

# 红景天最细粉对糖尿病肾病模型大鼠的保护作用

杨宏山 艾国 黄正明

**【摘要】** 目的 研究红景天最细粉对糖尿病肾病(DN)大鼠的保护作用。方法 采用单侧肾脏切除并腹腔注射链脲佐菌素(STZ)的方法建立DN大鼠模型。将造模成功的大鼠按体质量排序编号,采用随机数字表法随机分为假手术组, DN模型组,红景天普通粉治疗组(3 g/kg·d<sup>-1</sup>),及红景天最细粉低剂量组(0.75 g/kg·d<sup>-1</sup>)、中剂量组(1.5 g/kg·d<sup>-1</sup>)、高剂量组(3 g/kg·d<sup>-1</sup>)各10只,均灌胃给药,1次/d。7周后,检测各组空腹血糖(FBG)、血清总胆固醇(STC)、尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、尿液尿蛋白(Upro);光镜观察各组肾组织的形态学改变。结果 DN模型组FBG、STC、BUN、Cr、Upro [分别为(24.78±3.66)mmol/L、(4.07±1.32)mmol/L、(22.36±2.54)mmol/L、(86.78±7.47)μmol/L、(50.23±6.82)mg],与红景天普通粉治疗组,红景天最细粉中、高剂量组的FBG [分别为(18.67±2.74)mmol/L、(17.21±3.17)mmol/L、(15.48±2.46)mmol/L],STC [分别为(3.33±0.87)mmol/L、(3.42±0.74)mmol/L、(3.21±0.92)mmol/L],BUN [分别为(15.43±2.04)mmol/L、(16.56±1.85)mmol/L、(12.44±1.36)mmol/L],Cr [分别为(66.17±4.43)μmol/L、(68.42±5.06)μmol/L、(61.33±4.21)μmol/L],Upro [分别为(37.47±5.64)mg、(35.66±4.72)mg、(27.37±3.92)mg]比较均降低,差异有统计学意义(P<0.05),且红景天最细粉高剂量组的疗效更佳。DN大鼠肾组织病理形态学观察表明,各红景天治疗组肾组织病理改变均减轻。结论 红景天对DN大鼠有保护作用,且相同剂量最细粉组的疗效优于普通粉组。

**【关键词】** 红景天;最细粉;糖尿病肾病;保护作用

**Renal protective effects of superfine powder of rhodiola rosea on diabetic nephropathy in rats** Yang Hongshan\*, Ai Guo, Huang Zhengming \*Hospital of Changping district, Beijing 102200, China  
Corresponding author: Aigu, Email: guoair@163.com

**【Abstract】 Objective** To study the renal protective effects of superfine powder of Rhodiola rosea in diabetic nephropathy(DN)rats. **Methods** The DN rats model was established by one side nephrectomy and intraperitoneal injection of streptozotocin(STZ). Then rats were randomly divided into 6 groups: sham-operation group, model group, Rhodiola rosea common powder groups(3 g/kg·d<sup>-1</sup>), and superfine powder of low, medium and high dose groups (0.75、1.5、3.0 g/kg·d<sup>-1</sup>), 10 rats in each group. Rats were given the relevant drugs respectively for 7 weeks. Finally the levels of fasting blood glucose(FBG), serum total cholesterol (STC), blood urea nitrogen (BUN), creatinine(Cr) and urinary protein(Upro)were detected. The kidney tissue was taken for histopathological observation. **Results** Compared with DN model group [FBG, STC, BUN, Cr and Upro was (24.78±3.66)mmol/L, (4.07±1.32)mmol/L, (22.36±2.54)mmol/L, (86.78±7.47)μmol/L, (50.23±6.82)mg respectively], the rats in DN model group after treatment with common and superfine powder (medium and high dose groups) of Rhodiola rosea appeared different levels of improvement of FBG [(18.67±2.74)mmol/L, (17.21±3.17)mmol/L, (15.48±2.46)mmol/L], STC [(3.33±0.87)mmol/L, (3.42±0.74)mmol/L, (3.21±0.92)mmol/L], BUN [(15.43±2.04)mmol/L, (16.56±1.85)mmol/L, (12.44±1.36)mmol/L], Cr [(66.17±4.43)μmol/L, (68.42±5.06)μmol/L, (61.33±4.21)μmol/L] and Upro [(37.47±5.64)mg, (35.66±4.72)mg, (27.37±3.92)mg], P<0.05. The pathologic changes of kidney tissue were

