



中药(赶黄草+波棱瓜子)提取物对小鼠维生素A急性中毒早期的治疗效果

曹 冶¹, 于吉峰¹, 谢 晶¹, 张先惠¹, 彭广能², 钟志军², 康润敏¹

(¹四川省畜牧科学研究院/动物遗传育种四川省重点实验室, 成都 610066; ²四川农业大学动物医学院, 成都 611130)

摘要:【目的】研究中药提取物及其组方对小鼠维生素A急性中毒早期的治疗效果,为动物维生素A急性中毒提供有效的治疗手段,进而促进伴侣动物医疗的健康发展。【方法】选取健康成年昆明种小鼠一次性腹腔注射维生素A(按1500 mg/kg计)建立维生素A中毒致骨骼发育不良综合症小鼠模型,4周后采集血液测定生化指标。将维生素A急性中毒小鼠随机分成6组(T1~T6)进行治疗:T1组为空白对照组(不给药);T2组为10.0 mL/kg赶黄草水粗提物;T3组为1.0 mL/kg波棱瓜子粗提油;T4组为5.0 mL/kg赶黄草水粗提物+0.5 mL/kg波棱瓜子粗提油;T5组为5.0 mL/kg赶黄草水粗提物+0.5 mL/kg波棱瓜子粗提油+1.0 g/kg黄芪多糖;T6组为阳性对照,安宫牛黄丸(1/3粒,约1 g)。各给药处理组均连续灌胃给药7 d。在开始给药的2、4、6和8 d分别采集小鼠静脉血制备血清,用于谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、钙(Ca)、磷(P)和甲状旁腺素(PTH)等血清生化指标测定。【结果】除T1组外,各给药处理组维生素A急性中毒小鼠的血清生化指标均发生明显变化,ALT、AST和ALP活性及Ca和P含量整体上均呈下降趋势,PTH含量则呈上升趋势。综合各项血清生化指标的变化趋势,可确定T5组的小鼠维生素A急性中毒治疗效果最佳,至给药第8 d,维生素A急性中毒小鼠血清ALT活性降至3.78 ng/mL,AST活性降至628.14 pg/mL,ALP活性降至2.35 ng/mL,Ca含量降至3.29 mmol/L,P含量降至1.62 mmol/L,而PTH含量升高到337.95 pg/mL。【结论】赶黄草水粗提物和波棱瓜子粗提油均能有效治疗小鼠维生素A急性中毒,两者联用效果更佳,尤其是与黄芪多糖配伍组合,其作用机理主要是通过修复肝功能及骨组织损伤来实现。

关键词: 小鼠; 维生素A急性中毒; 赶黄草水粗提物; 波棱瓜子粗提油; 肝功能; 骨组织

中图分类号: S853.75

文献标志码: A

文章编号: 2095-1191(2020)07-1737-07

Effects of Chinese herbal (*Herpetospermum caudigerum*+*Penthorum chinense* Pursh) extracts on early stage of acute vitamin A poisoning in mice

CAO Ye¹, YU Ji-feng¹, XIE Jing¹, ZHANG Xian-hui¹, PENG Guang-neng²,
ZHONG Zhi-jun², KANG Run-min¹

(¹Sichuan Animal Science Academy/Animal Breeding and Genetics key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu 610066, China; ²College of Veterinary Medicine, Sichuan Agriculture University, Chengdu 611130, China)

Abstract: 【Objective】To study the therapeutic effect of Chinese medicine extract and components prescription on acute poisoning of vitamin A in early stage for mice, to provide effective treatment for acute vitamin A poisoning in animals, and to promote the healthy development of companion animal treatment. 【Method】Healthy Kunming mice were selected and injected with vitamin A (calculated by 1500 mg/kg) intraperitoneally once to establish a model of bone dysplasia syndrome caused by vitamin A poisoning in early stage. After four weeks of treatment, blood was collected to measure biochemical indexes. The mice with dysplastic syndrome caused by vitamin A poisoning were randomly divided into six groups for cure(T1-T6). T1 group was the control group without any treatment; T2 group was treated with 10.0 mL/kg crude water extract of *Penthorum chinense* Pursh. T3 group was treated with 1.0 mL/kg crude extract oil of *Herpetospermum caudigerum*. T4 group was treated with 5.0 mL/kg crude water extract of *P. chinense*+0.5 mL/kg crude extract oil of *H. caudigerum*; T5 group was treated with 5.0 mL/kg of crude water extract of *P. chinense*+0.5 mL/kg of crude extract oil of *H. caudigerum* +1.0 g/kg of *Astragalus polysaccharide*. T6 group was positive control, treated with Angong Niuhuang

收稿日期: 2019-09-23

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFD0501000)

