

维生素C对衰老大鼠红细胞抗氧化能力的修复作用及其机制探讨

王月明 于振海 陈仲全 崔倩 张慧 杨赛赛 盖欣欣 张娅 崔钰莹 熊延连*
(滨州医学院基础医学院人体解剖学教研室, 烟台 264000)

摘要 该文探讨了维生素C对衰老大鼠红细胞的抗氧化能力的修复作用及机制。将40只雄性SD大鼠按年龄分为4组: 年轻对照组(Y)、年轻维生素C组(Yc)、年老对照组(A)和年老维生素C组(Ac)。对各组大鼠红细胞GSH、GSSG、GSH/GSSG和TFG含量进行检测。评估各组红细胞L-半胱氨酸转运能力及三价铁降低抗氧化能力差异。构建黄嘌呤/次黄嘌呤氧化酶体外氧化体系, 观察各组大鼠红细胞在体外氧化条件下脂质过氧化、血红蛋白含量差异。研究发现, 与年轻组大鼠相比, 年老组大鼠红细胞中GSSG含量增加, GSH、TFG含量下降, GSH/GSSG比值显著降低。在年老组中, 维生素C补充使TFG含量显著增加, L-半胱氨酸转运能力和三价铁降低抗氧化能力显著提升。体外氧化条件下, 维生素C补充组大鼠红细胞所受氧化损伤程度显著减少, L-半胱氨酸转运能力增加。研究证明, 衰老过程伴随着红细胞抗氧化能力的下降, 腹腔注射维生素C可以通过提高红细胞L-半胱氨酸转运能力增加GSH抗氧化物含量, 提高细胞抗氧化潜能, 从而减少氧自由基诱导的损伤。

关键词 衰老; 红细胞; 维生素C; L-半胱氨酸转运能力

Restore Effect of Vitamin C on the Antioxidant Capacity of Erythrocytes in Aged Rats

Wang Yueming, Yu Zhenhai, Chen Zhongquan, Cui Qian, Zhang Hui,
Yang Saisai, Gai Xinxin, Zhang Ya, Cui Yuying, Xiong Yanlian*

(Department of Human Anatomy, College of Basic Medicine, Binzhou Medical University, Yantai 264000, China)

Abstract The main purpose of the present study was to investigate the effects of vitamins C supplements on the antioxidant capacity of erythrocytes obtained from young and aged rats. Rats were assigned based on age to four groups: young (Y) group, young vitamin C supplement group (Yc), aged (A) group and aged vitamin C supplement group (Ac). The contents of GSH, GSSG, GSH/GSSG and TFG of red blood cells collected from different age stages were evaluated. L-cysteine transport and ferric-reducing antioxidant power (FRAP) value were studied. An *in vitro* oxidation system was constructed to explore the lipid peroxidation and methemoglobin levels. The results showed that compared with young group, the GSH content, TFG content and GSH/GSSG ratio decreased significantly, meanwhile, GSSG content increased significantly in aged group. In the aged group, vitamin C supplementation induced significantly increase in TFG content and significantly improved L-cysteine transport capacity and antioxidant capacity. Under oxidative conditions *in vitro*, the lipid peroxidation and methemoglobin levels and L-cysteine influx rate significantly decreased in vitamin C treatment

收稿日期: 2016-08-02 接受日期: 2016-11-16

滨州医学院科研启动基金(批准号: BY2014KYQD09)和大学生科技创新课题(批准号: BY2014DKCX021)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0535-6913213, E-mail: xyl8807@sina.com

Received: August 2, 2016 Accepted: November 16, 2016

This work was supported by Grants from the Initial Scientific Research Fund of Binzhou Medical University (Grant No. BY2014KYQD09) and College Students' Science and Technology Innovation Project (Grant No. BY2014DKCX021)

*Corresponding author. Tel: +86-535-6913213, E-mail: xyl8807@sina.com

网络出版时间: 2016-12-28 16:27:37

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20161228.1627.014.html>

group. We present evidence of an improvement in the antioxidant capacity of RBCs by enhancing the influx rate of L-cysteine through intraperitoneal injection of vitamin C in aged rats.

