

有氧和抗阻运动干预 2 型糖尿病模型大鼠海马抗氧化应激指标和脑源性神经营养因子表达的变化

税晓平^{1, 2, 3}, 李春莹⁴, 李明娟¹, 李顺昌³, 孙君志³, 苏全生³

<https://doi.org/10.12307/2022.1002>

投稿日期: 2021-11-22

采用日期: 2021-12-31

修回日期: 2022-04-18

在线日期: 2022-05-12

中图分类号:

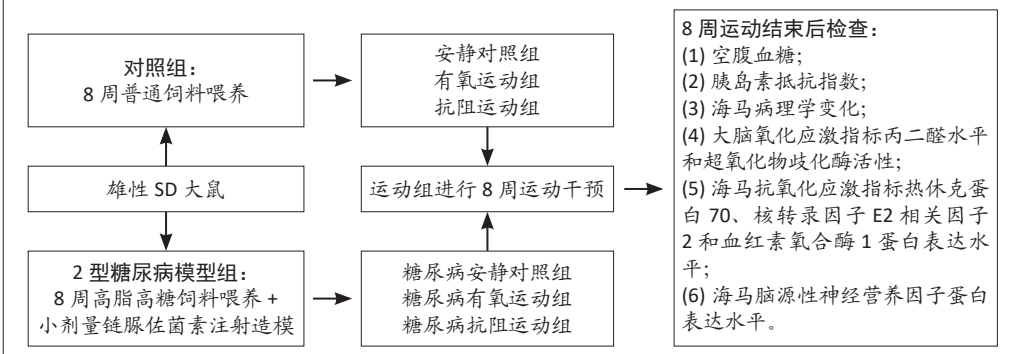
R459.9; R318; R587.1

文章编号:

2095-4344(2023)02-00264-06

文献标识码: B

文章快速阅读: 有氧和抗阻运动干预 2 型糖尿病大鼠海马抗氧化应激指标的变化



文题释义:

核转录因子E2相关因子2抗氧化应激信号通路: 该信号通路是调节机体内源性抗氧化应激的主要通路之一, 在氧化应激状态下, 活性氧使核转录因子E2相关因子2活化并进入细胞核与抗氧化反应元件结合, 进一步上调下游抗氧化酶基因表达, 与热休克蛋白70共同发挥抗氧化应激作用, 提高机体消除活性氧的能力。

脑源性神经营养因子: 是最主要的脑神经营养因子, 它具有促进受损神经修复及神经元增殖、分化及突触形成等作用。脑源性神经营养因子及其中介作用是运动促进受损神经修复、改善脑功能的重要途径。

摘要

背景: 糖尿病将导致大脑海马损伤并诱发认知功能障碍, 其中氧化应激和神经营养因子表达减少是糖尿病致海马损伤的主要机制。长期规律运动对糖尿病海马损伤有积极干预作用, 但相关机制仍需进一步研究。

目的: 观察有氧和抗阻运动对2型糖尿病大鼠海马抗氧化应激指标热休克蛋白70、核转录因子E2相关因子2、血红素氧合酶1以及脑源性神经营养因子表达的影响。

方法: 高脂高糖饲料喂养8周后, 一次性腹腔注射链脲佐菌素制备2型糖尿病模型大鼠; 造模结束后, 2型糖尿病大鼠随机分为糖尿病安静对照组、糖尿病有氧运动组和糖尿病抗阻运动组($n=7$)。对照组大鼠随机分为安静对照组、有氧运动组、抗阻运动组($n=7$)。对照组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。各运动组分别进行8周有氧或抗阻运动干预, 8周运动干预结束后, 检测各组大鼠空腹血糖和胰岛素抵抗指数; 苏木精-伊红染色观察大脑海马结构变化; 检测大鼠脑组织氧化应激指标丙二醛水平和超氧化物歧化酶活性; Western blot检测海马热休克蛋白70、核转录因子E2相关因子2、血红素氧合酶1和脑源性神经营养因子蛋白的表达水平。

结果与结论: ①8周运动干预结束后, 与安静对照组比较, 糖尿病各组大鼠空腹血糖和胰岛素抵抗指数显著升高($P < 0.01$); 大鼠海马表现出锥体细胞层数减少、细胞空化、细胞坏死和核仁消失等病理改变; 与糖尿病安静组比较, 2个糖尿病运动干预组空腹血糖和胰岛素抵抗指数均显著下降($P < 0.01$, $P < 0.05$), 大鼠海马细胞空化、坏死和核仁消失等病变程度减轻; ②与安静对照组比较, 糖尿病各组大鼠大脑中丙二醛水平明显升高($P < 0.01$), 糖尿病安静组超氧化物歧化酶活性明显降低($P < 0.01$); 与糖尿病安静组比较, 2个糖尿病运动干预组丙二醛水平明显降低($P < 0.01$), 超氧化物歧化酶活性明显升高($P < 0.05$); ③与安静对照组比较, 糖尿病各组海马中热休克蛋白70、核转录因子E2相关因子2、血红素氧合酶1和脑源性神经营养因子蛋白表达均显著降低($P < 0.01$); 与糖尿病安静组比较, 2个糖尿病运动干预组大鼠海马热休克蛋白70、核转录因子E2相关因子2和脑源性神经营养因子蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$), 糖尿病有氧运动组血红素氧合酶1蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$); ④提示有氧运动和抗阻运动均能提高糖尿病大鼠海马中热休克蛋白70、核转录因子E2相关因子2和脑源性神经营养因子蛋白的表达水平, 进而降低海马氧化应激并促进海马神经细胞修复, 减轻2型糖尿病导致的大鼠海马神经损伤。

