

# 人参总皂甙不同给药途径对运动性疲劳大鼠骨骼肌功能的影响

庞贤妹<sup>1</sup>, 赵自明<sup>2</sup>, 潘华山<sup>3</sup>, 赖秋媛<sup>3</sup>, 冯毅翀<sup>3</sup>

1. 广州中医药大学 2014 级硕士研究生, 广东 广州 510006
2. 广东省中医药工程技术研究院, 广东 广州 510095
3. 广州中医药大学体育健康学院, 广东 广州 510006

**[摘要]** 目的: 观察人参总皂甙及其不同给药途径对运动性疲劳大鼠骨骼肌功能的影响。方法: 将 48 只成年雄性大鼠, 分为空白 1 组 (等容积生理盐水灌胃)、空白 2 组 (0.2 mL 生理盐水穴位注射)、运动 21 天 1 组 (等容积生理盐水灌胃)、运动 21 天 2 组 (0.2 mL 生理盐水穴位注射)、灌胃组 (人参总皂甙灌胃, 剂量为 50 mg/kg)、注射组 (0.2 mL 人参总皂甙穴位注射) 6 组。每天给药一次, 灌胃 (注射) 1 h 后, 除空白 1、2 组大鼠外, 其余各组每天游泳训练 2 次, 每次 15 min, 间隙 10 min。末次训练后取大鼠右侧大腿股二头肌, 检测肌糖原、肌钙、丙二醛 (MDA) 和肿瘤坏死因子 (TNF)- $\alpha$  含量、肌酸激酶和总抗氧化能力 (T-AOC) 活性、Caspase8 表达。结果: 与空白 1 组比较, 运动 21 天 1 组和灌胃组大鼠肌糖原含量均有显著性减少、肌钙含量和肌酸激酶活性均显著性增加 ( $P < 0.05$ ); 与空白 2 组比较, 运动 21 天 2 组和注射组大鼠肌糖原含量均有显著性减少、肌钙含量和肌酸激酶活性均有显著性增加 ( $P < 0.05$ ); 与运动 21 天 1 组比较, 灌胃组大鼠肌糖原含量有显著性增加、肌钙含量和肌酸激酶活性均有显著性减少 ( $P < 0.05$ ); 与运动 21 天 2 组比较, 注射组大鼠肌糖原含量有显著性增加、肌钙含量和肌酸激酶活性均有显著性减少 ( $P < 0.05$ ); 与灌胃组比较, 注射组大鼠肌糖原和肌钙含量均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 而肌酸激酶活性显著性减少 ( $P < 0.05$ )。与空白 1 组比较, 运动 21 天 1 组和灌胃组大鼠 MDA 含量和 T-AOC 活性均有显著性增加 ( $P < 0.05$ ); 与空白 2 组比较, 运动 21 天 2 组、注射组大鼠 MDA 含量均有显著性增加 ( $P < 0.05$ ), 运动 21 天 2 组大鼠 T-AOC 活性显著性增加 ( $P < 0.05$ ), 而注射组大鼠 T-AOC 活性无显著变化 ( $P > 0.05$ ); 与运动 21 天 1 组比较, 灌胃组大鼠 MDA 含量和 T-AOC 活性均有显著性减少 ( $P < 0.05$ ); 与运动 21 天 2 组比较, 注射组大鼠 MDA 含量和 T-AOC 活性均有显著性减少 ( $P < 0.05$ ); 与灌胃组比较, 注射组大鼠 MDA 含量无显著性变化 ( $P > 0.05$ ), 而 T-AOC 活性有显著性减少 ( $P < 0.05$ )。与空白 1 组比较, 运动 21 天 1 组和灌胃组大鼠 TNF- $\alpha$  含量和 Caspase8 水平均有显著性增加 ( $P < 0.05$ ); 与空白 2 组比较, 运动 21 天 2 组和注射组大鼠 TNF- $\alpha$  含量和 Caspase8 水平均有显著性增加 ( $P < 0.05$ ); 与运动 21 天 1 组比较, 灌胃组大鼠 TNF- $\alpha$  含量和 Caspase8 水平均有显著性减少 ( $P < 0.05$ ); 与运动 21 天 2 组比较, 注射组大鼠 TNF- $\alpha$  含量和 Caspase8 水平均有显著性减少 ( $P < 0.05$ ); 与灌胃组比较, 注射组大鼠 TNF- $\alpha$  含量和 Caspase8 水平均有显著性减少 ( $P < 0.05$ )。结论: 人参总皂甙灌胃和穴位注射均能提高疲劳大鼠肌糖原含量, 降低肌钙和 MDA 含量、减低肌酸激酶和 T-AOC 活性, 纠正骨骼肌损伤, 其可能机制是人参总皂甙能降低 TNF- $\alpha$  含量和 Caspase8 水平; 而穴位注射给药的效果优于灌胃给药。

