

· 论著 ·

富硒酵母对高脂血症大鼠脂代谢的影响

周晓丽 张倩 张大龙 李倩 张经纬 周朋辉 张静 张书婧 钱智勇 顾清

【摘要】 目的 探讨富硒酵母对高脂血症大鼠脂代谢的影响及调节机制。**方法** 将 40 只雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠按体重随机区组分组法分为空白对照组、模型对照组 (HF 组) 和低剂量富硒酵母组 (HF + LSe 组, 硒剂量为 0.83 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、高剂量富硒酵母组 (HF + HSe 组, 硒剂量为 8.33 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 每组 10 只。空白对照组正常饮食, 其他组高脂饮食。实验期为 90 d, 其中造模 30 d, 干预 60 d。干预期间每周记录动物进食量和体重, 并计算食物利用率。结束时 (即干预第 60 天) 全自动生化仪检测丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST), 计算血清动脉粥样硬化指数 (AI) 和血浆致动脉粥样硬化指数 (AIP)。全部动物进行大体解剖, 取肝组织 HE 染色和油红 O 染色观察肝组织病理学形态, 并制作 10% 肝匀浆测肝组织中胆固醇和甘油三酯水平。应用实时 PCR 检测羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (HMG-CoA-R)、低密度脂蛋白受体 (LDLR)、酰基辅酶 A-胆固醇酰基转移酶 (ACAT) 和卵磷脂胆固醇酰基转移酶 (LCAT) 的 mRNA 表达水平。**结果** HF + LSe 组在干预第 56 天平均体重显著低于 HF 组 ($F = 3.028, P < 0.05$)。HF + HSe 组及 HF + LSe 组的进食量和总增重均显著低于 HF 组 ($F = 19.706, 5.776, P$ 均 < 0.05), HF + LSe 组总食物利用率显著低于 HF 组 ($F = 23.791, P < 0.05$)。HF + LSe 组和 HF + HSe 组的肝脏总胆固醇、甘油三酯、AI 均明显低于 HF 组 ($F = 55.413, 5.322, 42.405, P$ 均 < 0.05)。HF + LSe 组的 AIP 显著低于 HF 组 ($F = 9.522, P < 0.05$)。HF + HSe 组的肝功能指标 ALT 和 HF + LSe 组的 AST 均显著低于 HF 组 ($F = 5.942, 3.489, P$ 均 < 0.05)。与 HF 组相比, HF + HSe 组和 HF + LSe 组肝细胞均有不同程度的修复, 以 HF + LSe 组修复效果最佳。HF + LSe 组的 HMG-CoA-R mRNA 表达水平与 HF 组比较显著降低 ($F = 5.972, P < 0.05$)。**结论** 富硒酵母可以抑制高脂饲料引起的大鼠体重增加, 具有降血脂和抗动脉粥样硬化作用; 对高脂血症大鼠的肝脏组织具有明显的修复功能。其主要通过下调 HMG-CoA-R mRNA 表达水平, 调节脂代谢。

【关键词】 富硒酵母; 高脂血症; 血脂; 胆固醇

基金项目: 天津市卫生行业重点攻关项目 (13KG138)

Effects of selenium enriched yeast on lipid metabolism in rats with hyperlipidemia Zhou Xiaoli*, Zhang Qian, Zhang Dalong, Li Qian, Zhang Jingwei, Zhou Penghui, Zhang Jing, Zhang Shujing, Qian Zhiyong, Gu Qing. * Department of Toxicology, Tianjin Centers for Disease Control and Prevention, Tianjin 300011, China

Corresponding author: Gu Qing, Email: guqing315@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects and the underlying mechanisms of selenium enriched yeast on hyperlipidemia in high-fat diet (HF)-fed rats. **Methods** Forty male Sprague-Dawley (SD) rats were divided into four groups according to their weight by random block grouping method: blank control group, model group (HF group), low dose of selenium enriched yeast intervention group (HF + LSe group, selenium dose 0.83 $\mu\text{g}/\text{kg}$) and high dose of selenium enriched yeast intervention group (HF + HSe group, selenium dose 8.33 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 10 rats for each group. Rats in blank control group were fed with normal diet while the other rats were fed with high-fat diet. The whole study lasted for 90 days including 30 days of modeling phase and 60 days of intervention phase. During intervention, weight and food intake were recorded weekly, and the food utilization rate was calculated. At the end of the experiment (the 60th day of intervention), alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase were measured by automatic biochemical analy-

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2017.06.001

作者单位: 300011 天津市疾病预防控制中心毒理科 (周晓丽, 张倩, 张大龙, 李倩, 张静, 张书婧, 钱智勇), 党委办公室 (张经纬), 传染病科 (周朋辉, 顾清)

