



连续和间歇有氧运动对高脂饮食诱导的肝脂肪变性的改善作用及机制研究

Effect and Mechanism of Continuous and Intermittent Aerobic Exercise on Improvement of Liver Steatosis Induced by High-Fat Diet

杜杰*,韩丽
DU Jie*,HAN Li

摘要:目的:探讨连续和间歇有氧运动对高脂饮食诱导的肝脂肪变性的改善作用及机制。方法:将4周龄SPF级雄性C57BL/6小鼠适应喂养1周后,随机分为对照组(CG)、高脂喂养组(HC)、中强度连续有氧运动组(HE)和大强度间歇有氧运动组(HI),每组8只,共喂养8周。HE和HI组小鼠根据运动方案,分别进行中强度连续有氧运动和大强度间歇有氧运动。实验结束后采用酶联免疫试剂盒方法测定小鼠血清TG、TC、LDL-C、HDL-C、FFA、ALT、AST以及肝脏TG、TC含量。通过H&E染色观察肝脏组织形态,并用RT-PCR法检测肝脏中与脂质合成和分解相关基因SREBP-1c、ACC、FAS、PPAR α 、CPT-1的mRNA表达量。结果:1)8周后,与CG组相比,HC组小鼠体质量、肝质量极显著升高($P<0.01$),血清TG、TC、LDL-C含量与LDL-C/HDL-C比值极显著升高($P<0.01$);与HC组相比,HE和HI组小鼠的体质量、肝质量及血清TG、TC、LDL-C含量与LDL-C/HDL-C比值显著降低($P<0.01$),其中,HI组小鼠对TG的降低效果优于HE组,且间歇有氧运动可使TG降低到正常水平。2)8周后,与CG组相比,HC组小鼠血清AST、ALT含量和肝脏TC、TG含量显著升高($P<0.01$),肝脏组织发生一定程度的脂肪变性;与HC组相比,HE和HI组小鼠的血清AST、ALT含量和肝脏TC、TG含量显著降低($P<0.05$),肝脏脂肪变性得到逆转,其中,HE组小鼠对AST的降低效果高于HI组,HI组小鼠对肝脏TG的改善效果优于HE组。3)采用RT-PCR检测肝脏脂质合成和分解基因的mRNA表达结果表明,相比HC组,HE组小鼠的SREBP-1c、FAS的表达量显著降低($P<0.05$),而HI组小鼠的PPAR α 、CPT-1的表达量极显著升高($P<0.01$)。结论:中强度连续有氧运动和大强度间歇有氧运动均能有效改善由高脂饮食诱发的肝脏脂肪变性,其作用途径可能是:中强度连续有氧运动主要通过调控肝脏脂质合成,大强度间歇有氧运动主要通过调控肝脏脂肪酸氧化分解,来减少肝脏脂肪堆积,从而有效改善肝细胞损伤和脂肪变性。

关键词:连续有氧运动;间歇有氧运动;高脂饮食;脂肪变性

Abstract: Objective: To explore the effect and mechanism of continuous and intermittent aerobic exercise on high fat diet-induced liver steatosis. Methods: After one week of acclimatization, male C57BL/6 mice were randomly divided into control group (CG), high-fat diet group (HC), continuous aerobic exercise group (HE) and intermittent aerobic exercise group (HI). Each group consisted of 8 mice, and the experiment was carried out for 8 weeks. According to the exercise program, the mice in the HE and HI groups were subjected to moderate-intensity continuous aerobic exercise and high-intensity intermittent aerobic exercise respectively. At the end of experiment, serum TG, TC, LDL-C, HDL-C, FFA, ALT, AST, and hepatic TG, TC were measured by ELISA kits. Liver morphology was observed by H&E staining, and liver lipid synthesis and degradation-related mRNA genes expressions of SREBP-1c, ACC, FAS, PPAR α and CPT-1 were detected by RT-PCR. Results: 1) After the mice were fed for 8 weeks, the body weight, and liver weight of the HC group were significantly increased compared with the CG group ($P<0.01$), and the levels of serum TG, TC, LDL-C and LDL-C/HDL-C ratio were also

***通信作者简介:**

杜杰(1985-),男,副教授,博士,主要研究方向为运动健康与营养、民族传统体育学,E-mail:sdwushu@sxu.edu.cn。

作者单位:

山西大学,山西太原030006
Shanxi University, Taiyuan 030006, China.

increased significantly ($P < 0.01$). Compared with HC group, the body weight, liver weight, serum TG, TC, LDL-C and LDL-C/HDL-C ratio of the HE and HI groups were decreased significantly ($P < 0.01$). The effect of intermittent aerobic exercise on TG was significantly higher than that of continuous aerobic exercise, and the level of TG could be reduced to normal level after intermittent aerobic exercise. 2) After the mice were fed for 8 weeks, the contents of serum AST, ALT and hepatic TC, TG in HC group mice were significantly increased compared with the CG group ($P < 0.01$), and a certain degree of steatosis in the liver tissue was observed. Compared with the HC group, the levels of serum AST, ALT and hepatic TC, TG of the HE and HI groups were decreased significantly ($P < 0.05$), and liver steatosis was reversed. The reduction effect of serum AST for the mice with continuous aerobic exercise was better than that with intermittent aerobic exercise, while the reduction of hepatic TG with intermittent aerobic exercise was more effective. 3) RT-PCR was used to detect the mRNA expression of liver lipid synthesis and degradation genes. The results showed that the expression of SREBP-1c, and FAS in HE group were significantly reduced ($P < 0.05$), and the expression of PPAR α and CPT-1 in HI group were significantly increased compared with the HC group ($P < 0.01$). Conclusions: Both moderate-intensity continuous aerobic exercise and high-intensity intermittent aerobic exercise can effectively improve liver steatosis induced by high-fat diet. Moderate-intensity continuous aerobic exercise regulates lipid synthesis, and high intensity intermittent aerobic exercise mainly reduces liver fat accumulation by regulating the oxidative decomposition of liver fatty acids to improve liver cell injury and steatosis could be its mechanism.

