

本文引用:覃艮艳,张又玮,彭晓芳,王英,彭俊,彭清华.密蒙花颗粒对亚慢性毒性实验中SD大鼠血液生化指标的分析[J].湖南中医药大学学报,2017,37(11):1188-1191.

密蒙花颗粒对亚慢性毒性实验中SD大鼠血液生化指标的分析

覃艮艳,张又玮,彭晓芳,王英,彭俊*,彭清华*
(湖南中医药大学,湖南长沙410007)

[摘要] **目的** 观察密蒙花颗粒对SD大鼠的亚慢性毒性作用及其血液生化指标变化情况。**方法** 80只SD大鼠随机分为4组(雌雄各半),即空白对照组及密蒙花颗粒低、中、高剂量组,进行为期3个月的亚慢性毒理实验,其中3个给药组分别将密蒙花颗粒23.75 g、45 g、95 g溶于100 mL生理盐水中,灌胃体积为20 mL/kg,空白对照组予以同等灌胃体积生理盐水灌胃,观察各实验组及对照组血常规、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、肌酐、尿素、总胆固醇、甘油三酯、葡萄糖、血钾、血钠、血氯、肌酸激酶等指标变化情况,从而进一步评价密蒙花颗粒对SD大鼠血液系统、肝脏、肾脏、心脏等的毒性作用。**结果** 密蒙花颗粒对SD大鼠血液生化相关指标无不良影响。**结论** 密蒙花颗粒对SD大鼠血液生化指标无明显慢性毒性反应,可在临床推广应用。

[关键词] 密蒙花颗粒;亚慢性毒性实验;SD大鼠;血液指标;生化指标

[中图分类号]R289.5;R392 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.11.005

Sub-chronic Toxicity Study of Buddleja Officinalis Granules on Indexes of Hematology and Serum Biochemistry in SD Rats

QIN Genyan, ZHANG Youwei, PENG Xiaofang, WANG Ying, PENG Jun*, PENG Qinghua*
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] **Objective** To observe the chronic toxicity effects of Buddleja Officinalis granules and the changes of indexes about hematology and serum biochemistry in SD rats. **Methods** 80 SD rats were randomly divided into 4 groups (male and female are fifty-fifty), including the control group and experiment groups. Experiment groups were divided into low, middle and high dose which were fed with 23.75 g, 45 g and 95 g of Buddleja Officinalis granules mixed with 100 mL physiological saline for the three months' subchronic toxicity test. The gavage administration was 20 mL/kg, and the control group was given equivalent physiological saline. The indexes of white blood cell, red blood cell, hemoglobin, hematokrit, Mch, RDW-CV, blood platelet, glutamic-pyruvic transaminase, glutamic-oxalacetic transaminase, creatinine, urea, creatine kinase, kalium, serum sodium, blood chloride, cholesterol total, glycerin trimyristate, blood glucose were observed in four groups to evaluate the toxic and side effect of buddleja Officinalis granules on blood system, liver, kidney, heart. **Results** Buddleja Officinalis granules had no bad influence on the indexes of hematology and serum biochemistry. **Conclusion** Buddleja Officinalis Granules have no chronic toxicity on SD rats and can be extended to application in clinic.

[Keywords] Buddleja Officinalis granules; chronic toxicity experiment; SD rats; hematology; biochemical index

[收稿日期]2017-5-30

[基金项目]国家自然科学基金面上资助项目(30772824,81574031);湖南省高层次人才“225”工程培养项目资助;湖南省科技厅科研基金资助项目(2015SF2016-6);湖南省发展改革委科研基金资助项目(湘发改投资[2014]658号);长沙市科技计划重大专项(K1501014-31);湖南中医药大学研究生创新项目(2016CX19);国家中医药管理局中医眼科学重点学科建设项目;湖南省中医五官科学重点学科建设项目。

[作者简介]覃艮艳,在读硕士,研究方向:眼表疾病、青光眼、眼底病。

[通讯作者]*彭清华,二级教授,主任医师,博士生导师,E-mail:pqh410007@126.com;彭俊,男,硕士,E-mail:154451101@qq.com。

