

灰树花提取物的毒理安全性评价

汤 茜

成都市青羊区中医医院、药剂科 四川成都 610000

〔摘要〕目的 对灰树花提取物进行毒理安全性评价。方法 以灰树花提取物灌胃小鼠进行急性毒性试验,三项遗传试验(Ames 试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验、小鼠精子畸形试验),并以 0.75、1.5、3.0g/kg.bw 3 个剂量组对大鼠进行 90d 喂养,观察生长发育情况,进行血液学及血液生化指标检测,脏器系数和病理组织学检查。结果 灰树花灌胃给药最大耐受剂量 > 12.5g/kg,属无毒级;三项遗传试验结果均为阴性;90d 喂养试验未见明显毒副作用。结论 灰树花安全无毒,可长期食用。

〔关键词〕灰树花;急性毒性;遗传毒性;长期毒性

〔中图分类号〕R285.1 **〔文献标识码〕**A **〔文章编号〕**2095-7165(2020)10-104-02

灰树花又名栗蘑、贝叶多孔菌、舞茸,属担子菌纲多孔菌科,是一种药食两用珍稀食用菌。灰树花提取物是从灰树花子实体中分离得到,其主要成分为真菌多糖。近年研究表明灰树花多糖具有增强免疫、抑制肿瘤、抗 HIV、稳定血压等生理活性^[1-3]。但安全性研究较少报道。本试验对灰树花提取物的急性毒性、遗传毒性及 90 天喂养试验进行了观察。

1 材料与方

1.1 试验动物

清洁级昆明种健康小鼠,20~22g;Wistar 大鼠,180~220g,购于成都达硕生物科技有限公司(许可证号:SCXK(川)2015-030号)。

1.2 菌株

鼠伤寒沙门菌突变型菌株 TA97、TA98、TA100 和 TA102 购于中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所。

1.3 受试物及工艺

灰树花提取物:棕褐色粉末,灰树花子实体经水提、浓缩,浓缩液加 95%乙醇至含醇量 80%,醇沉 2h,过滤,沉淀干燥而得,提取率约 20%。

1.4 方法

1.4.1 急性毒性

灌胃前禁食 16h,不限饮水,以最大耐受剂量 12.5g/kg 灌胃后连续观察 14d,记录动物中毒症状及死亡情况。

1.4.2 遗传毒性

(1)Ames 试验 采用平板掺入法,浓度为 8、40、200、1000、5000 μg/皿 5 个剂量组。

(2)小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验 小鼠雌雄各半,随机分成 5 组(n=10),即 2.5、5.0、10.0g/kg 剂量组,环磷酰胺阳性对照组(40mg/kg)和阴性对照组。按 20ml/kg.bw 容量间隔 24h 灌胃 2 次,6h 后处死动物,取胸骨髓液、涂片、甲醇固定、Giemsa 染色。镜检 PCE,计算微核率。

(3)小鼠精子畸形试验 雄性小鼠随机分成 5 组(n=10),即 2.5、5.0、10.0g/kg 剂量组,阴性对照组和环磷酰胺阳性对照组(40mg/kg)。按 20ml/kg.bw 容量灌胃 5d,继续喂养 1 月,35d 颈椎脱臼处死,每组随机选 5 只取两侧附睾,制成精子悬液,常规涂片,甲醇固定,用体积分数 1%的伊红染色,10×40 倍显微镜下观察形态,记录畸形精子数,计算精子畸形率。

1.4.3 90d 毒性试验

Wistar 大鼠 80 只,雌雄各半,随机分为 0.75、1.5、3.0g/kg.bw 剂量组(相当于人体推荐量的 25、50、100 倍)和空白对照组,将提取物掺入饲料中喂养,自由饮食,连续喂养 13 周,观察动物的外观行为,记录体重增长、摄食量,计算食物利用率。末期禁食过夜,腹主动脉采血测定生化及血常规指标,解剖动物观察

各脏器大体改变,摘取脑、心脏、肝脏、脾脏、肾脏、睾丸/卵巢、附睾/子宫、肾上腺、胸腺测定湿重,计算脏器比;取心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、脑、垂体、甲状腺、胸腺、胃、十二指肠、胰脏、结肠、直肠、膀胱、淋巴结、肾上腺、睾丸、卵巢、子宫进行病理组织学观察,脏器石蜡切片,苏木素-伊红(HE)染色。

2 结果

2.1 急性毒性试验

小鼠灌胃后观察 14d,未见明显中毒症状和死亡。灰树花提取物灌胃给药最大耐受剂量 > 12.5g/kg,无急性毒性作用。

2.2 遗传毒性试验

2.2.1 Ames 试验

对 TA97、TA98、TA100 和 TA102 试验菌株,不同浓度提取物在加和不加 S9 条件下的回变菌落数与阴性对照组无显著差异,而阳性对照组回变菌落数均高于阴性对照组回变菌落数 2 倍以上。灰树花提取物细菌回复突变试验检测结果为阴性,重复试验仍得出相同结果。

