

計畫編號：DOH89-TD-1062

行政院衛生署八十八年下半年及八十九年度
科技研究發展計畫

素食者補充 DHA 前後氧化壓力及數各心臟血管疾病危險因子之評估

研 究 報 告

執行機構：台大醫學院生化科

計畫主持人：呂紹俊

研究人員：黃伯超，蘇大成，吳文惠

執行期間：88 年 7 月 1 日至 89 年 12 月 30 日

＊＊本研究報告僅供參考，不代表本署意見＊＊

目 錄

摘要

壹、 前言.....	1-3
貳、 材料與方法.....	4-10
參、 結果.....	11-12
肆、 討論.....	13-15
伍、 結論與建議.....	16-17
陸、 參考文獻.....	18-24
柒、 表.....	25-33

研究報告中文摘要：

目的：為改善停經婦女之心血管健康狀態，本研究比較素食者與非素食者飲食對幾項心血管疾病危險因子之影響，並探討給予素食停經女性 DHA 補充劑之影響。

設計：第一部份研究：於台北徵召健康素食者與非素食者各 24 及 25 名（51-65 歲）。第二部份研究：徵召 22 名健康、非素食之停經女性及 10 名高血脂、素食之停經女性。所有受試者先給予 2 週之玉米油安慰劑；之後對 11 名健康者繼續給予安慰劑，另外 11 名健康者及 10 名高血脂者給予由藻類分離出之 DHA 補充劑，持續 6 週。

結果：第一部分研究：素食者的飲食中多不飽和脂肪酸與飽和脂肪酸比較高，而膽固醇含量較低。素食者的血清、LDL、HDL 之膽固醇皆較低，血液花生四烯酸（AA）及 EPA 量較低，頸動脈內皮中層厚度（IMT）較薄。LDL-TBARS 與 LDL-亞麻油酸成負相關，與 LDL-AA 及 LDL-EPA 呈正相關。而 IMT 與 LDL-TBARS 成正相關。第二部份研究：補充 DHA 後，高血脂組之 VLDL-膽固醇下降；對所有受試者而言，其它的血脂狀況並無顯著改善。血清總抗氧化狀態及尿中 isoprostane 排出量，無論是三組之間或三組分別與未補充前比較皆無顯著差異。補充 DHA 之後，健康素食者之 LDL-TBARS 產量增加，高血脂素食者之尿液 NO 排出量增加。

結論：最重要發現為：（1）長期的素食飲食對於停經後女性之粥狀動脈硬化是具保護作用的。（2）IMT 與 LDL 抗氧化力成正相關，而 LDL 之氧化與 LDL-AA 及 LDL-EPA 含量有關。（3）對健康的停經婦女補充 DHA 並不會改善其血脂狀態，且會促進 LDL 被氧化。（4）對高脂之停經女性補充 DHA 會降低其血清中 VLDL 膽固醇，增加尿液中 NO 排出量，也不會增加其氧化壓力。此結果顯示出，高血脂的素食停經女性，補充 DHA 對於其心血管系統也許是有助益的。

中文關鍵詞(至少三個)：DHA，低密度脂蛋白（LDL），頸動脈內皮中層厚度（IMT），素食者，停經女性

Abstract:

Objective: To improve the cardiovascular health of postmenopausal women, this study compared the influences of vegetarian and omnivorous diets on several cardiovascular disease risk factors and investigated the effect of DHA supplementation in postmenopausal vegetarians.

Design: In part I study, 24 and 25 apparently healthy postmenopausal vegetarians and omnivores (ages, 51-65 y) were recruited from Taipei. In part II study, 22 apparently healthy and 10 hyperlipidemic postmenopausal vegetarians were recruited. After 2-week run-in period supplemented with corn oil in all subjects, 11 healthy subjects supplemented with corn oil (6g/d) served as placebo group. Another 11 healthy and 10 hyperlipidemic subjects took DHA oil which was isolated from algae for 6 weeks.

Results: In part I study, P/S ratio of dietary lipids was higher and cholesterol was lower in vegetarian than in omnivorous diet. Vegetarians had lower plasma-, LDL- and HDL-cholesterol levels, lower TBARS production in oxidized LDL, lower LDL-arachidonic (AA) and eicosapentenoic acid (EPA) levels, and thinner common carotid artery intima-media thickness(IMT). LDL-TBARS was negatively correlated with LDL-linoleic acid, and positively correlated with both LDL-AA and -EPA. IMT was positively correlated with LDL-TBARS. In part II study, after DHA supplementation, VLDL-C decreased in hyperlipidemic vegetarians, and no other significant improvement in blood lipids was found in all subjects. Plasma total antioxidant status and urinary isoprostane excretion had no significant difference at the end of supplementation among three groups or by comparing the end point with baseline. The LDL-TBARS produced in vitro increased in normal vegetarians and urinary NO excretion increased in hyperlipidemic vegetarians after DHA supplementation.

Conclusions: The most important findings are (1) long-term vegetarian diet has protective effects on the development of atherosclerosis after menopause in women. (2) Positive association of IMT with LDL oxidation which was related to LDL-AA and EPA levels.(3) In normal postmenopausal vegetarians, DHA supplementation did not improve the profiles of blood lipids, but increased in vitro LDL oxidation. (4) In hyperlipidemic postmenopausal vegetarians, DHA supplementation decreased plasma VLDL-C, increased urinary NO excretion, and did not increase oxidative stress. The results indicate that DHA supplementation might have some beneficial effects on cardiovascular system in hyperlipidemic postmenopausal vegetarians.

Key words: DHA, LDL, Intima-media thickness, vegetarians, postmenopausal women.

