

丹参酮 II A 磺酸钠对高温环境下力竭运动后骨骼肌的保护作用研究*

刘晓梅,姜桂萍[△],李大威
(哈尔滨学院体育学院,哈尔滨 150086)

[摘要] **目的** 分析丹参酮 II A 磺酸钠对高温环境下力竭运动后大鼠骨骼肌的保护作用。**方法** 将 90 只大鼠分为观察组、空白组、对照组,每组 30 只。空白组大鼠不接受任何干预处理;观察组和对照组大鼠在高温环境下力竭运动干预,对照组大鼠在高温环境下力竭运动处理后 5 h 经股静脉注射生理盐水 8 mL/kg,观察组经股静脉注射丹参酮 II A 磺酸钠 40 mg/kg。各组大鼠处死前经尾动脉采集动脉血,同时将大鼠右腿腓肠肌取下冻存。检测大鼠血清肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)活性,TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平,以及骨骼肌中丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)水平;观察各组大鼠骨骼肌标本进行切片 HE 染色后的形态学变化。**结果** 观察组大鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平和 CK、LDH 活性均明显低于对照组,高于空白组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。观察组大鼠骨骼肌 MDA、SOD、GSH-PX 水平与其他两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。对照组大鼠骨骼肌结构紊乱,肌细胞核分布不均匀;空白组大鼠骨骼肌结构正常,肌细胞核分布均匀;观察组大鼠骨骼肌形态结构正常,但是肌细胞核分布稍显不均匀。**结论** 丹参酮 II A 磺酸钠可以有效保护在高温环境下力竭运动后的骨骼肌。

[关键词] 丹参酮 II A 磺酸钠;力竭运动;高温

[中图分类号] G861.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)15-2001-03

Protective effect of tanshinone II A sodium sulfonate on skeletal muscle after exhaustive exercise in high temperature environment*

LIU Xiaomei, JIANG Gui ping[△], LI Dawei

(Sports School, Harbin College, Harbin, Heilongjiang 150086, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the protective effect of tanshinone II A sodium sulfonate on rat skeletal muscle after exhaustive exercise in high temperature environment. **Methods** Ninety rats were divided into the observation group, blank group and control group, 30 cases in each group. The rats in the blank group received no intervention, while which in the observation group and control group received the exhaustive exercise intervention under high temperature environment. The rate in the control group was injected with 8 mg/kg normal saline by femoral vein at 5 h after exhaustive exercise under high temperature environment, while which in the observation group was injected with 40 mg/kg tanshinone II A sodium sulfonate by femoral vein. The arterial blood in each group was collected by tail vein before killing the rat, and the right leg gastrocnemius muscle of each group was removed and frozen. The serum CK, LDH activity, TNF- α , IL-6, IL-1 β , MDA, SOD and GSH-PX levels in skeletal muscles were examined. The rat skeletal muscle samples were conducted the HE staining for observing the morphological change. **Results** The levels of serum TNF- α , IL-6 and IL-1 β and activity of CK and LDH in the observation group were significantly lower than those in the control group, while higher than those in the blank group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The skeletal muscle MDA, SOD and GSH-PX levels had statistical difference between the observation group and other two groups ($P < 0.05$). The skeletal muscle structure was disordered, and the distribution of muscle nuclei was uneven. The structure of rat skeletal muscle in the blank group was normal, and the muscle nuclei were evenly distributed. The morphology and structure of skeletal muscle in the observation group were normal, but the distribution of muscle nuclei was slightly uneven. **Conclusion** Tanshinone II A sodium sulfonate can effectively protect skeletal muscle after exhaustive exercise in high temperature environment.

[Key words] tanshinone II A sodium sulfonate; exhaustive exercise; high temperature

* 基金项目:黑龙江省高等教育教学改革一般研究项目(SJGY20170242);2017 年度哈尔滨学院教师教学发展基金项目(JFQJ2017002);“十三五”教育科学规划教育部重点课题(DLA170390)。 作者简介:刘晓梅(1960—),副教授,本科,主要从事运动与健康研究。 [△] 通信作者, E-mail:75016802@qq.com。

