

黄芪总苷对一次性力竭游泳大鼠脑组织三磷酸腺苷酶活性的影响

李 爽¹ 王 蕾¹ 冯云辉¹ 商执娜¹

摘要 目的:探讨黄芪总苷对一次性力竭游泳大鼠脑组织三磷酸腺苷(ATP)酶活性的影响。方法:24 只 SD 大鼠随机均分为 3 组(对照组、模型组、黄芪总苷组),对照组大鼠常规饲养 3 周后处死取材,黄芪总苷组预防性给药 3d,模型组和黄芪总苷组在一次力竭性游泳运动后取样,观察大鼠脑组织 ATP 酶活性的变化。结果:力竭游泳大鼠脑组织 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 、 $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 活力均较正常对照组有明显降低($P<0.05$),黄芪总苷能提高力竭运动大鼠脑组织的 ATP 酶活性,虽均尚不能恢复到正常水平,但 $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 的活力已与模型组有显著性差异($P<0.05$)。结论:黄芪总苷预防给药具有保护力竭运动大鼠脑组织的作用。

关键词 三磷酸腺苷酶;黄芪总苷;力竭性游泳

中图分类号:R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2009)-07-0641-03

Effects of astragalosides on ATPase activity of brain in rats after one-off exhaustive swimming/ LI Shuang, WANG Lei, FENG Yunhui, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2009, 24(7):641—643

Abstract Objective: To observe the effects of astragalosides on adenosine triphosphatase (ATPase) activity of brain in rats after one-off exhaustive swimming. **Method:** Twenty-four SD rats were randomly divided into 3 groups (normal control group, model group, astragalosides group). The rats in normal control group were sacrificed after normal raising; astragalosides were administrated to the rats prophylactically in astragalosides group for 3d; the rats in model group and astragalosides group were sacrificed after one-off exhaustive swimming. Then the activity of ATPase were observed in the brain of all rats. **Result:** The activity of $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$, $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$, $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ and $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ in the brain of exhaustive swimming rats reduced significantly than that in normal control group ($P<0.05$). Administration of astragalosides could markedly elevate the activity of ATPase in the brain of exhaustive swimming rats. Although the activity of ATPase of rats in astragalosides group couldn't reach normal level, the activities of $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$, $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ in astragalosides group were distinctly different from model group ($P<0.05$). **Conclusion:** Astragalosides could provide protective effect on brain in exhaustive exercises rats.

Author's address Institute of Physical Education, Guangzhou University, Guangzhou, 510006

Key words adenosine triphosphatase; astragalosides; exhaustive swimming

近年来,中药在竞技体育领域的应用和研究已获得一定的进展,随着研究的不断深入,中药作为一种有效的治疗方法,在延缓运动性疲劳与提高机体运动能力方面的优势逐渐显现,引起了运动医学工作者的广泛关注^[1-3]。运动性疲劳可分为中枢疲劳和外周疲劳,运动性疲劳的发生机制涉及到多方面的原因,而中药对其延缓作用的机制尚未阐明^[4]。阐明运动疲劳机制的研究主要以动物实验为主,运动性疲劳动物模型已经成为运动性疲劳深入研究的重要途径,力竭性游泳可较为准确地复制出运动性疲劳力竭阶段的生理特点,已经成为常用的运动性疲劳模型制作方法^[5]。三磷酸腺苷(adenosine triphosphatase, ATP)酶存在于组织细胞及细胞器的膜上,是生物膜上的一种蛋白酶,机体在缺氧及疲劳等状态下,ATP 酶受到损伤,活力下降。ATP 酶活力的大

小是各种细胞能量代谢及功能有无损伤的重要指标。中药黄芪属补中益气药,具有改善微循环、清除氧自由基、增强机体抗缺氧等功效,黄芪总苷是中药黄芪的有效成分。本研究应用一次性力竭游泳建立急性运动性疲劳的模型,观察黄芪总苷对力竭运动大鼠脑组织中 ATP 酶活性的影响,探讨黄芪总苷延缓运动性疲劳的机制,为黄芪在运动医学领域中开发和应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