Keywords: continuous aerobic exercise; intermittent aerobic exercise; high-fat diet; steatosis

中图分类号: G804.55 **文献标识码:** A

肝脏是脂肪代谢的主要器官,正常细胞通过复杂的转录途径调节脂肪摄取、利用和输出的平衡,并满足细胞的能量需求,防止脂质的过度积累(Schattenberg et al., 2011; Yeon et al., 2004)。然而,过量膳食脂肪可导致机体脂代谢紊乱,血液中游离脂肪酸水平增加,从而加大肝脏对脂质的摄取,破坏肝脂代谢平衡(张丽静, 2016; Karbasi-Afshar et al., 2014)。因此,食用脂肪过多的食物会导致肝脏中脂质积累,引发肝脏脂肪变性,同时在脂肪堆积过程中发生肝细胞损伤(Hwan-Hee et al., 2012)。即使是短期高脂喂养,过量的脂肪在大鼠体内也会在肝脏中优先积累(Samuel et al., 2004, 2007)。与此同时,脂肪变性会增加肝细胞对氧化损伤和炎症的敏感性,是非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)发生、发展最早,也是最突出的表现(Fotbolcu et al., 2016)。而单纯性脂肪变性会逐步发展成非酒精性脂肪肝和肝纤维化,最终导致肝硬化,甚至发展成肝癌(Guo et al., 2015)。

研究发现,肝脏脂肪从头合成和脂肪酸氧化是调节肝脏脂肪代谢的主要代谢途径(Lee et al., 2017),其中最相关的调控基因为固醇调节元件结合蛋白-1c(sterol regulatory element binding protein-1c, SREBP-1c)和过氧化物酶体增植物激活受体 α (peroxisome proliferator-activated receptor alpha, PPAR α)(Musso et al., 2009)。转录因子SREBP-1c通过上调脂肪合成限速酶乙酰辅酶A羧化酶(acetyl-CoA carboxylase1, ACC)和脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)刺激肝脂肪的合成(Yang et al., 2014),而高脂饮食可以诱导SREBP-1c的过表达,增加肝脏脂肪合成,导致肝脏甘油三酯的积累和肝脂肪变性的发生

(Shimomura et al., 1999)。PPAR α 是配体激活的核激素受体,可通过上调靶基因脂肪酸 β -氧化关键酶肉碱棕榈酰转移酶1(carnitine palmitoyl transterase-1, CPT-1)增加脂肪酸氧化,从而防止肝脏中过多的脂质积累(Giby et al., 2014)。大量研究发现,通过适当和有规律的有氧运动可以调节脂肪脂质代谢,改善NAFLD。国际上普遍公认的运动方式是中低强度连续有氧运动(Guo et al. 2015)。近几年也有学者发现,大强度间歇有氧运动较传统连续有氧运动对于NAFLD肝脏脂肪变性的改善效果更加明显(沈友青等, 2013, 2015; 张海峰等, 2015; Moreira et al., 2013)。因此,本研究旨在探讨中强度连续有氧运动和大强度间歇有氧运动对高脂饮食诱导的肝脏脂肪变性的影响,并通过检测肝脏脂肪合成和脂肪酸氧化关键调控基因的表达阐释其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与饮食

4周龄SPF级雄性C57BL/6实验小鼠购于南京君科生物工程有限公司,许可证号为SCXK(苏)2016-0010,平均体质量为(15.67 \pm 1.74)g。将实验动物分笼饲养在温度为20 $^{\circ}$ C~26 $^{\circ}$ C、相对湿度为40%~50%的室内,自然光照,自由摄食、饮水。所有小鼠适应性喂养1周后,称量体质量,随机分为对照组(CG)、高脂喂养组(HC)、中强度连续有氧运动组(HE)和大强度间歇有氧运动组(HI)4组,每组8只。CG组小鼠饲喂普通饲料,HC组、HE组和HI组小鼠饲喂高脂饲料(含有45% kcal脂肪含量,购于北京科澳协力饲料有限公司),共喂养8周。实验期间

每 3 天更换 1 次垫料, 记录 1 次摄食量, 每周称量 1 次体质量。

1.2 运动方案

实验期间, HE 组和 HI 组小鼠每天在 ZS-PT 动物实验跑台上进行为期 8 周的跑步运动, 每周训练 6 天。第 1 周以 10 m/min (相当于 40%~50% $\dot{V}O_{2max}$) 进行适应性跑步, 第 1~4 天跑步时间从 10、20、40、60 min 依次递增, 第 5~6 天维持 60 min 不变。随后 HE 组每天进行中强度有氧运动, 以 12 m/min (相当于 65%~75% $\dot{V}O_{2max}$) 恒速跑步 60 min [参照 Fernando 等(1993) 方案]; HI 组每天进行大强度间歇运动, 按照 10 m/min、10 min, 23 m/min、3 min (相当于 80%~85% $\dot{V}O_{2max}$) 和 15 m/min、7 min 方案交替跑步, 共持续 60 min [参照殷玥(2016) 方案略有改动]。

1.3 实验取材

实验结束后, 小鼠禁食 10 h, 2% 戊巴比妥钠溶液麻醉取血, 放入抗凝管中, 冷冻低速离心分离血清, -20 °C 保存备用。之后迅速摘取肝脏, 称重, 并切分成两部分: 一部分液氮速冻, 置于 -80 °C 保存备用; 另一部分 10% 甲醛溶液中固定, 用于肝脏组织切片实验。

1.4 生化指标检测

小鼠血清总甘油三酯 (triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白 (low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白 (high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)、游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA)、丙氨酸转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 含量按照南京建成生物科技有限公司提供的试剂盒进行测定。

小鼠肝脏利用组织匀浆机低温匀浆后离心, 取上清液按照试剂盒说明书测定肝脏 TG、TC 含量。

1.5 肝脏组织形态观察

小鼠新鲜肝脏固定好后, 用不同浓度的酒精梯度脱水, 二甲苯透明处理 45 min 后, 浸蜡包埋, 凝固切片, 将切好的石蜡片置于载玻片上烘干、脱蜡, 苏木精和伊红 (H&E) 染色 5 min, 中性树脂封片, 置于光学显微镜下观察肝脏组织病理形态。

