

改良隔日禁食联合运动的减脂效果及对 FNDC5/Irisin-UCP1 通路的影响*

付悦^{1,2}, 高扬², 王璐³, 郭春杰², 刘雅轩², 于亮^{2Δ}

(1. 苏州市体育科学研究所, 江苏苏州 215131; 2. 北京体育大学运动人体科学学院, 北京 100084; 3. 青岛黄海学院, 山东青岛 266555)

【摘要】目的: 探究改良隔日禁食联合运动对大鼠脂肪量、肌肉量的影响以及对血清鸢尾素(Irisin)、FNDC5 和 UCP1 蛋白的变化。**方法:** 选取 32 只健康的 8 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠, 随机分为对照组(Con, 8 只)、运动组(Exer, 8 只)、改良隔日禁食组(ADMF, 8 只)和改良隔日禁食联合运动组(ADMF-Exer, 8 只), Exer 组进行中等运动强度跑台运动(60 min/d, 5 日/周), ADMF 组部分禁食和自由摄食隔天交替进行, 禁食日给予 25% 基础能量的饲料, ADMF-Exer 组进行两种联合干预, 称量记录大鼠每日进食量, 每周测量大鼠体重。干预 4 周后检测大鼠体脂率, 心尖取血和腹主动脉取血致死, 保留并离心血清, 称量大鼠双侧腓肠肌、双侧肾周脂肪和肩胛处棕色脂肪湿重, 并取样制作石蜡切片和进行 HE 染色, 统计细胞面积; 用 ELISA 检测血清 Irisin 水平, Western blot 实验检测腓肠肌中 FNDC5 蛋白表达, 脂肪组织中 UCP1 蛋白表达。**结果:** 4 周干预后, 与 Con 组相比, Exer 组、ADMF 组和 ADMF-Exer 组三个组的能量摄入、体重和体脂都明显降低($P < 0.05$), 白色脂肪湿重/体重和脂肪细胞面积显著减少($P < 0.01$), 肩胛脂肪湿重/体重无显著差异($P > 0.05$), 与 Con 组相比, ADMF 组腓肠肌湿重/体重明显减少($P < 0.05$), ADMF-Exer 组明显增多($P < 0.05$), Exer 组和 ADMF-Exer 组肌肉横截面积增大($P < 0.05$), ADMF-Exer 组的腓肠肌 FNDC5 蛋白含量、血清 Irisin 水平和脂肪 UCP1 蛋白表达都显著升高($P < 0.05$); 4 周干预后, 与 Exer 组相比, ADMF 组和 ADMF-Exer 组能量摄入都明显降低($P < 0.01$), ADMF-Exer 组体重明显降低($P < 0.05$), 与 Exer 组相比, ADMF 组和 ADMF-Exer 组体脂含量、白色脂肪湿重/体重和肩胛脂肪湿重/体重无显著性差异($P > 0.05$), ADMF-Exer 组脂肪细胞面积显著减小($P < 0.05$), 与 Exer 组相比, ADMF 组腓肠肌湿重/体重显著降低($P < 0.05$), 与 Exer 组相比, ADMF-Exer 组 FNDC5 蛋白含量、血清 Irisin 和脂肪 UCP1 蛋白表达都显著升高($P < 0.05$)。**结论:** 改良隔日禁食联合运动干预可有效控制大鼠的体重、减少体脂, 其机制可能是通过 FNDC5/Irisin-UCP1 通路, 诱导白色脂肪组织棕色化和增加棕色脂肪产热作用。

【关键词】 改良隔日禁食; 鸢尾素; 运动; 减脂; 大鼠

【中图分类号】 Q445

【文献标识码】 A

【文章编号】 1000-6834(2024)01-193-007

【DOI】 10.12047/j.cjap.6323.2022.107

Effects of alternate-day modified fasting combined exercise on fat reducing and the FNDC5/Irisin-UCP1 pathway

FU Yue^{1,2}, GAO Yang², WANG Lu³, GUO Chun-jie², LIU Ya-xuan², YU Liang^{2Δ}

(1. Suzhou Institute of Sport Science, Suzhou 215131; 2. School of Sport Science, Beijing Sport University, Beijing 100084;

