

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2016.01.016

实验研究

桂枝汤对糖尿病模型大鼠心脏自主神经重塑的影响

姜月华¹, 姜萍², 杨金龙², 马度芳², 王燕¹, 王雪², 孙平¹, 曹广尚¹, 李晓^{1*}

(1. 山东中医药大学附属医院, 山东省济南市文化西路 42 号, 250011; 2. 山东中医药大学)

摘要 **目的** 观察桂枝汤对糖尿病大鼠心脏自主神经病变重塑的影响及可能作用机制。**方法** 24 只大鼠随机分为正常对照组、模型对照组、弥可保组和桂枝汤组, 每组 8 只。除正常对照组外, 其余大鼠采用一次性腹腔注射链脲佐菌素建立糖尿病模型。弥可保组给予弥可保混悬液 0.15 mg/(kg·d) 灌胃, 桂枝汤组给予桂枝汤 4 g/(kg·d) 灌胃, 正常对照组和模型对照组大鼠各给予等量生理盐水灌胃, 各组均灌胃 7 周。采用生理参数遥测系统检测大鼠的心电图并计算心率变异性 (HRV), 包括时域分析的平均正常 RR 间期的标准差 (SDNN)、相邻 RR 间期差的均方根 (RMSSD)、每 5min 正常 RR 间期平均值的标准差 (SDANN) 和频域分析的低频 (LF)、高频 (HF)、总功率 (TP) 及 LF/HF; 检测室间隔和左心室心肌匀浆中酪氨酸羟化酶 (TH)、胆碱乙酰氨基转移酶 (ChAT)、生长相关蛋白 43 (GAP-43)、神经营养因子 (NGF) 和睫状神经营养因子 (CNTF) 含量。**结果** 与模型对照组比较, 桂枝汤组大鼠 SDNN、RMSSD 和 LF、HF、TP 增高, 而 SDANN 和 LF/HF 降低; 大鼠室间隔和左心室 ChAT 增加、TH/ChAT 降低, 室间隔和左心室 GAP-43、CNTF 增加, 而室间隔 NGF 降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与弥可保组比较, 桂枝汤大鼠 SDANN 和 LF/HF 降低, RMSSD、LF、HF 和 TP 升高; 大鼠室间隔和左心室 ChAT、GAP-43、CNTF 增加, TH/ChAT 降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论** 桂枝汤可预防糖尿病大鼠心脏自主神经损伤, 减轻自主神经重塑, 其机制可能与调节交感神经和迷走神经平衡有关。

关键词 糖尿病; 桂枝汤; 心脏自主神经病变; 心脏自主神经重塑; 心率变异性

心脏自主神经在调节心率、心电信号传输和心肌舒缩等方面有重要作用。研究显示, 糖尿病患者伴有心脏自主神经病变时 5 年内的死亡率为 53%, 是无心脏自主神经病变患者的 3.3 倍^[1]。自主神经损伤后出现的重塑过程打破原有交感神经和迷走神经平衡状态, 导致心肌电生理紊乱, 使糖尿病心脏病、心律失常、无痛性心肌缺血、心肌梗死和心脏猝死的发生率升高^[2]。前期研究发现, 桂枝汤可降低自发性糖尿病大鼠心肌中核转录因子 B、白细胞介素 1、肿瘤坏死因子 α 和内皮素 1 水平, 减轻心肌胶原重塑, 减少心肌内膜厚度, 改善血氧弥散障碍, 降低心肌损伤^[3-4]。避免神经损伤是减轻自主神经重塑的有效途径, 故本研究观察了糖尿病大鼠心脏自主神经病变时交感神经和副交感神经之间

重塑过程以及桂枝汤对其的防治作用, 并以神经调节剂弥可保为对照, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 Wistar 雄性大鼠 36 只, 8 周龄, 体重 220 ~ 250 g, 由济宁鲁抗实验动物中心提供, 实验动物许可证号: SCXK 鲁 20080002。

1.2 实验药物及试剂

桂枝汤方组成: 桂枝 18 g, 白芍 18 g, 炙甘草 12 g, 生姜 18 g, 大枣 6 枚, 水煎煮至终浓度为 1.5 g/ml 溶液, 由山东中医药大学附属医院制剂室加工制作。甲钴胺片 (弥可保), 卫材 (中国) 药业有限公司, 批号 120307A; 链脲佐菌素 (STZ), 美国 Sigma 公司, 批号 329A039; 戊巴比妥钠, 北京索莱宝科技有限公司, 批号 509A031; 青霉素, 山东鲁抗医药股份有限公司, 批号 B131125。神经

