



读书报告

汇报人：邓大鹏

时 间：2018.7.7



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Aquaculture

journal homepage: www.elsevier.com/locate/aquaculture



Interactions between dietary carbohydrate and metformin: Implications on energy sensing, insulin signaling pathway, glycolipid metabolism and glucose tolerance in blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*



Chao Xu, Wen-Bin Liu, Ding-Dong Zhang, Xiu-Fei Cao, Hua-Juan Shi, Xiang-Fei Li*

Key Laboratory of Aquatic Nutrition and Feed Science of Jiangsu Province, College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, No.1 Weigang Road, Nanjing 210095, People's Republic of China

ARTICLE INFO

Keywords:

Carbohydrate

Metformin

Energy sensing

Glucose metabolism

Insulin signaling pathway

Megalobrama amblycephala

ABSTRACT

A 12-week feeding trial was performed to evaluate the effects of metformin on growth performance, energy sensing, insulin signaling pathway, glycolipid metabolism and glucose tolerance of blunt snout bream fed high-carbohydrate diets. Fish were randomly fed four diets containing two dietary carbohydrate levels (30 and 43%) and two metformin levels (0 and 0.25%). High carbohydrate levels remarkably increased tissue glycogen and lipid contents, hepatic adenosine triphosphate (ATP) and adenosine monophosphate (AMP) contents and the ATP/AMP ratio, plasma levels of glucose, insulin, triglyceride, glycated serum protein (GSP), advanced glycation

目录

01

研究背景

02

实验设计

03

结果分析

04

结论

05

思考

01

研究背景

团头鲂是一种草食性淡水鱼，具有重要经济价值。为了节约成本，获得最大效益，鱼饲料中会添加一定量的碳水化合物，然而，高碳水化合物的膳食通常会致该物种严重的代谢负担，并使其葡萄糖稳态受损。



有研究表明，口服或注射二甲双胍后，能改善鱼类的葡萄糖稳态，此外，在哺乳动物研究中已证明，二甲双胍作用很长一段时间后，增强了肝脏胰岛素的敏感性，且能预防一些代谢性疾病，如脂肪性肝病。然而，二甲双胍长期作用后，有关其对鱼的生长性能和糖代谢的影响研究较少。

本研究旨在探讨二甲双胍对团头鲂生长性能、能量感知、胰岛素分泌的长期影响。

02

实验设计

暂养3周, 团头鲂 (31.42 ± 0.17 g)

用二甲双胍和碳水化合物含量不同的饲料进行投喂, 每日7:00、12:00、17:00饱食投喂

葡萄糖耐量实验, 注射0、1、2、4、8、10、12h后抽血

测定血浆中的葡萄糖、胰岛素、丙酮酸、甘油三酯等

饲养12周后, 抽血, 取肝脏、肌肉、脂肪组织

ATP、AMP, 糖脂代谢相关基因的表达量等

03

结果分析

饲料组成成分表

Table 1

Formulation and proximate composition of the experimental diets.

	C	CM	HC	HCM
<i>Formulation (%)</i>				
Fish meal	8.00	8.00	8.00	8.00
Soybean meal	26.00	26.00	26.00	26.00
Rapeseed meal	17.00	17.00	17.00	17.00
Cottonseed meal	17.00	17.00	17.00	17.00
Fish oil	2.00	2.00	2.00	2.00
Soybean oil	2.00	2.00	2.00	2.00
Corn starch	12.00	12.00	25.00	25.00
Metformin	0	0.25	0	0.25
Microcrystalline cellulose	13.00	13.00	0.00	0.00
Calcium biphosphate	1.80	1.80	1.80	1.80
Premix ^a	1.20	1.20	1.20	1.20
<i>Proximate composition (% dry matter basis)</i>				
Moisture	6.96	6.90	6.85	6.92
Crude lipid	5.93	5.98	5.71	5.78
Ash	8.46	8.51	8.28	8.12
Crude protein	29.82	29.91	30.12	30.31
Crude fiber	16.97	16.82	6.18	6.29
Nitrogen-free extract ^b	31.86	31.88	42.86	42.58
Energy (MJ/kg)	19.09	19.12	19.14	19.18

各基因引物序列

Table 2
Nucleotide sequences of the primers used to assay gene expressions by real-time PCR.

