

参芪花粉片对大鼠运动性疲劳模型的影响

苗明三^{*}, 蒋美琼, 张雪侠
(河南中医学院, 郑州 450008)

〔摘要〕 目的:探讨参芪花粉片抗疲劳的作用特点。方法:将 70 只雄性 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、参芪花粉片高、中、低剂量组(2.5, 1.25, 0.625 g·kg⁻¹)、硝苯地平片组(0.01 g·kg⁻¹)、刺五加片组(0.25 g·kg⁻¹)。连续 ig 给药 9 d。采用负重游泳实验造大鼠力竭模型。测定体重、肝脏中三磷酸腺苷(ATP)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、肾脏中丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、血乳酸(LD)等指标。结果:与空白组比较,模型组 ATP, CAT, GSH-Px, MDA, SOD, 血 LD 等指标显著降低($P < 0.01$)。高、中剂量参芪花粉片组体重均大于模型组($P < 0.01$)。与模型组相比,高剂量参芪花粉片组可明显改善肝脏 Na⁺-K⁺-ATP 酶、Mg²⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶活性($P < 0.05$),显著提高肝脏 GSH-Px 活性(928.4 ± 150.1) U·mL⁻¹ ($P < 0.01$)和肾脏 SOD 活性(289.0 ± 4.2) UN·mL⁻¹ ($P < 0.01$);高、中剂量参芪花粉片组均可显著提高肝匀浆 CAT 活性(399.2 ± 78.1), (372.0 ± 139.9) U·g⁻¹ ($P < 0.01$),显著降低肾脏 MDA 水平(1.93 ± 0.33), (2.18 ± 0.47) nmol·mg⁻¹ ($P < 0.01$),明显降低血 LD 水平(7.84 ± 1.18), (9.69 ± 1.36) mmol·L⁻¹ ($P < 0.05$)。结论:参芪花粉片可显著增强大鼠的抗疲劳能力,其作用可能与抗氧化和加速乳酸代谢有关。

〔关键词〕 参芪花粉片; 力竭运动; 抗疲劳
〔中图分类号〕 R285.5 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2014)05-0177-03
〔doi〕 10.11653/syjf2014050177

Study of Shenqi Huafen Pian on Exercise-induced Fatigue in Rats

MIAO Ming-san^{*}, JIANG Mei-qiong, ZHANG Xue-xia
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

〔Abstract〕 **Objective:** To study of Shenqi Huafen Pian on exercise-induced fatigue in rats. **Method:** Seventy male SD rats were randomly divided into normal control group, model control group, Shenqi Huafen Pian high, medium, low dose groups (2.5, 1.25, 0.625 g·kg⁻¹), Nifedipine tablets groups (0.01 g·kg⁻¹), Ciwujia tablets groups (0.25 g·kg⁻¹). Drugs were administered to mice for 9 days. Except control group, the other 6 groups were conducted exhaustive swimming experiment. The weight, MDA (malonaldehyde) and lactic acid (LD) content, adenosine triphosphatase (ATPase), catalase (CAT), Glutathione peroxidase (GSH-Px) and superoxidedismutase (SOD) activity were measured. **Result:** The weight in Shenqi Huafen Pian high, medium dose groups was increased ($P < 0.01$). In high dose group of Shenqi Huafen Pian, Na⁺-K⁺-ATPase activity, Mg²⁺-ATPase and Ca²⁺-ATPase activity of liver cells were obviously increased compared with model ($P < 0.05$), GSH-Px activity in liver was significantly higher than that in model group ($P < 0.01$), activities of SOD in kidney were significantly higher than that ($P < 0.01$). In high and middle dose group of Shenqi Huafen Pian, CAT activities in liver were significantly higher than that in model group ($P < 0.01$), MDA content in kidney was lower than that ($P < 0.01$), blood LD contents were obviously lower than that in model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Shenqi Huafen Pian showed anti-fatigue effects. The effects could be mediated by increasing the ability of antioxidation and improving lactate metabolism.

