

猴头菌抗胃溃疡作用的研究

林海鸣, 许琼明, 孙晓飞, 刘艳丽*, 杨世林

(苏州大学药学院, 江苏 苏州 215123)

摘要:目的 考察猴头菌对实验性小鼠和大鼠胃溃疡的作用。方法 采用无水乙醇、醋酸致胃溃疡模型观察猴头菌对无水乙醇型、醋酸型溃疡及血清中的超氧化物歧化酶(SOD)的活性和丙二醛(MDA)的水平的影响,观察胃黏膜损伤程度及病理改变。结果 猴头菌(2.5、5 g/kg)可降低无水乙醇致小鼠溃疡指数;猴头菌(1.25、2.5、5 g/kg)可降低醋酸致大鼠溃疡指数;其对大鼠血清中SOD的活性和MDA水平没有显著影响,但可明显减轻胃黏膜的充血、出血、水肿和坏死,减轻黏膜下炎细胞浸润。结论 猴头菌能促进溃疡愈合,但其作用机制可能不是通过提高SOD活性,降低MDA水平发挥作用。

关键词:猴头菌;胃溃疡;SOD;MDA

中图分类号:R285.5; R286.56

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)12-1861-03

猴头菌 *Hericium erinaceus* (Fr.) Pers. 又叫猴头菇、刺猬菌、花菜菌或山伏菌等。猴头菌中含有多肽、多糖等活性成分。文献记载猴头菌性平,味甘,能利五脏,助消化等。猴头干品可治消化不良、神经衰弱和胃溃疡^[1]。临床试验表明,猴头菌用于治胃溃疡、胃炎有效率达 86.6%^[2],对胃癌、贲门癌和食道癌等消化道系统恶性肿瘤也有一定的疗效。病人服用猴头菌后,自觉症状改善,食欲增加,疼痛缓解,但其作用机制有待进一步的研究。本实验采用无水乙醇、醋酸致胃溃疡模型对猴头菌进行初步研究,旨在探讨其对胃溃疡的作用机制。

1 材料与方 法

1.1 药品及试剂:猴头菌片,上海雷允上药业有限公司生产,批号 061105;温胃舒胶囊,合肥神鹿双鹤药业有限责任公司生产,批号 Z34020288;盐酸雷尼替丁,苏州第三制药厂有限责任公司生产,批号 H32022760;丙二醛(MAD)检测试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)检验试剂盒,南京建成生物研究所生产;苏木素伊红染色试剂盒,碧云天生物科技有限公司生产;其他试剂均由国药集团试剂有限公司提供。

1.2 动物:昆明种小鼠,体质量 18~22 g;SD 大鼠,体质量 180~220 g;雌雄各半,由苏州大学动物实验中心提供,动物使用许可证号:SYXK(苏)2002-0037。

1.3 仪器:JA5003N 分光光度计,由上海棱光技术有限公司提供。

2 方 法

2.1 对无水乙醇致小鼠胃溃疡的预防作用:昆明种小鼠 50 只,雌雄各半,将小鼠分成 5 组,每组 10 只,分别为模型组,猴头菌片高、中、低剂量(1.25、2.5、5 g/kg)组,温胃舒胶囊(6 g/kg)组。小鼠正常进食饮水,除模型组给予蒸馏水外,各给药组给予不同浓度的药物,连续 5 d。第 6 天小鼠禁食 24 h(自由饮水)后,每组均正常给药 30 min 后,所有小鼠均 ig 无水乙醇(0.2 mL/只),1 h 后颈椎脱臼处死小鼠,剖腹,结扎贲门部,游离胃,并置 10% 中性福尔马林溶液 10 min 后,沿胃大弯剪开,0.85% 氯化钠溶液冲去内容物,展平,于光镜下观察胃黏膜的组织学变化。并按 Guth 标准计算溃疡指数和抑制率,按溃疡或糜烂面积大小给予计分:①每 3 个点状溃疡(黏膜缺损小于 1 mm 或者出血性糜烂小点)计 1 分;②条状出血:以游标卡尺测量溃疡的最大长径和垂直于最大长径的最大宽径,二者的乘积即为溃疡指数。宽为 1 mm 者每毫米长为 1 分;2 mm 宽者每毫米长为 2 分;3 mm 宽者每毫米长为 3 分^[3]。

