

蒋军文,覃丽雯,沈仰峰. 基于 Nrf2/ARE 通路探究五味子多糖对运动性疲劳小鼠骨骼肌线粒体自噬的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(6): 65-73.

Jiang JW, Qin LW, Shen YF. Effect of *Schisandra chinensis* polysaccharide on mitochondrial autophagy in skeletal muscle in exercise-fatigue mice based on the nuclear factor erythroid 2-related factor 2/antioxidant response element pathway [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35(6): 65-73.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2025.06.007

基于 Nrf2/ARE 通路探究五味子多糖对运动性疲劳小鼠骨骼肌线粒体自噬的影响

蒋军文,覃丽雯,沈仰峰*

(广西中医药大学赛恩斯新医药学院公共管理系, 南宁 530222)

【摘要】 目的 基于 Nrf2/ARE 通路探究五味子多糖(SCP)对运动性疲劳小鼠骨骼肌线粒体自噬的影响。**方法** 通过游泳训练建立运动性疲劳小鼠模型,随机分为疲劳组、SCP(20 mg/kg)组、红景天(8 mL/kg)组、抑制剂(30 mg/kg ML385)组、SCP+抑制剂组,并以正常小鼠为对照组,分离血清,检测乳酸(LA)、乳酸脱氢酶(LDH)、血尿素氮(BUN)、肌酸激酶(CK)水平;分离肝,检测丙二醛(MDA)、肝糖原(HG)及超氧化物歧化酶(SOD)水平;分离骨骼肌,检测肌糖原(MG)及骨骼肌组织运动疲劳损伤变化、线粒体形态变化;分析线粒体转录因子 A(TFAM)、核呼吸因子-1(NRF-1)mRNA 及 Nrf2、醌氧化还原酶 1(NQO1)、血红素氧合酶-1(HO-1)、LC3 蛋白表达。**结果** 疲劳组 HG、MG 水平、SOD 水平、TFAM mRNA、NRF-1 mRNA 表达、Nrf2、NQO1、HO-1、LC3 II/LC3 I 表达低于对照组,LA、BUN、LDH、CK 水平、MDA 高于对照组($P<0.05$);SCP 组、红景天组 HG、MG 水平、SOD 水平、TFAM mRNA、NRF-1 mRNA 表达、Nrf2、NQO1、HO-1、LC3 II/LC3 I 表达高于疲劳组,LA、BUN、LDH、CK 水平、MDA 低于疲劳组($P<0.05$),抑制剂组上述指标均相反($P<0.05$)。**结论** SCP 通过激活 Nrf2/ARE 通路促进运动性疲劳小鼠骨骼肌线粒体自噬,有效发挥抗疲劳作用。

【关键词】 五味子多糖;运动性疲劳;线粒体自噬;骨骼肌;Nrf2/ARE 通路

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2025) 06-0065-09

Effect of *Schisandra chinensis* polysaccharide on mitochondrial autophagy in skeletal muscle in exercise-fatigue mice based on the nuclear factor erythroid 2-related factor 2/antioxidant response element pathway

JIANG Junwen, QIN Liwen, SHEN Yangfeng*

(Department of Public Administration, Faculty of Chinese Medicine Science Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530222, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of *Schisandra chinensis* polysaccharide (SCP) on mitochondrial autophagy in skeletal muscle in exercise-fatigue mice based on the nuclear factor erythroid 2-related

[基金项目] 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2024KY1781);广西高等教育本科教学改革工程项目(2024JGA459)。

[作者简介] 蒋军文(1984—),男,硕士,副教授,研究方向:运动训练及抗疲劳研究。E-mail:jun450601@163.com

[通信作者] 沈仰峰(1978—),男,本科,副教授,研究方向:运动训练及抗疲劳研究。E-mail:opif31@163.com

factor 2 (Nrf2)/antioxidant response element ARE pathway. **Methods** A fatigue mouse model was established by swimming training. Mice were assigned randomly to fatigue, SCP (20 mg/kg), *Rhodiola rosea* (8 mL/kg), inhibitor (30 mg/kg ML385), and SCP+inhibitor groups, with normal mice as the control group. Serum was separated and levels of lactic acid (LA), lactate dehydrogenase (LDH), blood urea nitrogen (BUN), and creatine kinase (CK) were detected. Liver tissue was also isolated and levels of malondialdehyde (MDA), hepatic glycogen (HG), and superoxide dismutase (SOD) were detected. Skeletal muscle tissues were isolated and muscle glycogen (MG), changes in skeletal muscle tissue in exercise fatigue, and mitochondrial morphology were detected. Gene expression levels of mitochondrial transcription factor A (TFAM) and nuclear respiratory factor-1 (NRF-1), and Nrf2, quinone oxidoreductase 1 (NQO1), heme oxygenase-1 (HO-1), and LC3 II/LC3 I were lower in the fatigue group than in the control group, while levels of LA, BUN, LDH, CK, and MDA were higher than in the control group ($P<0.05$). HG, MG, SOD, TFAM mRNA, NRF-1 mRNA, Nrf2, NQO1, HO-1, and LC3 II/LC3 I levels were higher in the SCP and *Rhodiola rosea* groups than in the fatigue group, while LA, BUN, LDH, CK, and MDA levels were lower than in the fatigue group ($P<0.05$). The above indexes were opposite in the inhibitor group ($P<0.05$). **Conclusions** SCP promotes mitochondrial autophagy in skeletal muscle in exercise-fatigue mice by activating the Nrf2/ARE pathway, effectively exerting anti-fatigue effects.

