

血浆游离脂肪酸组成与非酒精性脂肪性肝病的相关性研究^{*}冉莉, 万婧, 张海英, 陈诗慧, 高燕翔, 张乾勇, 糜漫天[△]

(第三军医大学营养与食品安全研究中心/重庆市营养与食品安全重点实验室, 重庆 400038)

摘要:目的 研究血浆游离脂肪酸组成与非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)之间的相关性。方法 将西南医院通过 B 超检查诊断的 105 例 NAFLD 患者作为病例(NAFLD 组),按照年龄、性别、居住地等信息配比选择相应的健康对象 110 名作为对照(对照组),应用气相色谱法检测血浆游离脂肪酸的水平。结果 血浆棕榈酸(C16:0)(OR=1.769)水平升高则增加 NAFLD 的发病风险,血浆亚油酸(C18:2 n-6)(OR=0.855)和花生四烯酸(C20:4 n-6)(OR=0.181)水平升高则降低 NAFLD 的发病风险。结论 合理的膳食脂肪摄入可能降低 NAFLD 的患病风险。

关键词:脂肪酸类,非酯化;非酒精性脂肪性肝病;气相色谱

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.14.006

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)14-1697-03

Plasma free fatty acids composition and its association with nonalcoholic fatty liver disease^{*}Ran Li, Wan Jing, Zhang Haiying, Chen Shihui, Gao Yanxiang, Zhang Qianrong, Mi Mantian[△]

(Research Center for Nutrition and Food Safety/Chongqing Key Laboratory of Nutrition and Food Safety, the Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

Abstract: Objective To study the relationship between plasma free fatty acids composition and the incidence of nonalcoholic fatty liver disease(NAFLD). **Methods** By the design of case-control study, 105 patients with NAFLD as cases and 110 healthy people as controls were enrolled into the study. Plasma free fatty acid levels were determined by gas chromatography. **Results** High level of plasma palmitic acid(C16:0)(OR=1.769) was the risk factors of NAFLD, while plasma levels of linoleic acid(C18:2 n-6)(OR=0.855) and arachidonic acid(C20:4 n-6)(OR=0.181) were negatively associated with the incidence of NAFLD. **Conclusion** These findings suggest that a proper ratio of diet fatty acids intake may reduce the risk of NAFLD.

Key words: fatty acids, nonesterified; nonalcoholic fatty liver disease; gas chromatography

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除酒精和其他明确的损肝因素所致的,以肝细胞脂肪变性和脂肪贮积为特征的临床病理综合征,其随病情的发展表现为非酒精性单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎及其相关肝硬化和肝细胞癌^[1-2]。随着生活水平的提高、饮食结构的变化和生活方式的改变,NAFLD 患病率和诊断率日益增高,国外报告发病率接近 20%~30%^[3]。近 20 年来亚洲国家 NAFLD 增长迅速且呈低龄化发病趋势,中国的上海、广州和香港等发达地区成人 NAFLD 患病率在 15%左右^[4]。NAFLD 与膳食、营养因素,尤其与膳食脂肪酸密切相关,血浆游离脂肪酸组成能够准确地反映近数周的膳食脂肪摄入情况,可以较真实地反映个体脂肪酸暴露水平。本研究分析了重庆市 NAFLD 患者和健康对照人群血浆游离脂肪酸的组成,旨在探讨 NAFLD 与脂肪酸摄入的相关性,为 NAFLD 的预防和控制提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 5~12 月在第三军医大学附属西南医院体检中心诊断的 105 例 NAFLD 患者作为病例,同时按照年龄、性别、居住地等信息配比选择相应的健康对象 110 名作为对照。NAFLD 诊断标准参照 2010 年修订版中华医学会肝病分会脂肪肝和酒精性脂肪肝病学组“非酒精性脂肪性肝病诊

