doi:10.11659/jjssx.02E020056

·基础研究·

Roux-en-Y 胃旁路术降低肥胖 2 型糖尿病大鼠肝脂毒性的探究

唐恺欣[1],马南希[2],李雪松[1],何 冰[1] (1.中国医科大学附属盛京医院内分泌科,辽宁 沈阳 110004;2.沈阳市红十字会医院内分泌科,辽宁 沈阳 110013)

[摘 要] **目的** 观察 Roux-en-Y 胃旁路术(RYGB)后 2 周肥胖 2 型糖尿病(T2DM)大鼠肝脂肪代谢及交感神经活性变化,探讨 RYGB 降低肝脂毒性的可能机制。**方法** 将 32 只大鼠随机分为正常对照组、肥胖 T2DM 组、RYGB 假手术组和 RYGB 手术组,每组 8 只;除正常对照组大鼠外,其余 24 只采用高脂饮食联合腹腔注射 30 mg/kg 链脲佐菌素(STZ)诱导肥胖 T2DM 大鼠模型。采用清醒状态扩展高胰岛素 - 正血糖钳夹技术评估术后 2 周大鼠肝胰岛素的敏感性,酶法检测大鼠血浆和肝组织中三酰甘油(TG)及游离脂肪酸(FFA)含量,Western blot 检测大鼠肝组织中二酰甘油酰基转移酶 2(DGAT2)、磷酸化激素敏感性脂肪酶(p-HSL)、肉碱棕榈酰转移酶(CPT1A)、微粒体三酰甘油转运蛋白(MTTP)和酪氨酸羟化酶(TH)的蛋白表达,ELISA 检测血浆 NE 浓度。**结果** 与肥胖 T2DM 组和 RYGB 假手术组相比,术后 2 周 RYGB 手术组大鼠体质量降低,血浆 TG 及 FFA 减少,血糖恢复正常水平,肝胰岛素敏感性指数提高近 1 倍($P<0.05$),肝组织内 TG 含量下降超 80%($P<0.05$),FFA 下降近 50%($P<0.05$),肝组织内 DGAT2 蛋白表达减少($P<0.05$),MTTP 蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$),p-HSL、CPT1A 和 TH 蛋白表达显著增加($P<0.05$)。各组大鼠血浆 NE 浓度比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** RYGB 能够减少肝内脂肪蓄积,改善肝胰岛素抵抗。术后肝组织局部交感神经活性上调,肝脂肪分解代谢增强可能是肝脂肪蓄积减少的机制之一。

[关键词] Roux-en-Y 胃旁路术;2 型糖尿病;肥胖;交感神经;脂代谢
[中图分类号] R589.2 [文献标识码] A [收稿日期] 2020-02-15

Roux-en-Y gastric bypass reduces hepatic lipid toxicity in obese type 2 diabetic rats

TANG Kai-xin[1], MA Nan-xi[2], LI Xue-song[1], HE Bing[1] (1. Department of Endocrinology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang Liaoning 110004; 2. Department of Endocrinology, Shenyang Red Cross Hospital, Shenyang Liaoning 110013, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of Roux-en-Y gastric bypass on hepatic sympathetic nerve activity and lipometabolism in obese type 2 diabetic rats 2 weeks later, and its possible mechanism is explored. **Methods** A total of 32 rats were randomly divided into normal control group, obese type 2 diabetic group, RYGB sham group and RYGB group, with 8 rats in each group. In addition to the normal control group, the remaining 24 rats were treated with high-fat diet combined with intraperitoneal injection of 30 mg/kg streptozotocin (STZ) to induce the obese T2DM rat model. The hyperinsulinemic-euglycemic clamp with tracer infusion was completed to assess insulin sensitivity.

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81570765)
[通信作者] 何 冰,E-mail:hebing7557@163.com