〔Key words〕 Shenqi Huafen Pian; exhaustive exercises; anti-fatigue

〔收稿日期〕 20130609(006)
〔基金项目〕 省院合作项目(102106000022)
〔通讯作者〕 ^{*} 苗明三, 博士, 教授, 从事中药药理教学与研究, Tel:0371-65962546, E-mail:miaomingsan@163.com

运动性疲劳是指由机体运动本身所引起的机体生理过程不能维持其机能在一特定水平上和(或)不能维持预定的运动强度造成机体运动能力下降的现象^[1]。中医认为疲劳是由于体力、脑力的过度透支,不良精神刺激以及不合理生活方式等干扰了人体正常活动而造成的^[2]。参芪花粉片功主益气健脾补肺,临床用于脾肺气虚症的各种症状。对胸闷气短、倦怠乏力、健忘、头晕、腰膝酸软、食少纳呆等症状有明显改善作用,主要用于高原病及运动后机体缺氧症的预防^[3],但关于参芪花粉片抗疲劳方面的研究尚无报道。本实验复制力竭游泳大鼠模型,观察参芪花粉片的抗疲劳作用,初步探讨作用特点。

1 材料

1.1 动物 雄性 SD 大鼠,体重 200 ~ 220 g,由河北动物实验中心提供,合格证号 1108073。

1.2 药品及试剂 参芪花粉片(成分为党参,黄芪,蒲黄,油菜花粉,玉米花粉,向日葵花粉。主要制备工艺:党参、黄芪提取有效成分粉碎成药粉,花粉直接发酵法发酵、灭菌粉碎,与党参、黄芪混匀,制粒、压片,包衣。采用高效液相色谱法测定黄芪甲苷的含量。河南凤凰制药股份有限公司提供,批号 110102),硝苯地平片(常州四药制药有限公司提供,批号 201107221),刺五加片(哈尔滨仁宝药业有限公司提供,批号 11080701),羧甲基纤维素钠(CMC,天津市福晨化学试剂厂生产,批号 20090826)。丙二醛(MDA)试剂盒,超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒,谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒,三磷酸腺苷酶试剂盒,过氧化氢酶(CAT)试剂盒,乳酸(LD)试剂盒(均由南京建成生物工程研究所提供,批号均为 20110830)。

1.3 仪器 TDL-40B 离心机(上海安亭科学仪器厂),WFZ UV2000 型紫外-可见分光光度计[尤尼卡(上海)仪器有限公司]。

2 方法

2.1 分组、造模与给药 参考文献[4-5]复制大鼠游泳力竭模型,将 70 只清洁级雄性 SD 大鼠,除空白组 10 只外,其余 60 只造力竭模型。每天将大鼠放入水温 25 ℃,水深 50 cm 的游泳池中,尾部加 5% 的负重,造力竭模型。力竭标准:大鼠在水中旋转,动作协调性明显下降,水淹没鼻尖,身体下沉,至再次浮出水面的时间超过 10 s,被提起后头不能抬起。造模大鼠随机分为 6 组,分别灌服高、中、低剂量的参芪花粉片混悬液(2.5,1.25,0.625 g·kg⁻¹),刺五加片混悬液(0.25 g·kg⁻¹),硝苯地平片混悬液

(0.01 g·kg⁻¹)。空白组灌胃同体积的 0.2% CMC。每天给药 1 次,连续给药 9 d。于最后 1 次给药后 1 h(禁食 12 h),再次造大鼠力竭模型。

2.2 指标测定 再次造力竭模型后,大鼠眼眶取血,抗凝管保存,静置,取上清液,测血乳酸。大鼠颈椎脱臼处死,取肝、肾脏器,制备成 10% 的组织匀浆,冷冻保存,测定 ATP, SOD, GSH-Px, CAT 活性及 MDA 含量。

