

引文格式:白文帆,郭玉,伏等弟,罗明秀,芦晓红,姚青. 葡萄糖转运蛋白 GLUT1/4 和 Sirtuins 在糖尿病大鼠视网膜中的表达[J]. 眼科新进展,2024,44(4):270-274. doi:10.13389/j.cnki.rao.2024.0053

【实验研究】

葡萄糖转运蛋白 GLUT1/4 和 Sirtuins 在糖尿病大鼠视网膜中的表达[△]

白文帆 郭 玉 伏等弟 罗明秀 芦晓红 姚 青

作者简介:白文帆(ORCID:0009-0000-4897-7767),女,1999年6月出生,宁夏中卫人,在读硕士研究生。研究方向:眼底病的发病机制及其防治。E-mail:2095696644@qq.com
通信作者:姚青(ORCID:0000-0002-0801-0321),女,1975年7月出生,宁夏人,博士,教授。研究方向:眼底病的发病机制及其防治。E-mail:yaoqing726@163.com

收稿日期:2023-05-23
修回日期:2023-12-03
本文编辑:董建军
△基金项目:国家自然科学基金项目(编号:82060819);宁夏回族自治区自然科学基金项目(编号:2020AAC02024)
作者单位:750004 宁夏回族自治区银川市,宁夏医科大学基础医学
院生物化学与分子生物学系

【摘要】目的 探讨葡萄糖转运蛋白 GLUT1/4 和 Sirtuins 在糖尿病大鼠视网膜中的表达。方法 取8周龄健康雄性SD大鼠20只随机分为正常对照组和糖尿病组,糖尿病组大鼠按照 $60\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量采用一次性腹腔注射链脲佐菌素诱导糖尿病模型,正常对照组大鼠注射等量的溶剂。每隔2周检测大鼠体重和血糖。造模后12周,应用彩色多普勒超声检测大鼠视网膜中央动脉(CRA)血流参数;使用戊巴比妥钠麻醉大鼠后摘取眼球,采用HE染色观察大鼠视网膜组织的病理变化,免疫组织化学染色、Western blot 和 qRT-PCR 分别检测大鼠视网膜中 GLUT1/4 和 Sirtuins mRNA 的表达情况。结果 造模后12周,与正常对照组相比,糖尿病组大鼠 CRA 的收缩期峰值流速和舒张末期流速均显著降低(均为 $P < 0.001$);阻力指数和搏动指数无明显改变(均为 $P > 0.05$)。造模后12周 HE 染色结果显示,正常对照组大鼠视网膜组织各层结构清晰,细胞排列紧密、规则,未发现明显的病理改变;糖尿病组大鼠视网膜组织厚度变薄,各层界限模糊,结构紊乱,细胞数量减少。造模后12周免疫组织化学染色结果显示,在大鼠视网膜中, GLUT1 主要位于视网膜色素上皮层, GLUT4 位于神经节细胞层、内丛状层及光感受器层;Western blot 检测结果显示,糖尿病组大鼠视网膜中 GLUT1 及 GLUT4 蛋白相对表达量均低于正常对照组(均为 $P < 0.05$),糖尿病组大鼠视网膜中 SIRT1-SIRT7 蛋白相对表达量均低于正常对照组(均为 $P < 0.05$)。qRT-PCR 检测结果显示,与正常对照组相比,糖尿病组大鼠视网膜中的 SIRT1-SIRT7 mRNA 相对表达量均下降,差异均有统计学意义(均为 $P < 0.01$)。结论 糖尿病可引起大鼠视网膜组织中 GLUT1/4 和 Sirtuins 的表达发生改变, GLUT1/4 和 Sirtuins 可能参与了 DR 的发生与发展。

