

运动锻炼联合膳食控制对 2 型糖尿病大鼠糖代谢、胰岛素抵抗形成和血脂代谢的影响

田 燕¹, 米 勇²

(1. 成都中医药大学体育学院, 成都 611137; 2. 四川农业大学动物医学院, 成都 611130)

【摘要】目的:研究运动锻炼联合膳食控制对 2 型糖尿病大鼠糖代谢、胰岛素抵抗和血脂代谢的影响。**方法:**35 只 Wistar 大鼠随机取 10 只作为正常对照组, 其余 25 只建立 2 型糖尿病模型, 选择建模成功的 20 只大鼠随机分为模型对照组和运动联合膳食干预组。正常对照组大鼠自由活动、给予标准饲料; 模型对照组大鼠自由活动、给予高脂高糖饲料; 运动联合膳食干预组大鼠给予游泳训练、给予标准饲料。3 组大鼠的干预期均为 8 周。分别于试验开始前、造模后运动锻炼前、运动 4 周和运动 8 周测定各组大鼠体重和每日摄食量。分别于运动锻炼前及运动锻炼 8 周测定各组大鼠空腹血糖(fast blood glucose, FBG)、血清胰岛素(fast insulin, FINS)、甘油三酯(triglycerides, TG)、胆固醇(cholesterol, TC)和低密度脂蛋白-胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C), 进行葡萄糖耐量实验(glucose tolerance test, GTT)及胰岛素耐量实验(insulin tolerance test, ITT)评估胰岛素抵抗情况。运动锻炼结束后取胰腺组织测定葡萄糖激酶(glucose kinase, GK)及三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)酶活性, 采用实时聚合酶链反应定量(RT-PCR)检测胰腺组织 IRS-1、PI3K、PKB 和 mTOR mRNA 的表达, 采用 Western blot 测定胰腺组织 IRS-1、p-IRS-1、PI3K、PKB、p-PKB、mTOR 和 p-mTOR 的蛋白表达。**结果:**①干预 4 周和 8 周时膳食运动干预组大鼠体重较模型对照组明显增加、每日摄食量差异显著($P<0.05$)。②8 周干预后运动膳食干预组大鼠 FBG、FINS、HOMA-IR、AUCGTT 和 AUCITT 均较模型对照组大鼠明显降低($P<0.05$)。③8 周干预后运动膳食干预组大鼠 TG、TC 和 LDL-C 均较模型对照组大鼠明显降低($P<0.05$)。④经过 8 周干预后运动膳食干预组大鼠胰腺组织 GK 和 ATP 酶活性均较模型对照组大鼠明显增加($P<0.05$)。⑤经过 8 周干预后运动膳食干预组大鼠胰腺组织 IRS-1、PI3K、PKB mRNA 均较模型对照组大鼠明显增加, mTOR mRNA 较模型对照组明显降低($P<0.05$)。⑥经过 8 周干预后运动膳食干预组大鼠胰腺组织 IRS-1、p-IRS-1、PI3K、PKB 和 p-PKB 蛋白均较模型对照组大鼠明显增加, mTOR 和 p-mTOR 蛋白较模型对照组明显降低($P<0.05$)。**结论:**运动锻炼联合膳食控制可控制 2 型糖尿病大鼠的血糖, 改善胰岛素抵抗, 调节血脂紊乱, 增加胰腺组织 GK 和 ATP 酶活性, 并且对 IRS/PI3K-Akt 信号通路具有调节作用。

【关键词】运动锻炼; 膳食控制; 2 型糖尿病; 糖代谢; 脂代谢; 胰岛素抵抗; IRS/PI3K-Akt 信号通路

【中图分类号】R455

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-07-09

Effects of exercise combined with diet control on glucose metabolism, development of insulin resistance, and blood lipid metabolism in rats with type 2 diabetes

Tian Yan¹, Mi Yong²

(1. Institute of Physical Education, Chengdu University of TCM;

2. College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University)

【Abstract】Objective: To investigate the effects of exercise combined with diet control on glucose metabolism, development of insulin resistance, and blood lipid metabolism in rats with type 2 diabetes. **Methods:** A total of 35 Wistar rats were included in this study. Ten Wistar rats were randomly selected as normal control group, and the remaining 25 rats were used to establish a type 2 diabetes model. A total of 20 model rats were randomly divided into model control group and intervention(exercise combined with diet control) group. The rats in the normal control group were free to move and given standard feed. The rats in the model control group were free to move

作者介绍: 田 燕, Email: 312477815@qq.com,

研究方向: 体育教学、运动休闲。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20190428.1449.002.html>
(2019-04-29)

and given high-fat and high-sugar diet. Swimming training and standard feed were given to the rats in the intervention group. The intervention period in the three groups was 8 weeks. Body weight and daily food intake of the rats in the three groups