关键词: 运动; 糖尿病; 海马; 氧化应激; 脑源性神经营养因子; 大鼠

缩略语: 核转录因子E2相关因子2: nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2; 血红素氧合酶1: heme oxygenase-1, HO-1; 脑源性神经营养因子: brain-derived neurotrophic factor, BDNF

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 成都体育学院运动医学与健康学院, 四川省成都市 610041; ⁴ 绵阳市中医医院, 四川省绵阳市 621000

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: 税晓平, 博士, 副教授, 四川中医药高等专科学校, 四川省绵阳市 621000; 绵阳市骨科医院, 四川省绵阳市 621000; 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), 项目负责人: 税晓平; 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(202055), 项目负责人: 税晓平

引用本文: 税晓平, 李春莹, 李明娟, 李顺昌, 孙君志, 苏全生. 有氧和抗阻运动干预 2 型糖尿病模型大鼠海马抗氧化应激指标和脑源性神经营养因子表达的变化 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(2):264-269.



Effects of aerobic and resistance exercise on antioxidant stress index and brain-derived neurotrophic factor expression in the hippocampus of type 2 diabetic rats

Shui Xiaoping^{1,2,3}, Li Chunying⁴, Li Mingjuan¹, Li Shunchang³, Sun Junzhi³, Su Quansheng³

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

Shui Xiaoping, MD, Associate professor, Sichuan College of Traditional Chinese Medicine, Mianyang 621000, Sichuan Province, China; Mianyang Osteological Hospital, Mianyang 621000, Sichuan Province, China; School of Sports Medicine and Health, Chengdu Sport University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Corresponding author: Shui Xiaoping, Sichuan College of Traditional Chinese Medicine, Mianyang 621000, Sichuan Province, China; 2Mianyang Osteological Hospital, Mianyang 621000, Sichuan Province, China; 3School of Sports Medicine and Health, Chengdu Sport University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Abstract

BACKGROUND: Diabetes mellitus will cause damage to the hippocampus and induce cognitive dysfunction. Oxidative stress and reduced neurotrophic factor expression are the main mechanism of diabetes-induced hippocampal damage. Long-term regular exercise is a positive intervention for diabetes-induced hippocampal damage; however, the related mechanism still needs further research.

OBJECTIVE: To observe the effects of aerobic and resistance exercise on the expression of heat shock protein 70, nuclear factor erythroid 2 p45-related factor 2, heme oxygenase 1, and brain-derived neurotrophic factor in the hippocampus of type 2 diabetic rats.

METHODS: The rats that had been fed with high-fat and high-sugar diet for 8 weeks were given a single intraperitoneal injection of streptozotocin to prepare a model of type 2 diabetes. Type 2 diabetic rats were randomly divided into diabetic control group, diabetic aerobic exercise group and diabetic resistance exercise group, with seven rats in each group. Another control rats were randomly divided into quiet control group, aerobic exercise group, and resistance exercise group, with seven rats in each group. The control rats continued to be fed with ordinary feed, while the diabetic rats continued to be fed with high-fat and high-sugar diet. The aerobic and resistance exercise lasted for 8 weeks in each exercise group. After 8-week exercises, fasting blood glucose and insulin resistance index were measured. Hematoxylin-eosin staining was used to observe the changes of hippocampal structure. The level of malondialdehyde and the activity of superoxide dismutase in brain were measured. The expression of heat shock protein 70, nuclear factor erythroid 2 p45-related factor 2, heme oxygenase 1, and brain-derived neurotrophic factor in the hippocampus were detected by western blot assay.

RESULTS AND CONCLUSION: After 8 weeks of exercise, compared with the quiet control group, fasting blood glucose and insulin resistance index of all diabetic rats were significantly increased ($P < 0.01$). The hippocampus of all diabetic rats showed pathological changes such as decreased number of vertebral cell layers, cell cavitation, cell necrosis, and disappearance of nucleoli. Compared with the diabetic control group, fasting blood glucose and insulin resistance index were significantly decreased ($P < 0.01$, $P < 0.05$) and the pathological changes of the hippocampus, such as cell cavitation, cell necrosis, and disappearance of nucleoli, were alleviated in the two diabetic exercise groups. Compared with the quiet control group, the malondialdehyde level was significantly increased in all diabetic rats ($P < 0.01$) and the superoxide dismutase activity was significantly decreased in the quiet diabetic group ($P < 0.01$). Compared with the diabetic control group, the malondialdehyde level was significantly decreased and the superoxide dismutase activity was significantly increased in the two diabetic exercise groups ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Compared with the quiet control group, the expression levels of heat shock protein 70, nuclear factor erythroid 2 p45-related factor 2, heme oxygenase 1, and brain-derived neurotrophic factor were significantly decreased in all diabetic rats ($P < 0.01$). Compared with the diabetic control group, the expression levels of heat shock protein 70, nuclear factor erythroid 2 p45-related factor 2, and brain-derived neurotrophic factor were significantly increased in the two diabetic exercise groups ($P < 0.05$), and the expression of heme oxygenase 1 was significantly increased in the diabetic aerobic exercise group ($P < 0.05$). To conclude, aerobic and resistance exercises can both increase the expression of heat shock protein 70, nuclear factor erythroid 2 p45-related factor 2, heme oxygenase 1, and brain-derived neurotrophic factor proteins in the hippocampus of diabetic rats, thereby reducing hippocampal oxidative stress and promoting hippocampal nerve repair.

