

雷公藤中毒的大鼠实验病理研究

武汉医学院基础医学部法医学教研室 张益鹤 黄光照

湖北省中西医结合研究院 邢素兰

雷公藤误服中毒病例屡有报道^(1,2), 关于雷公藤中毒的病理研究尚少。本实验用常规光学显微镜、电镜和组织化学等方法, 观察中毒大鼠主要脏器病变的分布和性质, 探讨其中毒机理和临床病理的联系。

材料和方法

一、实验用药: 用 1982 年 2 月湖北省通城县收购的雷公藤生药, 取其根皮制成每毫升相当于 1 g 根皮(干重)的煎液。经分析, 其主要成份是雷公藤甙内酯、生物碱和甙类。

二、实验动物和方法:

一次染毒急性中毒实验: 用雌性大鼠 20 只(147~228g), 参照 Smyth 等提出的毒性初筛实验方法, 测定一次经口染毒 LD₅₀。取主要脏器做常规切片, HE 染色, 光镜检查其病变。

重复染毒急性中毒实验: 用 Wistar 大鼠 45 只, 其中 40 只雌雄各半(144~189g), 随机分成 3 个实验组和 1 个对照组。实验组分别按 30.0、20.0、13.3g 根皮/kg 体重经胃给药, 各自相当于 1.5、1.0、0.6 LD₅₀, 对照组给以生理盐水。实验期限 14 天。争取在濒死期处死中毒动物, 最后一次给药后 24 小时处死其余未死的动物。另外 5 只用作组织化学检查时的正常对照。

1. 光学显微镜检查: 所有处死或死亡的大鼠均取主要脏器和淋巴器官, 以 10% 中性福马林固定, 石蜡切片, HE 染色。其中处死动物的心、肝、肾同时作 PAS 染色。镜检发现可疑脂肪变性者, 做苏丹 IV 脂肪染色。

2. 电镜检查: 随机在各组共取濒死期处死大鼠的心、肝、肾(各 10)和脾(2), 常规超薄切片, 醋酸铀及柠檬酸铅双染, 用 HU-11A 型电镜观察。

3. 组织化学检查: 所有处死大鼠均取心、肝、肾组织, 参照 Lewis 等⁽³⁾介绍的方法做乳酸脱氢酶(LDH)和 ATP 酶染色, Gomori 钴法做硷性磷酸酶(AKP)染色, 光镜检查。同时, 在同样条件下处理对照动物的相同组织, 并作无底物孵育和事先加热破坏酶的对照试验。

4. 血液检查: 所有处死动物均取血作白细胞计

数、涂片染色观察白细胞形态。并测 S-GPT 和血清尿素氮(BUN)。

实验结果

一、一次染毒实验: 实验鼠给药后食欲下降, 活动减少, 体重显著降低。重者毛蓬松, 四肢青紫、腹泻, 大便稀, 富粘液, 潜血阳性。濒死期肌肉软瘫。共死 8 只, 测得一次经口染毒 LD₅₀ 为 21.61g/kg 体重(26.35~17.72g/kg 体重)。其中 4 只鼠肾髓质外层有大片出血和凝固性坏死, 其它脏器病变同下述重复染毒实验。

二、重复染毒实验: 一般中毒反应同上, 剂量愈大, 中毒愈重, 死亡愈快, 死亡率也高, 反映出明显的剂量-反应关系。雌鼠较雄鼠死亡快, 死亡率也较高。对照组无中毒反应和死亡发生。

1. 病理变化: 以淋巴器官病变最为突出。脾和胸腺体积缩小, 重量明显减轻(附表)。

附表 各组体重、脾和胸腺重量比较 M±SD

	体 重	脾*	胸腺*
对照组	217.6±39.6 (10)	4.54±1.56 (10)	2.20±0.79 (10)
A 组	168.6±23.8 (10)	2.38±0.79** (10)	△
B 组	155.9±26.3 (10)	3.22±1.45 (10)	1.47±0.54 (4)
C 组	172.5±39.2 (10)	2.94±0.72** (10)	1.08±0.33** (7)

