

网络出版时间: 2018-12-11 15:00 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1086.r.20181210.0951.024.html>

白芍提取物对经前期综合征肝气逆证模型大鼠海马中雌激素 β 受体及 5-羟色胺转运体的影响

王杰琼^{1,3}, 孙文君^{2,3}, 田溪^{1,3}, 李荟好^{2,3}, 孙亚^{2,3}, 王帅¹, 郝彦鑫¹

(山东中医药大学 1. 药学院、2. 中医学院、3. 中医基础理论研究所, 山东 济南 250355)

doi: 10.3969/j.issn.1001-1978.2019.01.011

文献标志码: A 文章编号: 1001-1978(2019)01-0046-06

中国图书分类号: R-332; R284.1; R322.81; R392.11; R271.115; R711.51; R977.6

摘要:目的 探讨白芍提取物对 PMS 肝气逆证模型大鼠中枢海马 ER β 及其介导的 5-HT 能系统中 SERT 的影响。方法 筛选动情周期规律大鼠纳入实验, 随机分为正常组、模型组、白芍提取物组、氟西汀组和 ER β 激动剂组。采用电刺激复制 PMS 肝气逆证大鼠模型, 给药 5 d 后, 分离各组大鼠海马组织, 采用 RT-PCR 法和免疫荧光组织化学法检测各组大鼠动情接受期和非接受期 ER β 、SERT mRNA 和蛋白表达。结果 动情接受期的各组大鼠旷场行为学得分, 以及海马中 ER β 、SERT mRNA 和蛋白表达差异均无显著性。动情非接受期: 与正常组相比, 模型组大鼠旷场实验总路程明显增加; 海马中 ER β mRNA 表达明显降低, SERT mRNA 表达明显升高; 模型组大鼠海马 CA1、CA3 脑区 ER β 阳性细胞数和蛋白表达下降, SERT 阳性细胞数和蛋白表达均明显上调; 给予白芍提取物后, 上述指标均得到明显改善。结论 白芍提取物可能通过改善 PMS 肝气逆证大鼠海马区 ER β 、SERT mRNA 和蛋白的表达, 发挥调节 PMS 肝气逆证负性情绪的作用。

关键词: 白芍提取物; 经前期综合征肝气逆证; 动情接受期和非接受期; 海马; 雌激素 β 受体; 5-羟色胺转运体

经前期综合征 (premenstrual syndrome, PMS) 系指育龄期女性在月经黄体期, 周期性出现的躯体、精神和行为三方面症状的症候群, 属情志病症范畴。PMS 肝气逆证是其主要亚型之一, 以肝疏泄太过、经前烦躁易怒为主要特征^[1], 并且“经前出现, 经后消失”是该病症典型特点。白芍是促进肝主疏泄, 维持正常情志活动的要药。课题组前期研发复方药物白香丹胶囊能有效改善 PMS 肝气逆证主证烦躁易怒, 其中白芍提取物为其君药^[2], 但是该药在

PMS 肝气逆证治疗中的作用机制尚不清晰。

苏巧荣等^[3]指出, 雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 主要是通过 5-羟色胺 (serotonin, 5-HT) 能系统发挥对情绪的调节作用, 中枢 5-HT 活性降低时, 机体对应激刺激的敏感性增加, 从而引起抑郁或焦虑等负性情绪^[4]。Jantarima 等^[5]发现, 雌二醇 (estradiol, E₂) 可通过上调 5-羟色胺转运体 (serotonin transporter, SERT) mRNA 表达, 提高 5-HT 能系统成分含量及转化率, 达到治疗去卵巢大鼠焦虑样情绪的目的。另有研究报道, 海马在情绪调节及相关情志疾病发病机制中占有重要地位。因此, 本研究选择海马作为研究对象, 探讨白芍提取物对 PMS 肝气逆证模型大鼠 ER β 及其介导的 5-HT 能系统中 SERT 的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 Wistar 大鼠, ♀, 150 只, 体质量 150 ~ 180 g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 许可证号: SCXK(京)2007-0001。昼夜颠倒 (早 9:00 关灯, 晚 9:00 开灯) 适应性饲养 1 周。

