

## D-松醇原药对大鼠肝脏的毒性作用

曾奇兵, 徐玉艳\*, 张婷, 唐艳明, 李敏, 洪峰, 王荣

(贵州医科大学 公共卫生学院 环境污染与疾病监控重点实验室, 贵州 贵阳 550025)

**[摘要]** 目的: 探讨D-松醇原药对大鼠肝脏的毒性。方法: 4~6周龄健康清洁级SD大鼠80只(雌雄各半), 随机分成D-松醇原药低剂量组、中剂量组、高剂量组及对照组, 每组20只, 雌雄各10只, 低、中、高剂量组分别喂饲390.63 mg/kg、1 562.50 mg/kg和6 250.00 mg/kg的D-松醇原药饲料, 对照组喂饲普通标准饲料, 连续喂饲90 d; 观察4组大鼠的一般情况、体重变化; 第90天时, 各组大鼠心脏取血检测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)、球蛋白(GLO)、血糖(GLU)、总胆固醇(CHO)、总胆红素(TBLL)、胆碱酯酶(CHE)10项肝功能指标, 取各组大鼠肝脏计算肝脏脏体比及观察肝脏病理组织学改变。结果: D-松醇原药低、中、高剂量组雄性大鼠实际染毒量分别为33.58 mg/kg、149.39 mg/kg、543.98 mg/kg; 雌性大鼠实际染毒量分别为30.88 mg/kg、127.06 mg/kg、483.88 mg/kg。高剂量组雌性大鼠GLO、TP低于对照组( $P < 0.05$ ); 中、高剂量组雌性大鼠CHE高于对照组( $P < 0.05$ ); 中、高剂量组雄性大鼠TBLL高于对照组( $P < 0.05$ )。结论: D-松醇原药90 d经口喂养最大无作用剂量, 雄性为30.88 mg/kg、雌性为33.58 mg/kg。雄性大鼠摄入D-松醇原药127.06 mg/kg以及雌性大鼠摄入D-松醇原药149.39 mg/kg时可以引起大鼠肝脏损伤。

**[关键词]** 药物毒性; 农药; D-松醇; 大鼠, Sprague-Danley; 肝脏

**[中图分类号]** R595.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2016)02-0190-04

### D-pinitol Technical Grade Toxicity on Rats Liver

ZENG Qibing, XU Yuyan, ZHANG Ting, TANG Yanming, LI Min, HONG Feng, WANG Rong

(Key Laboratory of Environment Pollution Monitoring and Disease Control, School of Public Health, Guizhou Medical University, Guiyang 550025)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate D-pinitol technical grade toxicity on rats liver. **Methods:** Eighty healthy SD rats of 4 to 6 weeks of age (equal male and female number), randomly divided into D-pinitol technical grade low, medium and high dose groups and control group, with 10 male and 10 female rats each; low, medium and high dose groups were fed with 390.63 mg/kg, 1 562.50 mg/kg and 6 250.00 mg/kg D-pinitol technical grade, control group was fed with normal standard stuff, continuous fed for 90 days; observing general condition of 4 groups and weight change; on 90th day, heart blood testing on liver function index of AST, ALT, ALP, TP, ALB, GLO, GLU, CHO, TBLL and CHE. Extracting rats' liver to calculate liver ratio and liver pathological changes. **Results:** The actual intoxicated amount of male rats in low, middle and high dose group were 33.58 mg/kg, 149.39 mg/kg and 543.98 mg/kg; and the actual intoxicated amount of female rats were 30.88 mg/kg, 127.06 mg/kg, 483.88 mg/kg. Globulin (GLO), total protein (TP) of female rats in high dose group was less than that of control group ( $P < 0.05$ ). Cholinesterase (CHE) of female rats in middle and high dose group was higher than that of control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** D-pinitol technical grade fed for 90 days no-effect levels were as follows: 127.06 mg/kg for male rats and 149.39 mg/kg for female rats of D-pinitol technical grade can would cause liver damage in rats.

