

• 实验研究 •

内毒素血症兔症状、体征动态变化与
卫气营血传变的相关性赵国荣¹ 艾碧琛^{1*} 贺又舜¹ 肖碧跃¹ 曾序求¹ 谢 静² 刘 娟¹ 郜文辉¹ 李鑫辉¹

(1. 湖南中医药大学基础医学院, 湖南省长沙市岳麓区含浦科教园区象嘴路, 410208; 2. 湖南中医药大学第一附属医院)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30801473); 湖南省自然科学基金资助项目(09JJ6041, 00JJY2034)

* 通讯作者: cz_abc0719@163.com, 13974966137

[摘要] 目的 观察内毒素血症兔的症状、体征动态变化, 探讨内毒素血症与卫气营血宏观辨证及其传变之间的相关性。方法 将 22 只新西兰大耳白兔随机分成空白组 8 只和模型组 14 只, 采用静脉注射大肠杆菌内毒素(LPS)的方法建立内毒素血症模型, 空白组注入等量无菌生理盐水, 观察攻毒前及攻毒后 36h 内两组兔症状、体征和体温、心率的动态变化。结果 根据模型组兔不同的症状和体征, 将攻毒后的实验过程分成 1 阶段(攻毒后~2.0h), 2 阶段(2.1~6.0h), 3 阶段(6.1~36.0h)。空白组兔各阶段症状、体征及体温、心率均无明显变化。模型兔 1 阶段出现耸毛、发抖、喷嚏、流涕等症状, 心率较空白组增快($P<0.05$), 发热净增值(ΔT)较空白组升高($P<0.01$); 模型兔 2 阶段出现小便黄、呼吸明显增快增粗、耳廓发热、充血明显以及眼结膜充血, 心率及 ΔT 值比前一阶段及空白组继续升高($P<0.01$); 模型兔 3 阶段出现精神萎靡、活动度和灵敏度下降、便血、耳廓发凉、眼结膜充血明显, 部分兔口周青紫、耳廓青紫或有瘀点瘀斑、眼球突出、鼻衄、嗜睡、全身瘫软无力、角弓反张、抽搐和死亡, ΔT 值较 2 阶段降低($P<0.01$), 但仍高于空白组($P<0.01$), 心率有下降趋势, 但仍较空白组快($P<0.01$)。结论 内毒素血症兔症状、体征出现有规律的阶段性表现, 与叶天士认为温病按其发展可分为卫、气、营、血 4 个阶段有一定的相关性。

[关键词] 内毒素血症; 温病; 卫气营血辨证

Correlation between the Dynamic Changes of Endotoxemia Rabbits' Symptoms and Signs and Progress of Wei-qi-ying-xue Syndromes

ZHAO Guorong¹, AI Bichen¹, HE Youshun¹, XIAO Biye¹, ZENG Xuqiu¹, XIE Jing², LIU Juan¹, GAO Wenhui¹, LI Xinhui¹

(1. College of Preclinical Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007; 2. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To observe the dynamic changes of symptoms and signs in endotoxemia rabbits' for exploring the correlation between endotoxemia and differentiation in a macroscopic view and progress of wei-qi-ying-xue syndromes. **Methods** Twenty-two New Zealand rabbits were randomized into a blank group with 8 rabbits in it and a model group with 14 rabbits in it. The endotoxemia models were established with colibacillus endotoxin lipopolysaccharide (LPS) injecting intravenously. The blank group was injected with normal saline in the equal amount. The dynamic changes of symptoms and signs, body temperature, and heart rate of the two groups before and 36h after anti-toxin treatment were observed. **Results** According to the different symptoms and signs of the model group, the experimental process after anti-toxin treatment was divided into stage I (anti-toxin treatment 0~2.0h), stage II (2.1~6.0h) and stage III (6.1~36.0h). There were no significant changes in the symptoms and signs, body temperature, and heart rate of the blank group in all stages. In the stage I, the model rabbits had standing hair, shivering, sneezing, and running nose, and the heart rate got faster than that of the blank group ($P<0.05$), and the body temperature was higher (ΔT) than that of the blank group ($P<0.01$). In the stage II, the model rabbits had yellow urine, significantly increased rough breathing, feverish and congested auricle, congested conjunctiva, and more faster heart rate, and ΔT was continuously getting higher than that of the stage I and the blank group ($P<0.01$). In the stage III, the model rabbits had the lowered spirit, decreased activity and sensitivity, bloody stools, cooled auricle, and more obvious congested conjunctiva, and some of them had perioral cyanosis, auricular cyanosis or ecchymosis, protrusion of eyeball, nasal bleeding, drowsiness, weak limbs, opisthotonus, convulsion, and death, and ΔT was getting lower than that of the stage II ($P<0.01$), but still higher than that of the blank group ($P<0.01$), the heart rate tended to get lower, but still faster than that of the blank group ($P<0.01$). **Conclusion** The endotoxemia rabbits' symptoms and signs have regular stage manifestations, being significantly correlated with the wei-qi-ying-xue stages during the development of febrile disease put forward by Ye Tianshi.

