

# 桂枝汤桂芍不同比例配伍对糖尿病模型大鼠心脏自主神经病变的影响

李 晓<sup>1</sup> 杨金龙<sup>1</sup> 马度芳<sup>2</sup> 林海青<sup>1</sup> 徐向东<sup>1</sup> 姜月华<sup>1</sup>

**摘要 目的** 观察桂枝汤桂芍不同比例配伍对糖尿病心脏自主神经病变(diabetes cardiac autonomic neuropathy, DCAN)的预防作用。**方法** 60 只雄性大鼠,随机分为空白对照组(简称空白组)、模型对照组(简称模型组)、弥可保组和桂枝汤桂芍 1:1 组(简称桂芍 1:1 组)、桂枝汤桂芍 2:1 组(简称桂芍 2:1 组)、桂枝汤桂芍 1:2 组(简称桂芍 1:2 组),每只 10 只。灌胃 1 周后,链脲佐菌素(STZ)腹腔注射诱导建立 1 型糖尿病模型,成模后继续灌胃 4 周。检测标本中酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)、乙酰胆碱酶转移酶(choline acetyltransferase, CHAT)和神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、睫状生长因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)的变化。**结果** 造模 4 周后,STZ 大鼠体重明显低于空白组大鼠,而血糖高于空白组大鼠。模型组、弥可保组及桂芍 2:1、1:2、1:1 组大鼠体重和血糖组间比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。与空白组比较,模型组左心室及室间隔中 TH、TH/CHAT、NGF 升高,CHAT、CNTF 降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );与模型组比较,弥可保组左心室 TH、TH/CHAT 降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),CNTF 升高( $P < 0.05$ ),左心室及室间隔 CHAT 升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );桂芍 1:1 组左心室及室间隔中 TH、TH/CHAT 降低,CHAT 升高( $P < 0.01$ ),室间隔中 NGF 降低( $P < 0.01$ );桂芍 1:2 组左心室 TH/CHAT 降低( $P < 0.01$ ),左心室及室间隔 CHAT、CNTF 均升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );与弥可保组比较,桂芍 2:1 组左心室 CHAT 降低,TH、TH/CHAT 升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );桂芍 1:1 组室间隔 TH、TH/CHAT 降低( $P < 0.05$ ),左心室及室间隔 CHAT、CNTF 升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );桂芍 1:1 组与桂芍 1:2 组及桂芍 2:1 组比较,左心室 CHAT 升高、TH/CHAT 降低及室间隔中 TH、TH/CHAT 降低,CHAT 升高;左心室与室间隔中 CNTF 亦升高,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。**结论** STZ 模型大鼠出现自主神经损伤,表现出迷走神经活性降低、交感神经活性亢进。桂枝汤可抑制糖尿病心脏交感神经亢进,保护心脏迷走神经功能,且桂枝汤原方比例(桂芍 1:1)配伍对调整心脏自主神经平衡的效果最好,可用于 DCAN 的早期预防。

**关键词** 桂枝汤;糖尿病;心脏自主神经病变

Effects of Different Compatibilities of *Ramulus Cinnamomi* and Peony in Guizhi Decoction on Diabetic Cardiac Autonomic Neuropathy LI Xiao<sup>1</sup>, YANG Jin-long<sup>1</sup>, MA Du-fang<sup>2</sup>, LIN Hai-qing<sup>1</sup>, XU Xiang-dong<sup>1</sup>, and JIANG Yue-hua<sup>1</sup> Department of Cardiology, Affiliated Hospital, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan (250011), China; 2 Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan (250011), China

**ABSTRACT Objective** To observe the preventive effect different compatibilities of *Ramulus Cinnamomi* (RC) and peony in Guizhi Decoction (GD) on diabetic cardiac autonomic neuropathy (DCAN). **Methods** Totally 60 male rats were randomly divided into 5 groups, i.e., the blank control DM group, the model group, the methycobal group, the 1:1 (RC/peony) Guishao group, the 2:1 Guishao group, and the 1:2 Guishao group, 10 in each group. Rats were pretreated with corresponding drugs for 1 week, and then induced diabetes by intraperitoneal injection of STZ. Drugs were administrated by gastrogavage for 4 more

