

酸枣仁汤对老年慢性快动眼睡眠剥夺模型大鼠肝脏线粒体能量代谢及其机制的影响

刘鑫, 游秋云, 王平, 丁莉, 宁富楠, 张舜波*
(湖北中医药大学, 武汉 430065)

[摘要] 目的:研究酸枣仁汤对老年慢性睡眠剥夺模型大鼠肝脏线粒体能量代谢的影响及作用机制。方法:将50只雄性Wistar大鼠随机分为正常组,模型组、舒乐安定组(0.18 mg·kg⁻¹·d⁻¹),酸枣仁汤低、高剂量组(6.48, 12.96 g·kg⁻¹·d⁻¹),除正常组外,其余各组均皮下注射D-半乳糖,于末次给药后进行多平台水环境睡眠剥夺,造模结束后各组开始灌胃给药,连续给药7 d。采用透射电镜观察肝脏线粒体形态,采用比色法检测大鼠肝脏三磷酸腺苷(ATP)含量的变化,采用比色法检测大鼠肝脏线粒体呼吸链还原型辅酶I(复合物I),琥珀酸氧化还原酶(复合物II),细胞色素C氧化还原酶(复合物III),细胞色素C氧化酶(复合物IV)活性,采用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠肝脏柠檬酸合酶(CS),异柠檬酸脱氢酶(IDH),负责编码ATP合成酶F0亚基的一段核基因(ATP5F1)蛋白的表达水平。结果:与正常组比较,模型组大鼠肝脏内线粒体损伤较严重,线粒体发生肿胀、变形,嵴断裂并且数量有一定的减少,与模型组比较,舒乐安定组、酸枣仁汤高剂量组线粒体损伤减轻,肿胀、变形情况显著减少,嵴断裂减少,其中酸枣仁汤高剂量改善较为明显。与正常组比较,模型组大鼠肝脏ATP含量显著降低($P<0.01$),线粒体呼吸链复合物I, II, III, IV活性均显著降低($P<0.01$), IDH, CS, ATP5F1蛋白表达均显著降低($P<0.01$);与模型组比较,酸枣仁汤高剂量组肝脏ATP含量显著升高($P<0.01$),线粒体呼吸链复合物I, II, III, IV活性均明显升高($P<0.05, P<0.01$), IDH, CS, ATP5F1蛋白表达均显著升高($P<0.01$),舒乐安定组肝脏ATP含量明显升高($P<0.05$),线粒体呼吸链复合物I, III活性显著升高($P<0.01$), CS, ATP5F1蛋白表达均显著升高($P<0.01$),酸枣仁汤低剂量组肝脏线粒体呼吸链复合物I, III活性明显升高($P<0.05, P<0.01$), ATP5F1蛋白表达明显升高($P<0.05$)。结论:酸枣仁汤可以改善老年慢性睡眠剥夺引起的肝脏能量代谢异常,其机制可能与上调线粒体电子链酶活性, CS, IDH及ATP5F1蛋白表达有关。

[关键词] 酸枣仁汤; 睡眠剥夺; 透射电镜; 肝脏; 能量代谢

[中图分类号] R2-0; R22; R285.5; R289; R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)16-0053-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211501

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210610.0844.001.html>

[网络出版日期] 2021-06-11 12:45

Effect of Suanzaoren Tang on Energy Metabolism of Liver Mitochondria in Aged Rats with Chronic Rapid Eye Movement Sleep Deprivation and Its Mechanism

LIU Xin, YOU Qiu-yun, WANG Ping, DING Li, NING Fu-nan, ZHANG Shun-bo*
(Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Suanzaoren Tang on energy metabolism of liver mitochondria in aged rats with chronic rapid eye movement (REM) sleep deprivation. **Method:** Fifty male Wistar rats were randomly divided into the control group, model group, estazolam group (0.18 mg·kg⁻¹·d⁻¹), and low- (6.48 g·kg⁻¹·d⁻¹) and high-dose (12.96 g·kg⁻¹·d⁻¹) Suanzaoren Tang groups. Rats in all groups except for the control group received subcutaneous injection of D-galactose and then were deprived of sleep using the multiple platform method after the last administration. Following successful modeling, the rats in each group

