

DOI 10.19656/j.cnki.1002-2406.20230708

不同剂量细辛水煎液对大鼠 肝、肾、肺毒性的影响

聂安政, 边猛, 朱春胜[✉]

(郑州大学第一附属医院, 河南 郑州 450052)

【摘要】目的:观察不同剂量的细辛水煎液对SD大鼠肝、肾、肺组织形态及肝、肾功能的影响,探讨细辛的肝、肾、肺毒性。方法:50只SPF级雄性SD大鼠随机分为正常组、低剂量组、中剂量组、极高剂量组,每组各10只,正常组灌胃生理盐水,其余各组分别灌胃给予3、6、12、24 g/kg细辛水煎液,连续28 d。分别于实验第7、14、21、28天尾静脉取血,检测血清ALT、AST、CRE、BUN水平,第28天处死动物,取肝、肾、肺组织采用HE染色法观察组织形态。结果:中剂量组(6 g/kg)大鼠肺泡壁轻度增厚,伴少量炎性细胞浸润;高剂量组(12 g/kg)大鼠第14、28天血清ALT水平显著升高($P < 0.05$),第28天血清AST水平显著升高($P < 0.05$),肝组织细胞颗粒变性,局部血管周围可见淋巴细胞灶性浸润,肾组织少量炎性细胞浸润,肺组织肺泡壁中度增厚,大量淋巴细胞炎性浸润;极高剂量组(24 g/kg)大鼠第14、21天血清ALT水平显著升高($P < 0.01, P < 0.05$),第14、21、28天血清ALT水平显著升高($P < 0.05, P < 0.01$),第7、21天血清BUN水平显著升高($P < 0.05$),肝组织细胞颗粒变性,胞质疏松淡染呈颗粒状,局部血管周围淋巴细胞灶性浸润,肾组织少量炎性细胞浸润伴中等量的集合管扩张,肺组织肺泡壁增厚,大量淋巴细胞炎性浸润,局部支气管内上皮细胞脱落。结论:6~24 g/kg细辛水煎液可诱导不同程度的肺损伤,12~24 g/kg细辛水煎液可诱导不同程度的肝、肾损伤。

【关键词】细辛;肝毒性;肾毒性;肺毒性

【引用格式】

聂安政,边猛,朱春胜.不同剂量细辛水煎液对大鼠肝、肾、肺毒性的影响[J].中医药信息,2023,40(7):53-57.

NIE A Z, BIAN M, ZHU C S. Effects of different doses of asarum decoction on liver, kidney and lung toxicity in rats[J]. Information on TCM, 2023, 40(7):53-57.

细辛为马兜铃科植物北细辛[*Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag.]、汉城细辛(*Asarum sieboldii* Miq. var. *seoulense* Nakai)或华细辛(*Asarum sieboldii* Miq.)的干燥根和根茎。细辛最早记载于《神农本草经》,具有解表散寒、祛风止痛、温肺化饮之功,主治风寒头痛、牙痛、痹痛等症,至今有近2 000年的临床应用史^[1-2]。《本草纲目》中载“细辛不过

钱,过钱命相连”,可见细辛的毒性很早便开始受到关注,历版《中华人民共和国药典》将细辛用量限制在1~3 g^[3]。然而,为了达到特定疗效,细辛临床常常超剂量使用,如国家中医药管理局推荐的新冠肺炎防疫通用方——清肺排毒汤中细辛用量为6 g。有研究发现,细辛汤剂的临床中毒剂量为6~15 g^[4-11],细辛的毒性与肝、肾、肺密切相关,但细辛的量-毒关系如何?

