

茶多糖-茶多酚对D-半乳糖诱导的小鼠脑组织氧化损伤的改善作用

童鑫怡, 韦 铮, 陈 梅, 程 鸿, 黄先智, 丁晓雯

Effect of Tea Polysaccharide-Tea Polyphenol on Improving D-Galactose-Induced Oxidative Damage of Brain in Mice

TONG Xinyi, WEI Zheng, CHEN Mei, CHENG Hong, HUANG Xianzhi, and DING Xiaowen

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021110008>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

大鲵活性肽对D-半乳糖致小鼠机体氧化损伤的修复作用

Protective Effects of Giant Salamander Bioactive Peptides on D-galactose Induced Oxidative Damage in Mice

食品工业科技. 2021, 42(16): 344-352

蓓蕾蓝靛果花色苷对乙醇诱导小鼠氧化损伤的保护作用

Protection of Lonicera caerulea 'Beilei'anthocyanins on oxidative injury of mice induced by ethanol

食品工业科技. 2017(19): 293-297

巫山神茶对H₂O₂诱导293T细胞氧化损伤的改善作用

Protective Effect of Wushanshencha on Oxidative Damage of 293T Cells Induced by Hydrogen Peroxide

食品工业科技. 2020, 41(4): 92-98,126

花旗参茶对乙醇诱导小鼠氧化损伤的保护作用

Protective Effect of American Ginseng Tea on Oxidative Damage Induced by Alcohol in Mice

食品工业科技. 2020, 41(16): 286-291

苦丁茶黄酮提取物对D-半乳糖致小鼠衰老的改善作用

Improvement effects of Kuding tea flavonoids extracts on D-galactose induced mice aging

食品工业科技. 2017(16): 303-308

沙棘多糖对D-半乳糖致衰老小鼠的抗氧化作用

Antioxidant Effects of *Hippophae rhamnoides* Polysaccharide on Aging Mouse Induced by D-galactose

食品工业科技. 2020, 41(4): 293-297,306



关注微信公众号，获得更多资讯信息

童鑫怡, 韦铮, 陈梅, 等. 茶多糖-茶多酚对 D-半乳糖诱导的小鼠脑组织氧化损伤的改善作用 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(16): 377-383. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110008

TONG Xinyi, WEI Zheng, CHEN Mei, et al. Effect of Tea Polysaccharide-Tea Polyphenol on Improving D-Galactose-Induced Oxidative Damage of Brain in Mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(16): 377-383. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110008

· 营养与保健 ·

茶多糖-茶多酚对 D-半乳糖诱导的小鼠 脑组织氧化损伤的改善作用

童鑫怡¹, 韦 铮¹, 陈 梅², 程 鸿², 黄先智³, 丁晓雯^{1,*}

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400716;

2.重庆市巴南区农产品质量安全中心, 重庆 401320;

3.西南大学科技处, 重庆 400716)

摘要:目的: 探究茶多糖-茶多酚混合成分(茶多糖含量为 56.93%, 茶多酚含量为 19.37%)对 D-半乳糖(D-galactose, D-Gal)诱导的小鼠脑组织氧化损伤的改善作用, 为功能性食品的研发提供理论依据。方法: 以 D-Gal 诱导小鼠建立氧化应激损伤模型, 保留 12 只小鼠作为正常组。将建模成功的小鼠随机分为模型对照组、阳性药物组(还原型谷胱甘肽, 200 mg/kg·bw)、茶多酚对照组(50 mg/kg·bw, 与茶多糖-茶多酚高剂量组中茶多酚剂量相当)以及茶多糖-茶多酚混合成分的低、中、高剂量组(40、100、250 mg/kg·bw), 连续灌胃 45 d, 测定小鼠脑组织匀浆中生物大分子氧化损伤标志物含量及酶类抗氧化系统相关指标的变化。结果: 与模型组对比, 茶多糖-茶多酚高剂量组小鼠脑组织匀浆中蛋白质羰基(protein carbonyl, PCO)、晚期蛋白氧化产物(advanced oxidation, AOPP)、3-硝基酪氨酸(3-nitrotyrosine, 3-NT)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、8-异前列腺素(8-iso-prostaglandin, 8-iso-PG)、8-羟基脱氧鸟嘌呤(8-hydroxy-2'-desoxyguanosine, 8-OHdG)、5-羟基胞嘧啶(5-hydroxy-2'-desoxyguanosine, 5-OH-DG)分别降低 22.95%、15.23%、15.29%、25.23%、23.15%、32.36%、28.63% ($P < 0.05$); 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)水平分别增加 71.15% ($P < 0.05$)、36.90% ($P < 0.05$), 均恢复到正常水平 ($P > 0.05$)。与茶多酚组相比, 茶多糖-茶多酚高剂量组的 PCO、AOPP、3-NT、MDA、8-iso-PG、5-OH-DG 水平分别降低 4.06%、1.81%、4.96%、10.12%、3.40%、12.50% ($P > 0.05$), 8-OHdG 水平下降 21.19% ($P < 0.05$); SOD 浓度增加 15.63% ($P > 0.05$), GPX 浓度增加 5.84% ($P < 0.05$)。结论: 茶多糖-茶多酚混合成分能有效改善小鼠脑组织的氧化损伤, 且茶多糖-茶多酚混合成分的改善作用优于同剂量茶多酚。

关键词: 茶多糖-茶多酚, 小鼠脑组织, 氧化损伤, 生物大分子, 抗氧化酶

中图分类号: R313

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)16-0377-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110008



