

文章编号 1006-8147(2023)01-0051-04

论 著

注射用益气复脉(冻干)对力竭游泳大鼠的抗疲劳作用研究

张瀛化¹,王莹¹,李宏¹,陈婷²,王荣环¹

(1.天津医科大学第二医院药学部,天津 300211;2.天津第一中心医院药学部,天津 300192)

摘要 目的:通过大鼠力竭游泳模型考察注射用益气复脉(冻干)(YQFM)的抗疲劳作用。方法:50只 Sprague-Dawley(SD)大鼠随机分成对照组、模型组、YQFM低、中、高(231.5、463和926 mg/kg)剂量组,每组10只。检测各组大鼠游泳时间、血清中葡萄糖、乳酸和尿素氮(BUN)及谷胱甘肽过氧化物酶(Gsh-Px)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和组织中的肝糖原、肌糖原含量。结果:力竭游泳后大鼠表现出一定的倦态和反应迟钝等现象,YQFM组症状不明显;与模型组相比,YQFM各剂量组大鼠的游泳时间均提高(均 $P<0.001$);与模型组相比,YQFM组葡萄糖、Gsh-Px和MDA、SOD含量和组织中肝糖原、肌糖原水平显著升高(均 $P<0.001$),乳酸、BUN水平显著降低(均 $P<0.001$),均呈剂量依赖性。结论:YQFM可以显著改善力竭游泳大鼠的疲劳症状,补充其体内葡萄糖,减少乳酸堆积和糖原分解,并提高抗氧化活性物质等生化指标水平,对运动性疲劳具有一定的改善作用。

关键词 注射用益气复脉(冻干);抗疲劳;力竭游泳

中图分类号 R781.4

文献标志码 A

Study on anti-fatigue effect of YiqiFumai Lyophilized Injection on(Carrageenan)exhausted swimming rats

Zhang Ying-hua¹, Wang Ying¹, Li Hong¹, Chen Ting², Wang Rong-huan¹

(1.Department of YAOXUEBU, The Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; 2.Department of YAOXUEBU, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China)

Abstract Objective: To investigate the effect of YiqiFumai Lyophilized Injection (YQFM) on anti-fatigue function in rats with exhaustive swimming. **Methods:** Fifty Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into control group, exhaustion group and low, middle, and high dose groups (231.5, 463, 926 mg/kg) of YQFM which 10 in each group. Swimming time, the contents of glucose (Glu), serum lactic acid (Lac), urea nitrogen (BUN), serum glutathione peroxidase (GSH-Px), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), liver glycogen and muscle glycogen in tissues were recorded and detected. **Results:** The exhaustion group showed a certain phenomenon of fatigue and retardation after exhausting swimming, while the symptoms were not obvious in YQFM groups. Compared with the exhaustion group, the swimming time of exhaustive rats increased in each YQFM groups (all $P<0.001$); Compared with the exhaustion group, the content of Glu, GSH-Px, MDA, SOD and the levels of liver glycogen and muscle glycogen in YQFM groups were significantly increased (all $P<0.001$), and the levels of Lac and BUN were significantly decreased which the relationlac were dose-dependent (all $P<0.001$). **Conclusion:** YQFM can significantly improve the state of fatigue, replenish the Glu, reduce Lac accumulation and glycogenolysis, and increase the biochemical index level of antioxidant activity substances in exhaustive rats, which has a certain improvement effect caused on exhaustive exercise.

Key words YiqiFumai Lyophilized Injection(Carrageenan); anti-fatigue; exhaustive swimming

疲劳严重影响人类的工作和生活,可直接影响人体正常活动,在剧烈运动时影响更甚。长期疲劳状态更是多种疾病的前兆和诱因,很多研究表明疲劳会导致机体产生系统失衡,对器官和身体产生损害^[1-2]。心主血脉,全身的血液依赖心气的推动方可运行全身,从而为各个脏腑和组织器官输送营养,因此中医观点认为机体内的精气、血、津液缺失进而导致疲劳,疲劳的本质是津液精血不足和形体、脏腑功能的下降或失调,为内伤不足之证,早期多

以气血不足、阴虚证候为主,后期多为营养俱虚兼瘀之证^[3]。

注射用益气复脉(冻干)源自古方生脉散,由红参、麦冬、五味子组成,具有益气复脉、养阴生津的功效,用于冠心病劳累型心绞痛气阴两虚证等。劳累型冠心病的一般症状是运动后或情绪激动后出现胸痛、胸闷、心慌心悸、气短乏力等,冠心病具有发病急、易复发、心功能进行性下降等特点,患者常产生不同寻常的疲劳,而长期、过度的疲劳极易造成患者出现心率加快和心脏性猝死^[4-5]。

