

有氧运动联合白藜芦醇对 II 型糖尿病大鼠心肌细胞 凋亡因子 TNF- α 、Caspase-3 的影响

任建厂, 王红丽, 肖国强

(华南师范大学 体育科学学院, 广东 广州 510006)

摘 要:为探讨有氧运动联合白藜芦醇对 II 型糖尿病大鼠心肌细胞凋亡因子 TNF- α 、Caspase-3 的影响。选用 2 月龄雄性 SD 大鼠 40 只, 随机选取 8 只大鼠作为正常对照组(ZA), 以标准饲料喂养; 其余大鼠在高脂高糖喂养基础上, 腹腔注射小剂量链脲佐菌素(STZ), 建立 II 型糖尿病大鼠动物模型。将 II 型糖尿病模型大鼠随机分成 4 组: 模型安静组(TA)、模型运动组(TY)、模型灌胃白藜芦醇安静组(TB)、模型灌胃白藜芦醇运动组(TYB)。运动训练采用每周 6 d 的无负重游泳。7 周后, 检测各组大鼠空腹血糖水平、血脂指标、心肌组织细胞形态学变化, 心肌 TNF- α 、Caspase-3 含量。结果发现: ①OGTT 后 30、60、120 min 时间段 TY、TB、TYB 组血糖浓度与 TA 组比较, 均非常显著性降低($P<0.01$); 与 TA 组相比, TY、TB、TYB 组血清 TC、TG、LDL 水平均显著性或非常显著性下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与 ZA 组相比, TA 组心肌呈现病理性变化; 与 TA 组相比, TY、TB、TYB 组心肌病理性变化明显减轻。②与 ZA 组相比, TA 组心肌组织 TNF- α 显著性升高($P<0.01$); 与 TA 组相比, TY、TB、TYB 组心肌组织 TNF- α 非常显著性下降($P<0.05$); 与 TYB 组相比较, TY、TB 组心肌 TNF- α 的表达量显著性升高($P<0.05$)。与 ZA 组相比, TA 组心肌组织 Caspase-3 显著性升高($P<0.01$); 与 TA 组相比, TY、TB、TYB 组心肌组织 Caspase-3 非常显著性下降($P<0.05$); 与 TYB 组相比, TY、TB 组心肌 Caspase-3 蛋白表达水平显著性升高($P<0.05$)。结果说明: II 型糖尿病大鼠心肌组织呈现病理性变化, 有氧运动、白藜芦醇及联合干预可能通过降低糖尿病大鼠心肌组织 TNF- α 、Caspase-3 含量, 降低心肌细胞凋亡因子的表达, 改善糖尿病大鼠心肌组织的病理性变化。有氧运动联合白藜芦醇干预降低心肌组织凋亡因子表达的效果优于单一的有氧运动或白藜芦醇干预。

关 键 词: 运动医学; II 型糖尿病; 有氧运动; 白藜芦醇; 心肌; 肿瘤坏死因子- α ; 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3

中图分类号: G804.5 文献标志码: A 文章编号: 1006-7116(2014)06-0139-06

Effects of aerobic exercise combined with resveratrol on cardiomyocyte apoptosis factors TNF- α and Caspase-3 in type II diabetic rats

REN Jian-chang, WANG Hong-li, XIAO Guo-qiang

(School of Physical Education, South China Normal University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: In order to probe into the effects of aerobic exercise combined with resveratrol on cardiomyocyte apoptosis factors TNF- α and Caspase-3 in type 2 diabetic rats, the authors prepared 40 2-month old male SD rats, randomly selected 8 rats to form a normal control group (ZA), fed them with standard feedstuff, intraperitoneally injected a small dose of streptozotocin into the remaining rats on the basis of high-fat and high-carbohydrate diet to establish a type II diabetic rat model, divided type II diabetic model rats randomly into 4 groups, namely, a model calm group (TA), a model exercise group (TY), a model resveratrol gavage calm group (TB), and a model resveratrol gavage exercise group (TYB), let the rats in the exercise groups swim in a load free condition 6 days a week, 7 weeks later, checked the fasting blood sugar

