

香灰菌发酵茶水提取物对高血脂小鼠脂质代谢的影响

卢月, 胡永强, 夏雨弘, 刘洪存, 齐晋, 皮杜娟, 杨立芳, 姜明国

Effects of Aqueous Extracts from *Annulohyphoxylon stygium* Fermented Tea on Lipid Metabolism in Hypolipidemic Mice

LU Yue, HU Yongqiang, XIA Yuhong, LIU Hongcun, QI Jin, PI Dujuan, YANG Lifang, and JIANG Mingguo

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022070308>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

白耙齿菌发酵茶体内降血脂及保护肝脏作用的研究

Hypolipidemic Effect and Liver Protection of *Irpex lacteus* Fermented Tea *in Vivo*

食品工业科技. 2021, 42(24): 334-339 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021030168>

反枝苋水提取物对高脂饮食小鼠的降血脂作用

Effect of Water Extract of *Amaranthus retroflexus* on Blood Lipid on Mice Induced by High Fat Diet

食品工业科技. 2020, 41(19): 316-320 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.19.049>

桑叶茯砖茶多糖的响应面提取工艺优化及其体外抗氧化降血脂作用

Optimization of Polysaccharides Extraction from Mulberry Leaves Fu Brick Tea by Response Surface Methodology and Its Antioxidant Activities & Hypolipidemic Effects *in Vitro*

食品工业科技. 2018, 39(18): 193-200 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.18.034>

高效液相色谱法同时测定香灰菌发酵液中L-苯丙氨酸和2-苯基乙醇

Simultaneous Detection of L-phenylalanine and 2-phenylethanol in *Hypoxylon* sp. Fermented Liquid by HPLC

食品工业科技. 2020, 41(14): 210-215 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.14.034>

原人参三醇组皂苷酶解产物对高脂模型小鼠的降血脂作用

Effect of Protopanaxatriol Group Saponin Hydrolysate on Hyperlipemia of Mice Induced by High Fat Diet

食品工业科技. 2019, 40(21): 286-289,299 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.21.047>

山楂、甾醇酯及功能红曲复配物的降血脂活性

Hypolipidemic Activity of Hawthorn, Sterol Ester and Functional Red Yeast Rice Compound

食品工业科技. 2019, 40(20): 316-324 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.20.051>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

卢月, 胡永强, 夏雨弘, 等. 香灰菌发酵茶水提物对高血脂小鼠脂质代谢的影响 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(15): 378–384. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070308

LU Yue, HU Yongqiang, XIA Yuhong, et al. Effects of Aqueous Extracts from *Annulohypoxylon stygium* Fermented Tea on Lipid Metabolism in Hypolipidemic Mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(15): 378–384. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070308

· 营养与保健 ·

香灰菌发酵茶水提物对高血脂小鼠 脂质代谢的影响

卢月¹, 胡永强¹, 夏雨弘², 刘洪存¹, 齐晋¹, 皮杜娟¹, 杨立芳^{2,*}, 姜明国^{1,*}

(1. 广西民族大学海洋与生物技术学院, 广西多糖材料与改性重点实验室, 广西南宁 530008;

2. 广西民族大学化学化工学院, 广西林产化学与工程重点实验室, 广西海洋微生物资源产业化工程技术研究中心, 广西南宁 530008)

摘要: 为探究香灰菌发酵茶水提物 (ASTAE) 的降血脂以及肝脏保护功效, 采用高脂饲料诱导构建高血脂小鼠模型, 将 80 只昆明小鼠随机分为空白对照组 (CK)、模型组 (HF)、阳性对照组 (UA, 200 mg/kg)、绿茶组 (GT, 400 mg/kg)、香灰菌组 (AS, 400 mg/kg) 以及香灰菌发酵茶水提物高 (HA, 400 mg/kg)、中 (MA, 200 mg/kg)、低剂量组 (LA, 100 mg/kg)。造模成功后, 各组小鼠灌胃相应浓度的药物或茶汤, 5 周后, 检测血清中总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 及谷丙转氨酶 (AST)、谷草转氨酶 (ALT)、肌酐 (Scr)、尿素氮 (BUN) 和脂联素 (ADPN) 的含量; 测定脏器指数, 通过 HE、油红 O 染色法观察肝脏脂肪病变及分布情况。结果显示: 与 HF 组相比, HA 组能极显著降低高血脂小鼠 TC、TG、LDL-C、AST、ALT、BUN、Scr 水平 ($P < 0.01$); 极显著升高 HDL-C、ADPN 水平 ($P < 0.01$); HA、MA 组可明显改善肝脏组织病理学结构, 减少肝脏脂肪颗粒。结果表明 ASTAE 可以改善高血脂小鼠血脂异常, 减少高血脂小鼠肝脏中脂质沉积, 其机制可能是通过调节高血脂小鼠体内脂联素含量水平, 来实现对脂肪代谢的调控作用, 进而达到降血脂、改善脂肪肝和保护肝脏的作用。

关键词: 香灰菌, 香灰菌发酵茶, 降血脂, 脂联素, 肝脏保护

中图分类号: R151.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)15-0378-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070308

本文网刊:



Effects of Aqueous Extracts from *Annulohypoxylon stygium* Fermented Tea on Lipid Metabolism in Hypolipidemic Mice

LU Yue¹, HU Yongqiang¹, XIA Yuhong², LIU Hongcun¹, QI Jin¹, PI Dujuan¹, YANG Lifang^{2,*},
JIANG Mingguo^{1,*}

(1. Guangxi Key Laboratory for Polysaccharide Materials and Modifications, School of Marine Sciences and Biotechnology, Guangxi Minzu University, Nanning 530008, China;

