

·基础研究·

地黄丸对运动大鼠心肌和骨骼肌损伤的影响 *

张继红¹ 焦晓明² 曹芳洪³ 王晓成¹ 周新华¹ 王伟¹

摘要 目的:观察六味地黄丸、知柏地黄丸对运动大鼠心肌和骨骼肌损伤的影响。方法:将32只SD雌性大鼠随机分为安静组、运动组、运动+六味地黄丸组、运动+知柏地黄丸组。各运动组大鼠进行4周递增负荷游泳训练,测定各组大鼠血清CK、LDH活性,心肌和骨骼肌的SOD、T-AOC、MDA含量。结果:运动+六味地黄组大鼠心肌、骨骼肌的SOD、T-AOC明显高于运动组,而MDA和血清CK、LDH活性均显著低于运动组。运动+知柏地黄组血清CK和骨骼肌MDA均显著低于运动组,骨骼肌T-AOC则显著高于运动组。结论:六味地黄丸可明显增强大鼠抗氧化能力,对运动大鼠心肌和骨骼肌有较强的保护作用;知柏地黄丸对抑制运动引起的骨骼肌损伤有一定作用。

关键词 六味地黄丸;知柏地黄丸;力竭运动;自由基

中图分类号:R804.7 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2009)-04-0342-03

Dihuang Wan's influences on the damage of cardiac muscle and skeletal muscle of rats/ZHANG Jihong, JIAO Xiaoming, CAO Fanghong, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2009, 24(4): 342—344

Abstract Objective: To observe the Liuwei Dihuang Wan's and zhibai Dihuang Wan's influences on the damage of cardiac muscle and skeletal muscle of rats. **Method:** Thirty-two SD female rats were distributed into quiet group、motion group、motion and Liuwei Dihuang Wan group, motion and zhibai Dihuang Wan group. Each motion group went along with swim of load increasing by steps in 4 weeks. CK, LDH content of serum, the content of SOD, T-AOC, MDA in cardiac muscle and skeletal muscle of all rats were tested. **Result:** Rats in motion and Liuwei Dihuang Wan treated group have more SOD, T-AOC in cardiac muscle and skeletal muscle and less active of CK, LDH in serum than the motion group. Rats in motion and treated with Zhibai Dihuang Wan group had much less CK in serum, much less MDA and much more T-AOC in skeletal muscle than motion group. **Conclusion:** Liuwei Dihuang Wan can increase the rat's anti-oxidation ability obviously and have great ability of protect rats from motion tissue injure. Zhibai Dihuang Wan have some effects on restrain the damage caused by free radicals which are come with motion, but the effect is not so obviously as Liuwei Dihuang Wan.

Author's address Xiangnan College, Hunan Chenzhou, 423000

Key words Liuwei Dihuang Wan; Zhibai Dihuang Wan; exhaustive exercise;free radicals

目前中医药抗运动性疲劳形成了以补气助阳为主、兼以调补气血的研究与应用格局,应用养阴清热法抗运动性疲劳的研究则很少涉及,尤其未见有滋阴清热中药对大鼠在高强度运动时组织自由基损伤影响的报道。鉴此,本研究以六味地黄丸、知柏地黄丸为实验用药,旨在观察这两滋阴清热的代表方对运动大鼠心肌和骨骼肌组织损伤的影响,并探讨其作用机制,为运动性微损伤的防治提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物与分组

32只SD雌性大鼠,2—3月龄,体重180—220g。将大鼠随机分为安静组、运动组、运动+六味地黄丸组、运动+知柏地黄丸组,每组8只。分笼饲养,国家标准固体混合饲料喂养,自由饮水。每日各服药组大鼠于运动后6h灌服1次中药,安静组和运动组灌服等量生理盐水。

1.2 试验药物

六味地黄丸浓缩丸(批号Z43020145)和知柏地黄丸浓缩丸(批号Z200223069),九芝堂股份有限公司。临用前用蒸馏水研磨稀释致所需浓度。剂量按人与大鼠体表面积比,折算成大鼠等效计量(成人量:9g/日;大鼠所需计量为 $9 \times 0.018 \div 0.2 = 0.81 \text{ g/kg} \cdot \text{d}$)

