蒺藜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

崔笑梅¹,曹建民²,周海涛^{3*} (1. 兰州理工大学,兰州 730050; 2. 北京体育大学,北京 100084; 3. 北京联合大学生物化学工程学院,北京 100023)

[关键词] 蒺藜;睾酮;抗疲劳;促黄体生成素;促卵泡刺激素

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)03-0157-05

[doi] 10.11653/syfj2014030157

Effect of *Tribulus terrestris* on Testosterone Content , Substance Metabolism and Exercise Capacity of Rats after Exercise Training

CUI Xiao-mei¹, CAO Jian-min², ZHOU Hai-tao^{3*}
(1. Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China;
2. Beijing Sport Universty, Beijing 100084, China;

3. Biochemical Engineering College of Beijing Union University, Beijing 100023, China)

[Abstract] Objective: To study the effects of *Tribulus terrestris* on the content of testosterone, substance metabolism and anti-fatigue ability of rats. Method: By using the model of high-intensity endurance training, Sixty-five male Wistar rats were divided into 5 groups, 12 in each group, including control group (C group), motion control group (T group), exercise + ig low-dose T. terrestris group (TML group), exercise + ig middle-dose T. terrestris group (TMM group). Gavage was performed once a day. The rats in T. terrestris groups were gavaged with 0.5, 1, 3 g •kg⁻¹. The rats in T groups were given saline of same volume. After 49 days of exhaustive swimming training, body weight, swimming time and serum testosterone and other biochemical markers were measured. Result: The body weight of the rats in T. terrestris groups was less than T group (T qroup), and the

[收稿日期] 20130728(009)

[基金项目] 北京市属高等学校人才强教计划资助项目 PHR201107150

[第一作者] 崔笑梅,讲师,从事体育教学与训练研究,Tel: 18793100528, E-mail: 51258485@ qq. com

[通讯作者] * 周海涛 .硕士 .讲师 .从事运动性疲劳与恢复研究 ,Tel: 13611383040 ,E-mail: zsettle@ sina. com

swimming time was longer than C and T group (P < 0.01). The serum testosterone was lower than group C (P < 0.05), higher than the T group (P < 0.01). Changes in the ratio of serum testosterone/corticosterone were more consistent with testosterone changes among the groups. Liver glycogen and muscle glycogen were higher than in C and T group (P < 0.05 or P < 0.01). Blood urea nitrogen (BUN) was higher than C group (P < 0.05), lower than the T group (P < 0.05); hemoglobin was lower than C group (P < 0.05), higher than the T group (P < 0.05). Conclusion: T. terrestris can alleviate the impact of high-intensity exercise on serum testosterone, and maintain it at normal physiological levels; it can also promote protein synthesis, inhibit degradation of amino acid and protein, and increase hemoglobin and glycogen reserves in rats exercise training.

[Key words] Tribulus terrestris; testosterone; anti-fatigue; luteinizing hormone; follicle-stimulating hormone

蒺藜又称白蒺藜、刺蒺藜,系蒺藜科(zygophyllac)蒺藜属植物。始载于《神农本草经》,列为上品称其"久服长肌肉,明目轻身"。蒺藜主要含皂苷类、黄酮类、生物碱、多糖类等化合物。其他尚含甾醇类、氨基酸类、菇类、脂肪酸、无机盐等成分[1]。现代医学研究证明,蒺藜具有显著的抗衰老、降血糖、降血脂、性强壮及提高人体中性激素的含量特别是雄性激素含量的作用等药理机制[14]。已有研究表明,长时间大运动量训练造成的运动性低血睾酮症是机体运动能力下降和恢复过程延长的主要原因[5]。本文以大强度耐力训练大鼠为模型,研究蒺藜对运动训练大鼠睾酮含量、物质代谢与抗运动疲劳能力的影响,旨在为其临床应用提供理论依据。

