DOI: 10.16016/j.1000-5404.201909220

紫檀芪改善睡眠限制小鼠运动耐力的作用及其机制

刘 洋,郎和东,惠锁成,陈 卡,糜漫天 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)军事预防医学系营养与食品安全研究中心,重庆市医学营养研究中心,重庆市营养与食品安全重点实验室

[摘要] **目的** 探讨紫檀芪(pterostilbene,PTE)对睡眠限制(sleep restriction,SR)小鼠运动耐力的改善作用及机制。**方法** 30 只 C57BL/6J 雄性小鼠,分为对照组(CON)、睡眠限制组(SR)和紫檀芪干预睡眠限制组(SR+PTE)。采用睡眠剥夺仪建立 SR 模型,限制每日睡眠时间为 4 h、持续 5 d,PTE 于每日 8:00 灌胃[100 mg/(kg·d)]。检测小鼠体质量;于观察终点进行负重力竭游泳实验,检测血清运动性疲劳生化指标;HE 染色观察骨骼肌组织病理学变化。分别采用实时定量 PCR 和 Western blot 检测骨骼肌线粒体 DNA(mtDNA)含量,线粒体生物合成相关基因的 mRNA、蛋白表达,以及腺苷酸活化蛋白激酶[adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase,AMPK]和沉默信息调节因子 1(silent mating-type information regulation 2 homolog 1,SIRT1)的蛋白表达。**结果** 与 CON 组相比,SR 组和 SR+PTE 组小鼠体质量均显著下降($P<0.05$),但 SR 组下降幅度更大($P<0.05$);SR+PTE 组小鼠较 SR 组力竭游泳时间显著延长($P<0.05$),血清 LDH、CK 水平显著下降($P<0.05$);HE 染色结果差异无统计学意义。SR+PTE 组小鼠骨骼肌组织 mtDNA 含量及 PGC1α、NRF1、ERRα 和 TFAM 等线粒体生物合成相关基因的表达较 SR 组明显升高($P<0.05$)。Western blot 检测结果显示:SR+PTE 组小鼠 p-AMPK 和 SIRT1 表达较 SR 组明显升高($P<0.05$),AMPK 表达差异无统计学意义。**结论** 紫檀芪可改善睡眠限制小鼠的运动耐力,其机制可能通过激活 AMPK/SIRT1 信号通路提高线粒体生物合成能力。

[关键词] 紫檀芪;睡眠限制;运动耐力;线粒体生物合成

[中图法分类号] R256.23; R285.5; R872.7 [文献标志码] A

Pterostilbene improves exercise intolerance induced by sleep restriction in mice by activating AMPK/SIRT1 signaling and promoting mitochondrial biosynthesis

LIU Yang, LANG Hedong, HUI Suocheng, CHEN Ka, MI Mantian Center of Nutrition and Food Safety, Chongqing Center of Medical Nutrition, Chongqing Key Laboratory of Nutrition and Food Safety, Faculty of Military Preventive Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of pterostilbene (PTE) on exercise intolerance induced by sleep restriction (SR) in mice and explore the underlying mechanism. **Methods** Thirty male C57BL/6J mice were randomized into control group, SR group and SR with PTE treatment (SR+PTE) group. The mice in the latter 2 groups were kept awake using a sleep deprivation apparatus with their daily sleep time limited to 4 h for 5 consecutive days. In SR+PTE group, the mice received PTE treatment by gavage at a daily dose of 100 mg/kg (administered at 08:00 am). After the 5-day treatment, body weight changes of the mice were recorded, and a weight-loaded forced swimming test was performed; blood samples were collected for detecting serum levels of biochemical indicators of exercise fatigue. HE staining was used to observe the pathological changes of the skeletal muscle tissue. The mitochondrial DNA (mtDNA) content and the

[基金项目] 全军后勤科研重大项目(AWS17J014)

[通信作者] 糜漫天,E-mail:mi_mt2009@hotmail.com

expressions of AMPK, SIRT1 and mitochondrial biogenesis-related genes were determined by real-time PCR and Western blotting. **Results** Compared with those in the control group, the mice in both SR and SR+PTE groups showed significant weight loss after the treatment ($P<0.05$), and the decrease was more obvious in SR group ($P<0.05$). Compared with those in SR group, the mice in SR+PTE group had significantly prolonged exhaustive swimming time and significantly lowered serum levels of LDH and CK ($P<0.05$). No significant differences were found in skeletal muscle pathologies among the groups. The mtDNA content and expression levels of mitochondrial biosynthesis-related genes including PGC1α, NRF1, ERRα and TFAM were significantly higher in SR+PTE group than in SR group ($P<0.05$). Western blotting showed that the expression levels of p-AMPK and SIRT1 were significantly higher in SR+PTE group than in SR group ($P<0.05$), while that of AMPK were comparable between the 2 groups. **Conclusion** PTE can improve exercise intolerance in mice exposed to SR possibly by activating AMPK/SIRT1 signaling pathway to enhance mitochondrial biogenesis.