【Keywords】 *Schisandra chinensis* polysaccharide; exercise fatigue; mitochondrial autophagy; skeletal muscle; Nrf2/ARE pathway

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

疲劳是由于身体无法维持运动强度而引起的一种生理现象,导致工作效率低下、嗜睡、记忆力下降,对人们的身心健康产生极大影响^[1],其中运动性疲劳是由于长时间超负荷而引起的工作能力暂时下降或丧失,会导致肌肉或器官(如肝)中氧自由基的过度产生,从而导致氧化应激损伤,引起肌肉疲劳^[2]。线粒体是氧自由基的主要来源,其与氧化应激关系密切,而骨骼肌是富含线粒体的主要场所之一,通过线粒体自噬去除受损的线粒体对于维持线粒体稳态至关重要,而足够的线粒体功能又可维持骨骼肌细胞的功能,因此,关注氧化应激触发的线粒体自噬可能有助于缓解患者疲劳^[3-4]。Nrf2 是一种转录因子,可调节参与氧化还原平衡调节的基因表达,而运动过程中,骨骼肌中的 Nrf2 信号传导受到活性氧的刺激,与高强度运动表现相关^[5]。多种天然化合物能激活骨骼肌的 Nrf2 信号传导,改善运动引起的氧化应激,发挥抗疲劳作用^[6]。五味子是一种著名的中药材,五味子多糖(*Schisandra chinensis* polysaccharide, SCP)是五味子的主要活性成分,具有多种药物活性,尤其是其抗氧化能力,可在多种疾病中发挥作用^[7]。SCP 通过激活 Nrf2/抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)

信号通路可对免疫性肝损伤小鼠发挥保护作用^[8]。但 SCP 能否通过 Nrf2/ARE 信号通路对运动性疲劳小鼠发挥作用尚未报道,本研究旨在建立运动性疲劳小鼠模型,探索 SCP 对运动性疲劳小鼠的治疗效果及潜在机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

63 只 SPF 级 ICR 雄性小鼠由斯克贝斯生物科技股份有限公司提供[SCXK(豫)2020-0005],6~8 周龄,体质量为 20~24 g,实验动物饲养在广西中医药大学[SYXK 桂 2024-0004],温度范围为(22±2)℃,相对湿度为 50%~60%,维持 12 h 光照/12 h 黑暗的昼夜节律,饲养过程中不限制饮食和饮水。实验经广西中医药大学动物护理与使用委员会审核通过(202403018),所有实验动物操作遵循 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

SCP(HHQS20181110)购自南京春秋生物工程有限公司;高山红景天口服液(200416)购自杭州华威药业有限公司;乳酸(lactic acid, LA)、骨骼肌中肌糖原(muscle glycogen, MG)、乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)、

丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、肝糖原(hepatic glycogen, HG)试剂盒(A019、A043、A020-2-2、C013-2-1、A032-1-1、A003-1-2、A001-3-2、A043-1-1)购自南京建成生物工程研究所有限公司;Nrf2抑制剂ML385(M00240-UPS)购自北京百奥莱博科技有限公司;Omniscript RT试剂盒(205110)购自北京杰辉博高生物科技有限公司;Nrf2(ab313825)、醌氧化还原酶1(quinine oxidoreductase 1, NQO1)(ab80588)、血红素氧合酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)(ab189491)、LC3(ab192890)抗体购自英国Abcam公司。HT7800/HT7700型透射电子显微镜购自日本HITACHI公司;Nikon Eclipse E100型正置光学显微镜购自日本Nikon公司;ELx00酶标仪器购自美国Bio-Tek公司;Quant Studio 3实时荧光定量PCR仪购自赛默飞世尔科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 运动性疲劳小鼠模型的制备及干预

随机选取10只小鼠作为对照(control)组,剔除不擅长游泳的小鼠后,其余小鼠均进行游泳训练建立运动性疲劳小鼠模型^[9];将小鼠置于水深为40~50 cm,水温为(25±2)℃游泳池中进行每天早上和下午各1次的游泳练习,每周6 d训练,1 d休息,小鼠在每天训练时需在其尾部系上其体质量5%的铅丝,直到小鼠完全筋疲力尽,训练周期为6周,最后一次训练时小鼠在水中运动、旋转协调性不佳,并在水中浸泡至少10 s未露出水面,记为造模成功。将造模成功的小鼠随机分为疲劳(fatigue)组、SCP组、红景天(*Rhodiola rosea*)组、抑制剂(inhibitor)组、SCP+抑制剂(SCP+inhibitor)组,每组10只,其中SCP组灌胃20 mg/kg SCP干预^[10];红景天组以8 mL/kg高山红景天口服液灌胃干预^[11];抑制剂组以30 mg/kg ML385腹腔注射干预^[12];SCP+抑制剂组在灌胃20 mg/kg SCP干预的同时,以30 mg/kg ML385腹腔注射干预,其余各组以相同的方式均以生理盐水干预,各组每天干预1次,连续6周。

1.3.2 疲劳指标评估

末次给药结束后12 h^[11],采用眼眶后静脉丛采血法收集小鼠血样,4℃下以3500 r/min离心10 min分离血清,用于分析疲劳相关生化参数

LA、BUN、LDH、CK。

1.3.3 组织糖原评估

处死小鼠,分离肝及骨骼肌组织,匀浆后,按照试剂盒要求检测肝中HG及骨骼肌中MG含量。

1.3.4 氧化应激指标评估

分离肝组织,用缓冲液匀浆肝组织,去除碎片,按照试剂盒要求检测SOD、MDA。

1.3.5 骨骼肌运动疲劳损伤检测

将部分骨骼肌组织固定在10%中性缓冲福尔马林中并用石蜡覆盖。然后使用切片机从包埋的组织中切下0.4 μm的组织切片,在用二甲苯去除蜡后,通过一系列分级的乙醇溶液对切片进行再水化,切片经苏木精和伊红染色,通过一系列梯度乙醇脱水,在二甲苯中漂洗后,通过使用光学显微镜检查组织变化。

