

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241023001

引用格式: 吴松霞, 胡渝东, 马星宇, 等. 长鳍金枪鱼胶原低聚肽抗疲劳作用研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(8): 10–18.

WU SX, HU YD, MA XY, *et al.* Study on the anti-fatigue effects of *Thunnus alalunga* collagen oligopeptides [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(8): 10–18. (in Chinese with English abstract).

长鳍金枪鱼胶原低聚肽抗疲劳作用研究

吴松霞¹, 胡渝东², 马星宇², 李嘉鑫¹, 安颖¹, 王玉梅^{2*}, 王斌²

(1. 浙江平太荣生物科技有限公司生命科学大健康研究院, 舟山 316104;

2. 浙江海洋大学食品与医药学院, 舟山 316022)

摘要: 目的 以长鳍金枪鱼(*Thunnus alalunga*)鱼皮胶原低聚肽(tuna skin collagen oligopeptides, TSCOP)为原料, 探究 TSCOP 对小鼠的抗疲劳作用。**方法** 将 TSCOP 设置为低[0.2 mg/(g·d)]、中[0.4 mg/(g·d)]、高[0.8 mg/(g·d)] 3 个剂量组, 对小鼠连续 4 周灌胃, 对各组小鼠抗疲劳状态和指标进行评价。**结果** TSCOP 对小鼠体重、摄食量和机体正常无显著影响, 并能一定程度延长小鼠力竭运动时间。从能量代谢方面看, 高剂量 TSCOP 可显著提升小鼠体内血糖($P<0.001$)和肌糖原水平($P<0.05$), 极显著地降低蛋白质代谢产物尿素氮和血氨的积累($P<0.001$)。此外, 高剂量组 TSCOP 可显著降低血清中肌酸激酶和乳酸脱氢酶的含量($P<0.01$)。在氧化应激防护方面, 高剂量 TSCOP 能显著调节机体的氧化/抗氧化系统平衡($P<0.05$), 降低丙二醛等脂质过氧化产物的含量。**结论** TSCOP 不仅能促进骨骼肌原纤维的修复, 还显著提升肌纤维面积、肌质量和肌力量, 全面改善小鼠肌肉的疲劳状态, 显著提升了其运动耐力, 具有显著的抗疲劳功能, 在运动营养、健康保健等领域展现出广泛的应用前景。

关键词: 长鳍金枪鱼; 胶原低聚肽; 抗疲劳; 能量代谢; 氧化应激; 肌肉保护

Study on the anti-fatigue effects of *Thunnus alalunga* collagen oligopeptides

WU Song-Xia¹, HU Yu-Dong², MA Xing-Yu², LI Jia-Xin¹, AN Ying¹, WANG Yu-Mei^{2*}, WANG Bin²

(1. Great Health Research Institute of Life Sciences, Zhejiang Pingtairong Biotechnology Co., Ltd., Zhoushan 316104, China; 2. School of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the anti-fatigue effects of tuna skin collagen oligopeptides (TSCOP) on mice using TSCOP derived from the skin of *Thunnus alalunga*. **Methods** TSCOP was administered at 3 dose levels—low [0.2 mg/(g·d)], medium [0.4 mg/(g·d)], and high [0.8 mg/(g·d)]—via gavage to mice for 4 consecutive weeks. The anti-fatigue status and related indicators of the mice in each group were evaluated. **Results** TSCOP had no significant impact on the body weight, food intake, or normal physiological functions of the mice, but it did extend the exhaustive exercise time to some extent. From the perspective of energy metabolism, high-dose TSCOP significantly increased blood glucose ($P<0.001$) and muscle glycogen levels ($P<0.05$) in the mice, while markedly reducing the

收稿日期: 2024-10-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(82073764)

第一作者: 吴松霞(1993—), 女, 硕士, 工程师, 主要研究方向为海洋资源综合利用。E-mail: 603427375@qq.com

*通信作者: 王玉梅(1989—), 女, 硕士, 实验师, 主要研究方向为海洋药物。E-mail: Wangyumei731@163.com

accumulation of protein metabolism byproducts such as urea nitrogen and blood ammonia ($P<0.001$). Additionally, high-dose TSCOP significantly decreased serum levels of creatine kinase and lactate dehydrogenase ($P<0.01$). In terms of oxidative stress protection, high-dose TSCOP significantly regulated the balance of the oxidative/antioxidant system ($P<0.05$) and reduced the levels of lipid peroxidation products such as malondialdehyde. **Conclusion** TSCOP not only promotes the repair of skeletal muscle myofibrils but also significantly increases muscle fiber area, muscle mass, and muscle strength, comprehensively improving the fatigue state of the mice's muscles and significantly enhancing their exercise endurance. TSCOP exhibits notable anti-fatigue properties and shows broad application potential in fields such as sports nutrition and health care.

KEY WORDS: *Thunnus alalunga*; collagen oligopeptides; anti-fatigue; energy metabolism; oxidative stress; muscle protection

0 引言

疲劳是一种正常的生理现象,分为正常疲劳、间歇性疲劳、肌肉劳损和多样性硬化性疲劳。疲劳发生机制主要包括:能源物质耗竭理论[如腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)、脂肪和糖原的消耗]、代谢疲劳物质堆积理论(如乳酸、丙酮酸和血清尿素氮的累积)和自由基学说[如羟自由基、超氧阴离子自由基、过氧化氢等活性氧(reactive oxygen species, ROS)的增多]^[1-2]。目前,人们的生活和工作节奏快、压力大、作息不规律、缺乏锻炼等现象普遍存在,疲劳人群数量逐渐增加。如果疲劳不能及时消除,将会形成慢性疲劳综合征,导致生理紊乱、植物神经失调、内分泌失调甚至引起免疫相关的疾病^[3-4]。研究表明,天然活性成分,如黄酮^[5]、食源性多糖^[6]、生物碱^[7]和生物活性肽^[8]等,具有显著的抗疲劳作用,还具有副作用小且来源广泛的优势。

生物活性肽是 2~20 个氨基酸以肽键相连的蛋白质片段,可通过酶解或微生物发酵等方式从蛋白质中释放后发挥作用^[9]。研究发现生物活性肽能够调节血压,降低胆固醇,增强免疫功能^[10],部分活性肽能够抑制癌细胞的增殖和促进其凋亡^[11],清除人体中过量的活性氧自由基^[12],提高运动耐力,缓解疲劳状态,维持人体生理内环境的稳定。对于长期从事脑力劳动和体力劳动的人群,具有显著的保健功能。胶原低聚肽(collagen oligopeptides, COP)是降解胶原蛋白得到的小分子肽,具有抗氧化、抗衰老、促进伤口愈、缓解运动性疲劳,改善体力和耐力等多种生理功能^[13]。另外,COP 易被人体吸收,具有良好生物利用度,已广泛应用于美容、保健和功能性食品领域^[14]。

