

青海冬虫夏草菌粉对大白鼠致畸试验的观察

浙江省实验动物中心

聂金荣 蔡小敏

浙江医学研究院药物所

郑永兴 席玉莲 彭小英

冬虫夏草是一种名贵的野生中药材,为滋补强壮药。祖国医药文献记载,本品具“保肺益肾,止血化痰,已劳嗽”^[1],“秘精益气、专补命门”以及“与鸭同煮食可抵人参”之说^[2]。现代药理研究证明,本品具有增强机体免疫功能^[3],抑制小鼠艾氏腹水癌^[4],以及抗缺氧、增加心肌血流量、降低血清胆固醇、镇静、抗炎等^[5]广泛药理作用。近几年来,冬虫夏草成为驰名国内外的保健强身珍品,需求量急增,药源紧缺。因而,许多学者正致力于开展冬虫夏草的人工培养和研究,寻求代用品。青海省畜牧兽医科学院从当地野生冬虫夏草中分离培养出冬虫夏草真菌^[6],杭州第二制药厂用此真菌经发酵培养制取青海冬虫夏草菌粉(简称虫草粉)获得成功。药理试验和一般毒性试验结果表明,虫草粉的药理作用与野生冬虫夏草基本相似,且毒性低。然而,有关本品的致畸试验未见报道,为全面评价虫草粉的安全性,杭州第二制药厂委托我们进行虫草粉的致畸试验,现将结果报告如下。

材料与方法

一、药物与动物

虫草粉 杭州第二制药厂产品,批号8369。

乙酰水杨酸(A.R) 杭州民生药厂产品。

Wistar系大白鼠 中科院上海实验动物中心提供,体重为180—240克,饲养于开放环境中,喂全价营养颗粒饲料,自由饮水。

二、试验方法和步骤

(1) 受孕动物

雌雄鼠按2:1同笼交配,每天上午检查雌鼠阴道涂片,查到精子的当天为妊娠0天。孕鼠随机分配于各试验组,每组15—17只。

(2) 剂量与分组

虫草粉设大、中、小三个剂量组,其剂量分别为6、3和0.6克/公斤 $\times$ 10天,分别相当于人用剂量的100、50和10倍。大剂量组给药量已达最大允许药液浓度和灌胃能耐受的最大容积。阳性对照组:乙酰水杨酸250毫克/公斤 $\times$ 10天;阴性对照组:喂1%淀粉液10天。

(3) 给药时间和方式

孕鼠于怀孕第6—15天给药。药物按剂量于临用前以1%淀粉液配成混悬液灌胃给予,虫草粉大剂量组每日剂量分二次灌胃,其余各组每日给药一次。孕鼠于怀孕0天、第6天、第11天和第20天分别称重,并按体重调整药量。在试验过程中,每日观察孕鼠的食欲、活动和精神等情况

(4) 孕鼠的处死和解剖

于妊娠第20天以颈椎脱臼处死孕鼠。剖腹检查子宫,并摘出子宫称重,剖开子宫检查记录着床数、活胎数、死胎数和吸收胎数。逐个检查活胎有无外观畸形,并测体重,体长和尾长。

(5) 胎鼠的检查

将每窝约1/3活胎鼠浸入Bouin氏液中固定,20天以后取出胎鼠以Wilson方法作徒手切片,检查胎鼠内脏发育情况。约2/3活

胎鼠剥皮,除去后颈和两肩甲骨之间的脂肪,取出内脏后用茜素红液染色,经透明液A、B处理后作骨骼畸形检查。

(6) 该药对子代的影响

取孕鼠30只(阴道涂片查到精子的母鼠),随机分为虫草粉6克/公斤剂量组、0.6克/公斤剂量组和阴性对照组,每组10只孕鼠。给药组于怀孕第6—15天喂药(方法同前)。让各组孕鼠自然分娩,观察其下一代直至成年,检查新生仔鼠的存活、体重、体长、外观和生长发育情况(定期称体重),行

为和其他异常症状。子代鼠成年后,每组随机取10对鼠同居交配,观察其受孕、分娩及其产仔数、仔鼠体重、体长和外观等情况。

结 果

一、虫草粉对孕鼠的影响

喂药期间,虫草粉大剂量组孕鼠一度食量和饮水稍减,停药后恢复正常。其余各组孕鼠的食量、活动和精神等情况未见异常。孕鼠体重增加,各组间无显著差异,见表1。

表1 虫草粉对孕鼠体重的影响

组 别	剂 量 (克/公斤/天×天)	孕 鼠 数	孕 鼠 体 重 (克) (均值±标准误)			
			0 天	第6天	第11天	第20天
阳 性 对 照 组 (乙酰水杨酸)	0.25×10	14	203.7±5.83	215.0±6.09	224.5±6.65	270.5±9.43
阴 性 对 照 组 (1%淀粉液)	1%淀粉液×10	14	203.0±4.97	217.4±4.78	233.4±5.66	279.4±7.40
虫草粉大剂量组	6.0×10	15	203.5±4.24	214.9±4.68	222.3±6.07	270.8±7.91
虫草粉中剂量组	3.0×10	13	206.3±4.52	219.8±3.96	229.0±4.96	273.1±8.01
虫草粉小剂量组	0.6×10	14	206.6±3.63	218.6±3.63	229.1±3.50	286.4±6.81