[12] Penner MJ, Duncan CP, Masri BA. The in vitro elution characteristics of antibiotic-loaded CMW and Palacos-R bone cements[J]. J Arthroplasty, 1999, 14(2): 209 - 214. doi: 10.1016/s0883 - 5403(99)90128 - 6.
[13] Cerretani D, Giorgi G, Fornara P, et al. The in vitro elution characteristics of vancomycin combined with imipenem-cilastatin in acrylic bone-cements: a pharmacokinetic study[J]. J Arthroplasty, 2002, 17(5): 619 - 626. doi: 10.1054/arth.2002.32184.
[14] Wahlig H, Dingeldein E. Antibiotics and bone cements: experimental and clinical long-term observations[J]. Acta Orthop Scand, 1980, 51(1): 49 - 56. doi: 10.3109/17453678008990768.
[15] Ensing GT, van Horn JR, van der Mei HC, et al. Copal bone cement is more effective in preventing biofilm formation than Palacos R-G[J]. Clin Orthop Relat Res, 2008, 466(6): 1492 - 1498. doi: 10.1007/s11999 - 008 - 0203 - x.
[16] Martínez-Moreno J, Merino V, Núcher A, et al. Bioactivity of ceftazidime and fluconazole included in polymethyl methacrylate bone cement for use in arthroplasty[J]. J Arthroplasty, 2017, 32(10): 3126 - 3133. doi: 10.1016/j.arth.2017.04.057.
[17] Hsu YH, Hu CC, Hsieh PH, et al. Vancomycin and ceftazidime in bone cement as a potentially effective treatment for knee periprosthetic joint infection[J]. J Bone Joint Surg Am, 2017, 99(3): 223 - 231. doi: 10.2106/JBJS.16.00290.
[18] Boelch SP, Jordan MC, Arnholdt J, et al. Loading with vancomycin does not decrease gentamicin elution in gentamicin premixed bone cement[J]. J Mater Sci Mater Med, 2017, 28(7): 104. doi: 10.1007/s10856 - 017 - 5915 - 6.
[19] Klapkova E, Nescakova M, Melichercik P, et al. Vancomycin and its crystalline degradation products released from bone grafts and different types of bone cement[J]. Folia Microbiol (Praha), 2020, 65(3): 475 - 482. doi: 10.1007/s12223 - 019 - 00752 - w.

(编辑:杨 颖)

The levels of triacylglycerol(TG) and free fatty acid(FFA) in plasma and liver were detected by enzymic method. The protein expressions of diacylglycerol acyltransferase2 (DGAT2), phospho-hormone-sensitive triglyceride lipase (p-HSL), carnitine palmitoyltransferase 1A (CPT1A), microsomal triglyceride transfer protein (MTTP) and tyrosine 3-monooxygenase (TH) in liver were detected by Western blot. And the concentration of norepinephrine(NE) in plasma was detected by ELISA. **Results** After 2 weeks, compared with obese type 2 diabetic group and RYGB sham group, the body mass of the rats in RYGB group was decreased, plasma TG and FFA were decreased, blood glucose returned to normal level, and liver insulin sensitivity index was nearly doubled ($P<0.05$), and TG content in liver was decreased more than 80% ($P<0.05$), and hepatic FFA level was decreased nearly 50% ($P<0.05$), the protein expression of DGAT2 in liver was decreased ($P<0.05$), the expressions of p-HSL, CPT1A and TH in liver were significantly increased 2 weeks after surgery ($P<0.05$). There was no significant difference in the protein expression of MTTP in liver and plasma NE between groups. **Conclusion** RYGB can reduce hepatic lipid toxicity and improve hepatic insulin resistance, the local sympathetic nerve activity of liver tissues is up-regulated after operation, and the enhanced catabolism of liver fat may be one of the mechanisms of decreasing the liver fat accumulation.

Keywords: Roux-en-Y gastric bypass; type 2 diabetes mellitus; obesity; sympathetic nerve; lipid metabolism

肥胖 2 型糖尿病(type2 diabetes mellitus, T2DM)是一种慢性进展性疾病,该病引起的糖脂代谢异常导致肝及外周组织脂肪异位沉积和胰岛素抵抗[1]。Roux-en-Y 胃旁路术(Roux-en-Y gastric bypass, RYGB)是一种改变肠道结构、限制胃容积的代谢手术,是目前手术治疗肥胖 T2DM 的标准术式,可以有效改善肥胖 T2DM 患者胰岛素抵抗及糖脂代谢紊乱状态,缓解非酒精性脂肪肝[2-4]。He 等[5]的研究表明,RYGB 可以减少肝脂肪蓄积,提高肝胰岛素敏感性,但目前 RYGB 减少肝脂肪蓄积的机制尚不清楚。肝脂肪代谢紊乱是非酒精性脂肪肝形成的关键,受交感神经系统影响。Seravalle 等[6]的研究发现,减重手术后肥胖患者交感神经活性降低,但肝组织局部脂肪代谢情况及交感神经活性变化尚不清楚。因此,本研究以肥胖 T2DM 大鼠为研究对象,观察 RYGB 术后 2 周肝脂肪合成、分泌及分解代谢途径的变化及交感神经活性,旨在探讨 RYGB 减少肝脂肪蓄积的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物、药品与试剂

