

柴荆注射液的解热作用机理研究——对下丘脑中精氨酸加压素及前列腺素 E₂ 含量的影响

万素君, 陈朝, 郑军, 王彦云, 李多娇, 王丽霞*
(中国中医科学院广安门医院基础医学研究室, 北京 100053)

[摘要] 目的: 研究柴荆注射液对酵母致热大鼠体温的影响及对下丘脑中精氨酸加压素(AVP)及前列腺素 E₂(PGE₂)含量的影响, 为其解热作用机理提供依据。方法: 应用 20% 高活性酵母诱致大鼠发热, 观察柴荆注射液的解热作用并用放射免疫检测法分析柴荆注射液对下丘脑 AVP 及 PGE₂ 含量的影响。结果: ①皮下注射 20% 酵母可致大鼠发热, 柴荆注射液具有明显的退热作用, 退热效果高剂量组优于低剂量组; ②能明显降低致热大鼠下丘脑中 PGE₂ 及 AVP 的含量, 与对照组比较具有明显差异。结论: 柴荆注射液能降低致热大鼠下丘脑中 PGE₂ 及 AVP 的含量, 通过对下丘脑中分泌的这两个重要的内源性介质的抑制和释放利用, 起到良好的退热作用。

[关键词] 柴荆注射液; 下丘脑; 精氨酸加压素; 前列腺素 E₂

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)12-0031-03

Studies on Antipyretic Mechanism of Chaijing Injection-interfere with Content of AVP and PGE₂ in Rat Hypothalamus

WANG Sujun, CHEN Zhao, ZHENG Jun, WANG Yan-yun, LI Duojiao, WANG Li-xia*
(Guang Anmen Hospital of China's Traditional Chinese Medicine Science Institute, Beijing 100053, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Chaijing injection on in febrile rats induced by zymonsa and content of AVP as well as PGE₂ in rat hypothalamus. Provide a scientific evidence for the antipyretic mechanism. **Methods:** Rats febrific model were made by 20% high-activity zymonsa, the effective mechanism of Chaijing Injection was probed in antipyretic action on temperature and cut off rat hypothalamus, the radioimmunoassay (RIA) was established for the determination of AVP and PGE₂ in hypothalamus. **Results:** ①The rat was injected by way of subcutaneous with 20% zymonsa that could cause rat febrific model. The Chaijing Injection had a obviously antipyretic effect on febrile rats, the effect in 3 mL·kg⁻¹ group was remarkably better than that in 2 mL·kg⁻¹ group. ②The content of AVP and PGE₂ in hypothalamus of rats in treated group with Chaijing Injection had a significant lowering compared with the model control group. **Conclusions:** The content of AVP and PGE₂ in hypothalamus of rats could be reduced by treated group with Chaijing Injection. Both AVP and PGE₂ were important endogenic mediums that were secreted in hypothalamus, through their inhibiting and release/action, which were quite effective for hypothermal.

[Key words] Chaijing Injection; hypothalamus; arginine vasopressin(AVP); prostaglandin E₂(PGE₂)

[收稿日期] 2007-05-30

[基金项目] 北京市科委资助课题(H010210310129)

[通讯作者] * 王丽霞, (010) 88001318; E-mail: wanglixia626@yahoo.com.cn

柴荆注射液由柴胡、荆芥组成,具有清热解毒的作用。前期的实验证明,该药对细菌内毒素、酵母等诱致引起的大鼠发热具有明显的退热作用。医学研究的资料证实,发热时体温升高并不是无限的,无论感染性和非感染性的发热,体温升高大多不超过 41℃。这显然是由于机体在发热过程中启动了某种机制使体温能自动控制在一定范围内,以避免机体受到伤害。

下丘脑是一个中枢性温度调节中枢,通过分泌合成中枢介质和神经肽类物质参与体温调节反应。精氨酸加压素(AVP)是由下丘脑合成的九肽神经肽,是一种内源性降温物质,在限制发热性体温升高上起重要作用。而前列腺素 E₂(PGE₂)也是目前发热机制学中最重要中枢介质,由下丘脑终板血管部位的细胞分泌释放,参与发热反应。测定下丘脑中的 AVP 及 PGE₂ 含量变化就能在一定程度上反应药物对体温调节中枢的作用机制。

