

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.05.006

蓝莓浓缩汁对小鼠疲劳的改善作用及机制初探*

国秀秀¹ 郑尚莉¹ 姜波¹ 张旗² 安利佳^{1Δ}

(1 大连理工大学生命科学与技术学院 辽宁 大连 116024; 2 大连医科大学附属二院 血液科 辽宁 大连 116024)

摘要 目的:对蓝莓浓缩汁进行抗疲劳功效评价,并对其所涉及的作用机制进行初步探究。**方法:**小鼠通过预筛选和强制游泳预处理后,以生理盐水为对照组,蓝莓浓缩汁高、低剂量和 V_C 分别作为实验组。经给药及游泳处理后,观察各组小鼠的行为学特征,测定力竭游泳时间,检测血浆和脑组织匀浆中 T-SOD 活力、MDA 含量、LDH 活性及血浆中 BUN 含量的变化,并经 HE 染色察看小鼠组织病变状况。**结果:**与 S 对照组相比,高剂量蓝莓浓缩汁可明显改善疲劳小鼠的行为学特征,延长力竭游泳时间;在血浆和脑组织匀浆中,可增加 T-SOD 活性((136.92±10.39)%, (50.31±7.26)%),降低 MDA 含量((58.32±2.91)%, (50.89±2.91)%),提高 LDH 活性((72.79±19.11)%, (65.11±6.55)%),并减少血浆中 BUN((46.92±3.36)%)的产生, (P<0.01);还可防止细胞病变间隙的发生。低剂量蓝莓浓缩汁和 VC 处理组的改善效果不如高剂量组明显。**结论:**蓝莓浓缩汁有明显抗疲劳功效,所涉及的机制可能与其增强抗氧化酶活性,提高机体有氧代谢能力及改善机体物质代谢等有关。

关键词:蓝莓浓缩汁;抗疲劳;有氧代谢

中国分类号:Q95-3;R151.41 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)05-826-06

The Effect and Mechanism of Concentrated Blueberry Juice on Anti-fatigue in Mice*

DUN Xiu-xiu¹, ZHENG Shang-li¹, JIANG Bo¹, ZHANG Qi², AN Li-jia^{1Δ}

(1 School of Life Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian, Liaoning, 116024, China;

2 Department of hematology, the Second Hospital of Dalian Medical University, Dalian, Liaoning, 116024, China)

ABSTRACT Objective: To evaluate the effect of the concentrated blueberry juice on anti-fatigue and survey the mechanism involved preliminarily. **Methods:** The mice were prescreened and forced swimming training. Then choosing the physiological saline as control group, and choosing the high and low dose of concentrated blueberry juice and V_C as the experimental groups separately. After the processing of dosing and swimming training, the behavioral characteristics of each group mice was observed and the swimming exhaustion time was measured. The change of T-SOD activity, MDA content and LDH activity in the plasma and the brain tissue homogenate protein was tested. The BUN content in the plasma was also tested. The method of HE stain was performed to observe the tissue pathological change of mice. **Results:** Compared with the control group of S, high dose of concentrated blueberry juice could improve the behavioral characteristics of fatigue mice obviously and prolong swimming exhaustion time. It could improve T-SOD activity ((136.92±10.39)%, (50.31±7.26)%), reduce the production of MDA ((58.32±2.91)%, (50.89±2.91)%) and improve LDH activity ((72.79±19.11)%, (65.11±6.55)%) of the plasma and the brain tissue homogenate. Besides it could reduce the production of BUN ((46.92±3.36)%) of the plasma, (P<0.01). It also could prevent the formation of cell clearance. Compared with the high dose concentrated blueberry juice, the improved effect of low dose concentrated blueberry juice and VC treatment group was not obvious. **Conclusion:** Concentrated blueberry juice has significant anti-fatigue effect. The mechanism may be involved with enhancing the antioxidant enzyme activity, improving the body's aerobic metabolism capacity and improving the body's metabolism, etc.

Key words: Concentrated blueberry juice; Anti-fatigue; Aerobic metabolism capacity

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3; R151.41 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)05-826-06

前言

疲劳性亚健康状态是机体受到压力、焦虑忧郁、过度疲劳等劣性应激源的持续作用,内环境因激素靶效应而发生紊乱^[1,2],表现出疲乏、眼睛干涩、腿沉等。全球调查表明有近 75 %的

人处于亚健康状态,而疲劳性亚健康占比近 35 %^[3],日本的疲劳人群从 14.3 %到 60 %不等^[4]。疲劳成为影响 21 世纪健康的一个主要问题。有报道表明氧化应激与疲劳存在联系^[5]。

化学药品如哌甲酯、苯丙胺等在提高运动能力、消除疲劳等方面确有较好效果,但可能含有给机体造成一定副作用与成

* 基金项目:辽宁省科学技术计划项目(2014208001)

作者简介:国秀秀(1992-),硕士研究生,从事天然保健食品研究,电话:18840846470, E-mail: dxx1214@mail.dlut.edu.cn

Δ 通讯作者:安利佳,博士,教授,从事植物基因工程与生物制药研究, E-mail: Bioeng@dlut.edu.cn

(收稿日期:2017-05-21 接受日期:2017-06-16)

