

白藜芦醇对氧化酪蛋白诱导小鼠学习记忆损伤的保护作用

莫玲^{1,2,3}, 卢行孙¹, 傅恒辉¹, 邓秋玲¹, 赵超超^{3*}, 李晶晶^{1,3*}

(1. 桂林医学院公共卫生学院, 广西桂林 541000) (2. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214000)

(3. 广西环境暴露组学与全生命周期健康重点实验室, 广西桂林 541000)

摘要: 探究白藜芦醇对氧化酪蛋白诱导小鼠学习损伤的保护作用, 并探讨可能机制。将 36 只 7 周龄昆明雄性小鼠随机分成四组: 空白对照组 (CT)、氧化酪蛋白组 (CO)、白藜芦醇低剂量组 (LR)、白藜芦醇高剂量组 (HR)。实验结果表明, 经白藜芦醇干预后, 小鼠学习记忆能力改善, 低剂量组 (LR) 和高剂量组 (HR) 小鼠寻找平台潜伏期分别缩短 20.85% 和 9.63%, 穿越平台次数分别增加 53.63% 和 47.57%, 平台所在象限停留时间占总时间百分比分别增加 103.69% 和 53.68%。此外, 机体抗氧化能力提高, 总抗氧化能力 (T-AOC) 水平、抗氧化酶 (SOD 和 CAT) 活性显著升高 ($P<0.01$), 丙二醛 (MDA) 含量下降 ($P<0.05$); 海马体、杏仁核神经细胞形态规整、排列整齐, 炎症聚集状态得到改善, 炎症相关基因 (*IL-1 β* 、*IL-6* 和 *TNF- α*) 表达显著下调 ($P<0.05$), 学习记忆相关基因 (*BDNF*、*TrkB* 和 *CREB*) 表达显著上调 ($P<0.01$)。综上所述, 白藜芦醇可有效改善氧化酪蛋白诱导的小鼠机体学习记忆障碍, 其机制可能与激活 *BDNF/TrkB/CREB* 信号通路改善机体抗氧化、抗炎能力有关。

关键词: 白藜芦醇; 氧化酪蛋白; 学习记忆障碍; *BDNF/TrkB/CREB* 信号通路; 保护作用

文章编号: 1673-9078(2025)08-11-19

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.8.0613

Protective Effect of Resveratrol on Oxidative Casein-induced Learning and Memory Impairments in Mice

MO Ling^{1,2,3}, LU Hangsun¹, FU Henghui¹, DENG Qiuling¹, ZHAO Chaochao^{3*}, LI Jingjing^{1,3*}

(1.School of Public Health, Guilin Medical University, Guilin 541000, China)

(2.School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214000, China)

(3.Guangxi Key Laboratory of Environmental Exposomics and Entire Lifecycle Health, Guilin 541000, China)

Abstract: To explore the protective effect of resveratrol on oxidative casein-induced learning impairments in mice and the possible underlying mechanism, thirty-six 7-week-old Kunming male mice were randomly divided into four groups:

引文格式:

莫玲, 卢行孙, 傅恒辉, 等. 白藜芦醇对氧化酪蛋白诱导小鼠学习记忆损伤的保护作用[J]. 现代食品科技, 2025, 41(8): 11-19.

MO Ling, LU Hangsun, FU Henghui, et al. Protective effect of resveratrol on oxidative casein-induced learning and memory impairments in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(8): 11-19.

收稿日期: 2024-05-06

基金项目: 广西自然科学基金项目 (2021GXNSFBA075038); 广西大学生创新创业训练计划项目 (S202210601153); 国家级大学生创新训练计划项目 (202410601044); 广西大学生创新训练计划项目 (S202310601166)

作者简介: 莫玲 (1987-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 营养与慢性疾病干预, E-mail: totpto@126.com

通讯作者: 李晶晶 (1983-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物及活性成分, E-mail: lijingjing@glmc.edu.cn; 共同通讯作者: 赵超超 (1987-), 男, 硕士, 副研究员, 研究方向: 天然产物及功能性食品, E-mail: Zhaoc130718@163.com

the blank control group (CT), oxidized casein group (CO), resveratrol low-dose group (LR), and resveratrol high-dose group (HR). The experimental results showed that after the resveratrol intervention, the learning and memory abilities of mice were improved, the latency of finding the platforms was shortened by 20.85% and 9.63%, respectively, for the low-dose group (LR) and the high-dose group (HR), the number of crossing the platforms increased by 53.63% and 47.57%, respectively, and the percentage of residence time in the target quadrant (where the platform was located) out of the total time increased by 103.69% and 53.68%, respectively. In addition, the body's antioxidant capacity increased, the level of total antioxidant capacity (T-AOC) and the activities of antioxidant enzymes (SOD and CAT) significantly increased ($P<0.01$), whilst the content of malondialdehyde (MDA) decreased ($P<0.05$). The morphology of hippocampus and amygdala nerve cells were regular, the inflammatory aggregation state was ameliorated, the expressions of inflammation-related genes (*IL-1 β* , *IL-6*, and *TNF- α*) were significantly down-regulated ($P<0.05$), and the expressions of learning and memory related genes (*BDNF*, *TrkB*, and *CREB*) were significantly up-regulated ($P<0.01$). In conclusion, resveratrol could effectively ameliorate the oxidized casein-induced learning and memory impairments in mice, and the underlying mechanism may be related to the activation of the *BDNF/TrkB/CREB* signaling pathway to improve the antioxidant and anti-inflammatory capabilities of the body.