* mg 脏器/g 体重, **P<0.01, △未测量, () 动物数
光镜下见实验鼠脾、胸腺和淋巴结的淋巴细胞较对照组显著减少。大多数脾(25/30)、胸腺(24/30)和腋下淋巴结(12/17)中的淋巴细胞有不同程度的核固缩和核碎裂, 以脾小结和脾索较明显, 而脾动脉周围淋巴鞘改变较轻(图 1)。电镜下见脾淋巴细胞线粒体普遍肿胀, 呈空泡变, 光面内浆网(SER)明显扩张, 核形状不规则。有的淋巴细胞坏死被巨噬细胞吞噬(图 3), 浆细胞显著减少。胸腺淋巴细胞的坏死多数较脾轻, 但有 6 只鼠反而比脾明显(图 2)。腋下淋巴结的改变与脾类似, 以淋巴小结内的淋巴细胞坏死为著。

心、肝、肾有不同程度的病变。心肌在光镜下仅见浊肿，间质淤血、水肿，偶有出血。电镜下见早期死亡的鼠心肌线粒体肿胀，肌浆网扩张。稍后死亡的鼠，则可见心肌纤维呈多发性小的肌溶坏死灶，灶内心肌纤维肿胀、分离或溶解，空泡变的线粒体游离于分散的心肌原纤维间。有时见肌原纤维断裂，局部Z线消失(图4)。肾脏切面显著淤血。光镜下见近曲小管上皮广泛浊肿、灶状水样变和脂肪变。髓质外层外带近端小管直部上皮见散在点、灶状坏死，其核固缩或碎裂，胞浆均质化，呈显著嗜酸性。PAS染色见近端小管刷状缘和基底膜着色明显减弱，部分肾小管基底膜破裂。电镜下以近端小管上皮改变较明显，微绒毛肿胀，线粒体嵴变短或空泡变。SER增生和扩张。自噬泡和层状小体多见。肾小球和乳头在光镜和电镜下均未见明显改变。肝在光镜下主要表现为肝细胞普遍浊肿，肝窦淤血显著，糖原显著减少。大剂量组部分动物有少数散在的点、灶状坏死。电镜下见线粒体肿胀，嵴模糊不清，基质均质化。SER灶性增生和扩张；粗面内浆网减少，池扩张，部分脱颗粒。心、肝、肾细胞核的改变均较突出，大小不一：有的肿大，染色质凝聚、边集、或脱失而致核呈空泡状；有的皱缩变小，形状不规则。

其它可见肺淤血、水肿。胃肠粘膜充血或出血，小肠下段出血性坏死。肾上腺淤血，部分细胞核固缩。脑仅见轻度淤血、水肿。实验后期死亡的鼠有3只的心、肺、肾见多发性小脓肿形成。对照组无上述病变发生。

2. 组织化学检查：实验后9小时最早死亡的鼠LDH活性即明显降低。各实验组除肝AKP外，三种酶活性均不同程度地低于对照组。经秩和检验，实验组心、肝LDH和肾AKP活性降低有非常显著性差异。肾LDH、心和肾ATP酶活性降低有显著性差异(图5, 6)。

3. 白细胞及肝、肾功能检查：各实验组白细胞总数较对照组有减少的趋势，但差异不显著。血片镜检见各类白细胞数目减少，部分淋巴细胞核固缩或碎裂。几乎见不到形态完整的中性白细胞。各实验组SGPT的升高见于实验第4天后，与对照组比较差异显著。BUN于实验第二天即见显著升高，有非常显著性差异。

