

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.20.002
文章编号: 1005-8982(2019)20-0008-07

低铅染毒促进非酒精性脂肪性肝病大鼠 Hcy 升高的分子机制研究*

朱为梅¹, 张静思², 杨红玲¹, 华鹏¹, 徐丽芬¹

(1. 云南省第三人民医院, 云南 昆明 650011; 2. 云南省老干部医院, 云南 昆明 650034)

摘要:目的 研究低铅染毒对非酒精性脂肪性肝病大鼠同型半胱氨酸(Hcy)升高的分子机制。**方法** 将40只SD大鼠分为普通饲料组、低铅染毒普通饲料组、高脂饲料组及低铅染毒高脂饲料组,每组10只。喂养8周后处死,检测大鼠血清肝功能、肝铅、血铅、血清Hcy、血清炎症因子和肝脏MTHFR、MTR及CBS蛋白和mRNA的表达。**结果** 普通饲料组和低铅染毒普通饲料组肝脏切片正常,高脂饲料组和低铅染毒高脂饲料组有明显脂肪空泡,低铅染毒普通饲料组和低铅染毒高脂饲料组血铅和肝铅含量高于普通饲料组($P < 0.05$),低铅染毒高脂饲料组血铅和肝铅含量高于低铅染毒普通饲料组和高脂饲料组($P < 0.05$)。低铅染毒普通饲料组、高脂饲料组和低铅染毒高脂饲料组肝功能指标均高于普通饲料组($P < 0.05$),高脂饲料组和低铅染毒高脂饲料组肝功能指标高于低铅染毒普通饲料组($P < 0.05$),低铅染毒高脂饲料组肝功能指标高于高脂饲料组($P < 0.05$)。高脂饲料组和低铅染毒高脂饲料组Hcy高于普通饲料组和低铅染毒普通饲料组($P < 0.05$),叶酸和维生素B₁₂低于普通饲料组和低铅染毒普通饲料组($P < 0.05$);低铅染毒高脂饲料组Hcy高于高脂饲料组($P < 0.05$),叶酸和维生素B₁₂低于高脂饲料组($P < 0.05$)。高脂饲料组和低铅染毒高脂饲料组炎症因子高于普通饲料组和低铅染毒普通饲料组($P < 0.05$),低铅染毒高脂饲料组高于高脂饲料组($P < 0.05$)。高脂饲料组和低铅染毒高脂饲料组MTHFR蛋白和mRNA相对表达量低于普通饲料组($P < 0.05$),低铅染毒高脂饲料组MTHFR蛋白和mRNA相对表达量低于高脂饲料组($P < 0.05$)。**结论** 在高脂饲料喂养的同时给予醋酸铅慢性染毒,可促进血清Hcy升高,这可能与低铅染毒可进一步抑制肝脏MTHFR表达有关。

关键词: 脂肪肝; 同型半胱氨酸/胱氨酸; 大鼠, Sprague-Dawley

中图分类号: R575.5

文献标识码: A

The molecular mechanisms of low lead exposure promoting Hcy increase in rats with nonalcoholic fatty liver disease*

Wei-mei Zhu¹, Jing-si Zhang², Hong-ling Yang¹, Peng Hua¹, Li-fen Xu¹

(1. Third People's Hospital of Yunnan Province, Kunming, Yunnan 650011, China; 2. Yunnan Provincial Veteran Cadre Hospital, Kunming, Yunnan 650034, China)

Abstracts: Objective To study the molecular mechanism of low lead exposure promoting elevation of homocysteine (Hcy) in rats with nonalcoholic fatty liver disease. **Methods** Forty SD rats were divided into the normal diet group, low lead exposure normal diet group, high fat diet group and low lead exposure high fat diet group. After 8 weeks, all rats were sacrificed. Liver function, liver and blood lead, serum Hcy, inflammatory factors, MTHFR, MTR and CBS protein and mRNA expression of liver were detected. **Results** The liver sections were normal in normal diet group and low lead exposure normal diet group, and had obvious fat vacuoles in high fat diet group and low lead exposure high fat diet group; the blood lead and liver lead in the low lead exposure normal diet group and low lead exposure high fat feed group were higher than those in the normal diet group, and those in low lead exposure high fat diet group were higher than