1.2 试剂 白芍提取物由青岛海川创新生物天然药物研究中心提供, 芍药苷含量 35%; 盐酸氟西汀胶囊 (礼来苏州制药有限公司, 国药准字 J20130010); ER β 激动剂 diarylpropionitrile (DPN) (ab120166)、ER β 兔多克隆一抗 (ab3577)、SERT 兔多克隆一抗 (ab44520), 均购于 Abcam 公司; FITC 标记山羊抗兔 IgG (H+L) (A0562, 上海碧云天生物技术有限公司); TRIzol 总 RNA 提取试剂盒 (SK1322, 上海生工公司); Oligod (T) 18 primers (D511, TaKaRa 公司); M-MLV 试剂盒 (D2639A, TaKaRa 公司)。

1.3 PMS 电刺激大鼠模型制备

1.3.1 旷场实验^[6] 本实验采用阴道涂片法筛选动情周期规律大鼠纳入实验。造模前后, 采用 50 cm × 50 cm × 40 cm 旷场箱和 Xmaze 动物行为分析系统, 记录大鼠 3 min 内的活动总路程。

1.3.2 动物分组造模及给药 将 60 只合格大鼠, 据旷场总路程和大鼠体质量随机分为 5 组: 正常对

收稿日期: 2018-09-24, 修回日期: 2018-10-25

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目 (No 81603510)

作者简介: 王杰琼 (1982-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 情志病证动物模型及调肝方药药理学, 通讯作者, E-mail: jieqiong2016@126.com

对照组、PMS 肝气逆模型组、氟西汀对照组、ERβ 激动剂 DPN 给药组、白芍提取物给药组。造模方法如下:除正常组外,其他各组大鼠均置于 ST-A 数字脉冲生物刺激仪。电压 2 700 ~ 3 300 V,脉宽 0.3 s,脉冲间隔为白天 5 min,夜晚 10 min,持续 5 d,造模过程中除正常组、模型组同时给予生理盐水外,其余各组给予相应药物。

各组给药情况如下:正常组及模型组给予生理盐水,白芍提取物组灌胃剂量为 40 mg · kg⁻¹ · d⁻¹[7];氟西汀组给药剂量 2.67 mg · kg⁻¹ · d⁻¹;激动剂组大鼠皮下注射 ERβ 激动剂 DPN(DPN 40 mg 溶于 1 mL DMSO 涡旋震荡溶解后,再加入 19 mL 25% DMSO 配制成 2 g · L⁻¹ DPN 溶液),给药剂量 2 mg · kg⁻¹ · d⁻¹,各组给药时间 5 d,每天 1 次。于末次给药后 30 min,采用阴道涂片确定动情周期,其中每组 6 只大鼠用于海马 ERβ 和 SERT mRNA 表达测定,另外 6 只用于海马组织 ERβ 和 SERT 的分布和蛋白表达测定。

1.4 海马 ERβ 和 SERT mRNA 表达测定 各组大鼠断头取脑,继而分离海马组织,立即放入液氮罐中,储存于 -70 °C。采用 TRIzol 法提取总 RNA。取 1 μg 总 RNA,按 1 μg/20 μL 反应体系逆转录合成 cDNA,扩增条件:94 °C 150 s,预变性;94 °C 30 s,变性;(ERβ:61.6 °C 40 s;SERT:61 °C 40 s;β-actin:59 °C 40 s)复性;72 °C 1 min 延伸;72 °C 7 min,再延伸。之后,取 8 μL cDNA 产物,以 1.2% 琼脂糖凝胶电泳(含 1% 绿如蓝 DNAgreen)电泳,电压 120 V,时间 30 min。以目的基因/β-actin 为 mRNA 相对表达量,进行半定量分析。参照 Gene Bank 大鼠基因序列合成 ERβ、SERT 和 β-actin 引物,引物序列见 Tab 1 [8]。

Tab 1 Primer sequence and product size of ERβ and SERT

Gene	Primer sequence	Product size/bp
ERβ	Forward: 5'-CGTCAGGCACATCAGTAACAAG-3'	503
	Reverse: 5'-GGACAATCCTTCCAATCAGAC-3'	
SERT	Forward: 5'-CCCTCTGTTTCTCCTGTTTCATC-3'	421
	Reverse: 5'-CTGAGAGTCCACGGAAAGAAGT-3'	
β-actin	Forward: 5'-CACC CGGACTACAACCTTC-3'	207
	Reverse: 5'-CCCATACCCACCATCACACC-3'	

1.5 海马中 ERβ 和 SERT 分布状态及蛋白表达 各组大鼠用 1% 戊巴比妥钠(4 mL · kg⁻¹)麻醉,心脏灌注后取全脑,置于 4% 多聚甲醛中 4 °C 封闭。1 周后,进行石蜡包埋,切片(厚约 5 μm,切片角度 5°)。脱蜡、修复后,滴加正常山羊血清封闭工作液