Key Words endotoxemia; febrile disease; syndrome differentiation according to the theory of wei-qi-ying-xue

阻止内毒素血症引起的全身炎症反应综合征(SIRS)及其所致的多器官功能障碍综合征(MODS)的发生,一直是一个难以解决的问题,也是目前炎症研究领域的热点。叶天士创立的卫气营血辨证至今 300 多年,一直有效指导着临床辨证治疗感染性(包括传染性)疾病。现代医学认为炎症介质失控性释放是 SIRS、MODS 发生的主要机制^[1],而且炎症介质通常分几个阶段呈连锁反应。而中医学认为温病按其发展可分卫分证、气分证、营分证、血分证 4 个阶段,其中“温邪袭表,肺卫失宣”的肺卫证与 SIRS 的早期阶段极为相似^[2]。因此按照中医卫气营血辨证从不同阶段、多层次制止 SIRS 发生,防治其对机体构成的严重损害,以及降低其死亡率有着极其重大意义,从炎症反应的角度更深入认识卫气营血辨证是非常有必要的。本研究以动物实验对此进行初步证实,现报道如下。

1 材料

1.1 动物

普通级新西兰大耳白兔 22 只,雌雄不限,体重 1.8~2.0 kg,由长沙市东创实验动物科技服务部提供,动物许可证号:SCXK(湘)2009-0012。

1.2 试剂

大肠杆菌内毒素(*Escherichia coli* 0111:B4)购自美国 Sigma-Aldrich 公司,批号 118K4052。

2 方法

2.1 试剂的配备

大肠杆菌内毒素在无菌条件下以生理盐水配制成 20 μg/ml 溶液,使用前以温水浴至 39℃。

2.2 动物饲养、分组及造模

室温控制在 24~27℃,单笼饲养,自由饮食和饮水。采用随机数字表法将白兔分成空白组 8 只和模型组 14 只,模型组由耳缘静脉注入大肠杆菌内毒素 10 μg/kg,空白组注入等量生理盐水。

2.3 观察指标及方法

症状与体征:观察攻毒前至攻毒后 36 h 两组兔的全身状态、精神状态、饮水及进食情况、大小便、皮肤、耳廓、结膜、舌象、呼吸和心率等变化。

体温:实验前 24 h 内测肛温 3 次,取平均值为基础体温。模型组攻毒后,前 2 h 内每 0.5 h 测肛温 1 次,2~8 h 内每 1 h 测肛温 1 次,8~16 h 每 2 h 测肛温 1 次,16~36 h 后每 4 h 测肛温 1 次,计算每只兔在各阶段较基础体温的发热净增值的平均值(ΔT)。空白组在注入生理盐水后 2 h 测肛温 1 次,

计为空白组兔 ΔT。

心率:实验前 24 h 内测心率 3 次,取平均值为基础心率。模型组攻毒后,前 2 h 内每 0.5 h 测心率 1 次,2~8 h 内每 1 h 测心率 1 次,8~16 h 每 2 h 测心率 1 次,16~36 h 后每 4 h 测心率 1 次。计算每只兔在各阶段较基础心率的每分钟心率净增值的平均值。空白组在注入生理盐水后 2 h 测心率 1 次,计为空白组兔心率净增值。

