

植物甾醇酯对高脂血症小鼠的降血脂作用研究

王 玉, 刘滨城, 任运宏, 胡立志, 于殿宇*

(东北农业大学食品学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要: 对不同剂量的植物甾醇酯对高脂血症小鼠血脂水平的影响进行研究。饲喂高脂饲料建立小鼠高脂血症模型, 然后对小鼠饲喂高脂饲料的同时灌胃不同剂量(50、75、100、125、150mg/(kg·d))的植物甾醇酯。结果表明: 与高脂模型组比较, 植物甾醇酯会明显降低血清总胆固醇(TC)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平, 增加高密度脂蛋白胆固醇与低密度脂蛋白胆固醇比值(HDL-C/LDL-C)和 HDL-C/TC 值, 降低动脉硬化指数, 对甘油三酯(TG)水平却无明显影响; 植物甾醇酯具有调节血脂的作用, 高于 75mg/(kg·d)植物甾醇酯可显著降低($P < 0.05$)高脂血症小鼠的血脂水平。

关键词: 植物甾醇酯; 小鼠; 高脂血症; 降血脂

Lipid-lowering Effect of Phytosterol Ester in Hyperlipidemic Rats

WANG Yu, LIU Bin-cheng, REN Yun-hong, HU Li-zhi, YU Dian-yu*

(School of Food Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: In this study, the effect of phytosterol ester at different dosages on serum lipid level of hyperlipidemic mice was investigated. A hyperlipidemic mouse model was established by feeding high fat diet, and then the mice were administered with phytosterol ester at the dosages of 50, 75, 100, 125 mg/(kg·d) and 150 mg/(kg·d), respectively. The results showed that phytosterol ester could significantly reduce total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and arteriosclerosis index (AI) through increasing HDL-C/LDL-C and HDL-C/TC index when compared with hyperlipidemic group. However, no significant effect of phytosterol ester on triglyceride (TG) level was observed. In addition, phytosterol ester could regulate serum lipid level at the dose of 75 mg/(kg·d) for phytosterol ester ($P < 0.05$).

Key words: phytosterol ester; mice; hyperlipidemia; hypolipidemia

中图分类号: Q946.48

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)17-0326-04

近年来, 世界各国的流行病学研究已证实, 血液中总胆固醇和低密度脂蛋白浓度越高, 罹患冠状动脉心脏病的危险性就越高^[1]。心脑血管疾病、糖尿病、高血压等已经成为危害人类健康的主要疾病, 特别是心脑血管疾病已位居我国死亡原因的首位。血脂水平升高是心脑血管疾病的主要危险因素。临床预防实验表明, 血脂浓度下降的程度与心脑血管疾病发生率的减少有着直接的关系^[2]。因此研制具有改善血脂的药物或保健食品对人类健康有重要意义。研究降血脂药物或保健食品需要进行一系列实验, 包括动物实验, 需要建立合适的高脂血症动物模型。

植物甾醇是所有植物的基本组分, 在植物中功能相当于哺乳动物中胆固醇的作用^[3]。自 20 世纪 50 年代开

始, 人们业已认识到植物甾醇具有降低血清胆固醇水平的功效。但游离植物甾醇在水和油脂中的低溶解性限制了它的实际使用范围^[4]。

植物甾醇酯由植物甾醇与脂肪酸通过酯化反应制得, 具有比游离植物甾醇更好的脂溶性, 是一种新型的功能性食品基料^[5]。2000 年 9 月, 美国食品与医药管理局(FDA)批准添加了植物甾醇和植物甾醇酯的食品可以使用“有益健康”的标签^[6]。近年来, 西方国家通过人造奶油、黄油、蛋黄酱等高脂食品中添加一定量的植物甾醇酯, 开发了一系列含植物甾醇酯的功能保健食品, 被广泛用于人群冠心病的预防^[7]。

植物甾醇和植物甾醇酯存在于天然食品中, 人们可以从中或多或少地摄入这种成分, 美国 FDA 也赋予植

收稿日期: 2011-02-26

基金项目: 黑龙江省教育厅科技攻关项目(11551064)

作者简介: 王玉(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程。E-mail: wangxiaotu101@126.com

