

退热贴对内毒素性发热家兔的解热作用及机制研究[※]

● 高树彬^{*} 田志伟 贾艳平 孙士丹 范小芳 陈赛斌 杨一民 陈四文

摘 要 目的:验证退热贴对内毒素(ET)性发热家兔的解热作用,探讨其解热机制。方法:将 30 只家兔随机分为 5 组:空白组、ET 性发热模型组、退热贴组、泰诺林组、退热贴与泰诺林联合组,观察退热贴穴位敷贴对 ET 性发热家兔的体温影响及其对下丘脑、脑脊液的环磷酸腺苷(cAMP)含量及腹中膈区精氨酸加压素(AVP)含量的影响。结果:下丘脑、脑脊液的 cAMP 含量比较,除空白组外,其余三组均明显低于模型组($P < 0.05$),且以联合组更显著($P < 0.01$)。膈区 AVP 含量比较,退热贴组明显低于模型组($P < 0.05$),联合组更显著低于模型组($P < 0.01$),而泰诺林组与模型组无明显差异($P > 0.05$)。相关分析显示,各组下丘脑、脑脊液的 cAMP 含量变化与体温变化呈正相关($P < 0.05$);各组腹中膈区 AVP 含量变化亦与体温变化呈正相关($P < 0.05$)。结论:退热贴单独使用或与泰诺林联合使用都能够抑制 ET 性发热实验兔的体温升高,并降低下丘脑、脑脊液的 cAMP 水平,同时促进膈区 AVP 的释放而抑制发热,且联合使用的作用更强,这可能是退热贴的解热机制之一。

关键词 发热 内毒素性 精氨酸加压素 环磷酸腺苷

内毒素(ET)是最常见的致热源,其主要成分是脂多糖,是效应很强的发热激活物,其致热方式可能是刺激内生致热源的产生和释放,传入体温调节中枢,引起发热。穴位贴敷疗法是以中医脏腑经络理论为依据,将药物贴敷于特定俞穴,使药物经俞穴渗透进入人体,由经络血脉透达全身,并通过药物对俞穴的局部刺激以及经络传导,以达到治病防病目的的一种内病外治疗法。现代研究认为,cAMP 和 AVP 是调节体温的介质,抑制 ET 性发热,参与热限形成^[1]。

本实验旨在观察退热贴穴位敷贴法用于内毒素性发热家兔的退热疗效,及其对下丘脑、脑脊液的 cAMP 和膈区 AVP 的影响,为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物 普通级新西兰白兔,雄性,10~14 周

※基金项目 福建省厦门市卫生局医学科研项目(NO:WSK0511)

* 作者简介 高树彬,男,主任医师,硕士研究生导师,中华中医药学会中医儿科分会副主任委员。

• 作者单位 福建中医药大学附属厦门市中医院(361009)

龄,体重 2~3 kg,基础直肠温度 38.5℃~39.5℃^[2](厦门大学实验动物中心提供,实验动物使用许可证号:粤监证字 2005A002SCXK(粤)2003-0001),实验室温度控制在 20℃±2℃,分笼饲养。

1.2 主要试剂与仪器 细菌内毒素国家标准品(160EU/支,厦门鲎试剂实验厂),泰诺林混悬滴剂(上海强生制药有限公司,国药准字 H19990007),退热贴(厦门市中医院制剂室提供),免精氨酸加压素(AVP)酶联免疫分析试剂盒、兔环磷酸腺苷(cAMP)酶联免疫分析试剂盒(上海江莱生物科技有限公司),分析天平(北京海纳兴业科技有限公司,型号 FA2004),离心机(北京东迅天地医疗仪器有限公司,型号 2420 型 KUB-OTA),酶标仪(北京东胜创新生物科技有限公司,型号 infinite^{MT}200),兽用体温计,匀浆仪。