1.3 训练方案

除安静组外其余组大鼠每天进行无负重游泳,第1周每天游泳为30min;以后每周递加30min(水温 $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,水深60cm左右)。第4周末各运动组进行1次力竭游泳运动,力竭标准为大鼠沉入水面下

* 基金项目:湖南省教育厅科学项目(08C802)

1 湘南学院体育系,湖南郴州,423000

2 郴州市第三人民医院

3 郴州市中医院

作者简介:张继红,女,副教授

收稿日期:2008-11-13

10s不能自主浮出水面,且放在平板上无法完成翻正反射。

1.4 采样及指标测定

各运动组于力竭运动后立刻麻醉处死、安静组大鼠同时处死,腹主动脉取血制备血清,取适量骨骼肌组织和心脏组织制备10%匀浆液,低温保存待测。大鼠血清肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)活性采用全自动生化分析仪测定。超氧化物歧化酶(SOD)、总抗氧化能力(T-AOC)、丙二醛(MDA)的测定均采用比色法,测得MDA、SOD和T-AOC均用蛋白含量修正,蛋白定量采用考马斯亮蓝法测定。试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

1.5 统计学分析

用SPSS10.0软件对所测数据进行处理,结果以均数±标准差表示,数据进行组间t检验。

2 结果

2.1 各组大鼠血清酶活性的比较

见表1。运动组大鼠血清CK、LDH活性显著高于安静组($P<0.05$, $P<0.01$);服药各组大鼠血清CK活性均显著低于运动组($P<0.05$),LDH的活性亦不同程度低于运动组,六味地黄丸组呈现显著性差异($P<0.05$)。

2.2 各组大鼠心肌组织自由基代谢的比较

见表2。运动组大鼠心肌MDA含量显著高于安静组($P<0.05$),SOD,T-AOC变化幅度不大,差异无显著性;各给药组大鼠SOD,T-AOC均不同程度高于运动组,MDA不同程度低于运动组,与运动组比较六味地黄组差异显著,而知柏地黄组差异无显著性意义。

2.3 各组大鼠骨骼肌组织自由基代谢的比较

见表3。运动组大鼠骨骼肌SOD活性、T-AOC值明显低于安静组($P<0.05$),MDA含量显著高于安

静组($P<0.01$);服药各组MDA含量均显著低于运动组($P<0.05$, $P<0.01$),而T-AOC值则明显高于运动组($P<0.05$),SOD活性也不同程度高于运动组,六味地黄丸组差异有显著性意义($P<0.05$)。

表3 各组大鼠骨骼肌组织抗氧化指标的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	SOD(U/mg)	T-AOC(U/mg)	MDA(nmol/mg)
安静组	8	22.17±3.41	0.14±0.03	5.39±0.74
运动组	7	18.51±2.96 ^①	0.10±0.03 ^①	7.62±1.03 ^②
知柏组	7	20.43±3.02	0.13±0.02 ^③	6.54±0.78 ^③
六味组	7	23.30±4.31 ^{④⑤}	0.14±0.02 ^{④⑤}	6.13±0.65 ^{④⑤}

与安静组比较:^① $P<0.05$,^② $P<0.01$;与运动对照组比较:^③ $P<0.05$,
^④ $P<0.01$;与知柏组比较:^⑤ $P>0.05$

3 讨论

血清酶活性高低能反映机体相应组织损伤的情况。CK主要存在于骨骼肌中,LDH在骨骼肌和心脏等器官中广泛存在。大强度运动时细胞受损、细胞膜通透性升高,CK、LDH大量逸出细胞,血清酶活性升高,故血清酶活性的变化可以作为评定组织微细损伤指标^[1~5]。本实验结果表明,运动组较安静组血清CK、LDH活性明显升高($P<0.01$, $P<0.05$),提示力竭运动导致运动大鼠组织损伤,从而使CK、LDH大量渗出进入血液。

