

· 基础研究 ·

运动对 2 型糖尿病大鼠血清瘦素水平的影响

吴军发 吴毅 胡永善 孙莉敏 姜从玉

【摘要】目的 研究运动及高脂饮食对 2 型糖尿病模型—OLETF 大鼠血清瘦素(Leptin)水平的影响,探讨 Leptin 与 2 型糖尿病发病之间的关系,以及 Leptin 在运动改善机体胰岛素敏感性中所起的作用。方法 对 40 只自发发病的 2 型糖尿病模型—OLETF 大鼠和 15 只 LETO 大鼠进行为期 9 周的运动和高脂饮食干预,9 周后用放射免疫法测定每只大鼠血清中 Leptin 浓度。结果 采用基础饲料饲养的 OLETF 大鼠非运动组和运动组血清 Leptin 浓度分别为 (6.50 ± 0.75) ng/ml 和 (1.28 ± 0.15) ng/ml;采用高脂饲料饲养的 OLETF 大鼠非运动组和运动组血清 Leptin 浓度分别为 (6.83 ± 0.68) ng/ml 和 (1.65 ± 0.37) ng/ml;而采用基础饲料饲养的 LETO 大鼠非运动组和运动组血清 Leptin 浓度分别为 (1.02 ± 0.13) ng/ml 和 (1.20 ± 0.14) ng/ml;OLETF 大鼠运动组血清 Leptin 浓度明显低于其相对应的非运动组 ($P < 0.05$),两个 OLETF 非运动组大鼠的血清 Leptin 浓度均明显高于 LETO 大鼠非运动组 ($P < 0.05$),而 LETO 大鼠血清 Leptin 浓度运动组和非运动组之间没有明显的差别,另高脂饮食对 OLETF 大鼠 Leptin 血清浓度没有明显影响。结论 Leptin 可能是具有胰岛素抵抗机制的 OLETF 大鼠维持机体能量代谢平衡的一种调节因子;运动能够改善 OLETF 大鼠胰岛素敏感性,与血清 Leptin 的浓度变化没有直接关系。

【关键词】运动; 糖尿病,非胰岛素依赖型; 瘦素

The effect of exercise on the serum leptin level of rats with type II diabetes WU Jun-fa, WU Yi, HU Yong-shan, SUN Li-min, JIANG Cong-yu. Department of Rehabilitation Medicine, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

【Abstract】Objective To investigate the role of Leptin in the development of non-insulin-dependent diabetes mellitus and enhancement of body sensitivity to insulin after exercise. Methods Forty OLETF rats and fifteen LETO rats were used in this experimental study and subjected to different diet and exercise regimes. The serum concentration of Leptin was measured by means of radio-immunity kit at 9 weeks later, a comparison of the results was made among the animals. Results The serum Leptin level of non-exercise and exercise OLETF groups fed by ordinary chow was (6.50 ± 0.75) ng/ml and (1.28 ± 0.15) ng/ml, respectively. In those fed by high-fat diet, the serum Leptin level of non-exercise and exercise OLETF groups was (6.83 ± 0.68) ng/ml and (1.65 ± 0.37) ng/ml, respectively. As to the LETO rats, the serum concentration of Leptin in non-exercise and exercise groups was (1.02 ± 0.13) ng/ml and (1.23 ± 0.14) ng/ml, respectively. The serum Leptin level in rats in the exercise OLETF group was significantly lower than that of the non-exercise OLETF group ($P < 0.01$), but the difference of the serum Leptin level between non-exercise and exercise LETO group was not significant. Conclusion Serum Leptin in OLETF rats may serve as a regulator in maintaining the balance of energy metabolism; exercise can improve the insulin sensitivity in OLETF rats, irrespective of the changes of plasma Leptin level.

