

实验研究

佐剂性关节炎及其关节灌流液中 PGE 和 cAMP 的测定

中国中医研究院骨伤科研究所 (100700) 陈训华 周重光

用弗氏完全佐剂 (FCA) 诱发大白鼠的关节炎, 认为是一种迟发型过敏反应, 亦可能属于自身免疫病。⁽¹⁾ 其临床反应与关节病理改变均接近于人的类风湿性关节炎。炎症期关节滑膜液中内源性PG合成增加。

我们应用弗氏完全佐剂诱导大鼠关节炎这一实验模型进行了实验观察, 病理检验, 并测定了其关节灌流液中PGE和cAMP的含量。

一、试剂: (从略)

二、实验动物: 大鼠24只, 分为2组, 每组12只。

三、实验方法与观察: 关节炎组大鼠于左后肢足垫部皮内注射 0.1ml FCA (弗氏完全佐剂); 对照组同部位注射 0.1ml FIA (弗氏不完全佐剂)。注射24小时两组大鼠均呈早期炎症反应; 14天开始, 关节炎组注射足对侧后肢 (即右后肢) 表现出慢性炎症反应; 足垫及关节周围肿胀, 伴少数小结节出现; 18—22天关节红肿, 活动受限, 耳、尾部小结节明显, 尾部尤重, 22天达高峰; 对照组则无上述表现。发病期间, 关节炎组动物体重增长明显低于对照组 ($P < 0.01$)。用千分卡尺测量右后肢足跖厚度, 并用无弹性窄带尺测量该肢踝关节周长, 结果显示关节炎组的足跖厚度和关节周长均明显高于对照组, 结果见表 I。

病理学检查结果表明: 关节炎组右后肢踝

关节滑膜组织增生, 淋巴细胞弥漫性浸润, 小血管及毛细血管扩张, 部分组织水肿; 尾部真皮下及骨骼肌间结缔组织水肿淋巴细胞浸润, 小血管扩张; 对照组右后肢踝关节滑膜组织及尾部组织未见明显病变。

四、关节灌流液中PGE和cAMP的测定: 注射佐剂第22天, 将两组大鼠用乌拉坦(1.65g/kg)麻醉后固定于解剖板上, 在右后肢股部做一小切口, 用不锈钢同轴导管插入踝关节内⁽²⁾, 将导管固定后用 Krebs 生理溶液灌流, 蠕动泵控制流量为0.2ml/分, 连续30分钟, 收集灌流液于冰浴中, 约 6.0 ± 0.3 ml, 贮低温冰箱中, 分别测定PGE和cAMP。

(一)PGE测定: 分别取各灌流液 1.0ml, 用1N盐酸酸化使PH到3.5, 用1:4乙酸乙酯提取2次, 合并上清液于氮气流下吹干, 干燥提取物稀释后经硅胶柱层析纯化, 收集PGE部分于氮气流下吹干; 再将此样重新溶于 1.0ml 无水乙醇中, 分样后用放射免疫方法测定。

PGE药箱购于医科院基础所, 抗体工作滴度为1:150, 标准曲线及样品测定数据用 IBM 计算机处理。标准曲线相关系数R 为 0.998, 结果显示关节炎组灌流液中PGE含量明显高于对照组, 为对照组含量的3倍多。见表 II。

(二)cAMP测定: 以上实验证实了关节炎症达高峰时大鼠关节灌流液中PGE含量急剧增高, 为探讨PGE的增高是否与 cAMP 有关, 我们又用竞争性蛋白结合分析法测定了两组大鼠关节灌流液中cAMP的含量。结果表明关节炎组灌流液中cAMP含量明显低于对照组。见表 II

我们的实验表明, 关节炎组动物体重增长

表一 足跖厚度、关节周长比较

组别	足跖厚度 ± (mm) $\bar{X} \pm SD$	关节周长 (cm) $\bar{X} \pm SD$
FCA	9.03 ± 1.80	2.52 ± 0.23
FIA	6.03 ± 0.29	2.30 ± 0.11
P	<00.1	<0.001

小夹板等固定法对骨折家兔血液流变学的影响

中国中医研究院骨研所 (100700) 涂丰 杨梅香

本文从血液流变学的角度, 对小夹板、石膏、髓内针及钢板四种骨折固定方法进行了比较研究, 以进一步探讨小夹板固定疗法的机理。

方 法

选用3kg左右的新西兰种家兔, 用3%戊巴比妥钠按30mg/kg静脉麻醉, 手术造成家兔胫骨中段骨折。手法复位后采用不同的固定方法。实验动物分成五组: 第一组为正常对照; 第二组骨折小夹板固定; 第三组骨折石膏固定; 第四组骨折髓内针固定; 第五组骨折钢板固定。术后家兔常规肌注青霉素G预防感染。

手术后两周, 从家兔耳缘静脉抽血, 用3.8%枸橼酸钠按1:9抗凝。使用江苏无锡县石塘湾电子仪器厂生产的WTP-A型血栓形成血小板粘附两用仪; WTP-BI型可调恒压毛细管粘度计及压积管, 进行各项血液流变学指标的测定。具体指标为: 血液浓度测血球压积及纤维蛋白原含量; 血液粘度测血浆及全血粘度;

血液聚集性测血沉; 血液凝固性测体外形成血栓的长度、湿重及干重。各组的值分别与正常组进行t检验。

结 果

实验结果见《小夹板等固定法对骨折家兔血液流变学的影响》表。从表中数值可以看出: 凡造成骨折的家兔无论使用哪种固定方法, 均有瘀血现象发生, 表现为血液的浓、粘、聚、凝性增高。但随着使用固定方法不同, 瘀血程度有所不同, 钢板固定>石膏固定>髓内针固定>小夹板固定。钢板固定所测指标均明显升高; 石膏固定除血球压积正常外其余均升高; 髓内针固定对纤维蛋白原含量及血栓干重影响不大; 而小夹板固定除血沉及血浆粘有升高外, 其余大部分指标均接近正常, 甚至低于正常。

讨 论

中医认为“折伤专著血论”, 损伤是形成瘀血的主要原因, 瘀血是骨折的主要病理变

表二 关节灌流液中PGE cAMP含量比较

组别	PGE		cAMP	
	动物	$\bar{X} \pm SD (Pg/6ml)$	动物	$\bar{X} \pm SD (Pmol/6ml)$
FCA	10	1498.2 ± 361.2	10	12.1 ± 10.0
FIA	10	473.4 ± 243.5	8	31.3 ± 25.4
P		<0.001		<0.05*

* 因两组方差不齐, 作平方根转换处理。

较对照组缓慢; 关节炎症达高峰时关节及关节周围组织严重肿胀, 关节周长和足厚度均表现出与对照组的显著差异。应用放射免疫方法验证了PGE与佐剂性关节炎具有极为密切的关系; 间接地证明了PGE与类风湿性关节炎的关系; 并证明关节炎症处于高峰时关节灌流液中PGE浓度急剧增高, 而cAMP浓度反而降低,

高浓度PGE是否通过降低腺苷酸化酶的活性而减少cAMP的浓度, 从而产生生理效应而起到调节作用还有待进一步探讨。

我们的实验, 为类风湿性关节炎动物模型的建立、筛选、防治该病有效的中药单方、复方提供了科学实验方法和依据。

参考文献

- (1) 徐叔云等. 药理实验方法学. 人民卫生出版社, 1982. 534
- (2) M.J. Parnham, et al: Cyclic AMP and Prostaglandin E in Perfusates of Rat Hind Paws During the Development of Adjuvant Arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, (37)218-224, 1978