

梁志健,陈桂煌,龙淑娴,等. 马鹿茸组合物缓解大小鼠体力疲劳的作用研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(3): 39-43.
Liang ZJ, Chen GH, Long SX, et al. Anti-fatigue effect of hairy antler composition on mice and rats [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(3): 39-43.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020. 03. 007

马鹿茸组合物缓解大小鼠体力疲劳的作用研究

梁志健,陈桂煌,龙淑娴,黎丽斯,黎耀俊,白建瑜,饶子亮*

(广东省医学实验动物中心,广东 佛山 528248)

【摘要】 目的 研究马鹿茸组合物抗体力疲劳的作用及其机制。**方法** NIH 小鼠和 SD 大鼠随机分为空白对照组、奕华胶囊组(600 mg/kg)、马鹿茸组合物低、中、高剂量组(135、270、810 mg/kg),各组动物分别灌胃给予相应溶液,每天 1 次,连续 30 d。末次灌胃 30 min 后检测各组动物的负重游泳时长、肝糖原含量及游泳后血清尿素氮、血乳酸浓度。**结果** 与阴性对照组比较,马鹿茸组合物组动物的游泳时长增加($P<0.05$)、肝糖原含量升高($P<0.05$)、血乳酸曲线下面积降低($P<0.05$)。**结论** 马鹿茸组合物具有抗体力疲劳作用,其机制可能与增加机体肝糖原储备和降低运动所引起的血乳酸堆积有关。

【关键词】 马鹿茸;抗疲劳;负重游泳;乳酸;尿素氮;肝糖原

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 03-0039-05

Anti-fatigue effect of hairy antler composition on mice and rats

LIANG Zhijian, CHEN Guihuang, LONG Shuxian, LI Lisi, LI Yaojun, BAI Jianyu, RAO Ziliang*

(Guangdong Medical Laboratory Animal Center, Foshan 528248, China)

【Abstract】 Objective To investigate the anti-fatigue effect of hairy antler composition and its mechanism. **Methods** NIH mice and SD rats were randomly divided into a blank control group, Yihua capsule group (600 mg/kg), and three dosage groups of hairy antler composition (135, 270, and 810 mg/kg). The Yihua capsule, hairy antler composition, at various concentrations or water were administered orally to the corresponding groups once a day for 30 days. Serum BUN and blood lactic acid after swimming, loaded swimming time, and hepatic glycogen content were measured at 30 min after the last administration. **Results** The hairy antler composition significantly increased the loaded swimming time and the hepatic glycogen content in mice ($P<0.05$) and decreased blood lactic acid ($P<0.05$). **Conclusions** The hairy antler composition has an anti-fatigue effect.

【Keywords】 hairy antler; anti-fatigue; loaded swimming; lactic acid; BUN; hepatic glycogen

《素问·灵兰秘典论》:“肾者,作强之官,伎巧出焉^[1-2]。”即肾是主导力量运动的器官,肾虚可能引起机体体力下降、运动能力降低、容易出现疲劳的症状。鹿茸、淫羊藿具有温补肾阳的功效,是补肾的常用药物;黄精在益肾之余还能健脾补气;而枸杞则能兼补肝肾。本研究从小鼠负重游泳时长、肝糖原含量、血清尿素氮及血乳酸堆积 4 个方面^[3]综合评价由鹿茸、淫羊藿、黄精、枸杞组方而成的马鹿茸组合物是否具有抗疲劳的作用。

【基金项目】广东省医学科研基金(A2018214、B2019154);广东省科技计划项目(2016A030303027)。
【作者简介】梁志健,(1989—),男,主管中药师,研究方向:药理与毒理学。E-mail:kenjiliang@foxmail.com
【通信作者】饶子亮,(1983—),男,副主任药师,研究方向:药效评价。E-mail:343806059@qq.com

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 NIH 小鼠, 150 只, 雄性, 18~22 g; SPF 级 SD 大鼠, 50 只, 雄性, 180~200 g; 均购自广东省医学实验动物中心[SCXK(粤)2018-0002], 动物合格证号分别为: 44007200063580、44007200063166、44007200063824、44007200061954。动物实验均在广东省医学实验动物中心 SPF 级动物房进行[SYXK(粤)2018-0002], 动物实验证明号分别为: 00215281、00214589、00215705、00212328, 饲养条件: 5 只/笼, 自由进食饮水, 采用 12 h:12 h 昼夜间断照明, 饲养室条件始终保持稳定。本研究经广东省医学实验动物中心实验动物伦理委员会审核, 按实验动物使用的 3R 原则给予人道关怀, 审核批号为: B201903-20、B201904-16、B201905-10、B201905-16。

