

游泳调控 NF- κ B 信号通路介导肥胖大鼠睾丸自噬干预炎症

李 可¹, 李宁川¹, 林 晨¹, 夏 俊², 徐美琪¹, 孙 蕾¹, 何 柳¹, 王启航¹

(1.扬州大学 体育学院,扬州 江苏 225127;2.安徽省体育科学研究所,安徽 合肥 230000)

摘要: **目的** 观察游泳运动对肥胖大鼠核转录因子 NF- κ B 信号通路的影响,探究调控 NF- κ B 信号通路对肥胖大鼠睾丸组织炎症影响和作用机制,为营养性肥胖引起的男性问题提供参考。**方法** 将3周龄雄性SD大鼠进行为期6周的造模,模成功后将大鼠分为标准对照组(NC)、标准游泳组(CE)、高脂对照组(HC组)、高脂游泳组(HE组),进行为期12周无负重游泳干预,利用ELISA法和RT-PCR法测定脂代谢、睾丸组织炎症因子和自噬相关因子的表达水平,采用Western blot检测睾丸组织中核因子 κ B抑制蛋白 α (I κ B α)磷酸化水平及核内核因子 κ B(NF- κ B)p65含量,透射电镜观察睾丸组织超微结构。**结果** 与NC组相比,HC组体重、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)水平均升高,高密度脂蛋白(HDL)水平降低($p<0.01$);ELISA检测显示NF- κ B、IL-6水平均有升高($p<0.01$),TNF- α 水平升高($p<0.05$);RT-PCR结果显示p62mRNA含量增加($p<0.05$),LC3-II/LC3-I降低($p<0.05$);Western blot显示I κ B α 磷酸化及细胞核内NF- κ B p65水平显著升高($p<0.05$);CE组体重升高,TG、TC水平均升高($p<0.01$),LDL水平降低($p<0.05$);ELISA检测显示NF- κ B、IL-6水平降低($p<0.05$)。与HC组相比,HE组体重下降($p<0.05$),TG水平降低($p<0.01$),TC、LDL水平降低($p<0.05$);ELISA检测发现NF- κ B、IL-6水平均降低($p<0.05$),TNF- α 水平均降低($p<0.01$);RT-PCR结果显示p62mRNA含量降低,LC3-II/LC3-I升高($p<0.01$),Western blot显示I κ B α 磷酸化及细胞核内NF- κ B p65水平显著降低($p<0.01$)。**结论** 持续12周规律的中等强度游泳运动可以实现有效减脂,激活睾丸组织自噬,有效改善由肥胖引起的机体慢性炎症水平,机制可能是游泳运动抑制NF- κ B信号通路介导自噬参与肥胖致睾丸组织炎症性损伤有关。

关键词: 睾丸组织;肥胖;炎症;自噬;NF- κ B信号通路

中图分类号: G804.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-983X(2023)09-0845-07

Swimming Modulates the NF- κ B Signaling Pathway to Mediate Testicular Autophagy in Obese Rats to Interfere with Inflammation

LI Ke¹, LI Ningchuan¹, LIN Chen¹, XIA Jun², XU Meiqi¹, SUN Lei¹, HE Liu¹, WANG Qihang¹

(1.College of Physical Education, Yangzhou University, Jiangsu Yangzhou, 225127; 2.Anhui Institute of Sports Science, Hefei Anhui, 230000)

Abstract: **Objective** To observe the effect of swimming exercise on the nuclear transcription factor NF- κ B signaling pathway in obese rats, and to explore the effect and mechanism of action of modulating NF- κ B signaling pathway on the inflammation of testicular tissues in obese rats, so as to provide a reference for men's problems caused by nutritional obesity. **Methods** Male SD rats were modeled at 3 weeks of age for 6 weeks. After successful modeling, rats were divided into standard control group (NC), standard swimming group (CE), high-fat control group (HC), and high-fat swimming group (HE) for 8 weeks of non-weight-bearing swimming intervention. Expression levels of lipid metabolism, testicular tissue inflammatory factors and autophagy-related factors using ELISA and RT-PCR methods. Detection of nuclear factor κ B inhibitory protein α (I κ B α) phosphorylation level and nuclear endonuclear factor κ B (NF- κ B) p65 content in testicular tissues using Western blot. Ultrastructure of testicular tissue observed by transmission electron microscopy. **Results** Compared with the NC group, the HC group had higher body weight, TG, TC, and LDL levels ($p<0.01$), and lower HDL levels ($p<0.01$). ELISA test found that NF- κ B and IL-6 levels increased ($p<0.01$), and TNF- α levels increased ($p<0.05$). RT-PCR results showed that p62mRNA content increased ($p<0.05$), and LC3-II/LC3-I decreased

收稿日期:2023-07-22

第一作者简介:李 可(2000~),女,江苏宿迁人,在读硕士,研究方向:运动人体科学。

通讯作者简介:李宁川(1965~),男,江苏扬州人,博士,教授,研究方向:体育保健和运动营养学,E-mail:linnc@yzu.edu.cn。

($p<0.05$). Western blot showed that I κ B α phosphorylation and NF- κ B p65 levels in the nucleus were significantly elevated ($p<0.05$). The CE group had increased body weight ($p<0.01$), and increased TG and TC levels ($p<0.01$), and decreased LDL levels ($p<0.05$). ELISA test found that NF- κ B and IL-6 levels decreased($p<0.05$). Compared with the HC group, the HE group had lower body weight ($p<0.05$), lower TG level ($p<0.01$), lower TC and LDL levels ($p<0.05$); ELISA test revealed that NF- κ B and IL-6 levels were lower ($p<0.05$), and TNF- α levels were lower($p<0.01$); RT-PCR results showed that p62mRNA content was lower ($p<0.01$) and increased LC3-II/LC3-I ($p<0.01$). Western blot showed a significant reduction in I κ B α phosphorylation and NF- κ B p65 levels in the nucleus ($p<0.01$). **Conclusion** Regular moderate-intensity swimming exercise for 8 weeks can achieve effective fat loss, activate autophagy in testicular tissue, and effectively improve the level of chronic inflammation in the body caused by obesity. The mechanism may be related to the inhibition of the NF- κ B signaling pathway-mediated autophagy involved in obesity-induced inflammatory damage in testicular tissue by exercise.