Keywords aging; erythrocyte; vitamin C; L-cysteine transport capacity

衰老是一种不可避免的自然现象, 它会造生物体机能的衰退、抵抗力的减弱和结构的退行性变化。20世纪60年代, Harman^[1]提出的衰老的自由基学说已被人们广泛接受。自由基是生物体代谢的自然产物, 种类繁多, 具有强大的氧化性和高度的活泼性, 能够使蛋白质、核酸等大分子交联, 影响机体正常功能。血液作为机体循环系统的重要组成部分, 不仅能运输各种代谢物, 而且在维持机体内环境酸碱平衡、渗透压平衡、清除体内自由基等方面起着至关重要的作用^[2]。生物体内与细胞氧化损伤和衰老等代谢活动相关的自由基绝大多数是游离氧自由基。活性氧(reactive oxygen species, ROS), 是生物体有氧代谢过程中的一类产物, 包括氧离子、过氧化物和含氧自由基等。红细胞(red blood cells, RBCs)正常的新陈代谢过程中会持续产生ROS, 而由于红细胞本身具有一套完整的抗氧化损伤体系, 主要有非酶类抗氧化剂谷胱甘肽(glutathione, GSH)、维生素C、维生素E、辅酶Q10及褪黑色素等和酶类抗氧化剂超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)等, 在正常情况下红细胞产生的ROS不会导致太大影响, 处于氧化-还原平衡态。而当红细胞中高氧化的ROS不断产生、积累, 则会诱导自身细胞氧化损伤。因此, 自由基积累引起的氧化损伤是引起红细胞衰老的一个重要因素。

维生素C又称为L-抗坏血酸, 是一种水溶性抗氧化剂, 能保护机体免受自由基的破坏, 清除体内超氧离子($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基(OH^{\cdot})、有机自由基(R^{\cdot})和有机过氧基(ROO^{\cdot})等自由基^[3]。维生素C对维持红细胞ATP酶活性、维持红细胞SOD的活性、降低血浆丙二醛含量、降低血浆钾离子等方面具有良好的作用^[3-4]。目前, 国内外学者对维生素C的抗氧化作用已进行了大量研究^[5-7], 而对老年个体红细胞抗氧化能力的修复作用及其机制仍不清楚。

本研究探讨了衰老大鼠红细胞抗氧化能力的变化及其对红细胞L-半胱氨酸(L-cysteine)转运能力的影响, 并对维生素C促进衰老大鼠红细胞的抗氧化能力的作用及其机制进行初步的探讨。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

谷胱甘肽、巯基基团(thiol groups, SH-groups)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和ROS检测试剂盒均购于南京凯基生物公司。其余均为国产试剂(分析纯)。分光光度计购于Thermo Scientific公司。次黄嘌呤、黄嘌呤氧化酶购自Sigma公司。GSH/GSSG检测试剂盒均购于武汉艾美捷科技有限公司。

1.2 实验对象和动物模型

选用雄性SD大鼠40只(3月龄20只, 24月龄20只, 由第三军医大学提供), 国家标准啮齿类动物饲料喂养, 自由进食及饮水。相对湿度45%~55%, 室温 22 ± 5 °C, 光照时间8:00~20:00的条件下饲养。适应性喂养1周后, 大鼠分为4组: 年轻组(young, Y)、年轻维生素C补充组(young rats treated with vitamin C, Yc)、年老组(aged, A)和年老维生素C补充组(aged rats treated with vitamin C, Ac), 每组10只。年轻维生素C组腹腔注射维生素C溶橄榄油200 mg/kg/d, 并持续6周。而年轻对照组则仅腹腔注射等量橄榄油6周。年老组处理方式同上。

各组大鼠均采用心脏取血的方法采集血液。用PBS洗涤4次, 然后3 000 r/min离心3 min, 获取RBC, 冷冻备用。

1.3 红细胞抗氧化指标检测

在红细胞裂解液中加入全血体积2倍的无水乙醇(2 mL), 在漩涡振荡器上充分混匀30 s。再加全血体积2倍的三氯甲烷(2 mL)漩涡振荡器上充分混匀1 min, 3 000 r/min离心10 min。按照试剂盒操作说明, 样品提取好后, 加入DTNB[5,5'-Dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)]反应液, 测412 nm处吸光度(D_{412})值。通过标准曲线计算膜蛋白SH、GSH含量和GSH/GSSG比值。红细胞游离谷胱甘肽总含量(total free glutathione, TFG)通过 $GSH+2\times GSSG$ 计算。

