

# 高脂饮食对自发性高血压大鼠中心动脉弹性的影响及鱼油的干预作用

孙书红<sup>1</sup>, 孟宏涛<sup>2</sup>, 王雷<sup>3</sup>, 王顺<sup>4</sup>, 刘治全<sup>4</sup>

(1. 武警陕西总队医院心内科, 陕西省西安市 710054; 2. 武警陕西总队医院院办, 陕西省西安市 710054; 3. 西安市第四医院, 陕西省西安市 710054; 4. 西安交通大学医学院第一附属医院心内科, 陕西省西安市 710061)

[关键词] 鱼油; 自发性高血压大鼠; 动脉僵硬度

[摘要] **目的** 观察高饱和脂肪酸及富含鱼油(n-3 多不饱和脂肪酸)饮食对自发性高血压大鼠(SHR)大动脉弹性的影响。**方法** 选择 8 周龄雄性 SHR 30 只, 适应性喂养至 14 周龄后, 按体重随机分为 3 组, 每组 10 只, 分别给予普通饲料、高脂饲料、高脂加鱼油饲料, 持续喂养至 36 周龄, 共干预 22 周。同龄对照大鼠(WKY)30 只同前分组。干预后测定血压、体重、血浆游离脂肪酸谱、生化指标, 喂养结束后, 应用组织多普勒超声法测定中心动脉脉搏波传导速度(APWV), 应用组织化学和免疫组织化学法测定中心动脉管壁病理改变和基质金属蛋白酶 9(MMP-9)的表达水平。**结果** SHR 高脂饮食组血压较普食组和高脂加鱼油组升高(160.5 ± 5.5 mmHg 比 153.1 ± 1.0 mmHg、155.1 ± 6.7 mmHg,  $P < 0.01$ ); HE 染色显示高脂饮食组动脉管壁中膜横截面积(MCSA)较普食组增加(35500 ± 8536  $\mu\text{m}^2$  比 28348 ± 3956  $\mu\text{m}^2$ ,  $P < 0.05$ ), 高脂加鱼油组胸主动脉 MCSA 较高脂饮食组减小(16865 ± 7235  $\mu\text{m}^2$ ,  $P < 0.05$ )。WKY 大鼠 MCSA 无明显变化。SHR 大鼠高脂饮食组主动脉弹力纤维占中膜面积百分比普食组减少(21.1% ± 2.3% 比 30.7% ± 2.3%,  $P < 0.05$ ), 高脂加鱼油组较高脂饮食组升高(34.5% ± 4.1%,  $P < 0.05$ )。SHR 大鼠高脂饮食组中心动脉 APWV 较普食组增加, 而高脂加鱼油组 APWV 较高脂饮食组减小( $P < 0.05$ )。SHR 大鼠高脂饮食组的主动脉壁中 MMP-9 表达较普食组、高脂加鱼油组升高。**结论** 高饱和脂肪酸饮食具有刺激 SHR 大鼠大动脉血管壁增厚、上调 MMP-9 在动脉壁表达及增加动脉僵硬度的作用, 而富含 n-3 多不饱和脂肪酸的饮食可能通过逆转这一作用发挥预防及控制血压的作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Effects of Fish Oil on Arterial Elasticity in Spontaneously Hypertensive Rats Under High-fat Diet

SUN Shu-Hong<sup>1</sup>, MENG Hong-Tao<sup>2</sup>, WANG Lei<sup>3</sup>, WANG Shun<sup>4</sup>, and LIU Zhi-Quan<sup>4</sup>

(1. Department of Cardiology of Shaanxi Provincial Corps Hospital, Chinese People's Armed Police Force, Xi'an, Shaanxi 710054, China; 2. Hospital Office of Shaanxi Provincial Corps Hospital, Chinese People's Armed Police Force, Xi'an, Shaanxi 710054, China; 3. Fourth Hospital of Xi'an, Xi'an, Shaanxi 710054, China; 4. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital, Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China)

[KEY WORDS] Fish Oil; Spontaneously Hypertensive Rats; Arterial Stiffness

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of high saturated fatty acids and n-3 polyunsaturated fatty acid diet on arterial elasticity in spontaneously hypertensive rats (SHR). **Methods** Thirty male SHR (8 weeks old), adaptive feeding to 14 weeks old, were randomly divided into 3 groups by body mass: normal chow group(NFD), high-fat diet group (HFD) and group of high-fat diet supplemented with fish oil group(HF + FOD) to 36 weeks old were intervened for 22 weeks. Thirty male Wistar-Kyoto rats(WKY) at the same age were divided into the same groups. After being intervened, the blood pressure, weight, serum free fatty acids (FFA), biochemical index were measured. At the end of the feeding, artery pulse wave velocity (APWV), using histochemical, pathological, change of centre arterial vascular wall

[收稿日期] 2014-07-12

[修改日期] 2014-10-27

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30800472)

