

中药抗弓形虫感染的研究思路与方法

★ 宋贤响 (江西中医学院 2003 级研究生 南昌 330006)

★ 万红娇 杨翠萍 (江西中医学院基础部 南昌 330006)

关键词: 中药; 弓形虫感染; 综述

中图分类号: R 259 文献标识码: A

弓形虫是一种世界性分布的专性细胞内寄生原虫,可寄生在人及 190 多种动物体内。世界平均感染率为 25%~50%^[1],严重危害人类的健康,特别是妊娠期弓形虫感染可引起胎婴儿先天性异常,是导致胎儿宫内感染的最重要的生物学因素之一,因此弓形虫病的治疗是当前专家学者研究的热点。目前,临床上弓形虫病的治疗药物以乙胺嘧啶、螺旋霉素、磺胺嘧啶为主,但在使用过程中会出现抑制骨髓、损害肝功能、致畸以及出现皮疹等毒副作用,不能长期服用,而停药后复发率高,根治效果差。因此,进一步探索高效、低毒抗弓形虫中药甚为迫切。中草药是我国医药的宝库,其来源广泛,价格低廉,毒副作用小,可长期治疗,故国内许多学者正在从事中医药治疗弓形虫病的研究探讨。

1 中医对弓形虫病的认识

我国弓形虫病的首例病人是 1964 年由江西的谢天华正式报道的。由于弓形虫发现的时间不长,中医药对弓形虫及弓形虫病发病方面的研究不是很深入和广泛。据现有的资料报道,中医学认为弓形虫病属于“虫症”范畴^[2]。虫居血液而致病,一则扰乱气血,血热忘行;二则虫体久居血液导致气血淤滞。有学者^[3]认为脾虚体弱,湿热内蕴是发生弓形虫病的症结所在。脾主运化水湿,脾气虚弱,湿自内生,蕴久生热,弓形虫乘虚而入,与湿热结合,极易生长繁殖,脾喜燥恶湿,湿邪又能阻滞气机,困遏脾阳,使脾气更虚,二者互为因果。也有学者^[4]认为,弓形虫病常表现为发热、头痛、无汗、项背恶风等,类似伤寒表实之证,究其病因病机,因反复高热,常服发汗药退热,频频发汗不仅耗伤津液,而且耗气(主要是卫外阳气),气虚抗病力下降,不耐外邪侵袭,故易重感。

2 中药抗弓形虫感染的研究思路

目前中医药对弓形虫病的治疗研究很广,临床上选用的治疗用药种类较多,其主要研究思路归纳如下:

2.1 抗弓形虫叶酸代谢

选用对氨基苯甲酸的拮抗剂,可与之竞争二氢叶酸合成酶;或选用二氢叶酸还原酶抑制剂,阻碍二氢叶酸还原成四氢叶酸,以致影响核酸和蛋白质的合成,从而抑制弓形虫的生长与繁殖。

2.2 干扰弓形虫能量代谢

如青蒿素衍生物——蒿甲醚,通过影响葡萄糖-6-磷酸酶

的活性而干扰虫体的能量代谢,起到抑制弓形虫生长的作用。

2.3 破坏弓形虫细胞结构

如蒿甲醚对弓形虫细胞膜、线粒体及细胞核都有损伤作用;青蒿琥酯既影响弓形虫的感染性能,又影响弓形虫的分裂增殖,药物可作用于虫体的细胞膜、线粒体、核膜等,并广泛损伤其它细胞成分,最终导致虫体溶解死亡。

