

桂枝汤对改善高脂血症心肌缺血大鼠微循环的作用

焦宏¹, 社会博¹, 陈彦静^{1,2}, 鞠大宏², 马建伟¹, 薛贵平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; 微循环

[摘要] 目的 基于“损其心者,调其营卫”理论,深入探讨桂枝汤在改善高脂血症心肌缺血大鼠微循环方面的作用。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。对6周、12周、18周三个时间点血清标本严格按试剂盒说明书操作,测定总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇的含量,并根据公式计算出低密度脂蛋白胆固醇含量。采用锥板法检测各组大鼠全血黏度(低、中、高切)、血浆黏度、红细胞压积、红细胞聚集指数、红细胞变形指数等血液流变学指标。结果 桂枝汤使心肌缺血大鼠血脂代谢各项指标明显改善,降低总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇,升高高密度脂蛋白胆固醇。桂枝汤可以显著降低全血黏度、全血还原黏度、血浆黏度和相对黏度,改善红细胞血流变性。结论 桂枝汤对改善微循环作用显著,可增加心肌供血,减轻心肌缺血损伤,进而达到治疗缺血性心血管病的作用。

[中图分类号] R2

[文献标识码] A

Research of Guizhi Tang on Improving Microcirculation in Hyperlipidemia Rats

JIAO Hong¹, DU Hui-Bo¹, CHEN Yan-Jing^{1,2}, JU Da-Hong², MA Jian-Wei¹, and XUE Gui-Ping¹
(1. Department of Physiology, Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000, China; 2. Institute of Basic Theories, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[KEY WORDS] Coronary Heart Disease (Chest Impediment); Myocardial Ischemia; Guizhi Tang; Hyperlipemia; Microcirculation

[ABSTRACT] **Aim** To study the modern biological intention of theory “For those people whose heart is hurt we should mediate the nutrient and the defensive” and the function of Guizhi Tang on improving microcirculation in rat experimental hyperlipemia and myocardial ischemia. **Methods** The early changes of hyperlipid and atherosclerosis are caused by utilizing multiple factors including feeding hyperlipid, propylthiouracil and high doses of vitamine D₃ (VD₃). Based on the above, the myocardial ischemia model was established by injecting high doses of pituitrin. Measuring the total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDLc) and low density lipoprotein cholesterol (LDLc) in the 6th, 12nd and 18th week respectively. Determine blood viscosity (low, middle and high shear rate), plasma viscosity, hematocrit, erythrocyte aggregation index and the index of erythrocyte deformability. **Results** Guizhi Tang significantly improves the indexes of blood lipid metabolism, increases TC, TG and LDLc, and decreases HDLc. Guizhi Tang can notably decrease blood viscosity, blood deoxidize viscosity, plasma viscosity and relative viscosity, improve hemorheology of red blood cell. **Conclusions** Guizhi Tang has the marked function of improving microcirculation. Guizhi Tang can improve myocardial blood supply, decrease the occurrence and development of main heart and vascular disease.

冠心病(coronary heart disease, CHD)是指由于冠状动脉粥样硬化导致心肌缺血、缺氧而引起的心脏病,是动脉粥样硬化导致器官病变的最常见类型,其发病率呈逐年上升趋势。中医药治疗冠心病(胸

[收稿日期] 2011-04-19

[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,研究方向为心脏电生理及中药对心血管保护作用,E-mail 为 hbbfxyjh@163.com。通讯作者陈彦静,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向为心脏电生理及中药对心血管保护作用,E-mail 为 chenyj010@163.com。社会博,硕士,助理实验师,研究方向为心血管电生理,E-mail 为 jeyxydhhb@163.com。

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^[1-3]。本研究根据冠心病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,观察桂枝汤在改善微循环方面的作用,进一步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”的理论内涵奠定实验依据,并为应用桂枝汤治疗冠心病心绞痛(胸痹)提供科学根据,为临床进行冠心病的中西医结合治疗探索一条新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

健康雄性SD(Sprague-Dawley)大鼠60只,体重250~270g,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%普通饲料配制而成。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、20g/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。