【Key words】Exercise; Diabetes mellitus, non insulin dependent; Leptin

血清瘦素(Leptin)是 ob 基因的蛋白质产物,近年来较多研究表明,Leptin 和 2 型糖尿病的发病机制密切相关。然而,关于 Leptin 与 2 型糖尿病发病之间的确切关系,以及运动能够改善机体胰岛素的敏感性是否与运动对 Leptin 的影响有关系,目前尚未明了。为此,本研究试图通过以一种自发发病的 2 型糖尿病模型—OLETF 大鼠为对象,研究运动及饮食控制对早龄

OLETF 大鼠血清 Leptin 水平的影响。

材料与方法

一、实验动物

实验动物是由日本大冢制药株式会社德岛研究所赠送的 40 只雄性 OLETF 大鼠和 15 只雄性 LETO 大鼠。OLETF 大鼠是一种自发 2 型糖尿病的大鼠模型,症状主要表现为体重迅速增加、高胰岛素血症和糖耐量异常、血糖升高等。LETO 大鼠与 OLETF 大鼠同系,但不发生 2 型糖尿病,作为 2 型糖尿病研究的对照组。所有大鼠均为 4 周龄,均先给予基础饲料饲养至 9 周

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

作者单位:200040 上海,复旦大学附属华山医院康复医学科

龄。饲养室为清洁级动物饲养室,室温(25 ± 3) $^{\circ}\text{C}$,湿度 $55\% \pm 15\%$,光照每天 14 h。

二、实验动物分组

将 40 只 OLETF 大鼠随机分为 4 组,每组各 10 只,其中 A 组为基础饲料非运动组,B 组为基础饲料运动组,C 组为高脂饲料非运动组,D 组为高脂饲料运动组;15 只 LETO 大鼠用基础饲料饲养,随机分为非运动组(7 只)和运动组(8 只),即 E、F 2 组。各组大鼠按实验分组要求分别给予基础饲料(含粗蛋白 22%,粗脂肪 3%,碳水化合物等 75%)或高脂饲料(含粗蛋白 25%,粗脂肪 11%,碳水化合物等 64%)。

三、运动方法

参照 Ploug^[1]报道的大鼠游泳运动方法,采用无负重耐力游泳运动方案,游泳水温(29 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,水深 50 cm,每只游泳大鼠均有 200 cm^2 的活动范围,以保证其持续活动。第 1、2 天试游泳 15 min,第 3 天游泳 30 min,第 4、5 天游泳 45 min,从第 2 周开始每天游泳 1 h,每周游泳 5 d,共持续游泳 9 周。试验中 B 组有 2 只大鼠因咬伤而死亡。

四、检测指标

1. 体重和肥胖评定指数测量:每周测定体重 1 次,同时游泳干预结束后测定体长 1 次,按公式计算肥胖评定指数(Lee Index) = $\sqrt[3]{\text{体重}(\text{g})/\text{身长}(\text{cm})}$ ^[2]。

2. 口服葡萄糖耐量实验(OGTT):实验大鼠在第 9 周(游泳训练开始前),及第 18 周(游泳训练结束后)分别进行 1 次 OGTT 试验,每次试验前禁食 14 h,从尾静脉取血,通过 Bayer 血糖仪测定空腹血糖后,喂服葡萄糖(2 g/kg 体重),然后分别测定 30、60 及 120 min 时的血糖水平。

3. 血清瘦素和胰岛素浓度的测定:实验大鼠在最后一次游泳结束后 48 h 内,禁食 14 h 后,用戊巴比妥腹腔麻醉,心脏内取血,对血标本进行离心,采用 Leptin 和胰岛素(Insulin)放免药盒(美国 Assay Design 公司),通过 Bio-Rad-550 型酶标仪(美国)测定血清 Leptin 和 Insulin 浓度。

五、统计学分析

实验数据用($\bar{x} \pm s$)表示,用方差分析(one-way ANOVA)进行各组间比较,统计学分析采用 SPSS 软件。

结 果

一、实验干预对各组大鼠体重及肥胖指数的影响

经 9 周的游泳训练后,OLETF 大鼠基础饲料运动组和高脂饲料运动组与其各自相对应的非运动组比较,体重均有明显下降;而 LETO 基础饲料运动组大鼠体重与其对应的非运动组大鼠比较,差异没有显著性;