2.4 增强免疫

临床应用免疫增强剂、细胞因子和中药黄芪,破坏虫体结构、减少抗原物质的刺激及提高机体的免疫功能,祛除病邪,全面调节人体机能,从而达到消灭和抑制体内弓形虫的效果。

2.5 辨证施治

中医对临床弓形虫病患者出现不同的病症,进行辨证施治,如弓形虫病脑积水病例,证属脾虚水泛,治以扶脾利水;脑性瘫痪病例,证属肝肾不足、筋骨失养,治以扶肝肾、强筋骨;弓形虫病发热出汗,项背恶风病例,中医辨证属表虚失密,治以扶正固表,调和营卫,扶助卫阳,敛营养阴以散风寒;弓形虫病午后高热、恶寒、头痛、胸闷、不欲饮食病例,中医辨证为湿热阻遏、气机不利,外感湿热、邪郁少阳,法当宣畅以解湿热郁滞,使其湿开热透,发热渐退。湿热郁于少阳,临床治疗不仅要分消上下之热,也要和解表里之半,全面照顾,始克有济;弓形虫病流产、死胎病例,中医辨证为虫居血液,治拟滋阴凉血,活血逐瘀,清热解毒杀虫;弓形虫病无症状型或轻度乏力、厌食、肌肉酸痛或低热、头痛病例,中医辨证为脾虚体弱湿热生蕴,弓形虫乘虚而入,针对此病机,采用扶正清毒,健脾益气,使中气得正,湿热自除,清热解毒,燥湿杀虫。

3 中药抗弓形虫感染的研究方法

3.1 体外实验研究

3.1.1 药物研究 杨树森等^[5]从 120 种中药中选出 30 种具不同程度破坏弓形虫侵入能力的中药,发现中药的水煎剂 1:20 稀释时,能使弓形虫侵袭力下降 60% 以上者有甘草、柏子仁、牛膝、鸡冠花、女贞子、续断、淫羊藿,其中甘草抑制率达 100%。如用含 1:40 中药的培养液孵育感染弓形虫的 HeLa 细胞,37℃ 经 24 小时,甘草对虫体增殖的抑制率为 76.67%,补骨脂为 63.60%,青蒿为 45.52%。欧阳颖等^[6]

在青蒿提取物对刚地弓形虫的抑制作用的研究中,青蒿提取物药物浓度分别为:10、5、1、0.5、0.1 mg/mL,将其加入已接种弓形虫的单层成纤维细胞中,培养4~5天后,观察蚀斑大小,结果显示10 mg/mL组可完全抑制蚀斑形成,而5 mg/mL部分抑制。

3.1.2 检测方法 杨树森等^[5]在120种中药对弓形虫RH株速殖子的体外效应(初报)的研究中,用了台盼兰试验来检测中药的效应。方法:0.1%台盼兰染色,取已作用的虫体悬液0.1 mL,离心弃取上清液,沉淀内加入0.1%台盼兰生理盐水0.1 mL,在高倍镜下观察100个虫体,记录着色和不着色的虫数。着色的说明虫体已死,中药对虫体有作用。

3.2 动物体内实验

刘佩梅等^[7]在雌性昆明小鼠腹腔注射RH株 1×10^5 个弓形虫速殖子,随机分为5组,不治疗组、复方新诺明组、大蒜组、大蒜组加复方新诺明组、替硝唑组。感染4小时后开始灌胃给药,每日1次,记录小鼠死亡时间,感染30天后仍存活者处死,取腹腔冲洗液、肝、脑制成匀浆,接种小鼠,未发现虫体者为治愈。通过实验,大蒜素能推迟弓形虫感染小鼠的死亡时间,有抗小鼠弓形虫病复发的作用。李云茜等^[8]做了黄芪对急性弓形虫感染小鼠的保护作用研究。小鼠随机分成两个实验组和对照组,感染后两天起,实验组分别给黄芪和阿奇霉素灌胃治疗,对照组给相同量的蒸馏水,连续10天,然后观测肝肺虫荷,统计学处理。应用动物实验的方法查找、筛选安全药物是一种常用的有效手段。观察药物疗效主要从以下几个方面来检测:

3.2.1 血液抗体与循环抗原检测^[9] 在中药治疗弓形虫病研究的动物实验中,检测疗效的指标主要有:动物血液抗弓形虫IgM抗体、IgG抗体、IgA抗体滴度变化和弓形虫循环抗原的动态变化。

3.2.2 脾细胞IL-2活性测定 IL-2由Th1细胞产生,是淋巴细胞发挥正常功能所必需的一种细胞因子,又是衡量细胞免疫功能的一项主要指标,也是T细胞活化的重要标志。通过对IL-2的测定可知感染了弓形虫动物的免疫状态,及药物对小鼠免疫作用。游运辉^[10]报告小鼠急性弓形虫感染后可致巨噬细胞吞噬功能降低,用蒿甲醚抗虫治疗后有助于免疫抑制状态的改善。

