

# 大鼠补硒后血谷胱甘肽过氧化酶, 维生素E和脑脂褐质的变化

张亚非\* 吴凤兰 周羽并 张明珠  
(暨南大学医学院营养学教研室 510632 广州)

**提 要** 采用猪油(L)或玉米油(M)加胆固醇饲料诱导大鼠高脂血症模型以含硒量约为3.5mg/kg的富硒饲料Lard-Se(L-Se), Maize oil-Se作为干预因素,观察实验性高脂血症大鼠补硒后血液GSH-Px, VE和大脑脂褐质(LPF)的变化。结果表明, L-Se组的GSH-Px活性比L组升高42.86%;玉米油是否加硒的两组(M和M-Se)动物血清VE浓度均高于L, M-Se组比M组升高24.77%。但富硒的L-Se组VE水平比L组升高近73%。此外,补硒动物(L-Se和M-Se)的大脑LPF明显低于非补硒组。相关分析的结果显示,血Se,肝Se含量与GSH-Px呈明显正相关,血硒与血清VE呈正相关,肝硒与大脑LPF呈明显负相关。上述结果提示,富硒饲料对增强高脂血症大鼠体内抗氧化能力,减少脂质过氧化作用有效。

**关键词:** 富硒饲料 高脂血症 谷胱甘肽过氧化物酶 维生素E 脂褐质

膳食脂肪的成分和体内脂质过氧化的程度与心血管疾病关系密切。许多研究表明<sup>[1~3]</sup>,血清总胆固醇水平(TC)在摄入饱和脂肪酸(SFA)过量时增高,而摄入多不饱和脂肪酸(PUFA)较多时降低,但PUFA极易受到体内氧化物质的作用产生过氧化脂质(LPO)。近年来,人们逐渐认识到脂质过氧化机理在动脉粥样硬化发生发展中的作用,体内抗氧化成分的不平衡,自由基和LPO的形成对生物膜的损害是冠心病的重要因素<sup>[4,5]</sup>。本实验采用食用油中有代表性的SFA含量较高的猪油和PUFA含量较高的玉米油加胆固醇饲料诱导大鼠形成高脂血症,以具有抗氧化作用的微量元素硒(Se)

为干预因素,观察富硒饲料对不同食用油导致的高脂血症动物体内抗氧化成分和脂质过氧化产物的影响。

## 1 材 料 与 方 法

**1.1 动物和分组** 暨南大学动物所提供幼年雄性SD大鼠40只,体重 $150 \pm 20$ g,完全随机分成两组,饲猪油胆固醇饲料或玉米油胆固醇饲料,10周后形成高脂血症大鼠模型。此时,再将猪油和玉米油组随机分成两组,其中一组继续饲原高脂高胆固醇饲料,另一组饲在原饲料中加入亚硒酸钠,为富硒高脂高

\* 女,1955年出生,副教授,本课题经费由暨南大学科研基金提供经费

Table 1 Contents of experimental diets (%)

	Lard	Lard-Se	Maize oil	Maize oil-Se
Basal diet*	88.4	88.4	88.4	88.4
Lard	10	10	0	0
Maize oi	0	0	10	10
Cholesterol	1.5	1.5	1.5	1.5
Cholin	0.1	0.1	0.1	0.1
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> (ml/kg)	0	40	0	40
Se(mg/kg)	0.41	3.42	0.42	3.38

\* The basal diet contain (%): corn 40, bean cake 20, bran 16, fish meal 7, millet 6, soybean meal 8, bone meal 1.5, shell meal 1, salt 0.5, Multivitamins 15g terra mycin 20g, methionine 10g and lysine 10g were added in 50 kg basal diet

胆固醇饲料(饲料配方详见表1)。用不锈钢鼠笼分笼饲养,自由进食和饮水。饲喂10周后采用1%戊巴比妥腹腔注射麻醉,断头取血处死,实验设计见图1。

## 1.2 测定方法和试剂仪器

2.2.1 全血硒、肝硒和饲料硒含量测定: 1,3-二氨基萘荧光法<sup>[6]</sup>。质量控制包括:最低检出浓度0.002mg/L,对含硒量为0.4mg/kg的普通饲料和3.5mg/kg的富硒饲料反复测定8~10次,变异系数<10%。