**[关键词]** 运动性疲劳; 人参总皂甙; 给药途径; 大鼠

**[中图分类号]** R874 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2014) 10-0197-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2014.10.080

运动性疲劳属于中医学劳倦等病证的范畴, 病机是阳气不足, 兼有阴血亏虚。人参作为传统补虚要药具有防治疲劳的功效。现代研究表明, 人参含有多种化学成分, 其中人参皂甙是人参最重要的有效成分。本研究结合前期基础, 观察人参总皂甙不同给药途径对运动性疲劳大鼠骨骼肌功能的影响, 探讨人参总皂甙抗运动性疲劳的效应与机制。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级健康成年雄性 SD 大鼠, 48 只, 180~220 g, 广州中医药大学实验动物中心提供, 质量合格证号: SCXK(粤)2013-0020。于广州中医药大学实验动物中心 SPF 级实验室内进行实验, 使用许可证号: SYXK(粤)2013-0085。常规分笼喂养, 自由饮水进食, 室内温度 21~

**[收稿日期]** 2014-06-05

**[基金项目]** 广东省科技计划项目 (编号: 2011B031600009)

**[作者简介]** 庞贤妹 (1992-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事运动医学研究。

24℃,相对湿度 40%~55%,空气流通,光照时间 12 h。

1.2 药品与试剂 人参总皂甙,从五加科人参属植物人参的干燥根中提取,为黄白色粉末,广东省中医研究所提供。葡萄糖(Glu)试剂盒,批号:20121003;钙离子试剂盒,批号:20100815;肌酸激酶试剂盒,批号:20130116;丙二醛(MDA)试剂盒,批号:20100804、201110281、20130116;总抗氧化能力(T-AOC)试剂盒,批号:20100802、20111030;肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 试剂盒,批号:20100815;Caspase8 试剂盒,批号:20130116。上述试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。

1.3 仪器 JJ3000 动物电子秤,美国 G&G 公司;BS224S 电子天平(1/万),德国 SARTORIUS 公司;DY89- 型电动玻璃匀浆机,宁波新芝生物科技股份有限公司;5424 型小型高速离心机,德国 Eppendorf 公司;-80℃超低温冰箱,美国 Thermo 公司;bio-tek ELx800,德国 Thermo 公司;722 型紫外分光光度计,上海精密科学仪器公司。

1.4 实验方法 参考并改良侯莉娟、周进等<sup>[1-2]</sup>国内学者的方法,将 48 只大鼠随机分为空白 1 组(等容积生理盐水灌胃)、空白 2 组(0.2 mL 生理盐水穴位注射)、运动 21 天 1 组(等容积生理盐水灌胃)、运动 21 天 2 组(0.2 mL 生理盐水穴位注射)、灌胃组(人参总皂甙灌胃,剂量为 50 mg/kg)、注射组(0.2 mL 人参总皂甙穴位注射)6 组。除空白 1、2 组大鼠(正常饮食)外,其余各组以高 60 cm、直径 55 cm 的塑料圆桶作为大鼠游泳槽,水深 50 cm,水温(33±2)℃,适应性训练 2 天后,于实验第 3 天开始正式实验。每天灌胃(或穴位注射,足三里和内关隔天交替)给药一次,灌胃(注射)1 h 后,除空白 1、2 组大鼠外,其余各组大鼠每天游泳训练 2 次,每次自由游泳 15 min,间隙 10 min。为保证游泳训练质量,准备木棍驱赶扒在桶池壁边缘或其他大鼠身上休息的大鼠。为保证大鼠训练安全,当大鼠力竭时(标准参考赵立平<sup>[3]</sup>的研究)则停止训练。所有灌胃组大鼠每天称重 1 次,按照新体重确定灌胃量。

