

# 维生素 E 对水生动物抗氧化作用的研究进展

## Progress of the studies on the antioxidation of vitamin-E in the body of aquatic animals

肖涛<sup>1</sup>, 王维娜<sup>2</sup>, 王安利<sup>2</sup>, 闫立新<sup>1</sup>

(1. 广州市饲料研究所, 广东 广州 510540; 2. 华南师范大学 生命科学学院, 广东 广州 510631)

中图分类号: Q566; Q179.2; Q505 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096 (2007) 05-0076-04

对于水生动物来说, 氧化应激是机体经常遇到的一种应激反应, 若体内氧化系统和抗氧化系统的动态平衡失调, 氧自由基则大量产生, 从而使机体处于过氧化状态, 并导致脂质过氧化等一系列损伤。而水生动物体内往往有大量的不饱和脂肪酸可以保持细胞膜的流动性, 尤其是在低温状态时, 这就使得维生素 E (VE) 发挥了重大作用。鱼体对于饲料中高不饱和脂肪酸的需要同时也增加了鱼体对于过氧化应激的敏感性以及对 VE 的需要。Huang 等<sup>[1]</sup>研究发现, 在饲料中大量添加了 n-3 高不饱和脂肪酸 (HUFA) 饲料的杂交罗非鱼, 其肌肉和内质网 (SR) 内的 n-3 HUFA 浓度要高于饲喂低浓度的此类脂肪酸的鱼体。与饲喂更少的不饱和脂肪酸饲料的鱼体相比, 饲料里大量添加这种脂肪酸会导致生物膜上发生更多的脂质过氧化反应。因此 VE 作为抗氧化剂的功能就体现出来了。

VE 对机体的保护作用是通过 VE 作为电子供体存在于细胞表面, 拦截具有强氧化能力的自由基, 使细胞不被氧化而达到对细胞的保护作用。VE 作为水生动物体内和饲料里主要的抗氧化剂, 在脂质抗氧化方面发挥了十分重要的作用<sup>[2]</sup>。VE 是一种脂溶性抗氧化剂, 它可以保护生物膜和脂蛋白不被氧化, 从而延长细胞寿命, 而且它已被证明可以作为大部分鱼的营养因子。VE 在自然状态下有几种存在形式, 而其中  $\alpha$ -生育酚具有最高的 VE 活性。而 DL- $\alpha$ -生育酚醋酸盐 (DL- $\alpha$ -TOA) 作为  $\alpha$ -生育酚的一种稳定形式, 它在动物饲料中往往是最常用的添加剂形式。

### 1 VE 对水生动物的抗氧化作用

He 和 Lawrence<sup>[3]</sup>研究发现在虾饲料中含有多于

100 mg/kg 的 VE 能够减少抗坏血酸催化的肌肉和胰腺里的线粒体与微粒体的脂质过氧化反应 (LPX)。他们还论证了虾体内缺乏 VE 会使得胰腺和肌肉里线粒体和微粒体片断更易于受到由于抗坏血酸催化的 LPX 的损害, 而这个现象可以通过饲料中添加 VE 来得到保护。Dandapat 等<sup>[4]</sup>研究发现在罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 的鳃和胰腺里添加 VE 无论是对体内还是体外脂质过氧化反应均有明显的抑制作用。Gatlin 等<sup>[5]</sup>研究发现饲料中缺乏 VE 的鱼肝里微粒体更容易受到 LPX 的威胁。同样, 缺乏 VE 对于海峡鲑红血球膜会造成相同的影响; VE 缺乏也会导致鱼体肝内微粒体内的 LPX 发生频率升高。Cay 和 King<sup>[6]</sup>研究发现生物系统里的 VE 能够有效清除超氧阴离子。VE 作为一种脂溶性的抗氧化剂, 它可以通过多种途径来影响脂质过氧化反应。例如影响组织里的抗氧化酶活性、非酶的抗氧化剂含量以及一些生化指标等等。

