

# 耐力训练对糖尿病 GK 大鼠有氧呼吸调节通路基因表达的影响

邵月

(河南财经政法大学 体育部, 河南 郑州 450002)

**摘 要:** 为探讨耐力训练对糖尿病大鼠骨骼肌有氧呼吸调节通路基因表达的影响, 将 12 只大鼠随机分为 2 组: 安静组(GKC,  $n=6$  只)、耐力训练组(GKE,  $n=6$  只)。GKE 组跑台训练 6 周。末次训练后的 24~48 h 内切取腓肠肌, Real-time PCR 检测 p53、SCO2 和 COXII 的 mRNA 转录, Western blot 检测 p53、SCO2 和 COXII 的蛋白表达。结果发现: 1)GKE 组 p53 基因转录和蛋白表达水平与 GKC 组相比均显著降低; 2)GKE 组与 GKC 组相比 SCO2 基因转录和蛋白表达水平差异没有显著性; 3)KE 组 COXII 基因转录水平与 GKC 组相比差异没有显著性, 但 GKE 组 COXII 蛋白表达水平非常显著低于 GKC 组。结果说明: 耐力训练不能显著促进糖尿病大鼠线粒体有氧呼吸能力。COXII 蛋白表达水平的显著下调似乎显示本实验耐力训练模型对其有氧呼吸轴有损害作用, 但综合 p53 基因表达显著下调结果谨慎推测, 这也许是受糖尿病病程影响, p53 基因表达水平无法继续维持在正常稳态, 其基因表达能力的下降极有可能可能是为了促进细胞的生存, 也许是为了延缓 GK 大鼠病态细胞的凋亡或衰老进程。在病态条件下, 细胞更重要的功能也许不是提高运动能力, 而是积蓄一切力量, 促使细胞生存。

**关 键 词:** 运动生物化学; 耐力训练; 有氧呼吸; 糖尿病; 大鼠

中图分类号: G804.7 文献标识码: A 文章编号: 1006-7116(2012)02-0142-03

## Effects of endurance training on the gene expression of the aerobic respiration regulating path of diabetic GK rats

SHAO Yue

(Department of Physical Education, Henan University of Economics and Law, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** In order to probe into the effects of endurance training on the gene expression of the aerobic respiration regulating path of diabetic GK rats, the author divided 12 rats randomly into 2 groups: a calm group (GKC,  $n=6$ ) and an endurance training group (GKE,  $n=6$ ), put group GKC into treadmill training for 6 weeks, took out the gastrocnemius within 24-48h after the last time of training, tested the mRNA transcription of p53, SCO2 and COXII by means of real-time PCR, as well as the protein expression of p53, SCO2 and COXII by means of western blot, and revealed the following findings: 1) the gene transcription and protein expression levels of p53 of the rats in group GKE were significantly lower than those of the rats in group GKE; 2) comparing group GKE with group GKE, there were no significant differences in terms of gene transcription and protein expression levels; 3) comparing group KF with group GKC, there was no significant difference in terms of COXII gene transcription level, but the COXII protein expression level of the rats in group GKE was very significantly lower than that of the rats in group GKC. The findings indicate that endurance training cannot significantly boost the aerobic respiration ability of the mitochondria of diabetic rats. The significant lowering of the COXII protein expression level seems to show that the endurance training model in this experiment was harmful to their aerobic respiration axis, however, as cautiously figured by considering the result of the significantly lowering of P53 gene expression, the cause may be as follows: since the p53 gene expression level was unable to continue to maintain the normal homeostasis as affected by the course of diabetes, the lowering of its gene expression ability was extremely likely for boosting cell survival, or probably for delaying the dying or aging process of the sick cells of the GK rats. Under the condition of sickness, a more important function of cells is probably not to en-

收稿日期: 2011-04-11

基金项目: 河南省科学技术厅基础与前言研究项目(112300410216); 河南财经政法大学重大研究课题资金资助(2011-27)。

作者简介: 邵月(1973-), 女, 副教授, 博士, 研究方向: 运动生理生化。

hance moving ability, but to accumulate all the strengths to promote cell survival.

