

复方阿胶浆对小鼠抗疲劳能力的影响

张路, 朱海芳, 陈慧慧, 张淹*, 冯明建

(国家胶类中药工程技术研究中心, 山东东阿阿胶股份有限公司, 山东 聊城 252201)

[摘要] **目的:**探讨复方阿胶浆对运动小鼠抗疲劳能力的影响。**方法:**BALB/C 纯系雄性小鼠 60 只随机分对照组、人参水提液组(10 g·kg⁻¹)、复方阿胶浆低、中、高剂量组(7.5, 15, 30 g·kg⁻¹)5 组,灌胃 30 d 后,通过负重游泳实验,测定血乳酸(LA)、肝糖元、血红蛋白(Hb)、丙二醛(MDA)、乳酸脱氢酶(LDH)、血清肌酸激酶(CK)、血清尿素氮(BUN)的含量及超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性。**结果:**与对照组比,复方阿胶浆低、中、高剂量组血 LA、MDA 的含量明显降低,血红蛋白的含量显著增加($P < 0.05$);中、高剂量组肝糖元、BUN 的含量显著增加,CK 的含量显著降低,GSH-Px 的活性明显增强($P < 0.05$);中剂量组 LDH 的含量显著性降低($P < 0.01$),SOD 的活性明显增强($P < 0.05$)。**结论:**复方阿胶浆可以有效延缓疲劳的产生、提高机体组织对疲劳的耐受力。

[关键词] 复方阿胶浆; 抗疲劳; 负重游泳

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0254-04

[doi] 10.11653/syfy2013190254

Anti-fatigue Effect of Fufang Ejiao Jiang on Mice

ZHANG Lu, ZHU Hai-fang, CHEN Hui-hui, ZHANG Yan*, FENG Ming-jian
(National Engineering Technology Research Center of Glue of Traditional Medicine,
Shandong Dong-E E-Jiao Co., Ltd., Liaocheng 252201, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate anti-fatigue effect of Fufang Ejiao Jiang on mice. **Method:** Sixty

[收稿日期] 20130322(008)

[第一作者] 张路, 硕士, Tel:0635-3264991, E-mail:zhanglu3098@163.com

[通讯作者] * 张淹, Tel:0635-3261967, E-mail:zhangyan@dongeejiao.com

[参考文献]

- [1] 汪群红, 张京红. 当归补血汤的药理作用与临床应用[J]. 海峡药学, 2011, 4(23):128.
- [2] 徐厚谦, 高军太, 颜春鲁, 等. 当归补血汤对心衰大鼠血浆脑钠肽及左室射血分数的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4):123.
- [3] 刘宁, 徐厚谦. 当归补血汤 CHF 模型大鼠心肌细胞损伤的影响[J]. 中国民族民间医药, 2009, 16(12):12.
- [4] 李晓娜, 徐厚谦. 心力衰竭病机探讨[J]. 光明中医, 2009, 24(4):637.
- [5] 董玉梅, 王小虎, 寇炜, 等. 红芪多糖联合 X 线对 HepG-2 细胞 DNA 损伤的影响[J]. 实用肿瘤杂志, 2012, 27(4):344.
- [6] 姜元辉, 段富津, 潘志. 益气养血化瘀汤对实验性心肌缺血大鼠心肌细胞凋亡及 Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响[J]. 中医药信息, 2012, 29(2):110.
- [7] 马家骅, 李霞, 熊永爱, 等. 当归补血汤表征参数与其益气补血功效的关系初探[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22):111.
- [8] 刘芳. 当归的心脑血管药理作用研究进展[J]. 咸宁学院学报, 2010, 24(6):551.
- [9] 任鹏飞, 邓毅. 当归及其有效成分药效学研究进展[J]. 西部中医, 2012, 25(9):125.
- [10] 焦宏, 任君旭, 赵兰平, 等. 参麦注射液对乳鼠心肌细胞线粒体凋亡通路的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2012, 18(5):552.
- [11] 高玉峰, 王小杰, 闫文翠, 等. 生黄合剂对缺血再灌注损伤大鼠心肌细胞凋亡相关基因 Bax, Bcl-2 和 Caspase-3 蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13):244.

[责任编辑] 聂淑琴

selected male mice were divided randomly into 5 groups: the control group, ginseng extract group ($10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) and the low, medium, high dose Fufang Ejiao Jiang intervention groups ($7.5, 15, 30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$). Using the method of the weight loading swimming test, drugs were administrated to mice for 30 days. The contents of lactic acid (LA), hepatic glycogen, haemoglobin (Hb), malondialdehyde (MDA), lactate dhydro-genase (LDH), creatine kinase (CK), blood urea nitrogen (BUN) and the activities of glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD) in rats were detected. **Result:** Compared with the control group, the low, medium and high dose groups after exercise, the content of LA, MDA was obviously reduced, the content of Hb was obviously increased ($P < 0.05$); the medium, high dose groups had a higher content of hepatic glycogen, BUN, a lower content of CK and a higher activity of GSH-Px ($P < 0.05$); the medium dose group had a lower content of LDH ($P < 0.01$) and a higher activity of SOD ($P < 0.05$). **Conclusion:** Fufang Ejiao Jiang can be effective in delaying fatigue and improve tissue on fatigue resistance.

