

清瘟败毒饮对大鼠急性腹膜炎炎性因子的影响

王纯忠 王国全 李书华 刘四红

摘要 目的 探讨中医温病经典方清瘟败毒饮在治疗盲肠穿孔急性腹膜炎脓毒血症时对急性炎性因子的影响。**方法** 将 96 只成年 SD 大鼠适应性饲养 1 周后随机分为 4 组,即对照组(A 组)、盲肠结扎穿孔组(CLP 模型组)、清瘟败毒饮低剂量组(B 组)及清瘟败毒饮高剂量组(C 组)。实验组分别于模型制备后 12、24、36、48h 给 SD 大鼠用生药 4ml 灌胃(低剂量组 30.8g/kg,高剂量组 40.8g/kg)。对照组及 CLP 模型组在相同时间点给予等量生理盐水 4ml。各组大鼠在相应时间点处死取材。并留取血液标本。进行血清 IL-8、IL-10、TNF- α 检查。**结果** C 组 12、24、36、48h 的血液标本中 TNF- α 、IL-8 明显低于 B 组及 CLP 模型组;而 IL-10 明显高于 B 组及 CLP 模型组,差异有统计学意义。**结论** C 组实验室资料均明显优于 CLP 模型组及 B 组,清瘟败毒饮在盲肠穿孔、急性腹膜炎、脓毒血症时对急性炎性因子具有正面的影响效果。

关键词 清瘟败毒饮 急性腹膜炎 炎性因子 动物实验

中图分类号 R2

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.08.018

Effect of Qinwenbaiduyin Decoction on Inflammatory Factors in Rats with Acute Peritonitis. Wang Chunzhong, Wang Guoquan, Li Shuhua, et al. Department of General Surgery, The First People's Hospital of Guangzhou, Guangdong 510380, China

Abstract Objective To investigate antipyretic disease, pharmacology research of Qinwenbaiduyin. **Methods** Totally 96 adult experimental SD rats were randomly divided into four groups a week after, control group (group A), CLP model group, low dose group (group B), high dose group (group C). Experimental group respectively got at 12h, 24h, 36h, 48h decoction by gastric method (low dose group 30.8g/kg and high dose group 40.8g/kg). The same amount(4ml) of normal saline were given in control group and CLP model group in the same phase. Executed based groups of rats in the corresponding time points. And the blood specimens were taken, and serum IL-8, IL-10, TNF- α were checked. **Results** At 12h, 24h, 36h, 48h, the laboratory data in group C were significantly better than the CLP model group and group B in IL-8, IL-10, TNF- α . It had obvious differences. **Conclusion** Qinwenbaiduyin for gastrointestinal perforation, acute peritonitis, sepsis has good therapeutic effect.

Key words Qinwenbaiduyin; Acute peritonitis; Inflammatory factors; Animal experiment

以胃肠穿孔为主的急性腹膜炎,具有起病急促、发展迅速、危害严重的临床特点。绝大多数病例会并发严重的脓毒血症。从而导致凶猛失控的炎性反应,使机体处于一种失控的内环境紊乱状态,是普通外科面临的难题。除及时有效的手术治疗外,尚无确切的保守治疗手段。很多研究将中医学理论和方法用于脓毒血症的治疗取得了较好成绩。相关的基础与临床研究体显出良好的发展前景。因此,笔者开展了清瘟败毒饮治疗急性腹膜炎、脓毒血症的动物实验研究,以期明确清瘟败毒饮对于盲肠穿孔导致的急性腹膜炎、脓毒血症的保护作用,为其进一步应用于临床

提供可靠的实验依据。

材料与方法

1. 材料:方剂中各药选择原药材符合 2010 版《中国药典》规定,加工炮制合格的饮片,即生石膏、细生地、乌犀角(现用水牛角)、真川连、知母、玄参、桅子、桔梗、黄芩、赤芍、连翘、牡丹皮、鲜竹叶、甘草。上述中药按原方比例以常规方法水提醇沉回收乙醇法浓缩至含生药 3.48g/ml,作为动物用药。由广州医科大学动物实验中心提供全部购自于广东省医学实验动物中心的 SPF 级实验用 SD 大鼠,动物饲养房,动物实验手术室。SD 大鼠雌雄不限,单笼饲养,平均体重 200g。

