

低硒半纯化饲料喂养动物的磷脂代谢改变

李芳生 魏奉群 白谦福 关金阳 段有金 邹黎明 赵玉华 李立金 金群

(辽宁省医学科学院基础医学研究所, 沈阳 110006)

提要 喂低Se低磷脂饲料的豚鼠血Se低、组织GSH-Px活性低、呼气烷烃增加、组织色脂质堆积, 补Se后可使这些改变逆转。Se还能维持动物软组织的磷脂水平和各磷脂成分比, 但对心肌则只有补Se同时补充磷脂时才得到改善。Se还能轻度恢复心肌细胞色素氧化酶活性, 同时补充磷脂时此酶活性乃至血浆cAMP才显著增加。

关键词 克山病; 大骨节病; 硒; 磷脂; 谷胱甘肽过氧化物酶; 细胞色素氧化酶; 环腺苷酸

大骨节病和克山病病因不明, 用亚硒酸钠防治克山病, 有预防效果, 但治疗无效^(1,2)。以后用Se防治大骨节病也收到效果⁽³⁾, Se是具有消除动物体内过氧化物作用的谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的必要成分, 起着防止脂

质过氧化, 消除毒性自由基, 保护细胞膜的效应。Se对克山病、大骨节病的预防效果可能也与此作用有关。

方 法

大骨节病患者为陕西省永寿病区经X线片临床确诊的8-12岁男女儿童。

实验动物为生后2月的幼犬及幼豚鼠(长春生物制品研究所提供)。半纯化基础饲料按文献⁽⁴⁾配方, 控制Se在0.02 ppm以下。并设补硒组及补磷脂组同时分别喂养, 各组均自由进食, 饮蒸馏水2或3个月, 室温25±2℃。

主要测试方法: 红细胞及组织的全脂萃取按文献⁽⁵⁾法, 测总磷脂⁽⁶⁾、磷脂分级(薄层色谱)、荧光色脂质⁽⁷⁾、Se⁽⁸⁾、GSH-Px⁽⁹⁾、细胞色素氧化酶⁽¹⁰⁾活性、cAMP⁽¹¹⁾和呼气烷烃⁽¹²⁾。

Tab 1. Selenium, total phospholipids (PL), sphingomyelin (SM), phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE) of erythrocytes (plasma membrane) of Kaschin-Bek's diseased and control children. $\bar{x} \pm SD$. Compared with sick children: * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

Children	n	Se (ng/10 ¹⁰ rbc)	PL	SM	PC ($\mu\text{g}/10^7$ rbc)	PE	SM/PC
Kaschin-Bek's disease	14	76 \pm 12	1.86 \pm 0.16	0.44 \pm 0.07	0.28 \pm 0.04	0.70 \pm 0.05	1.41
Control in endemic area	13	42 \pm 8**	2.48 \pm 0.17**	0.40 \pm 0.04*	0.47 \pm 0.07**	0.50 \pm 0.09*	0.76
Control in non-endemic area	16	148 \pm 5***	2.73 \pm 0.12***	0.79 \pm 0.14**	0.53 \pm 0.07**	0.80 \pm 0.07*	1.12

结果与讨论

增加组织 GSH-Px 活性, 降低脂质过氧化产物 克山病⁽¹³⁾及大骨节病患儿红细胞的 Se 及脂质组成(质膜)存在异常, 表 1 为对大骨节病患儿的分析结果(表 1)。已知构成生物膜的脂质主要是磷脂, 各种细胞膜的磷脂组成相当稳定, 但它又经常有受到毒性基作用而丧失正常功能的情况, 含 Se 的 GSH-Px 就有消除脂质过氧化的作用。我们通过人工半纯化的

Tab 2. Effect of supplement of sodium selenite (0.2 μg Se/g feed) for 2 months on the activity of tissue glutathione peroxidase (GSH-Px) and amount of lipid peroxidation products (exhaled alkanes) in guinea pigs. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$

Feed	n	Se (ng/10 ¹⁰ rbc)	GSH-Px activity (U/mg protein) RBC Myocardium	Exhaled alkanes (mm ² /g)
Basal diet	5	65 \pm 17	174 \pm 18	57.6 \pm 5.5
Control	3	136 \pm 23**	225 \pm 17**	72.3 \pm 5.5**
				80 \pm 31
				42 \pm 9

