

侯改霞,李腾冲,蒋昊圻,等. 不同时间离心运动对大鼠比目鱼肌和趾长伸肌损伤的影响及炎症机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(2): 80-87.

Hou GX, Li TC, Jiang HQ, et al. Effects of different amounts of eccentric exercise on soleus and extensor digitorum longus muscle injury in rats and its inflammatory mechanism [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(2): 80-87.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2021.02.012

不同时间离心运动对大鼠比目鱼肌和趾长伸肌损伤的影响及炎症机制研究

侯改霞*, 李腾冲, 蒋昊圻, 梁学三, 李露豪, 薛俊杰, 付素焕

(河南大学体育学院, 河南 开封 475001)

【摘要】 目的 通过不同时间的离心运动,复制大鼠骨骼肌损伤模型,观察不同离心运动时间对大鼠比目鱼肌和趾长伸肌的炎症基因表达水平的影响。**方法** 雄性 Wister 大鼠随机分为 3 组:安静对照组(A 组)、一次离心运动损伤组(1T 组)、一周离心运动损伤组(1W 组),每组 8 只。采用动物跑台运动,下坡跑(离心运动),跑台坡度 -16° 。1W 组先进行 1 周适应性训练,再进行 1 周正式训练。1T 组进行 1 周适应性训练,再进行一次大强度离心运动。最后一次训练结束后 24 h,所有大鼠过夜禁食 12 h 后,称重,腹腔麻醉,取材。**结果** 与 A 组相比,1T 组和 1W 组大鼠血清 CK、LDH 水平均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);1W 组大鼠血清 CK、LDH 水平显著低于 1T 组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。A 组大鼠的比目鱼肌和趾长伸肌 TLR4 mRNA、MyD88 mRNA、NF- κ B mRNA、NLRP3 mRNA、TNF- α mRNA、IL-1 β mRNA 表达水平无差异($P>0.05$),比目鱼肌中毛细血管数量多于趾长伸肌。1T 组大鼠比目鱼肌 TLR4 mRNA、MyD88 mRNA、NF- κ B mRNA、NLRP3 mRNA、TNF- α mRNA、IL-1 β mRNA 表达水平显著高于 A 组大鼠比目鱼肌($P<0.01$),比目鱼肌细胞间有稍许炎症浸润,细胞间间隙增大;1T 组大鼠的趾长伸肌 TLR4 mRNA、IL-1 β mRNA 表达水平显著高于 A 组大鼠的趾长伸肌($P<0.01$),1T 组大鼠的趾长伸肌 MyD88 mRNA、NF- κ B mRNA、NLRP3 mRNA 表达显著低于 1T 组大鼠的比目鱼肌($P<0.01$)。1W 组大鼠的比目鱼肌 TLR4 mRNA、MyD88 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平显著高于 A 组大鼠的比目鱼肌($P<0.01$),TLR4 mRNA 表达水平显著低于 1T 组大鼠的比目鱼肌($P<0.05$);1W 组大鼠的趾长伸肌 TLR4 mRNA 表达水平显著高于 A 组大鼠的趾长伸肌($P<0.01$),MyD88 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平显著低于 1W 组大鼠的比目鱼肌($P<0.01$);与 A 组相比,1T 组大鼠的比目鱼肌和趾长伸肌的显微结构变化不大。**结论** 一次离心运动和一周离心运动对大鼠骨骼肌均造成了一定程度的损伤与炎症,这可能与离心运动激活了骨骼肌 TLR4/MyD88 相关信号通路有关;与一周离心运动相比,一次大强度离心运动对大鼠骨骼肌造成的损伤更严重,炎症因子的表达水平更高,且大鼠比目鱼肌的损伤程度比趾长伸肌更大。

【关键词】 离心运动;骨骼肌损伤;炎症机制

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2021) 02-0080-08

Effects of different amounts of eccentric exercise on soleus and extensor digitorum longus muscle injury in rats and its inflammatory mechanism

HOU Gaixia*, LI Tengchong, JIANG Haoqi, LIANG Xuesan, LI Luhao, XUE Junjie, FU Suhuan

(School of Physical Education, Henan University, Kaifeng 475001, China)

【基金项目】 河南省重点研发与推广专项(科技攻关)项目(202102310318);河南省高等学校重点科研项目(20A890002);国家级大学生创新创业训练计划项目(201910475074)。

