

α -硫辛酸通过激活 AMPK/mTOR 通路改善 2 型糖尿病大鼠肝脏病变*

邱 轩¹, 于 磊², 田思宇³, 陈雅洁⁴, 阎红伶¹, 刘宽芝^{1△}

(1. 河北医科大学第三医院内分泌科, 石家庄 050000, 2. 衡水市第四人民医院内分泌科, 衡水 053000, 3. 河北医科大学研究生学院, 4. 河北医科大学第三医院肝胆外科, 石家庄 050000)

【摘要】 目的: 探讨 α -硫辛酸是否通过激活腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK)/雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 通路改善 2 型糖尿病 (T2DM) 大鼠肝损伤。**方法:** 应用高糖高脂饮食联合链脲佐菌素 27.5 mg/(kg·d) 腹腔注射法制备 T2DM 大鼠模型。将 32 只成模大鼠随机分为 4 组: T2DM 组、 α -硫辛酸组、Compound C (AMPK 抑制剂) 组和 α -硫辛酸 + Compound C 组, 每组各 8 只。另 8 只健康 Sprague-Dawley (SD) 大鼠作为正常对照组。 α -硫辛酸注射液 100 mg/(kg·d) 腹腔注射, Compound C 20 mg/(kg·d) 腹腔注射, 药物干预共持续 8 周。检测相关生化指标; 计算肝脏质量指数; 进行光镜、电镜观察; 采用 Western blot 方法检测大鼠肝脏中 AMPK、p-AMPK、mTOR、p-mTOR 蛋白的表达水平。**结果:** 与正常对照组相比, T2DM 组大鼠肝脏质量指数、胰岛素抵抗指数、空腹血糖、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、 γ -谷氨酰转肽酶、甘油三酯水平均升高 (P 均 < 0.05); 肝组织结构损伤, 脂肪变明显; 肝脏组织中 p-AMPK 表达显著减少 ($P < 0.05$), p-mTOR 表达显著增多 ($P < 0.05$)。 α -硫辛酸可逆转上述改变, 改善大鼠的胰岛素抵抗 ($P < 0.05$), 保护肝脏的结构和功能, 同时激活肝细胞内的 AMPK/mTOR 通路 (P 均 < 0.05)。应用 Compound C 抑制 AMPK 活性后, α -硫辛酸的上述保护作用受到抑制 ($P < 0.05$)。**结论:** α -硫辛酸可通过激活 AMPK/mTOR 信号通路发挥对 T2DM 大鼠的肝脏保护作用。

【关键词】 α -硫辛酸; 2 型糖尿病; 糖尿病性肝损伤; AMPK/mTOR 通路

【中图分类号】 R587.1

【文献标识码】 A

【文章编号】 1000-6834(2024)01-141-006

【DOI】 10.12047/j.cjap.6312.2022.098

α -lipoic acid ameliorates liver injury in rats with type 2 diabetes mellitus via activating AMPK/mTOR pathway

QIU Xuan¹, YU Lei², TIAN Si-yu³, CHEN Ya-jie⁴, YAN Hong-ling¹, LIU Kuan-zhi^{1△}

(1. Department of Endocrinology, the Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000; 2. Department of Endocrinology, No. 4 People's Hospital of Hengshui, Hengshui 053000; 3. Graduate School of Hebei Medical University;