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4246.2014.02.007

基金项目:四川省中药研究促进会重点合作项目

作者单位:102200 北京,北京市昌平区医院中医科(杨宏山);100142 北京,空军航空医学研究所(艾国);100039 北京,解放军302医院全军中药研究所(艾国、黄正明);100850 北京,军事医学科学院放射与辐射医学研究所(艾国)

通信作者:艾国,Email: guoair@163.com

improved, too. **Conclusion** *Rhodiola rosea* has a good renal protective effect in rats with DN. Furthermore, the superfine powder is more effective than the common powder in renal protective effects.

**【Key words】** *Rhodiola rosea*; Superfine powder; Diabetic nephropathy; Protective effects

红景天 (*Rhodiola rosea*. L) 是景天科多年生草本或灌木植物, 主要分布于海拔 1 700~2 500 米甚至更高的高山地带。因其生长环境恶劣, 使其具有极强的生命力, 且具有大自然赋予的独特功能, 素有“高原人参”“雪山仙草”之称。红景天最早作为藏药收录在《四部医典》中,《本草纲目》中将红景天列为“草本上品”, 有扶正固本、补气养血、清热润肺的功效。药理学研究发现, 红景天具有抗衰老、抗缺氧、抗疲劳、抗辐射、抗寒冷, 免疫调节、清除自由基、预防高原反应等多种药理作用, 对心脏、肝脏、肾脏及脑等诸脏器均有保护作用<sup>[1-3]</sup>。糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病常见、最严重的并发症之一。一旦肾脏损害, 出现持续性蛋白尿则病情不可逆转, 发展至终末期肾脏疾病 (end stage renal disease, ESRD), 严重影响糖尿病患者的生存质量<sup>[4]</sup>。研究证明, 中药可调节糖代谢异常, 保护细胞损伤, 改善肾脏血流动力学障碍, 下调致纤维化细胞因子的表达, 缓解氧化应激, 抑制炎症反应等, 延缓 DN 向 ESRD 的进程<sup>[5-7]</sup>。本文选用单侧肾切除合并链脲佐菌素 (Streptozotocin, STZ) 注射建立大鼠 DN 动物模型, 观察红景天最细粉对 DN 大鼠的保护作用。

## 1 材料与方

1.1 实验动物: 健康 Wistar 雄性大鼠, 体质量 (195~210) g, 军事医学科学院实验动物中心提供, 许可证号为 SCXK-(军)2002-2001。

1.2 红景天最细粉的制备: 红景天产自西藏, 由四川金岁方药业有限公司提供。经拣选、清洗、干燥后, 粗粉碎的红景天过 80 目筛, 收集药粉为红景天普通粉 ( $D_{50}=144.84 \mu\text{m}$ )。取适量 80 目微粉转入洁净区粉研间, 投入 L50-B 型超细粉碎机,

设置相关设备参数, 按企业拟定的最细粉炮制工艺规程制备金岁方@红景天最细粉 (批号: Yx-130301,  $D_{50}=24.19 \mu\text{m}$ ), 扫描电镜照片见图 1。

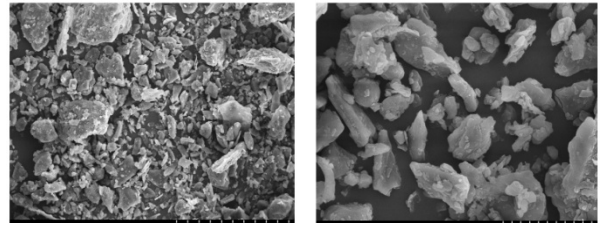


图 1 红景天最细粉的扫描电镜照片 (A:  $\times 500$ ; B:  $\times 2000$ )

