

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.14.005

文章编号: 1005-8982(2017)14-0024-04

枳椇皮提取物对肾结石大鼠的治疗作用*

任群利¹, 林冰², 周英², 卢凤羽², 李文沛¹, 俸婷婷²
(贵州大学 1. 生命科学学院, 2. 药学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要:目的 研究枳椇皮中药灌胃给药后对肾结石大鼠的治疗作用。**方法** 采用乙二醇加氯化铵法复制肾结石病理模型, 观察枳椇皮提取物对肾结石大鼠的治疗作用。**结果** 枳椇皮提取物能恢复肾结石大鼠的体重, 增加 24 h 排尿量, 促进血液中钙的排泄和代谢, 减少肾组织中结石的形成, 降低血清尿素氮、肌酐水平, 减缓大鼠肾组织因结石引起的损伤和病变。**结论** 枳椇皮提取物对大鼠肾结石有一定的治疗作用, 但其确切机制有待进一步研究。

关键词: 枳椇皮提取物; 肾结石模型; 肾组织病理;

中图分类号: R692.4

文献标识码: A

Therapeutic effect of *Hovenia acerba* extract on renal calculi in rats*

Qun-li Ren¹, Bing Lin², Ying Zhou², Feng-yu Lu², Wen-pei Li¹, Ting-ting Feng²
(1. College of Life Science, 2. College of Pharmacy, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

Abstract: Objective To study the therapeutic effect of intragastric administration of *Hovenia acerba* bark medicine on renal calculi in rats. **Methods** The rats were fed with ethylene alcohol and ammonium chloride to induce renal calculi and the effect of *Hovenia acerba* bark extract on renal calculi was studied. **Results** *Hovenia acerba* bark medicine had obvious effect on restoring the weight of rats with renal calculi, increasing the 24-h urinary output, promoting the excretion and metabolism of blood Ca²⁺, reducing the formation of renal calculi, the concentration of serum urea nitrogen and creatinine, slowing down the rat renal damage and disease caused by stones. **Conclusions** *Hovenia acerba* bark extract has certain therapeutic effect on rat kidney stones and its exact mechanism remains to be studied further.

Keywords: *Hovenia acerba* extract; kidney stone model; kidney tissue pathology

肾结石是泌尿系统的一种常见多发病, 西医多以碎石或手术方法治疗, 常导致肾脏损害, 感染发生率升高^[1-2]。中医治疗的特色在于消除结石病理状态的同时促进排石, 具有广阔前景^[3-5]。枳椇是鼠李科枳椇属下的一个种, 别名拐枣、鸡脚爪等, 具有清凉利尿、止咳除烦及解酒毒等功效^[6-7]。贵州省民间有用枳椇皮泡水喝治疗结石的用法, 但目前未见相关报道, 本文采用大鼠肾结石模型, 对其抗结石作用予以研

究, 以期对枳椇的进一步开发与应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 SD 大鼠 体重 180 ~ 220 g, 雄性, 购于重庆腾鑫生物技术有限责任公司, 合格证号: SCXK(军) 2012-0011。

1.1.2 提取物 排石颗粒(批号: 同药准字 Z200441

收稿日期: 2016-11-29

* 基金项目: 贵州省教育厅自然科学基金[No. 黔教科 KY 字(2015)369 号]; 贵州省科技计划[No. 黔科合重大专项字(2015)6009-5]
[通信作者] 林冰, E-mail: nlinc@gzu.edu.cn

