

·短篇论著·

仙鹤草醇提取物对运动性疲劳大鼠心肌氧化应激性损伤的干预作用*

石君杰¹ 宋李亚² 梅诗雪³ 陶丹萍⁴ 徐琳峰¹ 沈 晴¹ 王 然⁵

仙鹤草为蔷薇科龙牙草(*Agrimonia Pilosa* Ledeb)的全草,又名“脱力草”,具收敛止血、止痢、截疟、补虚之功效。传统用于出血证、腹泻痢疾、疟疾、脱力劳伤等。现代研究表明,仙鹤草主要含有间苯三酚缩合体、黄酮、鞣质、有机酸、皂甙等复杂的化学成分。近年来其抗氧化活性的研究得到重视^[1]。课题组将仙鹤草运用于运动性疲劳的防治研究,发现仙鹤草能提高运动性疲劳大鼠血清乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase,LDH)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活性,降低乳酸(lactic acid,LA)、丙二醛(malon dialdehyde,MDA)含量,有一定的抗氧化作用^[2]。

研究表明,运动性疲劳心肌组织会有大量自由基产生,导致心肌组织过氧化损伤^[3],而仙鹤草醇提取物是否能有效改善运动性疲劳心肌氧化应激损伤,目前尚未见相关报道。本次实验拟观察仙鹤草醇提取物干预对运动性疲劳大鼠心肌氧化应激性损伤的保护作用,进一步探讨其对抗运动性疲劳的作用机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物与药物

清洁级雄性SD大鼠30只,体重200—220g,购自浙江中医药大学实验动物中心。仙鹤草醇提取物制备方法:采用40%乙醇溶液作为提取物,经回流提取、过滤、浓缩、抽滤为含生药1g/ml的药液。人参皂甙Rg1(西安奥林生物科技有限公司,批号201008)^[4]。

1.2 试剂与仪器

MDA、SOD、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GSH-Px)、总抗氧化能力(total antioxidative capacity,T-AOC)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号20101013),722可见分光光度计(上海光学仪器厂),LD4-2A型低速离心机(北京医用离心机厂)。

1.3 动物造模

造模方法参照文献并结合前期实验加以改良^[5]。除正常组外,其余各组大鼠每天进行跑台运动训练,速度为15m/min,坡度5°,跑台20min,间歇40min,再跑台20min,每日1次,共14d。

1.4 分组与给药

实验动物随机分为5组:正常组(A组)、运动性疲劳模型组(仅施以单纯运动,B组)、运动+人参皂甙组(C组)、运动+仙鹤草醇提取物低剂量组(D组)、运动+仙鹤草醇提取物高剂量组(E组)。从实验第1d起,各组大鼠于运动前1h灌胃给药。按实验动物与人用药量的换算方法,D组、E组给药量分别为5g/kg·d、10g/kg·d,C组给药量为50mg/kg·d。A组、B组灌服相同剂量的蒸馏水。每天1次,连续给药14d。

1.5 指标检测

1.5.1 力竭运动时间:造模最后1d,各运动组大鼠在跑台运动训练后继续保持持续性运动直至达到力竭状态。力竭状态判断标准为:大鼠不能保持原运动速度,运动后期滞留跑台后1/3处达3次以上,电刺激、声音刺激或毛刷刺激等驱赶方法均无效(超过10s),停止运动后呈呼吸急促,神情疲惫,俯卧于跑台,对各种刺激反应明显减弱^[6]。

1.5.2 心肌MDA、SOD、GSH-Px、T-AOC:脱颈处死大鼠,剖取心脏,制备10%心肌组织匀浆,离心取上清液,检测心肌MDA、SOD、GSH-Px、T-AOC。严格按试剂盒说明操作。

1.6 统计学分析

采用SPSS12.0版统计软件进行统计学分析,实验数据以均数±标准差表示,组间均数差异的比较采用 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 力竭运动时间比较

见表1。药物干预各组与运动性疲劳模型组(单纯运动)比较,力竭运动时间均增加($P<0.05$, $P<0.01$)。

2.2 心肌MDA、SOD、GSH-Px、T-AOC比较

见表2。与正常组比较,运动性疲劳模型组心肌MDA含量显著升高($P<0.01$),SOD、GSH-Px、T-AOC活性显著降低($P<0.05$, $P<0.01$)。各药物干预组与模型组比较,心肌MDA含量降低,SOD、GSH-Px、T-AOC活性升高($P<0.05$, $P<0.01$)。