1.2.2 血清维生素E(VE)测定:荧光法<sup>[7]</sup>,VE标准品为Sigma产品。

1.2.3 全血谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px):采用DTNB直接法<sup>[8]</sup>测定,还原型GSH为上海酵母厂产品。

1.2.4 大脑脂褐质含量测定:取左侧大脑额叶,按荧光法<sup>[9]</sup>测定,以1mg/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-硫酸奎宁荧光强度为1单位(U),并用Lowry法测定蛋白质含量,测定仪器为岛津RF5000荧光分光光度计和750B型分光光度计。

## 1.3 数据处理

所得全部数据输入DX<sub>386</sub>微电脑,用微软电子表格(Microsoft EXCEL5.0)和高级统计程序(SPSS)进行显著性检验。

## 2 结果

### 2.1 全血GSH-Px活力

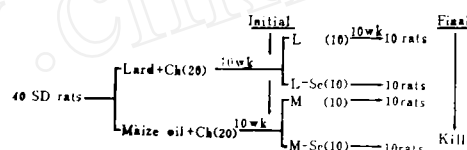


Fig1 Outline of experimental design 40 young rats were raised on a 10% fat (lard or maize oil) and 1.5% cholesterol diet for 10 weeks and the hyperlipidemia was induced. At the end of 10 wk (initial), 10 rats were still fed on lard (L) or maize oil (M) diet and another 10 rats were fed on Se-enriched lard L-Se or maize oil (M-Se) diet in 10 wk period. All the animals were killed at the end of 10 wk week (final)

富硒饲料组动物的GSH-Px活性比相应的未加硒组的分别升高42.86% (L-Se)和24.77% (M-Se),但玉米油加硒与否的大鼠的GSH-Px活性均较低(表2)。

### 2.2 血清VE含量

猪油加硒(L-Se)组的VE含量明显高于猪油组(L),玉米油加硒和未加硒两组动物的VE水平均较高,见表3。

### 2.3 大脑脂褐质(LPF)

玉米油组大鼠的LPF含量低于猪油组,补充硒后,脑脂褐质含量明显下降。富硒饲料的两组分别与不加Se的两组比较,差

Table 2 The activity of blood GSH Px in rats ( $\bar{x} \pm S$ )

	L	L-Se	M	M-Se
n	10	10	10	10
GSH-Px (U/ml)	18.43 ± 4.58	26.33 ± 4.08*** <sup>a</sup>	14.41 ± 2.54*** <sup>c</sup>	17.98 ± 2.59*** <sup>d</sup>

a = L:L-Se; b = M:M-Se; c = L:M; d = L-Se:M-Se; \* P < 0.05; \*\* P < 0.01

Table 3 Concentrations of serum VE in rats ( $\bar{x} \pm S$ )

	L	L-Se	M	M-Se
n	10	10	10	10
VE (μmol/L)	33.52 ± 21.06	57.90 ± 21.34*** <sup>a</sup>	49.67 ± 19.78*** <sup>c</sup>	52.99 ± 18.24

Footnote as table 2

别具有非常显著的意义 ( $P < 0.01$ )。各组大鼠脑脂褐质含量见表 4。

#### 2.4 大鼠全血硒和肝硒的含量 (表 5)

### 3 讨 论

脂质过氧化作用 (Lipid peroxidation) 是指在 PUFA 中发生的一系列自由基反应, 它以链式和支链反应的形式不断的形成脂质过氧化物 (LOOH)。如脂肪酸在超氧化物阴离子自由基 ( $O_2^-$ ), 羟自由基 ( $OH\cdot$ ), 过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 或单线态氧 ( $^1O_2$ ) 的作用下, 生成自由基中间产物烷自由基 L, 再与  $O_2$  作用形成烷过氧基 LOO