1.3.6 骨骼肌线粒体形态变化

将部分骨骼肌组织固定在2.5%戊二醛溶液中固定,将组织脱水、包埋并切片,用3%乙酸铀枸橼酸铅染色。通过透射电子显微镜观察到骨骼肌线粒体超微结构变化。

1.3.7 骨骼肌组织线粒体转录因子A(mitochondrial transcription factor A, TFAM)、核呼吸因子-1(nuclear respiratory factor 1, NRF-1)mRNA表达

从骨骼肌组织中提取总RNA,然后使用Omniscript RT试剂盒从2 μg RNA中合成cDNA, cDNA模板用于RT-PCR,在Quant Studio 3实时荧光定量PCR仪器上使用荧光染料进行实时PCR,基因的mRNA表达以β-actin为内参,2^{-ΔΔCT}方法分析靶基因表达水平;β-actin正向引物5'-CTGTGCCCATCTACGAGGGCTAT-3'和反向引物5'-TTTGATGTCACGCACGATTTCC-3'; NRF-1正向引物5'-CTGCACTCTGCCCATCCAAA-3'和反向引物5'-CTGAGCATTCCGAGGCCTTT-3'; TFAM正向引物5'-CCCCTCGTCTATCAGTCTTGTC-3'和反向引物5'-TTCTGCTTCTGGT AGCTCCCT-3'。

1.3.8 骨骼肌组织Nrf2、HO-1、LC3、NQO1蛋白表达

将骨骼肌组织匀浆并用裂解缓冲液裂解,测定离心后上清液中的总蛋白浓度含量,分离等量蛋白质并转移膜上,用5%牛血清白蛋白封闭,将Nrf2、HO-1、LC3和NQO1(稀释比例均为1:

1000)一抗孵育过夜,然后与二抗(稀释比例为 1 : 5000)孵育,洗膜后通过 ECL 检测试剂检测条带,Image J 1. 53c 软件定量分析。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 27. 0 软件分析实验数据, $P<0. 05$ 时认为差异有统计学意义。计量资料以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示;单因素方差分析用于多组间比较,以 SNK- q 检验进一步两两比较。

2 结果

2.1 各组小鼠血清中 LA、BUN、LDH、CK 水平的比较

疲劳组 LA、BUN、LDH、CK 水平高于对照组 ($P<0. 05$);SCP 组、红景天组 LA、BUN、LDH、CK 水平低于疲劳组 ($P<0. 05$),抑制剂组 LA、BUN、LDH、CK 水平高于疲劳组 ($P<0. 05$);SCP+抑制剂组 LA、BUN、LDH、CK 水平高于 SCP 组 ($P<0. 05$);SCP+抑制剂组 LA、BUN、LDH、CK 水平低于抑制剂组 ($P<0. 05$),见表 1。

2.2 各组小鼠肝中 HG、骨骼肌中 MG 水平的比较

疲劳组 HG、MG 水平低于对照组 ($P<0. 05$);SCP 组、红景天组 HG、MG 水平高于疲劳组 ($P<0. 05$),抑制剂组 HG、MG 水平低于疲劳组 ($P<0. 05$);SCP+抑制剂组 HG、MG 水平低于 SCP 组

($P<0. 05$);SCP+抑制剂组 HG、MG 水平高于抑制剂组 ($P<0. 05$),见表 2。

2.3 各组小鼠肝组织 SOD、MDA 水平的比较

疲劳组 SOD 水平低于对照组,MDA 高于对照组 ($P<0. 05$);SCP 组、红景天组 SOD 水平高于疲劳组,MDA 低于疲劳组 ($P<0. 05$),抑制剂组 SOD 水平低于疲劳组,MDA 高于疲劳组 ($P<0. 05$);SCP+抑制剂组 SOD 水平低于 SCP 组,MDA 高于 SCP 组 ($P<0. 05$);SCP+抑制剂组 SOD 水平高于抑制剂组,MDA 低于抑制剂组 ($P<0. 05$),见表 3。

2.4 各组小鼠运动疲劳损伤的比较

对照组组织结构紧密,肌纤维整齐排列;疲劳组小鼠肌纤维变形断裂,并发生肌间质肿胀及炎性浸润;SCP 组、红景天组运动疲劳损伤得到改善,肌纤维整齐趋于整齐;但抑制剂组运动疲劳损伤较疲劳组加重,炎性浸润显著;SCP+抑制剂组运动疲劳损伤接近于疲劳组,见图 1。

2.5 各组小鼠骨骼肌线粒体形态的比较

对照组骨骼肌线粒体形态完整,无缺失;疲劳组线粒体数量减少,空泡增加,线粒体内嵴溶解缺失显著;SCP 组、红景天组线粒体数量逐渐恢复,结构趋于完整;但抑制剂组线粒体内嵴溶解缺失更为严重,嵴稀疏;SCP+抑制剂组线粒体形态接近于疲劳组,见图 2。

