

游泳运动对不同饮食大鼠 Toll 样受体促炎通路的影响^①

陈莹¹, 申彦菊², 毛容秋¹, 甘敏², 陈青云²

(1. 广西医科大学第一附属医院康复医学科, 广西南宁 530021;

2. 广西医科大学第一附属医院内分泌科, 广西南宁 530021)

摘要:目的 探讨不同强度的游泳运动对普通饮食大鼠及高脂饮食饲养大鼠血浆 Toll 样受体 2(TLR2)、Toll 样受体 4(TLR4)、白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF- α)浓度的影响。**方法** 选取 60 只健康雄性 SD 大鼠随机分为 6 组, 每组 10 只, 分别为普食对照组、普食低运动组、普食中运动组、普食高运动组、高脂饮食对照组、高脂饮食中运动组。普食组大鼠给予普通饲养, 高脂饮食组大鼠给予高脂喂养。运动强度根据大鼠所能承受的最大运动量分为高、中、低运动量。运动干预 6 周后, 采用 ELISA 法测定各组血浆 TLR2、TLR4、IL-6、TNF- α 的浓度。**结果** 不同饮食和运动强度作用下各组大鼠状态无显著改变, 体重指标也无明显差异。高脂饮食对照组大鼠血浆 TLR2 和 TLR4 水平比普食对照组显著升高, 且 IL-6、TNF- α 比较差异也有显著性($P < 0.001$)。高、中运动量普食大鼠的血浆 TLR2、TLR4、IL-6、TNF- α 水平比普食对照组大鼠均有显著改善($P < 0.01$), 而中运动量对 TNF- α 水平的影响与高运动量相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。普食中运动组 TLR2 和 TLR4 水平比高脂饮食中运动量组明显下降($P < 0.01$), 且 IL-6、TNF- α 也有显著下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论** 高脂饮食较普通饮食可以显著升高大鼠血浆炎症因子水平, 但不同运动量对 TLR2、TLR4、IL-6、TNF- α 的表达水平影响不完全相同。

关键词: 运动; 饮食; Toll 样受体; 炎症因子

中图分类号: R587.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2018)04-0295-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2018.04.001

Effects of swimming exercise on Toll-like receptor proinflammatory pathways in different diet rats

Chen Ying¹, Shen Yanju², Mao Rongqiu¹, Gan Min², Chen Qingyun²

(1. Department of Rehabilitation Medicine, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China; 2. Department of Endocrinology, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of different intensity of swimming exercise on plasma Toll-like receptor (TLR) 2, TLR 4, interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in rats fed with ordinary diet and high-fat diet. **Methods** Sixty healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 6 groups: an ordinary diet control group, an ordinary diet low-exercise group, an ordinary diet middle-exercise group, an ordinary diet high-exercise group, a high-fat diet control group and a high-fat diet middle-exercise group. Each group consisted of 10 rats. The ordinary diet groups rats were fed with ordinary diet, and the high-fat diet groups rats were fed with high-fat diet. Exercise intensity was classified as high-, medium-, and low-intensity exercise based on the maximum amount of exercise the rat could withstand. After 6 weeks of exercise intervention, the concentrations of plasma TLR2, TLR4, IL-6 and TNF- α in each group were determined by ELISA. **Results** There was no significant change in the status of rats in each group under the intervention of different diet and exercise intensity, and there was also no significant difference in body weight index. Compared with ordinary diet control group, the plasma TLR2 and TLR4 levels in the high-fat diet control group were elevated more significantly, and there were also significant differences in comparison of IL-6 and TNF- α between the two groups ($P < 0.001$). Plasma TLR2, TLR4, and IL-6, TNF- α were significantly improved in high, moderate and low exercise groups compared with those in ordinary diet control group rats, while middle-intensity exercise had the same effects on TNF- α level as high-intensity exercise ($P > 0.05$). The TLR2 and TLR4 levels in the ordinary diet middle-exercise group were more significantly decreased than high-

① 基金项目:国家自然科学基金资助(30960352);广西壮族自治区康复临床重点专科建设项目经费资助(桂卫医发[2018]6号)

② 通信作者, E-mail: qychen8688@126.com

fat diet middle-exercise group ($P < 0.01$), moreover, IL-6 and TNF- α were decreased more significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** High-fat diet can significantly increase the level of inflammatory factors compared with normal diet. Different intensity exercise has different effects on the expressions of TLR2, TLR4, IL-6 and TNF- α .