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20190274);中华医学会临床药学会吴阶平基金会专项科研基金课题(LCYX-Q025)

第一作者简介:聂安政(1989-),男,硕士,主管药师,主要研究方向:中药药物警戒与合理用药。

✉通信作者简介:朱春胜(1987-),男,硕士,主要研究方向:中药临床药学。

笔者拟探讨不同剂量细辛水煎液对SD大鼠肝、肾、肺的影响,旨在为细辛毒性研究提供依据。

1 材料

1.1 动物

SPF级雄性SD大鼠50只(北京华阜康生物科技股份有限公司),体质量(190±20)g,动物生产许可证号:SCXK(京)2020-0004。饲养条件:室内温度(23±1)°C,湿度(45±5)%,标准12h光照/12h黑暗节律,普通清洁剂、鼠饲料与饮水。

1.2 药物与试剂

细辛(郑州大学第一附属医院),由郑州大学第一附属医院中药学部王娟教授鉴定为马兜铃科植物华细辛(*Asarum sieboldii* Miq.)的根及根茎。ALT检测试剂盒、AST检测试剂盒、BUN试剂盒、Cre试剂盒(南京建成生物工程所有有限公司,货号分别为C009-2-1、C010-2-1、20210309、20210414)。

1.3 仪器

离心机(CTK132C,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);酶标仪(MR-96A,深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司);电子天平(上海力辰仪器科技有限公司)。

2 方法

2.1 细辛水煎液的制备

取细辛1000g,加水5000mL煮沸1h,去渣取汁,将残渣加水5000mL再煎煮1h,过滤,合并两次药液,旋转蒸发浓缩,灌胃前以蒸馏水分别调整浓度至1.2、0.6、0.3、0.15g/mL(生药量)。

2.2 分组与给药

大鼠适应性饲养7d后随机分5组,每组10只,分别为正常组、低剂量组、中剂量组、高剂量组、极高剂量组。正常组灌胃给予生理盐水15mL/kg,各给药组分别灌胃给予等量对应浓度的细辛水煎液(3、6、12、24g/kg),连

续给药28d,每天1次。

2.3 观察项目

2.3.1 一般情况

观察实验期间各组大鼠饮食、饮水量和精神状态,并于第0、7、14、21、28天测量体质量。

2.3.2 血清ALT、AST、BUN、CRE水平的检测

大鼠于取血前禁食12h,分别于实验第7、14、21、28天尾静脉取血0.5mL。待上层析出血清后,3000r/min离心10min,分离血清供指标检测用。按照试剂盒说明书方法,检测血清ALT、AST、BUN和CRE水平。

2.3.3 组织病理学观察

第28天处死动物,取肝、肾、肺组织,以4%多聚甲醛分别固定大鼠肝、肾、肺脏,梯度乙醇常规脱水、二甲苯透明、浸蜡、石蜡包埋、切片,二甲苯常规脱蜡,高浓度到低浓度梯度酒精回水,苏木精染液染色10~20min,蒸馏水洗去多余的染液,1%酒精盐酸分色15s,流水冲洗15min,氨水返蓝,蒸馏水冲洗,0.5%伊红染色1~3min,低浓度到高浓度梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树脂封片,光学显微镜下观察各组大鼠肝肾肺组织病理变化并拍照。

2.4 统计学方法

采用SPSS17.0统计软件进行统计分析,计量资料服从正态分布时以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD法(方差齐时)或Dunnett' T3检验(方差不齐时)。P<0.05表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况

实验期间,各组大鼠饮食、饮水量未见明显差异,精神状态良好;各组大鼠体质量未见明显改变(P>0.05)。见表1。

表1 各组大鼠体质量的比较($\bar{x} \pm s$, g)

组别	n	第0天	第7天	第14天	第21天	第28天
正常组	10	236.3±10.3	274.3±11.2	313.9±19.1	341.8±22.3	371.5±31.9
低剂量组	10	233.6±10.7	267.6±13.6	309.9±16.7	339.7±22.4	367.1±23.8
中剂量组	10	232.5±11.8	267.2±11.7	301.1±11.1	328.8±18.6	358.5±14.1
高剂量组	10	229.7±10.0	268.7±16.8	303.8±18.8	332.3±27.5	357.1±29.2
极高剂量组	10	224.8±11.5	269.4±9.1	305.9±10.3	343.7±12.0	363.8±17.3