4. Department of Hepatobiliary Surgery, Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050051, China)

【ABSTRACT】 Objective: To investigate the effect of α -lipoic acid in ameliorating liver injury in rats with type 2 diabetes mellitus via activating adenosine 5'-monophosphate-activate protein kinase (AMPK)/mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway. **Methods:** The T2DM rat models were established by feeding with high-fat, high-sucrose diet and intraperitoneal injection of 27.5 mg/(kg·d) streptozotocin. The 32 rats with T2DM were randomly divided into 4 groups: T2DM group, α -lipoic acid group (LA), Compound C group (Comp C, an inhibitor of AMPK) and LA+Comp C group, with 8 rats in each group. Additionally, 8 Sprague-Dawley (SD) rats without diabetes were set as normal control. The rats received α -lipoic acid at a dosage of 100 mg/(kg·d) or Compound C at a dosage of 20 mg/(kg·d) by intraperitoneal injection for 8 weeks as needed. The levels of relevant biochemical indexes were detected. The weight of liver was recorded to calculate liver weight index (LWI), and the pathological changes of liver tissues were detected by light and electron microscopy. The levels of AMPK, p-AMPK, mTOR, p-mTOR in rat liver were detected by Western blot. **Results:** Compared with control group, the levels of LWI, homeostasis model assessment of insulin resistance, fasting blood glucose, alanine transaminase, aspartate transaminase, gamma glutamyl transferase and triglyceride in T2DM group were increased significantly (all $P < 0.05$). The liver tissue lesions were more serious and hepatic steatosis grade was higher. The expression of p-AMPK was decreased ($P < 0.05$) and the expression of p-mTOR was increased significantly ($P < 0.05$). α -lipoic acid could reverse the above-mentioned changes, ameliorate insulin resistance (all $P < 0.05$), protect the structure and function of liver, and activate the AMPK/mTOR pathway ($P < 0.05$). The protection of α -lipoic acid was weakened by the inhibition of AMPK with Compound C ($P < 0.05$). **Conclusion:** α -lipoic acid could protect the liver of rats with T2DM by activating AMPK/mTOR pathway.

【KEY WORDS】 α -lipoic acid; type 2 diabetes mellitus; diabetic liver injury; Adenosine 5'-monophosphate-activate protein kinase (AMPK)/mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway

糖尿病地图(第10版)的数据显示,2021年全球成年糖尿病患者人数高达5.37亿(10.5%)^[1]。2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)引发多种慢性并发症,既往研究多集中于糖尿病大血管病变和糖尿病微血管病变。近年来,糖尿病导致的肝损伤逐渐受到临床医生和科研人员的关注。肝脏脂肪代谢障碍、炎症反应、自噬流异常调节等均可导致或加重糖尿病性肝损伤^[2]。T2DM是非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)、非酒精性脂肪性肝炎和进展性肝纤维化的危险因素^[3]。对糖尿病患者的肝脏保护是一个亟需解决的临床问题,迫切需要针对其发病机制及筛选药物治疗靶点,进行深入研究。

腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate-activate protein kinase, AMPK)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)均是细胞代谢的重要调节因子,可调节肝脏脂质合成,在糖脂代谢中起着重要的作用。AMPK/mTOR通路参与NAFLD、肝癌等多种肝脏疾病的发生发展^[4,5]。糖尿病对肝脏AMPK/mTOR通路活性存在一定影响^[6,7]。研究显示,高血糖可通过抑制AMPK/mTOR通路加重小鼠急性肝损伤^[6],而激活AMPK/mTOR通路可减少肝脏脂肪沉积,改善糖尿病大鼠的肝脏损伤^[7]。AMPK/mTOR通路或可成为治疗糖尿病性肝损伤的新靶点。

鉴于糖尿病具有治疗的长期性、用药的复杂性等特点,一药多用、老药新用在糖尿病及其并发症治疗过程中显得尤为重要。 α -硫辛酸是一种抗氧化剂,在临床中广泛应用于治疗糖尿病周围神经病变。有研究显示, α -硫辛酸干预对NAFLD有一定的改善作用,然而其机制仍未系统性阐明。既往研究显示, α -硫辛酸可激活甲状腺癌细胞内的AMPK,并抑制其下游的mTOR^[8],也可通过激活AMPK/mTOR通路改善糖尿病肾病^[9]。在此基础上,本研究将通过T2DM大鼠模型,探讨 α -硫辛酸是否可激活肝细胞内的AMPK/mTOR通路,进而改善大鼠的肝损伤,为其临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

于河北医科大学动物实验中心购入雄性Sprague-Dawley(SD)大鼠40只,200~220 g,6周龄,清洁级[合格证编号:1604022,生产许可证号:SCXK(冀)2013-1-003]。动物自由进食进水,动物房恒温(25±1)℃、隔音、光/暗周期12 h。造模前进行2周适应性喂养。

1.2 主要试验试剂

STZ、Compound C(AMPK抑制剂,美国Sigma公司), α -硫辛酸注射液(中国亚宝药业太原制药有限公司),anti-phospho-AMPK α (Thr172)、anti-mTOR(美国Cell Signaling Technology公司),anti-AMPK、anti-mTOR(phosphor S2481),anti-GAPDH、山羊抗兔二抗、山羊抗鼠二抗(美国Proteintech公司),二喹啉甲酸(BCA,中国Generey biotechnology公司)。