【作者简介】 侯改霞(1978—),女,博士,副教授,研究方向:运动与健康。E-mail:hgx715@163.com

【Abstract】 Objective To establish a skeletal muscle injury rat model using different amounts of eccentric exercise, and to observe the effects of the model on the expression of inflammatory genes in soleus and extensor digitorum longus muscles. **Methods** Male Wister rats were randomly divided into three groups: quiet control group (group A), one-time centrifugal exercise injury group (1Tgroup), and one-week centrifugal exercise injury group (1W group). The rats used the animal treadmill to run downhill (centrifugal movement), and the gradient of the treadmill was -16° . The 1W group first received one week of adaptive training followed by one week of formal training. One week of adaptive training was given to the 1T group followed by one session of intensive centrifugal exercise. Twenty-four hours after the last training, all rats were fasted overnight for 12 hours, then weighed, anesthetized and sampled. **Results** Compared with group A, the serum creatine kinase and lactate dehydrogenase levels of rats in the 1T and 1W groups were significantly higher ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) and the serum CK and LDH levels of rats in the 1W group were significantly lower than those in the 1T group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). There was no difference in mRNA levels of TLR4, MyD88, NF- κ B, NLRP3, TNF- α , or IL-1 β between soleus and extensor digitorum longus muscles in group A ($P > 0.05$). The number of capillaries in the soleus was greater than that in the extensor digitorum longus in group A. The mRNA levels of TLR4, MyD88, NF- κ B, NLRP3, TNF- α and IL-1 β in the soleus of the 1T group were significantly higher than those in the soleus of group A ($P < 0.01$). There was a small amount of inflammatory cell infiltration between the soleus muscle cells, and the intercellular space was increased. The mRNA levels of TLR4 and IL-1 β in the extensor digitorum longus in the 1T group were significantly higher than those in group A ($P < 0.01$), and the mRNA levels of MyD88, NF- κ B and NLRP3 in the extensor digitorum longus were significantly lower than those in the soleus in the 1T group ($P < 0.01$). The mRNA levels of TLR4, MyD88 and NLRP3 in the soleus of the 1T group were significantly higher than those of group A ($P < 0.01$), and the level of TLR4 mRNA was significantly lower than that of the 1T group ($P < 0.05$). The level of TLR4 mRNA in the extensor digitorum longus in the 1W group was significantly higher than that in group A ($P < 0.01$), and the mRNA levels of MyD88 and NLRP3 were significantly lower than those in the soleus in the 1W group ($P < 0.01$). The microstructure of soleus and extensor digitorum longus muscles in the 1W group was little changed. **Conclusions** One-time eccentric exercise and one week eccentric exercise can cause a certain degree of injury and inflammation in skeletal muscle of rats, which may be related to the activation of TLR4/MyD88-related signaling stimulated by eccentric exercise. Compared with one week of centrifugation, one time high-intensity centrifugation caused more serious damage to skeletal muscle and higher expression of inflammatory factors. The degree of injury in the soleus of rats was greater than that in the extensor digitorum longus.

【Keywords】 centrifugal exercise; skeletal muscle injury; inflammatory mechanism

骨骼肌损伤是运动损伤中最常发生的一种软组织创伤,占运动损伤的 40% 以上^[1]。在骨骼肌损伤治疗的研究中,骨骼肌损伤动物模型的可靠性、适用性和可行性与实验结果的科学性密切相关。下坡跑(离心运动)骨骼肌损伤模型常常被用以研究骨骼肌运动性损伤^[2]。在复制下坡跑(离心运动)骨骼肌损伤模型时,动物跑台坡度一般采用 -16° ,但运动时间及模型的取材部位等问题还存在争议。已有研究认为,1 周连续的离心运动与 1 次离心运动相比,骨骼肌损伤无积累现象^[3],但金其贯等^[4]研究则认为短时间内连续大强度的离心运动可造成骨骼肌损伤的累积。关于取材部位,有的研究在比目鱼肌^[5],有的研究在趾长伸肌^[6]。因此,复制下坡跑(离心运动)骨骼肌损伤模型的方法还有待于进一步的验证和考究,为骨骼肌运动损伤研究的开展提供模型基础。

本课题拟通过不同时间的大鼠离心运动,复制

大鼠骨骼肌损伤模型,通过检测骨骼肌损伤大鼠的血清和骨骼肌的相关指标,来观察、对比不同方法复制的大鼠骨骼肌损伤模型的特点,为骨骼肌运动损伤的研究提供可靠、实用的动物模型。

1 材料和方法

1.1 实验动物

雄性 Wister 大鼠 24 只(SPF 级,8 周龄,体重 290~320 g),购自北京斯贝福生物技术有限公司[SCXK(京)2019-0010]。大鼠饲养于河南大学体育学院运动人体科学实验室专用动物房内[SYXK(豫)2016-0006],大鼠分笼喂养,每笼 4 只,自然昼夜节律变化,自由进食。室温(23 ± 2) $^\circ\text{C}$,相对湿度 40%~60%。普通饲料喂养,饲料由北京斯贝福生物技术有限公司配制。本实验方案通过河南大学生物医学科研伦理委员会审核批准(HUSOM-2019044),在实验的过程中严格遵循实验动物的 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