[收稿日期] 20210228(011)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81473560)

[第一作者] 刘鑫,在读硕士,从事治疗失眠相关的中药药理学研究, E-mail: 741248163@qq.com

[通信作者] *张舜波,讲师,从事中药学研究和新药开发, E-mail: 693757317@qq.com

were treated with intragastric administration of the corresponding drugs for seven consecutive days. The morphology of liver mitochondria was observed under the transmission electron microscope. The content of adenosine triphosphate (ATP) in rat liver was detected by colorimetry, and the activities of ubiquinone oxidoreductase (complex I), succinate-ubiquinone oxidoreductase (complex II), ubiquinol-cytochrome c oxidoreductase (complex III), and cytochrome c oxidase (complex IV) in mitochondrial respiratory chain of rat liver were measured by colorimetry. The protein expression levels of citrate synthase (CS), isocitrate dehydrogenase (IDH), and ATP synthase, H⁺ transporting, mitochondrial F0 complex, subunit b, isoform 1 (ATP5F1) in rat liver were assayed by Western blot. **Result:** The mitochondrial damage in rat liver of the model group was more serious than that in the control group, manifested as mitochondrial swelling and deformation as well as cristae rupture and reduction. The comparison with the model group revealed that both the positive control and Suanzaoren Tang at the high dose obviously alleviated the mitochondrial swelling and deformation and reduced cristae rupture, with better improvements observed in the high-dose Suanzaoren Tang group. Compared with the control group, the content of ATP, the activities of mitochondrial respiratory chain complexes I, II, III, and IV, and the protein expression levels of IDH, CS, and ATP5F1 in rat liver of the model group were all significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the content of ATP, the activities of mitochondrial respiratory chain complexes I, II, III, and IV, and the protein expression levels of IDH, CS, and ATP5F1 in rat liver of the high-dose Suanzaoren Tang group were all significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). In the positive control group, the content of ATP, the activities of mitochondrial respiratory chain complexes I and III, and the protein expression levels of CS and ATP5F1 in rat liver were significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The activities of mitochondrial respiratory chain complexes I and III and the ATP5F1 protein expression in the low-dose Suanzaoren Tang group were significantly elevated ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Suanzaoren Tang alleviates the abnormal liver energy metabolism induced by chronic REM sleep deprivation in the elderly rats, which may be related to its enhancement of mitochondrial electron transport chain enzyme activities and the up-regulation of protein expression levels of CS, IDH and ATP5F1.

[Keywords] Suanzaoren Tang; sleep deprivation; transmission electron microscope; liver; energy metabolism

睡眠剥夺是指人为导致睡眠减少的状态,随着社会的进步与发展,人们的生活方式在逐渐发生改变,这也导致了这种状态逐渐成为常态^[1]。有科学研究显示,我国约24.6%的居民存在睡眠问题,且94.1%的居民睡眠与良好水平存在差距^[2]。老年人更容易受到失眠问题的困扰。研究显示,慢性失眠在老年人群中较为常见,并且发病率高达40%~70%^[3]。课题组前期研究发现,慢性睡眠剥夺会引起小鼠糖、脂代谢异常^[4]。糖和脂质在供能方面发挥着重要作用,而肝脏与糖、脂代谢密切相关,长期的睡眠剥夺会引起肝脏能量代谢异常^[5]。

酸枣仁汤出自《金匱要略》,由酸枣仁、知母、茯苓、川芎、甘草组成,汤中重用酸枣仁为君,以其甘酸质润,入心、肝之经,养血补肝,宁心安神。酸枣仁汤前期研究多与睡眠和痴呆相关^[6-7],但对于酸枣仁汤在睡眠障碍所致能量代谢异常方面的作用及可能机制的研究较少。因此,本实验采用酸枣仁汤

