

肾茶提取液对肾结石模型影响的实验研究

★ 蒋维晟 (广东省江门中医药学校中医教研组 江门 592000)

摘要:目的:探讨肾茶对大鼠肾结石模型影响的相关机制。方法:在乙二醇法诱导的大鼠肾结石模型上,灌胃予肾茶提取液,以大鼠的尿 pH 值、尿草酸、尿量、尿钙及肾组织学检查作为观察指标。结果:(1)肾茶提取液组大鼠饮水量正常,尿量增加,可降低尿钙浓度与尿草酸的含量,其与模型组比较($P < 0.01$)有极显著性差异;与枸橼酸钾组相比($P < 0.05$),有显著性差异。(2)肾茶提取液组对尿液 pH 值无改变,其与正常组比较($P > 0.05$)无显著性差异;与枸橼酸钾组相比($P > 0.05$),无显著性差异。(3)肾茶提取液组能显著减轻肾结石程度,与枸橼酸钾组相比,无显著性意义。(4)肾茶提取液组使肾小管管腔内结晶形成物明显减少,对肾组织恢复,与枸橼酸钾组相比,有优于枸橼酸钾组的趋势。结论:肾茶提取液可以增加尿量;降低尿草酸含量及尿钙的浓度;能抑制肾脏草酸钙结晶沉积;对尿 pH 值无改变。

关键词:肾结石;肾茶提取液;实验研究;大鼠

中图分类号:R 285 **文献标识码:**A

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 标准实验用普通级 SD 大鼠 48 只,雌雄各半,体重 220 ~ 250g;由贵阳医学院实验动物中心提供(黔实动证 2002 - 0001)。

1.1.2 造模用药 乙二醇(天津市科密欧化学试剂开发中心生产,批号:020928)配成 1% 的溶液,在 4 °C 冰箱保存。

氯化铵(湘中地质实验研究所生产,批号:020708)配成 1% 的溶液,在 4 °C 冰箱保存。

1.1.3 药物的制备 (1)肾茶提取液制备:肾茶 2 000 g,按人和动物用量折算公式制备成含生药 2 g/ml 的水煎液,4 °C 冰箱保存,使用时充分震荡摇匀并加热至常温。

(2)枸橼酸钾溶液:广东汕头市西陇化工厂生产,批号:020117;配成 0.771 mol/L 的溶液。

1.1.4 主要试剂和仪器 (1)偏光显微镜:由贵阳妇幼保健院病理科提供;

(2)精密 pH 酸度计:PhSJ - 4A 上海精密仪器厂生产;

(3)变色酸溶液:由贵阳中医学院二附院药剂科提供;配成 10 g/L 浓度,4 °C 冰箱保存。

(4)日立 170A 型 Automatic Analyzer:由贵州省人民医院检验科提供。

1.2 方法

SD 大鼠 48 只随机分正常对照组、结石模型对

照组、肾茶提取液组、枸橼酸钾组,每组 12 只。各实验组均常规饲料喂养。除正常对照组常规饲养,自由饮水,不造模外;其余 3 组均按参考文献 Lyon^[5] 的造模方法,即让大鼠饮含 1% 乙二醇、1% 氯化铵的自来水,连续 2 周,即可造成结石模型。从造模第 1 天始,正常组常规饲养,自由饮水,不造模;模型组每日每只 2 ml 注射用水灌胃;肾茶组每日每只肾茶提取液 2 ml(2 g/ml)灌胃;枸橼酸钾组每日每只枸橼酸钾溶液 2 ml(0.771 mol/L)灌胃。4 周后实验结束,大鼠脱椎法处死。

1.2.1 观测指标及方法 (1)一般情况:每日记录 24 h 饮水及进食量,通过代谢笼观察小便量;观察营养精神状况以及外观形态的变化,实验结束前 1 d 称重比较实验前后大鼠体重的变化;肾脏组织光滑感,比较颜色,肉眼结石观察。