1.5 指标测定 于末次运动训练后麻醉处死大鼠,取右侧大腿二头肌,-80℃冻存,用于肌糖原含量、肌钙含量、肌酸激酶活性、MDA 含量、T-AOC 活性、肌酸激酶活性、乙酰胆碱脂酶活性、TNF- $\alpha$  含量(ELISA)和 Caspase8 表达(免疫法)检测。

1.6 统计学方法 计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间均值的比较采用单因素方差分析,若方差齐组间均值两两比较采用 SNK 法,若方差不齐组间均值两两比较采用 Dunnett T3 法;由 SPSS15.0 统计软件完成。

## 2 实验结果

2.1 各组大鼠肌糖原、肌钙含量和肌酸激酶活性变化比较 见表 1。与空白 1 组比较,运动 21 天 1 组和灌胃组大鼠肌糖原含量均有显著性减少、肌钙含量和肌酸激酶活性均显著性增加( $P < 0.05$ );与空白 2 组比较,运动 21 天 2 组和注射组大鼠

肌糖原含量均有显著性减少、肌钙含量和肌酸激酶活性均有显著性增加( $P < 0.05$ );与运动 21 天 1 组比较,灌胃组大鼠肌糖原含量有显著性增加、肌钙含量和肌酸激酶活性均有显著性减少( $P < 0.05$ );与运动 21 天 2 组比较,注射组大鼠肌糖原含量有显著性增加、肌钙含量和肌酸激酶活性均有显著性减少( $P < 0.05$ );与灌胃组比较,注射组大鼠肌糖原和肌钙含量均无显著性差异( $P > 0.05$ ),而肌酸激酶活性显著性减少( $P < 0.05$ )。

表 1 各组大鼠肌糖原、肌钙含量和肌酸激酶活性变化比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	肌糖原(mg/g)	肌钙(nmol/mgprob)	肌酸激酶(U/mL)
空白 1 组	2.312±0.066	36.648±4.312	1.725±0.241
空白 2 组	2.203±0.133	37.032±3.862	1.804±0.335
运动 21 天 1 组	0.836±0.060 <sup>①</sup>	48.346±6.980 <sup>①</sup>	2.992±0.242 <sup>①</sup>
运动 21 天 2 组	0.889±0.056 <sup>②</sup>	50.610±7.878 <sup>②</sup>	2.874±0.283 <sup>②</sup>
灌胃组	1.133±0.079 <sup>③④</sup>	41.995±7.245 <sup>③④</sup>	2.47±0.358 <sup>③④</sup>
注射组	1.159±0.085 <sup>②④</sup>	40.670±3.725 <sup>②④</sup>	2.192±0.145 <sup>②④⑤</sup>

与空白 1 组比较,① $P < 0.05$ ;与空白 2 组比较,② $P < 0.05$ ;与运动 21 天 1 组比较,③ $P < 0.05$ ;与运动 21 天 2 组比较,④ $P < 0.05$ ;与灌胃组比较,⑤ $P < 0.05$

2.2 各组大鼠 MDA 含量和 T-AOC 活性变化比较 见表 2。与空白 1 组比较,运动 21 天 1 组和灌胃组大鼠 MDA 含量和 T-AOC 活性均有显著性增加( $P < 0.05$ );与空白 2 组比较,运动 21 天 2 组、注射组大鼠 MDA 含量均有显著性增加( $P < 0.05$ ),运动 21 天 2 组大鼠 T-AOC 活性显著性增加( $P < 0.05$ ),而注射组大鼠 T-AOC 活性无显著变化( $P > 0.05$ );与运动 21 天 1 组比较,灌胃组大鼠 MDA 含量和 T-AOC 活性均有显著性减少( $P < 0.05$ );与运动 21 天 2 组比较,注射组大鼠 MDA 含量和 T-AOC 活性均有显著性减少( $P < 0.05$ );与灌胃组比较,注射组大鼠 MDA 含量无显著性变化( $P > 0.05$ ),而 T-AOC 活性有显著性减少( $P < 0.05$ )。

