

有氧和抗阻运动干预 2 型糖尿病大鼠骨骼肌脑源性神经营养因子、核因子 κ B 及炎症指标的表达<https://doi.org/10.12307/2022.109>税晓平^{1,2}, 李春莹³, 李顺昌⁴, 孙君志⁴, 苏全生⁴

投稿日期: 2021-01-08

送审日期: 2021-01-11

采用日期: 2021-02-05

在线日期: 2021-07-13

中图分类号:

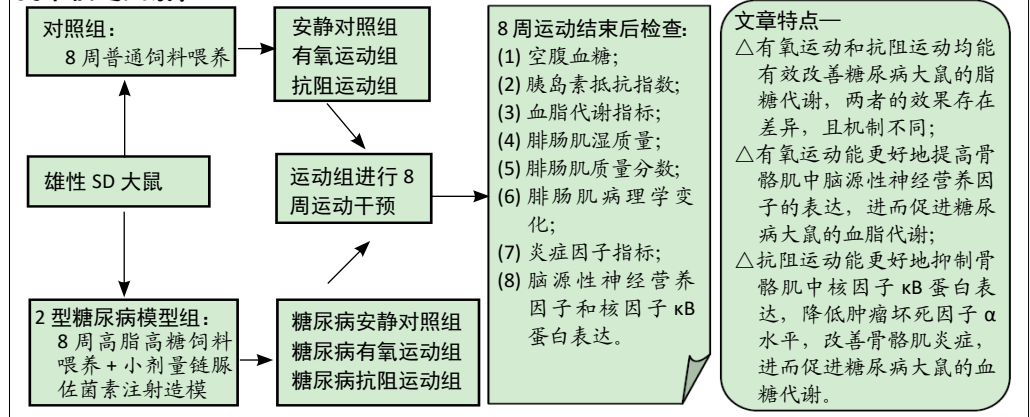
R455; R318; R587.1

文章编号:

2095-4344(2022)05-00669-07

文献标识码: B

文章快速阅读:



文题释义:

糖尿病骨骼肌病变: 是糖尿病并发症之一, 将导致骨骼肌慢性炎症状态, 出现骨骼肌萎缩和骨骼肌胰岛素抵抗, 影响骨骼肌的能量代谢。
骨骼肌源性脑源性神经营养因子: 骨骼肌也可分泌脑源性神经营养因子, 该蛋白参与了骨骼肌的能量代谢过程。其中骨骼肌内的脑源性神经营养因子参与骨骼肌的脂肪代谢, 并通过旁分泌的作用形式参与血糖代谢。

摘要

背景: 研究显示干预骨骼肌中脑源性神经营养因子和核因子 κ B的表达, 有利于改善骨骼肌糖脂代谢能力, 运动对2型糖尿病大鼠骨骼肌中以上指标是否有积极干预作用, 目前少见文献报道。

目的: 观察有氧运动和抗阻运动对2型糖尿病大鼠骨骼肌中脑源性神经营养因子、核因子 κ B蛋白表达和炎症相关指标的影响。

方法: 高脂高糖联合小剂量链脲佐菌素诱导的2型糖尿病大鼠随机分为糖尿病安静组、糖尿病有氧运动组和糖尿病抗阻运动组, 对照组大鼠随机分为安静对照组、有氧运动组、抗阻运动组。各运动组分别进行8周有氧运动或抗阻运动, 运动结束后检测各组大鼠空腹血糖、胰岛素抵抗指数、三酰甘油、总胆固醇、低密度脂蛋白、腓肠肌湿质量和质量分数; 苏木精-伊红染色观察腓肠肌结构变化; ELISA检测大鼠腓肠肌中白细胞介素1 β 、白细胞介素10和肿瘤坏死因子 α 水平; Western blot检测腓肠肌中脑源性神经营养因子、核因子 κ B的表达。

结果与结论: ①与安静对照组比较, 糖尿病各组大鼠血脂和血糖指标均显著升高; 骨骼肌湿质量减轻, 镜检显示骨骼肌萎缩和炎症病变; 骨骼肌中核因子 κ B表达增加, 其下游炎症因子肿瘤坏死因子 α 水平增加; 骨骼肌中脑源性神经营养因子蛋白表达明显升高; ②8周运动结束后, 与糖尿病安静组相比, 2个糖尿病运动组血脂和血糖指标均显著下降, 骨骼肌中炎症细胞浸润、萎缩变性等病变程度减轻, 腓肠肌湿质量和质量分数增加, 骨骼肌中核因子 κ B和肿瘤坏死因子 α 水平降低, 糖尿病有氧运动组脑源性神经营养因子蛋白表达明显升高; ③与糖尿病有氧运动组比, 糖尿病抗阻运动组大鼠空腹血糖及骨骼肌中核因子 κ B的表达显著降低($P < 0.05$), 腓肠肌湿质量和肌质量分数明显升高($P < 0.05$); 但糖尿病有氧运动组大鼠血脂指标显著低于糖尿病抗阻运动组($P < 0.05$, $P < 0.01$); ④结果说明: 两种运动均能有效改善糖尿病大鼠的脂糖代谢, 其中有氧运动能更好地提高糖尿病大鼠骨骼肌中脑源性神经营养因子表达, 更好地改善血脂代谢; 抗阻运动能更好地抑制糖尿病大鼠腓肠肌中核因子 κ B蛋白表达, 降低肿瘤坏死因子 α 水平, 改善骨骼肌炎症情况, 更好地改善糖尿病大鼠血糖水平。

关键词: 糖尿病; 运动; 骨骼肌; 有氧运动; 抗阻运动; 脑源性神经营养因子; 核因子 κ B; 大鼠

缩略语: 脑源性神经营养因子: brain-derived neurotrophic factor, BDNF

Effects of aerobic and resistance exercises on brain-derived neurotrophic factor, nuclear factor-kappa B and inflammatory cytokines in skeletal muscle of type II diabetic rats

Shui Xiaoping^{1,2}, Li Chunying³, Li Shunchang⁴, Sun Junzhi⁴, Su Quansheng⁴

¹Sichuan College of Traditional Chinese Medicine, Mianyang 621000, Sichuan Province, China; ²Mianyang Osteological Hospital, Mianyang 621000, Sichuan Province, China; ³Mianyang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Mianyang 621000, Sichuan Province, China; ⁴College of Sports Medicine and Health, Chengdu Sport University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Shui Xiaoping, PhD, Associate professor, Sichuan College of Traditional Chinese Medicine, Mianyang 621000, Sichuan Province, China; Mianyang Osteological Hospital, Mianyang 621000, Sichuan Province, China