MDA作为脂质过氧化物的代表产物是衡量机体自由基代谢的敏感指标,其含量能客观地反映机体产生自由基的水平,而超氧化物歧化酶及机体总抗氧化能力在一定程度上可反映机体自由基清除系统功能的状况^[4~7]。大量实验证明,大强度运动可导致抗氧化酶SOD活性下降,也有实验证明大强度运动使SOD活性升高,这可能与训练模型、运动方式及运动强度等有关^[4~10]。从表2—3可知运动大鼠心肌SOD活性比安静组升高,而骨骼肌SOD活性和T-AOC值均较安静组有不同程度的降低,此结果与相关报道一致^[4~5]。从本结果可知运动大鼠心肌、骨骼肌的MDA含量较安静组显著升高。说明力竭运动引发上述组织发生了明显的脂质过氧化反应。

大量研究已发现六味地黄丸具有较好的抗氧化作用^[10~14]。本研究结果表明,服用六味地黄丸后心肌、骨骼肌组织MDA含量降低,同时心肌、骨骼肌组织SOD活性及T-AOC值增加,这一研究结果与相关文献报道的结果一致^[12,14]。本研究还发现,服用六味地黄丸后,运动大鼠的血清CK、LDH活性显著下降,说明六味地黄丸能有效缓解力竭运动造成的大鼠心肌、骨骼肌损伤,其可能机制是地黄丸能增强组织细胞SOD的活性和抗氧化能力,减少体内的自由基^[11~13],从而降低肌细胞膜通透性或减少细胞膜结构破坏,CK、LDH泄漏减少,因此血清酶活性降

表1 各组大鼠血清CK和LDH活性比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	CK(U/L)	LDH(U/L)
安静组	8	502.83±132.41	1086.31±156.38
运动组	7	763.22±147.38 ^②	1343.85±196.83 ^①
知柏组	7	561.45±153.88 ^③	1261.23±182.19
六味组	7	549.73±167.31 ^{④⑤}	1123.92±146.61 ^{④⑤}

与安静组比较:^① $P<0.05$,^② $P<0.01$;与运动组比较:^③ $P<0.05$,与知柏组比较:^④ $P<0.05$

表2 各组大鼠心肌组织抗氧化指标的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	SOD(U/mg)	T-AOC(U/mg)	MDA(nmol/mg)
安静组	8	38.56±4.46	0.29±0.03	3.38±0.72
运动组	7	40.32±3.12	0.27±0.05	4.17±0.63 ^①
知柏组	7	42.67±4.95	0.30±0.06	3.69±0.65
六味组	7	44.25±3.46 ^{②③}	0.33±0.04 ^{②③}	3.50±0.51 ^{②③}

①与安静组比较: $P<0.05$;②与运动组比较: $P<0.05$;与知柏组比较:^③ $P>0.05$

低。六味地黄方能改善自由基代谢,保护机体组织已得到研究证实。龚婕宁等^[1]在研究六味地黄汤对衰老血瘀模型大鼠血栓形成的作用及机制时发现,六味地黄汤能抑制模型大鼠血小板聚集率的升高,降低Fe,减少内皮细胞分泌TXB₂、PAI、ET,增加6-K-PGF1a和t-PA的水平,提高SOD活性,降低MDA和脂褐质的含量,抑制血栓形成^[1]。张启春等^[13]探讨六味地黄方对血管内皮细胞损伤的保护作用及机制时发现,六味地黄方含药血清能促进OX LDL损伤的血管内皮细胞增殖、抑制OX LDL造成的内皮细胞凋亡、降低胞内MDA含量、减少细胞LDH释放量,提高SOD活力及NO含量,对氧化低密度脂蛋白损伤的血管内皮细胞有一定的保护作用。

从本研究结果可知补充知柏地黄丸对抑制运动引起的血清LDH活性下降、心肌MDA含量升高有一定的作用(但不显著),对力竭运动所致心肌损伤的保护作用不明显;服用知柏地黄丸可明显抑制运动引起的血清CK活性、骨骼肌MDA含量升高,能有效减轻力竭运动时骨骼肌损伤。说明知柏地黄丸对抑制运动引起的自由基损伤有一定的作用,但效果不及六味地黄丸。