* 通信作者: 于殿宇(1964—), 男, 教授, 硕士, 研究方向为大豆精深加工技术研究。E-mail: dyu2000@yahoo.com.cn

物甾醇以“一般认为安全(GRAS)”的认可,因此植物甾醇基本上是安全的。Westrate等^[8]对植物甾醇酯进行了系统的毒理性评价,他们研究了此类物质在人体内的吸收、分布、代谢以及分泌等,结果显示植物甾醇可能对大肠癌有预防作用。Hepburn等^[9]研究了植物甾醇酯的白鼠喂食实验,最高量可达3900mg/(kg·d),连续喂食13周,也没有出现副作用。

本实验通过饲喂小鼠高脂饲料建立高脂血动物模型,在饲喂高脂饲料的同时灌胃不同剂量的植物甾醇酯,研究植物甾醇酯的降血脂功效,并对不同剂量的植物甾醇酯的对高脂血症小鼠的血脂水平和动脉硬化指数的影响进行探讨,以期为开发利用植物甾醇酯提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

昆明种健康小鼠,雄性,体质量(20±2)g 黑龙江省汉方生物养殖所提供。

植物甾醇酯:自制,大豆油与植物甾醇用生物酶法进行酯交换反应而成,用大豆一级油配制成,质量浓度为12.50、18.75、25.00、31.25、37.50mg/mL。

基础饲料 黑龙江省汉方生物养殖所;高脂饲料:常规小鼠饲料即基础饲料88.7%,加入1%胆固醇、10%猪油和0.3%胆酸钠配制而成;总胆固醇试剂盒、甘油三酯试剂盒、高密度脂蛋白试剂盒、低密度脂蛋白试剂盒 中生北控生物科技股份有限公司。

恒温浴锅 上海申生科技有限公司;LD4-2A低速离心机 北京医用离心机厂;U-V265紫外分光光度计 日本Shimadzu公司;SCR20BC低温高速离心机 日本Hitachi公司。

1.2 方法

1.2.1 小鼠高脂血症模型的建立

70只18~22g健康、雄性昆明种小鼠,用基础饲料作3d适应性饲养后,随机分为对照组(10只)、高脂模型组(60只)。对照组给基础饲料,其余60只全部饲喂高脂饲料造高脂模型,饲养期间,隔日记录进食量,每周称取体质量。两周后,各组小鼠禁食12h,断尾取血,分别测定小鼠血清总胆固醇(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)等指标。

1.2.2 小鼠的分组

在第14天按血清TC水平将高脂模型组60只小鼠分为模型对照组和5个剂量组,每组10只。5个剂量组分别为50、75、100、125、150mg/(kg·d),各组小鼠喂高脂饲料的同时,5个剂量组分别以灌胃每日给

予0.1mL不同浓度的植物甾醇酯的大豆一级油溶液;对照组、模型对照组分别给予等量的生理盐水和大豆一级油。单笼饲养、自由饮水,饲养期间,每周测定体质量,4周后禁食12h,断尾取血测定各项指标,观察5个剂量植物甾醇酯对小鼠脂质代谢的影响。

1.3 指标测定

血清TC、TG、HDL-C:根据各试剂盒说明书测定;LDL-C:LDL-C=TC-HDL-C-TG/2.2;动脉硬化指数(AI)^[10]:AI=(TC-HDL-C)/(HDL-C)。

1.4 数据统计

所有实验数据经统计分析后用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间采用 t 检验。

2 结果与分析

2.1 高脂动物模型的建立

实验开始后用高脂饲料每日喂饲60只高脂模型组小鼠,两周后,随机取10只高脂模型组小鼠和所有对照组小鼠禁食12h,断尾取血,分别测定血清TC、TG、HDL-C,计算LDL-C。对照组与高脂模型组比较结果见表1。

表1 两周后小鼠血脂的各项指标

Table 1 Serum biochemical indexes of mice after administration of phytosterol ester for two weeks

组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C
对照组	3.26 ± 0.06	0.68 ± 0.04	1.24 ± 0.05	1.71 ± 0.01
高脂模型组	5.50 ± 0.16*	1.08 ± 0.01*	1.35 ± 0.01	3.64 ± 0.15*

