

• 基础研究 •

茶多酚对帕金森病模型小鼠多巴胺神经元保护作用的实验研究

张扬, 邵蓓

[摘要] 目的 探讨茶多酚对 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)致帕金森病模型小鼠多巴胺能神经元的保护作用。方法 70 只 C57BL/6 小鼠分为 4 组, A 组为生理盐水(NS) + NS 组, B 组为 NS + 茶多酚(GTPs)组, C 组(模型组)为 NS + MPTP 组, D 组为 GTPs + MPTP 组, 其中 D 组又分为 D1 组(10 mg/kg)及 D2(50 mg/kg)组, 在注射 GTPs 后 0.5 h 腹腔注射 MPTP 3 次, 制作帕金森病模型。腹腔注射茶多酚后, 应用高效液相色谱-电化学分析法(HPLC-ECD)测定多巴胺及其代谢产物浓度。结果 A 组多巴胺及代谢产物含量最高, B 组与 A 组无显著性差异, C 组与 A 组比较有显著性差异($P < 0.05$), D 组与 C 组相比浓度升高($P < 0.05$)。结论 茶多酚对 MPTP 诱发的帕金森病模型小鼠黑质多巴胺神经元有保护作用。

[关键词] 茶多酚; 帕金森病; 多巴胺; 小鼠

Effect of Green Tea Polyphenols on N-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine Induced Dopaminergic Neurodegeneration in Mice ZHANG Yang, SHAO Bei. Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, Zhejiang, China

Abstract: **Objective** To investigate the protective effects of green tea polyphenols (GTPs) on dopamine neuron loss in substantia nigra concomitant with a depletion of dopamine in corpus striatum induced by the N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in mice as a model of Parkinson disease. **Methods** Male C57BL/6 mice were intraperitoneally injected with saline + saline (group A), saline + GTPs (group B), saline + MPTP (group C) and GTP + MPTP (group D) at 2-hour intervals for a total of 3 doses for MPTP and 5 doses for GTPs (10 or 50 mg/kg delivered). The animals were sacrificed 7 d after the last injection. Levels of dopamine and its metabolites in the corpus striatum were measured with high-performance liquid chromatography with an electrochemical detector (HPLC-ECD). **Results** Level of dopamine and its metabolites in the corpus striatum in group C decreased significantly compared with group A or B; however, those in group D (both 10 and 50 mg/kg) prevented these effects. **Conclusion** GTPs can protect the dopamine neurons from loss in MPTP-induced mice.

Key words: green tea polyphenols (GTPs); Parkinson disease; dopamine; mice

[中图分类号] 742.5 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2008)03-0239-02

[本文著录格式] 张扬, 邵蓓. 茶多酚对帕金森病模型小鼠多巴胺神经元保护作用的实验研究[J]. 中国康复理论与实践, 2008, 14(3): 239-240.

帕金森病是一种好发于中、老年的慢性神经系统变性疾病, 主要症状为静止性震颤、强直、运动迟缓等。最新的研究资料表明, 我国 65 岁以上人群患病率 1.7%^[1]。其发病机制目前尚不清楚。有研究表明, 氧化应激(oxidative stress)是帕金森病的重要发病机制之一。茶多酚(green tea polyphenols)是茶叶中儿茶素类、黄酮类、酚酸类和花色素类化合物的总称, 约占茶叶干重的 15%~25%。茶多酚中最重要的成分 is 黄烷醇类的多种儿茶素(catechins)。有研究发现, 茶多酚有清除自由基及抗氧化作用^[2], 其作用强于维生素 C。本研究旨在观察茶多酚对 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)诱导的帕金森病小鼠模型多巴胺及其代谢产物的影响, 探讨其对帕金森病可能的保

护作用及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 健康雄性 C57BL/6 小鼠 70 只, 鼠龄 4 周左右, 体重 20~25 g。随机分为 A、B、C、D 4 组, A 组 10 只为生理盐水 + 生理盐水, B 组 15 只为生理盐水 + 茶多酚, C 组 15 只为生理盐水 + MPTP, D 组为茶多酚 + MPTP, 其中 D1 组茶多酚用量为 10 mg/kg, D2 组茶多酚用量为 50 mg/kg, 各 15 只。参照 Robinson^[3], 采用直接腹腔注射 MPTP(使用前用生理盐水配制成 0.25%溶液)制作帕金森病模型。C 组先腹腔注射生理盐水 0.4 ml, 30 min 后腹腔注射 MPTP 20 mg/kg, 每隔 2 h 重复注射 1 次, 共 3 次。D 组先腹腔注射茶多酚, 再注射 MPTP; A 组、B 组分别腹腔注射生理盐水和/或茶多酚。于第 7 天快速断头取脑, 在冰盘上分离出取双侧纹状体, 称重, -80℃低温保存。

1.2 主要试剂 MPTP、多巴胺、高香草酸、3,4-二羟苯乙酸标准品: 美国 Sigma 公司; 高效液相色谱柱: 大

基金项目: 温州市科技计划项目(No. Y2005 A116)。

作者单位: 温州医学院附属第一医院神经内科, 浙江温州市 325000。作者简介: 张扬(1975-), 男, 山东临沂人, 医师, 硕士, 主要研究方向: 帕金森病。通讯作者: 邵蓓。