Key words: resveratrol; oxidized casein; learning and memory impairments; *BDNF/TrkB/CREB* pathway; protective effect

乳蛋白是人类优质蛋白的重要来源^[1], 在乳制品加工过程中易受其他成分(如不饱和脂肪酸、金属离子、乳过氧化物酶等)或加热、活性氧、光照、微波辐射等影响, 被氧化生成系列氧化衍生物, 如: 双酪氨酸(Dityr)、3-硝基酪氨酸(3-NT)、晚期氧化蛋白(AOPPs)等^[2]。前期研究表明: 氧化乳蛋白引发机体产生氧化应激, 降低组织抗氧化防御能力^[3]; 孕哺期小鼠摄入氧化乳蛋白, 可引起子代小鼠肠道微生物群紊乱, 子代抗氧化防御能力下降, 影响其学习记忆能力^[4]。而乳蛋白中, 其中80%为酪蛋白, 具有出色的营养价值。在乳品的生产和加工阶段, 酪蛋白成为自由基攻击的首要目标。早期的科学研究已经证明, 酪蛋白在经过加热和MDA氧化处理后, 其物理和化学性质会发生改变, 巯基数量增加, 游离巯基数量减少, 同时疏水性基团也会暴露出来。通过HPLC-MS的研究观察到小鼠在短时间内灌胃氧化酪蛋白后, 其外周血中出现了酪蛋白的氧化产物, 这导致了组织的氧化还原平衡被打破^[5]。另外, 氧化作用会降低酪蛋白的消化率和清除自由基的能力, 而摄入氧化酪蛋白则会削弱机体的抗氧化能力, 从而导致消化器官受到氧化损伤和机体营养状况恶化^[6]。因此, 寻找一种天然、安全有效的物质来改善由酪蛋白氧化引起的机体氧化应激, 改善机体健康, 具有重要意义。

白藜芦醇是一种非黄酮类多酚有机化合物, 在天然植物中广泛分布, 代表植物有虎杖和葡萄、花生、决明等。大量文献证实, 白藜芦醇具有抗菌、

抗炎、抗氧化、保护心血管和免疫调节等功效^[7-11], 降低脑部由于氧化应激产生的丙二醛含量^[12], 减轻阿尔茨海默病大鼠、慢性脑缺血大鼠和血管性痴呆模型大鼠的氧化应激损伤, 减少神经元细胞凋亡, 改善学习记忆能力^[13]; 同时, 在提高脑部神经元数量和延缓脑部衰老方面也有着显著效果^[14]。尽管如此, 但其是否可以改善氧化酪蛋白所致的小鼠学习记忆障碍, 以及具体机制, 值得研究。

本研究旨在探究白藜芦醇对氧化酪蛋白诱导的小鼠学习记忆障碍的改善效果, 通过Morris水迷宫实验, 苏木精-伊红(HE)染色观察小鼠海马体、杏仁核组织形态, 测定海马体、杏仁核的氧化还原指标和炎症与学习记忆相关的基因表达水平, 探讨其可能的作用机制, 为白藜芦醇或富含白藜芦醇天然药用植物的开发提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

白藜芦醇(纯度98%), 广东九鼎生物科技有限公司; 酪蛋白, 安徽素之味生物科技有限公司; 苏木精-伊红试剂盒, 上海碧云天生物技术有限公司; 30% H_2O_2 、NaOH、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、HCl等(分析纯), 国药集团化学试剂有限公司; qRT-PCR试剂盒, 上海碧云天生物技术有限公司; 引物合成, 上海生工生物科技有限公司; 谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶、丙二醛、超氧化物歧化酶等试剂盒, 南京建成生物工程有限公司; 双酪氨

酸、晚期氧化蛋白 ELISA 试剂盒, 厦门慧嘉生物有限公司。

1.2 仪器与设备

7500 荧光定量 PCR 仪, 美国 ABI 公司; BeadBlaster 型微量组织匀浆器, 美国 Kimble ; DW-86L828J 型医用超低温冰箱, 青岛海尔特种电器有限公司; S-HH-W21-600S 型电热恒温三用水浴锅, 上海跃进医疗器械有限公司; Elx808 型多功能酶标仪, 美国伯腾 (Biotek) 仪器有限公司; DD5 型台式乳脂离心机, 湖南赫西仪器有限公司; CTFD-12S-U 型冷冻干燥机, 青岛永合创信电子科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 氧化酪蛋白制备

氧化酪蛋白的制备方法参考本课题组前期发表的文献^[15]。取酪蛋白适量, 采用 0.05 mol/L、pH 值 7.4 的磷酸盐缓冲溶液溶解, 配制成质量浓度为 150 mg/mL 的酪蛋白溶液, 加入 H₂O₂ 使溶液终浓度为 40 mmol/L, CuSO₄ 浓度为 0.4 mmol/L, 密封, 中速振荡 (100 r/min), 25 ℃ 水浴 24 h。加入 0.1 mmol/L EDTA 终止 CuSO₄ 催化反应, 冷却后冷冻干燥, -20 ℃ 保存备用。

1.3.2 氧化酪蛋白样品的氧化程度测定

游离巯基含量的测定采用分光光度法测定, 即 5,5-二巯代-2-硝基苯甲酸 (DNTB) 与游离 SH 反应, 412 nm 处生成有最大吸收峰的黄色物质, 换算得到游离巯基含量。羰基含量的测定用采用二硝基苯肼 (DNPH) 法测定。双酪氨酸和晚期氧化蛋白含量均采用 ELISA 试剂盒进行测定 (厦门慧嘉生物有限公司)。

1.3.3 动物饲养

SPF 级雄性昆明 (KM) 小鼠 36 只, 体质量 18~22 g, 7 周龄 (由广东维通利华实验动物技术有限公司提供)。适应性饲养 1 周, 随机分为 4 组, 每组 9 只: 空白对照组 (CT)、氧化酪蛋白组 (CO)、白藜芦醇低剂量组 (LR)、白藜芦醇高剂量组 (HR)。适应性饲养 1 周后, 分别采用氧化酪蛋白日粮、低剂量白藜芦醇 (0.1%) + 氧化酪蛋白日粮、高剂量白藜芦醇 (0.5%) + 氧化酪蛋白日粮饲喂, 以酪蛋白为蛋白来源制备空白对照组饲料, 饲养各组小鼠 10 周 (至 17 周龄)。日粮以等量酪蛋

白作为蛋白质来源, 配方见表 1。各组同室饲养, 自由饮水、采食, 保持环境卫生和清洁, 控制温度 (23±2) ℃、湿度 60%, 12 h 循环光照。所有动物实验均经桂林医学院动物伦理委员会批准 [实验动物生产许可证号: SCXK (粤) 2022-0063, 动物实验伦理编号: GLMC202307074]。