2. Guangxi Marine Microbial Resources Industrialization Engineering Technology Research Center, Guangxi Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products, School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi Minzu University, Nanning 530008, China)

Abstract: To study the effect of *Annulohypoxylon stygium* fermented tea aqueous extracts (ASTAE) on blood lipids and liver protection in mice, 80 male KM mice were established hyperlipidemic model by high-fat diet induction, and then

收稿日期: 2022-08-02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81960164); 广西重点研发计划项目 (桂科 AB21196020); 广西科技重大专项 (桂科 AA18242026); 广西科技基地和人才专项 (桂科 AD18126005); 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目 (2021KY0175)。

作者简介: 卢月 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 微生物制药及分子药理, E-mail: 15776507100@163.com。

*** 通信作者:** 杨立芳 (1969-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 药用植物和微生物次生代谢产物活性及有效成分研究, E-mail: yanglf1990@163.com。

姜明国 (1973-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 微生物资源开发与利用, E-mail: mzyjyjinang@163.com。

randomly divided into eight groups: blank control group (CK), model group (HF), positive control group (UA, 200 mg/kg), green tea group (GT, 400 mg/kg), *Annulohypoxylon stygium* group (AS, 400 mg/kg), and high (HA, 400 mg/kg), medium (MA, 200 mg/kg) and low (LA, 100 mg/kg) dose *Annulohypoxylon stygium* fermented tea aqueous extracts groups. After 5 weeks, serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN) and adiponectin (ADPN) levels were detected. Detect the organ index, and liver fat lesions and distribution were observed by HE and oil red O staining. The results showed that compared with the HF group, the HA group could extremely significantly reduce the levels of TC, TG, LDL-C, AST, ALT, BUN and Scr in hyperlipidemia mice ($P < 0.01$). The levels of HDL-C and ADPN were significantly increased ($P < 0.01$). It could improve the degree of fatty liver histopathology and reduce liver fat particles in the HA and MA groups. The results suggested that the ASTAE could improve dyslipidemia in hyperlipidemia mice and reduced lipid deposition in the liver of hyperlipidemic mice. The mechanism might be by increasing the level of adiponectin and regulating fat metabolism, to reduce blood lipids levels, improve the fatty liver disease and protect liver.

Key words: *Annulohypoxylon stygium*; *Annulohypoxylon stygium* fermented tea; hypolipidemic; adiponectin (ADPN); liver protection

高血脂症是常见的代谢紊乱性疾病中的一种^[1],是导致糖尿病、高血压发生的一个重要的因素,同时还可能引起动脉粥样硬化、心脑血管疾病及肝硬化、脂肪肝等疾病^[2-3],其主要特征是人体中的血脂水平异常,即总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL-C)高于正常含量水平,而高密度脂蛋白(HDL-C)的含量低于正常水平^[4]。

食药菌发酵茶是以茶叶为基质,与食药菌进行共发酵加工而成的一种发酵菌茶。发酵菌茶兼具两者的优点,不仅冲泡方式简单,营养物质更易被人体吸收,并且其含有的活性物质在降血脂,预防动脉硬化,改善脂质代谢等症状有着显著的效果,因此食药菌发酵茶广泛被人们接受和喜爱,并且没有副作用^[5]。茯苓发酵茶的利尿效果要优于茯苓和原茶,人工接种发酵的茯砖茶能够降低含氮量,降低肥胖大鼠 TG、TC 水平,提高 HDL-C 水平^[6]。白耙齿菌发酵茶降血脂,抗氧化和肝脏保护的作用优于白耙齿菌和原茶^[7]。香灰菌(*Annulohypoxylon stygium*)是一种碳团菌属真菌,含有蛋白质、多糖、矿物元素、氨基酸、粗纤维等物质,特别是当菌丝生长到一定阶段后,有大量真菌黑色素生成,其营养价值高,具有抗氧化、抗衰老、抗病毒、降血糖、降血脂、免疫调节等功效^[8-9]。目前对香灰菌的研究主要集中在银耳栽培方面,其在茶叶发酵及降血脂、肝脏保护等方面的应用未见报道。

基于课题组对于香灰菌的前期研究,发现其提取物在降脂方面有着显著的效果。为了充分开发和利用香灰菌的抗氧化、改善糖脂代谢的功能,实验首次就香灰菌与茶叶共发酵培养制得的香灰菌发酵茶改善高血脂小鼠脂质代谢的影响开展研究,拟建立高血脂小鼠模型,探索香灰菌发酵茶水提物(ASTAE)对高血脂小鼠血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、谷丙转氨酶(AST)、谷草转氨酶(ALT)、肌酐(Scr)、尿氮素(BUN)等脂代谢相关指标以及脂

联素(ADPN)的影响,评价香灰菌发酵茶水提物对高血脂血症小鼠肝脏和肾脏的保护作用,为香灰菌的应用开发、茶叶深加工和茶产品品种的丰富提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

SPF 级 KM 雄性小鼠 80 只,体重 20 ± 2 g,广西医科大学动物实验中心,实验动物生产许可证号:SCXK(桂)2014-0002,实验动物使用许可证号:201609001;小鼠基础饲料 广西医科大学动物实验中心;熊果酸 北京索莱宝科技有限公司;TC、TG、HDL-C、LDL-C、AST、ALT 测定试剂盒 南京建成生物工程研究所;小鼠 Adiponectin ELISA 测定试剂盒 深圳欣博盛生物科技有限公司;胆固醇(批号:C10178156)、猪胆盐(批号:C10203440) 上海麦克林生化科技有限公司;猪油 自制,市场采购猪板油进行炼制而成;蛋黄粉 自制,市场采购生鸡蛋,煮熟后取蛋黄烘干,研磨后所得;绿茶 广西梧州圣源茶业有限公司;香灰菌发酵茶叶 广西民族大学广西多糖材料与改性重点实验室自主开发;香灰菌(*Annulohypoxylon stygium*) Gxun.10030,于 2021 年 11 月 19 日保藏于中国普通微生物菌种保藏管理中心,保藏编号:CGMCCNO.23847。