1.4 L-半胱氨酸转运能力检测

1.4.1 L-半胱氨酸流入速度检测 取0.25 mL红细胞, 悬浮于1 mL PBS葡萄糖缓冲液(含10mmol/L L-半胱氨酸)中, 37 °C孵育1 h。3 000 r/min离心3 min去除上清液, 按照Yildiz等^[8]的方法检测自由巯基

(free-SH)含量。L-半胱氨酸流入速度按照以下公式计算: L-半胱氨酸流入速率=孵育前悬液free-SH含量-孵育后悬液free-SH含量。

1.4.2 L-半胱氨酸流出速度检测 取0.25 mL红细胞, 分别悬浮于含不同浓度半胱氨酸的1 mL PBS缓冲溶液中, 将其置于37 °C温水水浴1 h, 使其充分吸收半胱氨酸。水浴后将红细胞离心去除上清液, 再将红细胞置于1 mL新鲜的PBS葡萄糖溶液中, 37 °C孵育1 h。3 000 r/min离心3 min, 取上清, 检测上清液中自由巯基含量。计算单位时间内L-半胱氨酸流出细胞量, 即为L-半胱氨酸流出速度。

1.5 三价铁还原抗氧化能力(ferric-reducing antioxidant power, FRAP)检测

采用Benzie等^[9]的方法, 取100 μL浓度分别为25、52、100、150、200 μg/mL的样液与1.0 mL FRAP工作液(0.3 mol/L pH3.6乙酸钠缓冲液、10 mmol/L TPTZ和20 mmol/L三氯化铁以体积10:1:1混合), 37 °C反应10 min, 于593 nm处测吸光度(D_{593})值。实验中选定相同浓度的维生素C和2,4-二叔丁基甲基苯酚(butylated hydroxytoluene, BHT)为阳性对照。

1.6 红细胞内活性氧含量检测

加入以PBS稀释荧光探针DCFH-DA, 使其终浓度为10 mol/L, 37 °C摇床孵育20 min, 使探针与细胞充分结合, DCFH-DA与ROS反应后生成带有荧光特性的二氯荧光素PBS洗涤细胞3次, 彻底去除未进入细胞的DCFH-DA PBS将红细胞重悬后, 流式细胞仪选择激发波长488 nm和发射波长530 nm检测荧光强度。

1.7 黄嘌呤/次黄嘌呤氧化酶体外氧化体系的建立

用次黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶(hypoxanthine/xanthine oxidase, HX/XO)体系构建体外氧化模型。将红细胞血影和洗涤后未受损伤的红细胞均等分配, 并加入1.5 mmol/L的次黄嘌呤和0.2 U/mL的黄嘌呤氧化酶, 然后将其放于震动加热炉(37 °C)中进行10 min体外孵育。同时, 向样品中加入1 mmol/L的别嘌呤醇来抑制过氧化物的产生。在体外孵育后, 等渗PBS缓冲液清洗, 并测定氧化损伤和抗氧化参数。

1.8 膜质过氧化程度检测

膜质过氧化(thiobarbituric acid-reactive substances, TBARS)程度测量采用MDA试剂盒。取红细胞裂解液100 μL为加样量, 空白组则不加TBA反应液, 以532 nm处的净吸光值求算MDA浓度, 最终以每mg膜蛋白所对应的MDA含量表示膜质TBARS水平, 即

nmol MDA/mg protein。

1.9 高铁血红蛋白含量检测

取全血400 μL加于含双蒸馏水1.1 mL的试管中, 充分混匀。3 min后, 加入低渗磷酸盐缓冲液500 μL, 充分混匀。10 min后, 3 000 r/min离心15 min。吸取上清液1.2 mL置于A管、上清液0.1 mL置于B管中, 并在B管中加入铁氰化钾-磷酸盐缓冲液1.1 mL, 充分混匀, 置室温30 min。以双蒸馏水为空白管, 分别测定A、B管632 nm处的吸光度, 即 D_1 和 D_2 。测定完毕, 分别在A、B管中加入中性氰化物溶液40 μL, 混匀。1 min后, 再分别测定A、B管的吸光度 D_3 和 D_4 。MetHb计算公式为:

$$(\text{MetHb占总Hb百分数})\% = \frac{D_1 - D_3}{(D_2 - D_4) \times 12} \times 100。$$