3. Qingdao Huanghai University, Qingdao 266555, China)

【ABSTRACT】Objective: The effects of Alternate-day modified fasting combined exercise on fat mass, muscle mass, and serum Irisin, FNDC5 and UCP1 proteins were investigated in rats with 4 weeks of aerobic exercise and modified alternate-day fasting intervention. **Methods:** Thirty-two healthy 8-week-old SPF male SD rats were randomly divided into control group, exercise group, alternate-day modified fasting and alternate-day modified fasting combined with exercise group, 8 rats in each group. The exercise group performed treadmill exercise with moderate exercise intensity(60 min/d, 5 d/w), the alternate-day modified fasting group alternated between fasting and free feeding every other day, and fed 25% basal energy feed on fasting days, and the alternate-day modified fasting combined exercise group received two combined interventions. After 4 weeks of intervention, the body fat rate of rats was measured by apical blood sampling and abdominal aortic blood sampling, and the serum was preserved and centrifuged, and the wet weights of bilateral gastrocnemius, bilateral perirenal fat and brown fat at the scapula were weighed, and samples were collected for paraffin sectioning and HE staining, and the cell areas were counted; serum Irisin levels were measured by ELISA, and FNDC5 protein expression in gastrocnemius and UCP1 protein expression in adipose tissue were detected by Western blot. **Results:** After 4 weeks of intervention, compared with the Con group, energy intake, body weight and body fat were decreased significantly in the Exer, ADMF and ADMF-Exer groups ($P < 0.05$), the wet weight/body weight and adipocyte area of white fat were reduced significantly ($P < 0.01$), and there was no

significant difference in scapular fat wet weight/body weight ($P>0.05$). Compared with the Con group, the gastrocnemius wet weight/body weight in the ADMF group was reduced significantly ($P<0.05$), while that in the ADMF-Exer group was increased significantly ($P<0.05$), the muscle cross-sectional areas in the Exer group and the ADMF-Exer group were increased ($P<0.05$), and the content of gastrocnemius FNDC5 protein, serum Irisin level and expression of adipose UCP1 protein in the ADMF-Exer group were increased significantly ($P<0.05$). After 4 weeks of intervention, energy intake was reduced significantly in both ADMF and ADMF-Exer groups ($P<0.01$) and body weight of ADMF-Exer group was decreased ($P<0.05$) compared with the Exer group. Compared with the Exer group, there were no significant differences in body fat content, white fat wet weight/body weight and scapular fat wet weight/body weight between ADMF group and ADMF-Exer group ($P>0.05$), and adipocyte area in ADMF-Exer group was reduced significantly ($P<0.05$). Compared with the Exer group, the gastrocnemius muscle wet weight/body weight was reduced significantly in the ADMF group ($P<0.05$), and the expression of FNDC5 protein, serum Irisin and adipose UCP1 protein in the ADMF-Exer group were increased significantly compared with the Exer group ($P<0.05$). **Conclusion:** Alternate-day modified fasting combined with exercise intervention can effectively control body weight and reduce body fat in rats, and the mechanism may be through the FNDC5/Irisin-UCP1 pathway to induce browning of white adipose tissue and increase thermogenesis of brown fat.

[KEY WORDS] alternate-day modified fasting; Irisin; exercise; lose fat; rats

禁食是通过减少能量摄入来减脂的一种健康的生活方式,不仅可以改善心脑血管疾病,还有促进神经可塑性和抗击癌症等功能^[1-3]。改良隔日禁食(alternate-day modified fasting, ADMF)是在隔日禁食(完全禁食与摄食隔日交替进行)的基础上,在禁食日摄入25%基础能量食物的一种禁食方法^[4],这种方法不会使受试者产生焦躁情绪,且可以维持日常体力活动水平^[5, 6]。

鸢尾素(Irisin)是一种新的运动因子^[7],能够“cross-talk”骨骼肌和脂肪组织,促进白色脂肪组织的“褐变”,上调脂肪组织中解偶联蛋白1(uncoupling protein-1, UCP1),调节脂肪产热作用。FNDC5(fibronectin type III domain containing)是Irisin的前体蛋白,运动可以通过改善能量代谢通路刺激FNDC5水解为Irisin分泌到循环系统中,作用于脂肪组织^[8]。禁食也会引起机体类似于有氧运动一样的应激变化,激活FNDC5/Irisin-UCP1信号通路,刺激白色脂肪组织棕色化,燃烧脂肪达到减脂的目的^[9, 10]。为了寻求更加优化的减脂方法,本研究建立改良隔日禁食联合有氧运动实验模型,以安静饲养为对照组,运动组为对比,通过测量大鼠体重、体脂,脂肪与骨骼肌的湿重和细胞面积等形态指标,探究改良隔日禁食联合运动对大鼠脂肪含量和骨骼肌质量的影响,检测骨骼肌FNDC5、脂肪UCP1蛋白表达及血清Irisin的含量,尝试从Irisin角度探究改良隔日禁食联合运动对白色脂肪组织棕色化的部分作

用机制。

1 材料与方法

1.1 研究对象

8周龄SPF级雄性大鼠32只,体重(300±20)g,(购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号SCXK(京)2019-0009),在北京体育大学SPF级动物实验室饲养、训练,相对湿度45%~55%,温度20~24℃,昼夜明暗交替各12h,大鼠喂养普通饲料(D12450B),热量为3.42 kcal/g。32只大鼠随机分为对照组(Con组,8只)、运动组(Exer组,8只)、改良隔日禁食组(ADMF组,8只)改良隔日禁食联合运动组(ADMF-Exer组,8只)。

