

- lum, 2010,9(4):556—566.
- [2] Bowen A, Hesketh A, Patchick E, et al. Effectiveness of enhanced communication therapy in the first four months after stroke for aphasia and dysarthria: a randomised controlled trial[J]. BMJ, 2012,345:e4407.
- [3] Reed DA, Johnson NA, Thompson C, et al. A clinical trial of bromocriptine for treatment of primary progressive aphasia [J]. Ann Neurol, 2004,56(5):750.
- [4] Kim DH, Brown RT, Ding EL, et al. Dementia medications and risk of falls, syncope, and related adverse events: meta-analysis of randomized controlled trials[J]. J Am Geriatr Soc, 2011,59(6):1019—1031.
- [5] Gungor L, Terzi M, Onar MK. Does long term use of piracetam improve speech disturbances due to ischemic cerebrovascular diseases[J]? Brain Lang, 2011,117(1):23—27.
- [6] Sickert A, Anders LC, Munte TF, et al. Constraint-induced aphasia therapy following sub-acute stroke: a single-blind, randomised clinical trial of a modified therapy schedule[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2014,85(1):51—55.
- [7] Johnson NA, Rademaker A, Weintraub S, et al. Pilot trial of memantine in primary progressive aphasia[J]. Alzheimer Dis Assoc Disord, 2010,24(3):308.
- [8] 付婧,肖军. 美金刚治疗 Broca 失语 2 例报告[J]. 实用医院临床杂志, 2012, (3):200—201.
- [9] Berthier ML, Green C, Lara JP, et al. Memantine and constraint-induced aphasia therapy in chronic poststroke aphasia [J]. Ann Neurol, 2009,65(5):577—585.
- [10] Smolen P, Baxter DA, Byrne JH. Molecular constraints on synaptic tagging and maintenance of long-term potentiation: a predictive model[J]. PLoS Comput Biol, 2012,8(8): e1002620.
- [11] Kiedrowski L. Critical role of sodium in cytosolic $[Ca^{2+}]$ elevations in cultured hippocampal CA1 neurons during anoxic depolarization[J]. J Neurochem, 2007,100(4):915—23.
- [12] 赵彦坡,秦洁,孙石磊,等. 美金刚对大鼠脑缺血再灌注后 Caspase-3 表达及丙二醛含量的影响[J]. 郑州大学学报(医学版), 2011,(5):748—751.

·短篇论著·

有氧运动对非酒精性脂肪肝大鼠脂联素及肝脏 TNF- α mRNA 的影响*计 慧¹

非酒精性脂肪肝病是一种肝组织病理学改变,对人类的健康有着严重的威胁。目前对于其治疗研究以药物为主,药物治疗虽有一定的效果,但同时存在着各种不足。目前大量的研究证实,有氧运动作为一种经济有效的手段对非酒精性脂肪肝的治疗发挥着作用^[1]。脂联素是脂肪细胞产生的一种特异性细胞因子^[2],具有广泛的生物学作用,可以增加胰岛素敏感性,降低血脂,保护肝脏。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)是一种重要的致炎因子和免疫调节因子,现有研究发现在非酒精性脂肪肝患者血清中 TNF- α 的含量显著增高,动物实验发现 TNF- α 受体缺乏的小鼠可以完全阻止酒精引起的脂肪性肝炎^[3-4],提示 TNF- α 在肝脏炎症中起着重要的作用。本研究从游泳训练的干预出发,研究有氧运动对高脂诱导的非酒精性脂肪肝大鼠脂肪组织脂联素

mRNA 和肝脏 TNF- α mRNA 表达的影响,为有氧运动防治非酒精性脂肪肝提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

Wistar 雄性大鼠 30 只,体质量 160 ± 10 g,适应性饲养 1 周后随机分为正常对照组 10 只、脂肪肝模型组 10 只,运动组 10 只。正常对照组喂食基础饲料,模型组和运动组均喂食高脂饲料(胆固醇 2%,胆酸钠 0.5%,丙硫氧嘧啶 0.2%,蔗糖 5%,猪油 10%,基础饲料 82.3%)^[5]。

