

[文章编号] 1007-3949(2011)19-09-0727-04

• 实验研究 •

桂枝汤对高脂血症心肌缺血大鼠血管活性物质的影响

焦宏¹, 孙琳¹, 陈彦静^{1,2}, 鞠大宏², 杜会博¹, 马建伟¹, 薛贵平¹, 侯勇¹

(1. 河北北方学院, 河北省张家口市 075000; 2. 中国中医科学院基础理论研究所, 北京市 100700)

[关键词] 冠心病(胸痹); 心肌缺血; 桂枝汤; 高脂血症; 血管内皮活性物质

[摘要] 目的 探讨桂枝汤对高脂血症心肌缺血大鼠血管内皮活性物质的影响。方法 采用高脂饲料、丙硫氧嘧啶及大剂量维生素 D₃ 多因素联合诱导高脂血症和动脉粥样硬化早期改变, 建立大鼠模型, 在此基础上, 大剂量腹腔注射垂体后叶素, 造成心肌缺血(胸痹)模型。测定 6 周、12 周、18 周血清总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇的含量, 并计算低密度脂蛋白胆固醇含量。放射免疫法测定血浆内皮素、6-酮-前列腺素 F1 α 、血栓素 B₂ 和血浆血管紧张素 II。结果 桂枝汤使心肌缺血大鼠血脂代谢各项指标明显改善, 具有降低总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇, 及升高高密度脂蛋白胆固醇的作用, 并可降低血浆中内皮素、血浆血管紧张素 II、血栓素 B₂, 及升高血浆 6-酮-前列腺素 F1 α 含量。结论 桂枝汤能调节血管活性物质, 保护内皮, 抑制动脉粥样硬化的形成。

[中图分类号] R256.22

[文献标识码] A

Influence of Guizhi Tang on Vascular Endothelial Active Substance in Rat with Experimental Hyperlipemia and Myocardial Ischemia

JIAO Hong¹, SUN Lin¹, CHEN Yan-Jing^{1,2}, JU Da-Hong², DU Hui-Bo¹, MA Jian-Wei¹, XUE Gui-Ping¹, and HOU Yong¹

(1. Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000; 2. Institute of Basic Theories, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700)

[KEY WORDS] Coronary Heart Disease (Chest Impediment); Myocardial Ischemia; Guizhi Tang; Hyperlipemia; Vascular Endothelial Active Substance

[ABSTRACT] **Aim** To explore the influence of Guizhi Tang to vascular endothelial active substances in rats with experimental hyperlipemia and myocardial ischemia. **Methods** The early changes of hyperlipid and atherosclerosis were caused by utilizing multiple factors including feeding hyperlipid, propylthiouracil and high doses of VD₃. Based on the above, the myocardial ischemia model was established by injecting high doses of pituitrin. The total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL) and low density lipoprotein cholesterol (LDL) were measured in the 6th, 12nd and 18th week respectively, and also the content of endothelin (ET), 6-ketoprostaglandin F1 alpha (6-keto-PGF1 α), thromboxane B₂ (TXB₂) and angiotensin II (Ang II) were determined. **Results** Guizhi Tang significantly improves the indexes of blood lipid metabolism, decreases TC, TG and LDL, and increases HDL. Guizhi Tang decreases ET, Ang II and TXB₂ of blood serum, and increases 6-keto-PGF1 α . **Conclusion** Guizhi Tang can regulate the function of vasoactive substance, protect endothelial cell and inhibit the formation of atherosclerosis.

本研究根据冠心病 (coronary heart disease, CHD) 的致病因素及发病特点, 建立高脂、维生素 D₃ (vitamine D₃, VD₃)-垂体后叶素心肌缺血冠心病(胸痹)大鼠模型, 以此为研究对象, 观察血脂以及大鼠血管内皮活性物质水平的变化, 从桂枝汤保护内皮、

抑制血栓形成的角度探讨调和营卫治疗冠心病的机制, 为丰富“损其心者, 调其营卫”的理论内涵丰富实验依据, 并为应用桂枝汤治疗冠心病心绞痛(胸痹)提供科学根据。

[收稿日期] 2011-04-02

[基金项目] 河北省中医药管理局项目(2008103)