1.10 统计学处理

所有数据从3组或3组以上的重复实验中得出, 以均值±标准差(mean±S.D.)的形式表示。组间统计学差异通过Origin 7.5软件的One-Way ANOVA分析。 $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果

2.1 检测血常规

检测各组大鼠血常规, 结果显示, 与年轻组相比, 年老组大鼠红细胞MCV和RDW显著升高, MCHC和MCH显著下降。对年老组进行维生素C补充后, MCV显著下降, MCHC和MCH显著升高(表1)。

2.2 维生素C对不同年龄大鼠红细胞谷胱甘肽含量的影响

对不同年龄大鼠维生素C补充前后红细胞谷胱甘肽进行检测, 结果表明, 与年轻组相比, 年老组大鼠红细胞GSH和TFG含量(Y组: $22.2 \pm 3.3 \mu\text{mol/g}$ Hb vs A组: $18.6 \pm 3.9 \mu\text{mol/g}$ Hb, $P < 0.05$)显著下降, GSSG显著增加, GSH/GSSG比值显著降低。在年老组中, 维生素C补充后大鼠红细胞GSSG显著降低, GSH/GSSG比值显著升高, GSH和TFG含量(A组: $18.6 \pm 3.9 \mu\text{mol/g}$ Hb vs Ac组: $21.3 \pm 4.3 \mu\text{mol/g}$ Hb, $P < 0.05$)显著增加(图1)。

2.3 维生素C对不同年龄大鼠红细胞L-半胱氨酸转运能力的影响

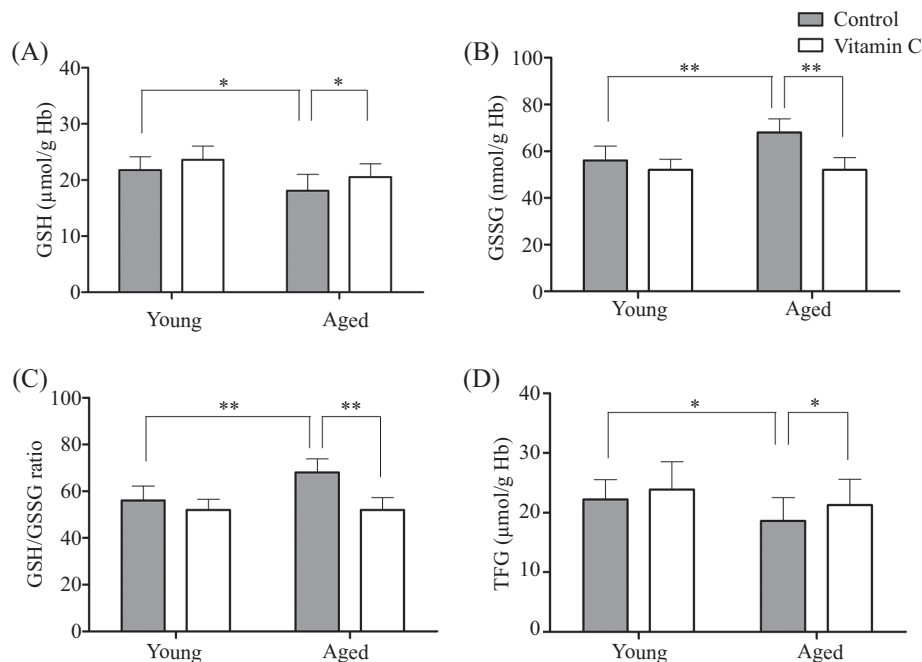
对不同年龄大鼠的维生素C补充前后红细胞L-半胱氨酸转运能力进行检测, 结果表明, 与年轻组相比, 老年大鼠红细胞L-半胱氨酸流入(Y组: $2.81 \pm 0.35 \mu\text{mol/h/mL}$ Hb vs A组: $2.96 \pm 0.42 \mu\text{mol/h/mL}$

