第二章 文獻探討

第一節 葷素飲食者營養攝取狀態之主要差異

素食在亞洲有數百年的歷史，在台灣地區，佛教徒幾乎都是素食者，有部分的人也因為其他宗教的理由吃素。在過去數十年，西方國家興起一股素食風，吃素的主要理由包括：健康、宗教、減少暴力、經濟或動物保育等(16)，近年來在台灣也漸漸有此風氣。而素食的學術研究更是日益蓬勃發展，有學者特針對 National Institutes of Health Medline 資料庫所收納的素食營養相關文獻作分析，結果發現在 1960 年代每年素食營養的相關文獻約小於 10 篇，到了 1990 年代每年則達 76 篇左右(17)，

在眾多研究中，對於素食者飲食特性已有相當一致的結果，例如素食者的飲食中蛋白質，飽和脂肪酸及膽固醇攝取明顯較葷食者低(5，7-8，18-21)，以及熱量攝取較低(7-8)，總脂肪攝取量較低(7-8，20)，單元不飽和脂肪酸與多元不飽和脂肪酸攝取較低(7-8)，碳水化合物攝取較高(7-8，18-21)，纖維攝取較高(18-21)。

素食者飲食中蛋白質來源以黃豆與黃豆製品為主，而黃豆與黃豆製品是飲食中最豐富的異黃酮(isoflavones)來源，因此，素食者體內 isoflavones 含量較葷食者高應是可以預期的。Isoflavones 為植物性雌激素(phytoestrogens)中的一種，其對於人體內雌激素(estrogen)作用的影響有待探討，故本研究的實驗一將分析葷素飲食者體內 isoflavones 含量是否有差異，且體內含量是否與尿液中雌激素代謝產物(2OHE1、16αOHE1)濃度有相關性。

第二節 Isoflavones 之相關研究

一、Isoflavones 之簡介

黃豆中含三種最主要的 isoflavones：1.未複合(unconjugated)或無

醣基(aglycon)的 isoflavones 為 genistein、 daidzein、glycetein，2.與配醣體(glucoside)共價結合的化合物為 genistin、daidzin 及 glycetin，3.與乙醯基配醣(acetylgucoside)或丙二醯基配醣(malonylgucoside)共價結合的為 Formonionetin、Biochanin- A。這些植物性雌激素皆具有雙酚化合物且與天然或合成的雌激素相似(estrogen agonist)而能和雌激素接受體結合，在植物組織內，isoflavones 以複合物形式存在，且濃度會受濾過性病毒、細菌、蕈類的存在影響而廣泛不同(22-23)。

二、Isoflavones 的生理作用

近年來關於 isoflavones 對各種疾病危險性的影響有廣泛性的研究，回顧相關文獻可發現 isoflavones 的生理作用包括預防心血管疾病，抗氧化作用，抑制腫瘤細胞增殖，減緩停經症狀，預防骨質疏鬆症等。

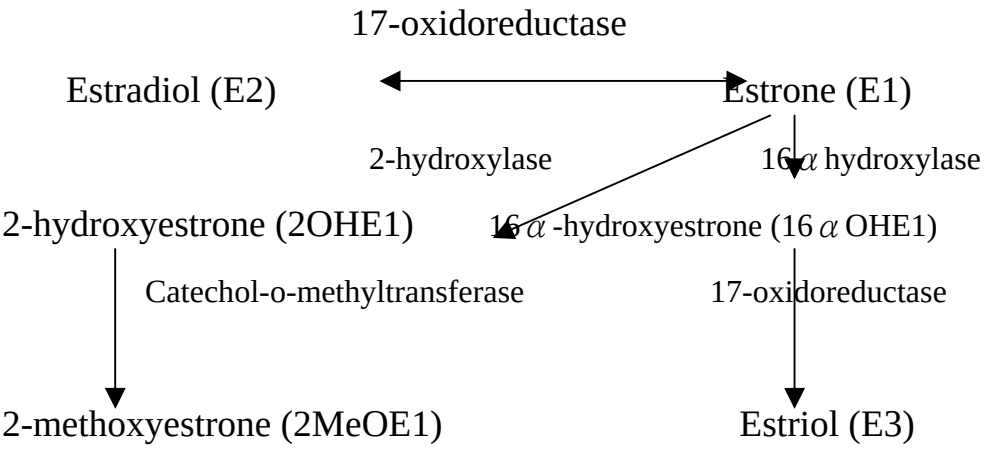
流行病學調查發現在中國、日本及許多亞洲國家的乳癌死亡率比美國或歐洲國家來的低(24)，例如：日本乳癌死亡率是美國的 1/4 (25)。這個國際間的差異，可能與飲食內容不同有關，其中之一即為亞洲國家攝取較多含 isoflavones 的黃豆，每天約可攝取到 genistein 20-80 mg，而美國飲食中每天才攝取到 1-3 mg 的 genistein (26)。

因此，isoflavones 或許和結構相似的 tamoxifen 一樣，能經由抗雌激素作用預防乳癌，tamoxifen 是一種抗雌激素作用的藥物，廣泛用於治療乳癌，最近則被評估作為預防乳癌(27)。

三、雌激素(Estrogen)的代謝

女性停經前內生性女性荷爾蒙由卵巢分泌，而停經後婦女女性荷爾蒙的主要來源為脂肪組織內男性荷爾蒙前驅物(Androstenedione & Testosterone)經由 cytochrome P450-dependent enzyme: Aromatase 催化作用產生(28)。主要產物是 Estrone (E1)，經由 17-oxidoreductase 作用