通信作者: 顾清, Email: guqing315@126.com

zer. Serum atherosclerosis index (AI) and plasma induced atherosclerosis index (AIP) were calculated. All animals were dissected to observe the morphological changes of liver by HE and Oil Red O staining. The 10% hepatic tissue homogenates were prepared to detect the contents of total cholesterol (TC) and triglyceride (TG). 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMG-CoA-R), low-density lipoprotein receptor (LDLR), acyl coenzyme A cholesterol acyltransferase (ACAT) and lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT) mRNA were analyzed by real-time reverse transcription polymerase chain reaction. **Results** The average body weight in HF + LSe group was significantly lower than that of HF group on 56th day of intervention ($F=3.028$, $P<0.05$). The food intake and total weight gain in HF + HSe group and HF + LSe group were significantly lower than those in HF group ($F=19.706$, 5.776 , all $P<0.05$), whereas the total food utilization of HF + LSe group was significantly lower than that in HF group ($F=23.791$, $P<0.05$). Liver TC, TG and AI of HF + HSe group and HF + LSe group were significantly lower than those in HF group ($F=55.413$, 5.322 , 42.405 , all $P<0.05$). AIP in HF + LSe group was significantly lower than that in HF group ($F=9.522$, $P<0.05$). ALT in HF + HSe group and AST in HF + LSe group were significantly lower than those in HF group ($F=5.942$, 3.489 , all $P<0.05$). Compared with HF group, HF + HSe group and HF + LSe group had different levels of repair in hepatic cells, especially in HF + LSe group. The expression of HMG-CoA-R mRNA level in HF + LSe group was decreased significantly compared with HF group ($F=5.972$, $P<0.05$). **Conclusions** Selenium enriched yeast inhibits the weight gain of rats induced by high fat diet, possesses the effect of lowering blood lipid and anti-atherosclerosis, and repairs the liver tissue of hyperlipidemia rats. The main mechanism of selenium enriched yeast on lipid regulation may be its inhibition of HMG-CoA-R mRNA expression.

【Key words】 Selenium enriched yeast; Hyperlipidemia; Blood lipid; Cholesterol

Fund program: Tianjin Key Projects of Health Industry of China (13KG138)

高脂血症由多种因素引起,如饮食习惯、生活方式、遗传等。硒是人类和动物机体生长发育所必需的微量元素之一,它参与营养、代谢、繁殖、免疫以及临床保健。近年来,硒与血脂及动脉粥样硬化的关系引起了国内、外学者的关注^[1-2]。但富硒酵母对高脂血症的作用鲜见报道。富硒酵母消除了化学硒(如亚硒酸钠)对人体的毒性反应和肠胃刺激,使硒能够更高效、更安全地被人体吸收、利用。本课题组曾报道适量的酵母硒可降低雄性 Sprague-Dawley (SD) 高脂血症大鼠的血脂水平,具有抗氧化能力^[3]。本研究将在此基础上进一步研究富硒酵母对大鼠脂代谢的影响,并探讨其作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及饲养环境 50 只 SPF 级雄性 SD 大鼠,体重(200 ± 20)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司;SPF 级实验动物房,动物批号:11400700098156,动物房合格号:SYXK(津)2012-0001,温度 $20^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $40\% \sim 70\%$ 。富硒酵母干预期间实验大鼠单笼饲养,自由摄食,饮去离子水,每周称量体重和进食量。

1.1.2 实验动物饲料 高脂饲料和基础饲料均购自于北京华阜康生物科技股份有限公司,饲料中硒的含量:高脂饲料中 0.131 mg/kg ,基础饲料中 0.169 mg/kg 。饲料营养成分见表 1。

表 1 高脂饲料和基础饲料中营养成分的含量(%)

成分	基础饲料	高脂饲料
粗灰分	9.30	4.00
粗蛋白	16.00	9.91
粗脂肪	2.90	17.00
粗纤维	5.80	5.50
总磷	0.66	0.54
钙	1.83	0.73
水分	9.39	7.30

1.1.3 主要仪器 TBA-40FR 全自动生化分析仪购自日本东芝公司,BX53 Olympus 显微镜购自日本 Olympus 公司,CM1900 冷冻切片机购自德国 Leica 公司,全自动 Thermo 染色机购自美国 Thermo Electron 公司,ASP3000 脱水机购自德国 Leica 公司,Leica 全自动熔蜡热台 EG1150H 石蜡包埋机购自德国 Leica 公司,600A 型低速离心机购自北京白洋医疗器械有限公司,超低温保存箱购自青岛海尔特种电器有限公司,罗氏 480 荧光定量 PCR 仪购自美国 Roche 公司。

