

## 雄黄中砷对大鼠新事物识别能力的影响

杨钊, 刘婕瑜, 霍韬光, 孙贵范, 姜泓\*

(中国医科大学, 沈阳 110122)

**[摘要]** 目的:使用氢化物发生-冷阱捕集-原子吸收光谱法(HG-CT-AAS)测定大鼠大脑组织和血中无机砷(iAs),一甲基砷酸(MMA)和二甲基砷酸(DMA)的含量,研究雄黄对大鼠中枢神经系统的毒性影响。方法:将96只Wistar大鼠随机分为正常组,0.3,0.9,2.7 g·kg<sup>-1</sup>雄黄组,分别连续灌胃14,28,42 d,正常组灌胃相同剂量的羧甲基纤维素钠(CMC-Na)水溶液,共12组,每组8只。采用HG-CT-AAS测定血和大脑组织中iAs,MMA和DMA的含量,新事物识别实验观察大鼠的新事物识别能力,透射电镜观察海马神经元超微结构的变化。结果:实验动物生长发育、体质量及海马系数变化各组之间均无差异。HG-CT-AAS测定大鼠大脑及血中各形态砷含量的方法线性、精密性、准确度与回收率良好;在雄黄组大鼠大脑中检测到MMA,DMA,且呈时间-剂量-效应关系;在雄黄组大鼠血中检测到iAs,MMA和DMA;大鼠海马神经元内核膜、线粒体及内质网等随着雄黄暴露剂量以及时间的增加,逐渐出现损伤;雄黄暴露14 d后,与正常组比较,各雄黄组新事物识别指数差异无统计学意义;暴露28 d后,仅2.7 g·kg<sup>-1</sup>雄黄组与正常组比较有统计学意义( $P<0.05$ );暴露42 d后,与正常组比较,0.9,2.7 g·kg<sup>-1</sup>雄黄组大鼠的新事物识别指数明显降低( $P<0.05$ )。结论:雄黄在大鼠体内的代谢产物为iAs,MMA,DMA。MMA和DMA可通过血脑屏障在脑组织中蓄积,引起新事物识别能力下降,造成海马神经元细胞损伤。

**[关键词]** 雄黄;砷;氢化物发生-冷阱捕集-原子吸收法(HG-CT-AAS);新事物识别能力

**[中图分类号]** R2-0;R22;R285.5;R282.76 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)09-0063-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20210991

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210316.1327.002.html>

**[网络出版日期]** 2021-3-16 13:34

### Effect of Arsenic in Realgar on Rat Ability in Novel Objects Recognition Test

YANG Zhao, LIU Jie-yu, HUO Tao-guang, SUN Gui-fan, JIANG Hong\*

(China Medical University, Shenyang 110122, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine the contents of inorganic arsenic (iAs), monomethylarsonic acid (MMA) and dimethylarsinic acid (DMA) in brain tissues and blood by using hydride generation-cold trap-atomic absorptionspectrometry (HG-CT-AAS), and to explore the toxic effects of Realgar on central nervous system of rats. **Method:** The 96 Wistar rats were randomly divided into 4 groups: normal control group, 0.3, 0.9 and 2.7 g·kg<sup>-1</sup> Realgar groups. They then received intragastric administration for 14, 28 and 42 days respectively, so a total of 12 groups were formed, with 8 animals in each group. The normal group was given the same dose of sodium carboxymethyl cellulose (CMC-Na) by gavage. The contents of iAs, MMA and DMA in blood and brain tissues were determined by HG-CT-AAS. The novel object recognition test was conducted to observe the learning and memory ability of rats. The changes of hippocampal neuron ultrastructure were observed by transmission electron microscopy. **Result:** There was no difference in the growth, weight and hippocampal coefficient of the experimental animals. The method of HG-CT-AAS showed a good linearity, precision, accuracy and recovery in content determination of arsenic (at various forms) in rat brain and blood. MMA and DMA were detected in the

**[收稿日期]** 20201005(011)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81873082)

**[第一作者]** 杨钊, 硕士, 从事神经毒理学研究, E-mail: 1026708200@qq.com

**[通信作者]** \*姜泓, 教授, 博士生导师, 从事神经毒理学研究, E-mail: hjiang@cmu.edu.cn

brain of realgar groups at time-dose-effect relationship. iAs, MMA and DMA were detected in the blood of Realgar groups. The nuclear membrane, mitochondria and endoplasmic reticulum in hippocampus neurons of rats were gradually damaged with the increase of Rhubarb exposure dose and time. After 14 days of exposure to Realgar, compared with the normal control group, there was no significant difference in the novel object recognition index among Realgar groups. After 28 days of exposure, only 2.7 g·kg<sup>-1</sup> Realgar group showed statistically significant difference with the control group ( $P<0.05$ ). After 42 days of exposure, the novel object recognition index of 0.9 and 2.7 g·kg<sup>-1</sup> Realgar groups was significantly lower than that in normal control group ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** The metabolites of Realgar in rats are iAs, MMA and DMA. MMA and DMA can be accumulated in the brain tissue through the blood-brain barrier, causing the decline of the ability of learning and memory and leading to damage of hippocampal neurons.