Keywords: testicular tissue; obesity; inflammation; autophagy; NF- κ B signaling pathway

肥胖与许多健康问题有关,包括生殖功能障碍,在男性中,肥胖与精子质量下降、睾酮水平下降和睾丸损伤有关^[1-3]。在肥胖状态下,炎症反应往往被激活,它是一种生物体对各种内外因素的应激反应,当炎症反应失控时会导致组织损伤和代谢紊乱,引起各种疾病。事实证明,肥胖引起的睾丸损伤被认为部分是由炎症介导的。由于免疫学和传染病因对男性不育症有很大贡献^[4],炎症性不育的作用往往被低估,有研究表明,在 20%的无精症不育患者睾丸活检中观察到免疫细胞浸润,进一步支持炎症反应在男性不育中的作用^[5]。

NF- κ B 信号通路的经典和替代通路是激活 NF- κ B 以响应不同刺激的两种不同机制^[6]。本研究涉及的信号通路为经典途径,经典途径主要调节促炎基因的表达,一旦被激活,该途径会导致 NF- κ B 二聚体从细胞质易位到细胞核,并与靶基因启动子区的位点结合,从而诱导其表达^[7]。研究表明,肥胖会导致肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白介素 6(IL-6)等促炎细胞因子的表达增加,激活睾丸组织中的 NF- κ B 通路^[8]。此外,自噬在调节肥胖致炎细胞因子的产生和释放发挥重要作用^[9]。越来越多的研究证明,自噬参与雄性生殖系统,它是一种细胞过程,在维持细胞稳态方面发挥着重要作用^[10]。

规律的运动已被证明可以减少睾丸组织中促炎细胞因子 TNF- α 等的表达^[11],这可能通过下调参与炎症和氧化应激的 NF- κ B 靶基因实现,NF- κ B 信号通路在肥胖致睾丸组织损伤中的作用尚未见报道,抑制 NF- κ B 和提高自噬水平可能是治疗肥胖相关生殖功能障碍的潜在治疗策略;有限的研究表明运动对睾丸组织自噬活性具有一定影响^[6],自噬过程广泛参与机体能量代谢核心器官,如脂肪、骨骼肌、肝脏等,但自噬在机体另一重要器官—睾丸中的研究甚少,特别是自噬通过运动改善机体睾丸组织脂质代谢方面和炎症反应方面也鲜有报道。因此,本研究探讨 NF- κ B 和自噬参与肥胖致睾丸炎症的作用机制以及运动对睾丸组织产生的影响。

1 材料与方法

1.1 大鼠模型构建及分组

3 周龄雄性 SD 大鼠 55 只,购于江苏大学,动物许可证号 SYXK(苏)2019-0044。体重为 140 ± 10 g,将大鼠随机分为普通对照组($n=25$)和高脂膳食组($n=30$),对照组大鼠给予普通维持饲料喂养,高脂膳食组给予高脂饲料,饲料均购于江苏协同生物有限公司。大鼠在造模期间自由饮水进食。室温 $21\sim 24$ $^{\circ}\text{C}$,

湿度 40%~60%,12 h 昼夜循环照明。造模 6 周后,大鼠体重增大 1/3 且体重高于对照组平均体重的 20%则为造模成功。所有大鼠适应性饲养 1 周后,采用随机数字法分为正常对照组(NC 组,10 只)、高脂饮食组(HC 组,10 只);正常运动组(CE 组,10 只);高脂运动组(HE,10 只)。实验获扬州大学实验动物福利伦理委员会批准。

需要说明的是,在干预过程中 3 只大鼠因攻击行为流失,5 只大鼠难以适应干预实验环境流失,其中对照组 2 只、高脂膳食组 6 只,为了减少变量之间潜在的混杂影响,提高研究的精准度,每组采用相同的样本数量。普通维持饲料(玉米,鱼粉,奶粉,赖氨酸,植物油,食盐,微量元素混合物,矿物质混合物组成,其中碳水化合物 62%、脂肪 11%、蛋白质 27%,热量为 2.69 Kcal/g);高脂饲料(高脂饲料供能比蛋白质:17.5%、脂肪 37%、碳水化合物 45.5%,热量为 3.85 Kcal/g)。

1.2 干预方案

NC 组和 CE 组普通饲料饲养,HC 组和 HE 组高脂饲料饲养。NC、HC 组不运动,在运动组干预的同时放在相同条件(时间和温度)泳池的浅水区,排除水的影响;CE 组和 HE 组进行中等强度无负重游泳,游泳方案参照前人有所改进^[12],水温控制在 35 $^{\circ}\text{C}$ 左右,第一周适应性游泳,第一天游泳 10 min,以后每天递增 10 min 至 60 min 停止;第二周游泳 60 min,每周干预 6 天。共干预 8 周。

1.3 实验取材和样本处理

干预结束后称重,禁食 12 h 正常饮水,于次日清晨用 50 mg/kg 剂量注射 2%的戊巴比妥钠溶液麻醉大鼠,测量大鼠体重、体长,然后腹部取血 10 ml,4 $^{\circ}\text{C}$ 静置 1 h 后,相同温度 $3\ 500$ r/min 离心 15 min 制备血清保存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱,用于 ELISA 检测;取出双侧睾丸称湿重,用 0.1%DEPC 水处理的无 RNA 污染的冰生理盐水漂洗,放入液氮冷冻再入无 RNA 酶的 EP 管中,放入 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待用。