壹、前言

本研究第一部份在評估素食與非素食停經婦女之心臟血管疾病危險因子。婦女停經後，血漿三酸甘油酯(TG)與低密度脂蛋白膽固醇(LDL-C)上升，而高密度脂蛋白膽固醇下降(1)， LDL 過氧化與血管內皮厚度(intima-media thickness, IMT) 隨年齡上升而增高(2,3)。IMT 最近已成為一種在未有臨床症狀之前評估動脈粥狀硬化疾病的重要方法(4)。婦女發生無預警心肌梗塞的機率大於男人，且預後較差(5,6)，故有許多形式的荷爾蒙補充療法研究，期可以預防心血管疾病(7,8)，但女性荷爾蒙可能引起乳癌的疑慮(9)，降低其接受性。本部份研究目的在探討長期素食對停經婦女血脂、血壓、LDL 氧化耐受性、頸動脈 IMT 的影響，及各結果之間的關係。

第二部分在研究素食者補充 DHA 前後氧化壓力及數個心臟血管疾病危險因子之評估。自從 Bang 和 Dyerberg 等人發現格陵蘭島上的愛斯基摩人具有較低的冠狀動脈心臟病發生率與食用大量魚類中所含的油脂有關(10)，而這些深海魚類油脂富含的 n-3 多不飽和脂肪酸(Polyunsaturated Fatty Acid；PUFA)，以 Eicosapentaenoic acid(EPA)及 Docosahexaenoic acid(DHA)為主，是其主要的作用成份(11,12)。格陵蘭愛斯基摩人每天大約攝取 7 克 EPA+DHA，西方飲食則每天攝取少於 0.06 克 EPA+DHA，被認為是造

成愛斯基摩人心臟血管疾病發生率較鄰近西方國家明顯較低的原因(13,14)。自此，n-3 多不飽和脂肪酸與心臟血管疾病的相關研究如雨後春筍般湧現。

在一些前瞻性流行病學研究中證實男性每週至少吃一些魚比都不吃者有較低的心臟病死亡率(12,15)。美國醫師健康研究更發現每週攝取大於或等於一份魚相較於每個月攝取少於一份魚者可降低約 52% 的突發性心臟病死亡(16)。因此，EPA 與 DHA 被許多人認為可以當作健康食品或是食品添加物用於預防或治療高脂血症及動脈血管粥狀硬化等相關疾病(17,18)。

由於素食者的特殊飲食型態，素食者是從不吃魚的，幾乎不會有 EPA、DHA 的攝取，且體內由次亞麻油酸轉變成 EPA、DHA 的比例並不高，因此素食者與非素食者相較之下擁有較低的 EPA 與 DHA 狀態應是合理可見的，並有研究指出這樣的差異(19)。因此給素食者補充此類 n-3 脂肪酸之必要性實是值得探討的議題。

本研究擬探討給予素食停經婦女由海藻提煉的 DHA，以判斷 DHA 補充對停經素食者是否有益，是否有其必要性。此外，由過去的文獻中得知 LDL 氧化性受到飲食中 n-3 多元不飽和脂肪酸影響，在許多魚油補充的研究發現血中脂質過氧化物(TBARS)產生量顯著增加(20,21)。Tsai 等人以含有較高劑量 8.8g n-3 脂肪酸的魚油進行補充的話更發現除 TBARS 產生量

顯著增加外，且 conjugated diene 形成之 lag time 明顯地下降(22)。因此也欲證實 DHA 補充是否會增加 LDL 氧化，以判斷 DHA 補充時是否有添加抗氧化劑的必要性。

由於血管內皮可以產生 NO，是一種不穩定游離基，在氧分子存在下，經酵素由 arginine 合成，NO 可放鬆血管平滑肌細胞，對抗血小板黏附與凝集，是內在防止血管阻塞與血栓的因子，當血流加速，內皮即產生 NO 使血管放鬆，此種放鬆稱為內皮依賴型，或 NO 依賴型，另有其他非經由 NO 的放鬆稱非內皮依賴型(23)。恢復內皮功能的飲食方式有限制脂肪攝取，攝取抗氧化物與魚油等(24,25,26)，素食者攝取較多 n-6 多不飽和脂肪酸，幾乎完全沒有攝取 n-3 多不飽和脂肪酸，可能會使 TXA₂ 與 PGE₂ 合成較多，促進血小板凝集與血管收縮，本研究因此欲知素食者補充 DHA 是否會如 Harris 等人給予一般年輕人補充魚油，得到增進內皮功能，合成較多 NO 的益處。

補充 DHA 之隱憂為造成體內氧化壓力，isoprostane 是體內多不飽和脂肪酸被游離基催化過氧化而產生的一群如前列腺素的物質(27)，其中 8-epi-PGF_{2a} 會促使血管收縮，與血小板凝集，目前測量血液與尿液 8-epi-PGF_{2a} 含量已被認為是一個可靠的體內脂肪過氧化指標(28)。

最近(1999)一篇坦桑尼亞研究顯示吃淡水魚(DHA 多)的村莊的人血壓

血脂與 Lp(a)顯著低於吃素，且脂肪、蛋白質均攝取較低的同種族村人，也許與素食者不吃 DHA 有關(29)。Lp(a)在流病研究發現與冠心疾病及中風有正相關，其機轉為促進動脈粥狀硬化與血栓形成，血漿 Lp(a)濃度隨年紀增加而增高特別是婦女停經後，且與心冠疾病的關係高於在男人(30,31,32)。本研究假設素食者缺乏 DHA 會影響 Lp(a)濃度，探討補充 DHA 後是否有改善。

貳、材料與方法

一、研究對象

第一部份受試者由台北素食社團招募年齡 51-65 歲，吃素兩年以上停經婦女，葷食者招募自一個自願參與癌症流病世代調查的公務員團體。受試者均無肝病、糖尿病、高血壓、酗酒或抽煙。最後有 24 位素食，25 位葷食者參與研究，其中不含尼姑，平均吃素 9.4 年。研究目的與參與方式均對受試者做詳盡說明，並有書面同意書。

