

的情况下进行的,有利于观察其症状学改变,且能够反映急性脑缺血引发的肺部损伤。本研究在卒中相关性肺炎成功造模大鼠的基础上,通过电针治疗来进行干预,发现电针防治大鼠肺部感染有效。电针治疗可明显改善卒中相关性肺炎大鼠的症状,可降低呼吸频率,减轻肺间质水肿、肺泡水肿,减少炎症细胞浸润,改善肺出血、肺充血、肺不张状态。所以电针可能可以抑制局部炎症反应,减轻肺部细胞的损害,促进恢复。其机制可能为:针刺百会、大椎后,通过神经内分泌的调节作用,增加了脑血流及全身重要脏器的血流量,加快血液的流速,升高体温,加快机体的新陈代谢速度,以促进损伤部分的再生与代偿功能,从而对肺脏起到良性的调节作用。

虽然电针治疗卒中相关性肺炎大鼠是有一定疗效,但因本实验样本数量少,因此在结论的推导方面必然存在不足;希望下一步研究可加大样本含量和观

察指标,避免交叉感染,完善技术,进一步探讨电针对卒中相关性肺炎的疗效及影响疗效的相关机制。

[参考文献]

- [1] 卒中相关性肺炎诊治中国专家共识组. 卒中相关性肺炎诊治中国专家共识[J]. 中华内科杂志, 2010, 49(12): 1075.
- [2] 赵海滨, 沈承玲, 刘金民, 等. 大鼠急性全脑缺血致脑-肺综合征模型的建立及评价[J]. 中国中医急症, 2005, 14(4): 353.
- [3] Longa EZ, Weinstein PR, Carson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 10(1): 84-91.
- [4] 李荣. 督脉穴位电针对暂时性脑缺血所致神经细胞死亡的影响[J]. 针刺研究, 2003, 28(1): 10.
- [5] 金竹青, 程介士. 督脉穴位针刺对急性脑梗塞患者的治疗作用[J]. 针刺研究, 1999, 24(1): 1.

(责任编辑:马力)

敦煌固本方对运动负荷大鼠股四头肌相关酶活性及心肌保护作用的研究

李希斌, 彭雪晶, 彭志辉

甘肃中医学院, 甘肃 兰州 730000

[摘要] 目的:探讨敦煌固本方对运动负荷大鼠股四头肌相关酶活性及对心肌的保护作用。方法:选用健康雄性大鼠 60 只,饲养 1 周后。随机分为运动负荷组和非负荷组,每组 30 只,运动负荷组再随机分为空动组和药动组,每组 15 只;非运动负荷组再随机分为空静组和药静组,每组 15 只。苦味酸标记后,药静组和药动组等体积灌胃注射敦煌固本方实验液 0.4 mL,空静组和空动组注射等体积 0.9%NaCl 溶液,连续 8 周。训练方式为递增负荷游泳训练,持续训练 8 周。8 周后断头处死大鼠,分别取心肌组织样品和股四头肌组织样品,采用比色法检测有关生理生化指标活性。结果:空静组与药动组琥珀酸脱氢酶(SDH)活力比较,差异有显著性意义($P < 0.05$),药静组与空静组 SDH 活力比较,差异有非常显著性意义($P < 0.01$)。药动组与药静组比较苹果酸脱氢酶(MDH)活力、乳酸脱氢酶(LDH)活力比较,差异均有显著性意义($P < 0.05$)。药动组与药静组丙二醛(MDA)、乳酸(LD)含量和总超氧化物歧化酶(SOD)活力比较,差异均有显著性意义($P < 0.05$)。结论:敦煌固本方能显著改善运动负荷造成的心肌、骨骼肌缺血缺氧状况。

[关键词] 敦煌固本方;抗疲劳;心肌保护;动物实验

[收稿日期] 2013-11-14

[基金项目] 甘肃省兰州市城关区科技发展计划项目(编号: BH2012-059);甘肃中医学院中青年基金项目(编号: 10-ZQ-03)

[作者简介] 李希斌(1966-),男,副教授,主要从事医学与体育保健研究工作。

[通讯作者] 彭雪晶, E-mail: pengxuejing87@163.com.