1.2 动物分组及模型建立

普通喂养动物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10g治疗组(简称桂枝汤低剂量组)、桂枝汤20g治疗组(简称桂枝汤高剂量组),各12只。动脉粥样硬化(atherosclerosis,As)模型:高脂饲料喂养12周,每天15g,期间按700000IU/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72h,除空白组外,于灌胃给药30min后,各组动物腹腔注射垂体后叶素30u/kg,空白组给予等容量的生理盐水,连续3次,每间隔24h,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12h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空白对照组比较,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。桂枝汤大、小剂量组给药剂量分别为20、10g/(kg·d)(含生药量),10mL/kg灌胃给药,每日1次,连续6周。西药对照

组:辛伐他汀5.0mg/(kg·d),为成人剂量的20倍,10mL/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 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1.5mL,3500r/min,离心10min,提取血清,待18周实验结束,血流动力学指标测定完成后,从腹主动脉采血5mL,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;经肝素抗凝后,取2mL应用3-9D型血流变、微循环、红细胞变形、参数分析四用仪检测全血黏度、血浆黏度等指标,采用毛细管法测量红细胞压积,采用毛细管法测定血沉,计算红细胞变形性;将血沉检测中的红细胞加到电泳板上,测量红细胞单位时间内移动的最大距离和最小距离,记录数据测得红细胞电泳率。

1.5 统计学处理

实验结果以均数 $\bar{x} \pm s$ 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 $P < 0.05$ 为统计学上差异显著。

2 结果

2.1 各组大鼠心电图的改变

模型组与对照组比较,S-T段缺血改变明显,差异显著($P < 0.01$);桂枝汤组与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$;图1)。

2.2 各组大鼠血脂的改变

2.2.1 6、12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变化 高脂喂养6、12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1)。

2.2.2 18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变化 高脂喂养18周时,模型组与对照组相比血清TC、TG、LDLC浓度明显升高($P < 0.01$),HDLC浓度明显降低($P < 0.01$);阳性对照辛伐他汀组和模型组相比,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,桂枝汤高、低剂量组均有显著降脂作用($P < 0.01$),桂枝汤高浓度组降脂作用强于辛伐他汀组(表2)。



图 1. 不同组大鼠心电图比较(Ⅱ导) A 为对照组,B 为模型组,C 为辛伐他汀组,D 为桂枝汤低剂量组,E 为桂枝汤高剂量组。
Figure 1. The comparisons of ECG with Ⅱ-lead in different groups rats

表 1. 6、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 1. The changes of TC, TG, LDLC and HDLC in serum of 6 and 12 weeks rats

项 目	6 周		12 周	
	对照组 (n = 8)	模型组 (n = 10)	对照组 (n = 8)	模型组 (n = 10)
TC	0.94 ± 0.13	0.91 ± 0.12	1.43 ± 0.19	3.18 ± 0.23
TG	1.76 ± 0.26	3.28 ± 0.32 ^a	2.14 ± 0.31	2.79 ± 0.24 ^a
HDLc	0.57 ± 0.08	0.51 ± 0.09	0.59 ± 0.17	0.36 ± 0.07
LDLC	0.57 ± 0.08	1.37 ± 0.11 ^a	0.86 ± 0.11	1.43 ± 0.21 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

表 2. 18 周各组大鼠血清中 TC、TG、LDLC、HDLc 浓度的变化($\bar{x} \pm s$, mmol/L)
Table 2. The changes of TC, TG, LDLC and HDLC in serum of 18 weeks rats

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 各组大鼠血液流变学的改变

2.3.1 各组大鼠全血黏度的变化 模型组在高、中、低切变率下的全血黏度显著高于对照组 ($P < 0.01$); 阳性对照辛伐他汀组和桂枝汤低、高浓度组与模型组比较, 高、中、低切变率下的全血黏度均明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$; 表 3)。

2.3.2 各组大鼠全血还原黏度的变化 模型组全血还原黏度显著高于对照组 ($P < 0.01$); 阳性对照辛伐他汀组和桂枝汤低、高浓度组与模型组比较, 全血还原黏度明显降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$; 图 2)。

