探究 3 – 磷酸甘油醛脱氢酶蛋白表达对脾虚湿阻型单纯性肥胖大鼠的影响

张晨晴,刘春阳,刘芳芳*,王平,李津,曹娟,李雯
(山西中医药大学,山西 晋中 030619)

摘要 目的:探究 3 – 磷酸甘油醛脱氢酶蛋白(GAPDH)表达对脾虚湿阻型单纯性肥胖大鼠的影响。通过针刺干预反证 GAPDH 蛋白对脾虚湿阻型单纯性肥胖模型的发病机制。方法:40 只健康 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、针刺组、针刺对照组,每组 10 只。造模成功后,采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)测定大鼠血清瘦素(Leptin)水平、大鼠血清脂肪组织趋化素(Chemerin)的水平。荧光定量 PCR 测定 GAPDH mRNA 表达水平;蛋白免疫印迹法(Western Blot)测定 GAPDH 蛋白的表达情况。结果:30 只造模大鼠中,大鼠平均体质量均高于对照组的 20%,与对照组相比,模型组大鼠体质量增高($P<0.01$)。大鼠血清 Leptin 水平比较,与对照组相比,模型组 Leptin 水平增高($P<0.01$),针刺组较模型组水平降低($P<0.01$),针刺对照组差异无统计学意义($P>0.05$)。血清 Chemerin 水平比较,与对照组相比,模型组水平增高($P<0.01$),针刺组较模型组水平降低($P<0.01$),针刺对照组差异无统计学意义($P>0.05$);PCR 检测结果显示,与对照组相比,模型组大鼠脾组织 GAPDH mRNA 水平升高($P<0.01$),针刺治疗后,与模型组相比,针刺组大鼠脾组织水平降低($P<0.01$),针刺对照组与模型组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。Western blot 检测结果显示,与对照组相比,模型组大鼠脾组织 GAPDH 蛋白水平显著增高($P<0.01$);与模型组比较,针刺组和针刺对照组大鼠脾组织 GAPDH 蛋白水平降低($P<0.01$)。结论:3 – 磷酸甘油醛脱氢酶有望成为脾虚湿阻证的特异性蛋白质,为脾虚湿阻证的早期诊断奠定基础。

关键词 3 – 磷酸甘油醛脱氢酶;单纯性肥胖;脾虚湿阻型
中图分类号:R285.5 **文献标识码**:A **文章编号**:1002 – 2392(2025)07 – 0015 – 05
DOI:10.19664/j.cnki.1002 – 2392.250134

单纯性肥胖(Simple obesity)是临床常见的慢性代谢性疾病,无其他明显原因,单纯由于摄食过多、营养过剩导致全身脂肪过度累积、分布异常所致[1-2]。最新的统计数据显示,我国有近 1 亿肥胖人口,其中,女性比男性肥胖人数多 320 万,位居世界第一[3-4]。肥胖可能导致高血压、冠心病、糖尿病甚至某些癌症,如果干预不及时,可能会增加死亡风险[5]。

3 – 磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)是糖酵解中的限速酶,研究数据表明,仅有 10% ~25% 的肥胖患者代谢处于正常状态[6-7],这也进一步提示糖酵解异常即功能紊乱与肥胖之间存在着密切的关联。因此,测定 GAPDH 在单纯性肥胖中的表达,对于研究脾虚湿阻型病证结合单纯性肥胖症有一定的参考价值。而本实验是在对脾虚湿阻型单纯性肥胖动物模型进行进一步实证研究过程中,发现 3 – 磷酸甘油醛脱氢酶蛋白与脾虚湿阻型单纯性肥胖密切相关。

针刺[8]具有疏通经络、行气活血、调整脏腑等功能,是中医特色的疗法之一,具有安全、有效、无毒副作用等优势,可以根据患者的具体情况辨证论治,从而达到减轻患者体质量的目的。研究发现,针灸可以调节脂肪代谢,减少脂肪堆积,特别是对脾虚湿阻型肥胖作用显著[9]。