3.2 各组大鼠肝、肾、肺组织形态的比较

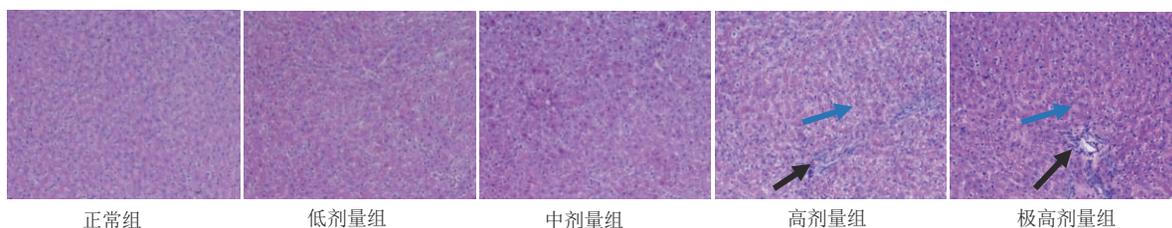
正常组、低剂量组、中剂量组大鼠肝细胞形态完好,结构清晰完整,未见明显的炎性改变;高剂量组、极高剂量组大鼠肝组织细胞排列紊乱,可见大量的肝细胞颗粒变性,胞质疏松淡染呈颗粒状(黑色箭头),局部血管周围可见淋巴细胞灶性浸润(蓝色箭头)。见图1。

正常组、低剂量组、中剂量大鼠肾组织皮质髓质分界明显,皮质中肾小球分布均匀,肾小球中细胞数量以及基质均匀,肾小管排列紧密,间质无明显增生;高剂量组大鼠肾组织少量炎性细胞浸润;极高剂量组大鼠肾组织少量炎性细胞浸润伴中等量的集合管扩张。见图2。

正常组、低剂量组大鼠肺组织形态正常,未见明显

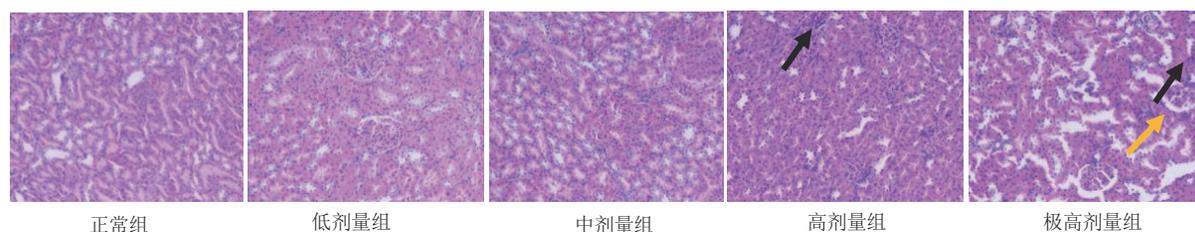
的病理损伤,中剂量组大鼠肺泡壁轻度增厚,并伴有少量的炎性细胞浸润;高剂量组、极高剂量组大鼠肺泡壁

中度增厚,大量淋巴细胞炎性浸润,局部支气管内可见脱落的上皮细胞碎片。见图3。



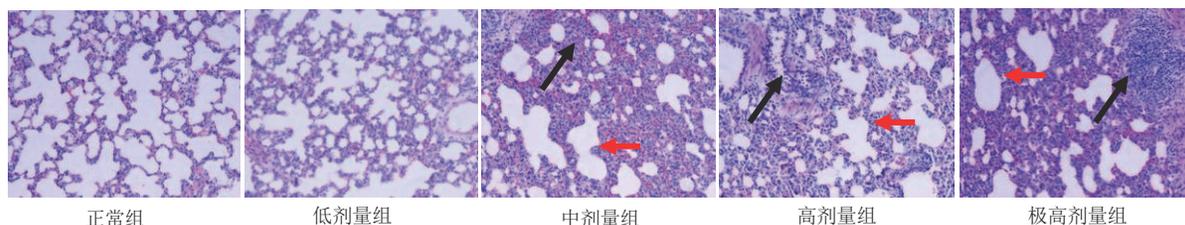
注:蓝色箭头为肝细胞颗粒变性;黑色箭头为淋巴细胞浸润。

图1 各组对大鼠肝组织染色图(HE染色, ×200)



