

· 药理 ·

二仙汤对去卵巢大鼠心功能和血压动态演变的干预作用

王昱涵, 姜燕华, 向丽华, 刘燕君, 张治国*, 陈彦静*
(中国中医科学院 中医基础理论研究所, 北京 100700)

[摘要] **目的:** 探讨大鼠去卵巢后心功能、血压的演变规律及二仙汤对其的影响及机制。**方法:** 选用健康10周龄雌性SPF级SD大鼠, 随机分为假手术组、模型组、雌激素组(戊酸雌二醇, $0.18 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、二仙汤组($7.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。大鼠去卵巢后2周开始灌胃给药, 1次/d, 连续12周。二仙汤组及雌激素组分别给予二仙汤或戊酸雌二醇灌胃, 假手术组和模型组灌胃等体积纯净水。给药4, 8, 12周末以无创超声心动图(UCG)及尾动脉检测技术、放免法检测心功能、血压(BP), 血清雌二醇(E_2)含量; 给药12周末采用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测血清内皮素-1(ET-1), 血管紧张素2(Ang II)含量, 苏木素-伊红(HE)染色、电镜技术、原位末端标记法(TUNEL)检测心肌形态学和凋亡情况。**结果:** 与假手术组比较, 给药4周末模型组射血分数(EF)减小、左室收缩末期容积(LVVols)增大($P < 0.05$), 8周末各组心功能无显著差异, 12周末模型组左室收缩末期内径(LVIDs), LVVols, 左室舒张末期内径(LVIDd), 左室舒张末期容积(LVVold)均显著增大($P < 0.01$), 4, 8, 12周末模型组收缩压(SBP)增高($P < 0.05$), 并呈不断升高趋势, 舒张压(DBP)变化不明显, 12周末模型组血清 E_2 水平降低($P < 0.05$), ET-1, Ang II升高($P < 0.01$), 心肌肌原纤维不规则、部分肌丝断裂, 线粒体嵴紊乱、断裂或消失, 细胞凋亡增多($P < 0.01$); 与模型组比较, 二仙汤组心肌收缩、舒张功能明显改善, 血压降低; 血清 E_2 含量明显升高($P < 0.05$), 血清ET-1含量明显降低($P < 0.05$), 血清Ang II含量显著降低($P < 0.01$); 心肌、线粒体形态结构改善, 心肌细胞凋亡指数显著降低($P < 0.01$)。**结论:** 大鼠去卵巢后出现心功能降低、血压增高等一系列病理改变, 与心功能下降比较血压升高的变化出现更早, 二仙汤通过调节 E_2 、血液活性物质及心肌凋亡等途径发挥对去卵巢大鼠心功能、血压的干预作用。

[关键词] 去卵巢大鼠; 心功能; 血压; 二仙汤; 凋亡

[中图分类号] R22; R24; R289; R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)03-0053-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20200339

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20191021.1122.010.html>

[网络出版时间] 2019-10-21 11:54

Effect of Erxiantang on Cardiac Function and Blood Pressure Dynamic Evolution in Ovariectomized Rats

WANG Yu-han, JIANG Yan-hua, XIANG Li-hua, LIU Yan-jun, ZHANG Zhi-guo*, CHEN Yan-jing*
(Institute of Basic Theory for Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the evolution of cardiac function and blood pressure in ovariectomized rats and the effect and mechanism of Erxiantang. **Method:** Healthy 10-week-old female SPF SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, estrogen group (estradiol valerate, $0.18 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and Erxiantang group ($7.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$). The rats were intragastrically administered 2 weeks after ovariectomy, once a day for 12 weeks. Sham operation groups and model groups were given equal volumes of

[收稿日期] 20190711(027)

[基金项目] 中国中医科学院中医药“一带一路”合作专项(GH2017-02-03); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(YZ-1704, YZ-1861); 北京市自然科学基金项目(7172148)

[第一作者] 王昱涵, 在读硕士, 从事中医药防治心血管病的基础研究, E-mail: 18363883517@163.com

[通信作者] * 张治国, 博士, 研究员, 从事中医药防治代谢性疾病的基础研究, E-mail: zzgtem@163.com;

* 陈彦静, 博士, 教授, 从事中医药防治心血管病的基础研究, E-mail: chenyj010@163.com

purified water. At the 4th week, 8th week, and 12th week after administration, the cardiac function, blood pressure, and levels of estrogen (E_2) in rat serum were measured by non-invasive ultrasound cardiogram (UCG), tail artery detection techniques and radioimmunoassay. The levels of endothelin-1 (ET-1) and angiotensin 2 (Ang II) in rat serum were detected by enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA). The cardiac morphology and apoptosis were detected by hematoxylin-eosin (HE) staining, electron microscopy and Terminal-deoxynucleotidyl transferase mediated nick end labeling (TUNEL). **Result:** Compared with sham operation group, the ejection fraction (EF) decreased and the left ventricular end systolic volume (LVVols) increased in the model group at 4th week after administration ($P < 0.05$). There was no significant difference in cardiac function between the groups at 8th week. The left ventricular end diastolic diameter (LVIDs), LVVols, left ventricular end diastolic diameter (LVIDd), and left ventricular end diastolic volume (LVVold) were significantly increased in the model group at 12th week ($P < 0.01$). At the 4th weeks, 8th week and 12th week, the systolic blood pressure (SBP) of the model group increased ($P < 0.05$) and showed an increasing trend, and the diastolic blood pressure (DBP) did not change significantly. At the 12th week, the levels of E_2 in serum decreased ($P < 0.05$), ET-1 and Ang II increased of the model group ($P < 0.01$). The cardiac myofibrils were irregular, some myofilament was broken, and mitochondrial palsy was disordered, broken or disappeared, and cardiac apoptosis increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, myocardial contraction and diastolic function were significantly improved in Erxian decoction group, and blood pressure was decreased. The levels of E_2 in serum was increased ($P < 0.05$). The levels of ET-1 was decreased ($P < 0.05$), and Ang II in serum was significantly decreased ($P < 0.01$). The mitochondrial morphological structure was improved and the cardiac apoptotic rate was significantly decreased ($P < 0.01$). **Conclusion:** After the ovariectomy, the rats showed a series of pathological changes such as decreased heart function and increased blood pressure. Compared with the decrease of heart function, the changes of blood pressure appeared earlier. Erxiantang exerts its intervention on cardiac function and blood pressure in ovariectomized rats by regulating E_2 , blood active substances and cardiac apoptosis.

