

复方丹参片通过 LKB1-AMPK 通路干预高脂血症大鼠的作用机制研究

张明昊¹, 张童¹, 郭申¹, 赵绅¹, 杜婧雯¹, 俎兆轩¹, 丁妍妍² (1. 河南中医药大学医学院, 河南 郑州 450046; 2. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046)

摘要: **目的** 基于 LKB1-AMPK 通路探讨复方丹参片对高脂血症大鼠的保护作用及相关机制。**方法** 采用腹腔注射 75% 蛋黄乳液+连续饲喂高脂饲料 4 周的方式制备高脂血症大鼠模型。将大鼠随机分为正常组、模型组、辛伐他汀组(0.02 g·kg⁻¹)和复方丹参低、中、高剂量组(复方丹参片, 1.5、3、6 g·kg⁻¹), 每组 10 只。各组大鼠每日 1 次给予相应剂量药物灌胃, 连续干预 4 周。采用 ELISA 法检测血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(T-CHO)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)水平; 测定大鼠肝脏系数; 采用 HE 染色法观察肝脏组织病理形态; 采用免疫组织化学法检测肝脏组织中 AMPK、p-AMPK、LKB1、HMGCR 蛋白水平; 采用 Real-time PCR 法检测肝脏组织中 AMPK、LKB1、HMGCR mRNA 表达水平。**结果** 与正常组比较, 模型组大鼠的肝脏系数及血清 TG、T-CHO、LDL-C、ALT、AST 水平明显升高($P < 0.05$), HDL-C 水平明显降低($P < 0.05$); 肝脏出现脂肪性病变; 肝脏组织中 AMPK、p-AMPK、LKB1 蛋白及 mRNA 表达水平明显降低($P < 0.05$), HMGCR 蛋白及 mRNA 表达水平明显升高($P < 0.05$)。与模型组比较, 复方丹参片低、中、高剂量能明显降低高脂血症模型大鼠的肝脏系数及血清 TG、T-CHO、LDL-C、ALT、AST 水平($P < 0.05$), 升高 HDL-C 水平($P < 0.05$); 改善肝脏脂肪性病变; 升高肝脏组织中 AMPK、p-AMPK、LKB1 蛋白及 mRNA 表达水平($P < 0.05$), 降低 HMGCR 蛋白及 mRNA 表达水平($P < 0.05$)。**结论** 复方丹参片可能通过激活 LKB1-AMPK 通路及抑制 HMGCR 表达水平来实现对高脂血症大鼠的保护作用。

关键词: 复方丹参片; 高脂血症; LKB1-AMPK 通路; HMGCR 蛋白; 大鼠

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2022)02-0158-07

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2022.02.003

Protective Effect of Compound *Danshen* Tablets on Hyperlipidemic Rats by Regulating LKB1-AMPK Signal Pathway

ZHANG Minghao¹, ZHANG Tong¹, GUO Shen¹, ZHAO Shen¹, DU Jingwen¹, ZU Zhaoxuan¹, DING Yanyan² (1. School of Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046 Henan, China; 2. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046 Henan, China)

Abstract: **Objective** To study the protective effect of compound *Danshen* tablets on hyperlipidemic rats and its mechanism based on LKB1-AMPK signal pathway. **Methods** Hyperlipidemic rat model was induced by intraperitoneal injection of 75% solution of egg yolk and feeding high fat food. Rats were randomly divided into normal group, model group, simvastatin group and compound *Danshen* group(1.5, 3, 6 g·kg⁻¹). Animals in each group were given the corresponding dose of drugs daily by gavage, and the intervention was continued for 4 weeks. The serum levels of TG, T-CHO, LDL-C, HDL-C, ALT and AST were measured by ELISA. Liver weight was measured and liver index was calculated. HE staining was applied to observe the pathological morphology of liver tissues. Immunohistochemical method was used to detect the protein expression levels of AMPK, p-AMPK, LKB1 and

收稿日期: 2021-04-25

作者简介: 张明昊, 男, 高级实验师, 研究方向: 中药药理学。Email: Zhangminghao@hactcm.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31071923); 河南中医药大学科研苗圃工程项目(MP2016-04)。

HMGR in liver tissues. RT-PCR was used to detect the mRNA levels of AMPK, LKB1 and HMGR in liver tissues. **Results** Compared with normal group, there was extensive steatosis in the rats' livers of the model group; the liver index and the levels of TG, T-CHO, LDL-C, ALT, AST were significantly higher ($P < 0.05$) and the level of HDL-C were significantly reduced ($P < 0.05$) in the model group; the levels of AMPK, p-AMPK, LKB1 protein and mRNA were significantly reduced ($P < 0.05$) and the levels of HMGR protein and mRNA were significantly higher ($P < 0.05$) in the model group ($P < 0.05$). In the compound *Danshen* groups (1.5, 3, 6 g·kg⁻¹), compound *Danshen* tablets significantly reduced the liver indexes and the levels of TG, T-CHO, LDL-C, ALT, AST ($P < 0.05$), improved the levels of HDL-C in rats ($P < 0.05$), and improved the pathological changes of liver tissues. It was also found that the levels of AMPK, p-AMPK, LKB1 protein and mRNA were significantly higher ($P < 0.05$), and the levels of HMGR protein and mRNA were significantly reduced ($P < 0.05$) in liver tissues. **Conclusion** Compound *Danshen* tablets had the protective effect on hyperlipidemia rats, and its mechanism may be related to the activation of LKB1-AMPK and down-regulating the expression of HMGR.

