

综上所述, COPD 患者存在低甲状腺激素综合征, 甲状腺激素水平与 COPD 的病情严重程度有关, 因此, 血清甲状腺激素水平在一定程度上有助于判断病情的严重程度。血清甲状腺激素水平变化是 COPD 疾病过程中全身病理生理变化的一种表现形式, 是机体的反馈调节机制对疾病的生理保护反应, 一定程度上有利于减少危重病人能量代谢、减少消耗、给予甲状腺激素治疗可能会抑制机体的保护机制, 起到负面效果。但是, 危重症 COPD 病人甲状腺激素已无法满足机体代谢需要, 此时代偿机制已经失效, 应用甲状腺激素治疗是否对预后有益尚待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Schilling JU, Zimmermann T, Albrecht S, et al. Low T_3 syndrome in multiple trauma patients phenomenon or important pathogenetic factor [J]. Med Klin, 1999, 94(suppl 3): 66-69.
- [2] Klemperer JD, Ojamaa K, Klelin I. Thyroid hormone therapy in cardiovascular disease [J]. Prog Cardiovasc Dis, 1996, 38(4): 329-336.
- [3] 柳 涛, 王保法, 王晓红, 等. 甘草对慢性阻塞性肺疾病患者糖皮质激素受体的影响 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 1999, 22(10): 595-597.

- [4] 胡系伟. 慢性阻塞性肺疾病患者垂体-甲状腺轴及垂体-肾上腺轴功能研究 [J]. 贵阳医药, 2003, 27(1): 35-36.
- [5] 张秀明. 现代临床生化检验学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2001: 888-889.
- [6] 罗春华, 李国静, 余太厚, 等. 108 例 COPD 患者血脂检测结果分析 [J]. 中国临床医生, 2003, 31(5): 28-29.
- [7] Monig H, Arendt T, Meyer M, et al. Activation of the hypothalamopituitary-adrenal axis in response to septic or non-septic diseases: implications for the euthyroid sick syndrome [J]. Intensive Care Med, 1999, 25(12): 1402-1406.
- [8] 施 毅, 陈正堂. 现代呼吸病治疗学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2002: 193-201.
- [9] 邱忠民. 慢性肺心病与多脏器衰竭 [J]. 中国医刊, 2000, 35(11): 12-14.
- [10] 杨 华, 祝薇姬. 慢性阻塞性肺病和肺心病患者甲状腺激素的变化及机制 [J]. 中华临床医药, 2003, 24(4): 83-88.
- [11] 于咏华, 张睿花, 韩 玲, 等. 慢性阻塞性肺疾病患者血清甲状腺激素水平变化对营养状况的影响 [J]. 中国社区医师, 2007, 9(1): 106.

(收稿日期: 2010-07-13 修回日期: 2010-08-18)

多穗柯提取物长期毒性研究[▲]

曾宪彪 韦宝伟 李 茂 覃 良 邓聿胤
(广西壮族自治区中医药研究院, 南宁市 530022)

【摘要】 目的 观察多穗柯提取物重复灌胃对大鼠产生的毒性反应。方法 高剂量组($2\text{ g 提取物} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、中剂量组($1\text{ g 提取物} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、低剂量组($0.5\text{ g 提取物} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)和空白对照组, 大鼠各 50 只, 灌服多穗柯提取物, 连续 25 周, 分别于给药中期、停药时和停药后 2 周, 取部分大鼠进行 16 项血液学指标、15 项血清生化学指标检查, 显微观察 29 处组织病理变化。结果 各给药组在给药期间血糖明显低于对照组($P < 0.05$), 高剂量组停药时肝功能指标显著高于对照组($P < 0.05$), 且肝细胞变性, 其余各组检查未见明显异常。结论 多穗柯提取物经口给药有降低大鼠血糖作用, 长期大剂量给药可见可逆性肝中毒改变外, 未见明显的其他毒性反应。

【关键词】 多穗柯; 木姜叶柯; 大鼠; 长期毒性

【中图分类号】 R 282.6

【文献标识码】 A

【文章编号】 0253-4304(2010)11-1326-04

Studies on Long-term Toxicity of the Extract of *Lithocarpus litseifolius* in Rats

ZENG Xian-biao, WEI Bao-wei, LI Mao, QIN Liang, DENG Yu-yin

(Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530022, China)

