

## · 基础研究 ·

# 运动对胰岛素抵抗大鼠脂肪组织肿瘤坏死因子- $\alpha$ 表达的影响

孙晖 肖方喜 陈璐璐

**【摘要】目的** 研究运动对高脂饮食诱导的胰岛素抵抗(IR)大鼠脂肪组织中肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )表达的影响。**方法** 将 30 只 Wistar 大鼠随机分为对照组和高脂组,分别给予基础饲料与高脂饲料喂养 18 周;将造模成功的高脂组 IR 大鼠随机分为静息组和运动组,均继续给予高脂饲料喂养,同时对运动组大鼠实施游泳训练,共持续 6 周。于实验进行 24 周时检测各组大鼠体重、血清空腹血糖(FBG)、空腹胰岛素(FINS)和游离脂肪酸(FFA)水平,并同时计算胰岛素敏感指数(ISI);采用实时荧光定量聚合酶链反应、免疫印迹技术分别检测各组大鼠脂肪组织中 TNF- $\alpha$  mRNA 及蛋白表达水平。**结果** 喂养 18 周时发现高脂组 ISI 较对照组明显降低,提示高脂组 IR 模型制作成功;运动组大鼠经游泳训练 6 周后,其 ISI 较静息组明显升高( $P < 0.05$ ),但仍显著低于对照组水平( $P < 0.01$ );静息组大鼠脂肪组织中 TNF- $\alpha$  mRNA 及蛋白表达水平均较对照组明显升高( $P < 0.05$ );运动组大鼠脂肪组织中 TNF- $\alpha$  mRNA 和蛋白表达较静息组进一步升高( $P < 0.05$ )。**结论** 高脂喂养可诱导大鼠产生 IR,规律运动可减轻大鼠 IR 状态,其机制可能与上调脂肪组织中 TNF- $\alpha$  表达有关。

**【关键词】** 运动; 胰岛素抵抗; 肿瘤坏死因子- $\alpha$

**Exercise and the expression of TNF- $\alpha$  in the adipose tissue of rats with insulin resistance** SUN Hui\*, XIAO Fang-xi, CHEN Lu-lu. \* Department of Endocrinology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

**【Abstract】 Objective** To observe the effect of exercise on the expression of TNF- $\alpha$  in the adipose tissue of insulin resistant rats fed a high fat diet. **Methods** Thirty healthy male rats were randomly divided into a high fat diet group and a normal chow group. Eighteen weeks later, the high fat group was randomly divided into a resting group fed with the high fat diet only, and an exercise group fed the high fat diet, but receiving swimming training for 6 weeks. Changes in their metabolism of glucose and lipids were observed, and the insulin sensitivity index was calculated. Meanwhile, the level of TNF- $\alpha$  mRNA in their adipose tissue was detected with a real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (PCR), and protein in the adipose tissue was measured using Western blotting. **Results** After 18 weeks of high fat diet feeding, the insulin sensitivity index of the high fat diet group decreased significantly as compared to the normal chow group, suggesting that insulin resistance had been acquired in the high fat diet group. 24 weeks later, the insulin sensitivity index of the resting group had decreased further, again significantly when compared to the normal chow group. Compared to the resting group, the insulin sensitivity index of exercise group was significantly higher, and the expression of TNF- $\alpha$  mRNA and protein in their adipose tissue was significantly increased. **Conclusion** Insulin resistance can be induced by high fat diet feeding. Exercise can improve insulin resistance by increasing the expression of TNF- $\alpha$  in adipose tissue.

**【Key words】** Exercise; Insulin resistance; Tumor necrosis factor- $\alpha$

胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)是肥胖和 2 型糖尿病患者的重要病理特征,其发病与高热量摄入及缺乏运动有关。脂肪组织是胰岛素作用的主要靶组织之一,在 IR 的发生、发展过程中发挥重要作用。脂肪组织不仅是能量储存器官,同时也是重要的内分泌组织,能分泌肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis

factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等多种细胞因子<sup>[1]</sup>。近年来有关 IR 的研究发现,IR 与机体慢性炎症状态关系密切,脂肪源性 TNF- $\alpha$  等炎症因子可能作为启动 IR 的关键因素,在 IR 发病机制中具有重要作用<sup>[2]</sup>。运动训练是改善 IR 的重要手段,其治疗机制目前尚不明确。本研究拟通过对高脂喂养诱导 IR 大鼠进行运动干预,观察运动对 IR 大鼠胰岛素敏感性及脂肪组织 TNF- $\alpha$  表达的影响,从而探讨运动训练改善 IR 的可能机制。现报道如下。

