

- 635-640.
- [13] 孙策, 吴辉. 解毒活血方对非ST段抬高型急性冠脉综合征患者外周血CD40、NF- κ B表达的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(6): 816-821.
- [14] 吴辉, 卿立金, 吴伟, 等. 解毒活血方对AS易损斑块兔模型易损斑块及CAM-1、TNF- α 表达的影响[J]. 中国中医急症, 2013, 22(6): 877-879.
- [15] 卿立金, 吴辉, 吴伟, 等. 解毒活血方对AS兔模型血脂及粥样斑块的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 16(1): 32-34.
- [16] 王易, 杨跃进. 细胞因子在冠心病中的作用研究进展[J]. 中华心血管病杂志, 2003, 31(12): 950-952.
- [17] 杜戎. 血清胆红素与冠心病关系的研究进展[J]. 心血管病学进展, 2004, 25(3): 232-234.
- [18] 周文, 赵爱宏, 赵立明, 等. 核受体及其配体的研究进展[J]. 中国药物化学杂志, 2007, 17(1): 59-64.
- [19] 潘晔, 殷佳, 蔡雪朦, 等. 基于PI3K/Akt信号通路探讨中医药治疗冠心病的研究进展[J]. 中草药, 2017, 48(19): 4100-4104.
- [20] CHATZIZISIS Y S, COSKUN A U, JONAS M, et al. Role of endothelial shear stress in the natural history of coronary atherosclerosis and vascular remodeling: molecular, cellular, and vascular behavior[J]. J Am Coll Cardiol, 2007, 49(25): 2379-2393.
- [21] JAIN T, NIKOLOPOULOU E A, XU Q, et al. Hypoxia inducible factor as a therapeutic target for atherosclerosis [J]. Pharmacol Ther, 2018, 183: 22-33.
- [22] FISHMAN S L, SONMEZ H, BASMAN C, et al. The role of advanced glycation end-products in the development of coronary artery disease in patients with and without diabetes mellitus: a review[J]. Mol Med, 2018, 24(1): 59.
- [23] KOSMOPOULOS M, DREKOLIAS D, ZAVRAS P D, et al. Impact of advanced glycation end products (AGEs) signaling in coronary artery disease [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2019, 1865(3): 611-619.

【责任编辑：侯丽颖】

四逆汤对阿霉素诱导的慢性心力衰竭大鼠内质网应激的影响

于游^{1,2}, 杜莹¹, 南明花², 李佳², 张妤¹, 吕美君¹, 王莹¹, 吴瑾¹, 孙红²

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁沈阳 110847; 2. 辽宁中医药大学附属第二医院, 辽宁沈阳 110034)

摘要:【目的】探讨四逆汤对阿霉素诱导的慢性心力衰竭(CHF)大鼠内质网应激的影响。【方法】从90只大鼠中随机选取15只作为正常组, 其余大鼠腹腔注射阿霉素构建CHF模型, 同时, 正常组给予腹腔注射生理盐水。造模结束后, 正常组大鼠全部存活, 造模大鼠存活60只。再将60只CHF大鼠随机分为5组, 即模型组, 四逆汤低、中、高剂量组, 曲美他嗪组, 每组12只。四逆汤低、中、高剂量组分别给予1.4、4.2、12.6(生药)g·kg⁻¹·d⁻¹灌胃, 曲美他嗪组给予曲美他嗪10 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃, 正常组和模型组给予相同体积的生理盐水灌胃。连续给药4周。采用小动物超声测量左心室舒张末期直径(LVEDD)、左心室射血分数(LVEF)和左心室缩短分数(LVFS)变化; 采用酶联免疫吸附分析(ELISA)检测血浆脑钠肽(BNP)和血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)水平; 采用实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)技术检测心肌组织葡萄糖调节蛋白78(GRP78)、RNA依赖的蛋白激酶样内质网激酶(PERK)和活化转录因子4(ATF4)mRNA表达。【结果】与正常组比较, 模型组大鼠LVEDD显著增大, LVEF、LVFS均显著降低, 血浆BNP和AngⅡ含量升高, 心肌组织GRP78、PERK及ATF4 mRNA表达量升高(P<0.01); 与