were measured before experiment, after modeling and before intervention, and after 4 and 8 weeks of intervention. Before intervention and after 8 weeks of intervention, the levels of fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS), triglyceride (TG), cholesterol (TC), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were measured, and glucose tolerance test (GTT) and insulin tolerance test (ITT) were performed to assess insulin resistance. After exercise, the pancreatic tissue was taken to determine the activities of glucose kinase (GK) and adenosine triphosphatase (ATPase); the mRNA expression of insulin receptor substrate-1 (IRS-1), phosphoinositide 3-kinase (PI3K), protein kinase B (PKB), and mammalian target of rapamycin (mTOR) in the pancreatic tissue was determined by real-time polymerase chain reaction; the protein expression of IRS-1, phosphorylated IRS-1 (p-IRS-1), PI3K, PKB, phosphorylated PKB (p-PKB), mTOR, and phosphorylated mTOR (p-mTOR) in the pancreatic tissue was determined by Western blot. **Results:** ① After 4 and 8 weeks of intervention, the intervention group had a significantly higher body weight than the model control group ($P < 0.05$), and there was a significant difference in daily food intake between the two groups ($P < 0.05$). ② After 8 weeks of intervention, the intervention group had significantly lower levels of FBG and FINS, homeostasis model assessment of insulin resistance, area under the receiver operating characteristic curve (AUC) GTT, and AUCITT than the model control group ($P < 0.05$). ③ After 8 weeks of intervention, the intervention group had significantly lower levels of TG, TC, and LDL-C than the model control group ($P < 0.05$). ④ After 8 weeks of intervention, the intervention group had significantly higher GK and ATPase activities in the pancreatic tissue compared with the model control group ($P < 0.05$). ⑤ After 8 weeks of intervention, the intervention group had significantly higher mRNA expression of IRS-1, PI3K, and PKB in the pancreatic tissue and significantly lower mRNA expression of mTOR in the pancreatic tissue compared with the model control group ($P < 0.05$). ⑥ After 8 weeks of intervention, the intervention group had significantly higher protein expression of IRS-1, p-IRS-1, PI3K, PKB, and p-PKB in the pancreatic tissue and significantly lower protein expression of mTOR and p-mTOR compared with the model control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Exercise combined with diet control can control the blood glucose level of rats with type 2 diabetes, alleviate insulin resistance and dyslipidemia, increase the activities of GK and ATPase in the pancreatic tissue, and regulate the IRS/PI3K-Akt signaling pathway.

[Key words] exercise; diet control; type 2 diabetes; glucose metabolism; lipid metabolism; insulin resistance; IRS/PI3K-Akt signaling pathway

2型糖尿病是临床上常见的内分泌疾病, 目前已经成为威胁人类健康的第3大疾病^[1]。随着我国居民饮食结构和生活方式的改变, 以及人口的老齡化, 2型糖尿病的发病率呈逐年上升的趋势。胰岛细胞既是胰岛素分泌的器官也是胰岛素作用的靶器官, 胰岛素抵抗和 β 细胞分泌缺陷是2型糖尿病发病机制的主要环节^[2]。在2型糖尿病发病过程中, 胰岛 β 细胞功能的缺陷发挥极其重要的作用^[3]。胰岛 β 细胞功能受损可能是糖耐量异常和空腹血糖异常进展为糖尿病的主要原因^[4]。糖尿病患者普遍存在着进行性的胰岛 β 细胞功能恶化和胰岛萎缩现象, 但是在糖尿病的早期阶段是可逆的^[5]。胰岛受体底物 (islet receptor substrate, IRS) 蛋白家族介导的 IRS/PI3K-Akt 胰岛素信号传导通路在胰岛细胞生长、增殖、凋亡及胰岛素的分泌代谢过程中起到重要作用^[6]。近年来, 2型糖尿病及其并发症发生机制以及运动在2型糖尿病治疗中发挥的治疗作用一直为临床所关注^[7]。长期体育锻炼可通过增加骨骼肌对葡萄糖摄取的“外周效应”来改善胰岛素敏感性、降

低餐后和空腹血糖水平^[8]。糖尿病大鼠8周游泳运动可显著改善血清胰岛素水平、降低血糖水平并提高胰腺胰岛素含量及促使胰岛形态恢复^[9]。运动锻炼联合膳食控制对2型糖尿病大鼠糖脂代谢的改善作用是否与 IRS/PI3K-Akt 信号作用有关, 目前还不清楚。本文研究运动锻炼联合膳食控制对2型糖尿病大鼠胰腺 IRS-1、磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K)、蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB) 和雷帕霉素理论靶点蛋白 (mechanistic target of rapamycin, mTOR) mRNA 和蛋白表达的影响, 探讨其在改善糖脂代谢中的作用, 为运动锻炼联合膳食控制对2型糖尿病提供新的理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 选取6周龄 Wistar 大鼠 35 只, SPF 级, 雌雄各半, 体质量 160~180 g, 由四川大学实验动物中心提供,

所有大鼠统一使用标准啮齿类动物饲料适应性饲养一周。正式开始试验后,除正常对照组大鼠采用普通饲料喂养外,其他大鼠均采用高糖高脂饲料喂养。高脂饲料自制:10%猪油,20%蔗糖,2.5%胆固醇,1.0%胆酸钠,66.5%标准饲料。在温度为 22~25℃、湿度为 45%~55%、每天光照黑暗时间各 12 h 的环境中饲养。饲养室、用具每周进行紫外灯照射消毒一次。自由进食、饮水,每天添加饲料、换水 1 次,每 2 天换垫料 1 次。