1.3 试剂: STZ (美国Sigma公司); 血糖试纸 (美国强生公司); 血糖试纸 (桂林乐尔医疗器械有限公司); 检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.4 仪器: 代谢笼 (苏州市冯氏实验动物设备有限公司); 生物显微镜 (日本 Olympus 公司); BS-120 全自动生化分析仪 (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司); 病理切片机 (德国 Leica 公司); 1.5 DN 模型大鼠的建立方法: 参照文献 [7-9] 方法, 60 只雄性 Wistar 大鼠适应性喂养 1 周后, 10%水合氯醛麻醉 (3.3 ml/kg) 后常规消毒, 背部切口 1~1.5 cm, 暴露右肾, 剥离脂肪及肾上腺, 结扎右肾门血管, 切除右肾, 缝合切口, 术后动物恢复 1 周。将 STZ 溶于 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液 (pH 4.4) 中, 避光条件下迅速配成 1% STZ 溶液。大鼠禁食 12 h 后, 按剂量 60 mg/kg 腹腔注射 STZ。另取 10 只正常大鼠做为假手术组, 麻醉后仅切开大鼠皮层、肌层不切除肾脏, 随后缝合, 1 周后腹腔注射柠檬酸缓冲液。72 h 后测定空腹血糖 (fasting blood-glucose, FBG) 及尿糖。FBG 高于 16.7 mmol/L, 尿糖强阳性, 尿量大于假手术组 50% 为造模成功<sup>[10]</sup>。

1.6 分组及给药方法: 将造模成功的大鼠 50 只按体质量排序编号, 采用随机数字表法随机分为 5

组 10 只：红景天普通粉组 (3 g/kg·d<sup>-1</sup>)、红景天最细粉低剂量组 (0.75 g/kg·d<sup>-1</sup>)、红景天最细粉中剂量组 (1.5 g/kg·d<sup>-1</sup>)、红景天最细粉高剂量组 (3.0 g/kg·d<sup>-1</sup>)、DN 模型组。红景天以 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 配制混悬液，除 DN 模型组、假手术组灌胃给予等体积 CMC-Na 外，各红景天治疗组给予红景天相应粉体灌胃，给药体积为 2 ml，1 次/d，连续给药 7 周。

1.7 指标检测：①一般情况观察：观察大鼠的精神状态、反应性、毛发色泽、饮食及排泄状况，于给药前、给药后 1、3、5、7 周末称量大鼠体重。②生化指标检测：给药第 7 周末，大鼠禁食、不禁水，代谢笼收集大鼠 24 h 尿液，3 000 r/min 离心 15 min，取上清液，保存于 -20℃ 冰箱。末次给药后，麻醉大鼠，打开腹腔，腹主动脉取血约 5 ml，3 000 r/min 离心 30 min，取血清，保存于 -20℃ 冰箱。应用全自动生化分析仪测定血清 FBG、血清总胆固醇 (STC)、尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cr)、尿液尿蛋白 (Upro)。③组织病理学观察：肾组织用 10% 中性甲醛溶液固定后，乙醇脱水，石蜡包埋，制成厚 3 μm 的组织切片，进行过碘酸雪夫 (PAS) 染色，光镜下观察肾组织病理学变化。

1.8 统计学方法：所有数据采用 SPSS 10.0 软件进行统计。数值用均值 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。显著性检验用单因素方差分析及 *t* 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

