

泽泻 60 天大鼠喂养试验研究

段雪英 王军波 尹喜玲 闫少芳 肖颖

(北京大学公共卫生学院,北京 100083)

摘要:为评价泽泻的安全性,采用大鼠 60 d 喂养的方法,动物经口灌胃给予泽泻水煎液,以研究其亚慢性毒性。结果显示:泽泻水煎液的低、中、高 3 个给药组(剂量分别为 8.3、16.7 和 33.3 g/kg BW,相当于临床用量的 50、100 和 200 倍)与对照组相比,体重和食物利用率组间的差异无显著性($P > 0.05$);血尿素氮(BUN)有升高的趋势,高剂量组与对照组相比,差异有显著性($P < 0.05$),但均未超出正常范围;中、高剂量组大鼠尿 γ -谷氨转移酶(γ -GT)活性高于对照组,差异有显著性($P < 0.05$),血、尿常规及生化指标无与所给受试物相关的异常变化;高剂量组大鼠肝/体比值和肾/体比值高于对照组,但病理组织学检查结果表明各实验组大鼠肝脏、肾脏、脾和睾丸均无明显的病理性损伤。以上结果表明在本实验条件下,泽泻中、高剂量组大鼠尿 γ -GT 指标有异常改变,但病理组织学检查未见明显病理性损伤。

关键词:泽泻汤;大鼠;毒理学

A 60-day feeding study of *Rhizoma Alismatis Orientalis* in SD rats

Duan Xueying, et al.

(School of Public Health, Peking University, Beijing 100083, China)

Abstract: The subchronic oral toxicity of the aqueous extract of *Rhizoma Alismatis Orientalis* was studied in the present investigation, which was aimed at providing the information for safety evaluation of using *Rhizoma Alismatis Orientalis* as an ingredient of health foods. The aqueous extract of *Rhizoma Alismatis Orientalis* was administered to 4 groups of male SD rats by gavage daily for 60 days at doses of 0 (control), 8.3, 16.7 and 33.3 g/kg BW respectively. At the end of the experimental period, there were no significant differences in body weight and food utilization among the 4 groups. Although serum BUN and the renal enzyme γ -GT were significantly higher in rats fed with *Rhizoma Alismatis Orientalis* at the dose of 33.3 g/kg BW than those found in the control group ($P < 0.05$), other hematological, urinary or biochemical parameters showed no statistically significant differences. Analysis of terminal organ/body weight ratios revealed that kidney/body weight ratio in high-dose group was significantly higher, but no histopathological changes attributable to treatment were observed in kidney or any other organs or tissues. The results showed that some renal function parameters can be affected by high dose of *Rhizoma Alismatis Orientalis*, but histopathological changes were not observed.

Key Words: ZEXIE TANG; Rats; Toxicity

泽泻作为一种历史悠久的传统中药材,是“行利停水,荡涤痰饮之佳品,除湿热之圣药”。大量的临床研究表明,泽泻及其复方在治疗高血脂症、脂肪肝、免疫复合物型及抗基底膜型肾炎、肾结石、高血压、冠心病、腹水及美尼尔氏综合症等常见病方面具有良好的疗效。^[1,2]然而,近年来人们发现长期服用

某些中草药会对人体产生一些毒副作用,中药的安全性备受关注。目前中草药作为保健食品原材料应用得越来越广泛,为了更好地评价泽泻作为保健食品原材料的安全性,本研究对泽泻水煎液进行大鼠 60 d 喂养试验。

基金项目:国家“十五”科技攻关项目(2001BA804A06)。

作者简介:段雪英 女 硕士 研究生

This work was supported by the Grant from National Science and Technology Program Funds of Ministry of Science and Technology, China. (2001BA804A06)

1 材料和方法

1.1 样品及处理 本试验所使用的泽泻水煎液由中国 CDC 营养与食品安全所提供。泽泻以 10 倍体积的蒸馏水浸泡 1 h 后煮沸 30 min,过滤为 I 液;药渣加 5 倍蒸馏水再煮沸 30 min,过滤为 II 液,混合 I 和 II 液,水浴浓缩至实验浓度(1 mL 水煎液相当于泽泻生药量 4 g)。

