

引用:张文将,刘柏炎,陈雪梅,田丰铭,易健,陈博威,刘英飞,欧阳银,曾繁佐,彭艳梅,刘镇奎,屈波. 茯砖茶对高脂血症 APOE^{-/-}小鼠瘦素抵抗的影响[J]. 湖南中医杂志,2023,39(12):135-141.

茯砖茶对高脂血症 APOE^{-/-} 小鼠瘦素抵抗的影响

张文将¹,刘柏炎^{2,3},陈雪梅⁴,田丰铭^{3,4},易 健³,陈博威³,刘英飞^{3,4},

欧阳银^{3,4},曾繁佐^{3,4},彭艳梅²,刘镇奎⁵,屈 波⁴

(1. 陕西中医药大学,陕西 咸阳,712046;

2. 湖南省中医药研究院,湖南 长沙,410013;

3. 湖南中医药大学第一附属医院,湖南 长沙,410007;

4. 湖南中医药大学,湖南 长沙,410208;

5. 辽宁中医药大学,辽宁 沈阳,116600)

[摘要] 目的:探讨茯砖茶对高脂血症 APOE^{-/-}(载脂蛋白 E 敲除)小鼠瘦素抵抗(LR)的影响。方法:将 32 只 8 周龄 APOE^{-/-}小鼠随机分为模型组(灌胃等体积蒸馏水),茯砖茶低(1.44 g/kg·d)、高(2.16 g/kg·d)剂量组,阿托伐他汀组(2.88 mg/kg·d),每组各 8 只,高脂饮食喂养并同时予以相应药物连续灌胃干预 4 个月。另选 8 只 8 周龄 C57BL/6 小鼠作为正常组,予以普通饲料喂养。比较各组小鼠体质量、腹部脂肪质量、血清血脂[三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)]、瘦素(LEP)、胰岛素(INS)、脂联素(ADP);HE 染色比较各组脂肪组织细胞差异,免疫组化比较各组脑组织瘦素受体(LEPR)表达;RT-qPCR 检测各组小鼠脂肪组织中 LEP、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)的 mRNA 表达。结果:与模型组比较,茯砖茶高、低剂量组体质量,腹部脂肪质量,血清 TG、TC、LDL-C、LEP、INS 水平及脂肪组织中的 LEP、TNF- α 、IL-6 的 mRNA 表达均下降,脂肪细胞体积均减小,细胞排列较为有序($P<0.01$ 或 $P<0.05$),HDL-C、ADP 水平及下丘脑中 LEPR 表达均升高($P<0.05$)。结论:茯砖茶可以通过改善 LR,对抗高脂血症,其作用机制可能与其能调控脂肪组织 LEP、ADP 的释放及血清 INS 含量,增强下丘脑组织中 LEPR 的表达有关。

[关键词] 高脂血症;茯砖茶;APOE^{-/-};瘦素抵抗;胰岛素;脂联素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A DOI:10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2023.12.033

Effect of Fuzhuan Tea on leptin resistance in APOE^{-/-} mice with hyperlipidemia

ZHANG Wenjiang¹, LIU Baiyan^{2,3}, CHEN Xuemei⁴, TIAN Fengming^{3,4}, YI Jian³, CHEN Bowei³,

LIU Yingfei^{3,4}, OUYANG Yin^{3,4}, ZENG Fanzuo^{3,4}, PENG Yanmei², LIU Zhenkui⁵, QU Bo⁴

(1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, Shaanxi, China;

2. Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410013, Hunan, China;

3. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan, China;

4. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan, China;

5. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 116600, Liaoning, China)

基金项目:陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2021JM-478);陕西省中医体质与疾病防治重点实验室开放课题(KF202305);湖南省科技计划项目(2018JJ2412);湖南省中医药科研计划项目(201870)