作者简介: 曹冶(1970-), 博士, 研究员, 主要从事临床兽医研究工作, E-mail: cy3831@163.com

Pill (1/3 tablets, about 1 g). All the medication groups were intragastric administered for 7 d. On the 2nd, 4th, 6th and 8th day of treatment, venous blood of mice was collected to prepare serum for determination of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), calcium (Ca), phosphorus (P), alkaline phosphatase (ALP) and parathyroid hormone (PTH). 【Result】Except T1 group, the serum biochemical indexes of mice with acute vitamin A poisoning in other treatment groups were significantly changed, the activities of ALT, AST and ALP, the contents of Ca and P all showed a downward trend, and the content of PTH showed an upward trend. According to the change trend of serum biochemical indexes, it could be determined that the T5 group had the best therapeutic effect on acute vitamin a poisoning in mice. On the 8th d of administration, ALT activity, AST activity, ALP activity, Ca content, P content and PTH content in mice with acute vitamin a poisoning decreased to 3.78 ng/mL, 628.14 pg/mL, 2.35 ng/mL, 3.29 mmol/L, 1.62 mmol/L respectively, and PTH content increased to 337.95 pg/mL. 【Conclusion】Both the crude water extract of *P. chinense* and the crude oil of *H. caudigerum* can treat acute vitamin A poisoning effectively in mice, and the combination of them is more effective, especially in combination with *A. polysaccharides*. Its mechanism is mainly achieved by repairing liver function and bone tissue damage.

Key words: mouse; acute poisoning of vitamin A; crude water extract of *Penthorum chinense* Pursh; crude extract oil of *Herpetospermum caudigerum*; liver function; bone tissue

Foundation item: National Key Research and Development Program(2016YFD0501000)

0 引言

【研究意义】近年来,随着国民经济的快速发展及人们生活水平的不断提高,伴侣动物特别是宠物犬和猫的数量迅猛增长。据统计,2018年我国城镇养宠物犬人数达3390万,且宠物行业依然保持着27%的年增长速率(旖媛,2019),如何保证其健康已成为宠物行业面临的重大问题。维生素A又称视黄醇(其醛衍生物为视黄醛),是一个具有酯环的不饱和一元醇,是人类及动物所必需的营养素(范肖肖,2015)。维生素A中毒是由于动物长期过量摄入富含维生素A的食物,引起维生素A过剩症,在伴侣动物的养殖过程中时有发生,主要是由于饲喂全价日粮的同时长期大量饲喂肝脏,致使维生素A在动物体内发生蓄积,其临床症状主要表现为骨质疏松,易骨折,韧带和肌腱附着处的骨膜发生增生性病变,被毛稀疏、易脱等,特别是幼年动物极易出现四肢关节肿胀、跛行等骨骼发育不良等症状(Johansson et al., 2002; Perrotta et al., 2002; Lind et al., 2018),但目前尚无治疗动物维生素A中毒的特效药物。因此,研发能有效治疗动物维生素A中毒的药物对确保伴侣动物医疗健康发展具有重要意义。【前人研究进展】维生素A主要储存在动物肝脏中,过量的维生素A会导致肝肿大、坏死等病理变化(Hathcock et al., 1990; Penniston and Tanumihardjo, 2001);在其他组织中也存在维生素A储存,但不同动物间的肝外维生素A储存差异明显(Schmitz et al., 1991; Raila et al., 2000, 2002; Mills et al., 2005),可能是由于维生素A的状态不同,以及改变维生素A状态或代谢的潜在疾病过程所造成。虽然已证实过量摄入维生素A与骨骼发育不良等症状存在关联,但导致中毒的摄入量尚未确定,可能还与其他营养元素协同发挥作

用导致中毒有关(Ilich and Kerstetter, 2000; Feskani et al., 2002; Promislow et al., 2002; Michaëlsso et al., 2003; Lim et al., 2004)。对于动物维生素A中毒目前尚无特效的诊断和治疗方法,以犬为例,主要采取停止饲喂富含维生素A的食物(动物肝脏等)或饲料,并进行对症治疗。对于关节肿胀、跛行的患犬,可按照0.5~1.0 mg/kg的剂量肌肉注射地塞米松,每天1次,连用3~5 d,同时肌肉注射维生素B1、B6和B12混合液;或口服安宫牛黄丸(1/3粒,约1.0 g)和大活络丸(1/3粒,约1.2 g),每天2次,连用15 d。但临床实践证明,这些治疗效果并不理想(苏惠龙等, 2009)。本课题组前期研究发现,小鼠在维生素A急性中毒4周左右开始出现关节肿胀、跛行等症状,在其生化指标上表现为血清谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)活性达峰值,血清钙(Ca)含量达峰值;随着时间的推移,其临床症状愈加明显,且生化指标仍维持在高位水平。因此,将小鼠维生素A急性中毒的前4周认定为维生素A急性中毒早期。【本研究切入点】我国中药资源非常丰富,且有着悠久的中药用药历史,若能从中寻找到治疗维生素A急性中毒的药物或组方,对保障伴侣动物健康喂养具有重要意义。【拟解决的关键问题】研究中药提取物及其组方对小鼠维生素A急性中毒早期的治疗效果,为动物维生素A急性中毒提供有效的治疗手段,进而促进伴侣动物医疗的健康发展。