表 1 日粮配方
Table 1 Diet formula

组成成分	质量分数/%	组成成分	质量分数/%
玉米淀粉	58.00	蛋氨酸	0.50
酪蛋白	16.00	氯化钠	0.25
大豆蛋白	8.00	胆碱	0.10
麦麸	8.00	矿物质添加剂	0.10
植物油	4.00	维生素添加剂	0.02
磷酸氢钙	3.00	低剂量白藜芦醇	0.10
磷酸钙	1.30	高剂量白藜芦醇	0.50
赖氨酸	0.73		

注: 日粮配方按照 GB14924.3-2001 小鼠维持饲料营养成分要求配制, 以上配方比例均为质量分数。

1.3.4 Morris水迷宫实验

采用 Morris 水迷宫实验观察白藜芦醇对小鼠学习记忆能力的影响。水迷宫为圆形游泳池, 均分成 4 个象限, 整个实验过程保持环境安静、水温恒定 (25±1) ℃、且圆形平台保持置于目标象限水面下 1 cm 处。分别进行定位航行实验和空间搜索实验^[16]。

1.3.5 组织样本采集

水迷宫实验结束后, 小鼠禁食 12 h, 称重, 1% 戊巴比妥钠 (用量 50 mg/kg) 麻醉, 冰面解剖, 取小鼠海马体、杏仁核组织, 用于病理学检查、生化指标检测等。

1.3.6 苏木精-伊红 (HE) 染色

4 wt.% 多聚甲醛固定小鼠脑部组织 48 h, 利用不同体积分数梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 切片 (厚度 5 μm), 脱蜡, 苏木精-伊红染色, 封片、晾干、扫描, 扫描结果采用软件 KFBIO.Slide Viewer1.5.3.1 观察小鼠海马体、杏仁核组织结构。

1.3.7 氧化应激指标测定

取 1.3.4 步骤中小鼠海马体、杏仁核组织进行匀浆, 离心取上清液, 严格按照试剂盒说明书测定 CAT、GSH-Px、SOD 活性以及 MDA 含量和 T-AOC。

表 2 qRT-PCR引物序列表
Table 2 qRT-PCR primer sequence

基因名称	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')
<i>GAPDH</i>	GGCTGCCCAGAACATCAT	CGGACACATTGGGGGTAC
<i>TNF-α</i>	CTGAACTTCGGGGTGATCGGT	TCCTCCACTTGGTGGTTTGCTAC
<i>IL-6</i>	ACACACTGGTTCTGAGGGAC	TACCACAAGGTTGGCAGGTG
<i>IL-1β</i>	GAAATGCCACCTTTTGACAGTG	TGGATGCTCTCATCAGGACAG
<i>BDNF</i>	AGAGCTGTTGGATGAGGACC	CGCCGTTACCCACTCACTAA
<i>CREB</i>	GCTGGCTAACAAATGGTACCG	CAGAGGCAGCTTGAACAACA
<i>TrkB</i>	CTCTCGGTCTATGCTGTGGT	GAGATGTGATGGAGTGGGCT

表 3 氧化修饰对酪蛋白样品中氧化指标的影响
Table 3 Effects of oxidative modification on oxidation indexes in casein samples

样品	双酪氨酸/(pg/mg prot)	晚期氧化蛋白/(pmol/g prot)	巯基/(mmol/g prot)	羰基/(mmol/g prot)
正常酪蛋白	163.20 ± 6.42	465.32 ± 8.14	2.36 ± 0.11	4.07 ± 0.69
氧化酪蛋白	257.16 ± 8.44	1372.09 ± 6.07	1.17 ± 0.07	7.19 ± 0.42

1.3.8 实时荧光定量PCR

将小鼠海马体、杏仁核组织分离、匀浆，使组织完全裂解，参照说明书操作提取 RNA。提取得到的 RNA 采用 Nanodrop 测定 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ ，比值介于 1.8~2.0 之间的 RNA 样品纯度适合，可进行下一步实验。计算 RNA 浓度，采用 30 μL 体系将 RNA 逆转录反应生成 cDNA，将模板和试剂盒试剂置于冰上按说明书操作，得 cDNA 产物。qRT-PCR 扩增，反应条件：95 ℃ 预变性 30 s，95 ℃ 变性 5 s，60 ℃ 退火 34 s；40 个循环，反应结束后确认曲线。小鼠引物使用 Primer3v.0.4.0 设计，由上海生工生物科技有限公司合成，以基因 GAPDH 荧光信号为内参，靶基因的相对表达水平通过计算其与基因 GAPDH 的比率算得。引物序列如表 2 所示。

1.4 数据统计方法

数据采用 SPSS 22.0 软件系统分析，多组间比较采用单因素方差分析，方差检验齐性用 LSD 法，方差不齐性用 Games-Howell 法检验，等级资料采用 Ridit 检验，结果用 GraphPad Prism 8.0 进行作图。

2 结果与讨论

2.1 氧化修饰对酪蛋白氧化相关指标的影响

酪蛋白氧化后，双酪氨酸、晚期氧化蛋白、巯基和羰基含量如表 3 所示。由结果可知，氧化修饰后，双酪氨酸、晚期氧化蛋白和羰基的含量显著增多，而巯基含量显著减少。

2.2 小鼠采食量、体质量变化

由图 1 可知，与 CT 组相比，CO 组小鼠采食量出现明显增加，体重明显上升；白藜芦醇干预后，小鼠采食量明显降低，较 CO 组而言，体质量明显下降，结果表明氧化酪蛋白的摄入导致小鼠采食量增加，且体质量出现明显上升，白藜芦醇干预后得到改善。