[作者简介] 焦宏, 硕士, 副教授, 从事心脏电生理及中药对心血管保护作用的研究, E-mail 为 hbbfxyjh@163.com。通讯作者 陈彦静, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 从事心脏电生理及中药对心血管保护作用的研究, E-mail 为 chenyj010@163.com。孙琳, 硕士, 助教, 从事心脏受体分布研究, E-mail 为 sunlin1749@yahoo.cn。

1 材料与方 法

1.1 材 料

健康雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 60 只, 体重 250 ~ 270 g, 由北京大学医学部实验动物科学部提供。高脂饲料配制: 由 10% 猪油、2% 胆固醇、0.5% 胆酸钠、0.2% 丙基硫氧嘧啶、0.1% 钙片和 87.2% 普通饲料配制成。桂枝汤制备: 桂枝、白芍、甘草、生姜、大枣, 所有药材均购自北京同仁堂药店。按原方比例 10: 10: 7: 10: 10 配齐药物(生姜切片, 大枣剖开) 混合, 水浴浓缩成 10.20 g/L 浓度。血脂测定试剂盒购于北京中生生物工程高技术公司, 血浆内皮素(endothelin, ET)、6-酮-前列腺素 F1 α (6-keto-prostaglandin F1 alpha, 6-keto-PGF1 α) 和血栓素 B₂ (thromboxane B₂, TXB₂) 放射免疫分析药盒购于天津九鼎医学生物工程有限公司, 血浆血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 放射免疫分析药盒购于北京北方生物技术研究所。

1.2 动物分组及模型建立

普通饲养动物 1 周, 使其适应环境。1 周后眶内采血检测血脂, 均为正常者用于实验。根据体重排序, 然后随机分为 5 组, 即对照组、模型组、辛伐他汀组、桂枝汤 10 g 治疗组(桂枝汤低剂量组)、桂枝汤 20 g 治疗组(桂枝汤高剂量组), 各 12 只。动脉粥样硬化(atherosclerosis, As) 模型: 高脂饲料喂养 12 周, 每天 15 g, 期间按 7×10^5 IU/kg 的总剂量肌肉注射给予 VD₃, 于第 1 周、第 4 周、第 8 周初分次给完。心肌缺血(myocardial ischemia, MI) 模型: 末次给药前 72 h, 除对照组外, 于灌胃给药 30 min 后, 各组动物腹腔注射垂体后叶素 30 u/kg, 对照组给予等容量的生理盐水, 连续 3 次, 每间隔 24 h, 诱发冠状动脉痉挛, 形成心肌缺血模型。

1.3 各组给药及方法

于实验第 12 周末大鼠禁食 12 h 断尾取血, 检查各组大鼠血清总胆固醇含量, 高脂饲料喂养各组大鼠与对照组比较, 均有明显差异之后, 各治疗组分别开始灌胃给药。桂枝汤治疗组: 于第 13 周起开始灌胃给药, 每日 1 次。桂枝汤高、低剂量组给药剂量分别为 20、10 g/(kg·d) (含生药量), 10 mL/kg 灌胃给药, 每日 1 次, 连续 6 周。辛伐他汀组: 辛伐他汀 5.0 mg/(kg·d), 为成人剂量的 20 倍, 10 mL/kg 灌胃给药, 每日 1 次, 连续 6 周。对照组和模型组以相应量的生理盐水灌胃, 共 6 周。

1.4 冠心病模型的评价

根据血脂的测定结果、心电图缺血改变以及主

动脉和心肌组织病理形态学的改变, 判断实验性冠心病心肌缺血大鼠模型是否复制成功。

1.5 血液标本的制备及检测

于第 6 周、12 周末从大鼠尾动脉采血 1.5 mL, 3 500 r/min, 离心 10 min, 提取血清。待 18 周实验结束, 血流动力学指标测定完成后, 行 20% 乌拉坦腹腔麻醉, 从腹主动脉采血 5 mL, 制备血清、血浆。测定血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC) 水平, 放射免疫法测定 ET、Ang II、TXB₂、6-keto-PGF1 α 的含量。

1.6 统计学处理

实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据处理采用 SPSS 11.5 统计软件。采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠心电图的改变

模型组与对照组比较, ST 段缺血改变明显, 差异有显著性($P < 0.01$), 桂枝汤组与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$) (表 1)。