第二階段也是在台北地區徵募收集 40 位健康素食停經女性受試者。受試者必須符合停經一年以上，至少已經有六個月無月經或無子宮出血現象，吃素時間至少一年以上，包含全素食者或蛋奶素食者，由於此兩種素食者皆不食用魚類，故皆可作為受試對象，雖然蛋類含有少量 DHA，含量幾

乎可忽略不計，在篩選受試者將排除平日食用 DHA-enriched 蛋者，並要求受試者配合在實驗期間避免攝取 DHA 蛋或其他添加 DHA 之食品，以減少實驗干擾，故蛋奶素食者亦可作為本計劃之受試者。且近一年內沒有長期服用過 DHA 產品，受試者必須無高血壓，糖尿病、心臟病、腎臟病、高血脂、甲狀腺功能或血液凝固功能異常等之疾病或藥物治療。受試者以正常飲食，沒有節食或限制飲食中特定項目、暴飲暴食等習慣的人較為適合。在研究進行前單獨對參加者詳細說明實驗的目的及方法，並得到每一位參加者的書面同意書。每次抽血、集尿前均以郵寄或電話方式提醒日期和注意事項，並對於受試者個別的疑問一一解答，減少他們服用 DHA 期間的疑慮。研究期間要求參加者確實按照規定服用，並要求受試者維持原本之飲食型態及生活作息習慣。

二、實驗設計

在台北地區徵募收集 40 位健康素食停經女性受試者。徵募之初採集少量血液分析其膽固醇、三酸甘油酯含量，作為篩選，排除不適當者，並以此結果作為分組之用。首先篩選出高血脂者（總膽固醇或總三酸酞油酯 $>200\text{mg/dl}$ ）（10 人），為 DHA(高血脂)組，正常血脂者（總膽固醇或總三酸酞油酯 $<200\text{mg/dl}$ ）30 人，一半(15 人)為 DHA（正常血脂）組，一半（15 人）為控制組。

給予之 DHA 補充液由美國進口來自藻類，含 40%DHA 之產品，經本實驗室分析約含 DHA 35%，軟膠囊都為動物膠囊，植物性膠囊只能做硬膠囊，用於粉末，素食者對動物膠囊排斥情形甚為嚴重，為此只得將樣品以滴管方式服用，以增加受試者的意願與配合度。為免 DHA 暴露於空氣易引起氧化，請受試者將素 DHA 避光冷藏於冰箱，早、晚各服用一次，且採用小包裝 60ml 一瓶，為 10 天的服用量，並添加 1IU 維生素 E/per ml oil 作為抗氧化劑，以避免其過氧化。

所有受試者在正式進入研究後，先服用兩週安慰劑作為 run-in，接著進行第一次採血，作為 baseline 的血液樣本，在進入實驗期給予 DHA 補充液或安慰劑六週後，進行第二次的採血，作為補充後（end）的血液樣本。素食與非素食停經婦女之心臟血管疾病危險因子最後共有 31 人完成收集 baseline 與 end 兩次血液樣本。分別為 control 組 11 人，DHA（正常血脂）組 11 人，DHA 組（高血脂）者 9 人。

三、實驗材料

（一）實驗補充品

- 1.DHA：由美商威望公司提供(製造廠商：Westar Nutrition Corp.，經衛生署核准進口之食品)。
- 2.玉米油：由美商威望公司提供，經衛生署核准進口之食品。

(二)分析用試藥

1. Benzene, Ethanol, Chloroform, Hexane, Acetyl-chloride, KCL, KH_2PO_4 , Methanol, Nabr, Na_2HPO_4 , HCL: 德國 E. Merck 公司。
2. CHOL enzymatic Kit, TG enzymatic Kit, Total Antioxidant Status assay Kit: 法國 Randox 公司。
3. CuCl_2 , thiobarbituric acid, BHT: 美國公司。
4. 透析膜(mwco: 12-14, 000): 美國 Spectrum Medical Industries 公司。

四、分析項目與方法

1.血液的收集

血液樣本為禁食 12 小時以上之空腹血受試者在禁食隔夜後接受採血，血液以含 EDTA 之採血管收集，並在 1-2 小時內將血漿分離，並立刻進行脂蛋白分離工作。所有脂蛋白分離完成後即進行 LDL 氧化分析。同時血漿脂質過氧化物及抗氧化劑含量也儘快在 2 週內完成，其餘血液樣本則儲存於 -70°C 冰箱。

2.血漿的分離

血液以含 EDTA 之試管收集,經離心分離血漿後，VLDL、 LDL 與 HDL 以超高速離心法在 $d < 1.006$ 、 $d \geq 1.006 \sim 1.063$ 及 $d \geq 1.063 \sim 1.21$ g/ml 分別取得。

3.血液脂質之分析:

各脂蛋白所含之 Cholesterol、Cholesteryl ester、Triglyceride 及 Phospholipid 之濃度則以酵素法定量(Randox)。

4. 脂肪酸組成分析：

將離心分離得到之 LDL 以 Lepage 法進行 transmethylation (33)後，以氣相層析儀分析。

紅血球以含 10 mM EDTA 之 PBS 清洗 5 次後，以 Dodge and Phillips 法(34)萃取脂質，再通過 Aminopropyl columns(500mg)萃取得到磷脂質，以 Lepage 法進行 transmethylation (33)後，以氣相層析儀分析。

5. 體外 LDL 被氧化修飾之能力(Susceptibility of LDL to Oxidative Modification in vitro):

LDL 以超高速離心法分離後，以含有 0.01% EDTA 之 Phosphate-buffered Saline(PBS)透析，所得到的 LDL 則用於以下的各項實驗。取定量之 LDL 與 5 μ M Copper(II) Acetate in PBS 在 37° C 反應一段時間後，以下列之方法測定 Lipid oxidation 及 LDL modification。

(1) Thiobarbituric Acid-Reactive Substances (TBARS)