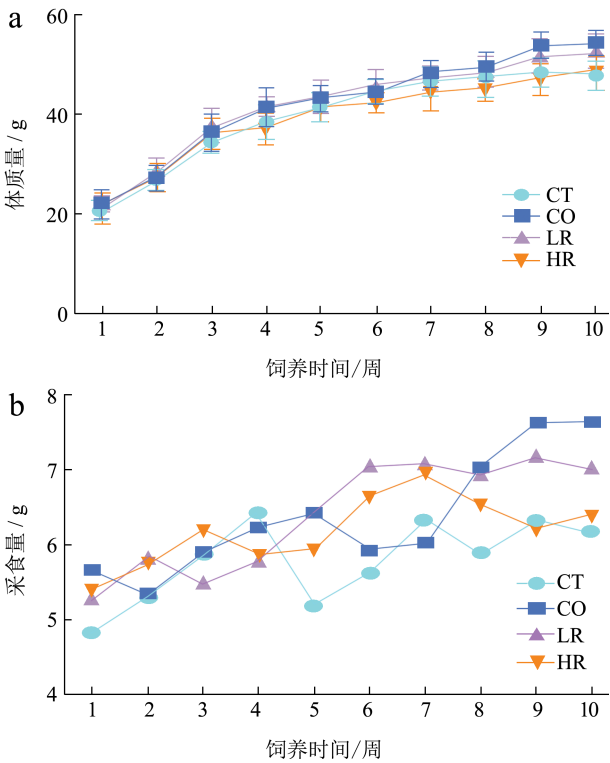


图 1 各组小鼠采食量、体质量的变化

Fig.1 Food intake and body weight changes of the mice in each group

2.3 白藜芦醇对氧化酪蛋白膳食小鼠空间学习记忆的影响

前期研究^[17-20]证实, 氧化蛋白质的摄入会诱导小鼠学习记忆受到损伤。图 2a、2b 显示, 定位航行实验结果中, 与 CT 组相比, CO 组小鼠运动轨迹明显增加, 寻找平台时间也增加。结合空间搜索实验, 如图 2c~2f 所示, 与 CT 组相比, CO 组小鼠首次到达平台时间和首次到达平台所在象限时间增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 穿越平台次数变少, 以及平台所在象限停留时间占总时间比要低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。白藜芦醇干预后, LR 组和 HR 组小鼠寻找平台潜伏期分别缩短 20.85% 和 9.63%, 穿越平台次数分别增加 53.63% 和 47.57%, 平台所在象限停留时间占总时间百分比分别增加 103.69% 和 53.68%, 均差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。上述结果表明: 摄入氧化酪蛋白后小鼠出现空间学习记忆障碍, 白藜芦醇干预可有效改善氧化酪蛋白所致小鼠空间学习记忆障碍。

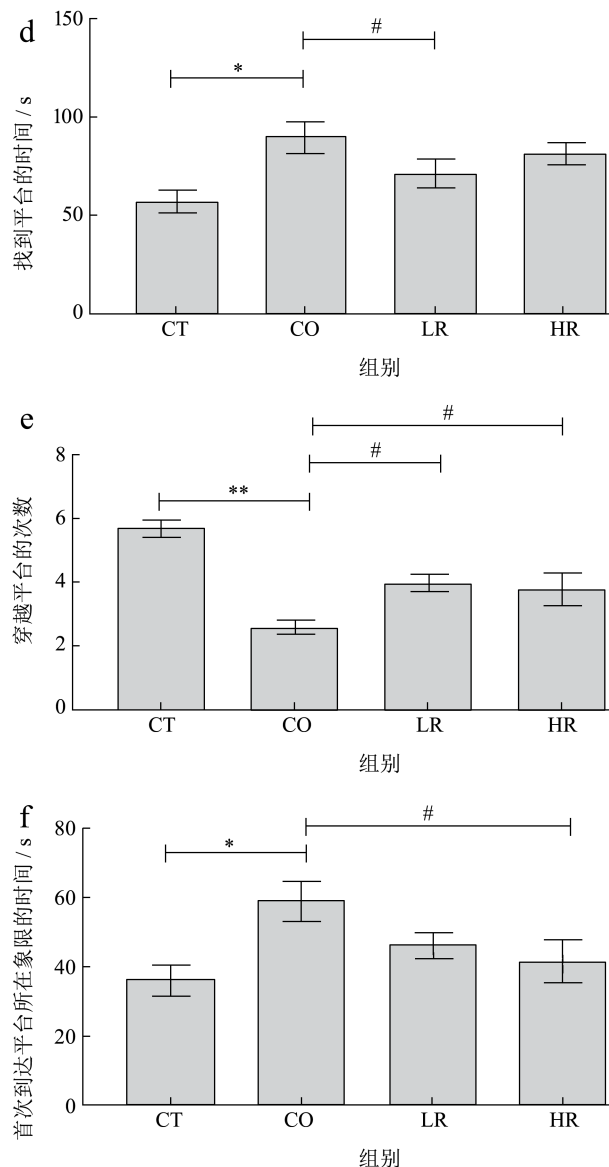
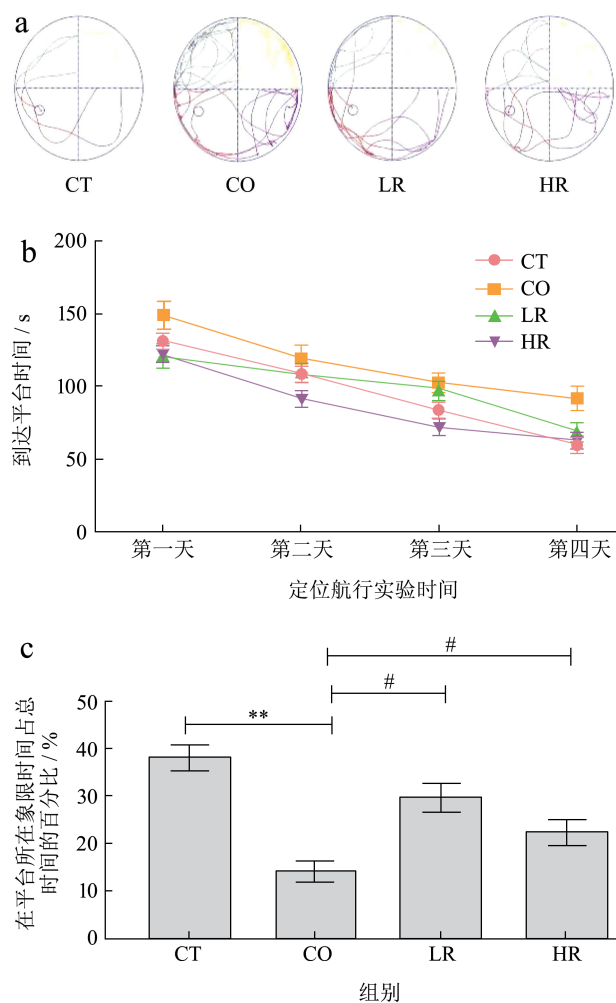


