

补糖对急性运动大鼠心肌单磷酸腺苷活化蛋白激酶激活的影响

余海燕, 顾伟玉, 王智强, 姚政立, 赵佳, 朱睿, 王蕴红*

(首都体育学院, 北京 100191)

【摘要】 **目的** 通过测量大鼠急性运动后心肌单磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)活性和糖原含量的变化,探讨补糖对运动心肌AMPK激活的影响。**方法** 大鼠进行急性耐力运动,并在运动前后不同时间补充不同剂量的补充葡萄糖,采用Western blot测定大鼠心肌AMPK活性的动态变化,采用蒽酮法测定心肌糖原含量。**结果** 运动诱发大鼠心肌AMPK活性显著增高并在急性运动后1 h保持在较高水平,然而运动补糖大鼠心肌AMPK活性却无显著增高。运动或小剂量补糖都无法引起大鼠糖原含量的显著变化,只有大剂量补糖能使糖原含量在运动后24 h显著增高。**结论** (1)急性运动可使大鼠心肌AMPK活性升高,补糖能显著抑制急性运动中运动后AMPK的激活。(2)运动后大剂量补糖能有效提高运动后24 h心肌糖原含量。

【关键词】 运动;心肌;补糖;单磷酸腺苷活化蛋白激酶;大鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2017) 04-0444-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2017.04.017

Effects of glucose supplementation on the activity of myocardial AMP-activated protein kinase in rats induced by exercise

YU Hai-yan, GU Wei-yu, WANG Zhi-qiang, YAO Zheng-li, ZHAO Jia, ZHU Rui, WANG Yun-hong*

(Capital University of Physical Education and Sports, Beijing 100191, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of glucose supplement on AMPK activation in myocardium of exercised rats by measuring the myocardial AMPK activation and glycogen content after acute exercise training. **Methods** Rats were subjected to an acute endurance exercise and glucose supplement in varying doses and time points before and after exercise. The dynamic changes of myocardial AMPK activities was measured with Western blotting, changes of myocardial glycogen content were measured with Anthrone method. **Results** AMPK activation in myocardium of exercised rat was increased significantly throughout the exercise, and remained at a higher level 1 hour after acute exercise. However the level of AMPK activity was not significantly increased in exercised rat with glucose supplement. Glycogen content was not significantly changed after exercise. Rats subjected to lower dose glucose supplement did not show significant changes in glycogen content neither. But glycogen content was significantly increased in rats at 24 hours after exercise, subjected to higher dose of glucose supplement. **Conclusions** 1) Acute exercise induces a significant increase in AMPK activation in myocardium of exercised rats. Glucose supplement significantly inhibites the activation of AMPK induced by acute exercise. (2) Higher dose glucose supplement significantly increases glycogen content in the rat myocardium 24 h after exercise.

【Key words】 Exercise; Myocardium; Glucose supplement; AMP activated protein kinase; Rat

Corresponding author: WANG Yun-hong. E-mail: wangyunhong@cupes.edu.cn

【基金项目】北京市教委项目(编号:PXM2015_014206_000040和PXM2015_014206_000072)。

【作者简介】余海燕(1993-),女,硕士研究生,研究方向:运动生理生化理论与应用。E-mail: 787635526@qq.com

【通讯作者】王蕴红(1963-),女,教授,研究方向:运动心脏。E-mail: wangyunhong@cupes.edu.cn

AMPK 是调节细胞能量代谢的关键激酶,其活性主要受 AMP/ATP 比值调控^[1]。运动、缺血缺氧和能量消耗会导致 ATP 消耗增加,AMP/ATP 比值升高,从而激活 AMPK^[2-4],通过细胞内一系列代谢反应调控能量的平衡^[5,6]。心肌在安静时以脂肪酸有氧化供能为主,运动可以提升葡萄糖氧化供能和血乳酸供能比例^[7-9],氧化分解的葡萄糖会合成 ATP,防止 AMPK 的激活。运动还能增加糖原的分解促进 ATP 生成^[10],因此糖原的储备量对于高强度运动心脏做功加强时的供能有重要意义。

运动前、后补糖是运动员营养补充的常用方法,它对运动能力的提高^[11]和骨骼肌糖原恢复起重要作用^[12-15]。由于目前有关运动前后补糖对心肌 AMPK 活性影响的系统研究还鲜见报道,而研究补糖对心肌代谢的影响对于探讨运动心肌结构和功能的变化十分重要。本研究拟建立运动前后不同补糖时间、补糖剂量的运动模型,测定心肌 AMPK 活性和糖原含量,探讨补糖对心肌代谢的影响,为运动训练补糖提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验对象

