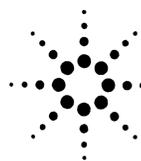


韩枫, 刘轶群, 王琴, 等. 不同丝氨酸摄入水平对大鼠血液中微量元素含量的影响[J]. 环境化学, 2019, 38(4): 957-960.

HAN Feng, LIU Yiqun, WANG Qin, et al. Effects on chromium and selenium in blood of rats to different serine intakes[J]. Environmental Chemistry, 2019, 38(4): 957-960.



安捷伦科技 (Agilent)

不同丝氨酸摄入水平对大鼠血液中微量元素含量的影响*

韩枫 刘轶群 王琴 黄振武**

(中国疾病预防控制中心营养与健康所, 北京, 100050)

摘要 本文研究了丝氨酸摄入水平对大鼠血液中铬和硒水平的影响。孕期 wistar 大鼠适应性饲养后, 按体重随机分为 4 组。对照组和干预 A 组给予正常基础饲料; 干预 B 组和 C 组给予缺丝氨酸和甘氨酸饲料; 干预 A 组和 C 组在分组后腹腔注射 PHGDH 抑制剂。孕鼠生产后进行腹主动脉取血后处死, 测定并比较各组血液中 Cr 和 Se 的含量。从对照组孕鼠产下的健康仔鼠中随机选取 10 只仔鼠, 继续给予正常基础饲料, 作为对照组。从 D 组孕鼠产下的健康仔鼠中随机选取 40 只, 并随机分为 4 组 (SD 组、SD+L 组、SD+M 组、SD+H 组), 每组 10 只。SD+L 组、SD+M 组、SD+H 组继续给予缺丝氨酸和甘氨酸饲料, 饲养一个月后, 这三组开始每日灌胃丝氨酸, 剂量分别为: 0.76 mg/100 g bw、1.52 mg/100 g bw 和 3.04 mg/100 g bw。丝氨酸补充两个月后, 对仔鼠进行腹主动脉取血后处死, 测定并比较各组血液中 Cr 和 Se 的含量。结果: 各组孕鼠之间的血 Cr 水平无统计学差异 ($P > 0.05$)。与对照组比较, 干预 B 组和干预 C 组孕鼠血硒含量显著升高。与干预 A 组的孕鼠比较, 干预 C 组的孕鼠血硒含量同样显著升高。血液中 Cr 水平与 Se 水平呈正相关 ($P < 0.05$)。对于子代大鼠, 与对照组比较, 各干预组的血铬水平并无显著变化。而与给予缺丝氨酸和甘氨酸饲料的仔鼠相比, 进行中、高水平丝氨酸补充的各组血铬水平均有不同程度的显著增长 ($P < 0.05$)。与对照组相比, 缺丝氨酸和甘氨酸饲料组仔鼠的血硒水平明显下降 ($P < 0.05$); SD+L 组仔鼠的血硒水平无显著增加 ($P > 0.05$), 而 SD+M 和 SD+H 组仔鼠的血硒水平则显著增加 ($P < 0.05$)。与 SD 组相比, 随着丝氨酸补充剂量水平的上升, 血液中 Se 含量随之显著上升, 呈正相关 ($P < 0.05$)。进行丝氨酸补充的各组之间, 低剂量组与高剂量组存在显著差异 ($P < 0.05$), 其他组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。仔鼠血液中 Cr 水平与 Se 含量无显著相关性 ($P > 0.05$)。丝氨酸的摄入水平可以不同程度影响体内铬和硒的含量。

关键词 丝氨酸, 孕鼠, 仔鼠, 硒, 铬。

Effects on chromium and selenium in blood of rats to different serine intakes

HAN Feng LIU Yiqun WANG Qin HUANG Zhenwu**

(National Institute for Nutrition and Health, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing, 100050, China)

Abstract: The effects on chromium (Cr) and selenium (Se) in blood of rats to different serine intakes was studied. After adapting for 5 days, pregnant rats were randomly divided into 4 groups: control group, A, B and C group. Basic feed was given in control group and A group, meanwhile serine and glycine deficiency feed was given in B and C group. PHGDH inhibitor was intraperitoneal injected into A and C group. The chromium and selenium contents in pregnant rats were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Offspring rats from control group pregnant rats were collected as control group. Offspring rats of C group were divided into 4 groups: SD

* 中国疾病预防控制中心营养与健康所青年基金 (NINH20160010) 资助。

Supported by the Science Foundation for Young Scientists of National Institute for Nutrition and Health, Chinese Center for Disease Control and Prevention (NINH20160010).