### 2 VE 对抗氧化酶活性的影响

VE 不仅本身具有抗氧化的能力, 而且可以诱导机

收稿日期: 2004-09-28; 修回日期: 2005-03-15

基金项目: 教育部科学技术研究重点项目 (204105); 广东省自然科学基金资助项目 (04010380)

作者简介: 肖涛 (1981-), 男, 湖北当阳人, 硕士研究生, 研究方向: 水生动物营养与免疫, E-mail: myfamilyok@126.com; 王维娜, 通讯作者, 教授, 博士, 电话: 020-33590517,

E-mail: weina63@yahoo.com.cn



体提高超氧化物歧化酶(SOD)的作用<sup>[7]</sup>,而SOD是氧自由基的主要清除剂,它能促使氧自由基的分解,并使自由基的形成和清除处于动态平衡,从而消除自由基对机体的危害<sup>[8]</sup>。且蔡中华等<sup>[7]</sup>的报道指出了VE对鱼体肝脏和脾脏的保护明显高于肾脏,这与VE是一种重要的营养因子有关,作为一种脂溶性维生素,维生素E有明显保护肝脏不被氧化的能力,同时它还有较强的诱导肝脏产生SOD的能力,以便更好地保护肝脏不被氧化。脾脏是鱼体的造血器官,也是鱼体清除衰老红细胞的主要场所,VE也有较强保护脾脏的能力。

高浓度的VE引起了SOD的活性而把超氧阴离子转化成为过氧化氢和氧并因此减弱了自由基直接的毒害效应,同时阻止它与金属离子结合而避免了羟基自由基的大量产生。鱼体的SOD是在那些遭受氧化应激的器官里产生的。

Mourente等<sup>[9]</sup>报道,在30d内对海鲈(*Sparus aurata*)投喂氧化了的鱼油使得过氧化氢酶和SOD酶活性均得到升高,而投喂VE可以使得两种酶活有所降低,说明VE有效地抑制了脂质的过氧化,以至于不用耗费过多的抗氧化酶;而在60d内的实验中,氧化鱼油已经对酶活性没有明显影响了,而VE的添加仍然降低过氧化氢酶活性,虽然此时开始增强SOD活性,造成这个现象的原因还不太清楚。

Dandapat等<sup>[4]</sup>发现对于罗氏沼虾的抗氧化酶来说,随着VE的添加,各个组织里SOD和过氧化氢酶(CAT)活性有很大的差异。尽管鳃里无论SOD还是CAT的活性都随着VE的添加而显著降低,然而在肝胰腺里,当VE添加到400和600mg/kg时,仅仅只有SOD活性有显著降低。超氧阴离子的产量和可用度随着VE的添加而降低,这可能是SOD活性降低的一个原因。Palace等<sup>[10]</sup>研究证实了在虹鳟饲料缺乏 $\alpha$ -生育酚时,其组织里SOD活性有所升高,也就是说,低浓度的VE能够增强SOD的活性。因此,饲料里面VE浓度的不断升高使得组织里VE浓度也随着升高,这样可以补偿SOD的一些功能。

Dandapat等<sup>[4]</sup>发现了罗氏沼虾鳃里CAT活性随着VE添加而降低,而谷胱甘肽还原酶(GR)的活性在添加了VE后随着谷胱甘肽(GSH)浓度的增高而降低,而谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活性没有发生什么变化。相反地,同样的对虾饲料处理方法肝胰腺里GPX和GSH浓度增高,而GR就没有什么变化。

Catignani<sup>[11]</sup>报道VE缺乏症将导致GR活性升高。

从VE对过氧化氢酶的影响实验可以看出,VE对过氧化氢酶影响不大,这可能与VE是脂溶性维生素有关,而对分解过氧化氢的过氧化氢酶的影响较小<sup>[7]</sup>。

