

## 高脂膳食模式下脂肪酸构成对大鼠肝脏胰岛素水平、铁含量及铁代谢相关基因表达的影响

程菲儿, 申姣姣, 张娜宁, 杨皓瑜, 何丽霞, 云少君\*, 冯翠萍  
(山西农业大学食品科学与工程学院 山西太谷 030801)

**摘要** 目的: 基于胰岛素-铁代谢交互作用探讨膳食脂肪酸构成对肝脏糖水平的影响。方法: 21 日龄清洁级雄性 SD 大鼠 60 只, 随机分为: 对照组、15% 大豆油组(15% SO)、15% 猪油组(15% PO)、15% 橄榄油组(15% OO)、15% 鱼油组(15% FO) 及 1:1 SO:FO 组。首先以气相色谱法测定油脂脂肪酸构成, 之后以不同油脂干预大鼠 13 周, 测定其肝脏葡萄糖、胰岛素含量, 检测血红蛋白、血清铁、铁蛋白以及肝脏中的铁含量, 以普鲁士蓝染色观测肝脏组织铁沉积情况, 以实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测大鼠肝脏组织铁代谢关键基因的表达量。结果: SO 中 n-6 不饱和脂肪酸含量为 46.37%, FO 中 n-3 不饱和脂肪酸含量为 37.55%, PO 中饱和脂肪酸含量为 24.78%, OO 中单不饱和脂肪酸含量为 36.39%。各组大鼠肝脏中葡萄糖含量无明显差异, 而 1:1 SO:FO 组大鼠肝脏胰岛素水平显著低于对照组及 15% SO 组( $P<0.05$ )。各组大鼠血红蛋白及铁蛋白含量无显著性差异, 而 15% SO 组血清铁含量最高且显著高于对照组及 1:1 SO:FO 组( $P<0.05$ )。与对照组相比, 15% PO 组肝脏铁含量显著性升高( $P<0.05$ )。普鲁士蓝染色结果显示, 15% SO 组和 15% PO 组棕褐色颗粒增多。铁代谢相关基因检测结果表明, 与对照组相比, 15% SO 组和 15% PO 组铁调素(*Hep*)基因表达显著降低( $P<0.05$ ); 15% SO 组和 15% PO 组膜铁转运蛋白(*Fpn1*)基因的表达量显著性低于其它各高脂组( $P<0.05$ )。与对照组相比, 15% FO 组二价金属转运蛋白 1(*DMT-1*)基因的表达量显著性升高( $P<0.05$ ), 15% PO 组转铁蛋白受体 2(*TfR2*)基因的表达量显著性降低( $P<0.05$ )。结论: 相较于 15% SO, 15% 1:1 SO:FO 可以抑制机体血清铁水平增高及肝脏铁的沉积, 进而抵御胰岛素敏感性的降低; 15% OO 及 15% FO 对肝脏铁沉积无明显影响, 而 15% PO 则可以引起肝脏的铁沉积, 提示适量的补充鱼油对于肝脏糖、铁代谢具有一定的改善作用。

**关键词** 膳食脂肪酸; 葡萄糖; 胰岛素; 铁代谢

文章编号 1009-7848(2023)08-0154-11 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2023.08.017

油脂作为膳食中不可缺少的一部分, 其摄入量高低、所含的脂肪酸组成与其营养作用密切相关<sup>[1]</sup>。现今, 避免过多能量的摄入仍被视为是对抗肥胖、II 型糖尿病等慢性病的有效方式之一, 而油脂的脂肪酸组成也是影响油脂营养作用的主要因素之一<sup>[2]</sup>。

油脂脂肪酸组成除会对机体血脂代谢产生影响外<sup>[3-4]</sup>, 还与葡萄糖代谢密切相关。研究表明, 油脂摄入量以及脂肪酸类型均会影响胰岛素的敏感性。人体研究发现, 高脂膳食, 无论脂肪酸的类型如何, 均会引起胰岛素敏感性降低。饱和脂肪酸(Saturated fatty acids, SFA), 相对于单不饱和脂

肪酸(Monounsaturated fatty acids, MUFA)和多不饱和脂肪酸(Polyunsaturated fatty acids, PUFA), 呈现出更强的损伤胰岛素敏感性的特性<sup>[2]</sup>。一些人群流行病学研究发现, SFA 对于胰岛素敏感性的损伤具有直接作用, 而不饱和脂肪酸对于这一作用却具有逆转效应<sup>[5-6]</sup>。另有研究表明摄入含有高比例不饱和脂肪酸的饮食相较于高碳水化合物的饮食会产生更好的葡萄糖代谢<sup>[2]</sup>。此外, 由于人类饮食结构的变化, n-6/n-3 PUFA 的比例从 1:1 改变至当下的 20:1 甚至更高, 显著地引起超重和肥胖的发生<sup>[7]</sup>, 因此, 寻求较低的、平衡的 n-6/n-3 PUFA 比例对于预防肥胖以及健康促进同样具有重要的意义。

不同脂肪酸的构成比对机体糖脂代谢的效应各异, 究其根本大多与胰岛素敏感性有关。胰岛素抵抗<sup>[8]</sup>是指胰岛素摄取和利用葡萄糖的能力下降, 为了维持血糖的稳定, 从而使机体分泌过多胰岛

收稿日期: 2022-10-14

基金项目: 山西省应用基础研究计划青年科技研究基金项目(201901D211378)

第一作者: 程菲儿, 女, 博士, 讲师

通信作者: 云少君 E-mail: yunshaojun@163.com

素,最终导致细胞糖、脂代谢异常<sup>[9]</sup>。胰岛素抵抗与铁代谢之间具有双向的调节关系<sup>[10-11]</sup>,铁可以破坏胰岛素对肝脏葡萄糖生成的抑制作用,减少肝脏对胰岛素的摄取,从而导致外周高胰岛素血症<sup>[12]</sup>,两者相结合导致体内铁含量的进一步增加<sup>[13]</sup>。胰岛素抵抗和体内铁沉积可形成恶性循环,由此可见,铁代谢-胰岛素信号通路的协同作用对于机体糖脂代谢的调节可能起着重要的作用。