1 材料

- 1.1 动物 清洁级雄性 Wistar 大鼠 65 只 42 d 龄 , 平均体重(197.1 ± 13.8) g ,北京大学医学部实验动物科学部提供 ,合格证编号 SCXK(京) 2006-0008。在整个实验过程中 ,实验室内温度保持在(22 ± 2) $^{\circ}$ 相对湿度 $55\% \sim 75\%$,光照时间随自然变化。所有实验大鼠均以基础饲料(北京大学医学部实验动物科学部提供) 和蒸馏水常规饲养 ,自由饮食。
- 1.2 实验用药 蒺藜 Tribulus terrestris L. ,产自河北 北京同仁堂购得 ,批号 120724541 ,并经天津中瑞药业有限公司高占友高级工程师鉴定。称取蒺藜 $500~{\rm g}$ 加蒸馏水 $4~000~{\rm mL}$,浸泡 $40~{\rm min}$,煮沸 $40~{\rm min}$ 后过滤。药渣加 $3~000~{\rm mL}$ 后继续煎煮 ,煮沸 $30~{\rm min}$,过滤。合并 $2~{\rm c}$ 次滤液 ,浓缩至生药质量浓度 $1~{\rm g}$ ${\rm emL}^{-1}$ $4~{\rm c}$ 存放备用。
- 1.3 试剂盒 血清睾酮、血清皮质酮、黄体生成素和卵泡刺激素试剂盒(天津九鼎医学生物工程有限公司提供,批号20120703)。 肝糖原、肌糖原(南京建成生物工程研究所,批号20120704)。

- 1.4 仪器 Alcyon 300 型全自动生化分析仪(美国雅培) LG 10-3A 型高速冷冻离心机(北京医用离心机厂) ,DY 89-II 型电动玻璃匀浆机(宁波新芝生物科技股份有限公司) ,SHH. W21. Cr600 型三用电热恒温水箱(北京市东霞科学仪器厂) ,UV7502pcs 型紫外-可见分光光度计(上海欣茂仪器有限公司)。
- 2 方法
- 2.1 动物分组 实验大鼠适应性饲养 4 d 后,以 20 min·d⁻¹的运动量对其进行为期 3 d 的筛选,淘 汰个别不适应游泳训练者,将剩余大鼠以数字随机分组法分为 5 组: 静止对照组(C 组)、运动对照组(T 组)、运动+低剂量蒺藜组(TML 组),运动+中剂量蒺藜组(TMM 组),运动+高剂量蒺藜组(TMH 组),每组 12 只。实验时间为 56 d 正式训练时间为 49 d。正式训练期间,各组每天自由摄食饮水,每天灌胃(ig) 1 次。蒺藜低、中、高剂量组 ig 剂量分别为 0.5 ,1 3 g•kg⁻¹•d⁻¹相当于成人推荐剂量的 5 ,10 ,30 倍。蒺藜各组 ig 体积为 5 mL•kg⁻¹,对照组 ig 等量生理盐水。
- 2.2 训练及测试方案 C 组不进行任何训练。其他组进行负重游泳训练 均采用 $100 \text{ cm} \times 50 \text{ cm} \times 60 \text{ cm}$ 的玻璃泳槽作为大鼠游泳训练装置 ,水深 50 cm。水温(31 ± 2) °C ,为防止大鼠在水面漂浮不动 ,特在游泳箱底部放置佳宝 "AP1500"型水泵形成流动水。训练 49 d 第 1 周不负重 ,第 2 周负 2% 体重 ,第 3 周负 4% 体重 ,第 $4 \sim 7$ 周负 5% 体重 ,每次游泳训练至力竭。大鼠开始游泳至力竭所用时间为大鼠力竭运动能力 61 。力竭标准以大鼠下沉后 10 s 不露出水面为度。处死前的最后 1 次为无负重力竭游泳训练,记录力竭时的游泳时间。
- 2.3 指标测定 各组在末次训练 24 h 后称重 ,乙 醚适度麻醉 ,从颈总动脉处取 $20 \text{ }\mu\text{L}$ 全血测定血红蛋白含量 ,取 0.5 mL 全血测定尿素氮含量 ,取 $2 \text{ ~} \sim$