金枪鱼,又称鲔鱼或吞拿鱼,属于脊索动物门、硬骨鱼纲、鲈形目、鲭科,主要分布于太平洋、大西洋和印度洋的热带、亚热带和温带水域,是典型的大洋性高度洄游鱼类^[15]。金枪鱼营养丰富,其鱼卵中磷脂含量丰富且饱和脂肪酸种类多,可作为优质的脂肪酸来源^[16]。同时又具

有显著的生物活性,其鱼精蛋白在逆转低分子肝素活性方面具有显著效果,可使抗凝血酶-肝素复合物分离,恢复原有的抗凝血酶活性^[17]。金枪鱼对运动性疲劳具有较强的耐受能力,且富含抗疲劳活性物质^[18-19]。粗加工过程中会产生鱼皮、鱼头和碎肉等近 50%的副产物,鱼皮中富含胶原蛋白及多种微量元素(如硒、牛磺酸、谷胱甘肽等),是开发 COP 的优质原料^[20]。而开发的金枪鱼肽类有多种显著的生物活性,具有重要的研究和应用价值^[21]。如抑制黑色素生成和对 Hacat 细胞氧化损伤的保护作用^[22],可通过调节肠道菌群和机体炎症等改善慢性应激诱导的小鼠抑郁样行为^[23]。然而,针对金枪鱼鱼皮胶原低聚肽(tuna skin collagen oligopeptides, TSCOP)在能量代谢调控、氧化应激防护以及抗疲劳作用方面的研究仍然有限。因此,本研究旨在通过探究 TSCOP 在能量代谢调控、氧化应激防护方面发挥的作用,探讨其改善小鼠肌肉疲劳状态,发挥抗疲劳作用,并为其在功能食品和保健品中的开发应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与设备

DGG-9070AD 恒温烘箱(上海森信实验仪器有限公司); HH-WO5 电热搅拌水浴锅(上海芜强仪器设备); UPTA 10L/H 超纯水机(上海力辰邦西仪器科技有限公司); RB29NFSBIS 低温冰箱[三星电冰箱(中国)有限公司]; Revco ULT Freezer-86 °C U410 冰箱、Multiskan FC 酶标仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; HH-W420 恒温水箱(金坛市白塔新宝仪器厂); TGL-16G 高速离心机(上海安亭科学仪器厂); TI-S 倒置式荧光生物显微镜(日本尼康株式会社); 净信 MY-10/20 手持式组织研磨器(上海净信实业发展有限公司); DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(郑州科泰实验设备有限公司); BSA124S 电子分析天平(精度 0.0001 g, 北京赛多利斯仪器系统有限公司); HS-3315 轮转切片机(金华市华速科技有限公司); TEC2602 病理组织漂烘仪(上海精密仪器仪表有限公司)。

1.2 材料与试剂

ICR 品系雄性小鼠[4~5 周龄, 体重约为(20±2) g]购于杭州子源实验动物科技有限公司。小鼠饲养于浙江海洋大学动物房, 环境条件保持在室温(25±2) °C, 相对湿度(50±5)%, 12 h/12 h 光照黑暗周期, 以鼠标准饲料常规饲养, 自由进食和饮水(浙江海洋大学实验动物伦理委员会动物实验伦理审查受理编号: 2022066)。

TSCOP(浙江平太荣生物科技有限公司研制), 以长鳍金枪鱼鱼皮为原料, 经复合生物酶酶解法制备而成, 平均分子量小于 1000 Da 的肽段占比大于 85% 的 COP; 血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)试剂盒(货号: C013-2-1)、血糖(glucose, GLU)测定试剂盒(货号: A043-1-1)、血氨(ammonia, NH₃)测定试剂盒(货号: A086-1-1)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)测定试剂盒(货号: A001-1-1)、肌糖原试剂盒(货号: A043-1-1)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)测定试剂盒(货号: A003-1-2)(南京建成生物工程研究所); 肌酸激酶(creatine kinase, CK)试剂盒(货号: ml092958)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH) ELISA 试剂盒(上海酶联生物科技有限公司); 谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX) ELISA 试剂盒(江苏科特生物科技有限公司); BCA 蛋白浓度测定试剂盒(货号: P0012, 上海碧云天生物技术有限公司); Weigert 铁苏木素染色液(货号: R20387-2, 纯度 99.99%, 上海源叶生物技术有限公司); 磷酸盐缓冲液、氯化钠(sodium chloride, NaCl)(分析纯, 北京索莱宝科技有限公司); 硫酸(sulfuric acid, H₂SO₄)、乙酸(acetic acid, CH₃COOH)、无水乙醇(anhydrous ethanol, C₂H₅OH)(分析纯, 中国医药集团有限公司); 多聚甲醛(分析纯, 上海麦克林生化科技股份有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物实验设计与分组

小鼠经过一周的适应期后, 选取 110 只 ICR 雄性小鼠按表 1 进行实验分组, 每组 10 只小鼠。A 组小鼠用于检测力竭游泳时间(50 只); B 组小鼠无负荷强迫游泳 30 min 后采集血液等组织检测生化指标(60 只)。TSCOP 在灌胃前用蒸馏水配制成水溶液, 根据小鼠体重每日给与相应剂量的待测物, 每只小鼠灌胃量为 200 μL, 每日灌胃一次, 持续 4 周, 对照组和模型组灌胃等体积蒸馏水。A 组小鼠进行力竭游泳实验, B 组小鼠处死取血并解剖, 取腓肠肌组织, 用于后续检测。

1.3.2 小鼠力竭游泳实验

根据文献[24]方法优化如下: 末次给药 30 min 后, 给 A 组小鼠尾根部负 5% 体重铅丝, 将其置于恒温水浴缸中游泳(水温 25 °C, 水深 ≥ 30 cm), 开始计时, 当小鼠力竭后沉入水底 8 s 不再浮起则停止计时, 此为小鼠力竭游泳

时间。游泳期间若有躬腰停止、悬浮休息者, 用物体搅动附近水流迫使其不停运动。

表 1 动物实验设计与分组

Table 1 Design and grouping of animal experiment

组别	灌胃物	剂量 /[mg/(g · d)]	游泳状态	游泳 时间/min
A 空白组(CON)	蒸馏水	-	负重力竭游泳	实测力竭时长
A 阳性药组(WP)	乳清肽	0.4	负重力竭游泳	实测力竭时长
A 低剂量组(LP)	TSCOP	0.2	负重力竭游泳	实测力竭时长
A 中剂量组(MP)	TSCOP	0.4	负重力竭游泳	实测力竭时长
A 高剂量组(HP)	TSCOP	0.8	负重力竭游泳	实测力竭时长
B 空白组(CON)	蒸馏水	-	-	-
B 模型组(MG)	蒸馏水	-	不负重游泳	30
B 阳性药组(WP)	乳清肽	0.4	不负重游泳	30
B 低剂量组(LP)	TSCOP	0.2	不负重游泳	30
B 中剂量组(MP)	TSCOP	0.4	不负重游泳	30
B 高剂量组(HP)	TSCOP	0.8	不负重游泳	30

