

云南苦茶提取物抗氧化应激保护 镉致糖尿病肾病小鼠的作用

龚频¹, 石富兄¹, 陈福欣², 何蓉蓉³

(1. 陕西科技大学食品与生物工程学院, 陕西西安 710021) (2. 西安科技大学化学与化工学院, 陕西西安 710021)
(3. 暨南大学中药及天然药物研究所, 广东广州 510632)

摘要: 此研究旨在评估云南苦茶提取物 1,3,4,9-四甲基尿酸 (1,3,4,9-tetramethyl uric acid, TC) 对糖尿病肾病小鼠的氧化应激的调节潜力。实验采用喂养高脂高糖饲料, 腹腔注射氯化镉 (CdCl₂) 12 周建立糖尿病肾病动物模型, 灌胃 TC 28 d, 评估其血清生化指标的变化; 通过观察肾丙二醛 (MDA)、脂质过氧化产物 (LOOH)、蛋白羧基化 (PCO) 含量等氧化及超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、还原性谷胱甘肽 (GSH) 等非酶抗氧化剂活性的变化, 研究镉对肾脏的氧化损伤程度及四甲基尿酸的作用效果。实验结果显示, 损伤组血清中的 TG、ALT、LDL-C 水平上调明显, 分别为空白组的 1.88 倍、2.39 倍、以及 2.86 倍; 组织中的氧化指标 MDA、PCO、NO 显著升高, 分别为空白组的 1.51、3.88 以及 2.03 倍; 抗氧化指标 CAT、SOD、GSH 在损伤组有明显的下调, 仅为空白组的 68.75%、77.59%、80.95%; 给予 TC 保护药后, 血清指标水平较损伤组减少, 仅为损伤组的 68.09%、49.09%、45.65%; 其氧化指标含量较损伤组减少, 仅为损伤组的 82.14%、74.19%、64.94%; 抗氧化水平与损伤组相比明显升高, 分别为损伤组的 1.41、1.20 及 1.12 倍。说明镉致糖尿病肾病 (Diabetic Nephropathy, DN) 小鼠机体内的氧化和抗氧化之间的平衡, 进而导致氧化压力的增加; TC 通过提高抗氧化酶的活性, 增强抗氧化系统的抗氧化能力, 通过抗氧化应激反应和抗炎作用共同保护肾脏。

关键词: 云南苦茶; 四甲基尿酸; 糖尿病肾病; 抗氧化应激

文章编号: 1673-9078(2019)08-6-12

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.8.002

Anti-oxidative Stress of Yunnan Bitter Tea Extract Protects Mice in High Fat-cadmium Induced Diabetic Nephropathy

GONG Pin¹, SHI Fu-xiong¹, CHEN Fu-xin², HE Rong-rong³

(1.College of Food and Biotechnology, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

(2.College of Chemistry and Chemical Engineering, Xi'an University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

(3.Chinese Medicines and Natural Medicine Research Institute, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: This work was designed to assess the regulatory potential of Yunnan, a bitter tea extract 1, 3, 4, 9-tetramethyl uric acid (TC) for oxidative stress in diabetic nephropathy mice. The mice were fed by high-fat and high-sugar diet, intraperitoneal injection of cadmium chloride (CdCl₂) for 12 weeks to establish an animal model of diabetic nephropathy, and TC for 28 days, to evaluate the changes of serum biochemical indicators. The kidney malondialdehyde (MDA), lipid Oxidation of plasma peroxidation products (LOOH), protein carboxylation (PCO), non-enzymatic antioxidant activities such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and reduced glutathione (GSH) were analyzed to study the effect of cadmium on the degree of oxidative damage in the kidney and tetraethyl uric acid. The results showed that the levels of TG, ALT and LDL-C in the serum of the injury group were significantly up-regulated, 1.88 times, 2.39 times, and 2.86 times, respectively, compared with the blank group. The oxidative indexes MDA, PCO and NO in the tissue were significantly increased by 1.51, 3.88 and 2.03 times, respectively. The antioxidant indexes CAT, SOD and GSH were significantly down-regulated in the injury group, only 68.75%, 77.59%, and 80.95%, respectively. After given TC protective drug, the serum index level was only 68.09%, 49.09%, and 45.65% of that of the injury group; the oxidation index content was decreased to 82.14%, 74.19%, and 64.94% of that of the injury group, which was only; the antioxidant level decreased to 1.41, 1.20 and 1.12 times of that of the injury group. The balance between oxidation and anti-oxidation in

收稿日期: 2019-04-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81803698); 陕西省自然科学基金基础研究计划项目 (2017J8079)

作者简介: 龚频 (1983-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 毒理学、药理学、功能因子、食品营养与健康, 食品安全检测

cadmium-induced diabetic nephropathy (DN) mice, which leads to an increase in oxidative stress; TC enhanced the antioxidant capacity of antioxidant systems by increasing the activity of antioxidant enzymes. The kidneys were protected together by anti-oxidative stress and anti-inflammatory effects.