【关键词】 糖尿病视网膜病变;葡萄糖转运蛋白;Sirtuins;视网膜中央动脉
【中图分类号】 R774

糖尿病视网膜病变(DR)是糖尿病严重的微血管并发症,也是导致成人视力丧失的主要原因^[1],探索 DR 的发病机制,寻找其预防及治疗方法具有重要的临床意义。葡萄糖转运蛋白 GLUT 是一类可调控葡萄糖进入细胞内的跨膜蛋白。目前已鉴定出 GLUT 家族包含 14 种蛋白, GLUT1 是主要的葡萄糖转运载体,参与葡萄糖代谢^[2-3]; GLUT4 能够在胰岛素的刺激下,通过易位作用转运到细胞膜上调控葡萄糖进入细胞^[4]。此外, Sirtuins 作为一类具有烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性去乙酰酶活性的蛋白,已被证明与心血管疾病、糖尿病、癌症等有密切关系^[5]。本研究探讨 GLUT1/4 和 Sirtuins 在糖尿病大鼠视网膜中的表达,旨在进一步研究 DR 的发病机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

链脲佐菌素、无水乙醇、二甲苯、中性树胶、HE 染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司), BCA 蛋白定量检测试剂盒、全蛋白提取试剂盒、ECL 化学发光液(江苏凯基生物技术股份有限公司), DAB 显色试

剂盒(上海生工生物工程股份有限公司), SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液、预染蛋白 Maker(上海雅酶生物医药科技有限公司), SIRT1、SIRT6 抗体(美国 Cell Signaling 公司), β -actin、SIRT2、SIRT3 和 SIRT7 抗体(美国 Affinity 公司), SIRT4、SIRT5 和 GLUT1/4 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司)。全数字彩色多普勒超声诊断仪(上海中跃医疗仪器公司), 台式高速冷冻型微量离心机(北京大龙兴创实验仪器公司), 荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司), 化学发光成像仪(美国 Thermo Scientific 公司), 黏附载玻片、YD-14P1.5 智能环保型双吊篮生物组织脱水机、YD-6LA 生物组织冷冻包埋机、RWDS700 轮转式切片机、YD-700 全自动生物组织染色机(深圳市瑞沃德生命科技有限公司), ML31 生物显微镜(广州市明美科技有限公司), Science 数字切片扫描系统(山东志盈医学科技有限公司)。

1.2 糖尿病大鼠模型的建立

取8周龄健康雄性SD大鼠20只,体重200~220 g(购自宁夏医科大学实验动物中心)。大鼠禁食12 h后,抽取尾静脉血测定空腹血糖,将20只血糖正常的大鼠随机分为正常对照组和糖尿病组,糖

尿病组大鼠按照 60 mg · kg⁻¹ 的剂量采用一次性腹腔注射链脲佐菌素诱导糖尿病模型,正常对照组大鼠注射等量的溶剂。3 d 后尾静脉采血检测血糖,空腹血糖 ≥ 16.7 mmol · L⁻¹ 为糖尿病造模成功,每隔 2 周检测大鼠体重和血糖。本实验通过宁夏医科大学医学实验动物伦理委员会审查并获批准(伦理批准号:IACUC-NYLAC-2021-115)。

1.3 彩色多普勒超声检测大鼠视网膜中央动脉的血流参数

造模后 12 周,使用异氟烷吸入麻醉剂麻醉大鼠,固定大鼠四肢并且对大鼠眼部周围进行脱毛,将超声耦合剂均匀涂抹在眼部,探头放至耦合剂表面进行探查,检测大鼠视网膜中央动脉(CRA)的收缩期峰值流速(PSV)和舒张末期流速(EDV),并计算阻力指数(RI)、搏动指数(PI)。

1.4 HE 染色观察大鼠视网膜组织病理学变化

造模后 12 周,用 10 g · L⁻¹ 戊巴比妥钠注射液(5 mL · kg⁻¹)右下腹腔注射麻醉大鼠,腹主静脉采血后,取出眼球并放入装有眼球固定液的离心管中进行固定,脱水,石蜡包埋,切片,苏木素染色 5 min,清洗,伊红染色 20 min,脱水,封片,在光学显微镜下观察视网膜组织的病理学形态。