Corresponding author: Su Quansheng, Professor, College of Sports Medicine and Health, Chengdu Sport University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

¹四川中医药高等专科学校, 四川省绵阳市 621000; ²绵阳市骨科医院, 四川省绵阳市 621000; ³绵阳市中医医院, 四川省绵阳市 621000; ⁴成都体育学院运动医学与健康学院, 四川省成都市 610041

第一作者: 税晓平, 男, 1984年生, 四川省射洪市人, 汉族, 2019年成都体育学院毕业, 博士, 副教授, 主要从事运动损伤防治与健康促进方向研究、骨与关节系统疾病临床康复治疗与基础理论研究。

通讯作者: 苏全生, 教授, 成都体育学院运动医学与健康学院, 四川省成都市 610041

<https://orcid.org/0000-0002-9106-0919> (税晓平)

基金资助: 2018年度四川中医药高等专科学校科研项目(18ZRYB03)和绵阳市高等教育“三三工程”(市级特色专业-康复治疗技术专业建设)项目联合支持, 项目负责人: 税晓平

引用本文: 税晓平, 李春莹, 李顺昌, 孙君志, 苏全生. 有氧和抗阻运动干预2型糖尿病大鼠骨骼肌脑源性神经营养因子、核因子 κ B及炎症指标的表达[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(5):669-675.



Abstract

BACKGROUND: Studies have suggested that intervention for the expression of brain-derived neurotrophic factor and nuclear factor- κ B in the skeletal muscle is beneficial to improve the glucose and lipid metabolism of the skeletal muscle. Whether exercise has a positive intervention effect on the above indicators in the skeletal muscle of type 2 diabetic rats is rarely reported.

OBJECTIVE: To observe the effects of aerobic and resistance exercises on the expression of brain-derived neurotrophic factor, nuclear factor- κ B and inflammatory indexes in the skeletal muscle of type 2 diabetic rats.

METHODS: Type 2 diabetic rats were made through high-fat and high-sugar diet combined with low-dose streptozotocin and randomly divided into diabetic control group, diabetic aerobic exercise group and diabetic resistance exercise group. In the diabetic control group, the rats were randomly divided into a quiet control group, an aerobic exercise group, and a resistance exercise group. The aerobic and resistance exercise lasted for 8 weeks. After 8-week exercises, fasting blood glucose, insulin resistance index, triglyceride, total cholesterol, low density lipoprotein, wet weight of gastrocnemius muscle and mass fraction of gastrocnemius muscle were measured. Hematoxylin-eosin staining was used to observe the changes of gastrocnemius muscle structure, The changes of interleukin-1 β , interleukin-10 and tumor necrosis factor- α in gastrocnemius muscle were detected by ELISA. The expression of brain-derived neurotrophic factor and nuclear factor- κ B in gastrocnemius muscle were detected by western blot.

RESULTS AND CONCLUSION: Compared with the quiet control group, fasting blood glucose, insulin resistance index, triglyceride, total cholesterol, low density lipoprotein of all diabetic rats increased; the wet weight of gastrocnemius muscle decreased, and microscopic examination indicated skeletal muscle atrophy and inflammatory lesions; the expression of nuclear factor- κ B in skeletal muscle increased, and the level of tumor necrosis factor- α increased; and the expression of brain-derived neurotrophic factor protein in skeletal muscle increased significantly. After 8 weeks of exercise, compared with the diabetic control group, all the blood glucose and lipid indexes in the two diabetic exercise groups decreased, inflammatory cell infiltration, atrophy and degeneration of skeletal muscles were reduced, the wet weight and mass fraction of gastrocnemius muscle increased, the expression of nuclear factor- κ B and tumor necrosis factor- α in skeletal muscle decreased, and the expression of brain-derived neurotrophic factor increased significantly in the diabetic aerobic exercise group. Compared with the diabetic aerobic exercise group, the fasting blood glucose and nuclear factor- κ B expression in skeletal muscle were significantly reduced in the diabetic resistance exercise group ($P < 0.05$), the wet weight and mass fraction of gastrocnemius muscle increased significantly ($P < 0.05$); however, the blood lipid indexes were significantly lower in the diabetic aerobic exercise group than the diabetic resistance exercise group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). To conclude, both aerobic exercise and resistance exercise can promote the expression of brain-derived neurotrophic factor in skeletal muscle of diabetic rats and improve blood lipid metabolism. Resistance exercise can reduce the expression of nuclear factor- κ B protein, reduce the level of tumor necrosis factor- α , improve the inflammation of skeletal muscle, and improve blood glucose level in diabetic rats.

Key words: diabetes mellitus; exercise; skeletal muscle; aerobic exercise; resistance exercise; brain-derived neurotrophic factor; nuclear factor- κ B; rat

Funding: Scientific Research Project of Sichuan College of Traditional Chinese Medicine in 2018, No. 18ZRYB03 (to SXP); the Three-Three Engineering Project of High Education in Mianyang (to SXP)

How to cite this article: SHUI XP, LI CY, LI SC, SUN JZ, SU QS. Effects of aerobic and resistance exercises on brain-derived neurotrophic factor, nuclear factor- κ B and inflammatory cytokines in skeletal muscle of type II diabetic rats. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2022;26(5):669-675.

0 引言 Introduction

脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 在神经组织和骨骼肌等外周组织中均广泛存在, 其中骨骼肌内的 BDNF 可激活 AMPK/CREB/PGC-1 α 信号通路, 促进脂肪代谢^[1]。骨骼肌分泌的 BDNF 可通过旁分泌的作用形式调节胰腺 β 细胞活性, 参与血糖代谢^[2]。长期规律运动可提高糖尿病大鼠神经组织中 BDNF 的表达, 促进神经功能的恢复^[3], 但运动对糖尿病大鼠骨骼肌中 BDNF 影响的研究较少。

核因子 κ B 是炎症级联反应的重要启动因素, 其活化可产生肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1 β 和白细胞介素 6 等促炎因子, 导致骨骼肌炎症反应, 引起骨骼肌萎缩, 影响骨骼肌能量代谢^[4]。最近研究显示有氧运动能抑制糖尿病大鼠骨骼肌核因子 κ B 通路, 降低其炎症反应, 减轻骨骼肌损伤^[5]。目前关于抗阻运动对糖尿病骨骼肌中核因子 κ B 和炎症因子影响的报道较少。

