

绿茶及绿茶多酚抗羟自由基诱导的大鼠肝脂质过氧化作用

罗素琼¹ 杨青¹ 吴玲² 王文静²

摘要 本研究采用 Fe^{2+} , H_2O_2 反应生成 OH^\cdot 诱导大鼠离体肝脂质过氧化反应体系, 用 GT 和 GTP 作为抗氧化剂观察对肝脂质过氧化的阻抑作用。随 GT 和 GTP 浓度的升高对 MDA 的抑制率分别为 0.774~0.892, 0.814~0.976, 浓度与 MDA 之间存在剂量效应关系。

关键词 绿茶 (GT) 绿茶多酚 (GTP) 脂质过氧化

EFFECT OF THE GREEN TEA AND GREEN TEA POLYPHENOL ON THE CLEAR AWAY LIPID PEROXIDATION OF RAT LIVER IN VITRO. Luo Sugiong, et al. West China

University of Medical Sciences, Department of Occupational Health, School of Public Health, Chengdu 610041, P. R. China

The formation of the hydroxyl radical (OH^\cdot) may occur directly through the fenton reaction: $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{OH}^\cdot$. Lipid peroxidation reaction in the rat liver was induced by OH^\cdot in vitro, while malondialdehyde (MDA) was detected as a peroxidation product in lipid in rat liver. In this paper green tea (GT) and green tea polyphenol (GTP) were used as antioxidation agents. The results showed that the content of MDA gradually decreased with increasing doses of GT and GTP, and the inhibitory rate on MDA was 0.774~0.892, 0.814~0.976 respectively and showed a reference dose-effect between MDA and GT, GTP. These results appear to indicate that GT and GTP may have some inhibitory effects on lipid peroxidation of rat liver in vitro.

Key Words Green tea Green tea polyphenol Lipid peroxidation

脂质过氧化是存在于机体内的代谢过程, 正常情况下体内维持氧化—抗氧化平衡, 当外来物质诱发机体产生过多的自由基时, 极易引发细胞膜的脂质过氧化, 促进机体衰老、心血管疾病和肿瘤的发生^[1,2]。因此研究和探讨对脂质过氧化具有阻断或减缓作用的物质, 对疾病的防治具有现实意义。本实验用羟自由基 (OH^\cdot) 诱导大鼠离体肝脂质过氧化, 其产物丙二醛 (MDA) 采用硫代巴比妥酸法 (TBA 法) 测定。用绿茶 (Green tea, GT) 和绿茶提取物绿茶多酚 (Green tea polyphenol, GTP) 作为抗氧化剂, 观察对肝脂质过氧化的阻抑作用, 为绿茶防治疾病的机制研究提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 样品处理 绿茶选用四川峨眉山茶厂提供的当年新茶。取 1、2.5、5g 茶叶分别加入 50ml 沸重蒸水浸泡 30min, 过滤后定容至 25ml, 茶汁浓度分别为 40g/L, 100g/L, 200g/L。GTP 系从峨眉绿茶中提取由我院检测教研室提供。用重蒸水配制成 0.1g/L, 0.5g/L, 1g/L 和 2g/L 浓度, 两者均在实验当日配用。

1.2 10% 肝匀浆 取绝食 12h 健康成年 Wistar 大鼠肝脏数克, 迅速按 10% (w/v) 加入冰冷的 KCl 溶液 (0.1mol/L), 剪碎鼠肝, 冰浴下在玻璃匀浆器中匀浆 5min, 制成 10% 肝匀浆备用。

1.3 试剂 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.1mmol/L), 5% H_2O_2 , Tris-HCl (0.05mol/L, pH=7.4), TBA 法中的试剂购于四川省卫生干部管理学院 TBA 试剂盒。

1.4 方法 在试管中依次加入肝匀浆 1ml, Tris-HCl 1ml, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5ml, GT 或 GTP 1.5ml, 最后加入 H_2O_2 启动反应, 总体积为 4.5ml, 混匀后