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81072962)

作者单位:1.山东中医药大学附属医院心内科(济南 250011);2.山东中医药大学临床学院(济南 250011)

通讯作者:姜月华,0531-68617487, E-mail:gingeryuehua@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2015.06.0741

weeks after STZ-injection. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was employed to detect levels of tyrosine hydroxylase (TH), choline acetyltransferase (CHAT), nerve growth factor (NGF), and ciliary neurotrophic factor (CNTF) in myocardial homogenates. Results After 4-week modeling, body weight (BW) was obviously lower, but blood glucose (BG) was higher in STZ rats than in rats of the blank control DM group. There was no statistical difference in BW or BG among the 5 groups ( $P > 0.05$ ). Compared with the blank control group, TH, TH/CHAT, and NGF in left ventricle and ventricular septum increased, CHAT and CNTF increased in the model group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Compared with the model group, TH and TH/CHAT in left ventricle decreased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), CNTF in left ventricle increased ( $P < 0.05$ ), CHAT in left ventricle and ventricular septum increased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) in the methycobal group. TH and TH/CHAT in left ventricle and ventricular septum decreased, CNTF in left ventricle and ventricular septum increased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), CHAT in left ventricle and ventricular septum increased ( $P < 0.01$ ), NGF in ventricular septum decreased ( $P < 0.01$ ) in the 1:1 Guishao group. TH/CHAT in left ventricle decreased ( $P < 0.01$ ), CHAT and CNTF in left ventricle and ventricular septum increased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) in the 1:2 Guishao group. Compared with the methycobal group, CHAT in left ventricle decreased, TH and TH/CHAT in left ventricle increased in the 2:1 Guishao group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). TH and TH/CHAT in ventricular septum decreased ( $P < 0.05$ ), CHAT and CNTF in left ventricle and ventricular septum increased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) in the 1:1 Guishao group. Compared with the 1:2 Guishao group and the 2:1 Guishao group, CHAT in left ventricle increased, TH/CHAT in left ventricle decreased, TH and TH/CHAT in ventricular septum decreased, CHAT in ventricular septum increased, CNTF in left ventricle and ventricular septum also increased in the 1:1 Guishao group (all  $P < 0.01$ ). Conclusions STZ model rats had autonomic neural injury, manifested as lowered vagal nerve activity and hyperactive sympathetic nerves. GD could effectively suppress hyperactive cardiac sympathetic nerves and protect the vagus. Besides, GD (1:1) showed the optimal effect in regulating the balance of cardiac autonomic nerves and could be used in early prevention of DCAN.

**KEYWORDS** Guizhi Decoction; diabetes; cardiac autonomic neuropathy

糖尿病心脏自主神经病变 (diabetes cardiac autonomic neuropathy, DCAN) 是糖尿病的严重并发症之一,且发生率高,病情隐匿,目前对于 DCAN 缺乏有效的治疗方法。严格的血糖控制可减慢 DCAN 的病情进展<sup>[1]</sup>,但对伴有自主神经病变的患者进行严格血糖控制易导致无意识低血糖的发生,且强化血糖控制并不能降低病死率<sup>[2]</sup>。所以探索 DCAN 的防治措施至关重要。

既往研究显示以桂枝汤为主组成的心和颗粒剂、调心饮对冠心病有确切疗效,并且对口干、自汗盗汗、心悸等自主神经病变症状有良好的改善作用<sup>[3,4]</sup>,且实验研究证明桂枝汤可保护大鼠血管内皮,调节炎症因子<sup>[5]</sup>。链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 诱导的糖尿病大鼠模型可出现类似于人的“三多一少”症状<sup>[6]</sup>, Monchton G 等<sup>[7]</sup>报道给大鼠注射 STZ 后 6 周内自主神经出现退化性变, Howarth FC 等<sup>[8]</sup>也发现 STZ 大鼠心率和心率变异性降低,表明自主神经结构或功能异常。因此,本研究采用 STZ 诱导的 1 型糖尿病模型,探索桂枝汤是否对 DCAN 有预防作用,以及桂枝汤桂芍不同比例疗效的差异,为临床应用提供证据。

