

# 仙虎合剂对大鼠实验性脂肪肝治疗作用的研究

王斌胜<sup>1\*</sup>, 丁乐顺<sup>2</sup>, 刘同慎<sup>1</sup>, 刘志学<sup>1</sup>, 刘军<sup>2</sup>

(1. 滨州医学院烟台校区中西医结合学院, 山东烟台 264003;  
2. 烟台市中医医院检验科, 山东烟台 264003)

**[摘要]** 目的:观察仙虎合剂对大鼠实验性脂肪肝的治疗作用。方法:Wistar 大白鼠 50 只,随机分为正常对照组、模型组、中药仙虎合剂高、低剂量组和甲硫氨酸组。除正常对照组外,其余 4 组均以高脂饮食喂养 10 周,建立高脂血症性脂肪肝模型后,模型组用生理盐水 ig,中药高、低剂量组用仙虎合剂(相当于生药 31.5, 15.75 g·kg<sup>-1</sup>) ig,甲硫氨酸组用甲硫氨酸片(0.625 g·kg<sup>-1</sup>) ig。各组于用药 4 周后处死取材送检,观察肝体比、血脂、肝脂及肝组织病理改变等。结果:模型组镜下呈重度脂肪肝改变,血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)分别为(3.09 ± 0.84), (2.29 ± 0.41) mmol·L<sup>-1</sup>,肝组织匀浆 TC, TG 分别为(5.87 ± 0.65), (23.46 ± 3.28) mmol·L<sup>-1</sup>,与正常对照组比较有显著性差异(P < 0.01);仙虎合剂高剂量组镜下接近于正常表现,血清 TC, TG 分别为(1.68 ± 0.22), (1.73 ± 0.19) mmol·L<sup>-1</sup>,肝组织匀浆 TC, TG 分别为(3.42 ± 0.44), (16.47 ± 2.52) mmol·L<sup>-1</sup>,与模型组比较有显著性差异(P < 0.01);仙虎合剂高、低剂量组血清 TC(1.68 ± 0.22), (1.72 ± 0.36) mmol·L<sup>-1</sup>,与甲硫氨酸组(2.14 ± 0.53) mmol·L<sup>-1</sup>比较有显著性差异(P < 0.05);3 个治疗组其他各项数据相近,提示仙虎合剂能明显降低脂肪肝大鼠血脂,减轻肝脂变及肝细胞坏死程度。结论:仙虎合剂对高脂饮食诱导的脂肪肝具有确切治疗作用。

**[关键词]** 仙虎合剂;高脂血症;脂肪肝;血浊

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0179-03

## Effect of Xianhu Mistura on Experimental Liver Steatosis in Rats

WANG Bin-sheng<sup>1\*</sup>, DING Le-shun<sup>2</sup>, LIU Tong-shen<sup>1</sup>, LIU Zhi-xue<sup>1</sup>, LIU Jun<sup>2</sup>

(1. College of Combination of Traditional Chinese Medicine with Western Medicine, Binzhou Medical College, Yantai 246003, China; 2. Laboratory Department of Yantai Chinese Medicine Hospital, Yantai 246003, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effect of Xianhu mistura on experimental liver steatosis in rats. **Method:** Wistar rats were divided into normal group, model group, herbal therapy high dose group, herbal therapy low dose group, methionine group. In addition to normal group, other four groups were fed high fat diet for 10 weeks to established hyperlipemia model. Then the model group was given normal saline gavage, herbal therapy high dose group was given Xianhu mistura (31.5 g·kg<sup>-1</sup>) gavage, low dose group was given Feiluotong mistura (15.75 g·kg<sup>-1</sup>) gavage. Methionine group given methionine tablets gavage. Four weeks later blood biochemistry and pathological changes were examined to observe the effect of Xianhu mistura on common conditions, blood lipid level, enzyme, the ratio of liver to body weight and histological change of the fatty liver rats. **Result:** Xianhu mistura could decrease blood lipid level and the degree of hepatic and hepatocell necrosis. There was significant differences compared with DL-methionine group (P < 0.05 or 0.01). **Conclusion:** Xianhu mistura has better effect in the treatment of hyperlipidemia fatty liver in rats.

