

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 \pm 0.73	60.98 \pm 1.57	102.00 \pm 29.48	2.31 \pm 0.05	0.88 \pm 0.32	1.48 \pm 0.62
模型组	8.24 \pm 0.03	66.90 \pm 0.21	128.00 \pm 0.51	2.48 \pm 0.12	1.65 \pm 0.01	1.43 \pm 0.12
正常组	6.12 \pm 2.26	49.00 \pm 7.50	93.00 \pm 39.61	2.22 \pm 0.05	0.53 \pm 0.24	1.84 \pm 1.24
枳椇皮高剂量组	5.13 \pm 0.84	59.20 \pm 2.90	78.75 \pm 17.81	2.28 \pm 0.01	0.77 \pm 0.35	1.66 \pm 0.62
枳椇皮低剂量组	6.33 \pm 0.25	62.20 \pm 2.31	100.40 \pm 7.31	2.32 \pm 0.01	0.95 \pm 0.22	1.58 \pm 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。

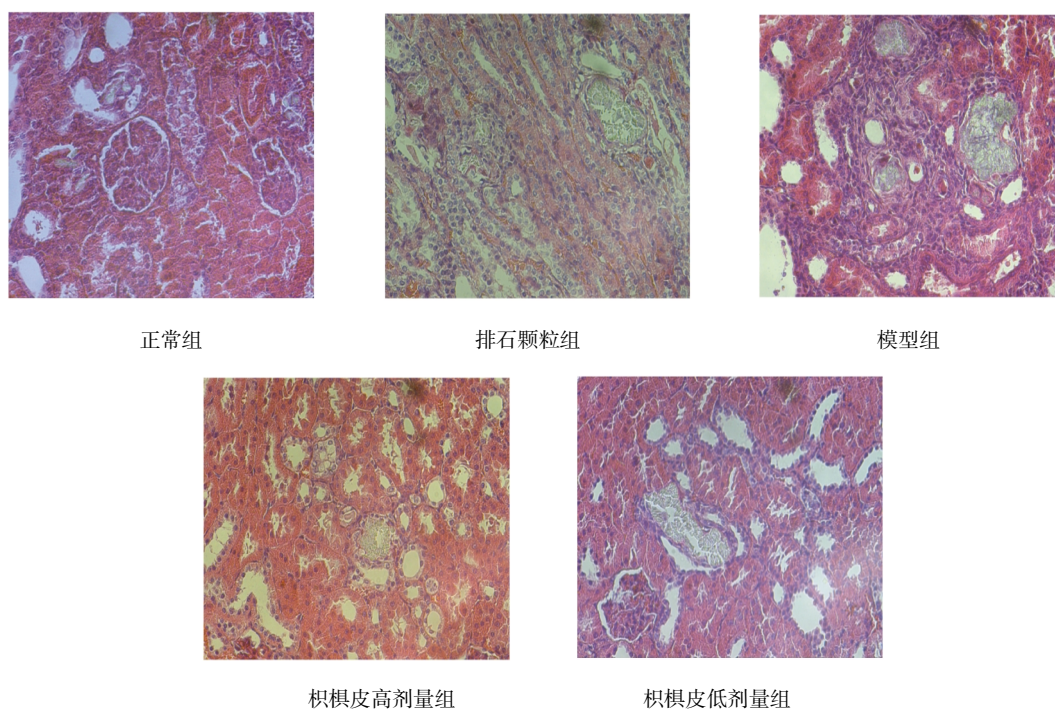


图 1 病理切片 ($\times 600$)

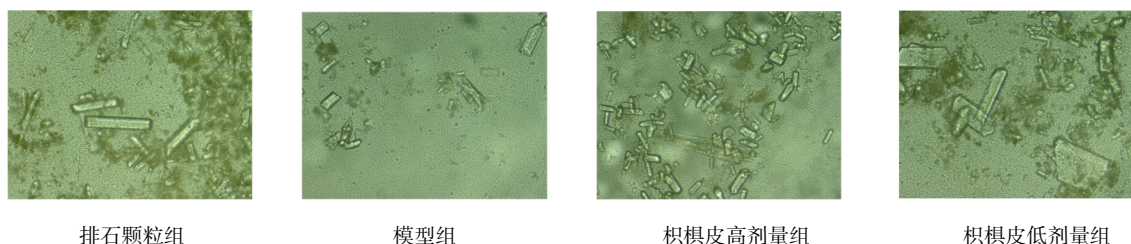


图 2 尿中草酸钙结晶 (×600)

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)