收稿日期: 2020-03-23

作者简介: 于游(1986-), 女, 博士, 主治医师; E-mail: 454026117@qq.com

通讯作者: 杜莹(1986-), 女, 医学博士, 讲师; E-mail: 454026117@qq.com

基金项目: 辽宁省自然科学基金资助项目(编号: 20180550109); 沈阳市科技计划项目(编号: 18-013-0-73)

模型组比较, 四逆汤低、中、高剂量组及曲美他嗪组LVEDD降低, LVEF、LVFS均显著增加, 血浆BNP和Ang II含量减少, 心肌组织GRP78、PERK及ATF4 mRNA表达量降低, 且呈剂量依赖性, 其中, 四逆汤高剂量组及曲美他嗪组差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。【结论】四逆汤可改善慢性心力衰竭大鼠模型心脏功能, 其机制可能与抑制PERK/ATF4信号通路从而减轻内质网应激有关。

关键词: 四逆汤; 心力衰竭; 内质网应激; 葡萄糖调节蛋白78; RNA依赖的蛋白激酶样内质网激酶; 活化转录因子4; 大鼠
中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-3213(2021)05-0991-06

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.05.024

Effect of *Sini* Decoction on Endoplasmic Reticulum Stress in Rats with Heart Failure Induced by Doxorubicin

YU You^{1,2}, DU Ying¹, NAN Ming-Hua², LI Jia², ZHANG Yu¹,
LUY Mei-Jun¹, WANG Ying¹, WU Jin¹, SUN Hong²

(1.Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847 Liaoning, China; 2.The Second Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110034 Liaoning, China)

Abstract: Objective To explore the effect of *Sini* Decoction on endoplasmic reticulum stress in rats with doxorubicin-induced chronic heart failure. **Methods** From 90 rats, 15 rats were randomly selected as normal group, the other rats were induced into chronic heart failure model by intraperitoneal injection of doxorubicin, meanwhile the normal group was given intraperitoneal injection of normal saline. After modeling, all rats survived in the normal group, and 60 rats survived in the model group. And then the 60 rats were randomly divided into model group, low-, middle- and high-dose *Sini* Decoction groups, trimetazidine group, 12 rats in each group, the low-, middle- and high-dose *Sini* Decoction groups were given intragastric administration of *Sini* Decoction at the dosages of 1.4, 4.2, 12.6 (crude drug) $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$, respectively, the trimetazidine group was given intragastric administration of trimetazidine at the dosage of 10 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$, and the normal group and model group were given intragastric administration of the same volume of normal saline. The treatment lasted 4 weeks. After medication, small animal ultrasound was used to detect the changes of left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD), left ventricular ejection fraction(LVEF), and left ventricular fractional shortening(LVFS), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect plasma levels of brain natriuretic peptide (BNP) and angiotensin II (Ang II), real-time polymerase chain reaction (PCR) was used to detect the mRNA expression levels of glucose-regulated protein 78 (GRP78), protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase (PERK) and activating transcription factor 4 (ATF4) in cardiac muscle tissue. **Results** Compared with the normal group, LVEDD was increased, LVFS and LVEF were decreased in the model group, contents of plasma BNP and Ang II were increased, and the mRNA expression levels of GRP78, PERK and ATF4 were increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, LVEDD was decreased, LVFS and LVEF were increased in the low-, middle- and high-dose *Sini* Decoction groups and trimetazidine group in dose-dependent mode, contents of plasma BNP and Ang II were reduced, and mRNA expression levels of GRP78, PERK and ATF4 were decreased, of which the difference was significant in high-dose *Sini* Decoction group and trimetazidine group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** *Sini* Decoction is effective for improving heart function in rat with chronic heart failure, and the mechanism may be related to the inhibition of PERK/ATF4 signaling pathway and thus reduced endoplasmic reticulum stress.