1.2 主要试剂与仪器

马鹿茸组合物(汤臣倍健股份有限公司, 由马鹿茸、淫羊藿、黄精、枸杞组成, 每克组合物含氨基酸 10.0%、淫羊藿苷 0.5%); 无限极牌奕华胶囊(纽斯葆广赛(广东)生物科技股份有限公司, 批号: 18I08ADS04, 每 100 g 含红景天苷 0.3 g、总皂苷 2.0 g); 肝糖原试剂盒(南京建成生物工程研究所, 批号: 20190620); 尿素氮试剂盒(上海科华生物工程股份有限公司, 批号: 20180822); 血乳酸试纸(德国 EKF, 批号: 2001839157)。

Multiskan Go 型全波长酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific); LACTATE SCOUT 型便携式乳酸检测仪(德国 EKF); 日立 7020 型全自动生化分析仪(日本株式会社日立高新技术)。

1.3 实验方法

1.3.1 分组和给药

负重游泳实验、血清尿素氮实验、肝糖原实验分别使用 50 只 NIH 小鼠, 血乳酸实验使用 50 只 SD 大鼠。各实验的动物分别按体重随机分为空白对照组、奕华胶囊组、马鹿茸组合物低、中、高剂量组。奕华胶囊组动物以 0.6 g/kg 的剂量灌胃给予奕华胶囊, 马鹿茸组合物组低、中、高剂量组动物分别以 0.135 g/kg、0.27 g/kg、0.81 g/kg 的剂量灌胃给予马鹿茸组合物, 空白对照组动物灌胃给予纯净水。灌胃给药每天 1 次, 连续 30 d。动物每周称重 1 次。

1.3.2 负重游泳时间的测定

负重游泳实验的动物末次灌胃 30 min 后于尾部负荷 5%体重的铅皮, 并置于水深不少于 30 cm 的游泳箱中游泳, 水温控制(25 ± 1)℃, 记录小鼠自游泳开始至死亡的时间, 即小鼠负重游泳时间。

1.3.3 血清尿素氮的测定

血清尿素氮实验的动物末次灌胃 30 min 后置于水温(30 ± 1)℃且水深不少于 30 cm 的游泳箱中游泳 90 min, 休息 60 min 后动物眼眶采血并颈椎脱臼处死。血样 2000 r/min 离心 15 min 后, 取上层血清利用日立 7020 型全自动生化分析仪检测其中尿素氮含量。

1.3.4 肝糖原的测定

肝糖原实验的动物末次灌胃 30 min 后颈椎脱臼处死取肝, 用生理盐水漂洗后, 滤纸吸干, 精确称取 100 mg, 利用肝糖原试剂盒检测其中的肝糖原含量。

1.3.5 血乳酸的测定

血乳酸实验的动物末次灌胃 30 min 后尾尖采血检测血乳酸含量, 然后置于水温(30 ± 1)℃且水深不少于 30 cm 的游泳箱中不负重游泳 10 min, 游泳结束后立刻采血检测血乳酸含量, 休息 20 min 后再采血测血乳酸含量。并按以下公式计算血乳酸曲线下面积。随后动物动物麻醉放血处死。

血乳酸曲线下面积 = $5 \times (\text{游泳前血乳酸值} + 3 \times \text{游泳后 0 min 的血乳酸值} + 2 \times \text{游泳后休息 20 min 的血乳酸值})$

1.4 统计学方法

试验所得数据均为计量资料, 均以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。体重为重复测量资料, 采用重复测量资料方差分析。负重游泳时长、血清尿素氮、肝糖原含量数据满足正态性和方差齐, 采用单因素方差分析。血乳酸曲线下面积方差不齐, 采用秩和检验进行统计分析。检验水平 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 动物状态观察与体重