** 通讯联系人: Tel: 01066237224, E-mail: huangzw@ninh.chinaedc.cn

Corresponding author, Tel: 01066237224, E-mail: huangzw@ninh.chinaedc.cn

group, SD+L group, SD+M group and SD+H group. Control group rats were feeded with basic food. SD group, SD+L group, SD+M group and SD+H group were given serine and glycine deficiency feed. After 1 months, 0.76 mg/100 g bw, 1.52 mg/100 g bw and 3.04 mg/100 g bw serine were given to SD+L group, SD+M group and SD+H group, respectively. The chromium and selenium contents in offspring rats were determined by ICP-MS. There is no significant difference for the Cr contents between different groups. As the level of serine and glycine intakes decreased, the levels of Se in blood were increased. A positive relationship between blood Se and Cr content was found in pregnant rats, and not observed in offspring rats. For offspring rats, as the serine intakes increased, the Se and Cr content were increased. Conclusion the blood Cr and Se level were effected by the serine intakes.

Keywords: serine, pregnant rats, offspring rat, selenium, chromium.

L-丝氨酸是人类非必须氨基酸,广泛参与人体内细胞、组织结构和功能蛋白的合成。机体内的丝氨酸来源包括4个方面:膳食摄入,如富含丝氨酸的鱼类、大豆制品等;机体大分子(包括蛋白质和磷脂)的降解;糖代谢旁路—丝氨酸从头合成途径的合成;体内甘氨酸的转化^[1-2]。

铬(chromium, Cr)是人体所需要的微量元素之一。很早人们就发现, Cr³⁺可以通过形成一种葡萄糖耐量因子(Glucose Tolerance Factor, GTF)的方式,来协同胰岛素发挥其生理作用。硒(selenium, Se)是动物和人体所必需的微量元素,在体内以硒蛋白的活性形式发挥效用。理论上,机体内所有硒蛋白合成之前,硒化合物均需要先转化合成为 SeCys-tRNA^{[Ser]^{Sec}},借助遗传密码子UGA才可掺入进入硒蛋白的肽链,可以说,细胞内合成硒蛋白时,必须丝氨酸的参与^[3]。在体外培养的肝癌细胞(HepG2)实验研究中,发现丝氨酸能促进肝细胞有效合成谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px, GPX)和硒蛋白P,呈明显的剂量效应关系^[4]。同时还有研究表明硒蛋白酶(如硫氧还蛋白还原酶1, TR1)也参与了细胞内Cr的转化过程,且被认为处于次要地位^[5]。

本文研究了丝氨酸摄入水平对wistar大鼠血液中Se和Cr含量影响及影响程度,以及补充丝氨酸摄入后,Se和Cr在血液中含量的变化。

1 实验部分(Experimental section)

1.1 动物、饲料及试剂

基础饲料、缺丝氨酸与甘氨酸饲料购自北京华阜康生物科技股份有限公司(许可证号SCXK(京)2014-0008)。48只孕鼠(180—220 g)购自于维通利华(许可证号SYXK(京)2017-0022)。

PHGDH抑制剂(Med Chem Express公司,美国);L-丝氨酸(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);硝酸(BVIII级,北京化学试剂研究所);双氧水(优级纯, Sigma);实验用水为Millipore纯水制备的超纯水(电阻率18.2 MΩ·cm);高纯氩气(纯度大于99.99%)。安捷伦Initial Calibration Verification Standard多元素混合标准贮备溶液(Part# 5183-4682)。根据实验需要使用5%硝酸逐级稀释,配制0.05、0.1、0.5、1、2、5、10 mg·L⁻¹的多元素混合标准工作溶液系列。

1.2 孕鼠分组及给药方式

将48只孕鼠适应性饲养5 d后随机分为4组,每组12只。对照组给予正常基础饲料;干预A组给予正常基础饲料,并且在分组后腹腔注射PHGDH抑制剂(30 mg/100 g bw);干预B组给予缺丝氨酸和甘氨酸饲料;干预C组给予缺丝氨酸和甘氨酸饲料,并且在分组后腹腔注射PHGDH抑制剂(30 mg/100 g bw)。孕鼠生产后进行腹主动脉取血后处死,测定并比较各组血液中Cr和Se的含量。

从对照组孕鼠产下的健康仔鼠中随机选取10只仔鼠,继续给予正常基础饲料,作为对照组。从D组孕鼠产下的健康仔鼠中随机选取40只,并随机分为4组(SD组、SD+L组、SD+M组、SD+H组),每组10只。SD+L组、SD+M组、SD+H组继续给予缺丝氨酸和甘氨酸饲料。饲养1个月后,SD+L组开始每日灌胃0.76 mg/100 g bw(低剂量)的丝氨酸,SD+M组开始每日灌胃1.52 mg/100 g bw(中剂量)的丝氨酸,SD+H组开始每日灌胃3.04 mg/100 g bw(高剂量)的丝氨酸。丝氨酸补充2个月后,对仔鼠进行腹主动脉取血后处死,测定并比较各组血液中Cr和Se的含量。

