

芒果苷对力竭运动大鼠血流动力学和氧化应激的影响研究[※]

● 程虹毓 周国强[▲]

摘要 目的:探讨芒果苷对力竭运动大鼠血流动力学及氧化应激的影响。方法:大鼠负重游泳直至力竭,共7d,每天一次,游泳前分别给予芒果苷 0.78、1.56、3.12mg·kg⁻¹灌胃。最后一次力竭游泳后,麻醉大鼠,测定其等容收缩期左室内压力上升的最大速率(+dp/dtmax)、等容舒张期左室压力下降的最大速率(-dp/dtmax)、左室收缩压(LVSP)和左室舒张末压(LVEDP)。测定后颈动脉取血、取心肌组织块,测定血清和组织匀浆中MDA、SOD、GSH-Px和NO的含量。结果:与模型组比较,芒果苷高、中、低剂量能够有效升高模型大鼠的LVSP值和±dp/dtmax绝对值、降低LVEDP,可显著降低模型大鼠血清和心肌组织的MDA含量,升高SOD、GSH-Px和NO含量。各给药组之间存在明显的剂量依赖关系。结论:芒果苷能够通过降低力竭运动大鼠氧化应激水平,从而改善其血流动力学参数。

关键词 芒果苷 力竭运动 血流动力学 氧化应激

运动是一种特殊的应激,适当的运动有益健康,能对心脏产生有益的作用,如使心肌的收缩力增强、心肌纤维增粗等^[1]。但力竭运动或过度训练则对心脏具有负面的作用,不仅不利于心脏机能的提高,还会损害其正常机能,增高心房纤颤房颤与心房扑动的发生率^[2],导致运动型心律失常,严重者会导致运动性猝死。近年来频繁出现的运动过程中猝死现象,尤其是今年在国内多次出现的马拉松选手猝死都证明了这一点。据统计运动员房颤发生率高达23%,接近普通人的3倍^[3],而越野滑雪运动员房颤的发病率则达到18%^[4]。运动型心律失常的发生机制非常复杂,涉及的因素也较多,目前的实验研究主要集中在对心肌组织的研究,持续的运动导致心肌组织及血液中的自由基累积,从而产生了运动型氧化应激反应^[5]。

芒果苷是一种双苯吡酮类化合物,分子式C₁₉H₁₈O₁₁,广泛存在于漆树科和龙胆科、水龙骨科植物的

叶、果实和树皮。近年来甚至在蔬菜中也分离得到^[6],资源非常丰富。芒果苷具有抗炎、抗氧化、抗病毒、治疗糖尿病、抗癌等多种药理活性^[7],同时还对心肌细胞具有保护作用,能保护垂体后叶素和异丙肾上腺素引发的心肌缺血^[8]等。本研究采用大鼠负重游泳力竭模型,研究芒果苷对力竭运动大鼠血流动力学指标的影响,并通过检测模型动物血清和心肌组织中MDA、SOD、GSH-Px和NO的含量,以揭示芒果苷在力竭运动大鼠血流动力学和氧化应激的之间的作用,为芒果苷治疗运动型心律失常药物的开发提供实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器 BL-420F生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司);UV1902紫外可见分光光度计(上海奥析科学仪器有限公司);DY89-I电动玻璃匀浆机(宁波新芝生物科技股份有限公司);3-18R离心机(湖南恒诺仪器设备有限公司);MS205DU精密天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)。

1.2 动物 雄性SD大鼠,SPF级,体质量180~220g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,许可证号SCXK(湘):2011-0003。实验期间室内保持

※基金项目 国家自然科学基金项目(No. 81660702)

▲通讯作者 周国强,男,医学硕士,讲师。研究方向:运动治疗。E-mail:1175766153@qq.com

●作者单位 江西中医药大学(330004)