level, blood fat index, morphological changes of myocardial tissue cells as well as myocardial TNF- α and Caspase-3 contents of the rats in various groups, and revealed the following findings: 1) in 30, 60 and 120 minutes after OGTT, the blood sugar concentration of the rats in groups TY, TB and TYB decreased significantly ($P<0.01$) as compared with the rats in group TA; as compared with the rats in group TA, the serum TC, TG and TDL levels of the rats in groups TY, TB and TYB decreased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$); as compared with the rats in group ZA, the cardiac muscle of the rats in group TA showed pathological changes; as compared with the rats in group TA, the myocardial pathological changes of the rats in groups TY, TB and TYB were alleviated significantly; 2) as compared with the rats in group ZA, TNF- α in myocardial tissue of the rats in group TA increased significantly ($P<0.01$); as compared with the rats in group TA, TNF- α in myocardial tissue of the rats in groups TY, TB and TYB decreased significantly ($P<0.05$); as compared with the rats in group TYB, the level of expression of TNF- α in myocardial tissue of the rats in groups TY and TB increased significantly ($P<0.05$); as compared with the rats in group ZA, Caspase-3 in myocardial tissue of the rats in group TA increased significantly ($P<0.01$); as compared with the rats in group TA, Caspase-3 in myocardial tissue of the rats in groups TY, TB and TYB decreased significantly ($P<0.05$); as compared with the rats in group TYB, Caspase-3 protein expression level of the rats in groups TY and TB increased significantly ($P<0.05$). The said findings indicate the followings: myocardial tissue of type II diabetic rats shows pathological changes; aerobic exercise, resveratrol and combined intervention may reduce the expression of cardiomyocyte apoptosis factors and improve pathological changes of myocardial tissue of diabetic rats by reducing TNF- α and Caspase-3 contents in myocardial tissue of diabetic rats; the cardiomyocyte apoptosis factor expression reducing effect produced by aerobic exercise and resveratrol combined intervention is better than that produced by aerobic exercise intervention or resveratrol intervention alone.

Key words: sports medicine; type II diabetes; aerobic exercise; resveratrol; cardiac muscle; TNF- α ; Caspase-3

糖尿病是一组由于胰岛素分泌缺陷及(或)其生物学作用障碍引起的以高血糖为特征的代谢性疾病^[1]。流行病学调查约 70% 的糖尿病患者最终死于心脑血管病变并发症^[2]。糖尿病心血管并发症包括冠状动脉病变和心肌病变,后者是与冠心病和瓣膜疾病无关的特异性糖尿病相关性心脏疾病,以心力衰竭为其表现。近年来大量的临床流行病学、病理学以及实验研究结果均证实糖尿病心肌病是独立的病理生理状态,是糖尿病的主要并发症之一。目前已经有研究证实心肌细胞凋亡在糖尿病心肌病病程发展中是导致心功能不全的重要原因。细胞凋亡参与了心血管疾病的发生发展过程^[3]。有研究表明耐力运动不仅可以在生理情况下调节心肌细胞凋亡,而且可以在病理情况下有保护心肌的作用。白藜芦醇是一种多酚类物质,其药理价值的发现源于流行病学观察到的所谓“法国悖论”^[4],大量的研究表明,白藜芦醇具有多种药理作用,具有保护心血管的作用^[5]。关于有氧运动及联合白藜芦醇对 II 型糖尿病大鼠心肌细胞凋亡信号的研究较少,尤其是有氧运动和白藜芦醇干预对心肌细胞凋亡因子影响的交互作用的研究尚未见报道。因此本研究通过高脂高糖膳食和小剂量链脲佐菌素注射建立 II 型糖尿病大鼠模型,对糖尿病大鼠分别进行有氧运动或白藜芦醇干预以及有氧运动联合白藜芦醇干预,检测心肌 TNF- α 和 Caspase-3 的含量,研究有氧运动或白藜芦醇以及有氧运动联合白藜芦醇对糖尿病心肌细胞凋亡因子的影响。