目前常用的疲劳动物模型有鼠类的跑步和游

作者简介 张瀛化(1994-),女,硕士,研究方向:药学;通信作者:王荣环, E-mail: wrh1964@126.com。

泳,其中跑步一般指鼠类通过跑台机或转轮式跑步机进行跑步进而造成疲劳,跑台设备需要操作人员对实验动物进行训练跑步,但动物的“逃避”现象严重,而驱赶措施易造成鼠类足部和胃部的机械性损伤,可能会影响结果;游泳是鼠类的本能,当动物接受训练时不会有很强烈的抵触感,它是一种涉及“情感因素”相对较小的训练方式,目前在国际上鼠类力竭游泳被认为是经典的评价药物抗疲劳作用的模型^[6-7]。本研究以 Sprague-Dawley (SD) 大鼠为实验对象,通过游泳力竭游泳模型考察注射用益气复脉(YQFM)对力竭大鼠的抗疲劳作用。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 SPF 级 SD 大鼠 50 只,雄性,体重约 200~250 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证编号:SCXK(京)2017-0006。接收检疫合格后于屏障环境检疫室适应性饲养 3 d,然后运于饲养室内等待实验。

1.1.2 药品和试剂 YQFM:天津天士力之骄药业有限公司,批号:20190311,效期 30 个月,每瓶装 0.65 g (相当于含红参 0.5 g、五味子 0.75 g 和麦冬 1.5 g);生理盐水(NS):石家庄四药有限公司,批号:1911173503;尿素氮(BUN)、乳酸(Lac)、葡萄糖、谷胱甘肽过氧化物酶(Gsh-Px)和丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)及肝糖原、肌糖原测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.1.3 仪器 T-1000 天平(常熟市双杰测试仪器厂);多功能酶标仪(TECAN 公司);高速离心机(美国 Thermo 公司);电子分析天平(瑞士 Mettler 公司);大号不锈钢漏勺。

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组 SD 大鼠按体重随机分组,每组 10 只,共分为 5 组,分别为对照组、模型组、YQFM 低、中、高剂量组。其中对照组不游泳,其他 4 组均进行游泳训练。

1.2.2 实验方法 (1)每组大鼠分别于游泳前 1 h 尾静脉注射后放回笼内。每周称量 2 次体重。(2)游泳前准备:根据大鼠的体重,准备不同型号的不锈钢螺丝及螺母、橡皮筋等,根据每只大鼠体重的 5% 重量,选择橡皮筋将不同重量的螺丝或螺母绑定,备用。(3)泳池准备:每日游泳前将收纳箱装水,水温保持在 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$,水深约 30 cm (可于置物箱内壁 30 cm 水深处划刻度标记)。实验过程中每只大鼠游泳前均用经过计量后的温度计测量水温以保持实验过程的一致性。(4)大鼠游泳力竭模型建立:大

鼠分组完毕后进行标记,将每只大鼠根据其自身体重,尾部绑缚其体重 5% 的螺丝依次置于装满水的置物箱中,1 只/(次·桶),水深 40~45 cm,水温控制在 $(12 \pm 2)^\circ\text{C}$ 。每次将大鼠的头部完全没入水中 10 s 不露出水面用漏勺快速将其捞起,捞起后大鼠身体瘫软,腹部朝上不能自行翻转,反应迟钝,呼吸加快,头朝上握持时,下肢及尾部自然下垂为大鼠力竭。此时立即用干净的毛巾擦拭大鼠,吹风机自然风吹毛使之加快干燥后,再将其放置于鼠笼中,每日 1 次,连续造模 4 周。(5)给药方法:从游泳造模的第 3 周(第 15 天)起,每组游泳前 1 h 均尾静脉注射各组药液,其中正常对照组(不游泳,仅注射)和模型组尾静脉注射生理盐水,给药组按照 231.5、463 和 926 mg/kg 的剂量尾静脉给予 YQFM,连续 14 d。整个实验期间食、水不控制。

1.2.3 检测指标 (1)大体观察:分别于每日游泳前后大体观察各组大鼠状态。(2)对给药后 1、7、14 d 大鼠力竭游泳时间:分别记录各组大鼠给药前(首次游泳后第 14 天)、给药后的 1、7、14 d (即首次游泳后第 15、21、28 天)的力竭游泳时间。(3)生化指标检测:各组大鼠末次游泳后 1 h,分别采用异氟烷通过小动物麻醉机麻醉,腹主动脉取血,离心,取血清;同时摘取肝脏,生理盐水漂洗 3~4 次,滤纸拭干;大鼠股四头肌用滤纸擦拭干净;血清、肝脏及肌肉组织均处理完毕做好标记后立即置于液氮中保存 5~6 h 后取出,放于 -80°C 冰箱中备用。后续将解冻后的股四头肌、肝脏组织分别剪碎,匀浆,5 000 r/min 离心 15 min,收集上清液备用。根据试剂盒说明书要求,分别检测各组大鼠血清中的葡萄糖、Lac、BUN、Gsh-Px 和 MDA 及 SOD 的含量。检测大鼠肌肉组织和肝脏组织中肝糖原和肌糖原水平。