1.5 免疫组织化学染色观察大鼠视网膜中 GLUT1/4 的表达情况

将石蜡切片放入 60 °C 烤片机中烤 20 min,脱蜡水化,置于修复液中煮沸后冷却至室温,用 PBS 清洗,H₂O₂ 阻断 15 min,封闭 20 min 后孵育一抗(GLUT1 1 : 5 000, GLUT4 1 : 300),4 °C 过夜,PBS 清洗 3 次,37 °C 避光孵育辣根过氧化物酶标记的二抗(1 : 5 000) 1 h,再用 PBS 清洗后,加入 DAB 显色,滴加苏木素,脱水,封片,在光学显微镜下观察大鼠视网膜中 GLUT1/4 的表达情况。

1.6 Western blot 检测大鼠视网膜 GLUT1/4 和 Sirtuins 蛋白的表达情况

将眼球沿着角巩膜缘剪开,取出视网膜后置于裂解液中,用研钵充分粉碎组织。离心,取上清。通过 BCA 试剂盒检测样本蛋白浓度,将蛋白通过 SDS-PAGE 分离后转印到 PVDF 膜上,用 100 g · L⁻¹ 的脱脂牛奶封闭 2 h 后孵育一抗(β-actin 1 : 5 000, SIRT1-7 1 : 1 000, GLUT1 1 : 4 000, GLUT4 1 : 2 000)。放摇床中 4 °C 孵育过夜。次日,用 TBST 洗膜后孵育二抗(1 : 5 000),配置 ECL 发光液,在凝胶成像系统曝光,检测灰度值,计算 GLUT1/4 和 Sirtuins 蛋白相对表达量。

1.7 qRT-PCR 检测大鼠视网膜中 Sirtuins mRNA 的表达水平

采用 Trizol 一步法提取视网膜总 RNA,逆转录后从 GenBank 获得目的基因 mRNA 的全长序列,利用 Primer 5.0 设计引物序列,Sirtuins 及 β-actin 的引物序列见表 1。采用 qRT-PCR 检测大鼠视网膜中

Sirtuins mRNA 的表达水平。

表 1 Sirtuins 及 β-actin 的引物序列

基因	正向引物序列	反向引物序列
SIRT1	5'-TGACCTCCTCATTGTTATTGGG-3'	5'-GGCATACTCGCCACCTAACCT-3'
SIRT2	5'-GCAGTTCAAGCCGACCATCT-3'	5'-CGGGCTTTACCACATCTCTGAC-3'
SIRT3	5'-TCTGGTATCCCTGCCTCAAAG-3'	5'-CACGTCAGCCCGTATGCTTTC-3'
SIRT4	5'-TGGACGCTCTGCATTCCAA-3'	5'-CCTCCGTGAGGAACACGTCA-3'
SIRT5	5'-GCGAACGCAAAGCACATAGT-3'	5'-AGGGTTGGGTTCTCTTGTTC-3'
SIRT6	5'-GGACCTAACGCTCGCTGATGA-3'	5'-GGCGGTGATGTTTGTGGGTT-3'
SIRT7	5'-GCAGCCTCTATCCAGATTACC-3'	5'-GCAGTTCTGAGACACCACTGT-3'
β-actin	5'-TGCTATGTTGCCCTAGACTTCG-3'	5'-GTTCGCATAGAGGCTCTTACGG-3'

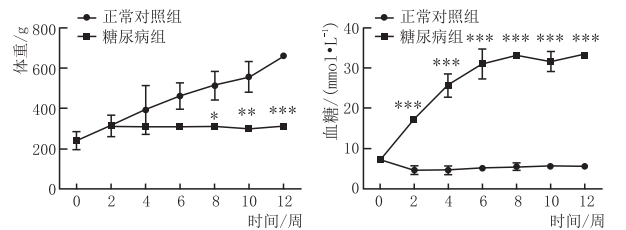
1.8 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,使用 Graphpad Pism 9.5 制图。计量资料以均数 ± 标准差表示,采用独立样本 *t* 检验进行分析。检验水准:α = 0.05。

