

甘油二酯对高胆固醇血症大鼠血脂及体成分的影响

罗佳宪¹, 邹琼², 朱惠莲³, 杨博¹, 王永华^{2,4}

(1. 华南理工大学生物科学与工程学院, 广州 510006; 2. 广东粤膳特医营养科技有限公司, 广东佛山 528000;
3. 中山大学公共卫生学院, 广州 510080; 4. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广州 510641)

摘要:采用高脂饲料建立大鼠高胆固醇血症模型,同时设正常组作对照,将高胆固醇血症大鼠按血清总胆固醇水平随机分成2组,即TAG组、甘油二酯(DAG)组,喂养30 d,研究各组大鼠血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量变化及体成分变化、肝组织病理学特性等,以评价DAG对高胆固醇血症的作用。结果表明:DAG对高胆固醇血症大鼠的血脂具有一定的优化效果,具体表现为可以升高高胆固醇血症大鼠血清HDL-C,可明显减轻高胆固醇血症肝细胞脂肪变性。

关键词:甘油二酯(DAG);高胆固醇血症;血脂;体成分;脂肪肝

中图分类号:TS225.6;TS201.4 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2020)03-0085-05

Effects of diacylglycerol on blood lipid metabolism and body composition of rats with hypercholesterolemia

LUO Jiexian¹, ZOU Qiong², ZHU Huilian³, YANG Bo¹, WANG Yonghua^{2,4}

(1. School of Bioscience and Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China;
2. Guangdong Yue-s Special Nutrition Technology Co., Ltd., Foshan 528000, Guangdong, China;
3. School of Public Health, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 4. School of Food Sciences and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

Abstract: The rat models of hypercholesterolemia were established with high fat diet and normal rats were adopted as the control group. After the establishment of the model, rats were randomly divided into 2 groups of TAG and diacylglycerol(DAG) based on the total serum cholesterol. The experiment lasted thirty days, and then the changes in total cholesterol(TC), triglyceride(TG), high-density lipoprotein cholesterol(HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol(LDL-C) and body composition of the rats, as well as the histopathology in rats liver tissue were determined so as to evaluate the effect of DAG on hypercholesterolemia rats. The results showed that DAG had a certain optimization effect on the blood lipid of hypercholesterolemia rats, which showed that DAG could improve serum HDL-C in hyperlipidemia rats, and significantly decrease hepatocellular steatosis.

Key words: diacylglycerol(DAG); hypercholesterolemia; blood lipid; body composition; fatty liver

《中国心血管病报告2018》指出,我国现有心血管疾病患者约2.9亿,心血管疾病是导致死亡的最主要原因^[1],而高脂血症是导致心血管疾病的主要原因

因之一,是动脉粥样硬化最主要的危险因素^[2]。研究显示,通过对高脂血症,特别是高胆固醇血症的预防和治疗,可以明显降低心血管疾病的发病率和死亡率^[3]。临床治疗上采用西药的疗效比较显著,但长时间使用存在一定副作用,会给机体带来不良反应。如何有效地通过饮食干预降低高胆固醇血症的发病率是当代人们研究的热点。

甘油二酯(DAG)作为一种功能性脂质,从2000年以来就被广泛地研究。DAG是由两分子脂肪酸与甘油酯化得到的产物,属于油脂的天然成分^[4]。

收稿日期:2019-11-11;修回日期:2020-01-06

基金项目:国家自然科学基金(31601398);佛山市南海区“蓝海人才计划”创新创业团队(201811070001)

作者简介:罗佳宪(1994),男,硕士研究生,研究方向为油脂工程(E-mail)416282604@qq.com。

通信作者:王永华,教授(E-mail)yonghw@scut.edu.cn。

DAG 有 1,3-DAG 和 1,2-DAG 两种异构体,在多数天然油脂和人造 DAG 中主要以 1,3-DAG 形式存在(1,3-DAG 与 1,2-DAG 比例为 7:3)^[5]。一系列的动物实验与人体实验证明了浓度大于 27.3% 的 DAG 具有降低餐后甘油三酯^[6-7]、提高脂肪酸的 β -氧化^[8-9]、降低体重^[10-11]等作用。本文建立了高胆固醇血症大鼠模型,研究 DAG 对其血脂及体成分的影响,旨在为 DAG 的进一步研究及利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物及试剂

