

有氧运动联合褪黑素对二型糖尿病大鼠骨质疏松影响的实验研究

景会锋* 王小梅

延安大学体育学院,陕西 延安 716000

中图分类号: C804.7 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016) 06-0672-06

摘要: 目的 观察有氧运动和褪黑素对二型糖尿病大鼠骨质疏松的影响。方法 成年雌性SD大鼠80只,6周龄,随机分为安静对照组(N)、糖尿病对照组(D)、正常有氧运动组(E)、糖尿病有氧运动组(DE)、正常褪黑素组(M)、糖尿病褪黑素组(DM)、正常有氧运动褪黑素组(EM)、糖尿病有氧运动褪黑素组(DEM),观察各组大鼠体重、脊椎骨以及左右股骨骨密度(BMD)、观察大鼠血糖、血清丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、血清总钙(Ca)、无机磷(P)和甲状旁腺素(PTH)的变化。结果 与N组相比,E、M和EM组大鼠体重、血糖、血Ca、血P和血PTH无明显变化($P > 0.05$),血清SOD、GSH-Px水平、腰椎和左右股骨BMD显著升高($P < 0.05$),血清MDA水平显著降低($P < 0.05$),D组大鼠体重、血清SOD、GSH-Px水平、血Ca、腰椎和左右股骨BMD显著降低($P < 0.05$),血糖、血清MDA和血PTH水平显著升高($P < 0.05$),血P无明显变化($P > 0.05$);与D组比较,DE、DM组大鼠体重、血清SOD、GSH-Px水平、血Ca、腰椎和左右股骨BMD显著升高($P < 0.05$),血糖、血清MDA和血PTH水平显著降低($P < 0.05$),血P无明显变化($P > 0.05$),有氧运动和褪黑素同时干预效果更好。结论 有氧运动和褪黑素均能改善糖尿病骨质疏松,且两者联合干预的效果更加显著,其可能与通过提高糖尿病大鼠的抗氧化应激能力,调节糖的代谢从而有效地降低血钙和PTH,改善BMD来缓解骨质疏松有关。

关键词: 有氧运动;褪黑素;二型糖尿病;骨质疏松

Experimental study of the effect of aerobic exercise combined with melatonin on osteoporosis in diabetic rats

JING Huifeng, WANG Xiaomei

Department of PE, Yanan University, Yanan 716000, China

Corresponding author: JING Huifeng, Email: jinghuifeng112@126.com

Abstract: **Objective** To investigate the effect aerobic exercise combined with melatonin on osteoporosis in rats with type II diabetes. **Methods** Eighty 6-week-old adult female SD rats were randomly divided into the control group (N), diabetic control group (D), normal aerobic exercise group (E), diabetes aerobic exercise group (DE), normal faded melanin group (M), diabetes melatonin group (DM), normal aerobics melatonin group (EM), and diabetes aerobic exercise melatonin group (DEM). Body weight, femur bone mineral density (BMD) of the spine and the hips, blood glucose, serum malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), serum total calcium (Ca), inorganic phosphorus (P), and parathyroid hormone (PTH) were observed in rats of each group. **Results** Compared with those in group N, body weight, blood glucose, blood Ca, P, and serum PTH blood in group E, M and EM rats were not significantly changed ($P > 0.05$), but serum SOD, GSH-Px, lumbar and femoral BMD increased significantly ($P < 0.05$), serum MDA level decreased significantly ($P < 0.05$). Body weight, serum SOD, GSH-Px, blood Ca, lumbar spine and femoral BMD decreased significantly ($P < 0.05$), but blood glucose, MDA, and serum PTH increased significantly in group D ($P < 0.05$), and blood P was not significant changed ($P > 0.05$). Compared with those in group D, body weight, serum SOD, GSH-Px, blood Ca, BMD of the left and right femur and lumbar spine increased significantly ($P < 0.05$), but blood glucose, serum MDA and serum PTH decreased significantly ($P < 0.05$), and no significant change in blood P ($P > 0.05$) in group DE and DM. The simultaneous intervention with both aerobic

基金项目: 2015年陕西省体育局常规课题项目(15035)

* 通讯作者: 景会锋, Email: jinghuifeng112@126.com

exercise and melatonin was better. **Conclusion** Aerobic exercise and melatonin relieve diabetic osteoporosis, and the effect is more significant with the joint intervention. The effect may be associated with the increase of anti-oxidative stress ability, regulation of glucose metabolism in order to effectively reduce serum calcium and PTH, resulting in improving BMD to alleviate osteoporosis.

