

## 三七总皂苷防治大鼠腺嘌呤肾间质纤维化作用的实验研究\*

□赵宗江 张新雪\*\* 张学凯 杨美娟 (北京中医药大学 北京 100029)

**摘要:**目的:观察三七总皂苷对大鼠腺嘌呤性肾间质纤维化的防治作用。方法:将 Wister 大鼠 58 只,随机分为 5 组,正常组、假手术组、模型组、尿毒清组和三七总皂苷组。模型组、尿毒清组和三七总皂苷组大鼠,手术切除左侧肾脏,而假手术组手术取出左侧肾脏,剥离深包膜但不切除肾脏。模型组、尿毒清组、三七总皂苷组以腺嘌呤 180mg/kg 灌胃,并同时给予尿毒清和三七总皂苷治疗,实验在第 2 周和第 4 周时称重,并留取 24 h 尿液。第 4 周末处死大鼠,留尿、取血测定尿、血  $Ca^{2+}$ 、 $P^{3-}$  及 Scr、BUN,取肾组织称重、福尔马林固定,并进行肾组织染色。用 SPSS11.0 进行统计学处理。结果:三七总皂苷组与模型组比较,可以明显改善肾间质纤维化大鼠的血  $Ca^{2+}$ 、 $P^{3-}$  ( $P<0.05$ ),提高血 RBC、Hb 水平,降低血清 Scr、BUN ( $P<0.05$ ),减少肾组织中腺嘌呤结晶的沉积,减轻肾脏病理损害。结论:三七总皂苷通过减少腺嘌呤性大鼠肾组织中腺嘌呤结晶的沉积、降低  $P^{3-}$ ,提高  $Ca^{2+}$ 、RBC、Hb 水平,改善肾功能,从而对腺嘌呤性大鼠肾间质纤维化有明显的防治作用。

**关键词:**三七总皂苷 肾间质纤维化 腺嘌呤 大鼠

三七总皂苷主要成分为人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Rb1、三七皂苷 R1,其药理作用为活血化瘀、通脉活络、抑制血小板聚集、改善微循环、降低血粘度,扩张血管,增加心、脑、肾等重要器官血流量,改善局部组织内的微循环状态,从而使形成的血栓或梗塞灶溶解并抑制其形成。三七总皂苷主要用于心脑血管疾病的治疗,但治疗肾间质纤维化的报道少见。所以我们用三七总皂苷研究了对大鼠腺嘌呤性肾间质纤维化的防治作用。在本实验采用嘌呤性肾间质纤维化大

鼠模型,通过观察三七总皂苷对于腺嘌呤性肾衰竭大鼠的体重、肾重与体重之比、血  $Ca^{2+}$ 、 $P^{3-}$  及 Scr、BUN 的影响,研究其对肾间质纤维化的防治作用。

### 一、材料与方 法

#### 1. 实验动物

Wister 雄性大白鼠,58 只,体重  $200\pm 20g$ ,健康(购自北京协和医科大学动物实验中心,许可证编号:SCXR 京 2006-0016)。

#### 2. 实验试剂和药物

腺嘌呤(欣经科生物技术有限公司,批号:

收稿日期:2008-01-03

修回日期:2008-03-18

\* 教育部“长江学者和创新团队发展计划”资助项目(IRT0413):中医药干预多器官纤维化与异病同治、同病异治科学内涵的研究,负责人:牛建昭;国家自然科学基金重点资助项目(30130220):复方鳖甲软肝方防治多脏器纤维化的作用机理研究,负责人:牛建昭;高等学校学科创新引智计划资助(B07007):中西医结合学科创新引智基地,负责人:牛建昭。

\*\* 联系人:张新雪,副主任医师,主要研究方向:中医临床及中药防治器官纤维化机理的研究工作。

20060078;三七总皂苷,由广西梧州制药股份有限公司提供(批号:060310)。

## 二、实验方法

### 1. 模型制作与分组

Wister 雄性大鼠,58 只,先随机取 10 只为正常组,其余为手术组、和假手术组。假手术组大鼠用 10%的水合氯醛麻醉,从大鼠左肋脊角下方剪开皮肤及肌层,取出肾脏,分离肾包膜,然后再纳回肾脏,最后分别缝合肌层和皮肤。而手术组大鼠,方法同假手术组大鼠,但进行了左侧肾脏切除术<sup>[1-2]</sup>。然后大鼠再适应性喂养 1 周,手术组大鼠再随机分为 3 组,即模型组,尿毒清对照组,三七总皂苷组。

