

文章编号: 1000—369X(2003)01—0011—05

## 乌龙茶多糖对糖尿病大鼠肝肾抗氧化功能及组织形态的影响

倪德江, 陈玉琼, 宋春和, 谢笔钧, 周诗其

(华中农业大学茶学专业, 湖北 武汉 430070)

**摘要:** 利用链脲佐菌素(STZ)复制糖尿病大鼠模型, 研究乌龙茶多糖对糖尿病大鼠肝肾抗氧化功能和组织形态变化的影响。结果表明, 糖尿病大鼠灌胃乌龙茶多糖4周后, 肝肾SOD和GSH—PX活性明显提高, MDA含量显著下降, 抗氧化能力增强; 茶多糖对糖尿病大鼠肝肾组织有保护作用。

**关键词:** 茶学; 乌龙茶; 多糖; 糖尿病; 组织形态; 抗氧化

中图分类号: Q946; R453

文献标识码: A

## Effect of Oolong Tea Polysaccharide on Hepatic-nephritic Antioxidation and Histomorphology in the Diabetic Rats

NI De-jiang, CHEN Yu-qiong, SONG Chun-he, XIE Bi-jun, ZHOU Shi-qi

(Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** The influence of polysaccharide extracted from Oolong tea (OTPS) on hepatic—nephritic anti oxidation and histomorphology in mice with streptozotocin (STZ)-induced diabetes(MD) was investigated. Results showed that SOD and GSH—PX activity was increased and MDA content decreased in liver and kidney of MD mice fed OTPS for 4 weeks. OTPS had the function of improving the antioxidation and protecting the liver and kidney of MD mice.

**Key words:** Tea science; Oolong tea; Polysaccharide; Diabetes; Antioxidation; Histomorphology

茶多糖的降血糖作用已被许多试验证实, 但这方面的研究主要集中在降血糖效果方面<sup>[1~4]</sup>。医学研究表明, 糖尿病是一种常见的多发的内分泌代谢性疾病, 主要由胰岛素分泌不足而引起血糖和尿糖的增加, 往往还伴随肝、肾、脾等多种脏器功能的减退<sup>[5~9]</sup>。笔者在研究茶多糖降血糖机理的同时, 就茶多糖对糖尿病大鼠肝和肾抗氧化功能及组织形态的影响进行了研究。

### 1. 材料与方法

#### 1.1 材料

链脲佐菌素(STZ)为Sigma公司产品, 乌龙茶为福建省宜春市玉斗镇茶厂提供, 品种为水仙, TPS按文献[4]提取; Wistar大鼠, 雄性, 清洁级, 购于湖北省卫生防疫站, 体重180~220g; SOD、GSH-PX、MDA测试盒购于南京建成生物工程研究所; 消渴丸为广州中药

收稿日期: 2002—10—31

修订日期: 2003—01—09

基金项目: 国家自然科学基金(30270939)和湖北省自然科学基金(2002AB101)内容之一

作者简介: 倪德江(1966-), 男, 四川名山人, 在职博士, 副教授, 主要从事茶叶加工化学及天然产物化学的教学与科研工作。

厂产品。

## 1.2 方法

### 1.2.1 糖尿病 (MD) 模型的建立

Wistar 大鼠适应喂养 3 天, 禁食一天后左腹腔注射 STZ, 剂量为 58 mg/(kg.bw)。STZ 临用前用冰冷的 0.1 M PH 4.4 柠檬酸盐缓冲液配制, 3 天后用尿糖试纸检测鼠尿, 用血糖仪测空腹血糖, 凡尿糖呈强阳性 (+++)、BG $\geq$ 17.6 mmol/L 为 MD 大鼠。

### 1.2.2 实验设计

设正常对照组 (A 组), DM 大鼠随机分为五组: MD 对照组 (C 组)、阳性药对照组 (E 组) 和 3 个乌龙茶 TPS 实验组。MD 组灌胃等量的生理盐水, 阳性药对照组灌胃消渴丸, 剂量为 1.56~3.125 丸/(kg.bw), 用生理盐水配制, 乌龙茶 TPS 组分为低剂量组 (B 组)、中剂量组 (D 组) 和高剂量组 (F 组), 每天灌胃剂量分别为 50 mg/(kg.bw)、100 mg/(kg.bw)、200 mg/(kg.bw)。实验时间为 4 周, 每天量取饮水量、排尿量, 隔两天称重 1 次。

### 1.2.3 组织匀浆制备

实验期满后, 眼眶采血测定其他生化指标, 迅速解剖, 并取出肝和肾, 一部分制备匀浆, 另一部分作组织切片。制备组织匀浆时取组织块 1 g, 在冰冷的 0.86% 生理盐水中漂洗, 除去血液, 滤纸拭干, 称重, 将剪碎的组织置于玻璃匀浆器中, 加入冷生理盐水研磨成 10% 匀浆, 3000 r/min 离心 12 min, 上清液置 4 冰箱中待用。