第一作者:张文将,男,医学博士,讲师,研究方向:中医药防治脂代谢障碍相关疾病

通信作者:刘柏炎,男,医学博士,教授,博士研究生导师,研究方向:中医药防治心脑血管疾病, E-mail: liubaiyan@

[Abstract] Objective: To investigate the effect of Fuzhuan Tea on leptin resistance (LR) in APOE^{-/-} (apolipoprotein E knockout) mice with hyperlipidemia. Methods: A total of 32 APOE^{-/-} mice, aged 8 weeks, were randomly divided into model group (an equal volume of distilled water by gavage), low- and high-dose Fuzhuan Tea groups (1.44 and 2.16 g/kg/day, respectively), and atorvastatin group (2.88 mg/kg/day), with 8 mice in each group. The mice were given high-fat diet and the corresponding drug by gavage for 4 consecutive months. In addition, 8 C57BL/6 mice, aged 8 weeks, were selected as normal group and were given normal diet. The above groups were compared in terms of body weight, abdominal fat weight, serum lipids [triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C)], leptin (LEP), insulin (INS), and adiponectin (ADP); HE staining was used to compare adipose tissue cells between groups, and immunohistochemistry was used to measure the expression of leptin receptor (LEPR) in brain tissue; RT-qPCR was used to measure the mRNA expression levels of LEP, tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interleukin-6 (IL-6) in adipose tissue of mice. Results: Compared with the model group, the low- and high-dose Fuzhuan Tea groups had significant reductions in body weight, abdominal fat weight, the serum levels of TG/TC/LDL-C/LEP/INS, the mRNA expression levels of LEP/TNF- α /IL-6 in adipose tissue, and adipocyte volume, with relatively ordered arrangement of cells ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), as well as significant increases in the levels of HDL-C and ADP and the expression level of LEPR in the hypothalamus ($P < 0.05$). Conclusion: Fuzhuan Tea can exert a therapeutic effect on hyperlipidemia by improving LR, possibly by regulating the release of LEP and ADP in adipose tissue and the content of INS in serum and enhancing the expression of LEPR in the hypothalamus.

[Keywords] hyperlipidemia; Fuzhuan Tea; APOE^{-/-}; leptin resistance; insulin; adiponectin

高脂血症具有发病率高,并发症多等特点,是诱发动脉硬化、心脑血管卒中等疾病的重要潜在危险因素。《中国血脂管理指南(2023 年)》指出我国患血脂异常的人群维持在较高水平,且青少年发病人群逐渐升高^[1]。因此,研究高脂血症的防治具有重要的社会意义。瘦素(LEP)由脂肪组织合成,通过作用于下丘脑中的瘦素受体(LEPR)而参与血脂代谢的调节^[2]。高脂血症患者往往伴随瘦素抵抗(LR),而 LR 的出现将加重肥胖与高脂血症,继而形成恶性循环,诱发血糖升高或非乙醇性脂肪肝等并发症的产生^[3-4]。在 LR 的情况下 LEP 不能充分活化 LEPR 诱导下游通路的激活,进而造成糖脂代谢紊乱,导致高脂血症加重。临床虽有降低高脂血症的药物,但其所造成的肝损伤、横纹肌的溶解等毒副作用降低了患者临床依从性^[5]。茯砖茶具有消食、解肥腻等功效^[6],在降低血脂,抗动脉粥样硬化,改善非乙醇性脂肪肝等方面具有重要作用^[7-8]。基于此,本研究拟通过建立 APOE^{-/-}(载脂蛋白 E 敲除)小鼠的高脂血症模型,探究茯砖茶通过改善 LR 来发挥调控血脂作用的机制。

1 实验材料

1.1 实验动物 8 周龄雄性 APOE^{-/-}小鼠 32 只,

体质量(23±2)g,购于成都药康生物科技有限公司[动物许可证号:SCXK(川)2020-034],品系名 APOE Cas9-KO,遗传背景 C57BL/6,基因型:(APOE)KO/KO;8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠 8 只,体质量(23±2)g,购于陕西中医药大学实验动物中心[动物许可证号:SYXK(陕)2021-001]。所有小鼠饲养于陕西中医药大学实验动物中心 SPF 级动物房[实验单位使用许可证号:SYXK(陕)2021-001]。室内温度为:22~25℃。相对湿度为 50%~55%。所有小鼠均予以自由饮水,普通饲料适应性喂养 7 d。本动物实验已通过陕西中医药大学伦理办公室伦理审查(伦理审查号:SUCMDL20220101001)。

1.2 药物、饲料及试剂 2018 年金花老茯茶(陕西泾阳茯茶世家出品)。阿托伐他汀(辉瑞制药有限公司,批准文号:国药准字 H20051407,规格:10 mg/片,批号:8140414);高脂饲料(北京华阜康生物科技股份有限公司,型号:H10141);三酰甘油(TG)测定试剂盒(货号:A110-1-1),总胆固醇(TC)测定试剂盒(货号:A111-1-1),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)测定试剂盒(货号:A113-1-1),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测定试剂盒(货号:A112-1-1),均购于南京建成生物工程研究所有限公司;小鼠 LEP 酶联免