瘾性的兴奋剂等成分而使其应用受到很大的限制^[56]。在寻找更安全、有效的抗疲劳药物中,天然药物安全无毒副作用,具较强保健功能^[7],使其开发价值日益得到重视。蓝莓浓缩汁富含花色苷^[8,9],属类黄酮类物质,其抗疲劳效果主要基于自由基清除作用,可通过血脑屏障,增强神经活动,改善神经退行性疾病^[10],为蓝莓资源的利用提供了一条新途径。

1 材料与方法

1.1 实验材料

健康清洁级雄性 KM 小鼠由中国大连医科大学 SPF 实验动物中心提供;蓝莓浓缩汁(蓝莓品种黑珍珠经榨汁后通过旋转蒸发方式浓缩,花色苷含量 ≥ 47.56 mg/L)由大连理工大学实验室提供;VC 购自中国东北制药有限公司;多聚甲醛购自中国北京化学试剂公司;生化测定试剂盒购自中国南京建成生物科技发展有限公司。

1.2 实验仪器

灭菌锅 SX-500 购自日本 Tomy Kogyo 公司;超纯水仪 Milli-Q 购自美国 Millipore 公司;低温离心机 Super T21 购自美国索福公司;酶标仪 Varioskan Flash 购自美国 Thermo 公司;倒置显微镜 IX71 购自日本 OLYMPUS 公司;手术器械购自中国大连医疗器械有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 实验动物饲养 选取 20-25 g 体重的雄性 KM 小鼠。动物室内保持阴凉通风,相对湿度 50-60 %,安静,每天进行 12 h 的光照和 12 h 的黑暗循环周期,室温(25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 。日常中小鼠进食自由,饮用自来水,实验过程中对小鼠的处置符合动物伦理学标准^[11]。

1.3.2 药性评价的分组及给药 雄性 KM 小鼠适应培养环境三天后进行游泳实验预筛选,挑选体力相近的 48 只小鼠。称重并随机分为空白对照(Control)组及游泳建模(S)组(如图 1),空白对照 Control 组 16 只,游泳建模 S 组 32 只。Control 组和 S 组小鼠每天 1:30 开始禁食,S 组小鼠在禁食 1 h 后在 30 cm 水深的小鼠游泳池中进行无负重强制游泳 25 min,控制水温(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 。强制游泳过程中利用木棒在其附近轻轻搅动,保持小鼠四肢时刻运动,游泳结束后取出小鼠并用毛巾擦干皮毛。控制每批游泳小鼠数量以免互相挤靠,影响小鼠运动负荷量。Control 组在 S 组小鼠游泳期间给予同样禁食时间,不作其它干预。

通过为期两周的强制游泳实验预处理,14 天后称重并随机分为六组,进行蓝莓浓缩汁抗疲劳实验(如图 1),对实验动物采取经口灌胃的方式进行给药,灌胃剂量选择 20 mL/kg 体重。因蓝莓浓缩汁具天然药物安全无毒副作用的特点,高剂量选择 20 mL/kg 体重,低剂量选择 10 mL/kg 体重。动作保持轻柔迅速,灌胃 40 min 后进行小鼠强制游泳实验。

1.3.3 实验动物力竭游泳时间的测定 经过 21 天处理,第二天进行小鼠灌胃 40 min 后进行力竭游泳实验,称重记录并分别在尾部 1/3-2/3 处负 5 %体重的铅皮进行负重游泳,观测小鼠的力竭游泳时间(力竭标准为头沉入水下 10 s 不能自主浮出水面),记录小鼠力竭游泳时间,并将小鼠取出后用毛巾擦干放于饲养笼中。

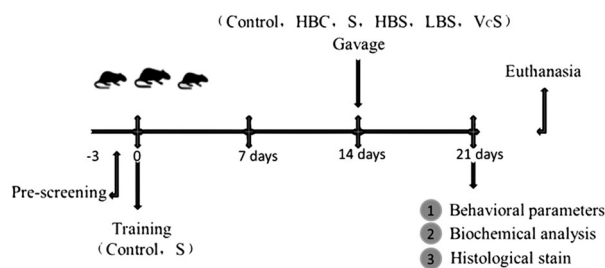


图 1 实验设计

Fig.1 Experimental protocol design

Note: S group had training and Control group had no training in the first 14 days. After that, all mice were taken by gavage for 7 days with a dose of 20 mL/kg body weight. Control and S group were given with saline solution. HBC and HBS group were given with concentrated blueberry juice. LBS group was given with saline solution and concentrated blueberry juice in the equal proportion. VCS group was given with VC in 130 mg/kg body weight. Control and HBC group didn't train after gavage. S, HBS, LBS and VCS group had training after gavage.

