

四逆汤抑制 RhoA/ROCK 信号通路改善大鼠心肌纤维化

杨 瑶¹, 徐 萍¹, 石月萍^{2*}

(1. 锦州医科大学, 辽宁 锦州 121000; 2. 锦州医科大学附属第一医院, 辽宁 锦州 121000)

摘要: **目的** 探究四逆汤(附子、干姜、甘草)对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌纤维化的影响。**方法** 40 只 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、卡托普利组 [100 mg/(kg·d)]、四逆汤组 [3.8 g/(kg·d)], 每组 10 只。除空白组外, 其余大鼠皮下注射异丙肾上腺素 [5 mg/(kg·d)] 制备心肌纤维化模型, 连续给药 4 周。末次给药后 20 h, 检测心脏血流动力学变化, 计算心脏质量指数, 苏木精-伊红 (HE) 染色及 Masson 染色观察心肌病理形态学变化, 硝酸还原酶法检测血清中 NO 水平, 黄嘌呤氧化酶法检测血清中超氧化物歧化酶 (SOD) 活力, 硫代巴比妥酸法检测血清中丙二醛 (MDA) 水平, Western blot 法检测心肌组织中 RhoA、ROCK1、内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 蛋白的表达。**结果** 与模型组比较, 四逆汤组大鼠心脏功能明显改善, 心肌胶原含量明显减少, 血清中 MDA 水平明显降低, NO 水平及 SOD 活力显著提高, 心肌组织中 RhoA 和 ROCK1 蛋白的表达显著下降, eNOS 蛋白的表达显著升高。**结论** 四逆汤能改善异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌纤维化, 其机制可能与抑制了 RhoA/ROCK 信号通路, 进而上调了 eNOS 的表达后, 导致氧化应激减少有关。

关键词: 四逆汤; 心肌纤维化; RhoA/ROCK 信号通路; eNOS

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2017)07-1342-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.07.003

Sini Decoction improves rat myocardial fibrosis by inhibiting RhoA/ROCK signaling pathway

YANG Yao¹, XU Ping¹, SHI Yue-ping^{2*}

(1. Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, China; 2. The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, China)

ABSTRACT: **AIM** To explore the effects of Sini Decoction (*Aconiti lateralidis Radix Praeparata*, *Zingiberis Rhizoma*, *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*) on rat myocardial fibrosis induced by isoproterenol. **METHODS** Forty SD rats were randomly divided into blank, model, captopril [100 mg/(kg·d)] and Sini Decoction [3.8 g/(kg·d)] groups, with ten rats in each group. Except for the blank group, the rest rats were given subcutaneous injection of isoproterenol [5 mg/(kg·d)] to prepare myocardial fibrosis model, and successive administration lasted for four weeks. At 20 h after the last administration, hemodynamics changes of heart were detected; heart weight indexes were calculated; the changes of myocardial pathological morphology were observed by HE and Masson staining; NO level in serum was measured by nitrate reductase; SOD activity in serum was measured by xanthinoxidase method; MDA level in serum was measured by thiobarbituric acid method; the protein expressions of RhoA, ROCK1 and eNOS in myocardial tissue were detected by Western blot method. **RESULTS** Compared with the model group, the cardiac function of rats was significantly improved; the myocardial collagen content was significantly decreased; the MDA level in serum was obviously decreased; the NO level and SOD activity were significantly increased; the protein expressions of RhoA and ROCK1 in myocardium tissue were significantly reduced, and the protein expression of eNOS was markedly increased in the Sini Decoction group. **CONCLUSION** Sini Decoction can improve the isoproterenol-induced myocardial fibrosis in rats, and its mechanism may be related to inhibiting the RhoA/ROCK signaling pathway, in turn, raising the expression of eNOS, which leads to reduced oxidative stress.

