

共轭亚油酸降血脂及抗动脉粥样硬化作用的研究*

衣 丹¹ 林学政¹ 沈继红¹ 刘发义¹ 梁晓芳²

(1 国家海洋局第一海洋研究所 山东 青岛 266061 2 青岛澳海生物有限公司 山东 青岛 266101)

摘要 目的:探讨共轭亚油酸降血脂及抗动脉粥样硬化形成的作用机制。方法:选用大鼠随机分为正常对照组、高脂模型组、c9, t11CLA:t10, c12CLA=2:1、1:1、1:3、1:6, 只含 t10, c12CLA 共 7 组。实验至第 8 周末取血,检测血清胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)和丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)活性。结果:与高脂模型组比较,共轭亚油酸组大鼠血清 TC、TG、MDA 含量明显降低, HDL、SOD 含量明显提高($P<0.05$)。结论:共轭亚油酸具有降低血脂和抗动脉粥样硬化的作用。

关键词 共轭亚油酸 高脂血症 动脉粥样硬化

中图分类号 R543.5 文献标识码 A 文章编号 1673-6273(2011)07-1228-03

Effect of Conjugated Linoleic Acid in Lowering Blood Lipids and Anti-atherosclerosis*

YI Dan¹, LIN Xue-zheng¹, SHEN Ji-hong¹, LIU Fa-yi¹, LIANG Xiao-fang²

(1 First Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Qingdao 266061, China;

2 Qingdao Auhai Biotech Co., Ltd Qingdao 266101, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the mechanism of hyperlipidemia and anti-atherosclerosis effects by conjugated linoleic acid. **Methods:** Rats were randomly divided into 7 groups: normal control group, hyperlipidemia model group, c9, t11CLA:t10, c12CLA=2:1, 1:1, 1:3, 1:6, only t10, c12CLA group. 8 week after the experiment, the total cholesterol(TC), triglyceride(TG), low density lipoprotein(LDL), high density lipoprotein(HDL), SOD and MDA in sera were detected. **Results:** Compared with those in the hyperlipidemia model rats, the levels of MDA and TC, TG in the sera of rats given with CLA were lower ($P<0.05$), while the activity of SOD and level of HDL increased ($P<0.05$). **Conclusions:** Conjugated linoleic acid could inhibit the hyperlipidemia and prevent the formation of atherosclerosis.

Key words: Conjugated linoleic acid; Hyperlipidemia; Atherosclerosis

Chinese Library Classification(CLC): R543.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)07-1228-03

前言

随着社会生产力的发展和人民生活水平的提高,以动脉粥样硬化(Artherosclerosis, AS)为发病基础的心、脑血管疾病已成为老年人最主要的致残、致死疾病^[1-3]。共轭亚油酸(conjugated linoleic acid, CLA)是一组含有顺反式共轭双键、具有位置和几何异构体的十八碳二烯酸总称^[4]。CLA 有多种生物学效应,如抗癌、抗氧化、提高机体免疫力、减少体内脂肪蓄积等^[5,6]。其中, c9, t11CLA 和 t10, c12CLA 是两种主要异构体,研究表明 c9, t11CLA 和 t10, c12CLA 异构体的生理功能不尽相同, c9, t11CLA 异构体的主要作用是抗癌, t10, c12CLA 则在降低血脂、降低血脂等方面发挥更大作用^[7]。

工业生产的共轭亚油酸中含有几乎等量的 c9, t11CLA 和 t10, c12CLA 异构体。因此人们在 CLA 使用中用到的多为等量的异构体混合物,不同异构体的特别功效得不到发挥^[8,9]。且少见不同比例共轭亚油酸对动脉粥样硬化影响的报道。本文采用自制不同异构体比例的共轭亚油酸对实验性高脂血症模型大

鼠进行研究,通过对大鼠动脉粥样硬化模型血脂、血清 MDA 水平和 SOD 活性指标的影响,探讨共轭亚油酸降血脂及预防动脉粥样硬化形成机制,确定最佳异构体比例,为共轭亚油酸的进一步开发利用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

DS 大鼠,♂,体重 200~250 g,由同济大学附属同济医院动物实验中心提供。

1.2 药品与试剂

不同异构体比例共轭亚油酸实验室自制,丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒购于南京聚力生物医学工程研究所,维生素 D 注射液购于苏州第六制药厂,其余试剂均为国产分析纯。