注: - 未采取任何操作。

1.3.3 小鼠体重

实验开始后, 每天称量并记录小鼠的体重, 密切关注小鼠状态并进行拍照。同时, 称量并记录每日清晨 8 点时每只小鼠饲料容器中的初始饲料量和次日 8 点时剩余饲料量, 计算每日摄入的饲料量。

1.3.4 生化分析

末次给药 30 min 后, 取 B 组各组 10 只小鼠, 在上述游泳缸中自由游泳 30 min。小鼠休息 30 min 后立即进行眼球取血, 血液在室温静置 2 h 后, 于 3000 r/min、4 °C 下离心 5 min, 吸取血清, 保存于 -80 °C。采用试剂盒测定 BUN、LDH、GLU、NH₃ 和 CK 等指标。

取完血清后, 立即处死小鼠, 收集小鼠肌肉组织保存于 -80 °C。测定时, 取 10 g 小鼠肌肉加入生理盐水 90 mL, 利用组织研磨器研磨, 制备 10% 的小鼠肌肉组织匀浆, 在 4000 r/min 离心 10 min 后取上清液, 采用试剂盒测定小鼠腓肠肌组织中肌糖原水平、SOD 活力、GSH-PX 活力与 MDA 含量。

1.3.5 腓肠肌马松三色染色观察

根据文献[25]方法优化如下: 腓肠肌组织样本固定于 4% 多聚甲醛溶液中 24 h 后, 经过梯度乙醇脱水、二甲苯透明处理和石蜡包埋, 利用切片机将包埋的组织切成 4~6 mm 厚的切片, 置于玻片并在 37 °C 病理组织漂烘仪上烤干。切片在梯度乙醇中复水后, 用 Weigert 铁苏木素染色 10 min, 再经流水冲洗 10 min。随后, 切片在酸性品红、磷钨酸和苯胺蓝溶液中依次处理, 染色后的切片经乙醇脱水和二甲苯透明处理后, 在显微镜载玻片上滴加封片剂封盖。最终, 用显微镜观察染色后的切片, 通过腓肠肌

马松三色染色(Masson's trichrome stain, Masson)染色, 观察腓肠肌组织中的肌纤维、胶原纤维和其他结缔组织成分。

1.4 数据处理

实验数据以均值±标准偏差($n=10$)表示。利用 Excel 2016 软件进行实验数据统计和作图, 通过用 IBM SPSS Statistics 27.0.1 软件采用单因素方差分析(analysis of varianc, ANOVA)和新复极差法检验(Dunnett 检验)进行组间比较($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 TSCOP 对小鼠体重和摄食量的影响

在 4 周的灌胃实验期间, 各组小鼠的体重均有所增长(表 2 和表 3)。与 CON 组相比, MG 组、WP 组和 TSCOP 组(LP、MP、HP)的小鼠在体重和摄食量上均未表现出显著性差异($P>0.05$)。图 1 所示各组小鼠在 4 周内的体重均逐周增加, 表明 TSCOP 和 WP 对小鼠的生长发育既无促进作用也无抑制作用, 所有小鼠均处于正常的自然生长和摄食状态。此外, 实验期间小鼠的行为表现和健康状况均保持稳定, 没有出现任何与 TSCOP 相关的负面反应或异常症状。这表明 TSCOP 和 WP 在本研究剂量下对小鼠的整体健康状况没有明显影响, 对小鼠的生长发育、摄食量及主要生理指标均无显著影响。

表 2 TSCOP 对 A 组小鼠体重和摄食量的影响

Table 2 Effects of TSCOP on body weight and food intake in group A mice

组别	初始体重/g	末次体重/g	摄食量/g
CON	23.06±0.71	36.43±1.48	5.13±0.47
WP	23.01±1.01	35.09±1.95	5.09±0.30
LP	22.91±0.95	35.24±1.21	4.98±0.27
MP	22.96±0.72	35.02±1.89	4.97±0.27
HP	23.15±0.88	35.34±3.15	5.03±0.43

表 3 TSCOP 对 B 组小鼠体重和摄食量的影响

Table 3 Effects of TSCOP on body weight and food intake in group B mice

组别	初始体重/g	末次体重/g	摄食量/g
CON	22.98±0.95	36.65±1.25	5.17±0.46
MG	22.95±1.30	35.81±2.77	5.12±0.42
WP	23.11±0.37	35.30±3.01	5.12±0.27
LP	23.06±0.48	34.88±2.29	4.99±0.28
MP	23.02±0.73	34.90±2.45	5.04±0.33
HP	23.09±1.06	35.03±2.75	5.00±0.28

2.2 TSCOP 对小鼠运动能力的影响

从图 2 可知, CON 组小鼠力竭游泳时间为(4.38±0.88) min,

与 CON 组相比, MP 和 HP 组均能显著延长小鼠的力竭游泳时间, 小鼠力竭游泳时间分别延长至(6.03±1.28) min、(5.58±0.26) min。但低于 WP 组小鼠力竭游泳时间(7.63±1.16) min。可见, MP 和 HP 能够显著增强小鼠的耐力, 展现出其作为抗疲劳功能性食品或药物开发的潜力和优势^[26]。

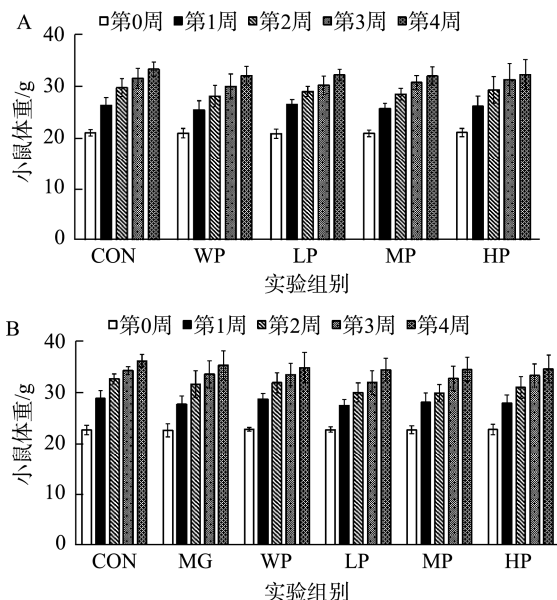
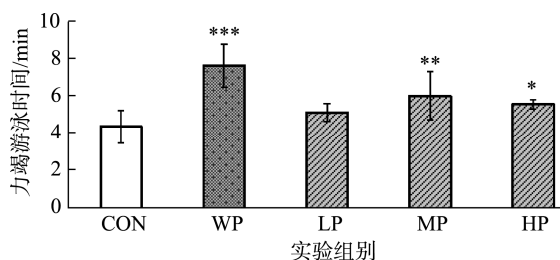


图 1 4 周内 TSCOP 对 A 和 B 组小鼠体重的影响

Fig.1 Effects of TSCOP on body weight of group A and B mice within 4 weeks



注: 与 CON 相比, ***表示具有强极显著差异, $P<0.001$, **表示具有极显著差异, $P<0.01$, *表示具有显著性差异, $P<0.05$ 。

