

黄芪注射液对 2 种力竭运动大鼠血清肌酸激酶及其同工酶活性的影响

李永峰*, 韩勇, 郭勇力, 王传军, 李晔

(山东体育学院日照校区基础理论系, 山东日照 276826)

[摘要] 目的:探讨黄芪注射液对两种力竭运动大鼠血清肌酸激酶(CK)及其同工酶的影响,为减轻运动性肌肉损伤寻找有效的方法。方法:将 50 只大鼠随机均分为 5 组,各 10 只:安静对照组、一次性力竭运动组、多次力竭运动组、服药+一次性力竭运动组、服药+多次力竭运动组。经过 4 周的实验后,测血清 CK 及其同工酶的含量。结果:一次力竭和多次力竭大鼠血清 CK 及其同工酶活性显著增高($P < 0.01$),黄芪注射液对一次力竭和多次力竭大鼠血清 CK 及其同工酶活性有降低作用($P < 0.01$)。结论:黄芪注射液对减轻 2 种力竭运动引起的肌肉损伤均有很好的作用。

[关键词] 黄芪注射液;力竭运动;肌酸激酶;同工酶

[中图分类号] R 285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)06-0224-04

Effect of Radix Astragali Injection on Creatine Kinase and Isoenzyme of Creatine Kinase Level in Rat Serum After Two Kind of Exhausting Exercises

LI Yong-feng*, HAN Yong, GUO Yong-li, WANG Chuan-jun, LI Ye
(Shandong Sports University, Jinan 250014, China)

[Abstract] **Objective:** In order to search potent means for exercise-induced muscle damage, effect of Radix Astragali injection on serum creatine kinase(CK) and isoenzyme of creatine kinase(CK-MM) level in rats after two kind of Exhausting Exercises was observed. **Method:** 50 Wister Rats were randomly divided into 5 group: normal control group($n = 10$), once exhausting exercise group($n = 10$), multiple exhausting exercises group($n = 10$), Radix Astragali injection filled the stomach and once exhausting exercise group($n = 10$), Radix Astragali injection filled the stomach and multiple exhausting exercises group($n = 10$). After 4 weeks test, serum CK and CK-MM were tested. **Result:** After exhausting exercise, CK and CK-MM in blood serum as well as were higher than that in normal control group($P < 0.01$). the change was prevented by Radix Astragali injection($P < 0.01$). **Conclusion:** Radix Astragali injection may help reduce exercise-induced muscle damage after two kind of exhausting exercises.

[Key words] Radix Astragali injection; exhausting exercise; creatine kinase; isoenzyme of creatine kinase

运动性肌肉损伤是一种高强度或/和长时间运动后发生的骨骼肌纤维的微细损伤,常表现为延迟

性肌肉酸痛,且伴有血液酶学指标的变化。消除运动性肌肉损伤是目前运动医学领域的重要课题。中药黄芪是临床常用的补气药,是一种有效的自由基消除剂^[1]。研究表明^[2],运动引起的血清肌酸激酶及其同工酶的变化与自由基的大量生成有关。本研究旨在观察黄芪注射液对一次力竭和多次力竭运动大鼠血清 CK 及其同工酶的影响,以探求减轻运动性肌肉损伤、提高运动能力的有效方法。

[收稿日期] 20100307(002)

[通讯作者] *李永峰,硕士,讲师,从事运动医学,中医学基础研究, Tel:13210631005, E-mail:liyongfeng@sdpei.edu.cn

1 材料与方 法

1.1 动物及分组 实验用雄性 SD 大鼠 50 只, 8 周龄, 体重(200 ± 10) g, 由山东中医药大学实验中心提供。分笼饲养, 自由饮食, 国家标准啮齿类动物饲料喂食, 室温 20 ~ 24 °C, 湿度 50% ~ 60%。将 50 只大鼠随机分为 5 组, 每组 10 只, A 组为安静对照组、B 组为一次力竭运动组、C 组为多次力竭运动组、D 组为服药 + 1 次力竭运动组、E 组为服药 + 多次力竭运动组。

