

不同运动量对糖尿病大鼠血清瘦素水平的影响*

吴毅¹ 孙莉敏¹ 胡永善¹ 朱尚权² 张新堂²

摘要 目的:探讨运动与体重调节密切相关的血清瘦素水平的关系,观察不同运动量对糖尿病大鼠体重、血糖、血清胰岛素和血清瘦素的影响。**方法:**将实验动物分成 6 组,分别为正常对照组、正常运动组、糖尿病组、糖尿病小运动量组、糖尿病中运动量组和糖尿病大运动量组。运动组按 Ploug 方法进行游泳训练。**结果:**正常运动组大鼠游泳 8 周后的血清瘦素浓度较运动前显著降低。运动前 4 组糖尿病组大鼠与正常对照组相比,体重、血清胰岛素和血清瘦素水平显著降低,血糖浓度显著升高。8 周后只有糖尿病中运动量组大鼠的每周体重增加数明显回升,血糖浓度较运动前降低 35%,血清胰岛素浓度较运动前升高 38%,血清瘦素浓度较运动前升高 40%。而糖尿病小运动量组和糖尿病大运动量组大鼠运动 8 周后的上述指标较运动前均无显著性差异。多元相关回归分析,仅提示糖尿病大鼠血清胰岛素是血清瘦素有意义的影响因素。**结论:**正常生理状态下运动降低血清瘦素水平是机体为维持自身体重稳定和能量平衡的一种适应性反应;而在链脲佐菌素糖尿病状态下,瘦素似乎与胰岛素关系更密切,中等强度运动在降低血糖、改善机体对胰岛素敏感性的同时,似乎也改善了对瘦素的敏感性;运动量不足或运动量过大对糖尿病均无明显治疗效果。

关键词 运动;糖尿病;瘦素;胰岛素

中图分类号:R587.1, R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2007)-05-0387-04

The influence of different exercises intensity on the level of serum leptin for STZ diabetic rats/WU Yi,SUN Limin,HU Yongshan,et al// Chinese Journal of Rehabilitation Medicine,2007,22(5):387—390

Abstract Objective:To study if exercises can affect serum leptin level that related with weight regulation and observe the influence of different exercises intensity on weight, blood glucose, serum insulin and leptin in STZ diabetic rats. **Method:**Six experimental groups of rats were investigated: normal controls (NC), normal exercises (NE), diabetic group (DG), diabetic low-intensity exercises group (LEG), middle-intensity and great-intensity exercises group (MEG and GEG). Swimming training was administered according to Ploug methods. **Result:**After 8 weeks swimming, serum leptin concentration of NE markedly decreased. Before swimming, body weight, serum insulin and leptin level of all the STZ diabetic rats were significantly lower than that of NC, and blood glucose were higher. Eight weeks later, only rats of MEG raised an obvious increase in weight lift per week, concentration of blood glucose decreased 35%, serum insulin level increased 38%, serum leptin level increased 40%. However, 8 weeks later the former guidelines in LEG and GEG made no differences with those of pre-exercises. Multiple relation and stepwise regression analysis were applied. It indicated that in diabetic rats only serum insulin was a significant influencing factor of serum leptin. **Conclusion:**Under normal physiological condition decreased serum leptin level by exercises is an adaptive reaction to maintain stable body weight and balanceable energy, while under STZ diabetic condition, leptin seems to be closely related with insulin. Middle-intensity exercises reduce blood glucose and improve insulin sensitivity, and at the same time, it seems to improve leptin sensitivity. Insufficient exercises or excess exercises have no therapeutic effect on diabetes.