Key words: exercise; diabetic mellitus; hippocampus; oxidative stress; brain-derived neurotrophic factor; rat

Funding: 2018 Scientific Research Project of Sichuan College of Traditional Chinese Medicine, No. 18ZRYB03 (to SXP); Mianyang Higher Education "Three-Three Project" for Municipal Characteristic Major – Rehabilitation Technology Major Construction, No. 202055 (to SXP)

How to cite this article: SHUI XP, LI CY, LI MJ, LI SC, SUN JZ, SU QS. Effects of aerobic and resistance exercise on antioxidant stress index and brain-derived neurotrophic factor expression in the hippocampus of type 2 diabetic rats. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2023;27(2):264-269.

0 引言 Introduction

海马是中枢神经系统中负责学习和记忆的重要解剖结构，与认知功能密切相关。糖尿病将导致大脑海马结构和功能受损，出现认知障碍、学习及记忆能力减退，目前认为氧化应激和脑神经营养因子减少是糖尿病导致海马损伤的主要机制^[1-2]。

热休克蛋白 70 通过其抗氧化应激、抗凋亡和抗炎等作用机制，对海马有积极的保护和修复作用^[3-4]。核转录因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 是细胞内抗氧化应激的核心转录因子，Nrf2 激活后可启动其下游血红素氧合酶 1(heme oxygenase-1, HO-1)、谷胱甘肽硫基转移酶和超氧化物歧化酶等的合成表达，起到抗氧化应激的作用。研究显示糖尿病大鼠海马中热休克蛋白 70 和 Nrf2/HO-1 相关抗氧化应激机制受到抑制，而药物能激活糖尿病大鼠海马中热休克蛋白 70 和 Nrf2/HO-1 机制，降低海马氧

化应激状态，减轻海马损伤^[2-5]。但比较有氧和抗阻运动对糖尿病海马中以上指标影响的研究较少。

脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 是脑中最主要的神经营养因子，主要在啮齿动物额叶皮质和海马神经元合成。除营养神经外，BDNF 还参与神经元发育、突触形成、学习和记忆^[6-7]，BDNF 及其中介作用是运动促进受损神经修复、改善脑功能的重要途径。糖尿病诱发的氧化应激将导致大鼠海马 BDNF 减少，出现认知障碍、学习及记忆能力减退，利用药物和有氧运动干预可以提高糖尿病大鼠海马 BDNF 的表达，改善认知和学习功能障碍^[8-10]。但比较有氧和抗阻运动对糖尿病大鼠海马 BDNF 影响的研究报道较少。

此次研究将进一步观察和比较有氧和抗阻运动对 2 型糖尿病大鼠海马中氧化应激指标热休克蛋白 70、Nrf2、HO-1 和 BDNF 表达的影响，探讨和解释运动改善 2 型糖尿病神经

系统并发症的可能机制。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 按动物体质量均衡原则,进行完全随机对照动物实验,检验方差齐性后,组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)。

1.2 时间及地点 实验于2019年1-9月在成都体育学院和成都里来生物医学试验中心完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 SPF级6周龄SD雄性大鼠(许可证号20160811),体质量160-180 g,由成都达硕实验动物有限公司提供。动物喂养在国家体育总局运动医学重点实验室(成都体育学院)动物实验房,保持室温21-23℃,相对湿度40%-60%。实验方案经成都体育学院动物实验伦理委员会批准,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。

1.3.2 试剂 STZ试剂(美国Sigma公司),丙二醛测试试剂盒(货号A003-1,南京建成生物工程研究所),超氧化物歧化酶测试试剂盒(货号A003-1,南京建成生物工程研究所),Western blot测试使用抗体分别是抗热休克蛋白70抗体(货号ab5439,美国Abcam公司)、抗Nrf2抗体(货号R1312, Huabio华安生物公司)、抗HO-1抗体(货号ET1604-45, Epitomics公司)、抗BDNF抗体(货号ET1606-42, Epitomics公司)、 β -actin抗体(货号MABT825, Merckmillipore公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 2型糖尿病动物造模方法 按前期文献报道,在体质量均衡的前提下,60只大鼠按随机数字表法分为对照组($n=24$)和2型糖尿病造模组($n=36$)。对照组大鼠使用普通饲料喂养;2型糖尿病造模组大鼠使用高脂高糖饲料(成分为67%常规饲料、10%猪油、20%蔗糖、2%胆固醇和1%胆酸钠)喂养8周后,再进行一次性小剂量链脲佐菌素(30 mg/kg)腹腔注射,制备2型糖尿病大鼠模型^[11-13]。

1.4.2 造模后分组 26只成模的2型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($n=8$)^[11-13]。造模后各组喂养饲料不变,对照组为普通饲料,糖尿病组为高脂高糖饲料。

1.4.3 运动方案 各运动组在造模成功后第2天开始相应运动干预。2个有氧运动组大鼠进行3 d跑台适应性训练后,每天以20 m/min的速度进行大鼠跑台(DSPT-208型动物跑台,中国杭州段氏)训练,60 min/d,5 d/周,训练8周^[11-13]。

2个抗阻运动组大鼠进行3 d适应性负重爬梯训练结束后,测试其1次重复最大力量(1RM)^[11-13]。每天分别进行3次50%1RM、75%1RM、90%1RM及1RM负重爬梯训练。大鼠每次爬至顶部后,休息2 min后再训练,若大鼠不能完成3次1RM负荷训练,则以实际完成次数为限。5 d/周,训练8周^[11-13]。

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,测试空腹血糖和血清胰岛素,并计算胰岛素抵抗指数^[11-13]。

