

独参汤对疲劳训练小鼠耐缺氧影响的观察^{*}

张小璇¹ 李忠仁²

(1. 南京中医药大学基础医学院, 江苏 南京 210036;
2. 南京中医药大学第二临床医学院, 江苏 南京 210036)

摘 要:目的 观察独参汤对疲劳训练小鼠耐缺氧时间的影响。方法 将小鼠随机分为空白对照组、疲劳对照组、低量独参汤组、中量独参汤组、高量独参汤组等 5 组, 每组均为 20 只。疲劳对照组、各独参汤组每日进行一定量的疲劳训练, 各独参汤组于疲劳训练第 4 周开始, 每日于运动训练前 1 小时分别以低、中、高量独参汤灌胃, 连续使用 2 周, 于第 5 周疲劳训练结束后, 检测运动训练后小鼠的血乳酸和肌酸激酶、耐缺氧时间。结果 低量独参汤组的耐缺氧时间为 (27.7±2.0) min, 与空白对照组 (23.9±2.1) min 相比 $P<0.05$; 中、高量独参汤组小鼠的耐缺氧时间分别为 (34.5±1.9) min, (33.8±1.6) min, 与空白对照组 (23.9±2.1) min 相比 $P<0.01$; 与疲劳对照组 (28.3±2.4) min 相比 $P<0.05$ 。结论 独参汤可以有效地提高小鼠的耐缺氧时间。

关键词:独参汤; 疲劳训练; 耐缺氧
中图分类号: R 285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-0571(2015)03-0071-03
DOI:10.13424/j.cnki.mtem.2015.03.029

适量的运动训练可以增强体质, 疲劳训练会对机体的相关靶器官产生一定的不良影响, 尤其是对心、肺的影响。人为五加科多年生草本植物人参 *Panax ginseng* 的干燥根及根茎^[1], 人参单行, 大量浓煎, 即得独参汤。机体耐缺氧是衡量人体机能的重要指标之一, 本研究通过使用独参汤灌胃, 观察小鼠疲劳训练后耐缺氧时间, 探讨独参汤对机体耐缺氧的影响作用。

1 材料与方法

1.1 实验小鼠及分组 实验小鼠由南京中医药大学实验动物中心提供, 体重为 18~22 g 的 1 月龄健康昆明种雄性小鼠。小鼠饲养环境为湿度 50%~60%、室温 (23±2)℃ 的实验室、自然光照的环境中以笼饲养, 每笼 10 只, 小鼠自由进食、饮水。

分组: 筛选出 100 只会游泳雄性昆明种小鼠, 在正常实验室环境中适应性饲养 3 天后, 用数字随机法随机分为 5 个组, 分别为空白对照组、疲劳对照组、低量独参汤组、中量独参汤组和高量独参汤组, 仍以每笼 10 只正常饲养, 每组均为 20 只。

1.2 主要仪器与试剂 游泳箱: 自制长 100 cm、宽 50 cm、高 50 cm 的玻璃水箱。全自动生化分析

仪(上海医疗器械厂), UV-1100 型分光光度计(北京瑞利分析仪器公司), 光学读数分析天平, 广口瓶、试管、计时器等。乳酸酶法试剂盒、肌酸肌酶试剂盒: 南京建成生物工程研究所提供。

1.3 实验方法 小鼠以每笼 10 只饲养, 每日观察并记录小鼠的生长和进食情况。

独参汤的制备: 分别称取生晒参药材 12.5 g、25 g、50 g, 切成约 5 mm 厚饮片, 分别浸泡 1 小时后, 置于三个陶瓷药罐中, 各加入 250 mL 纯净水, 用武火煎煮至沸腾后, 改用文火(保持低沸状态)继续煎煮 30 min, 分别过滤取药液, 再在陶瓷药罐中加入 200 mL 纯净水、同上煎煮, 分别过滤取药液, 然后再在陶瓷药罐中加入 150 mL 纯净水, 同上煎煮取药液, 分别将三次药液合并, 并浓煎至 250 mL 即得低、中、高三种浓度独参汤。

空白对照组: 不做任何运动, 正常饲养, 每日按时抓起放入无水的游泳箱中, 在游泳箱中停留时间与疲劳对照组相同。第 4 周开始在放入无水游泳箱前 1 小时, 以 2 mL/次/日生理盐水灌胃, 共 2 周。

疲劳对照组: 游泳箱水深约 40 cm, 水温约 (25±2)℃, 每日按时做游泳运动, 第 1 周游泳

* 基金项目: 江苏省高等学校大学生实践创新训练项目

30 min/d,第 2 周游泳 60 min/d,第 3 周游泳 90 min/d、第 4、5 周游泳 120 min/d^[2]。每箱 10 只小鼠,对浮于水面不动的小鼠用棒驱赶,促使小鼠维持在运动状态。完成游泳后,捞出小鼠,迅速电风吹干。第 4 周开始在游泳前 1 小时,以 2 mL/次/日生理盐水灌胃,共 2 周。

