

刺葡萄酒对高脂饮食大鼠的降血脂作用

彭淼, 毛曦, 彭勃, 林雪茜, 白描, 杨国顺

(湖南农业大学园艺学院, 湖南省葡萄工程技术研究中心, 湖南长沙 410128)

摘要: 本研究以 SPF 级 SD 大鼠为实验动物, 探讨刺葡萄酒对高脂饲料喂养大鼠的降血脂作用及可能机制。结果显示, 刺葡萄酒能显著降低甘油三酯含量, 低剂量刺葡萄酒能显著降低大鼠血清内总胆固醇至 1.67 mmol/L ($p<0.05$); 中剂量刺葡萄酒处理能显著降低密度脂蛋白胆固醇含量 ($p<0.01$) 并显著增加高密度脂蛋白胆固醇含量至 0.97 mmol/L ($p<0.05$)。各剂量刺葡萄酒处理能显著增加大鼠血清内超氧化物歧化酶和谷丙转氨酶 ($p<0.01$) 的活性, 显著降低血清丙二醛的含量 ($p<0.05$)。Q-PCR 结果显示, 刺葡萄酒可促进高脂饮食大鼠肝脏卵磷脂胆固醇酯转移酶 (LCAT) (1.47 倍)、丙二酰辅酶 A 脱羧酶 (MCD) (2.21 倍)、肉碱棕榈酰转移酶 (CPT-1) (1.31 倍) 的表达, 抑制酯酰辅酶 A: 胆固醇酯转移酶 (ACAT1) (1.95 倍)、DGAT2 (1.43 倍)、线粒体解偶联蛋白 2 (UCP2) (1.98 倍) 等负调控基因的上调表达。本研究的结果证明适量刺葡萄酒可降低高脂饮食大鼠体内血脂水平, 促进肝脏脂质代谢, 抵抗高脂诱导的脂质过氧化。并且, 该作用的发挥可能与刺葡萄酒调节肝脏脂质代谢关键基因表达与脂质代谢的相关酶活性有关。

关键词: 刺葡萄酒; 降血脂; 高脂饮食大鼠

文章编号: 1673-9078(2020)10-8-15

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.10.0219

Hypolipidemic Effects of Red Wine Made from *V. didii*. Foëx in Rats Feed with High Fat Diet

PENG Miao, MAO Xi, PENG Bo, LIN Xue-xi, BAI Miao, YANG Guo-shun

(College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Hunan Engineering and Technology Research Center for Grapes, Changsha 410128, China)

Abstract: In this study, SPF grade SD rats were used as experimental animals to study the hypolipidemic effects and possible mechanism of red wine made from *V. didii*. Foëx. The results showed that the content of triglyceride in the serum of rats was significantly reduced by *V. didii*. Foëx Wine, and the content of total cholesterol in the serum of rats was significantly reduced to 1.67 mmol/L under the low dose ($p<0.05$); the content of LDL-C was significantly reduced under medium dose of *V. didii*. Foëx Wine ($p<0.01$), and the content of HDL-C was significantly increased to 0.97 mmol/L under the medium dose ($p<0.05$). Treatments with *V. didii*. Foëx wine significantly increased the activities of SOD and GSH-Px ($p<0.01$), but reduced the content of MDA in the serum ($p<0.05$). The results of Q-PCR showed that red wine promoted the expression of LCAT (1.47 times), MCD (2.21 times), and CPT-1 (1.31 times) genes in high-fat rats, and inhibited the up-regulation of negatively regulated genes such as ACAT1 (1.95 times), DGAT2 (1.43 times), and UCP2 (1.98 times). The results of this study demonstrate that proper amount of *V. didii*. Foëx Wine can reduce blood lipid levels in rats on a high-fat diet, promote liver lipid metabolism, and resist to high-fat induced lipid peroxidation. Moreover, the hypolipidemic effects of *V. didii*. Foëx Wine may be related to the regulation of key gene expression of liver lipid metabolism and related enzyme activity.

Key words: red wine made from *V. didii*. Foëx; hypolipidemic effects; rat feed with high fat diet

引文格式:

彭淼, 毛曦, 彭勃, 等. 刺葡萄酒对高脂饮食大鼠的降血脂作用[J]. 现代食品科技, 2020, 36(10): 8-15

PENG Miao, MAO Xi, PENG Bo, et al. Hypolipidemic effects of red wine made from *V. didii*. Foëx in rats feed with high fat diet [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(10): 8-15

收稿日期: 2020-03-09

基金项目: 国家现代农业产业技术体系 (CARS-29-ZP-9); 湖南省教育厅科学研究项目 (17C0768)