1.4 指标测试与方法

1.4.1 ELISA 检测指标与方法

ELISA 检测大鼠血清中甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)以及睾丸组织中 IL-6、TNF- α 、NF- κ B 水平,取睾丸组织加入适量生理盐水捣碎。 $3\ 000$ r/min 离心 10 min 取上清制成组织匀浆。具体操作方法参照试剂盒说明书规范进行,试剂购自南京诺唯赞生物有限

公司。

1.4.2 RT-PCR 检测 LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ、P62mRNA 的表达

采用 Triol 法提取睾丸中的 RNA,使用逆转录试剂盒将所提取的睾丸 RNA 在核酸扩增仪中反转获取 cDNA,利用荧光定量 PCR 仪进行样本 cDNA 的扩增和荧光定量检测。

1.4.3 Western blot 检测 睾丸组织 IκBα、NF-κB p65 水平

-80℃取大鼠睾丸组织,收集提取液,加入蛋白上样缓冲液,SDS-PAGE 跑胶、转膜,转印蛋白的膜用 5%脱脂奶粉 37℃封闭 1.5 h,将膜与 IκBα、磷酸化 IκBα、GAPDH、NF-κB p65 的一抗 4℃孵育过夜,然后使用 HRP 标记的二抗 37℃孵育 1.5 h,最后加入 ECL 曝光成像。

1.4.4 透射电镜观察睾丸组织超微结构变化

利用透射电镜检测自噬体,将实验动物处死后,快速取出睾丸组织,于 0.9%生理盐水中漂洗 3 次,然后进行睾丸组织前后固定,固定结束后进行脱水、渗透,最后进行包埋、聚合,切片由扬州大学生物测试中心协助完成,保存以待电镜观察成像。

1.5 统计学处理

用 SPSS 27.0 统计软件进行分析,采用单因素方差分析和配对样本 *t* 检验分析,结果用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)来表示, $p < 0.05$ 说明差异有统计学意义。

2 研究结果

2.1 大鼠体重、体长及 Lee's 指数

与 NC 组相比,CE 组体重和 Lee's 下降($p < 0.01$);HC 组大鼠体重和 Lee's 指数升高($p < 0.01$)。与 HC 组相比,8 周游泳运动使大鼠体重、Lee's 指数下降($p < 0.05$),各组体长均无统计学差异,见图 1。

2.2 大鼠血清脂代谢指标变化

与 NC 组比较,CE 组 TG 含量升高($p < 0.01$),TC 含量降低($p < 0.01$),LDL 含量降低($p < 0.05$),HDL 含量呈现下降趋势但差异无统计学意义;HC 组 TG、TC、LDL 含量均升高($p < 0.01$),HDL 含量降低($p < 0.01$)。与 HC 组比较,HE 组 TG 含量降低($p < 0.01$),TC、LD 含量降低($p < 0.05$),LDL 含量降低($p < 0.05$),HDL 含量呈现下降趋势但差异无统计学意义,见图 2。

表 1 RT-PCR 反应引物序列

目的基因	双向引物序列(5'->3')	%GC	TM
p62	F:ACCCAGTAAGAGGCTCCAT	55	59.96
	R:TGAATACCAGCTGTCCGAGC		59.82
LC3-Ⅰ	F:TTGGTCAAGATCATCCGGCG		60.46
	R:TCAGCGATGGGTGTGGATAC		59.54
LC3-Ⅱ	F:GCTGCCTGTCCTGGATAAGA		59.17
	R:TCACCATGCTGTGCTGGTTC		60.86

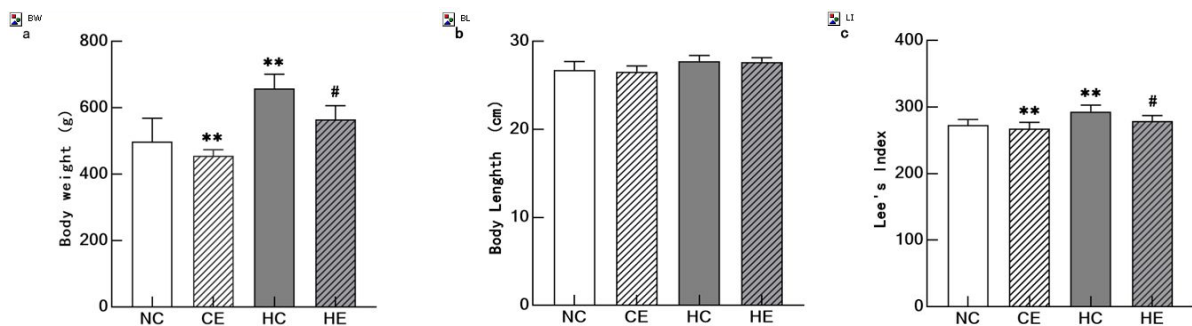


图 1 各组大鼠体重、体长和 Lee's 指数水平

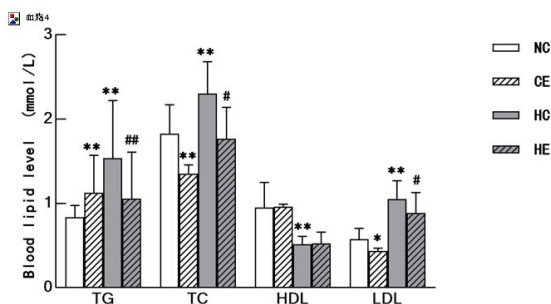


图 2 各组大鼠血脂水平

2.3 实验大鼠睾丸组织 NF-κB、IL-6、TNF-α 变化

与 NC 组相比,CE 组 NF-κB、IL-6 水平降低 ($p < 0.05$),TNF-α 水平下调,但差异无统计学意义;HC 组 NF-κB、IL-6 水平均有升高($p < 0.01$),TNF-α 水平升高($p < 0.05$),与 HC 组相比,HE 组 NF-κB、IL-6 水平均降低 ($p < 0.05$),TNF-α 水平降低($p < 0.01$)。