SPF 级雄性 SD 大鼠,5 ~ 6 周龄,购于北京华阜康生物科技股份有限公司,于中国医科大学附属盛京医院实验动物中心 SPF 级环境由专人饲养[SYXK(辽)2017-0004];温度恒定为 20 ~ 24 ℃,湿度为 50% ~ 60%,光照循环 12 h 明/12 h 暗。实验过程通过中国医科大学附属盛京医院动物实验伦理审查(编号 2015PS333K)。链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)购于 Sigma 公司,优泌林 R(humilin R)购于美国礼来,大鼠三酰甘油(triglycerides, TG)和游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)检测试剂盒购于南京建成生物研究所,大鼠去甲肾上腺素(norepinephrine, NE) ELISA 检测试剂盒购于武汉优尔生商贸有限公司,二酰甘油酰基转移酶 2(diacylglycerol acyltransferase2, DGAT2)抗体购于 Affinity 公司,微粒体三酰甘油转运蛋白(microsomal triglyceride transfer protein, MTTP)抗体购于 absin 公司,磷酸化激素敏感性脂肪酶(phospho-hormone-sensitive triglyceride lipase, p-HSL)抗体购于 abcam 公司,肉碱棕榈酰转移酶 1A(carnitine palmitoyltransferase 1A, CPT1A)抗体购于 proteintech 公司,酪氨酸羟化酶(tyrosine 3-monooxygenase, TH)抗体购于 proteintech 公司,辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 和辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG 购于北京中杉金桥公司。

1.2 方法

1.2.1 分组及建模 将 32 只 SD 大鼠中随机选取 8 只作为正常对照组,由动物实验中心统一提供普通饲料喂养;其余 24 只大鼠以 45% 高脂饲料喂养(45% 脂肪、20% 蛋白质、35% 碳水化合物),自由摄入食物和水,4 周后腹腔注射 STZ 30 mg/kg,并继续高脂喂养,每周记录血糖水平,随机血糖≥16.7 mmol/L并持续稳定 4 周被认定为糖尿病[7-8]。将造模成功的 24 只肥胖 T2DM 大鼠分为肥胖 T2DM 组、RYGB 假手术组和 RYGB 手术组,每组 8 只。

大鼠术前禁食 12 h,采用异氟烷吸入麻醉后,仰卧于手术台,腹部备皮、消毒铺巾,RYGB 手术组大鼠沿腹中线做 3 cm 纵行切口,在贲门下方以弧形切断胃近端形成 20% 胃小囊,以 6-0 缝合线闭合远端残胃。在距 Treitz 韧带远端约 15 cm 处离断空肠,将远端空肠与胃小囊进行吻合,在距吻合口 10 cm 处行近端和远端空肠端侧吻合。RYGB 假手术组在与 RYGB 手术组大鼠相同位置离断胃及空肠,并进行原位吻合[5-7]。手术完成,以生理盐水冲洗腹腔并给予庆大霉素,关腹。术后禁食 3 d 给予 10% 葡萄糖溶液,继续高脂喂养,每周记录各组大鼠空腹血糖、体质量,实验结束后取血浆和肝组织进行检测。

1.2.2 清醒状态扩展高胰岛素 - 正血糖钳夹实验 大

鼠术后恢复3 d,进行清醒状态扩展高胰岛素－正血糖钳夹实验[9]。大鼠禁食12 h,麻醉后将2根一端接有3 cm硅胶管(内径0.05 cm)的聚乙烯导管分别植入大鼠的右颈内静脉和左颈动脉,右颈内静脉导管置于右心房水平用于输液,左颈动脉导管置于主动脉弓水平用于采血,2根导管均经皮下从颈背部引出。输注humilin R 11 mU·kg^{-1}·min^{-1}和20%葡萄糖,每5 min抽取动脉血测血糖,根据血糖调整葡萄糖输注速度,维持平均血糖为(5.0±0.5)mmol/L。先输注[6-^{3}H]葡萄糖20 uCi,继续按4 uCi/min进行输注,评估内生葡萄糖生成率。在实验的最后30 min,每10 min采动脉血1次,检测血浆胰岛素[5,7]。

1.2.3 计算肝胰岛素敏感性 采用肝胰岛素敏感性指数(liver insulin sensitivity index,HISI)评估肝胰岛素敏感性,即肝葡萄糖生成与空腹胰岛素乘积的倒数[10]。

1.2.4 大鼠血浆及肝组织TG、FFA水平检测 采用酶标法测定血浆及肝组织中TG、FFA含量,肝组织标本以生理盐水为匀浆介质,按体质量(g):体积(mL)=1:9的比例,冰水浴条件匀浆,2 500 r/min离心10 min取上清,直接检测血浆标本。按TG和FFA检测试剂盒说明书依次加入待测样品及工作液,37 ℃恒温孵育后使用酶标仪进行检测。

1.2.5 全身体质测定 采用双能量X射线吸收法(Dual-energy X-ray absorbtiometry,DEXA)对大鼠进行全身体质分析,将大鼠麻醉后俯卧于体质分析仪上,四肢外展,尾部与脊柱在一条直线上,通过Lunar Prodigy软件启动全身扫描,选择小动物全身体质分析,扫描后划分头、脊柱、骨盆、四肢等区域位置,并通过Lunar Prodigy软件检测大鼠的体质量、体脂含量以及瘦体质量等结果[11]。