(2)肾组织学检查:①大鼠脱椎法处死后,低温下取出双肾肉眼观察肾脏有无肿胀、淤血。②光镜观察:将左肾纵向剖开,用 10% 福尔马林固定,常规脱水,浸蜡后沿肾脏纵轴包埋,每例标本做不连续的切片 5 张(厚度为 2 μm),HE 染色,偏光显微镜下观察肾组织的病理改变及肾剖面有无明显结晶沉淀物及游离结石或钙化斑作为判断结石的标准,比较四组大鼠的肾结石形成率。根据结石的多少及肾脏损伤程度分成 5 级:“-”:肾皮质、髓质及肾乳头均无可见的结石和结晶沉淀物,肾脏外形无异常变化。“+”:肾皮质或髓质可见少量散在结晶沉淀

物。“++”:肾皮质或髓质及肾盂可见结晶沉淀物或有小的游离结晶。“+++”:肾剖面可见较多结晶,并有游离结石形成,肾乳头可见钙化斑,肾盂扩张积水。“++++”:肾皮质、髓质可见大量结晶,有游离结石形成,肾乳头可见钙化斑,肾盂明显扩张积水。

(3)尿钙含量:实验结束前1 d用大鼠代谢笼收集24 h尿液,日立7170A型 Automatic Analyzer 进行24 h尿Ca²⁺的含量测定。

(4)尿草酸的含量:实验结束前1 d用大鼠代谢笼收集24 h尿液,用变色酸比色法测定尿草酸的浓度。

(5)pH值测定:用大鼠代谢笼收集各组大鼠24 h尿液,用精密pH酸度剂测定。

2 统计学处理

用SPSS11.5统计软件进行数据处理,实验结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)描述组间差异计量资料用方差分析进行显著性检验,计数资料组间比较用 χ^2 检验。

3 实验结果及分析

3.1 对肾结石大鼠一般状况的影响

造模组大鼠在饮用1%乙二醇加1%氯化铵溶液后,2~7 d内相继出现食欲减退、毛发不荣、饮水减小、活动减少、精神倦怠、畏寒、体重增量均少于其它组。而治疗组则出现尿量增加,精神、饮食活动正常,相对于枸橼酸钾,肾茶提取液组在尿量改变上明显(见表1),而二者在其余症状改善上疗效相当。正常组肾脏表面光滑,颜色红润,触摸无沙质感;结石模型组肾脏明显肿大,切面苍白色,用手触摸有明显之细砂摩擦感,皮质和髓质分界不清楚;而肾茶提取液组与枸橼酸钾组肾脏大体观察,外形、颜色无差别。

表1 各组大鼠尿量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	尿量/ml
正常组	12	6.81 ± 0.27 [●]
模型组	12	6.26 ± 0.22
肾茶组	12	10.03 ± 0.36 ^{●■△}
枸橼酸钾组	12	7.46 ± 0.43 ^{●★}

注:与模型组比较,●P<0.01;与正常组比较,★P<0.05,■P<0.01;与枸橼酸钾组比较,△P<0.05。

3.2 肾茶提取液对大鼠尿草酸的影响

见表2。

模型组与正常组比较尿草酸含量明显升高,差异具有显著性意义;肾茶提取液对大鼠尿草酸的含量有明显降低作用,差异且有显著性意义,与枸橼酸钾组比较尿草酸的含量相对低,但差异无显著性意

义。

表2 各组大鼠尿草酸比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	尿草酸/ $\mu\text{mol} \cdot (24\text{h})^{-1}$
正常组	12	20.23 ± 4.12 [●]
模型组	12	73.47 ± 6.78
肾茶组	12	55.23 ± 6.45 ^{●■△}
枸橼酸钾组	12	62.43 ± 12.54 ^{■★}

