

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.36.013

黄芪多糖抗小鼠疲劳的作用机制研究*

李珊珊¹ 袁 婧¹ 吴剑平¹ 黄立师¹ 朱永俸¹ 刘 佳^{2△}

(1 长沙医学院 2010 级生物技术专业 湖南 长沙 410219; 2 长沙医学院生物学教研室 湖南 长沙 410219)

摘要 目的: 探讨黄芪多糖对小鼠的抗疲劳作用及机制。**方法:** 该研究分为实验组和对照组两组, 实验组设置三组剂量 0.2, 0.05, 0.0125 g/kg 对小鼠连续灌胃 28 天, 对照组给予蒸馏水灌胃, 进行负重游泳试验计算游泳力竭时间, 并检测小鼠全血中血糖, 血中乳酸含量, 肝脏超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、乳酸脱氢酶(LDH)含量及肌组织中糖原储备量。**结果:** 1). 与对照组相比较, 黄芪多糖低剂量、高剂量组小鼠负重游泳时力竭时间明显延长; 2). 中剂量组小鼠运动后肝脏 SOD 活力值比对照组明显增高, 高剂量组肌糖原的储存量明显升高, 而低剂量组乳酸明显降低。**结论:** 黄芪多糖具有抗疲劳作用, 可能通过增加抗氧化酶类 SOD 活性、减少乳酸的产生及增加肌糖原能量储存等途径起作用。

关键词: 黄芪多糖; 游泳力竭; 抗氧化; 抗疲劳; 能量支持

中图分类号: Q95-3; R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)36-7052-04

Study on the Mechanism of Antifatigue Effect on Mice of Astragalus Polysaccharides*

LI Shan-shan¹, YUAN Jing¹, WU Jian-ping¹, HUANG Li-shi¹, ZHU Yong-feng¹, LIU Jia^{2△}

(1 2010 session of Biological Technology of ChangSha Medical University, Changsha, Hunan, 410219, China;

2 Biology Teaching and Research Section of Changsha Medical University, Changsha, Hunan, 410219, China)

ABSTRACT Objective: To study the anti-fatigue effect of astragalus polysaccharides on mice and the mechanism. **Methods:** This research was divided into two groups, experimental group and control group. In the experimental group, mice were treated with 0.2, 0.05, 0.0125 g/kg astragalus polysaccharides respectively by lavage in 28 days, and in the control group, distilled water was used instead. And then weight loading swimming experiment was carried out to calculate swimming exhaustion time, and the content of glucose and LD in the blood, the vitality of SOD, MDA and LDH content in liver tissue, and muscle glycogen storage were also detected. **Results:** Compared with control group, swimming exhaustion time of low dose, high dose group were significantly prolonged. Liver SOD vitality of middle dose group was improved notably. Muscle glycogen storage of high dose group was increased significantly compared with the control group while the Lactic acid of low dose group was reduced obviously. **Conclusion:** Astragalus polysaccharide had the anti-fatigue function, the mechanism of which is probably related to the increased activity of antioxidant enzymes SOD, reduced storage of LD and enhanced content of muscle glycogen.

Key words: Astragalus polysaccharides; Swimming exhaustion; Antioxidant; Fatigue resistance; Energy support

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3; R285.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)36-7052-04

前言

社会的飞速发展、生活节奏的加快、竞争的日益激烈, 使得人们压力越来越大, 身心愈加疲惫^[1]。疲劳有损身体健康^[2], 如何减缓疲劳已成为国内外关注的热点^[3]。多种中药材、食材都具有抗疲劳作用^[4], 例如红景天^[5]、枸杞^[6]、牛鞭^[7]、木耳^[8]等。黄芪是有多种功效的常用中药^[9], 具有抗氧化、抗辐射作用^[10]和提高免疫功能、抗癌作用^[11], 有关黄芪单味药的抗疲劳实验研究已有报道^[12], 但其内容不够充分, 机制亦不够深入。本研究验证了黄芪多糖的抗疲劳效果, 通过分析其抗氧化作用与能量物质代谢的