Key words: Aerobic exercise; Melatonin; Type II diabetes; Osteoporosis

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是常见的代谢性骨病,近年来我国 OP 的患病率呈现出逐年增加的趋势,以往研究表明,糖尿病(diabetes mellitus, DM)患者半数以上合并 OP^[1],其发病机制尚不明确。运动和褪黑素对于 2 型糖尿病(type 2 diabetes, T2DM)的益处十分明显,能有效改善糖尿病人的血脂代谢紊乱,降低氧化应激损伤,有效缓解症状^[2];运动训练作为调控骨代谢的重要因素之一,其对骨产生的力学刺激可显著提高骨中细胞因子转录、蛋白表达和骨量等,从而防治骨质疏松^[3]。最近研究表明,褪黑素除了参与机体生物节律、生殖、体温、免疫功能、心血管发育等方面的调节以外,还可以通过提高抗氧化、影响降钙素和甲状旁腺素的分泌,参与了钙的新陈代谢,对骨的形成、骨量的增加等方面有积极作用^[4]。随着人年龄增长(尤其是女性),血清中的褪黑素水平下降,骨质疏松症的发生几率明显增加^[5],且与此相关。对 2 型糖尿病与骨质疏松的相关性,国内外学者有所探讨^[6,7],但鲜有从运动疗法方面结合褪黑素对糖尿病骨质疏松症(diabetic osteoporosis, DOP)的关系做进一步的研究。本实验用 DM 大鼠模型,综合评价有氧运动结合外源性褪黑素的补充对 T2DM 患者预防 OP 的作用,对改善糖尿病患者的症状,预防并发症的发生有实际意义。

1 材料和方法

1.1 材料

雌性 SD 大鼠 80 只(购于西安交通大学实验动物管理中心),6w,体重 200 ~ 220g,动物室内温度(22 ± 2)℃,相对湿度 45% ~ 55%,每天按自然昼夜照明,光照时间 12h,分笼饲养,自由饮水,国家标准啮齿类普通饲料喂养。

1.2 实验方法

1.2.1 大鼠分组及 DOP 模型的建立:适应性喂养 1 w 后,随机分为 8 组:安静对照组(N)、正常有氧运动组(E)、正常褪黑素组(M)、正常有氧运动褪黑素组(EM)、糖尿病对照组(D)、糖尿病有氧运动组(DE)、糖尿病褪黑素组(DM)、糖尿病有氧运动褪黑素组(DEM),每组各 10 只,N 组大鼠不加任何干预,D、DE、DM 和 DEM 组大鼠一次性腹腔注射 35

mg/kg 链脲佐菌素(STZ),STZ 购买于 Sigma 公司,现配现用,注射 7 d 后尾静脉采血测试血糖浓度,血糖浓度大于 16.7 mmol/L 且持续 3 w,为暂时成模大鼠^[8]。注射 STZ 后,D 组大鼠在实验结束前第 13 天进行颈部皮下注射盐酸四环素(25 mg/kg),作为第 1 次荧光标记,在实验结束前第 3 天进行颈部皮下注射 calcein(5 mg/kg)作为第 2 次荧光标记,以在骨表面形成黄色和绿色双荧光标志,两次荧光标记间隔时间为 10 d,可动态观察两次注射期间骨形成的情况。末次实验后分离大鼠右侧胫骨,用甲基丙烯酸甲酯包埋做不脱钙骨切片,采用半自动图像数字化分析仪并计算出新生骨小梁面积百分比,D 组大鼠胫骨上段骨小梁面积百分数由 25.71 降低到 14.78,提示 D 组大鼠伴随骨量丢失。

1.2.2 褪黑素干预:褪黑素购买于 Sigma 公司,使用前溶于 2% 的乙醇溶液中,M 组、EM 组、DM 组和 DEM 组大鼠每天灌胃 40 mg/kg 褪黑素,N 组、E 组、D 组和 DE 组每天灌胃等体积的 2% 乙醇溶液。

1.2.3 运动训练方案:E、EM、DE 和 DEM 组大鼠采用递增负荷的方式进行跑台有氧运动,起始速度为 10 m/min,时间为 20 min,适应性训练 1 w 后开始正式训练。运动负荷参考 Bedford 的研究加以调整,每周训练 5 d,速度逐渐递增由 10 m/min 增至 20 m/min,训练时间递增值为 5 min/d^[9]。整个训练过程共持续 6 w,EM 组和 DEM 组大鼠灌胃给药 30 min 后开始训练。