## 材料与方法

1 动物及分组 Wistar 大鼠 60 只,雄性,8 周龄,体重 250 ~ 300 g,由济宁鲁抗实验动物中心提供 (许可证号: SCXK 鲁 20080002)。随机分成 6 组:空白对照组 (简称空白组)、模型对照组 (简称模型组)、弥可保组、桂枝汤桂芍 1:1 组 (简称桂芍 1:1 组)、桂枝汤桂芍 2:1 组 (简称桂芍 2:1 组)、桂枝汤桂芍 1:2 组 (简称桂芍 1:2 组),每组 10 只。

2 药物 桂枝汤组成药物和弥可保购于山东省中医院,桂枝汤方组成为桂枝、白芍、炙甘草、生姜和大枣,按照比例,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 (甲钴胺片, 500  $\mu$ g/片,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。

3 试剂及仪器 酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH) ELISA 检测试剂盒 (批号: 20120704); 乙酰胆碱酯酶转移酶 (choline acetyltransferase, CHAT) ELISA 检测试剂盒 (批号: 20120704); 神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) ELISA 检测试剂盒 (批

号:20120728),以上均由 R&D 公司分装。睫状生长因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)ELISA 检测试剂盒(PeproTech,批号:0711065)。匀浆机(德国 IKA-ULTRA-TURRAX T 25 basic);ELx808 酶标仪(美国 Bio-TEK INSTRUMENTS, INC)。DDL-5 冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂)。

- 4 方法
- 4.1 用药剂量 根据成人用药剂量<sup>[9]</sup>,按照大鼠-成人剂量换算公式计算大鼠用药量:空白组和模型组分别每天给予生理盐水 2 mL/kg;桂芍 1:1 组、桂芍 2:1 组和桂芍 1:2 组分每天给予桂枝汤水煎剂,剂量分别为每天 4.0 g 生药/kg,5.5 g 生药/kg 和 5.5 g 生药/kg;弥可保组每天给予弥可保 0.15 mg/kg。
- 4.2 造模与用药 各用药组预防灌胃 1 周后,对模型组和各用药组大鼠给予 STZ 60 mg/kg 腹腔注射诱导建立糖尿病模型,空白组给予等量柠檬酸/柠檬酸钠缓冲液。每日测定空腹血糖,以胰岛素皮下注射或者补充 STZ 腹腔注射(10 mg/kg)方法,使空腹血糖稳定并≥11.1 mmol/L<sup>[10]</sup>,造模期间继续灌胃。造模成功后,以上述药物分别灌胃 4 周。
- 4.3 标本的留取及指标检测 心肌中 TH、CHAT、NGF 及 CNTF 检测方法如下:灌胃 4 周后,大鼠隔夜禁食不禁水,次日测空腹血糖,3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉。开胸取心脏,剪取左心室、室间隔组织,制备 20% 心肌匀浆液,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中的 TH、CHAT、NGF、CNTF 含量。
- 4.4 统计学方法 数据统计采用 SPSS 17.0 版统计软件,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK 或 Dunnet 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

结 果

1 动物一般情况 注射 STZ 后,大鼠出现多

饮、多食、体重下降、活动减少。造模 3 天后,与空白组大鼠比较,STZ 大鼠血糖明显升高( $P < 0.01$ )。除去死亡和未成模因素,最终 46 只 STZ 大鼠纳入实验。

