

不同配比高 $n-3/n-6$ 多不饱和脂肪酸 对大鼠胰岛素抵抗的影响



邱雅 张磊 刘寒强 杨瑞华 徐孝娜 王枫¹
第四军医大学营养与食品卫生学教研室, 西安 710032

摘要:目的 探讨长期摄入高脂不同 $n-3/n-6$ 多不饱和脂肪酸(PUFAs) 构成比的饮食后,大鼠胰岛素敏感性及血清炎症因子表达水平的变化。方法 40只刚断乳雄性SD大鼠适应性喂养7天后,根据体重随机分为4组:空白对照组(基础饲料)、高脂组(猪油)、高脂1:1组($n-3/n-6$ 为1:1)和高脂1:4组($n-3/n-6$ 为1:4),每组10只。每周记录一次大鼠体重,喂养16周处死动物,检测大鼠血脂、血清胰岛素敏感性和血清炎症因子(IL-6、TNF- α 和hs-CRP)表达水平。结果 与空白对照组相比,其他3个组体重显著上升($P < 0.05$);高脂1:1组胰岛素敏感性与空白对照组比较,差异无显著性,且显著高于高脂组和高脂1:4组($P < 0.05$);与高脂组相比,高脂1:1组血清TNF- α 和hs-CRP表达水平显著下降($P < 0.05$)。结论 长期摄取高多不饱和脂肪酸同样具有肥胖风险,提高 $n-3$ PUFAs在膳食构成中的比重可以有效抑制炎症因子表达,改善胰岛素敏感性,预防胰岛素抵抗的发生。

关键词: 多不饱和脂肪酸 胰岛素抵抗 炎症因子
中图分类号: R587.1 Q547 文献标识码: A

Effects of dietary different ratios of high $n-3/n-6$ polyunsaturated fatty acids on insulin resistance in rats

QIU Ya, ZHANG Lei, LIU Hanqiang, YANG Ruihua, XU Xiaona, WANG Feng
Department of Nutrition and Food Hygiene, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

Abstract: Objective To study the effects of dietary different ratios of high-fat $n-3/n-6$ polyunsaturated fatty acids (PUFAs) on insulin sensitivity and pro-inflammatory cytokines expression in serum of rats. **Methods** 40 young male SD rats ($n=10$) after adaptive feeding 7d were randomly divided into 4 groups, fed by common diet, high fat diet, high fat with $n-3/n-6$ 1:1 PUFAs diet, and high fat with $n-3/n-6$ 1:4 PUFAs diet. The animals were weighted weekly and sacrificed at 16 weeks, then blood lipids, serum insulin sensitivity and pro-inflammatory cytokines (IL-6, TNF- α and hs-CRP) were determined. **Results** Compared with normal control group, three high fat groups result in a significant increase of body weight gain. Insulin sensitivity of high fat 1:1 group had no significant difference with normal control, but is significantly higher than high-fat and high-fat 1:4 group ($P < 0.05$). Compared with high fat group, pro-inflammatory cytokines expression of high fat 1:1 group decreased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** High dietary polyunsaturated fatty acids appears associated with a trend towards obesity risk,

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No. 81072303)

作者简介: 邱雅,女,硕士,研究方向: 分子营养学, E-mail: qiuya720@163.com

¹ 通讯作者: 王枫,男,教授,研究方向: 分子营养学, E-mail: wfeng@fmmu.edu.cn

however, increase of the proportion of n-3 PUFAs dietary composition effectively decreased the expression of pro-inflammatory cytokines, then, improved insulin sensitivity and prevented insulin resistance.

Key words: polyunsaturated fatty acids, insulin resistance, pro-inflammatory cytokines

胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 是 II 型糖尿病发病早期的典型特征,膳食中长期摄取大量的饱和脂肪酸诱导机体脂质代谢异常是重要的发病原因之一,与此同时,多种促炎症通路被激活,炎症因子直接干扰胰岛素信号转导通路,最终发展为慢性炎症,抑制胰岛素敏感性。膳食多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) 具有影响血脂代谢的作用,其中 n-3 PUFAs 还具有抗炎作用^[1]。西方饮食中长期存在 n-6 PUFAs 过量和 n-3 PUFAs 缺乏的现象,这种饮食方式会诱发糖尿病、心血管疾病、癌症和自身免疫性疾病,研究发现,提高 n-3 PUFAs 在食用油中的比重可有效预防以上疾病^[2]。本实验通过调节高脂 n-3/n-6 PUFAs 比值,观察大鼠总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、空腹血糖 (FPG)、空腹胰岛素 (FINS) 的变化,检测大鼠血清中超敏 c 反应蛋白 (hs-CRP)、肿瘤坏死因子 (TNF- α) 和白细胞介素 6 (IL-6) 水平,探讨不同配比高 n-3/n-6 多不饱和脂肪酸对脂质代谢、胰岛素敏感性和炎症因子的作用,为预防 II 型糖尿病和改善胰岛素抵抗患者临床营养膳食提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 饲料