疫吸附剂测定(ELISA)试剂盒(货号:MM-0622M2),小鼠胰岛素(INS)ELISA试剂盒(货号:MM-0579M2),小鼠脂联素(ADP)ELISA试剂盒(货号:MM-0547M2),均购于江苏酶免实业有限公司。HE染色液(货号:G1002),LEPR抗体(货号:GB112091-100),均购于武汉赛维尔生物科技有限公司。RNAeasyTM动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)(货号:R0026),BeyoRTTMIII cDNA第一链合成试剂盒(货号:D7178M),BeyoFastTMSYBR Green qPCR Mix (2X,High ROX)(货号:D7265-25ml),均购于上海碧云天生物技术有限公司。

1.3 主要仪器 高速冷冻离心机:德国 Hermle 公司;光学显微镜:日本奥林巴斯公司;多功能酶标仪:美国 Perkinelmer 公司产品;核酸蛋白质浓度测定仪:英国 Bio-drop 公司;PCR 扩增仪:杭州晶格科学仪器有限公司;荧光定量 PCR 仪:美国 Bio-Rad 公司;生物组织自动脱水机:孝感亚光医用电子技术公司;石蜡包埋机:美国 Thermo Fisher Scientific 公司产品;石蜡切片机:美国 Thermo Fisher Scientific 公司产品;恒温干燥箱:上海福码实验设备有限公司产品。

2 实验方法

2.1 动物分组 适应性喂养7d后将8只C57BL/6小鼠作为正常组,32只APOE^{-/-}小鼠随机分为模型组、茯砖茶低剂量组、高剂量组、阿托伐他汀组,每组各8只。

2.2 模型制备 参照课题组既往制备高脂血症模型的方法^[9-10],所有APOE^{-/-}小鼠连续高脂饲料喂养4个月可复制高脂血症合并肥胖及动脉粥样硬化模型(TG、TC、LDL-C、HDL-C异常则表示造模成功),为更好地评估茯砖茶对高脂血症及肥胖的防治作用,高脂喂养同时每天予以相应药物或蒸馏水灌胃干预4个月。同时予以C57BL/6小鼠作为正常组连续普通饲料喂养4个月进行对照。

2.3 药物制备 2018年金花老茯茶。煎煮方法:戴无菌手套后用茶刀撬取所需质量茯砖茶放入无菌茶包,掰开呈分散状后系紧,加蒸馏水浸泡30 min(水量超过茶包2~3 cm),采用封闭电炉加热,大火煮沸后改用小火慢煎30 min,药液冷却后取汁另置。加蒸馏水淹没茶包再继续煎煮至沸腾后冷却过滤,合并2次过滤后的茶叶溶液置于蒸发

皿上,水浴锅设定为75℃恒温对茶叶溶液进行蒸发浓缩,最终分别定容成0.144、0.216 g/ml。阿托伐他汀现用现配,将10 mg阿托伐他汀放入玻璃研钵中碾碎成粉末状,加35 ml蒸馏水,最终定容0.288 mg/ml,玻璃棒搅拌为混悬液倒入离心管,放4℃冰箱储存。

2.4 给药方法 参照课题组前期研究情况,模型组予以同等体积的蒸馏水灌胃,茯砖茶低剂量组予以1.44 g/(kg·d)灌胃,茯砖茶高剂量组予以2.16 g/(kg·d)灌胃,阿托伐他汀组予以2.88 mg/(kg·d)灌胃。小鼠灌胃体积为0.01 ml/(g·d),以上小鼠连续灌胃给药4个月。

2.5 标本收集与处理 各组小鼠干预4个月后进行取材。取材前各组小鼠禁食12 h。运用1%戊巴比妥钠溶液对小鼠进行腹腔注射后,摘除小鼠左眼球进行取血。1.5 ml离心管收集血液,室温静置2 h后,置于高速冷冻离心机中离心,设置温度为4℃,转速3500 rpm。将分离好的血清转移至-80℃冰箱中冻存。将取血完成后的小鼠脱颈处死,置于冷冻操作台上。剪开小鼠胸腔,运用预冷的0.9%氯化钠注射液进行心脏灌注。使用眼科剪及眼科镊依次分离小鼠脑组织及脂肪组织。所有组织运用预冷的0.9%氯化钠注射液冲洗,滤纸吸干。每组选取3只小鼠的脑组织及脂肪组织运用多聚甲醛固定。剩余小鼠组织置于冻存管内,经液氮速冻后,转移至-80℃冰箱冻存。