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行数据分析和作图。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析和 t 检验进行差异分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 YQFM 对力竭游泳大鼠大体观察和力竭游泳时间的影响 参加游泳实验的大鼠在游泳初期均活泼好动,精神状态良好,在游泳时反应敏捷,捞出水面时候能快速抖动甩干身上多余水分;随着游泳天数的递增,各组均表现出一定的倦态、双眼无神、反应迟钝,以模型组最明显,游泳前有明显的畏水现象,游泳结束捞出时有四肢无力的症状。如表 1 所示,各组大鼠给药前游泳时间差异无统计学意义(均 $P > 0.05$);随游泳天数的增加,模型组大鼠与

给药前时间相比,力竭游泳时间也显著缩短($F=24.72$, $P<0.001$);给药后第1天,YQFM中、高剂量组与模型组相比,差异有统计学意义($P<0.001$);给药后第7天、第14天YQFM各剂量组与模型组相比,差异均有统计学意义(均 $P<0.001$)。

表1 YQFM对力竭游泳大鼠游泳时间的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Effect of YQFM on swimming time of exhaustive swimming rats($\bar{x}\pm s$)

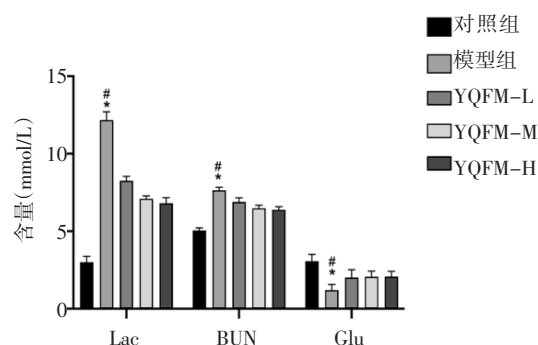
组别	例数	给药前(min)	1 d(min)	7 d(min)	14 d(min)
模型组	10	78.90±7.03	74.21±5.41	66.90±3.73	57.50±4.65
YQFM-L	10	72.30±6.85	75.90±5.30	87.80±4.69**	95.70±4.79**
YQFM-M	10	75.50±4.74	83.80±4.26*	92.30±3.77**	92.40±3.86**
YQFM-H	10	75.40±4.70	85.10±4.25**	94.60±3.24**	98.80±5.37**
<i>F</i>		2.37	9.95	91.84	176.60
<i>P</i>		0.09	<0.001	<0.001	<0.001

注:与模型组比较,* $P<0.01$,** $P<0.001$

2.2 YQFM对力竭游泳大鼠血清葡萄糖、Lac和BUN及Gsh-Px含量的影响 如图1、2所示,同对照组相比,模型组血清葡萄糖和Gsh-Px水平显著降低($t=10.29$ 、 23.65 ,均 $P<0.001$),Lac和BUN水平均显著升高($t=44.60$ 、 31.93 ,均 $P<0.001$);同模型组相比,连续给药14 d后,YQFM低、中、高剂量组血清葡萄糖、Gsh-Px水平显著升高($F=11.60$ 、 95.05 ,均 $P<0.001$),Lac和BUN含量显著降低($F=463.60$ 、 67.40 ,均 $P<0.001$)。

2.3 YQFM对力竭游泳大鼠组织肝糖原、肌糖原和血清中MDA和SOD含量的影响 如表2所示,同对照组相比,模型组组织中的肝糖原、肌糖原和血

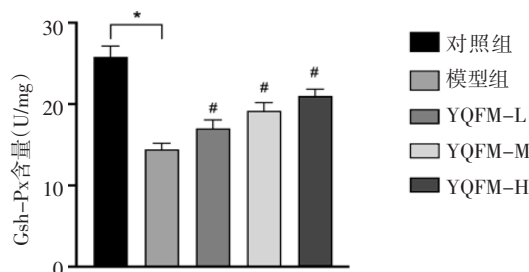
清中SOD、MDA均有显著性降低(均 $P<0.001$);而同模型组相比,YQFM剂量组肝糖原、肌糖原、SOD和MDA水平均显著升高(均 $P<0.001$)。