[**Key words**] pterostilbene; sleep restriction; exercise tolerance; mitochondrial biogenesis

Supported by the Major Military Logistics Scientific Research Project of PLA (AWS17J014). Corresponding author: MI Mantian, E-mail: mi_mt2009@hotmail.com

运动耐力是军事作业能力基础,是打赢战争至关重要的因素之一。现代高技术战争条件下,睡眠限制(sleep restriction,SR)已成为平、战时环境下的常见现象。SR 是指将每日睡眠时间限制在比正常水平较低的水平,从而导致总睡眠时间减少。研究表明 SR 影响运动表现,是导致作战官兵发生疲劳衰竭、丧失战斗力、出现非战斗减员的重要原因之一,是军队在组织和进行持续作战、训练时必须考虑的重要军事医学问题[1-2]。因此,如何改善 SR 引起的耐力下降,已经引起越来越多的关注,迫切需要找到解决的方法。

紫檀芪(pterostilbene,PTE)是白藜芦醇(resveratrol,RSV)的二甲基化类似物,广泛存在于蓝莓、葡萄等食物中,具有与 RSV 相似的生物学作用,包括抗氧化、抗癌、抗炎等。PTE 具有比 RSV 更高的口服生物利用度,而且在高剂量下也对人体无毒,因此更具实际应用前景[3-4]。已有研究证明 RSV 通过激活腺苷酸活化蛋白激酶[adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK]、沉默信息调节因子 1(silent mating-type information regulation 2 homolog 1, SIRT1)和过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活物 1-α(peroxisome proliferator-actived receptor γ coactivator 1-α, PGC-1α)以提高线粒体生物合成能力,提高运动耐力[5]。据报道,PTE 也可作用于 AMPK 和 SIRT1 以发挥其生物学作用,但其对运动耐力的有益影响尚少见研究涉及[6-7]。本研究采用睡眠剥夺仪构建小鼠睡眠限制模型,观察 PTE 对睡眠限制小鼠运动耐力的影响,探讨 AMPK、SIRT1 在其中可能的作用,为进一步研究 PTE 作为营养干预手段,应用于保障军人体能强健工作提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

6~8 周龄健康雄性 C57BL/6 小鼠 30 只,体质量(24.63±0.64)g,购于陆军军医大学大坪医院实验动物中心[动物合格证号:SCXK(京)2015-00169]。动物饲养于陆军军医大学实验动物中心,室温(22±2)℃,明暗周期 12 h,并自由进食与饮水。实验正式开始前先适应性喂养 1 周,30 只小鼠分为 3 组($n=10$):对照组(CON)、睡眠限制组(SR)和睡眠限制加 PTE 100 mg/(kg·d)组(SR+PTE)。干预结束时,每组随机抽取 5 只小鼠进行负重力竭游泳实验,剩余 5 只小鼠脱颈处死后迅速解剖分离骨骼肌组织。PTE 用 0.1% DMSO 配制,根据给予光照时刻(zetigeber time,ZT)于每日 ZT0(8:00 给予光照即为 ZT0)使用标准灌胃针灌胃完成,CON 组和 SR 组给予相应体积的 0.1%DMSO。

1.2 主要试剂

PTE(纯度≥98%)购于成都曼斯特公司,PGC1α、NRF1、TFAM、SIRT1 抗体购于美国 Abcam 公司,AMPK、p-AMPK、β-ACTIN 抗体购于美国 Cell signaling 公司,ERRα 抗体购于美国 Bimake 公司,qPCR 转录试剂购于日本 TaKaRa 公司,DNA 合成均来自上海生工生物工程股份有限公司。

1.3　睡眠限制模型构建

采用睡眠剥夺仪(SA108,江苏赛昂斯公司)建立C57BL/6小鼠SR模型。通过可调节周期的剥夺杆来回扫描饲养笼底部,使小鼠在光照期的前8 h(ZT0~ZT8)被迫保持清醒状态,以达到SR的目的(图1)。SR持续5 d,相当于模拟1个工作周。同时,CON组在相同条件下保持在不同的笼子中,但不进行睡眠干预。



图1　睡眠限制模式图

1.4　游泳训练

游泳训练在椭圆形塑料游泳池(50 cm×50 cm×40 cm)中进行,水温(25±2)℃,水深(30±1) cm,使小鼠不能用四肢触碰池底。为了尽量减少小鼠的应激反应,各组小鼠于干预期间保持每日进行游泳训练15 min。

1.5　主要检测指标与方法

1.5.1　体质量指标　　使用陆军军医大学实验动物中心提供的EL303-IC电子天平,于干预开始和干预结束进行2次体质量称量。

1.5.2　负重力竭游泳实验　　干预结束时,每组选取5只小鼠,每只小鼠尾部负重10%体质量的铅皮,进行负重力竭游泳实验,并记录力竭游泳时间。力竭判定标准为:小鼠头部完全沉入水下并在8 s内未抬头[8]。