2 方法

2.1 分组 将 30 只实验兔随机分为 5 组,每组 6 只,即:空白组;模型组;热贴组;泰诺林组;退热贴、泰诺林联合组。

2.2 造模 用无热源生理盐水将内毒素稀释成

10EU/ml,按内毒素 10EU/kg 耳缘静脉注射制造发热模型。

2.3 给药 空白组:生理盐水 1ml/kg 耳缘静脉注射;模型组:内毒素 10EU/kg 耳缘静脉注射;退热贴组:将兔大椎、曲池穴位备皮,然后予内毒素 10EU/kg 静脉注射,30min 后予退热贴贴于大椎、曲池穴并固定;泰诺林组:内毒素 10EU/kg 耳缘静脉注射,30min 后予泰诺林 15mg/kg 灌胃^[3];退热贴、泰诺林组:将兔大椎、曲池穴位备皮,然后予内毒素 10EU/kg 耳缘静脉注射,30min 后予退热贴贴于大椎、曲池穴并固定后,速予泰诺林 15mg/kg 灌胃。

2.4 体温测量 实验前将兔置于兔固定架上,用数字温度计每天适应 3~4 小时,待动物稳定后开始测体温。测温时将温度计探头插入动物肛门内约 6cm,每 10 分钟测 1 次,连测 3 次,取平均值为基础体温。

2.5 观察指标 第一部分:各兔给药完成后,即按前法给各兔测量体温并记录,每隔 30 分钟测 1 次,连续观察 6 小时。各组平均体温变化曲线;最大体温上升高度($\Delta T/^{\circ}\text{C}$)。第二部分:下丘脑、脑脊液的 cAMP 含量及腹中膈区 AVP 的含量。第一部分实验完成后,将兔继续常规分笼饲养 7 天后再开始第二部分实验^[4]。各兔分组及给药同上。注射内毒素或生理盐水 1 小时后,耳缘静脉注射空气 10ml 致死,断头,沿两耳中线向前剪开皮肤,充分暴露头枕部,用 5 号针头沿硬脑膜易被刺破区域的上缘正中穿刺^[5],抽取脑脊液 0.6ml 入 1ml 试管离心 20min(3000 转/min),取上清,置 -20°C 冰箱保存备测。抽取脑脊液后迅速剥离头盖骨取出全脑,于视交叉与灰结节间取下丘脑 50mg,加入磷酸盐缓冲液(PBS)2ml,充分匀浆后倒入 5ml 试管中,静置 5 分钟后离心(3000 转/min,

20min),取上清,置 -20°C 冰箱保存备测。同时将剩余脑组织置沸生理盐水中煮沸 5 分钟后,取腹中膈区脑组织 30mg,加 PBS 2ml,充分匀浆后离心(3000 转/min,20min),取上清,置 -20°C 冰箱保存备测。cAMP 和 AVP 含量测定分别按其酶联免疫分析试剂盒操作说明书进行。

2.6 统计学分析 所有数据使用 SPSS 17.0 软件包处理。测定数据用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验。直线相关分析法判定两变量间相关情况。

3 结果

3.1 样品对平均体温变化和最大体温上升高度的影响 结果见图 1、表 1,显示:空白组体温无明显波动;模型组在给药后 1 小时和 5 小时分别达到发热高峰,呈明显双峰热, ΔT 明显高于空白组($P < 0.01$),造模成功;其余三组的 ΔT 均明显低于模型组($P < 0.05$),且联合组与模型组的差异更显著($P < 0.01$),退热效果显著。

3.2 样品对下丘脑、脑脊液 cAMP 含量的影响 结果见表 2,模型组均显著高于空白组($P < 0.01$),其余三组均明显低于模型组($P < 0.05$),且以联合组更显著($P < 0.01$)。膈区 AVP 含量比较,模型组明显高于空白组($P < 0.01$),退热贴组明显低于模型组($P < 0.05$),联合组更显著低于模型组($P < 0.01$);而泰诺林组与模型组无明显差异($P > 0.05$)。