作者所在团队前期结果发现有氧运动改善血脂代谢的效果优于抗阻运动, 而抗阻运动改善血糖代谢的效果优于有氧运动^[6-7]。此次研究将进一步观察和比较有氧和抗阻运动对 2 型糖尿病大鼠骨骼肌 BDNF、核因子 κ B 及炎症指标的影响, 探讨和解释运动改善 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢的可能机制。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 按照动物体重质量均衡原则, 完全随机分配, 模型对照动物实验, 组间比较采用单因素方差分析。

1.2 时间及地点 实验于 2016 年 4 月至 2019 年 1 月在成都体育学院运动与健康学院实验室和成都里来生物医学试验中心完成, 其中苏木精-伊红染色、ELISA 和 Western blot 测试均在成都里来生物医学实验中心完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 6 周龄 SPF 级 SD 雄性大鼠, 体质量 160-180 g, 由成都达硕实验动物有限公司提供, 动物编号 20160811。动物喂养在成都体育学院 (国家体育总局运动医学重点实验室) 动物实验房。动物房室温 21-23 $^{\circ}$ C, 相对湿度 40%-60%。实验方案由成都体育学院动物实验伦理委员会批准, 备案批准号为 2018024A。

1.3.2 主要试剂 STZ 试剂 (美国 Sigma 公司); ELISA 测试使用试剂盒分别是白细胞介素 1 β (货号 ERC007, NeoBioscience 公司)、白细胞介素 10 (货号 ERC004, NeoBioscience 公司) 和肿瘤坏死因子 α (货号 ERC102a, NeoBioscience 公司); Western blot 测试使用抗体分别是抗 BDNF 抗体 (货号 ET1606-42, Epitomics 公司)、抗核因子 κ B 抗体 (货号 ER0815, Epitomics 公司)。

1.4 方法

1.4.1 2 型糖尿病动物造模方法 大鼠随机分为 2 型糖尿病造模组和对照组, 2 型糖尿病造模组大鼠通过高脂高糖饮食喂养 8 周后, 联合一次性小剂量链脲佐菌素 (30 mg/kg) 腹腔注射诱导建立 2 型糖尿病大鼠模型^[6-7]。其中高脂高糖饲料配方为 16% 蛋白质, 40% 脂肪, 44% 糖; 对照组大鼠使用普通饲料喂养 8 周, 配方为 1% 胆酸钠、2% 胆固醇、10% 猪油,

20% 蔗糖、67% 常规饲料^[6]，以上饲料均由成都达硕实验动物有限公司提供。

实验动物造模过程中的相关问题

造模目的:	观察有氧和抗阻运动对 2 型糖尿病大鼠骨骼肌中脑源性神经生长因子、核因子 κ B 蛋白表达和炎症相关指标的影响
研究问题借鉴已有标准动物模型造模:	参考团队前期已经报道的造模方案进行 2 型糖尿病模型造模 ^[6-7]
选择动物的条件:	SPF 级 6 周龄 SD 雄性大鼠，体质量 160–180 g
动物来源及品系:	SD 大鼠，成都达硕实验动物有限公司提供，动物编号 20160811
造模技术描述:	糖尿病造模组大鼠用高脂高糖饲料喂养 8 周后，按 30 mg/kg 的标准于左下腹一次性腹腔注射链脲佐菌素
动物数量及分组方法:	造模结束后，2 型糖尿病大鼠随机分为糖尿病安静对照组 ($n=8$)、糖尿病有氧运动组 ($n=9$) 和糖尿病抗阻运动组 ($n=9$)。对照组随机分为安静对照组 ($n=8$)、有氧运动组 ($n=8$)、抗阻运动组 ($n=8$)。对照各组继续普通饲料喂养，糖尿病各组继续高脂高糖饲料喂养
造模成功评价标准:	注射链脲佐菌素 72 h 后尾静脉取血测试非禁食血糖，在胰岛素抵抗基础上，非禁食血糖 ≥ 16.7 mmol/L 为成功模型
造模后实验观察指标:	①大鼠空腹血糖、胰岛素抵抗指数、三酰甘油、总胆固醇、低密度脂蛋白；②腓肠肌湿质量和腓肠肌质量分数。③苏木精-伊红染色观察腓肠肌结构变化；④ ELISA 检测大鼠腓肠肌中白细胞介素 1β 、白细胞介素 10 和肿瘤坏死因子 α 水平变化；⑤ Western blot 检测腓肠肌中 BDNF 和核因子 κ B 表达
动物死亡原因及处理:	因糖尿病并发症导致部分动物死亡，未补充
伦理委员会批准:	实验方案经成都体育学院动物实验伦理委员会批准 (备案批准号为 2018024A)

1.4.2 造模后分组 成模的 26 只糖尿病大鼠随机分为糖尿病安静组 ($n=8$)、糖尿病有氧运动组 ($n=9$) 和糖尿病抗阻运动组 ($n=9$)。对照组随机分为安静对照组 ($n=8$)、有氧运动组 ($n=8$)、抗阻运动组 ($n=8$)。安静对照组、有氧运动组和抗阻运动组继续普通饲料喂养，糖尿病安静组、糖尿病有氧运动组和糖尿病抗阻运动组继续高脂高糖饲料喂养^[6-7]。

1.4.3 运动方案

有氧运动方案: 跑台运动，有氧运动组和糖尿病有氧运动组大鼠适应性训练 3 d 后，按 20 m/min 速度进行跑台训练，每天训练 1 h，5 d/周，共训练 8 周^[6-7]。

抗阻运动方案: 尾部负重爬梯训练，抗阻运动组和糖尿病抗阻运动组大鼠适应性爬梯训练结束后，测试其 1RM^[6]。训练时各大鼠分别进行 3 次 50%1RM、75%1RM、90%1RM 及 1RM 负重爬梯训练。进行 1RM 训练时，若不能完成 3 次爬梯，则以实际完成次数为限。大鼠每次爬至顶部后，休息 2 min。5 d/周，共训练 8 周^[6-7]。

1.5 主要观察指标

1.5.1 基础指标测试 8 周运动后禁食 12 h，测试空腹血糖、血清胰岛素、三酰甘油、总胆固醇和低密度脂蛋白。按胰岛素抵抗指数 = [空腹血糖 (mmol/L) \times 血清胰岛素 (mU/L)/22.5] 计算胰岛素抵抗指数。

1.5.2 取材与相关检测 8 周运动后 72 h，麻醉大鼠后仔细分离大鼠腓肠肌，取大鼠两侧完整的腓肠肌，精确称量各组大鼠两侧完整腓肠肌湿质量，取两侧腓肠肌湿质量的平均值结合其自身体质量计算腓肠肌的质量分数，腓肠肌质量分数 (mg/g) = 腓肠肌湿质量平均值 (mg) / 大鼠体质量 (g)。右侧腓肠肌入液氮速冻，用于后续 ELISA 和 Western blot 检测；左侧腓肠肌置于 40 g/L 多聚甲醛用于苏木精-伊红染色。