1.2.6 肝组织DGAT2、MTTP、p-HSL、CPT1A和TH蛋白表达水平检测 采用Western blot检测大鼠肝TG合成的关键酶DGAT2、分解途径的关键酶p-HSL和CPT1A、分泌的关键酶MTTP以及儿茶酚胺合成的限速酶TH的蛋白表达。取术后2周大鼠肝组织,加入RIPA裂解液、蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂,冰水浴匀浆4 ℃离心取上清,BCA法蛋白定量,60 μg蛋白上样后行SDS-PAGE垂直电泳,将蛋白条带转印到PVDF膜上(恒流200 mA,电压上限70 V),将PVDF膜浸入5% BSA中室温封闭2 h,放入一抗稀释溶液中4 ℃孵育过夜,洗涤后二抗室温孵育2 h,再次洗膜,强化学发光法显像,采用凝胶图像分析系统进行扫描分析,使用GAPDH作为内参蛋白。

1.2.7 血浆NE浓度检测 采用ELISA检测大鼠血浆中NE的浓度,将大鼠血浆从－80 ℃冰箱中取出后,放室温平衡30 min,根据说明书要求配制不同梯度标准品,依次加入生物素化抗体工作液和酶结合物工作液,37 ℃恒温孵育,加入终止液后使用酶标仪检测450 nm波长处吸光度。

1.3 统计学方法

应用SPSS 22.0软件进行统计学分析,利用GraphPad Prism 6.0绘制图表。计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2组间比较采用独立样本t检验,多组间比较采用单因素方差分析,肝胰岛素敏感性指数与肝组织TG含量的相关性采用*Pearson*相关分析。以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RYGB术后2周大鼠空腹血糖、胰岛素、血脂的比较

肥胖T2DM组、RYGB假手术组和RYGB手术组大鼠术前空腹血糖比较差异无统计学意义($P>0.05$),但均高于正常对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);术后2周,肥胖T2DM组和RYGB假手术组空腹血糖维持在14~17 mmol/L,而RYGB手术组大鼠空腹血糖恢复至正常水平,与肥胖T2DM组和RYGB假手术组比较差异具有统计学意义($P<0.05$);RYGB手术组大鼠术后2周血浆胰岛素水平、血浆TG和FFA浓度接近正常对照组大鼠,明显低于肥胖T2DM组和RYGB假手术组,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表1。

表1 大鼠术后2周空腹血糖、胰岛素及血脂水平($\bar{x}\pm s$,$n=8$)

组别	空腹血糖 (mmol/L)	胰岛素 (μU/mL)	TG (mmol/L)	FFA (mmol/L)
正常对照组	5.19±0.58	14.62±1.64	0.62±0.15	0.30±0.10
肥胖T2DM组	15.70±1.10	27.82±3.77	1.71±0.57	0.67±0.10
RYGB假手术组	15.40±1.30	26.74±3.32	1.54±0.33	0.65±0.13
RYGB手术组	6.16±1.30*#	16.87±2.49*#	0.77±0.20*#	0.38±0.15*#

*:与肥胖T2DM组比较,$P<0.05$;#:与RYGB假手术组比较,$P<0.05$

2.2 RYGB术后2周大鼠体质量和体脂的比较

术后2周,大鼠体质量分析结果显示,与肥胖T2DM组和RYGB假手术组大鼠比较,RYGB手术组大鼠体质量明显较轻,差异具有统计学意义($P<0.05$);DEXA体质分析结果显示RYGB手术组大鼠体内的脂肪含量明显减少,差异具有统计学意义($P<0.05$);而各组大鼠瘦体质量比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表2。

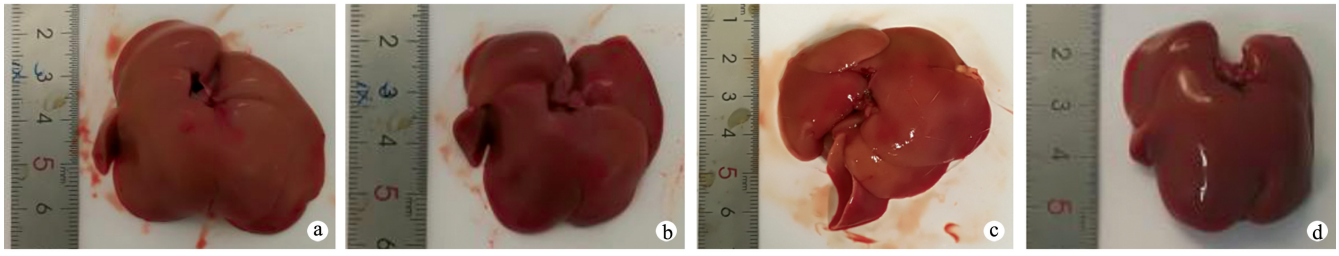
表2 大鼠术后2周体质量和体脂比较($\bar{x}\pm s$,$n=8$,g)