Author's address Dept. of Rehabilitation, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai, 200040

Key words exercises; diabetes; leptin; insulin

自 1994 年底 Friedman 等^[1]成功克隆出肥胖基因(ob gene)以来,国内外有关 ob 基因的研究有了较大的进展。研究表明,瘦素(leptin)是 ob 基因的蛋白质产物,由脂肪细胞合成产生。脂肪细胞分泌瘦素进入血液循环,血清瘦素可通过血脑屏障,作用于下丘脑饮食中枢的瘦素受体,从而抑制食物摄入、增加机体产热和能量消耗,最终起到减轻体重的作用。运动也能增加机体能量消耗,减少体内脂肪,运动是否影响与体重调节密切相关的瘦素呢?有关正常或糖尿

病动物及个体运动和血清瘦素之间的关系,国内外已有一些文献报道,但结论并不一致^[2-5]。有关不同运动量对糖尿病大鼠体重、血糖、血清胰岛素、瘦素

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

1 复旦大学附属华山医院康复医学科,复旦大学上海医学院康复医学系,上海,200040

2 中国科学院上海生物化学研究所

作者介绍:吴毅,男,教授,博士生导师

收稿日期:2007-03-06

的影响, 以及相互间的关系, 目前国内外少见报道。本研究的目的是观察不同运动量对链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 糖尿病大鼠血清瘦素的变化, 探讨体重、血糖、血清胰岛素和血清瘦素间相关性。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物: 为 2 月龄的雄性 Sprague-Dawley 大鼠, 体重 180—220g, 由复旦大学实验动物部提供。实验期间, 动物饲养于复旦大学实验动物房, 所有大鼠均给予常规饮食和饮水, 饲养条件: 室温 25℃ 左右, 每日光照约为 12h。

1.1.2 实验试剂: STZ 购自美国 Sigma 公司; 免疫活性胰岛素放免试剂盒购自天津德普生物技术和医学产品有限公司; 瘦素酶联免疫吸附试剂盒购自美国 DSL 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 STZ 糖尿病大鼠动物模型的建立: 大鼠禁食 12h, 用 0.1M 柠檬酸钠-柠檬酸缓冲液 (1:2, pH 4.2) 在冰浴中配制新鲜 10mg/ml 的 STZ 溶液, 每只大鼠左下腹腔内注射 STZ 55mg/kg 体重 (正常对照大鼠腹腔内注射等量的柠檬酸缓冲液)。第 4 日开始测尿糖和血糖, 尿糖持续 3 天在+++至++++且血糖在 16.7mmol/L 以上者确定为糖尿病大鼠。

1.2.2 实验动物分组: 正常大鼠 20 只随机分成 2 组, 每组 10 只, 分别为正常对照组、正常运动组。糖尿病大鼠 40 只随机分成 4 组, 每组 10 只, 分别为糖尿病组、糖尿病小运动量组、糖尿病中运动量组、糖尿病大运动量组。正常运动组和糖尿病中运动量组均按 Ploug^[5]方法进行游泳训练, 水深 50cm, 水温保持 35℃ 左右, 每个大鼠有 200cm² 的活动面积以保证大鼠持续活动, 首先大鼠学习游泳 2 次, 每次

10min, 以后每周游泳 5 天, 前 2 周每天游泳 40min, 后 6 周每天游泳 60min, 共 8 周。糖尿病小运动量组也按 Ploug 方法首先学习游泳 2 次, 每次 10min, 以后每周游泳 5 天, 每天游泳 30min, 共 8 周。糖尿病大运动量组前 3 周的游泳训练同糖尿病中运动组, 后 5 周每天游泳 90min, 每周游泳 5 天。

1.2.3 血糖测定: 实验前后尾静脉取血, 用快速血糖仪 (美国强生公司产品 One Touch II 型及其提供的试纸条) 检测血糖浓度。

1.2.4 血清胰岛素测定: 实验前舌下静脉采血, 留血清标本, -20℃ 冰箱保存; 实验后摘取眼球采血, 留血清标本, 两批标本于同一批测定血清胰岛素, 操作按免疫活性胰岛素放免试剂盒说明书进行。