Keywords: Compound *Danshen* tablets; hyperlipidemic; LKB1-AMPK pathway; HMGR protein; rats

高脂血症(Hyperlipidemic)是由脂肪代谢紊乱引起的一种血浆脂质失衡性疾病^[1],以血液中总胆固醇(Total cholesterol, T-CHO)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(Low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)水平升高或高密度脂蛋白胆固醇(High density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)水平降低为主要临床表现^[2-3],是动脉粥样硬化、脂肪肝、冠心病及脑卒中的主要诱发因素^[4]。临床上常以降低血脂水平、促进血脂代谢作为高脂血症治疗的核心策略。复方丹参片是以丹参为君药,辅以三七、冰片而制成的一种复方制剂,具有活血化瘀、理气止痛之功效,对于防治心脑血管疾病疗效较好^[5]。本实验拟从活血化瘀的药理作用出发,通过建立高脂血症大鼠模型,观察复方丹参片的降血脂及对肝脏的保护作用,并基于肝激酶 B1-单磷酸腺苷活化蛋白激酶(LKB1-AMPK)信号通路探讨其可能的作用机制。

1 材料与方 法

1.1 动物 雄性 SD 大鼠, SPF 级, 体质量 180~200 g, 8 周龄, 购自郑州市惠济区华兴实验动物养殖场, 动物生产许可证号: SCXK(豫)2019-0002, 动物使用许可证号: SYXK(豫)2020-0004。本研究经河南中医药大学动物伦理委员会批准, 批准号: DWLL20180018。

1.2 药物及试剂 复方丹参片(每片 0.6 g), 批号: G20A045, 广州白云山和记黄埔中药有限公司; 辛伐他汀(每片 10 mg), 批号: 1810409, 华润双鹤利民药业(济南)有限公司。高脂饲料, 由郑州市惠济区

华兴实验动物养殖场提供, 配方: 白糖 10%、猪油 10%、蛋黄粉 10%、胆固醇 2%、基础饲料 68%。氨基甲酸乙酯, 批号: 20200326, 天津百伦斯生物技术有限公司; 甘油三酯(TG, 批号: A110-1-1)、总胆固醇(T-CHO, 批号: A111-1-1)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C, 批号: A113-1-1)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C, 批号: A112-1-1)、天冬氨酸氨基转移酶(AST, 批号: C010-2-1)ELISA 检测试剂盒, 均由南京建成生物工程研究所提供; 丙氨酸氨基转移酶(ALT)试剂盒(批号: A001), 由长春汇力生物技术有限公司提供; 兔 SP 试剂盒(批号: SP-9001)、DAB 显色试剂盒(批号: ZLI-9018), 均由北京中杉金桥生物技术有限公司提供; 兔抗大鼠 AMPK(货号: bs-10344R)、p-AMPK(货号: bs-12972R)、LKB1(货号: bs-3948R)、HMGR(货号: bs-5068R)抗体, 均由北京博奥森生物技术有限公司提供; AMPK、LKB1、HMGR 引物序列由武汉塞维尔生物科技有限公司合成。

1.3 仪器 BS110S 型电子天平, 北京赛多利斯天平公司; MR-96TB 型酶标仪, 骋克仪器(上海)有限公司; RM2235 型石蜡切片机, 德国 Leica 公司; D3024R 型台式高速冷冻型微量离心机, 大龙兴创实验仪器(北京)有限公司; YD-6D 型组织包埋机、YD-A 型组织摊片机、YD-B 型组织烤片机, 金华市科迪仪器设备有限公司; CX23 型光学显微镜, 日本奥林巴斯公司; Stepone plus 型荧光定量 PCR 仪, 美国 ABI 公司。

1.4 动物分组、模型复制及给药 雄性 SD 大鼠 60 只,

适应性饲养 1 周后, 按体质量随机分为正常组、模型组、辛伐他汀组($0.02 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)和复方丹参低、中、高剂量组(复方丹参片, 1.5 、 3 、 $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 每组 10 只。正常组常规饲养, 其余 5 组大鼠按 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射 75% 蛋黄乳液, 禁食 16 h, 自由饮水, 16 h 后饲喂高脂饲料, 连续喂养 4 周^[6]。辛伐他汀组和复方丹参低、中、高剂量组在造模同时即按设定剂量灌胃给药, 灌胃体积 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 正常组、模型组给予等体积生理盐水, 每日 1 次, 连续 4 周。