表 1 各组小鼠血清中 LA、BUN、LDH、CK 水平比较($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 1 Comparison of serum levels of LA, BUN, LDH, and CK in mice in each group($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别 Groups	LA/(mmol/L)	BUN/(mmol/L)	LDH/(U/L)	CK/(U/mL)
对照组 Control group	7. 15 $\pm$ 0. 73	5. 16 $\pm$ 0. 53	421. 03 $\pm$ 42. 25	0. 58 $\pm$ 0. 06
疲劳组 Fatigue group	9. 85 $\pm$ 0. 99 [*]	9. 15 $\pm$ 0. 96 [*]	675. 21 $\pm$ 67. 61 [*]	0. 88 $\pm$ 0. 09 [*]
SCP 组 SCP group	7. 44 $\pm$ 0. 76 [#]	6. 02 $\pm$ 0. 62 [#]	452. 14 $\pm$ 45. 32 [#]	0. 61 $\pm$ 0. 07 [#]
红景天组 Rhodiola rosea group	7. 52 $\pm$ 0. 77 [#]	5. 98 $\pm$ 0. 61 [#]	453. 06 $\pm$ 45. 41 [#]	0. 68 $\pm$ 0. 07 [#]
抑制剂组 Inhibitor group	15. 26 $\pm$ 1. 54 [#]	14. 06 $\pm$ 1. 48 [#]	891. 05 $\pm$ 90. 08 [#]	1. 28 $\pm$ 0. 13 [#]
SCP+抑制剂组 SCP+inhibitor group	9. 91 $\pm$ 1. 02 ^{△□}	9. 22 $\pm$ 0. 93 ^{△□}	680. 02 $\pm$ 68. 11 ^{△□}	0. 91 $\pm$ 0. 10 ^{△□}

注:与对照组相比, ^{*} $P<0. 05$;与疲劳组相比, [#] $P<0. 05$;与 SCP 组相比, [△] $P<0. 05$;与抑制剂组相比, [□] $P<0. 05$ 。
Note. Compared with control group, ^{*} $P<0. 05$. Compared with fatigue group, [#] $P<0. 05$. Compared with SCP group, [△] $P<0. 05$. Compared with inhibitor group, [□] $P<0. 05$.

表 2 各组小鼠肝中 HG、骨骼肌中 MG 比较($\bar{x}\pm s, n=10, \text{mg/g}$)

Table 2 Comparison of HG in liver and MG in skeletal muscle in each group($\bar{x}\pm s, n=10, \text{mg/g}$)

组别 Groups	HG	MG
对照组 Control group	11.52 $\pm$ 1.17	1.82 $\pm$ 0.19
疲劳组 Fatigue group	7.64 $\pm$ 0.78 [*]	1.12 $\pm$ 0.12 [*]
SCP 组 SCP group	10.86 $\pm$ 1.09 [#]	1.66 $\pm$ 0.17 [#]
红景天组 <i>Rhodiola rosea</i> group	10.91 $\pm$ 1.10 [#]	1.71 $\pm$ 0.18 [#]
抑制剂组 Inhibitor group	4.86 $\pm$ 0.49 [#]	0.74 $\pm$ 0.08 [#]
SCP+抑制剂组 SCP+inhibitor group	7.59 $\pm$ 0.76 ^{$\Delta$$\square$}	1.18 $\pm$ 0.13 ^{$\Delta$$\square$}

注:与对照组相比, ^{*} $P<0.05$;与疲劳组相比, [#] $P<0.05$;与 SCP 组相比, ^{Δ} $P<0.05$;与抑制剂组相比, ^{$\square$} $P<0.05$ 。
Note. Compared with control group, ^{*} $P<0.05$. Compared with fatigue group, [#] $P<0.05$. Compared with SCP group, ^{Δ} $P<0.05$. Compared with inhibitor group, ^{$\square$} $P<0.05$.

表 3 各组小鼠肝组织中 SOD 和 MDA 水平比较($\bar{x}\pm s, n=10, \text{mmol/L}$)

Table 3 Comparison of SOD and MDA levels in liver tissues of mice in each group($\bar{x}\pm s, n=10, \text{mmol/L}$)

组别 Groups	SOD	MDA
对照组 Control group	88.52 $\pm$ 8.91	7.22 $\pm$ 0.74
疲劳组 Fatigue group	51.06 $\pm$ 5.17 [*]	11.05 $\pm$ 1.12 [*]
SCP 组 SCP group	84.06 $\pm$ 8.43 [#]	7.99 $\pm$ 0.81 [#]
红景天组 <i>Rhodiola rosea</i> group	84.22 $\pm$ 8.49 [#]	7.85 $\pm$ 0.79 [#]
抑制剂组 Inhibitor group	32.06 $\pm$ 3.29 [#]	18.27 $\pm$ 1.84 [#]
SCP+抑制剂组 SCP+inhibitor group	50.85 $\pm$ 5.10 ^{$\Delta$$\square$}	10.89 $\pm$ 1.09 ^{$\Delta$$\square$}

注:与对照组相比, ^{*} $P<0.05$;与疲劳组相比, [#] $P<0.05$;与 SCP 组相比, ^{Δ} $P<0.05$;与抑制剂组相比, ^{$\square$} $P<0.05$ 。
Note. Compared with control group, ^{*} $P<0.05$. Compared with fatigue group, [#] $P<0.05$. Compared with SCP group, ^{Δ} $P<0.05$. Compared with inhibitor group, ^{$\square$} $P<0.05$.

