

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2022.17.015

代谢综合征痰证模型大鼠血清及肝组织能量代谢变化特征研究

魏佳¹, 曾华霖², 林书颖², 乔世杰², 邵岩飞³, 李灿东², 高碧珍²✉

1. 福建省立医院, 福建省福州市鼓楼区东街 134 号, 350001; 2. 福建中医药大学; 3. 上海交通大学医学院附属瑞金医院

[摘要] 目的 探讨代谢综合征 (MS) 痰证形成的机制及病理基础。方法 50 只大鼠随机分为空白组 12 只和造模组 38 只。造模组大鼠运用高糖高脂高盐饲养法建立 MS 痰证大鼠模型。共 24 只大鼠造模成功, 随机分为模型组和二陈汤组各 12 只。二陈汤组予以二陈汤 5.3 g/kg 灌胃, 模型组及空白组予以生理盐水 10 ml/kg 灌胃, 均每日 1 次, 连续 4 周。采用分光光度法分别于造模 0 周、4 周、8 周、12 周检测空白组与造模组血浆乳酸含量。给药后空白组、模型组、二陈汤组采用 ELISA 法检测血清及肝组织三磷酸腺苷 (ATP) 水平, 采用 ELISA 法及 Real-Time PCR 检测肝组织柠檬酸合成酶 (CS)、肉毒碱脂酰转移酶 I (CPT-1)、乳酸脱氢酶 (LDH)、低氧诱导因子 1 α (HIF-1 α) 水平及 mRNA 表达情况。结果 造模期间, 空白组与造模组乳酸水平比较差异具有统计学意义, 造模第 8 周和第 12 周, 造模组大鼠乳酸含量较空白组升高 ($P < 0.05$)。给药后, 与空白组比较, 模型组和二陈汤组大鼠血清及肝组织 ATP 的含量升高 ($P < 0.05$), 模型组大鼠肝组织 LDH、CS、CPT-1、HIF-1 α 水平均升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 二陈汤组大鼠血清及肝组织 ATP 的含量, 肝 CPT-1 mRNA 表达及肝 LDH、CPT-1、HIF-1 α 水平均明显降低 ($P < 0.05$)。结论 能量失衡促进 MS 痰证发生发展, 能量代谢途径改变是 MS 痰证形成的病理基础。

[关键词] 代谢综合征; 痰证; 能量代谢; 二陈汤

代谢综合征 (metabolic syndrome, MS) 是一类以高血糖、肥胖、血脂异常和高血压等集簇存在为标志的临床综合征, 其发病机制尚不明确, 近年来有学者提出能量失衡是导致 MS 的根本原因^[1]。中医从痰论治 MS 可有效减轻体重, 降低血糖、血压、血脂等^[2-5]。前期研究^[6-7]发现, 痰证作为 MS 的核心病理因素贯穿于整个病程, 且其发生发展伴随能量变化。本研究通过构建 MS 痰证大鼠模型, 从能量代谢角度探讨能量失衡对 MS 痰证形成的作用, 以方测证采用二陈汤干预模型大鼠, 进一步探寻 MS 痰证的病理基础, 为防治 MS 提供新靶点与新途径。本研究通过福建中医药大学动物伦理委员会审批, 批件号: [2019] 福中医伦理审字第 (038) 号。

基金项目: 国家自然科学基金 (81873234); 第五轮福建省卫生教育联合攻关计划项目 (2019-WJ-39)

✉ 通讯作者: gbz688@163.com, (0591) 22861151

1 材料及方法

1.1 动物

SPF 级健康雄性 Wistar 大鼠 50 只, 6 周龄, 体重 (180 $\pm$ 20) g, 购自上海斯莱克研究动物有限责任公司, 实验动物质量合格证号: 20170005015480。动物饲养于福建中医药大学实验动物中心 SPF 级屏障系统中, 温度 (20 $\pm$ 2) $^{\circ}\text{C}$, 湿度 60%~65%, 12 h 光照周期。