1.2.4 仪器设备与观察指标的测定:于末次训练结束后,按 50 mg/kg 的剂量腹腔注射 2% 的戊巴比妥钠溶液麻醉后,仰卧位置于 DXA 探头之下,固定四肢,使椎体保持竖直,双侧股骨保持水平状态,应用双能 X 线 BMD 测定仪测定腰椎(L₃-L₆)和左右股骨 BMD。BMD 测试结束后,迅速分离颈总动脉,采血 4 mL,注入含乙二胺四乙酸钠 30 μL 和 10% 抑肽酶 40 μL 的试管中,混匀,离心半径 12 cm,离心(3000 r/min,10 min,4℃),分离血浆,-20℃保存,备用待测血糖、SOD(superoxide dismutase)、MDA(malonaldehyde)、GSH-Px(glutathione peroxidase)、血 Ca、P、PTH(parathyroid hormone),血糖和血 Ca、P 测定应用东芝全自动生化分析仪,SOD、MDA、GSH-

Px 的测试严格按照试剂盒说明,试剂盒购于南京建成生物科技有限公司,应用放射免疫法测定 PTH, PTH 放免试剂盒购自中国人民解放军总医院长城免疫研究所。

1.3 统计学处理

各组数据通过 Excel2003 进行统计学分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,统计学分析采用双因素方差分析和样本 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异显著性。

2 结果

2.1 各组大鼠体重的变化

表 1 各组大鼠体重的变化 ($g, n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 1 The change of body weight in rats of each group ($g, n = 10, \bar{x} \pm s$)

Group	Weight(before experiment)	Weight(after experiment)
N	218.1 $\pm$ 26.6	230.4 $\pm$ 19.4
E	217.9 $\pm$ 31.2	223.5 $\pm$ 18.5
M	218.4 $\pm$ 21.8	221.3 $\pm$ 16.9
EM	219.1 $\pm$ 27.3	220.5 $\pm$ 15.7
D	215.6 $\pm$ 23.2	180.3 $\pm$ 13.8 [▲]
DE	220.1 $\pm$ 21.7	209.6 $\pm$ 15.8 [*]
DM	216.6 $\pm$ 20.6	198.2 $\pm$ 17.4 [*]
DEM	218.3 $\pm$ 19.5	220.1 $\pm$ 16.9 ^{★●}

注: 和 N 组比较, [▲] $P < 0.05$; 与 D 组比较, ^{*} $P < 0.05$; 与 DE 和 DM 组比较, [●] $P < 0.05$

Notice: Statistically significant differences when compared to N ([▲] $P < 0.05$); Statistically significant differences when compared to D (^{*} $P < 0.05$); Statistically significant differences when compared to DME and DMM ([●] $P < 0.05$)

由表 1 可知,与 N 组比较, E、M、EM 组大鼠体重下降,但是无显著性差异 ($P > 0.05$), D 组大鼠体重显著性下降 ($P < 0.05$); 与 D 组比较, 有氧运动和褪黑素干预后大鼠体重显著性升高 ($P < 0.05$), 与 DME 和 DMM 组比较, 运动和褪黑素联合干预后大鼠体重进一步升高 ($P < 0.05$)。

2.2 各组大鼠椎骨和左右股骨 BMD 的变化

由表 2 可知,与 N 组比较, E、M、EM 组大鼠椎骨和左右股骨 BMD 显著性升高 ($P < 0.05$), D 组大鼠椎骨和左右股骨 BMD 显著性下降 ($P < 0.05$); 与 D 组比较, 有氧运动干预后大鼠椎骨和左右股骨 BMD 显著性升高 ($P < 0.05$), 褪黑素干预后大鼠椎骨和左右股骨 BMD 升高,但不具有显著性差异 ($P > 0.05$), 与 DME 和 DMM 组比较, 运动和褪黑素联合干预后大鼠椎骨和左右股骨 BMD 显著性升高 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠椎骨和左右股骨 BMD

的变化 ($g/cm^2, n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 2 The change of vertebral and femoral BMD in rats of each group ($g/cm^2, n = 10, \bar{x} \pm s$)

