

• 论著 •

灵芝煎剂对鹅膏毒蕈中毒兔肝细胞保护作用的实验研究

杨 宁, 肖桂林

(中南大学湘雅医院急诊科, 湖南 长沙 410008)

【摘要】 目的:探讨灵芝煎剂对急性鹅膏毒蕈中毒兔肝细胞的保护作用。**方法:**将健康新西兰白兔 20 只随机分为空白对照组、中毒模型组、灵芝煎剂治疗 I 组(治疗 I 组)和灵芝煎剂治疗 II 组(治疗 II 组), 每组 5 只。除空白对照组外, 余 3 组均制成急性鹅膏毒蕈中毒模型。治疗 I 组每日给予质量分数为 100% 的灵芝煎剂 20 ml 灌胃, 治疗 II 组每日给予 300% 的灵芝煎剂 20 ml 灌胃。观察实验动物一般表现积分、肝脏生化指标[总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)和丙氨酸转氨酶(ALT)等]和 120 h 后的肝组织病理改变。**结果:**中毒模型组兔的一般表现积分、肝脏生化指标及病理改变提示肝细胞有明显损害; 灵芝煎剂治疗 I 组和 II 组兔的肝脏生化指标及病理改变不明显, 其中治疗 II 组比治疗 I 组兔的肝功能损害更轻。**结论:**灵芝煎剂对急性鹅膏毒蕈中毒的肝细胞有明显的保护作用。

【关键词】 灵芝; 鹅膏毒素; 肝脏; 保护作用

中图分类号: R256.5; R278

文献标识码: A

文章编号: 1008-9691(2006)05-0273-04

Research on liver cell protective effect of Lingzhi decoction (灵芝煎剂) on rabbits with amanita fuliginea poisoning YANG Ning, XIAO Gui-lin. Department of Emergency Medicine, Xiangya Hospital, Middle-South University, Changsha 410008, Hunan, China

【Abstract】 Objective: To observe the protective effect of Lingzhi decoction (灵芝煎剂) on liver cells of the rabbits acutely poisoned by amanita fuliginea. **Methods:** Twenty healthy New Zealand white rabbits were randomly assigned into four groups ($n=5$): blank matched control group, poisoned model group, Lingzhi treatment group I receiving 100% Lingzhi decoction (20 ml) and Lingzhi treatment group II receiving 300% Lingzhi decoction (20 ml). The biochemical indexes [including total protein (TP), albumin (ALB), total bilirubin (TBIL) and alanine aminotransferase (ALT), etc.] of liver function in every 48 hours were checked by drawing blood, then rabbits were sentenced to death after 120 hours and took a part of the liver to make a pathological check. **Results:** The general manifestation scores, liver biochemical indexes and the pathological changes of poisoned models showed the significant damage of the liver cells. The injury of liver in Lingzhi treatment group I and II was not obvious, and the pathological changes in group II were less than those in group I. **Conclusion:** It is obvious that Lingzhi decoction can protect liver cells of the rabbits acutely poisoned by amanita fuliginea.

【Key words】 Lingzhi; amatoxins; liver; protective effect

毒蕈(亦称毒蘑菇)中毒是常见的临床急诊,其临床过程凶险,病死率极高。至目前为止,国内外尚无有效解毒方法^[1]。误食野生菌导致死亡的病例中绝大部分是鹅膏菌中毒所致^[2,3]。鹅膏毒菌中毒致死的主要因素是毒菌中所含的鹅膏毒肽,它具有强烈的嗜肝性,对肝脏具有不可逆的损害。临床已证实灵芝煎剂抢救鹅膏毒蕈中毒有特效^[4],但缺乏随机对照的研究资料。因此,本研究中观察了灵芝煎剂对肝细胞的保护作用,证实灵芝煎剂的临床作用。

1 材料与方法

1.1 鹅膏菌粗毒素的制备^[5]:取 40 g 灰花纹鹅膏

干子实体(由湖南师范大学真菌研究所提供),磨碎后加蒸馏水煮沸,5 000 r/min(离心半径 10 cm)离心 10 min 取上清液,沉淀加蒸馏水煮沸后再次离心取上清液,两次上清液加在一起加热浓缩,最后定容至最终浓度为 400 g/L 干子实体提取液。

1.2 灵芝煎剂的制备:取 2 kg 赤灵芝干子实体(由中南大学湘雅医院制药室制备提供),粉碎(纱布袋包)、浸湿,加蒸馏水 3 000 ml,煮沸 30 min,然后用 4 层纱布过滤,再浓缩至 2 000 ml,得质量分数为 100% 的灵芝煎剂(即每 100 ml 煎剂含生药 100 g)。先取 500 ml 备用为灵芝煎剂 I;剩余 1 500 ml 再浓缩至 500 ml,即得 300% 的灵芝煎剂(即每 100 ml 煎剂含生药 300 g)备用为灵芝煎剂 II。

基金项目:湖南省科技厅国际合作课题(05WK3018)

