丹瓜护脉口服液通过增强线粒体功能改善糖脂代谢紊乱

靳霖溪,姚淑红,王志塔,陈奇炜,韩　壮,洪鑫淼,阮　怡,杨柳清,何卫东,衡先培,李　亮*
(福建中医药大学附属人民医院,福建 福州 350004)

摘　要： 目的　通过体内外实验,探讨丹瓜护脉口服液通过增强线粒体三羧酸(TCA)循环与氧化磷酸化(OXPHOS)功能改善糖脂代谢紊乱的作用机制。　方法　① 体内实验:采用随机数字表法将SPF级7周龄雌性C57BL/6J小鼠分为正常组8只和造模组24只。正常组给予饲喂普通饲料,造模组饲喂高糖高脂饲料建立糖脂代谢紊乱模型。造模成功后,采用随机数字表法将成模小鼠分为模型组、治疗组和二甲双胍组,每组8只。治疗组按20.5 g/(kg·d)给予丹瓜护脉口服液灌胃;二甲双胍组按0.142 g/(kg·d)给予二甲双胍药液灌胃;正常组和模型组按10 mL/(kg·d)给予生理盐水灌胃,每日灌胃1次,连续干预15周。检测干预前后空腹体质量以及干预后空腹血糖(FBG)和餐后2 h血糖(2hBG)。处死后,称量肝重,并计算肝脏指数;检测血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、游离脂肪酸(NEFA)水平;ELISA法检测血清烟酰胺腺嘌呤二核苷酸/还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD^+/NADH)以及肝组织NAD^+/NADH、TCA循环关键产物[柠檬酸(Citrate)、α-酮戊二酸(α-KG)、草酰乙酸(OAA)、琥珀酰辅酶A(Succ-CoA)、柠檬酸合酶(CS)]、TCA关键酶[异柠檬酸脱氢酶1(IDH1)、α-酮戊二酸脱氢酶(α-KGDH)、琥珀酸脱氢酶(SDH)、苹果酸脱氢酶1(MDH1)]和呼吸链复合物[呼吸链复合物Ⅰ(Complex Ⅰ)、复合物Ⅳ(Complex Ⅳ)、复合物Ⅴ(Complex Ⅴ)]水平;油红O染色观察肝组织脂质沉积情况。② 体外实验:SD雄性大鼠采用随机数字表法分为对照血清组和含药血清组,分别给予生理盐水和丹瓜护脉口服液灌胃,连续灌胃2周,处死后分离出对照血清和含药血清,用于后续细胞实验。采用高糖联合棕榈酸诱导WRL68细胞建立糖脂代谢紊乱模型。将WRL68细胞分为正常组、模型组及治疗组,正常组加入含10%对照血清的低糖DMEM培养基干预;模型组加入含0.5 mmol/L棕榈酸溶液和10%对照血清的高糖DMEM培养基联合干预;治疗组加入含0.5 mmol/L棕榈酸溶液和10%含药血清的高糖DMEM培养基联合干预,均干预24 h。检测细胞内TC、TG、GLU含量;油红O染色观察细胞脂质沉积情况;Seahorse XF技术检测细胞耗氧率(OCR)以评估线粒体呼吸功能,并计算基础呼吸、最大呼吸、质子漏、ATP产生、备用呼吸能力等线粒体呼吸参数。　结果　① 体内实验结果显示,干预前模型组、治疗组和二甲双胍组体质量均较正常组明显升高($P<0.05$)。与正常组比较,模型组干预后体质量和肝脏指数均明显升高($P<0.05$);FBG、2hBG以及血清TC、TG、NEFA水平均明显升高($P<0.05$);血清NAD^+/NADH水平以及肝组织α-KG、Succ-CoA、CS、IDH1、α-KGDH、SDH水平均明显降低($P<0.05$),肝组织Citrate水平明显升高($P<0.05$);肝组织Complex Ⅰ、Complex Ⅳ和Complex Ⅴ水平均明显降低($P<0.05$)。与模型组比较,治疗组和二甲双胍组体质量均明显降低($P<0.05$),FBG、2hBG和血清TG水平均明显降低($P<0.05$),血清NAD^+/NADH和肝组织Succ-CoA、α-KGDH、SDH水平均明显升高($P<0.05$),肝组织Citrate水平明显降低($P<0.05$),肝组织Complex Ⅳ和Complex Ⅴ水平均明显升高($P<0.05$);治疗组肝脏指数明显降低($P<0.05$),血清TC和NEFA明显降低($P<0.05$),肝组织OAA和Complex Ⅰ水平均明显升高($P<0.05$);二甲双胍组肝组织NAD^+/NADH和MDH1水平均明显升高($P<0.05$)。油红O染色结果显示:正常组肝组织结构清晰,无明显脂滴积聚;模型组肝组织内出现大面积深红色脂滴,提示存在严重的脂质沉积,结合前述体征与生化指标,证实糖脂代谢紊乱模型构建成功。治疗组与二甲双胍组肝组织中深红色脂滴数量和面积较模型组明显减少,脂质沉积显著减轻。② 体外实验结果显示,与正常组比较,模型组TC、TG和GLU水平均明显升高($P<0.05$),基础呼吸、质子漏和ATP产生均明显降低($P<0.05$);与模型组比较,治疗组TC、TG和GLU水平均明显降低($P<0.05$),基础呼吸、质子漏和ATP产生均明显升高($P<0.05$)。油红O染色结果显示:正常组细胞核呈蓝色,胞内红色脂滴较少;模型组细胞胞质内出现大量深红色脂滴,提示存在严重脂质蓄积;治疗组细胞脂滴沉积程度较模型组减轻。　结论　丹瓜护脉口服液通过增强TCA循环通量与OXPHOS功能,系统改善线粒体能量代谢障碍,从源头促进糖脂底物氧化分解,发挥改善糖脂代谢紊乱的作用。