ZHJH-C11068 型超净工作台 上海智城分析仪器制造有限公司;Olympus CKX41 型倒置荧光显微镜 日本 Olympus;7100 型全自动生化试剂仪 日本日立;Epoch 型全波长酶标仪 美国 BioTek。

1.2 实验方法

1.2.1 香灰菌发酵茶水提物(ASTAE)的制备 将驯化后的香灰菌接种在上述绿茶上,在温度 28°C ,湿度 80% 的条件下发酵培养,待茶叶裹满菌丝后,烘干即得香灰菌发酵茶。称取上述香灰菌发酵茶 2 g,加入 200 mL 蒸馏水煮沸 5 min,过滤,收集茶汤,剩余残渣再次加入 200 mL 蒸馏水,按上述操作重复提

取 3 次,将所有茶汤合并,浓缩至 50 mL,即配成浓度为 40 mg/mL 的香灰菌茶发酵茶水提物,采用倍半稀释的方法配制 20、10 mg/mL 的香灰菌茶发酵茶水提物。采用上述的方法制备浓度为 40 mg/mL 的绿茶水提物^[7]。

香灰菌水提物的制备:将香灰菌的菌丝体用蒸馏水洗净,菌丝体与蒸馏水重量比为 1:100,于 100 ℃ 下萃取 10 min,过滤得滤液,重复三次上述萃取过程,合并滤液,浓缩得香灰菌水提物浸膏,冷冻干燥后得粉末状的香灰菌水提物。称取香灰菌水提物 0.4 g,溶于 10 mL 蒸馏水中,配制成浓度为 40 mg/mL 的香灰菌水提物。

1.2.2 高血脂模型构建及给药方式 雄性 KM 小鼠 80 只,适应性喂养一周,饲养温度 25±1 ℃,相对湿度 60%±5%,光照昼夜各 12 h,随机分为 8 组,每组 10 只,其中一组作为空白对照组(CK),实验全程喂养基础饲料,剩余 70 只小鼠给予高脂饲料(78.8% 基础饲料加入 1% 胆固醇、10% 蛋黄粉、10% 猪油、0.2% 猪胆盐)建模 5 周后,禁食不禁水 12 h,尾尖取血,3000 r/min 离心 10 min,取血清,测定每只小鼠的血脂水平,与空白对照组血脂水平比较,若 $P<0.05$ 或 $P<0.01$,则示造模成功。将 70 只高血脂小鼠随机分配成 7 组(每组 10 只),即模型组(HF)、绿茶组(GT, 400 mg/kg)、熊果酸阳性对照组(UA, 200 mg/kg)、香灰菌组(AS, 400 mg/kg)、香灰菌发酵茶水提物高(HA, 400 mg/kg)、中(MA, 200 mg/kg)、低剂量组(LA, 100 mg/kg),上述动物均按照 10 mg/kg 的体积灌胃。空白对照组和模型组灌胃等剂量的生理盐水,其他组给予相应浓度的供试物。实验期间小鼠自由进食和饮水,每天观察记录各组小鼠的精神及活动状态,毛发变化情况,连续给药 5 周,每周称一次体重^[10-11]。

1.2.3 香灰菌发酵茶降血脂及保护肝肾作用的检测

末次给药后,眼球取血,将血液置于 1.5 mL 离心管内,3000 r/min 离心 10 min,取血清,利用试剂盒及全自动生化分析仪检测血清中 TC、LDL-C、TG、HDL-C 及 BUN、Scr、AST、ALT、ADPN 含量水平^[7]。

处死小鼠并解剖,剥离小鼠肝脏、心脏、肾脏称重,计算脏器指数。将肝脏置于 4% 多聚甲醛中固定,取一部分石蜡包埋并进行切片后 HE 染色,另一部分使用 OTC 包埋,冷冻切片,使用油红 O 染色。显微镜下观察肝脏组织病理情况以及肝脏脂肪颗粒的分布情况。脏器指数按下式计算:

$$\text{脏器指数}(\%) = \frac{\text{脏器重量(g)}}{\text{小鼠体重(g)}} \times 100$$

1.3 数据处理

采用 SPSS 21.0 统计学软件进行数理统计,多组间使用单因素方差分析(ANOVA)进行比较,两两比较使用 LSD 法,组内、组间使用 t 检验进行统计,实验结果以“平均值±标准差”表示,差异显著水平为 $P<0.05$,差异极显著水平为 $P<0.01$ 。

2 结果与分析

2.1 ASTAE 对高血脂小鼠脏器指数的影响

在实验过程中,CK 组小鼠毛发顺滑有光泽,没有出现互相撕咬的情况;HF 小鼠毛发稀疏,精神状态较差,少动;香灰菌发酵茶水提物组和 UA 组小鼠精神状态有所改善,实验全程无小鼠死亡。由表 1 可知,HF 组小鼠的体重最大,体重超过了 CK 组体重的 28%,这与钱珊珊等^[12] 研究结果一致;药物治疗组小鼠的体重均有所降低,其中香灰菌发酵茶水提物各剂量组的体重均低于模型组,与 HF 组相比,高、中剂量组极显著降低了高血脂小鼠的体重($P<0.01$),且低于 GT 组和 AS 组,说明灌胃香灰菌发酵茶水提物能有效的降低高血脂小鼠的体重。