收稿日期: 2017-05-05
作者简介: 杨 瑶 (1989—), 女, 硕士生, 从事中药防治心血管疾病研究。Tel: 15132390823, E-mail: yangyao0924@163.com
* 通信作者: 石月萍 (1968—), 女, 教授, 从事中药防治心血管疾病研究。Tel: 13897824188, E-mail: lnjzsy@163.com

KEY WORDS: Sini Decoction; myocardial fibrosis; RhoA/ROCK signaling pathway; eNOS

心肌纤维化 (myocardial fibrosis, MF) 是许多心血管疾病发展过程中的一个必经阶段, MF 形成过程中, 心肌成纤维细胞 (cardiac fibroblast, CFb) 大量转化为肌成纤维细胞 (myofibroblast, MFb), 胶原过度合成, 细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 大量堆积, 破坏了心室壁弹性, 减低了心脏顺应性, 影响了心脏舒张功能, 改变了心脏电生理, 最终造成了一系列不可逆的心脏损伤^[1]。研究表明, RhoA/ROCK 信号通路参与了心肌纤维化的发生发展, 且被激活后又会进一步下调内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 的表达, 从而诱导氧化应激, 使心肌发生纤维化^[2-3]。四逆汤为《伤寒论》的经典方, 由附子、干姜、甘草 3 味药组成, 具有回阳救逆之功效, 以及改善心肌纤维化的作用^[4]。本实验意在研究四逆汤是否可以通过抑制 RhoA/ROCK 信号通路、上调 eNOS 的表达来减少氧化应激, 从而改善心肌纤维化。

1 材料与仪器

1.1 实验动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只, 8~10 周龄, 体质量 180~220 g (北京华阜康生物科技股份有限公司), 许可证编号 SCXK (京) 2014-0004。

1.2 实验药物和试剂 盐酸异丙肾上腺素注射液 (上海禾丰制药有限公司, 批号 41150101); 卡托普利片 (上海普康药业有限公司, 批号 150404); 四逆汤: 黑顺片 (批号 14003093)、干姜 (批号 14019622)、炙甘草 (批号 14015082) 均采用免煎配方颗粒剂 (北京康仁堂药业有限公司)。Masson 三色染色液 (北京雷根生物技术有限公司, 批号 0602A15); SOD 试剂盒、MDA 试剂盒、NO 试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号 20151222、20151215、20151216); 蛋白 Marker (Thermo, 批号 #0033759); Anti-Rock1 Rabbit (Proteintech, 批号 21850-1-AP); Anti-Rho A Rabbit (沈阳万类生物科技有限公司, 批号 E11061134); Rabbit Anti-eNOS (北京博奥森生物技术有限公司, 批号 AF03179322); HRP AffiniPure Goat Anti-Rabbit IgG (美国 EarthOx, 批号 #omo801)。

1.3 实验仪器 压力换能器及心功能仪器 (成都泰盟电子有限公司); 单点模拟磁力搅拌器 AM-1 (北京鼎昊源科技有限公司); 电泳仪 (Bio-Rad); 化学发光成像仪 (GE 通用电器); 离心机 (Hita-

chi 日立); 系统显微镜 (Olympus)。

1.4 模型制备及分组给药 40 只 SD 大鼠随机分为 4 组: 空白组、模型组、卡托普利组、四逆汤组, 每组 10 只。模型组、卡托普利组和四逆汤组大鼠于颈背部随机分散选取 3~5 个点, 在每点皮下注射等量异丙肾上腺素, 每只大鼠所选点总计注射量按 5 mg/kg 计算, 每日 1 次, 连续操作 8 d, 复制心肌纤维化模型^[5]; 空白组注射等容积生理盐水。造模完成后 1 d 开始灌胃, 卡托普利组给予卡托普利 100 mg/(kg·d) 灌胃, 容量为 2 mL/只; 四逆汤组给予四逆汤 (附子、干姜、甘草比例为 5:3:2, 按包装上推荐的每克颗粒折算成的饮片量来调配每种药物) 3.8 g 生药/(kg·d) 灌胃, 容积为 2 mL/只, 连续给药 4 周^[6]; 空白组和模型组给予等容积 (2 mL/只) 蒸馏水灌胃。

