



拔毒生肌散及其拆方对大鼠破损皮肤组织形态学的影响观察

贺蓉, 彭博, 路艳丽, 高杰, 回连强, 李建荣*

(中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的:观察中药外用制剂拔毒生肌散及其拆方对大鼠破损皮肤的组织形态学影响变化。方法:在大鼠破损皮肤(渗血为度)上分别外涂拔毒生肌散及其拆方,连续给药14 d后光镜下观察其对大鼠破损皮肤组织形态学的影响。结果:汞铅成分导致大鼠破损皮肤表皮增厚,真皮网织层及其深部血管出血、充血及炎细胞浸润,配伍药味可抑制表皮增厚,减轻真皮病变。结论:拔毒生肌散中汞铅成分可促进大鼠破损皮肤伤口愈合,配伍药味可减轻汞、铅成分所致真皮组织病理性损伤。

[关键词] 汞铅成分;破损皮肤大鼠;皮肤组织形态学;拔毒生肌散

目前国内外的研究文献均证实,含汞成分药物反复用药后经胃肠或皮肤直接吸收入血可引起急性中毒或者慢性蓄积中毒^[1-3],其主要靶器官是肾脏^[4-5]。但汞经破损皮肤反复给药后对皮下组织的形态学影响及其特征未见报道。中医在应用含汞、铅制剂治疗久溃不愈的疮痍方面显示出独特疗效。拔毒生肌散来源于古代外科名方“生肌散”,临床主要用于久溃不愈的皮肤疮痍,方中轻粉、红粉、黄丹含汞、铅成分共占全方的21.6%,汞、铅含量较高。本研究在前期工作基础上,以拔毒生肌散及其拆方为受试药物,以汞、铅成分为对照,观察比较汞、铅成分反复给药对动物皮下组织形态学的影响,以期为临床安全用药提供依据。

1 材料

1.1 动物 成年SD大鼠,雄性,体重180~220 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号SCXK(京)2006-0009。

1.2 药品 拔毒生肌散全方参照部颁标准制备;汞铅成分药味组:轻粉、红粉、黄丹;缺汞、铅成分药味组:全方去除汞、铅成分药味;汞成分药味组:轻粉、红粉;铅成分药味组:黄丹。其中各拆方组药味配制

均与全方等剂量,均由中国中医科学院中药研究所制剂中心制备,批号20090928。

1.3 仪器 Shandon Excelsior ES全自动脱水机(英国);Shandon HistoCentre 3石蜡包埋机(英国);Shandon Finesse 325轮转式切片机(英国);Shandon Varistain Gemini全自动染色机(英国);Olympus BX51显微镜及图像分析系统(日本)。

2 方法

2.1 破损皮肤的制备 实验前先将大鼠背部涂抹适量的硫化钡脱毛剂进行脱毛,大鼠脱毛面积为其体表面积的10%。脱毛后,用单面刀片均匀刮伤,以“渗血”为度。

2.2 分组及给药 将破损皮肤大鼠随机分成6组:破损皮肤对照组(涂抹蒸馏水),全方组(240 mg·kg⁻¹),缺汞铅成分组(188 mg·kg⁻¹),汞铅成分组(52 mg·kg⁻¹),汞成分组(含轻粉、红粉34.6 mg·kg⁻¹),铅成分组(含黄丹17.3 mg·kg⁻¹)。各组于动物皮肤破损表面均匀涂药后覆盖2层纱布,用医用橡皮膏固定,4 h后,拆掉纱布,洗去残留药物,以防动物舔食。每天涂敷给药1次,连续给药14 d。

2.3 取材及处理 给药结束后禁食,于第15天解剖,取动物皮肤,贴滤纸上,固定于福尔马林溶液中,常规石蜡包埋切片,HE染色,光学显微镜下观察表皮及真皮形态学情况。

2.4 观察指标 表皮层测量表皮厚度,400倍光镜下4个视野的表皮厚度取均值。真皮层观察网织层及其深部血管病变,并根据表1评分标准进行评分。

[稿件编号] 20120110004

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目(2008BA153B08);中国中医科学院中药研究所自主选题项目(ZZ20090204)

[通信作者] *李建荣, Tel: (010) 64056575, E-mail: jrongliem@ sina.com



表1 真皮病变分级评分标准

Table 1 Morphology classification standard of dermis injury

评分	病理 分级	真皮病变情况	
		网织层炎细胞浸润	网织层血管病变情况
0	-	未见炎细胞浸润	血管内未见充血,未见炎细胞浸润
1	+	散在炎细胞,无出血或有出血,无炎细胞	血管轻度充血,无炎细胞浸润
2	++	散在炎细胞并有出血	血管轻度充血,并有散在炎细胞浸润
3	+++	出血且多量炎细胞	血管中度充血,并有多量炎细胞浸润