3.2.3 SOD活性测定^[11] SOD是氧自由基清除剂,在机体遭受氧化损伤时,其活性常发生变化。测其活性可以证明弓形虫感染时机体发生的氧化损伤。可以采用羟胺法测定其活性。

3.2.4 病理组织检查 取感染弓形虫动物的病理标本进行组织切片,通过特异性染色,用显微镜观察,在组织中见到弓形虫速殖子或假包囊或包囊为阳性结果。使用有效药物治疗后,病理切片检查转阴性结果。王崇功^[12]在139例畸胎中经病理切片证实为弓形虫所致。

应用荧光素或酶标记的抗体来检测病理切片中的弓形虫抗原,可以提高一般病理切片染色检测的检出率。刘翠梅等^[13]采用间接免疫酶法检测到2例何杰金氏淋巴瘤患者淋巴瘤结构内的弓形虫虫体呈黄色。

3.3 现代技术在中药抗弓形虫感染研究中的应用

3.3.1 电镜的应用 梁志慧等^[14]用透射电镜对用蒿甲醚治疗感染了弓形虫小鼠后体内的弓形虫进行了电镜观察。灌服蒿甲醚200 mg/kg组,感染小鼠于8天后取腹腔液,其沉淀物经2.5%戊二醛及1%锇酸分别固定、脱水、临界点干燥仪干燥、离子溅射仪喷金,S-520电镜作扫描电镜观察,超薄切片用JEOL-120电镜观察。

3.3.2 PCR的应用^[15,16] 严笠等在双氢青蒿素治疗急性弓形虫感染小鼠疗效的进一步观察研究中利用PCR检测小鼠腹腔和肝脏中虫体DNA。其技术是一项特异性、敏感性较高的方法,可在较短时间内获得准确的结果。

4 中医药抗弓形虫感染的现状

4.1 单味中药

4.1.1 青蒿 (1)青蒿提取物:通过实验研究,青蒿醇提取物能抑制弓形虫在组织培养中的繁殖,乙醇粗提物较甲醇粗提物的作用更强。从药物结构研究表明,青蒿素及其衍生物的结构中过氧基团是其主要有效基团。(2)青蒿素衍生物蒿甲醚:动物实验证明蒿甲醚对实验性小鼠弓形虫感染有与乙胺嘧啶相近的保护性作用^[17]。蒿甲醚对小鼠体内弓形虫细胞膜、线粒体及细胞核有损伤作用^[18];青蒿琥酯既影响弓形虫的感染性能,又影响弓形虫的分裂增殖。(3)青蒿素:青蒿素可减少实验鼠体内弓形虫感染数及细胞内密度^[19]。双氢青蒿素和磺胺嘧啶联合使用^[20],在治疗小鼠急性弓形虫感染中产生了协同作用,能更快地清除腹腔中的弓形虫,并更有效地防止停药后的复发。

4.1.2 其他单味药 杨树森等人选用了120种常用中药^[5],制成水浸煎剂,观察煎剂对弓形虫RH株速殖子的体外杀虫效应,实验结果发现:甘草、补骨脂、厚朴、草薢四种中药有较好的抗弓形虫作用,作用其次的是黄柏、苍术、女贞子;有人对苍术、草薢、厚朴、补骨脂及其不同浓度配伍治疗小白鼠急性弓形虫感染进行了实验观察,发现适当浓度的配伍治疗可以延长小鼠的存活天数^[21]。

4.2 复方中药

中医治疗弓形虫病多从健脾益气,清热燥湿,解毒扶正,解毒杀虫,及辨证论治入手。近年来,中医药临床治疗弓形虫病的主要配方如下:

4.2.1 复方一 基本方药(生地黄、黄连、黄芩、牡丹皮,连翘,赤芍,当归、红花、桃仁,川芎、知母、甘草)具有滋阴凉血、活血化瘀、清热解毒杀虫的作用,治疗弓形虫抗体阳性患者,获得满意疗效^[22]。

4.2.2 复方二 基本方药(党参、黄芪、茯苓、白术、甘草、黄芩、蒲公英、金银花、地丁、天葵子、苦参、花椒、丹皮)具有健脾益气、清热利湿、解毒之功效,祛邪而不伤正,扶正而不恋邪,使邪祛而正安,机体的免疫功能增加,有效地杀灭弓形虫。治疗育龄期妇女弓形虫感染,取得较好的效果^[23],PCR技术检测弓形虫DNA为阴性。