对注射D-半乳糖以及慢性睡眠剥夺的Wistar大鼠进行干预,观察酸枣仁汤对肝脏超微结构,三磷酸腺苷(ATP)含量、线粒体呼吸链复合物I~IV活性,以及柠檬酸合酶(CS),异柠檬酸脱氢酶(IDH),负责编码ATP合成酶F0亚基的一段核基因(ATP5F1)蛋白表达的影响,以此来研究酸枣仁汤对老年慢性快动眼睡眠剥夺模型大鼠肝脏线粒体能量代谢的影响。

1 材料

1.1 动物 2月龄SPF级Wistar大鼠(180~220)g,均购于辽宁长生生物技术股份有限公司,合格证号SCXK(辽)2015-0001。实验动物均饲养在湖北中医药大学老年医学研究所,所有动物均自由摄食、饮水,饲料和垫料均经紫外线照射灭菌,饲养房间温度23~26℃,相对湿度50%~70%,房间设置独立通风系统。本实验获得湖北中医药大学实验动物伦理委员会批准,严格执行伦理委员会要求,伦理

审批号为202011010。

1.2 药物与试剂 酸枣仁汤由酸枣仁30 g, 知母12 g, 茯苓12 g, 川芎12 g, 甘草6 g组成, 购于湖北中医药大学附属医院药房, 经湖北中医药大学药学院丁莉副教授鉴定符合用药标准。将上述所有药材浸泡30 min后, 分别加10, 8, 6倍药材量的水, 武火煎煮15 min, 文火煎煮20 min, 滤出药渣, 合并3次所得滤液, 之后用旋转蒸发器将药液浓缩成生药质量浓度为 $0.648 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 置 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用; 舒乐安定片(山东信谊制药有限公司, 批号H37023047); D-半乳糖(上海阿拉丁生化科技股份有限公司, 批号E1927035); ATP试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, 批号E-BC-K157-S); 线粒体呼吸链复合物I~IV(南京建成生物工程研究所, 批号分别为A089-1-1, A089-2, A089-3, A089-4-1); RIPA裂解液, 蛋白Marker, 聚偏二氟乙烯(PVDF)膜, 辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗兔, 十二烷基苯磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶制备试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司, 批号分别为G2002, 26617, G6015-0.45, GB23303, G2703); CS兔源抗体, IDH兔源抗体, ATP5F1兔源抗体(Abbkine公司, 批号分别为ABP50733, ABP53147, ABP55527); 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)鼠源抗体(武汉三鹰生物技术有限公司, 批号60004-1-LG)。

1.3 仪器 自制睡眠剥夺箱, LDZX-50KBS型立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械有限公司); HT7800型透射电子显微镜(日本Hitachi公司); 1580R型多用途高速冷冻离心机(中国GENE有限公司); BV-2型垂直电泳仪, BT-2型转印电泳仪(武汉赛维尔生物科技有限公司); UA-1800型紫外分光光度计(上海翱艺仪器有限公司); Epoch型酶标仪(美国BioTek有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组及给药 将50只雄性Wistar大鼠, 随机分为5组, 分别为正常组、模型组、舒乐安定组、酸枣仁汤高、低剂量组, 每组10只, 除正常组外, 其余各组均皮下注射D-半乳糖, 各组大鼠按 $0.125 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 剂量给药, 给药容量均为 $5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每日1次, 连续40 d, 于末次给药结束后进行多平台水环境慢性睡眠剥夺, 每天剥夺18 h, 连续剥夺21 d^[8-11]。造模结束后, 根据人和大鼠按体表面积折算的等效剂量, 舒乐安定组大鼠按 $0.18 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 剂量给药, 酸枣仁汤高、低剂量组分别按等效剂量

的2, 1倍换算为 $12.96, 6.48 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 给药, 给药容量均为 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每日1次, 连续7 d, 正常组、模型组给予等体积的生理盐水。

2.2 透射电镜观察大鼠肝脏超微结构 将大鼠肝脏取出后立即投入装有电镜固定液的培养皿内, 用手术刀在培养皿的固定液中进行切割成 1 mm^3 的小组织块。再将切割好的小组织块转移至装有新的电镜固定液的EP管内继续固定, 固定的肝脏分别经磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗30 min, 1%四氧化锇固定2 h, 依次用梯度乙醇脱水处理, 环氧树脂浸透, 包埋, 超薄切片(70 nm)铀染、铅染处理, 透射电镜下观察并拍照。