1.3 模型制备

在40只SD大鼠中,随机抽取8只作为正常对照组,常规饲料喂养,其余32只SD大鼠用于制备T2DM模型,应用高糖高脂饲料(脂肪占比34.5%、蛋白质占比17.5%、碳水化合物占比48%)喂养。于4周末,应用STZ(0.1 mol/L的柠檬酸配制,pH 4.5)27.5 mg/kg腹腔注射进行造模^[10]。于实验5周末,鼠尾静脉采血进行空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)检测。以FBG>11.1 mmol/L作为造模成功标准,T2DM造模成功率为100%。

1.4 分组与处理

将32只T2DM大鼠随机分为4个组($n=8$):T2DM组、 α -硫辛酸组、Compound C组和 α -硫辛酸+Compound C组。T2DM造模成功后,进行为期8周(即实验第6周至13周)的药物干预,方法如下:正常对照组与T2DM组大鼠每日生理盐水腹腔注射; α -硫辛酸组大鼠每日 α -硫辛酸注射液(100 mg/kg)腹腔注射^[10];Compound C组大鼠每日Compound C(20 mg/kg)腹腔注射; α -硫辛酸+Compound C组:每日 α -硫辛酸注射液(100 mg/kg)、Compound C(20 mg/kg)腹腔注射。

1.5 动物取材

腹主动脉取血,检测空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、 γ -谷氨酰转肽酶(γ -glutamyl transferase, γ -GT)、甘油三酯(triglyceride, TG)、胰岛素水平,计算胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of in-

*【基金项目】河北省自然科学基金项目(H2020206490),河北省医学科学研究课题计划项目(20190640);河北省政府资助省级临床医学优秀人才项目

【收稿日期】2022-04-12【修回日期】2022-09-03

△【通讯作者】Tel: 18533112966; E-mail: liukuanzhi0214@163.com

sulin resistance, HOMA-IR = FBG × 空腹胰岛素 / 22.5); 取大鼠肝脏称重, 计算肝脏质量指数 (liver weight index, LWI, = 肝脏重 / 体重); 取部分肝组织用 4% 多聚甲醛固定, 用于苏木精-伊红 (Hematoxylin-Eosin, HE) 染色, 另取部分肝组织用 4% 戊二醛进行固定, 以备电镜观察使用; 剩余肝组织用液氮保存, 以备 Western blot 检测。

1.6 组织病理学观察

4% 多聚甲醛固定肝组织, 用石蜡进行包埋后, 连续切片, 行 HE 染色, 光学显微镜观察大鼠肝组织的病理学变化。制备切片于我校电镜室进行透射电镜观察。

1.7 Western blot 检测

BCA 法进行蛋白定量, 用 15% 的 SDS 聚丙烯酰胺凝胶 200 mA 恒流模式下进行蛋白电泳, 冰上转膜 90 min, 湿转法将蛋白转至 PVDF 膜上, TBST 溶液中加入 5% 脱脂奶粉用于非特异性抗体封闭, 4℃ 环境中应用一抗孵育过夜, 用 TBST 溶液清洗 PVDF 膜 3 次, 室温环境中孵育二抗 1 h, 再次使用 TBST

溶液清洗 PVDF 膜 3 次, 之后进行蛋白显影, 应用 Quantity One 分析, 以目的蛋白和内参蛋白的比值作为蛋白相对表达量。

1.8 统计学处理

数据均用均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 Graph-Pad Prism 5 进行数据的统计及图表的绘制, 数据间两两比较应用 *t* 检验, 组间比较应用 SNK 检验。

2 结果

2.1 α-硫辛酸对与肝功能相关指标的影响

与正常对照组相比, T2DM 组大鼠 LWI、HOMA-IR、FBG、ALT、AST、γ - GT、TG 均显著升高 (*P* 均 < 0.05); α-硫辛酸干预可显著降低大鼠 LWI、HOMA-IR、ALT、AST、γ - GT、TG 水平 (*P* 均 < 0.05); Compound C 组与 T2DM 组相比, 各血清检测指标均无统计学差异 (*P* 均 > 0.05); 与 α-硫辛酸组相比, α-硫辛酸 + Compound C 组 LWI、HOMA-IR、ALT、AST、γ - GT、TG 水平均显著升高 (*P* 均 < 0.05, 表 1)。