2.6 观察指标

2.6.1 各组小鼠体质量及腹部脂肪组织重量比较 观察各组小鼠在干预前后的体质量变化,实验末,分离小鼠腹部脂肪组织比较重量差异。

2.6.2 各组小鼠血脂比较 于-80℃冰箱中取出冻存血清,置于冰上解冻。根据课题组前期的研究,将高脂饮食小鼠血清TG、TC、LDL-C、HDL-C运用蒸馏水进行1:1或1:2稀释^[4]。采用微板法检测血清血脂,遵照试剂盒的说明书进行操作。

2.6.3 各组小鼠血清INS、LEP、ADP比较 于-80℃冰箱中取出冻存血清,置于冰上解冻。遵照ELISA试剂盒的说明书进行操作。

2.6.4 组织脱水及HE染色 小鼠脂肪及脑组织用4%多聚甲醛固定48h后脱水,脱水条件如下:75%乙醇(50 min)→80%乙醇(50 min)→95% I 乙

醇(35 min)→95% II 乙醇(35 min)→无水乙醇 I(30 min)→无水乙醇 II(30 min)→二甲苯 I(35 min)→二甲苯 II(35 min)→石蜡 I(40 min)→石蜡 II(40 min)→石蜡 III(40 min),组织脱水包埋后切片,脱蜡至水进行 HE 染色,显微镜观察形态学变化。

2.6.5 免疫组化染色 组织切片常规脱蜡复水后采用柠檬酸缓冲液高温高压抗原修复法对石蜡切片进行修复,正式实验前根据说明书推荐一抗使用浓度确定各抗体最佳浓度,严格按照 SABC 免疫组化试剂盒操作步骤进行实验,采用 Olympus BX-51 光学显微镜拍摄组织 40 倍与 400 倍镜下图像,并于 400 倍下选取阳性部位 10 个不重复区域,运用 Image-pro Plus7.0 图像分析软件系统对切片进行分析,将图像分析系统导出的 EXCEL 数据计算平均光密度(AOD)数值,数值越高,代表阳性表达越显著。

2.6.6 各组小鼠脂肪组织实时荧光定量(RT-qPCR)检测相对定量比较 包括 LEP、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-6(IL-6),所有 PCR 引物序列下载自 Primer Bank 官网或采用 Primer 6.0 软件进行设计,交由生工引物公司合成。遵照试剂盒说明书进行总 RNA 的提取。引物序列详见表 1。

表 1 引物信息

引物名称	正向引物序列	反向引物序列	产物长度/bp
LEP	GGCAGTCTATCAACAGGTC	GACTAGACTGAGGCTTCCA	186
TNF-α	GTGGAAGTGGCAGAAGAG	GGAATGAGAAGAGCGTGAG	88
IL-6	TCCATCCAGTTCGCTTCT	TAAGCTCCGACTTGTGA	137
Alpha-Tubulin	CCTAAACAGGTGATAGGCCAAA	CTGCGCTTCCACAGAATCCA	652

2.7 统计学方法 运用 Graphpad Prism 9.0 作图软件进行统计分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析或非参数检验进行分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组小鼠体质量及腹部脂肪组织重量比较 与模型组比较,正常组、茯砖茶低剂量组、茯砖茶高剂量组、阿托伐他汀组小鼠干预前体质量比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);而干预后各组小鼠体质量均有所下降($P < 0.01$)。与模型组比较,正常组、茯砖茶低剂量组、茯砖茶高剂量组、阿托伐他

汀组的腹部脂肪组织重量均明显下降($P < 0.01$)。(见表 2)

表 2 各组小鼠体质量及腹部脂肪组织重量比较($\bar{x} \pm s, g$)

组别	只数	体质量		腹部脂肪组织重量
		干预前	干预后	
正常组	8	23.9±0.56	30.21±1.91 ^a	1.01±0.15 ^a
模型组	8	23.59±0.92	34.59±1.79	1.86±0.19
茯砖茶低剂量组	8	23.59±0.91	27.55±1.64 ^a	0.43±0.09 ^a
茯砖茶高剂量组	8	23.25±0.98	26.42±1.35 ^a	0.86±0.07 ^a
阿托伐他汀组	8	23.68±0.79	28.95±1.83 ^a	0.63±0.13 ^a

注:与模型组比较,^a $P < 0.01$ 。

3.2 各组小鼠血脂比较 与模型组比较,正常组、茯砖茶高剂量组、茯砖茶低剂量组、阿托伐他汀组小鼠干预后 TG、TC、LDL-C 明显下降,HDL-C 明显升高($P < 0.05$)。(见表 3)

表 3 各组小鼠血脂比较($\bar{x} \pm s, mmol/L$)