乳酸脱氢酶(LDH)(批号 20190617)和肌酸激酶(CK)(批号 20191007)均购自南京生物工程研究所;试剂盒 RNA 提取液、QRT-PCR 引物、HE 染液均购自武汉赛维尔生物科技有限公司;三氯甲烷、异丙醇、无水乙醇、中性树胶均购自国药集团化学试剂有限公司;D3024R 台式高速冷冻型微量离心机(DragonLab);Stepone plus 荧光定量 PCR 仪(ABI)、JJ-12 J 脱水机与 JB-P5 包埋机(武汉俊杰电子有限公司);RM2016 病理切片机(上海徕卡仪器有限公司);Nikon Eclipse E100 正置光学显微镜(日本尼康)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组及训练方法

参照文献^[6]方法并稍加改进建立骨骼肌损伤模型,采用动物跑台运动,下坡跑(离心运动),跑台坡度 -16° 。雄性 Wister 大鼠适应性喂养 1 周后,随机分为 3 组:安静对照组(A 组)、一次离心运动损伤组(1T 组)、一周离心运动损伤组(1W 组),每组 8 只。A 组饲养条件与运动组相同,不运动。1W 组先进行 1 周适应性训练,再进行 1 周正式训练。1 周适应性训练方案:第 1、2 天,跑台坡度为 0° ,速度为 16 m/min,每天训练 10 min;第 3、4 天,跑台坡度为 -5° ,速度为 16 m/min,每天训练 15 min;第 5、6 天,跑台坡度为 -10° ,速度为 16 m/min,每天训练 30 min;第 7 天休息。1 周正式训练方案:第 1、2 天,跑台坡度为 -16° ,速度为 20 m/min,每天训练 60 min;第 3~4 天,跑台坡度为 -16° ,速度为 20 m/min,每天训练 90 min;第 5~6 天,跑台坡度为 -16° ,速度为 20 m/min,每天训练 120 min;第 7 天,跑台坡度

为 -16° ,速度为 22 m/min,训练 120 min。1T 组训练方案:第 1~6 天训练方法同 1W 组的适应性训练方案;第 7 天,跑台坡度为 -16° ,速度为 22 m/min,训练 120 min。

1.3.2 动物取材和指标检测

最后一次训练结束后 24 h,所有大鼠过夜禁食 12 h 后,称重,腹腔麻醉,取材。腹主动脉采血,3000 r/min 离心 20 min,取血清置于 -80°C 冰箱保存以备 LDH、CK 检测。取各组大鼠右下肢同一部位比目鱼肌、趾长伸肌置于 4%多聚甲醛中固定以备 HE 染色切片的制作。取各组大鼠左下肢同一部位趾长伸肌、比目鱼肌置于 -80°C 冰箱保存以备各指标荧光定量 PCR(QRT-PCR)的检测。

1.3.3 骨骼肌 HE 染色切片的制作及观察

固定好的比目鱼肌和趾长伸肌经过脱水、浸蜡、包埋、切片 $4\text{ }\mu\text{m}$;石蜡切片脱蜡至水,苏木素染色,伊红染色,依次脱水,中性树胶封片;光学显微镜观察,图像采集分析。骨骼肌细胞核呈蓝色、细胞质呈红色。

1.3.4 荧光定量 PCR(QRT-PCR)检测

分别取 0.1 g 比目鱼肌和 0.1 g 趾长伸肌,进行总 RNA 抽提,检测 RNA 纯度与浓度。按 Real-time qPCR 试剂盒说明书进行 Real-time qPCR。采用 Primer 5.0 设计目的基因,Blast 软件检测引物特性,Oligo 7.37 选择最佳引物。具体引物信息如表 1。PCR 扩增:预变性(95°C , 10 min),循环(40 次)(95°C , 15 s $\rightarrow$ 60°C , 60 s),熔解曲线($60^{\circ}\text{C}\rightarrow 95^{\circ}\text{C}$, 每 15 s 升温 0.3°C)。GAPDH 作为内参,根据公式 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 计算目的基因的相对表达量。