OLETF 高脂饲料非运动组大鼠与 OLETF 基础饲料非运动组比较,体重有明显的升高($P < 0.05$),具体数据见表 1。

二、实验干预对各组大鼠 Leptin 和 Insulin 浓度的影响

经 9 周的游泳训练后,OLETF 大鼠基础饲料运动组和高脂饲料运动组与其各自对应的非运动组比较,Leptin 浓度均有明显的下降($P < 0.05$);而 LETO 大鼠运动组血清 Leptin 浓度与其非运动组比较,差异无显著性;另 OLETF 大鼠基础饲料非运动组和高脂饲料非运动组的血清 Leptin 浓度较 LETO 大鼠非运动组均有显著性升高($P < 0.05$),见图 1 和表 1;持续 9 周的游泳训练结束后,OLETF 大鼠和 LETO 大鼠各运动组的血清胰岛素浓度与各自相对应的非运动组比较,尽管胰岛素有下降的趋势,但差异均无显著性,具体数据见表 1。

表 1 实验后各组大鼠体重、血糖和血脂的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	体重(g)	肥胖指数	Leptin (ng/ml)	Insulin (ng/ml)
A 组	505.8 $\pm$ 23.5	0.373 $\pm$ 0.011	6.50 $\pm$ 0.75	4.12 $\pm$ 0.68
B 组	459.8 $\pm$ 33.1 $^{\Delta}$	0.365 $\pm$ 0.010	1.28 $\pm$ 0.15 $^{\Delta}$	3.51 $\pm$ 0.25
C 组	567.1 $\pm$ 34.7	0.385 $\pm$ 0.011	6.83 $\pm$ 0.68	3.16 $\pm$ 0.18
D 组	503.2 $\pm$ 39.7 *	0.376 $\pm$ 0.063	1.65 $\pm$ 0.37 *	2.84 $\pm$ 0.35
E 组	413.9 $\pm$ 10.9 $^{\Delta}$	0.369 $\pm$ 0.070	1.02 $\pm$ 0.13 $^{\Delta}$	3.00 $\pm$ 0.30
F 组	395.8 $\pm$ 12.7	0.370 $\pm$ 0.012	1.23 $\pm$ 0.14	2.76 $\pm$ 0.24

注: $^{\Delta}$ A 组与 B 组比较, $P < 0.05$; * C 组与 D 组比较, $P < 0.05$; $^{\Delta}$ A 组与 E 组比较, $P < 0.05$

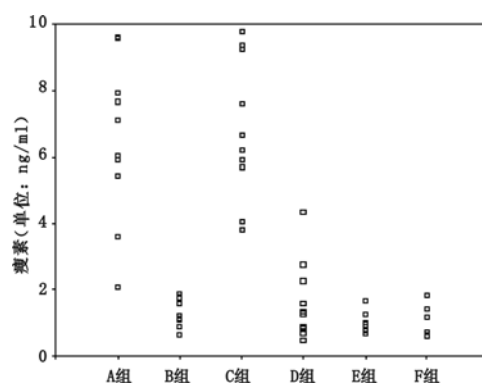


图 1 第 18 周末时各组大鼠血清瘦素水平散点图

三、实验干预对各组大鼠糖耐量试验的影响

在进行游泳干预和喂给不同饲料前,各组 OLETF 大鼠和 LETO 大鼠的糖耐量试验值均在正常范围内。经 9 周的实验干预后,各组大鼠糖耐量发生异常的例数(糖耐量异常衡量标准为:餐后血糖峰值在 16.8 mmol/L 以上,或者餐后 2 h 血糖在 11.2 mmol/L 以上)见表 2;计算各组大鼠在实验干预开始及结束时糖耐量试验 0、30、60 及 120 min 时的血糖均值,绘制各组大鼠的糖耐量曲线,结果见图 2、图 3。

