

黄酮类化合物影响卵磷脂的研究进展

张琳,李 焱*,刘 莹,金 芳,冯香安,刘延国

(东北农业大学动物营养研究所,黑龙江哈尔滨 150030)

摘要:黄酮类化合物对机体有重要生理功能,能促进机体脂质代谢、提高免疫功能、改善生产性能,是一类具有广阔发展前景的新型饲料添加剂。本文综述了蛋黄卵磷脂在肝脏中合成过程和转运途径,探讨黄酮类化合物能够提高蛋黄卵磷脂含量的可能性。

关键词:蛋黄卵磷脂;黄酮类化合物;雌二醇;CDP-胆碱途径;极低密度脂蛋白

中图分类号:S816.1*30.4

文献标识码:A

文章编号:0258-7033(2012)17-0074-04

天然卵磷脂广泛存在于动物、植物体内,以蛋黄、大豆内含量较多,其中蛋黄卵磷脂具有含量高、易吸收、氧化稳定性好的显著优势,蛋黄卵磷脂的功能特性及应用开发日益受到人们的关注。研究表明,卵磷脂可改善老年小鼠学习障碍的能力,且对其记忆恢复有一定作用^[1]。Suzuki等^[2]和陈玉江等^[3]分别用相应浓度的大豆卵磷脂与蛋黄卵磷脂对小白鼠进行灌胃试验发现,试验小鼠的神经兴奋性和记忆力均得到显著提高。此外,蛋黄卵磷脂还有调节脂类代谢的功能^[4]。卵磷脂——磷脂酰胆碱(PC)系经过临床验证,具有肝脏解毒和保护功能的营养物质。卵磷脂还是有效的药物载体和良好的天然表面活性剂,广泛应用于食品、医药、化妆品工业,在医药保健方面也有着重要价值,故开发高蛋黄卵磷脂鸡蛋有十分重要的意义。

黄酮类化合物亦称类黄酮或生物类黄酮,结构上与雌二醇相似,亦称植物雌激素,具有抗雌激素和较弱的雌激素活性。除传统意义上的抗病毒、抗炎、保肝和解热作用外,近年来,黄酮类化合物的药理作用得到了深入研究,本文针对黄酮类化合物对蛋黄卵磷脂沉积的调控进行综述,为进一步研究、开发和利用蛋黄卵磷脂提供参考依据。

1 黄酮类化合物对激素的影响

研究表明,黄酮类化合物能调节动物体的内分泌,影响血清胰岛素和雌二醇含量。黄酮可能通过上

调肝脏脂联素受体(adiponectin receptors1, AdipoR1,主要在胰岛素细胞中表达,通过激活AMPK通路而发挥作用)和腺苷酸活化蛋白激酶(5'-AMP-activated protein kinase, AMPK)mRNA表达水平来调节胰岛素。血糖较高时,脂联素与细胞膜受体结合激活AMPK(参与调节胰岛素 β 细胞分泌胰岛素的末端环节)通路,从而增加胰岛素分泌量^[5]。在AA肉鸡饲料中添加0.1%沙棘黄酮,显著提高了21日龄AA肉鸡血清胰岛素、胰岛素样生长因子-I的含量^[6]。Govingarajan等^[7]从山蚂蝗体内提取的总黄酮和异黄酮混合物在治疗患有糖尿病大鼠3周后,大鼠血糖含量明显降低,且表现出抗糖尿病活性,可能系因提取物刺激胰岛素细胞的分泌。Yang等^[8]对小鼠静脉注射90 mg/kg四氧嘧啶,诱导小鼠患糖尿病,确定患病小鼠血清胰岛素含量并对其胰腺与胰岛进行镜检,饲喂部分患病小鼠剂量为20 mg/(kg·d)的水芹属植物总黄酮提取物10 d为处理组,结果表明,处理组小鼠血清胰岛素显著升高($P<0.05$)、胰淀粉酶含量显著降低($P<0.01$),组织学检查表明,胰腺与胰岛有轻微变化。对大鼠、猪生长和奶牛泌乳及有关内分泌影响的研究表明,黄酮具有弱的雌激素样活性,可促进动物内分泌活动,影响机体代谢^[9-12]。黄酮类物质通过干扰下丘脑-垂体-性腺轴的内分泌机能,直接影响性腺轴雌二醇的分泌,进而影响孕酮分泌,通过负反馈调节刺激卵泡刺激素和黄体生成素的释放。抑制下丘脑的促性腺激素释放激素,加强下丘脑 β -内啡肽的合成和释放,后者直接和垂体中的受体结合发挥促性腺激素的分泌作用。弓琴等^[13]研究日粮中添加大豆黄酮和染料木黄酮对产蛋鸡蛋品质及下丘脑-垂体-性腺轴内分泌激素的影响,结果表明大豆黄酮和染料木黄酮均显著提高垂体 β -内啡肽和血清雌二醇水平($P<0.05$)。

