

桂枝茯苓胶囊对肾上腺素诱导大鼠实验性肠系膜微循环障碍的改善研究

孙 兰^{1,2}, 李家春^{1,2}, 周 军^{1,2}, 王振中^{1,2*}, 萧 伟^{1,2*}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

摘要: **目的** 研究桂枝茯苓胶囊对大鼠实验性肠系膜微循环障碍的影响。**方法** 将 75 只 SD 雌性大鼠随机分为 5 组, 分别为模型组、盐酸消旋山莨菪碱注射液 (0.50 mg/只, im 给药) 组以及桂枝茯苓胶囊低、中、高剂量 (0.14、0.27、0.54 g/kg, ig 给药) 组, 1 次/d, 连续 7 d。末次给药后 30 min 开腹找出肠系膜, 观察滴加肾上腺素后选定区域的微动脉管径、微静脉管径、微动脉流速、微静脉流速及局部微循环血流恢复时间。**结果** 局部区域滴加 1 : 100 盐酸肾上腺素生理盐水溶液 20 μ L/只后, 观察区出现了典型的微循环障碍的表现。桂枝茯苓胶囊对微动脉管径、微静脉管径, 微动脉流速, 微静脉流速及局部微循环血流恢复时间均有显著的改善作用。**结论** 桂枝茯苓胶囊具有改善微循环障碍作用。

关键词: 桂枝茯苓胶囊; 实验性肠系膜微循环障碍; 微动脉管径; 改善作用

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2015)01 - 0008 - 05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2015.01.002

Improvement of Guizhi Fuling Capsules on epinephrine induced experimental rat mesenteric microcirculatory disturbance

SUN Lan^{1,2}, LI Jia-chun^{1,2}, ZHOU Jun^{1,2}, WANG Zhen-zhong^{1,2}, XIAO Wei^{1,2}

1. Kanion Pharmaceutical Co., Ltd, Lianyungang 222001, China

2. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective To study the effects of microcirculatory disturbance with Guizhi Fuling Capsules in rats. **Methods** Seventy-five SD female rats were randomly divided into model group, Raceanisodamine Hydrochloride Injection (0.50 mg each, im administration) group, Guizhi Fuling Capsules low-, mid-, and high-dose (0.14, 0.27, and 0.54 g/kg, ig administration) groups. At the same time mice were given drugs 1 once daily for 7 d. Thirty minutes after intragastric administration on the 7th day, added epinephrine and observed the micro artery diameter, microvein diameter, micro artery flow velocity, micro vein flow velocity, and recovery time of blood flow. **Results** 20 μ L of Adrenaline Saline Solution (1 : 100) was added into in local area and appeared typically microcirculatory disturbance. Guizhi Fuling Capsules could improve significantly the microartery diameter, micro vein diameter, micro artery flow velocity, micro vein flow velocity, and recovery time of blood flow. **Conclusion** Guizhi Fuling Capsules can improve microcirculation obstacles.

Key words: Guizhi Fuling Capsules; xperimental mesenteric microcirculatory disturbance; micro artery diameter; improvement

桂枝茯苓方出自张仲景《金匱要略》, 由桂枝、茯苓、桃仁、丹皮、芍药组成。桂枝茯苓胶囊在桂枝茯苓方基础上通过改剂型而制得的现代中药制剂, 具有活血、化瘀、消癥的功能, 用于妇人宿有癥块, 或血瘀经闭, 行经腹痛, 产后恶露不尽, 子

宫肌瘤, 慢性盆腔炎包块, 痛经, 子宫内膜异位症, 卵巢囊肿见上述证候者, 也可用于女性乳腺囊性增生病属瘀血阻络证, 症见乳腺疼痛、乳房肿块、胸肋胀闷; 或用于前列腺增生属瘀阻膀胱证, 症见小便不爽、尿细如线、或点滴而下、小腹胀痛者^[1]。

收稿日期: 2014-08-27

基金项目: 国家重大新药创制项目 (2013ZX09402203)

