

糖水餵食與限食對大鼠抗氧化狀況的影響

蕭慧美 張廉筠 黃惠玲(通訊作者)

嘉南藥理科技大學保健營養系

摘要

許多研究顯示食用蔗糖會誘發氧化壓力，本實驗目的在於探討糖水餵食與限食對大鼠抗氧化狀況的影響。Wistar 品系雄鼠分成控制組 (C)、糖水組 (30% sucrose water, S) 與對飼育組 (SP)，飼養7週後取血液與肝臟，分析脂質過氧化指標TBARS、抗氧化分子與酵素活性。結果顯示糖水組顯著降低飼料攝取量，總熱量攝取及終體重與控制組相當，腹壁後脂肪量顯著高於控制組；SP組飼料攝取量為控制組的55%，似限食效應，終體重顯著最低。糖水鼠顯著誘發血清三酸甘油酯 (TG) 升高，分別為C組與SP組的1.64倍、2.2倍，此為糖水獨特效應。抗氧化系統方面，血清 α -生育醇含量與 α -生育醇/TG比率均因糖水餵食而顯著下降，血清GSH含量與紅血球抗氧化酵素活性三組之間無統計差異。肝臟結果顯示餵食糖水顯著降低 α -生育醇濃度，SP組之TBARS顯著低於控制組，catalase活性與蛋白質量均顯著升高，此為限食獨特效應。結論：糖水餵食顯著增加大鼠血清TG含量與腹壁後白色脂肪，此效應與糖水促進脂質生合成有關，顯著惡化維生素E營養狀況，但不影響紅血球與肝臟抗氧化酵素表現；限食顯著降低大鼠體重、肝臟TBARS，增加catalase表現量，糖水餵食對脂質的代謝有較顯著的影響，而限食對抗氧化防禦系統表現則有特殊效應存在。

關鍵詞：蔗糖水、限食、抗氧化酵素、大鼠

前言

高糖餵飼動物模式

改變飼料中的碳水化合物成份與增加比例會誘發老鼠代謝上的改變，產生類似代謝症候群 (metabolic syndrome) 等症狀，包括高胰島素血症 (hyperinsulinemia)、高血脂 (hyperlipidemia) 與高血壓 (hypertension)^(1,2)。飲水中添加 30% 蔗糖，長時間餵食也可以成功誘導大鼠⁽³⁾與小鼠⁽⁴⁾產生代謝症候群，因此糖水餵飼老鼠被視為第二型糖尿病的動物模式，然而高糖為何會造成這些疾病產生，詳細機制尚不明確，推測可能與動物體氧化壓力 (oxidative stress) 升高有關。

高糖餵飼與氧化壓力 (oxidative stress)

Faure 等學者⁽⁵⁾利用 2 周齡的 Wistar 雄性大鼠，給予高果糖飼料 6 週，誘發高 TG 血症與胰島素阻抗，不影響血漿維生素 E，但 TBARS 與 GSSG/GSH 比率顯著上升，鋅與硒含量顯著下降，銅濃度不變；紅血球之 Cu,Zn-SOD 活力明顯下降了 33%，Se-GPx 不受影響，表示高果糖餵飼會造成大鼠氧化壓力升高；同時補充 20 倍維生素 E，可以改善胰島素阻抗，並顯著降低血漿 TBARS 與 GSSG/GSH 比率，回復紅血球 Cu,Zn-SOD 活力，但不影響血清礦物質與 TG，表示補充維生素 E 確實可以透過本身清除自由基的能力而降低氧化壓力。就組織氧化壓力方面，Cavarape 等學者⁽⁶⁾餵食 Wistar 雄性大鼠 (體重 200-220g) 高果糖 (fructose) 飼料，果糖比例佔總熱量 60%，飼養 2 週後發現，果糖組對抗氧化酵素的 mRNA 含量影響具有組織特異性，顯著降低肝臟與心臟的 catalase mRNA，肌肉與脂肪組織則僅呈現較低趨勢；而 Cu,Zn-SOD mRNA 於肝臟中顯著降低，卻顯著增加

於心臟中，肌肉與脂肪組織表現也是僅呈現較低趨勢，無統計上的差異。由於飼料中果糖會影響礦物質鐵、鋅與銅的生體可利用率，這可能也是抗氧化酵素 SOD、GPx 與 catalase 酵素活性變動的原因之一⁽⁷⁾。