1.1.2 主要试剂 链脲佐菌素(streptozotocin,STZ)购自美国 Sigma 公司;柠檬酸、柠檬酸三钠均购自江西核工业实验化工厂;葡萄糖测定试剂盒购于中国上海荣盛生物药业公司;胰岛素酶联免疫吸附检测试剂盒购自瑞典 Mercodia 公司;甘油三酯(triglyceride,TG)、胆固醇(total cholesterol,TC)和低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol,LDL-C)检测试剂盒均购于南京建成生物工程研究所;葡萄糖激酶(glucokinase,GK)、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate,ATP)酶酶联免疫吸附检测试剂盒购自上海研辉生物科技有限公司;Trizol 试剂购自天根生化科技有限公司;逆转录试剂盒、实时荧光定量 PCR 试剂盒均购自大连 Takara 公司;PKB、p-PKB、mTOR(mechanistic target of rapamycin)和 p-mTOR 抗体均购自美国 Cell Signaling Technology 公司;IRS-1、p-IRS-1 和 PI3K 抗体均购自美国 CST 公司;兔抗鼠 β -actin 抗体、HRP-羊抗大鼠 IgG、ECL Prime 蛋白印迹试剂均购自上海碧云天生物技术有限公司。IRS-1、PI3K、PKB、mTOR 和 GAPDH 引物序列均由上海捷瑞生物工程有限公司合成,引物序列及产物长度见表 1。

表 1 引物序列和产物长度

名称	序列	产物长度 (bp)
IRS-1 PI3K PKB mTOR GAPDH	正义: 5'-GGCTGACTCCAAGAACAAGC-3'	86
	反义: 5'-CTTGTTTCAGCCTCGCTATCC-3'	
	正义: 5'-CATCACTTCCTCTGCTCTAT-3'	377
	反义: 5'-CAGTT2GTTGGCAATCTTCTTC-3'	
	正义: 5'-AAACCTGGCGGCCACGCTAC-3'	361
	反义: 5'-TTGGCCAGGGCCACCTCCAT-3'	
	正义: 5'-AGCACAAGGAGATCCGCATGGAAG-3'	176
	反义: 5'-CACCACCTGCACTGCACTCTGG-3'	
	正义: 5'-CGTTGACATCCGTAAAGACCTC-3'	110
	反义: 5'-TAGGAGCCAGGCGAGTAATCT-3'	

1.1.3 主要仪器 唐博士 AGM-2200 型血糖仪及 AGM-2200 型血糖试纸均由 All Medicus 有限公司提供;高速低温离心机购自德国 Eppendorf 公司;-80℃冰箱购自日本 Sanyo 公司;日立全自动生化测定仪由日本日立公司提供;超微量分光光度计由北京凯奥科技公司提供;定量 PCR 仪、Western blot 电泳仪由美国 BIORAD 公司提供;凝胶成像分析系统由法国 Vilber Lourmat 公司提供;Fluor Chem Q 蛋白印迹成像

和定量分析系统由美国 Alpha 公司提供。

1.2 实验方法

1.2.1 糖尿病模型的制备与分组 随机抽取 10 只 Wistar 大鼠作为正常对照组,实验期间给予标准饲料喂养。其余 25 只大鼠进行造模处置:给予高糖高脂饲料喂养 4 周,禁食不禁水 12 h 腹腔注射 STZ 30 mg/kg,3 d 后同法腹腔注射 STZ 20 mg/kg。STZ 于-20℃保存,临用前用 0.1 mol/L(pH=4.4)的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液冰浴下配置成 0.5%(10 g/L)的溶液。正常对照组和正常运动组大鼠同法腹腔注射等体积的枸橼酸缓冲液。STZ 注射 1 周后取尾静脉血测定非禁食血糖,以血糖>11.1 mol/L 为造模成功^[10]。取 20 只造模成功的大鼠随机分为模型对照组和运动联合膳食干预组,每组 10 只。

1.2.2 运动锻炼方案 运动联合膳食干预组(干预组)大鼠采用改良 Ploug 等^[11]游泳训练方案,同时给予标准饲料喂养。游泳池体积 100 cm×70 cm×60 cm,水深 50 cm,水温保持在 28~32℃。先进行 2 次适应性运动(10 min/次),第 1 周前 4 d 训练时间由 20、30、45 和 60 min 递增(1 次/d),之后每天游泳 1 次(60 min/次),每周运动 6 d,共锻炼 8 周。正常对照组(对照组)大鼠给予标准饲料,模型对照组(模型组)大鼠给予高脂高糖饲料,均自由活动。

1.2.3 观察指标 分别于试验开始前、造模后运动锻炼前、运动锻炼 4 周和运动锻炼 8 周测定各组大鼠体质量和每日摄食量。于运动锻炼前及运动锻炼 8 周测定各组大鼠空腹血糖(fast blood glucose,FBG)、血清胰岛素(fast insulin,FINS)、TG、TC 和 LDL-C,进行葡萄糖耐量实验(glucose tolerance test,GTT)及胰岛素耐量实验(insulin tolerance test,ITT)以评估胰岛素抵抗情况。运动锻炼结束后取胰腺组织测定 GK 及 ATP 酶活性,采用实时聚合酶链反应定量(real-time polymerase chain reaction,RT-PCR)检测胰腺组织 IRS-1、PI3K、PKB 和 mTOR mRNA 的表达,采用 Western blot 测定胰腺组织 IRS-1、p-IRS-1、PI3K、PKB、p-PKB、mTOR 和 p-mTOR 的蛋白表达。