4.2.3 复方三 桂枝汤加味(药用黄芪、桂枝、白芍、生姜、大枣、附子)具有扶助卫阳,敛营养阴以散风寒的作用,治疗血清弓形虫抗体阳性患者,取得较好疗效^[24]。临床项背恶

风证者加葛根、僵蚕。治疗后,病症无复发,血清弓形虫抗体转阴性。

4.2.4 复方四 银翘散加减^[24](银花、苦参、薄荷、荆芥、黄芩、豆豉、竹茹、杏仁、苍术、莲子心、厚朴、神曲、陈皮、六一散)具有辛凉解表、清热解毒功效,治疗后病症消退,血清弓形虫抗体转为阴性。

4.2.5 复方五 基本方药^[24](杏仁、滑石、竹叶、白蔻、竹茹、枳壳、山栀、神曲、菖蒲、茯苓、车前子、青蒿、黄芩、木通)具有分消和清解湿热之效,使湿开热透,发热渐退,治疗后临床症状减轻,血清弓形虫抗体 IgG、IgM 转为阴性。

4.2.6 复方六 自拟弓形虫汤(黄芪、白术、青蒿、草果、槟榔)具有抗虫、扶正祛邪功效,治疗小儿弓形虫病,疗效满意^[25]。临床脑积水患者加扶脾益肾药;肢体瘫痪者加强筋壮骨药;癫痫者加熄风定痫药;眼部病变者加清肝明目药;发热肝脾肿大者去草果加清热解暑药。

4.2.7 复方七 自拟扶正去原汤(黄芪、青蒿、厚朴、苦参、生山楂)具有扶正、祛邪、杀虫之功效。头痛者加细辛、川芎;头晕、癫痫者,加用熄风定痫药,如天麻、钩藤等;口角抽动、挤眉弄眼者,加蝉蜕、地龙,加减治疗弓形虫病,疗效满意^[26]。

4.2.8 复方八 黄芪青蒿汤(黄芪、人参、当归、白芍、青蒿、草果、槟榔、黄柏、土茯苓、白花蛇舌草、虎杖、甘草)治疗妊娠期弓形虫感染^[27],具有益气养血保胎之功效,并有清热解毒,调节免疫、提高孕妇的免疫功能,治疗后孕妇经血清免疫检查 TOX-IgM 转阴,足月分娩,婴儿发育正常。

4.2.9 复方九 清精冲剂(草薢、红藤、丹参、白花蛇舌草、王不留行、车前子、黄柏、知母、柴胡、制大黄、丹皮等)治疗弓形虫感染不育症^[28],具有清热消浊、抑杀虫毒、利湿祛瘀之功效,治疗后 TOX-DNA 转阴。对精子密度、精子前向运动率、运动速度、快速运动精子数、平均纵线性比值、轨迹类别等六项精子运动参数的改善有显著性差异。

5 结语

中医药抗弓形虫感染的研究,需借助许多学科发展来促进其发展,经历了经验性研究、利用现代科技及动物实验的研究。首先是依靠中医理论的指导,临床经验用药,然后启发许多学者进一步探讨药物作用机理,筛选高效低毒的单味中药及中药配伍对弓形虫病的治疗,不断开发新药。如果要达到此目的,必须做一系列的实验性工作,如体外实验、动物实验,观测实验中的一些动态指标,统计处理得出结论。中药治疗弓形虫病的研究已取得了许多成就,但仍存在一些问题。单味中药抗弓形虫感染研究的较多,而中药配伍研究多停留在临床经验上,缺乏基础性实验研究。现代科技在中药抗弓形虫的研究中没有得到充分应用。笔者为进一步探讨高效、低毒的抗弓形虫复方药物作用及其机理,将选用自拟弓形虫汤剂(主方:黄芪、白术、青蒿、槟榔、白花蛇舌草、牛膝、苦参、生日草、补骨脂、天葵子、草果)进一步完成体外和动物