Busserolles 等學者用 3 周齡離乳 Wistar 品系公鼠，飼以高蔗糖飼料 2 週，發現血漿、尿液、心臟、胸腺與胰臟之 TBARS 顯著升高，肝臟僅有升高之趨勢；血漿維生素 E 顯著降低，組織則無顯著差異；NO_x(nitrite+nitrate) 含量顯著增加，血漿銅濃度顯著降低、鋅含量顯著升高。心臟細胞質 Cu,Zn-SOD 酵素活性顯著下降，但 mRNA 含量卻顯著提高，而 Mn-SOD (存在粒線體中)、GPx 與 catalase 的酵素活性與 mRNA 則不受影響，而且心臟的銅濃度下降，鋅濃度不變^(8,9)。

由以上高糖大鼠動物實驗得知，兩週短期的飼養就會導致體內有較高的氧化壓力，而且公鼠效應比母鼠明顯⁽¹⁰⁾，而抗氧化酵素中又以 Cu, Zn-SOD 酵素活性下降最能反映氧化壓力，或許可視為糖水模式氧化壓力升高的生物感應器 (biosensor)。至於高糖餵食誘發的氧化壓力卻會增加組織 Cu,Zn-SOD mRNA，推測可能導因於增加活化因子 C/EBP α 表現，因此推測氧化壓力調控 Cu,Zn-SOD 表現可能在轉錄層次「活化」與轉譯後修飾「抑制活性」，導致增加 mRNA 量與總蛋白質量，但酵素活性卻降低^(11,12)。

由於糖水會提供了額外的熱量，因此大鼠攝食量下降，在這種實驗模式中，糖水與攝食量降低（限食）均可能是影響實驗結果的因素，Cao 等學者⁽¹³⁾利用 6 週大的 Fischer 344 大鼠，每天給予控制組之 60% 飼料量，飼養 7-18 個月後犧牲，得知限食導致大鼠血清氧化壓力顯著下降。人體實驗方面，歷經 8 週低熱量飲食 (low-calorie diet, LCD) 之減重患者之血液單核球之氧化壓力與發炎相關基因表現均比肥胖者降低許多⁽¹⁴⁾，推測適度限食會降低體內氧化壓力。動物年齡、醣類添加方式、種類與餵食時間長短均會影響實驗結果，本實驗想模擬成人喝飲料的習慣，設計了喝蔗糖水 (30% sucrose) 的大鼠動物模式，利用成鼠探討喝蔗糖水對抗氧化系統的影響，由於喝糖水會導致大鼠攝食量降低，因此另設計了對飼育組（限食組），目的在於區別糖水效應是否導因於攝食量降低，或是糖水本身的獨特影響。

材料及方法

1. 實驗設計：進行大白鼠動物實驗，將體重 250 克(約為 6~7 週)的 Wistar 品系公鼠，適應 3 天後，依體重隨機分成三組，包括控制組 (control group, C)、糖水組 (30% sucrose water group, S) 與糖水對飼育組 (pair-fed sucrose group, SP)，每組 8 隻，C 及 S 組飼料與水皆自由攝取 (*ad libitum*)。由於喝糖水的大鼠有部分熱量來自於糖水，飼料攝取量會降低，因此我們設計了糖水對飼育組 (SP)，其攝食量控制與糖水組一樣，水則供應去離子水 (自由攝取)，目的在於區隔 S 組的變化是糖水 or 攝食量降低效應。實驗全程供應 AIN-93G 基礎飼料與去離子水 (幾乎不含礦物質)，飼養期間進行尾巴採血偵測相關指標變化，飼養 7 週後，分析血液、組織抗氧化酵素的表現。犧牲前禁食 8-12 小時以 CO₂ 窒息犧牲，取血液與組織：肝臟、腎臟、心臟、腦、副睪脂與腹膜後脂肪進行稱重，取樣投入液態氮中，供日後分析，部分肝臟當天均質，進行 fractionation 分出細胞質，分裝保存於 -70°C，供日後酵素分析。