1.1.4 主要试剂 富硒酵母购买于安琪酵母有限公司,富硒酵母含硒量为 2000 mg/kg 。测定大鼠血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、白蛋白、总白蛋白、血糖、肌酐的试剂均购自北京九强生物技术有限公司。苏木素染色液和伊红染色液购自哈尔滨格林标本技术开发有限公司,油红 O 染液购自南京建成生物工程研究所,羟甲基

戊二酰辅酶 A 还原酶 (HMG-CoA-R)、低密度脂蛋白受体 (LDLR)、酰基辅酶 A-胆固醇酰基转移酶 (ACAT)、卵磷脂胆固醇脂酰转移酶 (LCAT) 引物由美国 Invitrogen 公司合成, TRIzol 总 RNA 提取试剂 TRIzol Reagent 购自康为世纪生物科技有限公司, Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit 第一链合成试剂盒购自罗氏公司, SYBR Premix Ex Taq (Tli RNaseH Plus) 购自 TaKaRa 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组与干预 50 只 SD 雄性大鼠按体重随机区组分组法分为 2 组, 其中 10 只动物作为空白对照组饲喂普通饲料, 其余 40 只作为造模组饲喂高脂饲料, 造模期 30 d。30 d 后将造模成功的高脂血症大鼠, 去除胆固醇最高值及最低值的动物, 共剩余 30 只, 根据胆固醇水平和体重按随机区组法随机分为 3 组: 模型对照组 (HF 组)、低剂量富硒酵母组 (HF + LSe 组, 硒剂量 0.83 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、高剂量富硒酵母组 (HF + HSe 组, 硒剂量 8.33 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 每组 10 只。富硒酵母干预剂量按照中国居民膳食营养素参考摄入量硒摄入量推算得出, 给药方式为灌胃, 连续 60 d, 干预期间每周记录动物进食量和体重。为防止药物溶液污染变质, 灌胃药液均每日新鲜配制。

1.2.2 肝脏胆固醇、甘油三酯及血液生化指标检测 富硒酵母干预第 61 天 (禁食) 眼内眦静脉丛取全血 2 ml, 3 000 r/min ($r=9.94\text{ cm}$), 离心 10 min, 分离出血清, 采用 TBA-40FR 全自动生化分析仪测定大鼠血清 ALT、AST、总白蛋白、白蛋白、血糖、肌酐。按照文献报道的方法制作 10% 肝匀浆, 之后用生化仪检测肝匀浆中胆固醇和甘油三酯^[4]。计算血清动脉粥样硬化指数 (AI) = (总胆固醇 - 高密度脂蛋白-胆固醇)/高密度脂蛋白-胆固醇^[5]。血浆致动脉粥样硬化指数 (AIP) = $\log(\text{甘油三酯}/\text{高密度脂蛋白-胆固醇})$ ^[6]。

1.2.3 大鼠肝脏病理形态观察 实验结束时, 肝脏组织一部分固定后, 进行包埋切片及 HE 染色; 一份立即冰冻切片进行油红 O 染色; 一部分冻于 -80°C 待测。

1.2.4 实时定量 PCR 检测脂代谢相关因子 mRNA 的表达 称取 50 mg 大鼠肝脏, 利用 TRIzol 法提取总 RNA, 然后将 1 μg 总 RNA 通过 Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit 进行反转录。荧光定量 PCR 在 LightCycler[®] 480 (Roche 公司) 设备中进行, 每个样品设置 3 个重复, 并以 3-磷酸甘油醛脱氢酶作为内参。25 μl 定量-PCR 反应体系: 2 \times SYBR Green Master Mix 12.5 μl , ddH₂O 8.5 μl , Forward primer 1 μl , Reverse primer 1 μl , cDNA 2.0 μl 。

定量 PCR 特异产物通过溶解曲线分析, 以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 表示相对基因表达变化。用于定量 PCR 的引物序列见表 2。

表 2 实时定量 PCR 引物序列

基因	引物序列	产物大小 (bp)
GAPDH	上游引物 5'-GCAAGTTCAACGGCACAG-3'	150
	下游引物 5'-CGCCAGTAGACTCCACGAC-3'	
HMG-CoA-R	上游引物 5'-TGTGGGAACGGTGACACTTA-3'	168
	下游引物 5'-CTTCAAATTTTGGGCACTCA-3'	
LDLR	上游引物 5'-AGCCGATGCATTCTCTGACTC-3'	119
	下游引物 5'-AGTTCATCCGAGCCATTTTCAC-3'	
ACAT	上游引物 5'-GCTGAAGTGAACCTACCCCTT-3'	150 ~ 200
	下游引物 5'-GAGCCATGCCTCTAGTACCT-3'	
LCAT	上游引物 5'-CCAAGGCTGAATCAGTAACCA-3'	116
	下游引物 5'-CGGTAGCACAGCCAGTTTACCA-3'	

