

桂枝汤不同桂芍比例配伍对 6-OHDA 诱导的心脏去交感神经损伤模型大鼠心肌的保护作用

姜 萍¹ 马度芳¹ 姜月华² 杨金龙² 徐向东² 王 雪¹ 林海青² 李 晓²

摘要 **目的** 探讨桂枝汤不同桂芍配伍比例对 6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA) 诱导的心脏去交感神经模型大鼠心肌神经递质及其限速酶和神经营养因子的影响。**方法** 将 54 只雄性 Wistar 大鼠随机分为 6 组:空白对照组、模型组、弥可保组、桂枝汤桂芍 2:1 组、桂枝汤桂芍 1:2 组及桂枝汤桂芍 1:1 组,每组 9 只。连续腹腔注射 3 日 6-OHDA 制备心脏去交感神经模型。弥可保组和桂枝汤组于造模前 1 周开始药物灌胃,弥可保组给予弥可保[0.15 mg/(kg·d)]灌胃,桂枝汤桂芍 1:1 组、桂枝汤桂芍 1:2 组和桂枝汤桂芍 2:1 组分别按 4.0、5.5 和 5.5 g 生药/(kg·d) 给予桂枝汤水煎剂灌胃。共给药 10 日。采用 ELISA 法检测各组大鼠右心房和室间隔去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)、酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)、胆碱乙酰氨基转移酶(choline acetyltransferase, ChAT)、神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、生长相关蛋白 43(growth associated protein 43, GAP-43)及睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)水平。**结果** 与空白对照组比较,模型组右心房和室间隔 NE、TH、TH/ChAT 及 GAP-43 水平降低,NGF 含量升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与模型组比较,弥可保及桂枝汤各组右心房及室间隔 NE、GAP-43 水平升高,室间隔 NGF 水平降低;桂芍 2:1、1:1 组右心房 TH、TH/ChAT 比例升高,桂芍 1:1 组右心房及室间隔 NGF 含量均降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与弥可保组比较,桂芍 1:1 组右心房及室间隔 NE、TH 及 GAP-43 水平升高,NGF 含量降低($P < 0.05$);桂芍 2:1 组室间隔 NE 及 GAP-43 含量升高($P < 0.05$)。**结论** 桂枝汤桂芍 2:1 及桂芍 1:1 配伍可改善 6-OHDA 诱导的去交感神经模型大鼠心肌中神经递质及其限速酶和神经营养因子水平,减轻 6-OHDA 引起的交感神经损伤,维持心脏中交感-迷走神经平衡。

关键词 桂枝汤;化学去交感神经;交感神经失支配;6-羟基多巴胺;心肌保护

Preventive Effect of Different Compatibilities of *Ramulus Cinnamomi* and *Radix Paeoniae alba* in Guizhi Decoction on Cardiac Sympathetic Denervation Induced by 6-OHDA JIANG Ping¹, MA Dufang¹, JIANG Yue-hua², YANG Jin-long², XU Xiang-dong², WANG Xue¹, LIN Hai-qing², and LI Xiao² 1 First Clinical Medical College, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan (250355); 2 Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan (250011)

ABSTRACT **Objective** To observe the preventive effect of different compatibilities of *Ramulus Cinnamomi* (RC) and *Radix Paeoniae alba* (RPA) in Guizhi Decoction (GZD) on neurotransmitters and their rate-limiting enzymes, and neurotrophic factors of cardiac sympathetic denervation model rats induced by 6-hydroxydopamine (6-OHDA). **Methods** Totally 54 male Wistar rats were randomly divided into 6 groups, i.e., the blank control group, the model group, the methycobal group, the 2:1 (RC/RPA) Guishao group, the 1:2 Guishao group, and the 1:1 Guishao group, 9 in each group. Sympathetic denervation was induced by intraperitoneal injection of 6-OHDA for three successive days. Rats in the methycobal group and GZD groups were administered with corresponding decoction by gastrogavage 1 week