1.2 药物

二陈汤组成: 陈皮 15 g, 姜半夏 15 g, 茯苓 9 g, 炙甘草 4.5 g, 乌梅 1 枚 (约 3 g), 生姜 7 片 (约 4 g)。传统水煎法, 并浓缩至含生药量 0.530 g/ml, 置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。陈皮 (批号 1904005)、炙甘草 (批号 190605), 江西樟树天齐堂中药饮片有限公司; 姜半夏 (批号 190404-04), 福建承天金岭药业有限公司; 茯苓 (批号 107201901), 福建咸康药

业有限公司); 乌梅(批号 190701), 北京本草万源(亳州)药业科技有限公司。

1.3 主要试剂及仪器

普通饲料, 购自福建中医药大学实验动物中心; 高糖高盐高脂饲料, 由福州诺敦斯生物科技有限公司制作, 具体配方: 普通饲料 50%, 蔗糖 18%, 猪油 10%, 蛋黄粉 12%, 胆固醇 2%, 食盐 7.5%, 胆盐 0.5%。乳酸测定试剂盒(货号: A019-2-1); ELISA 试剂盒: 大鼠柠檬酸合成酶(CS, 货号: ml059595)、大鼠乳酸脱氢酶(LDH, 货号: ml003416)、大鼠低氧诱导因子 1 α (HIF-1 α , 货号: ml003167)、大鼠肉毒碱脂酰转移酶 I (CPT-1, 货号: ml059355), 上海酶联生物科技有限公司; 氨基甲酸乙酯(货号: R017609-100g), 上海易恩化学技术有限公司; AG RNAex Pro Reagent(货号: AG21102)、EvoM-MLV 反转录试剂盒(货号: AG11705)、SYBR[®] Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒(货号: AG11701)、ROX Reference Dye(货号: AG11710), 湖南艾科瑞生物工程有限公司。

ABI Veriti 基因扩增仪、QuantStudio7Flex 实时荧光定量 PCR 仪, 美国 Applied Biosystems 公司; UV-9100 紫外可见分光光度计, 中国 LabTech 公司; TissueLyser II 高通量组织研磨仪, 德国 QIAGEN 公司; 5424R 冷冻离心机, 德国 Eppendorf 公司。

1.4 模型建立

大鼠予以普通饲料适应性喂养 1 周后, 按体质量从大到小依次编号, 采用随机数字表法分为空白组 12 只和造模组 38 只, 造模组予高糖高脂高盐饲料饲养^[8], 空白组予普通饲料饲养。12 周后根据模型评价标准筛选造模成功大鼠。

模型评价标准^[8]: 1) MS 评估标准: (1) 模型组大鼠体质量或腹围超过空白组大鼠平均体重 1.4 倍标准差; (2) 模型组大鼠空腹血糖(FBG) 高于空白组平均值+1.4 倍标准差; (3) 模型组大鼠甘油三酯(TG) 高于空白组平均值 1.4 倍标准差; (4) 模型组大鼠高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C) 低于空白组平均值 1.4 倍标准差; (5) 模型组大鼠收缩压或舒张压高于空白组平均值+1.4 倍标准差。符合上述条件(1) 并满足(2)(3)(4)(5) 中的 2 项即可认为造模成功。2) 中医痰证辨证标准: 以胰岛素及胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) 和血脂异常[低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C), HDL-C,

TG] 为主, 模型组大鼠高于空白组平均值 1.4 倍标准差, 同时见体型肥胖、精神萎靡、体毛光亮度减退、嗜睡倦怠懒动等表现, 即表明造模成功。

1.5 分组和干预方法

造模组共 24 只大鼠造模成功, 按体质量采用 SPSS 21.0 软件随机分为模型组 12 只, 二陈汤组 12 只。二陈汤组大鼠予以二陈汤 5.3 g/kg 灌胃, 用药剂量根据大鼠与人药物剂量换算^[9], 每日 1 次。模型组及空白组(11 只) 予以生理盐水 10 ml/kg 灌胃, 每日 1 次, 连续干预 4 周。给药期间空白组继续以普通饲料喂养, 其余各组均予以高糖高脂高盐饲料喂养。