1 材料与方法

1.1 动物与分组

2 月龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只,体重(190.5 ± 10.7) g,由广州中医药大学实验动物中心提供。常规分笼喂养,自然光照,饲养环境温度(23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,自由饮水进食。普通饲料选用国家标准啮齿类动物混合饲料,由广州中医药大学动物实验中心提供。高脂饲料由广东省医学实验动物中心提供,具体成分:20%(质量比)蔗糖、10%(质量比)猪油、5%(质量比)蛋黄粉、0.2%(质量比)胆酸钠、64.8%(质量比)基础饲料。

基础饲料适应性喂养 1 周后,随机分组:正常对照组和 II 型糖尿病模型组,正常对照组大鼠 8 只基础饲料喂养,不加任何干预;模型组大鼠用高脂高糖饲料喂养,经 5 周后,腹腔注射小剂量链脲佐菌素(35 mg/kg),注射 3 d 后,测试随机血糖, $\alpha(\text{血糖}) \geq 16.7$ mmol/L,为暂时成模大鼠。1 周后复测大鼠随机血糖,以随机血糖仍维持在 $\alpha(\text{血糖}) \geq 16.7$ mmol/L 为 II 型糖尿病成模标准。随后成模大鼠随机分为 4 组,模型安静组(TA)8 只、模型运动组(TY)8 只、模型灌胃白藜芦醇安静组(TB)8 只、模型灌胃白藜芦醇运动组(TYB)8 只^[6]。

1.2 实验方案

白藜芦醇溶于双蒸水中制成(6 mg/mL)悬浊液,按照 45 mg/kg 的剂量对大鼠进行灌胃,灌胃组大鼠每周灌胃 7 d。模型安静组和模型运动组大鼠灌胃双蒸水。

运动组大鼠进行为期 7 周的不负重游泳训练,先进行 1 周的适应性训练(10 min/d),之后进行正式训练。

训练时间: 第1周 30 min/d、第2周 45 min/d、3~7周 60 min/d, 每周训练 6 d。运动时注意大鼠状态, 防止大鼠溺亡, 及时捞出大鼠粪便, 保持池水清洁。

水深 60 cm, 水温(32 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 。

1.3 取材

7 周游泳训练和白藜芦醇给药干预后, 停止干预 36 h(避免急性运动效应), 大鼠禁食 12 h, 检测空腹血糖及进行 OGTT(糖耐量测试)实验, 腹腔注射质量分数 10%水合氯醛($0.35 \sim 0.40$ mL/kg)进行麻醉, 腹主动脉取血 5 mL, 注入无菌试管中, 在 1 h 内, 4°C 、4 000 r/min 离心 10 min 后, 分离血清。同时, 在心尖部取心肌组织, 分为 2 块, 一块放入质量分数 10%甲醛溶液中固定, 制备石蜡切片, 进行心肌组织形态学观察; 另一块用锡箔纸包裹后立即放入液氮中保存, 待测心肌组织 Caspase-3 和 TNF- α 。

1.4 指标测定

用显微镜图像采集系统, 对组织切片进行形态学观察, 每张切片随机选取 3 个视野进行观察拍照, 并记录观察结果, 主要对心肌细胞形态、是否有炎性浸润、心肌细胞核着色, 细胞核形态、排列, 以及心肌纤维的排列结构等进行综合观察。

Western Blot 方法检测心肌组织 Caspase-3 和 TNF- α 的表达量。(1)蛋白质的样品制备: 取少量心肌组织放入研磨器, 按 1 mL RIPA+10 μL PMSF/100 mg 心肌组织的比例加入 RIPA 和 PMSF(先加 RIPA 再加 PMSF), 研磨约 30 min。将心肌组织研磨液转移到离

心管中, 4°C , 16 000 r/min 离心 30 min, 收集上清液, 样品分装冻存于 -80°C 冰箱备用。(2)Western-blot 实验过程按照《分子克隆实验指南》(第 2 版)方法进行 Western-blot 实验, 过程: 用酶标仪测定蛋白浓度 \rightarrow 配制 10%分离胶和 5%积层胶溶液 \rightarrow 样品与缓冲液混匀 \rightarrow 加样 \rightarrow 80 V 恒压电泳 \rightarrow 将蛋白转移至 PVDF 膜 \rightarrow 加入一抗孵育 PVDF 膜 \rightarrow 用缓冲液漂洗 PVDF 膜 3 次 \rightarrow 加入二抗孵育 PVDF 膜 \rightarrow 用缓冲液漂洗 PVDF 膜 3 次 \rightarrow 使用凝胶成像仪中观察、拍照, 然后用 ScionImage 图像分析系统对蛋白条带进行分析, 蛋白质的相对含量以目的蛋白与 β -actin 蛋白条带光密度的比值表示。