**[Key words]** Xianhu mistura; hyperlipidemia; fatty liver; turbid blood

近年来,我国脂肪肝发病率呈上升趋势,在某些

地区已成为仅次于病毒性肝炎的第二大肝病<sup>[1]</sup>,其预防和治疗已成为中、西医临床和基础研究的重要课题,但目前仍缺乏治疗脂肪肝的理想药物。笔者在“血浊”理论<sup>[2]</sup>指导下研制了仙虎合剂,对非酒精性脂肪肝临床疗效满意。近期我们进一步观察了其

**[收稿日期]** 20110605(005)

**[基金项目]** 山东省中医药科技发展计划项目(2011-210)

**[通讯作者]** \* 王斌胜, Tel: 05356913229, E-mail: wang617424@163.com

对大鼠实验性脂肪肝的治疗作用。

### 1 材料

**1.1 动物** 6 周龄清洁级雄性 Wistar 大鼠 60 只, 体重(180 ± 20) g, 购于山东大学医学院实验动物中心, 动物合格证号 SCXK(鲁)20090001。

**1.2 药物与试剂** 仙虎合剂由淫羊藿 30 g, 虎杖 15 g, 没药 10 g, 水蛭 6 g, 神曲 9 g 组成, 上述中药加水浸泡 120 min, 每次煎沸 30 min, 煎煮 3 次, 合并煎液, 静置, 取上清液, 加热浓缩成含生药为 3.15 g · mL<sup>-1</sup> 的制剂, 4 °C 冰箱存用, 滨州医学院中药研究所提供。甲硫氨酸片, 成都利尔药业有限公司, 批号 091221; 胆固醇购自广州南方玻璃公司, 产品批号为 090301, 胆酸钠购自北京奥博星生物技术责任有限公司, 产品批号为 20100521; 总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒均购于北京中山生物技术有限公司, 批号 090821。

**1.3 仪器** TBA-120FR 型全自动生化分析仪(东芝日本), Olympus BX51 型光学显微镜(日本), KD-BM III 组织包埋机(上海京工实业有限公司), YD-12G 型全自动组织脱水机, RM2255 型石蜡切片机(德国莱卡), IMAGE-PRO PLUS 病理图像分析系统(美国 MediaCybernetics 公司)。

### 2 方法

**2.1 动物分组与造模** 将大鼠适应性饲养 1 周后随机分为 5 组: 正常对照组和模型组每组 15 只, 中药高剂量组、中药低剂量组、甲硫氨酸组, 每组 10 只。每组大鼠均自由饮水, 除正常对照组喂饲基础饲料外, 其余 4 组予高脂饲料<sup>[3]</sup>(基础饲料为猪油: 胆固醇: 胆酸钠 88.5: 10: 1: 0.5)。连续喂养 10 周后, 正常对照组、模型组各随机处死 5 只, 取肝脏经

组织病理学证实造模成功。

**2.2 给药方法** 从实验第 10 周末起, 各组大鼠仍如前法喂养, 正常对照组、模型组用白开水 10 mL · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> ig。中药高剂量组用仙虎合剂(3.15 g · mL<sup>-1</sup>) 10 mL · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> ig; 中药低剂量组用仙虎合剂(1.575 g · mL<sup>-1</sup>) 10 mL · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> ig; 甲硫氨酸组用甲硫氨酸片混悬液(0.0625 g · mL<sup>-1</sup>) 10 mL · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> ig。每周称重, 调整用药量。治疗 4 周后, 禁食 12 h(不禁水), 各组大鼠经麻醉后从门静脉采血 6 mL, 并迅速取出肝脏备检。

### 2.3 检测指标

**2.3.1 一般情况** 观察大鼠精神、活动、饮食、皮毛、体重变化。处死大鼠后肉眼观察肝脏脂肪情况并测定肝体比(肝湿质量与体重之比)。

**2.3.2 生化检测** 门静脉采血分离血清, 采用全自动生化分析仪测定 TG, TC, LDL-C; 另取肝组织 3 g, 加入预冷的生理盐水, 冰水中制成 10% 肝组织匀浆, 高速离心后取上清液, 全自动生化分析仪测定肝细胞内脂质(TC, TG)。

**2.3.3 光镜观察** 取肝组织 5 mm × 5 mm, 浸泡于 10% 甲醛液中固定, 石蜡包埋, 切片, HE 染色, 光镜下观察肝组织形态变化。

**2.4 统计学处理** 数据分析用 SPSS 15.0 统计软件包进行, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示。两组间比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 一般情况观察** 高脂饲料喂养大鼠前期食量大于正常对照组, 体重增加较快, 后期食量减小, 活动量减少。仙虎合剂及甲硫氨酸片治疗组食量、活动量明显优于模型组。见表 1。

表 1 各组大鼠血清及肝组织匀浆脂质的比较( $\bar{x} \pm s$ )

