5 例,年龄 18~72 岁,平均年龄( $55.1 \pm 8.1$ )岁。两组受试者年龄、性别比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。排除标准:(1)肝硬化、肝脏恶性肿瘤、急性胆道感染性疾病、正在服用或近 3 个月服用过具有肝毒性的药物;(2)经标准抗高血压治疗后舒张压  $> 100$  mmHg,和(或)收缩压  $> 160$  mmHg;(3)患有恶性肿瘤、先天性心脏病、急性心肌梗死、经皮冠状动脉介入治疗术后、心功能不全 III 级及以上、严重心律失常、急性脑梗塞及出血、肺心病、呼吸衰竭、肾功能不全、造血系统疾病等严重原发病;(4)精神疾病;(5)糖尿病;(6)严重腹泻或便秘;(7)妊娠及哺乳期;(8)近 3 个月服用过甾体类抗炎药物、抗菌素和微生态制剂;(9)近 1 周食用过含有益生菌类食物。本研究经沈阳市第六人民医院伦理委员会审核批准,所有受试者均签署知情同意书。

## 2. 方法

(1)一般资料及实验室检查指标收集:收集所有受试者一般资料(性别、年龄及 BMI)及实验室检查指标[甘油三酯(TG)、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)、ALT、AST、谷氨酰转氨酶(GGT)、载脂蛋白(APOA)、载脂蛋白 B(APOB)、血糖、尿酸、尿素、总蛋白、

15(6):598-607.

- [6] Aimo A, Castiglione V, Borrelli C, et al. Oxidative stress and inflammation in the evolution of heart failure: From pathophysiology to therapeutic strategies[J]. Eur J Prev Cardiol, 2020, 27(5):494-510.
- [7] Sorrentino V, Menzies KJ, Auwerx J. Repairing Mitochondrial Dysfunction in Disease[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2018, 58:353-389.
- [8] Ryoo IG, Kwak MK. Regulatory crosstalk between the oxidative stress-related transcription factor Nfe2l2/Nrf2 and mitochondria[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2018, 359:24-33.
- [9] Wang PW, Pang Q, Zhou T, et al. Irisin alleviates vascular calcification by inhibiting VSMC osteoblastic transformation and mitochondria dysfunction via AMPK/Drp1 signaling pathway in chronic kidney disease[J]. Atherosclerosis, 2022, 346:36-45.
- [10] Zhu Y, Han XQ, Sun XJ, et al. Lactate accelerates vascular calcification through NR4A1-regulated mitochondrial fission and BNIP3-related mitophagy[J]. Apoptosis, 2020, 25(5-6):321-340.
- [11] Chen Y, Yang F, Chu Y, et al. Mitochondrial transplantation: opportunities and challenges in the treatment of obesity, diabetes, and nonalcoholic fatty liver disease[J]. J Transl Med, 2022, 20(1):483.
- [12] Zhang Q, Zhan H, Liu C, et al. Neuroprotective Effect of miR-483-5p Against Cardiac Arrest-Induced Mitochondrial Dysfunction Mediated

Through the TNFSF8/AMPK/JNK Signaling Pathway[J]. Cell Mol Neurobiol, 2023, 43(5):2179-2202.

- [13] Zhang P, Wang AP, Yang HP, et al. Apelin-13 attenuates high glucose-induced calcification of MOVAS cells by regulating MAPKs and PI3K/AKT pathways and ROS-mediated signals[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 128:110271.
- [14] Zhang Y, Xi X, Mei Y, et al. High-glucose induces retinal pigment epithelium mitochondrial pathways of apoptosis and inhibits mitophagy by regulating ROS/PINK1/Parkin signal pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 111:1315-1325.
- [15] Das S, Majumder B, Biswas AK. Selenium alleviates arsenic induced stress by modulating growth, oxidative stress, antioxidant defense and thiol metabolism in rice seedlings[J]. Int J Phytoremediation, 2022, 24(7):763-777.
- [16] Quiles JM, Gustafsson AB. The role of mitochondrial fission in cardiovascular health and disease[J]. Nat Rev Cardiol, 2022, 19(11):723-736.
- [17] Xu T, Dong Q, Luo Y, et al. Porphyromonas gingivalis infection promotes mitochondrial dysfunction through Drp1-dependent mitochondrial fission in endothelial cells[J]. Int J Oral Sci, 2021, 13(1):28.

(收稿日期:2023-02-07)

(本文编辑:余晓曼)