1.5 统计学分析

使用 SPSS19.0 统计软件处理数据, 结果用“均数 \pm 标准差”($\bar{x} \pm s$)表示, 统计学分析采用双因素方差分析和两样本 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异显著性, $P < 0.01$ 表示差异非常显著性。

2 结果及分析

2.1 各组大鼠空腹血糖和 OGTT 后血糖的变化

由表 1 可知:与 ZA 组比较, TA 组在 OGTT 4 个时段(空腹、30、60、120 min)血糖均显著性升高($P < 0.05$); 与 TA 组比较, TY、TB 和 TYB 在空腹时血糖浓度差异无显著性; OGTT 后 30、60 和 120 min 时间段, TY、TB 和 TYB 组血糖浓度与 TA 组相比较, 均非常显著性降低($P < 0.01$); 与 TY 和 TB 组比较, TYB 组 OGTT 后 30、60 和 120 min 血糖浓度非常显著性降低($P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠空腹血糖和 OGTT 后血糖的变化 ($\bar{x} \pm s$) mmol / L

组别	n/只	空腹	30 min	60 min	120 min
ZA	8	5.83 ± 0.46	8.01 ± 1.36	7.14 ± 1.12	6.45 ± 0.42
TA	8	$7.25 \pm 0.88^{1)}$	$27.88 \pm 1.40^{1)}$	$28.20 \pm 1.28^{1)}$	$21.80 \pm 1.56^{1)}$
TY	8	6.24 ± 0.62	$13.60 \pm 3.55^{2)}$	$11.28 \pm 1.58^{2)}$	$8.27 \pm 0.74^{2)}$
TB	8	6.60 ± 0.28	$16.65 \pm 3.60^{2)}$	$14.90 \pm 3.39^{2)}$	$11.90 \pm 2.21^{2)}$
TYB	8	6.40 ± 0.30	$9.97 \pm 1.17^{2)3)}$	$9.20 \pm 1.21^{2)3)}$	$7.20 \pm 0.44^{2)3)}$

1)与 ZA 组比较, $P < 0.01$; 2)与 TA 组比较, $P < 0.01$; 3)与 TY、TB 组比较, $P < 0.01$

2.2 实验大鼠血脂的比较

由表 2 可知, 与 ZA 组大鼠比较, TA 组大鼠血清 TC、TG、LDL 水平均显著升高($P < 0.05$); 经 7 周的实

验干预后, 与 TA 组比较, TY、TB、TYB 组大鼠血清 TG、TC 呈显著性下降($P < 0.05$), LDL 水平呈非常显著性下降($P < 0.01$)。

表 2 各组大鼠血脂浓度 ($\bar{x} \pm s$) 的比较 mmol / L

组别	n/只	TG	TC	HDL-c	LDL-c
ZA	8	0.91 ± 0.21	1.73 ± 0.12	0.78 ± 0.07	0.28 ± 0.02
TA	8	$1.39 \pm 0.34^{1)}$	$2.03 \pm 0.18^{1)}$	0.78 ± 0.09	$0.41 \pm 0.03^{1)}$
TY	8	$1.01 \pm 0.22^{2)}$	$1.68 \pm 0.23^{2)}$	0.74 ± 0.02	$0.26 \pm 0.03^{3)}$
TB	8	$0.94 \pm 0.17^{2)}$	$1.64 \pm 0.27^{2)}$	0.82 ± 0.17	$0.27 \pm 0.04^{3)}$
TYB	8	$0.93 \pm 0.10^{2)}$	$1.67 \pm 0.25^{2)}$	0.75 ± 0.23	$0.29 \pm 0.02^{3)}$