注: GAPDH; 3-磷酸甘油醛脱氢酶; HMG-CoA-R; 羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶; LDLR; 低密度脂蛋白受体; ACAT; 酰基辅酶 A-胆固醇酰基转移酶; LCAT; 卵磷脂胆固醇脂酰转移酶

1.3 统计学处理 实验数据应用 SPSS 11.5 软件进行分析, 正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间均数比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 组间两两比较采用 LSD-*t* 法, 检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 富硒酵母对高脂血症大鼠体重的影响 富硒酵母干预第 7 到 49 天, 4 组间体重差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。在第 56 天, HF 组体重显著高于空白对照组 ($P<0.05$), HF + LSe 组体重显著低于 HF 组 ($P<0.05$), 见表 3。

2.2 富硒酵母对高脂血症大鼠进食量的影响 HF 组在富硒酵母干预第 7 到 49 天的进食量均显著低于空白对照组, HF + LSe 组、HF + LSe 组及 HF + HSe 组在第 7 到 56 天的进食量均显著低于空白对照组 (P 均 <0.05)。HF + HSe 组在第 14、21、28、42、49 天的进食量显著低于 HF 组 (表 4)。HF 组的总增重 (60 d) 显著高于空白对照组 ($P<0.05$), 而 HF + LSe 组及 HF + HSe 组的总增重均显著低于 HF 组 (P 均 <0.05)。HF + HSe 组的进食量显著低于 HF 组 ($P<0.05$), HF + LSe 组的总食物利用率显著低于 HF 组 ($P<0.05$), 见表 5。

2.3 富硒酵母对高脂血症大鼠 AI 和 AIP 的影响 富硒酵母干预第 61 天, HF 组、HF + LSe 组、HF + HSe 组的 AI 和 AIP 均显著高于空白对照组 (P 均 <0.05), 而 HF + HSe 组和 HF + LSe 组的 AI 均显著低于 HF 组 (P 均 <0.05), 见表 6。

表 3 富硒酵母对高脂血症大鼠体重的影响(g, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天	第 35 天	第 42 天	第 49 天	第 56 天
空白对照组	10	392.7 ± 16.6	423.9 ± 20.3	452.6 ± 20.3	471.3 ± 18.6	496.4 ± 27.7	514.3 ± 27.0	522.4 ± 28.2	535.8 ± 30.5
HF 组	10	396.1 ± 17.1	437.9 ± 21.2	478.3 ± 26.8	505.0 ± 31.5	531.7 ± 32.3	558.6 ± 35.6	568.8 ± 33.7	589.2 ± 38.3 ^a
HF + LSe 组	10	391.8 ± 19.7	418.7 ± 28.4	453.2 ± 34.3	475.2 ± 36.4	497.3 ± 39.7	520.7 ± 43.1	532.6 ± 43.2	552.2 ± 44.2 ^b
HF + HSe 组	10	392.4 ± 21.6	421.5 ± 27.2	456.2 ± 33.0	481.6 ± 35.1	506.1 ± 40.2	529.9 ± 42.0	540.4 ± 42.5	559.4 ± 47.3
F 值		0.106	1.211	1.766	2.339	2.169	2.724	2.827	3.028
P 值		0.956	0.320	0.171	0.090	0.109	0.058	0.052	0.042

注:与空白对照组相比,^a $P < 0.05$;与 HF 组相比,^b $P < 0.05$;HF 组:模型对照组;HF + LSe 组:低剂量富硒酵母组;HF + HSe 组:高剂量富硒酵母组

表 4 富硒酵母对高脂血症大鼠进食量的影响(g, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天	第 35 天	第 42 天	第 49 天	第 56 天
空白对照组	10	176.1 ± 12.2	218.5 ± 19.6	227.1 ± 17.0	222.0 ± 20.8	213.9 ± 16.3	205.7 ± 15.8	189.0 ± 18.3	201.4 ± 16.8
HF 组	10	145.7 ± 18.0 ^a	186.7 ± 14.0 ^a	191.5 ± 16.7 ^a	183.6 ± 19.0 ^a	179.7 ± 12.7 ^a	184.7 ± 11.0 ^a	175.0 ± 10.2 ^a	186.8 ± 18.1
HF + LSe 组	10	145.1 ± 10.0 ^a	181.9 ± 13.6 ^a	172.5 ± 17.2 ^{ab}	171.4 ± 18.4 ^a	167.6 ± 21.7 ^a	167.6 ± 19.8 ^{ab}	165.1 ± 17.0 ^a	171.5 ± 15.6 ^a
HF + HSe 组	10	142.7 ± 15.5 ^a	167.3 ± 21.0 ^{ab}	167.0 ± 13.4 ^{ab}	163.9 ± 16.1 ^{ab}	164.7 ± 15.3 ^a	165.4 ± 14.4 ^{ab}	156.2 ± 13.1 ^{ab}	172.9 ± 31.7 ^a
F 值		12.347	15.431	28.215	19.194	18.014	14.381	8.789	4.205
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.012