Target gene	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')	Accession numbers or references
AMPK α 1	AGTTGGACGAGAAGGAG	AGGGCATACAAAATCAC	Gao et al. (2012)
AMPK α 2	ACAGCCCTAAGGCACGATG	TGGGTCGGGTAGTGTTGAG	Xu et al. (2017b)
TOR	TTTACAGAGCAAGTCTACGGA	CTTCATCTTGGCTCAGCTCTCT	Liang et al. (2016)
IR	GAGCAAAGAGCGAAAT	CAACGAGGAAGGTGTAG	Gao et al. (2012)
IRS1	GTAAAGTGTATCTTGTGGAG	AGAAGTAAGCATAACATTGGC	Gao et al. (2012)
S6K1	GGTGCA TGTCACCTTATGGG	AGCTGGCAGCACTTCTAGTC	EF373669.1
PEPCK	TGGCCCGTGTGGAGAGTAAAA	ATGTGTTCTGCCAGCCAG	Gao et al. (2012)
FBPase	TACCCAGATGTCACAGAAT	CACTCATAACAACAGCCTCA	KJ743995.1
G6Pase	TGAGACCCGGTTTTATGGAG	CATGCAGACCACCAGCTCTA	Gao et al. (2012)
GLUT 2	ACGCACCCGATGTGAAAGT	TTGGACAGCAGCATTGATT	KC513421.1
GK	AAAATGCTGCCCACTTAT	AATGCCCTTATCCAAATC	KJ141202.1
PK	GCCGAGAAAGTCTTCATCGCACAG	CGTCCAGAACCGCATTAGCCAC	Gao et al. (2012)
GS	CCTCCAGTAACAACCTACAACA	CAGATAGATTGGTGTTACGC	Gao et al. (2012)
FAS	AGCGAGTACGGTGATGGT	GGATGATGCCTGAGATGG	KF918747.1
ACC α	TCTGCCCTCTATCTGTCT	ATGCCAATCTCATTTTCCT	Qian et al. (2015)
SREBP1	GCTGGCGTGTGCTATCT	TGTTGGCAGTCGTGGAGG	Qian et al. (2015)
PPAR α	GTGCCAATACTGTCGCTTTCAG	CCGCCTTTAACTCAGCTTCT	HM140628
CPT 1A	TACTTCCAAAGCGGTGAG	AGAGGTATTGTCCGAGCC	Lu et al. (2016)
ACO	GCTCAACCCTGGCATACT	CTGGCTCAGCTTACACG	Lu et al. (2014)
EF1 α	CTTCTCAGGCTGACTGTGC	CCGCTAGCATTACCCTCC	X77689.1

生长性能参数表

Table 3

Growth performance of blunt snout bream fed different experimental diets*.

Parameters	Diets				P-value		
	C	CM	HC	HCM	C	M	C × M
Weight gain rate ¹ (%)	268.89 ± 5.81	226.70 ± 13.12	246.55 ± 10.04	220.91 ± 7.61	ns	***	ns
RFI ² (% body weight d ⁻¹)	11.93 ± 0.17 ^a	9.59 ± 0.06 ^c	10.14 ± 0.09 ^b	9.01 ± 0.02 ^c	**	***	***
FCR ³	2.06 ± 0.03 ^a	1.95 ± 0.05 ^b	1.82 ± 0.03 ^c	1.77 ± 0.04 ^c	**	***	*

WGR:增重率

RFI:相对摄食量

FCR:饲料转化率

C : 30%碳水化合物

CM :30%碳水化合物 + 0.25%二甲双胍

HC :43%碳水化合物

HCM:43%碳水化合物 + 0.25%二甲双胍

由C组和HC组可知，随着碳水化合物水平升高，WGR、RFI、FCR降低，因为高碳水化合物会降低饲料的适口性和加速饱腹感，从而降低饲料消耗，延缓生长。

从C组和CM组，HC组和HCM组可看出，添加二甲双胍后，WGR、RFI、FCR显著性降低，这可能是二甲双胍降低下丘脑AMPK活性、抑制食欲素表达，从而减少饲料消耗，也可能其促进脂质氧化，导致体重减少。

组织糖原和脂质含量

Table 4
Tissue glycogen and lipid contents of blunt snout bream fed different experimental diets*.

Parameters	Diets				P-value		
	C	CM	HC	HCM	C	M	C × M
<i>Tissue glycogen contents (μmol glycosyl units/g wt tissue)</i>							
Liver	17.44 ± 0.38 ^c	20.54 ± 0.53 ^c	26.36 ± 0.83 ^b	37.62 ± 1.89 ^a	***	***	**
Muscle	1.55 ± 0.05 ^d	2.17 ± 0.05 ^b	1.82 ± 0.05 ^c	2.78 ± 0.02 ^a	***	***	**
Adipose tissue	1.08 ± 0.07	1.34 ± 0.03	1.53 ± 0.05	1.90 ± 0.06	***	***	ns
<i>Tissue lipid contents (percentage of wet weight)</i>							
Liver	5.34 ± 0.03 ^b	3.87 ± 0.04 ^c	7.52 ± 0.01 ^a	5.32 ± 0.01 ^b	***	***	**
Muscle	21.16 ± 0.12	16.72 ± 0.41	22.15 ± 0.06	18.15 ± 0.32	**	**	ns
Adipose tissue	75.06 ± 0.12 ^b	65.13 ± 0.12 ^c	84.58 ± 0.19 ^a	78.64 ± 0.12 ^b	***	***	*