2. 主要试剂和仪器:白介素 8(IL-8)、白介素 10(IL-10)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、血清酶联免疫试剂盒(美国 RaPidBioLab 公司)仪器、ELX800 酶标仪(美国 Bio-TEK 公司)、W1 型沉板机(法国 BioEe II 公司)。

基金项目:广东省中医药局建设中医药强省基金资助项目(20121001)

作者单位:510380 广州市第一人民医院普通外科(王纯忠、刘四红);712046 咸阳,陕西中医药大学(王国全);510180 广州医科大学(李书华)

通讯作者:王纯忠,主任医师,电子邮箱:wcz1hospital@163.com

3. 方法: SD 大鼠盲肠结扎穿孔 (CLP) 诱导的脓毒症大鼠模型参考文献 [1], 先将成年 SD 大鼠 96 只随机分为 4 组, 其中标准组 24 只, CLP 模型对照组 24 只; CLP 模型清瘟败毒饮低剂量组 24 只; CLP 模型清瘟败毒饮高剂量组 24 只。分别于 CLP 模型制备后 12、24、36、48h 给 SD 大鼠灌胃清瘟败毒饮 4ml (低剂量组 30.8g/kg 大约为成人每次剂量的 8 倍; 高剂量组 40.8g/kg 大约为成人每次剂量的 12 倍), 标准组及 CLP 模型对照组在相同时间点给予等量生理盐水 4ml。各组大鼠在相应的时间处死、取材。经颈动脉放血留取血液标本。进行血清炎性因子检测。

4. 统计学方法: 应用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析。数据采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行多组资料比

较。方差齐时, 采用 LSD 法进行组间均数多重比较; 而方差不齐时, 则采用 Dunnett's C 法, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

为系统评价清瘟败毒饮抗炎作用, 本项目测定清瘟败毒饮干预不同时间点各组大鼠血清炎性因子 TNF- α 、IL-8 和 IL-10 的变化。TNF- α 的观察结果见表 1, 与对照组相比较, CLP 模型组 TNF- α 在各时间点的均增加超过 30 倍; 当给予清瘟败毒饮后 TNF- α 明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。CLP 模型组的 IL-8 明显高于对照组 (表 2), 清瘟败毒饮可降低 CLP 模型的 IL-8 含量 ($P < 0.05$)。同时, 观察到清瘟败毒饮可升高 IL-10 含量, 高剂量组明显 ($P < 0.05$, 表 3)。

表 1 各组大鼠 TNF- α 的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 15, \text{pg/L}$)

组别	12h	24h	36h	48h
对照组	3.45 $\pm$ 0.12	3.12 $\pm$ 0.07	4.35 $\pm$ 0.31	2.45 $\pm$ 0.21
CLP 模型组	121.40 $\pm$ 10.12	136.50 $\pm$ 13.41	147.80 $\pm$ 20.41	125.30 $\pm$ 16.16
清瘟败毒饮组 (低剂量)	110.70 $\pm$ 9.78 *	83.80 $\pm$ 6.66 **	93.20 $\pm$ 3.46 **	81.80 $\pm$ 10.10 **
清瘟败毒饮组 (高剂量)	88.00 $\pm$ 4.52 **	73.00 $\pm$ 3.57 **	62.00 $\pm$ 7.45 *	46.00 $\pm$ 3.11 *

与 CLP 模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 2 各组大鼠 IL-8 的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 15, \text{pg/L}$)

组别	12h	24h	36h	48h
对照组	5.45 $\pm$ 0.12	3.12 $\pm$ 0.21	5.35 $\pm$ 0.15	6.45 $\pm$ 0.20
CLP 模型组	78.54 $\pm$ 8.23	89.15 $\pm$ 6.41	112.08 $\pm$ 8.25	156.30 $\pm$ 10.23
清瘟败毒饮组 (低剂量)	65.37 $\pm$ 4.05	56.34 $\pm$ 3.79 *	77.55 $\pm$ 7.25 *	84.34 $\pm$ 6.85 **
清瘟败毒饮组 (高剂量)	58.57 $\pm$ 2.45	47.84 $\pm$ 6.85 **	56.25 $\pm$ 4.35 **	63.34 $\pm$ 8.35 *

与 CLP 模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 3 各组大鼠 IL-10 的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 15, \text{pg/L}$)