1.3 全血中Cr和Se含量的测定

用分析天平准确量取1 g样品于聚四氟乙烯微波消解罐中,加入2 mL硝酸,在175 °C下微波消解20 min,冷却后用超纯水定容至10 mL。用ICP-MS测定。相同条件下,将试剂空白、样品溶液分别引入仪器进行测定。根据回归方程计算出样品中Cr和Se的浓度。

1.4 主要仪器

Agilent 8800电感耦合等离子体质谱仪(Agilent公司,美国);Milli-Q超纯水系统(Millipore, Element);ME204电子分析天平(METTLER TOLEDO公司,德国);MARS 6微波消解仪(CEM公司,美国)。

ICP-MS 工作条件:功率:1550 W;雾化器:玻璃同心雾化器;蠕动泵速率:0.5 r·min⁻¹;载气流量:0.77 L·min⁻¹;补偿气流量:0.4 L·min⁻¹;采样深度:8 mm;氦气碰撞反应池模式,流量:5 mL·min⁻¹;同位素:⁷⁵As(积分时间 1.0 s)和³⁵Cl(积分时间 0.1 s).

1.5 数据处理及统计学分析

采用 SPSS 17.0 录入数据并进行统计学分析,计算结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 Kolmogorov-Smirnov 方法检验各指标是否符合正态分布,符合正态分布则采用单因素方差分析方法(One-way)进行显著性检验,两两比较采用 LSD 法.两独立样本采用独立样本 t 检验.将 $P < 0.05$ 界定为差异有统计学意义.

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 各组孕鼠血液中的 Cr 和 Se 的水平

各组孕鼠血液中的 Cr 和 Se 的水平如表 1.结果显示,各组之间的血 Cr 水平无统计学差异($P > 0.05$).而对于血液中 Se 的含量水平,与对照组比较,用缺丝氨酸和甘氨酸饲料喂养的孕鼠血硒含量显著升高,缺丝氨酸和甘氨酸饲料喂养且腹腔注射 PHGDH 抑制剂的孕鼠血硒含量同样显著升高.与正常饲料喂养且腹腔注射 PHGDH 抑制剂的孕鼠比较,缺丝氨酸和甘氨酸饲料喂养且腹腔注射 PHGDH 抑制剂的孕鼠血硒含量同样显著升高.研究结果表明,随着丝氨酸摄入水平降低,血铬水平无显著变化,而血硒水平却存在明显上升的趋势.

对孕鼠血液中 Cr 和 Se 水平进行回归分析,血液中 Cr 水平与 Se 水平呈正相关($P < 0.05$).

表 1 各组孕鼠血液中的 Cr 和 Se 的水平($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \pm \text{SD}$, $n = 12$)
Table 1 Levels of Cr and Se in blood of pregnant rats in different groups ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \pm \text{SD}$)

	对照组	干预 A 组	干预 B 组	干预 C 组
Cr	1.50±0.45	1.53±0.53	1.70±0.69	1.80±0.35
Se	406.69±21.37 ^b	457.12±35.34 ^b	532.93±146.64 ^a	595.23±83.74 ^a

注:字母 a, b 表示各组间差异有统计学意义. Note: Letters a and b indicate a statistically significant difference between groups.

2.2 各组仔鼠血液中的 Cr 和 Se 的水平

各组仔鼠血液中的 Cr 和 Se 的水平如表 2 所示.对于血液中的 Cr 水平,与对照组比较,各干预组的血铬水平并无显著变化.而与给予缺丝氨酸和甘氨酸饲料的仔鼠相比,进行中、高水平丝氨酸补充的各组血铬水平均有不同程度的显著增长($P < 0.05$),低丝氨酸补充组的血铬水平无明显增加($P > 0.05$).进行丝氨酸补充的各组仔鼠之间血铬含量无统计学差异($P > 0.05$).

而对于血液中的 Se 水平,与对照组相比,缺丝氨酸和甘氨酸饲料组仔鼠的血硒水平明显下降($P < 0.05$);缺丝氨酸和甘氨酸饲料喂养 1 个月后补充低剂量丝氨酸 2 个月,仔鼠的血硒水平无显著增加,而补充中、高剂量丝氨酸 2 个月,仔鼠的血硒水平则显著增加.与缺丝氨酸和甘氨酸饲料组相比,随着丝氨酸补充剂量的上升,血液中 Se 水平随之显著上升,呈正相关($P < 0.05$).进行丝氨酸补充的各组之间,低剂量组与高剂量组存在显著差异($P < 0.05$),其他组之间无显著差异($P > 0.05$).

对仔鼠血液中 Cr 和 Se 水平进行回归分析,血液中 Cr 水平与 Se 水平无显著相关性($P > 0.05$).