关键词： 糖脂代谢紊乱;丹瓜护脉口服液;线粒体功能;三羧酸循环;氧化磷酸化

糖脂代谢紊乱是代谢综合征的关键病理特征之一,其本质是机体能量摄入与消耗失调所致的能量代谢失衡,常伴发肥胖、非酒精性脂肪肝及心血管疾病,已成为全球重大公共卫生问题[1-2]。数据显示,全球成人糖尿病与我国血脂异常患病率已分别达到9.3%和40.4%,而这种多重代谢异常共病的综合控制达标率却不足10%[3]。目前临床主要依赖化学药物,如胰岛素增敏剂、促胰岛素分泌剂以及外源性胰岛素等进行干预,但多数药物作用机制

收稿日期: 2026-04-10;**接受日期:** 2026-06-03
基金项目: 国家自然科学基金项目(82574894,82274389);福建省自然科学基金项目(2023J01149);福建省科技创新联合资助项目(2025Y9560);福建省高校产学合作项目(2022Y4106)
通信作者: 李亮,E-mail:497644789@qq.com
DOI: 10.13260/j.cnki.jfjtcm.2026.08005

单一，常伴随体质量增加、肝肾损伤等毒副作用，且未能从根本上逆转能量代谢失衡状态[4]。线粒体作为细胞能量代谢中心，其功能状态直接调节糖脂分解与产能过程，三羧酸（tricarboxylic acid，TCA）循环与氧化磷酸化（oxidative phosphorylation，OXPHOS）是线粒体能量代谢的两大核心途径[5]。糖脂代谢紊乱患者常伴有TCA循环通量下降、呼吸链功能受损及三磷酸腺苷（adenosine triphosphate，ATP）生成不足，因此改善线粒体功能可能是纠正代谢失衡的生理性策略[6]。

丹瓜护脉口服液为福建中医药大学附属人民医院院内制剂（专利号：201410599300.6），具有化痰活血、通络护脉之效。前期临床研究显示，该方能显著降低2型糖尿病患者血糖、血脂，改善胰岛素抵抗，并减轻肝脏脂质沉积[7]。然而，在糖脂代谢紊乱的病理状态下，该方对线粒体能量代谢的系统性重塑机制，尚待深入阐明。因此，本研究旨在通过体内外实验，系统探讨丹瓜护脉口服液是否通过增强线粒体TCA循环与OXPHOS功能来改善糖脂代谢紊乱，以期为其中医药作用机制提供实验依据。

1 实验材料

1.1 实验动物及细胞 无特定病原体SPF级7周龄雌性C57BL/6J小鼠和8周龄雄性SD大鼠，均购自上海斯莱克实验动物有限责任公司，实验动物生产许可证号：SCXK（沪）2022-0004，饲养于福建中医药大学实验动物中心，实验动物使用许可证号：SYXK（闽）2023-0004。饲养条件：自由进食和饮水，恒温（22±2）℃，相对湿度（50±5）%，12 h光照和黑暗交替。实验方案经福建中医药大学实验动物伦理审查委员会批准（批准文号：FJTCMIACUA2023022和2023010），实验操作符合国际动物伦理标准及国家相关规定，全程保障实验动物福利。正常人肝细胞WRL68，购于苏州海星生物科技有限公司。

1.2 实验药物 丹瓜护脉口服液由丹参、瓜蒌、川芎、赤芍、薤白、法半夏、郁金和僵蚕等组成，福建中医药大学附属人民医院药剂科生产（医疗制剂批件号：Z20150008，生产批号：120928）。盐酸二甲双胍片[默克制药（江苏）有限公司，生产批号：CSN1311]，用蒸馏水配置成16.7 mg/mL二甲双胍药液。

1.3 实验试剂 普通饲料由福建中医药大学实验动物中心提供；高糖高脂饲料（福州诺敦斯生物科技有限公司，批号：H1022）；低糖DMEM培养基（货号：SH30021.01）、高糖DMEM培养基（货号：SH30022.01）、青霉素链霉素溶液（货号：SV30010）均购自美国HyClone公司；胎牛血清（美国Sigma公司，货号：F8318-500ML）；棕榈酸（上海阿拉丁生化科技股份有限公司，货号：S104196-100g）；4%多聚甲醛（货号：BL539A）、HE染色试剂盒（货号：BL700B）均购自北京兰杰柯科技有限公司；牛血清白蛋白（BSA，货号：A8850）、改良油红O试剂盒（货号：G1263）均购自北京索莱宝科技有限公司；葡萄糖（GLU，货号：A154-1-1）、甘油三酯（TG，货号：A110-1-1）、总胆固醇（TC，货号：A111-1-1）、游离脂肪酸（NEFA，货号：A042-2-1）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C，货号：A113-1-1）、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C，货号：A112-1-1）和氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸/还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（NAD^+/NADH，货号：A114-1-1）检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所；柠檬酸（Citrate，货号：JL-T1022-96T）、α-酮戊二酸（α-KG，货号：JL-T0709-48T）、柠檬酸合酶（CS，货号：JL57386-96T）、苹果酸脱氢酶1（MDH1，货号：JL32577-96T）、异柠檬酸脱氢酶1（IDH1，货号：JL32037-96T）检测试剂盒均购自上海江莱生物科技有限公司；氨基甲酸乙酯（货号：PH006652）、草酰乙酸（OAA）检测试剂盒（货号：MAK070-1KT）均购自德国Sigma-Aldrich公司；琥珀酰基辅酶A（Succ-CoA，货号：MM-45785M2）和α-酮戊二酸脱氢酶复合体（α-KGDH，货号：MM-43960M2）检测试剂盒均购自江苏酶免实业有限公司；琥珀酸脱氢酶（SDH，货号：FP10620）、呼吸链复合物Ⅰ（Complex Ⅰ，货号：FS12046）、呼吸链复合物Ⅳ（Complex Ⅳ，货号：FS55082）和呼吸链复合物Ⅴ（Complex Ⅴ，货号：FP14676）检测试剂盒均购自上海西唐生物科技有限公司；Seahorse XF细胞线粒体压力测定试剂盒（货号：103010-100）、1.0 mol/L葡萄糖溶液（货号：103015-100）、100 mmol/L丙酮酸溶液（货号：103578-100）、200 mmol/L谷氨酰胺溶液（货号：103579-100）、校准液（货号：102601-100）均购自美国Agilent公司。

