

加味柴胡疏肝散及其拆方对心肌缺血合并抑郁症大鼠 ACE2-Ang(I -VII)-MasR轴的影响

黄子娟¹, 李晓红^{1,2}, 王茜¹, 蒋春建¹, 吴戈¹, 陆雅席¹, 杨苹¹,
王呈祥^{1,2}, 杨力强^{1,2*}, 孔鹏云^{1,2*}

(1. 广西中医药大学, 南宁 530200; 2. 广西中医药大学广西中医基础研究重点实验室, 南宁 530200)

[摘要] 目的:通过观察加味柴胡疏肝散及其拆方对高脂状态心肌缺血合并抑郁症大鼠血管紧张素转化酶2(ACE2)-血管紧张素(I -VII)[Ang(I -VII)]-线粒体组装受体(MasR)轴的影响,探讨其防治心肌缺血合并抑郁症的可能作用机制。方法:108只雄性SD大鼠随机分为正常组,模型组,加味柴胡疏肝散组(11.7 g·kg⁻¹),拆方祛瘀化痰组(4.05 g·kg⁻¹),拆方疏肝行气组(3.15 g·kg⁻¹),拆方健脾养血组(4.5 g·kg⁻¹),氟西汀组(0.001 8 g·kg⁻¹),曲美他嗪组(0.005 4 g·kg⁻¹),辛伐他汀组(0.001 8 g·kg⁻¹),每组12只。除正常组外,模型组及各药物组皆采用高脂饮食联合注射异丙肾上腺素(ISO)及慢性不可预见性温和应激(CUMS)方式建立高脂状态的心肌缺血合并抑郁症大鼠模型,造模共8周。造模的第1天至结束各药物组大鼠予相应剂量的药物灌胃,正常组和模型组灌服等量生理盐水。造模结束后旷场实验、强迫游泳实验观察各组大鼠行为学变化;心脏超声测量左室缩短分数(LVFS),左室射血分数(LVEF)观察大鼠心功能变化;酶标仪检测大鼠血清中总胆固醇(TC),甘油三酯(TG),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量;苏木素-伊红(HE)染色观察大鼠心脏组织形态学变化;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测大鼠血清血管紧张素Ⅱ(AngⅡ),ACE2,Ang(I -VII)含量;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR),蛋白免疫印迹法(Western blot)检测海马、心脏组织ACE2,MasR mRNA及蛋白表达。结果:与正常组比较,模型组大鼠旷场实验中心区域运动时间和距离及平均速度显著降低($P<0.01$),强迫游泳实验不动时间显著增加($P<0.01$),LVFS,LVEF显著降低($P<0.01$),心脏组织炎性渗出及纤维排序紊乱,血清TC,LDL-C,AngⅡ,ACE2,Ang(I -VII)水平显著升高,HDL-C水平显著降低($P<0.01$),海马与心脏ACE2,海马MasR基因及蛋白表达降低,心脏MasR mRNA及蛋白表达显著升高($P<0.01$);与模型组比较,加味柴胡疏肝散组旷场实验中心区域运动时间和距离及平均速度较模型组显著增加($P<0.01$),强迫游泳实验不动时间显著降低($P<0.01$),LVFS,LVEF显著升高($P<0.01$),心脏损伤减少,血清TC,LDL-C,AngⅡ,ACE2,Ang(I -VII)水平显著降低,HDL-C水平显著升高($P<0.01$),海马与心脏ACE2,海马MasR基因及蛋白表达明显升高,心脏MasR基因及蛋白表达显著降低($P<0.01$);各拆方组一定程度上改善上述指标($P<0.05$, $P<0.01$),但全方组效果最佳。结论:加味柴胡疏肝散及其拆方具有抗抑郁、改善心肌损伤、降血脂作用,方中祛瘀化痰药、疏肝行气药、健脾养血药存在协同作用,使全方效果优于各拆方药物,其机制可能与激活ACE2-Ang(I -VII)-MasR轴有关。

[关键词] 高脂状态; 心肌缺血; 抑郁症; 加味柴胡疏肝散; 拆方; 血管紧张素转化酶2(ACE2)-血管紧张素(I -VII)[Ang(I -VII)]-线粒体组装受体(MasR)

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289;R33 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2022)04-0058-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220404

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20211210.2159.004.html>

[网络出版日期] 2021-12-13 16:53

Effect of Modified Chaihu Shugansan and Its Disassembled Formulas on ACE2-Ang(I -VII)-MasR Axis in Rats with Myocardial Ischemia and Depression

[收稿日期] 20210925(014)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81560748,82060835);广西自然科学基金项目(2018GXNSFAA050079);广西中医基础研究重点实验室项目(19-245-14-06,19-050-45-07);中医学广西一流学科项目(桂教科研[2018]12号);广西中医药大学非一流学科建设课题(2018XK018,2019XK054)

[第一作者] 黄子娟,硕士,从事方剂配伍规律文献、临床及作用机制研究,E-mail:740161944@qq.com

[通信作者] *杨力强,博士,教授,博士生导师,从事方剂配伍规律及心血管疾病的中医药防治研究,Tel:0771-4733794,E-mail:ylq6606@163.com;

*孔鹏云,硕士,讲师,从事方剂配伍规律及心血管疾病的中医药防治研究,Tel:0771-4733794,E-mail:258426006@qq.com

HUANG Zi-juan¹, LI Xiao-hong^{1,2}, WANG Qian¹, JIANG Chun-jian¹, WU Ge¹, LU Ya-xi¹, YANG Ping¹,
WANG Cheng-xiang^{1,2}, YANG Li-qiang^{1,2*}, KONG Peng-yun^{1,2*}

(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China;