疗指南”^[5],空腹 B 超提示脂肪肝,同时要求无饮酒史或饮酒折合乙醇量小于每周 140 g(女性每周小于 70 g),并排除病毒性肝炎、药物性肝病、全胃肠外营养、肝豆状核变性、自身免疫性肝病等可导致脂肪肝的特定疾病。

1.2 试剂与仪器 37 种甲酯化脂肪酸混合标准品和正己烷(GC)购于 Sigma 公司。14%三氟化硼(GC)购于上海安普公司。6890N 气相色谱仪为美国 Agilent 公司,配置氢离子火焰检测器,DB-23 石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)。低温离心机为美国 Sigma 公司,低温冰箱为美国 FORMA 公司,漩涡混合器(国产),氮气吹干仪(国产)。

1.3 方法 所有试验对象空腹采集外周静脉血约 5 mL,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,3 000 r/min 离心 10 min,分离血浆,于-80℃冰箱保存。用一步甲酯化反应法^[6]进行血浆样品的预处理:在螺口玻璃试管中分别加入 1.5 mL 正己烷和 1.5 mL 14%三氟化硼,加入 100 L 血浆样品,旋紧盖子,100℃水浴 60 min,冷却至室温,加入 1 mL 蒸馏水,漩涡振荡 30 s,3 000 r/min 离心 10 min,吸取上层液,氮气吹干,100 μL 正己烷溶解,转移至储存管中并充氮气封盖保存待测。用气相色谱仪分析血浆游离脂肪酸水平,将血浆样品色谱图中各峰的保留时间与脂肪酸标准品的保留时间作比较,确定样品色谱图中各峰的性质。用面积归一化法计算各脂肪酸的百分含量。

^{*} 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30972469)。 作者简介:冉莉(1983—),实验师,本科,主要从事营养与食品卫生学的研究。

[△] 通讯作者, Tel: (023)68752292; E-mail: mimt2007@126.com。

1.4 检测指标 调查并记录研究对象的年龄、性别、身高、体重质量指数(BMI)。抽取空腹静脉血,按照临床标准方法进行血清三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、总胆固醇(TC)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(AST)、谷酰转氨酶(GGT)、血清尿酸(UA)、肌酐(Cr)的检测,所有生化指标的检测均用全自动生化分析仪检测。

1.5 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行统计学分析处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,正态分布且方差齐的两组资料比较采用 *t* 检验,方差不齐或偏态分布资料采用非参数检验,并进行 NAFLD 危险因素的非条件 Logistic 回归分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 一般资料 NAFLD 组 BMI、ALT、AST、GGT、TC、TG、Cr、UA 等指标高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);HDL-C 和 LDL-C 两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 一般临床资料比较($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组 (<i>n</i> =110)	NAFLD 组 (<i>n</i> =105)	<i>F</i>	<i>P</i>
BMI(kg/m ²)	21.903±2.437	26.173±2.751	−16.487 ^a	0.000
ALT(U/L)	21.280±13.196	39.040±24.368	−12.146 ^a	0.000
AST(U/L)	23.970±9.084	30.790±13.767	−7.924 ^a	0.000
GGT(U/L)	22.340±21.377	45.730±40.761	−13.547 ^a	0.000
TC(mmol/L)	4.460±0.847	4.810±0.909	−4.982 ^b	0.000
TG(mmol/L)	1.150±1.092	2.580±1.938	−15.133 ^a	0.000
HDL-C(mmol/L)	1.430±5.600	1.410±0.408	0.088 ^b	0.930
LDL-C(μmol/L)	2.744±2.816	2.992±0.649	−1.487 ^b	0.138
Cr(μmol/L)	62.866±13.823	68.343±14.597	−4.719 ^b	0.000
UA(μmol/L)	294.716±77.825	381.647±92.235	−11.416 ^a	0.000