1.2.5 血清瘦素测定: 血清标本的留取同上, 操作按瘦素酶联免疫吸附试剂盒说明书进行。

1.3 统计学分析

所有数据用均数±标准差表示, 组间显著性差异采用 *t* 检验, 体重、血糖、血清胰岛素和瘦素之间的关系采用多元相关和多元逐步回归分析。

2 结果

2.1 运动前后各组大鼠的体重变化

正常运动组大鼠与正常对照组相比, 运动前与运动后的体重均无显著性差异。运动前, 糖尿病组与 3 组糖尿病运动组大鼠的体重无显著性差异, 但与正常对照组相比, 以上 4 组的体重显著降低 (*t* 值分别为 14.01、14.18、12.84 和 11.31, $P<0.001$)。经过 8 周游泳训练后, 糖尿病中运动量组大鼠的每周体重增加数高于糖尿病组 43% ($t=2.70$, $P<0.05$), 但仍低于正常对照组 22% ($t=2.51$, $P<0.05$); 而糖尿病小运动量组和糖尿病大运动量组大鼠运动前后的体重变化与糖尿病组无显著性差异, 见表 1。

表 1 实验前后各组大鼠的体重比较

($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	起始体重 (g)	运动前体重 (g)	运动后体重 (g)	运动前后体重变化 (g/w)
正常对照组	10	239±16	302±16	404±32	12.69±2.59
正常运动组	10	237±8	290±20	382±40	11.55±3.10
糖尿病组	10	234±9	207±15 ^①	262±27 ^①	6.96±2.67 ^①
糖尿病小运动量组	10	234±9	208±14 ^①	253±29 ^①	5.60±2.40 ^①
糖尿病中运动量组	10	227±9	214±15 ^①	293±30 ^{①②}	9.95±2.27 ^{①②}
糖尿病大运动量组	10	231±8	216±18 ^①	270±21 ^①	6.64±1.57 ^①

①与正常对照组比, $P<0.05$; ②与糖尿病组比, $P<0.05$

2.2 运动前后各组大鼠血糖、血清胰岛素、血清瘦素水平的变化

正常运动组大鼠运动前与运动后的血糖、血清胰岛素浓度均无显著性差异, 但 8 周运动后大鼠血清瘦素水平较运动前显著降低 ($t=18.58$, $P<0.001$), 且与正常对照组相比降低 33% ($t=4.32$, $P<0.001$)。运

动前, 糖尿病组与 3 组糖尿病运动组大鼠的血糖、血清胰岛素和血清瘦素的浓度均无显著性差异, 但与正常对照组相比较, 以上 4 组大鼠的血糖均显著升高 (*t* 值分别是 17.75、19.55、18.11 和 27.84, $P<0.001$), 而血清胰岛素浓度显著降低 (*t* 值分别是 6.43、5.80、5.50 和 6.03, $P<0.001$), 血清瘦素浓度也

显著降低 (t 值分别是 13.82、14.27、11.67 和 15.94, $P<0.001$)。

糖尿病中运动量组大鼠经过 8 周游泳训练后, 血糖浓度较运动前降低 35% ($t=5.71, P<0.001$), 与糖尿病组相比降低 49% ($t=15.49, P<0.001$), 但血糖浓度仍有意义地高于正常对照组。糖尿病中运动量组大鼠运动后血清胰岛素浓度较运动前升高 38% ($t=8.17, P<0.001$), 与糖尿病组相比升高 93% ($t=5.12,$

$P<0.001$), 仍显著低于正常对照组。糖尿病中运动量组大鼠运动后血清瘦素浓度较运动前升高 40% ($t=12.38, P<0.001$), 与糖尿病组相比升高 77% ($t=4.86, P<0.001$), 但仍显著低于正常对照组。而糖尿病小运动量组和糖尿病大运动量组大鼠运动 8 周后的血糖、血清胰岛素、血清瘦素浓度与运动前相比无显著性差异, 与糖尿病组相比也无显著性差异, 见表 2。

