

大黄及肺炎III号对急性感染 内毒素血症的影响

北京友谊医院 陈有为* 王宝恩 赵淑颖

内容提要 本研究说明急性肺炎患者中有1/3可以出现内毒素血症(ETM),并测得入院24小时血浆内毒素浓度,口服生大黄煎剂加抗生素治疗组低于抗生素对照组($P<0.05$)。实验性肺炎球菌感染家兔ETM的阳性率为60%。感染后48小时内生大黄组的ETM阳性率及血浆内毒素浓度均低于水对照组($P<0.05$)。肺炎III号对急性感染的ETM也有一定的影响。以上结果表明,急性感染中可以出现内源性的ETM,应用大黄可以抑制并减轻ETM的发生。

临床上对内毒素血症(ETM)的研究始于感染性疾患。随着检测内毒素的萤试验方法的不断改进,人们对感染性疾患中ETM的研究也逐步深入。但这些研究大多集中于革兰氏阴性菌引起的感染^[1,2],而对非革兰氏阴性菌急性感染中的ETM重视程度不够,缺乏较为系统的研究资料。本研究采用我室改良的定量检测血浆微量内毒素的萤试验基质偶氮显色法,以急性肺炎作为急性感染的代表病种,通过前瞻性临床观察和随机对照动物实验,了解急性感染中血浆内毒素的情况,初步探讨了大黄、肺炎III号(虎杖30g 半枝莲15g 败酱草45g 蒲公英30g)对其的作用和影响。

临床 研究

一、临床资料与方法

1. 病例选择:系1985年11月~1986年4月本院收治的急性肺炎患者,共29例。年龄在55岁以下,性别不限,平素体健,急性起病,发热、白细胞升高,均经胸片确诊。(1)测定急性肺炎患者的血浆内毒素浓度及血浆灭活内毒素活性(EIA),以本实验室测定的27名健康献血员的血浆内毒素浓度及血浆EIA作为正常对照,将29例急性肺炎患者入院时血浆内毒素浓度及血浆EIA与正常对照相比较。(2)观察口服生大黄煎剂对急性肺炎患者血浆内毒素的影

响:将29例患者随机分两组。抗生素组:用青、链霉素治疗,过敏者改用红霉素或庆大霉素等。生大黄加抗生素组:口服生大黄煎剂100ml(相当于生药15g),每日2次,并用抗生素同上。两组病例均于入院时,入院24、48小时,以后每周1次至出院时,静脉取血测定血浆内毒素及EIA,进行两组组间比较。

2. 血浆内毒素的定量测定方法:取无菌采血的肝素抗凝血浆100 μ l加0.32M过氯酸200 μ l,混匀置37 $^{\circ}$ C水浴20分。3000rpm离心15分后,取上清液75 μ l用等量的0.18N氢氧化钠中和。混匀后加入75 μ l萤试剂(批号851012,上海市医学化验所提供),37 $^{\circ}$ C 20分,加入50 μ l合成基质(同上)进行显色反应(37 $^{\circ}$ C,8分),随即顺序加入0.032%亚硝酸钠/0.48N HCl溶液、0.5%氨基磺酸铵及0.05%N-甲基萘基盐酸二氨基乙烯各500 μ l进行偶氮反应,以721分光光度计545nm测定其光密度值。测定时同时设空白对照管和内毒素标准液管(E.coli O₁₁₁B₄内毒素标准品,卫生部药品生物制品检定所产品)。该法变异系数为3.8~4.6%,回收率为100%左右。

血浆EIA的测定:取浓度为25EU/ml的内毒素稀释液10 μ l加入100 μ l血浆中,混匀置37 $^{\circ}$ C水浴2分后即加入过氯酸,测定其剩余内毒素含量。

二、结果

1. 急性肺炎患者ETM的阳性率:27名健康

*研究生,现在北京心肺血管医疗研究中心

献血员血浆内毒素均 ≤ 0.075 EU/ml。29例急性肺炎患者入院时血浆内毒素 >0.075 EU/ml者10例, ETM的阳性率为34.5%。

2. 口服生大黄对急性肺炎患者血浆内毒素

表1 大黄对急性肺炎患者 ETM 的影响 (M $\pm$ SD)

组 别	血 浆 内 毒 素 (EU/ml)			
	入院时	入院 24h	48h	1w
生大黄加抗生素组(A)	0.304 $\pm$ 0.270**	0.0525 $\pm$ 0.0237*	0.0338 $\pm$ 0.0277**	0.0169 $\pm$ 0.0128**
抗 生 素 对 照 组(B)	0.387 $\pm$ 0.229	0.1320 $\pm$ 0.0622	0.0615 $\pm$ 0.0416	0.0270 $\pm$ 0.0156

