

· 基础研究 ·

红景天苷对负性心理应激下高强度运动大鼠糖代谢及炎症因子水平的影响

彭 丽, 王扬天, 王 群, 孙玲君, 王 坚, 李 洁

(南京军区南京总医院内分泌科, 南京 210002)

【摘要】目的 通过红景天苷对负性心理应激下模拟航渡及高强度运动大鼠的干预, 观察干预后大鼠糖代谢及相关炎症因子水平。**方法** 将 6 周龄的 SD 雄性大鼠随机分为静息对照组 (A 组)、训练对照组 (B 组) 和红景天苷干预组 (C 组)。每组 10 只, A 组不接受任何刺激, 生理盐水灌胃 1 周后即进行取样, B、C 组大鼠经过 10d 递增负荷跑台训练, 分别用生理盐水及红景天苷灌胃 1 周后, 进行模拟航渡及高强度运动, 结束即刻取血, 测定血糖, 并应用酶联免疫吸附分析 (ELISA) 双抗体夹心法测定相关炎症因子超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP), 肿瘤坏死因子 α (TNF- α), 白细胞介素 6 (IL-6), 内皮素 1 (ET-1) 水平。**结果** 与 A 组相比, B 组血糖和炎症因子 hs-CRP, TNF- α , IL-6, ET-1 水平均显著升高 ($P < 0.05$); C 组的血糖显著升高 ($P < 0.05$), 而 hs-CRP, IL-6, ET-1 水平均显著降低 ($P < 0.05$); 与 B 组相比, C 组 hs-CRP, TNF- α , IL-6, ET-1 水平均显著降低 ($P < 0.05$), 血糖也有降低的趋势。**结论** 负性心理应激及大强度的运动训练使大鼠糖代谢紊乱, 大鼠机体炎症反应增加, 炎症因子生成增多, 红景天苷能降低应激大鼠机体炎症因子生成, 从而改善糖代谢, 增强大鼠的抗应激能力。

【关键词】 大鼠; 红景天苷; 碳水化合物代谢; 炎症因子

【中图分类号】 R589.1

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2012.00240

Effect of salidroside on carbohydrate metabolism and serum levels of inflammatory cytokines in rats under negative psychological stress induced by experimental navigation and intensive exercise

PENG Li, WANG Yangtian, WANG Qun, SUN Lingjun, WANG Jian, LI Jie

(Department of Endocrinology, Nanjing General Hospital, Nanjing Military Command, Nanjing 210002, China)

【Abstract】 Objective To determine the effects of salidroside on the carbohydrate metabolism and the serum levels of inflammatory cytokines in rats under negative psychological stress induced by experimental navigation and intensive exercise. **Methods** A total of 30 6-week Sprague-Dawley rats (SD rats) were randomly and equally allocated into 3 groups, quiescent control group (group A), training control group (group B) and salidroside treatment group (group C). Rats from group A received no stimulation, and administered a 7-day intragastrical injection of normal saline. Rats from group B underwent a 10-day run training with increasing load on treadmill and received 7-day intragastrical administration of normal saline. Group C were subjected to the same procedure of run training as group B, and received 7-day intragastrical administration of 0.4g/kg salidroside. Then, all the rats underwent experimental navigation and intensive exercise. Blood samples were immediately obtained for detection of blood glucose and the levels of inflammatory response-related cytokines, high sensitive-C reactive protein (hs-CRP), tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin 6 (IL-6), and endothelin 1 (ET-1) by ELISA. **Results** As compared with group A, the levels of blood glucose, hs-CRP, TNF- α , IL-6, ET-1 was significantly increased in group B ($P < 0.05$), while, the levels of blood glucose was significantly increased ($P < 0.05$), and those of hs-CRP, IL-6, and ET-1 were significantly decreased in group C ($P < 0.05$). The levels of hs-CRP, TNF- α , IL-6, ET-1 in group C were also significantly decreased than in group B ($P < 0.05$). The level of blood glucose in group C showed a decreasing tendency. **Conclusion** Negative psychological stress and intensive exercise lead to disorders of glucose metabolism and increase the production of inflammatory cytokines in rats. Salidroside therapy reduces the levels of blood glucose and inflammatory cytokines in rats under stress, and thus improve glucose metabolism and enhances anti-stress capacity.