1 材料与方法

1.1 试验动物及分组

健康成年昆明种小鼠[动物合格证号SYXK(川)2009-045]购自四川大学华西医院实验动物中心,共42只,公母各半,体质量18~22 g/只。在25~

28 ℃的环境中饲养2 d后,随机挑选36只小鼠一次性腹腔注射维生素A(按1500 mg/kg计),构建维生素A急性中毒模型小鼠,作为试验动物;另外6只不进行处理,作为建模对照组。在中毒4周后开始进行治疗试验,同时采集血液测定其生化指标,验证模型建立效果。将维生素A中毒致骨骼发育不良综合症的小鼠随机分成6组,每组6只小鼠。第1组为空白对照组(T1),不给药;第2组为赶黄草水粗提物治疗组(T2),按10.0 mL/kg的剂量连续灌胃给药7 d;第3组为波棱瓜子粗提油治疗组(T3),按1.0 mL/kg的剂量连续灌胃给药7 d;第4组为赶黄草水粗提物+波棱瓜子粗提油治疗组(T4),按5.0 mL/kg赶黄草水粗提物+0.5 mL/kg波棱瓜子粗提油连续灌胃给药7 d;第5组为赶黄草水粗提物+波棱瓜子粗提油+黄芪多糖治疗组(T5),按5.0 mL/kg赶黄草水粗提物+0.5 mL/kg波棱瓜子粗提油+1.0 g/kg黄芪多糖(一级品)连续灌胃给药7 d;第6组为阳性对照(T6),取安宫牛黄丸作为药品(1/3粒,约1 g),连续灌胃给药7 d。

1.2 中药提取及处理

中药赶黄草和波棱瓜子购自成都中药批发市场,均为一级品。称取100 g赶黄草粉末,用滤纸包好后放入索氏抽提器中,加入蒸馏水索氏提取6 h,回收提取物,水浴蒸干溶剂,用蒸馏水重溶得到60 mL赶黄草水粗提物。称取100 g波棱瓜子粉末,用滤纸包好后放入索氏抽提器中,加入石油醚索氏提

取6 h,回收石油醚提取物,旋转蒸干溶剂后得到50 mL波棱瓜子粗提油。

1.3 测定项目及方法

在开始灌胃给药的2、4、6和8 d分别采集小鼠肢端静脉血,静置离心后收集血清,采用小鼠谷丙转氨酶(ALT)测定试剂盒、小鼠谷草转氨酶(AST)测定试剂盒、小鼠碱性磷酸酶(ALP)测定试剂盒、小鼠甲状旁腺素(PTH)测定试剂盒、小鼠血清钙(Ca)测定试剂盒、小鼠血清磷(P)测定试剂盒分别进行ALT、AST、ALP活性及PTH、Ca、P含量测定,具体步骤按照试剂盒说明进行操作。

1.4 统计分析

试验数据采用SPSS 22.0进行单因素方差分析(One-way ANOVA)和Duncan's多重比较。

2 结果与分析

2.1 维生素A急性中毒早期小鼠模型建立

选择42只健康小鼠,随机分成7组(1个对照组和6个急性中毒组),每组6只。其中,对照组小鼠不进行处理,急性中毒组小鼠则按1500 mg/kg的剂量一次性腹腔注射维生素A,4周后采集小鼠静脉血检测血清生化指标。结果发现急性中毒组小鼠均出现关节肿胀、跛行等临床症状,其血清ALT、AST和ALP活性及PTH和Ca含量均呈极显著升高趋势($P<0.01$,下同),而血清P含量呈极显著下降趋势(表1),说明维生素A急性中毒小鼠模型建立成功。

表1 维生素A急性中毒早期小鼠血清生化指标的变化趋势

Table 1 Changes of serum biochemical indexes of acute vitamin A poisoning mice model on early stage

组别 Group	ALT(ng/mL)	AST(pg/mL)	ALP(ng/mL)	PTH(pg/mL)	Ca(mmol/L)	P(mmol/L)
对照组 Control group	0.78±0.15bB	194.12±43.55bB	0.60±0.20bB	53.45±6.54bB	3.03±0.11bB	2.92±0.04aA
急性中毒组 Acute poisoning group	9.55±0.32aA	1493.04±119.70aA	7.92±0.28aA	106.70±8.67aA	9.56±0.05aA	2.59±0.10bB

同列数据后不同小、大写字母分别表示差异显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)。表2~表7同

Different lowercase letters in the same column represented significant difference($P<0.05$), and uppercase letters represented extremely significant difference($P<0.01$). The same was applied in Table 2-Table 7

2.2 中药提取物对维生素A急性中毒小鼠血清ALT活性的影响

由表2可知,T1组维生素A急性中毒小鼠血清ALT活性变化不明显,其变化范围在9.22~9.98 ng/mL;T2组维生素A急性中毒小鼠血清ALT活性呈先上升后下降的变化趋势,但变化幅度不明显;T3、T4、T5和T6组维生素A急性中毒小鼠血清ALT活性在整个药物治疗周期内均呈明显的下降趋势,对应的降幅分别为45.27%、44.72%、59.74%和65.10%。

