

地奥心血康动物长期毒性实验

王诗华¹ 谭永红¹ 何 民²

(1 成都市天回镇成都军区总医院药剂科,610083 ;2 成都地奥制药集团有限公司)

关键词 毒性实验 ;@ 地奥心血康

本实验观察大鼠灌服地奥心血康 6 个月对机体产生的毒副反应和严重程度,提供毒性反应的靶器官并观察其损害是否可逆,确定无毒反应剂量,为临床安全用药提供依据,现将实验资料报告如下。

1 实验材料

1.1 动物 160 只 SD 大鼠,雌雄各半,体重 90 ~ 110g,大鼠质量符合一级标准(动物合格证:川实动管 99 - 32),由四川抗菌素工业研究所实验动物中心提供。

1.2 试药 地奥心血康批号 2001113,深咖啡色,不溶于水,临用时用 0.5% CMC 悬液配制成所需浓度的混悬液,由成都地奥制药集团有限公司提供。

1.3 动物饲料配方的营养成份:水份 8.53%,粗蛋白 25.1%(精蛋白 24.6%),粗脂肪 7.33%,粗灰份:7.5%,精纤维 2.14%,无氮浸出物 48.4%,能量:4.34 兆卡/kg。

1.4 动物饲养条件:在有空调的动物观察室(室温 25℃,相对湿度 50%),每笼 5 只动物,随时添加饲料并记算饲料消耗量,每周更换垫料 3 次。

1.5 试验仪器 奥林巴斯 AU-400 全自动生化仪;东亚 F-820 血球计数仪。

2 实验方法

2.1 动物分组,剂量及给药途径 160 只 SD 大鼠,随机均分 4 组,每组 40 只,用药组设高、中、低 3 个剂量,

根据人用剂量设 1g/kg、0.5g/kg、0.25g/kg(分别为临床成人用量的 100、50、25 倍)3 个剂量组,3 个剂量组浓度分别为 100mg/ml、50mg/ml、25mg/ml,每天灌胃给药 1 次,连续 6 个月,给药体积均为 1ml/100g 体重。另一组为对照组,灌服等体积的 0.5% CMC 悬液,每周称体重 1 次并调整剂量。

2.2 检测项目及检测时间 大鼠在用药期间每天观察其外观症状,包括大小便、精神、活动、皮毛色泽等,用药 3 个月后每组活杀 10 只大鼠,末次给药后次日每组活杀 20 只大鼠,取血检查血液学指标,用玻片染色法检测网红细胞,用试管法测凝血时间,分离血清用自动生化仪测定血液生化指标。每次取血前停食不停水 24 小时,解剖处死大鼠,用肉眼观察各主要脏器有无病变,同时取脑、胸腺、心脏、肺脏、肝脏、脾脏、肾脏、肾上腺、卵巢、子宫、睾丸、前列腺、甲状腺等称重,并计算脏器系数,取上述所有脏器及胸骨、淋巴、十二指肠、回肠、结肠、胃等部位固定于 10% 福尔马林溶液中,作常规病理学检查。

2.3 停药后的观察 用药 3 个月后及末次给药后次日除活杀部分实验动物外,其他大鼠继续饲养观察,包括外观症状,每周称体重 1 次,仍定时加饲料并计算饲料消耗量。停药恢复 1 个月后活杀所有停药恢复大鼠,按上述相同方法作血液学,血液生化学及组织病理的检

表 1 大鼠长期(3 个月)灌服地奥心血康对体重的影响(单位:g, $\bar{x} \pm s$)

