

· 基础研究 ·

运动对 OLETF 大鼠血清肿瘤坏死因子的影响

吴军发 吴毅 胡永善 姜从玉 杨晓冰 白玉龙

【摘要】目的 研究运动及高脂饮食对 OLETF 大鼠血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 浓度的影响,探讨 TNF- α 在运动改善机体胰岛素敏感性中所起的作用。方法 对 40 只自发发病的 2 型糖尿病模型——OLETF 大鼠和 15 只 LETO 大鼠进行 9 周的运动和高脂饮食干预,9 周后用放射免疫法测定每只大鼠血清中 TNF- α 的浓度。结果 基础饲料饲养的 OLETF 大鼠非运动组和运动组 TNF- α 浓度分别为 (0.406 ± 0.083) ng/ml 和 (0.574 ± 0.116) ng/ml;高脂饲料饲养的 OLETF 大鼠非运动组和运动组 TNF- α 浓度分别为 (0.407 ± 0.097) ng/ml 和 (0.513 ± 0.098) ng/ml;而基础饲料饲养的 LETO 大鼠非运动组和运动组 TNF- α 浓度分别为 (0.387 ± 0.087) ng/ml 和 (0.382 ± 0.077) ng/ml;OLETF 大鼠 TNF- α 浓度运动组明显高于其相对应的非运动组 ($P < 0.01$),运动组和非运动组 LETO 大鼠 TNF- α 浓度没有明显的差别。结论 运动能使 OLETF 大鼠 TNF- α 浓度增加,而对 LETO 大鼠 TNF- α 浓度没有明显影响;高脂饮食对 OLETF 大鼠 TNF- α 浓度没有明显影响。

【关键词】运动; OLETF 大鼠; 肿瘤坏死因子- α ; 胰岛素抵抗

The effect of exercise on the serum level of tumor necrosis factor- α in OLETF rats WU Jun-fa, WU Yi, HU Yong-shan, JIANG Cong-yu, YANG Xiao-bing, BAI Yu-long. Department of Rehabilitation Medicine, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

【Abstract】Objective To investigate the effect of exercise and high-fat diet on OLETF rats serum concentration of TNF- α and the mechanism of exercise enhancing insulin sensitivity. Methods OLETF rat is a spontaneously diabetic animal model and LETO rat a non-diabetic control model. After 9 weeks of exercise and high-fat diet on 40 OLETF rats and 15 LETO rats, the serum concentration of TNF- α was measured by means of radioactive-immune kit. Results The serum level of TNF- α of non-exercise and exercise OLETF rats fed by chow were (0.406 ± 0.083) ng/ml and (0.574 ± 0.116) ng/ml, respectively; for the OLETF rats fed by high-fat diet, the serum level of TNF- α of those intervened with non-exercise and exercise were (0.407 ± 0.097) ng/ml and (0.513 ± 0.098) ng/ml, respectively. For the LETO rats, the serum concentration of TNF- α of those with non-exercise and exercise were (0.387 ± 0.087) ng/ml and (0.382 ± 0.077) ng/ml, respectively. The serum level of TNF- α in exercise OLETF rats were significantly higher than that in non-exercise OLETF rats ($P < 0.01$), however, the difference of the serum level of TNF- α between the non-exercise and exercise LETO rats was not statistically significant. Conclusion Exercise can increase the level of serum TNF- α in OLETF rats; and high-fat diet had not changed significantly the serum concentration of TNF- α in OLETF rats.