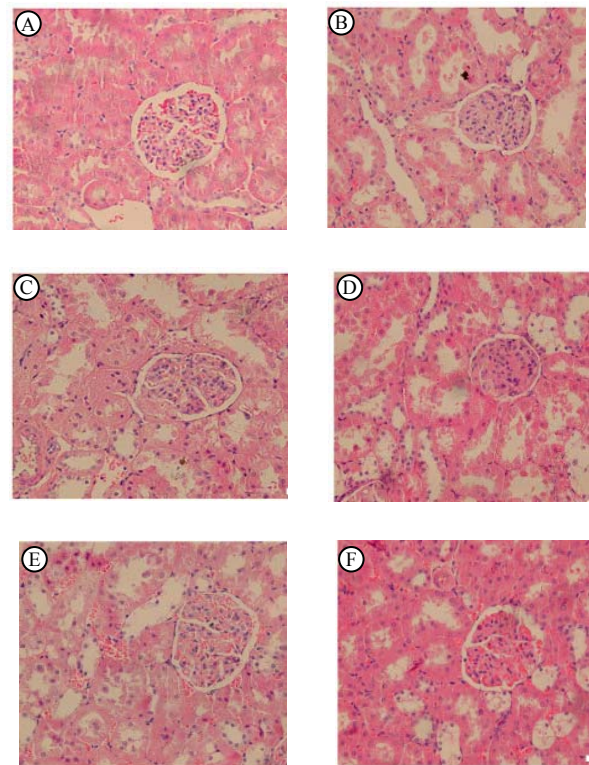
## 2 结果

2.1 一般情况：与假手术组比较，DN 模型组大鼠出现多饮、多食、多尿、精神萎靡、毛发干枯、反应迟钝、动作迟缓等表现。经红景天普通粉和最细粉治疗后，上述情况有所改善。治疗前和治疗 1、3、5、7 周后，假手术组、DN 模型组、红景天各干预组体重变化，见表 1。

2.2 生化指标检测：与假手术组比较，DN 模型组各项指标均增高 (P < 0.01)。与 DN 模型组比较，

红景天普通粉组、红景天最细粉中、高剂量组 FBG、STC、BUN、Cr、Upro 均降低，其中红景天最细粉中剂量组 (1.5 g/kg) 与红景天普通粉组 (3.0 g/kg) 疗效相当，最细粉高剂量组 (3.0 g/kg) 疗效更佳，见表 2。

2.3 对 DN 大鼠肾组织病理形态学的影响：假手术组肾脏大小形状颜色正常，表面光滑，结构饱满，肾小球、肾小管结构清晰，排列正常，间质无炎性细胞浸润和纤维化，肾小球系膜区未见明显改变。模型组大鼠肾脏颜色苍白，质地变硬，皮质变薄，髓质增宽，肾小球内系膜细胞和系膜基质增生，呈弥漫性或团块状，基底膜增厚，部分区域出现肾小球局灶性硬化，肾小管部分扩张或萎缩变性，肾间质可见散在或成片淋巴细胞和单核细胞浸润。经红景天普通粉和最细粉的治疗后，上述病理改变均有不同程度的减轻，见图 2。



注：A：假手术组；B：DN 模型组；C：红景天普通粉组；D：红景天最细粉低剂量组；E：红景天最细粉中剂量组；F：红景天最细粉高剂量组

图 2 各组大鼠肾脏病理学变化 (PAS×40)

表1 各组糖尿病肾病大鼠体质量比较 (g,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	0 周	1 周	3 周	5 周	7 周
假手术组	10	251±23	288±25 <sup>a</sup>	332±31 <sup>a</sup>	378±22 <sup>a</sup>	443±35 <sup>a</sup>
DN 模型组	10	232±16	246±23	278±33	302±26	332±28
红景天普通粉组	10	227±16	253±21	299±23	329±27 <sup>b</sup>	354±33 <sup>b</sup>
红景天最细粉组低剂量组	10	233±18	247±20	287±26	313±28	347±25 <sup>b</sup>
红景天最细粉组中剂量组	10	238±21	265±23	312±26 <sup>b</sup>	333±31 <sup>b</sup>	367±26 <sup>b</sup>

注：与 DN 模型组比较，<sup>a</sup>*P*<0.01、<sup>b</sup>*P*<0.05

表2 各组糖尿病肾病大鼠干预7周后生化指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	FBG (mmol/L)	STC (mmol/L)	BUN (mmol/L)	Cr (μmol/L)	24 h Upro (mg)
假手术组	10	5.12±0.32 <sup>a</sup>	1.11±0.13 <sup>a</sup>	7.23±1.24 <sup>a</sup>	38.44±3.52 <sup>a</sup>	7.24±1.42 <sup>a</sup>
DN 模型组	10	24.78±3.66	4.07±1.32	22.36±2.54	86.78±7.47	50.23±6.82
红景天普通粉组	10	18.67±2.74 <sup>b</sup>	3.33±0.87 <sup>b</sup>	15.43±2.04 <sup>b</sup>	66.17±4.43 <sup>b</sup>	37.47±5.64 <sup>b</sup>
红景天最细粉组低剂量组	10	22.38±1.35	3.76±1.21	19.87±2.37	78.44±6.67	46.33±5.80
红景天最细粉组中剂量组	10	17.21±3.17 <sup>b</sup>	3.42±0.74 <sup>b</sup>	16.56±1.85 <sup>b</sup>	68.42±5.06 <sup>b</sup>	35.66±4.72 <sup>b</sup>
红景天最细粉组高剂量组	10	15.48±2.46 <sup>b</sup>	3.21±0.92 <sup>b</sup>	12.44±1.36 <sup>a</sup>	61.33±4.21 <sup>b</sup>	27.37±3.92 <sup>a</sup>