3 讨论

近年来,自由基学说在运动性疲劳的产生机制研究中得到重视。研究表明,随着运动强度、运动时间的增加,心肌线

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2013.09.021

*基金项目:浙江省新苗人才计划项目(2010R434005)

1 浙江医学高等专科学校,310053;2 杭州市下沙医院;3 丽水市人民医院;4 浙江早产儿联盟;5 新加坡圣路加医院

作者简介:石君杰,男,博士,讲师;收稿日期:2012-08-28

表1 仙鹤草干预对各运动组大鼠力竭运动时间影响的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	力竭运动时间(min)
B组	6	37.35 ± 4.72
C组	6	60.85 ± 4.16 ^②
D组	6	54.81 ± 4.38 ^①
E组	6	57.19 ± 3.21 ^②

①与B组比较 $P<0.05$; ②与B组比较 $P<0.01$

表2 各组大鼠心肌MDA、SOD、GSH-Px、T-AOC比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	MDA (nmol/mgprot)	SOD (U/mgprot)	GSH-Px (U/mgprot)	T-AOC (U/mgprot)
A组	6	11.45 ± 1.86	36.50 ± 3.76	7.65 ± 0.17	8.16 ± 1.38
B组	6	29.60 ± 2.42 ^②	16.41 ± 2.37 ^②	3.72 ± 0.83 ^②	3.52 ± 1.08 ^①
C组	6	14.18 ± 2.10 ^④	30.81 ± 2.13 ^④	5.84 ± 0.27 ^③	5.79 ± 1.32 ^③
D组	6	19.23 ± 1.85 ^③	24.35 ± 2.84 ^③	4.86 ± 0.18 ^③	4.36 ± 1.49
E组	6	15.16 ± 1.72 ^④	28.16 ± 2.57 ^③	5.97 ± 0.18 ^③	5.73 ± 1.19 ^③

与A组比较① $P<0.05$,② $P<0.01$;与B组比较③ $P<0.05$,④ $P<0.01$

粒体自由基产生增加,脂质过氧化水平升高,使心肌的运动能力下降,造成心肌的氧化应激性损伤,影响正常细胞的代谢,从而引起运动性疲劳^[7]。

研究表明,自由基可影响机体糖、脂肪、蛋白质等物质能量代谢,损伤细胞膜,破坏其完整性,增加通透性,使细胞内外环境发生异常改变,如酶活性降低、Na⁺、K⁺等发生异常变化^[8]。正常情况下,机体内存在着能有效清除氧自由基的酶及非酶类物质组成的防御系统,使体内自由基的产生和消除保持着动态平衡。机体抗氧化防御系统对防止和减轻心肌氧化应激损伤而引起的心肌组织损伤有重要作用。长时间疲劳运动,机体心肌组织自由基产生过多或心肌抗氧化防御系统功能下降,自由基对心肌细胞结构及功能产生损害。MDA是自由基攻击细胞膜使之发生脂质过氧化反应的代谢产物,其含量常可反映机体内自由基代谢及脂质过氧化反应水平,反映出机体细胞受自由基攻击的严重程度。SOD、GSH-Px是体内重要的抗氧化酶类。SOD是体内唯一以氧自由基为底物的酶,可使氧自由基被氧化为O₂及同时被还原为H₂O₂;GSH-Px可使还原型谷胱甘肽转变为氧化型谷胱甘肽,从而消除细胞中的过氧化物。SOD、GSH-Px协同作用,可清除运动中产生的过量自由基,灭活其生物活性,减轻脂质过氧化反应,保护心肌组织免受过度损伤。三者常作为抗氧化剂对机体自由基代谢影响研究的直接测试指标。

在外源性抗氧化剂对运动自由基代谢的影响研究中,中草药因其天然、低毒而成为研究热点。运动性疲劳属中医学“劳倦内伤”范畴。仙鹤草俗称“脱力草”,经临床验证和药理研究,现代认为该药有收敛止血、活血调经、健脾止泻、宣肺止咳、敛津止汗、止痛抗癌、降糖止渴、补虚壮体等众多功效。近年来其补虚壮体的功效逐渐引起关注,临床治疗气血虚弱之证,无明显阳性体征,与现代慢性疲劳综合征接近^[9]。名老中医干祖望有仙鹤草是中医的激素之说。现代研究表

