

藏药珊瑚七十味丸对高脂血症模型大鼠的降脂作用及机制研究[△]

春花^{1*}, 魏丹丹², 朱星昊², 吴宗耀^{1#}, 达娃扎巴¹(1. 西藏藏医药大学藏医系, 拉萨 850000; 2. 河南中医药大学第一附属医院研究生科, 郑州 450006)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)01-0046-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.01.08



摘要 目的 研究藏药珊瑚七十味丸对高脂血症(HLP)模型大鼠的降脂作用,并初步探讨其作用机制。方法 将60只SD大鼠按体质量随机分为正常组、模型组、辛伐他汀组(阳性对照,20 mg/kg)和珊瑚七十味丸低、中、高剂量组(50、100、200 mg/kg),每组10只。正常组大鼠饲喂常规饲料,其余各组大鼠饲喂高脂饲料建立HLP模型,连续喂养4周。各给药组大鼠在造模同时即开始灌胃相应药物,正常组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水,每天1次,连续4周。末次灌胃后,检测各组大鼠血清中总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平,观察各组大鼠肝组织病理变化,测定各组大鼠肝组织中AMP活化蛋白激酶1(AMPK)、磷酸化AMPK(p-AMPK)、肝激酶B1(LKB1)、3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶(HMGCR)蛋白的表达情况。**结果** 低、中、高剂量珊瑚七十味丸均可显著降低HLP模型大鼠血清中TC、TG、LDL-C水平以及肝组织中HMGCR蛋白表达水平($P<0.05$),显著升高HLP模型大鼠血清中HDL-C水平及肝组织中AMPK磷酸化水平、LKB1蛋白表达水平($P<0.05$),不同程度地改善HLP模型大鼠肝组织的病理变化。**结论** 珊瑚七十味丸能降低HLP模型大鼠的血脂水平;其机制可能与抑制LKB1/AMPK信号通路的传导,从而调节脂代谢相关。

关键词 珊瑚七十味丸;高脂血症;肝激酶B1;AMP活化蛋白激酶1;3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶

Study on effects and mechanism of Tibetan medicine Shanhu qishiwei pill in lowering blood lipid of hyperlipidemia model rats

CHUN Hua¹, WEI Dandan², ZHU Xinghao², WU Zongyao¹, Dawazhaba¹ (1. Dept. of Tibetan Medicine, Tibet University of Tibetan Medicine, Lhasa 850000, China; 2. Graduate Department, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450006, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To study the effects of Tibetan medicine Shanhu qishiwei pill in lowering blood lipid of hyperlipidemia (HLP) model rats, and to explore its mechanism primarily. **METHODS** According to their body weight, 60 SD rats were randomly divide into normal group, model group, simvastatin group (positive control, 20 mg/kg) and Shanhu qishiwei pill low-dose, medium-dose and high-dose groups (50, 100, 200 mg/kg), with 10 rats in each group. Normal group was given conventional diet, and other groups were given high-lipid diet to induce HLP model, for consecutive 4 weeks. Administration groups were given relevant medicine intragastrically at the same time of modeling; normal group and model group were given equal volume of normal saline intragastrically, once a day, for consecutive 4 weeks. After last administration, the serum levels of TC, TG, LDL-C and HDL-C were determined; pathological changes of liver tissue were observed; the protein expressions of AMPK, p-AMPK, LKB1, and HMGCR in liver tissue were detected in each group. **RESULTS** Low-dose, medium-dose and high-dose of Shanhu qishiwei pill could significantly reduce the serum levels of TC, TG and LDL-C and protein expression of HMGCR in liver tissue ($P<0.05$), while significantly increased serum level of HDL-C, phosphorylation level of AMPK, protein expression of LKB1 in liver tissue in HLP model rats ($P<0.05$); the pathological changes of liver tissue in HLP model rats were improved to different extents. **CONCLUSIONS** Shanhu qishiwei pill can reduce the blood lipid level of HLP model rats, and its mechanism may be related to inhibiting the transmission of LKB1/AMPK signal pathway and regulating lipid metabolism.