2.3 比色法检测大鼠肝脏ATP含量的变化 将大鼠麻醉后, 取出肝脏, 置于超低温冰箱 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。取肝脏组织100 mg剪碎放入2 mL离心管中(或经多次清洗的试管), 加入9倍体积双蒸水, 机械匀浆, 制备成10%的匀浆液, 插在浮漂上放入沸水中水浴10 min, 取出后在涡旋混匀1 min, $1 \text{ 万} \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min(离心半径10 cm, 下同), 取上清, 按照比色法ATP试剂盒说明书进行操作。

2.4 比色法检测大鼠肝脏线粒体呼吸链复合物I~IV活性 取肝脏组织在 $0 \sim 4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置10 min, 后将其移至预冷的匀浆缓冲液中剪碎, 组织-缓冲液1:10, 机械匀浆制备匀浆液, $2 \text{ 000} \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min, 收集上清, 重复 $2 \text{ 000} \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min后, 再次收集上清; 再 $12 \text{ 000} \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15 min, 弃上清, 收集沉淀, 用匀浆缓冲液将沉淀悬浮, 重复 $12 \text{ 000} \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15 min后, 收集沉淀即得线粒体^[12-13]。之后按照试剂盒说明书进行测定。

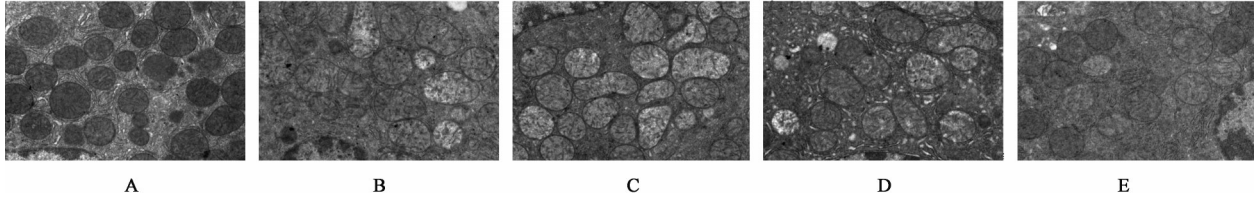
2.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠肝脏CS, IDH, ATP5F1蛋白的表达水平 取肝脏组织, 采用RIPA裂解液于冰上提取蛋白, $12 \text{ 000} \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15 min, 取上清。按照SDS-PAGE试剂盒制备10% SDS-PAGE凝胶, 上样, 电泳, 转PVDF膜; 室温下转至含5%脱脂牛奶封闭1 h, TBST洗膜3次; 加入一抗CS, IDH, ATP5F1(1:1 000) $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; TBST洗膜3次, 加入二抗(1:5 000)室温孵育1 h; TBST洗膜3次, 滴加发光液, 置成像仪下使条带可视化, 应用Image Pro Plus软件读取各条带灰度值。

2.6 统计学处理 采用SPSS 22.0统计软件进行统计学处理, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较用单因素方差分析进行检验, 方差齐性时, 组间比较采用最小显著性差异法(LSD)法, 方差不齐时, 组间比较采用Tamhane's T2法, $P < 0.05$ 为差异有统计意义。

3 结果

3.1 对老年慢性睡眠剥夺大鼠肝脏超微结构的影响 透射电子显微镜下可见,正常组大鼠肝脏内线粒体形态规则,大小适中,多呈圆形或椭圆形,排列较整齐,模型组大鼠肝脏内线粒体出现异常,线粒

体发生肿胀、变形,嵴断裂并且数量有一定的减少,与模型组比较,舒乐安定组、酸枣仁汤低、高剂量组大鼠肝脏超微结构线粒体损伤减轻,肿胀、变形情况减少,嵴断裂减少。其中酸枣仁汤高剂量组改善较明显。见图1。



A. 正常组;B. 模型组;C. 舒乐安定组;D. 酸枣仁汤低剂量组;E. 酸枣仁汤高剂量组(图2同)

图1 酸枣仁汤对老年慢性睡眠剥夺大鼠肝脏超微结构的影响(电镜扫描,×5 000)