2. 實驗方法：

(1) 血清分析：TG 含量採用市售試劑組 (RANDOX, Antrim, UK) 定量之；維生素 E 分析，取血漿 0.1 mL 加入 2 mL 純淨乙醇 (含 1% pyrogallol)，0.1 mL HCl 混合均勻，再加 6 mL 正己烷 (n-hexane) 激烈振盪 5 分鐘，離心分層，抽取上面 Hexane 層 5 mL 進行冷凍乾燥，於減壓真空下去除溶劑。最後加入 200 μL 甲醇充份溶解殘留物，供 HPLC^[註]分析定量。

^[註] HPLC 系統如下：

HITACHI L-2130 pump ; HITACHI L-2200 autosampler ; HITACHI L-2480 FL detector

Column: Mightysil RP-18 GP 250-4.6(5μm) column ; Flow rate : 1 mL/min ; Mobile phase: Pure methanol;
Injection volume : 20 μL ; 螢光波長 Excitation 285 nm/ Emission 330 nm

- (2) 氧化傷害指標分析⁽¹⁵⁾: 測定 TBARS 取 0.1 mL homogenate 加入 0.1 mL 10% TCA (Trichloroacetic acid), 於 10000 xg 離心 10 min 取上清液，分析 TBARS。取上清液 0.1 mL 加入 0.01 mL 0.2% BHT 及 0.2 mL 0.4%TBA，混合後放入 50°C 水浴 1 小時，水浴完冰浴冷卻，冷卻後加入 0.5 mL isobutanol 震盪 10 秒，於 3500 rpm.離心 10 min, 取上層 0.2 mL 測螢光 Ex 515 nm/ Em 550 nm (機器型號:FLx 800), 同時以 1 mM TMP standard (1,1,3,3-tetra-methoxy propanl, Sigma, T1642) 系列稀釋，作一標準曲線以供對照計算，結果以 nmol/g of tissue 表示。
- (3) 肝臟抗氧化分子與酵素分析：抗氧化分子分析維生素E、GSH含量；抗氧化酵素則分析超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, Cu,Zn-SOD)、過氧化氫酶 (觸酶, Catalase) 與麩胱甘肽過氧化酶 (Glutathione peroxidase, GPx)酵素活性。
- GSH⁽¹⁶⁾: 取肝及紅血球上清液 0.1 mL 加 1.4 mL Tris-Buffer，再加 0.1 mL 0.01M DTNB，混合後靜置5分鐘測412 nm 波長之吸光值，比對標準曲線換算樣品濃度，最後以 μmol/g of Liver 或 μmol/g of Hb 表示GSH濃度。
 - SOD⁽¹⁷⁾: 取 1 mL 5 mM Xanthine solution，加入 0.024 g cytochrome C，以 50 mM Potassium phosphate buffer，pH7.8 (含 1 mM EDTA)定量到 100 mL，製成 reagent mixture。取 2.9 mL reagent mixture，加入 0.1 mL Xanthine oxidase，再加入 0.01 mL PMS，在波長 550 nm 進行 time scanning 3 分鐘；調整 xanthine oxidase 的加入量，直到吸光值增加速率維持 0.025/min 時，即可進行樣品測定。SOD 活性單位:1 unit=在 550nm 之吸光下，使 0.025/min 的增加速率降低一半的酵素量，比活性表示為 unit/mg of PMS protein。
 - Catalase⁽¹⁸⁾: 取 0.01 mL PMS 加入 2.99 mL 10 mM H₂O₂ 混勻，偵測 OD_{240 nm} 2 分鐘吸光值之降低速率，計算 catalase 活性，結果以 k/mg of PMS protein 表示。
 - GPx⁽¹⁹⁾: 取 0.59 mL 50 mM Potassium phosphate buffer，pH7.0 (含 1 mM EDTA 及 1 mM NaN₃)，加入 0.1 mL 2 mM NADPH、0.1 mL 12 mM GSH、0.1 mL 10 unit/mL Glutathione reductase，再加入 0.01 mL PMS，混合後在室溫下靜置 3 分鐘，加入受質 0.1 mL 0.882 mM H₂O₂，依據 NADPH 在 OD_{340 nm} 3 分鐘吸光值之降低速率計算 GPx 的活性，測得 Se-dependent GPx 活性，比活性表示為 unit/mg of PMS protein。
 - Mitochondrial aconitase activity⁽²⁰⁾: 於 1 mL 石英管中加入下列反應物： 0.5 M Tris-buffer (pH 8.0) 0.2 mL、10 mM MgCl₂ 0.1 mL、10 mM citrate 0.1 mL、10 mM NADP⁺、10 units / mL isocitrate dehydrogenase、二次水 0.4 mL 及樣品 20μL，混勻後於 37°C 水浴反應 5 分鐘，迨酵素反應平衡，產物生成速率穩定呈直線型後，於 37°C 溫控下開始偵測 OD_{340 nm} 5 分鐘吸光值之變化速率，以 NADPH 分子吸光係數 6.2 mM⁻¹cm⁻¹ 計算粒線體 aconitase 酵素活性。