3.3 相关分析显示 各组脑脊液的 cAMP 含量与体温变化呈正相关($r = 0.918, P < 0.05$),下丘脑的 cAMP 含量与体温变化也呈正相关($r = 0.883, P < 0.05$),腹中膈区 AVP 含量亦与体温变化呈正相关($r = 0.901, P < 0.05$)。

图 1 各组平均体温变化(n=6)

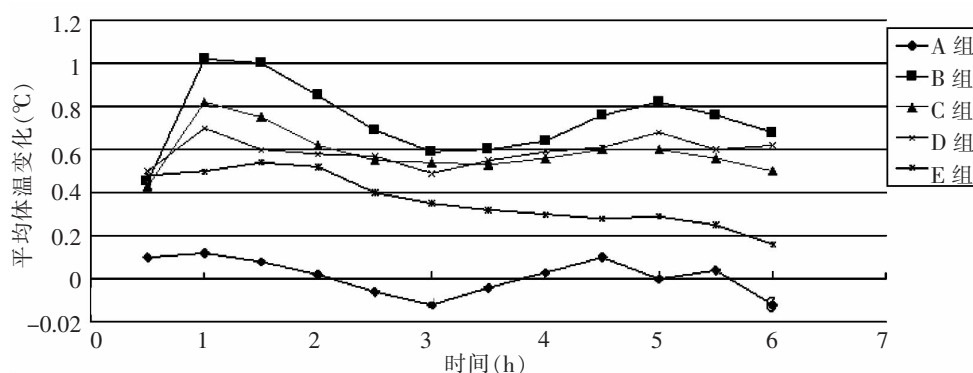


表 1 各组最大体温上升高度 (ΔT) ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	$\Delta T(^{\circ}\text{C})$
空白组	0.013 ± 0.083
模型组	$0.738 \pm 0.167^{\Delta}$
退热贴组	$0.588 \pm 0.106^{*}$
泰诺林组	$0.591 \pm 0.062^{*}$
联合组	$0.366 \pm 0.121^{**}$

注:与空白组比较, $^{\Delta}P<0.01$;与模型组比较, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ 。

表 2 脑脊液和下丘脑的 cAMP 和膈区的 AVP 含量比较 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	cAMP (pg/ml)		腹中膈区 AVP (ng/L)
	脑脊液	下丘脑	
空白组	154.58 ± 9.71	121.14 ± 8.41	63.35 ± 6.26
模型组	$220.50 \pm 20.64^{\Delta\Delta}$	$166.48 \pm 9.35^{\Delta\Delta}$	$99.92 \pm 11.36^{\Delta\Delta}$
退热贴组	$182.26 \pm 7.35^{*}$	$136.62 \pm 17.15^{*}$	$86.59 \pm 4.96^{*}$
泰诺林组	$195.20 \pm 10.66^{*}$	$148.20 \pm 12.78^{*}$	99.68 ± 8.98
联合组	$172.47 \pm 8.18^{**}$	$133.34 \pm 10.57^{**}$	$79.80 \pm 7.15^{**}$

注:与空白组比较, $^{\Delta\Delta}P<0.01$;与模型组比较, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ 。

4 讨论

外治法在我国有着悠久的历史,《理渝骈文》云:“外治之理即内治之理,外治之药亦即内治之药,所异者法耳。”说明外治与内治仅方法不同,而治疗原则是一致的。中药穴位贴敷的外治法因易被患者接受,在临床也属常用。

本实验所用退热贴药物组成有羌活、白芷、细辛、川椒、赤小豆等,穴位选择大椎、曲池。大椎穴是督脉、手足阳经的交会穴,被称为“诸阳之会”,能宣散一身阳热之气,主一身之表,具有通阳、解表、退热、祛邪的作用。另外,因为其位于督脉通达上下的关键枢纽部位,大量的临床及实验研究^[6]证实,大椎穴具有显著的免疫调节作用,不仅可使白细胞数量适度增加,更可使白细胞的吞噬能力得到增强,其启动或激发机体免疫系统发挥免疫调节的作用可能与其“通调督阳”的作用有关。曲池为手阳明经之合穴,具有疏风清热,调和营血的作用,为全身祛风退热的要穴,无论热邪在表,还是热入阳明或热在半表半里,本穴均有较好的作用。本研究精选中药具有发表邪,祛风散寒功用,其中羌活气味雄烈,细辛芳香透达,《本草纲目》记载川椒属纯阳之物,其味辛而麻,诸药气味俱厚,贴敷于大椎、曲池穴,药物功效加之所选穴位的特