表 1 各指标 qRT-PCR 引物信息

Table 1 qRT-PCR primer information of each index

Primer 名称 Name of primer	序列(5'-3') Sequence	片段长度(bp) Fragment length
GAPDH	Forward primer: CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG Reverse primer: GGTGGAAGAATGGGAGTTGCT	138
IL-1 β	Forward primer: GGCAACTGTCCCTGAACTCAAC Reverse primer: AAGCTCCACGGGCAAGACATA	249
TNF- α	Forward primer: CCACCACGCTCTTCTGTCTACTG Reverse primer: TGGGCTACGGGCTTGTCCT	151
NF- κ B	Forward primer: GGGACTATGACTTGAATGCGG Reverse primer: CAGCCAGGTCCCGTGAAATA	250
MyD88	Forward primer: AAGGTGTCTGCTCCATGGTG Reverse primer: TTGGTGCAAGGCTTGGTATAGT	204
TLR4	Forward primer: CCAGGTGTGAAATTGAGACAATTG Reverse primer: AAGCTGTCCAATATGGAACCC	191
NLRP ₃	Forward primer: GTGTTGTCAGGATCTCGCATTG Reverse primer: AGCAGCACAGTGAAGTAAGGCC	179

1.4 统计学方法

实验数据用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS Statistics 20.0 统计软件包进行统计,多组之间大鼠比目鱼肌或趾长伸肌之间的比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),同组间大鼠比目鱼肌和趾长伸肌之间的比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 离心运动对各组大鼠血清 LDH、CK 水平的影响

由表 2 可知,与 A 组相比,1T 组和 1 W 组大鼠血清 CK、LDH 水平均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);1 W 组大鼠血清 CK、LDH 水平显著低于 1T 组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.2 离心运动对各组大鼠比目鱼肌和趾长伸肌 TLR4 mRNA、MyD88 mRNA 表达的影响

如图 1 所示,A 组大鼠的比目鱼肌和趾长伸肌 TLR4 mRNA、MyD88 mRNA 表达水平无差异($P > 0.05$);1T 组大鼠的比目鱼肌 TLR4 mRNA、MyD88 mRNA 表达水平显著高于 A 组大鼠的比目鱼肌($P < 0.01$);1T 组大鼠的趾长伸肌 TLR4 mRNA 表达水平显著高于 A 组大鼠的趾长伸肌($P < 0.01$),MyD88 mRNA 表达水平显著低于 1T 组大鼠的比目鱼肌($P < 0.01$);1 W 组大鼠的比目鱼肌 TLR4 mRNA、MyD88 mRNA 表达水平显著高于 A 组大鼠的比目鱼肌($P < 0.01$),TLR4 mRNA 表达水平显著低于 1T 组大鼠的比目鱼肌($P < 0.05$);1 W 组大鼠的趾长伸肌 TLR4 mRNA 表达水平显著高于 A 组大鼠的趾长伸肌($P < 0.01$),显著低于 1T 组大鼠的趾长伸肌($P < 0.01$);1 W 组大鼠的趾长伸肌 MyD88 mRNA 表达水平显著低于 1 W 组大鼠的比目鱼肌($P < 0.01$)。

2.3 离心运动对各组大鼠比目鱼肌和趾长伸肌 NF- κ B mRNA、NLRP3 mRNA 表达的影响

如图 2 所示,A 组大鼠的比目鱼肌和趾长伸肌

的 NF- κ B mRNA、NLRP3 mRNA 表达均无差异($P > 0.05$);1T 组大鼠的比目鱼肌 NF- κ B mRNA、NLRP3 mRNA 表达均显著高于 A 组大鼠的比目鱼肌($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);1T 组大鼠的趾长伸肌 NF- κ B mRNA、NLRP3 mRNA 表达显著低于 1T 组大鼠的比目鱼肌($P < 0.01$);1 W 组大鼠的比目鱼肌 NLRP3 mRNA 表达显著高于 A 组大鼠的比目鱼肌($P < 0.01$),1 W 组大鼠的趾长伸肌 NF- κ B mRNA 表达显著低于 A 组大鼠的趾长伸肌和 1 W 组大鼠的比目鱼肌($P < 0.05$),1 W 组大鼠的趾长伸肌 NLRP3 mRNA 表达显著低于 1 W 组大鼠的比目鱼肌($P < 0.01$)。

2.4 离心运动对各组大鼠比目鱼肌和趾长伸肌 TNF- α mRNA、IL-1 β mRNA 表达的影响

如图 3 所示,A 组大鼠的比目鱼肌和趾长伸肌的 TNF- α mRNA、IL-1 β mRNA 表达均无差异($P > 0.05$);1T 组大鼠的比目鱼肌 TNF- α mRNA、IL-1 β mRNA 表达均显著高于 A 组大鼠的比目鱼肌($P < 0.05$);1T 组大鼠的趾长伸肌 IL-1 β mRNA 表达显著高于 A 组大鼠的趾长伸肌($P < 0.05$)。