- (4) catalase 蛋白質分析：以西方轉濱法 (western blot) 進行分析，以 β-actin 當內標準品。先進行蛋白質電泳，將不同分子量之蛋白質分開，取適量 (15μg) PMS 蛋白質在 150 伏特電壓下以 SDS-PAGE 進行蛋白質電泳，約 65 分鐘，取下膠片，利用半乾式(semi-dry)轉印槽(Amersham)以 65 毫安培電流進行轉印 50 分鐘。免疫染色： PVDF 膜加入 NET 在 4°C 反應過夜，進行填塞作用，隔日，倒除 NET，加入 catalase 一級抗體在室溫下反應 1 小時，以 PBST 洗 3 次，每次 5 分鐘，再加入二級抗體在室溫下反應 1 小時，以 PBST 洗 5 次，每次 5 分鐘，最後與 2 mL 呈色劑(Western Lightning Plus Chemiluminescence Reagent)反應 1 分鐘

後，即可壓片顯影、定影。西方轉濱法分析結果均以 UV-P 影像處理系統定量分析，結果以 catalase/ β -actin 相對量表示之。

(5) 統計分析：實驗結果均以平均值 \pm 標準偏差 (Mean \pm SD) 表示，先確認數據為常態分佈後，以 Duncan's Multiple Range test 來檢定各組獨立樣本其組間差異之顯著性，將顯著性水準設定為 $p < 0.05$ ；相關性採 Pearson correlation 分析。各項統計以統計軟體進行分析。

結果及討論

一、生長狀況（表1、表2）

體重與攝食量方面，如表1所示，糖水組的體重增加狀況與控制組相當，外觀與活動力均無異狀，雖然其飼料攝取量顯著降低，為控制組的65%，但因總熱量攝取與控制組相當，終體重類似控制組，兩組間沒有統計上的差異；而糖水對飼育組 (SP組)，飼料攝取量為控制組的55%，相當於限食效應，第一周即出現生長遲緩現象，脾氣暴躁、不安，飼養7周後，終體重顯著低於其他兩組，約為60% ($p < 0.05$)。

組織重量及組織相對重量如表2所示，除了體脂肪比例之外，糖水組的組織重量均與控制組相當，糖水餵食顯著增加腹壁後白色脂肪 (retroperitoneal fat) 量，顯著比控制組高35% ($p < 0.05$)，組織相對重量也高於控制組33% ($p < 0.05$)，副睪脂 (EP) 無此現象。糖水對飼育組 (SP組) 除了腦之外，所有組織重量均顯著低於其他兩組，腎臟、心臟與腦之組織相對重量顯著最高 ($p < 0.05$)，由於SP組體重只有其他兩組的60%，體型小組織相對較小屬正常現象，由此得知，攝食量與總熱量均為體重及組織大小的影響因子，糖水組雖然生長正常，但是在營養不均衡的狀況下，由蔗糖水提供熱量改變正常代謝，例如促進脂質生合成效應 (lipogenesis)，所以腹壁後白色脂肪量顯著增加。

表 1 餵食糖水與限食對大鼠體重、食物攝取量、總熱量及飼料利用效率的影響

	C	S	SP
n	8	8	8
Initial body weight (g/rat)	278 ± 7^a	278 ± 7^a	278 ± 7^a
Final body weight (g/rat)	496 ± 40^a	504 ± 23^a	308 ± 59^b
Total food intake (g/rat)	1136 ± 66^a	741 ± 102^b	631 ± 132^b
Total caloric intake (Kcal)	4487 ± 260^a	4750 ± 239^a	2492 ± 520^a
Feed efficiency (%)	19.1 ± 2.5^a	30.9 ± 5.0^a	3.5 ± 8.2^a