2. Guangxi Key Laboratory of Chinese Medicine Foundation Research,
Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of modified Chaihu Shugansan (CHSG) and its disassembled formulas on angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)-angiotensin (I - VII) [Ang (I - VII)]-mitochondrial assembly receptor (MasR) axis in hyperlipidemic rats with myocardial ischemia and depression, and to explore the underlying mechanism of its prevention and treatment of myocardial ischemia and depression. **Method:** A total of 108 male SD rats were randomly divided into a normal group, a model group, a modified CHSG group (11.7 g·kg⁻¹), a Quyu Huatan disassembled formula group (4.05 g·kg⁻¹), a Shugan Xingqi disassembled formula group (3.15 g·kg⁻¹), a Jianpi Yangxue disassembled formula group (4.5 g·kg⁻¹), a fluoxetine group (0.001 8 g·kg⁻¹), a trimetazidine group (0.005 4 g·kg⁻¹), and a simvastatin group (0.001 8 g·kg⁻¹), with 12 rats in each group. The hyperlipidemia model with myocardial ischemia and depression was induced with a high-fat diet combined with injection of isoproterenol (ISO) and chronic unpredictable mild stress (CUMS) in rats in the model group and groups with drug intervention for eight weeks. The rats in each group with drug intervention were treated correspondingly by gavage from the first day of modeling, while those in the normal group and the model group received the same amount of normal saline. The behavioral changes of rats in each group were observed by open field test and forced swimming test. Left ventricular fractional shortening (LVFS) and left ventricular ejection fraction (LVEF) were measured by echocardiography. The serum levels of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were detected by the enzyme-labeled apparatus. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the histomorphological changes of the heart. The serum levels of angiotensin II (Ang II), ACE2, and Ang (I - VII) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The protein and mRNA expression of ACE2 and MasR in the hippocampus and the heart was detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) and Western blot. **Result:** Compared with the normal group, the model group showed reduced movement time, distance, and average speed in the central area of the open field ($P<0.01$), prolonged immobility time of rats in the forced swimming test ($P<0.01$), decreased LVFS and LVEF ($P<0.01$), inflammatory exudation and disorderly arranged fiber in heart tissues, elevated serum levels of TC, LDL-C, Ang II, ACE2 and Ang (I - VII), diminished HDL-C ($P<0.01$), dwindled mRNA and protein expression of ACE2 in the hippocampus and the heart and MasR in the hippocampus, and up-regulated mRNA and protein expression of MasR in the heart ($P<0.01$). Compared with the model group, the modified CHSG group displayed increased movement time, distance, and average speed in the center area of the open field ($P<0.01$), shortened immobility time in the forced swimming test ($P<0.01$), increased LVFS and LVEF ($P<0.01$), relieved heart injury, reduced serum levels of TC, LDL-C, Ang II, ACE2, and Ang (I - VII), elevated level of HDL-C ($P<0.01$), up-regulated mRNA and protein expression of ACE2 in the hippocampus and the heart and MasR in the hippocampus, and down-regulated mRNA and protein expression of MasR in the heart ($P<0.01$). Each disassembled formula could improve the above indexes to a certain extent ($P<0.05$, $P<0.01$), but the effect of the whole formula was optimal. **Conclusion:** The modified CHSG and its disassembled formulas have the effects of resisting depression, improving myocardial injury, and reducing blood lipid. Due to the synergistic effects of stasis-resolving/phlegm-eliminating drugs, liver-smoothing/Qi-moving drugs, and spleen-tonifying/blood-nourishing drugs in the formula, the modified CHSG is superior to each disassembled formula in efficacy. Its mechanism

may be related to the activation of the ACE2-Ang (I -VII)-MasR axis.

[Keywords] hyperlipidemia; myocardial ischemia; depression; modified Chaihu Shugansan; disassembled formula; angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)-angiotensin (I -VII) [Ang (I -VII)]-MasR axis

冠心病系指因为冠状动脉粥样硬化导致血管腔阻塞或狭窄,或因冠状动脉功能性改变导致心肌缺血或坏死而引起的一类心脏疾病,统称冠状动脉粥样硬化性心脏病(CHD),简称冠心病。抑郁症是一种常见的精神障碍类疾病,主要表现为情绪低落、记忆障碍、幸福感缺失等,具有患病率高、复发率高、自杀率高的特点^[1]。国内外研究表明冠心病患者中抑郁的发生率高达40%左右,难治性抑郁症最近已成为冠心病患者发病率和死亡率增加的标志,冠心病合并抑郁症者死亡率增加4.1倍^[2-4]。心肌缺血作为冠心病的一种病理状态,有报道称20%~70%的冠心病患者在精神压力刺激下会诱发心肌缺血^[5]。海马体是调节情绪及记忆的关键脑区,由于海马富含高水平的糖皮质激素受体并调节HPA轴,使其容易受到压力和抑郁的影响^[6],海马是抑郁症研究中最常研究的大脑区域之一。临床研究表明中药复方在冠心病合并抑郁症的治疗中广泛应用,疗效得到广大患者的肯定。课题组前期的临床实践表明加味柴胡疏肝散对防治冠心病合并抑郁症患者具有良好疗效^[7],但具体作用机制尚不明确。

冠心病合并抑郁症属于复杂性状疾病,其复杂的病理机制目前仍处于研究阶段,采用多因素复合动物模型能较全面地模拟其复杂的病理机制多方面改变。高血脂症为冠心病的主要诱因之一^[8],慢性不可预见性温和应激(CUMS)在抑郁症实验研究中广泛应用,注射异丙肾上腺素使体内出现自由基产生与聚集从而诱发心肌缺血,是构建心肌缺血损伤模型常用的方法^[9]。近年来冠心病合并抑郁症大鼠模型的制作主要采用注射异丙肾上腺素(ISO)结合CUMS^[10-11]或结扎大鼠左冠状动脉前降支结合CUMS再复合高血脂症^[12]等方法。本实验采用高脂饲料喂养联合注射ISO与CUMS制作高血脂状态心肌缺血合并抑郁症大鼠模型,观察了加味柴胡疏肝散及其拆方对模型大鼠行为学、心脏功能、心肌组织病理变化、血脂及血管紧张素转化酶2(ACE2)-血管紧张素(I -VII) [Ang(I -VII)]-线粒体组装受体(MasR)轴的影响,以期探讨加味柴胡疏肝散防治冠心病合并抑郁症的作用机制及观察方中祛瘀化痰、疏肝行气、健脾养血三类药物对高血脂

状态心肌缺血合并抑郁症模型大鼠的恢复是否存在协同作用。

1 材料

1.1 动物 SPF级雄性SD大鼠108只,体质量(220±20)g,购于湖南斯莱克景达实验有限公司[合格证号SCXK(湘)2019-0004],饲养于广西中医药大学动物实验中心,室温(22±2)℃,相对湿度50%~60%,光照明暗各12h(明7:00~19:00,暗19:00~7:00)。适应环境喂养1周后造模。本研究获得广西中医药大学实验动物福利伦理委员会批准(批准号DW20200315-009)。

1.2 药物 加味柴胡疏肝散组(柴胡15g,白芍15g,枳壳10g,香附10g,川芎10g,陈皮10g,丹参15g,白术15g,茯苓10g,全瓜蒌10g,甘草10g);祛瘀化痰组(川芎10g,丹参15g,全瓜蒌10g,陈皮10g);疏肝行气组(柴胡15g,香附10g,枳壳10g);健脾养血组(白芍15g,白术15g,茯苓10g,甘草10g)。中药饮片购自广西中医药大学第一附属医院仁爱分院,经广西中医药大学药学院滕建北教授鉴定药品质量合格。以上药材煎煮熬成汤药、滤渣,分别制成含生药量为1.17, 0.405, 0.315, 0.45 g·mL⁻¹溶液。氟西汀(成人用量20 mg·d⁻¹,苏州中化药品互业有限公司,批号H20064844);辛伐他汀(成人用量20 mg·d⁻¹,四川海蓉药业有限公司,批号H20000635);曲美他嗪(成人用量54 mg·d⁻¹,北京嘉林药业股份有限公司,批号H20080433)。