2.3 正常大鼠和糖尿病大鼠的体重、血糖、血清胰

表 2 实验前后各组大鼠血糖、血清胰岛素和血清瘦素变化

($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	血糖 (mmol/L)		血清胰岛素 (mU/L)		血清瘦素 (ng/ml)	
		开始	结束	开始	结束	开始	结束
正常对照组	10	3.25±0.38	3.28±0.34	8.68±2.05	9.32±2.03	2.09±0.25	2.15±0.29
正常运动组	10	3.15±0.29	3.16±0.26	9.40±0.92	9.12±1.34	1.94±0.47	1.43±0.45 ^{①③}
糖尿病组	10	24.61±3.79 ^①	28.98±2.15 ^①	3.52±1.50 ^①	3.33±0.91 ^①	0.84±0.15 ^①	0.79±0.14 ^①
糖尿病小运动量组	10	23.40±3.24 ^①	24.13±3.34 ^①	4.24±1.29 ^①	4.12±1.12 ^①	0.86±0.12 ^①	0.83±0.09 ^①
糖尿病中运动量组	10	22.60±3.36 ^①	14.80±1.94 ^{①②③}	4.66±1.07 ^①	6.40±1.66 ^{①②③}	0.84±0.23 ^①	1.40±0.37 ^{①②③}
糖尿病大运动量组	10	21.50±2.04 ^①	21.9±2.51 ^①	4.00±1.36 ^①	4.54±1.51 ^①	0.80±0.07 ^①	0.93±0.13 ^①

①与正常对照组比 $P<0.05$; ②与糖尿病组比 $P<0.05$; ③与运动前比 $P<0.05$

胰岛素与血清瘦素之间的多元相关回归分析

对 2 组正常大鼠 8 周后的体重、血糖、血清胰岛素与血清瘦素值作多元相关及逐步回归分析, 未发现血清瘦素和血清胰岛素、体重、血糖之间有相关性。

而对 4 组糖尿病大鼠 8 周后的体重、血糖、血清胰岛素与血清瘦素作多元相关分析, 发现血清瘦素和血清胰岛素、体重之间均呈显著正相关 ($r=0.707, r=0.471, P$ 均 <0.01), 血清瘦素和血糖之间呈显著负相关 ($r=-0.582, P<0.001$); 进一步作多元逐步回归分析显示, 仅血清胰岛素是血清瘦素有意义的影响因素 ($r^2=0.500, P<0.001$), 而体重与血糖均和血清瘦素无相关性, 见图 1。

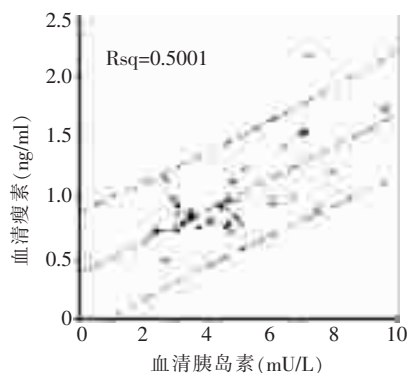


图 1 胰岛素与瘦素的回归线

3 讨论

瘦素由脂肪细胞产生, 其含量反映机体脂肪储存量。正常运动组大鼠经过 8 周游泳训练后, 体重与正常对照组相比无显著性差异, 但血清瘦素水平显著降低, 因为正常情况下, 动物进行能量代谢时, 有维持自身能量平衡及生理体重的功能。目前研究表

明, 这种保持体重稳定的功能可能与瘦素介导有关。长期耐力运动使体内大量能量消耗, 脂肪组织氧化分解增加, 导致脂肪储存量减少, 瘦素分泌相应减少, 低血清瘦素浓度作用于下丘脑瘦素受体, 通过神经肽 Y (neuropeptide Y, NPY) 等一系列神经递质, 作出增加食物摄入, 减少产热, 降低能量消耗的反馈信息, 以保持机体能量摄入与能量消耗的平衡, 使体重稳定不变。长期运动使正常大鼠血清瘦素水平降低这一结论与国外研究基本一致。David 等^[7]对大鼠进行跑台训练停止后, 发现三酰基甘油合成持续增多, 并且附睾的脂肪量也明显增多。有研究表明, 单次急性运动对正常大鼠瘦素的产生及血中浓度无明显效应。DA Sandoval 等^[8-9]检测大鼠急性跑台运动即刻和 4h 后血清瘦素与静息时相比并无明显差异, 这可能是由于单次运动会引起机体内多种神经体液和代谢因素的急性改变, 如交感神经-肾上腺素能系统、胰岛素、糖皮质激素、血糖、脂肪酸等, 它们对血清瘦素水平的综合影响, 使单次运动后瘦素即刻浓度不发生明显改变。