注:黄色箭头为肾集合管扩张;黑色箭头为淋巴细胞浸润。

图2 各组对大鼠肾组织染色图(HE染色, ×200)



注:红色箭头为肺泡壁增厚;黑色箭头为淋巴细胞浸润。

图3 各组大鼠肺组织染色图(HE染色, ×200)

3.3 各组大鼠肝功能的比较

与正常组比较,高剂量组大鼠第14、28天血清ALT水平显著升高($P < 0.05$),第28天血清AST水平显著升高($P < 0.05$);细辛极高剂量组大鼠第14、21天血清ALT水平显著升高($P < 0.01, P < 0.05$),第14、21、28天血清ALT水平显著升高($P < 0.05, P < 0.01$);其余各组大鼠血清ALT、AST水平未见明显改变($P > 0.05$)。见表2和表3。

表2 各组大鼠血清ALT水平的比较($\bar{x} \pm s, U/L$)

组别	n	第7天	第14天	第21天	第28天
正常组	10	36.3 ± 12.8	44.1 ± 17.1	30.8 ± 9.5	36.0 ± 8.1
低剂量组	10	27.2 ± 12.4	34.2 ± 16.7	27.6 ± 8.6	43.1 ± 8.5
中剂量组	10	28.1 ± 6.8	38.0 ± 24.4	36.9 ± 10.0	39.0 ± 9.1
高剂量组	10	27.9 ± 9.2	59.8 ± 16.2*	36.3 ± 10.2	50.4 ± 14.5*
极高剂量组	10	45.4 ± 13.6	69.1 ± 6.6**	48.9 ± 19.5*	43.5 ± 10.4

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

3.4 各组大鼠肾功能的比较

与正常组比较,极高剂量组第7、21天血清BUN水

平显著升高($P < 0.05$),Cre水平未见明显改变($P > 0.05$);其余各组大鼠血清BUN、CRE水平未见明显改变($P > 0.05$)。见表4和表5。

表3 各组大鼠血清AST水平的比较($\bar{x} \pm s, U/L$)

组别	n	第7天	第14天	第21天	第28天
正常组	10	58.7 ± 11.8	67.2 ± 15.4	49.0 ± 6.3	52.5 ± 16.6
低剂量组	10	52.9 ± 17.2	56.0 ± 18.9	50.7 ± 13.4	54.3 ± 8.1
中剂量组	10	51.3 ± 7.0	61.4 ± 15.1	48.7 ± 18.2	49.2 ± 17.7
高剂量组	10	57.7 ± 14.3	73.0 ± 20.5	55.9 ± 16.4	70.0 ± 15.6*
极高剂量组	10	69.4 ± 16.2	85.4 ± 14.9*	64.8 ± 17.1*	75.9 ± 15.1**

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

表4 各组大鼠血清BUN水平的比较($\bar{x} \pm s, mmol/L$)

组别	n	第7天	第14天	第21天	第28天
正常组	10	4.41 ± 0.64	4.65 ± 0.73	4.25 ± 0.46	5.13 ± 1.08
低剂量组	10	4.86 ± 1.02	4.64 ± 0.97	4.55 ± 0.74	5.64 ± 0.92
中剂量组	10	4.91 ± 1.30	4.99 ± 0.66	4.25 ± 1.32	5.29 ± 0.71
高剂量组	10	4.85 ± 0.47	4.12 ± 0.67	4.51 ± 0.65	5.22 ± 1.08
极高剂量组	10	4.95 ± 0.28*	5.01 ± 0.49	4.78 ± 0.57*	5.35 ± 0.40

注:与正常组比较,* $P < 0.05$ 。

表5 各组大鼠血清CRE水平的比较($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)

组别	n	第7天	第14天	第21天	第28天
正常组	10	49.7±3.4	108.3±12.4	48.0±11.8	40.0±10.3
低剂量组	10	45.3±8.0	103.7±9.5	49.8±15.6	40.5±10.3
中剂量组	10	44.9±8.9	111.8±6.5	44.5±14.6	40.1±9.8
高剂量组	10	49.4±5.2	111.2±9.9	46.2±13.5	39.1±2.8
极高剂量组	10	45.8±7.5	103.1±8.6	54.8±14.9	41.1±7.2