1.3 动脉硬化模型的建立

大鼠动脉粥样硬化模型:于实验开始时给予模型组及各给药组大鼠腹腔注射维生素 D3 注射液(总剂量 60 万 u/Kg,分三

* 基金项目:国家高技术研究发展计划"863"资助课题(No. 2007AA091905)

作者简介:衣丹(1974-)女,博士,副研究员,研究方向:生物活性物质研究与开发。

电话 053288892039 E-mail:yidan@fio.org.cn

(收稿日期 2010-12-08 接受日期 2010-12-31)

天给完),同时给予高脂饲料(配方3%胆固醇、0.5%胆酸钠、0.2%丙基硫氧嘧啶、5%白糖、10%猪油、81.3%基础饲料)。试验周期共8周。

1.4 实验分组与给药方法

实验组随机分为7组,每组8只(1)正常对照组(N):普通基础饲料;(2)AS模型组(M):高脂饲料;(3)c9,t11CLA:t10,c12CLA=2:1共轭亚油酸总含量95%剂量组(A):高脂饲料+CLA 0.5 g/kg/d;(4)c9,t11CLA:t10,c12CLA=1:1共轭亚油酸总含量95%剂量组(B):高脂饲料+CLA 0.5 g/kg/d;(5)c9,t11CLA:t10,c12CLA=1:3共轭亚油酸总含量95%剂量组(C):高脂饲料+CLA 0.5 g/kg/d;(6)c9,t11CLA:t10,c12CLA=1:6共轭亚油酸总含量95%剂量组(D):高脂饲料+CLA 0.5 g/kg/d;(7)t10,c12CLA含量99%的共轭亚油酸剂量组(E):高脂饲料+CLA 0.5 g/kg/d。

各给药组从造模第3周开始给予药物干预,所有药物均为灌胃给药,共给药8周。

1.5 实验取材

于实验结束末次给药后各组大鼠禁食12小时。晨起空腹,3%戊巴比妥钠40 mg/Kg腹腔注射麻醉后将大鼠仰卧固定于固定板上,将前胸与腹部被毛剪去,用碘酒、酒精消毒皮肤。沿

正中中线剪开,分离外皮,剪断左侧胸骨暴露心脏,采用心脏取血,采集血样按测定指标分装不同试管中。

1.6 生化指标测定

采用全自动生化分析仪测定血清胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白(LDL)和高密度脂蛋白(HDL)水平。血清MDA水平和SOD活性测定按照试剂盒说明书操作。

1.7 统计方法

所有实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间和两组间数据差异的统计学意义采用PEMS统计软件进行方差分析和q'检验。

2 结果

2.1 不同异构体比例共轭亚油酸对大鼠动脉粥样硬化模型血脂的影响

实验8周结束,模型组大鼠血清TC、TG、LDL较正常对照组明显升高,而HDL明显降低($P<0.05$),证明高脂血症存在。共轭亚油酸不同异构体比例各剂量组血清TC、TG、LDL的水平降低,HDL水平升高,与模型组相比差别具有显著性($P<0.05$)。与常规对照组比较,D、E组大鼠血清中的TC、TG、HDL的含量与常规对照组比较差异不显著,见表1。

表1 不同异构体比例共轭亚油酸对大鼠动脉粥样硬化模型血脂的影响($n=8, \bar{x} \pm s$)

Table1 The effect of the proportion of different conjugated linoleic acid isomers on the contents of blood lipids ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Groups	TC	TG	HDL	LDL
Sham group	1.96± 0.44	0.73± 0.21	1.58± 0.41	0.72± 0.33
AS group	3.63± 0.41*	1.53± 0.17*	1.06± 0.32*	2.1± 0.48*
A c9,t11CLA:t10,c12CLA=2:1	3.0± 0.27*#	1.3± 0.35*	1.2± 0.19*	1.86± 0.09*
B c9,t11CLA:t10,c12CLA=1:1	2.96± 0.24*#	1.19± 0.42*	1.38± 0.14#	1.80± 0.23*#
C c9,t11CLA:t10,c12CLA=1:3	2.71± 0.22*#	0.97± 0.27#	1.40± 0.25#	1.24± 0.56*#
D c9,t11CLA:t10,c12CLA=1:6	2.47± 0.54#	0.81± 0.18#	1.46± 0.10#	1.25± 0.28*#
E t10,c12CLA	2.38± 0.43#	0.87± 0.33#	1.47± 0.32#	1.21± 0.17*#

Note: * $P<0.05$ compared with sham group; # $P<0.05$ compared with AS group.