1.2 主要试剂 尿 γ - 谷氨酰胺转移酶 (γ - GT) 测定试剂盒(比色法)、尿碱性磷酸酶 (ALP) 测定试剂盒(比色法)和尿乳酸脱氢酶 (LDH) 测定试剂盒(比色法)购于南京建成生物研究所;尿中 N - 乙酰 - β - 葡萄糖苷酶 (NAG) 测定试剂购于上海医药工业研究院。

1.3 主要仪器 721 分光光度仪 上海光学仪器厂。

1.4 动物及分组 断乳雄性 SD 大鼠 40 只,体重为 50~60 g,由北京大学医学部实验动物部提供。按体重随机分为对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组,每组 10 只。

1.5 给药方法 按照中华人民共和国药典推荐量(成人每人每天泽泻用量为 10 g),分别扩大 50、100 和 200 倍作为低、中、高剂量。大鼠每日泽泻摄入量分别为 8.3、16.7 和 33.3 g/kg BW,灌胃量按照 1 mL/100 g BW 计,则每毫升灌胃液中含样品分别为 0.83、1.67 和 3.33 g,对照组的大鼠给予等体积蒸馏水灌胃,每日 1 次,连续 60 d,每周根据体重调整灌胃量。各组实验动物均饲以普通饲料,单笼饲养,自由进食及饮水。

1.6 观察指标

1.6.1 一般观察 观察动物的一般活动、症状和死亡情况,每周称体重,记录进食量,计算食物利用率。

1.6.2 血、尿常规和生化及病理组织学检查 试验结束时,分别将各组大鼠放入代谢笼中收集 24 h 尿液,并于次日股动脉采血,分离血清,然后处死动物,取肝、肾、脾、胃肠和睾丸进行大体解剖学观察,称重计算脏器/体重比值。血常规检查指标包括:红细胞计数(RBC)、血红蛋白含量(Hb)、白细胞计数(WBC)及分类(DC)、血小板计数(PC)。尿常规检查包括:外观、比重、pH 值、尿蛋白、尿糖和潜血(半定量)。尿酶活性的检查指标包括:尿 γ - GT、ALP、LDH 和 NAG。血生化检查指标包括:血清天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、总胆固醇(TC)、总胆红素(TBL)、血尿酸(CA)、尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)和血糖(GLU)。病理组织学检查:组织器官用 10 % 甲醛固定,按常规切片、染色,观察病理变化。

1.7 数据处理 所有数据均采用 SPSS 10.0 FOR WINDOWS 软件包进行单因素方差(One Way ANOVA)分析,比较各组间差异。

2 结果

2.1 大鼠的一般状况 实验期间各组大鼠生长良好,一般状况如行为、活动、毛色光泽、精神状况、饮水及粪便均未见明显异常。

2.2 泽泻水煎液对大鼠体重的影响 由表 1 可见,泽泻中、高剂量组体重增长略低于对照组,但差异无

表 1 泽泻水煎液对大鼠体重的影响($\bar{x} \pm s$) g

组 别	动物数	始重	1 周	3 周	5 周	7 周	9 周
对 照 组	10	52.8 $\pm$ 5.2	106.8 $\pm$ 8.5	213.4 $\pm$ 17.3	322.5 $\pm$ 19.8	375.7 $\pm$ 26.7	404.7 $\pm$ 25.7
低剂量组	10	53.1 $\pm$ 4.0	105.4 $\pm$ 6.3	218.4 $\pm$ 18.0	322.7 $\pm$ 25.1	379.4 $\pm$ 41.3	405.1 $\pm$ 49.4
中剂量组	10	53.4 $\pm$ 4.3	105.9 $\pm$ 6.0	215.3 $\pm$ 8.8	315.4 $\pm$ 13.4	352.5 $\pm$ 32.4	375.0 $\pm$ 34.3
高剂量组	10	53.2 $\pm$ 5.3	106.1 $\pm$ 7.0	214.7 $\pm$ 15.5	325.4 $\pm$ 23.2	368.8 $\pm$ 34.8	387.6 $\pm$ 40.8