【Key words】Exercise; OLETF rat; Tumor necrosis factor- α ; Insulin resistance

外周组织的胰岛素抵抗和胰腺 β 细胞分泌功能受损是导致 2 型糖尿病的主要原因。肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 是一种生物活性因子,近年来国外较多研究认为其可干扰周围组织对胰岛素的敏感性而导致胰岛素抵抗,但其具体机制不详。为进一步研究 TNF- α 在胰岛素抵抗的形成及在运动改善机体胰岛素敏感性中所起的作用,本研究以一种自发发病的 2 型糖尿病模型——OLETF 大鼠为对象^[1],研究运动

及高脂饮食对 OLETF 大鼠 TNF- α 浓度的影响。

材料与方法

一、实验动物与饲养

由日本大冢制药株式会社德岛研究所赠送 40 只雄性 OLETF 大鼠和 15 只雄性 LETO 大鼠。LETO 大鼠与 OLETF 大鼠同系,但不发生 2 型糖尿病,作为 2 型糖尿病研究对照组。所有大鼠均为 4 周龄,均先给予基础饲料饲养至 9 周龄,9 周龄后按实验分组要求分别给予基础饲料(含粗蛋白 22%,粗脂肪 3%,碳水化合物等 75%)和高脂饲料(含粗蛋白 25%,粗脂肪 11%,碳水化合物等 64%)。饲养室为清洁级

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 39970841);美国中华医学基金(CMB)资助项目(No. 98-676)

作者单位:200040 上海,复旦大学附属华山医院康复医学科

动物饲养室, 室温 (25 ± 3) $^{\circ}\text{C}$, 湿度 (55 ± 15) %, 光照每天 14 h。

二、实验动物分组

40 只 OLETF 大鼠随机分为 4 组, 每组 10 只; 第 1 组为基础饲料非运动组 (OLETF 基静组), 第 2 组为基础饲料运动组 (OLETF 基运组), 第 3 组为高脂饲料非运动组 (OLETF 高静组), 第 4 组为高脂饲料运动组 (OLETF 高运组)。15 只 LETO 大鼠用基础饲料饲养, 随机分为非运动组 (LETO 基静组) 和运动组 (LETO 基运组)。

三、运动方法

参照 Ploug 报道的大鼠游泳运动方法^[2], 采用无负重耐力游泳运动方案, 游泳水温 (29 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 水深 50 cm, 每只大鼠有 200 cm^2 的活动面积以保证大鼠持续活动。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; 第 2 周开始每天游泳 1 h, 每周游泳 5 d, 共持续 9 周。试验中因动物咬伤, OLETF 基运组死亡 2 只。

四、检测指标

1. 体重测量: 每周测定体重一次。

2. 口服葡萄糖耐量试验 (OGTT): 游泳训练干预前、后分别进行一次 OGTT 试验, 每次试验前禁食 14 h, 从尾静脉取血, 以 Bayer 血糖仪测定空腹血糖, 然后喂服葡萄糖 (2 g/kg), 经 30 min、60 min 及 120 min 后分别测定血糖。

3. $\text{TNF-}\alpha$ 的测定: 最后一次游泳结束后 48 h, 禁食 14 h, 用戊巴比妥腹腔麻醉, 心内取血, 对血标本进行离心, 分离血清, 用从北京东雅生物技术研究购买的 $\text{TNF-}\alpha$ 放免药盒测定血清 $\text{TNF-}\alpha$ 浓度。该试剂盒可测浓度范围为 0.3 ~ 24 ng/ml。

五、统计学分析

采用 SPSS 10.0 软件, 两组均数比较采用小样本 t 检验, 两组之间率的比较采用 χ^2 检验。

结 果

一、运动干预对各组大鼠体重的影响

经 9 周的游泳训练后, OLETF 大鼠基础饲料运动组与其对应的非运动组相比, 体重下降有统计学意义 ($P < 0.05$); OLETF 大鼠高能量饲料运动组与其对应的非运动组相比, 体重下降有统计学意义 ($P < 0.05$); 然而 LETO 基础饲料运动组大鼠与其非运动组大鼠体重相比, 没有明显的统计学差别 (表 1、图 1)。

二、不同实验干预对各组 $\text{TNF-}\alpha$ 浓度的影响

经 9 周的游泳训练后, OLETF 大鼠基础饲料运动组与其对应的非运动组相比, $\text{TNF-}\alpha$ 浓度升高有统计

学意义 ($P < 0.05$); OLETF 大鼠高能量饲料运动组与其对应的非运动组相比, $\text{TNF-}\alpha$ 浓度升高有统计学意义 ($P < 0.05$); LETO 基础饲料运动组大鼠与其非运动组大鼠 $\text{TNF-}\alpha$ 浓度相比, 没有显著性统计学差别 (表 1)。

