

清瘟败毒饮对内毒素诱发家兔温病 气血两燔证的疗效和机理

杭州市中医院中心实验室(杭州 310006) 谢 恬 凌一揆*

内容提要 采用内毒素诱发家兔温病气血两燔证模型, 观察了清瘟败毒饮对此模型的疗效, 初步阐明了该方的药理作用及机理。实验结果表明该方具有以下作用: (1) 对发热具有明显的抑制作用, 与对照组相比, 平均发热曲线降低, 最大发热高度均数(ΔT)较小, 体温反应指数(TRI_5)也较小, $P < 0.001$ 。(2) 能改善家兔注射内毒素后白细胞呈先降低后升高现象, 并能拮抗血小板降低。(3) 能拮抗高粘综合征(血瘀), 具有解聚、降粘、稀释血液(凉血化瘀)作用。(4) 该方抑制家兔气血两燔证发热效应同时, 使血浆中升高的 cAMP 降低, 下降的 cGMP 升高, 具有调整 cAMP、cGMP 比值的作用。这一结果为阐明“阳盛则热”, “阳胜则阴病”的本质提供了线索。(5) 病理形态学表明, 该方具有保护内脏器官、减轻脏器组织病理损害的作用。

关键词 清瘟败毒饮 内毒素 家兔气血两燔证

自余师愚创制清瘟败毒饮以来, 后世医家运用此方治疗多种急性传染病和感染性疾病, 疗效显著, 因此有必要对此古方的药理作用及作用机制进行研究。我们根据温病气血两燔证的病因病理及主要症状和体征, 试图用大肠杆菌内毒素复制家兔温病气血两燔证模型。复制后的模型主要表现为高热、烦躁、舌红绛; 白细胞升高, 血小板降低; 全血比粘度升高, 红细胞电泳延长, 红细胞压积降低, 血沉升高, 血沉方程 K 值升高, 纤维蛋白原含量升高; 血浆 cAMP 升高, cGMP 下降; 病理形态学显示内脏炎症、渗出、充血、出血、血栓形成等。在此基础上我们选取体温、白细胞和血小板、血液流变学、血浆环核苷酸、组织病理形态学等指标, 观察了该方对以上指标的影响。现报告如下。

材料与方法

一、内毒素(ET) *E. coli* $O_{55}B_{12}$, 由第二军医大学提供, 批号 8712。使用前用 0.9% 生理盐水配制成 $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 溶液, 并温浴至 38°C 。

二、实验动物 日本大耳白兔, 雌(无孕)雄不限, 体重 $1.9 \sim 2.3 \text{ kg}$, 由四川省实验动物中心提供。

三、仪器设备 (1) 2200CA 型液体闪烁计数器, 美国 PACKARD 公司生产。(2) OLYMPUS 双目显微

镜, BH-2 型, 日本产。(3) 721 分光光度计, 上海分析仪器厂生产。(4) SDZ-3 型自动电子计时玻璃毛细管式粘度计, 无锡县电子仪器二厂生产。(5) SDZ-2 型细胞电泳计时器, 无锡县电子仪器二厂生产。

四、药物制备 (1) 处方: 清瘟败毒饮原方。以水牛角代犀角。药物剂量比例: 生石膏 30g 生地 15g 水牛角 30g 黄连 5g 生栀子 10g 桔梗 10g 黄芩 10g 知母 10g 赤芍 10g 玄参 10g 连翘 10g 淡竹叶 10g 甘草 10g 丹皮 10g。所有药物购自成都市药材公司并经成都中医学院中药鉴定教研室鉴定。(2) 制法: 将上述药材加 10 倍体积水浸泡 60min, 生石膏、水牛角先煎 30min, 然后加入其他药, 煮沸 60min, 滤取药液; 再加水, 煮沸 60min, 取药液, 合并两次药液, 静置 24h, 用脱脂棉过滤, 浓缩成每毫升含生药 2g 的药液。分 3 个批次制做, 将药液混合, 加入防腐剂尼泊金, 用量为 0.01%, 然后用 250ml 的消毒盐水瓶分装备用, 使用前振摇数次。