1.2.4 各观察指标的检测方法 ①血糖和血脂的测定。各组大鼠取空腹静脉血,室温下静置 30 min,待血液完全凝固后分离,取血清采用全自动生化仪测定 FBG、FINS、TG、TC 和 LDL-C。采用胰岛素素性稳态模式评估法(homeostasis model assessment of insulin resistance,HOMA-IR)评估胰岛素抵抗情况:HOMA-IR=FBG×FINS/22.5。②葡萄糖耐量实验。各组大鼠禁食 12 h,灌胃给予 2 g/kg 葡萄糖溶液,分别于 0、30、120 min 尾部取血,用血糖仪测定血糖值,并计算血糖-时间曲线下面积(area under curve,AUCGTT)以表示糖耐量。③胰岛素耐量实验。各组大鼠禁食 12 h,腹部皮下注射胰岛素 0.5 U/kg,于 0、30、120 min 分别尾部取血,用血糖仪测定血糖值,并计算血糖-时间曲线下面积(area under curve,AUCITT)以表示糖耐量。④胰腺组织 GK 和 ATP 酶活性的测定。取各组大鼠胰腺组织 2 cm,剪碎后,于冰上匀浆(30 s×3 次),加入等体积生理盐水,继续匀浆(30 s×1 次),离心(4℃,3 500 r/min×

10 min)后取上清液,采用双抗体一步夹心法、酶联免疫吸附测定各组大鼠胰腺组织 GK 及 ATP 酶活性。实验操作严格按照试剂盒操作步骤。⑤胰腺组织 IRS-1、PI3K、PKB 和 mTOR mRNA 的测定。取各组大鼠胰腺组织 2 cm,剪碎,液氮研磨至粉末,采用 Trizol 法提取 RNA。用超微量分光光度计测定 260 nm 和 280 nm 的光密度(optical density, OD)值,控制 OD_{260}/OD_{280} 在 1.8~2.0,以 RNA 电泳检测其完整性。使用逆转录试剂盒严格按其说明将 RNA 逆转录成 cDNA 进行 PCR。逆转录条件:30 ℃ 10 min,42 ℃ 30 min,95 ℃ 5 min。按照试剂盒说明书采用 RT-PCR 测定 IRS-1、PI3K、PKB 和 mTOR mRNA 的表达水平。PCR 反应体系:cDNA、正义和反义各 0.5 μ L,2 $\times$ SYBR Green Super Mix 12.5 μ L,加入 0.1%DEPC-H₂O 至 20 μ L。PCR 反应条件:95 ℃ 预变性 5 min,98 ℃ 变性 10 s,58 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 30 s,循环 35 次,72 ℃ 延伸 10 min。RT-PCR 产物进行 2%凝胶电泳,溴化乙锭成像,采用凝胶成像系统进行分析。IRS-1、PI3K、PKB 和 mTORmRNA 表达量用 GAPDH 的相对表达量表示。⑥胰腺组织 IRS-1、p-IRS-1、PI3K、PKB、p-PKB、mTOR 和 p-mTOR 蛋白的测定。取各组大鼠胰腺组织 2 cm,剪碎,于冰上匀浆,加入 RIPA 裂解液,于冰浴充分研磨后,离心,2 000 r/min 离心 20 min,取上清液以用 BCA 法测定蛋白浓度,Western blot 测定瘤组织中 IRS-1、p-IRS-1、PI3K、PKB、p-PKB、mTOR 和 p-mTOR 蛋白的表达。制备 10%SDS-PAGE 凝胶,加样后电泳,电转至 0.45 μ m PVDF膜上,脱脂奶粉室温封闭 2 h,加入一抗,4 ℃过夜,TBST 缓冲液洗膜,加入 HRP-羊抗小鼠 IgG,室温孵育 1 h,TBST 缓冲液充分洗膜,应用 ECL Prime 蛋白印迹试剂进行化学发光显色,X 片曝光显影。采用 Fluor Chem Q 多功能成像和定量分析系统曝光、采集图像。以 GAPDH 为内参,用 IRS-1、p-IRS-1、PI3K、PKB、p-PKB、mTOR 和 p-mTOR 光密度值与内参光密度值的比值代表 MMP-9 和 HIF-1 α 相对表达含量。

1.3 统计学处理

采用统计软件 SPSS 22.0 进行数据统计和分析。本文数据均为正态计量资料且方差齐同,组间比较采用单因素方

差-协方差分析和两因素重复测量方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,组内时间点两两比较采用差值 *t* 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 各组大鼠体质量和每日摄食量的比较

整体比较(两因素重复测量方差分析)知:各指标组间、时间及交互作用均有统计学意义($P<0.05$)。两两精细比较并结合主要数据分析:实验开始时 3 组大鼠体质量差异均无统计学意义($P>0.05$);干预前模型对照组和干预组大鼠体质量均较正常对照组明显降低($P<0.05$),但是干预前模型对照组和干预组差异无统计学意义($P>0.05$);干预 4 周和干预 8 周时模型对照组和干预组大鼠体质量均较正常对照组明显降低($P<0.05$),但是干预组较模型对照组明显增加($P<0.05$)。实验开始时 3 组大鼠每日摄食量差异均无统计学意义($P>0.05$)。干预前、干预 4 周和干预 8 周时模型对照组和干预组大鼠每日摄食量均较正常对照组明显增加($P<0.05$)。干预 4 周和干预 8 周时,干预前模型对照组和干预组差异具有统计学意义($P<0.05$)。详细结果见表 2。