时间	雄性				雌性			
	1g/kg (n=20)	0.5g/kg (n=20)	0.25g/kg (n=20)	对照组 (n=20)	1g/kg (n=20)	0.5g/kg (n=20)	0.25g/kg (n=20)	对照组 (n=20)
用药前 1 周	104.5 ± 9.5	103.6 ± 8.8	104.9 ± 8.1	105.3 ± 8.6	96.5 ± 8.3	102.5 ± 9.1	97.8 ± 10.5	98.9 ± 8.0
用药 0 周	154.5 ± 18.2	152.8 ± 16.6	150.4 ± 16.6	155.7 ± 15.0	134.5 ± 13.6 [△]	145.8 ± 12.4	139.3 ± 16.6	143.4 ± 13.2
用药 1 周	172.6 ± 21.9	168.0 ± 19.3 [△]	175.6 ± 25.0	184.4 ± 23.8	158.9 ± 17.4	163.1 ± 11.9	161.5 ± 17.7	157.1 ± 15.9
用药 2 周	218.3 ± 26.7	220.8 ± 24.7	221.1 ± 39.9	234.4 ± 30.4	181.8 ± 15.9 ^{△△}	191.7 ± 16.9	189.5 ± 20.9	202.7 ± 18.6
用药 3 周	247.2 ± 29.0	251.0 ± 26.5	255.6 ± 43.3	261.7 ± 32.1	209.5 ± 14.5 [△]	206.4 ± 17.9 [△]	217.2 ± 23.0	222.5 ± 20.7
用药 4 周	280.9 ± 32.5 [△]	286.2 ± 27.6	290.1 ± 49.9	304.2 ± 35.4	219.2 ± 16.5 [△]	217.9 ± 22.2 [△]	228.1 ± 26.9	235.6 ± 27.3
用药 5 周	305.4 ± 28.0 [△]	309.0 ± 29.8	314.9 ± 52.5	329.0 ± 35.8	239.2 ± 17.7	236.8 ± 24.3	247.5 ± 25.5	239.3 ± 57.8
用药 6 周	324.1 ± 34.3 [△]	329.2 ± 35.4	328.2 ± 57.4	353.1 ± 40.0	239.5 ± 18.8 [△]	246.4 ± 26.6	253.7 ± 27.6	258.6 ± 27.7
用药 7 周	328.5 ± 28.5 ^{△△}	342.4 ± 38.3	343.6 ± 57.0	363.9 ± 41.7	256.7 ± 19.6	256.9 ± 26.7	261.0 ± 27.7	269.9 ± 28.8
用药 8 周	357.8 ± 29.9 [△]	369.7 ± 48.8	368.6 ± 67.7	390.6 ± 48.3	267.5 ± 18.9	262.5 ± 28.9	272.2 ± 31.2	273.9 ± 29.7
用药 9 周	364.8 ± 30.5 [△]	379.3 ± 51.1	383.4 ± 73.5	396.0 ± 56.7	278.0 ± 22.0	274.7 ± 30.3	279.2 ± 32.7	281.5 ± 27.8
用药 10 周	377.8 ± 31.4 ^{△△}	393.2 ± 46.4	400.4 ± 75.6	421.0 ± 56.0	283.1 ± 23.9	286.3 ± 31.1	291.9 ± 36.3	292.7 ± 29.9
用药 11 周	401.3 ± 33.6 ^{△△}	406.1 ± 51.1 [△]	414.2 ± 67.4	442.6 ± 54.0	290.5 ± 25.3	292.5 ± 31.4	300.4 ± 40.1	293.7 ± 31.4
用药 12 周	403.6 ± 36.0 ^{△△}	410.6 ± 49.9 [△]	417.8 ± 62.3	451.8 ± 55.4	295.8 ± 27.7	294.2 ± 33.6	303.6 ± 39.7	298.4 ± 34.9

表 2 大鼠长期(3 个月)灌服地奥心血康对饲料消耗量的影响(单位:g/100g 体重, $\bar{x} \pm s$)