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 0256-7415 (2014) 04-0193-04
DOI : 10.13457/j.cnki.jncm.2014.04.078

Myocardial Protection of *Dunhuang Guben* Recipe and Its Impact on Related Enzyme Activity of Femoral Quadriceps in Exercise Load Rats

LI Xibin , PENG Xuejing , PENG Zhihui

Abstract : Objective : To explore the effect of *Dunhuang Guben* recipe on related enzyme activity of femoral quadriceps and myocardial protection in exercise load rats. Methods : After adaptive feeding for one week , sixty clean rats were randomly divided into exercise load group and non- exercise load group , thirty in each group. The non- exercise load group was then randomized into two subgroups , blank- non- exercise subgroup and drug- non- exercise subgroup , fifteen in each subgroup. The exercise load group was also randomized into two subgroups , blank- exercise subgroup and drug- exercise subgroup , fifteen in each subgroup. After marked by picric acid , rats in the two drug subgroups were orally administered *Dunhuang Guben* recipe , and rats in the two blank subgroups were given injection of 0.9% NaCl solution , once a day from the first day to the eighth week. All rats in the exercise load group were treated by progressive load swimming training , from the first day to the eighth week. On the 8th week , all rats were sacrificed , and myocardial tissue and femoral quadriceps were sampled for the detection of physiobiochemic indexes by colorimetry. Results : The difference of succinodehydrogenase (SDH) between blank- non- exercise subgroup and drug- exercise subgroup was significant ($P < 0.05$) , and the difference between drug- non- exercise subgroup and blank- non- exercise subgroup was markedly significant ($P < 0.01$). Significant differences of malate dehydrogenase(MDH) , lactic dehydrogenase(LDH) , and malondialdehyde(MDA) , LD , superoxide dismutase(SOD) were also found between drug- non- exercise subgroup and drug- exercise subgroup ($P < 0.05$). Conclusion : *Dunhuang Guben* recipe can significantly improve hypoxic- ischemic state of cardiac muscle and skeleton muscle caused by exercise load.

Keywords : *Dunhuang Guben* recipe ; Anti- fatigue ; Myocardial preservation ; Animal experiment

运动性疲劳的有效恢复是运动员、教练员及运动医学工作者普遍关心的问题。在寻找安全、有效的抗运动性疲劳方法和途径中，中医药以其副作用少，且绝大多数中药不含对人体有危害的兴奋剂成分而日益成为国内学者研究的热点之一，也成为体育竞赛事业中的科技研究焦点。由于心脏是血液循环的动力器官，也是运动应激反应最为敏感的器官。同时任何运动都是通过不同肌群有序地收缩和舒张而实现，骨骼肌的收缩活动有赖于 ATP 的消耗，而在长时间大强度的运动训练时，心肌、骨骼肌易发生缺血缺氧而损伤。因此，如何有效保护运动负荷中的心肌组织，提高机体的能量代谢水平，以保证正常训练和比赛中机体能量的供应始终是运动生理学研究的重点之一^[1-2]。本课题前期临床研究中，选用敦煌医学文献经方敦煌

固本方(人参、黄芪、当归、马鹿茸、陈皮、女贞子)，对其进行了初步实验观察。研究证明敦煌固本方具有显著的抗氧化作用和调节机体免疫功能的作用，初步验证了敦煌固本方具有显著防治运动性疲劳综合征的作用^[3-4]。本研究假说立论基于运动训练耗气伤津(表现为乏力、大汗、口渴、易感冒等症状)和气阴两虚的中医学理论，采用运动训练大鼠优化模型，并应用敦煌固本方进行干预治疗，从相关药效学角度阐明敦煌固本方对运动大鼠股四头肌相关酶活性的影响及心肌保护作用，进一步为敦煌固本方开发运动保健食品提供理论依据^[5-6]。

1 材料

1.1 药物处方 敦煌固本方由人参、当归、女贞子、陈皮各 10 g，马鹿茸、黄芪各 15 g 组成，由甘肃中

医学院附属医院中药房提供。将药材置于药量 7 倍的蒸馏水中浸泡 1~2 h, 煮沸 30 min, 过滤为 1 煎; 将药渣加入 5 倍蒸馏水中继续煮沸 20 min, 过滤为 2 煎; 将 1 煎、2 煎合并, 浓缩至 35 mL, 即配制成 2 000 g 生药/L 溶液。实验时按所需剂量用蒸馏水配制成不同浓度备大鼠灌胃用。

1.2 动物 实验选择健康清洁级昆明种大鼠 60 只, 体重(30± 5)g, 大鼠饲养环境温度(22± 2)℃, 湿度(50± 10)%, 由甘肃中医学院动物实验中心提供[合格证号为: SCXK(甘)- 2011- 0001]。

1.3 仪器与试剂 游泳箱、匀浆器、电子天平、离心机、相关试剂盒(所有试剂盒由南京建成科技有限公司提供)等。

2 方法

2.1 实验动物分组与处理 大鼠适应性喂养 1 周, 随机分为运动负荷组和非负荷组, 每组 30 只, 运动负荷组再随机分为空动组和药动组, 每组 15 只; 非运动负荷组再随机分为空静组和药静组, 每组 15 只。苦味酸标记后, 药静组和药动组等体积灌胃注射敦煌固本方实验液 0.4 mL, 空静组和空动组注射等体积 0.9% NaCl 溶液, 连续 8 周。运动负荷组同法处理。进行递增负荷游泳训练。

