文章编号：1000-0615(2022)07-1293-11 水产学报, 2022, 46(7): 1293−1303

水产学报
JOURNAL OF FISHERIES OF CHINA
DOI: 10.11964/jfc.20220313356
Science Press

睡眠剥夺对小鼠氧化应激的影响及鲣寡肽 SEP-3 的干预作用

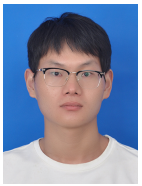
易　冲[1]，　张泽坤[1]，　王坤美[1]，　王　汉[1]，　吕艳霞[1]，　余新威[2]，　罗红宇[1*]
(1. 浙江海洋大学食品与药学学院，浙江省海产品健康危害因素关键技术研究重点实验室，浙江 舟山　316022；
2. 舟山市疾病预防控制中心，浙江 舟山　316021)

摘要：为探究睡眠剥夺时间对小鼠氧化应激水平的影响及鲣寡肽 SEP-3 对睡眠剥夺小鼠氧化应激的干预作用，采用改良多平台水环境法对 C57BL/6 雄性小鼠分别进行睡眠剥夺 0、48 和 72 h 后，检测血清和肝脏中 T-AOC、MDA 含量、SOD 和 GSH-Px 活性。然后将 C57BL/6 雄性小鼠分为正常组、SD 组、褪黑素组、SEP-3 组和★SEP-3 组，除正常组外其余各组均进行 72 h 的睡眠剥夺，实验期间监测体质量的变化，H.E 染色观察肝脏的组织形态，并检测血清和肝脏中 T-AOC、MDA 含量、SOD 和 GSH-Px 活性。结果显示，与正常组相比，睡眠剥夺 48 h 后小鼠血清中 MDA 和 SOD 的表达水平明显升高，T-AOC 和 GSH-Px 并无明显变化，肝脏中 T-AOC、SOD 和 GSH-Px 活性呈现下降趋势，而 MDA 含量呈上升趋势。睡眠剥夺 72 h，SD 组小鼠血清和肝脏中 T-AOC、SOD 和 GSH-Px 活性明显下降，MDA 含量明显升高。药物干预能显著提高小鼠血清和肝脏中 T-AOC、SOD 和 GSH-Px 活性，降低 MDA 含量。寡肽组间及阳性对照组之间小鼠血清和肝脏中 MDA 含量、SOD 和 GSH-Px 活性并无显著差异。但在血清中，阳性对照组 T-AOC 显著高于寡肽组，寡肽组间却无显著差异。在肝脏中，阳性对照组和★SEP-3 组 T-AOC 含量无显著差异，但均显著高于 SEP-3 组。此外，药物对睡眠剥夺小鼠体质量无影响，但对肝损伤具有明显的保护和修复作用，且阳性对照组和 SEP-3 组的效果更好。研究表明，睡眠剥夺 72 h 后能显著激活小鼠体内氧化应激反应，SEP-3 能明显改善睡眠剥夺引起的氧化应激损伤。本研究为治疗睡眠障碍的药物或辅助治疗保健食品的研发提供了依据。

关键词: 鲣；寡肽；睡眠剥夺；氧化应激；加工副产物

中图分类号: TS 218　　**文献标志码:** A

随着现代社会的飞速发展，人们心理负担及生活压力急剧增大，轮班工作、昼夜颠倒现象日益严重，睡眠障碍或睡眠剥夺的发生率明显升高，进而广泛影响机体的各种生理功能，严重影响了人们的生活质量[1]。有研究表明，睡眠剥夺可诱导氧化应激，主要表现在睡眠剥夺后机体处于高代谢状态，能量消耗增加导致自由基的产生过多[2-3]；同时降低了机体抗氧化防御系统能力，导致抗氧化酶及抗氧化复合物的减少[4-5]；此外还可引起内质网应激进而激活氧化应激[6-7]。氧化应激是机体受到刺激时产生的一种生理反应。正常状态下，机体经线粒体消耗氧气产生活性氧 (reactive oxidative specimen，ROS)，在抗氧化剂 (如 GSH 和维生素 C、E) 和抗氧化酶 (如 SOD) 的作用下被清除，使体内氧化和抗氧化处于动态平衡中[8-9]。当机体受到外界刺激时，体内的 ROS 产生过多，使机体



收稿日期：2022-03-05　　**修回日期：**2022-03-26
资助项目：浙江省自然科学基金（LY19C200008）
第一作者：易冲 (照片)，从事食品科学与工程研究，E-mail：2237725627@qq.com
通信作者：罗红宇，从事食品功能与营养研究，E-mail：lisa8919@163.com

氧化平衡失调，导致 DNA 损伤、脂质过氧化等，进而导致机体损伤，加剧各种疾病的发生。谷胱甘肽过氧化氢酶 (GSH-Px) 是一种广泛存在于机体内的酶，可使谷胱甘肽 (GSH) 在清除过氧化物的过程中转化成氧化型谷胱甘肽 (GSSG)，之后经 GSH-R 催化还原为 GSH 继续发挥抗氧化功能，具有缓解细胞膜功能和细胞结构受损的作用[10-11]。超氧化物歧化酶 (SOD) 是一种主要的抗氧化酶，以细胞质中的 Cu/Zn-SOD 和线粒体中的 Mn-SOD 两种形式存在，可清除体内超氧自由基并有效减轻细胞生物膜上的脂质过氧化[12]。总抗氧化能力 (T-AOC) 可反映机体清除活性氧的能力，代表机体总的抗氧化能力。丙二醛 (MDA) 是机体氧自由基与多烯脂肪酸发生脂质过氧化分解的产物，其含量与脂质过氧化程度呈正相关，是反映机体氧化损伤的标志物之一[13]。

鲣 (*Katsuwonus pelamis*) 是一种资源丰富，价格低廉的金枪鱼类，在加工过程中产生大量的副产物，多数未被有效利用。因此如何将其高值化利用，并以此开发功能性产品成为了研究热点。有研究表明其蛋白肽在抗氧化方面有较好的效果。Wang 等[14] 利用酶解技术水解鲣脾脏得到的 GHHAAA、PHPR、SVTEV、VRDQY 和 SMDV 等寡肽作用于 H_2O_2 诱导的 HUVECs，发现其能提高 SOD 和 GSH-Px 的活性，降低 ROS 和 MDA 的含量。有报道指出，酶解鲣鳞明胶得到 TGP5、TGP7 和 TGP9 等寡肽展现出较高的 DPPH 自由基、羟基自由基和超氧阴离子自由基清除能力，表明鲣鳞酶解肽具有较好的体外抗氧化能力[15]。

本实验首先探讨了睡眠剥夺时间对小鼠体内氧化应激反应的影响，在此基础上，研究了课题组前期利用鲣加工下脚料制备的寡肽 SEP-3 对睡眠剥夺诱导的小鼠氧化损伤的干预作用，为研发治疗或辅助治疗睡眠障碍的药物或保健食品奠定了理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料及仪器