组别	体质量	体脂	瘦体质量
正常对照组	369.75±15.84	62.00±15.97	279.25±24.85
肥胖T2DM组	446.88±22.05	137.63±19.92	291.25±17.40
RYGB假手术组	453.13±22.45	136.25±25.42	296.63±21.35
RYGB手术组	376.88±22.63*#	64.13±11.76*#	276.13±30.24

*:与肥胖T2DM组比较,$P<0.05$;#:与RYGB假手术组比较,$P<0.05$

2.3 RYGB 术后 2 周大鼠肝质量、肝胰岛素敏感性、肝组织 TG 和 FFA 水平比较

术后 2 周,RYGB 手术组大鼠肝质量显著减少($P<0.05$),可见肝体积较小,表面红润,与正常对照组相似,肥胖 T2DM 组和 RYGB 假手术组肝体积较大,表面呈油腻黄棕色(图 1)。以 HISI 评估肝胰岛素敏感性,术后 2 周,RYGB 手术组大鼠肝胰岛素敏感性明显高于肥胖 T2DM 组和 RYGB 假手术组。RYGB 手术组大鼠肝组织 TG 和 FFA 含量与肥胖 T2DM 组和 RYGB 假手术组相比,TG 下降超过 80%($P<0.05$),FFA 下降近 50%($P<0.05$),见表 3;多元线性回归分析结果显示,肝胰岛素敏感性指数与肝组织 TG 含量呈显著负相关($r=-0.61$,$P=0.014$)。



a:正常对照组;b:肥胖 T2DM 组;c:RYGB 假手术组;d:RYGB 手术组

图 1 大鼠肝组织改变

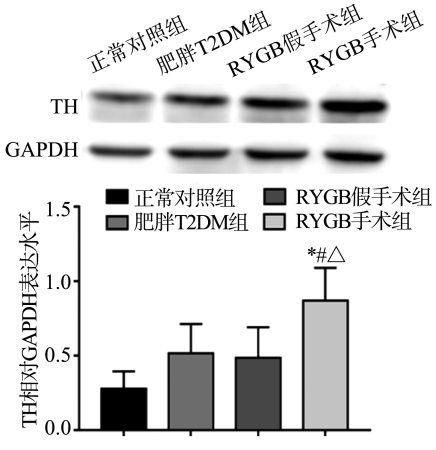
表 3 大鼠术后 2 周肝质量、肝敏感性指数、肝组织 TG 和 FFA 比较($\bar{x}\pm s$,$n=8$)

组别	肝质量 (g)	肝敏感性指数 (min·mL/μg·μU)	TG (mmol/gprot)	FFA (mmol/gprot)
正常对照组	9.16±0.88	1.64±0.16	0.23±0.12	0.67±0.17
肥胖 T2DM 组	13.55±1.13	0.76±0.17	1.98±0.29	1.74±0.65
RYGB 假手术组	13.70±2.03	0.78±0.21	1.88±0.30	1.71±0.43
RYGB 手术组	9.79±1.29*#	1.34±0.43*#	0.31±0.11*#	0.88±0.22*#

*:与肥胖 T2DM 比较,$P<0.05$;#:与 RYGB 假手术组比较,$P<0.05$

2.4 RYGB 术后 2 周大鼠交感神经活性比较

与肥胖 T2DM 组和 RYGB 假手术组相比,RYGB 手术组大鼠在术后 2 周肝中儿茶酚胺合成的关键酶 TH 的蛋白表达明显较多($P<0.05$),见图 2;而各组大鼠血浆 NE 的浓度比较差异无统计学意义($P>0.05$),见图 3。



*:与肥胖 T2DM 组比较,$P<0.05$;#:与 RYGB 假手术组比较,$P<0.05$;△:与正常对照组比较,$P<0.05$

图 2 大鼠肝组织中 TH 蛋白表达

2.5 RYGB 术后 2 周大鼠肝脂肪代谢相关指标比较

与肥胖 T2DM 组和 RYGB 假手术组相比,RYGB 手术组术后 2 周大鼠肝组织脂肪合成的关键酶 DGAT2 表达较少($P<0.05$);脂肪水解关键酶 p-HSL 以及脂肪酸 β 氧化关键酶 CPT1A 的蛋白表达较其他组多($P<0.05$);而各组大鼠脂肪分泌的关键酶 MTTP 表达比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见图 4。