反應為 Estradiol (E2)，且 E1 也會經由 cytochrome P450-dependent enzyme:2-hydroxylase 或 16α-hydroxylase 催化進行，在第 2 個碳或第 16 個碳α位置皆上氫氧基後形成 2-hydroxyestrone (2OHE1)或 16α-hydroxyestrone (16αOHE1)，其中一部份 2OHE1 與 16αOHE1 會繼續代謝，分別形成生理活性較少之 2-Methoxyestrone (2MEOE1)及 Estriol (E3)。(雌激素主要代謝途徑如下圖)



Estrone 2-hydroxylation 與 Estrone 16α-hydroxylation 這兩個反應路徑在人體是彼此對立的，同一細胞內十分罕見會同時存在，且互為消長，且 16αOHE1 與 2OHE1 有顯著不同的生理特性，16αOHE1 與性荷爾蒙球蛋白(SHBG)親和性較小，會導致過度刺激標的組織而具基因毒性，例如促進乳癌細胞增生的作用，因此，16αOHE1 的形成會增加罹患乳癌的危險性。2OHE1 則不具基因毒性，也不會促進細胞的增值與型態上的改變，更有研究指出 2OHE1 可以抑制 MCF-7 細胞成長(29)。

陸續有研究調查乳癌婦女及正常婦女尿液中 2OHE1 與 16αOHE1 的濃度，確實發現差異存在。故尿液中雌激素代謝物分布的情形或許可作為評估乳癌危險性的指標。Kabat 等人(30)於 1997 年進行病歷對照研究，結果罹患乳癌的停經婦女尿液中 2OHE1/16αOHE1 濃度比未罹患乳癌的停經婦女低，因此，16αOHE1 與乳癌的危險性

有強的正相關，與 2OHE1 有負相關。另外，Meilahn 等人(10)在 1998 年進行大型前瞻性研究，追蹤後罹患乳癌的停經婦女在 19 年前基礎期所收集的尿液中 2OHE1/16α OHE1 濃度比未罹患的停經婦女低 15％，且罹患乳癌的停經婦女經過統計分析尿液中 2OHE1/16α OHE1 濃度落在最高值時可降低 30％的罹患乳癌危險性。

四、Isoflavones 對雌激素代謝產物的影響

飲食是可以改變雌激素代謝途徑的因子之一，或許能夠達到降低乳癌危險性的預防作用。

Xu 等人(9)提供 12 個停經前婦女三種飲食，分別為控制飲食，低 isoflavones 飲食與高 isoflavones 飲食，受試者以交叉(cross-over)方式接受不同的飲食，每次更換不同飲食時有 3 星期的清除期(wash-out)，每種介入飲食各 100 天。在這三種飲食中黃豆粉每天可提供每公斤體重 0.16 mg (控制飲食)，1.01 mg (低 isoflaviones 飲食)，2.01 mg (高 isoflavones 飲食)的 isoflavone。於每種飲食期間收集尿液並測量尿液中 2OHE1/16α OHE1 濃度，結果發現與控制飲食相比隨著 isoflavone 攝取量增加能有效減少尿液中雌激素濃度(estradiol，estrone，estriol，total estrogen)與具有基因毒性的代謝產物 16α OHE1 濃度，並且明顯增加 2OHE1/16α OHE1 比值。

本實驗室(11)曾針對有接受雌激素補充治療的葷食停經婦女，每天給予補充 6 g isoflavones 製劑(約可攝取到 114 mg isoflavones)，為期 28 天，實驗結果顯示 16α OHE1 有下降趨勢

上述的研究是以黃豆做短期的飲食介入，本研究實驗一則是比較長期葷食與素食兩種飲食型態的婦女血漿 isoflavones 濃度與尿液雌激素代謝產物分布與其相關性，以停經且未接受雌激素補充治療的婦女為研究對象。

第三節　葷素飲食脂肪攝取與對健康影響

一、葷素飲食者血清中脂肪酸含量之差異

素食者血清中脂肪酸的含量與葷食者相比也有明顯差異，包括飽和脂肪酸較低(7)，總單元不飽和脂肪酸，總多元不飽和脂肪酸及α-linolenic acid 較高(7-8)，而 EPA 與 DHA 含量則明顯較低(7-8，18)。

二、葷素飲食者血脂質濃度之差異

素食者血清中血脂質濃度也與葷食者有明顯差異，如血清中總膽固醇(Total cholesterol; TC)與低密度脂蛋白膽固醇(Low-density lipoprotein cholesterol; LDL-C)濃度較低(5，7，8，21)，LDL-C/HDL-C(High-density lipoprotein cholesterol; HDL-C)，TC/HDL-C 較低(5，8)，三酸甘油酯(Triglyceride; TG)濃度較低(5)。

三、葷素飲食對疾病發生的影響

素食者特殊的飲食型態對於其疾病發生率的優勢也有相當多的研究證實，包括在缺血性心臟病，糖尿病，及特定的癌症有較低的死亡率(1-4)，且在血脂異常，高血壓與肥胖有較低的發生率(5-6)。

而 kwok 等人(31)以心電圖與心臟血管疾病問卷調查來比較葷食與素食者的發生缺血性心臟病的可能性，不論是問卷調查加上心電圖或是單獨從心電圖的結果皆顯示素食者缺血性心臟病的可能發生率較低，而 key 等人(32)做長達 17 年的追蹤研究也得到類似的結果。