1.6 肝脏 RNA 提取与 RT-PCR 检测

取 100 mg 肝脏组织, 根据 Trizol RNA 提取试剂盒说明书提供的方法提取总 RNA, 并使用 GeneAmp RNA PCR 试剂盒进行 cDNA 的合成。在 Mx3000P PCR 检测仪中, 以 SYBR Green 为荧光染料, 取约 1 μ L 稀释 10 倍的 cDNA 进行 RT-PCR 检测; 反应条件为 94 °C、30 s, 57 °C、30 s, 72 °C、30 s, 循环 35 次。所需基因序列从 GeneBank 获取, Premier 6.0 软件设计引物, 并由金斯瑞生物科技有限公司合成 (表 1), 结果与 β -actin 进行标准化, 由 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算基因的相对表达量。

1.7 数据处理

所有实验数据以平均值 \pm 标准差 ($M \pm SD$) 表示, 并使用 SPSS 23.0 软件对数据进行单因素方差分析 (ANO-

VA), 检验水平设为 $\alpha=0.05$ 和 $\alpha=0.01$ 。

表 1 RT-PCR 引物序列

Table 1 Primer Sequences for RT-PCR

基因	引物
β -actin	F: GAGGCATTGCTGACAGGATG R: TGCTGATCCACATCTGCTGG
PPAR α	F: CAAGGCCTCAGGGTACCCT R: TTGCAGCTCCGATCACACTT
SREBP-1c	F: CACAGCGGTTTTGAACGACA R: CTCTCAGGAGAGTTGGCACC
ACC	F: GGCCAGTGCTATGCTGAGAT R: AGGGTCAAGTGTCTGCTCCA
FAS	F: GCTGCGGAAACTTCAGGAAAT R: AGAGACGTGTCACTCCTGGACTT
CPT-1	F: CTCAGTGGGAGCGACTCTTCA R: GGCCTCTGTGGTACACGACAA

2 结果与分析

2.1 对高脂喂养小鼠摄食量、热量摄入及体质量、肝指数的影响

如表 2 所示, 实验前各组小鼠的体质量没有显著性差异 ($P>0.05$); 在饲养过程中, HC 组小鼠的平均摄食量显著低于 CG 组 ($P<0.05$), 而 HE 和 HI 组小鼠的平均摄食量均极显著低于 CG 和 HC 组 ($P<0.01$); 饲料热量换算后的结果显示, HC 组小鼠平均热量摄入极显著高于 CG 组 ($P<0.01$), 而 HE 和 HI 组小鼠平均热量摄入低于 HC 组、高于 CG 组, 具有极显著性差异 ($P<0.01$)。喂养 8 周后, 与 CG 组相比, HC 组小鼠的终末体质量极显著升高 ($P<0.01$), 体重的增加量为 CG 组小鼠体质量增加量的 1.9 倍; 与 HC 组相比, 经过中强度连续与大强度间歇有氧运动后, 高脂喂养小鼠的体质量极显著降低 ($P<0.01$), 且可降低到正常喂养小鼠体质量水平。除体质量增加外, HC 组小鼠的肝质量显著高于 CG 组 ($P<0.01$), 肝脏表现出增生肥大、炎症、充血、水肿等损伤症状。与 HC 组相比, HE 和 HI 组小鼠的肝质量极显著降低 ($P<0.01$), 肝脏损伤程度减轻, 但 HE 和 HI 组相比没有显著性差异。

2.2 对高脂喂养小鼠血清脂质指标的影响

血清脂质指标是反映脂代谢情况最直接的指标。如图 1 所示, 与 CG 组相比, HC、HE、HI 组小鼠血清 FFA、TG、TC、LDL-C 含量和 LDL-C/HDL-C 比值极显著升高 ($P<0.01$), 血清 HDL-C 含量显著降低 ($P<0.05$), 高脂喂养后小鼠体内脂代谢紊乱, 出现明显的高血脂症状。与 HC 组相比, HE 和 HI 组小鼠血清 FFA、TC、LDL-C 含量和 LDL-C/HDL-C 比值极显著降低 ($P<0.01$), 但 HE 和 HI 组相比差异不显著。与 HC 组相比, HI 组小鼠的 TG 含量显著降低 (降低了 31.29%, $P<0.05$); 而 HE 组小鼠的 TG 含量降低了 18.37%, 但与 HC 组相比无显著性差异。另外,

与CG组相比,HE组小鼠的血清HDL-C升高,但无显著性差异($P>0.05$)。中强度连续和大强度间歇有氧运动均能有效改善由高脂饮食引起的脂肪代谢紊乱,其中,大强度间歇有氧运动对血清TG的改善效果相对较好。

表2 连续与间歇有氧运动对C57BL/6小鼠摄食量、热量摄入、体质量、肝指数的影响
Table 2 Effects of Continuous and Intermittent Aerobic Exercise on Food Intake and Caloric Intake, Body Weight and Liver Index in C57BL/6 Mice

指标	CG组	HC组	HE组	HI组
摄食量/(g·d ⁻¹)	2.68±0.07	2.41±0.10*	2.07±0.04***	2.02±0.05***
热量摄入/(kcal·d ⁻¹)	8.88±0.23	11.41±0.45**	9.80±0.18***	9.54±0.20***
初始体质量/g	20.99±0.38	21.60±0.24	20.60±0.47	21.08±0.38
终末体质量/g	27.98±0.56	34.86±0.80**	27.70±0.93 [#]	27.50±0.80 [#]
体质量增加值/g	6.99±0.50	13.26±0.70**	7.10±1.05 [#]	6.42±0.87 [#]
肝质量/g	1.06±0.02	1.36±0.03**	1.11±0.04 [#]	1.14±0.04 [#]
肝指数/%	3.78±0.11	4.03±0.14	4.02±0.09	4.01±0.12