1.5.3　血清运动性疲劳生化指标检测　　各组小鼠负重力竭游泳实验结束后,眼球取血,4 ℃静置2 h后,1 100×*g*离心15 min,取上层血清,生理盐水稀释5倍后,送陆军军医大学第一附属医院检验科,使用贝克曼库尔特全自动生化分析仪测定乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)和血尿素氮(BUN)。

1.5.4　小鼠骨骼肌HE染色　　干预结束时,取各组未进行负重力竭游泳实验的小鼠,脱颈处死,固定于操作台上,纵向切开后肢皮肤,完整分离双侧骨骼肌组织(腓肠肌及比目鱼肌)。取小鼠左侧骨骼肌组织(厚度为4 μm),于4%多聚甲醛固定,石蜡包埋切片,进行HE染色,显微镜下观察。

1.5.5　实时PCR(Real Time-PCR,RT-PCR)检测各组小鼠骨骼肌中线粒体生物合成相关基因的表达　　按照试剂盒说明书要求,提取各组未进行负重力竭游泳实验的小鼠骨骼肌组织中总RNA,再反转录获得cDNA,而后配制RT-PCR反应体系,并在实时定量PCR仪上进行PCR反应。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$计算方法比较各组cDNA的相对表达量。各引物序列见表1。

表1　各基因引物序列与长度

基因	引物序列(5′→3′)	产物长度/bp
pgc-1α	上游:GTCCTTCCTCCATGCCTGAC	376
	下游:GACTGCGGTTGTGTATGGGA	
nrf-1	上游:CTTCATGGAGGAGCACGGAG	289
	下游:ATGAGGCCGTTTCCGTTTCT	
errα	上游:ATCTGCTGGTGGTTGAACCTG	150
	下游:AGAAGCCTGGGATGCTCTTG	
tfam	上游:TGGGGACCAGGGCAGCCATT	301
	下游:AGGGCTTGCTGCCCACACAT	
ND1	上游:TCCCCTACCAATACCACACCC	159
	下游:ATTGTTTGGGCTACGGCTCG	
β-actin	上游:GTGACGTTGACATCCGTAAAGA	245
	下游:GCCGGACTCATCGTACTCC	

1.5.6　Western blot检测各组小鼠骨骼肌中线粒体生物合成相关蛋白及AMPK/SIRT1信号通路的表达

取各组未进行负重力竭游泳实验的小鼠骨骼肌组织30 mg,加入800 μL配制好的含蛋白酶抑制剂的组织裂解液,磁珠破碎后,冰上裂解30 min,离心提取上清液,用BCA法测定蛋白浓度,于沸水浴10 min。配制10% SDS-PAGE胶,蛋白上样(40 μg/孔)后,经过电泳、转膜、封闭后,添加一抗β-actin(1∶1 000)、AMPK(1∶1 000)、p-AMPK(1∶1 000)、SIRT1(1∶1 000)、PGC1α(1∶1 000)、NRF1(1∶1 000)、ERRα(1∶1 000)和TFAM(1∶1 000)于4 ℃孵育过夜。PBST洗膜3次,室温孵育二抗1 h,再次洗膜3次,使用分子成像仪成像。以β-actin为内参,采用IMAGE J软件分析条带灰度值。

1.5.7　骨骼肌组织中线粒体DNA含量检测　　使用试剂盒从各组未进行负重力竭游泳实验的小鼠骨骼肌组织中分离DNA。用分光光度法(260 nm)定量DNA并进行定量实时PCR。通过比较它们的扩增产物与ND1的扩增产物以获得mtDNA相对量。引物序列见表1。

1.6　统计学分析

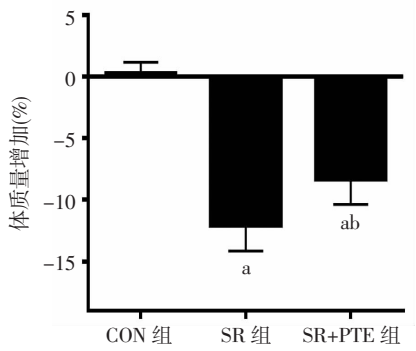
采用GraphPad Prism 6.0软件进行数据分析,计

量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间用单因素方差分析 Turkey 检验。检验水准:$\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 各组小鼠体质量变化

干预期间,CON 组活动偏好正常,SR 组和 SR+PTE 组小鼠在睡眠限制期间(ZT0~ZT8)变得更加活泼。与 CON 组相比,SR 组和 SR+PTE 组小鼠体质量在 5 d 干预期内显著下降,但 SR 组小鼠下降幅度更大($P<0.05$,图 2)。



a:$P<0.05$,与 CON 组比较;b:$P<0.05$,与 SR 组比较

图 2 各组小鼠体质量的变化 ($n=10,\bar{x}\pm s$)