1.3.4 实验动物血浆的制备 进行力竭游泳实验后的小鼠安静 40 min 后,左手抓取小鼠并向背后拉伸使小鼠眼球充血突出,用弯头镊子夹紧小鼠眼球进行眼部取血,将血液流出到事先添加有 50 μL EDTA 抗凝血剂的 1.5 mL 离心管中。上下颠倒离心管使血液与抗凝剂混匀,放到 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中静止 30 min 后,3000 r/min 低温 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下离心 15 min。取上清即血浆至 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待用。根据检测需要操作,利用酶标仪检测各组小鼠血浆中 T-SOD (Total-Superoxide Dismutase, 总超氧化物歧化酶),MDA (Methane Dicarboxylic Aldehyde, 丙二醛),LDH (Lactate Dehydrogenase, 乳酸脱氢酶)和 BUN (Blood Urea Nitrogen, 尿素氮)变化。

1.3.5 实验动物脑组织匀浆的制备 进行力竭游泳实验后的小鼠,安静 40 min 后用脱臼法处死,酒精消毒后立即进行断头处理进行小鼠脑组织的提取。用 0.86 % 的冰生理盐水冲洗除去脑组织周围血液,拭干称重后置于小培养皿中,操作过程在冰水浴中进行。加入其 6 倍体积的预冷生理盐水,用眼科小剪刀将组织剪碎,吸管吸入 4 mL 离心管中。再加入 3 倍体积的生理盐水至小培养皿,吸取剩余固体至离心管。反复吹吸至匀浆状态后,2000 r/min 低温 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下离心 15 min,取上清即 10 % 组织匀浆至 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待用。根据检测需要操作,利用酶标仪检测各组小鼠脑组织匀浆中 T-SOD,MDA,LDH 变化。

1.3.6 苏木精-伊红(HE)染色 取材与固定:将处理过的小鼠进行脱颈椎骨处死,酒精简单消毒后延小鼠胸膛剪开皮肤表面,将其胸腔剪开,取出肝脏、脾脏和心肌。冰 PBS 冲洗干净后放入装有 4 % 多聚甲醛的小瓶中。于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱固定 24 h。

脱水透明与包埋:用酒精浓度 70 %、85 %、90 %、95 %、100 % 的顺序脱去水分,之后用二甲苯进行透明。透明后的组织块完全放置于已融化均匀的石蜡中浸蜡后包埋,待其冷却固定。

切片与贴片:固定包埋块,依次切成 5 μm 的组织薄片,将切片放于 40 $^{\circ}\text{C}$ 温水中展平后放到载玻片上,烘箱中恒温烘干。

脱蜡与染色透明:载有组织切片的载玻片浸泡于二甲苯 2 $\times$ 5 min,50 % 的二甲苯乙醇 5 min,之后用酒精浓度 100 %、95 %、90 %、85 % 的顺序各 5 min,蒸馏水 3 min。脱蜡后的切片

滴加苏木精染液 0.5 h 后,水洗后放入 1%的盐酸乙醇中褪色。水洗后用 0.5%伊红乙醇复染 5 min,水洗后再次脱水透明。最后用 5%甘油封固,倒置显微镜下进行镜检。

1.4 统计学处理

用 ORIGIN 8.0 进行数据的分析和图表的绘制。采用 ANOVA 单因素方差分析进行 F 检验,并进行显著性分析。所得数据表示为均值± 标准误差(mean± S.D.)。P<0.05 表示显著差异,P<0.01 表示极显著差异。各组实验重复三次。

2 结果

2.1 实验动物行为学特征的变化

建模前两天,各组小鼠行为学特征均无明显异常。从建模第三天开始,与空白对照 Control 组小鼠相比,游泳建模 S 组小鼠饮水量和进食量有一定程度减少,大便偏稀,部分小鼠有眯眼现象,自由活动明显减少,体重增长相对缓慢。HBS 组小鼠与 S 组相比,精神状态良好,饮水量和进食量得到明显增加,大便成形,自由活动增加,恢复到空白对照小鼠状态,体重增加相对迅速。LBS 组和 VCS 组小鼠与 S 组游泳小鼠相比,精神状态得到改善,但并未恢复到空白对照组小鼠的良好状态。

2.2 实验动物力竭游泳时间的测定

建模成功后的鼠经过不同方式处理一周后,如表 1 所示,相比于 Control 组小鼠,S 组小鼠的力竭游泳时间显著缩短。相比于 S 组游泳小鼠,HBS 组小鼠的力竭游泳时间则显著延长,LBS 组和 VCS 组实验小鼠的力竭游泳时间则没有显著增加。证明在耐力运动方面高剂量蓝莓浓缩汁处理可明显改善小鼠的疲劳状态。

表 1 小鼠力竭游泳时间

Table 1 The swimming exhaustion time of the mice

The swimming exhaustion time(min)	
Control group	10.83± 3.35
HBC group	10.27± 5.45
S group	5.19± 2.01**
HBS group	15.74± 6.55 ^{##}
LBS group	5.95± 1.53
V _c S group	5.61± 2.45

Note: compared with the Control group, *P<0.05, **P<0.01; compared with the S group, [#]P<0.5, ^{##}P<0.01.