基金项目:湖北省科技攻关基金资助项目(2005AA30C133)

作者单位:430022 武汉,华中科技大学同济医学院附属协和医院内分泌科(孙晖、陈璐璐);武汉市第一医院内分泌科(肖方喜)

## 材料与方法

### 一、实验试剂

血糖检测采用北京北华康泰临床试剂有限公司试剂盒;Trizol、逆转录酶 M-MLV、SYBR Green I 荧光染料分别购自美国 Gibco 公司、Promega 公司和 Biotium 公司;兔抗大鼠 TNF- $\alpha$  多克隆抗体购自美国 R&D 公司;辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 及  $\beta$ -actin 抗体购自武汉博士德生物工程公司。

### 二、实验动物及分组和 IR 造模

共选取健康无特定病原体 (specific pathogenfree, SPF) 雄性 Wistar 大鼠 30 只,体重 120 ~ 140 g,鼠龄 5 ~ 6 周,均购自湖北省卫生防疫站,动物生产许可证号:SCXK(鄂)2004-0007;使用许可证号:SKXK(鄂)2004-0028。30 只大鼠经适应性喂养 1 周后随机分为对照组 ( $n=8$ ) 和高脂组 ( $n=22$ ),分别给予基础饲料(热卡比:蛋白占 22%、脂肪占 12%、碳水化合物占 66%)和高脂饲料(热卡比:蛋白占 21%、脂肪占 59%、碳水化合物占 20%)喂养。高脂饲料均于使用前 1 周内新鲜配制,于 4℃ 环境下存贮。所有实验大鼠均在华中科技大学同济医学院动物中心 SPF 级动物房中喂养,每笼喂养 3 ~ 4 只,每天明暗周期各 12 h,期间自由摄食、饮水,整个喂养时间共持续 24 周。经喂养 18 周后,高脂组大鼠均成功制成 IR 动物模型,再将造模成功的高脂组大鼠随机分为 2 个亚组,其中静息组 ( $n=10$ ) 继续给予高脂饲料喂养;运动组 ( $n=12$ ) 在继续高脂饲料喂养的同时进行游泳训练,共持续 6 周。

### 三、游泳训练

对运动组大鼠实施无负重耐力游泳训练,游泳池水温设定为  $(29 \pm 2)^\circ\text{C}$ ,水深 50 cm,每只大鼠均有 200  $\text{cm}^2$  活动面积以保证其持续活动。第 1, 2 天试游泳 15 min,第 3 天游泳 30 min,第 4, 5 天游泳 45 min,第 6, 7 天休息;从第 2 周开始每天游泳 1 h,每周游泳 5 d,共持续 6 周,期间共有 2 只大鼠因溺水而死亡。

### 四、标本制作及胰岛素指标检测

各组大鼠经喂养 24 周后均过夜禁食 14 h,以 1% 戊巴比妥按 60 mg/kg 体重行腹腔注射麻醉,经腹主动脉取血、分离血清,于  $-80^\circ\text{C}$  环境下贮存待检;取大鼠肾周脂肪组织投于液氮罐中贮存备用。空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS) 采用放射免疫法测定,空腹血糖 (fasting blood glucose, FBG) 采用酶还原法测定,游离脂肪酸 (free fatty acids, FFA) 采用 Olympus AU2700 型全自动生化分析仪测定,胰岛素敏感指数 (insulin sensitivity index, ISI) =  $\ln[1/(FBG \cdot FINS)]$ ;在整个实验期间密切观察、记录大鼠体重变化情况。