1.5.2 取材与相关检测 为避免运动干预后的即时效应,在8周运动后72 h取材。戊巴比妥钠65 mg/kg腹腔注射麻醉大鼠后迅速断头取大脑,在冰上仔细剥离海马并分为两部分,分别置于液氮和40 g/L多聚甲醛中,用于Western blot检测和苏木精-伊红染色。去海马后的大脑置于液氮,用于丙二醛和超氧化物歧化酶测试;苏木精-伊红染色和Western blot均在成都里来生物医学实验中心完成。

置于40 g/L多聚甲醛固定液的海马组织经过修剪、脱水、石蜡包埋和切片(切片厚度5 μ m)工序后,按标准程序进行染色、封固和镜检。采用数码三目摄像显微镜(BA400Digital, 麦克奥迪实业集团有限公司)进行镜检和采图,每张石蜡切片先在40倍下观察全部组织的大体病变,再选择要观察的大鼠海马齿状回区域采集100倍和400倍图片,观察海马齿状回区具体病变。

脑组织氧化应激指标丙二醛水平和超氧化物歧化酶活性检测时,取大鼠脑组织,按程序经过研磨匀浆和低温离心,取上清液测试蛋白浓度。稀释10倍后,按试剂盒说明书,采用TBA法检测丙二醛水平,采用羟胺法检测超氧化物歧化酶活性。

Western blot方法检测热休克蛋白70、Nrf2、HO-1和BDNF的表达。剪碎冻存海马组织,提取总蛋白并将蛋白样品调至等浓度。依次进行上样电泳、转膜和封闭,分别加入热休克蛋白70、Nrf2、HO-1和BDNF一抗孵育抗体(热休克蛋白70为1:500;Nrf2为1:1000;HO-1为1:1000;BDNF为1:2000; β -actin为1:5000),再加入相应二抗(稀释浓度:1:5000);采用发光法显影和定影,得到相应指标的条带。Image J 1.50i图像软件分析条带灰度值;热休克蛋白70、Nrf2、HO-1和BDNF的灰度值与内参蛋白 β -actin灰度值比值为其相对表达量。

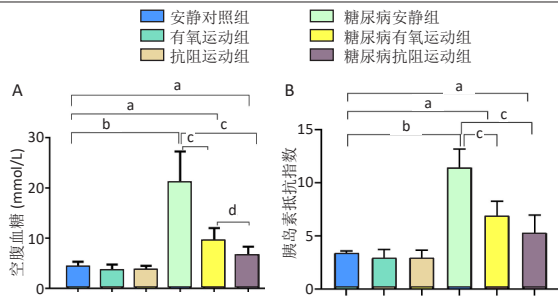
1.6 统计学分析 文章统计学方法已经四川中医药高等专科学校生物统计学专家审核。数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,使用SPSS 25.0版进行统计分析。检验方差齐性后,组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)。显著性差异标准为 $P < 0.05$,非常显著性差异标准为 $P < 0.01$ 。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 因糖尿病致大鼠死亡或运动导致大鼠足趾损伤退出训练而被剔除,最终各组均纳入7只进行统计。

2.2 各组空腹血糖和胰岛素抵抗情况比较 结果显示,糖尿病各组大鼠空腹血糖和胰岛素抵抗指数均显著高于安静对照组($P < 0.05$, $P < 0.01$);2个糖尿病运动组空腹血糖和胰岛素抵抗指数均显著低于糖尿病安静组($P < 0.01$),见图1。

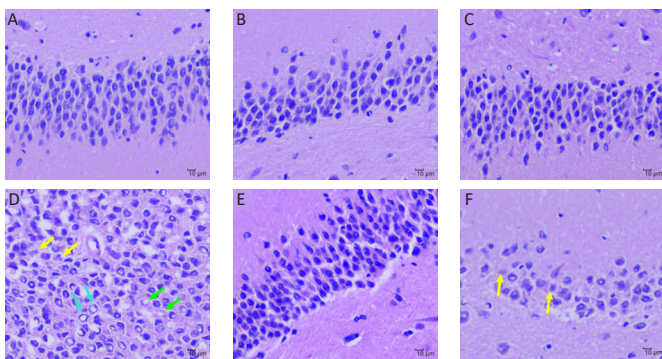
2.3 各组大鼠海马苏木精-伊红染色结果 结果显示,各对照组大鼠海马齿状回区组织结构完整,神经细胞外形规则、



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

图 1 | 各组大鼠空腹血糖 (A) 和胰岛素抵抗指数 (B) 的比较
Figure 1 | Comparison of fasting blood glucose (A) and insulin resistance index (B) of rats among groups

包膜清晰、核仁明显，锥体细胞形态正常，排列规则。糖尿病安静组大鼠海马齿状回区可见神经细胞间质水肿、排列紊乱，结构组织明显疏松、锥体细胞层数减少坏死，神经元细胞核出现明显固缩和深染，部分细胞质自溶，出现大量的空泡结构伴有核仁消失。2 个糖尿病运动组神经元细胞空化、细胞坏死和核仁消失等病理情况较糖尿病安静组明显好转，见图 2。



图注：图 A-F 分别为安静对照组、有氧运动组、抗阻运动组、糖尿病安静组、糖尿病有氧运动组及糖尿病抗阻运动组。蓝色箭头示核仁消失，黄色箭头示细胞坏死，绿色箭头示细胞空化

图 2 | 各组大鼠海马苏木精 - 伊红染色结果 (x400)
Figure 2 | Hematoxylin-eosin staining results of the hippocampus of rats (x400)