图 2 TSCOP 对小鼠力竭游泳时间的影响

Fig.2 Effects of TSCOP on exhaustive swimming time of mice

2.3 TSCOP 对小鼠 GLU 和肌糖原的影响

图 3a 表明小鼠经 30 min 自由游泳后, 与 CON 组 GLU 含量(5.32±0.24) mmol/L 相比, MG 组的 GLU 含量极显著地降低至(3.44±0.16) mmol/L ($P<0.001$), 说明运动过程中 MG 组小鼠消耗了大量的能源物质。与 MG 组相比, WP 组的 GLU 含量极显著地提高至(5.19±0.18) mmol/L ($P<0.001$), 接近于空白组, 说明 WP 具有显著地稳定血清 GLU 的作用; LP 组 GLU 含量为(3.75±0.37) mmol/L, 与 MG 组无显著性差异($P>0.05$); MP 组 GLU 含量为(4.23±0.38) mmol/L, 与

MG 组有显著性差异 ($P < 0.01$); HP 组 GLU 含量为 (4.86 ± 0.24) mmol/L, 与 MG 组相比有强极显著性差异 ($P < 0.001$), 且接近于 WP 组 GLU 含量。实验结果表明 HP 稳定机体 GLU 能力与 WP 具有相当的效果。

由图 3b 可知, 小鼠经 30 min 自由游泳后, 与 CON 组肌糖原含量 (1.64 ± 0.33) mg/g 相比, MG 组肌糖原含量 (0.72 ± 0.09) mg/g 极显著地降低 ($P < 0.001$), 说明经过一定时间的运动之后, 小鼠腓肠肌中 GLU 不足, 糖原开始分解供能。与 MG 组相比, WP 组肌糖原含量显著提高至 (1.13 ± 0.27) mg/g ($P < 0.05$), 减轻了疲劳对机体的影响; HP 组的肌糖原含量为 (1.18 ± 0.24) mg/g, 较 MG 组有显著性提升 ($P < 0.05$), 且与 WP 组相当。结果表明 HP 在提高肌糖原含量和耐疲劳能力方面与阳性药具有相似效果。

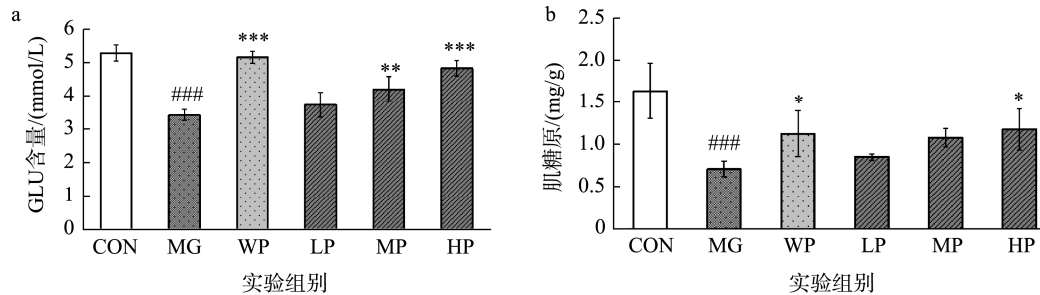
因此, HP 可以显著促进机体糖代谢平衡, 确保小鼠在运动过程中拥有充足的能量储备, 从而维持其优异的运动能力。同时 HP 可通过减少因剧烈运动而导致的过度能量消耗, 有效缓解运动引起的疲劳, 对机体健康产生积极影响。

2.4 TSCOP 对小鼠 BUN 和 NH_3 的影响

BUN 水平深刻反映了机体对运动负荷的耐受能力, 成为评估运动疲劳状态的关键生物标志物^[27]。如图 4a 所示, 小

鼠经 30 min 自由游泳后, MG 组小鼠的 BUN 水平从基础值 (6.69 ± 0.66) mmol/L 急剧上升至 (11.59 ± 1.13) mmol/L ($P < 0.001$), 指示模型组小鼠已处于深度疲劳状态, 其机体对运动的耐受力急剧下降; 而 WP 组小鼠 BUN 的含量则显著回落至 (8.13 ± 0.44) mmol/L ($P < 0.001$), 展现出积极的治疗效果。LP、MP 和 HP 组小鼠 BUN 含量分别为 (10.43 ± 0.95)、(9.23 ± 0.18)、(8.39 ± 0.47) mmol/L, 呈现显著的剂量依赖性, 且与模型组相比各剂量组显著降低了 10.00%、20.45% 和 27.65%。表明 TSCOP 在降低 BUN 水平方面具有显著效能, 且效果与剂量之间呈现正相关。

如图 4b 所示, 小鼠经 30 min 自由游泳后, MG 组小鼠 NH_3 浓度从基础水平的 (208.82 ± 37.99) $\mu\text{mol/L}$ 急剧攀升至 (417.63 ± 24.11) $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.001$), 指示模型组小鼠体内 NH_3 的严重累积及其对运动平衡的负面影响。而 WP 组小鼠的 NH_3 水平显著降低至 (236.72 ± 27.12) $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.001$), 可有效调节 NH_3 代谢; LP、MP 和 HP 组小鼠 NH_3 含量显著降低到 (255.31 ± 34.99)、(247.71 ± 10.56)、(269.69 ± 12.77) $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.001$), 同样展现出了有效的 NH_3 调控能力, 而且 MP 组小鼠 NH_3 浓度相较于模型组降低了 46.29%。因此, TSCOP 在缓解运动引起的 NH_3 积累、维护能量代谢平衡及促进运动恢复方面具有积极作用。



注: 与 CON 相比, ### 表示具有强极显著差异, $P < 0.001$; 与 MG 相比, *** 表示具有强极显著差异, $P < 0.001$, ** 表示具有极显著差异, $P < 0.01$, * 表示具有显著差异, $P < 0.05$ 。图 4-6 同。

图 3 TSCOP 对小鼠血清 GLU、肌糖原含量的影响

Fig.3 Effects of TSCOP on the content of GLU and muscle glycogen levels in mice serum