2.2 负荷游泳训练 运动负荷组大鼠游泳环境为高 100 cm、直径 70 cm 的圆形塑料桶, 水深 55 cm, 水温 32~35℃, 先进行适应训练, 时间为每天 15 min, 共 6 天。共持续进行 8 周游泳训练, 尾部负重为体重的 3%。训练方式为递增负荷游泳训练。第 1 周训练时间为 30 min, 之后每周递增 10 min, 最后训练周时间为 100 min, 共持续训练 8 周。每周一上午称大鼠体重, 每周训练 6 天休息 1 天。大鼠力竭运动及定量运动时负重量为自身最后一次所称体重的 4%。

2.3 取材与力竭标准 训练 8 周后, 断头处死, 迅速取出心肌、股四头肌, 于冰生理盐水中洗净血液, 装入样品管中, 并迅速将之放于 - 84℃ 超低温冰箱待测。记录游泳时间。力竭判断的标准为: 大鼠沉入水中超过 10 s, 且放在平面上无法完成翻正反射^[7]。采取心肌组织样品, 生理盐水洗净, 滤纸吸干后剪取约 0.3 g 左心室心肌组织, 按质量体积比 1/9(W/V)加入预冷生理盐水, 匀浆后冷冻离心机 3 000 r/min 离心 15 min 取上清待测。采取股四头肌组织样品, 用生

理盐水洗净, 滤纸吸干用电子天平称重, 剪取 0.3 g 左右的股四头肌, 按 W/V=1/9 加入预冷的生理盐水, 在冰浴条件下用匀浆器匀浆, 匀浆后放入 4℃ 的冷冻离心机, 以 1 000 r/min 离心 15 min, 离心后取上清装入样品管中 4℃ 冷藏待测。

2.4 指标测定 测定股四头肌中琥珀酸脱氢酶(SDH)、苹果酸脱氢酶(MDH)、乳酸脱氢酶(LDH)的活力。测定心肌组织中乳酸(LD)和丙二醛(MDA)含量、总超氧化物歧化酶(SOD)活力。按试剂盒说明书完成各项指标的测定。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 统计软件包处理, 所有数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 实验动物一般情况 进入实验大鼠 60 只, 完成实验大鼠 59 只, 药动组死亡 1 只。

3.2 各组大鼠股四头肌组织中 SDH、MDH、LDH 活力比较 见表 1。SDH 活力药动组与空动组、药静组比较, 差异均有显著性意义($P < 0.05$), 药静组与空静组比较, 差异有非常显著性意义($P < 0.01$); MDH、LDH 活力药动组与药静组比较, 差异均有显著性意义($P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠股四头肌组织中 SDH、MDH、LDH 活力比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	SDH (U/mgprot)	MDH (U/mgprot)	LDH (U/100gprot)
药动组	14	14.75± 2.93 ^{①③}	0.62± 0.19 ^③	265.61± 72.83 ^③
空动组	15	13.64± 2.07	0.58± 0.14	257.38± 68.42
药静组	15	15.53± 2.71 ^②	0.76± 0.22	263.52± 70.46
空静组	15	12.23± 2.18	0.66± 0.20	259.93± 68.38

与空动组比较, ① $P < 0.05$; 与空静组比较, ② $P < 0.01$; 与药静组比较, ③ $P < 0.05$

3.3 各组大鼠心肌组织中 MDA、LD 含量和 SOD 活力 见表 2。药动组与药静组 MDA、LD 含量和 SOD 活力比较, 差异均有显著性意义($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠心肌组织中 MDA、LD 含量和 SOD 活力比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	MDA(mmol/mL)	LD(mmol/L)	SOD(U/mgprot)
药动组	14	1.61± 0.25 ^①	4.61± 0.52 ^①	51.72± 5.13 ^①
空动组	15	1.68± 0.30	5.31± 0.42	48.28± 3.24
药静组	15	1.65± 0.21	3.56± 0.46	47.13± 4.72
空静组	15	1.64± 0.16	3.53± 0.38	46.78± 4.99