本文网刊:

Effect of Tea Polysaccharide-Tea Polyphenol on Improving D-Galactose-Induced Oxidative Damage of Brain in Mice

TONG Xinyi¹, WEI Zheng¹, CHEN Mei², CHENG Hong², HUANG Xianzhi³, DING Xiaowen^{1,*}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. Center for Quality and Safety of Agricultural Products, Banan District, Chongqing 401320, China;

3. Science and Technology Department, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: Objective: To explore the synergistic effect of tea polysaccharide-tea polyphenol on the improvement of oxidative stress damage in brain induced by D-galactose (D-Gal) in mice, and to provide a basic for the development of

收稿日期: 2021-11-02

基金项目: 2021 年西南大学“大学生创新创业训练计划”校级项目(X202110635381); 重庆市巴南区科委项目“巴南茶叶功能与安全性评价”。

作者简介: 童鑫怡(2000-), 女, 大学本科, 研究方向: 食品安全与功能性食品, E-mail: 3180549857@qq.com。

* 通信作者: 丁晓雯(1963-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品安全与功能性食品, E-mail: 837731486@qq.com。

functional food. Methods: The oxidative stress model was induced by D-Gal, and 12 mice were retained as the normal control group. The mice that were successfully modeled were randomly divided into a model control group and a positive drug group (reduced glutathione, 200 mg/kg-bw), tea polyphenol group (50 mg/kg-bw), and low-dose, medium-dose and high-dose tea polysaccharide-tea polyphenol groups (40, 100, 250 mg/kg-bw). Gavage for 45 days to determine the content of biomacromolecule oxidative damage markers and enzyme antioxidant system related indicators in the brain of homogenate mice. Results: Compared with the model control group, the levels of the high-dose tea polysaccharide-tea polyphenol group of the biomacromolecule oxidative damage markers including protein carbonyl (PCO), advanced oxidation (AOPP), 3-nitrotyrosine (3-NT), malondialdehyde (MDA), 8-iso-prostaglandin(8-iso-PG), 8-hydroxy-2'-desoxyguanosine (8-OHdG), 5-hydroxy-2'-desoxyguanosine (5-OH-DG) were significantly decreased by 22.95%, 15.23%, 15.29%, 25.23%, 23.15%, 32.36%, 28.63%, respectively ($P<0.05$). The levels of antioxidants including SOD and GPX were significantly increased by 71.15% ($P<0.05$) and 36.90% ($P<0.05$), all of which reached the normal levels ($P>0.05$). Compared with the tea polyphenol group, the levels of PCO, AOPP, 3-NT, MDA, 8-iso-PG, 8-OHdG, 5-OH-DG of the high-dose tea polysaccharide-tea polyphenol group were decreased by 4.06%, 1.81%, 4.96%, 10.12%, 3.40%, 12.50% ($P>0.05$), respectively and the level of 8-OHdG was significantly decreased by 21.19% ($P<0.05$). The level of SOD was increased by 15.63% ($P>0.05$) and the level of GPX was significantly increased by 5.84% ($P<0.05$). Conclusion: The tea polysaccharide-tea polyphenol mixture could effectively improve the oxidative damage of the brain of mice, and the effect of the tea polysaccharide-tea polyphenol mixture was better than that of the same dose of tea polyphenol.

Key words: tea polysaccharide-tea polyphenol; brain in mice; oxidative damage; biomacromolecule; antioxidantase

氧化应激是机体遭受不利刺激时,体内产生过多的活性分子,但由于抗氧化系统成分未能完全进行清除,氧化物的产生和清除失衡,从而导致组织功能受到严重损伤^[1-2]。氧化应激能引起多种组织包括心肌组织、肝组织、肺组织、肾组织、脑组织、脊髓等的损伤^[3]。

脑是中枢神经系统,是代谢最活跃的器官,其特征是需氧量较高^[4]但抗氧化能力相对较低。NADPH氧化酶是活性氧生成的关键部位,脑血管对NADPH氧化酶类功能和活性敏感性较全身动脉系统更强^[5-6],因此,大脑可能更易受到氧化应激影响^[7]。脑组织作为支配人的行为、接受各种信息的组织,对人的正常生活十分重要,脑组织长期受到损伤,可能会致残和致死^[8-9],人体健康受到威胁。若早期对氧化应激进行干预,可以显著改善脑组织的损伤^[3]。因此,控制脑组织的氧化应激,对保持脑组织的健康具有重要意义。

茶叶除了具有清热降火、祛风解暑的多种传统养生食疗药理功效,还被证明具有降糖降脂等功能^[10]。在对脑组织氧化损伤的保护方面,目前相关研究成果较多的一种茶叶活性成分主要是茶多酚,研究表明茶多酚对受到氧化损伤的脑组织具有保护作用,其机制与降低氧化应激反应有关,在干预氧化应激反应中,茶多酚对自由基的形成有抑制作用,并对改善抗氧化酶活性有良好效果^[11-12]。茶多糖作为茶叶中重要的功能成分之一,被证实了其具有较强抗氧化性和生物活性,可清理多种活性自由基^[13-14],但关于茶多糖的相关研究成果报道相对较少。目前,在氧化应激损伤方面的科学研究中,生物大分子受到的活性氧化应激损伤一直是重要的研究热点领域,活性自由基在攻击生物大分子时会造成生物蛋白质、DNA分子结构和功能的改变、脂质过氧化^[15]等,并伴有疾病的