SPF 级健康成年雄性 SD 大鼠 36 只,体重(200±20)g,由广东省医学实验动物中心提供,许可证号[SYXK(粤)2017-0080]。实验动物在室温 20~25℃、湿度 40%~70% 的动物房内饲养,适应性喂养 1 周,实验期间自由摄食和饮水。DAG (1,3-DAG 与 1,2-DAG 比例 7:3),广东粤膳特营养科技有限公司提供。戊巴比妥钠,广州顾得生物科技有限公司;4% 甲醛,北京索莱宝科技有限公司;生理盐水等。

1.1.2 动物饲料

普通饲料,AIN-93 标准饲料;普通高脂饲料、大豆油高脂饲料、DAG 高脂饲料,在普通饲料的基础上配制。饲料配方见表 1。

表 1 大鼠饲料的配方 %

配料	普通饲料	普通高脂饲料	大豆油高脂饲料	DAG 高脂饲料
玉米淀粉	39.70	32.40	32.40	32.40
酪蛋白	20.00	17.02	17.02	17.02
猪油	-	15.00	-	-
麦芽糊精	13.20	11.04	11.04	11.04
胆固醇	-	1.20	1.20	1.20
胆酸钠	-	0.20	0.20	0.20
蔗糖	10.00	8.36	8.36	8.36
大豆油	7.00	5.85	20.85	5.85
DAG	-	-	-	15.00
纤维素	5.00	4.18	4.18	4.18
复合矿物质 S10022G	3.50	3.50	3.50	3.50
复合维生素 M10037	1.00	1.00	1.00	1.00
L-胱氨酸	0.30	-	-	-
酒石酸氢胆碱	0.25	-	-	-
色素	0.05	-	-	-
其他小料	-	0.25	0.25	0.25
合计	100	100	100	100

所有饲料委托江苏美迪森生物医药有限公司加工成条状后,小包独立包装,真空密封,经⁶⁰Co 辐照灭菌后保存于实验室 4℃ 冷库中,使用前取出。

1.1.3 主要实验仪器

罗氏 Cobas8000 C702 全自动生化仪,Discovery ASY-00409 直接数字化双能 X 线骨密度仪(美国 Hologic 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 高胆固醇血症大鼠模型的建立

在本实验室条件下给大鼠喂饲普通饲料适应 1 周后,按体重随机分成 2 组,即对照组($n=12$)和模型组($n=24$),两组大鼠分别喂饲普通饲料和普通高脂饲料 30 d。

1.2.2 干预实验

将高胆固醇血症大鼠按照血清总胆固醇水平随机分为 2 组,即 TAG 组、DAG 组,每组 12 只,分别喂饲大豆油高脂饲料和 DAG 高脂饲料 30 d,建模时对照组继续喂养。

1.2.3 评价指标的检测

1.2.3.1 一般情况

喂养期间每日观察动物外观(毛发色泽、光亮程度、稀疏程度)、神态(精神状态、意识状态、反应灵敏度)、活动、食欲等一般情况,记录饲料摄入情况。每周测量(禁食 12 h 后)各组大鼠空腹体重、身长。

1.2.3.2 体成分测定

干预实验结束后将大鼠禁食 8.5 h,先注射 3% 的戊巴比妥钠将动物麻醉(用量 0.1 mL/100 g,约 30 mg/kg),再用细绳将大鼠四肢固定于水平放置的泡沫板上,采用双能 X 线吸收法^[12]测量大鼠骨密度及体脂率。

1.2.3.3 血样采集及分析

大鼠体成分测定结束后恢复饮食 4 h,再禁食 9 h,采用股动脉采血方式每只大鼠采血约 10 mL。血液标本放置 30 min 后,4℃、3 000 r/min 离心 15 min,分离出血清并在 4℃ 冰箱保存待测。