实验小鼠为 C57BL/6 雄性小鼠，8 周龄，体质量 20~25 g，购自杭州子源实验动物科技有限公司。褪黑素购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。鲣寡肽 SEP-3 (序列 Leu-Leu-Phe-Thr-Thr-Gln，纯度≥95%) 由上海波泰生物科技有限公司合成。蛋白定量 (BCA 法)、T-AOC、MDA、SOD、GSH-Px 测试盒均购自南京建成生物工程研究所。

Fresco21 高速冷冻离心机购自美国赛默飞世尔科技公司。Spark 多功能酶标仪购自瑞士 Tecan 公司。Leica DM3000 显微镜、HS6 病理图像扫描仪均购自德国 Leica 公司。

睡眠剥夺造模的水平台根据试验需求订制，材料为聚丙烯。

1.2 睡眠剥夺小鼠模型的建立及给药方法

将 30 只 C57BL/6 小鼠适应性喂养 1 周后，随机分为正常组和睡眠剥夺组 (SD 组)，每组 15 只。正常组小鼠常规饲养，SD 组采用改良多平台水环境法[16] 进行睡眠剥夺，即在小鼠笼内放置 18 个直径为 2.5 cm、高为 6.0 cm 的平台，平台间距为 3.5 cm。笼内注水高度比平台顶部低约 1.0 cm，水温保持在 (24±1) °C，始终保持箱内水的清洁。实验过程中小鼠可在平台上自由活动、进食和饮水。正常组和 SD 组分别于睡眠剥夺 0、48 和 72 h 各随机挑选小鼠 5 只，摘眼球取血，然后颈部脱臼处死，快速取肝脏，于−80 °C 保存。

将 40 只 C57BL/6 小鼠适应性喂养 1 周后，随机分为正常组、SD 组、褪黑素组、SEP-3 组和★SEP-3 组，每组 8 只。每天早上 8：00 采用灌胃给药，褪黑素组给药剂量为 20 mg/kg，SEP-3 组和★SEP-3 组给药剂量为 50 mg/kg，其余两组给等体积生理盐水，给药方案如表 1 所示。均采用改良多平台水环境法造模，方法同前述。从开始给药就每天定时称量并记录小鼠体质量。实验结束后，所有小鼠采用摘眼球取血，然后颈部脱臼处死，快速取肝脏。取 1 cm^2 的肝脏在 4% 的多聚甲醛中固定 24 h，用于 H.E 染色。剩余的肝脏 −80 °C 保存。

小鼠饲养均在浙江海洋大学的 SPF 级动物房，温度 24 °C 左右，12 h 的光/暗循环 (光照时间为 8:00–20:00)。所有实验均符合浙江海洋大学实验动物伦理委员会所制定的伦理学标准。

1.3 小鼠血清氧化应激指标的检测

小鼠摘眼球取血后，静置 2 h，于 4 °C，3 000 r/min 离心，取上清液待测。采用试剂盒检测小鼠血清中 T-AOC、MDA 含量、SOD 和 GSH-Px 活性，具体实验步骤参考试剂盒说明。

1.4 小鼠肝脏氧化应激指标的检测

小鼠肝脏解冻后，称取 150 mg，加 9 倍体积

表 1　各组小鼠给药方案

Tab. 1　Administration plan of mice in each group

组别 group	给药 administration	
	造模前7天 7 days before sleep deprivation	造模0~72 h sleep deprivation 0~72 h
正常组　normal	生理盐水　physiological saline	生理盐水　physiological saline
SD组　sleep deprivation	生理盐水　physiological saline	生理盐水　physiological saline
褪黑素组　melatonin	褪黑素　melatonin	褪黑素　melatonin
SEP-3	SEP-3	SEP-3
★SEP-3	生理盐水　physiological saline	SEP-3

的蒸馏水，匀浆，得到 10% 的肝脏组织匀浆。在 4 °C，12 000 r/min 下离心 5 min，取上清液。采用试剂盒检测小鼠肝脏组织的总蛋白含量、T-AOC、MDA 含量、SOD 和 GSH-Px 活性，具体检测步骤参考试剂盒说明。

1.5　小鼠肝脏 H.E 染色

将 4% 多聚甲醛固定的肝脏组织进行脱水、石蜡包埋、切片。切片厚度为 4 μm，二甲苯脱蜡，梯度乙醇洗脱，苏木精和伊红染色，梯度乙醇洗脱，二甲苯使其透明，树脂封片，显微镜观察。

1.6　数据分析

采用 SPSS Statistics 25 软件对实验数据进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA)，并用 Duncan 氏检验进行多重比较分析，实验结果用平均值±标准差 (mean±SD) 表示。当 $P<0.05$ 时说明具有显著差异。之后采用 Origin 2018 软件制图。

2　结果

2.1　睡眠剥夺对小鼠氧化应激水平的影响

睡眠剥夺小鼠血清氧化指标的表达水平　小鼠血清中 T-AOC、MDA 含量、SOD 和 GSH-Px 活性检测结果显示，睡眠剥夺前两组小鼠血清氧化指标无显著差异 ($P>0.05$)，与正常组相比，睡眠剥夺 48 h 后小鼠血清中 SOD 和 MDA 的表达水平呈现上升趋势 ($P<0.05$)，而 T-AOC 和 GSH-Px 略高于正常组，但无统计学意义。睡眠剥夺 72 h，SD 组小鼠血清中 T-AOC、SOD 和 GSH-Px 活性明显下降，MDA 含量明显升高，相较于正常组均具有显著差异 ($P<0.05$) (图 1)。

睡眠剥夺小鼠肝脏氧化指标的表达水平　实验前两组小鼠肝脏氧化水平基本一致。与正常组相比，睡眠剥夺 48 和 72 h时，SD 小鼠肝脏中 T-AOC、SOD 和 GSH-Px 活性均呈现下降趋势，而 MDA 含量均呈上升趋势。且在睡眠剥夺 72 h 时，与正常组存在显著差异 ($P<0.05$) (图 2)。

2.2　SEP-3 对睡眠剥夺小鼠氧化应激的干预作用

SEP-3 对睡眠剥夺小鼠血清氧化应激指标的影响　相较于正常组，各给药组小鼠血清中 MDA 含量和 GSH-Px 活性无显著差异 ($P>0.05$)，褪黑素组小鼠血清 T-AOC 显著升高 ($P<0.05$)，SOD 活性略有升高，但无统计学意义，虽然 SEP-3 组和★SEP-3 组小鼠血清 T-AOC 略低，但无显著差异，而 SOD 活性显著增强 ($P<0.05$)。与 SD 组相比，各给药组小鼠血清中 T-AOC、SOD 和 GSH-Px 的活性均显著升高，MDA 含量显著降低 ($P<0.05$)。然而各给药组小鼠血清中 MDA 含量、SOD 和 GSH-Px 的活性均无显著差异。SEP-3 组和★SEP-3 组小鼠血清 T-AOC 含量无显著差异，但均明显低于褪黑素组 ($P<0.05$) (图 3)。