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81072962)

作者单位:1.山东中医药大学第一临床医学院(济南 250355);2.山东中医药大学附属医院心内科(济南 250011)

通讯作者:李 晓, Tel: 0531-68616064, E-mail: lixiao617@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.05.0608

before modeling (methycobal at the daily dose 0.15 mg/kg; GZD at the daily dose of 4.0, 5.5, 5.5 g crude drugs/kg for GZD 1:1, 1:2, and 2:1 groups). All medication lasted for 10 successive days. Levels of norepinephrine (NE), tyrosine hydroxylase (TH), choline acetyl-transferase (ChAT), nerve growth factor (NGF), growth associated protein43 (GAP-43) and ciliary neurotrophic factor (CNTF) in myocardial homogenates of right atrium and ventricular septum were detected by ELISA. Results Compared with the blank control group, levels of NE, TH, TH/ChAT ratio, and GAP-43 in myocardial homogenates of right atrium and ventricular septum decreased in the model group, and level of NGF increased ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Compared with the model group, levels of NE and GAP-43 increased in the right atrium and interventricular septum; NGF level of the ventricular septum decreased in the methycobal group and each GZD groups. TH and TH/ChAT ratio in the right atrium increased in the 2:1 Guishao group and the 1:2 Guishao group ($P < 0.01$, $P < 0.05$); NGF levels in the right atrium and interventricular septum decreased only in the 1:1 Guishao group ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Compared with the methycobal group, levels of NE, TH, and GAP-43 in the right atrium and interventricular septum increased, and NGF levels in the right atrium and interventricular septum decreased in the 1:1 Guishao group ($P < 0.05$). Compared with the methycobal group, levels of NE and GAP-43 in interventricular septum increased in the 2:1 Guishao group ($P < 0.05$). Conclusion GZD (with the proportion between RC and RPA 2:1 and 1:1) could improve contents of neurotransmitters and their rate-limiting enzymes, as well as neurotrophic factors in cardiac sympathetic denervation model rats induced by 6-OHDA, alleviate cardiac sympathetic denervation induced by 6-OHDA, and maintain the balance of sympathetic-vagal nerve system.

KEYWORDS Guizhi Decoction; chemical sympathectomy; sympathetic denervation; 6-hydroxydopamine; myocardial protection

近年研究表明在冠心病、心力衰竭、糖尿病等过程中心脏交感神经可出现损伤、坏死、再生和重构,由于交感神经受损后其修复能力十分活跃,可出现交感神经形态和功能学重构,而交感神经重构与恶性心律失常的发生有密切联系^[1],针对交感神经增生,临床上可应用交感神经切除术或 β 受体阻滞剂进行治疗。在糖尿病和心力衰竭晚期及心肌梗死时梗死区局部心肌均存在心脏交感神经损伤而出现神经失支配现象^[2-4],但目前对于减轻交感神经损伤的研究较少。

6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)为一种神经毒性药物,可特异性地造成交感神经损伤,而对迷走神经无影响。本课题组前期研究发现,含有桂枝汤成分的心和颗粒、调心饮可改善冠心病自主神经病变患者的症状^[5,6]。动物实验结果表明,桂枝汤可减轻自发性糖尿病大鼠心肌损伤,降低心肌胶原重构和心肌纤维化程度^[7,8]。桂枝汤可升高链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的糖尿病大鼠心脏自主神经病变时的心率变异性,在抑制心脏交感神经亢进的同时减轻心脏迷走神经损伤^[9],且不同比例桂枝与芍药配伍时其效果不同,其中以桂芍 1:1 配伍对改善糖尿病大鼠心脏自主神经病变效果最佳^[10]。为进一步研究桂枝汤减轻糖尿病自主神经病变的作用机制,本研究采用 6-OHDA 制备大鼠去交感神经模型,通过检