各独参汤组:游泳疲劳训练同疲劳对照组,游泳后的第 4 周第一天开始,于小鼠疲劳游泳训练前 1 小时,低量独参汤组、中量独参汤组、高量独参汤组分别取浓前所得低、中、高三种浓度独参汤,分别以 2 mL/次/日灌胃,共 2 周。

1.4 检测指标

1.4.1 生化指标 于第 5 周游泳结束后,捞起疲劳对照组和独参汤组小鼠,擦干头部,眼球取血 2 mL 抗凝,以 3000 r/min 离心 20 min,取上清,分别以乳酸氧化酶法检测血清乳酸、酶偶联法测定血清肌酸激酶。操作严格按照试剂盒要求进行。空白对照组眼球取血抗凝后同上处理。

1.4.2 小鼠耐缺氧时间测定 于未次游泳后的次日,将小鼠放入盛有 40 g 钠石灰(钠石灰用以吸收二氧化碳,钠石灰上垫有滤纸,用以吸收尿液)的广口瓶中,用凡士林涂广口瓶口、用木塞盖严不漏气,并开始计时,以小鼠呼吸停止为指标,记录小鼠死亡时间(即耐缺氧时间)。

1.5 数据处理 对所有数据使用 SPSS17.0 进行统计分析处理,计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,两组之间比较差异性采用 *t* 检验。

2 实验结果

2.1 各组小鼠的耐缺氧时间 如下表 1。

表 1 小鼠的耐缺氧时间比较 ($\bar{x}\pm s$)

组 别	<i>n</i>	力竭时间(min)
空白对照组	20	23.9±2.1
疲劳对照组	17★	28.3±2.4 [△]
低量独参汤	19★	27.7±2.0 [△]
中量独参汤组	18★	34.5±1.9 ^{☆**}
高量独参汤组	19	33.8±1.6 ^{☆**}

★疲劳对照组和低量独参汤组、中量独参汤组在游泳中分别有 3 只、1 只和 2 只小鼠死亡;高量独参汤组要灌胃时有 1 只死亡。疲劳对照组、低量独参汤组与空白对照组相比[△]*P*<0.05,中量独参汤组、高量独参汤组与空白对照组相比^{*}*P*<0.01,

与疲劳对照组、低量独参汤组相比[☆]*P*<0.05。

2.2 各组小鼠的血乳酸和肌酸激酶 如下表 2。

表 2 各组小鼠的血乳酸和肌酸激酶的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组 别	<i>n</i>	血乳酸(mmol/L)	血清肌酸激酶(U/L)
空白对照组	20	10.27±1.93	107.35±43.29
疲劳对照组	17	14.24±1.66 [△]	348.81±35.84 [*]
低量独参汤组	19	13.38±1.53 [△]	326.75±29.59 [*]
中量独参汤组	18	12.47±1.82 [△]	271.47±41.75 ^{**}
高量独参汤组	19	12.85±1.96 [△]	278.93±37.38 ^{**}

疲劳对照组、低量独参汤组、中量独参汤组、高量独参汤组与疲劳组相比[△]*P*<0.05;疲劳对照组、低量独参汤组、中量独参汤组、高量独参汤组与空白对照组相比^{*}*P*<0.01;中量独参汤组、高量独参汤组与疲劳对照组、低量独参汤组相比[☆]*P*<0.05。

3 讨论

氧是人类正常生命活动不可缺少的物质,参与了人体的新陈代谢。缺氧是对机体的一种劣性刺激,可影响机体的氧化供能,心、脑等重要组织器官可因缺氧而损伤,或因氧供应能力不足而死亡。在缺氧时,人体组织细胞、器官的代谢以及机能、甚至形态结构都会发生异常变化,机体出现精神紧张、注意力不集中、并有胸闷、气喘、头晕、目眩、眼花、甚至眼前发黑等表现。常压耐缺氧实验主要考察小鼠全身耐缺氧能力,小鼠在密闭容器中受缺氧因素损伤反应为全身性缺氧,为非特异性缺氧。本研究结果显示,独参汤可以提高小鼠的耐缺氧时间,但不同剂量的独参汤,提高小鼠耐缺氧时间不等,本研究结果显示:低剂量的独参汤在提高耐缺氧时间上,与运动训练无差异;而中、高剂量独参汤组与疲劳对照组(28.3±2.4) min 相比有差异(*P*<0.05);低量独参汤组的耐缺氧时间为(27.7±2.0) min,与空白对照组(23.9±2.1) min 相比 *P*<0.05;中、高量独参汤组小鼠的耐缺氧时间分别为(34.5±1.9) min,(33.8±1.6) min,与空白对照组(23.9±2.1) min 相比 *P*<0.01,提示中、高剂量的独参汤可以明显提高小鼠的耐缺氧时间。有研究指出^[3],人参通过对垂体作用来实现对机体内分泌系统的影响,人参有效成分作用于垂体前叶,使其释放 ACTH,但 ACTH 不是直接刺激肾上腺皮质,而是通过第二信使 cAMP 来实现,血浆中 ACTH 分泌增加,会促进机体胆固醇的摄取及