24 只 SD 大鼠,雄性,SPF 级,180g—220g,购自

1 广州大学体育学院,广州,510006

作者简介:李爽,女,副教授,博士

收稿日期:2008-08-28

广东省医学实验动物中心。常规分笼饲养,室温控制在 $(23\pm 3)^{\circ}\text{C}$,相对湿度40%—60%,自由进食、饮水。

1.2 药品和试剂

黄芪总苷由西安鸿生生物技术公司提供;ATP酶活性试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

1.3 实验方法

实验动物分为3组,即正常对照组、模型组、黄芪总苷组,每组8只。黄芪总苷组按20mg/kg的剂量预防性灌胃给药3d,1次/d。模型组和黄芪总苷组采用尾部负重3%体重的重物,进行游泳运动(水深35cm,水温 $15\sim 20^{\circ}\text{C}$),力竭标准采用“经过10s后动物仍不能返回水面”^[9]。运动后即刻处死动物,取小脑于 -70°C 低温保存备用。取小脑组织(冰上操作)制成2%组织匀浆,严格按试剂盒说明的程序进行。检

测 $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 的活力。

1.4 统计学分析

实验数据采用SPSS11.0进行统计学处理,组间比较采用单因素方差分析,差异显著性标准为 $P<0.05$ 。

2 结果

运动疲劳大鼠脑组织 $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 活力均较正常对照组有明显降低($P<0.05$),黄芪总苷能提高运动疲劳大鼠脑组织的ATP酶活性,虽尚不能恢复到正常水平,但 $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 的活力已与模型组有显著性差异($P<0.05$),见表1。

表1 黄芪总苷对运动性疲劳大鼠脑组织ATP酶活性的影响 ($\mu\text{molPi/mgprot/hour}$)

组别	鼠数	$\text{Na}^{+}\text{K}^{+}\text{-ATPase}$	$\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$	$\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$	$\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$
正常对照组	8	4.04 ± 1.19	4.13 ± 1.23	3.86 ± 1.15	3.96 ± 1.05
模型组	8	$2.27\pm 1.05^{\text{①}}$	$2.42\pm 1.04^{\text{①②}}$	$1.98\pm 0.72^{\text{①}}$	$2.03\pm 0.72^{\text{①②}}$
黄芪总苷组	8	3.57 ± 1.48	3.90 ± 0.90	2.99 ± 0.95	3.47 ± 0.83

①与正常对照组比较 $P<0.05$;②与黄芪总苷组比较 $P<0.05$

3 讨论

ATP酶主要存在于组织细胞膜及细胞器膜上,是生物膜上的一种蛋白酶,它在物质运送、能量转化以及信息传递方面具有重要的作用,可以维持细胞膜内外的离子平衡,保持细胞膜内外的离子浓度差,维持细胞的兴奋性和传导性,调节神经递质的释放及代谢,因此该酶的活性已成为评价神经质膜功能状态的标志之一^[7]。 $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 具有载体和酶的双重作用,它们能催化ATP水解释放能量,并能利用此能量进行逆化学梯度转运离子,保持着 Na^{+} 、 K^{+} 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 的正常分布,是维持细胞功能正常和离子内环境稳定的物质基础。脑组织中 $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 活性,在维持神经元兴奋传导,突触传递等方面有着重要的生理作用^[8-10]。

长时间持续剧烈运动,会使机体内环境发生改变,自由基增多,发生中枢和外周的疲劳。本文以大鼠力竭游泳运动复制运动疲劳动物模型,观察疲劳状态下脑组织中 $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ 及 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 活性的改变,从亚细胞水平探讨中枢疲劳与脑组织ATP酶活性的关系。结果发现运动疲劳大鼠脑组织 $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 活力均较正常对照组有明显下降($P<0.05$)。大鼠进行力竭运动后,脑组织缺氧,造成脂质过氧化反应增强及自由