表2 药物治疗后维生素A急性中毒小鼠血清ALT活性的变化趋势(ng/mL)

Table 2 Changes of serum ALT activity in mice with acute vitamin A poisoning treated with various drugs(ng/mL)

组别 Group	第2 d The 2 nd day	第4 d The 4 th day	第6 d The 6 th day	第8 d The 8 th day
T1	9.77±0.51bcB	9.66±0.54aA	9.98±0.43aA	9.22±0.61aA
T2	9.82±0.27bcB	10.04±0.30aA	8.50±0.18bB	7.53±0.19bB
T3	10.05±0.21bB	8.92±0.17bB	7.99±0.10cC	5.50±0.14cC
T4	8.90±0.28dC	6.97±0.12dD	5.76±0.25dD	4.92±0.17dC
T5	9.39±0.30cBC	7.42±0.08cCD	5.02±0.02eE	3.78±0.14eD
T6	11.09±0.18aA	7.58±0.23cC	5.52±0.18dD	3.87±0.18eD

至给药第8 d, T5和T6组维生素A急性中毒小鼠血清ALT活性分别降至3.78和3.87 ng/mL, 均极显著低于其他处理组, 但两者间差异不显著($P>0.05$, 下同)。

2.3 中药提取物对维生素A急性中毒小鼠血清AST活性的影响

由表3可知, T1组维生素A急性中毒小鼠血清AST活性无明显变化(1730.64~1820.26 pg/mL); T2、T3、T4、T5和T6组维生素A急性中毒小鼠血清AST活性在整个药物治疗周期内均呈明显的下降趋势, 对应的降幅分别为69.51%、44.21%、57.47%、65.01%和32.77%。至给药第8 d, T2、T4和T5组维生素A急性中毒小鼠血清AST活性分别降至540.98、665.80和628.14 pg/mL, 其中, T2组极显著低于T4组、显著低于T5组($P<0.05$), 但均极显著低于其他处理组。

2.4 中药提取物对维生素A急性中毒小鼠血清ALP活性的影响

由表4可知, T1组维生素A急性中毒小鼠血清ALP活性无明显变化(6.94~7.70 ng/mL); T2、T3、T4、

T5和T6组维生素A急性中毒小鼠血清ALP活性在整个药物治疗周期内均呈明显的下降趋势, 对应的降幅分别为73.09%、47.98%、75.89%、74.12%和65.97%, 其中T2、T4和T5组的治疗效果相对较明显, 至给药第8 d其维生素A急性中毒小鼠血清ALP活性分别降至2.08、2.04和2.35 ng/mL, 彼此间无显著差异, 但均极显著低于T1和T3组。

2.5 中药提取物对维生素A急性中毒小鼠血清Ca含量的影响

由表5可知, T1组维生素A急性中毒小鼠血清Ca含量无明显变化(9.35~9.94 mmol/L); T2、T3、T4和T5组维生素A急性中毒小鼠血清Ca含量在整个药物治疗周期内均呈明显的下降趋势, 对应的降幅分别为35.37%、46.05%、64.82%和58.82%; T6组维生素A急性中毒小鼠血清Ca含量也无明显变化。至给药第8 d, T4和T5组维生素A急性中毒小鼠血清Ca含量分别降至2.61和3.29 mmol/L, 均极显著低于其他处理组, 说明T4组的降血钙作用最佳, T5组次之。

表3 药物治疗后维生素A急性中毒小鼠血清AST活性的变化趋势(pg/mL)

Table 3 Changes of serum AST activity in mice with acute vitamin A poisoning treated with various drugs(pg/mL)

组别 Group	第2 d The 2 nd day	第4 d The 4 th day	第6 d The 6 th day	第8 d The 8 th day
T1	1785.36±74.57aA	1789.51±19.19aA	1820.26±70.31aA	1730.64±68.30aA
T2	1774.45±55.35aA	1285.00±77.61cC	984.31±24.35eDE	540.98±50.23eE
T3	1812.26±55.32aA	1652.24±35.85bB	1475.15±32.54cC	1011.06±22.26cC
T4	1565.39±60.48bB	1336.34±28.40cC	1080.39±65.13dD	665.80±36.74dD
T5	1795.05±49.31aA	1277.92±26.30cC	948.50±36.12eE	628.14±26.68dDE
T6	1835.32±10.73aA	1733.87±54.65aAB	1633.18±50.40bB	1233.81±36.45bB

表4 药物治疗后维生素A急性中毒小鼠血清ALP活性的变化趋势(ng/mL)

Table 4 Changes of serum ALP activity in mice with acute vitamin A poisoning treated with various drugs(ng/mL)