### 1.2.4 测定方法

SOD 活性 将上述匀浆液稀释成 1% 匀浆, 采用黄嘌呤氧化酶法测定; GSH-PX 活性: 肝 GSH-PX 活性用 1% 匀浆, 肾 GSH-PX 活性用 10% 匀浆, 采用酶法测定; MDA 含量: 10% 匀浆, 用 TBA 比色法测定。

### 1.2.5 组织形态分析

处死动物后肉眼观察肝和肾脏外观, 然后

取新鲜组织常规福尔马林固定, 石蜡包埋, 切片, 染色, 光镜下观察组织学变化。

### 1.2.6 统计方法

测定数据用 SPSS (10.0) 软件进行分析, 所用指标以均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示, 采用两样本均数 *t* 检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 肝、肾 SOD 活性

有关血清 BG、NO 等生化指标的研究有另文发表。各处理肝、肾 SOD 活性测定结果如表 1、表 2 所示。与正常组相比, STZ 复制的 MD 大鼠 SOD 活性明显下降。MD 大鼠灌胃阳性对照药和不同剂量的 Otps 后, SOD 活性都有极显著的提高 ( $P<0.01$ ); 随着 TPS 剂量增加, SOD 活性呈上升趋势; 与阳性对照药 (消渴丸) 相比, TPS 提高 SOD 活性的能力更强。

### 2.2 肝、肾 GSH-PX 活性

谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 是机体内广泛存在的一种重要的催化过氧化氢分解的酶。由表 1 和表 2 可看出, MD 大鼠和肝肾 GSH-PX 活性都较低, 分别为  $78.30\pm 7.58$  NU/mgprot; MD 大鼠服用消渴丸和 Otps 后, GSH-PX 活性明显提高, 尤以 Otps 的效果为显著。

### 2.3 肝、肾 MDA 含量

丙二醛 (MDA) 含量的高低可反映机体内脂质过氧化的程度。从表 1、表 2 可知, MD 大鼠的肝、肾 MDA 含量, 分别为  $2.55\pm 0.49$  nmol/mg prot 和  $4.21\pm 0.51$  nmol/mg prot, 明显高于正常大鼠  $1.10\pm 0.18$  nmol/mg prot 和  $2.62\pm 0.66$  nmol/mg prot 的水平, 通过 Otps 或阳性对照药物治疗后, MDA 含量都有不同程度的降低, 但以肝脏 MDA 降低的幅度为最大, 这可能与不同组织的生理功能有关。

表 1 乌龙茶多糖对糖尿病大鼠肝脏 GSH-PX ,SOD 活性和 MDA 含量的影响

Table1 Effect of TPS from Oolong tea on GSH-PX, SOD activity and MDA content in liver

Group	n	GSH-PX(NU/mg prot)	SOD(NU/mg prot)	MDA(nmol/mg prot)
A	8	116.70±4.53	355.14±14.34	1.10±0.18
C	8	78.30±7.58	302.59±18.06	2.55±0.49
E	8	91.54±8.13a	321.71±8.12a	1.45±0.35a
B	8	93.60±5.99a	325.79±10.62a	1.24±0.13a
D	8	139.15±5.26abd	377.44±14.55abd	1.69±0.15ab
F	8	100.29±4.23acef	349.02±11.26abcd	1.20±0.18ac

注：与 C 相比较, a: p<0.01; 与 E 相比较, d: p<0.01, e: p<0.05; 与 B 相比较, b: p<0.01, f: p<0.05; 与 D 相比较, c: p<0.01

Note: Compared with C, a: p<0.01; Compared with E, d: p<0.01, e: p<0.05; Compared with B, b: p<0.01, f: p<0.05; Compared with D, c: p<0.01

表 2 乌龙茶多糖对糖尿病大鼠肾脏 GSH-PX ,SOD 活性和 MDA 含量的影响

Table2 Effect of TPS from Oolong tea on GSH-PX,SOD activity and MDA content in kidney

Group	n	GSH-PX(NU/mg prot)	SOD(NU/mg prot)	MDA(nmol/mg prot)
A	8	20.50±0.93	540.85±76.62	2.62±0.66
C	8	15.49±0.94	477.83±18.09	4.21±0.51
E	8	18.63±1.30a	557.33±33.17a	3.43±0.55e
B	8	21.33±0.47ad	531.58±34.59a	2.99±0.3a
D	8	19.92±0.85ac	647.38±29.58acd	3.83±0.45c
F	8	22.27±1.44abd	570.47±31.45ab	2.63±0.49abf