SEP-3 对睡眠剥夺小鼠肝脏氧化应激指标的影响　与 SD 组相比，各给药组小鼠肝脏中 T-AOC、SOD 和 GSH-Px 的活性均显著升高，MDA 含量明显降低 ($P<0.05$)。但各给药组和正常组小鼠肝脏中 MDA 含量、SOD 和 GSH-Px 的活性均无显著差异 ($P>0.05$)。褪黑素组和★SEP-3 组小鼠肝脏 T-AOC 无差异，但均显著高于 SEP-3 组 ($P<0.05$)，且 3 个样品组小鼠肝脏 T-AOC 均显著低于正常组 ($P<0.05$) (图 4)。

SEP-3 对睡眠剥夺小鼠肝组织形态的影响　正常组小鼠肝脏组织、肝血窦及中央静脉结构正常，肝细胞轮廓清晰 (图版-1)。SD 组小鼠肝细胞固缩，细胞核模糊，肝血窦明显扩大而不规则，其间有红细胞填充，中央静脉有出血现象，肝小叶结构被破坏，出现坏死 (图版-2)。各给药组肝脏组织均有不同程度的改善，中央静脉充血

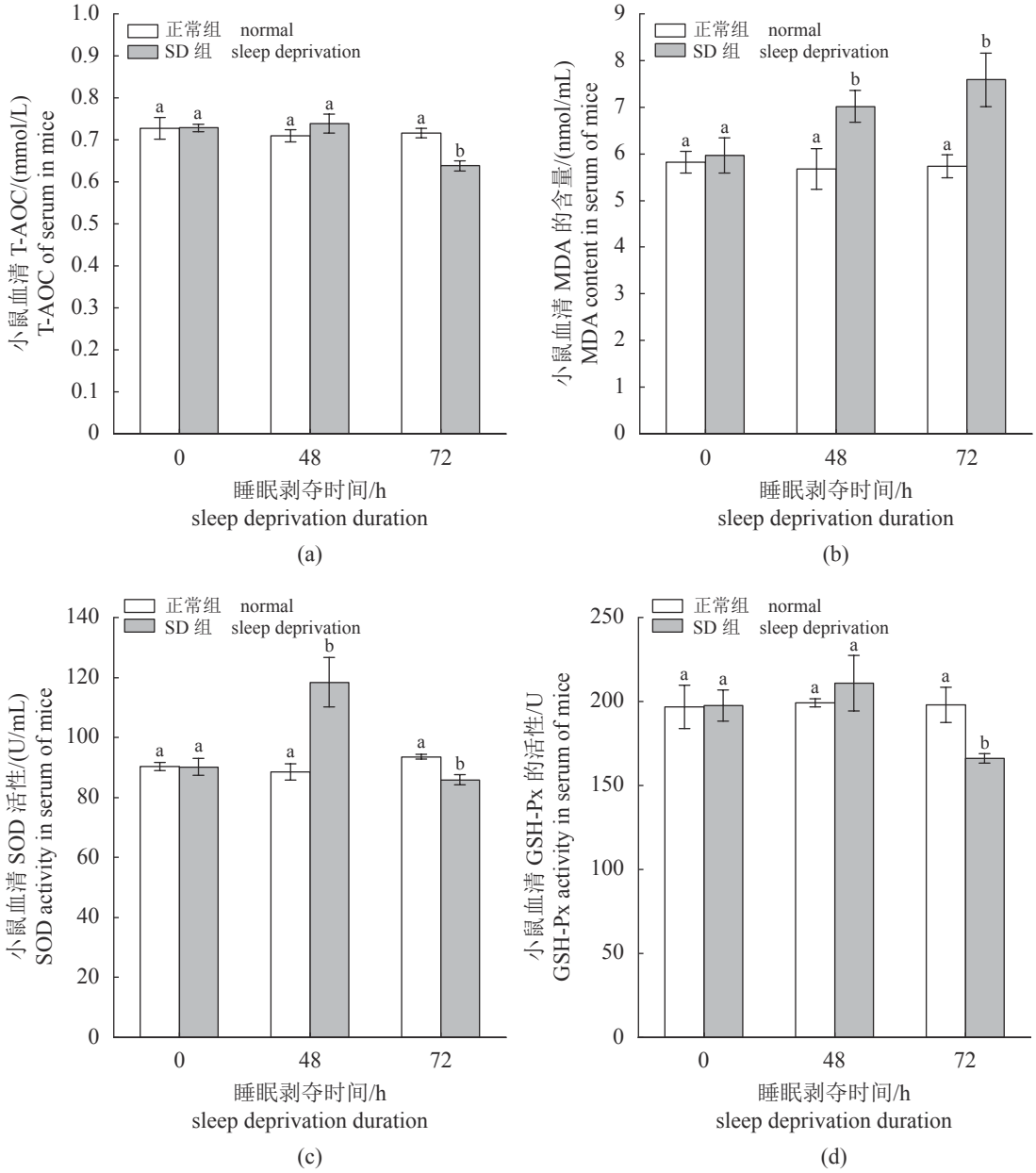


图 1 睡眠剥夺时间对小鼠血清氧化指标的影响

图中不同字母表示同一时间两组之间有显著差异 (P<0.05)，图 2 同

Fig. 1 Effect of sleep deprivation time on serum oxidation index in mice

Different letters indicate significant difference between the two groups at the same time (P<0.05), the same as Fig. 2

量明显减少，肝细胞仅有少量坏死。相较于★SEP-3 组，褪黑素组和 SEP-3 组肝细胞大小均一，形态正常，肝血窦间红细胞填充较少 (图版-3~5)。

SEP-3 对睡眠剥夺小鼠体质量的影响　实验期间，正常组小鼠体质量基本保持不变，睡眠剥夺 24 h 时，SD 组和给药组小鼠体质量与正常组相比并无显著差异。之后随着睡眠剥夺时间的延长，SD 组及给药组小鼠体质量呈逐渐下降趋势，与正常组存在显著差异 (P<0.05) (表 2)。睡眠剥夺开始后，各给药组小鼠体质量略高于 SD 组，但无统计学意义，同样，各给药组小鼠的体质量差异也无统计学意义，表明 SEP-3 对睡眠剥夺小鼠的体质量下降无干预作用。