注:与空白对照组相比,^a $P < 0.05$;与 HF 组相比,^b $P < 0.05$;HF 组:模型对照组;HF + LSe 组:低剂量富硒酵母组;HF + HSe 组:高剂量富硒酵母组

表 5 富硒酵母对高脂血症大鼠总增重、总进食量和总食物利用率的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	总增重(g)	总进食量(g)	总食物利用率(%)
空白对照组	10	143.1 ± 21.6	1 653.7 ± 121.5	8.64 ± 0.99
HF 组	10	193.1 ± 27.1 ^a	1 433.7 ± 106.1 ^a	13.44 ± 1.38 ^a
HF + LSe 组	10	160.4 ± 30.4 ^b	1 342.7 ± 112.0 ^a	11.88 ± 1.64 ^{ab}
HF + HSe 组	10	167.0 ± 29.2 ^b	1 300.1 ± 108.9 ^{ab}	12.77 ± 1.43 ^a
F 值		5.776	19.706	23.791
P 值		0.002	<0.001	<0.001

注:与空白对照组相比,^a $P < 0.05$;与 HF 组相比,^b $P < 0.05$;HF 组:模型对照组;HF + LSe 组:低剂量富硒酵母组;HF + HSe 组:高剂量富硒酵母组

表 6 富硒酵母对高脂血症大鼠 AI 和 AIP 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	AI	AIP
空白对照组	10	1.04 ± 0.28	0.19 ± 0.18
HF 组	10	2.66 ± 0.41 ^a	0.54 ± 0.18 ^a
HF + LSe 组	10	2.00 ± 0.30 ^{ab}	0.38 ± 0.12 ^{ab}
HF + HSe 组	10	2.34 ± 0.35 ^{ab}	0.42 ± 0.10 ^a
F 值		42.405	9.522
P 值		<0.001	<0.001

注:与空白对照组相比,^a $P < 0.05$;与 HF 组相比,^b $P < 0.05$;HF 组:模型对照组;HF + LSe 组:低剂量富硒酵母组;HF + HSe 组:高剂量富硒酵母组;AI:动脉粥样硬化指数;AIP:致动脉粥样硬化指数

2.4 富硒酵母对高脂血症大鼠总胆固醇、甘油三酯水平的影响 HF 组的肝脏总胆固醇、甘油三酯水平显著高于空白对照组(P 均 < 0.05),而 HF + HSe 组和 HF + LSe 组总胆固醇、甘油三酯水平显著低于 HF 组(P 均 < 0.05),见表 7。

表 7 富硒酵母对高脂血症大鼠肝脏甘油三酯、总胆固醇水平的影响(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	总胆固醇	甘油三酯
空白对照组	10	0.74 ± 0.17	2.23 ± 0.67
HF 组	10	2.14 ± 0.36 ^a	3.03 ± 0.20 ^a
HF + LSe 组	10	1.78 ± 0.22 ^{ab}	2.54 ± 0.30 ^b
HF + HSe 组	10	1.78 ± 0.25 ^{ab}	2.52 ± 0.50 ^b
F 值		55.413	5.322
P 值		<0.001	0.004

注:与空白对照组相比,^a $P < 0.05$;与 HF 组相比,^b $P < 0.05$;HF 组:模型对照组;HF + LSe 组:低剂量富硒酵母组;HF + HSe 组:高剂量富硒酵母组

2.5 富硒酵母对高脂血症大鼠血液生化影响 HF 组的 ALT、AST 和血清总蛋白水平显著高于空白对照组(P 均 < 0.05)。HF + HSe 组血清 ALT 水平和 HF + LSe 组血清 AST 水平均显著低于 HF 组(P 均 < 0.05),HF + LSe 组血清 ALT 和血清总蛋白水平显著高于空白对照组(P 均 < 0.05)。4 组间血清血清白蛋白、血糖和肌酐水平差异均无统计学意义(P 均 > 0.05),见表 8。

2.6 富硒酵母对高脂血症大鼠肝组织病理形态的影响 空白对照组大鼠肝脏光镜下细胞排列整齐,肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列,肝索排列整齐(图 1A,封 3);HF 组肝脏光镜下肝细胞排列紊乱,细胞肿胀,肝细胞内有大量脂肪滴,肝细胞空泡变性,细胞点状坏死(图 1B,封 3);HF + LSe 组及 HF + HSe 组镜下脂肪变性程度减轻,细胞肿胀和空泡样变性有所减轻,脂肪滴量较 HF 组少,且部分肝细胞结构基本正常(图 1C、1D,封 3)。油红 O 染色