[Key words] ovariectomized rats; cardiac function; blood pressure; Erxiantang; cardiac apoptosis

流行病学资料显示,女性绝经后心血管疾病(CVD)的发生率显著增高,为绝经前的2~6倍,致死率及致残率明显高于男性,并成为女性死亡的主要原因^[1-3],对更年期女性CVD的防治已成为目前研究的热点。内源性雌二醇(E_2)对心血管系统的保护作用已得到公认,然而激素补充治疗(HRT)增加卵巢癌等疾病风险的报道使人望而却步^[4-5],具有雌激素样作用的中药成为可能方案^[6],受到越来越多的关注。

中医理论认为女性更年期疾病的根本病机为肾虚,补肾方剂二仙汤是近代名医张伯讷创立的、专门用于治疗女性更年期综合征的经典名方^[7-8]。课题组前期研究发现去卵巢大鼠出现心电活动异常、心律失常以及心肌基因重构,二仙汤可以一定程度地改善上述病理变化^[9-10]。去卵巢大鼠的心功能是否出现病理性改变值得深入研究。目前临床上对于更年期女性心功能的研究报道较少,现有临床报道认为更年期女性心肌收缩或舒张功能较前下降,左心室存在亚临床心肌损伤^[11-13];近年来对更年

期心功能的基础研究已逐渐引起关注,有报道去卵巢大鼠出现左室壁增厚、舒张功能受损以及心肌细胞肥大、间质纤维化的病理改变^[14-15];更年期血压升高这一现象已得到临床和基础研究的广泛证实^[16-17]。但目前仍缺乏对更年期心功能、血压病理演变过程的报道,为此,本实验采用去卵巢大鼠为更年期模型^[18],观察大鼠去卵巢后不同时间点其心功能、血压的动态演变特征和心肌形态、心肌凋亡的变化,并探讨补肾方剂二仙汤对上述变化的作用,以期对更年期女性心血管疾病的防治提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 雌性SPF级SD大鼠32只,10周龄,体重(230±15)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号SCXK(京)2016-0002。于中国中医科学院中医基础理论研究所实验动物中心清洁级动物房饲养,实验过程中严格遵照中国中医科学院中医基础理论研究所动物实验伦理规定(伦理委员会审查编号2017-049),饲养温度(24±2)℃,

湿度 45% ~ 60%, 12 h: 12 h 昼夜间断照明, 用不含豆类的特殊饲料饲养, 自由摄食饮水。

1.2 药物与试剂 二仙汤由仙茅、淫羊藿、巴戟天、当归、知母、黄柏组成, 中药饮片均购自北京仟草中药饮片有限公司; 戊酸雌二醇片(拜耳医药保健有限公司广州分公司, 批号 398A); 脱毛膏(澳大利亚 Nair 公司, 批号 LL6084); 异氟烷(深圳市瑞沃德生命科技有限公司, 批号 21781101); E₂ 放射免疫分析试剂盒(北京北方生物技术研究所有限公司, 批号 190200); 内皮素-1 (ET-1) 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒, 血管紧张素 II (Ang II) ELISA 试剂盒(南京建成生物工程研究所, 批号分别为 20181214, 20181121); 苏木素染色液, 伊红染色液(北京金桥雅图生物技术有限公司, 批号分别为 180601, 180301); 原位末端标记(TUNEL)细胞凋亡试剂盒(德国 Roche Diagnostics 公司, 批号 39081800)。

1.3 仪器 Vevo2100 型超高分辨率小动物超声影像系统, VS4083 型吸入式麻醉机(加拿大 VisualSonics 公司); BP-98A 型大小鼠无创血压仪(日本 Softron 公司); XH-6080 γ 型放射免疫计数器(西安核仪器厂); MULTIFUGE X1R 型低温离心机, Multiskan 型全自动酶标仪, Histocentre 3 型组织包埋机, Finesse ME + 型组织切片机, 3120059ZPJ-1 型组织展片机, 3120061 型组织烤片机(美国 Thermo 公司); H7650 型透射电镜(日本 Hitachi 公司); AR2130 型电子天平, SE3001F 型电子天平(美国奥豪斯公司)。

2 方法

2.1 二仙汤的制备 参照《中华医方精选辞典》(上海科学技术文献出版社)中二仙汤的组成与剂量: 仙茅 9 g, 淫羊藿 9 g, 巴戟天 9 g, 当归 9 g, 知母 4.5 g, 黄柏 4.5 g, 第 1 煎以药材质量 10 倍体积的水武火煎至沸腾后改用文火煎 1 h, 第 2 煎以药材质量 8 倍体积水煎煮, 方法同第 1 煎, 2 煎药液混合浓缩至 0.75 g·mL⁻¹, 4 °C 冰箱保存。

2.2 去卵巢大鼠模型的建立 参照文献[19]方法, 雌性 SD 大鼠适应性饲养 1 周后, 随机选择 24 只大鼠, 以 3% 戊巴比妥钠(1.3 mL·kg⁻¹)腹腔注射麻醉, 两侧腹部备皮、碘液消毒, 经腹部肋缘下 1 cm, 脊柱两侧各 1 cm 交界处, 分别切 2 个 1 cm 左右的切口, 依次分离肌肉、腹膜, 于腹腔脂肪中找到菜花样卵巢结扎并切除双侧卵巢, 将组织放回大鼠腹腔, 逐层缝合。假手术组按照卵巢切除的方法切除腹腔

小块脂肪组织, 不摘除卵巢, 术后腹腔注射青霉素预防感染。术后 1 周行阴道涂片检查, 每天 1 次, 连续 5 d, 通过阴道涂片细胞形态判断动情周期是否消失, 未出现动情周期的大鼠视为造模成功^[19]。

2.3 分组与给药 将造模成功的 24 只大鼠随机分为模型组、雌激素组、二仙汤组, 术后 2 周开始给药。雌激素组: 戊酸雌二醇片 9.2 mg 溶于生理盐水 500 mL 中制备质量浓度为 0.018 g·L⁻¹ 的药液, 以 1.8 × 10⁻⁴ g·kg⁻¹ 剂量灌胃; 二仙汤组参照前期研究及相关文献^[9, 19-20], 二仙汤以 7.5 g·kg⁻¹ (相当于 70 kg 成人 12 倍剂量) 灌胃; 假手术组和模型组: 灌服等体积纯净水; 各组大鼠每天灌胃 1 次, 持续 12 周。