注：与 C 相比较, a: p<0.01,e: p<0.05; 与 E 相比较, d: p<0.01, f: p<0.05; 与 B 相比较, c: p<0.01; 与 D 相比较, b: p<0.01

Note: Compared with C, a: p<0.01, e: p<0.05; Compared with E, d: p<0.01,f: p<0.05; Compared with B, c: p<0.01; Compared with D, b: p<0.01

## 2.4 肝、肾组织形态变化

大鼠经采血处死后迅速解剖,视检各组大鼠胸、腹腔脏器,除模型对照组大鼠肝脏、脾脏体积略大,色泽略淡外,其他脏器的位置、大小、颜色及胸腹膜均未见明显异常。

肝脏光镜检查结果表明,A组肝小叶结构清晰,肝细胞索、肝窦排列规则,肝细胞大小一致(图1),C组肝细胞肿大,轻度变形,肝窦变窄甚至消失(图2),其它E、D组肝组织与C组相比明显好转,未见明显异常(图3、图4)。

肾脏光镜检查结果表明,A组组织结构清晰,肾小球、肾小管排列规则(图5),而C

组肾小球体积增大,系膜内浆液浸润,小球囊腔内充有不等量蛋白性物,近曲小管扩张,管壁变薄,腔内积有蛋白性物(图6),大鼠经灌胃OTPS和阳性对照药后症状明显减轻,并无异常变化(图7、图8)。

## 3 讨论

肝肾是机体内物质代谢的主要场所,在血糖调节中起着重要作用,如在肝脏内进行糖的异生、糖元合成、储藏,并作为葡萄糖的摄取、利用及释放。因此,肝肾功能发生异常将影响机体功能。大量研究表明,糖尿病是一种常见的综合病,常引起肝和肾功能障碍,这在本实验中已得到证实。超氧化物歧化酶(SOD)和谷

胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)是机体内广泛存在的对机体的氧化与抗氧化起着至关重要的作用,前者能清除超氧阴离子自由基( $O_2^{\cdot-}$ ),后者能催化过氧化氢( $H_2O_2$ )的分解,阻止自由基攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸,防止发生脂质过氧化,从而达到对机体组织的保护作用。本实验结果表明,糖尿病大鼠肝肾SOD、GSH-PX活性显著下降,而MDA含量却明显升高,这说明糖尿病大鼠肝肾抗氧化能力下降,功能已受到损害,糖尿病大鼠经过灌胃茶多糖后,肝肾SOD、GSH-PX活性显著提高,脂质过氧化产物MDA明显下降,这说明TPS有利于MD大鼠抗氧化能力的提高,对肝肾功能的恢复起到重要作用,本实验肝肾组织形态学结果也证实了这一点。此外,我们利用TPS体外清除 $O_2^{\cdot-}$ 和 $^{\cdot}OH$ 自由基实验也表明,TPS在体外有清除自由基的作用。

#### 参考文献:

- [1] 汪东风, 谢晓风. 茶叶多糖及其药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 1996, 8(1): 63~67.
- [2] 李布青, 张惠玲. 中抵挡绿茶中茶多糖的提取及降血糖作用[J]. 茶叶科学, 1996, 16(1): 67~72.
- [3] 陈海霞, 谢笔钧. 茶多糖对小鼠实验性糖尿病的防治作用[J]. 营养学报, 2002, 24(1): 85~86.
- [4] 倪德江, 宋春和, 谢笔钧. 不同茶类多糖降血糖效果的比较研究[J]. 茶叶科学, 2002, 2.
- [5] 邹如政. 糖尿病从肝论治[J]. 中国医药学报, 1998, V13(1): 17~23.
- [6] 韦敏怡. 糖尿病性肝病的研究进展[J]. 广西医科大学学报, 1996, 13(1): 112~115.
- [7] 仝小林, 段军, 周水平. 糖尿病肾病中西医诊治中的几个问题[J]. 中国医药学报, 2002, V17(5): 300~303.
- [8] 王淑英, 王建业. 自由基在糖尿病中的致病作用[J]. 洛阳医学学报, 1995, 14(3): 183~185.
- [9] 赵明, 王亦根, 张雯, 等. 超氧化物歧化酶对STZ诱发糖尿病自由基代谢的影响[J]. 中国糖尿病杂志, 1995, V3(1): 44~46.
- [10] T San, F Umeda, T Hashimoto *et al.* Dative stress measurement by in vivo electron spin resonance spectroscopy in rats with streptozotocin-induced diabetes[J]. Diabetologia, 1998, 41(11): 1355~1360.
- [11] M.Damico, R Marfella, F Nappo *et al.* Igh glucose induces ventricular instability and increases vasomotor tone in rats[J]. Diabetologia, 2001, 44(4): 464~470.