**[Key words]** Realgar; arsenic; hydride generation-cold trap-atomic absorptionspectrometry (HG-CT-AAS); novel object recognition test

雄黄(Realgar)最早见于我国第一部药理学专著《神农本草经》,为常用中药,是国务院在《医疗用药毒性药品管理办法》中特别规定的28种毒性中药之一。主要成分为二硫化二砷(As<sub>2</sub>S<sub>2</sub>)或四硫化四砷(As<sub>4</sub>S<sub>4</sub>),还含有少量三氧化二砷(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, iAs<sup>III</sup>,即砒霜), As<sub>2</sub>S<sub>2</sub>或As<sub>4</sub>S<sub>4</sub>在胃肠道中不易被吸收,而iAs<sup>III</sup>易被胃肠道吸收,是雄黄的毒性成分<sup>[1-2]</sup>。但由于受传统用药习惯(中药无毒副作用)的影响,未科学合理(长期、超量和不规范)使用单味雄黄或其复方制剂而引起的药源性砷中毒事件时有发生<sup>[3-4]</sup>。研究表明,砷可引起认知障碍、智力低下等神经行为异常<sup>[5]</sup>,流行病学调查和动物实验均显示长期砷暴露可导致语言、认知、行为、听力及运动方面的障碍,严重者会导致智力发育迟缓及神经系统缺陷,即使脱离砷接触,其中枢神经系统功能也不易恢复正常<sup>[6-7]</sup>,由此引发的雄黄中砷所引起的药源性神经系统毒性成为人们关注的焦点。因此,雄黄及含雄黄中成药对中枢神经系统的毒性引起了人们的广泛关注。

无机砷(iAs)在人体内的主要代谢产物为一甲基砷酸(MMA)和二甲基砷酸(DMA)<sup>[8]</sup>。iAs及其各种代谢产物的毒性大小不一,其中MMA的毒性最强。砷的形态分布也可以作为评价砷的神经系统毒性发生风险生物标志物。因此,本研究将使用氢化物发生-冷阱捕集-原子吸收光谱法(HG-CT-AAS)测定雄黄灌胃后大鼠大脑及血中各形态砷的含量,并对大鼠的新事物识别能力和神经元超微结构进行检测,为探讨雄黄中砷对中枢神经系统的毒性作用机制研究提供实验基础和理论依据。

## 1 材料

**1.1 试剂** 雄黄(As<sub>2</sub>S<sub>2</sub>质量分数>90%,河南省三门峡玉皇山制药有限公司,批号20090901),经中国医

科大学药学院陈再兴教授鉴定符合2015年版《中华人民共和国药典》<sup>[9]</sup>中对雄黄的规定;iAs, MMA, DMA标准品(日本Yamanashi公司,批号189018-1,质量浓度均为1 000 μg·L<sup>-1</sup>),硼氢化钠(天津市大茂化学试剂厂,批号20181217);氢氧化钠(北京北化精细化学品有限责任公司,批号20050226);硫脲(天津市恒兴化学试剂制造有限公司,批号20170822);抗坏血酸(天津市大茂化学试剂厂,批号20180901);盐酸,乙醇(北京化工厂有限公司,批号分别为20170928, 20190928);羟甲基纤维素钠(CMC-Na, 国药集团化学试剂有限公司,批号F20041213);醋酸铅(北京海德创业生物有限公司,批号HD17800);柠檬酸铅(上海阿拉丁试剂有限公司,批号L303843)。

**1.2 动物** 由中国医科大学实验动物中心提供实验用清洁级Wistar大鼠96只,体质量为40~50 g,雌雄各半,合格证号SCXK(辽)2013-0001。在实验用清洁级环境下饲养,动物房内温度保持在(24±1) °C,相对空气湿度为50%±5%,12/12 h光照/黑暗交替。所有实验操作均经过中国医科大学动物饲养和使用委员会机构批准(批号CMU2013109)。实验过程中尽量避免实验动物的痛苦并减少动物的使用数量。

**1.3 仪器** ASA-2SP-AA 6800型HG-CT-AAS分光光度计(日本岛津公司);pH-3c型酸度计,XW-80A型旋涡混合器(上海精科实业有限公司);Easypure型纯水系统(美国Barnstead公司);H-600-4型透射电子显微镜(日本HITACHI公司);TL-2010S型匀浆机(北京鼎昊源科技有限公司)。

## 2 方法

**2.1 实验动物处理** 正式实验前将大鼠适应性喂

养1周,按体质量随机分为4个剂量组,正常组给予0.5% CMC-Na水溶液灌胃,雄黄组分别给予雄黄混悬液(0.3, 0.9, 2.7 g·kg<sup>-1</sup>;以0.5% CMC-Na水溶液作为混悬介质)灌胃,每日1次,连续灌胃14, 28, 42 d,共12组,每组8只。整个实验期间,大鼠自由摄食、饮水。每3 d记录1次大鼠体质量,调节灌胃剂量,每天观察动物的中毒症状。在大鼠处死前5 d进行新事物识别实验。在末次给药2 h后,麻醉处死大鼠,腹主动脉取血,冰浴取大脑,分离海马组织。