四、素食者與攝取大量魚類者之差異

從比較不同飲食的調查及攝食不同脂肪型態的研究皆發現飲食中的脂肪酸變化可調節心血管疾病的危險因子。但以不同地區的比較，很有可能受限於種族差異而干擾他們對飲食的反應、所以 Galli 等人(33)針對 Tanzania 地區相同人種，而住在兩個不同飲食型態的村

莊，其中 Lupingu 村莊的居民飲食主要以淡水魚類為主的非素食飲食，而另一個 Madilu 農村則完全不吃魚產品，是以穀物、馬鈴薯、蔬菜為主要的素食飲食。比較兩種飲食型態的差異，結果發現以魚類為主的居民總熱量攝取約 2200 大卡，以素食為主的居民則為 2040 大卡，而以魚類為主的居民其血清中總脂質、總膽固醇、三酸甘油酯皆明顯比素食者低。

Pauletto 等人(34)的研究則指出除了 TC 與 TG 的差異外，以魚類為主的居民血清中 Lp(a)的濃度也比素食者低，此外，血漿中脂肪酸的含量也有顯著差異，其中 n-3 PUFA 在以魚類為主的居民高過素食者許多，尤其是 DHA 的含量。

由於血漿中 Lp(a)含量主要是受到基因決定，因此，Marcovina 等人(35)以相同遺傳基因的種族而飲食型態不同的人群作為研究對象，該研究也是在 Tanzania 地區所作，結果發現以魚類為主的居民其血漿中 Lp(a)含量明顯比素食者低(48%)，且血漿中 Lp(a)含量與 n-3 PUFA 含量明顯負相關，因此可知在沒有基因差異下飲食中豐富的 n-3 PUFA 可降低血漿中 Lp(a)含量。

素食者與攝取大量魚類者相比血清中血脂質濃度有較不利心血管疾病的現象，而兩者最大的差異即在素食飲食中缺乏來自魚類的 n-3 PUFA，因此 n-3 PUFA 對於素食者在心血管疾病危險性的影響是值得進一步探究，本研究的實驗二給予素食者補充來自海藻的 DHA，分析對其心臟血管疾病危險因子的影響。

第四節 n-3 多元不飽和脂肪酸對心血管疾病危險因子的影響

一、n-3 多元不飽和脂肪酸之簡介

n-3 多元不飽和脂肪酸(n-3 polyunsaturated fatty acids，n-3 PUFA)是指超過二十個碳組成的長鏈脂肪酸中，結構的最後一個甲基往-COOH 基數過去的第三個碳原子上帶有雙鍵者，人類飲食與自然界中常見的 n-3 多元不飽和脂肪酸有來自海產食物的 Docosahexaenoic acid (DHA，C22:6)與 Eicosapentaenoic acid (EPA，C20:5)，以及來自植物的α-linolenic acid，其中 DHA 與 EPA 更為魚油中的兩個主要脂肪酸成分，所謂的魚油通常是指從魚肉或魚的脂肪組織中抽取出來的脂肪，和從魚肝臟抽取的魚肝油成分不同，魚油的脂肪特性是飽和脂肪酸組成比例低，多元不飽和脂肪酸含量高(12)，且魚油中所含脂肪酸比例會因魚的種類、氣候及地理環境而有差異。例如淡水魚所含 DHA 量較高，鱈魚所含的 EPA 較高，鮪魚所含 DHA 較高，而鮭魚的 EPA 與 DHA 含量相近(36)。

本節主要探討來自魚油的 n-3 PUFA 對於心臟血管疾病的影響，在臨床實驗方面，大多數是給予魚油(37-39)作為介入，亦有研究給予不同種魚類的魚油(36，40)，或純化的 EPA、DHA (41-42)，近來更有研究是給予素食者來自藻類的 DHA，以評估對其心血管疾病危險因子的影響(43)。

二、流行病學的發現

1976 年時 Bang 和 Dyerberg 等人(14)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，其與食用大量魚類中所含的油脂有關，而這些深海魚類油脂富含的 n-3 多元不飽和脂肪酸（n-3 PUFA，DHA 與 EPA），正是主要的作用成份。該研究提到愛斯基摩人每天大約攝取 7 g EPA＋DHA，西方飲食則每天攝取少於 0.06 g

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。一些前瞻性流行病學研究證實男性每週至少吃一份魚比都不吃者有較低的心臟病死亡率(44-47)。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疾病。

三、n-3 多元不飽和脂肪酸預防心臟血管疾病可能的機轉

根據 Schacky 等人(48)的整理，給予 n-3 PUFA 補充後，對於預防心臟血管疾病的作用機制可能包含下列數點：

1.血小板凝集作用：n-3 PUFA 補充後可降低血小板凝集效力。

2.降低血中三酸甘油酯(Triglyceride; TG)濃度。

3.降低血中膽固醇(cholesterol)濃度。

4.低密度脂蛋白膽固醇(Low-density lipoprotein cholesterol; LDL-C)增加：似乎是 LDL 顆粒變大，而非分子數增加，因而被視為有利的影響。

5.增加高密度脂蛋白膽固醇(High-density lipoprotein cholesterol; HDL-C)濃度：在大部分的研究中可發現 n-3 PUFA 可增加血中 HDL-C 濃度，少部分研究則無此現象。