表 2 各组仔鼠血液中的 Cr 和 Se 的水平($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \pm \text{SD}$, $n = 10$)
Table 2 The levels of Cr and Se in blood of offspring rats in different groups ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \pm \text{SD}$)

	对照组	SD 组	SD+L 组	SD+M 组	SD+H 组
Cr	1.45±0.26 ^{ab}	1.33±0.08 ^b	1.43±0.12 ^{ab}	1.53±0.24 ^a	1.49±0.20 ^a
Se	443.97±14.55 ^b	416.17±37.72 ^c	445.04±25.63 ^{bd}	470.04±20.31 ^{ad}	491.19±22.66 ^a

注:字母 a, b, c 表示各组间差异有统计学意义. Note: Letters a, b and c indicate a statistically significant difference between groups.

对于孕鼠,丝氨酸摄入水平对血铬水平并无显著影响,但是血硒水平会随丝氨酸摄入水平的下降而上升.这个趋势并不符合先前研究中所揭示的丝氨酸会促进细胞硒蛋白合成^[4].而孕鼠血液中 Se 水平与 Cr 水平是成正相关的关系($P < 0.05$),这可能是由于硒蛋白酶(如硫氧还蛋白还原酶 1, TR1)参与了细胞内 Cr 的转化过程^[5],进而影响体内 Cr 的含量具体的影响途径尚需继续深入的研究.

对于仔鼠,丝氨酸摄入水平会影响大鼠血液中的 Se 和 Cr 含量,缺丝氨酸后血液中 Se 和 Cr 含量有所下降,补充不同剂量的丝氨酸后,Se 和 Cr 含量均有不同程度的回升.如前所述,之前已有研究表明丝氨酸能促进肝细胞有效合成 GPX 和硒蛋白 P,呈明显的剂量效应关系^[4],说明丝氨酸摄入水平会对体内 Se 含量造成影响.同时还有研究表明硒蛋白酶(如硫氧还蛋白还原酶 1, TR1)也参与了细胞内 Cr 的转化过程,且被认为处于次要地位^[5],这说明丝氨酸的摄入水平可能通过

影响体内 Se 含量进而对 Cr 含量造成影响。

丝氨酸与 Se 及 Cr 之间的剂量效应关系及影响途径,尚需在之后的研究中继续探究。

3 结论(Conclusion)

(1) 各组孕鼠之间的血 Cr 水平无统计学差异($P>0.05$).与对照组比较,干预 B 组和干预 C 组孕鼠血硒含量显著升高.与干预 A 组的孕鼠比较,干预 C 组的孕鼠血硒含量同样显著升高.血液中 Cr 水平与 Se 水平呈正相关($P<0.05$).

(2) 对于子代大鼠,与对照组比较,各干预组的血铬水平并无显著变化.而与给予缺丝氨酸和甘氨酸饲料的仔鼠相比,进行中、高水平丝氨酸补充的各组血铬水平均有不同程度的显著增长($P<0.05$).与对照组相比,缺丝氨酸和甘氨酸饲料组仔鼠的血硒水平明显下降($P<0.05$);SD+L 组仔鼠的血硒水平无显著增加($P>0.05$),而 SD+M 和 SD+H 组仔鼠的血硒水平则显著增加($P<0.05$).与 SD 组相比,随着丝氨酸补充剂量水平的上升,血液中 Se 含量随之显著上升,呈正相关($P<0.05$).进行丝氨酸补充的各组之间,低剂量组与高剂量组存在显著差异($P<0.05$),其他组之间无显著差异($P>0.05$).仔鼠血液中 Cr 水平与 Se 含量无显著相关性($P>0.05$).丝氨酸的摄入水平可以不同程度影响体内铬和硒的含量。

参考文献(References)

- [1] HEIDEN M G V, THOMPSON C B. Understanding the warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation [J]. Science, 2009, 324(5930):1029.
- [2] FEDIRKO V, LUKANOVA A, BAMIA C, et al. Glycemic index, glycemic load, dietary carbohydrate, and dietary fiber intake and risk of liver and biliary tract cancers in Western Europeans [J]. Annals of Oncology, 2013, 24(2): 543-553.
- [3] KRYUKOV G V, CASTELLANO S, NOVOSELOV S V, et al. Characterization of mammalian selenoproteomes [J]. Science, 2003, 300: 1439-1443.
- [4] WANG Q, SUN LC, LIU YQ, et al. The Synergistic effect of serine with selenocompounds on the expression of SelP and GPx in HepG2 Cells [J]. Biol Trace Elem Res, 2016, 173(2):291-296.
- [5] LI X, KRUMHOLZ L R. Thioredoxin is involved in U(VI) and Cr(VI) reduction in desulfovibrio desulfuricans G20 [J]. J Bacteriol, 2009, 191(15):4924-4933.