肥胖是一种常见的疾病,并常常引起糖酵解过程紊乱的情况。因此,本研究试图检验 3 – 磷酸甘油醛脱氢酶蛋白表达的差异性,分析蛋白水平、基因水平对脾虚湿阻型单纯性肥胖的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量(180 ~ 220)g,由

收稿日期:2024 – 05 – 16 **修回日期**:2024 – 11 – 25
基金项目:山西省自然科学基金面上项目(202203021221206);山西中医药大学博士科研启动基金项目(2023BK51);山西省高等学校科技创新项目(2019L0719)
作者简介:张晨晴(1997 –),女,硕士研究生,研究方向:中医体质辨识与病证规律研究。
*通信作者:刘芳芳(1984 –),女,博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向:中医体质辨识与病证规律研究。

中国维通利华实验动物技术有限公司提供,大鼠的许可证号:SCXK(京)2016 - 0006。从中国维通利华实验动物技术有限公司购买脂肪供能比为 60% 的高脂纯化饲料,型号:D12492。所有大鼠均饲养在山西中医药大学动物实验中心清洁级动物房中,室温(20 ~ 24)℃,湿度 40% ~70%。饲养条件符合《实验动物管理要求》,本研究由山西中医药大学医学伦理委员会批准,批准编号:AWE202209017。

1.2 主要试剂

RNA 溶解液(武汉赛维尔生物科技有限公司,G3013);无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司,100092683);异丙醇(国药集团化学试剂有限公司,80109218);RNA 提取液(武汉赛维尔生物科技有限公司,G3029);HRP 标记山羊抗兔(jackson,111 - 035 - 003);HRP 标记兔抗山羊(jackson,305 - 035 - 003);HRP 标记山羊抗小鼠(jackson,115 - 035 - 003);HRP 标记山羊抗大鼠(jackson,112 - 035 - 003);Leptin(bioswamp,RA20489);CHEM(bioswamp,RA20789)。

1.3 主要仪器

PCR 反应板(武汉赛维尔生物科技有限公司,PCR - 9601 - NS);封膜仪(武汉赛维尔生物科技有限公司,FS - A20);PCR 反应管(武汉赛维尔生物科技有限公司,PCR - 02 - FC);微量高速离心机(湖南湘仪,TG16W);涡旋混匀仪(武汉赛维尔生物科技有限公司,SMV - 3500);组织匀浆器(宁波新芝,SCIENTZ - 24);PCR 仪(杭州柏恒,GE48527);BCA 蛋白定量检测试剂盒(武汉博尔夫生物科技有限公司,BF0026);脱水机(武汉俊杰电子有限公司,JT - 12J);包埋机(武汉俊杰电子有限公司,JB - L5)病理切片机(上海徕卡仪器有限公司,LEiCA RM2016)。

1.4 实验方法

1.4.1 实验动物模型制备与分组

适应性喂养 1 周后将大鼠随机分成对照组 10 只和脾虚湿阻型单纯性肥胖模型组 30 只。根据单纯性肥胖模型制备文献[10 - 11],建立脾虚湿阻型单纯性肥胖大鼠模型。造模 8 周,通过观察大鼠精神状态、活动情况、毛发稀疏度、毛发清洁度等宏观指标的变化情况,并于每周定时记录和称量,建立脾虚湿阻型单纯性肥胖模型。当模型组大鼠体质量超过对照组大鼠体质量的 20%,并出现精神疲惫、扎堆聚集、反应迟钝、大便软化甚则溏稀及毛发稀疏、油腻及不洁等表现时,判断脾虚湿阻型单纯性肥胖大鼠模型建立成功[12 - 13]。并随机将其分为模型组、针刺组和针刺对照组,每组 10 只。

1.4.2 治疗方法

针刺组:将大鼠固定在鼠台上,碘伏、酒精消毒后三里、中脘、天枢,在大鼠清醒的情况下针刺相应的穴位并捻转,捻转频率 80 次/min 左右,捻转的角度为 180°。每个穴位针刺 15 min。于每日上午接受针刺治疗,隔日 1 次,双侧穴位交替进行,连续 30 d。