1.5 样本采集 末次给药 24 h 后, 各组大鼠称质量后腹腔注射氨基甲酸乙酯麻醉, 腹主动脉取血, 以 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ (离心半径 10 cm) 离心 10 min, 取上清液于 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下储存, 备用。然后解剖取肝脏, 去除肝脏周围结缔组织, 用生理盐水洗涤, 以滤纸吸尽脏器表面液体后用电子天平称质量, 计算肝脏质量(LW)占体质量(BW)的比值, 即为肝脏系数(LW/BW)。再将肝脏组织一分为二, 其中 1 份用 4% 多聚甲醛固定, 另 1 份用液氮速冻后于 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下储存, 备用。

1.6 ELISA 法检测血清中 TG、T-CHO、LDL-C、HDL-C、ALT、AST 含量 按照试剂盒说明书操作, 采用 ELISA 法检测各组大鼠血清中 TG、T-CHO、LDL-C、HDL-C、ALT、AST 水平。

1.7 肝脏组织病理学检测 各组大鼠肝脏组织用 4% 多聚甲醛固定后, 经脱水、透明、包埋、切片等步骤, 制作得到 $4 \mu\text{m}$ 病理切片, 进行苏木素-伊红(HE)常规染色, 在光学显微镜下观察肝脏组织的病理变化。

1.8 免疫组织化学(IHC)法检测肝脏组织中 AMPK、p-AMPK、LKB1、HMGCR 蛋白表达水平 石蜡切片经脱蜡、水化后, 用 H_2O_2 封闭, PBS 清洗, 柠檬酸盐缓冲液热修复; 滴加山羊血清封闭液, 室温下孵育, 倾去液体, 分别滴加 AMPK、p-AMPK、LKB1、HMGCR 抗体(1:100), $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜; 二抗 $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下孵育 20 min, DAB 显色, 自来水冲洗, 苏木素复染 1~2 min; 盐酸乙醇分化, 自来水再次冲洗, 脱水、透明、封片、镜检。每只大鼠肝脏切片在光学显微镜下($\times 400$)随机选取 1 个视野, 以棕黄色为阳性染色, 采用 Image-Pro Plus 6.0 软件测定每个视野中的积分光密度(Integrated optical density, IOD)值。

1.9 Real-time PCR 法检测肝脏组织中 AMPK、LKB1、HMGCR mRNA 表达水平 取 100 mg 大鼠肝脏组织, 用液氮研磨后收集于 EP 管中; 加入

1 mL TriQuick 试剂提取肝脏组织总 RNA, 检测 RNA 含量和纯度($A_{260}/A_{280}=1.8 \sim 2.0$)。采用 Servicebio 逆转录试剂盒进行逆转录反应, 反应条件为: $65 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 min, $42 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 60 min, $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 min, $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持。然后进行 PCR 反应, 反应体系为 $15 \mu\text{L}$, 反应条件: 预变性 $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 min, 变性 $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 15 s, 退火 $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 min, 共 40 个循环。扩增反应后进行熔解曲线分析, 判断产物是否有非特异性扩增; 分析扩增曲线, 计算 Ct 值; 以 GAPDH 为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算各组间 mRNA 表达水平差异, 正常组基因表达量设为 1; 实验重复 3 次。AMPK、LKB1、HMGCR 引物序列由武汉塞维尔生物科技有限公司合成, 见表 1。

表 1 Real-time PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences for real-time PCR

基因	上游引物(5'→3')序列	下游引物(5'→3')序列
AMPK	CACTGGATGCACTCAACACAAC	TCACTACCTTCCATTCAAAGTCC
LKB1	GCCTTGCACCCCTTTCGCT	AGTGGTGGAGCGCAGTCA
HMGCR	CCTTGACGCTCTGGTGAATG	GTGAGCGTGAACAAGAACCAGG
GAPDH	CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG	GGTGAAGAATGGGAGTGTCT