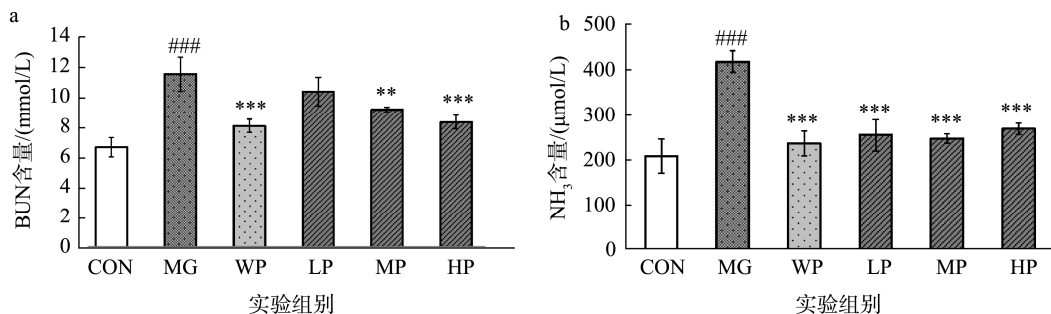


图 4 TSCOP 对小鼠血清中 BUN 和 NH_3 含量的影响

Fig.4 Effects of TSCOP on the content of BUN and NH_3 levels in mice serum

2.5 TSCOP 对小鼠血清中 CK 和 LDH 的影响

血清 CK 水平上升与骨骼肌损伤加剧及疲劳状态密切相关, 被广泛用作评估骨骼肌损伤程度及恢复潜力的生物标志物。如图 5a 所示, MG 组小鼠在 30 min 游泳后, 血清 CK 浓度从基础水平的(97.46±7.14) pg/mL 显著增加至(137.09±13.44) pg/mL ($P<0.001$), 表明骨骼肌细胞的结构及功能受损, 伴随着 CK 的广泛释放。相比之下, WP 组小鼠的血清 CK 浓度显著下降至(118.57±13.44) pg/mL ($P<0.05$), 显示出一定的缓解运动性肌肉损伤的能力。LP、MP 和 HP 组小鼠的 CK 浓度分别显著降低至(117.47±3.52)、(113.46±13.35)、(108.51±11.79) pg/mL, 且所有 TSCOP 组的 CK 浓度均低于 WP 组, 表明 TSCOP 具有减轻运动诱导的骨骼肌损伤方面的优越性能, 且其效果存在显著的剂量依赖性。

如图 5b 所示, 小鼠在 30 min 自由游泳后, MG 组小鼠的血清 LDH 浓度从基础水平的(11.68±1.50) pg/mL 急剧上升至(20.51±3.29) pg/mL ($P<0.001$), 反映 MG 组小鼠骨骼肌内 LDH 的广泛泄漏, 以及由此导致的乳酸堆积和潜在的疲劳状态恶化。与 MG 组相比, WP 组小鼠的血清 LDH 浓度得到了极显著的抑制, 降低至(12.52±1.39) pg/mL ($P<0.001$), 表明 WP 能够减少 LDH 的释放, 缓解乳酸堆积, 从而有效减轻剧烈运动对骨骼肌的损伤而保护肌肉功能。LP、MP 和 HP 在防止 LDH 泄露、减轻乳酸堆积及缓解疲劳方面显示出显著效果, LDH 水平分别降低至(16.86±1.41)、(15.20±1.44)、(12.22±0.46) pg/mL ($P<0.001$), 且 HP 的效果优于 WP, 表明 TSCOP 在缓解运动性骨骼肌损伤及疲劳方面具有显著的剂量依赖性效应。

2.6 TSCOP 对小鼠腓肠肌中 SOD、GSH-PX 和丙二醛水平的影响

图 6a 结果表明 MG 组小鼠的 SOD 活力由 CON 组的(97.38±3.179) U/mgprot 显著降低至(62.259±3.308) U/mgprot ($P<0.001$), 表明剧烈运动诱导小鼠机体氧化应激状态及自由基代谢失衡, 进而可能引发小鼠的肌肉疲劳。与 MG 组相比, WP 组的 SOD 活力显著提高至(93.242±6.039) U/mgprot

($P<0.05$), 说明 WP 可以缓解疲劳运动造成的小鼠机体氧化应激状态。LP、MP 和 HP 组小鼠 SOD 活性分别为(81.806±7.49)、(89.599±7.135)、(93.893±7.54) U/mgprot, 与 MG 组相比呈现出显著性差异($P<0.01$), 且呈剂量依赖性正向效应。因此, TSCOP 可以显著提升腓肠肌 SOD 活性。

图 6b 结果表明 MG 组小鼠的 GSH-PX 活力由 CON 组的(712.57±62.39) U/mL 显著降低至(467.33±88.90) U/mL ($P<0.001$), 表明剧烈运动诱发了严重的氧化应激反应; 与 MG 组相比, WP 组的 GSH-PX 活力极显著提高至(672.81±29.41) U/mL ($P<0.001$), MP 和 HP 组的 GSH-PX 活力分别显著提升至(580.67±42.04)与(597.95±19.35) U/mL ($P<0.05$)。因此, 中、高浓度的 TSCOP 可维持较高的 GSH-PX 活性。

图 6c 结果表明 MG 组小鼠的 MDA 含量从 CON 组的(4.25±0.61) nmol/mgprot 显著升高至(10.42±2.08) nmol/mgprot ($P<0.001$), 表明小鼠剧烈运动诱导氧化应激, 加重小鼠的疲劳状态。与 MG 组相比, WP 组的 MDA 含量则显著回落至(5.23±1.93) nmol/mgprot ($P<0.01$), LP、MP 和 HP 组的 MDA 含量分别显著降低至(7.38±1.61)、(7.26±0.95)、(5.04±1.55) nmol/mgprot。结果表明 TSCOP 可显著降低 MDA 水平, 具有显著的抗氧化及抗疲劳潜力。

2.7 TSCOP 对小鼠腓肠肌组织状态的影响

图 7 展示了腓肠肌组织切片通过马松(Masson)三色染色法放大 200 倍后揭示的骨骼肌组织病理学变化, 其中胶原纤维、粘液及软骨成分被特异性染成蓝色, 而胞浆、肌肉纤维、纤维素及神经胶质则呈现红色。CON 组(图 7a)中蓝色区域近乎缺失, 证实正常生理状态下小鼠肌肉组织未发生纤维化改变, 肌细胞结构保持完整。但是 MG 组(图 7b)具有大面积蓝色区域, 标志着肌肉纤维化的发生, 即受损肌细胞通过纤维母细胞的活化与胶原纤维的沉积进行修复, 所形成的蓝色区域即为修复后疤痕组织(胶原纤维), 直接反映了肌细胞受损的病理状态。WP 组(图 7c)虽有少量胶原纤维, 但与 MG 组(图 7b)相比, 其纤维化程度显著减轻, 表明阳性药物能够有效调控体内 ROS 代谢平衡, 从