^a:Mann-Whitney *U* 检验;^b:两独立样本 *t* 检验。

2.2 一般临床资料的非条件 Logistic 回归分析 经非条件 Logistic 回归分析,最后入选的有统计学意义的指标分别为 BMI、ALT、TG 和 UA。其中 ALT 和 UA 应看做是 NAFLD 的结果而不是危险因素,BMI($OR = 1.821$)和 TG($OR = 1.904$)的 OR 值均大于 1,可以看作 NAFLD 发病的危险因素,见表 2。

表 2 一般临床资料的非条件 Logistic 回归分析

项目	β	<i>SE</i>	<i>Wald</i>	<i>P</i>	Exp(B)	95%CI
BMI(kg/m ²)	0.599	0.066	82.302	0.000	1.821	1.600~2.072
ALT(U/L)	0.049	0.016	9.329	0.002	1.050	1.018~1.083
TG(mmol/L)	0.644	0.166	15.016	0.000	1.904	1.375~2.636
UA(μmol/L)	0.008	0.002	15.652	0.000	1.008	1.004~1.012

2.3 血浆游离脂肪酸组成比较 统计研究人群血浆游离脂肪酸水平,选取其中 12 种脂肪酸列入血浆游离脂肪酸组成谱。NAFLD 组血浆饱和脂肪酸(SFA)和棕榈酸(C16:0)水平高于对照组($P < 0.05$),而单不饱和脂肪酸(PUFA)、亚油酸

(C18:2 n-6)、花生四烯酸(C20:4 n-6)水平则低于对照组($P < 0.05$)。其他种类血浆游离脂肪酸水平两组差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

表 3 血浆游离脂肪酸组成比较

脂肪酸	对照组(<i>n</i> =110)	NAFLD 组(<i>n</i> =105)	<i>F</i>	<i>P</i>
SFA	39.621±2.924	43.580±3.003	−6.058 ^b	0.000
C14:0	1.424±0.188	1.427±0.194	−0.063 ^b	0.950
C16:0	22.231±2.802	25.971±2.890	−5.959 ^b	0.000
C18:0	15.525±0.332	15.456±0.496	0.748 ^b	0.456
MUFA	16.921±0.585	17.126±0.527	−1.654 ^b	0.102
C16:1	2.447±0.231	2.420±0.232	0.528 ^b	0.599
C18:1 n-9	13.444±0.417	13.419±0.437	0.263 ^b	0.793
C20:1	0.611±0.046	0.605±0.071	−0.522 ^a	0.601
PUFA	44.536±11.191	36.600±4.251	−4.095 ^a	0.000
C18:2 n-6	32.260±11.14	25.240±4.065	−3.412 ^a	0.001
C18:3 n-3	2.469±0.270	2.416±0.247	0.935 ^b	0.352
C20:3 n-6	1.058±0.026	1.063±0.025	−0.931 ^b	0.354
C20:4 n-6	5.027±0.955	4.258±0.881	3.776 ^b	0.000
C20:5 n-3	0.665±0.033	0.681±0.040	−1.972 ^b	0.052
C22:6 n-3	2.328±0.028	2.327±0.022	0.151 ^b	0.880

^a:Mann-Whitney *U* 检验;^b:两独立样本 *t* 检验;SFA:饱和脂肪酸;C14:0:豆蔻酸;C18:0:硬脂酸;MUFA:单不饱和脂肪;C16:1:棕榈烯酸;C18:1:油酸;C20:3 n-6:二十碳三烯酸;C20:5 n-3:二十碳五烯酸;C22:6 n-3:二十碳六烯酸。

2.4 血浆游离脂肪酸水平与 NAFLD 发生的相关性 经非条件 Logistic 回归分析发现,选取的 12 种脂肪酸中血浆 C16:0($OR = 1.769$)水平升高增加 NAFLD 的发病风险,而 C18:2 n-6($OR = 0.855$)和 C20:4 n-6($OR = 0.181$)水平升高则降低 NAFLD 的发病风险。统计研究过程中,本研究未发现其他血浆脂肪酸水平与 NAFLD 发生相关,见表 4。