TBARS 的測定將參考 Jialal 等人所設立的方法進行(35)，定量之 LDL 與 5 μ M Cu^{2+} 在 37° C 下在反應 2-4 小時，然後測定 TBARS。

(2) Conjugated Dienes Formation：

取定量之 LDL 加入 5 μ M Cu^{2+} ，在 37° C 下(以 PBS 當 Blank)連續

測量在 234 nm 之吸光值(36)。

6.血漿中總抗氧化狀態

採用市售的組合試劑 (Randox Diagnostics, County Antrim UK)，以 colorimetric method 測定。

7.尿液 isoprostane 含量測定

本實驗採用競爭性酵素免疫分析 (Correlate-EIA 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$, Assay Designs) 測量尿液中 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$ 含量。

8. 尿液中 Nitrate Oxide 濃度

採用市售的組合試劑 (Total Nitric Oxide Assay Kit)，colorimetric method 測定。

9.顱外頸動脈的內膜及中層厚度及頸動脈硬化粥狀斑之評估：

頸動脈內膜及中層壁厚度(IMT)(37)30：由葷素組隨機選取 15 人，由同一心臟專科醫師以 B-Mode 超音波測量，選擇總頸動脈遠端與頸動脈球體部(carotid bulb)交界處 0-1cm 當作 CCA1，1-2 cm 當作 CCA2，左右均測，將四個值平均為頸動脈內膜及中層壁平均厚度，此種測量方式重現率最好，適宜做為動脈硬化指標，評分方式修改自 Sutton 氏之顱外頸動脈評分法(ECCA Scoring)(38)。

五、統計分析：

1.所有數據以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示，且 $p < 0.05$ 有顯著差異或相關。以 t-test 做葷素間的比較，以 Spearman's Correlation 分析相關性。第二部分的研究結果將採用 Students t-test 及變異數分析(ANOVA)做統計分析。

參、結果

一、素食與非素食停經婦女之比較：

葷素兩組停經婦女年齡、身高、體重、血壓、肝功能無顯著差異，但 BMI、血漿 GOT 以素食組較高，血漿尿素氮以葷食組較高(表一)。兩組能量、蛋白質、醣類、脂肪攝取量無顯著差異，但素食組攝取較低飽和、單不飽和脂肪酸與膽固醇，膳食脂肪 P/S 比例較高 (表二)。素食者 LDL-C 與 HDL-C 顯著低於葷食組，TG 或 LDL/HDL 比例則無顯著差異。LDL 體外氧化延滯期兩組無差(表三)，但 LDL 之 TBARS 產生量顯著以素食者為低。素食者 LDL-linoleic acid 含量較多，arachidonic acid (AA)與 Eicosapentenoic acid (EPA)較低，LDL-TBARS 與 linoleic acid 成負相關，而與 AA 或 EPA 成正相關(表四)。總頸動脈壁厚度(IMT)不論何測量位置均以素食者較薄，且 ECCA score 大於 1 者較葷食少(表五)。IMT 與 LDL-TBARS，LDL-AA 成正相關(表六)。

二、素食者給予兩週安慰劑與六週 DHA 之比較

(一) 血中三酸甘油酯的變化

六週後 DHA (正常血脂) 組的 Plasma-TG 與 VLDL-TG 皆比 control 組低($p=0.04$ 、 $p=0.04$)(表七)，以補充前後差值作比較則無顯著差異(未附表)。

(二) 血中膽固醇的變化

六週後 DHA (高血脂) 組之 VLDL-膽固醇下降 ($p=0.04$) (表七)。

(三) TBARS 產生及變化

DHA (正常血脂) 組在補充後 2 小時與 3 小時之 TBARS 產生增加， p 值分別為 0.02 與 0.004 (表八)。

(四) Conjugated diene 形成之 lag time 的變化

各組之 lag time 在補充後不論是組間或組內皆無顯著差異。在最大吸光值部分 DHA (高血脂) 組在補充後下降 ($p=0.02$) (表八)。

(五) 血漿中總抗氧化狀態的變化

分析各組在補充後血漿中總抗氧化狀態，發現三組皆無顯著差異 (表九一)。

(七) 尿液中氧化物 Isoproatane 濃度的改變

分析各組在補充前、後尿液中氧化物 Isoproatane 濃度，發現三組皆無顯著差異 (表十)。

(八) Nitric oxide 濃度之變化

DHA (高血脂) 組在補充後尿液中 Nitric oxide 濃度增加 ($p=0.02$) (表十一)。

四、討論

第一部份的重要發現是(一)長期素食可以降低婦女停經後心血管疾病危險因子。停經婦女接受 HRT，雖可降低心血管疾病(7, 8)，但罹患乳癌的疑慮(9)常令婦女裹足不前，相反的素食或豆類製品可下降乳癌發生(39,40)。最近香港的研究也顯示素食年老婦女較少發生缺血性心臟病(41)。本研究發現停經素食婦女除了有較低血漿膽固醇、LDL 氧化性外，頸動脈 IMT 較低也是一個重要有利結果。(二) LDL 氧化與 IMT 成正相關。雖然有少數研究不以為然(42)，氧化修飾過的 LDL 已被普遍認為是引起動脈粥狀硬化的重要因子(43)。頸動脈 IMT 已被用來檢查初期的動脈粥狀硬化(38)。在兔子的研究，體內血管局部暴露於氧化型 LDL，可以促使內壁變厚(44)，但只有少數研究以人為對象，研究頸動脈 IMT 與 LDL 氧化的關係，且結果不一(45,46,47)。本研究結果發現 LDL 氧化確與頸動脈 IMT 成正相關，可以佐證氧化修飾過的 LDL 是引起動脈粥狀硬化的重要因子。(三) LDL-AA，-EPA 含量與 LDL 氧化產物有正相關，LDL-linoleic acid 含量與 LDL 氧化產物有負相關。此結果與其他研究認為 LDL 的氧化隨 linoleic acid 攝取的增高而增高相反(48)，但與本研究室前研究(49)及 Korpela 等人研究符合(50)。在各種脂肪酸中，似乎 EPA 與 AA 才是引起 LDL 氧化的重要因子，EPA 與 AA 雙鍵數較多，在 LDL 中易氧化，然後才造成動脈壁