Tab. 1 Comparison of related parameters in each group ($\bar{x} \pm s$, *n* = 8)

Group	LWI	HOMA-IR	FBG	ALT	AST	GGT	TG
Control	3.044 ± 0.212	3.768 ± 1.179	5.114 ± 0.644	28.250 ± 8.812	55.500 ± 18.166	12.750 ± 6.882	0.484 ± 0.419
T2DM	4.854 ± 0.607*	24.105 ± 3.617*	21.280 ± 3.640*	68.000 ± 14.832*	96.125 ± 14.961*	54.000 ± 19.428*	2.234 ± 1.115*
ALA	3.125 ± 0.510#	11.713 ± 1.986*#	20.613 ± 4.230*	44.625 ± 10.609*#	60.625 ± 15.982#	30.875 ± 8.543*#	1.256 ± 0.329#
CompC	4.954 ± 0.204* [△]	23.810 ± 3.339* [△]	20.734 ± 4.420*	79.000 ± 17.004* [△]	96.625 ± 23.433* [△]	55.125 ± 14.875* [△]	2.591 ± 0.916* [△]
ALA+CompC	4.896 ± 0.410* [△]	20.453 ± 2.152*# [△]	20.825 ± 4.790*	74.125 ± 17.058* [△]	92.875 ± 25.374* [△]	58.125 ± 14.506* [△]	2.713 ± 0.749* [△]

T2DM: Type 2 diabetes mellitus; ALA: α-lipoic acid; CompC: Compound C; LWI: Liver weight index; HOMA-IR: Homeostasis model assessment of insulin resistance; FBG: Fasting blood glucose; ALT: Alanine transaminase; AST: Aspartate transaminase; γ -GT: Gamma glutamyl transferase; TG: Triglyceride

**P* < 0.05 vs control group; #*P* < 0.05 vs T2DM group; [△]*P* < 0.05 vs ALA group; [▲]*P* < 0.05 vs CompC group

2.2 α-硫辛酸对肝脏组织病理学的影响

肝组织 HE 染色图片显示, 正常对照组大鼠肝小叶结构规则, 肝细胞大小一致, 排列有序; T2DM 组大鼠出现肝细胞脂肪变, 可见大泡型为主的脂滴, 大量炎性细胞浸润, 伴有点状坏死, 部分组织可见血管周围炎, 汇管区有少量纤维组织增生表现; α-硫辛酸组大鼠较 T2DM 组肝细胞脂肪变明显改善, 可见少量细小脂肪空泡和炎性细胞浸润; Compound C 组大鼠肝脏病变严重, 肝细胞大量脂肪变, 伴有大量细胞炎症和坏死表现; α-硫辛酸 + Compound C 组大鼠可见部分肝细胞脂肪变性, 大部分脂滴呈小空泡, 也可见少量大泡型脂滴, 炎症反应较重, 也可见少量细胞坏死 (图 1)。

电镜下观察可见, 正常对照组大鼠肝细胞核形状规则, 核膜光滑完整, 核周隙均匀无扩张, 线粒体形状规则, 结构清晰, 胞浆内可见极少量脂滴; T2DM

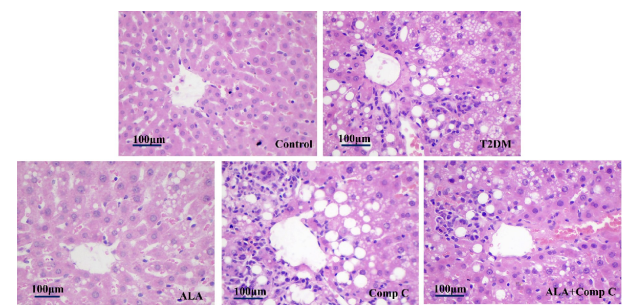


Fig. 1 HE-stained liver tissues in each group

T2DM: Type 2 diabetes mellitus; ALA: α-lipoic acid; Comp C: Compound C

组大鼠肝细胞核形状不规则, 核周隙明显扩张, 线粒体肿胀, 嵴出现融合, 胞浆内可见大量脂肪滴, 且大小不一; 与 T2DM 组相比, α-硫辛酸组大鼠肝组织中细胞核形状较为规则, 核间隙大致正常, 肝细胞脂肪变及线粒体肿胀明显减轻; Compound C 组大鼠肝细胞细胞核出现固缩, 线粒体结构模糊, 脂肪变严重;

