

·基础研究·

运动训练对糖尿病大鼠尾神经传导速度的影响

李红卫¹ 江钟立^{1,3} 吴亚文¹ 陈 玲²

摘要 目的:探讨运动训练对糖尿病大鼠尾神经传导速度(CNCV)的影响。方法:链脲霉素(STZ,55mg/kg)诱导的21只糖尿病大鼠随机平均分配到糖尿病运动8周组(A)、糖尿病运动4周组(B)和糖尿病对照组(C),实验结束时17只糖尿病大鼠存活,其中A组6只、B组6只和C组5只;12只正常血糖大鼠随机分为正常运动8周组(D,n=6)和正常对照组(E,n=6)。运动组大鼠游泳60min/d,5d/周。实验过程中分别于基线、第4周、第8周时测定大鼠血糖、体重和CNCV。结果:糖尿病大鼠基线时血糖显著高于正常血糖大鼠,A组大鼠运动第8周时血糖较基线显著降低($P<0.05$)。第4周时糖尿病大鼠CNCV均显著低于正常血糖大鼠,A组大鼠CNCV显著高于B、C组。第8周时A、B组大鼠CNCV显著高于C组和基线水平($P<0.05$),与正常血糖大鼠无显著差异。第8周时C组大鼠CNCV较基线水平明显降低,而D、E组大鼠CNCV高于基线水平。结论:运动训练可以预防和治疗糖尿病周围神经病变。

关键词 运动训练;糖尿病神经病变;尾神经传导速度

中图分类号:R493,R587.1 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2009)-05-0412-04

The effect of exercises training on caudal nerve conduction velocity in diabetic rats/LI Hongwei, JIANG Zhongli, WU Yawen, et al//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2009, 24(5):412—415

Abstract Objective: To explore the effect of exercises on caudal nerve conduction velocity (CNCV) in streptozotocin-induced diabetic rats. **Method:** Twenty-one diabetic rats induced by streptozotocin (STZ, 55mg/kg) were randomly divided into diabetic group A with exercises for 8 weeks, diabetic group B with exercises for 4 weeks and diabetic control group C without exercises. Seventeen diabetic rats survived at the end of experiment, which were distributed respectively in group A (n=6), group B (n=6) and group C (n=5). Twelve SD rats with euglycemia were randomly divided into normal exercises 8 weeks group D (n=6) and normal control group E (n=6). The exercises rats were forced to swim 60min/d with 5d/week. Body weights, blood glucose and CNCV in all rats were evaluated at the points of baseline, the 4th week and 8th week. **Result:** Blood glucose in diabetic rats were higher than that in rats with euglycemia ($P<0.05$). Blood glucose in group A decreased significantly after 8 weeks exercises in comparison with baseline ($P<0.05$). The CNCV were significantly lower in all diabetic groups than that in groups with euglycemia and were significantly higher in group A than those in groups B and C at the 4th week. The CNCV in groups A and B increased significantly beyond baseline ($P<0.05$) and to normal level as the groups with euglycemia at the 8th week. The CNCV in group C at the 8th week decreased significantly in comparison with baseline ($P<0.05$). The CNCV in groups D and E at the 8th week increased significantly in comparison with baseline. **Conclusion:** Exercises training may prevent and treat the diabetic neuropathy.

Author's address Department of Rehabilitation Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, 210029

Key words exercises training; diabetic neuropathy; caudal nerve conduction velocity

糖尿病神经病变是糖尿病最常见的并发症,临床流行病学资料显示约8%的首诊糖尿病患者就已经有糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)的表现,病程10年以上的患者有半数因神经病变的相关症状而影响生存质量^[1]。因为DPN的症状早期不明显,容易被忽视,等发现时已属晚期。在美国每年大约有86000名糖尿病患者截肢^[2],国内报道超过50%的糖尿病患者有神经病变^[3],严重影响到患者的生存质量,因此,早期预防、治疗显得非常重要。临幊上除了控制血糖以外,常使用抗氧化药物和神经营养药治疗DPN,但是疗

效不肯定^[4]。Balducci等^[5]2006年选择无神经病变迹象的糖尿病患者首次研究发现长期有氧运动可以预防DPN的发生,但是运动训练对已发生的神经病变是否有改善作用尚不清楚。以往的研究绝大多数都着眼于DPN对运动能力的限制,而且大多数研究把焦点放在糖尿病合并自主神经病变是运动疗法的禁

