

蛋白质摄入量对低能量摄入的超重雌鼠 血糖血脂及相关激素的影响

何智燕, 彭苏文, 王倩, 李煜, 田颖*

(扬州大学旅游烹饪学院, 江苏扬州 225127)

摘要: 采用动物造模与分组饲料喂养, 喂养8周, 测定各组大鼠的体重、体脂、血糖、血脂、胰岛素、胰高血糖素和瘦素含量的方法, 研究不同蛋白质摄入量对低能量摄入状态下的超重SD雌性大鼠的血糖、血脂及相关激素的影响。结果表明: 能量限制能够改善超重雌鼠的体重、体脂、血糖、血脂及瘦素含量; 在能量限制一致的情况下, 高蛋白摄入能提高超重雌鼠的血胆固醇和极低密度脂蛋白胆固醇含量, 促进胰岛素、胰高血糖素的分泌, 而对体重、体脂及瘦素含量无影响。

关键词: 蛋白质摄入量; 能量限制; 血糖; 血脂; 瘦素; 营养

中图分类号: TS 972.161

文献标志码: A

文章编号: 2095-8730(2020)02-0059-05

肥胖症是由于机体能量摄入超过消耗而导致体内脂肪堆积的一种慢性代谢疾病, 与心脑血管疾病、糖尿病等疾病的发病密切相关, 严重危害人类健康, 引起了医学界的高度重视。^[1-3] 能量限制是目前公认的对于肥胖患者比较有效的减肥方式, 但对于膳食营养素摄入量在长期减肥中的作用仍未达成共识。^[4-5] 有研究发现, 高蛋白的限能饮食能带来更大的减重效果,^[6-7] 而另一些研究发现, 蛋白质摄入量对体重下降没有影响,^[8-9] 可见蛋白质摄入量对正在减重的大鼠有无影响仍无结论。

胰岛素和胰高血糖素既是调节血糖, 也是调节三大营养代谢物最主要的两种激素, 机体内糖、脂肪、氨基酸代谢的变化主要取决于该两种激素的比例。^[10] 瘦素是脂肪细胞分泌的一种蛋白质激素, 对于调节食物摄入和能量消耗有非常重要的作用。^[11] 但有关蛋白质摄入量对正在减重的大鼠血糖、血脂及相关激素的影响尚未见报道, 因此本实验主要探讨不同蛋白质摄入量对低能量控制的超重大鼠血糖、血脂、瘦素等的影响, 为合理饮食、健康减重提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与饲料

1.1.1 实验动物

5~6周龄SD雌性大鼠36只, 平均体重为(164.4±1.7)g, 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供, 质量合格证编号: 2013001600-9088, 许可证号SCXK(沪)2013-0016。大鼠喂养及干预期间自由饮水, 12h明暗交替, 动物房温度为(22±2)℃, 相对湿度为(50±10)%。动物处理及饲养条件遵照动物福利的相关规定及《中华人民共和国实验动物管理条例》和《实验动物质量管理办法》实施。

1.1.2 饲料

实验所用普通饲料由江苏省协同医药生物工程有限责任公司提供, 合格证编号: 120180914003, 许可证号:(2019)01008。普通饲料配方参考GB14924.3-2010, 为玉米0.41%、淀粉0.14%、小麦0.10%、苜蓿草0.03%、豆粕0.11%、鱼粉0.06%、鸡肉粉0.06%、动物预混料0.04%、谷朊粉0.02%、石粉0.01%、色拉油

收稿日期: 2019-12-02 *通信作者

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81472963)

作者简介: 何智燕, 女, 扬州大学旅游烹饪学院硕士研究生, 从事营养与食品卫生学研究;

田颖, 女, 扬州大学旅游烹饪学院副教授, 博士, 从事营养学研究。

0.02%,蛋白质含量为19.20%。高脂饲料在普通饲料的基础上添加猪油0.28%、蔗糖0.10%、全脂奶粉0.10%,蛋白质含量为19.11%;30%蛋白饲料和60%蛋白饲料在普通维持饲料的基础上分别添加大豆分离蛋白(0.18%和0.61%),蛋白质含量分别为31.18%和54.90%。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器

KDN-04III 蛋白质测定仪:上海纤检仪器有限公司;7020 全自动生化分析仪:日本株式会社日立高新技术有限公司;iMark 酶标仪:美国 BIO RAD 公司。

1.2.2 试剂

血清血糖(GLU)、甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒:美康生物科技股份有限公司;胰岛素(INS)、胰高血糖素(GC)、瘦素(leptin)ELISA 试剂盒:上海恒远生物科技股份有限公司。