Tab 3. Effect of supplement of sodium selenite (0.2 μg Se/g feed) for 2 months on content of chromolipids in guinea pigs fed with semipurified diet deficient in Se. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.01$

Feed	n	Relative fluorescence value	
		Liver	RBC
Basal	6	45.1 \pm 8.8	6.4 \pm 3.7
Basal + Se	7	28.8 \pm 5.1***	6.5 \pm 3.1*
Control	8	14.7 \pm 3.6***	4.8 \pm 1.9*

低 Se 低磷脂的基础饲料喂养豚鼠与对照比, 可见随 Se 量增高, GSH-Px 活性增高, 同时过氧化产物——低级烷烃经呼气排出量减少(表 2), 反映动物体内脂质过氧化产物积累情况的荧光色脂质(chromolipid)的量, 在低 Se 组豚鼠肝组织中明显高于常规饲料对照组, 并在补 Se 后可以降下来, 但对红细胞的影响不大(表 3)。

保持组织(细胞膜)的磷脂水平, 维持磷脂的比例 通过低 Se 低磷脂基础饲料喂养幼犬, 其软骨磷脂总量和磷脂酰胆碱(PC)呈降低趋势(表 4), 与大骨节病患儿软骨乃至红细胞膜脂组成的改变(SM 增加, PC 降低)基本一致, 而补 Se 补磷脂组幼犬可以增高到相当水平(表 4)。喂养豚鼠也得到类似结果(表 5), 可见单纯补 Se 就增加了磷脂中 PC 水平, 这可能与 GSH-Px 消除了过氧化自由基而降低了脂质过氧化的连锁反应有关。表 5 可见鞘磷脂(SM)

Tab 4. Effect of supplement of sodium selenite (0.2 μg Se/g feed) and phospholipids (20 mg soy bean phospholipids/g feed) in diet on phospholipid composition ($\mu\text{g}/\text{mg}$ tissue and their % in total phospholipids) in the cartilage, 5 puppies/group. $\bar{x} \pm SD$, * $p > 0.05$

Feed	SM	PC	Lysolecithin
Deficient in Se & phospholipids	0.70 \pm 0.23 (55.5%)	0.33 \pm 0.17 (26.5%)	0.23 \pm 0.12 (18.0%)
Supplement with Se & phospholipids	0.78 \pm 0.29* (47.0%)	0.50 \pm 0.20* (30.0%)	0.39 \pm 0.20* (32.0%)

Tab 5. Effect of supplement of Se(0.2 $\mu\text{g/g}$ feed)for 2 months on phospholipid composition (% in total phospholipids) in cartilage of guinea pigs. $\bar{x} \pm \text{SD}$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

Feed	n	Lyso- lecithin	Sphingo- myelin	Phosphatidyl choline	Phosphatidyl ethanolamine
Deficient in Se & phospholipids	7	6.1 \pm 1.1	43.3 \pm 0.1	48.9 \pm 0.1	1.7 \pm 1.0
Supplement with Se	8	16.6 \pm 0.7***	22.3 \pm 2.0***	57.8 \pm 3.9*	3.4 \pm 2.6*
Supplement with Se & phospholipids	8	9.2 \pm 1.5*	19.6 \pm 6.0**	67.1 \pm 4.3**	4.3 \pm 3.5*
Control	8	11.7 \pm 4.0*	22.0 \pm 4.6*	56.2 \pm 8.6*	10.1 \pm 1.0**

Tab 6. Effect of supplement of Se (0.2 $\mu\text{g/g}$ of feed) for 3 months on phospholipids (PL) composition: lysolecithin (LL), sphingomyelin (SM), phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE), and cardiolipin(CL) % of guinea pig myocardium fed with semipurified feed. $\bar{x} \pm \text{SD}$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