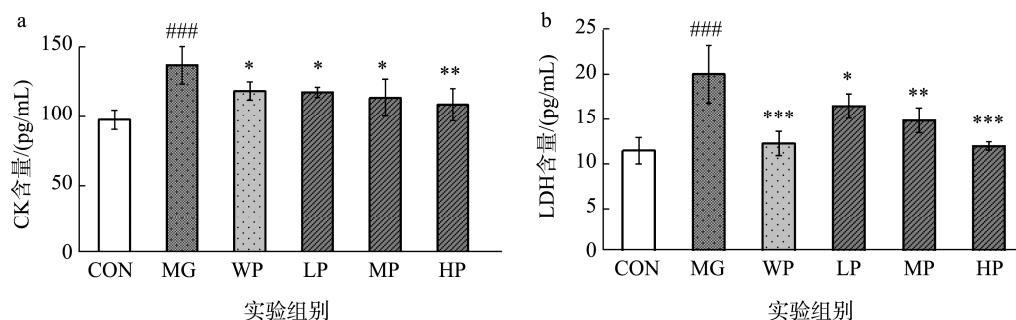


图 5 TSCOP 对小鼠血清中 CK 和 LDH 含量的影响

Fig.5 Effects of TSCOP on the content of CK and LDH in serum of mice

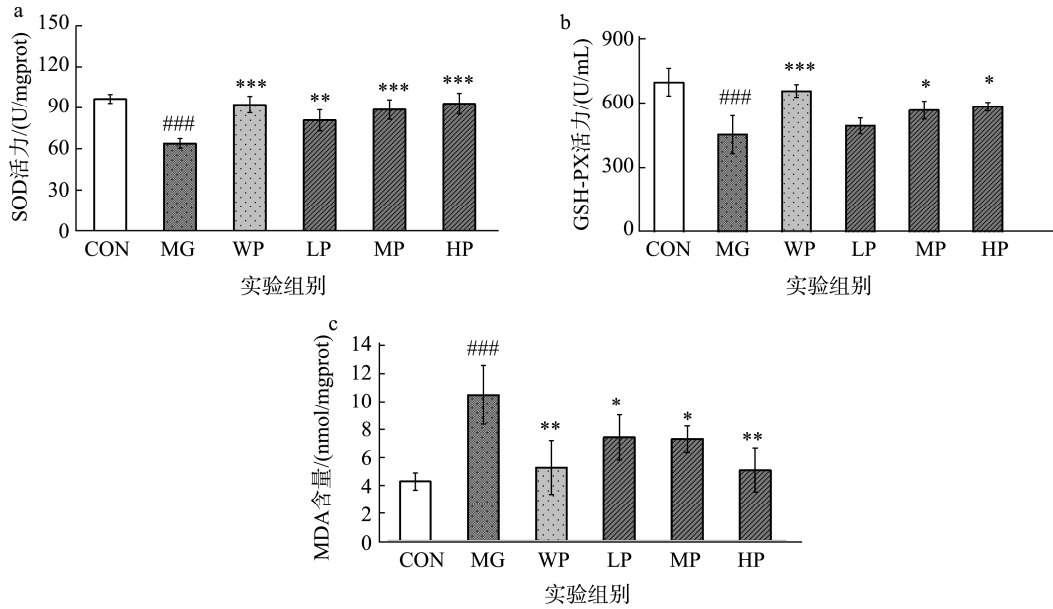
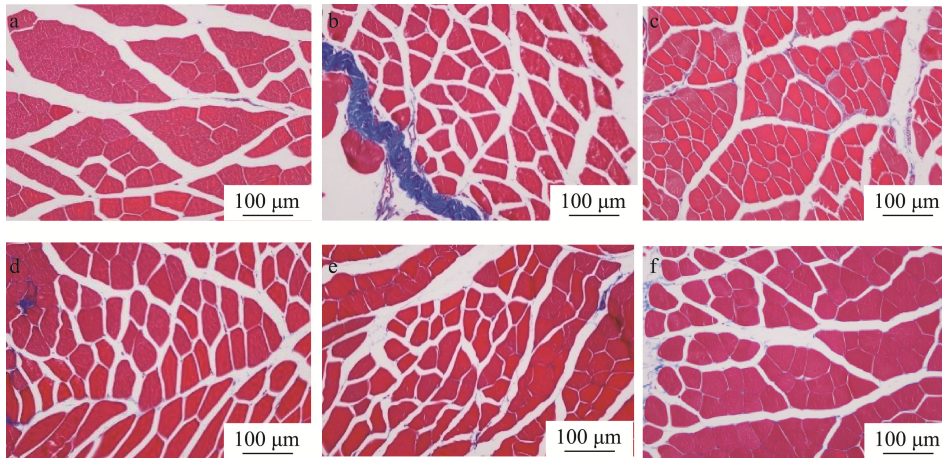


图 6 TSCOP 对小鼠腓肠肌中 SOD、GSH-PX 和 MDA 含量的影响

Fig.6 Effects of TSCOP on the content of SOD, GSH-PX and MDA in the gastrocnemius muscle of mice



注: a. CON; b. MG; c. WP; d. LP; e. MP; f. HP。

图 7 TSCOP 对小鼠腓肠肌组织的影响

Fig.7 Effects of TSCOP on gastrocnemius muscle tissue of mice

而维护骨骼肌结构的相对稳定与功能的部分恢复。而 LP、MP 和 HP 组(图 7d~f)均展现出不同程度的腓肠肌纤维化改善趋势,尤其是 HP 组(图 7f),其组织学表现趋近于空白对照组,几乎无胶原纤维痕迹,显示了 TSCOP 在减轻运动诱导的 ROS 损伤、抑制肌纤维化进程及促进肌细胞存活与肌纤维再生方面的显著作用。

3 讨论

3.1 TSCOP 在缓解运动性骨骼肌损伤及疲劳方面的作用

TSCOP 能够提高肌糖原含量,显著促进机体糖代谢平衡,确保小鼠在运动过程中拥有充足的能量储备,减少

因剧烈运动而导致的过度能量消耗,减轻疲劳对机体的影响。有关食源性成分抗疲劳的研究数见不鲜,如膳食鱼油在骨骼肌连续收缩时能具有一定的抵疲劳作用^[28],另外,低聚肽作为一种食源性抗疲劳成分,能够通过调节能量代谢、提高抗氧化能力,显著改善运动耐力并缓解疲劳感^[29]。这与本研究中 TSCOP 延长小鼠力竭游泳时间的结果一致,表明 TSCOP 在缓解运动性骨骼肌损伤及疲劳方面具有显著的剂量依赖性效应。MP 和 HP 组均能显著延长小鼠的力竭游泳时间至(6.03±1.28) min、(5.58±0.26) min,与其他来源的低聚肽在抗疲劳功能方面也展现出竞争力。例如,发酵大豆蛋白低聚肽在类似实验条件下小鼠力竭游泳时间为由 10 min 延长至 14 min 左右^[30]。高剂量用老母鸡制备的

鸡精能将小鼠力竭游泳时间从 261.5 s 延长至 681.25 s^[31], 而高剂量豌豆肽则可从 (10.41±0.72) min 延长至 (17.33±1.14) min^[32]。由此可见, MP 和 HP 能够显著增强小鼠的耐力, 展现出其作为抗疲劳功能性食品或药物开发的潜力和优势。海洋来源的活性多肽在减少运动性骨骼肌损伤和缓解疲劳方面也表现出一定效果。如: 水母胶原蛋白水解物可促进大鼠的攀爬耐力, 并具有抗疲劳作用, 低剂量组、高剂量组和阳性对照组的爬杆时间均长于对照组, 分别增加了 74.54%、95.12% 和 114.86% ($P < 0.01$)^[27]; 黄姑鱼鱼鳔中抗氧化和抗疲劳肽能使 ICR 小鼠的力竭游泳时间延长, SBP-III-3 高剂量组(SBP-III-3-HG)的平均力竭时间为 (33.41±2.40) min(比正常对照组长 107.5%); SBP-III-3 中剂量组(SBP-III-3-MG)的平均力竭时间为 (28.86±1.01) min(比正常对照组长 79.2%)^[26]。以上研究结果与本结论一致, TSCOP 尤其是在高剂量条件下, 具有作为运动营养补充剂的潜力和有效性。