表 2 各组大鼠 MDA 含量和 T-AOC 活性变化比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	MDA(nmol/mgprob)	T-AOC( $\mu$ /mgprob)
空白 1 组	15.210±3.243	1.158±0.060
空白 2 组	14.913±3.012	1.211±0.091
运动 21 天 1 组	29.957±3.279 <sup>①</sup>	2.010±0.123 <sup>①</sup>
运动 21 天 2 组	30.442±3.124 <sup>②</sup>	2.196±0.154 <sup>②</sup>
灌胃组	20.813±3.012 <sup>③④</sup>	1.556±0.096 <sup>③④</sup>
注射组	19.228±2.855 <sup>②④</sup>	1.172±0.042 <sup>③⑤</sup>

与空白 1 组比较,① $P < 0.05$ ;与空白 2 组比较,② $P < 0.05$ ;与运动 21 天 1 组比较,③ $P < 0.05$ ;与运动 21 天 2 组比较,④ $P < 0.05$ ;与灌胃组比较,⑤ $P < 0.05$

2.3 各组大鼠 TNF- $\alpha$  含量和 Caspase8 水平变化比较 见表 3。与空白 1 组比较,运动 21 天 1 组和灌胃组大鼠 TNF- $\alpha$  含量和 Caspase8 水平均有显著性增加( $P < 0.05$ );与空白 2 组

比较, 运动 21 天 2 组和注射组大鼠 TNF-α 含量和 Caspase8 水平均有显著性增加(P<0.05); 与运动 21 天 1 组比较, 灌胃组大鼠 TNF-α 含量和 Caspase8 水平均有显著性减少(P<0.05); 与运动 21 天 2 组比较, 注射组大鼠 TNF-α 含量和 Caspase8 水平均有显著性减少(P<0.05); 与灌胃组比较, 注射组大鼠 TNF-α 含量和 Caspase8 水平均有显著性减少(P<0.05)。

表 3 各组大鼠 TNF-α 含量和 Caspase8 水平变化比较(̄x± s)

组 别	TNF-α (ng/L)	Caspase8(pmol/L)
空白 1 组	19.45± 7.32	8.89± 4.02
空白 2 组	20.06± 7.77	9.04± 4.14
运动 21 天 1 组	178.48± 21.65 <sup>①</sup>	20.36± 5.24 <sup>①</sup>
运动 21 天 2 组	180.36± 23.30 <sup>②</sup>	19.87± 5.33 <sup>②</sup>
灌胃组	52.65± 17.77 <sup>③②</sup>	15.54± 4.78 <sup>①②</sup>
注射组	40.56± 12.30 <sup>④⑤</sup>	12.28± 4.67 <sup>②④⑤</sup>

与空白 1 组比较, ①P<0.05; 与空白 2 组比较, ②P<0.05; 与运动 21 天 1 组比较, ③P<0.05; 与运动 21 天 2 组比较, ④P<0.05; 与灌胃组比较, ⑤P<0.05

3 讨论

既往研究表明, 运动性疲劳状态下骨骼肌会存在不同程度的损伤, 其可能的机制是: ①运动中肌糖原大量消耗被认为是引起运动性疲劳的因素之一<sup>[4]</sup>; ②在大强度运动状态下, 骨骼肌 Ca<sup>2+</sup> 含量会出现升高, 线粒体出现钙超载现象<sup>[5]</sup>; ③肌酸激酶及其同工酶是肌肉应激最敏感的指标, 研究表明运动性疲劳状态下骨骼肌存在损伤, 而肌酸激酶活性明显升高<sup>[6-7]</sup>; ④自由基与多不饱和脂肪酸反应, 先后形成过氧自由基和过氧化脂质, 而后者又可代谢生成 MDA, 疲劳状态下 MDA 含量会升高<sup>[8]</sup>; ⑤T-AOC 由酶促和非酶促抗氧化防御体系共同组成, 反映机体总抗氧化、清除自由基的能力<sup>[9]</sup>。本研究结果也提示, 经过 21 天的游泳训练, 模型大鼠处于运动性疲劳状态, 其骨骼肌肌钙和 MAD 含量、肌酸激酶和 T-AOC 活性均显著升高, 而肌糖原含量显著降低; 人参总皂甙灌胃和穴位注射(足三里和内关隔天交替)均能提高骨骼肌肌糖原含量, 降低肌钙含和 MDA 量、肌酸激酶和 T-AOC 活性, 纠正骨骼肌损伤, 穴位注射效果更好。