发生。因此,本研究旨在探究茶多糖-茶多酚混合成分对生物大分子和抗氧化酶的氧化损伤干预探究其对脑组织氧化损伤的改善作用,从食疗方面干预调节脑组织的氧化应激,为相关功能性食品的开发奠定理论基础。同时,茶多糖经模拟胃肠消化后仍具有较强的抗氧化能力^[16],为动物试验及功能性评价提供了有利依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

基础饲料、SPF级的4周龄(平均质量20g左右)雄性昆明小鼠84只(重庆医科大学实验动物中心(许可证号SCXK(渝)2018-0003)提供;茶多糖-茶多酚(茶多糖含量为56.93%,茶多酚含量为19.37%,蛋白质含量为0.096%,水分含量为9.67%,灰分含量为13.21%)湖南华城生物资源股份有限公司生产;D-Gal、PBS缓冲液(0.01mol/L, pH7.2~7.4)北京索莱宝科技有限公司;蛋白质羰基(PCO)、晚期蛋白氧化产物(AOPP)、3-硝基酪蛋白(3-NT)、丙二醛(MDA)、8-异前列腺素(8-iso-PG)、8-羟基脱氧鸟嘌呤(8-OHdG)、5-羟基胞嘧啶(5-OH-DG)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)酶联免疫分析试剂盒(厦门嘉慧生物科技有限公司(LOT 202011))。

Synergy H1 酶标仪(美国基因公司); Allegra X-22R 型高速离心机(由贝克曼库尔特公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 动物饲养、造模及分组 按西南大学实验动物保护和使用规则进行实验饲养,饲养环境为相对湿度40%~60%,室温23±2℃,12h明暗交替,自由饮水,饲喂基础饲料。84只昆明种雄鼠随机分笼,每笼5只,适应性饲养1周后,用苦味酸对小鼠个体进行标记,分出12只小鼠为正常饲养对照组,一直继

续喂饲基础饲料;其余小鼠每天同一时间腹腔注射 0.1 mL/10 g·bw 的 10%D-半乳糖^[17-18],持续 45 d,建立小鼠氧化应激损伤模型。造模组和正常组小鼠血清的 MDA 含量是否存在显著性差异,判断造模是否成功。如果不成功,继续喂饲 D-半乳糖直到造模成功。

将造模成功后的小鼠随机分成模型对照组(灌胃与实验组同剂量的生理盐水)、阳性药物对照组(灌胃还原型谷胱甘肽,200 mg/kg·bw)、茶多酚对照组(灌胃 50 mg/kg·bw)、茶多糖-茶多酚低剂量组(灌胃 40 mg/kg·bw)、中剂量组(灌胃 100 mg/kg·bw)、高剂量组(灌胃 250 mg/kg·bw),每天同一时间段灌胃 1 次,灌胃体积为 0.1 mL/10 g·bw,持续 45 d,实验剂量以及灌胃周期均按照预实验有完善结果确定。

1.2.2 脑组织样本采集及制备 灌胃 45 d,小鼠停止饲喂饲料不禁水 12 h,取血后的小鼠采用颈椎脱位法处死,解剖,取出小鼠脑组织,用冰冷的生理盐水进行冲洗去除表面多余血水,滤纸吸干表面水分,液氮进行速冻,于-80℃超低温冰箱保存备用。

准确称取小鼠的脑组织样本 0.2 g,加入 PBS 缓冲液 1.8 mL 匀浆,将匀浆液于 4℃、3000 r/min 离心 15 min,取出上清液于-80℃保存、备用。

1.2.3 相关指标测定 脑组织中 PCO、AOPP、3-NT、8-iso-PG、8-OHdG、5-OH-DG、MDA、SOD、GPX 水平测定,均按照试剂盒内说明书操作。

1.3 数据处理

实验结果以($\bar{X} \pm SD$)表示,数据运用 SPSS 24 统计分析软件进行处理,显著性差异分析利用单因素方差进行数值分析, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 茶多糖-茶多酚对小鼠脑组织生物大分子氧化损伤的影响

2.1.1 对小鼠脑组织蛋白质氧化损伤的影响 研究表明,ROS 易攻击蛋白质,直接或间接导致蛋白质结构和活性遭到破坏^[19-20]。氧化应激会产生包括可逆和不可逆修复的各种蛋白质功能损伤,不可逆修复的蛋白质功能损伤包括羰基化合物的形成^[21],蛋白质羰基含量与某些疾病的可能发生程度具有密切相关性,因此蛋白质羰基含量通常是衡量蛋白质氧化损伤的

标志^[22]。AOPP 是氧化损伤产生的含二氢鸟氨酸的交联蛋白质产物^[23],是一种评估交联蛋白质产物氧化功能损伤的重要标志。3-NT 是硝化应激的关键产物,是一种蛋白质受到氧化损伤的特异性产物^[24-25],3-NT 水平也可以用于判定蛋白质氧化损伤程度。考察茶多糖-茶多酚混合功能成分作用下,实验小鼠脑组织上述 3 个蛋白质氧化产物水平,结果见表 1。