由C组和HC组可知，组织糖原和脂质含量均升高，说明高膳食碳水化合物水平可促进糖原和脂质的合成。

从C组和CM组，HC组和HCM组可看出，添加二甲双胍后，组织糖原升高，脂质含量下降，这可能是二甲双胍提高了糖原合成酶的活性，促进脂肪酸氧化。

肝脏中ATP和AMP含量

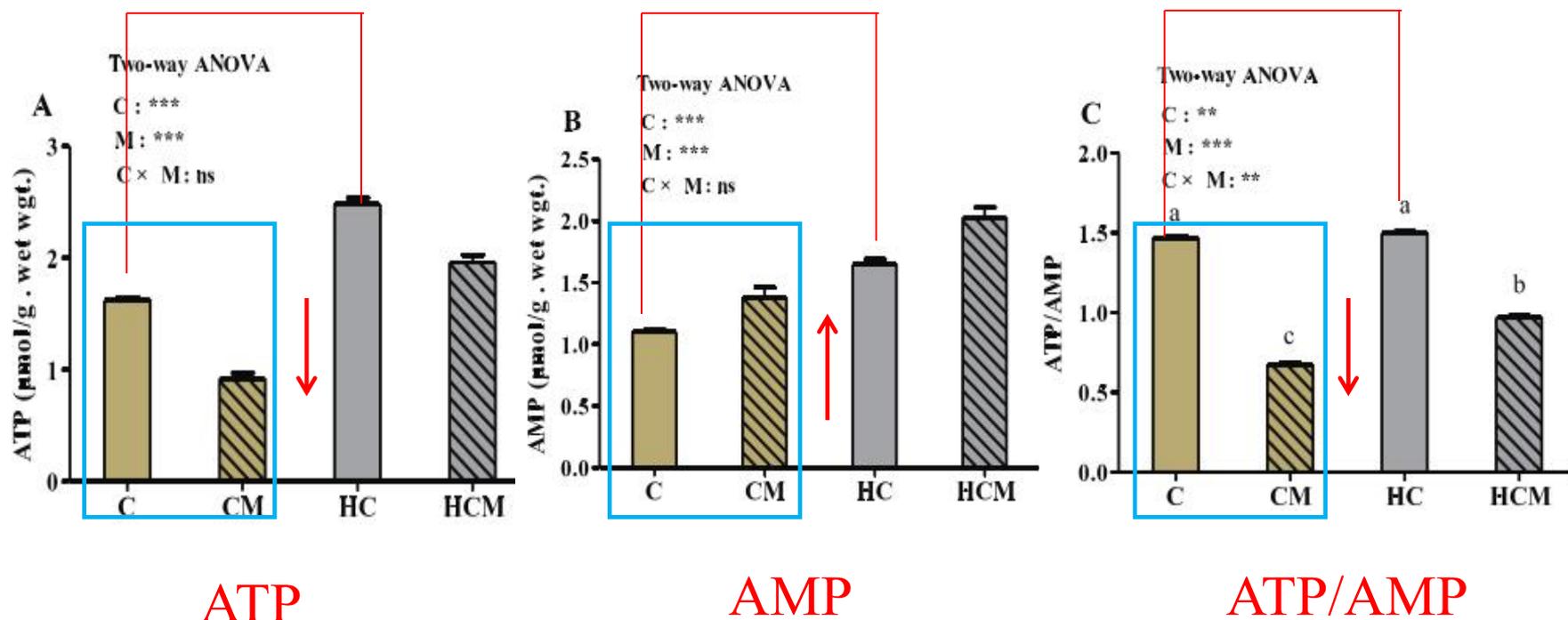


图1

随着饲料碳水化合物水平的增加，ATP、AMP含量和ATP / AMP比值增大，说明高水平碳水化合物的摄取能提高细胞的能量状态，从而导致ATP、AMP含量和ATP/AMP增大，而添加二甲双胍后，ATP含量和ATP/AMP均减小，这是由于二甲双胍能抑制ATP生成，促进AMP的生成，从而使ATP/AMP减小。

血浆代谢产物含量

GSP :糖化血清蛋白
 AGES:糖基化终产物
 Triglyceride :甘油三脂
 Pyruvate:丙酮酸
 Lactic acid: 乳酸

Table 5
 Plasma metabolites of blunt snout bream fed different experimental diets^a.