1 南京医科大学第一附属医院康复医学科,210029

2 南京医科大学生理学系

3 通讯作者

作者简介:李红卫,男,住院医师,硕士

收稿日期:2009-01-15

忌证方面。实际上很少有人关注运动治疗对DPN的作用^[6]。运动是否能够预防和/或改善DPN是一个并没有得到明确答案的问题。电生理检测是神经功能障碍的“金指标”,可以检测尾和坐骨神经的感觉和运动神经传导速度^[7]。本研究通过检测尾神经传导速度(caudal nerve conduction velocity,CNCV)探讨运动训练对糖尿病大鼠神经病变的干预作用,从而为临床糖尿病神经病变的运动治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物

12周龄雄性SD大鼠,体重250—300g,由上海市斯莱克实验动物有限公司提供[许可证号:SCXK(沪)2003-0003],饲养于南京医科大学实验动物中心,常规饲料和饮水,室温20±2℃,相对湿度65%—70%,12h明(8:00—20:00)/12h暗(20:00—8:00)周期循环。常规大鼠颗粒饲料喂养,自由饮水。为避免环境改变产生的影响,所有大鼠适应性喂养1周后进入实验。所有实验过程遵循南京医科大学动物管理委员会规定。

1.2 糖尿病大鼠模型的建立

将链脲霉素(streptozotocin, STZ, Sigma公司)按照55mg/ml剂量溶于0.01M的枸橼酸缓冲液中(pH=4.4—4.6)。适应性喂养1周后,SD大鼠空腹12h后按55mg/kg于腹腔注射STZ,1周后进行剪尾取血,用血糖仪(Surestep Plus,Lifescan,USA)测血糖,血糖>16.7mmol/L者确定为糖尿病大鼠^[8]。正常血糖组大鼠分别于对应时间注射相同剂量的枸橼酸溶液。

1.3 实验分组

SD大鼠33只随机分为正常血糖组(n=12)和糖尿病组(n=21)。正常血糖组分为正常对照组(D,n=6)和正常运动8周组(E,n=6)。造模成功的糖尿病大鼠21只随机分成糖尿病运动8周组(A,n=7)、糖尿病运动4周组(B,n=7)和糖尿病对照组(C,n=7)。实验结束后正常血糖组大鼠全部存活,糖尿病组大鼠存活17只,分别是A组6只、B组6只和C组5只。

1.4 运动方案

运动组采用Ploug^[9-10]的训练方案,将大鼠置于水深50cm,水温35℃左右的桶中进行无负荷自由泳运动。训练程序为60min/d,5d/周。基线时间定义为糖尿病组大鼠STZ注射1周后及正常血糖组大鼠于枸橼酸溶液注射1周后。A组从造模成功开始连续运动8周,B组造模成功后喂养4周,从第5周

开始连续运动4周,D组与A组运动时间相同。C和E组不予运动,定时将鼠笼置于运动时的桶旁,摒除环境噪音的影响。

1.5 指标测定

分别于基线、第4周、第8周时测量大鼠体重、血糖及CNCV。血采用肌电图诱发电位仪(Keypoint,丹麦,Dantac公司)测定大鼠CNCV。1.5%戊巴比妥腹腔内注射(40mg/kg)将大鼠麻醉,固定于操作平板上。刺激电极置于离尾部毛迹20mm处(近端),记录电极置于离刺激电极100mm的轴向距离处(远端),参考电极分别置于离刺激电极近端和记录电极远端约20mm处,刺激电极和记录电极的中点接地线,地线使用环状电极,其他电极使用针状电极^[11]。测量过程中使用电热水袋予大鼠尾部局部保持温度,Easytem多功能红外温度计(韩国产)测温,将大鼠尾部局部温度保持在36—38℃。

1.6 统计学分析

用SPSS13.0统计软件进行数据分析,各组数据采用均数±标准差表示。采用单因素方差分析,方差齐时采用LSD法进行两两比较,方差不齐时采用Tamhane法两两比较。P<0.05表示差异有显著性意义。

2 结果

在本研究中,SD大鼠27只给予STZ注射,其中有6只血糖未达标,糖尿病大鼠模型造模成功率为77.8%。在本研究中由于慢性疾病状态和感染导致糖尿病对照组大鼠死亡2只,糖尿病4周运动组死亡1只,糖尿病运动8周组大鼠在游泳训练时淹死1只。最终参与统计的实验动物A、B、C、D、E组分别为6只、6只、5只、6只、6只。