目前从胰岛素-铁代谢协同作用的角度分析膳食中脂肪酸构成影响机体糖脂代谢的机理鲜有报道。基于此,本研究通过给予大鼠不同脂肪酸构成的膳食,测定其肝脏葡萄糖、胰岛素及铁水平,分析铁代谢相关基因的表达水平,旨在从胰岛素-铁代谢交互作用的角度分析膳食脂肪酸构成对肝脏糖脂代谢的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

福临门一级大豆油,中粮福临门食品营销有限公司;金锣精制猪油,新程金锣肉制品集团有限公司;饲料级鱼油,武汉远成共创科技有限公司;蓓琳娜特级初榨橄榄油,西班牙巴埃纳产区庄园;AIN-93G 标准饲料,北京斯贝福生物技术有限公司。

葡萄糖检测试剂盒,北京索莱宝生物技术有限公司;大鼠胰岛素(Insulin)ELISA 试剂盒,上海西唐生物科技有限公司;血清铁测定试剂盒、血红蛋白测定试剂盒,南京建成生物工程研究所;大鼠铁蛋白 ELISA 检测试剂盒,上海钦诚生物技术有限公司;普鲁士蓝染色试剂盒,武汉赛维尔生物科技有限公司;固相表面 RNase 清除剂,上海生工生

物工程有限公司;RNAiso Plus 试剂盒、Prime-Script™ RT Master Mix 反转录试剂盒、TB Green™ Premix Ex Taq™ II 试剂盒,大连 TaKaRa 生物工程公司。其它试剂均为国产分析纯级。

### 1.2 仪器与设备

气相色谱仪,安捷伦科技有限公司;多功能酶标仪,香港伯齐科技有限公司;电感耦合等离子体质谱仪,美国 thermo 公司;脱水机、包埋机,孝感奥华医疗科技有限公司;病理切片仪,上海徠卡仪器有限公司;组织摊片机,沈阳恒松科技有限公司;显微镜,上海北诺生物科技有限公司;实时荧光定量 PCR 仪,美国安捷伦公司。

### 1.3 方法

1.3.1 各油脂脂肪酸含量的测定 各油脂的脂肪酸构成采用气相色谱法进行检测。试样经过水解、脂肪提取、脂肪皂化及脂肪酸甲酯化后,经 0.45 μm 滤膜过膜后上机测试。测定条件为:色谱柱 CD-2560(100 m × 0.25 mm × 0.20 μm);升温程序:130 °C 保持 5 min,以 4 °C/min 的速率升温至 240 °C,保持 30 min;进样口温度 250 °C;载气流速 0.5 mL/min;分流进样;分流比 10:1;检测器 FID;检测器温度 250 °C。

1.3.2 不同膳食脂肪酸构成的饲料配制 测得各油脂脂肪酸含量后,进行大鼠饲料的调配,其中对照组采用 AIN-93G 饲料喂养(大豆油为 7%),实验组动物饲料在 AIN-93G 饲料基本配方的基础上添加 15%不同的油脂,同时确保各组饲料中亚油酸含量>0.05%,以避免机体摄入的营养成分不足,每 3 周配制 1 次饲料,真空包装后放置于-20 °C 冰箱内避光保存。

表 1 各组饲料具体配方(%)

Table 1 Formulations of feed in every group(%)

成分	组别					
	对照组	15% SO	15% PO	15% OO	15% FO	1:1 SO:FO
酪蛋白	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
糊化玉米淀粉	13.20	13.20	13.20	13.20	13.20	13.20
β-D-吡喃果糖基-α-D-吡喃葡萄糖苷	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
玉米淀粉	39.75	31.75	31.75	31.75	31.75	31.75
纤维素	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
大豆油	7.00	15.00				7.50

(续表 1)

成分	组别					
	对照组	15% SO	15% PO	15% OO	15% FO	1:1 SO:FO
猪油			15.00			
鱼油					15.00	7.50
橄榄油				15.00		
AIN-93G 矿物质混合物	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50
胱氨酸	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
AIN-93-VX 维生素混合物	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
胆碱酒石酸盐	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25

1.3.3 动物模型的建立 60只清洁级雄性SD大鼠(21日龄),购于山西医科大学【SCXK(晋)2015-0001】,置于标准动物房饲养。适应性喂养7d后,随机分为6组:对照组、15%SO组、15%PO组、15%OO组、15%FO组和1:1SO:FO组。对照组采用添加油脂量为7%SO的标准AIN93G饲料喂养,15%SO、15%PO、15%OO及15%FO组以AIN93G饲料为基础,添加15%的不同油脂,1:1SO:FO组添加油脂量为7.5%大豆油和7.5%鱼油。各组大鼠同室分笼饲养,室内温度保持在(23±2)℃,大鼠自由摄食、饮水。每2d测定大鼠摄食量,同时更换饲料,更换时丢弃之前的剩余饲料,以免氧化变质,实验共13周。实验结束后,大鼠空腹12h,麻醉处死,收集血清及肝脏组织,保存备用。

1.3.4 大鼠肝脏葡萄糖及胰岛素含量的测定 参照相关试剂盒说明测定大鼠肝脏葡萄糖及胰岛素含量。

1.3.5 大鼠血液铁相关指标的测定 按相关试剂盒说明检测大鼠血红蛋白、血清铁及铁蛋白含量。

1.3.6 大鼠肝脏组织铁含量的测定 称取0.5g肝脏组织至聚四氟乙烯消解罐中,加入5mL硝

酸,静置,反应结束后加盖密封,放入微波消解仪中进行消解。消解完成后,待温度冷却至50℃以下,取出消解罐放入通风橱中,打开消解罐,用超纯水润洗,转移至50mL容量瓶中,定容,待测。利用电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)测定肝脏组织中铁含量。

1.3.7 大鼠肝脏普鲁士蓝铁沉积染色 石蜡切片常规脱蜡置于水中,经蒸馏水洗1min后以普鲁士蓝染液染色15~30min,以蒸馏水充分冲洗5~10min,入伊红染色液淡染细胞核5~10min,经自来水冲洗后,常规脱水透明,中性树胶封片,显微镜下采集图像进行分析。