表 1 显示,和正常组比较,模型组小鼠脑组织的 PCO、AOPP、3-NT 水平分别增加了 36.66%、15.94%、20.61% ($P < 0.05$),表明模型组小鼠发生了蛋白质氧化损伤;与模型组比较,茶多酚组小鼠脑组织的 PCO、AOPP、3-NT 水平分别降低了 19.69%、13.66% ($P < 0.05$)、12.39% ($P > 0.05$),实验剂量的茶多酚未能使 3-NT 完全恢复到正常组水平,可使其他 2 个指标与正常组呈现不显著差异 ($P > 0.05$),表明茶多酚单独作用时对蛋白质氧化产生的硝化产物恢复力不够;茶多糖-茶多酚中、高剂量组小鼠脑组织的 PCO 水平分别减少 29.19%、22.95% ($P < 0.05$),AOPP 水平分别减少 13.17%、15.23% ($P < 0.05$),3-NT 水平分别减少 15.36%、15.29%,均与模型组形成显著性差异 ($P < 0.05$),且恢复至正常组水平 ($P > 0.05$);与茶多酚组比较,茶多糖-茶多酚高剂量组使 PCO、AOPP、3-NT 水平分别降低了 4.06%、1.81%、4.96% ($P > 0.05$),总体趋势较茶多酚组是下降的,恢复力更强。上述结果表明,茶多糖-茶多酚高剂量组能有效使模型小鼠脑组织的 PCO、AOPP、3-NT 水平下降并且恢复至正常水平,对小鼠脑组织蛋白质氧化损伤具有恢复作用,且作用效果优于同剂量茶多酚组。

2.1.2 对小鼠脑组织脂质过氧化的影响 许多生物大分子因受到氧化应激从而产生过量活性分子和生物大分子的严重的损伤,其中包括脂质^[26]。MDA 是脂质氧化的最终代谢产物,其含量表现抗氧化系统的活性。8-iso-PG 是一种特异的通过花生四烯酸的自由基介导的非酶促过氧化产生的化合物,是体内脂质过氧化最具体的标志^[27],测定其水平用以精确评估脂质氧化损伤程度。考察茶多糖-茶多酚混合功能成分作用下,实验小鼠脑组织脂质过氧化指标水平的变化,结果见表 2。

表 2 显示,和正常组比较,模型组小鼠脑组织的

表 1 茶多糖-茶多酚对小鼠脑组织 PCO、AOPP、3-NT 水平的影响

Table 1 Effects of tea polysaccharides-tea polyphenols on PCO, AOPP and 3-NT in brain of mice

组别	PCO浓度(pg/mL)	AOPP浓度(pmol/L)	3-NT浓度(nmol/L)
正常对照组	41.653±3.353 ^{Ab}	970.185±26.979 ^{Ab}	202.656±2.221 ^{Ab}
模型对照组	56.922±7.956 ^{Ba}	1124.815±64.210 ^{Ba}	244.414±3.026 ^{Ba}
阳性药物组	46.653±2.798 ^{Ab}	938.704±47.494 ^{Ab}	205.769±9.580 ^{Ab}
茶多酚对照组	45.712±7.846 ^{Ab}	971.111±54.645 ^{Ab}	217.857±10.823 ^{Aa}
低剂量组	56.089±1.823 ^{Ba}	1173.889±124.567 ^{Ba}	250.824±47.384 ^{Ba}
中剂量组	40.309±3.331 ^{Ab}	976.667±17.347 ^{Ab}	206.868±3.846 ^{Ab}
高剂量组	43.858±5.927 ^{Ab}	953.519±137.025 ^{Ab}	207.051±8.693 ^{Ab}

注:与正常组相比,不同大写字母表示存在差异显著($P < 0.05$);与模型组相比,不同小写字母表示存在差异显著($P < 0.05$);表2~表4同。

表2 茶多糖-茶多酚对小鼠脑组织 MDA、8-iso-PG 水平的影响

Table 2 Effects of tea polysaccharides-tea polyphenols on MDA and 8-iso-PG in brain of mice

组别	MDA浓度(nmol/mL)	8-iso-PG浓度(pg/mL)
正常对照组	4.179±0.559 ^{Ab}	68.257±10.376 ^{Ab}
模型对照组	6.108±0.630 ^{Ba}	97.338±7.543 ^{Ba}
阳性药物组	4.253±0.833 ^{Ab}	74.719±10.137 ^{Ab}
茶多酚对照组	5.081±0.127 ^{Aa}	77.440±4.474 ^{Ab}
低剂量组	6.234±0.065 ^{Ba}	98.954±14.496 ^{Ba}
中剂量组	5.028±0.607 ^{Ab}	66.131±11.080 ^{Ab}
高剂量组	4.567±0.803 ^{Ab}	74.804±12.514 ^{Ab}

MDA、8-iso-PG 水平分别增加了 46.16%、42.61% ($P<0.05$), 表明模型组小鼠发生了脂质过氧化。与模型组相比, 茶多酚组小鼠脑组织的 MDA、8-iso-PG 水平分别降低 16.81% ($P>0.05$)、20.44% ($P<0.05$), 而与正常组相比, 实验剂量的茶多酚使 8-iso-PG 恢复至正常水平, 而未能使 MDA 完全恢复至正常水平, 表明茶多酚对脂质过氧化的修复能力不足; 茶多糖-茶多酚中、高剂量组的 MDA 水平分别降低 17.68%、25.23% ($P<0.05$), 8-iso-PG 水平分别降低 32.06%、23.15%, 均与模型组形成显著性差异 ($P<0.05$) 且恢复到正常组水平 ($P>0.05$); 与茶多酚组比较, 茶多糖-茶多酚高剂量组使 MDA、8-iso-PG 水平分别降低了 10.12%、3.40% ($P>0.05$), 差异虽然不显著, 但总体趋势是下降的, 恢复力更强。上述结果表明, 茶多糖-茶多酚高剂量组能有效使模型小鼠脑组织的 MDA、8-iso-PG 水平下降恢复至正常水平, 对小鼠脑组织脂质氧化损伤具有改善作用, 且效果优于同剂量茶多酚组。

