

④饲料中维生素E含量为500IU/kg时,可明显增强大鼠血清、细胞膜GSH-Px、SOD等抗氧化酶的活性,降低血清中脂质过氧化终产物MDA和淋巴细胞DNA氧化损伤及烷化损伤水平,提高大鼠红细胞膜流动性和淋巴细胞转化率;当饲料中维生素E的含量进一步提高达到2000IU/kg和7500IU/kg时,未见DNA氧化损伤明显降低,而血清SOD活性和淋巴细胞转化率则明显下降,GSH-Px、MDA、红细胞膜流动性等未见改善。

④含量为2000mg/kg时,可使大鼠血清SOD和GSH-Px活性明显增高,血清和膜MDA含量明显降低,红细胞膜流动性及外周血淋巴细胞增殖活性均明显增加;而当饲料中维生素C含量达到10000mg/kg时,可使大鼠血浆和肾上腺组织中的维生素C含量明显增高,但是并不能明显提高SOD活性、外周血淋巴细胞增殖活性以及改善红细胞膜流动性。

(大标题) 补充抗氧化维生素 不要越过安全线

【本期索引】

项目名称:《过量摄入VC、VE对遗传物质的稳定及其机理的研究》

项目负责人:徐宏伟

执行时间:2002.10—2004.10

资助金额:10万元人民币

关键词:维生素E;维生素C;DNA损伤

(小标题) *DNA氧化损伤影响了遗传物质的稳定性,是细胞突变和癌变的物质基础*

目前,世界人口老龄化、人们生活模式的改变以及越来越严重的环境污染,使肿瘤、心血管疾病等的发生率越来越高。大量研究表明,上述疾病的发生与DNA氧化损伤有密切关系。

生存环境中的有害物质,如污染、农药、电离辐射等因素,可诱发机体产生多种自由基,特别是具有中等反应活性的脂自由基LO·、LOO·,易穿透并扩散进入细胞核,导致多种形式的DNA氧化损伤(如碱基氧化修饰、二聚体的形成、DNA链断裂等)。而这些损伤影响了遗传物质的稳定性,是细胞突变和癌变的物质基础。

机体内存在抗氧化剂,在细胞内主要是抗氧化酶类,如过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px);此外,还有一些小分子抗氧化剂如维生素C(VC)、维生素E(VE)等抗氧化维生素,在细胞外膜起重要作用。正常情况下,上述抗氧化剂能在反应性氧自由基对DNA等生物分子损伤之前,清除氧自由基或防止氧化损伤的扩展。同时,机体内还存在特异性的DNA损伤修复酶,可以及时修复损伤的DNA。但当机体一次遭受严重损伤或持续暴露于有害因素时,机体内部的抗氧化系统不能及时清除过多的氧自由基,导致DNA氧化损伤,且DNA修复酶也被耗尽,就会影响遗传信息的传递和表达。因此,如何预防DNA氧化损伤,促进其修复,成为近来人们研究的热点问题。

(小标题) *高剂量摄入维生素C、维生素E的安全性有待全面系统的研究*

通过膳食补充一定量的抗氧化维生素如VC、VE等,已为人们所普遍关注,

并被认为是经济、有效的保护DNA免受氧化损伤的途径。在现实生活中，也有一些健康人群在日常补充VC及VE等抗氧化维生素，以期防病益寿。但是这种维生素的补充对健康人群遗传物质的稳定作用如何及其与维生素摄入剂量的关系尚缺乏一致的定论；尤其是当过量摄入时对机体是否具有潜在毒性等方面鲜有报道。

举例来说，目前建议的维生素的膳食供给量（RDA）是建立在预防缺乏性疾病的基础上的，而VE对心脏病的保护作用的摄入量远远超过RDA值，增加膳食与补充剂中VE的摄入量与降低心脏病的危险之间存在着显著的剂量-反应关系，但关于高剂量摄入VE对遗传物质的稳定及相关研究却少见报道。

