

## 朱砂亚慢性染毒致大鼠肝毒性效应\*

王大鹏, 王莹, 高显会, 盛禹萌, 王良君, 王博涵, 吴洁, 马洪林

**摘要:**目的 探索朱砂亚慢性经口染毒对大鼠的肝毒性效应。方法 将 SD 大鼠随机分为两组, 朱砂组以每天 1.0 g/kg 朱砂(以 0.5% 羧甲基纤维素钠配成混悬液)灌胃, 对照组以等体积的溶剂灌胃; 分别于给药 8、12 w 后次日处死半数动物, 取血液和肝脏, 检测汞含量、血清生化指标、组织病理学。结果 给药 8、12 w 后, 朱砂组血汞含量分别为(13.843 ± 3.928)、(14.038 ± 4.446) μg/L, 明显高于对照组(7.523 ± 3.85)、(6.289 ± 3.258) μg/L ( $P < 0.05$ ), 朱砂组肝汞含量分别为(0.107 ± 0.051)、(0.147 ± 0.065) μg/g, 明显高于对照组(0.055 ± 0.02)、(0.045 ± 0.028) μg/g ( $P < 0.05$ ); 给药 8 w 后朱砂组 AST 含量为(130.17 ± 32.36) U/L, 高于对照组(95.83 ± 17.86) U/L ( $P < 0.05$ ); 给药 12 w 后总蛋白、白蛋白含量均高于对照组; 镜下朱砂组可见肝细胞肿胀, 空泡变性、炎性细胞浸润等病理改变。结论 长期过量使用朱砂可引起肝脏汞蓄积, 造成肝脏损伤, 临床上应合理使用。

**关键词:**朱砂; 汞蓄积; 肝毒性

中图分类号: R 114 文献标志码: A 文章编号: 1001-0580(2014)06-0743-03 DOI: 10.11847/zgggws2014-30-06-14

### Cinnabar-induced subchronic hepatotoxicity in rats

WANG Da-peng, WANG Ying, GAO Xian-hui, et al (School of Public Health Administration, Liaoning Medical University, Jinzhou, Liaoning Province 121000, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the cinnabar-induced subchronic hepatotoxicity in rats by oral administration. **Methods** The Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into cinnabar group and control group. The rats in the treatment group were administered with cinnabar by gavage at the dosage of 1.0 g/kg/d in 0.5% carboxymethyl cellulose sodium solution and the rats in the control group were treated with the same volume of solvent, respectively. Half of the rats in each group were sacrificed after 8 and 12 weeks of the treatment and blood and liver samples were collected for the determination of mercury content, indexes of liver function and pathological examination. **Results** After cinnabar exposure, the contents of mercury in both blood and liver were significantly higher than those of the control (blood mercury: 13.843 ± 3.929 vs. 7.523 ± 3.85 μg/L at 8 week,  $P < 0.05$ ; 14.038 ± 4.446 vs. 6.289 ± 3.258 μg/L at 12 week,  $P < 0.05$ ; liver mercury: 0.107 ± 0.051 vs. 0.055 ± 0.020 at 8 week,  $P < 0.01$ ; 0.147 ± 0.065 vs. 0.045 ± 0.028 μg/g at 12 week,  $P < 0.05$ ). The concentration of aspartate aminotransferase of cinnabar group was significantly higher than that of control group at 8 week (130.17 ± 32.26 vs. 95.83 ± 17.86 U/L) ( $P < 0.05$ ). The contents of total protein and albumin of cinnabar group were higher than those of the control group at 12 week. Pathological changes in the livers of cinnabar-treated rats were observed, including hepatocyte swelling, vacuolar degeneration, and inflammatory cell infiltration. **Conclusion** Long-term overdose of cinnabar could cause mercury accumulation in liver and result in liver damage. Cinnabar should be used rationally in clinical practice.