密蒙花颗粒是彭清华教授治疗干眼症的临床组方,由密蒙花、枸杞子等 6 味中药组成。前期试验研究表明^[1],雄激素、黄酮类物质均为杂环多酚类化合物,在化学结构上具有相似性,已证明某些黄酮类化合物具有拟雄激素作用,且黄酮可与细胞雄激素受体(AR)结合,密蒙花颗粒的君药密蒙花有效部位为黄酮类物质,可以和泪腺细胞中 AR 结合,产生相应的生物学效应,通过拟雄激素效应的途径,治疗雄激素水平下降所致的干眼症,临床具有相当的应用价值。但目前国内外研究尚缺乏本方毒理学的数据资料。本研究团队在初步明确其口服剂型最大给药量(MFD)无毒性反应的基础上进行 3 个月密蒙花颗粒的亚慢性毒理实验,以进一步评价其应用的安全性。

1 材料与方法

1.1 材料和实验动物

密蒙花颗粒:由密蒙花、枸杞子等六味中药组成,均选择道地药材,由湖南中医药大学第一附属医院提供(生产批号:20160406),由湖南国华制药有限公司制备。

实验动物:SPF 级 SD 大鼠 80 只(合格证编号:43004700024634),雌雄各半,每只体质量 80~100 g,均由湖南中医药大学实验动物中心提供,动物饲养于湖南中医药大学动物实验中心 SPF 级动物房,饲养温度 22~25 ℃,湿度 40%~60%,自然采光,定量添加足量的饲料,动物自由摄食,饮用水瓶供应足量的三级饮用水,动物自由饮用,每日更换饮水瓶及饮用水,所有动物到达本实验室后均要进行检疫观察 7 d 以上,在此时间内,观察动物的疾病和死亡指征,任何异常现象均向负责人和临床兽医报告,异常动物在实验动物分组给药前进行剔除,若在给药前个别动物出现异常,用健康动物进行替换。

1.2 试验主要设备与试剂

水合氯醛(上海国药集团生产),真空采血管、一次性采血针、止血钳、组织剪、有齿镊,希森美康 XN 全自动血液分析流水线(XN9000,日本 Sysmex 公司),罗氏 CCM 全自动生化免疫流水线(罗氏 cobas 8000,瑞士)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组 将 80 只 SD 大鼠按随机数字表法随机分为空白对照组、密蒙花颗粒低剂量组、密蒙花颗粒中剂量组、密蒙花颗粒高剂量组 4 组,每组 20 只,雌雄各 10 只。

1.3.2 试验方法 空白对照组予以生理盐水灌胃,

灌胃体积为 20 mL/kg;实验组分为密蒙花颗粒低剂量组、密蒙花颗粒中剂量组、密蒙花颗粒高剂量组,分别予以密蒙花颗粒 237.5 g/Kg(成人用量 53 倍)、475 g/Kg(成人用量 105 倍)、950 g/Kg(成人用量 211 倍),溶于 100 mL 生理盐水中,灌胃体积为 20 mL/kg,每天灌胃 1 次,连续给药 3 个月。在给药 3 个月结束后第 1 天将半数动物麻醉取材送检。余下动物停药观察 15 d,观察时间结束后第 1 天将剩余动物麻醉取材。(备注:所有动物给药剂量按“人-动物体表面积等效剂量比值表”折算,折算系数 $W=0.018$,折算公式: $W \times \text{成人用量(g)}/\text{动物体重(kg)}$,其中成人用量参照《中华人民共和国药典》2015 版。)

1.3.3 取材 (1)取材时相第 1 时相:灌胃 3 个月结束后第 1 天;第 2 时相:停药观察 15 d 结束后第 1 天。(2)取材方法以 5%水合氯醛 150 mg/kg 进行腹腔麻醉,麻醉成功后进行腹主动脉采血,采血成功后立即将血液标本送往湖南中医药大学第一附属医院医学检验中心进行血常规及血生化相关指标检测。

1.4 检测指标

1.4.1 血液学检查 测定白细胞、红细胞、血红蛋白、红细胞压积、平均红细胞体积、平均血红蛋白浓度、平均血红蛋白量、RDW-CV、血小板等。

1.4.2 生化指标测定 测定谷丙转氨酶、谷草转氨酶、肌酐、尿素、总胆固醇、甘油三酯、葡萄糖、血钾、血钠、血氯、肌酸激酶等。

1.5 统计学方法

所有数据均采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析。计量资料用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,进行正态性检验;符合正态分布者,多组计量资料采用单因素方差分析,方差齐者用 LSD 和 SNK 法,方差不齐者用 Tamhane's T_2 或 Dunnett's T_3 法;不符合正态分布者采用秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 密蒙花颗粒对大鼠血常规的影响