2.4 检测一般状态和体质量 每天仔细观察大鼠的精神状态、姿势、皮毛色泽、活动度、眼裂黏膜色泽、耳廓色泽及粪便等全身情况。各组大鼠每周固定时间称体质量并记录。

2.5 超声法检测心功能 给药 4, 8, 12 周时, 各组大鼠禁食 12 h 后, 采用超声心动图(UCG)检测心脏结构及心功能。大鼠胸部涂擦脱毛膏备皮, 涂擦耦合剂, 持续吸入异氟烷与纯氧的混合气体麻醉大鼠, 使大鼠心率保持在 350 次/min。大鼠仰卧位固定于操作台, 使用 Vevo2100 型超高分辨率小动物超声影像系统, MS-250, 21 Hz 探头, 取大鼠左心室短轴切面, 使 M 型 UCG 取样线位于乳头肌水平。连续记录不少于 10 个心动周期, 测量并计算下列各项参数: 射血分数(EF), 短轴缩短率(FS), 左室收缩末期内径(LVIDs), 左室后壁收缩末期厚度(LVPWs), 左室收缩末期容积(LVVol), 左室舒张末期内径(LVIDd), 左室后壁舒张末期厚度(LVPWd), 左室舒张末期容积(LVVol); 所有指标测值均取 3 个心动周期的平均值。

2.6 套尾法无创检测血压、心率 给药 4, 8, 12 周时, 利用 BP-98A 无创血压(BP)采集系统, 采用套尾法测量各组大鼠尾动脉收缩压(SBP), 舒张压(DBP), 平均压(MBP), 心率(HR)。使大鼠提前适应避光实验环境, 保温筒 38 °C, 待大鼠状态稳定后, 每只大鼠连续测量 3 次, 使用 BP-98A 无创血压采集系统采集数据。

2.7 放射免疫法或 ELISA 检测血清 E₂, ET-1, Ang II 含量 给药 4, 8 周时, 各组大鼠禁食 12 h 后, 毛细玻璃管取眼眶静脉血, 低温离心机离心, 5 000 r·min⁻¹ 离心 15 min 分离血清, -80 °C 冰箱保存备用。给药 12 周时, 各组大鼠禁食 12 h 后取腹主动脉血, 以上述方法分离血清保存备用。使用 E₂

放射免疫分析药盒,运用 γ 放射免疫计数器测定给药 4,8,12 周时大鼠血清中 E_2 含量。采用 ELISA 检测给药 12 周时大鼠血清中 ET-1, Ang II 的含量,使用全自动酶标仪测定吸光度 A 。

2.8 称量子宫质量 给药 12 周时取材,以 3% 戊巴比妥钠($1.3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉大鼠,开腹后摘除一侧子宫,使用电子天平称质量并记录。

2.9 苏木素-伊红(HE)染色检测子宫组织、心肌组织病理学变化 给药 12 周时,子宫称质量后立即置于 4% 多聚甲醛溶液固定;取新鲜大鼠心脏,冰生理盐水冲洗,心室横切并立即置于 4% 多聚甲醛溶液固定;组织经梯度乙醇脱水浸蜡包埋,二甲苯、梯度乙醇脱蜡至水,HE 染色后,梯度乙醇逐级脱水、二甲苯透明,中性树胶封片。于光镜下观察子宫组织、心肌组织病理学变化。

2.10 透射电镜检测左心室超微结构 给药 12 周时,取纵切大鼠左心室,约 $3 \text{ mm} \times 3 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$ 大小,立即置于 4% 戊二醛溶液固定,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存待测。使用 PBS 充分清洗后用 1% 锇酸后固定,再经 PBS 充分清洗,梯度丙酮脱水,环氧树脂混合物包埋,使用超薄切片机制备心肌超薄切片,厚度 50 nm,经醋酸铀-枸橼酸铅双重染色。透射电镜下观察心肌细胞、线粒体等细胞器形态并拍照。

2.11 TUNEL 法检测心肌细胞凋亡 心肌组织石蜡切片脱蜡至水,蛋白酶 37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱孵育 25 min,加 TUNEL 反应液,37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱孵育,DAB 显色,苏木素复染、分化、返蓝,梯度乙醇脱水、二甲苯透明,中性树胶封片。显微镜下正常心肌细胞核呈蓝色,凋亡细胞核呈棕褐色。200 倍光镜下,在每张切片左心室相同区域选择 5 个视野计数。凋亡指数 = 凋亡细胞数/总细胞数 $\times 100\%$

2.12 统计学分析 采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用 One-way ANOVA,方差齐时采用 LSD 检验两两比较,方差不齐时采用 Kruskal-Wallis 进行非参数检验,采用 Bonferroni 法两两比较, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对去卵巢大鼠一般状态和体质量的影响 给药 4,8,12 周时,各组大鼠全身状况良好;与假手术组比较,模型组大鼠活动度减少,抓触反应强烈,体质量显著增加($P < 0.01$),增长速度快;与模型组比较,雌激素组和二仙汤组大鼠的活动度较佳,抓触反应减弱,雌激素组大鼠体质量显著减少($P <$

0.01),二仙汤组大鼠体质量无明显差异。以上结果表明去卵巢大鼠体质量明显增加,二仙汤对体质量的控制作用不明显。见表 1。

表 1 二仙汤对去卵巢大鼠不同时间点体质量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 1 Effect of Erxiantang on body weight of ovariectomized rats at different time points($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	体质量/g		
		4 周	8 周	12 周
假手术	-	293.1 \pm 18.0	319.1 \pm 16.2	328.8 \pm 12.7
模型	-	334.6 \pm 34.9 ²⁾	376.0 \pm 36.3 ²⁾	395.0 \pm 16.4 ²⁾
雌激素	1.8×10^{-4}	315.8 \pm 34.9 ⁴⁾	347.9 \pm 22.4 ⁴⁾	361.4 \pm 23.3 ⁴⁾
二仙汤	7.5	327.1 \pm 26.6	367.6 \pm 25.3	384.3 \pm 19.8

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~8 同)。

3.2 对去卵巢大鼠不同时间点心功能的影响 与假手术组比较,给药 4 周时,模型组大鼠 EF 明显减小,LVVols 明显增大($P < 0.05$),FS, LVIDs, LVIDd 和 LVVold 的改变尚未达到统计学差异;给药 8 周时,模型组大鼠 LVIDd, LVVold 增加,但尚未达到统计学差异;给药 12 周时,模型组大鼠 LVIDs, LVVols, LVIDd, LVVold 均显著增大($P < 0.01$);与模型组比较,给药 4 周时,雌激素组大鼠 EF, LVPWs 显著增加($P < 0.01$),LVVols 显著减小($P < 0.01$);二仙汤组大鼠 EF 增加($P < 0.05$);给药 12 周时,雌激素组大鼠心功能各项指标均无明显差异;二仙汤组大鼠 LVIDs, LVVols, LVIDd, LVVold 均明显减小($P < 0.05$)。见表 2~4。