针刺对照组:选取丰隆、三阴交、大横穴,操作方法同针刺组。

对照组和模型组同法抓握固定 15 min 但不针刺。

腧穴定位参照文献[14 - 15],具体如下。后三里:后肢前外侧,犊鼻下约 6 mm,胫骨前缘旁开约 2 mm。中脘:脐上约 20 mm。天枢:腹中部,平脐中,距脐中旁开 2 寸。大横:腹中部,平肚脐中,肚脐中旁开 4 寸。丰隆:小腿前外侧,当外踝尖上 8 寸,条口外,距胫骨前缘二横指(中指)。三阴交:后肢内踝尖直上 10 mm。取大鼠的脾组织进行蛋白指标检测。

1.5 检测指标及方法

1.5.1 ELISA 试剂盒检测大鼠血清脂肪因子瘦素(Leptin)、趋化素(Chemerin)改变

采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定大鼠血清中脂肪因子 Leptin 和 Chemerin 的水平。预冷生理盐水漂洗脾组织后用滤纸拭干,除去附着物,测重。将所得组织匀浆,在 4 ℃转速 10 000 r/min 下离心 10 min,去除底部沉淀物,保留上清液。

按照试剂盒说明书对血清中 Leptin 和 Chemerin 含量进行检测。

1.5.2 荧光定量 PCR 法检测脾组织 GAPDH 蛋白 mRNA 表达水平

取大鼠脾组织,按照 Trizol 说明书提取脾组织总的 RNA。使用逆转录试剂盒将总 RNA 转录成 cDNA,设计实时定量引物,进行 PCR 扩增。使用 Nanodrop 2000 检测 RNA 浓度及纯度。用 100 ng RNA 以上的溶液,作为反转录的模板。反应体系为:95 ℃ 5 min;95 ℃ 15 s,56 ℃ 30 s,72 ℃ 20 s,44 个循环。以 β - actin 为内参,用仪器自带的分析软件对反应完成后的数据进行分析。采用 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 法计算 GAPDH mRNA 的相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 PCR 所使用的引物名称以及引物序列

引物名称	引物序列(5′ - 3′)	扩增长度/bp
rGAPDH - F	CAAGTTCAACGGCACAGTCAAG	123
rGAPDH - R	ACATACTCAGCACCAGCATCAC	
rB - actin - F	CACTATCGGCAATGAGCGGTTCC	154
rB - actin - R	CAGCACTGTGTTGGCATAGAGGTC	

1.5.3 Western blot 法检测脾组织 GAPDH 蛋白表达

取脾组织剪碎，加入 100 μL 预冷的蛋白裂解液冰上裂解 30 min；4 ℃、12 000 r/min，离心15 min。再加入 10% 分离胶 SDS－PAGE 蛋白上样缓冲液，离心后，转膜继而封膜。室温一抗（1∶500）1 h，室温二抗（1∶1 000）1 h（水平摇床），大量 PBST 冲洗 10 min × 3 次，曝光显影。采用 Image J 软件对每组蛋白的条带灰度值进行定量分析，并将其与对照组进行比较。

1.6 统计方法

统计软件采用 GraphPad Prism 8.3.0，计量资料用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，首先对数据进行正态性检验和方差齐性检验，组间比较采用单因素方差分析，两两比较用 t 检验。$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠实验前的体质量对比

适应性喂养 1 周，对照组大鼠体质量为（347.72 ± 15.87）g，模型组大鼠体质量为（351.77 ± 20.56）g，两组比较，差异无统计学意义（$P > 0.05$）。在造模后第 2 周时，模型组的大鼠体质量明显增加，且高于对照组（$P < 0.01$）。在造模 4 周后，大鼠体质量显然超过对照组 5%。到第 7 周时，模型组大鼠的体质量进一步超过对照组的 10% 并持续至实验末，与对照组相比，增加 14.78%（$P < 0.01$）。见表 2。