在分析 TSCOP 对小鼠力竭游泳时间的剂量依赖性时, 发现 MP 比 HP 表现出更长的游泳时间, 且两者之间具有显著性差异, 而其他指标(如 BUN、NH₃、CK、LDH、SOD、GSH-PX、MDA 等)均呈现良好的剂效依赖性。这种现象可能源于以下原因: (1)高剂量引起的负反馈效应: 高剂量的抗氧化剂可能导致机体内氧化还原平衡的过度调整, 反而对运动能力产生负面影响。有研究指出, 过量的抗氧化剂补充可能干扰机体的自然适应过程, 削弱运动训练的效果^[33]。(2)游泳时间的个体差异性与行为因素: 小鼠的游泳时间不仅受生理因素影响, 还可能受到行为状态、环境因素等的干扰, 导致结果出现较大变异性^[34]。过量的抗氧化剂补充可能干扰机体的自然适应过程, 削弱运动训练的效果, 这为本研究中的 HP 组效果低于 MP 组的现象提供了理论依据^[29]。

3.2 TSCOP 的抗氧化作用

TSCOP 作为一种天然的抗氧化剂, 展示了其可通过提升抗氧化酶系统的活性(如 SOD 和 GSH-PX), 降低氧化损伤标志物(如 MDA)含量, 显著缓解高强度运动导致的氧化应激和肌肉疲劳。赵静^[29]在其研究中也提到, 抗疲劳成分通过增强机体的抗氧化能力、降低乳酸和其他代谢物的积累, 能够有效地改善运动能力并减缓疲劳的产生。因此, 本研究结果表明, TSCOP 通过调节运动过程中产生的 ROS 代谢失衡, 有效减少了 ROS 对胶原纤维的破坏, 显著缓解因疲劳引发的肌纤维化病理过程, 促进了肌细胞存活与肌纤维数量的增加, 进而提升肌肉质量与力量输出, 为小鼠运动能力的整体提升提供了有力支持。

TSCOP 在延长小鼠力竭游泳时间和抗氧化等指标上的表现虽具竞争力, 但与阳性对照相比优势不够显著。TSCOP 作为天然功能性低聚肽, 其安全性、天然性和多功能性等是其优势, 这与化学合成药物的高效特性本身存在

一定差异。

4 结 论

本研究揭示了 TSCOP 在提升小鼠运动耐力、减少代谢物积累及抗氧化方面的显著作用。TSCOP 通过增加肌糖原和血清葡萄糖含量, 提高能源储备, 有效延长了小鼠的负重力竭游泳时间, 显著降低因能量不足导致的蛋白质代谢产物(BUN 和 NH₃)积累, 有效减轻运动疲劳。此外, TSCOP 通过提高抗氧化酶活力清除过量的活性氧、抑制脂质过氧化, 维护了机体的氧化与抗氧化平衡, 进一步延缓了疲劳的产生。因此, TSCOP 可以显著地缓解运动疲劳, 本研究为利用 TSCOP 开发运动营养、健康保健产品提供了坚实的理论基础。

参考文献

- [1] ROSS A, GEIGER-BROWN J, YANG L, *et al.* Acute and chronic fatigue in nurses providing direct patient care and in non-direct care roles: A cross-sectional analysis [J]. *Nursing & Health Sciences*, 2021, 23(3): 628–638.
- [2] 陈慧, 马璇, 曹丽行, 等. 运动疲劳机制及食源性抗疲劳活性成分研究进展[J]. *食品科学*, 2020, 41(11): 247–258.
CHEN H, MA X, CAO LX, *et al.* Recent progress in the mechanism behind exercise-induced fatigue and dietary bioactive components against fatigue [J]. *Food Science*, 2020, 41(11): 247–258.
- [3] GONCHAROV NV, KORF EA, NOVOZHILOV AV, *et al.* Chapter 15-Nutraceuticals in sports activities and fatigue [M]. 2nd ed. London: Academic Press, 2021.
- [4] HUO LJ, ZHOU YJ, LI S, *et al.* Burnout and its relationship with depressive symptoms in medical staff during the COVID-19 epidemic in China [J]. *Frontiers in Psychology*, 2021, 12: 616369.
- [5] CHEN XL, LIANG DH, HUANG ZQ, *et al.* Anti-fatigue effect of quercetin on enhancing muscle function and antioxidant capacity [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2021, 45(11): e13968.
- [6] PENG YF, ZHAO LL, HU K, *et al.* Anti-fatigue effects of *Lycium barbarum* polysaccharide and effervescent tablets by regulating oxidative stress and energy metabolism in rats [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(18): 10920.
- [7] FERDAOS N, HARADA A, MASUDA E, *et al.* Caffeine-supplemented diet prevents fatigue-like behavior in tumor-bearing mice [J]. *Nutrition and Cancer-an International Journal*, 2023. DOI: 10.1080/01635581.2022.2163669
- [8] 余毅豪. 海参肽抗疲劳的作用及机制研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021.
YU YH. Research on anti-fatigue effect and mechanism of sea cucumber peptide [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.
- [9] 杨少玲, 李来好. 抗疲劳肽的研究现状[J]. *湛江海洋大学学报(自然科学)*, 2006, 26(6): 77–82.
YANG SL, LI LH. Research status of anti-fatigue peptides [J]. *Journal of Zhanjiang Ocean University (Natural Science)*, 2006, 26(6): 77–82.
- [10] 王伟, 李明, 张华. 生物活性肽的功能及其应用[J]. *广东海洋大学学报*, 2023, 42(3): 45–52.
WANG W, LI M, ZHANG H. Functions and applications of bioactive peptides [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2023, 42(3): 45–52.
- [11] 陈刚, 刘娜, 杨丽. 海洋生物活性肽的抗癌活性及其机制研究[J]. *广东海洋大学学报*, 2024, 43(2): 33–40.