2.4 各组大鼠脑氧化应激指标丙二醛水平和超氧化物歧化酶活性比较 结果显示，与安静对照组比较，糖尿病各组丙二醛水平明显升高 ($P < 0.01$)；与糖尿病安静对照组比较，2 个糖尿病运动组丙二醛水平明显降低 ($P < 0.01$)；与安静对照组比较，糖尿病对照组超氧化物歧化酶活性明显降低 ($P < 0.01$)；与糖尿病安静对照组比较，2 个糖尿病运动组超氧化物歧化酶活性明显升高 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)，见表 1 及图 3。

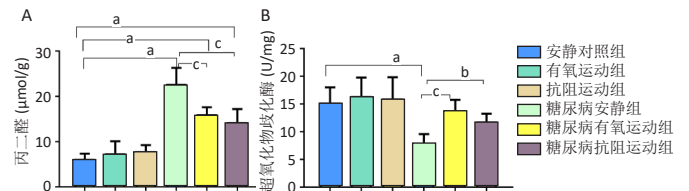
2.5 各组大鼠海马热休克蛋白 70、Nrf2、HO-1 及 BDNF 蛋白表达水平比较 结果显示，糖尿病各组大鼠热休克蛋白 70、Nrf2、HO-1 及 BDNF 蛋白表达水平均明显低于安静对照组 ($P < 0.01$)；与糖尿病安静组比较，糖尿病有氧运动组和糖尿病抗阻运动组热休克蛋白 70、Nrf2 及 BDNF 蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.05$)，糖尿病有氧运动组 HO-1 蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.05$)，见表 2 及图 4。

表 1 | 各组大鼠脑氧化应激指标丙二醛水平和超氧化物歧化酶活性比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

Table 1 | Comparison of malondialdehyde level and superoxide dismutase activity in the brain of rats among groups

组别	丙二醛 ($\mu\text{mol/g}$)	超氧化物歧化酶 (U/mg)
安静对照组	6.13 \pm 1.22	15.22 \pm 2.82
有氧运动组	7.40 \pm 2.68	16.45 \pm 3.33
抗阻运动组	7.83 \pm 1.41	15.99 \pm 3.86
糖尿病安静组	22.76 \pm 3.52 ^a	7.93 \pm 1.65 ^a
糖尿病有氧运动组	16.06 \pm 1.54 ^{ac}	13.84 \pm 1.93 ^c
糖尿病抗阻运动组	14.29 \pm 2.91 ^{ac}	11.83 \pm 1.44 ^b

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



图注：与安静对照组比较，^a $P < 0.05$ ；与糖尿病安静组比较，^b $P < 0.05$ ，^c $P < 0.01$

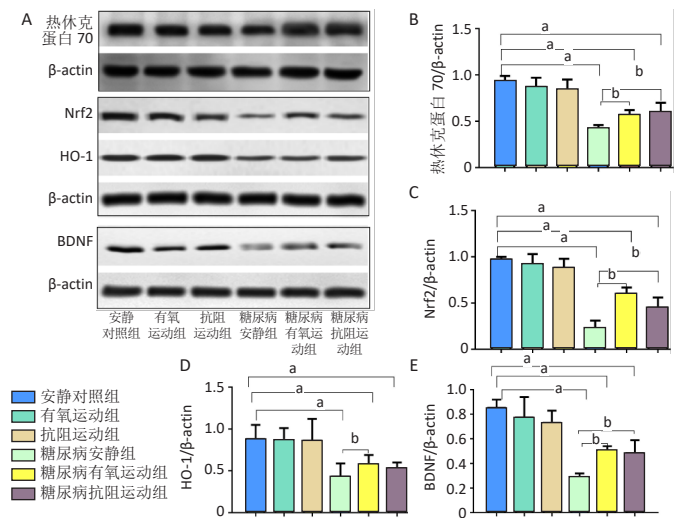
图 3 | 各组大鼠脑氧化应激指标丙二醛水平 (A) 和超氧化物歧化酶活性 (B) 比较
Figure 3 | Comparison of malondialdehyde level (A) and superoxide dismutase activity (B) in the brain of rats among groups

表 2 | 各组大鼠海马热休克蛋白 70、Nrf2、HO-1 及 BDNF 蛋白表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

Table 2 | Comparison of heat shock protein 70, nuclear factor erythroid 2 p45-related factor 2, heme oxygenase 1, and brain-derived neurotrophic factor protein expression in the hippocampus of rats among groups

组别	热休克蛋白 70	Nrf2	HO-1	BDNF
安静对照组	0.94 \pm 0.05	0.98 \pm 0.02	0.89 \pm 0.16	0.86 \pm 0.06
有氧运动组	0.88 \pm 0.09	0.93 \pm 0.10	0.88 \pm 0.13	0.78 \pm 0.16
抗阻运动组	0.85 \pm 0.10	0.89 \pm 0.09	0.87 \pm 0.25	0.74 \pm 0.09
糖尿病安静组	0.43 \pm 0.03 ^a	0.24 \pm 0.07 ^a	0.44 \pm 0.15 ^a	0.29 \pm 0.03 ^a
糖尿病有氧运动组	0.58 \pm 0.04 ^{ab}	0.61 \pm 0.06 ^{ab}	0.59 \pm 0.10 ^{ab}	0.51 \pm 0.03 ^{ab}
糖尿病抗阻运动组	0.61 \pm 0.09 ^{ab}	0.46 \pm 0.10 ^{ab}	0.51 \pm 0.06 ^a	0.49 \pm 0.10 ^{ab}

表注：与安静对照组比较，^a $P < 0.01$ ；与糖尿病安静组比较，^b $P < 0.05$ 。Nrf2：核转录因子 E2 相关因子 2；HO-1：血红素氧合酶 1；BDNF：脑源性神经营养因子