显著性($P > 0.05$)。

2.3 泽泻水煎液对大鼠总食物利用率的影响 食物利用率(%) = 体重增加量/摄入饲料量 $\times 100\%$,即大鼠每摄入 100 g 饲料所增加的体重克数,见表 2。除泽泻高剂量组大鼠总进食量明显低于对照组外($P < 0.05$),其余各剂量组大鼠的体重增重、总进食量和总食物利用率与对照组比较,差异无显著性($P > 0.05$)。

2.4 泽泻水煎液对大鼠血常规的影响 由表 3 可见,试验结束时,各实验组大鼠的血白细胞计数、红细胞计数和血小板计数与对照组相比,差异无显著性($P > 0.05$)。泽泻中剂量组大鼠血红蛋白高于对照组,高剂量组的分叶细胞比例高于对照组,淋巴细

胞比例低于对照组,差异有显著性($P < 0.05$)。

表 2 泽泻水煎液对大鼠总食物利用率的影响($\bar{x} \pm s$) g

组 别	动物数	体重增重	总进食量	总食物利用率 %
对 照 组	10	351.9 $\pm$ 23.0	1514.8 $\pm$ 93.3	23.3 $\pm$ 1.0
低剂量组	10	352.0 $\pm$ 47.1	1502.9 $\pm$ 16.4	23.3 $\pm$ 1.6
中剂量组	10	321.6 $\pm$ 34.1	1468.5 $\pm$ 68.6	21.9 $\pm$ 1.5
高剂量组	10	334.4 $\pm$ 40.3	1405.3 $\pm$ 04.3 ⁽¹⁾	23.8 $\pm$ 1.8

注:(1)与对照组比较差异有显著性, $P < 0.05$ 。

2.5 泽泻水煎液对大鼠血生化的影响 由表 4、5 可见,试验结束时,各实验组大鼠血中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、总胆固醇(T-CHO)、白蛋白(ALB)、尿酸(UA)、肌酐(Cr)

和葡萄糖 (GLU) 与对照组相比,差异均无显著性。泽泻各剂量组大鼠血总胆红素 (TBL) 低于对照组,差异有显著性 ($P < 0.05$);高剂量组总蛋白高于对

照组,差异有显著性 ($P < 0.05$)。与对照组比较,低、中、高剂量组大鼠尿素氮有逐渐升高的趋势,而高剂量组的升高差异有显著性 ($P < 0.05$)。

表3 泽泻水煎液对大鼠血常规的影响($\bar{x} \pm s$)

组 别	动物数	WBC	RBC	HGB	PLT	DC %	
		$1 \times 10^9/L$	$1 \times 10^{12}/L$	g/L	$1 \times 10^{10}/L$	S	L
对 照 组	10	11.85 $\pm$ 3.39	8.08 $\pm$ 1.05	171.3 $\pm$ 5.9	122.9 $\pm$ 24.6	8.2 $\pm$ 2.1	91.4 $\pm$ 1.9
低剂量组	10	11.76 $\pm$ 1.79	7.94 $\pm$ 0.46	172.7 $\pm$ 6.0	107.6 $\pm$ 15.0	9.1 $\pm$ 2.6	90.7 $\pm$ 2.4
中剂量组	10	11.95 $\pm$ 2.28	8.23 $\pm$ 0.78	180.6 $\pm$ 6.1 ⁽¹⁾	107.5 $\pm$ 11.0	9.5 $\pm$ 2.4	90.0 $\pm$ 2.1
高剂量组	10	14.18 $\pm$ 2.72	7.90 $\pm$ 0.59	175.3 $\pm$ 3.0	122.9 $\pm$ 20.0	10.4 $\pm$ 1.9 ⁽¹⁾	89.2 $\pm$ 1.6 ⁽¹⁾

注:与对照组比较差异有显著性, $P < 0.05$ 。

表4 泽泻水煎液对大鼠血生化的影响($\bar{x} \pm s$)