2.2 各组小鼠负重力竭游泳时间

CON 组小鼠负重力竭游泳时间为(11.10±1.25)min,SR 组小鼠为(7.60±1.42)min,力竭游泳时间较 CON 组明显缩短 31.55%($P<0.05$),显示 SR 组小鼠更快达到力竭状态。SR+PTE 组小鼠的力竭游泳时间为(10.71±1.41)min,较 SR 组力竭游泳时间明显延长 40.96%,与 CON 组比差异无统计学意义。

2.3 各组小鼠负重力竭游泳后血清运动性疲劳指标变化

与 CON 组相比,SR 组 LDH、CK 和 BUN 水平显著升高($P<0.05$);与 SR 组相比,SR+PTE 组 LDH 和 CK 水平显著降低($P<0.05$),但 BUN 并无明显变化(表 2)。

表 2 各组小鼠负重力竭游泳后血清指标变化 ($n=5,\bar{x}\pm s$)

组别	LDH/IU·L^{-1}	CK/IU·L^{-1}	BUN/mmol·L^{-1}
CON 组	177.36±28.09	573.00±49.50	7.44±1.09
SR 组	265.80±55.24^{a}	941.88±237.85^{a}	10.20±0.95^{a}
SR+PTE 组	187.44±25.43^{b}	649.20±130.50^{b}	8.76±0.86

a:$P<0.05$,与 CON 组比较;b:$P<0.05$,与 SR 组比较

2.4 各组小鼠骨骼肌组织病理学变化

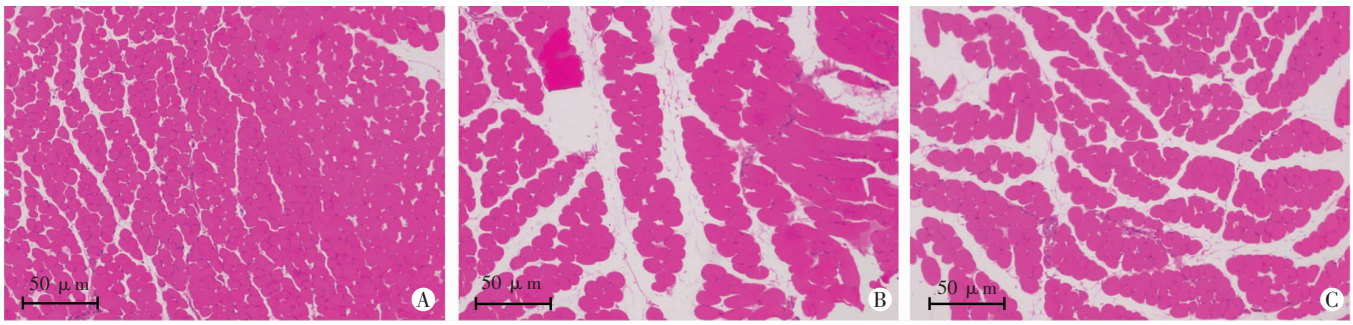
小鼠骨骼肌组织 HE 染色结果显示:各组骨骼肌组织结构均显示正常,肌细胞排列紧密,着色均匀,界限清晰,胞核位于肌纤维边缘,肌细胞未见明显损伤,少量单个肌细胞聚集成束,肌束间隙未见炎性渗出物(图 3)。

2.5 PTE 对小鼠 mtDNA 含量的影响

与 CON 组相比,SR 组小鼠骨骼肌 mtDNA 含量显著降低($P<0.05$);与 SR 组相比,SR+PTE 组小鼠骨骼肌 mtDNA 含量明显升高($P<0.05$,图 4),且与 CON 组比较差异无统计学意义。

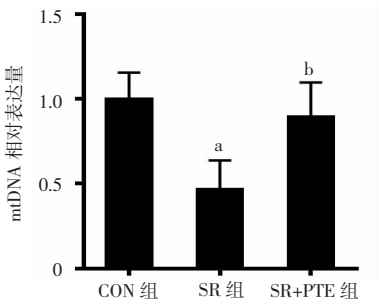
2.6 PTE 对小鼠骨骼肌组织中线粒体生物合成相关基因 mRNA 表达的影响

与 CON 组相比,SR 组线粒体生物合成相关基因 *pgc-1α*、*nrf-1*、*errα* 和 *tfam* 的 mRNA 表达显著降低($P<0.05$);与 SR 组相比,SR+PTE 组中上述各 mRNA 表达显著增高($P<0.05$),其中 *pgc-1α*、*nrf-1* 和 *tfam* 的表达与 CON 组相比差异无统计学意义,但 *errα* 的表达明显低于 CON 组($P<0.05$,图 5)。