五、造模方法 按 1985 年版《中华人民共和国药典》热原检测法项的规定挑选出合格家兔 20 只。随机分为 2 组, 用药组 10 只, 对照组 10 只; 实验前 1 天将动物置于室温 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 的实验室中测温 3 次, 以适应实验环境与测温操作。动物分笼饲养, 定时定量给颗粒饲料及青饲料, 自由饮水。每只家兔耳缘静脉缓缓注入内毒素 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

六、给药方法 用药组家兔于注射内毒素前 2h

*成都中医药大学教授

及注射内毒素后20min各灌胃1次,剂量10ml/kg(按成人60kg计单位体重用量的12倍);对照组同法灌服等容量生理盐水。

七、观察指标及方法

1. 体温 用肛表测温,插入家兔肛门约5cm,3min后取出,读取体温度数。实验前测温3次,取其均数作为基础体温。注射内毒素后,第1h每隔30min,以后每隔60min各测温1次,共测5h。然后求出(1)平均体温反应曲线。(2) ΔT 。(3)TRI,指发热曲线与基线之间的面积,参照Milton等的方法计算^[1]。它代表发热高度和持续时间,能更客观地反应发热效应。

5h体温反应指数以TRI₅表示。

2. 白细胞和血小板 白细胞计数按常规方法进行,于注射内毒素前及注射后1.5h、5h各采血1次。血小板计数用许氏稀释液,于注射内毒素前及注射后4.5h各采血1次。

3. 血液流变学 动物于注射内毒素前及注射后4h于家兔耳动脉采血,测定(1)全血比粘度(η_b)和血浆比粘度(η_p):采用粘度计,在25°C恒温水浴中测定。以生理盐水为参比溶液,测得血浆或全血与生理盐水流经玻璃毛细管之时间比值为血浆或全血比粘度。(2)红细胞电泳时间:采用细胞电泳仪,以动物自身血浆为介质配制红细胞悬液。电压40V,交流控温25°C,细胞电泳仪显微镜测微尺径用标准台尺校正。(3)红细胞压积(H)和血沉(ESR):用长100mm,内径3mm的Wintrobe血沉管,在25°C恒温水浴中静置1h读取血沉数,然后将Wintrobe管置离心机离心,3000r/min,共30min,读取红细胞压积。(4)纤维蛋白原含量(FG):采用热比浊法,按Desviges等方法加以改进。血浆(EDTA抗凝)0.1ml加酸性缓冲液3ml混匀,采用650nm,读取吸光率 A_1 ,然后置56°C水浴15min,取出冷却至室温,再读取吸光率 A_2 , A_2-A_1 查标准曲线即得纤维蛋白原(mg/dl)。(5)全血还原粘度=(全血比粘度-1)/H。(6)血沉方程K值,按报道方法计算^[2]。

4. 血浆cAMP及cGMP (1)样本采集:注射内毒素前及注射内毒素后2~3h于家兔耳动脉采血3ml,注入预置于60 μ l EDTA₂Na的试管中,马上离心,1500r/min,共15min,吸出血浆置于试管中贮于-15°C冰箱备测。(2)血浆处理方法:取血浆0.6ml加3倍体积无水乙醇沉淀蛋白,离心取上清,沉淀物以2倍体积75%乙醇洗1次,离心取上清,合并2次上清液于65°C水浴蒸干,4°C干燥保存。(3)环核苷酸测定法:按药盒说明稍加改进,干渣加1.2ml醋酸缓冲液