1.3.8 基因测定 将1mL RNAiso Plus加入至0.1g肝脏组织中,充分匀浆后提取RNA。检测RNA的浓度及纯度后,将4μL PrimeScript™ RT Master Mix和一定量的总RNA提取物加入EP管中,并用Rnase-free dd H<sub>2</sub>O加至20μL(反应液的配制在冰浴上进行),轻柔混合,按照37℃15min、85℃5s、4℃保存的条件进行反转录。之后按照95℃1min;95℃10s、62℃30s(45个循环);95℃15s、60℃1min、95℃15s的条件进行PCR扩增。引物序列如下表。

表2 引物序列

Table 2 Primer sequences

基因	引物序列(5'→3')	序列号
<i>β-actin</i>	F: ACTTCGAGCAGGAGATGGCC	NM 031144.3
	R: CCCAAGAAGGAAGGCTGGAA	
<i>Hep</i>	F: TGCCTGTCTCTGCTTCTCTCTCC	NM 012582.2
	R: TCGCAATGTCTGCCCTGCTTTC	
<i>Fpn1</i>	F: ACAACAAGGGGAGAACGC	NM 133315.2
	R: ATGACGGACACATTCTGAACCA	

(续表 2)

基因	引物序列(5'→3')	序列号
<i>DMT-1</i>	F: TATCTAGATGACCAACAGCC	NM 013173.2
	R: ATCTTACCCAAACTGGCACG	
<i>TjR2</i>	F: AGCTGGGACGGAGGTGACTT	NM 001105916.1
	R: TCCAGGCTCACGTACACAACAG	

#### 1.4 数据统计分析

采用 Graphpad Prism 8.0.1 软件进行作图。数据以平均值±标准误( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ )表示,并采用 IBM SPSS Statistics 23.0 软件进行方差齐性检验之后选用单因素方差分析,再以 Tukey 法进行均数间的两两比较。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义的判定标准。

## 2 结果与分析

### 2.1 膳食油脂脂肪酸的构成

由表 3 可知,猪油中饱和脂肪酸成分为含量为 24.78%,鱼油中 n-3 不饱和脂肪酸含量为 37.55%,橄榄油中单不饱和脂肪酸含量为 36.39%,大豆油中 n-6 不饱和脂肪酸含量为 46.37%。

表 3 不同的油脂中主要脂肪酸构成比例(%)

Table 3 Main fatty acid composition in different oils (%)

脂肪酸种类	SO	PO	OO	FO
C10:0	-	0.0541	-	-
C12:0	-	0.0416	-	0.0470
C13:0	-	-	-	0.0330
C14:0	0.0484	0.7470	0.0103	3.1265
C14:1	-	0.0164	-	0.0482
C15:0	0.0093	0.0259	0.0080	0.3375
C16:0	8.1243	14.5697	5.9625	10.3569
C16:1	0.0592	1.1619	0.4417	3.8084
C17:0	0.0824	0.1617	0.0341	0.3189
C17:1	0.0328	-	-	-
C18:0	3.0451	8.9745	2.0454	2.3226
C18:1n9t	0.0163	-	-	0.0965
C18:1n9c	18.3279	23.2883	35.8055	10.7117
C18:2n6t	0.1884	-	-	-
C18:2n6c	45.8806	10.3750	4.1703	3.3456
C20:0	0.2185	0.1693	0.2900	0.2924
C18:3n6	0.3054	0.0599	-	0.2116
C20:1	0.2882	0.5426	0.1345	3.8485
C18:3n3	5.1148	0.5423	0.5835	1.7841
C21:0	0.0324	-	0.0147	0.0391
C20:2	0.0498	0.5057	0.0046	0.3636
C22:0	0.3441	0.0112	0.0948	-
C20:3n6	-	0.0912	-	0.1924
C22:1n9	-	0.0113	0.0074	-
C20:3n3	-	0.0871	0.0068	-
C20:4n6	-	0.2578	0.5529	1.1544
C23:0	0.0025	0.0120	0.0228	0.0658
C22:2	-	0.0111	-	0.0576
C24:0	-	0.0085	0.0574	0.0767
C20:5n3	0.1024	-	-	12.0161
C24:1	0.0572	-	-	0.4984
C22:6n3	-	0.0476	-	23.7457

## 2.2 动物饲料中油脂脂肪酸的构成

由表 1 和 3 可推算出各组饲料中脂肪酸的构成,结果如表 4 所示。

表 4 各组动物饲料中油脂的脂肪酸构成 (%)

Table 4 Fatty acid composition of feed in every group (%)

组别	SFA	MUFA	PUFA	n-6 PUFA	n-3 PUFA
对照组	11.91	18.78	51.64	46.37	5.22
15% SO	11.91	18.78	51.64	46.37	5.22
15% PO	24.78	25.02	11.98	10.78	0.68
15% OO	8.54	36.39	5.32	4.72	0.59
15% FO	17.02	19.01	42.87	4.90	37.55
1:1 SO:FO	14.47	18.90	47.26	25.64	21.39

由表 4 可知, 对照组与 15% SO 组脂肪酸构成中 n-6 PUFA 的比例最高, 15% PO 组脂肪酸构成中 SFA:MUFA  $\approx$  1:1, 15% OO 组脂肪酸构成中 MUFA 的比例最高, 15% FO 组脂肪酸构成中 n-3 PUFA 的比例最高, 1:1 SO:FO 脂肪酸构成中 n-3 PUFA:n-6 PUFA  $\approx$  1:1。