表 3. 18 周各组大鼠全血黏度的变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3. The changes of whole blood viscosity in 18 weeks rats

分 组	全血黏度 (300 L/s)	全血黏度 (115 L/s)	全血黏度 (1.00 L/s)
对照组	2.71 ± 0.13	3.30 ± 0.31	6.41 ± 0.63
模型组	3.95 ± 0.10 ^a	4.57 ± 0.20 ^a	13.36 ± 0.94 ^a
辛伐他汀组	3.22 ± 0.30 ^{bb}	3.60 ± 0.25 ^b	10.82 ± 0.85 ^b
桂枝汤低剂量组	3.40 ± 0.23 ^b	3.64 ± 0.41 ^b	11.30 ± 0.85
桂枝汤高剂量组	2.42 ± 0.32 ^{bb}	2.82 ± 0.42 ^{bb}	8.25 ± 1.14 ^{bb}

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

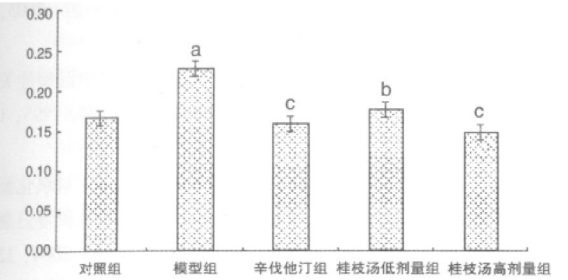


图 2. 18 周各组大鼠全血还原黏度 a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, c 为 $P < 0.01$, 与模型组比较。

Figure 2. The comparisons of whole blood deoxidizes viscosity of 18 weeks rats

表 5. 18 周各组大鼠血液红细胞血流变学的变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5. The changes of erythrocyte hemorheology of 18 weeks rats

分 组	红细胞聚集指数	红细胞电泳时间 (s)	红细胞电泳率 ($\mu\text{m} / \text{s. v. cm}$)	细胞迁移率
对照组	7.65 ± 1.05	24.45 ± 4.39	10.64 ± 1.70	10.91% ± 1.35%
模型组	9.33 ± 1.46 ^a	45.25 ± 6.90 ^b	13.70 ± 1.50 ^a	5.52% ± 0.64% ^a
辛伐他汀组	8.73 ± 0.88	33.19 ± 4.20 ^c	7.38 ± 0.99 ^d	7.05% ± 0.98% ^c
桂枝汤低剂量组	8.48 ± 0.88	29.29 ± 2.45 ^d	8.42 ± 0.88 ^c	8.11% ± 0.95% ^c
桂枝汤高剂量组	8.02 ± 1.15 ^b	27.68 ± 11.32 ^d	7.77 ± 1.30 ^c	8.62% ± 1.01% ^d

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

3 讨 论

本实验从冠心病的易患因素高脂血症着手, 依据冠心病的发病机制, 建立大鼠模型。采用高脂饲料、丙硫氧嘧啶及大剂量 VD₃ 多因素联合诱导高脂血症和动脉粥样硬化早期改变, 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。此方法复合造模, 更符合冠心病发病特点。本研究

2.3.3 各组大鼠血液红细胞变形指数和血浆黏度的变化 模型组血浆黏度和相对黏度明显高于对照组 ($P < 0.01$); 阳性对照辛伐他汀组和桂枝汤低、高浓度组与模型组比较, 血浆黏度和相对黏度明显降低 ($P < 0.01$); 各组间红细胞变形指数无明显变化 (表 4)。

表 4. 18 周各组大鼠血液红细胞变形指数和血浆黏度的变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4. The changes of erythrocyte deformation index and plasma viscosity of 18 weeks rats

分 组	红细胞变形指数	血浆黏度	相对黏度
对照组	0.96 ± 0.01	0.88 ± 0.09	2.96 ± 0.32
模型组	1.47 ± 0.11 ^a	2.19 ± 0.15 ^a	4.33 ± 0.18 ^a
辛伐他汀组	1.06 ± 0.05 ^c	1.20 ± 0.11 ^c	2.87 ± 0.24 ^c
桂枝汤低剂量组	1.26 ± 0.10 ^b	1.27 ± 0.09 ^c	3.06 ± 0.35 ^c
桂枝汤高剂量组	1.11 ± 0.08 ^c	1.04 ± 0.15 ^c	2.34 ± 0.32 ^c