- 2 各组大鼠于灌胃前、造模前和成模 4 周体重和血糖比较(表 1) 在灌胃前和造模前,各组大鼠的体重和血糖差异均无统计学意义( $P > 0.05$ );造模 4 周后 STZ 大鼠体重明显低于空白组大鼠,而血糖高于空白组大鼠( $P < 0.05, P < 0.01$ )。
- 3 各组大鼠左心室与室间隔中 TH 和 CHAT 含量比较(表 2) 与空白组比较,模型组左心室及室间隔中 TH、TH/CHAT 升高,CHAT 降低,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ );与模型组比较,弥可保组左心室 TH、TH/CHAT 降低,左心室及室间隔 CHAT 升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ );桂芍 1:1 组左心室及室间隔中 TH、TH/CHAT 降低( $P < 0.05, P < 0.01$ ),CHAT 升高( $P < 0.01$ );桂芍 1:2 组左心室 TH/CHAT 降低( $P < 0.01$ ),左心室及室间隔 CHAT 均升高( $P < 0.05, P < 0.01$ );与弥可保组比较,桂芍 2:1 组左心室 CHAT 降低,TH/CHAT 升高,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ );桂芍 1:1 组室间隔 TH、TH/CHAT 降低( $P < 0.05$ ),左心室及室间隔 CHAT 升高( $P < 0.01$ );桂芍 1:1 组与桂芍 1:2 组及桂芍 2:1 组比较,左心室 CHAT 升高、TH/CHAT 降低及室间隔中 TH、TH/CHAT 降低,CHAT 升高,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。
- 4 各组大鼠左心室与室间隔 NGF 及 CNTF 含量比较(表 3) 与空白组比较,模型组左心室与室间隔中的 NGF 升高( $P < 0.05, P < 0.01$ ),CNTF 下降( $P < 0.01$ )。与模型组比较,弥可保组左心室中的 CNTF 升高( $P < 0.05$ );桂芍 1:2 组左心室与室间隔 CNTF 均升高( $P < 0.05$ );桂芍 1:1 组室间隔中 NGF 降低( $P < 0.01$ ),左心室与室间隔中 CNTF 升高( $P < 0.05, P < 0.01$ );与弥可保组比较,桂芍 1:1 组左心室与室间隔中 CNTF 升高( $P < 0.05, P < 0.01$ );桂芍 1:1 组与桂芍 1:2 组及桂芍 2:1 组比较,左心室与室间隔中 CNTF 亦升高,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。

表 1 各组大鼠体重和血糖情况比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别     | n | 体重(g)      |            |             | 血糖(mmol/L) |         |            |
|--------|---|------------|------------|-------------|------------|---------|------------|
|        |   | 灌胃前        | 造模前        | 成模 4 周      | 灌胃前        | 造模前     | 成模 4 周     |
| 空白     | 8 | 254.1±9.9  | 263.6±6.6  | 414.6±27.5  | 5.7±0.8    | 6.5±1.1 | 6.4±0.8    |
| 模型     | 8 | 250.9±10.6 | 265.6±9.9  | 217.0±18.4* | 5.9±0.8    | 6.1±0.9 | 18.1±5.1** |
| 弥可保    | 7 | 251.5±9.0  | 263.8±10.5 | 230.8±27.6  | 6.1±0.7    | 6.0±0.9 | 20.4±4.4   |
| 桂芍 2:1 | 8 | 252.8±7.4  | 264.1±9.0  | 233.5±22.9  | 5.7±0.8    | 6.2±0.8 | 20.9±3.3   |
| 桂芍 1:2 | 7 | 255.5±10.4 | 266.0±9.9  | 228.4±25.1  | 6.3±0.7    | 6.7±0.7 | 21.3±2.6   |
| 桂芍 1:1 | 8 | 253.3±12.9 | 270.1±14.7 | 252.4±31.0  | 5.6±0.8    | 6.4±0.7 | 17.4±3.6   |