2.1.3 对小鼠脑组织 DNA 氧化损伤的影响 DNA 受到氧化, 将产生大量碱基修饰产物^[28], 8-OHdG、5-OH-DG 就是重要产物, 测定其水平可以评价 DNA 氧化损伤的程度, 结果见表 3。

表3 茶多糖-茶多酚对小鼠脑组织 8-OHdG、5-OH-DG 水平的影响

Table 3 Effects of tea polysaccharides-tea polyphenols on 8-OHdG and 5-OH-DG in brain of mice

组别	8-OHdG浓度(ng/L)	5-OH-DG浓度(ng/L)
正常对照组	57.027±3.508 ^{Ab}	96.076±7.152 ^{Ab}
模型对照组	85.057±3.830 ^{Ba}	128.542±4.607 ^{Ba}
阳性药物组	65.991±8.805 ^{Ab}	91.128±6.793 ^{Ab}
茶多酚对照组	72.999±3.827 ^{Aa}	104.844±9.978 ^{Ab}
低剂量组	72.620±6.659 ^{Ba}	132.188±18.025 ^{Ba}
中剂量组	53.933±6.384 ^{Ab}	102.934±7.531 ^{Ab}
高剂量组	57.532±14.526 ^{Ab}	91.736±4.071 ^{Ab}

表 3 显示, 和正常组比较, 模型组小鼠脑组织的 8-OHdG、5-OH-DG 水平分别增加了 49.15%、33.79% ($P<0.05$), 表明模型组小鼠 DNA 发生了氧化损伤。和模型组比较, 茶多酚组小鼠脑组织的 8-OHdG、5-

OH-DG 水平分别降低 14.18% ($P>0.05$)、18.44% ($P<0.05$), 而与正常组相比, 实验剂量的茶多酚使 5-OH-DG 恢复至正常水平, 但未能使 8-OHdG 恢复至正常水平 ($P<0.05$), 表明茶多酚对 DNA 氧化损伤修复能力不足; 茶多糖-茶多酚中、高剂量组小鼠脑组织的 8-OHdG 水平分别降低 36.59%、32.36% ($P<0.05$), 5-OH-DG 水平分别减少 19.92%、28.63%, 均与模型组形成显著性差异 ($P<0.05$); 与茶多酚组相比较, 茶多糖-茶多酚高剂量组小鼠脑组织的 5-OH-DG、8-OHdG 水平分别降低了 12.50% ($P>0.05$)、21.19% ($P<0.05$), 形成显著性差异。上述结果表明, 茶多糖-茶多酚高剂量组能有效使模型小鼠脑组织的 8-OHdG、5-OH-DG 水平下降且恢复至正常水平, 对小鼠脑组织 DNA 氧化损伤具有修复作用, 其作用效果比同剂量茶多酚组更优。

2.2 茶多糖-茶多酚对小鼠脑组织酶类抗氧化剂的影响

SOD 是主要的抗氧化复合酶, 其复合酶体系对氧自由基的大量清除抑制作用显著^[29], 从而维持着体内氧化平衡。GPX 是调节活性氧水平的关键酶, 使组织免受氧化损伤^[30], 测定 SOD、GPX 水平可以反映茶多糖-茶多酚作用下机体酶促抗氧化系统的抗氧化能力水平。结果见表 4。

表4 茶多糖-茶多酚对小鼠脑组织 SOD、GPX 浓度的影响
Table 4 Effects of tea polysaccharides-tea polyphenols on SOD and GPX in brain of mice

组别	SOD浓度(pg/mL)	GPX浓度(pg/mL)
正常对照组	35.637±6.292 ^{Ab}	1024.127±19.392 ^{Ac}
模型对照组	25.301±2.075 ^{Ba}	746.349±10.736 ^{Ca}
阳性药物组	37.142±3.050 ^{Ab}	1019.365±11.984 ^{Ac}
茶多酚对照组	37.450±5.026 ^{Ab}	965.397±34.201 ^{Bb}
低剂量组	33.207±0.361 ^{Ab}	751.111±10.736 ^{Ca}
中剂量组	34.062±3.359 ^{Ab}	959.841±32.501 ^{Bb}
高剂量组	43.303±6.079 ^{Ab}	1021.746±23.849 ^{Ac}

表 4 显示, 和正常组比较, 模型组小鼠脑组织的 SOD、GPX 浓度分别增加了 29.00%、27.12% ($P<0.05$), 表明模型组小鼠发生了酶类抗氧化系统的损伤。和模型组比较, 茶多酚组小鼠脑组织的 SOD、GPX 浓度分别增加 48.02%、29.35% ($P<0.05$), 且使 SOD 恢复至正常组水平 ($P>0.05$), 但未能使 GPX 恢复至正常组水平 ($P<0.05$), 表明茶多酚对抗氧化酶的抗氧化能力的恢复力不足; 茶多糖-茶多酚中、高剂量组 SOD 浓度分别增加 34.63%、71.15% ($P<0.05$), GPX 浓度分别增加 28.60%、36.90%, 均与模型组形成显著性 ($P<0.05$) 差异, 与茶多酚组相比, 茶多糖-茶多酚高剂量组小鼠脑组织的 SOD、GPX 浓度分别增加 15.63% ($P>0.05$)、5.84% ($P<0.05$)。上述结果表明, 茶多糖-茶多酚高剂量组能有效使模型小鼠脑组织的 SOD、GPX 浓度上升恢复至正常水平, 对恢复小鼠脑组织酶类抗氧化系统抗氧化能力具有显著效