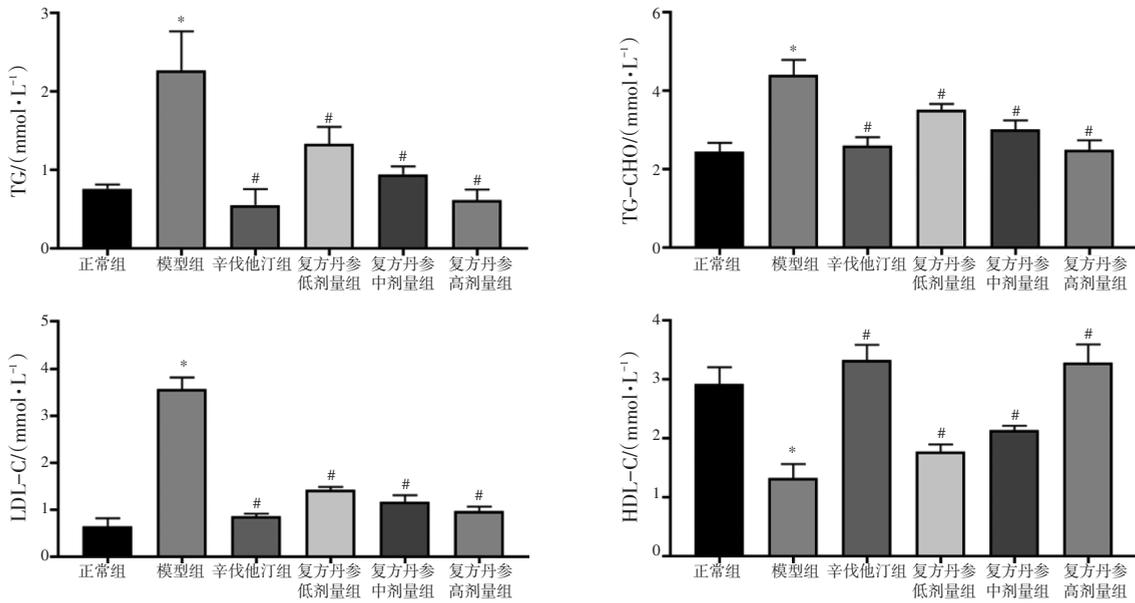
1.10 统计学处理方法 采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析; 计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示; 多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 两两比较采用 LSD 检验; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 复方丹参片对高脂血症大鼠血脂水平的影响 结果见图 1。与正常组比较, 模型组大鼠血清中 LDL-C、TG、T-CHO 水平明显升高($P < 0.05$), HDL-C 水平明显降低($P < 0.05$)。与模型组比较, 辛伐他汀组和复方丹参低、中、高剂量组大鼠血清 TG、T-CHO、LDL-C 水平明显降低($P < 0.05$), HDL-C 水平明显升高($P < 0.05$)。结果表明, 复方丹参片能够降低高脂血症大鼠的血脂水平。

2.2 复方丹参片对高脂血症大鼠肝脏功能的影响 结果见图 2。与正常组比较, 模型组大鼠的肝脏系数和血清 ALT、AST 水平明显升高($P < 0.05$)。与模型组比较, 辛伐他汀组和复方丹参低、中、高剂量组大鼠的肝脏系数及血清 ALT、AST 水平均明显降低($P < 0.05$)。结果表明, 复方丹参片能够改善高脂血症大鼠的肝功能。

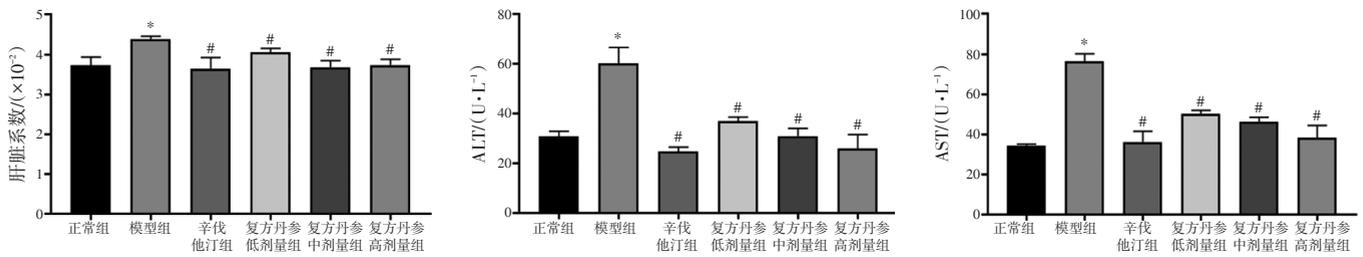
2.3 复方丹参片对高脂血症大鼠肝脏组织病理变化的影响 结果见图 3。正常组大鼠肝细胞排列整齐,



注：与正常组比较，**P* < 0.05；与模型组比较，#*P* < 0.05

图 1 复方丹参片对高脂血症大鼠血脂水平的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Figure 1 The effect of compound *Danshen* tablets on lipid levels in hyperlipidemic rats serum($\bar{x} \pm s, n=10$)



注：与正常组比较，**P* < 0.05；与模型组比较，#*P* < 0.05

图 2 复方丹参片对高脂血症大鼠肝脏功能的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Figure 2 The effect of compound *Danshen* tablets on liver function in hyperlipidemic rats($\bar{x} \pm s, n=10$)