3 讨论

3.1 睡眠剥夺时间对小鼠氧化应激的影响

现如今航海、医疗、运输等行业的从业者多

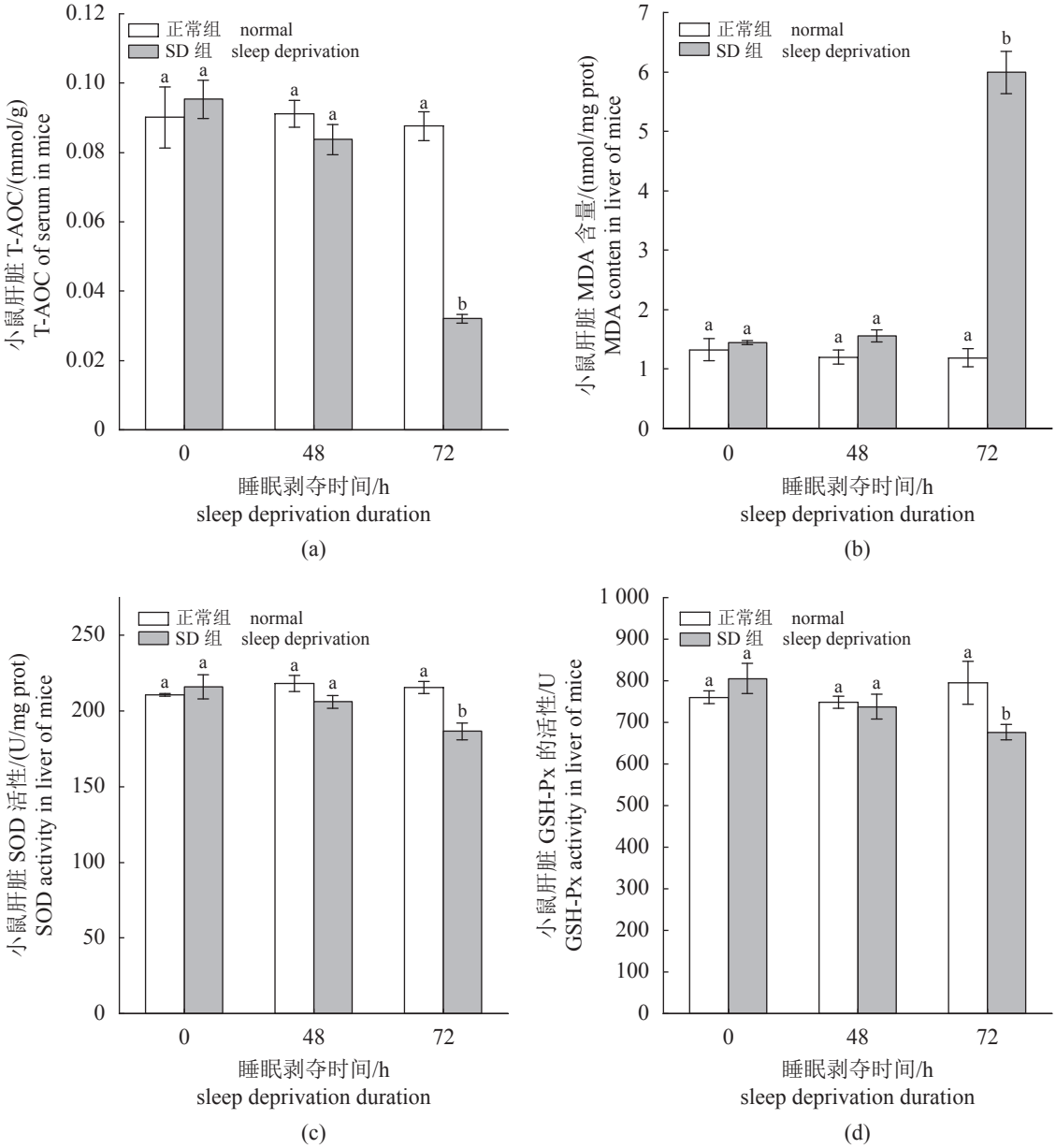


图 2　睡眠剥夺时间对小鼠肝脏氧化指标的影响

Fig. 2　Effects of sleep deprivation duration on liver oxidation indices in mice

无法避免持续性工作[17]，睡眠严重不足。持续性的工作状态对机体的影响及其不利因素的防护已多有研究[18-19]。有研究表明，睡眠剥夺通过增强能量代谢使 ROS 产生增多，降低抗氧化防御系统能力和通过内质网应激间接激活氧化应激等 3 种途径诱导氧化应激[20]，使体内自由基大量积累改变 DNA、蛋白质和脂质的结构和功能，诱发多种器官功能的损伤。睡眠剥夺时间的不同对机体氧化应激的影响也不一致，研究发现睡眠剥夺可引起大鼠心肌氧化应激，且随着睡眠剥夺时间的延长，大鼠心肌 SOD 和 GSH-Px 减少，MDA 和 GSH 升高[10]。本研究发现，与正常组相比，睡眠剥夺 48 h 后小鼠血清中 MDA 含量和 SOD 活性显著升高，表明此时小鼠体内产生大量 ROS，诱发脂质氧化。同时自由基的增多使机体产生应激，引发小鼠体内的 SOD 表达量增加，可以代偿自由基等损伤引起的 SOD 活性下降，抗氧化代偿能力增强[10]。肝脏作为解毒器官，其高代谢率更易产生 ROS (如超氧阴离子自由基、羟基自由基)，较多的 ROS 攻击细胞膜产生脂质过氧化产物 (MDA)。而 SOD 对超氧阴离子有高效的歧化作用，将其转化为 H_2O_2 和 O_2，GSH-Px 可通过 GSH 降低 H_2O_2