1.3 试剂 大鼠总胆固醇(TC),甘油三酯(TG),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)测试盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为20191224, 20191223, 20191223, 20191224);大鼠Ang II, ACE2, Ang(I -VII)酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(武汉贝茵莱生物科技有限公司,批号均为202012);苏木素染色液(上海阿拉丁化学试剂有限公司,批号C1727005);伊红染色液(上海三爱思试剂有限公司,批号20060306);TRIzol试剂盒(美国Ambion公司,批号50196215);逆转录试剂盒(日本Takara公司,批号AKF1909A);SYBR FAST实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR) Master Mix(美国KAPA Biosystems公司,批号0000118717);ACE2, MasR, 甘油醛-3-磷酸脱氢酶

(GAPDH)抗体,羊抗兔二抗(武汉贝茵莱生物科技有限公司,批号分别为20201210,20201125,20201215,20201015);BCA蛋白浓度测定试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号120720210514)。

1.4 仪器 ANY-MAZE型行为学分析系统(美国Stoelting公司,版本号4.99 m);AMR-100型酶标分析仪(杭州奥盛仪器有限公司);CFX-Connect 96型Real-time PCR仪,mini protean 3 cell型电泳仪,Criterion Blotter型湿式转印槽(美国Bio-Rad公司);Tanon-5200型全自动化学发光分析仪(上海天能科技有限公司)。

2 方法

2.1 分组及给药 SPF级健康雄性SD大鼠108只,按照随机数字表分为9组,每组12只,分别为正常组、模型组、全方组(加味柴胡疏肝散组)、拆方组(祛瘀化痰组、疏肝行气组、健脾养血组)、西药阳性组(氟西汀组、曲美他嗪组、辛伐他汀组)。各药物干预组自造模第1天开始连续灌服相应药物溶液,连续8周,按临床成人(体质量70 kg)的每日用药量,根据体表面积换算法,计算大鼠的用药量(换算公式)=成人剂量 $\times 6.3/70 \text{ kg}^{[13]}$ 。全方组灌胃量为 $11.7 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,祛瘀化痰组为 $4.05 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,疏肝行气组为 $3.15 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,健脾养血组为 $4.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,曲美他嗪组 $0.005 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,氟西汀组 $0.0018 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,辛伐他汀组 $0.0018 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,正常组和模型组大鼠等体积的生理盐水灌胃,灌胃容积为 $10 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体质量,每日1次,造模期间根据大鼠体质量调整给药量。

2.2 造模方法 正常组大鼠普食饲养,不予处理;模型组、药物组大鼠皆采用高脂饮食+ISO+CUMS复合方法建立高脂状态心肌缺血合并抑郁症大鼠模型:造模第1天开始给予高脂饲料喂养(3%胆固醇,10%猪油,0.2%丙基硫氧嘧啶,0.5%胆酸钠,5%白糖,81.3%基础饲料);同时接受CUMS的各种应激方法:包括行为限制3 h,热烘(45℃,5 min),潮湿垫料过夜,45℃笼具倾斜过夜,鼠笼摇晃(5 min),昼夜颠倒,冰水游泳(4℃,5 min),噪音(85 dB,12 h),造模期间每天应用1种应激方式,同一刺激不连续出现,使动物无法预知会发生何种刺激。于造模第6周开始每日腹腔注射ISO注射液 $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,连续21 d。造模共8周。

2.3 行为学测试

2.3.1 旷场实验 造模结束后进行旷场实验。在黑色的旷场实验测试箱内进行,电脑动物行为学软

件将测试箱平均分为25个方格,中间九个方格为中心区域位置,利用其进行计时、录像与记录,观察测试大鼠5 min内在箱中的行为活动。本实验观察以下指标:中央区域运动时间、中央区域运动距离、平均速度。

2.3.2 强迫游泳实验 将测试大鼠放入高56 cm,宽20 cm,水深35 cm的透明玻璃圆桶内,记录5 min各组大鼠在桶内的不动(大鼠游浮在水面中上层,以四肢不活动或者无大幅度的身体动作为标准)时间。

2.4 心脏超声 将大鼠麻醉后左倾30°仰卧位固定,在大鼠前胸壁剃毛后涂抹耦合剂,通过高分辨小动物超声系统机进行检查,测定大鼠左室缩短分数(LVFS),左室射血分数(LVEF)。

2.5 苏木素-伊红(HE)染色观察心肌组织病理变化 取血后迅速取出大鼠心脏,使用4℃生理盐水将心脏清洗干净、滤纸吸干后,置于4%多聚甲醛固定液中固定,梯度乙醇脱水、石蜡包埋。用于HE染色观察心肌组织病理改变。

2.6 血清血脂,Ang II,Ang(I-VII),ACE2含量检测 腹主动脉取血,离心机离心后取上清液,酶标仪检测血清TC,TG,LDL-C,HDL-C含量,ELISA检测血清Ang II,Ang(I-VII),ACE2含量,具体操作严格按照说明书进行。

2.7 Real-time PCR检测海马、心脏ACE2, MasR mRNA表达 使用TRIzol法提取心肌和海马的总RNA,检测其纯度和浓度,将RNA反转录合成cDNA后扩增,扩增采用20 μL反应体系,扩增条件为95℃3 min预变性,然后95℃变性5 s,56℃退火10 s,72℃延伸25 s,共40个循环,循环结束后温度降至65℃,然后以0.5℃,5 s的速度逐渐上升至95℃进行收集溶解曲线。以GAPDH为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算心、海马ACE2, MasR mRNA的相对表达量。引物由武汉天一华煜基因科技有限公司合成,引物序列见表1。

2.8 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测海马、心脏组织ACE2, MasR蛋白表达 将海马、心脏组织剪碎,按每20 mg组织加入含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的裂解液200 μL,样品裂解后,4℃条件下 $12\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,取上清,BCA比色法进行蛋白质定量。制备12%的分离胶配制进行电泳,将蛋白定量后的蛋白转移至PVDF膜上,膜在室温用5%脱脂奶粉封闭1 h,封闭完后加入一抗,一抗ACE2, MasR的稀释比例分别为1:600,1:1 000,内

表1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物	序列	长度/bp
MasR	上游 5'-TCCACCATCAATAGCAGCG-3'	222
	下游 5'-AAGCCACCCACATTCAGGC-3'	
ACE2	上游 5'-TTGCTGTTGCTACTGC-3'	161
	下游 5'-AGCCTCGTTCATCTTT-3'	
GAPDH	上游 5'-CAAGTTCAACGGCACAG-3'	138
	下游 5'-CCAGTAGACTCCACGACAT-3'	