50 μL,室温反应 30 min。将 ERβ 和 SERT 一抗稀释液 50 μL 于目标切片上进行孵育,避光滴加 FITC 标记山羊抗兔 IgG 二抗 50 μL,37 °C 孵育 30 min,0.01 mol · L⁻¹ PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,随后避光滴加抗荧光衰减封片剂,封片 4 °C 保存。利用激光共聚焦显微镜(德国 ZEISS 公司,LSM510 型)观察 ERβ 和 SERT 在海马 CA1、CA3 区的分布及表达。每张切片选取 3 个视野。使用 Image-Pro Plus6.0 分析数据,并计算相对荧光强度(relative mean fluorescence intensity, RMFI),RMFI = 积分光密度(IOD)/图片总面积(area)。

1.6 数据处理 利用统计软件 GraphPad Prism 6 进行数据处理,组间比较采用 One-way ANOVA 检验。

2 结果

2.1 旷场行为学结果 如 Fig 1 所示,与正常组相比,模型组大鼠自主活动频繁,总路程明显上调(P < 0.01);与模型组相比,白芍提取物干预后,大鼠自主活动趋于正常,总路程明显下调(P < 0.05),与氟西汀和 ERβ 激动剂组表达一致。

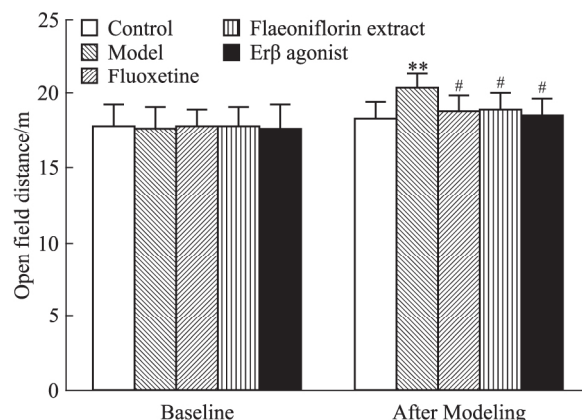


Fig 1 Total distance of rats in each group before and after modeling($\bar{x} \pm s, n = 12$)

** P < 0.01 vs control; # P < 0.05 vs model

2.2 大鼠海马 SERT、ERβ mRNA 的表达 如 Fig 2 所示,与正常组相比,大鼠接受期,各组大鼠中枢海马 ERβ、SERT mRNA 表达均无明显变化(P > 0.05)。在非接受期,PMS 肝气逆证模型大鼠中枢海马 ERβ mRNA 表达明显下调,SERT mRNA 表达明显上调(P < 0.01);白芍提取物干预后,明显上调 ERβ mRNA 表达,下调 SERT mRNA 表达(P < 0.05),并且与氟西汀和 ERβ 激动剂组表达一致。

2.3 大鼠海马 CA1、CA3 区 SERT、ERβ 的蛋白表达分布 如 Fig 3 所示,大鼠接受期,与正常组和模

型组比较,各组大鼠海马 CA1、CA3 区锥体细胞多为圆状或点状,排列紧密,差异均有显著性; ERβ、SERT 的 RMFI 差异无显著性 ($P > 0.05$)。大鼠非接受期:与正常组比较,模型组大鼠海马 CA1、CA3 脑区锥体细胞排列不规则,ERβ 阳性细胞数和 RMFI 均明显下降 ($P < 0.01$, $P < 0.05$); SERT 阳性细胞数和 RMFI 均明显升高 ($P < 0.01$, $P < 0.05$); 与模型组比较,白芍提取物干预后细胞形态趋于正常,ERβ 的 RMFI 明显升高 ($P < 0.01$, $P < 0.05$),SERT 的 RMFI 明显下降 ($P < 0.01$, $P < 0.05$),并且与氟西汀和 ERβ 激动剂组表达一致,差异无显著性。

3 讨论

PMS 发病机制复杂,目前 5-HT 作为该病症脑内重要的单胺类神经递质成为研究热点之一,SERT 作用于 5-HT 转运过程,对脑内 5-HT 水平起到调控作用。动物遗传学的研究结果证实,脑内单胺转运蛋白的功能与行为学表现及情绪状态密切相关。完全丧失 SERT 功能的基因敲除小鼠表现出 5-HT 综合征样行为、焦虑抑郁样行为、焦虑抑郁样症状及社交障碍^[9]。