3.3 对去卵巢大鼠不同时间点血压、心率的影响

与假手术组比较,给药 4,8,12 周时,模型组 SBP 增加($P < 0.05$)并逐渐升高,DBP 虽无明显差异,但呈上升趋势;给药 8 周时,模型组 MBP 增加($P < 0.05$),总体呈上升趋势;模型组心率均无明显差异;与模型组比较,给药 4,8,12 周时,雌激素组 SBP 显著下降($P < 0.01$);给药 4 周时,雌激素组 DBP 显著下降($P < 0.01$);给药 4,12 周时,雌激素组 MBP 显著下降($P < 0.01$);给药 8,12 周时,二仙汤组 SBP 显著下降($P < 0.01$);给药 8 周时,二仙汤组 DBP 下降($P < 0.05$);给药 8,12 周时,二仙汤组 MBP 显著下降($P < 0.01$)。见表 5。

3.4 对去卵巢大鼠子宫组织病理变化的影响 给药 12 周取材时,显示模型组、雌激素组、二仙汤组大鼠双侧卵巢缺如。与假手术组比较,模型组大鼠子宫质量显著下降($P < 0.01$);子宫 HE 染色结果

表 2 二仙汤给药 4 周对去卵巢大鼠心功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Effect of Erxiantang for 4 weeks on cardiac function of ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	收缩功能					舒张功能		
		EF/%	FS/%	LVIDs/mm	LVPWs/mm	LVVols/ μ L	LVIDd/mm	LVPWd/mm	LVVold/ μ L
假手术	-	73.08 ± 6.65	43.75 ± 6.53	4.01 ± 0.54	2.16 ± 0.17	72.08 ± 20.61	7.12 ± 0.24	1.38 ± 0.13	265.76 ± 20.63
模型	-	64.80 ± 5.01 ¹⁾	36.80 ± 3.68	4.80 ± 0.69	2.17 ± 0.31	110.22 ± 35.76 ¹⁾	7.57 ± 0.71	1.37 ± 0.18	307.31 ± 61.56
雌激素	1.8 × 10 ⁻⁴	75.83 ± 5.07 ⁴⁾	46.14 ± 4.87	3.87 ± 0.48	2.69 ± 0.25 ⁴⁾	66.08 ± 19.45 ⁴⁾	7.18 ± 0.38	1.54 ± 0.25	271.52 ± 32.09
二仙汤	7.5	72.57 ± 5.71 ³⁾	43.30 ± 5.22	4.25 ± 0.35	2.52 ± 0.32	81.42 ± 15.24	7.50 ± 0.24	1.46 ± 0.22	299.27 ± 21.26

表 3 二仙汤给药 8 周对去卵巢大鼠心功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 3 Effect of Erxiantang for 8 weeks on cardiac function of ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	收缩功能					舒张功能		
		EF/%	FS/%	LVIDs/mm	LVPWs/mm	LVVols/ μ L	LVIDd/mm	LVPWd/mm	LVVold/ μ L
假手术	-	69.96 ± 2.23	40.66 ± 2.00	4.18 ± 0.27	2.05 ± 0.08	78.03 ± 12.09	7.05 ± 0.53	1.33 ± 0.05	261.05 ± 43.72
模型	-	71.57 ± 5.95	42.46 ± 5.14	4.29 ± 0.54	2.10 ± 0.15	84.23 ± 24.84	7.44 ± 0.36	1.31 ± 0.13	293.75 ± 31.54
雌激素	1.8 × 10 ⁻⁴	71.54 ± 6.25	42.43 ± 5.69	4.28 ± 0.45	2.20 ± 0.14	83.46 ± 20.81	7.44 ± 0.30	1.36 ± 0.07	293.85 ± 26.36
二仙汤	7.5	66.69 ± 8.13	38.46 ± 6.16	4.63 ± 0.69	2.01 ± 0.01	101.54 ± 35.77	7.50 ± 0.41	1.31 ± 0.08	299.75 ± 36.82

表 4 二仙汤给药 12 周对去卵巢大鼠心功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 4 Effect of Erxiantang for 12 weeks on cardiac function of ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	收缩功能					舒张功能		
		EF/%	FS/%	LVIDs/mm	LVPWs/mm	LVVols/ μ L	LVIDd/mm	LVPWd/mm	LVVold/ μ L
假手术	-	72.33 ± 3.84	42.71 ± 3.33	3.98 ± 0.36	2.19 ± 0.15	69.86 ± 15.29	6.93 ± 0.42	1.39 ± 0.12	251.15 ± 34.57
模型	-	69.75 ± 2.55	40.87 ± 2.21	4.68 ± 0.18 ²⁾	2.17 ± 0.12	101.53 ± 9.16 ²⁾	7.91 ± 0.31 ²⁾	1.29 ± 0.06	336.72 ± 29.19 ²⁾
雌激素	1.8 × 10 ⁻⁴	71.68 ± 2.94	42.46 ± 2.53	4.57 ± 0.46	2.24 ± 0.08	96.68 ± 21.47	7.92 ± 0.60	1.41 ± 0.09	339.27 ± 56.67
二仙汤	7.5	72.11 ± 4.63	42.71 ± 3.99	4.18 ± 0.40 ³⁾	2.21 ± 0.15	78.66 ± 17.25 ³⁾	7.29 ± 0.27 ³⁾	1.31 ± 0.05	280.38 ± 22.59 ³⁾

表 5 二仙汤对去卵巢大鼠不同时间点血压、心率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 5 Effect of Erxiantang on BP and HR of ovariectomized rats at different time points ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	SBP/mmHg						DBP/mmHg			
		4 周		8 周		12 周		4 周		8 周	12 周
假手术	-	121.75 ± 8.53	125.19 ± 10.36	129.20 ± 6.32	97.61 ± 8.44	94.40 ± 6.65	99.98 ± 5.98				
模型	-	129.98 ± 5.31 ¹⁾	134.05 ± 6.71 ¹⁾	141.19 ± 15.37 ¹⁾	98.88 ± 3.81	99.95 ± 7.64	104.15 ± 10.23				
雌激素	1.8 × 10 ⁻⁴	118.04 ± 7.05 ⁴⁾	129.25 ± 5.33 ⁴⁾	126.16 ± 7.61 ⁴⁾	87.33 ± 3.61 ⁴⁾	101.93 ± 3.83	94.13 ± 11.51				
二仙汤	7.5	123.19 ± 8.65	118.89 ± 6.46 ⁴⁾	119.73 ± 9.07 ⁴⁾	94.86 ± 6.49	92.29 ± 7.09 ³⁾	94.68 ± 6.52				