注:*.与对照组比较,有极显著性差异($P < 0.01$)。

喂饲前、后比较,小鼠的血清TC和TG水平在给予高脂饲料喂饲后较喂饲前升高,TC、TG和LDL-C的含量有极显著性差异($P < 0.01$),而HDL-C无明显变化说明高脂模型组小鼠存在着明显的血脂代谢紊乱,高脂血模型建立成功。高脂模型组可用于对植物甾醇酯进行降脂观察实验。

2.2 小鼠平均日摄食量及体质量变化

实验期间每周称量小鼠的体质量,根据体质量给予小鼠受试物。

表2 实验期间每周小鼠的体质量的变化

Table 2 Weekly body weight changes of each mouse group

组别	第1周	第2周	第3周	第4周
对照组	23.74 ± 0.68	25.76 ± 0.68	27.92 ± 1.21	30.87 ± 2.11
高脂模型组	23.67 ± 0.83	25.94 ± 0.96	28.18 ± 1.18	31.24 ± 1.58
50mg/(kg·d)	23.93 ± 0.69	26.13 ± 1.28	28.24 ± 1.34	30.54 ± 1.37
75mg/(kg·d)	23.76 ± 0.98	26.04 ± 1.01	28.46 ± 1.07	31.07 ± 1.62
100mg/(kg·d)	23.84 ± 1.13	25.98 ± 7.36	28.04 ± 1.10	30.96 ± 1.63
125mg/(kg·d)	24.01 ± 1.04	26.01 ± 1.07	28.62 ± 1.30	31.17 ± 1.48
150mg/(kg·d)	23.69 ± 0.68	25.92 ± 0.9	28.13 ± 1.45	30.92 ± 1.91

如表2所示,实验期间各组实验动物体质量均有所提高,每周称量小鼠的体质量,各组进行比较,无显著性差异,说明小鼠生长良好,植物甾醇酯对实验小鼠体质量无影响,实验期间没有不良反应。

2.3 植物甾醇酯对受试小鼠血脂的影响

植物甾醇可以将小肠中的胆固醇沉淀下来,使其处于不溶解状态,而不能被吸收;胆固醇溶解于小肠内腔的胆汁酸微胶束(主要由胆汁盐和磷脂组成)是被吸收的必要条件,而植物甾醇的存在可以将胆固醇替换出来,使之不能经胆汁酸微胶束运送至小肠微绒毛的吸收部位;在小肠微绒毛膜吸收胆固醇时,植物甾醇与胆固醇相互竞争,阻碍对胆固醇的吸收^[11-14]。

表3 植物甾醇酯对小鼠血脂水平的影响

Table 3 Effect of phytosterol ester on serum lipid level in mice

组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C
对照组	3.11 ± 0.11	0.62 ± 0.00	1.53 ± 0.05	1.30 ± 0.13
高脂模型组	5.69 ± 0.25 ^a	0.83 ± 0.16 ^a	1.45 ± 0.10 ^a	3.86 ± 0.32 ^a
50mg/(kg·d)	5.64 ± 0.15 ^a	0.78 ± 0.03 ^a	1.56 ± 0.05 ^{bc}	3.82 ± 0.16 ^a
75mg/(kg·d)	4.59 ± 0.29 ^b	0.76 ± 0.06 ^a	1.43 ± 0.06 ^{ac}	2.82 ± 0.27 ^b
100mg/(kg·d)	4.22 ± 0.04 ^c	0.81 ± 0.03 ^a	1.50 ± 0.08 ^{ac}	2.36 ± 0.17 ^c
125mg/(kg·d)	3.92 ± 0.02 ^d	0.74 ± 0.06 ^a	1.44 ± 0.04 ^a	2.15 ± 0.23 ^c
150mg/(kg·d)	3.29 ± 0.05 ^e	0.76 ± 0.13 ^a	1.40 ± 0.08 ^a	1.54 ± 0.16 ^d