### 五、脂肪组织中 TNF- $\alpha$ mRNA 检测

采用 Trizol 法抽提总 RNA,在逆转录酶 M-MLV 作用下,将 mRNA 逆转录成 cDNA 分子,选用 SYBR Green I 荧光染料法进行实时荧光 PCR 反应。引物由 Invitrogen 生物技术有限公司合成。GAPDH 上游引物序列为:5'-GATGGTGAAGGTCGGTGTG-3',下游引物序列为:5'-GAGGTCAATGAAGGGCTCG-3'。TNF- $\alpha$  上游引物序列为:5'-GTCAGCCGATTTGC-CATTTCATA-3',下游引物序列为:5'-ACACGC-CAGTCGCTTCACAGAG-3'。反应条件如下:TNF- $\alpha$  94℃ 预变性 3 min,94℃ 变性 30 s,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 30 s,共进行 45 个循环。扩增结果采用 FTC 2000 型荧光 PCR 仪(上海枫岭生物工程有限公司)自带的分析程序分析 Ct 值(即每支反应管内荧光强度达到系统认为有目标 DNA 合成时的循环数)。目的基因表达量选用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算。

### 六、脂肪组织中 TNF- $\alpha$ 蛋白含量检测

向脂肪组织中加入蛋白裂解液提取组织总蛋白,定量后(采用 BCA 法)取 50  $\mu\text{g}$  上样,进行 10% SDS-PAGE 电泳,分离蛋白后电转移至硝酸纤维素膜上,用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h;加入 1:500 稀释的兔抗大鼠 TNF- $\alpha$  多克隆抗体及 1:400 的  $\beta$ -actin 抗体,于 4℃ 环境下孵育过夜,加入 1:4 000 稀释的辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 于 37℃ 环境下孵育 1 h,ECL 显色。暗室中曝光 X 射线胶片,胶片经显影和定影后,由 HPIAS-1000 型凝胶分析系统定量分析,计算光密度值;将  $\beta$ -actin 作为内参照,并计算 TNF- $\alpha$  特异性条带与  $\beta$ -actin 条带的光密度比值,以此代表 TNF- $\alpha$  蛋白的相对表达量。

### 七、统计学分析

本研究所得数据以  $(\bar{x} \pm s)$  表示,采用 SPSS 12.0 版统计学软件进行分析,组间比较采用单因素方差分析,方差齐性数据比较采用最小显著差法 (LSD),若方差不齐则选用 Tamhane's T2 检验法, $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、喂养 18 周后实验大鼠体重、FBG、FINS、FFA 及 ISI 分析

高脂组及对照组大鼠分别经喂养 18 周后,发现高脂组大鼠体重、FBG、FINS、FFA 均较对照组显著升高 ( $P < 0.05$  或  $0.01$ );ISI 较对照组明显降低 ( $P < 0.01$ ),表明高脂喂养诱导 IR 大鼠模型制作成功,具体数据详见表 1。

### 二、运动对大鼠体重、FBG、FINS、FFA 及 ISI 水平的影响

表 1 高脂组及对照组大鼠经喂养 18 周后体重、FBG、FINS、FFA 及 ISI 结果比较( $\bar{x} \pm s$ )

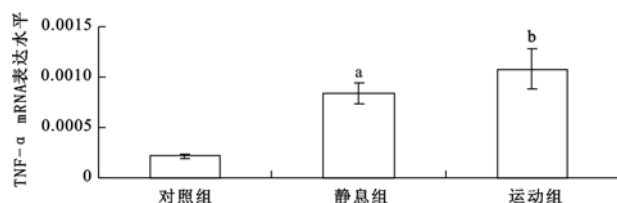
| 组 别 | 只数 | 体重(g)                         | FBG (mmol/L)                 | FINS (mU /L)                  | FFA ( $\mu$ mol/L)           | ISI                           |
|-----|----|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| 高脂组 | 22 | 443.5 $\pm$ 21.2 <sup>a</sup> | 5.15 $\pm$ 0.94 <sup>a</sup> | 28.12 $\pm$ 5.25 <sup>b</sup> | 762.9 $\pm$ 119 <sup>a</sup> | -4.65 $\pm$ 0.31 <sup>b</sup> |
| 对照组 | 8  | 419.6 $\pm$ 24.1              | 4.39 $\pm$ 0.68              | 20.37 $\pm$ 4.68              | 614.2 $\pm$ 166.2            | -4.01 $\pm$ 0.26              |