本研究旨在先期工作的基础上,深入研究该药对发热大鼠下丘脑中 PGE₂ 及 AVP 含量变化,进一步探索柴荆注射液的解热作用机理。

1 材料

1.1 药物 柴荆注射液,每支 2 mL,每毫升含原生药 1.3 g,由本院药剂科提供,批号:20030528;柴胡注射液,每支 2 mL,由山西晋新双鹤药业有限责任公司出品,批号:200209081。

1.2 试剂 PGE₂ 放免试剂盒由北京市东亚免疫技术研究所提供;AVP 放免试剂盒由上海市第二军医大学神经生物教研室提供,其它试剂均为市售分析纯;安琪高活性干酵母粉为市售商品。

1.3 动物 Wistar 大鼠,清洁级,购自中国医学科学院实验动物中心,许可证号:SCXK11-00-0006。

1.4 仪器 欧姆龙电子测温计系北京医用仪表厂产品,探头插入长度 4 cm 下端用胶布固定,以避免操作时插入深度的误差;2008G/Y 放射免疫计数仪,系中国西安 26 工厂产品。

2 方法

2.1 对酵母致热大鼠下丘脑 PGE₂ 含量的影响

Wistar 大鼠 60 只按体重分层随机分为 5 组,每组 12 只,♀♂各半。柴荆注射液设低、高 2 个剂量组:低剂量组大鼠 ip 2 mL·kg⁻¹(人用剂量的 30 倍);高剂量组大鼠 ip 3 mL·kg⁻¹(人用剂量的 45 倍);阳性参比药用柴胡注射液,大鼠用量为 ip 3 mL·kg⁻¹,(人用

量的 45 倍);模型对照组 ip 3 mL·kg⁻¹生理盐水。大鼠标记后测肛温 2 次(顺序间隔),两次体温波动>0.3℃者剔除不用。实验时于颈背部 sc 20% 干酵母混悬液 10 mL·kg⁻¹ 诱致发热,正常对照组不做致热处理。于致热后(6~7) h 分别测肛温并记录,剔除体温升高<0.8℃者。第 7 h 测得的肛温值作为给药前温度,然后按各组药物剂量 ip,给药 1 h 后测肛温记录,于安静状态下快速断头取全脑,干冰速冻后置 -80℃ 保存备用。

2.1.1 下丘脑组织 PGE₂ 的提取和测定 取冻脑以灰结节与视交叉之间的中心点为中心确定下丘脑,称取(70±5) mg 组织块加入无水乙醇 0.4 mL,冰浴下充分匀浆后再加入 1.6 mL 的生理盐水混磨后移入离心管中,3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,取上清液按放免试剂盒操作说明的方法测定 PGE₂ 的含量。

2.1.2 下丘脑组织 AVP 的提取和测定 冻脑置生理盐水中煮 10 min,然后以灰结节与视交叉之间的中心点为中心确定下丘脑,称取组织块(70±5) mg,加入 1 N 的 HCl 1 mL,冰浴下充分匀浆后移入离心管中,在室温中放置 1 h,加入 1 N NaOH 等量,中和后 3 500 r·min⁻¹ 离心 20 min,取上清液按放免试剂盒操作说明的方法测定 AVP 的含量。

2.2 统计学处理 组织 PGE₂ 和 AVP 含量以 pg·mg⁻¹ 组织湿重表示。所有实验数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,均数间显著性检验用 *t* 检验法。

3 结果

3.1 对酵母致热大鼠下丘脑 PGE₂ 含量的影响 大鼠皮下注射干酵母后 6 h 开始发热,7 h 体温升高>0.8℃以上。致热后引起大鼠体温升高,其下丘脑中 PGE₂ 的含量较正常组有显著的升高。ip 给予柴荆注射液 1 h 后,体温下降并可明显降低下丘脑中 PGE₂ 的含量,见表 1。

表 1 柴荆注射液对致热大鼠下丘脑 PGE₂ 含量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (mL·kg ⁻¹)	基础肛温 ℃	给药前肛温 ℃	给药后肛温 ℃	PGE ₂ (pg·mg ⁻¹ 蛋白)
正常组	—	36.5±0.29	36.6±0.31	36.8±0.36 ²⁾	19.00±7.66 ²⁾
模型组	—	36.4±0.31	38.1±0.43	37.8±0.42	35.80±11.75
柴胡组	3	36.5±0.24	38.1±0.41	37.1±0.51 ¹⁾	25.04±6.49 ¹⁾
柴荆组	2	36.4±0.25	37.9±0.57	37.1±0.52 ¹⁾	24.02±5.94 ¹⁾
	3	36.3±0.16	38.1±0.25	36.9±0.44 ²⁾	19.40±8.08 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ P<0.05,²⁾ P<0.01(下同)