参 GAPDH 的稀释度为 1:1 000, 4 °C 孵育一抗过夜。PBST 洗膜 3 次后, 与二抗室温孵育 1 h, 二抗稀释比例为 1:2 万, PBST 洗涤 3 遍, 使用 ECL 化学发光检测, 分析其灰度值。

2.9 统计学方法 本实验数据采用 SPSS 20.0 软件进行统计, 各组实验数据通过正态性分布、方差齐性检验后, 符合正态分布且方差齐的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较用 One-way ANOVA, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表2 加味柴胡疏肝散及其拆方对心肌缺血合并抑郁症大鼠行为学的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 2 Effect of modified Chaihu Shugansan and its disassembled formula on behavior of rats with myocardial ischemia and depression ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	旷场实验			强迫游泳实验
		中央区域运动时间/s	中央区域运动距离/m	平均速度/cm·s ⁻¹	强迫游泳不动时间/s
正常		21.5±3.59	3.96±0.74	9.09±0.92	33.71±5.26
模型		4.55±2.34 ²⁾	1.32±0.41 ²⁾	6.37±1.18 ²⁾	71.80±8.58 ²⁾
全方	11.7	20.28±3.58 ⁴⁾	3.62±0.93 ⁴⁾	8.62±1.39 ⁴⁾	38.33±4.15 ⁴⁾
祛瘀化痰	4.05	9.11±5.13 ^{4,6)}	2.05±0.76 ^{3,6)}	7.58±1.20 ^{3,5)}	67.02±5.90 ⁶⁾
疏肝行气	3.15	16.96±4.89 ^{4,5)}	2.22±0.54 ^{4,6)}	8.11±1.09 ⁴⁾	36.12±5.29 ⁴⁾
健脾养血	4.5	14.74±2.70 ^{4,6)}	2.65±0.94 ^{4,6)}	7.51±1.59 ^{3,5)}	44.07±7.29 ^{4,5)}
氟西汀	0.001 8	18.63±3.99 ⁴⁾	3.42±0.65 ⁴⁾	7.93±1.12 ⁴⁾	41.56±5.27 ⁴⁾
曲美他嗪	0.005 4	4.64±1.75 ⁶⁾	1.65±0.48 ⁶⁾	6.53±0.83 ⁶⁾	73.68±7.52 ⁶⁾
辛伐他汀	0.001 8	4.96±2.28 ⁶⁾	1.58±0.58 ⁶⁾	6.70±1.23 ⁶⁾	69.93±5.50 ⁶⁾

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⁾ $P < 0.01$; 与全方组比较 ⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$ (表 3~7 同)。

3.2 对心肌缺血合并抑郁症大鼠 LVEF, LVFS 的影响 第 56 天, 与正常组比较, 模型组大鼠 LVFS, LVEF 均明显降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 全方组、各拆方组和阳性药组 LVFS, LVEF 均明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与全方组比较, 各拆方组和阳性药组 LVFS, LVEF 显著降低 ($P < 0.01$)。见表 3。

3.3 对心肌缺血合并抑郁症大鼠心脏组织病理学的影响 正常组心脏结构完好, 清晰可辨, 心肌纤维形态完整, 排列规则, 无炎性细胞渗出。模型组

3 结果

3.1 对心肌缺血合并抑郁症大鼠行为学的影响

第 56 天, 与正常组比较, 模型组大鼠中央区域运动时间及距离、平均速度显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 全方组及各拆方组、氟西汀组大鼠中央区域运动时间及距离、平均速度明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与全方组比较, 祛瘀化痰组、健脾养血组、曲美他嗪组和辛伐他汀组中央区域运动时间及距离、平均速度明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 疏肝行气组中央区域运动时间及距离明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 平均速度无明显差异, 氟西汀组中央区域运动时间及距离、平均速度差异无统计学意义。见表 2。

第 56 天, 与正常组比较, 模型组大鼠不动时间明显升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 全方组及疏肝行气组、健脾养血组、氟西汀组大鼠不动时间明显降低 ($P < 0.01$); 与全方组比较, 祛瘀化痰组、健脾养血组、曲美他嗪组和辛伐他汀组不动时间升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 氟西汀组不动时间差异无统计学意义。见表 2。

大鼠心肌细胞损伤、坏死, 心肌纤维排列无序, 纤维断裂, 伴炎性细胞浸润。全方组和曲美他嗪组可改善心肌受损, 减轻炎性细胞渗出, 心肌细胞排列较模型组规则、有序。各拆方组均有不同程度的炎性渗出及纤维排序紊乱。见图 1。

3.4 对心肌缺血合并抑郁症大鼠血脂的影响

第 56 天, 与正常组比较, 模型组大鼠血清 TC, LDL-C 水平建筑升高 ($P < 0.01$), HDL-C 水平显著下降 ($P < 0.01$), TG 无明显变化; 与模型组比较, 全方组、祛瘀

表3 加味柴胡疏肝散及其拆方对心肌缺血合并抑郁症大鼠LVEF, LVFS的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 3 Effect of modified Chaihu Shugansan and its disassembled formula on LVEF and lvfs in rats with myocardial ischemia and depression ($\bar{x} \pm s, n=12$) %

组别	剂量/g·kg ⁻¹	LVEF	LVFS
正常		86.26±4.16	49.58±4.97
模型		48.32±3.75 ²⁾	19.73±1.92 ²⁾
全方	11.7	78.42±5.73 ⁴⁾	42.09±3.06 ⁴⁾
祛瘀化痰	4.05	71.02±5.72 ^{4,6)}	33.26±5.29 ^{4,6)}
疏肝行气	3.15	58.29±6.68 ^{4,6)}	25.63±4.98 ^{4,6)}
健脾养血	4.5	67.28±6.90 ^{4,6)}	31.96±4.90 ^{4,6)}
氟西汀	0.001 8	55.15±8.85 ^{4,6)}	24.15±5.42 ^{3,6)}
曲美他嗪	0.005 4	65.64±6.14 ^{4,6)}	31.67±5.61 ^{4,6)}
辛伐他汀	0.001 8	59.62±6.75 ^{4,6)}	27.16±4.89 ^{4,6)}