表1 维生素C对不同年龄大鼠血常规参数的影响

	年轻组 Young	年轻维生素C补充组 Young+Vc	年老组 Aged	年老维生素C补充组 Aged+Vc
HCT (%)	43.3±4.8	43.1±4.7	45.2±6.5	44.4±4.9
MCV (fL)	48.4±1.1	47.9±0.9	53.6±1.2**	51.2±1.4 [#]
MCHC (g/L)	39.4±0.6	36.4±0.5	32.9±0.7*	36.1±0.9 [#]
MCH (pg)	22.1±1.1	22.5±0.9	19.2±1.0*	20.6±1.1
RDW (%)	12.6±0.3	12.6±0.2	13.4±0.4*	12.9±0.3 [#]

HCT: 血球容积计; MCV: 红细胞平均体积; MCHC: 红细胞平均血红蛋白浓度; MCH: 平均红细胞血红蛋白量; RDW: 红细胞分布宽度。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与年轻组比较。[#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$, 与老年组比较。

HCT: hematocrit; MCV: mean corpuscular volume; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; MCH: mean corpuscular hemoglobin; RDW: red cell distribution width. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Young group; [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ vs Aged group.



A: GSH含量; B: GSSG含量; C: GSH/GSSG比例; D: TFG水平。* $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

A: the levels of GSH; B: the levels of GSSG; C: GSH/GSSG ratio; D: the levels of TFG. * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

图1 维生素C对不同年龄大鼠红细胞谷胱甘肽的影响

Fig.1 Effects of vitamin C treatment on glutathione of RBCs in rats of different groups

Hb, $P<0.05$)和流出(Y组: 0.63 ± 0.03 nmol/h/mL Hb vs A组: 0.52 ± 0.06 nmol/h/mL Hb, $P<0.01$)速度显著下降。而对老年大鼠进行维生素C补充后大鼠红细胞L-半胱氨酸流入(A组: 2.96 ± 0.42 μmol/h/mL Hb vs Ac组: 3.69 ± 0.46 μmol/h/mL Hb, $P<0.05$)和流出(A组: 0.52 ± 0.06 nmol/h/mL Hb vs Ac组: 0.59 ± 0.08 nmol/h/mL Hb, $P<0.05$)速度显著增加(图2)。

2.4 维生素C对不同年龄大鼠红细胞FRAP和ROS水平的影响

对不同年龄大鼠的维生素C补充前后红细胞FRAP进行检测, 结果表明, 与年轻组相比, 年老组大

鼠红细胞FRAP水平显著降低(Y组: 1765 ± 136 μmol Fe(II)/L vs A组: 1436 ± 134 μmol Fe(II)/L, $P<0.05$)。对年老组大鼠进行维生素C补充后红细胞FRAP水平显著增加(A组: 1436 ± 134 μmol Fe(II)/L vs Ac组: 1746 ± 206 μmol Fe(II)/L, $P<0.01$)(图3A)。

对不同年龄大鼠的维生素C补充前后红细胞ROS进行检测, 结果表明, 与年轻组相比, 年老组大鼠红细胞ROS水平显著增加(Y组: $(100.0\pm12.1)\%$ vs A组: $(158.3\pm16.2)\%$, $P<0.01$)。对年老组大鼠进行维生素C补充后红细胞FRAP水平显著降低(Y组: $(158.3\pm16.2)\%$ vs A组: $(123.6\pm11.2)\%$, $P<0.01$)(图

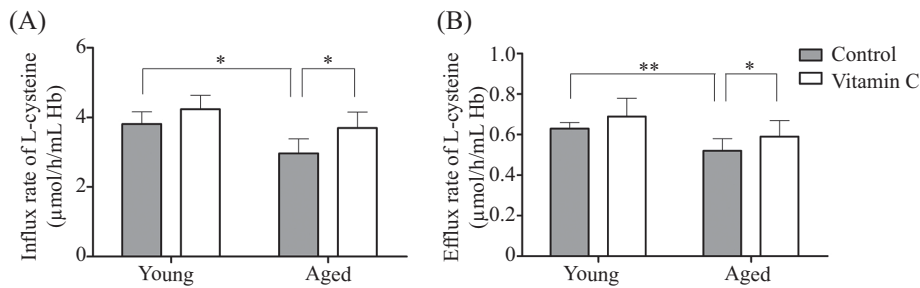
3B)。

2.5 体外氧化对不同年龄大鼠红细胞维生素C补充前后氧化损伤参数和L-半胱氨酸流入速度的影响

对不同年龄大鼠维生素C补充前后红细胞在黄嘌呤/次黄嘌呤氧化酶体外氧化体系下氧化损伤程度进行检测。结果表明, 体外氧化诱导年轻组和年老组大鼠红细胞TBARS水平和高铁血红蛋白含量显著增加。在年老组中腹腔注射维生素C处理大