图 2 白藜芦醇对氧化酪蛋白膳食小鼠学习记忆能力的影响
Fig.2 Effects of resveratrol on learning and memory in mice fed with oxidized casein

注: *, ** 分别表示与 CT 组相比差异有统计学意义 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$; #、## 分别表示与 CO 组相比差异有统计学意义 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 。下同。

2.4 白藜芦醇对氧化酪蛋白膳食小鼠海马体、杏仁核组织氧化应激状态的影响

文献报道证实机体氧化蛋白的累积与多种慢性疾病之间存在关联, 关于牛奶氧化相关研究目前主要集中在牛奶质量或蛋白质功能方面, 针对如何改善因蛋白质氧化所致的机体损伤如学习记忆障碍等, 值得探讨。氧化酪蛋白的摄入会增加机体氧化应激风险, 机体组织 SOD、CAT、GSH-Px、T-AOC 等抗氧化酶和物质是机体自身防御机制重要组成,

可反映机体抗氧化能力,但这个能力是有限的,当机体长期处于氧化应激状态时,自身防御机制已无法修复氧化损伤,导致机体抗氧化能力下降,进而使机体出现学习记忆障碍^[21]。本实验中,如图3可知,与CT组相比,CO组小鼠海马体组织SOD活性下降($P<0.05$)、CAT、GSH-Px活性及T-AOC总抗氧化能力明显降低($P<0.01$)、MDA含量显著升高($P<0.01$),差异有统计学意义。杏仁核组织CAT、GSH-Px活性下降($P<0.05$)、SOD活性及T-AOC总抗氧化能力下降更为明显($P<0.01$)、MDA含量显著升高($P<0.01$),差异有统计学意义。白藜芦醇干预后,与CO组相比,LR和HR组小鼠海马体组织CAT、SOD活性均有不同程度增强,MDA含量降低,差异有统计学意义($P<0.05$);LR和HR组小鼠杏仁核组织GSH-Px、SOD活性以及T-AOC总抗氧化能力均有不同程度增强,差异有统计学意义($P<0.05$),而MDA含量虽有降低,但差异无统计学意义。上述结果表明摄入氧化酪蛋白的小鼠脑部氧化还原状态出现失衡,白藜芦醇干预后,其氧化还原状态得到改善。

2.5 小鼠脑部海马体、杏仁核组织HE染色结果

2.5.1 海马体HE染色结果

由图4可知,CT组小鼠海马体细胞结构正常、形态完整、排列整齐紧密、染色均匀、未见明显病理损伤;摄入氧化酪蛋白后,CO组小鼠海马体组织呈弥散性损伤,神经细胞缺失明显、排列稀疏杂乱、结构紊乱、形态不规则,染色不均匀。白藜芦醇干预后,LR组和HR组小鼠海马体组织病变特征较CO组而言有不同程度改善,细胞结构完整且轮廓清晰、排列规则有序,染色均匀,细胞核清晰可见,且LR组改善效果优于HR组。

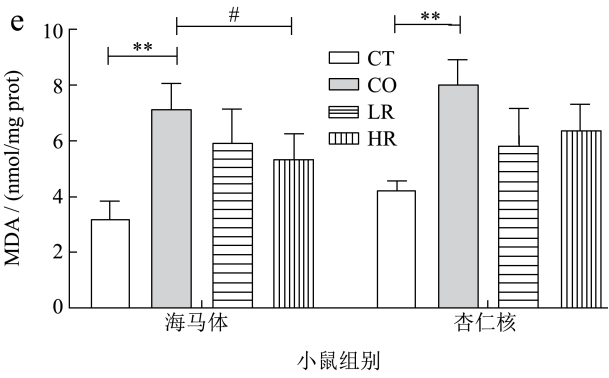
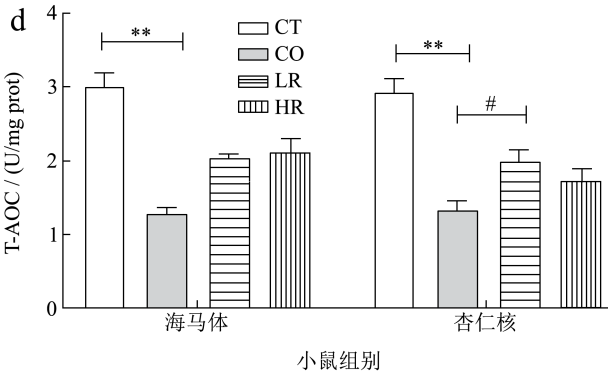
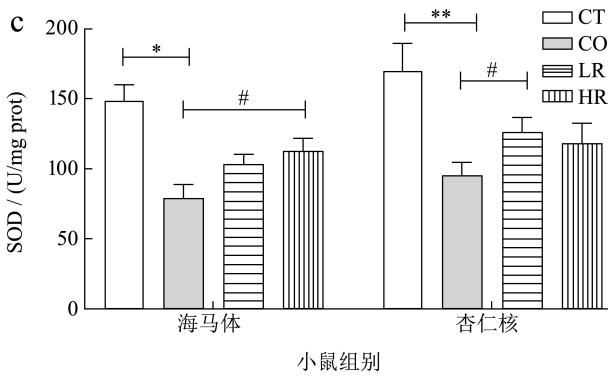
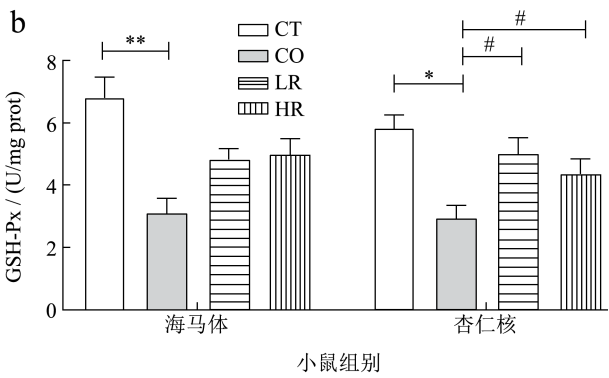
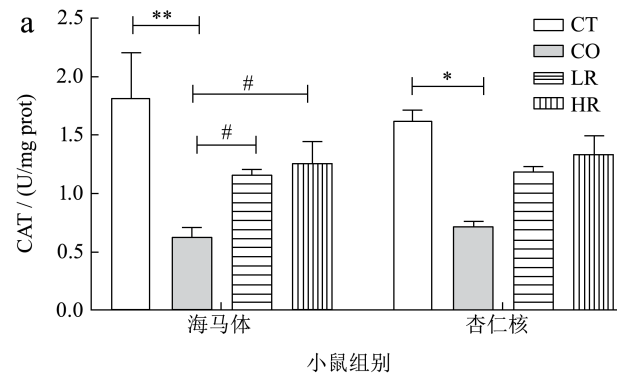