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$

于实验进行 24 周时发现,静息组大鼠体重、FBG、FINS、FFA 水平均较对照组明显增高( $P < 0.05$  或  $0.01$ )。运动组大鼠体重、FBG、FINS、FFA 均较静息组明显降低( $P < 0.05$  或  $0.01$ );与对照组比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。静息组大鼠 ISI 较对照组显著降低( $P < 0.01$ );而运动组大鼠 ISI 较静息组显著升高( $P < 0.05$ ),但仍明显低于对照组水平( $P < 0.01$ ),提示运动训练可在一定程度上改善机体 IR 状态,具体数据详见表 2。

三、3 组大鼠脂肪组织中 TNF- $\alpha$  mRNA 表达水平比较

静息组大鼠脂肪组织中 TNF- $\alpha$  mRNA 表达水平较对照组明显升高,约是对照组的 3.89 倍,组间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );运动组大鼠脂肪组织中 TNF- $\alpha$  mRNA 表达水平较静息组升高 27.5%,组间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),具体数据详见图 1。



注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与静息组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

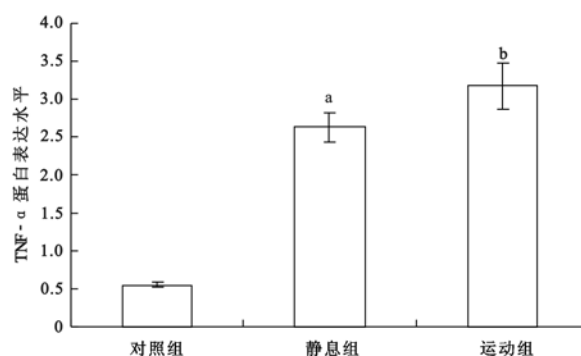
图 1 3 组大鼠脂肪组织中 TNF- $\alpha$  mRNA 表达水平比较

四、3 组大鼠脂肪组织中 TNF- $\alpha$  蛋白表达水平比较

静息组大鼠脂肪组织中 TNF- $\alpha$  蛋白表达水平是对照组的 4.7 倍,组间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );运动组大鼠脂肪组织中 TNF- $\alpha$  蛋白表达水平较静息组升高 20.5%,组间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),具体数据详见图 2。

## 讨 论

目前用于 IR 研究的动物模型主要有三类,即遗传性肥胖模型、特殊药物模型和特殊饮食喂养模型,其中



注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与静息组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

图 2 3 组大鼠脂肪组织中 TNF- $\alpha$  蛋白表达水平比较

高脂饮食致 IR 与人类肥胖引发的 IR 病因学类似,由于该 IR 模型具有制作时间短、喂养方便、可靠性高、费用低等特点,已被广泛用于 IR 基础及临床研究。本实验采用高脂饲料持续喂养大鼠 18 周后,发现其体重、FBG、FINS、FFA 水平均较基础饲料喂养大鼠出现不同程度升高,ISI 水平则明显降低,表明本研究中高脂饲料诱导 IR 大鼠模型制作成功。

脂肪组织是胰岛素作用靶组织之一,有学者认为 IR 最早出现在脂肪组织中,进而累及骨骼肌和肝脏<sup>[3]</sup>,有多种细胞因子(如 TNF- $\alpha$  等)参与了脂肪组织的 IR 发生、发展过程<sup>[4]</sup>,例如在肥胖、IR 人群及啮齿类动物脂肪组织中均普遍存在 TNF- $\alpha$  异常高表达情况。IR 肥胖鼠模型,如 C57BL/6 (ob/ob)、C57BL/KS (db/db)、tub/tub、KKY 鼠和 Zucker fa/fa 鼠等脂肪组织中均广泛存在 TNF- $\alpha$  过表达现象;向大鼠体内输注 TNF- $\alpha$  可产生 IR,且不同类型肥胖大鼠模型的肥胖程度和 IR 程度与其脂肪组织中 TNF- $\alpha$  mRNA 表达水平均呈正相关性;TNF- $\alpha$  信号转导抑制物(如可溶性 TNF 受体和抗 TNF 抗体等)能够通过中和体内过量 TNF- $\alpha$ ,改善肥胖及 IR 啮齿类动物胰岛素敏感性及胰岛素转导效应<sup>[5]</sup>。人类肥胖者腹部脂肪组织中 TNF- $\alpha$  mRNA 过度表达,蛋白分泌水平也显著升高,减肥后其腹部脂肪组织中 TNF- $\alpha$  mRNA 表达水平明显下降,提示 TNF- $\alpha$