SPF 级雄性 SD 大鼠 174 只(实验一 60 只,实验二 114 只),体重(250 ± 20)g,8 周龄,来源于北京维通利华实验动物有限责任公司【SCXK(京)2015-0004】、【SCXK(京)2012-0001】。大鼠分笼饲养,每 5 只一笼。自由摄食、饮水,定时称量体重,并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。

1.2 实验分组

本研究分为以下两个实验。实验一建立补糖后不同时长递增负荷耐力运动模型。将大鼠随机分为安静对照组(Con)、单纯运动组(E,运动 10、30、60 min 后取材)、单纯补充葡萄糖组(G,补糖 3 g/kg 后 20、40、70 min 取材)、运动 + 补充葡萄糖组(E + G,运动前 10 min 补糖 3 g/kg,运动 10、30、60 min 取材)。实验二建立运动后补充葡萄糖 3 g/kg 模型、运动后补充葡萄糖 6 g/kg 模型和运动前后各补充葡萄糖 3 g/kg 模型。将大鼠随机分为安静对照组(Con)、单纯运动组(E,运动后 1、3、24 h 取材)、不同剂量单纯补充葡萄糖组(G,补糖 3 g/kg,1、3、24 h 后取材;补糖 6 g/kg,1、3、24 h 后取材;分两次间隔 75 min 补糖 3 g/kg,1、3、24 h 后取材)、运动 + 不同

剂量补充葡萄糖组(E + G,运动后补糖 3 g/kg,1、3、24 h 后取材;运动后补糖 6 g/kg,1、3、24 h 后取材;运动前后各补糖 3 g/kg,1、3、24 h 后取材)。其中 Con 组和 E 组为公用组。

1.3 补糖和训练方案

运动大鼠先在 5°跑台上以 8 ~ 19 m/min 的递增速度运动 5 min,再在 15°跑台上以 19 m/min 的速度运动 75 min 或力竭。实验一运动大鼠在运动前 10 min 灌胃 3 g/kg 葡萄糖或等体积蒸馏水,运动 10、30、60 min 后取材。单纯补糖组在灌胃 3 g/kg 葡萄糖后 20、40、70 min 取材,安静对照组灌胃等体积蒸馏水。实验二运动大鼠在运动或末次补糖后 1、3、24 h 取材,补糖时间为运动前 10 min 内和运动后 5 min 内,补糖剂量为小剂量 3 g/kg 和大剂量 6 g/kg。单纯运动组在运动后 5 min 内与安静对照组灌胃等体积蒸馏水。

1.4 取材与测定

模型建立后,运动大鼠在规定的时间内取材,取大鼠左室心肌置于 -80℃ 保存。采用 Western blot 测定心肌 AMPK、p-AMPK 表达量,AMPK、p-AMPK、GAPDH 等抗体购自美国 Abcam 公司,采用葱酮法测定心肌糖原含量。

1.5 统计处理

数据用平均数 ± 标准误或标准差表示,采用 SPSS 17.0 软件对实验数据进行双因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