诸多研究表明,ER 对情绪没有直接调节作用,而是通过 5-HT 能系统与 GABA 能系统间接实现的。5-HT 能系统中 SERT 主要功能是将 5-HT 转运到脑及外周组织的相关受体而发挥作用,因此,SERT 功能异常会导致 5-HT 及其受体相应功能异

常,进而出现焦虑、恐惧、抑郁等消极情绪障碍。有研究显示,ERβ 基因敲除小鼠易烦躁易怒、焦虑不安^[10]。Walf 等^[11]研究发现,雌激素可作用于海马和杏仁核的细胞内 ER,发挥抗焦虑的作用。也有文献报道^[12],雌激素可调节海马 CA1 区突触发生。另有研究发现^[13],雌激素可引起去卵巢恒河猴 SERT mRNA 在中缝背核的表达明显下降,SERT mRNA 阳性细胞的数量也明显减少。因此,说明雌激素及其受体能够介导 5-HT 能系统功能。

本研究采用改进的情志刺激为主的多因素造模法,主要通过电刺激复制 PMS 肝气逆证大鼠模型,将非接受期大鼠置入可调式电刺激笼内,在减少电击造成的躯体伤害的同时加强心理性应激^[14],利于模型的成功复制。旷场实验可用来评判动物焦虑和抑郁状态^[15]。本研究结果显示,大鼠在非接受期,模型组活动总路程明显升高,说明 PMS 肝气逆证模型大鼠表现出焦虑样行为。给予白芍提取物后,活动总路程明显减少,说明白芍提取物可明显改善 PMS 肝气逆证引起的负性情绪。

基因检测结果显示,大鼠动情接受期,各类指标并无明显变化。在非接受期,PMS 肝气逆证模型大鼠海马 ERβ mRNA 表达明显降低,SERT mRNA 明显上调;海马 CA1、CA3 区锥体细胞排列杂乱,ERβ 阳性细胞数目减少,RMFI 明显下降,SERT 阳性细胞数目增多,RMFI 明显升高,给予白芍提取物后的

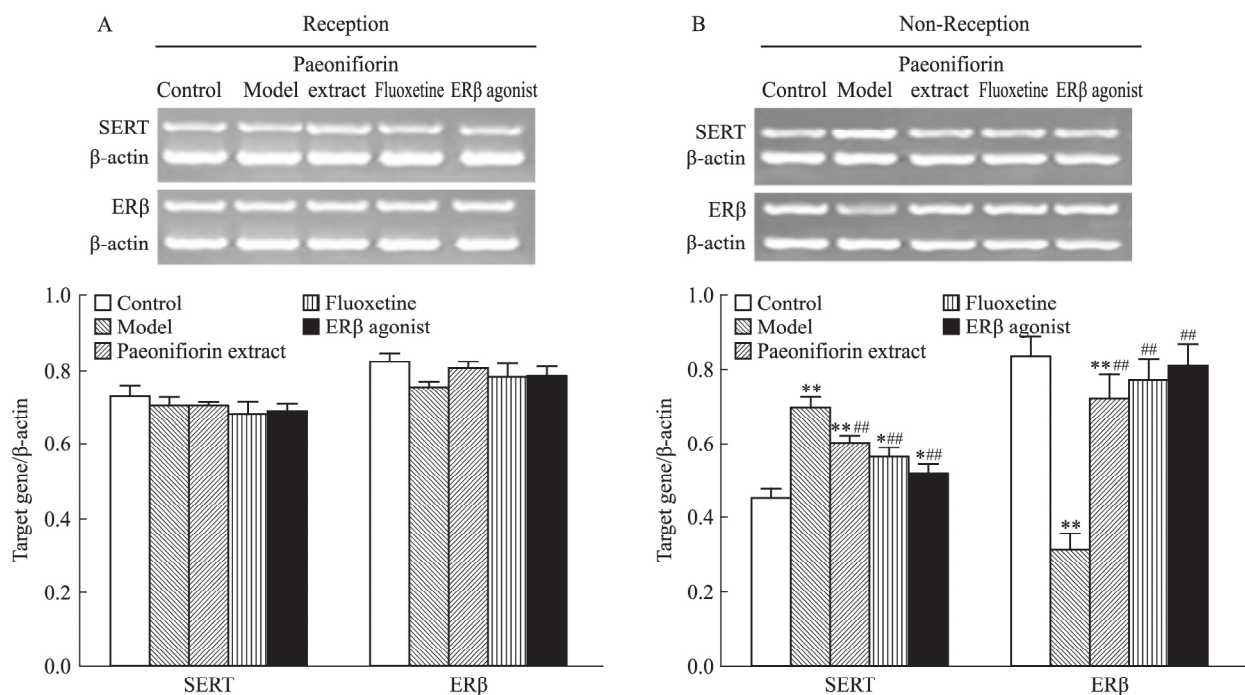


Fig 2 Expression of ER and SERT mRNA in hippocampus of rats at both estrous receptive(A) and non-receptive stages(B) ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