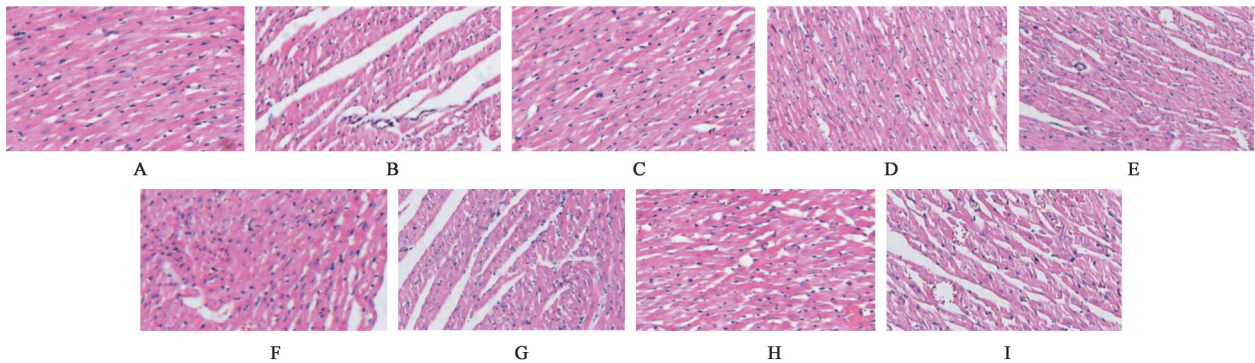
化痰组、辛伐他汀组 TC, LDL-C 水平明显下降, HDL-C 显著上升 ($P<0.01$), 曲美他嗪组 TC, LDL-C 亦显著下降 ($P<0.01$), HDL-C 无显著差异。与全方

组比较, 祛瘀化痰组、辛伐他汀组 TC, TG, LDL-C, HDL 无统计学差异; 疏肝行气组、健脾养血组、氟西汀组 TC, LDL-C 升高 ($P<0.01$), HDL 降低 ($P<0.01$); 曲美他嗪组 LDL-C 升高, HDL 降低 ($P<0.01$); TG 各组差异无统计学意义。见表4。

3.5 对心肌缺血合并抑郁症大鼠血清 Ang II, ACE2, Ang(I -VII)含量的影响 第56天, 与正常组比较, 模型组血清 Ang II, ACE2, Ang(I -VII)水平显著升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 各药物组血清 Ang II, ACE2, Ang(I -VII)含量显著降低 ($P<0.01$)。与全方组比较, 各拆方组血清 Ang II, ACE2, Ang(I -VII)含量高于全方组 ($P<0.05, P<0.01$); 氟西汀组 Ang II 高于全方组 ($P<0.05$); 辛伐他汀组 Ang(I -VII)高于全方组 ($P<0.01$)。见表5。

3.6 对心肌缺血合并抑郁症大鼠海马和心脏组织 ACE2, MasR mRNA 和蛋白表达的影响

3.6.1 对心肌缺血合并抑郁症大鼠海马 ACE2, MasR mRNA 和蛋白表达的影响 第56天, 与正常



A. 正常组; B. 模型组; C. 全方组; D. 祛瘀化痰组; E. 疏肝行气组; F. 健脾养血组; G. 氟西汀组; H. 曲美他嗪组; I. 辛伐他汀组 (图2, 3同)

图1 加味柴胡疏肝散及其拆方对心肌缺血合并抑郁症大鼠心脏组织病理学的影响 (HE, ×200)

Fig. 1 Effect of modified Chaihu Shugansan and its disassembled formula on cardiac histopathology in rats with myocardial ischemia and depression (HE, ×200)

表4 加味柴胡疏肝散及其拆方对心肌缺血合并抑郁症大鼠血脂的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 4 Effect of modified Chaihu Shugansan and its disassembled formula on blood lipid in rats with myocardial ischemia and depression ($\bar{x} \pm s, n=12$) mmol·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TC	TG	LDL-C	HDL-C
正常		5.69±0.46	0.45±0.08	0.33±0.05	1.65±0.11
模型		8.73±0.97 ²⁾	0.43±0.07	0.89±0.10 ²⁾	1.23±0.15 ²⁾
全方	11.7	5.86±0.70 ⁴⁾	0.47±0.06	0.54±0.09 ⁴⁾	1.58±0.08 ⁴⁾
祛瘀化痰	4.05	6.36±0.98 ⁴⁾	0.40±0.07	0.57±0.08 ⁴⁾	1.55±0.11 ⁴⁾
疏肝行气	3.15	8.88±0.98 ⁶⁾	0.40±0.08	0.91±0.06 ⁶⁾	1.42±0.12 ⁴⁾⁶⁾
健脾养血	4.5	8.93±0.72 ⁶⁾	0.42±0.09	0.88±0.09 ⁶⁾	1.45±0.12 ⁴⁾⁶⁾
氟西汀	0.001 8	9.12±0.70 ⁶⁾	0.43±0.08	0.95±0.11 ⁶⁾	1.26±0.11 ⁶⁾
曲美他嗪	0.005 4	6.07±0.89 ⁴⁾	0.37±0.09	0.72±0.08 ⁴⁾⁶⁾	1.32±0.08 ⁶⁾
辛伐他汀	0.001 8	5.94±0.90 ⁴⁾	0.40±0.07	0.61±0.10 ⁴⁾	1.59±0.12 ⁴⁾

表5 加味柴胡疏肝散及其拆方对心肌缺血合并抑郁症大鼠血清Ang II, ACE2, Ang(I -VII)含量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 5 Effect of modified Chaihu Shugansan and its disassembled formula on contents of serum Ang II, ACE2 and Ang(I -VII) in rats with myocardial ischemia and depression ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Ang II /ng·L ⁻¹	ACE2 /μg·L ⁻¹	Ang(I -VII) /ng·L ⁻¹
正常		16.41±4.05	11.17±3.67	22.71±8.38
模型		58.13±10.69 ²⁾	38.52±9.33 ²⁾	83.07±14.85 ²⁾
全方	11.7	21.90±5.52 ⁴⁾	15.88±4.21 ⁴⁾	30.57±7.7 ⁴⁾
祛瘀化痰	4.05	30.52±6.51 ^{4,6)}	21.61±5.24 ^{4,5)}	48.73±7.72 ^{4,6)}
疏肝行气	3.15	31.45±6.92 ^{4,6)}	20.73±4.7 ^{4,5)}	41.88±9.55 ^{4,6)}
健脾养血	4.5	31.67±5.97 ^{4,6)}	20.74±5.4 ^{4,5)}	46.42±9.37 ^{4,6)}
氟西汀	0.001 8	27.97±6.95 ^{4,5)}	19.15±4.28 ⁴⁾	38.77±8.45 ⁴⁾
曲美他嗪	0.005 4	27.53±6.65 ⁴⁾	18.45±5.06 ⁴⁾	38.28±8.53 ⁴⁾
辛伐他汀	0.001 8	26.61±5.85 ⁴⁾	18.96±4.58 ⁴⁾	41.78±9.16 ^{4,6)}

组比较,模型组海马 ACE2, MasR mRNA 和蛋白表达均下降 ($P<0.01$)。与模型组比较,全方组、各拆方组与阳性药组海马 ACE2, MasR mRNA 和蛋白表达均升高 ($P<0.01$)。与全方组比较,各拆方组及曲美他嗪组、辛伐他汀组海马 ACE2 mRNA 和蛋白表达均升高 ($P<0.01$)。祛瘀化痰组、健脾养血组 MasR mRNA 和蛋白表达下降 ($P<0.05, P<0.01$)。见表6,图2。