[作者简介] 孙书红, 博士研究生, 主治医师, 研究方向为代谢性高血压及心血管介入治疗, E-mail 为 ssh1208@126.com。通讯作者王顺, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为代谢性高血压及心脏结构学, E-mail 为 wangss3435@sina.com。

and matrix metalloprotein-9 (MMP-9) were measured. **Results** Systolic blood pressure (SBP) in SHR + HFD group was higher than that in SHR + NFD group and SHR + HF + FOD group ( $160.5 \pm 5.5$  mmHg vs  $153.1 \pm 1.0$  mmHg,  $155.1 \pm 6.7$  mmHg, both  $P < 0.01$ ). Compared with the SHR + NFD group, the membrane cross-sectional area (MCSA) increased ( $35500 \pm 8536 \mu\text{m}^2$  vs  $28348 \pm 3956 \mu\text{m}^2$ ,  $P < 0.05$ ), aortic elastic properties in the SHR + HF group significantly decreased ( $21.1\% \pm 2.3\%$  vs  $30.7\% \pm 2.3\%$ ,  $P < 0.05$ ). However, in SHR + HF + FOD group, such a marked increase of MCSA ( $16865 \pm 7235 \mu\text{m}^2$  vs  $35500 \pm 8536 \mu\text{m}^2$ ,  $P < 0.05$ ) and decrease of aortic elastic properties ( $34.5\% \pm 4.1\%$  vs  $21.1\% \pm 2.3\%$ ) were completely reversed ( $P < 0.05$ ). The APWV was increased in the SHR + HF group compared with the SHR + NFD group. But it was significantly decreased in SHR + HF + FOD group compared with SHR + HF group. MMP-9 expression was higher in SHR + HFD group compared with that in SHR + NFD group and SHR + HF + FOD group. **Conclusion** The diet of high saturated fatty acid stimulates the thickness of aorta blood vessel in SHR and increases arterial stiffness, raises MMP-9 expression, dietary fish oil reduces MMP-9 expression, vascular wall thickness and increases aortic contents of elastin in SHR. This may contribute to decrease blood pressure.

动脉弹性功能异常是心血管疾病的独立危险因素,高血压时动脉弹性功能下降。临床试验发现,饮食补充富含 n-3 多不饱和脂肪酸的鱼油等可改善血脂异常、糖尿病和超重高血压患者的动脉弹性<sup>[1-3]</sup>,这些发现提示了一种可能性,即高血压患者脂肪酸代谢异常促进动脉弹性的降低。本研究通过观察高脂饮食下自发性高血压大鼠血压、动脉僵硬、胸主动脉管壁结构变化及鱼油的干预作用,探索和分析脂肪酸代谢紊乱与高血压、动脉弹性之间的关系及可能机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

自发性高血压大鼠 (SHR) 30 只, Wistar-Kyoto (WKY) 大鼠 30 只, 均为雄性, 8 周龄, 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司 [动物合格证: SCXK (沪) 2007-0005]。自由摄食、饮水, 室温  $18 \sim 24^\circ\text{C}$ , 相对湿度  $40\% \sim 70\%$ , 每天 12 h 光照维持, 昼夜循环。

### 1.2 实验分组

30 只 8 周龄雄性 SHR 大鼠和 30 只 WKY 大鼠普通饲料喂养至 14 周龄后, 随机分为普食组、高脂饮食组和高脂加鱼油组, 每组 10 只, 分别给予普食、高饱和脂肪酸 (含基础饲料 83%、蛋黄粉 5%、猪油 12%) 和高脂鱼油 (含基础饲料 80%、蛋黄粉 5%、猪油 12%、鱼油 3%) 相应饲料喂养至 36 周龄, 共干预 22 周。鱼油胶囊来自美国产阿拉斯加深海鲑鱼油。每 1 g 胶囊含有 180 mg 二十碳五烯酸 (EPA)、120 mg 二十二碳六烯酸 (DHA) 和 10 U 维生素 E。

### 1.3 血压测定

采用尾压测量仪, 测量清醒安静状态下 WKY 和 SHR 大鼠尾动脉的收缩压。测量之前加热鼠尾

至  $36^\circ\text{C}$ , 使动脉充盈以便于测量。每两周测量 1 次, 每次测压 3 次, 取平均值。

### 1.4 血浆游离脂肪酸谱的测定

采用 Agilent1100 系列高效液相色谱仪测定。色谱条件为 ZORBA  $\times$  SBC 反相色谱柱 ( $5 \text{ m}, 150 \times 4.6 \text{ nmID}$ ), 柱温  $30^\circ\text{C}$ , 流速梯度洗脱。检测波长: 406 nm 和 203 nm, 内标法定量。应用 75% 乙醇  $60^\circ\text{C}$  除去与血清游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA) 结合的白蛋白, 选定 2-硝基苯胍盐酸 (2-NPH  $\cdot$  HCl) 作衍生剂, 在 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基) 碳化二亚胺) 盐酸盐 (1-EDC  $\cdot$  HCl) 的催化下, 将血清中 FFA 直接衍生为脂肪酸的胍盐衍生生物, 使其能在紫外可见光区产生吸收, 再用磷酸缓冲液酸化增加各种脂肪酸的分离度, 正己烷萃取, 纯氮吹干后甲醇定容, 进样  $10 \mu\text{L}$  行色谱分析<sup>[4]</sup>。