讨 论

淋巴细胞的变性坏死和淋巴器官的萎缩，是本发明实验所见的一种较特殊和恒定的中毒病变，以往文献中

尚未见报道。作者等尸检的一例服过量“黄藤(雷公藤)合剂”中毒致死者的淋巴组织病变与之相似。据Kupchan等(1974)⁽⁴⁾的研究，证明雷公藤二萜内酯是具有细胞毒作用的烷化剂。国内临床应用也发现雷公藤制剂有类似皮质激素的作用。据文献记载，烷化剂、皮质激素等免疫抑制剂能致胸腺和脾萎缩，淋巴细胞坏死和减少^(5, 6)。因此本实验从病理形态学方面证实雷公藤具有类似免疫抑制剂的作用。淋巴细胞的坏死以脾小结、脾索等B淋巴细胞分布的区域最明显，亦可累及脾动脉周围淋巴鞘、胸腺等T淋巴细胞分布的区域，说明雷公藤既能作用于B淋巴细胞抑制体液免疫，又能作用于T淋巴细胞抑制细胞免疫，而以前者较显著。临床观察雷公藤治疗后，患者血中各类免疫球蛋白显著减少⁽⁷⁾。实验动物溶血素抗体亦明显降低，以及联系对小鼠DNCB皮肤反应的影响⁽⁸⁾，都支持上述看法。雷公藤对淋巴器官作用的机理也可能与烷化剂、皮质激素等相似，即通过障碍DNA、RNA和核蛋白的生物合成，选择性抑制了控制细胞分裂的关键酶，使淋巴细胞的分裂活动减慢、停止，而导致变性、坏死。我们认为淋巴器官的上述病变，不仅可以作为雷公藤毒性作用较特殊的敏感指标，而且从形态学角度初步阐明了雷公藤对多种自身免疫性疾病具有疗效的机理。雷公藤对免疫系统的影响是有待进一步深入研究的课题。

心肌超微结构和酶活性的改变发生较早而显著，推测可能是雷公藤对心肌直接毒性作用的结果。肾脏髓质外层的大片出血和坏死主要是肾脏髓质急性缺血的后果。灶状分布的肾小管上皮坏死可能是缺血和中毒两种因素的共同作用所致。肝脏病变与心、肾比较，相对较轻。心、肝、肾细胞核的改变均较明显，可能与雷公藤抑制核蛋白的合成有关，也能见于其它一些免疫抑制剂中毒。

以往有报道实验狗中枢神经系统的神经细胞有重度变性改变⁽⁹⁾。但本实验结果，大鼠中枢神经系统未见明显病变，联系临床报告中毒病人临死前神志尚清楚，说明雷公藤对中枢神经系统并无明显损害。

综观上述淋巴器官、心、肝、肾、胃肠等的中毒病变，以及血液中各类白细胞的变性、坏死，与许多具细胞毒作用的免疫抑制剂和抗肿瘤药物中毒所致的病变比较，有类似之处。具细胞毒作用的药物对机体内迅速增生的细胞作用尤为显著。如淋巴细胞、骨髓造血细胞、肠粘膜上皮细胞、睾丸生精细胞、卵巢的卵泡细胞和皮肤的毛球细胞等⁽¹⁰⁾。本实验未观察睾丸的改变，但作者等在雷公藤醋酸乙酯提取物大鼠急

性中毒实验中,观察到睾丸生精细胞变性、减少,和由于有丝分裂活动障碍而形成巨核或多核巨细胞。联系临床报道雷公藤中毒和长期服用其制剂的部分病人有白细胞减少、精子缺乏、闭经、毛发脱落等中毒反应,说明上述脏器的病变可能是雷公藤细胞毒性作用的结果。

关于死因。本实验第1~3天死亡的鼠,心肌超微结构及酶活性已有显著改变,而其它脏器仅见普遍淤血。文献报道实验狗早期血压下降、心率减慢,心电图ST—T波变化。联系临床中毒病人早期多见血压严重而持续下降,分析此阶段的主要死因是循环衰竭,可能与心肌受损有关。胃肠损害引起的呕吐、腹泻,能导致水和电解质平衡的紊乱而促进死亡。从实验第4天开始,大鼠肾脏已有坏死改变,BUN显著升高;病程迁延数天的中毒病人也多有尿的改变和肾功能损害,说明急性肾功能衰竭是中毒病程迁延患者的主要致死原因。实验后期部分大鼠脏器的多发性小脓肿,可能是免疫功能降低而继发感染的结果,有可能成为致死的又一重要原因。