** $P < 0.01$ vs control; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs model

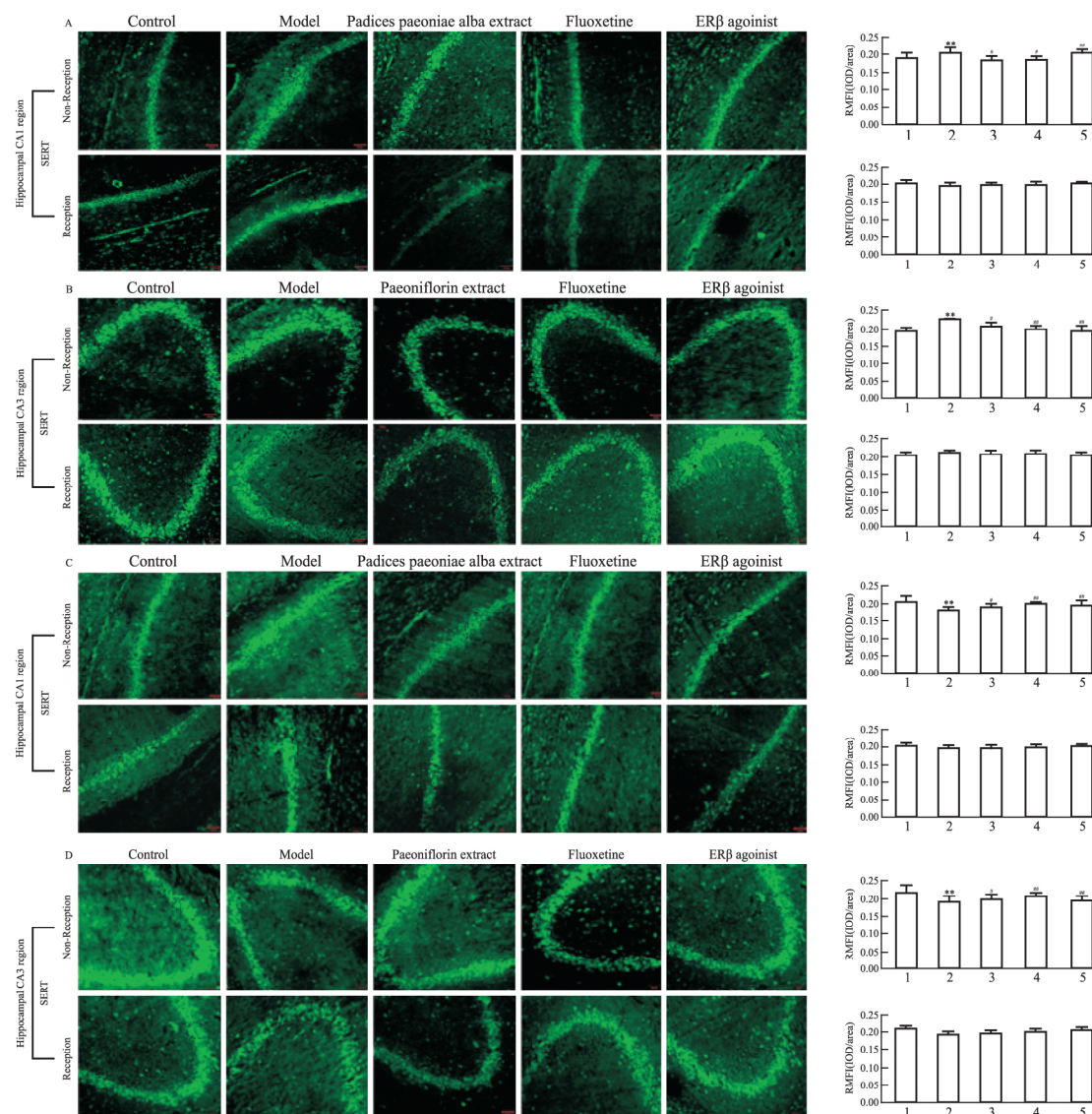


Fig 3 Distribution pattern and protein expression of ERβ and SERT positive neurons in hippocampal CA1 and CA3 brain regions during estrous and non-receptive stages of rats(×200 $\bar{x} \pm s$ $n=6$)