2.5 离心运动对各组大鼠比目鱼肌和趾长伸肌显微结构的影响

如图 4 所示,骨骼肌细胞 HE 染色细胞核呈蓝色,细胞质呈红色。各组大鼠比目鱼肌中毛细血管数量多于趾长伸肌。与 A 组相比,1T 组大鼠的比目鱼肌和趾长伸肌肌细胞间有稍许炎症浸润,细胞间隙增大,但这种变化比目鱼肌更明显。与 A 组相比,1T 组大鼠的比目鱼肌和趾长伸肌的显微结构变化不大。

3 讨论

3.1 不同离心运动时间对大鼠血清指标的影响

研究表明^[7-9],骨骼肌损伤会导致机体血清肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)活性的急剧升高。本研究结果显示,与 A 组相比,1T 组和 1 W

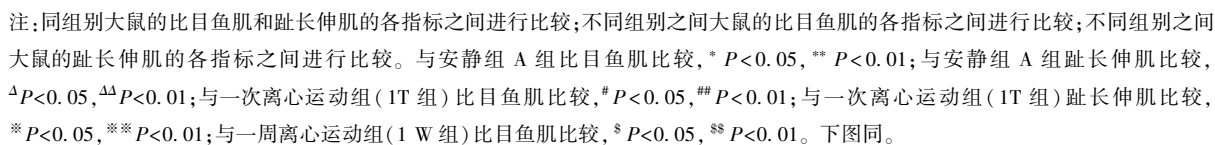
表 2 离心运动对各组大鼠血清 LDH、CK 水平的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of eccentric exercise on serum LDH and CK levels of rats in each group

组别 Groups	CK(U/mL)	LDH(U/L)
安静组(A组) Control group(A)	1.36 $\pm$ 0.21	1574.00 $\pm$ 288.06
一次离心运动组(1T组) One-time centrifugal exercise group(1T)	2.36 $\pm$ 0.27**	3166.67 $\pm$ 404.55**
一周离心运动组(1W组) One-week centrifugal exercise group(1W)	1.71 $\pm$ 0.28*##	2689.62 $\pm$ 218.25**#

注:与安静组 A 组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与一次离心运动组(1T 组)比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

Note. Compared with Group A, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Compared with Group(1T), # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.



Note. The indexes of soleus muscle and extensor digitorum longus of rats in the same group were compared. The indexes of soleus muscle of rats in different groups were compared. The indexes of extensor digitorum longus between different groups were compared. Compared with soleus muscle of Group A, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$. Compared with extensor digitorum longus of Group A, ^Δ $P<0.05$, ^{ΔΔ} $P<0.01$. Compared with soleus muscle of Group(1T), [#] $P<0.05$, ^{###} $P<0.01$. Compared with extensor digitorum longus of Group(1T), [※] $P<0.05$, ^{※※} $P<0.01$. Compared with soleus muscle of Group(1W), [§] $P<0.05$, ^{§§} $P<0.01$. The same as below.

Figure 1 consists of two bar charts. The left chart shows the relative expression of NF-κB mRNA, and the right chart shows the relative expression of NLRP3 mRNA. Both charts compare three groups: control (Group A), 1-week centrifugation (Group 1T), and 1-week unloading (Group 1W). For each group, two muscles are compared: soleus muscle (white bars) and extensor digitorum longus muscle (hatched bars). Error bars represent standard deviation. Statistical significance is indicated by asterisks (*, **), hash marks (#, ##), and dollar signs (\$, \$\$).

Relative expression of NF-κB mRNA in skeletal muscle

Group	Muscle	Relative expression	Significance
Group (A)	Soleus muscle	~0.88	
	Extensor digitorum longus	~1.02	
Group (1T)	Soleus muscle	~1.22	*
	Extensor digitorum longus	~0.75	##
Group (1W)	Soleus muscle	~0.98	
	Extensor digitorum longus	~0.65	Δ\$

Relative expression of NLRP3 mRNA in skeletal muscle

Group	Muscle	Relative expression	Significance
Group (A)	Soleus muscle	~1.2	
	Extensor digitorum longus	~1.3	
Group (1T)	Soleus muscle	~4.2	**
	Extensor digitorum longus	~1.8	##
Group (1W)	Soleus muscle	~4.2	**
	Extensor digitorum longus	~1.2	\$\$

Figure 2 Effects of eccentric exercise on the expression of NF- κ B mRNA and NLRP3 mRNA in soleus and extensor digitorum longus in each group

原因可能与肌肉对离心运动的“适应效应”最早可能发生在第一次离心运动后 24 h, 持续强化的离心训练对肌肉的损伤和炎症没有加重作用。但金其贯等^[4]研究则认为连续的离心运动可使骨骼肌纤维的损伤产生一定的累加作用。因此, 关于不同离心运动时间对骨骼肌损伤的影响及其机制还需进一步的研究。