大鼠血脂 4 项指标(总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C))采用全自动生化仪^[13-14]进行检测。

1.2.3.4 组织病理切片观察

干预实验结束后取大鼠肝脏,将肝组织固定后,生理盐水冲洗,经脱水、浸蜡、包埋、切片、脱蜡、脱水、HE 染色、封片后在显微镜下观察。

1.3 数据处理及统计

计量数据以“平均值±标准差($\bar{X} \pm S$)”表示,

两组间比较采用 t 检验,多组间比较用单因素方差分析(One-way ANOVA);计数资料用频率表示,组间比较采用卡方检验。所有实验数据均以 SPSS 16.0 进行统计,统计学差异水平为 $P=0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 高胆固醇血症大鼠模型的建立

2.1.1 建模期间大鼠体重的变化(见表2)

表2 建模期间大鼠体重的变化

组别	W0	W1	W2	W3	W4
对照组	190.17 ± 5.06	254.17 ± 11.61	315.08 ± 17.93	361.00 ± 22.39	406.58 ± 26.79
模型组	191.67 ± 6.23	260.50 ± 14.09 ^a	324.83 ± 23.06	369.96 ± 30.56	416.17 ± 39.21

注:W0、W1、W2、W3、W4 分别表示建模分组时、第一周末、第二周末、第三周末和第30天的体重;a.与对照组相比 $P < 0.05$ 。

由表2可见,两组大鼠体重均随着喂养时间的延长而增加,且两组相同喂养时间的体重除第一周末外差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.1.2 建模结束时大鼠血脂4项指标的比较(见表3)

表3 建模结束时两组大鼠血脂指标比较 mmol/L

组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C
对照组	1.65 ± 0.33	1.07 ± 0.27	1.33 ± 0.23	0.23 ± 0.08
模型组	4.70 ± 1.60 ^a	0.78 ± 0.28 ^b	1.19 ± 0.25	4.24 ± 1.83 ^a

注:a.与对照组比较 $P < 0.01$;b.与对照组比较 $P < 0.05$ 。

由表3可见,建模结束时,模型组 TC、LDL-C

含量明显高于对照组($P < 0.01$),HDL-C 含量差异在两组间无统计学意义。表明普通高脂饲料喂养30d,大鼠血脂水平显著升高,形成了高胆固醇血症。另外,模型组 TG 明显低于对照组($P < 0.05$),原因是建模饲料配方中缺乏高糖成分^[15]。

2.2 干预实验期间大鼠评价指标的变化

2.2.1 大鼠体重及饲料利用率(见表4、表5)

由表4可见,在干预实验期间,各组大鼠体重均随着喂养时间的延长而增加,但各组间相同喂养时间的体重差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表4 干预实验期间大鼠体重的变化

组别	W0	W1	W2	W3	W4
对照组	406.58 ± 26.79	460.92 ± 34.88	491.08 ± 37.87	516.83 ± 39.41	577.58 ± 59.63
TAG组	424.50 ± 39.84	465.92 ± 41.71	502.00 ± 41.89	538.83 ± 46.62	577.75 ± 59.79
DAG组	407.83 ± 38.63	449.00 ± 41.21	486.42 ± 41.60	517.00 ± 46.67	555.33 ± 51.94

注:W0、W1、W2、W3、W4 分别表示干预实验分组时、第一周末、第二周末、第三周末和第30天的体重。

表5 干预实验期间大鼠饲料利用率 %

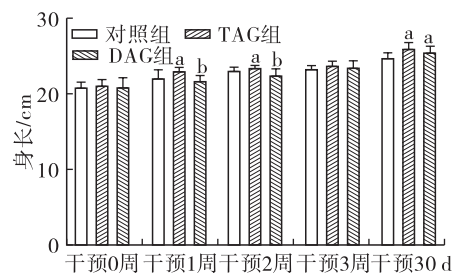
组别	干预1周	干预2周	干预3周	干预30d
对照组	0.31 ± 0.05	0.23 ± 0.04	0.17 ± 0.03	0.38 ± 0.31
TAG组	0.30 ± 0.17	0.23 ± 0.05	0.28 ± 0.06 ^a	0.21 ± 0.13 ^a
DAG组	0.30 ± 0.13	0.33 ± 0.05 ^{ab}	0.22 ± 0.07 ^b	0.21 ± 0.04 ^a