表 1. 各组大鼠心电图 ST 段的比较 ($n = 12$)

Table 1. Comparison of ST segment in electrocardiogram of rats ($n = 12$)

分 组	阴性(只)	阳性(只)	Σ ST(mV)
对照组	12	0	0.45 \pm 0.16
模型组	2	10	0.91 \pm 0.24 ^a
辛伐他汀组	9	3	0.66 \pm 0.18 ^b
桂枝汤低剂量组	8	4	0.72 \pm 0.20 ^b
桂枝汤高剂量组	9	3	0.58 \pm 0.11 ^b

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与模型组比较。

2.2 各组大鼠血脂的改变

2.2.1 第 6 周各组大鼠血清中总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇浓度的比较 高脂喂养 6 周时, 与对照组相比, 模型组 TG、LDLC 显著增高($P < 0.01$), TC、HDLC 两组间差异无显著性(表 2)。

表 2. 第 6 周各组大鼠血清 TC、TG、LDLC、HDLc 浓度的比较 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

Table 2. Comparison of TC, TG, LDLc and HDLc in serum of 6 weeks rats ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

分 组	n	TC	TG	HDLc	LDLc
对照组	8	0.94 ± 0.13	1.76 ± 0.26	0.57 ± 0.08	0.57 ± 0.08
模型组	10	0.91 ± 0.12	3.28 ± 0.32 ^a	0.51 ± 0.09	1.37 ± 0.11 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

2.2.2 第 12 周各组大鼠血清总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇浓度的变化 高脂喂养 12 周时,与对照组相比,模型组 TC、TG、LDLC 均显著增高 ($P < 0.01$), HDLC 浓度显著降低 ($P < 0.01$) (表 3)。

2.2.3 第 18 周各组大鼠血清总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇浓度的

比较 高脂喂养 18 周时,与对照组相比,模型组血清 TC、TG、LDLC 浓度明显升高 ($P < 0.01$), HDLC 浓度明显降低 ($P < 0.01$);与模型组相比,辛伐他汀组血清 TC、TG、LDLC 浓度明显降低 ($P < 0.01$), HDLC 浓度升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,桂枝汤剂高、低剂量组均有显著降脂作用 ($P < 0.01$),桂枝汤高剂量组降脂作用强于辛伐他汀组(表 4)。

表 3. 12 周各组大鼠血清中 TC、TG、LDLC、HDLc 浓度的变化 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

Table 3. Comparison of TC, TG, LDLc and HDLc in serum of 12 weeks rats ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

分 组	n	TC	TG	HDLc	LDLc
对照组	8	1.43 ± 0.19	2.14 ± 0.31	0.59 ± 0.17	0.86 ± 0.11
模型组	10	3.18 ± 0.23 ^a	2.79 ± 0.24 ^a	0.38 ± 0.07 ^a	1.43 ± 0.21 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

表 4. 第 18 周各组大鼠血清 TC、TG、LDLC、HDLc 浓度的比较 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

Table 4. Comparison of TC, TG, LDLc and HDLc in serum of 18 weeks rats ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

分 组	n	TC	TG	HDLc	LDLc
对照组	8	1.52 ± 0.24	1.01 ± 0.14	0.81 ± 0.12	0.47 ± 0.05
模型组	10	2.66 ± 0.25 ^a	1.55 ± 0.15 ^a	0.54 ± 0.09 ^a	1.41 ± 0.19 ^a
辛伐他汀组	10	2.18 ± 0.28 ^c	0.87 ± 0.16 ^c	0.69 ± 0.08 ^b	0.99 ± 0.12 ^c
桂枝汤低剂量组	10	2.45 ± 0.21 ^b	0.79 ± 0.09 ^c	0.67 ± 0.07 ^b	1.18 ± 0.17 ^b
桂枝汤高剂量组	10	2.16 ± 0.11 ^c	0.58 ± 0.07 ^{cd}	0.76 ± 0.13 ^{cd}	0.92 ± 0.11 ^{cd}

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, c 为 $P < 0.01$, 与模型组比较; d 为 $P < 0.05$, 与辛伐他汀组比较。