作者简介: 彭淼 (1981-), 男, 副教授, 研究方向: 果实综合加工利用研究

通讯作者: 杨国顺 (1969-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 葡萄栽培与加工

近年来,随着生活方式和饮食结构的改变,高脂血症发病率逐年上升。高脂血症是由于脂代谢或者运转异常导致血液中一种或者多种脂质高于正常,可直接引起动脉粥样硬化、冠心病等多种严重危害健康的心脑血管疾病。目前临床上用于降血脂的药物主要为他汀类(包括血脂康)^[1],虽总体耐受性较好,但他汀类药物给患者带来的副作用也不容忽视^[2,3],因此,通过饮食治疗血脂异常成为近年来的研究热点^[4,5]。葡萄酒因其含有糖类、蛋白质、微量元素、有机酸、无机盐、果酸和各种醇类维生素等 250 多种有益的天然物质成分,能通过减少胆固醇的含量降低心血管疾病的发生率和死亡率^[6-8]而广受欢迎。刺葡萄(*Vitis davidii* Foëx)属于葡萄科葡萄属东亚种群的一个变种,是多年生落叶藤本植物,果实营养丰富,含有大量的花色苷、白藜芦醇、齐墩果酸、超氧化物歧化酶、维生素 C 等活性成分,果皮呈紫黑色,产量高,果粒小,种子多,不便鲜食,是加工葡萄酒的优良原料^[9-11]。有研究表明,葡萄酒中含有的白藜芦醇能消除乙醇带来的不利影响^[12]。葡萄酒因酒精度较白酒低,并含有具有抗氧化活性的酚类物质,从而对酒精性脂肪肝具有一定的保护作用^[13]。此外,研究发现,葡萄酒中的酒精和多酚对机体均具有有益作用^[14],一方面,酒精成分能增加高密度脂蛋白胆固醇(High-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)含量并降低纤维蛋白原浓度,另一方面,葡萄酒中的多酚类物质可抑制血小板聚集,减轻血管炎症,改善内皮功能^[15,16],上述研究提示,刺葡萄酒对机体血脂具有调节作用。但目前刺葡萄酒的开发还处于研究起步与试投产阶段,国内外显见有关刺葡萄酒的降脂保肝的研究。

为此,本试验通过不同剂量刺葡萄酒灌胃高脂饲料饮食 SD 大鼠,研究分析大鼠体内血脂代谢相关生化指标变化及基因表达情况,以期为刺葡萄酒的合理健康饮用、后续开发降脂保肝功能保健品,以及促进刺葡萄产业发展提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物

SPF 级健康雄性 SD 大鼠 60 只,体重 150±10 g 左右,购自湖南省斯莱克景达实验动物有限公司,合格证号 SCXK(湘)2013-0004。饲养条件:室温 22~25 ℃,相对湿度为 50%~70%,明暗周期 12 h/12 h,自由采食饮水,保持良好通风,垫料隔天一换,2 周 1 次对笼具清洗并消毒。

1.1.2 动物饲料

分笼喂养,采用基础饲料及高脂饲料饲喂大鼠。高脂饲料配方为:基础饲料,78.8%;胆固醇,1%;蛋黄粉,10%;猪油,10%;胆盐,0.2%。

1.1.3 灌胃用酒

湖南农业大学葡萄课题组酿制的“飞扬”刺葡萄酒,酒精度 12% (体积分数),总酚 0.68~0.83 g/L,干净物 22 g/L。

1.1.4 阳性药

血脂康胶囊,北京北大维信生物科技有限公司。

1.1.5 主要实验仪器

全自动生化分析仪(BS-200),深圳迈瑞;JB-P5 组织包埋,俊杰电子有限公司;JJ-12J 自动脱水机,俊杰电子有限公司;RM2016 病理切片机,俊杰电子有限公司;Nikon Eclipse CI 正置光学显微镜,日本尼康;Wonbio-48R 全自动样品快速研磨仪,上海净信;SUNRISE 全自动酶标仪,TECAN 公司;凝胶成像系统,Stratagene Gene Genius;梯度 PCR 仪(Tgradient-96)荧光定量 PCR 仪(Qiagen Rotor-Gene Q 6200)、PCR 仪(Veriti 96)、电泳仪(Bio-Rad Power Pac 2000)、SW-CJ-2D 双人单面超净工作台,苏州净化;旋涡混合器(XH-2000-1)、AEU-210 电子分析天平,长沙湘仪天平;水浴锅、移液器,Eppendorf;动物饲养设备、灌胃针、解剖器械等。

1.2 方法

1.2.1 试验设计

表 1 实验动物组别设计

Table 1 Distribution of experimental groups

处理	动物数量	状况	所喂饲料	剂量
正常对照组(CK)	10	正常	基础饲料	25 mL/kg 生理盐水
高脂对照组(M)	10	正常	高脂饲料	25 mL/kg 生理盐水
阳性药物组(Y)	10	正常	高脂饲料	60 mg/kg 血脂康
刺葡萄酒低剂量组(JD)	10	正常	高脂饲料	2.5 mL/kg
刺葡萄酒中剂量组(JZ)	10	正常	高脂饲料	12.5 mL/kg
刺葡萄酒高剂量组(JG)	10	正常	高脂饲料	25 mL/kg

剂量选择:葡萄酒灌胃量是利用《实验生理学》^[17]的相关公式,依据《2016年中国居民膳食指南》中推荐的每人每天葡萄酒饮用量(150 mL,即 2.5 mL/kg)换算得到,按照人体推荐量的 1、5(大鼠与人的等效剂量)、10 倍为酒的低剂量 2.5 mL/kg、中剂量 12.5 mL/kg、高剂量 25 mL/kg(以每只 SD 大鼠的平均体重 200 g 计)。

阳性药成人(60 kg)推荐剂量为 10 mg/(kg·d),参照《药理学实验方法学》^[18]附表中的表(人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值),将其换算为大鼠的剂量,则大鼠的等效剂量相当于人的 6 倍,即为 60 mg/(kg·d)。每只大鼠每 100 g 体质量灌胃 1 mL。