**[Key words]** drug toxicity; pesticide; D-pinitol; rats, Sprague-Danley; liver

\*通信作者 E-mail: 284497349@qq.com

网络出版时间: 2016-02-23 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20160223.2014.036.html>

近年来,农药引起的安全问题已经受到社会各界的广泛重视,农药暴露可引起生物体多器官、多系统损害。肝脏作为机体生物合成、加工与解毒的重要器官,血液供应丰富,极易受到农药的毒性作用<sup>[1-2]</sup>。D-松醇(分子式  $C_7H_{14}O_6$ )又名咳宁醇,是一种新型的植物源杀菌剂<sup>[3-4]</sup>。目前,国内外对D-松醇的毒性研究较少,本研究通过大鼠 90 d 亚慢性经口毒性试验,探讨 D-松醇原药对大鼠肝脏的亚慢性毒性效应,为 D-松醇原药安全性评价提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物及分组

选择 4~6 周龄健康清洁级 SD 大鼠 80 只,雌雄各半,雌性 112~130 g、雄性 114~134 g,由第三军医大学动物实验中心提供(SCXK 渝 2012-0003)。所有试验前 SD 大鼠适应性饲养 1 周,随机分成 4 组:D-松醇原药低剂量组、中剂量组、高剂量组及对照组。每组 20 只,雌雄各 10 只。参考 GB15670-1995《农药登记毒理学试验方法》<sup>[5]</sup>设计剂量,以 D-松醇原药大鼠急性经口毒性半数致死剂量(LD<sub>50</sub>)为标准,LD<sub>50</sub>的 1/10 是 500.00 mg/kg·bw,设为高剂量组的药物含量,按 4 倍等比级数设低、中剂量组,药物含量分别为 31.25 mg/kg·bw 和 125.00 mg/kg·bw,由重庆第三军医大学实验动物中心按大鼠进食量是其体重的 8% 的原则,配制 D-松醇原药动物饲料,饲料中 D-松醇原药的浓度分别为低浓度 390.63 mg/kg、中浓度 1562.50 mg/kg 和高浓度 6250.00 mg/kg。

### 1.2 给药方法及饲养条件

各组各性别大鼠分别喂养,喂饲法给药,低、中、高 3 个剂量组大鼠每天分别自由摄取低、中、高 D-松醇原药浓度的饲料,对照组每天自由摄取普通标准饲料,连续喂饲 90 d。动物饲养环境温度 22~24℃,湿度 60%~70%,持续空调送风系统换气,保持良好通风,空气洁净度 10 000 级,噪声小于 60 dB,人工昼夜 12/12 h。

### 1.3 观察指标

**1.3.1 一般情况及体重** 每天观察大鼠的外观体征、行为活动、进食量、粪便性状、中毒症状及死亡情况,每周称取大鼠体重 1 次,第 90 天时实测大鼠每周饲料消耗量,根据饲料消耗量计算 D-松醇原药的实际摄入量。

**1.3.2 肝功能指标** 第 90 天时,用戊巴比妥钠麻醉大鼠,心脏取血并分离血清,用奥林巴斯 AU400 全自动生化分析仪检测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)、球蛋白(GLO)、血糖(GLU)、总胆固醇(CHO)、总胆红素(TBLL)和胆碱酯酶(CHE)10 项肝功能指标。

**1.3.3 肝脏组织** 留取血液标本后处死动物,分离肝脏,用电子天平称重,计算肝脏脏体比(肝脏脏体比=肝脏脏器重量/体重×100%)。将称重后的肝脏用 10% 中性福尔马林固定、常规脱水、石蜡包埋、切片及 HE 染色,组织细胞学检查。

### 1.4 统计学方法

采用 SPSS(V13.0) 统计软件处理,计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较用方差分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般情况

4 组大鼠饮水、进食正常,粪便性状正常。对照组与低剂量组大鼠未见明显异常表现,高、中剂量组大鼠在染毒第 6~9 周开始出现烦躁不安、背毛蓬松、会阴污秽。对照组及各剂量组雌、雄性大鼠体重增长,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),见图 1、2。