收稿日期: 2019-04-19

* 基金项目: 云南省卫生科技计划项目 (No: 2016NS336)

those in low lead exposure normal diet group and high fat diet group ($P < 0.05$). The AST, ALT, Hcy, IL-1 α , IL-1 β , IL-6 and TNF- α in the low lead exposure normal diet group, high fat diet group and low lead exposure high fat diet group were higher than those in the normal diet group ($P < 0.05$), and folic acid and vitamin B12 were lower than those in the low lead exposure group ($P < 0.05$); the AST, ALT, Hcy, IL-1 α , IL-1 β , IL-6 and TNF- α in the low lead exposure high fat diet group were higher than those in the low lead exposure normal diet group ($P < 0.05$), and folic acid and vitamin B12 were lower than them in the low lead exposure normal feed group ($P < 0.05$); the AST and ALT in high fat diet group and low lead exposure high fat diet group were higher than those in the low lead exposure common diet group ($P < 0.05$); the AST and ALT in low lead exposure high fat diet group were higher than those in the high fat diet group ($P < 0.05$). The MTHFR proteins and mRNA expression in the high-fat diet group and the low lead high-fat diet group were significantly lower than those in the normal diet group ($P < 0.05$), and those in the low-lead exposure high-fat diet group were significantly lower than those in the high-fat diet group ($P < 0.05$). **Conclusions** Low lead exposure can promote the increase of serum Hcy while high-fat feed, which may be related with it can reduced the expression of MTHFR in liver.

Keywords: non-alcoholic fatty liver disease; homocysteine; rats, Sprague-Dawley

当前重金属污染已经成为影响人民群众健康的一大病因^[1-2]。2016年云南省第三人民医院对云南省某重工业城市进行了大范围铅中毒和非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)流行病学调查,发现当地慢性铅中毒广泛流行,同时铅中毒NAFLD患者血清同型半胱氨酸(Homocysteine, Hcy)相对无铅中毒NAFLD患者明显升高^[3]。因此笔者推测在NAFLD发生和发展过程中,铅可能会损伤Hcy代谢酶,最终造成血清Hcy升高。为此本研究从Hcy合成和分解途径考查铅中毒对NAFLD大鼠的影响,为今后铅中毒和NAFLD的治疗提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物和饲养条件 无特定病原体级SD大鼠40只,体重160~180g,雌雄各半,均购于昆明医科大学动物实验中心(动物合格证号:2011-007),购买后饲养于标准小动物饲养房,饲养温度控制在18~26℃,湿度控制在55%~65%,光照和黑暗条件下各12h,实验经本院医学伦理委员会审核通过(审批号R-082018044)。

1.1.2 实验材料 普通和高脂饲料、垫料(昆明医科大学动物实验中心),Hcy检测试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司),醋酸铅(武汉博士德生物公司),铅测定试剂盒(北京汇智泰康生物技术有限公司),白细胞介素-1 α (Interleukin-1 α , IL-1 α)和白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司),白细胞介素-6

(Interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)试剂盒(南京森贝伽生物科技有限公司),MTHFR、MTR、CBS和 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(美国Santa公司),二抗(北京中山金桥公司),总RNA提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司),引物(上海生工生物工程股份有限公司)。

1.1.3 实验仪器 可见分光光度计(722-S型,上海光学仪器厂),电子分析天平(FA1004型,上海光学仪器一厂),自动脱水机(ASP-300S型,德国Leica公司),台式高速冷冻离心机(5427R型,德国Eppendorf公司),手动切片机(KM2245型,德国Leica公司),生物组织包埋机(BMJ-1型,上海珂淮仪器有限公司),生物摄影显微镜(Eclipse E200型,日本Nikon公司),全自动生化分析仪(C8008型,美国雅培公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理 所有大鼠在购买后给予适应性喂养2周,然后按照随机数字表法将其分为普通饲料组、低铅染毒普通饲料组(0.3g/kg含醋酸铅普通饲料)、高脂饲料组及低铅染毒高脂饲料组(0.3g/kg含醋酸铅高脂饲料,剂量的确定根据参考文献[4]报道的最低剂量),每组10只^[4]。标准饲养条件下饲养8周后处死所有大鼠。