作者简介:杨 宁(1980-),男(汉族),湖南长沙人,硕士研究生。

各指标显著改善,且治疗Ⅱ组较治疗Ⅰ组作用明显。

2.4 肝组织病理变化:①空白对照组:肉眼观察肝脏体积无缩小或增大;光镜下肝细胞无明显变性、坏死改变(彩色插页图 1)。②中毒模型组:肉眼观察肝脏体积增大,被膜紧张;光镜下以肝细胞变性为主,坏死轻微,肝小叶内可见散在点状坏死,个别家兔出现弥漫性大片坏死,汇管区及肝小叶有炎性细胞浸润(彩色插页图 2)。③治疗Ⅰ组:肉眼观察肝脏体积无明显缩小或增大;光镜下肝细胞变性、坏死与增生同时存在,坏死区有炎性细胞浸润(彩色插页图 3)。④治疗Ⅱ组:肉眼观察肝脏体积增大,个别切面可见再生结节;光镜下可见大量肝细胞增生,变性、坏死改变不明显(彩色插页图 4)。

3 讨论

鹅膏菌是属于真菌门、层菌纲、伞菌目、鹅膏菌科、鹅膏菌属(*amanita*)的一类高等担子菌,其中大部分种类毒性剧烈,毒蕈中毒事件中 80% 以上由鹅膏毒菌所致。鹅膏毒肽损害肝脏的机制为:①抑制真核细胞 RNA 聚合酶活性:使模板 DNA、RNA 聚合酶Ⅱ、新生 mRNA 和鹅膏毒肽形成四元复合物,使新形成的核苷酸不能延伸,细胞转录被迫终止,而对 RNA 聚合酶Ⅰ、线粒体 RNA 聚合酶和原核细胞的 RNA 聚合酶无抑制作用。②诱发细胞凋亡:鹅膏毒菌中毒早期,细胞凋亡程序启动,引起细胞凋亡;中毒后期,导致细胞死亡。③攻击细胞核:鹅膏毒肽可使核仁裂解、核膜穿孔,染色体凝聚。④肠肝循环:鹅膏毒肽与肝细胞解离后可经胆道排入肠道,在肠道中,鹅膏毒肽又会被重新吸收,重新进入肝脏,如此反复损害肝细胞^[6]。

灵芝是属担子纲、非褶菌目、多孔科、灵芝真菌属中的一类真菌,野生或人工栽培,味甘、性温、无毒;可补心、肝、脾、肺、肾五脏之气,具滋补强壮、扶正固本之功效;主治虚劳、咳嗽、健忘失眠、消化不

良。目前研究发现它具有广泛的药理作用^[7]。

有研究证实,灰花纹鹅膏菌是鹅膏菌属中含毒素量最多的一种鹅膏菌^[8],因此选取灰花纹鹅膏菌提取毒素。新西兰纯种白兔属于哺乳动物,与人类有相似性,便于抽血、灌胃等操作,因此被选为研究对象。从该实验结果发现,毒素灌胃后 48 h 开始,中毒模型组与其他各组之间差异明显,说明灵芝煎剂对急性毒蕈中毒兔的肝功能有影响,可使中毒兔的 TP、ALB 增高, TBI、ALT 下降,促进坏死肝组织细胞增生,起到了保护肝细胞的作用。同时发现,灵芝煎剂的剂量越大,治疗组与中毒模型组的肝功能差异越明显,说明灵芝煎剂在对急性毒蕈中毒兔肝功能的影响,具有量-效关系。

临床观察与动物实验研究结果一致,可认为灵芝煎剂对急性鹅膏毒蕈中毒兔的肝细胞有明显保护作用。其保护机制可能与灵芝能使 RNA 聚合酶活性增加,加快转录,促进细胞分裂增生有关,也可能与其能阻断细胞凋亡或者阻断肠肝循环有关。

参考文献:

- [1] 马金荣,李培新,陈立新.血液净化联合中医药救治毒蘑菇中毒 32 例临床观察[J].中国中西医结合急救杂志,2005,12:164.
- [2] Litten W. The most poisonous mushrooms [J]. Sci Am, 1975, 232:90-101.
- [3] 杨祝良.我国的几种剧毒鹅膏菌[J].中国食用菌,2002,21:17-18.
- [4] 肖桂林,刘益发,陈作红,等.灵芝煎剂治疗鹅膏毒蕈中毒的临床研究[J].湖南中医学院学报,2003,23:43-45.
- [5] Wieland H. Peptides of poisonous Amanita mushroom [M]. Germany:Springer-Verlag New York Inc,1986:1-256.
- [6] 刘建强,张志光,蒋盛岩,等.鹅膏毒素诱导小鼠肝细胞凋亡的 DNA 凝胶电泳分析[J].湖南师范大学自然科学学报,2001,24:62-64.
- [7] 颜毅宏,陈在敏.灵芝药理作用研究进展[J].海峡药学,1999,11:4-5.
- [8] 陈作红,胡劲松,张志光,等.我国 28 种鹅膏菌主要肽类毒素的检测分析[J].菌物系统,2003,22:565-573.