测心肌神经递质及其限速酶和神经营养因子,探讨桂枝汤的保护作用。

材料与方法

1 动物 54 只雄性 Wistar 大鼠,8 周龄,体重 250 ~ 300 g,购自济宁鲁抗实验动物中心,动物合格证号:SCXK(鲁)20080002,饲养于室温(23 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 环境,自由进食水。

2 药物与试剂 桂枝汤组成药物及甲钴胺片(商品名:弥可保)购于山东中医药大学附属医院,桂枝汤组成为桂枝、白芍、炙甘草、生姜和大枣,分别按桂芍比例 2:1、1:2 和 1:1 水煎煮,至终浓度为 1.5 g 生药/mL(山东中医药大学附属医院制剂室加工制备)。弥可保[卫材(中国)药业有限公司,批号:120307A)]配制为浓度 0.03 mg/mL 的混悬液。试剂:6-OHDA(Sigma 公司,批号:162957-5G)。抗坏血酸(Vc, Sigma 公司,批号:A8100)。ELISA 检测试剂盒:去甲肾上腺素(norepinephrine, NE, 批号:10391RT);酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH, 批号:10234RT);乙酰胆碱酶转移酶(choline acetyltransferase, ChAT, 批号:10538RT);神经生长因子(nerve growth factor, NGF, 批号:10448RT);生长相关蛋白(growth association pro-

tein, GAP-43, 批号:10190RT), 以上 ELISA 试剂盒均由 R&D 公司分装。睫状神经生长因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)ELISA 试剂盒(Pepro-Tech, 批号:900-K65 和 900-K00)。

3 动物分组及给药 将 54 只大鼠随机分成 6 组:空白对照组、模型组、弥可保组、桂芍 2:1 组、桂芍 1:2 组及桂芍 1:1 组, 每组 9 只。参照参考文献[11], 给予模型组、弥可保组及桂枝汤桂芍不同配伍比例组腹腔注射 6-OHDA (100 mg/kg 溶于 0.1% Vc 的生理盐水)制备去交感模型, 空白对照组腹腔注射等量的 1% Vc 的生理盐水。连续注射 3 日。造模前 1 周即开始给予药物治疗直至动物处死, 共给药 10 日, 空白对照组和模型组给予等剂量的生理盐水, 弥可保组给予弥可保 0.15 mg/(kg·d)灌胃; 桂枝汤 1:1 组给予 4.0 g 生药/(kg·d)灌胃, 桂枝汤 1:2 组和 2:1 组分别为 5.5 g 生药/(kg·d)灌胃。

4 样本收集 大鼠经 4% 的戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 腹腔注射麻醉。开胸取心脏, 在冰上操作, 在心脏后(左右心房)上 1/3 处, 成 30° 取整个心脏横截面, 此角度可同时显示左、右心房和心室, 剪取右心房和室间隔, 用组织剪剪碎, 以生理盐水 5 倍稀释匀浆, 匀浆机以 7 500 r/min 匀浆 50 s, 4 000 r/min 离心 10 min, 制备 20% 心肌组织匀浆, 取上清液 -20℃ 保存待测。

5 心肌 NE、TH、ChAT、GAP-43、NGF、CNTF 表达水平检测 取右心房和室间隔中心肌匀浆, 注射 6-OHDA 3 日后检测 NE、TH、ChAT、GAP-43、NGF

及 CNTF 含量。采用 ELISA 法, 严格按照试剂盒说明书进行操作, 酶标仪测定 450 nm 处的吸光度, 根据标准曲线计算心肌组织的 NE、TH、ChAT、GAP-43、NGF、CNTF 含量, 并计算 TH 与 ChAT 的比值。

6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 在满足 Kolmogorov-Smirnov 正态性检验和方差齐性条件下进行单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK 或 Dunnett *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠一般情况 注射 6-OHDA 造模后死亡大鼠 6 只, 共存活 48 只大鼠, 其中空白对照组 9 只, 弥可保组为 7 只, 其余 3 组均为 8 只。注射 6-OHDA 后, 大鼠活动下降, 精神萎靡, 部分大鼠出现肉眼血尿。