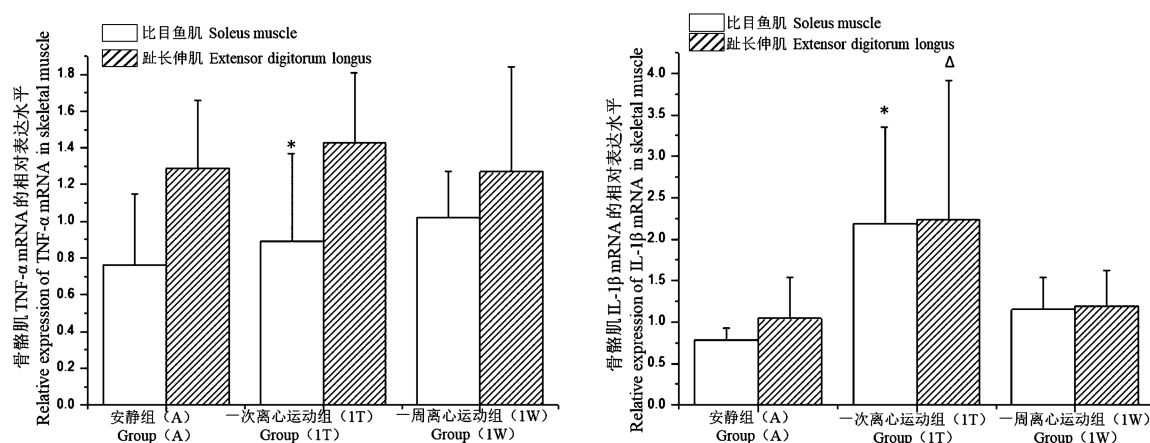


图3 离心运动对各组大鼠比目鱼肌和趾长伸肌 TNF-α mRNA、IL-1β mRNA 表达的影响

Figure 3 Effects of eccentric exercise on the expression of TNF-α mRNA and IL-1β mRNA in soleus and extensor digitorum longus in each group

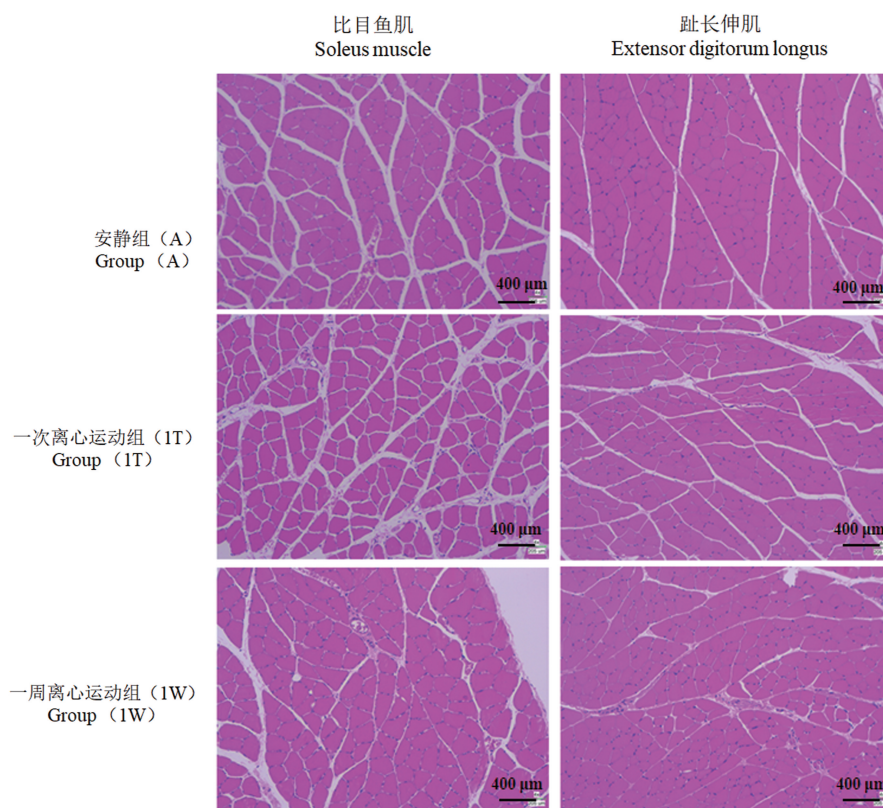


图4 离心运动对各组大鼠比目鱼肌和趾长伸肌显微结构的影响

Figure 4 Effects of eccentric exercise on the microstructure of soleus muscle and extensor digitorum longus in each group