Key words: Yunnan bitter tea; tetraethyl uric acid; diabetic nephropathy; anti-oxidative stress

现代工业化的发展使得镉和其化合物频繁用于工业生产中,如生产电池、染料、涂料以及塑料制品等。同时,生理学的研究发现,镉作为有毒的重金属也是一种人体生长必需的元素,主要是因为其代谢率低,生物半衰期长等特点。机体吸收后主要积存在肝脏和肾脏中。因此被美国毒物管理委员会(ATSDR)列为第6位危机人类健康的有毒环境污染物[1]。

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)的特征是肾小球硬化,是一种慢性并发症,其发病机制多为复杂,已有研究证明的发病机制包括糖脂代谢紊乱、血流动力学异常、炎症介质等的释放、氧化应激、细胞因子以及细胞凋亡等。氧化应激在糖尿病肾病的发展中起关键作用。研究表明氧化应激是由于活性氧产生过多导致的氧化损伤。活性氧(reactive oxygen species, ROS)作为体内正常氧化还原反应的产物,参与调节杀菌、解毒等多种代谢途径的活动反应[2]。当机体处于正常的生理状态下时,其自身的抗氧化系统会及时清除ROS,最终使机体氧化与抗氧化水平保持水平。然而当机体收到毒物及高糖刺激时,机体内ROS过量产生,破坏了氧化还原平衡,导致过量的ROS蓄积在组织或细胞内,造成氧化损伤,诱发氧化应激。此次主要介绍云南苦茶提取物四甲基尿酸对镉致肾毒性小鼠模型血清生化指标、氧化指标、抗氧化酶及组织病理学检查的影响。

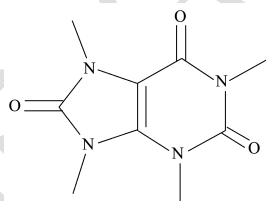


图1 1,3,7,9-四甲基尿酸化学结构式

Fig.1 1,3,7,9-tetramethyl uric acid structure

云南苦茶作为药食两用性双子叶山茶科植物为人们所熟知,生药学上记载其味苦、微甘,属凉性。同时古籍《贵州民间药方集》记载云南苦茶可以“清凉解热、利尿”。因此,自古以来,云南苦茶都是治疗高血压、利尿的良品。此次研究旨在探讨其提取物1,3,4,9-四甲基尿酸(1,3,4,9-Tetramethyl Uric Acid, TC)抗氧化药理活性。TC是一种嘌呤生物碱,结构式如图1所示。其结构与咖啡因相似但作用却比咖啡因强许多,1,3,4,9-四甲基尿酸的抗炎和止痛作用已被发

现。而长期口服苦茶碱单体对染镉毒大鼠氧化损伤的保护作用亦有研究可循[3]。因此本实验通过腹腔注射氯化镉,喂以高脂高糖饲料建立糖尿病肾病小鼠模型,评价TC对镉致肾脏氧化损伤的保护作用,从而开辟TC治疗重金属镉中毒的新途径,为重金属镉解毒药物的研发提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

清洁、健康的昆明小鼠从西安交通大学医学院实验动物中心购买;氯化镉(CdCl_2)购自天津市福晨化学试剂厂;TC从云南苦茶中提取:以水为溶剂,液料比为1:12,超声提取20 min后回流提取3次,每次1.5 h,所得提取液用氯仿萃取后浓缩至干,用25%乙醇重结晶纯化得到纯度为99.00%以上的TC;0.9%氯化钠分析纯购自佛山市康菲特医疗用品有限公司;肝素钠分析纯购自Wolsen;一切试剂盒均购买于南京建成生物研究机构;其他试剂皆为分析纯。

1.2 分组及建模

表1 镉致DN小鼠建模方法

Table 1 Modeling methods for cadmium-induced DN mice

组别	饲料类型	给药方式	
		腹腔注射	灌胃
正常对照组(K)	普通饲料	0.9%生理盐水	0.9%生理盐水
损伤组(S)	高脂高糖	2 mL/(kg·d)氯化镉	0.9%生理盐水
保护组(TC)	高脂高糖	2 mL/(kg·d)氯化镉	TC 20 mL/(kg·d)

体重为 20 ± 2 g的洁净级昆明雄性小鼠30只从西安交通大学医学院处的实验动物中心购买,生产许可证为:SCXK(陕)2012-003;实验用的高脂高糖饲料所用的配方为:普通饲料粉末40%~50%、脂肪(熟猪油)20%~25%/食用白砂糖20%、鸡蛋8%~12%、食用盐<5%。开始实验前,明暗交替适应性饲养一周后开始实验。所有小鼠被随机分成3组,每组10只,每天同一时间腹腔注射 CdCl_2 剂量为2 mL/(kg·d)次,12周建模结束后,灌胃TC 20 mL/(kg·d),给药持续

