

The Therapeutic Effects of Compound Rehmannia Granule on Neuronal Apoptosis Inhibition: Animal Model Based Study

Yi-Wei SUN¹, Zhi-Bin XU², Li-Fen ZHANG², Liang LI², Jian-Cheng HE³ & Dan HU^{1*}

¹ Department of Cardiovascular Medicine, ² Department of Emergency, Seventh People's Hospital of Shanghai University of TCM, Shanghai 200137, China

³ Teaching and research section of traditional Chinese diagnostics, Shanghai University of TCM, Shanghai 201203, China

SUMMARY. Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disease, which can cause progressive movement disorder. Compound rehmannia granule (CRG), an herbal prescription, has satisfactory efficacy in the clinical treatment of PD. However, its mechanisms of action remain unclear. This study aims to investigate the underlying mechanisms of CRG in PD treatment. PD rat model was established by 6-OHDA injection. PD rats were treated with different dosage of CRG for 6 weeks, after which apomorphine-induced rotation test, Tunel assay and western blotting were conducted. MPP⁺ was used to establish PD cellular model in PC12 cells. MPP⁺-injured PC12 cells were treated with various concentrations of CRG. CCK-8 assay, flow cytometric analysis and western blotting were then performed. Additionally, oeTRIM27 was transfected into MPP⁺-injured PC12 cells before CRG treatment, and then western blotting were carried out. Rotation test showed that CRG administration reduced apomorphine-induced contralateral rotations in PD rats. Tunel and flow cytometric analyses indicated that CRG inhibited neurotoxin-induced neuronal apoptosis *in vivo* and *in vitro* models of PD, respectively. Western blotting showed that TRIM27, cleaved-caspase3 and nuclear p65 proteins were increased while cytoplasmic p65 protein was decreased in the neurons of PD rat and cellular models; subsequent CRG treatment alleviated the change of these proteins. Moreover, TRIM27 overexpression partly abolished CRG-mediated regulation of p65 protein. CRG inhibited neuronal apoptosis *in vivo* and *in vitro* models of PD. Furthermore, CRG exerts anti-apoptotic function by inactivating TRIM27/NF-κB p65 pathway.

RESUMEN. La enfermedad de Parkinson (EP) es la segunda enfermedad neurodegenerativa más común que puede causar un trastorno progresivo del movimiento. El gránulo de rehmannia compuesto (CRG), una receta a base de hierbas, tiene una eficacia satisfactoria en el tratamiento clínico de la EP. Sin embargo, sus mecanismos de acción siguen sin estar claros. Este estudio tiene como objetivo investigar los mecanismos subyacentes de CRG en el tratamiento de la EP. El modelo de rata PD se estableció mediante inyección de 6-OHDA. Las ratas PD se trataron con diferentes dosis de CRG durante 6 semanas, después de lo cual se llevaron a cabo la prueba de rotación inducida por apomorfina, el ensayo Tunel y la transferencia Western. Se usó MPP⁺ para establecer el modelo celular de PD en células PC12. Se trataron células PC12 dañadas por MPP⁺ con diversas concentraciones de CRG. A continuación, se realizaron el ensayo CCK-8, el análisis de citometría de flujo y la transferencia Western. Además, se transfirió oeTRIM27 en células PC12 dañadas con MPP⁺ antes del tratamiento con CRG y luego se llevó a cabo una transferencia de Western. La prueba de rotación mostró que la administración de CRG redujo las rotaciones contralaterales inducidas por apomorfina en ratas con EP. Los análisis de tunel y citometría de flujo indicaron que CRG inhibía la apoptosis neuronal inducida por neurotoxinas en modelos *in vivo* e *in vitro* de EP, respectivamente. El western blot mostró que TRIM27, caspasa3 escindida y proteínas p65 nucleares aumentaron mientras que la proteína p65 citoplasmática disminuyó en las neuronas de modelos celulares y de rata con EP; el tratamiento posterior con CRG alivió el cambio de estas proteínas. Además, la sobreexpresión de TRIM27 abolió parcialmente la regulación de la proteína p65 mediada por CRG. CRG inhibió la apoptosis neuronal en modelos *in vivo* e *in vitro* de EP. Además, CRG ejerce una función antiapoptótica inactivando la vía TRIM27/NF-κB p65.

KEY WORDS: Parkinson Disease, apoptosis, herbal Medicine, NF-κB

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: longyuan73466@163.com