α -硫辛酸+Compound C 组大鼠肝细胞结构较为规则,线粒体部分轻度肿胀,可见部分脂肪滴(图2)。

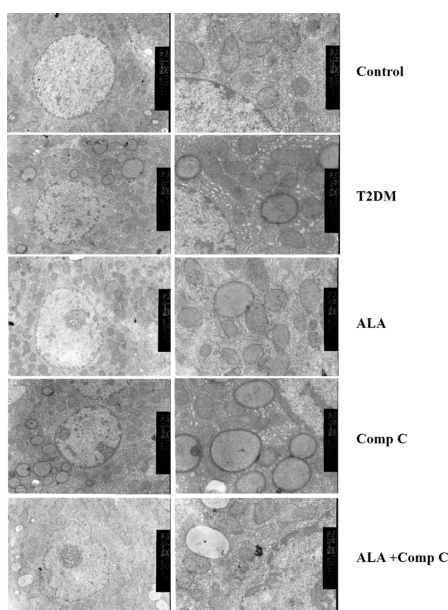


Fig. 2 The microstructure of liver tissues in each group
T2DM: Type 2 diabetes mellitus; ALA: α -lipoic acid;
Comp C: Compound C

2.3 α -硫辛酸对 AMPK/mTOR 通路的影响

Western blot 检测结果表明,与正常对照组比较,T2DM 组大鼠肝脏组织中 p-AMPK 表达显著减少($P<0.05$),p-mTOR 表达显著增加($P<0.05$); α -硫辛酸可激活 AMPK/mTOR 通路(P 均 <0.05)。应用 Compound C 后, α -硫辛酸对 AMPK/mTOR 通路的激活作用受到抑制(P 均 <0.05 ,表2,图3)。

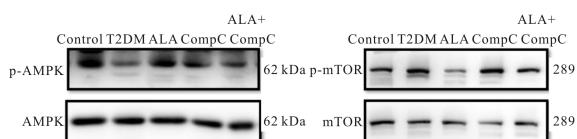


Fig. 3 Expressions of AMPK/mTOR in nephridial tissues of each group

T2DM: Type 2 diabetes mellitus; ALA: α -lipoic acid;
CompC: Compound C; AMPK: Adenosine 5'-monophosphate-activate protein kinase; mTOR: Mammalian target of rapamycin

Tab. 2 Densitometric analyses of AMPK/mTOR in nephridial tissues of each group ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Group	p-AMPK/AMPK	p-mTOR/mTOR
Control	1	1
T2DM	0.379 \pm 0.107*	1.752 \pm 0.200*
ALA	1.378 \pm 0.319*#	0.544 \pm 0.096*#
CompC	0.317 \pm 0.064* Δ	1.861 \pm 0.299* Δ
ALA+CompC	0.415 \pm 0.061* Δ	1.452 \pm 0.360*# Δ \blacktriangle

T2DM: Type 2 diabetes mellitus; ALA: α -lipoic acid;
CompC: Compound C

* $P<0.05$ vs control group; # $P<0.05$ vs T2DM group; Δ $P<0.05$ vs ALA group; \blacktriangle $P<0.05$ vs CompC group

3 讨论

T2DM 是一组代谢性疾病,除了引起高血糖以外,还会导致胰岛素抵抗、脂代谢紊乱等一系列代谢问题。胰岛素抵抗会导致胰岛素对脂质分解代谢的抑制作用减弱,脂肪分解加剧,游离脂肪酸增多,超过肝脏代偿能力,形成肝细胞脂肪变性。随着肝脏脂肪化的比例和程度逐渐增加,可能进一步导致转氨酶升高、肝脏纤维化甚至肝癌。结果表明,T2DM 大鼠血糖升高、胰岛素抵抗、脂代谢紊乱,同时转氨酶升高,LWI 增大,肝脏的显微结构和超微结构都出现明显的病理学改变,说明 T2DM 导致大鼠肝脏的结构和功能损伤。