25 ± 2℃,相对湿度 50% ~ 70%。自由饮水饮食。

1.3 药物与试剂 芒果苷购自成都普瑞法科技开发有限公司,纯度 ≥ 95%; MDA 试剂盒(批号 20150907),SOD 试剂盒(批号 20150907),GSH - Px (批号 20150907),NO(批号 20150907),总蛋白试剂盒(批号 20150907),以上试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。

2 方法

2.1 动物分组与给药 50 只大鼠按体重随机分为 5 组,每组 10 只,分别为正常对照组、力竭模型组、芒果苷高、中、低剂量组。参考文献^[9]制备大鼠力竭运动模型:除正常对照组外,其余组均参与游泳,大鼠尾部负重 2% 体重,在自制的透明玻璃游泳缸中游泳,游泳缸长、宽、高分别为 60cm、50cm、70cm,直至 10s 内头部不能露出水面。每天 1 次,持续 7d。正常对照组不游泳。每天游泳前灌胃给药 1 次,正常组和力竭模型组给予生理盐水 15ml · kg⁻¹,芒果苷低、中、高剂量组给予芒果苷 0.78、1.56、3.12mg · kg⁻¹(芒果苷给药剂量参考文献^[10],并结合前期预实验确定)。

2.2 血流动力学与氧化应激指标检测 最后一次力竭游泳后,腹腔注射 7% 水合氯醛 0.5ml · 100g⁻¹麻醉大鼠,参考文献^[11]手术插管,通过 BL - 420F 生物机能实验系统记录等容收缩期左心室内压力上升的最

大速率(+ dp/dt_{max})、等容舒张期左心室压力下降的最大速率(- dp/dt_{max})、左心室收缩压(LVSP)和左室舒张末压(LVEDP)。每只大鼠测定 5 次,每次 10s,计算平均值。测定后颈动脉取血,离心血清,置于 4℃ 中保存,待测。取心肌组织块,在冰生理盐水中匀浆。按照试剂盒说明书测定血清和组织匀浆中 MDA、SOD、GSH - Px 和 NO 的含量。

2.3 统计学方法 采用 SPSS18.0 软件进行统计学分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 One - way ANOVA 单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠血流动力学指标比较 经过 7d 的力竭游泳后,与正常对照组比较,力竭模型组大鼠的 LVSP 显著下降,LVEDP 显著上升(均 $P < 0.01$),而 ± dp/dt_{max} 的绝对值均显著下降($P < 0.05$, $P < 0.01$)。给药 7d 后,与力竭模型组比较,芒果苷 0.78mg · kg⁻¹ 给药组可显著升高模型大鼠的 LVSP 值和 + dp/dt_{max} 值、降低 LVEDP (均 $P < 0.05$);芒果苷 1.56 和 3.12mg · kg⁻¹ 给药组均可显著升高模型大鼠的 LVSP 值和 ± dp/dt_{max} 绝对值、降低 LVEDP 值($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各给药组间存在明显的剂量依赖关系。见表 1。

表 1 芒果苷对力竭运动大鼠血流动力学指标的影响(n = 10, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg · kg ⁻¹)	LVSP (kPa)	LVEDP (kPa)	+ dp/dt _{max} (kPa · s ⁻¹)	- dp/dt _{max} (kPa · s ⁻¹)
正常对照组	-	18.55 ± 2.64	1.08 ± 0.23	456.48 ± 64.33	-323.48 ± 57.29
力竭模型组	-	10.24 ± 1.41 ^b	2.21 ± 0.33 ^b	359.03 ± 56.27 ^a	-205.64 ± 44.02 ^b
芒果苷	0.78	13.32 ± 2.09 ^c	1.56 ± 0.45 ^c	389.42 ± 60.99 ^c	-215.77 ± 40.36
	1.56	15.35 ± 2.42 ^d	1.17 ± 0.88 ^d	420.01 ± 78.23 ^c	-258.77 ± 53.59 ^c
	3.12	16.88 ± 2.39 ^d	1.15 ± 0.72 ^d	408.92 ± 66.09 ^c	-290.34 ± 50.81 ^d

注:与正常组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与模型组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$ 。