Group	Vertebral BMD	Left femur BMD	Right femur BMD
N	0.231 $\pm$ 0.015	0.229 $\pm$ 0.015	0.229 $\pm$ 0.019
E	0.240 $\pm$ 0.021 [▲]	0.236 $\pm$ 0.012 [▲]	0.239 $\pm$ 0.012 [▲]
M	0.238 $\pm$ 0.018 [▲]	0.233 $\pm$ 0.009 [▲]	0.231 $\pm$ 0.009 [▲]
EM	0.245 $\pm$ 0.014 [▲]	0.242 $\pm$ 0.011 [▲]	0.240 $\pm$ 0.013 [▲]
D	0.159 $\pm$ 0.021 [▲]	0.137 $\pm$ 0.009 [▲]	0.136 $\pm$ 0.002 [▲]
DE	0.211 $\pm$ 0.016 [*]	0.217 $\pm$ 0.011 [*]	0.215 $\pm$ 0.011 [*]
DM	0.215 $\pm$ 0.019	0.205 $\pm$ 0.008	0.207 $\pm$ 0.015
DEM	0.223 $\pm$ 0.024 ^{★●}	0.221 $\pm$ 0.013 ^{★●}	0.222 $\pm$ 0.003 ^{★●}

注: 和 N 组比较, [▲] $P < 0.05$; 与 D 组比较, ^{*} $P < 0.05$; 与 DE 和 DM 组比较, [●] $P < 0.05$

Notice: Statistically significant differences when compared to N ([▲] $P < 0.05$); Statistically significant differences when compared to D (^{*} $P < 0.05$); Statistically significant differences when compared to DME and DMM ([●] $P < 0.05$)

2.3 各组大鼠血糖与血清总 Ca、P 和 PTH 的变化

表 3 各组大鼠血糖与血清总 Ca、P 和 PTH 的变化 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 3 Changes of blood glucose, serum total Ca, P, and PTH in rats of each group ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Group	Blood glucose (mmol/L)	Ca (mmol/L)	P (mmol/L)	PTH (pmol/L)
N	7.600 $\pm$ 2.693	2.753 $\pm$ 0.027	1.552 $\pm$ 0.038	2.893 $\pm$ 0.013
E	7.583 $\pm$ 2.763	2.751 $\pm$ 0.022	1.563 $\pm$ 0.031	2.907 $\pm$ 0.021
M	7.607 $\pm$ 2.398	2.743 $\pm$ 0.031	1.557 $\pm$ 0.021	2.902 $\pm$ 0.017
EM	7.609 $\pm$ 2.589	2.738 $\pm$ 0.019	1.582 $\pm$ 0.027	2.914 $\pm$ 0.016
D	18.684 $\pm$ 4.245 [▲]	2.067 $\pm$ 0.025 [▲]	1.537 $\pm$ 0.035	3.632 $\pm$ 0.017 [▲]
DE	11.053 $\pm$ 3.641 [*]	2.674 $\pm$ 0.029 [*]	1.549 $\pm$ 0.024	2.987 $\pm$ 0.022 [*]
DM	10.132 $\pm$ 3.221 [*]	2.567 $\pm$ 0.026 [*]	1.558 $\pm$ 0.019	3.006 $\pm$ 0.014 [*]
DEM	8.094 $\pm$ 1.261 ^{★●}	2.712 $\pm$ 0.018 ^{★●}	1.553 $\pm$ 0.025	2.901 $\pm$ 0.011 ^{★●}

注: 和 N 组比较, [▲] $P < 0.05$; 与 D 组比较, ^{*} $P < 0.05$; 与 DE 和 DM 组比较, [●] $P < 0.05$

Notice: Statistically significant differences when compared to N ([▲] $P < 0.05$); Statistically significant differences when compared to D (^{*} $P < 0.05$); Statistically significant differences when compared to DME and DMM ([●] $P < 0.05$)

由表 3 可知,与 N 组比较, E、M、EM 组大鼠血糖、血 PTH、血 Ca 和血 P 无显著性变化 ($P > 0.05$), D 组大鼠血糖和血 PTH 显著性升高 ($P < 0.05$), 血 Ca 显著降低 ($P < 0.05$), 血 P 无明显变化 ($P > 0.05$); 与 D 组比较, 有氧运动和褪黑素干预后大鼠血糖和血 PTH 显著性降低 ($P < 0.05$), 血 Ca 显著升高 ($P < 0.05$), 血 P 无明显变化 ($P > 0.05$), 与 DE 和 DM 组比较, 运动和褪黑素联合干预后大鼠血糖和血 PTH 显著性降低 ($P < 0.05$), 血 Ca 显著升高 ($P < 0.05$), 血 P 无明显变化 ($P > 0.05$)。