1.4 实验仪器 微量血糖测试仪（江苏鱼跃医疗设备股份有限公司，型号：悦准Ⅰ型710）；低温离心机（美国Thermo Fisher Scientific公司，型号：Legend Micro 21R）；超微量紫外-可见分光光度计（杭州米欧仪器有限公司，型号：ND-100C）；酶标仪[帝肯（上海）实验器材有限公司，型号：Infinite F50]；包埋机（型号：KH-BL）、脱水机（型号：KH-TS）均购自湖北孝感阔海医疗科技有限公司；冰冻切片机（德国Leica公司，型号：CM1900）；倒置显微镜（日本Nikon公司，型号：TS-100F）；CO_2恒温培养箱[力康生物医疗科技控股有限公司，型号：HF100（C02）]；细胞能量代谢分析系统（美国Agilent公司，型号：Seahorse XF）。

2　实验方法

2.1　动物实验

2.1.1　模型构建与分组　禁食不禁水 10 h后称量C57BL/6J小鼠空腹体质量,连续称量3 d并计算平均值。以空腹体质量分层,采用随机数字表法分为正常组8只和造模组24只。正常组饲喂普通饲料,造模组饲喂高糖高脂饲料(普通饲料70.7%、蔗糖20%、精炼猪油7%、胆固醇2%、猪胆盐0.3%)。4周后,测量体质量及空腹血糖(FBG),将造模组体质量和FBG较正常组明显升高视为糖脂代谢紊乱模型建立成功[8-9]。以体质量分层,按空腹血糖由高到低排序,采用随机数字表法将成模小鼠分为模型组、治疗组和二甲双胍组,每组8只。

2.1.2　干预　治疗组按20.5 g/(kg·d)给予丹瓜护脉口服液灌胃;二甲双胍组按0.142 g/(kg·d)给予二甲双胍药液灌胃;正常组和模型组按10 mL/(kg·d)给予生理盐水灌胃[8-9]。每日灌胃1次,连续干预15周。

2.1.3　体质量和血糖检测　检测干预前后禁食不禁水10 h空腹体质量。禁食不禁水10 h后尾尖采血,使用微量血糖测试仪测定FBG,随即按2 g/kg给予50%葡萄糖溶液灌胃,2 h后尾尖采血,再次检测餐后2 h血糖(2hBG)。

2.1.4　取材　末次给药后禁食不禁水10 h,腹腔注射20%氨基甲酸乙酯(5 mL/kg)麻醉,腹主动脉采血,室温静置30 min,4 ℃下3 000 r/min离心15 min,血清-80 ℃保存。取肝脏,预冷PBS溶液冲洗3次,滤纸吸干后称肝重,计算肝脏指数;部分组织4%多聚甲醛固定,余者-80 ℃冻存。

2.1.5　血清血脂指标检测　取出-80 ℃冻存的血清样本,置于4 ℃冰上自然融化并瞬时离心备用。采用酶促比色法测定小鼠血清中TC、TG及NEFA的水平,严格按照检测试剂盒说明书步骤操作。

2.1.6　ELISA法检测NAD^+/NADH、TCA循环关键产物和关键酶相关指标水平　取出-80 ℃冻存的血清与肝脏组织样本,置于4 ℃冰上自然融化。称取适量肝脏组织,按组织质量(g)与溶液体积(mL)1∶9的比例加入预冷的PBS溶液,进行充分的组织匀浆;随后4 ℃下3 000 r/min离心15 min,并小心收集上清液备用。取处理好的血清及肝脏组织上清液,严格按照相关ELISA试剂盒说明书的操作步骤,加样并孵育显色,应用酶标仪检测血清NAD^+/NADH以及肝组织NAD^+/NADH、TCA循环关键产物(Citrate、α-KG、OAA、Succ-CoA、CS)、TCA关键酶(IDH1、α-KGDH、SDH、MDH1)和呼吸链复合物(Complex Ⅰ、Complex Ⅳ、Complex Ⅴ)的吸光度值,并计算其对应水平。

2.1.7　油红O染色观察肝组织脂质沉积情况　肝组织冰冻切片厚度10 μm,10%福尔马林固定,蒸馏水洗涤,60%异丙醇洗涤,油红O染色液染色15 min(避光密封),60%异丙醇洗涤,Mayer苏木素复染2 min,蒸馏水洗涤,甘油明胶封片,镜下观察并拍照。