2 方法

2.1 心脏血流动力学检测 末次给药后禁食 12 h, 称取大鼠体质量, 用 20% 乌拉坦进行腹腔注射麻醉, 注射量按 5 mL/kg 计算, 小心分离出右侧颈总动脉, 结扎, 在近心端剪口, 将涂抹有石蜡油的内径为 1 mm 的聚乙烯管自切口处缓慢插入, 待 BL-420S 生物信号采集处理系统出现左心室波后, 保存相关数据: 左心室收缩压 (LVSP)、左心室舒张末压 (LVEDP)、左心室内压最大上升及下降速率 ($\pm dp/dt_{\max}$)。

2.2 心脏质量指数测定 检测完心脏血流动力学后, 开胸取出心脏, 剪去大血管根部, 放入 4℃ 生理盐水中挤压掉血液, 滤纸吸干, 放于电子天平上称定心脏质量 (heart weight, HW)。再剪掉心房及右室游离壁, 留取左心室, 称定左心室质量 (LVW), 计算心脏质量指数 ($HWI = HW/BW$, BW 即体质量) 及左心室质量指数 ($LVWI = LVW/BW$)。

2.3 心肌病理形态学观察 心脏质量指数测定结束后, 取左室心尖部分心肌放入 4% 多聚甲醛中固定 48 h, 常规脱水, 石蜡包埋, 切取数张厚度为 4 μm 的切片, 分别用于 HE 染色和 Masson 染色。使用光学显微镜观察心肌病理形态学改变, 用 Image Pro Plus 6.0 分析软件分析 Masson 染色中心肌胶原容积分数 (CVF)。

2.4 大鼠血清中 NO、SOD、MDA 水平测定 心脏血流动力学检测完毕后, 用促凝真空采血管从颈

总动脉取全血 5 mL, 4 ℃、3 000 r/min 离心10 min, 取上清待测。严格按照试剂盒说明进行检测, 并计算各指标。

2.5 心肌中 RhoA、ROCK1、eNOS 表达检测 留取病理组织后, 余下左心室组织分装存放于 -80 ℃冰箱中备用。心肌组织常规提取蛋白, 用艾德莱 (BCA) 法进行蛋白定量分析, 制胶, 上样, 电泳, 转膜, 封闭, 孵一抗, 放于摇床上 4 ℃过夜。第 2 天, 弃去一抗, 用 TBST 漂洗 3 次, 孵二抗, 放于摇床上室温 1 h, TBST 漂洗 3 次。将 ECL 发光液均匀滴在膜上, 于化学发光成像仪中成像并保存。使用 Gel-Pro analyzer 4.0 软件进行结果分析。

表 1 各组大鼠心脏血流动力学检测结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$, 1 mmHg=0.133 kPa)
Tab. 1 Rat cardiac hemodynamic detection results in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=10$, 1 mmHg=0.133 kPa)

组别	LVSP/mmHg	LVEDP/mmHg	(+ dp/dt _{max})/(mmHg·ms ⁻¹)	(- dp/dt _{max})/(mmHg·ms ⁻¹)
空白组	112.39 ± 6.14	4.57 ± 0.39	5.11 ± 0.48	-(4.65 ± 0.40)
模型组	79.79 ± 5.60 **	13.63 ± 0.93 **	2.95 ± 0.52 **	-(2.81 ± 0.52) **
卡托普利组	90.83 ± 5.36 ##	8.29 ± 0.73 ##	4.05 ± 0.40 ##	-(3.72 ± 0.41) ##
四逆汤组	90.10 ± 4.21 ##	8.37 ± 0.70 ##	4.04 ± 0.90 ##	-(3.61 ± 0.46) ##