关系, 为黄芪的临床应用提供实验依据^[13]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和仪器 黄芪多糖(长沙骏宏生物科技有限公司, 纯度 70 %, 批号: 20130310); 蛋白质含量测试盒、SOD 检测试剂盒、MDA 检测试剂盒、糖原检测试剂盒、总胆固醇测定试剂盒、葡萄糖测定试剂盒、LD 检测试剂盒、LDH 检测试剂盒(南京建成生物制品研究所)。电子恒温不锈钢水浴锅(上海市南阳光仪器有限公司); 722 型分光光度计(上海光谱仪器有限公司);

* 基金项目: 2012 年度湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目(444 号); 湖南省教育厅科学研究项目(13C1131)

作者简介: 李珊珊(1991-), 女, 本科, 研究方向: 生物技术专业, 电话: 13875912539, E-mail: 1453850542@qq.com

△ 通讯作者: 刘佳, 讲师, 硕士, 电话: 13755053149, E-mail: forwork99@sina.com

(收稿日期: 2014-07-21 接受日期: 2014-08-15)

医用低速离心机(湖南凯达科学仪器有限公司);匀浆机(Malaysia公司);Morris水迷宫(西班牙Panlab公司)。

1.1.2 动物 40只SPF级昆明小鼠,雄性,体重(22 ± 2)g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,批号43004700000750,长沙医学院湖南省重点建设学科标准动物室饲养。

1.2 方法

1.2.1 动物给药及游泳力竭实验 实验设0.2,0.05,0.0125g/kg为高、中、低3个剂量组,另设1个对照组,每组10只小鼠,实验组按体重灌胃,对照组给予等量蒸馏水,每天一次,连灌28天。灌胃期间,黄芪多糖低剂量组有一只小鼠死亡,其余小鼠身体状态正常。

第28天给药后2小时在小鼠尾根部负荷5%体重铜丝的条件下,将小鼠置于水深约30cm、水温 $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水迷宫游泳槽中进行小鼠游泳力竭试验,记录小鼠自游泳开始至力竭时的时间作为小鼠游泳力竭时间。第29天取材并进行各项指标测定。

1.2.2 抗氧化能力检测 第29天,各组小鼠在水中无负重游泳30min,休息30min后取血处死,取肝脏,依照SOD、MDA和总蛋白含量测定试剂盒的说明书进行该三项指标的测定。

1.2.3 肌糖原含量及血糖测定 第29天小鼠无负重游泳,休息30min后,摘眼球采血,迅速离心,取血清按试剂盒程序测定血糖。取股四头肌,依照肌糖原储备量测定试剂盒的说明书进行该项指标的测定。

1.2.4 血中乳酸及肝脏中乳酸脱氢酶测定 取小鼠血清按试剂盒程序测定血中乳酸。取肝脏匀浆,依照乳酸脱氢酶测定试剂盒的说明书进行该项指标的测定。

1.2.5 统计学方法 采用SPSS 19软件进行数据分析处理,数据以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析。组间两两比较方法采用LSD法, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 黄芪多糖对游泳力竭时间的影响

对照组游泳时间平均为239.20s;黄芪多糖低剂量组与黄芪多糖高剂量组游泳时间较对照组分别延长251.80s、240s,有显著性差异($P < 0.05$)。黄芪多糖中剂量组与对照组比较,游泳时间有延长趋势,但无统计学意义。见表1。

表1 各组小鼠负重游泳力竭时间的比较($\bar{x} \pm s$, s)

Table 1 The comparison of each weight loading swimming exhaustion time in mice

Groups	n	Swimming to the exhaustion of time
The control group	10	239.20 $\pm$ 76.03
Astragalus polysaccharides low dose group	9	491.00 $\pm$ 361.15*
Astragalus polysaccharides middle dose group	10	253.10 $\pm$ 129.01
Astragalus polysaccharides high dose group	10	479.20 $\pm$ 261.84*

Note: Compared with the control group: * $P < 0.05$.