注:饲料利用率 = 体重增长量/饲料消耗量 × 100%;a.与对照组比较 $P < 0.01$;b.与TAG组比较 $P < 0.05$ 。

由表5可见:干预2周时,DAG组饲料利用率明显高于TAG组和对照组;干预3周时,TAG组饲料利用率高于对照组与DAG组($P < 0.05$);干预30d时,TAG组和DAG组饲料利用率无显著差异($P > 0.05$),但均低于对照组($P < 0.05$)。

2.2.2 大鼠身长(见图1)

由图1可以看出:干预1周和2周时,TAG组大鼠的身长大于其余组别($P < 0.05$);干预实验结束后,TAG组和DAG组大鼠身长均大于对照组($P < 0.05$)。



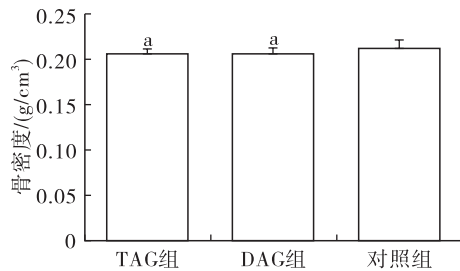
注:干预0周表示建模完成时;a.与对照组比较 $P < 0.05$;b.与TAG组比较 $P < 0.01$ 。

图1 干预实验期间大鼠身长的变化

2.2.3 大鼠骨密度

干预实验结束后,通过双能X线骨密度仪检测大鼠骨密度,结果如图2所示。

由图2可见,DAG组和TAG组之间大鼠骨密度无明显差异($P > 0.05$),与对照组比较,DAG组和TAG组骨密度降低($P < 0.05$)。



注:a. 与对照组比较 $P < 0.05$ 。

图2 DAG对大鼠骨密度的影响

2.2.4 大鼠体脂率

干预实验结束后,由双能 X 线吸收法测得大鼠体脂率的数据见表 6。

表6 大鼠体脂率的变化

组别	体脂率/%
对照组	27.30 ± 3.14
TAG组	27.92 ± 3.52
DAG组	26.28 ± 3.75

由表6可见,DAG组大鼠相比于TAG组和对照组,体脂率有所下降,但差异不显著($P > 0.05$)。

2.2.5 大鼠血脂4项指标

干预实验结束后,采用全自动生化仪检测大鼠血脂4项指标,结果见表7。

表7 大鼠血脂4项指标检测结果

组别	TC	TG	LDL-C	HDL-C
对照组	1.79 ± 0.28	1.25 ± 0.42	0.27 ± 0.09	1.34 ± 0.18
TAG组	3.17 ± 0.53 ^a	0.55 ± 0.15 ^a	2.41 ± 0.63 ^a	1.27 ± 0.15
DAG组	3.57 ± 1.18 ^a	0.56 ± 0.11 ^a	2.83 ± 1.26 ^a	1.42 ± 0.21 ^b

注:a. 与对照组相比 $P < 0.05$; b. 与TAG组相比 $P < 0.05$ 。

由表7可见,DAG组HDL-C含量显著高于TAG组($P < 0.05$),TC、TG和LDL-C含量与TAG组差异无统计学意义。说明与TAG相比,DAG使高胆固醇血症大鼠的血清HDL-C明显升高($P < 0.05$)。

