

足三里注射黄芪注射液对气虚自汗模型大鼠体温调节中枢的影响

范媛^{1*},朱佳^{2#},田磊²(1.南京中医药大学,南京 210023;2.南京中医药大学附属医院,南京 210029)

中图分类号 R285;R246 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)31-2896-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.31.06

摘要 目的:研究足三里注射黄芪注射液对气虚自汗模型大鼠体温调节中枢的作用。方法:以烟熏+灌胃麻黄汤法复制大鼠气虚自汗模型。实验分为对照(灌胃,等容生理盐水)组、模型(灌胃,等容生理盐水)组、生理盐水穴位注射(注射,等容生理盐水)组、参麦注射液穴位注射(注射,0.3 ml/kg)组与黄芪高、低剂量穴位注射(注射,0.8、0.4 ml/kg)组。每天给药1次,连续10 d。以ELISA法检测大鼠下丘脑环磷酸腺苷(cAMP)、前列腺素(PG)_{E₂}、 β -内啡肽含量。结果:与对照组比较,模型组大鼠丘脑cAMP、PGE₂、 β -内啡肽含量显著增加($P < 0.05$);与模型组比较,黄芪高、低剂量穴位注射组大鼠丘脑cAMP、PGE₂、 β -内啡肽含量显著减少($P < 0.05$)。结论:足三里注射黄芪注射液对气虚自汗大鼠的体温调节中枢有一定调节作用。

关键词 黄芪注射液;足三里;气虚自汗;大鼠;体温调节中枢

Effects of Huangqi Injection at Acupuncture Point Zusanli on Thermotaxic Centers in Spontaneous Sweat Rats Induced by Qi Deficiency

FAN Yuan¹, ZHU Jia², TIAN Lei²(1.Nanjing University of TCM, Nanjing 210023, China; 2. The Affiliated Hospital of Nanjing University of TCM, Nanjing 210029, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the effects of Huangqi injection at acupuncture point Zusanli on thermotaxic centers in spontaneous sweat rats induced by qi deficiency. METHODS: Spontaneous sweat of rats induced by qi deficiency model was established by sootiness and Ephedra decoction. Model rats were divided into control group (i.g. constant volume of normal saline), model group (i.g. constant volume of normal saline), acupoint injection of normal saline group (constant volume of normal saline), acupoint injection of Shenmai injection (0.3 ml/kg), acupoint injection of Huangqi injection high-dose and low-dose groups (0.8, 0.4 ml/kg). They were given medicines on acupuncture point Zusanli once a day for consecutive 10 days. The contents of 3', 5'-cAMP, PGE₂, β -endorphin in hypothalamus of rats were determined by ELISA. RESULTS: Compared with control group, the contents of cAMP, PGE₂, β -endorphin in hypothalamus of rats decreased significantly in model group ($P < 0.01$); compared with model group, the contents of cAMP, PGE₂ and β endorphin in hypothalamus of rats decreased significantly in acupoint injection of Huangqi injection high-dose and low-dose groups ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). CONCLUSIONS: Huangqi injection at acupuncture point Zusanli has effect on thermotaxic centers in spontaneous sweat rats induced by qi deficiency.

KEY WORDS Huangqi injection; Zusanli; Spontaneous sweat induced by qi deficiency; Rat; Thermotaxic centers

- 30.
- [6] 高德义,黄贾生,何宏文,等.当归芍药散治疗老年性痴呆36例临床研究[J].中国全科医学,2004,7(11):782.
- [7] 胡兵,董晓蕾,陈林因,等.当归芍药散拮抗雷公藤对雌鼠生殖系统影响的实验研究[J].时珍国医国药,2000,11(9):775.
- [8] 阎艳丽,王鑫国,宋晓宇,等.当归芍药散对高脂血症家兔脂代谢及血液流变学的影响[J].辽宁中医杂志,2005,32(2):170.
- [9] 寇俊萍,华敏,严永清.当归芍药散对小鼠免疫功能的影响[J].中国现代应用药学,2003,20(3):171.
- [10] 阎艳丽,于永军,宋晓宇,等.当归芍药散及煎剂对异丙肾上腺素所致大鼠心肌缺血的影响[J].辽宁中医杂志,2006,33(9):1203.
- [11] Mustafa SJ. *Cell culture and application*[M]. New York: Acad press,1977:729.
- [12] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent[J]. *J Biol Chem*, 1951,193(1):265.
- [13] Hearse DJ, Bolli R. Reperfusion induced injury: manifestations, mechanisms, and clinical relevance[J]. *Cardiovasc Res*, 1992,26(2):101.
- [14] 王喜军.中药血清药物化学的研究动态及发展趋势[J].中国中药杂志,2006,31(10):789.
- [15] 彭苗苗,方芸.中药复方药效物质基础研究进展[J].中国药房,2010,21(7):659.