注:与空白组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$

表 2 各组左心室和室间隔中 TH 和 CHAT 含量比较 (ng/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别     | n | TH(ng/mL)                |                            | CHAT(ng/mL)                 |                             | TH/CHAT                    |                            |
|--------|---|--------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|        |   | 左心室                      | 室间隔                        | 左心室                         | 室间隔                         | 左心室                        | 室间隔                        |
| 空白     | 8 | 20.84±2.12               | 44.50±6.36                 | 40.46±4.27                  | 72.28±7.93                  | 0.52±0.08                  | 0.62±0.12                  |
| 模型     | 8 | 31.81±3.71*              | 56.94±4.89*                | 27.74±2.29*                 | 54.04±5.50*                 | 1.15±0.12*                 | 1.06±0.11*                 |
| 弥可保    | 7 | 26.99±1.77 <sup>△</sup>  | 62.10±11.40                | 33.38±2.07 <sup>△△</sup>    | 59.00±4.63 <sup>△</sup>     | 0.81±0.06 <sup>△△</sup>    | 1.05±0.19                  |
| 桂芍 2:1 | 8 | 29.45±3.25 <sup>▲</sup>  | 61.16±7.55                 | 28.57±3.83 <sup>▲▲</sup>    | 56.42±5.92                  | 1.04±0.17 <sup>▲▲</sup>    | 1.08±0.09                  |
| 桂芍 1:2 | 7 | 29.56±3.60               | 60.31±9.32                 | 31.20±2.15 <sup>△△</sup>    | 58.98±4.30 <sup>△</sup>     | 0.94±0.11 <sup>△△</sup>    | 1.03±0.19                  |
| 桂芍 1:1 | 8 | 27.87±1.44 <sup>△△</sup> | 52.24±5.45 <sup>△▲○●</sup> | 36.97±3.81 <sup>△△▲○●</sup> | 64.62±6.53 <sup>△△▲○●</sup> | 0.76±0.07 <sup>△△▲○●</sup> | 0.89±0.09 <sup>△△▲○●</sup> |

注:与空白组比较,\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ ,<sup>△△</sup> $P<0.01$ ;与弥可保组比较,<sup>▲</sup> $P<0.05$ ,<sup>▲▲</sup> $P<0.01$ ;与桂芍 1:2 组比较,<sup>○</sup> $P<0.01$ ;与桂芍 2:1 组比较,<sup>●</sup> $P<0.01$

表 3 各组左心室和室间隔中 NGF 和 CNTF 含量比较 (ng/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别     | n | NGF           |                            | CNTF                         |                            |
|--------|---|---------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
|        |   | 左心室           | 室间隔                        | 左心室                          | 室间隔                        |
| 空白     | 8 | 341.51±22.87  | 370.63±26.93               | 37.28±4.73                   | 59.59±6.36                 |
| 模型     | 8 | 375.86±27.10* | 442.53±36.66*              | 25.20±6.54**                 | 43.52±9.36*                |
| 弥可保    | 7 | 378.68±23.15  | 423.65±33.85               | 31.77±5.77 <sup>△</sup>      | 45.92±6.56                 |
| 桂芍 2:1 | 8 | 378.76±20.87  | 426.83±39.57               | 28.85±3.55                   | 42.84±4.57                 |
| 桂芍 1:2 | 7 | 372.24±30.94  | 420.03±38.88               | 31.74±4.22 <sup>△</sup>      | 50.18±3.08 <sup>△</sup>    |
| 桂芍 1:1 | 8 | 365.00±26.79  | 400.48±31.48 <sup>△△</sup> | 41.64±7.55 <sup>△△▲▲○●</sup> | 54.80±7.61 <sup>△▲○●</sup> |

注:与空白组比较,\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ ,<sup>△△</sup> $P<0.01$ ;与弥可保组比较,<sup>▲</sup> $P<0.05$ ,<sup>▲▲</sup> $P<0.01$ ;与桂芍 1:2 组比较,<sup>○</sup> $P<0.01$ ;与桂芍 2:1 组比较,<sup>●</sup> $P<0.01$

讨 论

在 DCAN 过程中,损伤是从较长的神经发展至较短的神经,迷走神经作为自主神经中较长的神经首先受到破坏,随后交感神经受累,导致自主神经支配失衡<sup>[11]</sup>。因此,早期预防迷走神经损伤及调节自主神经失衡是防治 DCAN 的重要环节。