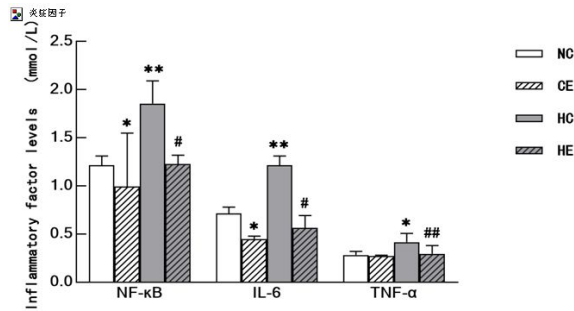


图 3 各组大鼠睾丸组织炎症因子水平

2.4 实验大鼠睾丸组织 p62、LC3mRNA 水平

与 NC 组相比,CE 组 LC3-II/LC3-I 升高,p62mRNA 含量下降,但差异无统计学意义;HC 组 LC3-II/LC3-I 降低 ($p < 0.05$),P62mRNA 含量增加 ($p < 0.05$);与 HC 组相比,HE 组 LC3-II/LC3-I 升高 ($p < 0.01$),p62mRNA 含量降低 ($p < 0.01$)。

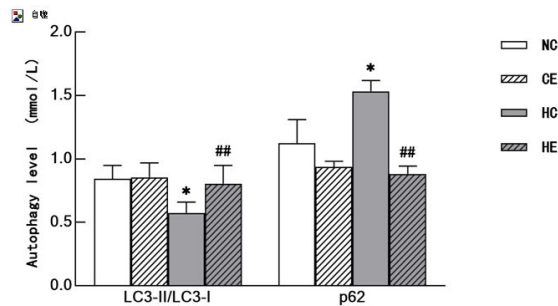


图 4 各组大鼠睾丸组织自噬水平

2.5 实验大鼠睾丸组织 IκBα 磷酸化、NF-κB p65 含量

大鼠游泳 8 周后,Western blot 结果显示,与 NC 组相比,HC 组 IκBα 磷酸化及细胞核内 NF-κB p65 水平显著升高 ($p < 0.05$),CE 组 IκBα 磷酸化及细胞核内 NF-κB p65 水平呈下降趋势,但差异无统计学意义;与 HC 组相比,HE 组 IκBα 磷酸化及细胞核内 NF-κB p65 水平显著降低 ($p < 0.01$)。

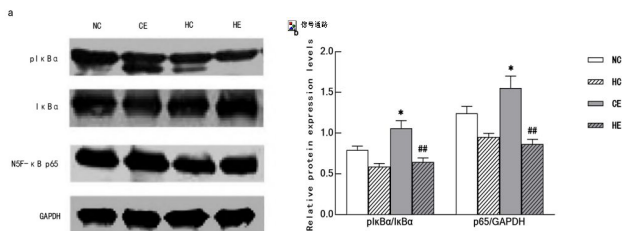


图 5 各组大鼠睾丸组织 IκB-α 磷酸化及核内 NF-κB p65 含量

2.6 实验大鼠睾丸组织超微组织结构变化

从实验组大鼠睾丸组织透射电镜图中观察发现,与 NC 组相比较,HC 组线粒体出现肿胀,线粒体内嵴紊乱和密度降低,内质网表现出应激迹象,自噬小泡的增多,CE 组出现大量线粒体,组织良好,嵴结构正常,内质网发育良好,看起来正常,核糖体附着在膜上,自噬小泡在睾丸组织中以低水平存在;与 HC 组相比较,HE 组出现很多管状嵴的线粒体以及数量不等的脂滴形成,线粒体内脊曲折程度差异较小,内质网中未折叠蛋白数量减少,观察到有大量自噬小泡的形成。

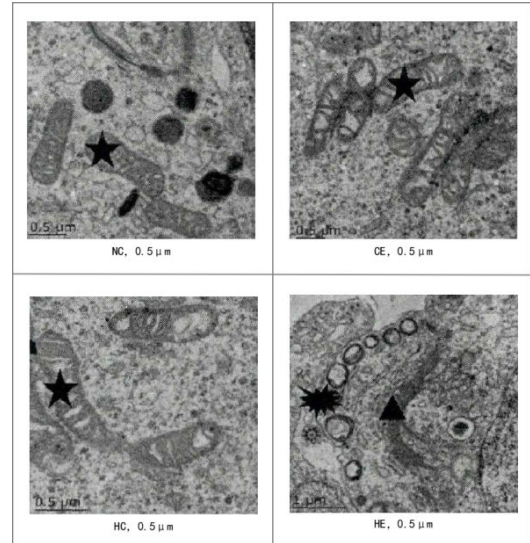


图 6 各组大鼠睾丸组织超微组织结构

2.7 睾丸组织 NF-κB、自噬和炎症之间的相关性

热图中每个小格子都代表了两个样本之间的相关性,采用颜色编码来表示不同样本之间的相关性程度,小格子的颜色深浅则代表了相关性的强度,橘色代表正相关,蓝色代表负相关。通过热图相关性分析,发现 NF-κB 与 p62、LC3-II/LC3-I、IL-6 和 TNF-α 均显著相关 ($p < 0.05$),其中 NF-κB 与 p62、IL-6 和 TNF-α 呈正相关,与 LC3-II/LC3-I 呈负相关;IL-6 与 p62 和 TNF-α 呈正相关,与 LC3-II/LC3-I 呈负相关;TNF-α 与 p62 呈正相关,与 LC3-II/LC3-I 呈负相关。