2.1 各组大鼠运动干预前后的血糖变化

基线时A、B、C各组血糖水平高于D、E组(P<0.05)。A组第4周时血糖出现下降趋势,第8周时显著低于基线水平(P<0.05)。B组第8周时也出现下降趋势,但差异无显著性意义(表1)。

表1 各组大鼠运动干预前后血糖水平($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

组别	动物数	基线	第4周	第8周
A组	6	23.40±1.61 ^①	20.25±5.70 ^①	14.98±6.30 ^②
B组	6	21.30±2.43 ^①	24.43±1.88 ^①	20.20±3.98 ^①
C组	5	24.06±1.70 ^①	26.22±1.44 ^①	25.36±1.60 ^①
D组	6	5.38±0.33	5.58±0.37	5.77±0.29
E组	6	5.52±0.29	6.12±0.88	5.38±0.36

①与D、E组比较P<0.05,②与基线比较P<0.05

2.2 各组大鼠运动干预前后体重的变化

基线时各组大鼠间体重没有差异。第4周时D、E组大鼠体重明显高于基线水平(P<0.05),A组大

鼠体重明显高于C组($P<0.05$)。第8周时D、E组大鼠体重继续显著增加($P<0.05$)；糖尿病各组体重水平均低于正常血糖组($P<0.05$)（表2）。

2.3 各组大鼠运动干预前后CNCV的变化

基线时各组间CNCV差异没有显著性意义。第4周时糖尿病各组CNCV较正常血糖组显著下降($P<0.05$)，A组大鼠CNCV高于B、C组，并且显著高于基线水平($P<0.05$)，正常血糖组大鼠CNCV水平均高于较基线($P<0.05$)。第8周时A、B、D、E组CNCV显著大于C组($P<0.05$)，并且均高于基线水平($P<0.05$)，B组大鼠较第4周时显著增快($P<0.05$)（表3）。

表2 各组大鼠运动干预前后体重变化 ($\bar{x}\pm s$, g)

组别	动物数	基线	第4周	第8周
A组	6	295.55±10.21	354.73±44.93 ^{①②}	357.42±68.84 ^②
B组	6	298.77±20.76	332.65±25.23 ^②	354.22±35.75 ^{②③}
C组	5	278.72±9.38	301.34±33.55 ^②	320.26±51.85 ^②
D组	6	287.95±10.83	413.33±10.95 ^③	495.30±13.68 ^{③④}
E组	6	277.10±26.46	407.97±37.80 ^③	489.93±35.60 ^{③④}

①与C组比较 $P<0.05$ ；②与D、E组比较 $P<0.05$ ；③与基线比较 $P<0.05$ ；④与4周比较 $P<0.05$

表3 各组大鼠运动干预前后大鼠尾神经传导速度水平 ($\bar{x}\pm s$, m/s)

组别	动物数	基线	第4周	第8周
A组	6	37.18±5.70	42.90±1.77 ^{①②③④}	46.80±4.40 ^{②④}
B组	6	34.80±2.56	37.35±1.53 ^③	47.60±3.39 ^{②④⑤}
C组	5	37.92±3.25	35.66±1.33 ^③	32.54±2.04 ^④
D组	6	33.35±2.18	46.78±3.93 ^④	46.57±3.94 ^{②④}
E组	6	35.30±2.29	46.55±3.30 ^④	47.73±4.54 ^{②④}

①与B组比较 $P<0.05$ ；②与C组比较 $P<0.05$ ；③与D、E组比较 $P<0.05$ ；④与基线比较 $P<0.05$ ；⑤与4周比较 $P<0.05$

3 讨论

糖尿病是一个日益增长的世界性医疗问题。随着人群年龄增加,饮食和运动模式改变,糖尿病的患病率迅速增长^[12]。DPN是糖尿病最常见的并发症,表现为进行性的感觉功能缺失,导致疼痛、麻木乃至坏疽而截肢。电生理检测可以早期发现神经病变的存在,本研究结果显示运动训练可以提高糖尿病大鼠的CNCV,对DPN可以起到预防和治疗作用。

