

岩藻多糖对大鼠氧化应激的缓解作用研究

徐元庆^{1*}, 张静¹, 王哲奇², 红雷¹

¹内蒙古农业大学动物科学学院, 呼和浩特 010018 ²中国农业科学院草原研究所, 呼和浩特 010010

摘要:为了探讨岩藻多糖对大鼠氧化应激的缓解作用,选择28只8周龄SD雄性大鼠,随机分为3个处理组,分别为对照组($n=10$)注射生理盐水和饲喂维持日粮;氧化应激组($n=9$)腹腔注射10 mg/kg BW的敌草快和饲喂维持日粮;氧化应激与岩藻多糖联合处理组($n=9$)注射10 mg/kg BW的敌草快(diquat)并饲喂添加250 mg/kg岩藻多糖的试验日粮。试验第12 d,氧化应激组和联合处理组大鼠腹腔注射敌草快,建立氧化应激模型。试验结束后,采集血液、肝脏和脾脏组织样品。结果显示,饲喂岩藻多糖缓解氧化应激诱导的大鼠血清中天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)活性的升高,降低肝脏中丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量,并逆转由氧化应激诱导的肝脏组织中核转录因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)、超氧化物歧化酶2(superoxide dismutase 2, SOD2)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)基因表达的下调,从而提高总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)和GPx活性。此外,饲喂岩藻多糖能够逆转氧化应激诱导的大鼠脾脏组织中Nrf2和GPx基因表达的下调,从而提高大鼠脾脏组织中T-AOC及SOD和GPx的活性。因此,岩藻多糖通过Nrf2途径调控大鼠肝脏和脾脏的抗氧化酶活性来缓解大鼠氧化应激。

关键词:岩藻多糖;氧化应激;抗氧化酶;Nrf2;大鼠

中图分类号:S853.74

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2024)4-0653-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2024.4.012

Alleviating effect of fucoidan on oxidative stress in rats

XU Yuan-qing^{1*}, ZHANG Jing¹, WANG Zhe-qi², HONG Lei¹

¹College of Animal Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China;

²Institute of Grassland Research of CAAS, Hohhot 010010, China

Abstract: The present study was conducted to investigate the relieving effect of fucoidan on oxidative stress in rats. A total of 28 eight-week-old male SD rats were divided into three groups: control group ($n=10$) injected intraperitoneally with saline and feeding basal diet, oxidative stress group ($n=9$) injected intraperitoneally with 10 mg/kg BW diquat and feeding basal diet, fucoidan combined with oxidative stress treatment group ($n=9$) injected intraperitoneally with 10 mg/kg BW diquat and feeding diet supplemented with 250 mg/kg fucoidan. On the twelfth^d day of the trial, rats in oxidative stress and fucoidan combined with oxidative stress treatment groups were intraperitoneally injected diquat to establish oxidative stress model. At the end of the trial, the blood, liver and spleen tissue samples were collected. The results showed that dietary fucoidan relieved the increase of serum aspartate aminotransferase (AST) activity and decreased hepatic malondialdehyde (MDA) content of rats, and reversed the down-regulation of hepatic nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), superoxide dismutase 2 (SOD2) and glutathione peroxidase (GPx) gene expression induced by oxidative stress, and improved the total antioxidant capacity (T-AOC) and GPx activity. In addition, dietary fucoidan reversed the down-regulation of splenic Nrf2 and GPx gene expression of rats induced by oxidative stress, and increased the T-AOC and activities of SOD and GPx. In conclusion, dietary fucoidan can alleviate oxidative stress in rats through its antioxidant activity via Nrf2 pathway.

Key words: fucoidan; oxidative stress; antioxidant; Nrf2; rats

收稿日期:2023-05-13

接受日期:2023-10-11

基金项目:内蒙古自治区自然科学基金(2021BS03041);内蒙古农业大学动物科学学院青年基金(QN201924, QN202104)

*通信作者 E-mail: xuyuanqing@imau.edu.cn

机体在进行正常生理活动时,体内会产生适量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)参与免疫应答及信息提呈等过程。同时体内也存在着抑制ROS反应的机制,能够清除过量产生的ROS,维持