3.2 对酵母致热大鼠下丘脑 AVP 含量的影响 注

射干酵母混悬液后,大鼠发热引起体温升高。致热后大鼠下丘脑中 AVP 的含量明显高于正常组。给予柴荆注射液 1 h 后能使致热大鼠体温明显下降,下丘脑中 AVP 的含量降至正常水平,与模型组比较有显著性差异,见表 2。

表 2 柴荆注射液对致热大鼠下丘脑 AVP 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (mL·kg ⁻¹)	基础肛温 ℃	给药前肛温 ℃	给药后肛温 ℃	AVP (pg·mg ⁻¹)蛋白
正常组	—	36.5 ± 0.32	36.6 ± 0.38	36.5 ± 0.26 ²⁾	0.42 ± 0.39 ²⁾
模型组	—	36.5 ± 0.43	38.0 ± 0.37	37.9 ± 0.43	1.16 ± 0.64
柴胡组	3	36.3 ± 0.40	38.0 ± 0.47	36.9 ± 0.76 ¹⁾	0.31 ± 0.34 ²⁾
柴荆组	2	36.2 ± 0.23	38.1 ± 0.32	37.3 ± 0.45 ¹⁾	0.32 ± 0.47 ²⁾
	3	36.3 ± 0.31	37.9 ± 0.31	36.9 ± 0.43 ²⁾	0.41 ± 0.49 ²⁾

4 讨论

PGE₂ 是目前发热机制学中最重要中枢介质,已获得广泛的实验支持^[1]。体温调节中枢主要位于下丘脑,给脑室或下丘脑前部注射微量的 PGE₂ 几乎所有的动物均有发热反应^[2]。内生致热原是通过激活下丘脑终板血管部位的细胞使之释放 PGE₂,进而作用于该部位体温调节中枢的神经元,引起热敏神经元兴奋而冷敏神经元抑制,其结果是产热增多而发热,导致体温升高。测定下丘脑中 PGE₂ 的含量变化,能在一定程度上反映药物对体温调节中枢的作用机制。

实验检测结果提示,柴荆注射液能抑制下丘脑中发热介质 PGE₂ 的合成或释放,通过降低发热大鼠下丘脑中的 PGE₂ 含量而发挥解热的作用,这种作用可能是柴荆注射液解表清热作用的机制之一。

随着分子生物学的迅速发展和中枢神经肽作用

研究的不断深入,已发现多种神经肽与体温调节有关,AVP 作为一种内源性降温物质受到重视。该肽由下丘脑合成并经神经纤维传输至隔区发挥其在体温调节中的作用。AVP 能抑制多种致热原引起的发热,说明 AVP 在限制发热性体温升高上起了重要作用。但其解热作用的发挥有赖于下丘脑分泌后的释放与利用^[3]。

实验观察到酵母致热后大鼠体温升高,其下丘脑 AVP 含量也明显增高,即提示内源性降温物质 AVP 在机体发热时,促使下丘脑合成并释放利用^[4]。给予柴荆注射液后,能使酵母致热大鼠体温下降,其下丘脑 AVP 含量也明显降低。提示柴荆注射液可能通过两个方面发挥作用,一是促进下丘脑 AVP 的释放与利用,从而降低其含量以至接近正常水平;二是药物解表作用发挥后体温下降影响了下丘脑 AVP 的合成而含量降低。研究表明,对下丘脑中 AVP 合成影响以及促进其释放与利用可能参与了柴荆注射液的解热过程。

[参考文献]

- [1] Coceani F., Akarsu E.. Prostaglandin E₂ in the pathogenesis of fever an update[J]. Ann NY Acad Sci, 1998, 850: 76-82.
- [2] 王迪浚. 病理生理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 127.
- [3] 胡巢风, 李楚杰, 陆大祥, 等. 精氨酸加压素在内毒素热限形成中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 1994, 10(3): 245.
- [4] 霍海如, 谭余庆, 李晓芹, 等. 桂枝汤有效部位 A 对体温双向调节作用机理研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 1999, 5(1): 33.