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	MBP/mmHg						HR/bpm			
		4 周		8 周		12 周		4 周		8 周	12 周
假手术	-	105.56 ± 8.20	104.59 ± 7.28	109.63 ± 5.45	409.96 ± 37.15	378.89 ± 27.91	397.11 ± 36.99				
模型	-	109.14 ± 3.40	111.30 ± 6.95 ¹⁾	116.29 ± 9.78	384.48 ± 50.66	372.41 ± 33.04	368.34 ± 56.75				
雌激素	1.8 × 10 ⁻⁴	97.58 ± 3.60 ⁴⁾	111.00 ± 3.95	104.69 ± 10.18 ⁴⁾	376.60 ± 52.72	355.70 ± 31.80	375.56 ± 27.21				
二仙汤	7.5	104.18 ± 6.74	101.06 ± 6.07 ⁴⁾	103.01 ± 6.66 ⁴⁾	400.96 ± 26.90	371.24 ± 45.99	399.55 ± 57.74				

注: 1 mmHg = 0.133 kPa。

表明,假手术组子宫管径较粗,内膜较厚,子宫内膜单层柱状上皮排列整齐;模型组子宫管腔狭窄,管壁明显变薄,黏膜层腺体减少,固有层呈萎缩组织象,血管稀少,内膜上皮细胞萎缩为扁平细胞;与模型组比较,雌激素组大鼠子宫质量显著增加($P < 0.01$),子宫内膜上细胞增生,子宫内径扩大,子宫内膜被覆

单层立方上皮,单层柱状上皮排列不规则,内膜腺体数目多,偶见分泌现象,间质致密;二仙汤组大鼠子宫质量虽无统计学差异,但仍增加,子宫内膜被覆单层扁平上皮或单层立方上皮,内膜腺体数目少,偶见分泌现象,间质致密。以上结果表明去卵巢大鼠模型复制成功;二仙汤对去卵巢大鼠子宫增重、子宫形态的

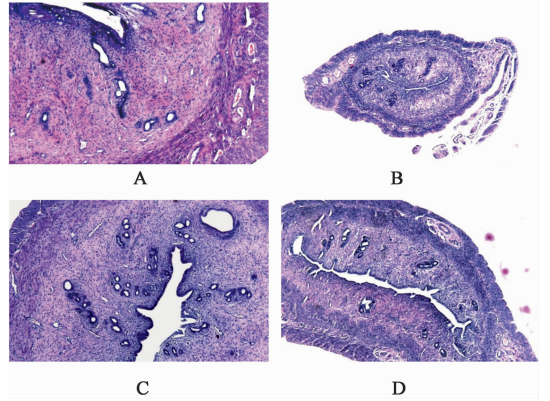
改善具有一定作用,但效果不如雌激素。见表 6,图 1。

表 6 二仙汤对去卵巢大鼠子宫质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 6 Effect of Erxiantang on weight of uterus in ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	子宫质量/g
假手术	-	0.547 ± 0.073
模型	-	0.086 ± 0.028 ²⁾
雌激素	1.8×10^{-4}	0.192 ± 0.051 ⁴⁾
二仙汤	7.5	0.123 ± 0.030

3.5 对去卵巢大鼠不同时间点血清 E_2 , ET-1 和 Ang II 含量的影响 与假手术组比较,给药 4 周和 8 周时,模型组大鼠血清 E_2 虽未达到统计学差异但仍减少;给药 12 周时,模型组大鼠血清 E_2 含量减少 ($P < 0.05$),血清 ET-1 和 Ang II 含量显著增加 ($P < 0.01$);与模型组比较,雌激素组大鼠血清 E_2 含量显著增加 ($P < 0.01$),血清 ET-1 含量减少 ($P < 0.05$),Ang II 含量显著减少 ($P < 0.01$);二仙汤组



A. 假手术组;B. 模型组;C. 雌激素组;D. 二仙汤组(图 2~4 同)
图 1 二仙汤对去卵巢大鼠子宫组织病理变化的影响(HE, $\times 50$)
Fig. 1 Effect of Erxiantang on uterine pathologies in ovariectomized rats(HE, $\times 50$)

大鼠血清 E_2 含量增加 ($P < 0.05$), ET-1 含量减少 ($P < 0.05$), Ang II 含量显著减少 ($P < 0.01$)。以上结果表明,二仙汤可增加去卵巢大鼠血清 E_2 含量,效果稍劣于雌激素;二仙汤可减少血清 ET-1 和 Ang II 含量,效果与雌激素相当。见表 7。

表 7 二仙汤对去卵巢大鼠给药不同时间点血清 E_2 , ET-1 和 Ang II 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 7 Effect of Erxiantang on level of E_2 , ET-1 and Ang II in rats serum at different time points ($\bar{x} \pm s, n = 8$) ng · L⁻¹

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	E_2			ET-1	Ang II
		4 周	8 周	12 周		
假手术	-	10.58 ± 5.03	12.30 ± 6.62	9.58 ± 6.52	77.44 ± 16.89	62.38 ± 10.98
模型	-	6.98 ± 0.67	6.72 ± 1.09	5.61 ± 1.40 ¹⁾	154.99 ± 43.99 ²⁾	86.11 ± 14.59 ²⁾
雌激素	1.8×10^{-4}	8.38 ± 2.84	13.50 ± 9.55	14.01 ± 1.31 ⁴⁾	111.24 ± 43.27 ³⁾	53.40 ± 11.24 ⁴⁾
二仙汤	7.5	7.04 ± 0.58	8.87 ± 3.47	10.32 ± 3.60 ³⁾	109.10 ± 33.91 ³⁾	61.76 ± 19.17 ⁴⁾