3.2 不同时间的离心运动对大鼠比目鱼肌和趾长伸肌 TLR4/MyD88 信号通路及其下游相关炎症因子的影响

Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 是 Toll 样受体家族的重要成员之一, TLR4 及其信号通路可

激活机体固有免疫系统。TLR4/MyD88 (myeloid differentiation factor-88) 是 TLR4 的主要信号通路。基本途径如下^[10-13]: TLR4 被激活后, 首先形成 LPS/TLR4/MD2 复合物, 然后招募接头蛋白 MyD88, 从而进一步激活 NF-κB (nuclear factor-κB,

NF- κ B), 刺激炎症细胞合成和释放 IL-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等前炎性因子的表达, 进一步引起机体的炎症反应和组织损伤。

Nod 样受体蛋白 3 (Nod-like receptor protein 3, NLRP3) 也是机体固有免疫系统的识别受体, 是一种重要的炎症调节因子。TLR4 属于膜表面受体, NLRP3 是胞质内受体。TLR4/MyD88 信号通路激活 NF- κ B 后, 介导无活性 IL-1 β 前体 (pro-IL-1 β) 的产生, NLRP3 活化可将 pro-IL-1 β 剪切为活化的 IL-1 β , 从而介导炎症反应^[14]。同时也有研究证明, NF- κ B 信号通路具有调节 NLRP3 炎症小体活化的作用^[15]。由此可见, NLRP3 与 TLR4/MyD88/NF- κ B 介导的炎症反应之间存在反馈调节网络, 它们相互协作, 共同发挥作用。

本研究结果表明, 一次离心运动和一周离心运动对大鼠骨骼肌均造成了一定程度的损伤与炎症。相对于一周离心运动来说, 一次大强度离心运动对大鼠骨骼肌造成的损伤更严重, 炎症因子的表达水平更高, 且大鼠比目鱼肌的损伤程度比趾长伸肌更大。一次离心运动组 (1T) 比目鱼肌 TLR4、MyD88、NF- κ B、NLRP3、TNF- α 、IL-1 β 基因表达均显著上升, 而且比目鱼肌相关炎症因子的表达显著高于趾长伸肌。研究表明, 骨骼肌炎症与 TLR4/MyD88 信号通路激活有密切关系。Kwon 等^[16]将小鼠后肢去负荷 14 d, 野生型 (WT) 小鼠的骨骼肌表现为葡萄糖摄取受损、肌肉胰岛素信号异常, 同时骨骼肌 TLR4、NF- κ B、炎症因子表达上升, 而 MyD88 (-/-) 小鼠却没表现出此现象。离心运动会引起人体骨骼肌相关炎症因子表达的变化^[17-19], 这可能与离心运动可激活机体 TLR4/MyD88 信号通路相关。研究表明^[20-21], 急性的离心运动会激活男、女外周血单核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) TLR4/MyD88 信号通路, 引起 NF- κ B、IL-1、TNF- α 的表达增多。过度的离心运动也会导致短暂的下丘脑炎症, 可导致过度运动小鼠的体重和摄食的减少^[22]。老年人髌部骨折引起的股四头肌炎症同样与 TLR4/MyD88 信号通路的激活有关, 3 个月的运动康复训练, 能够降低 TLR4/MyD88 信号通路的活性, 降低与骨骼肌炎症相关的基因表达^[23]。同样, 离心运动会导致大鼠骨骼肌中 TLR4、MyD88 表达增多, NF- κ B、TNF- α 、IL-1 β 等炎症因子的表达上

升, 抗炎药的使用可以改善离心运动大鼠骨骼肌的炎症状态^[24]。因此, 本研究所采用的离心运动方式造成的大鼠骨骼肌的损伤和炎症, 可能与 TLR4/MyD88 信号通路的激活密切相关, 至于同样的离心运动方式, 却对大鼠比目鱼肌和趾长伸肌的损伤和炎症因子表达的影响不同, 具体机制还需要进一步的研究。

参考文献:

- [1] Close GL, Sale C, Baar K, et al. Nutrition for the prevention and treatment of injuries in track and field athletes [J]. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 2019, 29(2): 189-197.
- [2] Dueweke JJ, Awan TM, Mendias CL. Regeneration of skeletal muscle after eccentric injury [J]. *J Sport Rehabil*, 2017, 26(2): 171-179.
- [3] Chen TC, Hsieh SS. Effects of a 7-day eccentric training period on muscle damage and Inflammation [J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2001, 33(10): 1732-1738.
- [4] 金其贯, 刘霞, 李淑艳, 等. 反复离心运动对大鼠骨骼肌损伤和蛋白质降解机制的影响 [J]. *体育科学*, 2010, 30(6): 76-80.
- [5] Zuo Q, Wang SC, Yu XK, et al. Response of macrophages in rat skeletal muscle after eccentric exercise [J]. *Chin J Traumatol*, 2018, 21(2): 88-95.
- [6] 孔梅, 张翔, 叶梅聆, 等. 过度离心训练引起的骨骼肌肌束膜衔接盘结构域变化及针刺干预效应 [J]. *生理学报*, 2017, 69(1): 17-32.
- [7] Franz A, Behringer M, Harmsen JF, et al. Ischemic preconditioning blunts muscle damage responses induced by eccentric exercise [J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2018, 50(1): 109-115.
- [8] Isik O, Dogan I. Effects of bilateral or unilateral lower body resistance exercises on markers of skeletal muscle damage [J]. *Biomed J*, 2018, 41(6): 364-368.
- [9] Kim YA, Oh SH, Lee GH, et al. Platycodon grandiflorum-derived saponin attenuates the eccentric exercise-induced muscle damage [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 112: 150-156.
- [10] Breuker C, Amouzou C, Fabre O, et al. Decreased RNF41 expression leads to insulin resistance in skeletal muscle of obese women [J]. *Metabolism*, 2018, 83: 81-91.
- [11] Patton MG, Gillum TL, Szymanski MC, et al. Heat acclimation increases inflammatory and apoptotic responses to subsequent LPS challenge in C2C12 myotubes [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2018, 23(5): 1117-1128.
- [12] Su Q, Li L, Sun Y, Yang H, et al. Effects of the TLR4/Myd88/NF-kappaB signaling pathway on NLRP3 inflammasome in coronary microembolization-induced myocardial injury [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(4): 1497-1508.

- [13] McKenzie AI, Briggs RA, Barrows KM, et al. A pilot study examining the impact of exercise training on skeletal muscle genes related to the TLR signaling pathway in older adults following hip fracture recovery [J]. *J Appl Physiol* (1985), 2017, 122(1): 68–75.
- [14] Lamkanfi M, Dixit VM. In Retrospect: The inflammasome turns 15 [J]. *Nature*, 2017, 548 (7669): 534–535.
- [15] Zhong Z, Um emura A, Sanchez-Lopez E, et al. NF- κ B restricts inflammasome activation via elimination of damaged mitochondria [J]. *Cell*, 2016, 164(5): 896–910.
- [16] Kwon OS, Tanner RE, Barrows KM, et al. MyD88 regulates physical inactivity-induced skeletal muscle inflammation, ceramide biosynthesis signaling, and glucose intolerance [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2015, 309(1): E11–E21.
- [17] Saovieng S, Wu J, Huang CY, et al. Deep ocean minerals minimize eccentric exercise-induced inflammatory response of rat skeletal muscle [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1351.
- [18] Zembron-Lacny A, Gajewski M, Nacz M, et al. Effect of shiitake (*Lentinus edodes*) extract on antioxidant and inflammatory response to prolonged eccentric exercise [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2013, 64(2): 249–254.
- [19] Ho CS, Lee MC, Chang CY, et al. Beneficial effects of a negative ion patch on eccentric exercise-induced muscle damage, inflammation, and exercise performance in badminton athletes [J]. *Chin J Physiol*, 2020, 63(1): 35–42.
- [20] Fernandez-Gonzalo R, De Paz JA, Rodriguez-Miguel P, et al. TLR4-mediated blunting of inflammatory responses to eccentric exercise in young women [J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014: 479395.
- [21] Fernandez-Gonzalo R, De Paz JA, Rodriguez-Miguel P, et al. Effects of eccentric exercise on toll-like receptor 4 signaling pathway in peripheral blood mononuclear cells [J]. *J Appl Physiol* (1985), 2012, 112(12): 2011–2018.
- [22] Pereira BC, da Rocha AL, Pauli JR, et al. Excessive eccentric exercise leads to transitory hypothalamic inflammation, which may contribute to the low body weight gain and food intake in overtrained mice [J]. *Neuroscience*, 2015, 311: 231–242.
- [23] McKenzie AI, Briggs RA, Barrows KM, et al. A pilot study examining the impact of exercise training on skeletal muscle genes related to the TLR signaling pathway in older adults following hip fracture recovery [J]. *J Appl Physiol* (1985), 2017, 122(1): 68–75.
- [24] Barcelos RP, Bresciani G, Cuevas MJ, et al. Diclofenac pretreatment modulates exercise-induced inflammation in skeletal muscle of rats through the TLR4/NF- κ B pathway [J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2017, 42(7): 757–764.

[收稿日期]2020-07-01