增厚。或是攝取高量 linoleic acid 低量 AA、EPA 伴隨某種健康飲食習慣，AA 與 EPA 主要來自魚類與其他動物性食品，不過此種相關性不僅在葷素合併時有顯著相關，單在葷食組內或素食組內仍然分別有顯著相關，故 AA 與 EPA，尤其是 AA，的不良影響值得進一步研究。

第二部分之重要發現是（一）素食停經婦女補充 DHA 六週後，血漿總抗氧化能力與尿液 isoprostane 排出量不受影響，表示不增加體內氧化壓力。但在體外給予 LDL 氧化壓力時，正常血脂組會因補充 DHA 而使 LDL 氧化之 TBARS 產物增加，此結果與其他研究是一致的。在 Brown and Wahle(1991)與 Allard(1997)兩個研究中，分別給予健康男性 3.3g、6.26g 的 n-3 脂肪酸補充兩星期及六星期後皆發現其血中 TBARS 產生量顯著增加(20,21)。（二）DHA（高血脂）組在補充 DHA 後 VLDL-cholesterol 下降。此結果與某些研究一致，如有研究給予含 2.1gDHA 與 0.8gEPA 的魚油，發現 Plasma-TG 與 VLDL-C 都下降，而 HDL 與 HDL₂ 上升（51）。另有研究作 DHA、EPA 不同含量之魚油的比較，共有攝取 Butter(control)、高 DHA、高 EPA 或是 DHA 與 EPA 相近之魚油三組，發現三組 VLDL-TG 都下降，DHA 或 DHA-EPA 組之 LDL-C 與 apolipoprotein(B)下降，且發現 DHA 組之總膽固醇之下降主要是 LDL-C 下降，而 EPA 組則主要是 HDL-C 下降（52）。此外本研究之 DHA（正常血脂）組在補充後 Plasma-TG，VLDL-TG

皆比 control 組低，不過以前後差值作比較則未有差異。(三)DHA (高血脂) 組在補充後尿中 NO 排出增加，可促使血管放鬆與抑制血小板凝結。有研究指出補充魚油顯示增加內皮依賴型放鬆 (或 NO 依賴型)，其主要作用是改善受損的內皮釋放 NO，而此效果或可用在糖尿病人使其對抗血管收縮及血栓形成 (53)。

伍、結論與建議

(一) 結論

(長期素食可下降停經婦女 LDL-膽固醇，降低 LDL 氧化，降低頸動脈內膜及中層厚度。

(1) 頸動脈內膜及中層厚度與 LDL 氧化有正相關，LDL 氧化又與 LDL-AA 及 EPA 成正相關。

(2) 素食停經婦女補充 DHA 6 週，血漿總抗氧化能力與尿液 isoprostane 排出量不受影響，表示不增加體內氧化壓力。但在體外給予 LDL 氧化壓力時，正常血脂組會因補充 DHA 而使 LDL 氧化增加。高脂組在補充 DHA 後，VLDL-cholesterol 下降，尿中 NO 排出增加，可促使血管放鬆與抑制血小板凝結。

(二) 建議

1. 健康素食停經婦女服用 DHA 對心血管無顯著好處。若服用 DHA，應補充抗氧化劑。

2. 素食停經高脂婦女服用 DHA 可下降血漿 VLDL-cholesterol，增高體內 NO 合成。可促使血管放鬆與抑制血小板凝結。但素 DHA 價格甚高，需考慮經濟效益。

3. 根據本研究已測項目或截至目前為止他人研究，並不顯示正常血脂素食

者需額外補充 DHA。

4. 需進一步研究素食者缺乏攝取 n-3 脂肪酸對健康之影響。

陸、参考文献

1. Stevenson JC, Crook D, Goodsland IF: Effects of age and menopause on lipid metabolism in healthy women. *Atherosclerosis* 1993;98:83-90.
2. Tronel H, Antebi H, Felden F, Guerci B, Fremont S, Drouin P, Nicolas JP, Alcindor LG. Low-density lipoprotein ability to generate lipoperoxides in healthy subjects: Variations according to age. *Ann Nutr Metab* 1997;41:160-165.
3. Denarié N, Gariepy J, Chironi G, Massonneau M, Laskri F, Salomon J, Levenson J, Simon A. Distribution of ultrasonographically-assayed dimensions of common carotid arteries in healthy adults of both sexes. *Atherosclerosis* 2000;148:297-302.
4. Persson J, Formgren J, Israelsson B, Berglund G. Ultrasound-determined IMT and atherosclerosis. Direct and indirect validation. *Arterioscler Thromb* 1994;14:261-4.
5. Cohn PF: Silent myocardial ischemia. *Ann Intern Med* 1988;109:312-317.
6. Wenger NK, Speroff L, Packard B. Cardiovascular health and disease in women. *N Engl J Med* 1993;329:247-256.
7. Seed M, Crook D. Post-menopausal hormone replacement therapy, coronary heart disease and plasma lipoproteins. *Current Opinion in lipidology* 1997;5:48-58.
8. Soma MR, Baetta R, Crosignani P. The menopause and lipid metabolism: strategies for cardiovascular disease prevention. *Curr Opin in Lipidol* 1997;8:229-235.
9. Coonor EB: Postmenopausal estrogen replacement and breast cancer.