组别	只数	TG	TC	LDL-C	HDL-C
正常组	8	0.73±0.33 ^a	1.55±0.13 ^a	3.67±0.90 ^a	3.18±0.21 ^a
模型组	8	3.65±0.19	43.77±2.89	41.33±7.77	7.07±0.32
茯砖茶低剂量组	8	2.76±0.46 ^a	39.91±3.74 ^a	23.85±2.62 ^a	9.55±0.88 ^a
茯砖茶高剂量组	8	1.76±0.53 ^a	36.81±2.49 ^a	17.98±2.78 ^a	8.69±0.89 ^a
阿托伐他汀组	8	1.73±0.60 ^a	38.78±2.62 ^a	15.92±2.13 ^a	8.63±0.66 ^a

注:与模型组比较,^a $P < 0.05$ 。

3.3 各组血清 INS、LEP、ADP 比较 与模型组比较,正常组、茯砖茶低剂量组、茯砖茶高剂量组、阿托伐他汀组干预后血清 INS、LEP 明显下降,血清 ADP 明显升高($P < 0.05$)。(见表 4)

表 4 各组血清 INS、LEP、ADP 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	INS/mIU · L ⁻¹	LEP/pg · ml ⁻¹	ADP/μg · L ⁻¹
正常组	8	1.72±0.22 ^a	33.27±3.69 ^a	80.01±5.40 ^a
模型组	8	4.45±0.85	76.88±16.47	63.60±0.73
茯砖茶低剂量组	8	2.54±0.24 ^a	45.74±3.40 ^a	65.75±1.85 ^a
茯砖茶高剂量组	8	1.52±0.33 ^a	30.23±9.0 ^a	80.53±9.07 ^a
阿托伐他汀组	8	1.98±0.29 ^a	26.87±8.95 ^a	75.00±2.42 ^a

注:与模型组比较,^a $P < 0.05$ 。

3.4 各组小鼠腹部脂肪组织 HE 染色比较 小鼠腹部脂肪组织 HE 染色结果显示,正常组小鼠的脂肪细胞体积较小,排列较紧凑;模型组小鼠的脂肪组织细胞的体积明显大于正常组,且排列松散;与模型组比较,茯砖茶低、高剂量组及阿托伐他汀组的脂肪细胞体积均有减小,细胞排列较为有序。(见图 1)

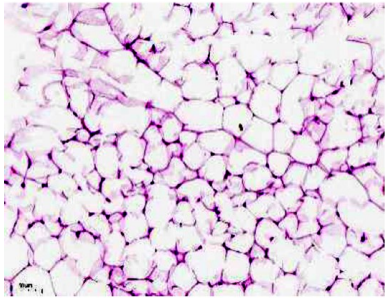


图1-1 正常组

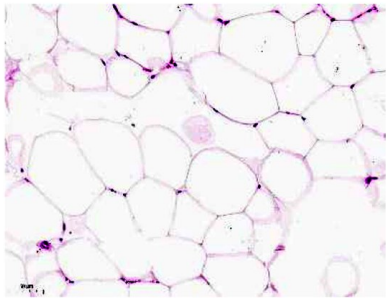


图1-2 模型组

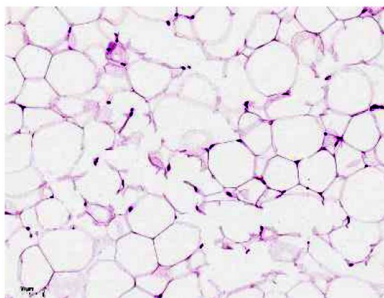


图1-3 茯砖茶低剂量组

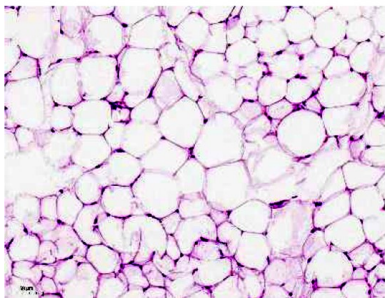


图1-4 茯砖茶高剂量组

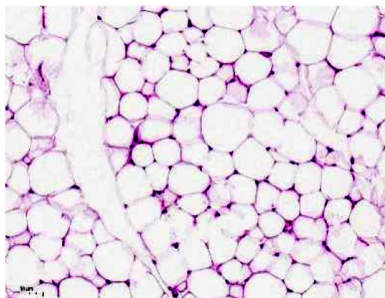


图1-5 阿托伐他汀组

图 1 各组小鼠腹部脂肪组织 HE 染色比较(200×)