图注：图 A 为 Western-blot 电泳图；图 B-E 为各组热休克蛋白 70、Nrf2、HO-1、BDNF 蛋白比较。与安静对照组比较，^a $P < 0.01$ ；与糖尿病安静组比较，^b $P < 0.05$ 。Nrf2：核转录因子 E2 相关因子 2；HO-1：血红素氧合酶 1；BDNF：脑源性神经营养因子

图 4 | 各组大鼠海马热休克蛋白 70、Nrf2、HO-1 及 BDNF 蛋白表达的比较
Figure 4 | Comparison of heat shock protein 70, nuclear factor erythroid 2 p45-related factor 2, heme oxygenase 1, and brain-derived neurotrophic factor protein expression in the hippocampus of rats among groups

3 讨论 Discussion

3.1 不同运动对 2 型糖尿病大鼠空腹血糖、胰岛素抵抗指数和海马结构的影响 此次结果显示糖尿病各组大鼠空腹血糖和胰岛素抵抗指数均显著升高,是典型 2 型糖尿病的表现。有氧和抗阻运动均能明显降低糖尿病大鼠的空腹血糖和胰岛素抵抗指数,改善糖代谢障碍和胰岛素抵抗^[11-13]。糖尿病将导致大鼠海马受损,并出现学习和记忆功能障碍。此次实验结果也显示糖尿病大鼠海马表现出神经细胞间质水肿、排列紊乱,结构疏松、锥体细胞层数减少、细胞空化、核仁消失和细胞坏死等病理表现。而有氧和抗阻运动均有效减轻了糖尿病大鼠海马的病理变化,表现为 2 个糖尿病运动组大鼠海马细胞坏死、核仁消失、细胞空化等病变程度均减轻。

规律运动改善糖尿病大鼠海马神经细胞修复的机制是近年来研究的热点。研究发现有氧运动可上调糖尿病大鼠海马突触可塑性相关蛋白和神经生长相关蛋白 43 的表达,减少腺苷酸环化酶相关蛋白 1 表达,促进海马神经结构和功能恢复^[14-15]。最新研究显示,有氧运动可以改善糖尿病大鼠海马胰岛素抵抗,提高抗氧化酶活力,减少神经炎症反应和细胞凋亡,提高糖尿病大鼠的结构和学习记忆能力^[2]。抗阻运动对糖尿病大鼠海马功能的研究报道较少,有研究显示,有氧和抗阻运动均能通过激活 BDNF/酪氨酸激酶受体 B/CREB 信号通路,提高糖尿病大鼠的学习记忆能力,且抗阻运动对记忆能力改善的效果优于有氧运动^[10],抗阻运动也能够通过改善糖尿病大鼠海马胰岛素抵抗和神经元死亡,提高大鼠认知功能^[16]。

氧化应激和 BDNF 减少是糖尿病导致海马损伤的主要机制,此次实验中 2 种运动均能明显减轻糖尿病大鼠海马病理变化,其机制是否与改善热休克蛋白 70 和 Nrf2 信号通路、提高 BDNF 表达有关,需进一步研究证实。

3.2 不同运动对糖尿病大鼠脑和海马抗氧化应激指标的影响 氧化应激是糖尿病大鼠脑病变的主要机制,在糖尿病模型大鼠脑中的氧化应激指标丙二醛水平提高,抗氧化应激酶超氧化物歧化酶活性降低,通过药物或运动能够降低糖尿病鼠脑中丙二醛水平,提高超氧化物歧化酶活性^[17-18]。此次实验结果显示糖尿病大鼠脑丙二醛水平升高,超氧化物歧化酶活性降低,提示此次实验糖尿病大鼠脑组织出现了氧化应激,而有氧和抗阻运动均能够降低糖尿病大鼠脑丙二醛水平,提高超氧化物歧化酶活性。以上结果为此次实验后续研究不同运动对海马抗氧化应激指标的影响奠定了基础。

热休克蛋白 70 可以通过减少活性氧的产生和提高内源性抗氧化酶的产生,对糖尿病及其神经并发症起到保护作用^[19-20]。Nrf2/HO-1 信号通路也是机体内源性抗氧化应激的主要通路之一,在氧化应激状态下,活性氧使 Nrf2 活化并进入细胞核与抗氧化反应元件结合,进一步上调下游 HO-1、谷胱甘肽硫基转移酶和超氧化物歧化酶的基因表达,提高机体消除活性氧的能力;Nrf2 还可以调节热休克蛋白 70 的表达和抗氧化能力,与热休克蛋白 70 协同发挥抗氧化应激作

用^[21-22]。在此次实验中,采用热休克蛋白 70 和 Nrf2/HO-1 信号通路蛋白共同评价不同运动对糖尿病大鼠海马内源性抗氧化应激能力的影响。

研究显示糖尿病将导致大鼠海马中热休克蛋白 70 和 Nrf2/HO-1 表达减少,大鼠出现学习记忆功能障碍^[23-25],而利用姜黄素或花青素等药物干预,可提高糖尿病大鼠海马中以上指标的表达,提高抗氧化应激能力,改善大鼠学习记忆功能障碍^[23-24]。长期规律运动也具有抗氧化应激作用,中高强度游泳训练能提高糖尿病大鼠海马中 Nrf2 的表达,激活 Nrf2 /ARE/Glo-1 通路,提高海马组织超氧化物歧化酶和谷胱甘肽水平,改善大鼠的认知功能障碍^[26]。最新研究发现,抗阻运动也能够降低糖尿病大鼠海马丙二醛水平,提高总抗氧化能力,并抑制凋亡相关蛋白的表达^[27]。