表 1 ASTAE 对高血脂小鼠体重和脏器指数的影响
Table 1 Effects of ASTAE on body weight and organ index of hyperlipidemic mice

组别	体重(g)	肝脏指数(%)	心脏指数(%)	肾脏指数(%)
CK	38.27±3.42 [#]	3.09±0.20 [#]	0.40±0.03 [#]	1.03±0.13 [#]
HF	48.88±2.28 ^{**}	3.70±0.36 [*]	0.49±0.06 [*]	1.26±0.13 [*]
UA	38.46±3.87 [#]	2.81±0.27 [#]	0.48±0.09 [*]	1.04±0.16 [#]
HA	38.91±4.26 [#]	2.55±0.94 [#]	0.43±0.05	0.98±0.16 [#]
MA	39.36±4.11 [#]	2.87±0.23 [#]	0.47±0.08	1.08±0.18 [#]
LA	42.81±3.79 ^{#*}	2.78±0.13 [#]	0.46±0.07	1.08±0.15 [#]
GT	40.72±4.70 [#]	2.64±0.26 [#]	0.46±0.10	1.04±0.19 [#]
AS	42.96±4.02 [*]	2.59±0.72 [#]	0.45±0.03	1.02±0.19 [#]

注:与模型组相比,[#] $P<0.01$ 或[#] $P<0.05$;与空白对照组相比,^{*} $P<0.05$ 或^{**} $P<0.01$;表2~表4同。

模型组小鼠的肝脏、心脏和肾脏指数分别为 CK 组的 1.20、1.23 和 1.22 倍,均显著高于正常组($P<0.05$)。香灰菌发酵茶水提物各剂量组小鼠的肝脏指数、心脏指数、肾脏指数均低于模型组,相比于 HF 组,各组小鼠的肝脏指数显著下降,且具有极显著性差异($P<0.01$),肾脏指数显著性下降($P<0.05$),说明灌胃给予香灰菌发酵茶水提物能够有效的预防高血脂小鼠心脏、肝脏、肾脏质量的增加,改善高脂饮食引起的脏器质量增加,一定程度上起到了保护脏器的作用。

2.2 ASTAE 对高血脂小鼠血脂水平的影响

ASTAE 对高血脂小鼠血清中 TC、TG、HDL-C、LDL-C 的影响结果如表 2 所示,HF 组小鼠血清中的

表 2 ASTAE 对高血脂小鼠 TC、TG、HDL-C、LDL-C 的影响
Table 2 Effects of ASTAE on TC、TG、HDL-C、LDL-C in hyperlipidemic mice

组别	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)
CK	1.99±0.21 [#]	0.51±0.10 [#]	1.53±0.17 [#]	0.32±0.07 [#]
HF	3.78±0.89 ^{**}	0.72±0.36 [*]	0.60±0.05 ^{**}	1.33±0.22 ^{**}
UA	2.17±0.41 [#]	0.54±0.08	1.66±0.31 [#]	0.38±0.09 [#]
HA	2.26±0.57 [#]	0.46±0.11 [#]	2.25±0.09 ^{#**}	0.21±0.07 [#]
MA	2.45±0.38 [#]	0.58±0.06	2.14±0.05 ^{#**}	0.40±0.09 [#]
LA	2.74±0.17 ^{#**}	0.60±0.10	1.96±0.27 ^{#**}	0.48±0.10 [#]
GT	2.31±0.28 [#]	0.58±0.10	1.90±0.14 ^{#**}	0.27±0.09 [#]
AS	2.88±0.24 ^{#**}	0.57±0.08	1.90±0.30 ^{#**}	0.44±0.20 [#]

TC、TG、LDL-C 浓度最高, 且显著高于 CK 组 ($P<0.05$), 而其 HDL-C 浓度最低, 极显著低于 CK 组 ($P<0.01$), 表明高血脂小鼠模型构建成功。

血清中 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C 是检测血脂异常中最重要的指标, 胆固醇可在人体内与蛋白质结合形成脂蛋白, 其中 LDL-C 是粥样斑块中胆固醇的主要来源, 其水平往往与心血管疾病的发病率呈正相关, HDL-C 的水平与心血管疾病的患病风险呈负相关^[13]。

与 HF 组相比, HA 组能够极显著降低高血脂小鼠血清中 TG、TC、LDL-C 的含量水平, 升高 HDL-C 的含量 ($P<0.01$), 且效果与阳性药相当; MA 组和 LA 组极显著降低了高血脂小鼠血清中 TC、LDL-C 的含量, 升高 HDL-C 的水平 ($P<0.01$)。与 HF 组相比, GT 组及 AS 组可极显著降低 LDL-C、TC 的含量, 升高 HDL-C 的水平 ($P<0.01$), 但降血脂作用不及香灰菌发酵茶水提物的各剂量组, 这与文献报道相一致^[6]。上述结果表明, 香灰菌发酵茶水提物具有良好的降低高血脂小鼠血脂的作用, 从而达到改善高血脂小鼠脂质代谢的作用。

2.3 ASTAE 对高血脂小鼠 AST、ALT 的影响

谷丙转氨酶和谷草转氨酶存在于肝脏细胞的细胞核和线粒体中, 当肝脏组织受损时, 肝细胞则会释放大量 AST、ALT 入血, 使血清中的 AST、ALT 含量升高。因此, 这两种酶的活性往往被用做衡量肝脏损伤程度的检测指标^[14]。