** $P < 0.01$ vs control; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs model; 1: Control; 2: Model; 3: Paeoniflorin extract; 4: Fluoxetine; 5: ERβ agonist

细胞形态趋于正常。以上研究结果与本研究所得模型大鼠海马区 ERβ mRNA 和蛋白表达均明显下降，SERT mRNA 和蛋白表达升高均一致。提示白芍提取物可能具有雌激素样作用，或者能够通过改善中枢海马 ERβ 的功能，继而纠正 5-HT 能系统中 SERT 的功能，最终起到调整 PMS 肝气逆证烦躁易怒等主要症状的作用。

综上所述，采用情志刺激为主多因素造模法可以成功制备 PMS 肝气逆证大鼠模型，模拟 PMS 主要特征“经前出现，经后消失”。通过该模型的研究，初步证明 PMS 肝气逆证的发病机制可能与大鼠海马 ERβ、SERT 的蛋白表达和 mRNA 的改变有关。白芍提取物有可能发挥雌激素样作用，通过改善海马区 ERβ 和 SERT 的表达，起到调节 PMS 肝气逆证

负性情绪的作用。但是白芍提取物雌激素样作用及其具体机制尚需进一步探讨。

(本实验是在山东中医药大学中医基础理论研究所完成，感谢该研究所及情志病证创新研究团队所有同仁的支持和帮助)

参考文献:

[1] 乔明琦,徐旭杰,韩秀珍. 经前期综合征证候分布规律的流行病学调查研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 1997, 3(3): 31-3.

[1] Qiao M Q, Xu X J, Han X Z. Epidemiological survey on syndromes distribution in PMS[J]. Chin Basic Med Tradit Chin Med, 1997, 3(3): 31-3.

[2] 柳新,薛玲,高杰,等. 白香丹含药血清对大鼠海马神经元中 5-羟色胺 2C 受体的表达及其下游信号通路中 IP3 的影响[J]. 中国药理学通报, 2012, 28(7): 1019-23.

- [2] Liu X, Xue L, Gao J, et al. Effect of Baixiangdan on the expression of 5-HTR2C and the concentration of IP3 in neonate rat hippocampal neurons cultured *in vitro* [J]. *Chin Pharmacol Bull* 2012, 28(7): 1019–23.
- [3] 苏巧荣, 苏林雁, 耿耀国. 性激素及其受体基因多态性与青春期首发抑郁障碍 [J]. *国际精神病学杂志*, 2006, 33(1): 59–63.
- [3] Su Q R, Su L Y, Geng Y G. The relationship between sex hormone and its receptor gene polymorphism and adolescent depression episode [J]. *J Int Psychiatry*, 2006, 33(1): 59–63.
- [4] Thompson K S, Kulkarni J, Sersjé W A A. Extrapyramidal symptoms and oestrogen [J]. *Acta Psychiatr Scand*, 2000, 101: 130–4.
- [5] Charoenphandha J, Teerapornpuntakit J, Nuntapornsak A, et al. Anxiety-like behaviors and expression of SERT and TPH in the dorsal raphe of estrogen- and fluoxetine-treated ovariectomized rats [J]. *Pharmacol Biochem Behav* 2011, 98(4): 503–10.
- [6] 魏盛, 张惠云. 经前期综合征肝气逆、郁两证大鼠模型建立及宏观评价方法初探 [J]. *实验动物与比较医学* 2009, 29(3): 142–6.
- [6] Wei S, Zhang H Y. Establishment of premenstrual syndrome liver-qi invasion depression rats model and macro-evaluation [J]. *Laboratory Animal Comparat Med* 2009, 29(3): 142–6.
- [7] 柳新. 白香丹胶囊对 PMS 肝气逆证模型大鼠的药理机制研究—含药血清对大鼠海马神经元 5-HTR2C 的表达及其下游 IP₃/DAG/Ca²⁺ 信号通路的影响 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2012.
- [7] Liu X. Pharmacological mechanism of Baixiangdan capsule for treatment of PMS model rats with Liver-qi Invasion—Effect of medicated serum on the expression of 5-HTR2C and the signaling pathways in neonate rat hippocampal neurons cultured *in vitro* [D]. Jinan: Shandong University of TCM, 2012.
- [8] 田溪. 雌激素受体 β 介导 5-羟色胺系统相关基因 TPH-2 和 SERT 在 PMS 肝气逆证大鼠中的作用及药物干预影响 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2014.
- [8] Tian X. Estrogen receptor β mediated serotonin system-related genes TPH-2 and SERT function in rats with PMS liver-qi invasion before and after drug intervention [D]. Jinan: Shandong University of TCM, 2014.
- [9] 张亭亭, 薛瑞, 李云峰, 等. 单胺转运蛋白与单胺重摄取抑制剂研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(6): 741–4.
- [9] Zhang T T, Xue R, Li Y F, et al. Research progress in monoamine transporters and monoamine transmitter reuptake inhibitors [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2013, 29(6): 741–4.
- [10] Roeha B A, Fleiseher R, Schaeffer J M, et al. 17β-estradiol-induced antidepressant-like effect in the forced swim test is absent in estrogen receptor-beta knockout (BERKO) mice [J]. *Psychopharmacology (Berl)* 2005, 179(3): 637–43.
- [11] Walf A A, Frye C A. A review and update of mechanisms of estrogen in the hippocampus and amygdala for anxiety and depression behavior [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2006, 31(6): 1097–111.
- [12] 李四新, 张吉强. 雌激素及其受体对脑功能的调节作用 [J]. *四川解剖学杂志* 2003, 3(1): 18–20.
- [12] Li S X, Zhang J Q. The regulation of estrogen and its receptor on brain function [J]. *Sichuan J Anatomy*, 2003, 3(1): 18–20.
- [13] McQueen J K, Wilson H, Fink G. Estradiol-17β increases serotonin transporter (SERT) mRNA levels and the density of SERT-binding sites in female rat brain [J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1997, 45(1): 13–23.
- [14] 金玉祥, 陆嘉峰. 应激性防御反应与大白鼠脑内 C-FOS 癌基因的表达及痛阈变化的关系 [J]. *中国神经科学杂志*, 2000, 16(2): 147–50.
- [14] Jin Y X, Chen J F. Expression of chronic stress induced FOS in brain of rats and related changes of pain threshold [J]. *Chin J Neurosci* 2000, 16(2): 147–50.
- [15] Sugama S. Stress-induced microglial activation may facilitate the progression of neurodegenerative disorders [J]. *Med Hypotheses*, 2009, 73(6): 1031–4.