### 3 VE对动物体非酶抗氧化剂的影响

外源性VE还可以对水生动物体内的一些非酶的小分子抗氧化剂如VC,VE和GSH等发挥作用,并进一步对抗氧化系统进行调控。

组织里高浓度的VE可以抑制组织脂质过氧化反应。大量结果显示,随着高浓度的VE摄入,鱼体组织里的VE浓度就更高,因此就导致了更低的脂质过氧化反应。已经有一些研究证明了饲料中VE能够影响鱼体的组织里VE浓度<sup>[12,13]</sup>。

Huang等<sup>[14]</sup>研究发现当杂交罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)饲料中VE浓度升高时,鱼肝脏和肌肉中VE浓度也随之升高。Kiron等<sup>[15]</sup>报道在虹鳟饲料里VE的添加量增加导致了血浆和肝里的VE浓度升高。

Baker和Davies<sup>[16]</sup>观察到在饲喂了 $\alpha$ -生育酚醋酸盐质量分数依次为0,80,200和500mg/kg的非洲鲈鱼肌肉里( $r^2=0.83$ )、血浆里( $r^2=0.93$ )和肝里( $r^2=0.82$ ) $\alpha$ -生育酚质量分数的线性增长。Bai和Lee<sup>[17]</sup>研究发现在许氏平鲉(*Sebastes schlegeli*)肌肉里( $r^2=0.96$ )和血浆里( $r^2=0.96$ )的 $\alpha$ -生育酚质量分数也是随着饲料中的 $\alpha$ -生育酚醋酸盐质量分数的增长呈线性增长关系的。在肝组织里,当饲料中VE摄入量由0增加到120mg/kg的时候, $\alpha$ -生育酚质量分数是呈显著( $P<0.05$ )线性( $r^2=0.94$ )增加的,但是到了最后达到一个稳定的平台期。这个结果意味着高质量分数的 $\alpha$ -生育酚醋酸盐(500mg/kg)对许氏平鲉幼鱼肝脏 $\alpha$ -生育酚的质量分数没有影响。

一些研究报道了VE能够引起各个组织里GSH浓度的升高。GSH作为一种直接的自由基清除剂,其功能十分重要<sup>[18]</sup>,区域性而且它也能够清除一些过氧化物自由基<sup>[19]</sup>。这个反应的最大特征是它不会产生过氧化氢<sup>[20]</sup>。因而,由于VE而引起的GSH浓度升高可以代替SOD的一些功效。

Huang等<sup>[14]</sup>报道当饲料中VE浓度增高时,罗非鱼肝里GSH浓度也随着增高。这可以是对VE的一个节约效应。Mourente等<sup>[9]</sup>已经报道了当氧化鱼油加入到海鲈饲料里去的时候其肝里的抗氧化酶活性得到

提高。那么,这个现象被 VE 的添加而消除。因为谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)的功能是通过氧化 GSH 来消除过氧化,而肝里增多的 VE 将提高生物膜的抗氧化能力,因而减少了 GSH 的消耗。因此,当饲料中 VE 浓度增高时,GSH 的浓度也随着增高。

在非酶的抗氧化剂里,对虾的谷胱甘肽(GSH)和抗坏血酸(ASA)浓度对于 VE 的添加有着器官特异性。肝胰腺和鳃里 GSH 浓度均随着 VE 添加而升高,但是鳃里升高的幅度更大一些。GSH 在哺乳动物里是一个很重要的非蛋白硫醇且对于细胞的结构和代谢完整性十分重要。大量事实证明在水生生物如硬骨鱼体内也含有十分丰富的 GSH,且它的浓度升高可以更好地发挥其保护功能。升高的 GSH 浓度与 SOD 活性降低是有关系的,因为 SOD 和 GSH 两者有协同作用。然而,GSH 浓度的升高是由于半胱氨酸浓度的升高而引起的 GSH 生物合成能力的提高。早期的研究结果也指出了 VE 和包含有氨基酸的硫磺能发生协同作用,且 VE 能够节约半胱氨酸,因为它是 GSH 里面主要的氨基酸。与肝胰腺相比,鳃里面 GSH 增长更快更多是为了适应鳃里面更多的氧化应激。在鳃里面的 SOD 和过氧化氢酶活性降低了,GPX 活性没有发生变化,因此为了防止细胞损伤就会诱导出更高 GSH 浓度。较早的研究结果显示在鱼的红细胞<sup>[21]</sup>和鳃里<sup>[22]</sup>高浓度的 GSH 将会削弱氧化应激。