由表 3 可知, HF 组小鼠血清中的 AST、ALT 水平极显著升高 ($P<0.01$), 是 CK 组的 2.26、1.72 倍, 显示长时间高脂饮食会诱导小鼠肝脏损伤。与 HF 组相比, HA 组小鼠的 AST、ALT 水平极显著降低 ($P<0.01$), 且效果优于 UA 组、GT 组和 AS 组; 与 HF 组相比, GT 组显著性降低了 ALT 的含量 ($P<0.05$), 但效果不及香灰菌发酵茶水提物组。上述结果表明, 香灰菌发酵茶水提物能显著降低高血脂小鼠血清中的 AST、ALT 含量, 具有保护肝脏的功能。

表 3 ASTAE 对高血脂小鼠 AST、ALT 的影响
Table 3 Effects of ASTAE on AST、ALT in hyperlipidemic mice

组别	AST(U/L)	ALT(U/L)
CK	7.43±1.13 ^{##}	2.14±0.50 ^{##}
HF	16.76±2.26 ^{**}	3.68±1.29 ^{**}
UA	9.97±2.49 ^{##}	2.14±1.14 ^{##}
HA	6.71±1.53 ^{##}	1.96±0.46 ^{##}
MA	10.12±1.69 ^{##}	2.44±0.80 ^{##}
LA	11.20±4.89 ^{##*}	2.91±0.94
GT	14.16±2.94 ^{**}	2.61±0.71 [#]
AS	10.92±3.37 ^{##*}	2.63±0.27 [#]

2.4 ASTAE 对高血脂小鼠 BUN、Scr 的影响

长期食用高脂肪、高热量的食物会使机体糖脂代谢紊乱, 使过多的脂肪堆积在肾脏, 进而导致肾脏

发生损伤, 造成血肌酐(Scr)和尿素氮(BUN)含量升高, 因此 Scr 和 BUN 是常用于临床检测肾脏损伤的生化指标^[15]。

实验结果如表 4 中数据所示, 给予高脂饲料饲养后, 与 CK 组相比, HF 组小鼠血清中的 BUN、Scr 均有上升。与 HF 组相比, 香灰菌发酵茶水提物各剂量组均极显著降低了高血脂小鼠血清中 BUN 的含量水平 ($P<0.01$), 其中 HA 组效果优于 UA 组; HA 组极显著降低了小鼠血清中 Scr 水平 ($P<0.01$), 其效果优于 UA 组。与 HF 组相比, GT 组、AS 组极显著降低了高血脂小鼠血清中 BUN ($P<0.01$), 但效果不及香灰菌发酵茶各剂量组; GT 组极显著降低了高血脂小鼠血清中 Scr 含量 ($P<0.01$), 其效果不及 HA 组。上述实验结果表明, 香灰菌发酵茶水提物能够有效的降低 BUN、Scr 含量水平, 具有一定的肾脏保护作用。

表 4 ASTAE 对高血脂小鼠 BUN、Scr 的影响
Table 4 Effects of ASTAE on BUN、Scr in hyperlipidemic mice

组别	BUN (mmol/L)	Scr (mmol/L)
CK	6.31±0.83 ^{##}	32.80±1.79
HF	9.35±0.63 ^{**}	34.20±1.30
UA	6.53±0.68 ^{##}	32.20±1.64
HA	6.44±1.17 ^{##}	28.00±4.05 ^{***}
MA	6.54±0.39 ^{##}	31.83±0.98
LA	7.19±0.94 ^{##}	32.00±0.63
GT	7.02±1.20 ^{##}	30.17±3.55 ^{##}
AS	7.82±1.07 ^{**##}	33.33±1.51

2.5 ASTAE 对高血脂小鼠血清中脂联素 (ADPN) 的影响

脂联素(ADPN)是一种由脂肪细胞分泌的细胞因子, 在对代谢紊乱的良性调控和提高胰岛素敏感性方面发挥重要的作用^[16-17], 主要通过促进脂肪的氧化分解, 抑制脂肪的生成, 来实现对脂肪代谢的调控作用^[18-19]。

香灰菌发酵茶水提物对高血脂小鼠血清中 ADPN 的影响如图 1 所示, 与 CK 相比, 高脂饲料饲养后小鼠体内的脂联素明显下降, 这与文献报道的研究结果

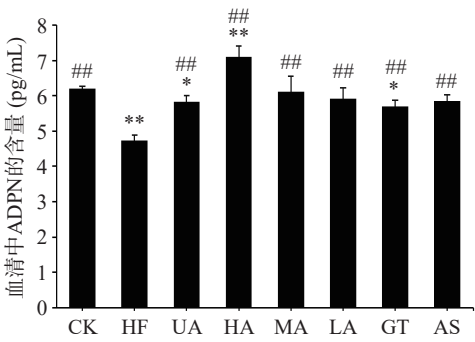


图 1 ASTAE 对高血脂小鼠 ADPN 的影响

Fig.1 Effects of ASTAE on ADPN in hyperlipidemic mice
注: 与模型组相比, # $P<0.01$ 或 ## $P<0.05$; 与空白对照组相比, * $P<0.05$ 或 ** $P<0.01$ 。

相一致^[17]。与 HF 组相比, ASTAE 的各剂量组、GT 组和 AS 组小鼠体内脂联素的含量均极显著升高 ($P<0.01$), 香灰菌发酵茶各剂量组不仅优于 UA 组还优于 GT 组和 AS 组。上述结果表明, 香灰菌发酵茶水提物有助于提高高脂小鼠体内脂联素的含量, 从而调控高脂小鼠的脂肪代谢, 达到降血脂的效果。