Effects of Radices Paeoniae Alba extract on ERβ

and SERT in hippocampus of rat model of PMS liver-qi inverse syndrome

WANG Jie-qiong^{1,3}, SUN Wen-jun^{2,3}, TIAN Xi^{1,3}, LI Hui-hao^{2,3}, SUN Ya^{2,3}, WANG Shuai¹, GAO Yan-xin¹

(1. School of Pharmacy; 2. School of Traditional Chinese Medicine; 3. Institute of Basic Theory of Traditional Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

Abstract: Aim To investigate the effect of Radices *Paeoniae Alba* extract on estrogen receptor β (ERβ) and serotonin transporter (SERT) in the hippocampus of rat model of premenstrual syndrome (PMS) liver-qi inverse syndrome. **Methods** The rats were randomly divided into the normal group, the model group, the Radices *Paeoniae Alba* extract group, the fluoxetine group and the ERβ agonist group by the vaginal smear microscopy and the open field score. The model group

rats were prepared by electrical stimulation to prepare PMS liver-qi inverse syndrome. After five days of administration, the hippocampal tissues of each group were separated. ERβ and SERT mRNA and protein expression in each group were determined by RT-PCR and immunofluorescence histochemical method. **Results**

During the estrous reception period, there was no significant difference in the behavior score of the open-field test and the expression of ERβ and SERT mRNA

网络出版时间: 2018-12-11 15:00 网络出版地址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1086.r.20181210.0951.026.html

丹酚酸 B 对糖尿病大鼠肾纤维化的改善作用及其机制

张旭¹ 朱元美¹ 唐保露¹ 任尤楠² 陶善珺¹ 杨解人¹ 郑书国^{1,3,4}

(皖南医学院 1. 药理学教研室、2. 解剖学教研室、3. 定量药理研究所、4. 药物研发中心, 安徽 芜湖 241002)

doi: 10.3969/j.issn.1001-1978.2019.01.012

文献标志码: A 文章编号: 1001-1978(2019)01-0051-04
中国图书分类号: R-332; R284.1; R322.61; R349.1; R587.2;
R692.39; R977.6