作者简介: 孙 兰, 硕士研究生, 主管中药师, 研究方向为中药新药药效筛选与评价。Tel: (0518)81152297 E-mail: sunlan2012@126.com

*通信作者 萧 伟, 博士, 研究员级高级工程师, 研究方向为中药新药研究与开发。

王振中, 博士, 高级工程师, 研究方向为中药新药研究与开发。Tel: (0518)81152337 E-mail: wzhzh-nj@163.com

桂枝茯苓方加减临床治疗的病症十分广泛,涉及的病种有内、外、妇、五官、皮肤等科病症,但究其中医辨证,多与瘀血有关,以妇科病症为主。微循环障碍是血液理化性质的改变,使管腔狭窄,血流速度或减慢或血栓形成,使局部组织缺血缺氧甚至坏死,引起一系列临床症状。微循环畅通百病不生,微循环障碍是百病之源。有许多妇科病均与微循环有关^[2],如痛经、月经不调、小腹下坠感、附件炎、子宫肌瘤都与气血不通、气滞血瘀有关,气滞则痛,血瘀则肿。临床用于改善微循环障碍药物主要有包括血管保护药、抗凝血药、溶栓去纤药、抗血小板、降低血黏度药物及中药制剂。本实验通过肾上腺素诱导大鼠微循环障碍模型,观察桂枝茯苓胶囊的活血化瘀作用,为临床应用提供依据。

1 材料

1.1 药物与试剂

桂枝茯苓胶囊,江苏康缘药业股份有限公司,规格 0.31 g/粒,批号 20120816;盐酸消旋山莨菪碱注射液,新乡市常乐制药有限公司,规格 1 mL:5 mg,批号 1306222;盐酸去甲肾上腺素注射液,北京市永康药业有限公司,批号 12100241;水合氯醛,国药集团化学试剂有限公司,AR级,批号 20100304;戊巴比妥钠,Morok公司,规格 25 g/瓶,批号 122004;生理盐水,山东长富洁晶药业有限公司,规格 100 mL/瓶,批号 2012030207;羧甲基纤维素钠(CMC-Na),中国医药(集团)上海化学试剂公司,批号 20121218。

1.2 动物

SD大鼠,SPF级,雌性,180~220 g,上海西普尔-必凯实验动物有限公司,质量合格证号 SCXK(沪)2008-0016。

1.3 仪器

电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;Eppendorf 5840R型冷冻离心机,Eppendorf公司;智能恒温仪,成都泰盟科技有限公司;UB203I生物显微镜,重庆澳浦光电技术有限公司;恒温控制实验鼠板、BI-2000动态微循环图像观察测量系统软件,成都泰盟科技有限公司。

2 方法

2.1 动物分组及给药

取SD大鼠75只,随机分为5组,每组15只,即模型组,盐酸消旋山莨菪碱注射液组,桂枝茯苓

胶囊低、中、高剂量(0.14、0.27、0.54 g/kg)组。模型组和桂枝茯苓胶囊组 ig 0.5% CMC-Na混悬液,给药容积均为 10 mL/kg,盐酸消旋山莨菪碱注射液组 im 给药 0.50 mg/只,给药容积 0.1 mL。1次/d,连续 7 d。

2.2 指标测定

2.5%戊巴比妥钠 30 mg/kg ip 麻醉大鼠,背位固定,于腹正中线作 3~4 cm 长切口,轻拉回盲部一段小肠系膜,置于充满 37 °C 生理盐水的有机玻璃恒温水浴槽中,保持肠系膜湿润,并平铺在浴槽中央的有机凸型观察台上,压上固定板,利用生物显微镜(放大 40 倍)摄像头采集显微镜下视频图像,通过视频采集卡输入微机,利用 BI-2000 微循环观测系统对所采集的镜下视频图像进行实时分析。固定一视野,平衡 10 min 后,观察选定区域的微动脉和微静脉管径、流速,然后向选定区域滴加 1:100 稀释盐酸肾上腺素生理盐水溶液 20 μL/只,观察滴加肾上腺素后 2、5、10 min 时上述各指标变化及局部微循环血流完全恢复时间(观察 20 min,若仍不恢复,记为 20 min;血流呈线性流动作为血流恢复的判断标准)。

