

参附注射液对运动性疲劳小鼠脑组织 TGF- β_1 表达的影响

李增明 白文忠 刘永敬 杜晓宁

(河北体育学院运动人体科学系,河北省石家庄市学府路82号,050041)

关键词 运动性疲劳/中医药疗法;参附注射液;TGF- β_1

参附注射液是古方参附汤的有效提取物,临床上治疗心、脑血管疾病取得了良好的效果。现代众多研究已表明^[1],参附注射液对心血管、神经、运动、泌尿等全身多系统、多器官的功能具有改善和保护作用,这为参附注射液改善过度疲劳时全身多系统、多器官的异常表现,消除或延缓运动性疲劳提供了参考。为了探究参附注射液抗运动性疲劳的机理,本课题采用小鼠游泳运动建立疲劳模型,观察参附注射液对运动性疲劳小鼠脑组织 TGF- β_1 的影响,以明确参附注射液对运动性中枢疲劳的保护机制。

1 材料与方法

1.1 材料 昆明小鼠40只,雄性,体重 $30\text{g} \pm 5\text{g}$,清洁级,由河北省实验动物中心提供,合格证编号1001071。参附注射液为雅安三九药业有限公司产品,批号Z20043117,每瓶50mL。TGF- β_1 蛋白免疫组化SABC试剂盒,武汉博士德生物工程有限公司产品。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及模型制备 小鼠购进后适应性喂养1周后,随机分为安静组(A)、运动即刻组(B)、参附注射液安静组(C)、参附注射液运动即刻组(D),每组10只。每天上午A、C组处于安静状态,B、D组进行定量负荷训练,负重5%游泳40min,每天下午C、D组用参附注射液4mL/kg(相当于成人剂量的20倍)腹腔注射,A、B组用等体积生理盐水腹腔注射,连续7d。疲劳造模最后一天上午进行腹腔注射,B、D组小鼠注射后1h后,进行一次力竭运动(以小鼠鼻孔或整个没入水面以下5~10s,不能主动上浮为准),记录力竭运动时间。

1.2.2 标本采集 实验结束时,称取小鼠重量,向大鼠腹腔内注射25%氨基甲酸乙酯(1.25g/kg体重)麻醉,开胸暴露心脏,右心房采血,经左心室向升主动脉插管,25mL生理盐水灌流冲洗,100mL含4%多聚甲醛的0.1mol/L PB(pH7.4)灌流固定。取全脑移入相同固定液中后固定4h,置25%蔗糖溶液(0.1mol/L PB

配制,pH7.4,4℃)中至沉底。冰冻冠状连续切片,切片厚35 μm ,收集于0.01mol/L PBS内。

1.2.3 免疫组化染色 采用SABC免疫组化染色法,按说明书进行。阴性对照用PBS代替一抗。采用OLYMPUS光学显微镜,应用多功能真彩色病理图像分析系统定量检测TGF- β_1 免疫反应阳性单位。每只小鼠选2张切片,每张切片随机观察5个测试区的阳性单位,取其均值。

1.3 统计学处理 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用SPSS13.0软件进行统计学处理,组间差异采用方差分析,两两比较采用 q 检验。

2 结果

2.1 力竭运动时间 运用参附注射液后,小鼠力竭运动时间与对照组比较,明显延长($P < 0.01$)。见表1。

表1 参附注射液对小鼠力竭运动时间的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	力竭时间(min)	延长百分率
B组	10	54.34 \pm 13.26	
D组	10	85.53 \pm 16.18	57.40%

注:D组与B组比较, $P < 0.01$ 。

2.2 免疫组织化学 免疫组化染色显示,TGF- β_1 在安静组及参附注射液安静组的脑神经细胞中呈弱阳性表达。运动即刻组和参附注射液运动即刻组皮质区及海马区可见TGF- β_1 蛋白表达增强,与前者有极显著性差异($P < 0.001$)。但在运动中应用参附注射液干预后发现,TGF- β_1 蛋白的表达明显减弱,与运动即刻组比较有极显著性差异($P < 0.01$),提示参附注射液具有调整运动性疲劳小鼠脑组织TGF- β_1 蛋白表达的作用,从而起到延缓或消除运动性中枢疲劳的价值(见表2)。

表2 各组小鼠的TGF- β_1 表达变化($\bar{x} \pm s$)

项目	A组	B组	C组	D组
例数	10	10	10	10
TGF- β_1 阳性单位	21.75 \pm 2.63	52.76 \pm 2.56	22.50 \pm 3.67	39.35 \pm 1.73