基金项目: 国家自然科学基金 (81072962)

* 通讯作者: lixia0617@163.com

生长因子 (NGF) 试剂盒, 购自 Abcam 公司, 批号 ab100757; 睫状神经生长因子 (CNTF) 试剂盒, PeproTech 公司, 批号 900-K65、900-K00; 酪氨酸羟化酶 (TH)、胆碱乙酰氨基转移酶 (ChAT)、生长相关蛋白 43 (GAP-43) ELISA 试剂盒 (批号分别为 10234RT、10538RT、10190RT), 上海碧云天生物技术有限公司。

1.3 主要仪器

生理参数遥测系统, 生物遥测系统, 美国 Data Sciences International (DSI) 公司; T25 匀浆机, 德国 IKA 公司; Multiskan Go 酶标仪, 美国 Thermo Scientific 公司。

1.4 造模方法

STZ 溶于柠檬酸钠缓冲液中, 大鼠一次性腹腔注射 STZ (55 mg/kg) 建立糖尿病模型^[9]。每日隔夜禁食 10 h 后监测空腹血糖, 以补充 STZ 腹腔注射 (10 mg/kg) 的方法, 使空腹血糖 > 11.1 mmol/L。

1.5 动物分组及给药

36 只大鼠采用随机数字表法取 8 只作为正常对照组, 其余大鼠造模, 将造模成功的 24 只大鼠随机分为模型对照组、弥可保组和桂枝汤组, 每组 8 只。弥可保组予弥可保混悬液 0.15 mg/(kg·d) 灌胃, 桂枝汤组给予桂枝汤 4 g/(kg·d) 灌胃, 正常对照组和模型对照组大鼠给予等量生理盐水灌胃。各组均灌胃 7 周。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 心率变异性 (HRV) 检测 采用生理参数遥测系统检测大鼠的心电图并计算 HRV。于实验开始前 1 周, 将生理遥测系统植入于在动物麻醉下 (戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔注射) 通过手术植入皮下, 心电电极的放置采用肢体导联 II 的形式, 电极引线和植入子置于皮下, 并在缝合时将植入子固定于皮肤。术后连续 3 天肌肉注射青霉素防止感染。术后 1 周用磁性开关打开植入子, 记录大鼠的心电图^[9], 由心电图数据计算 HRV。

HRV 的线性分析包括时域分析和频域分析。

时域分析的平均正常 RR 间期的标准差 (SDNN) 和相邻 RR 间期差的均方根 (RMSSD) 主要反映迷走神经张力, 而每 5 min 正常 RR 间期平均值的标准差 (SDANN) 反映交感神经张力。SDNN 是 HRV 时域分析最具代表性参数, 与迷走神经功能相关, 降低 SDNN 意味着自主神经对心率的调节功能降低, RMSSD 反映副交感神经张力^[9]。频域分析的低频 (LF, 0.04 ~ 0.15 Hz) 主要反映交感神经张力, 而高频 (HF, 0.16 ~ 0.4 Hz) 代表迷走神经张力, LF/HF 反映交感神经和副交感神经之间的平衡。总功率 (TP) 代表自主神经对心率整体调节作用^[9]。

1.6.2 心肌组织 NGF、CNTF、TH、ChAT、GAP-43 含量测定 灌胃 7 周后, 大鼠隔夜禁食, 次日测量空腹血糖, 4% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉。开胸取心脏, 剪取左心室, 组织剪碎, 加入生理盐水制备 20% 心肌组织混悬液, 匀浆机匀浆 (3500 r/min), 离心后取上清液。采用酶联免疫吸附法, 严格按照试剂盒说明书进行操作。NGF、TH、ChAT、GAP-43 由四甲基联苯胺孵育, 酶标仪测定 450 nm 处的吸光度; CNTF 用 ABTS 固定, 酶标仪测定 405 nm 处的吸光度。根据标准曲线计算心肌组织中的 TH、ChAT、GAP-43、NGF 和 CNTF 含量。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 经正态性检验后, 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 HRV 检测结果比较

表 1 示, 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠的 HRV 时域指标 SDNN、RMSSD 和频域指标 LF、HF、TP 均降低, 而 SDANN 和 LF/HF 升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。弥可保组 SDNN、RMSSD 和 TP 高于模型对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 桂枝汤组 SDNN、RMSSD 和 LF、HF、