1.2.2 标本采集 大鼠分批次隔夜禁食12h,于次日采用4%水合氯醛3ml/(kg·d)麻醉处死,将其固定于解剖板,采用心脏取血法收集血液,取5ml置于抗凝管中交由本院检验科检测,其余血液4000r/min离

心 10 min 收集上清, 备用于相关生化指标检测。收集血液后, 取出肝脏, 统一切取肝左叶置于 4% 甲醛溶液中用于病理学检测, 其余肝脏切成 4 小块, 其中 1 小块置入冻存管中备用于 RNA 检测, 其余直接放入超低温冰箱中用于 Western blotting 和肝铅检测。

1.3 观察指标

1.3.1 血清指标 血清肝功能指标谷草转氨酶 (aspartate transaminase, AST)、谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、Hcy、叶酸及维生素 B₁₂ 的测定采用全自动生化分析仪, 血铅和肝铅的测定仪器为分光光度计, IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的检测仪器为全自动生化分析仪。血铅、肝铅、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的测定严格按照试剂盒说明书进行。

1.3.2 肝脏组织病理学 肝脏组织病理学检查采用苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin staining, HE) 染色, 其步骤按照常规方法进行: 从中性甲醛溶液中取出肝脏组织, 自来水过夜冲洗, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋、切片^[9]。

1.3.3 Western blotting 蛋白表达采用 Western blotting 检测, 从超低温冰箱中取出肝脏组织, 每组精确称取 100 mg, 用组织裂解液裂解后离心并收集上清, BCA 法检测蛋白浓度并定量, 每组各取 50 μ g 行 SDS-PAGE, 电泳完成后半干转移法转移到 PVDF, 5% 脱脂牛奶封闭 2 h 后洗涤 3 次, 加入一抗 [MTR (1 : 2 000)、CBS (1 : 3 000)、MTHFR (1 : 3 000) 和 β -actin (1 : 5 000)], 摇床摇动 30 min 后置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中过夜, 次日取出后洗涤 3 次, 加入二抗 (1 : 5 000) 孵育 1 h, 洗涤 3 次, 暗室曝光压片。采用扫描仪收集图像, Image J 软件计算并分析条带灰度, 每组实验重复 3 次。

1.3.4 实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 采用天根总 RNA 提取试剂盒提取总 RNA, 定量并调平, 逆转录为 cDNA 后进行扩增, 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 10 s, 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 31 s, 共 40 个循环。采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法测定并分析各组大鼠 MTR、CBS 和 MTHFR mRNA 相对表达量。见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列	长度 /bp
MTHFR	正向: 5- ATCCGCAACTACGGCATTGA-3	98
	反向: 5- TCGCGGTTGAGAGTGTAGAA-3	
MTR	正向: 5- AGGATGATGGCGATGACTACAG-3	219
	反向: 5- TGAGCTTCTCGGTATGGTCAG-3	
CBS	正向: 5- TCATCCTGCCCCACTCTGTG-3	148
	反向: 5- GGTGCTGATAGGCTCAGC TCTTG-3	
β -actin	正向: 5- TAGTTGCGTTACACCCCTTTC-3	122
	反向: 5- TGCTGTCACCTTCACCGTTC-3	

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用方差分析, 进一步两两比较用 LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肝脏病理学

普通饲料组和低铅染毒普通饲料组肝脏切片表面光滑, 肝细胞排列紧密, 而高脂饮食组和低铅染毒高脂饲料组则出现明显脂肪空泡, 此外也有一定的炎症因子浸润, 特别是低铅染毒高脂饲料组, 脂肪空泡更大且数量更多。见图 1。