关于比较有氧和抗阻运动对糖尿病大鼠海马中热休克蛋白 70 和 Nrf2/HO-1 抗氧化应激通路影响的研究较少。此次实验结果显示,糖尿病安静组大鼠海马热休克蛋白 70、Nrf2 和 HO-1 蛋白均明显降低,海马出现细胞层数减少、空化、核仁消失和坏死等病理表现;而有氧和抗阻运动均能够提高糖尿病大鼠海马中热休克蛋白 70 和 Nrf2 蛋白表达,其中有氧运动能明显提高 Nrf2 信号通路中的下游蛋白 HO-1 的表达 ($P < 0.05$),提示有氧和抗阻运动均能上调糖尿病大鼠抗氧化应激蛋白热休克蛋白 70 和 Nrf2 的表达,提高海马抗氧化能力,减轻海马损伤;有氧运动能明显上调 Nrf2 信号通路下游蛋白 HO-1 的表达,而抗阻运动未能明显上调该蛋白的表达,提示两种运动均能激活 Nrf2 抗氧化应激信号通路,但对其下游机制的影响可能不同,仍需要进一步研究。

3.3 不同运动对糖尿病大鼠海马中 BDNF 蛋白表达的影响 BDNF 及其中介作用机制是运动促进受损神经修复、改善脑功能的重要途径,也是评价神经系统功能的重要指标^[28]。此次实验采用 BDNF 来评价有氧和抗阻运动对糖尿病大鼠海马的影响。

研究发现有氧和抗阻运动均能提高老龄、癫痫和抑郁模型大鼠海马区域 BDNF 表达,促进学习记忆功能恢复^[29-30]。但比较有氧和抗阻运动对糖尿病大鼠海马中 BDNF 影响的研究较少。研究证实糖尿病将导致大鼠海马中 BDNF 减少,出现认知障碍、学习及记忆能力减退,利用药物和有氧运动干预可以提高海马 BDNF 的表达,促进神经功能的恢复^[8-9]。唐量等^[10] 研究显示,有氧和负重爬梯运动均能提高糖尿病大鼠海马中 BDNF 的表达,提高大鼠记忆能力,但不同运动对 BDNF 下游的酪氨酸激酶受体 B 和 CREB 影响不同。此次研究结果显示,糖尿病安静组大鼠海马 BDNF 表达水平均明显降低 ($P < 0.05$),并出现明显结构的变化,这与相关研究结果一致^[8-10]。此次结果也显示,有氧运动和抗阻运动均能够提高糖尿病大鼠海马 BDNF 蛋白表达 ($P < 0.05$),且两种运动对 BDNF 表达的影响未出现差异,提示有氧和抗阻运动均能提高糖尿病大鼠海马 BDNF 表达,减缓糖尿病导致的海马损伤。

综合此次实验结果,抗阻运动和有氧运动均能提高内

源性抗氧化应激蛋白热休克蛋白 70、Nrf2 和神经营养因子 BDNF 的表达,对糖尿病大鼠海马起到保护作用,提示 2 种运动均可用于糖尿病中枢神经系统病变的防治。2 种运动对 Nrf2 信号通路下游蛋白 HO-1 的影响不同,提示 2 种运动对该信号通路下游机制的影响可能不同,相关研究仍需进一步进行。

3.4 结论 糖尿病大鼠可出现糖代谢紊乱、胰岛素抵抗以及脑的氧化应激现象。抗阻运动和有氧运动均能有效改善糖尿病大鼠糖代谢紊乱和胰岛素抵抗,减轻大鼠脑的氧化应激,提高海马中热休克蛋白 70、Nrf2 和 BDNF 的表达,减轻海马氧化应激并促进海马神经细胞修复,减轻 2 型糖尿病导致的大鼠海马损伤。

致谢: 实验在研究过程中由成都体育学院高德润、江玲玲和尚画雨老师提供技术支持,特表示感谢。

作者贡献: 实验设计和实施为第一作者;资料收集和文献分析为第一、二、三作者;第一、二作者成文;第四、五、六作者审核。

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。

版权转让: 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

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。

出版规范: 该文章撰写遵守了国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。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。

4 参考文献 References

[1] FAZELZADEH M, AFZALPOUR ME, FALLAH MZ, et al. The effects of voluntary complex and regular wheel running exercises on the levels of 8-oxoguanine DNA glycosylase, semaphorin 3B, H₂O₂, and apoptosis in the hippocampus of diabetic rats. *Brain Behavior*. 2021;11(3):e01988.

[2] RAHMATI M, KESHVARI M, MIRNASOURI R, et al. Exercise and Urtica dioica extract ameliorate hippocampal insulin signaling, oxidative stress, neuroinflammation, and cognitive function in STZ-induced diabetic rats. *Biomed Pharmacother*. 2021;139:111577.

[3] YI HJ, HUANG GY, ZHANG K, et al. HSP70 protects rats and hippocampal neurons from central nervous system oxygen toxicity by suppression of NO production and NF- κ B activation. *Exp Biol Med*. 2018;243:770-779.

[4] 钟静玫, 郭强, 陈辉, 等. 慢性温和应激后老年大鼠抑郁症状及 HSP70 的变化 [J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(3):740-742.

[5] ZHANG SY, YUAN LL, ZHANG LH, et al. Prophylactic Use of Troxerutin Can Delay the Development of Diabetic Cognitive Dysfunction and Improve the Expression of Nrf2 in the Hippocampus on STZ Diabetic Rats. *Behav Neurol*. 2018;2018:8678539.