1.6 标本采集

所有标本采集前禁食不禁水 12 h。开始造模前(0 周) 和造模 4、8 和 12 周末对空白组和造模组大鼠行尾静脉采血, 取 0.5 ml 血浆于 EDTA 管, 4℃、3000 r/min 离心 10 min, 离心半径 6.0 cm, 取上清液分装, 于-80℃冰箱保存。给药后空白组、模型组、二陈汤组大鼠以 20% 氨基甲酸乙酯(1 g/kg) 麻醉后采用腹主动脉采血, 取空腹血清, 静置 15 min 后, 4℃、3000 r/min 离心 10 min, 离心半径 6.0 cm, 取上清液分装, 于-80℃冰箱保存; 取血后即刻取大鼠肝组织, 用冰冻生理盐水清洗干净后保存于-80℃备用。

1.7 观察指标及方法

1.7.1 血浆乳酸变化情况 开始造模前(0 周) 和造模 4、8 和 12 周末采用分光光度计监测造模期间空白组与造模组大鼠血浆乳酸浓度, 具体方法参照试剂盒说明书步骤。

1.7.2 血清及肝组织能量代谢相关酶含量检测 给药后称取 50 mg 肝组织, 用 PBS 漂洗后, 滤纸吸干; 加入适量 PBS 在冰浴条件下匀浆, 用组织研磨仪 15 000 r/min 上下研磨, 4℃、2500 r/min 离心 15 min, 离心半径 6.0 cm, 取上清待测。取适量血清及肝组织上清液, 采用 ELISA 法检测肝组织及血清三磷酸腺苷(ATP) 含量, 以及肝组织 CS、CPT-1、LDH、HIF-1 α 的含量, 具体步骤同说明书。

1.7.3 肝组织能量代谢酶 mRNA 检测 给药后称取 50 mg 肝组织, TRIZOL 法(AG RNAex Pro Reagent 试剂盒) 提取总 RNA, 逆转录合成 cDNA, 随后进行实时荧光定量 PCR 反应。反应条件: 95℃预变性 30 s; 95℃变性 5 s, 40 个循环; 60℃退火 30 s, 40 个循环。Real-Time PCR 引物见表 1,

由上海捷瑞生物工程有限公司合成。本试验以β肌动蛋白(β-actin)为内参基因,各基因的mRNA表达量采用 $2^{-\Delta\Delta ct}$ 相对定量法计算。

表1 Real-Time PCR 引物序列

名称	引物序列 (5'-3')	扩增产物 长度/bp
CS	CATGGACTAGCAAACCAGGAGGATATCCT- GGGACAACCCGTC	135
LDH	CTGCTCATCGTCTCAAACCCGCAACCACTT- CCAATAACTCTGT	93
CPT-1	CCGAGAAGGGAGGACAGAGAGTACAGGT- GCTGGTGCTTCT	142
HIF-1α	GCAACTGCCACCACTGATGAGCTGTCCGA- CTGTGAGTACC	152
β-actin	CACCCGCGAGTACAACCTTCCCCATACCC- ACCATCACACC	207

注: CS, 柠檬酸合成酶; CPT-1, 肉毒碱脂酰转移酶 I; LDH, 乳酸脱氢酶; HIF-1α, 低氧诱导因子 1α; β-actin, β肌动蛋白。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件统计数据。计量资料均符合正态分布,采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两样本比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用方差分析,方差齐则采用 LSD 检验,方差不齐则采用 Tamhane's *T*² 检验。同组不同时间点的数据比较采用重复测量的方差分析,使用 Mauchely's test 球形检验评估方差分析的齐性,对不满足球形检验的统计量采用 Greenhouse-geisser 法矫正自由度和 *P* 值,之后比较采用 LSD 法。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