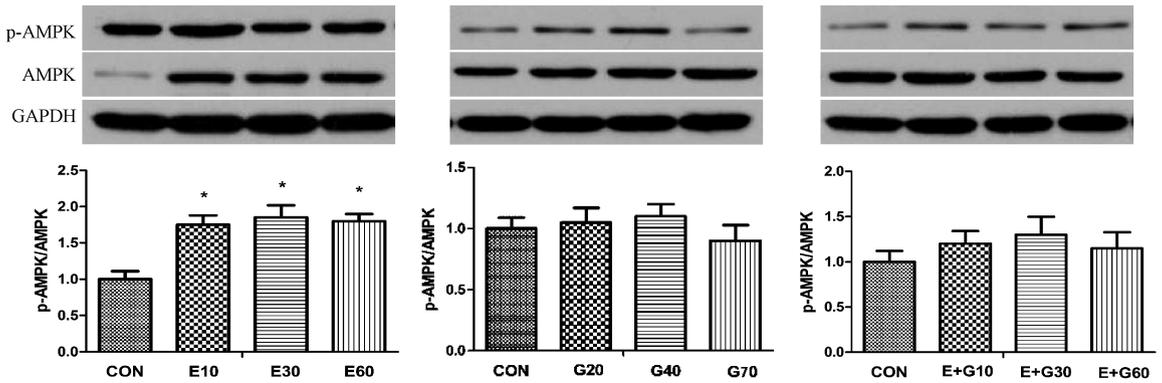
2 结果

2.1 补糖后不同运动时长递增负荷耐力运动大鼠心肌 p-AMPK/AMPK 的变化

如图 1 所示,与安静对照组相比,单纯运动组在运动 10、30、60 min 时心肌 AMPK 活性差异有显著性($P < 0.05$)。单纯补糖组在补糖后 20、40、70 min 心肌 AMPK 活性差异无显著性($P > 0.05$)。运动补糖组在运动 10、30、60 min 时心肌 AMPK 活性差异无显著性($P > 0.05$)。

2.2 补糖后不同运动时长递增负荷耐力运动大鼠心肌糖原的变化

如图 2 所示,与安静对照组相比,单纯运动组和运动补糖组在运动 10、30、60 min 时心肌糖原差异无显著性($P > 0.05$),单纯补糖组在补糖后 20、40、70 min 心肌糖原差异无显著性($P > 0.05$)。



注:与安静对照组比较: * $P < 0.05$ 。

图 1 耐力运动中大鼠心肌 p-AMPK/AMPK 的变化

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$.

Fig. 1 Changes of myocardial p-AMPK/AMPK in rats with endurance exercise

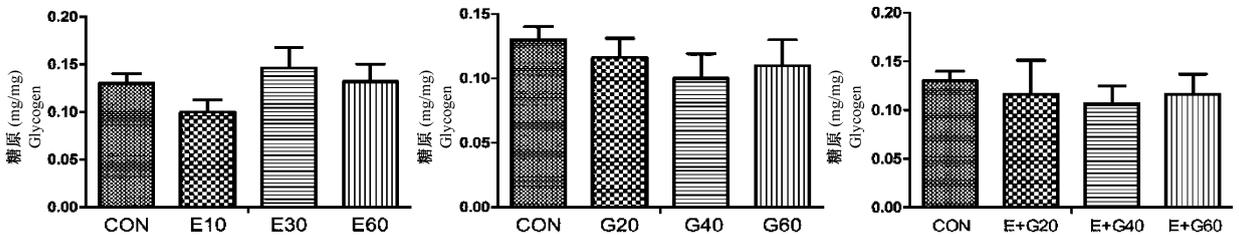


图 2 耐力运动中大鼠心肌糖原的变化

Fig. 2 Changes of myocardial glycogen in rats with endurance exercise

2.3 运动后不同时间不同剂量补糖大鼠心肌 p-AMPK/AMPK 的变化

如图 3 所示,通过建立运动后补充葡萄糖 3 g/kg 模型(参见图 3A)、运动后补充葡萄糖 6 g/kg 模型(参见图 3B)、运动前后各补充葡萄糖 3 g/kg 模型(参见图 3C)观察大鼠心肌 AMPK 的激活情况。在这三个模型中,单纯运动组与安静对照组相比,AMPK 活性在运动后 1 h 差异有显著性($P < 0.05$),运动后 3、24 h 差异均无显著性($P > 0.05$)。单纯补糖组、运动补糖组与安静对照组相比 AMPK 活性在运动后 1、3、24 h 差异均无显著性($P > 0.05$)。