表 2 各组大鼠体质量的变化（$\bar{x} \pm s$，g）

组别	0 周	1 周	2 周	4 周	6 周	7 周	8 周
对照组	195.73 ± 5.20	347.72 ± 15.87	396.49 ± 23.96	457.45 ± 32.73	509.41 ± 36.40	539.22 ± 40.15	538.39 ± 37.67
模型组	200.24 ± 2.75 *	351.77 ± 20.56	444.31 ± 31.94 * *	477.25 ± 38.35	547.58 ± 54.45	593.11 ± 55.52 * *	606.85 ± 54.06 * *

注：与对照组同时间比较，* $P < 0.05$，* * $P < 0.01$。

2.2 大鼠宏观证候表现

实验前，大鼠精神状况良好，皮毛光泽度高，大便成形且干稀适度。实验开始时，模型组大鼠表现为烦躁不安，在经历一段时间的实验后，大鼠逐渐表现为精神疲惫、倦怠，且睡眠时间长、皮毛的光泽度变差且毛发稀疏、大便不成形甚则溏稀便等，且模型组大鼠的进食量与进水量都明显高于对照组。

2.3 各组大鼠血清 Leptin 和 Chemerin 的变化

从表 3 可以看出，高脂饮食后，模型组的血清瘦素水平明显高于对照组（$P < 0.01$）；针刺治疗 2 周后，与模型组比较，针刺组大鼠血清瘦素水平显著降低（$P < 0.01$）；针刺对照组与模型组相比血清瘦素水平差异无统计学意义（$P > 0.05$）。模型组大鼠比对照组大鼠血清趋化素水平显著增高（$P < 0.01$）；针刺治疗 2 周后，针刺组比模型组大鼠血清趋化素水平明显下降（$P < 0.01$）；针刺对照组与模型组相比，血清趋化素含量差异无统计学意义（$P > 0.05$）。

表 3 针刺治疗后各组大鼠血清 Leptin 和 Chemerin 的变化（$\bar{x} \pm s$，μg/mL）

组别	n	Leptin	Chemerin
对照组	10	49.17 ± 12.59	37.08 ± 7.04
模型组	10	329.36 ± 31.18 * *	186.60 ± 21.67 * *
针刺对照组	10	330.91 ± 21.30	194.37 ± 13.91
针刺组	10	193.92 ± 29.38 ##	111.43 ± 10.38 ##

注：与对照组比较，* * $P < 0.01$，与模型组比较，## $P < 0.01$。

2.4 各组大鼠脾组织 GAPDH 蛋白 mRNA 表达水平

如表 4 所示，与对照组相比，模型组大鼠脾组织 GAPDH mRNA 水平升高（$P < 0.01$），针刺治疗后，与模型组相比，针刺组大鼠脾组织 GAPDH mRNA 水平降低（$P < 0.01$），针刺对照组与模型组比较差异无统计学意义（$P > 0.05$）。

表 4 各组大鼠脾组织中 GAPDH 蛋白 mRNA 表达水平（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	GAPDH
对照组	3	0.88 ± 0.10
模型组	3	1.35 ± 0.10 * *
针刺对照组	3	1.24 ± 0.13
针刺组	3	0.91 ± 0.24 ##

注：与对照组比较，* * $P < 0.01$，与模型组比较，## $P < 0.01$。

2.5 大鼠脾组织 GAPDH 蛋白的表达结果

如表 5、图 1 所示，模型组大鼠脾组织比对照组 GAPDH 蛋白水平显著增高（$P < 0.01$）；针刺组和针刺对照组大鼠脾组织 GAPDH 蛋白水平比模型组降低（$P < 0.01$）。

表 5 各组大鼠脾组织 GAPDH 蛋白表达情况（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	GAPDH 蛋白表达
对照组	3	0.57 ± 0.08
模型组	3	1.07 ± 0.12 * *
针刺对照组	3	0.71 ± 0.02 ##
针刺组	3	0.63 ± 0.07 ##