溃疡抑制率=(模型组平均溃疡指数-给药组平均溃疡指数)/模型组平均溃疡指数×100%

2.2 对醋酸致大鼠胃溃疡的治疗作用:SD 大鼠 30 只,禁食 12 h 后,按 Okabe 法^[4]改良进行造模。大鼠 ip 3% 戊巴比妥钠麻醉后,用酒精棉球消毒皮肤,打开腹腔,在腺胃部前壁窦体交界处浆膜面贴上浸透冰醋酸的圆形滤纸(直径 5 mm) 30 s,重复 3 次,关腹缝合创口。术后常规喂养,第 2 天将动物随机分成 5 组,每组 6 只,雌雄各半,分别为模型组

收稿日期:2008-03-28

作者简介:林海鸣(1984—),女,硕士研究生,主要从事药理学研究。E-mail: shirly1984@126.com Tel: 13812639901

* 通讯作者 刘艳丽 E-mail: liuyanli501@yahoo.com.cn Tel: 13771768819

(给予蒸馏水),猴头菌片不同剂量(1.25、2.5、5 g/kg)组,阳性对照雷尼替丁(30 mg/kg)组。于分组当天开始 ig 给药,每天给药 1 次,连续 5 d。末次给药后 12 h 脱颈椎处死动物,处死前摘眼球取血(5~8 mL),4 000 r/min 离心 20 min,分离血清,留存备用。剖腹取胃,沿胃大弯剪开,用生理盐水洗涤胃内容物,将胃固定于 10% 甲醛中,15 min 后将胃平展于玻璃表面皿上,在放大镜下用电子数显卡尺精确量取溃疡面的长径和短径,并计算溃疡面积^[5],观察溃疡愈合程度。

溃疡抑制率=(模型组溃疡面积-给药组溃疡面积)/模型组溃疡面积×100%

2.3 对醋酸致胃溃疡大鼠的血清中 SOD 活性和 MDA 水平的影响:取上述实验中制备的血清,严格按照试剂盒的说明,按硫代巴比妥酸法测定大鼠血清中丙二醛(MDA)的量和超氧化物歧化酶(SOD)活性。

2.4 对醋酸致胃溃疡大鼠病理形态的影响:以溃疡部位为中心修剪胃壁组织,以溃疡瘢痕平行于胃长轴方向的最长径为中心取材,切取含溃疡边缘约 3 mm 组织在内的溃疡组织块,约 1.0 cm×1.2 cm 大小。迅速置于 10% 中性甲醛固定 24 h,按照常规梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋。以瘢痕的最长径为中心连续切片,间隔 5 μm,作 HE 染色(中性树脂封片)。光镜观察黏膜充血、水肿、坏死和黏膜下出血水肿、血管增生、肉芽组织形成及炎细胞浸润程度。黏膜下出血水肿、血管增生及肉芽组织的判定参照正常组织病理,依据有无计算其发生率;黏膜下炎细胞浸润的程度参照病理学(第 IV 版)标准分为无病变(-)、轻度(+)、中度(++)、重度(+++)4 级。

2.5 数据处理:结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 10.0 软件包进行统计分析。采用单因素方差分析,继以 Tukey's 检验。

3 结果

3.1 对无水乙醇致小鼠胃溃疡的影响:猴头菌片 2.5、5 g/kg 两个剂量组可明显降低小鼠胃溃疡指数,促进溃疡的愈合,与模型组比较差异均显著($P < 0.01$)。温胃舒(6 g/kg)组亦可显著降低小鼠的溃疡指数($P < 0.05$)。结果见表 1。

3.2 对醋酸致大鼠胃溃疡的影响:大鼠造模手术后,出现食欲下降、活动及饮食减少、四肢无力、倦卧嗜睡、被毛蓬松。第 1~4 天上述症状最明显,第 5 天以后上述症状逐渐缓解,饮食和运动量增加,被毛恢复光泽。与模型组比较,猴头菌 1.25、2.5、5 g/kg 3

剂量组和阳性对照组雷尼替丁组(30 mg/kg)对乙酸型胃溃疡均有显著的抑制作用,可明显降低小鼠胃溃疡指数,促进溃疡的愈合。结果见表 2。

3.3 对醋酸型胃溃疡大鼠的血清中 SOD 活性和 MDA 水平的影响:与对照组相比,猴头菌 3 剂量组对血清中 SOD 活性和 MDA 水平均无明显影响。结果见表 2。