临床用药牛黄解毒片中,每1 000片牛黄解毒片中含有50 g雄黄,而牛黄解毒片临床服用量为每次2片,1日3次,以成人体质量按照60 kg计算,成人雄黄的服用量为每天0.005 g·kg<sup>-1</sup>。本文采用大鼠与人体表面积折算系数作为人较大鼠的敏感倍数(人-大鼠1:6)再乘以人群中敏感性差异(约10倍)得出大鼠雄黄基础用量为每天0.3 g·kg<sup>-1</sup>[10]。本文中选取其用药剂量的1, 3, 9倍作为文中的实验用剂量。

**2.2 血、脑组织中形态砷含量的测定** 取血液0.1 mL和大脑组织50 mg(使用超纯水1.0 mL制成脑组织匀浆),分别加入1.0 mol·L<sup>-1</sup>的H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 mL,超声提取10 min,待测。测定时分别进样0.5 mL,通过HG-CT-AAS法测定。将含1 000 μg·L<sup>-1</sup> iAs, MMA, DMA的对照液0.1 mL加入9.9 mL空白组的血和大脑组织消化液中,作为标准样,按与组织样品相同方法测定。检测结果包括iAs, MMA, DMA。总砷含量(TAs)以TAs=iAs+MMA+DMA方法表示。

**2.3 海马超微结构的病理变化** 分离海马,置于2.5%的戊二醛固定液中固定24 h,乙醇梯度脱水,Spurr树脂包埋剂包埋,70 °C下聚合8 h。修块后在超薄切片机上切片,并用铜网捞片,经醋酸铀及柠檬酸铅染色后,置于透射电镜(TEM)下观察并拍照。

**2.4 新事物识别实验** 先使大鼠在方形黑壁铁箱(直径100 cm,高50 cm)中训练3 d。训练过程中,在箱内离壁20 cm的对称位置各放置一个相同物体(黄色长方体),大鼠从两物体中间前面的铁箱壁放入,自由探索5 min。第5天,将1个熟悉的物体(黄色长方体)换成1个新的物体(白色圆柱体),再将大鼠放入铁箱中自由探索5 min。探索1个对象被定义如下,大鼠鼻子距离物体≤2 cm或用鼻子触摸物体。坐或倚在物体上,则不被认为是探索性的行为。记录大鼠在新旧物体前分别停留的时间和和

物体所占总时间的百分比。新物体识别指数(DI)=新物体停留时间/(新事物停留时间+旧事物停留时间)×100%。

**2.5 统计分析** 实验数据均以 $\bar{x}\pm s$ 进行表示,采用SPSS 19.0软件进行统计学分析,组间比较采用方差齐性检验和单因素方差分析(One Way ANOVA),以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对生长发育、体质量及海马系数影响** 在实验过程中,雄黄组和正常组大鼠情况良好,未见明显的中毒症状。各组大鼠摄食、饮水没有差异。每3 d测量体质量1次,随着饲养时间延长,大鼠体质量迅速增加,不同组别大鼠体质量间差异无统计学意义。

**3.2 对形态砷标准曲线、精密度、准确度与回收率的影响** 以形态砷浓度为横坐标,吸光度 $A$ 为纵坐标,得到各形态砷的标准曲线。iAs, MMA和DMA标准曲线分别为 $Y=148.66 X+211.67$  ( $r=0.996$ ),  $Y=159.4 X+42.97$  ( $r=0.995$ )和 $Y=48.66 X+288.23$  ( $r=0.996$ )。表明iAs在1.56~12.5 μg·L<sup>-1</sup>, MMA在4.56~12.5 μg·L<sup>-1</sup>, DMA在7.81~62.5 μg·L<sup>-1</sup>与 $A$ 线性关系良好( $r>0.99$ )。

实验结果表明,上述方法精密度、准确度和回收率良好,iAs, MMA和DMA的精密度RSD分别为2.3%, 3.6%和1.9%;日间和日内准确度RSD分别为3.6%, 4.1%, 2.4%和5.7%, 3.5%, 2.0%;回收率为95.1%, 97.1%, 101.6%。以上数据均符合生物样品的测定要求。

**3.3 对大脑中形态砷水平的影响** 正常组大脑中未检测到iAs, MMA和DMA。大鼠分别暴露雄黄14, 28, 42 d后,所有组别大鼠大脑组织中均未检测到iAs,仅检测到MMA和DMA,且随暴露雄黄时间的延长MMA, DMA和TAs水平逐渐增加。在雄黄暴露时间相同的各组中,与0.3 g·kg<sup>-1</sup>雄黄组比较,0.9, 2.7 g·kg<sup>-1</sup>雄黄组大脑中各种形态砷浓度明显升高( $P<0.05$ ),与0.9 g·kg<sup>-1</sup>雄黄组比较,2.7 g·kg<sup>-1</sup>雄黄组大脑中各种形态砷浓度升高,但差异无统计学意义。实验结果提示雄黄中砷可通过血脑屏障在脑组织中蓄积,且以MMA和DMA为主。各组雄黄暴露大鼠大脑组织中MMA, DMA和TAs水平随雄黄暴露剂量的增加和时间的延长而升高,说明长期服用雄黄易于产生慢性砷中毒。见表1~3。