2.3 血浆和脑组织匀浆中 T-SOD 活力的变化

如图 2 A 所示,相比于 Control 组小鼠,HBC 组小鼠血浆中 T-SOD 活力无明显变化,S 组小鼠血浆中 T-SOD 活力降低(53.49± 3.84)%,呈极显著降低。HBS,LBS 和 VCS 处理组小鼠相比于 S 组分别增加(136.92± 10.39)%,(135.33± 15.35)%,(137.26± 18.31)%,均出现极显著升高,恢复到 Control 组小鼠血浆中 T-SOD 活力水平。说明高剂量蓝莓浓缩汁处理对正常小鼠无显著性影响,且蓝莓浓缩汁和 VC 均可提高疲劳小鼠血浆中 T-SOD 活力,使其恢复正常水平。

如图 2 B 所示,相比于 Control 组小鼠,HBC 组小鼠脑组织匀浆中 T-SOD 活力升高但无显著性变化,S 组小鼠脑组织

匀浆中 T-SOD 活力降低(37.24± 8.03)%,呈极显著降低。HBS 处理组小鼠相比于 S 组则增加(50.31± 7.26)%,出现极显著升高,恢复到 Control 组小鼠脑组织匀浆中 T-SOD 活力水平。相比于 S 组小鼠,LBS 组小鼠脑组织匀浆中 T-SOD 活力增加(16.86± 8.91)%,出现显著性升高,V_cS 组小鼠脑组织匀浆中 T-SOD 活力升高但无显著性变化。说明高剂量蓝莓浓缩汁处理对正常小鼠无显著性影响,且高剂量蓝莓浓缩汁可提高疲劳小鼠脑组织匀浆中 T-SOD 活力,使其恢复正常水平。低剂量蓝莓浓缩汁和 VC 同样可改善疲劳小鼠脑组织匀浆中 T-SOD 活力,但效果不如高剂量蓝莓浓缩汁处理组明显。

2.4 血浆和脑组织匀浆中 MDA 含量的测定

如图 3 A 所示,相比于 Control 组小鼠,HBC 组小鼠血浆中 MDA 含量升高但无显著性变化,S 组小鼠血浆中 MDA 含量增加(72.38± 10.08)%,呈极显著升高。HBS,LBS 和 VCS 处理组小鼠相比于 S 组分别降低(58.32± 2.91)%,(58.97± 0.98)%,(55.89± 5.04)%,均出现极显著降低,恢复到 Control 组小鼠血浆中 MDA 含量水平。说明高剂量蓝莓浓缩汁处理对正常小鼠无显著性影响,且蓝莓浓缩汁和 V_c均可降低疲劳小鼠血浆中 MDA 含量,使其恢复正常水平。

如图 3 B 所示,相比于 Control 组小鼠,HBC 组小鼠脑组织匀浆中 MDA 含量无明显变化,S 组小鼠脑组织匀浆中 MDA 含量增加(41.06± 4.63)%,呈极显著升高。HBS,LBS 和 V_cS 处理组小鼠相比于 S 组分别降低(50.89± 2.91)%,(42.61± 0.67)%,(39.03± 1.42)%,均出现极显著降低,恢复到 Control 组小鼠脑组织匀浆中 MDA 含量水平。说明高剂量蓝莓浓缩汁处理对正常小鼠无显著性影响,且蓝莓浓缩汁和 V_c均可降低疲劳小鼠脑组织中 MDA 含量,使其恢复正常水平。

2.5 血浆和脑组织匀浆中 LDH 活性的变化

如图 4 A 所示,相比于 Control 组小鼠,HBC 组小鼠血浆中 LDH 活性降低但无显著性变化,S 组小鼠血浆中 LDH 活性降低(61.59± 2.82)%,呈极显著降低。相比于 S 组小鼠,HBS 处理组小鼠增加(72.79± 19.11)%,出现极显著升高;LBS 组小鼠血浆中 LDH 活性增加(41.98± 14.14)%,出现显著性升高;V_cS 组小鼠血浆中 LDH 活力降低但无明显变化。说明高剂量蓝莓浓缩汁处理对正常小鼠无显著性影响,且高剂量蓝莓浓缩汁可提高疲劳小鼠血浆中 LDH 活性。低剂量蓝莓浓缩汁和 V_c同样可改善疲劳小鼠血浆中 LDH 活性,但效果不如高剂量蓝莓浓缩汁处理组明显。

如图 4 B 所示,相比于 Control 组小鼠,HBC 组小鼠脑组织匀浆中 LDH 活性降低但无显著性变化,S 组小鼠脑组织匀浆中 LDH 活性降低(48.86± 4.93)%,呈极显著降低。HBS 和 LBS 处理组小鼠相比于 S 组分别增加(65.11± 6.55)%和(63.79± 11.59)%,均出现极显著升高,恢复到 Control 组小鼠脑组织匀浆中 LDH 活性水平。相比于 S 组小鼠,V_cS 组小鼠脑组织匀浆中 LDH 活性增加(31.99± 5.91)%,出现显著性升高。说明高剂量蓝莓浓缩汁处理对正常小鼠无显著性影响,且高剂量和低剂量蓝莓浓缩汁均可提高疲劳小鼠脑组织匀浆中 LDH 活性,使其恢复正常水平。V_c同样可改善疲劳小鼠脑组织匀浆中 LDH 活性,但效果不如高剂量蓝莓浓缩汁处理组明显。