KEYWORDS Shanhu qishiwei pill; hyperlipidemia; LKB1; AMPK1; HMGCR

[△] 基金项目: 西藏自治区自然科学基金项目(No.XZ2019ZRG-136)

* 讲师。研究方向: 藏医药防治常见疾病的临床和基础研究。电话: 0891-6385834。E-mail: 601581355@qq.com

通信作者: 主任药师, 教授, 博士生导师。研究方向: 藏医药与高原生物制剂的药理学、药效学。电话: 0891-6388294。E-mail: 1602010965@qq.com

藏医药是中国传统医学的重要组成部分, 已经有2 000多年的历史, 并以其独特的理论体系和丰富的诊疗方法受到人们的关注。藏药珊瑚七十味丸出自《四部医典》, 具有镇心、安神、定惊、调血之功效, 临床用于冠状动脉粥样硬化、心肌梗死、高脂血症(hyperlipidemia, HLP)和失眠等疾病的治疗, 而冠状动脉粥样硬化、心肌

梗死等多种疾病均是HLP的关键危险因素^[1-3]。随着人们生活水平的提高及生活习惯的改变,我国HLP的发病率高达40.40%^[4-6]。本团队前期通过临床观察发现,珊瑚七十味丸能降低HLP患者总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)等指标;此外,本团队前期还对珊瑚七十味丸中铜、铅、镉、砷、汞5种重金属含量进行了测定^[7]。通过以上研究发现,珊瑚七十味丸是一种安全、有效的HLP治疗药物。但是,珊瑚七十味丸治疗HLP的分子机制尚不清楚,影响了该药的临床应用。

目前,越来越多的研究证实,HLP的发生发展与肝激酶B1(liver kinase B1, LKB1)/AMP活化蛋白激酶1(AMP-activated protein kinase, AMPK)信号通路相关。LKB1/AMPK是脂代谢相关通路,其中AMPK蛋白是所有真核生物的中央代谢“开关”,控制葡萄糖和脂质代谢,以响应营养物质和细胞内能量水平的变化^[8]。LKB1是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可直接磷酸化并激活AMPK,调节肝脏、肌肉和脂肪等组织的功能,以代谢组织中的脂质、胆固醇和葡萄糖^[9]。因此,本研究通过饲喂高脂饲料的方法制备HLP大鼠模型,观察珊瑚七十味丸对其血脂指标(TC、TG、HDL-C、LDL-C)及LKB1/AMPK信号通路相关蛋白的影响,探讨珊瑚七十味丸的降血脂作用及分子机制,为该药的临床应用提供实验依据,也为其深度开发奠定基础。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有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Olympus公司),NanoDrop2000型超微量分光光度计(美国Thermo Fisher Scientific公司)。

1.2 主要药品与试剂

本研究所用的主要药品与试剂有珊瑚七十味丸(西藏雄巴拉曲神水藏药有限公司,批号2020040302,规格1g/丸),辛伐他汀片[华润双鹤利民药业(济南)有限公司,批号1810409,规格10mg/片],氨基甲酸乙酯(天津百伦斯生物技术有限公司,批号20200326),TC、TG、HDL-C、LDL-C测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为A110-1-1、A111-1-1、A112-1-1、A113-1-1),兔SP检测试剂盒、DAB显色试剂盒(北京中杉金桥生物

技术有限公司,批号分别为SP-9001、ZLI-9018),BCA蛋白定量检测试剂盒、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)制备试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号分别为G2026、G2003),兔抗大鼠AMPK、磷酸化AMPK(p-AMPK)、LKB1、3-羟基-3-甲基戊二酰单酰辅酶A还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme areductase, HMGCR)单克隆抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号分别为bs-10344R、bs-12972R、bs-3948R、bs-5068R),兔抗大鼠 β -肌动蛋白(β -actin)、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)二抗(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号分别为GB11001、GB23303);其余试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

1.3 动物

本研究所用动物为健康SD大鼠,共60只(雌雄各半),体质量为180~200g,鼠龄为8周,由郑州市惠济区华兴实验动物养殖场提供,实验动物生产许可证号为SCXK(豫)2019-0002。本实验得到了河南中医药大学动物伦理委员会的批准(批准号为DWLL20180018),实验过程严格遵守“3R”原则。实验期间动物饲养室环境温度 $20\sim 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 $55\%\sim 60\%$ 、正常光照,大鼠自由饮水采食。

