糖尿病小鼠胰岛素抵抗的改善作用及机制研究

——基于维生素D联合全身震动运动

侯亚妮　南星星　张　旭　赵颖欢　白佳怡
西安培华学院　陕西西安　710125

摘　要：目的：本文由维生素D（VD）与全身震动运动入手，分析这两者同时对糖尿病（DM）小鼠施以作用，对其胰岛素抵抗（IR）的影响，由此在循证医学方面为DM病人的防治给予一定指导。**方法：**实验动物为32只DM小鼠模型，雄性、7周龄，基于体重经由随机手段划分出4组，实施分笼喂养，2只/笼，待1w适应性喂养结束，对实验动物采取割尾采血处理。把VitD放到注射级大豆油内溶解，得到VD注射液，DVG组和DEG+V组经腹腔注入此注射液（用量为7μg/kg），DG组和DEG组则注入剂量相同的花生油，3次/w；DEG组和DEG+V组同时接受全身震动运动处理，5次/w，合计8w，并予以监测。**结果：**待8w干预终止，对比各组实验动物体内IR指数水平，经由双因素方差分析（ANOVA）可知，“VD”和“全身震动运动”皆不存在无显著交互效应。同时双方对IR指数主效应显著。相较DG组，另外3组的IR指数明显偏低。**结论：**（1）经由8w的全身震动运动和VD干预，DM小鼠多饮多食症状大幅缓解，其体重超常增长的表现也获得控制。（2）对于DM，全身震动运动、VD、全身震动运动+VD皆具改善效能，就改善效果而言，最好的是VD+全身震动运动，其次是运动组，相对最弱的是VD。（3）8w全身震动运动+VD干预可使IR获得明显改善。

关键词：维生素D；全身震动运动；糖尿病；小鼠胰岛素抵抗

Study on ameliorating effect and mechanism of insulin resistance in diabetic mice

-- based on vitamin D combined with whole-body vibration

Hou Yani, Nan Xingxng, Zhang Xu, Zhao Yinghuan, Bai Jiayi
Xi 'an Peihua University, Xi 'an, Shaanxi 710125

Abstract: Objective: To analyze the effect of vitamin D (VD) and whole-body vibration exercise on insulin resistance (IR) in diabetic mice, so as to provide some guidance for the prevention and treatment of DM patients from the aspect of evidence-based medicine. **Methods:** thirty-two male DM mice, aged 7 weeks, were randomly divided into 4 groups based on body weight. The animals were fed in separate cages, 2 mice per cage. After 1w adaptive feeding, the experimental animals were treated with tail cutting and blood sampling. DVG and DEG+V groups were intraperitoneally injected with this injection (the dosage was 7μg/kg), while DG and DEG groups were injected with peanut oil at the same dose, 3 times /w. DEG group and DEG+V group were treated with whole body vibration motion, 5 times /w, a total of 8w, and monitored. **Results:** After the 8W intervention was terminated, the IR index levels of experimental animals in each group were compared. Two-way analysis of variance (ANOVA) showed that there was no significant interaction effect between “VD” and “whole body vibration motion”. At the same time, the main effect of both sides on IR index was significant. Compared with the DG group, the IR index of the other three groups was significantly lower. **Conclusion:** (1) the hyperdipsia and hypereating symptoms of DM mice were greatly alleviated by 8w whole-body vibration and VD intervention, and their abnormal weight gain was also controlled. (2) For DM, whole body vibration exercise, VD, and whole body vibration exercise +VD all had improvement efficiency. In terms of improvement effect, VD+ whole body vibration exercise was the best, followed by exercise group, and VD was the weakest. (3) 8W whole-body vibration exercise +VD intervention can significantly improve IR.
Keywords: Vitamin D; Whole body vibrating motion; Diabetes; Insulin resistance in mice

项目资助：2021年度西安培华学院校级科研项目：维生素D联合全身震动运动对糖尿病小鼠胰岛素抵抗的改善作用及机制研究（PHKT2124）
作者简介：侯亚妮（1981–）女，汉族，陕西省渭南人，副教授，硕士研究生，研究方向：生物化学。