表 4 血浆游离脂肪酸水平与 NAFLD 的相关性

项目	β	<i>SE</i>	<i>Wald</i>	<i>P</i>	Exp(B)	95%CI
C16:0	0.570	0.170	11.221	0.001	1.769	1.267~2.469
C18:2n-6	−0.157	0.075	4.326	0.038	0.855	0.738~0.991
C20:4n-6	−1.712	0.533	10.331	0.001	0.181	0.064~0.513

3 讨 论

近年来随着生活水平的不断提高,饮食结构发生重要变化,高能量、高脂肪膳食摄入已经成为一个普遍现象,肥胖和高脂血症增多,脂肪肝的发生也随之增多。本研究显示 NAFLD 组的 BMI、ALT、AST、GGT、TC、TG、CR、UA 等指标均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。从非条件 Logistic 回归分析结果可以看出,BMI 和 TG 是 NAFLD 发生的危险因素,这与文献报道相一致^[7-9]。NAFLD 的发生与肥胖有密切关系,由于肥胖者体内脂肪组织增多,体内脂肪酸和游离脂肪酸释出增加,肝脏脂肪氧化磷酸化和脂肪酸 β 氧化受损使脂肪酸分解下降,TG 合成增多集聚肝脏而形成脂肪肝^[10]。高 TG 血症时,体内游离脂肪酸增多,增多的游离脂肪酸具有细胞毒

性,它可造成肝细胞变性、坏死和炎性反应,从而导致 NAFLD 的发生^[11];另外,增多的游离脂肪酸也会干扰周围组织中胰岛素与受体结合,导致胰岛素抵抗的产生。因此,注意平衡膳食、适当运动、合理控制体质量有助于预防 NAFLD 的发生。

脂肪酸是膳食脂肪的重要组成部分,也是体内脂肪代谢的中间产物。脂肪酸根据饱和程度可以分为:SFA、MUFA、PUFA,PUFA 又分为 n-3 PUFA 和 n-6 PUFA。本研究结果显示,NAFLD 组 C16:0 水平较高,可能是血浆中 SFA 含量增加的重要因素,C16:0 水平高则增加 NAFLD 的发病风险。NAFLD 组血浆 PUFA、C18:2 n-6、C20:4 n-6 水平均低于对照组,经非条件 Logistic 回归分析显示,C18:2 n-6、C20:4 n-6 水平升高则降低 NAFLD 的发病风险。本实验在体外的研究也发现 C16:0 促进体外培养肝细胞脂肪蓄积,而 C18:2 n-6 和 C20:5 n-3 降低肝细胞的脂肪含量^[12]。Barreyro 等^[13]研究发现 SFA(C16:0 和 C18:0)在肝细胞内过度聚积,可能造成肝细胞损伤。C18:2 n-6 是导致血胆固醇浓度下降的主要脂肪酸,它可以加速血浆中 TC 的转化和排泄,因而可以降低血浆 TC 的浓度^[14]。C18:2 n-6 还有降低血浆 TG 水平的作用,维持血脂代谢平衡^[15]。C20:4 n-6 是合成前列腺素、前列腺环素、血栓烷素、白细胞三烯等二十碳衍生物的直接前体,这些生物活性物质对脂质代谢、血液流变学、血管弹性、白细胞功能和血小板激活等具有重要的调节作用。本研究显示对 NAFLD 有预防作用的 PUFA 主要是 n-6 PUFA 中的 C18:2 n-6 和 C20:4 n-6,而未见血浆 n-3 PUFA 与 NAFLD 有关,这可能是由于重庆地区研究对象膳食中 n-3 PUFA 摄入水平相对较低且差别不大。

参考文献:

[1] Breij LM,Kerkhof GF,Hokken-Koelega AC,et al. Accelerated infant weight gain and risk for non-alcoholic fatty liver disease in early adulthood[J]. World J Gastroenterol,2013,19(48):9146-9155.