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。

2.3.4 各组大鼠红细胞血流变学变化 反映红细胞电泳能力的检测结果显示, 模型组的红细胞电泳时间、电泳率均长于对照组, 而红细胞电泳长度迁移率均低于对照组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 阳性对照辛伐他汀组和桂枝汤低、高浓度组与模型组比较, 红细胞电泳时间、电泳率和电泳长度迁移率差异显著 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$; 表 5)。

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发生、发展的高血脂症、动脉粥样硬化及冠状动脉痉挛、心肌缺血缺氧等的病理改变^[4], 结果证实实验性大鼠心肌缺血损伤 (胸痹) 模型成功。

现代研究表明, 脂质代谢紊乱是“痰浊”的物质基础之一, 血液流变学异常是“瘀痰痹阻”客观指征之一。宋剑南等^[5] 采用药物反证法发现, TC、TG 及

LDLC 的升高是高脂血症痰浊证的主要特征和生化物质基础。动脉粥样硬化的发生发展,以动脉壁内皮细胞损伤为始动因素,血小板黏附聚集、释放生物活性物质和平滑肌细胞增殖为主要环节,脂质侵入,动脉壁弹性纤维破坏,引起动脉管腔狭窄为病理结果,这些改变属于中医学“瘀血”范畴。中医认为动脉粥样硬化是痰瘀同病之症,以痰瘀互阻证为多,有“痰瘀同源”、“痰瘀相关”之说,血中 TC、TG 和 LDL-C 升高是高脂血症痰浊的主要特征和生物化学物质基础^[6]。因此,脂质代谢异常(TC、TG、LDLC 升高, HDLC 下降)可做为动脉粥样硬化“痰浊”的物质基础,而动脉粥样硬化血液的高黏滞性、血液流变性及血小板功能改变与中医“血瘀”病理呈一致性变化^[7]。痰浊内停影响气机,滞气碍血,可致瘀症。血液黏滞性的增高是高脂血症及动脉粥样硬化患者血液流变学指标异常的重要特征。冠心病与血液流变学关系密切,心绞痛和心肌梗死患者血液黏度升高。引起血液黏度增加的因素很多,如血浆黏度增加、红细胞聚集、红细胞变形性、红细胞压积等。

本实验发现,模型组在高、中、低切变率下的全血黏度、血浆黏度、全血相对黏度及红细胞压积均显著高于对照组;桂枝汤组不同切变率下的全血黏度、血浆黏度、全血相对黏度及全血还原黏度、红细胞压积等指标均显著低于模型组。其作用机制可能与桂枝汤降低 TC、TG,进而降低红细胞压积、红细胞聚

集有关,最终达到降低血液黏度的作用效果。血液流变学指标的改善,使心脏负荷减小,心输出量增加,器官如心脏供血得以改善,从而达到防治心肌缺血、缺氧的目的。

[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] 曹洪欣, 张华. 痰瘀互结与冠心病发病机理辨识 [J]. 中医药学刊, 2001, 19(9): 544-545.
- [3] 路志正. 调理脾胃法在胸痹治疗中的运用 [J]. 中国中医急症, 1999, 8(5): 198-199.
- [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] 宋剑南, 刘东远, 牛晓红, 等. 高脂血症与中医痰浊关系的实验研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 1995, 1(1): 4.
- [6] 陈冰, 宋剑南, 牛晓红, 等. 健脾祛痰化瘀方对氧化型低密度脂蛋白诱导血管细胞信号分子钙离子和蛋白激酶 C 表达的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2004, 12(2): 143-146.
- [7] 刘卫红, 张琪, 颜贤忠, 等. 高脂血症及动脉粥样硬化痰瘀演变的代谢组学研究 [J]. 中医杂志, 2008, 49(8): 738-741.

(此文编辑 曾学清)