28 d, 动物模型构建具体如表 1 所示。

末次灌胃后禁食 24 h, 测定空腹血糖及日常记录工作, 后放入可采集尿液的代谢性鼠笼 24 h 收集尿液, 收集到尿液之后, 离心除杂, 用于尿液肌酐和微量白蛋白的检测。

1.3 测定指标及方法

在取血前 0.5 h 腹腔注射 1% 的肝素钠溶液, 摘取眼球取血, 将收集到的全血低温离心取上清分装, 按照酶学试剂盒的要求, 测定血清 TG、ALT、LDL-C 等的含量。解剖取肾脏, 观察肾脏的形态变化, 随后称取部分肾脏样品用 pH=7.40 的磷酸缓冲溶液将肾脏制备成 1% 的匀浆, 保存在 -80 °C 中, 用于检测肾脏中的氧化应激酶。蛋白测定采用考马斯亮蓝法、肾丙二醛 (MDA) 含量用硫代巴比妥酸法^[4]测定、肾蛋白羰基化程度 (PCO) 以 DNPH 法^[5]测定; 组织中的酶抗氧化剂活性 SOD 用联苯三酚自氧化法^[6]测定、用 Griess 试剂法测定组织中的 NO 含量、以钼酸铵显色法^[7]测定过氧化氢酶 (CAT) 活性、用 DTNB (5,5'-二硫代双, 2-硝基苯甲酸) 法^[8]测定还原型谷胱甘肽 (GSH) 的生成量和谷胱甘肽还原酶的活性。所有数据都用同一台仪器-全波成扫描式多功能读数仪。

1.4 组织病理学检查

实验结束后, 肾脏组织用 10% 中性福尔马林固定, 嵌入石蜡。用苏木精和伊红染色制做切片, 将正常小鼠组织固定作为对照组, 观察给保护药前后小鼠肾脏组织形态的变化。

1.5 统计学方法

用 mean±SE 表示实验数据。用单方差分析法 (one way analysis of variance, ANOVA) 和相应的 Student's t-test 进行统计学分析 ($p < 0.05$ 具有统计学意义)。

2 结果与讨论

2.1 DN 小鼠及 TC 给药保护后血清生化指标的测定

甘油三酯 (TG) 血症升高是糖尿病患者的特点, 与 DN 直接相关^[9]。如图 2 所示, DN 组 TG 含量显著升高 ($p < 0.01$), 为空白组的 1.88 倍, 说明在镉及高糖饲料的双重作用下, TG 发生紊乱; 给予 TC 保护后, TG 水平明显下降 ($p < 0.01$), 约为损伤组的 68.09%,