Key words: exercise; diet; Toll-like receptors; inflammatory factors

大血管病变是导致2型糖尿病(T2DM)患者死亡和伤残的主要原因,其病理基础是动脉粥样硬化(Atherosclerosis,AS)。Toll样受体(Toll-like receptor,TLR)作为微生物配基的识别受体,在糖尿病、动脉粥样硬化、细胞炎症反应和胰岛素抵抗中起到关键作用^[1],它是一种炎症信号传递的门户蛋白,参与了免疫应答的启动,糖尿病的发病过程,与胰岛素抵抗、脂质代谢紊乱、内皮功能及凝血机制紊乱密切相关,因而逐渐成为研究糖尿病热点,其中TLR2、TLR4是最常见的观察指标。控制饮食和增加体力活动是治疗肥胖、胰岛素抵抗和T2DM的有效措施,运动对TLR2、TLR4及炎症因子影响已有文章报道^[2]。研究表明,运动疗法具有效果好、治疗成本低、易于接受、不良反应少的特点,成为防治T2DM的重要方法之一,运动疗法还可以降低血清中与动脉粥样硬化相关的一些炎症因子的水平^[3],但是,运动量的大小对免疫系统的影响存在争议,小量的运动可能达不到对免疫功能有益的需求^[4-5],而高等强度运动又有可能对机体的免疫功能造成损害。因此,为了探索不同强度运动、不同饮食干预对糖尿病的影响,本研究使用大鼠模型进行研究,分析不同运动强度和饮食干预对大鼠血脂的影响,并分析运动、饮食与大鼠TLR2、TLR4、TNF- α 、IL-6之间的关系。为合理运动和膳食防治糖尿病提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物饲养与分组 60只健康SD雄性大鼠(广西医科大学实验动物中心提供),体重180~220g,适应性饲养1周后参与试验研究。其中40只大鼠给予普通饲料喂养(普通饮食),另有20只大鼠给予高脂饮食喂养(高脂饲料配方为75%普通饲料、10%猪油、10%蔗糖及5%鸡蛋)。所有大鼠自由饮食及饮水,室温25℃,12h光照,相对湿度50%。每天喂1次,每次喂养足量(即每日饲料到第2日均有剩余),次日更换饲料,共喂养6周。普通饮食大鼠随机分为4组,每组10只,分别为对照组、低运动组、中运动组、高运动组。高脂饮食大鼠随机分为2组,每组10只,分别为高脂对照组和高脂中运动组。

1.2 运动干预方案 所有运动组大鼠均采用游泳进行运动干预。大鼠在40cm深的游泳池中进行游泳运动,保持水温在25℃左右。运动强度的定义:取1只大鼠进行游泳预试验,将大鼠放入游泳池后即开始计时,随着游泳时间的延长,大鼠体力不断下降,大鼠头

部停留水面的时间越来越短,当大鼠在水面上停留时间少于8s即判定为高强度(力竭)标准^[6],此时达到运动强度为最大负荷^[7],运动时间定为最大负荷时间。试验中运动强度的制定根据大鼠所能承受的最大运动负荷来划分,高运动组的运动干预时间划定为力竭时间;中运动组、低运动组的运动干预时间分别是力竭时间的70%和40%^[8],在本实验中高、中、低运动组的运动时间参考前期的研究^[9],分别为每天30min、21min、12min,1次/天,6次/周,共6周。

1.3 标本收集与处理 运动干预结束后,所有大鼠麻醉后断头处死。取各组大鼠眼眶静脉血,以4000r/min离心10min后分离血浆,放置-80℃超低温冰箱保存备用。血浆IL-6、TNF- α 、TLR2及TLR4浓度按ELISA试剂盒(蓝基公司,美国)操作说明进行检测。