[2] de Alwis NM,Day CP. Non-alcoholic fatty liver disease: the mist gradually clears[J]. J Hepatol,2008,48(Suppl 1):S104-S112.

[3] Williams CD,Stengel J,Asike MI,et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing

ultrasound and liver biopsy:a prospective study[J]. Gastroenterology,2011,140(1):124-131.

[4] Fan JG,Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China[J]. J Hepatol,2009,50(1):204-210.

[5] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学会. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010 年修订版)[J]. 胃肠病学和肝病杂志,2010,19(6):483-487.

[6] Masood A,Stark KD,Salem N. A simplified and efficient method for the analysis of fatty acid methyl esters suitable for large clinical studies[J]. J Lipid Res,2005,46(10):2299-2305.

[7] Zámbo V,Simon-Szabó L,Szelényi P,et al. Lipotoxicity in the liver[J]. World J Hepatol,2013,5(10):550-557.

[8] 唐彬,姚树坤. 非酒精性脂肪性肝病患者血清 L-FABP 和 TNF- α 水平测定及其意义[J]. 重庆医学,2013,42(15):1696-1697,1700.

[9] 邵小娟,王晓敏,王斌,等. 巨噬细胞表型转换在 NAFLD 发生过程中的可能作用[J]. 重庆医学,2013,42(15):1681-1684,1688.

[10] 赵紫烟. 非酒精性脂肪肝的危险因素及脂肪肝诊断的研究进展[J]. 医学综述,2011,17(10):1522-1524.

[11] 田晓媛. 膳食脂肪酸与非酒精性脂肪肝[J]. 重庆医学,2010,39(24):3430-3432.

[12] 田晓媛,张乾勇,冉莉,等. 不同膳食脂肪酸对肝细胞 SREBP-1c 表达及脂代谢的影响[J]. 第三军医大学学报,2012,34(1):66-69.

[13] Barreyro FJ,Kobayashi S,Bronk SF,et al. Transcriptional regulation of Bim by FoxO3A mediates hepatocyte lipopapoptosis[J]. J Biol Chem,2007,282(37):27141-27154.

[14] Koo SH. Nonalcoholic fatty liver disease:molecular mechanisms for the hepatic steatosis[J]. Clin Mol Hepatol,2013,19(3):210-215.

[15] 时皎皎,糜漫天,韦娜,等. 不同脂肪酸构成比对大鼠血脂影响的研究[J]. 第三军医大学学报,2007,29(9):824-827.

(收稿日期:2013-11-09 修回日期:2013-12-26)

(上接第 1696 页)

2007,35:334-338.

[19] 廖移满,徐陆,陶丽. 新生儿呼吸机相关性肺炎高危因素分析[J]. 中国误诊学杂志,2012,12(14):3580-3581.

[20] 郑莉. 危重症新生儿呼吸机相关性肺炎高危因素及对策[J]. 中国社区医师,2012,14(32):163-164.

[21] 汤广宇,张媛媛,王晓潇,等. 新生儿呼吸机相关性肺炎 52 例高危因素及病原菌分析[J]. 安徽医学,2010,31(6):641-642.

[22] 常明,杨莉. 新生儿呼吸机相关性肺炎 86 例高危因素及病原学特点[J]. 中国新生儿科杂志,2008,23(5):298-

299.

[23] 朱绪亮,赵玲,杨嘉琛,等. 新生儿呼吸机相关性肺炎的病原学和高危因素分析[J]. 中国当代儿科杂志,2007,9(6):549-542.

[24] 叶毅桦,黄莹,陈志凤,等. 新生儿呼吸机相关性肺炎的高危因素分析及病原菌检测[J]. 中国妇幼保健,2009,24(21):3022-3023.

[25] Shraf M,Ostrosky ZL. Ventilator associated pneumonia:a review[J]. Hosp Pract Minneap,2012,40(1):93-105.

(收稿日期:2013-11-13 修回日期:2014-02-25)