鼠红细胞TBARS(A组: 39.6 ± 3.4 mmol/g Hb vs Ac组: 31.3 ± 3.7 mmol/g Hb, $P < 0.05$)水平和高铁血红蛋白含量[A组: $(4.15 \pm 0.29)\%$ vs Ac组: $(3.13 \pm 0.39)\%$, $P < 0.05$]明显低于未补充组(图4)。

体外氧化条件下, 年老组和年轻组大鼠红细胞L-半胱氨酸流入速度均出现显著下降, 而维生素C补充后年老组大鼠红细胞出现明显恢复(A组: 0.92 ± 0.29 $\mu\text{mol/h/mL}$ Hb vs Ac组: 1.83 ± 0.39 $\mu\text{mol/h/mL}$

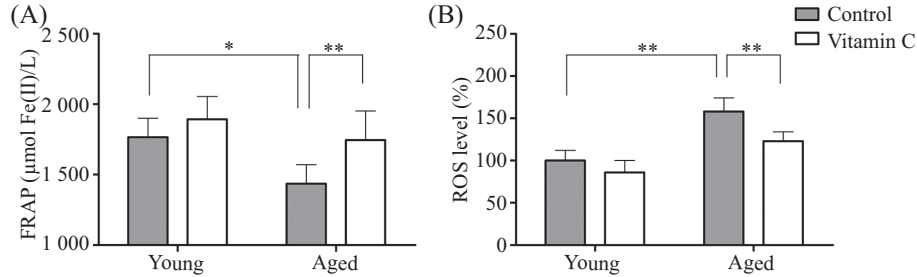


A: L-半胱氨酸流入速率; B: L-半胱氨酸流出速率。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

A: the rate of L-cysteine influx; B: the rate of L-cysteine efflux. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图2 维生素C对不同年龄大鼠红细胞L-半胱氨酸转运能力的影响

Fig.2 Effects of vitamin C treatment on L-cysteine transport capacity of RBCs in rats of different groups

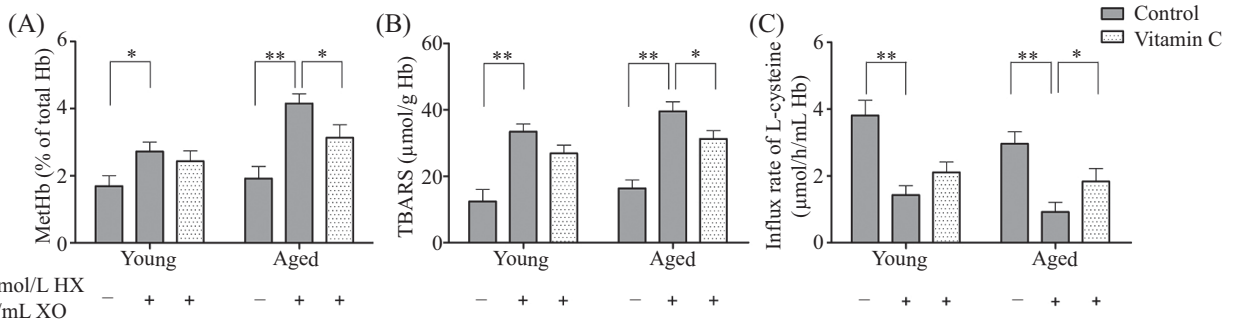


A: FRAP水平; B: ROS水平。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

A: the levels of FRAP; B: the levels of ROS. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图3 维生素C对不同年龄大鼠红细胞FRAP和ROS水平的影响

Fig.3 Effects of vitamin C treatment on FRAP and ROS levels of RBCs in rats of different groups



A: 高铁血红蛋白含量; B: 脂质过氧化水平; C: L-半胱氨酸流入速率。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