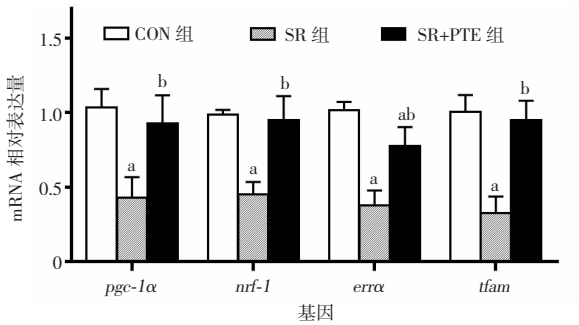
A:CON 组;B:SR 组;C:SR+PTE 组

图 3 各组小鼠骨骼肌组织 HE 染色观察



a: $P<0.05$,与 CON 组比较;b: $P<0.05$,与 SR 组比较

图 4　RT-PCR 检测各组小鼠骨骼肌 mtDNA 相对表达量　($n=5$)



a: $P<0.05$,与 CON 组比较;b: $P<0.05$,与 SR 组比较

图 5　RT-PCR 检测各组小鼠骨骼肌线粒体生物合成相关基因表达　($n=5$)

2.7　PTE 对小鼠骨骼肌组织中线粒体生物合成相关蛋白水平的影响

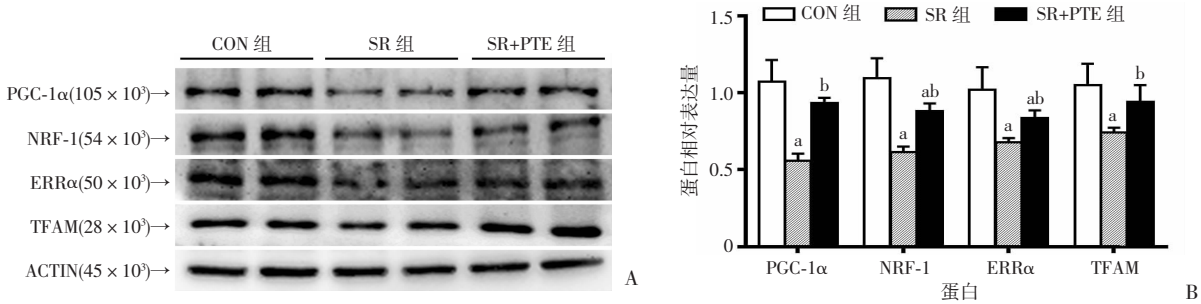
与 CON 组相比,SR 组线粒体生物合成相关基因 PGC-1α、NRF-1、ERRα 和 TFAM 的蛋白水平显著降低($P<0.05$);与 SR 组相比,SR+PTE 组上述各蛋白水平显著增高($P<0.05$),其中 PGC-1α 和 TFAM 的表达水平与 CON 组相比差异无统计学意义,但 NRF-1 和 ERRα 的表达水平明显低于 CON 组($P<0.05$,图 6)。

2.8　PTE 对小鼠骨骼肌组织中 AMPK、SIRT1 蛋白水平的影响

各组小鼠骨骼肌组织中 AMPK 水平无明显变化;与 CON 组比较,SR 组小鼠骨骼肌组织中 p-AMPK 和 SIRT1 水平显著降低($P<0.05$);与 SR 组比较,SR+PTE 组中 p-AMPK 和 SIRT1 表达显著增加($P<0.05$),其中 SIRT1 的表达与 CON 组相比差异无统计学意义,但 p-AMPK 的表达明显低于 CON 组($P<0.05$,图 7)。

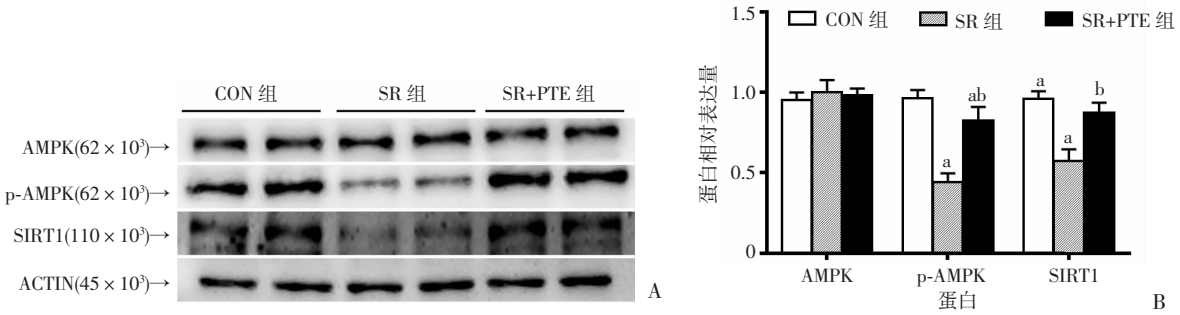
3　讨论

随着现代生活节奏的加快,全球有数百万人处于 SR 或潜在 SR 状态,尤其是对于特殊作业的部队官兵而言,SR已成为常态化[9]。大量研究表明SR会影响



A: Western blot 检测 PGC-1α、NRF-1、ERRα 和 TFAM 蛋白的表达;B:蛋白相对表达量分析　a: $P<0.05$,与 CON 组比较;b: $P<0.05$,与 SR 组比较

图 6　Western blot 检测各组小鼠骨骼肌线粒体生物合成相关蛋白的表达　($n=5$)