1.3 动物造模与分组

将36只雌性SD大鼠普通饲料适应性喂养1周后,随机分为正常对照组(NC)(6只)和造模组(30只)。NC组普通饲料喂养,造模组高脂饲料喂养,均自由进食饮水。于造模8周末,选择体重为正常对照组平均体重的1.1倍以上的大鼠共24只,按体重随机分为4组,每组6只,分别为模型对照组(MC)、低能量低蛋白组(LP)、低能量正常蛋白组(NP)、低能量高蛋白组(HP)。

1.4 干预方法

NC组:继续普通饲料喂养8周,自由进食饮水。MC组:继续高脂饲料喂养8周,自由进食饮水。LP组:能量摄入量是NC组的60%,饲料同NC组,蛋白质摄入量是NC组的60%,按NC组进食量的60%来计算该组的进食量。NP组:能量摄入量是NC组的60%,饲料为30%蛋白饲料,蛋白质摄入量等于NC组,脂肪摄入量同LP组,碳水化合物摄入量低于LP组。HP组:能量摄入量是NC组的60%,饲料为60%蛋白饲料,蛋白质摄入量是NC组的2倍,脂肪摄入量同LP组,碳水化合物摄入量低于NP组。

1.5 指标检测

干预8周后,各组大鼠禁食12h,分别称取其体重,10%水合氯醛腹腔麻醉,腹主动脉取血,取

脂肪组织(附睾周围、皮下、腹膜后、肩胛间)并称备用。分别用生化方法检测血糖(GLU)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量,然后用ELISA法检测血清胰岛素(INS)、胰高血糖素(GC)及瘦素(leptin)含量,严格按照试剂盒说明书操作。

1.6 统计学方法

采用SPSS 16.0统计软件,结果以 $\bar{x} \pm SD$ 表示,用方差分析法进行统计分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 蛋白质摄入量对低能量摄入的超重雌鼠体脂的影响

与NC组相比,MC组体重和脂肪质量显著升高($P < 0.05$),体量超过正常组的16%,说明造模成功。与MC组相比,LP、NP、HP组体重和脂肪质量显著下降($P < 0.05$),说明限制能量可以有效减轻体重,减少内脏中的脂肪含量。LP、NP、HP3组之间体重和脂肪含量均无明显差异,说明蛋白质摄入量对低能量摄入状态下的超重雌鼠体重、体脂的减少没有影响(表1)。

表1 各组大鼠体重体脂的比较($\bar{x} \pm SD, n=6$)

组别	体重/g	脂肪质量/g	脂肪:体重/%
NC	275.18 ± 19.67 ^a	10.30 ± 4.26 ^a	3.68 ± 1.32 ^a
MC	299.80 ± 19.75 ^b	16.84 ± 3.32 ^b	5.73 ± 1.00 ^b
LP	234.67 ± 18.28 ^c	2.06 ± 0.88 ^c	0.86 ± 0.40 ^c
NP	231.48 ± 11.87 ^c	3.90 ± 1.80 ^c	1.69 ± 0.74 ^c
HP	230.47 ± 11.82 ^c	3.55 ± 1.14 ^c	1.48 ± 0.47 ^c

注:同列不同上标字母表示数值间差异显著($P < 0.05$)。

2.2 蛋白质摄入量对低能量摄入的超重雌鼠血脂的影响

与NC组相比,MC组甘油三酯和瘦素含量均显著升高($P < 0.05$),高密度脂蛋白胆固醇降低,但无明显差异,胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和极低密度脂蛋白胆固醇均无明显差异,说明超重会导致血脂的部分指标异常。与MC组相比,LP、NP、HP组甘油三酯和瘦素含量显著降低($P < 0.05$),高密度脂蛋白胆固醇显著升高($P <$

0.05),说明限制能量能改善血脂的异常。与LP、NP组相比,HP组胆固醇和极低密度脂蛋白胆固醇含量显著降低($P < 0.05$),说明在限能状态下,

高蛋白摄入对超重雌鼠胆固醇具有一定的降低作用(表2)。

表2 各组大鼠血脂的比较($\bar{x} \pm SD, n = 6$)