说明 TC 具有恢复糖尿病肾病 TG 紊乱的作用。

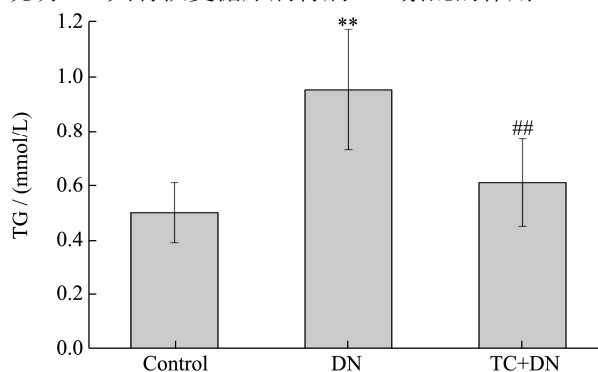


图 2 不同实验组血清中 TG 含量

Fig.2 Serum TG content in different experimental groups

注: 与空白组相比** $p < 0.01$, 与 DN 组相比## $p < 0.01$ 。

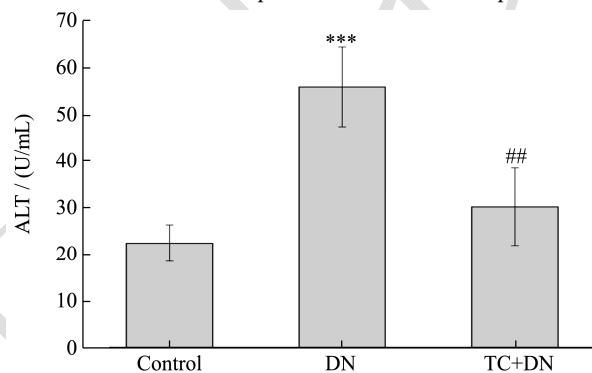


图 3 不同实验组血清中 ALT 含量

Fig.3 ALT levels in serum of different experimental groups

注: 与空白组相比*** $p < 0.001$, 与 DN 组相比## $p < 0.01$ 。

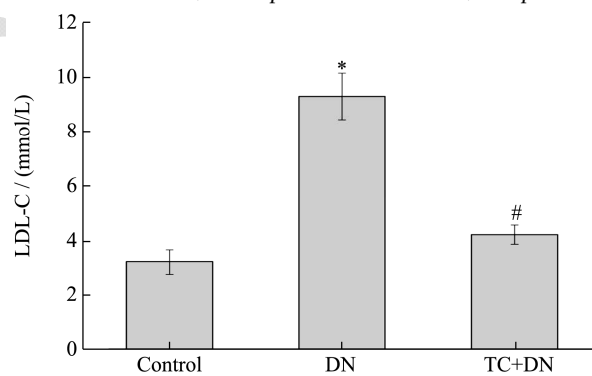


图 4 不同实验组血清中 LDL-C 含量

Fig.4 LDL-C content in serum of different experimental groups

注: 与空白组相比* $p < 0.05$, 与 DN 组相比# $p < 0.05$ 。

丙氨酸转氨酶 (ALT) 偏高是糖尿病临床很常见的现象^[10]。肾脏作为人体较为重要的解毒器官, 该脏器是不是正常, 对人体来说是非常重要的, 而 ALT 升高是检查肾脏功能是否出现问题的一个重要指标。如图 3 所示, DN 组 ALT 水平明显较高 ($p < 0.001$), 约为空白组的 2.39 倍, 机体的 ALT 水平发生异常; 而在给药 TC 后, ALT 水平显著下降 ($p < 0.01$), 仅为损伤组的 49.09%, 表明 TC 能降低 DN 的 ALT 水平, 起

到一定的治疗作用。

低密度脂蛋白 (LDL-C) 作为将胆固醇从外周组织运载进组织细胞中的脂蛋白, 很容易在运载过程中被氧化成低密度脂蛋白 (OX-LDL), 一旦氧化型 OX-LDL 蓄积到一定量, 它所携带的胆固醇就会粘附在动脉壁上, 时间久了自然就会导致动脉壁增厚甚至硬化, 这也是糖尿病肾病的典型特征^[11]。如图 4, 相较空白组而言, DN 组 LDL-C 水平明显较高 ($p < 0.001$), 是空白组的 2.86 倍, 说明镉和高糖饲料造成了小鼠 LDL-C 的增多, 致使胆固醇无法正常的运载而蓄积增多, 发生动脉病变; 灌胃 TC 后, 血清 LDL-C 水平恢复正常状态 ($p < 0.01$), 含量下降, 降低到损伤组的 45.65%, 减轻了动脉压力, 起到动脉壁保护作用。