[6] JIANG T, WANG XQ, DING C, et al. Genistein attenuates soflurane-induced neurotoxicity and improves impaired spatial learning and memory by regulating cAMP/CREB and BDNF-TrkB-PI3K/Akt signaling. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2017;21:579-589.

[7] JANARDHANAN A, SADANAND A, VANISREE AJ. Nardostachys jatamansi targets BDNF-TrkB to alleviate ketamine-Induce Schizophrenia-Like symptoms in rats. *Neuropsychobiology*. 2016;74:104-114.

[8] NADIMI H, DJAZAYERY A, JAVANBAKHT MH, et al. Effect of vitamin D supplementation on CREB-TrkB-BDNF pathway in the hippocampus of diabetic rats. *Iran J Basic Med Sci*. 2020;23:117-123.

[9] WARD R, LI WL, ABDUL Y, et al. NLRP3 inflammasome inhibition with MCC950 improves diabetes-mediated cognitive impairment and vasoneuronal remodeling after ischemia. *Pharmacol Res*. 2019;142:237-250.

[10] 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.

[11] 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.

[12] 税晓平, 李春莹, 李顺昌, 等. 有氧和抗阻运动干预 2 型糖尿病大鼠骨骼肌源性神经营养因子、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):701-707.

[13] 税晓平. 耐力和抗阻运动对糖尿病大鼠周围神经结构功能的影响及机制研究 [D]. 成都: 成都体育学院, 2019:69-77.

[14] LI JJ, LIU YR, LIU BB, et al. Mechanisms of Aerobic Exercise Upregulating the Expression of Hippocampal Synaptic Plasticity-Associated Proteins in Diabetic Rats. *Neural Plast*. 2019;2019:7920540.

[15] RAHMATI M, KESHVARI M, MIRNASOURI R, et al. Effects of endurance exercise and Urtica dioica on the functional, histological and molecular aspects of the hippocampus in STZ-Induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 2020;256:112801.

[16] DE SOUSA RAL, IMPROTA-CARIA AC, JESUS-SILVA FM, et al. High-intensity resistance training induces changes in cognitive function, but not in locomotor activity or anxious behavior in rats induced to type 2 diabetes. *Physiol Behav*. 2020;223:112998.

[17] YAN M, LI M, GU SL, et al. Ginkgo biloba extract protects diabetic rats against cerebral ischemia-reperfusion injury by suppressing oxidative stress and upregulating the expression of glutamate transporter 1. *Mol Med Rep*. 2020;21(4):1809-1818.

[18] MATINFAR P, PEERI M, AZARBAYJANI MA. Swimming exercise attenuates anxiety-like behavior by reducing brain oxidative stress in type 2 diabetic mice. *Physiol Behav*. 2021;237:113449.

[19] 易宣孜, 刘奕欢, 付林尧, 等. 热休克蛋白 70 与 2 型糖尿病及其并发症相关性研究进展 [J]. *山东医药*, 2017, 57(13):107-109.

[20] MAHALAKSHMI B, MAURYA N, LEE SD, et al. Possible Neuroprotective Mechanisms of Physical Exercise in Neurodegeneration. *Int J Mol Sci*. 2020;21(16):5895.

[21] TOSI MER, BOCANEGRA V, MANUCHA W, et al. The Nrf2-Keap1 cellular defense pathway and heat shock protein 70 (Hsp70) response. Role in protection against oxidative stress in early neonatal unilateral ureteral obstruction (UUO). *Cell Stress Chaperones*. 2011;16(1):57-68.

[22] HATIC H, KANE MJ, SAYKALLY JN, et al. Modulation of Transcription Factor Nrf2 in an In Vitro Model of Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma*. 2012;29(6):1188-1196.

[23] 郑佳, 梁宏霞, 赵静, 等. 葡萄籽原花青素对糖尿病大鼠认知功能及海马 ERK/Nrf2/HO-1 通路影响的研究 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2019, 27(10):771-776.

[24] KESHK WA, ELSEADY WS, SARHAN NI, et al. Curcumin attenuates cytoplasmic/endoplasmic reticulum stress, apoptosis and cholinergic dysfunction in diabetic rat hippocampus. *Metab Brain Dis*. 2020;35(4):637-647.

[25] GAO M, KANG YX, ZHANG LH, et al. Troxerutin attenuates cognitive decline in the hippocampus of male diabetic rats by inhibiting NADPH oxidase and activating the Nrf2/ARE signaling pathway. *Int J Mol Med*. 2020;46(3):1239-1248.

[26] 申梦丽, 仇欣然, 马中轩, 等. 游泳训练通过激活 Nrf2/ARE/Glo-1 通路改善糖尿病大鼠认知功能障碍 [J]. *中国老年病学杂志*, 2017, 39(7):1691-1694.

[27] LEE MK, JUNG CS, YOON JH, et al. Effects of resistance exercise on antioxidant enzyme activities and apoptosis-related protein expression of hippocampus in OLETF rats. *Technol Health Care*. 2018;26(3):457-467.

[28] 马伟龙. 运动促进人体健康的生理机制研究综述: 基于 BDNF 的视角 [J]. *体育科技文献通报*, 2021, 29(7):188-190.

[29] LOPRINZI DP, MOORE D, LOENNEKE JP. Does Aerobic and Resistance Exercise Influence Episodic Memory through Unique Mechanisms? *Brain Sci*. 2020;10(12):913.

[30] VILELA TC, MULLER AP, DAMIANI AP, et al. Strength and Aerobic Exercises Improve Spatial Memory in Aging Rats Through Stimulating Distinct Neuroplasticity Mechanisms. *Mol Neurobiol*. 2017;54(10):7928-7937.

(责任编辑: GD, ZN, ZJP)