表 2 各组大鼠在实验干预前、后糖耐量异常例数

组 别	糖耐量异常例数(只)	
	第 9 周	第 18 周
A 组(n=10)	0	6
B 组(n=8)	0	1
C 组(n=10)	0	8
D 组(n=10)	0	5
E 组(n=7)	0	0
F 组(n=8)	0	0

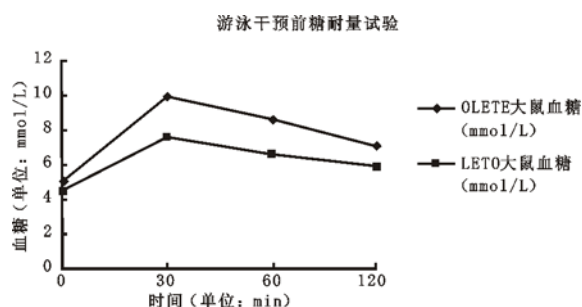


图 2 第 9 周时 OLETF 和 LETO 大鼠糖耐量试验比较

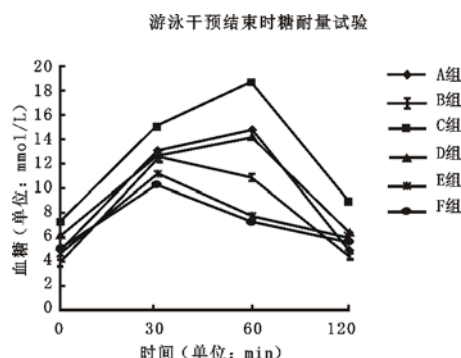


图 3 第 18 周末时各组大鼠糖耐量试验比较

四、各组大鼠的体重、肥胖指数、血清 Insulin 与 Leptin 浓度之间的多元相关回归分析

持续 9 周的实验干预结束后,对 2 组 LETO 大鼠的数据作多元相关及逐步回归分析,未发现血清 Leptin 与血清 Insulin、体重及肥胖指数之间有相关性。对 4 组 OLETF 大鼠的数据进行多元相关分析,发现血清 Leptin 与体重、肥胖指数之间呈显著正相关($r = 0.553$, $r = 0.351$, P 均 < 0.05),进一步做多元逐步回归分析表明,体重仍是血清 Leptin 有意义的影响因素($r = 0.682$, $P = 0.017 < 0.05$),而血清 Insulin、肥胖指数和血清 Leptin 之间无明显相关性。

讨 论

过去研究认为,Leptin 能够结合下丘脑饮食中枢的 Leptin 受体,使下丘脑神经肽 Y (neuropeptide Y, NPY) 表达下降,从而抑制食物摄入、增加机体产热和能量消耗,最终达到减轻体重的作用^[3]。目前研究发

现,除下丘脑有 Leptin 受体外,在其它许多外周组织细胞中亦发现有 Leptin 受体,如在骨骼肌、肝脏、心脏及胰腺等细胞。有关 Leptin 与这些组织细胞 Leptin 受体结合后的生物学作用以及与肥胖和糖尿病发病之间的关系,目前尚不十分清楚^[5-7]。

本实验所采用的 OLETF 大鼠正处于 2 型糖尿病发病期,研究表明此期大鼠在病理上主要表现为胰腺的胰岛细胞渐进性的退行性变、局灶坏死及代偿增生;在症状上主要表现为体重的迅速增加、高胰岛素血症及糖耐量异常,直至血糖升高^[4]。另有实验证实,OLETF 大鼠周围靶组织中的确存在胰岛素抵抗^[5]。