(收稿日期:2013-03-01 修回日期:2013-05-20)

* 硕士研究生。研究方向:中医内科肺系疾病。E-mail: tianlei_nj@163.com

通信作者:主任医师,教授,硕士研究生导师。研究方向:中医内科肺系疾病。E-mail: jsnjzj@163.com

足三里是足阳明胃经的主要穴位之一,传统中医认为,按摩足三里有调节机体免疫力、增强抗病能力、调理脾胃、补中益气、通经活络、疏风化湿、扶正祛邪的作用。临床上采用传统补气中药黄芪注射液结合足三里穴位注射治疗气虚自汗取得了良好效果。现代医学研究表明,出汗是人体主要的散热调节机制,并且是在机体的体温反馈调节机构控制下进行的,而这种体温反馈调节机构中最重要的就是位于下丘脑的体温调节中枢。目前,环磷酸腺苷(cAMP)、前列腺素(PG)_{E₂}以及β-内啡肽是研究得比较多的与体温调节中枢有关的介质^[1-7],因此本研究从以上3种介质入手,探讨足三里注射黄芪注射液对气虚自汗模型大鼠体温调节中枢的作用机制。

1 材料

1.1 仪器

SUNRISE型酶标仪(瑞士Tecan公司);80-2型台式离心机[上海医疗器械(集团)有限公司手术器械厂];Forma 702型超低温冰箱(美国热电公司)。

1.2 药品与试剂

黄芪注射液(成都地奥九泓制药厂,批号:20120911,规格:10 ml/支);参麦注射液(河北神威药业有限公司,批号:20121104,规格:10 ml/支);秦淮香烟(江苏南京卷烟厂,烤烟型,烟气成分:一氧化碳量15 mg,焦油量13 mg,烟碱量0.9 mg);β-内啡肽、cAMP、PGE₂ ELISA试剂盒均购自武汉中美生物科技有限公司。

1.3 动物

SD大鼠48只,♀♂兼半,体质量150~200 g,由南京中医药大学实验中心提供[动物使用许可证号:SCXK(苏)2007-0017]。

2 方法

2.1 复制模型与分组、给药

参考文献^[8],将大鼠置于特制70 cm×50 cm×35 cm烟室中,每次10支香烟熏25 min,每天2次,连续30 d,烟熏20 d后ig麻黄汤(16 g/kg),每天1次,连续10 d以复制气虚自汗模型。实验分为6组,即对照(ig,等容生理盐水)组、模型(ig,等容生理盐水)组、生理盐水穴位注射(注射,0.8 ml/kg)组、参麦注射液穴位注射(注射,0.3 ml/kg)组与黄芪高、低剂量穴位注射(注射,0.8、0.4 ml/kg)组。模型复制结束后开始给药,每天1次,连续10 d(足三里位于大鼠双后肢膝关节外、腓骨小头下约5 mm处,直刺7 mm^[9])。

2.2 指标的测定

处死大鼠,取下丘脑,PBS洗涤,去除多余血液,-70℃贮藏,备用。实验时,取出样本,用1 ml PBS匀浆后置于-20℃冰箱过夜。第2天,经过2次反复冻融破膜,将匀浆物5 000 r/min离心5 min,取上清,按试剂说明书操作,在450 nm波长处测定吸光度,计算各样品cAMP、PGE₂、β-内啡肽含量。

2.3 统计学方法

以SPSS13.0进行统计分析,计数资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组

间比较采用Student's-t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 足三里注射黄芪注射液对模型大鼠下丘脑cAMP含量的影响

与对照组比较,模型组大鼠下丘脑cAMP含量显著增加($P < 0.05$);与模型组比较,黄芪高剂量穴位注射组大鼠cAMP含量显著减少($P < 0.05$)。足三里注射黄芪注射液对模型大鼠下丘脑cAMP含量的影响见表1。