2 结果

2.1 两组大鼠体重和血糖的变化

与正常对照组相比,糖尿病组大鼠均出现多饮、多食、多尿、体重减轻等症状。造模 8 周后糖尿病组大鼠体重显著低于正常对照组(均为 *P* < 0.05);链脲佐菌素注射 2 周后,糖尿病组大鼠血糖显著高于正常对照组(均为 *P* < 0.05)(图 1)。



与正常对照组相比,**P* < 0.05,***P* < 0.01,****P* < 0.001。

图 1 两组大鼠造模后不同时间体重和血糖的变化

2.2 两组大鼠 CRA 的血流参数

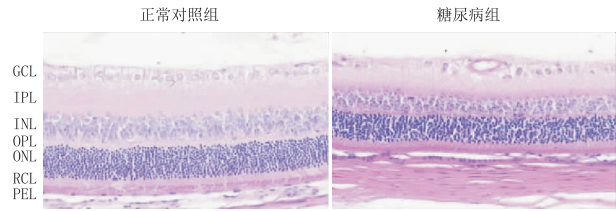
造模后 12 周,与正常对照组相比,糖尿病组大鼠 CRA 的 PSV 和 EDV 均显著降低(均为 *P* < 0.001);RI 与 PI 无明显改变(均为 *P* > 0.05)(表 2)。

表 2 造模后 12 周两组大鼠 CRA 血流参数

组别	PSV/(cm · s ⁻¹)	EDV/(cm · s ⁻¹)	RI	PI
正常对照组	15.56 ± 0.62	8.15 ± 0.53	0.47 ± 0.03	0.62 ± 0.05
糖尿病组	9.02 ± 1.66	4.90 ± 0.48	0.44 ± 0.04	0.58 ± 0.10
<i>t</i>	7.408	9.125	0.288	0.490
<i>P</i>	<0.001	<0.001	0.999	0.734

2.3 两组大鼠视网膜 HE 染色结果

HE 染色结果显示,正常对照组大鼠视网膜组织各层结构清晰,细胞排列紧密、规则,未发现明显的病理改变;糖尿病组大鼠视网膜组织厚度变薄,各层界限模糊,结构紊乱,细胞数量减少(图 2)。



GCL:神经节细胞层;IPL:内丛状层;INL:内核层;OPL:外丛状层;ONL:外核层;RCL:光感受器层;PEL:色素上皮层。

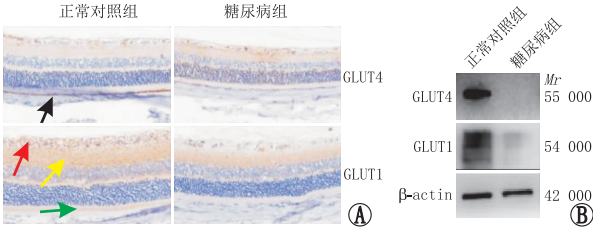
图2 造模后12周两组大鼠视网膜HE染色结果(×400)

2.4 两组大鼠视网膜中 GLUT1/4 的表达情况

免疫组织化学染色结果显示,在大鼠视网膜中 GLUT1 主要位于视网膜色素上皮层, GLUT4 位于神经节细胞层、内丛状层及光感受器层;与正常对照组相比,糖尿病组大鼠视网膜中 GLUT1 及 GLUT4 的表达减少(图 3A);Western blot 检测结果也表明,糖尿病组大鼠视网膜中 GLUT1 及 GLUT4 蛋白相对表达量均低于正常对照组(均为 $P < 0.05$)(图 3B, 表 3)。