注:与模型组比较,●P<0.01;与正常组比较,★P<0.05,■P<0.01,与枸橼酸钾组比较,△P>0.05。

3.3 肾茶提取液对大鼠尿钙的影响

见表3。

表3 各组大鼠24h尿Ca²⁺含量($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	尿Ca ²⁺ / $\mu\text{mol} \cdot (24\text{h})^{-1}$
正常组	12	3.09 ± 0.56 [■]
模型组	12	9.43 ± 1.01
肾茶组	12	4.48 ± 0.75 ^{■△●}
枸橼酸钾组	12	5.01 ± 1.01 ^{■△}

注:与模型组比较,■P<0.01;与正常组比较,△P<0.01;与枸橼酸钾组比较,●P<0.05。

3.4 肾茶提取液对大鼠尿pH值的影响

见表4。

表4 各组大鼠尿pH值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	尿pH值
正常组	12	7.23 ± 0.75 [●]
模型组	12	5.69 ± 0.57
肾茶组	12	7.77 ± 0.76 ^{●■△}
枸橼酸钾组	12	7.58 ± 0.75 ^{●■}

注:与模型组比较,●P<0.01;与正常组比较,■P>0.05;与枸橼酸钾组比较,△P>0.05。

3.5 偏光显微镜观察肾茶提取液对大鼠肾结石的影响

正常组肾组织无结晶形成;模型组大鼠肾实质内均有大量草酸钙结晶,绝大多数肾有成堆的结石分布,结晶散在不连接,个别结晶成堆而且互相连接,成石率为100%;肾茶提取液组和枸橼酸钾组部分肾脏有少量散在结晶沉淀物或有小的游离结晶(见表5),成石率为33%和50%。结果说明给予肾茶提取液可以防止乙二醇诱发的肾结石形成,从而使肾茶提取液组大鼠结石的形成率降低(P<0.01),差别具有极显著性意义。

表5 各组对大鼠肾组织草酸钙结晶的影响

组别	动物数(只)	结晶分级					成石率(%)
		-	+	++	+++	++++	
A组	12	12	0	0	0	0	0
B组	12	0	1	2	4	5	100%
C组	12	8	2	2	1	0	33%
D组	12	6	1	3	2	0	50%

本组数据经统计学处理, $\chi^2 = 29.23, P < 0.01$,结果有显著性差异。

经 χ^2 分析表明,肾茶组、枸橼酸钾组肾结石比成石组明显减轻,结石形成明显减少。肾茶组比枸橼酸钾组肾结石成石率相对低,但差异无显著性意义。

3.6 光镜下观察肾茶提取液对大鼠肾组织病理改变

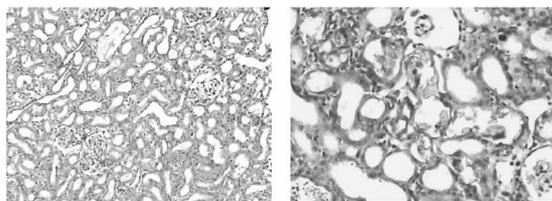
见图1。

正常对照组:大鼠肾皮质、髓质无结晶形成,无钙化点,细胞排列整齐、规则,结构清晰,肾小管腔内无沉积物,上皮细胞无肿胀、充血,肾乳头、肾盂、肾盏清晰,无结石。

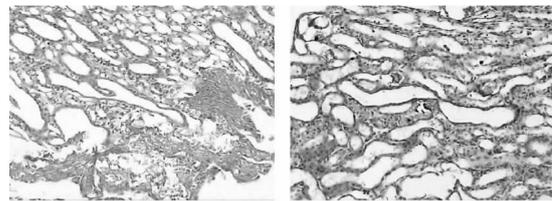
结石模型对照组:大鼠皮质充血明显,近曲小管水肿,髓质充血,间质水肿,远曲小管可见结石2~3个/视野倍(40×10),结石周围完整,无溶解现象。染色呈嗜碱性。大量炎性细胞浸泡,形状不规则,管腔变窄,乳头管也可见结石,肾盂内见脱落细胞。

