

朱红膏中汞在破损皮肤模型大鼠体内的蓄积及毒性

田悦, 黄建梅, 王晓烨, 刘彦玲, 张丛, 李正坤, 王强, 林瑞超*
(北京中医药大学 中药学院, 北京 102488)

〔摘要〕 目的:研究朱红膏给药 4 周后汞在大鼠肝脏、肾脏和脑中的蓄积情况以及对肝肾的毒性作用,为朱红膏临床安全使用提供数据参考。方法:将 44 只 SD 大鼠随机分为正常组、朱红膏低、中、高剂量(1.875,37.5,75 mg·kg⁻¹)组,连续给药 4 周后检测大鼠尿液、血液、肝脏、肾脏和脑中的汞含量,测定血清中丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase,ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase,AST),尿素氮(serum urea nitrogen,BUN)和血肌酐(serum creatinine,SCr)的浓度,尿液中β₂-微球蛋白(β₂-miSCroglobulin,β₂-BMG)和 N-乙酰-β-D 葡萄糖苷酶(N-acetyl-beta-D glucosidase,NAG)的浓度,组织切片进行苏木素-伊红(HE)染色观察肝肾组织形态。结果:朱红膏各给药组的血汞、尿汞含量明显高于正常组(P<0.05,P<0.01),且呈剂量依赖性;朱红膏高剂量组血清 ALT 明显升高,朱红膏中、高剂量组血清 SCr 明显升高(P<0.05,P<0.01),朱红膏低剂量组的生化指标没有改变;朱红膏中、高剂量会破坏肝小叶的结构,破坏肝索单层细胞放射状排列,使肾小管管腔扩张,肾小球萎缩,甚至肾小球缺失,朱红膏低剂量组对肝脏的组织形态无显著影响,轻微改变肾脏组织形态。结论:朱红膏在低剂量下使用一个月基本安全,但长期大量使用会造成汞在肝脏、肾脏和脑蓄积,并导致肝肾毒性。讨论:未发现比肝肾实质性病变更灵敏的指标用于监控其肝肾毒性,但尿汞和血汞的含量升高有助于预知其毒性,可对汞的暴露量与毒性的关系做进一步的探讨。研究为朱红膏临床合理安全使用以及毒性的监控提供了一定的参考。

〔关键词〕 朱红膏;汞;皮肤损伤;毒性
〔中图分类号〕 R22;R242;R2-031;R285.5 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2019)08-0034-06
〔doi〕 10.13422/j.cnki.syfjx.20190823
〔网络出版地址〕 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190102.1123.017.html>
〔网络出版时间〕 2019-01-04 13:58

Accumulation and Toxicity of Mercury in Zhuhong Ointment in Rats with Damaged Skin Model

TIAN Yue, HUANG Jian-mei, WANG Xiao-ye, LIU Yan-ling, ZHANG Cong, LI Zheng-kun, WANG Qiang, LIN Rui-chao*
(School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China)

〔Abstract〕 Objective: To study the accumulation of mercury in liver, kidney and brain of rats and its toxicity on liver and kidney after 4 weeks of administration of different doses of Zhuhong ointment, in order to provide data reference for the safe clinical use of Zhuhong ointment. Method: Forty-four Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into 4 groups: control group, normal-dose group (1.875 mg·kg⁻¹), medium-dose group (37.5 mg·kg⁻¹), and high-dose group (75 mg·kg⁻¹). After transdermal administration for consecutive 4 weeks, the mercury content in the urine, blood, liver, kidney and brain of the rats was measured. In addition, serum alanine aminotransferase (ALT), serum aspartate aminotransferase (AST), serum urea nitrogen (BUN), and serum creatinine (SCr), urine β₂-miSCroglobulin (β₂-BMG) and urine N-acetyl-beta-D glucosidase (NAG) contents were measured, and pathological morphology changes of liver and kidney were observed. Result:

〔收稿日期〕 20180926(026)
〔基金项目〕 国家中医药管理局中医药行业科研专项(201507004)
〔第一作者〕 田悦,在读硕士,从事中药体内成分分析研究,E-mail:tyyz0823@163.com
〔通信作者〕 *林瑞超,博士,教授,从事中草药活性、中药、民族药品品质评价研究,E-mail:linrch307@sina.com