动物分组及处理:SPF 级健康雄性 SD 大鼠 60 只,体重 150±10 g,适应性喂养一周后,按照体重随机分为 6 组,即正常对照组(基础饲料+生理盐水)、高脂组(高脂饲料+生理盐水)、阳性药组(高脂饲料+血脂康)、刺葡萄酒处理组(高脂饲料+低、中、高剂量)(表 1),干预时间为 6 周。每天上午 10:00 灌胃一次,其余时间均自由饮水进食,连续灌胃 6 周,检测血清各项生化指标,观测样品组与阳性对照组是否产生显著性差异。每天记录给食量、剩食量及饮水量,每周称重。饲养过程中每天换水,隔天换垫料。

1.2.2 样品采集

采血:实验结束时禁食 12 h(不禁水),腹腔注射 2%戊巴比妥钠生理盐水溶液麻醉大鼠,摘眼球取血,采集后冰浴静置 30 min, 3500 r/min 离心 10 min,取上清液于 4℃分装储存待测各项指标(不立即检测则须将样品冻存于-80℃冰箱)。

肝脏的提取:采完血后,脱颈处死,解剖大鼠,迅速摘取肝脏并称重,取各组大鼠肝脏相同部位的小

块肝组织,用锡箔纸包好投入液氮中并移至-80℃冰箱内保存,用于肝脏指标的测定。

肝组织匀浆制备:解剖取出的肝脏用预冷的生理盐水漂洗干净,滤纸拭干并称重,取 0.1 g 肝脏,用眼科小剪尽快剪碎,将剪碎的肝脏组织放入装有 2 颗钢珠的 0.2 mL 离心管中,加入 0.9 mL 预冷生理盐水置于全自动样品快速研磨仪中进行匀浆(总时间为 60 s,频率 60 Hz)制备 10%匀浆液。4℃、3000 r/min 离心 15 min,取上清液,分装并储存于-20℃冰箱保存,用于酶活性的测定。

1.2.3 肝脏组织切片

取肝脏右叶同一部位经 10%甲醛固定 24 h,石蜡包埋切片,HE 染色,光镜下分别观察肝脏组织病理变化。

1.2.4 血清生化指标、SOD、GSH-PX 和 MDA 测定

血清谷丙转氨酶(Alanine aminotransferase, ALT)、谷丙转氨酶(Aspartate transaminase, AST)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、总胆固醇(Total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(High-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(Low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)水平用 BS-200 全自动生化分析仪进行测定。超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)分别采用 WST-1 法、比色法、硫代巴比妥酸(Thiobarbituric acid, TBA)法测定。

1.2.5 RNA 提取与实时荧光定量 PCR

表 2 荧光定量 PCR 引物序列信息

Table 2 Primer sequences used in qPCR analysis

基因名称	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')
β -actin	CCACCATGTACCCAGGCATT	AGGGTGTAACCGCAGCTCA
ACAT1	CAGGTCTACCCATTGCCACT	ACCGTATGGTGTGCTCCTC
DGAT2	CCTAAGGTGGTGGCTGACAT	CTGACCAGCAGTCACGTGTT
LCAT	CTGGCTTTGGCAAGACCTAC	TACCAGTCCTGCCAGCTTCT
UCP2	CGGAGATACCAGAGCACTGTC	TGGCATTTCGGGCAACATTGG
MCD	CGGCACCTTCCTCATAAAGC	TGGAAGAGCCCCCAGAT
CPT-1	CACTGGCCGCATGTCAAG	CCCAGAGCCCTGTACCAAAG
FAS	AGGCTGAGGCTGAAGCTGAA	GATGAGGTCCACAGCAGCAG
SREBP	GCTTCTCTTCTGCTTCTCTGG	CAGGCTGTAGGATGGTGAGTG

试验所用的玻璃器皿、塑料制品均用 0.1% DEPC 水浸泡 24 h, 121℃高压灭菌, 烘干待用, RNA 提取和 qPCR 定量参照严煜钧等^[19]方法并进行适当修改。

取适量大鼠肝脏组织放入经液氮预冷好的研钵并迅速研磨成粉末状, 直到无可见组织块; 加入适量的 Trizol 试剂, 按照操作说明提取总 RNA, 采用紫外分光光度

计测 RNA 的浓度,琼脂糖电泳评价总 RNA 的质量与完整性;按照 Takara 试剂盒的操作说明进行逆转录反应,将总 RNA 逆转录合成 cDNA。采用 Primer Premier 5 软件设计脂质代谢相关基因引物,并由上海生工生物有限公司合成,引物设计结果见表 2。采用两步法 qPCR 检测相关基因的相对表达量,PCR 反应程序为:95℃预变性 30 s,95℃变性 5 s,60℃退火 30 s,荧光检测 15 s,共 40 个循环。每个反应设置 3 个重复,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算样品中各基因的相对表达量。

1.2.6 试验处理

用 EXCEL 2010 和 SPSS 18.0 统计软件对实验数据进行统计学分析,所有指标以平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{X} \pm S$) 表示,采用单因素方差分析,并用最小显著性差异法 (least significant difference, LSD) 进行显著性差异检验, $p < 0.05$ 定义为差异显著。

2 结果与分析

2.1 肝脏总 RNA 提取

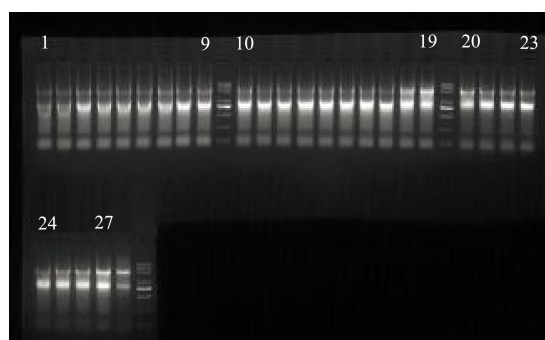


图1 肝脏总 RNA

Fig.1 Total RNA of liver

如图 1 所示,肝脏总 RNA 紫外灯下可见 28S、18S 两条非常清晰的 RNA 条带,且 OD260/OD280 均在 1.8~2.0 之间,OD260/OD230 >2 ,表明总 RNA 提取的质量符合后续 qRT-PCR 实验的标准。