注:入院时 A 组与 B 组 ETM 阳性例数分别为 4、5; A 组与 B 组相比, * $P<0.05$, ** $P>0.05$

3. 急性肺炎患者血浆 EIA 的变化: 27 名健康献血员血浆 EIA 在 80~100% 之间。29 例急性肺炎患者住院期间 EIA 有改变(80% 以下)者有 13 例。生大黄加抗生素组与抗生素对照组入院后 EIA 无显著差异 ($P>0.05$)。入院时 ETM 阳性的相应两组患者入院后 EIA 也未得出统计学差异 ($P>0.05$)。单因素相关分析表明, 急性肺炎患者 EIA 与血浆内毒素水平相关性不明显。

实 验 研 究

一、材料与方法: 选用纯种健康新西兰兔, 体重 1.95~2.6kg, 雌雄不拘, 用肺炎球菌菌液 0.2ml (含菌 3000 万个) 皮内注射造成动物感染。将 44 只实验兔分为三组, 均于肺炎球菌感染的同时及感染后 12 小时从胃管分别给予等量(每次 10ml/kg) 之生大黄煎剂(含生药 4g)、肺炎 III 号煎剂及等温的水灌胃, 于感染前及感染后每 12 小时测肛温并心脏取血一次至 48 小时, 测定各标本的血浆内毒素浓度。

表2 肺炎球菌感染家兔血浆内毒素与治疗之关系 (M $\pm$ SD)

组 别	n	血 浆 内 毒 素 (EU/ml)				
		实验前	感染 12h	24h	36h	48h
生 大 黄(A)	14	0.0177 $\pm$ 0.0123	0.0134 $\pm$ 0.0530	0.0016 $\pm$ 0.0246	0.0016 $\pm$ 0.0215* Δ	0.0037 $\pm$ 0.0163*
肺炎 III 号(B)	15	0.0170 $\pm$ 0.0083	0.0210 $\pm$ 0.0277	0.0355 $\pm$ 0.0403	0.0340 $\pm$ 0.0330	0.0200 $\pm$ 0.0160
水 对 照(C)	15	0.0185 $\pm$ 0.0109	0.0430 $\pm$ 0.0968	0.0870 $\pm$ 0.1610	0.0115 $\pm$ 0.0158	0.0365 $\pm$ 0.0707

注: n 为实验动物数; A 组与 C 组比较, * $P<0.05$; A 组与 B 组比较, $\Delta P<0.05$

的影响: 入院时 ETM 阳性的急性肺炎患者, 采用口服生大黄煎剂加抗生素治疗, 入院 24 小时血浆内毒素水平明显低于抗生素对照组(表 1)。

二、结果

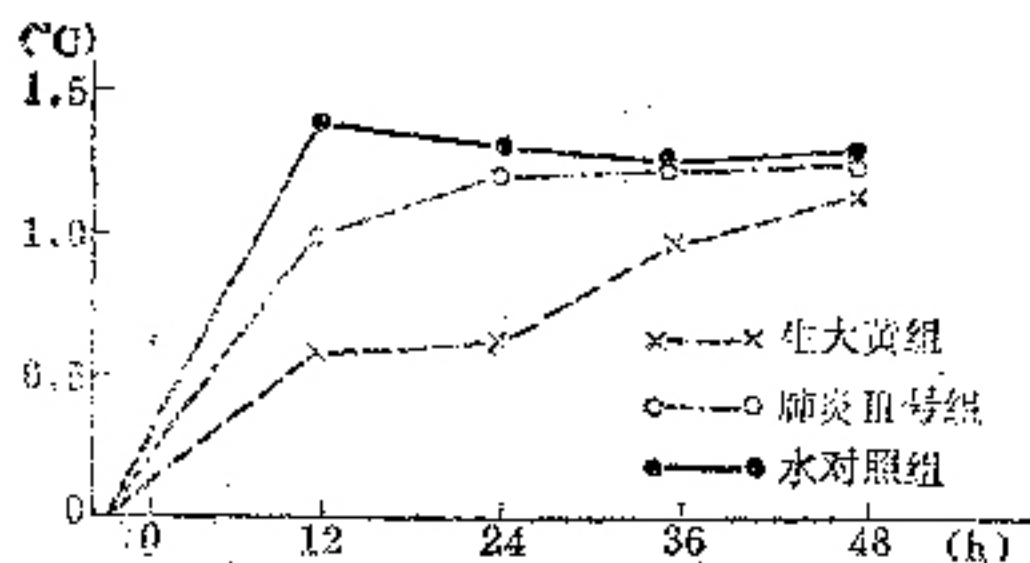
1. 肺炎球菌感染家兔 ETM 的阳性率: 60 只健康家兔实验前心血标本血浆内毒素均 ≤ 0.075 EU/ml。肺炎球菌感染的 15 只实验兔 48 小时内血浆内毒素 >0.075 EU/ml 者有 9 只, ETM 阳性率为 60%。单因素相关分析表明, 血浆内毒素浓度与感染家兔的存活天数呈负相关($r=-0.64$, $P<0.01$)。