[**Key words**] Fufang Ejiao Jiang; anti-fatigue; the weight loading swimming

疲劳作为一种生理现象,是指“身体机能不能持续在特定水平或者整体不能维持预定的运动强度”而出现的一种状态^[1],可以导致运动员的运动能力降低,战士的战斗力减退以及一般人群的工作效率降低、产量减少和差错事故增多。疲劳发生后如果得不到及时消除,将会逐渐积累,最终导致过劳,出现过度训练综合征和慢性疲劳综合征等^[2],使机体发生内分泌紊乱、免疫力下降,甚至出现器质性病变,成为威胁人类身心健康的重要因素^[3-4]。

复方阿胶浆是以明代张介宾《景岳全书》中“两仪膏”为基方,加减配伍而成。由阿胶、红参、熟地黄、党参、山楂5味中药组成,具有补血养血的功效。用于气血两虚,头晕目眩,心悸失眠,食欲不振及白细胞减少症和贫血。本研究通过小鼠的负重游泳模型对复方阿胶浆的抗疲劳机制进行了深入研究。

1 材料

1.1 药物与试剂 复方阿胶浆是由东阿阿胶、红参、党参、熟地黄、山楂等经提取精制而成,为棕褐色的口服液体制剂,由山东东阿阿胶有限公司提供(批号 201101005)。血尿素氮(BUN)测定试剂盒(批号 20101115),肝糖原测定试剂盒(批号 20101207),全血乳酸(LA)测定试剂盒(批号 20101214),SOD 检验试剂盒(批号 20100819),GSH-Px 检验试剂盒(批号 20100927),丙二醛(MDA)检验试剂盒(批号 20101023),均有南京建成生物工程研究所提供。

1.2 仪器 全自动生化分析仪(日立公司),752 紫外分光光度计(岛津公司),高速离心机(上海医用分析仪器厂),XW-80 涡流混匀器(上海森信实验仪器有限公司)。

1.3 动物 BALB/c 纯系雄性小鼠,体重 $18 \sim 22 \text{ g}$,

由北京维通利华实验动物有限公司提供,生产许可证号 SCXK(京)2009-0017,标准饲料喂养,室温(22 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,湿度 50%~70%,自然光照。

2 方法

2.1 分组 将 60 只小鼠随机分 5 组,分别为空白组、阳性组、复方阿胶浆低、中、高剂量组,每组 12 只。给药剂量(折算为生药量)分别为人参水提液($10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、低、中、高剂量组($7.5, 15, 30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。每天上午 8~10 时 ig 给药,连续 30 d。空白组 ig 给予相同体积的蒸馏水。

2.2 小鼠负重游泳 每周在(25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 水温下,游泳训练 2 次(水流速度 $7 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$),每次 30 min,训练为负重游泳(于尾根部负荷 5%体重的铅皮)。末次给药 30 min 后,置于水深(30 ± 1)cm,水温(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 的游泳箱中,使小鼠保持四肢运动,游泳 90 min。摘取眼球取全血, $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min,取血清待测;同时取肝脏 -20°C 保存以备测定 SOD, GSH-Px, MDA。

2.3 检测指标

2.3.1 血清尿素氮测定(二乙酰一肟法) 各组动物连续灌胃受试物 30 d,于末次给样 30 min 后,将小鼠置于水温为 30°C 的游泳箱,水深 30 cm 的游泳箱中,每箱一次放入 5 只小鼠,不负重游泳 90 min。运动后休息 60 min,将眼睛周围擦干净,拔眼球取血约 0.5 mL,将血于 4°C 冰箱静置 3~4 h,待凝固后,用针尖将血自管壁剥离, $1\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10~15 min,吸出血清用试剂盒(二乙酰一肟法)测定血清尿素氮。

2.3.2 肝糖原测定 各组动物连续灌胃受试物 30 d,立即处死小鼠,取肝脏经生理盐水漂洗后用滤纸吸干,用试剂盒(萘酚法)测定肝糖原含量。

精确称取肝脏 100 mg, 将样本与碱液按 1:3 加入试管为水解液, 沸水浴 20 min, 流水冷却, 将肝糖原水解液配置成 1% 检测液, 肌糖原水解液配置成 5% 检测液, 配置空白与标准, 混匀, 沸水浴 5 min, 冷却, 于 620 nm 波长比色, 计算糖原含量。

