

雷公藤甲素对大鼠心肌毒性的实验病理学研究

张 武 朱建华 关 伟

摘 要 **目的** 阐明雷公藤甲素对大鼠心肌的毒性作用机制。**方法** 雄性 SD 大鼠 20 只随机分为两组,包括正常对照组和雷公藤甲素组,连续灌胃 7 周后断头处死,用 HE 染色法和透射电镜法,从形态学方面探讨雷公藤甲素对大鼠心肌的病理损害和毒性机制。**结果** 光镜下可见雷公藤甲素组大鼠左心室心肌间质扩张充血,有灶性出血;电镜下可见雷公藤甲素组心肌有水肿,少数线粒体肿胀,嵴突破坏,肌质网扩张。**结论** 心肌对雷公藤甲素具有较高的敏感性,较长期服用雷公藤甲素对大鼠心肌具有毒性作用。

关键词 雷公藤甲素 心肌 中毒病理

Experimental Pathological Study of Triptolide Intoxication in Rat Myocardial. Zhang Wu, Zhu Jianhua, Guan Wei. Department of Forensic, Wannan Medical College, Anhui 241002, China

Abstract Objective To study intoxication of triptolide in rat myocardial. **Methods** 20 male SD rats were divided into 2 groups randomly, the control group and the group of triptolide, and gavaged for 7 weeks. We detected the toxic effect of triptolide on the rat myocardial from morphology aspect by methods of light microscope and electron microscopy. **Results** Via HE staining we detected the expansion of left ventricular myocardial interstitium congestive in the group of triptolide; via electron microscopy we detected that myocardial left ventricular papillary muscles had edema, mitochondrial swelling and a bad break ridge, and found the expansion of sarcoplasmic reticulum in the group of triptolide. **Conclusion** Myocardial has a high sensitivity to triptolide. A long-term administration of triptolide has a toxic effect on the rat myocardial.

Key words Triptolide; Myocardial; Intoxication pathology

为进一步从单体水平了解雷公藤对心肌的毒性作用机制,本研究采用实验大鼠灌服雷公藤甲素,通过 HE 染色光镜下观察大鼠心肌组织结构,电子显微镜下观察大鼠左心室乳头肌超微结构的形态学变化,阐明雷公藤甲素对大鼠心肌的毒理作用,为雷公藤的临床合理应用及预防中毒提供参考依据,现报告如下。

材料与方法

1. 动物分组和取材:(1)动物分组:清洁级雄性 SD 大鼠 20 只,体重 160~180g,由浙江省实验动物中心提供,许可证号:SCXK(浙)2003-0001。大鼠随机分为两组,每组 10 只。具体分组如下:对照组: $n=10$,灌服等体积生理盐水;雷公藤甲素组: $n=10$,用量 $20\mu\text{g}/\text{kg}$,bid。(2)取材:大鼠连续灌胃 7 周后断头处死,取各组大鼠左心室肌用无冰醋酸的 Bouin 氏固定液固定,石蜡包埋。取左心室乳头肌 $1\sim 2\text{mm}^3$ 用 4% 戊二醛固定。

2. 主要仪器和试剂:(1)主要仪器:旋转式石蜡切片机 RM2135 型;德国来卡(Leica)公司;显微镜 BH-2 型;日本奥

林巴斯(Olympus)公司;EXPOSURE 全自动显微摄影系统;日本奥林巴斯公司;病理组织包埋机 RM-II 型;安徽电子科学研究所;透射电镜:JEM-1230。(2)主要试剂:雷公藤甲素(雷公藤内酯醇, triptolide, 纯度 99.3%);购自北京美迪克斯生物技术有限公司,以 2% 丙二醇溶解,4℃ 保存,实验时以 0.9% 生理盐水稀释到所需浓度;2% 丙二醇:将丙二醇加蒸馏水配制成 2% 丙二醇;4% 戊二醛:将 25% 电镜用戊二醛配制成 4% 戊二醛;无冰醋酸的 Bouin 氏固定液:饱和苦味酸水溶液(1.22%)75ml + 甲醛(40%)25ml。