实验,研究证实其抗弓形虫的作用及其作用机理,为申报抗弓形虫的新药提供充分依据。

参考文献

- [1]于恩庶.中国弓形虫病[M].香港:亚洲医药出版社,2001.145
- [2]程军.清热活血法治疗弓形虫抗体阳性疗效观察[J].河南中医,2000,20(1):51
- [3]孙育贤,牛华珍,于丽霞.扶正清毒方治疗育龄期妇女弓形虫病感染60例[J].中国中西医结合杂志,2001,21(6):467
- [4]吉春玲,杨佩琴,武苏平,等.外感高热伴弓形虫阳性治愈三则[J].天津中医,1995,12(4):37
- [5]杨树森,杨秀珍,张新民,等.120种中药抗弓形虫速殖子作用的体外效应[J].中国寄生虫病防治杂志,1983(2):12
- [6]欧阳颖,杨家芬,李镇辉,等.青蒿提取物对刚地弓形虫的抑制作用[J].湖南医科大学学报,1994,19(2):108
- [7]刘佩梅,郑凯,申力,等.大蒜素、替硝唑抗小鼠弓形虫感染的疗效观察[J].中国人兽共患病杂志,2002,18(1):129
- [8]李云茜,黄佩君,王祝鸣,等.黄芪对急性弓形虫 RH 株感染小鼠的保护作用研究[J].中国血吸虫病防治杂志,2004,16(2):129
- [9]金武官,李云珠,俞善昌,等.弓形虫感染鼠血清中弓形虫循环抗原的检测[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志,1999,17(2):117
- [10]游运辉,欧阳颖.小鼠急性弓形虫感染后细胞介导免疫的研究[J].湖南医学,1997,14(6):321
- [11]向远东,欧阳颖,聂崇兴.急性弓形虫病小鼠超氧化物歧化酶活性测定与同工酶分析[J].中国人兽共患病杂志,1998,11(3):40
- [12]王崇功.弓形虫感染致先天性畸形病因学诊断研究[J].中国人兽共患病杂志,1995,24(2):159
- [13]刘翠梅.间接免疫酶染色法检测淋巴结病理组织中的弓形虫[J].中国人兽共患病杂志,1997,13(1):54
- [14]梁志慧,徐麟鹤.蒿甲醚、甘草对实验性弓形虫病的疗效[J].上海医科大学学报,1994,21(1):7
- [15]严笠,甘绍伯,齐志群,等.双氢青蒿素治疗急性弓形虫感染小鼠疗效的进一步观察[J].寄生虫与医学昆虫学报,2000,7(2):70
- [16]向选东,欧阳颖,张铮.PCR 用于实验小鼠急性弓形虫感染疗效考核的初步探讨[J].湖南医科大学学报,1997,22(1):5
- [17]游运辉,欧阳颖,向选东.用蒿甲醚治疗实验小鼠急性弓形虫感染的研究[J].中国现代医学杂志,2000,10(6):35
- [18]刘扬,杨少毅.蒿甲醚对小鼠体内弓形虫作用的超微结构研究[J].中国寄生虫病防治杂志,1996,9(3):207
- [19]Chang HR. Arteether a qinghaosu derivate in toxoplasmosis[J]. Trans R soc Trop Med Hyg,1988,82(6):86
- [20]严笠,甘绍伯,齐志群,等.双氢青蒿素长程及联合用药治疗小鼠急性弓形虫感染[J].中国人兽共患病杂志,2000,14(5):101
- [21]万红娇,朱家谷,王敏璋.中药配伍治疗急性弓形虫病的研究[J].江西中医学院学报,2000,12(1):24
- [22]程军.清热活血法治疗弓形虫病抗体阳性疗效观察[J].河南中医,2000,20(1):51
- [23]孙育贤,牛华珍,于丽霞.扶正清毒方治疗育龄期妇女弓形虫病感染60例[J].中国中西医结合杂志,2001,21(6):467
- [24]吉春玲,杨佩琴,武苏平,等.外感高热伴弓形虫抗体阳性治愈三则[J].天津中医,1995,12(4):37
- [25]邓吉华,傅玲,陈运生,等.自拟弓形虫汤治疗小儿弓形虫病50例[J].中医杂志,1996,37(2):102
- [26]田蕙,阮秀花,张效本,等.自拟扶正去原汤治疗弓形虫病60例[J].中医杂志,1997,38(10):627
- [27]弭阳,弭超.黄芪青蒿汤治疗妊娠期弓形虫感染70例[J].山东中医杂志,2000,19(2):83
- [28]戚广崇,李其信.清精冲剂治疗弓形虫感染不育症42例临床观察[J].中医杂志,1999,40(10):603

(收稿日期:2005-06-03)