2.5 两组大鼠视网膜中 Sirtuins 蛋白表达情况

Western blot 检测结果显示,糖尿病组大鼠视网膜中 SIRT1 – SIRT7 蛋白相对表达量均低于正常对照组(均为 $P < 0.05$)(表 4)。



A:免疫组织化学染色结果(×400);黑色箭头示色素上皮层,红色箭头示神经节细胞层,黄色箭头示内丛状层,绿色箭头示光感受器层。B:Western blot 检测结果。

图3 两组大鼠视网膜中 GLUT1/4 的表达情况

表3 两组大鼠视网膜中 GLUT1 及 GLUT4 蛋白相对表达量

组别	蛋白相对表达量	
	GLUT1	GLUT4
正常对照组	0.77 ± 0.10	0.88 ± 0.16
糖尿病组	0.28 ± 0.04	0.51 ± 0.09
<i>t</i>	7.722	3.622
<i>P</i>	<0.01	<0.05

2.6 两组大鼠视网膜中 Sirtuins mRNA 的表达情况

qRT-PCR 检测结果显示,与正常对照组相比,糖尿病组大鼠视网膜中的 SIRT1 – SIRT7 mRNA 相对表达量均下降,差异均有统计学意义(均为 $P < 0.01$)(表 5)。

表4 两组大鼠视网膜中 Sirtuins 蛋白相对表达量

组别	蛋白相对表达量						
	SIRT1	SIRT2	SIRT3	SIRT4	SIRT5	SIRT6	SIRT7
正常对照组	1.12 ± 0.11	1.32 ± 0.41	1.80 ± 0.61	0.95 ± 0.15	1.12 ± 0.09	1.27 ± 0.07	1.03 ± 0.15
糖尿病组	0.23 ± 0.24	0.51 ± 0.23	0.30 ± 0.01	0.23 ± 0.07	0.41 ± 0.17	0.55 ± 0.39	0.27 ± 0.20
<i>t</i>	5.621	3.005	3.915	7.617	6.142	3.137	5.319
<i>P</i>	<0.01	<0.05	<0.05	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01

表5 两组大鼠视网膜中 Sirtuins mRNA 相对表达量

组别	mRNA 相对表达量						
	SIRT1	SIRT2	SIRT3	SIRT4	SIRT5	SIRT6	SIRT7
正常对照组	1.63 ± 0.06	1.27 ± 0.03	1.77 ± 0.06	1.68 ± 0.11	1.68 ± 0.02	2.51 ± 0.09	1.35 ± 0.10
糖尿病组	1.08 ± 0.07	1.06 ± 0.06	1.01 ± 0.01	1.03 ± 0.05	1.04 ± 0.03	1.02 ± 0.01	0.97 ± 0.03
<i>t</i>	9.351	5.578	22.51	9.629	27.36	28.91	6.67
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

3 讨论

目前,我国糖尿病的发病率为 13%,DR 作为糖尿病患者最常见的眼部并发症,其发病率约占糖尿病患者总数的 40%,是导致成人视力丧失的主要原因,预计到 2030 年全球 DR 患者数可能达到 1.91 亿^[6-8]。DR 的发病机制复杂,现有的临床治疗手段无法有效控制病情。因此,探索 DR 的发病机制,寻找预防及治疗 DR 安全且有效的方法具有重要的现实意义。

DR 的主要病理改变包括视网膜缺血、血管渗透

性增加和神经元异常等。本研究显示,糖尿病组大鼠 CRA 的 PSV 和 EDV 均下降,说明视网膜血流速度下降,供血减少。病理组织学结果显示,糖尿病大鼠视网膜组织各层变薄、结构紊乱、细胞大量丢失,表明糖尿病大鼠视网膜功能和结构发生紊乱。GLUT 是一类跨膜蛋白,可转运葡萄糖进入细胞内,根据其序列相似性和底物亲和力可将 GLUT 分为三类:I 类 GLUTs (1 – 4、14) 可促进葡萄糖的摄取,II 类 GLUT (5、7、9、11) 是果糖转运蛋白,III 类 GLUT (6、8、10、12、13) 是结构上非典型成员^[9]。GLUT1 是一类广泛分布于各个组织器官的葡萄糖转运体,