Parameters	Diets				P-value		
	C	CM	HC	HCM	C	M	C × M
Glucose (mmol/L)	3.06 ± 0.03 ^b	2.47 ± 0.02 ^c	4.41 ± 0.09 ^a	2.98 ± 0.06 ^b	***	***	***
GSP (mmol/L)	13.16 ± 0.11 ^b	9.94 ± 0.36 ^c	17.81 ± 0.14 ^a	13.34 ± 0.24 ^b	***	***	*
AGES (ng/mL)	2.86 ± 0.13 ^b	2.17 ± 0.02 ^c	3.52 ± 0.03 ^a	3.08 ± 0.16 ^b	***	***	**
Insulin (μIU/mL)	1.92 ± 0.12	1.99 ± 0.09	3.51 ± 0.16	3.44 ± 0.10	***	ns	ns
Triglyceride (mmol/L)	1.44 ± 0.03 ^b	0.94 ± 0.04 ^c	2.57 ± 0.13 ^a	1.11 ± 0.02 ^c	***	***	***
Pyruvate (μmol/mL)	0.17 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.13 ± 0.01	**	***	ns
Lactic acid (mmol/L)	5.36 ± 0.12 ^{b,c}	5.55 ± 0.10 ^b	5.28 ± 0.09 ^c	6.64 ± 0.10 ^a	***	***	*

高水平碳水化合物摄取，会引起高血糖状态，进而促进胰岛素、GSP、AGES的合成，过量碳水化合物可能转化为脂质，导致甘油三酯浓度增加。丙酮酸参与糖酵解，三羧酸循环等，从而导致其和乳酸降低。而添加二甲双胍后，乳酸水平升高，可能是二甲双胍促进丙酮酸的利用而提高了乳酸水平。而其他产物水平下降，可能是二甲双胍增强胰岛素敏感性所致。

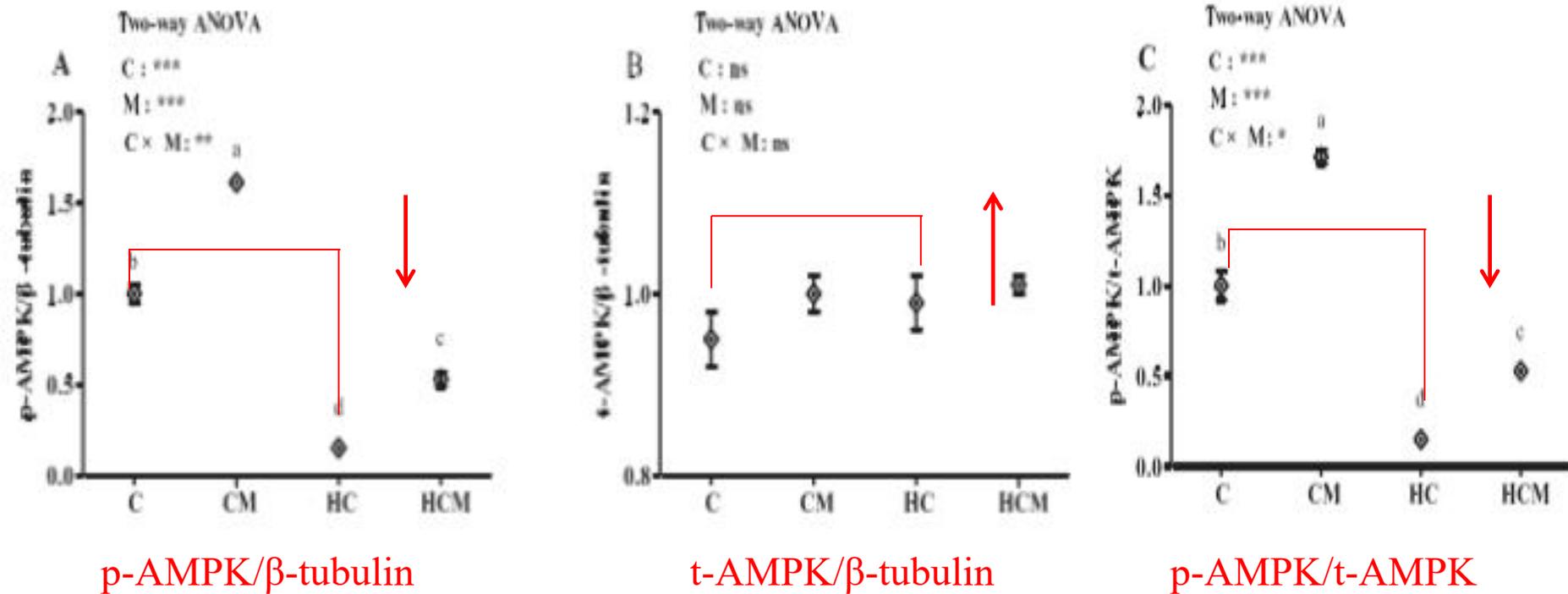
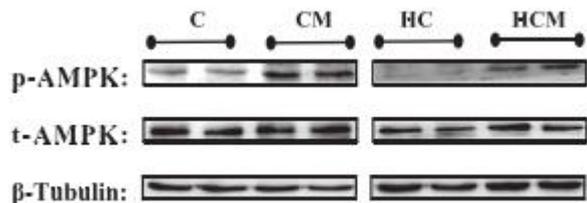
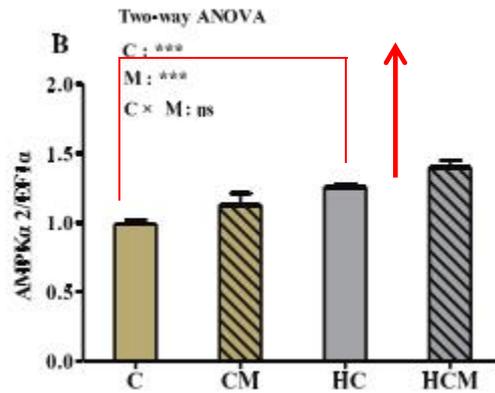
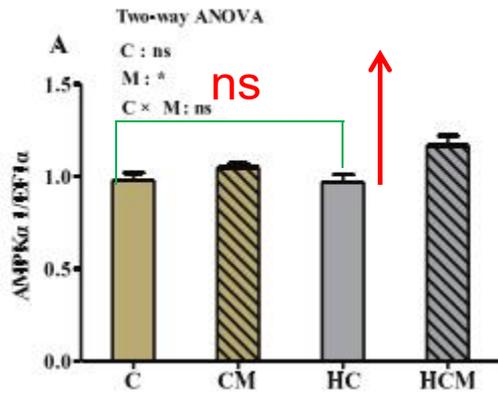