92,江西南昌济生制药厂);枳椇皮采于贵州省贵阳市花溪区,经贵州大学熊源新教授鉴定为鼠李科植物枳椇的树皮部分。

1.1.3 试剂 乙二醇(批号:201405185,成都金山化学试剂有限公司),氯化铵[批号:(津)XK13-011-00011,天津市永大化学试剂有限公司]。

1.2 仪器与设备

Uv-5200 型紫外可见分光光度计(上海元桥仪器有限公司生产),脱水机(PELORIS 型,德国莱卡公司),包埋机(YB-9LF 型,德国 Leica 公司),切片机(RM2235,德国 Leica 公司),电热恒温干燥箱(202-1AB 型,天津市泰斯特仪器有限公司),显微镜(BX41 型,日本 Olympus 公司),病理图文分析系统(HPIAS-1000 型,西安华海公司),全自动生化分析仪(CS-600B,长春迪瑞医疗科技股份有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 枳椇皮提取物及灌胃液的制备 取枳椇皮 100 g,加蒸馏水回流提取 2 次,1 000 ml/次,2 h/次,提取液合并后,浓缩至浸膏,放于干燥箱中干燥成粉末。临用前,准确称取枳椇皮提取液干燥粉末,溶于一定量的水中配置成不同浓度的灌胃液。

1.3.2 大鼠肾结石模型的复制及给药方法 取 SD 大鼠 42 只,在适应性环境饲养 2 周后随机分为 5 组,每组 8 只(模型组开始时为 10 只,其中 2 只另行标记,2 周后为 8 只),分别为正常组、模型组、枳椇皮高、低剂量组,以及排石颗粒组。除正常组每天自由饮用自来水外,其余 4 组大鼠复制肾结石模型,1% 乙二醇冷开水 +1.25%氯化铵溶液 30 ml/(只·d)自由饮,再给予 30 ml 自来水自由饮。模型组灌胃蒸馏水 2 ml/d,排石颗粒组按 100 mg/kg 灌胃给药,枳椇皮高、低剂量组按 25 mg/kg 灌胃给药,4 周后结束实验^[8-11]。

1.3.3 测定指标 实验结束前 1 天用代谢笼分别收集各大鼠 24 h 空腹尿液,测定 24 h 排尿量;用甲基百里香酚蓝比色法测 24 h 尿钙分泌量。大鼠心脏采血,离心取血清用于全生化自动测定二乙酰-肟比色法测血清尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)含量,除蛋白法测肌酐(serum creatinine, Scr)含量、尿酸(uric acid, UA)值^[12]。大鼠处死后取两侧肾称重,计算肾脏系数。右肾用 10%甲醛溶液固定,用于肾组织病理学检查,左肾置入 -85℃冰箱冷冻保存,用于测定肾组织总钙含量。

1.3.4 肾组织病理组织学检查 病理切片组织学观

察实验大鼠肾皮质、髓质分界是否清晰,肾小球、肾小管等有无异常改变,肾间质内有无炎症细胞浸润及变性、出血等症状,重点观测肾小管内的草酸钙结晶形成情况,以及周围组织的病变、坏死等。观测指标为肾组织内草酸钙结晶的形成情况,炎性渗出及坏死物的出现情况。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组比较用单因素方差分析,两两比较用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肾结石模型

复制模型 2 周后,大鼠变得无神,活动减少,食欲减退,毛色变黄。此时将模型组另行标记的 2 只大鼠处死解剖,取其肾脏,经切片染色,肉眼及体视显微镜检查确认有明显的结晶形成,证明模型大鼠肾结石形成。

2.2 枳椇皮提取物对大鼠肾重量、肾脏系数及 24 h 尿量的影响

各实验组大鼠在饮用乙二醇加氯化铵溶液 2 周后,与正常大鼠比较,体重减轻;给药后各组上述情况减轻,并出现尿量增加,精神、饮食活动改善等。与模型组比较,枳椇皮高、低剂量组大鼠体重增加,肾脏系数升高。阳性药排石颗粒可使结石大鼠 24 h 排尿量增加,体重基本恢复或接近正常动物水平。见表 1。

2.3 枳椇皮提取物对大鼠血清 BUN、Scr、UA、钙含量、肾组织钙含量及 24h 尿钙分泌量的影响

模型组血清 BUN、Scr、UA 及肾组织钙含量与正常组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),血清钙含量未见变化。枳椇皮高、低剂量组的血清钙含量和肾组