3.2 各组大鼠血清 MDA、SOD、GSH - Px 和 NO 含量的比较 与正常对照组比较,力竭模型组大鼠血清 MDA 含量显著升高($P < 0.01$),SOD、GSH - Px 和 NO 含量显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较,芒果苷 0.78mg · kg⁻¹ 给药组可显著降低模型大鼠血清的 MDA 含量($P < 0.05$),升高大鼠血清 GSH -

Px 和 NO 含量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);芒果苷 1.56 和 3.12mg · kg⁻¹ 给药组均可显著降低模型大鼠血清的 MDA 含量($P < 0.01$),升高大鼠血清 SOD、GSH - Px 和 NO 含量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各给药组间剂量依赖关系与其对血流动力学指标的影响一致。见表 2。

表2 芒果苷对力竭运动大鼠血清MDA、SOD、GSH-Px和NO含量的影响(n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg · kg ⁻¹)	MDA (nmol · mL ⁻¹)	SOD (U · mL ⁻¹)	GSH-Px (U)	NO (μmol · L ⁻¹)
正常对照组	-	6.81 ± 1.22	221.54 ± 33.46	210.51 ± 22.58	61.08 ± 10.23
力竭模型组	-	13.95 ± 4.26 ^b	159.08 ± 30.75 ^a	102.65 ± 10.46 ^b	28.46 ± 4.33 ^b
芒果苷	0.78	10.28 ± 3.36 ^c	152.77 ± 31.38	189.27 ± 15.34 ^d	35.56 ± 6.45 ^c
	1.56	9.09 ± 3.48 ^c	180.22 ± 36.85 ^c	185.35 ± 17.62 ^d	41.17 ± 6.88 ^d
	3.12	7.71 ± 3.20 ^d	188.43 ± 33.01 ^c	200.82 ± 22.25 ^d	51.35 ± 8.72 ^d

注:与正常组比较,^aP<0.01,^bP<0.01;与模型组比较,^cP<0.05,^dP<0.01。

3.3 各组大鼠心肌组织匀浆MDA、SOD、GSH-Px和NO含量的比较 与正常对照组比较,力竭模型组大鼠心肌组织匀浆中MDA含量显著升高(P<0.01), SOD、GSH-Px和NO含量显著降低(均P<0.01)。与模型组比较,芒果苷各给药组氧化应激指标均有所改善,且存在明显的剂量依赖关系。见表3。

表3 芒果苷对力竭运动大鼠心肌组织匀浆中MDA、SOD、GSH-Px和NO含量的影响(n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg · kg ⁻¹)	MDA (nmol · mg ⁻¹)	SOD (U · mg ⁻¹)	GSH-Px (U · mg ⁻¹)	NO (μmol · mg ⁻¹)
正常对照组	-	2.54 ± 0.52	271.38 ± 46.05	26.14 ± 5.13	5.08 ± 0.89
力竭模型组	-	6.04 ± 1.50 ^a	139.04 ± 28.09 ^a	10.79 ± 2.11 ^a	3.22 ± 0.66 ^a
芒果苷	0.78	5.78 ± 1.33	179.33 ± 30.07 ^b	22.49 ± 4.10 ^c	3.92 ± 0.45 ^b
	1.56	3.58 ± 0.71 ^c	199.78 ± 35.04 ^c	23.04 ± 3.71 ^c	4.10 ± 0.84 ^b
	3.12	3.04 ± 0.51 ^c	195.47 ± 27.45 ^c	25.90 ± 4.57 ^c	4.58 ± 0.75 ^c