2.2.6 大鼠肝脏的形态

各组大鼠肝脏切片HE染色结果见图3。由图3可见:正常对照组大鼠肝细胞质地较紧密,有条索状结构,无其他异常变化;TAG组大鼠肝组织细胞坏死严重,胞核固缩、碎裂,胞质被破坏,细胞脂肪化严重,存在大量脂肪空泡,脂质充积于胞质,正常细胞结构被破坏;与TAG组相比,DAG组大鼠肝细胞受损情况及脂肪化程度有明显好转,结构基本恢复正常,未见大空泡样变性。

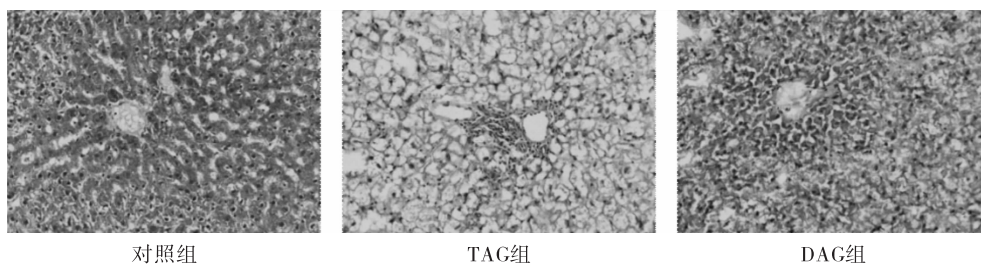


图3 各组大鼠肝脏切片HE染色图像(×200)

2.3 讨论

本研究采用由猪油、胆固醇和胆酸钠等成分构成的高脂饲料配方构建高胆固醇血症大鼠模型。高脂饲料喂养30 d,模型组大鼠血清中TC、LDL-C含量均有明显升高,HDL-C含量降低,表明喂食该配方的高胆固醇饲料可成功建立高胆固醇血症模型。模型组大鼠血清中TG不升反降,表明该模型比较适用于单纯性高胆固醇血症的研究中,而不适用于高三酰甘油血症研究。另外,从大鼠的体重变化来看,本实验采用的高脂饲料对大鼠体重的影响并不强于普通饲料,高脂模型与肥胖模型有不同定义,血脂变化与体重变化无直接相关性。

模型构建成功后,将其分成了TAG组和DAG组,其中TAG组的高脂饲料中猪油成分替换成大豆油,以保证和DAG组饲料中脂肪酸比例相同(DAG

是以一级大豆油为原料,经生物酶法加工工艺得到的新型健康食用油),DAG组饲料则用DAG全部替换大豆油。各组大鼠喂养30 d,检测各组大鼠体成分、血脂水平及肝脏切片病理形态变化。结果显示:高大豆油和DAG饮食会影响大鼠的骨密度;DAG组大鼠HDL-C含量显著高于TAG组($P < 0.05$),血清中HDL-C含量与冠心病和动脉硬化的发生和发展呈负相关,显著增加HDL-C的水平表明DAG在抑制体脂积累和预防心血管疾病方面具有一定的应用潜力;持续喂食高脂、高胆固醇的饲料使TAG组大鼠出现了大量的大型脂肪空泡,而DAG膳食可以减少由高脂、高胆固醇饲料引起的大鼠肝脏中脂质的蓄积。需要指出的是,如果在疾病模型中探讨DAG降低体脂、优化血脂的生理功能,建议延长DAG干预时间。为了进一步探讨DAG对人体高胆

固醇血症的影响,尚需进一步开展大样本人群的临床流行病学研究。

3 结论

本研究通过替换饲料中油脂组分对高胆固醇血症大鼠做饮食干预,探讨了 DAG 对高胆固醇血症大鼠血脂代谢和体成分的影响。结果显示:DAG 对高胆固醇血症大鼠的血脂具有一定的优化效果,DAG 不仅可以升高高胆固醇血症大鼠血清 HDL - C,并且可减少脂质沉积对肝脏的损害。

参考文献:

- [1] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2018》概要[J].中国循环杂志,2019,34(3):209-220.
- [2] NELSON R H. Hyperlipidemia as a risk factor for cardiovascular disease[J]. Prim Care, 2013, 40(1): 195-211.
- [3] 闵文剑,齐炼文,杨鹏.新型降血脂药物的研究进展[J].中国新药杂志,2019,28(19):2367-2374.
- [4] 刁小琴,孔保华,陈倩,等.甘油二酯生理作用及作为可食用油的安全性评价[J].食品工业,2014,35(12):233-236.
- [5] LEE Y Y, TANG T K, PHUAH E T, et al. Production, safety, health effects and applications of diacylglycerol functional oil in food systems: a review[J/OL]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2019(8):1-17[2019-11-11]. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1650001>.
- [6] SAITO S, YAMAGUCHI T, SHOJI K, et al. Effect of low concentration of diacylglycerol on mildly postprandial hypertriglyceridemia[J]. Atherosclerosis, 2010, 213(2): 539-544.
- [7] TADA N, SHOJI K, TAKESHITA M, et al. Effects of diacylglycerol ingestion on postprandial hyperlipidemia in diabetes[J]. Clin Chim Acta, 2005, 353(1/2): 87-94.
- [8] ANDO Y, SAITO S, YAMANAKA N, et al. Alpha linolenic acid-enriched diacylglycerol consumption enhances dietary fat oxidation in healthy subjects: a randomized double-blind controlled trial[J]. J Oleo Sci, 2017, 66(2): 181-185.
- [9] HIBI M, TAKASE H, YASUNAGA K, et al. Fat utilization in healthy subjects consuming diacylglycerol oil diet: dietary and whole body fat oxidation[J]. Lipids, 2008, 43(6): 517-524.
- [10] DEVI B L A P, GANGADHAR K N, PRASAD R B N, et al. Nutritionally enriched 1,3-diacylglycerol-rich oil: low calorie fat with hypolipidemic effects in rats[J]. Food Chem, 2018, 248:210-216.
- [11] KIM H, CHOE J H, CHOI J H, et al. Medium-chain enriched diacylglycerol (MCE-DAG) oil decreases body fat mass in mice by increasing lipolysis and thermogenesis in adipose tissue[J]. Lipids, 2017, 52(8): 665-673.
- [12] 王继红,张源,赵兴山,等.双能 X 线吸收法对体脂测量的应用[J].中国循环杂志,2011,26(3):212-215.
- [13] 唐妮娜.罗氏 cobas c 702 全自动生化分析仪性能验证[J].实验与检验医学,2019,37(4):632-634.
- [14] 辛红菊.全自动生化分析仪常规血脂检验应用于冠心病并糖尿病的的诊断价值研究[J].中国医疗器械信息,2019,25(18):123-124.
- [15] 严家荣,王弋,刘盛来,等.2种高脂血症大鼠模型比较[J].中国药业,2017,26(8):5-7.

· 广告 ·

上海久星导热油股份有限公司

上海股权托管交易中心挂牌 简称:久星股份 代码:E100341



久星导热油 导热承长久

- 10 多项导热油创新成果助推行业发展
- 20 多年精细化管理铸就久星品牌
- 30 多年专业积累汇集《导热油应用手册》
- 1 0000 多个用户使用数据完整建档
- 15 0000 多吨导热油销往全国和世界各地



久星官方微信 久星官方网站

油脂行业推荐产品

- L-QB300导热油 (高新成果项目、适用于开式系统)
- L-QC320合成高温导热油 (最高允许使用温度达320°C)

久星股份创始于20世纪90年代,是集研发、生产、销售和服务于一体的导热油和导热油节能清洗修复剂的专业厂商,中国锅炉水处理协会理事单位。公司荣获高新技术企业、上海五星级诚信创建企业等荣誉称号,通过GB/T 19001-2016/ISO 9001-2015质量体系认证,公司生产产品各项理化指标全部符合GB 23971-2009要求。

地址:上海茂兴路86号22D 总机:021-58708588 热线:4008 810 018 13331833379 生产基地:上海老港工业园良乐路229号