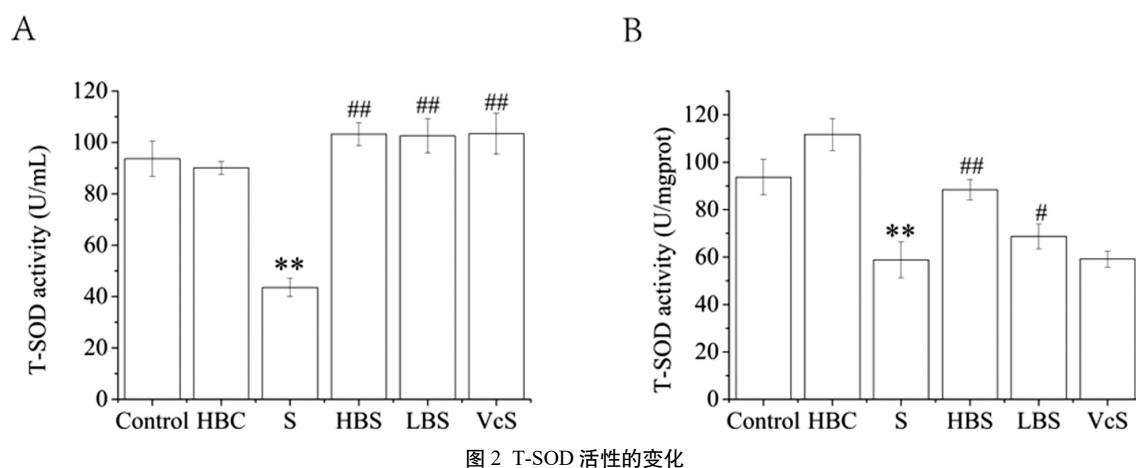


图2 T-SOD 活性的变化

Fig. 2 The change of T-SOD activity

Note: (A) In the plasma of the mice. (B) In the brain tissue homogenate of the mice. Data were shown as mean± S.D. obtained from three independent experiments. *P<0.05, **P<0.01 compared with the Control group. #P<0.5, ##P<0.01 compared with the S group.

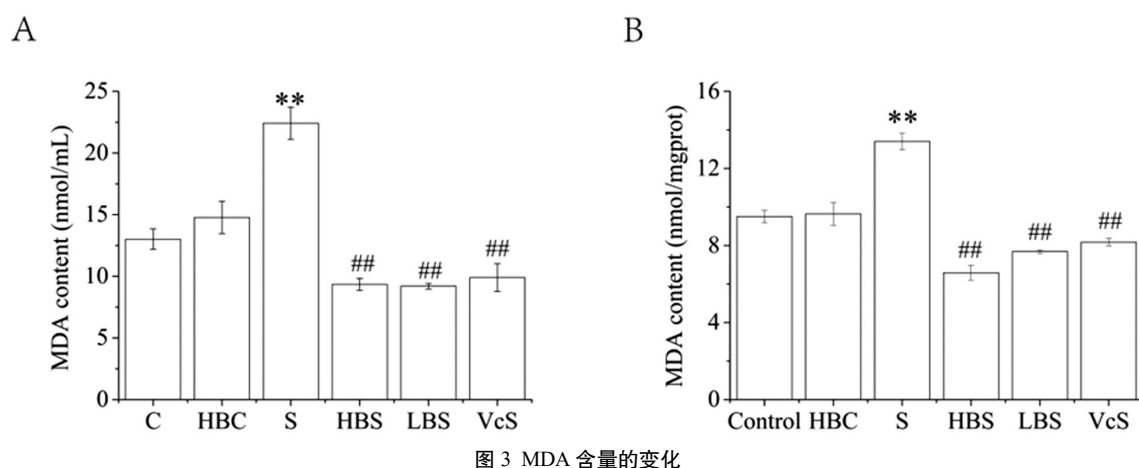


图3 MDA 含量的变化

Fig. 3 The change of MDA content

Note: (A) In the plasma of the mice. (B) In the brain tissue homogenate of the mice. Data were shown as mean± S.D. obtained from three independent experiments. *P<0.05, **P<0.01 compared with the Control group. #P<0.5, ##P<0.01 compared with the S group.

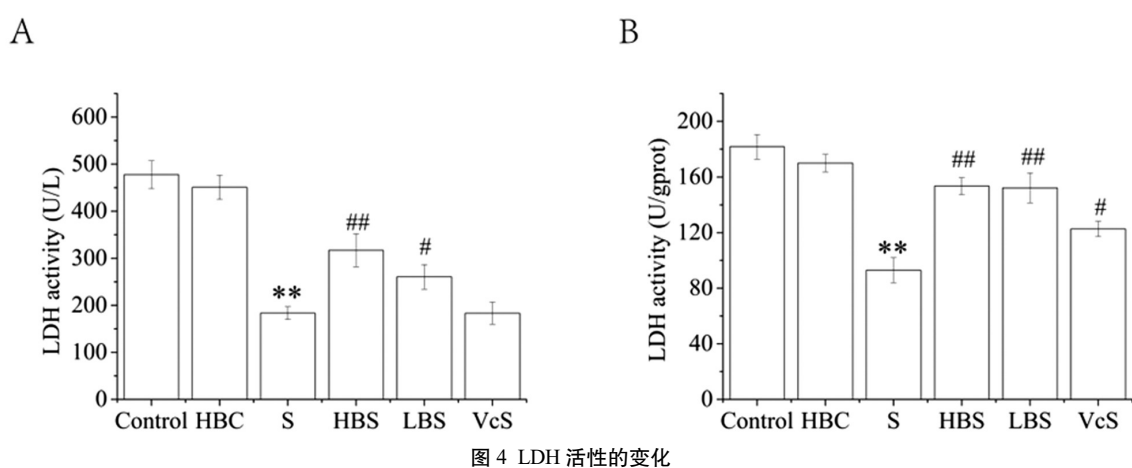


图4 LDH 活性的变化

Fig.4 The change of LDH activity

Note: (A) In the plasma of the mice. (B) In the brain tissue homogenate of the mice. Data were shown as mean± S.D. obtained from three independent experiments. *P<0.05, **P<0.01 compared with the Control group. #P<0.5, ##P<0.01 compared with the S group.