2 方法

2.1 动物分组、给药与造模

将60只SD大鼠按体质量随机分为正常组、模型组、辛伐他汀组(阳性对照,20mg/kg,为成人临床给药剂量的7倍等效剂量)和珊瑚七十味丸低、中、高剂量组(50、100、200mg/kg,分别为成人临床给药剂量的3、6、12倍等效剂量),每组10只,雌雄各半。适应性喂养1周后,模型组、辛伐他汀组和珊瑚七十味丸低、中、高剂量组大鼠饲喂高脂饲料(含68%基础饲料、10%白糖、10%猪油、10%蛋黄粉、2%胆固醇)以制备HLP模型,正常组大鼠饲喂常规饲料,连续喂养4周^[10]。辛伐他汀组和珊瑚七十味丸低、中、高剂量组大鼠在造模同时即开始灌胃相应药物进行干预,正常组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水,灌胃体积均为10mL/kg,每天1次,连续4周。

2.2 生化指标检测

末次灌胃后,各组大鼠禁食不禁水12h,以氨基甲酸乙酯1g/kg腹腔注射麻醉,腹主动脉取血,分离($4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 3000r/min, 10min)大鼠血清,按照相应试剂盒方法检测血清中TC、TG、HDL-C、LDL-C水平。

2.3 病理检查

采用苏木精-伊红(HE)染色法进行检查。取血后,解剖并取大鼠肝组织。取各组大鼠相同位置的肝组织,置于4%多聚甲醛溶液中固定24h,常规石蜡包埋、切片(厚度为4 μm),行HE染色,然后将切片置于显微镜下观察肝组织的病理改变。

2.4 肝组织中 AMPK、p-AMPK、LKB1、HMGCR 蛋白表达情况检测

2.4.1 免疫组化法检测 取“2.3”项下肝组织病理切片,经脱蜡、水化后,以 H₂O₂ 封闭、磷酸盐缓冲液(PBS)清洗、柠檬酸盐缓冲液热修复 8 min 后,以山羊血清封闭,室温孵育 30 min;分别滴加 AMPK、p-AMPK、LKB1、HMGCR 抗体(稀释比例均为 1:100),4 ℃ 孵育过夜;加入二抗(稀释比例为 1:200),37 ℃ 孵育 20 min;DAB 法显色,自来水冲洗,苏木精复染 3 min,盐酸乙醇分化;经自来水冲洗、脱水、透明、封片后,在显微镜下进行观察,并采用 Image-Pro Plus 6.0 软件测定每个视野中目的蛋白阳性染色(即棕黄色区域)的积分光密度(integrated optical density, IOD)值,IOD 值越高表明目的蛋白的表达水平越高。

2.4.2 Western blot 法检测 取大鼠肝组织适量,加入含 1% 磷酸酶抑制剂苯甲基磺酰氟(PMSF)的 RIPA 裂解液,匀浆后,在 4 ℃ 下以 13 000 r/min 离心 15 min,取上清液,采用 BCA 蛋白定量法测定上清液中蛋白浓度。将蛋白高温变性后,取 100 μg 进行 SDS-PAGE(分离胶电压 120 V,浓缩胶电压 75 V,电泳时间 2 h),转移至聚偏二氟乙炔膜(电流 300 mA,转膜时间 30 min),5% 脱脂奶粉封闭 2 h;分别加入 AMPK、p-AMPK、LKB1、HMGCR 一抗(稀释比例均为 1:1 000)和 β-actin 一抗(稀释比例为 1:3 000),4 ℃ 孵育过夜;洗膜后,加入二抗(稀释比例为 1:10 000),振荡孵育 1 h;ECL 显影并扫描,通过 Image J 1.51 软件测定蛋白条带灰度值,以 LKB1、HMGCR 与内参 β-actin 条带灰度值的比值表示 LKB1、HMGCR 蛋白的表达水平,以 p-AMPK 与 AMPK 条带灰度值的比值表示 AMPK 的磷酸化水平。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,绘图软件主要采用 GraphPad Prism 7.0。所得实验数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 珊瑚七十味丸对 HLP 模型大鼠生化指标的影响

与正常组比较,模型组大鼠血清中 TC、TG、LDL-C 水平均显著升高($P<0.05$),HDL-C 水平显著降低($P<0.05$)。与模型组比较,各给药组大鼠血清中 TC、TG、LDL-C 水平均显著降低($P<0.05$),HDL-C 水平均显著升高($P<0.05$)。各组大鼠血清中 TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平测定结果见表 1。