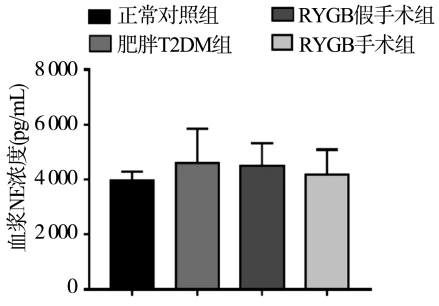
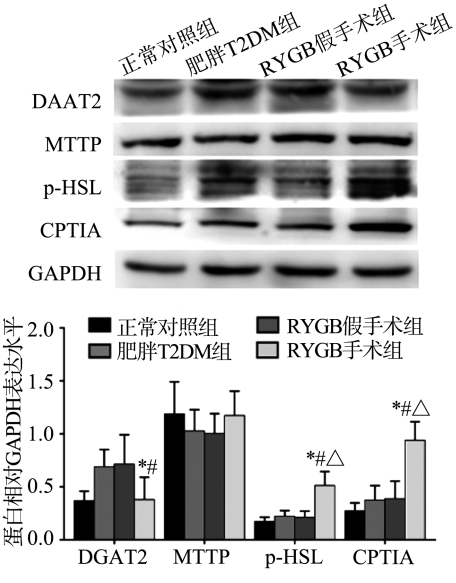


图 3 大鼠术后 2 周血浆 NE 浓度比较



*:与肥胖 T2DM 组比较,$P<0.05$;#:与 RYGB 假手术组比较,$P<0.05$;△:与正常对照组比较,$P<0.05$

图 4 大鼠肝组织中 DGAT2、MTTP、p-HSL、CPT1A 蛋白表达

3 讨论

目前 T2DM 已成为威胁人类健康的重要疾病之一,我国肥胖 T2DM 发病率快速增长,且呈现年轻化的趋势。肥胖 T2DM 患者发生胰岛素抵抗,脂肪分解增加使血浆游离脂肪酸浓度升高,游离脂肪酸长期增多超过了脂肪组织的储备能力以及非脂肪组织的氧化分解能力,使过多的脂肪酸以 TG 的形式在非脂肪组织沉积,继而发生慢性炎症、氧化应激及内质网应激等,形成组织脂毒性[12],造成多脏器损伤,肝是脂肪异位沉积的主要靶器官之一。RYGB 是目前手术治疗肥胖 T2DM 的常用术式,已被证明能有效降低肥胖 T2DM 患者血糖,改善脂肪代谢紊乱,缓解肝脂肪变性[13],但机制尚不明确,本研究通过高脂饮食联合腹腔注射 STZ 诱导肥胖 T2DM 大鼠模型,以明确 RYGB 术后大鼠体脂、肝脂以及肝脂肪代谢途径的变化,探讨 RYGB 改善肥胖 T2DM 患者脂代谢紊乱、减少肝脂肪蓄积的可能机制。

Immonen 等[14]的研究发现,RYGB 术后肝脂肪变性明显改善,胰岛素敏感性提高,但具体机制尚不清楚。本研究结果显示,RYGB 术后大鼠血脂含量明显降低,肝组织 TG 含量下降超过 80%,肝胰岛素敏感性显著改善;使用 HISI 评估肝胰岛素敏感性发现,RYGB 术后 2 周大鼠 HISI 提高近 1 倍,并且与肝组织 TG 含量呈负相关;同时,体质分析结果提示,RYGB 术后大鼠体内脂肪含量显著减少,而各组大鼠瘦体质量没有明显差异,表明 RYGB 可能通过减少脂肪,减轻体重,并减少肝内脂肪蓄积,改善肝胰岛素抵抗。

肥胖 T2DM 患者脂肪代谢紊乱是肝脂肪蓄积的基础,肝中 TG 的合成、转运及分解代谢失衡是脂肪肝形成的重要原因[15]。DGAT2 是 TG 最终合成的关键酶,催化二酰甘油与脂肪酸酰基结合生成 TG[16]。Choi 等[17]通过给予饮食诱导的肥胖小鼠 DGAT2 反义寡核苷酸处理,抑制 DGAT2 表达,发现肝 TG 减少,肝脂肪变性和胰岛素抵抗明显改善。肝细胞合成的 TG 主要以极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein,VLDL)形式向肝外组织转运,MTTP 主要表达于肝细胞和肠上皮细胞,是调控肝 VLDL 组装与分泌的关键酶[18]。Chang 等[19]研究证实,高脂喂养的非酒精性脂肪肝大鼠肝 MTTP 基因启动子区域高度甲基化,引起 MTTP 基因和蛋白水平表达下降,进而导致肝 TG 分泌障碍。HSL 是体内脂肪动员的关键水解酶,其磷酸化后形成 p-HSL 发挥水解活性,促进 TG 水解生成甘油和脂肪酸,脂肪酸氧化分解则提供能量;CPT1A 是脂肪酸 β 氧化的关键酶,催化长链脂酰辅 A 与肉碱结合从胞浆转运入线粒体进行氧化供能[20-21]。Reid 等[22]发现利用腺病毒过表达 HSL 可以使 ob/ob 小鼠及高脂饮食诱导的肥胖小鼠肝 TG 含量均降低 40% ~60%,缓解肝脂肪变性。本研究对肝脂代谢途径的关键酶检测结果显示,与肥胖 T2DM 组和 RYGB 假手术组相比,术后 2 周 RYGB 手术组大鼠肝组织中 TG 合成的关键酶 DGAT2 表达明显较少,MTTP 的表达无统计学差异;而促进脂肪分解的关键酶 p-HSL 和 CPT1A 的表达显著较多,提示 RYGB 可能通过减少肝脂肪合成,促进肝脂肪分解,实现短期迅速减少肝内脂肪蓄积。