**Key words:** cinnabar; mercury accumulation; hepatotoxicity

朱砂(cinnabar)是一种矿物类中药,其主要成分是硫化汞(HgS),含量不低于96%。朱砂具有清心镇惊、安神、明目、解毒之功效,主治心悸易惊、失眠多梦、癫痫发狂、小儿惊风、视物昏花、口疮、喉痹、疮疡肿毒<sup>[1]</sup>。朱砂在临床上广泛应用,2010年版《中国药典》收录的中成药制剂中,含朱砂的制剂多达59种,占总数的5.6%。近年来,由于不科学合理使用朱砂而引起的不良反应或中毒事件时有发生<sup>[2]</sup>,主要与汞蓄积有关。汞是一种有毒重金属,可对多种脏器功能造成影响<sup>[3-4]</sup>。朱砂属无机汞,而肝脏不仅是药物代谢的主要场所,也是药物毒性

损害的重要靶器官之一。本实验通过大鼠亚慢性染毒模型探讨朱砂对肝脏的毒性效应,为临床上应合理使用朱砂提供参考依据。

### 1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 朱砂(产地贵州铜仁,水飞炮制品, HgS > 98%)。汞标准液(1 000 μg/mL, 国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院)。CEM 密闭微波消解系统(美国培安科技公司); AFS-230E 双道原子荧光光度计(北京科创海光仪器有限公司); 石蜡切片机(LEICA-RM2135, 德国莱卡); 全自动生化分

\* 基金项目: 辽宁省自然科学基金(2013022056); 辽宁医学院博士启动基金(Y2010B10)

作者单位: 辽宁医学院公共卫生管理学院, 辽宁 锦州 121000

作者简介: 王大鹏(1987-), 男, 河南新乡人, 硕士在读, 研究方向: 卫生毒理。

通讯作者: 王莹, E-mail: wangying6108@163.com

数字出版日期: 2014-4-16 16:46

数字出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20140416.1646.015.html>

析仪(7180 型,日本 HITACHI 公司)。高速冷冻离心机(TGL20M,湖南凯达科学仪器有限公司),超低温冰箱(DW-86L386,青岛海尔特种电器有限公司)。

1.2 实验动物与分组 健康 SD 大鼠,清洁级,雌雄各半,体重(160 ± 20)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2007-0001。将 24 只大鼠随机分为对照组和朱砂组,每组 12 只,雌雄各半。朱砂组以每天 1.0 g/kg 朱砂(以 0.5% 羧甲基纤维素钠配成混悬液)灌胃给药,连续 12 w;对照组以等体积的溶剂灌胃。2 组动物分别给药 8、12 w 结束后次日处死半数(雌雄各半),取血液、肝脏测定相关指标。

1.3 检测指标及方法 (1)一般状况观察:染毒期间观察大鼠的行为活动及外观体征,每周称量体重。(2)汞含量测定:取肝组织 0.3 ~ 0.5 g(或血液 0.5 mL),放入消解管中,加 6 mL 浓 HNO<sub>3</sub>,2 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 过夜,用微波消解仪消解后,定容至 10 mL。用氢化物发生-原子荧光光度法测其汞含量,并计算血液和肝脏组织中实际汞含量。仪器条件:灯电流 10 mA,负高压 250 V,原子化器高度 10 mm,载气流量 500 mL/min,屏蔽器流量 1.0 L/min,测定方式为标准曲线法,读数方式为峰面积,读数时间

10 s,延迟时间 1s,空白判别值为 2,重复次数为 3 次。(3)血清生化指标测定:动物麻醉后腹主动脉取血,分离血清。用全自动生化分析仪测定丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase,ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase,AST),总蛋白(total protein,TP),白蛋白(albumin,ALB),总胆汁酸(total bile acid,TBA)含量。(4)脏器系数测定:肝脏游离后,用冷生理盐水冲洗肝脏表面的血污,滤纸吸干表面水分,称量肝脏湿重,计算肝/体百分比。(5)组织病理学观察:取部分肝组织,用 10% 中性缓冲福尔马林固定,常规包埋、切片,进行苏木精染色,光镜下观察病理变化。

1.4 统计分析 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 17.0 软件进行统计,用独立样本 *t* 检验进行组间比较,检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

2.1 一般状况 实验期间所有动物一般状况良好,体重均正常增长。每天灌胃后,朱砂组大鼠粪便呈红色。未见其他明显异常。

2.2 血液、肝脏组织中的汞含量(表 1) 连续给予朱砂 8、12 w 后,大鼠血液、肝脏组织的汞含量均明显高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 1 连续给予朱砂对大鼠血液、肝脏中汞含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	血汞(μg/L)		肝汞(μg/g)	
	8 w	12 w	8 w	12 w
对照组	7.523 ± 3.850	6.289 ± 3.258	0.055 ± 0.020	0.045 ± 0.028
朱砂组	13.843 ± 3.928	14.038 ± 4.446	0.107 ± 0.051	0.147 ± 0.065
<i>t</i> 值	2.814	3.443	2.361	3.544
<i>P</i> 值	0.018	0.006	0.040	0.005