A: Western blot 检测 AMPK、p-AMPK 和 SIRT1 蛋白的表达;B:蛋白相对表达量分析　a: $P<0.05$,与 CON 组比较;b: $P<0.05$,与 SR 组比较

图 7　Western blot 检测各组小鼠骨骼肌 AMPK 和 SIRT1 蛋白的表达　($n=5$)

神经、免疫、内分泌、心血管及运动等系统正常生理功能,并扰乱机体内能量代谢平衡[10-11]。

多酚类植物化合物具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤和降血压、降血糖等广泛的健康效应[12-13]。PTE 来源于葡萄等浆果,通过甲氧基取代 RSV 苯环的 3 位和 5 位羟基,从而增加分子代谢稳定性,显示出比 RSV 更高的生物活性,因此更具有实际应用价值[14]。目前有关研究多集中在抗氧化、抗肿瘤功能等方面,对其抗疲劳活性研究鲜有报道[15-16]。既往研究多采用转笼法或改良多平台法构建实验动物 SR 模型,通过连续强迫运动来剥夺睡眠,而且仪器噪音大,实验动物往往处于高应激状态,严重干扰实验结果[17-18]。本研究采用新型睡眠剥夺仪,通过调节饲养笼内可调节周期的剥夺杆来回扫描饲养笼底部从而剥夺小鼠睡眠,有效消除强迫运动带来的影响。结果显示:PTE 干预可部分缓解 SR 导致的小鼠体质量下降。通过负重力竭游泳实验建立小鼠运动疲劳模型,进一步观察 PTE 对 SR 小鼠运动耐力的影响,发现 PTE 可有效延长 SR 小鼠的负重力竭游泳时间,增强 SR 小鼠的运动耐力。为进一步反映小鼠疲劳的真实状态并评估 PTE 的抗疲劳活性,检测了血清运动性疲劳相关生化指标。剧烈运动时会产生大量乳酸,乳酸堆积使血液 pH 值降低,神经肌肉兴奋传递受阻,最终导致肌肉收缩能力下降。LDH 是促进丙酮酸生成乳酸的一种糖酵解酶,是反映机体能量代谢的重要指标[19]。CK 是血清中机体肌肉特异性损伤指标,而骨骼肌损伤与机体运动耐力下降直接相关[20]。BUN 是蛋白质和氨基酸代谢的主要产物。当碳水化合物和脂肪不足以为机体提供足够的能量时,通过增强蛋白质分解代谢来补偿能量需求,这将导致产生更多的 BUN[21]。因此,BUN 含量的升高通常代表肌肉收缩力的下降和疲劳程度。本研究发现 PTE 可不同程度的减少 SR 小鼠力竭游泳后血清中 LDH、CK 和 BUN 水平,加速清除体内疲劳代谢产物的堆积,有抗疲劳活性。

线粒体广泛存在于机体内各大代谢活跃组织中,产生 ATP 供机体运动所需。本研究发现 SR 小鼠骨骼肌组织 mtDNA 含量显著减少,而 PTE 干预后能明显恢复,提示 SR 导致小鼠骨骼肌线粒体功能障碍,进而引起运动耐力下降,而 PTE 有效改善了线粒体功能障碍。大量研究表明线粒体生物合成能力减弱会导致线粒体功能发生障碍[22-23]。线粒体生物发生由与核编码蛋白的表达密切相关的多个过程组成,这些过程是维持 mtDNA 复制所必需的。PGC-1α 是调控线粒体生物合成的关键调节因子,活化后可与 NRF-1、ERRα 相互作用,其中 NRF-1 靶向激活 TFAM 和 ERRα 以介导线粒体生物发生[24]。本研究采用 RT-PCR 和 Western blot 等方法进行分析,发现 SR 后小鼠骨骼肌组织中 4 种线粒体生物发生调控基因 PGC-1α、NRF-1、ERRα 和 TFAM 的转录和翻译水平下降,提示 SR 可通过下调线粒体核转录因子,影响 mtDNA 复制和转录,干扰线粒体生物合成,影响线粒体功能,而 PTE 能有效拮抗此效应。AMPK、SIRT1 是体内重要的能量感受器,通过感受机体能量代谢状态,调控下游分子的表达,调节机体能量代谢过程。研究表明 AMPK/SIRT1 信号通路可通过磷酸化、去乙酰化调节 PGC-1α,参与线粒体功能和生物合成[25-26]。PTE 已被证明可以激活 AMPK 和 SIRT1,调节其活性发挥生物学作用[6-7]。本研究检测了 SR 小鼠骨骼肌组织中 AMPK/SIRT1 信号通路的表达情况,结果显示 SR 导致活化的 AMPK 即 p-AMPK 和 SIRT1 蛋白表达显著降低;SR 期间同时给予 PTE [100 mg/(kg · d)]干预可明显抑制上述变化,p-AMPK 和 SIRT1 蛋白表达显著升高。该结果提示:PTE 对 SR 小鼠运动耐力的改善作用可能与其调节 AMPK/SIRT1 信号通路有关。