### 1.5 动脉僵硬测定

实验结束后, 10% 水合氯醛注射液 ( $0.5 \text{ mL}/100 \text{ g}$ ) 腹腔注射麻醉大鼠, 四肢连接心电图, 待大鼠状态稳定后, 在 Philips HDI 5000 彩超仪下用 S12-4 探头二维显示胸主动脉, 应用组织多普勒原理, 在前壁取 A 点和 B 点作为测量点, 测量 A、B 两点的距离。利用 TDI 的脉冲模式将取样容积分别置于 A 和 B 点处, 结合心电图描记, 记录 A 点、B 点的 TDI 频谱。将心电图 Q 波开始至 TDI 频谱图 S1 峰开始的时间定为电-机械时间 (electrical-mechanical time, EMT), 分别测量 A、B 点的电-机械时间即  $\text{EMT}_a$ 、 $\text{EMT}_b$ , 记录心率 (HR)。所有参数均测量 3 次取平均值。脉搏波时间 (PWT) =  $\text{EMT}_a - \text{EMT}_b$ , 动脉脉搏波传导速度 (artery pulse wave velocity, APWV) =  $D/\text{PWT}/\text{HR}$ 。D 为 A、B 两点间距离。

### 1.6 主动脉病理学观察

WKY 大鼠和 SHR 大鼠完成 22 周饮食干预后, 在 4% 水合氯醛麻醉下, 分离主动脉弓, 用 10% 福尔

马林液固定、脱水、石蜡包埋,切片(3  $\mu\text{m}$ ),常规 HE 染色测量大鼠胸主动脉中膜横截面积,Masson 染色测量胶原纤维占中膜面积百分比以及地衣红弹力纤维染色测量弹力纤维占中膜面积百分比,结合动脉壁形态学改变参数动脉中膜厚度及管腔直径计算主动脉弹力系数(elastic modulus, EM)并进行比较,  $EM = (PWV^2 \cdot Di \cdot \rho) / h$  [Di 为血管内径, h 为中膜厚度,  $\rho$  为血液密度(1.05  $\text{g}/\text{cm}^2$ ) ]。

### 1.7 免疫组织化学染色测定胸主动脉基质金属蛋白酶 9

采用 SP 三步法免疫组织化学染色检测基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloprotein, MMP-9), 一抗为鼠多抗 IgG(购于北京中衫金桥有限公司), 二抗为 SPABC 试剂盒(购于北京中衫金桥有限公司)。利用图像分析系统进行分析, 测量其灰度值(反映组织化学染色产物深浅程度, 灰度值越大, 则反应产物浓度越小, 反之, 灰度值越小, 产物浓度越大), 每张切片平均选取 4~6 个视野。

### 1.8 统计学方法

应用 SPSS13.0 统计软件包进行数据处理, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用单因素方差分析, 采用重复测量的方差分析比较各组间饮食干预前后的血压变化。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 大鼠饮食干预前后血压变化

喂养至 36 周龄时, SHR 高脂饮食组较普食组血压显著增高(160.5  $\pm$  5.5 mmHg 比 153.1  $\pm$  1.0 mmHg,  $P < 0.01$ ), 高脂加鱼油组较高脂饮食组血压显著降低(155.1  $\pm$  6.7 mmHg 比 160.5  $\pm$  5.5 mmHg,  $P < 0.01$ ); WKY 高脂饮食组较普食组血压显著增高(100.5  $\pm$  4.2 mmHg 比 89.3  $\pm$  3.4 mmHg,  $P < 0.01$ ), 高脂加鱼油组较高脂饮食组血压显著降低(89.5  $\pm$  2.8 mmHg 比 100.5  $\pm$  4.2 mmHg,  $P < 0.05$ ), 而高脂加鱼油组与普食组比较血压无统计学差异( $P > 0.05$ ; 图 1)。