高温环境下力竭运动对身体存在极大损伤,容易导致热射病,会对机体产生许多较为严重的影响,其对于骨骼肌的影响是首当其冲的^[1]。丹参酮 II A 磺酸钠是一种从传统中药丹参里提取出来的有效物质丹参酮 II A 磺化后得到的药物,它已经被广泛应用于冠心病治疗中^[2]。丹参酮 II A 磺酸钠是一种具有高效抗炎、抗氧化、抑制凋亡的药物^[3],但是目前尚未发现研究该药物对高温环境下力竭运动后损伤的骨骼肌的保护作用,本文拟对此进行研究。

1 材料与方 法

1.1 材 料 90 只 SPF 级的 SD 雄性大鼠,体质量 210~250 g,由中科院上海实验动物中心提供。血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的 ELISA 试剂盒购自美国 R&D 公司, BECKMANCX-5 全自动生化分析仪, MDA、SOD 和 GSH-PX 检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所提供, TECAN infinite M200 型酶标仪,丹参酮 II A 磺酸钠(含量 96%)购自宝鸡市方晟生物开发有限公司。

1.2 方 法

1.2.1 分 组 与 建 模 将大鼠分为观察组、对照组、空白组,每组 30 只。实验开始前将所有大鼠饲养于 25 $^{\circ}\text{C}$ 环境 1 周。观察组和对照组大鼠置于高温模拟动物训练舱中,温度(38 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$,采用转棒力竭运动的方式对大鼠进行干预^[4],当大鼠出现呼吸深急、心率加快、无逃避反射、四肢下垂后认为大鼠力竭,将大鼠从训练舱中取出^[5]至室温 27 $^{\circ}\text{C}$ 的环境中休息恢复。对照组大鼠在高温环境下力竭运动处理后 5 h 经股静脉注射生理盐水 8 mL/kg,观察组经股静脉注射丹参酮 II A 磺酸钠 40 mg/kg,5 h 后处死大鼠^[6-8]。空白组大鼠不接受任何干预处理,处死时间与其他两组相同。3 组大鼠在处死前首先接受尾动脉采集动脉血,处死后将大鼠置于冰面上将右腿腓肠肌取下冻存。

1.2.2 检 测 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平及 CK、LDH 活 性 大鼠动脉血经过离心后取上层血清,具体操作方法按照试剂盒说明书进行。每个酶标包被板孔中加入 10 μL 血清和 40 μL 稀释液,而后在 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育 30 min,洗涤,加入酶标试剂 50 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,洗涤,最后加入显色剂避光孵育 15 min,终止反应,在 450 nm 波长下采用分光光度计检测光密度(OD)值。将血清标本使用 BECKMANCX-5 全自动生化分析仪进行检测血清中 CK 和 LDH 活性。

1.2.3 检 测 MDA、SOD 和 GSH-PX 水平 大鼠腓肠肌经冰冻处理后,具体操作按照试剂盒说明执行,所有检测均采用 TECAN infinite M200 型酶标仪。将大鼠腓肠肌 20 mg 加入 200 μL 样品匀浆液在冰浴中磨成匀浆取上清,分别加入不同反应物,在酶标仪下检测 MDA、SOD、GSH-PX 水平。

1.2.4 大 鼠 骨 骼 肌 HE 染 色 将部分大鼠腓肠肌从

大鼠上取下,使用福尔马林溶液固定,然后按照常规方法脱水,使用石蜡包埋,而后切片,HE 染色。

1.3 统 计 学 处 理 采用 SPSS20.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各 组 大 鼠 血 清 炎 症 因 子 水 平 空白组大鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 均明显低于其他两组($P<0.05$),观察组均明显低于对照组($P<0.05$),见表 1。

表 1 各 组 大 鼠 血 清 中 炎 症 因 子 水 平 ($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

组别	n	TNF- α	IL-6	IL-1 β
对照组	30	89.63 \pm 7.56	359.65 \pm 10.23	301.23 \pm 9.63
观察组	30	35.26 \pm 6.52	82.36 \pm 6.12	45.36 \pm 5.23
空白组	30	20.15 \pm 3.25	35.36 \pm 6.23	32.66 \pm 3.25

2.2 各 组 大 鼠 血 清 CK 及 LDH 活 性 空白组大鼠血清 CK 及 LDH 活性明显低于对照组和观察组($P<0.05$),观察组均低于对照组($P<0.05$),见表 2。