注:同列字母不同,表示差异显著($P < 0.05$),下同。

由表3可见,给予高脂饲料喂养小鼠4周后,5个剂量组的血清TC均低于高脂模型组,但仍高于对照组,50、75、100、125、150mg/(kg·d)剂量组较高脂模型组分别下降了0.88%、19.33%、25.83%、31.11%、42.18%。其中75、100、125、150mg/(kg·d)剂量组显著低于高脂模型组($P < 0.05$),而50mg/(kg·d)剂量组较高脂模型组无显著性差异,各剂量组间存在差异显著性差异($P < 0.05$),说明对高脂血症小鼠灌胃植物甾醇酯对小鼠的血清TC有降低作用,高于75mg/(kg·d)剂量的植物甾醇酯开始出现明显降低高脂饲料喂养小鼠血清TC,在实验剂量内随着灌胃植物甾醇酯剂量的增加其降低高脂饲料喂养小鼠血清TC的作用也越明显。

与高脂模型组对比,5个剂量组的TG较高脂模型组均略有下降,但各组间差异不显著。说明植物甾醇酯对TG水平无明显影响。

各组的HDL-C含量变化不是很大,与高脂模型组比较5个剂量组中只有50mg/(kg·d)组的HDL-C含量差异显著($P < 0.05$),其余剂量组均无显著差异;125、150mg/(kg·d)剂量组间对比无显著差异;50、75、100mg/(kg·d)剂量组间对比无显著差异($P > 0.05$)。

给予高脂饲料喂养小鼠4周后,5个剂量组的LDL-C均低于高脂模型组,但仍高于对照组,其中50、75、

100、125、150mg/(kg·d)剂量组较高脂模型组分别下降了1.03%、26.94%、38.86%、44.3%、60.1%。其中75、100、125、150mg/(kg·d)剂量组明显低于高脂模型组($P < 0.05$),而50mg/(kg·d)剂量组较高脂模型组无显著差异。各剂量组间除100、125mg/(kg·d)剂量组间无显著差异外其余各剂量组间的都有显著性差异($P < 0.05$),说明对高脂血症小鼠灌胃植物甾醇酯对小鼠的LDL-C有降低作用,高于75mg/(kg·d)剂量的植物甾醇酯开始出现对高脂饲料喂养小鼠的LDL-C有明显降低作用,在实验剂量内随着灌胃植物甾醇酯剂量的增加其降低高脂饲料喂养小鼠血清LDL-C的作用也增大。

2.4 植物甾醇酯对受试小鼠动脉硬化指标的影响

表4 植物甾醇酯对受试小鼠动脉硬化指标的影响

Table 4 Effect of phytosterol ester on atherosclerosis index of mice

组别	HDL-C/LDL-C	HDL-C/TC	AI
对照组	1.20 ± 0.20	0.49 ± 0.04	1.04 ± 0.15
高脂模型组	0.38 ± 0.05 ^a	0.25 ± 0.02 ^a	2.95 ± 0.35 ^a
50mg/(kg·d)	0.41 ± 0.03 ^a	0.27 ± 0.01 ^a	2.68 ± 0.17 ^a
75mg/(kg·d)	0.51 ± 0.04 ^b	0.31 ± 0.01 ^b	2.21 ± 0.14 ^b
100mg/(kg·d)	0.64 ± 0.07 ^c	0.36 ± 0.02 ^c	1.82 ± 0.17 ^c
125mg/(kg·d)	0.68 ± 0.07 ^c	0.37 ± 0.02 ^c	1.73 ± 0.16 ^c
150mg/(kg·d)	0.91 ± 0.06 ^d	0.43 ± 0.01 ^d	1.35 ± 0.05 ^d

LDL-C与心血管病发作呈正相关,而HDL-C则与心血管病的发作呈负相关^[15]。由表4可知,4周实验结束后5个植物甾醇酯剂量组的AI较高脂模型组都有所降低,其中75、100、125、150mg/(kg·d)剂量组显著低于高脂模型组($P < 0.05$),而50mg/(kg·d)剂量组较高脂模型组无显著性差异;5个剂量组中除100、125mg/(kg·d)剂量组间无显著差异外其余各组间的差异均有显著性差异($P < 0.05$)。表明植物甾醇酯可降低AI,高于75mg/(kg·d)剂量的植物甾醇酯开始出现显著降低AI的作用,在实验剂量内随着灌胃植物甾醇酯剂量的增加其降低AI的作用也增大。