2.2.2 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验

与阴性对照组比较,受试物各剂量组微核率差异无统计学意义(P > 0.05),环磷酰胺阳性对照组差异有统计学意义(P < 0.01)。

2.2.3 小鼠精子畸形试验

与阴性对照组比较,受试物各剂量组小鼠精子畸形率差异无统计学意义(P > 0.05),环磷酰胺阳性对照组差异有统计学意义(P < 0.01)。

2.3 90 天毒性试验

2.3.1 一般观察

试验期间各剂量组大鼠未见异常症状和体征,无死亡。

2.3.2 大鼠体重增重、总摄食量、总食物利用率

提取物各剂量组雌雄大鼠的增重及食物利用率与对照组比较,差异均无统计学意义(P > 0.05)。见表 1。

2.3.3 血液学及血液生化指标

各剂量组大鼠的血液学及血液生化指标均在正常参考值范围内。见表 2。

2.3.4 大体及病理组织学检查

与阴性对照组比较,各剂量组大鼠脏器重量差异无统计学意义(P > 0.05)。病理切片显微镜检查发现:阴性对照组 2 只雄鼠可见轻度胰腺腺泡间脂肪细胞浸润;高剂量组有 1 只雄鼠可见汇管区轻度淋巴细胞浸润;阴性对照组 2 只雄鼠可见轻度肾间质淋巴细胞浸润;阴性对照组 1 只雄鼠可见轻度肾小管再生;高剂量组雌、雄大鼠的心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、脑、垂体、甲状腺、胸腺、胃、十二指肠、胰脏、结肠、直肠、膀胱、淋巴结、肾上腺、睾丸、卵巢、子宫均未见明显与试验因素有关的病理组织学变化。灰树花提取物对试验大鼠大体解剖、组织学观察未见明显影响。

3 小结与讨论

本研究测定灰树花毒性作用, 结果表明, 灰树花提取物灌胃给药最大耐受剂量 > 12.5g/kg, 无急性毒性作用; 三项遗传试验 (Ames 试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验、小鼠精子畸形试验) 结果均为阴性, 无遗传毒性; 长期毒性试验对血液学、血液生化学及重要组织形态学观察未见病理学改变。灰树花无毒副作用, 长期用药安全。

[参考文献]

[1] 李海花. 灰树花多糖的免疫作用实验研究 [J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(2): 365.

[2] 肖正中, 郭苏晓. 灰树花多糖对小鼠免疫功能的影响 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(34): 19310-19311, 19313.

[3] 田君琪, 韩晓伟. 灰树花对免疫系统的影响 [J]. 吉林中医药, 2018, 38(10): 1203-1205.

表 1: 对大鼠增重、进食量及食物利用率的影响 ($\bar{x} \pm s$)

剂量 (g/kg. bw)	增重 (g)	进食量 (g)	食物利用率 (g)
0	261.8 ± 18.6	771.4 ± 38.2	33.5 ± 0.6
0.75	258.7 ± 20.3	778.5 ± 40.5	33.1 ± 1.3
1.5	263.5 ± 21.8	783.9 ± 53.8	33.4 ± 1.4
3.0	262.1 ± 19.4	792.2 ± 39.7	33.2 ± 1.6

表 2: 对大鼠血液学指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

剂量 (g/kg. bw)	RBC ($\times 10^{12}/L$)	Hb ($\rho B/g \cdot L^{-1}$)	PLT ($\times 10^9/L$)	WBC ($\times 10^9/L$)	LYM (%)	MID (%)	GRA (%)
0	6.88 ± 0.58	143.88 ± 10.18	513.88 ± 80.18	11.14 ± 0.58	77.35 ± 6.58	10.35 ± 2.33	10.15 ± 2.52
0.75	6.87 ± 0.54	141.87 ± 9.84	501.87 ± 92.84	11.57 ± 0.54	76.80 ± 7.32	9.45 ± 2.71	9.85 ± 3.05
1.5	6.92 ± 0.53	142.92 ± 10.53	522.92 ± 96.53	10.82 ± 0.53	78.72 ± 6.90	9.79 ± 3.12	10.12 ± 3.86
3.0	6.90 ± 0.51	146.90 ± 11.51	546.90 ± 111.51	12.30 ± 0.51	79.79 ± 8.24	10.68 ± 4.94	10.58 ± 4.11