1 对象与方法

1.1 对象

实验动物为32只雄性、7周龄DM小鼠，先对其实施1w适应性喂养，再断尾进行血样采集，测定空腹血糖（FBG），入组条件为FBG在16.1mM以上。基于体重，经由随机方式把32只实验动物相应归入4组，分别为DG组（DM空白对照组）、DEG组（DM全身震动运动组）、DVG组（DM维生素D干预组）、DEG+V组（DM维生素D+全身震动运动组），各组8只。4组饲喂条件保持一致，即40%-70%相对湿度，22±2℃室温，光照0.5d黑暗0.5d，2只/笼，对饮食、摄水皆无限制。

1.2 干预方案

1.2.1 药物干预方案

DVG组与DEG+V组，把VD放到大豆油内溶解，采取腹腔注射，剂量为7μg/kg·d；DG组、DEG组，腹腔注入等量大豆油。皆3次/w，各组皆进行8w不间断药物干预。

1.2.2 运动方案

DEG组与DEG+V组DM小鼠每周一至周五接受全身震动运动干预，周六、日暂停。另2组未进行运动干预。在DEG组、DEG+V组的运动方案上，先进行1w适应性训练，再安排2个月的递增负荷训练，设置为中度强度。第1、2w训练速度为8mm/s，第1、2w训练时间各为30min、60min；第3-5w训练速度上调至10mm/s，持续1h；6-8w，训练速度保持12mm/s恒定。全身震动运动的每次用时是1h，于早上开展运动，共计进行8周全身震动运动。

1.3 方法

1.3.1 指标采集

（1）观察糖尿病小鼠的精神状态、体重、饮食、摄水量

每日查看小鼠的精神表现与反应状况，并对其饮食摄水状况加以记录。每周皆于周日上午对其体重进行测定，每3d测1次摄食、饮水量。并随时记录。

（2）小鼠血糖及糖耐量试验的监测

每周日上午8时，对实验动物行断尾采血操作，所有动物皆隔夜禁食16h，测FBG，再经过2个月开展OGTT试验，4组动物皆行隔夜禁食0.5d处理，先测FBG，再对其进行葡萄糖灌胃处理（剂量为2g/kg），在0.5、1.0、1.5、2.0h时采集尾静脉血样，对小鼠血糖变化展开测定，并完成血糖变化曲线的制作，对4组动物血糖展开分析。

（3）血液样本的制备及检测

待实验结束，各组实验动物皆应进行0.5d禁食处理，在取材环节，应先对其实施麻醉处理，再摘除掉眼球，之后采集血样，经离心处理，留存上清，对胰岛素（INS）、血脂四项、甘油三酯（TG）、总胆固醇（TC）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）、生化指标展开测定。

1.3.2 动物取材

待小鼠末次运动终止，禁食0.5d后不禁水，在第2d早上处死，进行眼球摘取操作，并采集血样，先行麻醉处理（腹腔注入乌拉坦），再处死，分离血清，待用，测定INS、血脂与血糖等指标。把提取的肝脏、骨骼肌等组织移至液氮内速冻，再置于-80℃冰箱内存放，用来测定相关蛋白的表达量。摘眼球取血，接着提取实验动物的部分肝脏与肌肉组织，对其实施脱水处理，接着行石蜡包埋处理，在制成切片，并进行染色，查看次细胞病变状况。

1.4 统计学处理

数据统计处理所用工具为SPSS 20.0，开展重复测量双因素ANOVA，探究VD鱼全身震动运动的主效应与交互效应，主因素为“全身震动运动”、“VD”这2个特征，若交互效应显著（即P<0.05），开展简单效应分析，若缺乏显著性（即P>0.05），对比主效应；各因素的主效应显著（即P<0.05），说明有组间差异。经由LSD检验开展多重对比，显著性标准是P<0.05。

