

抗毒通瘀合剂治疗支原体肺炎大鼠的实验研究

刘晓红 李 贵 方慧秋 范穆蕾 高慧英 (北京友谊医院 北京 100050)

摘 要 抗毒通瘀合剂可使支原体肺炎大鼠的病情明显减轻,全血低切粘度、全血还原粘度均低于模型组,接近正常水平;谷胱甘肽过氧化物酶活力显著高于模型组。

关键词 抗毒通瘀合剂 支原体肺炎 血液流变学 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)

Experimental Studies on Kangdutongyu Formula Treating Pneumonia in Rats Infected Mycoplasma

*Liu Xiaohong, Li Gui, Fang Huiqiu, Fan Mulei, Gao Huiying
(Beijing Friendship Hospital, Beijing, 100050)*

Abstract: Kangdutongyu formula (KTF) could obviously decrease the conditions of pneumonia in rats infected mycoplasma. The experimental results showed that the blood viscosity of low shear and reduction in the treatment group was less than that in the model group, which was close to the normal, and the activity of glutathione peroxidase in plasma in the treatment group was significantly higher than that in the model group.

Key words: Kangdutongyu formula, mycoplasma pneumonia, hemorrheology, glutathione peroxidase (GSH-Px)

小儿肺炎支原体(MP)感染十分常见,一般采用综合治疗的原则,针对病原常选用大环内脂类抗生素进行治疗,对消除肺炎的症状和体征效果尚可,但疗程长,停药过早易复发,且有一定的副作用。根据我科以往的临床经验,采用活血化瘀中药疗法,能减轻肺炎的病情、缩短病程,为了探讨疗效机理进行了动物实验研究。

1 材料和方法

1.1 动物分组 3 周龄 Wistar 大鼠 90 只,平均体重 60g,♂ ♀ 各半,由中国医学科学院动物中心提供。按体重和性别随机分为 4 组,(1)正常对照组 30 只;(2)肺炎模型组 30 只;(3)感染后罗力得治疗组 12 只;(4)感染后中药治疗组 18 只。

1.2 动物模型的制备 经适应期 1 月后,体重达 200~300g/只,乙醚麻醉(2)(3)(4)组动物,滴鼻 1 次性感染肺炎支原体菌液(含肺炎支原体 $10^6\sim10^7$ CCU/ml)。感染 11d 起分别灌胃生理盐水、罗力得混悬液、中药水煎剂各 2ml/只/次,连续 7d。

1.3 药材

1.3.1 罗力得混悬液的制备 用三蒸去离子水溶解药物配成 6.25mg/ml 的浓度(法国罗素优克福公司生产),置 4℃ 冰箱备用,灌胃时摇匀使用。

1.3.2 中药煎剂 由本院中药房提供实验用药。方剂:当归、川芎、双花、黄芩、公英、地丁、甘草、三棱、莪术、桃仁、红花、青黛、杏仁各 9g。

每剂以蒸馏水浸泡 30min 后加蒸馏水煎煮 3 次,合并药液,浓缩至药物浓度为 0.5g/ml,4℃ 冰箱保存。

1.4 取材 至感染第 18d 乙醚麻醉下经腹腔动脉取 EDTA 抗凝血 2ml 及肝素抗凝血 8ml 后处死,取气管、肺、心脏用 10% 福尔马林固定,送光学显微镜病检。

1.5 测定方法

1.5.1 GSH-Px 测定 以 H_2O_2 为底物^[1],采用谷胱甘肽还原酶和辅酶二偶联法^[2]。用

Beckman Du-8 型紫外分光光度计测定,使用的水均为无离子三蒸水。试剂购自 Sigma 公司。

1.5.2 蛋白的测定 用考马斯亮兰法测血浆蛋白^[3]。

1.5.3 血液流变学的测定 以世帝公司出品的 9103B 血粘度仪分别测定全血高切、低切粘度、高切血浆粘度、红细胞电泳、红细胞压积、血沉、全血还原粘度、红细胞刚性指数,肝素抗凝血静置 0.5h 以上,检测温度 25℃,所有指标在 4h 内完成。