注: 与空白组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, ## $P<0.01$

3.2 心脏质量指数比较 与空白组比较, 模型组 HW、HWI 和 LVWI 均明显上升 ($P<0.01$); 与模型组比较, 卡托普利组和四逆汤组 HW、HWI 和 LVWI 均明显下降 ($P<0.01$)。卡托普利组与四逆汤组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠心脏质量指数及 CVF 值 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)
Tab. 2 Rat heart weight index and CVF in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	HW/g	HWI/(mg·g ⁻¹)	LVWI/(mg·g ⁻¹)	CVF/%
空白组	1.21 ± 0.06	2.84 ± 0.09	1.91 ± 0.10	4.09 ± 0.88
模型组	1.33 ± 0.08 **	3.43 ± 0.18 **	2.50 ± 0.15 **	16.69 ± 1.58 **
卡托普利组	1.14 ± 0.10 ##	3.08 ± 0.16 ##	2.23 ± 0.13 ##	11.60 ± 1.53 ##
四逆汤组	1.22 ± 0.07 ##	3.13 ± 0.12 ##	2.30 ± 0.10 ##	10.81 ± 1.31 ##

注: 与空白组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, ## $P<0.01$

3.3 病理形态学比较 HE 染色结果: 空白组心肌细胞及心肌成纤维细胞结构完整, 排列整齐, 横纹较清晰, 细胞核居中, 呈卵圆形; 模型组心肌偶有断裂, 一些细胞表现出肿大, 细胞间有炎性浸润, 心肌纤维走向紊乱, 横纹模糊, 核固缩; 卡托普利组和四逆汤组较模型组均可见不同程度的改善。见图 1。Masson 染色结果: 空白组在细胞间仅可见少量染成蓝色的胶原纤维; 模型组大量胶原纤维沉积, 走向紊乱; 卡托普利组和四逆汤组较模型

2.6 统计学方法 使用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析, 分析结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 所有数据经检验符合正态分布且方差齐时用单因素方差分析, 多个独立组间比较用 LSD 检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义, $P<0.01$ 为差异具有显著统计学意义。

3 结果

3.1 心脏血流动力学指标比较 与空白组比较, 模型组 LVSP 和 $\pm dp/dt_{\max}$ 均明显降低 ($P<0.01$), 而 LVEDP 水平明显升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 卡托普利组和四逆汤组 LVSP 和 $\pm dp/dt_{\max}$ 水平均明显上升 ($P<0.01$), LVEDP 水平明显降低 ($P<0.01$)。卡托普利组与四逆汤组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

组胶原纤维减少。使用 IPP 6.0 分析软件分析后得出, 与空白组比较, 模型组 CVF 明显增高 ($P<0.01$), 卡托普利组和四逆汤组 CVF 较模型组均明显减低 ($P<0.01$), 但此两组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见图 2、表 2。

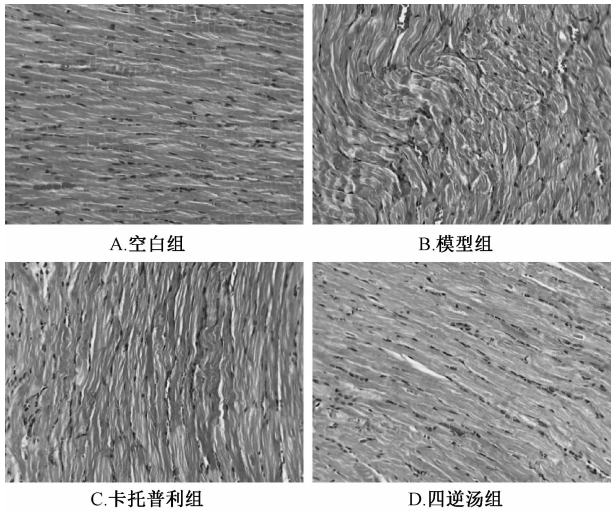


图 1 各组大鼠心肌组织 HE 染色图 (×200)

Fig.1 HE staining images of rat myocardial tissue in each group (×200)