图2

高碳水化合物饮食可能使能量感知变弱，从而导致葡萄糖稳态受损

AMPK α 1

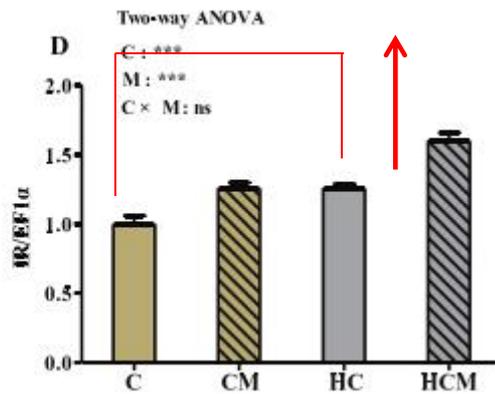
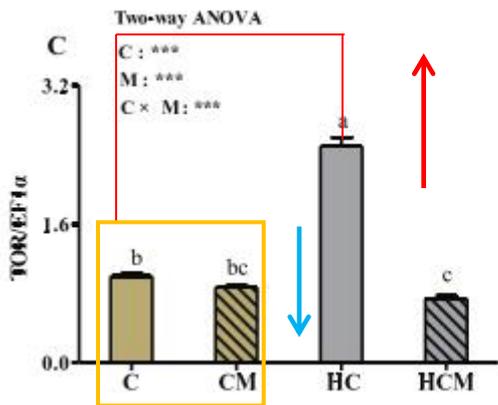


AMPK α 2
(腺苷酸活化
蛋白激酶 α 2)

能量感知与胰岛素相
关基因表达量

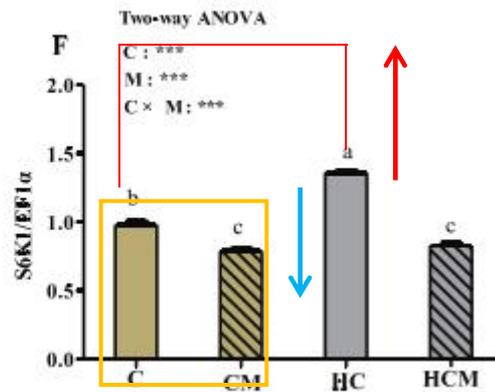
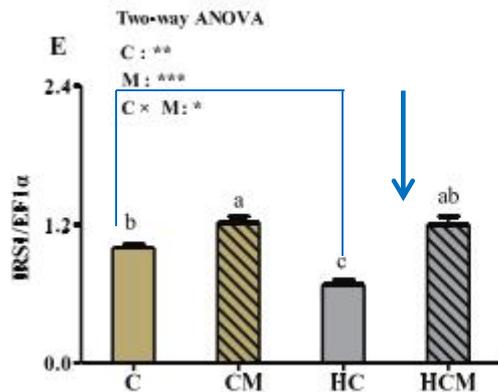
图3

雷帕霉素
靶受体
(Tor)



胰岛素受体
(IR)