2.4 运动后不同时间不同剂量补糖大鼠心肌糖原的变化

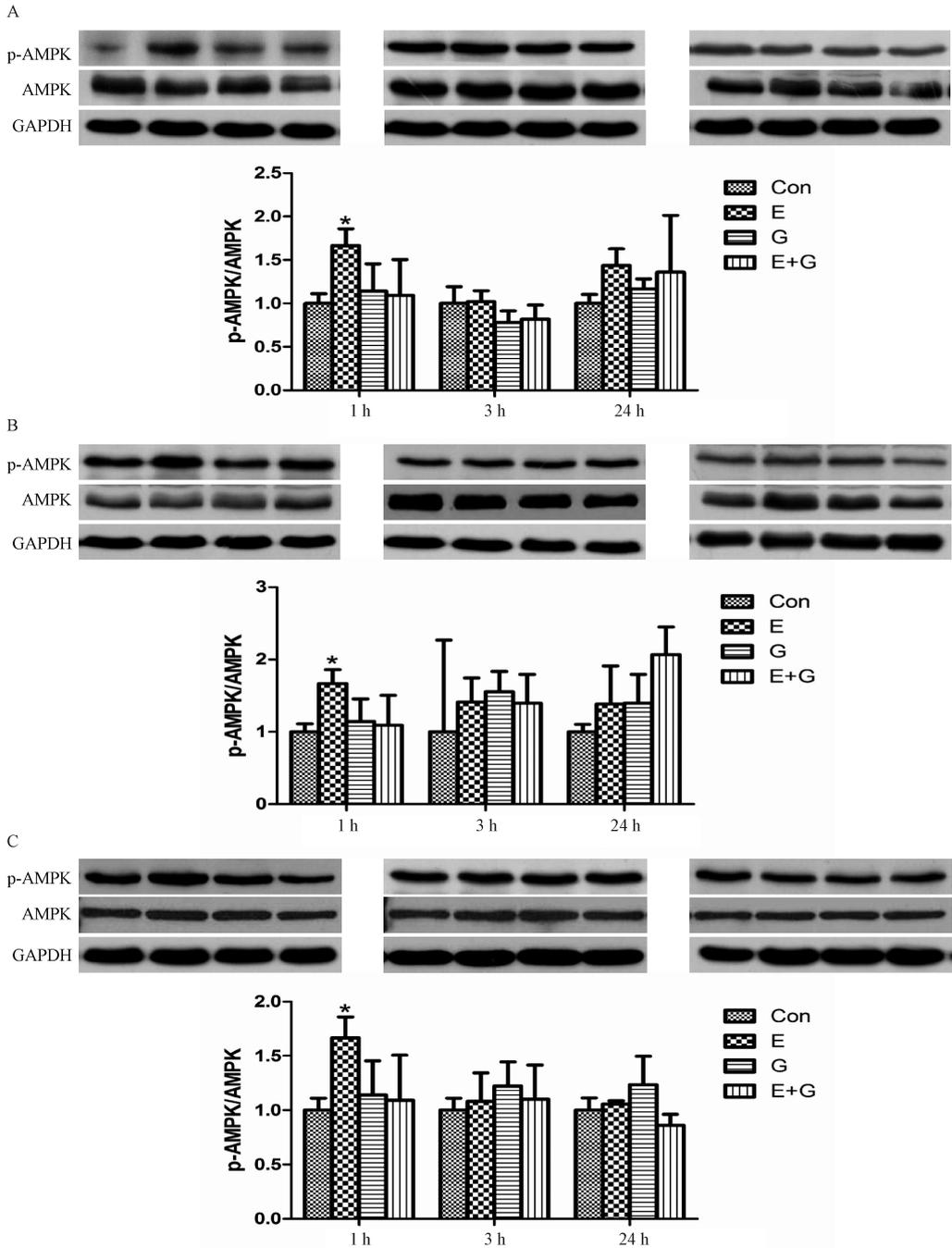
如图 4 所示,通过建立运动后补充葡萄糖 3 g/kg 模型(参见图 4A)、运动后补充葡萄糖 6 g/kg 模型(参见图 4B)和运动前后各补充葡萄糖 3 g/kg 模型(参见图 4C)观察大鼠心肌糖原含量。运动后补糖 3 g/kg 模型与运动前后各补糖 3 g/kg 模型中,单纯运动组与安静对照组相比糖原含量在运动后 1 h 差异有显著性($P < 0.05$),在运动后 3、24 h 差异无显著性($P > 0.05$);单纯补糖组、运动补糖组与安静

对照组相比糖原含量在运动或未次补糖后 1、3、24 h 差异无显著性($P > 0.05$)。运动后补糖 6 g/kg 模型中,单纯运动组与安静对照组相比糖原含量在运动后 1 h 差异有显著性($P < 0.05$),运动后 3、24 h 差异无显著性($P > 0.05$);单纯补糖组与安静对照组相比糖原含量在补糖后 1、3、24 h 差异无显著性($P > 0.05$);运动补糖组与安静对照组、单纯运动组、单纯补糖组相比糖原含量在运动后 24 h 差异有显著性($P < 0.05$),运动后 1、3 h 差异无显著性($P > 0.05$)。