2.2 不同异构体比例共轭亚油酸对大鼠血浆MDA水平和SOD活性的影响

与常规对照组相比模型组血浆MDA浓度明显升高,SOD

活性明显降低($P<0.05$)。共轭亚油酸不同异构体比例各剂量组血浆MDA浓度较模型组明显降低,SOD活性明显高于模型组($P<0.05$),其中D、E组最为明显。

表2 不同异构体比例共轭亚油酸对大鼠血浆MDA水平和SOD活性的影响($n=8, \bar{x} \pm s$)

Table2 The effect of the proportion of different conjugated linoleic acid isomers on the contents of blood MDA and SOD ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Groups	MDA/ $\bar{u}$ mol/L	SOD/U/mL
Sham group	14.63± 3.18	243± 25.10
AS group	27.89± 2.72*	182± 26.62*
A c9,t11CLA:t10,c12CLA=2:1	22.42± 3.11*#	192± 23.43*
B c9,t11CLA:t10,c12CLA=1:1	20.22± 2.95*#	207± 21.55*
C c9,t11CLA:t10,c12CLA=1:3	18.79± 3.34*#	211± 22.21*#
D c9,t11CLA:t10,c12CLA=1:6	17.34± 2.61#	216± 17.50*#
E t10,c12CLA	16.54± 2.26#	228± 30.03#

Note:* $P<0.05$ compared with sham group; # $P<0.05$ compared with AS group.

3 讨论

高脂血症是动脉粥样硬化的主要危险因素,严重影响人们

的身体和生活质量^[10]。血浆中过高水平的胆固醇、三酰甘油及相应的低密度脂蛋白能促进动脉粥样硬化的形成发展^[11]。

Gavino VC的实验证实,添加CLA混合物而非纯c9,

t11CLA 的含 10% 氢化椰子油和 0.05% 胆固醇的食物喂养老鼠, 在 2-6 周的喂养过程中血浆中三酰甘油和总胆固醇的浓度显著降低。可能是添加 CLA 混合物中的 t10,c12CLA 起到了降血脂的作用^[12]。本实验结果显示不同异构体比例的共轭亚油酸组 TG、TC 均低于模型组, HDL 较模型组高, 显示不同异构体比例的共轭亚油酸能调节脂代谢紊乱, 减轻高脂血症对动脉内膜的毒性和损害作用。从本研究的结果也可以看出 D、E 组在降低总胆固醇、低密度脂蛋白及三酰甘油方面优于其他异构体比例的共轭亚油酸。总胆固醇、低密度脂蛋白及三酰甘油随着添加 t10,c12CLA 比例的增高而逐渐下降。

自由基(FR)引发脂质过氧化形成脂质过氧化物 LOP, 直接损伤内皮细胞, 使内皮细胞的退行性变化和通透性改变, 导致血小板聚集和血栓形成, 最终发生 AS。超氧化物歧化酶(SOD)是自由基主要的代谢酶, 含量增加即可增加自由基的清除, 控制动脉粥样硬化的发生和发展^[13]。通过生物体内 LOP 产物丙二醛(MDA)的含量, 可间接了解自由基对组织细胞的损伤程度, 而检测 SOD 活性的高低则反映了机体清除氧自由基的能力^[14]。

Cantwell H 研究证明, CLA 能显著提高大鼠肝细胞抗氧化系酶活性^[15]。本试验结果显示不同异构体比例的共轭亚油酸可升高 SOD 活性, 降低 MDA 水平, 与模型对照组呈显著差异, 并且随着 t10,c12CLA: c9,t11CLA 比例的增高, 升高 SOD 活性和降低 MDA 水平效果显著。也就说明共轭亚油酸具有较强的抗脂质过氧化损伤作用。提示共轭亚油酸尤其是 t10,c12CLA 可能通过增加 SOD 活性提高对体内氧化自由基的清除作用, 减少脂质过氧化物反应。