连日普利科技仪器有限公司。其他试剂为国产分析级或化学纯试剂;甲醇为色谱级。

1.3 方法 取各组小鼠双侧纹状体 5 ~ 24 mg,放入玻璃匀浆器中,加入 0.4 mmol/L 高氯酸 500 μ l,置于冰盘中研磨,制备匀浆,3000 r/min,4 $^{\circ}$ C 离心 30 min,吸取 20 μ l 上清液进样。

1.4 统计学处理 实验结果以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,应用 SPSS 9.0 软件包进行单因素方差分析 (one-way ANOVA), $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

A、B 组多巴胺、高香草酸、3,4-二羟基苯乙酸浓度正常,组间比较无显著性差异;C 组浓度较 A、B 组下降 ($P < 0.05$),D 组较 C 组增加 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组多巴胺及代谢产物浓度比较

组别	n	多巴胺	高香草酸	3,4-二羟基苯乙酸
A 组	10	220.69 \pm 40.63 ^a	33.51 \pm 4.53 ^a	40.55 \pm 5.75 ^a
B 组	15	218. \pm 38.14 ^a	33.47 \pm 3.78 ^a	41.45 \pm 4.68 ^a
C 组	15	63.12 \pm 14.11	8.01 \pm 3.44	21.69 \pm 6.52
D1 组	15	129.21 \pm 25.03 ^a	20.25 \pm 3.76 ^a	33.34 \pm 4.94 ^a
D2 组	15	154.40 \pm 28.11 ^a	14.82 \pm 2.58 ^a	37.50 \pm 5.28 ^a

注:a:与 C 组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

有学者认为,帕金森病的发病机制可能与黑质致密部的生化改变而导致的选择性氧化应激有关。因此,有清除自由基活性的药物可以选择作为治疗帕金森病的潜在药物。

茶多酚是茶叶的主要成分,主要为黄烷醇(儿茶素),其中以表没食子儿茶素没食子酸酯含量最高。黄烷醇类易被氧化为相应的 O-醌类,两者可作为氢受体和氢供体。在黄烷醇的结构中,5 位和 7 位二羟基团和 1 位氧能使 6 位和 8 位碳原子产生强烈的亲核性,C-O 或 C-C 骨架的形成可使黄烷醇发生氧化聚合。茶多酚对金属离子、生物碱和生物大分子,如脂类、碳水化合物、蛋白质和核酸有高度的亲和力。

有研究显示,茶多酚抗氧化、清除自由基作用高于维生素 C、维生素 E,主要通过以下 4 个机制:①茶多酚具有“儿茶酚”样结构,是很强的金属离子螯合剂,能结合并降低在 Fenton 和 Haber Weiss 反应中产生反应氧自由基所必须的游离铁和铁离子;②茶多酚是超氧阴离子自由基和羟自由基很强的捕获剂,这两种自由

基引起 DNA 和其他细胞内分子的损伤及脂质过氧化反应;③反应氧自由基能损伤 DNA,改变基因表达,在帕金森病发生中起重要作用;黄烷醇类能与氧自由基发生反应,从而终止脂质过氧化链反应;④增强谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶、酯还原酶、谷胱甘肽-S-转硫酶的活性。研究表明,茶多酚较易经胃肠道吸收,并广泛的分布于全身各器官,包括脑组织内^[4];茶多酚可能通过抗氧化应激作用,而发挥对多巴胺神经元保护作用^[5]。

帕金森病的主要病理变化为黑质致密部多巴胺神经元缺失,导致纹状体内多巴胺含量下降。多巴胺能神经元通过摄取血液中的酪氨酸,经胞质内酪氨酸羟化酶催化形成多巴,再由多巴脱羟酶作用生成多巴胺。有研究表明,当多巴胺能神经元下降 60% ~ 80%,多巴胺浓度降到正常的 30% 以下时,可出现帕金森病的症状。

多巴胺代谢的最终分解产物主要是高香草酸、3,4-二羟基苯乙酸等,以高香草酸含量最高,测定高香草酸、3,4-二羟基苯乙酸可间接反应脑内多巴胺的变化。MPTP 作为一种选择性神经元损害药物,能选择性造成黑质致密部的多巴胺神经元变性缺失,病理上与帕金森病相类似。本研究显示,茶多酚对 MPTP 诱导小鼠黑质的多巴胺神经元具有保护作用。有关茶多酚可能的保护作用及机制,仍有待于进一步深入研究。

[参考文献]

[1]Zhang ZX, Roman GC, Hong Z,et al. Parkinson's disease in China: prevalence in Beijing, Xi'an, and Shanghai[J]. Lancet, 2005,365 (9459):595-597.

[2]Salah N, Miller NJ, Paganga G, et al. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants[J]. Arch Biochem Biophys, 1995, 322: 339-346.

[3]Robinson S, Freeman P, Moore C, et al. Acute and subchronic MPTP administration differentially affects striatal glutamate synaptic function[J]. Exp Neurol, 2003,180(1):74-87.

[4]Suganuma M, Okabe S, Oniyama M, et al. Wide distribution of [3H](-)-epigallocatechin gallate, a cancer preventive tea polyphenol, in mouse tissue[J]. Carcinogenesis, 1998,19: 1771-1776.

[5]Guo Q, Zhao B, Li M, et al. Studies on protective mechanisms of four components of green tea polyphenols against lipid peroxidation in synaptosomes[J]. Acta Biochim Biophys, 1996, 1304: 210-222.