3. 给药方法:大鼠适应性喂养 1 周后开始灌胃。分别按上述各组用药剂量连续灌胃 7 周。实验期间,动物自由饮水进食。每 3 天称体重 1 次,以调整用药剂量。室温 25℃,自然光线。连续灌胃 7 周后断头处死大鼠。

4. HE 染色:将大鼠心脏取出,取左心室心肌组织以无冰醋酸的 Bouin 氏固定液固定 24h。常规脱水、石蜡包埋,切片厚度约 $5\mu\text{m}$,经粘片剂处理过的载玻片捞片,置于 60℃ 烤箱烘烤 1h。切片常规脱蜡脱水:二甲苯(I)5min,二甲苯(II)5min,100% 乙醇(I)5min,100% 乙醇(II)5min,95% 乙醇 2min,80% 乙醇 2min,70% 乙醇 1min,蒸馏水冲洗 2min。苏木素染色 15min,水洗 15min,伊红复染 5min,乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。

5. 透射电镜观察:取左心室乳头肌 1mm^3 放入 4% 戊二醛

基金项目:安徽省教育厅自然科学研究项目(2006KJ413B)

作者单位:241002 芜湖,皖南医学院法医学专业

中固定,4℃冰箱保存4h,用0.1%磷酸缓冲液漂洗,0.1%锇酸固定1h,漂洗,0.1%醋酸铀快染2h,丙酮梯度脱水、浸透,包埋聚合,切片,透射电镜观察。

结 果

1. HE染色观察:对照组:心肌纤维排列良好,心肌横纹清晰,细胞核核膜及染色质清晰,间质无纤维结缔组织增生。未见异常(封三彩图11);雷公藤甲素组:心肌间质血管扩张充血,并有灶性出血(封三彩图12)。

2. 电镜观察:①对照组:线粒体无肿胀,嵴突未见明显破坏(封三彩图13);②雷公藤甲素组:间质心肌有水肿,少数线粒体肿胀,线粒体嵴突模糊,肌质网扩张(封三彩图14)。

讨 论

雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook. f.)又名黄藤、黄藤木、黄腊藤、断肠草等,属卫矛科雷公藤属植物,全株有毒,在我国法医学典籍《洗冤集录》中列举的鼠莽草,据考证即为雷公藤。雷公藤有清热解毒,祛风除湿,消肿止痛,通经活络、杀虫止血等功效。现代药理及临床研究证实,雷公藤具有抗炎、抗肿瘤、免疫抑制及抗生育等作用。但由于其治疗量与中毒量比较接近,疗效大小又与剂量相关。所以,屡见使用各种雷公藤制剂过量或时间过长而发生中毒的病例报告,亦有过量而中毒死亡者^[1-3]。雷公藤及其制剂是一类可引起广泛、多系统器官损伤的药物,临床上有较多雷公藤制剂对心血管系统损害的报告^[4-6],常见症状有胸闷、心悸、心动过缓、心律失常和心电图改变(ST-T改变),心电图诊断为窦性、频发室性期前收缩,部分呈二联律。有内服雷公藤干全草或根茎水煎剂发生中毒性心肌炎致心源性休克病例报道^[7-9]。亦有急性雷公藤中毒尸检:镜下见心肌轻度水变性,间质淤血、轻度脂肪浸润^[10]。自1936年首次报道从雷公藤根部提取分离得萜类色素雷公藤红素以来,已从雷公藤属植物中分离得100多种成分^[11],属生物碱类成分16种、二萜类成分14种、三萜类成分17种、倍半萜类12种,还有有机酸、卫矛醇、卫矛碱、多糖等成分^[12-13]。有研究证实雷公藤红素对斑马鱼胚胎具有心脏毒性作用^[14]。雷公藤甲素(雷公藤内酯醇, triptolide)系从雷公藤中分离提取的白色晶体,是一种具有3个环氧基团以及1个 α, β -不饱和五元内酯环结构的构型独特的松香烷型二萜化合物^[15],其是雷公藤主要的活性成分,也是主要的毒性成分。