组 别	ALT	AST	ALP	T-CHO mmol/L	T-BIL μ mol/L
对 照 组	50.0 $\pm$ 8.5	132.8 $\pm$ 12.4	177.0 $\pm$ 41.2	1.67 $\pm$ 0.23	2.00 $\pm$ 0.50
低剂量组	51.2 $\pm$ 7.5	133.2 $\pm$ 30.3	151.2 $\pm$ 42.5	1.61 $\pm$ 0.18	1.57 $\pm$ 0.22 ⁽¹⁾
中剂量组	52.6 $\pm$ 15.3	133.2 $\pm$ 30.5	152.3 $\pm$ 38.4	1.69 $\pm$ 0.27	1.47 $\pm$ 0.33 ⁽¹⁾
高剂量组	57.2 $\pm$ 9.3	113.1 $\pm$ 24.8	159.1 $\pm$ 18.7	1.76 $\pm$ 0.21	1.62 $\pm$ 0.29 ⁽¹⁾

注:(1)与对照组比较差异有显著性, $P < 0.05$ 。

表5 泽泻水煎液对大鼠血生化的影响($\bar{x} \pm s$)

组 别	TP g/L	ALB g/L	UA μ mol/L	BUN mmol/L	Cr μ mol/L	GLU mmol/L
对 照 组	69.5 $\pm$ 3.2	34.0 $\pm$ 1.3	63.0 $\pm$ 7.6	6.78 $\pm$ 0.87	77.7 $\pm$ 4.7	5.90 $\pm$ 0.65
低剂量组	70.7 $\pm$ 3.2	34.3 $\pm$ 1.0	60.0 $\pm$ 4.7	7.20 $\pm$ 0.82	76.3 $\pm$ 4.4	5.99 $\pm$ 0.79
中剂量组	71.3 $\pm$ 3.3	34.4 $\pm$ 1.2	62.5 $\pm$ 25.8	6.98 $\pm$ 1.09	76.8 $\pm$ 7.5	6.02 $\pm$ 0.64
高剂量组	73.1 $\pm$ 3.3 ⁽¹⁾	34.9 $\pm$ 1.9	53.5 $\pm$ 16.0	7.67 $\pm$ 0.79 ⁽¹⁾	74.7 $\pm$ 4.5	6.20 $\pm$ 0.57

注:(1)与对照组比较差异有显著性, $P < 0.05$ 。

2.6 泽泻水煎液对大鼠尿常规的影响 由表6可见,试验结束时,泽泻低、中、高剂量组大鼠24 h平均尿量均高于对照组,但差异无显著性 ($P > 0.05$)。采用秩和检验的统计方法对各剂量组大鼠的尿常规指标与对照组大鼠比较,差异无显著性 ($P > 0.05$)。

表6 泽泻水煎液对大鼠尿常规的影响

	对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
尿量 mL/24 h	7.53 $\pm$ 2.47	12.76 $\pm$ 8.69	11.51 $\pm$ 5.90	12.22 $\pm$ 5.66
比重	1.018 $\pm$ 0.004	1.016 $\pm$ 0.003	1.016 $\pm$ 0.006	1.018 $\pm$ 0.004
pH值	6.85 $\pm$ 0.47	6.72 $\pm$ 0.67	6.55 $\pm$ 0.69	6.33 $\pm$ 0.35
尿胆原	- 9 +/- 1	9 1	10 0	9 1
胆红素	- 10 +/- 0	9 1	10 0	10 0
酮体	- 10 +/- 0	7 3	7 3	8 2
血	- 8 +/- 2 + 0	7 2 1	8 2 0	9 1 0
蛋白质	- 6 +/- 4 + 0	7 2 1	7 2 1	7 1 2
亚硝	- 2	2	2	1
酸盐	+/- 8	8	8	9
白细胞	- 9 +/- 1	8 2	7 3	9 1
葡萄糖	- 10	10	10	10

2.7 泽泻水煎液对大鼠尿酶活性的影响 由表7可见,试验结束时,泽泻低、中、高剂量组大鼠尿液中N- 乙酰 - β - 葡萄糖苷酶 (NAG)、碱性磷酸酶 (ALP) 和乳酸脱氢酶 (LDH) 活性与对照组相比呈逐渐升高的趋势,但差异无显著性 ($P > 0.05$)。而泽泻中、高剂量组大鼠尿液中 γ - 谷氨转移酶 (γ -GT) 活性高于对照组,差异有显著性 ($P < 0.05$)。