机体生理状态的平衡。如果机体的抗氧化功能发生紊乱,机体遭受到刺激而没有及时清除增多的 ROS,就会损伤机体的核酸、蛋白质、磷脂、固醇、脂肪等生物大分子,引起氧化应激反应^[1]。机体正常细胞有大量酶和非酶的内源性防御系统,以抵制 ROS 的侵害。例如,在动物体中存在的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)等酶类系统,将 $O_2^{\cdot -}$ 和 H_2O_2 等 ROS 转化为分子氧和水。研究发现,外源性天然抗氧化剂通过改善细胞内酶促和非酶促系统,有助于缓解由氧化应激诱导的机体损伤。大多数天然抗氧化剂是从蔬菜、水果和中草药植物中分离制得,最近从海洋生物特别是海藻中分离出的岩藻多糖也具有潜在抗氧化活性。

岩藻多糖是一种化学结构复杂的异源天然多糖混合物,主要成分有 L-岩藻糖和硫酸基团构成,还含有少量多种形式的蛋白质、单糖、糖醛酸及乙酰基等成分^[2,3]。研究表明,不同来源岩藻多糖主要活性基团-硫酸基团的含量及位点各有不同,硫酸基团主要在岩藻糖残基的 C2 位、C4 位或同时在两个位置处,偶尔也位于 C3 位,这在很大程度上影响岩藻多糖的活性及作用效果^[4,5]。近年来研究表明岩藻多糖有诸多的生物活性,如抗凝血^[6]、抗菌^[7]、抗病毒^[8]、抗肥胖^[9]、抗肿瘤^[3]、抗关节炎^[1]、神经保护^[10]、免疫调节^[11]、保护肠道屏障功能^[12]等多种生物活性。研究表明岩藻多糖在体内和体外都展现出优秀的抗氧化活性^[1,13]。此外,岩藻多糖也通过其抗氧化功能来发挥预防胃溃疡^[14]、促进伤口愈合^[15]和神经保护^[16]等生物活性。

以上结果表明,岩藻多糖是潜在天然抗氧化剂,存在将其开发为天然抗氧化剂用作食品添加剂的潜力。基于此,本试验通过腹腔内注射敌草快,建立了氧化应激大鼠模型,并饲喂岩藻多糖来研究这种天然的抗氧化剂对氧化应激的缓解作用。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

敌草快(纯度为 99.0%,批号 20606, Dr. Ehrenstorfer(德国));岩藻多糖(纯度为 95.2%, L-岩藻糖含量为 22.1%,有机 SO_4^{2-} 含量为 30.2%,批号 NF-20190303,西安天丰生物科技股份有限公司);天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase,

ALT)和总胆红素测定试剂盒购自北京乐普诊断技术股份有限公司;总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、CAT、SOD、GPx、谷胱甘肽(glutathione, GSH)测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;全自动生化分析仪(Hitachi 日立 7020 型);实时荧光定量 PCR 仪 Light Cycler 96(Roche)。

1.2 试验动物和试验设计

本试验选择 8 周龄 SPF 级 SD 雄性大鼠,体重为 207.4 ± 7.9 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司。SD 大鼠适应性饲养一周后开始试验,28 只大鼠随机分成三个处理组进行单笼饲养,分别为对照组(control, CT, $n = 10$)、氧化应激组(oxidative stress, OS, $n = 9$)和氧化应激与岩藻多糖联合处理组(oxidative stress + fucoidan, OS + Fuc, $n = 9$),试验期为 20 d。对照组和氧化应激组均提供维持日粮,参照 Kuai 等^[17]和 Wang 等^[18]的研究,氧化应激与岩藻多糖联合处理组提供添加 250 mg/kg 岩藻多糖的试验日粮。在试验的第 12 d,氧化应激组和氧化应激与岩藻多糖联合处理组均腹腔注射 10 mg/kg 的敌草快,建立氧化应激模型,对照组注射等量生理盐水^[19]。之后继续饲养至试验结束。试验期间,饲养环境温度为 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$,相对湿度为 $(55 \pm 5)\%$,光暗循环为 12 h。试验结束后记录大鼠体重,并采集血液、肝脏和脾脏组织样品,用于后续指标测定。

1.3 样品采集和指标测定

1.3.1 样品采集

试验结束后,末次禁食不禁水 12 h。称重后将大鼠用乙醚麻醉后迅速剖开胸腔,进行心脏采血,取血清于 -20°C 冰箱中保存。之后剖开腹腔,分离完整的肝脏和脾脏组织,并用生理盐水洗净 2~3 次,用滤纸吸干水后称重,用于计算肝脏和脾脏相对重量(器官重量/活体重量),之后采集肝脏和脾脏组织样品 -80°C 冻存。