表 1 实验后大鼠体重、 $\text{TNF-}\alpha$ 浓度的比较

组 别	例数	体重 (g)	$\text{TNF-}\alpha$ (ng/ml)
OLETF 基静组	10	505.8 ± 23.5	0.406 ± 0.083
OLETF 基运组	8	$459.8 \pm 33.1^*$	$0.574 \pm 0.116^*$
OLETF 高静组	10	567.1 ± 34.7	0.407 ± 0.097
OLETF 高运组	10	$503.2 \pm 39.7^*$	$0.513 \pm 0.098^*$
LETO 基静组	7	413.9 ± 10.9	0.387 ± 0.087
LETO 基运组	8	395.8 ± 12.7	0.382 ± 0.077

注: 与对应的非运动组比较, * $P < 0.05$

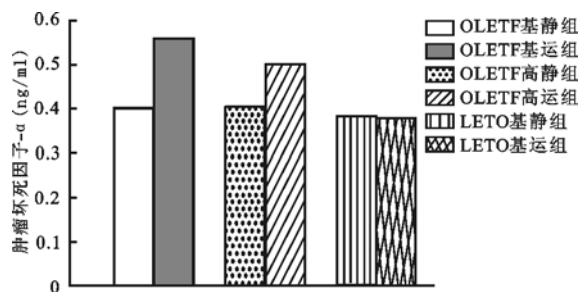


图 1 游泳干预结束后各组大鼠血清 $\text{TNF-}\alpha$ 浓度

三、运动干预对各组大鼠糖耐量试验的影响

在游泳干预和喂给不同饲料前, 各组 OLETF 大鼠和 LETO 大鼠的糖耐量试验均在正常范围内; 经 9 周的游泳训练和喂给不同的饲料后, 以 OGTT 试验衡量各组大鼠糖耐量异常发生的例数 (其衡量标准为餐后血糖峰值在 16.8 mmol/L 以上, 或者餐后 2 h 血糖 11.2 mmol/L 以上即可定为糖耐量异常), 结果见表 2, 可见运动能够明显减少糖耐量异常发生率。本研究中可能由于样本量偏小, 没有发现统计学差异。计算各组大鼠在第 9 周末和第 18 周末糖耐量试验 0、30、60 及 120 min 血糖均值, 绘制各组大鼠的糖耐量曲线, 结果见图 2、图 3。

表 2 各组大鼠糖耐量异常的发生情况

组 别	例数	第 9 周末	第 18 周末	糖耐量异常发生率 (%)
OLETF 基静组	10	0	6	60
OLETF 基运组	8	0	1	12.5
OLETF 高静组	10	0	8	80
OLETF 高运组	10	0	5	50
LETO 基静组	7	0	0	0
LETO 基运组	8	0	0	0

注: OLETF 基静组与 OLETF 基运组糖耐量异常发生率比较, $P = 0.057$; OLETF 高静组与 OLETF 高运组糖耐量异常发生率比较, $P = 0.175$ (P 值运用确切概率法计算得到)