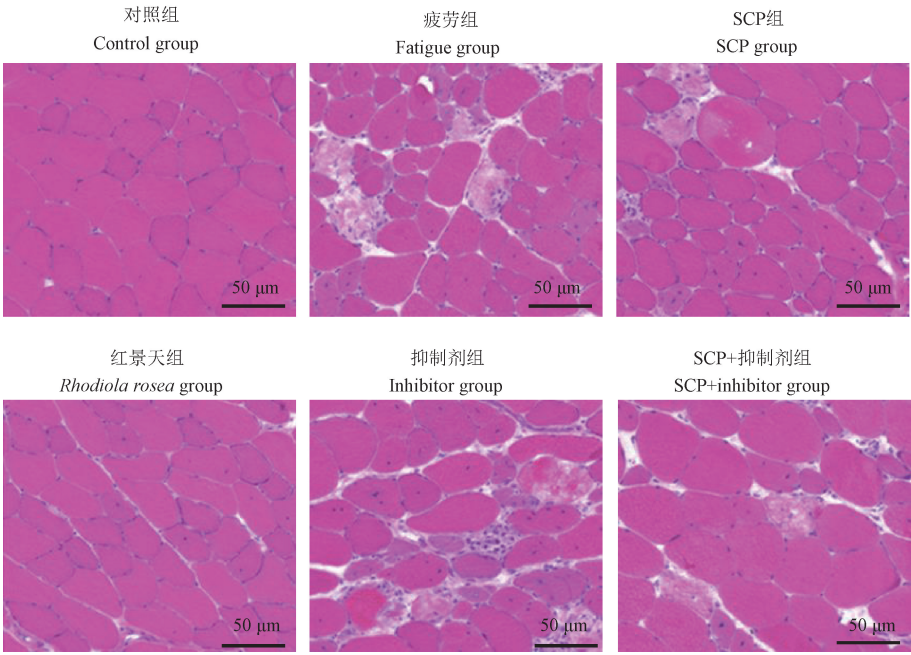


图 1 骨骼肌组织运动疲劳损伤变化(HE)

Figure 1 Changes of skeletal muscle tissue in exercise fatigue (HE)

2.6 各组小鼠骨骼肌 TFAM、NRF-1 mRNA 表达的比较

疲劳组 TFAM、NRF-1 mRNA 表达低于对照组($P<0.05$); SCP 组、红景天组 TFAM、NRF-1 mRNA 表达高于疲劳组($P<0.05$), 抑制剂组 TFAM、NRF-1 mRNA 表达低于疲劳组($P<0.05$);

SCP+抑制剂组 TFAM、NRF-1 mRNA 表达低于 SCP 组($P<0.05$); SCP+抑制剂组 TFAM、NRF-1 mRNA 表达高于抑制剂组($P<0.05$), 见表 4。

2.7 各组小鼠骨骼肌中 Nrf2、NQO1、HO-1、LC3 蛋白表达的比较

疲劳组 Nrf2、NQO1、HO-1、LC3 II/LC3 I 表达

低于对照组 ($P<0.05$); SCP 组、红景天组 Nrf2、NQO1、HO-1、LC3 II/LC3 I 表达高于疲劳组 ($P<0.05$), 抑制剂组 Nrf2、NQO1、HO-1、LC3 II/LC3 I 表达低于疲劳组 ($P<0.05$); SCP+抑制剂组 Nrf2、NQO1、HO-1、LC3 II/LC3 I 表达高于抑制剂组 ($P<0.05$), 见图 3 和表 5。

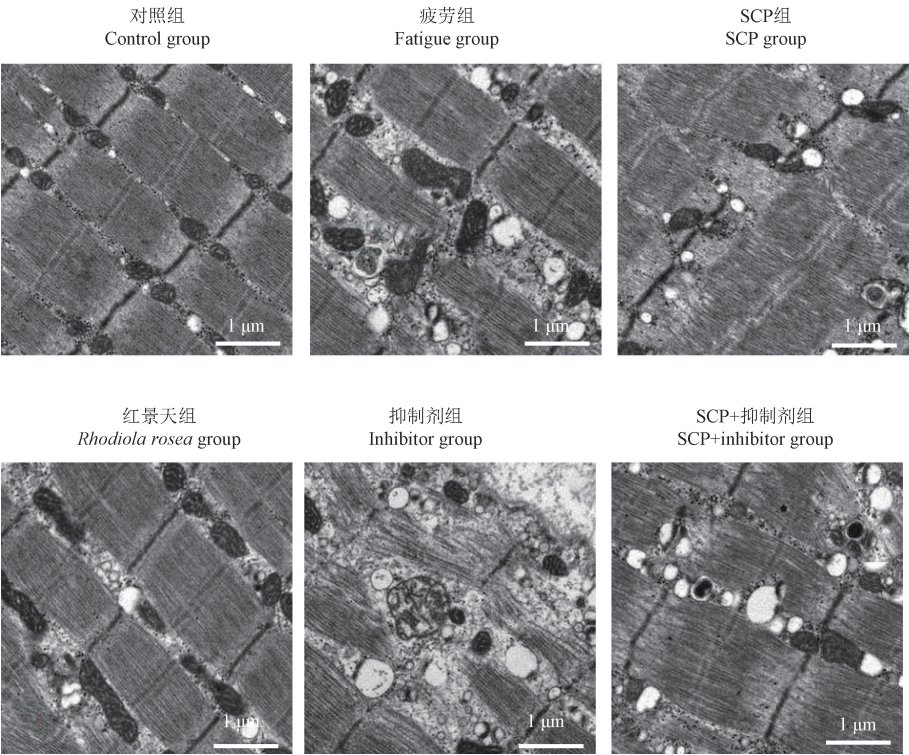


图 2 骨骼肌组织线粒体形态变化

Figure 2 Changes in mitochondrial morphology in skeletal muscle tissue

表 4 各组小鼠骨骼肌中 TFAM、NRF-1 mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 4 Comparison of TFAM and NRF-1 mRNA expression in skeletal muscle of mice in each group ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别 Groups	TFAM mRNA	NRF-1 mRNA
对照组 Control group	1.06±0.11	0.98±0.10
疲劳组 Fatigue group	0.51±0.06*	0.62±0.07*
SCP 组 SCP group	0.81±0.09 [#]	0.91±0.10 [#]
红景天组 Rhodiola rosea group	0.88±0.09 [#]	0.95±0.10 [#]
抑制剂组 Inhibitor group	0.28±0.03 [#]	0.42±0.05 [#]
SCP+抑制剂组 SCP+inhibitor group	0.58±0.06 ^{△□}	0.69±0.07 ^{△□}

注:与对照组相比, * $P<0.05$;与疲劳组相比, [#] $P<0.05$;与 SCP 组相比, [△] $P<0.05$;与抑制剂组相比, [□] $P<0.05$ 。
Note. Compared with control group, * $P<0.05$. Compared with fatigue group, [#] $P<0.05$. Compared with SCP group, [△] $P<0.05$. Compared with inhibitor group, [□] $P<0.05$.