实验期间, 各组动物的体型、被毛、皮肤、粪便、肌肉张力、步态、精神、呼吸等均无异常; 各组动物均见增长, 且组间未见统计学差异, 如图 1 所示。

2.2 负重游泳实验

与空白对照组比较, 奕华胶囊组马鹿茸组合物高剂量组动物游泳时长增加, 具统计学差异($P<0.05$), 如表 1 所示。

2.3 血清尿素氮实验

与空白对照组比较,奕华胶囊组动物 BUN 浓度降低($P<0.01$),马鹿茸组合物各剂量组动物血清尿素氮未见统计学差异,如表 2 所示。

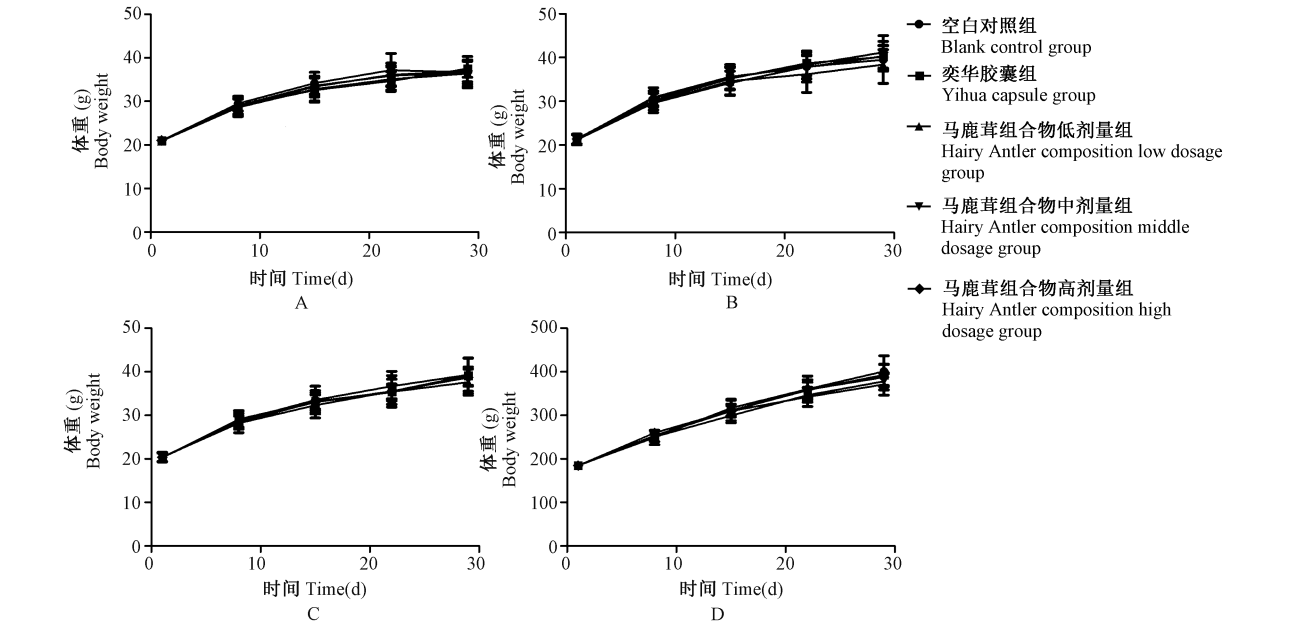
2.4 肝糖原实验

与空白对照组比较,奕华胶囊组、马鹿茸组合

物低剂量组动物的肝糖原含量升高($P<0.05$ 或 0.01),如表 3 所示。

2.5 血乳酸实验

与空白对照组比较,马鹿茸组合物低剂量组动物的血乳酸曲线下面积降低($P<0.05$),如表 4 所示。



注:A:负重游泳实验;B:血清尿素氮实验;C:肝糖原实验;D:血乳酸实验。
Note. A, Loaded swimming test. B, Serum BUN test. C, Hepatic glycogen test. D, Blood lactic acid test.

图 1 各实验各组动物的体重比较
Figure 1 Comparison of weights among the groups

表 1 各组动物负重游泳时长的比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Loaded swimming time of each group

组别 Groups	剂量(g/kg) Dosage	游泳时长(min) Loading swimming time
空白对照组 Blank control group	/	8.8±1.9
奕华胶囊组 Yihua capsule group	0.600	13.2±5.3 *
马鹿茸组合物低剂量组 Hairy Antler composition low dosage group	0.135	9.2±4.1
马鹿茸组合物中剂量组 Hairy Antler composition middle dosage group	0.270	12.0±5.3
马鹿茸组合物高剂量组 Hairy Antler composition high dosage group	0.810	13.5±6.4 *

注:与空白对照组比较, * $P<0.05$ 。
Note. Compared with the blank control group, * $P<0.05$.