### 2.2 染毒量

根据大鼠每周饲料实际消耗量计算 D-松醇原药的实际摄入量。低剂量组雌、雄性大鼠 D-松醇原药实际染毒量为 33.58 mg/kg、30.88 mg/kg;中剂量组雌、雄性大鼠 D-松醇原药实际染毒量为 149.39 mg/kg、127.06 mg/kg;高剂量组雌、雄性大鼠 D-松醇原药实际染毒量为 543.98 mg/kg、483.88 mg/kg。

### 2.3 肝功能

高剂量组雌性大鼠 GLO、TP 低于对照组( $P < 0.05$ );中、高剂量组雌性大鼠 CHE 高于对照组( $P < 0.05$ );中、高剂量组雄性大鼠 TBLL 高于对照组( $P < 0.05$ )。其余肝功能指标 4 组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1、2。

### 2.4 肝脏组织变化

4 组雌、雄大鼠肝脏脏体比差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 3。4 组雌、雄大鼠肝脏结构正常,肝小叶清晰可见,肝细胞以中央静脉为中心,单

行排列成板状结构,核椭圆形,可见一个或多个核,胞浆嗜酸性。肝细胞索之间可见肝血窦,血窦壁可

见内皮细胞和肝巨噬细胞。汇管区内动、静脉及胆管形态正常。未见明显病理改变。

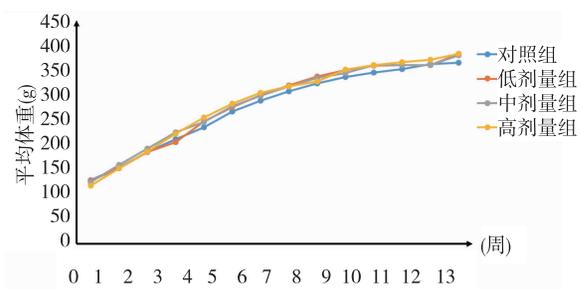


图1 D-松醇原药各剂量组雄性大鼠体重变化趋势  
Fig.1 Weight change trend of male rats in each D-pinitol dose group

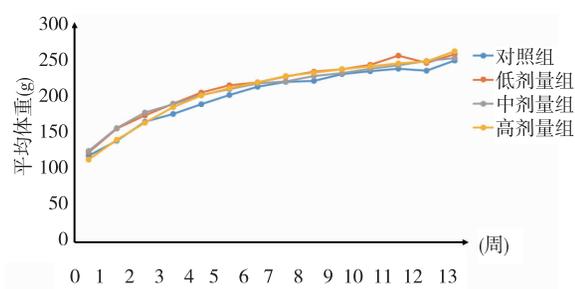


图2 D-松醇原药各剂量组雌性大鼠体重变化趋势  
Fig.2 Weight change trend of female rats in each D-pinitol dose group

表1 各组大鼠毒性试验90 d时血清AST、ALT、ALP、ALB及GLO结果( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.1 AST、ALT、ALP、ALB and GLO levels of rats in each group on 90 d

组别	性别	n	AST(U/L)	ALT(U/L)	ALP(U/L)	ALB(g/L)	GLO(g/L)
对照组	雄性	10	175.21 ± 73.11	59.98 ± 23.34	77.88 ± 32.91	32.02 ± 1.98	39.34 ± 2.89
低剂量组	雄性	10	214.58 ± 84.25	52.61 ± 16.88	85.79 ± 21.30	31.97 ± 1.95	40.50 ± 4.02
中剂量组	雄性	10	215.75 ± 110.89	51.57 ± 17.13	94.40 ± 25.96	32.28 ± 1.87	42.12 ± 3.70
高剂量组	雄性	10	202.80 ± 76.00	41.55 ± 7.87	83.89 ± 13.63	33.14 ± 1.56	39.22 ± 3.67
对照组	雌性	10	147.13 ± 43.31	50.11 ± 32.39	68.01 ± 39.42	35.52 ± 1.24	42.09 ± 2.47
低剂量组	雌性	10	171.89 ± 71.26	36.76 ± 15.93	62.13 ± 18.24	35.81 ± 1.47	42.27 ± 3.17
中剂量组	雌性	10	150.99 ± 36.65	35.08 ± 7.47	46.61 ± 13.70	35.26 ± 2.78	40.44 ± 2.40
高剂量组	雌性	10	151.31 ± 56.91	30.15 ± 5.63	61.35 ± 32.37	33.61 ± 1.34	39.07 ± 1.87 <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>与对照组比较,  $P < 0.05$