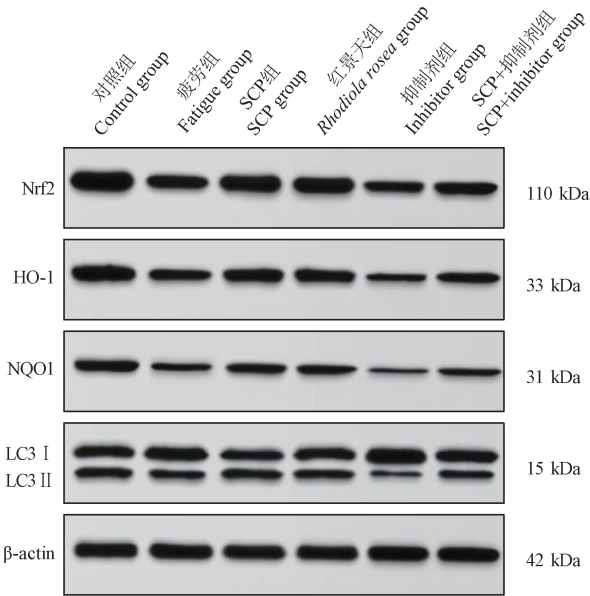


图 3 骨骼肌组织中 Nrf2、NQO1、HO-1、LC3 I、LC3 II 蛋白表达

Figure 3 Nrf2, NQO1, HO-1, LC3 I, LC3 II protein expression in skeletal muscle

表 5 各组骨骼肌组织中 Nrf2、NQO1、HO-1、LC3 II/LC3 I 表达的比较($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 5 Comparison of Nrf2, NQO1, HO-1, and LC3 II/LC3 I expression in skeletal muscle of each group ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别 Groups	Nrf2/ β -actin	HO-1/ β -actin	NQO1/ β -actin	LC3 II/LC3 I
对照组 Control group	1.42 $\pm$ 0.15	1.06 $\pm$ 0.11	0.76 $\pm$ 0.08	0.88 $\pm$ 0.09
疲劳组 Fatigue group	0.94 $\pm$ 0.10 [*]	0.67 $\pm$ 0.07 [*]	0.34 $\pm$ 0.04 [*]	0.55 $\pm$ 0.06 [*]
SCP 组 SCP group	1.28 $\pm$ 0.13 [#]	0.89 $\pm$ 0.09 [#]	0.60 $\pm$ 0.07 [#]	0.81 $\pm$ 0.09 [#]
红景天组 <i>Rhodiola rosea</i> group	1.31 $\pm$ 0.14 [#]	0.92 $\pm$ 0.10 [#]	0.64 $\pm$ 0.07 [#]	0.79 $\pm$ 0.08 [#]
抑制剂组 Inhibitor group	0.67 $\pm$ 0.07 [#]	0.37 $\pm$ 0.04 [#]	0.19 $\pm$ 0.02 [#]	0.29 $\pm$ 0.03 [#]
SCP+抑制剂组 SCP+inhibitor group	0.91 $\pm$ 0.09 ^{△□}	0.62 $\pm$ 0.07 ^{△□}	0.38 $\pm$ 0.04 ^{△□}	0.59 $\pm$ 0.06 ^{△□}

注:与对照组相比, ^{*} $P<0.05$;与疲劳组相比, [#] $P<0.05$;与 SCP 组相比, [△] $P<0.05$;与抑制剂组相比, [□] $P<0.05$ 。
Note. Compared with control group, ^{*} $P<0.05$. Compared with fatigue group, [#] $P<0.05$. Compared with SCP group, [△] $P<0.05$. Compared with inhibitor group, [□] $P<0.05$.

3 讨论

近年来,随着生活水平的提高,人们越来越重视体质的提高,适度的运动有助于人们身体健康,但过渡运动诱发的疲劳,可能对身心健康产生有害影响,合理的营养措施可有效促进肌肉功能的恢复,但改善效果不显著^[13],因此,仍需探索有效的抗疲劳方法。

研究表明,LA、BUN、LDH、CK 水平与运动密切相关,小鼠的疲劳程度可以通过上述指标评价,其中 LDH 是糖酵解途径中的重要酶,通常用作肌肉损伤的指标;CK 在组织损伤过程中释放,尤其是骨骼肌损伤,通常用作剧烈运动后肌肉损伤的重要生物标志物;BUN 是蛋白质代谢的代谢产物,LA 是一种厌氧呼吸道代谢产物,在剧烈运动期间,LA 和 BUN 增加表示疲劳程度加重^[14-15]。葡萄糖是负责产生能量的主要来源,并以糖原的形式储存在肝和肌肉中,在持续训练中,肌肉快速消耗糖原导致血糖水平下降时,糖原被水解以维持适当的血糖水平^[16]。本研究通过建立运动性疲劳小鼠模型,观察到小鼠在水中运动时协调性较差,并在水中浸泡超过 10 s 未露出水面;另外,疲劳指数 LA、BUN、LDH、CK 水平均显著增加,糖原评估结果显示 HG、MG 水平降低,进一步提示运动性疲劳小鼠模型建立成功。