表 1 各组大鼠肾重量、肾脏系数及 24 h 尿量比较
($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	肾重量/g	肾脏系数	尿量/(ml/24 h)
排石颗粒组	2.06 ± 0.05	0.68 ± 0.01	7.48 ± 1.50
模型组	1.54 ± 0.01	0.53 ± 0.01	4.30 ± 0.13
正常组	2.18 ± 0.15	0.83 ± 0.06	10.00 ± 1.03
枳椇皮高剂量组	2.48 ± 0.26	0.79 ± 0.09	11.00 ± 1.00
枳椇皮低剂量组	2.12 ± 0.03	0.74 ± 0.04	7.61 ± 0.86
F 值	13.079	17.632	269.090
P 值	0.000	0.000	0.000

织钙含量与模型组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),排石颗粒组大鼠的肾组织钙含量较模型组下降。枳椇皮高、低剂量组大鼠其他相关指标均较模型组不同程度改善。见表 2。

表 2 各组大鼠血清 BUN、Scr、UA、钙、肾组织钙及 24 h 尿钙含量比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	BUN/(mmol/L)	Scr/(μ mol/L)	UA/(μ mol/L)	钙/(mmol/L)	肾组织钙/(μ mol/g)	尿钙/(μ mol/24 h)
排石颗粒组	5.86 ± 0.73	60.98 ± 1.57	102.00 ± 29.48	2.31 ± 0.05	0.88 ± 0.32	1.48 ± 0.62
模型组	8.24 ± 0.03	66.90 ± 0.21	128.00 ± 0.51	2.48 ± 0.12	1.65 ± 0.01	1.43 ± 0.12
正常组	6.12 ± 2.26	49.00 ± 7.50	93.00 ± 39.61	2.22 ± 0.05	0.53 ± 0.24	1.84 ± 1.24
枳椇皮高剂量组	5.13 ± 0.84	59.20 ± 2.90	78.75 ± 17.81	2.28 ± 0.01	0.77 ± 0.35	1.66 ± 0.62
枳椇皮低剂量组	6.33 ± 0.25	62.20 ± 2.31	100.40 ± 7.31	2.32 ± 0.01	0.95 ± 0.22	1.58 ± 0.71
F 值	11.906	75.090	14.774	22.732	204.512	16.560
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

2.4 枳椇皮提取物对结石大鼠肾组织病理学的影响

病理切片组织学结果显示,模型组肾组织内见大量急、慢性炎症细胞浸润,管内充满块状半透明蓝绿色的草酸钙结晶,肾小管扩张不明显,周围肾小球被挤压,面积减小,肾皮、髓质内可见多处肾小管内有炎性渗出物及坏死,与正常组比较差异明显。枳椇皮高、低剂量组的肾组织内草酸钙结晶较碎小,比模型组减少,肾小管内坏死及炎性渗出物较模型组均减轻,几乎接近无。与模型组比较,枳椇皮高、低剂量组大鼠肾结石情况有不同程度的减轻;枳椇皮高、低

剂量组和排石颗粒组大鼠肾小管内坏死及炎性渗出物减轻,结晶减少,零碎散乱。见图 1。

2.5 大鼠 24 h 尿液中草酸钙结晶

实验结束前 1 天,收集大鼠 24 h 空腹尿量,测定尿钙,在显微镜下观察草酸钙结晶情况。草酸钙结晶表现为无色方形闪烁发光的八面体,多呈现菱形,偶为饼形或哑铃型^[3]。