6.調節降低血壓。

7.改善流變指標。

8.降低體外 interleukin 1β與 tumor necrosis factor 濃度。

9.降低 platelet-derived growth factor (PDGF)。

10.抑制非活化的單核白血球細胞上 PDGF-A 與 PDGF-B 的基因表現。

四、臨床實驗的發現

(一)魚油

1.對血中三酸甘油酯的影響

回顧目前的研究發現來自魚油的n-3 PUFA對於血漿中TG濃度有一致的降低效果，且不管是以健康人(37-39)、血脂異常(49)或其他疾病病人(50-51)作為研究對象都得到相當一致的結果。

以健康人為受試者的研究如 Haglund 等人(37)以 12 位健康人為受試者，分兩組，均給予 30 ml 魚油(含 9 g n-3 PUFA)，其中一組的魚油含維生素 E 0.3 IU/g，另一組含維生素 E 1.5 IU/g 補充期為 3 週，經過 2 週 washout period 後，兩組受試者交換飲食介入，補充期仍為 3 週，結果顯示兩種飲食介入皆下降血中 TG 濃度，尤其在高 vitamin E 組 TG 下降更多，高達 48%，作者認為高 vitamin E 可以避免不飽和脂肪酸氧化，減少 MDA 生成，進而使得 n-3 PUFA 可更有效的降低 TG 合成。

其他同樣以健康人為受試者的研究，每日給予 15 ml 魚油(4.5 g n-3 PUFA) (39)、4 g n-3 PUFA (52)、6 g 魚油(5.1 g n-3 PUFA) (53)等研究結果皆類似。

而給予高血脂病人每日 3 g n-3 PUFA (49)、年長女性 3 g 魚油(2.4 g n-3 PUFA) (54)、停經婦女 8 g n-3 PUFA (55)、冠狀動脈心臟病病人 12 g 魚油(含 8.5 g n-3 PUFA) (50)、或急性心肌梗塞病人 4 g n-3 PUFA (51)等研究結果也都顯示血漿中 TG 明顯下降。

由以上研究來看，n-3 PUFA 降低 TG 濃度的作用甚為確定，而有研究指出魚油降低 TG 的作用是因為 n-3 PUFA 會抑制肝臟細胞中 TG、apoB 的合成，甚至可減少 TG 的合成速率達百分之五十(57)。而關於 n-3 PUFA 抑制 TG 合成作用機轉主要是由於 EPA 和 DHA 很不容易和 3-磷酸甘油結合形成 TG，因為在 TG 合成過程中的磷脂磷酸水解酵素(phosphatidate phosphatase)和雙醯甘油醯基轉移酵素(Diacylglycerol acyltransferase)的活性會被 n-3 PUFA 所抑制，進而使得 TG 合成減少(58)。另有研究指出 n-3 PUFA 不只是降低禁食 TG，也可降低正常餐後乳糜微粒及 TG 的增加(59)。

2.對血中膽固醇的影響

關於 n-3 PUFA 對血中膽固醇的影響，在目前的研究中仍有些不一致，如許多研究指出 n-3 PUFA 對於 TC 與 LDL-C 皆無顯著影響，如每日給予年輕或年長女性 3 g 魚油(2.4 g n-3 PUFA) (54)、或健康女性 4 g n-3 PUFA (60)、冠狀動脈心臟病病人 12 g 魚油(含 8.5 g n-3 PUFA) (50)、高血壓病人 4 g n-3 PUFA (61)、血脂正常的心臟血管疾病病人 6 g n-3 PUFA (62)，這些研究皆顯示 n-3 PUFA 對於 TC、LDL-C 皆無顯著影響。

另有研究則認為 n-3 PUFA 會降低 TC 與 LDL-C，如 Nakkila 等人(63)給予血脂異常的冠狀動脈心臟病病人每日 2.4 g 或 3.6g n-3 PUFA，而 Nordoy 等人(64)給予高血脂病人 20 mg Simvastatin + 4 g n-3 PUFA，發現 n-3 PUFA 可增加降低 TC 作用的趨勢。

相反的結果如 Suzukawa 等人(65)以 20 位高血壓者為對象，每日給予 4 g 魚油(3.4g n-3 PUFA)，補充期 6 週，結果發現血中 LDL-C 濃度增加，且 LDL 顆粒變大，此外，不論在補充前後 LDL 顆粒的大小皆與 TG 濃度呈負相關。而給予高膽固醇血症男性每日 12 g 魚油(3.6 g n-3 PUFA) (66)，末梢血管疾病病人每日 15 g 魚油(5.2 g n-3 PUFA) (67)，家族性高血脂病人每日約 3.4 g n-3 PUFA (68)，等研究結果也都發現 LDL-C 上升。

Bilheimer 等人(69)發現補充魚油會減少 LDL-C 及 LDL apoB 的合成，推測可能是因為 n-3 不飽和 PUFA 使 VLDL apoB 減少所造成，因為 LDL apoB 是由 VLDL apoB 衍生而來的，Radack 等人(70)則認為魚油補充會使 LDL-C 濃度增加的原因可能是由於魚油使得 VLDL 粒子變小而且比較容易轉變為 LDL，增加了 LDL 粒子數目及 LDL-apoB 濃度。故關於魚油對 LDL-C 濃度的影響情形仍有待更進一步的研究。

3.對高密度脂蛋白膽固醇的影響

目前有關於 n-3 PUFA 影響 HDL 的研究結果，大致上認為魚油的補充會使 HDL-C 濃度有增加的現象，如 Bonaa 等人(53)以健康人為受試者，每日給予 6 g 魚油(5.1 g n-3 PUFA)，並以 6 g corn oil 為控制組，補充期為 10 週，結果顯示 n-3 PUFA 的補充會增加 HDL-C 濃度，而控制組則無顯著變化，此外，血漿中 EPA 與 DHA 濃度在魚油補充後顯著增加，且 EPA 與 DHA 濃度的改變皆與 HDL-C 的改變呈正相關。