密蒙花颗粒对 SD 大鼠血常规的影响如表 1~2 所示,密蒙花颗粒低、中、高剂量组与空白对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组用药后 3 个月与停药观察 15 d 后两个时相比较,各指标差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果显示:密蒙花颗粒对 SD 大鼠血常规相关指标无明显影响。

2.2 密蒙花颗粒对大鼠血生化相关指标的影响

密蒙花颗粒对 SD 大鼠血生化指标如表 3~4 所示,实验组与空白对照组差异无统计学意义 ($P >$

0.05)。各组用药后3个月与停药观察15 d两个时相比较,各指标差异无统计学意义($P>0.05$)。结果显示:密蒙花颗粒对SD大鼠血生化相关指标无影响。

表1 用药后3个月大鼠血常规相关指标结果 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	WBC/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$	RBC/ $\times 10^{12} \cdot L^{-1}$	HGB/ $g \cdot L^{-1}$	HCT/%	MCV/fL	MCHC/ $g \cdot L^{-1}$	MCH/Pg	RDW-CV/fL	PLT/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$
空白对照组	3.93±2.18	8.32±0.78	145.5±12.34	43.78±4.30	52.67±2.24	332.83±8.38	17.50±0.56	19.05±2.17	1035.5±142.03
低剂量组	3.29±1.73	9.01±0.63	147.67±5.50	46.04±2.80	51.12±2.32	340.33±8.87	17.36±0.48	19.56±1.10	1044.67±135.11
中剂量组	4.37±2.72	9.00±0.92	148.63±13.94	47.21±4.29	52.54±1.80	338.50±5.24	17.76±0.52	19.53±2.81	1098.88±80.99
高剂量组	3.64±1.10	8.86±0.56	149.00±8.16	45.29±6.22	53.65±1.78	336.25±5.55	17.38±0.31	20.83±1.09	1062.25±85.78
<i>F</i>	0.435	1.35	0.155	0.694	2.205	1.444	1.312	1.195	0.465
<i>P</i>	0.729	0.279	0.925	0.564	0.111	0.252	0.291	0.33	0.709

表2 停药后15 d大鼠血常规相关指标结果 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	WBC/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$	RBC/ $\times 10^{12} \cdot L^{-1}$	HGB/ $g \cdot L^{-1}$	HCT/%	MCV/fL	MCHC/ $g \cdot L^{-1}$	MCH/pg	RDW-CV/fL	PLT/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$
空白对照组	2.89±1.37	8.32±0.79	144.40±11.66	44.60±2.97	53.79±3.01	323.70±7.63	17.41±0.77	19.29±2.24	1206.30±217.46
低剂量组	2.50±1.88	8.62±0.90	149.00±13.11	45.17±3.32	53.15±2.54	329.55±8.93	17.52±0.62	19.22±2.04	1066.00±293.89
中剂量组	2.25±1.13	8.78±0.60	150.50±8.15	44.78±2.19	53.91±3.31	326.90±5.20	17.17±0.72	20.66±1.15	1181.60±113.95
高剂量组	2.45±1.00	8.72±0.80	147.00±9.70	43.35±1.97	53.22±4.09	330.67±7.55	16.90±0.64	20.20±2.03	1207.17±200.59
<i>F</i>	0.348	0.648	0.571	0.579	0.145	1.511	0.221	1.351	0.934
<i>P</i>	0.791	0.590	0.683	0.633	0.932	0.230	0.317	0.275	0.435