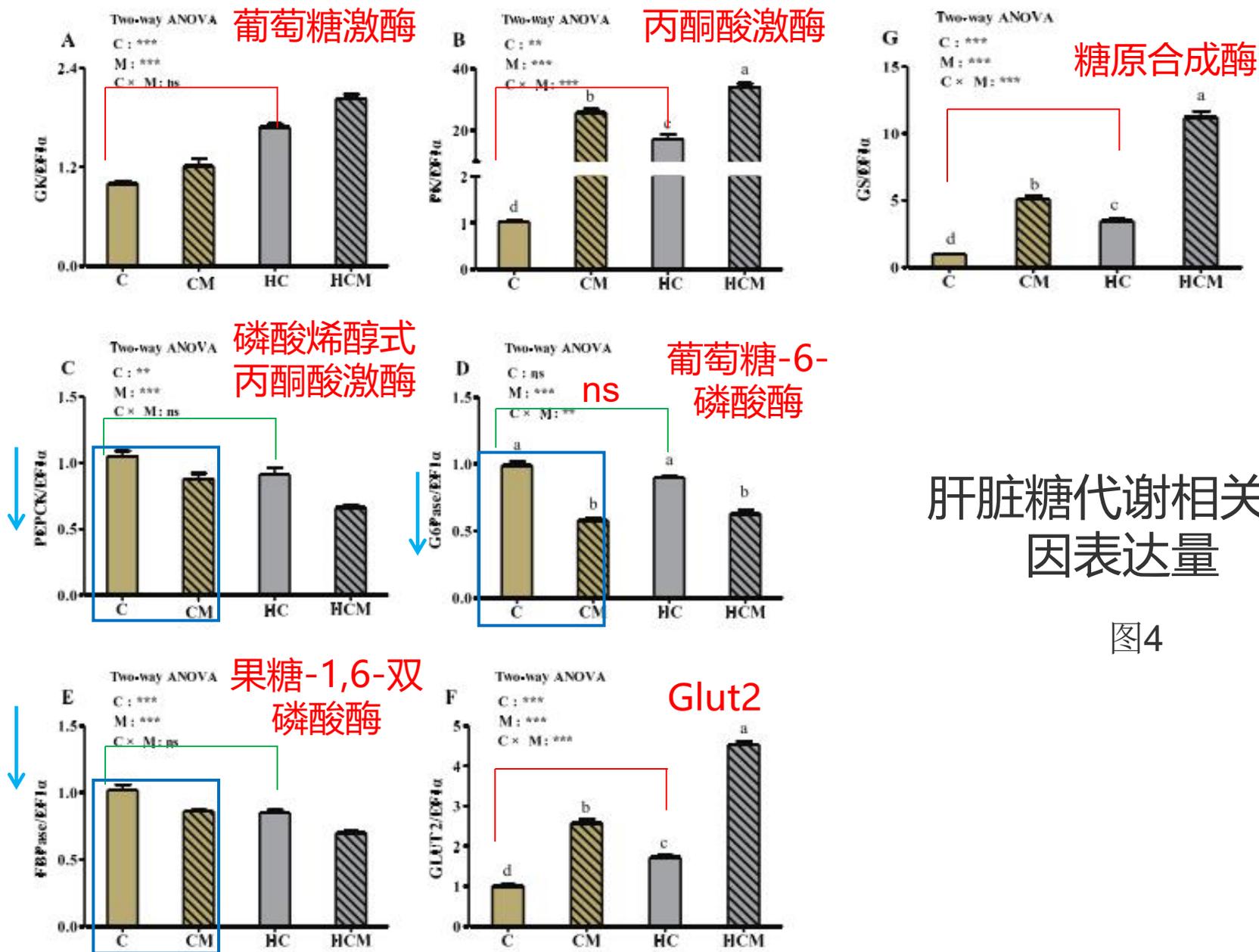
胰岛素
底物1
(IRS1)



核糖体蛋白
S6激酶多肽1
(S6k1)