Compared with the control group, the levels of blood mercury and urine mercury in Zhuhong ointment groups showed significant increases after administration for 4 weeks ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The level of serum ALT was significantly elevated in the high-dose group, and serum SCr was significantly elevated in middle and high-dose groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Biochemical index in the normal dose remained unchanged. Medium and high doses of Zhuhong ointment destroyed the structure of the hepatic lobule and the radial arrangement of the liver monolayer, shrank the lumen and glomerular, and even led to glomerular balloon enlargement ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Normal dose of Zhuhong ointment had no significant effect on liver tissue morphology, but slightly changed kidney tissue morphology. **Conclusion:** Zhuhong ointment is not toxic at the normal dose, but long-term use can lead to the accumulation of mercury in liver, kidney and bra, which causes liver and kidney toxicity. This study did not find a more sensitive indicator of liver and kidney toxicity than liver and kidney pathology. However, because the rising levels of urinary mercury and blood mercury may predict toxicity, the relationship between mercury exposure and toxicity could be further studied. This study provides a reference for the rational use and toxicity monitoring of Zhuhong ointment.

[**Key words**] Zhuhong ointment; mercury; skin damage; toxicity

朱红膏是由朱砂、红粉以一定比例构成,以凡士林为基质的中药外用膏剂,具有提脓去腐、生肌敛疮的功效。在临床上常用于治疗慢性皮肤溃疡,对于糖尿病导致的外周血管病变,例如糖尿病足具有显著的疗效^[1-2]。但因为朱红膏是由两味含汞矿物药组成(朱砂含 HgS 及可溶性汞盐,红粉含 HgO 及可溶性汞盐),长期给药后容易在体内蓄积,可能出现汞蓄积造成的肝肾组织损伤,其临床应用的安全性受到了普遍的关注^[2-4]。已有研究表明,汞进入体内主要在心脏、肝脏、肾脏以及脑中蓄积,并且汞含量肾脏 > 肝脏 > 脑 > 心脏^[4-8],因此有必要研究朱红膏透皮给药后汞在体内的分布蓄积特点,为其临床合理安全使用以及毒性预测和监控提供依据。

朱红膏在临床应用时按疮疡面积大小贴敷,常用贴敷面积 6 cm²,剂量为含生药 0.34 mg·kg⁻¹^[2]。依据人和大鼠体表面积折算等效剂量^[9],并做体质质量校正,大鼠的皮肤给药的等效剂量为生药 1.875 mg·kg⁻¹。本实验设计了正常组、朱红膏的低剂量组(生药 1.875 mg·kg⁻¹,由临床成人日用量换算),中剂量(生药 37.5 mg·kg⁻¹,相当于成人日用量的 20 倍),高剂量(生药 75 mg·kg⁻¹,相当于成人用量的 40 倍)4 组,在皮肤破损模型大鼠皮肤连续给药 4 周。使用高效液相-电感耦合等离子体质谱仪(HPLC-ICP-MS)方法检测 4 组大鼠在体液及主要靶器官中汞的蓄积情况,测定丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST)评价肝脏功能,血清尿素氮(BUN),血肌酐(SCr)和尿液中 β₂ 微球蛋白(β₂-BMG),N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶

(NAG)的水平评价肾脏功能。同时对所有大鼠的肝脏和肾脏进行组织形态学观察验证生化指标结果。研究对朱红膏中汞在大鼠体内的蓄积和肝肾毒性做了全面分析,考察现有生化指标的灵敏度,为朱红膏临床使用的安全性提供数据参考。

1 材料

1.1 仪器 高效液相-电感耦合等离子体质谱仪(美国 Thermo Fisher 公司),JA2003B 型分析天平(上海越平科学仪器有限公司),CX4 Pro 型全自动生化分析仪(美国贝克曼公司),BX53 型自动化智能型正置研究级显微镜[奥林巴斯(中国)有限公司],SPECTRAMAX 190 型酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)。