1.2 运动方案

运动组大鼠采用无负重游泳的方式训练,每日上午进行游泳训练,递增运动强度和时间,每周 5 次,共 12 周。大鼠训

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2014.10.020

*基金项目:河南省重点科技攻关项目(132102310401);郑州大学体育学院体育教育省级特色专业资助项目

1 郑州大学体育学院,450044

作者简介:计慧,女,硕士,讲师;收稿日期:2013-10-10

练第一天的游泳时间为30min,每天递增10min,递增至50min后维持运动到第一周末,第二周每天的游泳时间是60min,第三周每天的游泳时间为70min,第四周每天的游泳时间为80min,第五周后每天的游泳时间为90min,维持到实验结束^[6]。

1.3 取材与指标检测

第12周末,所有大鼠处死取材,取材前48h动物不进行游泳训练,禁食12h,称取大鼠体重。处死大鼠后迅速完整分离肝脏,测定肝脏湿重,同时取肾周和附睾脂肪,速冻于液氮中,待测脂联素mRNA及TNF- α mRNA。

血清指标测定:全自动生化分析仪测定血清TG、TC、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、血清谷草转氨酶(AST)和谷丙转氨酶(ALT)。

脂肪组织脂联素mRNA和肝脏TNF- α mRNA测定:RT-PCR法检测。采用Trizol一步法提取总RNA,采用两步法反转录试剂盒进行反转录,进行30个循环次数的PCR。引物序列检索自NCBI-Nucleotide数据库:

脂联素引物扩增产物长度196bp,
上游引物:5'-AATCATTATGACGGCAGCAC-3',
下游引物:5'-CCAGATGGAGGAGCACAGAG-3';
TNF- α 引物扩增产物长度214bp,
上游引物:5'-GTCGTAGCAAACCAACCAAG-3',
下游引物:5'-GGTATGAAGTGGCAAATCG-3';
Beta-Actin扩增产物长度511bp,
上游引物5'-CCAATCTACGAGGGCTATGCT-3',
下游引物5'-CAAGAAGGAAGGCTGGAAAA-3'。

1.4 统计学分析

采用SPSS11.5数据软件包进行统计学分析,定量数据以平均数 $\pm$ 标准差表示,同一指标不同组间进行方差分析,检验水准取0.05。

2 结果

由表1可见,经过12周实验后,模型组及运动组大鼠的体重和肝脏湿重较正常组显著降低($P<0.05$),与模型组相比,运动组大鼠体重及肝脏湿重下降明显($P<0.05$)。由表2可见,经过12周实验后,模型组和运动组大鼠血清TG、TC、ALT均显著高于正常对照组,运动组大鼠血清AST水平与正常组无显著差异,运动组大鼠TG、TC、ALT、AST均显著低于模型组($P<0.05$)。由表3可见,经过12周实验后,正常组和运动组大鼠肝脏TNF- α mRNA表达显著低于模型组大鼠,运动组大鼠肝脏TNF- α mRNA表达显著高于正常组($P<0.05$)。正常组和运动组大鼠脂肪组织脂联素mRNA表达显著高于模型组,运动组大鼠脂肪组织脂联素mRNA表达显著低于正常组($P<0.05$)。

表1 有氧运动对非酒精性脂肪肝大鼠肝湿重和体重的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	大鼠体重	肝脏湿重
正常组	10	423.3 $\pm$ 22.9	9.4 $\pm$ 1.1
模型组	10	495.8 $\pm$ 38.9 ^①	15.6 $\pm$ 3.0 ^①
运动组	10	443.1 $\pm$ 20.2 ^{①②}	12.2 $\pm$ 1.9 ^{①②}

注:①正常组比较 $P<0.05$,②与模型组比较 $P<0.05$ 。

表2 有氧运动对非酒精性脂肪肝大鼠血清肝功能和血脂的影响 ($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	正常组	模型组	运动组
血清TG(mmol/L)	0.6 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.2 ^①	0.8 $\pm$ 0.1 ^②
血清TC(mmol/L)	1.2 $\pm$ 0.4	2.6 $\pm$ 0.7 ^①	2.0 $\pm$ 0.8 ^{①②}
血清ALT(U/L)	30.2 $\pm$ 9.4	84.6 $\pm$ 24.1 ^①	52.2 $\pm$ 19.1 ^{①②}
血清AST(U/L)	79.9 $\pm$ 30.6	189.9 $\pm$ 51.5 ^①	92.3 $\pm$ 28.5 ^②