2.6 血浆中 BUN 含量的测定

如图 5 所示, 相比于 Control 组小鼠, HBC 组小鼠血浆中 BUN 含量无明显变化, S 组小鼠血浆中 BUN 含量增加

(73.09± 9.97)%, 呈极显著升高。HBS 处理组小鼠相比于 S 组则降低(46.92± 3.36)%, 出现极显著降低, 恢复到 Control 组小鼠血浆中 BUN 含量水平。相比于 S 组小鼠, LBS 组和 VcS 组

小鼠血浆中 BUN 含量分别降低 (22.73 ± 0.98)% 和 (24.52 ± 4.48)%, 出现显著性降低。说明高剂量蓝莓浓缩汁处理对正常小鼠无显著性影响, 且高剂量蓝莓浓缩汁可提高疲劳小鼠血浆中 BUN 含量, 使其恢复正常水平。低剂量蓝莓浓缩汁和 V_c 同样可改善疲劳小鼠血浆中 BUN 含量, 但效果不如高剂量蓝莓浓缩汁处理组明显。

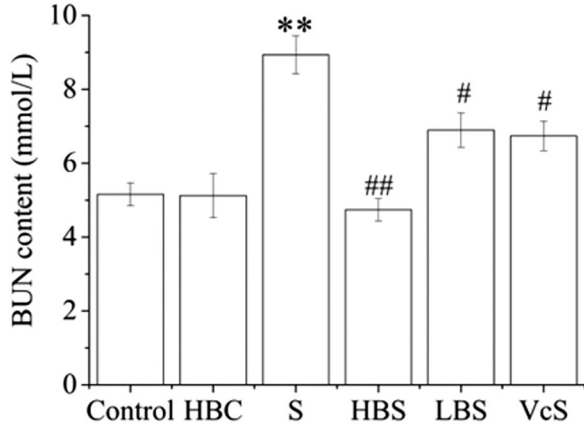


图 5 BUN 含量的变化

Fig. 5 The change of BUN content in the plasma of the mice

Note: Data are shown as mean $\pm$ S.D. obtained from three independent experiments. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with the Control group.

[#] $P < 0.5$, ^{##} $P < 0.01$ compared with the S group.

2.7 实验动物的病理学观察

如图 6 所示, 实验选择氧化代谢活跃的小鼠肝脏、脾脏、心脏进行组织切片观察。经 HE 染色后发现各组器官均未出现明显病变, 证明疲劳性亚健康状态不会引起小鼠的器质性病变。图中箭头处指示出 Control 组细胞排列紧密, S 组小鼠的各器官均出现膜断裂现象, 尤其是肝脏和心脏中细胞间距变得明显, 心肌细胞因过度收缩变得肿胀。HBS 组经过高剂量蓝莓浓缩汁处理可改善细胞间距, 心肌细胞无明显肿胀; V_c 组的改善效果不如高剂量组明显。说明蓝莓浓缩汁可改善疲劳对小鼠各器官细胞显微结构造成的损害。

3 讨论

疲劳性亚健康是无器质性病变的机体发生的一些神经、内分泌功能紊乱和各器官功能性变化^[12]。通过改变日常饮食调理内分泌系统, 早期干预以促进其向健康恢复成为一种最佳的可行方式。抗疲劳活性判定标准中指出, 受试物可使一项以上耐力实验(负重游泳、跑步等)和两项以上生化指标(血乳酸、血清尿素氮、肌糖原等)表现阳性。

运动性疲劳的终结点是指过度运动导致机体不能维持预期工作, 即力竭状态^[13]。为便于对运动疲劳的研究, 我们把小鼠疲劳的力竭阶段界定为肌肉已不能维持运动的阶段, 即游至水淹过鼻尖, 身体沉入水下无力返回水面^[14]。实验中我们发现, 通