注:*与CG组相比 $P<0.05$,** $P<0.01$;#与HC组相比 $P<0.05$,### $P<0.01$;下同。

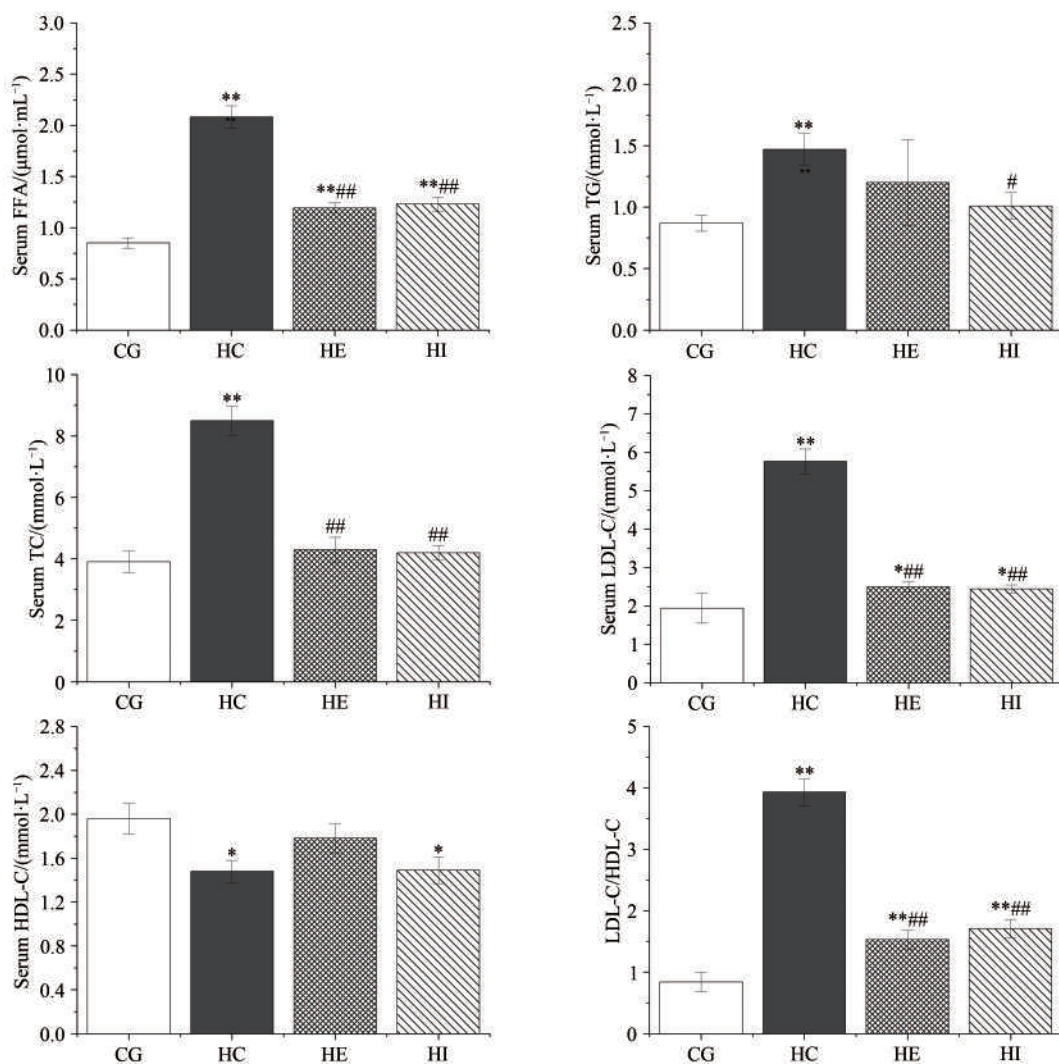


图1 连续与间歇有氧运动对NAFLD小鼠血清脂质指标的影响

Figure 1. Effects of Continuous and Interval Aerobic Exercise on Serum Lipid Level in NAFLD Mice

2.3 对高脂喂养小鼠肝损伤和脂肪变性的影响

2.3.1 对血清AST和ALT的影响

血清AST和ALT活性在医学上常用于评价肝功能损

伤程度。由图2可以看出,与CG组相比,高脂喂养小鼠血清AST和ALT含量分别显著升高2.42倍和1.02倍($P<0.01$),说明高脂饮食可使肝功能受到影响,肝组织出现一

定损伤。与 HC 组相比, HE 组小鼠血清 AST 和 ALT 含量分别降低了 66.46%、39.76%, HI 组小鼠血清 AST 和 ALT 含量分别降低了 49.29%、35.50%; 与 HI 组相比, HE 组小鼠血清 AST 和 ALT 的降低效果更明显。中强度连续与大

强度间歇有氧运动对高脂诱导小鼠的肝功能损伤具有一定的改善作用, 且中强度连续有氧运动对肝功能损伤的改善效果更明显。

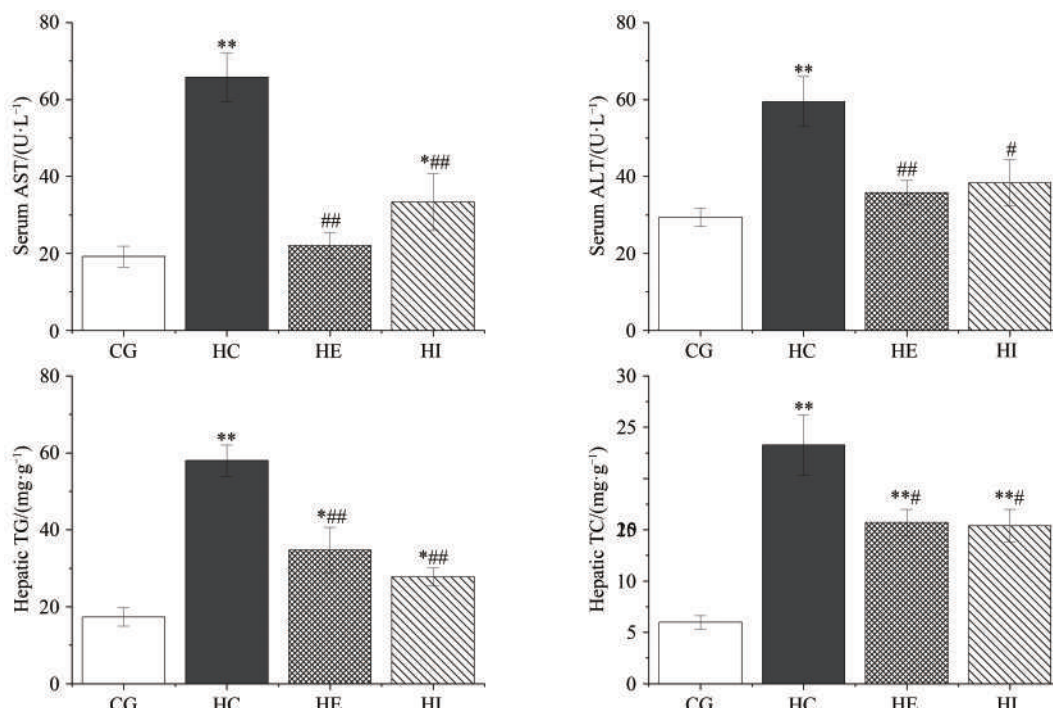


图2 连续与间歇有氧运动对高脂喂养 C57BL/6 小鼠肝损伤指标(血清 AST、ALT)和肝脂肪指标(肝脏 TC、TG)的影响
 Figure 2. Effects of Continuous and Interval Aerobic Exercise on Liver Injury Index (Serum AST, ALT) and Hepatic Lipids Index (Hepatic TC, TG) in High-Fat Diet C57BL/6 Mice