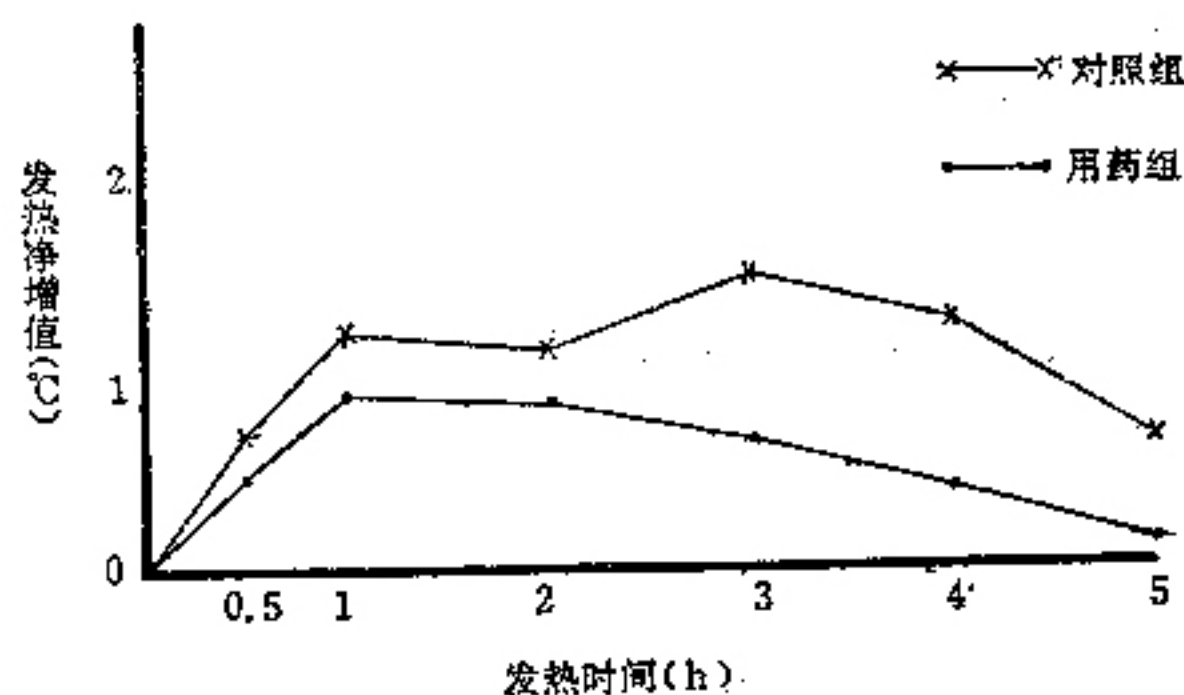
(pH4.75)复溶,离心取上清液直接测定环核苷酸。cAMP采用蛋白竞争法,cGMP采用放射免疫法。药盒(³H-cAMP,³H-cGMP)由北京中国原子能研究所提供。

5. 病理形态学 注射内毒素后5.5h,空气注入法处死动物,立即解剖作肉眼大体观察,同时取肺、心、肝、脾、肾等脏器,10%中性福尔马林固定,石蜡包埋切片,HE染色镜检。

结 果

一、对发热效应的影响

1. 对平均体温反应曲线的影响 20只家兔在注射内毒素后30min开始升温,发热高峰出现于注射内毒素后1h,呈双峰热,对照组体温明显高于用药组,见图1。



附图 清瘟败毒饮对家兔气血两燔证平均体温反应曲线的影响。

2. 对 ΔT 和TRI₅的影响 见表1。由表1可见对照组 ΔT 显著高于用药组;对照组TRI₅明显大于用药组, $P<0.001$ 。

二、对白细胞和血小板的影响

对照组家兔注射ET后WBC变化明显呈先降低后升高,血小板下降;用药组WBC不论降低或升高幅度较小,血小板未见下降,与对照组比较有显著性差异, $P<0.01$,见表2。

三、对血液流变学的影响

对照组注射ET后,全血比粘度升高,红细胞电泳时间延长,H降低,ESR升高,血沉方程K值升高,FG升高,与注射ET前比较,有显著性差异。用药组这种变化较小,见表3。

四、对血浆cAMP和cGMP的影响

对照组家兔血浆cAMP、cGMP及cAMP/cGMP注射ET前后比较有显著性差异。注射ET后3h,血浆cAMP显著升高,cGMP下降,cAMP/cGMP比值增大。

表 1 清瘟败毒饮对家兔 ΔT 和 TRI_s 的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	兔数	基础T (°C)	ΔT (°C)	TRI_s (cm ²)
用药	10	39.32±0.17	40.25±0.24*	11.50±1.18*
对照	10	39.30±0.19	40.78±0.23	20.95±1.68