表3 用药后3个月大鼠血生化相关指标结果 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

指标	ALT/ $U \cdot L^{-1}$	AST/ $U \cdot L^{-1}$	CREA/ $\mu mol \cdot L^{-1}$	UREA/ $mmol \cdot L^{-1}$	CK/ $U \cdot L^{-1}$	TG/ $mmol \cdot L^{-1}$	CHOL/ $mmol \cdot L^{-1}$	GLU/ $mmol \cdot L^{-1}$	K/ $mmol \cdot L^{-1}$	NA/ $mmol \cdot L^{-1}$	CL/ $mmol \cdot L^{-1}$
对照组	38.69±6.88	143.91±38.52	37.43±6.80	4.73±0.64	1583.71±780.11	0.94±0.30	1.70±0.28	10.29±1.61	7.40±2.22	141.91±2.19	99.61±1.94
低剂量组	42.14±15.48	161.94±69.41	41.20±7.08	5.60±0.76	2753.60±2531.22	0.97±0.18	1.80±0.19	11.14±2.93	7.11±1.38	142.28±2.22	99.91±3.49
中剂量组	42.31±7.88	136.56±26.17	35.60±6.00	5.42±1.01	2943.88±1666.68	1.03±0.28	1.60±0.37	9.83±3.44	6.41±1.64	140.79±1.22	99.30±0.84
高剂量组	33.73±9.48	122.41±29.15	35.86±6.56	5.53±1.44	1935.75±1826.47	1.00±0.22	1.60±0.45	9.98±2.61	7.03±1.14	140.91±1.71	99.56±1.39
<i>F</i>	1.115	1.12	1.387	1.452	0.9	0.18	0.763	0.412	0.514	0.855	0.108
<i>P</i>	0.359	0.357	0.266	0.248	0.453	0.909	0.524	0.746	0.676	0.476	0.955

表4 停药后15 d大鼠血生化相关指标结果 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

指标	ALT/ $U \cdot L^{-1}$	AST/ $U \cdot L^{-1}$	CREA/ $\mu mol \cdot L^{-1}$	UREA/ $mmol \cdot L^{-1}$	CK/ $U \cdot L^{-1}$	TG/ $mmol \cdot L^{-1}$
对照组	43.36±6.61	126.22±31.65	37.40±5.42	5.57±0.98	1268.90±647.26	0.73±0.34
低剂量组	39.77±8.26	143.35±77.41	35.64±8.64	6.33±1.17	1898.73±666.62	0.81±0.19
中剂量组	42.12±8.78	121.7±18.47	33.90±5.02	5.87±0.53	1867.00±760.30	0.88±0.17
高剂量组	45.95±13.66	96.83±27.55	33.33±6.35	5.88±0.52	2102.50±1471.45	0.77±0.47
<i>F</i>	0.657	1.246	0.674	1.299	1.561	0.476
<i>P</i>	0.584	0.309	0.574	0.29	0.21	0.70

续表4

指标	CHOL/ $mmol \cdot L^{-1}$	GLU/ $mmol \cdot L^{-1}$	K/ $mmol \cdot L^{-1}$	NA/ $mmol \cdot L^{-1}$	CL/ $mmol \cdot L^{-1}$
对照组	1.73±0.23	10.59±1.43	7.24±2.03	141.55±1.93	98.73±2.14
低剂量组	1.78±0.31	9.74±3.37	7.10±1.64	142.02±3.30	100.51±2.77
中剂量组	1.63±0.38	10.22±2.91	6.82±1.09	141.15±1.62	99.44±1.32
高剂量组	1.45±0.37	10.77±1.19	7.32±2.23	140.42±1.51	100.07±1.45
<i>F</i>	1.52	0.289	0.138	0.671	1.379
<i>P</i>	0.227	0.833	0.937	0.576	0.266

3 讨论

干眼症是最常见的眼表疾病,为近年眼科的研

究重点、热点及难点。干眼症发病率极高,2007年国际干眼工作组(DWES)调查显示:全球平均发病率为14~33%^[2]。相关研究发现,我国干眼症发病率最

高可达 59.1%^[3],已严重影响国民的生活质量,因此,干眼症的防治问题亟待解决。

干眼症发病原因复杂,目前西医的治疗方法均不理想,各类西药存在各自的局限性,疗效不满意,甚至造成许多难以避免的副作用^[4-5],因此,拥有丰富天然药物资源的中医药在干眼症治疗领域拥有广阔的前景,有发现创新药物的巨大潜力。干眼症属于中医“白涩症”“神水将枯”、“干涩昏花症”范畴,《审视瑶函》谓其“视珠外神水枯涩,而不润莹”。本课题组根据多年临床经验,以密蒙花为君药创制密蒙花颗粒,临床疗效确切。前期临床及实验研究表明^[6-8],密蒙花总黄酮制剂,能够有效提高患者和实验动物的泪液基础分泌量,维持泪膜稳定性;体外细胞学实验表明,密蒙花总黄酮可明显抑制泪腺上皮细胞(LGEC)的局部炎症反应和细胞凋亡,对 TGF- β 1、Bcl-2 等关键细胞因子产生影响。前期临床及实验研究说明本方值得临床推广^[9],但目前国内外研究尚缺乏关于本方的毒性学数据资料。

