

具有抗氧化作用的维生素对高铁负荷大鼠抗氧化能力的影响*

李忠 钟才云 王颖明 莫宝庆

(南京医科大学公共卫生学院营养与食品科学系,江苏南京 210029)

摘要:为研究具有抗氧化作用的维生素(维生素C、维生素E和 β -胡萝卜素)对高铁负荷大鼠脂质过氧化的影响,将48只SD雄性大鼠随机分成4组,实验组在每日饲以高铁饲料(2.5%碳酸铁)的基础上,每日分别给予维生素C 100 mg/kg BW,维生素E 50 mg/kg BW和 β -胡萝卜素(β -C) 50 mg/kg BW,每日对照组饮双蒸水 10 mL/kg BW,实验期为28 d。实验结束时,测定血清和肝匀浆中铁、MDA、GSH含量,SOD活性和总抗氧化能力(TAOC),肝匀浆中GSH-Px活性。结果显示添加维生素C后,除肝匀浆中铁含量显著增加($P < 0.05$)外,各项指标均与对照组无显著性差异。添加维生素E后,肝匀浆中铁含量显著提高($P < 0.01$),SOD和GSH-Px活力显著下降($P < 0.01$)。添加 β -胡萝卜素后,肝匀浆中MDA含量显著降低($P < 0.01$),TAOC显著提高($P < 0.05$),GSH含量、SOD和GSH-Px活性显著降低。推测在高铁负荷模型中 β -胡萝卜素可能通过非酶促体系发挥其抗氧化作用,维生素E、维生素C均可促进铁在肝脏的蓄积,对高铁负荷动物模型的抗氧化体系无保护作用,维生素E可能还有削弱作用。

关键词:抗坏血酸;维生素E;胡萝卜素;铁超负荷;脂质过氧化作用

中图分类号:R15;R-332 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2002)01-0006-03

近年来的研究表明,人的许多食品中铁含量丰富,一部分人可能由于饮食习惯、膳食结构的改变如广泛使用铁制炊具,大量食用红肉(血红素铁)、铁强化食品、饮用柠檬酸、果汁、饮酒,增加机体铁的吸收,导致体内铁的储存过多。^[1,2]而体内铁储存过多与许多疾病有关,如心脏病、糖尿病及某些肿瘤,^[3]尤其与肝脏疾病关系密切。^[4]铁在大多数生物体中的含量比其它微量元素的总和还多,因而它被认为是生物体中非正常性氧自由基产生的主要参与者。^[5]本研究采用大鼠高铁负荷模型,以具有抗氧化作用的维生素E、维生素C和 β -胡萝卜素进行营养干预,观察并评价其抗脂质氧化的作用。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 实验动物 雄性SD大鼠,体重100~130 g,南京医科大学实验动物中心提供。

1.1.2 2.5%高铁饲料 每125 g碳酸铁(Carbonyl Iron,购自美国Sigma化学试剂公司)配以5 kg基础饲料。

1.1.3 维生素 10% β -胡萝卜素(β -Carotene)水分散剂 购自瑞士罗氏公司;维生素E(α -tocopherol)购自美国Sigma公司,以食用色拉油配制。维生素C

(抗坏血酸) 购自广州新港化工厂。以上试剂均临用时配制。

1.2 方 法

1.2.1 动物分组及饲养 SD大鼠随机分为4组,每组12只,分笼饲养。对照组每日双蒸水10 mL/kg BW灌胃;维生素C组每日以100 mg/kg BW灌胃;维生素E组和 β -胡萝卜素(β -C)组每日以50 mg/kg BW灌胃。各组大鼠自由摄取2.5%高铁饲料,自由饮水,实验周期为28 d。

1.2.2 观察指标和测定方法 动物每周称重1次,观察其体重增长和一般状况。喂饲4周,经硫喷妥钠麻醉后心脏取血,并取肝、肾、脾。检测以下指标:A. 体重及脏体比(肝脏/体重、肾脏/体重、脾/体重)。B. 血清和肝组织铁含量的测定,采用南京建成生物工程研究所提供的血清铁试剂盒。C. 抗氧化指标:采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒测定血清和肝匀浆中的超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)、总抗氧化能力(TAOC)。血脂指标:采用上海荣盛公司所提供的试剂盒测定血清中TC(总胆固醇)、TG(甘油三酯)、HDL-C(高密度脂蛋白胆固醇)。

1.3 统计学处理 所有数据均用SPSS10.0处理分析,两组之间比较用成组 t 检验。

*基金项目:江苏省教委自然科学基金资助(No. 99KJD330002)

2 结果

2.1 动物的一般情况 整个实验期间各组动物饮

食正常,活动状况良好,未见明显异常及死亡,粪便呈黑褐色。从表1可见各组间动物体重及脏/体比无显著差异($P > 0.05$)。

表1 大鼠体重变化($n = 12, \bar{x} \pm s$)