2.3 朱砂对大鼠血清生化指标的影响 给药 8 w 后,朱砂组大鼠肝组织中的 AST 含量为(130.17 ± 32.36)U/L,明显高于对照组(95.83 ± 17.86)U/L,差异有统计学意义( $t = 2.276, P = 0.046$ )。给药 12 w 后,朱砂组大鼠 TP 含量为(56.70 ± 3.11)g/L,高于对照组(49.95 ± 5.20),差异有统计学意义( $t = 2.729, P = 0.021$ );ALB 含量为(26.72 ± 1.98)g/L,高于对照组(23.22 ± 2.94)g/L,差异有统计学意义( $t = 2.420, P = 0.036$ )。其余指标组间差异无统计学意义( $P < 0.05$ )。

2.4 朱砂对大鼠肝脏系数的影响 连续给药 8、12 w 后,朱砂组动物肝脏系数分别为(3.09 ± 0.21)%、(2.76 ± 0.28)%,对照组分别为(3.11 ± 0.22)%、(2.57 ± 0.24)%,差异均无统计学意义(8 w: $t = 0.162, P = 0.874$ ;12 w: $t = 1.236, P = 0.245$ )。

2.5 组织病理学改变 所有大鼠肝脏外观均未见

明显异常。光镜下,对照组肝组织染色均匀,细胞排列整齐;朱砂组于给药 8 w 后,可见轻度肝细胞肿胀、少量空泡变性、水样变性、少量炎性细胞浸润;给药 12 w 后,空泡变性较 8 w 相比程度加重,其他病变程度与 8 w 相似。

## 3 讨论

朱砂又称丹砂、赤丹,大红色,其主要成分 HgS 难溶于水,其在胃肠道内的吸收率不足 0.2%<sup>[5]</sup>,口服朱砂多数随粪便排出。朱砂中除 HgS 外,还含有少量游离汞和可溶性汞盐,肠道中的弱碱环境和富 S<sup>2-</sup> 环境对朱砂具有较大的促溶作用,在肠道菌群作用下,朱砂可转变为可溶性的多硫化汞配合物,可被吸收入血,故连续服用朱砂可使血汞含量升高<sup>[6-7]</sup>。血液中的汞可与红细胞、含巯基蛋白等结合并转运至机体各组织。机体内的汞排泄很慢,可与含巯基蛋白

络合,形成稳定的络合物而在各组织中蓄积。本研究发现,大鼠在重复给药后肝汞含量明显升高,表明有汞在肝脏内蓄积。汞是朱砂毒性的真正来源<sup>[6]</sup>。

本研究发现,重复给予朱砂可使肝组织发生一定的病理改变。尽管朱砂肝毒性远小于等汞含量的氯化汞和甲基汞<sup>[8]</sup>,但随着用药剂量和时间的增加,则可引起肝脏损害。有文献<sup>[9-12]</sup>显示,以 0.3 g/kg 朱砂对小鼠单次给药肝脏未见明显病理改变,同等剂量连续 44 d 重复给药仅可见轻度肝细胞肿胀,以 16 g/kg 朱砂对小鼠单次给药和以 1.8 g/kg 朱砂对大鼠连续 7 天重复给药可见肝细胞肿胀。故朱砂是否引起肝脏损害以及损害程度与用药剂量和时间有关。本研究条件下,朱砂尚未引起大鼠肝功能的明显损害。与对照组相比,朱砂组 ALB 水平升高,可能是继发于血汞升高的反应性合成增加所致。ALB 是一种多功能的转运蛋白,研究显示人血清白蛋白与多硫化汞有很强的结合能力,可能与血汞的储存和转运有关<sup>[6]</sup>。

综上,长期过量服用朱砂可引起肝脏汞蓄积,造成肝脏损伤。临床上应科学合理使用朱砂以减少肝损害的发生。

#### 参考文献

- [1] 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,2010:128.
- [2] 王超,李超,刘艳军. 中药朱砂致汞铅中毒一例并文献复习

[J]. 中国全科医学,2010,13(30):3457-3458.