2.4 各组大鼠血清中的 SOD、GSH-Px 活性和 MDA 含量的变化

表 4 各组大鼠血清中的 SOD、GSH-Px 活性和 MDA 含量的变化 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Table 4 The changes of SOD, GSH-Px activity, and MDA content in rats of each group ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	SOD (NU/mgprot)	MDA (nmol/mgprot)	GSH-Px (U/min/mg)
N	129.34 $\pm$ 4.73	0.41 $\pm$ 0.021	119.53 $\pm$ 6.43
E	137.53 $\pm$ 5.75 [▲]	0.33 $\pm$ 0.018 [▲]	127.62 $\pm$ 8.21 [▲]
M	138.45 $\pm$ 5.15 [▲]	0.32 $\pm$ 0.028 [▲]	125.41 $\pm$ 7.71 [▲]
EM	142.41 $\pm$ 7.98 [▲]	0.30 $\pm$ 0.017 [▲]	131.37 $\pm$ 4.62 [▲]
D	60.46 $\pm$ 1.19 [▲]	1.26 $\pm$ 0.047 [▲]	75.38 $\pm$ 7.41 [▲]
DE	111.45 $\pm$ 6.32 [*]	0.67 $\pm$ 0.078 [*]	101.43 $\pm$ 5.79 [*]
DM	114.37 $\pm$ 8.73 [*]	0.70 $\pm$ 0.035 [*]	103.67 $\pm$ 6.35 [*]
DEM	123.45 $\pm$ 6.21 ^{*●}	0.54 $\pm$ 0.025 ^{*●}	110.37 $\pm$ 5.16 ^{*●}

注: 和 N 组比较, [▲] $P < 0.05$; 与 D 组比较, ^{*} $P < 0.05$; 与 DE 和 DM 组比较, [●] $P < 0.05$

Notice: Statistically significant differences when compared to N ([▲] $P < 0.05$); Statistically significant differences when compared to D (^{*} $P < 0.05$); Statistically significant differences when compared to DME and DMM ([●] $P < 0.05$)

由表 4 可知, 与 N 组比较, E、M、EM 组大鼠血清中的 SOD、GSH-Px 活性显著升高 ($P < 0.05$), MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$), D 组大鼠血清中的 SOD、GSH-Px 活性显著降低 ($P < 0.05$), MDA 含量显著升高 ($P < 0.05$); 与 D 组比较, 有氧运动和褪黑素干预后大鼠血清中的 SOD、GSH-Px 活性显著升高 ($P < 0.05$), MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$), 与 DE 和 DM 组比较, 运动和褪黑素联合干预后 SOD、GSH-Px 活性显著升高 ($P < 0.05$), MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$)。

3 讨论

以往对 D2M 的研究表明, 病程持续时间越长, 体重降低程度则越明显, Tong 等^[10]研究发现模拟失重可明显降低大鼠的股骨生物力学指标值, 由此表明, 体重下降是发生骨质疏松的危险因素之一; 另有部分研究则显示 BMD 与体脂百分比呈正相关, 单就 BMD 与脂肪的关系而言, 目前研究尚未取得一致结果, 徐君翔^[11]认为脂肪含量对 BMD 有显著的影响, 局部脂肪比例增加 BMD 下降显著。本研究则证实, 随着 D2M 大鼠体重下降, 体脂降低, BMD 下降, 有氧运动和褪黑素干预后可明显抑制大鼠体重下降, 同时 BMD 下降的趋势也得到缓解。

运动是影响 BMD 的一个重要因素。运动方式

不同对骨骼的负荷作用不同, 对 BMD 产生的不同影响。适度的运动在增加肌肉重量、增强肌力的同时, BMD 也可获得不同程度的提高, 有研究显示, 肌力与 BMD 呈正相关, 肌力的增加有助于骨量的维持^[12,13]。大量研究证明, 体育锻炼可增加峰值的骨量, 而峰值骨量是决定是否出现骨质疏松症状的关键性因素。研究发现中等强度跑台运动通过抑制骨吸收对去卵巢大鼠股骨下端松质骨的骨量和骨结构产生了良好的影响^[14]。另有研究表明高强度运动, 更有利于骨的矿化^[15]; 同时随着运动强度的增加, BMD 值逐步增加。本研究也证实运动能改善 BMD, 运动时骨骼受到挤压力和剪切力的直接刺激作用外, 还有来自肌肉收缩对骨骼的牵拉刺激, 有助于骨形成和重建, 从而增加 BMD; 另外, 运动还能增加胃肠道对营养物质和钙的吸收, 体内维生素 D 浓度增高等作用来提高 BMD。综上所述, 运动对大鼠骨产生的直接力学刺激有可能通过提高骨形成并抑制骨吸收, 从而使得大鼠 BMD 显著增加。