3.2 珊瑚七十味丸对 HLP 模型大鼠肝组织病理变化的影响

正常组大鼠肝细胞形状规则,呈索状分布;细胞边

表 1 各组大鼠血清中 TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平测定结果($\bar{x} \pm s, n=10, \text{mmol/L}$)

组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常组	0.44 ± 0.17	1.88 ± 0.12	3.79 ± 0.15	0.47 ± 0.06
模型组	2.77 ± 0.21 ^a	3.71 ± 0.15 ^a	1.74 ± 0.08 ^a	2.59 ± 0.36 ^a
辛伐他汀组	0.37 ± 0.15 ^b	1.88 ± 0.11 ^b	3.55 ± 0.36 ^b	0.86 ± 0.06 ^b
珊瑚七十味丸低剂量组	1.35 ± 0.27 ^b	3.13 ± 0.16 ^b	2.31 ± 0.27 ^b	1.80 ± 0.08 ^b
珊瑚七十味丸中剂量组	0.80 ± 0.10 ^b	2.58 ± 0.18 ^b	2.75 ± 0.14 ^b	1.34 ± 0.12 ^b
珊瑚七十味丸高剂量组	0.74 ± 0.12 ^b	2.28 ± 0.08 ^b	3.43 ± 0.26 ^b	0.99 ± 0.06 ^b

a: 与正常组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$

界清晰,胞浆内未见脂肪滴。模型组大鼠肝细胞形态不规则,边界模糊;细胞肿胀且大小不一致,胞浆内可见大量脂肪滴。各给药组大鼠肝组织的病理变化均较模型组不同程度地改善,胞浆内仅存在少量脂肪滴。各组大鼠肝组织的病理观察结果见图 1。

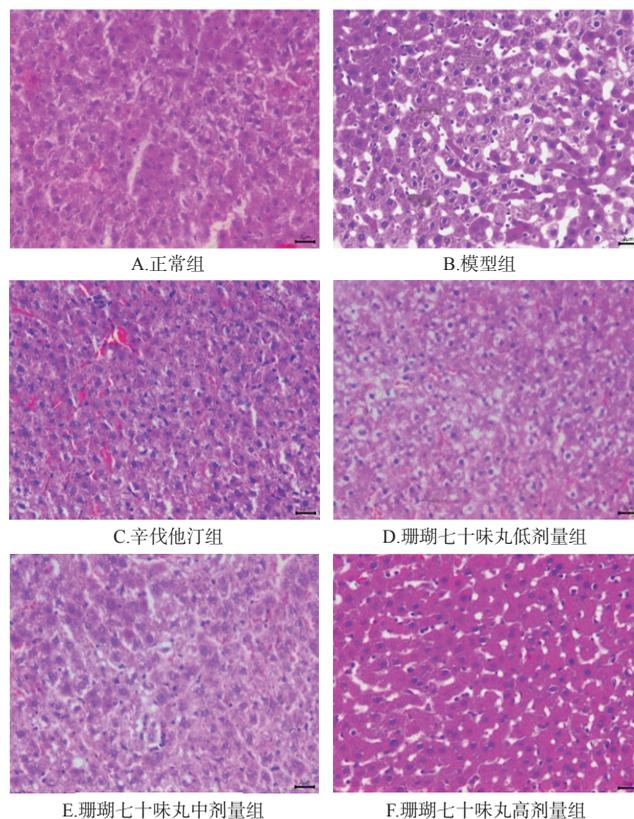
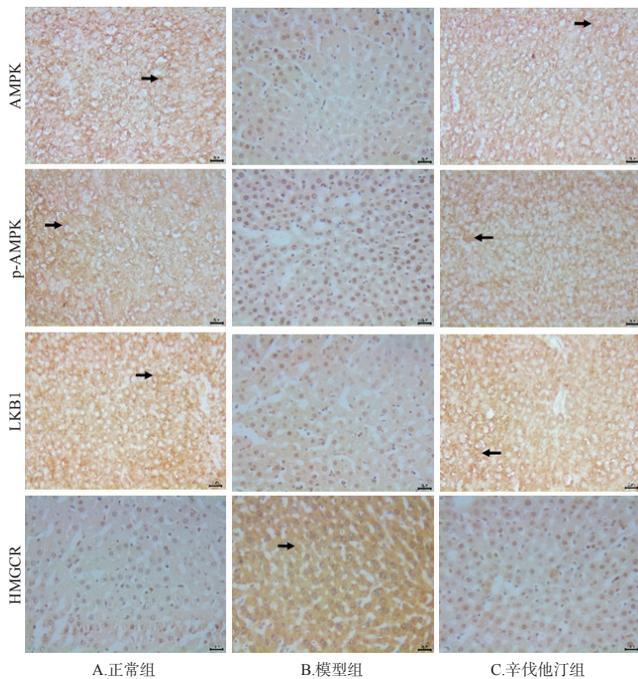