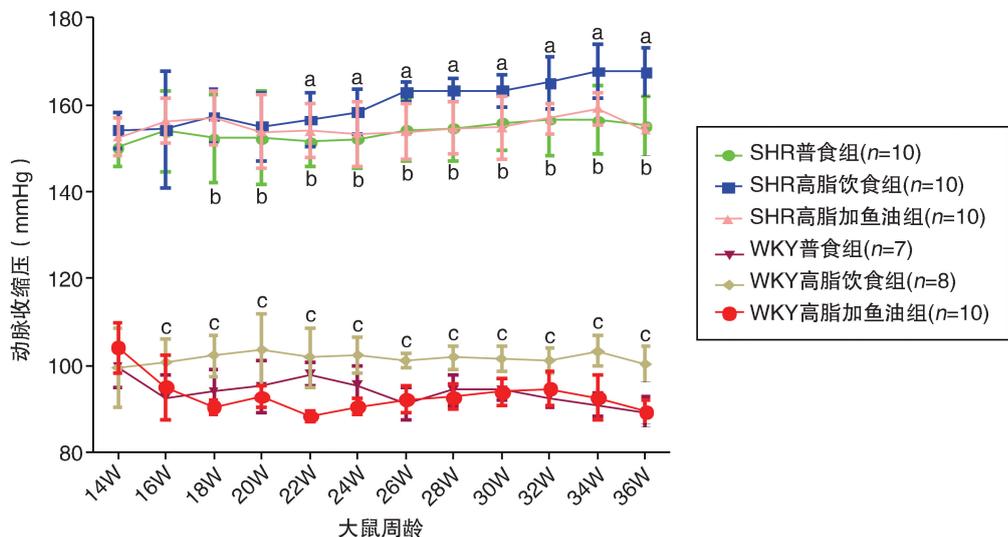


图 1. 鱼油对高饱和脂肪酸饮食干预下 SHR 及 WKY 大鼠血压的影响 a 为  $P < 0.05$ , 与 SHR 普食组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 SHR 高脂饮食组比较; c 为  $P < 0.05$ , 与 WKY 普食组比较。

Figure 1. Effect of fish oil on SHR and WKY rat blood pressure by high saturated fatty acid diet intervention

### 2.2 大鼠血浆游离脂肪酸谱的变化

无论是 SHR 大鼠还是 WKY 大鼠, 饮食干预后高脂饮食组大鼠出现饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA)增加、单不饱和脂肪酸(monounsaturated fatty acid, MUFA)减低, 添加鱼油组大鼠 n-3 多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)增加, 表明饮食干预较成功(表 1)。

### 2.3 主动脉组织形态学的观察结果

#### 2.3.1 胸主动脉中膜横截面积 SHR 高脂饮食

组胸主动脉中膜横截面积(membrane cross-sectional area, MCSA)增加, 高脂加鱼油组胸主动脉 MCSA 较高脂饮食组减小( $P < 0.05$ )。WKY 大鼠 MCSA 无明显变化。结合动脉壁形态学改变参数动脉中膜厚度及管腔直径计算主动脉弹力系数并进行比较发现, 饮食干预至 36 周龄时 SHR 大鼠高脂饮食组动脉弹力系数较普食组增加( $P < 0.05$ ), 高脂加鱼油组动脉弹力系数较高脂饮食组降低( $P < 0.05$ ; 图 2 和表 2)。

2.3.2 胸主动脉弹力纤维 SHR 高脂饮食组主动脉弹力纤维条带较普食组稀疏、减少,高脂加鱼油组与普食组主动脉弹力纤维条带无明显差别。利用图像分析系统进行分析,SHR 高脂饮食组主动

脉弹力纤维占中膜面积百分比比较普食组减少( $P < 0.05$ ),高脂加鱼油组较高脂饮食组升高( $P < 0.05$ ),WKY 各组间差异无统计学意义(图 3 和表 2)。

表 1. 36 周龄时鱼油对高饱和脂肪酸饮食干预下大鼠血清游离脂肪酸的影响( $\mu\text{mol/L}$ )

Table 1. The effect of fish oil on serum free fatty acids in rats by the high saturated fatty acid diet intervention at 36 weeks old ( $\mu\text{mol/L}$ )

分 组	<i>n</i>	SFA	n-3PUFA	n-6PUFA	MUFA	n-3/n-6
WKY 普食组	7	189 ± 39	38 ± 27	110 ± 50	105 ± 39	0.30 ± 0.20
	8	250 ± 58 <sup>a</sup>	40 ± 12	138 ± 21 <sup>a</sup>	77 ± 49 <sup>a</sup>	0.19 ± 0.12
	10	188 ± 47	87 ± 21 <sup>a</sup>	122 ± 54	139 ± 61	0.67 ± 0.5 <sup>a</sup>
SHR 普食组	10	131 ± 12	46.6 ± 17	147 ± 15	151 ± 110	0.18 ± 0.06
	10	208 ± 71 <sup>b</sup>	36 ± 23	142 ± 18	98 ± 19 <sup>b</sup>	0.18 ± 0.04
	10	154 ± 31	96 ± 27 <sup>b</sup>	101 ± 13 <sup>b</sup>	117 ± 84	0.68 ± 0.19 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.05$ , 与 WKY 普食组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 SHR 普食组比较。

表 2. 鱼油对高饱和脂肪酸饮食干预下大鼠主动脉结构的影响

Table 2. The effect of fish oil on aortic structure in rat by high saturated fatty acid diet intervention