1.2 模型建立

1.2.1 运动方案 跑台运动预适应5d,之后第一周坡度为0°,15 m/min,从第二周开始坡度5°,18 m/min,60 min/d,5日/周。实验方案经北京体育大学伦理委员会批准。

1.2.2 禁食方案 参考文献[11, 12]建立改良隔日禁食模型。大鼠分笼饲养,预适应期间每日给定50 g/只饲料,称量并计算大鼠每日消耗饲料量,发现大鼠每日消耗饲料量无统计学差异,计算得出25%基础能量的饲料为每日每只6.6 g。禁食日给予6.6 g饲料,在1 h内吃完,自由饮水;摄食日自由进食,给予饲料50 g,第2日同一时间称量剩余饲料量。实验方案经北京体育大学伦理委员会批准。

1.3 样品的采集与处理

4周干预实验后,大鼠禁食24 h,采用戊巴比妥钠进行腹腔注射麻醉,心尖取血和腹主动脉取血致死,将血液离心保存上清,用于ELISA实验检测,依次分离双侧腓肠肌、肾周脂肪和肩胛处棕色脂肪,称

*【基金项目】国家自然科学基金资助项目(31500964);霍英东教育基金会资助(151095);中央高校基本科研业务费专项资金资助;北京体育大学自主科研课题(2021ZD001,校2020023)

【收稿日期】2022-05-10【修回日期】2022-09-28

△【通讯作者】Tel: 010-62984792; E-mail: yuliang@bsu.edu.cn

量湿重,并将腓肠肌取适量大小进行 OCT 包埋以制作冰冻切片,将上述脂肪组织取适量投入 4% 多聚甲醛溶液试管中以制作石蜡包埋样品,剩余组织留存以用于 Western blot 实验。

1.4 大鼠体重、体脂测定

在每周同一时间测量大鼠体重;在实验干预前后对大鼠进行双能 X 线吸收测量法 (DEXA) 测量其体脂率。

1.5 蛋白印迹测试

将样品 (骨骼肌和脂肪等) 取 0.1 g 置于 EP 管中剪碎,逐次加入含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液 1 000 μ l,冰浴匀浆后,4 $^{\circ}$ C 静止 30 min,然后 12 000 r/min 条件下离心 8 min,取 700 μ l 上清。用 BCA 蛋白定量试剂盒 (Thermo Fisher 公司) 测定蛋白浓度,加入对应剂量的 RIPA 裂解液和 5 \times loading buffer,将各样品浓度调为一致,100 $^{\circ}$ C 恒温水浴箱中加热 10 min,冷却后分装在 -40 $^{\circ}$ C 备用。

Western blot 检测腓肠肌中 FNDC5 蛋白表达、肾周脂肪组织和肩胛棕色脂肪组织中 UCPI 蛋白表达。加入样品 20 μ l/well,采用 12% 分离胶浓度,电泳起始电压为 80 V (电泳仪, BIO-RAD 公司),待 Maker 明显分层之后把电压调至 120 V,电泳完成后 300 mA 转膜 90 min (电转仪, BIO-RAD 公司),将 PVDF 膜置于 5% 的 BSA 封闭液中封闭摇晃 3 h。一抗浓度分别为 FNDC5 (浓度 1 : 2 000, Abcam 公司)、GAPDH (浓度 1 : 2 000, 中杉金桥生物技术公司)、 β -actin (浓度 1 : 1 000, Abcam 公司)、UCPI (肾周脂肪组织浓度 1 : 1 000, Abcam 公司)、UCPI (肩胛脂肪组织浓度 1 : 5 000, Abcam 公司),室温慢摇 30 min 后 4 $^{\circ}$ C 过夜。次日用 TBST 洗膜 3 次,敷二抗 (浓度 1 : 2 000) 置于摇床 1.5 h,洗膜 3 次后曝光。利用 Image Lab 5.1 软件分析条带灰度值。骨骼肌蛋白表达量用目的蛋白/GAPDH 计算,脂肪蛋白表达量用 UCPI/ β -actin 计算。

1.6 ELISA 测试

使用 Rat Irisin elisa kit 试剂盒 (Andy gene) 测定大鼠血清 Irisin,将规定剂量的标准品和血清样品加入酶标板,留出空白孔,用封板膜封住酶标板放入酶标仪中,37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min。用排枪加洗涤液,反复洗涤 5 次,加入酶标试剂,封膜后 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min。向各孔汇总加入显影剂 A 和 B,摇匀封膜后避光显色 15 min。最后加入终止液,置于酶标仪 (BIO-RAD