注:Lac:乳酸;BUN:尿素氮;Glu:葡萄糖;与对照组相比,* $P<0.001$;与模型组相比,* $P<0.001$

图1 YQFM对力竭游泳大鼠血清中Glu、Lac和BUN含量的影响

Fig 1 Effect of YQFM on the contents of Glu,Lac,BUN and GSH-Px in serum of exhaustive swimming rats



注:Gsh-Px:谷胱甘肽过氧化物酶;与对照组相比,* $P<0.001$;与模型组相比,* $P<0.001$

图2 YQFM对力竭游泳大鼠血清中Gsh-Px含量的影响

Fig 2 Effect of YQFM on the contents of GSH-Px in serum of exhaustive swimming rats

表2 YQFM对力竭游泳大鼠组织中肝糖原、肌糖原和血清中SOD和MDA的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Effects of YQFM on liver glycogen,muscle glycogen and SOD and MDA in serum of exhaustive swimming rats($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	肝糖原(mmol/L)	肌糖原(mmol/L)	MDA(U/mg)	SOD(U/mL)
对照组	10	2.60±0.23	18.25±1.00	25.82±1.32	132.57±4.55
模型组	10	0.89±0.11*	8.08±0.57*	12.43±0.76*	51.87±5.09*
YQFM-L	10	1.39±0.44#	10.98±0.74#	17.00±1.05#	109.19±5.55#
YQFM-M	10	1.59±0.18#	12.35±0.63#	19.18±1.01#	115.78±1.96#
YQFM-H	10	1.71±0.13#	14.09±0.77#	21.01±0.83#	121.24±2.41#
<i>F</i>		63.09	249.60	238.00	570.60
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:MDA:丙二醛;SOD:超氧化物歧化酶;与对照组相比,* $P<0.001$;与模型组相比,* $P<0.001$

3 讨论

由于现代人生存面临的工作压力大、竞争激烈,加上缺乏有效的心理疏导和未养成有氧运动的习惯,疲劳已成为日常生活中最常见的身体不适反应。

疲劳症状若不能及时缓解,持续下去会发展成

“劳倦”,甚至“劳损”,此时机体的效率降低、记忆力减退,通过简单的营养饮食和适度的休息是无法缓解的,过度疲劳会导致身体器官受到实质性的损害^[8]。

关于疲劳的机制有很多,一般认为有以下4种,即能源物质消耗学说、代谢产物堆积学说、自由基

损伤学说和内环境稳态失调学说^[9-10]。其中“能源物质消耗学说”认为疲劳的原因是体内能源物质(血糖和肌糖原等)耗竭,导致能源短缺,使肌肉不能维持之前的工作,从而出现疲劳。葡萄糖是机体的直接能源物质,糖原是人体最重要的供能物质,是机体的储备能源,在哺乳动物体内主要储存于骨骼肌和肝脏中,当机体血糖水平降低时,糖原分解成维持机体活动所需的血糖。血糖和糖原的耗竭可直接引起疲劳,众多研究表明肌糖原的耗竭与体力的衰竭直接相关,糖原水平可直接反映疲劳发生的快慢或程度,在肌糖原消耗的同时,肝糖原储备量为维持机体的血糖水平也在减少,因此机体血糖、肌糖原和肝糖原是检测能量水平的重要指标。在本实验中大鼠力竭游泳,需要消耗大量葡萄糖,因此模型组的大鼠血糖始终处于低值而得不到补充;YQFM组大鼠肝糖原和肌糖原含量均高于模型组,可能与YQFM可直接供能有关,从而减少了肝脏和肌肉中糖原的消耗,进而提高了大鼠力竭游泳的抗疲劳能力^[11]。

血中Lac是一种无氧环境下的糖酵解产物,其过度累积可降低体内酶活性,并造成肌肉功能和重要器官的损伤;BUN是蛋白质降解生成的代谢物,可直接反映蛋白质的消耗程度,其值越高,代表运动时间越长或者是运动耐受能力越差,Lac和BUN均可反映机体的疲劳程度^[8,12-13];与模型组相比,YQFM低、中、高剂量组Lac和BUN水平均降低,说明YQFM可有效降低力竭大鼠血清中Lac的堆积和生成,并一定程度上抑制蛋白质的降解,从而降低BUN。