3.5 各组小鼠下丘脑组织 LEPR 免疫组化表达比较 从免疫组化染色来看(见图 2),阳性表达主要集中于细胞浆中,呈棕黄色。与正常组比较,模型组小鼠下丘脑组织中 LEPR 表达的 AOD 值下

降($P<0.05$);与模型组比较,茯砖茶低、高剂量组及阿托伐他汀组小鼠 LEPR 表达的 AOD 值升高($P<0.05$)(见图 3)。

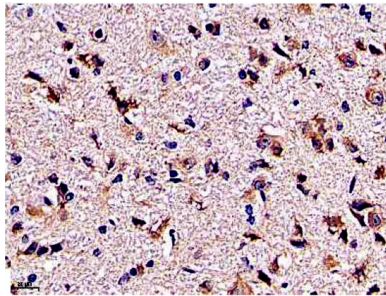


图2-1 正常组

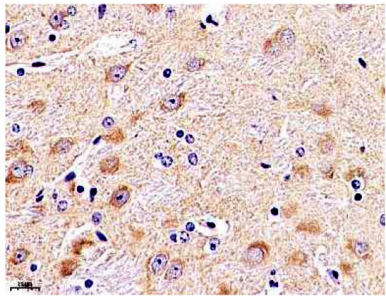


图2-2 模型组

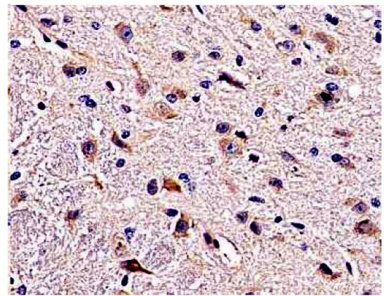


图2-3 茯砖茶低剂量组

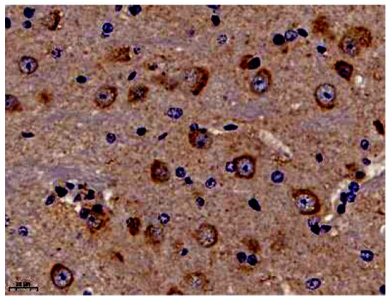


图2-4 茯砖茶高剂量组

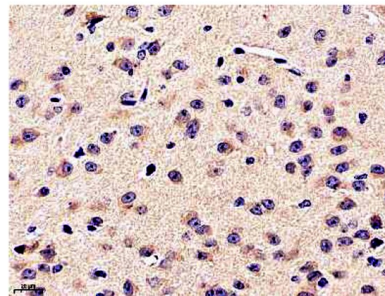
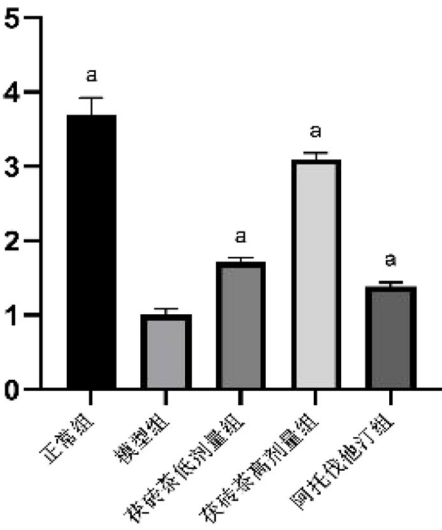


图2-5 阿托伐他汀组

图 2 各组小鼠下丘脑组织 LEPR 免疫组化表达比较(400×)



注:与模型组比较,^a*P*<0.05。

图3 各组小鼠脑组织 LEPR AOD 相对定量比较(*n*=3)

3.6 各组小鼠脂肪组织 RT-qPCR 检测相对定量比较 与正常组比较,模型组小鼠脂肪组织中的 LEP、TNF-α、IL-6 的 mRNA 表达升高(*P*<0.05);与模型组比较,茯砖茶低、高剂量组及阿托伐他汀组小鼠 LEP、TNF-α、IL-6 的 mRNA 表达下降(*P*<0.05)。(见表 5)

表5 各组小鼠脂肪组织 RT-qPCR 检测相对定量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	LEP	TNF-α	IL-6
正常组	8	0.018±0.013 ^a	0.027±0.027 ^a	0.005±0.003 ^a
模型组	8	1.052±0.129	1.000±0.180	1.100±0.182
茯砖茶低剂量组	8	0.474±0.109 ^a	0.288±0.111 ^a	0.146±0.035 ^a
茯砖茶高剂量组	8	0.054±0.019 ^a	0.174±0.034 ^a	0.049±0.006 ^a
阿托伐他汀组	8	0.112±0.054 ^a	0.189±0.050 ^a	0.120±0.036 ^a