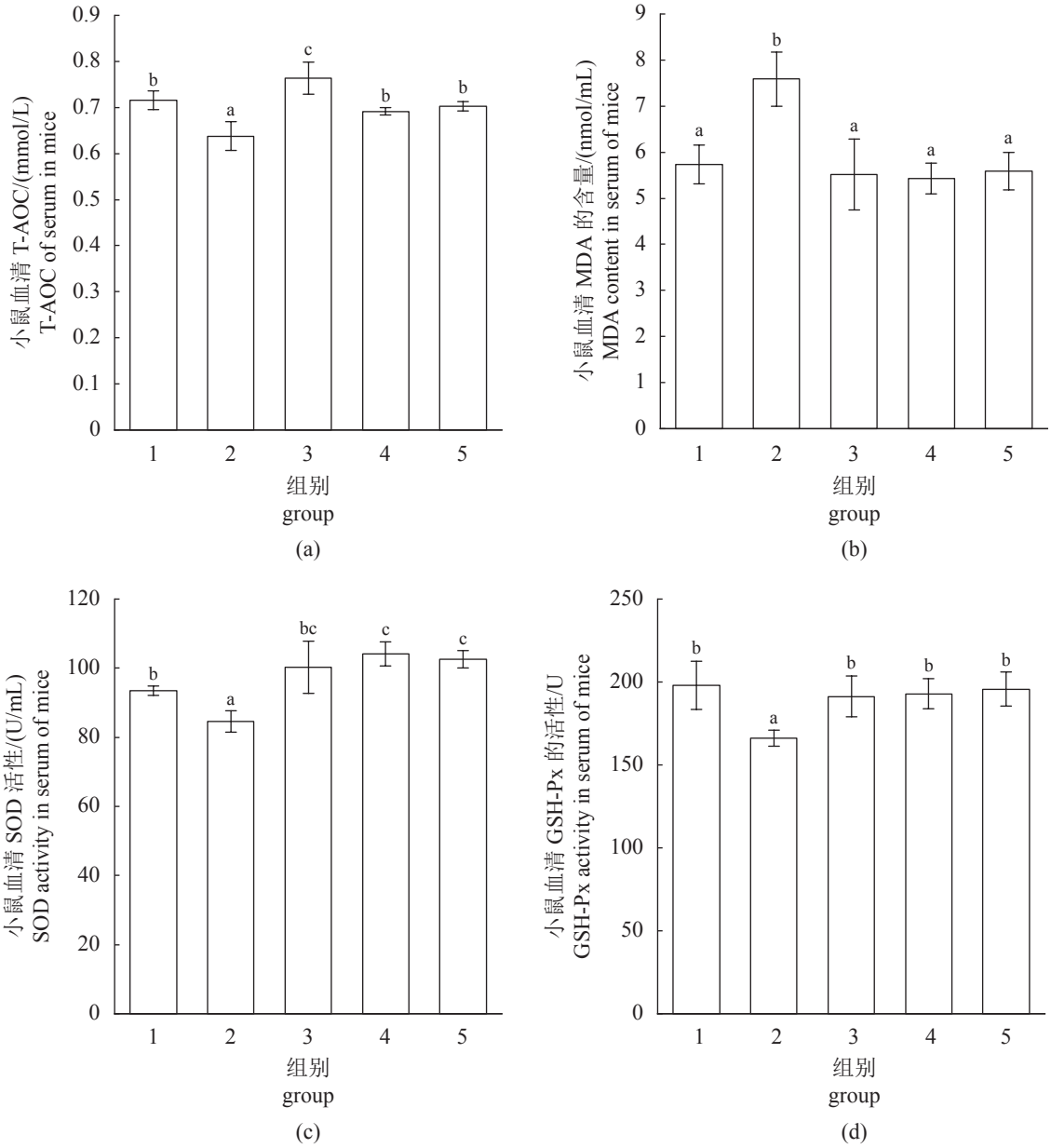


图 3 SEP-3 对睡眠剥夺小鼠血清氧化指标的影响

1. 正常组，2. SD 组，3. 褪黑素组，4. SEP-3 组，5. ★SEP-3 组，图中不同字母表示有显著差异 (P<0.05)，下同

Fig. 3 Effects of SEP-3 on serum oxidation indices of sleep deprived mice

1. normal group, 2. sleep deprivation group, 3. melatonin group, 4. SEP-3 group, 5. ★SEP-3 group, different letters indicate significant difference (P<0.05), the same below

水平[12]，从而实现抗氧化的效果。有研究表明睡眠剥夺条件下肝脏抗氧化防御系统被破坏， SOD 和 GSH-Px 活性降低，导致无法及时清除 ROS，进而导致氧化应激损伤[21-22]。因此在睡眠剥夺 48 h，肝脏组织抗氧化水平有下降趋势。随着睡眠剥夺时间的延长，机体抗氧化系统进一步遭到破坏，氧化平衡状态失衡，抗氧化酶 SOD 和 GSH-Px 活性降低，MDA 含量升高，机体处于氧化应激状态，T-AOC 作为反映机体总抗氧化水平的指标也随之降低。董开源等[13] 报道睡眠剥夺 3 d 的大鼠血清和肝脏中的 MDA 含量明显升高。Wang 等[23] 发现睡眠剥夺 72 h 小鼠海马组织中 T-AOC 和 GSH-Px 活性明显降低。这些均与本研究结论一致。