收稿日期:2011-12-08;修回日期:2012-02-14

资助项目:哈尔滨市科学技术局科技创新人才研究专项资金(2011RFJXN015)

作者简介:张琳(1988-),女,黑龙江牡丹江人,硕士研究生

*通讯作者

2 激素对卵磷脂合成、代谢与转运的影响

PC的合成量可能与其生物合成的关键酶或限速因素(磷酸胆碱二胞苷转移酶, phosphorylcholinecytidyltransferase, CCT)的活性有关。研究显示, 17- β -雌二醇可升高胎兔废胞浆CCT活性, 雌二醇等雌激素也可促进脑磷脂(phosphatidylethanolamine, PE)甲基化生成PC。体外研究表明, 胰岛素与胰高血糖素处理肝细胞, 对CDP-胆碱途径胆碱激酶(choline kinase, ChoK)活性具有一定的调节作用, 乙烯雌酚(diethylstilbestrol, DES)处理的公鸡肝, ChoK的数量增加。磷脂酶C γ 1是PC分解代谢中的关键酶之一, 100 mIU/L胰岛素处理30 min胰岛 β 细胞表达的磷脂酶C γ 1的荧光强度明显降低($P<0.05$); 磷酸化的磷脂酶C γ 1在30 min时与0 min比较, 荧光强度明显增强($P<0.05$), 而后随着时间的延长逐渐降低, 说明胰岛素作用后可使胰岛 β 细胞内的卵磷脂分解代谢的磷脂酶C γ 1发生磷酸化, 使其失活, 抑制PC分解^[14]。CCT存在于细胞溶胶和内质网中, 但只有与膜结合部分才具活性, 脂肪酸可推动卵磷脂合成途径中限速酶CCT与内质网结合, 肝脏中脂肪酸的含量对PC有一定的调节作用^[15]。研究表明, 油酸处理Hela细胞15 min内即刺激卵磷脂合成成倍增加; 用毛地黄皂苷(digitonin)时, CCT从微粒体释出明显减慢, 而改用含脂肪酸基质培养的肝细胞及Hela细胞时, 释放速度恢复正常。另外, 激素对脂肪酸的合成代谢也有一定影响。研究表明, 乙酰辅酶A羧化酶(Acetyl coenzyme A carboxylase, ACC)是脂肪酸合成中重要的限速酶, 主要实现对脂肪酸合成的快速调节^[16]。ACC mRNA水平与ACC酶的活性密切相关^[17-18], 为转录后调控, 转录水平的增加会直接导致ACC mRNA水平增加^[19]。一般认为胰高血糖素会降低ACC活性, 胰岛素会增加ACC活性^[20]。研究表明, 将脂肪细胞与胰岛素共同培养, 其活性随胰岛素浓度的升高而升高, 二者呈线性正相关^[21]。柠檬酸裂解酶是间接将乙酰基从线粒体转运到细胞质中的一种胞质酶, 也是脂肪合成过程中的另一关键酶^[22]。柠檬酸裂解酶催化柠檬酸生成乙酰辅酶A和草酰乙酸, 抑制脂肪分解^[23]。在小鼠肝细胞的研究证实胰岛素和多不饱和脂肪酸对柠檬酸裂解酶基因序列的-104到-20区域具有调控作用, 特别是-61到-49位点, 与胰岛素的应答区域类似^[24]。胰岛素和胰高血糖素作用相反, 并通过对关键酶ACC与柠檬酸裂解酶的磷酸化来调控脂肪酸的合