肾茶提取液组:皮质、髓质充血轻,可见少量炎性渗出物,且以淋巴细胞为主,间质水肿不明显,近远曲水管内结石形成少,只有1~2只可见残留结石影,结石周围有空泡,边界不清,有吞蚀现象,可能为溶石表现,肾盂、肾盏无异常。

枸橼酸钾组:皮质、髓质中度充血、水肿,近远曲小管可见1只有明显结石,无溶解现象,有1只肾盂内可见碎石,近曲小管中度扩张,少量炎性渗出物,上皮细胞肿胀,肾盂内可见脱落坏死细胞,远曲小管变小。



正常对照组 He×200 结石模型组 He×200



肾茶提取液组 He×200 枸橼酸钾组 He×200

图1 光镜下各组大鼠肾组织病理改变

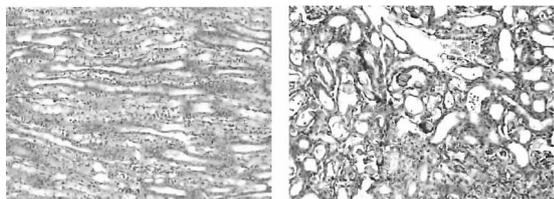
3 讨论

肾结石属祖国医学的石淋、砂淋、血尿、腰痛等病的范畴。其临床以小便频数短涩,滴沥刺痛,欲出未尽,小腹拘急或痛引腰腹,尿出砂石为特征。从动物实验研究结果看,中草药肾茶 *Clerodendranthus spicatus* (Thunb.) C. Y. W 为唇形科多年生草本植物。方茎对叶,花丝伸出唇形花冠4~6 cm,状如猫之胡须,又称猫须草,全草入药。性味:甘淡微苦、凉;功效:清热去湿、排石利尿。药理研究表明,肾茶具有利尿作用,可使狗的尿量、电解质及水分排泄均显著增加,减少钠和氯离子的再吸收^[2]。肾茶中的利尿成分肌醇可以增加尿量以及尿酸的排泄量,从而促进排石^[3]。汪菁菁^[4]报道肾茶治疗泌尿系结石30例,总有效率达93.33%。本实验研究初步证实肾茶提取液用于肾结石的确有整体调节的优势,它不仅有效抑制结石的形成,而且减轻肾组织的损害;改善了大鼠的精神状态、增加尿量,降低尿钙与尿酸的含量,但对尿pH值无改变。因此,其疗效机理是综合的、全面的,为临床治疗泌尿系结石提供药理依据。

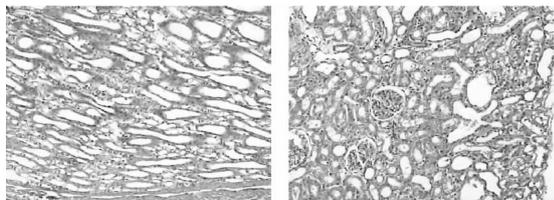
参考文献

[1] 薛建中,沈绍基. 实验性泌尿系结石动物模型的复制[J]. 国外医学,泌尿系分册,1982,(4):148.
 [2] 钟纪育,邬宗宗. 肾茶的化学成分[J]. 中草药,1984, No3:344-345.
 [3] 藤本琢宽,津田喜典. 猫须草成分研究[J]. 药学杂志(日),1972, 92:1 060.
 [4] Wang JJ. The clinical report on the therapy of urinary stones with *Clerodendranthus spicatus* Decoction [J]. Zhejiang J Integrated Tradit Chin West Med(浙江中西医结合杂志),1998,18(4):206.

(收稿日期:2008-12-30)



正常对照组 He×100 结石模型组 He×100



肾茶提取液组 He×100 枸橼酸钾组 He×100