二、虫草粉对大鼠生殖的影响

表2 虫草粉对大鼠生殖的影响

组 别	受精 鼠数△	孕鼠数	受孕率 (%)	总着 床数	死胎数	吸收 胎数	胚 胎 吸收率 (%)	活胎 总数	活胎率 (%)	窝平均活胎数 (均值±标准误)
阳 性 对 照 组 (乙酰水杨酸)	17	14	82.4	172	0	55	31.98*	117	68.02*	8.36±0.88
阴 性 对 照 组 (1%淀粉液)	16	14	87.5	169	1	29	17.16	139	82.25	9.93±0.77
虫草粉大剂量组	15	15	100.0	172	0	19	11.05	153	88.95	10.20±0.80
虫草粉中剂量组	15	13	86.7	130	2	20	15.38	108	83.08	8.31±1.08
虫草粉小剂量组	16	14	87.5	180	0	30	16.67	150	83.33	10.71±0.80

△ 指阴道涂片查到精子的鼠数; * 与阴性对照组比较, $P < 0.01$

从表2可见,大鼠的受孕率,死胎数,吸收胎数,活胎率和窝平均活胎数,虫草粉各剂量组与阴性对照组的比较,均无明显差异。但阳性对照组的吸收胎数明显增多,活胎率明显低于阴性对照组的($P < 0.01$)。

三、虫草粉对胎鼠生长发育的影响

从表3可见,阳性对照组胎鼠的体长、

尾长和体重与阴性对照组比较,差异非常显著($P < 0.001$),表明乙酰水杨酸具有明显胚胎毒性,影响胎鼠生长发育。而虫草粉大中小剂量组胎鼠的体长、尾长和体重与阴性对照组相比,均无显著性差异($P > 0.05$),表明虫草粉对胎鼠生长发育无明显影响。

表3 虫草粉对胎鼠生长发育的影响

组别	受检胎鼠数	胎鼠体长 (cm) (均值±标准误)	胎鼠尾长 (cm) (均值±标准误)	胎鼠体重 (克) (均值±标准误)
阳性对照组(乙酰水杨酸)	116	3.494±0.026*	1.382±0.025*	2.789±0.046*
阳性对照组(1%淀粉液)	139	4.017±0.020	1.468±0.023	3.744±0.029
虫草粉大剂量组	153	4.007±0.019	1.406±0.019	3.698±0.030
虫草粉中剂量组	108	4.061±0.021	1.462±0.023	3.800±0.035
虫草粉小剂量组	150	4.036±0.019	1.450±0.020	3.787±0.030

* 与阴性对照组比较, $P < 0.001$ 。

四、虫草粉对胎鼠骨骼和内脏发育的影响

表4的结果表明,在本试验条件下,阳性对照药乙酰水杨酸可致胎鼠骨骼和内脏畸

形,主要表现为枕骨骨化明显迟缓、多肋、波形肋、短肋、脊柱裂、胸骨发育不全、脑发育不全,脑积水、脑膨出和肝肠外露等。

表4 虫草粉对胎鼠骨骼和内脏发育的影响

组别	受检胎鼠数	枕骨骨化迟缓率 %	肋骨畸形率 %					脊椎畸形率 %	胸骨骨化迟缓率 %	内脏畸形率 %				
			波形肋	多肋	短肋	肋分叉	总计			受检胎鼠数	脑发育不全	脑积水	脑膨出	肝肠外露
阳性对照组(乙酰水杨酸)	74	20.3*	2.7	63.0	5.5	1.4	72.6*	12.3	81.1*	43	39.5	2.3	2.3	2.3
阴性对照组(1%淀粉液)	91	2.2	0	1.1	1.1	0	2.2	0	15.1	48	0	0	0	0
虫草粉大剂量组	99	8.1	1.0	1.0	1.0	0	3.0	0	21.2	54	0	0	0	0
虫草粉中剂量组	69	4.4	1.4	0	1.4	0	2.8	0	21.6	39	0	0	0	0
虫草粉小剂量组	103	2.9	0	0	0	0.9	0.9	0	17.4	47	0	0	0	0

* 与阴性对照组比较, $P < 0.001$ 。

而虫草粉大中小剂量组胎鼠骨骼发育迟缓率和骨骼畸形率与阴性对照组胎鼠的比较,均无显著性差异($P > 0.05$),虫草粉各组胎鼠内脏检查和阴性对照组胎鼠的一样,均无畸形发现。

五、虫草粉对大鼠子代的影响

虫草粉6克/公斤剂量组和0.6克/公斤剂量组孕鼠自然分娩产仔,其仔鼠存活,仔鼠体重、体长、外观、母鼠的哺乳能力、仔鼠的生长发育(离乳鼠数、离乳时体重,成年时体重)、行为和活动等情况均与健康对照组孕鼠所产仔鼠的情况无显著差异。给药孕鼠所产仔鼠均无畸形发现。仔鼠成年后,受孕、分娩及次子代仔鼠的体重、外观以及母鼠哺乳能力等情况与未服药对照组亦无明显差异。结果表明虫草粉对大鼠子代无明显影

响。

上述试验结果表明,在本试验条件下,阳性对照药乙酰水杨酸有明显胚胎毒性和致畸性;而青海冬虫夏草菌粉对大鼠无致畸胎性,对大鼠子代亦无明显影响。

致谢: 黄海根、骆雪缨、郁俊豪、李延福和刘健同志参加部分技术工作,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 吴仪洛(清):本草从新,第36页,上海科技出版社,1958
- [2] 赵学敏(清):本草纲目拾遗,第130页,人民卫生出版社,1957
- [3] 崔之贵等:中草药13(3):17,1982
- [4] 丁瑞等:北京医学3(6):364,1981
- [5] 包天桐等:中草药14(5):32,1983
- [6] 工业毒理学实验方法,第245页,上海科技出版社,1979