本实验通过大鼠连续灌服雷公藤甲素7周后处理,光镜下观察雷公藤甲素组大鼠心肌组织形态学变化;电子显微镜下观察雷公藤甲素组大鼠左心室乳头肌超微结构的形态学变化,并与对照组进行比较。通过实验我们发现,光镜观察下雷公藤甲素大鼠左心室心肌和乳头肌可见:心肌间质血管扩张充血,并有出血,横纹存在,心肌细胞未见明显水肿、萎缩、坏死;电子显微镜观察雷公藤甲素大鼠左心室乳头肌超微结构可见:心肌有水肿,少数线粒体肿胀,嵴突破坏,肌质网扩张。实验结果从形态学方面证实了心肌对雷公藤甲素具有较高的敏感性,较长期使用雷公藤甲素对大鼠心肌具有毒性作用,可为雷公藤甲素的临床合理应用及预防中毒提供参考依据。

参考文献

- 1 朱建华. 有毒植物中毒. //; 黄光照. 法医毒理学[M]. 3版, 北京: 人民卫生出版社, 2004: 223
- 2 高晓英, 陈政光. 中药雷公藤的研究进展[J]. 山东生物医学工程, 2001, 1(20): 46-48
- 3 陈龙, 黄光照, 张益鹄, 等. 下丘脑-垂体-肾上腺轴及其调节[J]. 国外医学(内分泌学分册), 1997, 17(3): 137-140
- 4 巫明植. 雷公藤中毒致心律失常1例[J]. 黑龙江中医药, 2005, (5): 44
- 5 李焕更, 薛丽, 周建清. 雷公藤加重房室传导阻滞1例[J]. 临床误诊误治, 1988, 11(4): 252
- 6 靳丽萍, 韩宝利. 雷公藤致心动过缓7例的临床辨析[J]. 血管康复医学杂志, 2001, 10(3): 267-268
- 7 陈远辉. 急性雷公藤中毒致心源性休克3例报告[J]. 福建医药杂志, 1999, 21(3): 56
- 8 傅斌红. 雷公藤干全草和根茎部的严重毒性反应—附雷公藤致急性中毒性心肌炎3例报告[J]. 中国医学杂志, 2004, 2(6): 313-314
- 9 高巧燕, 王炳云. 口服雷公藤致中毒性休克[J]. 河南中医学院学报, 2002, 17(3): 49-50
- 10 万波, 徐艳娟, 左光泽, 等. 急性雷公藤中毒尸检1例[J]. 法律与医学杂志, 1999, 6(1): 35-36
- 11 Qin Wanzhang, Lin Jian. Advance of the Research on Tripterygium wilfordii Hook. F. to a New Height. CJM, 2005, 11(2): 87-88
- 12 Gu W Z, Chen R, et al. Isolation, purification, and characterization of immunosuppressive compounds from tripterygium: triptolide and triptolidide. Int J. Immunopharmac, 1995, 17(5): 351-359
- 13 Duan H, Takaishi Y, et al. Immunosuppressive Diterpenoids from Tripterygium wilfordii. J Nat Prod, 1999, 62(5): 1522-1525
- 14 王思锋, 刘可春, 王希敏, 等. 雷公藤红素对斑马鱼胚胎心脏毒性的初步研究[J]. 中国药理学通报, 2009, 25(5): 634-636
- 15 张凡, 李援朝. 雷公藤内酯醇的结构修饰研究进展[J]. 药学报, 2004, 39(10): 857-864

(收稿: 2010-01-04)

(修回: 2010-04-07)