注：FBG：空腹血糖；STC：总胆固醇；BUN：尿素氮；Cr：血肌酐；24hUpro：24小时尿蛋白；与 DN 模型组比较，<sup>a</sup>*P*<0.01、<sup>b</sup>*P*<0.05

### 3 讨论

对于红景天经过超微粉碎后的有效成分含量测定、溶出度、药代动力学和药效学比较研究较多<sup>[11]</sup>。红景天超微粉碎后红景天苷的溶出量、溶出速率显著提高<sup>[12]</sup>；红景天制成微粉后，可有效改善大部分有效成分的溶出速率、溶出效率，对药物作用有一定促进作用<sup>[13]</sup>。红景天超微粉的粒径小于 50 μm 时才具有细胞破壁效果和良好的吸收曲线<sup>[14]</sup>。本文选用单侧肾切除合并 STZ 注射建立大鼠 DN 动物模型，观察了红景天最细粉对 DN 大鼠的保护作用。结果显示，与 DN 模型组比较，红景天普通粉、最细粉中高剂量组治疗 7 周后，DN 大鼠血清 FBG、STC、BUN、Cr、Upro 均有不同程度降低，其中红景天最细粉中剂量组与普通粉组的疗效相当，最细粉高剂量组的疗效更佳。这与“超微中药的用量在传统饮片 1/2~1/3 的剂量下，其临床疗效与传统饮片的疗效基本相当，部分有优于其传统饮片的趋势”的报道<sup>[14]</sup>一致，以此可作为红景天最细粉的临床应用依据。

### 参 考 文 献

[1] Panossian A, Wikman G, Sarris J. Rosenroot (Rhodiola rosea):

traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy[J]. *Phytomedicine*, 2010, 17 (7): 481-493.

- [2] 庄希瑶. 红景天作用及机制的研究进展[J]. *河北中医*, 2012, 34 (4): 617-619.
- [3] 常雪萍, 常虹. 红景天对脏器保护作用的研究进展[J]. *中国误诊学杂志*, 2010, 10 (14): 3294-3295.
- [4] 孙世澜, 周朝阳. 肾脏病理理论与实践[M]. 北京: 人民军医出版社, 2005, 473-477.
- [5] 陈婧, 万毅刚, 卞茸文, 等. 中药延缓糖尿病肾病肾小球硬化的作用机制[J]. *中国中药杂志*, 2010, 35 (4): 525-530.
- [6] 高宏杰, 李凤铃, 赵英凯, 等. 中医药治疗糖尿病肾病研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2010, 12 (7): 200-202.
- [7] 宫彩霞, 王旭璞, 高艳峰, 等. 芪丹益肾降糖胶囊对糖尿病肾病大鼠的保护作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(4): 140-143.
- [8] 赵铁, 张浩军, 殷婷婷, 等. 柴黄益肾颗粒对糖尿病肾病大鼠保护作用的脂质组学研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18 (15): 155-162.
- [9] 王蕾, 苗淑杰, 李旭, 等. 肾炎康复片对实验性糖尿病肾病大鼠药效作用研究[J]. *中成药*, 2012, 34 (11): 2073-2076.
- [10] 王海燕. 肾脏病学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 1996.
- [11] 姚明达, 张海英, 王建华. 红景天超微粉碎前后红景天苷的溶出度分析[J]. *新疆中医药*, 2012, 30 (5): 60-62.
- [12] 牛耀虎, 王兰霞, 李士博, 等. 红景天微粉与粗粉中有效成分的溶出度比较[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16 (14): 64-67.
- [13] 金贞姬, 李兰, 刘李, 等. 不同粒径高山红景天超微粉在大鼠体内的吸收[J]. *中国医院药学杂志*, 2013, 33(4): 296-299.
- [14] 蔡光先. 超微中药的研究与应用及前景展望[J]. *世界中医药*, 2011, 6 (1): 78-81.

(收稿日期: 2013-08-29)

(本文编辑: 高荣慧)