1.2 试剂 朱砂粉(北京三和药业有限公司,批号 75480201),红粉(湖北省汉川市轻粉厂),医用凡士林(天津市福晨化学试剂厂,批号 20170302),医用橡皮膏(焦作联盟医用材料股份有限公司,批号 201711102),氯化钠注射液(石家庄四药有限公司,批号 1709283205),硝酸(北京化工厂,批号 20160725),甲醛溶液(天津市大茂化学试剂厂,批号 20171008)。ALT,BMG,NAG 试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20170817,20170406,20170926);AST,BUN,SCr 试剂盒(中生北控生物科技股份有限公司,批号分别为 170712,170821,170811)。

1.3 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量 180 ~ 200 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2012-0001,本实验由北京中医药大学实验动物伦理委员会批准(编号 BUCM-4-2017092111-3017)。

2 方法

2.1 不同剂量朱红膏纱条的制备 将朱砂、红粉研极细粉,过 80 目筛,按比例混合制成朱红粉,称取朱红粉 0.382,7.64,15.28 g 分别与白凡士林 50 g 混匀,制成正常剂量朱红膏、中剂量朱红膏(正常剂量的 20 倍),高剂量朱红膏(正常剂量的 40 倍)^[2]。将朱红膏均匀涂抹于纱布上,制成药纱条。

2.2 动物分组与给药 44 只大鼠随机分为 4 组,正常组,朱红膏低剂量组(生药 1.875 mg·kg⁻¹),朱红膏中剂量组(生药 37.5 mg·kg⁻¹),朱红膏高剂量组(生药 75 mg·kg⁻¹),每组 11 只。给药前,使用电剪推减去大鼠背部毛发,并用脱毛膏脱毛,面积为 4 cm×4 cm,采用单面刀片刮伤大鼠背部皮肤,刮伤面积约为 2 cm×3 cm,力度适中,以渗血为度,每隔 2 d 刮伤皮肤 1 次,持续 4 周保证实验期间大鼠皮肤一直处于损伤状态。给药组将朱红膏纱条贴敷于创面上,用纱布覆盖,橡皮膏固定 24 h,每天换药 1 次,连续给药 4 周,正常组只做刮伤处理。部分大鼠由于皮肤损伤抵抗力下降,感染死亡。剩余 9 只正常组,7 只朱红膏低剂量组,11 只朱红膏中剂量组和 10 只朱红膏高剂量组的大鼠用于各项指标的检测。

2.3 朱红膏中汞的体内蓄积研究 连续给药 4 周,正常组和给药组收集 24 h 尿液;腹主动脉取全血(肝素抗凝);生理盐水灌流摘取肝脏、肾脏、脑组织,部分匀浆检测其中总汞含量。样品的前处理方法参考食品安全国家标准《食品中总汞及有机汞的测定》^[10]第一篇一法,原子荧光光谱分析法测定食品中总汞项下的样品前处理方法。HPLC-ICP-MS 测定血、尿和各个靶器官中总汞含量。

2.4 朱红膏的肝、肾毒性研究 连续给药 4 周,收集正常组和给药组大鼠 24 h 尿液,3 500 r·min⁻¹

离心 10 min,取上清液,-20 ℃ 保存,按 NAG 试剂盒说明书的操作步骤测定尿液中 BMG,NAG 含量;眼眶取血,血液静置 1 h,3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液,4 ℃ 保存,用全自动生化仪测定血清中 ALT,AST,BUN,SCr 的含量;生理盐水灌流,摘取部分肝脏及完整右肾用 10% 甲醛固定,石蜡包埋切片,HE 染色并于显微镜下进行察肝、肾组织形态学检查。每只大鼠肝脏切片按照×400 放大倍数,随机存储 5 个视野,用 Image Pro-Plus 6.0 读取图像,测量肝血窦宽度,对视野肝细胞、核固缩肝细胞计数,计算肝细胞核固缩率;每只大鼠肾脏切片按照×200 放大倍数随机存储 5 个视野,对视野内缺失肾小球计数;按照×400 放大倍数,随机存储 5 个视野,测量肾小球球囊宽、肾小球半径、肾小管内径;用于组织切片的定量分析。

2.5 统计学分析 实验数据使用 SPSS 20.0 软件进行分析,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠血液、尿液及肝脏、肾脏、脑组织中汞蓄积情况的影响 连续给药 4 周后,与正常组比较,不同剂量朱红膏组的大鼠血液和尿液中的汞含量均明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),并且呈一定的剂量依赖性。与正常组比较,朱红膏中、高剂量组肝脏、肾脏和脑中汞蓄积量均明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。汞在肾脏的蓄积量最高,随着给药剂量的加大,汞含量显著增加;其次是肝脏,也呈剂量依赖性;在脑的蓄积量最低。朱红膏低剂量组大鼠肝脏和肾脏的汞没有出现蓄积,而脑内汞出现蓄积($P < 0.01$),临床使用中需要密切关注其神经毒性。见表 1。