公司) 中进行测试。

1.7 冰冻切片和免疫荧光

将 OCT 包埋好的样品在冰冻切片机 (Leica 公司 CM1850) 中切好并固定在防脱载玻片上,-80 $^{\circ}$ C 保存。将带有样本的防脱载玻片放入 4% 多聚甲醛中固定 10 min (温度 4 $^{\circ}$ C),再放入 0.3% 的 PBST 中在摇床上破膜 30 min,0.1% PBST 清洗 3 \times 5 min,滤纸吸水后用免疫组化笔标示样本范围,5% 的羊血清封闭 30 min,加入一抗 (Laminin 比例为 1 : 500),4 $^{\circ}$ C 过夜。次日用 0.1% PBST 清洗 3 \times 20 min,再次画圈巩固样本范围,避光条件下加入二抗 (Laminin 比例为 1 : 500),室温敷 1.5 h。用 0.1% PBST 清洗 3 \times 20 min,DAPI 封片。运用激光共聚焦显微镜 (Leica 公司 TCS SP8) 观察样本并拍摄储存。

1.8 石蜡切片和 HE 染色

将脂肪组织样本用流水冲洗 12 h 后脱水浸蜡,将包埋浸好蜡的样本凝固切片备用。切片进行脱蜡、水化,用苏木素染料染色 12 min,流水冲洗 1 min,依次放入 85%、95% 的酒精中脱水,用伊红染料复染 5 min,流水冲洗 1 min,酒精脱水,最后中性树脂封片。在显微镜下观察并保存图像信息。使用 Case Viewer 软件将图像调整为 400 倍镜下并保存,运用 Image-Pro plus 软件统计脂肪细胞面积。

1.9 统计学处理

所有实验数据采用平均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示,采用 SPSS 22.0 统计学软件进行单因素方差分析,方差齐时采用 LSD 法,方差不齐采用 Tamhane 法。

2 结果

2.1 摄入能量统计

大鼠摄入饲料 (g) \times 饲料热量 (3.42 kcal/g) 计算得到大鼠摄入能量。与 Con 组 (2647.76 \pm 9.71) kcal 相比,Exer 组 (2557.75 \pm 8.57) kcal、ADMF 组 (2165.61 \pm 8.32) kcal 和 ADMF-Exer 组 (2117.73 \pm 9.13) kcal 的大鼠摄入能量都显著降低 ($P<0.01$),与 Exer 组相比,ADMF 组和 ADMF-Exer 组摄入能量显著降低 ($P<0.01$)。

2.2 体重和体脂变化

2.2.1 体重 结果显示,随着时间的延长,三个干预组的体重与同期 Con 组相比差距逐渐增大,4 周干预后四组大鼠体重都有所上升,但三个干预组体重都小于 Con 组 ($P<0.01$),第 4 周 ADMF-Exer 组体重显著低于 Exer 组 ($P<0.05$,表 1)。

Tab. 1 Changes in body weight of rats during the 4-week intervention period(g, $\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Time	Con	Exer	ADMF	ADMF-Exer
Acclimation	338.00±18.01	333.33±17.68	346.86±10.81	328.25±19.50
Day 7	379.00±23.38	346.22±21.29**	372.14± 8.53#	354.25±19.98*
Day 14	413.00±30.78	380.56±18.62**	390.57±12.19*	363.63±19.51**
Day 21	448.56±28.97	408.33±18.84**	398.71±18.46**	387.38±17.90**
Day 28	468.11±31.90	417.78±23.74**	417.01±13.80**	394.29±10.19***#

Con: Control group; Exer: Aerobic exercise group; ADMF: Alternate-day fasting group; ADMF-Exer: Alternate-day modified fasting combined with exercise group

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Con group at same time course; # $P<0.05$, *** $P<0.01$ vs Exer group at same time course

2.2.2 体脂 结果显示,实验干预前各组大鼠体脂含量无显著差异($P>0.05$)。4周干预后,与Con组相比,三个干预组的体脂含量明显降低($P<0.05$),与Exer相比,ADMF组和ADMF-Exer组的体脂含量无显著差异($P>0.05$,图1,表2)。

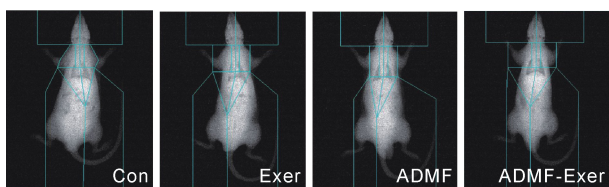


Fig. 1 The DEXA results of rats after 4 weeks

Con: Control group; Exer: Aerobic exercise group; ADMF: Alternate-day fasting group; ADMF-Exer: Alternate-day modified fasting combined with exercise group

Tab. 2 Body fat percentage of rats(% , $\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Group	Before intervention	After intervention
Con	34.93±2.11	36.20±3.25
Exer	34.77±1.95	29.87±0.42*
ADMF	31.10±1.30	27.07±2.09**
ADMF-Exer	33.37±3.00	29.10±3.88*

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Con group at same time course

2.3 脂肪湿重/体重与脂肪面积

2.3.1 脂肪湿重/体重 4周干预后,与Con组相比,三个干预组的肾周脂肪湿重/体重的值显著降低($P<0.05$),而肩胛处棕色脂肪湿重/体重有升高但无显著差异($P>0.05$,表3)。