Keywords: *Sini* Decoction; heart failure; endoplasmic reticulum stress; glucoseregulated protein 78 (GRP78); protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase (PERK); activating transcription factor 4 (ATF4); rats

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是多种心血管疾病的终末阶段,具有较高死亡率。对心力衰竭机制的研究始终是心血管领域研究的重要内容。近年来,内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)是CHF机制和治疗靶点^[1]研究的热点,氧化应激、钙稳态失衡、缺血等各种因素刺激均可导致ERS的发生。目前针对CHF患者暂无根治措施,临床主要以对症治疗、改善心功能和提高生活质量为主^[2]。四逆汤为中医回阳救逆的代表方剂,现代研究表明,其具有强心、保护心肌、保护血管、免疫调节及抗休克等作用^[3],且对心血管疾病的治疗作用在临床中也得到证实^[4]。本研究通过腹腔注射阿霉素的方法建立CHF大鼠模型,观察四逆汤对阿霉素诱导的CHF大鼠ERS的影响,探讨四逆汤治疗CHF的分子机制,现将研究结果报道如下。

1 材料与方

1.1 动物及饲养方法 SPF级12周龄健康雄性SD大鼠90只,体质量(220 ± 20)g,由辽宁长生生物技术股份有限公司提供,动物质量合格证号:SCXK(辽)2015-0001。饲养于辽宁中医药大学实验动物中心,自由进食饮水。动物饲养及实验方案遵循国家《实验动物管理条例》并通过辽宁中医药大学伦理委员会审查。

1.2 药物、试剂与仪器 四逆汤的中药组成:附子10g、干姜6g、炙甘草4g。以上中药材颗粒购自辽宁中医药大学附属医院,由江阴天江药业有限公司生产(批号分别为18110511、18101401、19010031),每装0.5g,相当于饮片3g。盐酸曲美他嗪片(万爽力),20mg/片,由施维雅(天津)制药有限公司生产(国药准字H20055465,批号:2014557)。盐酸阿霉素,25mg/支,北京索莱宝科技有限公司生产,批号:1114H022;大鼠脑钠肽(BNP)、血管紧张素II(Ang II)酶联免疫吸附分析(ELISA)检测试剂盒均购自上海西唐生物科技有限公司;SYBR Green Master Mix荧光定量聚合酶链反应(PCR)试剂盒由大连TaKaRa公司提供(批号:DRR047A);TRIzol试剂由大连TaKaRa公司提供(批号:DRR820A)。7500实时荧光定量PCR仪(美国Life公司);Vevo2100超高分辨率小动物超声影像系统(加拿大VisualSonics公司);SpectraMaxi3多功能酶标仪(美国MD公司);ST16R型冷冻高速离

心机、Wellwash Versa多功能高效洗板机、Nano2000超微量紫外分光光度计(德国Thermo公司)。

1.3 动物分组、模型制备与给药 取90只大鼠适应性喂养1周后,随机选取15只作为正常组,其余大鼠腹腔注射阿霉素(浓度2mg/mL)2mL/kg,每周1次,共6周,制备CHF模型^[5-6],同期正常组给予腹腔注射等体积生理盐水。造模结束后,正常组大鼠全部存活,造模大鼠存活60只。再将60只CHF大鼠按随机数字表分为5组,即模型组,四逆汤低、中、高剂量组,曲美他嗪组,每组12只。四逆汤低、中、高剂量组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,根据人与动物等效关系^[7]分别给予1.4、4.2、12.6(生药)g·kg⁻¹·d⁻¹灌胃,容积均为2mL/只;曲美他嗪根据人与动物等效关系^[7]给予曲美他嗪10mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃;正常组和模型组给予相同体积的生理盐水灌胃。连续给药4周。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 心功能检测 将大鼠诱导麻醉后,将鼻子置于鼻套中,吸入体积分数2%异氟烷气(异氟烷:氧气=2:1),仰卧位固定。待翻正反射消失,用脱毛膏胸部脱毛备皮,涂耦合剂,将小动物超声探头(250MHz)置于大鼠左前胸,进行超声检查。测量左心室舒张末期直径(LVEDD)、左心室射血分数(LVEF)和左心室缩短分数(LVFS)。

1.4.2 血浆BNP和Ang II检测 大鼠末次给药后,禁食12h,于次日给予100g/L水合氯醛3~4mL/kg麻醉,腹主动脉取血,肝素抗凝,静置1h,以3000r/min离心20min,分离上清,采用ELISA法检测BNP和Ang II的含量,具体步骤按照ELISA试剂盒说明书进行操作。