基清除能力减弱,从而自由基过量堆积。细胞膜是最易受自由基攻击的部位之一,而ATP酶不对称地镶嵌于细胞膜内,通过自由基链式反应,或经MDA的作用使细胞膜受到损伤,改变膜的完整性和流动性,继而影响ATP酶的活性;自由基可使ATP酶发生蛋白变性,降低其活性;ATP酶富含赖氨酸、脯氨酸、蛋氨酸、色氨酸、半胱氨酸等,他们都是自由基的主要攻击对象,极易发生自由基介导的修饰反应,使其结构发生改变,引起酶的活性降低;同时自由基使呼吸链电子传递形成短路,减少ATP生成,进而影响ATP酶的活性^[9]。以 $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}\text{-ATPase}$ 为分子基础的钠泵,是细胞膜最重要的钠钾转运系统,维持着生物细胞离子环境的稳定,有利于调节细胞容积、pH值及动作电位的产生。 $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}\text{-ATPase}$ 活力下降会导致神经元兴奋性异常,从而出现中枢疲劳^[5]。 $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 是维持细胞内钙、镁平衡的重要物质。细胞内外存在巨大的 Ca^{2+} 浓度差,细胞外钙流入的增加以及细胞内结合钙释放的增加是造成细胞内钙环境改变的两大途径。 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ 存在细胞膜上,通过水解ATP逆化学梯度转运 Ca^{2+} , $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ 酶活性下降使线粒体钙泵向细胞外排 Ca^{2+} 的作用减弱,线粒体内 Ca^{2+} 超载。线粒体内钙超载是线粒体氧化磷酸化障碍,结构受损和细胞坏死的重要原因^[11-13]。 Mg^{2+} 是线粒体中另一重要的二价阳离子,力竭运动后线粒体钙含量的增加可能会引起线粒体镁含量的变化。 Mg^{2+} 是线粒体

中许多重要酶的辅助因子,在糖、脂肪、蛋白质代谢中发挥至关重要的作用,其含量的变化必然会影响到线粒体本身的代谢功能,Widner^[14]报道细胞内镁离子的减少是细胞不可逆损伤的诱发因素。运动疲劳时脑组织中 Mg^{2+} -ATPase 活性明显下降,细胞内 Mg^{2+} 的浓度水平低下,脑细胞功能降低。 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 是细胞的钙镁泵,能催化 ATP 水解,提供能量驱动 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 对向的转运。中枢发生运动疲劳时,脑组织中自由基增多,自由基可直接氧化 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase,使酶失活,而 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性降低可影响神经元细胞内钙、镁的正常分布,导致细胞内 Ca^{2+} 增多,从而激活 Ca^{2+} 依赖性降解酶磷脂酶,磷脂酶可使膜磷脂水解,花生四烯酸释放增加,同时又产生大量自由基使膜通透性增加,造成恶性循环,氧化损伤可使蛋白交联加剧,细胞 Ca^{2+} 超载和自由基过多可导致细胞的凋亡,脑细胞功能下降。

本实验发现中枢发生疲劳时, $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}$ -ATPase、 Mg^{2+} -ATPase、 Ca^{2+} -ATPase 及 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性显著下降,提示运动性中枢发生疲劳时 ATP 酶活性的降低,也可能是致中枢疲劳的因素之一。

黄芪始载于《神农本草经》,其主要成分为黄芪总苷、黄芪总黄酮、黄芪总多糖和氨基酸等。现代药理学研究证实黄芪具有改善微循环、抗氧化自由基生成及提高机体免疫功能等多种药理作用,被广泛应用于对抗机体疲劳、延缓组织衰老,以及治疗缺血性脑血管等多种疾病^[15-20]。本实验结果显示黄芪总苷组 Mg^{2+} -ATPase、 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 的活力显著高于与模型组 ($P<0.05$),说明预防给予黄芪总苷后,大鼠机体可以通过升高 Mg^{2+} -ATPase、 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性,来增加脑细胞内 Mg^{2+} 的浓度,抑制线粒体内 Ca^{2+} 超载现象的发生,对脑细胞代谢的正常进行和机体的有效转运起着重要作用,提示黄芪总苷能抑制力竭运动造成的脑组织 ATP 酶活性的降低,有利于增加运动中脑组织的能量供给,维持细胞内外正常的离子浓度梯度,进而保护细胞膜、线粒体等亚细胞器结构和功能的完整性,这对延缓中枢疲劳具有积极的作用。黄芪总苷对力竭运动大鼠脑组织 ATP 酶活性的保护作用,证明了黄芪总苷有利于提高运动能力,也为黄芪的深度开发利用提供了理论依据和实验支持。