3 讨论

已有研究^[16]表明,一次性大强度耐力运动能导致大鼠骨骼肌 AMPK 的激活并在运动后 1 h 达到最高水平。Coven^[17]和 Musi 等^[18]还发现,急性运动能上调心肌 AMPK 的活性,并且这种激活与运动强度有关。这些研究说明,无论在骨骼肌还是心肌,急性运动都可激活 AMPK。我们的研究进一步证实,心肌 AMPK 在长时间耐力运动中被持续激活后,AMPK 活性在运动后 1 h 仍然保持在较高水平。

有报道显示,一次性中到大强度运动会导致动



注:与安静对照组比较; * $P < 0.05$ 。

图 3 补糖对运动大鼠心肌 p-AMPK/AMPK 的影响

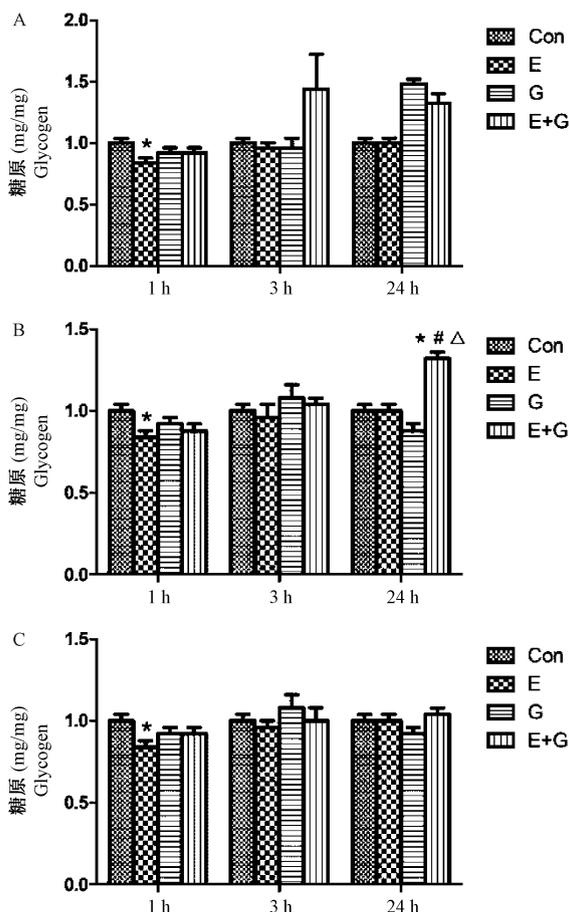
Note. * $P < 0.05$, compared with the control group.

Fig. 3 Effects of glucose supplement on p-AMPK/AMPK in the myocardium of exercised rats

物心肌糖原含量的下降^[19],我们的实验也显示大鼠在运动后 1 h 心肌糖原含量显著低于安静对照组,直到运动后 3 h 才能恢复。这提示,心肌糖原会在运动中作为能量物质被消耗,而在运动结束后,无论是否补糖,心肌糖原的下降都能在短时间内恢复。

补糖是提高葡萄糖在机体内作为各种形式如肌糖原、肝糖原、体液糖等糖储备的手段^[20-22]。在耐

力运动过程中,机体会增加血糖供能的百分比^[20],将血糖浓度维持在较高水平,以减少肌糖原的损耗^[23],而运动前后补糖常作为耐力运动的营养补充方式。一般认为,运动前补糖应控制在 15 min 以内,而运动后补糖则控制在尽可能短的时间内^[24]。有报道^[25]显示理想的补糖时间应该是运动后即刻,因为运动后 6 h 内肌肉糖原合成酶含量最高且活性



注:与安静对照组比较;* $P < 0.05$;与单纯运动组比较;# $P < 0.05$;与单纯补糖组比较;Δ $P < 0.05$ 。

图4 补糖对运动大鼠心肌糖原含量的影响

Note. * $P < 0.05$, compared with the control group; # $P < 0.05$, compared with the exercise group; Δ $P < 0.05$, compared with the glucose supplement group.