- New Engl J Med* 1989;321:319-20.
10. Bang JO, Dyerberg J, Nielsen AB: Plasma lipid and lipoprotein pattern in Greenlandic west-coast Eskimos. *The Lancet*. 1971;1:1143-1146.
 11. Willis AL: Nutritional and pharmacological factors in eicosanoid biology. *Nutr. Rev* 1981;39:289-301.
 12. Dyerberg J: Linolenate-derived polyunsaturated fatty acids and prevention of atherosclerosis. *Nutr Rev* 1986;44:124-134.
 13. Kromhout D, Bosschieter EB, Coulander, Cor de Lezenne. The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *N. Engl. J Med* 1985;312:1205-1209.
 14. Brown AJ, Roberts DCK: Fish and fish oil intake: effect on hematological variables related to cardiovascular disease. *Throm. Res* 1991;64:169-178.
 15. Dolecek TA, Granditis G: Dietary polyunsaturated fatty acids and mortality in the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *World Rev Nutr Diet* 1991;66:205-16.
 16. Albert CM, Hennekens CH, O'Donnell CJ, Ajani UA, Carey VJ, Willett WC, Ruskin JN, Manson JE: Fish consumption and risk of sudden cardiac death. *JAMA* 1998;279(1):23-8.
 17. Leaf A: Omega-3 fatty acids and prevention of ventricular fibrillation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1995;2:197-198.
 18. Landmark K :Fish, fish oils, arrhythmias and sudden death. *Tidsskr Nor Laegeforen* 1998;118(15):2328-31.
 19. Mezzano D, Munoz X, Martinez C, Cuevas A, Panes O, Aranda E, Guasch V, Strobel P, Munos B, Rodriguez S, Pereira J, Leighton F:

- Vegetarians and cardiovascular risk factors: hemostasis, inflammatory markers and plasma homocysteine. *Tromb Haemost* 1999;81:913-7.
20. Tsai PJ, Lu SC: Fish oil lowers plasma lipid concentrations and increases the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in healthy men. *J Formos Med Assoc* 1997;96:718-726.
 21. Brown, J. E. and Wahle K. W. J.: Effect of fish-oil and vitamin E supplementation on lipid peroxidation and whole-blood aggregation in men. *Clin. Chimica. Acta.* 1990;193:147-156.
 22. Allard, J. P., Kurian, R., Aghdassi, E., Muggli, R. and Royall, D.: Lipid peroxidation during n-3 fatty acid and vitamin E supplementation in humans. *Lipids*;1997,32:535-541.
 23. Wennmalm A: Endothelial nitric oxide and cardiovascular disease. *J Internal Med* 1994;235: 317-27.
 24. Harris WS, Rambjor GS, Windsor SL, Diederich D: N-3 Fatty acids and urinary excretion of nitric oxide metabolites in humans. *Am J Clin Nutr* 1997;65:459-64.
 25. Connor SL, Connor WE: Are fish oil beneficial in the prevention of coronary artery disease ? *Am J Clin Nutr* 1997;66(4 suppl): 1020S-1031S.
 26. Chaet MS, Garcia VF, Arya G, Ziegler MM: Dietary fish oil enhances macrophage production of nitric oxide. *J Surgical Res* 1994;57: 65-8.
 27. Morrow JD, Hill KE, Burk RE, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ: A series of prostaglandin F₂-like compounds are produced in vivo in humans by a noncyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:9383-9387.

28. Witztum JL, Berliner JA: Oxidized phospholipids and isoprostanes in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1998;9:441-448, 1998.
29. Marcovina SM, Kennedy H, Bittolo Bon G, Cazzolato G, Galli C, Casiglia E, Puato M, Pauletto P: Fish intake, independent of Apo(a) size, accounts for lower plasma lipoprotein(a) levels in Bantu fishermen of Tanzania. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1250-1256.
30. Rhoads GG, Dahlen G, Berg K, Morton NE, Dannenberg AL: Lp(a) as a risk factor for myocardial infarction. *J Am Med Assoc* 1986;256:2540-2544.
31. Jurgens G, Koltringer P: Lp(a) in ischemic cerebrovascular disease: a new approach to the assessment of risk for stroke. *Neurology* 1987;7:13-515.
32. Jenner JJ, Ordovas JM, Lamon-fava S, Schaefer MM, Wilson PWF, Castelli WP, Schaefer EJ: Effects of age, sex and menopausal status on plasma lipoprotein(a) levels. *The Framingham offsprings study. Circulation* 1993;87:1135-1141.
33. Lepage G, Roy CC: Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res* 1986;27:114-120.
34. Dodge JT, & Phillips GB : Composition of phospholipids and phospholipid fatty acids and aldehydes in human red cells. *J Lipid Res* 1967;8:667-675.
35. Jialal I, Freeman D, & Grundy SM: Varying susceptibility of different LDLs to oxidative modification. *Arterioscler Thromb* 1991;11:482-488.
36. Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, & Rotheneder M: Continuous

monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein.

Free Radical Res Commun 1989;6:67-75.

37. Kanters SD, Algra A, Van Leeuwen MS, Banga JD: Reproducibility of in vivo carotid intima-media thickness measurements. *A review. Stroke* 1997;28:665-71.

38. Chen CC, Chung MY, Jeng JS, Yip PK, Hwang BS, Chang YC, Chen RC: A scoring system for evaluation of the extent of extracranial carotid atherosclerosis with B-Mode imaging. *Acta Neurol Sin* 1995;4:29-33.

39. Lee HP, Gourley L, Duffy SW, Esteve J, Lee J, Day NE: Dietary effects on breast cancer risk in Singapore. *Lancet* 1991;337:1197-200.

40. Wu AH, Ziegler RG, Horn-Ross PL, et al: Tofu and risk of breast cancer in Asian-Americans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996;5: 901-6.

41. Kwok T, Woo J, Ho S, Sham A: Vegetarianism and ischemic heart disease in older Chinese women. *J Am Coll Nutr* 2000;19:622-627.

42. Witting P, Petterson K, Ostlund-Lindqvist A-M, Westerlund C, Wagberg M, Stocker R: Dissociation of atherogenesis from aortic accumulation of lipid hydro(pero)xides in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *J Clin Invest* 1999;104: 213-220.