枳椇皮高、低剂量组和排石颗粒组尿中结晶增多。排石颗粒组和枳椇皮高、低剂量组能促进大鼠结晶的排泄,降低肾脏结石疾病的发生率。见图 2。

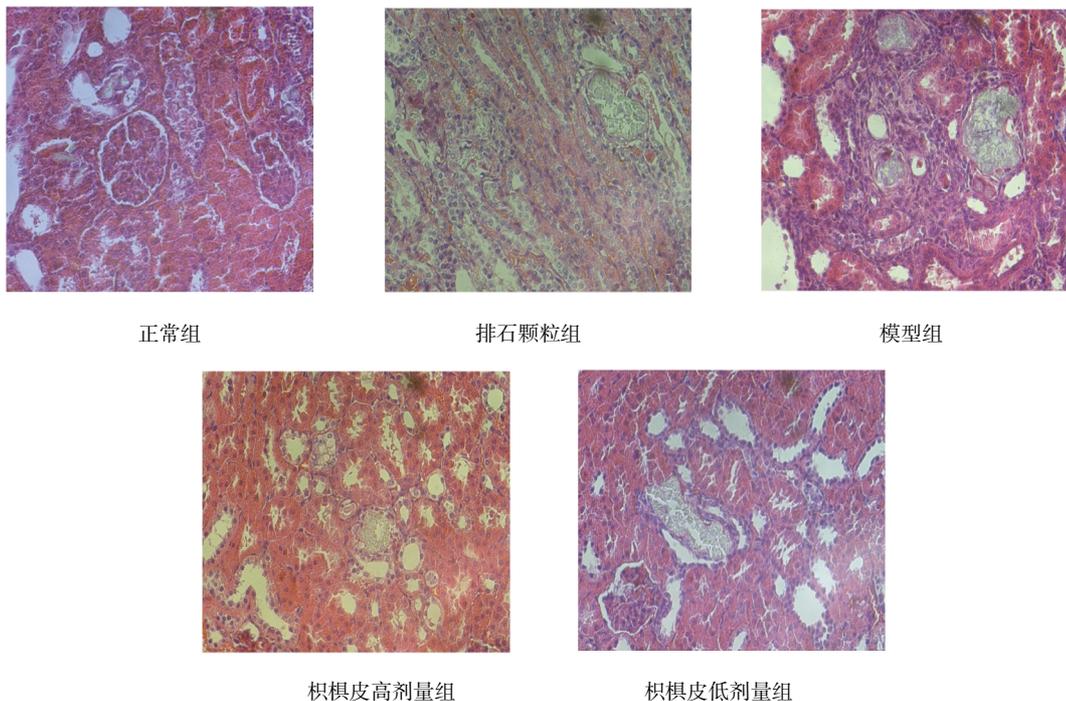


图 1 病理切片 ($\times 600$)

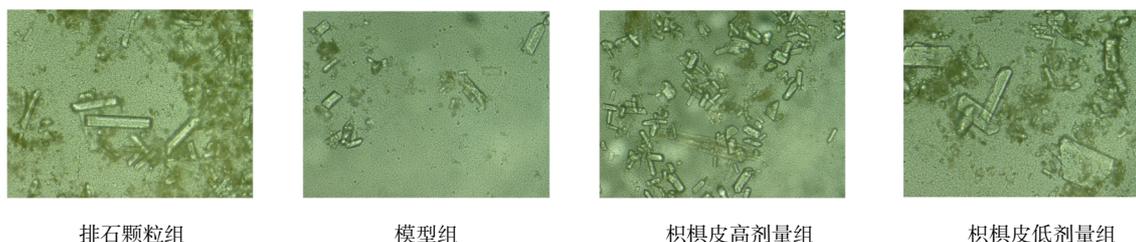


图 2 尿中草酸钙结晶 (×600)

3 讨论

肾结石是临床常见的一种疾病。西医治疗肾结石多采用碎石或手术取石等对症治疗的方式,治愈后复发率高。中医采用对因与对症治疗相结合的方式,其特色在于把改善体质、消除产生结石的病理状态与促进排石相结合,因此中医药辨治和预防肾结石具有广阔前景。