时间	1g/kg 鼠数(n=40) 笼数(n=8)	0.5g/kg 鼠数(n=40) 笼数(n=8)	0.25g/kg 鼠数(n=40) 笼数(n=8)	对照组 鼠数(n=40) 笼数(n=8)
用药前 1 周	122.1 ± 12.2	126.9 ± 9.6	126.7 ± 12.8	126.7 ± 8.5
用药 1 周	85.1 ± 5.4	85.9 ± 7.9	90.1 ± 10.6	82.5 ± 4.8
用药 2 周	84.6 ± 10.8	91.5 ± 11.6	88.5 ± 4.0	91.1 ± 7.2
用药 3 周	69.9 ± 6.2	71.6 ± 7.8	74.3 ± 7.6	70.2 ± 6.3
用药 4 周	55.1 ± 5.4	56.4 ± 3.2	55.4 ± 2.2	57.4 ± 3.2
用药 5 周	67.7 ± 3.6	69.2 ± 4.6	68.7 ± 4.5	66.4 ± 4.8
用药 6 周	56.1 ± 2.2	58.3 ± 4.0	54.9 ± 3.1	56.1 ± 4.2
用药 7 周	57.9 ± 6.6	56.3 ± 5.1	56.3 ± 5.8	56.2 ± 6.6
用药 8 周	56.6 ± 3.6	54.8 ± 3.9	56.7 ± 6.2	55.5 ± 5.3
用药 9 周	49.0 ± 5.7	49.6 ± 3.8	50.6 ± 6.4	51.0 ± 6.2
用药 10 周	48.8 ± 3.5	48.7 ± 5.4	49.2 ± 6.1	51.5 ± 4.7
用药 11 周	48.2 ± 2.7	45.7 ± 4.1	48.8 ± 6.3	47.9 ± 5.6
用药 12 周	40.8 ± 5.0	39.5 ± 2.7	41.1 ± 6.0	39.8 ± 4.8

查,观察出现毒性的指标及器官组织的恢复情况。

3 实验结果

3.1 临床症状的观察 :用药期间动物行为、皮毛色泽未见异常、未见腹泻,地奥心血康对大鼠体重的影响结果见表 1。从表 1 可以看出大鼠灌服地奥心血康高、中剂量在 12 周之前体重明显低于对照组,尤其是雄性

大鼠更明显。大鼠长期(3 个月)灌服地奥心血康对饲料消耗量的影响结果见表 2。如表 2 所示大鼠长期(3 个月)灌服地奥心血康对饲料消耗量无影响。

3.2 血液生化指标检查结果 :大鼠长期(3 个月)灌服地奥心血康对血液生化指标的影响结果见表 3。从表 3 可以看出大鼠长期(3 个月)灌服地奥心血康对血液生化指标的影响主要是总蛋白升高。

3.3 血液学指标检查结果 :大鼠长期(3 个月)灌服地奥心血康对血液学指标的影响见表 4。如表 4 所示大鼠长期(3 个月)灌服地奥心血康对血液学指标只有中剂量组(0.5g/kg)红细胞数及血红蛋白低于对照组,而高剂量组并未出现这种差异,可见中剂量组出现的红细胞数及血红蛋白降低也可能是偶然出现。

3.4 组织病理学检查结果 :用药 3 个月 after 每组活杀 10 只大鼠,末次给药后次日每组活杀 20 只大鼠,解剖大鼠,肉眼观察主要脏器未见病变,取脏器称重并计算脏器系数,大鼠长期(3 个月)灌服地奥心血康对脏器系数的影响结果见表 5。如 5 所示,除用药 3 个月时高剂量组(1g/kg)脾脏系数大于对照组外,其他所有脏器系数与对照组比较均无差异。