血清 Ca、P 测定是可间接反应骨代谢情况^[16]。已有研究表明, 糖尿病大鼠长期的高血糖会引起 Ca、P 摄入减少而丢失增加, 血 Ca 降低, PTH 分泌增加, 动员大量骨 Ca 入血, 致使骨质疏松^[17], 也有临床证据表明长期高血糖环境不利于骨胶原交联^[18]。另外, Balint 等指出高血糖毒性作用可以成骨细胞抑制对 Ca 的摄取, 可能与糖尿病发生时骨结构改变有关。在 T1DM 患者中 BMD 值是降低的, 对 T2DM 患者的大量研究表明, BMD 值可以正常, 降低或升高。本研究则证实, D2M 大鼠血糖和 PTH 水平显著升高的同时, 伴随血 Ca 显著降低, 椎骨和左右股骨 BMD 均显著性下降, 这或许是由于 D2M 大鼠长期的高血糖能够降低血 Ca 水平, 而低血 Ca 进而影响骨矿化, 使得血 PTH 反馈升高, 并且与血糖升高水平成正相关, 从而降低 BMD。因此, 可以认为糖尿病通过高血糖引起的低血 Ca、高 PTH 降低 BMD, 形成骨质疏松。

褪黑素主要由松果体合成与分泌, 近年来众多实验证明, 褪黑素对于骨的重建过程具有重要作用, 一方面能促进骨的发生, 另一方面能防止骨的退化。外源性褪黑素促进了多种前成骨细胞系以及人骨髓间充质干细胞的进一步分化, 在骨的发生中有至关重要的调节作用, 能促进成骨过程。褪黑素在钙新陈代谢方面的作用最初由 Csaba 等研究发现, 这个作用由褪黑素通过影响降钙素与 PTH 的分泌介导的。本研究也证实褪黑素干预后, 血糖和血清 PTH

降低,血钙升高,同时伴随 BMD 的增加。

大量研究表明,当 DM 患者血糖水平升高时,会使氧化应激水平增高,从而促进 DOP 的发生与发展,这点提示控制血糖可能是防治 DOP 的一个非常重要途径^[19]。氧化应激主要通过耗竭抗氧化物质、激活破骨细胞、抑制成骨细胞及骨形成来影响骨代谢。血清中的 SOD、GSH-Px 活性和 MDA 含量一直被认为是反映氧化应激的敏感指标^[20],本研究表明,T2DM 大鼠血清中的 SOD、GSH-Px 活性降低和 MDA 含量升高,抗氧化应激能力减弱,骨代谢过程紊乱。以往研究表明,运动特别是有氧运动可以提高机体的抗氧化应激的能力^[21],褪黑素是一种非酶类抗氧化物质,具有较强的抗氧化应激作用^[22],本研究结果显示,经过 6w 的有氧运动和褪黑素治疗后,血清中 SOD 和 GSH-Px 活性明显升高,MDA 含量明显下降,从而减少氧化应激损伤。规律运动能够稳定控制血糖水平已被诸多研究所证实。但是不同方式运动对血糖影响的报道不多,且尚有争议。大量资料表明,对于改善糖和胰岛素抵抗代谢,有氧运动能够加快骨骼肌对糖的摄取,从而有效降低血糖。本研究表明,有氧运动和褪黑素干预后大鼠血糖显著性降低,血 Ca 显著性升高,同时血 PTH 水平降低,且联合干预后大鼠后效果更好。近年研究^[23]证实,高糖抑制成骨细胞的增殖、分化,导致成骨细胞功能下降,Orifuji 等发现 3w 的有氧运动可降低 II 型糖尿病大鼠血糖的水平,与本研究的的结果相一致。

综上所述,糖尿病持续高血糖使血 Ca 下降,PTH 反馈性升高和清除自由基能力减弱,引起 BMD 下降,导致骨质疏松的发生;有氧运动联合褪黑素共同干预可以明显改善糖代谢的同时还可以提高抗氧化应激能力,降低高糖氧化应激对骨骼代谢的影响,有效控制体重和 BMD 下降,缓解骨质疏松,可以为临床上糖尿病引发的骨质疏松症的非药物治疗新方法提供实验依据。