【Abstract】 **Objective** To study the long-term toxicity of the extract of *Lithocarpus litseifolius* in rats by repeated oral administration. **Methods** Daily doses of the extract at 2.0 g/kg , 1.0 g/kg , and 0.5 g/kg for 25 weeks were used for high, mid, and low dose group (50 rats each), respectively. Examinations including 16 haematological

▲基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻 0718002-2-13)。

©1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

indexes, 15 biochemical indexes, and 29 organs (histopathology) were performed at interim administration, withdrawal and 2 weeks after the time, respectively. **Results** During the administration of glucose in treated group was significantly lower than that in control group ($P < 0.05$). The liver function indexes in high dose group were significantly higher than those in control group (AST and ALT activities), and their liver cells degenerated. No changes were found in other dose groups. **Conclusion** Oral administration of the extract of *Lithocarpus litseifolius* could lower the blood glucose level. Repeated administration of this extract could lead to reversible damage to the liver function.

【Key words】 *Lithocarpus litseifolius*; Rat; Long-term toxicity

多穗柯提取物是从壳斗科植物木姜叶柯 [*Lithocarpus litseifolius* (Hance) Chun] 干叶提取的总黄酮, 味甜, 可作茶饮^[1]。药效试验证明其有良好的调节血糖作用, 降大鼠血糖有效剂量为 0.1 g 提取物/kg^[2-3]。为考察该提取物长期服用可能产生的毒性反应, 我们按《中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则》^[4]之要求, 进行大鼠 25 周灌胃的毒性试验研究。

1 材料与方法

1.1 受试物 多穗柯提取物是广西中医药研究院从木姜叶柯干叶提取的干膏粉, 含总黄酮 80% 以上, 易溶于水, 批号 081025。试验时以蒸馏水配成所需浓度 (0.20 g、0.10 g、0.05 g 提取物/ml) 使用。干膏粉置阴凉干燥处密封存放。

1.2 试验动物 Wistar 大鼠, 清洁级, 雌雄各半, 6~7 周龄, 体重 (85 ± 15) g, 购自广西医科大学实验动物中心, 许可证: SCXK 桂 2003-0003。

试验在 SPF 级动物实验室进行, 许可证 (syxk 桂 2008-0001), 温度 (23 ± 2) °C, 湿度 50% ~ 70%。试验期间每日超摄食量投放大鼠配合饲料, 自由摄食。配合饲料含玉米粉、鱼粉、骨粉、麸糠、豆粕、鱼肝油、复合 B 族维生素、矿物质等, 其质量符合鼠配合饲料标准 (GB14924.3-2001)。每周更换灭菌垫料 2 次。

1.3 仪器和试剂 显微镜和 DP-20 数码成像系统, 日本 OLYMPUS 出品。血凝仪, 济南金浩公司产品。全自动生化分析仪, 张家口奥普深公司出品。全自动血细胞分析仪, 深圳迈瑞公司生产。血清 15 项生化指标测定试剂盒, 中生北控生物科技股份有限公司生产, 批号 090511、090813、090820。凝血酶原时间测定试剂盒: 上海太阳生物技术有限公司, 批号 090508、090806、090817。

1.4 试验方法^[5] 取大鼠 200 只, 随机分为 3 个给药组 (高、中、低剂量组) 和一个给水对照组, 每组 50 只 (雌雄各 25 只)。适应饲养 1 周后, 记录各组每只大鼠初始体重。高、中、低剂量组每天按 10 ml/kg 灌胃量, 灌浓度分别为 0.20 g、0.10 g、0.05 g 提取物/ml 药液 1

次, 剂量分别为 2.0 g、1.0 g、0.5 g 提取物/kg, 给水对照组同法灌胃蒸馏水 10 ml/kg。每周根据体重调整灌药量 1 次, 等量灌胃 6 d, 连续 25 周。试验期间观察动物毒性反应、记录各鼠日饲料消耗量和 1 周体重增量。分别于给药中期 (给药 13 周) 和停药时 (给药 25 周), 每组取 20 只 (雌雄各 10 只) 大鼠, 采血测定 16 项血液学指标; 并分离血清测定 15 项生化指标; 取心脏等 12 个重要器官称重, 计算脏器重量占体重百分量 (脏器系数); 取大脑等 29 处组织作病理学检查。停药后 2 周, 取剩余大鼠同法检测相同项目。