2.2 刺葡萄酒对大鼠体质量的影响

60 只大鼠均完成了试验过程,除前几次灌胃出现嗜睡现象外,无死亡情况,在灌胃干预 6 周后,6 组大鼠的体重均明显增长,高脂组大鼠终体质量最大达 490.26 g,与正常组相比,高脂组大鼠体重达到显著差异 ($p < 0.01$),刺葡萄酒各处理之间无明显差异,且与正常组处理没有显著性差异,说明试验期间大鼠生长良好,无不良反应,刺葡萄酒各剂量组均能一定程度上抑制体重的增长,具有一定的减肥效果,但增重无显著性差异,这与邵国强等研究结果一致^[20]。

表 3 刺葡萄酒对大鼠体重的影响

Table 3 Effects of red wine made from *V. didii* Foëx on body weights of rats ($\bar{X} \pm S$, $n=10$)

组别	初始体质量/g	终体质量/g	增重/g
正常组	187.86 $\pm$ 8.79	448.44 $\pm$ 34.89	260.58 $\pm$ 26.94
高脂组	185.94 $\pm$ 4.19 ^{##}	490.26 $\pm$ 24.93 ^{##}	304.31 $\pm$ 21.45 ^{##}
药物组	188.84 $\pm$ 7.81	459.30 $\pm$ 33.30	270.46 $\pm$ 30.32
酒低组	185.33 $\pm$ 6.77	447.15 $\pm$ 15.90	261.82 $\pm$ 12.92
酒中组	186.57 $\pm$ 7.83	453.98 $\pm$ 21.70	267.41 $\pm$ 16.86
酒高组	185.66 $\pm$ 6.07	444.06 $\pm$ 21.23	258.40 $\pm$ 17.55

注:与高脂对照组比较 * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。与正常组比较 # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$,下同。

2.3 刺葡萄酒对大鼠肝脏形态结构的影响

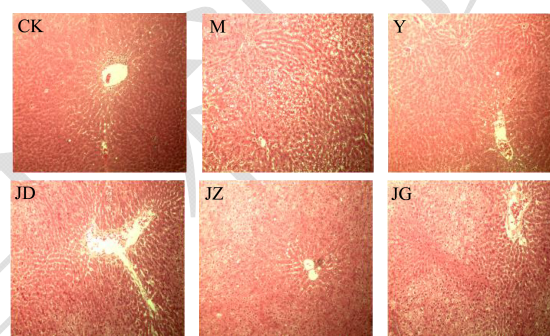


图 2 大鼠肝脏切片

Fig.2 Liver sections of rats

注:CK 为正常对照组, M 为高脂对照组, Y 为血脂康组, JD 为刺葡萄酒低剂量组, JZ 为刺葡萄酒中剂量组, JG 为刺葡萄酒高剂量组。

由图 2 可以看出,正常对照组 (CK) 大鼠肝脏组织结构完整,肝小叶轮廓、肝细胞索、中央静脉、肝窦清晰,以中央静脉呈放射状排列,肝细胞大小较一致,细胞核清晰,胞浆均匀。高脂饲料喂养组 (M) 肝细胞组织结构异常,肝小叶结构紊乱且界限模糊,肝窦变窄甚至消失,肝细胞排列放射状模糊,肝小叶周围肝细胞胞浆出现大量的圆形空泡,明显可见有脂滴蓄积,出现脂肪变形。与 M 组相比,饲喂中剂量的刺葡萄酒 (JZ) 能够改善由高脂饲料引起的肝组织病变,葡萄酒低 (JD)、高剂量组 (JG) 肝细胞索结构出现轻微紊乱,肝小叶周围肝细胞具水泡,有部分脂肪变形,说明刺葡萄酒能改善高脂饮食对肝脏造成的损伤。

2.4 刺葡萄酒对大鼠血脂的影响

血液中 TG、TC、LDL-C 和 HDL-C 是判断机体血脂情况的常用指标,代谢类疾病和心脑血管疾病的

发生常常伴随着血清 TG、TC 及 LDL-C 水平的升高或 HDL-C 含量的降低。由表 4 可知, 与正常组比较, 高脂组中 TC、TG、LDL-C 含量均极显著增加, 分别达到 1.92、1.60、0.97 mmol/L ($p<0.01$), HDL-C 含量极显著降低至 0.80 mmol/L ($p<0.01$)。研究表明以 LDL-C 或 TC 升高为特点的血脂异常是动脉粥样硬化性心血管疾病重要的危险因素^[21], 说明高脂饲料喂养导致大鼠血脂紊乱。HDL-C 是机体胆固醇的“清扫机”, 负责把外周组织的胆固醇运回肝脏进行代谢。Schroder 等研究发现, 酒精有益心血管健康的可能作用机制是增加 HDL-C 水平, 并占 50% 的贡献, 总的酒精摄入量与高密度脂蛋白的增加显著相关^[22]。本研究表明, 与高脂组相比, 中、高剂量刺葡萄酒处理能显著增加大鼠 HDL-C 的含量 ($p<0.05$), 且中剂量出现极显著差异 ($p<0.01$), 说明刺葡萄酒可通过上调 HDL-C 的含量, 改善机体血脂状况, 与李虎^[23]在慕萨莱思葡萄酒中的研究结果一致, 但与郭金英等^[24]报道的红葡萄酒对金黄地鼠高密度脂蛋白胆固醇也没有表现出显著性差异不一致, 这可能是因为不同葡萄酒的