右侧腓肠肌通过剪碎、匀浆和离心后，制备上清液，利用 ELISA 法检测白细胞介素 1β 、白细胞介素 10 和肿瘤坏死因子 α 水平变化，所有操作按试剂盒说明书进行。

经 40 g/L 多聚甲醛固定的腓肠肌组织经过脱水、修剪、包埋和切片工序后，按标准程序进染色、封固和镜检。在进行镜检和采图时，每张切片先在 40 倍下观察大体病变，再选择需要观察的区域采集 100 倍和 400 倍图片，观察具体病变。

Western blot 法检测 BDNF 和核因子 κ B 的表达。取冻存腓肠肌组织剪碎，提取总蛋白，将蛋白样品调至等浓度后，依次进行上样电泳、转膜和封闭，加入 BDNF 和核因子 κ B 一抗孵育抗体，再加入相应二抗；采用发光法显影和定影，得到 Western blot 条带。使用 Image J 1.50i 图像软件分析条带的灰度值；目的蛋白 BDNF 和核因子 κ B 的灰度值与内参蛋白 β -actin 灰度值的比值为目的蛋白的相对表达量。

1.6 统计学分析 数据使用 $\bar{x} \pm s$ 表示。使用 Graphpad Prism 8 和 SPSS 25.0 版进行统计分析。检验方差齐性后，组间比较采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA)。显著性差异标准 $P < 0.05$ ，非常显著性差异标准 $P < 0.01$ 。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验期间，因糖尿病导致个别大鼠死亡及运动导致大鼠足部损伤影响骨骼肌炎症性指标测试而被剔除，最终各组统计 7 只样本。

2.2 各组大鼠空腹血糖、胰岛素抵抗和血脂代谢情况比较 表 1 及图 1 结果显示，与安静对照组组比，糖尿病各组大鼠空腹血糖升高，胰岛素抵抗指数升高；与糖尿病安静对照组比，2 个糖尿病运动组空腹血糖和胰岛素抵抗指数明显降低 ($P < 0.01$)，其中糖尿病抗阻运动组的血糖明显低于糖尿病有氧运动组 ($P < 0.05$)。

表 1 | 各组大鼠空腹血糖、胰岛素抵抗和血脂代谢情况比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=7$)
Table 1 | Comparison of fasting blood glucose, insulin resistance index, blood lipid metabolism of rats among groups

组别	空腹血糖 (mmol/L)	胰岛素抵抗指数	三酰甘油 (mmol/L)	总胆固醇 (mmol/L)	低密度脂蛋白 (mmol/L)
安静对照组	4.46 \pm 0.82	3.35 \pm 0.23	0.44 \pm 0.19	1.87 \pm 0.55	0.28 \pm 0.15
有氧运动组	3.80 \pm 0.93	2.88 \pm 0.84	0.50 \pm 0.15	1.52 \pm 0.26	0.21 \pm 0.04
抗阻运动组	3.88 \pm 0.61	2.91 \pm 0.74	0.71 \pm 0.29	1.81 \pm 0.43	0.37 \pm 0.10
糖尿病安静组	21.32 \pm 5.95 ^b	11.45 \pm 1.74 ^b	7.88 \pm 1.09 ^b	11.13 \pm 3.24 ^b	5.09 \pm 1.72 ^b
糖尿病有氧运动组	9.72 \pm 2.28 ^{ad}	6.89 \pm 1.38 ^{ad}	1.87 \pm 0.22 ^{bd}	2.50 \pm 0.78 ^d	0.85 \pm 0.34 ^{ad}
糖尿病抗阻运动组	6.78 \pm 1.51 ^{ade}	5.27 \pm 1.70 ^{ad}	3.99 \pm 0.18 ^{de}	4.60 \pm 1.49 ^{de}	2.98 \pm 1.71 ^{bcf}

表注: 与安静对照组比, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与糖尿病安静组比, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 与糖尿病有氧运动组比, ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$

与安静对照组比, 糖尿病各组大鼠三酰甘油、总胆固醇和低密度脂蛋白指标均明显升高。与糖尿病对照组相比较, 2个糖尿病运动组三酰甘油、总胆固醇和低密度脂蛋白均明显下降 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 其中糖尿病有氧运动组三酰甘油、总胆固醇和低密度脂蛋白明显低于糖尿病抗阻运动组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

2.3 各组大鼠腓肠肌湿质量和质量分数比较 表2和图2显示, 8周运动干预后, 与安静对照组相比, 糖尿病各组大鼠腓肠肌湿质量非常显著下降 ($P < 0.01$, $P < 0.05$); 与糖尿病安静组相比, 2个糖尿病运动组腓肠肌湿质量显著增加 ($P < 0.01$), 与糖尿病安静组相比, 糖尿病有氧运动组腓肠肌质量分数表现出增高趋势, 但统计学差异无显著性意义 ($P > 0.05$), 糖尿病抗阻运动组腓肠肌质量分数明显高于糖尿病安静组 ($P < 0.05$)。

表2 | 各组大鼠骨骼肌湿质量和质量分数的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

Table 2 | Comparison of wet weight and mass fraction of gastrocnemius muscle of rats among groups

组别	腓肠肌湿质量 (g)	腓肠肌质量分数 (mg/g)
安静对照组	3.19±0.12	5.17±0.17
有氧运动组	3.11±0.19	5.29±0.59
抗阻运动组	3.32±0.26	5.65±0.49
糖尿病安静组	2.35±0.29 ^b	5.11±0.45
糖尿病有氧运动组	2.76±0.16 ^{bd}	5.53±0.47
糖尿病抗阻运动组	2.96±0.24 ^{ad}	5.85±0.62 ^c

表注: 与安静组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与糖尿病安静组比较, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$

2.4 各组大鼠腓肠肌苏木精-伊红染色结果 图3结果显示, 安静对照组、有氧运动组和抗阻运动组肌细胞排列整齐、致密, 肌束结构清晰、边界分明, 肌纤维呈圆形或多边形、间质有少量的结缔组织以及神经和血管, 细胞核呈圆形或椭圆形、染色质少、核仁明显、位于肌细胞的周边、肌膜下方, 未见明显纤维变性坏死或炎细胞浸润, 其中有氧运动组和抗阻运动组样本偶见脂肪细胞浸润。糖尿病安静组可见肌组织萎缩, 纤维变性坏死或炎细胞浸润, 变性坏死的肌细胞被多种炎细胞替代。2个糖尿病运动组肌纤维变性、炎细胞浸润情况较糖尿病安静组明显好转。