注：与对照组比较，* * $P < 0.01$，与模型组比较，## $P < 0.01$。

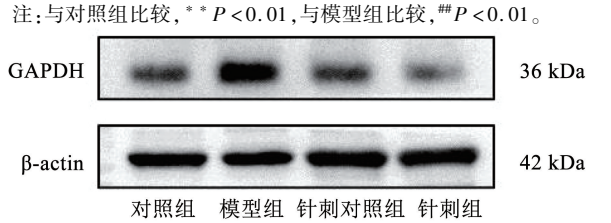


图 1 各组脾组织 GAPDH 蛋白表达印迹图

3 讨论与结论

中医认为单纯性肥胖与先天禀赋、饮食习惯、运动劳作及情绪等因素有关。长期饮食过量,贪食肥甘厚腻、情志不畅等都会对脾胃造成损害,使中焦的脾胃运化不畅,从而产生痰湿;运动减少会导致人体气机迟缓、运行不畅、则运化受阻,痰湿壅盛而导致单纯性肥胖病的发生。因此,该疾病的主要病位是在脾胃,核心病机是脾虚湿阻[16]。目前的研究表明单纯性肥胖主要以脾虚湿阻型为主。肥胖产生的最直接影响就是脂肪组织内炎症反应和循环系统中促炎性细胞因子和脂肪因子的上升[17]。目前临床中治疗肥胖的方法有很多,虽有一定的效果,但也存在费用昂贵、不良反应多等缺点。针刺[8]具有疏通经络、行气活血、调整脏腑等功能,是中医特色的疗法之一,具有安全、有效、无毒副作用等优势,可以根据患者的具体情况辨证论治,从而达到减轻体质量的目的。研究发现,针灸可以调节脂肪代谢,减少脂肪堆积,特别是对脾虚湿阻型肥胖作用显著[9]。

瘦素作为一种脂肪细胞因子,同时也是促炎因子之一,它参与调控物质能量代谢稳定,同时介导炎症反应,在与肥胖有关的代谢性疾病中扮演重要角色[18]。在本实验中,模型组大鼠的血清瘦素表达高于对照组,肥胖大鼠中瘦素并没有起到减轻体质量的作用,这可能与大鼠摄入大量高脂饲料后,机体对瘦素的敏感性降低,产生了对抗作用,从而导致瘦素的生理功能被抑制,引发肥胖。本研究表明,高脂饮食会影响正常脂类代谢,因此,瘦素作为一种炎性因子,对脾虚湿阻型单纯性肥胖的作用机制仍需要深入探索。

趋化素(Chemerin)是一种新型脂肪因子,并在脂肪组织中高表达。目前研究发现,趋化素在肥胖等代谢性疾病中起关键作用。本课题组通过建立大鼠肥胖模型发现,肥胖模型组大鼠血清趋化素明显增高,且与肥胖程度为正相关。本实验研究发现,与对照组相比,肥胖模型组大鼠血清趋化素水平显著增高($P<0.01$),说明趋化素水平的增高与肥胖关系密切。因此,趋化素在脾虚湿阻型单纯性肥胖中的发病机制可能与脾失运化有关,揭示趋化素在脾虚湿阻型肥胖病中扮演着重要角色。