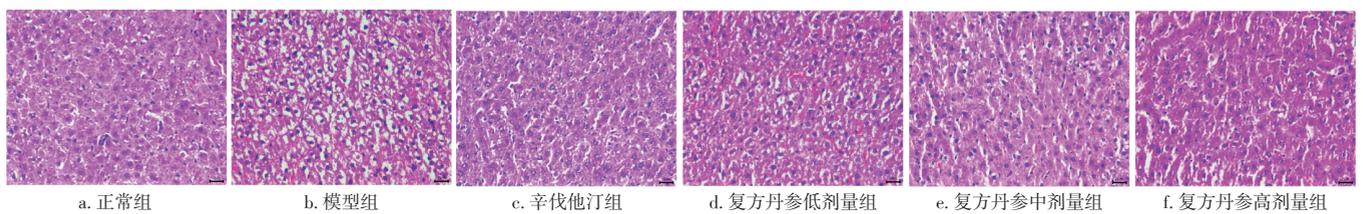


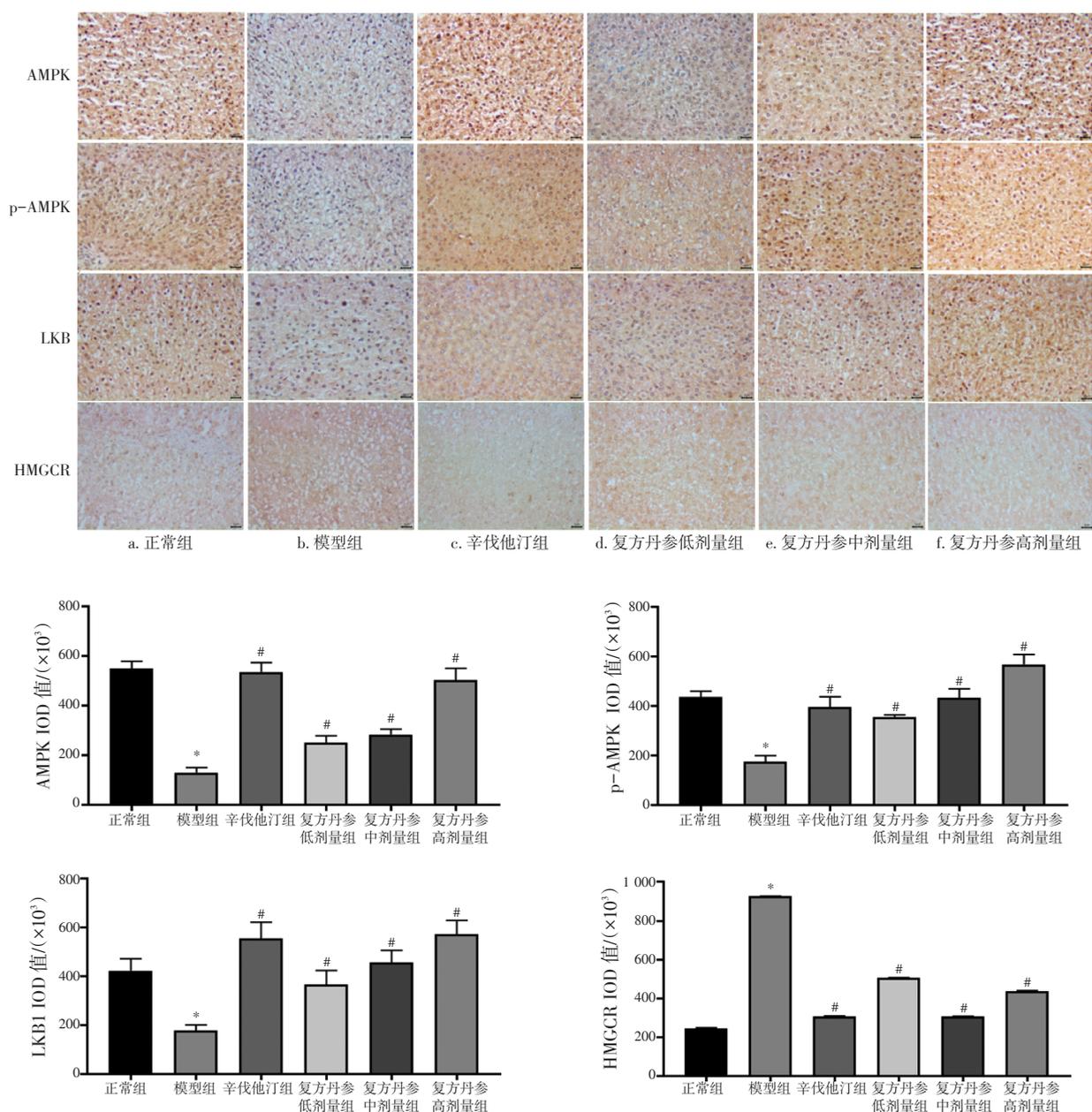
图 3 复方丹参片对高脂血症大鼠肝脏病理的影响(HE 染色, $\times 400$)