2.4 统计学方法

应用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用方差分析,多组间两两比较用 q 检验。

3 结果

根据模型组兔不同的症状和体征,将攻毒后的实验过程分成 3 个阶段:1 阶段(攻毒后~2.0 h),2 阶段(2.1~6.0 h),3 阶段(6.1~36.0 h)。

3.1 两组兔各阶段症状与体征变化

空白组兔各阶段症状与体征均无明显变化。

模型组兔各阶段全身状态、精神状态、灵敏性、饮水、进食、大小便情况:1 阶段兔出现懒动、少食少饮,部分兔出现耸毛、发抖、喷嚏,大小便正常,有 1 只兔死亡。2 阶段兔耸毛、发抖、喷嚏消失,仍然懒动、蜷缩、少食少饮,部分兔在 4 h 后活动度增加,小便黄、少,部分兔出现大便次数增加、便溏、水样便或黏液便。3 阶段兔精神逐渐萎靡,活动度和灵敏度明显下降,蜷卧,不食不饮或有少量进食饮水,部分兔便溏、便血。此阶段有部分兔眼球突出、鼻衄、嗜睡、全身瘫软无力、角弓反张、抽搐,有 3 只兔死亡。

模型组兔各阶段呼吸、皮肤、耳廓、眼结膜、舌象动态变化:1 阶段接近 2 h 时部分兔耳廓发热、轻微充血,呼吸略有增快,眼结膜无充血,舌象、皮肤无明显变化。2 阶段兔呼吸增快增粗、大部分兔耳廓发热、充血明显以及出现眼结膜充血,舌象、皮肤无明显变化。3 阶段兔呼吸频率有下降趋势,耳廓发热、充血程度逐渐减弱,耳廓发凉、眼结膜充血明显,舌象无明显变化,此阶段有部分兔在不同时间分别出现口周青紫、耳廓青紫或有瘀点瘀斑。

3.2 两组兔各阶段体温动态变化

1 阶段、2 阶段所有测得的体温值纳入统计,3 阶段纳入最终死亡的模型兔的所有体温值,计算每只兔各阶段的 ΔT。

空白组兔各阶段均未出现体温升高变化,ΔT 值为(0.04±0.03)℃,模型组兔 1、2、3 阶段 ΔT 值

分别为 $(1.22 \pm 0.34)^{\circ}\text{C}$ 、 $(1.73 \pm 0.31)^{\circ}\text{C}$ 、 $(1.13 \pm 0.37)^{\circ}\text{C}$ 。模型组兔 1 阶段 ΔT 值较空白组升高($P < 0.01$); 2 阶段兔体温持续升高, ΔT 值较空白组及 1 阶段均高($P < 0.01$); 3 阶段兔体温出现缓慢下降, ΔT 值较 2 阶段降低($P < 0.01$),但仍比空白组升高($P < 0.01$)。

3.3 两组兔各阶段心率动态变化

1 阶段、2 阶段所有测得的心率值纳入统计,3 阶段纳入最终死亡的模型兔的所有心率值,计算每只兔各阶段的心率净增值的平均值。

空白组兔各阶段心率未见明显增快,其心率净增值为 (4.00 ± 6.23) 次/min,模型组兔 1、2、3 阶段心率净增值分别为 (13.14 ± 6.64) 次/min、 (25.62 ± 10.51) 次/min、 (18.63 ± 5.50) 次/min。模型组兔 1 阶段心率比空白组略有增快($P < 0.05$); 2 阶段兔心率继续增快,此阶段兔心率较 1 阶段及空白组均加快($P < 0.01$); 3 阶段兔心率有下降趋势,但心率净增值仍较空白组升高($P < 0.01$),与 2 阶段比较差异则无统计学意义($P > 0.05$)。