### 2. 给药途径

模型组与给药组每天早上以体重 180mg/kg 腺嘌呤灌胃,下午三七总皂苷组以体重 35mg/kg 腹腔注射,尿毒清组以体重 4.7g/kg 灌胃,正常组与假手术组则用等体积的生理盐水灌胃,造模时间和药物预防治疗的时间为 4 周。

### 3. 标本的收集

在药物灌胃前、灌胃第 2 周后、第 4 周后分别称量动物的体重,并分别留取每组动物 10 只大鼠的 24h 尿量,灌胃第 4 周末取血,处死大鼠取肾组织。血经低温离心后分离血清待测血生物化学指标。

### 4. $Ca^{2+}$ 、 $P^{3-}$ 及 Scr、BUN 检测

7150 全自动生化分析仪测定血清  $Ca^{2+}$ 、 $P^{3-}$  及 Scr、BUN。

### 5. 统计学方法

用 SPSS11.0 系统进行数据的分析,数据用( $\bar{x} \pm s$ )表示,结果采用 q 检验。

## 三、结果

### 1. 一般状况

正常组和假手术组大鼠饮食正常,精神佳,活动好,反应灵敏,毛色光泽。模型组大鼠多饮,少食,精神萎靡,反应迟钝,拱背,畏寒喜蜷缩,毛色缺乏光泽,脱落多。尿毒清组及三七总皂苷组大鼠少食、精神、反应、动静状态及毛色较模型组有明显的改善作用。

### 2. 对体重、肾重/体重的影响

以肾重与体重之比( $\times 10^3$ )的结果显示用药 2 周后,和模型组比三七总皂苷组体重有不同程度的改善( $P < 0.05$ )。而三七总皂苷组肾重/体重的影响显著( $P < 0.01$ )(见表 1)。

### 3. 三七总皂苷对大鼠肾组织病理的影响

#### (1) 肾脏大体观察。

正常组和假手术组大鼠肾脏大小正常,被膜光滑,不易剥脱,褐色、有光泽。模型组大鼠肾脏肿胀,体积增大,质地松软,呈灰白色,缺乏光泽,包膜薄易剥脱,皮髓质界限不清,为典型的“大白肾”。尿毒清组大鼠肾脏肿大,表面深红色和灰白色点相间,不光滑,缺乏光泽,皮髓质界限大体清晰,包膜薄易剥脱。三七总皂苷组:肾脏肿胀,体积较模型组小,质地稍松软,表面呈浅红色,不光滑,缺乏光泽,皮髓质界限清晰,被膜结合紧,不易剥脱。

#### (2) 肾脏病理变化。

模型组大鼠肾小管上皮细胞坏死、脱落,肾小管

表 1 三七总皂苷对腺嘌呤性肾衰竭大鼠体重及肾重/体重的影响

( $\bar{x} \pm s, g$ )

组别	第 1 周		第 2 周		第 3 周		第 4 周		肾重/体重( $\times 10^3$ )	
	n	体重	n	体重	n	体重	n	体重	n	体重
正常组	10	259.60 $\pm$ 2.23	10	289.40 $\pm$ 3.33**	10	320.50 $\pm$ 3.28**	10	348.30 $\pm$ 3.47**	10	3.04 $\pm$ 0.05**
假手术组	10	251.50 $\pm$ 6.04	10	288.90 $\pm$ 3.22**	10	319.60 $\pm$ 2.75**	10	347.9 $\pm$ 3.47**	10	3.12 $\pm$ 0.06**
模型组	13	243.92 $\pm$ 5.98	13	231.92 $\pm$ 5.39	13	232.15 $\pm$ 7.77	11	204.18 $\pm$ 8.58	6	28.91 $\pm$ 1.13
尿毒清组	13	244.77 $\pm$ 4.84	13	246.38 $\pm$ 7.11	10	245.27 $\pm$ 8.05	8	246.00 $\pm$ 11.95	6	19.32 $\pm$ 2.23**
总皂苷组	12	247.17 $\pm$ 6.14	11	244.18 $\pm$ 9.35*	11	228.82 $\pm$ 12.59*	9	238.44 $\pm$ 10.26	8	24.72 $\pm$ 0.91**4

