究[J]. 中药药理与临床,2010,26(1):51-52.
[4] 刘平,刘玉玲,佟继铭. 金莲花总黄酮抗炎作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(20):196-199.
[5] 何晓燕,李倩,周颖,等. 暖木条荚蒾抗炎镇咳祛痰作用的实验研究[J]. 时珍国医国药,2012,26(2):306-308.
[6] 蒲燕,高卓林,漆磊,等. 中药材满山红两种提取物抗炎与镇痛作用[J]. 中医药临床杂志,2017,29(6):853-856.
[7] 任非,袁志芳,段坤峰,等. 马鞭草提取物的镇咳、抗炎和祛痰作用研究[J]. 中国药房,2013,24(31):2287-2890.
[8] 包淑云,喻丽珍,于禧龙,等. 棉花根醇提物与水提物的止咳祛痰抗炎作用研究[J]. 天然产物研究与开发,2011(23):730-733.
[9] 张娜,吴绍康,沈先荣,等. 枇杷叶水提物祛痰止咳及抗炎作用研究[J]. 中华中医药学刊,2014,32(9):2175-2177.
[10] 裴毅,李彦冰,王栋,等. 鸡树条荚蒾果实中挥发油的GC-MS分析[J]. 中草药,2006,37(9):1320-1321.

(本文编辑:李海燕 本文校对:孟令锴 收稿日期:2018-11-16)

金海化石汤对肾结石大鼠模型的治疗作用※

周煌辉 冯传平 李福元 姚淑琼 张 斌

(湖南中医药高等专科学校药学系,湖南 株洲 412012)

摘 要:目的 观察金海化石汤对肾结石模型大鼠的治疗作用。**方法** 采用乙二醇加氯化铵法制作大鼠肾结石模型,观察金海化石汤给药后对大鼠24 h排尿量、肾脏系数、肾组织病理学、血清尿素氮、肌酐、24 h尿钙分泌量的影响。**结果** 金海化石汤可显著增加24h排尿量、降低大鼠的肾组织肿胀、肾小管扩张程度、坏死及炎性渗出等,显著降低血清尿素氮(BUN)、肌酐(Crea)水平(P <0.05 ~ 0.01),显著增加24 h尿钙分泌量(P <0.05)。**结论** 金海化石汤可增加排尿量、促进肾和血液中钙离子排泄和代谢,减轻大鼠肾组织因结石引起的损伤和病变、从而治疗肾结石。

关键词:金海化石汤;肾结石;动物模型;中医药疗法;石淋
doi:10.3969/j.issn.1672-2779.2019.06.042 **文章编号:**1672-2779(2019)-06-0098-03

Therapeutic Effect on Jinhai Huashi Decoction on Rat Model of Renal Calculus

ZHOU Huanghui, FENG Chuanping, LI Fuyuan, YAO Shuqiong, ZHANG Bin

(Department of Pharmacy, Hunan Traditional Chinese Medical College, Hunan Province, Zhuzhou 412012, China)

Abstract: Objective To observe the therapeutic effect of Jinhai Huashi decoction on kidney stone model rats. **Methods** The kidney stone model of rats was established by the method of ethylene glycol and ammonium chloride, and the effects of jinhai fossil decoction on the urine output, kidney coefficient, renal histopathology, serum urea nitrogen, creatinine, calcium secretion at 24 h were observed. **Results** Jinhai Huashi decoction can significantly increase the urine output for 24 hours, reduce renal tissue swelling, renal tubular dilation, necrosis and inflammatory exudation in rats, significantly reduce the levels of blood urea nitrogen (BUN) and creatinine (Crea) (P <0.05~0.01), and significantly increase calcium secretion in urine for 24 hours (P<0.05). **Conclusion** Jinhai Huashi decoction can increase the urine output, promote the excretion and metabolism of calcium ions in the kidney and blood, relieve the injury and pathological changes caused by calculi in the renal tissue of rats, and thus treat renal calculi.

Keywords: Jinhai Huashi decoction; renal calculus; animal model; therapy of traditional Chinese medicine; urolithiasis

泌尿系结石是泌尿外科的常见病之一,在泌尿外科住院病人中占居首位,是威胁人类健康的常见疾病之一,其中绝大多数是草酸钙结石。我国泌尿系结石发病率为1%~5%,南方高达5%~10%,年新发病例约为150~200/10万人,其中25%的患者需住院治疗。近年来我国泌尿系结石的发病率有增加趋势,是世界上三大结石高发区之一,尤以南方省市泌尿系结石发病率明显升高。而今随着生活水平的日益提高,肾结石的发病率仍在增加,且发病年龄较过去提早10岁左右。随着高蛋白、奶制品、高糖饮食的摄入增加,肾结石的新发病率也必将增加[1]。由于泌尿系结石主要是肾结石与上输尿管结石,其形状大小位置在患者体内的表现各异,特别是对于特大结石及输尿管畸形或被肾脏组织包埋的结石离不开现代碎石或取石技术,这些技术也正不断地提高与发展,但由于手术治疗具有费用高、创伤大、复发率高等缺点,特别是体外冲击波碎石(ESWL)对肾结石靶区肾组织易造成损伤,对结石非靶区组织亦有不同程度的损伤[2-3],刘弘展等[4]报道,ESWL治疗单侧输尿管656例出现18例形态缩小,李仙[5]报道,ESWL治疗不当还可导致肾萎缩,3次以上震波碎石手术后,远期有造成肾萎缩的可能。调查发现更多的患者更愿意接受药物治疗,因此,研究开发一些能溶石排石的药物,特别对大结石及形状特异的结石能起到溶石排石与防止结石复发的药物是我们医药工作者的重任,而中医药在这方面有独特的优势。肖政华[6]、陈文智[7]、李鹏[8]各自采用自拟排石汤治疗泌尿系结石取得了较好的效果。