此外，給予健康人每日 30 ml 魚油(9 g n-3 PUFA) (37)或 4 g n-3 PUFA (52)、以及給予急性心肌梗塞病人每日 4 g n-3 PUFA (51)，等研究皆發現血漿中 HDL-C 濃度明顯上升，有學者認為 HDL-C 濃度的增加可能和血漿中 TG 濃度的下降有關(71)，相對的，也有研究發現 n-3 PUFA 對於 HDL-C 沒有明顯影響(54、50、61、62)。

4.對 LDL 氧化的影響

大部分的研究皆指出 n-3 PUFA 補充會降低 LDL 抗氧化性，以魚油為補充劑的研究如 Suzukawa 等人(66)以 20 位高血壓者為對象，每日給予 4 g 魚油(3.4g n-3 PUFA)，補充 6 週後， LDL 體外氧化實驗發現 TBARS 產生量明顯增加而 lag time 則顯著下降，其他以含 3.3 g、3.4 g、6.26 g n-3 PUFA 的魚油所作研究的結果也是類似(72、73、71)。

以 n-3 PUFA 為補充劑的研究如 Tsai 等人(74)給予較高劑量的魚油（8.8 g n-3 PUFA/d）進行補充，可發現 16 位血脂正常的健康受試者之 TBARS 產生量顯著增加，conjugated diene 形成之 lag time 明顯地下降。同樣以健康人為受試者，每天補充僅含 0.91 g n-3 PUFA 的魚油 4 g 補充 4 週後，仍可發現 lag time 有顯下降的現象(75)。

而 Haglund 等人(37)給予含低 vitamin E (0.3 IU/g)的魚油補充，會增加血漿中 MDA 生成，反之含高 vitamin E (1.5 IU/g)的魚油補充則不會。

由以上的研究看來，n-3 PUFA 的補充確實是使得 LDL 的氧化抗性減弱了，但透過 n-3 PUFA 中添加 vitamin E 或許可避免此現象。

5.對 Lipoprotein (a)的影響

在目前的研究中，n-3 PUFA 對於 Lp(a)的影響尚未有明確的定論，如 Haglund 等人(39)以 15 位血脂正常或稍微偏高的健康人為受試者，每日給予 15ml 魚油(4.5 g n-3 PUFA)，為期 3 個月，之後追蹤 12 個月，結果顯示魚油攝取後血清 Lp(a)有下降趨勢。

Herrmann 等人(50)給予 35 位冠狀動脈心臟病病人每日 12 g 魚油（8.5 g n-3 PUFA），合併每日攝取 30％脂肪的飲食及適量運動，共 4 週，結果發現補充 n-3 PUFA 後血漿 Lp(a)明顯下降(14％)，而控制組(12 g rapseed oil; 油菜籽油)則未改變，且 Lp(a)的下降與病人初始的 Lp(a)含量無相關性。

Eritsland 等人(76)給予 269 位冠狀動脈心臟病病人在手術後第二天起每日給予 4 g n-3 PUFA (Omacor)，與控制組（未補充 n-3 PUFA）相比，在 6 個月後對於血清中 Lp(a)並無影響，但是對於 baseline 時 Lp(a)較高者（≧20mg/dl）則 Lp(a)顯著下降（P=0.23），此研究顯示 n-3 PUFA 對於原本 Lp(a)較高者或許有些微的下降影響。

而 Sack 等人(62)給予冠狀動脈心臟病且具正常血脂的病人每天 6 g n-3 PUFA，為期近 28 個月，結果發現 n-3 PUFA 補充後血漿中 Lp(a)上升，但若與控制組（6 g olive oil）相比則無顯著差異。

整體看來，n-3 PUFA 對於 Lp(a)的影響，仍有待研究，而從前面的文獻回顧可知素食者血清中 Lp(a)明顯比大量攝取魚類者高（34-35），此現象增加素食者在心血管疾病的危險性，因此，本研究

將評估 DHA 對於素食者血漿中 Lp(a)的影響。

(二)不同種魚類的魚油

Childs (36)以正常血脂男性為受試者，分別給予：1. Butter (奶油)，2. Pollock oil (鱈魚，富含 EPA，每 2000 卡的飲食中含 11.7 g EPA + 3.1 g DHA)，3. Tuna oil (鮪魚，富含 DHA，每 2000 卡的飲食中含 5.4 g EPA + 15.5 g DHA)，4. Salmon blend oil (鮭魚，EPA 與 DHA 含量相近，每 2000 卡的飲食中含 6.1 g EPA + 7.7 g DHA)等四種皆含 36%脂肪的飲食，結果顯示與 Butter 組 相比，三種魚油組 TG、VLDL-TG 皆明顯下降，HDL-C 也有顯著下降，且在 Pollock oil 組最為明顯，而 Tuna oil 組與 Salmon blend oil 組的 LDL-C 則有明顯下降。此外，Tuna oil 組與 Salmon blend oil 組的 TC 下降主要來自 LDL-C 的下降，而 Pollock oil 組的 TC 下降只要是來自於 HDL-C 的下降