【参 考 文 献】

- [1] Kemink SA, Hermus AR, Swinkels LM, et al. Osteopenia in insulin dependent diabetes mellitus; prevalence and aspects of pathophysiology [J]. *Endocrinol Invest*, 2000, 23(5): 295-303.
- [2] 申潇竹,张玲,田昌荣,等. 阻抗训练对老年缺血性卒中患者预防骨质疏松的作用[J]. *实用医学杂志*, 2012, 28(21): 3592-3593.
Shen XZ, Zhang L, Tian CR. Resistance training in elderly patients with ischemic stroke prevention of osteoporosis [J]. *Journal of Practical Medical*, 2012, 28(21): 3592 - 3593. (in Chinese)
- [3] 赵向东,卢海龙. 老年 2 型糖尿病患者骨质疏松症相关危险因素分析[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2011, 25(11): 1143-1144.
Zhao XD, Lu HL. Elderly patients with type 2 diabetes osteoporosis related risk factors [J]. *Journal of Practical Diagnosis and Therapy*, 2011, 25(11): 1143-1144. (in Chinese)
- [4] Chan ME, Adler BJ, Green DE, et al. Bone structure and B-cell populations, crippled by obesity, are partially rescued by brief daily exposure to low-magnitude mechanical signals[J]. *FASEB*, 2012, 26(12): 4855-4863.
- [5] Shibata K, Yoshimura Y, Kikuri T, et al. Effect of the release from mechanical stress on osteoclastogenesis in RAW264.7 cells [J]. *Mol Med*, 2011, 28(1): 73-79.
- [6] Stein GS, Lian JB, Wijnen AJ, et al. Runx2 control of organization, assembly and activity of the regulatory machinery for skeletal gene expression [J]. *Oncogene*, 2004, 23(5): 4315-4320.
- [7] Gilbert LC, Chen H, Lu X, et al. Chronic low dose tumor necrosis factor- α (TNF) suppresses early bone accrual in young mice by inhibiting osteoblasts without affecting osteoclasts [J]. *Bone*, 2013, 56(1): 174 - 183.
- [8] 曹皎,肖国强. 有氧运动和白藜芦醇对 II 型糖尿病大鼠肝脏氧化应激及 NF- κ Bp65 的影响[J]. *体育学刊*, 2013, 20(6): 138-143.
Cao J, Xiao GQ. Effects of Aerobic Exercise and resveratrol on type II diabetic rat liver oxidative stress and NF- κ Bp65 of [J]. *Journal of Physical Education*, 2013, 20(6): 138-143. (in Chinese)
- [9] 赵剑. 有氧运动对 2 型糖尿病大鼠骨密度和骨生物力学指标的影响[D]. 上海体育学院, 2010.
Zhao J. Intensive insulin therapy and bone mineral density in type 1 diabetes mellitus [D]. *Shanghai Physical Education College*, 2010. (in Chinese)
- [10] 张恒,刘宁,任宁涛,等. 模拟失重状态下雌、雄大鼠骨质疏松模型骨结构及生物力学对比研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2015, 21(9): 1076-1081.
Zhang H, Liu N, Ren NT, et al. Male and female osteoporosis model rat bone structure and bone biomechanical comparison study simulated weightlessness [J]. *Journal of Chinese Bone Osteoporosis*, 2015, 21(9): 1076-1081. (in Chinese)
- [11] Xu JX, Qian ZY, Li GF, et al. Correlational study between regional fat content and the bone mineral density in 12285 healthy subjects[J]. *Osteoporos*, 2014, 20(8): 863-868.
- [12] Wang ZQ, Wang LH, Wang M. The correlation between muscle strength and bone mineral density and other indicators in senile patients with osteoporosis and the efficacy evaluation of different interventions[J]. *Osteoporos*, 2014, 20(7): 815-819.
- [13] Zheng L, Chen XH, Zhou ZX. Relationship between Characteristics of Physical Activity and Bone Mass in Postmenopausal Women [J]. *Sports Med*, 2013, 32(3): 197-203, 210.

(下转第 688 页)