注:D组与A及C组比较, $P < 0.001$;与B组比较, $P < 0.01$;A与C组比较, $P > 0.05$ 。

3 讨论

TGF- β 是一种可在体内或体外由各种正常或已转化的细胞产生的多功能调节肽,具有多种生物学功

能。作为参与体内生理生化、信号转导与调控的重要因子,在不同条件下, $TGF-\beta$ 既可刺激细胞的增殖,又可刺激细胞的分化,对细胞进行双向调节^[2]。有研究表明,急性脑缺血时应用 $TGF-\beta_1$ 能减轻缺血再灌注脑损伤,缩小梗死范围,对神经元具有潜在的保护作用^[3]。然而, Inoue 等通过实验发现,运动性疲劳大鼠的脑脊液中含有抑制正常大鼠的自发活动的物质,并进一步研究证明这种物质就是 $TGF-\beta$, 而且随着运动负荷的增加,脑脊液中 $TGF-\beta$ 的水平也随之增加;向正常大鼠脑室中注入 $TGF-\beta$, 可引起正常大鼠的自发活动减少,且这种作用具有剂量依赖性^[4]。

温扶阳气的参附注射液的主要成分是人参和附子,含有多种活性物质,如人参皂苷、乌头类生物碱,现代临床中,既用于元气大亏的急性心、脑血管疾病的抢救,还用于阳气不足的心力衰竭、心律失常、心脏手术、急性脑梗死^[5]等情况的常规治疗。现代药理研究表明,人参皂苷与乌头类生物碱可能通过降低血液黏稠度和红细胞聚集率改善血液流动性,使血液回流增加;还可以直接灭活嘌呤氧化酶,抗自由基,抑制脂质过氧化反应,保护全身组织细胞免受损害^[6]。

本实验结果发现, $TGF-\beta_1$ 在安静组及参附注射液安静组小鼠脑神经细胞中呈弱阴性表达。运动即刻组 $TGF-\beta_1$ 在皮质区及海马区表达增强,进一步说明

$TGF-\beta_1$ 与运动性疲劳的产生密切相关, $TGF-\beta_1$ 应该是机体产生中枢疲劳的关键因子,可能是对运动性疲劳的一种保护性抑制反应。应用参附注射液干预后,小鼠力竭游泳时间明显延长,延长百分率达 57.40%, 并且脑神经细胞中 $TGF-\beta_1$ 有所下降,表明参附注射液可能是通过调节疲劳时 $TGF-\beta_1$ 在脑内的表达,发挥脑保护作用,以延缓或消除运动性疲劳。当然,参附注射液在恢复机体疲劳上仍值得我们进一步全面研究,以便为其延迟和消除疲劳提供新依据。

参考文献

- [1] 李正光,张锐,薛卫林,等. 参附联合丹参注射液治疗老年多器官功能不全综合征机制探讨. 中国中医急症, 2007, 16(1): 52-53.
- [2] 张晓晖. 转化生长因子与运动性中枢疲劳—运动性疲劳研究进展与展望. 首都体育学院学报, 2008, 20(3): 45-47.
- [3] 周建美,周华东,吕受卿. 急性脑缺血 $TGF-\beta_1$ 表达的实验研究. 安徽医学, 2002, 23(1): 5-7.
- [4] Inoue K, Yamazaki H, Manabe Y, et al. Transforming growth factor - beta activated during exercise in brain depresses spontaneous motor activity of animals. Relevance To central fatigue. Brain Res. 1999, 846(2): 145-153.
- [5] 姜昊,王芳. 参附注射液治疗急性脑梗死疗效观察. 泰山医学院学报, 2005, 26(1): 39-40.
- [6] 魏旭东,李湘灵,朱容富,等. 围麻醉期参附注射液在抢救急性失血性休克患者中的临床观察. 时珍国医国药, 2007, 18(1): 193-194.

(2010-09-21 收稿) ⊙

国家中医药管理局主管, 中国中医药行业惟一国家级权威大报



中国中医药报

报道中医药一切时效信息

拥有信息

占得先机

您想在第一时间获取最新国家中医药方针政策吗?
 您想在第一时间了解中医药最新科研成果吗?
 您想在第一时间掌握最新中医药临床经验吗?
 您想在第一时间知晓中医药学术思想最新动态吗?
 您想在第一时间学习成功医院的管理模式吗?
 您想在第一时间研究成功中医药企业文化及研发管理营销案例吗?
 您想在第一时间搜集中医教育及人才培养资讯吗?
 您想快速提高自己的医疗水平早日成为名医吗?

欢迎登陆本报网址:
www.cntcm.com.cn
 进入中国中医药报
 网上书店, 大量医
 药图书供您挑选。
 咨询电话: 010-64860746

欢迎订阅中国中医药报, 全国各地邮局全年均可订阅, 本报为周四刊, 对开八版
 邮发代号: 1-140, 零售定价: 0.8元, 全年定价: 156元, 半年定价: 78元

如果您错过订阅时间或在订阅方面有任何问题, 请直接与中国中医药报社发行部联系
 电话: 010-64855367、64854538 网址: www.cntcm.com.cn