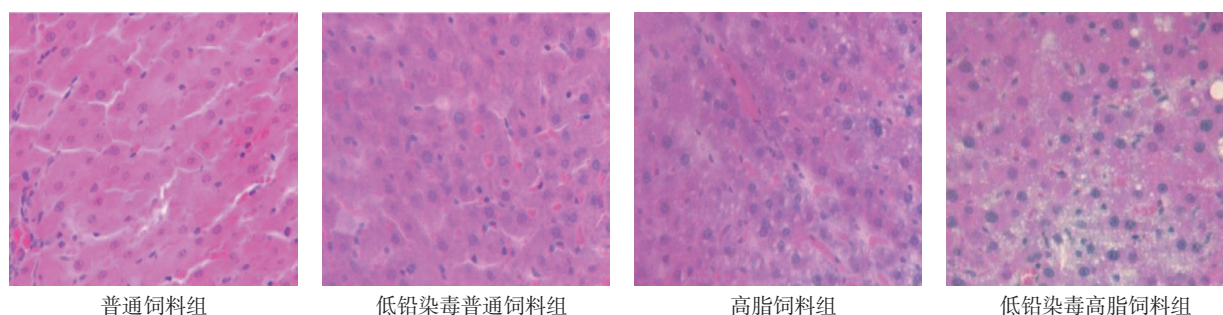


图 1 各组大鼠肝脏组织病理切片 ($\times 400$)

2.2 各组大鼠血铅和肝铅比较

各组大鼠血铅和肝铅含量比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。低铅染毒普通饲料组和低铅染毒高脂饲料组均高于普通饲料组 ($P < 0.05$), 低铅染毒高脂饲料组高于低铅染毒普通饲料组和高脂饲料组 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠血铅和肝铅比较 ($n=10$, $\mu\text{g/ml}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	血铅	肝铅
普通饲料组	0.11 ± 0.04	0.88 ± 0.37
低铅染毒普通饲料组	0.25 ± 0.09 ^①	2.42 ± 0.87 ^①
高脂饲料组	0.13 ± 0.10	0.95 ± 0.43
低铅染毒高脂饲料组	0.32 ± 0.12 ^{①②③}	3.22 ± 1.19 ^{①②③}
F 值	37.792	21.458
P 值	0.000	0.000

注: ①与普通饲料组比较, $P < 0.05$; ②与低铅染毒普通饲料组, $P < 0.05$; ③与高脂饲料组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 各组大鼠 AST、ALT 比较

各组大鼠 AST、ALT 比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。低铅染毒普通饲料组、高脂饲料组和低铅染毒高脂饲料组均高于普通饲料组 ($P < 0.05$), 高脂饲料组和低铅染毒高脂饲料组高于低铅染毒普通饲料组 ($P < 0.05$), 低铅染毒高脂饲料组高于高脂饲料组 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各组大鼠 AST、ALT 比较 ($n=10$, u/L , $\bar{x} \pm s$)

组别	ALT	AST
普通饲料组	72.85 ± 4.35	153.14 ± 9.40
低铅染毒普通饲料组	81.17 ± 8.33 ^①	171.43 ± 12.27 ^①
高脂饲料组	97.24 ± 9.98 ^{①②}	195.15 ± 17.82 ^{①②}
低铅染毒高脂饲料组	118.75 ± 18.34 ^{①②③}	233.19 ± 19.16 ^{①②③}
F 值	35.791	24.422
P 值	0.000	0.000