图3 白藜芦醇对氧化酪蛋白膳食小鼠氧化应激状态的影响
Fig.3 Effect of resveratrol on the redox status of oxidized casein dietary mice

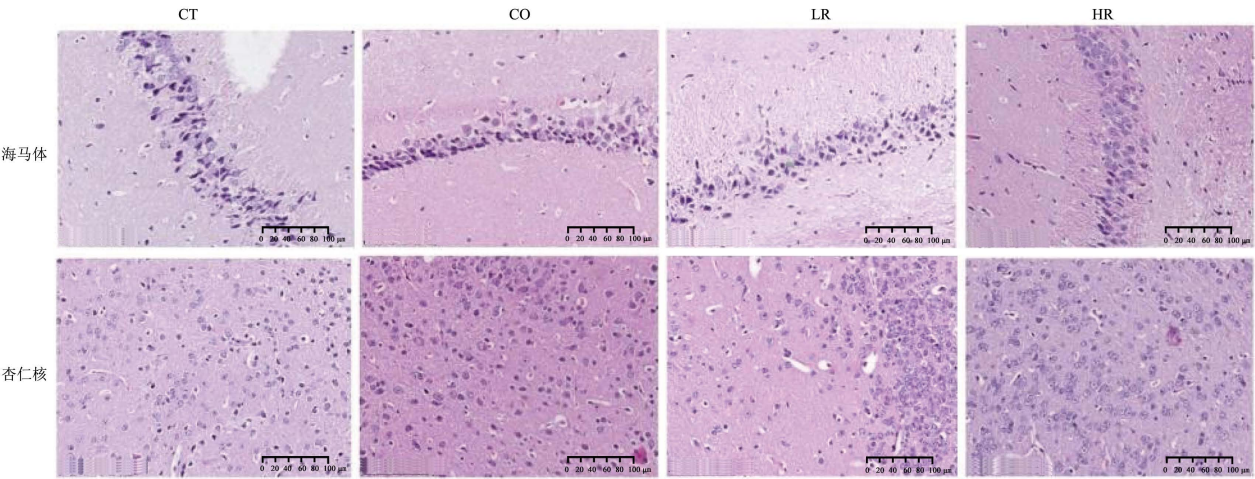


图4 小鼠脑部海马体和杏仁核组织 HE 染色图 (×200)