表 1 猴头菌对无水乙醇致小鼠胃溃疡的影响

Table 1 Effect of *H. erinaceus* on gastric ulcer in mice induced by anhydrous alcohol

| 组别 | 剂量/(g·kg ⁻¹) | 溃疡指数/mm ² ($\bar{x} \pm s$) | 溃疡抑制率/% |
|-----|--------------------------|--|---------|
| 模型 | - | 14.50±3.13 | - |
| 猴头菌 | 1.25 | 12.67±3.96 | 12.69 |
| | 2.5 | 8.29±2.99** | 42.82 |
| | 5 | 8.07±2.99** | 44.34 |
| 温胃舒 | 6 | 9.19±3.79* | 36.62 |

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

表 2 猴头菌对醋酸致大鼠胃溃疡及血清中 SOD 活性、MDA 水平的影响

Table 2 Effect of *H. erinaceus* on gastric ulcer in rats induced by acetic acid and SOD activity and MDA level in their serum

| 组别 | 剂量/(g·kg ⁻¹) | 溃疡指数/mm ² ($\bar{x} \pm s$) | 溃疡抑制率/% | MDA/(nmol·mL ⁻¹) | SOD 活性/(U·mL ⁻¹) |
|------|--------------------------|--|---------|------------------------------|------------------------------|
| 模型 | - | 9.18±2.45 | - | 4.23±0.95 | 123.33±5.09 |
| 猴头菌 | 1.25 | 4.50±1.04* | 50.98 | 3.41±0.84 | 121.76±18.32 |
| | 2.5 | 3.80±0.57** | 58.71 | 3.22±1.41 | 127.26±8.75 |
| | 5 | 3.45±0.87** | 64.42 | 4.04±1.51 | 120.01±11.40 |
| 雷尼替丁 | 0.03 | 4.48±0.64* | 51.20 | 3.13±0.88 | 144.95±10.79 |

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

3.4 对醋酸型胃溃疡大鼠病理形态的影响:大鼠造模后可见典型的圆形或椭圆形火山口样胃溃疡,周围隆起,中间凹陷,且溃疡底部覆盖有灰白苔,为炎症坏死渗出物。光镜下可见溃疡处黏膜缺损,溃疡底部凹陷,有大量炎性细胞和坏死渗出物聚集。模型组大鼠胃黏膜毛细血管扩张、充血和灶性出血明显,间质可见大量的炎性细胞浸润,部分区域粘膜坏死、脱落,局部腺体有破坏。而雷尼替丁组、猴头菌中剂量组和高剂量组均可见有不同程度的溃疡愈合,镜下溃疡灶表面有不同程度的新生上皮覆盖,炎性细胞明显减少,溃疡底部有明显肉芽组织形成,胃黏膜血管轻度扩张,充血,腺体排列较整齐。低剂量组的部分区域黏膜表面上皮坏死,脱落,腺体破坏较重,间质轻度水肿及大量炎细胞浸润,损伤明显高于其他治疗组。结果见图 1 和表 3。



A-模型组 B~D-猴头菌低、中、高剂量组 (1.25、2.5、5 g · kg⁻¹) E-雷尼替丁组
A-model group B~D-*H. erinaceus* (1.25, 2.5, and 5 g · kg⁻¹) E-Ranitidine group

图 1 猴头菌对乙酸型胃溃疡大鼠病理形态的影响

Fig. 1 Effect of *H. erinaceus* on pathological form of gastric ulcer in rats induced by acetic acid

表 3 猴头菌对醋酸型胃溃疡大鼠病理组织的影响

Table 3 Effect of *H. erinaceus* on pathological tissue of gastric ulcer in rats induced by acetic acid

| 组别 | 剂量/(g · kg ⁻¹) | 出血水肿 | 血管增生 | 细胞浸润渗出 |
|------|----------------------------|------|------|--------|
| 模型 | — | +++ | +++ | +++ |
| 猴头菌 | 1.25 | +++ | ++ | +++ |
| | 2.5 | ++ | +++ | ++ |
| | 5 | ++ | + | + |
| 雷尼替丁 | 0.03 | ++ | + | + |