Fig. 4 Effects of glucose supplement on glycogen content in myocardium of exercised rats

强。Ivy 等^[26]也得出相似的结论,即运动后立即补糖,糖原合成效果最好。基于以上研究,我们采取了两种补糖的方法,即通过运动前 10 min 和运动后 5 min 的补糖来探讨不同时间补糖对运动大鼠 AMPK 活性的影响。研究显示,运动前补糖可以预防运动中心肌 AMPK 的活化与糖原含量的下降,而运动后补糖无论补糖剂量的大小,糖原含量在运动后 1 h 及更长时间内均不会下降。Derave 等^[27]发现,糖原含量较高的骨骼肌收缩时,AMPK 活性保持不变,而含量较低的骨骼肌收缩时,AMPK 活性显著升高。本研究也发现,运动使大鼠心肌 AMPK 活性在运动后 1 h 显著升高,3 h 恢复至安静水平,而补糖后心

肌 AMPK 活性却没有明显变化,说明运动前后补糖均能缓解运动引起的心肌糖原的消耗。本研究的两个实验提示,补糖时间和补糖剂量的差异对于 AMPK 活性的影响都是短暂的,而只有运动后大剂量补糖(6 g/kg)的大鼠心肌糖原含量会在运动后 24 h 仍显著高于安静水平,这说明运动后恢复期的大剂量补糖有利于运动后心肌糖原的超量恢复,糖储备量的上升有利于运动时的能量供应^[20,28]。

4 结论

本研究结果显示,运动诱发的心肌 AMPK 激活能在运动后短时间内恢复到安静状态。运动前后补糖能预防 AMPK 激活,运动前后小剂量补糖对心肌糖原填充无明显影响,这也就意味着一次小剂量补糖不会对下一次(24 h 后)耐力运动时心肌的能量代谢产生影响,只有大剂量补糖才可能对下一次运动心肌的能量代谢产生影响。

参考文献

- [1] Hardie DG, Hawley SA, Scott JW. AMP-activated protein kinase-development of the energy sensor concept [J]. J Physiol, 2006, 574(1): 7-15.
- [2] 张国华,朱一力,曾凡星. 不同强度运动对大鼠骨骼肌 AMP/ATP 比值和 AMPK 活性的影响 [J]. 中国体育科技, 2008,44(4): 19-23.
- [3] Hardie DG. AMP-activated/SNFI protein kinases: conserved guardians of cellular energy [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8(10): 774-785.
- [4] Lage R, Diéguez C, Vidalpuig A, et al. AMPK: a metabolic gauge regulating whole-body energy homeostasis [J]. Trends Mol Med, 2008, 14(12): 539-549.
- [5] Kola B, Hubina E, Tucci SA, et al. Cannabinoids and ghrelin have both central and peripheral metabolic and cardiac effects via AMP-activated protein kinase [J]. J Biol Chem, 2005, 280(26): 25196-25201.
- [6] Aschenbach WG, Hirshman MF, Fujii N, et al. Effect of AICAR treatment on glycogen metabolism in skeletal muscle [J]. Diabetes, 2002, 51(3): 567-573.
- [7] 梁天显. 运动对心脏机能及心肌能量代谢的影响综述 [J]. 中国校外教育下旬刊, 2010, (5): 149-149.
- [8] Barrett EJ, Schwartz RG, Francis CK, et al. Regulation by insulin of myocardial glucose and fatty acid metabolism in the conscious dog [J]. J Clin Invest, 1984, 74(3): 1073-1079.
- [9] Gertz EW, Wisneski JA, Stanley WC, et al. Myocardial substrate utilization during exercise in humans. Dual carbon-labeled carbohydrate isotope experiments [J]. J Clin Invest, 1988, 82(6): 2017-2025.
- [10] 陈岷,叶子坚,李琼. 运动中糖的分解代谢 [J]. 中国组织工程研究, 2004,8(33): 7519-7521.