表 2 各 组 大 鼠 动 脉 血 清 中 CK 及 LDH 活 性 ($\bar{x}\pm s$)

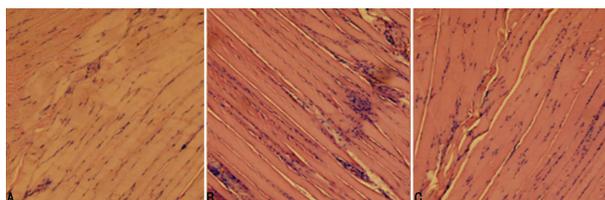
组别	n	CK(ng/mL)	LDH(U/L)
对照组	30	156.45 \pm 15.78	1 650 \pm 45.26
观察组	30	95.38 \pm 9.56	641 \pm 40.33
空白组	30	85.12 \pm 10.23	405 \pm 35.69

2.3 各 组 大 鼠 肌 肉 MDA、SOD 和 GSH-PX 水 平 空白组大鼠 MDA 明显对对照组和观察组($P<0.05$),SOD 和 GSH-PX 明显高于对照组和观察组($P<0.05$)。观察组大鼠 MDA 明显低于对照组,SOD 和 GSH-PX 明显高于对照组($P<0.05$),见表 3。

表 3 各 组 大 鼠 骨 骼 肌 中 MDA、SOD 和 GSH-PX 水 平

组别	n	MDA(nmol/mg)	SOD(U/mg)	GSH-PX(U/mg)
对照组	30	12.23 \pm 1.09	21.89 \pm 2.23	10.52 \pm 3.03
观察组	30	3.15 \pm 0.53	52.49 \pm 9.32	25.39 \pm 4.55
空白组	30	2.12 \pm 0.23	67.89 \pm 5.36	32.56 \pm 5.23

2.4 各 组 大 鼠 骨 骼 肌 形 态 学 变 化 对照组大鼠骨骼肌细胞排列紊乱,细胞核分布不均匀;观察组大鼠骨骼肌细胞排列规则但是肌细胞核分布稍显不均匀;空白组大鼠骨骼肌细胞规则,肌细胞核分布均匀,见图 1。



A: 对 照 组; B: 观 察 组; C: 空 白 组

图 1 各 组 大 鼠 骨 骼 肌 形 态 学 (HE \times 100)

3 讨 论

不少的文献已经证实丹参酮 II A 磺酸钠是一种具有抗炎抗氧化应激^[9], 抑制细胞凋亡, 保护血管内皮等作用的药物, 高温环境下的力竭运动会引起机体氧化应激炎症反应, 因此从理论上运用丹参酮 II A 磺酸钠保护高温环境下力竭运动受损的骨骼肌是可行的。

高温环境下力竭运动会导致多种机制造成细胞损伤^[10-12]。主要是通过氧化应激对骨骼肌造成损伤^[13-15]。本研究发现, 相对于空白组, 对照组和观察组大鼠外周血血清的各类炎症因子和 CK、LDH 活性均显著增高。这说明高温环境下的力竭运动主要是通过引发机体炎症的方式来导致骨骼肌损伤的。对照组的外周血血清的各类炎症因子和 CK、LDH 活性均显著高于观察组, 说明使用的丹参酮 II A 磺酸钠可以通过有效的抑制炎症反应来保护骨骼肌免受高温和力竭运动的损伤。

本研究发现, 与空白组比较, 对照组和观察组大鼠骨骼肌 MDA、SOD、GSH-PX 也存在明显的变化。在机体中起着重要的抗氧化作用的 SOD 和 GSH-PX, 在观察组和对照组大鼠骨骼肌中明显下降, 但是提示氧化应激的 MDA 却显著升高。这说明高温环境下的力竭运动会导致骨骼肌内的氧化应激和抗氧化应激系统的失衡。笔者还发现使用丹参酮 II A 磺酸钠的观察组大鼠骨骼肌 SOD 和 GSH-PX 显著高于对照组, 而 MDA 却显著低于对照组。这说明丹参酮 II A 磺酸钠还存在着抗氧化应激的作用。有不少文献已经提及过丹参酮 II A 磺酸钠存在扩张外周血管, 增加外周组织血供, 降低外周组织因为缺血缺氧而导致损伤的风险。同时, 丹参酮 II A 磺酸钠还是一种极好的抗氧化应激的药物, 它具有清除氧自由基, 加速坏死细胞产物排除, 抑制细胞凋亡等作用。