表 1 朱红膏对大鼠血液、尿液、肝脏肾脏和脑中汞含量的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Effect of different doses of Zhuhong ointment on mercury content in blood, urine, liver, kidney and brain of rats($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	n	血液/μg·L ⁻¹	尿液/μg·L ⁻¹	肝脏/ng·g ⁻¹	肾脏/μg·g ⁻¹	脑/ng·g ⁻¹
正常	-	9	15.2±2.3	5.9±18.6	165.1±51.4	1.3±1.1	88.6±37.8
朱红膏	1.875	7	41.8±13.7 ¹⁾	355.9±42.8 ¹⁾	319.7±21.5	4.7±1.3	198.5±12.7 ²⁾
	37.5	11	59.9±24.6 ²⁾	2 157.6±199.1 ²⁾	1 606.4±116.0 ^{2,4)}	60.3±15.8 ^{2,4)}	159.7±22.1 ²⁾
	75	10	92.1±27.5 ^{2,4,6)}	2 977.0±220.4 ^{2,3)}	1 968.9±627.9 ^{2,4)}	91.0±7.2 ^{2,4,6)}	221.7±23.6 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与朱红膏低剂量组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$;与朱红膏中剂量组比较⁵⁾ $P < 0.05$,⁶⁾ $P < 0.01$ (表 2~5 同)。

3.2 朱红膏对大鼠肝肾毒性的影响

3.2.1 对肝功能影响 ALT,AST 在机体正常状态时,血清中含量较低,但在各种病毒性肝炎的急性

期、药物中毒性肝细胞坏死时,ALT,AST 大量释放入血,因此它是诊断肝脏功能的重要指标。经检测,朱红膏各组大鼠血清中 ALT,AST 含量与正常组

比较差异无统计学意义。见表 2。

表 2 朱红膏对大鼠血清 ALT, AST 含量的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Effect of different doses of Zhuhong ointment on serum ALT and AST in rats($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	n	ALT	AST
正常	—	9	68.50 ± 12.22	369.87 ± 96.99
朱红膏	1.875	7	77.64 ± 16.05	440.54 ± 67.75
	37.5	11	68.54 ± 14.38	409.95 ± 80.84
	75	10	68.16 ± 11.28	422.58 ± 67.43

表 3 朱红膏对大鼠血清 BUN, SCr 和尿液 BMG, NAG 含量的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Effect of different doses of Zhuhong ointment on BUN, SCr in serum and BMG and NAG in urine of rats($\bar{x} \pm s$)

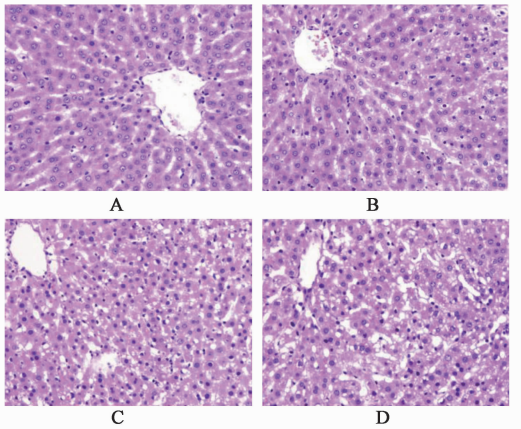
组别	剂量/mg·kg ⁻¹	n	BUN/mg·L ⁻¹	SCr/mg·L ⁻¹	BMG /mg·L ⁻¹	NAG/U·L ⁻¹
正常	—	9	13.24 ± 2.59	26.62 ± 2.80	0.023 ± 0.031	22.07 ± 15.97
朱红膏	1.875	7	14.71 ± 2.76	28.77 ± 5.48	0.026 ± 0.016	15.21 ± 8.05
	37.5	11	11.27 ± 1.72 ¹⁾	51.74 ± 3.80 ²⁾	0.020 ± 0.167	14.21 ± 8.05
	75	10	11.88 ± 1.22 ¹⁾	52.19 ± 6.79 ²⁾	0.006 ± 0.004	14.85 ± 11.78