组别	12h	24h	36h	48h
对照组	2.45 $\pm$ 0.05	3.12 $\pm$ 0.13	3.35 $\pm$ 0.15	2.45 $\pm$ 0.16
CLP 模型组	34.44 $\pm$ 4.31	36.15 $\pm$ 5.23	47.28 $\pm$ 6.75	63.73 $\pm$ 5.45
清瘟败毒饮组 (低剂量)	36.71 $\pm$ 3.28	61.60 $\pm$ 6.49 *	73.21 $\pm$ 8.36 *	91.81 $\pm$ 7.43 *
清瘟败毒饮组 (高剂量)	55.71 $\pm$ 4.58	77.80 $\pm$ 5.19 *	81.81 $\pm$ 7.30 *	111.51 $\pm$ 9.23 *

与 CLP 模型组比较, * $P < 0.01$

讨 论

近年来, 对于清瘟败毒饮治疗以脓毒症为主要机制的感染性疾病的实验及其临床研究逐渐增多, 成果显著^[1-4]。脓毒症的发病机制基本相似, 主要是以中性粒细胞、淋巴细胞及单核-吞噬细胞系统的激活及大量释放的内源性介质引起。以往认为脓毒症患者死于过度炎性反应所致的组织器官损伤, 脏器衰竭^[5]。随着研究的不断深入, 越来越多的研究发现脓毒症是极为复杂的免疫功能紊乱状态, 一部分表现

为免疫激活, 另一部分则表现为免疫抑制^[6]。脓毒血症导致炎性反应失控, 来势凶猛, 发展迅速, 是普通外科面临的一大难题。脓毒症具有复杂的病理生理机制, 是多种疾病的重要环节和病理基础^[7]。长期以来, 人们一直在寻找阻断或抑制炎性介质级联反应的方法, 且已有一些药物在临床试用, 如糖皮质激素、环氧化酶抑制剂、蛋白酶抑制剂、抗内毒素及细胞因子抗体等, 但未获得肯定的疗效。综合性调控炎性反应的方法可能是有效防治脓毒血症的新策略。国内

有研究应用中医扶正、祛邪理论于脓毒症的防治,取得了很好疗效^[8]。研究发现中医的清热解毒治法既解侵入病原微生物的外毒,又解内毒素及其诱生的炎性介质和细胞因子之内毒,与抗生素联用,能达到细菌、内毒素、炎性介质并治的目的,从而改善了炎症与组织损害。清瘟败毒饮具有清热解毒、凉血养阴之功效,主治因疫毒邪气内侵脏腑、外窜肌表、气血两燔、表里俱盛的火热实证,是中医治疗温热病的经典名方。

中药可对抗细菌毒素、改善微循环,阻断微循环障碍的病理过程。清瘟败毒饮清热解毒、凉血益阴的作用强,具有对抗细菌毒素、降低内毒素水平、调节免疫及炎性介质、改善微循环、保护血管内皮细胞的作用^[9]。研究表明清瘟败毒饮具有解热、拮抗血小板凝聚、降低血液黏度、抗炎、镇痛、镇静、抗菌、抗病毒、保肝、解毒、强心、利尿、抗休克、复苏等药理作用。清瘟败毒饮对内毒素诱发家兔温病气血两燔证模型发热有明显的抑制作用。对脓毒症患者凝血功能障碍有保护作用,使血浆凝血酶原时间、凝血酶时间、活化部分凝血活酶时间延长和血小板计数下降^[10]。采用清瘟败毒饮加减辅助治疗比单用西药治疗为佳。

TNF- α 是炎症早期机体分泌的主要炎性因子,IL-8 是介导 PMN 聚集的最重要趋化因子,可通过促进 PMN 的趋化、变形、脱颗粒、释放溶酶体酶等参与炎性反应。IL-10 是主要的内源性抗炎因子,能拮抗 TNF- α 、IL-8 促使机体内促炎性因子与抗炎因子达到平衡。

综上所述,笔者的实验结果显示,清瘟败毒饮高剂量组(C 组)12、24、36、48h 的血液标本中 TNF- α 、IL-8 明显低于清瘟败毒饮低剂量组(B 组)及 CLP 模型组;而 IL-10 明显高于 B 组及 CLP 模型组,差异有统计学意义。实验提示清瘟败毒饮对于盲肠穿