類似的研究設計如 Vognild 等人(40)給予健康人每天 15 ml：1.cod liver oil (EPA 1.43 g，DHA 2.03 g)，2.olive oil，3.whale oil (refined) (EPA 0.59 g，DHA 0.89 g)，4.whale oil (crude) (EPA 0.50 g，DHA 0.63 g)，5.seal oil + cod liver oil (EPA 1.16 g，DHA 1.70 g)，6.olive oil + cod liver oil (EPA 0.87 g， DHA 1.17 g)。補充期 12 週，結果則發現所有魚油組 TG 皆有下降但未達顯著差異，而 TC 與 HDL-C 則無顯著影響。

(三)純化的 EPA 或 DHA

Mori 等人(41)以過重且輕微高血脂的男性為受試者，給予每天給予 4 g：1. EPA ，2. DHA，3. olive oil(安慰劑組)，補充期為 6 週，與安慰劑組相比 EPA 組與 DHA 組皆明顯下降 TG，且皆對 TC 無顯著影響。EPA 組對於 LDL-C、HDL-C 及 HDL_2-C 皆無顯著影響，但會降低 HDL_3-C，而 DHA 組對於 HDL-C 無顯著影響，但會增加 HDL_2-C 與 LDL-C 濃度。

Grimsgaard 等人(78)給予健康受試者 3.8 g EPA 或 3.8 g DHA，為期 7 週，結果發現，與控制組(corn oil 4 g)相比 EPA 與 DHA 組皆可明顯下降血中 TG 濃度，DHA 組的 HDL-C 明顯增加，且血清磷脂質中 EPA 與 DHA 濃度皆明顯增加。EPA 組的 TC 明顯下降，且血清中磷脂質中只有 EPA 明顯增加，而 DHA 濃度下降。

Hansen 等人(79)給予健康受試者 4 g EPA 或 4 g DHA，為期 5 週，EPA 與 DHA 組分別抑制餐後 TG 濃度 19%與 49%，顯見 DHA 比 EPA 更有效抑制了餐後 TG 的濃度。

Agren 等人(80)給予健康人不同的飲食介入，分為控制組、fish diet (每日 0.38 g EPA+ 0.67 g DHA)、魚油組(每日 1.33 g EPA+0.95 g DHA)及 DHA 組(每日 EPA-free，1.68 g DHA)，介入期 15 週，結果顯示 fish diet、魚油組與 DHA 組的血漿中 TG 皆下降，TC 皆沒有改變，而 HDL_2-C/HDL_3-C ratio 上升。

Conquer 與 Holub (48)給予健康人每日低劑量 DHA (0.75 g)或高劑量 DHA (1.5 g)，為期 6 週，對其 TG、TC、LDL-C、HDL-C 等皆無顯著影響。

Hamazaki 等人(81)給予正常血脂的健康人，含豐富 DHA 的魚油 5 g ，每日約提供 1.5~1.8 g DHA，控制組給予 control oil 5 g (97% soybean oil，3% sardine oil)，補充期 13 週，結果顯示 DHA 補充對於 TG、TC、HDL-C、LDL-C 以及 Lp(a)皆無顯著影響。

Nelson 等人(82)給予健康人每日低 DHA 的飲食(每日 DHA 小於 50 mg)為期 30 天，之後控制組仍維持低 DHA 飲食，實驗組給予高劑量 DHA (6 g)，為期 90 天，結果發現高劑量 DHA 組血漿中 TG 明顯下降，HDL-C 上升，而 TC、LDL-C 以及 Lp(a)皆無顯著改變。

Conquer 與 Holub (43)以健康的素食者為受試者，每天給予 9 g DHA oil (1.62 g DHA)，並以 9 g corn oil 為控制組，補充期 6 週，結果顯示血漿中 TG 明顯下降，TC、LDL-C 則沒有明顯改變，但 TC/HDL-C ratio、LDL-C/HDL-C ratio 明顯下降。

綜觀上述 EPA 與 DHA 的相關研究，可發現兩者皆一致的具有下降 TG 的作用，DHA 下降 TG 效果高於 EPA，且有部分研究認為 DHA 會增加 HDL-C (37, 82)，或 HDL2-C (37, 81)，而兩者對於 TC 皆無明顯作用，但是有研究認為 EPA 對於 TC 的影響是來自於 HDL-C 濃度的降低，而 DHA 則主要是降低 LDL-C 的濃度(36)，

第五節 心臟血管疾病危險因子之探討

一、LDL 氧化

1961 年，在動脈粥狀硬化的血管壁上，發現許多充滿脂肪的細胞，被稱為泡細胞，此種細胞被鑑定為 Macrophage，來自血液中之單核球(monocyte) (85)。

1980 年，Fogelman 等人(86)認為引起膽固醇堆積在 Marcophage 的 LDL 是經脂質過氧化產物 Maloindialdehyde (MDA)修飾過的 LDL。氧化修飾過的 LDL 可吸引血液中循環的單核球(monocyte)至血管內壁(87)，並誘發單核球分化成 Macrophage，使內皮細胞大量分泌促進 Macrophage 增生的因子(88)。研究指出，從動脈粥狀硬化上的泡細胞形成與慢性炎症過程開始，到最後造成動脈粥樣硬化血小板增加，這一系列的動脈硬化過程中，LDL 被氧化修飾在其中扮演關鍵性的角色，降低 LDL 被氧化的機會應可降低動脈粥狀硬化(89)，因此，分析 LDL 氧化抗性也成為另一個評估心血管疾病危險性的測量項目。