表2 空白组和造模组大鼠造模不同时间血浆乳酸水平比较 (mmol/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	第0周	第4周	第8周	第12周
空白组	5.590±1.068 (12)	5.259±0.970 (12)	5.078±1.108 (11)	5.072±1.423 (11)
造模组	5.259±0.679 (38)	5.762±1.152 (37)	6.579±1.288 (35)	6.385±1.180 (35)
<i>t</i> 值	0.851	-1.025	-2.499	-2.249
<i>P</i> 值	0.406	0.315	0.025	0.037

注: () 内为鼠数。

表3 各组大鼠血清及肝组织 ATP 含量、肝组织能量代谢酶 mRNA 比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	肝组织 ATP /nmol·L ⁻¹	血清 ATP /nmol·L ⁻¹	CPT-1/2 ^{-ΔΔCT}	CS/2 ^{-ΔΔct}	LDH/2 ^{-ΔΔct}	HIF-1α/2 ^{-ΔΔct}
空白组	11	6069.896±577.344	3190.582±489.553	1.007±0.128	1.009±0.151	0.969±0.100	1.074±0.100
模型组	12	9227.999±584.645 ^{a)}	4839.062±717.073 ^{a)}	1.620±0.457 ^{a)}	1.106±0.567	0.727±0.412	3.985±2.345 ^{a)}
二陈汤组	12	8364.116±343.056 ^{a) b)}	3896.270±546.692 ^{a) b)}	1.361±0.347 ^{b)}	1.087±0.323	0.780±0.305	2.662±1.657
<i>F</i> 值		38.470	9.990	4.195	0.084	0.883	3.474
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	0.039	0.920	0.429	0.051

注: ATP, 三磷酸腺苷; CS, 柠檬酸合成酶; CPT-1, 肉毒碱脂酰转移酶 I; LDH, 乳酸脱氢酶; HIF-1α, 低氧诱导因子 1α。

a) 与空白组比较, *P*<0.05; b) 与模型组比较, *P*<0.05。

2 结果

实验期间空白组大鼠死亡 1 只,造模组死亡 3 只。

2.1 空白组与造模组大鼠造模不同时间乳酸水平比较

表 2 示,空白组与造模组大鼠乳酸水平比较差异具有统计学意义 ($F_{\text{组别}}=8.988, P=0.009$),各组内不同时间之间乳酸差异无统计学意义 ($F_{\text{时间}}=0.715, P=0.548$);从各时间点分析,造模第 8 周和第 12 周,造模组大鼠较空白组大鼠乳酸含量增加,差异有统计学意义 (*P*<0.05)。

2.2 实验第 16 周末各组大鼠血清及肝组织 ATP 含量比较

表 3 示,各组大鼠血清及肝组织 ATP 含量整体比较差异有统计学意义 (*P*<0.001)。与空白组比较,模型组和二陈汤组大鼠血清及肝组织 ATP 的含量升高 (*P*<0.05);与模型组比较,二陈汤组大鼠血清及肝组织 ATP 的含量均明显降低 (*P*<0.05)。

2.3 实验第 16 周末各组大鼠肝组织能量代谢酶 mRNA 表达比较

表 3 示,各组大鼠肝组织 CPT-1 mRNA 表达水平整体比较差异有统计学意义 (*P*<0.05)。与空白组比较,模型组大鼠肝组织 CPT-1、HIF-1α mRNA 表达上调 (*P*<0.05);与模型组比较,二陈汤组大鼠肝组织 CPT-1 表达下调 (*P*<0.05)。

2.4 实验第 16 周末各组大鼠肝组织能量代谢酶水平比较

表 4 示,各组大鼠肝组织 LDH、CS、CPT-1、

表 4 各组大鼠肝组织能量代谢酶水平比较

(x±s)