2.3 各组大鼠血浆内皮素、血管紧张素 II、血栓素 B_2 、6-酮-前列腺素 $F1\alpha$ 含量的比较

与对照组相比,模型组血浆 6-keto-PGF1 α 含量明显降低, TXB₂ 和 TXB₂/6-keto-PGF1 α 明显升高 ($P < 0.01$);与模型组相比,辛伐他汀组和桂枝汤高、低剂量组血浆 6-keto-PGF1 α 含量明显升高, TXB₂

和 TXB₂/6-keto-PGF1 α 明显降低 ($P < 0.01$ 或 0.05)。与对照组相比,模型组血浆 ET、Ang II 含量明显升高 ($P < 0.01$);与模型组相比,辛伐他汀组和桂枝汤高、低剂量组血浆 ET、Ang II 含量明显降低 ($P < 0.01$ 或 0.05),且桂枝汤高剂量组作用强于辛伐他汀组(表 5)。

表 5. 18 周各组大鼠血浆中 ET、Ang II、6-keto-PGF1 α 和 TXB₂ 的比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Table 5. Comparison of ET, Ang II, 6-keto-PGF1 α and TXB₂ in serum of 18 weeks rats ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

分 组	ET	Ang II	6-keto-PGF1 α	TXB ₂	TXB ₂ /6-Keto-PGF1 α
正常组	60.66 ± 2.35	80.76 ± 7.94	860.19 ± 9.02	2091 ± 38	2.42 ± 0.01
模型组	95.88 ± 4.84 ^a	94.13 ± 4.06 ^a	597.06 ± 33.24 ^a	2692 ± 57 ^a	4.51 ± 0.22 ^a
辛伐他汀组	80.42 ± 6.41 ^b	87.63 ± 3.54 ^c	808.69 ± 21.19 ^c	2420 ± 55 ^c	2.99 ± 0.11 ^c
桂枝汤低剂量组	86.84 ± 3.11 ^b	92.48 ± 4.05 ^c	799.16 ± 28.58 ^c	2514 ± 38 ^c	3.14 ± 0.09 ^c
桂枝汤高剂量组	78.25 ± 2.70 ^{cd}	84.52 ± 3.45 ^{cd}	671.99 ± 71.51 ^{bd}	2246 ± 101 ^{cd}	3.38 ± 0.65 ^{bd}

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, c 为 $P < 0.01$, 与模型组比较; d 为 $P < 0.05$, 与辛伐他汀组比较。

3 讨论

冠心病是动脉粥样硬化导致器官病变的最常见类型,中医药治疗冠心病(胸痹)多从“气血阴阳失调,脏腑虚损”或从“络病”论治,其病机特点多集中于寒、痰、瘀、虚^[1]。调和营卫治心系病证(冠心病),可能通过改善消化功能、调理脾主运化功能、祛除痰湿(调节脂代谢)作用环节,以及调理机体防卫功能,即调气血^[2,3],抗氧化,保护血管内皮细胞功能,阻抑黏附因子激活,逆转动脉硬化斑块的发展,保证心血的供给,实现防治心系病证(冠心病)的功效。桂枝汤是《伤寒论》的代表方之一,方中桂枝辛温助阳以实卫,芍药酸甘敛阴以助营,二者一阴一阳,一表一里,调和营卫之不谐,使“卫气在外而内交于荣,荣血在内而外交于卫”。阳为阴使,阴为阳守,阴阳和谐而诸证自愈,历代医家亦用其治疗冠心病、慢性心肌炎等心血管疾病。

本实验从冠心病的易患因素高脂血症着手,先利用高脂饲料及大剂量 VD₃ 饲养,建立大鼠高血脂及 As 早期的模型,再用大剂量垂体后叶素诱发冠状动脉痉挛,导致 MI,将 As 和 MI 两种冠心病最基本的病理改变同时体现在同一动物模型上,更能接近临床冠心病病理及病理生理学改变^[4]。本研究中血脂测定结果、心电图心肌缺血改变,说明本实验性大鼠模型符合冠心病的病理改变。