表 2 实验进行 24 周时 3 组大鼠体重、FBG、FINS、FFA 及 ISI 结果比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组 别 | 只数 | 体重(g)                         | FINS (mU/L)                   | FBG (mmol/L)                 | FFA ( $\mu$ mol/L)             | ISI                            |
|-----|----|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 对照组 | 8  | 460.5 $\pm$ 14.2              | 22.11 $\pm$ 3.74              | 4.78 $\pm$ 0.59              | 517.3 $\pm$ 101.0              | -4.15 $\pm$ 0.29               |
| 静息组 | 10 | 481.5 $\pm$ 16.5 <sup>a</sup> | 30.66 $\pm$ 4.15 <sup>b</sup> | 5.61 $\pm$ 0.64 <sup>a</sup> | 739.5 $\pm$ 102.9 <sup>b</sup> | -4.93 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>  |
| 运动组 | 12 | 458.1 $\pm$ 19.0 <sup>c</sup> | 23.30 $\pm$ 5.32 <sup>c</sup> | 4.75 $\pm$ 0.45 <sup>d</sup> | 591.5 $\pm$ 123.0 <sup>d</sup> | -4.72 $\pm$ 0.18 <sup>bc</sup> |

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与静息组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ,<sup>d</sup> $P < 0.01$

mRNA 水平与体重指数间呈正相关性<sup>[6]</sup>。肥胖 2 型糖尿病患者体内 TNF- $\alpha$  水平增高,并与 FINS 水平和稳态模型 IR 指数密切相关,提示 TNF- $\alpha$  参与了肥胖 2 型糖尿病患者 IR 发病过程<sup>[7]</sup>。本研究结果表明,静息组大鼠脂肪组织中 TNF- $\alpha$  mRNA 和蛋白表达水平均明显高于对照组,与 Nara 等<sup>[10]</sup>研究结果基本一致,提示 TNF- $\alpha$  在脂肪组织中的过度表达与肥胖和 IR 有密切关系。目前认为肥胖患者体内脂肪细胞增多、增大,可促进 TNF- $\alpha$  等炎症因子分泌,而 TNF- $\alpha$  可能通过自分泌和旁分泌途径刺激脂肪细胞分解、减少脂肪细胞生成,诱导脂肪细胞分化及加速脂肪细胞和前脂肪细胞凋亡<sup>[4,8]</sup>,从而抑制脂肪细胞分化及脂肪组织体积增大;但异常增高的 TNF- $\alpha$  在抑制脂肪细胞分化的同时,也可直接抑制脂肪细胞胰岛素受体的信号传导过程及胰岛素调控的葡萄糖转运过程,并且通过增高 FFA 含量来影响胰岛素信号转导通路蛋白。由此可见,肥胖患者通过提高体内脂肪组织中 TNF- $\alpha$  含量来诱导 IR,进而抑制体重继续增加<sup>[9]</sup>。