2 结果

2.1 维生素D联合全身震动运动对糖尿病小鼠一般状态的影响

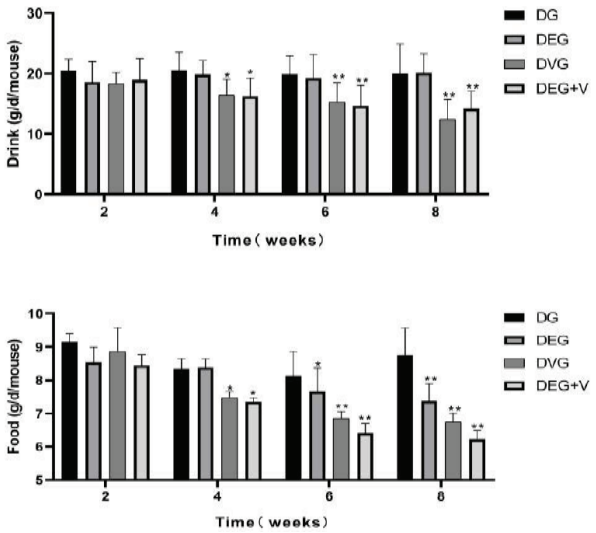

图1 干预期间小鼠摄食和饮水的变化趋势图

注：与DG组相比，*表示P＜0.05，**表示P＜0.01。

实验前，在体重、饮食与摄水量上，4组DM小鼠皆

未见明显不同，实验过程中，4组动物皆出现程度不等的反应迟钝、多饮、多食、多尿表现。与另外3组小鼠相比，DG组体重增幅较高，毛色不具光泽性，精神低迷，且偶见烂爪烂尾症状，血糖大幅上升。

通过图1可知，实验过程中，除了DG组，另外3组实验动物的摄食量皆自第2w开始减少，尤其DVG组与DEG+V组减少的更为明显，相较于DG组，自第4w表现出显著区别（P＜0.05），待至第8w，相比DG组，另外3组实验动物皆表现出显著不同（P皆＜0.01）；但是，在饮水量方面，与DG组比较，DVG组与DEG+V组减少比较显著，同时自第4w起，差异显示出显著性（P＜0.05），在第6、8w时见极显著偏低表现（P＜0.01），同DG组相比，DEG组变化不明显，无统计价值。

表1　各组小鼠干预期间体重变化g，（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	DG	DEG	DVG	DVG+V
1周	8	40.62 ± 3.57	38.21 ± 3.96	37.41 ± 5.42	38.09 ± 6.23
2周	8	43.11 ± 2.98	42.26 ± 4.70	42.51 ± 5.29	41.98 ± 4.73
3周	8	44.69 ± 4.62	46.03 ± 4.63	44.51 ± 5.20	44.94 ± 4.76
4周	8	49.12 ± 4.52	49.77 ± 4.29	47.67 ± 5.70	47.36 ± 4.31
5周	8	51.19 ± 4.66	47.48 ± 4.31	48.94 ± 3.75*	46.59 ± 2.04*
6周	8	53.03 ± 5.18	48.50 ± 3.92*	46.21 ± 5.02**	44.18 ± 2.34**
7周	8	55.920 ± 4.33	46.45 ± 2.95**	43.81 ± 4.81**	41.59 ± 2.60**#
8周	8	56.62 ± 4.84	45.23 ± 2.74**	41.08 ± 5.11**#	38.75 ± 3.01**##

注：与DG组相比，⋆表示P<0.05，⋆⋆表示P<0.01，与DEG组相比，表示#P<0.05，##表示P<0.01。

通过表1可知，从实验第6w开始，体重出现了比较大幅的下降趋势，相较DG组，另外3组实验动物呈显著偏低表现（P＜0.05或P＜0.01）；待至第8w实验终止时，同DG组相比，另外3组皆表现出显著区别（P皆＜0.01）；同DEG组相比，在体重变化方面，DVG组与DEG+V组夜表现出显著区别（P＜0.05与P＜0.01）。

通过表2可知，同DG组相比，从第4w开始，另外3组实验动物的血糖水平为不断下降表现，尤其DEG+V组表现出显著性（P＜0.01），在第8周终止时，同DG组相比，另外3组实验动物皆表现出显著区别（P皆＜0.01），DEG+V组降低较明显。