3.4 大鼠血清中 NO、SOD、MDA 水平比较 与

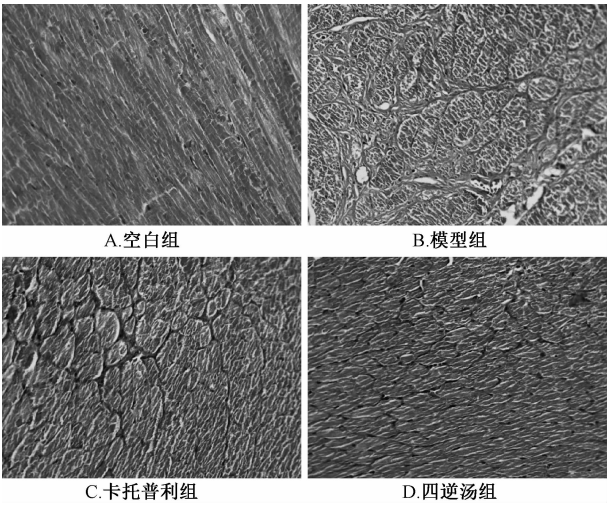


图 2 各组大鼠心肌组织 Masson 染色图 (×200)
Fig. 2 Masson staining images of rat myocardial tissue in each group (×200)

空白组比较,模型组大鼠血清中 NO 水平和 SOD 活力明显降低 ($P < 0.01$),MDA 水平显著升高 ($P < 0.01$);卡托普利组和四逆汤组大鼠血清中 NO 水平和 SOD 活力较模型组明显升高 ($P < 0.01$),MDA 水平明显降低 ($P < 0.01$),但此两组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 各组大鼠血清中 NO、SOD、MDA 水平 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 3 NO, SOD, MDA levels in the serum of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	NO/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	SOD/ ($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)	MDA/ ($\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$)
空白组	42.59 ± 9.04	275.06 ± 18.91	5.43 ± 0.76
模型组	16.29 ± 4.95 **	208.59 ± 13.76 **	11.34 ± 1.66 **
卡托普利组	32.36 ± 5.82 ##	240.82 ± 16.82 ##	7.23 ± 1.09 ##
四逆汤组	30.56 ± 7.10 ##	232.57 ± 17.77 ##	7.84 ± 1.21 ##

注:与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,## $P < 0.01$

3.5 Western blot 结果比较 运用 Gel-pro 4.0 软件分析后得出,与空白组比较,模型组大鼠心肌组织中 RhoA 和 ROCK1 蛋白表达均显著升高 ($P < 0.01$),eNOS 蛋白表达显著降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,卡托普利组和四逆汤组大鼠心肌组织中 RhoA 和 ROCK1 的蛋白水平均显著降低 ($P < 0.01$),但此两组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与模型组比较,四逆汤组大鼠心肌组织中 eNOS 蛋白表达明显升高 ($P < 0.05$),卡托普利组 eNOS 蛋白表达显著升高 ($P < 0.01$),但此两组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 3、表 4。

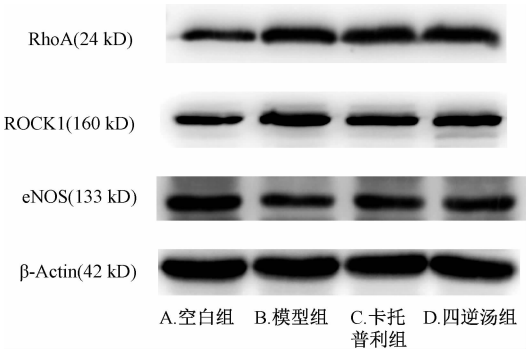


图 3 各组大鼠心肌组织中 RhoA、ROCK1、eNOS 蛋白的表达
Fig. 3 Expressions of RhoA, ROCK1, eNOS protein in myocardial tissue of rats in each group

表 4 各组大鼠心肌组织中 RhoA、ROCK1、eNOS 蛋白的表达 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 4 Expression of RhoA, ROCK1, eNOS protein in myocardial tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	RhoA/ β -Actin	ROCK1/ β -Actin	eNOS/ β -Actin
空白组	0.21 ± 0.01	0.48 ± 0.01	0.57 ± 0.04
模型组	0.49 ± 0.02 **	0.75 ± 0.03 **	0.22 ± 0.01 **
卡托普利组	0.38 ± 0.01 ##	0.62 ± 0.02 ##	0.31 ± 0.02 ##
四逆汤组	0.40 ± 0.02 ##	0.64 ± 0.02 ##	0.27 ± 0.02 #