本研究表明,OLETF 非运动组大鼠的血清 Leptin 水平显著高于同龄非运动组 LETO 大鼠,这可能是机体平衡能量代谢的一种调节反应。因为研究表明,在 OLETF 大鼠 5 周龄时,由于下丘脑腹外侧核 NPY 的过度表达从而导致局部 NPY 浓度明显增高^[6]。在正常情况下脑内的 NPY 水平升高可以促进食欲、增加摄食;同时 NPY 可降低交感神经对白色脂肪的作用,使机体产热减少,增加白色脂肪组织内与脂类合成有关酶类的表达,使体脂增加、体重上升。因此,机体为了维持正常体重增长及促进体脂的消耗,可能会通过脂肪细胞代偿过度分泌 Leptin,作用于下丘脑的 Leptin 受体而下调 NPY mRNA 的过度表达,从而降低机体过度的能量摄入^[7]。另 Mizuno 等^[8]研究表明,8 周龄的 OLETF 大鼠就已存在对 Leptin 的抵抗,这可能也是导致血清中高 Leptin 血症的原因之一。至于机体如何形成对 Leptin 的抵抗机制,目前尚不清楚。

本研究同时还显示,运动能够明显降低 OLETF 大鼠血清 Leptin 浓度。我们认为这可能是由于运动时交感神经兴奋,血液中的儿茶酚胺浓度升高,进一步作用于肾上腺素- β_3 受体而降低 Leptin 的分泌^[9]。另外运动可以促进血浆和骨骼肌中脂蛋白脂酶(LPL)的活性增强,从而使脂肪动员增加,最终使外周组织(如脂肪细胞、骨骼肌细胞、肝脏及胰岛 β 细胞等)中储存的脂质减少,脂肪细胞的脂质消耗可减少脂肪细胞自身的 Leptin 分泌^[10];另外运动也可能通过调节 TNF- α 、糖皮质激素及过氧化酶增殖体激活因子受体- γ 等因子的表达,来降低 OLETF 大鼠的血清 Leptin 水平;至于运动是否能够通过减轻机体细胞对 Leptin 的抵抗而使组织中的 Leptin 分泌下降,目前尚不清楚。

糖耐量试验表明运动的确能够降低 OLETF 大鼠糖耐量异常发生的几率,同时国外类似实验也表明,运动能够增强胰岛素的敏感性^[5],然而运动增强胰岛素的敏感性是否与 Leptin 的水平变化有关? 本研究表明,OLETF 大鼠血清 Leptin 和 Insulin 浓度之间没有明显相关性,故我们认为运动后血清中 Leptin 浓度的降

低和胰岛素敏感性的提高同样是继发于运动时大量体脂被消耗这一原因,而不是由于运动使血清 Leptin 水平下降而导致机体胰岛素敏感性升高。目前较多研究表明,给存在胰岛素抵抗的动物或人注射 Leptin 能够明显提高外周非脂肪细胞(如骨骼肌、肝脏及胰腺细胞等)的胰岛素敏感性,其机制是通过增加外周非脂肪细胞中过剩的长链脂肪酸的 β -氧化及减少脂肪生成,从而提高这些外周细胞胰岛素的敏感性^[11]。本研究结果亦显示,运动后 OLETF 大鼠血清中的 Leptin 水平显著下降,同时胰岛素敏感性提高,进一步表明 Leptin 与运动改善机体胰岛素敏感性之间无直接关系。

上述研究表明,Leptin 是维持 OLETF 大鼠机体能量代谢平衡的一种调节因子,至于 OLETF 大鼠血清 Leptin 浓度升高和下丘脑腹外侧核 NPY 的过度表达孰因孰果尚不清楚;运动改善 OLETF 大鼠胰岛素敏感性与血清 Leptin 浓度变化之间没有直接的关系。

参 考 文 献

- 1 Ploug T, Stallknecht BM, Pedersen O, et al. Effect of endurance training on glucose transport capacity and glucose transporter expression in rat skeletal muscle. *Am J Physiol*, 1990, 259: E778-E786.
- 2 Cox JE, Laughton WB, Powley TL. Precise estimation of carcass fat from total body water in rats and mice. *Physiol Behav*, 1985, 35: 905-910.
- 3 Miczke A, Pupek-Musialik D. Leptin and obesity. *Pol Merkuriusz*