1.6 统计学处理 以动物的发病率进行组间卡方检验,其余数据以均数±标准差表示,行方差分析,用 SPSS 统计软件 4.0 版本处理。

2 结果

2.1 实验动物肺组织光镜病理检查 光镜下肺部病理形态学改变各组大鼠程度不等,每只鼠左、右肺以肉眼病变较明显者作切片,先低倍镜下观察,找出病变最明显的一张在高倍镜下观察记录。以数个肺内小支气管壁散在平均少于 10 个淋巴样细胞浸润或/和肺泡壁稍增厚可见平均少于 10 个淋巴样细胞浸润拟诊为轻微病变,范围加大,程度加重者为重度病变。无上述改变者为未发病,见图 1~4。各组大鼠 MP 肺炎病情见表 1。正常对照组的肺组织无间质性肺炎,仅个别大鼠小支气管有少数淋巴样细胞浸润;模型组全部发病;罗力得治疗组病变严重者少于模型组,但无统计学意义;中药组病变严重者明显少于模型组,差异显著。见表 1。

2.2 各组大鼠血沉、红细胞压积的变化 见表 2,血沉各组间无差异,3 个组的红细胞压积均显著高于正常组,表明感染使红细胞生成受到影响,中药无明显作用。

表 1 肺部病理改变

组别	观察例数	轻微病变	重度病变
正常组	30	0	0
模型组	30	15	15
罗力得组	12	7	5
中药组	18	15	3*

与模型组比较 * $P<0.05$

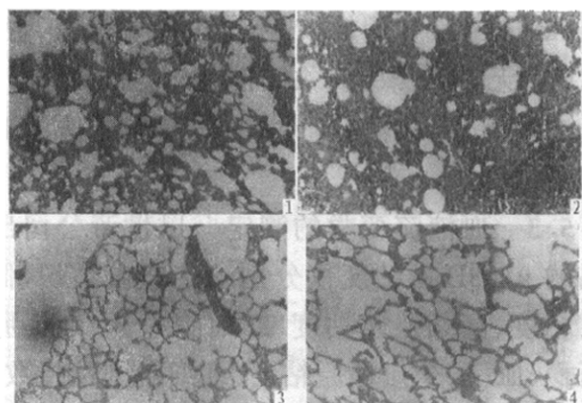


图1 HE×20 轻微病变

间质小血管周围散在少数淋巴样细胞及个别单核细胞浸润。邻近的肺泡间隔稍增宽,毛细血管充盈。呈轻度的炎性改变。

图2 HE×20 重度病变

见增宽的肺泡间隔内毛细血管明显充盈,可见程度不等的淋巴样细胞,个别单核细胞及分叶核白细胞浸润,间质呈明显的炎性改变。

图3 HE×20 无明显病变

肺内小支气管及间质小血管周围未见明显炎性病变。肺泡壁未见增厚,肺泡腔内未见炎性渗出物。

图4 HE×20 正常对照

肺泡壁未见增厚,肺泡腔内未见炎性渗出物。肺内小支气管及间质小血管周围未见明显炎性病变。

2.3 药物对(MP)肺炎大鼠血液流变学的影响 见表3,模型组全血还原粘度、全血高、低切粘度、血浆高切粘度均高于正常组,中药组全血还原粘度、全血低切粘度显著低于模型组。血浆高切粘度高于正常组和模型组。

2.4 药物对大鼠红细胞刚性指数和红细胞电泳的影响 如表4所示,3个感染组红细胞刚性指数均显著低于正常组,表明感染增加了红细胞的脆性。中药组对其无明显改善。各组间红细胞电泳均相等。