表1 足三里注射黄芪注射液对模型大鼠下丘脑cAMP含量的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 1 Effects of Huangqi injection at acupuncture point zusanli on the contents of cAMP in hypothalamus of model rats($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量,ml/kg	cAMP,pmol/g
对照组		9 093.56 ± 2 204.16
模型组		14 391.98 ± 4 914.88*
生理盐水穴位注射组	0.8	11 005.61 ± 3 894.141
参麦注射液穴位注射组	0.3	9 468.31 ± 1 600.50*
黄芪高剂量穴位注射组	0.8	8 601.04 ± 2 511.91*
黄芪低剂量穴位注射组	0.4	14 857.31 ± 4 118.11

与对照组比较: * $P < 0.05$;与模型组比较: # $P < 0.05$

vs. control group: * $P < 0.05$; vs. model group: # $P < 0.05$

3.2 足三里注射黄芪注射液对模型大鼠下丘脑PGE₂含量的影响

与对照组比较,模型组大鼠下丘脑PGE₂含量显著增加($P < 0.05$);与模型组比较,黄芪高剂量穴位注射组大鼠PGE₂含量显著减少($P < 0.05$)。足三里注射黄芪注射液对模型大鼠下丘脑PGE₂含量的影响见表2。

表2 足三里注射黄芪注射液对模型大鼠下丘脑PGE₂含量的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 2 Effects of Huangqi injection at acupuncture point Zusanli on the contents of PGE₂ in hypothalamus of model rats($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量,ml/kg	PGE ₂ ,pg/g
对照组		792.40 ± 290.54
模型组		1 451.63 ± 489.70*
生理盐水穴位注射组	0.8	1 319.80 ± 464.79
参麦注射液穴位注射组	0.3	874.83 ± 114.24*
黄芪高剂量穴位注射组	0.8	951.58 ± 240.42*
黄芪低剂量穴位注射组	0.4	1 013.17 ± 201.79

与对照组比较: * $P < 0.05$;与模型组比较: # $P < 0.05$

vs. control group: * $P < 0.05$; vs. model group: # $P < 0.05$

3.3 足三里注射黄芪注射液对模型大鼠下丘脑β-内啡肽含量的影响

与对照组比较,模型组大鼠下丘脑β-内啡肽含量显著增加($P < 0.05$);与模型组比较,黄芪高剂量穴位注射组大鼠下丘脑β-内啡肽含量显著减少($P < 0.05$)。足三里注射黄芪注射液对模型大鼠下丘脑β-内啡肽含量的影响见表3。

4 讨论

表3 足三里注射黄芪注射液对模型大鼠下丘脑 β -内啡肽含量的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 3 Effects of Huangqi injection at acupuncture point of Zusanli on the contents of β -endorphin in hypothalamus of model rats($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量,ml/kg	β -内啡肽,ng/g
对照组		73.93 \pm 14.62
模型组		127.53 \pm 49.78*
生理盐水穴位注射组	0.8	117.38 \pm 43.44
参麦注射液穴位注射组	0.3	90.10 \pm 15.75*
黄芪高剂量穴位注射组	0.8	102.92 \pm 35.29*
黄芪低剂量穴位注射组	0.4	112.05 \pm 32.94

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$

vs. control group: * $P < 0.05$; vs. model group: # $P < 0.05$

人和哺乳类动物具有相对恒定的体温,这主要依赖于下丘脑的体温调节中枢。当机体处在病理性改变时,体温调定点产生相应的变化,使机体温度升高或降低。

多数人认为在各种体液因子中, PGE_2 可能是发热反应的最重要的中枢介质^[1-5]。支持这一假说的主要依据为:(1) PGE_2 可出现在下丘脑内,并且在机体发热时,脑脊液内 PGE_2 含量明显增加;(2)将 PGE_2 直接注射到第三脑室、侧脑室或下丘脑前部,可以很快引起发热,并且其体温升高的潜伏期比内生致热原(EP)性发热短,且呈剂量依赖关系;(3)在体内和体外,白细胞介素(IL)1、干扰素(IFN)或肿瘤坏死因子- α (TNF)均能诱导下丘脑组织分泌 PGE_2 ;(4)环氧合酶抑制剂对IL-1、IFN或TNF性发热有解热作用;(5) PGE_2 影响温敏神经元的放电特性与EP相似。