组别	鼠数	LDH/ng·ml ⁻¹	CS/pg·ml ⁻¹	CPT-1/pg·ml ⁻¹	HIF-1α/pg·ml ⁻¹
空白组	11	70.816±7.666	1140.144±204.393	358.375±23.580	82.915±7.259
模型组	12	93.670±7.880 ^{a)}	1388.670±192.515 ^{a)}	472.811±53.875 ^{a)}	95.847±9.366 ^{a)}
二陈汤组	12	76.396±12.963 ^{b)}	1296.451±112.466	460.622±61.141 ^{a) b)}	84.691±7.457 ^{b)}
F 值		7.472	3.748	12.610	5.248
P 值		0.003	0.041	<0.001	0.015

注: CS, 柠檬酸合成酶; CPT-1, 肉毒碱酯酰转移酶 I; LDH, 乳酸脱氢酶; HIF-1α, 低氧诱导因子 1α。

a) 与空白组比较, $P<0.05$; b) 与模型组比较, $P<0.05$ 。

HIF-1α 水平比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。与空白组比较, 模型组大鼠肝组织 LDH、CS、CPT-1、HIF-1α 水平均升高 ($P<0.05$), 二陈汤组 CPT-1 水平升高 ($P<0.05$); 与模型组比较, 二陈汤组大鼠肝组织 LDH、CPT-1、HIF-1α 水平均降低 ($P<0.05$)。

3 讨论

MS 可归属于中医学“肥胖”“腹满”“消渴”“胸痹”“眩晕”等范畴, 先天禀赋不足、过食少动、情志不调、年老体衰等导致肝、脾、肾等脏腑功能失常, 脾运化失司, 肝疏泄失常, 肾蒸腾气化异常, 则水湿痰浊内生, 痰随气运行全身, 各脏腑气机运动受阻, 气化功能失常, 代谢功能紊乱, 从而形成肥胖和胰岛素抵抗, 终至 MS 的发生^[10]。肝是机体最大、最活跃的能量代谢和转换器官, 任何原因引起的肝脏损害都会引起机体物质能量代谢障碍。因此, 探讨能量失衡在 MS 痰证形成过程的作用中具有重要意义。

MS 痰证患者与非痰证患者相比, 在能量代谢、糖代谢、脂代谢、氨基酸代谢等方面存在明显差异^[11]。本研究结果显示, MS 痰证模型大鼠血清及肝组织 ATP 含量较空白组升高, 提示痰证大鼠能量代谢改变, 机体组织能量储备增加。中医学认为, MS 是一个由实证到虚实相兼、再到虚证的渐变过程, 因此我们认为能量过剩是 MS 早期能量失衡的一种表现, 随着疾病进展, 能量生成逐渐由亢进转向减少。经二陈汤干预 4 周后, 二陈汤组大鼠血清及肝组织 ATP 含量较模型组下降, 方证相参进一步证实痰与 ATP 具有一定的相关性, 痰证大鼠存在能量失衡。

机体缺氧时, 葡萄糖有氧化过程障碍, 丙酮酸经 LDH 催化生成乳酸, 乳酸作为葡萄糖在细胞缺氧的情况下酵解增加的终产物^[12], 评价乳酸含量可间接了解组织无氧代谢存在与否。研究发现, 与正常小鼠相比, 乳酸无论在肥胖小鼠的血液、尿

液还是肝脏中都明显升高, 无氧糖酵解功能增强^[13], 提示乳酸可作为研究肥胖的内源性标志物。另有研究显示, 体重指数 (BMI) >24.82 时, 2 型糖尿病患者发生高乳酸血症危险性增加 2 倍, 血乳酸含量与 BMI 呈正相关^[14], 提示无氧糖酵解可能促进肥胖形成。《丹溪治法心要》曰: “肥白人多痰湿”; 《石室秘录》载: “肥人多痰, 乃气虚也, 虚则气不运行, 故痰生之”; 《中医痰证诊断标准》^[15]指出肥胖可作为诊断痰证的重要依据, BMI 作为评价肥胖的指标。课题组前期研究^[16]证实, BMI 与 MS 痰证呈正相关。因此推测乳酸可能是 MS 痰证的物质基础, MS 痰证形成与无氧代谢关系密切。为验证推论, 本实验分别于造模第 0、4、8、12 周时检测乳酸在 MS 痰证大鼠模型构建过程中的动态变化, 结果表明随着 MS 痰证形成, 造模组乳酸含量明显升高, 提示乳酸是 MS 痰证形成的关键物质基础, 无氧代谢增强是导致 MS 痰证形成的重要机制。