Feed	n	LL	SM	PC	PE	CL
Deficient in Se & PL	5	12.1 \pm 4.3	16.9 \pm 2.7	43.9 \pm 8.2	15.2 \pm 7.6	9.8 \pm 6.9
Supplement with Se	6	12.2 \pm 5.3*	17.9 \pm 3.8*	44.7 \pm 6.6*	14.9 \pm 8.9*	10.3 \pm 5.5*
Supplement with Se & PL	4	7.8 \pm 1.8**	17.0 \pm 2.9*	35.2 \pm 4.8*	27.3 \pm 4.8**	12.9 \pm 2.3*
Supplement with Se, PL & its metabolic factor ^{a)}	5	7.1 \pm 1.1***	11.0 \pm 2.4***	52.0 \pm 15.5*	10.0 \pm 5.6*	19.6 \pm 10.1*
Control	4	11.2 \pm 2.5*	13.2 \pm 2.8*	45.6 \pm 10.7*	9.7 \pm 6.9*	20.4 \pm 9.1*

a) Soy bean phospholipids 20 mg, choline chloride 2 mg, methionine 0.5 mg/g of feed

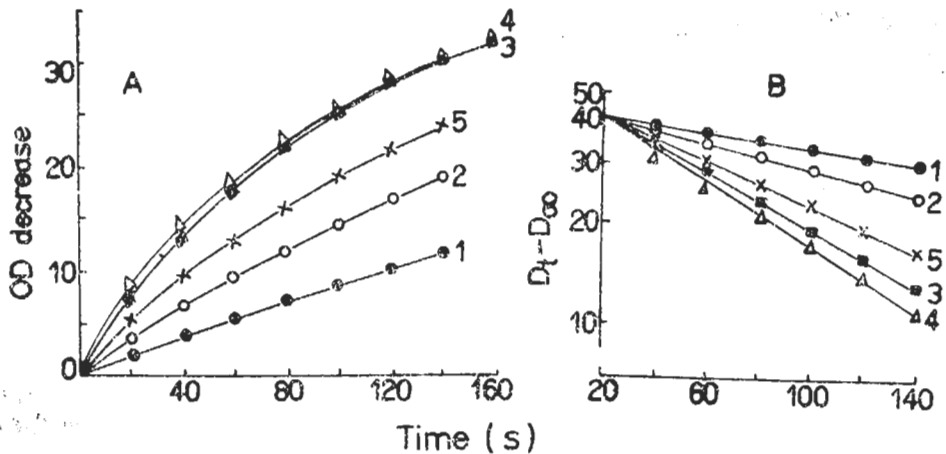


Fig 1. Dynamic curves (A) and logarithmic velocity (B) of myocardial cytochrome oxidase activity of guinea pigs fed for 3 months with 1. Basal feed (n=6); 2. Basal feed + Se (0.2 $\mu\text{g/g}$ feed, n=6); 3. Basal feed + Se(0.2 $\mu\text{g/g}$ feed) & phospholipids (20 mg/g feed, n=7); 4. Basal feed + Se (0.2 $\mu\text{g/g}$), phospholipids (20 mg/g), choline chloride (2 mg/g feed) & methionine (0.5 mg/g feed, n=8); 5. Control feed (n=8)

的降低,在一定程度上维持了各种磷脂成分的比例,而较接近于正常对照.据报告生物膜脂双层中的SM/PC比值的增加与老年化相平行⁽¹⁴⁾.大骨节病患儿的软骨、红细胞和上述低Se低磷脂饲料喂养的动物所表现出的“老年性”变化的一致性,是否可能就是大骨节病早

期老化性病变的基础.

补Se对豚鼠心肌磷脂组成也产生了某些类似作用,但不如软骨明显(表6).与喂常规饲料的对照组比较豚鼠心肌各种磷脂的比例相差较远,只有再补足磷脂合成代谢的有关因子,包括大豆磷脂、胆碱、蛋氨酸等的动物,才可

Tab 7. Effect of Se (0.2 µg/g feed) and phospholipids (20 mg/g feed) for 3 months on plasma cAMP content in guinea pigs. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$

Feed	n	pmol/ml
Basal diet	3	48 ± 34
+ Se	3	68 ± 51*
+ Se & phospholipids	6	102 ± 34*
+ Se & phospholipids & metabolic factors ^{a)}	6	105 ± 85*
Control	5	62 ± 24*