1. Each value represents mean \pm S.D.

2. Values not sharing the same superscript letters in the same horizontal row are significantly different from one another by Duncan's Multiple Range Test ($p < 0.05$)

3. Feed efficiency (%) = Body weight gain (g) / Food intake (g) $\times 100$

表2 餵食糖水與限食對大鼠之肝、腎、心、腦與脂肪之重量及相對重量的影響

	C	S	SP
n	8	8	8
Tissue weight (g)			
Liver (g)	13.3 ± 2.1 ^a	14.3 ± 0.8 ^a	8.37 ± 2.46 ^b
Kidney (g)	3.26 ± 0.34 ^a	3.06 ± 0.34 ^a	2.21 ± 0.38 ^b
Heart (g)	1.29 ± 0.08 ^a	1.34 ± 0.09 ^a	0.86 ± 0.13 ^b
Brain (g)	1.80 ± 0.18 ^a	1.92 ± 0.09 ^a	1.85 ± 0.10 ^a
epididymal fat pad (EP) (g)	11.4 ± 3.2 ^a	10.3 ± 1.6 ^a	2.96 ± 2.11 ^b
retroperitoneal fat (RE) (g)	12.7 ± 2.2 ^b	17.2 ± 4.3 ^a	2.7 ± 2.0 ^c
WAT [#] (g)	24.1 ± 4.8 ^a	27.5 ± 4.8 ^a	6.0 ± 4.0 ^b
Relative tissue weight* (%)			
Liver (%)	2.74 ± 0.27 ^a	2.92 ± 0.12 ^a	2.78 ± 0.34 ^a
Kidney (%)	0.68 ± 0.05 ^b	0.62 ± 0.06 ^c	0.75 ± 0.03 ^a
Heart (%)	0.27 ± 0.01 ^b	0.27 ± 0.02 ^b	0.29 ± 0.02 ^a
Brain (%)	0.37 ± 0.04 ^b	0.39 ± 0.03 ^b	0.64 ± 0.13 ^a
epididymal fat pad (EP) (%)	2.33 ± 0.47 ^a	2.09 ± 0.26 ^a	0.93 ± 0.52 ^b
retroperitoneal fat (RE) (%)	2.64 ± 0.42 ^b	3.5 ± 0.81 ^a	0.81 ± 0.51 ^c
WAT# (%)	4.98 ± 0.69 ^a	5.59 ± 0.84 ^a	1.84 ± 0.97 ^b

1. Each value represents mean ± S.D.

2. Values not sharing the same superscript letters in the same horizontal row are significantly different from one another by Duncan's Multiple Range Test ($p < 0.05$)

3. #白色脂肪 (White adipose tissue, WAT) =副睪脂 (epididymal fat pad) +腹腔脂 (retroperitoneal fat)

4. Relative tissue weight* (%) = [tissue weight (g) / body weight (g)] × 100

二、血液相關指標 (表3)

血紅素濃度三組之間無統計上的差異。血清TG濃度被視為糖水誘發脂質代謝異常的指標之一，因此本實驗過程中於第四周由尾巴採血分析TG含量，發現糖水餵食4周血清TG含量即顯著高於控制組（結果未顯示），犧牲時血液結果如表3所示，S組之血清TG濃度顯著高於C與SP組，比C組高出64% ($p < 0.05$)，此結果類似前人文獻報告⁽⁴⁾，由此得知血清三酸甘油酯濃度升高是糖水餵食的獨特效應，非因攝食量降低所致。血清維生素E (α -生育醇) 濃度，控制組顯著高於其他兩組， α -生育醇/TG比值以糖水鼠顯著最低，表示維生素E在糖水餵食組有缺乏之虞，可能不足以發揮保護功效。血清GSH與鹼性磷解酶活性三組之間無統計上的差異；抗氧化酵素方面，紅血球catalase、SOD與GPx酵素活性均不受糖水餵食與限食的影響。

本實驗結果與飼料中添加高糖結果比較^(2,5)，利用成鼠糖水餵食不影響GSH含量，但顯著改變維生素E營養狀況，糖水餵食惡化維生素E營養狀況，一方面是導因於攝食量降低，但是由 α -生育醇/TG顯著最低得知，糖水餵食大鼠之保護脂質過氧化能力顯著最低，此為本實驗之重要結果。