本研究虽然证实了丹参酮 II A 磺酸钠可以通过抑制炎症反应, 抗氧化应激的作用保护高温环境下力竭运动受损的大鼠骨骼肌, 但是尚未在人体中应用, 同时也未做进一步机制研究^[16-19]。

参考文献

[1] 陈婷, 张治远, 张月娟. 高温预处理对力竭运动后人血液白细胞 HSP70mRNA 及自由基代谢的影响[J]. 河北体育学院学报, 2016, 30(4): 74-82.

[2] 徐金成, 李爱萍, 崔书强, 等. 高温环境下急性力竭运动对大鼠下丘脑单胺类神经递质的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2012, 31(12): 1087-1091.

[3] 陈勇, 李彩蓉, 蔡飞. 丹参酮 II A 磺酸钠对糖尿病大鼠肾

脏 SIRT1 和 FoxO1 蛋白的影响[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(1): 47-50.

[4] 池爱平, 郭欢欢. 五味子多糖对高温环境中游泳训练小鼠运动能力的影响[J]. 辽宁体育科技, 2015, 37(6): 48-51.

[5] 赵志芳, 杨敏, 赵楠, 等. 枸杞多糖对高温环境下力竭运动大鼠胸主动脉血管反应性及自由基代谢的影响[J]. 宁夏医科大学学报, 2013, 35(5): 481-484.

[6] 张文光, 俞向梅, 王志福, 等. 3 种不同剂量丹参酮 II A 磺酸钠对力竭运动大鼠心肌组织的作用[J]. 中国医药科学, 2012, 21(2): 32-34.

[7] 张俐, 林庆宾. 丹参及丹参酮 II A 磺酸钠对脊髓缺血再灌注损伤 IL-1 β , ICAM-1 及 MPO 表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(8): 2042-2047.

[8] 白凤鸣. 丹参酮 II A 磺酸钠的临床应用进展[J]. 中国药房, 2012, 23(31): 2971-2973.

[9] 唐新军. 丹参酮 II A 磺酸钠注射液治疗冠心病心绞痛(血瘀证)的临床研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.

[10] 董柔, 封文平, 曾凡星, 等. 热习服对高温力竭运动大鼠体液调节激素及下丘脑抗利尿激素合成的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2012, 31(11): 983-987, 993.

[11] 陈小琼, 肖国强. 长期高温预处理对力竭运动后 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. 体育学刊, 2010, 17(10): 109-112.

[12] 李爱萍, 崔书强, 徐金成, 等. 高温环境下急性力竭运动对大鼠心肌 HSP70 及血浆心钠素的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2010, 29(2): 188-191.

[13] 左科泽. 高温高湿环境下自行车运动后碳酸水冷疗对运动性疲劳恢复影响的研究[D]. 北京: 首都体育学院, 2016.

[14] 李玉祥, 陈新民, 梁涵, 等. 不同热习服条件对大鼠湿热环境下运动能力的影响[J]. 海军医学杂志, 2016, 37(1): 4-8.

[15] 张念云, 张蕴琨. 热环境对力竭游泳运动恢复期大鼠下丘脑细胞外液单胺类神经递质的影响[J]. 体育科研, 2013, 34(3): 50-54.

[16] 李静, 魏海田, 高珊珊, 等. 丹参酮 II A 磺酸钠注射液治疗老年不稳定型心绞痛的系统评价[J]. 中国医院用药评价与分析, 2017, 32(9): 1234-1237.

[17] 张维新, 肖翔宇, 陈文龙. 丹参酮 II A 磺酸钠在百草枯中毒中的心肌保护作用[J]. 江西医药, 2017, 35(9): 844-847.

[18] 朱玉江, 邢晓龙, 王西辉. 围手术期应用丹参酮 II A 磺酸钠对冠心病心绞痛介入治疗患者术后预后的影响[J]. 河北医学, 2017, 23(8): 1284-1288.

[19] 何卫平, 王怡进, 汪慧卉. 丹参酮 II A 磺酸钠注射液辅助治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病的效果[J]. 实用临床医学, 2017, 18(7): 20-21, 24.