目前已有多项研究表明,运动是改善 IR 的主要措施之一<sup>[9]</sup>。本研究结果发现,运动组大鼠经游泳训练后,其体重、FBG、FINS 和 FFA 水平均较静息组明显降低,ISI 较静息组明显升高,表明运动干预是改善 IR 的有效手段之一。我们在前期研究中证实,运动训练在提高 IR 大鼠胰岛素敏感性的同时,其血清中 TNF- $\alpha$  水平也逐步降低<sup>[11]</sup>,提示运动训练缓解了 IR 大鼠慢性低度炎症状态。目前关于运动训练对脂肪组织 TNF- $\alpha$  影响的报道较少,结果也不尽一致<sup>[12,13]</sup>。本研究结果表明,IR 大鼠经运动训练后,其肾周脂肪组织中 TNF- $\alpha$  mRNA 和蛋白水平均显著增加;运动后大鼠血清 TNF- $\alpha$  下降,而脂肪组织中 TNF- $\alpha$  表达增加,一方面提示 TNF- $\alpha$  在脂肪组织中通过自分泌或旁分泌方式发挥作用,另一方面似乎与运动改善 IR 的结果相矛盾。本研究认为由于 TNF- $\alpha$  可促进脂肪细胞分解和 FFA 释放<sup>[14]</sup>,所以考虑运动后脂肪组织中 TNF- $\alpha$  mRNA 和蛋白表达增加可促进脂肪组织分解产生的 FFA 转移至骨骼肌中,为肌肉运动提供能量,从而达到脂肪-胰腺-肌肉的脂质代谢平衡<sup>[10,13]</sup>,故规律运动后机体脂质分解和利用增多,通过降低体重和下调 FFA 水平影响胰岛素信号转导通路,达到改善 IR 的目的,脂肪组织中 TNF- $\alpha$  高表达进一步促进了 IR 的缓解。

综上所述,本研究结果表明,高脂饮食诱导的 IR

大鼠脂肪组织中存在 TNF- $\alpha$  过度表达现象,且 TNF- $\alpha$  表达水平与 IR 程度密切相关;运动训练能增加 IR 大鼠脂肪组织中 TNF- $\alpha$  表达,调节脂肪组织脂质代谢功能,对高脂饮食诱导的 IR 具有改善作用。

## 参 考 文 献

- [1] Waki H, Tontonoz P. Endocrine functions of adipose tissue. *Annu Rev Pathol*, 2007, 2:31-56.
- [2] Arner P. Insulin resistance in type 2 diabetes-role of the adipokines. *Curr Mol Med*, 2005, 5: 333-339.
- [3] Smith U. Impaired insulin signaling and action occur in fat cells long before glucose intolerance is insulin resistance initiated in the adipose tissue. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2002, 26:897-904.
- [4] Qi C, Pekala PH. Tumor necrosis factor-alpha-induced insulin resistance in adipocytes. *Proc Soc Exp Biol Med*, 2000, 223:128-135.
- [5] Kushibiki S, Hodate K, Shingu H, et al. Effects of long-term administration of recombinant bovine tumor necrosis factor-alpha on glucose metabolism and growth hormone secretion in steers. *Am J Vet Res*, 2001, 62: 794-798.
- [6] Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, et al. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*, 1995, 95:2409-2415.
- [7] Mishima Y, Kuyama A, Tada A, et al. Relationship between serum tumor necrosis factor-alpha and insulin resistance in obese men with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*, 2001, 52:119-123.
- [8] Prins JB, Niesler CU, Winterford CM, et al. Tumor necrosis factor-alpha induces apoptosis of human adipose cells. *Diabetes*, 1997, 46: 1939-1944.
- [9] Fernandez-Real JM, Broch M, Ricart W, et al. Plasma levels of the soluble fraction of tumor necrosis factor receptor 2 and insulin resistance. *Diabetes*, 1998, 47:1757-1762.
- [10] Nara M, Kanda T, Tsukui S, et al. Running exercise increases tumor necrosis factor secreting from mesenteric fat in insulin-resistant rats. *Life Sci*, 1999, 65:237-244.
- [11] 肖方喜, 孙晖, 陈璐璐. 运动对胰岛素抵抗大鼠血清肿瘤坏死因子  $\alpha$  水平的影响. *中国康复*, 2008, 23:14-16.
- [12] Ito Y, Nomura S, Ueda H, et al. Exercise training increases membrane bound form of tumor necrosis factor-alpha receptors with decreases in the secretion of soluble forms of receptors in rat adipocytes. *Life Sci*, 2002, 71:601-609.
- [13] Shima K, Shi K. Is exercise training effective in preventing diabetes mellitus in the Otsuka-Long-Evans-Tokushima fatty rat, a model of spontaneous non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism*, 1993, 42:971-977.
- [14] Castro CM, Erkelens DW, Van Dijk H, et al. Free fatty acids: mediators of insulin resistance and atherosclerosis. *Ned Tijdschr Geneesk*, 2002, 146:103-109.

(修回日期:2008-08-15)

(本文编辑:易 浩)