2.3.2 对肝 TC、TG 的影响

肝脏 TC 和 TG 是衡量脂肪在肝脏堆积的 2 个重要指标。由图 2 可以看出, 与 CG 组相比, 高脂喂养小鼠肝脏 TC 和 TG 极显著升高 ($P < 0.01$), 结合血清 AST 和 ALT 含量以及肝质量的升高, 表明高脂饮食可引起肝脏脂代谢紊乱、脂质积累、肝酶升高, 从而诱发 NAFLD。与 HC 组相比, HE 和 HI 组小鼠肝脏 TC 含量极显著降低 ($P < 0.01$), TG 含量显著降低 ($P < 0.05$), 但仍显著高于 CG 组 ($P < 0.05$)。相比中强度连续有氧运动来说, 大强度间歇有氧运动对于高脂饮食小鼠肝脏 TG 的改善效果更好。

2.3.3 对肝组织形态的影响

从图 3 各组肝组织形态可以看出, CG 组小鼠肝脏未见异常, 肝小叶结构完整清晰, 肝细胞大小正常, 肝索排列整齐, 肝窦结构正常, 无扩张、充血; HC、HE 和 HI 组小鼠肝脏变性明显, 肝细胞体积明显变大, 大小不一, 肝索排列紊乱, 出现脂肪空泡, 肝窦出现明显扩张、充血, 伴有轻微的细胞炎症; 相比 HC 组, HE 和 HI 组小鼠肝脏变性有明显的改善, 肝细胞形态、大小大部分恢复到正常水平, 肝索排列较为整齐, 肝细胞空泡减少。

2.4 对肝脏脂质积累相关基因表达的影响

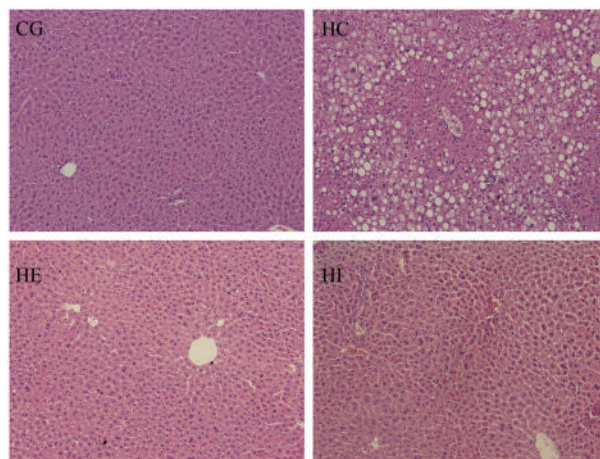


图3 小鼠肝组织病理学变化(200×)
 Figure 3. Pathology Changes of Mice Livers(200×)

本实验对影响肝脏脂质积累的重要调节因子采用 RT-PCR 检测 mRNA 的表达情况, 由图 4 可以看出, 与 CG 组相比, 高脂喂养组小鼠肝脏中与脂质合成相关的重要转录因子 SREBP-1c 及其下游靶基因 ACC、FAS 的 mRNA 表达量分别显著升高了 1.95 倍、1.78 倍、1.79 倍 ($P < 0.05$), 与脂肪酸氧化相关的 PPAR α 及其下游的靶基因 CPT-1 的

mRNA 表达量升高,但 PPAR α 的表达量与 CG 组相比无显著性差异 ($P>0.05$),说明高脂饮食可提高肝脏中脂肪酸的合成和促进甘油三酯的堆积,同时由于过多脂肪的堆积其氧化也相应有所提高,但由于合成速度大于分解速度,导致过量脂肪堆积于肝脏。相比 HC 组,HE 组小鼠 SREBP-1c 和 FAS 的表达量显著降低 ($P<0.05$),HI 组小鼠 SREBP-1c 的表达量虽显著降低 ($P<0.05$),但 FAS 和 ACC

的表达未发生明显变化。与 HC 组相比,HE 组小鼠的 PPAR α 及其下游靶基因 CPT-1 的 mRNA 表达量升高,但无显著性差异 ($P>0.05$),而 HI 组小鼠的 PPAR α 和 CPT-1 的表达量极显著升高 ($P<0.01$)。结果显示,中强度连续有氧运动主要是通过抑制高脂饮食小鼠的肝脏脂质合成改善肝脏脂质变性,而大强度间歇有氧运动则主要是通过加速肝脏对脂质的氧化利用而降低肝脏脂质的积累。