运动耐力与持续作战能力紧密联系。无论是现代局部战争还是未来具有高科技特征的“多位一体”战争,单兵持续作战能力都将是决定战争胜负的重要作战力量。因此,如何纠正 SR 引起的耐力下降已经成为军事卫勤保障工作的重大课题之一。过去的几十年里,研究人员致力于寻找天然活性物质和人工合成化学物质,以增强体质,延缓疲劳,然而许多活性产物由于存在副作用使其应用受到了极大的限制[27-28]。本研究发现:PTE 不仅可以改善运动耐力,加速消除疲劳产物的堆积。因此,研究 PTE 对 SR 导致的运动耐力的影响,对持续作战以及非战争军事行动时保障官兵作战能力将起到重要作用,其可望成为防治 SR 引起的运动耐力下降的一种新选择。

综上所述,本研究通过构建 SR 小鼠模型,发现 PTE 可改善 SR 小鼠运动耐力,具有抗疲劳活性,其作用机制与提高线粒体生物合成能力有关,并可能通过激活 AMPK/SIRT1 信号通路来发挥作用。本研究的局限性在于没有考虑 SR 导致的昼夜节律紊乱对骨骼

肌组织(外周时钟器官)的影响,以及未对 PTE 调节 AMPK/SIRT1 信号通路的上/下游分子机制进行深入探讨,还需后续深入的研究,为 PTE 应用于军人体能强健保障提供科学依据。

参考文献:

[1] OLIVER S J, COSTA R J, LAING S J, *et al*. One night of sleep deprivation decreases treadmill endurance performance [J]. Eur J Appl Physiol, 2009, 107(2): 155-161. DOI: 10.1007/s00421-009-1103-9.

[2] GRANDOU C, WALLACE L, FULLAGAR H H K, *et al*. The effects of sleep loss on military physical performance[J]. Sports Med, 2019, 49(8): 1159-1172. DOI: 10.1007/s40279-019-01123-8.

[3] KAPETANOVIC I M, MUZZIO M, HUANG Z H, *et al*. Pharmacokinetics, oral bioavailability, and metabolic profile of resveratrol and its dimethylether analog, pterostilbene, in rats[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2011, 68(3): 593-601. DOI: 10.1007/s00280-010-1525-4.

[4] RICHE D M, MCEWEN C L, RICHE K D, *et al*. Analysis of safety from a human clinical trial with pterostilbene[J]. J Toxicol, 2013, 2013: 1-5. DOI: 10.1155/2013/463595.

[5] LAGOUGE M, ARGMANN C, GERHART-HINES Z, *et al*. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha[J]. Cell, 2006, 127(6): 1109-1122. DOI: 10.1016/j.cell.2006.11.013.

[6] MEI H L, XIANG Y, MEI H, *et al*. Pterostilbene inhibits nutrient metabolism and induces apoptosis through AMPK activation in multiple myeloma cells[J]. Int J Mol Med, 2018, 42(5): 2676-2688. DOI: 10.3892/ijmm.2018.3857.

[7] CHENG Y D, DI S Y, FAN C X, *et al*. SIRT1 activation by pterostilbene attenuates the skeletal muscle oxidative stress injury and mitochondrial dysfunction induced by ischemia reperfusion injury[J]. Apoptosis, 2016, 21(8): 905-916. DOI: 10.1007/s10495-016-1258-x.

[8] DUAN F F, GUO Y, LI J W, *et al*. Antifatigue effect of luteolin-6-C-neohesperidoside on oxidative stress injury induced by forced swimming of rats through modulation of Nrf2/ARE signaling pathways[J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017: 3159358. DOI: 10.1155/2017/3159358.

[9] CHOU H W, TZENG W C, CHOU Y C, *et al*. Stress, sleep and depressive symptoms in active duty military personnel [J]. Am J Med Sci, 2016, 352(2): 146-153. DOI: 10.1016/j.amjms.2016.05.013.

[10] 李晨, 刘康, 陈涛. 急性睡眠剥夺时程对青年男性军人脑认知功能的影响[J]. 中国健康心理学杂志, 2017, 25(2): 195-199. DOI: 10.13342/j.cnki.cjhp.2017.02.011.
LI C, LIU K, CHEN T. Effects of acute sleep deprivation on brain cognitive function in young male military volunteer [J]. China J Heal Psychol, 2017, 25(2): 195-199. DOI: 10.13342/j.cnki.cjhp.2017.02.011.

[11] VENANCIO D P, SUCHECKI D. Prolonged REM sleep restriction induces metabolic syndrome-related changes: Mediation by pro-inflammatory cytokines[J]. Brain Behav Immun, 2015, 47: 109-117. DOI: 10.1016/j.bbi.2014.12.002.