表 3 大鼠长期(3 个月)灌服地奥心血康对血液生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

检测时间	组别	ALT (1u/L)	AST (1u/L)	AL P(1u/L)	BUN (mmol/L)	Gr (μmol/L)	TP (g/L)	ALB (g/L)	T-Bil (μmol/L)	T-Cho (mmol/L)	GLU (mmol/L)
	1g/kg	53.0 ± 24.2	264.7 ± 44.0	267.8 ± 73.0	7.47 ± 0.73	80.1 ± 7.9	89.7 ± 3.6 [△]	42.2 ± 4.9	2.86 ± 0.77 [△]	1.09 ± 0.13	3.28 ± 0.89
用药	0.5g/kg	41.8 ± 8.9	242.4 ± 39.8	285.3 ± 66.3	7.60 ± 1.61	77.3 ± 7.4	86.8 ± 5.1	42.6 ± 4.0	2.18 ± 0.65	1.07 ± 0.25	3.37 ± 0.48
3 个月	0.25g/kg	45.5 ± 13.7	233.0 ± 48.9	263.3 ± 101.1	8.35 ± 1.97	80.7 ± 7.5	86.7 ± 5.5	43.1 ± 4.2	2.50 ± 0.76	1.21 ± 0.20	2.91 ± 0.75
(n=10)	对照组	47.7 ± 8.1	238.4 ± 49.0	271.4 ± 81.2	6.77 ± 1.18	78.6 ± 9.2	82.3 ± 8.7	41.5 ± 7.3	2.05 ± 0.67	1.01 ± 0.23	3.06 ± 0.68

表 4 大鼠长期(3 个月)灌服地奥心血康对血液学指标的影响

检测时间	组别	RBC(×10 ¹² /L)	HB(g/L)	Ret(%)	WBC(×10 ⁹ /L)	WBC 分类 M(%) L(%)		PLT(×10 ⁹ /L)	CT(min)
	1g/kg	8.35 ± 0.75	176.1 ± 7.0	2.28 ± 0.77	14.54 ± 8.95	32.4 ± 9.2	67.6 ± 9.2	1047.8 ± 265.3	1.41 ± 0.46
用药	0.5g/kg	7.48 ± 0.82 [△]	167.0 ± 14.2 [△]	2.32 ± 2.23	11.93 ± 3.97	34.8 ± 6.5	65.2 ± 6.5	1011.1 ± 222.0	1.47 ± 0.45
3 个月	0.25g/kg	8.63 ± 0.64	180.5 ± 8.1	1.91 ± 1.17	13.97 ± 8.83	35.0 ± 4.5	65.0 ± 4.5	1134.8 ± 166.4	1.56 ± 0.59
(n=10)	对照组	8.56 ± 0.95	185.9 ± 15.3	2.07 ± 1.21	9.35 ± 3.23	37.5 ± 10.3	62.5 ± 10.3	1255.6 ± 337.3	1.52 ± 0.46

表 5 大鼠长期(3 个月)灌服地奥心血康对脏器重量(折成系数)的影响($\bar{x} \pm s$)

检测时间	组别	脑(mg/100g 体重)	胸腺(mg/100g 体重)	心脏(mg/100g 体重)	肝脏(mg/100g 体重)	脾脏(mg/100g 体重)	肾上腺(mg/100g 体重)	肾脏(mg/100g 体重)	前列腺(mg/100g 体重)	卵巢(mg/100g 体重)	睾丸(mg/100g 体重)	子宫(mg/100g 体重)	甲状腺(mg/100g 体重)	肺脏(mg/100g 体重)
	1g/kg	508.6 ± 76.5	136.7 ± 43.4	327.3 ± 48.2	2.69 ± 0.42	236.8 ± 29.8 ^{△△}	21.3 ± 7.8	603.6 ± 86.7	134.0 ± 19.8	39.4 ± 9.3	748.0 ± 31.5	193.8 ± 57.0	7.21 ± 2.00	551.3 ± 92.2
用药	0.5g/kg	518.6 ± 105.8	125.4 ± 49.4	314.1 ± 116.8	2.54 ± 0.14	219.5 ± 59.2	21.3 ± 8.4	608.9 ± 50.8	148.8 ± 53.4	47.2 ± 9.3	779.0 ± 50.8	147.8 ± 25.3	6.71 ± 1.97	523.7 ± 114.4
3 个月	0.25g/kg	519.9 ± 112.3	138.7 ± 38.9	323.7 ± 49.9	2.39 ± 0.22	192.9 ± 24.6	21.0 ± 6.9	585.6 ± 88.2	136.6 ± 39.5	43.3 ± 5.5	710.6 ± 127.0	183.4 ± 32.1	7.59 ± 2.40	562.0 ± 157.9
(n=10)	对照组	502.3 ± 40.8	121.8 ± 32.7	342.2 ± 55.3	2.58 ± 0.47	195.0 ± 33.0	20.9 ± 7.2	651.5 ± 73.8	146.0 ± 30.1	50.3 ± 11.3	702.0 ± 113.1	170.6 ± 52.6	6.17 ± 1.27	496.3 ± 55.1