A: the levels of MetHb; B: the levels of TBARS; C: the rate of L-cysteine influx. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图4 体外氧化条件下维生素C对不同年龄大鼠红细胞的影响

Fig.4 Effects of vitamin C treatment on RBCs in rats of different groups under *in vitro* oxidation conditions

Hb, $P < 0.05$) (图4)。

3 讨论

红细胞作为血液有型成分的主要组分,在维系机体内环境酸碱平衡、渗透压平衡和氧化-还原平衡的过程中起着至关重要的作用^[10-11]。因此,在老年个体中抗氧化药物对红细胞抗氧化能力的研究对评估药物抗衰老效果具有重要的指导意义。

机体在衰老过程中会产生大量的自由基,因而引起生物膜发生损伤,影响各种生命大分子的功能,加速机体老化的进程,诱发冠心病、动脉硬化等心血管疾病、恶性肿瘤、机会性感染等疾病^[12-13]。本研究对年轻和年老组大鼠红细胞检测结果表明,年老组大鼠红细胞还原型GSH含量显著降低,GSH/GSSG比值也出现显著下降。这表明,在年老组大鼠体内红细胞内的氧化-还原平衡与年轻组相比偏向氧化方向转移。TFG含量的检测结果表明,年轻组大鼠红细胞内谷胱甘肽总量显著高于年老组。这一方面是由于老年大鼠体内较高的氧化水平导致的谷胱甘肽含量下降,另一方面则可能是由于年老组大鼠中GSH的合成速度低于年轻组。我们对年老组进行维生素C补充后,还原型GSH含量显著增加。这意味着,维生素C补充增加了大鼠红细胞抗氧化能力,尤其是非酶类抗氧化物。由于维生素C是供氢体,可使年老组大鼠红细胞GSH/GSSH平衡向还原方向转移。维生素C抗氧化作用表现在可以与 O_2 、 $HOO\cdot$ 及 $OH\cdot$ 迅速反应,生成半脱氢抗坏血酸,清除单线态氧,还原硫自由基,其抗氧化作用依靠可逆的脱氢反应来完成^[14]。本研究中,年老组大鼠进行维生素C补充可明显提升抗氧化能力,并减少红细胞内ROS含量。

谷胱甘肽在人体的生化防御系统中占有重要的地位,具有相当广泛的生理功能。除了能消除代谢产生的自由基,还可以提高人体的免疫功能^[15]。谷胱甘肽是一种含有 γ -酰胺键和巯基的三肽,红细胞拥有由谷氨酸、L-半胱氨酸及甘氨酸合成GSH的能力。Rizvi等^[16]研究发现,L-半胱氨酸进入红细胞速度是限制谷胱甘肽合成速度的主要因素。Kumar等^[17]对不同年龄阶段大鼠红细胞L-半胱氨酸转运能力检测结果表明,伴随着年龄增长,L-半胱氨酸转速率下降,并伴随红细胞抗氧化能力的降低。本研究发现,对年老组大鼠红细胞L-半胱氨酸流入和流出速率均出现显著下降。而维生素C的补充能够显

著地提升年老组中大鼠红细胞L-半胱氨酸流入和流出速率。这提示,腹腔注射维生素C可通过提升L-半胱氨酸补给提高红细胞GSH合成效率,从而提高细胞抗氧化潜能。

由于在体内条件下年轻和老年大鼠体内红细胞所处氧化-还原环境不同,这种氧化环境的不同又进一步影响到部分抗氧化酶的活性。因此,为了探讨维生素C对不同年龄阶段大鼠红细胞自身抗氧化能力的影响,我们对各组红细胞进行了体外氧化处理。结果表明,在相同的体外氧化条件下,年老组和年轻组大鼠均出现显著氧化损伤,并导致L-半胱氨酸流入速度的显著下降。这意味着,在老年个体中氧化应激损伤能够通过减少L-半胱氨酸流入导致红细胞GSH合成效率的下降,降低细胞抗氧化潜能。而维生素C补充对老年和衰老组大鼠均有显著的恢复作用,减少氧化损伤程度。此外,在体外氧化条件下,维生素C补充可显著提高年老组和年轻组大鼠红细胞L-半胱氨酸流入速度。