4 讨论

细辛效专力宏、临床优势明确,以其强烈的辛温走窜之性改善沉痾痼冷,多用于多种顽症、难治之症^[12]。细辛始载于《神农本草经》,东汉《伤寒杂病论》记载含有细辛的方剂19首^[13];隋唐《备急千金要方》记载细辛内服汤剂6首^[14];清代发现含细辛方剂373首^[15]。目前,细辛在急慢性鼻炎、肺炎、风湿、类风湿性关节炎等难治疾病的救治中仍处于一线地位,现行《国家医保目录》《中华人民共和国药典》《中医方剂大辞典》共收录含细辛方剂1061种,其中21.66%的方剂中细辛用量3g以上,用量10g以上的方剂占14.04%,更有6.62%方剂用量达37.5g以上^[16],高剂量细辛带来疗效的同时也存在着安全隐患。正是由于细辛毒效并存,古今医家对其应用颇具争议,有谓“细辛不过钱,过钱命相连”,或谓“神农本草之上品”,有欲取速效而超量使用,亦有因恐惧毒性而弃之不用者。究其原因,是对细辛毒性的认识模糊、临床把控毒性困难。细辛毒性的研究是细辛临床用药的前提,亦是细辛减毒、解毒策略研究的根本,更是对细辛临床安全用药的衡量与把控的基础。

笔者探讨了不同剂量的细辛水煎液连续灌胃28d后对大鼠肝、肾、肺的影响。结果显示,6、12、24g/kg的细辛水煎液造成大鼠肺部组织病理改变,肺泡壁增厚,肺组织炎性浸润,提示6~24g/kg细辛水煎液可诱导肺损伤,这与CAO等^[17]研究结果一致。血清中的ALT、AST能直接反映大鼠的肝脏细胞是否受到损伤,是血清学中肝损伤的有力依据^[18]。12、24g/kg细辛水煎液升高了大鼠血清ALT、AST水平,引发肝组织细胞颗粒变性,淋巴细胞灶性浸润,表明12~24g/kg细辛水煎液可诱导肝损伤。BUN、CRE是判断肾小球滤过功能的指标,BUN、CRE水平的异常提示肾损伤的存在^[19]。24g/kg细辛水煎液引起大鼠BUN水平升高,12、24g/kg细辛水煎液使肾组织炎性细胞浸润,伴肾集合管扩张,说明12~24g/kg细辛水煎液可诱导肾损伤。

综上所述,6~24g/kg细辛水煎液可诱导不同程度的肺损伤,12~24g/kg细辛水煎液可诱导不同程度的肝、肾损伤。然而细辛诱导肝、肾、肺毒性机制如何,有待于进一步研究。细辛毒性的研究将为细辛临床合理安全用药提供最直接、最客观的证据,具有迫切的现实意义。