表 3: 对大鼠血液生化学指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

剂量 (g/kg. bw)	ALT (u/L)	AST (u/L)	ALP (u/L)	TP (g/L)	CHO (mmol/L)	BUN (mmol/L)	GLU (mmol/L)
0	51.4 ± 6.3	119.4 ± 14.3	67.1 ± 6.3	52.3 ± 1.3	1.3 ± 0.2	9.0 ± 0.8	7.0 ± 0.7
0.75	52.6 ± 4.9	117.6 ± 16.5	66.4 ± 7.9	53.7 ± 1.9	1.2 ± 0.1	8.7 ± 1.1	6.8 ± 0.6
1.5	49.2 ± 7.3	111.3 ± 13.8	69.5 ± 7.2	54.5 ± 3.2	1.4 ± 0.3	8.5 ± 0.5	7.1 ± 0.4
3.0	50.3 ± 5.5	112.8 ± 12.6	65.9 ± 8.4	54.6 ± 2.4	1.2 ± 0.2	8.6 ± 0.6	6.6 ± 0.7

(上接第 100 页)

声的 68.06% ($P < 0.05$)。

综上所述, 经阴道超声检查在诊断子宫内膜病变方面有较高的准确率, 与经腹部超声相比具有显著优势, 值得临床推广与应用。

[参考文献]

[1] 赵映雪. 经阴道超声和经腹部超声诊断子宫内膜病变的疗效对比观察 [J]. 影像研究与医学应用, 2020, 4(11):191-192.

[2] 杜海燕. 比较经阴道与经腹部超声对子宫内膜病变诊断的价值 [J]. 影像研究与医学应用, 2020, 4(8):177-178.

[3] 郗雅. 经阴道超声和经腹部超声诊断子宫内膜病变的效果 [J]. 影像研究与医学应用, 2020, 4(8):156-157.

[4] 李丽玲. 经阴道超声和经腹部超声诊断子宫内膜病变的效果分析 [J]. 现代医用影像学, 2020, 29(2):370-371.

(上接第 101 页)

辐射量低等优势, 可将乳房内不足 1cm 结节性病灶清晰显示, 但其也存在一定不足, 定性诊断时不能给出确切的参考方向, 检查患者有无致密型乳腺等小癌灶时很容易出现漏诊等^[5]。

本研究显示: 超声检查灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 100%、9%、99.87%、100%, 均高于对照组的 99.17%、96.11%、99.57%、93.69%, 与相关研究一致。

总之, 早期乳腺癌经彩色多普勒超声诊断有显著价值, 但与其他检查方法结合可使检出率有效提升。

[参考文献]

[1] 赵如燕, 周小红, 康正琴. 彩色多普勒超声检查在妇女乳腺

癌筛查中的应用及早期诊断 [J]. 中国保健营养, 2016, 26(13):355.

[2] 黄伟华, 林梅清, 李冠芳, 等. 彩色多普勒超声联合钼靶 X 线检查在社区高危妇女乳腺癌筛查中的价值分析 [J]. 中国妇幼卫生杂志, 2019, 10(1):57-59.

[3] 李丹明, 关瑞芬, 关齐好, 等. 彩色多普勒超声检查在妇女早期乳腺癌筛查中的应用价值 [J]. 中国当代医药, 2019, 26(28):180-182.

[4] 林伟. 彩色多普勒超声检查在妇女乳腺癌筛查中的应用及早期诊断 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2017, 27(23):76-77.

[5] 陈少兰, 林汉楚, 周飞. 彩色多普勒超声在乳腺癌诊断筛查中的应用价值分析 [J]. 现代医用影像学, 2017, 26(1):34-36.

(上接第 102 页)

输卵管通液, 避免反复通水、通液或药物治疗给患者带来的痛苦, 可达到诊断与治疗的双重目的, 尤其可作为指导治疗的有效诊断手段, 实现一次治疗的满意效果。

综上所述, 经阴道四维超声造影在输卵管通畅性综合评估中的应用价值显著, 具有较高的通畅率, 同时超声造影剂的开发、应用及经阴道四维超声造影在不孕症中诊断中的推广, 使超声下评价输卵管通畅性的准确性大大提高, 具有广阔的推广前景。

[参考文献]

[1] 王海鸿. 经阴道三维、四维子宫输卵管超声造影诊断输卵管通畅性的价值 [J]. 中国医疗器械信息, 2020, 26(20):133-135.

[2] 傅芬, 叶琴, 梁荣喜, 郭晶晶, 杨嘉嘉, 薛恩生, 范晓青. 多模态经阴道超声造影技术对输卵管通畅性的诊断价值 [J]. 中华超声影像学杂志, 2020, 29(09):781-785.

[3] 张爱武, 李云芳. 研究经阴道二维超声和四维子宫输卵管超声造影评价输卵管通畅性的对比差异 [J]. 影像研究与医学应用, 2020, 4(19):70-72.

[4] 刘满荣, 丁可, 张巍, 韦学, 陆善金, 黄健源. 子宫输卵管四维超声造影疼痛副反应发生率及严重程度的临床研究 [J]. 影像研究与医学应用, 2020, 4(18):41-44.

[5] 袁靖. 经阴道四维超声子宫输卵管造影评估不孕症患者腹腔镜术后输卵管通畅性 [J]. 河南医学研究, 2020, 29(20):3795-3797.