表6 加味柴胡疏肝散及其拆方对心肌缺血合并抑郁症大鼠海马 ACE2, MasR mRNA 和蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 6 Effect of modified Chaihu Shugansan and its disassembled formula on expression of ACE2, MasR mRNA and protein in hippocampus of rats with myocardial ischemia and depression ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ACE2 mRNA	MasR mRNA	ACE2/GAPDH	MasR/GAPDH
正常		1.01±0.12	1.01±0.09	0.41±0.03	0.68±0.04
模型		0.64±0.09 ²⁾	0.59±0.06 ²⁾	0.20±0.03 ²⁾	0.29±0.02 ²⁾
全方	11.7	0.98±0.16 ⁴⁾	0.98±0.08 ⁴⁾	0.39±0.02 ⁴⁾	0.65±0.03 ⁴⁾
祛瘀化痰	4.05	1.48±0.16 ^{4,6)}	0.87±0.05 ^{4,5)}	0.54±0.02 ^{4,6)}	0.53±0.02 ^{4,6)}
疏肝行气	3.15	1.45±0.18 ^{4,6)}	0.94±0.06 ⁴⁾	0.48±0.02 ^{4,6)}	0.61±0.04 ⁴⁾
健脾养血	4.5	1.47±0.12 ^{4,6)}	0.85±0.05 ^{4,6)}	0.50±0.01 ^{4,6)}	0.46±0.01 ^{4,6)}
氟西汀	0.001 8	0.91±0.05 ⁴⁾	1.02±0.06 ⁴⁾	0.35±0.02 ⁴⁾	0.69±0.04 ⁴⁾
曲美他嗪	0.005 4	1.52±0.15 ^{4,6)}	0.89±0.09 ⁴⁾	0.57±0.06 ^{4,6)}	0.59±0.06 ⁴⁾
辛伐他汀	0.001 8	1.57±0.13 ^{4,6)}	0.91±0.09 ⁴⁾	0.61±0.01 ^{4,6)}	0.60±0.05 ⁴⁾

4 讨论

中医学中无冠心病合并抑郁症病名,将其归为中医“胸痹”合并“郁证”范畴。现代临床实践表明冠心病合并抑郁症的病因病机主要在于心肝互损、痰瘀互结、气血亏虚,强调肝郁、脾虚、血瘀三者相互影响,行气解郁,益气活血,心肝同调是本病的基

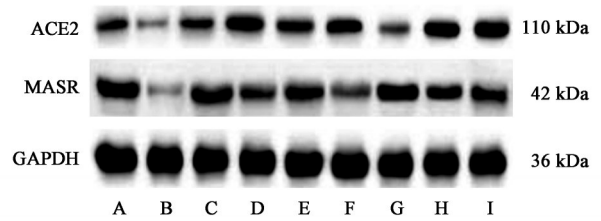


图2 各组大鼠海马 ACE2, MasR 蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of ACE2 and Masr protein expression in hippocampus of rats

3.6.2 对心肌缺血合并抑郁症大鼠心脏组织 ACE2, MasR mRNA 和蛋白表达的影响 第56天,与正常组比较,模型组心脏 ACE2 mRNA 和蛋白表达下降, MasR mRNA 和蛋白表达显著升高,差异有统计学意义 ($P<0.01$)。与模型组比较,全方组、各拆方组及及曲美他嗪组、辛伐他汀组心脏 ACE2 mRNA 和蛋白表达明显升高 ($P<0.05, P<0.01$);全方组、祛瘀化痰组、疏肝行气组及各阳性药组 MasR mRNA 和蛋白表达明显降低 ($P<0.05, P<0.01$),差异有明显统计学意义。与全方组比较,祛瘀化痰组、疏肝行气组及各阳性药组 ACE2 mRNA 和蛋白表达明显降低 ($P<0.05, P<0.01$);疏肝行气组 MasR mRNA 表达下降,健脾养血组、曲美他嗪组 MasR mRNA 表达明显升高,差异有统计学意义 ($P<0.05, P<0.01$)。见表7,图3。

本治法^[14-15]。卫蓉教授基于肝郁气滞、痰瘀交互、心血不足病机对此类患者施以辨证论治疗效显著。加味柴胡疏肝散由柴胡、白芍、枳壳、香附、川芎、陈皮、丹参、白术、茯苓、全瓜蒌、甘草等药物组成^[16]。方中川芎、丹参、全瓜蒌、陈皮祛瘀化痰,柴胡、香附、枳壳疏肝行气,白芍、白术、茯苓、甘草健脾养

表7 加味柴胡疏肝散及其拆方对心肌缺血合并抑郁症大鼠心脏组织ACE2, MasR mRNA和蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 7 Effect of modified Chaihu Shugansan and its disassembled formula on expression of ACE2, MasR mRNA and protein in heart tissue of rats with myocardial ischemia and depression ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ACE2 mRNA	MasR mRNA	ACE2/GAPDH	MasR/GAPDH
正常		1.00±0.09	1.00±0.18	0.65±0.01	0.41±0.02
模型		0.48±0.08 ²⁾	1.55±0.21 ²⁾	0.39±0.02 ²⁾	0.66±0.05 ²⁾
全方	11.7	0.92±0.10 ⁴⁾	1.08±0.22 ⁴⁾	0.63±0.03 ⁴⁾	0.43±0.06 ⁴⁾
祛瘀化痰	4.05	0.57±0.06 ^{3,5)}	1.20±0.20 ⁴⁾	0.45±0.04 ^{3,6)}	0.45±0.04 ⁴⁾
疏肝行气	3.15	0.60±0.06 ^{3,6)}	0.73±0.11 ^{4,6)}	0.51±0.02 ^{4,6)}	0.18±0.02 ^{4,6)}
健脾养血	4.5	0.83±0.15 ⁴⁾	1.43±0.13 ⁶⁾	0.61±0.04 ⁴⁾	0.60±0.03 ⁶⁾
氟西汀	0.001 8	0.52±0.07 ⁶⁾	0.86±0.20 ⁴⁾	0.41±0.04 ⁶⁾	0.37±0.05 ⁴⁾
曲美他嗪	0.005 4	0.65±0.10 ^{4,6)}	1.33±0.21 ^{3,5)}	0.56±0.05 ^{4,5)}	0.52±0.05 ^{4,5)}
辛伐他汀	0.001 8	0.63±0.09 ^{4,6)}	1.27±0.22 ³⁾	0.53±0.05 ^{4,6)}	0.47±0.03 ⁴⁾

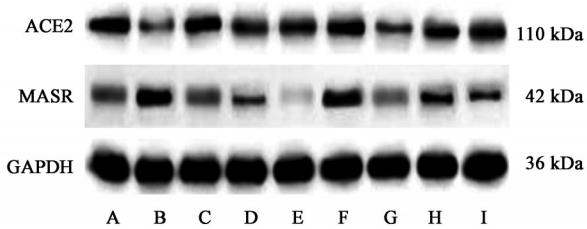


图3 各组大鼠心脏组织ACE2, MasR蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoresis of ACE2 and MasR protein expression in heart tissue of rats