2.2 各组大鼠血糖指标的比较

经协因素(干预前水平)校正后,整体比较(单因素方差-协方差分析)知:各指标整体差异均有统计学意义($P<0.05$)。多重比较并结合主要数据分析:干预 8 周后运动膳食干预组大鼠 FBG、FINS、HOMA-IR、AUCGTT 和 AUCITT 均较模型对照组大鼠明显降低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。详细结果见表 3。

2.3 各组大鼠血脂的比较

经协因素(干预前水平)校正后,整体比较(单因素方差-协方差分析)知:各指标整体差异均有统计学意义($P<0.05$)。多重比较并结合主要数据分析:干预 8 周后运动膳食干预组大鼠 TG、TC 和 LDL-C 均较模型对照组大鼠明显降低,差异具有统计学意义($P>0.05$)。详细结果见表 4。

表 2 各组大鼠体质量和每日摄食量的比较 ($n=10$)

时间	体质量(g)			每日摄食量(g)		
	对照组	模型组	干预组	对照组	模型组	干预组
实验开始	164.1 $\pm$ 6.0	162.1 $\pm$ 5.0	162.0 $\pm$ 6.0	22.0 $\pm$ 4.4	22.1 $\pm$ 4.3	22.0 $\pm$ 4.4
干预前	267.2 $\pm$ 4.0 ^a	231.0 $\pm$ 5.0 ^a	233.2 $\pm$ 5.0 ^a	22.8 $\pm$ 6.3	25.5 $\pm$ 6.2 ^a	34.0 $\pm$ 6.5 ^a
干预 4 周	363.1 $\pm$ 11.0 ^a	281.9 $\pm$ 9.0 ^a	327.1 $\pm$ 8.0 ^{ab}	23.8 $\pm$ 6.4	33.2 $\pm$ 7.0 ^{ab}	42.3 $\pm$ 6.4 ^a
干预 8 周	457.8 $\pm$ 19.0 ^a	344.7 $\pm$ 14.0 ^a	381.8 $\pm$ 16.0 ^{ab}	24.6 $\pm$ 4.0	34.0 $\pm$ 4.4 ^{ab}	43.1 $\pm$ 4.7 ^a
整体分析	(HF 系数:0.4635)			(HF 系数:1.001 9)		
组间 <i>F/P</i> 值	331.102/0.000			48.585/0.000		
时间 <i>F/P</i> 值	22.516/0.000			29.926/0.000		
交互 <i>F/P</i> 值	62.315/0.000			6.492/0.000		

注:组间精细比较为 LSD-*t* 检验,显著性标记 a、b 分别为和对照组、模型组同时点相比 $P<0.05$ 。时间精细比较为差值 *t* 检验,显著性标记 *t* 为和组内第 1 时间点比较 $P<\alpha'$, α' 为 Bonferroni 校正后的检验水准 = 0.05/3=0.017 (3 为时间维度上精细比较的次数)

表 3 各组大鼠血糖指标的比较 ($n=10$)

		FBG (mmol/L)	FNS (μ U/mL)	HOMA-IR	AUCGTT (mmol $\times$ min/mL)	AUCITT (mmol $\times$ min/mL)
对照组	干预前	4.93 $\pm$ 1.32	18.22 $\pm$ 2.90	4.01 $\pm$ 0.69	239.93 $\pm$ 12.00	122.08 $\pm$ 21.97
	干预 8 周后	5.04 $\pm$ 1.40	18.21 $\pm$ 3.01	4.01 $\pm$ 0.70	244.03 $\pm$ 12.01	120.11 $\pm$ 22.06
模型组	干预前	14.95 $\pm$ 3.18 ^a	15.08 $\pm$ 4.22 ^a	12.10 $\pm$ 2.67 ^a	651.45 $\pm$ 34.04 ^a	290.76 $\pm$ 25.09 ^a
	干预 8 周后	21.20 $\pm$ 3.04 ^a	22.06 $\pm$ 3.90 ^a	18.09 $\pm$ 2.60 ^a	826.76 $\pm$ 36.04 ^a	347.94 $\pm$ 29.92 ^a
干预组	干预前	14.27 $\pm$ 4.01 ^{ab}	14.79 $\pm$ 4.12 ^{ab}	11.30 $\pm$ 3.03 ^{ab}	660.44 $\pm$ 40.04 ^{ab}	299.65 $\pm$ 29.05 ^{ab}
	干预 8 周后	17.15 $\pm$ 3.00 ^{ab}	17.72 $\pm$ 4.05 ^{ab}	11.85 $\pm$ 2.97 ^{ab}	470.46 $\pm$ 38.02 ^{ab}	238.22 $\pm$ 28.96 ^{ab}
方差 - 协方差分析						
原资料方差分析	干预前 F/P 值	33.639/0.000	2.514/0.100	35.450/0.000	595.719/0.000	153.510/0.000
	干预 8 周后 F/P 值	105.303/0.000	4.169/0.026	93.070/0.000	896.318/0.000	175.410/0.000
协方差检验	F/P 值	3.580/0.070	3.079/0.091	0.061/0.807	0.387/0.539	3.685/0.066
校正后方差分析	干预 8 周后 F/P 值	24.248/0.000	5.298/0.012	31.887/0.000	347.147/0.000	56.420/0.000
模型组 vs. 对照组	LSD- t/P 值	11.394/0.000	2.925/0.007	13.327/0.000	39.181/0.000	13.064/0.000
干预组 vs. 对照组	LSD- t/P 值	8.074/0.000	0.359/0.722	7.289/0.000	12.911/0.000	4.087/0.000
干预组 vs. 模型组	LSD- t/P 值	3.320/0.003	2.566/0.016	6.038/0.000	26.270/0.000	8.977/0.000