表 3 飼食糖水與限食對大鼠血液指標的影響

	C n	S 8	SP 8
Hemoglobin ($mmol/L$)	16.7 ± 1.7^a	16.6 ± 1.2^a	16.3 ± 2.7^a
Serum			
TG ($mmol/L$)	1.07 ± 0.31^b	1.75 ± 0.34^a	0.80 ± 0.23^b
α -tocopherol ($\mu mol/L$)	11.3 ± 3.6^a	7.7 ± 2.0^b	6.5 ± 3.4^b
α -tocopherol/TG ratio ($\mu mol/mmol$)	10.9 ± 3.6^a	4.5 ± 1.4^b	8.4 ± 3.3^a
GSH ($mmol/L$)	0.64 ± 0.13^a	0.61 ± 0.11^a	0.64 ± 0.17^a
Alkaline phosphatase activity (U/L)	60.0 ± 6.4^a	63.1 ± 11.9^a	72.1 ± 16.7^a
RBC			
Catalase activity ($k/\mu mol Hb$)	1.25 ± 0.91^a	1.08 ± 0.35^a	1.28 ± 0.70^a
SOD activity ($unit/\mu mol Hb$)	67.4 ± 11.1^a	66.6 ± 7.2^a	71.4 ± 10.9^a
Glutathione peroxidase activity ($unit/\mu mol Hb$)	2.55 ± 0.22^a	2.53 ± 0.35^a	2.49 ± 0.34^a

1. Each value represents mean $\pm S.D.$

2. Values not sharing the same superscript letters in the same horizontal row are significantly different from one another by Duncan's Multiple Range Test ($p < 0.05$)

三、肝臟相關指標（表4）

肝臟方面，餵食糖水不影響TBARS與GSH含量，顯著降低 α -生育醇濃度 ($p < 0.05$)，catalase、SOD與GPx三種酵素活性也不受糖水餵食的影響，表示糖水餵食7周除了減少肝臟維生素E含量外，不改變抗氧化酵素表現，此結果與其他文獻比較⁽⁵⁻⁸⁾，有些差異，推測可能是大鼠飼養的年齡、飼養時間與蔗糖給予形式不同導致結果不同，本實驗以成鼠進行實驗需要飼養20週以上方可誘發出代謝症候群症狀⁽⁴⁾，糖水餵食會顯著降低大鼠攝食量約45%，推測飼養時間不夠長、糖水部分效應被限食效應掩蓋，導致沒有明顯的氧化壓力產生。

限食SP組之TBARS與粒線體aconitase酵素活性顯著低於控制組，抗氧化酵素之catalase活性與蛋白質量（以western blot分析）均顯著升高，此為限食獨特效應。本實驗結果得知限食可顯著降低脂質過氧化，增加抗氧化酵素catalase蛋白質量與酵素活性，有文獻^(21, 22)指出短期限食可以降低腎臟細胞之發炎相關轉錄因子NF- κ B活化、降低COX-2 (cyclooxygenase-2) 酵素活性、減少脂質過氧化作用，表示限食有助延緩老化現象。

表 4 飼食糖水與限食對大鼠肝臟TBARS、抗氧化分子與酵素的影響

	C n	S 8	SP 8
TBARS ($\mu mol/g liver$)	24.1 ± 3.6^a	22.1 ± 2.0^{ab}	18.8 ± 4.8^b
Mitochondrial aconitase acitivity ($unit/mg mitochondrial protein$)	5.99 ± 3.2^a	4.46 ± 1.8^{ab}	3.52 ± 1.1^b
<u>Antioxidative molecules</u>			
GSH ($mmol/g liver$)	3.53 ± 1.10^a	3.73 ± 0.69^a	4.01 ± 0.52^a