组别	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	HDL-C/(mmol/L)	LDL-C/(mmol/L)	VLDL-C/(mmol/L)	Leptin/(ug/L)
NC	1.97 ± 0.33 ^{ad}	0.92 ± 0.05 ^a	0.71 ± 0.10 ^{ac}	0.77 ± 0.05 ^a	0.49 ± 0.19 ^{ac}	5.28 ± 0.63 ^a
MC	1.82 ± 0.23 ^{ad}	1.12 ± 0.08 ^b	0.65 ± 0.07 ^a	0.77 ± 0.05 ^a	0.41 ± 0.12 ^{ad}	6.95 ± 0.69 ^b
LP	2.14 ± 0.27 ^{ac}	0.94 ± 0.03 ^a	0.76 ± 0.07 ^c	0.80 ± 0.04 ^{ab}	0.57 ± 0.17 ^{ac}	4.95 ± 0.20 ^a
NP	2.37 ± 0.32 ^{bc}	0.93 ± 0.03 ^a	0.87 ± 0.10 ^b	0.84 ± 0.05 ^b	0.67 ± 0.17 ^c	5.03 ± 0.73 ^a
HP	1.74 ± 0.20 ^d	0.89 ± 0.05 ^a	0.75 ± 0.05 ^c	0.75 ± 0.03 ^a	0.30 ± 0.08 ^{bd}	5.64 ± 0.44 ^a

注:同列不同上标字母表示数值间差异显著($P < 0.05$)。

2.3 蛋白质摄入量对低能量摄入的超重雌鼠血糖、胰岛素、胰高血糖素的影响

与NC组相比,MC组胰高血糖素显著升高($P < 0.05$),血糖有所升高但无明显差异,胰岛素显著降低($P < 0.05$),说明超重会导致血糖相关激素的异常。与MC组相比,LP、NP、HP3组血糖有所降低但无明显差异,NP、HP组胰岛素显著升高($P < 0.05$),LP组胰岛素有所升高但无明显差异,LP、NP组胰高血糖素显著降低($P < 0.05$),HP组胰高血糖素有所降低但无明显差异,说明限制能量能改善血糖相关激素的异常。LP、NP、HP3组之间血糖无显著差异,与LP组相比,NP、HP组胰岛素显著升高($P < 0.05$),NP组胰高血糖素有所升高但无明显差异,HP组胰高血糖素显著升高($P < 0.05$),NP组与HP组之间胰岛素和胰高血糖素均无显著性差异。说明高蛋白对低能量摄入状态下的超重雌鼠血糖没有影响,但对胰岛素和胰高血糖素的分泌有一定的促进作用(表3)。

表3 各组大鼠血糖、胰岛素、胰高血糖素的比较($\bar{x} \pm SD, n = 6$)

组别	GLU/(mmol/L)	INS/(mU/L)	GC/(ng/L)
NC	7.76 ± 1.17 ^a	20.76 ± 1.12 ^a	30.54 ± 2.34 ^a
MC	8.47 ± 1.41 ^a	15.74 ± 1.21 ^b	60.41 ± 9.21 ^b
LP	7.37 ± 1.28 ^a	16.59 ± 0.86 ^b	40.84 ± 7.27 ^{a,c}
NP	7.35 ± 0.59 ^a	21.48 ± 1.39 ^a	49.45 ± 7.41 ^{c,d}
HP	8.13 ± 0.58 ^a	21.02 ± 1.11 ^a	55.63 ± 10.18 ^{b,d}

注:同列不同上标字母表示数值间差异显著($P < 0.05$)。

3 讨论

在动物实验中,超重大鼠的标准是体质量超标10%,肥胖大鼠的标准是体重超标20%,^[12]本实验MC组大鼠的体重与NC组比较存在显著差异,体重超过正常组的16%,但未达到超标20%的标准,所以属于“超重大鼠”。雌性大鼠会分泌雌性激素,^[13]而食用高脂膳食会造成雌激素的代谢障碍,使得雌激素对脂肪代谢的调节受到干扰,从而促进脂肪的合成。^[14]在人体中脂肪组织一般占体重的21%,女性中脂肪含量更高,^[15]因此本实验采用雌性大鼠作为研究对象,来研究膳食干预对血脂相关因素的影响。

本研究中LP、NP、HP3个干预组体重、脂肪质量、体脂比、瘦素均低于MC组。SPEAKMAN等^[16]的动物实验研究显示,能量控制可以有效减轻体重,减少内脏中的脂肪含量;王雅媛等^[17]的实验结果也显示热量控制能减轻肥胖大鼠体质量,改善糖脂代谢,降低血清瘦素水平,以上研究结果均与本实验结果一致。瘦素是肥胖基因编码的一种蛋白质激素,主要由白色脂肪组织分泌,其分泌的瘦素与体内脂肪含量成正比,^[18]本实验结果也显示与LP、NP组相比,HP组脂肪含量、瘦素含量都略有升高,与上述结论一致。而在摄入能量一致的情况下,只有干预前期HP组减重效果更好;后期LP、NP、HP3组之间体重、脂肪质量、体脂比均无显著差异。有文献报道短期的高蛋白减脂饮食可以加强体重减轻的程度,而长期的高蛋白减脂饮食对体重下降没有影响,另外一