2.5 统计学处理 计量资料统计分析采用 *t* 检验,用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间采用单因素方差分析进行比较;计数资料采用非参数秩和检验进行比较。

3 结果

3.1 对表皮组织形态学的影响 破损皮肤对照组大鼠表皮未见明显增厚,表皮层细胞未见明显增生;与破损对照组相比,汞铅成分组、汞成分组、铅成分组大鼠表皮明显增厚,表皮层细胞明显增生,其他各给药组大鼠表皮未见显著性改变;与汞铅成分组相比,全方组、缺汞铅成分组、汞成分组和铅成分组表皮增厚程度均有显著减轻。提示,大鼠破损皮肤表皮增厚与拔毒生肌散组方中汞铅成分相关,方中配伍药味可减轻表皮增厚程度,见表2,图1。

3.2 对真皮组织形态学的影响 破损皮肤对照组大鼠真皮网织层及其深层血管均未见明显炎细胞浸润,个别动物网织层轻度出血,深部血管有轻度充血;汞铅成分组大鼠真皮网织层及其深部血管有明显充血及炎性细胞浸润;汞成分组和铅成分组大鼠真皮网织层有散在的炎细胞浸润,深部血管不同程度充血并有炎细胞浸润;全方组个别大鼠真皮网织层有散在炎细胞浸润,深部血管轻度充血,血管内有散在炎细胞浸润;缺汞铅成分组个别大鼠网织层及血管可见轻度充血,真皮网织层及深部血管均未

表2 对破损皮肤表皮厚度的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The effects of each group on epidermal thickness in injured skin ($\bar{x} \pm s$) μm

组别	剂量/mg · kg ⁻¹	<i>n</i>	表皮厚度
破损对照	-	10	58.47 ± 16.54
全方	240	9	64.37 ± 27.21 ⁶⁾
缺汞铅成分	188	10	60.73 ± 15.37 ⁷⁾
汞铅成分	52	9	106.59 ± 29.26 ^{3,4)}
汞成分	34.6	9	82.87 ± 19.33 ^{2,5)}
铅成分	17.3	10	73.56 ± 16.59 ^{1,6)}

注:与破损皮肤对照组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01, ³⁾ *P* < 0.001;与全方组比较⁴⁾ *P* < 0.01;与汞铅成分组比较⁵⁾ *P* < 0.05, ⁶⁾ *P* < 0.01, ⁷⁾ *P* < 0.001。

见明显炎细胞浸润。与破损皮肤对照组比较,汞铅成分组和汞成分组大鼠真皮网织层及其深部血管病变有显著性改变;与汞铅成分组相比,全方组和缺汞铅成分组网织层及深部血管病变明显减轻。即含汞、铅成分药物反复给药14 d,大鼠破损皮肤局部组织的形态学变化主要表现在真皮网织层有散在的炎细胞浸润,深部血管不同程度充血并有炎细胞浸润。提示,真皮网织层及其深部血管病理改变与拔毒生肌散中汞铅成分相关,方中配伍药味有减轻真皮病变作用,见表3,图2。

表3 对破损皮肤真皮的影响

Table 3 The effects of each group on dermis in injured skin

组别	剂量 /mg · kg ⁻¹	<i>n</i>	网织层炎细胞浸润动物数				网织层血管病变动物数			
			-	+	++	+++	-	+	++	+++
破损对照	-	10	3	7	0	0	0	9	1	0
全方	240	9	2	4	3	0 ⁵⁾	1	6	2	0 ⁶⁾
缺汞铅成分	188	10	2	8	0	0 ⁶⁾	0	9	1	0 ⁶⁾
汞铅成分	52	9	0	1	6	2 ^{2,3)}	0	0	7	2 ^{2,4)}
汞成分	34.6	9	0	5	4	0 ^{2,5)}	0	2	5	2 ^{2,3)}
铅成分	17.3	10	0	4	6	0 ²⁾	0	5	5	0 ⁶⁾

注:与破损皮肤对照组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01;与全方组比较³⁾ *P* < 0.05, ⁴⁾ *P* < 0.01;与汞铅成分组比较⁵⁾ *P* < 0.05, ⁶⁾ *P* < 0.01。