2 各组右心房及室间隔匀浆中 NE、TH 及 ChAT 含量比较(表 1、2) 与空白对照组比较, 模型组右心房 NE、TH 含量及 TH/ChAT 比值明显降低($P < 0.01$)。与模型组比较, 弥可保组 NE 及 TH/ChAT 比值升高($P < 0.05$); 桂枝汤桂芍不同配伍比例组 NE 含量均升高($P < 0.05$, $P < 0.01$), 桂芍 2:1 组和 1:1 组 TH 及 TH/ChAT 水平升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与弥可保组比较, 桂芍 1:1 组 NE、TH 含量及 TH/ChAT 比值升高($P < 0.05$)。各组间右心房 ChAT 含量比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

与空白对照组比较, 模型组室间隔匀浆 NE、TH 含量及 TH/ChAT 比值明显降低($P < 0.01$)。与模型组

表 1 各组右心房匀浆 NE、TH 及 ChAT 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	NE (ng/mL)	TH (ng/mL)	ChAT (ng/mL)	TH/ChAT 比值
空白对照	9	378.43 ± 46.45	51.34 ± 8.45	86.75 ± 8.44	0.59 ± 0.09
模型	8	197.68 ± 27.84 *	33.04 ± 4.66 *	92.90 ± 7.41	0.35 ± 0.04 *
弥可保	7	261.24 ± 48.03 Δ	39.13 ± 5.94	87.35 ± 4.52	0.45 ± 0.07 Δ
桂芍 2:1	8	295.65 ± 58.01 $\Delta\Delta$	42.53 ± 9.62 Δ	87.02 ± 5.94	0.49 ± 0.10 $\Delta\Delta$
桂芍 1:2	8	258.14 ± 70.33 Δ	35.43 ± 2.52	89.83 ± 5.56	0.40 ± 0.04
桂芍 1:1	8	319.76 ± 37.75 $\Delta\Delta\Delta$	48.76 ± 11.41 $\Delta\Delta\Delta$	88.52 ± 7.34	0.55 ± 0.09 $\Delta\Delta\Delta$

注:与空白对照组比较, * $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与弥可保组比较, $\Delta\Delta\Delta P < 0.05$

表 2 各组室间隔匀浆 NE、TH 及 CHAT 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	NE (ng/mL)	TH (ng/mL)	ChAT (ng/mL)	TH/ChAT 比值
空白对照	9	376.02 ± 46.07	54.20 ± 10.34	79.67 ± 9.98	0.68 ± 0.12
模型	8	189.01 ± 25.65 *	33.89 ± 6.65 *	76.41 ± 5.42	0.44 ± 0.07 *
弥可保	7	261.80 ± 54.33 $\Delta\Delta$	37.36 ± 3.57	73.73 ± 8.08	0.51 ± 0.08
桂芍 2:1	8	310.13 ± 38.75 $\Delta\Delta\Delta$	42.59 ± 7.46 $\Delta\Delta$	80.75 ± 8.74	0.53 ± 0.12
桂芍 1:2	8	289.50 ± 55.94 $\Delta\Delta$	35.20 ± 2.59	76.02 ± 9.27	0.47 ± 0.07
桂芍 1:1	8	317.73 ± 32.48 $\Delta\Delta\Delta$	47.42 ± 9.92 $\Delta\Delta\Delta$	80.71 ± 9.89	0.61 ± 0.19 $\Delta\Delta$

注:与空白对照组比较, * $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与弥可保组比较, $\Delta\Delta\Delta P < 0.05$