表 8 富硒酵母对高脂血症大鼠血液生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ALT(U/L)	AST(U/L)	TP(g/L)	ALB(g/L)	GLU(mmol/L)	CRE(μ mol/L)
空白对照组	10	48.5 \pm 4.7	147.2 \pm 12.0	66.0 \pm 3.4	42.9 \pm 1.8	5.45 \pm 0.33	63.3 \pm 3.7
HF 组	10	71.0 \pm 12.1 ^a	195.3 \pm 50.4 ^a	71.5 \pm 4.6 ^a	45.2 \pm 2.5	5.49 \pm 0.65	63.4 \pm 5.2
HF + LSe 组	10	65.2 \pm 19.7 ^a	141.1 \pm 32.4 ^b	71.8 \pm 5.7 ^a	45.2 \pm 2.7	5.80 \pm 0.51	64.1 \pm 7.1
HF + HSe 组	10	54.8 \pm 11.6 ^b	159.5 \pm 54.8	68.6 \pm 5.8	44.6 \pm 2.6	5.24 \pm 0.55	64.5 \pm 17.2
F 值		5.942	3.489	2.977	2.123	1.932	0.034
P 值		0.002	0.025	0.044	0.114	0.142	0.991

注:与空白对照组相比,^a $P < 0.05$;与 HF 组相比,^b $P < 0.05$;HF 组:模型对照组;HF + LSe 组:低剂量富硒酵母组;HF + HSe 组:高剂量富硒酵母组;ALT:丙氨酸氨基转移酶;AST:天门冬氨酸氨基转移酶;TP:血清总蛋白;ALB:血清白蛋白;GLU:血糖;CRE:肌酐

结果:镜下观察油红 O 染色富硒酵母干预第 61 天的肝组织切片,发现 HF 组肝细胞内可见大量的红色脂肪滴,油红着色,呈弥漫性, HF + LSe 组及 HF + HSe 组肝细胞内红色脂肪滴较少,见图 2(封 3)。

2.7 富硒酵母对高脂血症大鼠脂代谢相关因子 mRNA 表达水平的影响 富硒酵母干预第 61 天,与空白对照组比较, HF 组、HF + LSe 组及 HF + HSe 组肝脏 ACAT、HMG-CoA-R、LDLR 和 LCAT mRNA 表达显著降低(P 均 < 0.05)。与 HF 组比较, HF + LSe 组的 HMG-CoA-R mRNA 表达水平显著降低($P < 0.05$), HF + LSe 组及 HF + HSe 组 ACAT、LDLR 和 LCAT 的 mRNA 表达水平与 HF 组间的差异无统计学意义(P 均 > 0.05),见表 9、图 3。

3 讨论

本结果显示, HF + LSe、HF + HSe 组体重显著低于 HF 组,说明硒干预可以导致高脂饮食引起的大鼠体重增加。HF + HSe 组及 HF + LSe 组的进食量显著低于 HF 组, HF + LSe 组总食物利用率显著低于 HF 组, HF 组、HF + LSe 组及 HF + HSe 组的 60 d 总进食量和总食物利用率显著低于空白对照组,表明硒干预和高脂饮食会引起大鼠的进食量减少,推测可能是由于高脂饲料比正常饲料相对油腻引起的。本研究结果还显示与空白对照组比较, HF 组、

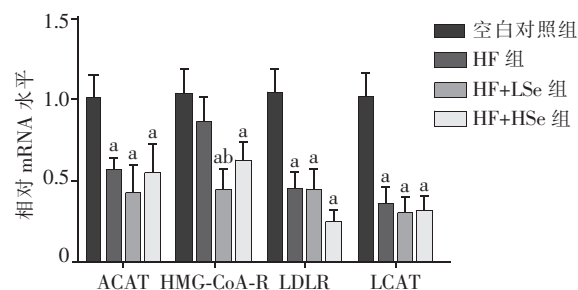
HF + LSe 组及 HF + HSe 组肝脏 ACAT、LCAT mRNA 表达显著降低。与 HF 组相比, HF + LSe 组及 HF + HSe 组 ACAT、LCAT 的 mRNA 表达差异无统计学意义,因此推测,硒降低脂代谢并不是通过 ACAT、LCAT 产生作用的。AI 和 AIP 是动脉粥样硬化风险的主要预测指数,其值升高表明患心血管疾病的风险增加^[7-8]。HF + HSe 组和 HF + LSe 组的 AI 均显著低于 HF 组。AIP 与心血管疾病密切相关,可作为反映低密度脂蛋白颗粒直径的间接指标;AIP 升高即低密度脂蛋白所占比例升高,而低密度脂蛋白是冠心病发生的主要因素,表明动脉粥样硬化的危险性增加^[9]。本实验发现, HF + LSe 组的 AIP 显著低于 HF 组。通过 HE 和油红 O 染色肝组织切片,镜下观察发现 HF 组肝组织均有不同程度的损伤和脂肪沉积,但是富硒酵母干预组肝脏损伤程度和脂肪沉积的量较小,表明富硒酵母具有降低肝脏脂质沉积,预防肝细胞脂肪变性的作用。