项为期两年的减肥研究也表明,饮食中的宏量营养素分布并不影响减肥,在成年人中,蛋白质的数量和来源都与体重或脂肪的减少无关。^[19-20]因此可以推测本实验中干预组体重和脂肪量的减少决定于能量限制。

研究结果显示 MC 组甘油三酯含量显著高于 NC 组,而总胆固醇含量却低于 NC 组。有文献报道甘油三酯含量高,会水解成甘油和脂肪酸,促进 HDL3 - C 转化为 HDL2 - C,从而促进胆固醇的逆向转运和代谢,降低血清胆固醇含量,^[21]与本实验结果一致。LP、NP 组的总胆固醇含量均高于 MC 组,这可能是因为本研究采用的是 60% 的能量限制,而能量限制达到一定程度,会发生糖异生现象,产生更多的葡萄糖,葡萄糖会分解生成乙酰 CoA,机体会利用乙酰 CoA 合成胆固醇,丁强^[22]等的实验研究显示限能达到一定程度总胆固醇水平升高,本结果与丁强等的结果一致。对超重女性进行的减肥研究表明,蛋白质/碳水化合物比例高的饮食对总胆固醇、极低密度脂蛋白胆固醇的疾病风险指标具有改善作用,^[23-24]与本研究中 HP 组与 LP、NP 组相比总胆固醇和极低密度脂蛋白胆固醇显著下降的结果一致。由此推测高蛋白膳食对低能量摄入的超重雌鼠具有一定改善血脂作用。

有研究表明,蛋白质大量摄入可能会刺激胰岛素和胰高血糖素的分泌来促进氨基酸代谢,防止低血糖。^[25]本实验结果显示 MC 组胰岛素含量显著低于 NC 组,而在干预后胰岛素含量升高, NP、HP 组含量接近于 NC 组,由此可以推测超重影响了胰腺功能从而导致胰岛素分泌不足;而在进行干预后,随着蛋白质摄入量的提高,促进了胰岛素的分泌,与上述研究结果一致。由于能量限制程度大,HP 组摄入的蛋白质一部分会参与糖异生产生血糖,还有部分蛋白质参与合成胰高血糖素,进一步促进血糖的生成来提供能量。因此本实验 HP 组血糖、胰高血糖素均高于 LP、NP 组。

综上,能量限制是减轻体重的决定因素,在能量限制一致的情况下,不同蛋白质摄入量对超重雌鼠体重、体脂、瘦素含量无显著影响,而对血脂和血糖相关激素有一定的改善作用,但蛋白质摄入量的上限和下限还有待进一步研究确定。

参考文献:

[1] CHAN R S M, WOO J. Prevention of overweight and o-

besity: how effective is the current public health approach [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2010,7(3):765 - 783.

- [2] WILDING J. The importance of weight management in type 2 diabetes mellitus [J]. *International Journal of Clinical Practice*, 2014,68(6):682 - 691.
- [3] KWAGYAN J, RETTA T M, KETETE M, et al. Obesity and cardiovascular diseases in a high - risk population: evidence - based approach to CHD risk reduction [J]. *Ethnicity & Disease*, 2015,25(2):208 - 213.
- [4] 彭苏文,田颖,何智燕,等. 蛋白质摄入量对低能量摄入的超重/肥胖大鼠骨骼肌相关激素的影响[J]. *美食研究*,2020,37(1):56 - 60.
- [5] DAS S K, GILHOOLY C H, GOLDEN J K, et al. Long - term effects of 2 energy - restricted diets differing in glycemic load on dietary adherence, body composition, and metabolism in calerie: a 1 - y randomized controlled trial [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2007,85(4):1023 - 1030.
- [6] SKOV A R, HAULRIK N, SOREN T, et al. Effect of protein intake on bone mineralization during weight loss: a 6 - month trial [J]. *Obesity Research*, 2002,10(6):432 - 438.
- [7] LAYMAN D K, EVANS E, BAUM J I, et al. Dietary protein and exercise have additive effects on body composition during weight loss in adult women [J]. *The Journal of Nutrition*, 2005,135(8):1903 - 1910.
- [8] DUE A, TOUBRO S, SKOV A R, et al. Effect of normal - fat diets, either medium or high in protein, on body weight in overweight subjects: A randomised 1 - year trial [J]. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 2004,28(10):1283 - 1290.
- [9] 张如意,徐光伟,沈佩瑶,等. 酶解协同发酵改善蛋清蛋白起泡特性[J]. *美食研究*,2019,36(3):74 - 78.
- [10] 周爱儒. 生物化学[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:103.
- [11] WANG Z W, ZHOU Y T, KAKUMA T, et al. Comparing the hypothalamic and extrahypothalamic actions of endogenous hyperleptinemia [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1999,96(18):10373 - 10378.
- [12] 刘利民,叶恭绍,叶广俊. 高脂饲料致大鼠肥胖的实验研究[J]. *北京医科大学学报*,1991,23(5):359 - 361.
- [13] 朱晓晖,王军,印彤. 雌激素干预影响腹腔脂肪积聚的实验研究[J]. *中国临床药理学与治疗学*,2003(6):669 - 672.