病检结果:常规病理检查结果,脑及脊髓:未见出血、炎性渗出、增厚,神经细胞未见变性、坏死。心脏:未见纤维组织增生和炎症细胞浸润,心肌细胞未见水样、空泡、脂肪变性,细胞核居中、结构清晰。肝脏:小叶结构完整,未见增生及假小叶形成,肝细胞未见浊肿、水样变性、脂变,也未见肝细胞增生、纤维化。肾脏:被膜完整,未见结缔组织增生及炎性渗出、肾小球未见血管增生,亦无变性、坏死。甲状腺:无增生、增厚以及炎细胞浸润,滤泡内胶质均匀一致,未见变性、坏死、出血。神经垂体和腺垂体:未见变性、坏死、出血。脾脏:被膜及脾小梁纤维结缔组织未见增生,其间无炎症细胞浸润,白髓边缘区内 T 细胞 B 细胞数量未见减少,亦无萎缩。肺脏:层胸膜无结缔组织增生增厚,未见炎性渗出,各级支气管管腔内及肺泡内未渗出水肿液、出血及炎症细胞浸润。部份大鼠见细小支气管周围淋巴细胞浸润或部份肺泡壁增厚伴淋巴单核细胞浸润。胸腺:被膜纤维结缔组织完整,未见增生及炎性渗出,皮质内淋巴细胞未见萎缩、淋巴细胞数量未见减少。肾上腺:被膜完整,未见纤维组织增生及炎性渗出,皮质内球状带、束状带及网状带结构完好,髓质内未见出血、坏死及炎症细胞浸润。胃、十二指肠、回肠、结肠:黏膜单层柱状上皮固有层及黏膜肌层结构完好,未见变性及炎性渗出,亦无坏死脱落,肌层及浆膜亦无炎症细胞浸润。膀胱:黏膜、肌层、浆膜三层完好,未见

变性、坏死及炎症细胞浸润。卵巢:原始卵泡、生长卵泡及成熟卵泡形态及数量正常,无萎缩、变性及坏死,亦无炎症细胞浸润。子宫:子宫内膜完整,未见增生、萎缩、浆膜层未见异常。胰腺:薄层纤维组织无增厚及炎细胞浸润,黏液性和浆液性腺泡未见增多增生,亦无变性及坏死,腺泡实质内未见出血及炎症细胞浸润。睾丸及附睾:未见病理变化。淋巴结:皮、髓质结构完好,未见淋巴小结增生。胸骨、骨髓:未见病理变化。

上述观察结果表明,在长期毒性实验中,地奥心血康对大鼠心、脑、肝、肾、甲状腺、垂体、脾、胸腺、肾上腺、胃、膀胱、子宫、卵巢、胰腺、睾丸、淋巴结、胸骨、骨髓等组织均无明显的病理性损伤。部分大鼠肺部见少许轻微病变,考虑系感染或灌胃所致。

4 结论

给药后 3 个月时高剂量组雌雄大鼠体重明显低于对照组,中、低剂量组略低于对照组,但不明显,各组饲料消耗量基本一致;除高剂量组总蛋白和总胆红素明显升高外,其余血液生化指标各组无明显差异;除高剂量组脾脏系数明显大于对照组外,各组脏器系数无明显变化;各组器官的病理学检查未见明显病变。本报告为阶段性报告,实验还在继续进行,现在表现出的异常现象是否会随着实验进行而有所变化及停药后可否恢复正常,都有待实验的继续进行。

(2007-03-21 收稿)

(上接第 167 页)