3.6 对去卵巢大鼠左室心肌组织病理变化的影响

从心肌 HE 染色、透射电镜、心肌 TUNEL 染色可看出,假手术组大鼠心肌横纹排列规则、清晰,心肌细胞排列整齐、质密,心肌细胞肌丝整齐,肌节规则、清晰,线粒体呈圆形或椭圆形,线粒体膜完整,线粒体嵴清晰无肿胀,心肌组织存在局灶性细胞凋亡;与假手术组比较,模型组大鼠心肌横纹局灶性溶解,心肌细胞局灶性萎缩、间质增生,可见细胞核固缩,心肌纤维断裂,部分肌丝局灶性溶解,线粒体嵴稀疏、肿胀,心肌组织中凋亡细胞较多,凋亡指数显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,雌激素组大鼠心肌横纹明显,心肌细胞偶有萎缩,局灶性间质增生,心肌细胞肌丝排列整齐,线粒体膜完整,线粒体嵴较清晰、无明显肿胀,心肌组织凋亡细胞减少,凋亡指数下降 ($P < 0.05$);二仙汤组大鼠心肌横纹明显,心肌细胞的萎缩、间质增生情况较轻,心肌肌丝较模型组整

齐,线粒体膜完整,线粒体嵴结构较模型组清晰,心肌组织凋亡细胞较少,凋亡指数显著下降 ($P < 0.01$)。见图 2~4,表 8。

4 讨论

循证医学表明,CVD 的发病规律、临床表现、病理生理、治疗及预后存在性别差异^[20-21];绝经前女性发病率较低,危险性约为男性的 1/2^[22-23];绝经后发病率上升为绝经前 2~6 倍^[1],这已得到临床医生的关注。目前,女性在更年期后出现的心功能异常这一现象,已成为临床和基础研究的热点。有研究结果表明,更年期女性的心脏结构及功能出现不利变化^[11-13]。与绝经前女性比较,绝经后女性心肌收缩功能下降,顺应性降低,舒张功能减退。还有研究表明绝经后女性出现每次心搏量、每分钟心输出量、心脏指数以及 EF 等指标下降的心肌收缩功能异常的表现。但关于更年期心功能演变的基础研究少见。

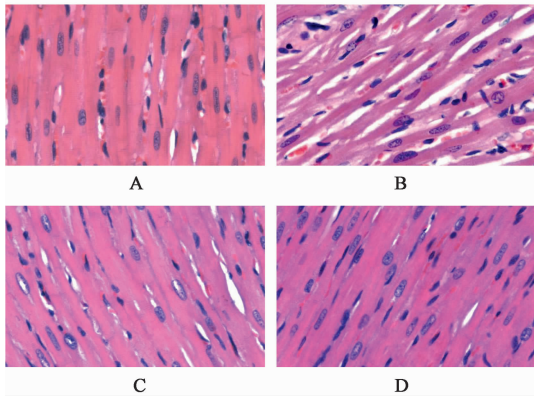


图 2 二仙汤对去卵巢大鼠左室心肌组织病理变化的影响 (HE, × 400)

Fig. 2 Effect of Erxian decoction on left ventricular pathologies in ovariectomized rats (HE, × 400)

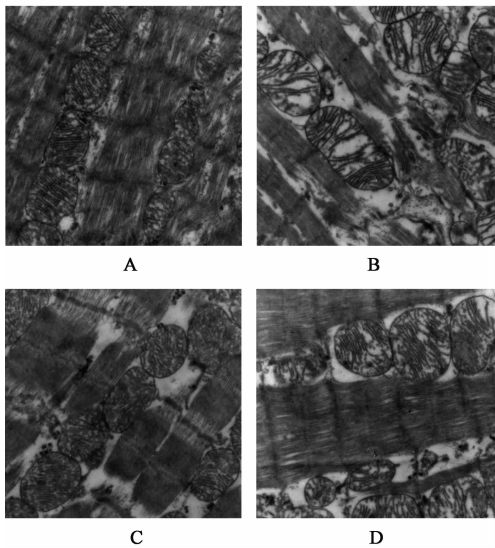


图 3 二仙汤对去卵巢大鼠左室心肌超微结构的影响 (电镜, × 25 000)

Fig. 3 Effect of Erxian decoction on left ventricular ultrastructure in ovariectomized rats (TEM, × 25 000)

中医理论认为肾气虚衰引起诸脏乃至全身机能失调是更年期综合征发病的根本原因^[7]。相较于 HRT 的风险^[4-5], 补肾法能够调和更年期各脏腑、气血、阴阳失调症状, 从本质上治疗女性更年期疾病。其中补肾方剂二仙汤以仙茅、淫羊藿为君, 巴戟天为臣, 佐以知母、黄柏, 以当归为使药, 以补肾阳为主, 兼顾调肾阴, 全方壮阳与滋阴并举, 补而不燥, 可以整体调节下丘脑-垂体-卵巢轴稳态, 对更年期症状具有较好的调节作用, 广泛应用于女性更年期综合征的治疗中^[7-8]。

在本次实验中, 大鼠子宫病理、子宫质量以及给药不同阶段的血清 E₂ 结果表明, 大鼠因卵巢切除而

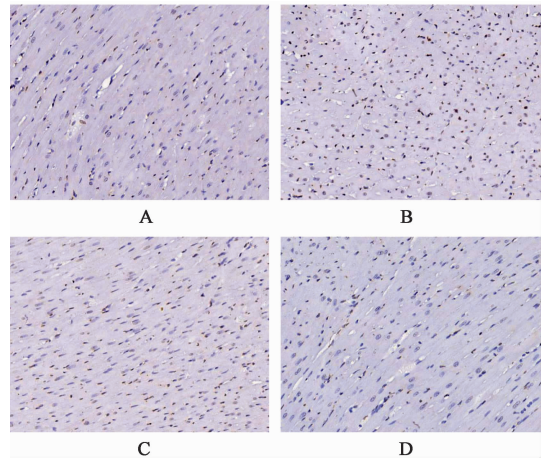


图 4 二仙汤对去卵巢大鼠左室心肌细胞凋亡的影响 (TUNEL, × 200)

Fig. 4 Effect of Erxian decoction on left ventricular cardiac apoptosis in ovariectomized rats (TUNEL, × 200)

表 8 二仙汤对去卵巢大鼠左室心肌细胞凋亡指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 8 Effect of Erxian decoction on cardiac apoptotic rate of left ventricular in ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	凋亡指数/%
假手术	-	10.46 ± 2.51
模型	-	24.46 ± 3.83 ²⁾
雌激素	1.8 × 10 ⁻⁴	17.51 ± 6.46 ³⁾
二仙汤	7.5	14.20 ± 4.50 ⁴⁾