注:与模型组比较 \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

表2 三七总皂苷对腺嘌呤性肾衰竭大鼠血Ca<sup>2+</sup>、血P<sup>3-</sup>、血肌酐以及尿素氮的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	RBC (10 <sup>9</sup> /L)	Hb (g/L)	Ca <sup>2+</sup> (mmol/L)	P <sup>3-</sup> (mmol/L)	Scr (μmol/L)	BUN (mmol/L)
正常组	10	6.60±0.12**	138.400±4.58**	2.35±0.04	0.81±0.27	65.96±3.48**	6.707±0.13**
假手术组	10	6.73±0.05**	152.40±2.09**	2.456±0.0937	1.13±0.198	66.95±3.60**	7.69±0.39**
模型组	5	5.76±0.25	95.80±3.89	2.15±0.03	1.31±0.02	251.300±24.62	32.84±7.30
尿毒清组	6	5.77±0.22	96.33±4.03	2.26±0.02*	1.17±0.03*	181.12±22.57**	13.09±6.11**
三七总皂苷组	8	6.04±0.29	102.00±4.79	2.45±0.02*	1.14±0.03*	180.713±18.49**	11.644±4.78**

注:与模型组比较 \*P&lt;0.05, \*\*P&lt;0.01

腔明显扩大,肾小管中有大量金黄色结晶,可见蛋白管型、细胞管型,肾间质重度纤维化,可见肾小球囊腔扩大,肾小球系膜细胞中度增生。尿毒清组大鼠肾小管中度扩张,肾小管中有少量金黄色结晶,轻度间质纤维化,可见少量肾小管上皮细胞脱落,肾间质中度纤维化,肾小球系膜细胞轻度增生。三七总皂苷组大鼠肾小球系膜细胞轻度增生,肾小管轻度扩张,肾小管上皮细胞比较完整,肾间质轻度炎性细胞浸润、轻度纤维化,管腔内有少量嘌呤代谢产物结晶。

#### 4. 对血RBC、Hb的影响

与模型组比,尿毒清组和三七总皂苷组血RBC、Hb虽无统计学差异,但二者均有升高RBC、Hb的趋势,尤以三七总皂苷为明显。

#### 5. 对血Ca<sup>2+</sup>、P<sup>3-</sup>的影响

血Ca<sup>2+</sup>和模型组比,尿毒清组和三七总皂苷组的血Ca<sup>2+</sup>水平都有明显的提高(P<0.05)。尿毒清组和三七总皂苷组血P<sup>3-</sup>水平改善明显(P<0.05)(见表2)。

#### 6. 对Scr、BUN的影响

与模型组比,尿毒清组和三七总皂苷组Scr都有明显改善(P<0.01)。与模型组比,毒清组组、三七总皂苷组BUN也有改善显著(P<0.01)。说明三七总皂苷组对于改善腺嘌呤性肾衰竭大鼠肾功能和尿毒清的作用相当(见表2)。

### 四、讨论

本实验采用单侧肾切除结合腺嘌呤灌胃导致肾间质纤维化大鼠模型。腺嘌呤通过黄嘌呤氧化酶的作用变为不溶于水的2,8二羟基腺嘌呤,其结晶沉积在肾小管,病理损伤以肾小管为主,肾小管上皮细

胞变性、坏死,代谢物的结晶沉积导致异物巨细胞反应,以及围绕其所生成的肉芽肿,致使肾小管的扩张或萎缩、间质水肿、淋巴细胞浸润及间质纤维组织的增生,影响氮质化合物的排泄、电解质等物质的代谢,引起肾小管功能的减退乃至丧失,最终导致肾衰竭<sup>[3-6]</sup>。肾脏对保持电解质Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、P<sup>3-</sup>平衡起着重要的作用,当肾损害时,可引起这些电解质的代谢紊乱。尤其是当慢性肾衰竭(CRF)时,则形成低Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、高K<sup>+</sup>、P<sup>3-</sup>血症<sup>[7]</sup>。

三七总皂苷能显著降低血液黏稠度、降低凝血因子I含量和尿纤维蛋白降解产物、抑制体内凝血功能、促进纤溶活性。病理学及现代临床研究证明,无论采用抗凝药物还是纤溶剂均能减少纤维蛋白相关抗原(FRA)沉积,且明显减少蛋白尿<sup>[8]</sup>。因此,该药可以改善肾脏的微循环,减轻蛋白尿,改善肾功能,缓解肾脏纤维化,阻止慢性肾衰竭的进行性恶化。另外,三七总皂苷还能降低细胞内Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、H<sub>2</sub>O含量和Ca<sup>2+</sup>超载,缓解组织水肿,故可提高肾间质纤维化的综合疗效。该药明显减轻腺嘌呤性慢性肾脏病理损害,减少腺嘌呤代谢产物结晶的沉积,减轻肾小管间质炎细胞浸润,减轻肾小管扩张,减少了肾小管上皮细胞凋亡、脱落,从而延缓慢性肾间质纤维化的病程进展。本实验中观测到三七总皂苷在提高腺嘌呤性肾间质纤维化大鼠生存时间,改善腺嘌呤性肾间质纤维化大鼠体重、降低尿蛋白,以及调节血Ca<sup>2+</sup>及P<sup>3-</sup>水平,提高RBC、Hb水平,改善肾功能降低Scr、BUN方面,均具有较好的防治作用。至于三七总皂苷如何减少炎细胞的浸润、减轻肾小管损伤,进而延缓肾间质纤维化的进程,有待进一步研究。