- 15 田元祥,赵建新,曹刚,等.电针肾俞、膈俞、百会穴对拟血管性痴呆小鼠免疫器官的影响.河北中医,2001,23(1): 67.
- 16 刘群霞,张中成,张怀亮.针刺为主治疗急性缺血性中风的疗效观察.中国针灸,2001,21(10): 583~585.
- 17 李继安.通关开窍针刺法治疗缺血性中风早期偏瘫的临床研究.北京中医药大学学报,2005,28(5): 90~92.
- 18 李建兵,陆金平,王欣君.针刺对缺血性脑血管病胰岛素敏感指数、TNF- α 影响的临床观察.江苏中医药,2005,26(11): 38~39.
- 19 廖维靖译, Frank Wiegand, U Lrich, Dirnagl. 脑缺血损伤的病理生理机制-损伤级联反应.国外医学·脑血管疾病分册,1998,6(4): 197~202.
- 20 黄艳军.脑缺血细胞凋亡的多元调节及其保护机制.国外医学脑血管病分册,2002,10(1): 59~71.
- 21 许能贵,易韦,马勤耘,等.电针对大鼠局灶性脑缺血后神经元损伤保护作用的研究.中国针灸,2000,4: 237~240.
- 22 郑重,邓晓筑,张泉,等.电针改善颈源性感觉神经听力损失的电生理研究.中国针灸,2004,24(2): 119~123.
- 23 郭佳,张莉.脑缺血耐受与针灸的脑保护作用.中国临床康复,2002,6(1): 116.
- 24 来丽萍.针刺对多发梗塞性痴呆模型大鼠影响的实验研究.天津中医学院 94 级博士毕业论文,1997,5: 47.
- 25 王黎,唐纯志,赖新生.电针对血管性痴呆大鼠学习记忆能力及脑组织中自由基生成系统的影响.中医杂志,2003,44(1): 25~27.
- 26 董裕.针刺对暂时性脑缺血脑内一氧化氮合酶及神经细胞死亡的影响.针刺研究,2000,20(1): 8.

- 27 施静.电针对局灶性脑缺血再灌注大鼠大脑皮层一氧化氮的影响.针刺研究,1999,24(4): 268~273.
- 28 金竹青,程介士.电针对大鼠脑中动脉阻塞大鼠脑内一氧化氮合酶表达的影响.针刺研究,1998,18(2): 126~130.
- 29 傅立新,石学敏,李平,等.针刺对脑缺血及再灌注家兔脑水肿,自由基病理学损伤的保护作用及相关性分析.中国中医基础医学杂志,2000,6(2): 52.
- 30 陈志强,耿雅萍,张吉,等.电针对脑局部缺血再灌注损伤大鼠自由基的影响.中国针灸,1998(7): 409.
- 31 刘一凡,石学敏,韩景献,等.针刺对快速老化脑萎缩模型小鼠脑抗氧化酶活性的影响.中国针灸,2002,22(5): 327~330.
- 32 孙忠人,张力,唐伟,等.针刺预处理对全脑缺血大鼠脑组织细胞凋亡的影响.中国临床康复,2006,10(15): 144~145.
- 33 董勤,陆平成,许冬青,等.针刺对实验性变态反应性神经炎 T 细胞亚群的调节作用.中国针灸,2004,24(10): 720~722.
- 34 王舒,石学敏,张春红,等.针刺对实验性脑梗塞(MCAO)模型大鼠脑细胞凋亡及 c-fos 基因表达影响的研究.天津中医,2001,18(4): 56.
- 35 王舒,鲁斌.醒脑开窍针刺法干预实验性脑梗塞大鼠热休克蛋白基因表达研究.中国针灸,2001,21(2): 107~112.
- 36 王舒,郑灏泳.醒脑开窍针刺法对大鼠脑中动脉阻断后局灶性脑缺血大鼠神经细胞功能的影响.现代康复,2001,5(3): 53.
- 37 李力.不同穴位对冠心病患者全心功能的影响.上海针灸杂志,1992,11(3): 5~26.
- 38 陈汉平.现代中医药应用与研究大全.上海中医药大学出版社,1995: 200.

(2007-01-30 收稿)