表 1 各组大鼠心率变异性指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	SDNN (ms)	SDANN (ms)	RMSSD (ms)	LF (ms ²)	HF (ms ²)	LF/HF	TP (ms ²)
正常对照组	8	16.88 ± 5.14	17.28 ± 6.84	24.10 ± 10.70	353.17 ± 102.41	305.67 ± 85.59	1.12 ± 0.24	750.50 ± 210.14
模型对照组	8	11.93 ± 2.05*	18.93 ± 6.48*	11.95 ± 2.54*	104.17 ± 28.02*	72.67 ± 25.00*	1.76 ± 0.57*	201.83 ± 53.89*
弥可保组	8	15.17 ± 2.79 [△]	17.92 ± 7.90	15.10 ± 3.20 [△]	136.67 ± 42.36	98.67 ± 22.69	1.55 ± 0.58	290.00 ± 66.99 [△]
桂枝汤组	8	16.17 ± 4.88 [△]	11.46 ± 2.91 ^{△▲}	22.30 ± 8.46 ^{△▲}	226.50 ± 64.10 ^{△▲}	212.83 ± 51.08 ^{△▲}	1.10 ± 0.22 ^{△▲}	505.00 ± 134.84 ^{△▲}

注: SDNN, 平均正常 RR 间期的标准差; RMSSD, 相邻 RR 间期差的均方根; SDANN, 每 5 min 正常 RR 间期平均值的标准差; LF, 频域分析的低频; HF, 频域分析的高频; TP, 总功率; 与正常对照组比较, * $P < 0.05$; 与模型对照组比较, [△] $P < 0.05$; 与弥可保组比较, [▲] $P < 0.05$

表 2 各组大鼠室间隔和左室中 TH、ChAT 含量和 TH/ChAT 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TH (ng/ml)		ChAT (ng/ml)		TH/ChAT	
		室间隔	左心室	室间隔	左心室	室间隔	左心室
正常对照组	8	44.77 ± 4.09	23.83 ± 1.63	76.25 ± 7.63	39.65 ± 7.32	0.59 ± 0.09	0.61 ± 0.10
模型对照组	8	55.51 ± 4.97**	25.93 ± 1.63*	55.55 ± 4.54**	26.21 ± 5.18**	1.01 ± 0.14**	1.03 ± 0.24**
弥可保组	8	60.86 ± 5.08**△	31.28 ± 3.77**△△	59.09 ± 2.41**	29.05 ± 5.91*	1.03 ± 0.07**	1.13 ± 0.33**
桂枝汤组	8	57.23 ± 5.06*	26.41 ± 1.81*▲▲	64.48 ± 5.33**△△▲	37.26 ± 3.81△△▲▲	0.89 ± 0.08**△▲▲	0.71 ± 0.08*△△▲▲

注: TH, 酪氨酸羟化酶; ChAT, 胆碱乙酰基转移酶; 与正常对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型对照组比较, △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$; 与弥可保组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$

表 3 各组大鼠室间隔和左室中 GAP-43、NGF、CNTF 含量比较 (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	GAP-43		NGF		CNTF	
		室间隔	左心室	室间隔	左心室	室间隔	左心室
正常对照组	8	211.09 ± 21.18	109.37 ± 7.80	383.84 ± 42.07	342.69 ± 31.28	60.02 ± 2.77	36.92 ± 5.58
模型对照组	8	246.96 ± 19.11**	122.04 ± 8.67*	454.58 ± 21.54**	378.64 ± 14.47*	42.26 ± 8.41*	25.83 ± 3.48**
弥可保组	8	279.94 ± 31.32**△	121.94 ± 13.40*	441.77 ± 32.09*	379.47 ± 22.02*	51.17 ± 5.74**△	30.55 ± 2.82*△
桂枝汤组	8	317.95 ± 32.02**△▲	138.65 ± 15.54**△▲	390.37 ± 36.02△△▲	381.28 ± 17.50*	57.50 ± 2.92**△▲	43.67 ± 6.55*△△▲▲

注: GAP-43, 生长相关蛋白 43; NGF, 神经生长因子; CNTF, 睫状神经生长因子; 与正常对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型对照组比较, △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$; 与弥可保组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$