图 7 各组大鼠睾丸组织 NF-κB、IL-6、TNF-α、LC3-II/LC3-I 和 p62 之间的相关性

3 讨论

3.1 肥胖对脂代谢及炎症的影响

在脂代谢方面,与正常对照组相比,6 周的高脂饮食诱导使大鼠体重、Lee's 指数、食欲和食物摄入量增加,TG、TC 和 LDL 显著升高,脂质代谢发生变化,导致血液中胆固醇和甘油三酯水平呈升高趋势,与前人研究结果相似^[13-14]。主要原因是肥胖破坏了脂质代谢环境,体重和摄食量的增加容易造成脂肪组织质量增加和脂肪细胞肥大,从而导致脂质稳态失衡,引

起血脂异常。研究发现,大鼠睾丸组织中促炎因子 TNF- α 和 IL-6 均呈升高趋势,同时在透射电镜中观察到肥胖大鼠睾丸组织线粒体异常,内质网有应激迹象,一方面可能是睾丸组织中增大的脂肪引发了慢性低度炎症,涉及游离脂肪酸激活 toll 样受体 4 (TLR4) 信号传导^[15],从而刺激促炎细胞因子和趋化因子的产生,促炎细胞因子和趋化因子可以通过刺激活性氧 (ROS) 的异常升高和促进巨噬细胞 M1 型表达等免疫细胞向睾丸组织的渗透,在睾丸组织中诱导氧化应激和炎症^[16-17]。另一方面,高脂饮食致睾丸组织脂肪的大量的堆积使免疫细胞产生促炎因子,从而产生睾丸炎症,由于内质网应激可导致活性氧的产生和促炎细胞因子的释放,从而损伤线粒体^[18]。也可能是肥胖导致内质网应激引起的线粒体功能障碍^[19]。具体的作用机制还有待补充和完善,这些影响不仅导致了脂代谢功能紊乱还可能会使其他与肥胖有关的并发症的风险增加。

3.2 脂代谢异常及自噬与炎症的关系

脂质代谢异常与多种疾病有关,包括肥胖、2 型糖尿病和非酒精性脂肪肝 (NAFLD)^[20-21]。血脂异常是脂质代谢异常的常见表现,其特征是甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平升高,高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 水平降低,与本研究结果一致。自噬在调节脂质代谢中起着关键作用,因为它可以降解脂滴并有助于能量的产生,是维持细胞稳态和能量平衡的关键过程,其过程涉及将脂质等细胞成分整合到自噬体中,自噬体随后与溶酶体融合以降解货物,脂质代谢失调会导致脂质积聚,从而破坏自噬并导致脂滴的形成。脂滴可以激活 NLRP3 炎症小体并促进促炎细胞因子的释放。本研究发现,高脂诱导的肥胖大鼠 TNF- α 和 IL-6 均升高,同时 P62mRNA 含量和 LC3-ImRNA 水平增加,LC3-II mRNA 含量降低,提示营养性肥胖下,大量的促炎因子浸润使得睾丸处于炎症状态,可能是自噬水平降低引起的,说明炎症与自噬可能存在密切联系。相比之下,增强自噬可能预防睾丸炎症引起的雄性功能障碍,因为自噬可以选择性地去除受损的细胞器,如线粒体,线粒体可以产生并激活炎症小体,从而调节细胞因子的产生和炎症^[22]。自噬除了可以调节免疫细胞和主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 的表达外^[23-24],还可以通过多种机制调节睾丸组织的炎症,主要机制之一是调节细胞因子的产生和释放^[25]。此外,炎症可以通过改变关键自噬调节因子的活性来抑制自噬^[26]。脂质代谢异常、炎症和自噬之间的关系是一个复杂而多方面的现象。脂质代谢失调会破坏自噬,导致脂质积聚和炎症的促进。相反,炎症也会抑制自噬,这可能会进一步加剧脂质代谢异常。

3.3 运动对脂代谢异常及机体炎症的干预作用

8 周的游泳运动干预后发现,在肥胖大鼠中,出现血浆甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇水平降低以及高密度脂蛋白水平提高与运动有关,提示通过运动改善了脂质代谢,本研究的结果证实运动不仅仅是单纯的改善肥胖引起的体重增加,更重要的是改善了因肥胖带来的代谢功能减退,增加了肥胖者的代谢健康,相较于减肥药物和节食,因运动改善的肥胖在体重反弹后仍减少了肥胖为机体带来的相关危害^[27]。此外,运动还被发现具有抗炎作用,这可能有助于其对脂质代谢的有益作用,肥胖的形成机制是由慢性炎症引起的^[28],运动被证明可

以通过多种机制减少慢性炎症^[29]。本研究发现经过 8 周的游泳运动,2 组运动组相较于 2 组对照组,抗炎细胞因子 IL-10 的表达都呈增加趋势,同时促炎细胞因子 TNF- α 和 IL-6 的表达呈降低趋势。因此,运动干预可能是预防和治疗代谢紊乱和炎症的一种很有前途的策略。

3.4 运动对高脂诱导肥胖大鼠睾丸组织自噬的影响

肥胖对男性生殖健康影响的一个潜在机制是睾丸组织自噬受损^[30-31]。Samaneh 等人通过对大鼠进行为期 4 周的不同强度游泳运动发现,不同强度均可增加睾丸组织中自噬相关蛋白 Atg7、LC3、Beclin-1 和 p62 的表达,但中等强度游泳介导的自噬最可能导致大量生殖细胞消除和支持细胞的吞噬^[32]。本研究通过 8 周中等强度游泳运动干预发现,除了体重、Lee's 指数、TG、TC 和 LDL 水平均降低外,P62mRNA 和 LC3-ImRNA 水平也均降低,LC3-II mRNA 含量升高,同时 IL-6 和 TNF- α 水平均降低。原因主要是在自噬发生过程中,LC3-I 需要不断脂化形成 LC3-II,促进自噬体膜的形成,因此将 LC3-II 和 LC3-I 之比作为判断自噬活性的标志^[33]。同时转运蛋白 P62 与 LC3-I 在自噬的过程中被降解。提示运动会激活肥胖大鼠睾丸组织的自噬,从而改善睾丸功能,减少睾丸炎症。运动对自噬的激活可能是运动对肥胖患者睾丸功能障碍和炎症保护作用的潜在机制,还需要进一步的研究来证实这些发现,并确定激活肥胖睾丸组织自噬的最佳运动方案。同时,不同负荷对睾丸组织的产生影响还需要更深入的研究。