3.2.3 对肝脏组织形态学的影响 显微镜下观察,发现正常组大鼠的肝脏肝小叶结构完整,肝血窦结构清晰,肝索单层细胞放射状排列;朱红膏低剂量组大鼠的肝脏大致与正常组类似,肝小叶完整且边界较清晰,肝细胞未见明显异常;朱红膏中、高剂量组的大鼠肝脏发生了显著的病变,肝小叶的结构受到了破坏,肝索单层细胞放射状排列结构被明显改变,肝血窦明显增宽,高剂量组的肝细胞的广泛空泡样变,并且一部分肝细胞发生了核固缩或者核凋亡。见图 1。对所有大鼠的肝脏切片的肝血窦宽度和肝细胞中发生核固缩或凋亡的细胞做统计学分析,正常剂量朱红膏对这 2 个指标影响不大,朱红膏中、高剂量使得肝血窦显著变宽,核固缩以及凋亡的肝细胞发生率上升($P < 0.01$),随着朱红膏剂量的增大,肝毒性明显增大($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 4。

表 4 朱红膏对大鼠肝脏组织的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 4 Effect of Zhuhong ointment on liver morphology in rats($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	n	肝血窦宽 /μm	肝细胞核固缩或凋亡比率/%
正常	—	9	5.6 ± 1.2	8.4 ± 4.6
朱红膏	1.875	7	5.9 ± 0.6	2.7 ± 2.5
	37.5	11	8.9 ± 1.4 ^{2,3)}	21.5 ± 5.3 ^{2,4)}
	75	10	11.6 ± 2.8 ^{2,4,6)}	46.9 ± 17.0 ^{2,4,6)}

3.2.2 对肾功能影响 血清中 BUN,SCr 是评价肾脏滤过功能的指标;尿液中 BMG 是测定肾小管损害的指标;尿液 NAG 是肾小球肾炎、急性肾功能衰竭等的检测指标。其中血清 BUN 和 SCr 在肾功能下降 50% 时才开始升高^[11]。朱红膏中、高剂量组血清 BUN 较正常组有明显降低($P < 0.05$),血清 SCr 较正常组显著升高($P < 0.01$),朱红膏低剂量组无显著差异;朱红膏各组尿液 BMG,NAG 与正常组比较无统计学差异。见表 3。



A. 正常组;B. 朱红膏低剂量组;C. 朱红膏中剂量组;D. 朱红膏高剂量组(图 2 同)
图 1 朱红膏对大鼠肝脏组织形态的影响(HE, ×400)
Fig. 1 Effect of different doses of Zhuhong ointment on histomorphology of rat liver (HE, ×400)

3.2.4 对肾脏组织形态学的影响 正常组大鼠的肾小球及肾小管结构正常,肾小管上皮细胞核圆且位于细胞中央。朱红膏低剂量组肾小球球囊与正常组相比稍大,肾小管上皮细胞较正常组无明显变化。但朱红膏中剂量组肾脏的肾小管管腔扩张,肾小球萎缩,导致肾小球球囊有不同程度的增大,朱红膏高剂量组甚至出现了肾小球缺失。见图 2。朱红膏低剂量轻微改变肾单位的形态,但是这种改变差异不具有统计学意义,与正常组比较,朱红膏中、高剂量组肾小球囊宽、肾小管内径显著增大,肾小球半径

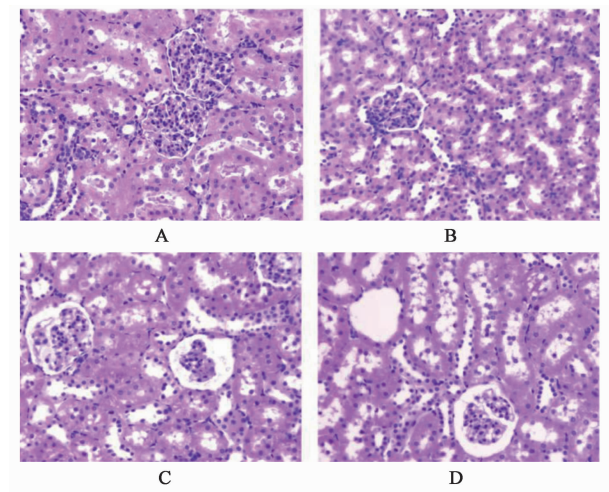


图 2 朱红膏对大鼠肾脏形态的影响(HE, ×400)
Fig. 2 Effect of different doses of Zhuhong ointment on histomorphology of rat kidney (HE, ×400)