2.3.3 血乳酸测定 末次给药 30 min 后从小鼠内眦采血 2 μL , 然后不负重在温度为 30 $^{\circ}\text{C}$ 的水中游泳 10 min, 游泳后立即采血 2 μL , 安静 20 min 后再采血 2 μL , 按照试剂盒说明书分别测定上述 3 个时间点的血乳酸。

2.3.4 肝脏 SOD 活性检测 取肝组织, 用生理盐水洗去残留血液, 滤纸拭干, 准确称取组织质量, 加 9 倍生理盐水制成 10% 的组织匀浆, 2 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清 0.1 mL 加生理盐水 0.9 mL 稀释成 1% 匀浆, 严格按照试剂盒说明操作, 752 紫外分光光度计在 550 nm 处测定吸光度(A)。

2.3.5 肝脏 GSH-Px 活性检测 按 2.3.4 制备 10% 肝组织匀浆上清液, 取上清稀释成 0.25% 组织匀浆, 按 GSH-Px 检验试剂盒说明操作, 紫外分光光度计在 422 nm 处测定 A。

2.3.6 肝脏 MDA 含量检测 按 2.3.4 制备 10% 肝组织匀浆上清液取上清按 MDA 检验试剂盒说明操作, 紫外分光光度计在 532 nm 处测定 A。

2.3.7 CK 及 LDH 的测定 摘取眼球取全血, 3 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 取血清, 采用全自动生化分析仪测定 CK, LDH 的含量。

2.4 统计分析 采用 SPSS 13.0 统计软件进行处

理, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间差异比较用 ANOVA, Newman-Student 多重比较 *t* 检验分析及多因素重复测量设计方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对血乳酸、肝糖原及尿素氮的影响 复方阿胶浆低、中、高剂量组均能够抑制血乳酸的堆积, 与对照组比有显著性差异 ($P < 0.05$), 以中剂量组作用最为明显; 复方阿胶浆能够促进肝糖原的生成, 并呈一定的剂量依赖性, 复方阿胶浆低剂量组的肝糖原水平与对照组相比无统计学意义, 中剂量和高剂量组与对照组相比有显著性差异 ($P < 0.05$), 且高剂量组与人参水提液组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 不同剂量复方阿胶浆组的小鼠运动后, 血清尿素氮的水平均有所升高, 与对照组相比中、高剂量组具有显著性差异 ($P < 0.05$), 与人参水提液组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

3.2 对肝脏 SOD, GSH-Px 活力及 MDA 含量的影响 不同剂量复方阿胶浆给药组的小鼠运动后, 较对照组 SOD 活力均有所提高, 其中中剂量组具有显著性差异 ($P < 0.05$); 各给药组 GSH-Px 的活力, 与对照组相比均有不同程度的提高, 其中中、高剂量组具有显著性差异 ($P < 0.05$); 复方阿胶浆能够降低运动小鼠 MDA 的含量, 与对照组相比低、中、高剂量组均有显著性差异 ($P < 0.05$), 且高剂量组与人参水提液组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 复方阿胶浆对小鼠血乳酸及肝糖原及尿素氮含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

分组	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	LA/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	肝糖原/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	BUN/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
对照	-	699.35 \pm 153.27	577.49 \pm 68.55	6.58 \pm 1.05
人参水提液	10	494.67 \pm 88.53 ¹⁾	694.34 \pm 127.66 ¹⁾	10.32 \pm 0.95 ¹⁾
复方阿胶浆	7.5	536.78 \pm 114.10 ¹⁾	652.22 \pm 120.52	12.22 \pm 1.92
	15	529.46 \pm 133.65 ¹⁾	701.14 \pm 108.45 ¹⁾	14.11 \pm 0.88 ^{1,3)}
	30	542.81 \pm 76.33 ¹⁾	707.26 \pm 129.10 ^{1,3)}	13.2 \pm 1.17 ^{1,3)}

注: 与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与人参水提液组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

表 2 复方阿胶浆对小鼠肝脏 SOD, GSH-Px 和 MDA 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

分组	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	SOD/ $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$	GSH-Px/ $\text{nmol}\cdot\text{U}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	MDA/ $\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$
对照	-	32.77 \pm 14.45	0.114 \pm 0.025	112.36 \pm 16.51
人参水提液	10	41.26 \pm 12.66	0.206 \pm 0.033 ¹⁾	69.55 \pm 14.26 ¹⁾
复方阿胶浆	7.5	40.51 \pm 13.32	0.187 \pm 0.027	74.24 \pm 12.92 ¹⁾
	15	46.72 \pm 11.98 ¹⁾	0.239 \pm 0.023 ¹⁾	64.39 \pm 13.85 ¹⁾
	30	51.17 \pm 17.25	0.246 \pm 0.014 ¹⁾	59.33 \pm 13.57 ^{1,3)}