3.2 SEP-3 对睡眠剥夺小鼠氧化应激的干预作用

氧化应激与机体许多疾病的发生、发展密切

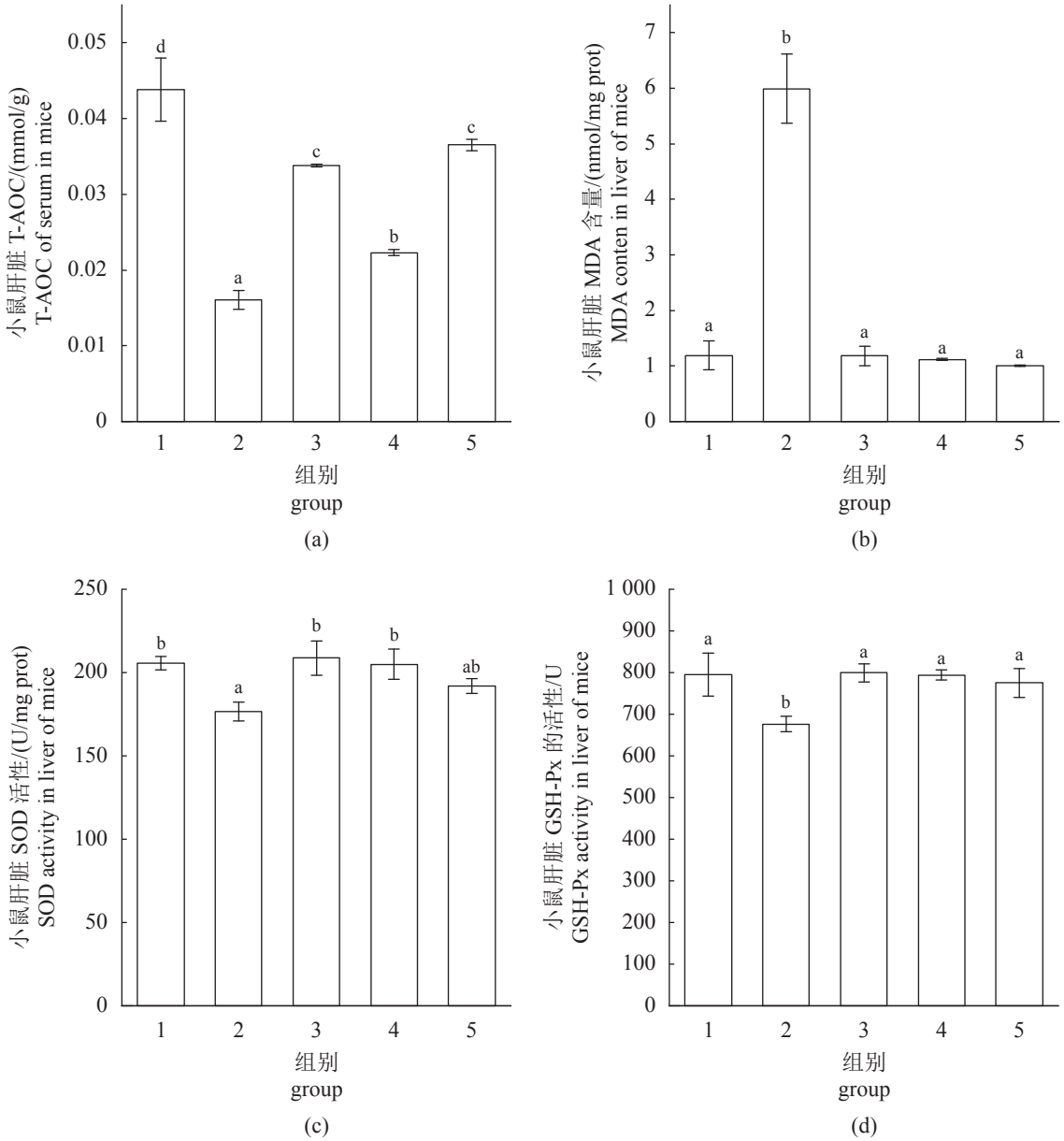
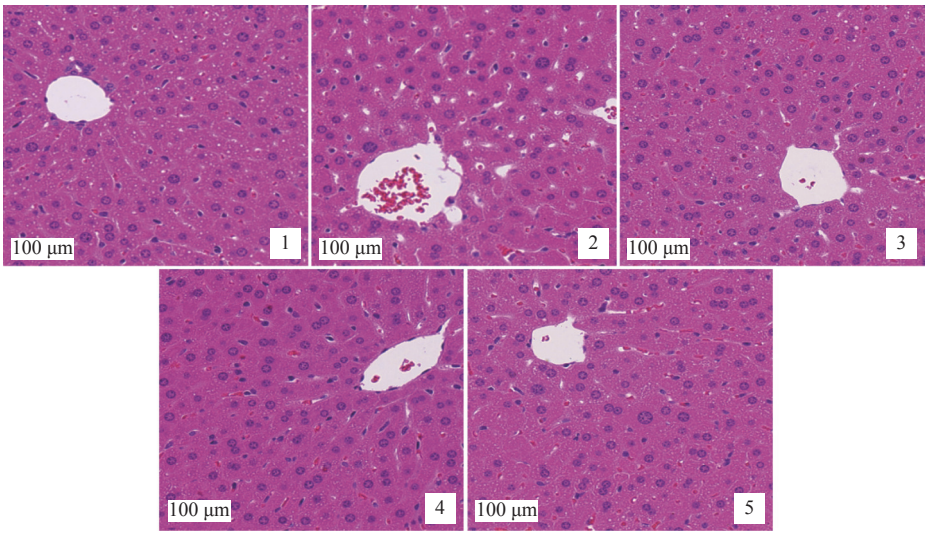


图 4　SEP-3 对睡眠剥夺小鼠肝脏氧化指标的影响

Fig. 4　Effects of SEP-3 on liver oxidation indexes of sleep deprived mice

相关，如衰老[24]、阿尔茨海默氏症[25]、动脉粥样硬化[26]、癌症[27] 等，严重影响人们的生活和健康。肽和蛋白质水解物根据肽大小、氨基酸序列以及参与氧化反应的氨基酸种类表现出不同的抗氧化活性。许多研究都显示通常结构上具有低分子量、疏水性和芳香族氨基酸的多肽具备较好的抗氧化活性，疏水肽可以通过向活性自由基提供光子来保护大分子免受氧化，芳香族氨基酸容易向缺电子自由基提供质子，并通过共振结构维持其稳定性，增强其自由基的清除活性[28-29]。有研究发现，金枪鱼加工下脚料酶解得到的小分子肽通过调节 Keap1/Nrf2 通路和肠道菌群组成，抑制促炎因子的释放及提高粪便中 3-吲哚丙酸和短链脂肪酸的含量来增强小鼠体内 GSH-Px 和 SOD 的活性，降低 MDA 的含量[30-31]。本课题组制备的 SEP-3 是序列为 Leu-Leu-Phe-Thr-Thr-Gln 的六肽，含有疏水性氨基酸亮氨酸 (Leu) 和苯丙氨酸 (Phe)，且分子量较小，在体外抗氧化实验中已表现出良好的清除自由基的能力。本研究结果也显示药物处理后小鼠血清和肝脏 T-AOC、SOD 和 GSH-Px 活性明显升高，MDA 含量明显降低，说明 SEP-3 同样具有良好的体内抗氧化活性。此外，研究显示不同药物对小鼠 T-AOC 含量的影响程度不同，T-AOC 是评估机体总抗氧化能力的指标，与体内的



图版 实验小鼠肝组织形态

Plate Liver morphology of experimental mice

表 2 SEP-3 对睡眠剥夺小鼠体质量的影响

Tab. 2 Effects of SEP-3 on body weight of sleep-deprived mice

组别 groups	体质量/g body weight			
	0 h	24 h	48 h	72 h
正常组 normal	24.283±0.312	24.326±0.213	24.290±0.253[b]	24.327±0.154[b]
SD组 sleep deprivation	24.105±0.352	23.847±0.312	22.614±0.112[a]	21.686±0.135[a]
褪黑素组 melatonin	24.234±0.321	23.992±0.432	23.017±0.235[a]	21.965±0.212[a]
SEP-3	24.162±0.321	24.005±0.276	22.778±0.123[a]	21.879±0.164[a]
★SEP	24.268±0.311	23.975±0.278	22.758±0.346[a]	21.776±0.432[a]

注：表中同列不同字母表示有显著差异（$P<0.05$）

Notes: in the same column, marks with different letters indicate significant differences ($P<0.05$)

抗氧化酶 (SOD、GSH-Px、CAT) 总活性和抗氧化复合物 (GSH、V_C、V_E、黄酮类等) 水平有关。由此推测可能是由于不同药物或不同给药方案对机体中的抗氧化物和抗氧化酶的作用效果不同所致，但有待进一步证实。

睡眠对机体器官的修复有着十分重要的作用，睡眠剥夺导致的紊乱甚至能引起机体产生不可逆的损伤，这种损伤可能是通过氧化应激导致的脂质和蛋白质氧化及 DNA 损伤实现的[12, 32]。有研究表明，睡眠剥夺小鼠血清 GOT、GPT 和 TBIL 含量增加，说明睡眠剥夺导致小鼠肝脏受损[33]，本研究的 H.E 染色实验也证实了这一点。经过药物处理后肝损伤明显减轻，表明 SEP-3 对睡眠剥夺造成的肝脏损伤具有修复作用，SEP-3 干预睡眠剥夺诱导的氧化应激反应可能是修复肝脏损伤的机制之一。