【参考文献】

- [1] 聂安政,茹庆国,付智慧. 细辛水煎液抗炎镇痛作用研究[J]. 中医药信息,2021,38(7):40-42.
- [2] 贾羲,付智慧,茹庆国,等. 不同剂量细辛水煎液抗炎镇痛与肾毒性研究[J]. 中医药信息,2022,39(11):55-59.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020.
- [4] 降玉珉. 治愈服用过量细辛引起中毒1例报告[J]. 上海中医药杂志,1965,11(8):41.
- [5] 陈筱琴,王遂生. 细辛过量引起心律失常一例[J]. 江苏中医,1994,15(1):10.
- [6] 刘福礼,张韧闻,周超凡. 服细辛过量出现心衰1例[J]. 中国中药杂志,1995,20(7):440.
- [7] 陈坚,蔡玲英. 细辛中毒1例诊治体会[J]. 黑龙江医药,2001,14(4):310.
- [8] 翟敏,余绍玲. 超量服用中药导致中毒分析[J]. 河南中医,2003,23(12):62.
- [9] 龙月娥,叶世辉,陈晓云. 重度急性细辛中毒抢救成功1例[J]. 陕西中医,1999,20(6):282.
- [10] 陈忠朴. 中药“细辛”中毒1例救治体会[J]. 河北医药,2007,29(5):524.
- [11] 徐建兵,文竹,杨国正,等. 细辛毒性研究进展[J]. 西部医学,2011,23(12):2473-2475.
- [12] 傅钊钧,王英平,张瑞. 细辛化学成分提取方法和药理活性研究进展[J]. 特产研究,2020,42(6):85-89,95.
- [13] 聂安政,赵雪睿,朱春胜,等. 细辛用药沿革与合理用药思考[J]. 中草药,2018,49(23):5719-5723.
- [14] 孙思邈. 备急千金要方[M]. 北京:人民卫生出版社,1955.
- [15] 李明,周强,杨丽娜,等. 历代含细辛汤剂中细辛常用剂量文献研究[J]. 中医杂志,2017,58(20):1783-1786.
- [16] 周蓉蓉,张理云. 细辛在经方中应用配伍规律探析[J]. 河南中医,2021,41(2):196-200.
- [17] CAO S, HAN L, LI Y, et al. Integrative transcriptomics and metabolomics analyses provide hepatotoxicity mechanisms of asarum[J]. Experimental and Therapeutic Medicine,2020,20(2):1359-1370.
- [18] 蒙锦燕,徐百昌,司红彬. 葛根素对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤的保护作用研究[J]. 中国畜牧兽医,2022,49(11):4457-4465.
- [19] 张亚楠. 血清胱抑素C与肌酐、尿素氮联合检测对肾功能损害的诊断价值[J]. 中国医药指南,2022,20(27):106-108.

(收稿日期:2022-11-18)

Effects of Different Doses of Asarum Decoction on Liver, Kidney and Lung Toxicity in Rats

NIE Anzheng, BIAN Meng, ZHU Chunsheng[✉]

(The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

【Abstract】 Objective: To observe the effects of different doses of asarum decoction on the morphology and functions of liver, kidney and lung in SD rats, and to investigate the toxicity of asarum to liver, kidney and lung. Methods: 50 SPF SD rats were randomly divided into the normal group, the low-dose group, the medium-dose group, the high-dose group and the extremely high-dose group, with 10 rats in each group. The normal group was given normal saline, the rest groups were given different doses of asarum decoction (3 g/kg, 6 g/kg, 12 g/kg and 24 g/kg) by intragastric administration for 28 days. Blood was collected from the tail vein on day 7, day 14, day 21 and day 28 to detect the serum levels of ALT, AST, CRE and BUN. The tissue samples of liver, kidney and lung were collected and stained with HE to observe the tissue morphology. Results: The alveolar wall was slightly thickened in the medium-dose group with a small amount of inflammatory cell infiltration. The serum level of ALT was significantly increased on day 14 and day 28 ($P < 0.05$); the serum level of AST was significantly increased on day 28 ($P < 0.05$), there were hepatocyte granular degeneration, focal lymphocyte infiltration around local blood vessels, a small amount of inflammatory cell infiltration in renal tissue, moderate thickening of alveolar wall in lung tissues and a large number of lymphocyte inflammatory infiltrates in the high-dose group. In the extremely high-dose group, the serum level of ALT was significantly increased on day 14 and day 21 ($P < 0.05$), the serum level of ALT was significantly increased on day 14, day 21 and day 28 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the serum level of BUN was significantly increased on day 7 and day 21 ($P < 0.05$); there were granular degeneration of liver cells, loose and light stained granular cytoplasm, focal infiltration of local perivascular lymphocytes, a small amount of inflammatory cell infiltration in renal tissues with a moderate amount of collecting duct dilatation, thickening of alveolar wall in lung tissues, a large number of inflammatory infiltration of lymphocytes, and local epithelial cell shedding in bronchus. Conclusion: 6–24 g/kg asarum water decoction can induce different degrees of lung injury, 12–24 g/kg asarum water decoction can induce different degrees of liver and kidney injuries.

【Key words】 Asarum; Hepatotoxicity; Renal toxicity; Pulmonary toxicity