成。产蛋期蛋禽肝脏中合成的卵磷脂以极低密度脂蛋白(very low-density lipoprotein, VLDL)形式进入血液, 雌激素刺激肝脏产生VLDL。载脂蛋白B(Apolipoprotein B, apo-B)是蛋鸡VLDL中主要的载脂蛋白。研究表明, 肉鸡日粮添加大豆黄酮3 mg/kg, 42~56日龄, 血清中VLDL的水平显著升高^[25]($P<0.05$); 注射外源雌激素可致公鸡肝脏VLDL中apo-B大量蓄积^[26]; 雌激素可使绝经期妇女静脉血清中apo-B明显升高^[27]($P<0.05$)。介导VLDL转运的受体称为卵母细胞卵黄生成受体(oocyte vitellogenin receptor, OVR), 是存在于卵母细胞膜上的一个95 ku的蛋白质, 是卵黄前体物质VLDL进入卵母细胞的瓶颈。VLDL在与OVR受体结合的过程中, OVR的配体结合域存在8个富含半胱氨酸的重复序列(ligand binding repeats, LBR), 被认为是与配体结合的部位, 其中LBR1~LBR3起到了关键作用。综上, 雌二醇与胰岛素可通过对卵磷脂的合成、代谢与转运的作用, 进一步影响沉积到蛋黄中卵磷脂的量。

3 卵磷脂沉积途径的调控

蛋黄卵磷脂合成于肝脏内, 由血液输送到卵巢。PC主要通过两个途径合成: (1) 节约利用途径: 胆碱进入细胞, 在ChoK的作用下磷酸化成为磷酸胆碱, 磷酸胆碱与胞苷三磷酸在CCT作用下转化为CDP-胆碱。CDP-胆碱再与二脂酰甘油在1,2-二酰甘油胆碱磷酸转移酶的作用下反应生成PC, 称为CDP-胆碱通路。CDP-胆碱途径中的第一个酶—ChoK, 已经被提纯, 其性质也已得到研究^[28]。CDP-胆碱途径的下一步是由CCT促进合成, 此酶是PC合成过程的限速酶。卵磷脂是哺乳动物细胞膜结构组成的重要成分, 由CCT调节的代谢途径所提供的卵磷脂合成, 在细胞增殖中起重要作用, CCT的缺失将致细胞的条件性死亡^[29-30]。(2) 从头合成途径: 将脑磷脂的乙醇胺甲基化, 生成卵磷脂, 供体是S-腺苷甲硫氨酸, 由磷脂酰乙醇胺甲基转移酶催化, 生成S-腺苷高半胱氨酸, 共消耗3个供体。孙长春^[31]研究表明, 日粮中添加1 000 mg/kg胆碱显著增加了蛋鸡肝脏中CCT α mRNA的表达量($P<0.05$), 显著升高了血清极低密度脂蛋白胆固醇(very low-density lipoprotein-cholesterol, VLDL-C)水平($P<0.05$), 结论指出CCT的活性增加能够显著提高鸡蛋和蛋黄中的总磷脂和卵磷脂含量, 且可改善蛋鸡脂质代谢。