血。全方心、肝、脾三脏同治, 气血痰湿同调, 共奏祛瘀化痰、疏肝行气、健脾养血之功。因此, 本研究基于冠心病合并抑郁症的病因病机将加味柴胡疏肝散拆方为祛瘀化痰、疏肝行气、健脾养血三类药物来探讨其对高血脂状态心肌缺血合并抑郁症模型大鼠的恢复是否存在协同作用。现代中药药理及临床研究表明, 加味柴胡疏肝散方中降血脂的药物主要有全瓜蒌、枳壳、香附、丹参、茯苓、陈皮、柴胡、白芍、白术等, 对心血管系统具有保护作用的药物主要有陈皮、川芎、香附、枳壳、白芍、丹参、全瓜蒌等, 对神经系统起保护作用的药物主要有柴胡、川芎、香附、枳壳、白芍、甘草、丹参、茯苓等^[17-22]。

本次实验结果显示, 经过8周造模后, 模型组大鼠旷场实验中心区域运动时间和运动距离、平均速度明显减少, 强迫游泳不动时间显著增加, 表明大鼠处于抑郁样状态。旷场实验是检测动物抑郁样行为的经典实验^[23], 中心区域运动时间、运动距离减少, 平均速度减慢, 反映大鼠对陌生环境的探索欲望、运动能力下降, 与抑郁症患者所表现的少动懒言、兴趣丧失、紧张敏感相似^[24-25]。强迫游泳是一种行为绝望实验法, 用来测验抑郁类行为, 大鼠处于抑郁状态强迫游泳不动时间会显著增加^[26]。高

胆固醇血症以TC, LDL-C升高, HDL-C降低为主, 其中LDL-C是诱发冠心病危险因素^[27]。模型组大鼠血清中TC, LDL-C水平升高, HDL-C水平降低, 表明大鼠处于高胆固醇血症状态。心脏超声显示模型组大鼠LVFS, LVEF较正常组明显降低, LVFS, LVEF可反映左心室的泵血功能, 其数值降低表示心功能不良, 心肌收缩能力下降^[28]。HE染色结果显示模型组大鼠心脏组织结构损伤, 心肌纤维断裂, 炎性反应明显。综合这几个方面的结果判断高血脂状态的心肌缺血合并抑郁症大鼠模型建立成功。加味柴胡疏肝散及各拆方药物在一定程度上改善了模型组大鼠上述变化, 全方组效果最佳, 各拆方药物对全方抗抑郁、降血脂、改善心肌缺血损伤作用具有协同作用, 提示加味柴胡疏肝散组方配伍的合理性。

肾素-血管紧张素(RAS)系统广泛存在于多个器官, 与冠心病合并抑郁症有着极大的关联^[29]。参与调控RAS系统主要依赖两条路径: 一条为经典的ACE-Ang II-AT1R轴, 在心血管系统具有促炎、促血管收缩、促纤维化、促氧化应激等作用^[30]; 另一条为新的ACE2-Ang(I-VII)-MasR轴, 对ACE-Ang II-AT1R轴进行拮抗。ACE2作为RAS的内源性调节酶, 在调节该系统的ACE-Ang II-AT1R轴与ACE2-Ang(I-VII)-MasR轴平衡方面发挥着关键作用。ACE2可以通过裂解Ang II生成Ang(I-VII), 后者普遍被认为对心脑血管具有保护作用。Mas受体作为Ang(I-VII)的内源性配体, 在心脑系统高度表达。Ang(I-VII)与Mas受体结合, 在心脏中发挥舒张血管、抗纤维化、抗血栓形成、抗心室重构等生物学作用^[31-32], 在海马组织中发挥减轻脑损伤作用、改善认知功能、保护脑细胞作用^[33]。近年来有文献报

道冠心病患者血清中ACE2, Ang(I -VII)水平显著升高,且与病变严重程度呈正相关,也有文献报道CHD前期患者的ACE2及Ang(I -VII)水平升高,但随着疾病的进展降低。这些研究表明机体内ACE2/Ang(I -VII)/Mas轴的表达水平根据心血管疾病的不同发展阶段、严重性或类型而被上调或下调,在CHD早期阶段Ang(I -VII)可能为代偿性升高^[34-35]。另外有研究表明ACE2基因的敲除更易诱导产生心肌肥大和心室腔扩张^[36],加剧了Ang II介导的心肌损伤导致心功能恶化^[37]。本研究实验结果显示,模型组血清中Ang II, ACE2, Ang(I -VII)水平显著升高,心脏组织中ACE2基因及蛋白表达显著下降,心脏MasR基因及蛋白表达显著升高,表明造模可能同时促进了模型大鼠ACE-Ang II -AT1R轴与ACE2-Ang(I -VII)-MasR轴的激活,大鼠处于心肌缺血的代偿期,为代偿性自我保护的表现,但同时心脏组织ACE2的基因和蛋白表达下降,说明ACE2-Ang(I -VII)-MasR轴对模型大鼠心脏的保护作用已减弱,模型大鼠已开始向失代偿期发展。模型组大鼠海马组织ACE2, MasR基因及蛋白表达显著下降,且该组大鼠有活动减少、兴趣丧失等抑郁表现,推断模型组大鼠出现抑郁表现可能与海马ACE2, MasR基因及蛋白表达下调密切相关^[38]。而加味柴胡疏肝散组及各拆方药物组大鼠Ang II, ACE2, Ang(I -VII), MasR等指标的表达均显示与造模相反趋势的变化,表明各药物对ACE2-Ang(I -VII)-MasR轴的异常变化具体调节作用,并且各拆方药物调节这些指标的表达变化贡献程度不同,对全方具有协同作用。

综上所述,加味柴胡疏肝散抗抑郁、改善心肌损伤、降脂作用的机制可能与调控ACE2-Ang(I -VII)-MasR轴相关,由于RAS系统复杂,存在复杂的上下游信号通路联系,加味柴胡疏肝散调节RAS系统的具体作用机制还有待今后深入探索。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] BRHLIKOVA P, POLLOCK A M, MANNERS R. Global burden of disease estimates of depression-how reliable is the epidemiological evidence? [J] J R Soc Med, 2011, 104(1): 25-34.

[2] 王臻,王显. 冠心病经皮冠状动脉介入术后合并抑郁和(或)焦虑的中西医研究进展[J]. 世界中西医结合杂志, 2016, 11(2): 292-296.

[3] ELDERON L, SMOLDEREN K G, NA B, et al.

Accuracy and prognostic value of American Heart Association; recommended depression screening in patients with coronary heart disease: data from the Heart and Soul Study [J]. Circ Cardiovasc Qual Outcomes, 2011, 4(5): 533-540.