注:a,与对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 表 4 各组大鼠血脂的比较 ($n=10$)

		TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	LDL-c (mmol/L)
对照组	干预前	0.33 $\pm$ 0.04	1.20 $\pm$ 0.23	0.35 $\pm$ 0.12
	干预 8 周后	0.32 $\pm$ 0.08	1.22 $\pm$ 0.26	0.35 $\pm$ 0.12
模型组	干预前	1.10 $\pm$ 0.29 ^a	2.48 $\pm$ 0.50 ^a	1.00 $\pm$ 0.55 ^a
	干预 8 周后	1.81 $\pm$ 0.34 ^a	4.50 $\pm$ 0.47 ^a	2.04 $\pm$ 0.58 ^a
干预组	干预前	1.05 $\pm$ 0.34 ^{ab}	2.51 $\pm$ 0.47 ^{ab}	1.04 $\pm$ 0.60 ^{ab}
	干预 8 周后	1.24 $\pm$ 0.35 ^{ab}	3.00 $\pm$ 0.50 ^{ab}	1.20 $\pm$ 0.53 ^{ab}
方差 - 协方差分析				
原资料方差分析	干预前 F/P 值	27.672/0.000	32.104/0.000	6.676/0.004
	干预 8 周后 F/P 值	69.521/0.000	150.454/0.000	33.931/0.000
协方差检验	F/P 值	1.337/0.258	0.309/0.583	0.975/0.333
校正后方差分析	干预 8 周后 F/P 值	22.381/0.000	62.924/0.000	22.882/0.000
模型组 vs. 对照组	LSD- t/P 值	10.499/0.000	16.607/0.000	7.812/0.000
干预组 vs. 对照组	LSD- t/P 值	6.004/0.000	8.654/0.000	3.601/0.001
干预组 vs. 模型组	LSD- t/P 值	4.495/0.000	7.953/0.000	4.210/0.000

注:a,与对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$

2.4 各组大鼠胰腺组织 GK 和 ATP 酶活性的比较

整体比较知:各指标组间整体差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。多重比较并结合主要数据分析:干预 8 周后运动膳食干预组大鼠胰腺组织 GK 和 ATP 酶活性均较模型对照组大鼠明显增加,差异具体统计学意义 ($P<0.05$)。模型组大鼠胰腺组织 GK 和 ATP 酶活性均较正常对照组大鼠明显降低,差异具体统计学意义 ($P<0.05$)。详细结果见表 5。

2.5 各组大鼠胰腺组织 IRS-1、PI3K、PKB 和 mTOR mRNA 水平的比较

整体比较知:各指标组间整体差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。多重比较并结合主要数据分析:干预 8 周后运动膳食

干预组大鼠胰腺组织 IRS-1、PI3K、PKB mRNA 均较模型对照组大鼠明显增加,mTOR mRNA 较模型对照组明显降低,差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。模型组大鼠胰腺组织 IRS-1、PI3K、PKB mRNA 均较正常对照组大鼠明显降低,mTOR mRNA 较模型对照组明显增加,差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。详细结果见表 6。

2.6 各组大鼠胰腺组织 IRS-1、p-IRS-1、PI3K、PKB、p-PKB、mTOR 和 p-mTOR 蛋白水平的比较

整体比较知:各指标组间整体差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。多重比较并结合主要数据分析:干预 8 周后运动膳食干预组大鼠胰腺组织 IRS-1、p-IRS-1、PI3K、PKB 和 p-PKB

蛋白均较模型对照组大鼠明显增加, mTOR 和 p-mTOR 蛋白较模型对照组明显降低, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。模型组大鼠胰腺组织 IRS-1、p-IRS-1、PI3K、PKB 和 p-PKB 蛋白均较正常对照组大鼠明显降低, mTOR 和 p-mTOR 蛋白较模型对照组明显增加, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。详细结果见表 7。

表 5 各组大鼠胰腺组织 GK 和 ATP 酶活性的比较 ($n=10$)

组别	GK (μ L)	ATP酶 (U/mg 蛋白质)
对照组	43.74 $\pm$ 5.04	16.94 $\pm$ 1.50
模型组	17.04 $\pm$ 2.09 ^a	8.02 $\pm$ 1.00 ^a
干预组	29.17 $\pm$ 2.99 ^{ab}	10.40 $\pm$ 1.30 ^{ab}
<i>F</i> 值	138.724	129.101
<i>P</i> 值	0.000	0.000

注: a, 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$

表 6 各组大鼠胰腺组织 IRS-1、PI3K、PKB 和 mTOR mRNA 水平的比较 ($n=10$)

组别	IRS-1	PI3K	PKB	mTOR
对照组	1.30 $\pm$ 0.14	0.75 $\pm$ 0.11	0.71 $\pm$ 0.12	1.23 $\pm$ 0.15
模型组	0.70 $\pm$ 0.11 ^a	0.46 $\pm$ 0.08 ^a	0.44 $\pm$ 0.09 ^a	1.75 $\pm$ 0.09 ^a
干预组	0.86 $\pm$ 0.09 ^{ab}	0.68 $\pm$ 0.13 ^b	0.57 $\pm$ 0.12 ^b	1.57 $\pm$ 0.11 ^{ab}
<i>F</i> 值	72.764	19.407	14.824	48.993
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注: a, 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$