1)与 ZA 组比较, $P < 0.01$; 2)与 TA 组比较, $P < 0.05$; 3)与 TA 组比较, $P < 0.01$

2.3 实验大鼠心肌组织形态学观察

通过 HE 染色观察心肌组织, 发现 ZA 组大鼠心

肌细胞质呈现鲜红色, 未见胞浆嗜伊红性染色缺失, 心肌纤维排列规则, 心肌纤维膜清晰明显, 膜膜界限

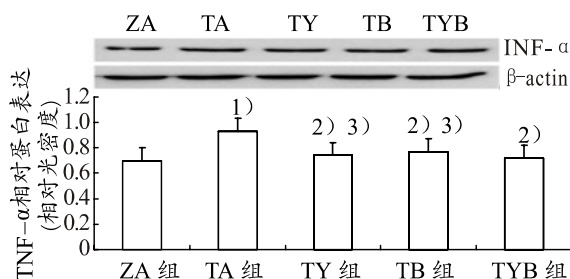
和细胞核清晰, 心肌细胞核着色正常为蓝色, 胞核呈卵圆形, 大小均匀, 位于心肌纤维的中央, 显示正常心肌细胞形态。

TA 组大鼠出现胞浆嗜伊红性染色缺失, 心肌细胞排列紊乱, 可见心肌细胞膜消失, 心肌细胞界限不清, 横纹模糊, 心肌细胞肥大、细胞间隙增大, 有明显的纤维溶解、断裂及变性现象, 细胞核聚集, 部分细胞核溶解, 空泡样变可见炎症细胞浸润和成纤维细胞浸润等病理变化。

TY、TB、TYB 组心肌组织病理变化不同程度的减轻, 心肌排列尚可, 相同面积视野下肿胀、变形、染色缺失细胞核数目减少, 炎症细胞浸润和成纤维细胞浸润明显减少, 空泡样变减少。

2.4 心肌 TNF- α 的蛋白表达量

与 ZA 组比较, TA 组心肌 TNF- α 的表达量非常显著性升高($P<0.01$), 与 TA 组比较, TY、TB、TYB 组心肌 TNF- α 的表达量显著性降低($P<0.05$)。与 TYB 组比较, TY、TB 组心肌 TNF- α 的表达量显著性升高($P<0.05$)(见图 1)。

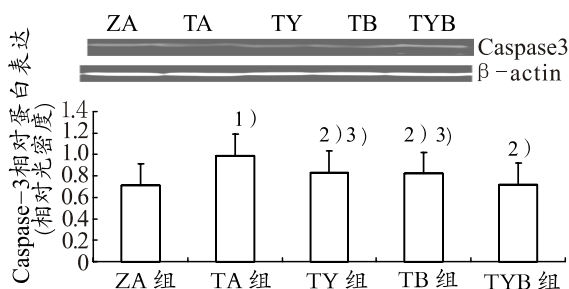


1) 与 ZA 组相比, $P<0.01$; 2) 与 TA 组相比, $P<0.05$;
3) 与 TYB 组相比, $P<0.05$

图 1 心肌 TNF- α 的蛋白表达量

2.5 心肌 caspase-3 蛋白的表达

与 ZA 组相比, TA 组心肌 caspase-3 蛋白表达水平显著性上升($P<0.01$); 与 TA 组相比较 TA、TY、TB 组心肌 Caspase-3 蛋白表达水平显著性下降($P<0.05$)。与 TYB 组相比较, TY 组、TB 组心肌 Caspase-3 蛋白表达水平显著性升高($P<0.05$)(见图 2)。