细胞通讯方面的研究进展表明, RIP3(受体相互作用蛋白 3)是多种细胞坏死所必须的物质: 在 TNF-α 介导下, RIP3 过度表达, Caspase8 活化, 导致细胞损伤<sup>[10]</sup>。本研究发现,

运动性疲劳状态下骨骼肌存在损伤情况, 与空白对照组比较, 运动性疲劳模型大鼠 TNF-α 和 Caspase8 均显著升高; 而与模型大鼠比较, 灌胃组和穴位注射组 TNF-α 和 Caspase8 均显著降低; 与灌胃组比较, 穴位注射组 TNF-α 和 Caspase8 均显著降低。研究提示, 人参总皂甙能有效降低 TNF-α 含量和 Caspase8 水平, 这可能是人参总皂甙纠正骨骼肌损伤、从而达到抗疲劳的机制, 而穴位注射给药抗骨骼肌疲劳的效果优于灌胃给药。

[参考文献]

- [1] 侯莉娟, 刘晓莉, 乔德才. 大鼠游泳运动疲劳模型建立的研究[J]. 实验动物科学与管理, 2005, 22(1): 1-3.
- [2] 周进, 胡尧, 殷劲. 糖酵解供能条件下间歇训练疲劳模型的建立[J]. 体育科技文献通报, 2008, 16(1): 16-17.
- [3] 赵立平. 运动性疲劳对大鼠骨骼肌蛋白质组表达谱影响的研究[D]. 太原: 山西大学, 2007: 18.
- [4] 刘无逸, 钱鹤, 王磊, 等. 过度训练对大鼠骨骼肌肌糖代谢的影响[J]. 上海体育学院学报, 2013, 37(3): 60-63, 72.
- [5] 朱洪竹, 朱梅菊, 褚洪标, 等. 毛蕊花苷和马蒂苷对递增强度运动大鼠骨骼肌细胞线粒体钙含量和肌浆网 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性的影响[J]. 广州体育学院学报, 2012, 32(4): 109-113.
- [6] 刘丰彬. 运动训练与肌酸激酶及其同工酶研究进展[J]. 四川体育科技, 2014, 33(1): 42-46.
- [7] 万利, 毕曼, 杨林. 运动营养补剂对机体乳酸脱氢酶和肌酸激酶的影响研究[J]. 体育科技文献通报, 2009, 17(2): 124-126.
- [8] 苏全生, 田野, 孙君志, 等. 大鼠运动性骨骼肌损伤后血液白细胞介素-6、肌酸激酶及其同工酶的时相性变化[J]. 中国运动医学杂志, 2006, 25(2): 176-180.
- [9] 李爽, 艾英伟, 阿拉木斯, 等. 黄芪总苷对运动性疲劳大鼠骨骼肌抗氧化能力、ATP 酶活性及乳酸含量的影响[J]. 吉林体育学院学报, 2010, 26(3): 68-69.
- [10] 许杨, 赵晓航. 受体相互作用蛋白 3——细胞凋亡与坏死的调节阀[J]. 生物化学与生物物理进展, 2010, 37(10): 1067-1073.

(责任编辑: 骆欢欢)

=====

· 书讯 · 欢迎购买《新中医》杂志合订本。合订本便于收藏, 易于查阅, 最有益于读者。1996 年每套 53 元, 1997 年、1998 年每套各 55 元, 1999 年、2000 年每套各 67 元, 2001 年、2002 年、2003 年、2004 年每套各 88 元, 2005 年、2006 年每套各 110 元, 2007 年、2008 年每套各 130 元, 2009 年、2010 年每套各 150 元, 2011 年每套 200 元, 2012 年、2013 年每套各 230 元 (均含邮费)。欲购者请汇款至广州市机场路 12 号大院广州中医药大学《新中医》编辑部发行科 (邮政编码: 510405), 并在汇款单附言栏注明书名、套数。