研究表明当发生运动疲劳时,组织的耗氧量会增加,并导致抗氧化剂和合成抗氧化酶的过度

消耗,从而削弱清除氧自由基能力和线粒体功能,进而损害骨骼肌细胞器,抑制 ATP 的合成,破坏运动能力,其中 SOD 是内源性抗氧化防御机制的关键组成部分,具有清除自由基、减轻氧化损伤的功能;MDA 是脂质过氧化过程中导致生物膜系统损伤的关键因素,是评估氧化应激损伤的重要指标^[17-18]。本研究发现运动性疲劳小鼠 SOD 水平下降,MDA 增加,提示疲劳过程伴随着氧化应激损伤。SCP 是五味子中最重要生物活性物质之一,具有抗炎、抗氧化和免疫调节等活性^[19],因此推测其可能在运动性疲劳中发挥作用。研究发现,针对运动性疲劳小鼠开展 SCP 治疗后,小鼠体内氧化应激损伤被抑制,且运动性疲劳症状得到缓解。

线粒体是能量代谢的关键部位,线粒体功能障碍会严重影响肌肉功能并诱发疲劳,TFAM、NRF-1 对线粒体基因表达和功能至关重要,TFAM 促进线粒体 DNA 复制和转录过程,并受 NRF-1 调节;而线粒体自噬可去除受损的线粒体,参与维持线粒体的功能^[4,20-21]。本实验结果表明,SCP 干预后,线粒体中 TFAM、NRF-1 表达及 LC3 II/LC3 I 表达显著增加,表明 SCP 促进线粒体膜自噬,维护线粒体功能并促进能量代谢,从而产生抗疲劳作用。SCP 的抗氧化活性与其在 Nrf2 信号通路中的调节高度相关^[8],而 Nrf2 信号通路介导的氧化应激参与运动诱导的疲劳发生^[22]。本研究结果表明 SCP 有效地促进了 Nrf2 复合物

的解离,激活其下游基因 NQO1、HO-1 表达,推断 SCP 的抗疲劳作用,是通过激活 Nrf2/ARE 信号通路实现。最后通过 Nrf2 抑制剂进行回复验证,结果显示抑制剂减弱了 SCP 对运动性疲劳小鼠的保护作用,表明 SCP 发挥抗疲劳作用,是通过激活 Nrf2/ARE 信号通路实现。

综上所述,SCP 可有效缓解运动性疲劳小鼠氧化应激损伤,其机制可能与激活 Nrf2/ARE 信号通路促进线粒体自噬有关。这一发现为 SCP 缓解运动性疲劳提供依据,但是否存在其他相关通路参与其中,仍有待进一步研究。

参考文献:

- [1] LU X, CHEN J, HUANG L, et al. The anti-fatigue effect of glycoprotein from hairtail fish (*Trichiurus lepturus*) on BALB/c mice [J]. *Foods*, 2023, 12(6): 1245.
- [2] LIU S, MENG F, ZHANG D, et al. *Lonicera caerulea* berry polyphenols extract alleviates exercise fatigue in mice by reducing oxidative stress, inflammation, skeletal muscle cell apoptosis, and by increasing cell proliferation [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 853225.
- [3] LEE S M, KIM Y H, KIM Y R, et al. Anti-fatigue potential of *Pinus koraiensis* leaf extract in an acute exercise-treated mouse model [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 153: 113501.
- [4] 张格第, 刘庚鑫, 郭敏, 等. 肾衰方干预 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬治疗 CKD 心肌损伤的作用机制研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(5): 567-575.
ZHANG G D, LIU G X, GUO M, et al. Mechanism of Shenshuai recipe in PINK1/Parkin-mediated mitochondrial autophagy for treatment of CKD myocardial injury [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2023, 31(5): 567-575.
- [5] MARTINEZ-CANTON M, GALVAN-ALVAREZ V, MARTIN-RINCON M, et al. Unlocking peak performance: The role of Nrf2 in enhancing exercise outcomes and training adaptation in humans [J]. *Free Radic Biol Med*, 2024, 224: 168-181.
- [6] CHEN Y, WANG J, JING Z, et al. Anti-fatigue and anti-oxidant effects of curcumin supplementation in exhaustive swimming mice via Nrf2/Keap1 signal pathway [J]. *Curr Res Food Sci*, 2022, 5: 1148-1157.
- [7] SHI X, HAN B, ZHANG B, et al. *Schisandra chinensis* polysaccharides prevent cardiac hypertrophy by dissociating thioredoxin-interacting protein/thioredoxin-1 complex and inhibiting oxidative stress [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 139: 111688.
- [8] SHAN Y, JIANG B, YU J, et al. Protective effect of *Schisandra chinensis* polysaccharides against the immunological liver injury in mice based on Nrf2/ARE and TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. *J Med Food*, 2019, 22(9): 885-895.
- [9] 王光元, 马博威. 异甘草素对小鼠运动性疲劳和氧化应激能力的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(14): 2103-2107.
WANG G Y, MA B W. Effects of isoliquiritigenin on exercise-induced fatigue and oxidative stress in mice [J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2024, 40(14): 2103-2107.
- [10] 杨丹丹, 章辉, 陈芳林. 五味子多糖缓解顺铂诱导小鼠心功能不全与心炎症反应 [J]. *重庆医学*, 2022, 51(12): 1987-1992.
YANG D D, ZHANG H, CHEN F L. *Schisandra chinensis* polysaccharide alleviates cisplatin-induced cardiac dysfunction and inflammation in mice [J]. *Chongqing Med J*, 2022, 51(12): 1987-1992.
- [11] 张兰兰, 再娜布·吐合达洪, 张君萍, 等. 基于核转录因子 E2 相关因子 2/血红素加氧酶-1 信号通路探讨玫瑰口服液对运动性疲劳小鼠的作用 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(12): 1773-1777.
ZHANG L L, ZAINABU T, ZHANG J P, et al. Study on the effect of Meiju oral liquid on exercise fatigue in mice based on nuclear transcription factor E2-related factor 2/heme oxygenase-1 signaling pathway [J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2023, 39(12): 1773-1777.
- [12] 杨素清, 何天乐, 苏军华, 等. 五味子乙素调控 Nrf2/HO-1/GPX4 铁死亡途径减轻糖尿病小鼠心肌损伤的机制研究 [J]. *中药材*, 2022, 45(7): 1705-1713.
YANG S Q, HE T L, SU J H, et al. Study on the mechanism of schizandrin b regulating nrf2/ho-1/gpx4 iron death pathway to reduce myocardial injury in diabetes mellitus mice [J]. *J Chin Mater Med*, 2022, 45(7): 1705-1713.
- [13] LIU R, LI Z, YU X C, et al. The effects of peanut oligopeptides on exercise-induced fatigue in mice and its underlying mechanism [J]. *Nutrients*, 2023, 15(7): 1743.
- [14] CHEN Y J, BASKARAN R, SHIBU M A, et al. Anti-fatigue and exercise performance improvement effect of *Glossogyne tenuifolia* extract in mice [J]. *Nutrients*, 2022, 14(5): 1011.
- [15] 王蔚峰, 尹晓晨, 崔鲁炜, 等. 灵芝孢子油缓解小鼠体力疲劳作用的实验研究 [EB/OL]. (2024-10-16) [2025-02-25]. <https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=eo3P1e0toG7SdlbqcOfj9qre0zcV-tLLnNUphtY6jk0ljnft2gqterpNBABi7Ty20IS9y20BDssPDID7cJDR4frq94hYrHzfCT8IH12XwIScXyfVEUR6YibSETqxKD77KcdZbdccrIQZMDrDjUkx7xKW7TD57HSe0wTa7kq-oFR6QEGFGYHw=&uni>