果,且作用效果优于茶多酚组。

3 讨论与结论

脑是人体内结构复杂、功能完善、调节人体生理活动的重要器官,耗氧量大但清除自由基能力不足^[2],机体在受到外界有害刺激^[31],如缺氧、出血、中毒等,易造成自由基积累,大量的活性自由基将损伤脑细胞的结构^[32],使脑细胞内外环境失衡,甚至造成脑细胞凋亡。体内自由基和其他化学有害基团产生过多时,会直接导致细胞线粒体功能受损^[33],促进生物大分子氧化损伤以及炎症发生。氧化应激会造成急性脑卒中、脑缺血、衰老等^[34]疾病,脑组织长期受到损伤,会造成不可逆的后果。因此,控制并修复脑细胞的氧化损伤具有重要意义。

对保护脑组织损伤的研究^[35]中证实,抗氧化剂通过清除过量的活性氧和降低生物大分子氧化产物水平改善氧化应激水平,从而对脑组织损伤起到修复作用。在对抗氧化酶抗氧化能力的研究中表明,抗氧化酶浓度越高,抗氧化能力越强^[36],本实验探究 SOD 和 GPX 抗氧化酶指标水平的变化来反映茶多糖-茶多酚干预后抗氧化酶抗氧化能力的变化,结果中显示茶多糖-茶多酚复合物作用后,抗氧化酶 SOD 和 GPX 浓度升高,对活性氧的清除能力提高,清除由于氧化应激反应产生的过量 ROS,恢复其动态平衡,从而对氧化损伤具有一定的改善作用。

过量的 ROS 通过一系列反应不断攻击生物大分子,包括蛋白质的修饰氨基酸以及肽键,使其发生变性^[37],脂质过氧化反应以及破坏 DNA 链或改变 DNA 空间构象^[4],导致 DNA 功能丧失。实验中选取蛋白质、脂质、DNA 氧化产物作为考察指标,通过其水平的变化反映茶多糖-茶多酚作用效果。结果表明,茶多糖-茶多酚药物干预后,均能使小鼠脑组织蛋白质氧化产物 PCO、AOPP、3-NT 水平,脂质过氧化物 MDA、8-iso-PG 水平以及 DNA 氧化产物 8-OHdG、5-OH-DG 水平显著降低,表明生物大分子氧化损伤得到改善。这可能与茶多糖-茶多酚干预后,提高抗氧化酶活力,降低体内由于氧化应激引起的活性氧的产生和清除失衡产生的过多活性氧水平,减少对生物大分子的损伤^[38],从而改善氧化应激反应对机体造成的伤害。

本实验基于茶多糖在体内保持其抗氧化活性这一基础^[16],探究茶多糖-茶多酚混合物对生物大分子及酶类抗氧化系统氧化损伤的改善作用,结果发现,中、高剂量的茶多糖-茶多酚干预蛋白质、脂质、DNA 的氧化和抗氧化酶抗氧化能力,其效果优于茶多酚单独作用的抗氧化效果,推测茶多糖和茶多酚协同抗氧化,其机理还需后续进一步实验研究。

综上所述,茶多糖-茶多酚协同对实验小鼠脑组织氧化应激损伤具有改善作用,达到 100 mg/kg·bw 的中剂量后,其对脑组织生物大分子的氧化和抗氧化酶活力有很强的保护作用,能使测定的指标回到正