TP 高于模型对照组, 而 SDANN 和 LF/HF 低于模型对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与弥可保组比较, 桂枝汤组 SDANN 和 LF/HF 降低, 而 RMSSD、LF、HF 和 TP 升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 各组大鼠心肌组织中 TH 和 ChAT 含量比较

表 2 示, 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠室间隔和左心室 TH 增加、ChAT 降低、TH/ChAT 增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型对照组比较, 弥可保组大鼠室间隔和左心室 TH 增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 桂枝汤组大鼠室间隔和左心室 ChAT 增加、TH/ChAT 降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与弥可保组比较, 桂枝汤组大鼠室间隔和左心室 ChAT 增加、TH/ChAT 降低, 左心室 TH 降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.3 各组大鼠心肌组织中 GAP-43、NGF 和 CNTF 含量比较

表 3 示, 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠室间隔和左心室的 GAP-43、NGF 增加, CNTF 降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型对照组比较, 弥可保组大鼠室间隔的 GAP-43、CNTF 和左心室 CNTF 增加 ($P < 0.05$); 桂枝汤组大鼠室间隔和左心室 GAP-43、CNTF 增加, 而室间隔 NGF 降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与弥可保组比较, 桂枝汤可增加室间隔和左心室 GAP-43 和 CNTF 水平, 降低室间隔 NGF 表达 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3 讨论

中医理论认为, 心主神明, 主血脉, 营行脉内,

卫行脉外, 故心主营卫。对于糖尿病心脏自主神经病变, 我们认为, 其病机可归纳为热毒伤络, 营卫不调, 耗伤心神。营卫损伤必然导致心之阴阳失调, 营血亏虚、营卫损伤必然导致心神失养。《难经》中提出“损其心者, 调其营卫”, 而桂枝汤是调和营卫的代表方。柯琴在《伤寒来苏集》论述桂枝汤曰“仲景群方之魁, 乃滋阴和阳, 调和营卫, 解肌发汗之总方也。”方中桂枝合甘草辛甘化阳, 芍药合甘草酸甘化阴, 发挥调和营卫、平衡阴阳的作用。

既往研究证明, 注射 STZ 后第 2 周, 大鼠心脏神经纤维分布密度比正常大鼠明显增加, 表明出现心脏自主神经异常改变^[9]。HRV 可反映交感神经和迷走神经张力及其之间的平衡状态, HRV 分析能够对自主神经病变进行敏感定量评价^[10]。本研究发现, 模型对照组大鼠的 HRV 时域指标 SDNN、RMSSD 和频域指标 LF、HF、TP 均降低, 而 SDANN 和 LF/HF 升高, 表明在高血糖状态下, 自主神经出现不同步损伤和重塑, 表现为迷走神经受损, 交感神经张力相对增加, 两者间的平衡被打破。桂枝汤可降低 SDANN, 同时相比弥可保组可升高 HF 和 RMSSD。此过程中弥可保组 LF/HF 增加, 而桂枝汤可使 LF/HF 处于大致正常水平, 表明桂枝汤可有效保护心脏迷走神经, 恢复交感神经和迷走神经之间的平衡。

已有研究证明, 糖尿病患者心脏迷走神经受抑制^[11-12], 而且迷走神经异常较交感神经损伤出现早^[13]。TH 和 ChAT 分别可作为肾上腺素能神经和胆碱能神经分布和活性的标志物^[14-15]。本研究中,

大鼠注射 STZ 后心脏中的 TH 表达增加, ChAT 表达降低, TH/ChAT 升高, 表明 STZ 诱导的糖尿病大鼠心脏交感神经和迷走神经发生重塑, 交感神经支配增加而迷走神经支配降低, 交感神经与迷走神经活性失衡。药物干预后, 桂枝汤组 ChAT 表达增加, 表明桂枝汤可减轻糖尿病大鼠心脏迷走神经损伤, 同时桂枝汤组大鼠心肌中 TH 未出现明显升高, 提示桂枝汤可能抑制心肌中交感神经损伤后过度的芽生, 这与我们之前研究^[4]证明桂枝汤可抑制 4 甲基邻苯二酚诱导的大鼠心肌中交感神经芽生的结果相符合。