2.3 统计学处理 用 SPSS 13.0 for windows 统计软件进行统计学分析,实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠体重及肝匀浆 ATP 活性影响 与空白组比,模型组体重显著减轻,肝匀浆中 Na⁺-K⁺-ATP 酶、Mg²⁺-ATP 酶、Ca²⁺-ATP 酶活性显著降低(*P* < 0.01)。与模型组比,高、中剂量参芪花粉片组可显著改善力竭模型大鼠体重的减轻(*P* < 0.01);高剂量参芪花粉片组可显著改善力竭模型大鼠肝匀浆 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的降低(*P* < 0.01)、明显改善肝匀浆 Mg²⁺-ATP 酶活性的降低和 Ca²⁺-ATP 酶活性的降低(*P* < 0.05)。见表 1。

3.2 对力竭模型大鼠抗氧化能力的影响 与空白组比,模型组 CAT, SOD, GSH-Px 水平均显著降低(*P* < 0.01)。与模型组比,高、中剂量参芪花粉片组可显著提高肝匀浆 CAT 活性(*P* < 0.01)、显著降低肾匀浆 MDA 水平(*P* < 0.01),高剂量参芪花粉片组可显著提高肾匀浆 SOD 活性(*P* < 0.01),可显著降低血中 LD 水平(*P* < 0.01),中剂量参芪花粉片组明显降低血中 LD 水平(*P* < 0.05);高剂量参芪花粉片组可显著提高肝匀浆 GSH-Px 酶活性(*P* < 0.01)。见表 2。

4 讨论

疲劳属于一种复杂的生理状态,其主要表现为体力和运动耐力下降,进而造成工作能力和效率的降低。游泳实验装置简单,且实验结果能客观地反映机体的体能,是最为常用的运动耐力测定方法。疲劳发生的原因和机制尚不明确,但是氧自由基和脂质过氧化过程参与了疲劳的发生发展过程已经是一个事实。SOD 是机体清除自由基的重要酶类,直接反映机体的抗氧化水平^[6];MDA 是氧自由基攻击生物膜引发脂质过氧化反应的主要产物,其含量可以反映机体自由基积累造成组织氧化损伤的程度,间接表现机体抗氧化能力及清除氧化产物的能力^[7]。另外,乳酸是机体剧烈运动时糖无氧酵解的

表 1 参芪花粉片对大鼠力竭模型体重及肝匀浆 ATP 活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

$\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	体重/g	$\text{Na}^{+} - \text{K}^{+} - \text{ATP}$	$\text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$	$\text{Ca}^{2+} - \text{ATP}$
空白	—	$228.0 \pm 19.8^{2)}$	$1.210 \pm 0.289^{2)}$	$0.979 \pm 0.208^{2)}$	$1.556 \pm 0.386^{2)}$
模型	—	197.3 ± 17.9	0.568 ± 0.247	0.487 ± 0.360	0.883 ± 0.165
硝苯地平片	0.01	212.8 ± 20.9	0.719 ± 0.194	0.561 ± 0.169	1.019 ± 0.202
刺五加片	0.25	$224.8 \pm 25.6^{2)}$	$1.189 \pm 0.174^{2)}$	$0.970 \pm 0.402^{1)}$	$1.476 \pm 0.283^{2)}$
参芪花粉片	2.5	$221.3 \pm 17.7^{2)}$	$1.028 \pm 0.337^{2)}$	$0.850 \pm 0.377^{1)}$	$1.237 \pm 0.423^{1)}$
	1.25	$220.9 \pm 18.2^{2)}$	0.697 ± 0.268	0.612 ± 0.199	0.894 ± 0.337
	0.625	196.4 ± 16.0	0.598 ± 0.192	0.472 ± 0.168	0.890 ± 0.170