- CHEN G, LIU N, YANG L. Anticancer activity and mechanism of marine bioactive peptides [J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2024, 43(2): 33–40.
- [12] 许珂, 缪秉陶, 曹洪杰, 等. 鮫鰾鱼皮活性肽的分离纯化及其对 HK-2 细胞损伤保护的作用[J]. 广东海洋大学学报, 2024, 44(4): 1–10.
- XU K, MIAO BT, CAO HJ, *et al.* Isolation and purification of bioactive peptides from anglerfish skin and their protective effects on HK-2 cell injury [J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2024, 44(4): 1–10.
- [13] 胡亚平, 张金秀, 赵立强, 等. 双孢菇蛋白粉废料中多糖的分离纯化及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(3): 32–38.
- HU YP, ZHANG JX, ZHAO LQ, *et al.* Isolation, purification, and antioxidant activity of polysaccharides from *Agaricus bisporus* protein powder waste [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(3): 32–38.
- [14] 杨晓东, 张杨, 张寿, 等. 胶原蛋白肽的提取及应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(9): 469–476.
- YANG XD, ZHANG Y, ZHANG S, *et al.* Research progress in extraction and application of collagen peptides [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(9): 469–476.
- [15] SUN RX, SUN Y, XIE XD, *et al.* Bioaccumulation and human health risk assessment of DDT and its metabolites (DDTs) in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and their prey from the South China Sea [J]. Marine Pollution Bulletin, 2020, 158: 111–396.
- [16] 王斌, 邹华威, 李龙岩. 金枪鱼卵营养成分分析及营养评价[J]. 广东海洋大学学报, 2020, 40(2): 111–116.
- WANG B, WU HW, LI LY. Nutrient composition analysis and nutritional evaluation of tuna roe [J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2020, 40(2): 111–116.
- [17] 王斌, 杨绣荣, 邹华威, 等. 金枪鱼精巢鱼精蛋白制备及活性评价[J]. 广东海洋大学学报, 2020, 40(5): 64–71.
- WANG B, YANG XR, WU HW, *et al.* Preparation and activity evaluation of protamine from tuna testis [J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2020, 40(5): 64–71.
- [18] OLSON KR, DEWAR H, GRAHAM JB, *et al.* Vascular anatomy of the gills in a high energy demand teleost, the skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) [J]. Journal of Experimental Zoology Part A, Comparative Experimental Biology, 2003, 297(1): 17–31.
- [19] 符文雅, 韦露, 张鹏飞, 等. 金枪鱼鳃的形态结构与氧供给特征研究进展[J]. 大连海洋大学学报, 2022, 37(5): 885–893.
- FU WY, WEI L, ZHANG PF, *et al.* Research progress on morphological structure and oxygen supply characteristics of tuna gills [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2022, 37(5): 885–893.
- [20] 杨敏, 吴兆明, 李晶晶, 等. 鱼皮胶原蛋白寡肽的生物活性及应用研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(5): 304–310.
- YANG M, WU ZM, LI JJ, *et al.* Advances in biological activity and application of fish skin collagen-derived oligopeptides [J]. Food Science, 2018, 39(5): 304–310.
- [21] 韩霜, 马良, 杨晖, 等. 大目金枪鱼皮明胶的理化性质及结构分析[J]. 食品科学, 2018, 39(10): 40–45.
- HAN S, MA L, YANG H, *et al.* Physicochemical properties and structural analysis of bigeye tuna skin gelatin [J]. Food Science, 2018, 39(10): 40–45.
- [22] 吴松霞, 郑硕磊, 安颖, 等. 金枪鱼胶原原低聚肽抑制皮肤细胞黑色素生成及抗氧化损伤作用研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(1): 91–101.
- WU SX, ZHENG SL, AN Y, *et al.* Study on the inhibition of melanogenesis and antioxidant damage of tuna skin collagen oligo-peptide [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(1): 91–101.
- [23] 叶伟昌, 孙东方, 孙力军, 等. 金枪鱼肽可通过调节肠道菌群和系统炎症及肠道 5-HT 水平改善小鼠抑郁样行为[J]. 中国微生态学杂志, 2023, 35(2): 132–137.
- YE WC, SUN DF, SUN LJ, *et al.* Tuna peptides can improve depressive-like behaviors in mice by regulating gut microbiota, systemic inflammation, and intestinal 5-HT levels [J]. Chinese Journal of Microecology, 2023, 35(2): 132–137.
- [24] 但春风, 张庆瑜, 何盼, 等. 基于 ¹H NMR 代谢组学技术结合网络药理学的恒山黄芪抗疲劳药效比较及调控牛磺酸代谢的机制初探[J]. 药理学学报, 2023, 58(7): 1751–1760.
- DAN CF, ZHANG QY, HE P, *et al.* Comparative study on the anti-fatigue effect of hengshan astragalus and preliminary exploration of its mechanism in regulating taurine metabolism based on ¹H NMR metabolomics combined with network pharmacology [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2023, 58(7): 1751–1760.
- [25] 赵常云蕾, 刘俊宁, 赵宇, 等. 理气补血汤调控 TGF- β 1/Smad 通路延缓失神经骨骼肌萎缩的机制研究[J]. 中国当代医药, 2021, 28(33): 8–16.
- ZHAO CYL, LIU JN, ZHAO Y, *et al.* Study on the mechanism of regulating Qi and blood soup in delaying denervated skeletal muscle atrophy by regulating TGF- β 1/Smad pathway [J]. China Modern Medicine, 2021, 28(33): 8–16.
- [26] ZHAO YQ, ZENG L, YANG ZS, *et al.* Anti-fatigue effect by peptide fraction from protein hydrolysate of croceine croaker (*Pseudosciaena crocea*) swim bladder through inhibiting the oxidative reactions including DNA damage [J]. Marine Drugs, 2016, 14(12): 221.
- [27] DING JF, LI YY, XU JJ, *et al.* Study on effect of jellyfish collagen hydrolysate on anti-fatigue and anti-oxidation [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(5): 1350–1353.
- [28] 原超, 曹丹丹. 膳食鱼油对运动大鼠骨骼肌耗氧量及运动疲劳的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(9): 2879–2885.
- YUAN C, CAO DD. Effects of dietary fish oil on skeletal muscle oxygen consumption and exercise fatigue in exercise rats [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(9): 2879–2885.
- [29] 赵静. 运动疲劳机制及食源性抗疲劳活性成分研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(9): 3565–3571.
- ZHAO J. Research progress of sports fatigue mechanism and food-borne anti-fatigue active ingredients [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(9): 3565–3571.
- [30] FANG L, ZHANG RX, WEI Y, *et al.* Anti-fatigue effects of fermented soybean protein peptides in mice [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2022, 102(7): 2693–2703.
- [31] CHANG TC, CHEN WC, HUANG CW, *et al.* Anti-fatigue activity of dripped spent hens chicken essence in ICR mice [J]. Animal Bioscience, 2022, 36(2): 307.
- [32] FENG T, HUANG Y, TANG Z, *et al.* Anti-fatigue effects of pea (*Pisum sativum* L.) peptides prepared by compound protease [J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 58: 2265–72.
- [33] BAUR JA, SINCLAIR DA. Therapeutic potential of resveratrol: The in vivo evidence [J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2006, 5(6): 493–506.
- [34] DING HR, WANG JL, TANG ZT, *et al.* Mesenchymal stem cells improve glycometabolism and liver regeneration in the treatment of post-hepatectomy liver failure [J]. Frontiers in Physiology, 2019, 10: 412.

(责任编辑: 韩晓红 安香玉)