比较,弥可保组及桂枝汤桂芍不同配伍比例组 NE 含量均升高($P < 0.01$),桂芍 2:1 组和 1:1 组 TH 升高($P < 0.01$),桂芍 1:1 组 TH/ChAT 比值升高($P < 0.01$)。与弥可保组比较,桂芍 1:1 组 NE 及 TH 升高($P < 0.05$),桂芍 2:1 组 NE 明显升高($P < 0.01$)。各组室间隔 ChAT 含量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 各组右心房及室间隔匀浆 NGF、GAP-43 及 CNTF 含量比较(表 3、4) 与空白对照组比较,模型组右心房 NGF 含量升高,GAP-43 含量降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组比较,弥可保组及桂芍配伍各组 GAP-43 升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),仅桂芍 1:1 组 NGF 含量降低($P < 0.05$)。桂枝汤 1:1 组 GAP-43 高于弥可保组($P < 0.05$)。各组间右心房 CNTF 含量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

与空白对照组比较,模型组室间隔 NGF 升高,GAP-43 水平降低($P < 0.05$)。与模型组比较,弥可保组及桂枝汤各比例组 NGF 降低,GAP-43 水平升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与弥可保组比较,桂芍 2:1 组 GAP-43 含量升高($P < 0.05$),桂芍 1:1 组 NGF 降低,GAP-43 含量升高($P < 0.05$)。

表 3 各组右心房匀浆 NGF、GAP-43 及 CNTF 含量比较 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	NGF	GAP-43	CNTF
空白对照	9	362.09 $\pm$ 57.43	374.79 $\pm$ 60.96	110.50 $\pm$ 15.17
模型	8	458.56 $\pm$ 136.94 *	177.83 $\pm$ 27.73 **	113.61 $\pm$ 19.77
弥可保	7	380.19 $\pm$ 49.51	229.20 $\pm$ 38.50 Δ	114.60 $\pm$ 16.60
桂芍 2:1	8	387.00 $\pm$ 88.12	242.84 $\pm$ 24.88 $\Delta\Delta$	111.39 $\pm$ 17.04
桂芍 1:2	8	381.68 $\pm$ 71.65	238.42 $\pm$ 43.99 $\Delta\Delta$	116.17 $\pm$ 8.43
桂芍 1:1	8	363.40 $\pm$ 76.51 Δ	286.63 $\pm$ 37.51 $\Delta\Delta\Delta$	109.52 $\pm$ 12.18

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与弥可保组比较, $\Delta P < 0.05$

表 4 各组室间隔匀浆 NGF、GAP-43 及 CNTF 含量比较 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	NGF	GAP-43	CNTF
空白对照	9	375.85 $\pm$ 43.77	344.54 $\pm$ 85.90	71.21 $\pm$ 6.17
模型	8	513.74 $\pm$ 65.89 *	168.75 $\pm$ 23.29 *	73.54 $\pm$ 9.69
弥可保	7	439.88 $\pm$ 46.41 Δ	223.49 $\pm$ 23.50 Δ	68.47 $\pm$ 8.87
桂芍 2:1	8	382.44 $\pm$ 47.54 $\Delta\Delta$	268.71 $\pm$ 10.32 $\Delta\Delta\Delta$	66.30 $\pm$ 10.57
桂芍 1:2	8	416.78 $\pm$ 82.66 $\Delta\Delta$	233.94 $\pm$ 18.67 $\Delta\Delta$	71.30 $\pm$ 11.35
桂芍 1:1	8	369.67 $\pm$ 63.00 $\Delta\Delta\Delta$	272.99 $\pm$ 34.25 $\Delta\Delta\Delta$	70.44 $\pm$ 9.94

注:与空白对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与弥可保组比较, $\Delta P < 0.05$