43. Witztum JL: The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* 1994;344:793-8

44. Matthys KE, Van Hove CE, Kockx MM, Andries LJ, Van Osselaer N, Herman AG, Bult H: Exposure to oxidized low-density lipoprotein in vivo enhances intimal thickening and selectively impairs endothelium-dependent dilation in the rabbit. *Cardiovascular Res* 1998;37: 239-

246.

45. Konukoglu D, Serin Ö, Demiriz Kemerli G, Serin E, Hayirlioglu A, Öner B: A study on the carotid artery intima-media thickness and its association with lipid peroxidation. *Clinica Chim Acta* 1998;277: 91-98.
46. Iribarren C, Folsom AR, Jacobs DR Jr, Gross MD, Belcher JD, Eckfeldt JH: Association of serum vitamin levels, LDL susceptibility to oxidation, and autoantibodies against MDA-LDL with carotid atherosclerosis: A case-control study. *Arterioscler Thromb Biol* 1997;17: 1171-77.
47. Bonithon-Kopp C, Coudray C, Berr C, Touboul PJ, Fève JM, Favier A, Ducimetière P: Combined effects of lipid peroxidation and antioxidant status on carotid atherosclerosis in a population aged 59-71 y: The EVA Study. *Am J Clin Nutr* 1997;65:121-7.
48. Louheranta AM, Porkkala-Sarataho EK, Nyyssonen MK, Salonen RM, Salonen JT: Linoleic acid intake and susceptibility of very-low-density and low density lipoproteins to oxidation in men. *Am J Clin Nutr* 1996;63:698-703.
49. Lu SC, Wu WH, Lee CA, Chou HF, Lee HR, Huang PC: LDL of Taiwanese vegetarians are less oxidizable than those of omnivores. *J Nutr* 2000;130: 1591-1596.
50. Korpela R, Seppo L, Laakso J, Lilja J, Karjala K, Lähteenmäki T, Solatunturi E, Vapaatalo H, Tikkanen: Dietary habits affect the susceptibility of low density lipoprotein to oxidation. *Eur J Clin Nutr* 1999;52:802-807.
51. Sanders TA, Hinds A: The influence of a fish oil high in

- docosahexaenoic acid on plasma lipoprotein and vitamin E concentrations and haemostatic function in healthy male volunteers. *Br J Nutr* 1992;68: 163-173.
7. Marian TC, Irena BK, Robert HK: Divergent lipoprotein responses to fish oils with various ratios of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. *Am J Clin Nutr* 1990;52:632-9.
53. Veigh GE, Brennan GM, Johnston GD, Dermott BJ, McGrath LT, Henry WR, Andrews JW, Hayes JR : Dietary fish oil augments nitric oxide production or release in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1993;36(1):33-8.

柒、表

表一、 Characteristics and some blood chemistry data of the postmenopausal vegetarians and omnivores

	Vegetarians	Omnivores
N	24	25
Age (y)	54.5±3.8	59.6±4.4
Height (cm)	154.6±6.5	154.8±5.2
Body weight (kg)	58.8±11.8	53.8±7.2
BMI (kg/m ²)	24.5±3.9*	22.4±2.3
Blood pressure (mm Hg)		
Systolic	112.1±18.4	119.4±17.3
Diastolic	68.5±8.3	71.0±9.6
Plasma GOT (U/L)	23.0±7.5*	20.0±4.1
Plasma GPT (U/L)	23.9±23.2	16.0±6.9
Uric acid (mg/dL)	5.1±1.5	4.7±0.9
Urea nitrogen(mg/dL)	12.6±3.9*	16.6±3.5
Creatinine (mg/dL)	0.70±0.13	0.74±0.12

*Significantly different from the corresponding value of the omnivores at P<0.001

表二、Daily dietary intake of some nutrients in postmenopausal vegetarians and omnivores¹

	Vegetarians(n=20)	Omnivores (n=19)
Calorie(Kcal)	1517±561	1435±360
Protein(g)	46±16 (12 en%)	51±17 (14 en%)
Carbohydrate(g)	243±99 (64 en%)	200±56 (56 en%)
Lipid(g)	41±24 (24 en%)	48±16 (30 en%)
Palmitic acid(g)	5.4±3.7 ^a	8.3±2.9
Stearic acid(g)	1.9±1.2 ^b	3.1±1.0
Oleic acid(g)	10.7±6.3 ^a	15.1±6.8
Linoleic acid(g)	14.6±7.3	14.0±6.3
Linolenic acid(g)	1.2±0.8	1.1±0.9
Other Unsaturated FA(g)	0.3±0.6 ^a	1.9±3.3
P/ M / S ratio	2.1±1 ^b /1.3±0.6/1	1.4±0.6/1.1±0.4/1
Cholesterol(mg)	16.2±22.7 ^c	152.1±122.3

Values are Mean±SD.

^{a, b, c} Significantly difference from the corresponding value of the omnivore group at $p<0.05$ 、 $p<0.01$ and $p<0.005$, respectively.

表三、The concentrations of plasma lipids and oxidative parameters of LDL in postmenopausal vegetarians and omnivores.

	vegetarians	omnivores	P
N	24	25	
Total-TG (mg/dL)	123.2±75.4	95.4±63.0	0.17
Total-C (mg/dL)	187.7±40.2	226.6±25.5	0.000185
LDL-C (mg/dL)	129.6±34.7	157.3±28.5	0.005397
HDL-C (mg/dL)	42.4±10.8	58.5±16.0	0.00025
LDL-C/HDL-C	3.3±1.5	3.0±1.5	0.57
n	16	16	
Lag time (min)	52.9 ±19.2	48.3±16.0	0.61
TBARS (nmol/mg protein)	68.6±12.8	99.8±15.6	0.000001
LDL□□-tocopherol (nmol/mg protein)	12.6±5.2	12.4±4.2	Non-sig

表四、Some fatty acid composition of LDL and the relationship with LDL-TBARS

		18:2 (n-6)	20:4 (n-6)	20:5 (n-3)
	n	mol/100	mol total fatty acids	mol total fatty acids
vegetarians	13	50.9±5.3	5.1±1.4*	0.8±0.2*
omnivores	14	46.6±4.3	7.6±1.4	1.5±0.5
TBARS, r	26	-0.785**	0.779**	0.763**

*Difference between vegetarians and omnivores is significant at the 0.05 level.