糖尿病性肝损伤发病机制复杂,个体化差异较大。AMPK 作为一种广泛参与调节细胞代谢的激酶,可通过多个靶点调节蛋白磷酸化或基因转录,参与脂质合成、氧化和分解。T2DM 可导致大鼠肝组织中 AMPK 表达减少^[11],而激活肝细胞中的 AMPK 可以改善脂代谢、降低炎症反应、减少肝脏纤维化。mTOR 是细胞生长和代谢稳态的重要调节因子,可通过固醇调节元件结合蛋白 1 (sterol regulatory element-binding protein 1, SREBP1) 促进肝脏脂质合成,在糖脂代谢中起着重要的作用。在本研究中观察到 T2DM 导致大鼠肝细胞中 AMPK 磷酸化程度降低, mTOR 的磷酸化程度升高,进而出现肝损伤。既往研究显示,高糖环境可抑制 AMPK/mTOR 通路及其相关自噬,而上调肝巨噬细胞 NLRP₃ 炎性小体活性,加重急性肝损伤^[6]。激活 db/db 糖尿病小鼠肝细胞中的 AMPK/mTOR 通路可减轻肝脏脂肪变^[12]。激活 AMPK/mTOR 通路为糖尿病相关肝损伤的治疗提供新靶点和新思路。

α -硫辛酸是一种强效的抗氧化剂,在临床中广泛应用于糖尿病周围神经病变的治疗。近期研究发现, α -硫辛酸在改善脂代谢及肝脏脂肪变方面也具有一定作用^[13-15]。 α -硫辛酸可通过抗氧化、保护线粒体、抑制炎症因子、抗凋亡等途径缓解肝损伤^[15];降低血清 TG 水平,改善大鼠肝脏脂肪变^[13];也可降低 ALT、AST 水平,改善肝纤维化^[14]。本研究结果提示, α -硫辛酸组较 T2DM 组大鼠血清 TG、AST、ALT、 γ -GT 水平明显降低,LWI 下降,肝脏的病理学改变减轻,说明 α -硫辛酸可改善 T2DM 大鼠的血脂,保护肝功能,缓解肝脏脂肪变。本研究为 α -硫辛酸在糖尿病慢性并发症的治疗提供新靶点。

既往研究显示, α -硫辛酸对 AMPK/mTOR 通路具有双向调节作用。 α -硫辛酸可通过抑制 AMPK/

mTOR 介导的细胞自噬,改善 6-羟基多巴胺诱导的神经细胞损伤^[16] 和糖尿病血管平滑肌细胞损伤^[10];可通过激活 AMPK,抑制 mTOR,减缓甲状腺癌细胞增殖^[8] 及改善糖尿病肾病^[9]。在本研究中, α -硫辛酸组较 T2DM 组 AMPK 活性增加,mTOR 活性减低,应用 compound C 抑制 AMPK 活性后, α -硫辛酸的肝脏保护作用减弱。可见, α -硫辛酸通过激活 AMPK/mTOR 通路缓解糖尿病肝损伤。

α -硫辛酸通过 AMPK/mTOR 信号通路干预肝损伤的机制尚不明确,可能与以下机制有关:(1)上调 SREBP1 表达,改善肝细胞的脂质代谢,减少肝脏脂肪堆积^[17, 18]; (2)激活肝细胞自噬,保护肝功能^[19-22]; (3)激活脂噬,减少脂滴形成,延缓肝细胞衰老^[19]; (4)降低活性氧含量,上调超氧化物歧化酶活性,改善肝脏内的氧化应激^[23]; (5)改善内质网应激,抑制肝细胞凋亡,改善炎症反应^[20, 21, 23]。在后续研究中,将对 α -硫辛酸通过激活 AMPK/mTOR 通路保护肝细胞的具体作用机制进行深入研究。

综上所述,本研究结果表明, α -硫辛酸通过激活 AMPK/mTOR 通路改善 T2DM 大鼠肝损伤,为糖尿病患者肝损伤的治疗提供新的思路,为 α -硫辛酸的临床应用提供实验依据。

