

对中药抗运动性疲劳研究中动物模型的一些思考

王丛笑, 周 军*
(首都体育学院, 北京 100088)

[摘要] 对近年来中药抗运动性疲劳实验研究方面的文献资料进行整理归纳,总结了研究中所选运动性疲劳动物模型的情况,结合运动性疲劳的相关理论及中医药理论的相关知识,分析探讨目前研究中存在的问题,并提出了自己的建议,为中药抗运动性疲劳的研究提供一定的参考。

[关键词] 运动性疲劳;动物模型;中药

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2009)04-0083-03

Discussion on Animal Models in Research of Traditional Chinese Medicine for Eliminating Exercise-induced Fatigue

WANG Cong-xiao, ZHOU Jun*
(Capital Institute of Physical Education, Beijing, 100088, China)

[Abstract] From investigating the literatures about Traditional Chinese Medicine for eliminating exercise-induced fatigue in recent years, the article summarizes the animal models used. Though using the theories of exercise-induced fatigue and the theories of traditional Chinese medicine, the present problems in animal models were analyzed and discussed and some suggestions were put forward. The purpose is to provide references for the research of traditional Chinese medicine for eliminating exercise-induced fatigue.

[Key words] exercise-induced fatigue; animal model; traditional Chinese medicine

运动性疲劳的研究一直是运动医学的重要内容之一。而运用中药抗运动性疲劳方面的研究,尤其受到学者们的重视。目前中药抗运动性疲劳方面的研究报道很多,主要以动物实验研究为主,这就涉及到模型的选择问题。本文对近十年的中药抗运动性疲劳动物实验方面的文献资料进行了归纳总结,就中药抗运动性疲劳动物模型问题进行讨论,为中药抗运动性疲劳的深入研究提供资料。

1 中医对运动性疲劳的认识和中医分型

我国传统的中医药在抗疲劳方面有着独特的优势,对运动性疲劳的认识已有两千多年的历史,具有博大精深的基础理论和不少记载的恢复疲劳的内外治法经验。以整体观念为总纲,注重辨证施治。尽管中医没有对运动性疲劳作直接论述,但在中医的经典著作中却有许多对“疲劳”和“虚劳证”

的论述。运动性疲劳是指在运动过程中发生的一种疲劳症候。其本质是脏腑功能下降或失调和津血不足,属于一种暂时性的内伤虚劳,多可自行或通过调养恢复^[1],主要表现为不同形式的虚症(脾虚、肾虚、气虚、血虚等)。

关于运动性疲劳的中医分型,已有不少学者进行了探讨。运动性疲劳可以分为三大类:即形体(疲)劳、神志(疲)劳和脏腑(疲)劳^[2]。也有从中医肾、脾、肝与运动性疲劳的密切关系来考虑,以肾、脾、肝为中心结合肺、心对疲劳的影响来确立证型的。认为常见运动性疲劳应分为运动性肾虚(阳虚、阴虚)、运动性脾虚、运动性肝郁、运动性神疲、运动性心血虚、运动性脾肾两虚。各型前冠以“运动性”,后无“证”,强调机体是处于暂时的功能失调状态,以区别于病理性运动疲劳(过度疲劳)^[3]。