抗坏血酸经常与 VE 和 GSH 一起发挥协同作用,是一种很好的抗氧化剂。由 GSH/ASA 氧化还原作用引起的脱氢抗坏血酸(DHA)转化为 ASA 可能是肝胰腺里 ASA 浓度不断升高的原因。已经有报道指出 GSH 能够在动物细胞和组织里把 DHA 转化成为 ASA<sup>[23,24]</sup>。

#### 4 饲料里 VE 的抗氧化剂量

饲料里添加 VE 的量多少决定了动物的抗氧化能力强弱。

低浓度的 VE 可能导致不利的效应。一些学者<sup>[25]</sup>在 VE 缺乏症的虹鳟和大西洋鲑里研究发现,给鱼体饲喂少量的 $\alpha$ -生育酚而引起的贫血表现为红血球的急剧减少,并随着体积变小和血红蛋白浓度降低,以及血细胞比容降低等等症状。Hamre 等<sup>[25]</sup>指出在鱼体里饲喂低浓度的 VE 后的低血红蛋白浓度可能是因为血红蛋白的合成受阻,也可能是血红蛋白被破坏的速率加快了。

而高浓度的 VE 可能对抗氧化能力有不利影响。Poston 和 Livingston<sup>[26]</sup>报道在给溪水点鲑鱼苗饲喂高质量比的 VE (5 000 mg/kg) 时表现出生长率低下和较低的血细胞比容。Baker 和 Davies<sup>[16]</sup>也报道非洲鲶鱼(*Clarias gariepinus*) 在饲喂高剂量的 $\alpha$ -生育酚醋酸(500 mg/kg) 时要比基础饵料(0 mg/kg) 组有更低的血细胞比容( $P < 0.05$ )。Bai 和 Lee<sup>[17]</sup>也报道在许氏平鲉的饵料中添加高质量分数的 VE (500 mg/kg) 要比低质量比(20~120 mg/kg) 组要有更低的血细胞比容、体质量增长、饵料转化率( $R_{FC}$ )。

鱼对 VE 的精确需要量主要取决于投喂的脂质源的数量和类型,尤其是多不饱和脂肪酸(PUFA)。因为 PUFA 易受氧化且其氧化产物对细胞有毒性,那么随着 PUFA 在饲料中的投喂量升高,就需要增大 VE 的量来作为细胞内抗氧化剂来防止脂质氧化。除了抗氧化功能,也有报道认为 VE 的高添加量能够提高鱼的免疫反应<sup>[27]</sup>。因此,饲料中脂质的添加可以影响 VE 在抗氧化和免疫的作用模式并最终影响鱼体的健康。

Satoh 等<sup>[28]</sup>报道对于饲喂含有 5% 脂质饲料的罗非鱼其饵料中需含有 50~100 mg/kg  $\alpha$ -生育酚即可有效抑制过氧化。然而,Roem 等<sup>[29]</sup>却报道对于饲喂包含 3% 和 6% 玉米油饲料的蓝罗非鱼,其 VE 的需求分别为 10 mg/kg 和 25 mg/kg。最近的报道<sup>[30]</sup>指出对于饲喂最小(5%)百分数和最适(12%)百分数脂质的杂交罗非鱼,其饲料里分别需要添加 VE 的质量比为 42~45 和 60~67 mg/kg。