2.2　细胞实验

2.2.1　含药血清制备　SD雄性大鼠适应性饲养7 d后,采用随机数字表法分为对照血清组和含药血清组,每组10只。含药血清组按20.5 g/(kg·d)给予丹瓜护脉口服液灌胃,对照血清组按10 mL/(kg·d)给予生理盐水灌胃,每日灌胃1次,连续灌胃2周。末次灌胃给药2 h后,按5 mL/kg腹腔注射20%氨基甲酸乙酯麻醉,腹主动脉采血,室温静置30 min,4 ℃下3 000 r/min离心15 min,分离出对照血清和含药血清,56 ℃水浴30 min灭活血清,置于-80 ℃保存。

2.2.2　细胞培养　细胞常规培养于含10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素的低糖DMEM完全培养基中,置于37 ℃、5% CO_2培养箱中培养。待细胞融合度达90%左右时,采用常规胰酶消化法按1∶2比例传代。选取第3代处于对数生长期的细胞用于后续实验。

2.2.3　分组与干预　采用棕榈酸和高糖诱导建立糖脂代谢紊乱细胞模型,将对数生长期细胞按2×10^5个/孔接种于6孔板,待贴壁后,正常组加入含10%对照血清的低糖DMEM培养基干预;模型组加入含0.5 mmol/L棕榈酸溶液和10%对照血清的高糖DMEM培养基联合干预;治疗组加入含0.5 mmol/L棕榈酸溶液和10%含药血清的高糖DMEM培养基联合干预,均干预24 h。

2.2.4　生化指标检测　干预结束后,弃去各组培养基,使用预冷的PBS洗涤细胞2次,采用胰酶消化法收集细胞并进行精确计数。离心弃去上清后,按每1×10^6个细胞加入200 μL预冷PBS的比例重悬细胞沉淀,在冰浴条件下通过超声破碎仪充分裂解细胞,4 ℃下3 000 r/min低温离心10 min,收集细胞裂解上清液。严格按照相关生化试剂盒说明书的操作步骤测定TC、TG和GLU含量,并以细胞数量进行标准化处理。

2.2.5　油红O染色观察细胞脂质沉积情况　干预结束后,细胞经4%多聚甲醛室温固定15 min,PBS溶液洗涤,60%异丙醇浸洗。油红O染液染色15 min后,以60%异丙醇分色,PBS溶液清洗。苏木素复染细胞核2 min,PBS覆盖后于显微镜下观察并拍照。

2.2.6　线粒体压力测试法检测细胞耗氧率　将细胞于XF96微孔板中铺板,按"2.2.3"项下方法进行分组和干预,采用Seahorse XFe96细胞能量代谢分析系统检测细胞线粒体耗氧率(OCR)。检测前,使用检测液(含10 mmol/L葡萄糖、1 mmol/L丙酮酸钠、2 mmol/L谷氨酰胺的Seahorse XF DMEM基础

培养基，pH 7.4）清洗细胞2次，每孔终体积调整为180 μL，随后置于37 ℃无CO_2培养箱中平衡60 min。水化过夜的探针板在检测前更换为预温的XF校准液，继续水化45～60 min。检测过程中，仪器依次自动注入终浓度分别为1.5 μmol/L寡霉素、1.0 μmol/L氟化羰基氰苯腙（FCCP）及0.5 μmol/L鱼藤酮/抗霉素A。根据各加药阶段的OCR变化计算线粒体呼吸参数：以加药前的初始OCR减去鱼藤酮/抗霉素A加入后的非线粒体OCR（即加入鱼藤酮/抗霉素A完全阻断呼吸链后细胞残余的耗氧量）作为基础呼吸；以FCCP加入后激发的峰值OCR减去非线粒体OCR作为最大呼吸；以寡霉素加入后OCR减去非线粒体OCR代表质子漏；以初始OCR减去寡霉素加入后的OCR计算ATP产生；备用呼吸能力则由最大呼吸与基础呼吸的差值计算得出。所有数据经仪器配套软件采集并导出，分析前以每孔细胞数进行标准化处理。

2.3 统计学方法 使用SPSS 28.0和GraphPad Prism 10.0对实验数据进行分析及可视化处理。计量资料符合正态分布以（$\bar{x}\pm s$）表示，组间比较采用单因素方差分析，若方差齐则选用LSD-t法进行事后两两比较；若方差不齐，则采用Welch's方差分析，并选用Games-Howell检验进行事后比较。不符合正态分布以$M(P_{25},P_{75})$表示，采用Kruskal-Wallis H检验。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

3 结 果

3.1 动物实验结果

3.1.1 4组体质量与肝脏指数比较 干预前，与正常组比较，模型组、治疗组和二甲双胍组体质量均明显升高（$P<0.05$）。干预后，与正常组比较，模型组体质量和肝脏指数均明显升高（$P<0.05$）；与模型组比较，治疗组和二甲双胍组体质量均明显降低（$P<0.05$），治疗组肝脏指数明显降低（$P<0.05$）。见表1。

表1 4组体质量与肝脏指数比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	体质量/g		肝脏指数/%
		干预前	干预后	
正常组	8	20.68±0.55	22.11±1.03	4.40±0.18
模型组	8	23.15±1.51[1)]	25.95±1.61[1)]	5.31±0.35[1)]
治疗组	8	22.93±1.23[1)]	23.35±1.13[2)]	4.97±0.47[2)]
二甲双胍组	8	22.73±0.58[1)]	23.50±1.15[2)]	5.44±0.22