2 中医药抗运动性疲劳的动物模型的选择

近几年的中药抗运动性疲劳的研究大都采用鼠类,在造模方法上目前主要采用跑台、游泳、转笼、爬杆和中医运动疲劳模型等。大多数研究以大鼠跑台和游泳为主。

[收稿日期] 2008-08-19

[通讯作者] * 周 军, Tel: (010) 82099048; E-mail: zhoujun@cipe.net.cn

2.1 跑台运动性疲劳动物模型 大多数鼠类第一次上跑台就可跑动自如,可适应跑台速度及坡度的变化,许多研究选用 SD 大鼠进行跑台训练建立动物模型。根据实验目的设定动物在跑台上运动的时间和强度等模式,可观测机体对运动的适应和反应。模型的建立是参照 Bedford(1979)根据大鼠体重/摄氧量回归方程所建立的递增负荷(跑台坡度)和速度的运动训练方式或逐渐递增速度和时间的运动训练方式。一般开始速度为 $15 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, 逐渐递增至最高速度为 $35 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$; 每次运动时间多为 20 min 左右,训练周期为 7 周左右^[4]。国内学者田野等曾采用长时间、间歇性的跑台下坡跑运动,速度为 $16 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, 坡度为 -16° , 5 min 运动, 2 min 休息, 总运动时间 90 min。通过观察动物的“表情”、“逃避”反应、跑的姿势、运动能力等指标, 确认 90 min 长时间间歇性运动可诱发动物的运动性疲劳, 可用作疲劳运动模型^[5-6]。大部分关于大鼠跑台模型力竭的判断标准基本上为: 连续给大鼠施加声、光、机械刺激后, 大鼠不能继续跑动, 下跑台后连续喘息, 暂时无逃避反应^[4]。动物跑台运动接近鼠的正常运动方式, 运动量和运动强度可通过调整跑的时间、跑速和跑台坡度来准确控制, 对照组便于设立, 将动物放置于平板跑台的跑道上但跑台不转动即可, 在日前实验研究中应用较多。但是在运动过程中如果动物的跑速低于动物跑台的速度, 动物将受到较强的刺激来强迫鼠以规定的强度和时间内完成运动, 这种刺激是一种伤害性刺激, 这就使鼠产生了防御性反射应激, 这种应激就不是运动应激。动物跑台一般采取电击、声音刺激、毛刷刺激或强气流来驱使动物进行奔跑, 其产生的是非主动性运动。这是动物跑台应用中的一个局限因素^[7]。按照中医理论, 治疗方法相同, 肯定其证型也相同。从中药抗运动性疲劳的文献研究中看, 大鼠跑台实验在疏肝理气、补肾健脾、补益气血等方面都有运用, 但运动的负荷、时间、坡度等条件不尽相同。现在运用这种模型时多是根据研究目的而调整运动方案, 运用中医各种证型的表现来判断动物的疲劳程度。

2.2 游泳运动性疲劳动物模型 大鼠在接受游泳训练时, 不会产生强烈的抵触情绪, 承受体力外的不良刺激少, 是一种掺入“情感因素”最少的训练方式^[8]。通过给予适宜水温和充足的运动空间, 可以使大鼠的运动能力得以充分的发挥, 应该说是一种较为理想的运动疲劳模型。游泳动物模型在以下许多方面报道不一致: ①动物品种: 有 NIH 小鼠、昆明小鼠、云南小鼠、SD 大鼠、Wistar 大鼠等; ②动物性别有以雄性或雌性, 或雌雄各半, 且体重、月龄不均一; ③有训练不训练之别, 和训练时间长短之别; ④游泳有负重与不负重之别, 即使负重, 但重量不一; ⑤水温控制不一 ($25^\circ\text{C}\sim 30^\circ\text{C}$); ⑥游泳方式有以单缸或水槽进行; ⑦疗程时间长短有仅 1 d, 或 10 d 或 1 月等不同; ⑧取材有以力竭(运动下沉 10 s)、死亡、半数致死之异。以上种种原因使这种模型无一致的客观标准, 以此研究则难免影响中药药效的观察, 故造模方法应予标准化, 严格控制实验条件^[9-11]。综合诸家之说, 对于水温, 以使

用 $33^\circ\text{C}\sim 36^\circ\text{C}$ 较合适, 尤其选择 36°C 为最适宜; 水池深至少应有 71.12 cm, 每只大鼠平均占水面积 300 cm² 以上; 水尽量要用新鲜的净水, 因为 Anbel 等发现大鼠被强迫游泳时, 会向水中释放某种“警戒”物质, 重复使用会影响实验, 多应单笼饲养, 负重重物通常为金属制品, 用橡胶圈套在大鼠尾巴距基部(1~5) cm 处, 或使用“小鼠流动水游泳水槽”来调整运动强度^[8-9]。所负重量应少于大鼠在水中维持呼吸所能承受的最大重量(约为体重的 6%~8%) 不造成生命危险^[4]; 大鼠游泳训练中, 通常以大鼠游至力竭的时间来评定其运动能力。Mcardle 从可信度和相关性两个方面, 考察了“经 10s 仍不能回到水面”的力竭指标间的关系, 证实这两个指标的可信度相似且高度相关 ($r = 0.99$), 而前者显著安全得多^[12]。因此推荐使用“经 10 s 后仍不能返回水面”作衡量游泳能力时的观察指标。大鼠游泳运动模型在中药抗运动性疲劳研究中应用广泛, 如调节肾阴虚、养肝柔筋、养阴活血、滋阴清热补肾等都有应用。这如同前面所述一样, 没有明确这个模型与哪种证型更加符合。大鼠在长时间游泳的过程中, 机体正气(抵抗力)减弱, 是否容易感受寒湿之邪, 似也应当考虑在内。