是葡萄糖通过血-视网膜屏障的载体,主要定位于视网膜血管内皮细胞和色素上皮细胞层,是维持视网膜葡萄糖供给平衡的重要因素,在高糖环境中视网膜细胞 GLUT1 出现异常,将会导致视网膜的糖代谢紊乱^[10]。GLUT4 是骨骼肌和脂肪组织中最主要的葡萄糖转运载体,在胰岛素刺激下,GLUT4 通过将葡萄糖由细胞外转位至细胞中,而发挥降血糖的作用。有研究表明,上调 GLUT4 可改善高糖合并缺血缺氧心肌细胞的糖代谢异常状态^[11]。本研究结果显示糖尿病大鼠视网膜组织 GLUT1 和 GLUT4 蛋白表达水平下降。

Sirtuins 是一类具有烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性去乙酰酶活性的蛋白质,主要与 DNA 修复、细胞周期、代谢和衰老的调节有关,该家族由 7 种亚型组成,其中 SIRT1 和 SIRT2 位于细胞核及细胞质中。研究表明,白内障、青光眼和 DR 等眼部病变都与 SIRT1 的表达有关,SIRT1 可通过调节细胞凋亡、炎症和氧化应激改善 DR^[12];SIRT2 可通过调节胰岛素的作用来改善细胞状态,下调 SIRT2 会加重胰岛素抵抗^[13];SIRT3、SIRT4 和 SIRT5 主要位于线粒体基质中,SIRT3 可通过抑制血管内皮生长因子表达及促进细胞自噬从而预防 DR^[14];SIRT4 是维持胰岛素分泌和葡萄糖稳态的关键参与者^[15];SIRT5 可通过对视神经磷酸酶去琥珀酰化保护视网膜神经节细胞免受 DR 引起的损伤^[16];SIRT6 定位于细胞核,可抑制血管内皮生长因子表达,改善 DR 小鼠的炎症反应、氧化应激且能缓解视网膜细胞凋亡^[17-18];SIRT7 主要位于核仁中,可通过 p53 去乙酰化抑制细胞凋亡和缓解 miR-335-5p 诱导的内皮细胞功能障碍^[19-20]。本研究结果显示糖尿病大鼠视网膜组织中 SIRT1 - SIRT7 蛋白及 mRNA 均呈低表达状态,提示 Sirtuins 在 DR 中可能发挥正向调控的作用。