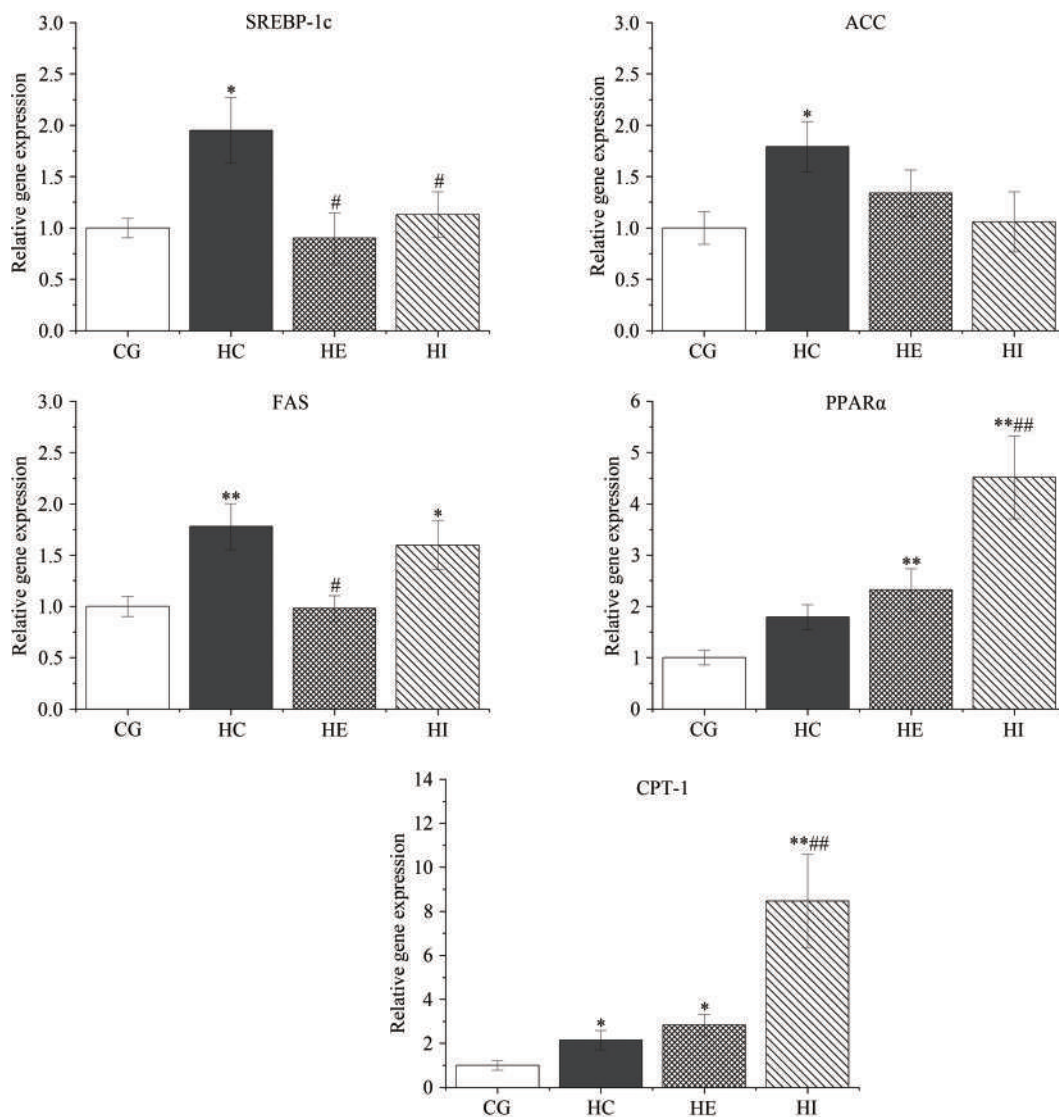


图4 连续与间歇有氧运动对高脂喂养 C57BL/6 小鼠肝脏脂质合成 (SREBP-1c、ACC1、FAS) 和脂肪酸氧化 (PPAR α 、CPT-1) 基因表达的影响

Figure 4. Effects of Continuous and Interval Aerobic Exercise on Gene Expression of Liver Lipid Synthesis Index (SREBP-1c, ACC1, FAS) and Fatty Acid Oxidation Index (PPAR α , CPT-1) in High-Fat Diet C57BL/6 Mice

3 分析与讨论

3.1 连续和间歇有氧运动对高脂饮食诱发的肝脂肪变性的改善作用

饮食中摄入过量的脂肪可引起体质量增加、血清脂质水平升高,出现脂代谢紊乱,大量的脂质运输到肝脏引起脂质堆积、肝细胞损伤,诱发 NAFLD (Kim et al., 2016)。本研究对 C57BL/6 小鼠喂养 8 周高脂饲料后结果

发现:小鼠体质量明显升高;血清 TG、TC、LDL-C、FFA 水平显著升高,HDL-C 显著降低;同时高脂饮食小鼠肝质量、血清转氨酶水平、肝组织 TG 和 TC 含量显著升高,高脂饮食促使小鼠肝脏发生脂肪变性,诱发 NAFLD。有研究表明,有氧运动对改善 NAFLD 具有有益作用,能够降低肝细胞损伤,减少肝脏脂质积累(沈友青等, 2015; Cho et al., 2014; Guo et al., 2015),但对采取何种强度和

方式的有氧运动尚存在争议。国际上推荐的有效方式是中低强度的连续有氧运动,认为脂肪是中低强度有氧运动的主要能量来源,而高强度的有氧运动及无氧运动主要通过消耗糖来提供能量(Hansen et al., 2005)。Stefanick(1993)研究发现,运动强度低于 50% $\dot{V}O_{2max}$ 的有氧运动,90% 的能量是通过消耗脂肪提供的。但沈友青等(2015)研究认为,低强度有氧运动对于肝脏脂肪酸氧化代谢的调控能力较弱,运动后持续饮食高脂饲料还是会大量的脂肪在肝脏堆积,因此,这种低强度连续运动对于高脂诱导的肝脏脂肪堆积的改善效果并不明显。(沈友青等, 2015; Cho et al., 2014)。本研究结果表明,中强度连续有氧运动和大强度间歇有氧运动均能在一定程度上改善由高脂饮食引发的脂肪代谢紊乱、肝细胞损伤、肝脏脂质积累,从而降低肝脏脂肪变性,减轻 NAFLD 症状;其中,大强度间歇有氧运动对血清和肝脏 TG 的降低效果要显著优于中强度连续有氧运动,说明大强度间歇有氧运动对于肝脏脂肪积累的改善效果要好,与沈友青等(2015)、Cho 等(2014)的报道相一致。但从肝组织切片结果看,二者对肝脂肪变性的改善差别不大。

3.2 连续和间歇有氧运动改善肝脂肪变性的作用机制

高脂诱发的肝脂肪病变过程涉及多种代谢途径的参与,如白色脂肪组织中非酯化脂肪酸的释放、肝脏脂肪从头合成以及脂肪酸 β -氧化等(Lee et al., 2017)。Kim 等(2016)报道,高脂饮食可减弱胰岛素对脂肪调节作用,促使脂肪组织分解释放大量的 FFA,使血液中 FFA 水平显著升高。本研究印证了高脂饮食可增加血清 FFA 含量这一结果,且急剧产生的 FFA 可直接通过门静脉进入肝脏,引起肝细胞中 FFA 的过载并促进脂肪生成(Zhang et al., 2013)。本研究结果发现,中强度连续有氧运动组和大强度间歇有氧运动组小鼠血清 FFA 显著低于高脂喂养组,这可能是由于运动促进了脂肪组织中的脂肪动员,加速了脂肪组织对脂肪酸的利用,减少 FFA 的释放,从而降低血清 FFA 水平(潘渺琛, 2013)。