1.3.2 指标测定及方法

1.3.2.1 大鼠血清中 AST、ALT 和总胆红素含量测定

全自动生化分析仪检测大鼠血清 AST 和 ALT 活性及总胆红素含量。

1.3.2.2 大鼠肝脏和脾脏组织抗氧化能力测定

取大鼠部分肝脏和脾脏组织样品,参照试剂盒说明书制作组织匀浆液,并按照商用试剂盒说明,用分光光度法测定大鼠血清、肝脏和脾脏组织中的 T-

AOC、CAT 活性、SOD 活性、GPx 活性、GSH 含量和 MDA 含量。

1.3.2.3 大鼠肝脏和脾脏组织抗氧化酶基因表达测定

根据试剂盒说明,使用商业 TRIzol 试剂盒从肝脏和脾脏组织样品中提取细胞总 RNA,之后用 Nano Drop(ND-1000)测定其浓度;使用商业 PrimeScriptTM RT 试剂盒(TaKaRa)将 RNA 反转录合成 cDNA。以

cDNA 为模板,进行实时荧光定量 PCR。PCR 反应混合物为 2.0 μ L cDNA 模板、0.4 μ L 上、下游引物、10 μ L SYBR Premix Ex TaqTM (TaKaRa)、0.4 μ L ROX 参比染料(TaKaRa)和 6.8 μ L 的双蒸水。PCR 的反应条件为:95 $^{\circ}$ C 预热变性 30 s,95 $^{\circ}$ C 变性 5 s,60 $^{\circ}$ C 退火 30 s,进行 40 个循环。以 β -actin 为内参基因,根据 2^{- $\Delta\Delta$ CT}方法计算目的基因的相对表达量,内参基因和目的基因引物序列如下表 1 所示。

表 1 RT-PCR 反应引物序列
Table 1 RT-PCR primer sequence

基因 Gene	上游引物 Forward primer(5'→3')	下游引物 Reverse primer(5'→3')
β -actin	CCTAAGGCCAACCGTGAAAA	CAGAGGCATACAGGGACAACAC
CAT	GAACATTGCCAACCCACTGAAAG	GTAGTCAGGGTGGACGTCAGTGAA
SOD1	GGCAAAGGTGGAAATGAAGAAA	CAGTTTACAGGACAGCAGATGAG
SOD2	CCAGGAGCAAAAACCAAGAAC	TGCAACTGTTTCTGTGTGGT
GPx	CTTCCCCAATCTGCCCTACTTA	CTCCTCCTCTGTCTCTCCACAC
Nrf2	TTTGAGGCAAGACATAG	TGGCAACCTGGGAGTA
HO-1	TTCACCTTCCCGAGCAT	GCCTCTTCTGTACCCTGT

1.4 数据统计分析

试验数据使用平均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 来表示。运用 Graphpad Prism 分析软件进行统计分析,使用单因素进行方差分析(ANOVA),然后采用 LSD 多项比较,以确定各组间的差异。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 岩藻多糖对大鼠体重和器官重量的影响

如图 1 所示,与对照组相比,氧化应激导致大鼠终末体重($P < 0.001$)、肝脏重量($P < 0.01$)、脾脏重量($P < 0.05$)、及肝脏相对重量($P < 0.05$)显著降低,但对脾脏相对重量无显著影响($P > 0.05$)。但饲喂岩藻多糖对大鼠终末体重、肝脏和脾脏的重量及相对重量无显著影响($P > 0.05$)。