与药静组比较, ① $P < 0.05$

4 讨论

目前,普遍认同 1982 年在美国举行的第五届国际运动医学生物化学会议对体力性疲劳所定的含义:即指由机体运动本身所引起的“机体生理过程不能持续其机能在一特定水平上和(或)不能维持预定的运动强度”的机体运动能力下降的现象^[8],其发生机理从大脑皮质到骨骼肌各个环节出现^[8~10],与能量消耗、代谢物堆积、内环境变化等方面共同作用有关。笔者前期的研究证明敦煌固本方可以显著提高大鼠的运动耐力,有效减缓疲劳^[3]。对抗体力性疲劳应包括减缓体力性疲劳的产生和促进体力性疲劳恢复两方面效应。机体尤其是骨骼肌和心肌细胞内的能量代谢状况将直接影响这两方面效应的形成^[9]。

SDH 活性的变化常与线粒体结构的改变同时出现,与线粒体的数目平行升降,其活性能反映三羧酸循环情况^[11]。因此 SDH 代表着机体有氧氧化能力的高低,可用于评定运动员的有氧氧化能力。MDH 是生物组织有氧分解三羧酸循环中的最后一个氧化还原酶,线粒体基质中的 MDH 可促进苹果酸到草酰乙酸的转化,而细胞质中的 MDH 可将草酰乙酸还原为苹果酸,从而维持酶促反应的动态平衡,因此,MDH 是线粒体基质的标志酶。本研究发现,药静组 SDH 活性明显高于其它组,负荷运动后,大鼠骨骼肌 SDH 活性下降,这可能是由于能源物质在利用过程中酶被大量消耗,引起合成不足,也可能是线粒体内膜损伤,因而使 SDH 活性降低;药静组 MDH 活性明显升高,负荷运动后,运动组大鼠骨骼肌 MDH 活性显著降低,这可能是由于随着机体能量物质的消耗,其能量供应减少,酶活性下降。以上数据说明敦煌固本方能够一定程度地提高骨骼肌相关酶的活性,有利于改善负荷运动后造成的骨骼肌缺血缺氧状况。

心脏是血液循环的动力器官,也是运动应激反应最为敏感的器官。任何运动都是通过不同肌群有序地收缩和舒张而实现的,当长时间大强度的运动训练时,心肌易发生缺血缺氧而损伤。机体相对缺氧时,糖酵解加快,产生大量 LD,使肌肉中 H⁺ 浓度上升,pH 值下降,导致疲劳。LD 在体内的积累取决于 LD 的产生与消除速度。因此,减少 LD 的产生或加快 LD 的消除,都可延缓疲劳发生和(或)加速疲劳的消

除,血乳酸水平可以反映有氧代谢能力、疲劳的产生和消除速度。本研究证明,敦煌固本方能显著降低 LD 含量,同时,运动服药组与其它各组对比发现,运动服药组 SOD 活性显著高于空白运动组,但 MDA 则相反。这些数值都说明敦煌固本方与运动训练共同一起有相当好的作用,能够更好地提高机体抗氧化能力,减少自由基对机体的损伤,进而提高大鼠的运动能力。

综上所述,敦煌固本方具有明显提高运动大鼠股四头肌相关酶活性和心肌保护作用,其相关机制仍需进一步的研究。

[参考文献]

- [1] 李莉,赵效国,马龙,等.黑加仑提取物抗疲劳作用的动物实验研究[J].营养学报,2008,30(5):499.
- [2] 刘晓莉,张琴.复方中药消除运动性疲劳的优势[J].中国临床康复,2003,7(4):649.
- [3] 李希斌,杨雅丽,楚惠媛,等.敦煌固本方抗疲劳作用的实验研究[J].时珍国医国药,2012,11(23):2803-2804.
- [4] 刘喜平.敦煌古医方研究[M].北京:科学普及出版社,2006:266.
- [5] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993:334.
- [6] 李丽.补气活血方抗运动性疲劳的实验研究[J].中医药信息,2006,23(3):65.
- [7] 牛爱丽.姜黄素对力竭运动大鼠肾损伤的保护作用及其机制的研究[D].长沙:湖南师范大学,2012.
- [8] 余谦,李明富,宋开源,等.中医药抗体力性疲劳的整体思辨与应用前景[J].中国运动医学杂志,2001,20(1):3-4.
- [9] 朱全,浦钧宗.大鼠游泳训练在运动实验中的应用方法[J].中国运动医学杂志,1996,15(2):125-129.
- [10] 谢敏豪,扬乐天.训练结合用中药补剂强力宝对小鼠游泳耐力与肌肉和肝脏 Gn、LDH 和 MDH 的影响[J].中国运动医学杂志,1989,8(4):211-215.
- [11] 吴永刚,刘成德,陈潜,等.针刺对实验性脊髓损伤前角运动神经元酶学的影响[J].中国中西医结合杂志,1999,19(2):740-742.

(责任编辑:马力)