

• 研究论文摘要 •

[文章编号] 1007-3949(2009)17-07-0616-01

一种血清 n-3脂肪酸酯指数测定方法的建立

崔瑞芳, 董军, 国汉邦, 李红霞, 满永, 王抒, 陈文祥

(卫生部北京医院 卫生部临床检验中心 卫生部北京老年医学研究所, 北京市 100730)

[关键词] n-3脂肪酸; n-3指数; 高效液相色谱法

n-3脂肪酸是指第一个双键位于分子甲基端第三个碳原子上的多不饱和脂肪酸(n-3 PUFA), 主要包括 α -亚麻酸(ALA)、二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)。它们在深海鱼(如鲑鱼、鳕鱼和金枪鱼)和鱼油中含量丰富。近年来研究表明, 摄取 n-3脂肪酸对心血管疾病具有保护作用。大量的流行病学研究、动物研究和临床实验证明摄入鱼类或其他来源的长链 n-3 PUFA (EPA 和 DHA) 有抗动脉粥样硬化的作用。Harris 等提出, 红细胞膜 EPA 和 DHA 在总脂肪酸中的百分比(称为 n-3 指数)可以作为进食和吸收 EPA + DHA 的指标。红细胞 n-3 指数作为一个新的冠心病危险因素越来越受到人们的广泛关注, 它与心肌 EPA + DHA 高度相关, 与心血管疾病(CVD)危险和死亡呈负相关。

目前测定红细胞膜 n-3 指数的方法是气相色谱法。该法需要血浆离心后取出下层红细胞, 并至少洗涤 3 次, 加入内标, 进行衍生化处理, 气相色谱分离各种脂肪酸, 计算 n-3 指数。气相色谱测定 n-3 指数的变异为 10% ~ 12%, 虽然其可以反映较长时间内 EPA 和 DHA 的摄入, 但方法费时, 步骤繁琐, 且精密度较低, 在临床仍然难以广泛应用。本研究尝试用高效液相色谱法测定血清中胆固醇酯的 n-3 指数, 血清样本与 KOH 和乙醇溶液混合, 水解甘油三酯, 有机溶剂抽提脂质, 高效液相色谱分离各种胆固醇酯。建立各种胆固醇酯峰面积与其所含胆固醇浓度的关系, 归一化法定量, 计算含 n-3 脂肪酸的胆固醇酯在所有胆固醇酯中的百分比, 即胆固醇酯 n-3 指数。

由于甘油三酯的存在影响胆固醇酯的分离和测定, 所以确定水解条件使甘油三酯完全水解并保持胆固醇酯的稳定是本研究需要解决的关键问题。将血清样本在不同 KOH 浓度、不同乙醇比例及不同水解时间等条件下进行观察, 结果显示, 在终浓度为 0.2 mmol/L KOH 乙醇溶液中, 当水解时间 ≥ 20 min (20~60 min) 时, 甘油三酯被完全水解, 而胆固醇酯基本没有被水解, n-3 指数保持稳定。为了保证结果的稳定性, 我们优选 40 min 作为甘油三酯水解时间。为了达到检测快速、分离良好的目的, 使用 Nova-Pak C18 色谱柱 (5 μ m, 3.9 mm \times 150 mm), 流动相组成体积比为乙腈: 异丙醇: 正己烷 = 55: 50: 15, 流速 1.2 mL/min, 205 nm 检测。

用 n-3 指数水平不同的两位志愿者血清样本考察方法的精密度, 两份样本的 n-3 指数批内变异系数分别为 0.72% 和 1.40%, 总变异系数分别为 0.97% 和 1.70%。优于目前的气相色谱法。

总之, 新方法和气相色谱法相比简单、快速且精密度良好, 适合作为血清胆固醇酯 n-3 指数的筛查方法, 有望在营养学研究和心血管疾病的研究中发挥重要作用。

(此文编辑 许雪梅)