表 2 各组动物血清尿素氮的比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Serum-BUN concentration of each group

组别 Groups	剂量(g/kg) Dosage	血清尿素氮(mmol/L) serum-BUN
空白对照组 Blank control group	/	11.46±2.46
奕华胶囊组 Yihua capsule group	0.600	8.94±1.12 **
马鹿茸组合物低剂量组 Hairy Antler composition low dosage group	0.135	11.30±1.97
马鹿茸组合物中剂量组 Hairy Antler composition middle dosage group	0.270	9.99±1.32
马鹿茸组合物高剂量组 Hairy Antler composition high dosage group	0.810	11.41±2.14

注:与空白对照组比较, ** $P<0.01$ 。
Note. Compared with the blank control group, ** $P<0.01$.

表 3 各组动物肝糖原的比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Hepatic glycogen content of each group

组别 Groups	剂量(g/kg) Dosage	肝糖原含量(mg/g 肝组织) Hepatic glycogen content
空白对照组 Blank control group	/	1.33±0.57
奕华胶囊组 Yihua capsule group	0.600	2.04±0.61**
马鹿茸组合物低剂量组 Hairy Antler composition low dosage group	0.135	1.82±0.40*
马鹿茸组合物中剂量组 Hairy Antler composition middle dosage group	0.270	1.57±0.61
马鹿茸组合物高剂量组 Hairy Antler composition high dosage group	0.810	1.39±0.42

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。
Note. Compared with the blank control group,* $P<0.05$,** $P<0.01$.

表 4 各组动物血乳酸的比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Area under the curve of blood lactic acid in each group

组别 Groups	剂量(g/kg) Dosage	血乳酸曲线下面积 Area under blood lactic acid curve
空白对照组 Blank control group	/	145±57
奕华胶囊组 Yihua capsule group	0.600	102±16
马鹿茸组合物低剂量组 Hairy Antler composition low dosage group	0.135	88±16*
马鹿茸组合物中剂量组 Hairy Antler composition middle dosage group	0.270	89±17
马鹿茸组合物高剂量组 Hairy Antler composition high dosage group	0.810	95±14

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$ 。
Note. Compared with the blank control group,* $P<0.05$.

3 讨论

疲劳属于中医“虚劳”、“虚损”的范畴,中医认为气血不足是产生疲劳的基础之一。奕华胶囊主要由补气类中药红景天、西洋参和祛风湿、强筋骨的刺五加组方而成。其中红景天所含的红景天苷可延长小鼠负重游泳时间,降低血清中乳酸和血清尿素氮含量,提高肝糖原含量^[4];西洋参中的人参皂苷 Re、Rb₁、Rb₂、Rg₁、Rg₃ 具有延缓疲劳产生和促进疲劳恢复的作用,主要表现在调节中枢神经系统、改善机体功能和消除疲劳等方面^[5];刺五加的脂溶性成分能减少尿素氮的损伤来增强小鼠被迫游泳能力,有效降低了肌酐浓度的增加,促进脂肪的利用^[6]。奕华胶囊经动物实验评价,具缓解体力疲劳作用。中医又认为“人之元气,根基于肾,培养与脾”,明代薛己也强调“治虚劳,当以脾肾二脏为要”,本研究主要探讨了由补肾中药组方而成的马鹿茸组合物是否具有相类似的抗疲劳作用。

疲劳的表现主要有运动时体内能量降低和肌肉力量的下降,使机体不能持续在特定水平和/或不能维持预定的运动强度^[7-8]。通过测定机体持续运动到力竭的时长可以反映机体的耐力。在本实验中,马鹿茸组合物可增加小鼠负重游泳时长显著高于空白对照组($P<0.05$),提示马鹿茸组合物可以提高小鼠的运动耐力。这与报道中黄精多糖可不同程度地抑制脂质过氧化损伤,调节脑内 5-HT 和

DA 含量,从而延缓运动致外周疲劳和中枢疲劳的发生相一致^[9]。

人体短时间高强度运动的主要能量来源于糖原的无氧糖酵解,糖原主要分布在肝和肌肉,肝糖原与肌糖原分别是能量储备和利用的直接组织。因此肝糖原储备含量可以反应机体运动所能消耗的能量多少^[10-11]。本实验中,马鹿茸组合物可以提高小鼠肝糖原含量升高($P<0.05$)。其机制可能为:一是淫羊藿能够提高大鼠睾酮水平,使糖原合成和糖异生作用加强;二是淫羊藿内含有多糖成分,可作为外源性糖分补充和延缓机体运动对内源性糖分的消耗^[12];三是枸杞中的枸杞多糖亦可增加小鼠肝糖原储备粮^[13]。糖原的无氧糖酵解过程的代谢产物是乳酸,如果机体能量代谢能正常进行,乳酸会被运输至肝进行进一步分解;如果运动过于剧烈或持久,或乳酸分解所需的维生素、矿物质缺乏,乳酸则会堆积;产生肌肉酸痛感和疲劳感^[14-15]。马鹿茸组合物可以降低大鼠游泳后血乳酸曲线下面积($P<0.05$),提示马鹿茸组合物可以降低机体的血乳酸堆积,减轻机体的疲劳感。这可能与马鹿茸增加有氧代谢能力,促进乳酸代谢有关^[16]。尿素氮是氨基酸和蛋白质分解代谢的产物,机体运动后血清尿素氮含量降低,反应蛋白质参与供能的比例下降,而碳水化合物和脂肪参与供能的比例升高。本试验中,马鹿茸组合物组动物运动后的血清尿素氮含量与空白对照组未见统计学差异。