本研究设计了造模前和造模时均给药及仅造模时给药的 2 种方案，发现提前给药的睡眠剥夺小鼠肝脏中 SOD 和 GSH-Px 的活性略强，且 H.E 染色观察到肝脏损伤的修复效果也更好，与阳性对照褪黑素组效果相当，表明 SEP-3 可能对睡眠剥夺导致的肝脏氧化损伤具有一定的保护作用，需进一步探究。有研究表明，药物的毒性除了与剂量相关之外，还与给药持续时间有关，随着给药时间的延长，毒性不断累积，进而对机体器官 (如肝脏) 造成损伤[34]。然而，本研究表明给药 10 d 与给药 3 d 对睡眠剥夺小鼠的氧化应激水平的干预效果相当，表明 SEP-3 的毒副作用可能很小。

正常情况下，机体处于能量输入 (营养摄入) 与能量输出 (能量消耗和能量浪费) 相等的能量平衡状态，符合热力学定律和能量守恒定律，从而维持稳定的体质量[35]。睡眠剥夺后机体处于高代谢状态，能量消耗增加，表现为食量的增多与体质量的下降[36-37]，这与本研究的结果一致。药物处

理后小鼠体质量并无明显变化，说明 SEP-3 对睡眠剥夺小鼠的干预主要表现为药理作用而非营养作用。

（作者声明本文无实际或潜在的利益冲突）

参考文献 (References)：

[1] Touitou Y, Touitou D, Reinberg A. Disruption of adolescents' circadian clock: the vicious circle of media use, exposure to light at night, sleep loss and risk behaviors[J]. Journal of Physiology-Paris, 2016, 110(4): 467-479.

[2] Pandey A, Kar S K. Rapid Eye Movement sleep deprivation of rat generates ROS in the hepatocytes and makes them more susceptible to oxidative stress[J]. Sleep Science, 2018, 11(4): 245-253.

[3] Nedeltcheva A V, Scheer F A J L. Metabolic effects of sleep disruption, links to obesity and diabetes[J]. Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity, 2014, 21(4): 293-298.

[4] Lasisi T J, Shittu S T T, Abeje J I, *et al*. Paradoxical sleep deprivation induces oxidative stress in the submandibular glands of Wistar rats[J]. Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology, 2021, doi: 10.1515/jbcpp-2020-0178.

[5] Everson C A, Laatsch C D, Hogg N. Antioxidant defense responses to sleep loss and sleep recovery[J]. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2005, 288(2): 374-383.

[6] Naidoo N, Giang W, Galante R J, *et al*. Sleep deprivation induces the unfolded protein response in mouse cerebral cortex[J]. Journal of Neurochemistry, 2005, 92(5): 1150-1157.

[7] Haynes C M, Titus E A, Cooper A A. Degradation of misfolded proteins prevents ER-derived oxidative stress and cell death[J]. Molecular Cell, 2004, 15(5): 767-776.

[8] Zeviani M, Fernandez-Silva P, Tiranti V. Disorders of mitochondria and related metabolism[J]. Current Opinion in Neurology, 1997, 10(2): 160-167.

[9] 何亮. 睡眠剥夺对不同性别小鼠氧化应激水平的研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2013.
He L. Study on oxidative stress levels of different sex mice by sleep deprivation[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2013 (in Chinese).

[10] 张亚晶, 卢才义, 高磊. 不同睡眠剥夺时间对大鼠心肌氧化应激指标的影响[J]. 实用医药杂志, 2009, 26(4): 58-61.
Zhang Y J, Lu C Y, Gao L. The effect on oxidative stress of rats' myocardium by different times of sleep deprivation[J]. Practical Journal of Medicine & Pharmacy, 2009, 26(4): 58-61 (in Chinese).

[11] 马举娟, 曹祖高, 郭美仙, 等. 西归多糖对睡眠剥夺小鼠损伤的保护作用[J]. 大理大学学报, 2021, 6(2): 29-33.
Ma J J, Cao Z G, Guo M X, *et al*. Protective effects of Xigui polysaccharide on sleep deprivation injury in mice[J]. Journal of Dali University, 2021, 6(2): 29-33 (in Chinese).

[12] Atrooz F, Salim S. Sleep deprivation, oxidative stress and inflammation[J]. Advances in Protein Chemistry and Structural Biology, 2020, 119: 309-336.

[13] 董开源, 闫昱博, 马珂, 等. 褪黑素对睡眠剥夺大鼠肝损伤的保护作用[J]. 山西医科大学学报, 2012, 43(12): 903-906,974.
Dong K Y, Yan Y B, Ma K, *et al*. Protective effects of melatonin on acute liver injury induced by sleep deprivation in rats[J]. Journal of Shanxi Medical University, 2012, 43(12): 903-906,974 (in Chinese).

[14] Wang Y M, Li X Y, Wang J, *et al*. Antioxidant peptides from protein hydrolysate of skipjack tuna milt: purification, identification, and cytoprotection on H_2O_2 damaged human umbilical vein endothelial cells[J]. Process Biochemistry, 2022, 113: 258-269.

[15] Qiu Y T, Wang Y M, Yang X R, *et al*. Gelatin and antioxidant peptides from gelatin hydrolysate of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) scales: preparation, identification and activity evaluation[J]. Marine Drugs, 2019, 17(10): 565.

[16] 王秀华. 异鼠李素对睡眠剥夺介导的小鼠学习记忆损伤的保护作用及机制的研究 [D]. 烟台: 滨州医学院, 2017.
Wang X H. Isorhamnetin ameliorates sleep deprivation induced acognitive dysfunction by reducing oxidative stress, inflammation and neuronal apoptosis in mice[D]. Yantai: Binzhou Medical University, 2017 (in Chinese).

[17] 王博文, 徐兆慧, 杜勇, 等. 不同方式的睡眠剥夺对大鼠学习记忆的影响[J]. 西安交通大学学报 (医学版), 2014, 35(2): 213-217.

Wang B W, Xu Z H, Du Y, *et al*. Effects of different methods of sleep deprivation on learning and memory in rats[J]. Journal of Xi'an Jiaotong University (Medical Sciences), 2014, 35(2): 213-217 (in Chinese).

[18] Boutrel B, Koob G F. What keeps us awake: the neuropharmacology of stimulants and wakefulness promoting medications[J]. Sleep, 2004, 27(6): 1181-1194.

[19] Caldwell J A, Caldwell J L. Fatigue in military aviation: an overview of US military-approved pharmacological countermeasures[J]. Aviation, Space, & Environmental Medicine, 2005, 76(7 Suppl): C39-C51.

[20] 江波, 赵忠新. 睡眠剥夺诱发氧化应激反应研究进展[J]. 第二军医大学学报, 2007, 28(2): 201-203.
Jiang B, Zhao Z X. Oxidative stress induced by sleep deprivation: an update[J]. Academic Journal of Second Military Medical University, 2007, 28(2): 201-203 (in Chinese).