2.2 黄芪多糖对肝脏SOD、MDA的影响

与对照组比较,黄芪多糖中剂量组肝脏SOD活性显著升高($P < 0.05$);黄芪多糖低剂量组MDA含量有降低趋势,但未达到统计学显著性水平。说明黄芪多糖具有升高肝脏SOD活性和降低MDA含量的作用,而高剂量组MDA含量反而升高,提示黄芪多糖浓度过高可能引起出现相反效应,抑制机体自由基代谢。见表2。

表2 各组小鼠肝脏SOD活性、MDA含量比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the activity of mice liver SOD and the content of

Groups	n	MDA ($\bar{x} \pm s$)	
		SOD(U/mg)	MDA (nmol/mg)
The control group	10	12.53 6.44	22.03 5.90
Astragalus polysaccharides low dose group	9	19.11 7.06	18.74 8.99
Astragalus polysaccharides middle dose group	10	25.23 18.60*	21.93 10.29
Astragalus polysaccharides high dose group	10	18.42 4.85	23.25 11.76

Note: Compared with the control group: * $P < 0.05$.

2.3 黄芪多糖对肌糖原、血糖的影响

对照组及各剂量组的小鼠运动后血糖含量无显著性差别。与对照组相比较,高剂量组肌糖原的储存量有显著性差异($P < 0.05$),明显高于对照组。见表3。

2.4 黄芪多糖对血中乳酸、肝脏中的乳酸脱氢酶的影响

与对照组相比较,黄芪多糖低剂量组血中乳酸的含量明显降低($P < 0.05$),说明黄芪多糖具有降低血中乳酸的作用,而中高剂量组却无明显作用,提示黄芪多糖可能在低浓度时才能起效,降低机体的无氧氧化(糖酵解)代谢;与对照组相比较,各剂量组的乳酸脱氢酶含量差别无统计学意义。见表3。

3 讨论

疲劳是机体在一定的环境条件下,不能将其机能持续在一定水平或各器官不能维持其预定的运动强度的一种生理现象。产生疲劳的原因多种多样,但疲劳最直接和最客观的表现是运动耐力的下降,而力竭游泳时间一直以来被作为反映运动耐力的重要指标^[14]。小鼠负重其身体体重的5%,运动强度增大,给药小组表现出较好的运动能力,延长了游泳时间,证实了黄芪多糖确有抗运动疲劳的作用。

运动中需要大量供能,机体耗氧量的增加可致使体内自由基产生增加,破坏自由基产生和消除的平衡状态,导致膜性细胞结构的功能下降,产生疲劳。体内SOD正是可以消除氧自由基的首要催化酶,可抑制机体内的脂质过氧化反应,其活性强弱是体内自由基水平的间接反映^[15]。另外,自由基促使多不饱和脂肪酸过氧化,可代谢生成MDA,所以,MDA含量也可以反映机体自由基代谢情况^[16]。实验中,我们确认了中剂量服用黄芪多糖可以提高SOD的活性。

肌糖原的储量和代谢能力是决定耐力的重要因素^[17],大量

表 3 各组小鼠血中血糖、乳酸含量,肌糖原含量以及肝脏乳酸脱氢酶含量($\bar{x} \pm s$)

Table 3 The content of blood suger, lactic acid content, myo-glycogen and Liver lactate dehydrogenase in the blood of mouse

Groups	n	Blood sugar (mmol/L)	Myo-glycogen (mg/g)	Lactic acid (mmol/L)	lactic dehydrogenase (U/gpro)
The control group	10	10.57 $\pm$ 1.27	0.20 $\pm$ 0.10	2.79 $\pm$ 1.05	24886.74 $\pm$ 10445.29
Astragalus polysaccharides low dose group	9	6.62 $\pm$ 2.47	0.20 $\pm$ 0.07	1.19 $\pm$ 0.51*	20395.05 $\pm$ 8796.98
Astragalus polysaccharides middle dose group	10	10.50 $\pm$ 1.84	0.16 $\pm$ 0.07	2.97 $\pm$ 1.14	24406.30 $\pm$ 9795.87
Astragalus polysaccharides high dose group	10	10.68 $\pm$ 1.43	0.36 $\pm$ 0.23*	2.96 $\pm$ 1.27	24989.99 $\pm$ 10265.32

Note: Compared with the control group: *P<0.05.