- [11] Kaijser L, Lassers BW, Wahlqvist ML, et al. Myocardial lipid and carbohydrate metabolism in fasting men during prolonged exercise [J]. *J Appl Physiol*, 1972, 32(6): 847-858.
- [12] 唐海, 周亮. 补糖和刺五加调节大鼠运动后糖代谢的研究 [J]. *北京体育大学学报*, 2009, 32(6): 51-53.
- [13] 林琦, 江邦景. 持续性长时运动与补糖 [J]. *福建师范大学学报(自然科学版)*, 2000, 16(3): 97-100.
- [14] Nielsen JN, Jørgensen SB, Frøsig C, et al. A possible role for AMP-activated protein kinase in exercise-induced glucose utilization: insights from humans and transgenic animals [J]. *Biochem Soc Transact*, 2003, 31(Pt 1): 186-190.
- [15] Clark SA, Chen ZP, Murphy KT, et al. Intensified exercise training does not alter AMPK signaling in human skeletal muscle [J]. *Am J Endocrinol Metab*, 2004, 286(286): E737-743.
- [16] 马廷超, 朱荣, 许寿生, 等. 一次大强度耐力运动中 AMPK 活性变化对 Akt-mTOR 信号通路的影响 [J]. *北京体育大学学报*, 2013, 36(4): 53-57.
- [17] Coven DL, Hu X, Cong L, et al. Physiological role of AMP-activated protein kinase in the heart: graded activation during exercise [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2003, 285(3): E629-636.
- [18] Musi N, Hirshman MF, Arad M, et al. Functional role of AMP-activated protein kinase in the heart during exercise [J]. *FEBS Letters*, 2005, 579(10): 2045-2050.
- [19] 宋桂茹. 运动时心肌的乳酸代谢 [J]. *天津体育学院学报*, 1993, 8(1): 86-88.
- [20] 林琦, 江邦景. 持续性长时运动与补糖 [J]. *福建师大学报(自然科学版)*, 2000, 16(3): 97-100.
- [21] Schabort EJ, Bosch AN, Weltan SM, et al. The effect of a pre-exercise meal on time to fatigue during prolonged cycling exercise [J]. *Med Sci Sports Exercise*, 1999, 31(3): 464-471.
- [22] Burke LM, Collier GR, Hargreaves M. Glycemic index — a new tool in sport nutrition? [J]. *Int J Sport Nutrit*, 1998, 8(4): 401-415.
- [23] 宋永旺, 徐晓阳, 胡胜昔, 等. 血糖指数在耐力运动中应用的研究进展 [J]. *南京体育学院学报(自然科学版)*, 2006, 5(4): 23-27.
- [24] 孙兰, 孙教五, 曹俊. 大学生身体素质与体育锻炼习惯的研究 [J]. *体育世界: 学术版*, 2008, (6): 117-120.
- [25] 陈吉棣. 营养与体能和健康的研究进展 [J]. *北京: 体育科学*, 1998, 18(3): 65-70.
- [26] Ivy JL, Katz AL, Cutler CL, et al. Muscle glycogen synthesis after exercise: effect of time of carbohydrate ingestion [J]. *J Appl Physiol*, 1988, (4): 1480-1485.
- [27] Derave W, Ai H, Ihlemann J, et al. Dissociation of AMP-activated protein kinase activation and glucose transport in contracting slow-twitch muscle [J]. *Diabetes*, 2000, 49(8): 1281-1287.
- [28] 魏守刚, 孙廷莹. 糖与耐力运动 [J]. *山东体育科技*, 1996, (1): 58-60.

[收稿日期] 2016-10-10

(上接第 443 页)

- [3] Smith EC, Padnos B, Cordon CJ. Peripheral versus central muscarinic effects on blood pressure, cardiac contractility, heart rate, and body temperature in the rat monitored by radiotelemetry [J]. *Pharmacol Toxicol*. 2001, 89(1): 35-42.
- [4] 张利棕, 潘水珍, 周卫民, 等. 应用遥测技术对 SHR 大鼠血压、心率变异性月龄动态变化和性别差异的研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2015, 25(1): 15-19.
- [5] 方贤磊, 李杨, 聂李亚, 等. 肺功能分析在放射性肺损伤防治药物药效评价中的作用 [J]. *军事医学*, 2015, 39(7): 519-522.
- [6] 彭辉, 郭家彬, 袁海涛, 等. 富马酸(R,R)戊乙奎醚对清醒 Beagle 犬心血管系统及体温的影响 [J]. *中国新药杂志*, 2016, 25(14): 1581-1586.
- [7] 刘新年. 多索茶碱治疗慢性阻塞性肺疾病 40 例 [J]. *实用医学杂志*, 2007, 23(23): 3759-3760.
- [8] Delaunois A, Dedoncker P, Hanon E, et al. Repeated assessment of cardiovascular and respiratory functions using combined telemetry and whole-body plethysmography in the rat [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2009, 60(2): 117-129.
- [9] 李丽. 多索茶碱的药理学研究概述 [J]. *国外医药*. 2001, 22(2): 100-102.
- [10] 吴伟明, 陈丽佳, 鲍仕慧. 多索茶碱对实验动物心功能的影响 [J]. *医药导报*, 2006, 25(11): 1112-1114.
- [11] 黄怀焕, 林俊锋, 伍胜孟. 多索茶碱与氨茶碱治疗老年患者支气管哮喘急性发作的疗效及对肺功能的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2015, 25(32): 101-104.

[收稿日期] 2016-11-21