注:与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$

4 讨论

心肌纤维化是心血管疾病从发生到走向终末期的一个必经阶段,影响着心血管疾病的向愈和向逆,所以逆转心室重构,抑制心肌纤维化的发生发展是治疗各种心血管疾病(如心律失常、心肌梗死、心脏衰竭等)的关键环节。中医认为,心肌纤维化属“心悸”、“胸痹心痛”、“痰饮”等范畴,并尝试以温阳利水、活血化瘀、平肝潜阳等法治疗,研究结果表明,中医药在抗心肌纤维化方面发挥着不可或缺的作用^[7]。

四逆汤出自《伤寒论》,为回阳救逆之经典方,具有强心、增加动脉血流量、抗氧化应激等药理作用,对治疗慢性心衰、冠心病心绞痛、动脉粥样硬化等心血管疾病有显著疗效^[8-10]。此方药少而效佳,配伍精当,现代研究发现,方中附子主要成分乌头生物碱具有回阳救逆、补火助阳之功,甘草主要成分甘草酸有抗炎作用,甘草、干姜均可解附子毒性,三药成方,共奏保护心肌之效^[11]。现代研究发现,四逆汤在治疗心肌纤维化方面效果显

著,可减轻异丙肾上腺素诱导的心肌纤维化大鼠的氧化应激反应,可提高心肌纤维化大鼠血浆中 SOD 活性及降低 MDA 水平^[12]。四逆汤具有抗氧化作用,方剂中的 3 味药及其配伍后均可有效清除超氧阴离子自由基,起到保护血管内皮细胞的作用^[13]。以上研究表明,四逆汤能通过抗氧化应激来保护心肌,并起到改善心肌纤维化的作用,本实验拟进一步探索这一相关机制。

RhoA/ROCK 信号通路是多种信号通路的上游,起分子开关的作用,参与多种心血管疾病的病理生理过程,如心肌细胞凋亡、心肌肥厚和心室重塑等^[14-17]。Rho 是 Ras 超家族中一种小分子 G 蛋白,RhoA 为 Rho 家族蛋白成员之一;Rock 是 RhoA 下游激酶,是 RhoA 的效应因子,其家族成员 Rock1 主要通过影响 CFb 的分化及心肌细胞凋亡等在心肌纤维化中起重要作用^[18-19]。eNOS 的主要功能为合成 eNOS 源性一氧化氮(NO),通过调节心肌细胞功能来减缓心肌重构,从而起到保护心肌的作用。研究表明,心肌高表达 eNOS 的转基因小鼠显著减弱了异丙肾上腺素灌流,并可减轻心肌梗死引起的心肌肥厚^[20-21]。研究显示,ROCK 的抑制剂对血管内皮具有保护作用,可使 eNOS 表达上调,最终通过减轻氧化应激起到保护心脏的作用^[22]。本实验意在探索四逆汤是否具有抑制 RhoA/ROCK 信号通路的作用,并基于此而上调 eNOS 的表达,通过减缓氧化应激来起到改善心肌纤维化的作用。

本实验结果显示,与模型组比较,四逆汤组大鼠 LVSP 和 $\pm dp/dt_{\max}$ 水平均明显上升,LVEDP 水平明显降低,说明四逆汤能很好地改善心肌功能。此外,四逆汤组大鼠 HWI、LVWI 及 CVF 较模型组均明显降低,证明了四逆汤能有效改善心肌纤维化。HE、Masson 染色结果表明,四逆汤能够从病理形态学方面起到抑制心肌纤维化的作用,并可一定程度上减少胶原合成。模型组大鼠心肌组织中 RhoA 和 ROCK1 蛋白的表达均明显高于正常组,而使用四逆汤治疗后,以上指标均明显降低,说明四逆汤可抑制 RhoA/ROCK 信号通路的激活。此外,四逆汤组大鼠较模型组心肌组织中 eNOS 的表达明显增多,血清中 NO 水平升高,SOD 活性增强,MDA 水平降低,证明了四逆汤是通过减缓氧化应激起到了保护心肌的作用。综上所述,四逆汤改善心肌纤维化的机制可能与抑制 RhoA/ROCK 信号通路的激活,进而上调 eNOS 的表达,最终使氧化应激减缓有关。