**Key words:** sports biochemistry; endurance training; aerobic respiration; diabetes; rat

癌症和糖尿病的发生都伴随着细胞能量代谢的异常和内外稳态环境的紊乱, 骨骼肌细胞属分化后细胞, 虽然不会得癌症, 但作为人体最大的运动和内分泌器官, 长期耐力运动能促使其保持正常的能量代谢过程及氧化应激平衡, 被认为是运动预防肿瘤发生、胰岛素抵抗和 II 型糖尿病一种最重要的手段。p53 是人类细胞最忠诚的“基因卫士”<sup>[1]</sup>, 能协调能量代谢过程促进细胞生存, p53 基因多态性是诱发糖尿病的重要诱因, p53 基因突变直接诱发癌变。运动和药物通过不同的信号通路对 II 型糖尿病起到治疗作用, 相比来说, 运动更是一种投入少效果好的措施。本研究以自发性糖尿病转基因大鼠(GK 大鼠)为研究对象, 观察耐力运动对 GK 大鼠骨骼肌细胞中 p53、SCO2、COXII 基因表达的影响, 从分子水平上观察运动改善 II 型糖尿病症状的依据。

## 1 研究材料与方法

由上海斯莱克实验动物有限公司提供的 8 周龄体重约(250 ± 5) g II 型糖尿病(GK)大鼠 12 只, 饲养条件、主要试剂与仪器、取材方法、荧光定量 PCR 检测 P53/SCO2/COXII 的基因转录、Western blot 测定细胞 P53/SCO2/COXII 的蛋白表达、扩增引物的选择同参考文献[2]。GK 大鼠适应性喂养 1 周后随机分为 2 组: 安静组(GKC,  $n=6$  只), 耐力训练组(GKE,  $n=6$  只)。跑台训练 6 周, 速度 ≤ 16.7 m/min, 每天 18:30–22:00 训练, 周日停训。

用 SPSS15.0 软件统计, 检测结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用独立样本  $T$  检验进行组间比较, 差异具有显著性 ( $P < 0.05$ ), 差异具有非常显著性 ( $P < 0.01$ )。

## 2 结果

### 2.1 PCR 检测基因转录结果

由表 1 可以看出, 耐力训练后, GKE 组与 GKC 组相比 p53 基因转录水平显著降低 ( $P < 0.05$ ), SCO2、COXII 基因转录水平则差异没有显著性 ( $P > 0.05$ ), 说明在糖尿病病理条件下, p53 基因转录对运动干预比较敏感, 但是 SCO2、COXII 基因转录则对运动干预不敏感。

表 1 耐力训练对 GK 大鼠 p53、SCO2、COXII 基因转录的影响

组别	$n/只$	P53 ( $10^{-3} \times \beta\text{-actin}$ )	SCO2 ( $10^{-3} \times \beta\text{-actin}$ )	COXII ( $10^{-5} \times \beta\text{-actin}$ )
GKC	6	1.94 ± 0.29	0.60 ± 0.22	1.28 ± 0.30
GKE	6	0.54 ± 0.12 <sup>1)</sup>	0.26 ± 0.04	0.63 ± 0.19

1)  $P < 0.05$

### 2.2 Western blot 检测蛋白表达结果

由表 2 可以看出, 耐力训练后, GKE 组与 GKC 组相比 p53 蛋白表达水平有显著性降低 ( $P < 0.05$ ), SCO2 蛋白表达水平则没有明显差异 ( $P > 0.05$ ), COXII 蛋白表达水平则呈现出非常显著性下降 ( $P < 0.01$ ), 说明在糖尿病病理条件下, p53 在蛋白表达水平上与基因转录一样对运动干预比较敏感, SCO2 蛋白表达水平则与基因转录水平一样对运动干预不太敏感, 但是 COXII 虽然在基因转录水平上表现出对运动干预不太敏感, 但是却极为显著地降低了其蛋白表达水平, 说明运动对 COXII 基因表达的影响主要表现为转录后调控。