1.4 统计学方法 用SPSS 16.0软件对数据进行统计学分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间差异采用 t 检验进行分析,多组间比较采用方差分析进行分析,且两两比较采用LSD法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同干预方式作用下大鼠一般状态、体重和血脂的改变比较 大鼠一般状态和体重比较:6周后,各组大鼠毛发光滑润泽,活泼好动,生长发育正常;高脂饮食对照组和高脂饮食中运动组大鼠体重较普食对照组大鼠升高,但各组大鼠的体重比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)(见图1)。血脂的比较:普食低、中、高运动组大鼠干预前后血浆血脂比较差异无统计学意义($P > 0.05$);高脂饮食中运动组干预后血浆HDL-C水平显著升高($P < 0.05$)。见表1。

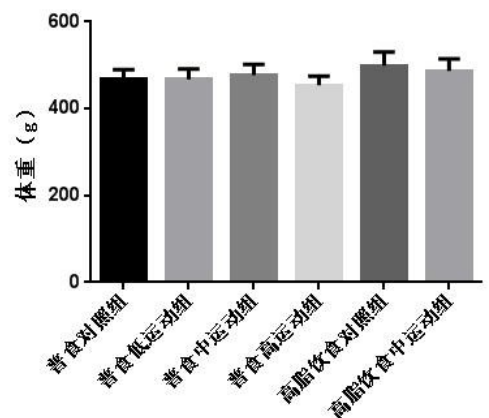


图1 不同干预作用下大鼠体重改变的比较

表 1 不同干预前后大鼠血浆血脂水平改变比较 ($\bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$)

组别	TC				TG				LDL-C				HDL-C			
	干预前	干预后	<i>t</i>	<i>P</i>	干预前	干预后	<i>t</i>	<i>P</i>	干预前	干预后	<i>t</i>	<i>P</i>	干预前	干预后	<i>t</i>	<i>P</i>
普食低运动组	7.52±0.18	7.34±0.15	0.567	0.342	1.71±0.15	1.67±0.13	0.662	0.431	1.16±0.07	1.14±0.08	0.361	0.689	0.84±0.11	0.79±0.10	0.337	0.697
普食中运动组	7.54±0.16	7.53±0.19	0.539	0.316	1.72±0.13	1.72±0.14	0.473	0.590	1.15±0.08	1.17±0.08	0.285	0.773	0.83±0.13	0.85±0.13	0.103	0.792
普食高运动组	7.99±0.19	7.52±0.18	0.589	0.302	1.83±0.16	1.71±0.15	0.672	0.278	1.30±0.11	1.16±0.07	0.449	0.301	0.88±0.11	0.84±0.11	0.553	0.286
高脂饮食对照组	7.56±0.13	7.34±0.13	0.667	0.407	1.69±0.14	1.61±0.09	0.281	0.783	1.18±0.05	1.11±0.07	0.219	0.802	0.92±0.13	0.88±0.10	0.456	0.240
高脂饮食中运动组	7.51±0.14	6.14±0.14	1.098	0.074	1.73±0.13	1.62±0.11	2.043	0.056	1.16±0.08	1.13±0.07	0.458	0.459	0.82±0.12	1.10±0.12*	5.218	0.001

注:高脂饮食中运动组干预前后 HDL-C 改变比较, a: $P < 0.05$

2.2 普食对照组和高脂饮食对照组大鼠血浆 TLR 和炎症因子改变比较 干预 6 周后,高脂饮食对照组大鼠血浆 TLR2 和 TLR4 比普食对照组显著升高,差异有统计学意义($P < 0.001$);且 IL-6、TNF- α 也比普食对照组显著升高,差异有统计学意义($P < 0.001$)。见表 2。

表 2 普食对照组和高脂饮食对照组大鼠血浆 TLR 和炎症因子改变比较 ($\bar{x} \pm s, \text{pg/ml}$)

组别	<i>n</i>	TLR2	TLR4	IL-6	TNF- α
普食对照组	10	2.88±0.18	2.39±0.13	159.81±9.33	11.23±1.06
高脂饮食对照组	10	3.91±0.18	3.65±0.28	201.71±13.76	13.80±0.95
<i>t</i>		12.795	12.907	7.970	5.710
<i>P</i>		<0.001	<0.05	<0.001	<0.001