的研究表明运动所导致的体力衰竭总是和肌糖原的耗竭同时发生。运动后检测肌糖原发现,黄芪多糖可提高小鼠肌糖原储量,抑制长时间运动导致的小鼠肌糖原的降低和防止血糖的降低,表明黄芪多糖具有增加肌糖原储备,调节血糖代谢的作用。长时间剧烈运动将导致机体相对缺氧和糖酵解作用加快,进而产生大量的乳酸。乳酸的堆积是导致肌肉疲劳的重要原因^[18],所以血乳酸水平也是反映机体的有氧代谢能力和疲劳程度的重要指标。运动后血液中乳酸测定结果表明,适当浓度的黄芪多糖具有降低机体产乳酸的作用,可增强机体运动能力。

综上所述,黄芪多糖在提高机体对运动负荷的适应能力、延缓疲劳的产生等方面具有一定的效果,而黄芪多糖增强机体抗氧化能力、改善物质代谢和增加体内糖储备可能是其原因之一。本项研究将为阐明抗疲劳中药--黄芪的开发提供重要的实验依据。

该一系列实验结果中:中剂量黄芪多糖增高了SOD活性,但MDA并未同步降低;高剂量黄芪多糖才能增加糖原储存量,只有低剂量黄芪多糖降低了乳酸量。这究竟是提示黄芪多糖显效没有剂量依赖性,还是样本量不够大出现的不稳定性,尚需进一步证实。只有深入研究黄芪多糖抗疲劳的作用机制,才能为推广应用奠定基础。

中药抗疲劳已经成为运动医学研究的一个热点。黄芪多糖作为天然产品来源丰富,价格便宜,长期使用对组织细胞无毒副作用,已得到国际上的认可。目前对黄芪多糖的抗疲劳的研究虽然较多,使人们对于疲劳的认识也已从单纯的物质耗竭或代谢产物堆积,逐渐深入到细胞、亚细胞乃至分子水平,但还是有许多工作要做,因此,为了更好地开发和利用黄芪多糖,对它进行全面系统的研究是十分必要的。总结、提出具有指导临床和科研实践的中医抗疲劳理论及有效方剂,将是今后努力的方向。特别是黄芪多糖对抗衰老、抗疲劳和抗肿瘤方面应该做更为深入的研究工作,使这味中药更好地应用于疾病的临床治疗中。

参考文献(References)