3 讨 论

2 型糖尿病是一种受多因素共同作用而发生发展, 以人体代谢障碍、血脂异常、血糖升高等为基本特征的慢性内分泌代谢病症。我国糖尿病患者人群以 2 型糖尿病为主。据国际糖尿病联合会 2010 年数据显示, 中国有糖尿病患者 4320 万, 预计到 2030 年将超过 6260 万, 如不采取控制措施, 糖尿病将给中国和世界人民的健康带来严重威胁。随着生活物质条件的改善, 人们的饮食结构发生了很大的变化, 脂肪摄入量明显增加。不合理的膳食结构, 特别是

高脂肪膳食, 加上久坐不运动的生活方式是引起肥胖、2 型糖尿病等代谢性疾病的主要原因。胰岛 β 细胞功能障碍是 2 型糖尿病最明显的特征, 导致胰岛素分泌绝对/相对减少或胰岛素抵抗, 引起胰岛素对靶组织葡萄糖摄取和清除能力下降, 导致胰岛素抵抗^[12]。胰岛素抵抗是高血压、糖尿病、高脂血症、肥胖等疾病的重要病理生理基础及共同的发病危险因素, 是代谢综合征发生发展的关键所在^[13]。

运动锻炼和膳食干预作为公认的非药物干预手段, 已广泛应用于防治慢性代谢性疾病。本研究结果显示, 经过 8 周运动锻炼和膳食干预, 运动膳食干预组大鼠 FBG、AUCGTT、TG、TC 和 LDL-C 均较模型对照组大鼠明显降低 ($P>0.05$)。这说明运动锻炼和膳食干预可控制 2 型糖尿病大鼠的血糖, 调节血脂紊乱。高胰岛素受体的敏感性是 2 型糖尿病有氧运动疗法的关键机制之一, 2 型糖尿病最主要的病理生理特征是胰岛素抵抗, 有氧运动能引起胰岛素受体的质和量发生改变。本研究结果显示, 干预 8 周后运动膳食干预组大鼠 FINS、AUCITT 和 HOMA-IR 均较模型对照组大鼠明显降低 ($P>0.05$), 说明运动锻炼和膳食干预可改善 2 型糖尿病大鼠的胰岛素抵抗。GK 是胰岛 β 细胞内葡萄糖氧化过程的第一限速酶, 催化葡萄糖生成葡萄糖-6-磷酸后主要经糖酵解通路并辅助三羧酸循环氧化生成 ATP^[14]。ATP 合成酶是胰岛 β 细胞分泌胰岛素的又一关键限速酶。这 2 个关键代谢酶表达的上调显著提高大鼠胰岛及 β 细胞系的 ATP 含量与葡萄糖反应性胰岛素分泌量达 300% 以上^[15]。本研究结果显示, 干预 8 周后运动膳食干预组大鼠胰腺组织 GK 和 ATP 酶活性均较模型对照组大鼠明显增加 ($P<0.05$), 说明运动锻炼和膳食干预可改善 2 型糖尿病大鼠的胰腺组织 GK 和 ATP 酶活性。

胰岛素与其受体结合形成复合物后, 其受体内

表 7 各组大鼠胰腺组织 IRS-1、p-IRS-1、PI3K、PKB、p-PKB、mTOR 和 p-mTOR 蛋白水平的比较 ($n=10$)

组别	ISR-1	P-ISR-1	PI3K	PKB	p-PKB	mTOR	p-mTOR
对照组	0.82 $\pm$ 0.11	0.70 $\pm$ 0.07	1.02 $\pm$ 0.09	0.65 $\pm$ 0.04	0.50 $\pm$ 0.04	0.72 $\pm$ 0.06	0.67 $\pm$ 0.03
模型组	0.41 $\pm$ 0.08 ^a	0.50 $\pm$ 0.05 ^a	0.69 $\pm$ 0.07 ^a	0.46 $\pm$ 0.03 ^a	0.31 $\pm$ 0.05 ^a	0.92 $\pm$ 0.06 ^a	1.15 $\pm$ 0.05 ^a
干预组	0.61 $\pm$ 0.06 ^{ab}	0.59 $\pm$ 0.04 ^{ab}	0.77 $\pm$ 0.05 ^{ab}	0.50 $\pm$ 0.04 ^{ab}	0.40 $\pm$ 0.06 ^{ab}	0.78 $\pm$ 0.05 ^{ab}	0.78 $\pm$ 0.05 ^{ab}
<i>F</i> 值	56.105	32.642	58.022	72.239	34.735	32.690	323.437
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: a, 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$