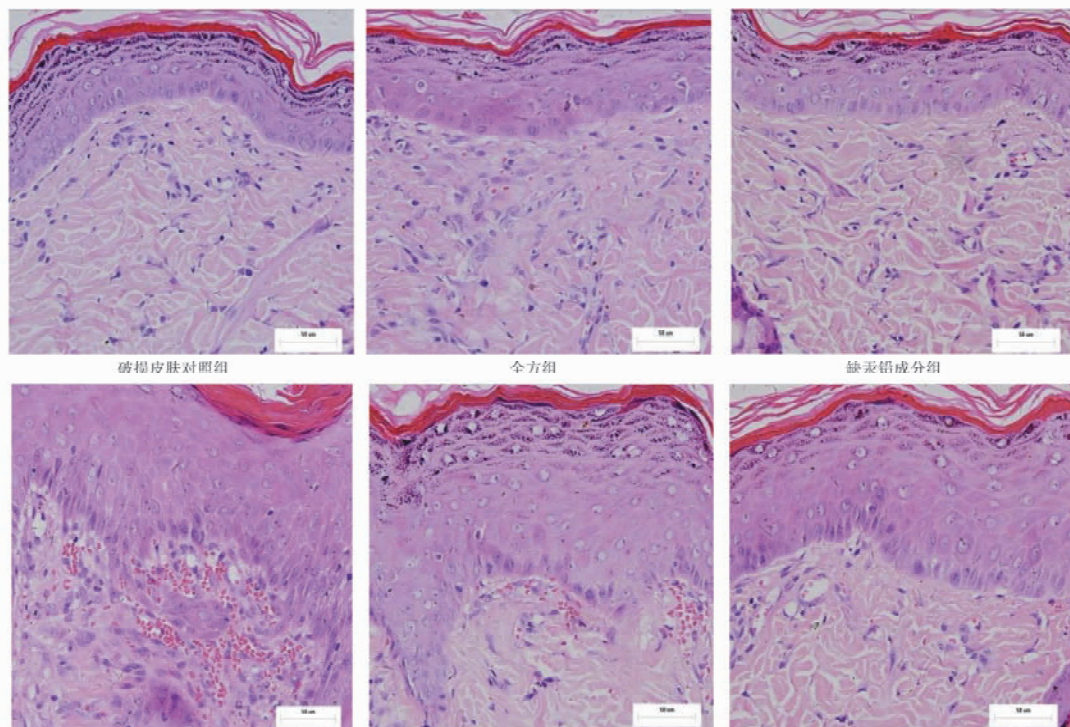


图1 各组表皮厚度(HE, ×400)

Fig. 1 Epidermal thickness chart of each group(HE, ×400)

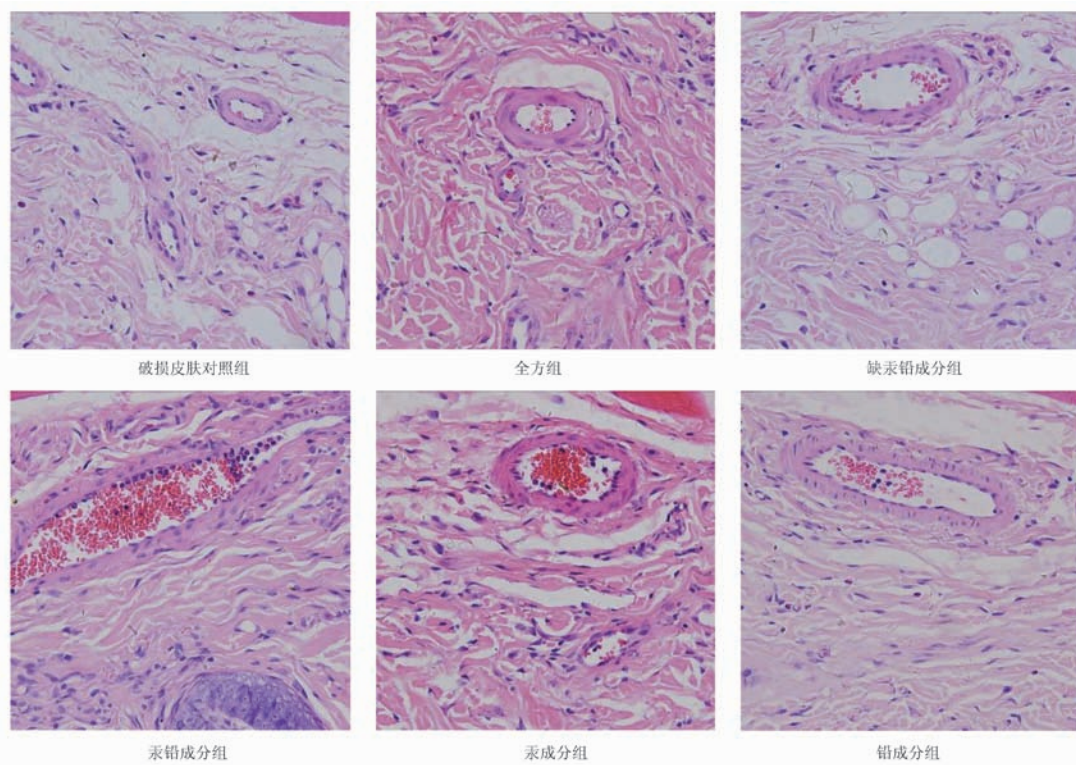


图2 各组真皮病变(HE, ×400)