Fig. 1 Effect of Suanzaoren Tang on liver ultrastructure of rats in chronic sleep deprivation of older adults (CSDO)(SEM, ×5 000)

3.2 对老年慢性睡眠剥夺大鼠肝脏 ATP 含量的影响 与正常组比较,模型组大鼠肝脏 ATP 含量显著降低($P<0.01$);与模型组比较,舒乐安定组、酸枣仁汤高剂量组大鼠肝脏 ATP 含量明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。见表1。

表1 酸枣仁汤对老年慢性睡眠剥夺大鼠肝脏 ATP 含量的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 1 Effect of Suanzaoren Tang on ATP content in liver of rats in CSDO ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ATP/mmol·kg ⁻¹
正常		1.21±0.26
模型		0.63±0.09 ²⁾
舒乐安定	1.8×10 ⁻⁴	0.87±0.14 ³⁾
酸枣仁汤	6.48	0.81±0.15
	12.96	1.18±0.18 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与模型组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表2,3同)。

3.3 对老年慢性睡眠剥夺大鼠肝脏线粒体呼吸链复合物 I~IV 活性的影响 与正常组比较,模型组大鼠肝脏线粒体呼吸链复合物 I, II, III, IV 活性均显著降低($P<0.01$);与模型组比较,舒乐安定组、酸枣仁汤低剂量组大鼠肝脏线粒体呼吸链复合物 I, III 活性明显升高($P<0.05$, $P<0.01$),酸枣仁汤高剂量组大鼠肝脏线粒体呼吸链复合物 I, II, III, IV 活性

均明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。见表2。

表2 酸枣仁汤对老年慢性睡眠剥夺大鼠肝脏线粒体呼吸链复合物活性影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 2 Effect of Suanzaoren Tang on activity of mitochondrial respiratory chain complex in liver of rats in CSDO ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	$\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$			
		复合物 I	复合物 II	复合物 III	复合物 IV
正常		0.828±0.079	0.169±0.021	0.070±0.007	0.162±0.072
模型		0.515±0.098 ²⁾	0.092±0.014 ²⁾	0.038±0.004 ²⁾	0.093±0.013 ²⁾
舒乐安定	1.8×10 ⁻⁴	0.671±0.068 ⁴⁾	0.107±0.049	0.060±0.007 ⁴⁾	0.128±0.021
酸枣仁汤	6.48	0.650±0.082 ⁴⁾	0.094±0.014	0.046±0.007 ³⁾	0.104±0.012
	12.96	0.819±0.063 ⁴⁾	0.140±0.023 ⁴⁾	0.065±0.004 ⁴⁾	0.155±0.028 ³⁾

3.4 对老年慢性睡眠剥夺模型大鼠肝脏 CS, IDH, ATP5F1 蛋白的表达水平 与正常组比较,模型组大鼠肝脏 IDH, CS, ATP5F1 蛋白表达均显著降低($P<0.01$);与模型组比较,酸枣仁汤高剂量组大鼠肝脏 IDH, CS, ATP5F1 蛋白表达均显著升高($P<0.01$),舒乐安定组大鼠肝脏 CS, ATP5F1 蛋白表达均显著升高($P<0.01$),酸枣仁汤低剂量组大鼠肝脏 ATP5F1 蛋白表达明显升高($P<0.05$)。见

表3,图2。

4 讨论

线粒体呼吸链也称电子传递链,是生物体将还原型辅酶 I (NADH)+氢离子(H⁺)和还原型黄素二核苷酸(FADH₂)彻底氧化生成水和 ATP 的过程。有研究表明,95%的 ATP 由线粒体电子传递链上的氧化磷酸化反应产生,线粒体电子传递链是位于线粒体内膜的一个酶系,由线粒体呼吸链复合物 I, II,