1.2 药品及服药方法 黄芪注射液, 神威药业有限公司生产, 10 mL/支, 批号 080113, (每毫升含生药 2 g)。服药组在每日训练后 1 h ig, 相当黄芪生药 10 g · kg⁻¹ · d⁻¹, 共 28 d。非服药组 ig 等量的生理盐水。

1.3 运动方式 多次力竭运动: 采用 Bedford 据鼠体重/摄氧量回归方程所建立的渐增负荷运动模型^[3]。第 1 级负荷: 0°, 8.2 m · min⁻¹, 15 min (相当于 53% VO₂max); 第 2 级负荷: 5°, 15 m · min⁻¹, 15 min (相当于 64% VO₂max); 第 3 级负荷: 10°, 19.3 m · min⁻¹ (相当于 76% VO₂max) 运动至力竭。运动中使用电刺激维持运动强度。力竭标准: 第三级负荷运动中, 动物未能坚持本级负荷运动跑速, 先后滞跑道后 1/3 处达 3 次以上, 刺激驱赶无效。行为特征为: 呼吸急深、幅度大, 腹卧位, 垂头, 刺激后无反应^[4]。每天 1 次, 持续 4 周。

1 次力竭运动: 在第 5 周测指标之前, 采用 Bedford 建立的渐增负荷运动模型^[3] 对大鼠进行 1 次力竭运动。

1.4 方法 力竭运动后即刻从健侧肢体股动脉采血, 测定 CK 和 CK-MM 的含量。血清 CK 测试采用酶动力学方法, 试剂盒由北京中生生物工程高技术公司提供。日本 HITACHI7170 型全自动生化分析仪。血清 CK-MM 测试采用琼脂糖凝胶电泳方法, CK 同工酶电泳胶片及试剂由 Helena laboratories 公司生产。Helena Rep-I 型电泳仪。

1.5 数据处理 利用 SPSS 10.0 统计软件对数据进行计算和统计处理, 对各组数据进行描述性统计(数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示)、相关分析和方差分析, 显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 大鼠实验前后体重变化及一般体征 表 1 显示: 实验前各组体重相比较无统计学意义。实验后

大鼠体重变化 A, B, C 组之间没有统计学意义; A, B, C 组与 D 组相比均有显著性差异 ($P < 0.01$); E 组大鼠实验后体重增加比 D 组多, 比 A, B, C 组的少, 但没有统计学意义。力竭后 C 组和 E 组与 A, B, D 组相比活力不足, 饮食减少, 但 E 组比 C 组有活力。

表 1 大鼠实验前后体重变化 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	实验前体重/g	实验后体重/g	体重增加/g
A	225.2 ± 11.66	291 ± 40.47	65.8 ± 23.03
B	224.5 ± 15.52	300.3 ± 38.87	65.9 ± 22.91
C	227.6 ± 18.06	283.5 ± 41.33	55.9 ± 24.44
D	230 ± 16.17	255.8 ± 20.79	25.8 ± 17.97 ^{2,4,6)}
E	227.8 ± 15.56	270.4 ± 30.18	42.6 ± 27.78

注: 与 A 组比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与 B 组比较, ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$; 与 C 比较, ⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$; 与 D 比较, ⁷⁾ $P < 0.05$, ⁸⁾ $P < 0.01$ (下表同)。

2.2 大鼠力竭时间 B, C, D, E 组力竭时间分别为 (92.47 ± 5.46), (103.71 ± 3.82), (102.12 ± 4.69), (106.09 ± 7.70) min。

2.3 大鼠血清 CK 及其同工酶活性 B 组、C 组、D 组、E 组大鼠血清 CK 及 CK-MM 水平均高于 A 组, B 组、C 组与 A 组相比较有显著性差异 ($P < 0.01$)。D 组、E 组大鼠血清 CK 及 CK-MM 水平显著低于 B 组、C 组 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 运动后大鼠血清 CK 及其同工酶水平 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	CK	CK-MM
	/U · L ⁻¹	/U · L ⁻¹
A	714.2 ± 249.4	569.1 ± 274.8
B	1 380.3 ± 245.4 ²⁾	1 041.4 ± 251.5 ²⁾
C	1 403.3 ± 297.1 ²⁾	1 214.4 ± 301.6 ²⁾
D	876.3 ± 281.7 ⁴⁾	721.3 ± 245.4 ⁴⁾
E	930.3 ± 317.3 ⁶⁾	780.9 ± 290.1 ⁶⁾