注：与正常组比较，1）$P<0.05$；与模型组比较，2）$P<0.05$。

3.1.2 4组血糖和血脂指标比较 与正常组比较，模型组FBG、2hBG以及血清TC、TG、NEFA水平均明显升高（$P<0.05$）。与模型组比较，治疗组和二甲双胍组FBG、2hBG和血清TG水平均明显降低（$P<0.05$），治疗组血清TC和NEFA明显降低（$P<0.05$）。见表2。

3.1.3 4组肝组织油红O染色情况比较 正常组肝组织结构清晰，无明显脂滴积聚；模型组肝组织内出现大面积深红色脂滴，提示存在严重的脂质沉积，结合前述体征与生化指标，证实糖脂代谢紊乱模型构建成功。治疗组和二甲双胍组肝组织中深红色脂滴数量和面积较模型组明显减少，脂质沉积得到显著减轻。见图1。

表2 4组血糖和血脂指标比较（$\bar{x}\pm s$） mmol/L

组别	FBG	2hBG	TC	TG	NEFA
正常组	7.70±0.40	8.51±1.07	2.27±0.34	0.50±0.07	0.51±0.05
模型组	8.89±0.42[1)]	10.74±0.84[1)]	4.60±0.68[1)]	0.58±0.05[1)]	0.62±0.05[1)]
治疗组	7.78±0.85[2)]	9.04±0.72[2)]	3.40±0.31[2)]	0.43±0.07[2)]	0.53±0.04[2)]
二甲双胍组	7.18±0.67[2)]	8.66±1.21[2)]	3.86±0.81	0.44±0.05[2)]	0.68±0.13

注：与正常组比较，1）$P<0.05$；与模型组比较，2）$P<0.05$。

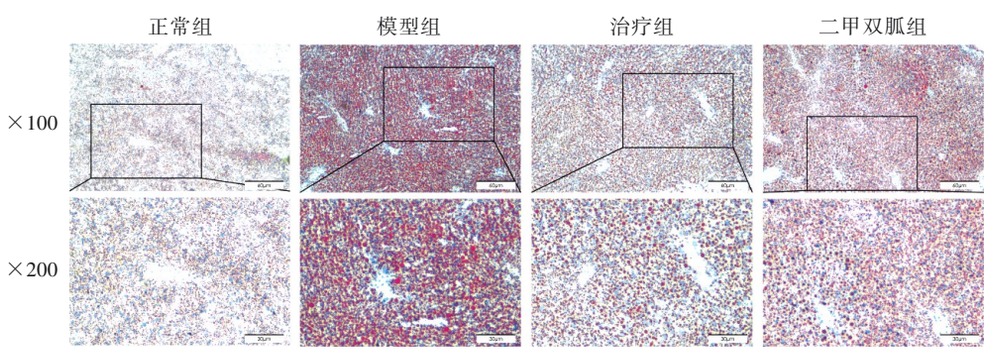


图1 4组肝组织油红O染色图（×100，×200）

3.1.4 4组NAD^+/NADH、TCA循环关键产物和关键酶指标比较 与正常组比较，模型组血清NAD^+/NADH水平以及肝组织α-KG、Succ-CoA、CS、IDH1、α-KGDH、SDH水平均明显降低（$P<0.05$），肝组织

Citrate水平明显升高（$P<0.05$）。与模型组比较，治疗组和二甲双胍组血清$NAD^+/NADH$和肝组织Succ-CoA、α-KGDH、SDH水平均明显升高（$P<0.05$），肝组织Citrate水平明显降低（$P<0.05$）；治疗组肝组织OAA水平明显升高（$P<0.05$）；二甲双胍组肝组织$NAD^+/NADH$和MDH1水平均明显升高（$P<0.05$）。见表3。

3.1.5　4组肝组织线粒体呼吸链复合物水平比较　与正常组比较，模型组肝组织Complex Ⅰ、Complex Ⅳ和Complex Ⅴ水平均明显降低（$P<0.05$）；与模型组比较，治疗组和二甲双胍组肝组织Complex Ⅳ和Complex Ⅴ水平均明显升高（$P<0.05$），治疗组肝组织Complex Ⅰ水平明显升高（$P<0.05$）。见表4。

表3　4组$NAD^+/NADH$、TCA循环关键产物和关键酶指标比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	血清	肝组织				
		$NAD^+/NADH$	$NAD^+/NADH$	Citrate/(mg/g)	α-KG/(nmol/g)	OAA/(nmol/μg)	Succ-CoA/(μg/mL)
正常组	8	4.29±0.87	0.96±0.16	2.00±0.49	16.19±3.67	0.10±0.01	1.49±0.21
模型组	8	1.78±0.51[1)]	0.84±0.22	3.22±0.36[1)]	9.83±4.08[1)]	0.09±0.03	1.16±0.11[1)]
治疗组	8	4.24±0.44[2)]	0.87±0.09	2.13±0.47[2)]	13.57±3.46	0.13±0.04[2)]	1.49±017[2)]
二甲双胍组	8	4.43±0.74[2)]	1.34±0.24[2)]	2.33±0.58[2)]	10.62±5.73	0.13±0.07	1.45±0.15[2)]