2.3 统计处理和分析

实验数据用 Graphpad Prism 5.0 统计作图软件分析,组间比较采用 two-way ANOVA 分析,结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 微循环障碍的表现

各组在观察时,局部区域滴加 1:100 盐酸肾上腺素生理盐水溶液 20 μL/只后,观察区出现了典型的微循环障碍的表现。早期表现为流动血栓形成,出现以血小板为主的团块在微循环血流中流过的现象。显微镜下可见微动脉、微静脉等血流出现线粒流、粒流、摆流及停滞状态。盐酸消旋山莨菪碱注射液组和桂枝茯苓胶囊组均有改善微循环障碍作用。见图 1。

3.2 对微动脉管径的影响

与模型组比较,盐酸消旋山莨菪碱注射液组微动脉管径在盐酸肾上腺素滴加前以及滴加后 2、5、10 min 微动脉管径差异有显著性 ($P < 0.05$),桂枝茯苓胶囊高剂量组微动脉管径在肾上腺素滴加前以及滴加后 5、10 min 微动脉管径差异有显著性 ($P < 0.05$),桂枝茯苓胶囊中、低剂量组微动脉管径在肾

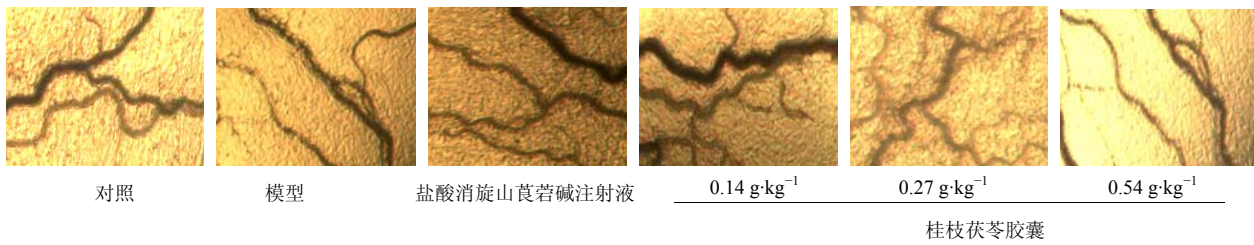


图 1 微循环障碍的表现

Fig. 1 Performance microcirculation disturbance

上腺素滴加前以及滴加后 10 min 微动脉管径有显著性差异 ($P < 0.05$)。结果见表 1。

3.3 对微静脉管径的影响

与模型组比较, 盐酸消旋山莨菪碱注射液组微静脉管径在肾上腺素滴加前以及滴加后 2、5 min 微静脉管径差异有显著性 ($P < 0.05$)。桂枝茯苓胶囊各剂量组在肾上腺素滴加前以及滴加后 2、5、10 min 微静脉管径差异均无显著性。结果见表 2。

3.4 对微动脉流速的影响

与模型组比较, 盐酸消旋山莨菪碱注射液组微

动脉流速在肾上腺素滴加前以及滴加后 5、10 min 差异有显著性 ($P < 0.01$)。桂枝茯苓胶囊高、中、低剂量组微动脉流速肾上腺素滴加前以及滴加后 10 min 差异有显著性 ($P < 0.05、0.01$)。结果见表 3。

3.5 对微静脉流速的影响

与模型组比较, 盐酸消旋山莨菪碱注射液组微静脉流速在肾上腺素滴加前以及滴加后 5、10 min 差异有显著性 ($P < 0.01$)。桂枝茯苓胶囊各剂量组微静脉流速在肾上腺素滴加前以及滴加后 10 min 差异均有显著性 ($P < 0.05、0.01$)。结果见表 4。