2.5 各组大鼠骨骼肌炎症指标比较 表3和图4显示, 8周运动干预后, 各组白细胞介素1 β 未出现明显变化; 与安静对照组相比, 糖尿病各组大鼠白细胞介素10出现下降趋势, 但统计学差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。与安静对照组相比, 糖尿病安静组大鼠骨骼肌中肿瘤坏死因子 α 水平明显升高 ($P < 0.05$), 糖尿病有氧运动组肿瘤坏死因子 α 水平出现升高趋势, 但统计学差异无显著性意义 ($P > 0.05$); 与糖尿病安静组相比, 糖尿病有氧运动组肿瘤坏死因子 α 水平下降出现下降趋势, 但统计学差异无显著性意义 ($P > 0.05$), 糖尿病抗阻运动组肿瘤坏死因子 α 水平明显下降 ($P < 0.05$)。

2.6 各组大鼠骨骼肌BDNF及核因子 κ B蛋白表达比较 表4和图5结果显示, 与安静对照组比较, 糖尿病各组BDNF蛋

白表达明显增高 ($P < 0.01$), 其中糖尿病有氧运动组BDNF蛋白表达明显高于糖尿病安静组 ($P < 0.01$)。与安静对照组比较, 糖尿病各组核因子 κ B蛋白表达明显增高 ($P < 0.01$); 与糖尿病安静组比较, 2个糖尿病运动组核因子 κ B蛋白表达降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 其中糖尿病抗阻运动组核因子 κ B蛋白表达明显低于明显糖尿病安静组 ($P < 0.01$) 和糖尿病有氧运动组 ($P < 0.05$)。

表3 | 各组大鼠骨骼肌炎症指标的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=7$, ng/L)

Table 3 | Comparison of inflammatory indexes in skeletal muscle of rats among groups

组别	白细胞介素1 β	白细胞介素10	肿瘤坏死因子 α
安静对照组	700.82±35.50	256.88±14.20	24.46±1.59
有氧运动组	703.07±59.33	253.52±46.15	24.09±4.20
抗阻运动组	690.29±42.30	256.88±30.39	23.50±1.05
糖尿病安静组	675.80±30.68	241.18±6.19	29.18±1.50 ^a
糖尿病有氧运动组	713.75±58.07	236.32±16.96	27.06±2.77
糖尿病抗阻运动组	688.63±23.80	246.85±7.41	25.08±2.96 ^c

表注: 与安静对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与糖尿病安静组比较, ^c $P < 0.05$

表4 | 各组大鼠骨骼肌脑源性神经营养因子及核因子 κ B蛋白表达的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

Table 4 | Comparison of brain-derived neurotrophic factor and nuclear factor- κ B protein expression in skeletal muscle of rats among groups

组别	脑源性神经营养因子	核因子 κ B
安静对照组	0.79±0.07	0.42±0.02
有氧运动组	0.93±0.14	0.41±0.01
抗阻运动组	0.97±0.21	0.43±0.04
糖尿病安静组	1.28±0.20 ^b	0.94±0.14 ^b
糖尿病有氧运动组	1.53±0.10 ^{bc}	0.72±0.06 ^{bc}
糖尿病抗阻运动组	1.31±0.20 ^b	0.55±0.04 ^{abde}

表注: 与安静对照组比较, ^b $P < 0.01$; 与糖尿病安静组比较, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 与糖尿病有氧运动组比较, ^e $P < 0.05$

3 讨论 Discussion

3.1 不同运动对糖尿病大鼠血糖、血脂和骨骼肌萎缩的影响 实验显示糖尿病大鼠出现糖脂代谢障碍, 表现为糖尿病各组大鼠血脂和血糖指标均显著升高。有氧运动和抗阻运动均能明显改善糖尿病大鼠的糖脂代谢, 且糖尿病有氧运动组血脂指标(三酰甘油、总胆固醇、低密度脂蛋白)明显低于糖尿病抗阻运动组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 糖尿病抗阻运动组空腹血糖显著低于糖尿病有氧运动组 ($P < 0.05$), 表明有氧运动改善脂代谢的能力优于抗阻运动, 抗阻运动改善血糖代谢的能力优于有氧运动组^[6-7]。运动改善血糖和血脂代谢的机制已经得到广泛研究, 最新研究提示8周有氧运动能改善糖尿病大鼠骨骼PI3K-PKB信号通路, 减少胰岛素抵抗, 促进糖原合成, 加快糖、脂氧化分解, 降低血糖和血脂^[8]。抗阻运动通过增加肌肉中葡萄糖转运蛋白4含量、线粒体密度和改善胰岛素敏感性等机制增加骨骼肌对葡萄糖摄取和氧化游离脂肪酸的能力, 进而起到调控血糖血脂的作用^[9-10]。临床研究显示有氧运动和抗阻运动均能改善2型糖尿病人群血脂血糖代谢, 两种运动改善代谢的效果没有差异^[11-12], 而本团队动物实验提示两种运动在改善脂糖代谢的效果上存在差异, 提示需进一步进行相关研究。

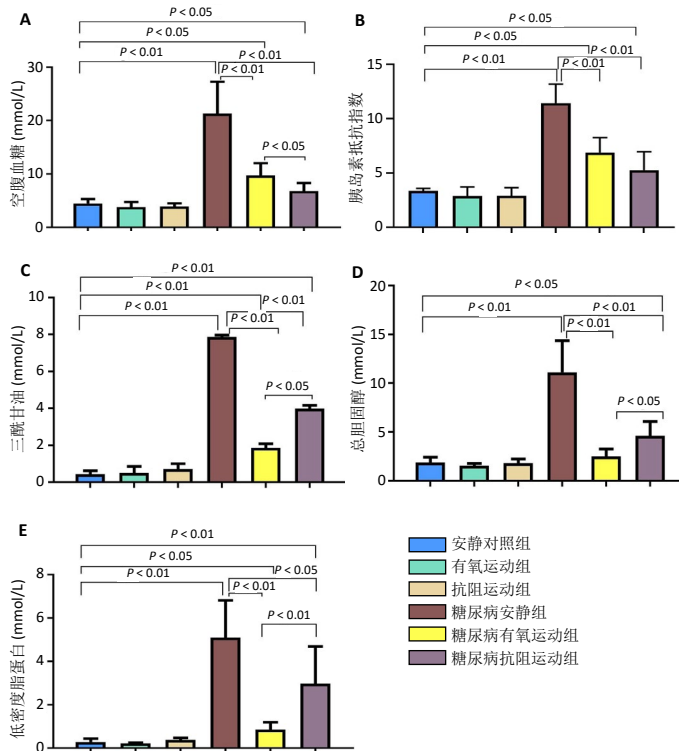


图 1 | 各组空腹血糖 (A)、胰岛素抵抗指数 (B)、三酰甘油 (C)、总胆固醇 (D) 和低密度脂蛋白 (E) 比较

Figure 1 | Comparison of fasting blood glucose (A), insulin resistance index (B), triglyceride (C), total cholesterol (D) and low density lipoprotein (E) of rats among groups