表 2 耐力训练对 GK 大鼠 p53、SCO2、COXII 蛋白表达<sup>1)</sup>的影响

组别	$n/只$	p53	SCO2	COXII
GKC	6	1.19 ± 0.04	1.34 ± 0.06	1.32 ± 0.01
GKE	6	0.99 ± 0.05 <sup>2)</sup>	1.18 ± 0.07	1.15 ± 0.02 <sup>3)</sup>

1) 甘油醛-3-磷酸脱氢酶, 胞浆内参蛋白; 2)  $P < 0.05$ ; 3)  $P < 0.01$

## 3 讨论

### 3.1 耐力训练对 II 型糖尿病 GK 大鼠 p53 基因表达的影响

糖尿病并发症是致死致残的一大诱因, 糖尿病及其并发症的发生发展与氧化应激有很大的关系, 高血糖和高游离脂肪酸刺激人体生成大量自由基激活氧化应激信号通路<sup>[2]</sup>, 进一步影响胰岛素信号转导通路。骨骼肌是人体最大的运动器官, 是利用葡萄糖的重要组织<sup>[3]</sup>, 最易受糖尿病损害<sup>[4]</sup>。机体血糖升高, 骨骼肌细胞受损, 外周胰岛素抵抗加重, 机体代谢进一步紊乱<sup>[5]</sup>。氧化应激引起的 DNA 损伤激活 p53, 是骨骼肌作为分裂后细胞保持修复功能的一个重要标志。迄今为止, 国内外关于运动对糖尿病大鼠骨骼肌 p53 基因表达影响的研究还很少, 研究病态条件下 p53 对肌肉代谢的影响具有重要的意义, 研究者研究结果也不甚相同。Jin H 等<sup>[6]</sup>发现骨骼肌萎缩并不同引起 p53 基因表达发生变化。Hatoko M 等<sup>[7]</sup>通过对大鼠骨骼肌缺血再灌注研究发现 P53 基因表达累积。但是, Nakahara T 等<sup>[8]</sup>研究认为在饥饿状态下 p53 为了促进细胞生存甚至下调。本实验研究发现, 耐力组 p53 基因表达显著降低, 这可能是由于 GK 大鼠病情较重, 正常生理状态受到影响, 运动效果已无积极影响, p53 下调可能为了促进细胞生存, 在一定程度上起到保护作用。

### 3.2 耐力训练对 II 型糖尿病 GK 大鼠 SCO2 基因表达的影响

线粒体细胞色素 C 氧化酶合成需要核和线粒体基因产物共同协助。SCO2 是 p53 的直接靶基因,在核内能被 p53 反式激活,移位到线粒体内膜合成电子传输链上 COX 复合物<sup>[9]</sup>。SCO2 催化 SCO1 蛋白氧化转运铜到 COX 亚基 II<sup>[10]</sup>,形成 COX 亚基 II 的 CuA 中心和亚基 1 的 CuB-细胞色素 a 3 中心<sup>[11]</sup>。SCO2 基因突变能导致有氧呼吸失败,诱发心因性心肌炎<sup>[12]</sup>。由于国内外类似研究非常少,本实验也仅仅在此做一探究性研究,了解一下长期耐力运动对糖尿病大鼠骨骼肌 SCO2 基因表达的影响。本研究发现:长期耐力运动对 GK 大鼠 SCO2 基因转录和蛋白转译均没有显著性影响。本实验并不能有效促进 GK 大鼠线粒体有氧呼吸,疾病和运动可能影响了机体线粒体有氧呼吸的信号转导过程。