α -tocopherol ($\mu\text{mol/g liver}$)	15.0 ± 3.4^a	11.6 ± 1.8^b	8.1 ± 1.7^c
<u>Antioxidant enzymes</u>			
Catalase activity ($k/\mu\text{mol Hb}$)	0.67 ± 0.13^b	0.67 ± 0.11^b	0.87 ± 0.11^a
Catalase protein abundance (catalase/ β -actin)	1.42 ± 0.38^{ab}	1.18 ± 0.35^b	1.98 ± 0.83^a
SOD activity (unit/ $\mu\text{mol Hb}$)	17.1 ± 2.4^a	17.8 ± 2.1^a	18.1 ± 2.1^a
Glutathione peroxidase activity (unit/ $\mu\text{mol Hb}$)	0.64 ± 0.10^a	0.67 ± 0.10^a	0.67 ± 0.03^a

1. Each value represents mean \pm S.D.

2. Values not sharing the same superscript letters in the same horizontal row are significantly different from one another by Duncan's Multiple Range Test ($p<0.05$)

結 論

糖水餵食顯著增加大鼠血清 TG 含量與腹壁後白色脂肪量，此效應與糖水促進脂質生合成有關。糖水餵食 7 週顯著惡化維生素 E 營養狀況，但不影響紅血球與肝臟抗氧化酵素表現，限食會顯著降低大鼠體重、肝臟 TBARS，增加 catalase 表現量，此結果顯示限食除了可以減重外尚有其他效應存在，值得深入探討。

致 謝

本實驗承蒙「嘉南藥理科技大學九十七年度教師專題研究」計畫（計畫編號 CN9725）經費補助，謹致謝忱，感謝團隊所有同仁全心投入，讓研究得以順利完成。最後謝謝偉大的老鼠寶寶們，因為您們的犧牲奉獻，讓學生獲得寶貴的實驗經驗，由衷感謝！

參考文獻

- Bar-On, H. and Stein, Y., Effect of glucose and fructose administration on lipid metabolism in the rat, *J. Nutr.*, 94: 95-105, 1968
- Feillet-Coudray C., Sutra T., Fouret G., Ramos J., Wrutniak-Cabello C., Cabello G., Cristol J.P., Coudray C., Oxidative stress in rats fed a high-fat high-sucrose diet and preventive effect of polyphenols: Involvement of mitochondrial and NAD(P)H oxidase systems, *Free Radic Biol Med.*, 46:624-32, 2009
- Aguilera, A. A., Diaz, G. H., Barcelata, M. L., Guerrero, O. A., Ros, R. M., Effects of fish oil on hypertension, plasma lipids, and tumor necrosis factor-alpha in rats with sucrose-induced metabolic syndrome, *J. Nutr. Biochem.*, 1:350-357, 2004.
- Chou, Y.C., Wang, S. Y., Chen, G. C., Lin, Y. S., and Chao, P.M., The Functional Assessment of *Alpina pricei* on Metabolic Syndrome Induced by Sucrose Containing Drinking Water in Mice?, *Phytother. Res.*, 23:558-563, 2009.
- Faure, P., Rossini, E., Lafond, J. L., Richard, M. J., Favier, A. and Halimi, S., Vitamin E improves the free radical defense system potential and insulin sensitivity of rats fed high fructose diets, *J. Nutr.*, 127: 103-107, 1997.