高碳水化合物的长期摄取可能会通过激活Tor，促进S6k1表达，降解IRS1，来导致肝脏胰岛素敏感性降低。

二甲双胍可通过激活AMPK，抑制S6k1和Tor的表达，上调IRS1的转录水平，促进IR的表达来增强肝脏胰岛素敏感性

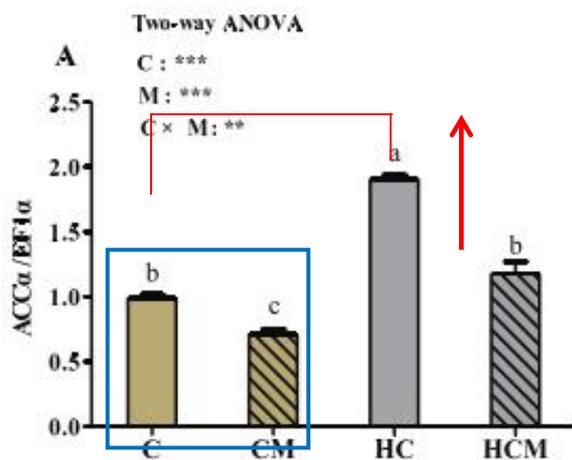


肝脏糖代谢相关基因表达量

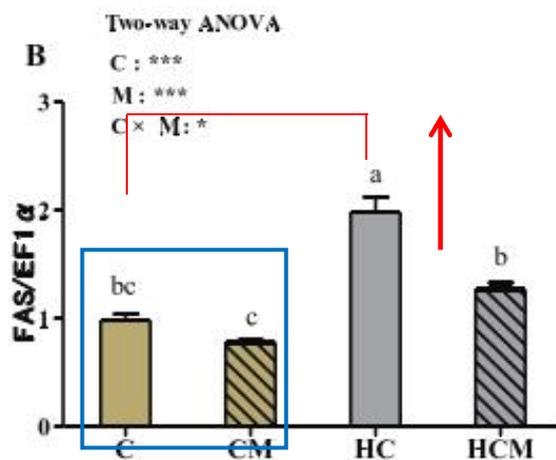
图4

高碳水化合物的长期摄取会促进葡萄糖转运、糖酵解和糖原生成，但却抑制糖异生作用。

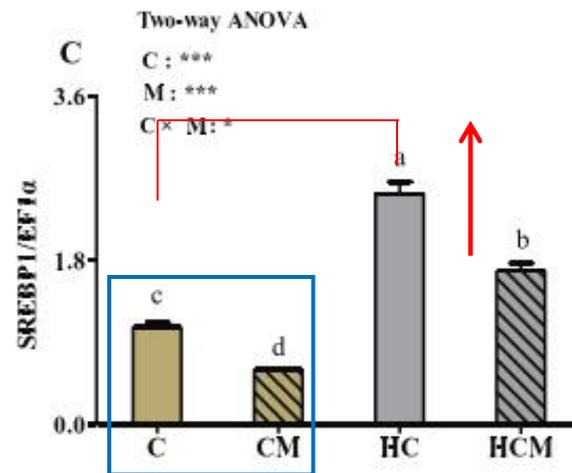
二甲双胍的长期摄取可促进葡萄糖转运、糖酵解和糖原生成，但却抑制糖异生作用。



乙酰辅酶A羧化酶

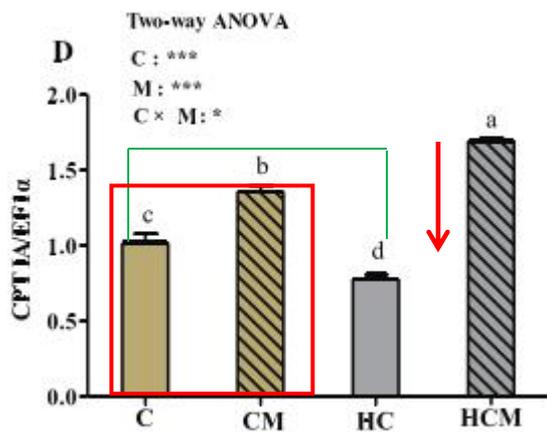


脂肪酸合成酶

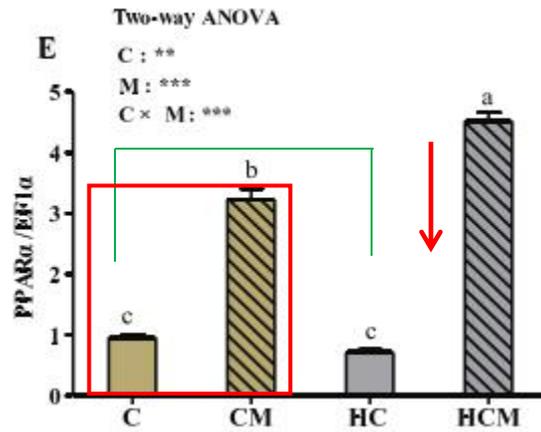


固醇调节元件结合蛋白1

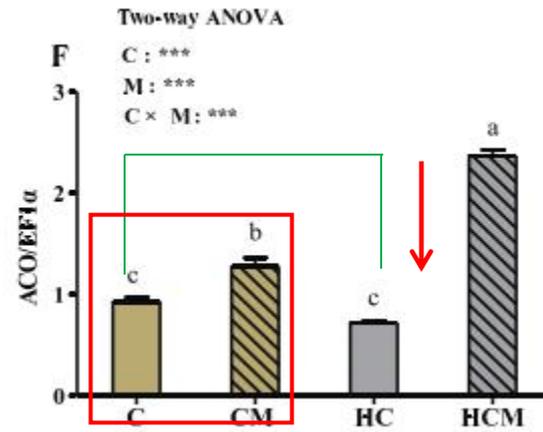
ACC α 、FAS和SREBP1表达量均升高，高碳水化合物摄入可促进脂肪合成，使脂质积聚。添加二甲双胍ACC α 、FAS和SREBP1的表达量均降低，表明二甲双胍可抑制脂肪合成。