【参考文献】

- [1] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183: 109119.
- [2] Qian H, Chao X, Williams J, et al. Autophagy in liver diseases: A review[J]. *Mol Aspects Med*, 2021, 82: 100973.
- [3] Targher G, Corey KE, Byrne CD, et al. The complex link between NAFLD and type 2 diabetes mellitus - mechanisms and treatments[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(9): 599-612.
- [4] Meng Z, Liu X, Li T, et al. The SGLT2 inhibitor empagliflozin negatively regulates IL-17/IL-23 axis-mediated inflammatory responses in T2DM with NAFLD via the AMPK/mTOR/autophagy pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 94: 107492.
- [5] Gao C, Fang L, Zhang H, et al. Metformin induces autophagy via the AMPK-mTOR signaling pathway in human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 5803-5811.
- [6] Wang Q, Wei S, Zhou S, et al. Hyperglycemia aggravates acute liver injury by promoting liver-resident macrophage NLRP3 inflammasome activation via the inhibition of AMPK/mTOR-mediated autophagy induction[J]. *Immunol Cell Biol*, 2020, 98(1): 54-66.
- [7] Zhu Y, Su Y, Zhang J, et al. Astragaloside IV alleviates liver injury in type 2 diabetes due to promotion of AMPK/mTOR-mediated autophagy[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(6): 437.
- [8] Jeon MJ, Kim WG, Lim S, et al. Alpha lipoic acid inhibits proliferation and epithelial mesenchymal transition of thyroid cancer cells[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2016, 419: 113-123.
- [9] 邱 轩, 季 虹, 陈雅洁, 等. α -硫辛酸通过激活腺苷酸活化蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白通路改善糖尿病肾脏疾病的研究[J]. *中国糖尿病杂志*, 2021, 29(12): 916-922.
- [10] Qiu X, Liu K, Xiao L, et al. Alpha-lipoic acid regulates the autophagy of vascular smooth muscle cells in diabetes by elevating hydrogen sulfide level[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(11): 3723-3738.
- [11] 王天源, 王晓慧. 有氧运动对糖尿病大鼠 PPAR α 信号通路的影响及其与 PPAR γ 关系[J]. *中国应用生理学杂志*, 2020, 36(4): 312-317.
- [12] Zhong J, Gong W, Lu L, et al. Irbesartan ameliorates hyperlipidemia and liver steatosis in type 2 diabetic db/db mice via stimulating PPAR- γ , AMPK/Akt/mTOR signaling and autophagy[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 42: 176-184.
- [13] 孙红爽, 乜春城, 李鹏霖, 等. 高脂饲料结合慢性应激致大鼠非酒精性脂肪肝的药物疗法[J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40(1): 177-181.
- [14] 杜 斌, 杨志勇, 蔡维维, 等. α -硫辛酸对四氯化碳诱导小鼠肝纤维化的保护作用[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(6): 1320-1322.
- [15] 王 佳, 王丽萍, 张 伟. 硫辛酸灌胃对大鼠肾缺血再灌注后肝损伤的防治作用及机制探讨[J]. *山东医药*, 2017, 57(47): 31-34.
- [16] Zhou L, Cheng Y. Alpha-lipoic acid alleviated 6-OHDA-induced cell damage by inhibiting AMPK/mTOR mediated autophagy[J]. *Neuropharmacology*, 2019, 155: 98-103.
- [17] Liu G, Kuang S, Cao R, et al. Sorafenib kills liver cancer cells by disrupting SCD1-mediated synthesis of monounsaturated fatty acids via the ATP-AMPK-mTOR-SREBP1 signaling pathway[J]. *FASEB J*, 2019, 33(9): 10089-10103.
- [18] 王 锋, 张海峰. 利拉鲁肽联合维生素 D 对高脂诱导非酒精性脂肪肝小鼠的影响及机制[J]. *中国应用生理学杂志*, 2020, 36(3): 261-265.

时发现,Omi 与 XIAP 在离心运动诱导的肌细胞凋亡中存在相互结合作用。以上结果提示,在大负荷离心运动诱导的骨骼肌细胞凋亡中,Omi 可能通过结合并抑制 XIAP,进而终止 XIAP 对 Caspase-9 及 Caspase-3 的活化,启动依赖 Caspase-9 的线粒体凋亡途径,最终导致肌细胞凋亡。

综上所述,一次性大负荷离心运动可以诱导大鼠骨骼肌线粒体形态结构发生改变,使 MPTP 高通透性开放,Omi 蛋白表达上调,进而通过其下游的 XIAP-Caspase 途径,启动线粒体凋亡途径,最终导致肌细胞发生凋亡。而抑制 Omi 可降低运动诱导骨骼肌细胞的凋亡水平。