注: 与对照组比较, $P < 0.001$ 表 2 清瘟败毒饮对WBC和BPC的影响 ($10^9/L, \bar{x} \pm S$)

	WBC			BPC	
	注射前	注射后1.5h	注射后5h	注射前	注射后4.5h
用药	12.10±1.97	8.72±1.68*	13.21±2.01 Δ	168.50±34.30	172.40±24.60 $\Delta\Delta$
对照	11.99±1.98	5.99±1.85**	15.67±2.20*	169.60±24.30	150.40±28.70*

注: 与注射前比较, * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$; 与对照组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 表 3 清瘟败毒饮对家兔气血两燔证血液流变学影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	全血比 粘度	血浆比 粘度	还原 粘度	RBC电泳	RBC压积	血沉	ESR方程	FG
	(ηb)	(ηb)	(s)	(s)	(%)	(mm/h)	K值	(mg/dl)
用 药	注ET前 3.44 ±0.18	1.52 ±0.09	7.22 ±0.70	37.74 ±3.48	40.50 ±1.65	0.90 ±0.21	2.93 ±0.74	353.00 ±34.20
	注ET后 4.05 ±0.45**	1.49 ±0.09	7.84 ±1.17	37.62 ±3.52* $\Delta\Delta$	34.0 ±2.67** $\Delta\Delta$	0.70 ±0.42** Δ	3.98 ±0.68**	368.90 ±35.50**
对 照	注ET前 3.14 ±0.32	1.50 ±0.12	7.09 ±0.72	39.39 ±1.61	38.60 ±2.41	1.00 ±0	2.98 ±0.56	351.60 ±33.90
	注ET后 3.98 ±0.52**	1.60 ±0.10	7.42 ±1.23	44.91 ±3.18***	30.60 ±2.01***	2.40 ±0.96**	4.83 ±1.58**	381.30 ±17.20**

注: 与注射前比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与对照组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

胞浸润, 肺泡内充满红细胞, 肺出血, 部分切片小血管见有血栓。(2) 心肌间质血管扩张, 小静脉瘀血, 伴有灶性中性白细胞浸润, 部分切片心内膜可见附壁血栓, 内有大量中性白细胞。(3) 肝小叶结构正常, 中央静脉和肝窦扩张、瘀血, 肝细胞浊肿及空泡样变性, 伴有中性白细胞浸润。(4) 急性脾炎、脾出血。脾红髓内血窦、白髓内毛细血管高度瘀血, 白髓部炎

用药组注射ET前后变化, 经统计无显著性差异, 见表4。

五、脏器组织病理形态学变化

1. 大体观察 对照组肺组织广泛瘀血, 并见点状或灶性出血; 肝脾色紫暗、瘀血, 但无明显坏死; 肾脏色紫暗、瘀血, 肾包膜易剥离。

2. 光镜下观察 对照组动物: (1) 两肺肺泡壁增厚, 肺泡壁毛细血管明显扩张、充血, 伴中性白细

性细胞浸润。(5) 肾小球毛细血管扩张、充血, 可见少量中性白细胞浸润, 肾小管上皮细胞浊肿。

用药组各脏器炎症较对照组明显减轻, 未见肺脾出血, 肺脏血管腔未见血栓, 心内膜未见附壁血栓等病理改变。肺泡壁毛细血管扩张、充血, 伴有少量中性白细胞浸润; 脾脏瘀血, 轻度炎症; 肝脏中央静脉和肝窦轻度扩张、瘀血, 肝细胞浊肿。

表 4 血浆 cAMP, cGMP 及 cAMP/cGMP 变化 ($\bar{x} \pm S$)

组别	cAMP (pmol/ml)		cGMP (pmol/ml)		cAMP/cGMP	
	注ET前	注ET后	注ET前	注ET后	注ET前	注ET后
用 药	43.95±7.41	47.86±9.34 Δ	31.19±4.50	27.20±6.15	1.46±0.31	1.86±0.59 $\Delta\Delta$
对 照	43.00±7.95	63.33±17.38*	30.71±4.61	23.85±5.55	1.44±0.36	2.68±0.62**

注: 与注射ET前比较, * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$; 与对照组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