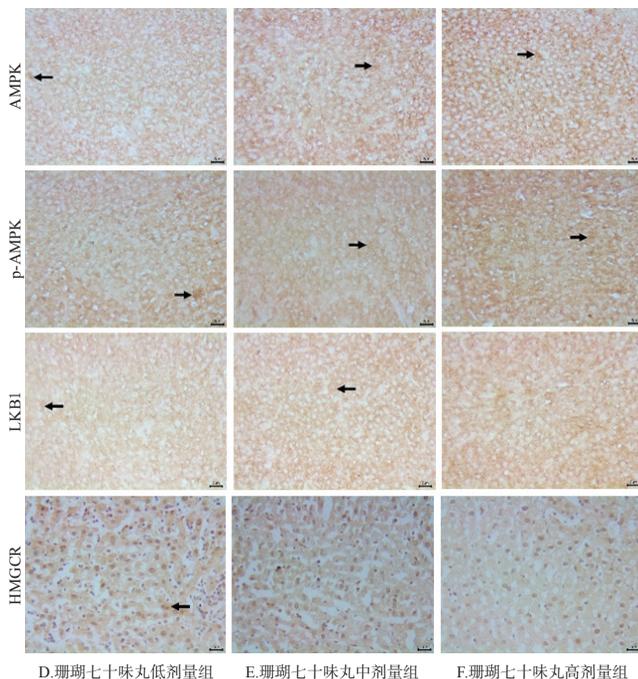
图 1 各组大鼠肝组织的病理观察结果(HE 染色, ×400)

3.3 珊瑚七十味丸对 HLP 模型大鼠肝组织中 AMPK、p-AMPK、LKB1、HMGCR 蛋白表达的影响

3.3.1 免疫组化实验结果 与正常组比较,模型组大鼠肝组织中 AMPK、p-AMPK、LKB1 蛋白的 IOD 值均显著降低($P<0.05$),HMGCR 蛋白的 IOD 值显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,各给药组大鼠肝组织中 AMPK、p-AMPK、LKB1 蛋白的 IOD 值均显著升高($P<0.05$),HMGCR 蛋白的 IOD 值均显著降低($P<0.05$)。各组大鼠肝组织中 AMPK、p-AMPK、LKB1、HMGCR 蛋白的免疫组化图见图 2,IOD 值测定结果见表 2。



A.正常组 B.模型组 C.辛伐他汀组



D.珊瑚七十味丸低剂量组 E.珊瑚七十味丸中剂量组 F.珊瑚七十味丸高剂量组

箭头所指处:目的蛋白阳性表达区域

图2 各组大鼠肝组织中AMPK、p-AMPK、LKB1、HMGCR蛋白的免疫组化图(×400)

表2 各组大鼠肝组织中AMPK、p-AMPK、LKB1、HMGCR蛋白表达的IOD值测定结果($\bar{x} \pm s, n = 10, \times 10^3$)

组别	AMPK	p-AMPK	LKB1	HMGCR
正常组	585.84 ± 3.03	884.62 ± 2.74	585.60 ± 2.97	296.76 ± 3.10
模型组	284.02 ± 3.25 ^a	457.53 ± 1.49 ^a	334.81 ± 3.68 ^a	825.01 ± 2.28 ^a
辛伐他汀组	606.72 ± 3.42 ^b	837.19 ± 2.37 ^b	565.88 ± 2.66 ^b	365.27 ± 2.72 ^b
珊瑚七十味丸低剂量组	456.13 ± 2.45 ^b	726.31 ± 2.18 ^b	374.32 ± 2.62 ^b	595.23 ± 2.41 ^b
珊瑚七十味丸中剂量组	577.05 ± 2.89 ^b	824.18 ± 3.24 ^b	485.03 ± 2.72 ^b	484.40 ± 3.03 ^b
珊瑚七十味丸高剂量组	665.55 ± 3.56 ^b	862.92 ± 1.53 ^b	527.17 ± 2.78 ^b	397.58 ± 2.78 ^b

a:与正常组比较, $P < 0.05$; b:与模型组比较, $P < 0.05$

3.3.2 Western blot实验结果 与正常组比较,模型组大鼠肝组织中AMPK磷酸化水平和LKB1蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$),HMGCR蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$)。与模型组比较,各给药组大鼠肝组织中AMPK磷酸化水平和LKB1蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$),HMGCR蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$)。各组大鼠肝组织中AMPK、p-AMPK、LKB1、HMGCR蛋白的电泳图见图3,磷酸化水平/蛋白表达水平测定结果见表3。