基础饲料组饲料配方中,碳水化合物、蛋白质和脂肪含量分别为 68.1%、19.3% 和 12.6%。高脂组采用脱脂饲料加猪油,碳水化合物、蛋白质和脂肪含量分别为 38.5%、16.5% 和 45.0%。高脂 1:1 组采用脱脂饲料加 n-3/n-6 PUFAs 为 1:1 油 (n-3 为亚麻酸油,含 60% α -亚麻酸, n-6 为琉璃苣油,含 20% γ -亚麻酸, 40% 亚油酸),碳水化合物、蛋白质和脂肪含量分别为 41.7%、13.3% 和 45.0%;高脂 1:4 组采用脱脂饲料另添加 n-3/n-6 PUFAs 为 1:4 油,三大营养素供能比与 1:1 组相同。四组的脂肪供能比分别为 12.6%、45.0%、45.0% 和 45.0%。

1.2 试剂与仪器

植物油购于许昌元化生物科技公司,总胆固醇 (TC) 和甘油三酯试剂盒 (TG) (北京普利莱基因技术有限公司),罗氏活力型血糖仪,大鼠胰岛素 Elisa 试剂盒,大鼠炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 hs-

CRP Elisa 试剂盒 (上海西塘生物科技有限公司)。

1.3 动物分组

21 天刚断乳雄性清洁级 SD 大鼠,体重 90~110g,购于第四军医大学实验动物中心。基础饲料 (第四军医大学实验动物中心提供) 适应性喂养 1 周后,根据体重将动物随机分为 4 组:空白对照组、高脂组、高脂 1:1 组、高脂 1:4 组。每组 10 只,给予饲料如上所述。

1.4 方法

实验动物在二级动物 (清洁级) 实验室单笼喂养,自由饮水,温度适宜,12 小时昼夜交替,每组喂食相应饲料,记录每周体重,四组动物喂养到 16 周时禁食 12 小时,腹腔注射戊巴比妥钠 (0.3ml/100g BW) 麻醉,于大鼠心脏处采集全血,37℃ 水浴 30min,4 000r/min 离心 5min 后收集血清,-80℃ 保存待测。取肾周和睾周脂肪组织同称重,计算脂体比。

1.4.1 总胆固醇 (TC) 和甘油三酯 (TG) 北京普利莱基因技术有限公司试剂盒。

1.4.2 空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG) 大鼠剪尾取血一滴,用罗氏活力型血糖仪测定全血血糖。

1.4.3 空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS)、炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 hs-CRP 的测定 大鼠胰岛素采用酶联免疫法,炎症因子采用双抗体夹心 Elisa 法测定,试剂盒均购于上海西唐生物科技有限公司。

1.4.4 胰岛素敏感指数 (insulin sensitivity index, ISI) 的计算 $ISI = -\log [1 / \text{空腹血糖 (mmol/L)} \times \text{空腹胰岛素} (\mu\text{IU/ml})]$ 。

1.4.5 脂体比的计算 脂体比 = [肾周脂肪 (g) + 睾周脂肪 (g)] / 体重 (g) $\times 100\%$

1.4.6 统计方法 应用 SPSS16.0 统计软件 One Way-ANOVA 分析多组间的统计学差异,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,一类错误设置在 5% ($\alpha = 0.05$)。

2 结果

2.1 各组大鼠体重的比较

由表 1 可见,各组动物实验前体重无显著性差异,给予不同饲料后,各组体重均增长,8 周时高脂组和空白对照组相比体重增长显著 ($P <$

0.05), 16 周时其他三组较空白对照组相比增长 差异有显著性 ($P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠体重变化

Table 1 Comparison of body weight of rats in different groups ($n = 10 \bar{x} \pm s$) g

组别	0 天	4 周	8 周	16 周
空白对照组	102.71 ± 3.31	253.93 ± 20.84	342.12 ± 10.11	475.40 ± 13.23
高脂组	100.52 ± 5.31	254.72 ± 10.41	406.36 ± 14.12 ⁽¹⁾	586.46 ± 9.80b ⁽¹⁾
高脂 1:1 组	107.08 ± 2.38	258.12 ± 4.28	376.36 ± 7.45	564.64 ± 15.12 ⁽²⁾
高脂 1:4 组	99.71 ± 4.92	231.80 ± 6.13	391.12 ± 9.08	576.76 ± 12.56 ⁽²⁾