注:与正常组比较,^aP<0.01;与模型组比较,^bP<0.05,^cP<0.01。

4 讨论

强迫游泳加负重可以让大鼠在短时间内达到力竭的要求,与大鼠跑台跑步同为力竭运动的主要模型。本研究结果表明,通过持续7d,每天1次的力竭游泳,可以使大鼠血流动力学出现典型的病理改变,其LVSP显著下降、LVEDP显著上升、而±dp/dtmax的绝对值均显著下降,提示造模成功,这一结果与文献报道一致^[1]。芒果苷高、中剂量给药组均可显著升高模型大鼠的LVSP值和±dp/dtmax绝对值、降低LVEDP值,表明芒果苷3.12和1.56mg · kg⁻¹能够有效改善大鼠力竭运动的血流动力学变化,可用于运动型心律失常药物的开发。

生物体内自由基作用于脂质的过程会形成脂质过氧化物如MDA,其水平的高低可以反映出体内脂质过氧化的程度,间接地反映出细胞损伤的程度。SOD是生物体内重要的内源性抗氧化酶,可以清除

体内的氧自由基,使自由基不能与膜脂质和膜蛋白进行反应而破坏肝细胞,其含量的变化可作为衡量组织损伤程度的指标之一^[12]。GSH-Px是机体内广泛存在的一种过氧化物分解酶,分子中所含的结合硒可使有毒的过氧化物还原成无毒的羟基化合物,从而保护细胞膜的结构及功能不受过氧化物的损害。NO在体内具有广泛的生理作用,机体内多出的氧自由基如超氧阴离子等能灭活NO^[13]。多项研究表明氧化应激系统与血流动力学有直接的关系,降低MDA水平、提高SOD、GSH-Px、NO等的含量可以防止心肌超微结构恶化,改善心脏血流动力学指标^[11,13]。本研究显示芒果苷高、中剂量给药组可显著降低模型大鼠血清和心肌组织的MDA含量,升高SOD、GSH-Px和NO含量,表明其可以通过改善心脏和整体的氧化应激系统,从而改善力竭运动模型大鼠的血流动力学。

力竭运动后,体内的多项指标发生变化,如心肌损伤标志物肌酸激酶同工酶CK-MB和人心肌肌钙

蛋白 TNNI3 显著升高^[1]。力竭游泳还会引起大鼠心肌相对或绝对的缺血缺氧,致使线粒体 ATP/ADP 比值下降,并最终导致线粒体肿胀^[15]。本研究仅对力竭运动后氧化应激系统与血流动力学的关系进行了探讨,芒果苷对力竭运动后大鼠血流动力学的改善作用机制,还有待进一步深入的研究。

参考文献

[1]余冬敏.力竭游泳应激致大鼠心肌损伤的实验研究[M].南方医科大学,2014.
 [2]Calvo N,Brugada J,Sitges M,et al. Atrial fibrillation and atrial flutter in athletes[J]. Br J Sports Med,2012,46(1):137-143.
 [3]Abdulla J,Nielsen JR. Is the risk of atrial fibrillation higher in athletes than in the general population A systematic review and meta-analysis[J]. Europace,2009,11:1156-1159.
 [4]Grimsjo J,Grundvold I,Maehlum S,et al. American High prevalence of atrial fibrillation in long-term endurance crosscountry skiers echocardiographic findings and possible predictors a28-30years follow-up study[J]. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil,2010,17:100-105.
 [5]熊延连,熊艳蕾,李遥金,等.力竭运动诱导的氧化应激对大鼠红细胞 Band 3 蛋白的影响及其机制探讨[J]. 中国细胞生物学学报,2014,36(5):617-623.
 [6]Jhoany AE,LauroN PA,Daniel AG,et al. Study of the Leaching Process from Stem Bark of Mangifera indica L[J]. Lat Am J Pharm,2009,28(1):