表 1 桂枝茯苓胶囊对微循环障碍模型大鼠微动脉管径的影响 ($\bar{x} \pm s, n=15$)

Table 1 Effects of Guizhi Fuling Capsules on arteriole diameter of microcirculatory disturbance model rats ($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	微动脉管径差值/μm		
		2 min	5 min	10 min
模型	—	7.70 ± 4.76	5.78 ± 3.09	4.92 ± 3.10
盐酸消旋山莨菪碱注射液	0.50 mg	4.37 ± 3.81*	2.62 ± 3.22*	1.55 ± 2.24*
桂枝茯苓胶囊	0.14	5.21 ± 3.31	4.35 ± 2.50	2.52 ± 2.59*
	0.27	5.98 ± 3.46	4.14 ± 3.61	2.11 ± 2.69*
	0.54	5.02 ± 3.25	2.95 ± 2.29*	2.30 ± 2.43*

与模型组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs model group

表 2 桂枝茯苓胶囊对微循环障碍模型大鼠微静脉管径影响 ($\bar{x} \pm s, n=15$)

Table 2 Effects of Guizhi Fuling Capsules on micro vein diameter of microcirculatory disturbance model rats ($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	微静脉管径差值/μm		
		2 min	5 min	10 min
模型	—	7.17 ± 3.28	6.03 ± 3.56	4.74 ± 2.98
盐酸消旋山莨菪碱注射液	0.50 mg	4.05 ± 3.45*	3.11 ± 3.83*	3.66 ± 4.03
桂枝茯苓胶囊	0.14	4.87 ± 4.30	3.82 ± 3.51	3.27 ± 3.32
	0.27	6.04 ± 5.30	3.58 ± 3.73	4.13 ± 4.66
	0.54	6.13 ± 4.65	4.56 ± 4.77	4.21 ± 4.05

与模型组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs model group

表3 桂枝茯苓胶囊对微循环障碍模型大鼠微动脉流速的影响 ($\bar{x} \pm s, n=15$)

Table 3 Effects of Guizhi Fuling Capsules on micro artery flow velocity of microcirculatory disturbance model rats ($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	微动脉流速差值/μm		
		2 min	5 min	10 min
模型	—	481.06 ± 48.95	465.30 ± 50.93	414.71 ± 69.98
盐酸消旋山莨菪碱注射液	0.50 mg	431.56 ± 116.96	311.40 ± 164.78**	40.80 ± 80.91**
桂枝茯苓胶囊	0.14	458.73 ± 81.88	413.17 ± 90.71	286.77 ± 174.62*
	0.27	452.08 ± 58.95	449.21 ± 58.43	295.75 ± 208.46*
	0.54	447.28 ± 59.31	424.28 ± 82.01	219.08 ± 187.87**

与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs model group

表4 桂枝茯苓胶囊对微循环障碍模型大鼠微静脉流速影响 ($\bar{x} \pm s, n=15$)

Table 4 Effects of Guizhi Fuling Capsules on micro vein flow velocity of microcirculatory disturbance model rats ($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	微静脉流速差值/μm		
		2 min	5 min	10 min
模型	—	203.57 ± 39.14	190.51 ± 51.28	171.21 ± 65.87
盐酸消旋山莨菪碱注射液	0.50 mg	175.51 ± 39.16	81.20 ± 67.37**	18.40 ± 20.84**
桂枝茯苓胶囊	0.14	180.05 ± 56.51	154.64 ± 60.12	113.97 ± 74.92*
	0.27	178.45 ± 41.04	169.56 ± 55.19	101.03 ± 83.84*
	0.54	177.81 ± 48.55	157.67 ± 43.70	59.55 ± 68.42**

与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs model group

3.6 对局部微循环血流恢复时间的影响

与模型组比较, 盐酸消旋山莨菪碱注射液组、桂枝茯苓胶囊高剂量组对局部微循环血流恢复时间的影响差异均有显著性 ($P<0.05, 0.01$)。结果见表5。

表5 桂枝茯苓胶囊对微循环障碍模型局部微循环血流恢复时间影响 ($\bar{x} \pm s, n=15$)