2.3 不同运动强度对普食大鼠血浆因子改变比较 干预 6 周后,普食对照组,普食低、中、高运动组四组间的大鼠血浆 TLR2 和 TLR4 和 IL-6、TNF- α 比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 3。进一步两两比较显示,普食高、中、低运动组 TLR2、TLR4 水平与普食对照组相比显著改变($P < 0.01$),而普食高、中运动组 TLR2、TLR4 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);普食高、中、低运动组 IL-6、TNF- α 表达水平与普食对照组相比显著改变($P < 0.01$);普食高与中运动组间 TNF- α 表达水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 4。

表 3 不同运动强度对普食大鼠血浆 TLR 和炎症因子改变比较 ($\bar{x} \pm s, \text{pg/ml}$)

组别	<i>n</i>	TLR2	TLR4	IL-6	TNF- α
普食对照组	10	2.88±0.18	2.39±0.13	159.81±9.33	11.23±1.06
普食低运动组	10	3.62±0.24	5.00±0.22	268.21±25.14	12.81±1.24
普食中运动组	10	3.26±0.26	4.12±0.24	208.41±14.17	13.95±1.16
普食高运动组	10	3.28±0.22	4.17±0.21	240.98±20.34	15.20±1.15
<i>F</i>		17.76	288.21	65.19	12.103
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 4 不同运动强度普食大鼠各组 TLR2、TLR4、IL-6、TNF- α 水平的两两比较 (LSD 法)

组别	TLR2 <i>P</i> 值	TLR4 <i>P</i> 值	IL-6 <i>P</i> 值	TNF- α <i>P</i> 值
A vs. B	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
C vs. A	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
D vs. A	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
C vs. B	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
D vs. B	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
D vs. C	>0.05	>0.05	<0.01	0.107

注:A:普食对照组;B:普食低运动组;C:普食中运动组;D:普食高运动组

2.4 中等强度运动对不同饮食大鼠血浆因子改变比较 干预 6 周后,高脂饮食中运动组大鼠血浆 TLR2 和 TLR4 水平比普食中运动组明显升高($P < 0.001$);且 IL-6、TNF- α 也比普食中运动组显著上升($P < 0.05$ 或 $P < 0.001$)。见表 5。

表 5 中等强度运动对不同饮食大鼠血浆 TLR 和炎症因子改变比较 ($\bar{x} \pm s, \text{pg/ml}$)

组别	<i>n</i>	TLR2	TLR4	IL-6	TNF- α
普食中运动组	10	3.26±0.26	4.12±0.24	208.41±14.17	13.95±1.16
高脂饮食中运动组	10	5.52±0.33	7.34±0.41	268.21±25.14	15.21±1.15
<i>t</i>		17.011	21.433	6.533	2.439
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	0.025

3 讨论

高脂饮食可致肥胖,而肥胖是一种代谢疾病,它能导致动脉粥样硬化这类心血管疾病及糖尿病的发生,运动有可能在对抗这些代谢疾病中发挥积极的作用。研究表明,高脂饮食可导致 TLR2、TNF- α 等指标在内脏肥胖的脂肪细胞中表达水平增加,但在皮下肥胖的大鼠中并不明显^[10]。在脂肪细胞中,TLR4 和 IL-6 可协调作用,促进细胞中 MMP-1 的表达,进而促进肥胖的发生^[11]。TLR 是产生促进糖尿病及动脉硬化的免

疫蛋白的免疫系统中重要的调节因子,有研究显示运动和高脂饮食的联合干预与血清中 TLR2、TLR4 浓度相关^[12]。上述研究提示 TLR2、TLR4、IL-6、TNF- α 参与了多种引起肥胖的疾病,可反映肥胖疾病变化过程。我们的结果显示,高脂饮食组大鼠中 TLR2、TLR4、TNF- α 、IL-6 的浓度比普食对照组上升,提示上述 4 个因子参与了饮食诱导的肥胖过程,与前述报道类似。