1.4.3 实时PCR法检测心肌组织葡萄糖调节蛋白78(GRP78)、RNA依赖的蛋白激酶样内质网激酶(PERK)及活化转录因子4(ATF4)mRNA表达 应用Premier 5.0软件设计PCR引物,由武汉金开瑞生物工程有限公司合成。GRP78上游引物序列为5'-TAATCAGCCCACCGTAAC-3',下游引物序列为5'-GTTTCCTGTCCCTTTGTC-3',扩增长度193bp;PERK上游引物序列为5'-CTCAGTGCATATAGTGAAA-3',下游引物序列为5'-ATGTCTGGAATATACCGAAG-3',扩增长度203bp;ATF4上游引物序列为5'-ATGACCGAAATGAGCTTCCTG-3',

下游引物序列为5'-GCTGGAGAACCCATGAGGT-3', 扩增153 bp; GAPDH上游引物序列为5'-GT CGGTGTGAACGGATTTG-3', 下游引物序列为5'-TCCCATTCTCAGCCTTGAC-3', 扩增长度181 bp。取心肌组织, 用TRIzol提取总RNA, 逆转录, 设定PCR反应条件, 初始变性(95 ℃, 3 min), 进行PCR反应, 进而进行40个循环的变性(95 ℃, 15 s)、退火(60 ℃, 30 s)和延伸(72 ℃, 30 s)。重复检测3次。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法对待测基因进行相对定量分析。

1.5 统计方法 采用SPSS 17.0统计软件进行数据分析, 计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。先行正态性检验和方差齐性检验, 符合正态分布采用单因素方差分析进行组间比较, 不符合正态分布则采用非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模大鼠一般状态观察 造模大鼠存活率为66.7%。观察发现, 应用阿霉素造模第3周后, 大鼠陆续出现精神萎靡, 进食、进水量减少, 活动量下降, 体质量增长缓慢或下降, 腹水, 口唇及足趾发绀等CHF的症状。

2.2 各组大鼠心功能比较 表1结果显示: 与正常组比较, 模型组大鼠左心功能明显降低, 表现为LVEDD显著增大, LVEF、LVFS均显著降低, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 与模型组比较, 各治疗组LVEDD降低, LVEF、LVFS增加, 其中, 四逆汤高剂量组及曲美他嗪组LVEDD、LVEF的差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 四逆汤中、高剂量组及曲美他嗪组LVFS的差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且四逆汤各剂量组LVEDD、LVFS、LVEF与曲美他嗪组比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 各组大鼠血浆BNP和Ang II水平比较 表2结果显示: 与正常组比较, 模型组血浆BNP和Ang II含量升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 各治疗组血浆BNP和Ang II含量均有不同程度降低, 其中, 四逆汤中、高剂量组及曲美他嗪组差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且四逆汤各剂量组BNP、Ang II含量与曲美他嗪组比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表1 各组大鼠心功能比较

Table 1 Comparison of the heart function in various groups ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 鼠数(只) | LVEDD(mm) | LVEF(%) | LVFS(%) |
|---------|-------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 正常组 | 15 | 5.45 ± 0.44 | 60.84 ± 4.28 | 31.58 ± 2.07 |
| 模型组 | 12 | 6.63 ± 0.66 ^① | 43.94 ± 6.15 ^① | 28.60 ± 1.51 ^① |
| 四逆汤低剂量组 | 12 | 6.44 ± 0.69 | 44.91 ± 5.05 | 29.04 ± 1.40 |
| 四逆汤中剂量组 | 12 | 6.28 ± 0.69 | 48.06 ± 5.50 | 29.88 ± 1.10 ^② |
| 四逆汤高剂量组 | 12 | 5.99 ± 0.77 ^② | 50.18 ± 8.51 ^② | 30.56 ± 1.24 ^③ |
| 曲美他嗪组 | 12 | 5.90 ± 0.74 ^③ | 53.42 ± 7.86 ^③ | 30.85 ± 1.41 ^③ |

① $P < 0.01$, 与正常组比较; ② $P < 0.05$, ③ $P < 0.01$, 与模型组比较

表2 各组大鼠血浆BNP和Ang II水平比较

Table 2 Comparison of the plasma BNP and Ang II levels in various groups ($\bar{x} \pm s$, pg·mL⁻¹)