4 讨论

温病卫分证以发热、微恶风寒、口渴、苔黄为辨证要点。实验中 1 阶段兔体温升高,心率、呼吸增快,耸毛、发抖、喷嚏,这与卫分证温邪初袭人体肌表所致的发热恶寒症状相似。在攻毒后接近 2h 的时候,耸毛、发抖、喷嚏、流涕症状逐渐消失,体温继续升高,部分兔出现耳廓发热、充血,与温病由卫分逐渐传入气分的传变过程相似。

温病气分证以发热不恶寒、口渴、苔黄为主要表现。实验中 2 阶段,模型兔出现小便黄,呼吸明显增快增粗,心率增快,耳廓发热、充血明显以及眼结膜充血,而且攻毒后体温升高的最高值出现在这个阶段内,反映这个阶段热势极盛,这与正气奋起抗邪,邪正剧争,里热蒸迫,全身壮热的气分证类似。

温病营分证以身热夜甚、心烦谵语、舌质红绛为辨证要点;血分证以急性多部位、多窍道出血、斑疹密布及舌质深绛为其辨证要点。在 3 阶段模型兔体温、呼吸、心率均比 2 阶段略降,精神逐渐萎靡,活动度和灵敏度明显下降,便血、耳廓发凉、结膜充血明显,出现口周青紫、耳廓青紫或有瘀点瘀斑、眼球突出、鼻衄、嗜睡、全身瘫软无力、角弓反张、抽搐和死亡。这些与温邪入营、扰神窜络的营分证以及动血耗血、瘀热内阻、进而脏气衰竭的血分证相似。但是实验中发现,从气分证向营、血分传变时,更多出现

的是由气分越期进入血分、或者出现营分证、血分证重叠,导致未能将营分证和血分证二者从症状体征或时间上截然分开。

在卫气营血辨证体系中,发热是一个很重要的辨证点。虽古代医家限于当时的技术条件不能把卫气营血各证的发热用体温计量化,但通过缜密的临床观察和思辨,将各证不同的热型进行定性,借以辨别,如卫分证是发热、微恶风寒并见,气分证但热不恶寒,营分证身热夜甚。但在动物实验中,这些不同的热型是很难表现出来的,不过我们发现体温高低不同阶段是有差异的。如实验结果显示,1 阶段(卫分证)开始出现发热,但热势不高,2 阶段(气分证)的发热程度为 3 个阶段中最高的,而到了 3 阶段(营血分证)时,发热程度又有减轻,但仍较空白组升高。此外,有一些在温病临床而言是比较重要的症状,如渴饮、烦躁不安及舌质变化等症状,实验中自始至终都未出现。因为中医“证”是疾病的病因、病位及病邪性质的概括,且临床多以患者主观感觉反映出来,因此复制中医“证”的动物模型难度较大,有学者认为目前只有尽可能从“证”的临床辨证标准来评价中医“证”的动物模型^[3],同时由于模型动物和人处在生物进化树的不同层次,所以模型的诊断依据应该可以作非原则性的变通。因此,虽然这些人卫气营血辨证的重要症状没有出现在动物模型中,但是应该不会影响动物模型的卫气营血宏观辨证。

值得注意的是,与临床患者有个体差异一样,实验兔也有个体差异。大部分模型组兔出现了类似卫、气、营、血阶段的表现,但有些兔经过 2 阶段(气分证)后症状和体征逐渐消失,并没有接着出现 3 阶段(营分证或血分证)的症状;还有个别兔在攻毒后 2~3h 仍然有耸毛、喷嚏、流涕等类似卫分证的表现,类似于卫气营血辨证特殊传变中的自愈或不传。而我们通过实验归纳的 3 个阶段,是综合了大部分模型兔情况确立的一个大致范围,不同时间段的实验指标改变是否也有规律可循,有待进一步研究。

参考文献

- [1]顾东明,秦锐,钱镜秋,等.小儿 SIRS 凝血系统的变化及临床意义[J].临床儿科杂志,2006,24(3):214-216.
- [2]赵国荣.肺卫理论与肺相关生物活性物质及全身炎症反应综合征[J].中医杂志,2004,45(3):165-166.
- [3]刘恩枝.医学实验动物学[M].北京:科学出版社,2008:221.