2.5 各组血浆 GSH-Px 的变化 如表5所

表2 大鼠血沉、红细胞压积的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 g/kg	n	血沉(mm/h)	红细胞压积(%)
正常组		15	1.20 ± 0.41	42.87 ± 2.07
模型组		15	1.47 ± 0.92	45.87 ± 2.56*
罗力得组	0.05	12	1.17 ± 0.58	46.17 ± 4.67*
中药组	4	18	1.33 ± 0.69	46.28 ± 1.81*

与正常组比较 * $P < 0.05$

表3 药物对大鼠全血粘度、全血还原粘度、血浆粘度的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	全血还原粘度(cp)	全血粘度		血浆高切粘度(cp)
		高切(cp)	低切(cp)	
正常组	15.55 ± 1.84	1.61 ± 0.28	7.10 ± 1.02	0.51 ± 0.05
模型组	17.17 ± 1.52*	2.11 ± 0.27*	8.57 ± 1.35*	0.54 ± 0.04*
罗力得组	17.31 ± 4.27*	2.60 ± 0.67**	8.94 ± 1.89*	0.78 ± 0.04**
中药组	14.33 ± 2.04**	2.56 ± 0.48**	7.01 ± 1.46**	0.79 ± 0.03**

与正常组比较 * $P < 0.05$ 与模型组比较 ** $P < 0.05$
(剂量及动物数同前表)

表4 各组大鼠红细胞刚性指数和红细胞电泳的变化

组别	剂量 g/kg	n	红细胞刚性指数	红细胞电泳(sec)
正常组		15	7.34 ± 0.76	15.0 ± 0
模型组		15	4.32 ± 1.10*	15.0 ± 0
罗力得组	0.05	12	5.14 ± 1.99*	15.0 ± 0
中药组	4	18	4.85 ± 1.34*	15.0 ± 0

与正常组比较 * $P < 0.05$

示,模型组血浆 GSH-Px 显著低于正常组,中药组较模型组显著增高,罗力得组与模型组无差异。

表5 各组大鼠血浆 GSH-Px 的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 g/kg	n	血浆 GSH-Px (nmol NADPH. OX/min. g 蛋白)
正常组		27	125.51 ± 25.36
模型组		23	106.08 ± 14.56*
罗力得组	0.05	10	115.21 ± 31.79
中药组	4	16	131.65 ± 22.36**

与正常组比较 * $P < 0.05$ 与模型组比较 ** $P < 0.05$

3 讨论

目前认为支原体侵入呼吸道在粘膜表面产生一种过氧化氢,造成局部损伤^[4],同时,MP 表面抗原与人红细胞 Ii 抗原具有共性,导致红细胞自身抗体的生成,造成红细胞的损伤^[5]。本实验证实在 MP 肺炎大鼠中 GSH-Px (GSH-Px 是体内清除氧自由基的一种氧化酶)降低,各项血液流变学指标改变,提示了支原体肺炎的发生与血液的粘滞、红细胞聚集有关。从而也为中医临床将支原体肺炎辩证为血瘀证提供了证据。

本实验采用活血化瘀、清热解毒的中药对 MP 肺炎大鼠模型灌胃治疗,能明显降低全血粘度和全血还原粘度,提高了 GSH-Px 的活力,打断了 MP 致病的重要环节,取得较

好疗效,为中药用于临床 MP 的治疗提供了实验依据。与公认的口服抗支原体药物大环内脂类抗生素比较,在改善微循环、增强抗氧化能力方面更具优势。

参考文献

- 1 Lawrence R. A. , and Burk R. F. Glutathione Peroxidase Activity in Selenium Deficient Rat Liver. *Biochem Biophys Res Commun*, 1976, 71: 952
- 2 Wendel A. Glutathion Peroxidase. *Methods in*

Enzymology, 1981, 77: 325

- 3 M. M. Bradford. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem*, 1976, 72: 248
- 4 胡皓夫. 肺炎支原体肺炎的发病机制. *实用儿科杂志*, 1993, 8: 198
- 5 于守泛. 支原体与支原体感染. *国外医学流行病学传染病学分册* 1993, 176

(收稿: 1997-03-28)