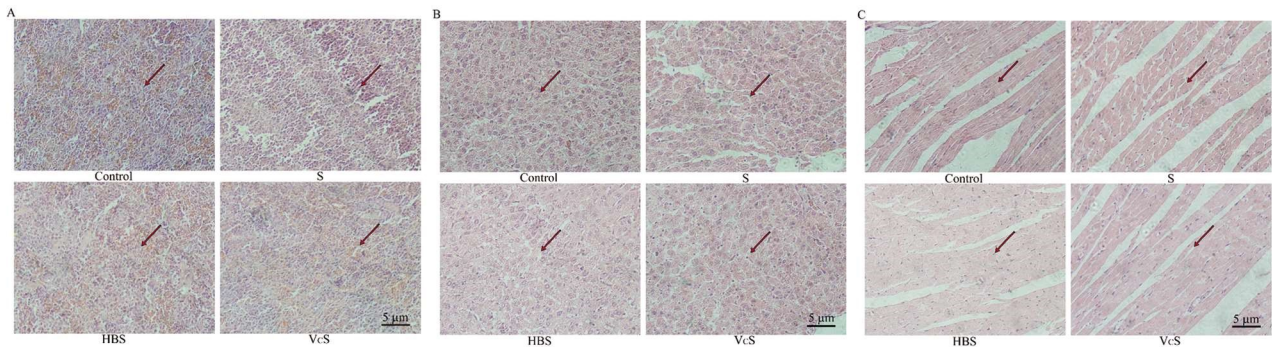


图 6 小鼠各器官组织切片的变化

Fig. 6 The change of different organs form in mice by HE staining

Note: (A) Liver. (B) Spleen. (C) Heart. Each figure on behalf of Control group, S group, HBS group and VC group in turn. After long time training, the organs in mice of S group was injury significantly, the organs cell spacing broadening, even appear membrane rupture phenomenon. The organs cell spacing in mice of HBS group was not obvious. The improve effect of VCS group was not obvious. The result showed that concentrated blueberry juice could reduce organs ultrastructure damage caused by long time training.

过为期一周的蓝莓浓缩汁灌胃, 小鼠的一般状况得到明显改善。游泳建模组小鼠经过蓝莓浓缩汁处理后相比单纯游泳组, 力竭游泳时间相对延长, V_cS 组在提高耐力方面效果不显著。

在氧自由基--脂质过氧化学说方面, 运动应激可导致机体产生过多活性氧自由基^[15,16], 使细胞器遭受氧自由基侵害的可能性增大^[17], 细胞代谢紊乱, 肌肉运动效率下降而引发疲劳^[18,19]。实验探究了长时间剧烈运动对抗氧化系统的影响, 结果表明长时间运动导致小鼠体内抗氧化酶活性的下降及脂质过氧化物 MDA 的大量产生。游泳建模组小鼠经过蓝莓浓缩汁和 V_c 处理后与单纯游泳组小鼠相比, 均能提高抗氧化酶活性, 抑制脂质过氧化物的产生。研究证实蓝莓浓缩汁在清除运动产生的自由基过程中起重要作用, 它们或参加抗氧化酶的组成, 或

直接作为还原剂清除自由基。由此推断蓝莓浓缩汁可能是通过提高机体的抗氧化酶活性来起到抗疲劳作用。

在代谢产物堆积学说方面, 持续高强度的运动使机体相对缺氧, 从而加快糖酵解, 引起机体中乳酸、二氧化碳(又称疲劳素)^[20]等代谢产物过多堆积。乳酸等进入血液运行至全身, 体液 pH 值下降, 抑制了磷酸果糖激酶活性而影响肌力, 使中枢神经产生无力和疲乏的感觉。LDH 可减少机体产生的乳酸, 其活性可作为反映疲劳程度和有氧代谢能力的关键指标^[21]。实验探究了长时间剧烈运动对能量代谢系统的影响, 结果表明与空白对照组相比, 持续的游泳运动导致小鼠血浆和脑组织匀浆中 LDH 活性的显著性降低, 游泳建模组小鼠经过蓝莓浓缩汁处理后与单纯游泳组小鼠相比, 血浆和脑组织匀浆中 LDH 活性

升高,而 VC 处理对 LDH 活性的影响不如蓝莓浓缩汁处理的效果显著。研究证实蓝莓浓缩汁能显著提高疲劳模型小鼠的 LDH 活性,加速运动过程中乳酸的清除,减少乳酸对机体的毒害作用。

同时,BUN 含量作为反映肾功能状态的重要指标^[22]。小鼠持续游泳运动后,血浆中 BUN 含量明显增加,表明长时间的游泳运动影响小鼠肾脏功能的正常排泄,出现明显的亚健康症状。游泳建模组小鼠经蓝莓浓缩汁处理后与单纯游泳组小鼠相比,BUN 含量显著性降低,而 VC 处理对 BUN 含量的影响不如蓝莓浓缩汁处理的效果显著。研究证实蓝莓浓缩汁能恢复疲劳模型小鼠肾脏正常排泄的功能。

脂质作为生物膜重要组分,其氧化损伤可能引起细胞结构损伤及功能障碍^[23]。组织切片观察中,游泳建模组小鼠经高剂量蓝莓浓缩汁处理后与单纯游泳组小鼠相比,细胞间隙减小,细胞损伤较轻。而 VC 组小鼠的改善效果不明显。

我们的实验通过对小鼠运动能力、体重、外观等行为学特征、力竭游泳时间及机体内相关生化指标的测试,证实建模小鼠达到明显的疲劳状态,小鼠疲劳性亚健康模型可以成功建立,为抗疲劳实验的进行奠定了理论基础。小鼠训练期间添加具有抗氧化作用的蓝莓浓缩汁对机体具有保护作用,使机体免受运动所产生自由基的损伤,且可提高运动成绩。蓝莓浓缩汁显示出明显的抗疲劳作用,其抗疲劳的机制可能是与其增强抗氧化酶活性,改善机体物质代谢及提高机体有氧代谢能力等作用有关。同时,通过 VC 阳性对照的设立,证明蓝莓浓缩汁的抗疲劳功能远超 VC 单纯的抗氧化特性。该实验为疲劳性亚健康人群带来健康福音。因抗疲劳的作用机制是多方面的,需通过实验进一步探索与其相关的其他机制。

参考文献(References)