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 2 参芪花粉片对力竭模型大鼠抗氧化能力的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	肝 CAT $/\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$	肾匀浆 MDA $/\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$	肾匀浆 SOD $/\text{UN} \cdot \text{mL}^{-1}$	血 LD $/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	肝匀浆 GSH-Px $/\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$
空白	—	$412.4 \pm 89.1^{2)}$	$3.20 \pm 0.28^{2)}$	$260.8 \pm 7.4^{2)}$	9.96 ± 1.39	$1007.3 \pm 284.6^{2)}$
模型	—	330.6 ± 80.1	3.98 ± 0.50	251.1 ± 5.0	11.03 ± 1.10	771.5 ± 115.7
硝苯地平片	0.01	327.4 ± 53.5	2.81 ± 0.30	$271.7 \pm 6.4^{2)}$	$9.96 \pm 1.03^{1)}$	793.8 ± 99.6
刺五加片	0.25	$393.9 \pm 94.4^{2)}$	$1.95 \pm 0.23^{2)}$	$292.0 \pm 4.4^{2)}$	$7.16 \pm 1.63^{2)}$	845.0 ± 141.7
参芪花粉片	2.5	$399.2 \pm 78.1^{2)}$	$1.93 \pm 0.33^{2)}$	$289.0 \pm 4.2^{2)}$	$7.84 \pm 1.18^{2)}$	$928.4 \pm 150.1^{1)}$
	1.25	$372.0 \pm 139.9^{2)}$	$2.18 \pm 0.47^{2)}$	264.8 ± 4.8	$9.69 \pm 1.36^{1)}$	874.8 ± 295.0
	0.625	334.3 ± 92.1	3.84 ± 0.57	258.4 ± 5.1	10.49 ± 1.17	786.9 ± 133.2

产物,血液中乳酸含量的变化是评价机体疲劳的重要指标^[8]。

中医理论将运动性疲劳视为一种劳倦、虚劳症,其主要病机为阳气不足,兼有阴血亏虚^[9]。气虚运血乏力而血行不畅,经络不和,因而出现肌肉酸痛、乏力等症状,可以补益为基本治则。参芪花粉片由党参、黄芪、蒲黄、油菜花粉、向日葵花粉等中药组成,可以益气健脾补肺。

本实验结果表明,参芪花粉片可以明显改善大鼠肝细胞 ATP 酶活性,提高抗氧化酶 SOD, GSH-Px 和 CAT 的活性,降低肾脏细胞 MDA 含量和血 LD 含量,提示其机制可能是通过改善大鼠有氧糖分解能力,减少糖无氧酵解产物乳酸的生成量,调节细胞内相关酶活性,提高机体抗氧化能力等过程实现的。本实验为参芪花粉片抗疲劳作用提供了药理学实验支持。

[参考文献]

[1] 吕楠,孙宝珍,荣子丹,等.角鲨烯胶丸对运动性疲劳的影响及作用机制的探讨[J].中成药,2012,34(1):142.

[2] 孙再玲,韦大文,赵君玫,等.三仙信力胶囊对小鼠抗疲劳及生存能力的实验研究[J].中国中药杂志,2006,31(5):418.

[3] 王福领,陈启东,边巴卓玛,等.参芪花粉片干预高原蛋白尿疗效观察[J].中国中医急症,2012,19(12):2039.

[4] 龙祥儒,田江明.蒜叶婆罗门参抗疲劳和耐缺氧作用的研究[J].中国中药杂志,1990,15(12):37.

[5] 尚立芝,周志彩,曲晓兰,等.穿山龙水提物对小鼠耐缺氧及抗疲劳的作用[J].中国医院药学杂志,2011,31(2):114.

[6] 王曦,许晓燕,郑林用,等.乳酸菌发酵黄芪的抗疲劳保健功能研究[J].时珍国医国药,2011,22(6):1423.

[7] 马艳,汪宇,康万军,等.蛹虫草口服液对小鼠耐缺氧和抗疲劳作用[J].中国药师,2012,15(10):1376.

[8] 黄巨波,刘红,祁海兰,等.神秘果混合果粉营养成分及其抗疲劳和免疫作用[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(14):197.

[9] 冯毅翀,赵自明,陈媛,等.人参皂苷 Re 对运动性疲劳模型大鼠 MDA 含量和 SOD 活性的影响[J].中药新药与临床药理,2009,20(6):543.

[责任编辑 聂淑琴]