1.5 检测项目 (1) 血液学指标 (16 项): 红细胞计数、血红蛋白量、红细胞压积、红细胞容积、红细胞血红蛋白量、红细胞血红蛋白浓度、网织红细胞计数、白细胞计数、淋巴细胞数、中间型细胞数、粒细胞数、淋巴细胞百分数、中间型细胞百分数、粒细胞百分数、血小板、凝血酶原时间。(2) 血清生化指标 (15 项): 天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、碱性磷酸酶、总蛋白、白蛋白、总胆固醇、甘油三酯、血糖、尿素氮、肌酐、总胆红素、肌酸磷酸激酶、钠离子浓度、钾离子浓度、氯离子浓度。(3) 重量称定的重要器官 (12 个): 心、肝、脾、肺、肾、脑、肾上腺、胸腺、睾丸、附睾、子宫、卵巢。(4) 病理检查的主要组织 (29 个): 大脑 (包括小脑和脑干)、脊髓 (包括颈、胸和腰段)、垂体、胸腺、甲状腺、甲状旁腺、食管、唾液腺、胃、小肠、大肠、肝、肾、肾上腺、脾、胰、气管、肺、主动脉、心、睾丸、附睾、卵巢、子宫、坐骨神经、膀胱、骨髓、淋巴结。

1.6 统计学分析 各组各时期检测数据用 SPSS 软件作统计学处理, 重复测量的计量资料作方差分析。给药组与给水对照组比较采用 t 检验或 t 检验、球形检验、组间因素一元方差分析检验、组内因素重复效应及交叉效应方差分析检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对大鼠一般情况的影响 试验期间各组大鼠的

行为活动、摄食量等一般表现无异常,眼、鼻等部位腺体分泌正常,排棕褐色成型软便,皮毛色泽光亮,无中毒症状和中毒死亡。各组动物个鼠采食活跃,雌雄有别,雄鼠采食量略多于雌鼠,同性别鼠同时期各给药组与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$),试验7周后成年个鼠日饲料摄食量,雌性(10 ± 3)g,雄性(12 ± 3)g,提示试验所用饲料适食,每天灌服药液对大鼠进食、消化无明显影响,饲料对试验干扰较小。各组大鼠体重日渐增长,至试验结束时,所有存活大鼠体重均在(450 ± 30)g,较给药前增重(350 ± 50)g。同时期雄鼠略重于雌鼠,1周增重量,同性别鼠同时期给药组与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$),提示饲料转化为大鼠体质体能情况正常,给药对大鼠生长无明显影响。给药中期、停药时和停药后2周检查,12个重要器官脏器系数,同时期同性别给药组与对照组比较,组间差异无统计学意义($P>0.05$),提示试验期间大鼠重要器官没有增生、萎缩、水肿等严重病变。

2.2 对大鼠血液学指标的影响 各时期16项血液学指标,同时期同性别给药组与对照组比较,组间差异无统计学意义($P>0.05$)。提示试验期间大鼠无明显的贫血,白细胞、血小板、造血功能、凝血机制等无异常改变。

2.3 对大鼠血清生化学指标的影响 各时期检查,12项血清生化学指标(碱性磷酸酶、总蛋白、白蛋白、总胆固醇、三酰甘油、尿素氮、肌酐、总胆红素、肌酸磷酸激酶、钠离子浓度、钾离子浓度、氯离子浓度),同时期同性别给药组与对照组比较,组间差异无统计学意义($P>0.05$)。提示试验期间大鼠血脂质、血蛋白、肾功能、电解质正常。给药期间各给药组血糖低于同性别对照组,组间差异有统计学意义($P<0.05$),见表1。此与药效学试验结果相一致,提示大鼠用药期间血糖降低。另2项肝功能指标(ALT和AST)给药各时期,停药后2周,中、低剂量给药组与对照组比较,组间差异无统计学意义($P>0.05$)。表明较低剂量($<1\text{ g 提取物}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、或者短期(<13 周)给药没有造成肝功能损害。停药时高剂量组ALT和AST升高,与同时期同性别对照组比较,组间差异有统计学意义($P<0.05$),见表2、表3。提示试验后期大剂量($2\text{ g 提取物}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)给药会造成肝功能损害。综合结果表明本提取物长期(25周)大剂量($2\text{ g 提取物}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)灌胃会对大鼠肝功能造成损害,但已受损害的肝功能在停药后是可以恢复的,这种肝功能损害是可逆性的。