1) 与 ZA 组相比, $P<0.01$; 2) 与 TA 组相比, $P<0.05$;
3) 与 TYB 组相比, $P<0.05$

图 2 心肌 Caspase-3 蛋白表达量

3 讨论

3.1 有氧运动及联合白藜芦醇对 II 型糖尿病大鼠血糖、血脂及心肌细胞形态学的影响

与安静对照组大鼠比较, 各模型组大鼠空腹血糖均明显升高, 经 7 周的实验干预后, 与 TA 组相比 TY、TB、TYB 组大鼠血糖均有下降趋势。Morifuji 等^[7]发现 3 周的有氧运动可降低 II 型糖尿病大鼠血糖的水平, 与本研究的结果相一致。根据国际大鼠糖尿病诊断标准: ①OGTT 120 min α (血糖) >11.1 mmol/L; ②最高 α (血糖) >16.7 mmol/L。本实验正常组大鼠空腹血糖值在正常范围内, OGTT 120 min 血糖以及最高血糖均处于正常范围, 说明本实验大鼠在饲养期间健康状况良好, 空腹血糖和 OGTT 均无异常。与正常安静组大鼠比较, TA 组大鼠血清 TC、TG、LDL-c 水平均显著升高, 差异具有显著性; 经 7 周的实验干预后, 与 TA 组比较, TY、TB、TYB 组大鼠血清 TC、TG 均明显降低, 差异具有显著性, TY、TB、TYB 组大鼠血清 LDL-c 非常显著降低。说明 7 周有氧运动及单纯的白藜芦醇干预, 或有氧运动联合白藜芦醇干预均可降低 II 型糖尿病大鼠血清 TC、TG、LDL 的水平。低密度脂蛋白的氧化^[8](oxidized low density lipoprotein, oxLDL)能够促进内皮细胞凋亡通道的激活, 包括细胞色素 c 释放的线粒体膜电势的下降和介导细胞凋亡的 Caspase-3 的释放。有氧运动、白藜芦醇及联合干预可能通过降低血清中的低密度脂蛋白的浓度, 减少因低密度脂蛋白氧化引起的凋亡通道的激活。

II 型糖尿病大鼠长期的高血糖、高血脂会引起心肌组织形态学的改变, 研究结果发现: TA 组大鼠心肌组织出现胞浆嗜伊红性染色缺失, 心肌细胞排列紊乱, 可见心肌细胞膜消失, 心肌细胞界限不清, 横纹模糊, 心肌细胞肥大、细胞间隙增大, 有明显的纤维溶解、断裂及变性现象, 部分细胞核溶解, 空泡样变可见炎症细胞浸润和成纤维细胞浸润等病理变化。对比 ZA 组, 说明本实验中 II 型糖尿病大鼠已出现心肌病理性变化。

TY、TB、TYB 组心肌组织病理性变化呈现不同程度的减轻, 心肌排列尚可, 相同面积视野下细胞肿胀、变形、染色缺失细胞核数目减少, 炎症细胞浸润和成纤维细胞浸润明显减少, 空泡样变减少。说明 7 周的有氧运动或单纯的白藜芦醇干预, 以及有氧运动联合白藜芦醇干预均可减轻 II 型糖尿病大鼠心肌组织病理性变化的程度。

3.2 有氧运动及联合白藜芦醇对 TNF- α 介导的 II 型糖尿病大鼠心肌细胞凋亡通路信号分子 Caspase-3 表达的影响

TNF- α 是一种多效的促炎性细胞因子, 在炎症、免疫调节反应、细胞增殖与分化以及抗病毒反应中发挥重要作用。TNF- α 参与了对心肌细胞凋亡的调节, 早期的研究已经发现 TNF- α 以及其受体 TNFR 与心肌细胞凋亡和某些心血管疾病有关^[9]。并且心肌细胞产生的 TNF- α 具有心肌组织特异性^[10-11]。

Sugano 等^[12]分别给急性心肌梗死大鼠和缺血再灌注大鼠的局部缺血的心肌处注入表达 sTNFR(soluble TNF receptor, sTNFR)的质粒, 通过抑制 TNF- α 的生物学活性, 进而抑制心肌细胞凋亡, 减少心肌梗死面积。Chung 等^[13]在动物学实验中也证实通过抑制 TNF- α 可减少心力衰竭中心肌细胞凋亡与炎症反应, 改善心脏功能。Kurdmeyer 等^[14]在敲除 TNF- α 受体 TNFR 基因的大鼠急性心肌梗死模型中发现, 早期的心肌梗死中, 可抑制心肌细胞凋亡对心脏起保护作用。