差异所致。此外, 刺葡萄酒低剂量组中 TC 含量显著降低至 1.67 mmol/L ($p<0.05$); 各处理组中 TG 含量均极显著降低, 分别为 0.86、0.84、1.12 mmol/L ($p<0.01$); 刺葡萄酒高剂量组中 HDL-C 含量显著增加至 0.94 mmol/L ($p<0.05$), 刺葡萄酒中剂量组中 HDL-C 含量极显著增加至 0.97 mmol/L ($p<0.01$); 葡萄酒低剂量组、高剂量组中 LDL-C 含量均极显著降低, 均为 0.69 mmol/L。研究发现, LDL-C 是向肝外组织运载胆固醇, 其含量的高低与动脉粥样硬化等疾病密切相关^[25,26], 一般情况下, LDL-C 与 TC 相平行, 但 TC 水平也受 HDL-C 水平影响, 所以采用 LDL-C 作为动脉粥样硬化性心血管疾病危险性的评估指标。本研究中, 刺葡萄酒降低了血液中 TG、TC 和 LDL-C 的含量, 说明刺葡萄酒对机体健康具有积极作用。这可能是由于葡萄酒中的多酚进入体内的消化系统后, 一方面会在血液中加速胆固醇的转化, 即降低 LDL-C 的含量, 同时多酚还会与 LDL-C 形成非常稳定的结合物, 防止 LDL-C 与活性氧结合而被氧化^[27]。

表 4 刺葡萄酒对大鼠血脂的影响

Table 4 Effects of red wine made from *V.didii*. Foëx on serum lipid levels of rats (mmol/L) ($\bar{X}\pm S$, $n=10$)

组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常组	1.46±0.15	0.52±0.19	1.14±0.09	0.36±0.05
高脂组	1.92±0.23 ^{###}	1.60±0.27 ^{###}	0.80±0.10 ^{###}	0.97±0.19 ^{###}
药物组	1.59±0.14 [*]	0.66±0.29 ^{**}	0.94±0.14 [*]	0.56±0.14
酒低组	1.67±0.16 [*]	0.86±0.29 ^{**}	0.87±0.10	0.69±0.15 ^{**}
酒中组	1.70±0.33	0.84±0.29 ^{**}	0.97±0.13 ^{**}	0.69±0.15 ^{**}
酒高组	1.82±0.30	1.12±0.29 ^{**}	0.94±0.09 [*]	0.88±0.12

2.5 刺葡萄酒对大鼠血清 AST 和 ALT 的影响

表 5 刺葡萄酒对大鼠血清 AST、ALT 指标的影响

Table 5 Effects of red wine made from *V.didii*. Foëx on AST, ALT of rats (U/L) ($\bar{X}\pm S$, $n=10$)

组别	AST	ALT
正常组	41.71±4.91	140.28±26.77
高脂组	64.55±7.68 ^{###}	194.54±35.62 ^{###}
药物组	52.61±12.33 ^{**}	150.27±32.31 ^{**}
酒低组	53.23±8.41 ^{**}	170.88±27.73
酒中组	50.15±9.26 ^{**}	176.23±20.08
酒高组	57.79±9.49	183.05±24.82

AST 和 ALT 是表征肝功能的重要指标, 李绍波等研究证明, 当肝细胞受损时, 肝细胞中的 AST、ALT 进入外周血清中, 导致血清中 ALT、AST 含量升高^[28]。由表 5 可知, 与正常组比较, 高脂组中 AST 和 ALT 水平均极显著提高, 分别为 64.55、194.54 U/L

($p<0.01$), 说明高脂饮食可造成肝脏损伤。而与高脂组比较, 刺葡萄酒低剂量组、中剂量组中 AST 水平均显著降低, 分别为 53.23、50.15 U/L ($p<0.05$), 刺葡萄酒各处理组对降低 ALT 差异不显著, 可能是由于刺葡萄酒主要通过调节 AST 含量来减轻肝损伤。

2.6 刺葡萄酒对大鼠 GSH-Px、SOD、MDA 的影响

由表 6 可知, 与空白组相比, 高脂组中 SOD 活性显著降低至 150.43 U/mg ($p<0.05$), GSH-Px 活性显著降低至 554.88 U/mg ($p<0.01$), MDA 含量显著提高至 2.65 mmol/mg ($p<0.01$)。与高脂组相比, 各剂量刺葡萄酒处理组均能显著提高 GSH-Px 和 SOD 活性 ($p<0.01$); 刺葡萄酒高剂量组能显著降低 MDA 含量至 2.32 mmol/mg ($p<0.05$), 刺葡萄酒低剂量组、中剂量组能极显著降低 MDA 的含量, 分别为 2.09、1.78

mmol/mg ($p<0.01$)。由此可知刺葡萄酒各剂量处理组均能有效缓解高脂食物摄入对大鼠肝脏抗氧化能力的损伤,这一结果与郭金英等研究基本一致^[24]。GSH-Px 和 SOD 是生物体内最主要的抗氧化酶,能抑制氧自由基的产生,MDA 是膜脂过氧化的重要产物,能最直接反映机体脂质过氧化程度。结果表明刺葡萄酒可以对高血脂症引起的脂质过氧化损伤具有防护作用,显著提升 SOD、GSH-Px 活性。