枳椇是广泛分布于贵州、河北、河南、浙江、安徽及云南等地的一种高大乔木,也是卫生部首批公布的 87 种药食两用的中药材之一,具有较高的医疗及食用价值。其种子可清凉利尿、止咳除烦、解酒毒。其皮可活血、舒筋解毒。其果梗可健胃、补血^[4]。食用可用于酿酒、制醋、生食及熬糖等。贵州省是肾结石疾病的高发区,其民间有用枳椇皮泡水饮用治疗结石的方法,经长期临床观察,具有一定的效果,但未见该功效的报道。

本文采用大鼠肾结石模型,对枳椇的抗结石作用开展初步研究。结果显示,经枳椇皮提取物灌胃后,与模型组比较,大鼠排尿量增加,尿钙含量亦有所增加,而血清钙和肾组织钙含量均降低。同时,血清 BUN、Scr、UA 等指标也有所改善。与排石颗粒组比较,尿量、血清 BUN、Scr、UA、血清钙、肾钙及尿钙含量相当。结果表明枳椇皮提取物能缓解大鼠肾结石症状,其机制可能是通过促进肾脏组织和血液中钙的排泄和代谢,降低肾组织钙;同时改善肾组织病变情况,促进结石排出体外,减少肾组织中结石的形成。因而民间用枳椇皮泡水饮用以治疗结石具有一定的科学依据,但其确切的作用机制待进一步研究。

参 考 文 献:

- [1] 蔡华芳,罗砚曦,蒋幼芳,等. 肾茶提取物抑制小鼠草酸钙结石作用研究[J]. 中国实用医药, 2008, 3(7): 1-3.
- [2] 冉强,李仁举,林杰. 肾结石手术治疗的现状及研究进展[J]. 微创泌尿外科杂志, 2014, 3(5): 316-320.
- [3] SHAO S F, WENG Z L, LI C D, et al. Inhibition effect of Chinese traditional medicine *Lysimachina christina*, *pyrrosia* and *plantago* on urinary calcium oxalate stone formation in rats[J]. *Chin J Int Tradit West Nephrol*, 2009, 10(10): 874-876.
- [4] 杨念云,刘培,郭建明. 连钱草提取物对肾结石模型大鼠的防治作用[J]. 中国现代应用药学, 2014, 31(8): 918-920.
- [5] LAI H B, GAO Y Q, WU S, et al. Clinical research progress of traditional Chinese medicine on urolithiasis [J]. *China Pharm*, 2008, 17(11): 79-80.
- [6] 魏丕伟,熊俐,王凌云,等. 枳椇多糖体外抗氧化活性研究[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(7): 316-319.
- [7] 黄雯,林富聪,张庆美. 珍稀树种枳椇研究现状与应用前景[J]. 福建热作科技, 2010, 35(3): 44-48.
- [8] 曹正国. 泽泻活性成分对结石模型大鼠肾结石形成和表达的影响[J]. 中华医学杂志, 2004, 84(15): 1276.
- [9] 曹正国. 几种实验性大鼠肾草酸钙结石模型的比较研究[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2002, 31(5): 556.
- [10] WONGSAWAT A. *Orthosiphon grandiflorum* has protective effect in a calcium oxalate stone forming rat modal [J]. *Urol Res*, 2010, 38: 89-96.
- [11] ZHU W, XU Y F, FENG Y, et al. Prophylactic effects of quercetin and hyperoside in a calcium oxalate stone forming rat modal[J]. *Urolithiasis*, 2014, 42: 519-526.
- [12] 叶其正,石磊,罗宇慧,等. 溶石胶囊对肾结石模型大鼠的治疗作用[J]. 现代中药研究与实践, 2008, 22(4): 19-21.
- [13] 邵绍丰,翁志梁,李澄棣,等. 单味中药金钱草、石韦、车前子对肾结石模型大鼠的预防作用[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2009, 10(10): 874-877.

(童颖丹 编辑)