分 组	<i>n</i>	MCSA ( $\mu\text{m}^2$ )	弹力系数	弹力纤维占中膜面积百分比
WKY 普食组	7	15682 ± 4254	24.1 ± 10.1	37.2% ± 5.7%
	8	14951 ± 5631	35.2 ± 11.7	38.8% ± 4.1%
	10	10072 ± 2102	23.7 ± 6.6	41.3% ± 5.5%
SHR 普食组	10	28348 ± 3956	21.5 ± 12.5	30.7% ± 2.3%
	10	35500 ± 8536 <sup>a</sup>	48.3 ± 27.5 <sup>a</sup>	21.1% ± 2.3% <sup>a</sup>
	10	16865 ± 7235 <sup>b</sup>	11.9 ± 14.2 <sup>b</sup>	34.5% ± 4.1% <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.05$ , 与 SHR 普食组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 SHR 高脂饮食组比较。

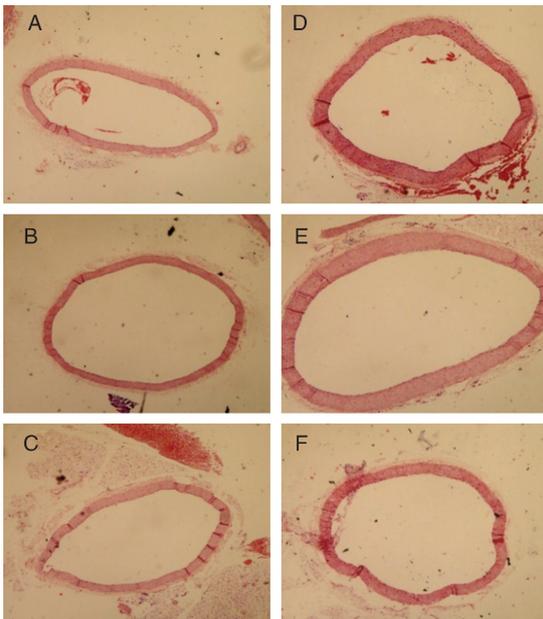


图 2. 胸主动脉 HE 染色 ( $\times 50$ ) A 为 WKY 普食组, B 为 WKY 高脂饮食组, C 为 WKY 高脂加鱼油组, D 为 SHR 普食组, E 为 SHR 高脂饮食组, F 为 SHR 高脂加鱼油组。

Figure 2. HE staining of thoracic aortic ( $\times 50$ )

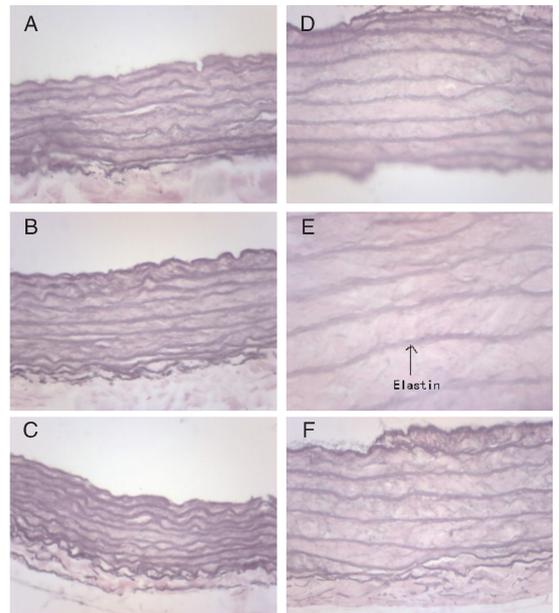


图 3. 弹力纤维染色 ( $\times 200$ ) A 为 WKY 普食组, B 为 WKY 高脂饮食组, C 为 WKY 高脂加鱼油组, D 为 SHR 普食组, E 为 SHR 高脂饮食组, F 为 SHR 高脂加鱼油组。

Figure 3. Elastic fiber staining ( $\times 200$ )

2.3.3 胸主动脉平滑肌细胞及胶原纤维 SHR 大鼠较 WKY 大鼠细胞层数增加,排列不规则,平滑肌细胞增生肥大。SHR 高脂饮食组较普食组平滑肌细胞增多,高脂加鱼油组平滑肌细胞含量介于两者之间。SHR 高脂饮食组胶原纤维与普食组、高脂加鱼油组比较均有差异(图 4)。

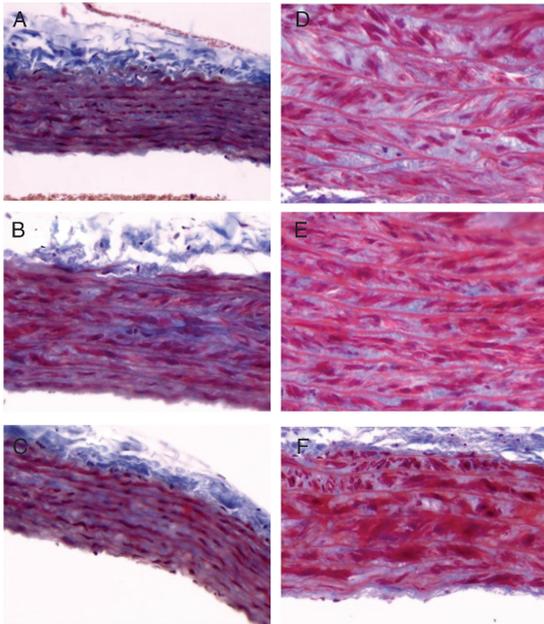


图 4. Masson 染色显示胸主动脉平滑肌细胞及胶原纤维 ( $\times 200$ ) A 为 WKY 普食组, B 为 WKY 高脂饮食组, C 为 WKY 高脂加鱼油组, D 为 SHR 普食组, E 为 SHR 高脂饮食组, F 为 SHR 高脂加鱼油组。