表3 酸枣仁汤对老年慢性睡眠剥夺大鼠肝脏CS, IDH, ATP5F1蛋白的表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Effect of Suanzaoren Tang on expression of CS, IDH and ATP5F1 protein in liver of rats in CSDO ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	IDH/GAPDH	CS/GAPDH	ATP5F1/GAPDH
正常		1.69±0.22	1.85±0.08	1.88±0.18
模型		0.82±0.22 ²⁾	0.81±0.30 ²⁾	0.34±0.10 ²⁾
舒乐安定	1.8×10 ⁻⁴	1.09±0.14	1.39±0.11 ⁴⁾	1.24±0.12 ⁴⁾
酸枣仁汤	6.48	0.84±0.13	0.94±0.11	0.72±0.27 ³⁾
	12.96	1.33±0.14 ⁴⁾	1.54±0.03 ⁴⁾	1.49±0.10 ⁴⁾

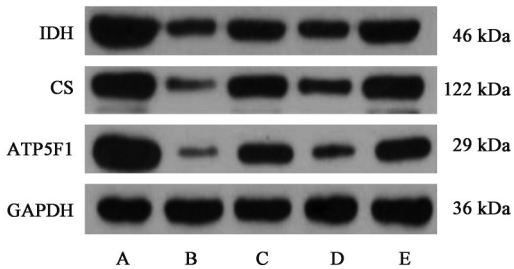


图2 各组大鼠肝脏CS, IDH, ATP5F1蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of CS, IDH and ATP5F1 protein expression in liver of rats in each group

Ⅲ, Ⅳ, Ⅴ组成, 其中复合物Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ是重要组成部分, 其活性可以直接或间接反应线粒体功能^[14-17]。另外, 线粒体中还存在着三羧酸循环, 该途径在需氧生物体内普遍存在, 是生物机体获取能量的主要方式, 也是糖类、脂类、氨基酸的最终代谢通路^[18-19]。在三羧酸循环酶体系中, CS扮演着极其重要的角色, 其是三羧酸循环中首个关键限速酶, 受生成物反馈调节抑制, 也是唯一能合成柠檬酸的催化酶。IDH是三羧酸循环中第2个限速酶, 是具有重要脱羧作用的氧化还原酶, 可以催化异柠檬酸氧化脱羧产生α-酮戊二酸, 在肝脏、肾脏等组织中广泛分布^[20-21]。因此, 三羧酸循环受到CS, IDH酶活力高低的调节。ATP5F1是负责编码ATP合成酶F0亚基的一段核基因, 其b亚基连接F1和F02部分, 主要作用是传导H⁺跨膜释放的能量, 研究表明, ATP5F1在序列和表达上的变化都直接或间接影响了线粒体和ATP酶功能^[22-23]。

本实验发现, 老年慢性睡眠剥夺模型大鼠肝脏线粒体出现损伤, 线粒体发生肿胀、变形, 嵴断裂并且数量有一定的减少, 同时线粒体呼吸链复合物Ⅰ~Ⅳ活性显著降低, 这说明呼吸链受到了影响, 同时CS, IDH蛋白表达降低也说明了线粒体内三羧酸循环速率减慢, ATP5F1蛋白表达降低, 提示传导H⁺跨膜释放能量发生障碍, 而这些最终导致了模型组大鼠肝脏ATP含量显著下降, 在给予酸枣仁汤干预后, 上述情况有所改善, 与模型组比较, 酸枣仁汤高

剂量组大鼠肝脏ATP含量显著增加, 这说明酸枣仁汤改善了老年慢性睡眠剥夺模型大鼠肝脏能量代谢异常。推测这主要与酸枣仁汤中的酸枣仁和川芎有关, 该方重用酸枣仁为君, 以其甘酸质润, 入心、肝之经, 佐以川芎之辛散, 调肝血而疏肝气, 与酸枣仁相伍, 辛散与酸收并用, 补血与行血结合, 具有养血调肝之妙。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 马文静, 冯蓓蕾, 延梦圆. 睡眠剥夺与认知障碍研究进展[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2020, 27(5): 403-406.

[2] 李鹏翔, 胡爽, 张榕, 等. 睡眠剥夺小鼠肝脏代谢稳态变化的代谢组学分析[J]. 现代预防医学, 2020, 47(4): 702-706.

[3] 陈娇凤, 黄剑浩, 叶颖颖, 等. 推针治疗老年慢性失眠26例[J]. 中国针灸, 2021, 41(2): 153-154.