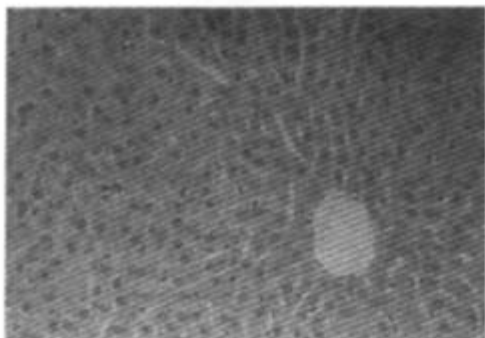


图 1 A 组肝组织  
Fig. 1 Liver cells of group A

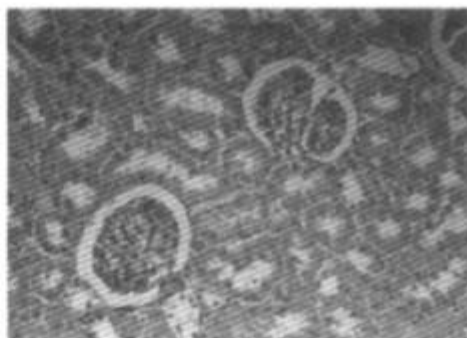


图 5 A 组肾组织  
Fig. 5 Kidney cells of group A

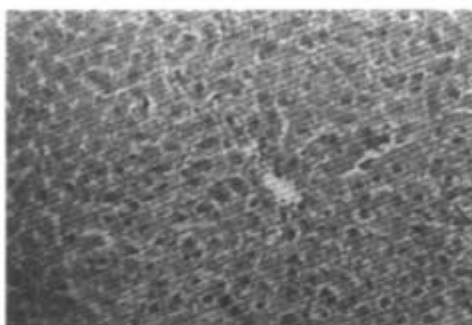


图 2 C 组肝组织  
Fig. 2 Liver cells of group C

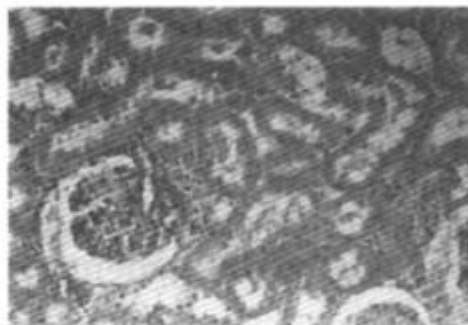


图 6 C 组肾组织  
Fig. 6 Kidney cells of group C

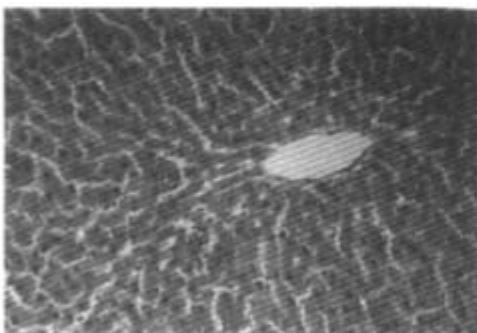


图 3 E 组肝组织  
Fig. 3 Liver cells of group E

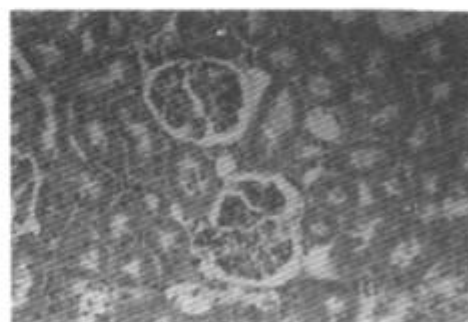


图 7 E 组肾组织  
Fig. 7 Kidney cells of group E

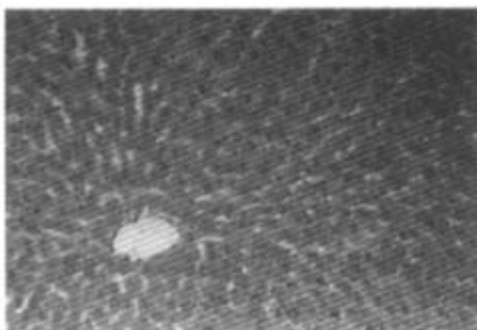


图 4 D 组肝组织  
Fig. 4 Liver cells of group D

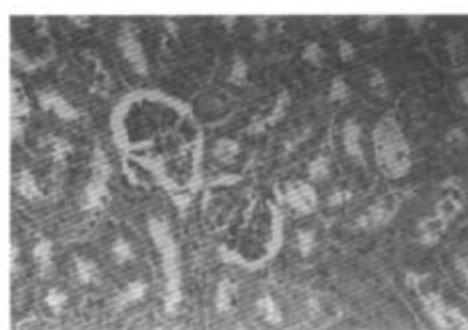


图 8 D 组肾组织  
Fig. 8 Kidney cells of group D