2.3.2 脂肪面积 4周干预后,与Con组相比,Exer组、ADMF组和ADMF-Exer组的肾周脂肪面积显著变小($P<0.01$,表3)。在400倍镜下观察脂肪细胞,可以明显看出ADMF组和ADMF-Exer组的脂肪细胞面积变小、染色质加深,有类似于棕色脂肪样细胞出现(图2),提示禁食后有向棕色脂肪转化的趋势。

Tab. 3 Wet weight of fat/weight($\times 10^{-3}$) and lipid droplet area of perirenal fat (μm^2) in rats after 4 weeks($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Group	Wet weight of Perirenal fat/weight	Wet weight of Brown adipose/weight	Lipid droplet area of perirenal fat
Con	10.51±3.41	0.49±0.11	4065.88±2227.94
Exer	5.55±1.64**	0.59±0.21	2660.65±1324.41**
ADMF	4.99±1.33**	0.50±0.13	2114.14±1297.93***#
ADMF-Exer	5.84±2.26*	0.61±0.20	2444.44±1321.33**

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Con group; # $P<0.05$, *** $P<0.01$ vs Exer group

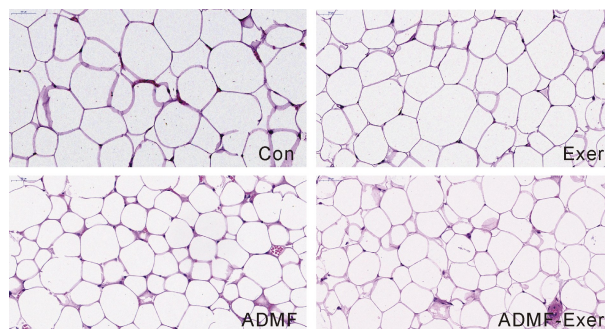


Fig. 2 Perirenal fat tissue under HE staining (uncoulored $\times 400$)

Con: Control group; Exer: Aerobic exercise group; ADMF: Alternate-day fasting group; ADMF-Exer: Alternate-day modified fasting combined with exercise group

在400倍下观察肩胛脂肪组织形态,可以看出与Con组相比,运动和禁食干预后肩胛处的棕色脂肪变多(图3)。结果提示,禁食干预会使白色脂肪有向棕色脂肪转化的趋势。

2.4 骨骼肌湿重/体重与横截面积

2.4.1 骨骼肌湿重/体重 4周干预后,与Con组相比,Exer组的腓肠肌湿重/体重无显著性差异($P>0.05$),ADMF组显著降低($P<0.05$),ADMF-Exer组显著升高($P<0.05$),与Exer组相比,ADMF组腓肠肌湿重/体重显著降低($P<0.05$,表4)。

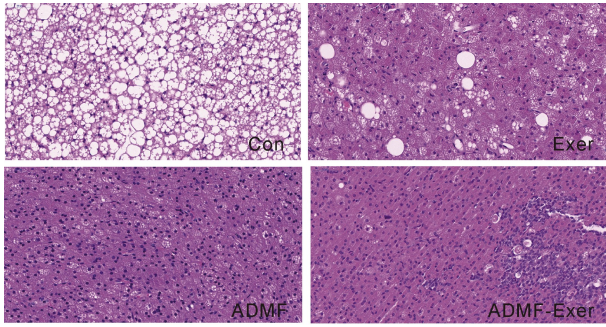


Fig. 3 Brown fat tissues in scapula under HE staining(uncolored x400)

Con: Control group; Exer: Aerobic exercise group; ADMF: Alternate-day fasting group; ADMF-Exer: Alternate-day modified fasting combined with exercise group

2.4.2 骨骼肌横截面积 4周干预后,与Con组相比,ADMF组的腓肠肌横截面积无显著性差异($P > 0.05$,表4,图4),Exer组和ADMF-Exer组腓肠肌横截面积显著升高($P < 0.05$)。

Tab. 4 Wet weight of gastrocnemius muscle/weight and muscle cross-sectional area(μm^2) of rats after 4-week intervention($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Group	Wet weight of gastrocnemius muscle/weight	Muscle cross-sectional area
Con	9.44±0.25	2676.49±1138.63
Exer	9.71±0.77	2715.42± 969.27*
ADMF	8.86±0.47*#	2670.60± 929.58
ADMF-Exer	10.08±0.60*	2714.32±1011.80*

* $P < 0.05$ vs Con group; # $P < 0.05$ vs Exer group

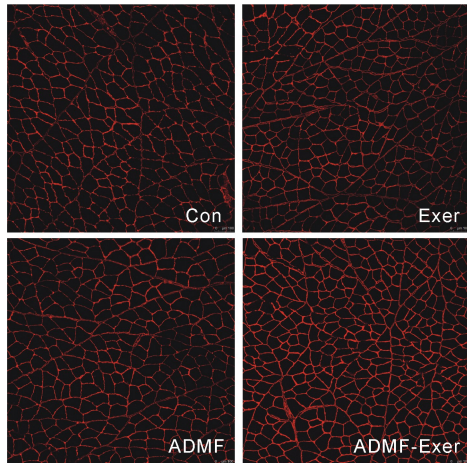


Fig. 4 Cross-sectional area of gastrocnemius muscle in rats after 4-week intervention