[4] 黄晓宇, 谢光璟, 李浩, 等. 天王补心丹加减通过orexin A/OX1R对慢性睡眠剥夺小鼠糖脂代谢的干预作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(1): 121-127.

[5] 高文康, 舒艳芸, 叶进, 等. 生物节律与肝脏能量代谢[J]. 世界华人消化杂志, 2020, 28(20): 1025-1035.

[6] 龙清华, 赵宾宾, 丁莉, 等. 基于PI3K/AKT/GSK-3β信号通路探讨酸枣仁汤对APP/PS1双转基因痴呆小鼠海马神经元突触损伤的改善作用[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(5): 2546-2551.

[7] 刘莹, 管彤, 梁昊都, 等. 酸枣仁改善睡眠药理作用及其机制研究[J]. 中医药信息, 2021, 38(3): 82-86.

[8] 张如意. 酸枣仁汤对基于5HTR调控老年失眠SCN及VLPO系统的作用及机制研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2017.

[9] 张如意, 游秋云, 王平, 等. 酸枣仁汤对慢性睡眠剥夺老年失眠大鼠心肌细胞凋亡及相关蛋白Bcl2、Bax表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(4): 1691-1693.

[10] 赵凡凡, 周玉枝, 高丽, 等. D-半乳糖致衰老大鼠模型

- 的研究进展[J]. 药学报, 2017, 52(3): 347-354.
- [11] 徐智, 吴国明, 钱桂生, 等. 大鼠衰老模型的初步建立[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(4): 312-315.
- [12] 李洁. 急性运动对大鼠肝脏线粒体呼吸链酶复合物的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2008, 27(3): 363-365.
- [13] 翟艺宗, 黄昌林, 常祺, 等. 脉冲电流经皮刺激肝区对运动性疲劳大鼠肝脏线粒体呼吸链酶复合物活性的影响[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(17): 3236-3239.
- [14] 陈宁, 宋囡, 贾连群, 等. 化痰祛痰方对AS家兔肝脏线粒体呼吸链酶复合物的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(7): 171-176.
- [15] 程岩岩, 刘路, 贾连群, 等. 健脾化痰祛痰方对AS巴马小型猪心肌细胞线粒体呼吸链复合物和ATP活性的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(11): 2438-2441.
- [16] 何清湖, 宾东华, 周青, 等. 知柏地黄汤对解脲脲原体感染模型大鼠精子线粒体呼吸链复合物的影响[J]. 中华男科学杂志, 2016, 22(11): 1005-1010.
- [17] MUSTER B, KOHL W, WITTIG I, et al. Respiratory chain complexes in dynamic mitochondria display a patchy distribution in life cells[J]. PLoS One, 2010, 5(7): 11910-11919.
- [18] 杨旭, 王琦越, 刘渊, 等. 从“脾主化”角度探讨湿阻中焦证大鼠线粒体能量代谢路径的影响及平胃散的干预作用[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(6): 1305-1308.
- [19] 姚风云, 彭淑红, 左铮云, 等. 桂枝甘草汤对低温环境大鼠心肌PGC1 α 、CS、 α -KGDHC含量的影响[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(2): 263-264.
- [20] 屈小虎, 黄玲, 陈慧, 等. 脾气虚证和脾不统血证模型大鼠脾主肌肉实质的探讨[J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(2): 217-222.
- [21] 王志丹, 宋囡, 吕美君, 等. 益气健脾化痰祛痰方对脾虚痰浊动脉粥样硬化巴马小型猪肝脏线粒体能量代谢的影响[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(9): 4107-4110.
- [22] RODGERS A J, WILKENS S, AGGELER R, et al. The subunit δ sub-unit b domain of the Escherichia coli F1 FoATPase. The b subunits interact with F1 as a dimer and through the δ subunit[J]. J Biol Chem, 1997, doi:10.1074/jbc.272.49.31058.
- [23] 张吉斌, 刘月平, 方美英. 线粒体ATP合酶基因组成及生化机制研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2010, 46(7): 64-68.

[责任编辑 周冰冰]