## 2.3 大鼠摄食量的测定

由表 5 可知, 各组大鼠在实验期间平均摄食量均无显著性差异。

## 2.4 大鼠肝脏葡萄糖及胰岛素水平的测定

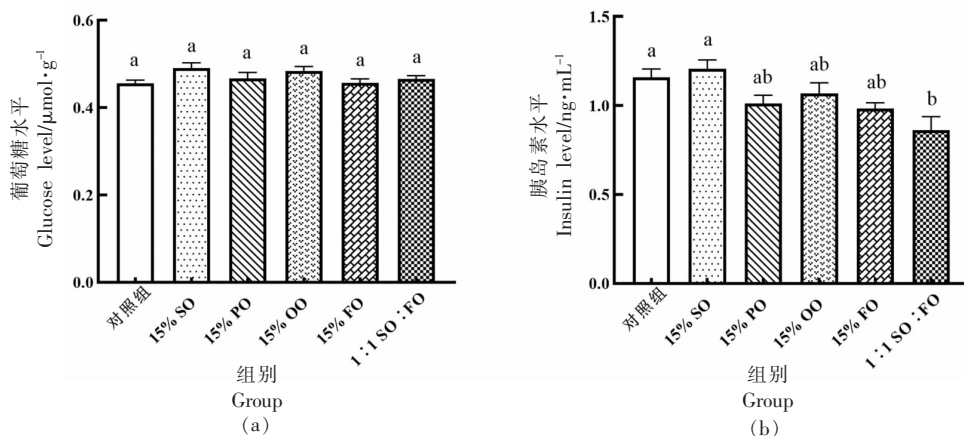
由图 1 可知, 各组大鼠肝脏葡萄糖含量无显著性差异 ( $P>0.05$ ); 与对照组相比, 1:1 SO:FO 组胰岛素水平显著性低于对照组和 15% SO 组 ( $P<0.05$ )。

表 5 膳食脂肪酸构成对大鼠平均摄食量的影响 (g/d,  $\bar{x} \pm \text{SEM}$ )

Table 5 Effects of dietary fatty acid composition on food intake of rats (g/d,  $\bar{x} \pm \text{SEM}$ )

组别	实验期间每只大鼠平均摄食量
对照组	17.04 $\pm$ 2.63 <sup>a</sup>
15% SO	15.46 $\pm$ 3.13 <sup>a</sup>
15% PO	14.42 $\pm$ 3.36 <sup>a</sup>
15% OO	16.96 $\pm$ 2.95 <sup>a</sup>
15% FO	16.49 $\pm$ 3.81 <sup>a</sup>
1:1 SO:FO	15.39 $\pm$ 2.64 <sup>a</sup>

注: 不同字母表示差异具有统计学意义 ( $P<0.05$ )。



注: 不同字母表示差异具有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 下同。

图 1 膳食脂肪酸构成对大鼠肝脏葡萄糖(a)及胰岛素(b)水平的影响

Fig.1 Effects of dietary fatty acid composition on levels of liver glucose (a) and insulin (b) in rats

## 2.5 大鼠血液铁相关指标

由图 2 可知,大鼠血红蛋白及铁蛋白各组之间均无显著性差异( $P>0.05$ );而 15% SO 组血清

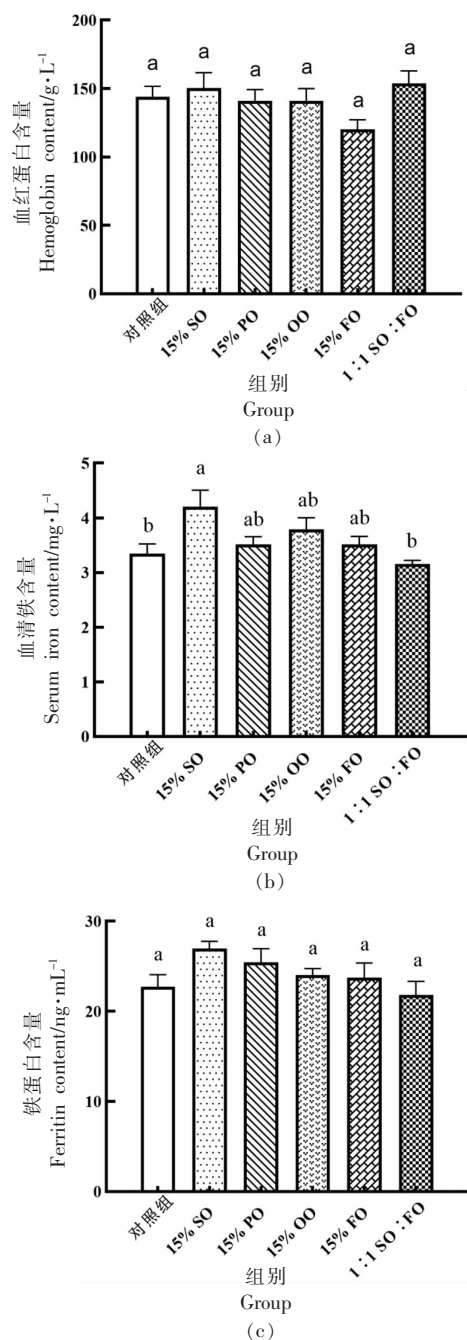


图 2 膳食脂肪酸构成对大鼠血红蛋白(a)、血清铁(b)、铁蛋白(c)水平的影响

Fig.2 Effects of dietary fatty acid composition on hemoglobin (a), serum iron (b) and ferritin (c) levels of rats

铁含量最高且显著高于对照组及 1:1 SO:FO 组 ( $P<0.05$ )。

## 2.6 不同膳食脂肪酸构成对大鼠肝脏铁含量的影响

由图 3 可知,与对照组相比,15% PO 组肝脏铁含量显著性升高( $P<0.05$ )。

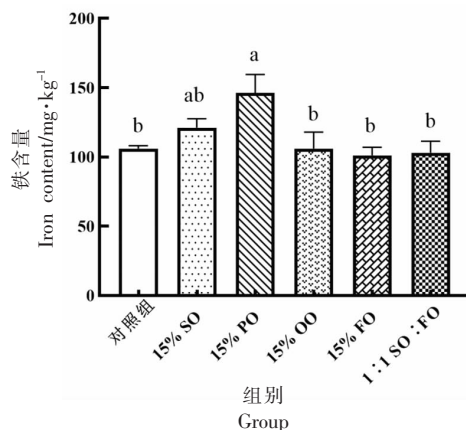


图 3 不同膳食脂肪酸构成对大鼠肝脏铁含量的影响

Fig.3 Effects of dietary fatty acid compositions on iron content in liver of rats