3 mL全血测定血清睾酮和血清皮质醇含量。加入 柠檬酸钠溶液抗凝 37 ℃ 水浴中 30 min 后 4 ℃ 3 000 r·min⁻¹离心 10 min 分离制备血清 并迅速取 肝脏、双侧睾丸和深层股四头肌,剔除筋膜,置于预 冷的生理盐水中洗净血污 滤纸吸干后置于 -20 ℃ 冰箱保存备用。组织匀浆制备: 精确称取 100 mg 肝 脏组织、500 mg 肌肉组织 按 W(g) 组织块质量/V (mL) 匀浆介质为 1:9的比例加取预冷的匀浆介质 (0.9%的 NaCl 溶液) 于烧杯中,迅速剪碎组织块 (以上全部操作在冰水浴中进行)。 匀浆经 3 000 r· min ⁻¹低温离心 15 min 分离提取上清液 ,在 4 ℃ 冰 箱冷藏即用或-20 ℃冰箱冰冻备用。血清睾酮、血 清皮质酮、促黄体生成素和促卵泡刺激素采用放射 免疫分析法测定。肝糖原、肌糖原采用南京建成生 物工程研究所的试剂盒所提供的方法测定。血清尿 素采用 UV-GLDH 法测定。血红蛋白采用高铁氰化 钾氧法测定 、蛋白质定量采用双缩脲法[7]。以上各 指标的测定严格按照试剂盒说明书进行,计算公式 等详见试剂盒使用说明书。

2.4 数据统计 采用 SPSS 12.0 软件对所有数据 进行统计学处理 ,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示 ,多组间比较采用方差分析 P < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

- 3.1 蒺藜对大鼠体重及运动能力的影响 蒺藜各剂量组体重大于运动对照组(P < 0.05)、小于静止对照组(P < 0.05);蒺藜各组力竭游泳时间明显长于静止对照、运动对照组,具有极显著性差异(P < 0.01),且随剂量增大而延长。见表 1。
- 3.2 运动及蒺藜对大鼠血清睾酮、皮质酮水平的影响 血清睾酮水平,运动对照组,低于静止对照组;蒺藜各组高于运动对照组(P<0.01);蒺藜各组间无显著差异。血清皮质酮水平,运动对照组与静止对照组及各剂量组间无显著差异。各组间血清睾酮与皮质酮比值变化与睾酮变化较为一致。见表2。
- 3.3 运动及蒺藜对大鼠肝、肌糖原储量的影响肝、肌糖原水平,运动对照组低于静止对照组(P < 0.01);蒺藜各剂量组高于静止对照组(P < 0.05)、运动对照组(P < 0.01)。见表 3。

表 1 蒺藜对大鼠体重及运动能力的影响($\bar{x} \pm s \mu = 1$
--

组别	剂量/g•kg ⁻¹	训练前体重/g	训练后体重/g	力竭游泳时间/min
静止对照	-	196. 97 ± 13. 58	416.58 ± 25.87	83.45 ± 12.64
运动对照	-	196. 75 ± 14. 16	$334.68 \pm 25.97^{2)}$	75.38 ± 14.32
运动 + 蒺藜	0. 5	196. 92 ± 14. 09	$363.\ 16 \pm 25.\ 54^{1\ 3}$	99. 78 ± 14.39^{2} ^{A)}
	1	197.09 ± 13.74	$376.51 \pm 25.39^{1/3}$	$103.65 \pm 13.63^{2 \text{ A}}$
	3	197. 24 ± 13. 99	382. 19 ± 25 . $15^{1/3}$	$106.\ 19 \pm 14.\ 18^{2\ A)}$

注: 与静止对照组比较¹⁾ P < 0.05 $\stackrel{?}{,} P < 0.01$; 与运动对照组比较³⁾ P < 0.05 $\stackrel{4}{,} P < 0.01$ (表 2~4 同)。

表 2 运动及蒺藜对大鼠血清睾酮、皮质酮水平的影响($\bar{x} \pm s \ \mu = 12$)