棕榈酰基转移酶IA



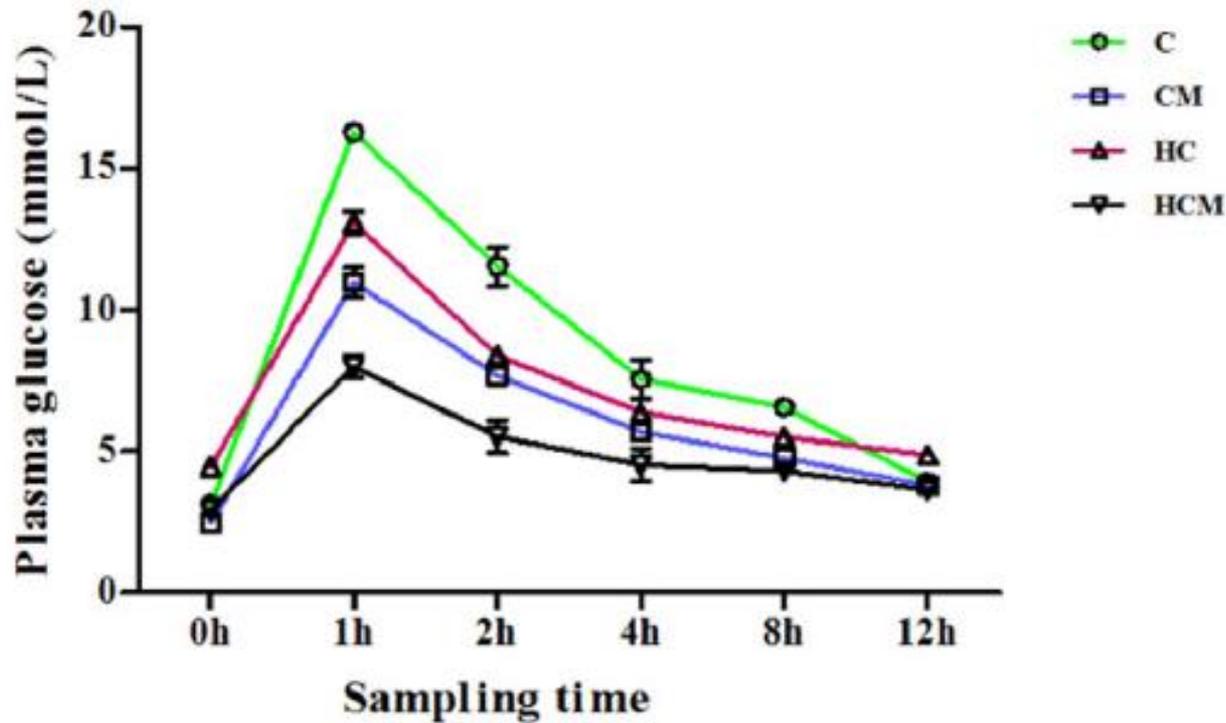
过氧化物酶体增殖物
激活受体



酰基辅酶氧化酶

CPT 1A、PPAR α 和ACO的表达量均降低，表明高碳水化合物摄入可抑制脂肪酸氧化。添加二甲双胍CPT 1A、PPAR α 和ACO的表达量均升高，表明二甲双胍可抑制脂肪酸氧化。

血浆葡萄糖水平



注射葡萄糖后，HC组血糖水平平均比C组低，团头鲂对高碳水化合物膳食的一种代谢适应。

从C组和CM组、HC组和HCM组可看出，添加二甲双胍后，血糖水平显著降低，说明其可改善团头鲂的葡萄糖耐量。

04

结论

1.鱼类糖负荷后，二甲双胍可提高团头鲂对葡萄糖的耐量。

2.二甲双胍可通过增强能量感知、胰岛素敏感性、促进糖酵解、脂肪酸氧化以及抑制糖异生和脂肪生成来提高高碳水化合物膳食的中间代谢。

05

思考

1.本研究为二甲双胍长期作用于其他鱼类后，对该物种糖代谢的影响提供了实验设计思路，并提供了一定的参考依据。

2.本研究中二甲双胍和饮食碳水化合物水平之间相互作用的数据，有助于我们探究二甲双胍对碳水化合物代谢调节的潜在机制。



**THANK
YOU**