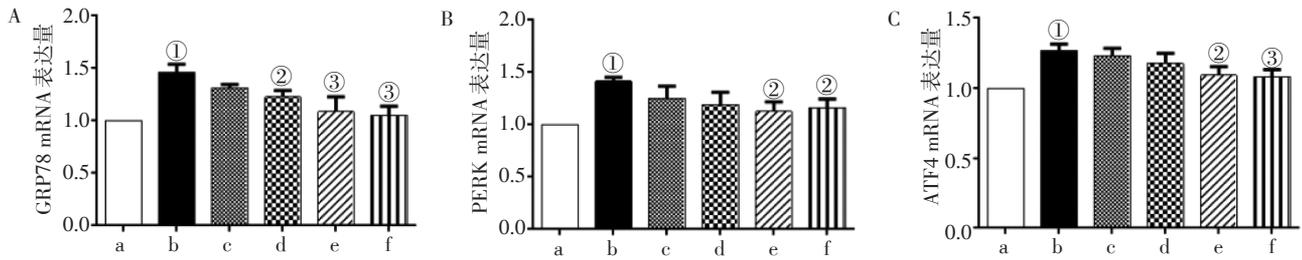
| 组别 | 鼠数(只) | BNP | Ang II |
|---------|-------|------------------------------|-----------------------------|
| 正常组 | 15 | 81.53 ± 8.76 | 244.11 ± 50.23 |
| 模型组 | 12 | 478.18 ± 90.14 ^① | 589.03 ± 64.15 ^① |
| 四逆汤低剂量组 | 12 | 452.72 ± 110.56 | 531.91 ± 93.39 |
| 四逆汤中剂量组 | 12 | 404.16 ± 84.22 ^② | 499.16 ± 78.95 ^③ |
| 四逆汤高剂量组 | 12 | 388.52 ± 101.75 ^③ | 408.68 ± 81.90 ^③ |
| 曲美他嗪组 | 12 | 379.97 ± 97.18 ^③ | 391.25 ± 92.46 ^③ |

① $P < 0.01$, 与正常组比较; ② $P < 0.05$, ③ $P < 0.01$, 与模型组比较

2.4 各组大鼠心肌组织GRP78、PERK、ATF4 mRNA表达水平比较 图1结果显示: 与正常组比较, 模型组大鼠心肌组织GRP78、PERK、ATF4 mRNA表达量升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 各治疗组心肌组织GRP78、PERK、ATF4 mRNA表达量降低, 其中, 四逆汤中、高剂量组及曲美他嗪组GRP78的差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 四逆汤高剂量组及曲美他嗪组PERK、ATF4的差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且四逆汤各剂量组GRP78、PERK、ATF4 mRNA表达水平与曲美他嗪组比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

慢性心力衰竭(CHF)是各种心血管疾病发展的终末阶段。近年来, 研究CHF的动物模型较多, 如药物所致心肌病模型、压力超负荷模型等。阿



A. GRP78 mRNA; B. PERK mRNA; C. ATF4 mRNA

a. 正常组; b. 模型组; c. 四逆汤低剂量组; d. 四逆汤中剂量组; e. 四逆汤高剂量组; f. 曲美他嗪组。① $P < 0.01$, 与正常组比较; ② $P < 0.05$, ③ $P < 0.01$, 与模型组比较

图1 各组大鼠心肌组织GRP78、PERK及ATF4 mRNA表达水平比较

Figure 1 Comparison of the mRNA expression levels of GRP78, PERK, ATF4 in cardiac muscle tissue of various groups ($\bar{x} \pm s$)

霉素是一种高效、广谱蒽醌类抗肿瘤药物, 常用于治疗白血病、淋巴瘤等疾病, 但由于明显的心脏毒性, 长期大量使用会引起充血性心力衰竭^[8], 因此, 在研究中经常选用阿霉素注射来制备心力衰竭模型^[9]。与其他方法比较, 此造模方法具有操作简单、死亡率较低、成模率相对较高等特点。本研究选用腹腔注射阿霉素来诱导CHF模型, 3周后, 发现模型组大鼠精神萎靡, 心功能减低, 并在神经内分泌系统等方面表现出对心肌的毒害, 表明模型建立成功。