现代社会生活方式的改变及面对来自工作的压力,人们十分容易出现疲劳的症状。随着健康意识的提高、对自身状态的要求及纾解压力,越来越多的人投入到运动健身中,但长时间、高强度的运动可能会使机体的疲劳越加严重。目前国内外均有从天然植物提取抗疲劳成分的报道^[17],旨在改善人们的生活。马鹿茸组合物是在传统中医理论指导下,选取马鹿茸、淫羊藿、黄精、枸杞组方,并经过加工、提取有效成分而成,本研究验证了该马鹿茸组合物具有缓解疲劳、延长运动时长的作用,其机制与增加机体肝糖原储备和降低运动所引起的血乳酸堆积有关。

参考文献:

[1] 刘永升. 全本皇帝内经 [M]. 北京: 华文出版社, 2010.

[2] 江景涛. 中医疲劳概念研究 [J]. 中国医药导报, 2014, 11 (28): 81-84.

[3] 林飞. 保健食品安全性实验方法实用操作手册 [M]. 河北: 河北科学技术出版社, 2015.

[4] 游小凤, 石鹤坤, 蔡静静, 等. 红景天粉末水提物对小鼠运动型疲劳的改善作用 [J]. 中国医药导报, 2015, 12 (34): 30-32.

[5] 林美好, 刘青萍, 廖颖妍, 等. 西洋参血清指纹图谱及其抗疲劳谱效关系初步观察 [J]. 中南药学, 2019, 17 (7): 1014-1017.

[6] Huang LZ, Huang BK, Liang J, et al. Antifatigue activity of the liposoluble fraction from *Acanthopanax senticosus* [J]. *Phytother*

Res, 2011, 25 (6): 940-943.

[7] 马威, 马建昌. 运动性疲劳产生机制的研究 [J]. 内江科技, 2010, 30 (1): 32-91.

[8] 陈成, 邱明鸿, 马云淑, 等. 玛咖提取物对小鼠运动性疲劳的作用研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2014, 35 (9): 63-66.

[9] 李明. 黄精多糖对运动疲劳大鼠抗氧化及神经递质的影响 [J]. 食品科技, 2014, 39 (9): 227-230.

[10] Rockwell MS, Rankin JW, Dixon H. Effects of muscle glycogen on performance of repeated sprints and mechanisms of fatigue [J]. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 2003, 13 (1): 1-14.

[11] 王静, 刘洪涛, 马强, 等. 运动性中枢疲劳时大鼠脑乳酸和糖原含量的变化 [J]. 中国运动医学杂志, 2005, 24 (2): 152-155.

[12] 周海涛, 曹建民, 林强, 等. 淫羊藿对运动训练大鼠睾酮含量、物质代谢及抗运动疲劳能力的影响 [J]. 中国药理学杂志, 2013, 48 (1): 25-29.

[13] 王玮, 金吉中, 郜叶红, 等. 抗运动性疲劳单味中药研究概述 [J]. 中药材, 2004, 27 (2): 138-142.

[14] 张颖捷, 杜万红. 国内外抗疲劳研究进展 [J]. 实用预防医学, 2012, 19 (7): 1112-1116.

[15] 栾海云, 杨清宝, 杨茗, 等. 左卡尼汀通过改变小鼠乳酸和糖原含量延缓疲劳的实验研究 [J]. 中国新药杂志, 2019, 28 (8): 1017-1020.

[16] 白晨, 王淑珍, 周晓望, 等. 鹿茸血酒抗疲劳活性实验研究 [J]. 食品科学, 2008, 29 (11): 575-578.

[17] 谷枫, 孙国辉, 麻浩, 等. 天然多糖抗运动性疲劳的研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2013, 22 (6): 636-642, 646.

[收稿日期] 2019-09-27