研究表明,内皮细胞损伤和内皮功能紊乱参与了 As 形成过程,因此,保护内皮细胞既能预防 As 形成,也是预防粥样斑块破裂的关键之一^[5]。ET、Ang II 主要由血管内皮细胞分泌,其主要作用是对血管舒缩功能、凝血系统及血小板聚集起平衡调节作用^[6]。ET 是迄今发现的最强烈的缩血管活性多肽,促进血管平滑肌细胞增殖^[7],因此在动脉粥样硬化形成过程中起重要作用。有研究发现^[8],Ang II 能通过诱导炎症反应及细胞凋亡,促进氧化低密度脂蛋白摄取,产生氧自由基和影响纤溶功能等多方面,参与动脉粥样硬化的病理过程。本实验结果显示,桂枝汤能显著降低模型组大鼠血浆中 ET、Ang II 水平,且效果优于阳性对照辛伐他汀组。

内皮细胞活性物质血栓素 B₂ (thromboxane B₂, TXB₂) 和前列环素 (PGI₂) 是花生四烯酸代谢产物。PGI₂ 是强烈的血管舒张剂和血小板聚集抑制剂,具有抑制凝血和血栓形成等防治冠心病作用,而 TXB₂ 是强烈的血管收缩剂和血小板聚集促进剂,其作用正好与 PGI₂ 相拮抗^[9]。有文献报道,高脂血症影响

TXB₂ 和 PGI₂ 代谢,升高 TXB₂/PGI₂ 比值^[10]。本研究结果表明,桂枝汤组血浆内皮素、TXB₂、6-keto-PGF1 α 及 TXB₂/6-keto-PGF1 α 虽有改变,但明显轻于模型组,证明桂枝汤能延缓高胆固醇饮食引起的血浆内皮素增加,维持 TXB₂/6-keto-PGF1 α ,具有保护血管内皮细胞功能及抑制动脉粥样硬化形成的作用。本实验中 TXB₂/PGI₂ 比例失调主要由 TXB₂ 增加引起。桂枝汤能纠正高胆固醇饮食引起的 TXB₂/6-keto-PGF1 α 失衡,血浆 TC、LDLC、ET 与 TXB₂/6-keto-PGF1 α 呈正相关,通过调整脂质代谢,抑制内皮素分泌,从而降低 TXB₂/6-keto-PGF1 α 比值。

因此,桂枝汤通过调节多种血管活性物质,保护血管正常的功能,调节血管弹性和维持血管张力,调节血管壁平滑肌细胞的生长,维持凝血与纤溶平衡,抗细胞黏附及维持内皮完整性,防止动脉粥样硬化发生、发展,预防心肌缺血的发生。

【参考文献】

- [1] 姜萍. 周次清教授辨治冠心病思路谈 [J]. 中医研究, 2006, 19 (4) :48-50.
- [2] 高荣林, 朱建贵, 李平, 等. 路志正调理脾胃学术思想探讨 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2006, 12 (2) :751-752.
- [3] 李平, 提桂香, 高荣林. 路志正教授调理脾胃法在内科临床运用经验 [J]. 北京中医药大学学报 (中医临床版), 2003, 10 (1) :23-28.
- [4] 郭延松, 吴宗贵, 杨军柯, 等. 三种大鼠动脉粥样硬化模型复制方法的比较 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2003, 11 (5) :465-469.
- [5] Aikawa M, Libby P. Lipid lowering therapy in atherosclerosis [J]. Semin Vasc Med, 2004, 4 (4) :357-366.
- [6] Springer J, Geppetti P, Fischer A. Calcitonin gene-related peptide as inflammatory mediator [J]. Pulm Pharmacol Ther, 2003, 16 (3) :121-130.
- [7] Hirata Y, Takagi Y, Fukuda Y, et al. Endothelin is a potent mitogen for rat vascular smooth muscle cells [J]. Atherosclerosis, 1989, 78 (2-3) :225-228.
- [8] 李永红, 葛志明, 王其新, 等. 高脂血症患者血浆血管紧张素水平与其血小板 1 型受体表达的相关性 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15 (3) :169-172.
- [9] Wolf G, Wenzel UO. Angiotensin II and cell cycle regulation [J]. Hypertension, 2004, 43 (4) :693-698.
- [10] Dogne JM, de Leval X, Delarge J, et al. New trends in thromboxane and prostacyclin modulators [J]. Curr Med Chem, 2000, 7 (6) :609-628.

(此文编辑 曾学清)