[21] Hernández Santiago K, López-López A L, Sánchez-Muñoz F, *et al*. Sleep deprivation induces oxidative stress in the liver and pancreas in young and aging rats[J]. Heliyon, 2021, 7(3): e06466.

[22] Villafuerte G, Miguel-Puga A, Rodríguez E M, *et al*. Sleep deprivation and oxidative stress in animal models: a systematic review[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2015, 2015: 234952.

[23] Wang X T, Wang Z X, Cao J, *et al*. Melatonin ameliorates anxiety-like behaviors induced by sleep deprivation in mice: role of oxidative stress, neuroinflammation, autophagy and apoptosis[J]. Brain Research Bulletin, 2021, 174: 161-172.

[24] Currais A, Maher P. Functional consequences of age-dependent changes in glutathione status in the brain[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2013, 19(8): 813-822.

[25] Zhou Y, Wang Z F, Li W, *et al*. *Retracted*: protective effects of microRNA-330 on amyloid β-protein production, oxidative stress, and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease by targeting VAV1 via the MAPK signaling pathway[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2018, 119(7): 5437-5448.

[26] Kattoor A J, Pothineni N V K, Palagiri D, *et al*. Oxidative stress in atherosclerosis[J]. Current Atherosclerosis Reports, 2017, 19(11): 42.

[27] Kudryavtseva A V, Krasnov G S, Dmitriev A A, *et al*. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in aging and cancer[J]. Oncotarget, 2016, 7(29): 44879-44905.

[28] Gopinatth V, Mendez R L, Ballinger E, *et al*. Therapeutic potential of tuna backbone peptide and its analogs: an *in vitro* and *in silico* study[J]. Molecules, 2021, 26(7): 2064.

[29] Chi C F, Hu F Y, Wang B, *et al*. Influence of amino acid compositions and peptide profiles on antioxidant capacities of two protein hydrolysates from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) dark muscle[J]. Marine Drugs, 2015, 13(5): 2580-2601.

[30] Xiang X W, Zhou X L, Wang R, *et al*. Protective effect of tuna bioactive peptide on dextran sulfate sodium-induced colitis in mice[J]. Marine Drugs, 2021, 19(3): 127.

[31] Han J J, Huang Z B, Tang S S, *et al*. The novel peptides ICRD and LCGEC screened from tuna roe show antioxidative activity via Keap1/Nrf2-ARE pathway regulation and gut microbiota modulation[J]. Food Chemistry, 2020, 327: 127094.

[32] Lima A M A, de Bruin V M S, Rios E R V, *et al*. Differential effects of paradoxical sleep deprivation on memory and oxidative stress[J]. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2014, 387(5): 399-406.

[33] Periasamy S, Hsu D Z, Fu Y H, *et al*. Sleep deprivation-induced multi-organ injury: role of oxidative stress and inflammation[J]. EXCLI Journal, 2015, 14: 672-683.

[34] Smith D A, Obach R S, Williams D P, *et al*. Clearing the MIST (metabolites in safety testing) of time: the impact of duration of administration on drug metabolite toxicity[J]. Chemico-Biological Interactions, 2009, 179(1): 60-67.

[35] Piaggi P. Metabolic determinants of weight gain in humans[J]. Obesity, 2019, 27(5): 691-699.

[36] Wang X W, Sparks J R, Bowyer K P, *et al*. Influence of sleep restriction on weight loss outcomes associated with caloric restriction[J]. Sleep, 2018, 41(5): 1-11.

[37] Pandey A K, Kar S K. REM sleep deprivation of rats induces acute phase response in liver[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2011, 410(2): 242-246.

Effects of sleep deprivation on oxidative stress in mice and intervention of oligopeptide SEP-3 from skipjack (*Katsuwonus pelamis*)

YI Chong [1], ZHANG Zekun [1], WANG Kunmei [1], WANG Han [1],
LÜ Yanxia [1], YU Xinwei [2], LUO Hongyu [1*]

(1. *Key Laboratory of Health Risk Factors for Seafood of Zhejiang Province*,
College of Food Science and Pharmacy, *Zhejiang Ocean University*, *Zhoushan* 316022, *China*;
2. *Zhoushan Municipal for Disease Control and Prevention*, *Zhoushan* 316021, *China*)

Abstract: In order to investigate the effects of sleep deprivation duration on the level of oxidative stress in mice and the intervening effect of the oligopeptide SEP-3 from skipjack (*Katsuwonus pelamis*) on oxidative stress in sleep deprived mice, male C57BL/6 mice were first subjected to sleep deprivation for 0, 48 and 72 h by modified multi-platform water environment method, respectively. The effects of sleep deprivation time on oxidative stress in mice were evaluated by detecting the T-AOC, MDA content, SOD and GSH-Px activity in serum and liver of mice. Then C57BL/6 male mice were divided into normal group, SD group (sleep deprivation group), melatonin group (20 mg/kg melatonin), SEP-3 group and ★SEP-3 group (50 mg/kg SEP-3). All groups were deprived of sleep for 72 h except normal group. The effects of SEP-3 on oxidative stress in sleep-deprived mice were evaluated by changes in body weight, liver morphology and T-AOC, MDA content, SOD and GSH-Px activity in serum and liver of mice. The research found that the levels of MDA and SOD in serum of mice were significantly increased after sleep deprivation for 48 hours, while T-AOC and GSH-Px were not significantly changed. T-AOC, SOD and GSH-Px activity in liver showed a decreasing trend, while the content of MDA showed an increasing trend. After 72 h sleep deprivation, T-AOC, SOD and GSH-Px activity in serum and liver of SD group mice decreased significantly, while MDA content increased significantly. Drug intervention can significantly increase T-AOC, SOD and GSH-Px activity in serum and liver of mice, and reduce MDA content. There were no significant differences in MDA content, SOD and GSH-Px activity in serum and liver between oligopeptide groups and positive control group. However, the serum T-AOC in positive control group was significantly higher than that in oligopeptide groups, but there was no significant difference between oligopeptide groups. In liver, there was no significant difference in T-AOC between positive control group and ★SEP-3 group, but both groups were significantly higher than SEP-3 group. In addition, the drug had no effect on the body weight of sleep-deprived mice, but had significant protective and repair effects on liver injury, and the positive control group and SEP-3 group had better effects. The research indicated that the oxidative stress response was significantly activated in mice after 72 hours of sleep deprivation, and SEP-3 significantly improved the oxidative stress injury induced by sleep deprivation. This study provides a theoretical basis for the development of medication for sleep disorders or health food for adjuvant therapy.

Key words: *Katsuwonus pelamis*; oligopeptide SEP-3; sleep deprivation; oxidative stress; processing by-products

Corresponding author: LUO Hongyu. E-mail: lisa8919@163.com

Funding projects: Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LY19C200008)