表7 泽泻水煎液对大鼠尿酶活性的影响($\bar{x} \pm s$) U/mmol Cr

组 别	NAG	ALP	LDH	γ -GT
对 照 组	6.8 $\pm$ 2.8	49.0 $\pm$ 11.5	266.3 $\pm$ 65.7	65.6 $\pm$ 27.1
低剂量组	7.3 $\pm$ 4.2	49.8 $\pm$ 19.5	279.2 $\pm$ 72.6	105.9 $\pm$ 43.6
中剂量组	8.6 $\pm$ 4.0	59.3 $\pm$ 19.0	320.0 $\pm$ 65.8	139.2 $\pm$ 38.4 ⁽¹⁾
高剂量组	7.5 $\pm$ 2.0	60.2 $\pm$ 8.3	301.5 $\pm$ 47.6	155.7 $\pm$ 71.9 ⁽¹⁾

注:(1)与对照组比较差异有显著性, $P < 0.05$ 。

2.8 泽泻水煎液对大鼠各脏器重量及脏/体比值的影响 试验结束时,各实验组大鼠肝脏重量、肾脏重量、脾脏重量和睾丸重量与对照组相比,差异无显著性 ($P > 0.05$),见表8。

由表9可见,泽泻高剂量组大鼠肝/体比和肾/体比高于对照组,差异有显著性 ($P < 0.05$)。中剂量组大鼠睾丸/体比高于对照组,差异有显著性 ($P < 0.05$)。各实验组大鼠的脾/体比与对照组相比,差异无显著性 ($P > 0.05$)。

2.9 各组大鼠的病理检查结果 取试验大鼠肝、

表8 泽泻水煎液对大鼠脏器重量的影响($\bar{x} \pm s$) g

组别	肝重	肾重	脾重	睾丸重
对照组	12.27 $\pm$ 0.98	3.09 $\pm$ 0.29	0.83 $\pm$ 0.19	3.05 $\pm$ 0.28
低剂量组	12.49 $\pm$ 1.55	3.22 $\pm$ 0.35	0.75 $\pm$ 0.11	3.19 $\pm$ 0.37
中剂量组	11.75 $\pm$ 1.27	2.92 $\pm$ 0.38	0.71 $\pm$ 0.11	3.16 $\pm$ 0.25
高剂量组	12.98 $\pm$ 1.33	3.19 $\pm$ 0.50	0.75 $\pm$ 0.11	3.11 $\pm$ 0.38

表9 泽泻水煎液对大鼠脏/体比值的影响($\bar{x} \pm s$) %

组别	肝/体	肾/体	脾/体	睾丸/体
对照组	3.09 $\pm$ 0.16	0.78 $\pm$ 0.04	0.21 $\pm$ 0.04	0.77 $\pm$ 0.06
低剂量组	3.17 $\pm$ 0.15	0.82 $\pm$ 0.07	0.19 $\pm$ 0.01	0.82 $\pm$ 0.09
中剂量组	3.22 $\pm$ 0.18	0.80 $\pm$ 0.06	0.19 $\pm$ 0.02	0.87 $\pm$ 0.10 ⁽¹⁾
高剂量组	3.43 $\pm$ 0.30 ⁽¹⁾	0.84 $\pm$ 0.07 ⁽¹⁾	0.20 $\pm$ 0.02	0.82 $\pm$ 0.10

注:(1)与对照组比较差异有显著性, $P < 0.05$ 。

肾、脾、胃肠和睾丸进行肉眼观察,各组情况基本一样,均未发现异常现象。对各组大鼠肝、肾、脾、胃肠和睾丸进行组织学检查,结果显示正常对照组与实验组的大鼠均可见肾小管上皮细胞浊肿变性及管型,提示为动物本身非特异性改变。其他器官均无异常形态学改变。