向皮质醇和皮质酮的转化,由此而增强运动能力。廖氏^[4]认为人参皂苷 Rg1 能够促进 Bcl-2、抑制 Bax 的表达,增加 H9c2 细胞的细胞活力,这可能与独参汤提高耐缺氧时间有关。

人参具有补气生血、扶正祛邪等功效,《神农本草经》认为人参有“补五脏,安精神,定魂魄,止惊悸,除邪气,明口开心益智”的功效。独参汤始记于元代葛可久撰写《十药神书》:丙字号独参汤,止血后,虚弱无动作者,此药补之^[5],其后在《景岳全书》中有较为详细的记载:独参汤,治诸气虚、气脱及反胃呕吐、喘促,粥汤入胃即吐。人参一直被临床用于增强体质、抗应激以及提高免疫力等方面,目前,人参不仅在中国,而且在西方国家仍被广泛使用。美国的一项调查表明,年龄在 45 ~ 64 岁的人群,估计有 4 % ~ 6 % 的人在使用人参;加拿大的调查表明约 6 % 的心血管患者在使用人参^[6,7]研究表明:人参皂苷是人参的主要有效成分之一,约占人参总质量的 4 %,具有增强人体免疫、抗衰老、抗疲劳、治疗心血管疾病等作用,目前已成为一些特效药的主要成分^[8]。

乳酸在运动医学上有“训练的标尺”之称,一般认为在血液中乳酸含量的高低可以作为评价机体疲劳程度的重要标志之一^[9],在本实验中可以看出:小鼠疲劳训练后,血清乳酸与空白组对照有差异($P<0.05$),提示小鼠疲劳训练后血液中乳酸含量会增高。而疲劳对照组与各独参汤组相比并没有明显的变化,这显示在疲劳训练中,独参汤提高小鼠的耐缺氧时间,但小鼠疲劳运动后,血清乳酸会维持在一个较高水平,其机制我们将在今后进一步深入研究。

血清肌酸激酶(CK)在肌肉收缩过程中起到十分重要的作用,它参与了骨骼肌细胞能量的代谢,正常情况下,肌细胞膜结构完整,CK 极少能透过细胞膜进入血液中,但无论是高强度还是低强度的运动都会促使细胞内 CK 释放并透过细胞膜进入血液,使血清中 CK 浓度升高,因此,血清 CK 活性的变化可以作为评定机体运动、了解骨骼肌微细结构损伤程度的重要敏感生化指标,在本研究中,疲劳对照组、低量独参汤组、中量独参汤组、高量独参汤组与空白对照组相比 $^{*}P<0.01$;中量独参汤组、高量独参汤组与疲劳对照组、低量独参汤

组相比 $^{*}P<0.05$;提示疲劳运动后会引引起小鼠骨骼肌微细结构的损伤,而低剂量的独参汤不能减轻这种损伤,高、中剂量独参汤可以减轻小鼠骨骼肌微细结构的损伤,但高、中剂量之间没有差异。李氏^[10]的研究发现人参可以降低冠状动脉血管阻力,增加冠状动脉的血流量,对维持血流动力学的稳定有重要作用,人参还可以增强抗氧化酶的活性,减少自由基对细胞的损伤。我们推测:人参维持血流动力学的稳定和抗氧化作用是减少小鼠骨骼肌微细结构的损伤的基础。

独参汤能有效地提高小鼠的耐缺氧能力,中、高剂量延长小鼠耐缺氧时间更为明显,但二者之间没有差异。独参汤的作用机理是多途径的,多环节的,在提高小鼠耐缺氧时间方面与人参能有效地减少运动训练中小鼠骨骼肌微细结构的损伤是密切相关的,其机理值得进一步研究。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:8.

[2] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1991:149.

[3] 刘能保,洪小平,李晓恒,等. 慢性复合应激对学习记忆的影响及 cAMP/PKA-CREB 信号通路的作用[J]. 解剖学报,2006,37(6):238.

[4] 廖景光,李敏妍,谢兆丰,等. 人参皂苷 Rg1 配伍丹参酮 IIA 对缺氧-复氧 H9c2 细胞的保护作用及机制研究[J]. 中国现代医学杂志,2014,24(22):13-16.

[5] 宋承吉.《十药神书》与独参汤[J]. 人参研究,2005,17(2):23.

[6] Kaufman DW, Kelly JP, Rosenberg L, et al. Recent patterns of medication use in the ambulatory adult population of the United States: the Slone survey[J]. JAMA,2002,287(3):337-344.

[7] Wood MJ, Stewart RL, Merry H, et al. Use of complementary and alternative medical therapies in patients with cardiovascular disease[J]. Am Heart J,2003,145(5):806-812.

[8] 杨雨,郑斯文,金银萍,等. 人参皂苷的提取分离方法研究进展[J]. 江苏农业科学,2014,42(5):214-217.

[9] 贾天奇,常立云,宋佳霖,等. 中医灸疗法促进运动性疲劳恢复的研究[J]. 北京体育大学学报,2006,29(11):1529.

[10] 李清,李娜,杨跃进,等. 人参皂甙对缺血心肌保护作用及机制研究进展[J]. 中国分子心脏病学杂志,2014,14(3):974-978.