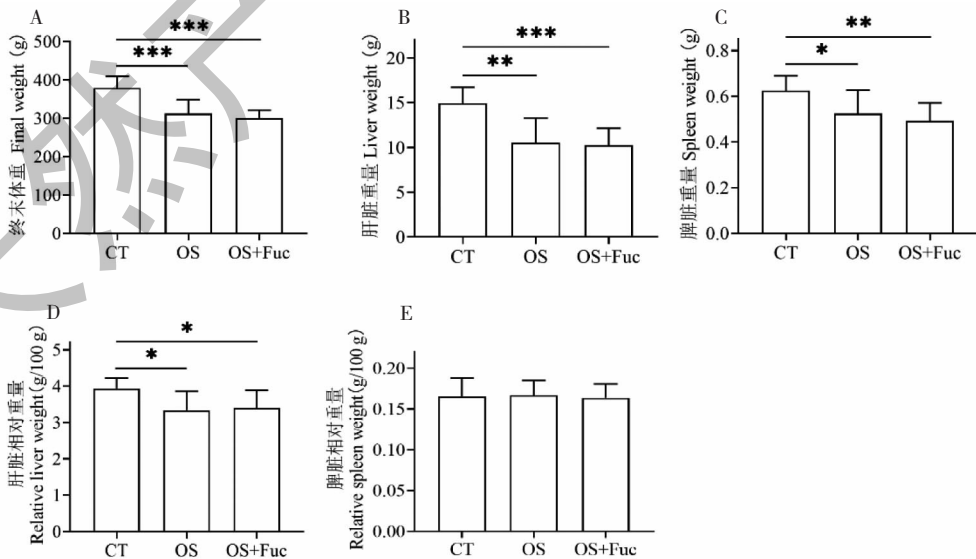


图 1 岩藻多糖对大鼠体重和器官重量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 9, 10$)

Fig. 1 Effects of fucoidan on body weight and organ weight of rats ($\bar{x} \pm s, n = 9, 10$)

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$,下同。Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, the same below.

2.2 岩藻多糖对大鼠血清 AST 和 ALT 活性及总胆红素含量的影响

如图 2 所示,与对照组相比,氧化应激增高大鼠

血清 AST($P < 0.01$) 和 ALT($P < 0.001$) 活性,以及总胆红素($P < 0.01$) 含量;饲喂岩藻多糖降低血清 AST($P < 0.05$) 活性。

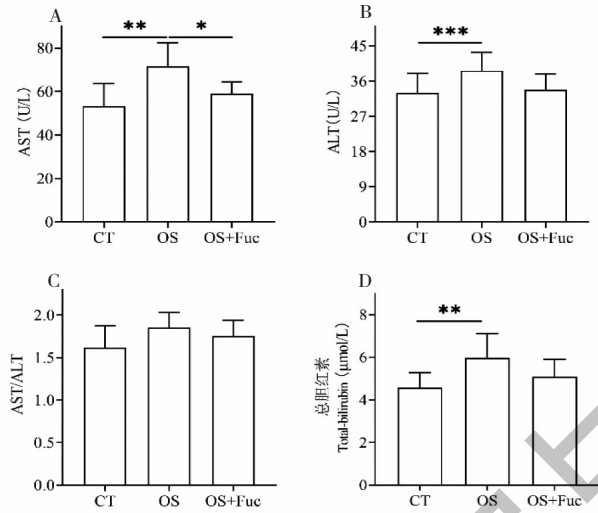


图 2 岩藻多糖对大鼠血清 AST 和 ALT 活性及总胆红素含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 9, 10$)

Fig. 2 Effects of fucoidan on serum AST and ALT activities and total bilirubin contents in rats($\bar{x} \pm s, n = 9, 10$)

2.3 岩藻多糖对氧化应激大鼠肝脏抗氧化指标的影响

由图 3 所示,与对照组相比,氧化应激导致大鼠肝脏组织中 MDA 含量显著提高($P < 0.001$),但显著降低 CAT($P < 0.05$)、SOD($P < 0.01$) 和 GPx($P <$

0.01) 活性及 GSH($P < 0.01$) 含量和 T-AOC($P < 0.05$)。与氧化应激组相比,饲喂岩藻多糖大鼠肝脏组织中 MDA 含量显著下降($P < 0.05$),但显著提高 GPx 活性($P < 0.05$)及 T-AOC($P < 0.05$)。

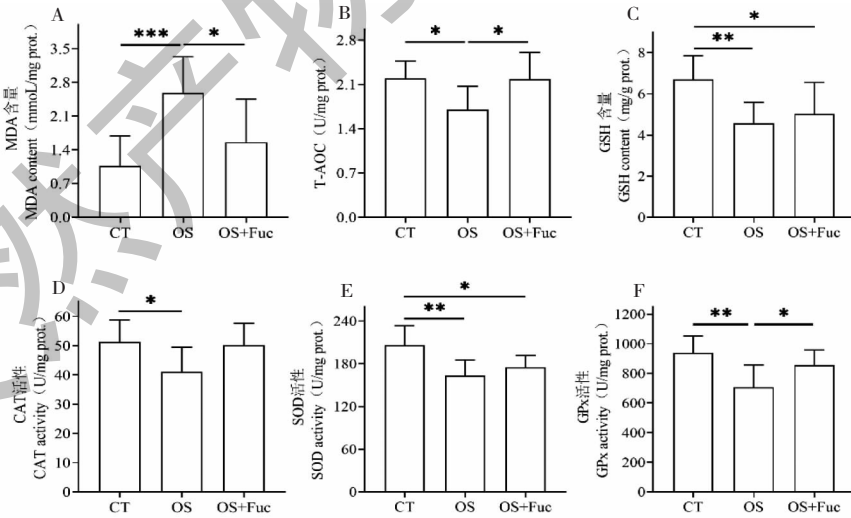


图 3 岩藻多糖对大鼠肝脏抗氧化功能的影响($\bar{x} \pm s, n = 9, 10$)