3 讨论

3.1 两种力竭运动对大鼠血清 CK 及其 CK-MM 活性的影响 CK 通常存在于动物的心肌、骨骼肌及脑等组织的细胞浆和线粒体中, 是一个与细胞内能量运转、肌肉收缩、ATP 再生有直接关系的重要激酶。一直以来被作为评价机体机能状态、疲劳程度及骨骼肌损伤情况的重要生化指标之一。它可逆地催化肌酸与 ATP 之间的转磷酸基反应^[5]。此反应是可逆的酶促反应, 正反应的最适宜 pH 是 6.8, 逆反应最适宜 pH 是 9.0。释放入血后通过肝脏网状内皮细胞系统被分解。正常情况下, 肌细胞膜孔为 3 ~ 4 埃, 一般酶蛋白分子直径至少 50 ~ 200 埃, 很难透

过。CK 的分子量为 81 000 道尔顿,是不能直接入血的。血清中仅含少量 CK,在肌肉组织创伤及创伤后继发炎症递质反应、感染、坏死等情况下,肌细胞破坏或细胞膜通透性增加,CK 释放入血,其释放速度大于灭活速度,从而引起血中 CK 水平增高。肌酸激酶有 4 种同工酶形式:肌肉型(MM)、脑型(BB)、杂化型(MB)和线粒体型(MiMi),分别存在于肌肉细胞、脑细胞、心肌细胞和骨骼肌线粒体中^[6],CK-MM 主要来自肌肉,对判断肌肉损伤程度及预后很有价值,灵敏度及阳性率均高。在本次实验中,两种力竭运动组大鼠血清 CK 及其同工酶活性均明显高于安静对照组($P < 0.01$)。说明一次力竭运动和多次力竭运动均可以大鼠血清 CK 及其同工酶活性升高。其机制可能是:运动时剧烈的振荡;细胞内代谢产物的积累而致的渗透压增高;自由基的大量生成;肌细胞中能量的耗竭,细胞内供能相对不足,酶蛋白不易保持在功能位上,从而导致细胞膜的结构产生变化等,均可使膜通透性出现暂时变化,从而导致血清 CK 及其同工酶活性升高^[2]。也与运动时体温升高,儿茶酚胺释放增强,使肌肉向血浆中释放 CK 及其同工酶有关。本实验还发现,多次力竭运动组大鼠血清 CK 及其同工酶活性比 1 次力竭运动组高,但无统计学意义。其机制可能是:多次力竭运动大鼠因力竭时间长,机体恢复不完全,细胞内代谢产物连续积累导致血清 CK 及其同工酶活性比 1 次力竭运动组高,但经过 4 周的训练,机体对运动的适应性增强,使血清 CK 及其同工酶的清除能力增强(表 2 力竭时间可以看出),所以与 1 次力竭运动相比,血清 CK 及其同工酶活性增加的幅度不大。此外还与经过训练,体重增加有关。有研究表明^[7],体重越大的个体血清 CK 活性越高。

3.2 黄芪注射液对两种力竭运动大鼠血清 CK 及其同工酶活性的影响 力竭运动引起的骨骼肌纤维的微细损伤,可辨证为“气虚血瘀”证。黄芪为豆科多年生草本植物,其味甘,性微温,归脾肺二经,具有补气活血,托毒生肌等功效^[8]。在本次实验中,D 组和 E 组大鼠 CK 及其同工酶活性明显低于 B 组和 C 组,有显著性差异($P < 0.01$),但与安静对照组相