TH 为交感神经合成神经递质的限速酶,可反映交感神经活性<sup>[12]</sup>;CHAT 为副交感神经合成神经递质的限速酶,可反映副交感神经活性<sup>[13]</sup>。通过检测左心室和室间隔心肌匀浆液中 TH 和 CHAT 可见模型组大鼠在第 4 周时心肌中交感神经活性增加,而迷走神经活性减少,由交感-迷走平衡转向交感神经占优势,这可能是 DCAN 患者容易出现房颤、室性心律失常和静息心率增加的原因之一。经弥可保预防治疗,大鼠左心室中的 TH 较未治疗组降低,左心室和室间隔 CHAT 升高,说明弥可保对自主神经有保护作用。桂枝汤桂芍 1:1 配伍预防治疗可降低左心室和室间隔中 TH 含量、增加 CHAT,表明桂芍 1:1 配伍可保护迷走神经功能,减轻交感神经的亢进。桂枝汤桂芍 1:2 配伍药效次之,桂芍 2:1 配伍药效最差。

DCAN 的病理假说较多,而相关神经营养因子的变化被认为是原因之一,本实验选择从心肌神经营养因子变化的角度研究 STZ 大鼠 DCAN 的原因。心脏中交感神经支配密度与心肌组织表达 NGF 水平正相关,NGF 可增加心脏交感神经的活性,维持交感神经的生

存和再生<sup>[14]</sup>,但 NGF 过度表达会引起心脏交感神经高支配和星状神经节增生<sup>[15]</sup>。CNTF 可促进副交感神经生长<sup>[16,17]</sup>,且可提高副交感神经中 CHAT 的活性,促使神经元向胆碱能神经元分化<sup>[18,19]</sup>。本实验表明,STZ 大鼠心肌中的 NGF 明显增加,而 CNTF 明显减少,弥可保的预防用药可提高左心室中的 CNTF,但不能阻止心肌中 NGF 的增加。而桂芍 1:1 配伍的预防用药可有效降低室间隔中 NGF,增加左心室和室间隔中的 CNTF,这说明在调节心脏自主神经功能方面,桂枝汤 1:1 配伍更有优势,对自主神经平衡的调节和心脏局部神经营养因子的调节可能是桂芍 1:1 配伍治疗 DCAN 的药效机制之一。

《难经》云“损其心者,调其营卫”,DCAN 属于中医学“消渴病、心病”范畴,对其病机笔者认为:糖毒蕴结,郁久化热伤及心络,营卫不调,耗伤心神。“心主神志”,神志损伤与自主神经损伤有较强的相关性。原方中桂芍 1:1 配伍,桂枝入心助阳,与炙甘草配伍,辛甘化阳,芍药益阴养血,与甘草相合,酸甘化阴,可调和营卫,平调心阴心阳,可心神得养。

桂枝和白芍的不同比例配伍在临床中常常作为桂枝汤的加减变化使用,以更好地适用于临床。本研究发 现,在抑制 NGF、TH,升高 CNTF、CHAT,从而恢复交感迷走平衡方面,桂枝汤 1:1 配伍的效果最好。桂芍 2:1 配伍和 1:2 配伍之间比较,2:1 配伍有利于升高 NGF、TH,桂芍 1:2 配伍则有利于升高 CNTF、CHAT。白芍性凉,味苦酸,微寒,具有益阴柔肝、补血收汗等功效,

《本草正义》中有白芍“益脾阴而摄纳至阴耗散之气,养肝阴而柔刚木桀骜之威”之说,从中西医结合观点看,益阴柔肝可暗合调节自主神经、加强迷走神经作用,CHAT 和 CNTF 的升高可能是其分子机制之一。从中医理论分析,由于倍用白芍可增加益阴养血之功,保护迷走神经功能较好,而倍用桂枝可增加温通心阳作用,有利于增强交感神经功能,而对迷走神经作用较差。这可以给我们临床上启示,在 DCAN 过程中,根据心阳心阴虚衰的不同程度,适当调整桂芍配伍可起到调节自主神经平衡的作用。由于糖尿病损伤过程中,迷走神经损伤较重,而在桂枝汤加减方的治疗实践中,中医学有很多丰富的经验,这为将来进一步研究针对交感或者迷走神经损伤的药物治疗,具有很大的启发意义。