【参考文献】

- [1] 宋卫红, 汤长发, 刘文锋. 离心运动对大鼠骨骼肌细胞凋亡和增殖的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2013, 29(1): 86-90.
- [2] Du Y, Yang D, Dong X, *et al.* Omi inhibition ameliorates neuron apoptosis and neurological deficit after subarachnoid hemorrhage in rats[J]. *Genes Genom*, 2021, 43(12): 1423-1432.
- [3] Su XJ, Huang L, Qu Y, *et al.* Progress in research on the role of Omi/HtrA2 in neurological diseases[J]. *Rev Neurosci*, 2019, 30(3): 279-287.
- [4] 赵晓琴, 孙君志, 白胜超, 等. 针刺对离心运动大鼠骨骼肌 Omi/XIAP 信号通路的影响[J]. 西安体育学院学报, 2018, 35(4): 468-477.
- [5] 张欣, 王瑞元. 大负荷运动诱导大鼠骨骼肌损伤对其自噬超微结构及 Beclin1 和 LC-3 II/I 的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2020, 36(4): 296-300.
- [6] Wang P, Hu Y, Yao D, *et al.* Omi/HtrA2 regulates a mitochondria-dependent apoptotic pathway in a murine model of septic encephalopathy[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(6): 2163-2173.
- [7] 连婷, 张瑞君, 熊晓兰, 等. 线粒体通透性转换孔在锌缺乏模型大鼠心肌缺血/再灌注损伤中的作用[J]. 基础医学与临床, 2022, 42(3): 389-394.
- [8] 张海平, 宋吉锐. 一次力竭性离心运动对大鼠肱三头肌超微结构的影响[J]. 上海体育学院学报, 2008, 32(5): 44-47.
- [9] Halestrap AP. What is the mitochondrial permeability transition pore[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 46(6): 821-831.
- [10] 王振涛, 任雪萍, 吴鸿, 等. 抗纤益心方干预线粒体通透性转换孔抑制心肌细胞凋亡的机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(18): 42-48.
- [11] Chung HJ, Jamal MAHM, Hong ST. The function of bacterial HtrA is evolutionally conserved in mammalian HtrA2/Omi[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 5284.
- [12] Liu D, Wu L, Wu Y, *et al.* Heat shock factor 1-mediated transcription activation of Omi/HtrA2 induces myocardial mitochondrial apoptosis in the aging heart[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(20): 8982-8997.
- [13] Liu X, Lei J, Wang K, *et al.* Mitochondrial Omi/HtrA2 promotes caspase activation through cleavage of HAX-1 in aging heart[J]. *Rejuven Res*, 2017, 20(3): 183-192.
- [14] Jost PJ, Vucic D. Regulation of cell death and immunity by XIAP[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2020, 12(8): a036426.
- [15] Tu H, Costa M. XIAP's profile in human cancer[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(11): 1493-1493.
- [16] Winkler J, Rand ML, Schmutz M, *et al.* Omi/HtrA2 and XIAP are components of platelet apoptosis signalling[J]. *Thromb Haemost*, 2013, 109(3): 532-539.
- [17] Wang P, Hu Y, Yao D, *et al.* Omi/HtrA2 regulates a mitochondria-dependent apoptotic pathway in a murine model of septic encephalopathy[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(6): 2163-2173.
- [19] Gao Y, Zhang W, Zeng LQ, *et al.* Exercise and dietary intervention ameliorate high-fat diet-induced NAFLD and liver aging by inducing lipophagy[J]. *Redox Biol*, 2020, 36: 101635.
- [20] Liang Y, Zhang Z, Tu J, *et al.* γ -Linolenic acid prevents lipid metabolism disorder in palmitic acid-treated alpha mouse liver-12 cells by balancing autophagy and apoptosis via the LKB1-AMPK-mTOR pathway[J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(29): 8257-8267.
- [21] Nasiri-Ansari N, Nikolopoulou C, Papoutsis K, *et al.* Empagliflozin attenuates non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in high fat diet fed ApoE(-/-) mice by activating autophagy and reducing ER stress and apoptosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2).
- [22] 桑文华, 曾美纯, 陈莎, 等. 自噬抑制剂氯喹对急性酒精诱导小鼠肝损伤的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2018, 34(2): 102-105.
- [23] Shen B, Feng H, Cheng J, *et al.* Geniposide alleviates non-alcohol fatty liver disease via regulating Nrf2/AMPK/mTOR signalling pathways[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(9): 5097-5108.

(上接第 145 页)