- bone mineral density in rats [J]. Journal of Capital Institute of Physical Education, 2012, 24(3): 274-210.
- [17] Liu JY. Experimental study on the effect of exercise on the biomechanical properties of femur in ovariectomized rats [J]. Journal of Tianjin University of Sport, 2010, 25(6): 537-540.
- [18] Ominsky MS. Two doses of sclerostin antibody in cynomolgus monkeys increases bone formation, bone mineral density, and bone strength [J]. Bone Miner Res, 2010, 25(5): 948-959.
- [19] Li X. Inhibition of sclerostin by monoclonal antibody increases bone formation, bone mass, and bone strength in aged male rats [J]. Bone Miner Res, 2010, 25(12): 2647-2656.
- [20] Li X. Increased bone formation and bone mass induced by sclerostin antibody is not affected by pretreatment or cotreatment with alendronate in osteopenic, ovariectomized rats [J]. Endocrinology, 2011, 152(9): 2212-3322.
- [21] Mzrenzana M. Sclerostin antibody treatment enhances bone strength but does not prevent growth retardation in young mice treated with dexamethasone [J]. Arthritis Rheum, 2011, 63(8): 2385-2395.
- [22] Jin L, Luo LN. The effect of swimming and traditional Chinese medicine combined therapy on bone metabolism and biochemical indexes in ovariectomized rats [J]. Journal of Shandong Sports Institute, 2006, 22(6): 53-55.
- [23] Sun XL, Feng BL, Ma JX, et al. Effect of naringin and movement in ovariectomized rats bone mass and strength [J]. The Chinese Bone Osteoporosis and Bone Mineral Disease Magazine, 2014, 7(4): 332-338.
- [24] Qin F, Zhang XL, Ruan Y, et al. Low intensity laser and aerobic exercise on rat peri menopausal bone structure and bone metabolism [J]. Journal of Physical Education, 2013, 20(6): 126-131.
- [25] Isaksson H. Physical exercise improves properties of bone and its collagen network in growing and maturing mice [J]. Calcif Tissue Int, 2009, 85(3): 247-256.

(收稿日期: 2015-11-28, 修回日期: 2016-01-07)

(上接第 676 页)

- [14] Wu Qian, Chen Jianting. The effects of oxidative stress on the development of osteoporosis [J]. Osteoporos, 2010, 16(3): 222-224.
- [15] Wang W, Zhang X, Zheng J, et al. High glucose stimulates adipogenic and inhibits osteogenic differentiation in MG-63 cells through cAMP/protein kinase A/extracellular signal-regulated kinase pathway [J]. Mol Cell Biochem, 2010, 338: 115-122.
- [16] Botolin S, Faugere MC, Malluche H, et al. Increased bone adiposity and peroxisomal proliferator-activated receptor- γ 2 expression in type 1 diabetic mice [J]. Endocrinology, 2005, 146: 3622-3631.
- [17] 王振福, 钟灵. 姜黄素对糖尿病大鼠防治作用的实验研究 [J]. 中国应用生理学杂志, 2014, 30(1): 68.
- Wang ZF, Zhong L. Experimental study of curcumin on the role of prevention and treatment of diabetic rats [J]. Journal of Chinese Applied Physiology, 2014, 30(1): 68. (in Chinese)
- [18] 李世昌, 季浏, 刘伟, 等. 不同方式运动对去卵巢大鼠 BMD、骨生物力学及代谢指标的影响 [J]. 体育学刊, 2012, 19(2): 132-137.
- Li SC, Ji L, Liu TW, et al. Effects of different ways of exercise on ovariectomized rats BMD, bone biomechanical and metabolic markers [J]. Journal of Physical Education, 2012, 19(2): 132-137. (in Chinese)
- [19] 房冬梅. 不同方式的运动对生长期大鼠骨代谢及其相关激素的影响 [J]. 天津体育学院学报, 2009, 24(4): 337-340.
- Fang DM. Effect of exercise on bone metabolism in different ways and its related hormones in growing rats [J]. Tianjin Institute of Physical Education Report, 2009, 24(4): 337-340. (in Chinese)
- [20] 林梅芳, 冯星. 褪黑素抗氧化应激作用与器官保护 [J]. 实用儿科临床杂志, 2007, 22(20): 1584-1585.
- Lin MF, Fen X. Melatonin anti-oxidative stress and organ protection [J]. Journal of Applied Clinical Pediatrics, 2007, 22(20): 1584-1585. (in Chinese)
- [21] Pacheco-Costa R, Hassan I, Reginato RD, et al. High bone mass in mice lacking Cx37 because of defective osteoclast differentiation [J]. Biol Chem, 2014, 289(12): 8508-8520.
- [22] Zawawi MS, Dharmapatri AA, Cantley MD, et al. Regulation of ITAM adaptor molecules and their receptors by inhibition of calcineurin-NFAT signalling during late stage osteoclast differentiation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 427(2): 404-409.
- [23] 陈祥和, 李世昌, 孙朋, 等. 下坡跑对生长期去卵巢小鼠骨 BMP-2、Smad1/5 和 Runx2 表达的影响 [J]. 中国运动医学杂志, 2013, 32(7): 617-622.
- Chen XH, Li SC, Sun P, et al. Downhill run on bone growth in ovariectomized mice BMP-2, Smad1/5 and Runx2 expression [J]. Journal of Chinese Sports Medicine, 2013, 32(7): 617-622. (in Chinese)

(收稿日期: 2015-11-20, 修回日期: 2016-01-14)