注: ①与普通饲料组比较, $P < 0.05$; ②与低铅染毒普通饲料组, $P < 0.05$; ③与高脂饲料组比较, $P < 0.05$ 。

2.4 各组大鼠血清 Hcy、叶酸及维生素 B₁₂ 比较

各组大鼠 Hcy、叶酸及维生素 B₁₂ 比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。高脂饲料组和低铅染毒高脂饲料组 Hcy 高于普通饲料组和低铅染毒普通饲料组 ($P < 0.05$), 叶酸和维生素 B₁₂ 低于普通饲料组和低铅染毒普通饲料组 ($P < 0.05$); 低铅染毒高脂饲料组 Hcy 高于高脂饲料组 ($P < 0.05$), 叶酸和维生素 B₁₂ 低于高脂饲料组 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 各组大鼠 Hcy、叶酸及维生素 B₁₂ 比较 ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	Hcy/ ($\mu\text{mol/L}$)	叶酸/ (ng/ml)	维生素 B ₁₂ / (ng/ml)
普通饲料组	5.42 ± 0.32	5.12 ± 0.36	1.11 ± 0.21
低铅染毒普通饲料组	5.47 ± 0.34	5.03 ± 0.41	1.05 ± 0.15
高脂饲料组	6.86 ± 0.75 ^{①②}	4.59 ± 0.58 ^{①②}	0.76 ± 0.18 ^{①②}
低铅染毒高脂饲料组	8.74 ± 1.09 ^{①②③}	4.37 ± 0.82 ^{①②③}	0.65 ± 0.12 ^{①②③}
F 值	4.242	3.386	4.487
P 值	0.002	0.005	0.001

注: ①与普通饲料组比较, $P < 0.05$; ②与低铅染毒普通饲料组, $P < 0.05$; ③与高脂饲料组比较, $P < 0.05$ 。

2.5 各组大鼠炎症因子比较

各组大鼠 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。高脂饲料组和低铅染毒高脂饲料组均高于普通饲料组和低铅染毒普通饲料组 ($P < 0.05$), 低铅染毒高脂饲料组高于高脂饲料组 ($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 各组大鼠血清炎症因子比较 ($n=10$, ng/ml , $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-1 α	IL-1 β	IL-6	TNF- α
普通饲料组	0.24 ± 0.05	0.22 ± 0.06	0.75 ± 0.12	1.65 ± 0.21
低铅染毒普通饲料组	0.25 ± 0.07	0.23 ± 0.05	0.78 ± 0.15	1.72 ± 0.40
高脂饲料组	0.42 ± 0.12 ^{①②}	0.39 ± 0.09 ^{①②}	1.42 ± 0.25 ^{①②}	2.23 ± 0.52 ^{①②}
低铅染毒高脂饲料组	0.57 ± 0.12 ^{①②③}	0.45 ± 0.06 ^{①②③}	1.98 ± 0.43 ^{①②③}	2.98 ± 0.74 ^{①②③}
F 值	35.465	32.647	21.438	24.872
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注: ①与普通饲料组比较, $P < 0.05$; ②与低铅染毒普通饲料组, $P < 0.05$; ③与高脂饲料组比较, $P < 0.05$ 。