3.5 运动调控 NF- κ B 信号通路的作用机制

在某些病理条件下,如肥胖、感染、损伤等,NF- κ B 通路可能会失调,并导致睾丸炎症的发展^[34-35]。本研究发现,高脂诱导的大鼠除了 NF- κ B、TNF- α 和 IL-6 显著升高外,还显著的增加了睾丸组织中 NF- κ B p65 含量和 I κ B 磷酸化水平。提示在肥胖中,脂肪组织质量增加和脂肪细胞功能障碍会导致慢性低度炎症,这可能是激活了 NF- κ B 信号通路。推测 NF- κ B 信号通路上游 TNF- α 等炎症因子与细胞膜表面的 TNF 受体结合之后,受体就发生了构象的改变,胞内段就能跟下游的分子发生相互作用,招募一些蛋白,从而把信号传递给 I κ k 激酶 (I κ k kinase),尽管上游的信号来源有很多条,但是最终这些信号都会汇集到 I κ k,作为激酶的 I κ k,它的作用是磷酸化,导致其从三聚体当中解离出来,这样 NF- κ B 的二聚体 (p65/p50 或 p65/p65) 就能暴露出核定位序列,被迅速地从细胞质转入到细胞核内,与核内 DNA 上面的特异性序列相结合,促进相关基因的转录,从而激活 NF- κ B。研究表明,被激活的 NF- κ B 信号通路损伤睾丸细胞,诱导睾酮合成障碍、睾丸形态改变、精子质量降低和睾丸炎症等,最终导致性行为减少^[36-37]。在炎症过程中,NF- κ B 信号通路还通过调节细胞凋亡和细胞存活等过程,调节炎症的进程。例如,NF- κ B 信号通路可以抑制细胞凋亡通路,通过表达抗凋亡蛋白,如 Bcl-2 和 Bax,从而促进炎症过程中的细胞存活^[38]。此外,NF- κ B 信号通路还可以诱导自身的负调控,通过表达 I κ B α 等分子,调节 NF- κ B 的激活程度^[39]。基于此我们发现抑制 NF- κ B 信号通路是可能有效治疗肥胖致睾丸炎症的策略,为此我们通过 8 周无负重游泳运动逆转了肥胖大鼠睾丸组织中 NF- κ B 的激活与失调,NF- κ B

p65 含量和 I κ b 磷酸化水平降低,明显降低了 TNF- α 和 IL-6 促炎因子。这与 Yi 等人研究的结论一致,他们通过不同负荷的运动对肥胖小鼠进行为期 8 周的游泳干预,发现只有中等负荷运动能有效缓解肥胖引起的氧化应激,下调 NF- κ B 的表达和促炎细胞因子,并逆转睾酮合成酶 mRNA 和蛋白表达、血清睾酮水平和精子质量的下降^[40]。

4 结论

经深入的机制研究发现,长期坚持规律的中等强度游泳可以改善肥胖大鼠的体重和脂肪代谢,并减少睾丸组织的炎症,提升自噬活性,这种改善可能与游泳对 NF- κ B 信号通路的调节有关。具体而言,游泳可以抑制 NF- κ B 信号通路的激活、启动睾丸组织自噬程序来减轻营养性肥胖诱导的炎症。

参考文献:

- [1] HAMMICHE F, LAVEN J S, TWIGT J M, et al. Body mass index and central adiposity are associated with sperm quality in men of subfertile couples[J]. Hum Reprod, 2012, 27(8): 2365-2372.
- [2] DAVIDSON L M, MILLAR K, JONES C, et al. Deleterious effects of obesity upon the hormonal and molecular mechanisms controlling spermatogenesis and male fertility[J]. Hum Fertil (Camb), 2015, 18(3): 184-193.
- [3] DEMIRCI T, SAHIN E. The effect of chronic stress and obesity on sperm quality and testis histology in male rats; a morphometric and immunohistochemical study[J]. Histo Histopathol, 2019, 34(3): 287-302.
- [4] FIJAK M, PILATZ A, HEDGER M P, et al. Infectious, inflammatory and 'autoimmune' male factor infertility: how do rodent models inform clinical practice[J]. Hum Reprod Update, 2018, 24(4): 416-441.
- [5] SCHUPPE H C, MEINHARDT A, ALLAM J P, et al. Chronic orchitis: a neglected cause of male infertility[J]. Andrologia, 2008, 40(2): 84-91.
- [6] LAWRENCE T. The nuclear factor NF- κ B pathway in inflammation[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2009, 1(6): a001651. DOI: 10.1101/cshperspect.a001651.
- [7] DIDONATO J A, MERCURIO F, KARIN M. NF- κ B and the link between inflammation and cancer[J]. Immunol Rev, 2012, 246(1): 379-400.
- [8] 夏俊,李宇川,宣磊,等.有氧运动对高脂诱导肥胖大鼠睾丸组织自噬水平及炎症因子影响研究[J].四川体育科学,2021,40(6): 22-25.
- [9] KOSACKA J, KERN M, KLOTING N, et al. Autophagy in adipose tissue of patients with obesity and type 2 diabetes[J]. Mol Cell Endocrinol, 2015, 409: 21-32.
- [10] YIN J, NI B, TIAN Z Q, et al. Regulatory effects of autophagy on spermatogenesis[J]. Biol Reprod, 2017, 96(3): 525-530.
- [11] 常波,郑锡明,李晶,等.有氧运动对雄性肥胖大鼠生殖功能及睾丸组织 TNF- α , Fas 和 Caspase-3 mRNA 表达的影响[J].沈阳体育学院学报,2018,37(3): 78-82+88.
- [12] ZARGANI M, RAMIREZ-CAMPILLO R, ARABZADEH E. Swimming and L-arginine loaded chitosan nanoparticles ameliorates aging-induced neuron atrophy, autophagy marker LC3, GABA and BDNF-TrkB pathway in the spinal cord of rats[J]. Pflugers Arch, 2023, 475(5): 621-635.
- [13] CHOUBEY M, RANIAN A, BORA P S, et al. Protective role of adiponectin against testicular impairment in high-fat diet/streptozotocin-induced type 2 diabetic mice[J]. Biochimie, 2020, 168: 41-52.
- [14] LEISEGANG K, SENGUPTA P, AGARWAL A, et al. Obesity and male infertility: Mechanisms and management[J]. Andrologia, 2021, 53(1): e13617. DOI: 10.1111/and.13617.
- [15] LU Y C, YEH W C, OHASHI P S. LPS/TLR4 signal transduction pathway[J]. Cytokine, 2008, 42(2): 145-151.
- [16] MINUTOLI L, PUZZOLO D, RINALDI M, et al. ROS-mediated NLRP3 inflammasome activation in brain, heart, kidney, and testis ischemia/reperfusion injury[J]. Oxidative medicine and cellular longevity, 2016. DOI: 10.1155/2016/2183026.
- [17] DE JUAN A, INCE L M, PICK R, et al. Artery-associated sympathetic innervation drives rhythmic vascular inflammation of arteries and veins[J]. Circulation, 2019, 140(13): 1100-1114.
- [18] BONDIA-PONS I, RYAN L, MARTINEZ J A. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity[J]. Journal of physiology and biochemistry, 2012, 68: 701-711.
- [19] SARPARANTA J, GARCIA-MACIA M, SINGH R. Autophagy and Mitochondria in Obesity and Type 2 Diabetes[J]. Curr Diabetes Rev, 2017, 13(4): 352-369.
- [20] WOLIN K Y, CARSON K, COLDITZ G A. Obesity and cancer[J]. The oncologist, 2010, 15(6): 556-565.
- [21] AVILA C, HOLLOWAY A C, HAHN M K, et al. An overview of links between obesity and mental health[J]. Current obesity reports, 2015, 4: 303-310.
- [22] BIASIZZO M, KOPITAR-JERALA N. Interplay Between NLRP3 Inflammasome and Autophagy[J]. Front Immunol, 2020, 11: 591803. DOI: 10.3389/fimmu.2020.591803.
- [23] DERETIC V. Autophagy in inflammation, infection, and immunometabolism[J]. Immunity, 2021, 54(3): 437-453.
- [24] MUNZ C. Autophagy proteins influence endocytosis for MHC restricted antigen presentation[J]. Semin Cancer Biol, 2020, 66: 110-115.
- [25] ANTAR S A, EL-GAMMAL M A, HAZEM R M, et al. Etanercept Mitigates Cadmium Chloride-induced Testicular Damage in Rats " An Insight into Autophagy, Apoptosis, Oxidative Stress and Inflammation"[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2022, 29(19): 28194-28207.
- [26] RICHMOND S A, FUKUCHI R K, EZZAT A, et al. Are joint injury, sport activity, physical activity, obesity, or occupational activities predictors for osteoarthritis? A systematic review[J]. Journal of orthopaedic & sports physical therapy, 2013, 43(8): 515-519.
- [27] PETRIDOU A, SIOPI A, MOUGIOS V. Exercise in the management of obesity[J]. Metabolism, 2019, 92: 163-169.
- [28] 唐晖,谢敏豪.肥胖与运动研究进展:慢性炎症反应学说[J].体育科学,2008(8): 54-59.
- [29] YOU T, ARSENIS N C, DISANZO B L, et al. Effects of exercise training on chronic inflammation in obesity: current evidence and potential mechanisms[J]. Sports Medicine, 2013, 43: 243-256.
- [30] ZHU Y, YIN Q, WEI D, et al. Autophagy in male reproduction[J]. Syst Biol Reprod Med, 2019, 65(4): 265-272.

- [31] DURAIRAJANAYAGAM D, AGARWAL A, ONG C. Causes, effects and molecular mechanisms of testicular heat stress[J]. *Reprod Biomed Online*, 2015, 30(1):14–27.
- [32] SEO D Y, LEE S R, KIM N, et al. Humanized animal exercise model for clinical implication[J]. *Pflügers Archiv–European Journal of Physiology*, 2014, 466: 1673–1687.
- [33] PENA–MARTINEZ C, RICKMAN A D, HECKMANN B L. Beyond autophagy: LC3–associated phagocytosis and endocytosis[J]. *Sci Adv*, 2022, 8(43): eabn1702.DOI: 10.1126/sciadv.abn1702.
- [34] TIOHU W, ZHOU P, RAO T, et al. Adrenomedullin attenuates interleukin-1 β -induced inflammation and apoptosis in rat Leydig cells via inhibin of NF- κ B signaling pathway[J]. *Experimental cell research*, 2015, 339(2): 220–230.
- [35] LAWRENCE T. The nuclear factor NF- κ B pathway in inflammation[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2009, 1(6): a001651. DOI: 10.1101/cshperspect.a001651.
- [36] LI Y, ZHANG Y, FENG R, et al. Cadmium induces testosterone synthesis disorder by testicular cell damage via TLR4/MAPK/NF- κ B signaling pathway leading to reduced sexual behavior in piglets[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 233: 113345.DOI: 10.1016/j.ecoenv.2022.113345.
- [37] LI L, CHEN B, AN T, et al. BaZiBuShen alleviates altered testicular morphology and spermatogenesis and modulates Sirt6/P53 and Sirt6/NF- κ B pathways in aging mice induced by D-galactose and NaNO₂[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 271: 113810.DOI: 10.1016/j.jep.2021.113810.
- [38] 徐瑞,董佳,曹友祥,等.运动干预对肥胖大鼠睾丸自噬和凋亡的影响[J].*生物化学与生物物理进展*,2023,50(7):1677–1689.
- [39] BHATTACHARYYA S, SEN P, WALLET M, et al. Immunoregulation of dendritic cells by IL-10 is mediated through suppression of the PI3K/Akt pathway and of IkappaB kinase activity[J]. *Blood*, 2004, 104(4): 1100–1109.
- [40] YI X, TANG D, CAO S, et al. Effect of Different Exercise Loads on Testicular Oxidative Stress and Reproductive Function in Obese Male Mice[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020.DOI: 10.1155/2020/3071658.