- [3] 康家琦,郑徽,刘迎春,等. 慢性汞暴露对接触者人群肾小球功能影响[J]. 中国公共卫生,2011,27(3):286-287.
- [4] 张洁,金明华,王华,等. 氯化汞对人肝细胞 HL-7702 细胞毒性作用[J]. 中国公共卫生,2009,25(4):392-394.
- [5] Liu J, Shi JZ, Yu LM, et al. Mercury in traditional medicines: is cinnabar toxicologically similar to common mercurials? [J]. *Experimental Biology and Medicine*, 2008, 233(7): 810-817.
- [6] Zhou XR, Zeng KW, Yang XD, et al. *In vitro* studies on dissolved substance of cinnabar: chemical species and biological properties[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2010, 131(1): 196-202.
- [7] Zhou X, Wang L, Sun X, et al. Cinnabar is not converted into methylmercury by human intestinal bacteria[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, 135(1): 110-115.
- [8] 付中祥,时京珍,刘杰,等. 朱砂、含朱砂复方对人肝细胞的毒性对比研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(15):285-289.
- [9] Lu YF, Yan JW, Wu Q, et al. Realgar-and cinnabar-containing An-Gong-Niu-Huang Wan (AGNH) is much less acutely toxic than sodium arsenite and mercuric chloride[J]. *Chemo-Biological Interactions*, 2011, 189(1-2): 134-140.
- [10] Lu YL, Wu Q, Liang SX, et al. Evaluation of hepatotoxicity potential of cinnabar-containing An-Gong-Niu-Huang Wan, a patent traditional Chinese medicine [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2011, 60(2): 206-211.
- [11] 何海洋,康峰,颜俊文,等. 朱砂、朱砂安神丸与氯化汞、轻粉急性毒性对比[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2):219-223.
- [12] Wang HF, Bai J, Chen G, et al. A metabolic profiling analysis of the acute hepatotoxicity and nephrotoxicity of Zhusha Anshen Wan compared with cinnabar in rats using 1H NMR spectroscopy[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2013, 146(2): 572-580.

收稿日期:2013-11-18

(刘铁编校)

## · 实验研究 ·

# 七氟醚吸入麻醉对老年大鼠认知影响\*

姜梅<sup>1</sup>, 宫建<sup>2</sup>, 于嵩<sup>3</sup>, 杨朋<sup>4</sup>, 邱镜石<sup>1</sup>, 吴秀英<sup>5</sup>

**摘要:**目的 观察七氟醚吸入麻醉对大鼠的认知与海马乙酰胆碱影响。方法 20 月龄雄性 Sprague-Dawley 大鼠 60 只随机分为 3 组, 每组 20 只; 对照组, 七氟醚吸入低剂量组(1%), 七氟醚吸入高剂量组(2%), 每组 20 只, 七氟醚连续吸入 5 d 后进行 Morris 水迷宫测试, 于测试后第 1、4 d 和第 7 d 测定大鼠认知功能及海马乙酰胆碱含量。结果 3 组大鼠潜伏期和总路程随测试时间延长呈下降趋势, 但七氟醚吸入大鼠较正常大鼠认知能力增强得较慢七氟醚吸入第 4、7 d, 低剂量组、高剂量组、潜伏期、总路程, 均明显低于对照组 ( $F = 11.10, 17.47; F = 49.23, 202.74, P$  均  $< 0.01$ ), 且海马乙酰胆碱含量均明显低于对照组 ( $F = 30.67, 24.38, P$  均  $< 0.01$ )。结论 七氟醚可能通过改变老年大鼠海马乙酰胆碱的含量损伤其认知功能。

**关键词:**七氟醚; Morris 水迷宫; 术后认知功能障碍; 乙酰胆碱

中图分类号: R 996 文献标志码: A 文章编号: 1001-0580(2014)06-0745-03 DOI: 10.11847/zgggws2014-30-06-15

## Effects of anesthetic sevoflurane on cognitive function in aged rats

\* 基金项目: 沈阳医学院科学研究基金(20131016)

作者单位: 1. 沈阳医学院沈洲医院, 辽宁 沈阳 110002; 2. 沈阳药科大学药学院临床药学教研室; 3. 辽宁中医药大学解剖组胚教研室; 4. 沈阳市第四人民医院干诊科; 5. 中国医科大学盛京医院麻醉科

作者简介: 姜梅(1973-), 女, 辽宁沈阳人, 硕士, 副主任医师, 主要从事老年患者认知障碍的研究。

通讯作者: 宫建, E-mail: fanxing1230@163.com

数字出版日期: 2014-4-10 13:56

数字出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20140410.1356.010.html>