從動物(90)或人體實驗(91)均證實食用多元不飽和脂肪酸的膳食者，其 LDL 較易被氧化。近來更有許多研究針對魚油補充對於 LDL 氧化抗性的影響進行實驗，本文也將分析 DHA 補充對 LDL 氧化抗性的影響。

測 LDL 氧化的方法大致可分為三類。第一類是測脂肪的變化，如氧消耗量(92)、共軛雙鍵(conjugated diene) (93)、脂質過氧化物(94)、膽固醇氧化物(95)的形成，不飽和脂肪酸(91)與抗氧化劑之消失速度(96)、改變 amino acid 組成(97)、改變 apoB 的免疫反應性(98)，測 apoB 切斷情形，第三類是測生物活性的改變，如氧化型 LDL 被 macrophage 攝入分解的情形(99)，及對細胞的毒性試驗(100)。

本實驗選用第一類的 Conjugated diene 形成，TBARS 產生量來評估

LDL 被氧化的程度。Conjugated diene 是脂質剛氧化時的中間產物，自然界中，脂質的雙鍵是間隔 3 個碳原子，剛氧化時，會變成間隔 2 個碳原子，稱之為 conjugated diene，此時在 234 nm 有最大的吸光值。由於 LDL 為水溶性不必經萃取，故可以用一個樣品連續測量，因而得知潛伏期(lag time)時 counjugated diene 產生速率及最大產量(101)。Malondialdialdehyde (MDA)是不飽和脂肪酸氧化後期的產物，可與 Thiobarbituicacid (TBA)結合，而呈現粉紅色，故由 Thiobarbituic acid rectivesubstance (TBARS)產量可知 LDL 氧化的情形。

二、血漿中 Lipoprotein (a)濃度

1963 年 Berg (102)發現了一個特殊的的脂蛋白-Lp(a)，它至少含有兩種蛋白質，apo B-100 與 apo(a)，結構與 LDL 非常相似，其中 apo(a)含豐富的碳水化合物且高親水性，apo B-100 與 apo(a)之間主要以雙硫鍵橋共價結合，或其他非共價作用。

1981 年 kostner 等人(103)的研究發現心肌梗塞的危險性在 Lp(a) >30mg/dl 是 Lp(a)<30mg/dl 的 1.75 倍。此外，Lp(a)的組成同時與 LDL 及 plasminogen 相類似，因此認為 Lp(a)或許與動脈硬化、血栓形成有關(104)。而 Dahlen 等人(105)的研究則指出冠狀動脈損傷得分明顯與 Lp(a)相關。Armstrong 等人(106)發現在其他危險因子同時存在時 Lp(a)可更強烈預測 CHD。

臨床研究指出 Lp(a)與冠狀動脈心臟病(107)，心肌梗塞 (108)，coronary artery bypassgraft surgery (CABG)的狹窄(109)，家族性高膽固醇血症者 CHD 的發展(110)，percutaneous transluminal coronary angioplasty(PTCA)的狹窄(111)，及中風(112)等疾病之間有相關性。相反的，也有研究指出 Lp(a)濃度與 CABG 病人之間沒有顯著相關性(113)。

綜觀來看，Lp(a)與心血管疾病之間有密切相關應是不容置疑的，

且從前面的文獻回顧可知素食者血清中 Lp(a)明顯比大量攝取魚類者高（34-35），此現象增加素食者在心血管疾病的危險性，因此，本研究將評估單獨給予 DHA 對於素食者血漿中 Lp(a)的影響，以推測 DHA 對於素食者心血管疾病的有益影響。

三、尿液中 F2α-isoprostane 濃度

在許多疾病與老化過程的病理生理學中脂質過氧化都是一個很重要的影響因子(114)，不飽和脂肪酸的過氧化可經由酵素催化作用或非酵素性的自由基催化。過去已發展出數種評估非酵素性脂質過氧化作用的方法，但大部分的方法都有其缺點與限制(115)。因此更有效的測量方法仍不斷的被發展出來，測量尿液中 F2α-isoprostane 含量正是近來新興的生化指標之一，被用來評估人體內氧化壓力，其最大的優點即是尿液中 F2α-isoprostane 穩定性高增加準確度，且可利用光譜分析法或是免疫分析法測量屬於非侵入性測量方式，因而被廣泛使用。

F2α-isoprostane 是人體內經自由基催化花生四烯酸(arachidonic acid；AA)過氧化作用的生成物，屬於非酵素性過氧化反應， F2α-isoprostane 的形成是在磷脂質的位置且在血漿中進行循環，最後會排放到尿液中(116)。8-iso-prostaglandin F2α 正是 F2α-isoprostane 的異構物中最主要的。

研究指出 8-iso-prostaglandin F2α 可能具有生物作用，如血管收縮作用，調節肝臟與腎臟的症狀、動脈粥樣硬化、調節 3T3 細胞與血管平滑肌細胞的誘導突變(117)，可修飾細胞膜的流動性與完整性及參與調節氧化傷害的病理生理，且被認為可作為氧化傷害指標(116)。研究發現在氧化傷害的動物其體液中 8-iso-prostaglandin F2α 增加(118)，在某些疾病與狀態下 8-iso-prostaglandin F2α 的增加與自由基誘導的氧化傷害有關，例如吸煙(119)，糖尿病(120)，血管 reperfusion (121)，

高膽固醇血症(122)與肝臟硬化(123)等。

由於 F2α-isoprostane 與氧化傷害之間的密切關係,且其在尿液中的穩定性高，增加實驗準確性，因此本研究將分析尿液中 F2α-isoprostane 的含量，以評估 DHA 補充對於受試者體內氧化壓力的影響。