4 结论

糖尿病可引起大鼠视网膜组织中 GLUT1/4 和 Sirtuins 的表达发生改变,GLUT1/4 和 Sirtuins 可能参与了 DR 的发生与发展。

参考文献

- [1] MENG T, QIN W, LIU B. SIRT1 Antagonizes oxidative stress in diabetic vascular complication [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11: 568861.
- [2] 张丽, 吴美延, 许颖, 许钟锦. 糖尿病对肾小球内葡萄糖转运蛋白 1 表达的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42 (23): 5749-5753.
ZHANG L, WU Y M, XU Y, XU Z G. Effect of diabetes mellitus on the expression of glucose transporter 1 in glomeruli [J]. *Chin J Gerontol*, 2022, 42 (23): 5749-5753.
- [3] 袁德丽, 周清, 傅晓冬. 妊娠期糖尿病患者血清微 RNA-372-3p 和葡萄糖转运蛋白 4 水平与胰岛素抵抗的关系 [J]. *新乡医学院学报*, 2022, 39 (5): 460-464.
YUAN D L, ZHOU Q, FU X D. Relationship between the serum microRNA-372-3p and glucose transporter 4 levels and insulin resistance in patients with gestational diabetes [J]. *J Xinxiang Med Univ*, 2022, 39 (5): 460-464.
- [4] KOESTER A M, GEISER A, BOWMAN P R T, VAN DE LINDE S, GADEGAARD N, BRYANT N J, et al. GLUT4 translocation and dispersal operate in multiple cell types and are negatively correlated with cell size in adipocytes [J]. *Sci Rep*, 2022, 12 (1): 20535.
- [5] BOCKUS L B, MATSUZAKI S, VADVALKAR S S, YOUNG Z T, GIORGIONE J R, NEW-HARDT M F, et al. Cardiac insulin signaling regulates glycolysis through phosphofructokinase 2 content and activity [J]. *J Am Heart Assoc*, 2017, 6 (12): e007159.
- [6] SALAMAT N, MISSEN M, RASHID A. Diabetic retinopathy techniques in retinal images: a review [J]. *Artif Intell Med*, 2019, 97: 168-188.
- [7] TAURONE S, RALLI M, NEBBIOSO M, GRECO A, ARTICO M, ATTANASIO G, et al. The role of inflammation in diabetic retinopathy: a review [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24 (20): 10319-10329.
- [8] BIANCHI E, RIPANDELLI G, TAURONE S, FEHER J, PLATEROTI R, KOVACS I, et al. Age and diabetes related changes of the retinal capillaries: an ultrastructural and immunohistochemical study [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2016, 29 (1): 40-53.
- [9] ISMAIL A, TANASOVA M. Importance of GLUT transporters in disease diagnosis and treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (15): 8698.
- [10] FERNANDES R, CARVALHO A L, KUMAGAI A, SEICA R, HOSOYA K, TERASAKI T, et al. Downregulation of retinal GLUT1 in diabetes by ubiquitinylation [J]. *Mol Vis*, 2004, 10: 618-628.
- [11] 张冀鑫, 刘芬, 张桐, 张雪鹤, 房彬彬, 李晓梅, 等. 抑制 P53 上调 GLUT4 改善高糖合并缺血缺氧诱导的心肌细胞糖代谢紊乱及减轻细胞凋亡 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2023, 31 (3): 212-217.
ZHANG J X, LIU F, ZHANG T, ZHANG X H, FANG B B, LI X M, et al. Inhibition of P53 and up-regulation of GLUT4 improve glucose metabolism disorder and reduce apoptosis of cardiomyocytes induced by high glucose combined with ischemia and hypoxia [J]. *Chin J Arterioscler*, 2023, 31 (3): 212-217.
- [12] KARBASFOROOSHAN H, KARIMI G. The role of SIRT1 in diabetic retinopathy [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 190-194.
- [13] LANTIER L, WILLIAMS A S, HUGHEY C C, BRACY D P, JAMES F D, AMSAIR M A, et al. SIRT2 knockout exacerbates insulin resistance in high fat-fed mice [J]. *PLoS ONE*, 2018, 13 (12): e208634.
- [14] MAO X B, CHENG Y H, PENG K S, YOU Z P. Sirtuin (sirt) 3 overexpression prevents retinopathy in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e920883.
- [15] ANDERSON K A, HUYNH F K, FISHER-WELLMAN K, STUART J D, PETERSON B S, DOUROS J D, et al. SIRT4 is a lysine deacylase that controls leucine metabolism and insulin secretion [J]. *Cell Metab*, 2017, 25 (4): 838-855.
- [16] ZHANG Y, LI T, CAI X, LONG D, WANG X, LIU C, et al. Sirt5-mediated desuccinyl-ation of OPTN protects retinal ganglion cells from autophagic flux blockade in diabetic retinopathy [J]. *Cell Death Discov*, 2022, 8 (1): 63.
- [17] ZORRILLA-ZUBILETE M A, YESTE A, QUINTANA F J, TOIBER D, MOSTOSLAVSKY R, SILBERMAN D M. Epigenetic control of early neurodegenerative events in diabetic retinopathy by the histone deacetylase SIRT6 [J]. *J Neurochem*, 2018, 144 (2): 128-138.
- [18] SILBERMAN D M, ROSS K, SANDE P H, KUBOTA S, RAMASWAMY S, APTE R S, et al. SIRT6 is required for normal retinal function [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9 (6): e98831.
- [19] VAKHRUSHEVA O, SMOLKA C, GAJAWADA P, KOSTIN S, BOETTGER T, KUBIN T, et al. Sirt7 increases stress resistance of cardiomyocytes and prevents apoptosis and inflammatory cardiomyopathy in mice [J]. *Circ Res*, 2008, 102 (6): 703-710.
- [20] LIU Y, YANG J, YANG X, LAI P, MOU Y, DENG J, et al. H₂O₂ down-regulates SIRT7's protective role of endothelial premature dysfunction via microRNA-335-5 [J]. *Biosci Rep*, 2022, 42 (5): BSR20211775.