摘要:目的 观察丹酚酸 B 对糖尿病大鼠肾纤维化的影响, 并探讨其可能机制。方法 采用高糖高脂饮食, 合并腹腔注射链脲佐菌素(STZ)的方法建立糖尿病大鼠模型。将糖尿病大鼠随机分为模型组、丹酚酸 B 低、高剂量组(80、160 mg·kg⁻¹)。丹酚酸 B 各组每天灌胃给予相应剂量药物, 正常对照组和模型组灌胃相应容量生理盐水, 连续 6 周。实验结束时检测大鼠空腹血糖(FBG)、血清肌酐(SCr)、尿素氮(BUN)、尿微量白蛋白(UAlb), 以及血清丙二醛(MDA)、总抗氧化能力(TAC)和超氧化物歧化酶(SOD)水平; Masson 染色法观察肾组织胶原纤维水平; ELISA 法检测肾组织 I 型和 III 型胶原含量; Western blot 法检测肾组织转化生长因子 β1(TGF-β1)、p-Smad2 和 Smad7 蛋白水平。结果 丹酚酸 B 可明显减少糖尿病大鼠肾组织胶原沉积, 降低 FBG、BUN、UAlb、SCr、MDA 及 TGF-β1、p-Smad2 蛋白水平, 使血清 TAC、SOD 活性和肾组织 Smad7 蛋白水平明显升高($P < 0.01$ 或 P

< 0.05)。结论 丹酚酸 B 可明显减轻糖尿病大鼠肾纤维化, 改善肾功能, 其机制与改善氧化应激状态、调控 TGF-β1/Smad 信号通路有关。

关键词: 糖尿病; 肾纤维化; 丹酚酸 B; TGF-β1; 氧化应激; 糖尿病肾病

糖尿病肾病是糖尿病最严重和最常见的并发症之一, 也是导致终末期肾病的最重要原因之一, 若不及时采取措施, 可最终发展成为慢性肾衰竭或尿毒症, 从而危及患者生命^[1]。糖尿病肾病的主要病理特征是肾纤维化, 表现为成纤维细胞的异常增殖及由此导致的细胞外基质的过度堆积^[2]。大量研究表明, 氧化应激在糖尿病肾病发生发展过程中起着重要作用^[3], 而转化生长因子 β1(transforming growth factor β1, TGF-β1)/Smad 信号通路的异常激活是糖尿病肾病肾纤维化的主要分子机制^[4]。因此, 有效改善糖尿病氧化应激状态和调控 TGF-β1/Smad 信号通路, 成为防治糖尿病肾病肾纤维化、改善糖尿病预后的重要措施之一。

丹酚酸 B(salvianolic acid B, Sal B) 是丹参的主要成分之一, 具有较强的抗氧化活性, 能明显抑制间歇性高糖诱导的 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK) 活化和 INS-1 细胞凋亡^[5]。Sal B 可有效抑制高糖诱导的肾小管上皮细胞向间质细胞转分化, 减少胶原蛋白等细胞外基质合成与分泌^[6], 但对其能否抑制糖尿病肾脏纤维化目前研究

收稿日期: 2018-09-16, 修回日期: 2018-11-11

基金项目: 安徽高校省级自然科学研究重点项目(No KJ2015A192); 中国医药教育协会孙思邈中医药科研专项课题(No 164-33); 皖南医学院科研项目培育基金重点项目(No WK2017Z09)

作者简介: 张旭(1992-), 男, 硕士生, 研究方向: 临床药理学, E-mail: 498643351@qq.com;

郑书国(1967-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 心血管药理学和中药药理学, 通讯作者, E-mail: zhengsg2000@163.com

and protein in the hippocampus of each group. Estrous non-reception period: compared with normal rats, the total distance of open field test in model rats increased significantly. The expression of ERβ mRNA in hippocampus significantly decreased and SERT mRNA significantly increased. In model group, the pyramidal cells in hippocampal CA1 and CA3 brain areas of rats were irregularly arranged, and the number of ERβ positive cells and protein expression decreased. The number of SERT positive cells and protein expression were significantly up-regulated. After the Radices *Paeoniae*

Alba extract was given, the above indexes were significantly improved, and no significant difference was found between them and fluoxetine group and ER agitator group. **Conclusions** Radices *Paeoniae Alba* extract may adjust the PMS card of diseases with inverse negative emotions possibly by improving the hippocampus ERβ and SERT mRNA and protein expression.

Key words: Radices *Paeoniae Alba* extract; PMS liver-qi inverse syndrome; the estrous reception and non-reception period; hippocampus; ERβ; SERT