4周后5个剂量组的HDL-C/LDL-C值和HDL-C/TC值均高于高脂模型组,其中75、100、125、150mg/(kg·d)剂量组较高脂模型组有显著差异($P < 0.05$),而50mg/(kg·d)剂量组较高脂模型组无显著差异;5个剂量组中除100、125mg/(kg·d)剂量组间无显著差异外其余各组间的差异均有显著性($P < 0.05$)。从而可以认为植物甾醇酯有升高HDL-C/LDL-C和HDL-C/TC值的作用,从而可以改善血液质量,在实验剂量内随着灌胃植物甾醇酯剂量的增加其作用也增大。

3 结论

每日喂饲小鼠高脂饲料,两周后,小鼠禁食12h,

断尾取血测定小鼠的各项血脂水平, TC、TG、和 LDL-C 的含量较实验前均升高, 差异有极显著性($P < 0.01$), 而 HDL-C 无明显变化, 高脂血模型建立成功。

饲喂高脂饲料的健康小鼠, 若同时灌胃植物甾醇酯, 会明显降低其血清 TC 和 LDL-C, 增加 HDL-C /LDL-C 和 HDL-C/TC 的值, 降低 AI, 但对 TG 水平却无明显影响, 综上所述, 植物甾醇酯具有降血脂, 改善血液质量的作用。

高于 75mg/(kg·d)植物甾醇酯开始出现明显降低高脂饲料喂饲的小鼠血清 TC、LDL-C 含量及 AI 的作用, 统计有显著差异($P < 0.05$), 由此说明 75mg/(kg·d)植物甾醇酯升高脂血小鼠血脂水平的效果显著。

参考文献:

- [1] KNOPP R H. Drug treatment of lipid disorders[J]. New Eng J Med, 1999, 341(7): 498.
- [2] 何芳, 刘玮玮, 吕桂善, 等. 植物甾醇酯复方产品对高脂血症大鼠的降血脂功能研究[J]. 中国食品学报, 2007, 6(7): 77-80.
- [3] 许新德, 邵斌. 植物甾醇酯: 一种新型的降胆固醇健康食品[J]. 中国油脂, 2004, 28(9): 25-28.
- [4] 庞凌云, 祝美云. 植物甾醇酯的功能及开发前景展望[J]. 粮食与油脂, 2007(5): 16-17.
- [5] 李晓光, 王三永, 李春荣, 等. 含植物甾醇酯的功能性蛋白饮料的研制及检测方法[J]. 食品科技, 2002(7): 51-52.
- [6] 庞凌云, 祝美云. 植物甾醇酯功能及开发前景展望[J]. 粮食与油脂, 2007(5): 16-17.
- [7] 唐传核, 彭志英. 一种新型功能性食品: 植物甾醇酯[J]. 中国油脂, 2001, 28(3): 60-62.
- [8] WESTRAT J A, MEIJER G. Safety evaluation of phytosterol esters. part 4[J]. Food Chem Toxicol, 1999, 37: 1063 -1071.
- [9] HEPBURN P A, HORNER S A, SMITH M, et al. Safety evaluation of phytosterol esters. part 2[J]. Food Chem Toxicol, 1999, 37: 521-532.
- [10] 金青哲, 齐策, 沈华. 菜籽甾醇酯降血脂研究[J]. 粮油加工, 2007 (10): 2-4.
- [11] MUSSNER M J, PARHOFER K G, von BERGMANN K, et al. Effects of phytosterol ester enriched margarine on plasma lipoproteins in mild to moderate hypercholesterolemia are related to basal cholesterol and fat intake[J]. Metabolism, 2002, 51(2): 189-194.
- [12] 盛漪, 华伟, 谷文英. 植物甾醇生理功能及其研究进展[J]. 西部粮油科技, 2003(2): 32-35.
- [13] 盛漪, 华伟, 谷文英. 植物甾醇降胆固醇生理功能及其研究进展[J]. 粮食与油脂, 2002(12): 25-26.
- [14] 盛漪, 华伟. 新型功能性食品添加剂: 植物甾醇类[J]. 中国食品添加剂, 2002(4): 69-72.
- [15] 陈茂彬, 黄琴. 三种植物甾醇酯预防小鼠高脂血症作用的比较[J]. 中国粮油学报, 2005, 20(2): 80-82.