注: (1) 与空白对照组相比 $P < 0.05$; (2) 与高脂组相比 $P < 0.05$

2.2 不同高 n-3/n-6 PUFAs 膳食对大鼠 TC、TG 和脂体比的影响

由表 2 可见, 与空白对照组比较, 高脂组和高脂 1:4 组大鼠 TC 和 TG 升高显著 ($P < 0.05$), 但是高脂 1:1 组 TC 和 TG 增长与空白对照组差异无

显著性 ($P > 0.05$), 但与高脂组相比差异有显著性 ($P < 0.05$)。3 个高脂组的脂体比与空白对照组相比增长显著 ($P < 0.01$), 且 3 组组间脂肪含量差异无显著性。

表 2 不同配比脂肪酸膳食对大鼠 TC、TG 和脂体比的影响

Table 2 Effect of different ratios of n-3/n-6 PUFAs on total cholesterol and triglyceride and fat content of rats ($n = 10 \bar{x} \pm s$)

组别	总胆固醇 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)	脂体比 (%)
空白对照组	1.61 ± 0.21	0.97 ± 0.13	4.27 ± 0.64
高脂组	2.53 ± 0.35 ⁽¹⁾	1.79 ± 0.25 ⁽¹⁾	19.08 ± 3.54 ⁽²⁾
高脂 1:1 组	1.87 ± 0.19	1.17 ± 0.08	16.18 ± 1.86 ⁽²⁾
高脂 1:4 组	2.38 ± 0.21 ⁽¹⁾	1.62 ± 0.11 ⁽¹⁾	18.60 ± 1.79 ⁽²⁾

注: 与空白对照组相比, (1) $P < 0.05$, (2) $P < 0.01$; 与高脂组相比 $P < 0.05$

2.3 不同高 n-3/n-6 PUFAs 膳食对大鼠空腹血糖、空腹胰岛素及胰岛素敏感性的比较

由表 3 可见, 与正常对照组相比, 高脂组和高脂 1:4 组大鼠 ISI 水平显著下降 ($P < 0.05$), 高脂

1:1 组 FPG, FINS 和 ISI 均与空白对照组相比差异无显著性。而高脂 1:4 组 FPG 与空白对照组相比差异无显著性。

表 3 不同配比脂肪酸膳食对大鼠空腹血糖、空腹胰岛素及胰岛素敏感性的影响

Table 3 Effect of different ratios of n-3/n-6 PUFAs on FPG, FINS and ISI of rats ($n = 10 \bar{x} \pm s$)

组别	空腹血糖 (mmol/L)	空腹胰岛素 (mmol/L)	胰岛素敏感性 ($\mu\text{IU}/\text{ml}$)
空白对照组	5.54 ± 0.11	7.27 ± 2.31	-1.53 ± 0.31
高脂组	9.18 ± 1.25 ⁽¹⁾	14.11 ± 3.01 ⁽¹⁾	-2.21 ± 1.02 ⁽¹⁾
高脂 1:1 组	5.80 ± 0.32 ⁽²⁾	8.14 ± 1.25 ⁽²⁾	-1.58 ± 0.12 ⁽²⁾
高脂 1:4 组	6.02 ± 0.64 ⁽²⁾	12.59 ± 2.71 ⁽¹⁾	-1.97 ± 0.94 ⁽¹⁾

注: (1) 与空白对照组相比 $P < 0.05$; (2) 与高脂组相比 $P < 0.05$

2.4 不同高 n-3/n-6 PUFAs 膳食对大鼠血清炎症因子水平的影响

由表 4 可见, 高脂组和高脂 1:4 组大鼠血清

IL-6 水平高于空白对照组和高脂 1:1 组 ($P < 0.05$), TNF- α 和 hs-CRP 水平显著升高 ($P < 0.01$), 高脂 1:1 组与空白对照组差异无显著性。

表 4 不同高 n-3/n-6 PUFAs 膳食对大鼠血清炎症因子水平的影响

Table 4 Effect of different ratios of n-3/n-6 PUFAs on the content of pro-inflammatory cytokines in serum of rats ($n = 10 \bar{x} \pm s$)

组别	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	hs-RP (ng/ml)
空白对照组	2.14 ± 0.47 ⁽²⁾	1.87 ± 0.31 ⁽²⁾	72.53 ± 0.20 ⁽²⁾
高脂组	3.68 ± 2.25	4.91 ± 2.08	122.21 ± 1.82
高脂 1:1 组	2.72 ± 1.72 ⁽¹⁾	1.94 ± 1.25 ⁽²⁾	87.58 ± 0.12 ⁽²⁾
高脂 1:4 组	3.02 ± 1.64	4.19 ± 2.71	119.97 ± 2.94