GAPDH 是糖酵解过程中的重要酶分子[19],是参与甘油合成的关键酶[20]。本实验发现,与对照组相比,模型组大鼠 GAPDH 蛋白明显增高($P<0.01$),表明脾虚湿阻型单纯性肥胖大鼠会影响体内 GAPDH 蛋白的表达。而针刺组与模型组大鼠相比,GAPDH 蛋白降低,两组结果差异具有统计学意义($P<0.01$),说明针刺可以降低 GAPDH 蛋白水平。通过采用 PCR 法对 GAPDH 蛋白水平进行了进一步的验证发现,与对照组相比,模型组大鼠脾组织 GAPDH mRNA 水平升高($P<0.01$),针刺治疗后,与模型组相比,针刺组大鼠脾组织 GAPDH mRNA 水平降低($P<0.01$),针刺对照组与模型组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。根据黄满婷等[21]学者的研究,针刺某些穴位治疗脾胃疾病的生物学机制可能是通过刺激基因调节代谢通路,从而达到治疗目的。这一研究成果为进一步深入探究针刺治疗脾胃疾病的机制提供了科学依据,并为传统中医针灸治疗的现代化发展提供了一定的理论指导。本研究结果表明,模型组脾组织中 GAPDH 蛋白表达水平比对照组升高,提示 GAPDH 蛋白活性改变,蛋白表达出现异常。而针刺组表达水平降低,说明针刺可以敲低 GAPDH 蛋白水平。针刺中脘、后三里等穴位可以调畅中焦气机,行气活血,祛痰化湿。针刺治疗脾胃疾病的机制可能与 GAPDH 蛋白调节密切相关。所以推测 GAPDH 可以作为脾虚湿阻型肥胖的特异性检测蛋白,如何通过脾脏特异性敲低 GAPDH 来抑制大鼠肥胖的发生,是下一步需要进行的研究。

本研究结果表明,GAPDH 对脾脏运化功能有重要影响,可能成为脾虚湿阻型单纯性肥胖病证结合模型的显著标志物。

参考文献:

[1] Comparing acupoint catgut embedding and acupuncture therapies for simple obesity: a systematic review and meta - analysis: Erratum[J]. Medicine, 2023, 102(2): e32678.

[2] 王平,钟润琪,岳增辉. 电针俞募配穴联合高强度间歇性运动对单纯性肥胖患者内脏脂肪糖脂代谢的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(08): 1492 - 1497.

[3] WEI J L, LILY L, LIN Z C, et al. Acupoint catgut embedding versus acupuncture for simple obesity: a systematic review and Meta - analysis of randomized controlled trials[J]. J Tradit Chin Med, 2022, 42(6): 839 - 847.

[4] NCD Risk Factor Collaboration (NCD - RisC). Trends in adult body - mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population - based measurement studies with 19.2 million participants[J]. Lancet, 2016, 387(10026): 1377 - 1396.

[5] 闫丽超,章奇,郑肖,等. 热敏脐灸联合穴位埋线疗法治疗脾虚湿阻型单纯性肥胖临床研究[J]. 新中医, 2023, 55(15): 146 - 151.

[6] BLÜHER M. The distinction of metabolically 'healthy' from 'unhealthy' obese individuals[J]. Curr Opin Lipidol, 2010, 21(1): 38 - 43.

[7] BLÜHER M. Are there still healthy obese patients? [J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2012, 19(5): 341 - 346.

[8] KIERNAN K, MACIVER N J. The role of the adipokine leptin in immune cell function in health and disease[J]. Front Immunol, 2020(11): 622468.

[9] 马昌瀚,潘斯斯,胡选义. 瘦素在高血压中的研究进展[J]. 医学研

究杂志,2023,52(2):189 - 193.
[10] 闫润虎. 穴位埋线治疗单纯性肥胖病的临床疗效及分子机制研究[D]. 大连:大连医科大学,2013.
[11] 刘芳芳,燕平,王平,等. 脾虚湿阻型单纯性肥胖大鼠模型宏观证候、血生化、细胞免疫功能研究[J]. 中国民族民间医药,2022,31(7):37 - 41,45.
[12] 赵子楠,朱依琳,武洁,等. 基于证效相关探讨茯苓荷叶片对脾虚湿阻肥胖大鼠的功效[J]. 中华中医药杂志,2022,37(5):2788 - 2793.
[13] 张雅婷,张骏鸿,汪晴,等. 高脂饮食诱导脾虚湿阻型(内湿型)银屑病小鼠模型的建立及评价[J]. 中药新药与临床药理,2023,34(9):1255 - 1264.
[14] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位第 2 部分:大鼠[J]. 针刺研究,2021,46(4):351 - 352.
[15] 郑利岩,张小卿,王熙,等. 实验大鼠常用经穴检测与定位[J]. 辽宁中医杂志,2010,37(10):2058 - 2060.
[16] 钱虹,尹婷,何丽旋,等. 调神健脾针刺法联合耳穴治疗单纯性肥胖临床观察[J]. 光明中医,2022,37(20):3749 - 3751.
[17] 刘姗姗. 3 - 磷酸甘油醛脱氢酶在肝癌和脂肪分化中的机制研究[D]. 武汉:武汉大学,2017.
[18] 丁玲,张森,姜星,等. 运动干预对肥胖机体体内瘦素等脂肪细胞因子作用的影响[J]. 生理科学进展,2023,54(2):141 - 147.
[19] 张恩婷. 人参皂苷 Rk3 靶向结合甘油醛 - 3 - 磷酸脱氢酶抑制肝癌 HepG2 细胞的糖酵解作用研究[D]. 长春:吉林大学,2022.
[20] 何佳,王彩霞. 脾阳虚大鼠脾失健运相关蛋白 mRNA 表达差异的研究[J]. 辽宁中医杂志,2013,40(5):1033 - 1035.
[21] 黄满婷. 基于针刺实验文献的数据分析与穴位刺激效应关系网络示范性研究[D]. 北京:中国中医科学院,2017.