神经营养因子的异常改变是糖尿病神经病变的原因之一, GAP-43 在生长的轴突中表达丰富, 是轴突芽生和突触再生的标志性蛋白^[17]。在心脏中 NGF 是增强交感神经活性的主要神经营养因子^[18], 可促使交感神经元存活和分化, 增强交感神经支配能力^[19], 这些功能使得其在心脏疾病中可诱导交感神经芽生, 出现神经重塑^[20]。本研究中, 模型对照组大鼠心肌组织匀浆中 TH 含量高于正常对照组, 而且 GAP-43 和 NGF 也较正常对照组升高, 表明糖尿病大鼠心脏中交感神经出现芽生。桂枝汤可促进糖尿病大鼠心脏中 GAP-43 的表达, 促进交感神经再生, 但由心肌 TH 含量可知, 桂枝汤组大鼠心肌交感神经芽生程度低于弥可保组。因此, 我们推测桂枝汤在促进神经营养因子合成同时并未引起交感神经过度芽生。

在心脏发育阶段, CNTF 在迷走神经突触形成和突触后功能建立方面起到重要作用^[21]。本研究表明, 模型对照组大鼠室间隔和左心室中 ChAT 表达均降低, 而桂枝汤组 ChAT 明显高于模型对照组和弥可保组, 且桂枝汤组 CNTF 较模型对照组和弥可保组明显升高, 据此推断桂枝汤促进 CNTF 增加可能是预防糖尿病时迷走神经损伤的主要原因之一。

本研究证明, 糖尿病时心脏迷走神经出现损伤, 而交感神经表现为过度芽生, 心脏自主神经支配失衡。由于心电植入子植入的限制, 本实验对桂枝汤没有设立剂量对照组, 但本实验结果能够证明桂枝汤可预防糖尿病大鼠心脏迷走神经损伤, 同时可防止交感神经过度再生, 维持心脏自主神经平衡。

参考文献

[1] MASER RE, MITCHELL BD, VINIK AI, et al. The association between cardiovascular autonomic neuropathy and mortality in individuals with diabetes: a meta-analysis

- [2] . Diabetes Care, 2003, 26(6) : 1895-1901.
- [3] VINIK AI, ZIEGLER D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy [J]. Circulation, 2007, 115(3) : 387-397.
- [4] 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, 24(8) : 1068-1071.
- [5] 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, 2010, 16(13) : 116-119.
- [6] SCHAAN BD, DALL'AGO P, MAEDA CY, et al. Relationship between cardiovascular dysfunction and hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetes in rats [J]. Braz J Med Biol Res, 2004, 37(12) : 1895-1902.
- [7] WHALEY-CONNELL A, HABIBI J, PANFILI Z, et al. Angiotensin II Activation of mTOR Results in Tubulointerstitial Fibrosis through Loss of N-Cadherin [J]. Am J Nephrol, 2011, 34(2) : 115-125.
- [8] BOOTSMA M, SWENNE CA, Van BOLHUIS HH, et al. Heart rate and heart rate variability as indexes of sympathovagal balance [J]. Am J Physiol, 1994, 266(4Pt2) : H1565-H1571.
- [9] AUBERT AE, RAMAEKERS D, BECKERS F, et al. The analysis of heart rate variability in unrestrained rats. Validation of method and results [J]. Comput Methods Programs Biomed, 1999, 60(3) : 197-213.
- [10] BAKOVIC M, JURIC PM, ZDRILIC E, et al. Changes in cardiac innervation during maturation in long-term diabetes [J]. Exp Gerontol, 2013, 48(12) : 1473-1478.
- [11] MARTINKA P, FIELITZ J, PATZAK A, et al. Mechanisms of blood pressure variability-induced cardiac hypertrophy and dysfunction in mice with impaired baroreflex [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2005, 288(3) : R767-R776.
- [12] ASTRUP AS, TARNOW L, ROSSING P, et al. Cardiac autonomic neuropathy predicts cardiovascular morbidity and mortality in type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy [J]. Diabetes Care, 2006, 29(2) : 334-339.
- [13] MASER RE, LENHARD MJ. Cardiovascular autonomic neuropathy due to diabetes mellitus: clinical manifestations, consequences, and treatment [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2005, 90(10) : 5896-5903.
- [14] UEHARA A, KURATA C, SUGI T, et al. Diabetic cardiac autonomic dysfunction: parasympathetic versus sympathetic [J]. Ann Nucl Med, 1999, 13(2) : 95-100.
- [15] CAO JM, FISHBEIN MC, HAN JB, et al. Relationship between regional cardiac hyperinnervation and ventricular arrhythmia [J]. Circulation, 2000, 101(16) : 1960-1969.
- [16] JAYACHANDRAN JV, SIH HJ, WINKLE W, et al.