发生心力衰竭时, 左室充盈压和室壁张力的增高是引起BNP分泌增加的关键原因。前期研究^[10]已证实, 心力衰竭的严重程度与BNP水平呈正相关。肾素-血管紧张素-醛固酮(RAAS)系统是人体内神经内分泌系统中的重要组成部分, 其生物学效应主要是通过Ang II来实现^[11]。正常条件下, Ang II有维持血管张力, 兴奋交感神经的作用; 在病理情况下, Ang II是导致心室重构的主要因素。本研究发现, 模型组大鼠BNP和Ang II水平均升高, 提示BNP和Ang II可以作为观察心力衰竭严重程度的标志物之一。

已有越来越多的研究证据表明, ERS在多种心血管疾病的病理过程中起着重要的作用, 如动脉粥样硬化、缺血/再灌注损伤、缺血性心脏病等^[12]。适度的ERS是细胞的一种自我保护机制, 可修复内质网稳态, 而严重或持续的ERS则诱导促凋亡因子的表达和活化, 从而介导心肌细胞的凋亡^[13]。动物实验和临床研究表明, ERS启动了细胞凋亡并参与CHF的病理生理过程^[14]。内质网分子伴侣GRP78属于内质网稳态的感受器, 是ERS的

标志性蛋白^[15], 过度的ERS会启动内质网膜上3种跨膜蛋白(跨膜蛋白激酶1、双链RNA依赖的PERK和活化转录因子6)介导的3条信号通路诱导细胞凋亡。PERK通路是内质网应激的最重要通路, 同时也是ERS发生时最先启动的通路^[16]。PERK/ATF4通路是内质网应激时发挥关键作用的通路, 在许多慢性疾病的发生过程中起着尤为重要的作用^[17]。ERS状态时, GRP78从PERK上解离并且大量表达, PERK通过自身磷酸化, 进一步激活下游一系列反应同时上调ATF4, 进而激活生长停滞及损伤基因诱导细胞凋亡^[18], 从而导致CHF的发生。本研究结果显示, CHF模型大鼠心肌组织中与内质网应激相关的GRP78、PERK及ATF4的mRNA表达量显著增多, 表明CHF的发生与ERS的PERK通路有关。

中医学并无“心力衰竭”病名, 临床上将其归属于“心悸”“水肿”“喘证”等范畴。本病多因心气或心阳虚衰, 气血津液运行不畅, 导致痰浊、血瘀、水饮互结为病。中药具有多组分、多途径、多环节和多靶点的特点, 在CHF治疗与控制进展上具有独特的优势。四逆汤出自张仲景《伤寒论》, 原文记载:“脉浮而迟, 表热里寒, 下利清谷者, 四逆汤主之。”该方由附子、干姜和甘草3味中药组成, 用于少阴病之四肢厥逆、脉沉微细、神疲欲寐、恶寒倦卧及腹痛下利等阳气虚衰诸症^[9], 为回阳救逆之代表方剂。方中: 附子大辛大热, 温肾壮阳, 回阳救逆, 其性走而不守, 为君药; 干姜守而不走, 温中散寒, 与附子相配, 一走一守, 加强破阴复阳之功, 属臣药; 伍以炙甘草, 一方面可益气温中, 调和诸药, 另一方面

制约附子、干姜劫阴之弊，以防迅发而致虚阳暴脱，为佐使药。三药相合，扬长避短，共奏回阳救逆之效。现代药理研究也证实，三药单味均有保护心肌细胞改善心功能的作用^[20-21]，尤其附子，具有增强心肌收缩力、增加冠脉血流量、抗心肌缺血和抗休克等效应^[22]。本研究结果显示，经四逆汤或曲美他嗪治疗后，阿霉素诱导的CHF大鼠心功能、BNP和Ang II水平均明显改善，心肌组织中与内质网应激相关的GRP78、PERK及ATF4的mRNA表达量显著降低，且2药治疗效果无明显差异，表明四逆汤可有效改善大鼠CHF，其机制可能与抑制内质网应激PERK/ATF4通路有关。

综上所述，本研究结果在一定程度上说明心力衰竭时会出现ERS反应，四逆汤可抑制ERS诱导的相关通路，增强内质网蛋白折叠能力，调节内质网稳态，从而发挥抗心力衰竭的作用，可为中药发现预防和治疗心力衰竭的新靶点提供参考和依据。