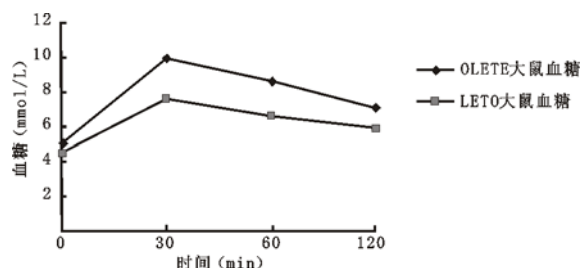


图2 运动干预前 OLETF 大鼠和 LETO 大鼠糖耐量试验

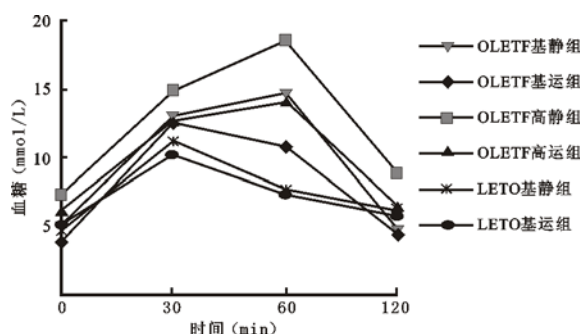


图3 运动干预结束时各组大鼠糖耐量试验

讨 论

本实验所采用的 OLETF 大鼠正处于 2 型糖尿病形成期,国外研究表明,此期在病理上主要表现为胰腺的胰岛细胞渐进的退行性变、局灶坏死及代偿增生;在症状上主要表现为体重的迅速增加、高胰岛素血症和糖耐量异常的出现,直至血糖升高。另外,有实验证实 OLETF 大鼠周围靶组织的确存在胰岛素抵抗^[1]。TNF- α 是一种生物活性因子,近年来国外研究表明,静脉应用抗-TNF- α 结合蛋白可明显改善机体胰岛素敏感性^[3];也有研究显示去 TNF- α (TNF- $\alpha^{-/-}$) 基因的肥胖小鼠的胰岛素敏感性明显高于 TNF- $\alpha^{+/+}$ 肥胖小鼠^[4],明确表明 TNF- α 促进胰岛素抵抗 (IR) 的形成。其具体机制可能有:①TNF- α 可降低胰岛素受体底物-1 (IRS) 酪氨酸激酶的活性而影响胰岛素结合胰岛素受体后的信号传导,最终使胰岛素的生物活性作用减弱;②TNF- α 可通过增强激素敏感酯酶的活性而使脂肪动员增强,进而使血游离脂肪酸浓度 (FFA) 升高,而增高的血 FFA 又可抑制外周组织对葡萄糖的转运和磷酸化而终致胰岛素敏感性的下降;③TNF- α 可抑制葡萄糖载体-4 的表达,从而抑制外周组织细胞摄取葡萄糖^[5,6]。

众所周知,运动可以改善机体的胰岛素敏感性,但具体机制至今尚未完全研究清楚,可能与能够影响一些生物活性因子[如葡萄糖转运载体-4 (GLUT-4)、解偶联蛋白-3 (UCP-3)、瘦素 (Leptin) 及 TNF- α 等]的表达有关。运动可以明显增加动物和人的 GLUT-4、UCP-3 的

基因表达,促进机体葡萄糖摄取和胰岛素敏感性^[7,8]。至于运动对 Leptin 及 TNF- α 的影响在运动改善机体胰岛素敏感性机制中所起的作用,目前尚不清楚。

本研究结果显示,经 9 周的游泳训练后,OLETF 大鼠基础饲料运动组和高脂饲料运动组与其各自相应的对照组相比,TNF- α 浓度均有明显的升高 ($P < 0.01$);而 LETO 运动组大鼠与其非运动组大鼠血清 TNF- α 浓度相比,并没有显著差异;另外,两组 OLETF 非运动组大鼠的血清 TNF- α 浓度与 LETO 大鼠非运动组相比虽有升高的趋势,但 3 组之间血清 TNF- α 浓度没有显著性差异。这些研究结果和国外类似的研究结果基本一致^[9]。本研究结果还显示,运动的确能够有效预防 OLETF 大鼠的 2 型糖尿病的发生,这与国外研究结果相同^[10]。