综上所述, 共轭亚油酸能调节脂代谢紊乱, 减轻高脂血症对动脉内膜的毒性和损害作用, 并可提高 SOD 活性, 降低 MDA 水平, 具有较强的抗脂质过氧化损伤作用。提示共轭亚油酸尤其是 t10,c12CLA: c9,t11CLA 比例较高时具有降低血脂和抗动脉粥样硬化的作用。

参考文献(References)

- [1] Rubenfire M, Brook RD, Rosenson RS. Treating mixed hyperlipidemia and the atherogenic lipid phenotype for prevention of cardiovascular events[J]. Am J Med, 2010,123(10):892-8
- [2] Stein EA. Other therapies for reducing low-density lipoprotein cholesterol: medications in development [J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2009,38(1):99-119
- [3] Gleeson R. The science of lipidology impacts underwriting and improves mortality[J]. J Insur Med, 2009,41(3):197-200
- [4] 刘佩, 沈生荣, 阮辉, 等. 共轭亚油酸的生理学功能及健康意义[J]. 中国粮油学报, 2009,(6): 161-164
- Liu Pei, Shen Sheng-rong, Ruan Hui, et al. Biological Effect of Con-

- jugated Linoleic Acid And Implication for Health [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2009,(6): 161-164
- [5] Watkins BA, Li Y, Lippman HE, et al. A test of Ockham's razor: implications of conjugated linoleic acid in bone biology [J]. Am J Clin Nutr, 2004, 79(6):1175-1185
- [6] Salas S J, Má rquez SF, Bulló M. Conjugated linoleic acid intake in humans: a systematic review focusing on its effect on body composition, glucose, and lipid metabolism[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2006, 46(6):479-88
- [7] Benjamin S, Spener F. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits [J]. Nutrition Metabolism, 2009, 6(36): 1-13
- [8] 石红旗, 姜伟, 衣丹, 等. 盐地碱蓬共轭亚油酸的制备及结构分析[J]. 食品科学, 2005,26(5):80-84
- Shi Hong-qi, Jiang Wei, Yi Dan, et al. Study on the Preparation of Conjugated Linoleic Acid with Salsola Seed Oil and the Determination of Molecule Structures[J]. Food Science, 2005,26(5):80-84
- [9] 衣丹, 刘发义, 姜伟, 等. 无溶剂体系酶催化酯化反应合成共轭亚油酸油脂的研究[J]. 中国粮油学报, 2005,20(2):61-63
- Yi Dan, Liu Fa-yi, Jiang Wei, et al. Study on the enriched oil with conjugated linoleic acid via enzymatic esterification in non-solvent system[J]. Chinese Cereals and Oils Association, 2005,20(2):61-63
- [10] Krauss RM. Triglycerides and atherogenic lipoproteins: rationale for lipid management[J]. Am J Med, 1998,105(1):58-62
- [11] 郭士遵. 脂代谢异常与动脉粥样硬化状况的关系 [J]. 安徽医科大学学报, 2002,37(6):465-467
- Guo Shi-zun. The role of hyperlipidemia in atherosclerosis [J]. Acta Universitatis Medicinalis Nanchang, 2002,37(6):465-467
- [12] Gavino VC, Gavino G, Leblanc MJ, et al. An isomeric mixture of conjugated linoleic acids but not pure cis-9, trans-11-octadecadienoic acid affects body weight gain and plasma lipids in hamsters[J]. J Nutr. 2000,130(1):27-29
- [13] 袁菊萍, 黄金华, 陆媛. 壳聚糖抗动脉粥样硬化的实验研究[J]. 医药导报, 2009,28(6):698-699
- Hyperlipidemia and Anti-atherosclerosis effects of chitosan[J]. Herald of Medicine, 2009,28(6):698-699
- [14] 李凤娥, 孔繁利, 孙新, 等. 人参二醇组皂苷 (PDS) 对血脂、血清 NO、MDA 含量、SOD 活力的影响 [J]. 中国民康医学, 2009,21(21): 2653-2657
- Li Feng-e, Kong Fan-li, Sun Xin, et al. Experimental study on anti-atherosclerotic effects and mechanisms of Panaxadiol Saponins [J]. Medical Journal of Chinese People's Health, 2009,21(21): 2653-2657
- [15] Cantwell H, Devery RO, Shea M, et al. The effect of CLA on the antioxidant enzyme defense system in rat hepatocytes [J]. Nutrition, 2001,17:126-151