Con: Control group; Exer: Aerobic exercise group; ADMF: Alternate-day fasting group; ADMF-Exer: Alternate-day modified fasting combined with exercise group

2.5 血清 Irisin 和骨骼肌 FNDC5 蛋白表达

结果显示,三个干预组的血清 Irisin 水平与Con组相比都显著增加($P < 0.05$),ADMF-Exer组与Exer组相比 Irisin 水平显著增加($P < 0.01$,表5)。

4周干预后,与Con组相比,三个干预组腓肠肌中FNDC5蛋白表达显著升高($P < 0.05$),且ADMF-Exer组相比于Exer组显著升高($P < 0.05$,表5,图5)。

Tab. 5 Serum Irisin levels (ng/ml) in rats and the expressions of FNDC5 in gastrocnemius of rats after 4-week intervention($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Group	Irisin	FNDC5
Con	18.48±2.71	1
Exer	24.60±4.57*	1.36±0.06*
ADMF	20.44±3.56*	1.32±0.15*
ADMF-Exer	30.03±3.46***	1.56±0.16***

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Con group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs Exer group

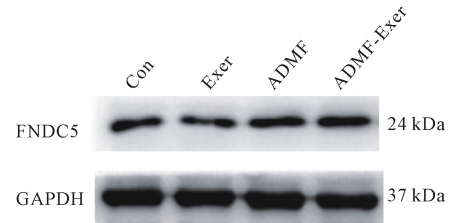


Fig. 5 The expressions of FNDC5 in gastrocnemius of rats

2.6 脂肪组织 UCP1 蛋白表达

4周干预后,与Con组相比,三个干预组肾周脂肪和肩胛棕色脂肪中UCP1蛋白表达显著升高($P < 0.01$),且ADMF-Exer组相比于Exer组显著升高($P < 0.05$,表6,图6,图7)。

Tab. 6 The expressions of UCP1 in fat of rats after 4-week intervention($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Group	Perirenal fat	Brown adipose
Con	1	1
Exer	1.27±0.10**	1.24±0.05**
ADMF	1.26±0.08*	1.30±0.09**
ADMF-Exer	1.54±0.18***	1.42±0.08***

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Con group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs Exer group

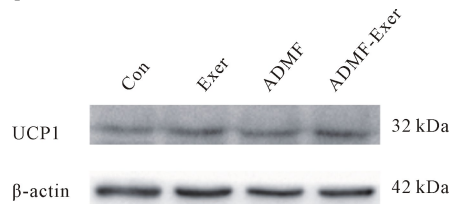


Fig. 6 The expressions of UCP1 in Perirenal fat of rats

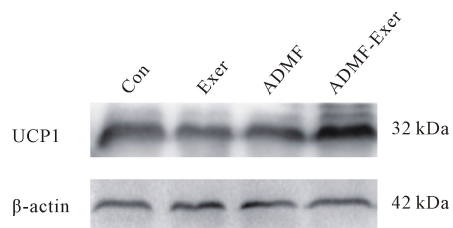


Fig. 7 The expressions of UCP1 in brown fat of rats

3 讨论

随着肥胖人口越来越多,人们一直在追寻更加合理的既能降低能量摄入、同时增加能量消耗来减重/减脂的方法。单纯的运动减肥可能会导致运动后饥饿感激增^[13],造成补偿性能量摄入,与运动消耗的能量相抵消。对肥胖受试者进行8周改良隔日禁食,在2周后受试者就习惯了这种禁食方式,也没有补偿性的饥饿感增加^[14],对其进行改良隔日禁食联合运动干预,体重和脂肪量显著降低,同时饥饿感和食物摄入并没有增加^[15]。本实验结果表明,ADMF-Exer组的大鼠并没有因为增加运动而增加能量摄入,说明改良隔日禁食联合运动的方式可以在能量摄入减少的同时完成一定强度的有氧运动。4周干预后,三个干预组的体重和体脂含量与Con组相比都显著降低($P < 0.05$),ADMF-Exer组比Exer组体重显著降低($P < 0.05$),说明改良隔日禁食联合运动的减重减脂效果更好。课题组前期研究表明,4周的间歇性禁食会引起骨骼肌自噬,以清除体内受损细胞器或错误折叠蛋白质,减少能量消耗,维持肌肉质量^[16],但本实验中,ADMF组的腓肠肌湿重/体重低于Con组($P < 0.05$),提示改良隔日禁食会引起快肌质量下降,推测可能不同强度的禁食方法对肌肉自噬的刺激不同,亦或者禁食引起的自噬对快肌和慢肌的刺激不同,从而导致禁食对肌肉质量的影响不同;而叠加运动干预后,ADMF-Exer组的腓肠肌湿重/体重和横截面积显著增加($P < 0.05$),说明改良隔日禁食联合运动可以在降体重和减脂的同时,使快肌肌肉质量增加。