讨 论

6-OHDA 可通过去甲肾上腺素转运蛋白进入神经突触,并可使突触囊泡中的肾上腺素能神经释放儿

茶酚胺,造成神经突触吸收和储存内源性儿茶酚胺能力降低^[12,13]。NE 是交感神经递质,TH 为合成 NE 的限速酶,两者可作为交感神经分布的标记物反映交感神经活性^[4,14]。ChAT 在神经元胞体中合成,转运到神经轴突末端,可作为胆碱能神经元的标记物^[15]。因此,TH 和 ChAT 可分别反映交感神经和迷走神经的活性和分布,TH/ChAT 反映交感神经和迷走神经平衡状态。本研究结果表明,大鼠在注射 6-OHDA 后其心脏中 NE 和 TH 含量均明显降低,提示模型对照组心脏中交感神经分布和活性降低。既往有学者研究显示在给予大鼠 6-OHDA 后,其心脏中 NE 明显低于正常大鼠^[16],心肌免疫组化显示 TH 阳性神经纤维明显降低甚至消失^[17]。NE 降低可归因于 6-OHDA 导致神经突触囊泡中 NE 大量释放,另外 TH 作为 NE 合成限速酶,其含量降低也可导致 NE 合成下降。心肌中 ChAT 含量未改变,表明胆碱能神经未受到 6-OHDA 的影响,这与 Battie CN 等^[18]的研究一致。弥可保组和桂枝汤各组心脏中 NE 和 TH 高于模型组,且桂芍 2:1 组和桂芍 1:1 组 NE 高于弥可保组,桂芍 1:1 组 TH 高于弥可保组,表明弥可保和桂枝汤可减轻交感神经损伤,桂芍 2:1 和桂芍 1:1 配伍作用优于弥可保组。模型组心肌中 TH/ChAT 低于空白对照组,而桂芍 2:1 和 1:1 最高,且桂芍 1:1 组高于弥可保组,表明桂芍 2:1 和 1:1 可减轻 6-OHDA 去交感神经损伤后出现的交感-迷走神经失衡,且桂芍 1:1 配伍作用最优。

神经营养因子是一类支持神经生长、发育和维持神经正常功能的蛋白质分子。本研究检测心肌中 NGF、GAP-43 和 CNTF 含量。NGF 由神经所支配的组织合成,逆向转运至神经元发挥营养作用,它可促进交感神经元的发育并减少凋亡。在心脏中,NGF 与交感神经的支配密度相关^[19]。Kanakakis SJ 等^[20]和 Whittemore SR 等^[21]证明大鼠注射 6-OHDA 4 天后心脏中的 NGF 表达增加,这与本研究结果一致。当交感神经切除后,由于 NGF 逆向转运受损,导致 NGF 在交感神经支配器官中含量增加。另外,NGF 除在心肌细胞合成外,还可在巨噬细胞、肥大细胞等炎性细胞中合成,交感神经切除后对 NGF 合成调控发生障碍,可导致 NGF 在这些细胞中合成增加^[22]。因此笔者认为 NGF 在心肌中增加的程度可部分反映交感神经损伤程度。GAP-43 存在于各种神经元中,在神经生长、发育和再生方面有重要作用,是神经发育和再生的标志蛋白。Vo PA 等^[23]的研究证明 GAP-43 在注射 6-OHDA 3 天后下降,且在第 49 天恢复至注射前水平。GAP-43 表达增加表明交感神经损伤后出现再生。

CNTF 参与调解胆碱能系统的发育和功能^[24],且可上调 ChAT 的表达从而促进乙酰胆碱的合成和储存^[25]。研究表明,心肌细胞合成和分泌 CNTF,并在迷走神经和心肌的突触形成及突触后功能方面发挥一定作用^[26]。本研究显示 6-OHDA 去交感神经损伤后可造成心肌中 NGF 增加而 GAP-43 降低,但 CNTF 含量无改变。弥可保和不同桂芍配伍比例的桂枝汤可降低心肌中 NGF 含量而增加 GAP-43,但以桂芍 2:1 和桂芍 1:1 配伍作用最佳,表明桂枝汤桂芍 2:1 和桂芍 1:1 配伍可降低 6-OHDA 造成的心脏交感神经损伤同时促进损伤神经再生。弥可保和桂枝汤对于 6-OHDA 去交感神经损伤心肌中的 CNTF 含量无影响。