6. Cavarape, A., Feletto, F., Mercuri, F., Quagliaro, L. and Damante, G., High-fructose diet decrease catalase mRNA levels in rat tissues, *J. Endocrinol. Invest.*, 24: 838-845, 2001.
7. O'Dell, B. L., Fructose and mineral metabolism, *Am. J. Clin. Nutr.*, 58(5 Suppl): 771S-778S, 1993.
8. Busserolles, J., Rock, E., Gueux, E., Mazur, A., Grolier, P. and Rayssiguier, Y., Short-term consumption of a high-sucrose diet has a pro-oxidant effect in rats, *Br. J. Nutr.*, 87 :337-42, 2002.
9. Busserolles, J., Zimowska, W., Rock, E., Rayssiguier, Y. and Mazur, A., Rats fed a high sucrose diet have altered heart antioxidant enzyme activity and gene expression, *Life Sci.*, 71: 1303-1312, 2002.
10. Busserolles, J., Mazur, A., Gueux, E., Rock, E. and Rayssiguier, Y., Metabolic syndrome in the rat: females are protected against the pro-oxidant effect of a high sucrose diet, *Exp. Biol. Med.*, 227: 837-842, 2002.
11. Taylor, C. G., Bettger, W. J. and Bray, T. M., Effect of dietary zinc or copper deficiency on the primary free radical defense system in rats, *J. Nutr.*, 118 : 613-621, 1988.
12. Kim, Y. H., Yoo, H. Y., Chang, M. S., Jung, G. and Rho, H. M., C/EBP alpha is a major activator for the transcription of rat Cu/Zn superoxide dismutase gene in liver cell, *FEBS Lett.*, 401: 267-270, 1997.
13. Cao, G., Prior, R.L., Cutler, R.G., Yu, B.P., Effect of dietary restriction on serum antioxidant capacity in rats, *Arch Gerontol Geriatr.*, 25:245-53, 1997.
14. Crujeiras, A.B., Parra, D., Milagro, F.I., Goyenechea, E., Larrarte, E., Margareto, J., Martínez, J.A., Differential expression of oxidative stress and inflammation related genes in peripheral blood mononuclear cells in response to a low-calorie diet: a nutrigenomics study, *OMICS*, 12:251-61, 2008.
15. Li, X.Y., Chow, C.K., An improved method for the measurement of malondialdehyde in biological samples, 29:73-5, 1994.
16. Sedlak, J., Lindsay, R. H., Estimation of total,protein-bound, and nonprotein sulphhydryl groups in tissue with Ellman's reagent, *Anal. Biochem.*, 25:192-205, 1968.
17. Flohe, L. and Otting, F., Superoxide dismutase assays, *Methods Enzymol.*, 105: 93-105, 1984.
18. Aebi, H., Catalase in vitro. *Methods of Enzymatic Analysis*, 3:273-286., 1984.
19. Paglia, D. E., Valentine, W. N., Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase, *J. Lab. Clin. Med.*, 70: 158-169, 1967.
20. Rose, I. A. and O'Connell, E. L., Mechanism of aconitase action. I. The hydrogen transfer reaction, *J. Biol. Chem.*, 242: 1870-1879., 1967.
21. McDonald, R. B., Influence of dietary sucrose on biological aging, *Am. J. Clin. Nutr.*, 128 : 1442-1449, 1995.
22. Jung, K.J., Lee, E.K., Kim, J.Y., Zou, Y., Sung, B., Heo, H.S., Kim, M.K., Lee, J., Kim, N.D., Yu, B. P., Chung, H. Y.,Effect of short term calorie restriction on pro-inflammatory NF- κ B and AP-1 in aged rat kidney, *Inflamm Res.*, 58 :143-50, 2009.

The effects of sucrose water and food restriction on antioxidative status in rats

Huey-Mei Shaw Lian-Yun Zhang Hui-Ling Huang(Corresponding Author)

Institute of Nutrition and Health Science,
Chia-Nan University of Pharmacy and Science,
Tainan, Taiwan 71710, R.O.C.

ABSTRACT

Several studies have shown that consumption of sucrose facilitates oxidative damage but the mechanisms involved are unclear. The aim of this study was to investigate effects of sucrose water and food restriction on antioxidative status in rats. Male Wistar rats were divided into three groups, a control group (C), 30% sucrose water-fed groups (S) and PF group that was pair-fed to the S group with the C diet. The TBARS content, antioxidative molecules and associated enzymes were measured in blood and liver after 7-wks feeding. Our results showed the total food intake was decreased significantly in S group compared with C group ($p<0.05$). In S group, the weight of retroperitoneal fat and serum TG (triglyceride) content were higher significantly than the other 2 groups, but a lower α -tocopherol content in serum and liver were observed. The activities of antioxidant enzymes in RBC were not different between 3 groups. The serum TG-raising effect was accompanied by significantly lowered α -tocopherol content, suggesting that vitamin E depletion may facilitates oxidative damage in sucrose-fed rats. No statistical differences were observed for serum and liver GSH level between 3 groups. However, the TBARS content was decreased significantly and increased the activity and protein abundance of catalase ($p<0.05$) by food restriction treatment (SP group). In conclusion, our results showed that high sucrose water had a detrimental effect on vitamin E status, but with specific effects on lipid metabolism. The catalase-raising and TBARS-lowering effect in SP group were observed, suggesting that food restriction may induce a protective defense against oxidative damage.

Key words : Sucrose water, food restriction, antioxidant enzymes, rats