2.3 爬竿(绳)、转笼运动性疲劳模型 动物爬竿实验主要应用于行为学实验中。中药抗运动性疲劳实验中采用爬竿(绳)实验多是作为跑台或游泳运动性疲劳实验的辅助实验来测试静止耐力^[13-14], 但报道不多。它通过记录从放置开始至小鼠因疲劳无力从上端滑落的时间, 来比较不同组小鼠爬竿时间的差异。转笼动物模型主要用于骨骼肌适应性生理变化的研究, 如肌肉肥大研究, 防止肌肉萎缩的机制研究和方法研究, 运动单位募集和类型的适应性研究以及运动对衰老影响的系统研究等方面, 也可用于对耐力运动能力的观察^[15]。转笼运动, 是一种无需外界刺激强迫的自主运动, 可以避免被动运动时的伤害性刺激和运动过度, 对照组便于设立。不足之处是难以进行大运动强度运动, 一旦转笼阻力过大, 鼠类不能维持运动强度。另外训练的组数、次数以及训练间歇等参数也不易设定^[7, 16]。有实验通过让小鼠跑转笼并进行食物限制建立运动性脾胃虚弱模型, 受试小鼠出现皮毛不顺, 饮食减少(自我饥饿)、拱背、便溏等脾胃虚弱的表现, 并产生溃疡、体重减轻和死亡, 这与中医的脾胃虚弱理论相符^[17]。

这两种动物模型由于运动方式的限制, 不便于批量操作, 因而使用较少。除让小鼠转笼并限制食物的运动性脾胃虚弱模型外, 其他也无明确的中医证型特征。

2.4 中医不同证型运动疲劳动物模型 依靠中医理论建立的运动性疲劳模型, 为中医药抗运动疲劳的模型建立开拓了新思路。不同证型的运动性疲劳模型的建立, 将有利于辨证施治, 便于不同组方的中药抗运动性疲劳作用的观察。但从文献检索的结果来看, 目前尚没有系统建立起中医有关运动性各种证候的实验动物模型。大部分中医运动疲劳动物模型是建立在补脾肾和养肝血两方面的^[18]。现在模拟中医传

统病因研制的脾虚动物模型有单因素和复合因素的不同。单因素如苦寒泻下法、饮食失节、饥饱失节法、耗气破气法、劳倦过度法等；复合因素如过劳饮食失节法、劳倦饥饱法、泻下-劳倦法等^[4]。运动性脾虚动物模型多用劳倦法和泻下结合运动因素导致脾虚模型^[19-21]。有研究采用番泻叶结合游泳运动建立脾虚动物模型，每天进行 1 次游泳训练，每次(2~5) min，以身体下沉为度，且施以 100% 番泻叶煎剂 0.5 ml/只。建模第 4 天，实验动物出现眯眼、懒动、扎堆、排条状软便、毛散而无光泽，并出现明显的胆怯状态。建模第 8 天处死，测定所选的 8 项免疫学指标与对照组相比均有高显著性差异，表现出各项免疫学指标下降。从实验动物的外观表现和免疫学指标的变化表明已呈脾气虚症。该研究还表明，虽然劳倦过度法在导致脾虚程度方面较番泻叶泻下法为轻，但是它具有明确的导致脾虚的效果，故不失为长期脾虚造模的首选方法。同时说明了复合因素脾虚造模法在脾虚造模上占有绝对的优势^[19]。动物脾肾虚的观察多以观察动物的体征状态为主，如肾阳虚动物模型临床症状较公认的表现日益消瘦、活动减少、反应迟钝、肢尾湿冷、倦曲拱背、毛松便秘等^[21]；脾虚动物模型其症状体征包括脾虚和气虚，如食量减少、大便稀溏、或便软、或腹泻，体重增长或缓慢或下降，或消瘦，倦怠懒动，眯眼，拱背，扎堆，毛色枯黄无泽，耳尾色淡等^[21]。

3 问题及思考

3.1 在建模过程中运动疲劳模型的运动训练方式多种多样，运动训练的强度和负荷更是多样。但很少有文献报道其选用的依据。由不同的运动引发的运动性疲劳的机理和程度是不一样的，对机体的影响亦不同。因此选用何种运动强度和负荷与研究的目的和方向应密切相关。

3.2 目前有关疲劳的动物实验研究大部分是在力竭运动状态下进行的，这可能与动物的耐受力、恢复能力很强，以及很多生化指标在一般状态下反应不敏感有关。疲劳导致的工作能力或身体机能的下降是暂时的，经过休息可以恢复，借此可以与运动中常见的疾病——过度训练相区别。运动性疲劳与过度疲劳两者在发生机理上基本相同，但两者在功能、结构变化上有根本的量与质的不同，过度疲劳属内伤虚劳病。在运动性疲劳模型建立过程中，建议在实验设计中安排一定的自然恢复时间，了解运动所致的外部表现的变化及生理、生化指标的变化是否是暂时性的、可自然恢复的。