2.2 镉的毒性对氧化指标的影响及四甲基尿

酸的保护作用

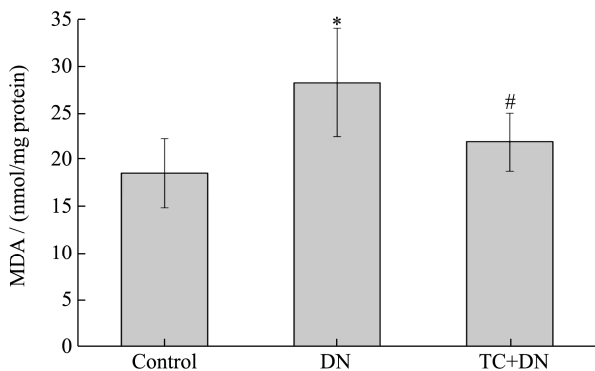


图5 DN小鼠肾脏氧化损伤模型中各组别的脂质过氧化程度

Fig.5 Degree of lipid peroxidation in each group of DN mouse kidney

注: 与空白组相比* $p < 0.05$, 与 DN 组相比# $p < 0.05$ 。

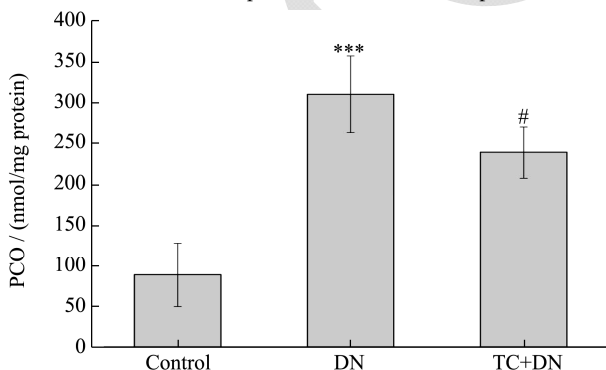


图6 DN小鼠肾脏氧化损伤模型中各组别的蛋白羧基化程度

Fig.6 Degree of protein carboxylation in each group of DN mouse kidney

注: 与空白组相比*** $p < 0.001$, 与 DN 组相比# $p < 0.05$ 。

脂质和蛋白质是活性氧的主要攻击目标。镉的毒性及高糖饲料造成细胞中活性氧增多, 大量的活性氧

攻击脂质和蛋白质, 使其反应生成 MDA、PCO 等终产物, 因此体液和组织中的 MDA、PCO 含量可以直接反映体内脂质及蛋白质氧化损伤的水平^[12]。

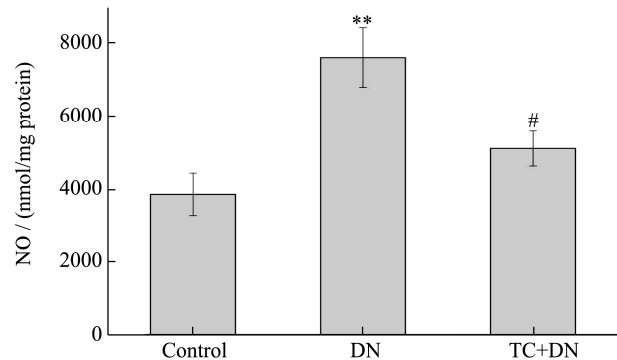


图7 DN小鼠肾脏氧化损伤模型中各组别的NO含量

Fig.7 NO content of each group in DN mouse kidney

注: 与空白组相比** $p < 0.01$, 与 DN 组相比# $p < 0.05$ 。

如图 5 显示, 小鼠注射氯化镉 12 周后, DN 组组织中的丙二醛 (MDA) 含量明显高于空白组约 1.51 倍 ($p < 0.05$); 喂饲 TC 后, 能够缓解体内 MDA 含量的增高 ($p < 0.05$), 使其降低到损伤组的 82.14%, 这说明了镉的毒性可以诱发肾脏的脂质过氧化反应。

同样, 从图 6 可以看到, 镉致 DN 组蛋白羧基化 (PCO) 程度明显大于空白组约 3.88 倍 ($p < 0.01$), 说明镉对小鼠肾脏有明显的氧化损伤; 而当给药 TC 后, 能够减轻肾脏中 PCO 的程度 ($p < 0.05$), 约为损伤组的 74.19%。

NO 作为一种活性氧成分, 与其他自由基结合形成毒性更强的自由基复合物, 进而攻击肾细胞, 造成更严重的氧化损伤。如图 7 所示, 与空白组相比, DN 能够诱发损伤组小鼠肾脏 NO 含量的显著升高, 约为 2.03 倍左右 ($p < 0.01$); 当给予 TC 后, 能够明显减少肾脏中的 NO 等的含量 ($p < 0.05$), 使其降低到损伤组的 64.94%, 这说明 NO 对早期糖尿病肾病发生有着重要的地位, 同时也证明 TC 可以降低肾脏 NO 水平, 进而实现对 DN 的治疗作用。

2.3 镉的毒性对抗氧化酶的影响及四甲基尿

酸的保护作用

过氧化氢酶 (CAT) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 是生物体内必不可少的抗氧化活性受损防御酶, 谷胱甘肽 (GSH) 是重要的还原酶, 这些酶广泛存在于动物的各个组织中。CAT 是过氧化氢酶体的标志酶, 尤其在肝脏、肾脏中的浓度较高。CAT 可以催化过氧化氢的分解, 使其生成无毒的 H_2O 而减轻过氧化氢物对细胞的氧化损伤。