表1 多穗柯提取物长期毒性试验
各组大鼠各时期血糖比较($\bar{x}\pm s$,mmol/L)

Table 1 Comparison of the serum glucose in rats of the extract of Lithocarpus litseifolius in long-term toxicity test among various period ($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

组别	性别	剂量 (g/kg)	给药中期 (n=10)	停药时 (n=10)	停药后2周 (n=5)
对照组	雄		6.11±1.185	6.20±1.042	6.23±0.907
	雌		5.84±0.943	5.68±1.254	6.09±1.066
高剂量组	雄	2.0	4.90±1.041*	4.99±1.074*	4.82±0.862*
	雌		4.38±1.371*	4.40±1.403*	5.43±0.606
中剂量组	雄	1.0	4.93±1.244*	5.02±1.070*	5.41±0.593
	雌		4.75±1.169*	4.42±1.063*	5.42±0.577
低剂量组	雄	0.5	5.06±0.993*	5.17±0.966*	5.56±0.440
	雌		4.87±0.904*	4.54±0.922*	6.01±0.513

注:与对照组比较,* $P<0.05$ 。

表2 多穗柯提取物长期毒性试验
大鼠血清天门冬氨酸氨基转移酶比较($\bar{x}\pm s$,U/L)

Table 2 Comparison of the serum AST in rats of the extract of Lithocarpus litseifolius in long-term toxicity test($\bar{x}\pm s$,U/L)

组别	性别	剂量 (g/kg)	给药13周 (n=10)	给药25周 (n=10)	停药后2周 (n=5)
对照组	雄		171.12±49.757	169.30±62.308	198.70±52.887
	雌		165.34±39.289	177.31±57.415	206.80±47.360
高剂量组	雄	2.0	205.71±53.064	252.76±82.083*	218.49±29.074
	雌		202.25±62.501	284.68±65.171#	188.12±36.400
中剂量组	雄	1.0	209.65±52.304	222.70±79.791	193.19±29.525
	雌		198.36±56.095	224.45±64.252	207.77±42.732
低剂量组	雄	0.5	187.93±68.312	186.53±66.116	212.18±36.649
	雌		188.42±54.067	197.50±55.624	197.87±26.191

注:与对照组比较,* $F=8.977,P<0.05$,# $F=5.939,P<0.01$ 。

表3 多穗柯提取物长期毒性试验
大鼠血清丙氨酸氨基转移酶比较($\bar{x}\pm s$,U/L)

Table 3 Comparison of the serum ALT in rats of the extract of Lithocarpus litseifolius in long-term toxicity test($\bar{x}\pm s$,U/L)

组别	性别	剂量 (g/kg)	给药13周 (n=10)	给药25周 (n=10)	停药后2周 (n=5)
对照组	雄		63.30±9.833	58.01±12.248	57.06±12.261
	雌		61.57±9.397	61.53±11.475	57.62±7.714
高剂量组	雄	2.0	72.92±14.737	84.62±23.275*	65.06±10.237
	雌		69.33±14.540	95.10±26.458#	59.24±11.107
中剂量组	雄	1.0	68.63±11.864	67.81±16.267	62.77±13.488
	雌		67.50±14.529	71.30±13.775	65.45±16.204
低剂量组	雄	0.5	68.49±13.887	64.51±11.842	67.30±9.561
	雌		68.00±16.807	67.83±14.277	63.48±13.169

注:与对照组比较,* $F=12.618,P<0.05$,# $F=7.166,P<0.01$ 。

2.4 大鼠病理组织学检查 高剂量组停药时检查, 28 处肝外组织(大脑(包括小脑和脑干)、脊髓(包括颈、胸和腰段)、垂体、胸腺、甲状腺、甲状旁腺、食管、唾液腺、胃、小肠、大肠、肾、肾上腺、脾、胰、气管、肺、主动脉、心、睾丸、附睾、卵巢、子宫、坐骨神经、膀胱、骨髓、淋巴结) 显微镜下表现与给水对照组比较差异无统计学意义, 未见有与给药相关的明显病理改变。给药中期和停药后 2 周, 各组肝组织病理检查见肝细胞呈多边形, 核圆大, 可见核仁, 肝索和肝窦呈放射状排列, 星状细胞散在性分布, 中央静脉、汇管区、各级血管及胆管结构正常, 未见异常物质沉积, 为正常肝组织结构。给药 25 周, 高剂量组肝组织病理检查见肝细胞肿胀、圆大, 肝索和肝窦排列紊乱, 中央静脉和汇管区扩大, 病理确诊为肝细胞水肿变性(图 1)。提示高剂量组大鼠用药后期(给药 25 周) 肝细胞变性, 但这种肝细胞变性是可逆的, 在停药后可以恢复为正常肝细胞。