氧化应激也是造成疲劳的重要因素。其中自由基可随机体过度运动时线粒体耗氧量增加,氧化磷酸化增强而加速生成;同时随ATP大量分解促使AMP生成增加,使黄嘌呤大量增加,在黄嘌呤氧化酶作用下生成超氧化物阴离子自由基,当运动后的复氧充足时,次黄嘌呤和黄嘌呤与氧气反应生成大量自由基;另外过度运动时的Lac堆积造成体内自由基清除酶的活性降低,因此体内的自由基不断增多。自由基可损坏线粒体产生ATP的过程,使细胞能量生成发生障碍,影响肌纤维的收缩功能,同时导致一些酶的失活,进而导致机体发生病理变化而产生疲劳,持续的自由基损伤可引起机体细胞凋亡,参与许多疾病的发病过程^[14-15]。SOD、MDA和GSH-Px被认为是抗氧化研究的经典指标,其中SOD的活性可直接反映机体清除自由基的能力,GSH-Px

可阻断脂质过氧化,而MDA作为脂质过氧化的降解产物,是脂质过氧化的敏感指标^[16-17]。YQFM可提高力竭游泳大鼠体内SOD、GSH-Px活性,降低MDA的生成,说明其可降低力竭游泳疲劳大鼠的氧化损伤。

综上所述,本文通过力竭游泳所致的运动性疲劳损伤模型考察YQFM的抗疲劳作用研究发现,YQFM可快速补充力竭游泳大鼠体内的葡萄糖、肌糖原和肝糖原水平,降低血清Lac、BUN水平;还能提高大鼠机体内SOD和GSH-Px水平,降低MDA含量,从而减轻氧化应激损伤,最终增加大鼠游泳时长,起到抗疲劳作用,该作用主要与直接供能、减少Lac堆积、减少糖原分解和提高抗氧化活性有关。

参考文献:

- [1] 华金双,邵伯雍,傅文.逆针灸对慢性疲劳大鼠行为学及IL-1 β 、IL-6的影响[J].中医研究,2017,30(4):73-76.
- [2] 祁继良.高原低氧环境下不同增压辅助手段对大鼠力竭运动能力的影响[J].辽宁体育科技,2016,38(2):34-37.
- [3] 武琳璐,苗润宇,姚思森,等.中医药治疗疲劳的研究进展[J].现代生物医学进展,2021,21(12):2391-2395.
- [4] 唐楠.基于遗忘曲线理论的健康教育对冠心病患者疲劳认知及疲劳程度的影响[J].当代护士(上旬刊),2020,27(10):160-162.
- [5] 翟优,刘思远,陈善夫,等.4种中药注射剂改善大鼠慢性心力衰竭的药效研究[J].中草药,2021,52(14):4248-4254.
- [6] 李玉萍,黄少惠,靳文.疲劳型亚健康大鼠模型的构建[J].中国组织工程研究,2012,16(7):1225-1228.
- [7] VESKOUKIS A S, KYPAROS A, PASCHALIS V, et al. A novel swimming performance test in rats[J]. Chin J Physiol, 2018, 61(3): 144-151.
- [8] 王智,闫明珠,夏天吉,等.疲劳的动物模型及发生机制研究进展[J].世界科学技术-中医药现代化,2021,23(6):1937-1943.
- [9] 陈慧,马璇,曹丽行,等.运动疲劳机制及食源性抗疲劳活性成分研究进展[J].食品科学,2020,41(11):247-258.
- [10] 田家俊,秦阳,王南平.中药多糖类化合物抗疲劳作用及其机制研究进展[J].生命的化学,2021,41(5):1018-1024.
- [11] 王曼莹,付宝玉,徐晓浩,等.人参组培不定根蛋白对小鼠的抗疲劳作用及其机制[J].吉林大学学报(医学版),2022,48(1):18-25.
- [12] 武琳璐,苗润宇,姚思森,等.中医药治疗疲劳的研究进展[J].现代生物医学进展,2021,21(12):2391-2395.
- [13] 田峰.对中枢与外周运动性疲劳的再认识[J].中国组织工程研究,2015,19(42):6849-6854.
- [14] 杨俊杰,赵大庆,张婉迎,等.人参多糖对一次性力竭游泳大鼠红细胞功能恢复的影响[J].中草药,2019,50(23):5778-5784.
- [15] 辛甜,储智勇,栾洁,等.铁皮石斛胚状体对大鼠抗疲劳能力的影响[J].药学实践杂志,2011,29(1):21-23.
- [16] 陈立艺,李玉新,黄倍源,等.参附注射液对小鼠抗缺氧抗疲劳作用的实验研究[J].中国中医急症,2015,24(6):960-961,978.
- [17] 陈杨杨,胡慧玲,奉关妹,等.多花黄精炮制前后对游泳力竭小鼠抗疲劳抗氧化的影响[J].中药药理与临床,2021,37(2):92-96.

(2022-06-09收稿)