Figure 3 The effect of compound *Danshen* tablets on liver histopathology in hyperlipidemic rats(HE staining, $\times 400$)

大小形态正常，肝小叶结构正常，无病变和脂肪滴存在；模型组大鼠肝细胞排列不规则，细胞肿胀，细胞间分界模糊，胞浆内可见大量脂肪滴存在；辛伐他汀组和复方丹参低、中、高剂量组大鼠肝细胞排列较整齐，大小形态正常，胞浆内可见少量脂肪滴。

2.4 复方丹参片对高脂血症大鼠肝脏组织 AMPK、p-AMPK、LKB1、HMGCR 蛋白表达水平的影响

结果见图 4。与正常组比较，模型组大鼠肝脏组织的 AMPK、p-AMPK、LKB1 蛋白表达水平明显降低(*P* < 0.05)，HMGCR 蛋白表达水平明显升高(*P* < 0.05)。与模型组比较，辛伐他汀组和复方丹参低、中、高剂量组大鼠肝脏组织的 AMPK、p-AMPK、LKB1 蛋白表达水平明显升高(*P* < 0.05)，HMGCR 蛋白表达水平明显降低(*P* < 0.05)。



注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$

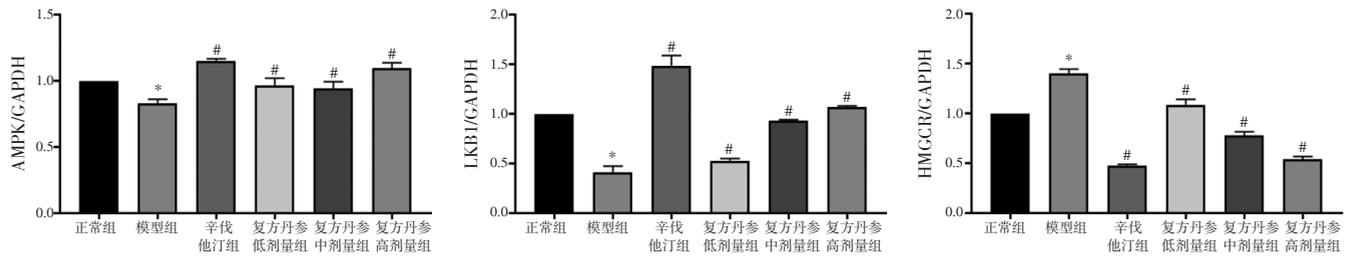
图4 复方丹参片对高脂血症大鼠肝脏组织 AMPK、p-AMPK、LKB1、HMGCR 蛋白水平的影响(免疫组化, ×400; $\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Figure 4 The effect of compound *Danshen* tablets on AMPK, p-AMPK, LKB1, HMGCR protein of liver tissues in hyperlipidemic rats (IHC, ×400; $\bar{x} \pm s$, $n=10$)

2.5 复方丹参片对高脂血症大鼠肝脏组织 AMPK、LKB1、HMGCR mRNA 表达水平的影响 结果见图 5。与正常组比较, 模型组大鼠肝脏组织 AMPK、LKB1 mRNA 表达水平明显降低($P < 0.05$), HMGCR mRNA 表达水平明显升高($P < 0.05$)。与模型组比较, 辛伐他汀组和复方丹参低、中、高剂量组大鼠肝脏组织 AMPK、LKB1 mRNA 表达水平明显升高($P < 0.05$), HMGCR mRNA 表达水平明显降低($P < 0.05$)。

3 讨论

随着社会发展和人们生活条件的改善, 高脂高糖饮食伴随不良生活习惯导致血脂异常发病率呈逐年升高的趋势, 而血脂异常升高会引起心脑血管疾病及肥胖等多种相关疾病的发生^[7-8]。血脂是血浆中 T-CHO、TG 及类脂的总称, 其水平异常升高即为高脂血症^[9]。LDL-C 是一种脂蛋白, 主要参与 T-CHO 从肝脏至外周组织的转运过程; HDL-C 是将 T-CHO



注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$

图 5 复方丹参片对高脂血症大鼠肝脏组织 AMPK、LKB1、HMGCR mRNA 表达水平的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Figure 5 The effect of compound *Danshen* tablets on AMPK, LKB1, HMGCR mRNA of liver tissues in hyperlipidemic rats($\bar{x} \pm s, n=10$)