(上接第799页)

投入,对设施实施科学分类管理,坚持“引进来”和“走出去”相结合,帮助高层次人才解决后顾之忧,实现“引进来”“留得住”“走出去”“要回来”的双赢效果,加快构建冰雪体育人才政策执行监管保障体系,宏观科学调控执行效果,明确行业监测、冰雪运动产业数据库监管措施,利用互联网等及时向社会公开,接受大众监督,通过实现体教融合,加强冰雪体育专业学校学科建设,完善冰雪运动后备人才培养保障体系,发现冰雪人才、留住冰雪人才;通过冰雪运动跨项、跨界选材挖掘潜力人才,发挥社会团体团结力量,科学有效拓宽、调动社会力量参与冰雪体育人才培养,进一步完善专项冰雪体育人才培养保障体系,提升冰雪体育参与度。

4 结语

冰雪体育人才培养为体育强国和健康中国建设提供重要支撑,体教融合是促进我国冰雪体育人才培养的重要举措,新时代体教融合在推动冰雪体育人才培养中的内涵和外延不断扩展,探究体教融合对促进我国冰雪体育人才培养具有重要的现实意义,体教融合为我国冰雪体育人才培养提供新思路、新动力,但我国冰雪体育人才培养仍然存在培养体质、机制、保障体系不合理等问题,本文依托体教融合理念,从构建一体化人才培养体制,深化冰雪体育人才培养机制供给侧结构性改革,完善专项冰雪体育人才培养保障体系层面来破解冰雪体育人才培养难题,在新高度、全角度、多层次方面实现高质量发展,推动我国冰雪运动事业迈上新的阶段,为实现中华民族伟大复兴的冰雪梦贡献人才力量。

参考文献:

- [1] 陈鹏,阳艺武,黄彩虹.“北冰南展”背景下湖北冰雪运动发展现实与优化策略[J].*湖北体育科技*,2022,41(7):579–583+621.
- [2] 姚小林,安婧,宁博文,等.北京冬奥会背景下冰雪体育人才培养

的实然困境与创新对策[J].*哈尔滨体育学院学报*,2020,38(4):29–33.

- [3] 王拱彪,龙丽,阎智力.美国竞技冰雪运动发展成效、经验及启示[J].*体育文化导刊*,2023(5):9–14+50.
- [4] 王蓓,谢慧松.2022年北京冬奥会背景下我国冬季奥运项目发展研究[J].*体育文化导刊*,2019(9):26–30+37.
- [5] 郑小倩.北京2022年冬奥会背景下冰雪运动进校园的发展策略[J].*湖北体育科技*,2020,39(3):279–282.
- [6] 杨桦,刘志国.体教融合:中国特色竞技体育后备人才培养模式转化与创新[J].*成都体育学院学报*,2021,47(3):1–8.
- [7] 国家体育总局.数说“带动三亿人参与冰雪运动”[EB/OL].(2022-02-05)[2022-12-08].<https://www.sport.gov.cn/n20001280/n20001265/n20067708/c23976881/content.html>.
- [8] 谭小丰,宋名芳.深化体教融合背景下学校体育发展的现实困境、时代契机与应然逻辑[J].*湖北体育科技*,2023,42(3):210–215.
- [9] 王秋艳.后北京冬奥时代我国“体教融合”培养冰雪运动人才模式的思考:以“谷爱凌现象”为例[J].*冰雪运动*,2022,44(3):6–9.
- [10] 刘贝.比较法视角下的我国冰雪运动政策研究:基于我国22份“冰雪政策”的内容分析[J].*湖北体育科技*,2022,41(6):495–501.
- [11] 李壬冬,扈春荣.我国冰雪运动发展政策70年演进:历程、特征与趋势[J].*沈阳体育学院报*,2020,39(4):46–51+59.
- [12] 许明轩.“十四五”时期我国冰雪旅游产业发展路径研究[J].*湖北体育科技*,2021,40(9):778–781+824.
- [13] 宋文利,李智鹏,张萍,等.“双一流”背景下黑龙江省冰雪运动学科建设及冰雪体育特色人才培养的创新研究[J].*冰雪运动*,2021,43(2):47–52.
- [14] 杨三军,刘波.冰雪运动进校园与体教融合的内在关联和经验借鉴研究[J].*北京体育大学学报*,2021,44(3):105–113.
- [15] 葛美琴,张彦秋,孟媛,等.我国冰雪后备人才培养之应然进路:体教融合[J].*湖北体育科技*,2021,40(5):467–470.
- [16] 刘尚君.《2021中国青年参与冰雪运动情况报告》发布超60%青年看好未来冰雪运动发展[EB/OL].(2021-10-10)[2022-12-08].http://news.youth.cn/gn/202110/t0211010_13254402.Html.