CS 是三羧酸循环过程的首要限速酶, 参与线粒体能量代谢, 催化乙酰辅酶 A 与草酰乙酸缩合生成柠檬酸和辅酶 A^[17]。LDH 是葡萄糖无氧糖酵解的关键酶, 催化丙酮酸还原成乳酸, 调控乳酸的含量^[12]。脂肪酸氧化以 β 氧化为主, CPT-1 是脂肪酸 β 氧化途径的重要限速酶, 将脂酰辅酶 A 转运穿过线粒体内膜^[18]。本实验结果显示, 模型组大鼠肝组织 CS、CPT-1、LDH、HIF-1α 表达增加, 提示 MS 痰证形成过程中伴随着有氧代谢向无氧糖酵解转变, 有氧代谢能量底物由葡萄糖向脂肪酸转变。在正常供氧下细胞中 HIF-1α 可经蛋白酶体途径降解, 但缺氧条件下, HIF-1α 降解抑制在细胞中累积, 无氧代谢途径启动, 丙酮酸转化为乳酸, 抑制其进入线粒体发生有氧代谢^[19]。MS 痰证早期大量脂肪沉积可导致肝细胞缺氧, 临床研究亦证实 MS 存在慢性组织缺氧, 随着 MS 进展, 缺氧逐渐加重^[20]。与以损伤为主的急性缺氧不同, 慢性缺氧可使组织代谢模式发生适应性改变, 当缺氧程度轻

时, 有氧氧化能力适应性增强, 随着缺氧程度加重, 无氧代谢能力增强。二陈汤干预 4 周后, 大鼠肝 CPT-1 和 LDH 表达下调, 以方测证进一步证实 MS 痰证形成过程中伴随着有氧代谢向无氧糖酵解转变。

综上所述, MS 痰证存在能量失衡, 能量代谢途径改变影响 MS 痰证的形成, 纠正葡萄糖氧化与脂肪酸氧化的动态失衡, 促进无氧糖酵解向有氧氧化转变, 有助于早期防治 MS 的发生发展。然而, 本实验测定的酶有限, 不能完整说明 MS 痰证形成过程中的肝肌能量代谢, 后期需结合更多能量代谢指标进行研究。