Fig.4 HE staining map of the hippocampus and amygdala tissue in the mouse brain

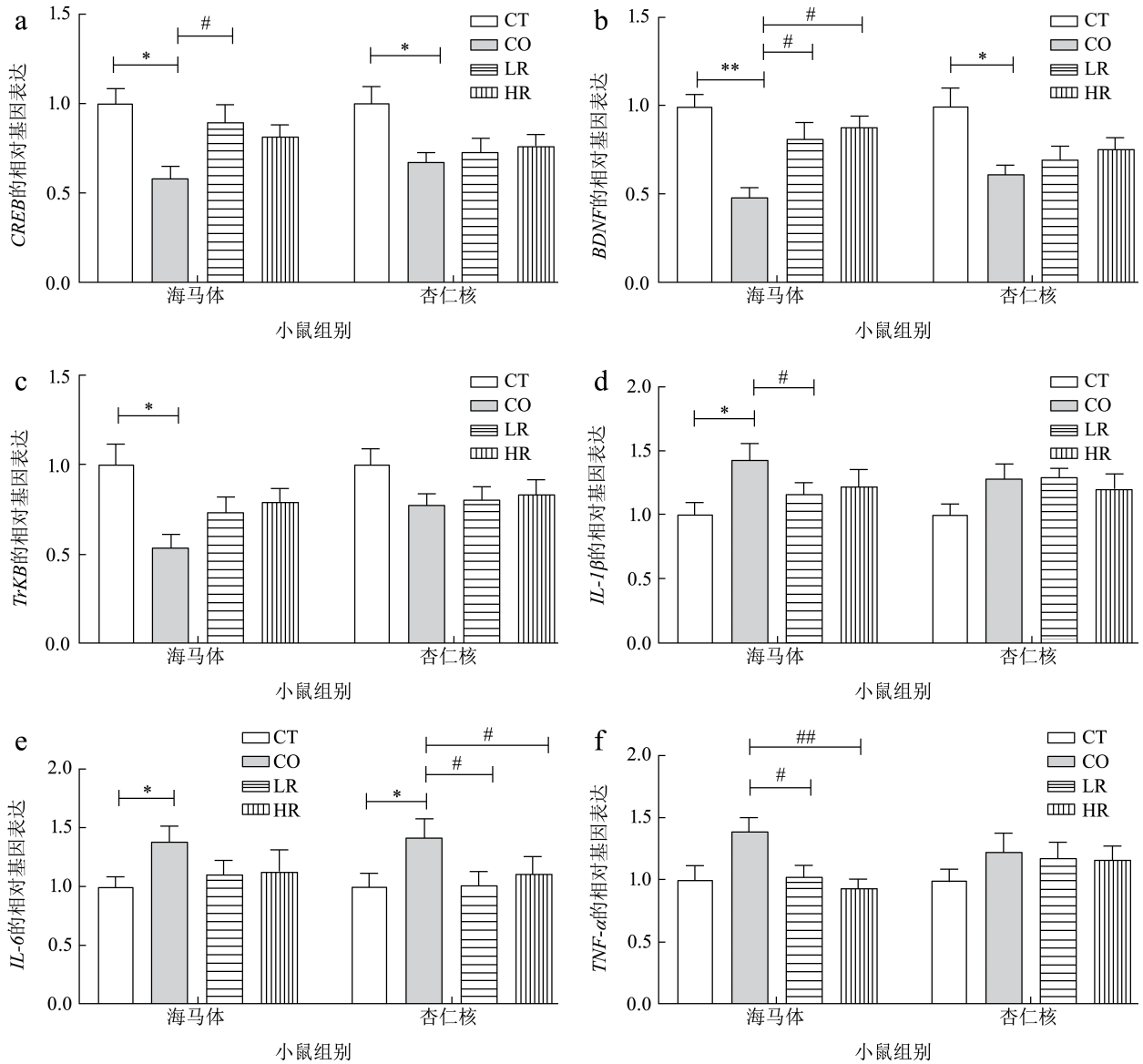


图5 小鼠海马体和杏仁核炎症因子与学习记忆相关基因表达

Fig.5 Expression of genes for inflammatory factors related to learning and memory in the hippocampus and amygdala of mice

2.5.2 杏仁核HE染色结果

如图4所示,CT组小鼠杏仁核细胞分布均匀且形态结构完整、排列规则、核质染色均匀;摄入氧化酪蛋白后,CO组神经细胞形态不规则,染色较深,胞膜界限不清;白藜芦醇干预后,LR组细胞形态基本正常,核质染色基本与CT组一致,排列比较密集;HR组与LR组相比,细胞排列整齐,染色均匀,胞核界限清晰。上述结果表明,白藜芦醇能有效改善氧化酪蛋白对小鼠脑部组织的损伤,具有保护作用。

2.6 小鼠海马体和杏仁核中炎症因子与学习记忆相关基因表达

研究表明,氧化应激是多种人类疾病中细胞损伤的主要原因。在大脑中,当氧化还原平衡丧失时,氧化应激引起严重损伤,导致神经元丢失,进一步引发脑部损伤^[22]。除此之外,氧化应激与炎症反应密切相关已被广泛接受。活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)刺激炎症基因的激活和过度表达,过量产生促炎细胞因子和介质,从而促进神经炎症的发生和发展^[23]。更严重的是,这一过程反过来又增加了活性氧的产生^[24]。这表明,在学习记忆受损的进展过程中,氧化应激和炎症反应起着至关重要的作用。

脑源性神经营养因子(BDNF)是一种神经营养因子,在海马体的长时间增强作用中起关键作用,被认为是学习和记忆的基础。诸多证据表明,多种疾病如亨廷顿病、阿尔茨海默病、抑郁症等发病机制,是通过下调BDNF基因的表达,并激活其受体TrkB,促进各种细胞的维持和分化实现的。据报道,BDNF还作为神经可塑性和炎症之间的桥梁,并可对促炎细胞因子产生负面影响^[25,26]。本研究中,如图5所示,与CT组相比,CO组小鼠海马体和杏仁核中BDNF、TrkB和CREB表达下调($P<0.05$);IL-1 β 、IL-6表达上调($P<0.05$),白藜芦醇干预后,LR组小鼠海马体中BDNF、CREB表达均出现上调趋势($P<0.05$);在炎症反应方面,LR组和HR组小鼠海马体、杏仁核中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 基因表达都有不同程度下调,与CO组相比,LR组小鼠海马体IL-1 β 和TNF- α 表达下调更为明显($P<0.05$),HR组小鼠海马体TNF- α 表达下调($P<0.05$);另外,LR组和HR组小鼠杏仁核IL-6表达下调具有统计学意义($P<0.05$)。综合以上结果可知,摄入氧化酪蛋白后小鼠海马体、杏仁核组织出现炎症反

应,白藜芦醇干预后,小鼠海马体、杏仁核的氧化应激状态得到改善,抗氧化能力增强,炎症程度降低,并进一步调控BDNF/CREB/TrkB信号通路改善小鼠学习记忆能力。

此外,值得注意的是,本研究发现,白藜芦醇对氧化酪蛋白所致机体氧化损伤的改善效果并不与剂量呈正相关,仅表现为低剂量组效果优于高剂量组,与前期研究结果^[27-29]保持相同趋势,其原因可能是高浓度白藜芦醇有一定细胞毒性,引起氧化酪蛋白模型组小鼠学习和记忆相关的细胞活力丧失,而低浓度白藜芦醇在一定浓度范围内可提高细胞相对存活率,从而发挥细胞正常生理功能。

3 结论

本文以氧化酪蛋白诱导小鼠产生空间学习记忆障碍,采用白藜芦醇进行干预,旨在探讨白藜芦醇对学习记忆障碍小鼠的干预效果及作用机制。通过Morris水迷宫实验、苏木精-伊红染色、脑组织氧化还原指标和炎症与学习记忆相关的基因表达等相关实验,发现白藜芦醇可改善小鼠脑组织氧化损伤,维护氧化还原状态平衡,改善学习记忆障碍。其机制可能与激活BDNF/TrkB/CREB信号通路改善机体抗氧化、抗炎能力有关。本研究可为天然安全食品抗氧化剂、乳制品加工、或白藜芦醇或富含白藜芦醇天然药用植物的开发提供参考依据。