- [1] Filtness AJ, Naweed A. Causes, consequences and countermeasures to driver fatigue in the rail industry: The train driver perspective[J]. *Applied Ergonomics*, 2017, 60: 12-21
- [2] 徐孝平,潘永明,刘瑞敏,等. 亚健康状态大鼠的神经-免疫-内分泌机制的研究[J]. *中国比较医学杂志*, 2012, 22(8): 33-39
Xu Xiao-ping, Pan Yong-ming, Liu Rui-min, et al. Study on the Mechanism of Neuro-Immuno-Endocrine System of Rats in Sub-Health State[J]. *Chinese Journal of Comparative Medicine*, 2012, 22(8): 33-39
- [3] Ahsberg E. Dimensions of fatigue in different working populations[J]. *Scandinavian Journal of Psychology*, 2000, 41(3): 231-241
- [4] Fukuda S, Nojima J, Motoki Y, et al. A potential biomarker for fatigue: Oxidative stress and anti-oxidative activity[J]. *Biological Psychology*, 2016, 118: 88-93
- [5] Schweitzer PK, Randazzo AC, Stone K, et al. Laboratory and field studies of naps and caffeine as practical countermeasures for sleep-wake problems associated with night work [J]. *Sleep*, 2006, 29(29): 39-50
- [6] Evans SM, Griffiths RR. Caffeine tolerance and choice in humans[J]. *Psychopharmacology*, 1992, 108(1): 51-59
- [7] Zulfiqar AA, Martin-Kleisch A, Adli AE, et al. Carence en vitamine C: y penser chez le sujet âgé fragile [J]. *Nutrition Clinique Et Métabolisme*, 2016, 30(2): 198-200
- [8] Li Dong-nan, Meng Xian-jun, Li Bin. Profiling of anthocyanins from blueberries produced in China using HPLC-DAD-MS and exploratory analysis by principal component analysis[J]. *Journal of Food Composition & Analysis*, 2015, 47: 1-7
- [9] Siddiqua M, Dolana KD. Characterization of polyphenol oxidase from blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) [J]. *Food Chemistry*, 2017, 218: 216-220
- [10] Jiang Dong-qing, Guo Ying, Xu Dian-hong, et al. Antioxidant and anti-fatigue effects of anthocyanins of mulberry juice purification (MJP) and mulberry marc purification (MMP) from different varieties mulberry fruit in China[J]. *Food & Chemical Toxicology An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 2013, 59(9): 1-7
- [11] Chen Yin-bin, Wang Yu-fang, Hou Wei, et al. Effect of B-complex vitamins on the antifatigue activity and bioavailability of ginsenoside Re after oral administration [J]. *Journal of Ginseng Research*, 2016 [Epub ahead of print]
- [12] Liu Yang-yang, Liu Chang-jiang. Antifatigue and increasing exercise performance of *Actinidia arguta*, crude alkaloids in mice [J]. *Journal of Food & Drug Analysis*, 2016, 24(4): 738-745
- [13] Li Jing, Sun Qing-rui, Meng Qing-ran, et al. Anti-fatigue activity of polysaccharide fractions from *Lepidium meyenii* Walp. (maca)[J]. *International journal of biological macromolecules*, 2017, 95: 1305-1311
- [14] Chi Ai-ping, Li Hong, Kang Chen-zhe, et al. Anti-fatigue activity of a novel polysaccharide conjugates from Ziyang green tea [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 80: 566-572
- [15] 杨艳晖,潘洪志,宋柏捷,等. 大豆卵磷脂对小鼠的抗疲劳和抗氧化作用研究[J]. *现代生物医学进展*, 2011, 11(21): 4024-4026
Yang Yan-hui, Pan Hong-zhi, Song Bai-jie, et al. Anti-Fatigue and Anti-oxidation Effects of Soybean Lecithin in Mice [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2011, 11(21): 4024-4026
- [16] Lopez-Alarcon C, Denicola A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2013, 763(3): 1-10
- [17] Wang Yu-ping, Cheng Ming-liang, Zhang Bao-fang, et al. Effect of blueberry on hepatic and immunological functions in mice [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2014, 9(2): 164-168
- [18] Ma Chao-yang, Hu Ling-ming, Tao Guan-jun, et al. An UPLC-MS-based metabolomics investigation on the anti-fatigue effect of salidroside in mice[J]. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 2015, 105: 84-90
- [19] Ding Jin-feng, Li Yan-yan, Xu Jia-jie, et al. Study on effect of jellyfish collagen hydrolysate on anti-fatigue and anti-oxidation [J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25(5): 1350-1353
- [20] Monjo F, Forestier N. Muscle fatigue effects can be anticipated to reproduce a movement kinematics learned without fatigue [J]. *Neuroscience*, 2016, 339: 100-108
- [21] Kruger MJ, Davies N, Myburgh KH., et al. Proanthocyanidins, anthocyanins and cardiovascular diseases [J]. *Food Research International*, 2014, 59: 41-52
- [22] Qi Bin, Liu Li, Zhang He, et al. Anti-fatigue effects of proteins isolated from *Panax quinquefolium* [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 153(2): 430-434
- [23] Wilson MB, El_sayed MF, Seleem AA, et al. Ameliorative effect of antioxidants (vitamins C and E) against abamectin toxicity in liver, kidney and testis of male albino rats [J]. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 2016, 77: 69-82