组别 Group	第2 d The 2 nd day	第4 d The 4 th day	第6 d The 6 th day	第8 d The 8 th day
T1	7.62±0.35cC	7.18±0.20aA	6.94±0.31aA	7.70±0.40aA
T2	7.73±0.54cBC	6.00±0.16bB	3.85±0.24cC	2.08±0.12dD
T3	8.67±0.30aA	7.07±0.25aA	5.67±0.11bB	4.51±0.29bB
T4	8.46±0.39bAB	5.47±0.30cB	3.43±0.19dCD	2.04±0.25dD
T5	9.08±0.34aA	5.47±0.43cB	3.16±0.14dD	2.35±0.40dCD
T6	8.61±0.38aA	7.00±0.21aA	5.92±0.36bB	2.93±0.43cC

表5 药物治疗后维生素A急性中毒小鼠血清Ca含量的变化趋势(mmol/L)

Table 5 Changes of serum cadmium content in mice with acute vitamin A poisoning treated with various drugs(mmol/L)

组别 Group	第2 d The 2 nd day	第4 d The 4 th day	第6 d The 6 th day	第8 d The 8 th day
T1	9.94±0.93bA	9.57±0.37aA	9.35±0.24bA	9.40±0.33aA
T2	9.98±0.44bA	7.70±0.24bB	7.33±0.34cB	6.45±0.21dB
T3	10.77±0.38aA	7.54±0.29bcB	6.52±0.28dC	5.81±0.16cC
T4	7.42±0.32cB	6.42±0.61dC	3.80±0.25eD	2.61±0.25eE
T5	7.99±0.44cB	7.15±0.34cB	3.84±0.30eD	3.29±0.40dD
T6	10.80±0.50aA	9.93±0.30aA	9.75±0.12aA	9.37±0.39aA

2.6 中药提取物对维生素A急性中毒小鼠血清P含量的影响

由表6可知, T1和T6组维生素A急性中毒小鼠血清P含量均无明显变化; T2和T3组维生素A急性中毒小鼠血清P含量呈先上升后下降的变化趋势; T4和T5组维生素A急性中毒小鼠血清P含量在整个药物治疗周期内均呈明显的下降趋势, 其降幅均为51.06%。至给药第8 d, T4和T5组维生素A急性中毒小鼠血清P含量分别降至1.61和1.62 mmol/L, 均极显著低于其他处理组。

表6 药物治疗后维生素A急性中毒小鼠血清P含量的变化趋势(mmol/L)

Table 6 Changes of serum phosphorus content in mice with acute vitamin A poisoning treated with various drugs(mmol/L)

组别 Group	第2 d The 2 nd day	第4 d The 4 th day	第6 d The 6 th day	第8 d The 8 th day
T1	2.92±0.32b	2.72±0.27bB	2.71±0.22bB	2.99±0.22aA
T2	3.14±0.13ab	3.20±0.20aA	2.72±0.10bB	2.35±0.11bB
T3	3.04±0.21ab	3.12±0.07aA	2.37±0.08cC	2.00±0.11cC
T4	3.29±0.28a	3.07±0.07aA	2.34±0.09cC	1.61±0.12dD
T5	3.31±0.15a	3.07±0.07aA	2.32±0.04cC	1.62±0.11dD
T6	3.06±0.21ab	3.06±0.30aA	3.05±0.06aA	2.97±0.19aA

2.7 中药提取物对维生素A急性中毒小鼠血清PTH含量的影响

由表7可知, T1组维生素A急性中毒小鼠血清PTH含量变化不明显, 其变化范围在92.13~116.16 pg/mL; T2、T3、T4和T5组维生素A急性中毒小鼠血清PTH含量在整个药物治疗周期内均呈明显的上升

趋势, 对应的增幅分别为131.81%、152.57%、82.18%和75.64%; T6组维生素A急性中毒小鼠血清PTH含量也呈上升趋势, 但上升趋势不明显。至给药第8 d, T4和T5组维生素A急性中毒小鼠血清PTH含量分别升到332.66和337.95 pg/mL, 均极显著高于其他处理组。

表7 药物治疗后维生素A急性中毒小鼠血清PTH含量的变化趋势(pg/mL)

Table 7 Changes of serum PTH content in mice with acute vitamin A poisoning treated with various drugs(pg/mL)

组别 Group	第2 d The 2 nd day	第4 d The 4 th day	第6 d The 6 th day	第8 d The 8 th day
T1	102.24±6.57bC	116.16±2.90cC	96.06±4.97dC	92.13±4.20eD
T2	125.44±8.59bB	172.25±13.66bB	238.74±20.86bB	290.78±12.42cB
T3	121.16±8.20bB	170.46±2.67bB	230.53±10.99bB	306.01±10.43bB
T4	182.60±5.12aA	265.92±9.00aA	319.10±17.46aA	332.66±7.17aA
T5	192.41±8.02aA	270.98±11.34aA	308.99±3.46aA	337.95±6.05aA
T6	92.67±3.60cC	108.43±9.10cC	119.61±2.81cC	136.68±2.45dC