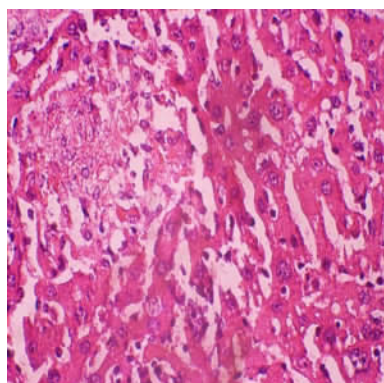


图 1 多穗柯提取物长期毒性试验给药 25 周高剂量组大鼠肝细胞变性(HE 染色)

Fig 1 The liver cell degeneration in rats of the extract of lithocarpus litseifolius in the high dose group in long-term toxicity test at the 25th week

3 讨论

试验期间给药组大鼠血糖降低, 这与我们既往的药效学试验结果相一致, 可能是其中黄酮类物质根皮素起降糖作用^[8], 确切结论有待进一步研究。

长期毒性研究是新药临床前安全性评价的重要内容之一, 中药制剂成分复杂, 难免会对某些靶器官造成损害。肝脏是药物代谢的主要器官, 药物中毒性肝损害也就比较常见。中药提取物引起肝功能降低、肝细胞变性比较常见, 多与中药成分复杂有关, 某些黄酮类物质、有机酸类成分等长期大量经肝代谢, 均可造成肝损害^[9]。肝细胞变性一般都是可逆性的, 停药后可以恢复; 肝细胞坏死则多是不可逆的, 其后往往向肝硬化方向发展。本试验低剂量(0.5 g 提取物/kg) 高于降糖有效剂量(0.1 g 提取物/kg), 高剂量(2 g 提取物/kg) 为降糖有效剂量的 20 倍。除高剂量组在给药 25 周出现可逆性肝功能损害、肝细胞变性改变外, 未见其他毒性反应。表明多穗柯提取物在低于降糖有效剂量下使用比较安全。

参 考 文 献

- [1] 中科院植物研究所. 中国高等植物图鉴(第 22 册) [M]. 北京: 科学出版社, 1998: 201.
- [2] 杨 勇, 彭炳华. 保健甜茶——多穗柯的研究与开发 [J]. 时珍国药, 2007, 18(4): 1 014 - 1 015.
- [3] 董华强, 宁正强. 多穗柯黄酮根皮苷对糖尿病小鼠的降血糖血脂效果 [J]. 食品科学, 2006, 27(12): 714 - 717.
- [4] 韦宝伟, 李 茂, 李伟芳. 多穗柯总黄酮的降糖作用 [J]. 内科, 2008, 3(4): 510 - 512.
- [5] Hassan M, Yazidi C, et al. Phlorizin enhances adipocyte differentiation and adiponectin expression in cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 361(1): 208 - 213.
- [6] 国家食品药品监督管理局. 中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 37 - 59.
- [7] 陈 奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 106 - 165.
- [8] Ehrenkranz JR, Lewis NG, Kahn CR, et al. Phlorizin a review. Diabetes [J]. Metab Rev, 2005, 21(1): 31 - 38.
- [9] 王 敏. 中药致药源性肝损害 [J]. 中国误诊学杂志, 2006, 6(7): 1 388 - 1 390.

(收稿日期: 2010 - 08 - 10 修回日期: 2010 - 09 - 15)

● 健康快车抵柳州为贫困白内障患者提供免费手术

“健康快车”于 10 月 10 日抵达柳州, 计划用 2 个月时间, 为千余名贫困家庭的白内障患者免费实施复明手术。柳州市残联已对全市 6 县 4 城区的白内障病源进行筛查, 符合手术条件的患者 1 312 例。