4 讨论

消化性溃疡是人类的常见病,常发于男性,可发生在不同的年龄阶段,其病因及发病机制至今还未完全阐明。目前认为,消化性溃疡的发生是由于对胃、十二指肠黏膜有损害作用的侵袭因素(如胃酸、胃蛋白酶、幽门螺旋杆菌等)与黏膜自身防御/修因素(如前列腺素、胃黏膜血流等)之间失去平衡的结果。本实验采用小鼠无水乙醇致胃溃疡模型和大鼠醋酸型胃溃疡两种实验模型探讨猴头菌对实验性胃溃疡作用及其机制。

无水乙醇所致胃溃疡模型是一种急性胃溃疡模型,其形成机制主要是乙醇直接损伤胃黏膜,引起胃壁血液循环障碍、组织坏死脱落,导致溃疡形成^[6]。实验结果显示,猴头菌能够显著减少胃溃疡溃疡面积及出血面积,其效果与温胃舒相近。说明猴头菌可能具有改善胃壁血液循环,促进受损胃黏膜愈合的作用,对急性胃溃疡具有较好的预防作用。

大鼠醋酸型胃溃疡模型是一种慢性胃溃疡模型,用于观察药物对胃溃疡的治疗效果。其形成机制主要是醋酸直接损伤胃黏膜组织并直接引起局部血液循环障碍。实验结果显示猴头菌对醋酸型胃溃疡疗效显著,能够明显促进溃疡面的愈合,减少胃穿孔的出现,并且减少了胃黏膜出血面积,其效果与雷尼替丁相近。说明猴头菌可能具有改善溃疡灶局部血液循环,促进受损胃黏膜愈合的作用,对慢性胃溃疡具有较好的治疗效果。

胃黏膜具有丰富的血供,在各种应激反应、胃黏

膜缺血或化学物质作用时,可产生大量的氧自由基,很容易造成微循环障碍。在胃黏膜损害中,酶系统和非酶系统产生大量氧自由基,与膜内多价不饱和脂肪酸结合造成脂质过氧化损害,产生 MDA 等脂质过氧化物。胃黏膜含有高浓度非蛋白质巯基,氧自由基作用于巯基使蛋白质变性、酶失活,从而导致黏膜损伤。SOD 广泛存在于体内各组织中,是清除氧自由基的主要酶。机体内 SOD 活性与脂质过氧化反应产生的分解产物,如 MDA 浓度之间的比例,不仅可以反映机体局部或整体的炎症反应情况,也可反映机体抗氧化反应的能力。目前大多通过检测外周血中 SOD 活性及 MDA 浓度的变化来反映整个机体的脂质过氧化反应和抗脂质过氧化反应的能力。实验结果表明猴头菌对大鼠血清中的 SOD 活性和 MDA 水平没有显著影响,由此可以推断猴头菌没有去除自由基的作用,其抗胃溃疡的机制很有可能是通过其他途径改善胃壁血液循环,促进受损胃黏膜愈合,减少或减轻黏膜的充血、出血、水肿和坏死,减少黏膜炎细胞的浸润来达到抗胃溃疡的作用。

综上所述,猴头菌片对胃溃疡有良好的治疗效果,有改善胃壁血液循环,促进受损胃黏膜愈合,减少或减轻黏膜的充血、出血、水肿和坏死,减少黏膜炎细胞的浸润的作用,可能与增强胃黏膜的防御能力有关,如增加前列腺素水平,促进黏膜细胞增殖等。至于其深层的作用机制还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 刘波. 中国药用真菌 [M]. 太原:山西人民出版社, 1978.
- [2] 李悦, 陈岩, 张新建, 等. 复方猴头冲剂治疗慢性胃炎 144 例疗效分析 [J]. 山东医药, 1994, 34(9): 62.
- [3] Harbison S P, Dempsey D T. Peptic ulcer disease [J]. *Curr Probl Surg*, 2005, 42(6): 346-454.
- [4] Okabe S. Chronicity of acetic and unclear in the rat stomach [J]. *Am J Dig Dis*, 1972, 12(7): 619-620.
- [5] 王北婴, 仪奎. 中药新药研制开发技术与方法 [M]. 上海:上海科学技术出版社, 2001.
- [6] 董亚琳, 邢建峰, 封卫毅. 舒肝丸抗实验性胃溃疡的作用 [J]. 西安交通大学学报:医学版, 2004, 23(1): 79-82.