3 讨论

赶黄草又名扯根菜、水泽兰、水杨柳等, 为虎耳草科植物扯根菜的地上部分, 是苗族民间治疗肝病的经验方, 具有清热解毒、退黄化湿、活血散瘀及利水消肿等功效(宋丽等, 2007; 舒刚等, 2015)。波棱瓜子为葫芦科植物波棱瓜的干燥成熟种子, 是一种常用藏药, 具有清胆热、泻肝火及治疗消化不良等功效(林小静等, 2012; 顾健等, 2014)。鉴于此, 本研究选用赶黄草水粗提物和波棱瓜子粗提油治疗维生素A急性中毒小鼠, 结果显示, 赶黄草水粗提物和波棱瓜子粗提油均具有治疗维生素A急性中毒所致小鼠骨损伤的功效, 尤其是两者联用并配以免疫增强剂黄芪多糖的效果最佳, 不仅可治疗维生素A急性中毒所致的骨组织损伤, 还能修复维生素A急性中毒所引起的肝损伤。

ALT和AST是衡量动物机体肝功能的重要生化指标。ALT主要存在于肝细胞的胞浆内, AST主要分布在肝细胞的胞浆和线粒体中(韦日明等, 2015)。肝细胞坏死时, ALT和AST大量释放进入血液中, 致使其血清浓度升高, 故其升高程度与肝细胞的受损程度相一致。其中, ALT是反映肝细胞受损的指标, AST则是反映肝细胞坏死的指标(徐捷和黄炳新, 2009; 朱丽红, 2010)。本研究结果表明, 波棱瓜子粗提油对降低维生素A急性中毒所致小鼠血清ALT升高的效果略优于赶黄草水粗提物, 且两者联用的效果优于单独使用, 尤其再配伍黄芪多糖, 其效果进一步提升, 略优于传统治疗药物安宫牛黄丸, 可能是由于黄芪多糖具有激发机体自身免疫力的功效所致(彭婷等, 2012; 冯士彬等, 2019)。对于AST而言, 赶黄草水粗提物对降低维生素A急性中毒所致小鼠血

清AST升高的效果最佳, 优于波棱瓜子粗提油及两者联用。可见, 赶黄草水粗提物+波棱瓜子粗提油+黄芪多糖治疗维生素A急性中毒所致的小鼠肝损伤效果最佳, 不仅能修复肝损伤, 还能加快坏死肝细胞代谢, 从而达到修复肝功能的目的, 效果明显优于传统治疗药物安宫牛黄丸。

ALP广泛分布于动物的肝脏、骨骼、肠道、肾脏和胎盘等组织, 是经肝脏向胆外排出的一种酶(Hessle et al., 2002), 目前已发现有ALP1、ALP2、ALP3、ALP4、ALP5和ALP6等6种同功酶, 其中, ALP1、ALP2和ALP6来自肝脏, ALP3来自骨细胞, ALP4来自胎盘及癌细胞, ALP5来自小肠绒毛上皮及成纤维细胞。ALP能催化核酸分子脱掉5'磷酸基团, 从而使DNA或RNA片段的5'-P末端转换成5'-OH末端(王秋颖, 2011)。临床上, ALP测定主要用于骨骼及肝胆系统疾病的鉴别诊断, 其病理性升高能特异性反映肝损伤所致的骨组织损伤情况(Hessle et al., 2002)。本研究结果表明, 赶黄草水粗提物降低维生素A急性中毒小鼠血清ALP活性的效果优于波棱瓜子粗提油, 两者联用降低血清ALP活性的效果与赶黄草水粗提物相似, 均优于传统治疗药物安宫牛黄丸。

Ca和P是构成动物骨组织的重要组成元素, 约有80%的P及99%以上的Ca是以磷酸钙形式贮存于骨骼中。游离的血清Ca和P浓度升高或降低均在某种程度上反映动物骨组织出现异常变化(Masuyama et al., 2003)。本研究结果表明, 维生素A急性中毒小鼠出现明显的关节肿胀症状, 其血清Ca含量极显著升高、血清P含量极显著下降, 导致血清中的钙磷比(Ca/P)大幅上升; 赶黄草水粗提物和波棱瓜子粗提油均能有效降低维生素A急性中毒小鼠的血清Ca和P浓度, 两者联用的效果更佳, 而传统治疗药物安

宫牛黄丸对降低维生素A急性中毒小鼠血清Ca和P浓度的效果不明显。本研究采用药物治疗维生素A急性中毒小鼠时发现,赶黄草水粗提物和波棱瓜子粗提油均导致小鼠血清中的Ca/P提高,且两者联用后血清中的Ca/P进一步提高。这可能是动物在修复骨组织损伤时,需要大量Ca和P来重构骨组织,而损伤时只有大量Ca释放到血液中,因此骨组织修复时为达平衡,需摄入更多的P来补充,从而导致血清中的Ca/P提高。PTH是含有84个氨基酸残基的直链多肽,分子量为9500 Da,其生物活性取决于第1~27位氨基酸残基。PTH是机体内维持血清Ca稳态的主要激素,其总效应是升高血清Ca含量和降低血清P含量(Esbrit and Alcaraz,2013)。本研究结果显示,赶黄草水粗提物和波棱瓜子粗提油因具有修复维生素A急性中毒所致小鼠骨组织损伤的功效,而导致血清PTH含量显著升高,两者联用的骨组织损伤修复效果更强,故导致血清PTH含量进一步升高。