Table 5 Effects of Guizhi Fuling Capsules on recovery time of blood flow of microcirculatory disturbance model rats ($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	血流恢复时间/min
模型	—	16.8 ± 4.0
盐酸消旋山莨菪碱注射液	0.50 mg	9.0 ± 2.8**
桂枝茯苓胶囊	0.14	14.6 ± 4.4
	0.27	14.4 ± 4.1
	0.54	13.8 ± 3.8*

与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs model group

4 讨论

微循环是动脉系统末梢端、静脉系统起始端之间构成的网状毛细血管结构, 是机体各脏器的组成部分, 是机体输送血液、营养、体液因子等物质与组织细胞进行物质能量交换和传递信息的重要场所。肠系膜是动物微循环研究的主要部位。由于肠系膜组织最易取出, 血管清晰, 而且肠系膜极薄, 在一定的设备条件下可方便地观察微血管的管壁、管腔以及血管运动的情况; 可观察血流中各种细胞流态, 如白细胞贴壁滚动或穿过管壁、微小血栓等; 还可观察内皮细胞以及内皮细胞与白细胞及其它细胞之间的黏附关系以及淋巴管循环等。

现代研究中常通过考察肠系膜微循环反映一般微循环状况。肠系膜微循环实验研究中所常使用的动物模型有大鼠、小鼠、家兔等, 观察指标有血色、管径、流态、流速、渗出、毛细血管网交点计数等。活体微循环观察是研究微循环血流动力学最重要也是最基本的方法, 文献报道多采用拟肾上腺素药造模研究微循环的变化情况^[3-5], 也有采用去甲肾上腺

素、高分子右旋糖酐进行造模^[6-9]。微循环障碍主要表现在微血流缓慢或瘀滞、微血管缩窄或闭塞等。

本实验观察了桂枝茯苓胶囊对微循环障碍模型的影响,结果表明,桂枝茯苓胶囊对大鼠肠系膜微动脉和微静脉管径均有不同程度的扩张作用,且能显著缩短微循环障碍模型大鼠肠系膜微血管血液瘀滞时间,能恢复肾上腺素导致的微循环血流障碍。研究结果也验证了桂枝茯苓胶囊活血化瘀功的能。

参考文献

- [1] 李家春, 孙 兰, 李红娟, 等. 桂枝茯苓胶囊 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1333-1335.
- [2] 王若光, 尤昭玲. 试论妇产科血瘀证形成特点及与雌激素的关系 [J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(1): 11-13.
- [3] 赵京生, 易伟国. 心得宁口服液对微循环障碍模型鼠动静脉管径及毛细血管开放数的影响 [J]. 实用医学杂志, 2013, 30(9): 820-821.
- [4] 王车江, 张庆富, 刘 勖. 肾脏微循环的研究进展 [J]. 中国微循环, 2005, 9(5): 365-368.
- [5] 潘 媛, 彭 成, 刘建林. 川芎定痛颗粒活血化瘀作用的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(7): 174-177.
- [6] 李 敏, 赵学忠, 于 水, 等. 血栓心脉宁片对大鼠肠系膜微循环障碍的改善作用 [J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(24): 4868-4810.
- [7] 唐丽燕, 李利民, 黄 利, 等. 川芎提取物对大鼠主动脉环及小鼠微循环障碍的影响研究 [J]. 中药药理与临床, 2013, 29(1): 105-108.
- [8] 莫小林, 陈金月, 周 芳, 等. 疏血通胶囊对小鼠肠系膜微循环的影响 [J]. 甘肃中医学院学报, 2012, 29(3): 4-6.
- [9] 王瑞哲, 陈声武, 丁云录, 等. 仙竹降糖胶囊对大鼠肠系膜急性微循环障碍的影响 [J]. 北京中医药, 2012, 31(7): 545-547.