注:①与正常组比较 $P<0.05$,②与模型组比较 $P<0.05$ 。

表3 有氧运动对脂肪组织脂联素mRNA和肝脏TNF- α mRNA表达的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	脂联素 mRNA/ β -Actin	TNF- α mRNA/ β -Actin
正常组	10	0.74 $\pm$ 0.07	0.88 $\pm$ 0.09
模型组	10	0.34 $\pm$ 0.02 ^①	4.35 $\pm$ 0.55 ^①
运动组	10	0.51 $\pm$ 0.06 ^{①②}	2.32 $\pm$ 0.33 ^{①②}

注:①正常组比较 $P<0.05$,②与模型组比较 $P<0.05$ 。

3 讨论

非酒精性脂肪肝是目前临床上常见的疾病,在短期内难以逆转,甚至可以发展为脂肪性肝炎及肝硬化。目前对于非酒精性脂肪肝的治疗主要集中在药物研究上,但疗效并不确定。本研究结果提示,经过12周的喂养,模型组大鼠的体重增加、肝脏增大,运动组大鼠的体重和肝脏重量均显著低于模型组,肝脏的重量和体重均可以在一定程度上反映有氧运动防治非酒精性脂肪肝的效果。非酒精性脂肪肝与高血脂密切相关,这在本实验中得以验证,模型组大鼠血清TC、TG浓度显著高于对照组,运动组大鼠血清TC、TG水平也显著低于模型组,本结果提示有氧运动可以降低高脂饮食组的血脂浓度,对防治非酒精性脂肪肝有一定的效果。

血清ALT、AST是反映肝细胞损害的金标准,人体研究表明,它们两者的变化与肝脏炎症的变化呈正相关,所以血清ALT、AST的降低可以间接反映肝组织炎症的改善^[7-8]。本实验模型组大鼠血清AST、ALT显著高于正常组大鼠,提示非酒精性脂肪肝模型成功。同时实验结果显示12周有氧运动可以有效降低血清ALT、AST的高水平,因此,本实验结果中血清ALT、AST的降低反映出有氧运动防治非酒精性脂肪肝的效果。

TNF- α 是由单核-巨噬细胞分泌的细胞因子,在机体炎症免疫反应时表达增加。数个研究发现非酒精性脂肪肝患者

血清 TNF- α 升高,其升高干扰了胰岛素的信号传导,加重了胰岛素抵抗,促进了脂肪变性,在非酒精性脂肪肝的发病机制中扮演促炎症作用^[9-10]。本研究的结果显示模型组大鼠肝脏 TNF- α mRNA 表达显著高于正常组,提示其在非酒精性脂肪肝的发生、发展过程中发挥着重要作用,同时进行 12 周有氧运动训练可以显著抑制高脂饮食大鼠肝脏 TNF- α mRNA 的高表达,这可能是运动训练预防炎症出现的重要机制之一。