表2　各组小鼠干预期间空腹血糖变化mmol/L，（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	DG	DEG	DVG	DVG+V
第1周	8	23.57 ± 2.72	23.40 ± 2.64	23.97 ± 3.12	22.89 ± 3.29
第2周	8	24.42 ± 3.83	24.93 ± 1.59	24.72 ± 5.14	21.56 ± 4.65
第3周	8	21.24 ± 1.18	20.12 ± 2.07	23.99 ± 4.04	20.74 ± 3.53
第4周	8	22.93 ± 2.98	17.81 ± 3.30	17.81 ± 3.30	15.96 ± 4.49*
第5周	8	23.07 ± 1.25	17.63 ± 2.30*	20.71 ± 2.07*	14.33 ± 4.42*
第6周	8	22.19 ± 2.38	17.25 ± 3.24**	19.29 ± 4.50*	15.02 ± 6.27**
第7周	8	23.68 ± 5.22	17.59 ± 2.07**	18.94 ± 3.73**	13.40 ± 4.27**
第8周	8	25.09 ± 3.03	17.72 ± 2.75**	17.58 ± 3.21**	14.70 ± 2.55**

注：与DG组相比，⋆表示P＜0.05，⋆⋆表示P＜0.01。

2.2维生素D联合全身震动运动对小鼠胰岛素及胰岛素抵抗的影响

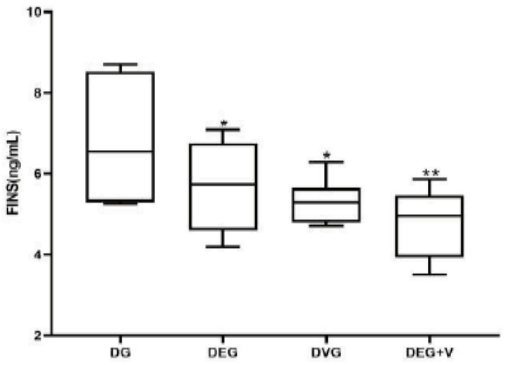

图2　各组小鼠胰岛素水平

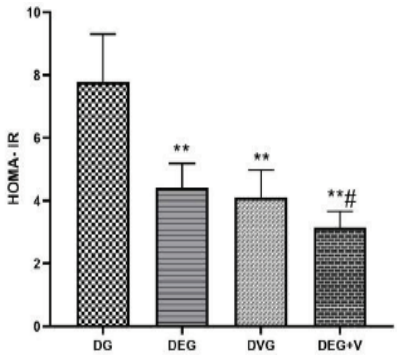

图3　胰岛素抵抗指数水平

注：较同期DG组（⋆P<0.05，⋆⋆P<0.01）；较同期DEG组（#P<0.05，##P<0.01）。

通过图2能够发现，8w干预终止后，对比分析各组实验动物体内INS含量，经由双因素ANOVA可知，

“VD”和“全身震动运动”皆不具备显著交互效应。但这两者对INS主效应显著（P<0.01与P<0.05）。相较DG组，另外3组实验动物的INS水平皆为降低表现，显示出不断降低的发展趋势（P<0.05），INS水平下降最明显的为DEG+V组（P<0.01）。相比DEG组与DVG组，DEG+V也有所偏低，但未见显著区别（P>0.05）。

通过图3能够发现，8w干预终止后，对比分析各组动物体内IR数水平，经由双因素ANOVA可知，“VD”和“全身震动运动”皆不具备显著交互效应。但这两者对IR指数主效应显著（P<0.01与P<0.05）。相较DG组，另外3组实验动物的IR指数降幅明显，表现出统计学价值（P<0.01）。IR指数降幅最大的是DEG+V组。相较DEG组、DVG组，DEG+V也出现一定降低表现，但不具备显著性（P>0.05）。

3 讨论

3.1 糖尿病小鼠模型的建立与选择

DM是一组复杂的慢性病，其特征为高血糖，是以INS分泌相对不足或者IR为表现的一类糖脂代谢异常性病变，可在很大程度上危及人体健康。长期患病会伤及心血管、泌尿、神经、内分泌系统。INS分泌未见异常，但体内INS的利用率降低是IR早期特征性病变，而INS的障碍，同时导致INS过度分泌，由此导致胰岛机能损伤。在INS分泌无法补偿外周组织的IR时，即出现IR。