组别	剂量/g•kg ⁻¹	睾酮/nmol·L ⁻¹	皮质酮/nmol·L ⁻¹	睾酮/皮质酮/×10 ⁻²
静止对照	-	5. 09 ± 1. 19	101. 54 ± 15. 68	5.32 ± 1.99
运动对照	-	$3.59 \pm 1.24^{2)}$	108.95 ± 15.51	3.55 ± 1.67^{2}
运动 + 蒺藜	0. 5	$4.34 \pm 1.28^{1 \text{ A}}$	$103.\ 36 \pm 15.\ 15$	4. 48 ± 1. 89 ¹ ⁽⁴⁾
	1	$4.65 \pm 1.31^{1 \text{ A}}$	$102.\ 14 \pm 14.\ 78$	4. 84 ± 1. 98 ¹ ⁽⁴⁾
	3	$4.98 \pm 1.26^{1 A}$	101.75 ± 14.67	5. 18 ± 1. 99 ¹ ^{A)}

表 3 运动及蒺藜对大鼠肝、肌糖原水平的影响($\bar{x} \pm s \ n = 12$)

组别	剂量/g•kg ⁻¹	肝糖元/mg•g⁻¹	肌糖元/mg•g ⁻¹	促黄体生成素/U•L-1	促卵泡刺激素/U•L-1
静止对照	-	11.63 ± 1.32	3. 17 ± 0.43	1.10 ± 0.59	7. 24 ± 0. 88
运动对照	-	8. 56 ± 1.12^{2}	$2.45 \pm 0.64^{2)}$	0.87 ± 0.60	6.85 ± 1.31
运动 + 蒺藜	0. 5	13. 15 \pm 1. 15 ¹ ³⁾	$3.77 \pm 0.43^{1.3}$	1.12 ± 0.52	7. 16 ± 1.13
	1	14. 07 \pm 1. 06 ¹ ³⁾	$3.96 \pm 0.52^{1.3}$	1. 14 ± 0.69	7. 21 ± 1. 47
	3	14. 57 \pm 1. 26 ¹ ³⁾	4. $15 \pm 0.51^{1/3}$	1. 16 ± 0.74	7. 34 ± 1. 21

0.05)。见表4。

3.4 运动及蒺藜对大鼠血清促黄体生成素和促卵泡刺激素水平的影响 由表 3 可知: 各组间促黄体生成素 促卵泡刺激素水平较为接近 无显著差异。3.5 运动及蒺藜对大鼠血 BUN 和血红蛋白水平的影响 血尿素氮水平 运动对照组高于静止对照组(P < 0.05); 蒺藜各剂量组低于运动对照组(P <

表 4 运动及蒺藜对大鼠血 BUN 和血红蛋白水平的影响($\bar{x} \pm s, p = 12$)

组别	剂量 /g•kg ⁻¹	<u> </u>	血红蛋白 /g•L ⁻¹		
静止对照	-	5. 70 ± 0. 69	134. 5 ± 5. 1		
运动对照	-	10. 18 ± 0.56^{2}	85. 3 ± 5 . $3^{2)}$		
运动 + 蒺藜	0.5	7. 05 \pm 0. 51 ^{1 ,3)}	119. $4 \pm 6.1^{1/3}$		
	1	6. 59 \pm 0. 47 ^{1 3)}	120. 6 \pm 5. $3^{1/3}$		
	3	6. $13 \pm 0.84^{1/3}$	129. $5 \pm 5.8^{1/3}$		

4 讨论

4.1 运动及蒺藜对大鼠体重、力竭游泳的影响 体 重是反映机体骨骼、肌肉的发育程度以及肥胖程度 的标志。在运动训练过程中,通过体重的变化可以 了解训练的安排是否妥当、训练对机体的影响程度 和机体对训练的适应状况[7]。大鼠力竭性游泳时 间是评定机体运动能力、抗疲劳能力及恢复能力的 重要指标之一。实验结果表明机体的自身调节作 用 已不能完全阻止力竭运动对生长发育所产生的 影响。补充蒺藜对长时间力竭运动造成的机体损伤 有一定的作用,可在一定程度上改善大强度训练造 成的生长发育缓慢、提高大鼠抗疲劳能力 进而延长 大鼠运动时间 且呈剂量依赖性 但对机体损伤的作 用没有随剂量的增加而呈现显著的递增状态。其机 理可能为蒺藜总皂苷作为替换物使用增进蛋白质的 合成并维持氮的平衡 迅速减低肌肉紧张 使其得到 恢复,进而有利肌肉生长、增加体重。