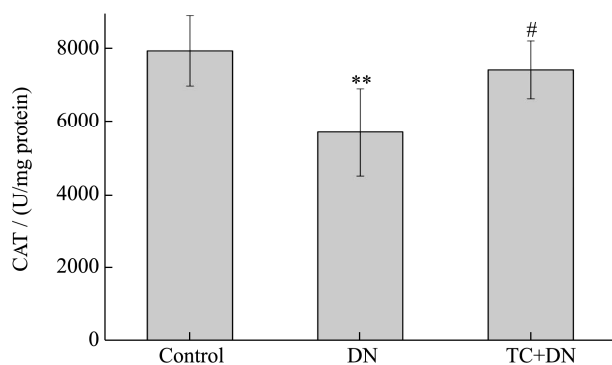


图8 DN小鼠肾脏氧化损伤模型中各组别的过氧化氢酶(CAT)活性

Fig.8 Catalase (CAT) activity in each group of DN mouse kidney

注: 与空白组相比, ** $p<0.01$; 与 DN 组相比# $p<0.05$ 。

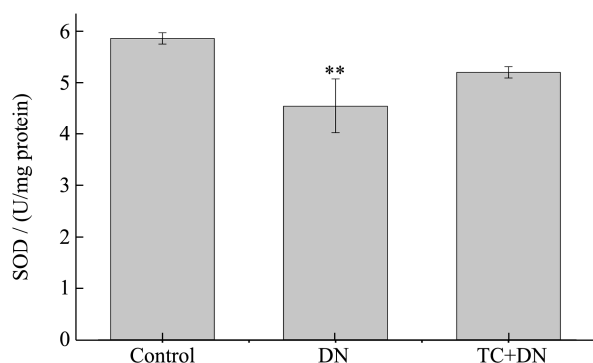


图9 DN小鼠肾脏氧化损伤模型中各组别的超氧化物歧化酶(SOD)活性

Fig.9 Superoxide dismutase (SOD) activity in each group of DN mouse kidney

注: 与空白组相比, ** $p<0.01$ 。

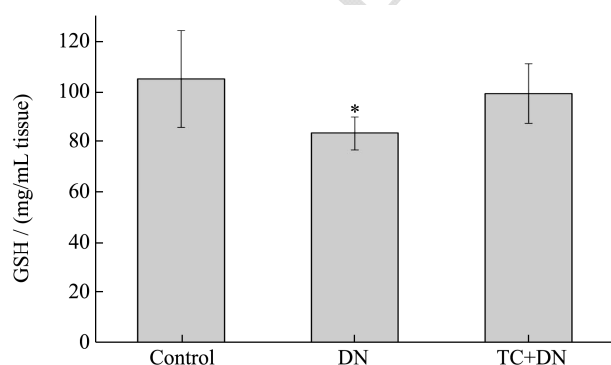


图10 DN小鼠肾脏氧化损伤模型中各组别的谷胱甘肽(GSH)活性

Fig.10 Glutathione (GSH) activity in each group of DN mouse kidney

注: 与空白组相比, * $p<0.05$ 。

因此, CAT 是机体抗氧化防御体系中尤为重要的环节^[13]。非酶抗氧化剂 SOD 可以催化 $O_2^{\cdot-}$ 分解成 H_2O_2 和 O_2 , SOD 催化超氧阴离子 ($O_2^{\cdot-}$) 歧化成过氧化氢

(H_2O_2), 然后通过 CAT 将其降解成 H_2O ^[14], 从而减轻机体的氧化压力。GSH 是由甘氨酸、半胱氨酸和谷氨酸组成的一种三肽非蛋白巯基化合物, 可以维持机体的氧化-还原平衡。因此, 其含量是衡量细胞氧化-还原状态的一个重要指标^[15]。

如图8所示, 镉的毒性可以造成小鼠体内 CAT 含量的急剧下降 ($p<0.01$), 约为空白组的 68.75%; 给予 TC 后, 缓解了小鼠体内 CAT 含量的减少, 含量为损伤组的 1.41 倍。实验结果显示, 染镉组肾脏中 CAT 活性水平明显降低, 可能是由于镉与 SOD 分子中的金属辅基 Zn 发生了竞争性替代作用, 消耗并抑制住了 SOD 的活性, 镉毒性作用进而导致肾脏中酶系统正常生理功能的破坏, CAT 的活性也受到了影响; 给药 TC 后能够有效改变肾脏中 CAT 的活性水平, 从而减少了酶活性的损耗^[16]。如图9所示, 与空白组相比, DN 组 SOD 活性明显下降 ($p<0.01$), 仅为空白组的 77.59%; 而 TC 给药后, 小鼠肾脏 SOD 活性减少得到了抑制, 其活性为损伤组的 1.20 倍。研究表明 TC 可以通过清除活性氧化物质以及抑制黄嘌呤氧化酶的活性减少 SOD 的消耗, 从而起到抗氧化作用。如图10所示, 同空白组比较, DN 组小鼠体内 GSH 水平较空白组明显降低 ($p<0.05$), 仅为空白组的 80.95%; 经过 TC 给药后, 肾脏中 GSH 含量与 DN 组相比, 含量逐渐增加, 是损伤组的 1.12 倍, 差异无统计学意义。表明 DN 组肾脏 GSH 含量下降, 而 TC 可以通过增加 GSH 含量达到治疗糖尿病肾病的作用。

2.4 组织病理学检查

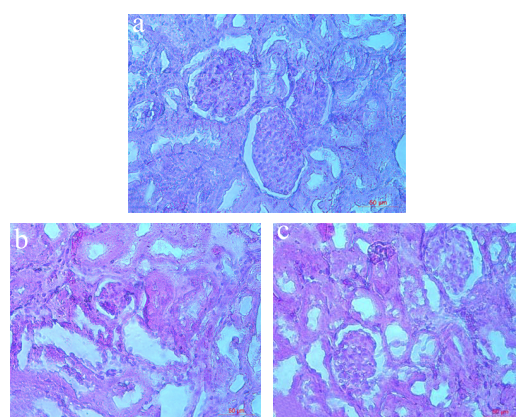


图11 光镜下小鼠肝的组织切片图 (HE×40)

Fig.11 Tissue section of mouse liver under light microscope (HE×40)

注: a: 空白组; b: DN 损伤组; c: TC 给药组。

如图11是镉模型组肾脏 HE 染色后的光镜照片, 空白组肾组织形态结构正常, 肾小球未见病理变化。DN 损伤组肾小球发生明显的病变, 出现了炎性细胞

浸润情况;而且多见细胞空泡、组织变性等,且伴有纤维组织增生。TC 给药组以上所述病变均有所减轻,肾小球结构同空白组相比,肾小管上皮细胞轻至中度水肿,肾间质可见炎性细胞浸润及纤维组织增生。