Fig. 3 Effects of fucoidan on the hepatic antioxidant function in rats($\bar{x} \pm s, n = 9, 10$)

2.4 岩藻多糖对氧化应激大鼠肝脏抗氧化酶基因表达的影响

如图 4 所示,与对照组相比,氧化应激下调肝脏

组织中 CAT($P < 0.01$)、SOD1($P < 0.05$)、SOD2($P < 0.05$)、GPx($P < 0.05$) 和 Nr2($P < 0.05$) 的基因表达;与氧化应激组相比,饲喂岩藻多糖上调肝脏组

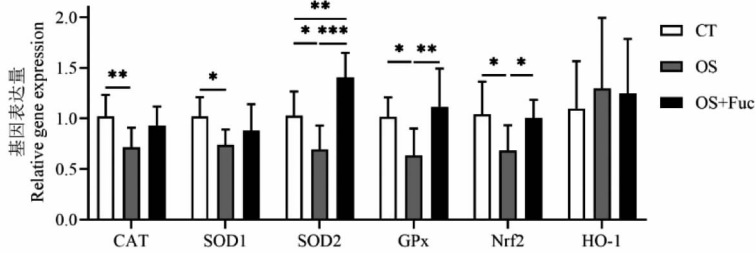


图4 岩藻多糖对大鼠肝脏抗氧化酶基因表达的影响($\bar{x} \pm s, n=9, 10$)

Fig. 4 Effects of fucoidan on hepatic gene expression of antioxidant enzymes in rats ($\bar{x} \pm s, n=9, 10$)

织中 SOD2 ($P < 0.001$)、GPx ($P < 0.01$) 和 Nrf2 ($P < 0.05$) 的基因表达。

2.5 岩藻多糖对氧化应激大鼠脾脏抗氧化指标的影响

由图5所示,与对照组相比,氧化应激导致大鼠脾脏组织中 MDA 的含量显著提高 ($P < 0.05$),但 CAT ($P < 0.05$)、SOD ($P < 0.05$) 和 GPx ($P < 0.001$) 活性及 T-AOC ($P < 0.05$) 显著降低。与氧化应激组相比,饲喂岩藻多糖显著提高大鼠脾脏组织中 SOD

($P < 0.001$) 和 GPx ($P < 0.05$) 活性及 T-AOC ($P < 0.001$)。

2.6 岩藻多糖对氧化应激大鼠脾脏抗氧化酶基因表达的影响

如图6所示,与对照组相比,氧化应激下调脾脏组织中 CAT ($P < 0.05$)、GPx ($P < 0.01$) 和 Nrf2 ($P < 0.05$) 的基因表达,饲喂岩藻多糖上调脾脏组织中 SOD2 ($P < 0.05$)、GPx ($P < 0.001$) 和 Nrf2 ($P < 0.01$) 的基因表达。

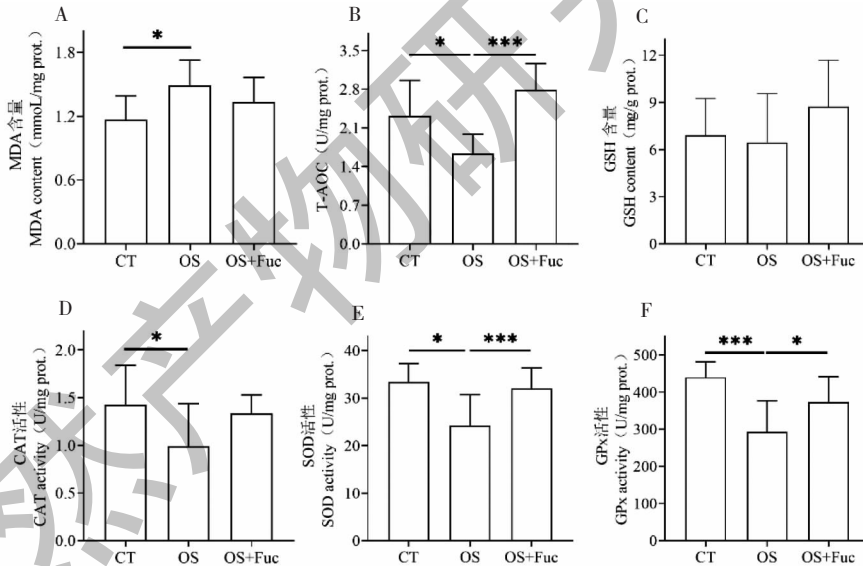


图5 岩藻多糖对大鼠脾脏抗氧化功能的影响($\bar{x} \pm s, n=9, 10$)