1 华西医科大学劳动卫生教研室, 成都 610041

2 华西医科大学 89 级预防班

1995—02—21 收稿 1995—05—30 修回

37 水浴恒温 30min, 3000rpm 离心 10min, 取上清液 1.0ml, 0.05M HCl 3.0ml, 0.67% TBA 1.0ml 于具塞试管中, 煮沸 30min, 取出流水速冷至室温, 各管加入 4.0ml 抽提液, 加盖抽提约 45Sec, 3000rpm 离心 10min, 取上层液于 1cm 比色杯中, 用 721 分光光度计测定 535nm 的吸光度 (OD)。每个样品作 2 个平行管和 GT 或 GTP 空白对照, 取其均数, 根据标准算出 MDA 含量和抑制率。

实验另设阳性阴性对照管, 阳性管用 OH[·] 启动鼠肝脂质过氧化, 阴性管为肝空白对照。其余操作同样品管。

2 结果

GT 和 GTP 抗 OH[·] 诱导的鼠肝脂质过氧化结

附表 GT 和 GTP 对 OH[·] 诱导的肝脂质过氧化的阻抑作用

	阳性	阴性	GT (g/L)			GTP (g/L)			
			40	100	200	0.1	0.5	1	2
OD	0.81	0.30	0.225 (0.11)	0.205 (0.12)	0.185 (0.13)	0.223 (0.128)	0.178 (0.120)	0.138 (0.110)	0.128 (0.115)
扣除空白OD	0.51	—	0.115	0.085	0.055	0.095	0.058	0.028	0.013
MDA (nmol/ml)	16.86	—	3.802	2.810	1.818	3.140	1.901	0.909	0.413
抑制率	—	—	0.774	0.833	0.892	0.814	0.887	0.946	0.976

: 括号内的数为各浓度样品的空白对照

: 阳性管的MDA—各样品管的MDA/阳性管的MDA

3 讨论

脂质过氧化是一个自由基链式反应, 许多重要生命现象和常见疾病涉及到脂质过氧化。脂质过氧化可被光、电离辐射、自由基引发, 在此过程中产生丙二醛 (MDA) 引起人类的衰老、细胞突变等。自由基清除剂和抗氧化剂的应用有可能阻止脂质过氧化反应。人们高兴地发现绿茶具有此功能, 因此表现出抗癌、抗突变、抗衰老、抗辐射等作用^[3-5]。本次实验结果表明, 绿茶及其主要成分茶多酚能抑制由 OH[·] 诱导的离体肝脂质过氧化, 结果与我们用 ESR 观察到的绿茶可以部分清除 Fe²⁺ 和 H₂O₂ 反应生成的 OH[·] 相吻合^[6]。OH[·] 是启动脂质过氧化作用的活性基团, 本实验用 OH[·] 诱导大鼠离体肝脂质过氧化, 阳性和阴性对照结果说明, 诱导是成功的, 表现出前者的吸光度 (OD) 明显高于后者, 这是检测某

果见附表。从表中可见阳性管加入 Fe²⁺ 和 H₂O₂ 后产生的 OH[·] 使大鼠肝脂质过氧化作用明显增强, 表现为 OD 值增加, MDA 值上升。加入 GT 和 GTP 后 MDA 值随其浓度的增加而下降并显示出有剂量效应关系。GT 和 GTP 浓度与 MDA 之间呈负相关 (GT: $r = -0.99$, $P < 0.05$; GTP: $r = -0.92$, $P < 0.05$)。GTP 浓度为 40g/L, 100g/L, 200g/L 时, 对 OH[·] 诱导的鼠肝脂质过氧化抑制率分别为 0.774, 0.833, 0.892; GTP 浓度为 0.1g/L, 0.5g/L, 1g/L, 2g/L 时其抑制率分别为 0.814, 0.887, 0.946, 0.976。以上结果提示, GT 和 GTP 对 OH[·] 诱导的大鼠离体肝脂质过氧化有明显的抑制作用, 而 GTP 可能是 GT 中起主要作用的活性物质。

物质是否具有抑制脂质过氧化反应的基础。在人类进步与繁荣的同时也不断向自然界释放出各种环境污染物质, 因而使人们在生活中有意或无意地接触了许多有害因素而损害健康。如能在生活中有意识地摄入具有抗氧化作用的绿茶, 则可预防和减少一些疾病^[7-9]。目前用茶及茶多酚制成的保健食品逐渐增多, 茶多酚由于具有很强的抗氧化活性, 用于食品和化妆品中有阻止或延缓脂质过氧化, 延长产品保质期的作用^[10]。