3.3 对 LDH 和血清 CK 的影响 复方阿胶浆对乳酸脱氢酶和血清肌酸激酶的影响见表 3。不同剂量复方阿胶浆给药组的小鼠运动后,与对照组相比 LDH 均有降低,中、高剂量组有显著性差异,且中剂量组差异有统计学意义($P < 0.01$),中剂量组与人参水提液组相比有显著性差异($P < 0.05$);复方阿胶浆各剂量组血清 CK 含量均低于对照组,且中、高剂量组具有显著性差异($P < 0.05$)。

表 3 复方阿胶浆对小鼠血清 LDH,CK 的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

分组	剂量 /g·kg ⁻¹	U·L ⁻¹	
		LDH	CK
对照	/ -	2 954.4 ± 127.6	1 875.7 ± 169.2
人参水煎液	10	3 571.8 ± 99.8 ¹⁾	1 451.0 ± 212.3
复方阿胶浆	7.5	3 292.2 ± 107.3	1 695.6 ± 172.1
	15	3 975.6 ± 165.5 ^{2,3)}	1 294.1 ± 144.2 ¹⁾
	30	3 890.0 ± 192.1 ¹⁾	1 288.7 ± 185.4 ¹⁾

4 讨论

4.1 血乳酸水平是反映机体有氧代谢能力和疲劳程度的一个重要指标。大量运动会使骨骼肌细胞内的主要代谢失衡,导致机体相对缺氧及糖酵解速度加快,进而产生大量的乳酸^[5]。乳酸浓度的增加使肌肉的 H⁺ 和无机磷(Pi)堆积,导致肌肉组织内的 pH 降低,而肌肉组织的 pH 降低可抑制磷酸果糖激酶活性而降低糖的分解速率从而抑制 Ca²⁺ 结合肌钙蛋白 C 降低横桥活动性和抑制肌浆网 ATP-ase,降低 Ca²⁺ 重吸收和随后的释放,从而导致疲劳的发生^[6]。本研究结果显示,在有效剂量范围内,复方阿胶浆给药组小鼠运动后血乳酸水平显著低于正常对照组,提示复方阿胶浆可能通过减少小鼠运动中乳酸的生成,达到延缓疲劳发生。

4.2 乳酸脱氢酶活力是反映肌肉中乳酸清除代谢速度的标志之一,它的提高可以加速肌肉中过多乳酸的清除代谢,延缓疲劳的发生和加速疲劳的消除^[7]。本实验结果显示,复方阿胶浆提高了运动后小鼠血清 LDH 的活力,从而加速乳酸的清除,延缓

疲劳的发生。

4.3 磷酸肌酸激酶是大分子蛋白质,不能直接进入循环系统。组织细胞损伤后泄露出的 CK 经细胞间隙进入淋巴液,最终进入血液循环。因此细胞的损伤可以通过测定 CK 的释放量来衡量^[8]。长时间的运动可以导致肌细胞中的能量耗竭、自由基大量生成,进而导致肌细胞膜的损伤和通透性增加,致使 CK 大量外漏。因此检测血浆中的 CK 活性可以反映长时间耐力运动对肌细胞的损伤程度。本研究结果表明,复方阿胶浆灌胃组小鼠的血浆 CK 活性明显低于空白运动组,说明复方阿胶浆可以减少长时间运动导致的肌细胞损伤。

[参考文献]

- [1] 刘燕萍. 运动性疲劳及其机制分析[J]. 西安体育学院学报,2001,18(1):46.
- [2] Angeli A, Minetto M, Dovio A, et al. The overtraining syndrome in athletes: a stress-related disorder [J]. J Endocrinol Invest,2004,27(6):603.
- [3] Niema D C, Pedersen B K. Exercise and immune function-Recent developments [J]. Sport Med, 1999, 27(2):73.
- [4] 金花,莫雷. 应激对免疫功能的影响及其调控手段[J]. 中国运动医学杂志,2003,23(1):106.
- [5] Reid M B, Stokic D S, Koch S M, et al. N-acetylcysteine inhibits muscle fatigue in humans [J]. J Clin Invest, 1994,94(6):2468.
- [6] Shindoh C, DiMarco A, Thomas A, et al. Effect of N-acetylcysteine on diaphragm fatigue [J]. J Appl Physiol, 1990,68(5):2107.
- [7] Vim J, Gomez-Cabrera M C, Lioret A, et al. Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production and protection by antioxidants [J]. IUBMB Life, 2000(50):271.
- [8] Zhang Y, Yao X, Bao B, et al. Anti-fatigue activity of a triterpenoid-rich extract from Chinese bamboo shavings [J]. Phytother Res,2006,20(10):872.

[责任编辑 聂淑琴]