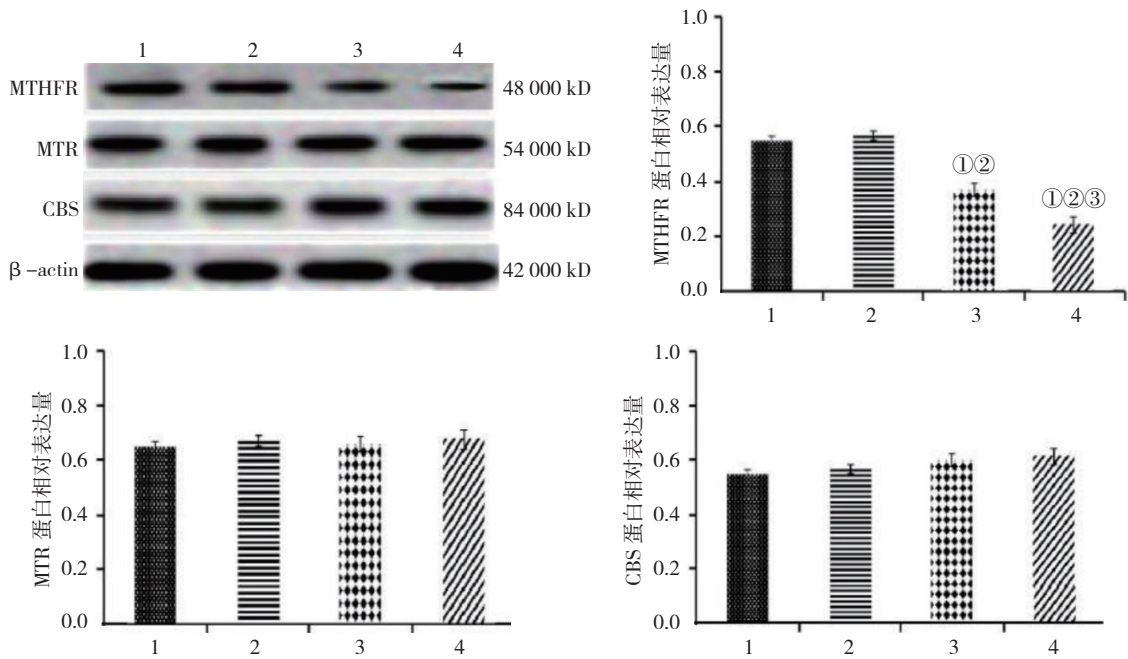
2.6 各组大鼠肝脏中 MTHFR、MTR 及 CBS 蛋白相对表达量比较

各组肝脏中 MTR、CBS 蛋白相对表达量比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。各组大鼠肝脏中 MTHFR 蛋白相对表达量比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 高脂饲料组和低铅染毒高脂饲料组低于普通饲料组 ($P < 0.05$), 低铅染毒高脂饲料组低于高脂饲料组 ($P < 0.05$); 低铅染毒普通饲料组与普通饲料组 MTHFR 蛋白相对表达量比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 6 和图 2。

表 6 各组大鼠肝脏中 MTHFR、MTR 及 CBS 蛋白相对表达量比较 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	MTHFR	MTR	CBS
普通饲料组	0.52 ± 0.08	0.63 ± 0.06	0.55 ± 0.04
低铅染毒普通饲料组	0.57 ± 0.06	0.65 ± 0.04	0.56 ± 0.05
高脂饲料组	0.36 ± 0.07 ^{①②}	0.61 ± 0.07	0.58 ± 0.07
低铅染毒高脂饲料组	0.23 ± 0.09 ^{①②③}	0.64 ± 0.06	0.59 ± 0.05
F 值	22.385	1.476	1.886
P 值	0.000	0.105	0.102

注：①与普通饲料组比较, P < 0.05; ②与低铅染毒普通饲料组, P < 0.05; ③与高脂饲料组比较, P < 0.05。



1: 普通饲料组; 2: 低铅染毒普通饲料组; 3: 高脂饲料组; 4: 低铅染毒高脂饲料组。①与普通饲料组比较, P < 0.05; ②与低铅染毒普通饲料组, P < 0.05; ③与高脂饲料组比较, P < 0.05。

图 2 各组大鼠肝脏中 MTHFR、MTR 及 CBS 蛋白相对表达量比较 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

2.7 各组大鼠肝脏中 MTHFR、MTR 及 CBS mRNA 相对表达量比较

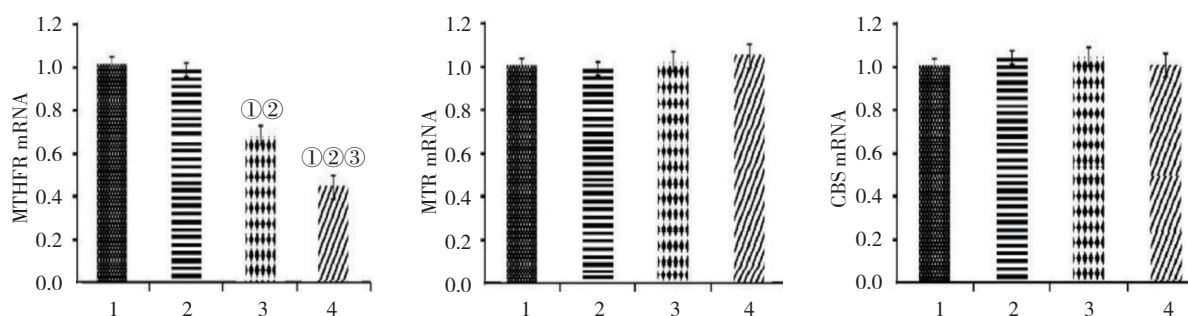
各组肝脏中 MTR、CBS mRNA 相对表达量比较, 差异无统计学意义 (P > 0.05)。各组大鼠肝脏中 MTHFR mRNA 相对表达量比较, 经单因素方差分析,