组别	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d
对照	117.3 ±11.8	124.0 ±16.0	165.6 ±23.6	201.6 ±28.0	228.9 ±27.6
维生素 C	118.5 ±14.5	123.0 ±13.5	165.5 ±19.3	215.2 ±20.4	237.3 ±27.4
维生素 E	115.8 ±16.5	126.0 ±21.6	163.4 ±33.5	191.6 ±35.1	226.9 ±34.8
-胡萝卜素	118.6 ±17.3	130.0 ±26.9	173.5 ±40.1	205.3 ±51.9	239.9 ±52.6

表2 大鼠脏/体比($n = 12, \bar{x} \pm s$)

组别	肝/100 g BW	肾/100 g BW	脾/100 g BW
对照	3.46 ±0.28	0.703 ±0.055	0.242 ±0.051
维生素 C	3.56 ±0.27	0.732 ±0.054	0.267 ±0.065
维生素 E	3.27 ±0.19	0.673 ±0.055	0.247 ±0.040
-胡萝卜素	3.57 ±0.28	0.672 ±0.052	0.292 ±0.065

2.2 血清及肝匀浆中铁含量 从表3可见各组间血清铁含量无显著性差异;肝匀浆中,维生素C组、维生素E组铁含量均显著高于对照组。

2.3 抗氧化指标

表3 血清和肝脏中铁的浓度($n = 12, \bar{x} \pm s$)

组别	血清 mmol/L	肝脏 mmol/g 湿重
对照	117.0 ±30.8	9.31 ±1.60
维生素 C	126.5 ±18.1	11.32 ±2.63 ⁽¹⁾
维生素 E	118.2 ±38.6	13.40 ±3.94 ⁽²⁾
-胡萝卜素	130.3 ±34.8	9.56 ±2.39

注:(1) $P < 0.05$; (2) $P < 0.01$ 与对照组相比。

表4 血清的抗氧化指标($n = 12, \bar{x} \pm s$)

组别	MDA nmol/mL	SOD Nu/mL	GSH mg/L	T-AOC U/mL
对照	6.93 ±0.72	466.0 ±39.7	101.40 ±8.09	11.50 ±1.55
维生素 C	7.19 ±0.56	447.4 ±41.6	101.82 ±4.56	12.94 ±1.32
维生素 E	6.23 ±0.42	446.6 ±36.2	95.59 ±14.44	11.41 ±1.30
-胡萝卜素	6.81 ±0.71	433.7 ±47.3	80.20 ±4.94 ⁽¹⁾	10.25 ±1.59

注:(1) $P < 0.01$ 与对照组相比。

表5 肝脏的抗氧化指标($n = 12, \bar{x} \pm s$)

组别	MDA nmol/mL	SOD Nu/mg prot	GSH-Px U/mg prot	GSH mg/mg prot	T-AOC U/mg prot
对照	35.06 ±7.63	17.78 ±0.90	26.30 ±1.31	26.68 ±4.78	1.68 ±0.20
维生素 C	42.09 ±10.00	16.49 ±2.50	24.92 ±2.24	27.90 ±3.24	1.64 ±0.15
维生素 E	38.89 ±6.03	12.71 ±1.91 ⁽²⁾	21.11 ±1.35 ⁽²⁾	23.65 ±3.19	1.71 ±0.24
-胡萝卜素	26.16 ±3.45 ⁽²⁾	15.20 ±2.05 ⁽²⁾	23.94 ±1.60 ⁽²⁾	22.86 ±3.11 ⁽¹⁾	1.86 ±0.19 ⁽¹⁾

注:(1) $P < 0.05$; (2) $P < 0.01$ 与对照组相比。

2.3 血脂指标 表6表明,各组大鼠的TC和HDL-C值无显著差异($P > 0.05$),TG值仅维生素E组显著低于对照组($P < 0.05$)。

表6 大鼠血脂变化($n = 12, \bar{x} \pm s$) mmol/L

组别	TC	TG	HDL
对照	1.351 ±0.212	0.725 ±0.193	0.544 ±0.136
维生素 C	1.252 ±0.279	0.714 ±0.124	0.504 ±0.085
维生素 E	1.428 ±0.311	0.575 ±0.074 ⁽¹⁾	0.514 ±0.131
-胡萝卜素	1.489 ±0.239	0.894 ±0.297	0.550 ±0.110

注:(1) $P < 0.05$ 与对照组相比

具有抗氧化作用的维生素对大鼠脂质过氧化的影响见表4和表5。由表4可以看出,各组间血清中过氧化脂质(MDA)和T-AOC无显著差异;-胡萝卜素组GSH值显著低于对照组($P < 0.01$)。表5显示,肝匀浆中MDA值仅-胡萝卜素组显著低于对照组($P < 0.01$);维生素E组和-胡萝卜素组的GSH-Px值显著低于对照组;维生素E组和-胡萝卜素组SOD值均显著低于对照组($P < 0.01$);-胡萝卜素组的GSH显著低于对照组($P < 0.05$);T-AOC值仅-胡萝卜素组较对照组显著增高($P < 0.05$)。