殊功用,共奏发表邪、解风寒外束之功,达到激发正气、提高机体的免疫力、退热解表的作用,以助驱邪外出。

现代研究认为,发热的体温调节机制由正、负调节中枢两部分组成。目前公认的正调节介质有前列腺素 E、 $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ 比值、cAMP、促肾上腺皮质激素释放素等。越来越多的研究证明 cAMP 是一种重要的中枢发热介质^[7],ET 性发热时,cAMP 可引起体温调定点上移,动物下丘脑、脑脊液中的 cAMP 明显升高,与发热效应呈明显正相关。cAMP 可能是最接近终末环节的发热介质。近些年来,中枢解热介质在发热反应过程中的负调节机制越来越受到国内外学者的重视。现已证实,参与体温负调节的中枢解热介质主要有精氨酸加压素 (AVP)、促黑素细胞刺激素 (a-MSH) 及其他一些尿中的发热抑制物。机体发热时,腹中膈区和杏仁核分泌 AVP 增多,并作用于 AVP 受体 V1,通过神经系统传导作用于神经元,削弱 ET 引起的发热效应^[8]。腹中膈区的 AVP 含量下降,表明 AVP 的释放增多,刺激腹中膈区的 AVP 的内源性释放而抑制发热。

本实验结果表明无论是退热贴的单独使用还是与泰诺林的联合使用都对 ET 性发热家兔有明显的解

(下转第 56 页)

羊藿味甘、辛,性温,归肝肾经,具补肾壮阳、祛风除湿之功能;蛇床子性温,味辛,苦,能温肾壮阳、燥湿祛风;枸杞子补肾填精,益阴兴阳。临床研究证实复方玄驹胶囊可提高性欲,改善勃起功能^[8],延长射精时间。有文献报道复方玄驹胶囊治疗虚证早泄,射精潜伏期均获得延长^[9]。本研究结果表明除了真空负压水动按摩有延长射精潜伏期作用外,复方玄驹胶囊也对治疗早泄起到了一定的作用,原因考虑如下:(1)复方玄驹胶囊补肾强壮,治疗肾虚,增强了患者体质,使患者的全身机能得到了调节。(2)由于提高了阴茎勃起硬度,其自信心恢复,使性交各环节得以顺利完成,也提高了患者对射精的控制能力。

临床上,早泄患者常不同程度地存在勃起硬度下降。目前对中国早泄患者的勃起功能的调查显示,早泄患者中并发 ED 的约占 32.8% ~ 82.95%^[10-11]。本研究病例早泄合并 ED 的比例为 56.25%,与文献报道相符。研究发现,试验组勃起功能的改善率明显高于对照组($P < 0.05$),考虑与以下作用有关:(1)复方玄驹胶囊中淫羊藿具有雄激素样作用,有着较强的对阴茎海绵体平滑肌松弛的作用,提高阴茎勃起硬度^[12];(2)玄驹(黑蚂蚁)被誉为微型动物营养宝库,含有多种氨基酸、微量元素、辅酶及维生素,具有良好的温肾、益精、壮阳等作用;(3)真空负压吸引使海绵体充盈,提高氧分压,恢复海绵体白膜的弹性,改善了患者的勃起功能。

本研究表明,复方玄驹胶囊联合真空负压水动按摩治疗早泄,使患者在生理和心理方面都得到有效的治疗,疗效明显,同时能提高阴茎勃起硬度。但在治疗过程中少数患者服用复方玄驹胶囊后有咽