表2 各组大鼠毒性试验90 d时血清CHE、TP、CHO、GLU及TBLL结果( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.2 CHE、TP、CHO、GLU and TBLL levels of rats in each group on 90 d

组别	性别	n	CHE(U/L)	TP(g/L)	CHO(mmol/L)	GLU(mmol/L)	TBLL( $\mu\text{mol/L}$ )
对照组	雄性	10	0.20 ± 0.10	71.35 ± 4.36	1.08 ± 0.52	4.42 ± 2.03	0.55 ± 0.62
低剂量组	雄性	10	0.21 ± 0.07	72.47 ± 5.13	1.51 ± 0.66	4.39 ± 3.33	0.63 ± 0.36
中剂量组	雄性	10	0.22 ± 0.07	74.40 ± 4.29	1.45 ± 0.39	3.80 ± 2.42	1.16 ± 0.36 <sup>(1)</sup>
高剂量组	雄性	10	0.21 ± 0.09	72.36 ± 4.51	1.48 ± 0.46	3.45 ± 1.28	1.27 ± 0.63 <sup>(1)</sup>
对照组	雌性	10	0.63 ± 0.16	77.62 ± 3.24	1.92 ± 0.83	3.01 ± 2.17	1.47 ± 0.79
低剂量组	雌性	10	0.63 ± 0.13	78.08 ± 4.43	1.43 ± 0.62	3.60 ± 1.35	1.48 ± 0.85
中剂量组	雌性	10	0.86 ± 0.16 <sup>(1)</sup>	75.70 ± 5.10	1.60 ± 0.38	4.83 ± 1.54	0.95 ± 0.43
高剂量组	雌性	10	0.82 ± 0.24 <sup>(1)</sup>	72.68 ± 3.04 <sup>(1)</sup>	1.79 ± 0.65	4.46 ± 1.20	1.21 ± 0.53

<sup>(1)</sup>与对照组比较,  $P < 0.05$

表3 各组大鼠毒性试验90 d时肝脏脏体比( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.3 Liver body-organ ratio of rats in 4 groups on 90 d

组别	性别	n	肝脏脏体比( $\times 10^{-3}$ )
对照组	雄性	10	29.14 ± 2.57
低剂量组	雄性	10	28.34 ± 2.17
中剂量组	雄性	10	29.42 ± 1.57
高剂量组	雄性	10	27.41 ± 2.90
对照组	雌性	10	30.58 ± 4.37
低剂量组	雌性	10	28.02 ± 1.30
中剂量组	雌性	10	28.71 ± 1.83
高剂量组	雌性	10	28.73 ± 1.85

### 3 讨论

D-松醇作为一种新型植物源杀菌剂,应用前景非常广阔,目前国内外关于D-松醇毒性的研究较少。本实验通过SD大鼠亚慢性经口染毒,观察D-松醇原药对其肝脏的毒性作用。体重变化是反映机体各个器官对毒物反映的最基本指标<sup>[6]</sup>,本试验表明,对照组及各剂量组雌、雄大鼠体重增长差异无统计学意义,提示在该暴露水平下,D-松醇原