组别	n	肝组织				
		CS/(μg/mL)	IDH1/(μg/mL)	α-KGDH/(μg/mL)	SDH/(μg/mL)	MDH1/(ng/μL)
正常组	8	33.31±13.75	2.03±1.23	646.31±59.12	3.22±0.37	54.42±25.59
模型组	8	15.08±11.20[1)]	0.37±0.15[1)]	563.53±62.82[1)]	2.41±0.39[1)]	24.72±10.67
治疗组	8	22.24±11.93	1.20±0.28	711.17±64.43[2)]	3.81±0.92[2)]	65.70±45.03
二甲双胍组	8	24.43±14.73	0.35±0.20	651.62±75.54[2)]	3.23±0.72[2)]	45.53±12.60[2)]

注：与正常组比较，1）$P<0.05$；与模型组比较，2）$P<0.05$。

表4　4组肝组织线粒体呼吸链复合物水平比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	Complex Ⅰ/(μg/mL)	Complex Ⅳ/(ng/μL)	Complex Ⅴ/(ng/μL)
正常组	8	1.38±0.19	282.34±18.38	10.26±2.41
模型组	8	0.85±0.10[1)]	237.01±28.35[1)]	7.24±1.03[1)]
治疗组	8	1.46±0.21[2)]	280.12±11.71[2)]	10.03±2.29[2)]
二甲双胍组	8	1.15±0.35	295.52±17.78[2)]	11.15±1.33[2)]

注：与正常组比较，1）$P<0.05$；与模型组比较，2）$P<0.05$。

3.2　细胞实验结果

3.2.1　3组TC、TG和GLU水平比较　与正常组比较，模型组TC、TG和GLU水平均明显升高（$P<0.05$）；与模型组比较，治疗组TC、TG和GLU水平均明显降低（$P<0.05$）。见表5。

3.2.2　3组细胞脂质沉积情况观察　正常组细胞核呈蓝色，胞内红色脂滴较少；模型组细胞胞质内出现大量深红色脂滴，提示存在严重脂质蓄积；治疗组细胞脂滴沉积程度较模型组减轻。见图2。

表5　3组TC、TG和GLU水平比较（$\bar{x}\pm s$）　nmol/10^5个

组别	n	TC	TG	GLU
正常组	6	0.45±0.06	0.28±0.03	0.49±0.08
模型组	6	1.72±0.11[1)]	1.07±0.20[1)]	0.91±0.05[1)]
治疗组	6	0.57±0.13[2)]	0.78±0.07[2)]	0.71±0.04[2)]

注：与正常组比较，1）$P<0.05$；与模型组比较，2）$P<0.05$。

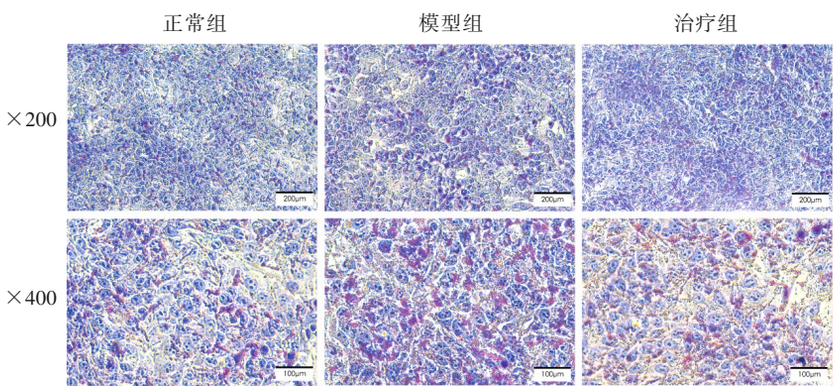


图2　3组细胞油红O染色图（×200，×400）

3.2.3 3组OCR及其相关指标比较 与正常组比较，模型组基础呼吸、质子漏和ATP产生均明显降低（$P<0.05$）；与模型组比较，治疗组基础呼吸、质子漏和ATP产生均明显升高（$P<0.05$）。见表6和图3。

表6 3组OCR相关指标比较（$\bar{x}\pm s$） pmol/min

组别	n	基础呼吸	最大呼吸	质子漏	ATP产生	备用呼吸能力
正常组	10	192.67±18.20	576.04±18.27	56.97±8.64	136.84±15.31	398.26±32.11
模型组	10	127.38±21.43[1)]	561.79±42.99	46.96±7.74[1)]	109.34±17.14[1)]	396.39±27.99
治疗组	10	178.10±16.47[2)]	582.43±15.42	54.63±5.40[2)]	123.59±14.08[2)]	412.81±15.96

注：与正常组比较，1）$P<0.05$；与模型组比较，2）$P<0.05$。

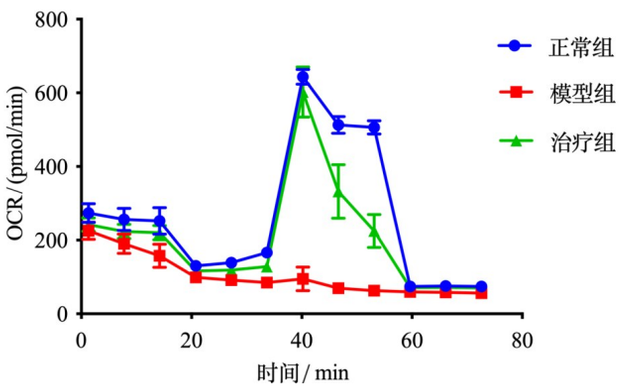


图3 3组不同时间OCR比较

4 讨 论

当前，糖脂代谢紊乱的现代医学治疗面临显著瓶颈：主流化学药物如胰岛素增敏剂、促泌剂及外源性胰岛素虽能有效控制血糖，但常伴随体质量增加，而体质量增加已被证实为心血管不良预后的独立危险因素[10-11]。即便采取强化降糖、降脂、降压的综合治疗方案，仍难以进一步提升患者的综合获益，甚至可能增加高危人群的全因死亡风险[12]。究其原因，现有疗法多针对胰岛素抵抗、高血糖、高血脂等下游病理环节，未能从源头上解决能量摄入过剩与分解障碍这一核心矛盾；部分药物如SGLT2抑制剂甚至通过逆生理机制发挥作用，可能带来新的风险[13]。