雷公藤植化成份复杂,本实验所用根皮煎液含有三类不同生物活性的成份,其有毒和有效成份间的关系还不完全清楚,尚有待于进一步研究。

小 结

本文报告急性雷公藤中毒实验时大鼠的主要脏器在光镜、电镜和组织化学等方面的病理变化。结果表明,在中毒致死剂量作用下,大鼠淋巴细胞的坏死、数目减少和淋巴器官的萎缩是较特殊和恒定的一种中毒病变;心、肝、肾有不同程度的变性、坏死;胃肠亦有出血、坏死等改变。本文结合文献探讨了雷公藤的中毒机理和临床病理联系,说明雷公藤具有类似免

疫抑制剂的细胞毒作用。并对死因进行了分析讨论。提出探明雷公藤对免疫器官的影响及其有毒和有效成份间的关系,是有待于进一步深入研究的课题。

(本文图见插页4)

(本实验电镜检查部分承本院电镜室武忠弼教授指导,王慧君老师协助完成。实验用药由湖北省中西医结合研究院提供。谨此致谢。)

参 考 文 献

1. 周善根等:雷公藤中毒63例报告. 武汉医学院学报(4): 67, 1981
2. 黄煌:雷公藤中毒31例临床分析. 中华内科杂志21(6): 363, 1982
3. Lewis PR, et al: Staining methods for sectioned material, practical methods in electron microscopy. pp259~260, 172, North-Holland pub, Amsterdam, New York, Oxford, 1977
4. Kupchan SM, et al: Selective alkylation: A biomimetic reaction of the antileukemic Triptolides? Science 185:791, 1974
5. 上海第一医学院等: 医用药理学, 第246~247页, 人民卫生出版社, 1976
6. Anderson WAD, et al: Pathology. 7th ed, PP 248~252, Mosby, 1977
7. 于德男整理:雷公藤总甙治疗类风湿性关节炎144例临床报告. 中医杂志(7):32, 1982
8. 李乐真等:雷公藤醋酸乙酯提取物的药理作用研究. 中草药13(4):27, 1982
9. 徐英含等:雷公藤中毒. 浙江医学院学报1(4):365, 1958
10. Sartorelli AC, et al: Antineoplastic and Immunosuppressive agent, part 1, p 20, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1974

请用保健营养佳品——补肾养肝茶和五加参矿泉饮

补肾养肝茶和五加参矿泉饮,是北京龙华保健营养剂厂的新产品。由香港晓昌有限公司总代理,向港澳欧美等国销售。

“**补肾养肝茶**”采用中国陕西渭南大荔县沙苑特产地道药材沙苑子为原料,用现代科学方法加工精制而成。具有补肾固精、养肝明目、润肤健身等功效,常饮之可裨益肝脏,改善头晕目眩、腰膝酸软、尿频余沥、遗精和白带过多诸症。四季可服,老少咸宜。也是贺新婚最佳滋补品。

“**五加参矿泉饮**”系我国首创之高级保健饮料。本

品精选驰名中外的滋补强壮中药五加参(又名刺五加),佐北黄芪、北五味子及多种维生素,以五台山般若泉矿泉水精制而成。

“**五加参矿泉饮**”营养丰富,功效肯定,久服,增食欲、壮体力、抗疲劳、宁神益智、补肾养肝、健脾和胃。助儿童发育,健青年体力,益老年长寿。更为特种作业人员(高温、辐射、化工、航海、航天、矿山、野外)及运动员最为理想之特需饮料。

业务联系地址:北京西城区长椿街龙华药店,电话:66.1657。