(收稿日期:2006-05-17 修回日期:2006-07-17)

(本文编辑:李银平)

• 消息 •

实用新书《创伤学》

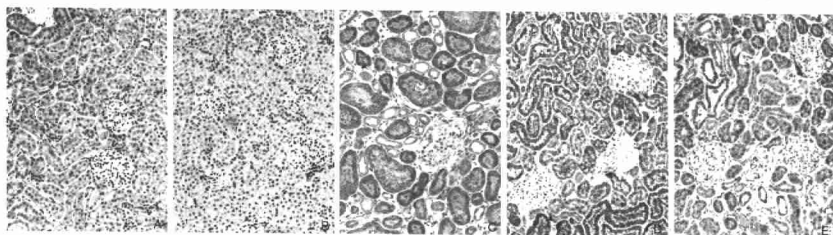
由我国德高望重的医学界前辈、全国人大副委员长吴阶平院士亲自题写书名,前国家卫生部长张文康教授作序,由创伤学专家金鸿宾教授主编,天津科学技术出版社出版的《创伤学》是一部适应当前国内、国际新形式变化需要的创伤抢救实用学术专著。这套书针对现代创伤多为高能量(高速度)伤、群体伤、多发伤、复合伤这一特点,对事故现场处理、伤员转运途中的急救措施及其重点环节、院内急诊抢救、生命支持、诊断与治疗、术后康复等的操作程序和规范要求均作了详尽的阐述。参加编写的学者多为学科带头人,总结的创伤研究成果部分达到国内一流、国际先进水平,是一部最新实用的临床抢救参考书。本书适合于中级职称以上的外科、骨科、急诊科医师阅读,部队野战医院医师、基层医院社区医师、创伤科护理人员、医学院校师生、从事创伤急救医学研究人员、创伤医疗设备研究制造人员,以及公共交通管理部门、政府灾害救治机构、医学资料馆(室)等。

天津科学技术出版社购书咨询热线:022-23332379,宋主任。

本书定价:188 元/套(上、下册)。

复方鳖甲软肝方对阿霉素肾病大鼠肾组织内皮素-1蛋白及其mRNA表达的影响

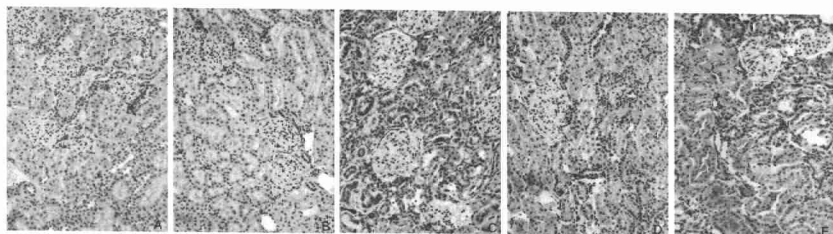
(正文见266页)



注: A: 正常对照组; B: 假手术组; C: 模型组;
D: 苯那普利组; E: 复方鳖甲软肝方组

图1 各组大鼠肾组织ET-1蛋白表达的变化(DAB, ×200)

Figure 1 Changes in expression of ET-1 protein in kidney tissue of rats in each group (DAB, ×200)



注: A: 正常对照组; B: 假手术组; C: 模型组;
D: 苯那普利组; E: 复方鳖甲软肝方组

图2 各组大鼠肾组织ET-1 mRNA表达的变化(DAB, ×200)

Figure 2 Changes in expression of ET-1 mRNA in kidney tissue of rats in each group (DAB, ×200)

灵芝煎剂对鹅膏毒蕈中毒兔肝细胞保护作用的实验研究

(正文见273页)

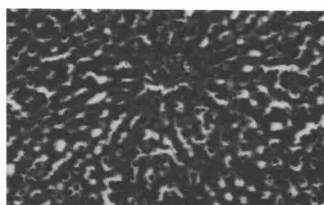


图1 空白对照组正常肝组织(HE, ×200)
Figure 1 Normal liver tissue in blank matched control group(HE, ×200)

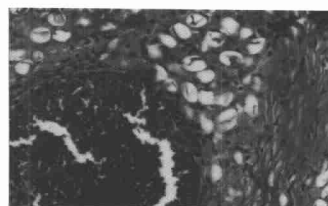


图2 中毒模型组肝组织病理变化(HE, ×200)
Figure 2 Pathological changes of liver tissue in poisoned model group(HE, ×200)

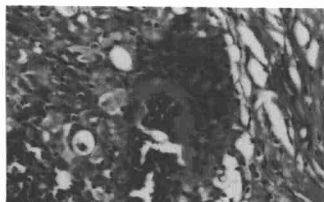


图3 治疗I组肝组织病理变化(HE, ×200)
Figure 3 Pathological changes of liver tissue in treatment group I (HE, ×200)

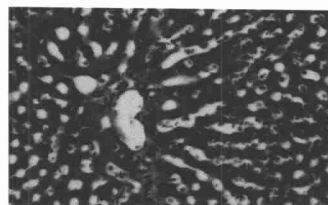


图4 治疗II组肝组织病理变化(HE, ×200)
Figure 4 Pathological changes of liver tissue in treatment group II (HE, ×200)