应用中药消除运动性疲劳已有不少研究,多数采用补气助阳的方法。其实在运动过程中,由于腠理发泄、汗出溱溱、伤津耗液,因而导致阴液不足,故阴虚也是运动性疲劳发生的重要机制,且有文献研究显示,运动员阴虚的发生率比阳虚高^[15~16]。六味地黄丸和知柏地黄丸均为中医治疗阴虚代表方之一。六味地黄丸由熟地、山药、山茱萸、泽泻、牡丹皮和白茯苓六味中药组成,此方三补三泻,滋补而不流邪,降泻而不伤正,以泻济补,以补为泻,三阴并治。体现了通过调节机体整体生理机能的平衡而发挥治疗作用的科学指导思想。在中医临床广泛应用于糖尿病、高血压、冠心病等数十种疾病的治疗,其疗效的显著性与可靠性在长期临床医疗实践中得到了充分证明。知柏地黄丸是由六味地黄丸再加上知母、黄柏而成。加知母可清热泻火,滋阴润燥;加黄柏清相火,退虚热。八味药合用,其滋阴降火之力更大,为治疗阴虚火旺证的代表方。

4 结论

六味地黄丸可明显增强运动大鼠抗氧化能力,减少力竭运动后自由基对心肌和骨骼肌的攻击,对大鼠运动性组织损伤有明显的保护作用。知柏地黄丸对抑制运动引起的骨骼肌自由基损伤有一定的作用。

参考文献

- [1] 田振军,石磊,刘小杰,等.过度训练对大鼠血清CK、LDH、SOD、SDH活性及Umb含量影响的研究[J].中国运动医学杂志,2000,19(1):49—50.
- [2] 崔玉鹏,杨则宜.血清CK活性变化与运动导致的骨骼肌损伤[J].中国运动医学杂志,2004,23(3):343—347.
- [3] Nosaka K, Sakamoto K, Newton M, et al. How long does the protective effect on eccentric exercise-induced muscle damage last[J]. Med Sci Sports Exerc, 2001, 33(9):1490—1495.
- [4] 黄丽英,林文搜.冷刺激和力竭运动对小鼠LPO及抗氧化能力的影响[J].西安体育学院学报,2002,19(2):52—53.
- [5] 池爱平,熊正英,陈锦屏.补充不同剂量姜黄素对运动大鼠心肌和骨骼肌组织自由基损伤及力竭运动时间的影响[J].中国运动医学杂志,2006,25(3):342—343.
- [6] 刘霞,路新国.茶多酚对运动小鼠心肌钙离子、ATP酶及自由基代谢的影响[J].中国康复医学杂志,2007,22(12):1062—1063.
- [7] 周庆功,刘伟.VitE对力竭运动时大鼠肝脑肌肉组织自由基代谢的影响[J].中国康复医学杂志,2007,22(11):1002—1003.
- [8] 熊正英,张怡,李宝成.葛根总黄酮对大强度耐力训练大鼠红细胞抗氧化能力和ATP酶活性影响的实验研究[J].北京体育大学学报,2008,31(2):193—195.
- [9] 毕立茹,周冬,王凤阳,等.番茄红素对训练小鼠力竭运动能力的影响[J].中国康复医学杂志,2008,23(6):537—539.
- [10] 汤依群,何小健,黄宝,等.六味地黄丸抗氧化作用研究[J].中医药理与临床,2001,17(5):2.
- [11] 龚婕宁,卞慧敏,魏凯峰,等.六味地黄汤抗血栓作用机理研究[J].中医药理与临床,2006,22(3.4):10—12.
- [12] 蔡明明,王蕴红,张冰,等.六味地黄汤抗大鼠运动性疲劳实验研究[J].中国运动医学杂志,2007,26(1):56—59.
- [13] 张启春,卞慧敏,喻丽珍,等.六味地黄方含药血清对氧化低密度脂蛋白损伤血管内皮细胞的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(7):31—34.
- [14] 刘萍,丁玉琴,王爱梅,等.六味地黄汤对D一半乳糖致衰老小鼠运动能力的影响[J].中国医药导报,2008,5(11):16—18.
- [15] 余谦,李明富.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.
- [16] 张世明.运动性疲劳的中医分型和诊断标准的研究[J].中国运动医学杂志,2003,22(1):47—51.