脂联素是由脂肪细胞分泌的脂肪细胞因子,具有抗感染、抗肥胖和保护肝脏的作用^[11]。本研究结果显示模型组大鼠 AST、ALT 显著高于正常组和运动组,但模型组大鼠脂肪组织脂联素 mRNA 表达显著低于正常组和运动组,提示模型组大鼠肝功能被破坏,脂联素过低表达导致肝脏炎症加剧,脂联素可能通过抗感染作用而发挥防治非酒精性脂肪肝的作用。脂联素与 TNF- α 具有高度同源性,两者的化学结构非常相似,能分别于对方受体结合,而且共用一个信号通道,但发挥的生物学作用却截然相反,两者相互抑制,相互拮抗,参与脂肪肝的形成^[12]。近年研究表明 TNF- α 和脂联素参与了肥胖相关的胰岛素抵抗,在肥胖患者中 TNF- α 呈高表达,而脂联素呈低表达,并分别与胰岛素抵抗的程度呈正负相关^[13]。本研究结果显示运动组大鼠脂联素 mRNA 表达显著高于模型组大鼠,而运动组大鼠 TNF- α mRNA 表达显著低于模型组大鼠,提示有氧运动可以提高脂联素 mRNA 的表达从而抑制肝脏 TNF- α mRNA 的表达,达到防治非酒精性脂肪肝的作用。探究其机制可能有以下两种,第一,有氧运动使大鼠体重显著低于模型组,大鼠体重的降低使脂联素 mRNA 表达处于一种脱抑制状态,提高了脂肪组织脂联素 mRNA 的表达水平。脂联素水平的提高可以达到抑制巨噬细胞前体细胞生长和抑制成熟巨噬细胞功能的作用,从而调节炎症反应,抑制肝脏 TNF- α mRNA 的表达^[14];第二,脂肪组织脂联素 mRNA 的表达水平提高后,可以通过抑制 AMPK 及 p38MAPK 途径明显抑制脂多糖(LPS)诱导 TNF- α 的产生和 TNF- α mRNA 的表达,从而抑制 TNF- α 介导的炎症反应^[15]。

本研究证实有氧运动可以通过提高大鼠脂肪组织脂联素 mRNA 表达水平的途径,有效降低肝脏 TNF- α mRNA 的表达,从而达到防治非酒精性脂肪肝的作用,这可能是有氧运动通过脂联素—TNF- α 发挥防治非酒精性脂肪肝的另一作用机制。

参考文献

[1] Katsanos CS. Lipid-induced insulin resistance in the liver: role of exercise[J]. Sports Med, 2004, 34(14): 955—965.

- [2] Takashi K, Toshimasa Y. Adiponectin and Adiponectin Receptors[J]. Endocr Rev, 2005, 26(3): 439—451.
- [3] Perez-Carreras M, Del Hoyo P, Martin MA, et al. Defective hepatic mitochondrial respiratory chain in patients with non-alcoholic steatohepatitis[J]. Hepatology, 2003, 38(4): 999—1007.
- [4] Yin M, Wheeler MD, Kono H, et al. Essential role of tumor necrosis factor alpha in alcohol-induced liver injury in mice [J]. Gastroenterology, 1999, 117(4): 942-952.
- [5] 邱根全, 叶峰, 刘昶, 等. 小柴胡汤对实验大鼠非酒精性脂肪肝的影响[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2013, 34(3): 400—402.
- [6] 焦广发, 张海峰, 高峰, 等. 12周游泳运动对高脂饮食大鼠脂肪组织 UCP2mRNA 和 TNF- α 的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2009, 28(3): 281—285.
- [7] Sinatra FR. Nonalcoholic fatty liver disease in pediatric patients[J]. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 2012, 36(1): 43—48.
- [8] Suzuki A, Lindor K, St Saver J, et al. Effect of changes on body weight and lifestyle in nonalcoholic fatty liver disease [J]. J Hepatol, 2005(6), 43: 1060—1066.
- [9] Chu CJ, Lu RH, Wang SS, et al. Risk factors associated with non-alcoholic fatty liver disease in chinese patients and the role of tumor necrosis fctor- alpha[J]. 2007, 54(79): 2099—2102.
- [10] Jarrar MH, Baranova A, Collantes R, et al. Adipokines and cytokines in non- alcoholic fatty liver disease[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2008, 27(5): 412—421.
- [11] 吴卫东, 荆西民, 岳静静. 有氧运动对 ApoE 基因缺陷小鼠主动脉脂联素受体 1 蛋白表达的影响[J]. 中国体育科技, 2012, 48(3): 116—118.
- [12] Wang J, Brymora J, George J. Roles of adipokines in liver injury and fibrosis[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2008, 2(1): 47—57.
- [13] Hui JM, Hodge A, Farrell GC, et al. Beyond insulin resistance in NASH: TNF- alpha or adiponectin[J]? Hepatology, 2004, 40(1): 46—54.
- [14] Takafumi Y, Kenji O, Isao T, et al. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages[J]. Blood, 2000, 96(5): 1723—1732.
- [15] Diez JJ, Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease[J]. Eur J Endocrinol, 2003, 148(3): 293—300.