出现 E₂ 进行性减少、子宫萎缩、子宫质量下降; 二仙汤具有雌激素样的作用, 但上述结果不如雌激素明显。这与陶仕英等^[24]的研究结果一致。大鼠子宫雌激素受体丰富, 二仙汤可通过激素作用的靶器官-子宫, 直接发挥雌激素受体调节剂的作用, 增加血清 E₂ 含量, 但对大鼠子宫内膜组织无明显促增殖作用^[6, 24]。

心功能检测结果表明, 给药 4 周去卵巢大鼠 EF 下降, LVVols 增大, FS 以及 LVIDs, LVIDd 和 LVVold 也有较明显的变化, 但差异无统计学意义; 雌激素对去卵巢大鼠下降的 EF% 具有较好的改善作用, 这可能是增加的 LVPWs 和心腔容积的变化率的结果^[25]; 二仙汤也增加了去卵巢大鼠的 EF, 但效果不如雌激素; 此外, 二仙汤对去卵巢大鼠 LVVols, LVVold 的异常变化也有一定的改善作用。去卵巢大鼠这一阶段心肌收缩功能的异常可能与 E₂ 含量的骤减有关, 短期内 E₂ 的缺乏可能造成了去卵巢大鼠的创伤应激, 这将影响心肌细胞内钙稳态, 从而造成心肌的收缩功能的下降^[11, 26]。给药 8 周去卵巢大鼠心肌舒张功能有所下降, 但组间差异尚未达到

统计学意义,可能原因是此时去卵巢大鼠的心功能处于代偿期。给药 12 周去卵巢大鼠 LVIDs, LVVols, LVIDD, LVVold 均显著增大,而 EF 未见明显异常。此阶段去卵巢大鼠由于 E₂ 长期缺乏,影响心肌血管扩张导致心肌细胞缺血缺氧^[15],为维持正常血液灌流,心肌出现射血时间延长、心室舒张时间缩短的代偿改变,这进一步减少了心室舒张期血液灌注,从而产生恶性循环并引起左室内径增加,心肌出现舒张功能障碍^[27]。笔者推测此时去卵巢大鼠收缩期、舒张期指标的同时改变达到了平衡,从而使 EF 维持在正常水平;此时雌激素的作用效果不佳,而二仙汤对去卵巢大鼠心功能的作用效果远优于雌激素。这提示改善去卵巢大鼠的心功能并非只有增加血清 E₂ 这一途径。中药具有多组分、多靶点的作用特征,二仙汤可能通过多途径改善了去卵巢大鼠的心功能,这值得进一步的实验研究。

绝经后女性高血压发病率较前增加,ET-1 和 Ang II 合成增加引起的缩血管效应是重要机制之一^[27]。炎症在高血压的发生发展中扮演重要角色,Ang II 级联驱动的炎性信号传导被认为导致了年龄相关的不利的动脉结构和功能重塑,Ang II 可强力收缩小动脉、刺激醛固酮分泌而扩容,通常表现为 SBP 的升高^[28-30]。研究表明,卵巢切除可加重 Ang II 造成的小鼠血压升高、心室重构,而补充雌激素则抑制了 Ang II 对去卵巢小鼠的升压作用^[16]。在本次实验中,给药 4 周时去卵巢大鼠已出现 SBP 升高的现象,随着周龄的增加去卵巢大鼠的 SBP 不断升高,给药 12 周时去卵巢大鼠血清中 ET-1, Ang II 含量显著增加,其产生的缩血管效应可能是 SBP 升高的原因;雌激素和二仙汤都表现出降低 SBP 的作用,此两组大鼠血清中 ET-1, Ang II 含量均减少,且二仙汤的降压效果优于雌激素。中医理论认为女性更年期高血压的根本病机在于肾虚引起的诸脏阴阳失调,风、痰、瘀、虚等病理因素夹杂其间。二仙汤立意“调和阴阳”,方中巴戟天可化痰,当归可补血治疗血虚眩晕,淫羊藿可降压,诸补阳药物温肾助阳、降脂化浊,治疗更年期高血压往往获效^[6,17]。

心脏维持正常生理功能和收缩功能所需的能量 90% 以上由线粒体提供,线粒体形态、内容物、代谢的稳定状态,对心肌细胞能量的正常供应至关重要。线粒体结构、功能的异常将导致心脏“老化”^[31-33]。线粒体途径激活后,细胞色素 C 被释放到心肌细胞胞浆中,参与诱导心肌细胞凋亡,由此导致心功能

下降、左室重构^[29,34-35]。研究表明,去卵巢动物模型心肌细胞的凋亡一部分由心肌线粒体途径引起^[36]。随着 E₂ 缺乏时间的延长,线粒体功能出现进行性障碍^[37]。本次实验结果表明,去卵巢大鼠心肌横纹部分溶解、心肌纤维断裂,心肌间隙增大,线粒体嵴结构出现异常,凋亡心肌细胞增多;雌激素和二仙汤都在一定程度上改善去卵巢大鼠心肌结构、减少心肌细胞凋亡。现代药理研究表明,巴戟天具有改善大鼠心肌细胞凋亡的作用^[17],一定程度解释了本实验中二仙汤的作用效果。

综上,在本次实验中,去卵巢大鼠在给药 4 周出现心脏收缩功能异常,给药 8 周心功能处于代偿状态,给药 12 周心脏收缩、舒张功能均出现异常。大鼠去卵巢后心血管出现心功能降低、血压增高等一系列病理改变,与心功能下降比较血压的病理变化出现更早,且收缩压、舒张压以及脉压差随时间增加呈逐渐升高趋势。补肾方剂二仙汤通过调节 E₂, 血液活性物质 ET-1, Ang II 及心肌凋亡等途径发挥对去卵巢大鼠心血管的保护作用,进一步的机制值得深入研究。目前研究较多关注了二仙汤及其加减方用于治疗更年期高血压、更年期综合征等疾病的作用^[17,38],本次实验通过不同阶段大鼠心功能的检测,表明二仙汤还可用于更年期心功能异常的治疗,具有一定临床意义。

[参考文献]

- [1] 左宏玲,林守清,高晓黎,等. 两种结合雌激素对围绝经期妇女雌激素水平及脂代谢影响多中心临床研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2018,34(1):84-88.
- [2] Hodson L, Banerjee R, Rial B, et al. Menopausal status and abdominal obesity are significant determinants of hepatic lipid metabolism in women[J]. J Am Heart Assoc,2015,4(10):e002258.
- [3] Fernando L, Guzmán G. Estrogen deficiency and the origin of obesity during menopause[J]. Biomed Res Int, 2014,doi:10.1155/2014/757461.
- [4] 杨珺,罗爱月,王世宣. 女性卵巢功能与心血管疾病[J]. 中国妇幼保健,2015,30(4):644-647.
- [5] Rossouw J E, Prentice R L, Manson J E, et al. Relationships of coronary heart disease with 27-hydroxycholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, and menopausal hormone therapy[J]. Circulation,2012,126(13):1577-1586.
- [6] 欧丽娜,张建军,王林元,等. 具有雌激素样作用的补肾阳药对脂代谢的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(8):371-374.
- [7] 王莹,杨硕,谢慧慧,等. 二仙汤对去卵巢大鼠认知障