/mmol · L<sup>-1</sup>

| 组别   | n  | 剂量<br>/g · kg <sup>-1</sup> | 肝体比<br>/%                 | 血清脂质                        |                           |                           | 肝组织匀浆脂质                   |                            |
|------|----|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
|      |    |                             |                           | TC                          | TG                        | LDL-C                     | TC                        | TG                         |
| 正常对照 | 15 | -                           | 3.17 ± 0.32 <sup>1)</sup> | 1.45 ± 0.27 <sup>1)</sup>   | 1.50 ± 0.27 <sup>1)</sup> | 0.46 ± 0.12 <sup>1)</sup> | 2.62 ± 0.47 <sup>1)</sup> | 12.99 ± 2.29 <sup>1)</sup> |
| 模型   | 15 | -                           | 3.79 ± 0.43               | 3.09 ± 0.84                 | 2.29 ± 0.41               | 0.85 ± 0.20               | 5.87 ± 0.65               | 23.46 ± 3.28               |
| 仙虎合剂 | 10 | 31.5                        | 3.41 ± 0.28 <sup>1)</sup> | 1.68 ± 0.22 <sup>1,3)</sup> | 1.73 ± 0.19 <sup>2)</sup> | 0.51 ± 0.16 <sup>2)</sup> | 3.42 ± 0.44 <sup>1)</sup> | 16.47 ± 2.52 <sup>1)</sup> |
| 仙虎合剂 | 10 | 15.75                       | 3.46 ± 0.35 <sup>1)</sup> | 1.72 ± 0.36 <sup>1,3)</sup> | 1.77 ± 0.28 <sup>2)</sup> | 0.55 ± 0.15 <sup>2)</sup> | 3.69 ± 0.52 <sup>1)</sup> | 17.10 ± 2.19 <sup>1)</sup> |
| 甲硫氨酸 | 10 | 0.625                       | 3.52 ± 0.44 <sup>2)</sup> | 2.14 ± 0.53 <sup>1)</sup>   | 1.65 ± 0.21 <sup>1)</sup> | 0.59 ± 0.16 <sup>2)</sup> | 3.57 ± 0.61 <sup>1)</sup> | 15.85 ± 2.86 <sup>1)</sup> |

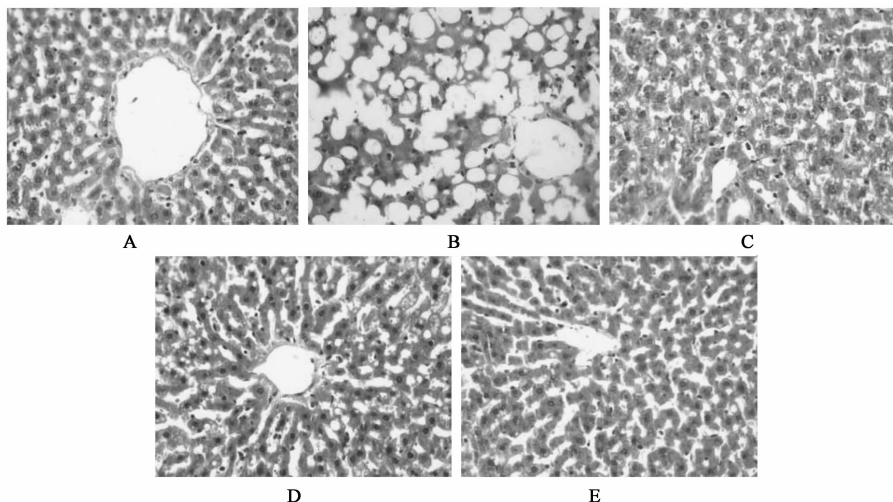
注: 与模型组比较<sup>1)</sup> *P* < 0.01, <sup>2)</sup> *P* < 0.05; 与甲硫氨酸组比较<sup>3)</sup> *P* < 0.05。

**3.2 血清脂质及肝组织匀浆脂质含量** 与正常组比较模型组血清 TC, TG, LDL-C 显著升高(*P* < 0.01), 肝组织匀浆 TC, TG 显著升高(*P* < 0.01)。与模型组比较, 仙虎合剂及甲硫氨酸治疗组血清脂质及肝组织匀浆脂质均显著降低(*P* < 0.01), 见表 1。

**3.3 光镜观察** 光镜下显示, 正常对照组大鼠肝组织结构完整清晰, 肝小叶结构正常, 中央静脉大而壁薄, 肝细胞排列成肝索, 在中央静脉周围呈放射状分布, 细胞呈多边形。模型组呈重度脂肪肝样改变, 呈现弥漫性脂肪变性及空泡样变, 变性的肝细胞极度肿胀呈圆形, 体积较正常肝细胞明显增大, 细胞核被