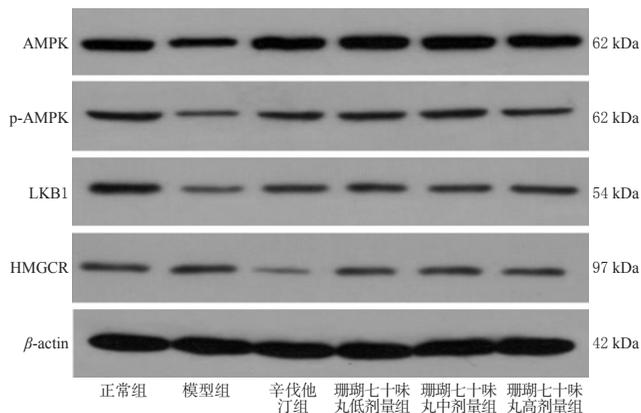


图3 各组大鼠肝组织中AMPK、p-AMPK、LKB1、HMGCR蛋白的电泳图

表3 各组大鼠肝组织中AMPK磷酸化水平及LKB1、HMGCR蛋白表达水平测定结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	p-AMPK/AMPK	LKB1/ β -actin	HMGCR/ β -actin
正常组	0.79 ± 0.03	0.85 ± 0.02	0.54 ± 0.01
模型组	0.50 ± 0.04 ^a	0.42 ± 0.02 ^a	0.66 ± 0.02 ^a
辛伐他汀组	0.70 ± 0.02 ^b	0.65 ± 0.01 ^b	0.30 ± 0.01 ^b
珊瑚七十味丸低剂量组	0.74 ± 0.03 ^b	0.65 ± 0.02 ^b	0.56 ± 0.03 ^b
珊瑚七十味丸中剂量组	0.72 ± 0.03 ^b	0.61 ± 0.01 ^b	0.57 ± 0.01 ^b
珊瑚七十味丸高剂量组	0.74 ± 0.02 ^b	0.64 ± 0.01 ^b	0.54 ± 0.01 ^b

a:与正常组比较, $P < 0.05$; b:与模型组比较, $P < 0.05$

4 讨论

藏药珊瑚七十味丸具有较好的降血脂作用,该药由珊瑚、珍珠、玛瑙、当归、藏党参、红景天、雪莲花、余甘子、藏红花、黄精、牛黄、麝香等70味藏药组成^[11],具有镇心、安神、定惊、调血之功效,临床主要用于脑血栓、脑溢血、冠心病、高血压等病的治疗^[12-13]。虽然《四部医典》中没有关于藏药珊瑚七十味丸降血脂作用的相关记载,但由于HLP是心脑血管疾病发生的重要因素,且临床研究发现该药具有较好的降血脂作用,具有较高的临床应用价值。辛伐他汀是一种羟甲基戊二酰辅酶A(hydroxymethylglutaryl coenzyme A, HMG-CoA)还原酶抑制剂,可以有效降低血脂水平,也是目前临床最为常用的降血脂药物^[14]。基于以上思路,本研究制备了HLP大鼠模型,以辛伐他汀为阳性对照药物,探讨了珊瑚七十味丸对HLP模型大鼠的干预作用。结果发现,珊瑚七十

味丸干预后,HLP模型大鼠血清中TC、TG、LDL-C水平均显著降低,HDL-C水平显著升高。此外,本研究通过HE染色发现,珊瑚七十味丸各剂量组大鼠肝组织的病理改变程度均明显减轻。可见,珊瑚七十味丸具有明显的降血脂作用。