3 讨论

铁是一种过渡金属,摄铁过多可引起铁在肝细胞中大量沉积并激活氧自由基,引起细胞的脂质过氧化,因为肝脏是铁储存器官,可能是高铁诱导损伤的靶器官。从这个意义上讲,评价具有抗氧化作用维生素对高铁负荷大鼠脂质过氧化的影响,肝组织较血清更为有意义。

机体的抗氧化体系包括酶促和非酶促两种,许多酶是以微量元素为活性中心,如SOD, GSH-Px, CAT, GST等,非酶促反应体系中主要为维生素,氨基酸和金属蛋白质。总抗氧化能力(T-AOC)反应了

机体中各种抗氧化物质的总抗氧化能力。

本实验结果表明在高铁负荷模型中-胡萝卜素可显著降低肝匀浆中MDA水平、提高T-AOC值,但SOD、GSH-Px活性和GSH含量同时也显著降低。Whittaker的铁负荷模型中也观察到了-胡萝卜素对肝脏脂质过氧化水平的降低作用,但其并未报道-胡萝卜素对抗氧化酶活性的影响。本实验表明,-胡萝卜素可降低高铁负荷模型抗氧化酶活性,推测-胡萝卜素可能是通过非酶促体系发挥其抗氧化作用的。-胡萝卜素可显著降低血清和肝中GSH,-胡萝卜素降低抗氧化酶活性是否与GSH的减少有关,尚需进一步研究。

本实验中发现维生素E可促进铁在肝脏中的蓄积,同时肝SOD值较对照组显著下降,维生素E组GSH-Px活性也减少,提示在本实验剂量下维生素E对高铁负荷模型大鼠的抗氧化体系的功能无促进作用,可能还存在削弱作用,维生素E的这种作用可能与其促进铁的吸收有关。

本实验以雄性SD大鼠为对象建立高铁负荷模型(2.5%高铁饲料),以每日100 mg/kg BW的维生素C、50 mg/kg BW的维生素E、50 mg/kg BW的-胡萝卜素进行营养干预,结果表明,-胡萝卜素具有较

为显著的抗氧化作用,并提示可能是因为增强了非酶促体系的抗氧化作用,但具体的作用机制尚有待于进一步探讨。维生素E对高铁负荷大鼠的抗氧化能力可能有削弱作用,维生素C则对其无明显影响。如何选择维生素C、维生素E至合理的干预剂量,促进机体在铁负荷过高情况下的抗氧化体系的保护作用需进一步探讨。

参考文献:

- [1] Rebecca D C. Proposed role for a combination of citric acid and ascorbic acid in the production of dietary iron overload: A fundamental cause of disease [J]. *Biochem Mol Med*, 1995, 54:1.
- [2] Salonen J, Nyyssonen K, Korpela H, et al. Height stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction [J]. *Circulation*, 1992, 86:803.
- [3] Cutler P. Deferoxamine therapy in high-ferritin diabetes [J]. *Diabetes*, 1989, 38:1027.
- [4] Scitel H C, Malkin C, Schman A, et al. Osteoporosis, seury and siderosis in Johannesburg Bartu [J]. *Br Med J*, 1996, 1:642.
- [5] Hardy JA, Aust AE. Iron in asbestos chemistry and carcinogenicity [J]. *Chem Rev*, 1995, 95:97.

Effects of antioxidant Vitamins on antioxidant activity of iron-overloaded rats/Li Zhong, Zhong caiyun, Wang Yingming, et al. // *Chinese Journal of Food Hygiene*. - 2002, 14(1):6~8

Abstract: To study the effects of antioxidant Vitamins on antioxidant activity of iron-overloaded rats, forty-eight SD male rats were randomized into 4 groups, experimental iron overload was produced by feeding rats a diet supplemented with 2.5% (W/W) carbonyl iron. The rats in 4 groups were given water (10 mL/kg BW), Vitamin C (100 mg/kg BW), Vitamin E (50 mg/kg BW) and -carotene (50 mg/kg BW) respectively. After 28 days the activities of SOD and GSH-Px, the concentrations of iron, MDA, GSH, Total antioxidant activities (T-AOC) in serum and liver were measured. The results showed that Vitamin C group compared with control group, the concentration of iron in liver was increased ($P < 0.05$), other index were not significantly different with control group, Vitamin E group compared with control group, the concentration of iron in liver was significantly increased ($P < 0.01$), the activities of SOD and GSH-Px decreased in liver, -carotene group compared with control group, the concentration of MDA in liver was significantly decreased, T-AOC in liver was increased, the activities of SOD and GSH-Px was decreased, the concentrations of GSH in serum and liver was decreased. These results suggested that in iron-overloaded rats -carotene exerts antioxidative activity through nonenzymatic defence system; Vitamin C has no protective action to antioxidation of the iron-overloaded animals; Vitamin E may be even weakens this effect.

Authors' address: Li Zhong, Department of nutrition and food science, Nanjing medical university, Nanjing 210029 PRC.

Key Words: Ascorbic Acid; Iron Overload; Vitamin E; Beta Carotene; Lipid Peroxidation

[收稿日期:2001-04-28]