参考文献

- [1] 魏钝锺,周永平,徐珊,等.“健力方”抗运动性疲劳作用的实验研究[J].中国体育科技,2001,37(9):41—42.
- [2] 岑浩望,李煜,章洁,等.花粉对提高运动能力的研究之一[J].中国运动医学杂志,1996,5(2):69.
- [3] 杨树基.中药饮剂对恢复疲劳及提高运动成绩的作用[J].上海体育学院学报,1995,19(1):80—81.
- [4] 曲绵域,于长隆.实用运动医学(第四版)[M].北京:北京大学医学出版社,2003,36—44.
- [5] 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.
- [6] 蒙萍.白藜芦醇对大鼠血清及骨骼肌生化指标的影响[J].体育与科学,2007,28(5):77—81.
- [7] 隆淑芬,黄秀深,罗玉熙,等.湿困脾胃证大鼠脑组织 $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}$ -ATPase 活性的实验研究[J].成都中医药大学学报,2007,30(3):36—37.
- [8] 臧广悦. $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}$ -ATPase 酶与运动和人体健康[J].沈阳体育学院学报,2006,25(4):59—62.
- [9] 郝洪,阮耀.早莲草对衰老小鼠组织 ATP 酶细胞形态及记忆里的研究[J].成都中医药大学学报,2007,30(1):25—30.
- [10] 朱志安,张红,李祖晟,等.促红细胞生成素对大鼠外伤脑组织线粒体 ATP 酶活性的影响[J].上海交通大学学报(医学版),2007,27(11):1325—1327.
- [11] Mergner WJ, Smith MW, Sahaphong S, et al. Studies on the pathogenesis of ischemic cell injury. VI. Accumulation of calcium by isolated mitochondria of ischemic rat kidney CDr tex[J]. Virchows Arch B Cell Pathol, 1977, 26: (1): 1—16.
- [12] Lenen S, Gorlich JK, Rustenbeck I. Regulation of transmembrane in transport by reaction products of phospholipase A2 I Effects of lypiphospholipid on mitochondrial Ca^{2+} transport[J]. Biochem Biophys Acta, 1989, 982: 140—146.
- [13] 杨小英,刘华钢,曹俊涛,等.“牛磺酸复合液”对运动性疲劳大鼠心肌线粒体 ATP 酶及 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 含量的影响[J].实用预防医学, 2007, 14(5): 1375—1376.
- [14] Widener LL, Mela-Riker LM. Vevepamil pretreatment preserves mitochondrial function and tissue magnesium in the ischemic kidney[J]. Sirc Shock, 1984, 13(1): 27—37.
- [15] 王泓杰,刘兴波,王迅,黄芪对大鼠脑创伤早期保护作用的实验研究[J].中国现代医生,2007,45(15):29—31.
- [16] 田吉梅,蔺艳,曹洋,等.黄芪对小鼠中枢、神经-肌接头和肌疲劳及骨骼肌 ATP 酶活性的影响[J].湖北中医杂志,2006,28(4):9—10.
- [17] 李伟,肖琳,谭欢,徐国栋.力竭性运动对大鼠血浆钠素、内皮素及心肌血供的影响[J].中国康复医学杂志,2008,23(5):426—428.
- [18] 牟翔,袁华,王冰,等.芪丹通脉片对运动训练大鼠力竭时间的影响[J].中国康复医学杂志,2008,23(6):530—531.
- [19] 王鑫,陈正东,吴昊,等.力竭游泳运动对大鼠心肌细胞中间纤维和超微结构的影响[J].中国康复医学杂志,2007,23(11):968—970.
- [20] 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,2007,23(12):1062—1063.