从外周组织转运至肝脏代谢的一种脂蛋白^[10]。当 LDL-C 水平升高且 HDL-C 水平下降时，机体脂质代谢清除能力下降，引起高脂血症。在对高脂血症的病因、病理及降脂新药研究中，构建与人类病变基本相似且具有重复性的高脂血症动物模型是基础条件。故本研究采用了一次性腹腔注射蛋黄乳液后饲喂高脂饲料的方法，诱导构建了高脂血症大鼠模型^[6]。结果发现，与正常组比较，该模型大鼠的血清 T-CHO、TG 和 LDL-C 水平明显升高，而 HDL-C 水平明显下降，表明造模成功。该模型与临床上人类高脂血症特征相似，可用于高脂血症研究。

在高脂血症治疗方面，西医常以他汀类药物作为主要治疗手段，该类药虽具有较好的降血脂作用，但长期用药易造成肝、肾功能及肌肉损害，停药后血脂水平易反跳^[1]。高脂血症在中医上属“痰浊”“血瘀”范畴，故祛瘀通络为其主要治疗思路^[11]。复方丹参片是由丹参、三七、冰片组成的中药复方制剂，能够活血化瘀、理气止痛，具有调节脂质代谢及抗氧化等多种药理作用^[12]。运用复方丹参片治疗高脂血症符合“祛瘀通络”的治疗理念。辛伐他汀是一种 HMG-CoA 还原酶抑制剂，可以有效降低血脂水平^[7]。基于以上思路，本研究选择复方丹参片为治疗药物，以辛伐他汀为阳性对照药，探讨了其对高脂血症大鼠的治疗作用。结果发现，复方丹参片可以明显降低高脂血症大鼠血清 T-CHO、TG、LDL-C 水平，提高 HDL-C 水平，表明复方丹参片具有较好的降血脂作用。

由于肝脏是机体脂质代谢的主要场所，血脂异常升高则会导致肝脏出现脂肪堆积，并引起肝实质细胞出现脂肪性病变，肝脏功能受损，脂质代谢过程紊乱。肝脏系数可以反映肝脏的病理状态，其升高则提示肝脏可能出现了肿胀、肥大、充血、水肿、增生等病理变化。ALT 和 AST 水平是反映肝细胞膜

稳定性的重要指标，也是临床上肝功能的判断标准，其水平升高提示肝细胞病变^[13]。本研究结果发现，高脂血症大鼠的血清 ALT、AST 水平明显上调，肝脏系数明显升高，而复方丹参片可以下调高脂血症大鼠的血清 ALT、AST 水平，并使肝脏系数降低；进一步病理学观察发现，高脂血症大鼠的肝脏细胞呈现脂肪性病变，而复方丹参片可以改善高脂血症大鼠肝脏细胞脂肪变性程度，表明复方丹参片对高脂血症大鼠的肝脏功能具有保护作用。

AMPK 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，参与机体的能量代谢调节过程，并与多种能量代谢异常疾病密切相关^[14]，而 LKB1-AMPK 则是肝脏中主要的激活 AMPK 的信号通路。当细胞内 AMP/ATP 升高时，AMPK α 亚基上的 Thr172 位点可被 LKB1 磷酸化为 p-AMPK 而激活^[15-18]。研究^[19-20]表明，p-AMPK 可通过多条通路调控机体脂质代谢水平，主要包括通过促进 CD36 和 LPL 转运以增加脂肪酸摄入；通过磷酸化抑制 ACC1 来抑制脂肪酸合成；通过磷酸化抑制固醇调节元件结合蛋白-1c (Sterol regulation element binding protein-1c, SREBP-1c)，在转录水平抑制脂肪酸和 TG 合成相关酶的表达；通过磷酸化抑制 HMGCR 来抑制胆固醇合成；通过抑制 ACC2，活化 CPT1 以促进脂肪酸进入线粒体内进行 β 氧化分解。此外，机体内 70%~80% 的 T-CHO 在肝脏合成，涉及多步酶催化反应，其中 HMGCR 是 T-CHO 合成过程中的限速酶，其活性降低可以减少胆固醇的合成^[21-23]。本研究结果发现，高脂血症大鼠肝脏组织中 AMPK、p-AMPK、LKB1 蛋白及 mRNA 水平明显降低，LKB1-AMPK 通路被抑制，HMGCR 蛋白及 mRNA 水平明显升高，T-CHO 合成增加。而复方丹参片可以上调高脂血症大鼠肝脏组织中的 AMPK、p-AMPK、LKB1 蛋白及 mRNA 水平，下调 HMGCR 蛋白及 mRNA 水平，即通过激活 LKB1-AMPK 通路以提升

脂质代谢水平,抑制 HMGCR 以降低 T-CHO 合成水平,从而发挥其对高脂血症的治疗作用。

综上所述,复方丹参片对高脂血症大鼠血脂水平及肝脏功能具有较好的干预和保护作用,其降血脂作用机制可能是通过上调 AMPK、p-AMPK、LKB1 水平以激活 LKB1-AMPK 通路,以及下调 HMGCR 水平以抑制 T-CHO 合成来实现的,该结果可为复方丹参片在高脂血症治疗方面的深入开发利用提供新的实验依据。