表 6 刺葡萄酒对大鼠血清 GSH-Px、SOD、MDA 的影响

Table 6 Effects of red wine made from *V. didii* Foëx on GPX,

SOD, MDA of rats ($\bar{X} \pm S$, $n=10$)

组别	GSH-Px (U/mg)	SOD (U/mg)	MDA (mmol/mg)
正常组	907.70±91.04	181.50±16.17	1.27±0.16
高脂组	554.88±60.45 ^{###}	150.43±19.79 [#]	2.65±0.37 ^{###}
药物组	926.40±83.42 ^{**}	253.91±21.43 ^{**}	1.35±0.18 ^{**}
酒低组	850.10±109.84 ^{**}	226.54±29.70 ^{**}	2.09±0.31 ^{**}
酒中组	965.25±89.28 ^{**}	244.43±28.42 ^{**}	1.78±0.32 ^{**}
酒高组	796.56±93.17 ^{**}	216.02±33.44 ^{**}	2.32±0.16 [*]

2.7 刺葡萄酒对大鼠肝脏脂质代谢相关基因

表达的影响

在本实验中,通过分析 8 个脂质代谢相关关键基因在不同处理组的相对表达量发现,与正常组比,高脂组中的 LCAT、MCD、CPT-1 基因均表达下调,ACAT1、DGAT2、UCP2、SREBP-1c 和 FAS 基因均表达上调;ACAT1 是一种具有催化作用的多聚体变构酶,存在于细胞质内质网膜内,是游离胆固醇与长链脂肪酸发生酯化反应,形成胆固醇酯的唯一性关键酶,通过吸收和利用胆固醇而避免胆固醇积累过多导致动脉粥样硬化,下调 ACAT1 基因的表达有利于降低 TC 的含量,有利于维持细胞内游离胆固醇和酯化胆固醇的平衡^[29];DGAT2 通过促进肠道对脂肪的吸收,使血浆中甘油三酯处于稳定状态,下调 DGAT2 基因的表达可以避免甘油三酯在肝脏堆积^[30];LCAT 的表达产物是卵磷脂胆固醇脂酰转移酶,其主要参与了 HDL 的成熟和胆固醇的逆转运过程;UCP2 基因可介导 ATP 合成解偶联,其表达产物解耦联蛋白-2 能增强脂质过氧化从而损伤细胞,促进病程的发展^[31];MCD 是调节脂肪酸氧化的重要因子,这取决于它能催化丙二酰辅酶 A 转变为乙酰辅酶 A 和二氧化碳,从而成为调节脂肪酸氧化的重要因子,上调 MCD 基因的表达有利于减少体内的游离脂肪酸 (FFA) 和肝脏中 TG 的积累^[32];CPT-1 能够介导调控将长链脂肪酸从细胞质胞液运送至线粒体进行 β -氧化,上调 CPT-1 基因的表达

可提高脂肪在肝细胞中的氧化,降低细胞中脂质的积累^[33];SREBP-1c 是甘油三酯重新合成途径的重要转录调控因子,通过激活 FAS 的表达,提升肝细胞脂质合成的水平^[34],SREBP-1c 和 FAS 的下调可以抑制肝脏中脂肪酸的合成,减少了脂质的聚集。而与高脂组比较,刺葡萄酒各剂量处理后均能上调 LCAT、MCD、CPT-1 基因的表达,下调 ACAT1、DGAT2、UCP2、SREBP-1c 和 FAS 基因的表达,低剂量刺葡萄酒处理与高脂组相比均达到了极显著差异 ($p<0.01$);中剂量处理组除了 LCAT 与高脂组存在显著性差异 ($p<0.05$),其他基因与高脂组相比均达到了极显著差异 ($p<0.01$),高剂量刺葡萄酒处理在 LCAT、CPT-1 基因表达上与高脂组没有显著性差异,说明刺葡萄酒可通过影响脂质代谢关键基因调节高脂饮食大鼠脂肪代谢,从而改善血脂状况,这与刘银等研究结果一致,刺葡萄酒下调 FAS、DGAT2、ACAT1、SREBP-1c 等脂肪酸合成关键酶基因的表达可能是刺葡萄酒具有降脂功能的原因,但其机制有待进一步研究^[35]。

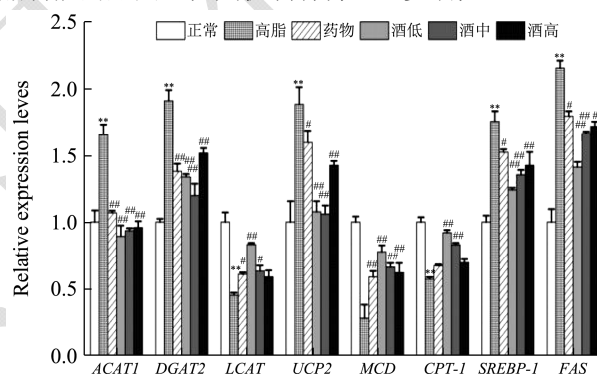


图 3 大鼠肝脏中脂质代谢相关基因相对表达量

Fig.3 Relative expression of the genes involved in lipid metabolism in the livers of rats (mean±SD, $n=3$)