27-31.
 [7]任晓光,李东伟,何彩梅,等.芒果苷药理活性研究进展[J].中成药,2011,33(5):860-863.
 [8]韦健全,郑子敏,潘勇.芒果苷对异丙肾上腺素诱发小鼠心肌缺血的保护作用[J].中药药理与临床,2008,24(2):16-18.
 [9]常芸,杨红霞,王菲.力竭运动对大鼠心脏传导系统 ICAM-1 的影响[J].中国运动医学杂志,2015,34(4):334-340.
 [10]牛艳芬,高丽辉,刘旭,等.芒果苷对氧嗪酸钾所致慢性高尿酸血症大鼠尿酸及肝肾功能的影响[J].中国药理学通报,2012,28(11):1578-1581.
 [11]甘受益,黄俊,李宾,等.二苯乙炔苷对实验性糖尿病大鼠心脏血流动力学和氧化应激的影响[J].现代中西医结合杂志,2012,21(1):30-32.
 [12]Ahmed MN,Zhang Y,Codipilly C,et al. Extracellular superoxide dismutase overexpression can reverse the course of hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. Molecular Medicine,2012,18(1):38-46.
 [13]Dierk H. Endemann, Ernesto L. Schiffrin. Nitric oxide, oxidative excess, and vascular complications of diabetes mellitus[J]. Curr Hypertens Rep,2004,6(2):85-89.
 [14]薛华,乔进,孟国梁,等.灵芝多糖对2型糖尿病大鼠血流动力学及氧化应激的影响[J].中国中药杂志,2010,35(3):339-343.
 [15]Juhaszova M,Zorov DB, Kim SH, et al. Glycogen synthase kinase-3beta mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore[J]. J Clin Invest,2004,113(11):1535-1549.

(上接第64页)

7天前无明显诱因服安定入睡后仍易醒,醒后难再入睡。近日精神萎靡、头晕健忘、双目干涩,四肢欠温,害怕空调,纳差,二便尚调,舌淡,苔薄白,脉细数。诊断:失眠。辨证:思虑伤神、心肾不交。治疗:针刺足三里、三阴交,足三里、三阴交温针灸,涌泉穴施大炮灸,30min。

2015年7月16日复诊:患者诉近两日入睡时间提前,夜间苏醒次数减少(具体不详)。治疗:同前。后因患者家住外地就诊不便,嘱患者以大炮灸灸涌泉,30min/次,2~3次/周。2个月后带亲友就诊,诉其已无需服用安定,可自主入睡,偶因情绪刺激难入睡。

3.2 讨论 郑教授认为火不归元之病症虽多为肾中元阳无力镇守,阳消阴长而致阴盛阳虚之症;亦有阳虚日久损耗阴液而出现阴虚火旺之象。故郑教授临证选穴施针时,除通过引火归元灸温煦元阳,常佐以温针灸太溪、三阴交以滋阴降火,使得浮越之虚火得以下行,同时下焦阴水能上润清窍,使水火既济,阴阳调和,共奏引火下行之效。

笔者在跟随郑教授门诊时所接诊患者常见上热

下寒、虚实夹杂之质。若单纯予以艾灸中焦或温针灸,常因禀赋各异,灸疗时间把握不当而发生灸疗不当所致上焦热盛,故常佐以引火归元灸。因艾灸涌泉穴不仅可将浮越上行之火下引,又将涌泉之肾水升发蒸腾以滋养上焦,从而达到潜藏浮越龙雷之火、温阳益肾之效。正如祝味菊^[5]所言“阳不嫌多,以潜为贵”,艾灸涌泉具有温煦固摄元阳的作用,因而“引火归元灸”疗法可奏温补肾阳、引龙雷之火下行之效,对于上盛下虚等火不归元之候其效尤佳,值得继续进行相关研究并予以临床推广。

参考文献

[1]赵红霞,高琳,杨桢.热敏通道理论与引火归元[J].中国中医基础医学杂志,2014,20(11):1507-1509.
 [2]周仲瑛.国医大师周仲瑛[M].北京:中国医药科技出版社,2011:37-38.
 [3]邱仙灵.涌泉穴的临床应用[J].中国针灸,1996,16(1):29.
 [4]吴元祥,仲润生.引火归元敷涌泉[J].江西中医药,2002,33(6):26.
 [5]吴焕淦,刘立公,陈跃来,等.灸法的继承与创新[J].上海针灸杂志,2007,26(12):39-41.