STZ 对正常大鼠的胰腺组织具有毒性作用, 可破坏胰岛 β 细胞, 使内源性胰岛素分泌减少, 因此, 注射 STZ 后的大鼠比较偏向于 1 型糖尿病模型, 表现出高血糖、低体重、低血清胰岛素的特征。研究发现, STZ 糖尿病大鼠血清瘦素浓度与正常大鼠相比有显著降低, 并经多元相关回归分析提示, 糖尿病大鼠的血清胰岛素是血清瘦素的主要影响因素, 即可能因低血清胰岛素造成低血清瘦素, 而糖尿病大鼠的体重、血糖与血清瘦素无相关性 D'Adamo M 等^[10]发现胰岛素瘤患者表现出长期高胰岛素血症, 血清瘦素和 ob mRNA 明显高于对照组, 肿瘤切除后, 血

清瘦素水平恢复,说明胰岛素能促进瘦素的产生。关于内源性胰岛素与瘦素之间的关系,目前国外研究尚不一致,比较倾向“脂肪-胰岛素负反馈轴”的说法^[11-12]。正常情况下,血清胰岛素水平降低,会使脂肪细胞对葡萄糖的吸收与利用率减少,脂肪氧化分解作用增强,体脂储量降低,造成脂肪细胞分泌瘦素减少,血清瘦素可分别作用于下丘脑瘦素受体和胰岛 β 细胞瘦素受体,一方面低血清瘦素使下丘脑弓状核分泌 NPY 增加,从而增加摄食,间接刺激胰腺组织胰岛素的分泌^[13];另一方面低血清瘦素可直接作用于胰岛 β 细胞,增强葡萄糖刺激的胰岛素分泌。因此,胰岛素作用于脂肪组织调节瘦素,而瘦素又作用于下丘脑与胰腺来调节胰岛素,两者在生理条件下保持动态平衡。而 STZ 糖尿病大鼠由于胰岛遭到 STZ 的破坏,从而阻断了瘦素对胰岛素的负反馈调节,使“脂肪-胰岛素负反馈轴”在糖尿病状态下不能发挥作用,故血清胰岛素和瘦素均处于低水平,无法恢复正常平衡浓度。另外发现,实验过程中 STZ 糖尿病大鼠表现出明显的多饮多食症状,似乎能用低血清瘦素对下丘脑饮食中枢的作用来解释,但瘦素如何通过神经递质系统在饮食中枢发生作用,其机制尚需进一步研究。

研究发现,8 周中等强度的游泳训练使 STZ 糖尿病大鼠体重变化增加、血糖降低、血清胰岛素及瘦素浓度均增高,再次证实运动对糖尿病有一定的治疗作用。值得注意的是,长期运动后正常大鼠血清瘦素浓度降低,而糖尿病大鼠血清瘦素浓度却升高,可能是因为 55mg/kg 体重的 STZ 注射剂量不够大,并未完全彻底地破坏胰岛的分泌功能,一定运动强度的刺激可使部分破坏不完全的胰岛 β 细胞功能恢复,血清胰岛素水平升高;另外长期中等强度运动能改善脂肪组织对胰岛素的敏感性,使脂肪细胞对葡萄糖的吸收与利用率增加,脂肪储量增加,因而脂肪细胞分泌瘦素增多,血清瘦素水平升高。