- 碍的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(17): 114-119.
- [8] 杨琳, 马红. 二仙汤妇科临床运用及实验研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18(100): 94-97.
- [9] 赵兰平, 陈彦静, 薛淑芳, 等. 二仙汤对去卵巢大鼠心脏电活动的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(5): 136-140.
- [10] ZHANG Z Z, XIANG L H, ZHAO L P, et al. The protective effect of Er-Xian decoction against cardiac injury in menopausal rat model [J]. BMC Compl Alternative Med, 2018, 18(1): 245-255.
- [11] 蔡艳, 叶玉妹, 张涛, 等. 桂枝甘草龙骨牡蛎汤加减治疗阴虚火旺型更年期失眠疗效及对患者睡眠质量、神经递质的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(9): 38-42.
- [12] 李蕊, 白雅维. 二维斑点追踪技术对绝经期妇女左心室收缩功能的评价[J]. 中国医疗设备, 2018, 33(3): 70-72, 86.
- [13] Kessler E L, Rivaud M R, Vos M A, et al. Sex-specific influence on cardiac structural remodeling and therapy in cardiovascular disease [J]. Biol Sex Differ, 2019, 10(1): 7.
- [14] WANG H, Jessup J A, Lindsey S, et al. Abstract P143: activation of GPR30 attenuates diastolic dysfunction and LV remodeling in oophorectomized mRen2. Lewis rats [J]. Cardiovasc Res, 2012, 94(1): 96-104.
- [15] 杨慕坤, 崔广霞, 陈醒, 等. 去卵巢大鼠心脏结构和心肌细胞的变化[J]. 国际妇产科学杂志, 2014, 41(6): 670-673, 713.
- [16] 叶茂. 雌二醇对血管紧张素 II 诱导去卵巢小鼠心室重构的作用研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2016.
- [17] 王文颖. 二仙汤加减治疗更年期妇女高血压的临床研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2015.
- [18] 张玉芬, 王玉珍, 赵洁, 等. 补肾活血汤对去卵巢大鼠心脏微血管内皮细胞形态及血清 E₂、ET、NO、PGI₂、TXA₂ 含量的影响[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(31): 6044-6049, 6038.
- [19] 谢慧慧, 王莹, 杨硕, 等. 二仙汤对围绝经期大鼠心脏电生理的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(18): 43-48.
- [20] 伍娟娟, 刘锐, 尤昭玲, 等. 二仙汤对免疫性卵巢早衰模型小鼠形态学影响[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(7): 1645-1647, 1709.
- [21] 牛小豆, 李子健, 张永珍. 性别对成年小鼠心肌细胞收缩力的影响[J]. 中国心血管杂志, 2018, 23(2): 152-155.
- [22] 戴秋艳. 女性冠心病与微循环障碍[J]. 内科理论与实践, 2017, 12(1): 9-14.
- [23] 高丽虹, 孙爱军. 绝经后女性卵泡刺激素与代谢综合征的关系[J]. 生殖医学杂志, 2018, 27(5): 499-502.
- [24] 陶仕英, 牛建昭, 赵丕文, 等. 二仙汤及其组方中药对幼年大鼠子宫作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 118-121.
- [25] 陈惠珍, 阮琴韵. 高血压左心室舒张功能不全形态学的基础研究[J]. 中华高血压杂志, 2012, 20(11): 1028-1031.
- [26] Jovanović S, Jovanović A, SHEN W K, et al. Low concentrations of 17β-estradiol protect single cardiac cells against metabolic stress-induced Ca²⁺ loading[J]. JACC, 2000, 36(3): 948-952.
- [27] Vera R Z, Renee V C, Hester R, et al. Sex specific mechanisms of cardiac hypertrophy and heart failure [M]. American: Academic Press, 2019: 291-318.
- [28] 陈明, 陈志武, 龙子江, 等. 无患子皂苷对自发性高血压大鼠 Ang II/p38MAPK 通路介导的炎症反应与心肌肥厚的影响[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(7): 1030-1035.
- [29] WANG M Y, JIANG L Q, Monticone R E, et al. Proinflammation: the key to arterial aging [J]. Trends Endocrin Met, 2014, 25(2): 72-79.
- [30] 王超, 张萍. 高血压左心室肥厚形成机制的研究进展[J]. 重庆医学, 2015, 44(22): 3143-3146.
- [31] WANG Y H, LI Y J, HE C T, et al. Mitochondrial regulation of cardiac aging [J]. Bba-Mol Basis Dis, 2019, 1865(7): 1853-1864.
- [32] Wende A R, Brahma M K, McGinnis G R, et al. Metabolic origins of heart failure [J]. JACC, 2017, 2(3): 297-310.
- [33] 吴庆, 薛润青, 徐曼, 等. 肥胖所致心肌重构及相关线粒体稳态失衡机制研究进展[J]. 生理学报, 2019, 71(2): 216-224.
- [34] 褚延鹏, 刘婧. 心肌线粒体对心脏舒缩功能影响的研究概况[J]. 中国民族民间医药杂志, 2014, 23(4): 16-17.
- [35] 古丽格娜·阿尤甫, 唐莎, 穆玉明, 等. 不同年龄段高血压病患者二尖瓣血流 E/A 比值与左心房及左心室重构的相关性[J]. 心脏杂志, 2016, 28(2): 185-188.
- [36] Lee S D, Kuo W W, Ho Y J, et al. Cardiac Fas-dependent and mitochondria-dependent apoptosis in ovariectomized rats [J]. Maturitas, 2008, 61(3): 268-277.
- [37] Morra E A, Rodrigues P L, Couto I, et al. Endurance training restores spatially distinct cardiac mitochondrial function and cardiac contractility in ovariectomized rats [J]. Free Radical Bio Med, 2019(130): 174-188.
- [38] 王雪芬, 吴力. 二仙汤加味方联合贝那普利治疗女性更年期高血压疗效观察[J]. 新中医, 2016, 48(4): 117-118.

[责任编辑 孙丛丛]