4.2 运动及蒺藜对大鼠血清睾酮、皮质酮水平的影响 睾酮作为人体内一个重要的促合成激素,可以刺激组织摄取氨基酸,促进肌纤维和骨骼的生长,增加肾脏促红细胞生成素生成及肌糖原储备,增强免疫功能^[8]。而皮质酮作为促分解激素,具有减少蛋白质合成、降低运动能力的作用。所以通常把睾酮与皮质酮比值(T/P)作为衡量合成代谢分解代谢平稳指标,反映运动能力以及疲劳积累程度。实验结果表明:长时间力竭运动导致大鼠的分解和合成代谢紊乱,性腺睾酮合成和分泌的能力显著降低,进而

造成运动能力降低。而补充不同剂量蒺藜的各组运 动大鼠睾酮水平得以非常显著地升高,皮质酮水平 显著地降低 使得能量代谢紊乱得到纠正 进而提高 了大鼠抗疲劳能力。其机制可能为: ①蒺藜中所含 黄酮类化合物的苷元主要为槲皮素、山奈酚和异鼠 李素 具有较高的抗氧化活性 ,可通过激活机体抗氧 化酶(SOD)的活性 抑制体内生成过量自由基 降低 脂质过氧化物(LPO)的浓度,减轻机体细胞损伤,同 时蒺藜多糖自身具有清除自由基、保护腺体正常结 构的功效,从而使睾丸能够正常分泌睾酮[18]。② 蒺藜中皂苷及甾醇成分具有促性腺激素作用[9],可 以提高促黄体生成素(LH)和促卵泡刺激素(FSH) 水平 缓解训练对垂体-下丘脑-性腺轴的不利影响, 促进了性腺机能的提高,从而促进了睾酮水平升高。 ③蒺藜总皂苷通过提高机体内源性抗氧化能力,增 加氧自由基消除剂 过氧化氢酶(CAT)的含量、降低 过氧化脂质(LPO)的含量,从而促进大鼠运动时自 由基的消除,保护腺体结构,使睾丸能够正常分泌 塞酮。

另外,实验中蒺藜各组促黄体生成素、促卵泡刺激素水平较运动对照组有小幅度提高,较静止对照组有所降低,但幅度较小,并无统计意义。提示蒺藜对雄性大鼠下丘脑—垂体—性腺的作用是多方面的,但可能主要作用于性腺,而蒺藜对各个靶位的作用机制需进一步研究证实。

4.3 运动及蒺藜对大鼠肝、肌糖原储量的影响 肌 糖原是骨骼肌中可以随时动用的贮备能源,其贮备 量与运动的耐力呈正相关。肝糖原的主要作用是维 持血糖的相对稳定。运动初期肌群主要利用肌糖原 供能。随着运动时间的延长,血糖水平开始下降,为 了补偿血糖的消耗并维持较高水平,肝糖原分解和 糖异生作用增强 ,一旦肝糖原耗竭 ,会使运动肌供能 不足 导致外周疲劳。同时中枢神经系统因血糖浓 度下降也产生中枢疲劳[10]。所以增加肝、肌糖原储 备 减少糖损耗 是保持血糖浓度稳定和延缓疲劳发 生的重要措施。实验结果表明长时间力竭运动导致 大鼠肝糖原、肌糖原储量下降 补充蒺藜可以促进机 体的糖代谢 提高糖原储备 使肝糖原及时分解维持 补充血糖浓度 从而保证了运动肌肉的氧化供能 提 高抗疲劳能力,且呈剂量依赖性。其机制可能为:一 是补充蒺藜可以减轻长时间力竭运动对血睾酮和皮 质酮的影响,并维持在正常生理水平,以促进糖原合 成和糖异生作用的加强。二是蒺藜所含有的多糖成 分作为外源性糖分,可以补充或延缓长时间力竭运 动对内源性糖的消耗,从而维持或提高机体内糖原的储备量,促进肝糖元的合成、保护。