3.3 不同的模型如何与中医证型相对应，是需要我们在研究过程中考虑的。建立运动性疲劳中医“证”的动物模型，以中医理论为指导，从整体观念出发，结合中医对运动性疲劳的认识和运动训练实际，建立运动性疲劳各种证候动物模型，应以脾、肾、肝为切入点。但总的来说，仍处于探索阶段，对动物模型的评价不一。而且传统的中医临床工作主要靠四诊等手段来辨“证”，但是动物没有主诉，这就给制造中医各种证的动物病理模型带来了困难。根据中医理论造模，目前也存在同一证造模方法较多的问题，有单因素、有复合因素，尚需建立统一的造模方法的评价体系。

[参考文献]

- [1] 熊正英, 柳茜茜. 浅谈中医与运动性疲劳[J]. 山西体育科技, 2007, 27(3): 44-46.
- [2] 张世明, 虞亚明, 马健, 等. 运动性疲劳的中医分型与诊断研究[J]. 体育科学, 1998, 18(6): 59.
- [3] 乔玉成. 关于中医药抗运动性疲劳的立法思考[J]. 北京体育大学学报, 2000, 23(4): 490-492.
- [4] 武露凌, 刘钢. 关于运动性疲劳动物模型建立的综述[J]. 体育与科学, 2007, 28(3): 73-76.
- [5] 田野, 高铁群. 大鼠运动性疲劳模型的建立[J]. 北京体育大学学报, 1995, 18(4): 49-53.
- [6] 肖明珠, 郭庆芳. 不同刺激方法对大鼠跑台运动疲劳及恢复期糖代谢的影响[J]. 中国运动医学杂志, 1998, 17(4): 334-338.
- [7] 李俊平, 徐玉明, 王瑞元. 常用动物运动模型的方式与发展[J]. 北京体育大学学报, 2006, 29(12): 1669-1671.
- [8] 毛杰. 大白鼠游泳训练的试验方法和运动模型[J]. 武汉体育学院学报, 2004, 38(3): 32-34.
- [9] 韩雨梅, 邸慧军. 动物实验在抗疲劳中药研究中的应用现状[J]. 首都体育学院, 2003, 15(1): 93-95.
- [10] 郑澜, 陆爱云. 运动性疲劳动物模型的研究[J]. 中国体育科技, 2003, 2(39): 20-23.
- [11] 常波. 中医药与运动性疲劳[J]. 西安体育学院学报, 2005, 22(3): 64-68.
- [12] Mc Ardle MD, Montoye HJ. Reliability of exhaustive swimming in the laboratory rat[J]. J Appl Physiol, 1966, 21(4): 1431-1434.
- [13] 吴新正, 何迎春, 刘红萍, 等. 红景天复方对小鼠免疫、耐缺氧和抗疲劳能力的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2008, 28(1): 29-31.
- [14] 滕宝霞, 刘玉玲, 刘发, 等. 归原口服液抗疲劳及壮阳作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(1): 50-52.
- [15] 徐小平, 王莉. 复方活血饮抗运动性疲劳作用初步观察[J]. 中国运动医学杂志, 2006, 25(2): 225-227.
- [16] 卢健, 陈彩珍, 许永刚, 等. 小鼠运动方式-转笼的制作与应用[J]. 广州体育学院学报, 2002, 22(5): 26-28.
- [17] 朱志强, 张兰. 运动性脾胃虚弱动物模型的实验研究[J]. 中医药学刊, 2002, 20(5): 594-595.
- [18] 赵文忠, 宋明珍, 周琴璐, 等. 飓风 I 号、II 号口服液对提高小鼠运动能力作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 1997, 3(3): 24-25.
- [19] 曲长江. 番泻叶泻下与劳倦过度单、复因素脾虚模型的免疫学研究[J]. 中国中西医结合脾胃杂志, 1999, 7(41): 21.
- [20] 潘珊珊, 郑澜, 陆爱云, 等. 健脾生血中药促进运动性疲劳消除对血浆心钠素的影响[J]. 体育科学, 2001, 21(4): 58-60.
- [21] 杨维益, 梁嵘, 文平, 等. 脾气虚症大鼠骨骼肌形态学和形态计量研究[J]. 中国运动医学杂志, 1993, 12(3): 157-160.
- [22] 郑澜, 陆爱云. 运动性疲劳动物模型的研究[J]. 中国体育科技, 2003, 2(39): 20-23.
- [23] 钱会南, 沈丽波, 胡雪琴, 等. 中医脾虚动物模型的实验研究思考[J]. 中国药物与临床, 2003, 3(3): 183-184.