参考文献

- [1] 杨茜, 邹大进. 肥胖与 2 型糖尿病的共同起源: 能量过剩引发肝脏胰岛素抵抗[J]. 中华糖尿病杂志, 2016, 8(2): 116-119.
- [2] 顾震宇, 王旭. 代谢综合征中医药研究概况[J]. 中医杂志, 2007, 48(3): 274-276.
- [3] 张彦卿, 李宁, 黄晓青, 等. 健脾化痰方治疗代谢综合征 43 例临床观察[J]. 湖南中医杂志, 2018, 34(7): 80-82.
- [4] 刘荣东, 江慧梅, 黄如萍. 健脾化痰法对痰湿型代谢综合征中脂肪肝并高尿酸患者的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2012, 29(3): 239-242, 246.
- [5] 张斐, 黄成宝, 张晓芳, 等. 二陈汤对高脂血症痰证模型大鼠脂肪酸代谢的影响[J]. 中医杂志, 2020, 61(3): 241-245.
- [6] 熊红萍, 李灿东, 高碧珍, 等. 代谢综合征的中医证素与腹围、胰岛素抵抗的相关性研究[J]. 光明中医, 2009, 24(10): 1821-1823.
- [7] 熊红萍, 李灿东, 高碧珍, 等. 青、中、老年代谢综合征的中医证候特点[J]. 中国中医基础医学杂志, 2011, 17(1): 40-41.
- [8] 魏佳, 曾华霖, 林书颖, 等. 代谢综合征痰证大鼠模型建立与评价的实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2022, 49(6): 195-199.
- [9] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 69-73.
- [10] 陈俊, 肖万泽. 痰瘀毒虚与代谢综合征发病关系探讨[J]. 河南中医, 2012, 32(8): 962-963.
- [11] 张梦婷. 代谢综合征痰证与非痰证人群的血清代谢组学比较研究[D]. 福州: 福建中医药大学, 2018.
- [12] 雷思, 王诗怡, 田绍文. 乳酸在中枢神经系统中的作用及其与相关疾病的关系[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2022, 38(4): 418-423.
- [13] SERKOVA NJ, JACKMAN M, BROWN JL, et al. Metabolic profiling of livers and blood from obese Zucker rats[J]. J Hepatol, 2006, 44(5): 956-962.
- [14] 刘芳, 陆俊茜, 唐峻岭, 等. 肾功能正常的 2 型糖尿病患者血乳酸水平的变化及影响因素[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2007, 162(7): 791-794.
- [15] 吴焕林, 吕渭辉, 潘桂娟, 等. 中医痰证诊断标准[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(7): 776-780.
- [16] 庄耀东, 王永发, 陈晓红, 等. 代谢综合征痰证与胰岛素抵抗指数、血脂及 BMI 的相关性研究[J]. 中医药临床杂志, 2016, 28(11): 1600-1602.
- [17] 冯美云. 运动生物化学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 90-93.
- [18] 阎利萍, 左吉卉, 吴明江, 等. 脂肪酸代谢与非酒精性脂肪肝疾病关系的研究进展[J]. 中国医药科学, 2020, 10(20): 35-39, 56.
- [19] 赵世光. 癌细胞葡萄糖代谢重编程的分子基础[J]. 中国肿瘤临床, 2014, 41(10): 611-615.
- [20] 陈素峰, 夏骏, 单志明, 等. 男性代谢综合征患者中组织缺氧与胰岛素抵抗的相关性研究[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2016, 32(8): 652-656.

Characteristics of Energy Metabolism in Serum and Liver Tissue in Metabolic Syndrome with Phlegm Syndrome Model Rats

WEI Jia¹, ZENG Hualin², LIN Shuying², QIAO Shijie², SHAO Yanfei³, LI Candong², GAO Bizhen²

1. Fujian Provincial Hospital, Fuzhou, 350001; 2. Fujian University of Traditional Chinese Medicine; 3. Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine

ABSTRACT Objective To explore the mechanism and pathological basis of phlegm syndrome in metabolic syndrome (MS). **Methods** Fifty rats were randomly divided into blank group (12 rats) and modeling group (38 rats). The rat model of MS with phlegm syndrome was established by feeding high sugar, high fat and high salt diet. Twenty-four successfully modeled rats were randomly divided into a model group and a *Erchen Decoction* (二陈汤) group, with 12 rats in each group. The *Erchen Decoction* group was given 5.3 g/kg of *Erchen Decoction* by gavage, while the other groups were administered with 10 ml/kg of normal saline by gavage, once daily for four weeks. Plasma lactic acid levels in the blank group and the model group were detected by spectrophotometry at 0, 4, 8 and 12 weeks, respec-

tively. Adenosine triphosphate (ATP) levels in serum and liver tissues of the three groups were detected by ELISA. Citric acid synthase (CS), carnitine palmitoyltransferase I (CPT-1), lactate dehydrogenase (LDH), hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1) levels and mRNA expression in liver tissue were detected by ELISA and real-time PCR.