痛、口干、便秘等副反应,故服药时最好以温盐水送服及多进食高纤维食物。

参考文献

- [1] Waldinger MD. Recent advances in the classification, neurobiology and treatment of premature ejaculation. *Adv Psychosom Med*, 2008, 29: 50 - 69.
- [2] McMahon CG. Clinical trial methodology in premature ejaculation: Observational, interventional and treatment preference studies - part II - study design, outcome measures, data analysis, and reporting. *J Sex Med*, 2008, 5(8): 1817 - 1833.
- [3] 袁亦铭, 辛钟成, 金泰乙, 等. 中国早泄患者性功能评价表对早泄患者的多维评估[J]. *中国男科学杂志*, 2003, 17(5): 302 - 306.
- [4] Arafa M, Shamloul R. A randomized study examining the effect of 3 SS-RI on premature ejaculation using a validated questionnaire. *Ther Clin Risk Manag*, 2007, 3(4): 527 - 531.
- [5] 刘继红, 饶可. 早泄的诊治. *医学新知杂志*, 2010, 20(5): 462 - 465.
- [6] Jannini EA, Simonelli C, Lenzi A. Sexological approach to ejaculatory dysfunction. *Int J Androl*. 2002, 25(6): 317 - 323.
- [7] 孙志兴, 黄新飞, 宁克勤. 真空负压中药水动按摩治疗原发性早泄 76 例疗效观察[J]. *湖南中医杂志*, 2007, 23(5): 3 - 4.
- [8] 刘永杰, 黄宇烽, 邵永, 等. 复方玄驹胶囊改善精液质量的临床观察[J]. *中华男科学杂志*, 2007(4): 364 - 366.
- [9] 郭贤德. 复方玄驹胶囊治疗虚证早泄[J]. *中国男科学杂志*, 2006, 20(7): 568 - 569.
- [10] 洪泉, 刘庆元, 张志超, 等. 早泄患者临床特点分析[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2005, 20(5): 293 - 295.
- [11] 王怀鹏, 王行环, 古维灿, 等. 522 例早泄患者的勃起功能调查[J]. *中华男科学*, 2004, 10(1): 15 - 17.
- [12] 辛钟成, Euy kyung kim, 田贞姬, 等. 淫羊藿对阴茎海绵体的松弛效应及其作用机制[J]. *科学通报*, 2001, 46(6): 485 - 489.

(上接第 62 页)

热作用,且以联合使用效果更显著。由此可推测,退热贴的解热机制可能是通过抑制 cAMP 的生成与释放,同时刺激膈区 AVP 的内源性释放而抑制发热,此双方面的调节作用达到退热效果。但本研究样本量尚小,实验条件有限,退热贴和泰诺林联合使用能否使退热效果更稳定,能否减少西药的毒副作用等问题,有待进一步大样本实验研究和探讨。

参考文献

- [1] 李楚杰. 发热时体温的正调节和负调节[J]. *中国病理生理杂志*, 1994, 10(5): 553 - 557.

- [2] 中国药典[S]. 二部, 2010: 附录 XID.
- [3] 陈奇, 孙建宁. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1167 - 1172.
- [4] 杜颖, 黄清泉, 贺争鸣. 家兔对细菌内毒素致热耐受性的实验研究[J]. *实验动物科学与管理*, 2003, 20(4): 13 - 15.
- [5] 富宏, 陶迎红, 王学美, 等. 经皮穿刺延髓池抽取兔和大鼠脑脊液的方法[J]. *中国比较医学杂志*, 2006, 16(11): 684 - 687.
- [6] 李晓泓. 大椎穴免疫调节作用的研究概况[J]. *中国临床康复*, 2004, 8(2): 342 - 343.
- [7] 金惠铭, 王建枝. 病理生理学[M]. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008. 83 - 90
- [8] 杨惠玲, 潘景轩, 吴伟康. 高级病理生理学[M]. 第 1 版. 北京: 北京科学出版社, 1998: 86 - 112.