Nido 等^[10]发现,补充富硒益生菌的小鼠肝脏脂质水平显著降低。本研究结果显示,富硒酵母干预第 61 天,富硒酵母干预组的肝脏胆固醇、甘油三酯水平明显低于 HF 组,低剂量硒调节肝脏脂质水平作用明显,而高剂量硒次之。研究发现,硒的作用呈剂量依赖性,高浓度的硒毒性较强^[11]。李万立等^[12]

表 9 富硒酵母对高脂血症大鼠脂代谢相关因子 mRNA 表达的影响

组别	例数	ACAT	HMG-CoA-R	LDLR	LCAT
空白对照组	10	1.01 \pm 0.14	1.03 \pm 0.31	1.04 \pm 0.38	1.01 \pm 0.13
HF 组	10	0.56 \pm 0.08 ^a	0.86 \pm 0.12	0.44 \pm 0.10 ^a	0.35 \pm 0.09 ^a
HF + LSe 组	10	0.42 \pm 0.16 ^a	0.44 \pm 0.13 ^{ab}	0.44 \pm 0.19 ^a	0.29 \pm 0.10 ^a
HF + HSe 组	10	0.54 \pm 0.18 ^a	0.62 \pm 0.10 ^a	0.24 \pm 0.03 ^a	0.31 \pm 0.04 ^a
F 值		9.892	5.972	7.638	39.821
P 值		0.005	0.019	0.010	< 0.001

注:与空白对照组相比,^a $P < 0.05$;与 HF 组相比,^b $P < 0.05$;HF 组:模型对照组;HF + LSe 组:低剂量富硒酵母组;HF + HSe 组:高剂量富硒酵母组;HMG-CoA-R:羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶;LDLR:低密度脂蛋白受体;ACAT:酰基辅酶 A-胆固醇酰基转移酶;LCAT:卵磷脂胆固醇脂酰转移酶



注:与空白对照组相比,^a $P < 0.05$;与 HF 组相比,^b $P < 0.05$;HF 组:模型对照组;HF + LSe 组:低剂量富硒酵母组;HF + HSe 组:高剂量富硒酵母组;HMG-CoA-R:羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶;LDLR:低密度脂蛋白受体;ACAT:酰基辅酶 A-胆固醇酰基转移酶;LCAT:卵磷脂胆固醇脂酰转移酶

图 3 富硒酵母对 ACAT、HMG-CoA-R、LDLR 和 LCAT mRNA 表达水平的影响

以低[20 mg/(kg 体重·d)]、中[40 mg/(kg 体重·d)]、高[60 mg/(kg 体重·d)]剂量的富硒酵母(硒含量为1 μg/mg)改善过量铜引起的小鼠肝脏损伤,结果表明,中剂量补硒可以降低血清 ALT、AST 水平,增强肝脏抗氧化能力,并有效降低过量铜引起的肝细胞凋亡,改善肝脏病理损伤,而高剂量硒则在一定程度上加剧了过量铜引起的肝损伤,说明硒具有抗氧化和促氧化的双向作用,其两面性取决于浓度。Sreekala等^[13]研究亚硒酸钠对尼古丁诱导大鼠高脂血症的影响,结果表明干预剂量1 μg/kg体重和50 μg/kg体重均能降低尼古丁引起的高胆固醇水平,硒的剂量1 μg更为有效,而高剂量硒具有肝脏毒性。低剂量亚硒酸钠(1 μg/kg体重)显著降低脂质生成酶和HMG-CoA-R的活性,导致脂质含量减少。研究报道,通过饮食补充硒的量达到1 mg/kg时补充3个月,能增加高胆固醇血症大鼠的LDLR活性及其mRNA表达,通过下调HMG-CoA-R mRNA表达来降低胆固醇、低密度脂蛋白-胆固醇和载脂蛋白B^[14-15]。本研究中富硒酵母干预可下调HMG-CoA-R mRNA表达,但LDLR mRNA表达没有显著增加,可能与本研究富硒酵母干预时间短和补充量小有关。HMG-CoA-R是肝胆固醇合成的限速酶,催化羟甲基戊二酰辅酶A转化甲羟戊酸^[16]。肝脏HMG-CoA-R表达与胆固醇合成率相关,饮食中大量的胆固醇将抑制HMG-CoA-R的活性^[17]。本研究中,与空白对照组相比,HF组HMG-CoA-R mRNA表达水平显著降低,富硒酵母干预组降低更加明显,尤其是HF+LSe组。因此富硒酵母通过下调HMG-CoA-R mRNA表达来降低血脂水平和AI。