其次,脂质氧化的程度可能是另一个影响 VE 需要量的因素<sup>[14]</sup>。一般说来,高浓度的氧化鱼油可能比低浓度氧化鱼油对饲料中 VE 需要量的影响要更大一些,因为鱼体将花费更多的 VE 来抵抗氧化应激。

据报道,VE 在饲料中最常用来作为抗氧化剂的添加量是 300~500 mg/kg<sup>[30]</sup>。

#### 5 结语

VE 是一种公认的抗氧化剂,它除了自身有抗氧化功能外,还可以调控水生动物体内的抗氧化系统,并防止脂质过氧化反应。在以往的研究中,通常是把 VE 和几种脂质放在一起添加到动物饲料中去,并因此测定 VE 对动物的脂质过氧化作用的拮抗程度,因为脂质本身也是一种不可忽视的营养因子,只是它具有被氧化的潜质而对机体产生损伤,所以添加 VE 在



满足机体营养成分之余,还要发挥抗氧化作用。在以后的研究中,VE和VC及其他抗氧化剂如GSH的协同作用、VE和抗氧化酶的关系、VE对脂质过氧化反应的各个生化指标的影响以及VE在不同动物饲料中的适宜添加量将会得到进一步的关注和研究。

#### 参考文献:

- [1] Huang C H, Huang M C, Hou P C. Effect of dietary lipids on fatty acid composition and lipid peroxidation in sarcoplasmic reticulum of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O.aureus*) [J]. **Comp Biochem Physiol**, 1998,B120: 331–336.
- [2] Palace V P. An evaluation of the relationships among oxidative stress, antioxidant vitamins and early mortality syndrome (EMS) of lake trout (*Salvelinus namaycush*) from Lake Ontario[J]. **Aquat Toxicol**,1998,43 (2-3) :195-208
- [3] He H, Lawrence A L. Vitamin-E requirements of *Penaeus vannamei*[J]. **Aquaculture**, 1993, 118:245–255.
- [4] Dandapat J, Chainy G B N, Rao K J. Dietary vitamin-E modulates antioxidant defence system in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*[J], **Comp Biochem Physiol (Part C)** ,2000,127:101–115.
- [5] Gatlin D M, Poe W E, Wilson R P.Effects of singular and combined dietary deficiencies of selenium and vitamin-E on fingerling channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. **J Nutr**, 1986,116:1 061– 1 067.
- [6] Cay P B, King M M. Vitamin-E: Its role as a biological free radical scavenger and its relationship to the microsomal mixed function oxidase system[A]. Machlin L J. Vitamin-E, A Comprehensive Treatise: Basic and Clinical Nutrition 1[C]. New York:Marcel Dekker,1980. 289-317.
- [7] 蔡中华,邢克智,董双林.维生素E对鲤鱼健康的影响[J].**动物学报**,2001,47 (专刊): 120-124.
- [8] 方中允.自由基与酶[M].北京:科学出版社, 1994.156 - 160.
- [9] Mourente G, Tocher D R, Diaz-Salvago E, *et al*. Increased activities of hepatic antioxidant defence enzymes in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed dietary oxidised oil: attenuation by dietary vitamin E[J]. **Aquaculture**,2002, 214: 343–361.
- [10] Palace V P, Majewski H S, Klaverkamp J F. Interactions among antioxidant defences in liver ofrainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to cadmium [J]. **Fish Aquat Sci**, 1993,50: 156–162.
- [11] Catignani G L. Vitamin-E: Role in nucleic acid and protein metabolism[A].Machlin L J. Vitamin-E, A Comprehensive Treatise: Basic and Clinical Nutrition[C]. New York : Marcel Dekker, 1980.318–332.
- [12] Cowey C B, Adron J W, Walton M J,*et al*. Tissue distribution, uptake, and requirement for a-tocopherol of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed diets with a minimal content of unsaturated fatty acids[J]. **J Nutr**, 1981,111:1 556– 1 567.
- [13] Stephan G, Guillaume J, Lamour F. Lipid peroxidation in turbot (*Scophthalmus maximus*) tissue: effect of dietary vitamin-E and dietary n-6 or n-3 polyunsaturated fatty acids[J]. **Aquaculture**, 1995,130:251–268.
- [14] Huang C H, Huang S L. Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*, fed oxidized oil[J]. **Aquaculture**,2004,237: 381–389.
- [15] Kiron V, Puangkaew J, Ishizaka K,*et al*. Antioxidant status and nonspecific immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed two levels of vitamin E along with three lipid sources[J]. **Aquaculture**,2004,234: 361–379.
- [16] Baker R T M, Davies S J. Changes in tissue a-tocopherol status and degree of lipid peroxidation with varying a-tocopheryl acetate inclusion in diets for the African catfish[J]. **Aquacult Nutr**, 1996 ,2: 71–79.
- [17] Bai S C, Lee K J. Different levels of dietary DL-a-tocopheryl acetate affect the vitamin-E status of juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegelii*[J]. **Aquaculture**, 1998,161:405–414.
- [18] Winterbourn C C. Free radical toxicology and antioxidant defence[J]. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, 1995,22: 877–880.
- [19] Hussain S, Slikker Jr, W, Ali S F. Role of metallothionein and other antioxidants in scavenging superoxide radicals and their possible role in neuroprotection[J]. **Neurochem Int**, 1996,29 (2): 145–152.
- [20] Winterbourn C C, Metodiewa D. The reaction of superoxide with reduced glutathione[J]. **Arch Biochem Biophys**, 1995, 314: 284–290.
- [21] Filho D W. Fish antioxidant defences — a comparative approach[J]. **Braz J Med Biol Res**, 1996,29:1 735–1 742.
- [22] Marcon J L, Filho D W. Antioxidant processes of the wild tambaqui, *Colossoma macropomum* (Osteichthyes, serrasalmidae) from the Amazon[J]. **Comp Biochem Physiol**, 1999,123C: 257–263.
- [23] Winkler B S, Orselli S M, Rex T S. The redox couple between glutathione and ascorbic acid: a chemical and physiological perspective[J]. **Free Rad Biol Med**, 1994,17: 333–349.