脑内有较高浓度的cAMP,同时含有合成和降解酶系。由于cAMP是调节细胞功能和突触传递的重要介质,因此其在体温调节中的作用得到人们的关注^[1-3,6-7]。有许多研究资料支持cAMP参与发热的中枢机制:(1)在猫、兔、大鼠脑内注射二丁酸cAMP,可迅速引起发热;(2)以EP静脉内注射引起家兔发热时,脑脊液内cAMP含量明显增高;(3)注射茶碱(磷酸二酯酶抑制剂)在升高脑内cAMP浓度的同时增强了EP性发热,相反注射尼克酸(磷酸二酯酶激动药)则在降低cAMP浓度的同时使EP性发热减弱。因此,cAMP作为中枢性发热介质已经得到广泛认可。

在发热动物的实验中发现,发热效应在达到一定水平后就不再增加,体温上升被限定于一定高度,这种现象被称为“热限”。对于热限的成因,普遍认同的是体温正调节受限和负调节加强学说,认为体温调定点的上移高度取决于正调节和负调节系统的相互作用。当体温调定点上移到一定高度

时,体内负调节机制加强,内生的降温物质使调定点上移受限。关于负调节系统,目前对 β -内啡肽、精氨酸加压素(AVP)等的降温作用研究较多,它们可以通过抑制致热原的产生等途径,在热限形成过程中发挥作用^[8-9]。

本研究结果表明,模型组大鼠下丘脑内致热物质cAMP、 PGE_2 上升的同时,脑内体温负调节的 β -内啡肽含量也增加,结合大鼠体温升高不明显的现象,推测此时大鼠的体温调节中枢是否通过增加负调节机制来降低体温调定点,因此在正常体温下,机体仍通过出汗等散热机制来进行自我调节,出现自汗的现象。三足里注射黄芪注射液能显著降低模型大鼠下丘脑内cAMP、 PGE_2 、 β -内啡肽的含量,因此推测三足里注射黄芪注射液治疗气虚自汗可能存在两方面的作用机制:(1)通过降低体内致热物质含量,使体温达不到体温调定点,减少出汗症状;(2)通过抑制体温负调节机制 β -内啡肽的释放,从而使下降的中枢体温调定点恢复正常,减少出汗症状。

参考文献

- [1] 白霞,马玉东,穆洪,等.穿琥宁对致热大鼠下丘脑组织中 PGE_2 和cAMP含量的影响[J].中国临床药理学与治疗学,2005,10(1):75.
- [2] 周志锦,马晓春.桂枝汤及有效部位对体温双向调节作用的实验研究进展[J].中成药,2006,28(9):1357.
- [3] 赵红艳,张璠,范书铎,等.黄芩苷对发热大鼠下丘脑 PGE_2 和cAMP含量的影响[J].中国应用生理学杂志,2002,18(2):139.
- [4] 李培锋,郝文利.牛磺胆酸的解热作用及其机制的研究[J].中国兽药杂志,2006,40(6):11.
- [5] 何惠,刘华钢,庞辉,等.复方银黄微型灌肠剂对发热大鼠下丘脑前列腺素2受体表达的影响[J].中药药理与临床,2007,23(2):50.
- [6] 覃容贵,李淑芳,罗忠圣.九头狮子草对发热大鼠体温及下丘脑cAMP含量的影响[J].贵阳医学院学报,2005,30(1):53.
- [7] 秦鑫,曹宇,王慧玲,等.纳洛酮对IL-1 β 致热大鼠体温及下丘脑中cAMP和HSP70含量的影响[J].中国药理学通报,2006,22(10):1180.
- [8] 田磊,蒋宝平,方泰惠.大鼠慢性阻塞性肺疾病气虚自汗模型制备[J].中国中医急症,2009,18(1):101.
- [9] 李忠仁.实验针灸学[M].1版.北京:中国中医药出版社,2003:327.

(收稿日期:2013-05-29 修回日期:2013-06-23)

《中国药房》杂志——《中国科学引文数据库》(CSCD)来源期刊,欢迎投稿、订阅