孔导致的急性腹膜炎、脓毒血症的急性炎性因子 TNF- α 、IL-8 具有明显的抑制作用,而且对于内源性抗炎因子 IL-10 的产生具有明显的促进作用,有效改善急性炎性反应导致的内环境紊乱状态,促进急性腹膜炎、脓毒血症疾病的愈后。

笔者认为,清瘟败毒饮可能是通过多成分、多信号、多靶点调控炎性反应,以维护机体炎症、抗炎反应的动态平衡,而这种综合性治疗作用对于脓毒症是有益的防治策略,为中西医结合提高脓毒症治疗效果提出了新思路。

参考文献

- 奚希相,杨豪杰,马金苗,等. 清瘟败毒饮治疗脓毒症邪陷肺卫证的临床观察[J]. 中国中医急诊,2015,24(8):1423-1425
- 张祺嘉钰,孙毅,张恩户,等. 清瘟败毒饮治疗感染性疾病的实验及其临床研究[J]. 海峡医学,2015,27(5):99-100
- Yu ZM, Liu ZH, Chen J. Anti-inflammatory effect of Qingwenbaidu decoction (清瘟败毒饮) in sepsis rats[J]. Chinese J Integrat Med, 2014,20(12):934-943
- 周健淞. 清瘟败毒散联合高容量血液滤过对脓毒症患者炎症介质及血流动力学的影响[J]. 中药药理与临床,2014,30(6):166-167
- Kumar A, Kumar A, Paladugu B. Transforming growth factor- β blocks in vitro cardiac myocyte depression induced by tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and human septic shock serum[J]. Crit Care Med, 2007,35(2):358-364
- Garcia-Lazaro JF, Thieringer F, Luth S. Hepatic over-expression of TGF- β promotes LPS-induced inflammatory cytokine secretion by liver cells and endotoxemic shock[J]. Immunol Lett, 2005, 101(2):217-222
- Remick, DG. Pathophysiology of Sepsis[J]. Am Pathol, 2007, 170(5):1435-1444
- 李雪苓. 中药热毒清口服液对内毒素性发热家兔血浆白细胞介素-8 和一氧化氮的影响[J]. 中国中医急诊,2006,15(8):887-889
- 于征森,刘志辉,陈晶,等. 清瘟败毒饮对温病暑热证大鼠炎症介质的影响[J]. 中药药理与临床,2010,26(3):3-6
- 傅晓燕,王卫星,张焰理. 清瘟败毒饮对脓毒症患者凝血功能的影响[J]. 安徽中医学院学报, 2009,28(4):30-32

(收稿日期:2016-12-08)

(修回日期:2016-12-20)

(上接第 72 页)

- Boye E, Olsen BR. Signaling mechanisms in infantile hemangioma[J]. Curr Opin Hematol, 2009, 16(3):202-208
- Jinnin M, Medici D, Park L, et al. Suppressed NFAT-dependent VEGFR1 expression and constitutive VEGFR2 signaling in infantile hemangioma[J]. Nat Med, 2008, 14(11):1236-1246
- Marqueling A, LzaV, Frieden IJ, et al. Propranolol and infantile hemangioma as four years later: asystematic review[J]. Pediatr Dermatol, 2013, 30(2):182-191
- June K Wu, Jan K, Kitajewski. A potential role for notch signaling in the pathogenesis and regulation of hemangiomas[J]. J Craniofacial Surg, 2009, 20(1):698-702
- Funahmshi Y, Shawber CJ, Vorontchikhina M, et al. Notch regulates

the angiogenic response via induction of VEGFR-1[J]. J Angiogen Res, 2010, 2(1):3

- Jeansson M, Gawlik A, Anderson G, et al. Angiopoietin-1 is essential in mouse vasculature during development and in response to injury[J]. J Clin Invest, 2011, 121(6):2278-2289
- Koh GY. Orchestral actions of angiopoietin-1 in vascular regeneration[J]. Trends Mol Med, 2013, 19(1):31-39
- Denoyelle F, Le Boulanger N, Enjolras O, et al. Role of propranolol in the therapeutic strategy of infantile laryngotracheal hemangioma[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2009, 73(8):1168-1172
- 郑家伟,张凌,陈正岗. 普萘洛尔治疗婴幼儿血管瘤专家共识[J]. 中国口腔颌面外科杂志, 2013, 11(2):161-164

(收稿日期:2016-11-28)

(修回日期:2016-12-22)