课题组通过为期 3 个月的密蒙花颗粒亚慢性毒性实验研究发现,同一时相密蒙花颗粒低、中、高剂量组与对照组比较,白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血红蛋白(HGB)、红细胞压积(HCT)、平均红细胞体积(MCV)、平均血红蛋白浓度(MCHC)、平均血红蛋白量(MCH)、RDW-CV、血小板(PLT)等差异无明显统计学意义($P>0.05$),说明密蒙花颗粒对 SD 大鼠血液系统无毒副作用;谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)差异无明显统计学意义($P>0.05$),说明密蒙花颗粒对 SD 大鼠肝功能影响不大;肌酐(CREA)、尿素(UREA)比较差异无统计学意义($P>0.05$),说明密蒙花颗粒对 SD 大鼠肾功能影响不大;肌酸激酶(CK)等差异无统计学意义($P>0.05$),说明密蒙花颗粒对 SD 大鼠心功能影响不大;血钾(K)、血钠(Na)、血氯(Cl)等差异无统计学意义($P>0.05$),说明密蒙花颗粒对 SD 大鼠电解质无影响;总胆固醇(CHOL)、甘油三酯(TG)、葡萄糖(GLU)等差异无统计学意义($P>0.05$),说明密蒙花颗粒对 SD 大鼠血

脂、血糖等代谢指标无影响。

不同时相密蒙花颗粒低、中、高剂量组与对照组比较,白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血红蛋白(HGB)、红细胞压积(HCT)、平均血红蛋白量(MCH)、RDW-CV、血小板(PLT)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、肌酐(CREA)、尿素(UREA)、肌酸激酶(CK)、血钾(K)、血钠(Na)、血氯(Cl)、总胆固醇(CHOL)、甘油三酯(TG)、葡萄糖(GLU)等差异无统计学意义($P>0.05$),说明密蒙花颗粒对 SD 大鼠血液系统、肝肾功能、心功能、电解质、血脂、血糖等无影响或影响甚微。

综上所述,密蒙花颗粒对 SD 大鼠血常规和血生化相关指标影响极小,均未出现明显毒性反应,提示其不良反应小,安全度高,可在临床推广应用。

参考文献:

- [1] 彭清华,姚小磊,吴权龙,等.密蒙花提取物滴眼剂对实验性干眼症大鼠泪腺组织雄激素受体数量的影响[J].中国中西医结合杂志,2012,32(1):72-75,114.
- [2] Lemp MA. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop (2007)[J]. Ocular Surface, 2007, 5(2): 75-92.
- [3] NN Liu, L Liu, J Li, et al. Prevalence of and risk factors for dry eye symptom in mainland china: a systematic review and meta-analysis[J]. Journal of Ophthalmology, 2014,2014:1-8.ID:748654.
- [4] 刘祖国,陈家祺,等.眼表疾病学[M].北京:人民卫生出版社,2003,286-294.
- [5] 曾金雄.中老年男子雄激素部分缺乏与中药可能干预途径的探讨[J].中国中医药信息杂志,2003,10(5):3-5.
- [6] 李海中,彭清华,王 芬,等.密蒙花总黄酮对去势雄鼠角膜组织 Fas, FasL 表达的影响[J].眼科新进展,2013,33(12):1110-1114.
- [7] 彭清华,王 芬,彭 俊.近年来中医治疗干眼的研究进展[J].中华中医药学刊,2011,29(5):941-945.
- [8] 王 方,彭清华,姚小磊,等.密蒙花总黄酮对去势导致干眼症雄鼠泪腺 Bax mRNA, Bcl-2 mRNA 表达的影响 [J]. 眼科新进展,2010,30(3):201-206.
- [9] 彭 俊,欧阳云,谭涵宇,等.密蒙花滴眼液对去势雄兔干眼症泪腺细胞炎症因子 TNF- α , IL-1 β 的影响[J]. 湖南中医药大学学报,2017,37(5):469-472.

(本文编辑 李 杰)