Fig. 2 Dermis injury chart of each group(HE, ×400)



4 讨论

本实验室前期研究证实,拔毒生肌散在破损和溃疡性皮肤病上均可以在保证疗效的情况下观察到一定的安全用药范围,本实验选择可出现轻度毒性反应的剂量,在大鼠破损皮肤模型上,观察比较拔毒生肌散全方及拆方对皮肤的形态学影响。

正常情况下,表皮角质层细胞不断脱落,由基底细胞增殖补充,保持表皮正常结构和厚度。如皮肤受到损伤,其再生过程和修复时间,因受伤的面积和深度而有不同。皮肤损伤仅限于皮肤表皮层时,皮肤的再生和修复通过上皮再生愈合,主要是伤口处周围表皮的基底细胞,以及残存的毛囊和汗腺上皮细胞不断分裂,覆盖损伤表面,最后形成复层上皮,伤口即完全愈合。即表皮伤口愈合形态学表现为表皮层细胞增生,表皮增厚。表皮刮伤后给药,汞铅成分组、汞成分组和铅成分组表皮均明显增厚,提示汞、铅成分对表皮损伤有明显的修复作用。

细胞受到刺激后产生急性炎症,导致血流动力学改变、血管通透性增加、白细胞渗出。形态学显示为出血、充血及炎细胞浸润。若炎症过程中病因被清除,则可以完全恢复原来组织的结构和功能,即完全愈合。给药后汞铅成分组和汞成分组真皮网织层及其深部血管病变有显著性,全方组和缺汞铅成分组网织层及深部血管病变明显减轻,提示汞铅成分导致真皮网织层及其深部血管病理改变,配伍药味

有减轻真皮病变作用。

本研究中连续给予破损皮肤大鼠拔毒生肌散全方或拆方后,汞铅成分组、汞成分组和铅成分组表皮明显增厚,与汞铅成分组相比,全方组、缺汞铅成分组、汞成分组和铅成分组表皮增厚程度均有显著减轻;汞铅成分组和汞成分组真皮血管明显充血、明显炎细胞,与汞铅成分组相比,全方组和缺汞铅成分组网织层及深部血管病变明显减轻。提示,汞铅成分组、汞成分组和铅成分组对皮肤伤口愈合有明显的促进作用,拔毒生肌散中配伍药味对汞、铅起主要作用的皮肤修复功能有一定程度的降低,同时对汞、铅成分所致真皮组织的病理性损伤也明显降低。因此认为,拔毒生肌散中汞铅成分有促进大鼠破损皮肤愈合的功能,方中的配伍药味有减毒作用。

[参考文献]

- [1] 李树强,赵金垣,徐希娴. 不同接触途径所致急性亚急性汞中毒的分析研究[J]. 中国工业医学杂志,2003,16(6):324.
- [2] 朱凤岐. 氯化亚汞皮肤吸收所致多脏器衰竭致死1例[J]. 中华劳动卫生职业病杂志,1997,15(6):364.
- [3] 林仲,陈训梅,于凌志,等. 一起化妆品慢性汞中毒事件的调查[J]. 环境与健康杂志,2002,19(2):135.
- [4] 赵立强,游全程. 汞对肾脏早期损害诊断指标的研究进展[J]. 现代预防医学,2003,30(1):66.
- [5] 路艳丽,贺蓉,彭博,等. 拔毒生肌散中配伍药味对汞、铅成分毒性的影响[J]. 中国中药杂志,2011,36(15):2119.

Observation on effect of Badu Shengji San and its decomposed recipes on morphological changes of injured skin tissues in rats

HE Rong, PENG Bo, LU Yanli, GAO Jie, HUI Lianqiang, LI Jianrong*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Badu Shengji San (BDSJS) and its decomposed recipes on morphological changes of injured skin in rats. **Method:** SD rats with injured skin were treated with BDSJS and its different decomposed recipes for consecutively 14 days. Morphological changes in the injured skin were observed by H&E staining. **Result:** Mercury and lead-containing ingredients significantly decreased epidermal thickness and caused vascular hemorrhage, hyperemia and inflammatory cell infiltration in reticular layer of dermis. The compatible herbs alleviated epidermal thickness and reduced dermal lesions. **Conclusion:** BDSJS' mercury and lead-containing ingredients can accelerate the healing of skin wound and its compatible herbs can relieve the dermis injury induced by mercury and lead.

[Key words] mercury and lead ingredients; rat with injured skin; skin histomorphology; Badu Shengji San

doi:10.4268/cjcm20120604

[责任编辑 张宁宁]