参考文献:

- [1] LIU M Q, CHEN Z, CHEN L X. Endoplasmic reticulum stress: a novel mechanism and therapeutic target for cardiovascular diseases[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(4): 425-443.
- [2] KRITTANAWONG C, NAMATH A, LANFEAR D E, et al. Practical pharmacogenomic approaches to heart failure therapeutics [J]. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*, 2016, 18(10): 60.
- [3] 冯秋荣, 李必坚, 杨西晓. 四逆汤的现代药理及作用机制研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2014, 12(2): 239-240.
- [4] 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.
- [5] MAISEL A S, KRISHNASWAMY P, NOWAK R M, et al. Rapid measurement of B type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure [J]. *N Engl J Med*, 2002, 347(3): 1611-1617.
- [6] HUNT S A, ABRAHAM W T, CHIN M H, et al. 2009 focused update incorporated into the ACC/AHA 2005 guidelines for the diagnosis and management of heart failure in adults; a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines: developed in collaboration with the international society for heart and lung transplantation [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 53(15): e1-e90.
- [7] 陈奇. *中药药理实验方法* [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994.
- [8] 卢均坤, 刘洋, 吕维娟, 等. 姜黄素对阿霉素诱导的大鼠心脏重构及心功能改变的研究[J]. *心血管康复医学杂志*, 2013, 22(4): 316-321.
- [9] 董倩, 丁书文. 人参健心胶囊对阿霉素所致心衰大鼠神经内分泌系统的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(14): 243-246.
- [10] 王建湘, 谭元生, 邓满霞. 温阳益气、活血利水法对慢性心衰患者 NT-proBNP 和心功能的影响研究[J]. *中华中医药学刊*, 2012, 30(8): 1912-1918.
- [11] DíEZ J. Angiotensin II and myocardial remodeling: do macrophages hold the key? [J]. *Am J Hypertens*, 2011, 24(6): 626-631.
- [12] GROENENDYK J, AGELLON L B, MICHALAK M. Coping with endoplasmic reticulum stress in the cardiovascular system [J]. *Annu Rev Physiol*, 2013, 75(1): 49-67.
- [13] LIU M Q, CHEN Z, CHEN L X. Endoplasmic reticulum stress: a novel mechanism and therapeutic target for cardiovascular diseases [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(4): 425-443.
- [14] OKADA K, MINAMINO T, TSUKAMOTO Y, et al. Prolonged endoplasmic reticulum stress in hypertrophic and failing heart after aortic constriction: possible contribution of endoplasmic reticulum stress to cardiac myocyte apoptosis [J]. *Circulation*, 2004, 110(6): 705-712.
- [15] 张瑜珊, 汪年松, 王筱霞, 等. 内质网应激在糖尿病肾病中的研究进展[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2014, 15(9): 840-842.
- [16] WANG Z S, XIONG F, XIE X H, et al. Astragaloside IV attenuates proteinuria in Streptozotocin induced diabetic nephropathy via the inhibition of endoplasmic reticulum stress [J]. *BMC Nephrology*, 2015, 6(7): 1-9.
- [17] WANG B, NING H, Reed-Maldonado A B, et al. Low-intensity extracorporeal shock wave therapy enhances brain-derived neurotrophic factor expression through PERK/ATF4 signaling pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, DOI: 10.3390/ijms18020433.
- [18] YANG D. Autophagy in diabetic nephropathy [J]. *Endocrinol*, 2015, 224(1): 946-952.
- [19] 邓中甲. *方剂学* [M]. 2版. 北京: 中国中医药出版社, 2010: 138.
- [20] ALIB H, BLUNDEN G, TANIRA M O, et al. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review of recent research [J]. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46(2): 409-415.
- [21] 刘萍, 王平. 甘草化学成分及其对心血管系统影响的机理[J]. *世界科学技术——中医药现代化*, 2011, 13(1): 96-99.
- [22] SINGHUBER J, ZHU M, PRINZ S, et al. Aconitum in traditional Chinese medicine—a valuable drug or an unpredictable risk [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 126(1): 18-23.

【责任编辑: 侯丽颖】