- platform=NZKPT&language=CHS.
- WANG W F, YIN X C, CUI L W, et al. Ganoderma lucidum spores oil to alleviate physical fatigue in mice role of experimental study [EB/OL]. (2024-10-16) [2025-02-25]. <https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=e03P1e0toG7SdlbqcOfJ9qr&e0zcV-tlLLnNUphY6jk0lJnft2gqteripNBABi7Ty20IS9y20BDssPDID7cJDR4frq94hYrHzfCT8IH12XwIScXyfVEUR6YibSETqxKD77KCdZbdccrIQZMDrDjUkx7xKW7TD57HSe0wTa7kq-oFR6QEgFGYHw> = &uniplatform = NZKPT&language = CHS.
- [16] 关静涛, 廖力坚, 王丽娟. 基于 Nrf2 信号通路的骨骼肌氧化应激作用探讨藏红花素对小鼠力竭运动疲劳的改善作用 [J]. 中国食品添加剂, 2023, 1(6): 66-77.
- GUAN J T, LIAO L J, WANG L J. Exploration of the oxidative stress effect of skeletal muscle based on Nrf2 signaling pathway: the improvement effect of crocin on exhaustive exercise fatigue in mice using [J]. China Food Addit, 2023, 1(6): 66-77.
- [17] HU M, HAN M, ZHANG H, et al. Curcumin (CUMINUP60[®]) mitigates exercise fatigue through regulating PI3K/Akt/AMPK/mTOR pathway in mice [J]. Aging (Albany NY), 2023, 15(6): 2308-2320.
- [18] ZHANG Z, GAO B. Mechanism of hyperbaric oxygen combined with astaxanthin mediating Keap1/Nrf2/HO-1 pathway to improve exercise fatigue in mice [J]. Comput Intell Neurosci, 2022, 2022: 6444747.
- [19] FU J, LI J, SUN Y, et al. In-depth investigation of the mechanisms of *Schisandra chinensis* polysaccharide mitigating Alzheimer's disease rat *via* gut microbiota and feces metabolomics [J]. Int J Biol Macromol, 2023, 232: 123488.
- [20] 孔凡秀, 杨琪, 董佳萍, 等. 人参皂苷 Rg1 对疲劳小鼠骨骼肌中 TFAM 和 NRF-1 基因表达的影响 [J]. 食品与生物技术学报, 2022, 41(2): 67-72.
- KONG F X, YANG Q, DONG J P, et al. Effects of ginsenoside rg1 on gene expression of tfam and nrf-1 in skeletal muscle of fatigued mice [J]. J Food Sci Biotechnol, 2022, 41(2): 67-72.
- [21] 严雪瑜, 蒋钦杨, 吴延军, 等. 广西巴马小型猪 2 型糖尿病模型骨骼肌糖代谢及能量代谢相关基因的表达差异 [J]. 中国实验动物学报, 2016, 24(5): 470-474.
- YAN X Y, JIANG Q Y, WU Y J, et al. Expression of skeletal muscle glucose and energy metabolismrelated genes in Guangxi *Bama minipigs* with type 2 diabetes mellitus [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2016, 24(5): 470-474.
- [22] XIAO R, WEI Y, ZHANG Y, et al. Trilobatin, a naturally occurring food additive, ameliorates exhaustive exercise-induced fatigue in mice: involvement of Nrf2/ARE/ferroptosis signaling pathway [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 913367.

[收稿日期]2025-02-25