比,无统计学意义。说明黄芪注射液可以防止因力竭运动引起的大鼠 CK 及其同工酶活性升高,从而有效治疗因力竭运动引起的骨骼肌纤维的微细损伤。现代研究表明,黄芪能增强机体的免疫能力;增加肾上腺重量,减少全身性耗氧以及增加组织耐缺氧能力;促进血清和肝脏的蛋白质更新;提高超氧化物歧化酶和单氨氧化酶的活性,降低血浆中脂质过氧化作用,减少自由基的生成,增加自由基的消除;增强 ATP 酶活性,使细胞的生理代谢增强^[9-11],减轻细胞膜的损伤,促进细胞膜的修复。郝钰等^[12]发现黄芪多糖可通过促进内皮细胞表面 ICAM-1 的表达而促进中性粒细胞与内皮细胞的黏附,促进损伤愈合中的炎症反应,从而促进损伤组织的愈合。朱文辉等^[13]发现黄芪丹参联合应用能有效地促进 II b 型肌球蛋白重链蛋白表达,阻止 I, III 型胶原蛋白表达过度升高,从而有利于损伤组织修复。黄芪单体有效成分的作用机制和信号传递尚待进一步研究。

4 结论

1 次力竭运动与多次力竭运动均可以使大鼠血清 CK 及其同工酶活性增强;黄芪注射液能显著性的降低因力竭运动引起的大鼠血清 CK 及其同工酶活性的变化。

[参考文献]

- [1] 徐芝芳,郭层城,曾锡银. 蒙古黄芪中药对提高连续运动大鼠心肌组织抗自由基能力的研究[J]. 体育科学, 2005;25(2):76.
- [2] Frankiewica-Jozko A, Faff J, Sieradzan-Gabelska B. Changes in concentration of tissue free radical marker and serum creatine kinase during the post-exercise period in rats[J]. Eur J Appl Physiol, 1996, 74(5):470.
- [3] Bedford T G, Tipton C M, Wilson N C, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures[J]. J Appl Physiol, 1979, 47(6):1278.
- [4] 李玉琳. 运动生理学的运动试验[J]. 中国运动医学杂志, 1986, 5(1):40.

(下转第 230 页)

10. signaling respiratory burst in macrophage signaling[J].
Am J Respir Crit Care Med, 2002, 166(12 Pt2): S4.
- [4] Landmann R, Scherer F, Schumann R, *et al.* LPS directly induces oxygen radical production in human monocytes via LPS binding protein and CD14 [J]. J Leukoc Biol, 1995, 57(3): 440.
- [7] 叶维法, 钟振义. 当代肝胆疾病治疗学[M]. 成都: 四川科技出版社, 2000: 171.
- [5] 王宝恩, 张定凤. 现代肝脏病学[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 51.
- [8] 贾战生. 肝病细胞治疗基础与临床[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 5.
- [6] Forman H, Torres M. Reactive oxygen species and cell
- [责任编辑 何伟]

(上接第 226 页)

- [5] BERETHD, LIEUWE. Massive increase in serum creatine kinase during olanzapine and quetiapine treatment, not during treatment with clozapine [J]. Psychopharmacology, 2000, 150: 347.
- [10] 杨映雪, 陈建业, 王亚平. 黄芪总黄酮的抗氧化作用[J]. 川北医学院学报, 2007, 12(9): 606.
- [6] 袁建琴, 王瑞元. 血清肌酸激酶与骨骼肌损伤关系的探讨[J]. 沈阳体育学院学报, 2004, 23(3): 105.
- [11] 白玉新, 傅亮, 高进. 黄芪对缺血性急性肾功能衰竭的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(2): 74.
- [7] Novak L P, Tillery G W. Relationship between serum creatine phosphokinase to body composition [J]. Hum Biol, 1977, 49: 375.
- [12] 郝钰, 邱全瑛, 吴, 等. 黄芪多糖促进中性粒细胞与血管内皮细胞黏附及相关黏附分子表达[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(5): 427.
- [8] 崔俊雪. 黄芪注射液的临床应用[J]. 继续医学教育, 2002, 8(16): 25.
- [13] 朱文辉, 陈世益, 任惠民, 等. 活血生肌类中药对大鼠急性钝挫伤后骨骼肌 II b 型 MHC 及 I、III 型胶原蛋白表达的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2005, 24(2): 182.
- [9] 刘慧琦. 黄芪注射液的临床应用[J]. 继续医学教育, 2002, 8(16): 55.
- [责任编辑 邹晓翠]