心脏交感神经兴奋具有正性变时,正性变力和正性变传导作用。从中医学角度分析,6-OHDA 去交感神经损伤可导致心肌收缩功能降低和心肌电传导异常,出现窦性心率降低,传导阻滞、射血分数下降等,这些符合中医心阳虚的症状。《难经》曰:“损其心者,调其营卫”,桂枝汤为调和营卫,平衡阴阳的基础方。《本经疏证》中记载桂枝可“和营,通阳,利水,下气,行气,补中”,与姜枣甘草相配可温通心阳。芍药益阴和营配甘草补益心阴。本研究发现,桂枝汤桂芍 2:1 和 1:1 组均可减轻 6-OHDA 诱导心脏交感神经损伤后出现的 NE 和 TH 降低,同时可降低心肌中神经营养因子 NGF,增加 GAP-43 表达,作用优于桂芍 1:2 配伍时。这验证了桂芍 2:1 或 1:1 配伍其温通心阳作用强于桂芍 1:2 配伍,而且桂芍 1:1 配伍具有调和营卫,平衡阴阳的作用,从而更有利于维持心脏中交感-迷走神经分布平衡。

综上,本研究比较了不同桂芍配伍比例的桂枝汤对 6-OHDA 诱导的大鼠心脏交感神经损伤的防治作用,结果表明,桂枝汤桂芍 2:1 和 1:1 配伍时可减轻 6-OHDA 造成的交感神经损伤,维持心脏交感-迷走神经分布平衡,效果优于桂芍 1:2 配伍。

参 考 文 献

- [1] 郭继鸿. 交感神经重构[J]. 临床心电学杂志, 2008, 17(4): 311-316.
- [2] Machado CR, Camargos ER, Guerra LB, et al. Cardiac autonomic denervation in congestive heart failure: comparison of Chagas' heart disease with other dilated cardiomyopathy[J]. Hum Pathol, 2000, 31(1): 3-10.
- [3] Hage FG, Iskandrian AE. Cardiac autonomic denervation in diabetes mellitus[J]. Circulation, 2011, 4(2): 79-81.

- [4] Li W, Knowlton D, Van Winkle DM, et al. Infarction alters both the distribution and noradrenergic properties of cardiac sympathetic neurons[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2004, 286(6): H2229-H2236.
- [5] 李晓, 丁书文, 姜萍. 心和颗粒剂保护冠心病患者血管内皮损伤的临床研究[J]. 中医杂志, 2000, 41(11): 661-663.
- [6] 姜萍. 调心饮防治冠心病免疫炎症损伤的临床研究[J]. 中华中医药杂志, 2005, 11(20): 59-60.
- [7] 姜萍, 李晓, 姜月华. 桂枝汤对自发性糖尿病大鼠炎症因子及心肌损伤的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 7(13): 116-119.
- [8] 李晓, 姜萍, 徐云生, 等. 桂枝汤对自发性糖尿病大鼠心肌胶原重构的影响[J]. 中华中医药杂志, 2009, 8(24): 1068-1071.
- [9] Li X, Jiang Y, Jiang P, et al. Effect of Guizhi Decoction on heart rate variability and regulation of cardiac autonomic nervous imbalance in diabetes mellitus rats[J]. Chin J Integr Med, 2014, 20(7): 524-533.
- [10] 李晓, 杨金龙, 马度芳, 等. 桂枝汤不同桂芍配伍对糖尿病心脏自主神经病变的预防作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(6): 741-745.
- [11] Picklo MJ. Methods of sympathetic degeneration and alteration[J]. J Auton Nerv Syst, 1997, 62(3): 111-125.
- [12] Thoenen H, Tranzer JP. Chemical sympathectomy by selective destruction of adrenergic nerve endings with 6-hydroxydopamine[J]. Naunyn Schmiedeberg's Arch Exp Pathol Pharmacol, 1968, 261(3): 271-288.
- [13] Kostrzewa RM, Jacobowitz D. Pharmacological actions of 6-hydroxydopamine[J]. Pharmacology, 1974, 26(3): 199-288.
- [14] Burgi K, Cavalleri MT, Alves AS, et al. Tyrosine hydroxylase immunoreactivity as indicator of sympathetic activity: simultaneous evaluation in different tissues of hypertensive rats[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2011, 300(2): R264-R271.
- [15] Arvidsson U, Riedl M, Elde R, et al. Vesicular acetylcholine transporter (VAChT) protein: a novel and unique marker for cholinergic neurons in the central and peripheral nervous systems[J]. J Comp Neurol, 1997, 378(4): 454-467.
- [16] Bai J, Ren C, Hao W, et al. Chemical sympathetic denervation, suppression of myocardial transi-