Fig. 5 Effects of fucoidan on the splenic antioxidant function in rats ($\bar{x} \pm s, n=9, 10$)

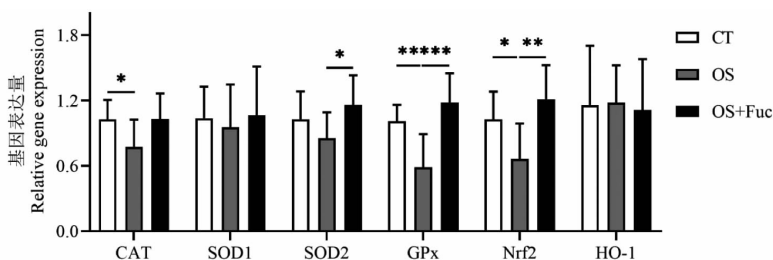


图6 岩藻多糖对大鼠脾脏抗氧化酶基因表达的影响($\bar{x} \pm s, n=9, 10$)

Fig. 6 Effects of fucoidan on splenic gene expression of antioxidant enzymes in rats ($\bar{x} \pm s, n=9, 10$)

3 讨论与结论

在正常的动物机体内,ROS 的产生和清除是一个动态的平衡过程,当内外环境发生剧烈改变或过度应激,就会导致体内 ROS 的大量积聚,易导致机体内细胞死亡或组织损伤,进而影响动物的正常生命活动。肝脏是机体重要的代谢器官,脾是重要的免疫器官,多种化学试剂和药物都会对肝脏和脾脏造成损伤,甚者可引起病理损伤^[20-23]。氧化应激在多种肝脏和脾脏疾病中普遍存在,ROS 在多种因素诱导的肝脏和脾脏的发病机制中发挥着重要作用。肝脏所合成和分泌的 ALT 和 AST 是评价肝功能的重要指标。当肝细胞受损时,产生的 ROS 会破坏细胞膜和细胞器,使肝细胞肿胀甚至坏死,导致 ALT 和 AST 从细胞释放入血液,引起血清 ALT 和 AST 活性增加。本研究发现,敌草快诱导的氧化应激提高了大鼠血清 AST 活性,同时氧化应激导致血清总胆红素含量的增高。此外,氧化应激降低大鼠的肝脏和脾脏重量,这些结果均表明氧化应激诱导肝脏和脾脏出现损伤。预防 ROS 生成和脂质过氧化是天然护肝化合物最常见的机制。近年来,从多种海藻和一些海洋无脊椎动物中分离出的岩藻多糖已被证明是潜在的 ROS 清除剂,对体内氧化应激具有一定的缓解作用,并存在通过抗氧化活性发挥肝脏和脾脏保护作用的潜在功能。研究表明岩藻多糖处理显著抑制对乙酰氨基酚 (APAP)^[18]、环磷酰胺^[21]、酒精暴露^[24]、CCl₄ 及 D-氨基半乳糖 + 脂多糖^[25] 诱导的小鼠血清 ALT 和 AST 活性的升高,对肝脏损害有较好的保护作用。与上述结果相符,本试验大鼠饲喂岩藻多糖显著降低血清 AST 活性,说明岩藻多糖可以有效缓解大鼠的肝脏损伤。

此外,氧化损伤可能导致机体抗氧化酶的过度消耗,或抑制抗氧化酶的合成和活化,加重机体氧化损伤。在本研究中,腹腔注射敌草快后,肝脏组织中 GSH 水平、CAT、SOD 和 GPx 活性显著降低,脾脏组织中 CAT、SOD 和 GPx 活性也显著降低,说明氧化应激导致机体 CAT、SOD、GPx 和 GSH 的耗竭,机体的抗氧化能力下降,细胞膜脂类过度氧化,从而使 MDA 的含量增加。而岩藻多糖预处理显著缓解了腹腔注射敌草快后 SOD 和 GPx 活性的降低,增强了机体的总抗氧化能力,降低了脂质过氧化。总之,饲喂岩藻多糖能够提高大鼠肝脏和脾脏的抗氧化能力。同样的,岩藻多糖增加了 APAP 处理小鼠肝脏组织中 GSH 水平,并提高 SOD 和 CAT 活性,从而抑