参考文献:

- [1] Fontes M S, Raaijmakers A J, Van D T, *et al.* Changes in Cx43 and NaV1.5 expression precede the occurrence of substantial fibrosis in calcineurin-induced murine cardiac hypertrophy [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e87226.
- [2] Yang X, Li Q, Lin X, *et al.* Mechanism of fibrotic cardiomyopathy in mice expressing truncated Rho-associated coiled-coil protein kinase1 [J]. *Faseb J*, 2012, 26(5): 2105-2116.
- [3] Satoh K, Fukumoto Y, Shimokawa H. Rho-kinase: important new therapeutic target in cardiovascular diseases [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 301(2): H287-H296.
- [4] 陈 宇,石月萍. 四逆汤对大鼠心肌纤维化模型的保护作用及其机制 [J]. 中国老年学杂志, 2015, 7(35): 3813-3816.
- [5] Akiyamauchida Y, Ashizawa N, Ohtsuru A, *et al.* Norepinephrine enhances fibrosis mediated by TGF- β_1 in cardiac fibroblasts [J]. *Hypertension*, 2002, 40(2): 148-154.
- [6] 廖火城,刘 勇,周 彬,等. 四逆汤对异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌纤维化 Smad2 和 Smad7 的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(7): 934-938.
- [7] 李 霞,谭元生. 中医药防治心肌纤维化作用的研究进展 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2014, 12(2): 229-231.
- [8] 缪 萍,裘福荣,曾 金,等. 四逆汤及其不同配伍方对心力衰竭大鼠的保护作用及机制探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(5): 138-142.
- [9] 雷蕊娥,康 健. 四逆汤治疗冠心病心绞痛 64 例疗效分析 [J]. 中国实用医药, 2012, 7(18): 193-194.
- [10] 吕 瑶,郁保生,石晓理,等. 四逆汤对实验性高脂血症合并动脉粥样硬化兔主动脉粥样硬化斑块的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(12): 2661-2664.
- [11] 杨春燕,张国升,李启照,等. 四逆汤的化学成分及药用价值研究 [J]. 赤峰学院学报: 自然科学版, 2014, 30(9): 12-13.
- [12] 廖火城,周 彬,吴 琳,等. 四逆汤对异丙肾上腺素诱导心肌纤维化大鼠的 SOD 作用机制探讨 [C] //第 11 届中国南方国际心血管病学术会议专刊. 北京: 中国医学杂志社, 2009.
- [13] 张玉萍,李 锦,时一兵. 四逆汤的抗氧化作用研究 [J]. 中草药, 2001, 32(10): 922-923.
- [14] Mu X, Usas A, Tang Y, *et al.* RhoA mediates defective stem cell function and heterotopic ossification in dystrophic muscle of mice [J]. *FASEB J*, 2013, 27(9): 3619-3631.
- [15] Zhang Q, Wang H, Yang Y J, *et al.* Atorvastatin treatment improves the effect of mesenchymal stem cell transplantation on acute myocardial infarction: the role of the RhoA/ROCK/ERK pathway [J]. *Int J Cardiol*, 2014, 176(3): 670-679.
- [16] Lee T M, Lin S Z, Chang N C. Membrane ER α attenuates myocardial fibrosis via RhoA/ROCK-mediated actin remodeling in ovariectomized female infarcted rats [J]. *J Mol Med*, 2014, 92(1): 43-51.

[17] Rajapurohitam V, Izaddoustdar F, Martinez-Abundis E, *et al.* Leptin-induced cardiomyocyte hypertrophy reveals both calcium-dependent and calcium-independent/RhoA-dependent calcineurin activation and NFAT nuclear translocation[J]. *Cell Signal*, 2012, 24(21): 2283-2290.

[18] Cong M C, Iizuka K, Nixon G, *et al.* Role of guanine nucleotide-binding proteins-ras- family or trimetric proteins or both-in Ca²⁺ sensitization of smooth muscle[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(3): 1340-1345.