综上,通过补硒防治疾病的初衷面临着因过量而致病的风险,人们必须重新审视微量元素硒的多样功能,并应用该元素促进健康,防治疾病。从公共健康角度来看,应当合理引导消费者选择营养补充剂和富硒产品。

参 考 文 献

- [1] Surhio MM, Wang Y, Xu P, et al. Antihyperlipidemic and hepatoprotective properties of selenium modified polysaccharide from *Lachnum* sp[J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 99:88-95. DOI:10.1016/j.ijbiomac. 2017. 01. 148.
- [2] Laclaustra M, Stranges S, Navas-Acien A, et al. Serum selenium and serum lipids in US adults: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2004[J]. *Atherosclerosis*, 2010, 210(2):643-648. DOI:10.1016/j.atherosclerosis. 2010. 01. 005.
- [3] 张经纬,张静姝,周朋辉,等. 富硒酵母对高脂饮食大鼠血脂和抗氧化指标的影响[J]. *中国慢性病预防与控制*, 2016, 24(3):216-218. DOI:10.16386/j. cjecc. issn. 1004-6194. 2016. 03. 016.
- [4] Nagi MN, Almakki HA, Sayed-Ahmed MM, et al. Thymoquinone supplementation reverses acetaminophen-induced oxidative stress, nitric oxide production and energy decline in mice liver[J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(8-9):2361-2365. DOI:10.1016/j. fct. 2010. 05. 072.
- [5] Schimmel EK, Yazici Y. Increased lipid levels but unchanged atherogenic index in rheumatoid arthritis patients treated with biologic disease modifying antirheumatic drugs: published experience[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2009, 27(3):446-451.
- [6] Dobiášová M. Atherogenic index of plasma [log (triglycerides/HDL-cholesterol)]: theoretical and practical implications[J]. *Clin Chem*, 2004, 50(7):1113-1115. DOI:10.1373/clinchem. 2004. 033175.
- [7] Al-Tai WF, Jaffer EMH, Ali ZA. Evaluating the utility of plasma atherogenic index among several atherogenic parameters in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis[J]. *J Fac Med Baghdad*, 2012, 54(3):259-262.
- [8] Ezeukwu AO, Agwubike EO. Anthropometric measures of adiposity as correlates of atherogenic index of plasma in non-obese sedentary Nigerian males[J]. *Libyan J Med*, 2014, 9(1):23798. DOI:10.3402/ljm. v9. 23798.
- [9] Dobiášová M, Frohlich J. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apoB-lipoprotein-depleted plasma (FER (HDL)) [J]. *Clin Biochem*, 2001, 34(7):583-588.
- [10] Nido SA, Shitluni SA, Mengistu BM, et al. Effects of selenium-enriched probiotics on lipid metabolism, antioxidative status, histopathological lesions, and related gene expression in mice fed a high-fat diet[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2016, 171(2):399-409. DOI:10.1007/s12011-015-0552-8.
- [11] 王东亮,肖敏,钱卫,等. 细菌还原氧化态硒产生红色单质硒的研究进展[J]. *微生物学报*, 2007, 47(3):554-557. DOI:10.3321/j. issn:0001-6209. 2007. 03. 037.
- [12] 李万立,张守华,查龙应,等. 富硒酵母对铜负荷导致小鼠肝损伤的保护作用[J]. *营养学报*, 2009, 31(5):486-489. DOI:10.3321/j. issn:0512-7955. 2009. 05. 017.
- [13] Sreekala S, Indira M. Effect of exogenous selenium on nicotine induced hyperlipidemia in rats[J]. *Indian J Physiol Pharmacol*, 2008, 52(2):132-140.
- [14] Dhingra S, Bansal MP. Hypercholesterolemia and LDL receptor mRNA expression: modulation by selenium supplementation[J]. *Biomaterials*, 2006, 19(5):493-501. DOI:10.1007/s10534-005-5393-z.
- [15] Dhingra S, Bansal MP. Modulation of hypercholesterolemia-induced alterations in apolipoprotein B and HMG-CoA reductase expression by selenium supplementation[J]. *Chem Biol Interact*, 2006, 161(1):49-56. DOI:10.1016/j. cbi. 2006. 02. 008.
- [16] Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway[J]. *Nature*, 1990, 343(6257):425-430. DOI:10.1038/343425a0.
- [17] Shefer S, Hauser S, Lapar V, et al. HMG CoA reductase of intestinal mucosa and liver of the rat[J]. *J Lipid Res*, 1972, 13(3):402-412.

(收稿日期:2017-03-22)