注: 与高脂组比较, (1) $P < 0.05$; (2) $P < 0.01$

3 讨论

3.1 不同配比 n-3/n-6 PUFAs 对大鼠体重、血脂和胰岛素敏感性的影响

近年来,随着我国经济发展,人民生活水平提高,高脂高糖饮食普遍存在,中国营养学会曾提出 n-3/n-6 营养素推荐比值为 1:4~1:6,这一比值在高脂条件下对血脂代谢和 IR 的影响尚不清楚,因此,本实验设计了一个推荐比值和一个纠正 n-6 比重过高的比值。结果表明,除空白饲料组外,其余 3 组体重和脂体比差异不明显,同时观察各组摄食量无显著差异,说明长期摄取大量的饱和脂肪酸或多不饱和脂肪酸,都可以使机体能量摄入过多,可能引起体重的上升,增加肥胖的风险^[3]。此外,有研究证明 PUFAs 可以抑制大量参与脂肪和胆固醇生成,本实验结果显示脂肪供能量高的不饱和脂肪酸膳食 TC 和 TG 也相应升高,可能是体内 PUFAs 氧化,导致脂质代谢紊乱,诱发肥胖和胰岛素抵抗^[4]。在糖尿病前期,胰岛素抵抗是最早发现的异常表现,指胰岛素分泌量在正常水平时刺激靶细胞摄取和利用葡萄糖的生理效应显著减弱,它是 II 型糖尿病发生发展过程中的重要特征,也是代谢综合征的关键环节,具体表现为胰岛素的敏感性降低,而胰岛素敏感性指数 (ISI) 是反映胰岛素敏感性的较好指标。实验结果表明,高脂 1:1 组胰岛素敏感性与正常饲料喂养的空白对照组无显著性差异,并且显著高于高脂组和高脂 1:4 组,未形成胰岛素抵抗,说明提高 n-3 PUFAs 比例的膳食可有效减少游离脂肪酸与葡萄糖氧化的竞争,发挥降血糖作用,提高 ISI,改善胰岛素抵抗^[5]。

3.2 不同配比多不饱和脂肪酸对炎症因子表达水平的影响

日益增多的证据表明慢性炎症在胰岛素抵抗发病机制中起着非常重要的作用^[6]。脂肪组织巨噬细胞分泌的白细胞介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 (TNF- α) 和超敏 c 反应蛋白 (hs-CRP) 是反映炎症的重要敏感指标,可通过多种途径影响胰岛素传导通路^[7]。本实验结果显示高脂 1:1 组血清炎症因子 IL-6、TNF- α 和 hs-CRP 水平较高脂组

和高脂 1:4 组下降显著,说明提高富含 α -亚麻酸的 n-3 PUFAs 可以有效降低炎症程度,这与 SIMOPOULOS 博士的报道相符^[8]。

本实验表明,高脂条件下提高 n-3 PUFAs 在膳食中的构成比对抑制炎症因子表达和保护胰岛素发挥正常生理功能具有显著作用,但是不同配比 n-3/n-6 PUFAs 膳食影响 IL-6、TNF- α 和 hs-CRP 等炎症因子表达的具体分子调控机制有待进一步研究证实。

参考文献

- 1 HEMANT P, SUNIL K, LINDSAY B. Omega-3 fatty acids and metabolic syndrome: effects and emerging mechanisms [J]. *Prog Lipid Res* 2011, 50: 372-387.
- 2 NAZANIN N, RAMANATH D, JOHN J, et al. Dietary omega-3 fatty acid, ratio of omega-6 to omega-3 intake, inflammation, and survival in long-term hemodialysis patients [J]. *Am J Kidney Dis*, 2011, 58(2): 248-256.
- 3 GAO Yu, SONG Guangyao, MA Huijuan, et al. Effects of long-term high-saturated and unsaturated fatty acid diets on relaxation and contraction of renal arteries in insulin resistant rats [J]. *Acta Physiologica Sinica*, 2007, 59(3): 363-368.
- 4 RICCARDIA G, GIACCOB R, RIVELLESE A, et al. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome [J]. *Clin Nutr* 2004, 23: 447-456.
- 5 JONG SAM L, ANDREW J, SRIJAN K, et al. Saturated, but not n-6 polyunsaturated, fatty acids induce insulin resistance: role of intramuscular accumulation of lipid metabolites [J]. *J Appl Physiol*, 2006, 100: 1467-1474.
- 6 HANG S, MAIA V, JEFFREY S, et al. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance [J]. *J Clin Investig* 2006, 116: 3015-3025.
- 7 PHILIP C. Dietary modification of inflammation with lipids [J]. *Proc Nutr Soc* 2007, 61: 345-358.
- 8 SIMOPOULOS A. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases [J]. *Biomed Pharmacother*, 2006, 60: 502-507.

收稿日期: 2012-10-08