Atrial fibrillation produced by prolonged rapid atrial pacing is associated with heterogeneous changes in atrial sympathetic innervation [J]. *Circulation*, 2000, 101 (10): 1185-1191.

[6] 李晓, 姜萍, 林海青, 等. 桂枝汤对 4-甲基邻苯二酚诱导心脏交感神经芽生的抑制作用 [J]. *中国药理学通报*, 2014, 30(9): 1320-1325.

[17] MABE AM, HOOVER DB. Remodeling of cardiac cholinergic innervation and control of heart rate in mice with streptozotocin-induced diabetes [J]. *Auton Neurosci*, 2011, 162(1/2): 24-31.

[18] MAEDA K, FERNYHOUGH P, TOMLINSON DR. Regenerating sensory neurones of diabetic rats express reduced levels of mRNA for GAP-43, gamma-prepro-

tachykinin and the nerve growth factor receptors, trkA and p75NGFR [J]. *Mol Brain Res*, 1996, 37(1/2): 166-174.

[9] 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] KIM HC, CHO YJ, AHN CW. Nerve growth factor and expression of its receptors in patients with diabetic neuropathy [J]. *Diabet Med*, 2009, 26(12): 1228-1234.

[21] WANG X, HARLVORSEN SW. Reciprocal regulation of ciliary neurotrophic receptors and acetylcholine receptors during synaptogenesis in embryonic chick atria [J]. *J Neurosci*, 1998, 18(18): 7372-7380.

Effect of *Guizhi Tang* (桂枝汤) on Cardiac Autonomic Nerve Remodeling of Diabetes Model Rats

JIANG Yuehua¹, JIANG Ping², YANG Jinlong², MA Dufang², WANG Yan¹, WANG Xue², SUN Ping¹, CAO Guangshang¹, LI Xiao¹

(1. The Affiliated Hospital of Shandong University of Chinese Medicine, Shangdong, 250011; 2. Shandong University of Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To observe the effect and possible mechanism of *Guizhi Tang* (桂枝汤) on cardiac autonomic nerve remodeling of rats with diabetes. **Methods** Randomly divided 24 rats into normal control group, model control group, Methycobal group, and *Guizhi Tang* group, with 8 rats each. All groups except the normal control group adopted one-time intraperitoneal injection Streptozotocin to build diabetes model. The Methycobal group was perfused with Methycobal suspension 0.15 mg/(kg · d). The *Guizhi Tang* group was given *Guizhi Tang* 4 g/(kg · d) for gavage. The normal control group and the model control group were given equal dose normal saline for gavage respectively. All groups were perfused for 7 weeks. Adopted physiological parameters radiotelemetry system to examine electrocardiogram and calculated heart rate variability (HRV) of rats, including standard deviation of NN intervals (SDNN), root mean square of successive differences (RMSSD), standard deviation average of NN intervals (SDANN) every 5 min of time-domain analysis, and low frequency (LF), high frequency (HF) and total power (TP) and LF/HF of frequency domain analysis. Examined content of tyrosine hydroxylase (TH), Choline acetyl amino transferase (ChAT), growth-associated protein 43 (GAP-43), neurotrophic factors (NGF) and ciliary neurotrophic factor (CNTF) in homogeate of interventricular septum and left ventricle. **Results** SDNN, RMSSD, LF, HF and TP of rats in the *Guizhi Tang* group increased while SDANN, LF/HF decreased compared with that of the model control group. ChAT increased and TH/ChAT decreased of interventricular septum and left ventricle of rats. GAP-43 and CNTF of interventricular septum and left ventricle increased while NGF of interventricular septum decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). SDANN, LF/HF of rats in the *Guizhi Tang* group decreased, RMSSD, LF, HF and TP increased compared with that of the Methycobal group. ChAT, GAP-43, CNTF of interventricular septum and left ventricle increased, while TH/ChAT decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** *Guizhi Tang* could prevent cardiac autonomic nerve injury of diabetes, relieve autonomic nerve remodeling. Its mechanism may be related to regulating sympathetic nerve and vagus nerve balance.

Keywords diabetes; *Guizhi Tang*; cardiac autonomic nerve lesion; cardiac autonomic nerve remodeling; heart rate variability

(收稿日期: 2015-03-24; 修回日期: 2015-06-30)

[编辑: 邓媛]