及 LOOH。后者的分解产物则引起细胞质膜和亚细胞器的损伤, 导致细胞功能和结构的改变。无论是分离的还是结合在脂质上的 PUF 都极易受到自由基和其它一些氧化引发剂的攻击, 生成脂质过氧化物; 相反, 单不饱和脂肪酸 (MUFA) 和 SFA 对自由基则有较强的抵抗力<sup>[4]</sup>。Reavan 等建议用 MUFA 和 SFA 代替 PUFA 可降低循环中脂蛋白被氧化的敏感性, 从而延缓 AS 发展<sup>[10]</sup>。GSH-Px 是体内抗氧化防御体系的组成之一, 与 VE, 超氧歧化酶 (SOD) 等其它抗氧化物质一起, 通过清除  $O_2$  和  $H_2O_2$ , 还原氢过氧化物来减轻和阻断脂质过氧

Table 4 Content of brain lipofuscin in rats ( $\bar{x} \pm S$ )

	L	L-Se	M	M-Se
n	10	10	10	10
LPF (U/g prot)	42.26 ± 21.02	25.52 ± 6.50*** <sup>a</sup>	37.46 ± 16.52	25.93 ± 11.91*** <sup>b</sup>

Footnote as table 2

Table 5 Contents of blood Se and liver Se in rats ( $\bar{x} \pm S$ )

	L	L-Se	M	M-Se
n	10	10	10	10
Blood Se (μmol/L)	0.343 ± 0.076	1.562 ± 0.673*** <sup>a</sup>	3.315 ± 1.573*** <sup>c</sup>	3.121 ± 1.892*** <sup>d</sup>
Liver Se (μg/g wt liver)	0.226 ± 0.053	0.431 ± 0.189*** <sup>a</sup>	0.202 ± 0.040	0.390 ± 0.101*** <sup>b</sup>

Footnote as table 2

化作用。本实验发现以SFA含量高为代表的猪油组补硒后GSH-Px活性升高达42.86%，而以PUFA含量高为代表的玉米油组加硒后升高不足25%。此外，无论玉米油组是否加硒(M和M-Se)，动物的全血GSH-Px活性均明显低于相应的猪油组(L和L-Se)。其原因可能与玉米油中PUFA含量较高，为阻断自由基对其的攻击，减少脂质过氧化物的形成，消耗了血液中的GSH-Px有关。

VE被广泛认为是自然界最有效的脂溶性抗氧化剂，VE在体内与Se有协同作用。最近，Awad等报道，缺乏VE同时缺乏Se的大鼠组织中脂质过氧化作用高于对照组5.2倍，而单纯缺VE的大鼠仅有少量增高，单纯缺Se的大鼠组织中过氧化作用则与对照组无显著区别<sup>[11]</sup>。本实验结果进一步显示出VE和Se在体内的协同作用，猪油组动物的饲料加硒后(L-Se)血清，VE明显升高比未加硒组升高近73%，说明饲料高硒有节约体内VE的作用；而VE含量在玉米油是否加硒的两组(M和M-S)之间无明显差别。其原因可能是由于玉米油富含VE，摄入大量玉米油使血清VE水平达到基本饱和。

脂褐质(LPF)是沉积在组织细胞中的脂质过氧化物，心、脑、肝和神经细胞中存在的LPF既是细胞膜衰老的诱因，也是细胞老化的结果。过氧化脂质存积于脑细胞会引起老年人神经功能不全，产生记忆及智力障碍，发生抑郁症甚至老年性痴呆<sup>[12]</sup>。本实验观察到，富硒饲料组(L-Se和M-Se)动物大脑LPF含量明显低于相应的非富硒组(L和M)，差别有非常显著的意义( $P < 0.01$ )。肝硒的浓度与LPF呈负相关关系，肝硒与LPF的负相关有显著性意义( $P < 0.05$ )。说明高硒饲料能减少高血脂大鼠脑组织中的LPF形成，对防治脑细胞衰老有益。