2.6 ASTAE 对高脂小鼠肝脏的影响

ASTAE 对高脂小鼠肝脏的外观形态观察如图 2 所示, 正常组小鼠肝脏颜色呈现为鲜红色, 表面光滑, 且具有一定弹性。模型组小鼠的肝脏偏大, 颜色偏白, 表面有明显的白色斑点, 肝组织弹性较差, 存在出血点; 香灰菌发酵茶水提物高、中、低剂量组以及 GT 组和 AS 组能够一定程度上改善高脂小鼠肝脏发白以及油腻感, 表面的白色斑点减少, 没有出血点^[7], 其中 HA 组小鼠肝脏的脂肪化程度最低, 其改善效果优于 UA 组、GT 组和 AS 组。

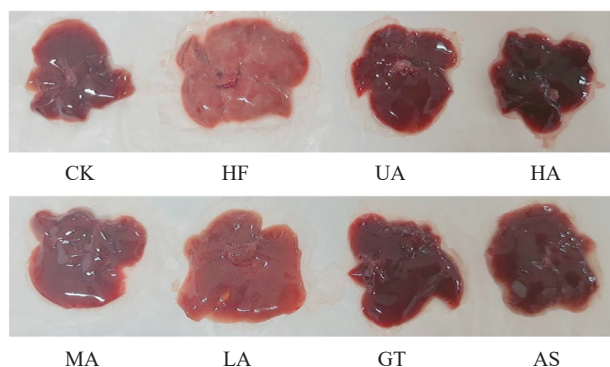


图 2 各组小鼠肝脏外观观察图

Fig.2 Observational view of the liver appearance of mice in each group

2.7 ASTAE 对高脂小鼠肝脏组织病理学影响

ASTAE 对高脂小鼠肝脏病理学观察结果如图 3 所示, CK 组小鼠肝脏组织细胞形态正常且排列整齐, 细胞边界清晰, 细胞核没有出现萎缩或者破裂的现象, 细胞质没有溶解, 没有出现脂肪空泡。HF 组肝脏组织细胞形态改变并且排列混乱, 细胞边界模糊, 出现大量细胞核偏移及破裂, 部分胞质溶解, 出现大量脂肪空泡。HA、MA、LA、GT 组和 AS 组在一定程度上改善了高脂小鼠肝脏组织细胞核仁的偏移, 细胞边界逐渐清晰, 细胞排列分布规则, 细胞核破

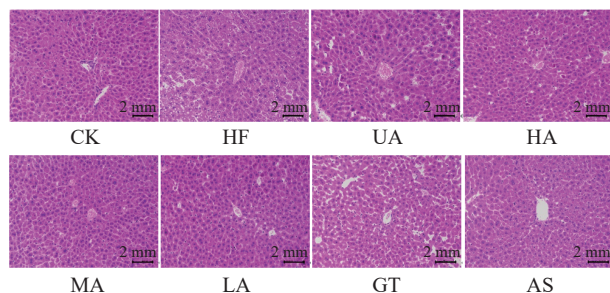


图 3 ASTAE 对高脂小鼠肝脏组织 HE 染色观察图(400×)

Fig.3 HE staining results of liver of hepatic tissue of highly fat mice by ASTAE (400×)

裂现象得到改善, 脂肪空泡减少, 其中香灰菌发酵茶水提物各剂量组效果更优, 说明香灰菌发酵茶水提物能够保护肝脏组织^[7]。

2.8 ASTAE 对高脂小鼠肝脏组织油红 O 染色观察

ASTAE 对高脂小鼠肝脏组织的油红 O 染色观察的结果如图 4 所示, HF 组小鼠肝组织切片红色脂滴数量高于 CK 组。与 HF 组相比, UA 组小鼠肝组织的脂肪滴较少, 红色数量减少, 细胞形态正常; HA、MA、LA 组均不同程度地减少了高脂小鼠肝脏组织中的脂肪滴, 从而改善其肝脏中的脂质水平, 且 HA 组脂滴减少程度优于 UA 组、GT 组、AS 组。上述结果表明, 各剂量组的香灰菌发酵茶水提物具有改善脂肪肝的功效^[7]。

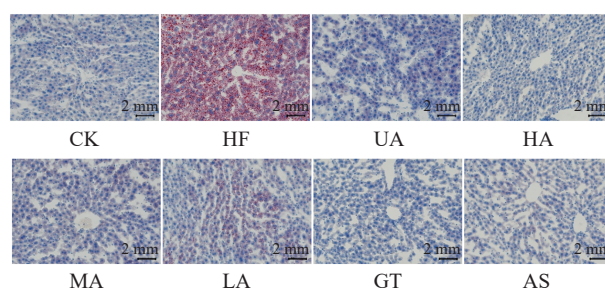


图 4 ASTAE 对高脂小鼠肝脏组织油红 O 染色观察图(400×)

Fig.4 Oil red O staining of liver tissue in hyperlipidemic mice by ASTAE (400×)

3 讨论与结论

血脂代谢异常是造成心脑血管疾病, 动脉粥样硬化及脂肪肝的重要危险因素^[13]。市面上常见的降脂药物在降低血脂的同时伴随着多种不良反应。资源丰富的食药两用菌和药食同源的中药在改善高脂血症方面具有独特的优势, 且其副作用小, 具有较好的开发和应用前景。桦褐孔菌水提物^[20]、灵芝属真菌^[21]、香菇多糖和麦角甾醇^[22-23]都具有降血脂的作用, 金花茶浓缩液^[24]能够显著降低高脂小鼠血清中 TC、TG、LDL-C 的含量, 升高 HDL-C 的含量, 有着良好的降血脂的作用。相比服用各种具有副作用的减肥、降脂药物, 人们更倾向于通过食疗的方式就可以达到减肥、降脂的功效。茶叶具有一定的降脂功能, 并且是人们日常饮用的饮品, 如何将二者完美融合, 充分发挥二者的优势, 以开发减肥、降脂功能更优的功能菌茶是本课题组一直以来的研究方向。本课题组曾将具有降脂、抗氧化、降血糖等功能的白耙齿菌与绿茶共发酵培养得到白耙齿菌发酵茶, 通过药理学实验证明白耙齿菌茶降血脂、肝脏保护功能均优于绿茶与白耙齿菌^[9], 并且其冲泡饮用的方式更易被人们接受, 显示了功能菌茶的应用与开发前景更加广阔。香灰菌在生长过程中产生的真菌黑色素, 具有抗氧化、抗衰老、抗病毒、降血糖、降血脂等功效。本课题组前期研究也证实, 香灰菌水提物具有良好的降脂功能。将香灰菌驯化, 使其能够与茶叶共生、共发