收稿日期: 2012-07-24; 修回日期: 2012-11-10

基金项目: 南京军区“十一五”面上课题 (06MA132)

通讯作者: 李 洁, Tel: 025-80861049, E-mail: happypeng1193@yahoo.com.cn

【Key words】 rat; salidroside; carbohydrate metabolism; inflammatory cytokines

This work was supported by the General Projects of "Eleventh Five-year Plan" of Nanjing Military Command (06MA132).

负性心理因素及高强度运动是一种复合应激,可以增加机体的炎症反应,产生大量的炎症因子,对机体的神经、内分泌及免疫系统产生多方面的损伤^[1,2]。药物治疗一直是提高机体抗应激水平的重要方式。红景天是我国传统的药用植物,具有抗疲劳、抗应激、抗炎、抗氧化、增强免疫功能等作用^[3-5]。本文通过红景天主要活性成分之一红景天苷对模拟航渡及高强度运动大鼠的干预,观察大鼠糖代谢及体内炎症因子超敏 C 反应蛋白 (high sensitive-C reactive protein, hs-CRP), 肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α), 白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6), 内皮素 1 (endothelin 1, ET-1) 水平的变化,以了解红景天苷对应激大鼠机体炎症反应及糖代谢的调节作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

清洁级 SD 大鼠 40 只,雄性,体质量 (140 ± 20) g, 约 6 周龄 (由南京军区南京总医院比较动物科提供),适应性喂养 1 周后,对所有大鼠进行跑台筛选,筛选出 30 只 SD 大鼠随机分为:静息对照组 (A 组),训练对照组 (B 组),红景天苷干预组 (C 组),每组各 10 只。

1.2 大鼠心理-运动应激模型的建立

A 组根据标准啮齿类动物维持期常规饲养,室内温度 $20^{\circ}\text{C} \sim 24^{\circ}\text{C}$,湿度 50%~70%,12h 交替照明。B 组和 C 组大鼠进行跑台 (杭州段式 PT-98 型大鼠跑台) 训练,首先两组大鼠进行 3d 的适应性训练,跑台速度为 15m/min,坡度为 0° ,每天 1 次,每次训练 20min。之后,隔天训练 1 次,跑速由 15m/min 逐渐增加至 26.8m/min,每天训练时间由 20min 逐渐增加至 60min,最后两次坡度由 0° 改为 5° ,总共训练 10d。适应性训练 3d 后每天早晚对 C 组大鼠按 0.4g/kg 体质量给药剂量灌服中药红景天苷。A 组和 B 组早晚灌服约 2ml 的生理盐水各一次,给药时间共 1 周。红景天苷购自杭州绿天生物技术有限公司 (货号: A0076),将 900 mg 红景天苷溶于 100 ml 蒸馏水中,配制成无色透明的红景天苷溶液。高效液相色谱法检测纯度达 90% 以上。

B 组和 C 组于灌胃 1 周后,第 2 天晨 7:00 将

它们置于定制的木质船模型 ($0.5\text{m} \times 1.0\text{m}$) 中,再将木船置于 $1.8\text{m} \times 2.3\text{m}$ 充气水池中,由定制的机械使动式造浪器调节造浪强度至木船产生约 $\pm 15^{\circ}$ 的摇摆度及 360° 的旋转,进行历时 180min 的水上漂浮模拟航渡,结束后立即继续 180min 跑台奔跑,根据 Bedford 国际公认的力竭动物模型等——运动强度与最大耗氧量关系的研究^[6],跑台速度设为 26.8m/min,坡度为 5° 。若跑台运动时大鼠提前出现力竭症状,即不能坚持负荷跑速,滞留跑道后 1/3 处达 3 次以上,刺激驱赶无效,则提前处死 (B 组和 C 组分别 1 只提前 6min 处死)。整个实验期间禁食、水,并于间隔 0.75 m 处给予无生理伤害性土猫惊吓及 100dB 左右的枪炮声作为心理应激。整个实验结束后即刻进行腹腔麻醉及取样。