制 ROS 和 MDA 的水平^[18]。Tian 等^[21] 研究也显示岩藻多糖引起小鼠肝脏 SOD、GPx 和 CAT 活性提高,降低 MDA 水平,缓解环磷酰胺诱导的小鼠肝脏损伤。岩藻多糖也能够有效缓解 CCl₄ 及 D-氨基半乳糖 + 脂多糖诱导的肝损伤小鼠模型血清 SOD 和 GPx 活性的下降,降低 MDA 含量,抑制 ROS 造成的脂质过氧化,从而起到保护肝脏的作用^[24]。此外,岩藻多糖也降低了环孢菌素 A 诱导的大鼠肾脏组织中 NO 含量的增加,增加脾脏 GSH 含量,逆转环孢菌素 A 对 SOD 活性的抑制作用,从而改善肾脏组织损伤^[23]。这些结果表明岩藻多糖能够通过提高机体抗氧化酶活性缓解机体的脂质过氧化反应,缓解机体的氧化损伤。

动物体内存在着多种氧化应激途径,其中之一为 Keap1 (Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1)-Nrf2-ARE (抗氧化反应元件) 信号途径。当细胞未受到刺激时,抑制蛋白 Keap1 和 Nrf2 结合成复合物,而这种复合物会将 Nrf2 单独隔离在细胞质内。当机体暴露于应激原或诱导剂时,Nrf2 在其特定丝氨酸或苏氨酸处产生磷酸化反应,Nrf2 从 Keap1/Nrf2 复合物上分离,并向细胞核内迁移^[26]。随后,Nrf2 与 ARE 结合并调节一系列下游保护基因的表达,这些基因编码细胞内解毒酶,包括 HO-1、醌氧化还原酶 1 (NQO1)、谷胱甘肽 S-转移酶 (GST)、CAT、SOD 和 GPx 等大量保护性基因的转录,增加细胞对 ROS 的清除能力^[27,28]。研究发现,岩藻多糖能够通过调控 Nrf2 信号途径缓解机体氧化损伤。饲喂岩藻多糖能够上调二甲基亚硝胺诱导的大鼠肝脏组织中 Nrf2 表达的下降,上调 GST、NQO1 和 SOD 等基因的转录,从而增加肝脏和血清 SOD 和 GPx 活性,缓解机体的脂质过氧化程度^[29]。研究发现,岩藻多糖也能通过上调 Nrf2/HO-1 通路,提高 Nrf2、HO-1、谷氨酸半胱氨酸连接酶 (GCLM) 和 NQO1 蛋白水平,从而提高肝脏和肾脏中 CAT、SOD 和 GPx 活性,降低 MDA 水平,改善环磷酰胺诱导的 ICR 小鼠肝脏和肾脏损伤^[21]。也有研究显示,岩藻多糖增强肝脏组织总 Nrf2 和细胞核 Nrf2 的表达,提高 SOD 和 CAT 活性及 GSH 含量,缓解 APAP 诱导的肝脏组织中 ROS 和 MDA 水平的增加^[18]。以上结果表明,岩藻多糖的肝脏保护机制与 Nrf2 介导的氧化应激有关,岩藻多糖有效地刺激了 Nrf2 从细胞质转位到细胞核,增强机体抗氧化能力,抑制 ROS 积累。与上述观点一致,本试验中氧化应激抑制了大鼠肝脏和脾脏组织

中 Nrf2 的基因表达,并下调下游 CAT、SOD1、SOD2 和 GPx 的基因表达,饲喂岩藻多糖则上调了肝脏和脾脏组织中 Nrf2、GPx 和 SOD2 的基因表达,说明岩藻多糖通过激活 Nrf2 信号通路,激活下游抗氧化酶如 SOD 和 GPx 的基因表达,从而发挥抗氧化作用,以此来抑制机体的氧化损伤。