随着人口老龄化趋势的发展,衰老相关疾病的发生率和致死率逐年上升。因此,探讨衰老变化及其发生机制,研究抗衰老药物及其作用机理已成为老年病学研究中的重要内容。本研究发现,衰老过程伴随着红细胞抗氧化能力的下降,腹腔注射维生素C可以通过提高红细胞L-半胱氨酸转运能力增加GSH等抗氧化物含量,提高细胞抗氧化潜能,从而减少氧自由基诱导的损伤。

参考文献 (References)

- 1 Harman D. Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956; 11(3): 298-300.
- 2 Fridovich I. Biological effects of the superoxide radical. *Arch Biochem Biophys* 1986; 247(1): 1-11.
- 3 Packer JE, Slater TF, Willson RL. Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature* 1979; 278(5706): 737-8.
- 4 Grebe M, Eisele HJ, Weissmann N, Schaefer C, Tillmanns H, Seeger W, *et al.* Antioxidant vitamin C improves endothelial function in obstructive sleep apnea. *Am J Resp Crit Care* 2006; 173(8): 897-901.
- 5 Desneves KJ, Todorovic BE, Cassar A, Crowe TC, *et al.* Treatment with supplementary arginine, vitamin C and zinc in patients with pressure ulcers: A randomised controlled trial. *Clin Nutr* 2005; 24(6): 979-87.
- 6 Eicher SD, Mckee CA, Carroll JA, EA Pajoret. Supplemental vitamin C and yeast cell wall beta-glucan as growth enhancers in newborn pigs and as immunomodulators after an endotoxin challenge after weaning. *J Anim Sci* 2006; 84(9): 2352-60.

- 7 刘淮玉, 吴建华, 姚宗蓓, 吕 静, 葛振涛, 盛大膺, 等. 补充维生素C和E对中老年人机体抗氧化功能的影响. 中华疾病控制杂志(Liu Huaiyu, Wu Jianhua, Yao Zongpei, Lv Jing, Ge Zhentiao, Sheng Daying, *et al.* Effect of supplement of vitamin C and vitamin E on the function of oxidation resistance in the middle-aged and old population. Chinese Journal of Disease Control and Prevention) 2007; 11(5): 505-7.
- 8 Yildiz D, Uslu C, Cakir Y, H Oztas. L-Cysteine influx and efflux: A possible role for red blood cells in regulation of redox status of the plasma. Free Radical Res 2009; 40(5): 507-12.
- 9 Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal Biochem 1996; 239(1): 70-6.
- 10 Mohandas N, Gallagher PG. Red cell membrane: Past, present, and future. Blood 2008; 112(10): 3939-48.
- 11 Swanson JW, Besarab A, Pomerantz PP, DeGuzman A. Effect of erythrocytes and globulin on renal functions of the isolated rat kidney. Am J Physiol 1981; 241(2): F139-50.
- 12 张 明, 冯树坤, 曹民姬. 冠心病在老年患者中的危险因素和治疗进展. 医学理论与实践(Zhang Ming, Feng Shukun, Cao Minji. Risk factors and treatment progress of coronary heart disease in elderly patients. The Journal of Medical Theory and Practice) 2004; 17(10): 3.
- 13 于正洪, 王苏莉, 史兆荣, 谢昆岭. 老年人恶性肿瘤研究进展. 现代肿瘤医学(Yu Zhenghong, Wang Suli, Shi Zhaorong, Xie Kunling. Progress of cancer in the elderly. Modern Oncology) 2009; 17(7): 1357-9.
- 14 葛颖华, 钟晓明. 维生素C和维生素E抗氧化机制及其应用的研究进展. 吉林医学(Ge Yinghua, Zhong xiaoming. Progress of antioxidation mechanism and application of vitamin C and vitamin E. Jilin Medical Journal) 2007; 28(5): 707-8.
- 15 Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Colombo R, Milzani A. S-glutathionylation in protein redox regulation. Free Radical Bio Med 2007; 43(6): 883-98.
- 16 Rizvi SI, Maurya PK. L-cysteine influx in erythrocytes as a function of human age. Rejuv Res 2008; 11(3): 661-5.
- 17 Kumar P, Maurya PK. L-cysteine efflux in erythrocytes as a function of human age: Correlation with reduced glutathione and total anti-oxidant potential. Rejuv Res 2013; 16(3): 179-84.