Figure 4. The aorta smooth muscle cells and collagen fibers by Masson staining ( $\times 200$ )

## 2.4 动脉僵硬度

饮食干预至 36 周龄, SHR 大鼠高脂饮食组动脉僵硬度较普食组增高 ( $P < 0.05$ ), 高脂加鱼油组较高脂饮食组降低 ( $P < 0.05$ )。WKY 大鼠三组动脉僵硬度比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ; 表 3)。

## 2.5 胸主动脉 MMP-9 表达

SHR 普食组主动脉内膜及中膜平滑肌细胞内可见棕黄色颗粒, 散在分布, 染色较弱; 高脂饮食组可见大量粗棕黄色颗粒, 弥散分布, 染色较强, 高脂加鱼油组可见中量棕黄色颗粒, 染色程度介于两组之间(图 5)。灰度值分析显示, SHR 高脂饮食组 MMP-9 灰度值较普食组降低 ( $P < 0.05$ ), 高脂加鱼油组 MMP-9 灰度值与高脂饮食组比较明显增加 ( $P < 0.05$ )。WKY 大鼠各组间差异无统计学意义(表 3)。

表 3. 鱼油对高饱和脂肪酸饮食干预大鼠中心动脉僵硬度及 MMP-9 灰度值的影响

Table 3. The effect of fish oil on central arterial stiffness and the MMP-9 gray value in rat by high saturated fatty acid diet intervention

分 组	n	APWV (m/s)	MMP-9 灰度值
WKY 普食组	7	11.5 ± 2.28	198.3 ± 7.2
高脂饮食组	8	15.8 ± 3.2	181.1 ± 6.7
高脂加鱼油组	10	11.1 ± 2.1	182.1 ± 10.3
SHR 普食组	10	10.4 ± 3.1	182.8 ± 10.3
高脂饮食组	10	16.7 ± 2.0 <sup>a</sup>	133.1 ± 15.6 <sup>a</sup>
高脂加鱼油组	10	9.7 ± 2.3 <sup>b</sup>	170.0 ± 9.3 <sup>ab</sup>

a 为  $P < 0.05$ , 与 SHR 普食组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 SHR 高脂饮食组比较。

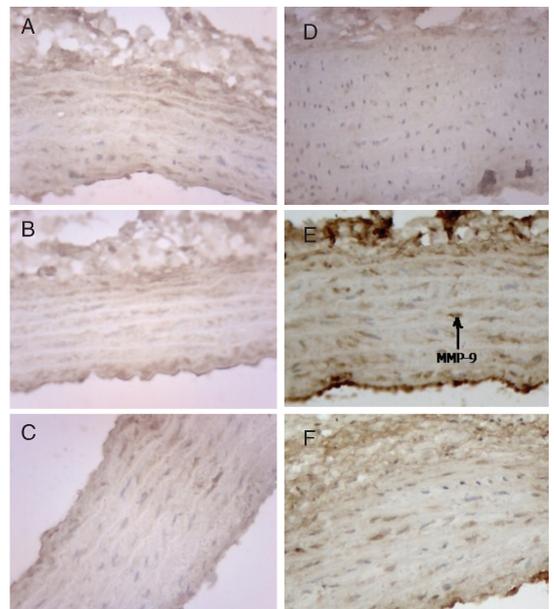


图 5. 鱼油对高饱和脂肪酸饮食干预大鼠 MMP-9 的影响 A 为 WKY 普食组, B 为 WKY 高脂饮食组, C 为 WKY 高脂加鱼油组, D 为 SHR 普食组, E 为 SHR 高脂饮食组, F 为 SHR 高脂加鱼油组。

Figure 5. Effect of fish oil on the expression of MMP-9 in rat by high saturated fatty acid diet intervention

## 3 讨 论

高血压常与糖、脂代谢紊乱及向心性肥胖等危险因素并存, 并成倍增加心脑血管的发生率和死亡率。高血压患者的动脉僵硬度增龄性改变会明显加速, 而动脉僵硬度增加不仅在高血压(尤其是老年高血压)的发病和进展中起重要作用, 而且是高血压患者未来心血管病事件发生的独立危险因素<sup>[4]</sup>。

本研究发现与 WKY 大鼠相比,同样饮食的 SHR 大鼠尾动脉血压明显升高,高脂饮食干预可使 SHR 的血压进一步升高,明显高于 SHR 普食组,而高脂加鱼油饮食干预可逆转高脂饮食干预对血压的这种影响,从干预第 2 周末开始发挥作用至第 6 周末降压趋势明显,从第 7 周末始降压趋势明显减慢。同样,WKY 大鼠高脂饮食干预也升高血压但升压趋势平稳,而鱼油可逆转这种血压升高,且趋势平稳。这与以往研究结果一致<sup>[5-8]</sup>。