线粒体是真核细胞能量代谢的核心细胞器，通过将糖类、脂肪等底物转化为ATP，维持机体各器官系统的生理功能，这一能量转化过程主要由TCA循环与OXPHOS协同完成[5]。TCA循环发生在线粒体基质，是糖、脂肪、氨基酸三大营养物质的共同代谢通路。乙酰辅酶A进入循环后，经脱氢、脱羧反应生成NADH和还原型黄素腺嘌呤二核苷酸，为后续电子传递链提供还原当量，同时产生ATP及多种生物合成前体，其中，Citrate、α-KG、OAA和Succ-CoA是关键底物，IDH2、SDH、α-KGDH和MDH1是脱氢过程的关键限速酶，它们的活性直接反映了这一系统生成ATP的有效性[14-16]。随后，还原当量进入电子传递链，经复合物Ⅰ至Ⅳ逐级传递电子，将质子泵入膜间隙形成跨膜质子梯度，最终驱动复合物Ⅴ合成ATP，即OXPHOS过程[17-18]。因此，TCA循环的正常运转与呼吸链功能的完整性共同决定了线粒体的能量输出效率，直接影响机体的糖脂代谢稳态。在糖脂代谢紊乱状态下，线粒体功能障碍已成为核心病理环节[19-20]。研究证实，肥胖、2型糖尿病及非酒精性脂肪性肝病患者普遍存在线粒体结构与功能异常，且与能量过剩形成恶性循环：脂质异位沉积损伤线粒体膜结构，诱导线粒体自噬障碍；呼吸链功能受损则导致电子泄漏增加，活性氧生成增多，进一步加重线粒体DNA损伤与脂质过氧化[21-22]。因此，改善线粒体功能、顺应生理机制促进糖脂彻底氧化分解，是治疗糖脂代谢紊乱的有效途径。

中医理论认为，糖脂代谢紊乱的核心病机在于痰瘀互结[23]。过食肥甘，脾失健运，致水谷精微不归正化，聚湿生痰，久病入络成瘀，痰瘀互结，壅塞气机脉络而发病。现代研究表明，痰瘀作为病理产物的积聚，与线粒体功能障碍所致的脂质沉积、活性氧增多等病理特征高度契合[24-25]。线粒体TCA循环与OXPHOS功能可视为中医“气化”在微观层面的体现，负责将精微物质转化为能量与活性物质。因此，改善线粒体功能、恢复能量转化效率，可视为“化痰祛瘀、通络行气”治法在现代生物学层面的重要机制之一。针对痰瘀互结病机，丹瓜护脉口服液以丹参、瓜蒌为君，化瘀通脉与化痰宽胸相须为用；以川芎、郁金、薤白为臣，行气活血、宣痹导滞，助君药化浊除生痰之源；辅以法半夏、赤芍、僵蚕为佐，燥湿化痰、凉血散结，全方共奏化痰祛瘀、活血通络之效。临床研究表明，该方能有效降糖调脂、缓解胰岛素抵抗，并减轻肝脏脂肪沉积[7]。

本研究以“痰瘀同治”代表方丹瓜护脉口服液为干预手段，在体内外2个层面系统验证其对糖脂代谢紊乱的调节作用。在体内实验中，本研究通过高糖高脂饲料诱导小鼠模型，结果表明丹瓜护脉口服液能显著抑制模型小鼠体质量异常增长，降低肝脏指数，减轻肝组织脂滴沉积；同时有效降低FBG、2hBG及血清TC、TG、NEFA水平，其改善脂质紊乱的效果在多个维度上优于二甲双胍。在体外实验

中，采用高糖联合棕榈酸诱导 WRL68 细胞构建糖脂代谢紊乱模型，结果显示丹瓜护脉口服液含药血清可显著降低细胞内 TC、TG 及葡萄糖含量，减轻脂滴沉积，提示其具备糖脂协同调节的整体干预优势。

为进一步验证丹瓜护脉口服液是否通过改善线粒体功能发挥代谢调节作用，本研究在体内和体外 2 个层面系统检测了线粒体能量代谢功能。体内研究显示，与正常组相比，模型组小鼠肝脏呈现典型的 TCA 循环通量下降与呼吸链功能受损：TCA 循环关键限速酶 CS、IDH1、α-KGDH、SDH 活性显著降低，伴随中间代谢产物 Citrate 堆积而 α-KG、Succ-CoA 减少；同时，线粒体呼吸链复合物表达亦显著下调，血清 NAD^+/NADH 比值降低。在细胞层面上，能量代谢分析进一步证实，模型组细胞的基础呼吸、ATP 产生及质子漏等关键呼吸参数均较正常组显著下降，表明糖脂代谢紊乱细胞模型线粒体合成 ATP 的能力受损；经丹瓜护脉口服液干预后，TCA 循环代谢流恢复通畅，呼吸链功能与细胞能量代谢能力明显回升。上述结果与当前对代谢性疾病中线粒体功能障碍的认识高度一致。在糖脂代谢紊乱的病理状态下，TCA 循环关键酶活性下降，并导致底物堆积与电子供应不足[26-27]；TCA 循环呈现特征性代谢阻滞，关键节点位于 α-KGDH 水平[28]，由于 α-KGDH 活性下降，其上游底物 Citrate 堆积，而下游产物 α-KG 及 Succ-CoA 生成减少，TCA 循环通量受阻，能量供应不足；呼吸链复合物的功能受损不仅减少 ATP 合成，还因电子泄漏增加而诱发氧化应激，形成“代谢淤滞-线粒体损伤”的恶性循环[29-30]；NAD^+作为 TCA 循环与 OXPHOS 的共同限速因子，其水平降低已被证实是糖脂代谢紊乱患者线粒体功能减退的关键驱动因素[31]。本研究中丹瓜护脉口服液从 TCA 循环通量、呼吸链复合物活性及线粒体呼吸功能等多个维度系统改善线粒体功能障碍。