酵,加工出兼备或优于茶和香灰菌活性的功能菌茶,对开发新型功能菌茶具有十分重要的意义。

实验将具有降脂活性的香灰菌与绿茶共发酵培养,开发一种新型的香灰菌发酵茶,采用高脂饲料诱导构建高血脂小鼠模型,以探究该香灰菌发酵茶水提物在降血脂、保护肝脏及肾脏、改善脂肪肝方面的作用。本研究结果表明,香灰菌发酵茶水提物能降低高血脂小鼠血清中的TG、TC、LDL-C、AST、ALT水平,升高HDL-C水平,改善肝脏组织细胞病理学状态,减少肝脏组织中的脂肪含量,从而达到降血脂、改善脂肪肝、保护肝脏的作用。并且,通过检测血清中BUN和Scr的含量水平,证明香灰菌发酵茶水提物不仅没有肾毒性,而是具有一定的肾脏保护作用。通过对ADPN水平的检测,发现香灰菌发酵茶水提物能够升高其含量水平,由此推测香灰菌发酵茶水提物降血脂、改善脂肪肝保护肝脏、肾脏的作用机制可能是通过增加高血脂小鼠体内脂联素的含量水平,从而促进脂肪的氧化分解,抑制脂肪的生成,进而减少高血脂小鼠甘油三酯及胆固醇的含量,减少肝脏和肾脏中脂质沉积,达到降血脂、改善脂肪肝和保护肝脏、肾脏的作用,这与文献所报道的结果相一致^[25-26]。

综上所述,香灰菌茶水提物具有优于绿茶及香灰菌的降血脂、改善脂肪肝和保护肝脏的作用,这可能是由于香灰菌与茶叶共同发酵培养过程中,产生了更加丰富、活性更优的次生代谢产物,从而提高香灰菌发酵茶的降血脂功效。此研究将为开发新型保健茶及药食同源物与茶叶的深度开发及应用提供新资源和新研究思路,但其保肝、保肾、降脂作用的物质基础和作用机制仍有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] 张连军,莫鸣,李博,等.黄连解毒汤及其模拟组合调节高血脂症模型小鼠血脂代谢的初步研究[J].现代中药研究与实践,2022,36(2):23-27. [ZHANG L J, MO M, LI B, et al. Preliminary study of Huanglian Jiedu decoction and its simulated combination on regulating blood lipid metabolism in hyperlipidemia model mice[J]. Research and Practice on Chinese Medicines, 2022, 36(2): 23-27.]
- [2] CHEN Z Y, JIAO R, MA K Y. Cholesterol-lowering nutraceuticals and functional foods[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2008, 56(19): 8761-877.
- [3] RAPOSEIRAS-ROUBIN A S, ACD XAVIER ROSSELLÓ, BOM A, et al. Triglycerides and residual atherosclerotic risk[J]. Journal of the American College of Cardiology, 2021, 77(24): 3031-3041.
- [4] 吴志煊,曹丹丹,刘利敏.三七丹参片调节高脂血症小鼠脂质转运的机制[J].中成药,2022,44(3):965-968. [WU Z H, CAO D D, LIU L M. The mechanism by which Panax Notoginseng tablets regulate lipid transport in mice with hyperlipidemia[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2022, 44(3): 965-968.]
- [5] 杨佳颖,蒋丽娟,张榆,等.脂清爽保健茶降血脂作用研究[J].现代食品科技,2019,35(4):44-49,284. [YANG J Y, JIANG L J, ZHANG Y, et al. Study on the hypolipidemic effect of Zhi Qing Shuang healthy tea[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(4): 44-49, 284.]
- [6] 熊昌云,屠幼英,欧阳梅,等.人工接种发酵茯砖茶降脂减肥作用研究[J].菌物学报,2011,30(2):349-354. [XIONG C Y, TU Y Y, OUYANG M, et al. Anti-obesity function of naturally and artificially *Eurotium cristatum*-fermented "fu" brick tea[J]. Mycosystema, 2011, 30(2): 349-354.]
- [7] 韦炎治,姜明国,邓丽姚,等.白耙齿菌发酵茶体内降血脂及保护肝脏作用的研究[J].食品工业科技,2021,42(24):334-339. [WEI Y Y, JIANG M G, DENG L Y, et al. Hypolipidemic effect and liver protection of *Irpex lacteus* fermented tea *in vivo*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(24): 334-339.]
- [8] 罗青,冯宏昌,孙淑静.不同条件对香灰菌菌丝生长及黑色素产生的影响[J].北方园艺,2019(16):130-135. [LUO Q, FENG H C, SUN S J. Different conditions for *Hypoxylon* sp. mycelium growth and effects of melanin production[J]. Northern Horticulture, 2019(16): 130-135.]
- [9] LIU D, SUN X, YAN B, et al. Alternative oxidase is involved in oxidative stress resistance and melanin synthesis in *Annulohypoxylon stygium*, a companion fungus of *Tremella fuciformis*[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2022, 115(3): 365-374.
- [10] MIAH M A, HIMEL M H, SUJAN K M, et al. Protective effects of cinnamon powder against hyperlipidemia and hepatotoxicity in butter fed female albino mice[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2022, 29(4): 3069-3074.
- [11] LEE C Y, LEE C L. Comparison of the improvement effect of deep ocean water with different mineral composition on the high fat diet-induced blood lipid and nonalcoholic fatty liver disease in a mouse model[J]. Nutrients, 2021, 13(5): 1732.
- [12] 钱珊珊,冯雪,于彤,等.大豆活性肽对肥胖小鼠降脂作用的研究[J].食品工业科技,2021,42(3):310-314,319. [QIAN S S, FENG X, YU T, et al. Study on the lipid-lowering effect of soybean active peptide on obese mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(3): 310-314, 319.]
- [13] 《中国心血管健康与疾病报告》编写组.《中国心血管健康与疾病报告2020》要点解读[J].中国心血管杂志,2021,26(3):209-218. [The Writing Committee of the Report on Cardiovascular Health and Diseases in China. Interpretation of report on cardiovascular health and diseases in China 2020[J]. Chinese Journal of Cardiovascular Medicine, 2021, 26(3): 209-218.]
- [14] 张聪.复方黑茶饮料降血脂功效的研究及评价[D].扬州:扬州大学,2014. [ZHANG C. Research and evaluation of the lipid-lowering effect of compound black tea drinks[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2014.]
- [15] 李浩军.肾脏生化指标水平的变化及分级检验法在肾脏生化检验中的应用价值分析[J].现代医学与健康研究电子杂志,2022,6(14):14-17. [LI H J. Analysis of the change of renal biochemical index level and the application value of grading test in renal biochemical testing[J]. Modern Medicine and Health Research Electronic Journal, 2022, 6(14): 14-17.]
- [16] DU Y, LI D, LU D, et al. Lipid metabolism disorders and lipid mediator changes of mice in response to long-term exposure to high-fat and high sucrose diets and ameliorative effects of mulberry leaves[J]. Food & Function, 2022, 13(8): 4576-4591.
- [17] 朱致祥,李朝飞,陈勇,等.辛伐他汀通过增加脂联素及其受体的表达改善高脂饮食引起的肾脏损伤[J].实用医学杂志,2017,33(11):1748-1753. [ZHU Z X, LI C F, CHEN Y, et al. Simvastatin improves high-fat diet-induced kidney damages by increasing expression of adiponectin and its receptors[J]. The Journal of Practical Medicine, 2017, 33(11): 1748-1753.]