Results During the modeling period, the difference of lactic acid level between the blank group and the model group was statistically significant. At 8 and 12 weeks of modeling, the lactic acid level of the model group was higher than that of the blank group ($P < 0.05$). At the end of the 16th week during the experiment, compared with those of the blank group, the ATP content in serum and liver tissue of the model group and the *Erchen Decoction* group increased ($P < 0.05$), and the levels of LDH, CS, CPT-1 and HIF-1 α in the liver tissue of the model group increased ($P < 0.05$). Compared with those of the model group, the contents of ATP in serum and liver tissue, the expression of CPT-1 mRNA in liver and the levels of LDH, CPT-1 and HIF-1 α in liver tissue of the *Erchen Decoction* group significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** The energy imbalance promotes the development of MS phlegm syndrome, and the change in the energy metabolic pathway is the pathological basis.

Keywords metabolic syndrome; phlegm syndrome; energy metabolism; *Erchen Decoction* (二陈汤)

(收稿日期: 2021-12-21; 修回日期: 2022-06-01)

[编辑: 王利芬]

(上接第 1678 页)

Effects of *Xuefu Zhuyu Capsules* (血府逐瘀胶囊) on Aortic Lesion and Expression of CD47, PPAR- γ and NR1H3 in Atherosclerosis Model Mice

WANG Manman, JIA Dongdong, ZHANG Xinyue, LOU Lixia, WU Aiming, ZHAO Yizhou, GUO Qianqian, YANG Rui, ZHANG Dongmei

Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100700

ABSTRACT **Objective** To investigate the possible mechanism of *Xuefu Zhuyu Capsules* (血府逐瘀胶囊) in the treatment of atherosclerosis (AS). **Methods** Thirty apolipoprotein E knockout (ApoE^{-/-}) mice were randomly divided into model group, *Xuefu Zhuyu Capsules* group and atorvastatin group, with 10 mice in each group, and 10 C57BL/6N mice were set as normal control group. Except for the normal group, mice were fed with high fat diet for six weeks to prepare early AS model. After successful modeling, the drug groups were given *Xuefu Zhuyu Capsules* 0.6 g·kg⁻¹·d⁻¹ and atorvastatin 3.3 mg·kg⁻¹·d⁻¹ by gavage, respectively. The normal and model groups were given 0.3 ml of deionized water by gavage. After 12 weeks of intervention, the pathological changes and lipid deposition of aortic valve in mice were observed. Blood lipid indexes including serum total cholesterol (TC), triglycerid (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were detected, and TC/HDL-C, LDL-C/HDL-C, and atherosclerosis index (AI) were calculated. The protein expression levels of aortic signal transducer integrin-associated protein (CD47), peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR- γ) and liver X receptor α (NR1H3) were detected by western blot. **Results** Compared to those in the normal group, the aortic valve plaque area and lipid deposition of mice in the model group increased, while serum TC, LDL-C, TC/HDL-C, LDL-C/HDL-C and AI levels, as well as aortic CD47 protein expression increased, and HDL-C level decreased ($P < 0.01$). Compared to those in the model group, the aortic valve plaque area and lipid deposition in the *Xuefu Zhuyu Capsules* group and the atorvastatin group decreased, while the serum TC and LDL-C levels and CD47 protein expression decreased, and the NR1H3 protein expression increased ($P < 0.01$). Moreover, the expression level of PPAR- γ protein in *Xuefu Zhuyu Capsules* group increased ($P < 0.01$), while the level of HDL-C increased in atorvastatin group, and TC/HDL-C, LDL-C/HDL-C and AI were significantly reduced ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared to that in the atorvastatin group, the expression level of CD47 protein in *Xuefu Zhuyu Capsules* group increased ($P < 0.05$). **Conclusion** The treatment of AS by *Xuefu Zhuyu Capsules* may be related to the regulation of expression of inflammation key molecules CD47, PPAR- γ , and NR1H3.

Keywords atherosclerosis; *Xuefu Zhuyu Capsules* (血府逐瘀胶囊); inflammation; blood lipids

(收稿日期: 2021-12-23; 修回日期: 2022-07-01)

[编辑: 王利芬]