4 参考文献

- 1 莫简主编. 医用自由基生物学导论. 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 1989. 113~137
- 2 杨建华, 罗素琼, 刘学泽. 亚硒酸钠对青石棉诱发大鼠间皮瘤的阻断作用与血浆过氧化脂质关系的研究. 华西大学学报, 1994, 25 (1): 66~69

- 3 Xu Y, Ho CT, Amin SG, et al Inhibition of tobacco specific nitrosamine induced lung tumorigenesis in A/J mice by green tea and its major polyphenol as antioxidants Cancer Res, 1992, 52 (14): 3875~ 3879
- 4 Uchida S, Ozaki M, Suzuki K, et al Radioprotective effects of (-)-epigallocatechin 3-O-gallate (green tea tannin) in mice Life Sci, 1992, 50 (2): 147~ 152
- 5 罗素琼, 刘学泽, 王朝俊. 绿茶对石棉与苯并(a)芘联合诱发大鼠肺癌的预防效果. 中华劳动卫生职业病杂志, 1994, 12 (3): 39~ 41
- 6 罗素琼, 刘学泽, 贺海鹰. 绿茶清除羟自由基的ESR观察. 现代预防医学, 1995, 22 (1): 49~ 51
- 7 Sadakata S, Fukao A, Hisamichis Mortality among female practitioners of chanoyu (Japanese "tea ceremony"). Tohoku J Exp Med, 1992, 166 (4): 475 ~ 477
- 8 阎玉森, 邹玉珍, 苏长青, 等. 绿茶提取物肿瘤抑制作用的动物和人体实验. 中华预防医学杂志, 1993, 27 (3): 129~ 131
- 9 翟日洪, 吴开国, 磨传真. 绿茶抗锡矿尘诱致的大鼠肺组织脂质过氧化的实验研究. 职业医学, 1992, 19 (4): 202~ 203
- 10 李小平, 邱华士, 黄河泰, 等. 茶多酚对食品、化妆品的抗氧化作用的效果观察. 中国公共卫生, 1994, 10 (1): 40

(上接第 168 页)

表 2 新入园贫血儿童食疗效果观察

年度	92	94
贫血儿人数	24	18
占新入园儿的%	24.7	33
治疗后 血色素达标人数	23	18
血色素达标率 (%)	95.8	100

表 3 食疗时间效果观察

食疗时间	2.5 月	6 月
参加人数	37	38
有效人数	14	38
有效率	56.8	100
血色素达标人数	12	37
血色素达标率 (%)	35.2	94.4

3 食疗效果分析讨论

3.1 通过较长时间的实践证明, 儿童轻度贫血用饮

食疗法可治愈, 也可以用饮食疗法预防儿童贫血的再度发生。关键是科学的膳食结构和良好的饮食习惯, 加上持之以恒。

3.2 综上所述, 儿童膳食中既要重视铁摄入量, 也要有充足的优质铁源, 这是治愈轻度贫血儿童的物质基础, 只有摄入质优足量的富铁食物才能达到满意的效果。

3.3 从表 3 见, 食疗时间的长短对轻度贫血儿童的矫治率有密切的关系, 时间短则效果差, 时间长则效果好, 一般坚持六个月就可基本治愈。

3.4 由表 2 看出, 新入园儿童中患贫血的儿童占比例较大, 说明家庭膳食结构不合理或儿童无良好的饮食习惯, 对此, 必须引起卫生保健工作者的高度注意, 加强对家长及有关人员进行科学的膳食结构及儿童饮食习惯的宣传和指导, 引起家庭和重视, 让平衡膳食给孩子一个好的开端。

投稿须知

凡投来的稿件请检查在统计学方面有无《写作统计学—作者·编者·审者常用医学统计方法》新书中所列举的 124 个医学科研误、正实例中错误。若有, 请认真修改。

《现代预防医学》编辑部
一九九六年六月十四日