讨 论

有学者提出ET是导致卫气营血传变的重要物质基础⁽³⁾。我们用ET复制的该模型与温病气血两燔证有些相似。用清瘟败毒饮治疗后表明该方有解热、解毒、顿挫病势的作用。

ET是一个强的致血小板聚集因子,ET所致血小板聚集以及破裂。血小板因子的释放是导致急性DIC的成因之一。本实验提示清瘟败毒饮对ET所致血小板聚集有一定拮抗作用,至于其机理是对血小板的保护还是对ET的影响,尚有待于进一步研究。

本实验注射ET后,对照组家兔RBC电泳时间延长,说明RBC表面负电荷密度减低,提示RBC聚集现象。两组动物ESR及血沉方程K值均增快增大,但对照组更为明显,两组比较有显著性差异, $P<0.05$ 。FG含量对照组比用药组升高更明显。RBC聚集、FG升高,从而引起全血比粘度增高,亦即说明气血两燔证有瘀血病机存在。清瘟败毒饮在一定程度上能拮抗ET引起的“高粘综合征”,具有解聚、降粘、稀释血液的作用,这与方中的水牛角、赤芍、丹皮、玄参、生地等药的凉血化瘀、清热养阴功效有关。

cAMP和cGMP是机体内一对双向调控系统。其中cAMP在体温调节和发热效应中的作用日益引起重视⁽⁴⁾。本实验对照组注射ET前后血浆cAMP和cGMP比较有显著性差异, $P<0.01$ 。提示该方解热机理可能是通过影响血浆cAMP与cGMP,调整cAMP/cGMP来实现的。这与谢氏报道的虚热证和实热证患者尿cAMP均升高,而以实热证更为明显的结果相符⁽⁵⁾。《内经》认为“阳盛则热”,“阳胜则阴病”。本实验提示血

浆cAMP含量升高,可能是“阳盛则热”的本质之一,血浆cGMP含量降低是“阳胜则阴病”的本质之一,cAMP/cGMP比值异常是阴阳平衡失调的本质之一。

ET对机体的毒性作用除发热、休克外,尚有Shwartzman现象和致死性等。本实验ET对脏器组织的病理损害主要是引起炎症,血管扩张,充血,部分脏器出血及血栓形成等,即DIC的前期现象。实验提示该方对脏器组织有较好的保护作用,与以往文献报道一些清热解毒药有保护实质器官的作用相似⁽⁶⁾。总之,我们的研究表明,对照组家兔在高热时由于没有给予治疗,致使病程深入,病情恶化,其中两只家兔最后抽搐昏迷死亡。用药组各器官病理改变较对照组轻,提示清瘟败毒饮在清热解毒,保护内脏组织同时,可有效地控制传变,扭转病势。

参 考 文 献

1. Milton AS, et al. Effects on body temperature of prostaglandin of the A, E and F series on injection into the hind ventricle of unanaesthetized cats and rabbits. J physiol 1971, 218:325.
2. 廖福龙. 临床血液流变学. 第1版. 天津: 天津科技翻译出版公司, 1987:179.
3. 徐应抒, 等. 温病卫气营血证候的血浆内毒素研究. 泸州医学院学报 1987, (10):25.
4. 冯新为. 病理生理学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1985:88.
5. 谢竹藩. 中医寒热本质的研究. 中国医结合杂志 1988; 8 (特II集): 7.
6. 国家中医药管理局科技司主编. 国内外中医药科技进展 (1989). 第1版. 上海: 上海科技出版社, 1989:116.

《中国乡村医生培训系列教材》(供县办卫校用)征订启事

为了适应我国县级卫生学校教学的需要,由河北医学院基础和临床教师组织编写了一套系列教材,已由河北教育出版社正式出版。卫生部陈敏章部长为本书写了序言,予以推荐。该套书500万字,共14册。包括:人体结构学、人体功能学、病原生物学、病理学、药理学、预防医学、诊断学、中医学基础、内科学、外科学、儿科学、妇产科学、五官科学、中医临床学等。该套教材具有以下特点:面向基层,面向农村;结构新颖,适合教学;系列教材,前后衔接。