AMPK是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,能参与机体的能量代谢调节过程,其在肝组织中主要激活LKB1/AMPK通路^[15]。当细胞内腺嘌呤核苷一磷酸/腺嘌呤核苷三磷酸升高时,AMPK α 亚基上的Thr172位点可被LKB1磷酸化为p-AMPK而激活^[8,16-17];p-AMPK则可以通过单磷酸腺苷活化AMPK、HMG-CoA等,从而影响肝组织脂肪酸摄入^[18]。本研究采用免疫组化法和Western blot法观察珊瑚七十味丸对LKB1/AMPK通路相关蛋白表达的影响。免疫组化实验结果显示,与模型组比较,珊瑚七十味丸低、中、高剂量组大鼠肝组织中有大量AMPK、p-AMPK、LKB1蛋白沉积,有少量HMGCR蛋白沉积;Western blot法实验结果显示,与模型组比较,珊瑚七十味丸低、中、高剂量组大鼠肝组织中AMPK磷酸化水平和LKB1蛋白表达水平均显著升高,HMGCR蛋白表达水平均显著降低。两种方法检测结果的蛋白表达趋势一致,说明珊瑚七十味丸可抑制LKB1/AMPK信号通路的传导。

综上所述,珊瑚七十味丸可能是通过抑制LKB1/AMPK信号通路的传导来降低HLP模型大鼠的血脂水平。但由于珊瑚七十味丸药味繁多,其有效物质并未阐明。在今后的研究中,本课题组将开展其药效物质基础研究,为该药的临床应用提供依据。

参考文献

[1] KNEBEL B, MÜLLER-WIELAND D, KOTZKA J. Lipodystrophies-disorders of the fatty tissue[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(22):8778.

[2] YOUSUFUDDIN M, TAKAHASHI P Y, MAJOR B, et al. Association between hyperlipidemia and mortality after incident acute myocardial infarction or acute decompensated heart failure: a propensity score matched cohort study and a meta-analysis[J]. *BMJ Open*, 2019, 9(12):e028638.

[3] BURKHARDT R. Hyperlipidemia and cardiovascular disease: new insights on lipoprotein(a)[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2019, 30(3):260-261.

[4] STEWART J, MCCALLIN T, MARTINEZ J, et al. Hyperlipidemia[J]. *Pediatr Rev*, 2020, 41(8):393-402.

[5] VAN GEFFEN J P, SWIERINGA F, VAN KUIJK K, et al. Mild hyperlipidemia in mice aggravates platelet responsiveness in thrombus formation and exploration of platelet proteome and lipidome[J]. *Sci Rep*, 2020, 10:21407.

[6] 赵辉.基于UPLC-HDMS的代谢组学研究茯苓和茯苓皮抗高脂血症大鼠的生物化学作用机制[D].西安:西北大学,2020.

[7] 宗咏花,徐立军,莫歌,等.藏药珊瑚七十味丸中重金属含量及Hg元素化学形态研究[J].*世界科学技术(中医药现代化)*,2020,22(10):3775-3780.

[8] SHACKELFORD D B, SHAW R J. The LKB1-AMPK pathway: metabolism and growth control in tumour suppression[J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(8):563-575.

[9] HARDIE D G, SCOTT J W, PAN D A, et al. Management of cellular energy by the AMP-activated protein kinase system[J]. *FEBS Lett*, 2003, 546(1):113-120.

[10] 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.

[11] 宇妥·元丹贡布.四部医典[M].南京:江苏凤凰科学技术出版社,2020:486-499.

[12] 边玛莲.蒙药珊瑚七十味丸治疗脑出血的临床观察[J].*中国民族民间医药*,2012,21(3):4.

[13] 赵学萍.藏药配合西药治疗高血压病50例临床观察[J].*江苏中医药*,2011,43(4):32-33.

[14] 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.

[15] HARDIE D G. AMPK-sensing energy while talking to other signaling pathways[J].*Cell Metab*,2014,20(6):939-952.

[16] CARLING D, SANDERS M J, WOODS A. The regulation of AMP-activated protein kinase by upstream kinases [J]. *Int J Obes(Lond)*, 2008, 32(Suppl 4):S55-S59.

[17] HUANG X, WULLSCHLEGER S, SHPIRO N, et al. Important role of the LKB1-AMPK pathway in suppressing tumorigenesis in PTEN-deficient mice[J]. *Biochem J*, 2008, 412(2):211-221.

[18] 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.

(收稿日期:2021-09-09 修回日期:2021-11-30)

(编辑:林 静)