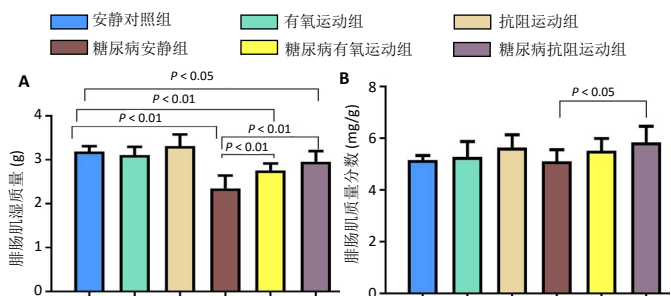
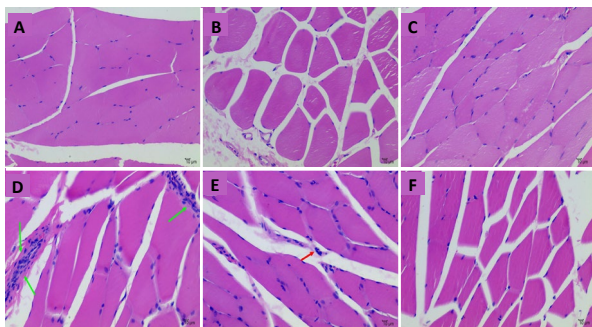


图 2 | 各组大鼠腓肠肌湿质量 (A) 和质量分数 (B) 的比较

Figure 2 | Comparison of wet weight (A) and mass fraction (B) of gastrocnemius muscle of rats among groups



图注: 图 A-C 为安静对照组、有氧运动组和抗阻运动组; D-F 为糖尿病安静组、糖尿病有氧运动组和糖尿病抗阻运动组。绿色箭头示纤维变性坏死、炎细胞浸润; 红色箭头示间质炎细胞浸润

图 3 | 各组腓肠肌苏木精 - 伊红染色结果 (x400)
Figure 3 | Hematoxylin-eosin staining results of gastrocnemius muscle of rats (x400)

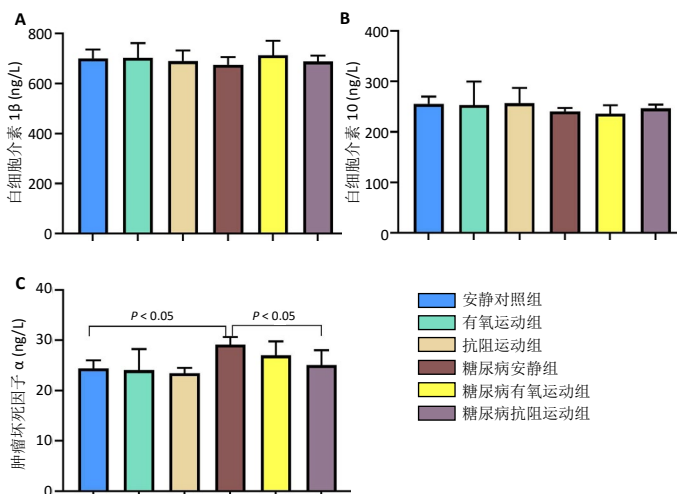
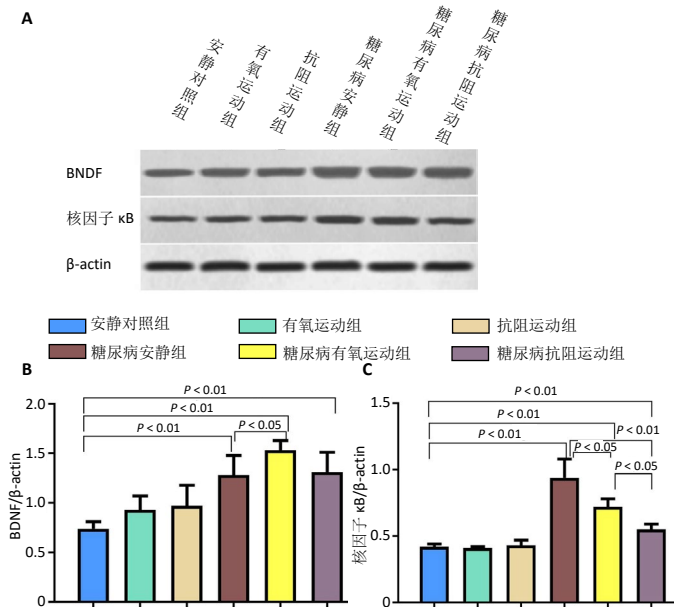


图 4 | 各组大鼠骨骼肌白介素 1β(A)、白介素 10(B) 和肿瘤坏死因子 α(C) 的比较

Figure 4 | Comparison of interleukin-1β (A), interleukin-10 (B) and tumor necrosis factor-α (C) in gastrocnemius muscle of rats among groups



图注: 图 A 为 Western-blot 电泳图; 图 B 为各组 BDNF 蛋白比较; 图 C 为各组核因子 κB 蛋白比较。BDNF: 脑源性神经营养因子

图 5 | 各组大鼠腓肠肌 BDNF 及核因子 κB 蛋白表达的比较

Figure 5 | Comparison of brain-derived neurotrophic factor and nuclear factor-κB protein expression in skeletal muscle of rats among groups

糖尿病将导致骨骼肌炎症反应和肌肉萎缩, 此次实验结果也显示糖尿病大鼠各组肌肉湿质量明显下降, 骨骼肌出现肌组织萎缩、肌纤维变性坏死或变性坏死的肌细胞被多种炎细胞替代等病理学变化, 而两种运动均能有效减轻糖尿病大鼠骨骼肌炎症和肌肉萎缩, 表现为 2 个糖尿病运动组大鼠骨骼肌中炎症细胞浸润、萎缩变性等病变程度减轻, 腓肠肌湿质量和质量分数均增加。运动改善糖尿病大鼠肌肉萎缩的机制已经得到广泛证实, 如有氧运动可激活 AMPK/PGC-1α 信号通路, 抑制 MAFbx 和 MuRF1 表达, 改善糖尿病大鼠骨骼肌萎缩^[13]。抗阻运动可减轻骨骼肌炎性反应, 激活多种信号