表 5 朱红膏对大鼠肾脏组织的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 5 Effect of Zhuhong ointment on nephritic morphology in rats($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	<i>n</i>	肾小球囊宽/ μm	肾小球半径/ μm	肾小球缺失数/个	肾小管内径/ μm
正常	—	9	3.2 ± 0.7	20.8 ± 2.5	—	18.5 ± 2.1
朱红膏	1.875	7	3.7 ± 0.8	18.6 ± 1.4	—	19.5 ± 2.3
	37.5	11	$8.3 \pm 2.1^{2,4)}$	$15.4 \pm 2.3^{2,3)}$	—	$22.4 \pm 3.4^{2,4)}$
	75	10	$13.7 \pm 3.3^{2,4,6)}$	$9.5 \pm 3.9^{2,4,6)}$	37	$24.8 \pm 3.2^{2,4,6)}$

物质能否通过血脑屏障的因素有物质的脂溶性、亲水性,与血浆蛋白的结合程度等^[13]。由于汞进入血液后容易与金属硫蛋白(MT)结合,因此可能较难通过血脑屏障。虽然进入脑中的汞较少,但是低剂量组的脑汞含量与正常组也有显著差异,所以在临床正常使用朱红膏时需要密切关注其神经毒性。

检查肝功能相关的生化指标发现给药组的ALT,AST含量较正常组均没有显著性差异。但是,对肝脏的组织形态学观察结果提示,朱红膏中、高剂量会对大鼠肝脏结构造成严重损伤,导致肝细胞空泡变性,甚至产生核固缩与核凋亡,说明超剂量朱红膏会对肝脏造成严重的毒性损伤。生化指标的检测结果和病理检查结果不一致,推测该生化指标在评价肝毒性方面灵敏度有限,因此需要寻找更加灵敏的肝毒性指标,从而在临床更加准确的监测朱红膏的肝毒性。

对肾脏相关的生化指标检测发现,朱红膏中、高剂量组血清SCr含量较正常组有显著升高,提示超剂量使用朱红膏使得肾脏的滤过功能造成损伤,血清SCr可以作为肾脏损伤的灵敏指标。超剂量的

显著减小($P < 0.01$),随着剂量的增大,肾毒性显著增大。见表5。

4 讨论

课题组前期对朱红膏中汞在大鼠皮肤不同损伤状态下的透皮吸收速率进行了考察^[12],发现只要角质层破坏,不同损伤状态皮肤下汞的单位面积累积透过量和透过速率并没有显著差异,所以给药剂量和给药时间是影响朱红膏药效和毒性的主要因素。

大鼠连续使用朱红膏4周后,汞在肝脏、肾脏和脑中均有不同程度的蓄积,并且蓄积量肾脏>肝脏>脑,说明了肝脏和肾脏是汞蓄积的主要器官,并且超剂量使用朱红膏会导致由汞蓄积造成的不同程度的肝肾损伤。给药组的脑汞含量较正常组有显著性变化,但是汞含量明显低于其他组织器官,并且与朱红膏的剂量相关性较小,可能与血脑屏障有关。决定

血清BUN较正常组降低,原因可能是肾功能失调、肝功能衰竭或者蛋白质摄入过低。BMG和NAG的含量与肾脏功能密切相关,当肾小管的净重吸收率减少1%时,尿BMG的排出量则会增加30倍左右,但是其容易受到尿液pH以及储存条件的影响^[3];NAG主要在肾脏合成和储存,并且在肾脏的近曲小管上皮细胞中含量较高^[14]。对尿液的检测结果显示,给药组尿液中的BMG和NAG的含量较正常组均没有显著性差异。对肾脏的组织形态学检查结果显示,朱红膏中、高剂量会导致肾小球球囊的显著增大甚至肾小球缺失,并且对肾小管上皮细胞也有明显的影响,从而阻碍肾小管上皮细胞的正常功能。虽然正常剂量下肾汞的含量与正常组无显著差异,但是形态学检查发现正常剂量使用朱红膏会使肾小球球囊有小幅度的增大,因此肾脏对汞的毒性作用较肝脏更加敏感,在使用朱红膏时,需要密切关注其对肾脏的影响。