交感神经系统在调节能量代谢中起重要作用,交感神经系统失调与肥胖 T2DM 密切相关,有研究表明胰岛素抵抗患者交感神经过度激活及交感神经兴奋可促进脂肪动员、脂肪组织分解增加,加重脂肪在非脂肪组织异位沉积;有研究发现 RYGB 术后患者交感神经活性降低,血脂减少,胰岛素抵抗缓解[23-24]。Seravalle 等[6]通过微神经造影技术检测 10 例减重手术患者交感神经活性,10 例匹配的未经手术患者作为对照,结果显示减重手术后患者肌肉交感神经活性降低,心率减慢,收缩压降低,胰岛素抵抗改善,交感抑制在术后 12 个月得以维持。但减重手术后局部肝组织的变化尚无明确报道。TH 是催化儿茶酚胺生物合成的关键限速酶,广泛分布于去甲肾上腺素能神经纤维的胞浆内,参与儿茶酚胺的合成,具有高度特异性,其检测为阳性的部位可代表交感神经的分布,是交感神经活性的特异性标志物[25]。对此,本研究检测了大鼠血浆 NE 浓度及肝组织 TH 的表达,结果发现,术后 2 周 RYGB 手术组大鼠肝局部交感神经活性并未降低,反而有所上调,同时发现 RYGB 术后大鼠血浆 NE 浓度降低但尚未达到统计学差异,推测 RYGB 术后交感神经的调节可能具有局部选择性,术后肝脂肪分解明显增加是否与术后短时间内肝局部交感神经活性上调有关,有待进一步探究。

综上所述,RYGB 术后肥胖 T2DM 大鼠血糖及血脂紊乱状态得到纠正,肝组织脂肪蓄积减少是 RYGB 术后肝胰岛素抵抗改善的关键因素之一。本研究发现,RYGB 术后肝内脂肪分解代谢增强、肝局部交感神经活性上调可能在术后肝脂肪蓄积减少中起重要作用。目前 RYGB 改善脂代谢的机制尚未明确,随着研究的深入,减重手术治疗肥胖 T2DM 的理论体系将逐步完善,为临床治疗提供基础。

[参考文献]

[1] Koike Y,Shirabe SI,Maeda H,et al. Effect of canagliflozin on the over-

all clinical state including insulin resistance in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Diabetes Res Clin Pract,2019,149:140 - 146. doi:10.1016/j.diabres.2019.01.029.

[2] Rubino F,Nathan DM,Eckel RH,et al. Metabolic surgery in the treatment algorithm for type 2 diabetes:a joint statement by international diabetes organizations[J]. Diabetes Care,2016,39(6):861 - 877. doi:10.2337/dc16 - 0236.

[3] Seyfried F,Miras AD,Rotzinger L,et al. Gastric bypass-related effects on glucose control,beta cell function and morphology in the obese zucker rat[J]. Obes Surg,2016,26(6):1228 - 1236. doi:10.1007/s11695 - 015 - 1882 - 5.

[4] Schwenger KJP,Fischer SE,Jackson T,et al. In nonalcoholic fatty liver disease,Roux-en-Y gastric bypass improves liver histology while persistent disease is associated with lower improvements in waist circumference and glycemic control[J]. Surg Obes Relat Dis,2018,14(9):1233 - 1239. doi:10.1016/j.soard.2018.06.007.

[5] He B,Liu L,Yu C,et al. Roux-en-Y gastric bypassincreases hepatic and peripheral insulin sensitivity in rats with type 2 diabetes mellitus[J]. Surg Obes Relat Dis,2014,10(3):485 - 493. doi:10.1016/j.soard.2013.09.019.

[6] Seravalle G,Colombo M,Perego P,et al. Long-term sympathoinhibitory effects of surgically induced weight loss in severe obese patients[J]. Hypertension,2014,64(2):431 - 437. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02988.

[7] 韩 艺,李莹洁,马 瑞,等. Roux-en-Y 胃旁路术改善 2 型糖尿病大鼠肝脏胰岛素敏感性的机制研究[J]. 中华普通外科杂志,2018,33(1):71 - 74. doi:10.3760/cma.j.issn.1007 - 631X.2018.01.021.

[8] Srinivasan K,Viswanad B,Asrat L,et al. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat:a model for type 2 diabetes and pharmacological screening[J]. Pharmacol Res,2005,52(4):313 - 320. doi:10.1016/j.phrs.2005.05.004.