[12] ABBASZADEH H, KEIKHAEI B, MOTTAGHI S. A review of molecular mechanisms involved in anticancer and antiangiogenic effects of natural polyphenolic compounds[J]. Phytother Res, 2019, 33(8): 2002-2014. DOI: 10.1002/ptr.6403.

[13] ALIM A, LI T, NISAR T, *et al*. Antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative activity-based comparative study of peel and flesh polyphenols from Actinidia chinensis[J]. Food Nutr Res, 2019, 26; 63. DOI: 10.29219/fnr.v63.1577. eCollection 2019.

[14] BOWTELL J, KELLY V. Fruit-derived polyphenol supplementation for athlete recovery and performance[J]. Sports Med, 2019, 49(Suppl 1): 3-23. DOI: 10.1007/s40279-018-0998-x.

[15] CHATTERJEE K, ALSHARIF D, MAZZA C, *et al*. Resveratrol and pterostilbene exhibit anticancer properties involving the downregulation of HPV oncoprotein E6 in cervical cancer cells[J]. Nutrients, 2018, 10(2): E243. DOI: 10.3390/nu10020243.

[16] NAGAO K, JINNOUCHI T, KAI S, *et al*. Pterostilbene, a dimethylated analog of resveratrol, promotes energy metabolism in obese rats[J]. J Nutr Biochem, 2017, 43: 151-155. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2017.02.009.

[17] 佘美华, 蒋文艳, 杨升华, 等. 新型褪黑素受体激动剂 Neu-P11 改善慢性睡眠限制大鼠胰岛素敏感性[J]. 中国药理学通报, 2013,29(11): 1506-1506. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2013.11.008.
SHE M H, JIANG W Y, YANG S H ,*et al*. Neu-P11, a novel melatonin receptor agonist, improves insulin sensitivity in chronic sleep restricted rats[J]. Chin Pharmacol Bull,

2013, 29(11): 1506-1506. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2013.11.008.

[18] 温朝玲, 刘春红, 孙雯雯, 等. 黑果枸杞花色苷对部分睡眠剥夺大鼠心肌损伤的保护作用[J]. 皖南医学院学报, 2018, 37(6): 523-526.
WEN C L, LIU C H, SUN W W, *et al*. Protective effect of Lycium ruthenicum Murray anthocyanin extracts on myocardial injury in partial sleep deprived rats[J]. Acta Acad Med Wannan, 2018, 37(6): 523-526.

[19] ZHAO X N, LIANG J L, CHEN H B, *et al*. Anti-fatigue and antioxidant activity of the polysaccharides isolated from millettiae speciosae champ. Leguminosae[J]. Nutrients, 2015, 7(10): 8657-8669. DOI: 10.3390/nu7105422.

[20] LIU R, WU L, DU Q, *et al*. Small molecule oligopeptides isolated from walnut (Juglans regia L.) and their anti-fatigue effects in mice[J]. Molecules, 2018, 24(1): E45. DOI: 10.3390/molecules24010045.

[21] ANAND T, PHANI KUMAR G, PANDAREESH M D, *et al*. Effect of bacoside extract from Bacopa monniera on physical fatigue induced by forced swimming[J]. Phytother Res, 2012, 26(4): 587-593. DOI: 10.1002/ptr.3611.

[22] BOOTH F W, RUEGSEGGER G N, TOEDEBUSCH R G, *et al*. Endurance exercise and the regulation of skeletal muscle metabolism[J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2015, 135: 129-151. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2015.07.016.

[23] DAVIS J M, MURPHY E A, CARMICHAEL M D, *et al*. Quercetin increases brain and muscle mitochondrial biogenesis and exercise tolerance[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2009, 296(4): R1071-R1077. DOI: 10.1152/ajpregu.90925.2008.

[24] SCARPULLA R C, VEGA R B, KELLY D P. Transcriptional integration of mitochondrial biogenesis[J]. Trends Endocrinol Metab, 2012, 23(9): 459-466. DOI: 10.1016/j.tem.2012.06.006.

[25] MARCINKO K, STEINBERG G R. The role of AMPK in controlling metabolism and mitochondrial biogenesis during exercise[J]. Exp Physiol, 2014, 99(12): 1581-1585. DOI: 10.1113/expphysiol.2014.082255.

[26] CANTÓ C, AUWERX J. PGC-1α, SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure[J]. Curr Opin Lipidol, 2009, 20(2): 98-105. DOI: 10.1097/mol.0b013e328328d0a4.

[27] WEI W, LI Z P, ZHU T, *et al*. Anti-fatigue effects of the unique polysaccharide marker of Dendrobium officinale on BALB/c mice[J]. Molecules, 2017, 22(1): E155. DOI: 10.3390/molecules22010155.

[28] CHEN J H, WANG X F, CAI Y Q, *et al*. Bioactivity-guided fractionation of physical fatigue-attenuating components from Rubus parvifolius L[J]. Molecules, 2013, 18(9): 11624-11638. DOI: 10.3390/molecules180911624.

(**收稿**:2019-09-29;**修回**:2019-11-26)

(编辑 王 红)