机体内游离脂肪酸的增加诱导 SREBP-1c 在肝脏高表达,高表达的 SREBP-1c 激活下游靶基因 ACC 和 FAS 的表达,从而加速肝脏脂肪合成(Jiao et al., 2016),其中,ACC 和 FAS 是肝脏脂肪酸合成的关键限速酶。在内源性脂肪酸合成的第一步中,ACC 催化乙酰辅酶 A 羧化成丙二酰辅酶 A,为脂肪酸合成提供二碳单元,是脂肪酸合成的限速反应;而 FAS 是长链脂肪酸合成的最后一步限速酶,催化生成棕榈酸,最终合成甘油三酯(Kim et al., 2016)。研究发现,NAFLD 患者和动物模型中的 SREBP-1c 及脂质合成调节基因 ACC 和 FAS 在肝脏中的表达显著升高(Horton et al., 2003; Min et al., 2012; Morgan et al., 2008),这与本研究结果相类似。本研究结果显示,高脂饮食可诱导小鼠产生肝脏脂质变性,小鼠肝脏中脂质合

成关键转录因子 SREBP-1c 及其下游靶基因 ACC、FAS 的 mRNA 表达量显著升高。而肝脂肪酸氧化代谢途径被认为是肝脏脂肪变性发生、发展过程中另外一个重要的影响因素,其中,PPAR α 是调控脂肪酸代谢的一个主要转录因子,它可激活脂肪酸氧化过程中的关键酶(Guerra et al., 2015)。本研究对小鼠肝脏 PPAR α 及下游靶基因 CPT-1 介导的脂肪酸 β -氧化通路进行研究,发现高脂饮食稍稍上调了小鼠肝脏中 PPAR α 和 CPT-1 mRNA 的表达,说明高脂饮食小鼠肝脏中脂肪酸的过量积累,促使肝脏脂肪酸的氧化增加。Guo 等(2015)报道,有氧运动可通过调节肝脏脂肪合成和脂肪酸 β -氧化来改善肝脏脂质代谢。Cintra 等(2012)研究发现,中强度有氧运动能够降低由高脂饮食引起的小鼠肝脏中 SREBP-1c 的高表达。Cho 等(2014)让高脂饮食 C57BL/6 小鼠进行中强度跑台运动(8 m/min 预热 5 min; 10 m/min, 45 min, 坡度为 5°; 8 m/min, 放松 5 min),结果发现,中强度有氧运动能够显著降低高脂饮食小鼠肝脏脂质合成基因 SREBP-1c、FAS 的表达量,提高脂肪酸 β -氧化基因 PPAR α 和 CPT-1 的表达量,从而改善高脂引起的肝脏脂肪变性。本研究结果发现,与高脂喂养组相比,中强度连续有氧运动可显著降低小鼠肝脏 SREBP-1c 和 FAS 的基因表达,升高 PPAR α 及其下游的靶基因 CPT-1 的 mRNA 的表达,但对肝脏脂肪酸氧化的调控能力较弱,说明中强度有氧运动主要是通过调控肝脏脂肪合成途径来有效改善肝脏脂质积累。与中强度连续有氧运动相比,大强度间歇有氧运动对高脂饮食小鼠血清和肝脏 TG 含量的降低效果更佳,其对脂肪酸氧化基因 PPAR α 及其下游的靶基因 CPT-1 的调控能力更强,说明大强度间歇运动对于高脂饮食小鼠的肝脏脂质变性主要是通过肝脏脂肪酸氧化途径来调控的,这也解释了为什么大强度间歇有氧运动干预后小鼠血清和肝脏具有较低水平的 TG 含量。沈友青等(2015)也报道了类似的结果,并解释了大强度间歇有氧运动减少肝脏脂质沉积的机制: 1) 大强度间歇有氧运动增加了总能量的消耗,并通过对中枢神经和外周组织代谢能力的调控,增加机体对脂肪的利用; 2) 大强度间歇运动带来的“后效应”,即运动结束后机体仍然具有较高的物质能量代谢能力,促进了肝脏对脂肪的动员和利用,从而减少由高脂饮食诱发的脂质异常堆积。

4 结论

中强度连续有氧运动和大强度间歇有氧运动均能有效改善由高脂饮食诱发的小鼠脂肪代谢紊乱、肝脏 TG 堆积,减少肝细胞损伤,从而逆转肝脏脂肪变性。其作用途径可能是: 中强度连续有氧运动通过增加能量消耗,减少脂肪组织释放 FFA,以及调控肝脏脂质合成重要转录因子 SREBP-1c 及靶点基因 ACC、FAS 的表达,降低脂肪合成,

减少肝脏脂质堆积,减轻肝脏损伤;大强度间歇有氧运动通过促进肝脏对脂肪的动员和利用,调控脂肪酸 β -氧化通路关键基因PPAR α 、CPT-1增加脂肪酸氧化利用,从而有效降低机体中TG的积累,改善肝脏脂质变性。

参考文献:

- 潘渺琛, 2013. 运动联合消脂散干预高脂诱导脂肪肝大鼠脂代谢的研究[D]. 扬州: 扬州大学.
- 沈友青, 宋涛, 庞秋, 等, 2013. 大强度间歇运动在肥胖症及其相关慢性病干预中的应用研究进展[J]. 中国运动医学杂志, 32(8): 741-748.
- 沈友青, 宋涛, 徐国栋, 2015. 持续运动和间歇运动对高脂喂养大鼠肝脏 Rev-erbo 和 SCD1 表达的影响[J]. 西安体育学院学报, 32(5): 602-615.
- 严煜钧, 2014. EGCG 对非酒精性脂肪肝大鼠的调脂保肝作用研究[D]. 长沙: 湖南农业大学.
- 殷玥, 2016. 有氧间歇训练减轻高脂饮食小鼠海马神经元损伤及其机制的实验研究[D]. 西安: 第四军医大学.
- 张海峰, 范秋菊, 韩涵, 等, 2015. 大强度间歇训练预防高脂饮食大鼠非酒精性脂肪性肝病的形成[J]. 中国运动医学杂志, 34(9): 862-867.
- 张丽静, 2016. 芍药苷对小鼠高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝的保护作用及机制研究[D]. 武汉: 武汉大学.
- CHO J, LEE I, KIM D, et al., 2014. Effect of aerobic exercise training on non-alcoholic fatty liver disease induced by a high fat diet in C57BL/6 mice[J]. J Exerc Nutr Biochem, 18(4): 339-346.
- CINTRA D E, ROPELLE E R, VITTO M F, et al., 2012. Reversion of hepatic steatosis by exercise training in obese mice: The role of sterol regulatory element-binding protein-1c[J]. Life Sci, 91(11-12): 395-401.
- FERNANDO P, BONEN A, HOFFMAN-GOETA L, 1993. Predicting submaximal oxygen consumption during treadmill running in mice[J]. Can J Physiol Pharmacol, 71(10-11): 854-857.
- FOTBOLCU H, ZORLU E, 2016. Nonalcoholic fatty liver disease as a multi-systemic disease[J]. World J Gastroentero, 22(16): 4079-4090.
- GIBY V G, AJITH T A, 2014. Role of adipokines and peroxisome proliferator-activated receptors in nonalcoholic fatty liver disease[J]. World J Hepatol, 6(8): 570-579.
- GUERRA J F, MACIEL P S, PEREIRA R R, et al., 2015. Dietary açai attenuates hepatic steatosis via adiponectin-mediated effects on lipid metabolism in high-fat diet mice[J]. J Funct Foods, 14: 192-202.
- GUO R, LIONG E C, SO K F, et al., 2015. Beneficial mechanisms of aerobic exercise on hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Hepatob Pancreat Dis, 14(2): 139-144.
- HANSEN K, SHRIVER T, SCHOELLER D, 2005. The effects of exercise on the storage and oxidation of dietary fat[J]. Sports Med, 35(5): 363-373.
- HORTON J D, SHAH N A, WARRINGTON J A, et al., 2003. Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 100(21): 12027-12032.
- HWAN-HEE J, MI-YOUNG P, HEON-WOONG K, et al., 2012. Black rice (*Oryza sativa* L.) extract attenuates hepatic steatosis in C57BL/6 J mice fed a high-fat diet via fatty acid oxidation[J]. Nutr Metab, 9(1): 27-38.
- JIAO J, HAN S F, ZHANG W, et al., 2016. Chronic leucine supplementation improves lipid metabolism in C57BL/6J mice fed with a high-fat/cholesterol diet [J]. Food Nutr Res, doi: 10.3402/fnr.v60.31304.
- KARBASI-AFSHAR R, SABURI A, KHEDMAT H, 2014. Cardiovascular disorders in the context of non-alcoholic Fatty liver disease: A literature review[J]. J Tehran Heart Cent, 9: 1-8.
- KIM S, HONG J, JEON R, et al., 2016. Adzuki bean ameliorates hepatic lipogenesis and proinflammatory mediator expression in mice fed a high-cholesterol and high-fat diet to induce nonalcoholic fatty liver disease[J]. Nutr Res, 36(1): 90-100.
- LEE H S, LEE S J, YU H J, et al., 2017. Fermentation with Lactobacillus enhances the preventive effect of garlic extract on high fat diet-induced hepatic steatosis in mice[J]. J Funct Foods, 30: 125-133.
- MIN H K, KAPOOR A, FUCHS M, et al., 2012. Increased hepatic synthesis and dysregulation of cholesterol metabolism is associated with the severity of nonalcoholic fatty liver disease[J]. Cell Metab, 15(5): 665-674.
- MOREIRA J B, BECHARA L R, BOZI L H, et al., 2013. High-versus moderate-intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats[J]. J Appl Physiol, 114(8): 1029-1041.
- MORGAN K, UYUNI A, NANDGIRI G, et al., 2008. Altered expression of transcription factors and genes regulating lipogenesis in liver and adipose tissue of mice with high fat diet-induced obesity and nonalcoholic fatty liver disease[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 20(9): 843-854.
- MUSSO G, GAMBINO R, CASSADER M, 2009. Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)[J]. Prog Lipid Res, 48(1): 1-26.
- SAMUEL V T, LIU Z X, QU X, et al., 2004. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease [J]. J Biol Chem, 279(31): 32345-32353.
- SAMUEL V T, LIU Z X, WANG A, et al., 2007. Inhibition of protein kinase cepsilon prevents hepatic insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease[J]. J Clin Invest, 117(3): 739-745.
- SCHATTENBERG J M, SCHUPPAN D, 2011. Nonalcoholic steatohepatitis: The therapeutic challenge of a global epidemic[J]. Curr Opin Lipidol, 22(6): 479-488.
- SHIMOMURA I, BASHMAKOV Y, HORTON J D, 1999. Increased levels of nuclear SREBP-1c associated with fatty livers in two mouse models of diabetes mellitus [J]. J Biol Chem, 274(42): 30028-30032.
- STEFANICK M L, 1993. Exercise and weight control[J]. Exerc Sport Sci Rev, 21: 363-396.
- YANG Y, LI W, LIU Y, et al., 2014. Alpha-lipoic acid improves high-fat diet-induced hepatic steatosis by modulating the transcription factors SREBP-1, FoxO1 and Nrf2 via the SIRT1/LKB1/AMPK pathway[J]. J Nutr Biochem, 25(11): 1207-1217.
- YEON J E, CHOI K M, BAIK S H, et al., 2004. Reduced expression of peroxisome proliferator activated receptor-alpha may have an important role in the development of non-alcoholic fatty liver disease[J]. J Gastroenterol Hepatol, 19(7): 799-804.
- ZHANG S, ZHENG L, DONG D, et al., 2013. Effects of flavonoids from *Rosa laevigata* Michx fruit against high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in rats[J]. Food Chem, 141(3): 2108-2116.

(收稿日期: 2020-04-09; 修订日期: 2022-07-18; 编辑: 李晴慧)