- ent outward potassium current, and ventricular fibrillation in the rat[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2008, 86(10): 700–709.
- [17] Hansson M. Receptor binding occurrence and plasma levels of natriuretic peptides in response to sympathectomy[J]. Microsc Res Tech, 2005, 67(2): 90–99.
- [18] Battie CN, Moran N. Sympathectomy alters acetylcholinesterase expression in adult rat heart [J]. Cardiovasc Res, 1990, 24(4): 335–339.
- [19] Fargali S, Sadahiro M, Jiang C, et al. Role of neurotrophins in the development and function of neural circuits that regulate energy homeostasis [J]. J Mol Neurosci, 2012, 48(3): 654–659.
- [20] Kanakis SJ, Hill CE, Hendry IA, et al. Sympathetic neuronal survival factors change after denervation[J]. Brain Res, 1985, 20(2): 197–202.
- [21] Whittemore SR, Larkfors L, Ebendal T, et al. Increased beta-nerve growth factor messenger RNA and protein levels in neonatal rat hippocampus following specific cholinergic lesions [J]. J Neurosci, 1987, 7(1): 244–251.
- [22] Govoni S, Pascale A, Amadio M, et al. NGF and heart: Is there a role in heart disease? [J]. Pharmacol Res, 2011, 63(4): 266–277.
- [23] Vo PA, Tomlinson DR. Effects of nerve growth factor on expression of GAP-43 in right atria after sympathectomy in diabetic rats [J]. Diabetes Obes Metab, 2001, 3(5): 350–359.
- [24] Slonimsky JD, Yang B, Hinterneder JM, et al. BDNF and CNTF regulate cholinergic properties of sympathetic neurons through independent mechanisms [J]. Mol Cell Neurosci, 2003, 23(4): 648–660.
- [25] Mellott T, Lopez-Coviella I, Blusztajn JK, et al. Mitogen-activated protein kinase negatively modulates ciliary neurotrophic factor-activated choline acetyltransferase gene expression[J]. Eur J Biochem, 2002, 269(3): 850–858.
- [26] Wang X, Halvorsen SW. Retinoic acid up-regulates ciliary neurotrophic factor receptors in cultured chick neurons and cardiomyocytes [J]. Neurosci Lett, 1998, 240(1): 9–12.

(收稿:2014-09-21 修回:2015-08-07)

《中国中西医结合杂志》荣获中国科协精品科技期刊项目

按照《中国科协精品科技期刊工程项目实施方案(2015—2017)》，通过项目申报,资格审查及专家评审,分别评选出精品科技期刊 TOP50 项目 50 项,学术质量提升项目 120 项,数字出版建设项目 11 项,集群(联盟)建设项目 11 项,出版人才培养项目 2 项,精品科普期刊项目 5 项,共 199 项。《中国中西医结合杂志》进入 TOP50 项目。