2. 生大黄、肺炎 III 号对肺炎球菌感染家兔 ETM 防护作用的观察: 生大黄组的 ETM 阳性率(7.1%)与对照组(60%)相比差异显著($P<0.05$), 与肺炎 III 号组(26.7%)相比也有显著差异($P<0.05$)。肺炎 III 号组的阳性率虽低于对照组, 但无统计学意义。

实验性肺炎球菌感染家兔 48 小时内, 生大黄组血浆内毒素低于对照组, 两者差异非常显著($P<0.01$), 与肺炎 III 号组相比也有显著差异($P<0.05$), 肺炎 III 号组与对照组之间未得出统计学差异(表 2)。

3. 生大黄、肺炎 III 号对肺炎球菌感染家兔体温及血培养的影响: 生大黄组在感染后 12、24 小时升温幅度明显低于对照组($P<0.001$)。肺炎 III 号组体温仅在感染后 12 小时略低于对照

组 ($P < 0.05$, 见附图)。



附图 肺炎球菌感染家兔升温幅度与治疗之关系

感染后家兔心血培养肺炎球菌的阳性率, 生大黄组 (45.5%) 和肺炎Ⅲ号组 (40%) 均低于对照组 (66.7%), 但三组间的差异无统计学意义。单因素相关分析表明, 感染后血浆内毒素浓度与血培养结果的相关性不明显。

4. 对大肠杆菌及肺炎球菌纯培养菌液的内毒素测定结果: 以能产生显色反应的每毫升最少菌数表示, 大肠杆菌为 25 个/ml, 而肺炎球菌则多达 375 000 000 个/ml, 表明肺炎球菌菌液使该法出现阳性所需的浓度约为大肠杆菌的 150 万倍左右。

对给实验兔制成感染模型的肺炎球菌菌液的内毒素测定结果, 含菌 3000 万个的 0.2ml 该菌液中内毒素含量为 0.015~0.031 EU ($n=4$)。肺炎球菌自溶死亡后, 其菌液的内毒素含量低于上述活菌时的测定结果。

讨 论

一、急性感染中 ETM 的发生: 我们应用改良的鲎试验基质偶氮显色法对急性肺炎患者的血浆内毒素测定结果表明, 有 1/3 病例的血浆内毒素明显高于正常对照水平, 提示急性感染中确实可有 ETM 出现。动物实验结果进一步补充说明了临床观察的结果。实验性肺炎球菌感染家兔, 感染后 48 小时内血浆内毒素浓度 > 0.075 EU/ml 者占 60%, 提示革兰氏阳性菌感染也可以出现 ETM。

人体的 ETM 可分为外源性和内源性两大类。外源性由革兰氏阴性菌感染等所致; 内源性则来源于机体自身的胃肠道菌群的代谢⁽³⁾。

我们发现, 实验性肺炎球菌感染家兔的 ETM 不是外源性的。用鲎试验对给家兔皮内注射的肺炎球菌菌液的测定结果表明, 含菌 3 000 万个的该菌液中内毒素含量极微。因此, 将 0.2ml 该菌液给动物皮内注射后, 其内毒素吸收入血而直接成为 ETM 是难于成立的。这样基本上可以排除外源性 ETM 的可能。

鲎试验对革兰氏阴性菌具有良好的特异性已得到绝大多数学者的肯定^(4,5)。我们用鲎试验对大肠杆菌和肺炎球菌纯培养液的测定结果显示, 两种细菌使该法出现阳性反应所需的浓度差为 150 万倍左右。本研究中虽然肺炎球菌感染家兔的血培养和 ETM 均有一定的阳性率, 但两者间无明显相关; 且自溶死亡后的肺炎球菌菌液内毒素含量比活菌时为低, 这就排除了由肺炎球菌的某种自身产物直接成为 ETM 的可能。根据上述结果及文献资料, 可以认为此种 ETM 可能是由于感染所引起的肠道内毒素进入血液循环的结果, 当属于内源性的 ETM。