**3.4 对血中形态砷水平的影响** 雄黄暴露14, 28, 42 d后,在各组雄黄暴露大鼠血中均检测到雄黄的

表 1 雄黄暴露 14 d 大脑中形态砷水平 ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Tabal 1 Morphological arsenic levels in brain at 14 days of realgar exposure ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )  $g\cdot L^{-1}$

组别	剂量/ $g\cdot kg^{-1}$	MMA	DMA	TAs
正常	-	-	-	-
雄黄	0.3	0.294±0.231	3.243±0.573	3.473±0.482
	0.9	0.528±0.113	4.572±0.947 <sup>1)</sup>	4.753±1.152 <sup>1)</sup>
	2.7	2.712±0.423 <sup>1)</sup>	5.176±0.812 <sup>1)</sup>	5.963±1.723 <sup>1)</sup>

注:所有组别均未检测到 iAs,与 0.3  $g\cdot kg^{-1}$  雄黄组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$  (表 2~3 同)。

表 2 雄黄暴露 28 d 大脑中形态砷水平 ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Tabal 2 Morphological arsenic levels in brain at 28 days of realgar exposure ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )  $g\cdot L^{-1}$

组别	剂量/ $g\cdot kg^{-1}$	MMA	DMA	TAs
正常	-	-	-	-
雄黄	0.3	0.343±0.121	4.749±1.223	4.646±2.102
	0.9	0.524±0.110 <sup>1)</sup>	6.153±2.431 <sup>1)</sup>	6.496±2.653 <sup>1)</sup>
	2.7	1.227±0.344 <sup>1)</sup>	10.532±2.321 <sup>1)</sup>	12.945±3.292 <sup>1)</sup>

表 4 雄黄暴露 14 d 血中形态砷水平 ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Tabal 4 Morphological arsenic levels in blood exposed to realgar on 14 days ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )  $g\cdot L^{-1}$

组别	剂量/ $g\cdot kg^{-1}$	iAs	MMA	DMA	TAs
正常	-	-	0.863±0.224	9.123±1.834	9.975±3.213
雄黄	0.3	4.091±1.243	38.617±1.005 <sup>1)</sup>	318.265±45.004 <sup>1)</sup>	361.396±48.432 <sup>1)</sup>
	0.9	9.482±2.026 <sup>2)</sup>	51.532±3.067 <sup>1,2)</sup>	389.473±56.132 <sup>1,2)</sup>	450.290±52.716 <sup>1,2)</sup>
	2.7	10.145±1.571 <sup>2)</sup>	53.423±3.442 <sup>1,2)</sup>	476.136±34.259 <sup>1,2)</sup>	539.433±64.051 <sup>1,2)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ ;与 0.3  $g\cdot kg^{-1}$  雄黄组比较<sup>2)</sup> $P<0.05$  (表 5~6 同)。

表 5 雄黄暴露 28 d 血中形态砷水平 ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Tabal 5 Morphological arsenic levels in blood exposed to realgar on 28 days ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )  $g\cdot L^{-1}$

组别	剂量/ $g\cdot kg^{-1}$	iAs	MMA	DMA	TAs
正常	-	-	0.843±0.130	8.124±2.217	8.964±1.643
雄黄	0.3	4.123±1.191	37.825±10.354 <sup>1)</sup>	323.508±61.779 <sup>1)</sup>	365.378±38.235 <sup>1)</sup>
	0.9	9.945±2.143 <sup>2)</sup>	52.632±7.029 <sup>1,2)</sup>	394.083±41.229 <sup>1,2)</sup>	456.467±22.083 <sup>1,2)</sup>
	2.7	9.268±1.573 <sup>2)</sup>	56.665±2.693 <sup>1,2)</sup>	488.365±61.231 <sup>1,2)</sup>	553.215±81.073 <sup>1,2)</sup>

表 6 雄黄暴露 42 d 血中形态砷水平 ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Tabal 6 Morphological arsenic levels in blood exposed to realgar on 42 days ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )  $g\cdot L^{-1}$

组别	剂量/ $g\cdot kg^{-1}$	iAs	MMA	DMA	TAs
正常	-	-	0.852±0.335	9.123±2.847	9.913±3.647
雄黄	0.3	3.992±1.503	36.628±9.536 <sup>1)</sup>	338.223±54.443 <sup>1)</sup>	374.257±63.336 <sup>1)</sup>
	0.9	9.840±2.401 <sup>2)</sup>	50.497±5.722 <sup>1,2)</sup>	397.354±49.653 <sup>1,2)</sup>	458.518±53.297 <sup>1,2)</sup>
	2.7	8.074±1.571 <sup>2)</sup>	54.428±7.734 <sup>1,2)</sup>	487.432±72.325 <sup>1,2)</sup>	550.469±79.321 <sup>1,2)</sup>