3 结论

3.1 流行病学研究表明,高 TG 是临床造成高脂血症最常见的类型。因此,TG 紊乱是糖尿病的本质特征。本研究结果进一步表明糖尿病肾病伴随着脂代谢的紊乱,造成肾脏的严重损伤,即“TG 肾毒性”^[17],使得高 TG 作为脂代谢紊乱的一种类型在糖尿病肾病发病机制的研究中越来越受关注。TC 是云南苦茶的活性成分,作为生物碱类清除 O₂·、OH·等自由基及过氧自由基等,达到抗氧化作用。徐军^[18]等的研究表明 TC 可以减弱高脂诱发的甘油三酯蓄积,同时也具有促进脂肪代谢的作用。

3.2 卢新梅^[19]的研究表明,总胆固醇与尿白蛋白排泄率有关。低密度脂蛋白(LDL)使胆固醇的主要载体,是胆固醇进入细胞的主要形式,DM 或 DN 是,非酶化作用和氧化应激作用增加,使 LDL-C 结构发生改变,从而使 LDL-C 清除障碍,致使血清 HDL 含量升高,主要由肝和小肠合成。肝合成的新生 HDL 以磷脂和 ApoA I 为主。在 CAT 作用下,游离胆固醇变成胆固醇酯,脂蛋白则变成成熟球形 HDL₃,再经过 LPL 作用转变成 HDL。由实验结果看出,TC 治疗明显降低了由于血脂代谢紊乱而造成的 LDL-C 含量的增加。

3.3 通过测量糖尿病中的脂质过氧化和蛋白质氧化增加指数,来测定氧化应激增加的生物标志物。自由基也可能通过血浆和膜中不饱和脂质的自动氧化脂类而形成。自由基水平升高可能与细胞膜中的多不饱和脂肪酸反应导致的脂质过氧化有关。蛋白羰基化被认为是氧化应激的一个重要标志,而 TC 有效降低了蛋白羰基化产物 PCO 的含量,说明 TC 在一定程度上能阻碍某些指标的氧化。抗氧化酶子啊调节疾病状态下的氧化应激中其关键作用。相比之下,在我们的研究中,可以看到 DN 小鼠肾脏中的抗氧化酶 SOD 和 CAT 活性的下降与血浆和组织中脂质过氧化的增加相关。先前研究证实 D 小鼠组织中的抗氧化酶如 SOD 和 CAT 的活性降低,可能是由于活性氧(ROS)的积累而导致的众多有害作用。而 TC 给药有效上调了抗氧化酶 CAT、SOD、GSH 的含量,有效清除了酶促产生的自由基和非酶体系。

3.4 本研究通过高脂高糖联合诱导糖尿病肾病,病通过 TC 给药后,对其血清生化指标的测定以及肾脏中氧化及抗氧化指标的测定,说明 TC 具有治疗及改

善糖尿病肾病病理的作用,同时也为云南苦茶及 TC 的开发提供了一定的理论依据。

参考文献

- [1] Ghosh K, Indra N. Cadmium treatment induces echinocytosis, DNA damage, inflammation, and apoptosis in cardiac tissue of albino wistar rats [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2018, 59: 43-52
- [2] Steinbrenner H, Sies H. Protection against reactive oxygen species by selenoproteins [J]. Biochemical et Biophysical Act (BBA)-General Subjects, 2009, 1790(11): 1478-1485
- [3] LI Wei-xi, LI Yi-fang, ZHAI Yu-jia, et al. Theacrine, a purine alkaloid obtained from *Camellia assamica* var. kucha, attenuates restraint stress-provoked liver damage in mice [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(26): 6328-6335
- [4] Fraga C G, Leibovitz B E, Tappel A L. Lipid peroxidation measured as thiobarbituric acid-reactive substances in tissue slices: characterization and comparison with homogenates and microsomes [J]. Free Radical Biology and Medicine, 1988, 4(3): 155-161
- [5] JIANG Zhen-yue, Hunt J V, Wolff S P. Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein [J]. Analytical Biochemistry, 1992, 202(2): 384-389
- [6] Desai I D. Vitamin E Analysis Methods for Animal Tissues [M]. Methods in Enzymology, 1984, 105: 138-147
- [7] Sinha A K. Colorimetric assay of catalase [J]. Analytical Biochemistry, 1972, 47(2): 389-394
- [8] Rotruck J T, Pope A L, Ganther H E, et al. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase [J]. Science, 1973, 179(4073): 588-590
- [9] 薛育晓,翟秀伟.探讨甘油三酯与糖尿病肾病的关系[J].医学信息(内外科版),2009,22(2):151-152
XUE Yu-xiao, ZHUO Xiu-wei. To explore the relationship between triglycerides and diabetic nephropathy [J]. Medical Information (Internal and Surgical Edition), 2009, 22(2): 151-152
- [10] 董林娟.葛根提取物对糖尿病模型大鼠氧化应激的影响分析[J].临床医药文献电子杂志,2017,4(82):16047-16055
DONG Lin-juan. Effect of pueraria lobata extract on oxidative stress in diabetic model rats [J]. Journal of Clinical Medicine & Archives, 2017, 4(82): 16047-16055
- [11] 霍丽丽.血清丙氨酸转氨酶与代谢综合征的相关性分析[C].中华医学会第十一次全国内分泌学学术会议论文汇编.中