- [1] 戴德纯, 房敏, 姜淑云, 等. 慢性疲劳综合征患者生存质量和疲劳特征及中医推拿干预研究 [J]. 中国康复医学杂志, 2010, 25(8): 751-755, 763
Dai Dei-chun, Fang Min, Jiang Shu-yun, et al. Study on the characteristics of quality of life and fatigue in patients with chronic fatigue syndrome and the therapeutic effect of tuina of traditional Chinese medicine [J]. Chinese Journal of Clinical Rehabilitation Medicine, 2010, 25(8): 751-755, 763
- [2] 施璐霞, 毛广平. 慢性疲劳综合征研究进展 [J]. 云南中医学院学报, 2006, 29(6): 49-52
Shi Lu-xia, Mao Guang-ping. Summerise on Chronic Fatigue Syndrome [J]. Journal of Yunnan College of Traditional Chinese Medicine, 2006, 29(6): 49-52
- [3] 王天芳, 张翠珍, 刘雁峰, 等. 慢性疲劳综合征病人的疲劳、抑郁、焦虑与生活事件的特点及其相关性分析 [J]. 中国行为医学科学, 2000, 9(2): 84-86
Wang Tian-fang, Zhang Cui-zhen, Liu Yan-feng, et al. A study on the characteristic of fatigue, depression, anxiety, life event and their correlation in the patients with chronic fatigue syndrome [J]. Chinese Journal of Behavioral Medical Science, 2000, 9(2): 84-86
- [4] 刘林亚. 中医药抗运动性疲劳的研究与进展 [J]. 中国临床康复, 2004, 8(18): 3634-3635
Liu Lin-ya. The study of the traditional Chinese medicine and sports ability[J]. Chinese Journal of Clinical Rehabilitation, 2004, 8(18): 3634-3635
- [5] 陈亚东, 曹秀兰, 田长有, 等. 高山红景天对小鼠耐缺氧、抗疲劳及耐低温作用的影响[J]. 中国中医药科技, 2002, 9(3): 157-158
Chen Ya-dong, Cao Xiu-lan, Tian Chang-you, et al. Effect of Rhodioid Sachlinensis A. Bor on Mouse' s Functions of Tolerance Anoxia, Antifitigue and Tolerance Hypothermia [J]. Chinese Journal of Information on Traditional Medical Science and Technology, 2002, 9(3): 157-158
- [6] 章培军, 刘斌钰, 张丽红, 等. 生泰王对小鼠应激能力及体内抗氧化酶活性的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(10): 221-223
Zhang Pei-jun, Liu Bin-yu, Zhang Li-hong, et al. Effects of Shengtaiwang Potion on the Activity of Anti-stress and Antioxidase in Mice [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2012, 18(10): 221-223
- [7] 赵仙丽, 龚博敏, 陈德兴. 补肾复方配伍牦牛鞭的抗疲劳作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 199-201
Zhao Xian-li, Gong Bo-min, Chen De-xing. Comparative Study on the Anti-fatigue Effect of Compatibility of the Kidney-tonifying Recipe with Penis of Bos gruniens in Rats [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2012, 18(14): 199-201
- [8] 史亚丽, 辛晓林, 张昌言, 等. 黑木耳多糖对生物机体运动能力的影响 [J]. 中国临床康复, 2006, 10(35): 106-108
Shi Li-ya, Xin Xiao-lin, Zhang Chang-yan, et al. Effects of Auricularia auricula Underw polysaccharide on sport capacity of living organism [J]. Chinese Journal of Clinical Rehabilitation, 2006, 10(35): 106-108