[4] 李雪. 心可舒联合治疗双心疾病的效果观察[J]. 社区医学杂志, 2016, 14(6): 19-21.

[5] BOYLE S H, MATSON W R, VELAZQUEZ E J, et al. Metabolomics analysis reveals insights into biochemical mechanisms of mental stress-induced left ventricular dysfunction [J]. Metabolomics, 2015, 11(3): 571-582.

[6] WEI L, GE T, LENG Y, et al. The role of neural plasticity in depression: from hippocampus to prefrontal cortex [J]. Neural plasticity, 2017, 68(1): 710-721.

[7] 杨力强,纪范霞,陈林,等. 加味柴胡疏肝散治疗冠心病合并抑郁症临床观察[J]. 广西中医药大学学报, 2020, 23(1): 1-4.

[8] 陶欢,刘盛菲,凌敏. 基于Rho/ROCK信号通路的针刺对高脂血症模型大鼠血管内皮保护机制研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2019, 25(8): 1134-1136, 1142.

[9] 焦杰,马星月,傅强,等. 延丹胶囊对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌缺血的作用及机制[J]. 中成药, 2021, 43(4): 908-913.

[10] 张天艺. 开心散对抑郁症合并心肌缺血模型大鼠的保护作用研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2018.

[11] HU Y, DONG X, ZHANG T, et al. Kai-Xin-San suppresses matrix metalloproteinases and myocardial apoptosis in rats with myocardial infarction and depression[J]. Mol Med Rep, 2020, 21(1): 508-516.

[12] 李皓月. 温阳益心法治疗冠心病抑郁症作用与机制实验研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2020.

[13] 施新猷. 现代医学实验动物学[M]. 北京:人民军医出版社, 2000: 333-335.

[14] 王萌. 邓悦教授运用养心汤加减治疗“双心”疾病[J]. 吉林中医药, 2013, 33(6): 553-554.

[15] 李志强,常红娟,王学惠. 从心肝相关理论探讨冠心病合并抑郁的辨治[J]. 世界中西医结合杂志, 2018, 13(12): 1747-1750.

[16] 苏军,连鹏鹏,卫蓉. 卫蓉教授心肝同治论治“双心病”经验浅析[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(33): 174-175.

[17] 李思博,闫美怡,刘阳. 降血脂中药功效分类及作用机制研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(5): 166-169.

[18] 白娟,刘燕,王丹妮,等. 柴胡疏肝散在肝郁证中的作

- 用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(3): 199-204.
- [19] 万丽娟, 卢金清, 许俊洁, 等. 瓜蒌子化学成分和药理作用的研究进展[J]. 中国药房, 2015, 26(31): 4440-4443.
- [20] 王晶, 刘姣, 王建岭. 具有心血管系统疾病治疗作用的中药分布的计算机分析[J]. 河北中医药学报, 2015, 30(2): 55-57.
- [21] 向小红, 唐勇, 罗婉君, 等. 从具有潜在神经保护功能的中药中筛选自噬激活剂[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(4): 64-72.
- [22] 潘少斌, 孔娜, 李静, 等. 香附化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国现代中药, 2019, 21(10): 1429-1434.
- [23] 杨晓春, 李云鹏, 卞艳芳, 等. 大鼠旷场实验指标检测及参考值的探讨[J]. 毒理学杂志, 2010, 24(3): 224-225.
- [24] 王一旭, 李媛媛, 张碧涛, 等. 逍遥散对慢性不可预知温 and 应激大鼠下丘脑弓状核 JAK/STAT 通路变化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(21): 21-27.
- [25] 杨皓然, 刘丽娜, 葛飞, 等. 基于海马小胶质细胞 M1 型极化研究逍遥散对 OVX 联合 CUS 焦虑抑郁模型大鼠的影响[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(20): 4964-4970.
- [26] 袁前发, 何珏, 徐志忠, 等. 重复经颅磁刺激联合低剂量氟西汀对 CUMS 抑郁小鼠的影响[J/OL]. 中国应用生理学杂志: 1-4[2021-09-24]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1339.R.20210524.1145.010.html>.
- [27] 庄晓峰, 高莹, 吴亚杰, 等. 单次注射依洛尤单抗对降脂未达标高胆固醇血症合并冠心病病人降脂效果的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(21): 3539-3543.
- [28] 曾洁琼, 孙英丽. 心脏超声在慢性心衰患者诊断及心脏功能评价中的临床分析[J]. 影像研究与医学应用, 2020, 4(13): 193-195.
- [29] HAN W, WEI Z, DANG R, et al. Angiotensin- II and angiotensin-(I - VII) imbalance affects comorbidity of depression and coronary heart disease [J]. Peptides, 2020, 131: 170353.
- [30] MEHTA P K, GRIENGLING K K. Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2007, 292(1): C82-C97.
- [31] WANG J, HE W, GUO L, et al. The ACE2-Ang (I - VII)-Mas receptor axis attenuates cardiac remodeling and fibrosis in post-myocardial infarction [J]. Mol Med Rep, 2017, 16(2): 1973-1981.
- [32] 周晓敏, 于汇民. ACE2-Ang-(I - VII)-Mas 轴与冠心病的相关性研究进展 [J]. 岭南心血管病杂志, 2018, 24(5): 609-612.
- [33] FENG P, WU Z, LIU H, et al. Electroacupuncture improved chronic cerebral hypoperfusion-induced anxiety-like behavior and memory impairments in spontaneously hypertensive rats by downregulating the ACE/Ang II /AT1R axis and upregulating the ACE2/Ang-(I - VII)/MasR axis [J]. Neural Plasticity Vol, 2020, 907(2): 6026-6042.
- [34] 陈娟, 林玉璧, 尹更生, 等. 血清 ACE2 水平在冠心病发生发展中的变化 [J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(6): 1086-1090.
- [35] 黎秀芝, 尹新华. ACE2/Ang(I - VII)/Mas 轴在心血管疾病中的研究进展 [J]. 医学综述, 2020, 26(20): 3969-3975.
- [36] YAMAMOTO K, OHISHI M, KATSUYA T, et al. Deletion of angiotensin-converting enzyme 2 accelerates pressure overload induced cardiac dysfunction by increasing local angiotensin II [J]. Hypertension, 2006, 47(4): 718-726.
- [37] SOLER M J, BATLLE M, RIERA M, et al. ACE2 and ACE in acute and chronic rejection after human heart transplantation [J]. Int J Cardiol, 2019, 275(1): 59-64.
- [38] 迪丽白尔·塔力甫江, 徐新娟. 高血压伴焦虑抑郁症与肾素-血管紧张素-醛固酮系统研究新进展 [J]. 心血管病学进展, 2009, 30(3): 512-515.

[责任编辑 周冰冰]