综上所述,岩藻多糖通过 Nrf2 途径上调大鼠肝脏和脾脏组织中抗氧化酶基因表达调节抗氧化酶活性,从而缓解大鼠的氧化应激反应。

参考文献

- Phull AR, Majid M, Hao IU, et al. *In vitro* and *in vivo* evaluation of anti-arthritis, antioxidant efficacy of fucoidan from *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 97: 468-480.
- Fitton JH, Stringer DN, Karpinić SS. Therapies from fucoidan; an update [J]. *Mar Drugs*, 2015, 13: 5920-5946.
- Rasina AB, Silchenko AS, Kusaykina MI, et al. Enzymatic transformation and anti-tumor activity of *Sargassum horneri* fucoidan [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 246: 116635.
- Li B, Lu F, Wei X, et al. Fucoidan; structure and bioactivity [J]. *Molecules*, 2008, 13: 1671-1695.
- Xu YQ, Wang ZQ, Zhang J, et al. Research advance on antioxidant function of fucoidan [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2020, 32: 1782-1793.
- Mansour MB, Balti R, Yacoubi L, et al. Primary structure and anticoagulant activity of fucoidan from the sea cucumber *Holothuria polii* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 121: 1145-1153.
- Liu M, Liu Y, Cao MJ, et al. Antibacterial activity and mechanisms of depolymerized fucoidans isolated from *Laminaria japonica* [J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 172: 294-305.
- Sun QL, Li Y, Ni LQ, et al. Structural characterization and antiviral activity of two fucoidans from the brown algae *Sargassum henslowianum* [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 229: 115487.
- Zhang X, You Y, Wang LL, et al. Anti-obesity effects of *Laminaria japonica* fucoidan in high-fat diet-fed mice vary with the gut microbiota structure [J]. *Food Funct*, 2022, 11: 6259-6270.
- Yang WN, Chen PW, Huang CY. Compositional characteristics and *in vitro* evaluations of antioxidant and neuroprotective properties of crude extracts of fucoidan prepared from compressional puffing-pretreated *Sargassum crassifolium* [J]. *Mar Drugs*, 2017, 15: 183-188.
- Chen BR, Hsu KT, Hsu WH, et al. Immunomodulation and mechanisms of fucoidan from *Cladosiphon okamuranus* ameliorates atopic dermatitis symptoms [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 189: 537-543.
- Shi H, Chang Y, Gao Y, et al. Dietary fucoidan of *Acaudina molpadioides* alters gut microbiota and mitigates intestinal mucosal injury induced by cyclophosphamide [J]. *Food Funct*, 2017, 8: 3383-3393.
- Kong YQ, Wang L, Jeon YJ, et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activities of a fucose-rich fucoidan isolated from *Saccharina japonica* [J]. *J Appl Phycol*, 2023, 35: 353-364.
- Xu X, Chang Y, Xue C, et al. Gastric protective activities of sea cucumber fucoidans with different molecular weight and chain conformations; a structure-activity relationship investigation [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66: 8615-8622.
- Park JH, Choi SH, Park SJ, et al. Promoting wound healing using low molecular weight fucoidan in a full-thickness dermal excision rat model [J]. *Mar Drugs*, 2017, 15: 112-116.
- Ju H, Liu CC, Wang H, et al. Fucoidan protecting neurons from OGD/RP injury by regulating JAK2/STAT3 signal channel [J]. *Chin High Altitude Med Biol* (中国高原医学与生物学杂志), 2022, 43: 7-17.
- Kuai YY, Jiang HH, Hong L, et al. Alleviating effects of fucoidan on oxidative stress, inflammation and apoptosis in kidney of rats [J]. *Chin J Anim Nutr* (动物营养学报), 2022, 34: 5393-5403.
- Wang YQ, Wei JG, Tu MJ, et al. Fucoidan alleviates acetaminophen-induced hepatotoxicity via oxidative stress inhibition and Nrf2 translocation [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 4050.
- Cao W, Xiao L, Liu GM, et al. Dietary arginine and *N*-carmethylglutamate supplementation enhances the antioxidant statuses of the liver and plasma against oxidative stress in rats [J]. *Food Funct*, 2016, 7: 2303-2311.
- Han M, Liu X, Liu S, et al. 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) induces hepatic stellate cell (HSC) activation and liver fibrosis in C57BL6 mouse via activating Akt and NF- κ B signaling pathways [J]. *Toxicol Lett*, 2017, 273: 10-19.
- Tian S, Jiang X, Tang Y, et al. *Laminaria japonica* fucoidan ameliorates cyclophosphamide-induced liver and kidney injury possibly by regulating Nrf2/HO-1 and TLR4/NF- κ B signaling pathways [J]. *J Sci Food Agric*, 2022, 102: 2604-2612.
- Guo H, Wang Y, Cui H, et al. Copper induces spleen damage through modulation of oxidative stress, apoptosis, DNA damage, and inflammation [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2021, 200: 669-677.