(下转第89页)

(上接第 79 页)

- [24] Vethanayagam J G G, Green E H, Rose R C, *et al.* Glutathione dependent ascorbate recycling activity of rat serum albumin[J]. **Free Rad Biol Med**, 1999,26: 1 591–1 598.
- [25] Hamre K, Hjeltnes B, Kryvi H, *et al.* Decreased concentration of hemoglobin accumulation of lipid oxidation products and unchanged skeletal muscle in Atlantic salmon *Salmo salar* fed low dietary vitamin E[J]. **Fish Physiol Biochem**, 1994,12: 421–429.
- [26] Poston H A, Livingston D L. Effects of massive doses dietary vitamin E on fingerling brook trout[J]. **Fish Res Bull**, 1969,9–12.
- [27] Ortun J, Esteban M A, Meseguer J. High dietary intake of a-tocopherol acetate enhances the nonspecific immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata*) [J]. **Fish Shellfish Immunol**, 2000,10: 293– 307.
- [28] Satoh S, Takeuchi T, Watanabe T. Requirement of tilapia for a-tocopherol[J]. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 1987,53: 119– 124.
- [29] Roem A J, Kohler C C, Stickney R R. Vitamin E requirements of blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner), in relation to dietary lipid level[J]. **Aquaculture**, 1990, 87: 155–164.
- [30] Shiau S Y, Shiau L F. Re-evaluation of the vitamin E requirement of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. **aureus Anim Sci**, 2001,72: 477– 482.
- [31] Gabaudan J, Hardy R W. Vitamin sources for fish feeds[A]. Stickney R R. Encyclopedia of Aquaculture[C]. New York :Wiley,2000.961– 965.

(本文编辑:刘珊珊)