#### 参 考 文 献

1 Mattson FH, Grundy S H. Compar-

ison of effects of dietary saturated, fatty acids on plasma lipids and lipoprotein in man. *J Lipid Res* 1985, 26:194

- 2 Sitori CR, Tremoli E, Gatti E et al. Controlled evaluation of fat intake in the mediterranean diet; comparative activities of olive oil and corn oil on plasma lipids and platelets in high-risk patients. *Am J Clin Nutr* 1986, 44:635
- 3 Keys A, Menotti A, Karvonen MJ et al. The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am J Epidemiol* 1986, 124:903
- 4 Halliwell B, Chirico, S. Lipid peroxidation; its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993, 57(S): 715S
- 5 Corongiu F P, Poli G, Dianzan M U et al. Lipid peroxidation and molecular damage to polyunsaturated fatty acids in rat liver: recognition of two classes of hydroperoxides formed under condition in vivo. *Chem Biol Interact* 1986, 59:147
- 6 王光亚, 周瑞华, 孙淑庄 等. 生物样品、水及土壤中痕量硒的荧光测定法——发、血、尿及其它组织中痕量硒的测定. *营养学报* 1985, 7(1):39
- 7 王喜生, 殷太安, 刘继鹏 等. 血清中VE的测定法(荧光法). 人体营养状况的评价方法. 天津:科学技术出版社, 1987. 224
- 8 夏弈明, 朱莲珍. 血和组织中GSH-Px活力的测定方法: DTNB直接法. *卫生研究* 1987, 16(4):29
- 9 范盘生, 石琳. 三七总皂甙, 人参果总皂甙对老年大鼠心脑组织脂褐质及血清过氧化脂质含量的影响. *中国药理学与毒理学杂志* 1988, 2(4):257
- 10 Reaven P, Parthasarathy S, Grasse BJ et al. Feasibility of using an

- oleate-rich diet to reduce the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification in humans. *Am J Clin Nutr* 1991, 57:54
- 11 Awad JA, Morrow J D, Hill K E et al. Detection and localization of lipid peroxidation in selenium and vitamin E-deficient rats using F<sub>2</sub>Isoprostanes. *J Nutr* 1994,124:810
- 12 李立编著. 脂质过氧化与衰老 磷脂与疾病及其研究方法. 银川: 宁夏人民出版社, 1993. 182

## EFFECTS OF Se-ENRICHED DIETS ON SERUM VE, BLOOD GSH-Px AND BRAIN LIPOFUSCIN IN HYPERLIPIDEMIA RATS

Zhang Yafei, Wu Fenglan, Zhou Yubing, Zhang Mingzhu

(Department of Nutrition, Jinan University Medical Faculty, 510632 Guangzhou)

The comparative effects of lard and maize oil with or without enriched Se on serum VE, blood GSH-Px and brain lipofuscin (LPF) were investigated in hyperlipidemic rats. 40 male SD rats were divided into two groups and were raised on 10% lard+1.5% cholesterol (L) or 10% maize oil+1.5% cholesterol (M) respectively. Hyperlipidemia was successfully induced after feeding the above ration for 10 weeks. Then 10 rats continued on L or M diet and other 10 rats fed on Se-enriched diet (L-Se or M-Se, 3.5mg/kg Se) in a 10 week period. The results showed that the activity of GSH-Px in L-Se group was 42.68% higher than L group and M-Se group was 24.77% higher than M group. The concentration of serum VE in L-Se group was almost 77% higher than the lard group without Se-enriched, there were significantly higher levels of serum VE in both maize oil with or without Se-enriched (M and M-Se) groups. The contents of brain lipofuscin in Se-enriched groups (L-Se and M-Se) were decreased significantly compared with non Se-enriched groups (L and M). The data indicated that the Se-enriched diets had the effects of enhancing the antioxidation and reducing the lipid peroxidation in hyperlipidemia rats.

Key words: Se-enriched diet hyperlipidemia GSH-Px vitamin E lipofuscin

收稿日期: 1995-11-07