再以VC为例，摄入高剂量的VC通过促氧化作用而产生的潜在危害已经受到广泛的关注。国外有学者认为，VC用量大于1克/天时，可加速胆石的形成；大于3克/天时，可中度影响丙氨酸转氨酶、乳酸脱氢酶等。在X-射线诱发DNA损伤的基础上，过多地补充VC能进一步诱发DNA损伤。青岛大学医学院营养研究所此前也做过不同剂量VC对DNA氧化损伤的体外研究，结果显示：低剂量H₂O₂诱导DNA氧化损伤时，添加0.1mmol/L及0.25mmol/LVC时，可降低DNA损伤率，添加0.5mmol/L时，则促进了DNA的损伤，表明VC的抗氧化作用及毒性作用与其剂量有密切的关系。另外，青岛大学医学院营养研究所在进行人群干预实验时，对人群给予了较大剂量的抗氧化维生素，发现SOD活性较干预前有明显降低。这一结果与吴聿等所做的高剂量VE干预使机体SOD活性下降的结果一致；但其机理尚不清楚，同时也不能排除为过量抗氧化维生素影响到SOD酶基因的表达。虽然国外一项研究发现，健康人连续14天每天补充500、1000、5000毫克VC，对8-OHdG、NK细胞毒活性、细胞凋亡及细胞周期的变化无影响，但该研究并未涉及补充VC对DNA修复、DNA诱发损伤及对H-Ras基因等方面的影响。

总之，无论是体内试验还是体外试验，在高剂量摄入VC、VE对遗传物质稳定的作用方面都缺乏全面系统的研究，还仅限于对DNA氧化产物、体内抗氧化酶的含量及自由基的检测，在基因表达与调控及与其相关的一系列的DNA修复酶活性等方面尚有欠缺。因此，联合使用分子生物学手段及营养代谢理论，通过动物试验及细胞培养，观察高剂量摄入抗氧化维生素对遗传物质稳定的作用并探讨其机理，对于指导人群正确认识并合理应用抗氧化维生素具有重要意义。

（小标题） 抗氧化维生素的摄入是有益还是有害，关键在于剂量

青岛大学医学院生化与分子生物学教研室徐宏伟副教授领导的《过量摄入VE、VC对遗传物质稳定及机理的研究》项目组于2002年10月获得达能基金的资助。课题组经过两年时间的研究，通过体内、体外试验，着重从分子水平研究了不同剂量的VC、VE对于DNA的氧化损伤及修复、基因的表达调控及细胞凋亡等方面的影响，从而了解到高剂量VE、VC对于遗传物质稳定的作用及其机理。

实验分为两大部分：“大剂量VE补充对大鼠生物大分子氧化损伤及细胞功能影响的研究”和“大剂量VC对大鼠DNA氧化损伤及细胞功能影响的研究”。

第一部分实验选用48只Wistar大鼠，按体重随机分成4组，对照组给予普通大鼠饲料（75IU/kgVE），3个干预组均喂饲添加了大剂量 α -生育酚乙酸酯的饲料，其中VE的含量分别为500 IU/kg、2000 IU/kg和7500 IU/kg，补充时间为8周。干预实验后，进行抗氧化能力分析和细胞功能分析，前者主要包括DNA氧化(H₂O₂诱导)损伤，血清超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-P_x)和丙二醛