4 结论

赶黄草水粗提物和波棱瓜子粗提油均能有效治疗小鼠维生素A急性中毒,两者联用效果更佳,尤其与黄芪多糖配伍组合,其作用机理主要是通过修复肝功能及骨组织损伤来实现。

参考文献:

范肖肖. 2015. 日粮维生素A添加水平对肉仔鸡呼吸道黏膜免疫的影响[D]. 泰安:山东农业大学. [Fan X X. 2015. Effects of dietary vitamin A supplementation level and stress on mucosal immune of respiratory tract in broilers [D]. Tai'an:Shandong Agricultural University.]

冯士彬,程连平,舒迎霜,董妍丽,张咪,李玉,王希春,吴金节. 2019. 黄芪多糖对湖羊羔羊生长性能、血清指标、消化功能和直肠菌群的影响[J]. 江苏农业学报,35(1):122-129. [Feng S B, Cheng L P, Shu Y S, Dong Y L, Zhang M, Li Y, Wang X C, Wu J J. 2019. Effect of astragalus polysaccharide on growth performance, serum indices, digestive function and rectum flora of Hu lambs [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 35(1):122-129.]

顾健,李佳川,樊利娜. 2014. 藏药波棱瓜子总木脂素对刀豆球蛋白(ConA)致免疫性肝损伤小鼠保护作用及其机制探讨[J]. 西南民族大学学报(自然科学版),40(3):375-388. [Gu J, Li J C, Fan L N. 2014. The protective effect and its mechanism of total lignans from Tibetan medicinal *Herpetospermum* seeds on concanavalin A-induced liver injury in mice[J]. Journal of Southwest University for Nationalities(Natural Science Edition), 40(3):375-388.]

林小静,宋腾飞,耿岩玲,王晓. 2012. 藏药波棱瓜子研究进

展[J]. 现代农业科技,(23):82. [Lin X J, Song T F, Geng Y L, Wang X. 2012. Research progress of Tibetan medicine *Herpetospermum caudigerum* [J]. Modern Agricultural Sciences and Technology, (23):82]

彭婷,胡庭俊,陈忠,林勇,唐章生,曾兰,张妍,蒋斌. 2012. 黄芪多糖脂质体对罗非鱼免疫功能和抗氧化能力的影响[J]. 南方农业学报,43(12):2087-2091. [Peng T, Hu T J, Chen Z, Lin Y, Tang Z S, Zeng L, Zhang Y, Jiang B. 2012. Effects of astragalus polysaccharide liposome on the immunity and antioxidation activities of Nile tilapia[J]. Journal of Southern Agriculture, 43(12):2087-2091.]

苏惠龙,秦清明,杜伟国,胡京京,刘宇. 2009. 犬的维生素A过多症[J]. 兽医导刊,42(6):66-67. [Su H L, Qin Q M, Du W G, Hu J J, Liu Y. 2009. Polyvitaminosis A of dogs [J]. Veterinary Orientation, 42(6):66-67.]

舒刚,张露,赵谨,郑艺蕾,古小云,汪开毓. 2015. 赶黄草总黄酮对小鼠肝损伤的保护作用[J]. 河南农业科学,44(6):142-146. [Shu G, Zhang L, Zhao J, Zheng Y L, Gu X Y, Wang K Y. 2015. Protective effect of total flavonoid of *Penthorum chinense* Pursh on experimental liver injuries in mice[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 44(6):142-146.]

宋丽,臧志和,廖洪利,曹丽萍,王静,管旺. 2007. 赶黄草的研究进展[J]. 西南军医,9(2):87-88. [Song L, Zang Z H, Liao H L, Cao L P, Wang J, Zan W. 2007. Research progress of *Penthorum chinense* Pursh [J]. Journal of Military Surgeon in Southwest China, 9(2):87-88.]

王秋颖. 2011. 碱性磷酸酶特性及其应用的研究进展[J]. 中国畜牧兽医,38(1):157-161. [Wang Q Y. 2011. Advances on characteristic and application of alkaline phosphatase[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 38(1):157-161.]

韦日明,高雅,张可锋,李迎迎. 2015. 杠板归总黄酮对小鼠酒精性肝损伤的保护作用[J]. 南方农业学报,47(4):664-669. [Wei R M, Gao Y, Zhang K F, Li Y Y. 2015. Protective effect of total flavonoids extracted from *Polygonum knotweed* L. on mice with alcoholic liver injury[J]. Journal of Southern Agriculture, 47(4):664-669.]