- Lek, 2000, 8: 109-112.
- 4 Kawano K, Hirashima T. Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. Otsuka Long-Evans Tokushima fatty (OLETF) strain. *Diabetes*, 1992, 41: 1422-1428.
- 5 Shima K, Shi K. Is exercise training effective in preventing diabetes mellitus in the Otsuka-Long-Evans-Tokushima fatty rat, a model of spontaneous non-insulin-dependent diabetes mellitus? *Metabolism*, 1993, 42: 971-977.
- 6 Bi S, Ladenheim EE, Schwartz GJ, et al. A role of NPY overexpression in the dorsomedial hypothalamus in hyperphagia and obesity of OLETF rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2001, 281: R254-260.
- 7 Egawa M, Yoshimatsu H, Bray GA. Neuropeptide Y suppresses sympathetic activity to interscapular brown adipose tissue in rats. *Am J Physiol*, 1991, 260: R328-334.
- 8 Mizuno A, Murakami T, Doi T, et al. Effect of leptin on insulin sensitivity in the Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rat. *Regul Pept*, 2001, 99: 41-44.
- 9 Bramlett SB, Zhou J, Harris RB, et al. Does beta(3)-adrenoreceptor blockade attenuate acute exercise-induced reductions in leptin mRNA? *J Appl Physiol*, 1999, 87: 1678-1683.
- 10 Yip I, Go VL, Hershman JM, et al. Insulin-leptin-visceral fat relation during weight loss. *Pancreas*, 2001, 23: 197-203.
- 11 Iida M, Murakami T, Sei M, et al. Circulating leptin did not associate with the development of the hyperglycemia accompanied by insulin insensitivity in spontaneous noninsulin dependent diabetes mellitus model Otsuka-Long-Evans-Tokushima-Fatty rats. *Regul Pept*, 1998, 77: 141-146.

(收稿日期: 2002-08-23)

(本文编辑: 易 浩)

· 消息 ·

中山大学附属第三医院康复医学科 关于举办康复医学医师、技师进修培训的通知

中山大学附属第三医院康复医学科在学科带头人窦祖林主任领导下,几年来有了突飞猛进的进步,形成了以瘫痪为重点的康复医疗体系,在国内具有一流水平。为适应新形势下继续教育的需求,应众多单位的要求,已举办了数期康复医学医师、技师进修培训班,并在结业时组织安排去香港参观学习,取得了满意的效果,深受各单位的好评。具体培训方法详见《适应康复医学专业发展的进修生教育》(中华物理医学与康复杂志,2002,24(4):255-256)。现继续招生。

培训目标:熟悉本学科及其相关学科的基础理论及系统的专业知识;掌握现代康复医学新技术、新方法,并能在工作中独立、熟练地操作应用。

培训形式:临床实践、病例讨论与定期专题讲座相结合。临床实践在康复科病房、门诊、PT、OT、ST、P&O 等治疗室轮转进行,专题讲座或病例讨论每周一次。采用多媒体教学。

培训时间及名额:每期半年,限额 10 人。每年 4 月和 10 月入学。

申请办法:先填写我院《进修申请审查表》(此表可来人来函向我院继续教育科或康复医学科索取)。按进修表程序办理即可,符合条件者我们将按申请的先后顺序于报到前 1~2 月通知本人。

组织赴港参观考察:为拓宽视野,取长补短,结业时组织安排去香港理工大学、香港九龙医院、伊利莎白医院、麦理浩医院参观考察香港康复医学医疗、教学、科研情况。

有意者请来电来函咨询!

联系地址:510630 广州市石牌岗顶(天河路 600 号)中山大学附属第三医院继续教育科或康复医学科

联系电话:范晓梅 020-85265003(继教科);丘卫红 020-85516867-3055 或 2357(康复医学科)

中山大学附属第三医院康复医学科