(MDA)含量及尿中 O⁶-甲基鸟嘌呤含量分析；后者主要包括红细胞膜流动性和外周血淋巴细胞转化率测定，以观察大剂量VE对免疫细胞增殖活性的影响。

实验结果显示：补充较大剂量VE能显著增强大鼠机体抗氧化能力及细胞增殖和膜流动的功能活性。当VE补充剂量为500IU/kgVE，与对照组相比，大鼠血清VE水平提高了69.2%，SOD活性显著升高，提高了11%；血清和红细胞膜中GSH-Px活性均明显升高，分别提高了5.4%和101.5%；血清MDA水平明显降低，比对照组下降了34%。DNA损伤分析结果显示，由10 μmol/L过氧化氢诱发的DNA氧化损伤均显著降低，尿中O⁶-甲基鸟嘌呤排出量也呈现明显下降。细胞功能分析结果显示，补充VE 500IU/kgVE 8周后，大鼠红细胞膜流动性和淋巴细胞转化率均比对照组显著提高。但是，长期补充过大剂量VE可引起生物大分子损伤和细胞功能降低。当饲料中VE的剂量进一步增加为2000 IU/kg、7500 IU/kg（分别为大鼠需要量的27倍、100倍）时，与对照组相比，大鼠血清VE浓度分别提高了93.7%和117.4%，而SOD活性却分别下降了17%和18%；而且，10 μmol/L过氧化氢诱发的DNA氧化损伤明显加重。细胞功能分析结果显示：补充7500 IU/kgVE 8周后，大鼠淋巴细胞转化率比对照组显著降低，而2000 IU/kgVE组对细胞转化率没有影响，对细胞增殖功能无保护和损伤作用；红细胞膜流动性在这两个大剂量补充组也均未见改善。

第二部分实验采用健康初断乳 Wistar 大鼠，雌雄各半，按体重、性别随机分为4组，每组12—14只，进行大剂量VC的干预。各组给予合成饲料，在基础饲料的基础上分别添加不同剂量的VC（分别为0、2000、5000和10000mg/kg），因为大鼠自身可合成VC，其中一组不添加VC，作为对照组。8周以后，检测大鼠DNA自发及诱导氧化损伤的情况；并测定红细胞膜流动性，尿中O⁶-甲基鸟嘌呤的含量，血清和肾上腺中VC的含量，血清中SOD、MDA和GSH-Px及红细胞膜中的MDA和GSH-Px的水平，外周血淋巴细胞的增殖活性。

实验结果显示：随着补充剂量的增加，各干预组大鼠血浆和肾上腺组织中的VC水平明显升高，其中10000 mg/kg剂量组血浆VC含量明显高于对照组。与未添加组相比，血清SOD活性在2000 mg/kg剂量组明显升高，而10000 mg/kg剂量组SOD活性明显降低；而各组间血清GSH-Px含量无显著差别。MDA含量在2000 mg/kg剂量组含量明显下降，而10000 mg/kg剂量组MDA含量明显升高，与对照组有显著性差别。红细胞膜GSH-Px活性在2000mg/kg剂量组明显高于对照组，而10000 mg/kg剂量组的GSH-Px含量明显降低；各剂量组红细胞膜MDA值均低于对照组，其中2000mg/kg剂量组的MDA含量最低，与对照组的差别有高度统计学意义。红细胞膜流动性分析结果显示，2000mg/kg剂量组的红细胞膜流动性明显高于对照组，而10000 mg/kg剂量组红细胞膜流动性明显降低。10 μmol/L过氧化氢诱发DNA损伤时，在5000 mg/kg和10000 mg/kg剂量组，DNA损伤较对照组明显加重。各组O⁶-甲基鸟嘌呤的含量差异具有高度统计学意义；10000 mg/kg剂量组尿中O⁶-甲基鸟嘌呤排出量最高，与对照组有显著性差别。在2000 mg/kg剂量组的外周血淋巴细胞转化率高高于其他各组，与对照组和10000 mg/kg剂量组的差别均有统计学意义。

【专家出镜】徐宏伟

青岛大学医学院生化与分子生物学教研室副教授，一直从事生物化学与分子生物学教学与科研工作。承担达能基金课题《过量摄入VC、VE对遗传物质的稳

定及其机理的研究》，参与国家自然科学基金《补充 β -胡萝卜素、VE 和 VC 对老年人群抗氧化能力和细胞功能影响及机制研究》、《高含量 n-3 不饱和脂肪酸转基因小鼠动物模型的建立》。课题《复合维生素防畸作用及其对 DNA 损伤影响的研究》获青岛市科技进步二等奖。

（本报记者 刘艳芳整理）