- [14] 熊鹰,王俊芳,陈仪坤,等. 高脂膳食对雌、雄大鼠肥胖程度影响差异研究[J]. 现代预防医学,2006(4): 507-508.
- [15] 景彦林,杨修昭,白振军,等. 高脂饮食诱导肥胖对雌性生育大鼠卵巢功能的影响[J]. 中国比较医学杂志,2019,29(8):106-110.
- [16] SPEAKMAN J R, MITCHELL S E. Caloric restriction [J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2011, 32(3): 218-221.
- [17] 王雅媛,梁凤霞. 热量控制对肥胖大鼠白色脂肪中瘦素及糖脂代谢的影响[J]. 中华中医药杂志, 2019,34(7):3247-3250.
- [18] 杨月欣,刘兰,王竹. 低碳水化合物高蛋白质膳食对肥胖大鼠影响的研究[J]. 营养健康新观察,2005(2):7-12.
- [19] MCMILLANPRICE J, PETOCZ P, ATKINSON F, et al. Comparison of 4 diets of varying glycemic load on weight loss and cardiovascular risk reduction in overweight and obese young adults: a randomized controlled trial [J]. *Archives of Internal Medicine*, 2006, 166(14):1466-1475.
- [20] ALDRICH N D, REICKS M M, SIBLEY S D, et al. Varying protein source and quantity do not significantly improve weight loss, fat loss, or satiety in reduced energy diets among midlife adults [J]. *Nutrition Research*, 2011, 31(2):104-112.
- [21] 孙炜,王慧铭. 昆布多糖对高脂血症大鼠降胆固醇作用及其机理的研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(10):187-190.
- [22] 丁强,毛丽梅,陈艳,等. 限制能量摄入对大鼠体重及空腹血糖、血脂影响[J]. 中国公共卫生,2008(10):1223-1224.
- [23] LAYMAN D K, BOILEAU R A, ERICKSON D J, et al. A reduced ratio of dietary carbohydrate to protein improves body composition and blood lipid profiles during weight loss in adult women [J]. *Journal of Nutrition*, 2003, 133(2):411-417.
- [24] LAYMAN D K, SHIUE H, SATHER C, et al. Increased dietary protein modifies glucose and insulin homeostasis in adult women during weight loss [J]. *Journal of Nutrition*, 2003,133(2):405-410.
- [25] WANG E T, DE K L, KANAYA A M. Higher protein intake is associated with diabetes risk in south Asian Indians: the metabolic syndrome and atherosclerosis in south Asians living in America study [J]. *Journal of the American College of Nutrition*, 2010, 29(2): 130-135.

Effects of protein intake on blood glucose, lipids and related hormones in overweight female rats with low energy intake

HE Zhiyan, PENG Suwen, WANG Qian, LI Yu, TIAN Ying

(College of Tourism and Culinary Science, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225127, China)

Abstract: By using animal modeling and group feeding and measuring the weight, body fat, blood glucose, blood lipid, insulin, glucagon and related hormones content of rats in each group for 8 week, the effects of protein intake on blood glucose, lipids and leptin in overweight SD female rats with low energy ingestion were investigated. The results showed that the energy restriction could improve the body weight, body fat, blood glucose, blood lipids and leptin content. Under the same energy limit, higher protein intake could improve blood cholesterol and very low density lipoprotein cholesterol content, and promote the secretion of insulin and glucagon, with no effect on body weight, body fat and leptin content.

Key words: protein intake; energy limitation; blood glucose; blood lipids; leptin; nutrition

(责任编辑:赵 勇)