参考文献:

- [1] 陈玉兴,杜铁良,赵自明,等. 复方姜黄微囊对高脂血症大鼠血清脂质及肝脏病理的影响[J]. 中成药, 2012, 34(6): 1025-1029.
- [2] 陈娟,汪胡风,邓军,等. 丹红注射液对高脂血症大鼠肝脏AMPK/SREBP-1/ACC通路的影响[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(4): 528-532.
- [3] ZHANG H L, ZOU X Q, HUANG Q Y, et al. Effects of kudinglea nanoparticles in hyperlipidaemic rats induced by a high fat diet[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 45(6): 2257-2267.
- [4] 孙乐,贺震旦,杨润梅,等. 粗壮女贞总苷降脂作用及其基于AMPK通路的降脂作用机制研究[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(8): 1073-1079.
- [5] 李晓霞,李新,林娟,等. 复方丹参片及其拆方对心肌缺血大鼠模型的影响[J]. 药物评价研究, 2020, 43(6): 1026-1032.
- [6] 李大伟,张玲,夏作理. 建立高脂血症模型的动物选择与常用造模方法分析及改进[J]. 中国临床康复, 2006, 10(48): 145-147.
- [7] 张玉昆,袁茵,冯月男,等. 补阳还五汤对高脂血症模型大鼠脂质代谢及肝组织的影响[J]. 中国药房, 2020, 31(10): 1203-1207.
- [8] 唐东晖,钟艳花. 藜朴夏苓汤通过AMPK通路干预非酒精性脂肪肝肝病小鼠的作用机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(7): 794-801.
- [9] 盛昭园,王佑化,徐燕,等. 健脾疏肝降脂汤对高脂血症大鼠血脂及炎症因子水平调节的作用[J]. 世界中西医结合杂志, 2017, 12(12): 1646-1650.
- [10] CHASMAN D I, PARE G, ZEE R, et al. Genetic loci associated with plasma concentration of LDL-C, HDL-C, triglycerides, ApoA1 and ApoB among 6382 Caucasian women in genome-wide analysis with replication[J]. Circ Cardiovasc Genet, 2008, 1(1): 21-30.
- [11] 李慧,郑小伟,叶忠伟,等. 保肾汤防治大鼠高脂血症致肾脏损害的实验研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2010, 34(2): 160-162.
- [12] 梁小娜,林娟,李新,等. 复方丹参片及其拆方对血管性痴呆模型大鼠学习记忆能力的改善作用和机制探讨, 2019, 50(12): 2884-2890.
- [13] 李芳,吕耀中,韦迎春,等. 基于大鼠非酒精性脂肪性肝炎模型优选七味脂肝颗粒的主体工艺路线[J]. 现代中药研究与实践, 2019, 33(4): 21-24.
- [14] HARDIE D G. AMPK-sensing energy while talking to other signaling pathways[J]. Cell Metab, 2014, 20(6): 939-952.
- [15] CARLING D, SANFERS M J, WOODS A. The regulation of AMP-activated protein kinase by upstream kinases[J]. Int J Obes (Lond), 2008, 32(Suppl 4): 55-59.
- [16] SHACKELFORD B, SHAW R J. The LKB1-AMPK pathway: metabolism and growth control in tumour suppression[J]. Nature Reviews Cancer, 2009, 9(8): 563-575.
- [17] HUANG X, WULLSCHLEGER S, SHPIRO N, et al. Important role of the LKB1-AMPK pathway in suppressing tumorigenesis in PTEN-deficient mice[J]. Biochemical Journal, 2008, 412(2): 211-221.
- [18] MILLER R A, CHU Q, LAY J L, et al. Adiponectin suppresses gluconeogenic gene expression in mouse hepatocytes independent of LKB1-AMPK signaling[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2011, 121(6): 2518-2528.
- [19] RUDERMAN N B, CARLING D, PRENTKI M, et al. AMPK, insulin resistance, and the metabolic syndrome[J]. J Clin Invest, 2013, 123(7): 2764-2772.
- [20] 耿雅娜,于滨,孔维佳. 天麻素通过激活AMPK通路减少油酸诱导的HL-7702细胞脂肪蓄积[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(1): 39-44.
- [21] 贾连群,杨关林,罗莹,等. 化痰祛痰方及其拆方对 HepG2 细胞胆固醇代谢的影响及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(16): 158-162.
- [22] MEDINA M W, KRAUSSER M. The role of HMGCR alternative splicing in statin efficacy[J]. Trends Cardiovasc Med, 2009, 19(5): 173-177.
- [23] CHANG X L, LAN T, TAN M S, et al. Association of HMGCR polymorphism with late-onset Alzheimer's disease in Han Chinese [J]. Oncotarget, 2016, 7(16): 22746-22751.

(编辑: 邹元平)