膳食中各种脂肪酸的摄入量对动脉僵硬度影响的研究较少。Hamazaki 等<sup>[9]</sup>首次比较了生活在日本渔村的居民和普通农民动脉顺应性的差异,渔村居民的心血管事件发生率较低,而附近普通的农民有较高的心率,造成这种差异的原因在于 n-3 多不饱和脂肪酸,尤其是在鱼中发现的 EPA(20:5n-3)和 DHA(22:6n-3)。最初的观察在随后的研究中得到了证实,Wahlqvist 等<sup>[10]</sup>通过对澳大利亚糖尿病患者横断面的研究发现鱼消耗量增加可能改善大动脉壁的顺应性。Otsuki 等<sup>[11]</sup>给健康青年男性补充含有 n-3 多不饱和脂肪酸的绿藻,显著改善了动脉僵硬度。脂肪酸对动脉弹性功能的影响机制目前还不清楚,本实验室前期对 128 例参与者随访两年实验发现,基线空腹血清游离多不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸比值(P/S 比值)与两年内大动脉弹性指数的改变值显著性正相关<sup>[12]</sup>。但 FFA 对动脉弹性功能的影响仅是功能的影响还是有结构方面的影响尚不清楚。通过本研究 22 周的高饱和脂肪酸饮食可刺激 SHR 大鼠大动脉血管管壁增厚、MMP-9 在血管中的表达上调以及弹力蛋白降解增加从而导致血管大动脉弹性功能减退、动脉僵硬度增加,而高脂加鱼油饮食具有逆转这些改变的作用,提示大动脉管壁结构改变是不同脂肪酸构成饮食对 SHR 大鼠大动脉僵硬度改变的作用途径之一。

Duansak 等<sup>[13]</sup>研究表明,MMP-9 水平在高血压患者中升高。MMP 是一族锌依赖性内肽酶,以酶原形式分泌,激活后可分解 I、III 型胶原,产生一个 1/4 片断及 3/4 片断,从而被其他蛋白酶进一步分解。MMP 参与细胞外基质(ECM)降解,在各种生理条件下 ECM 的降解和重塑中起很重要作用。MMP-9 又称明胶酶 B,是 MMP 家族中最重要的成员之一。长期高血压可以导致血管内皮受损,并进一步刺激平滑肌产生 MMP-9,MMP-9 可降解血管 ECM,从而破坏血管壁导致血管重构。本实验没有发现普通饮食下 SHR 与 WKY 大鼠 MMP-9 之间有差异,但高饱和脂肪酸饮食干预下 SHR 较普食组 MMP-9 表达

上调,提示高饱和脂肪酸通过上调 MMP-9 的表达增加 SHR 大鼠大动脉僵硬度,而鱼油改善 SHR 大动脉僵硬度的机制可能与抑制 MMP-9 的表达有关。结合以往文献,分析可能机制是:①高饱和脂肪酸直接激活包括血管平滑肌细胞(VSMC)在内的不同类型细胞蛋白激酶 C(protein kinase C,PKC)的典型和非典型的亚型<sup>[14-16]</sup>,PKC 在 VSMC 促有丝分裂过程中起关键作用。数个研究显示 FFA 通过 PKC 激活诱导 VSMC 增殖,本研究中观察到,高脂饮食组 SHR 大鼠 VSMC 明显增加。②升高的 VSMC 可分泌大量的 MMP-9。近年来,无论是临床研究还是动物研究<sup>[17,18]</sup>都证明 MMP-2 和 MMP-9 活性的过度表达在高血压相关的动脉硬化中发挥重要作用。研究发现,除血管壁中 MMP-9 表达外,血清 MMP-9 活性和 PWV 在高血压患者中均显著增高,增龄及血压的持续升高均影响 MMP 的表达及活性,提示血清 MMP-9 增高可能参与动脉僵硬度增加的过程<sup>[19]</sup>。③MMP-9 通过降解血管 ECM、胶原纤维及弹性蛋白,破坏血管壁导致血管重构。本实验提示鱼油逆转高饱和脂肪酸饮食所致弹力纤维减少、动脉弹性功能减退的机制可能是部分通过抑制高饱和脂肪酸饮食导致的 VSMC 的增殖和血管内皮功能障碍,从而减少增殖的平滑肌细胞和不正常的内皮细胞分泌 MMP-9 而实现的。

实验中还发现,饮食干预下 WKY 大鼠大动脉中膜横截面积和 MMP-9 的含量变化并无差异,由此推测,鱼油逆转高饱和脂肪酸导致 WKY 大鼠血压升高的机制与 SHR 不同,可能有其他机制参与,如降低压力反射敏感性<sup>[20]</sup>、增加交感神经活性、引起胰岛素抵抗和高胰岛素血症等<sup>[21]</sup>。需要进一步实验研究证实。