表 3 雄黄暴露 42 d 大脑中形态砷水平图 ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Tabal 3 Morphological arsenic levels in brain at 42 days of realgar exposure ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )  $g\cdot L^{-1}$

组别	剂量/ $g\cdot kg^{-1}$	MMA	DMA	TAs
正常	-	-	-	-
雄黄	0.3	0.443±0.064	4.322±0.814	4.761±0.830
	0.9	0.754±0.145 <sup>1)</sup>	6.396±1.923 <sup>1)</sup>	7.138±2.063 <sup>1)</sup>
	2.7	1.306±0.413 <sup>1)</sup>	11.654±0.674 <sup>1)</sup>	14.345±4.922 <sup>1)</sup>

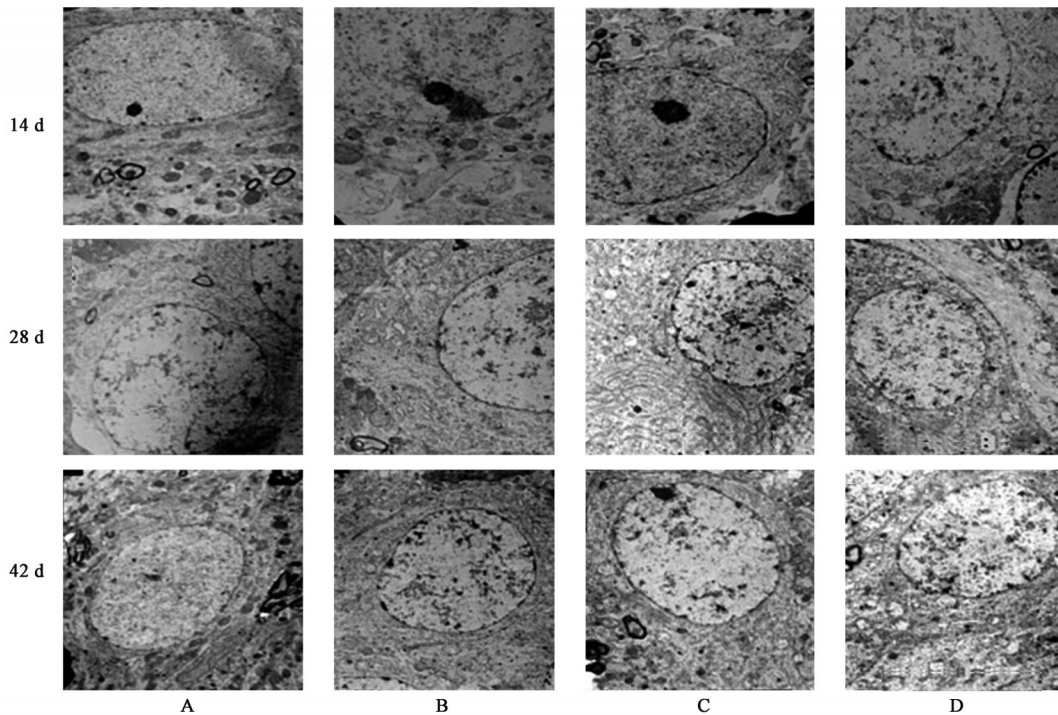
代谢产物 iAs, MMA 和 DMA, 且随雄黄暴露时间的延长 iAs, MMA, DMA 和 TAs 水平差异无统计学意义。在雄黄暴露相同时间各组中,与正常组比较,雄黄组大鼠血液中 iAs, MMA, DMA 和 TAs 浓度均明显升高 ( $P<0.05$ )。与 0.3  $g\cdot kg^{-1}$  雄黄组比较, 0.9, 2.7  $g\cdot kg^{-1}$  雄黄组大鼠血液中各种形态砷浓度较明显升高 ( $P<0.05$ ), 而与 0.9  $g\cdot kg^{-1}$  组比较, 2.7  $g\cdot kg^{-1}$  雄黄组大鼠血液中各种形态砷浓度有升高, 但差异无统计学意义, 实验结果提示雄黄中砷可在体内代谢为 iAs, MMA 和 DMA, 并呈剂量效应关系。见表 4~6。

3.5 对海马超微结构的影响 正常组海马神经元细胞核呈圆形,核膜完整,核仁清楚。核内染色质

分布均匀,胞浆中如线粒体、粗面内质网、核糖体等细胞器丰富。随着染毒剂量及时间的增加大鼠海

马神经元细胞核膜局部模糊,胞浆内粗面内质网出现扩张,线粒体多出现嵴减少或空泡变性。提示雄

黄对大鼠海马神经元细胞结构具有损伤作用,且随着染毒剂量及时间的增加,损伤越严重。见图1。



A. 正常组;B~D. 0.3, 0.9, 2.7 g·kg<sup>-1</sup> 雄黄组

图1 雄黄暴露对大鼠海马超微结构的影响(电镜扫描,×8 000)