1.3 取样

A 组于生理盐水灌胃 1 周后进行取样,而 B 组及 C 组于模拟航渡及高强度运动结束后即刻取样。首先采用氯胺酮 ($10\text{mg}/100\text{g}$) 腹腔麻醉,心脏静脉窦取血 5ml,置于离心管内,室温下 2500 r/min 离心 20min,制备血清 20°C 保存,应用酶联免疫吸附分析 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 双抗体夹心法测定 hs-CRP, TNF- α , IL-6, ET-1。hs-CRP, TNF- α , IL-6, ET-1 试剂盒由南京建成生物工程公司提供。检测方法参照试剂盒说明。血糖水平由 HITACHI7180 血液生化检测仪分析,相关检测试剂均为配套产品。

1.4 统计学处理

统计分析使用 SPSS13.0 版统计分析软件完成。所有数值均以均数 $\pm$ 标准差表示,两组之间的比较采用独立样本 t 检验分析;组间两两比较采用 One-Way ANOVA 进行比较,组间多重比较采用 LSD- t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠行为学表现

各组大鼠灌胃前后精神状态好,皮毛光滑,未见任何不良反应。参加模拟航渡后,大鼠出现皮毛耸立,双上肢离地直立、抚面现象显著增多,30min 后逐渐转为活动迟钝,多呈睡眠状。整个实验结束后,所有大鼠表现为神态倦怠、眼神黯淡无光,呼吸深急,幅度大。

2.2 各组大鼠血糖、血清 hs-CRP, TNF- α , IL-6 及 ET-1 水平的变化 (表 1)

表 1 结果表明,与 A 组比较, B 组血糖显著升高 ($P < 0.05$), 炎症反应增加, 炎症因子 hs-CRP, TNF- α , IL-6, ET-1 水平均显著增加 ($P < 0.05$); C 组的血糖显著升高 ($P < 0.05$), hs-CRP, IL-6, ET-1 水平均显著降低 ($P < 0.05$); 与 B 组比较, C 组 hs-CRP, TNF- α , IL-6, ET-1 水平均显著降低 ($P < 0.05$), 血糖也有所降低, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

应激时机体表现为神经内分泌系统的改变, 长期处于应激状态可导致机体的糖代谢及免疫反应紊乱, 机体炎症反应增加, 炎症因子生成增多。本实验研究发现应激使大鼠血糖水平明显升高, 而红景天苷干预组可降低应激大鼠的血糖水平。有研究证实^[7]红景天苷可以通过 AMP 激活的蛋白激酶, 刺激骨骼肌细胞对葡萄糖的摄取, 从而达到降低血糖。此外, AMP 激活的蛋白激酶的激活还会增加葡萄糖的转运及胰岛素的敏感性, 改善糖代谢。

本实验模拟了海上航渡的渡海和高强度训练这两个主要过程, 从大鼠的行为学改变和实验数据来看本研究的造模是成功的。在本研究的模拟海上漂浮阶段中, 大鼠受到了紧张、恐惧、强噪音, 眩晕等刺激因素, 大鼠表现出皮毛耸立、双上肢离地直立等探索性行为增多, 呈明显的焦虑状态, 30min 后逐渐转为活动迟钝, 多呈睡眠状, 这与刘民航等^[8]用模拟晕船装置制造大鼠晕船模型中晕船大鼠的行为学表现相似。

红景天为适应原样药物, 有滋补强壮、扶正固本之功效, 其独特的适应原样作用和双向调控作用, 能提高机体对不同刺激的稳定性, 使不同病因引起的异常指标向正常状态转变, 因此在军事医学、航天医学及运动医学上有十分重要的意义^[9]。目前国内外已有许多资料显示, 红景天苷具