## 2.7 大鼠肝脏组织普鲁士蓝染色结果

由图 4 可知,图中棕褐色区域为铁离子沉淀,正常对照组肝脏组织内可见分布较均匀的蓝染颗粒及少量棕褐色颗粒,未见其它明显异常。15% SO 组和 15% PO 组棕褐色颗粒增多。

## 2.8 大鼠肝脏组织铁代谢相关基因表达结果

由图 5 可知,与对照组相比,15% SO 组和 15% PO 组 *Hep* 基因表达显著降低 ( $P<0.05$ )。15% SO 组和 15% PO 组 *Fpn1* 基因的表达量显著低于其它各高脂组 ( $P<0.05$ )。与对照组相比,15% FO 组 *DMT-1* 基因的表达量显著性升高 ( $P<0.05$ )。与对照组相比,15% PO 组 *TfR2* 基因的表达量显著降低 ( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

本研究中,大鼠所用饲料的基础配方相同,调整油脂种类及含量后,对照组与 15% SO 组脂肪酸构成中 n-6 PUFA 的比例最高,15% PO 组脂肪酸构成中 SFA:MUFA  $\approx$  1:1,15% OO 组脂肪酸构成中 MUFA 的比例最高,15% FO 组脂肪

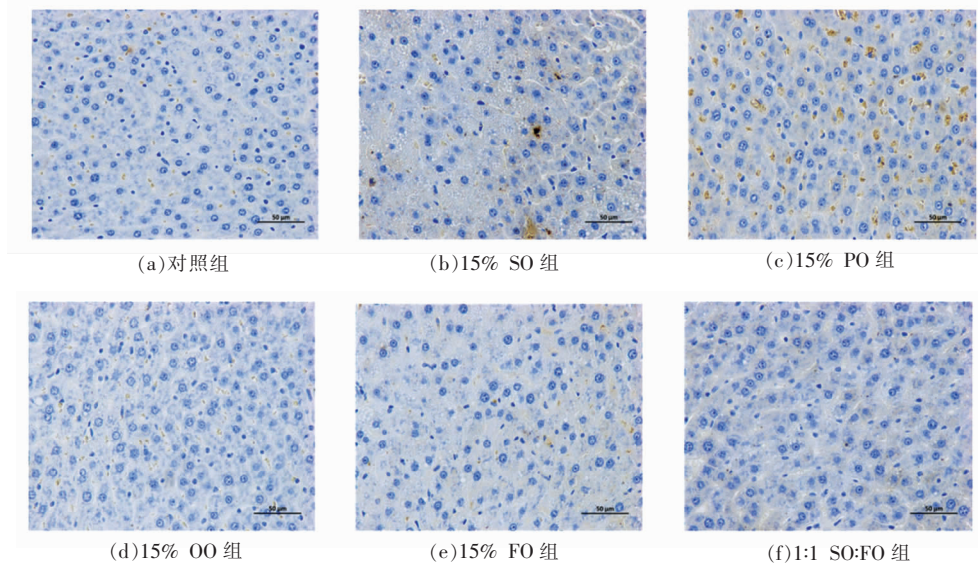


图4 大鼠肝脏组织普鲁士蓝染色结果

Fig.4 Prussian blue staining results of liver tissue in rats

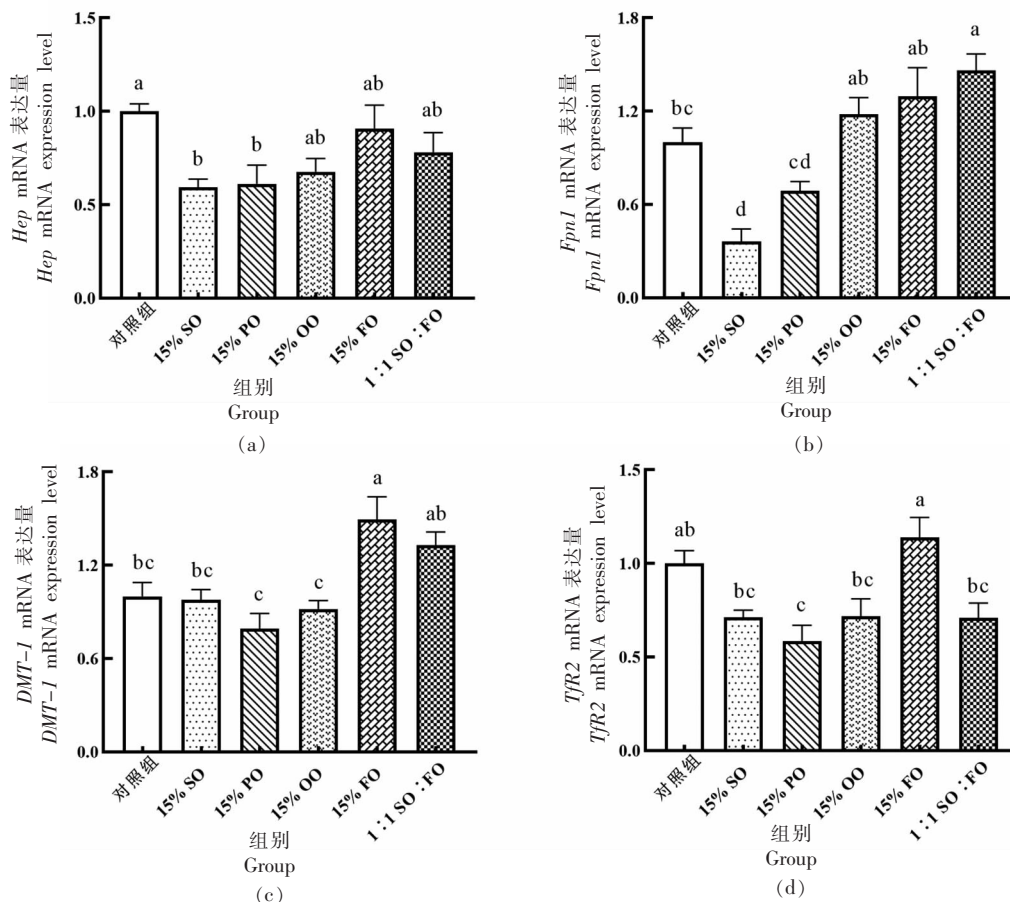


图5 大鼠肝脏中 *Hep*(a)、*Fpn1*(b)、*DMT-1*(c)和 *TjR2*(d)mRNA 的表达量

Fig.5 Expressions of *Hep* (a), *Fpn1* (b), *DMT-1* (c) and *TjR2* (d) mRNA in liver of rats