Fig. 1 Effect of realgar exposure on the ultrastructure of hippocampus in rats (TEM, ×8 000)

**3.6 对新事物识别的影响** 识别物体是常见的啮齿类动物的天赋能力,新事物识别可以评估啮齿类动物的认知能力。研究结果显示,雄黄暴露14 d后,与正常组比较,各雄黄组DI差异无统计学意义;暴露28 d后,与正常组比较,仅2.7 g·kg<sup>-1</sup>雄黄组DI明显降低( $P<0.05$ );暴露42 d后,正常组的新事物DI为56%,表明正常组大鼠用于探索新物体的时间多于探索旧物体的时间,与正常组比较,0.9, 2.7 g·kg<sup>-1</sup>雄黄组大鼠的DI明显降低( $P<0.05$ )。提示长期雄黄暴露可以导致发育期大鼠的识别能力下降。见表7。

表7 雄黄暴露后各组大鼠新事物识别实验( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Table 7 Experimental results of new thing recognition in rats after realgar exposure ( $\bar{x}\pm s, n=8$ ) %

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	14 d DI	28 d DI	42 d DI
正常		0.58±0.22	0.58±0.13	0.56±0.19
雄黄	0.3	0.54±0.20	0.52±0.11	0.44±0.12
	0.9	0.57±0.11	0.46±0.17	0.32±0.04 <sup>1)</sup>
	2.7	0.59±0.26	0.39±0.12 <sup>1)</sup>	0.25±0.09 <sup>1)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ 。

#### 4 讨论

雄黄是一种含砷矿物药,是国务院在《医疗用

药毒性药品管理办法》中特别规定的28种毒性中药之一。雄黄性温,味辛,有毒,具有解毒杀虫、燥湿祛痰、截疟的功效<sup>[11]</sup>。雄黄在临床应用广泛,现有的很多中成药包括一些经典名方如安宫牛黄丸、牛黄解毒丸以及儿科常用中成药至宝丹、小儿惊风七厘散等都含有雄黄<sup>[12]</sup>。流行病学调查和动物实验均显示长期雄黄暴露可导致语言、认知、行为、听力及运动方面的障碍,严重者会导致智力发育迟缓及神经系统缺陷,即使脱离砷接触,其中枢神经系统功能也不易恢复正常。研究表明雄黄进入机体后,大部分通过粪便排泄,少量砷可被机体吸收并蓄积于各组织器官<sup>[13]</sup>。对于生物样品中形态砷的检测,我国主要采用高效液相色谱-等离子体发射光谱法、气相色谱-微波发射光谱法、高效离子色谱-氢化物发生-原子吸收法和HG-CT-AAS等方法<sup>[14-16]</sup>。HG-CT-AAS的主要原理为在酸性介质中,硼氢化钠将iAs, MMA, DMA转化为AsH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>AsH<sub>2</sub>和(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>AsH,然后载气将其带入浸在液氮中的U型玻璃管(内填充物为硅藻土),被低温捕集。U型玻璃管受热后,根据气体沸点的不同而被分离后,进行原子吸收光谱分析。由于HG-CT-AAS具有样品

处理简单、干扰少、灵敏度高等特点,故本研究采用HG-CT-AAS检测雄黄暴露大鼠大脑和血液中不同形态砷(iAs, MMA和DMA)的水平,但无法对这些形态砷的价态进行检测。因此,本研究以初断乳大鼠为研究对象,以牛黄解毒片中雄黄摄入量的1,3,9倍作为实验剂量,研究雄黄灌胃大鼠血和大脑中各形态砷的含量,并进行行为学实验,说明雄黄对初断乳大鼠神经系统毒性与其用量及服用时间的关系,为探讨雄黄中砷对中枢神经系统的毒性作用机制研究提供实验基础和理论依据。

砷摄入体内后,主要在肝脏进行甲基化代谢转化<sup>[17]</sup>。已有研究表明,iAs在机体内的代谢过程主要是iAs在三价砷甲基转移酶(As3MT)的作用下,由S-腺苷甲硫氨酸(SAM)提供甲基供体氧化甲基化生成五价甲基砷MMA<sup>V</sup>,MMA<sup>V</sup>在谷胱甘肽硫转移酶 $\omega$ -1(GST $\omega$ -1)的作用下被还原为三价甲基砷MMA<sup>III</sup>,MMA<sup>III</sup>在N-6-腺嘌呤DNA甲基转移酶1(N6AMT1)作用下再氧化甲基化生成五价二甲基砷DMA<sup>V</sup>,DMA<sup>V</sup>又在谷胱甘肽的作用下被还原,最终生成三价二甲基砷DMA<sup>III</sup><sup>[18-20]</sup>。iAs及其各种代谢产物的毒性大小不一,其中以MMA的毒性最强<sup>[21]</sup>。