本次研究对比了不同运动强度的游泳训练对 STZ 糖尿病大鼠的治疗作用,发现只有中等强度运动量才能缓解糖尿病的高血糖状态,小运动量和大运动量糖尿病组均不能达到治疗效果,但就血糖浓度的稳定而言,小运动量和大运动量组均比糖尿病对照组变化幅度要小。在实际游泳训练过程中发现,每天游 30min 对糖尿病大鼠来说很轻松,而每天游 90min 对糖尿病大鼠来说就接近力竭运动状态。运动强度小,每次运动产生的效应也小,维持效应的时间就短,最终无法达到效应的累积,因此,糖尿病小运动量组未发现血糖明显降低,血清胰岛素和瘦素

浓度也均无显著改变。运动强度大,特别是力竭性运动会使机体以无氧代谢为主,造成体内乳酸和酮体增多并堆积,另外反复的过度疲劳也削弱了运动的降糖效应。

4 结论

瘦素在正常生理状态下有利于维持体重稳定和能量平衡;在 STZ 糖尿病状态下瘦素和胰岛素水平步调一致,呈明显缺陷;中等强度的耐力运动在降低血糖、改善机体对胰岛素敏感性的同时,似乎也改善了对瘦素的敏感性;运动量不足或运动量过大对 STZ 糖尿病均无明显治疗效果。当然,瘦素的变化还可能受其他多种神经体液或代谢因素的影响,运动引起血清瘦素水平的改变,究竟是作用于 ob mRNA 的表达、瘦素转录后水平、瘦素的分泌还是瘦素在血中被靶组织的清除速率等环节,瘦素与胰岛素、糖代谢的内在关系,这些问题还有待进一步研究。

参考文献

- [1] Marx J. Obesity gene discovery may help solve weighty problem[J]. Science, 1994, 266: 1477—1478.
- [2] 张缨, 冯美云, 吴昊. 有氧运动训练对糖尿病大鼠瘦素-下丘脑 NPY 轴的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2002, 32: 239—243.
- [3] Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, et al. Weight-reducing effects of plasma protein encoded by the obese gene [J]. Science, 1995, 269: 543—546.
- [4] Rentsch J, Levens N, Chiesi M. Recombinant ob-gene product reduces food intake in fasted mice [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1995, 214: 131—136.
- [5] Weigle DS, Bukowski TR, Foster DC, et al. Recombinant ob protein reduces feeding and body weight in the ob/ob mouse[J]. J Clin Invest, 1995, 96: 2065—2070.
- [6] Ploug T, Stallknecht BM, Pedersen O, et al. Effect of endurance training on glucose transport capacity and glucose transporter expression in rat skeletal muscle [J]. Am J Physiol, 1990, 259: E778—E786.
- [7] David SK, Frank WB. Sustained rise in triacylglycerol synthesis and increased epididymal fat mass when rats cease voluntary wheel running[J]. J Physiology, 2005, 565: 911—925.
- [8] Torjman MC, Zafeiridis A, Paolone AM, et al. Serum leptin during recovery following maximal incremental and prolonged exercise[J]. Int J Sports Med, 1999, 20: 444—450.
- [9] Sandoval DA, Davis SN. leptin metabolic control and regulation [J]. J Diabetes Complicat, 2003, 17: 108—113.
- [10] D'Adamo M, Buongiorno A, Maroccia E, et al. Increased ob gene expression leads to elevated plasma leptin concentrations in patients with chronic primary hyperinsulinemia[J]. Diabetes, 1998, 47: 1625—1629.
- [11] Moran O, Phillip M. Leptin: obesity, diabetes and other peripheral effects - a review [J]. Pediatric Diabetes, 2003, 4: 101—109.
- [12] Steinacker JM, Lormes W, Reissnecker S, et al. New aspects of the hormone and cytokine response to training [J]. J Appl Physiol, 2004, 91: 382—391.
- [13] Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, et al. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product[J]. Nature, 1995, 377: 530—532.