米色脂肪组织是一种介于棕色脂肪组织和白色脂肪组织之间脂肪组织,它在基础状态下与白色脂肪组织形态和功能类似,UCP1表达极低,当机体受到运动或其他刺激时,米色脂肪组织中UCP1表达升高,表型“转分化”,在形态和组织学上出现“褐变”,即类似于棕色脂肪细胞的多腔状改变,即白色脂肪组织棕色化^[17]。成年人中基本不存在棕色脂肪,而米色脂肪组织在大型哺乳动物的成年状态下仍然存在,找到激活白色脂肪组织棕色化的理论机制,对于减脂有更好的指导作用。运动和禁食都可以通过激活棕色脂肪组织非颤抖性产热以及白色脂肪组织棕色化来减轻体重^[8, 18]。本研究想要探寻改良隔日禁食联合有氧运动是否会加大脂肪组织产热和白色脂肪组织棕色化。结果显示,4周改良隔日禁食联合运动后,ADMF-Exer组肾周脂肪细胞显著呈现出染色质加深、脂滴变小、蜂窝状的变化,肩胛脂肪的棕色脂肪组织明显增多,同时肾周脂肪和

肩胛脂肪中的UCP1与Con组相比显著升高($P < 0.01$),UCP1的升高代表着棕色脂肪组织中发生了非颤抖性产热和白色脂肪细胞出现“褐色脂肪细胞样”特性^[19],使线粒体内氧化所产生的能量更多的以热的形式散发。

由于Irisin在能量代谢和减脂产热方面有重要意义,因此是近年来研究较深入的运动因子之一。许多实验表明,运动通过激活能量代谢通路刺激FNDC5分泌增加,水解为Irisin释放入血,靶向作用于脂肪组织,上调UCP1,UCP1激活后,会使驱动ATP合成的电学梯度短路,从而刺激呼吸链活性,脂肪产生热量^[8, 20]。大鼠运动三周后, FNDC5/Irisin分泌显著增加^[21];对成人进行10周耐力训练后,循环Irisin水平显著增加^[8];本课题组前期研究表明,除运动之外,4周的电针干预、能量摄入限制和改良隔日禁食也可以通过激活能量代谢通路激活FNDC5/Irisin-UCP1,诱导白色脂肪组织棕色化,起到减脂的作用^[9, 16, 22]。本实验结果显示,4周干预后,干预组腓肠肌中的FNDC5和血清Irisin与Con组相比都显著增高($P < 0.05$),ADMF-Exer组与Exer组相比也明显增高($P < 0.05$),说明改良隔日禁食和运动两种因素叠加可以更大程度提高骨骼肌中FNDC5蛋白表达与循环Irisin水平。结合脂肪组织的形态学和UCP1蛋白表达结果来看,推测改良隔日禁食联合运动干预可能通过激活FNDC5/Irisin,使得白色脂肪组织和棕色脂肪组织中UCP1蛋白上调,刺激脂肪产热和白色脂肪组织棕色化,增加机体能量代谢以达到减脂的目的。

综上所述,在进行改良隔日禁食的时候增加运动(能量消耗),并不会使得能量摄入变得更多;4周改良隔日禁食联合运动可有效控制体重,减少体脂,且优于单纯有氧运动和改良隔日禁食,是一种更优化的减脂方法;改良隔日禁食联合运动可能通过刺激大鼠骨骼肌FNDC5蛋白分泌,循环Irisin升高,促进脂肪组织UCP1蛋白表达升高,白色脂肪组织棕色化和棕色脂肪产热作用,以达到健康减脂的效果。

【参考文献】

- [1] Levesque S, Pol JG, Ferrere G, et al. Trial watch: dietary interventions for cancer therapy [J]. *Oncoimmunology*, 2019, 8(7): e1591878
- [2] Bhutani S, Klempel MC, Berger RA, et al. Improvements in coronary heart disease risk indicators by alternate-day fasting involve adipose tissue modulations [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2010, 18(11): 2152-2159.
- [3] Nasaruddin ML, Halim S, Kamaruzzaman MA. Studying