差异有统计学意义 (P < 0.05); 高脂饲料组和低铅染毒高脂饲料组低于普通饲料组 (P < 0.05), 低铅染毒高脂饲料组低于高脂饲料组 (P < 0.05); 低铅染毒普通饲料组和普通饲料组 MTHFR mRNA 相对表达量比较, 差异无统计学意义 (P > 0.05)。见表 7 和图 3。

表 7 各组大鼠肝脏中 MTHFR、MTR 及 CBS mRNA 相对表达量比较 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	MTHFR	MTR	CBS
普通饲料组	1.01 ± 0.02	1.00 ± 0.04	1.01 ± 0.02
低铅染毒普通饲料组	0.97 ± 0.04	0.97 ± 0.05	1.03 ± 0.06
高脂饲料组	0.62 ± 0.06 ^{①②}	1.01 ± 0.06	1.02 ± 0.05
低铅染毒高脂饲料组	0.38 ± 0.07 ^{①②③}	1.03 ± 0.04	0.99 ± 0.05
F 值	20.189	1.441	1.533
P 值	0.000	0.106	0.104

注：①与普通饲料组比较, P < 0.05; ②与低铅染毒普通饲料组, P < 0.05; ③与高脂饲料组比较, P < 0.05。



1: 普通饲料组; 2: 低铅染毒普通饲料组; 3: 高脂饲料组; 4: 低铅染毒高脂饲料组。①与普通饲料组比较, $P < 0.05$; ②与低铅染毒普通饲料组, $P < 0.05$; ③与高脂饲料组比较, $P < 0.05$ 。

图 3 各组大鼠肝脏中 MTHFR、MTR 及 CBS mRNA 相对表达量比较 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

3 讨论

近年来国内外对铅中毒进行了大量的流行病学研究^[2]。以我国为例, 2009 年以来铅中毒特别是慢性铅中毒呈高发态势^[6-7]。急性铅中毒患者主要集中于铅矿工作人员, 而普通人群中多数为慢性铅中毒, 且发病人数更多、更广。慢性铅中毒患者与正常人群在多种疾病的发生率上没有明显差异, 但是对于有基础疾病的慢性铅中毒患者血清多项指标则明显高于正常人群, 而 Hcy 则是一个差异指标。铅中毒的脂肪肝患者血清 Hcy 较无铅中毒的脂肪肝患者明显升高。而 Hcy 的升高与患者代谢密切相关。

Hcy 在体内的生成和分解主要通过 MTHFR、MTR 和 CBS 3 种酶来进行, 首先为转硫基途径, 调节酶蛋白为 CBS, CBS 可催化 Hcy 和丝氨酸缩合生成胱硫醚, 胱硫醚进一步可生成谷胱甘肽以提高机体抗氧化能力^[8-11]。另一条途径为调节酶蛋白为 MTR 和 MTHFR, 在 MTR 的催化下 Hcy 和甲基四氢叶酸可生成蛋氨酸和四氢叶酸, 蛋氨酸可直接被人体利用, 而四氢叶酸则在 MTHFR 催化下重新生成甲基四氢叶酸。本研究显示, 各组 MTR 和 CBS 表达没有差异, 此外普通饲料组与低铅染毒普通饲料组 MTHFR 表达无差异, 而高脂饲料组和低铅染毒高脂饲料组 MTHFR 表达低于普通饲料组, 同时低铅染毒高脂饲料组也明显低于高脂饲料组, 这提示在大鼠摄入高脂饲料的同时给予低铅染毒可以造成大鼠 Hcy 升高, 其升高与 MTHFR 的表达异常相关。