[19] 杨先金, 张新金. RhoA/ROCK 信号通路与心脏重构关系的研究进展[J]. *心脑血管病防治*, 2016, 16(1): 43-45.

[20] Janssens S, Pokreisz P, Schoonjans L, *et al.* Cardiomyocyte-specific over expression of nitric oxide synthase3 improves left ventricular performance and reduces compensatory hypertrophy after myocardial infarction [J]. *Circ Res*, 2004, 94(9): 1256-1262.

[21] Ozaki M, Kawashima S, Yamashita T, *et al.* Overexpression of endothelial nitric oxide synthase attenuates cardiac hypertrophy induced by chronic isoproterenol infusion [J]. *Circ J*, 2002, 66(9): 851-856.

[22] Mita S, Kobayashi N, Yoshida K, *et al.* Cardioprotective mechanisms of Rho-kinase inhibition associated with eNOS and oxidative stress-LOX-1 pathway in Dahl salt-sensitive hypertensive rats[J]. *Hypertens*, 2005, 23(1): 87-96.

七宝美髯口服液对小鼠脑组织 SOD 活力及羰基化蛋白含量的影响

孟 诗¹, 魏江平¹, 郑 航¹, 吴 倩¹, 付 昆¹, 张占军², 徐世军¹
(1. 成都中医药大学, 四川省中药资源系统研究与开发利用国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137;
2. 北京师范大学认知神经科学与学习国家重点实验室, 北京 100875)

摘要: **目的** 观察七宝美髯口服液(制何首乌、当归、补骨脂等)对 SAMP8 小鼠学习记忆功能、海马组织病理形态及 SOD 活力、羰基化蛋白含有量的影响。**方法** 27 只 SAMP8 小鼠随机均分为模型对照组、盐酸多奈哌齐组及七宝美髯口服液组,另取 9 只 SAMR1 小鼠作为正常对照组,连续灌胃 60 d,在给药第 56 天进行避暗训练,5 d 后测定学习记忆能力;HE 染色观察病理形态;ELISA 法检测脑组织中 SOD 活力和羰基化蛋白含有量。**结果** 与模型对照组比较,七宝美髯口服液组小鼠的逃避潜伏期显著延长,错误次数明显降低 ($P<0.01$),海马组织的病理形态显著改善,SOD 活力显著升高,羰基化蛋白含有量明显降低 ($P<0.01$)。**结论** 七宝美髯口服液能改善 SAMP8 小鼠的学习记忆功能,减轻海马组织的退行性病变程度。

关键词: 七宝美髯口服液;退行性病变;SOD;羰基化蛋白;SAMP8 小鼠

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2017)07-1347-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.07.004

Effects of Qibao Meiran Oral Liquid on SOD activity and carbonyl protein content in brain tissue of mice

MENG Shi¹, WEI Jiang-ping¹, ZHENG Hang¹, WU Qian¹, FU Kun¹, ZHANG Zhan-jun², XU Shi-jun¹
(1. Sichuan Provincial State Key Laboratory Breeding Base for Systematic Research, Development and Utilization of Traditional Chinese Medicine Resources, Cheugdu University of Traditional Chinese Medicine, Cheugdu 611137, China; 2. National Key Laboratory of Cognitive Neuroscience and Learning, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

ABSTRACT: **AIM** To observe the effects of Qibao Meiran Oral Liquid (*Polygoni multiflori Radix Praeparata, Angelicae sinensis Radix, Psoraleae Fructus, etc.*) on learning and memory function, hippocampus tissue patholog-

收稿日期: 2016-11-17

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(81430100);四川省学术和技术带头人培养资金资助项目(2015058);中药药理四川省青年科技创新研究团队项目(2014TD0007)

作者简介: 孟 诗(1992—),女,硕士生,从事中药神经精神药理学研究。Tel: (028) 61800231, E-mail: 13548011382@163.com

* 通信作者: 徐世军(1975—),男,博士,从事中药神经精神药理学研究。Tel: (028) 6180023, E-mail: docxu@126.com