构成中 n-3 PUFA 的比例最高,1:1 SO:FO 组脂肪酸构成中 n-3 PUFA:n-6 PUFA ≈ 1:1。各油脂中

总脂肪酸含量可能与检测方法中选用的脂肪酸标准品及油脂本身品质有关。在此条件下,实验期间

各组大鼠的平均摄食量无显著性差异。

肝脏是机体糖脂代谢的主要器官,肝脏糖异生紊乱导致的肝糖输出增多是肝脏胰岛素抵抗发生的重要诱因,本研究选取肝脏组织进一步了解不同脂肪酸对机体糖脂代谢的影响。之前有研究表明,高脂饮食(脂肪供能比为 45%)干预 12 周后,93.3%的肥胖大鼠出现了胰岛素抵抗,提示高脂饮食能够引起机体糖代谢紊乱<sup>[14]</sup>。本研究结果显示,使用 15% 不同膳食脂肪酸构成的膳食油脂干预大鼠后,各组大鼠肝脏葡萄糖含量无明显差异,由于本研究只是单纯提高了不同的油脂比例,因而高脂饲料成分的不同可能导致本试验出现了不同的结果。在每组大鼠肝脏葡萄糖的水平无明显差异的情况下,1:1 SO:FO 组胰岛素水平显著低于对照组及 15% SO 组,推测 1:1 SO:FO 组由于适量的添加了 n-3 多不饱和脂肪酸,其肝脏的胰岛素敏感性并未受到明显的影响。结合之前的研究结果,n-6/n-3 PUFA 的比例增高可以显著的引起超重和肥胖的发生<sup>[7]</sup>,而低剂量 FO 相较于中、高剂量对于糖代谢和胰岛素抵抗的改善作用更加显著<sup>[15]</sup>,进一步说明适量 FO 的添加对机体的糖脂代谢能够产生较好的影响。

机体糖代谢与铁代谢具有双向的调节关系<sup>[16-20]</sup>,由此进一步探讨膳食脂肪酸构成对大鼠体内铁水平的影响。结果表明,各组大鼠血红蛋白及血清铁蛋白含量无明显差异,然而 1:1 SO:FO 组血清铁含量显著低于 15% SO 组,说明 n-6 多不饱和脂肪酸相较于适量 n-3 多不饱和脂肪酸干预,更易引起血清铁含量上升。研究表明,铁过载会破坏胰岛素对肝脏糖异生的抑制作用以及抑制肝糖原的合成,导致血糖升高<sup>[21-22]</sup>,而 15% SO 组大鼠胰岛素含量高于 1:1 SO:FO 组,提示在 15% SO 的干预下,机体肝脏葡萄糖虽处于正常调控范围内,但其已经在血清铁水平上引起紊乱。1:1 SO:FO 并未引起血清铁水平的明显变化,说明适量的 n-3 单不饱和脂肪酸干预能够从血清铁含量、胰岛素敏感性等方面调节机体血糖水平。

作为胰岛素敏感组织,肝脏亦是铁的主要储存器官,进一步对肝脏铁含量进行测定,结果表明,15% PO 组相较于对照组、15% OO 组、15% FO 组、1:1 SO:FO 组明显升高。ICP-MS 结果虽然

显示 15% SO 组肝脏铁含量与对照组相比无显著性差异,但普鲁士蓝染色却显示其有一定量的铁沉积。铁沉积会影响肝脏胰岛素信号通路,导致胰岛素受体敏感度下降<sup>[23]</sup>。结合肝脏胰岛素及血清铁测定结果,可知 15% SO 的干预使得大鼠肝脏胰岛素及铁水平相较于 1:1 SO:FO 组均有所改变。15% PO 组大鼠肝脏胰岛素、葡萄糖水平未有明显变化,而该组大鼠肝脏却发生了铁沉积,推测可能是由于本实验干预剂量及周期内肝脏铁沉积的水平虽并未能引起大鼠机体发生胰岛素抵抗,但是已经引起大鼠肝脏铁水平的异常。

肝脏对于机体铁代谢的稳态起着至关重要的作用,其可以通过分泌铁调素(Hep)在一个相对窄的生理范围内调节铁稳态<sup>[24-25]</sup>。肝脏铁稳态的维持依赖于二价金属转运体-1(DMT-1)、转铁蛋白受体-2(TfR2)等铁摄取蛋白及铁运出蛋白——膜铁转运蛋白(Fpn1)等铁代谢相关蛋白的表达调控<sup>[26-27]</sup>。本研究中铁代谢相关基因的表达测定结果显示,与对照组相比,15% SO 和 15% PO 组 Hep 基因表达水平明显下降。有相关研究表明患 II 型糖尿病导致了大鼠肝脏铁调素水平降低,血清铁、血清铁蛋白浓度和肝脏铁含量增加,并且肠 Fpn1 表达量增加了 70%,通过皮下胰岛素注射后铁调素的表达明显上调,最终发现铁调素水平的提高降低了 II 型糖尿病大鼠的血清铁、血清铁蛋白浓度和肝脏铁含量<sup>[28]</sup>。本研究中,15% SO 和 15% PO 组大鼠铁调素基因表达下调,Fpn1 表达亦呈下调趋势,这可能是导致大鼠肝脏铁沉积的原因。TfR2 主要表达在肝细胞表面<sup>[29]</sup>,其不仅是一种介导肝脏细胞铁摄取的重要蛋白,也是控制肝脏合成和释放 Hep 的关键调节因子<sup>[30]</sup>,本研究测定结果显示 TfR2 mRNA 表达水平变化趋势与 Hep 表达基本一致。DMT-1 的表达受到细胞铁的负调控<sup>[31]</sup>,15% FO 组 DMT-1 基因表达量升高,说明其肝脏铁沉积状况相对于 15% SO 及 15% PO 组有所减轻,而高剂量鱼油对肝脏糖、铁水平并未呈显著影响,其机制还有待进一步探究。