酪氨酸被磷酸化而激活,从而激活 IRS,进而激活另一信号因子 PI3K,磷酸化 PI3K 使其下游靶蛋白 PKB 磷酸化,p-PKB 再使 mTOR 被磷酸化而激活。mTOR 是一个高度保守的丝氨酸/苏氨酸激酶,具有蛋白激酶的活性。正常状态下 mTOR 作为 PI3K/Akt 信号通路下游的一个效应分子,主要调节细胞生长和蛋白合成,是细胞生长的中心调控因子。当细胞外营养过剩时,mTOR 作为一种营养成分感受因子,在高浓度葡萄糖的长期刺激下,会使 mTOR 长期处于激活状态而过度表达,进而使 IRS-1 的丝/苏氨酸过度磷酸化,阻碍其酪氨酸的磷酸化,抑制胰岛素信号的正常传导,使 PI3K/Akt 通路失活,最终导致胰岛素耐受,从而致使高血糖症、高胰岛素血症等^[6]。但运动锻炼联合膳食控制对 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢的改善作用是否与 IRS/PI3K-Akt 信号作用有关,目前还不完全清楚。本研究结果显示,干预 8 周后运动膳食干预组大鼠胰腺组织 IRS-1、PI3K、PKB mRNA 均较模型对照组大鼠明显增加,mTOR mRNA 较模型对照组明显降低($P<0.05$),胰腺组织 IRS-1、p-IRS-1、PI3K、PKB 和 p-PKB 蛋白均较模型对照组大鼠明显增加,mTOR 和 p-mTOR 蛋白较模型对照组明显降低($P<0.05$),说明运动锻炼和膳食干预对 2 型糖尿病大鼠胰腺组织的 IRS/PI3K-Akt 信号通路具有调节作用。唐念珍等^[17]研究发现,电针刺激胰岛素抵抗大鼠能降低 mTOR 和 P70S6K mRNA 的表达水平,可恢复胰岛素信号通路的正常传导,增强胰岛素的敏感性,从而维持血糖的正常水平,也论证了 IRS/PI3K-Akt 信号通路可能是控制 2 型糖尿病的潜在靶点。

总之,运动锻炼联合膳食控制可控制 2 型糖尿病大鼠的血糖,改善胰岛素抵抗,调节血脂紊乱,增加胰腺组织 GK 和 ATP 酶活性,并且对 IRS/PI3K-Akt 信号通路具有调节作用。

参 考 文 献

- [1] Hirose A, Tanikawa T, Mori H, et al. Advanced glycation end products increase endothelial permeability through the RAGE/Rho signaling pathway[J]. FEBS Lett, 2010, 584(1): 61-66.
- [2] Bergman R. Orchestration of glucose homeostasis: from a small a-

corn to the California oak[J]. Diabetes, 2007, 56(6): 1489-1501.

- [3] Seino S, Shibasaki T, Minami K. Dynamics of insulin secretion and the clinical implications for obesity and diabetes[J]. J Clin Invest, 2011, 121(6): 2118-2125.
- [4] Qian L, Xu L, Wang X, et al. Early insulin secretion failure leads to diabetes in Chinese the subjects with impaired glucose regulation[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2009, 25(2): 144-149.
- [5] Wajchenberg BL. Beta-cell failure in diabetes and preservation by clinical treatment[J]. Endocr Rev, 2007, 28(2): 187-218.
- [6] Lebrun P, Cognard E, Bellon-Paul R, et al. Constitutive expression of suppressor of cytokine signaling-3 in skeletal muscle leads to reduced mobility and over-weight in mice[J]. Diabetologia, 2009, 52(10): 2201-2212.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2010 年版)[J]. 中国糖尿病杂志, 2012, 20(1): S1-37.
- [8] Maiorana A, O'driscoll G, Goodman C, et al. Combined aerobic and hold exercise little glycemic control and fitness in type 2 diabetes[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2002, 56(2): 115-123.
- [9] 吴亚文, 江钟立, 李红卫, 等. 运动训练对糖尿病大鼠胰岛形态和 β 细胞功能的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2009, 24(6): 518-522.
- [10] 常秀亭, 李 婕, 谢 曦, 等. 糖脉交泰胶囊对高糖高脂糖尿病大鼠糖脂代谢及肝脏葡萄糖激酶、低密度脂蛋白受体的影响[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(2): 234-237.
- [11] Ploug T, Stallknecht BM, Pedersen O, et al. Effect of endurance training on glucose transport capacity and glucose from the expression in rat skeletal muscle[J]. Am J Physiol, 1990, 259(6 Pt 1): E778-786.
- [12] Smith AG, Muscat GE. Skeletal muscle and nuclear hormone receptors: implications for cardiovascular and metabolic disease[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2005, 37(10): 2047-2063.
- [13] Lastra G, Dhuper S, Johnson MS, et al. Salt, aldosterone, and insulin resistance: impact on the cardiovascular system[J]. Nat Rev Cardiol, 2010, 7(10): 577-584.
- [14] 龚 云, 张 鑫. 运动对糖尿病大鼠胰岛的影响及其机制探讨[J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(8): 22-27.
- [15] Yang J, Wong RK, Park M, et al. Leucine regulation of glucokinase and ATP synthase sensitizes glucose-induced insulin secretion in pancreatic beta-cells[J]. Any Diabetes, 2006, 55(1): 193-201.
- [16] Tzatsos A, Kandror KV. Nutrients suppress phosphatidylinositol 3 kinase/Akt signaling via raptor-dependent mTOR-mediated insulin receptor substrate 1 phosphorylation[J]. Mol Cell Biol, 2006, 26(1): 63-76.
- [17] 唐念珍, 唐成林, 黄思琴, 等. 电针通过 mTOR/P70S6K 信号途径增强胰岛素抵抗模型大鼠对胰岛素的敏感性[J]. 中国老年学杂志, 2017, 35(9): 2333-2335.

(责任编辑:唐秋姗)