注:与模型组比较,^a*P*<0.05。

4 讨 论

茯砖茶作为发酵茶始祖,被边疆牧民誉为“生命之饮”。现代研究证实茯砖茶除了具备绿茶所富含的茶多酚和茶多糖外,在发酵的过程中经过生物转化又产生了茶黄素、茶红素、茶褐素、冠突散囊菌等新的物质^[11]。冠突散囊菌属作为优势益生菌可产生各种胞外酶,抗氧化能力强,研究发现茯砖茶具有洛伐他汀成分,被认为是医学领域具有应用潜力的微生物,得到越来越多的科研人员的重视与关注^[12]。诸多研究证实茯砖茶在改善糖脂代谢、减轻脂肪蓄积等方面确有疗效^[13-14]。Du H 等^[15]研究

证实茯砖茶可通过调节骨骼肌中胰岛素信号转导级联以改善高脂血症大鼠胰岛素抵抗及慢性肾损伤。LR 的出现将加重肥胖与高脂血症,茯砖茶是否调控 LR 以达到促进脂质代谢的效果不得而知,基于此,本研究以茯砖茶调控 LR 的角度为切入点,对茯砖茶的降脂作用进行深入探讨。

LEP 和 ADP 的里程碑式发现牢固地确立了脂肪组织作为一种复杂且高度活跃的内分泌器官,肥胖相关的高 LEP 血症和低 ADP 血症都是预测心血管结局的重要生物标志物,冠心病患者粥样硬化程度与 LEP/ADP 的比值呈正相关^[16-17]。在生理条件下 LEP 由脂肪细胞分泌的激素通过作用于下丘脑的 LEPR,抑制食欲和促进脂肪分解^[18]。肥胖或存在高血脂症的患者由于 LEPR 通路活化受到抑制^[19],从而导致肥胖和高脂血症的发生,故 LEPR 通路的活化在调节脂质代谢中发挥着重要作用。ADP 亦由脂肪细胞分泌,属于胰岛素增敏剂,能够促进脂肪酸的氧化分解,在对抗炎症及动脉粥样硬化的过程中发挥重要作用^[20]。由此可见 LEP、ADP 的水平变化在调节组织代谢方面具有重要意义。

研究表明肥胖患者出现血清中 LEP 水平升高和 LEPR 表达下降的不匹配现象,从而抑制了机体对 LEP 的敏感性,即 LR^[21]。本实验模型组小鼠血清及脂肪组织中 LEP 表达升高,但是下丘脑组织 LEPR 表达降低,证实本实验 LR 成功复制了小鼠模型。推测机体 LEP 表达升高是机体为了维持脂代谢的平衡而做出的反馈代偿升高,但是由于下丘脑组织 LEPR 低表达,LEP 不能充分活化 LEPR 诱导下游通路的激活,进而造成脂代谢紊乱。而茯砖茶干预给药可增加下丘脑 LEPR 表达,改善 LR 现象,发挥了较好的降脂和抑制脂肪组织沉积的效果。

该模型小鼠除了伴有 LR 外,从模型组小鼠 INS、LEP 水平较高,ADP 水平较低,体质量及血脂偏高伴有腹部脂肪大量沉积现象,说明长期高脂诱导 APOE^{-/-}小鼠导致胰岛素抵抗合并 LR 现象的发生。推测体内的高胰岛素现象也是由于机体为了维持血糖的相对稳定而做出的反馈代偿调节。茯砖茶干预给药可提高血清中 ADP 水平,降低 INS、LEP 水平,分析可能茯砖茶可通过刺激脂肪细胞分泌胰岛素增敏剂 ADP,促进对 INS、LEP 的摄取,揭示茯砖茶具有增强机体对 INS、LEP 敏感性的潜力。

故茯砖茶可有效控制小鼠体质量和抑制脂类物质在腹部的沉积,较好的抑制血清中 LDL-C、TC、TG 水平,提高 HDL-C 水平。

从高脂诱导的 APOE^{-/-}模型组小鼠脂肪组织的炎症因子高表达来看,APOE^{-/-}小鼠体内呈慢性炎症反应状态,模型组脂肪组织 HE 染色镜下观可见脂肪细胞体积增大、脂肪组织增长过快。而茯砖茶干预后由于可抑制脂肪组织的沉积,故脂肪细胞体积适中,排列均匀,脂肪组织炎症表达降低。综上所述,茯砖茶能够通过影响脂肪组织 LEP、ADP 的释放,促进下丘脑 LEPR 的表达,发挥抗 LR 的作用以调控脂质代谢。