#### 4 结论

相较于 15% SO,15% 1:1 SO:FO 可以抑制机体血清铁水平增高及肝脏铁的沉积,进而抵御



胰岛素敏感性的降低;15% OO 及 15% FO 对肝脏糖水平、铁沉积无明显影响,而 15% PO 则可以引起肝脏的铁沉积。可见适量的补充鱼油对于肝脏糖、铁代谢具有一定的改善作用。

### 参 考 文 献

- [1] 王雪. 亚麻油与棕榈油的混合添加及亚麻籽对绒山羊体组织 n-3 长链多不饱和脂肪酸生成的影响及机理[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019.  
WANG X. The effects and mechanism of dietary supplementation with a combination of linseed and palm oils or linseed grain on the synthesis of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid in body tissues of cashmere goats[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2019.
- [2] LICHTENSTEIN A H, SCHWAB U S. Relationship of dietary fat to glucose metabolism[J]. *Atherosclerosis*, 2000, 150(2): 227-243.
- [3] 吴雅清, 许瑞安. 降血脂多糖的研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(17): 3451-3459.  
WU Y Q, XU R A. Research advances on hypolipidemic effect of polysaccharides[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2018, 43(17): 3451-3459.
- [4] 王炜, 张伟敏. 单不饱和脂肪酸的功能特性[J]. *中国食物与营养*, 2005(4): 44-46.  
WANG W, ZHANG W M. Functional properties of monounsaturated fatty acids[J]. *Food and Nutrition in China*, 2005(4): 44-46.
- [5] DEMAISON L, MOREAU D. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and coronary heart disease-related mortality: A possible mechanism of action[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 2002, 59: 463-477.
- [6] PACTH E R, DEMICHELE S J, NELSON J L, et al. Enteral nutrition with eicosapentaenoic acid, gamma linolenic acid, and antioxidants reduces alveolar inflammatory mediators and protein influx in patients with acute respiratory distress syndrome[J]. *Critical Care Medicine*, 2003, 31(2): 491-500.
- [7] SIMOPOULOS A P. An increase in the omega-6/omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity[J]. *Nutrients*, 2016, 8(3): 128.
- [8] CHEN L G, CHEN X W, HUANG X, et al. Regulation of glucose and lipid metabolism in health and disease[J]. *Science China-Life Sciences*, 2019, 62(11): 1420.
- [9] 马少欣, 侯珊珊, 傅继华. 肝脏糖脂代谢的胰岛素信号通路研究进展[J]. *药学研究*, 2016, 35(2): 94-96.  
MA S X, HOU S S, FU J H. Research progress of the signaling pathway in sugar and lipid metabolism in hepatocyte[J]. *Journal of Pharmaceutical Research*, 2016, 35(2): 94-96.
- [10] 阮舒. 2 型糖尿病患者铁代谢与胰岛功能的相关性分析[J]. *糖尿病新世界*, 2021(14): 25-28.  
RUAN S. Correlation analysis between iron metabolism and islet function in type 2 diabetic patients[J]. *Diabetes New World*, 2021(14): 25-28.
- [11] DAVIS R J, CORVERA S, CZECH M P. Insulin stimulates cellular iron uptake and causes the redistribution of intracellular transferrin receptors to the plasma membrane[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1986, 261(19): 8708-8711.
- [12] LIU Y, NGUYEN M, ROBERT A, et al. Metal ions in Alzheimer's disease: A key role or not?[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2019, 52(7): 2026-2035.
- [13] FERNÁNDEZ-REAL J M, LÓPEZ-BERMEJO A, RICART W. Cross-talk between iron metabolism and diabetes[J]. *Diabetes*, 2002, 51(8): 2348-2354.
- [14] 张晓圆, 郭成成, 玉应香, 等. 高脂饲料诱导肥胖胰岛素抵抗大鼠模型的建立[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2020, 52(3): 557-563.  
ZHANG X Y, GUO C C, WANG Y X, et al. Establishment of high-fat diet-induced obesity and insulin resistance model in rats[J]. *Journal of Peking University (Health Sciences)*, 2020, 52(3): 557-563.
- [15] 胡名媛, 王锋, 马永建, 等. 鱼油对 KKAY 糖尿病小鼠糖代谢及 PI3K/Akt 信号通路的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(11): 126-131.  
HU M Y, WANG F, MA Y J, et al. Effect of fish oil on glucose metabolism and PI3K/Akt signaling pathway in diabetic KKAY mice[J]. *Food Science*, 2018, 39(11): 126-131.
- [16] KATARIA Y, WU Y X, HORSKJÆR P H, et al. Iron status and gestational diabetes-A Meta-analysis[J]. *Nutrients*, 2018, 10(5): 621.
- [17] 曾文彦, 孙慧琳, 庄娘妥, 等. 3.0T 磁共振 IDEAL-