二、中药对急性感染 ETM 的影响: 我们的临床观察结果表明, 急性肺炎患者的 ETM 可因应用大黄而迅速减轻。我们以生大黄和肺炎Ⅲ号分别作为通腑法和清热解毒法的代表方药, 设计了随机对照的动物实验。结果提示, 在用肺炎球菌感染动物的同时及感染早期给予生大黄, 可以减低 ETM 的阳性率, 对 ETM 的发生有一定的抑制作用。肺炎Ⅲ号组在 ETM 阳性率及血浆内毒素水平上均低于水对照组, 说明其对急性感染的 ETM 也有一定的影响。综合临床观察与动物实验可以看出, 大黄不但对已经形成的 ETM 可使其减轻, 而且早期应用还可以抑制 ETM 的形成。因此为临床急性感染性疾病早期应用大黄提供了有力的依据。

我们应用血浆 EIA 的方法对急性肺炎患者作了进一步的研究。结果发现, ETM 与血浆 EIA 的降低并不平行出现, 且血浆 EIA 与内毒素水平的相关性不明显。据此认为急性肺炎患者可出现 ETM 的原因并不完全是由于血浆对内毒素灭活能力的减弱。虽然生大黄对急性肺炎患者的 ETM 有一定的影响, 但相应患者的血浆

参 考 文 献

1. 余庆,等.微量凝试验对于诊断内毒素血症的意义.第二军医大学学报 1984; 5(2):99.
2. Levin J, et al. Detection of endotoxin in the blood of patients with sepsis due to gram-negative bacteria. N Engl J Med 1970; 283(24):1313.
3. Jacob AI, et al. Endotoxin and bacteria in portal blood. Gastroenterol 1977; 72(6):1268.
4. Levin J, et al. Gram-negative sepsis: detection of endotoxemia with the Limulus test. Ann Intern Med 1972; 76(1):1.
5. Thomas LLM, et al. Quantitative endotoxin determination in blood with a chromogenic substrate. Clin Chim Acta 1981; 116(1):63.

EIA两组间无显著差异;对29例急性肺炎患者住院期间血浆EIA两组间的分析处理也无统计学意义。我们认为应用大黄以减轻急性感染中ETM的作用可能是通过除增强血浆灭活内毒素能力以外的其他环节来实现的。

基于上述,可以设想,温热病毒热之“毒”很可能与感染后之ETM有关,这样使中医“毒”的本质得到部分现代化的解释。通里攻下法(以大黄为代表)亦具有解毒即减少ETM之作用,这又从另一个方面阐明了通里攻下法之作用。

(本实验工作得到本院穆琴等同志的协助,特此致谢)

下肢深静脉血栓形成患者体外血栓形成观察

山东中医学院 金星 陈梅楠

下肢深静脉血栓形成患者血液常处于高凝状态,血液凝固性高。我们采用反应血液凝固性的体外血栓形成试验,观察下肢深静脉血栓形成患者及中西医结合治疗前后的体外血栓变化,结果报告如下。

一般资料 健康人组21名,男14名,女7名,平均32岁。均为本院职工、实习生及部分患者家属,经查未发现心、脑、肝、肾及血液等疾患。患者组32例(按照中西医结合研究会周围血管病专业委员会1984年制定的诊断标准和多普勒超声检查及部分血管造影确诊为本病),男20例,女12例;年龄22~71岁,平均47岁。发病前有各种诱因者8例,并发小片肺栓塞(X片证实)者3例。

方 法 检测方法:采用改良Chandler法,用国产XSN—RⅡ型血栓仪、JN—A型精密扭力天平,检测每组体外血栓各值。

治疗方法:中医辨证分为湿热型和血瘀型,分别服加味四妙勇安汤和活血通脉饮,每日1剂,30天为一疗程。同时用低分子右旋糖酐500ml加白花丹参(或复方丹参)注射液10~20ml静脉滴注,每日1次,15次为一疗程。受治者共22例。

结 果 健康人组与患者组的体外血栓各值(M±SD):血栓长度(mm)、湿重、干重(mg)健康组分别为12.19±5.32、44.86±10.15、11.83±5.35;患

者组为37.24±24.74、82.97±34.58、28.80±12.90。经t检验示两组各对应值之间均存在非常明显的差异(P<0.01~0.001)。

中西医结合治疗前后体外血栓各值:治疗前血栓长度、湿重、干重各为:38.60±8.55、90.32±13.24、31.11±4.59;治疗后为22.14±7.39、54.95±39.30、20.00±14.83。经t检验,治疗前后各对应值之间存在非常明显差异(P<0.01)。