药对大鼠的体重影响较小。ALB、GLO 主要在肝脏中合成,当肝脏的合成功能障碍时,可以使血清白蛋白减少,白蛋白/球蛋白比例倒置<sup>[7]</sup>。同时,肝脏也是一个酶工厂,有着生物体代谢活动的许多酶类如 ALP、AST、ALT 等,这些生物酶在血液中含量的变化反映肝实质细胞受损的情况,常作为反映肝功能的重要酶学指标<sup>[8]</sup>。本研究发现,高剂量组雌性大鼠 GLO、TP 低于对照组,提示高剂量组雌性大鼠肝脏的合成功能已经受损;而高剂量雄性大鼠 GLO、TP 改变与对照组比较差异均无统计学意义,考虑 D-松醇原药对大鼠肝脏的合成功能可能存在性别差异。CHE 是一类糖蛋白,广泛存在于神经胶质细胞、血浆、肝、肾、肠中,当肝脏蛋白质合成增加时,CHE 可以增高。本研究中、高剂量组雌性大鼠 CHE 高于对照组,提示中、高剂量组雌性大鼠蛋白质合成增加,其原因有待于进一步探索。TBIL 为直接胆红素和间接胆红素的总和,当肝脏受损时,血清中 TBIL 升高,因此血清中 TBIL 可作为判断肝脏受损的一个辅助指标<sup>[9]</sup>。中、高剂量组雄性大鼠 TBIL 高于对照组,提示中、高剂量组大鼠肝脏已经受损。结合肝脏脏体比及组织病理学检查发现,各剂量组雌、雄大鼠肝脏脏体比及组织病理学均未见明显改变,提示在该剂量下,D-松醇原药尚不能引起肝脏组织学改变,仅表现为肝功能的改变,但不排除随着染毒周期的延长,肝脏会发生不同程度的病理改变。

综上,在本实验条件下,D-松醇原药经口喂养 90 d 试验中的最大无作用剂量:雄性为 30.88 mg/kg、雌性为 33.58 mg/kg。雄性大鼠摄入 D-松醇原

药 127.06 mg/kg、雌性大鼠摄入 D-松醇原药 149.39 mg/kg 时可以引起大鼠肝脏损伤,主要表现为对肝脏合成功能的影响。

#### 4 参考文献

- [1] 胡云平,周志俊,孙运光,等. 乐果对培养乳鼠心肌细胞的毒作用[J]. 卫生毒理学杂志, 2000(4):209 - 211.
- [2] 徐玉艳,曾奇兵,洪峰. 95% 氨基吡啶酸对大鼠肝脏的损害作用[J]. 湖北农业科学, 2013(9):2041 - 2043.
- [3] 王丹丹,陈佳,陈义娟,等. D-松醇原药及其水剂对黄瓜白粉病的作用方式[J]. 农药, 2012(4):292 - 295.
- [4] Chaubal R, Pawar PV, Hebbalkar GD, et al. Larvicidal activity of Acacia nilotica extracts and isolation of D-pinitol-a bioactive carbohydrate [J]. Chem Biodivers, 2005 (5):684 - 688.
- [5] 国家技术监督局. GB 15670 - 1995 中国标准书号 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1995.
- [6] 何国平,贾波,郭昌烜,等. 90 d 喂养氟磺唑草胺原药对大鼠毒性作用的研究[J]. 毒理学杂志, 2013(4): 277 - 279.
- [7] 刘树业,段樱,李娴. 代谢组学的进展及肝脏代谢组学 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2009(3):197 - 202.
- [8] 马晓明,宋祥福,薛茗方,等. 碘甲烷对大鼠肝脏合成功能的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2013(9):19 - 22.
- [9] 陈文彬,潘祥林. 诊断学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社, 2008:363 - 365.

(2015-06-18 收稿,2015-12-31 修回)

中文编辑: 戚璐; 英文编辑: 赵毅

#### 科技论文写作技巧

**题名** 题名是一篇论文的总题目,也称总标题、篇名或文题。题名的作用有二:(1)作为一篇论文的总名称,应能展现论文的中心内容和重要论点,使读者能从题名中了解到该文所要研究的核心内容和主要观点;(2)提供给二次文献机构、数据库系统检索和收录,题名应尽可能包含有主题词和关键词,以供标引者选用和读者检索之用。题名的要求:(1)题名应以简明、确切的词语反映文章中最重要、特定的内容,要符合编制题录、索引和检索的有关原则,并有助于选定关键词;(2)中文题名一般不宜超过 20 个字,必要时可加副标题;(3)英文题名应与中文题名含义一致,一般以不超过 10 个实词为宜;(4)题名应避免使用非公和公用的缩写词、字符、代号,昼不出现数学式和化学式。

《贵阳医学院学报》编辑部