STZ造模的成功率与实验动物的体重有一定关系,Hoybergs等^[13]研究发现STZ注射后体重<300g的大鼠随时间过程出现体重的增加,但是在体重>300g的大鼠都表现出体重下降, β 细胞团与体重的比值随年龄的增长而下降,提示体重较大或者年龄较大的动物对STZ的反应要显得更敏感,因而模型的成功率也较高。体重的下降是实验动物身体状况较差的表现,身体状况的好坏也会对实验数据产生影响。本实验过程中正常血糖组体重增长幅度较大,糖尿病大鼠体重第4周时出现增长的趋势,第8周

时没有继续增加,提示STZ造模动物没有出现动物体重的下降,可以排除体重因素对实验数据的影响。但由于糖尿病导致了大鼠体能下降,运动耐力降低,在游泳运动中很容易发生溺水,因感染糖尿病对照组大鼠死亡2只,糖尿病4周运动组死亡1只,糖尿病运动8周组大鼠在游泳训练时淹死1只,因此实验结束时各组动物数不是均匀分布的。

糖尿病大鼠各组间基线血糖差异没有显著性意义,糖尿病运动8周组在运动第4周时出现血糖水平的下降趋势,运动第8周后血糖显著低于基线,与正常血糖大鼠相比差异没有显著性意义。糖尿病运动4周组在运动第4周后血糖也有下降趋势,但与基线比较没有显著差异,提示运动训练的降血糖作用明确,显著的降糖效应取决于较长的运动训练周期。孙莉敏等^[9]对比了为期8周、5d/w的不同运动强度的游泳训练对糖尿病大鼠的治疗作用,发现只有中运动量(60min/d)能缓解糖尿病的高血糖状态,小运动量(30min/d)和大运动量(90min/d)糖尿病组均不能达到治疗效果。本研究采用的60min/d,5d/w的中运动量运动程序,糖尿病大鼠血糖水平在运动第4周时开始出现下降的趋势,运动第8周时显著降低,进一步论证了中运动量游泳训练的降血糖效果,并且降糖的效果可能与运动周期的长短有关。

有研究指出,STZ诱导的糖尿病大鼠在20d时会出现CNCV的下降,并随病程进展而进一步下降^[7]。本研究显示糖尿病大鼠CNCV第4周时较正常对照组明显减慢,第8周时显著低于基线水平,提示糖尿病的周围神经病变一般在4周左右出现,随时间过程逐渐加重。糖尿病运动8周组大鼠从造模成功后开始进行运动训练,也就是说在糖尿病周围神经病变尚未发生之际就实施了运动干预,运动第4周时CNCV显著低于正常血糖组但显著高于糖尿病非运动大鼠,运动第8周时CNCV与正常血糖大鼠无差别,已恢复到正常状态,提示运动训练可以预防和延缓糖尿病神经病变的发生,与Balducci等^[5]报道的长期运动训练可以改善糖尿病周围神经病变患者自然病程的结果相似。由于Balducci选择的是无神经病变迹象的糖尿病患者,并没有研究运动训练对已出现神经病变患者的治疗作用,为此我们设立了糖尿病运动4周组,在糖尿病大鼠造模成功后继续饲养4周,然后再进行运动训练。结果显示在糖尿病病程第4周时CNCV较正常血糖大鼠显著降低,与糖尿病对照组比较差异没有显著性意义,提示出现了周围神经病变的迹象。此后给予4周的运动训练,发现CNCV明显改善,神经传

导速度明显快于糖尿病对照组，并与糖尿病运动8周组无差异，提示运动训练对已发生的糖尿病神经病变同样也可以起到积极的治疗作用。有研究发现儿童初生时上肢感觉神经传导速度为成人的40%左右，以后逐渐增高，6—14岁达成人水平^[14]。本研究中，正常对照组CNCV在第4周和第8周时也出现增高，推测可能与大鼠的生长发育有关，具体机制尚需进一步研究证实。

引起糖尿病神经病变的发病机制有很多，目前多数研究认为主要由于氧化应激(oxidative stress)引起神经功能障碍^[15]。我们的前期研究发现糖尿病大鼠背根神经节内NF-κB活性显著高于非糖尿病大鼠，高强度和低强度运动训练均能有效地降低糖尿病大鼠NF-κB活性，提示糖尿病大鼠更易于发生周围神经的氧化应激损伤，耐力训练可以抑制糖尿病大鼠背根神经节内NF-κB活性^[16]，并且发现饮食调整加运动训练可以促进糖尿病大鼠骨骼肌Cu/ZnSOD mRNA表达，提高Cu/ZnSOD酶活性，Cu/ZnSOD是哺乳动物体内最主要的抗氧化酶^[17]。综合本实验结果，提示运动训练预防和治疗糖尿病神经病变的机制可能与改善机体的氧化应激水平有关。除此以外，糖尿病神经病变的改善是否还存在其他机制如运动参与神经营养因子的调节作用等，有待进一步研究。