上述表明, TNF- α 可促进胰岛素抵抗 (IR) 的形成,运动可以改善 OLETF 大鼠的糖耐量试验结果。然而,这些似乎与本试验中运动升高 OLETF 大鼠血清 TNF- α 的研究结果相互矛盾,究其原因何在? 我们认为可能存在以下的机制:运动时升高的 TNF- α 能够使血浆和骨骼肌中脂蛋白酯酶 (LPL) 的活性增强,使脂肪动员加速,水解产生更多 FFA,使血浆甘油三酯 (TG) 水平下降;同时升高的 FFA 又可以进而抑制外周组织利用葡萄糖供能,使外周组织利用 FFA 供能增加,降低甘油三酯-脂肪酸循环中 FFA 再酯化,最终使外周组织 (如骨骼肌和胰岛 β 细胞等) 中储存的 TG 消耗增多,储存减少。众所周知,骨骼肌细胞内的甘油三酯 (TG) 含量增多是导致胰岛素抵抗的早期原因之一,而胰岛 β 细胞的 TG 含量增多则可导致 β 细胞胰岛素分泌功能紊乱。因此,运动改善机体胰岛素敏感性可能有一部分是通过使 TNF- α 的分泌增多而使骨骼肌等外周组织中的 TG 消耗增多而实现的。所以,尽管 TNF- α 的确能促进胰岛素抵抗的形成,但是在运动时,由于能量需求增加而使浓度增高的 TNF- α 成为促进机体利用 FFA 供能的促进因子,最终达到降低体脂的储存和改善机体胰岛素敏感性的作用^[9,10]。但对于是否还存在其他原因,尚需进一步研究。

至于正常的 LETO 运动组大鼠的血清 TNF- α 浓度和其非运动组大鼠相比并没有明显的差别,其原因可能与该大鼠本身并不存在胰岛素抵抗,体内外周细胞脂质储存在正常范围有关。但具体机制如何,尚需进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Kawano K, Hirashima T. Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) strain. *Diabetes*, 1992, 41:1422-1428.
- 2 Ploug T, Stallknecht BM, Pedersen O, et al. Effect of endurance training on glucose transport capacity and glucose transporter expression in rat skeletal muscle. *Am J Physiol*, 1990, 259:E778-786.

- 3 Patton JS, Sherad HM, et al. Interferon and tumor necrosis factors have similar catabolic effects on 3T3-L1 cells. Proc Natl Acad Sci USA, 1986, 83: 8313-8317.
- 4 Qi C, Pekala PH. Tumor necrosis factor-alpha-induced insulin resistance in adipocytes. Proc Soc Exp Biol Med, 2000, 223: 128-135.
- 5 Hotamisligil GS. Mechanisms of TNF-alpha-induced insulin resistance. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 1999, 107: 119-125.
- 6 Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, et al. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. Science, 1996, 271: 665-668.
- 7 MacLean PS, Zheng D, Dohm GL. Muscle glucose transporter (GLUT 4) gene expression during exercise. Exerc Sport Sci Rev, 2000, 28: 148-152.
- 8 Schrauwen P, Hesselink MK, Vaartjes I, et al. Effect of acute exercise on uncoupling protein 3 is a fat metabolism-mediated effect. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2002, 282: E11-17.
- 9 Nara M, Kanda T. Running exercise increases tumor necrosis factor-alpha secreting from mesenteric fat in insulin-resistant rats. Life Sci, 1999, 65: 237-244.
- 10 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.
- 11 Sakurai Y, Zhang XJ. TNF directly stimulates glucose uptake and leucine oxidation and inhibits flux in conscious dogs. Am J Physiol, 1996, 265: E864-887.

(收稿日期: 2002-07-10)

(本文编辑: 郭铁成)

· 短篇报道 ·

踝关节功能障碍的康复疗效观察

张连玉

我院自 1996 年 9 月 ~ 2001 年 3 月治疗踝关节功能障碍 23 例, 报道如下。

23 例踝关节功能障碍患者中, 男 15 例, 女 8 例; 年龄 5 ~ 78 岁, 平均 (36.55 ± 15.60) 岁; 左踝 16 例, 右踝 7 例。损伤原因: 车祸 17 例, 跌伤 4 例, 坠落伤 1 例, 砸伤 1 例; 损伤类型: 单纯踝部骨折 8 例, 胫腓骨骨折 5 例, 足部骨折 2 例, 踝部骨折合并胫腓骨骨折 6 例, 踝部骨折合并足部骨折 1 例, 踝部骨折合并胫腓骨和足部骨折 1 例。外科处理: 手法整复、石膏固定者 9 例, 切开复位、钢板螺钉内固定者 3 例, 切开复位、钢板螺钉内固定加石膏外固定者 8 例, 手术 2 次以上及内、外固定者 3 例。固定时间 21 ~ 180 d。本组患者均在去除外固定后开始康复治疗。