四、尿液中 Nitric oxide 濃度

自內皮細胞產生的 nitric oxide (NO)也稱為內皮的放鬆因子，是調節血管穩定性的重要因子。NO 可經由刺激血管平滑肌細胞放鬆來作為血管擴張劑，並可抑制平滑肌細胞增生與遷移，血小板聚集、黏著與白血球內皮交互作用，與抑制內皮細胞黏著分子的表現(124-125)。因此，內皮細胞中 NO 的生成與生物作用的損傷將會廣泛的影響到動脈粥樣硬化與血栓形成及其臨床的後遺症，例如心絞痛、心肌梗塞與缺血性中風等。

內皮生成的 NO 除了維持血管正常的穩定性外，在動脈粥樣硬化與相關疾病狀態下將造成 NO 生物活性傷害。大量的人體研究證實動脈粥樣硬化增加血管中氧化壓力，且動脈粥樣硬化的過程改變了內皮細胞的型態且損失 NO 的生物活性(126)。

研究指出氧化壓力會增加反應氧的種類與累積脂質過氧化產物堆積而造成 NO 活性損傷。有清楚的證據指出動脈產生超過氧化陰離子(superoxide anion)與內皮生成 NO 之間有密切相關。所有的細胞在正常氧化機制下皆會產生超過氧化陰離子。超過氧化陰離子與 NO 的作用形成過氧化亞硝酸鹽(peroxynitrite)，其作為 guanylylcyclase 的催化劑的效用非常低，因此，這個反應造成 NO 生物活性明顯的降低。過氧化亞硝酸鹽的形成更進一步的結果，造成脂質過氧化開始與 thiols 或 thyrosineresidues 的氧化的關鍵(127)。

脂質過氧化作用造成血管中活性氧產生增加，這個過程強烈影響

內皮功能與 NO 生物活性。例如氧化的 LDL (oxidized low-density lipoprotein；ox-LDL)對於內皮細胞具有細胞毒性(128)。Ox-LDL 會促進動脈壁補充發炎細胞，而增加局部活性氧產生導致 NO 的不活化(87)。此證明了 ox-LDL 與脂質過氧化產物能夠與 NO 直接作用且消除其生物活性。最後產生的脂質過氧化產物，包括 lysophosphatidylcholine，會阻礙訊息轉導與 NOS 的刺激活性及 guanylyl cyclase 的活化作用(129)。

在人體已有間接證據指出脂質過氧化與內皮功能之間有關聯。例如，內皮細胞成的 NO 活性與血漿 ox-LDL 呈負相關(130)，且內皮依賴的血管擴張作用與體外 LDL 氧化的易敏感性有關(131)。

脂質過氧化及氧化的 LDL 對於 NO 生物活性的不利影響，造成 NO 調節血管穩定性的功能降低，進而影響動脈粥樣硬化與血栓形成等臨床症狀，因此，評估 NO 的生物活性可間接了解心血管疾病發生的危險性。

五、停經

(一)停經的定義

女性隨著年齡增加卵巢會逐漸萎縮，卵巢功能喪失後的影響是不再週期性的排卵，同時也不能分泌足夠的女性荷爾蒙，表徵為[停經]。在本研究中的停經婦女意指停經一年以上，至少已經有六個月無月經或無子宮出血現象。

(二)停經對婦女的心血管疾病危險因子的影響

流行病學調查中常提到，停經後婦女罹患心血管疾病的機率或危險因子比停經前婦女來的高，或許是因為停經後婦女性荷爾蒙的分泌停止，影響到婦女脂質的代謝而導致心血管疾病罹患率增高(15，132)。

研究指出婦女從停經前到停經後脂質代謝的主要轉變包括血漿中 TG、TC 濃度會上升、LDL-C、HDL_3-C、apoB 濃度會上升，而 HDL-C 和 HDL_2-C 濃度則會下降(132)，apo-A II 會較停經前來的高，而且其 LDL 粒子會變得較小(133)。

心臟血管疾病相關危險因子中的 lipoprotein(a)也會受到停經的影響，目前的調查研究發現 lipoprotein(a)濃度甚少受到年齡、性別、肥胖或酒精攝取的影響(134)，但是抽煙者及婦女在停經期會有較高的 lipopeotein(a)濃度，故停經期女性荷爾蒙分泌的改變會影響 lipoprotein(a)濃度(134-135)，更有研究指出 Lp(a)與 TG 濃度是停經婦女有關冠狀動脈疾病嚴重程度的有效指標(136)。

停經除了影響血脂外其對於血管及內皮細胞功能也有影響，會使得血管收縮、血流減少，因而容易造成阻塞(137)。研究指出停經後婦女若未使用荷爾蒙補充則明顯降低子宮內膜與肌肉內膜中內皮細胞生成的 NO，反之持續使用荷爾蒙治療者則否(138)。且在動物實驗(139)或是給予停經婦女(140-141)補充女性荷爾蒙的研究，均證實雌激素對於 NO 的生成有促進作用，綜觀來看，停經對於 NO 可能有不利的影響。

以上這些似乎便是停經後婦女罹患粥狀動脈硬化或心血管疾病的危險因子特徵。正因為停經婦女屬於心臟血管疾病的高危險族群，因此本研究以素食且停經的婦女作為研究對象，給予純化的 DHA，分析對其心血管疾病危險因子的影響。