4 结论

糖尿病周围神经病变是一个复杂的慢性病理过程，本研究采用电生理指标作为神经主要观察指标，观察了运动干预4周和8周的糖尿病大鼠CNCV，结果显示运动训练不但可以预防糖尿病大鼠神经病变的发生，而且对已发生的糖尿病神经病变起到治疗作用。本研究结果对临床开展糖尿病周围神经病变的运动治疗提供了理论依据。

参考文献

- [1] Kästenbauer T, Irsigler P, Sauseng S, et al. The prevalence of symptoms of sensorimotor and autonomic neuropathy in Type 1 and Type 2 diabetic subjects [J]. *Diabetes Complications*, 2004, 18(1):27—31.
- [2] Vinik A, Ullal J, Parson H.K, et al. Diabetic neuropathies: clinical manifestations and current treatment options [J]. *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism*, 2006, 2 (5): 269—281.
- [3] 汤正义,李向利,陈家伦,等. 2型糖尿病神经病变的发病情况与有关因素相关性分析[J]. 中华内科杂志, 2003, 42: 868—869.
- [4] Said G. Diabetic neuropathy—a review [J]. *Nature Clinical Practice Neurology*, 2007, 3 (6):331—340.
- [5] Balducci S, Iacobellis G, Parisi L, et al. Exercise training can modify the natural history of diabetic peripheral neuropathy[J]. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 2006, 20: 216—223.
- [6] 林枫,江钟立. 糖尿病神经病变:运动与氧化应激调节[J]. 中国康复医学杂志, 2004, 19 (2): 156—158.
- [7] Sullivan KA, Hayes JM, Wiggin TD, et al. Mouse models of diabetic neuropathy[J]. *Neurobiology of Disease*, 2007, 28:276—285.
- [8] 刘传道,江钟立,朱红军,等. 不同强度的耐力运动对糖尿病大鼠骨骼肌GLUT4mRNA表达的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2005, 20 (4):244—247.
- [9] 孙莉敏,胡永善,吴毅,等. 运动对糖尿病大鼠血清瘦素水平的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2001, 23(5):261—264.
- [10] Ploug T, Stallknecht BM, Pedersen D, et al. Effect of endurance training on glucose transport capacity and glucose transporter expression in rat skeletal muscle [J]. *Am J Physiol*, 1990, 259 (12): E778—E786.
- [11] Zotova EG, Christ GJ, Zhao W, et al. Effects of fidarestat, an aldose reductase inhibitor, on nerve conduction velocity and bladder function in streptozotocin-treated female rats [J]. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 2007, 21(3): 187—195.
- [12] Engelgau MM, Narayan KM, Saaddine JB, et al. Addressing the burden of diabetes in the 21st century: Better care and primary prevention [J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2003, 14:S88—S91.
- [13] Hoybergs YM, Biermans RL, Meert TF. The impact of body-weight and body condition on behavioral testing for painful diabetic neuropathy in the streptozotocin rat model [J]. *Neuroscience Letters*, 2008, 436(1): 13—18.
- [14] 张杰敏,蔡方成. 0—14岁小儿感觉神经的传导功能[J]. 中华儿科杂志, 1995, 33(1):19—21.
- [15] Vanotti A, Osio M, Mailland E, et al. Overview on Pathophysiology and Newer Approaches to Treatment of Peripheral Neuropathies[J]. *CNS Drugs*, 2007, 21(1): 3—12.
- [16] 林枫,江钟立,杨晓帆,等. 耐力训练对STZ诱导糖尿病大鼠背根神经节内NF-κB活性的调节作用[J]. 中国康复医学杂志, 2005, 20(3):176—179.
- [17] 王磊,江钟立,招少枫. 饮食和运动干预对2型糖尿病大鼠骨骼肌Cu/ZnSOD mRNA表达的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2006, 21(5):393—397.