脂滴挤向一边,类似脂肪细胞。肝窦受压变窄甚至消失,肝索排列紊乱。肝小叶可见散在点状坏死灶,坏死区及少量汇管区有少量炎细胞浸润。而仙虎合

剂各组及甲硫氨酸组脂肪变性程度及细胞肿胀程度明显减轻,几乎无炎性细胞浸润和坏死灶,接近于正常表现。见图1。



A. 正常对照组; B. 模型组; C. 甲硫氨酸  $0.625 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; D 仙虎合剂  $15.75 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; E. 仙虎合剂  $31.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组

图1 仙虎合剂对脂肪肝模型鼠肝组织结构的影响 (HE,  $\times 400$ )

#### 4 讨论

高脂肪、高热量饮食是肥胖、高脂血症和脂肪肝的重要成因。脂肪肝患者肝细胞内游离脂肪酸增多及病理情况下肝细胞缺血缺氧,导致氧自由基增多,造成生物膜脂质过氧化,通透性增加,肝细胞发生肿胀、变性、坏死等一系列变化<sup>[4]</sup>。导师王新陆教授首倡的“血浊理论”将脂肪肝直接病因归于浊瘀互结、损伤肝脏,认为饮食偏嗜肥甘酒醪,长期饱食,过逸少劳;年老体衰或禀赋异常以及五志七情内伤等原因导致脾、肾、肝等脏腑功能紊乱,气机出入升降乖戾,膏脂不归正化,化生浊邪。浊阻脉道,血行不畅而生瘀,浊瘀互结,损伤肝脏,形成现代医学的脂肪肝<sup>[5]</sup>。仙虎合剂以具有温阳化浊功效的淫羊藿为君,虎杖、水蛭、没药化浊祛瘀为臣,神曲助脾胃运化,防水蛭、没药碍胃,为佐使药,诸药相合,共奏化浊祛瘀之功。现代药理研究表明淫羊藿具有抗氧化,减少心、肝等组织脂褐素形成,消除自由基等作用<sup>[6]</sup>;虎杖具有降血脂及保肝利胆作用,可促进肝细胞再生及修复损伤<sup>[7]</sup>;水蛭可降血脂并改善微循环<sup>[8]</sup>;没药具有降血脂、诱导脂肪细胞凋亡、促进脂解、抗氧化及抑制自由基产生等作用<sup>[9]</sup>。这些现代研究成果表明,仙虎合剂可通过降低血脂、肝脂,抑制脂质过氧化反应,提高肝抗氧化能力,改善肝细胞脂肪变性,促进肝脏功能恢复等作用达到降脂护肝之功效。

本实验结果表明仙虎合剂能降低脂肪肝大鼠血清 TC, TG, LDL-C, 清除肝细胞内脂质, 改善病理组

织学变化, 差异具有统计学意义。其降低血清 TC 作用优于临床常用药甲硫氨酸片 ( $P < 0.05$ ), 改善肝脏脂肪变作用则与甲硫氨酸片相当。说明仙虎合剂具有确切的降脂保肝作用, 其作用机制尚待进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] 范建高, 曾民德. 脂肪肝[M]. 上海: 上海医科大学出版社, 2000.
- [2] 王新陆. 脑血辨证[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 82.
- [3] 范建高, 钟岚, 王国良, 等. 低热卡饮食对大鼠肥胖高脂血症和脂肪肝的影响[J]. 中华消化杂志, 2002, 22(2): 119.
- [4] 万明, 毛新民, 李琳琳, 等. 复方葫芦巴预防脂肪肝的实验研究[J]. 山东医药, 2010, 50(7): 42.
- [5] 胡怀强, 周永红, 范玉芹. 王新陆教授从浊论治脂肪肝经验撷菁[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(9): 1781.
- [6] 田桂芳, 杨卫东. 淫羊藿的药理学研究回顾[J]. 中国药业, 2004, 13(3): 77.
- [7] 伍晓春, 陆豫. 虎杖的药理作用及临床应用研究进展[J]. 中医药信息, 2005, 22(2): 22.
- [8] 杨金生, 赵美丽, 杨朝晖. 水蛭临床研究新进展[J]. 陕西中医学院学报, 1993, 16(3): 35.
- [9] 徐洪彬, 李玲. 没药甾酮研究进展[J]. 医药导报, 2009, 28(5): 617.

[责任编辑 聂淑琴]