通路促进蛋白质合成, 诱导肌肉重塑和肥大等多种机制改善肌肉萎缩^[14]。

3.2 不同运动对糖尿病大鼠骨骼肌中 BDNF 蛋白表达的影响 BDNF 主要表达在神经系统组织中, 参与神经损伤修复、调控神经元再生和突触可塑性、促进学习和记忆。BDNF 也存在于血液、骨骼肌、血管、脂肪和胰腺等外周组织中^[1-2], 具有提高骨骼肌细胞脂肪氧化能力、调节肌纤维类型分化、改善骨骼肌胰岛素抵抗、保护心血管功能、改善情绪和提高机体抗炎能力等作用^[15-17]。近年来骨骼肌源性 BDNF 参与调节能量代谢的研究受到重视。YANG 团队^[18]的研究结果显示 BDNF 对维持骨骼肌中的脂和糖代谢平衡起重要作用, 提高小鼠骨骼肌中 BDNF 的表达, 可进一步激活 AMPK/CREB/PGC-1 α 信号通路, 促进脂质氧化, 增加 ATP 的生成, 减少胰岛素抵抗和骨骼肌萎缩。最新研究认为骨骼肌源性的 BDNF 可通过旁分泌的形式调节胰腺 β 细胞活性, 促进其调节血糖的作用, BDNF 可能是运动改善能量代谢的中介因子^[2]。

此次研究结果显示, 糖尿病各组大鼠骨骼肌中 BDNF 蛋白表达均明显升高, 且有氧运动能进一步提升糖尿病大鼠骨骼肌中 BDNF 的表达, 抗阻运动对 BDNF 的表达未产生明显影响。研究认为糖尿病大鼠骨骼肌中的 BDNF 是一种保护蛋白或自身修复蛋白, 糖尿病大鼠骨骼肌中 BDNF 表达上调, 可改善糖脂等能量代谢紊乱^[19]。近期研究也发现 12 周肥胖小鼠的骨骼肌和脂肪组织中 BDNF 表达明显升高^[20]。以上结果提示肥胖或糖尿病状态时, 负责能量代谢组织中的 BDNF 表达将上调, 继而促进能量代谢, 因此, 此次实验中糖尿病各组大鼠骨骼肌中 BDNF 的表达均明显升高。而有氧运动明显提升糖尿病大鼠骨骼肌中 BDNF 的表达, 可进一步激活 AMPK/CREB/PGC-1 α 信号通路, 提高脂肪氧化水平, 调节血脂代谢^[1, 18], 这可能是有氧运动改善血脂的效果优于抗阻运动的机制之一。

3.3 不同运动对糖尿病大鼠骨骼肌中核因子 κ B 蛋白表达和炎性指标的影响 核因子 κ B 是糖尿病骨骼肌炎症反应中重要的调节因子, 其活化后将启动和调节肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1β 和白细胞介素 6 等促炎因子的转录, 参与骨骼肌炎症反应, 导致骨骼肌萎缩和胰岛素抵抗, 影响骨骼肌糖脂代谢功能^[2, 21-22]。降低核因子 κ B 蛋白及其下游炎症因子肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1β 和白细胞介素 6 等的表达, 可改善骨骼肌炎症和肌萎缩, 促进脂糖代谢^[22-24]。长期规律运动可抑制糖尿病大鼠骨骼肌中核因子 κ B 介导的炎症信号通路激活。研究发现, 有氧运动能抑制糖尿病大鼠骨骼肌 AGE-RAGE 轴和核因子 κ B 通路, 降低其氧化应激和炎症反应, 减轻骨骼肌损伤^[5]。有氧运动也能降低糖尿病大鼠骨骼肌中的白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 水平, 提高白细胞介素 10 和骨骼肌葡萄糖转运蛋白 4 含量, 缓解骨骼肌损伤, 改善血脂糖代谢^[25]。抗阻运动可以提高糖尿病大鼠骨骼肌中白细胞介素 15 含量, 降低白细胞介素 6 水平, 减轻骨骼肌炎

症^[26]。最新报道显示, 抗阻运动联合二甲双胍干预比单纯的二甲双胍干预能更好地降低糖尿病小鼠骨骼肌中的肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 6 蛋白表达, 更好地改善糖尿病小鼠骨骼肌炎症^[27]。

此次实验结果显示, 糖尿病各组大鼠骨骼肌湿质量减轻, 骨骼肌中核因子 κ B 表达增加, 其下游炎症因子肿瘤坏死因子 α 水平增加, 提示实验中糖尿病大鼠骨骼肌中核因子 κ B 炎症信号通路过度激活, 出现炎症反应并导致骨骼肌萎缩。而有氧运动和抗阻运动均提高了糖尿病大鼠骨骼肌湿质量, 降低了骨骼肌中核因子 κ B 和肿瘤坏死因子 α 水平, 其中糖尿病抗阻运动组核因子 κ B 的表达明显低于糖尿病有氧运动组 ($P < 0.05$), 腓肠肌湿质量和肌质量分数明显高于糖尿病安静组 ($P < 0.05$), 并高于糖尿病有氧运动组。结果提示两种运动均能有效改善糖尿病大鼠骨骼肌炎症和肌肉萎缩, 且抗阻运动改善炎症指标和缓解肌肉萎缩的效果优于有氧运动, 这可能是抗阻运动改善血糖效果优于有氧运动的机制之一。

结论: 两种运动均能有效改善糖尿病大鼠脂糖代谢, 降低骨骼肌炎症和肌肉萎缩。有氧运动能更好地提高糖尿病大鼠骨骼肌中 BDNF 蛋白的表达, 进而提升骨骼肌脂肪代谢的能力, 更好地改善糖尿病大鼠血脂水平。抗阻运动能更好地抑制骨骼肌中核因子 κ B 蛋白的表达, 减少其下游促炎因子肿瘤坏死因子 α 水平, 降低骨骼肌炎症和肌萎缩, 提高骨骼肌糖代谢能力, 更好地改善糖尿病大鼠血糖水平。此次实验中, 仅观察了运动对糖尿病大鼠骨骼肌中 BDNF 和核因子 κ B 蛋白的表达, 在后续研究中应对 BDNF 和核因子 κ B 信号通路中相关指标进行观察, 进一步证实此次研究结果。

作者贡献: 设计和和实施是第一作者和通讯作者; 资料收集为第一和第二作者; 文献分析为第一和第二作者; 第一和第二作者成文; 第三和第四作者审核; 第一作者和通讯作者对文章负责。