## 参考文献

- 1 赵宗江,魏晨,杨美娟,等.复方鳖甲软肝片防治大鼠腺嘌呤慢性肾衰竭作用的实验研究.中国中西医结合肾病杂志,2005,6(12):687~690.
- 2 赵宗江,魏晨,杨美娟,等.温脾汤对腺嘌呤慢性肾衰竭大鼠肾功能的保护作用.山东中医药大学学报,2005,29(6)461~464.
- 3 汪青.用腺嘌呤制作大鼠慢性肾小管功能减退模型的实验研究.河南中医药学刊,1998,13(4):17~19.
- 4 王蕾,王锦之,安曰丙,等.益肾导浊口服液防治大鼠慢性肾衰竭的实验研究.北京中医药大学学报,1997,20(3):32~36.
- 5 Nakagawa T, Yokozawa T, Sano M, et al. Minamoto S. Activity of (-)-epigallocatechin 3-O-gallate against oxidative stress in rats with adenine-induced renal failure. J Agric Food Chem. 2004, 52(7):2103~2107.
- 6 Yokozawa T, zheng P, Oura H, et al. Animal model of adenine induced chronic renal failure in rats. Nephron, 1986, 44:230~243.
- 7 Eto N, Miyata Y, Ohno H, et al. Nicotinamide prevents the development of hyperphosphataemia by suppressing intestinal sodium-dependent phosphate transporter in rats with adenine-induced renal failure. Nephrol Dial Transplant. 2005, 20(7):1378~84.
- 8 陈香美.肾脏内科主治医师400问.北京:中国协和医科大学出版社,2000:4,125~126.

### A Study of Therapeutic Effects of Panax Notoginseng Saponins on Tubulointerstitial Fibrosis in Adenine Nephropathy Rat Model

Zhao Zongjiang, Zhang Xinxue, Zhang Xuekai, Yang Meijuan  
(Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029)

We investigated the therapeutic effects of panax notoginseng saponins (PNS) on Tubulointerstitial Fibrosis in an adenine nephropathy rat model. The study had employed 58 Wister rats, which were randomly divided into 5 groups: normal group, sham operation group, model group, Niaoduqing group, and PNS group. Rats in the model group, Niaoduqing group, and PNS group had their left kidney taken away through germ free operation. Rats in the sham operation group were peeled off the kidney envelope without renal excision. One week after the operation, rats in the model group, Niaoduqing group, and PNS group were intragastrically administrated with Adenine (180mg/kg/d). Meanwhile, the Niaoduqing group were gastrically perfused with Niaoduqing, and PNS group intraperitoneally injected with PNS. Body mass were weighed using an electronic scale, and 24-hour urine samples were collected for urine protein detection, at an interval of 2 and 4 weeks. At the end of the fourth week, all the rats were sacrificed, with their blood samples being tested for Ca<sup>2+</sup>, P<sub>3-</sub>, Scr and BUN. Kidneys were weighed, fixed by formalin, and examined pathohistologically. The collected data were statistically analyzed using SPSS 11.0 package. Results showed that serum Ca<sup>2+</sup>, P<sub>3-</sub>, RBC, and Hb were obviously improved, and serum Scr and BUN were reduced in the PNS group. Compare with the model group, there was a statistic significance (P<0.05). Pathohistological examination also showed that PNS could lessen the deposition of crystallized adenine, and abate the histomorphological injury of kidney. We believe that PNS can improve the renal function by lessening the deposition of crystallized adenine, and elevate the level of Ca<sup>2+</sup>, RBC, and Hb, while reducing the level of P<sub>3-</sub> in the blood. PNS, therefore, has a therapeutic effect on tubulointerstitial fibrosis in an adenine nephropathy rat model.

Keywords: panax notoginseng saponins; Tubulointerstitial Fibrosis; adenine; rat

(责任编辑:王 瑀,责任译审:邹春申)