a) same as in Fig 1

见心肌心磷脂 (cardiolipin) 的增加, SM 的减少, 全部磷脂的比例接近正常对照组。可见不仅磷脂是重要的, 而内源性磷脂尤为重要。

可能轻度改善膜的功能 一定的磷脂比例对生物膜功能, 尤其界面脂⁽¹⁵⁾ 对线粒体呼吸酶、质膜受体酶等的活性非常重要。图 1 是不同饲料喂养豚鼠 3 个月后心肌细胞色素氧化酶 (线粒体标志酶) 活性的测定结果, 可见喂低 Se 低磷脂饲料组动物⁽¹⁾ 的酶活性最低, 单纯补 Se 组⁽²⁾ 虽可见活性升高, 但其速度常数 K 的 t 检验, 相差不显著 ($p > 0.05$), 只有补 Se 同时补充磷脂, 并补足有关磷脂代谢因子^(3,4), 酶活性才显著增高 ($p < 0.01$), 甚至超过常规饲料组⁽⁵⁾, 这种现象在 cAMP (质膜标志酶的腺苷酸环化酶的作用产物) 的分析中, 也是 Se 与磷脂同时补充时 cAMP 才大幅度增加 (表 7)。这些改变与心肌磷脂组成乃至动物心电图的变化规律是一致的, 即在构成心肌膜系统的脂质组成、膜结合酶活性和心功能之间存在

密切关系。可能这些也正说明 Se 有预防克山病心肌损伤的作用, 而对已损伤了的心肌无治疗效果的道理。因 Se 保护细胞膜的作用要在有相对完好的膜前提下才有所保护。事实上低 Se 的非病区与病区的非病儿同病儿之间的差别, 可能就在其细胞膜脂质及其组成。尽管都低 Se, 但膜完好的并不发病。

参 考 文 献

- 1 中国医学科学院克山病科研小分队. 中华医学杂志 1979;59:451
- 2 西安医学院克山病研究室等. 同上 1979;59:457
- 3 李崇正. 同上 1979;59:169
- 4 Okano G, Matsuzaka H, Shimojo I. *Biochim Biophys Acta* 1980;619:167
- 5 Folch J, Lees M, Stanley H. *J Biol Chem* 1957; 226:497
- 6 Takemura S, Miyazaki M. *J Biochem* 1969;65: 159
- 7 Jain SK, Hochstein P. *Arch Biochem Biophys* 1980;201:683
- 8 Wilkie JB, Young M. *Agric Food Chem* 1975; 18:944
- 9 Hafeman DG. *J Nutr* 1974;104:580
- 10 Mason TL, Poyton RO, Wharton DC, Schatz G. *J Biol Chem* 1973;248:1346
- 11 Gilman AG. *Proc Natl Acad Sci USA* 1970;67: 305
- 12 Riley CA, Cohen G. *Science* 1974;183:208
- 13 李芳生、白谦福、美金阳、殷有金、赵玉华、李立. 中华心血管病杂志 1983; 11:97
- 14 Barenholz Y, Thompson TE. *Biochim Biophys Acta* 1980;604:129
- 15 Ragen CI, Racker E. *J Biol Chem* 1973;248: 2563

Acta Pharmacologica Sinica 1984 Dec; 5 (4): 269-273

METABOLIC CHANGES OF PHOSPHOLIPIDS IN ANIMALS FED WITH LOW SELENIUM

LI Fang-sheng, WEI Feng-qun, BAI Qian-fu, GUAN Jin-yang, DUAN You-jin, ZOU Li-ming, ZHAO Yu-hua, LI Li, JIN Qun

(Inst Basic Medicine, Liaoning Academy of Medical Sciences, Shenyang 110006)

ABSTRACT Young guinea pigs and puppies were fed with semipurified diet with low Se and

phospholipids. The blood Se and tissue glutathione peroxidase activity were lowered, and

the exhaled alkane and tissue chromolipid were elevated in guinea pigs fed with above-mentioned basal diet, and a diminished changes appeared in groups with supplementary Se.

Se maintained the normal level of total phospholipid and the ratio between different composition of phospholipid in cartilage, but in the heart the ratio of phospholipids was improved only when adequate phospholipids (especially endogenous phospholipid) were given simultaneously.

The membrane linking enzyme activity was

slightly restored by Se supplement. Only when both phospholipids and Se were given sufficiently the cytochrome oxidase activity in myocardium and cAMP level in plasma increased markedly and even more than that of the control group.

KEY WORDS Keshan disease; osteoarthropathy defomans endemica; Kaschin-Beck's disease; selenium; phospholipid glutathione peroxidase; cytochrome oxidase; cAMP

* * * * *