- 华医学会、中华医学会内分泌学分会:中华医学会,2012
- HUO Li-li. Correlation Analysis Between Serum Alanine Aminotransferase And Metabolic Syndrome [C]. The 11th National Conference on Endocrinology of Chinese Medical Association. Chinese Medical Association, Endocrinology Branch of Chinese Medical Association: Chinese Medical Association, 2012
- [12] Yadav R, Dey D K, Vij R, et al. Evaluation of anti-diabetic attributes of *Lactobacillus rhamnosus* mtcc: 5957, *lactobacillus rhamnosus* mtcc: 5897 and *lactobacillus fermentum* mtcc: 5898 in streptozotocin induced diabetic rats [J]. Microbial Pathogenesis, 2018, 125: 454-462
- [13] Haskins K, Bradley B, Powers K, et al. Oxidative stress in type I diabetes [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2003, 1005(1): 43-54
- [14] Aebi H. Catalase *in Vitro* [M]. Methods in Enzymology. 1984, 105: 121-126
- [15] El-Sharaky A S, Newairy A A, Badreldeen M M, et al. Protective role of selenium against renal toxicity induced by cadmium in rats [J]. Toxicology, 2007, 235(3): 185-193
- [16] 姚刚,马兴钢.糖尿病患者超氧化物歧化酶和过氧化脂质的测定及临床意义[J].中国实验诊断学,2011,15(5):921
- YAO Gang, MA Xing-gang. Determination and clinical significance of superoxide dismutase and lipid peroxide in diabetic patients [J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2011, 15(5): 921
- [17] 张国莹.甘油三酯“肾毒性”研究进展[J].国外医学,泌尿系统分册,2003,3:322-325
- ZHANG Guo-ying. Research progress of triglyceride nephrotoxicity [J]. Foreign Medicine, Urinary System Volume, 2003, 3: 322-325
- [18] 徐军,王国恩,章时杰,等.1,3,7,9-四甲基尿酸激活 SirT3/AMPK/ACC 信号通路减少高脂饮食小鼠肝脏脂肪化[J].中国药理学通报,2014,30(6):791-795
- XU Jun, WANG Guo-en, ZHANG Shi-jie, et al. 1,3,7,9-tetramethyluric acid activates the ThrT3/AMPK/ACC signaling pathway and reduces hepatic fatification in mice with high-fat diets [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2014, 30(6): 791-795
- [19] 卢新梅.糖尿病患者血清低密度脂蛋白胆固醇和总胆固醇水平的改变[J].中国动脉硬化杂志,1994,1:42
- LU Xin-mei. Changes in serum low-density lipoprotein cholesterol and total cholesterol levels in patients with diabetes mellitus [J]. Chinese Journal of Arteriosclerosis, 1994, 1: 42
-
- (上接第 77 页)
- [14] 黄赛金,尹爱武,龚灯,等.淡竹叶多糖的抗衰老作用研究[J].现代食品科技,2015,31(11): 51-55
- HUANG Sai-jin, YIN Ai-wu, GONG Deng, et al. Anti-aging effects of polysaccharides from *Lophatherum gracile* brongn [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31 (11): 51-55
- [15] 段科,单虎,林英庭,等.微波辅助盐酸/过氧化氢降解浒苔多糖及其抗氧化活性[J].食品科技, 2015,40(12):142-147
- DUAN Ke, SHAN Hu, LIN Ying-ting, et al. Degradation of polysaccharide from *Enteromorpha prolifera* with hydrochloric acid and hydrogen peroxide assisted by microwave and its antioxidant activity [J]. Food Science and Technology, 2015, 40 (12): 142-147
- [16] 王晓楠,王茂剑,张健,等.8种海藻和3类海带的色素抗氧化活性的研究[J].食品工业科技,2018,39(3):65-70
- WANG Xiao-nan, WANG Mao-jian, ZHANG Jian, et al. Study on antioxidant activity of pigment in 8 kinds of seaweed and three *Laminaria japonica* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39 (3): 65-70
- [17] 郭嘉颖,陈思羽,方倩云,等.两种方法提取肠浒苔挥发油成分的比较研究[J].应用海洋学学报,2018,37(4):585-593
- GUO Jia-ying, CHEN Si-yu, FANG Qian-yun, et al. Comparative analysis of essential oil components extracted from *Ulva intestinalis* by two different methods [J]. Journal of Applied Oceanography, 2018, 37 (4): 585-593
- [18] Zhang Z, Wang X, Zhao M, et al. The immunological and antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Enteromorpha linza* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 57 (6): 45-49
- [19] Su Chern Foo, Fatimah Md Yusoff, Maznah Ismail, et al. Antioxidant capacities of fucoxanthin-producing algae as influenced by their carotenoid and phenolic contents [J]. Journal of Biotechnology, 2017, 241 (1): 175-183