明,该药含能清除人体过量自由基的抗氧化活性成分,是一种极有潜力的天然抗氧化剂^[10]。

本实验结果显示,运动性疲劳大鼠心肌MDA含量显著升高($P<0.01$),SOD、GSH-Px、T-AOC活性显著降低($P<0.05$, $P<0.01$),与相关文献报道一致,提示运动性疲劳心肌自由基产生过多,脂质过氧化反应亢进,心肌组织出现氧化应激性损伤。而仙鹤草醇提取物干预能增加运动性疲劳大鼠力竭运动时间,降低心肌MDA含量,升高SOD、GSH-Px、T-AOC活性($P<0.05$, $P<0.01$);提示仙鹤草醇提取物可能通过提高运动性疲劳大鼠心肌抗氧化能力,降低脂质过氧化反应,从而缓解运动性疲劳的心肌氧化应激损伤。

仙鹤草的抗氧化活性已得到肯定,主要抗氧化成分集中在黄酮类、鞣质类、多酚类成分中^[10]。研究表明,仙鹤草醇提取物含有较多的黄酮类化合物,如槲皮素、金丝桃苷、芦丁等^[11]。黄酮类化合物具有酚羟基类还原性化合物,在复杂的生物化学反应过程中,由于它自身的氧化而使其具有较强的抗氧化性,有较高的生物利用度。人参皂甙是传统滋补强壮药物人参的主要成分,研究证实是有效的抗氧化剂^[12]。本实验结果显示仙鹤草醇提取物与人参皂甙对机体的作用相似,提示仙鹤草醇提取物作为天然抗氧化剂有一定的研究、开发价值。但由于仙鹤草醇提取物加工方法中应用的提取液不同、浓度不同,可能导致有效性不同,从而产生不同的抗氧化作用。因此,对仙鹤草抗运动性疲劳的作用机制研究仍有待深入探讨。

参考文献

- [1] Venskutonis PR, Skematite M, Ragazinskiene O. Radical scavenging capacity of Agrimonia eupatoria and Agrimonia procera[J]. Fitoterapia, 2007, 78(2): 166—168.
- [2] 宋李亚, 石君杰, 梅诗雪, 等. 仙鹤草对抗大鼠运动性疲劳的实验研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(35): 4481—4482.
- [3] 高彩暇, 丁树哲, 许其卫. 急性长时间运动对大鼠心肌线粒体NO、NOS水平及线粒体功能的影响[J]. 中国体育科技, 2008, 44(3): 105—110.
- [4] 祝连彩, 王伯初, 谭君, 等. 仙鹤草醇提取物及其不同极性部位的抗氧化活性研究[J]. 中药材, 2009, 32(8): 1272—1275.
- [5] 冯毅, 徐志伟, 潘华山, 等. 人参皂甙Rg1对运动性疲劳大鼠骨骼肌结构及功能的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2010, 27(1): 40—42.
- [6] 王轲, 杨茜, 芦楷均, 等. 沙苑子提取物对运动训练大鼠不同组织Na⁺-K⁺-ATPase和Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase活性的影响[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2010, 40(6): 1031—1035.
- [7] 姚绩伟, 杨永亮. 试论外源性抗氧化剂对运动自由基代谢的影响[J]. 四川体育科学, 2004, 22(1): 21—23.
- [8] 彭峰林, 乔秀芳. 运动与自由基[J]. 徐州师范大学学报(自然科学版), 2000, 18(4): 76—78.
- [9] 韩贯宇, 吕琳. 仙鹤草临床应用刍议[J]. 吉林中医药, 2009, 29(3): 253—254.
- [10] 王宝庆, 金哲雄. 仙鹤草的化学成分及抗氧化研究进展[J]. 北方园艺, 2011, 35(10): 167—169.
- [11] 王德才, 高允生, 朱玉云, 等. 仙鹤草提取物对兔血压的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2003, 10(3): 21—23.
- [12] 赵文莉, 张立实, 贾旭东, 等. 人参皂甙抗疲劳作用的研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(5): 445—448.