- the relationship of intermittent fasting and β -amyloid in animal model of Alzheimer's disease: A scoping review [J]. *Nutrients*, 2020, 12(10): 3215.
- [4] Varady KA, Hellerstein MK. Alternate-day fasting and chronic disease prevention: a review of human and animal trials[J]. *Crossref*, 2007, 86(1): 7-13.
- [5] Hoddy KK, Kroeger CM, Trepanowski JF, et al. Safety of alternate day fasting and effect on disordered eating behaviors[J]. *Nutr J*, 2015, 14: 44-46.
- [6] Klempel MC, Bhutani S, Fitzgibbon M, et al. Dietary and physical activity adaptations to alternate day modified fasting: implications for optimal weight loss[J]. *Nutr J*, 2010, 9(1): 1-8.
- [7] 刘子铭, 于亮. Irisin:新的运动因子? [J]. *生理科学进展*, 2018, 49(3): 201-211.
- [8] Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis [J]. *Nature*, 2012, 481(7382): 463-468.
- [9] 付悦, 于亮, 高扬. 改良隔日禁食干预对大鼠减脂效果的影响及 Irisin 调控作用[J]. *中国运动医学杂志*, 2021, 40(3): 200-207.
- [10] 刘子铭. 4 周运动与能量摄入限制对肥胖大鼠减脂效果及 Irisin 的影响[D]. 北京体育大学, 2019.
- [11] Varady KA, Roohk DJ, Loe YC, et al. Effects of modified alternate-day fasting regimens on adipocyte size, triglyceride metabolism, and plasma adiponectin levels in mice[J]. *J Lipid Res*, 2007, 48(10): 2212-2219.
- [12] Varady KA, Allister CA, Roohk DJ, et al. Improvements in body fat distribution and circulating adiponectin by alternate-day fasting versus calorie restriction[J]. *J Nutr Biochem*, 2010, 21(3): 188-195.
- [13] King NA, Caudwell P, Hopkins M, et al. Metabolic and behavioral compensatory responses to exercise interventions: barriers to weight loss[J]. *Obesity (Silver Spring)* 2007, 15(6): 1373-1383.
- [14] Hoddy KK, Gibbons C, Kroeger CM, et al. Changes in hunger and fullness in relation to gut peptides before and after 8 weeks of alternate day fasting [J]. *Clin Nutr*, 2016, 35(6): 1380-1385.
- [15] Chausse B, Solon C, Caldeira da Silva, et al. Intermittent fasting induces hypothalamic modifications resulting in low feeding efficiency, low body mass and overeating [J]. *Endocrinology*, 2014, 155(7): 2456-2466.
- [16] 王祯, 于亮, 付悦. 间歇性禁食与运动对骨骼肌自噬的激活及减脂效果的比较[J]. *中国应用生理学杂志*, 2020, 36(4): 289-295.
- [17] Thyagarajan B, Foster MT. Beiging of white adipose tissue as a therapeutic strategy for weight loss in humans [J]. *Horm Mol Biol Clin Investig*, 2017, 31(2): 1-13.
- [18] Moraes RCM, Portari GV, Ferraz ASM, et al. Effects of intermittent fasting and chronic swimming exercise on body composition and lipid metabolism[J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2017, 42(12): 1341-1346.
- [19] Shabalina IG, Petrovic N, De Jong JMA, et al. UCP1 in Brite/Beige adipose tissue mitochondria is functionally thermogenic[J]. *Cell Rep*, 2013, 5(5): 1196-1203.
- [20] Wu J, Boström P, Sparks LM, et al. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human [J]. *Cell Press*, 2012, 150(2): 366-376.
- [21] Roca-Rivada A, Castela C, Senin LL, et al. FNDC5/Irisin is not only a myokine but also an adipokine [J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e60563.
- [22] 高扬, 于亮, 付悦, 等. 4 周电针干预对大鼠白色脂肪"棕色化"的影响及其机制[J]. *中国应用生理学杂志*, 2020, 36(5): 471-477.

(上接第 135 页)

- [4] Dai C, Kong B, Qin T, et al. Inhibition of ferroptosis reduces susceptibility to frequent excessive alcohol consumption-induced atrial fibrillation [J]. *Toxicology*, 2022, 465(15): 30-55.
- [5] Li T, Tan Y, Ouyang S, et al. Resveratrol protects against myocardial ischemia-reperfusion injury via attenuating ferroptosis[J]. *Gene*, 2022, 808(14): 59-68.
- [6] Leone M, Engel FB. Isolation, culture, and live-cell imaging of primary rat cardiomyocytes[J]. *Methods Mol Biol*, 2021, 21(15): 109-124.
- [7] Im K, Mareninov S, Diaz MFP, et al. An introduction to performing immunofluorescence staining[J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 18(12): 299-311.
- [8] Sakamoto T, Imai H. Hydrogen peroxide produced by superoxide dismutase SOD-2 activates sperm in *Caenorhabditis elegans*[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(36): 14804-14813.
- [9] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [10] Lillo-Moya J, Rojas-Solé C, Muñoz-Salamanca D, et al. Targeting Ferroptosis against ischemia/reperfusion cardiac injury[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(5): 667.
- [11] Liu P, Feng Y, Li H, et al. Ferrostatin-1 alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via inhibiting ferroptosis[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2020, 25(7): 10-17.
- [12] Lee H, Zandkarimi F, Zhang Y, et al. Energy-stress-mediated AMPK activation inhibits ferroptosis [J]. *Nat cell Biol*, 2020, 22(2): 225-234.