在本实验中,课题组检测了脑及血液中的iAs, MMA和DMA的含量,检测结果发现iAs, MMA和DMA的精密度、准确度、回收率及线性关系良好,符合生物样品检测的要求。并且在脑组织中只检测到MMA和DMA,未检测到iAs,但是在血液中检测到了iAs,提示雄黄中的无机砷在体内经过代谢后,可以转化为MMA和DMA。而MMA和DMA可以通过血脑屏障进入并蓄积在脑中,并且脑中MMA和DMA的量随着雄黄暴露剂量的增加和时间的延长而增加,说明长期服用雄黄易于产生神经系统毒性。大脑中未检测到iAs,是iAs不能通过血脑屏障,还是iAs在大脑中可以进一步被代谢转化为MMA和DMA,具体原因有待于进一步探讨。新事物识别实验是由于大鼠在同时接受新事物与熟悉事物(旧事物)的刺激时会花更多的时间来探索新事物。利用大鼠这种先天性行为,设计了新事物识别实验<sup>[22]</sup>。该测试依据动物对环境中新旧事物的探索时间长短来评价其识别记忆功能。本实验结果表明长期雄黄暴露可以导致大鼠的识别能力下降,表明雄黄对中枢神经系统有一定的损伤作用。而电镜下也可以明显的证明这一点,雄黄对大鼠海马神经元形态结构造成损伤作用,且随着染毒剂量及时间的增加,损伤作用越严重。

综上所述,雄黄在大鼠体内的代谢产物为iAs, MMA, DMA。MMA和DMA可通过血脑屏障在脑组织中蓄积,引起新事物识别能力下降,造成海马神经元细胞损伤。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] 张超,尚祥伟,明小芳,等. 雄黄及其炮制品中二硫化二砷和可溶性砷含量变化研究[J]. 中国药师,2018,21(7):1171-1174.
- [2] LIU J, WEI L X, WANG Q, et al. A review of cinnabar (HgS) and/or realgar (As<sub>4</sub>S<sub>4</sub>)-containing traditional medicines [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 210(10):340-350.
- [3] 徐静,王涤新. 含砷中药致慢性砷中毒32例临床分析[J]. 中华内科杂志,2009,48(6):504-506.
- [4] ZHOU S, ZHOU J, LIU S, et al. Arsenical keratosis caused by medication: a case report and literature [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(1):1487-1490.
- [5] 吴丽君,应小飞,金华英. 67例牛黄解毒丸(片)不良反应分析[J]. 中成药,2002,27(4):562-564.
- [6] MANJU R, HEDGE A M, PARLEES P, et al. Environmental arsenic contamination and its effect on intelligence quotient of school children in a historic gold mining area hutti, north karnataka, India: a pilot study [J]. J Neurosci Rural Pract, 2017, 8(3):364-367.
- [7] GUAN H, QIU Z, ZHOU X, et al. Protection of taurine against impairment in learning and memory in mice exposed to arenic [J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 975(1):255-269.
- [8] 关怀,朴丰源. 砷神经发育毒性及机制研究进展[J]. 中国公共卫生,2015,31(4):538-540.
- [9] 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,2015.
- [10] 梁爱华,李春英,王金华,等. 雄黄的毒性研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(14):1889-1894.
- [11] 王健龄,陈雨,苏伟,等. 急性无机砷暴露小鼠脑部分区组织中形态砷的动态变化[J]. 环境与健康杂志,2019,36(5):400-403.
- [12] 熊晓妹,明小芳,桂春,等. 雄黄对人乳腺癌细胞MCF-7增殖及凋亡的影响[J]. 中国药师,2019,22(8):1392-1396.
- [13] 郭婧潭,霍韬光,刘求,等. 大鼠灌服雄黄后血浆中活性硫药动力学及雄黄排泄研究[J]. 中华中医药学刊,2018,36(10):2329-2332.
- [14] 董菊,吴娟,王明艳,等. 雄黄及其复方的毒理学研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2011,25(6):

- 601-604.
- [15] 陈金丽,李永芳,王达,等. 水中无机砷原子荧光法与原子吸收法测定比较分析[J]. 中国公共卫生, 2018, 34(1):133-135.
- [16] 刘淑晗,张海燕,娄晓祎,等. 高效液相色谱-(紫外)氢化物发生原子荧光光谱法测定南极磷虾及其制品中6种砷形态[J]. 分析测试学报, 2019, 38(9):1085-1090.
- [17] 杨舒伊,郎虹,陈晓,等. 一碳单位酶基因单核苷酸多态对砷代谢及中毒的影响[J]. 实用预防医学, 2019, 26(5):638-641.
- [18] 李景岩,张爱君. 砷代谢与砷毒性作用机制的关系[J]. 中国地方病防治杂志, 2011, 26(5):345-347.
- [19] 殷秀岩,李昕. 砷甲基化代谢及砷中毒发病风险因素研究进展[J]. 中国公共卫生, 2015, 31(6):848-852.
- [20] 蒙好孝,赵雨欣,李煜,等. 砷对Keap1基因沉默的人皮肤角质细胞砷甲基化代谢酶表达的影响研究[J]. 现代预防医学, 2017, 44(15):2808-2812.
- [21] WANG H, XI S, LIU Z, et al. Arsenic methylation metabolism and liver injury of acute promyelocytic leukemia patients undergoing arsenic trioxide treatment [J]. Environ Toxicol, 2013, 28(5):267-275.
- [22] 廖雁,南方,郭宝璐,等. 背景因素、适应时间及物体位置对小鼠新事物识别的影响[J]. 山西医科大学学报, 2017, 48(3):215-221.