### 3.3 耐力训练对 II 型糖尿病 GK 大鼠 COXII 基因表达的影响

氧化磷酸化过程产生 ATP 提供能量,线粒体氧化磷酸化酶功能失调引起大量线粒体疾病,主要影响肌肉、脑、心脏和其它高能需求组织<sup>[13]</sup>,细胞色素 C 氧化酶(COX)是最重要的线粒体功能酶,该酶缺陷常常导致致命性的代谢灾难,而且目前并没有可行性治疗方案。SCO2 突变能引起 COX 缺乏,减少细胞色素 C 生成,影响线粒体能量的产生<sup>[14]</sup>。本研究发现,糖尿病状态下,耐力训练非常显著降低了 COXII 蛋白表达水平,但没有影响其基因转录水平。也就是说,在糖尿病状态下,耐力训练对糖尿病大鼠线粒体有氧呼吸具有明显的不利影响。这样的结果引起我们的注意,结合对 p53 蛋白的研究发现,这种异常现象也许正是 p53 促生存功能的体现。也许 p53 不再促进有氧呼吸提高运动能力,而是全力以赴促进细胞生存,此刻生存才是第一要务。但是,也许是由于本实验设计不恰当造成,有待于今后进一步探究。

## 4 结论

1)在本实验设计的运动条件下,p53 基因表达能力下降,可能具有促进细胞生存和延缓糖尿病大鼠衰老的作用。

2)本实验设计运动方式,无论在基因转录还是在蛋白表达水平上对 SCO2 均没有产生明显的效果。在糖尿病病理条件下,SCO2 基因表达对运动干预不敏感。

3)耐力训练极大降低了 COXII 蛋白表达水平,但对其基因转录水平则没有显著影响。耐力训练对糖尿病大鼠线粒体有氧呼吸能力没有产生积极影响,似乎还有不利的一面。但综合研究结果谨慎推测,也许是 p53 促生存功能所致。

## 参考文献:

- [1] 邵月. 不同运动方式对 p53、TIGAR、HKII 基因表达和乳酸含量的影响[J]. 北京体育大学学报, 2011, 34(5): 60-62.
- [2] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications[J]. Nature, 2005, 414(6865): 813-820.
- [3] Bloomgarden Z T. Pathogenesis of type 2 diabetes, vascular disease, and neuropathy[J]. Diabetes Care, 2001, 24(6): 1115-1119.
- [4] DeFronzo R A. A collusion responsible for NIDDM[J]. Diabetes, 1988, 37(6): 667-687.
- [5] Wray C J, Sun X, Gang G I, et al. Dantrolene downregulates the gene expression and activity of the ubiquitin proteasome proteolytic pathway in septic skeletal muscle[J]. J Surg Res, 2002, 104(2): 82-87.
- [6] Jin H, Wu Z, Tian T, et al. Apoptosis in atrophic skeletal muscle induced by brachial plexus injury in rats[J]. J Trauma, 2001, 50: 31-35.
- [7] Hatoko M, Tanaka A, Kuwahara M, et al. Difference of molecular response to ischemia-Reperfusion of rat skeletal muscle as a function of ischemic time: study of the expression of p53, p21(WAF-1), Bax protein and apoptosis[J]. Ann Plast Surg, 2002, 48(1): 68-74.
- [8] Nakahara T, Hashimoto K, Hirano M, et al. Acute and chronic effects of alcohol exposure on skeletal muscle c-myc, p53, and Bcl-2 mRNA expression[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2003, 285: E1273-E1281.
- [9] 邵月, 胡玉玺, 杜纪峰, 等. p53 信号稳态调节线粒体能量代谢延缓衰老的运动适应[J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(22): 2966-2968.
- [10] Brière J J, Tzagoloff A. The Scoop on Sco[J]. Molecular Cell, 2007, 25: 176-178.
- [11] 邵月, 陈胜强, 漆正堂, 等. 不同训练方式对骨骼肌 p53 调节线粒体有氧呼吸轴 p53、SCO2、COXII 基因表达的影响[J]. 体育科学, 2010, 30(3): 46-52.
- [12] Jaksch M, Ogilvie I, Yao J, et al. Mutations in SCO2 are associated with a distinct form of hypertrophic cardiomyopathy and cytochrome c oxidase deficiency[J]. Hum Mol Genet, 2000, 9: 795-801.
- [13] Wallace D C. Diseases of the mitochondrial DNA[J]. Annu Rev Biochem, 1992, 61: 1175-1212.
- [14] 刘鹏启, 丁树哲, 邵月. p53 对线粒体的能量调控与运动适应的可能机制[J]. 广州体育学院学报, 2008, 28(3): 87-89.