- [18] 闫春生, 牛美兰, 田恒运. 马齿苋口服液对高血脂大鼠脂质代谢的影响[J]. *湖北农业科学*, 2016, 55(5): 1221-1223. [YAN C S, NIU M L, TIAN H Y. Effect of purslane oral liquid on lipid metabolism in hyperlipidemia rats[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2016, 55(5): 1221-1223.]
- [19] 陈灰. 脂联素激活 AMPK 信号通路调控奶牛肝细胞脂代谢的相关机制[D]. 长春: 吉林大学, 2013. [CHEN H. Relevant mechanism of adiponectin activating the AMPK signaling pathway to regulate lipid metabolism in bovine hepatocytes[D]. Changchun: Jilin University, 2013.]
- [20] 王宇箭. 桦褐孔菌水提取物抗氧化性和斑马鱼模型降血糖降血脂活性研究[D]. 济南: 山东大学, 2020. [WANG Y J. Research on the antioxidant and hypoglycemic hypolipidemic activities of the extract from *Inonotus obliquus*[D]. Jinan: Shandong University, 2020.]
- [21] 吴晓娟, 汪蓓植, 孙文军, 等. 灵芝饼茶降脂作用研究及总三萜含量的测定[J]. *三峡大学学报(自然科学版)*, 2014, 36(5): 106-108. [WU X J, WANG J Z, SUN W J, et al. Lipid-decreasing experimental study and determination of *Ganoderma lucidum* tea cake in mice[J]. *Journal of China Three Gorges University(Natural Sciences)*, 2014, 36(5): 106-108.]
- [22] 崔丹丹. 香菇麦角甾醇的降脂功效研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2019. [CUI D D. Study on the lipid-lowering effect of ergosterol from *Lentinus edodes*[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2019.]
- [23] 王慧铭, 夏道宗, 夏明, 等. 香菇多糖降血脂作用及其机制的研究[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2005, 15(10): 599-602. [WANG H M, XIA D Z, XIA M, et al. Research of lentinan's effect on blood lipid and its mechanisms[J]. *Zhejiang Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, 2005, 15(10): 599-602.]
- [24] 秦健峰, 苏梓霞, 郝二伟, 等. 善清金花茶对高脂血症小鼠的降脂作用[J]. *现代食品科技*, 2021, 37(8): 30-35. [QIN J F, SU A X, H E W, et al. Hypolipidemic effects of Shan Qing *Camellia nitidissima* tea on hyperlipidemic mice[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2021, 37(8): 30-35.]
- [25] 陈雪娇. 山楂果胶寡糖对高脂食小鼠脂肪组织脂联素合成与脂质代谢调节的作用[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2019. [CHEN X J. Effects of hawthorn pectin oligosaccharides on adiponectin synthesis and lipid metabolism in adipose tissue of high-fat diet fed mice[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2019.]
- [26] 唐妮, 王书瑶, 齐锦雯, 等. 脂联素调控脂质代谢的研究进展[J]. *畜牧兽医学报*, 2018, 49(12): 2550-2557. [TANG N, WANG S Y, QI J W, et al. Research progress on adiponectin regulating lipid metabolism[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2018, 49(12): 2550-2557.]