- [9] 刘克敏, 刘振玉. 黄芪的药理作用及其在运动医学中的应用 [J]. 现代中西医结合杂志, 2005, 14(17): 2346-2349
Liu Ke-min, Liu Zhen-yu. Pharmacologic action of Astragalus mongholicus and application of it in sports medicine [J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2005, 14(17): 2346-2349
- [10] 万朋, 高俊涛, 刘志洋. 黄芪多糖药理作用研究进展 [J]. 吉林医药学院学报, 2010, 31(6): 351-355
Wan Peng, Gao Jun-tao, Liu Zhi-yang. Research progress on pharmacological effects of astragalus polysaccharide [J]. Journal of Jilin Medical College, 2010, 31(6): 351-355
- [11] 姚秀娟, 王米, 江善祥, 等. 黄芪多糖药理作用及在动物生产中的应用研究进展[J]. 饲料工业, 2009, 30(18): 351-355
Yao Xiu-juan, Wang Mi, Jiang Shan-xiang, et al. Recent advance in studies on pharmacological activities and application in animal production of astragalus polysaccharides [J]. Feed Industry, 2010, 31(6): 351-355
- [12] 吕红, 郭伟东, 杨洁, 等. 复方黄芪提取液抗运动性疲劳的实验研究[J]. 山东体育学院学报, 2004, 20(5): 48-50
Lv Hong, Guo Wei-dong, Yang Jie, et al. Experimental Study Against Exercise Fatigue with Compound Huangqi Extract [J]. Journal of Shandong Institute of Physical Education, 2004, 20(5): 48-50
- [13] 武云, 吴大正, 胡之璧. 黄芪提取物对大鼠负重力竭游泳的抗疲劳作用 [J]. 上海中医药大学学报, 2008, 22(1): 36-39
Wu Yun, Wu Da-zheng, Hu Zhi-bi. Anti-fatigue Effect of Astragalus Extract on Weight-Loaded Exhausting Swimming in Rats [J]. Acta Universitatis Traditional Medicalis Sinensis Pharmacologiaeque Shanghai. 2008, 22(1): 36-39
- [14] 于海玲, 李华伟, 李雪花, 等. 复方黄芪多糖对小鼠的抗疲劳和耐缺氧作用[J]. 延边大学医学学报, 2009, 32(3): 10-13
Yu Hai-ling, Li Hua-wei, Li Xue-hua, et al. The experimental study of the compound astragalus polysaccharides capsules on anti-fatigue and hypoxia tolerance in mice [J]. Journal of Medical Science Yanbian University, 2009, 32(3): 10-13
- [15] 赵莲芳, 郑玉淑, 朴惠顺, 等. 黄芪多糖及人参总皂苷对衰老小鼠的抗衰老作用[J]. 延边大学医学学报, 2006, 29(4): 249-251
Zhao Lian-fang, Zheng Yu-shu, Piao Hui-shun, et al. Antisenility effects of astragalus polysaccharide and total ginsenoside on senile mice[J]. Journal of Medical Science Yanbian University, 2006, 29(4): 249-251
- [16] 冯毅群, 赵自明, 陈媛, 等. 人参皂苷 Re 对运动性疲劳模型大鼠 MDA 含量和 SOD 活性的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(6): 542-544
Feng Yi-qiong, Zhao Zi-ming, Chen Yuan, et al. Effects of Ginsenoside Re on MDA Content and SOD Activity in Rats with Exercise-induced Fatigue [J]. Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology, 2009, 20(6): 542-544
- [17] 李湘奇, 张笃超, 王毅. 怡力康对运动性疲劳大鼠糖原及血清激素的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(10): 34-35, 38
Li Xiang-qi, Zhang Du-chao, Wang Yi. Effects of Yilickang on Glycogen and Serum Hormone in Rats with Exercise-induced Fatigue [J]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2010, 17(10): 34-35, 38
- [18] 周越, 王瑞元. 骨骼肌运动性疲劳乳酸机制研究进展[J]. 天津体育学院学报, 2010, 25(6): 518-521
Zhou Yue, Wang Rui-yuan. Advance in the Mechanism of Lactate Acid and Skeletal Muscle Fatigue[J]. Journal of Tianjin University of Sport, 2010, 25(6): 518-521

(上接第 7164 页)

- [14] 丁有学, 毕华, 刘兰. 细胞因子类制品的无菌检查法 [J]. 中国药事, 2010, 24(6): 600-601
Ding You-xue, Bi Hua, Liu Lan. Sterile Tests for Cytokines Bioproducts[J]. Chinese Pharmaceutical Affairs, 2010, 24(6): 600-601
- [15] 王似锦, 高春. 疫苗类制品无菌检查方法(薄膜过滤法)的研究[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(8): 1556-1559
Wang Si-jin, Gao Chun. Study of validation method of sterility test for vaccines (with technique of membrane filtration) [J]. Chin J Pharm Anal, 2011, 31(8): 1556-1559
- [16] Braun A, Kwee L, Labow MA, et al. Protein aggregates seem to play a key role among the parameters influencing the antigenicity of interferon alpha (IFN- α) in normal and transgenic mice [J]. Pharm Res, 1997, (10): 1472-1478
- [17] Cudd A, Arvinte T, Das GRE, et al. Enhanced potency of human calcitonin when fibrillation is avoided [J]. J Pharm Sci, 1995, (6): 717-719
- [18] Staub A, Guillaume D, Schappler J, et al. Intact protein analysis in the biopharmaceutical field[J]. J Pharm Biomed Anal, 2011, (4): 810-822
- [19] Coreia IR. Stability of IgG isotypes in serum [J]. MAbs, 2010, 2(3): 221-232
- [20] Van Beers MM, Bardorff M. Minimizing immunogenicity of biopharmaceuticals by controlling critical quality attributes of proteins[J]. Biotechnol J, 2012, 7(12): 1473-1484