参考文献

- [1] 刘媛媛,曾寅初.食品安全事件背景下消费者购买行为变化与恢复-基于三聚氰胺事件后的消费者调查[J].中国食物与营养,2014,20(3):38-43.
- [2] OSTDAL H, BJERRUM M J, PEDERSEN J A, et al. Lactoperoxidase-induced protein oxidation in milk [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(9): 3939-3944.
- [3] 莫玲,香庆文,李晶晶,等.孕哺期摄入氧化乳蛋白对子代小鼠机体氧化还原状态的影响[J].食品科学技术学报, 2021,39(3):122-128.
- [4] ZHAO C C, MO L, LI J J, et al. Oxidized milk induces spatial learning and memory impairment by altering gut microbiota in offspring mice during pregnancy and lactation [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(34): 9934-9946.
- [5] 吴伶俐,李竹青,吴秋萍,等.氧化酪蛋白对小鼠组织抗氧化能力及血液肽组成的影响[J].世界科技研究与发展, 2011,33(3):489-493.
- [6] 李竹青,吴伶俐,乐国伟,等.氧化酪蛋白对小鼠血液和消

- 化器官氧化损伤的影响[J].营养学报,2013,35(1):39-43.
- [7] EKSHYYAN V P, HEBERT V Y, KHANDELWAL A, et al. Resveratrol inhibits rat aortic vascular smooth muscle cell proliferation via estrogen receptor dependent nitric oxide production [J]. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 2007, 50(1): 83-93.
- [8] 赵克森.白藜芦醇的生物学特性和效应[J].中国病理生理杂志,2012,28(9):1709-1711,1717.
- [9] NDIAYE M, PHILIPPE C, MUKHTAR H, et al. The grape antioxidant resveratrol for skin disorders: promise, prospects, and challenges [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2011, 508(2): 164-170.
- [10] 潘鹏,谢红月,蒋钦杨,等.白藜芦醇抗氧化功能的研究进展[J].饲料工业,2020,41(2):8-14.
- [11] 王其龙,杨景森,王丽,等.白藜芦醇改善动物生长性能和肠道健康的研究进展[J].中国饲料,2020,19:1-5.
- [12] SEBAI H, GADACHA W, SANI M, et al. Protective effect of resveratrol against lipopolysaccharide-induced oxidative stress in rat brain [J]. Brain Injury, 2009, 23(13-14): 1089-1094.
- [13] 嵇建刚,张莉,王冠,等.白藜芦醇对血管性痴呆大鼠学习、记忆能力的影响及机制研究[J].广西医科大学学报,2017,34(9):1266-1269.
- [14] 刘贵珊,杨博,张泽生,等.白藜芦醇对D-半乳糖致衰老小鼠学习记忆能力和脑组织抗氧化能力的影响[J].食品科学,2014,35(5):204-207.
- [15] LI Z L, MO L, LE G, et al. Oxidized casein impairs antioxidant defense system and induces hepatic and renal injury in mice [J]. Food and Chemical Toxicology, 2014, 64: 86-93.
- [16] 冉玉梅.酪氨酸氧化产物对大小鼠学习记忆的影响[D].无锡:江南大学,2016.
- [17] 冉玉梅,李竹青,丁寅翼,等.酪氨酸氧化产物诱导大鼠空间学习记忆损伤[J].食品与生物技术学报,2019,38(2):1-7.
- [18] 莫玲,李雨婷,王雪霏,等.孕哺期氧化乳蛋白饮食对子代小鼠学习记忆能力的影响[J].现代预防医学,2019,46(9): 1663-1667.
- [19] 李博文.猪肉蛋白质氧化产物双酪氨酸对生长期小鼠学习记忆的影响[D].无锡:江南大学,2020.
- [20] 吴艳艳.氧化酪蛋白对小鼠氧化还原状态及记忆能力的影响[D].无锡:江南大学,2011.
- [21] REUTER S, GUPTA S C, CHATURVEDI M M, et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2010, 49(11): 1603-1616.
- [22] QI G, MI Y, WANG Y, et al. Neuroprotective action of tea polyphenols on oxidative stress-induced apoptosis through the activation of the TrkB/CREB/BDNF pathway and Keap1/Nrf2 signaling pathway in SH-SY5Y cells and mice brain [J]. Food & Function, 2017, 8(12): 4421-4432.
- [23] LIU Z, CAO W, BARRETT M O, et al. Tumor necrosis factor- α induces insulin resistance in endothelial cells via a p38 mitogen-activated protein kinase-dependent pathway [J]. Endocrinology, 2007, 148(7): 3356-3363.
- [24] WANG S, SU G, ZHANG X, et al. Characterization and exploration of potential neuroprotective peptides in walnut (*Juglans regia*) protein hydrolysate against cholinergic system damage and oxidative stress in scopolamine-induced cognitive and memory impairment mice and zebrafish [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(9): 2773-2783.
- [25] BÜCKER J, FRIES G R, KAPCZINSKI F, et al. Brain-derived neurotrophic factor and inflammatory markers in school-aged children with early trauma [J]. Acta Psychiatr Scand, 2015, 131(5): 360-368.
- [26] CALABRESE F, ROSSETTI A C, RACAGNI G, et al. Brain-derived neurotrophic factor: a bridge between inflammation and neuroplasticity [J]. Frontiers in Cellular Neuroscience, 2014, 8: 430.
- [27] 黄超,张中岳,徐梅,等.白藜芦醇对氧化应激肉鸡肠道结构和抗氧化能力的影响[C]//中国畜牧兽医学会动物营养学分会.中国畜牧兽医学会动物营养学分会第十二次动物营养学术研讨会论文集.华南农业大学动物科学学院;广东温氏食品集团股份有限公司,2016:341.
- [28] 马玉静,禹琪芳,杨玲,等.饲料中添加不同剂量白藜芦醇对21日龄樱桃谷鸭生长性能、抗氧化能力及肠道健康的影响[J].动物营养学报,2020,32(8):3662-3669.
- [29] 邹灵秀,陈湛,杨小玲,等.白藜芦醇对兔成纤维细胞氧化应激损伤的保护作用研究[J].西南大学学报(自然科学版),2020,42(5):51-56.