综合体内外实验结果，本研究证实丹瓜护脉口服液能够从 TCA 循环通量、呼吸链复合物活性及线粒体呼吸功能等多个维度系统改善糖脂代谢紊乱状态下的线粒体功能障碍，从源头促进糖脂底物的彻底氧化分解。这一发现为基于线粒体功能的代谢病干预策略提供了新的候选方案。尽管如此，本研究尚未明确该方的具体药效物质基础及直接调控的分子靶点。未来我们将结合多组学技术，进一步解析其核心活性成分与深层调控机制，为该方的临床转化与开发提供更深度的科学依据。

参考文献

[1] SANIDAS E, VELLIOU M, PAPADOPOULOS D, et al. Healthy and non healthy obese patients. The truth lies in the adipose tissue [J]. Eur J Intern Med, 2020, 82: 133-134.

[2] JI L N, HU D Y, PAN C Y, et al. Primacy of the 3B approach to control risk factors for cardiovascular disease in type 2 diabetes patients [J]. Am J Med, 2013, 126(10): 925.e11-925.e22.

[3] 世界中医药学会联合会. 国际中医临床实践指南糖脂代谢病(2021-10-14) [J]. 世界中医药, 2021, 16(22): 3278-3284.

[4] HENG X P, LI X J, LI L, et al. Therapy to obese type 2 diabetes mellitus: how far will we go down the wrong road? [J]. Chin J Integr Med, 2020, 26(1): 62-71.

[5] KÜHLBRANDT W. Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes [J]. BMC Biol, 2015, 13: 89.

[6] MOORE T M, ZHOU Z Q, STRUMWASSER A R, et al. Age-induced mitochondrial DNA point mutations are inadequate to alter metabolic homeostasis in response to nutrient challenge [J]. Aging Cell, 2020, 19(11): e13166.

[7] 衡先培，杨柳清，黄苏萍，等. 丹瓜护脉口服液干预 2 型糖尿病患者主要心血管危险因素的临床研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(3): 275-281.

[8] HAN Z, JIN L X, WANG Z T, et al. Dangua Fang induces anti-glucolipid metabolism disorder effects similar to those of direct NFIL3 inhibition [J]. Front Microbiol, 2025, 16: 1557345.

[9] 韩壮，靳霖溪，王志塔，等. 丹瓜护脉口服液对糖脂代谢紊乱小鼠肠道菌群及黏膜屏障的调控作用[J]. 中国中药杂志, 2025, 50(15): 4315-4324.

[10] DONG H, SUN Y Z, NIE L, et al. Metabolic memory: mechanisms and diseases [J]. Signal Transduct Target Ther, 2024, 9(1): 38.

[11] ZU C, LIU M Y, SU X Y, et al. Association of body weight time in target range with the risk of kidney outcomes in patients with overweight/obesity and type 2 diabetes mellitus [J]. Diabetes Care, 2024, 47(3): 371-378.

[12] HENG X P, YANG L Q, CHEN M L, et al. Paradox of using intensive lowering of blood glucose in diabetics and strategies to overcome it and decrease cardiovascular risks [J]. Chin J Integr Med, 2015, 21(10): 791-800.

[13] GOLDENBERG R M, BERARD L D, CHENG A Y Y, et al. SGLT2 inhibitor-associated diabetic ketoacidosis: clinical review and recommendations for prevention and diagnosis [J]. Clin Ther, 2016, 38(12): 2654-2664.e1.

[14] WANG H, XU J M, LI H, et al. Alpha-ketoglutarate supplementation ameliorates ovarian reserve and oocyte quality decline with aging in mice [J]. Mol Cell Endocrinol, 2023, 571: 111935.

[15] SHARPLEY M S, CHI F, HOEVE J T, et al. Metabolic plasticity drives development during mammalian embryogenesis [J]. Dev Cell, 2021, 56(16): 2329-2347.e6.

[16] ZHAN C L, LU Q Y, LEE S H, et al. IDH2 and GLUD1 depletion arrests embryonic development through an H4K20me3 epigenetic barrier in porcine parthenogenetic embryos [J]. Zool Res, 2024, 45(6): 1175-1187.

[17] WU Z H, HO W S, LU R Z. Targeting mitochondrial oxidative phosphorylation in glioblastoma therapy [J]. Neuromolecular Med, 2022, 24(1): 18-22.

[18] 夏循礼. 氧化磷酸化的呼吸链途径模式概论[J]. 生命的化学, 2017, 37(4): 635-637.

[19] SAHU U, VILLA E, RECZEK C R, et al. Pyrimidines maintain mitochondrial pyruvate oxidation to support *de novo* lipogenesis [J]. Science, 2024, 383(6690): 1484-1492.

（下转第 39 页）