肝脏中合成的卵磷脂以卵黄前体物形式进入血液,产蛋禽雌激素刺激肝脏产生VLDL。研究表明,苜蓿素显著增加了58~65周龄蛋鸡血清中VLDL浓度^[32] ($P<0.05$)。VLDL中含有多种载脂蛋白,如apo-B、apo-II、apo-35 ku、apo-17ku、apo-k-I、apo-9 ku、apo-6 ku等。其中,apo-B是VLDL合成和分泌的主要载脂蛋白,研究表明,多数甘油三酯与apo-B结合用于VLDL合成,其他的蛋白因子主要负责apo-B的折叠与转运,为高尔基体内的VLDL组装做准备^[33]。病理状态下,动物apo-B的转运与折叠功能会相应减弱,从而限制VLDL的组装和分泌。影响动物肝脏中VLDL的合成和分泌受的因素较多,主要有脂肪酸、G蛋白、胞浆脂滴蛋白因子、非apo-B的载脂蛋白、脂蛋白受体、胰岛素和瘦素信号转导等,此外,VLDL的合成也受雌激素调控,其实质是调控载脂蛋白的合成,研究表明,雌激素可使肝脏apo-B合成量提高4~6倍^[34]。

4 黄酮类化合物对卵磷脂的影响

茶多酚与类黄酮的结构、性质及作用相似,可归于黄酮类化合物中,是一种重要的黄酮醇。研究表明,茶多酚对鸡蛋卵磷脂含量的影响有一定规律,从20周龄到30周龄鸡蛋卵磷脂含量变化情况看出,茶多酚对卵磷脂含量没有显著影响 ($P>0.05$)^[35]。FuC等^[36]研究D-半乳糖与绿茶多酚对机体老化代谢的作用,结果显示,血浆中溶血磷脂酰胆碱类、色氨酸、二氢鞘氨醇、植物鞘氨醇有显著变化,这些代谢产物的变化显著影响卵磷脂、氨基酸和磷脂的代谢。儿茶素是茶多酚中重要的化合物之一,研究表明,儿茶素对患有心脏炎症的成年雄性大鼠有治疗作用,可以显著增加心脏卵磷脂含量,降低心脏炎症标志物肌酸激酶(creatine kinase muscle B, CK-MB)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)活性^[37]。黄酮类化合物还能增强磷脂的抗氧化能力,槲皮素是沙棘黄酮主要的存在形式,其中双氢槲皮素是一种有效的抗氧化剂,能够抑制卵磷脂氧化^[38]。对大豆黄酮、鸡豆黄素、芒柄花黄素和染料木素4种异黄酮类物质抑制脂质过氧化活性效果进行的调查表明,鸡豆黄素、芒柄花黄素和染料木素通过抑制卵磷脂过氧化血红蛋白与过氧化氢的相互作用诱导氢化自由基的产生,大豆黄酮与鸡豆黄素又通过抑制黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶的超氧阴离子代诱导卵磷脂过氧化,抗氧化的活性差异取决于异黄酮类物质的化学结构^[39]。熊勇等^[40]研究表明,密蒙花黄酮类化合物对羟

自由基有清除作用,对羟自由基诱发卵磷脂脂质过氧化有抑制作用。由以上资料看出黄酮类化合物可以提高鸡蛋中的磷脂含量与磷脂抗氧化能力,对禽业生产有着重要的意义,有待于开发利用。

5 小结

当前,在蛋黄磷脂的改善、鸡蛋中卵磷脂的沉积等方面的研究报道较少。黄酮类化合物提高蛋黄卵磷脂含量的可能机制有:(1)黄酮类化合物通过调节内分泌机制,影响血浆雌二醇与胰岛素的含量。(2)在PC合成与代谢途径中,雌二醇能够使CDP-胆碱途径中限速因素CCT的活性升高,促进脑磷脂甲基化生成PC;胰岛素促进ChoK的活性,并且使磷脂酶C γ 1发生磷酸化,使其失活,从而抑制PC分解。(3)在PC转运途径中,雌二醇能升高VLDL与载脂蛋白apo-B的含量,影响沉积在卵黄中的PC含量。综上,黄酮类化合物具有升高蛋黄卵磷脂含量的潜力,为黄酮类化合物作为提高鸡蛋卵磷脂含量的功能性饲料提供重要的理论依据和实践参考。

参考文献:

- [1] Zhang T, Qu H, Li X, *et al.* Transmembrane delivery and biological effect of human growth hormone via a phage displayed peptide in vivo and in vitro[J]. *J Pharm Sci*, 2010, 99(12): 4880-4891.
- [2] Suzuki S, Yamatoya H, Sakai M, *et al.* Oral administration of soybean lecithin transphosphatidylated phosphatidylserine improves memory impairment in aged rats [J]. *J Nutr*, 2001, 131(11): 2951-2956.
- [3] 陈玉江, 殷涌光. 蛋黄卵磷脂对小鼠神经兴奋的影响 [J]. *中国兽医学报*, 2009, 29(5): 665-668.
- [4] 李春艳, 成小松, 崔美芝, 等. 蛋黄卵磷脂改善记忆作用的实验研究[J]. *中国实验动物学杂志*, 2010, 12(5): 1002-148.
- [5] Shabrova E V, Tarnopolsky O, Singh A P, *et al.* Insights into the molecular mechanism of the ANTI-atherogenic actions of flavonoids in normal and obese mice[J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e24634.
- [6] 李焱, 单安山, 李焕江, 等. 表皮生长因子和胰岛素样生长因子-对21日龄断奶仔猪胃和小肠发育的作用[J]. *动物营养学报*, 2005, 17(3): 44-49.
- [7] Govindarajan R, Asare-Anane H, Persaud S, *et al.* Effect of *Desmodium gangeticum* extract on blood glucose in rats and insulin secretion in vitro [J]. *Planta Med*, 2007, 73(5): 427-432.
- [8] Yang X B, Huang Z M, Cao W B, *et al.* Antidiabetic effect of *Oenanthe javanica*[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2000, 21(3): 239-242.
- [9] 尹靖东, 齐广海, 霍启光. 类黄酮对蛋鸡脂类代谢的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2002, 33(3): 215-220.
- [10] 刘春龙, 任延铭, 姜文博. 大豆异黄酮类植物雌激素对奶牛内分泌水平的影响[J]. *中国兽医学报*, 2010, 30(9): 1261-1264.