经费支持: 该文章受“2018 年度四川中医药高等专科学校科研项目 (18ZRYB03) 和绵阳市高等教育‘三三工程’(市级特色专业-康复治疗技术专业建设) 项目”支持。所有作者声明, 经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

机构伦理问题: 实验方案经成都体育学院动物实验伦理委员会批准 (备案批准号为 2018024A)。实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。实验动物在麻醉下进行所有的手术, 并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

生物统计学声明: 该文统计学方法已经四川中医药高等专科学校生物统计学专家审核。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] MATTHEWS VB, ÅSTRÖM MB, CHAN MHS, et al. Brain-derived neurotrophic factor is produced by skeletal muscle cells in response to contraction and enhances fat oxidation via activation of AMP-activated protein kinase. *Diabetologia*. 2009;52(7):1409-1418.
- [2] FULGENZI G, HONG ZY, FRANCESCO TA, et al. Novel metabolic role for BDNF in pancreatic β -cell insulin secretion. *Nat Commun*. 2020;11:1950.
- [3] 唐量, 亢依婷, 尹博, 等. 负重爬梯与有氧跑台运动对糖尿病大鼠学习记忆能力的影响及其机制探讨 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2017,33(5):436-440.
- [4] 王力先. NF- κ B 信号通路与骨骼肌萎缩研究进展 [J]. *生命的化学*, 2015,35(2):188-192.
- [5] 沈志祥, 朱立勋, 徐伟红. 有氧运动对 2 型糖尿病大鼠 AGE-RAGE 轴及 NF- κ B 通路的影响 [J]. *昆明医科大学学报*, 2018,39(1):16-19.
- [6] 李顺昌. 耐力和抗阻运动对糖尿病大鼠心脏功能及结构的影响及机制研究 [D]. 北京: 北京体育大学, 2017:34-35.
- [7] 税晓平, 李春莹, 曹艳霞, 等. 有氧和抗阻运动干预 2 型糖尿病模型大鼠周围神经内质网应激相关蛋白的表达 [J]. *中国组织工程研究*, 2021,25(11):1693-1698.
- [8] 赵大林, 李晶, 马铁, 等. 有氧运动训练 8 周 2 型糖尿病模型大鼠骨骼肌磷脂酰肌醇 3- 激酶 - 蛋白激酶 B 信号转导通路的变化 [J]. *中国组织工程研究*, 2019,23(23):3660-3666.
- [9] SPARKS LM, JOHANNSEN NM, CHURCH TS, et al. Nine months of combined training improves ex vivo skeletal muscle metabolism in individuals with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98:1694-1702.
- [10] BRYAN CB, BRET HG. Exercise and Muscle Lipid Content, Composition, and Localization: Influence on Muscle Insulin Sensitivity. *Diabetes*. 2020;69(5):848-858.
- [11] NERY C, MORAES SRA, NOVAES KA, et al. Effectiveness of resistance exercise compared to aerobic exercise without insulin therapy in patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *Braz J Phys Ther*. 2017;21(6):400-415.
- [12] 梁敏, 王海牛, 黄鹏, 等. 抗阻运动对 2 型糖尿病糖脂代谢异常患者干预效果的系统综述和 Meta 分析 [J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(35):5718-5726.
- [13] 王继, 杨中亚, 张龙, 等. AMPK/PGC-1 α 在有氧运动改善 2 型糖尿病大鼠骨骼肌萎缩中的作用 [J]. *中国组织工程研究*, 2020,24(20): 3180-3185.
- [14] MARC F, LOUISE D. Exercise and the control of muscle mass in human. *Pflugers Arch*. 2019;471(3):397-411.
- [15] YU T, CHANG Y, GAO XL, et al. Dynamic Expression and the Role of BDNF in Exercise-induced Skeletal Muscle Regeneration. *Int J Sports Med*. 2017;38(13):959-966.
- [16] DELEZIE J, WEIHRAUCH M, MAIER G, et al. BDNF is a mediator of glycolytic fiber-type specification in mouse skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2019;116(32):16111-16120.
- [17] GOMES WF, LACERDA AC, MENDONÇA VA, et al. Effect of exercise on the plasma BDNF levels in elderly women with knee osteoarthritis. *Rheumatol Int*. 2014;34(6):841-846.
- [18] YANG XY, BROBST D, CHAN WS, et al. Muscle-generated BDNF is a sexually dimorphic myokine that controls metabolic flexibility. *Sci Signal*. 2019;12(594):eaau1468.
- [19] FERNYHOUGH P, DIEMEL LT, BREWSTER WJ, et al. Altered neurotrophin mRNA levels in peripheral nerve and skeletal muscle of experimentally diabetic rats. *Neurochem*. 1995;64(3):1231-1237.
- [20] 周榕. BDNF-TrkB 调节白色脂肪棕色化在能量代谢中的作用 [D]. 滨州: 滨州医学院, 2016:24-25.
- [21] GLASS DJ. Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005;37:1974-1984.
- [22] 张静, 陈佩杰, 肖卫华. 肥胖导致骨骼肌胰岛素抵抗 - 炎症因子的介导作用及运动的改善效应 [J]. *中国运动医学杂志*, 2020,39(3): 226-231.
- [23] KEAPAI W, SAPICHA S, AMORNLERDPISON D, et al. Evaluation of fish oil-rich in MUFAs for anti-diabetic and anti-inflammation potential in experimental type 2 diabetic rats. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2016;20(6):581-593.
- [24] TIAN S, WANG M, LIU CY, et al. Mulberry leaf reduces inflammation and insulin resistance in type 2 diabetic mice by TLRs and insulin Signalling pathway. *BMC Complement Altern Med*. 2019;19:326.
- [25] 张新霞, 谢超, 王志强, 等. 运动疗法对 STZ 诱导的糖尿病大鼠病理损伤及骨骼肌 FOXO1、GLUT4 表达的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2020,55(7):1024-2019.
- [26] SHAMSI MM, HASSAN ZH, GHARAKHANLOU R, et al. Expression of interleukin-15 and inflammatory cytokines in skeletal muscles of STZ-induced diabetic rats: effect of resistance exercise training. *Endocrine*. 2014;46(1):60-69.
- [27] 俞莹莹, 赵彦, 谭朝文, 等. 抗阻运动联合二甲双胍对 db/db 小鼠骨骼肌炎症反应的影响研究 [P]. 第十一届全国体育科学大会论文摘要汇编, 2019:7741-7743.

(责任编辑: ZN, SX)