综上所述,朱红膏经皮给药的主要毒性靶器官是肾脏、肝脏和脑,并且更容易在肝脏和肾脏蓄积。超剂量的朱红膏对大鼠的肝脏造成严重的毒性

损伤,但是其生化指标并没有显著性变化,需要寻找更加灵敏的肝毒性指标,从而在临床更加准确的监测朱红膏的肝毒性。与肝脏相比,汞对肾脏的毒性作用更加严重,虽然正常剂量的朱红膏的肾汞含量与正常组没有显著差异,但是肾小球的组织形态发生了轻微的改变,说明正常剂量的朱红膏也会对肾脏产生一定的毒性。朱红膏中、高剂量使用朱红膏导致肾小球的损伤和肾小管上皮细胞的变性,并且血汞、尿汞、肾汞和血清 SCr 含量均有显著变化,提示其可以作为朱红膏致肾损伤的监测指标。朱红膏中汞在脑中的蓄积较少,可能是与汞易与含巯基的蛋白质结合从而较难通过血脑屏障有关。朱红膏低剂量组的脑汞含量与正常组仍有显著异,临床正常使用朱红膏时,需要密切关注其可能产生的肾脏和神经毒性,为其使用的安全性提供保障。

[参考文献]

[1] 吕培文,张苍,宋孝瑜,等. 朱红膏治疗慢性溃疡的临床研究[J]. 中国中西医结合外科杂志,2003, 9(5): 364-366.

[2] 王桂英,林含,张旭辉,等. 朱红膏治疗慢性皮肤溃疡的临床安全性研究[J]. 北京中医药,2016, 35(1): 70-72.

[3] 王乐平,董建勋,罗玲,等. 外用制剂朱红膏肾脏早期毒性敏感指标 NAG、RBP 的监测[J]. 中华中医药杂志,2011,26(10): 2261-2264.

[4] 林含,张旭辉,董建勋,等. 朱红膏对破损皮肤模型大鼠汞蓄积及肾组织形态的影响[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(6): 739-743.

[5] 孙新民,王旗,牟稷征,等. 玉红膏单次给药家兔体内汞的吸收及毒性[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,

17(24): 193-196.

[6] 付中祥,杨虹,陈秀芬,等. 朱砂、朱砂安神丸及氯化汞在 小鼠体内吸收、分布对比[J]. 中国实验方剂学杂志,2013, 19(1): 162-166.

[7] 谷颖敏,李咏梅,姜昕,等. 朱砂灌胃给药对大鼠生育力与早期胚胎发育毒性的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011, 17(9): 226-231.

[8] 程金平,刘晓洁,冀秀玲,等. 总汞、甲基汞和硒在汞暴露大鼠脑、肝、肾中的分布[J]. 中国环境科学, 2006, 26(3): 376-379.

[9] 黄继汉,黄晓晖,陈志扬,等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9):1069-1072.

[10] 食品中总汞及有机汞的测定: GB 5009. 17-2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.

[11] LU Y F, WU Q, LIANG S X, et al. Evaluation of hepatotoxicity potential of cinnabar-containing An-Gong-Niu-Huang Wan, a patent traditional Chinese medicine [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2011, 60 (2): 206-211.

[12] 王晓烨,林瑞超,田悦,等. 朱红膏中汞在大鼠皮肤不同损伤状态下的体外透过速率比较研究[J]. 环球中医药,2018,11(6):823-826.

[13] Lohren H, Bornhorst J, Fitkau R, et al. Effects on and transfer aSCross the blood-brain barrier *in vitro*-comparison of organic and inorganic mercury species [J]. BMC Pharmacol Toxicol,2016, 17(1): 63.

[14] 李均,付旭,姚兰,等. 丹酚酸 B,C 分子药对配伍对 UUO 大鼠肾间质纤维化的保护作用及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015,21(20):113-117.

[责任编辑 张丰丰]