有镇静催眠、抗抑郁、消除疲劳、治疗大强度运动及心理应激引起的虚弱无力症状^[10,13]。有研究表明^[14], 负性的心理应激及大强度的运动应激会造成下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴功能减退, 垂体分泌功能衰竭, 灌服红景天苷后能显著提高大鼠垂体、肾上腺激素水平, 增强机体对负性心理应激、疲劳等不利因素的适应性和耐受力。本实验结果显示与训练对照组相比, 灌服红景天苷大鼠组的 hs-CRP, TNF- α , IL-6, ET-1 水平显著降低 ($P < 0.05$), 表明红景天苷可调节免疫功能, 抑制炎症反应, 减少炎症因子的生成, 预防应激对机体内环境稳态的干扰, 防止应激损伤。

hs-CRP 是由肝细胞产生, 在创伤、感染、休克等严重应激下可大量释放, 参与失血、凝血、免疫防御和炎症的过程, 可通过激活细胞因子而诱发全身炎症反应综合征, 导致全身代谢亢进、微血管受损、心肌抑制、血流动力学改变。IL-6 可由 CRP 诱导产生, 具有促进 T、B 淋巴细胞分化, 刺激肝细胞合成急性期反应蛋白, 催化和放大炎症反应和毒性作用, 造成组织细胞的损伤。TNF- α 合成和分泌主要在脂肪组织的巨噬细胞中完成, 肌肉组织和肝组织也能少量表达。在慢性炎症进程中, 由于核因子- κ B 转录活性增强, 促使 TNF- α 的表达增加。其主要功能是激活其他细胞因子 (包括 IL-6、ET-1、hs-CRP 等), 调节细胞的增殖、分化和凋亡。ET-1 是目前发现的作用最强的缩血管物质, 在正常健康人体中, ET-1 的血浆浓度很低, 但应激状态下, 由于炎症反应增加, 炎症因子破坏血管内皮细胞, ET-1 生成增加, 进一步加重血管内皮的损伤。本实验结果显示负性心理应激下高强度运动大鼠在灌服红景天苷后机体的炎症反应降低, 炎症因子 hs-CRP, TNF- α , IL-6, ET-1 水平有明显下降, 糖代谢有所改善。提示红景天苷能降低应激大鼠机体炎症因子生成, 从而改善糖代谢, 增强大鼠的抗应激能力。

综上所述, 红景天苷可改善糖代谢, 降低应激介导的炎症因子水平的升高, 调节心理应激和运动应激所造成神经-内分泌-免疫系统的紊乱, 增强大鼠的抗应激能力。

表 1 各组大鼠血糖、血清 hs-CRP, TNF- α , IL-6 及 ET-1 水平的变化

Table 1 Levels of blood glucose, hs-CRP, TNF- α , IL-6 and ET-1 change in three groups rats ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	血糖(mmol/L)	hs-CRP (μ g/L)	TNF- α (ng/L)	IL-6 (ng/L)	ET-1 (ng/L)
A 组	5.22 $\pm$ 2.13	1.68 $\pm$ 0.28	44.42 $\pm$ 3.11	25.14 $\pm$ 3.25	22.05 $\pm$ 2.98
B 组	9.41 $\pm$ 2.56*	2.14 $\pm$ 0.19*	68.59 $\pm$ 4.90*	57.47 $\pm$ 2.65*	32.21 $\pm$ 3.15*
C 组	8.60 $\pm$ 3.09*	1.45 $\pm$ 0.14**	43.86 $\pm$ 5.27#	21.76 $\pm$ 5.21**	18.16 $\pm$ 4.59**

注: A 组: 静息对照组; B 组: 训练对照组; C 组: 红景天苷干预组; hs-CRP: 超敏 C 反应蛋白; TNF- α : 肿瘤坏死因子 α ; IL-6: 白细胞介素 6; ET-1: 内皮素 1。与 A 组比较, * $P < 0.05$; 与 B 组比较, ** $P < 0.05$