“未病先治”是中医学优势指导思想之一,西医近年来也越来越重视疾病高发人群体检和无症状预防用药。本研究表明在糖尿病高发人群或糖尿病早期应用古方桂枝汤(白芍 1:1 配伍),对于预防 DCAN 和减缓 DCAN 进展有重要的意义。本实验为临床运用中医药防治 DCAN 提供线索,但桂枝汤对神经周围血液循环、神经超微结构和神经因子的影响还需进一步研究。本实验存在以下不足:(1)只通过间接检测 TH、CHAT 和神经营养因子的变化来反映自主神经的变化,未对自主神经的微观结构改变进行直接观察。(2)未对桂枝汤的预防作用进行长期观察。

### 参 考 文 献

- [1] The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive diabetes therapy on measures of autonomic nervous system function in the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)[J]. *Diabetologia*, 1988, 41(4): 416-423.
- [2] Giamouzis G, Triposkiadis F, Butler J. Metformin use in patients with diabetes mellitus and heart failure: friend or foe[J]. *J Cardiol Fail*, 2010, 16(3): 207-210.
- [3] 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+8.
- [4] 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, 20(11): 698-699.
- [5] 李晓,丁书文,姜萍,等.心和颗粒剂对高脂饮食大鼠血管内皮损伤及内皮表达内皮素、黏附分子的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2001, 21(8): 602-604.
- [6] Hakim ZS, Patel BK, Goyal RK. Effects of chronic ramipril treatment in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Ind J Physiol Pharmacol*, 1997, 41(4):

353-360.

- [7] Monckton G, Pehowich E. Autonomic neuropathy in the streptozotocin diabetic rat[J]. *Can J Neurol Sci*, 1980, 7(2): 135-142.
- [8] Howarth FC, Jacobson M, Shafiullah M, et al. Long-term effects of streptozotocin-induced diabetes on the electrocardiogram, physical activity and body temperature in rats[J]. *Exp Physiol*, 2005, 90(6): 827-835.
- [9] 陈奇主编. *中药药理研究方法学*. 北京:人民卫生出版社, 1993:33-34.
- [10] 施红,金国琴,余文珍.诱导构建最佳类似人类 2 型糖尿病大鼠的造模方式[J]. *中国临床康复*, 2005, 9(39): 69-71.
- [11] Pop-Busui R. Cardiac autonomic neuropathy in diabetes: a clinical perspective[J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(2): 434-441.
- [12] 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): 264-271.
- [13] Wang Y, Xue M, Xuan YL, et al. Mesenchymal stem cell therapy improves diabetic cardiac autonomic neuropathy and decreases the inducibility of ventricular arrhythmias[J]. *Heart Lung Circ*, 2013, 22(12): 1018-1025.
- [14] 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.
- [15] Kimura K, Ieda M, Fukuda K. Development, maturation, and transdifferentiation of cardiac sympathetic nerves[J]. *Circ Res*, 2012, 110(2): 325-336.
- [16] Gupta SK, Altares M, Benoit R, et al. Preparation and biological properties of native and recombinant ciliary neurotrophic factor[J]. *J Neurobiol*, 1992, 23(5): 481-490.
- [17] Ip NY, Yancopoulos GD. Ciliary neurotrophic factor and its receptor complex[J]. *Prog Growth Factor Res*, 1992, 4(2): 139-155.
- [18] Saadit S, Sendter M, Rohrer H. Ciliary neurotrophic factor induces cholinergic differentiation of rat sympathetic neurons in culture[J]. *J Cell Biol*, 1998, 108(5): 1807-1816.
- [19] Berse B, Lopez-Coviella I, Blusztajn JK. Activation of TrkA by nerve growth factor up-regulates expression of the cholinergic gene locus but attenuates the response to ciliary neurotrophic growth factor[J]. *Biochem J*, 1999, 342(2): 301-308.

(收稿:2013-12-05 修回:2015-03-04)