该套书全套14册定价为57元(包括包装和邮寄费)。现征订1993年度订户。欲购者可直接订购。地址:河北省石家庄市自强路68号河北中西医结合学院。邮编:050051。开户银行:石家庄市建行中信社,帐号:07156。联系电话:(0311)726459,联系人:孙玉峰。

combined traditional Chinese and Western medicine (TCM-WM), besides using PI, they were treated with Modified Duhuo Jisheng Tang (加味独活寄生汤). Results were evaluated 70 days later. The basic cure rate between two groups were 86.11% and 53.17%, the effective rates were 99.22% and 86.66% respectively. The difference is significant ($P < 0.01$ and 0.05). Most symptoms disappeared or alleviated in both groups, but improved more quickly in TCM-WM group. The side effect in control group was more serious. The objective indexes, such as serological test, skin hypersensitivity reaction and WBC count, etc. were improved better in combined therapy group than that in control group ($P < 0.05-0.01$). Duhuo Jisheng Tang has the function of replenishing Liver and Kidney, nourishing the Blood and Qi, getting rid of rheumatism and relieving pain, if used with PI, it could strengthen immunity and inhibit the release of allergin.

Key words chronic Brucellosis, Modified Duhuo Jisheng Tang, Brucella phenol insoluble portion
(Original article on page 88)

Effects of Sheng Mai Injection(生脉注射液) on Thoracoabdominal Motion

Wang Wei (王 为), Niu Ru-ji (牛汝楫), et al

Tongji Hospital, Tongji Medical University, Wuhan(430030)

Diaphragmatic muscle fatigue (DMF) has long been recognized as causing and developing respiratory failure in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Paradoxical motion of thoraco-abdomen is one of asynchronous breathing pattern, which is clinical sign of DMF. Thoracoabdominal motion curves were recorded with impedance respirograph (IRG). Indexes, α and M on IRG correlated well to the degrees of asynchronous breathing movement. 30 patients with COPD, their IRG showed paradoxical motion of thoraco-abdomen were divided randomly into two groups of 15 cases. Group A was treated intravenously with Sheng Mai injection at first and with glucose later. Among patients of group B, preceding Sheng Mai injection was glucose. IRG were recorded before and after treatment. Results showed that the IRG of 26 patients treated with Sheng Mai injection changed from paradoxical pattern to synchronous one. The difference of the indexes α and M before and after treatment of Sheng Mai injection was statistically significant ($P < 0.001$). Only one patient treated with glucose changed from paradoxical to synchronous pattern. The difference of the indexes between treated and non-treated with glucose was not statistically significant ($P < 0.05$). This study suggest that Sheng Mai injection has a positive inotropic effect on fatigued diaphragmatic muscle.

Key words Sheng Mai injection, chronic obstructive pulmonary disease, diaphragmatic muscle fatigue, paradoxical motion of thoracoabdomen, synchronous breathing pattern

(Original article on page 91)

Studies on the Herbal Decoction of Qingwen Baidu Yin (清瘟败毒饮) in Treating Endotoxic Fever of Rabbits

Xie Tian (谢 恬), et al

Hangzhou Hospital of TCM, Hangzhou (310006)

Qingwen Baidu Yin (QBY) has good curative effects on the endotoxic fever of rabbits induced by injecting endotoxin of E. Coli. The test group was given QBY orally, while the control group was given NS orally instead. Result showed QBY could: (1) Markedly inhibit the fever, it was effective in reducing febrile curve. ΔT and TRI_5 of the test group were smaller ($P < 0.001$). (2) Ameliorate the leukocytopenia and leukocytosis, and improve thrombocytopenia. (3) Antagonize hyperviscosity syndrome and had the actions of depolymerization and dilution. (4) In test group, the increased cAMP content in plasma was reduced, and the decreased cGMP content raised, the ratio of cAMP and cGMP was nearly normal. All these provided the clue in elucidating the essence of "Excessive Yang causes Heat" and "Predominance of Yang leads to disorder of Yin". (5) Pathomorphological examination showed that QBY had the functions of protecting the internal organs and reducing the organic damage induced by endotoxing in rabbits.

Key words Qingwen Baidu Yin, endotoxic fever

(Original article on page 94)