常。本实验结果为后续深度开发利用以茶多糖-茶多酚为主的混合功能成分的保健食品、减轻脑受氧化损伤导致的一系列损伤以及改善健康水平状况具有重要意义。

参考文献

- [1] 谢宜君,杨红英.氧化应激与糖尿病脑组织损伤关系的研究新进展[J].检验医学与临床,2013,9(20):2617-2618,2643. [XIE Y J, YANG H Y. New progress in research on the relationship between oxidative stress and diabetic brain tissue damage[J]. Laboratory Medicine and Clinical, 2013, 9(20):2617-2618, 2643, 9(20): 2617-2618,2643.]
- [2] FRACASSO M, DUTRA DA SILVA A, BOTTARI N B, et al. Resveratrol impacts in oxidative stress in liver during Trypanosoma cruzi infection[J]. Microbial Pathogenesis, 2021; 153.
- [3] 李霞,马宁,田晶,等.氧化应激与组织损伤的研究进展[J].吉林医药学院学报,2020,41(4):292-294. [LI X, MA N, TIAN J, et al. Research progress on oxidative stress and tissue damage[J]. Journal of Jilin Medical College, 2020, 41(4): 292-294.]
- [4] RIZHA A N, ANDI A I, MOCHAMMAD H, et al. Role of CAPE in reducing oxidative stress in animal models with traumatic brain injury[J]. Annals of Medicine and Surgery, 2020; 57.
- [5] CHRISOBOLIS S, MILLER A A, DRUMMOND G R, et al. Oxidative stress and endothelial dysfunction in cerebrovascular disease[J]. Frontiers in bioscience (Landmark edition), 2011, 16(1): 1733.
- [6] GLOBAL, R, COUNTRY-SPECIFIC. Lifetime Risks of Stroke, 1990 and 2016[J]. New England Journal of Medicine, 2018, 379(25).
- [7] SUZUKI Y, NAGAI N, UMEMURA K. A review of the mechanisms of blood-brain barrier permeability by tissue-type plasminogen activator treatment for cerebral ischemia[J]. Frontiers in Cellular Neuroscience, 2016, 10: 2.
- [8] ALYSON A. M, GRANT R. D, HARALD H. H. W. et al. NADPH oxidase activity and function are profoundly greater in cerebral versus systemic arteries[J]. Circulation Research, 2005, 97(10): 1055.
- [9] MILLER A A, DRUMMOND G R, MICHAEL DE SILVA T, et al. NADPH oxidase activity is higher in cerebral versus systemic arteries of four animal species: role of Nox2[J]. American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology, 2009, 296(1): H220.
- [10] 李海琳,成浩,王丽鸳,等.茶叶的药用成分、药理作用及开发应用研究进展[J].安徽农业科学,2014,42(31):10833-10835,10838. [LI H L, CHENG H, WANG L Y, et al. Tea's medicinal ingredients, pharmacological effects and development and application research progress[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2014, 42(31): 10833-10835,10838.]
- [11] 葛华,吴峰,杜鹃,等.茶多酚心脑血管功能保护作用的研究进展[J].中国疗养医学,2020,29(9):919-922. [GE H, WU F, DU P, et al. Research progress on the protective effect of tea polyphenols on heart and brain function[J]. Chin J Convalescent Med, 2020, 29(9): 919-922.]
- [12] 郝长敏,田维娜,姜微波.绿茶水提取物对铝暴露大鼠脑组织