本研究选用DM小鼠模型，其衍化自C57BL/KSJ近亲交配株常染色体隐性遗传，为T2DM模型。若Leptin受体点发生突变，DM小鼠的Leptin信号途径即发生异常，这时小鼠会见肥胖等各种症状。DM小鼠在生后6w可见明显肥胖，以及尿量、饮水量增多，FBG上调表现，至8-12w最为明显，同时见糖尿病肾病（DN）等并发症。通常情况下，小鼠具光整毛发，具色泽性，活跃度较高。实验发现DM小鼠的发病症状类似于DM发病症状，诸如血脂异常、肥胖等，同时症状具稳定性，是分析DM的理想模型。此项研究中所用DM小鼠模型，在长至第8w后，见活动小、毛发杂乱、蜷卧、毛发脱落表现，DM小鼠血糖值大幅上升，同时见尿量提高、多饮多食等DM典型症状，此为之后顺利实施干预实验给予了模型保障。

3.2 维生素D联合全身震动运动对糖尿病小鼠胰岛素抵抗的改善作用

活性VD能够促进INS合成、分泌增加，提升INS敏感性，DM发生的主要诱因为：VD缺乏。VD缺乏、多发性硬化、高血压（HBP）、大量恶性肿瘤皆和DM的风险提高相关。实验发现，DM动物模型的胰岛β细胞内，钙通道的本质、密度与数量皆出现变化，INS分泌，同时钙通道负责调控与决定胰岛β细胞的生存。25-OH-VD不足会导致钙通道闭合，同时减少INS的分泌。25-OH-VD导致钙结合蛋白（CaBP）的表达上调，CaBP能够使钙离子保持适宜水平，从而使胰岛β细胞的凋亡率下降。DM的关键特征包括血糖的上升。胰岛β细胞可分泌INS，糖、肝糖原与肌糖原从而可保持平衡，有利于健康的保持。长期血糖偏高表现可影响胰岛β细胞功能，即β细胞凋亡量增多，但是正常细胞减少可将DM有关的危险因素降至最低，促进INS分泌，或使血糖值大幅下降。血液葡萄糖慢性升高属于一类具危急性的代谢障碍，会破坏脂质代谢和碳水化合物，因此，DM群体血糖失调，同时易合并血脂失调，主要表现是HDL-C减少、TG增多、LDL-C增多，引发“脂质三联症”，血脂异常同样会导致INS信号通路异常，从而使得IR增强。

调查发现，14d以上的全身震动运动，能够改善血脂与IR、降低体重。相较DG组，另外3组DM小鼠血糖与IR指数皆呈降低表现，其中降幅最大的是DEG+V组，相关机制这可能为，VD与全身震动运动联合作用于DM，对其血糖施以有效调控。通过8w全身震动运动+VD干预，DM小鼠血液内的INS、TG、LDL-C水平明显下降，表明8w的全身震动运动+VD干预可以明显降低血糖、血脂与血清INS水平，同时增强INS的敏感性，使得机体IR得到改善。

参考文献：

[1]林美丽，陈伟，王华斌，徐怡娜，范希景，吴俊琪.维生素D受体FokⅠ基因多态性与金华地区糖尿病肾病人群的相关性研究[J].中国卫生检验杂志，2022，32（16）：2009-2011+2015.

[2]王慧，梅丽娜，施卫琴，沈磊芬.维生素D滴剂联合门冬胰岛素注射液治疗妊娠糖尿病患者的临床研究[J].中国临床药理学杂志，2022，38（15）：1719-1722.

[3]刘金伟，陈睿，韩睿.维生素D及其受体通过调控NF-κB发挥保护糖尿病肾病研究进展[J].现代医药卫生，2022，38（15）：2580-2584.

[4]崔丽娟，薛洁，彭志美.维生素D通过调控磷脂酰肌醇3激酶信号通路对妊娠糖尿病小鼠糖脂代谢的影响及机制研究[J].中国医院用药评价与分析，2022，22（07）：842-846+850.

[5]苏淑娇，李小凤.维生素D与糖尿病[J].中国临床研究，2022，35（07）：948-951.