Exploring the Effect of Glyceraldehyde - 3 - Phosphate Dehydrogenase (GAPDH) Protein Expression on Rats with Spleen Deficiency and Dampness Obstruction Type Simple Obesity

ZHANG Chenqing, LIU Chunyang, LIU Fangfang, WANG Ping, LI Jin, CAO Juan, LI Wen
(*Shanxi University of Chinese Medicine*, *Jinzhong* 030619, *China*)

Abstract Objective: To explore the effect of glyceraldehyde - 3 - phosphate dehydrogenase (GAPDH) expression on rats with spleen deficiency and dampness obstruction type simple obesity, and to investigate the role of GAPDH protein in the pathogenesis of this model through acupuncture intervention. Methods: Forty healthy SD rats were randomly divided into four groups: control group, model group, acupuncture group, and acupuncture control group, with 10 rats in each group. After successful modeling, pathological changes in the liver, spleen, and adipose tissue of rats in different groups were observed using HE staining under a light microscope. The levels of leptin and chemerin in rat serum were measured using double antibody sandwich ELISA. GAPDH mRNA expression was detected by quantitative PCR, and GAPDH protein expression was measured by Western blot. Results: The experimental results showed that the average body weight of rats in the model group was 20% higher than that of the control group, and the body weight of rats in the model group increased significantly compared to the control group ($P < 0.01$). Pathological changes in the liver, spleen, and adipose tissues of rats were observed after HE staining. Compared to the control group, the model group exhibited varying degrees of pathological changes. The serum leptin levels were higher in the model group compared to the control group ($P < 0.05$), and the acupuncture group had lower levels than the model group ($P < 0.05$), while the acupuncture control group showed no significant difference ($P > 0.05$). The serum chemerin levels were higher in the model group compared to the control group ($P < 0.05$), and the acupuncture group showed a decrease compared to the model group ($P < 0.05$), with no significant difference in the acupuncture control group ($P > 0.05$). PCR results showed that GAPDH mRNA expression in the spleen tissue of rats in the model group was higher compared to the control group ($P < 0.01$). After acupuncture treatment, the expression of GAPDH mRNA in the acupuncture group was significantly lower than in the model group ($P < 0.01$), and there was no significant difference between the acupuncture control group and the model group ($P > 0.05$). Western blot results showed that the expression of GAPDH protein in the spleen tissue of rats in the model group was significantly higher than in the control group ($P < 0.01$). After acupuncture treatment, the GAPDH protein levels in the acupuncture group and acupuncture control group were significantly reduced compared to the model group ($P < 0.05$). Conclusion: Glyceraldehyde - 3 - phosphate dehydrogenase (GAPDH) is a promising specific protein for spleen deficiency and dampness obstruction syndrome, providing a basis for early diagnosis of this syndrome.

Key words Glyceraldehyde - 3 - phosphate dehydrogenase (GAPDH); Simple obesity; Spleen deficiency and dampness obstruction syndrome