本实验中 TA 组与 ZA 组相比, 心肌 TNF- α 的表达量非常显著性升高, TY、TB、TYB 组与 TA 组相比心肌 TNF- α 的表达量显著性降低。说明Ⅱ型糖尿病大鼠心肌细胞 TNF- α 的表达量上升, 有氧运动、白藜芦醇单独或联合干预均可下调Ⅱ型糖尿病大鼠心肌细胞 TNF- α 的表达。双因素方差分析, 有氧运动联合白藜芦醇对Ⅱ型糖尿病大鼠心肌细胞 TNF- α 的表达存在交互作用, 与 TYB 组比较, TY、TB 组心肌 TNF- α 的表达量显著性升高。提示有氧运动联合白藜芦醇干预较单一干预进一步下调心肌 TNF- α 的表达。有氧运动、白藜芦醇及联合干预可通过下调Ⅱ型糖尿病大鼠心肌细胞 TNF- α 的表达减轻 TNF- α 所介导的心肌细胞凋亡。

Caspase-3 是细胞凋亡的主要效应因子和最重要的凋亡执行者, 在凋亡执行阶段, 负责全部和(或)部分的关键性蛋白酶切, 使之激活或灭活, 其水解底物分别参与 DNA 修复、mRNA 降解, 固醇生物合成和细胞骨架的重建等^[15-16]。

Condorelli 等^[17]使用大鼠 α 肌球蛋白重链启动子诱导心肌组织特异性 Caspase-3 基因过表达, 发现在心肌缺血-再灌注模型中, Caspase-3 转基因大鼠的心肌梗塞范围更大, 更易因心力衰竭死亡。周舟等^[18]研究发现, 缺氧 3 h 即可造成心肌细胞 Caspase-3 的基因表达上调, 缺氧 6 h 会使 Caspase-3 基因表达达到峰值水平, 并在随后的观察时间里维持高表达状态。上述实验均验证了 Caspase-3 的激活在的心肌细胞凋亡过程中的作用。

本实验中 TA 组与 ZA 组相比心肌 Caspase-3 蛋白表达水平上升; TY、TB、TYB 组与 TA 组相比, 心肌 Caspase-3 蛋白表达水平下降。并且有氧运动联合白藜

芦醇存在交互作用, 使心肌 Caspase-3 的浓度进一步降低, 与此同时, 可以看到, 与 TYB 组相比较, TY 组、TB 组心肌 Caspase-3 蛋白表达水平显著性升高。Caspase-3 执行凋亡的效应相对弱化, 从而在一定程度上抑制了心肌细胞凋亡。提示有氧运动联合白藜芦醇干预对抑制心肌凋亡的效果优于单一的有氧运动或白藜芦醇干预。

在心肌细胞凋亡的外部通路中, TNF- α 作为上游因子, 与 Caspase-3 的激活有着密切的关系。TNF- α 与受体 TNF-R1 结合可激活多条信号转导通路, TNF-R1 的激活介导了包括细胞凋亡在内的 TNF- α 的大部分生物学活性^[19-20]。本实验中有氧运动、白藜芦醇干预及两者的联合干预均降低了心肌 TNF- α 的浓度, 推测可能是由于减少了 TNF- α 与 TNF-R1 结合的机会, 使得募集的接头分子 FADD 数量减少, Caspase 家族的级联放大作用减弱, 从而下调了执行凋亡效应的 Caspase-3 的表达水平, 因而在一定程度上抑制了心肌细胞凋亡, 对Ⅱ型糖尿病大鼠心肌起到了保护作用。

有氧运动、白藜芦醇及联合干预可减轻Ⅱ型糖尿病大鼠心肌病理性变化的程度, 其原因可能是有氧运动、白藜芦醇干预及联合干预可降低心肌 TNF- α 的表达水平, 降低 Caspase-3 蛋白的表达水平。

Ⅱ型糖尿病大鼠心肌组织呈现病理性变化, 有氧运动、白藜芦醇及联合干预可能通过降低糖尿病大鼠心肌组织 TNF- α 、Caspase-3, 降低心肌细胞凋亡因子的表达, 改善糖尿病大鼠心肌组织的病理性变化。有氧运动联合白藜芦醇干预下调心肌凋亡因子表达的效果优于单一的有氧运动或白藜芦醇干预。

参考文献:

- [1] Albright A. What is public health practice telling us about diabetes[J]. J Am Diet Assoc, 2008, 108(4): S12-8.
- [2] Air E L, Kissela B M. Diabetes, the metabolic syndrome, and ischemic stroke: epidemiology and possible mechanism[J]. Diabetes Care, 2007, 30(12): 3131-3140.
- [3] Reed M J, Meszaros K, Entes L J, et al. A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat[J]. Metabolism, 2000, 49: 1390-1394.
- [4] Opie L H, Lecour S. The red wine hypothesis is from concepts to protective signaling molecules[J]. Eur Heart J, 2007, 28(14): 1683-1693.
- [5] Shen Min, Jia Guo-liang, Wang Yue-min, et al. Cardioprotective effect of resveratrol pretreatment on

- myocardial ischemia-reperfusion induced injury in rats[J]. *Vascular Pharmacology*, 2006, 45: 122-126.
- [6] 曹胶, 肖国强. 有氧运动和白芦藜醇对 II 型糖尿病大鼠肝脏氧化应激及 NF-kBp65 的影响[J]. *体育学刊*, 2013, 6(20): 138-144.
- [7] Morifuji, Murakami S, Fujita N, et al. Exercise training prevents decrease in luminal capillary diameter of skeletal muscles in rats with type 2 diabetes[J]. *Scientific World Journal*, 2012, 8(19): 3-11.
- [8] Luo T I, Deng Z Y, Li X P, et al. Triolein and trilinolein ameliorate oxidized low-density lipoprotein-induced oxidative stress in endothelial Cells[J]. *Lipids*, 2014, 03, 07: 014-025.
- [9] 朱汉华, 李浪. TNF- α 介导的心肌细胞凋亡信号转导通路在心肌损伤中的作用[J]. *心血管病学进展*, 2005, 29(2): 329-332.
- [10] Ceconi C, Curello S, Baehetti T, et al. Tumor necrosis factor in congestive heart failure: a mechanism of disease for the new millennium[J]. *Prog Cardiovasc Dis*, 2010, 41: 25-30.
- [11] Sugano M, Koyanagi M, Tsuchida K, et al. In vivo gene transfer of soluble TNF- α receptor1 alleviates myocardial infarction[J]. *FASEBJ*, 2012, 16(11): 1421-143.
- [12] Sugano M, Hata T, Tsuchida K, et al. Local delivery of soluble TNF- α receptor1 gene reduces infarct size following ischemia/reperfusion injury in rat[J]. *Mol Cell Biochem*, 2004, 266: 127-132.
- [13] Chung E S, Packer M, Lo K H, et al. Randomized, double-blind, Placebo-controlled, Pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor- α , in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the Anti-TNF Therapy Against Congestive Heart failure (ATTACH) Trial[J]. *Circulation*, 2003, 107: 3133-3140.
- [14] Kurrelmeyer K M, Michael L H, Baumgarten G, et al. Endogenous tumor necrosis factor protects the adult cardiac myocyte against ischemic-induced apoptosis in a murine model of acute myocardial infarction[J]. *PNA*, 2009, 97: 5456-5461.
- [15] Ellis H M, Horritz H R. Genetic control of programmed cell death in the nematode *C. elegans*[J]. *Cell*, 2010, 44(6): 817-829.
- [16] Brenner C, Cadiou H, Viera H L, et al. Bcl-2 and Bax regulate the channel activity of the mitochondrial adenine nucleotide translocator[J]. *Oncogene*, 2000, 19(3): 329-336.
- [17] Condorelli G, Roncarati R, Ross J Jr, et al. Heart-targeted over expression of caspase-3 in mice increases infarct size and depresses cardiac function[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(17): 9977-9982.
- [18] 周舟, 王小华, 朱光旭, 等. 缺氧诱导心肌细胞凋亡与 Caspase-3 激活及细胞内钙超载的关系[J]. *Chi J Appl Physiol*, 2005, 21(1): 10-14.
- [19] G. 克劳斯. 信号转导与调控的生物化学[M]. 孙超, 刘景生, 等译. 北京: 化学工业出版社, 2005: 381-394.
- [20] 朱汉华, 李浪. TNF- α 介导的心肌细胞凋亡信号转导通路在心肌损伤中的作用[J]. *心血管病学进展*, 2008, 29(2): 329-331.