- [12] 徐国银. 日粮中添加异黄酮对肉鸡和蛋鸡生产性能的影响及其内分泌机制的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2007.
- [13] 弓琴, 冯于明, 袁建敏. 大豆黄酮与染料木黄酮对产蛋鸡生殖内分泌和蛋品质的影响[J]. 科学试验与研究, 2009, (4): 1-3.
- [14] 李广文. 胰岛素对胰岛β细胞磷脂酶Cγ1及其磷酸化水平表达的影响[D]. 长春: 第四军医大学, 2009.
- [15] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学(第三版)(下册)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002.
- [16] 曹凯鸣. 生物化学(上)[M]. 上海: 复旦大学出版社, 1989.
- [17] Girard, Perdereau D, Foufelle F, *et al.* Regulation of lipogenic enzyme gene expression by nutrients and hormones [J]. *Faseb J*, 1994, 8(1): 36-42.
- [18] Cousin B, Casteilla L, Dani C, *et al.* Adipose tissues from various anatomical sites are characterized by different patterns of gene expression and regulation[J]. *Biochem J*, 1993, 292(3): 873-876.
- [19] 庄君英. 早期和后期饲料对肉鸡脂肪代谢的影响 [D]. 南京: 南京农业大学, 2007.
- [20] Mabrouk G M, Helmy I M, Thampy K G, *et al.* Acute hormonal control of acetyl-CoA carboxylase. The roles of insulin, glucagon, and epinephrine [J]. *J Biol Chem*, 1990, 265(11): 6330-6338.
- [21] Rumberger J M, Green A, Basile R. Transferrin and iron induce insulin resistance of glucose transport in adipocytes [J]. *Diabetes*, 2004, 53(10): 2535-2541.
- [22] Anna M, Anna S, Anna R S, *et al.* The Role of adenosine triphosphate-citrate lyase in the metabolism of acetyl-coenzyme A and function of blood platelets in diabetes mellitus [J]. *Metabolism*, 2004, 53(1): 66-77.
- [23] 孙悦, 张冰, 刘小青, 等. 高甘油三酯高血糖血症大鼠脂糖代谢相关酶活性变化的实验研究 [J]. *中国现代医学杂志*, 2006, 16(23): 3542-3545.
- [24] Fukuda H, Noguchi T, Iritani N. Transcription regulation of fatty acid synthase gene and ATP citrate-lyase gene by sp1 and sp3 in rat hepatocytes(1)[J]. *FEBS Lett*, 1999, 464(3): 113-117.
- [25] 张桂春. 半胱胺及大豆黄酮对肉鸡脂肪代谢的影响 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2002.
- [26] Williams D L. Apoproteins of avian very low density lipoprotein: demonstration of a single high molecular weight apoprotein [J]. *Biochemistry*, 1979, 11(1): 1056-1060.
- [27] 白文佩, 杨欣, 郑淑蓉, 等. 结合雌激素和7-甲基异炔诺酮对围绝经期和绝经期妇女脂蛋白及载脂蛋白的影响 [J]. *中国妇产科杂志*, 1999, 34(5): 293-296.
- [28] Ishidate K, Nakazawa Y. Choline/ethanolamine kinase from rat kidney [J]. *Met Enzymol*, 1992, 209: 121-134.
- [29] Esko J D, Raetz C R. Autoradiographic detection of animal cell membrane mutants altered in phosphatidylcholine synthesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1980, 7(9): 5192-5196.
- [30] Esko J D, Nishijima M, Raetz C R. Animal cells dependent on exogenous phosphatidylcholine for membrane biogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982, 79(6): 1698-1702.
- [31] 孙长春. 鸡蛋中卵磷脂含量调控的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2010.
- [32] 张丽娜. 苜蓿素对蛋鸡生产性能及其鸡蛋与组织脂质的影响[D]. 北京: 中国农科院畜牧研究所, 2010.
- [33] Higgins J A. Evidence that very low density of the microsomal triglyceride transfer protein in lipoprotein assembly in Caco-2 cells: interaction with saturated and unsaturated dietary fatty acids [J]. *J Lipid Res*, 1988, 29(1): 173-185.
- [34] Capony F, Williams D L. Apolipoprotein B of avian very low density lipoprotein: characteristics of its regulation in nonstimulated and estrogen-stimulated rooster [J]. *Biochemistry*, 1990, 29(10): 2219-2226.
- [35] 肖红. 绿茶及茶多酚对罗曼鸡肉品质、蛋白质及生产性能影响[D]. 安徽农业大学, 2010.
- [36] Fu C, Wang T, Wang Y. Metabonomics study of the protective effects of green tea polyphenols on aging rats induced by D-galactose [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 55(5): 1067-1074.
- [37] Naumov A A, Shatalin Y V, Potselueva M M. Effects of a nanocomplex containing antioxidant, lipid, and amino acid on thermal burn wound surface [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2010, 149(1): 62-66.
- [38] Shatalin L, Shmarev A N. Peroxidation of lecithin in the presence of dihydroquercetin and its complex with ferrous iron ions [J]. *Biofizika*, 2010, 55(1): 75-82.
- [39] Toda S, Shirataki Y. Inhibitory effects of isoflavones on lipid peroxidation by reactive oxygen species. [J]. *Phytother Res*, 1999, 13(2): 163-165.
- [40] 熊勇, 熊扬波, 杨青松. 药用植物密蒙花总黄酮提取及抗氧化性研究[J]. *生物技术*, 2011, 21(3): 85-87.

Advance in Flavonoids Regulating Egg Lecithin Deposition

ZHANG Lin, LI Yao*, LIU Ying, JIN Fang, FENG Xiang-an, LIU Yan-guo

(Institute of Animal Nutrition, Northeast Agricultural University, Heilongjiang Harbin 150030, China)

Abstract: Flavonoids has many important physiological functions, it can promote lipid metabolism, improve immune function and grow performance. It is a kind of new feed additives with broad developing prospects. This paper mainly reviewed egg yolk lecithin synthesis in the liver and transport pathway, and the possibility of increasing egg yolk lecithin depository.

Key words: lecithin; flavonoids; estradiol; CDP-choline pathway; hormone; very low-density lipoprotein