- 氧化应激的干预作用[J]. 中国食品学报, 2017, 17(5): 1-9. [HE C M, TIAN W N, JIANG W B. Effects of green tea extract on aluminum induced oxidative stress in rat brain[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(5): 1-9.]
- [13] 于淑池, 侯金鑫. 龙井茶多糖对自由基和 NO²⁻清除作用研究[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(4): 28-31. [YU S C, HOU J X. Study on the scavenging effect of Longjing tea polysaccharide on free radicals and NO²⁻[J]. Food Research and Development, 2012, 33(4): 28-31.]
- [14] CAO H. Polysaccharides from Chinese tea: Recent advance on bioactivity and function[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 62: 76-79.
- [15] 张文玲, 魏丽勤, 王林嵩, 等. 活性氧对生物大分子的氧化性损伤[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2000, 28(4): 69-71. [ZHANG W L, WEI L Q, WANG L G, et al. Oxidative damage of active oxygen to biological macromolecules[J]. Journal of Henan Normal University (Natural Science Edition), 2000, 28(4): 69-71.]
- [16] 韦铮, 贺燕, 郝麒麟, 等. 茶多糖在模拟胃肠消化体系的抗氧化作用[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(10): 109-117. [WEI Z, HE Y, HAO Q L, et al. Antioxidant effects of tea polysaccharides in simulating gastrointestinal digestion system[J]. Food and Fermentation Industry, 2020, 46(10): 109-117.]
- [17] 张自强, 刘玉梅, 位兰, 等. 6-苄胺基嘌呤对 D-半乳糖致小鼠脑组织氧化损伤的保护作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(14): 1422-1425. [ZHANG Z Q, LIU Y M, WEI L, et al. Protective effects of 6-benzylaminopurine against oxidative damage in brain tissue of mice induced by D-galactose[J]. Chin J Clin Pharmacol, 2015, 31(14): 1422-1425.]
- [18] 彭新颜, 贺红军, 柳全文, 等. 抗氧化活性酸奶对 D-半乳糖诱导氧化损伤大鼠脑的保护作用[J]. 食品科学, 2017, 38(23): 157-164. [PENG X Y, HE H J, LIU Q W, et al. Protective effect of antioxidant yogurt against D-galactose-induced brain damage in rats[J]. Food Science, 2017, 38(23): 157-164.]
- [19] EZRATY B, GENNARIS A, BARRAS F, et al. Oxidative stress, protein damage and repair in bacteria[J]. Nature Reviews Microbiology, 2017, 15: 385-396.
- [20] 仲南, 姚英杰, 马永政, 等. 氟对大鼠血浆中蛋白质氧化损伤作用的研究[J]. 中华地方病学杂志, 2019, 38(9): 692-696. [ZHONG N, YAO Y J, MA Y Z, et al. Study on the effect of fluoride on the oxidative damage of protein in rat plasma[J]. Chinese Journal of Endemiology, 2019, 38(9): 692-696.]
- [21] 原慧萍, 杨泽. 氧化应激与衰老研究进展[J]. 中国老年保健医学, 2015, 13(5): 14-17. [YUAN H P, YANG Z. Research progress on oxidative stress and aging[J]. Chinese Gerontology, 2015, 13(5): 14-17.]
- [22] CHEVION M, BERENSHTEIN E, STADTMAN E R. Human studies related to protein oxidation: protein carbonyl content as a marker of damage[J]. Free Radic Res, 2000, 33(33 Suppl): S99.
- [23] ZHAO Y L, ZHANG L G, OUYANG X X, et al. Advanced oxidation protein products play critical roles in liver diseases[J]. European Journal of Clinical Investigation, 2019, 49(6): 658-664. [PENG Y, QIU C H, ZHOU H, et al. The expression and significance of plasma 3-nitrotyrosine and oxidized low-density lipoprotein in patients with Alzheimer's disease[J]. Chinese Journal of Clinical Neurosciences, 2012, 20(6): 658-664.]
- [24] 彭誉, 邱晨红, 周华, 等. 血浆 3-硝基酪氨酸和氧化低密度脂蛋白在阿尔茨海默病患者中的表达及意义[J]. 中国临床神经科学, 2012, 20(6): 658-664. [PENG Y, QIU C H, ZHOU H, et al. The expression and significance of plasma 3-nitrotyrosine and oxidized low-density lipoprotein in patients with Alzheimer's disease[J]. Chinese Journal of Clinical Neurosciences, 2012, 20(6): 658-664.]
- [25] 刘小兵, 朴建华. 生物活性物质的抗氧化能力评价方法及其研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(5): 440-444. [LIU X B, PIAO J H. Evaluation methods and research progress of anti-oxidation ability of biologically active substances[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2008, 20(5): 440-444.]
- [26] ZHENG G Y, MUTCHERSON II R, STEPHEN L. Helfand. Calorie restriction delays lipid oxidative damage in Drosophila melanogaster[J]. Aging Cell, 2005, 4(4): 209-216.
- [27] NASUTION R A, ISLAM A A, HATTA M, et al. Role of CAPE in reducing oxidative stress in animal models with brain injury[J]. Annals of Medicine and Surgery, 2020, 57: 118-122.
- [28] 毛玲娜, 宋震亚. 8-羟基脱氧鸟苷在结直肠癌患者尿液中的表达[J]. 中国临床研究, 2019, 32(5): 647-649, 653. [MAO L N, SONG Z Y. The expression of 8-hydroxydeoxyguanosine in urine of patients with colorectal cancer[J]. Chinese Journal of Clinical Research, 2019, 32(5): 647-649, 653.]
- [29] LU M, DARET KST, CLAIR. Regulation of superoxide dismutase genes: Implications in disease[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2009, 47(4): 344-356.
- [30] SOHINI G, SABUJ S, PAUSHALI R, et al. Structural and functional analysis of glutathione peroxidase from Ricinus communis L. - a computational approach[J]. International Journal of Bioinformatics Research, 2010, 2(1): 20-30.
- [31] SIQUES P, BRITO J, PENA E. Reactive oxygen species and pulmonary vasculature during hypobaric hypoxia[J]. Frontiers in Physiology, 2018, 9: 865.
- [32] 刘庆, 卢蓉, 郝莉霞. Nrf2 基因对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠脑组织氧化应激和 JAK2/STAT3 信号通路的影响[J]. 局解手术学杂志, 2020, 29(8): 604-609. [LIU Q, LU R, HAO L X. Effect of Nrf2 gene on oxidative stress and JAK2/STAT3 signaling pathway in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain injury[J]. Journal of Regional Anatomy and Operative Surgery, 2020, 29(8): 604-609.]
- [33] 沈云辉, 陈长勋. 抗氧化应激研究进展[J]. 中成药, 2019, 41(11): 2715-2719. [SHENG Y H, CHEN C X. Research progress on anti-oxidative stress[J]. Chinese Patent Medicine, 2019, 41(11): 2715-2719.]
- [34] 张斯萌, 王文, 黄丹, 等. 急性脑卒中患者血清氧化应激指标测定及临床意义[J]. 微循环学杂志, 2012, 22(4): 42-43, 114, 118. [ZHANG S M, WANG W, HUANG D, et al. Determination of serum oxidative stress indexes in patients with acute stroke and its clinical significance[J]. Journal of Microcirculation, 2012, 22(4): 42-43, 114, 118.]
- [35] 孙杨, 魏崇莉, 赵彤, 等. 甘松乙酸乙酯提取物对高原缺氧诱导脑组织损伤的保护作用[J]. 现代中药研究与实践, 2020(3): 13-17. [SUN Y, WEI C L, ZHAO T, et al. Protective effect of ethyl acetate extract from Gansong on high altitude hypoxia induced

brain tissue injury[J]. *Modern Chinese Medicine Research and Practice*, 2020(3): 13–17.]

[36] LEWANDOWSKI L, IWONA U, MARTA K, et al. Concentration/activity of superoxide dismutase isozymes and the pro-/anti-oxidative status, in context of type 2 diabetes and selected single nucleotide polymorphisms (genes: INS, SOD1, SOD2, SOD3) – Preliminary findings[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021: 137.

[37] 张月, 刘茜, 肖春霞. 辣椒碱对生物大分子氧化损伤的保护作用[J]. *现代食品科技*, 2017, 33(2): 41–47. [ZHANG Y, LIU

Q, XIAO C X. Protective effect of capsaicin against oxidative damage to biomolecules[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2017, 33(2): 41–47.]

[38] 杨忠敏, 沈以红, 黄先智, 等. 桑叶生物碱粗提物对 D-半乳糖诱导的小鼠蛋白氧化损伤的改善作用[J]. *食品科学*, 2020, 41(17): 182–187. [YANG Z M, SHEN Y H, HUANG X Z, et al. Effect of crude alkaloids from mulberry leaves on improving D-Galactose-Induced oxidative protein damage in mice[J]. *Food Science*, 2020, 41(17): 182–187.]