【参考文献】

- [1] Pacák K, Palkovits M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders[J]. *Endocr Rev*, 2001, 22(4): 502-548.
- [2] 李 洁, 王 坚, 赵 旦, 等. 实验性水上漂浮和高强度运动对大鼠下丘脑-垂体-睾丸轴功能的影响[J]. *中华男科学杂志*, 2008, 14(1): 58-61.
- [3] 肖 好, 李绍平, 王一涛. 红景天苷药理研究进展[J]. *实用医院临床杂志*, 2006, 32(3): 98-99.
- [4] 曹立莉, 杜冠华, 王敏伟. 红景天苷减轻叠氮钠诱导线粒体损伤的作用[J]. *药学报*, 2005, 40(8): 700-704.
- [5] Zhang L, Yu H, Sun Y, *et al.* Protective effects of salidroside on hydrogen peroxide-induced apoptosis in SH-SY5Y human neuroblastoma cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 564(1-3): 18-25.
- [6] Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, *et al.* Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures[J]. *Appl Physiol*, 1979, 47(6): 1278-1283.
- [7] Li HB, Ge YK, Zheng XX, *et al.* Salidroside stimulated glucose uptake in skeletal muscle cells by activating AMP-activated protein kinase[J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 588(2-3): 165-169.
- [8] 刘民航, 郭俊生, 李 敏, 等. 大鼠模拟晕船适应过程中血清六种无机元素的变化[J]. *营养学报*, 2005, 27(3): 225-227.
- [9] Li T, Xu G, Wu L, *et al.* Pharmacological studies on the sedative and hypnotic effect of salidroside from the Chinese medicinal plant *Rhodiola sachalinensis*[J]. *Phytomedicine*, 2007, 14(9): 601-604.
- [10] Perfumi M, Mattioli L. Adaptogenic and central nervous system effects of single doses of 3% rosavin and 1% salidroside *Rhodiola rosea* L. extract in mice[J]. *Phytother Res*, 2007, 21(1): 37-43.
- [11] Mattioli L, Perfumi M. *Rhodiola rosea* L. extract reduces stress-and CRF-induced anorexia in rats [J]. *Psychopharmacol*, 2007, 21(7): 742-750.
- [12] 马 莉, 蔡东联, 黎怀星, 等. 红景天苷对小鼠抗疲劳作用的体内研究[J]. *武警医学*, 2007, 18(11): 818-820.
- [13] 耿 欣, 汲晨峰, 季宇彬, 等. 红景天苷对运动疲劳大鼠红细胞膜的影响[J]. *中药药理与临床*, 2008, 24(1): 49-51.
- [14] 王 群, 王 坚, 孙玲君, 等. 红景天苷对负性心理应激下模拟航渡并高强度运动雄性大鼠下丘脑-垂体-性腺轴的调节[J]. *中华男科学杂志*, 2009, 15(4): 331-336.

(编辑: 周宇红)

· 启 事 ·

《第三军医大学学报》征稿、征订启事

《第三军医大学学报》为国内外公开发行的综合性医药卫生类学术期刊, 创刊于 1979 年, 现为半月刊。其复合影响因子 0.800、复合总被引频次 6419 (2010 年《中国学术期刊影响因子年报》), 来稿 2708 篇 (2010 年), 刊稿 877 篇 (2010 年), 平均刊稿时间 (从来稿到刊出) 164 天 (2010 年), 稿件录用率 35% 左右。

《第三军医大学学报》被国内外各大检索系统收录, 两度被评为国家期刊奖百种重点期刊, 为中国科技论文统计源期刊、中国自然科学类核心期刊和中国科学引文数据库 (CSCD) 核心库收录期刊。2008 ~ 2010 年连续 3 年评为“中国百种杰出学术期刊”。

主要栏目有专家述评、专题报道、论著 (军事医学、基础医学、临床医学、药学、预防医学、检验医学、生物医学工程等)、技术方法、研究快报、短篇论著、经验交流、疑难病例、个案与短篇和学术之窗等。

投稿、查询、阅读本刊请登陆 <http://aammt.tmmu.com.cn/>。国内邮发代号: 78-91, 国外邮发代号: M6529。可在当地邮局订阅, 也可来函或致电我刊编辑部办理邮购, 免收邮寄费。联系地址: 重庆市沙坪坝区高滩岩正街 30 号《第三军医大学学报》编辑部, 邮编: 400038, 电话: (023)68752187, E-mail: aammt@mail.tmmu.com.cn,

联系人: 唐素芳、王勇。