肝细胞的炎症状态与 CBS、MTR 和 MTHFR 有直接关系^[11]。在肝脏炎症发生的过程中, TNF- α 是直接调控因子, TNF- α 可直接活化 IL-1 α 和 IL-1 β ,

此外 TNF- α 可激活肝脏 Kupffer 细胞, 促进 IL-6 释放^[12]。肝脏炎症反应发生后, 可反作用刺激肝脏细胞, 进而诱发 Hcy 代谢酶分泌异常, 最终导致 Hcy 升高^[13]。本研究结果显示, 相较于普通饲料组, 低铅染毒普通饲料组大鼠血清中 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 并没有明显升高。而与普通饲料组和低铅染毒普通饲料组相比, 高脂饲料组和低铅染毒高脂饲料组 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 明显升高。相较于高脂饲料组, 低铅染毒高脂饲料组 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 明显升高, 这提示低铅染毒不会对正常大鼠炎症因子和血清 Hcy 升高有促进作用, 而在肝脏损伤后, 则会明显升高 Hcy 和炎症反应。

综上所述, 低铅染毒对 NAFLD 大鼠 Hcy 升高有明显促进作用, 这与低铅摄入可增加肝脏炎症反应, 降低肝脏中 MTHFR 表达有关。

参考文献:

- [1] 刘纪青, 岳维梅, 方绍峰. 职业性慢性铅中毒 97 例分析 [J]. 职业卫生与应急救援, 2016, 34(1): 34-35.
- [2] 黄福林. 慢性铅中毒与肝功能损害的临床分析 [J]. 中国医药指南, 2018, 16(7): 133-134.
- [3] 邱炜, 陈莹, 胡秀, 等. 云南某地区儿童及青少年铅中毒现状及影响因素分析 [J]. 昆明医科大学学报, 2016, 37(11): 18-22.
- [4] 张建英. 孕鼠铅暴露对仔鼠血铅水平影响的研究 [J]. 中国实用医药, 2010, 5(3): 52-53.
- [5] WU J Z, BREMNER D H, LI H Y, et al. Synthesis and evaluation of temperature- and glucose-sensitive nanoparticles based on phenylboronic acid and N-vinylcaprolactam for insulin delivery [J]. Materials Science & Engineering C, 2016, 12(69): 1026-1035.
- [6] TEERASANTIPAN T, CHAITEERAKIJ R, PRUEKSAPANICH P, et al. Mo1433-chronic lead poisoning is associated with the presence of liver fibrosis: a single-centered cross-sectional

- study[J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(6): DOI: 10.1016/S0016-5085(18)33981-7.
- [7] ROSNER D. A lead poisoning crisis enters its second century[J]. *Health Affairs*, 2016, 35(5): 756-759.
- [8] DAI Y, ZHU J, DI M, et al. Association of homocysteine level with biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis[J]. *Journal of Clinical Biochemistry & Nutrition*, 2016, 58(1): 76-83.
- [9] 黄雷, 陈宁, 宋仁权. 非酒精性脂肪肝患者血浆同型半胱氨酸水平变化及临床意义 [J]. *现代实用医学*, 2017, 29(3): 334-336.
- [10] BHANJI R A, MA M, BAIN V G, et al. Hyperhomocysteinemia is associated with severity of cirrhosis and negative impact after liver transplantation[J]. *Liver International*, 2016, 36(5): 696-704.
- [11] 延华, 张粉利, 高艳琼, 等. 非酒精性脂肪肝与同型半胱氨酸水平及胰岛素抵抗的关系探讨 [J]. *陕西医学杂志*, 2017, 46(10): 1451-1452.
- [12] 潘磊, 崔荣岗, 赵保辉, 等. 蛤蚧肽溶液对非酒精性脂肪肝小鼠脂代谢, 肝功能及炎性因子的影响 [J]. *陕西中医*, 2016, 37(3): 376-379.
- [13] YANG D H, LOU Z H, CHENG B, et al. Effects of lotus leaf on inflammatory factors and liver Adipo R2 expressions in rats with NAFLD induced by high fat diet and high glucose[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2016, 41(18): 3406-3411.

(李科 编辑)