综上所述,长期高饱和脂肪酸饮食可刺激 SHR 大鼠大动脉血管管壁增厚,上调 MMP-9 在血管中的表达,降解弹力蛋白,导致血管弹性功能减退,动脉僵硬度增加,这可能是高饱和脂肪酸饮食导致血压升高的机制之一;而鱼油具有逆转上述过程的作用,这可能是控制高饱和脂肪酸饮食所致血压升高的机制之一。

#### [参考文献]

- [1] Nestel P, Shige H, Pomeroy S, et al. The n-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid increase systemic arterial compliance in humans[J]. *Am J Clin Nutr*, 2002, 76(2): 326-331.
- [2] 王顺, 马爱群, 宋绍武, 等. 短期鱼油补充对超重高血

- 压患者大动脉弹性的改善作用[J]. 中国循环杂志, 2007, 22(1): 24-27.
- [3] McVeigh GE, Brennan GM, Cohn JN, et al. Fish oil improves arterial compliance in non-insulin-dependent diabetes mellitus[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1994, 14(9): 1425-1429.
- [4] Miwa H, Yamamoto M, Nishida T, et al. High-performance liquid chromatography analysis of serum long-chain fatty acids by direct derivatization method[J]. *J Chromatogr*, 1987, 416: 237-245.
- [5] Blacher J, Safar ME. Large-artery stiffness, hypertension and cardiovascular risk in older patients[J]. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, 2005, 2(9): 450-455.
- [6] Cecelja M, Chowienczyk P. Role of arterial stiffness in cardiovascular[J]. *JRSM Cardiovasc Dis*, 2012, 1(4): 1-10.
- [7] Rousseau-Ralliard D, Moreau D, Guillard JC, et al. Docosahexaenoic acid, but not eicosapentaenoic acid, lowers ambulatory blood pressure and shortens interval QT in spontaneously hypertensive rats in vivo[J]. *Prostaglandins, Leukot Essent Fatty Acids*, 2009, 80(5-6): 269-277.
- [8] Theobald HE, Goodall AH, Sattar N, et al. Low-dose docosahexaenoic acid lowers diastolic blood pressure in middle-aged men and women[J]. *J Nutr*, 2007, 137(4): 973-977.
- [9] Hamazaki T, Urakaze M, Sawazaki S, et al. Comparison of pulse wave velocity of the aorta between inhabitants of fishing and farming villages in Japan[J]. *Atherosclerosis*, 1988, 73(2-3): 157-160.
- [10] Wahlqvist ML, Lo CS, Myers KA. Fish intake and arterial wall characteristics in healthy people and diabetic patients[J]. *Lancet*, 1989, 2(8669): 944-946.
- [11] Otsuki T, Shimizu K, Iemitsu M, et al. Multicomponent supplement containing *Chlorella* decreases arterial stiffness in healthy young men[J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2013, 53(3): 166-169.
- [12] 王顺, 马爱群, 孙少武, 等. 高血压病人游离脂肪酸与动脉弹性变化[J]. *中华高血压杂志*, 2007, 15(12): 997-1002.
- [13] Duansak N, Schmid-Schneber GW. The oxygen free radicals control MMP-9 and transcription factors expression in the spontaneously hypertensive rat[J]. *Microvasc Res*, 2013, 90: 154-161.
- [14] Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, et al. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure[J]. *New Eng J Med*, 1997, 336(16): 1117-1124.
- [15] Lu G, Meier KE, Jaffa AA, et al. Oleic acid and angiotensin II induce a synergistic mitogenic response in vascular smooth muscle cells[J]. *Hypertension*, 1998, 31(4): 978-985.
- [16] Greene EL, Lu G, Zhang D, et al. Signaling events mediating the additive effects of oleic acid and angiotensin II on vascular smooth muscle cell migration[J]. *Hypertension*, 2001, 37(2): 308-312.
- [17] Huang R, Deng L, Shen A. Associations of MMP1, 3, 9 and TIMP3 genes polymorphism with isolated systolic hypertension in Chinese Han population[J]. *Int J Med Sci*, 2013, 30(7): 840-847.
- [18] Wallace S, McEniery CM, Dakham Z, et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(2): 372-378.
- [19] Zhou S, Feely J, Spiers J, et al. Matrix metalloproteinase-9 polymorphism contributes to blood pressure and arterial stiffness in essential hypertension[J]. *J Hum Hypert*, 2007, 21(11): 861-867.
- [20] Gadegbeku CA, Shrayyef MZ, Taylor TP, et al. Mechanism of lipid enhancement of [alpha]1-adrenoceptor pressor sensitivity in hypertension[J]. *J Hypert*, 2006, 24(7): 1383-1387.
- [21] Djoussé L, Benkeser D, Arnold A, et al. Plasma free fatty acids and risk of heart failure: the Cardiovascular Health Study[J]. *Circ Heart Fail*, 2013, 6(5): 964-969.

(此文编辑 许雪梅)