**.Correlation between TBARS and fatty acid is significant at the 0.001 level.

表五、Ultrasonographic evaluation of common carotid artery (CCA)

intima-media thickness of postmenopausal vegetarians and omnivores.

	Vegetarians	Omnivores
N	14	15
Right	0.59±0.14*	0.84±0.18
CCA1 (mm)	0.63±0.17*	0.87±0.19
CCA2 (mm)	0.56±0.13*	0.82±0.18
Left	0.61±0.10*	0.93±0.25
CCA1 (mm)	0.61±0.11*	0.98±0.25
CCA2 (mm)	0.61±0.11*	0.89±0.29
Mean (mm)	0.60±0.11*	0.89±0.21
ECCA score >1 (n)	1	7

* Significantly different from the corresponding value of the omnivores at

P<0.001

表六、Correlation between IMT and LDL and body weight

	LDL- TBA2h	LDL- TBA4h	LDL-AA	Body Wt
Right				
r	.491	.572*	.611*	.415*
Sig.	.053	.026	.016	.039
n	16	15	15	25
Left				
r	.554*	.607*	.494	.153
Sig.	.026	.016	.061	.465
n	16	15	15	25
Mean				
r	.524*	.581*	.522*	.271
Sig.	.037	.023	.033	.190
n	16	15	15	25

*.Correlation is significant at the 0.05 level (2 tailed).

表七、Levels of cholesterol and triglycerides in Plasma & lipoproteins before and after corn oil or DHA supplement

	control (正常血脂) (n=11)		DHA (正常血脂) (n=11)		DHA (高血脂) (n=10)	
	baseline	end	Baseline (mg/dl)	end	Baseline	end
Plasma-C	147.8±15.5	149.9±20.7	134.8±28.3	133.8±25.0	157.7±37.8	158.3±28.3
VLDL-C	21.0±6.0	22.4±12.8	14.8±7.7 ^a	13.0±9.1	25.8±11.7 ^a	20.5±9.7 ^a
LDL-C	88.9±11.2	89.3±12.1	81.3±19.1	78.9±16.7	95.8±36.0	97.3±21.4
HDL-C	37.9±5.7	38.2±10.8	38.7±10.7	41.9±12.2	36.1±10.2	40.4±16.0
Plasma-TG	133.8±27.2	137.5±53.8 ^a	101.4±48.1	91.8±43.1 ^a	179.1±55.0	172.1±60.3
VLDL-TG	100.4±25.5	95.9±42.6 ^a	70.7±41.4	59.0±37.4 ^a	135.5±44.9	121.7±42.9
LDL-TG	23.5±6.6	23.1±7.1	21.2±7.7	20.4±5.1	28.5±7.8	30.6±10.5
HDL-TG	12.7±2.4	11.6±2.7	11.7±3.8	10.0±2.3	14.6±3.2	13.0±4.5

1. Values are means±SD.

2. Means with the same superscript letters in the same column are significantly different at

^a p<0.05.

表八、 Diene formation and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)
production of copper-oxidized LDL before and after corn oil or DHA supplement

	control (正常血脂)		DHA (正常血脂)		DHA (高血脂)	
	(n=11)		(n=11)		(n=9)	
	baseline	end	baseline	end	baseline	end
TBARS	(nmol/mg protein)					
1hr	18.2±25.4	13.4±7.5	10.2±7.0	16.4±7.40.08	14.2±7.5	13.9±6.8
2hr	39.1±7.4	40.1±14.3	36.1±13.9	48.9±18.9 ^a	47.7±12.0	47.8±13.3
3hr	48.2±7.9	49.2±16.6	46.1±13.1	61.4±16.4 ^b	57.1±11.0	64.4±8.3
Lag time	17.1±3.5	16.0±3.7	17.4±4.6	16.5±7.6	17.8±5.7	18.1±6.6
(min)						
Max OD	2.52±0.16	2.60±0.15	2.57±0.17	2.54±0.16	2.59±0.12	2.48±0.08 ^c
Rate	0.022±0.003	0.020±0.002	0.021±0.003	0.019±0.004	0.021±0.003	0.020±0.003
(△OD/min)						

1. Values are means±SD.

2. Significantly different from baseline, ^a,p=0.02, ^b,p=0.004, ^c,p=0.02.

表九、Plasma total antioxidant status (TAS) after DHA supplement.

control (正常血脂) (n=11)	DHA (正常血脂) (n=11)	DHA (高血脂) (n=10)
(mmol/l)		
2.22±0.29	2.28±0.41	2.43±0.32

1. Values are means±SD.

表十、Urinary content of isoprostanes before and after corn oil or DHA supplement

	control (正常血脂) (n=11)	DHA (正常血脂) (n=12)	DHA (高血脂) (n=10)
(mg/ml creatinine)			
baseline	4.8±4.2	4.5±3.7	5.3±4.8
end	7.5±11.6	4.0±3.2	5.2±2.2

1. Values are means±SD.

表十一、The amount of urinary nitric oxide before and after corn oil or DHA supplement

	control (正常血脂) (n=11)	DHA (正常血脂) (n=12)	DHA (高血脂) (n=10)
	(mg/ml creatinine)		
baseline	39.2±31.9	27.8±28.8	22±23.1
end	54.1±45.1	42.4±46.9	38.1±17.8*

1. Values are means±SD.

2.* Significantly different from that after DHA supplement, p=0.02.