- IQ 技术量化评价 2 型糖尿病患者胰腺脂肪沉积及铁沉积的价值[J]. 国际医药卫生导报, 2019(13): 2027-2030.
- ZENG W Y, SUN H L, ZHUANG N T, et al. Quantitative evaluation of pancreatic fat deposition and iron deposition in patients with type 2 diabetes mellitus by 3.0T magnetic resonance IDEAL -IQ technique[J]. International Medicine and Health Guidance News, 2019(13): 2027-2030.
- [18] 马秋萍, 张静, 余理豪. 高龄妊娠糖尿病患者铁代谢水平与胰岛素抵抗的相关性[J]. 临床和实验医学杂志, 2020, 19(16): 1729-1732.
- MA Q P, ZHANG J, YU L H. Correlation between iron metabolism and insulin resistance in elderly patients with gestational diabetes[J]. Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2020, 19 (16): 1729-1732.
- [19] 李清秀, 刘靖芳. 铁代谢与 2 型糖尿病关系的研究进展[J]. 医学综述, 2019, 25(17): 3447-3450, 3456.
- LI Q X, LIU J F. Analysis of correlation between iron metabolism and type 2 diabetes mellitus [J]. Medical Recapitulate, 2019, 25(17): 3447-3450, 3456.
- [20] HENTZE M W, MUCKENTHALER M U, GALY B, et al. Two to tango: Regulation of mammalian iron metabolism[J]. Cell, 2010, 142(1): 24-38.
- [21] 张涛, 孟威, 解现星, 等. 高剂量摄入鱼油导致大鼠脂肪肝的实验研究[J]. 中国预防医学杂志, 2015, 16(6): 454-457.
- ZHANG T, MENG W, XIE X X, et al. Experimental study of high-dosage intake of fish oil inducing fatty livers in SD rats[J]. Chinese Preventive Medicine, 2015, 16(6): 454-457.
- [22] 金慧敏. 高鱼油饮食对肝脏炎症、补体系统及肠道菌群的影响[D]. 镇江: 江苏大学, 2017.
- JIN H M. The effects of high fish oil diet on liver inflammation, complement and intestinal microflora [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2017.
- [23] 蒋馨. 胰岛素对肝细胞转铁蛋白受体表达的影响及其机制研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2014.
- JIANG X. Effects of insulin on hepatic transferrin receptors expression and its mechanism[D]. Shanghai: Second Military Medical University, 2014.
- [24] NEMETH E, TUTTLE M S, POWELSON J, et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization [J]. Science, 2004, 306(5704): 2090-2093.
- [25] 陈春梅, 葛品, 郭翀. 人体铁代谢及其调控因素[J]. 基础医学与临床, 2022(5): 818-823.
- CHEN C M, GE P, GUO C. Iron metabolism in human body and its regulatory factors[J]. Basic and Clinical Medicine, 2022(5): 818-823.
- [26] GANZ T. Systemic iron homeostasis[J]. Physiological Reviews, 2013, 93(4): 1721-1741.
- [27] FERNÁNDEZ-REAL J M, MCLAIN D, MANCO M. Mechanisms linking glucose homeostasis and iron metabolism toward the onset and progression of type 2 diabetes[J]. Diabetes Care, 2015, 38(11): 2169-2176.
- [28] GUENNO G L, CHANSÉAUME E, RUIVARD M, et al. Study of iron metabolism disturbances in an animal model of insulin resistance[J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2007, 77(3): 363-370.
- [29] 董爱莲, 胡玉琳, 祁亚宾, 等. 铁代谢紊乱和其它致病因素介导的肝氧化损伤及抗氧化保护策略研究进展[J]. 生物物理学报, 2012, 28(4): 307-316.
- DONG A L, HU Y L, QI Y B, et al. Progress on hepatic oxidative damage mediated by iron homeostasis disregulation and other detrimental factors and antioxidative protection strategy [J]. Acta Biophysica Sinica, 2012, 28(4): 307-316.
- [30] 刘文娟. 铁营养状况及 *TFR2* 基因多态性与非酒精性脂肪肝关系的病例对照研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2017.
- LIU W J. The relationship between body iron status, *TFR2* gene polymorphism and non-alcoholic fatty liver disease: A case-control study[D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2017.
- [31] 张立加, 蔡静明, 沈洁, 等. 铁超载对 NAFLD 大鼠 *DMT1* 和 *FPN1* 基因表达影响[J]. 中国公共卫生, 2018, 34(5): 716-719.
- ZHANG L J, CAI J M, SHEN J, et al. Effects of iron overload on gene expressions of *DMT1* and *FPN1* in rats with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Chinese Journal of Public Health, 2018, 34 (5): 716-719.

## Effects of Dietary Fatty Acid Compositions on Insulin Levels, Iron Contents and Iron Metabolism Related Gene Expressions in Liver of Rats under High Fat Diet

Cheng Feier, Shen Jiaojiao, Zhang Naning, Yang Haoyu, He Lixia, Yun Shaojun\*, Feng Cuiqing

(College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, Shanxi)

**Abstract** Objective: In this study, the effects of different dietary fatty acid composition on liver glucose level were discussed based on the interaction of insulin and iron metabolism. Methods: Sixty 21-day-old clean male SD rats were randomly divided into: control group, 15% SO group, 15% PO group (lard), 15% OO group (olive oil), 15% FO group (fish oil), and 1:1 SO:FO group. Firstly, the fatty acid compositions of oils were determined by gas chromatography, and then the contents of glucose and insulin in liver were measured after 13 weeks of intervention with different oils. The contents of hemoglobin, serum iron, ferritin in liver were also detected, and the iron deposition in liver tissue was observed by prussian blue staining. The key genes expressions of iron metabolism in rat liver was detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). Results: The n-6 unsaturated fat acid content in SO was 46.37%, the n-3 unsaturated fat acid content in FO was 37.55%, the saturated fat acid content in PO was 24.78%, and the monounsaturated fatty acid content in OO was 36.39%. There were no significant differences in the contents of glucose in the liver of rats in each group. The level of hepatic insulin in the rats of 1:1 SO:FO group was significantly lower than that in the control group and the 15% SO group ( $P < 0.05$ ). There were no significant differences in hemoglobin and ferritin among all the groups, but the serum iron content in 15% SO group was the highest and significantly higher than that in the control group and 1:1 SO:FO group ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the iron content in liver of 15% PO group was significantly higher ( $P < 0.05$ ), and prussian blue staining results showed that brown particles increased in 15% SO group and 15% PO group. The expression of hepcidin (*Hep*) gene decreased significantly in 15% SO group and 15% PO group ( $P < 0.05$ ); the expression of ferroportin 1 (*FPN 1*) gene in 15% SO group and 15% PO group was significantly lower than those in other high-fat groups ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the expression of divalent metal transporter 1 (*DMT-1*) gene in 15% FO group was significantly higher ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the expression of transferrin receptor-2 (*TfR-2*) gene in 15% PO group decreased significantly ( $P < 0.05$ ). Conclusion: Compared with 15% SO, 15% 1:1 SO:FO could inhibit the increase of serum iron level and liver iron deposition, and then resist the decrease of insulin sensitivity; 15% OO and 15% FO had no remarkable effect on liver iron deposition, while 15% PO could cause liver iron deposition. Overall, appropriate supplementation of fish oil can improve liver glucose and iron metabolism.

**Keywords** dietary fatty acids; glucose; insulin; iron metabolism