注: 与对照组比较^{*} $p<0.05$, ^{**} $p<0.01$; 与高脂组比较[#] $p<0.05$, ^{###} $p<0.01$ 。

3 结论

本研究表明,刺葡萄酒可以一定程度降低大鼠的血脂水平。与高脂组相比,低剂量刺葡萄酒能极显著降低血清中TC含量;各剂量刺葡萄酒均能显著降低血清中TG含量;中剂量刺葡萄酒能极显著提高血清中HDL-C含量;低剂量、中剂量刺葡萄酒均能极显著降低血清中LDL-C含量。同时,刺葡萄酒还能显著改善因摄入过多脂质而导致肝脏AST、ALT的升高,并对高血脂症引起的脂质过氧化损伤具有防护作用,显著提升SOD、GSH-PX活性。刺葡萄酒具有降脂作用可能是通过上调LCAT、MCD、CPT-1基因的表达,下调ACAT1、DGAT2、UCP2、SREBP-1c和FAS基因的表

达,改善了肝脏的脂质代谢,减少脂质在肝脏的堆积。因此,刺葡萄酒可改善高脂饮食诱导的血脂紊乱,以低、中剂量效果最佳,但刺葡萄酒降血脂的作用途径及分子机理如何,以及刺葡萄酒降血脂的活性成分为何,后续还需进一步研究。

参考文献

- [1] 诸骏仁,高润霖,赵水平,等.中国成人血脂异常防治指南(2016年修订版)[J].中国循环杂志,2016,31(10):937-953
ZHU Jun-ren, GAO Run-lin, ZHAO Shui-ping, et al. Guidelines for the prevention and treatment of dyslipidemia in Chinese adults (2016 revision) [J]. Chinese Circulation Journal, 2016, 31(10): 937-953
- [2] Hedenmalm Karin, Granberg Arzu Gunes, Dahl Marja-Liisa. Statin-induced muscle toxicity and susceptibility to malignant hyperthermia and other muscle diseases: a population-based case-control study including 1st and 2nd degree relatives [J]. European Journal of Clinical Pharmacology, 2015, 71(1): 117-124
- [3] Bland Christopher M, Bookstaver Brandon, Lu Kevin, et al. Musculoskeletal safety outcomes of patients receiving daptomycin with HMG-CoA reductase inhibitors [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2014, 58(10): 5726-5731
- [4] 于美汇,赵鑫,尹红力,等.黑木耳酸性多糖对高血脂症小鼠的降血脂作用[J].食品科学,2016,37(15):232-236
YU Mei-hui, ZHAO Xin, YIN Hong-li, et al. Hypolipemic effect of acidic polysaccharides from *Auricularia auriculaon* hyperlipidemia mice [J]. Food Science, 2016, 37(15): 232-236
- [5] 赵媛媛,覃骊兰,郝二伟.高血脂症动物模型研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(18):215-221
ZHAO Yuan-yuan, QIN Li-lan, HAO Er-wei. Progress of research on animal model of hyperlipidemia [J]. China Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2018, 24(18): 215-221
- [6] Bradamante Silvia, Barengi Livia, Villa Alessandro. Cardiovascular protective effects of resveratrol [J]. Cardiovascular Drug Reviews, 2004, 22(3): 169-188
- [7] John M Pezzuto. Grapes and human health: a perspective [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(16), 6777-6784
- [8] Ramesh Vidavalur, Hajime Otani, Pawan K Singal, et al. Significance of wine and resveratrol in cardiovascular disease: French paradox revisited [J]. Experimental and Clinical Cardiology, 2006, 11(3): 217-225
- [9] 鲍瑞峰,秦丹,唐明,等.刺葡萄酒香气成分的研究[J].酿酒科技,2010,2:53-56
BAO Rui-feng, QIN Dan, TANG Ming, et al. Study on the flavoring compositions of *V. didii*. Foex fruit wine [J]. Liquor-making Science & Technology, 2010, 2: 53-56
- [10] 秦丹,熊兴耀,石雪晖,等.刺葡萄品质分析及加工性能研究[J].食品科技,2006,31(6):52-54
QIN Dan, XIONG Xing-yao, SHI Xue-hui, et al. Study on the quality analysis and the processing characteristic of Hunan briergrape [J]. Food Science and Technology, 2006, 31(6): 52-54
- [11] Eric Anselm, Marta Chataigneau, Mamadou Ndiaye, et al. Grape juice causes endothelium-dependent relaxation via a redox-sensitive Src- and Akt- dependent activation of eNOS [J]. Cardiovascular Research, 2007, 73(2): 404-413
- [12] Abir Kasdallah-Grissa, Bessem Mornagui, Ezzedine Aouani, et al. Resveratrol, a red wine polyphenol, attenuates ethanol-induced oxidative stress in rat liver [J]. Life Sciences, 2007, 80(11): 1033-1039
- [13] Adonis Saremi, Rohit Arora. The cardiovascular implications of alcohol and red wine [J]. American Journal of Therapeutics, 2008, 15: 265-277
- [14] Marcello Iriti, Elena M Varoni. Cardioprotective effects of moderate red wine consumption: polyphenols vs. ethanol [J]. Journal of Applied Biomedicine, 2014, 12: 193-202
- [15] Boris Hansel, Anatol Kontush, Eric Bruckert. Is a cardioprotective action of alcohol a myth? [J]. Current Opinion in Cardiology, 2012, 27(5): 550-555
- [16] LI Huai-ge, Ulrich Förstermann. Red wine and cardiovascular health [J]. Circulation Research, 2012, 111(8): 959-961
- [17] 莫书荣.实验生理科学[M].北京:科学出版社,2009
MO Shu-rong. Experimental Physiology [M]. Beijing: Science Press, 2009
- [18] 刘建文.药理实验方法学:新技术与新方法[M].北京:化学工业出版社,2008
LIU Jian-wen. Pharmacological Experiment Methodology: New Technology and New Method [M]. Beijing: Chemical Industry Publishing, 2008
- [19] 严煜钧,刘仲华,林勇,等.茶叶中 EGCG 对非酒精性脂肪肝大鼠的调脂保肝作用研究[J].茶叶科学,2014,4(3):221-229
YAN Yu-jun, LIU Zhong-hua, LIN Yong, et al. Effects of EGCG from tea on regulating lipid metabolism and alleviating liver injury in rats with non-alcoholic fatty liver