3 讨论

本次试验设低、中、高3个剂量组,分别相当于人体实际摄入量的50、100和200倍。在连续给予受试物的60 d中,不同剂量的泽泻水煎液对大鼠不同时点的体重没有影响,对大鼠的食物利用率也无影响,这说明受试物对大鼠的正常生长发育和食物的吸收代谢无明显影响。试验结束时,泽泻中剂量组大鼠血红蛋白虽然高于对照组,高剂量组的分叶细胞比例高于对照组,淋巴细胞比例低于对照组,但这些数值仍在正常范围内。泽泻高剂量组(33.3 g/kg BW,相当于人临床用量的200倍)大鼠血尿素氮(BUN)虽高于对照组,差异有显著性($P < 0.05$),但也未超出正常范围。此外,高剂量组大鼠肝/体比和肾/体比高于对照组,差异有显著性($P < 0.05$),这可能是由于实验动物的体重下降所致。病理组织学检查结果表明各实验组大鼠肝、肾、脾和睾丸均无明显的病理性损伤。

在本试验条件下,泽泻中、高剂量组大鼠尿 γ -谷氨转移酶(γ -GT)活性高于对照组,差异有显著性($P < 0.05$),结合血BUN有升高的趋势,提示大剂量摄入泽泻水煎液可能对大鼠肾脏产生一定的损伤。目前临床上常以血肌酐和尿素氮等的浓度作为评价肾功能的指标,当肾功能明显受损时这些指标能够较客观地反映肾功能的情况,但是在肾小管和肾小球发生轻微病变时,这些指标不一定能表现出来。^[3]为更早、更快和更准确地检测出泽泻对大鼠肾

脏的轻微损伤,本试验测定了尿中NAG、 γ -GT、AKP和LDH四种酶学指标。尿 γ -GT和ALP可反映肾近曲小管上皮细胞刷状缘损伤的情况,而LDH位于胞浆和线粒体中,NAG位于溶酶体中,如果受损害,则相应酶会出现升高。^[4,5]在本试验中,泽泻中、高剂量组大鼠尿 γ -GT活性升高,提示其水煎液可能对大鼠肾脏近曲小管上皮细胞刷状缘有一定损伤,其余三种尿酶无明显变化,说明肾脏的线粒体和溶酶体等亚细胞器无损伤。由以上试验结果提示,肾脏可能是泽泻毒作用的靶器官,应进行更深入的研究。

本试验未观察到泽泻各剂量组的大鼠肝脏发生明显的病理改变,表明在本实验条件下,未见泽泻水煎液对肝脏的明显影响。

本试验所得结果与既往国内有关泽泻长期喂养试验的研究结果相似。有报道表明将泽泻浸膏粉1和2 g/kg(相当于临床用量的20倍和40倍)拌于饲料中喂大鼠,周期为3个月,试验结束后动物一般健康状况良好,体重增长、血清谷丙转氨酶活性及血红蛋白含量与对照组相比差异均无显著性,但病理检查发现肝细胞和肾近曲小管细胞有不同程度的浊肿和变化,给药组比对照组明显,大剂量比小剂量组明显,提示可能与给药有关,心脏组织未见明显变化。^[6]按1%比例拌于饲料中喂大鼠2个半月,未见明显毒性。^[7]

综上所述,在本试验条件下,泽泻高剂量组大鼠肾功能部分指标(尿 γ -GT)有异常改变,但病理组织学检查未见明显病理性损伤。

参考文献:

[1] 龚树生,张建军,曹广智,等.泽泻的历史及生物活性成分研究进展[J].陕西中医学院学报,2000,1(1):28—29.
[2] 瞿佐发.泽泻的药理作用及临床应用近况[J].甘肃中医,2002,15(3):78—80.
[3] 杨宜娥,吕莎.尿蛋白和尿酶对肾脏疾病的早期诊断价值[J].临床内科杂志,1999,16(2):75—76.
[4] 从玉隆,马俊龙.当代尿液分析技术与临床[M].北京:中国科学技术出版社,1998,131—132,146—152.
[5] 陈建魁,胡斌,刘晓晴,等.NAG的测定及在药物肾毒性检测中的应用[J].军事医学科学院院刊,1997,21(3):193.
[6] 周金黄,王筠默,主编.中药药理学[M].上海:上海科学技术出版社,1986,119—120.
[7] 王浴生,主编.中药药理与应用[M].北京:人民卫生出版社,1983,719—721.

[收稿日期:2003-10-28]