康复治疗方法包括: ①物理因子治疗 (超短波、点频电疗、蜡疗等); ②按摩; ③运动疗法 (主、被动和器械辅助的踝关节运动、关节松动术等); ④ADL 训练下蹲和行走等。治疗前、后对照采用 *t* 检验。

结果 治疗前、后踝足部水肿情况见表 1。治疗前、后踝关节运动范围见表 2。23 例患者治疗前、后站立情况: 治疗前能正常站立、患足能负重者 0 例, 患足能勉强放平、不能完全负重者 9 例, 患足不能放平、靠健足站立者 14 例。治疗后, 能正常站立、患足能负重者 15 例, 患足能勉强放平、不能完全负重者 8 例, 没有患足不能放平、靠健足站立者。下蹲情况: 治疗前, 不能完全下蹲、仅能半蹲者 8 例; 不能下蹲或下蹲幅度很小 15 例。治疗后, 能完全下蹲者 10 例, 半蹲者 13 例。行走情况: 治疗前, 不能行走者 14 例, 持拐行走者 9 例; 治疗后, 持拐行走者 7 例, 弃拐行走者 16 例。

表 1 治疗前、后踝足部水肿情况 (例)

项 目	例数	水肿程度			
		重	中	轻	无
治疗前	23	3	8	12	0
治疗后	23	0	2	5	16

表 2 治疗前、后踝关节运动范围对照 (度, $\bar{x} \pm s$)

项 目	例数	踝背屈	踝跖屈
治疗前	23	9.78 ± 5.33	10.00 ± 5.43
治疗后	23	17.30 ± 5.27 *	36.96 ± 5.59 *

注: * 治疗前、后经 *t* 检验, $P < 0.001$

讨论 踝关节是下肢 3 大关节之一, 在下肢的站立、下蹲和行走运动中发挥着重要的作用。踝关节处于肢体远端, 易遭外力打击, 受到伤害。

踝部骨折在临床上主要采取手法复位、石膏固定和手术切开复位、钢板螺钉固定, 或兼而用之^[1]。但手法复位治疗之后使用的石膏固定, 尤其是较长时间的固定, 可以造成局部组织的血液循环减少, 组织的水肿不易消退, 关节囊、韧带的挛缩和粘连, 相关肌肉萎缩和挛缩, 这些改变必然会影响踝关节的运动功能^[2]。因此, 在骨折愈合后应尽早解除石膏固定, 及时介入正规的康复治疗, 可以减少石膏固定的致障可能, 减轻组织的水肿, 减轻或消除已经形成的功能障碍。

本组采用综合康复治疗方法, 针对患者的具体情况, 适时选用不同的治疗措施。在较短时间使患者的水肿明显减轻, 使踝关节的运动范围逐渐增加。足能放平时, 训练患者的正确站立姿势, 使之能稳定站立。减少患者对扶持的依赖和纠正错误的步态, 最后使患者的步态正常。通过松动踝关节的关节囊、韧带, 牵小腿三头肌, 增加跟腱的滑动幅度, 使踝关节背屈逐渐增加, 下蹲程度逐渐接近正常。患者的日常生活也因此逐渐恢复正常。

参 考 文 献

- 1 毛宾尧, 主编. 足外科. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 128-132.
- 2 范振华, 主编. 骨科康复学. 上海: 上海医科大学出版社, 1997. 27.

(收稿日期: 2002-08-06)

(本文编辑: 阮仕衡)