4.4 运动及蒺藜对大鼠血尿素和血红蛋白水平的影响 血尿素氮(BUN)是蛋白质的代谢产物,与机体机能、疲劳程度以及负荷量的大小呈密切正相关,可用来作为评定运动量的指标[11]。实验结果表明长时间力竭运动使机体大量蛋白质参与供能,其分解代谢程度增加,导致大鼠运动性疲劳提早发生,BUN 上升。补充蒺藜可以延缓血尿素氮疲劳阀值的出现,提高代谢系统的能量供应和利用能力,提高机体的运动能力,从而达到延缓疲劳的目的。其机制可能为:蒺藜中含有大量多糖等能源物质,可以增大糖供能的比例,减轻运动过程中机体对蛋白质的利用程度,减少BUN的产生。

血红蛋白(Hb) 俗称血色素 ,是机体中运输 O₂ 和 CO₂ 的载体 ,可通过结合不同物质形成缓冲对 ,对酸碱均有缓冲作用 ,参与体内酸碱平衡代谢 ,是评定身体机能状况的一个重要指标。实验结果表明长时间力竭运动导致大鼠 Hb 下降 ,补充蒺藜能够增高大鼠 Hb 含量 ,增加血液中的血含氧量 ,从而提高抗疲劳能力。其机制可能为: 一是蒺藜中含有大量而丰富的营养素 ,如黄酮、多糖、氨基酸 ,这些物质对抗氧化、补充机体所需及防止细胞膜的脂质过氧化有一定的作用 ,能有效地清除运动产生的过量自由基 ,避免了过剩自由基对红细胞膜的损伤 维持红细胞膜正常结构 ,使大鼠机体内 Hb 氧化分解损失减少[11]; 二是补充蒺藜 ,促进睾酮分泌 ,进而促进肾脏 EPO 的合成 ,刺激红细胞的生成。

补充蒺藜可以减轻大鼠血睾酮、皮质酮受高强度运动量的影响,维持在正常生理水平;促进蛋白质合成,抑制氨基酸和蛋白质分解,提高血红蛋白含量和糖原的储备,增强抗疲劳能力,具有多靶点、多途径的显著特点。

「参考文献]

- [1] 曹惠玲 陈浩宏 ,许士凯. 蒺藜及其有效成分的药理 与临床研究进展[J]. 中成药 2001 23(8):602.
- [2] Phillips O A, Mathew K T, Oriowo M A, et al. Athypertensive and vasod ilator effects of methanlic and aqueous extracts of Tribulus terrestris and in rat [J]. J Ethnophamcol 2006, 104(3):351
- [3] 褚书地 瞿伟菩 李穆 等. 蒺藜化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中国野生植物资源 2003 22(4):4.
- [4] 张素军 , 瞿伟菁 , 周淑云. 蒺藜皂苷对大鼠小肠 α -葡萄糖苷酶的抑制作用 [J]. 中国中药杂志 , 2006 , 31 (11):910.
- [5] Urhausen A, Kullmer T, Kindermann W. A 7-week follow-up study of the behaviour of testosterone and cortisol during the competition period in rowers [J]. Eur J Appl Physiol 1987 56(5):528.
- [6] Voces J, A I Alvarez, L Vila, et al. Effects of administration of the standardized Panax ginseng extract G115 on hepatic antioxidant function after exhaustive exercise [J]. Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol, 1999, 123(2):175.
- [7] 赖学鸿. 牛蒡子对运动大鼠糖代谢、血睾酮及运动能力的实验研究 [J]. 重庆医科大学学报,2010,35(3):375.
- [8] Flaws J A, Hirshfield A N, Hewitt J A, et al. Effect of bcl-2 on the primordial follicle endowment in the mouse ovary [J]. Biol Reprod, 2001, 64(4):1153.
- [9] 熊正英,刘社琴. 蒺藜提取物对训练大鼠糖原、血睾酮和运动能力的影响 [J]. 体育科学,2004,24 (8):35.
- [10] 李永超. 肉苁蓉有效部位抗疲劳作用机制研究[D]. 北京: 中国协和医科大学 2007: 19.
- [11] 钟厚永. 不同功效中药择时补给对小鼠抗疲劳能力 及其机能影响的实验研究[D]. 南宁: 广西师范大学, 2006: 47.

[责任编辑 聂淑琴]