[9] Tam CS,Xie W,Johnson WD,et al. Defining insulin resistance from hyperinsulinemic-euglycemic clamps[J]. Diabetes care,2012,35(7):1605 - 1610. doi:10.2337/dc11 - 2339.

[10] He B,Liu L,Yu C,et al. Roux-en-Y gastric bypass reduces lipid overaccumulation in liver by upregulating hepatic autophagy in obese diabetic rats[J]. Obes Surg,2015,25(1):109 - 118. doi:10.1007/s11695 - 014 - 1342 - 7.

[11] 马南希,马 瑞,刘红媛,等. Roux-en-Y 胃旁路术对肥胖合并 2 型糖尿病大鼠肝脂肪代谢的影响和机制探讨[J]. 中华普通外科杂志,2018,33(12):1055 - 1059. doi:10.3760/cma.j.issn.1007 - 631X.2018.12.021.

[12] Engin AB. What is lipotoxicity? [J]. Adv Exp Med Biol,2017,960:197 - 220. doi:10.1007/978 - 3 - 319 - 48382 - 5_8.

[13] Major P,Rubinkiewicz M,Stanek M,et al. Impact of bariatric surgery on non-alcoholic fatty liver disease[J]. Pol Przegl Chir,2017,89(2):1 - 4. doi:10.5604/01.3001.0009.6003.

[14] Immonen H,Hannukainen JC,Iozzo P,et al. Effect of bariatric surgery on liver glucose metabolism in morbidly obese diabetic and non-diabetic patients[J]. J Hepatol,2014,60(2):377 - 383. doi:10.1016/j.jhep.2013.09.012.

[15] Nguyen P,Leray V,Diez M,et al. Liver lipid metabolism[J]. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl),2008,92(3):272 - 283. doi:10.1111/j.1439 - 0396.2007.00752.x.

[16] Jin Y,McFie PJ,Banman SL,et al. Diacylglycerol acyltransferase-2 (DGAT2) and monoacylglycerol acyltransferase-2 (MGAT2) interact to promote triacylglycerol synthesis[J]. J Biol Chem,2014,289(41):28237 - 28248. doi:10.1074/jbc.M114.571190.

[17] Choi CS,Savage DB,Kulkarni,et al. Suppression of diacylglycerol acyltransferase-2(DGAT2),but not DGAT1,with antisense oligonucleotides reverses diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance[J]. J Biol Chem,2007,282(31):22678 - 22688. doi:10.1074/jbc.M704213200.

[18] Higuchi N,Kato M,Tanaka M,et al. Effects of insulin resistance and hepatic lipid accumulation on hepatic mRNA expression levels of apoB,MTP and L-FABP in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Exp Ther Med,2011,2(6):1077 - 1081. doi:10.3892/etm.2011.328.

[19] Chang X,Yan H,Fei J,et al. Berberine reduces methylation of the MTTP promoter and alleviates fatty liver induced by a high-fat diet in rats[J]. J Lipid Res,2010,51(9):2504 - 2515. doi:10.1194/jlr.M001958.

[20] 王咏波,陈璐璐. 激素敏感性脂肪酶研究新进展[J]. 中华糖尿病杂志,2005,13(2):154 - 156.

[21] 苑阳阳,王 绵,张 楠,等. 姜黄素诱导急性高脂血症大鼠肝肉毒碱棕榈酰基转移酶 1A 及过氧化物酶体增殖物激活受体 α 表达[J]. 中华糖尿病杂志,2017,9(6):375 - 381. doi:10.3760/cma.j.issn.1674 - 5809.2017.06.009.

[22] Reid BN,Ables GP,Otlivanchik OA,et al. Hepatic overexpression of hormone-sensitive lipase and adipose triglyceride lipase promotes fatty acid oxidation,stimulates direct release of free fatty acids,and ameliorates steatosis[J]. J Biol Chem,2008,283(19):13087 - 13099. doi:10.1074/jbc.M800533200.

[23] Nestel PJ,Khan AA,Straznicky NE,et al. Markers of sympathetic nervous system activity associate with complex plasma lipids in metabolic syndrome subjects[J]. Atherosclerosis,2017,256:21 - 28. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2016.11.032.

[24] Lips MA,de Groot GH,De Kam M,et al. Autonomic nervous system activity in diabetic and healthy obese female subjects and the effect of distinct weight loss strategies[J]. Eur J Endocrinol,2013,169(4):383 - 390. doi:10.1530/EJE - 13 - 0506.

[25] Burgi K,Cavalleri MT,Alves AS,et al. Tyrosine hydroxylase immunoreactivity as indicator of sympathetic activity:simultaneous evaluation in different tissues of hypertensive rats[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,2011,300(2):R264 - R271. doi:10.1152/ajpregu.00687.2009.

(编辑:刘 艺)