文献表明健康男性 1.5 h 的自行车运动后 TLR4 表达减少,TLR2 的表达没有改变,但 TLR2 和 TLR4 的血清浓度变化在研究中没有说明^[13]。Oliveira 等^[14]对饮食诱导的肥胖大鼠进行慢性游泳运动(每周 5 d 共 8 周)和急性游泳运动(两轮 3 h 的急性运动,中间间隔 45 min)干预,结果发现慢性和急性运动都能降低 TLR4 的表达。还有研究表明,高水平的运动训练有抗炎作用,高强度锻炼会增加炎症细胞因子,其中 TNF- α 和 IL-6 是反映炎症水平的重要指标,因此本研究也选择这两个指标观察不同运动强度对炎症水平的影响。结果发现,普食高、中运动组的 TLR2、TLR4、IL-6、TNF- α 水平均与普食对照组存在显著差异($P < 0.01$),表明高、中运动均能改善 TLR2、TLR4、IL-6、TNF- α 水平,而对于 TNF- α ,中等运动的改善效果与高等运动无显著差异。本研究结果与曹皎等^[13]的报道相似,即不同运动强度对大鼠的炎症指标有影响,以上结果表明中强度运动的效果与高强度运动效果相近,这为未来指导糖尿病患者运动治疗提供了新的思路。

总之,本研究结果表明,高脂饮食较普通饮食可以显著升高炎症因子水平;不同运动量对 TLR2、TLR4、IL-6、TNF- α 的表达水平影响不完全相同,但其作用机制需要进一步研究。

参考文献:

- [1] Jialal I, Kaur H. The role of toll-like receptors in diabetes-induced inflammation: implications for vascular complications[J]. *Current Diabetes Reports*, 2012, 12(2): 172-179.
- [2] Jialal I, Kaur H, Devaraj S. Toll-like receptor status in obesity and metabolic syndrome: a translational perspective[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(1): 39-48.
- [3] 吴卫东. 有氧运动训练对 ApoE⁻ 小鼠肝脏铁调素蛋白和血清 IL-6、MCP-1 含量的影响[J]. *中国运动医学杂志*, 2017, 36(8): 675-679.
- [4] Olver TD, Laughlin MH. Endurance, interval sprint, and resistance exercise training: impact on microvascular dysfunction in type 2 diabetes[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2016, 310(3): H337-350.
- [5] Tofighee A, Khazaei HA, Jalili A. Comparison of Effect of One Course of Intense Exercise (Wingate test) on Serum Levels of Interleukin-17 in Different Groups of Athletes[J]. *Asian J Sports Med*, 2014, 5(4): e22769.
- [6] Osorio RA, Christofani JS, D'Almeida V, et al. Reactive oxygen species in pregnant rats: effects of exercise and thermal stress [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2003, 135(1): 89-95.
- [7] Osorio RA, Silveira VL, Maldjian S, et al. Swimming of pregnant rats at different water temperatures[J]. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2003, 135(4): 605-611.
- [8] da Silva FF, de Souza RA, Pacheco MT, et al. Effects of different swimming exercise intensities on bone tissue composition in mice: A Raman spectroscopy study [J]. *Photomed Laser Surg*, 2011, 29(4): 217-225.
- [9] 申彦菊, 刘鸿, 陈青云, 等. 运动对糖尿病动脉粥样硬化大鼠 Toll 样受体促炎通路的影响[J]. *中国糖尿病杂志*, 2015, 23(10): 921-926.
- [10] Zhao M, Zang B, Cheng M, et al. Differential responses of hepatic endoplasmic reticulum stress and inflammation in diet-induced obese rats with high-fat diet rich in lard oil or soybean oil [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e78620.
- [11] Samuvel DJ, Jin J, Sundararaj KP, et al. TLR4 activation and IL-6-mediated cross talk between adipocytes and mononuclear cells synergistically stimulate MMP-1 expression[J]. *Endocrinology*, 2011, 152(12): 4662-4671.
- [12] Wan Z, Durrer C, Mah D, et al. One-week high-fat diet leads to reduced toll-like receptor 2 expression and function in young healthy men[J]. *Nutr Res*, 2014, 34(12): 1045-1051.
- [13] 曹皎, 肖国强, 陈晓光. 不同强度运动对肥胖大鼠肝脏氧化应激和脂联素及其受体的影响[J]. *中国运动医学杂志*, 2017, 36(9): 779-787.
- [14] Oliveira AG, Carvalho BM, Tobar N, et al. Statement of Retraction. Physical Exercise Reduces Circulating Lipopolysaccharide and TLR4 Activation and Improves Insulin Signaling in Tissues of DIO Rats [J]. *Diabetes*, 2016, 65(4): 1124-1125.

收稿日期: 2018-07-10; 修回日期: 2018-08-12