[责任编辑 王鑫]

·书讯·

## 风险管理在肛肠肿瘤患者日常护理中的应用 ——评《实用肿瘤护理学》

近几年,国内肛肠肿瘤发病率逐年上升,其高发病率增加了肿瘤科治疗及护理上的压力。患者要求护理工作提高效率,具有更高的专业性。在当今医学界领域中,提高患者安全是热点研究方向,也是医学从业人员的基本共识。护理安全指在对患者进行护理时,没有出现对患者生命安全造成严重影响的护患纠纷。风险管理是对肛肠肿瘤患者日常护理进行管理的主要方法,用于评估肛肠肿瘤在护理操作中可能存在的风险因素,使发生护理风险事件的概率降低,让患者在护理中得到安全的保障。结合《实用肿瘤护理学》一书,读者可以对肿瘤的病因、病理、患者在不同阶段常见症状的护理进行详细了解及掌握,这对风险管理在肛肠肿瘤患者日常护理中的应用具有较强的指导价值。

《实用肿瘤护理学》2015年由人民卫生出版社出版,闻曲、成芳、李莉编著。全书共分为三篇,共三十八章。第一篇为总论:肿瘤学基础、肿瘤患者心理护理、营养支持、肿瘤各种治疗的护理、肿瘤患者的症状护理、肿瘤患者姑息护理、抗肿瘤新药临床试验研究的实施及管理、肿瘤患者临终关怀、肿瘤化学治疗静脉的管理、肿瘤急症护理、肿瘤患者康复护理等。第二篇为各论:按系统及肿瘤发生解剖部位撰写常见肿瘤的病因、病理、诊断、治疗、护理重点。

该书第六章肿瘤疼痛患者的护理中第二节指出,需要对恶性肿瘤疼痛的评估,从而制定疼痛针对性治疗方法,降低护理中风险,这与肛肠肿瘤管理中护理风险评估及识别的观点不谋而合。肿瘤科需要考虑患者的病情,对患者护理中风险事件的发生进行评估,确定护理时可能发生的差错及风险事件,了解护理过程中的风险危害及紧急情况,并制定应急方案。肛肠肿瘤中最常见的护理风险事件包括褥疮、压疮、化学物质外溢、医院内感染、因绝望而自杀、自伤行为,可通过护理中风险事件的识别及评估,采取多样化护理方法来化解。护士定期检查药物使用过程,对其安全知识及技能进行培训,早期防止中心静脉导管以进行输液,对新技术进行不间断地吸收及学习,如静脉穿刺,提高自身业务知识及能力,提高用药安全性。第十一章肿瘤分子靶向治疗的护理中第一节指出,护理中需要对肿瘤分子靶向治疗药物进行分类,加强患者的药物管理。护理人员必须严格遵循医嘱,以确保大多数肛肠肿瘤患者都有个性化的化疗及治疗过程。护理人员熟悉药物的种类、使用频率、一般剂量及适应症,掌握化学药品的使用条件及药物间的配药禁忌。熟悉各种化疗药品的常见副作用,观察到患者出现不适感,及时通知医生。第三章第一节中分析了肿瘤患者的心理特征,就肿瘤患者的心理干预及社会支持作用及具体落实的措施,通过协和医院肿瘤中心爱心活动这一案例进行演示说明。在肛肠肿瘤患者的日常护理中,需注意患者在情绪及心理上的转变。利用及时互动及沟通的方式,向患者解释治疗中的护理方式,安抚并鼓励患者,并利用文娱活动及音乐疗法等形式分散患者对疾病及疼痛的注意力,降低患者在心理上的压力,密切观察患者对环境的适应能力,保持安静的睡眠环境,患者入睡前为其进行背部按摩,提高患者睡眠质量。

《实用肿瘤护理学》以层层递进的编写方式深入浅出地讲解了肿瘤的护理观点和资料方法,读者通过本书对肿瘤护理工作有更为全面的认识。广大读者可以将其作为日常工作的一套工具书,指导肿瘤护理工作,还能够以这本丛书为基础,从应用的角度对未来肿瘤护理的发展进行探索,并与中国的护理学及肿瘤学的发展特色紧密结合,服务中国护理医学行业的转型及升级。本书面向已具备一定护理学、肿瘤学基本知识及技能的在职护理从业人员,可为高校护理专业的学生和临床医学工作者提供参考和借鉴。

(作者陈贻春,景丽萍,武汉市第八医院,武汉 430010)