参考文献

- [1] 李建军,赵水平,高润霖,等. 中国血脂管理指南(2023 年)[J]. 中国循环杂志,2023,38(3):237-271.
- [2] IRVING A, HARVEY J. Regulation of hippocampal synaptic function by the metabolic hormone leptin: Implications for health and disease[J]. Prog Lipid Res, 2021, 82(3): 101098.
- [3] 朱建忠,赵灿,隋月林,等. 瘦素对糖尿病大鼠糖脂代谢及炎症因子的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2020, 36(3): 197-201.
- [4] GRUZDEVA O, BORODKINA D, UCHASOVA E, et al. Leptin resistance: Underlying mechanisms and diagnosis [J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2019, 12: 191-198.
- [5] HUSSAIN A, KALER J, RAY S D. The benefits outweigh the risks of treating hypercholesterolemia: The statin dilemma[J]. Cureus, 2023, 15(1): e33648.
- [6] 汤艳,易健,彭千元,等. 安化黑茶药用价值小议[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(9): 3461-3463.
- [7] 张文将,刘圆月,易健,等. 安化黑茶减轻高脂诱导的 ApoE^{-/-}小鼠非乙醇性脂肪肝[J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(7): 1274-1280.
- [8] 张文将,刘圆月,范文涛,等. 茯砖茶对 ApoE^{-/-}小鼠肝脂合成和氧化应激影响[J]. 食品与生物技术学报, 2021, 40(3): 103-111.
- [9] 张文将,段丽芳,孟涛,等. 基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路探讨茯砖茶改善 ApoE^{-/-}小鼠非酒精性脂肪肝的作用[J]. 中成药, 2023, 45(10): 3429-3432.
- [10] 张文将,易健,贾平,等. 安化黑茶对载脂蛋白 E 敲除小鼠动脉粥样硬化的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2020, 39(4): 76-84.
- [11] 王宇,胡文忠,管馨馨,等. 茯砖茶主要化学成分及其功效研究进展[J]. 大连民族大学学报, 2020, 22(1): 16-20.
- [12] 覃金球,罗美玲,张旋,等. 冠突散囊菌医药价值研究进展[J]. 食品工业科技, 2018, 39(24): 336-339.
- [13] WANG Y, ZHAO A, DU H, et al. Theabrownin from Fu brick tea exhibits the thermogenic function of adipocytes in high-fat-diet-induced obesity[J]. J Agric Food Chem, 2021, 69(40): 11900-11911.
- [14] YOO A, JUNG KIM M, AHN J, et al. Fuzhuan brick tea extract prevents diet-induced obesity via stimulation of fat browning in mice[J]. Food Chem, 2022, 377: 132006.
- [15] DU H, WANG Q, YANG X. Fu brick tea alleviates chronic kidney disease of rats with high fat diet consumption through attenuating insulin resistance in skeletal muscle [J]. J Agric Food Chem, 2019, 67(10): 2839-2847.
- [16] ZHAO S, KUSMINSKI C M, SCHERER P E. Adiponectin, leptin and cardiovascular disorders[J]. Circ Res, 2021, 128(1): 136-149.
- [17] VARKANEH KORD H, M TINSLEY G, O SANTOS H, et al. The influence of fasting and energy-restricted diets on leptin and adiponectin levels in humans: A systematic review and meta-analysis[J]. Clin Nutr, 2021, 40(4): 1811-1821.
- [18] TANG Q, GODSCHALL E, BRENNAN C D, et al. Leptin receptor neurons in the dorsomedial hypothalamus input to the circadian feeding network[J]. Sci Adv, 2023, 9(34): eadh9570.
- [19] PERRY R J, LYU K, RABIN-COURT A, et al. Leptin mediates postprandial increases in body temperature through hypothalamus-adrenal medulla-adipose tissue crosstalk [J]. J Clin Invest, 2020, 130(4): 2001-2016.
- [20] WANG Y, MA X L, LAU W B. Cardiovascular adiponectin resistance: The critical role of adiponectin receptor modification [J]. Trends Endocrinol Metab, 2017, 28(7): 519-530.
- [21] ANDREOLI MF, DONATO J, CAKIR I, et al. Leptin resensitization: A reversion of leptin resistant states [J]. J Endocrinol, 2019, 241(3): R81-R96.

(收稿日期:2023-11-10)

[编辑:徐霜俐]