讨 论 体外血栓形成方法客观地反映了下肢深静脉血栓形成患者的血液高凝状态,简捷实用,可作为临床诊断、治疗研究的参考指标。本组患者中,血栓长度、湿重、干重较健康人增加者分别占90.63%、75%、81.25%;治疗后各值恢复正常者占50%,其中长度缩短者占86.38%,湿、干重减轻者占86.36%、90.91%。

活血化瘀法是治疗本病的重要法则,配合低分子右旋糖酐、丹参注射液静脉滴注,可降低血液凝固性,防止血栓复发,促进血栓早日机化再通。

22例患者经治疗后,临床总有效率为84.29%,但体外血栓各值恢复正常者仅为50%,说明血液高凝状态仍然存在,特别是老年病人往往伴有动脉硬化等病,应坚持长期治疗,巩固疗效,防止复发。

Effects of Rhubarb and Anti-Pneumonia Mixture III on Endotoxemia in Acute Infections

Chen Youwei(陈有为), Wang Bao'en(王宝恩), Zhao Shuying(赵淑颖)

Beijing Friendship Hospital, Beijing

The authors have improved the method of limulus lysate test with chromogenic substrate for quantitative determination of plasma endotoxin. Peripheral plasma endotoxin levels in 27 normal volunteers were ≤ 0.075 EU/ml when E coli. O₁₁₁B₄ endotoxin was used as reference. Acute pneumonia as representative disease was studied. Blood samples from 10 of 29 cases of acute pneumonia showed endotoxin > 0.075 EU/ml. Positive rate of endotoxemia(ETM) was 34.5%. Rhubarb(Rheum Officinale) decoction could lower ETM in comparison with the control($P < 0.05$).

Further experimental study was carried out in rabbits. The plasma endotoxin levels in 60 normal rabbits were ≤ 0.075 EU/ml before experiment. The infectious model of rabbits was produced by means of subcutaneous inoculation of pneumococci. 9 out of 15 rabbits had ETM > 0.075 EU/ml after the infection. Rhubarb Decoction and Anti-Pneumonia Mixture III(*Polygonum cuspidatum*, *Scutellaria barbata*, *Patrinia scabiosaeifolia* and *Herba taraxaci*) were given orally to the experiment groups respectively ($n=14$, $n=15$) and boiled water to the controls ($n=15$) at the beginning of infection and 12 hours after infection. The result showed that in rabbits given Rubarb, both the positive rate of ETM and plasma endotoxin were lower than that in those given boiled water ($P < 0.05$). The above data indicate that ETM may present in acute infections, which come from the dysfunction of intestinal flora, and that Rhubarb can reduce the degree of ETM.

(Original article on page 654)

Effect of Tonifying Kidney on T-Cell Subset and Immune Function in Chronic Senile Bronchitis

Zhang Yuzheng(章育正)*, Li Wen(李文)**, Yao Peifa(姚培发)***, et al

*Dept. of Microbiology, Shanghai College of TCM;

**Dept. of Immunology, Shuguang Hospital;

***Dept. of Senile Disease, Longhua Hospital, Shanghai

In order to observe the changes of the T-cell subset in OKT system by treatment of Tonifying-Kidney herbs for three months, 30 cases of chronic senile bronchitis of Kidney-asthenia were chosen and examined. The E-rosette%, C₃ and immunoglobulin content also detected and compared with it.

The results showed that total numbers of T-cell (OKT₃) of the patients were lower than those of normal individuals ($P < 0.01$) and it coincided with the result of E-rosette%. The TH/TI numbers (OKT₄) were also markedly decreased ($P < 0.01$). The TS/TK cell numbers (OKT₈) were elevated ($P < 0.05$) and the OKT₄/OKT₈ ratio was obviously decreased as compared to the normal individuals ($P < 0.01$). After treatment with Tonifying-Kidney herbs, the general symptoms of patients were improved, and patient's OKT₃ and OKT₄ were higher than that of pretreatment ($P < 0.01$). The OKT₈ was followed to normal level OKT₄/OKT₈ ratio was a little but not evidently increased after treatment. E-rosette% also elevated as normal individuals.

IgG and IgM contents in serum of the patients were higher than that of the normal group ($P < 0.01$ and 0.05). After treatment, IgM content was decreased to normal level, but IgG content was not markedly decreased. IgA content was still in normal level. C₃ content of the patients had never changed markedly after treatment.

The above mentioned results showed that immune function of patients of Kidney-asthenia was disordered. The tonifying-Kidney herbs can regulate the distribution of the T-cell subset in senile patients.

(Original article on page 658)