徐捷,黄炳新. 2009. 肝炎肝硬化患者的肝功能检验结果分析[J]. 现代医学,37(6):437-439. [Xu J, Huang B X. 2009. Analysis of liver function test results in patients with hepatitis and cirrhosis[J]. Modern Medical Journal, 37(6):437-439.]

虞媛. 2019. 宠物消费行业依旧是投资蓝海[J]. 农村新技术,(6):44-45. [Yi Y. 2019. Pet consumption industry is still a blue ocean of investment [J]. New Rural Technology, (6):44-45.]

朱丽红. 2010. 病毒性肝炎检测AST与ALT比值的临床意义[J]. 慢性病学杂志,12(12):1653. [Zhu L H. 2010. Clinical significance of the ratio of AST to ALT in viral hepatitis[J]. Chronic Pathematology Journal, 12(12):1653.]

Esbrit P, Alcaraz M J. 2013. Current perspectives on parathyroid hormone(PTH) and PTH-related protein(PTHrP) as

- bone anabolic therapies[J]. *Biochemical Pharmacology*, 85(10):1417-1423.
- Feskanich D, Singh V, Willett W C, Colditz G A. 2002. Vitamin A intake and hip fractures among postmenopausal women[J]. *JAMA*, 287(1):47-54.
- Hathcock J N, Hattan D G, Jenkins M Y, McDonald J T, Sundaresan P R, Wilkening V L. 1990. Evaluation of vitamin A toxicity[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 52(2):183-202.
- Hessle L, Johnson K A, Anderson H C, Narisawa S, Sali A, Goding J W, Terkeltaub R, Millan J L. 2002. Tissue-nonspecific alkaline phosphatase and plasma cell membrane glycoprotein-1 are central antagonistic regulators of bone mineralization[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(14):9445-9449.
- Ilich J Z, Kerstetter J E. 2000. Nutrition in bone health revisited: A story beyond calcium[J]. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(6):715-737.
- Johansson S, Lind P M, Hakansson H, Oxlund H, Orberg J, Melhus H. 2002. Subclinical hypervitaminosis A causes fragile bones in rats[J]. *Bone*, 31(6):685-689.
- Lim L S, Harnack L J, Lazovich D, Folsom A R. 2004. Vitamin A intake and the risk of hip fracture in postmenopausal women: The Iowa women's health study[J]. *Osteoporosis International*, 15(7):552-559.
- Lind T, Lind P M, Hu L J, Melhus H. 2018. Studies of indirect and direct effects of hypervitaminosis A on rat bone by comparing free access to food and pair-feeding[J]. *Uppsala Journal of Medical Sciences*, 123(2):82-85.
- Masuyama R, Nakaya Y, Katsumata S, Kajita Y, Uehara M, Tanaka S, Sakai A, Kato S, Nakamura T, Suzuki K. 2003. Dietary calcium and phosphorus ratio regulates bone mineralization and turnover in vitamin D receptor knockout mice by affecting intestinal calcium and phosphorus absorption[J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 18(7):1217-1226.
- Michaëlsson K, Lithell H, Vessby B, Melhus H. 2003. Serum retinol levels and the risk of fracture[J]. *The New England Journal of Medicine*, 348(4):287-294.
- Mills J P, Penniston K L, Tanumihardjo S A. 2005. Extra-hepatic vitamin A concentrations in captive rhesus (*Macaca mulatta*) and marmoset (*Callithrix jacchus*) monkeys fed excess vitamin A[J]. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 75(2):126-132.
- Penniston K L, Tanumihardjo S A. 2001. Subtoxic hepatic vitamin A concentrations in captive rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) [J]. *The Journal of Nutrition*, 131(11):2904-2909.
- Perrotta S, Nobili B, Rossi F, Criscuolo M, Iolascon A, Di Pinto D, Passaro I, Cennamo L, Oliva A, Ragione F D. 2002. Infant hypervitaminosis A causes severe anemia and thrombocytopenia: Evidence of a retinol-dependent bone marrow cell growth inhibition[J]. *Blood*, 99(6):2017-2022.
- Promislow J H E, Goodman-Gruen D, Slymen D J, Barrett-Connor E. 2002. Retinol intake and bone mineral density in the elderly: The Rancho Bernardo Study[J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(8):1349-1358.
- Raila J, Buchholz I, Aupperle H, Raila G, Schoon H A, Schweigert F J. 2000. The distribution of vitamin A and retinol-binding protein in the blood plasma, urine, liver and kidneys of carnivores[J]. *Veterinary Research*, 31(6):541-551.
- Raila J, Radon R, Trüpschuch A, Schweigert F J. 2002. Retinol and retinyl ester responses in the blood plasma and urine of dogs after a single oral dose of vitamin A[J]. *The Journal of Nutrition*, 132(S2):1673S-1675S.
- Schmitz H H, Poor C L, Wellman R B, Erdman Jr J W. 1991. Concentrations of selected carotenoids and vitamin A in human liver, kidney and lung tissue[J]. *The Journal of Nutrition*, 121(10):1613-1621.

(责任编辑 兰宗宝)