- disease [J]. Journal of Tea Science, 2014, 34(3): 221-229
- [20] 邵国强,廖国群,徐琳本,等.煜鹤堂蝮蛇酒的降糖降脂和降压作用研究[J].湖南中医杂志,2019,35(11):127-129
SHAO Guo-qiang, LIAO Guo-qun, XU Lin-ben, et al. Study on the hypoglycemic and antihypertensive effects of Yuhetang viper wine [J]. Hunan Journal of Traditional Chinese Medicine, 2019, 35(11): 127-129
- [21] Cholesterol Treatment Trialists Collaborators. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90, 056 participants in 14 randomised trials of statins [J]. The Lancet, 2005, 366(8-14): 1267-1278
- [22] Helmut Schröder, Olivia Ferrandez, Jordi Jimenez Conde, et al. Cardiovascular risk profile and type of alcohol beverage consumption: a population-based study [J]. Ann Nutr Metab, 2005, 49: 100-106
- [23] 李虎,杨悦,李婷婷,等.慕萨莱思葡萄酒对高脂血症SD大鼠血脂的影响[J].中国酿造,2019,38(11):71-74
LI Hu, YANG Yue, LI Ting-ting, et al. Effect of Msalais wine on blood lipid in hyperlipidemia SD rats [J]. China Brewing, 2019, 38(11): 71-74
- [24] 郭金英,李华,王华,等.红葡萄酒对金黄地鼠血浆脂质水平的影响[J].中国农业科学,2007,40(11):2587-2592
GUO Jin-yin, LI Hua, WANG Hua, et al. The influence of red wine on lipid concentrations in plasma of golden hamsters [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(11): 2587-2592
- [25] Cheng, Alice Yy, Leiter, Lawrence A. Implications of recent clinical trials for the national cholesterol education program adult treatment panel III guidelines [J]. Current Opinion in Cardiology, 2006, 21: 400-404
- [26] Wolfram Swen, WANG Ying, Thielecke Frank. Anti-obesity effects of green tea: from bedside to bench [J]. Mol Nutr Food Res, 2006, 50(2): 176-187
- [27] Susana González-Manzano, Montserrat Dueñas, Julián C. Rivas-Gonzalo, et al. Studies on the copigmentation between anthocyanins and flavan-3-ols and their influence in the colour expression of red wine [J]. Food Chemistry, 2009, 114(2): 649-656
- [28] 李绍波,刘雪梅,毕倩宇,等.柿叶总黄酮对急性肝损伤小鼠肝组织的保护作用[J].西北药学杂志,2020,35(1):72-76
LI Shao-bo, LIU Xue-mei, BI Qian-yu, et al. Protective effect of persimmon leaf total flavonoids on acute liver injury in mice [J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2020, 35(1): 72-76
- [29] Rogers Maximillian A, Liu Jay, SONG Bao-Liang, et al. Acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferases (ACATs/ SOATs): enzymes with multiple sterols as substrates and as activators [J]. AJP: Endocrinology and Metabolism, 2009, 151(SI): 102-107
- [30] Steve S Choi, Anna Mae Diehl. Hepatic triglyceride synthesis and nonalcoholic fatty liver disease [J]. Current Opinion in Lipidology, 2008, 19(3): 295
- [31] FAN Jian-gao, DING Xiao-dong, WANG Guo-liang, et al. Expression of uncoupling protein 2 and its relationship to the content of adenosine triphosphate in the nonalcoholic fatty livers of rats fed a high-fat diet [J]. Chinese Journal of Hepatology, 2005, 13(5): 374-377
- [32] JIE An, Deborah M Muoio, Masakazu Shiota, et al. Hepatic expression of malonyl-CoA decarboxylase reverses muscle, liver and whole-animal insulin resistance [J]. Nature Medicine, 2004, 10(3): 268-274
- [33] 顾小红,张云东,冯爱娟.解偶联蛋白-2 在大鼠非酒精性脂肪肝中的表达[J].世界华人消化杂志,2005,13(19):2310-2313
GU Xiao-hong, ZHANG Yun-dong, FENG Ai-juan. Expression of uncoupling protein 2 in nonalcoholic fatty liver of rats [J]. World Chin J Digestol, 2005, 13(19): 2310-2313
- [34] ZENG Tao, ZHANG Cui-li, SONG Fu-yong, et al. PI3K/Akt pathway activation was involved in acute ethanol-induced fatty liver in mice [J]. Toxicology, 2012, 296(1-3): 56-66
- [35] 刘银,周玲旭,杨官荣,等.白酒对大鼠血脂及脂代谢关键酶影响的研究[J].现代预防医学,2017,44(22):4151-4155
LIU Yin, ZHOU Ling-xu, YANG Guan-rong, et al. Effects of white wine on blood lipids and key enzymes of lipid metabolism in rats [J]. Modern Preventive Medicine, 2017, 44 (22): 4151-4155