Expression changes of glucose transporters 1/4 and Sirtuins in the retina of diabetic rats

BAI Wenfan, GUO Yu, FU Dengdi, LUO Mingxiu, LU Xiaohong, YAO Qing

Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Autonomous Region, China

Corresponding author: YAO Qing, E-mail: yaoqing726@163.com

[Abstract] Objective To explore the changes in the expression of glucose transporters 1/4 (GLUT1/4) and Sirtuins in the retina of rats with diabetes. **Methods** Twenty 8-week-old healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into normal control and diabetic groups. Rats in the diabetic group received a disposable intraperitoneal injection of 60 mg · kg⁻¹ streptozotocin to induce the diabetes model, while rats in the normal control group were injected with an equivalent amount of solvent. Body weight and blood glucose were measured at 2-week intervals. At 12 weeks after modeling, color Doppler ultrasound was applied to detect blood flow parameters in the central retinal artery (CRA) of rats; after anesthetizing rats with sodium pentobarbital, eyeballs were harvested, and the pathological changes of rat retinal tissue were observed by hematoxylin & eosin (HE) staining. The expression of messenger ribonucleic acid (mRNA) for GLUT 1/4 and Sirtuins in the retina of rats were detected by immunohistochemical staining, Western blot and quantitative of reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR), respectively. **Results** At 12 weeks after modeling, compared with the normal control group, peak systolic velocity and end diastolic velocity were significantly lower in CRA of rats in the diabetic group (both $P < 0.001$); there were no significant differences in resistance index and pulsatility index (both $P > 0.05$). The HE staining results at 12 weeks after modeling showed that rats in the normal control group had clear structure in each layer of retinal tissues, closely and regularly arranged cells, and no obvious pathological changes; rats in the diabetic group showed decreased retinal thickness, blurred boundary of each layer, disordered structure and reduced cell number. Immunohistochemical staining at 12 weeks after modeling showed that GLUT 1 was mainly located in the retinal pigment epithelial layer of rats, and GLUT 4 was located in the ganglion cell layer, inner plexiform layer and photoreceptor layer. Western blot results showed that the relative expression of GLUT1 and GLUT 4 protein in the diabetic group were lower than that in the normal control group (both $P < 0.05$), and the relative expression of SIRT1-SIRT7 protein in the retina of rats in the diabetic group were lower than those of the normal control group (all $P < 0.05$). qRT-PCR showed a decreased relative expression of SIRT1-SIRT7 mRNA in the retina of rats in the diabetic group compared with that of the normal control group (all $P < 0.01$). **Conclusion** Diabetes can cause altered expression of GLUT1/4 and Sirtuins in the retinal tissue of rats, and GLUT1/4 and Sirtuins may be involved in the occurrence and development of diabetic retinopathy.

[Key words] diabetic retinopathy; glucose transporter; Sirtuins; central retinal artery