金海化石汤原方来源于民间老中医经验方,通过反复使用发与对各型泌尿系结石均有较好溶排石效果。由

※ **基金项目:**湖南省中医药管理局一般项目【No.201266】

金钱草 25 g，海金砂 25 g，鸡内金 12 g，茯苓 15 g，猪苓 10 g，泽泻 12 g，延胡索 10 g，地龙 6 g，莪术 6 g，枳壳 10 g，黄芪 15 g，何首乌 18 g，麦冬 15 g，茜草 10 g 组成。通过 10 多年近 100 例的临床应用，对各型泌尿系结石，特别是对湿热下注或肾气、肾阴亏虚引起的肾结石、上输尿管结石及膀胱结石具有较佳疗效，服用后，经 B 超或 CT 检查，最短 15 天结石完全排出，最长 45 天，总有效率达到 92%，同时对合并有肾积水、血尿、疼痛等并发症能有效的防治。为了研究金海化石汤的疗效与作用机制，采用现代药理学方法并结合中医药理论对本方进行了初步研究。本文报告金海化石汤对肾结石模型大鼠的防治作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 雄性 SD 大鼠，体重 180~220 g，购自上海斯莱克实验动物有限公司，批号：SCXK（沪）2012-0002。

1.2 药物与试剂 金海化石汤（深棕色浓缩液），含 1 g 生药/mL，由课题组制备；石淋通颗粒（广西健丰药业有限公司生产，批号 141001），肌酐试剂盒、尿素氮试剂盒、钙测定试剂盒（罗氏 COBASC PACK MULTI，批号：0777773），氯化铵（国药集团化学试剂有限公司生产，批号：20140904），0.9% 氯化钠注射液（杭州民生药业有限公司生产，批号：41203274），乙二醇（国药集团化学试剂有限公司生产，批号：20141110），苏木精（SIGMA，产地美国，批号：041M0014V），伊红（产地美国 SIGMA，上海迈坤化工有限公司销售，批号 2012083）。

1.3 主要仪器 （1）罗氏 COBAS C501 全自动生化分析仪，轮转式切片机（RM2135 型，LEICA 公司）；（2）烘片机（TEC2500 型，常州市郝思琳仪器设备有限公司）；（3）显微镜（BX43 型，OLYMPUS 公司）；（4）冰箱（BCD-216 型，青岛海尔股份有限公司）；（5）电热恒温培养箱（DRP-9082 型，上海森信实验仪器有限公司）；（6）微量移液器（EPPENDOF，THERMO 型）；（7）染色缸。

1.4 造模与分组

1.4.1 分组 雄性 SD 大鼠 70 只、体质量 180~220 g，适应性喂养 1 周，采用随机数字表法分为 7 组，即正常组、模型验证组（只用于造模验证）、模型组（不做治疗干预）、阳性药物 (石淋通颗粒) 组、金海化石汤低剂量组、金海化石汤中剂量组和金海化石汤高剂量组。

1.4.2 造模 除正常组外，其余各组以 1% 氯化铵+1.25% 乙二醇法[9]复制大鼠肾结石模型，即每天自由饮用冷开水配制成的 1% 氯化铵+1.25% 乙二醇溶液，连续4周造模，正常组自由饮用冷开水。

1.4.3 模型验证 造模第 28 天，取模型验证组大鼠（及空白组大鼠各 5 只，删除），分别用代谢笼收集 24 h 空腹尿液。记录每只大鼠 24 h 排尿量、检测 24 h 尿钙（Ca）分泌量、PH 值及血清尿素氮（BUN）、肌酐（Crea）含量。处死后观察，如肾乳头、髓质、皮质、肾盏内可见结石形成，肾皮质、髓质、肾小管囊性扩张及肾间质炎性细胞渗润等，结果说明造模成功[9]。

1.5 实验给药 正常组与模型组自由饮水（冷开水），阳性药物组石淋通颗粒 4.5 g/d/kg，低、中、高剂量组每天分别灌胃金海化石汤 5 mL/d/kg、10 mL/d/kg、20 mL/d/kg，并自由饮用冷开水补充。

1.6 观察指标 肾组织病理学改变情况、肾脏系数、血清尿素氮与肌酐、24 h 排尿量及 24 h 尿钙分泌量

1.7 实验方法

1.7.1 肾组织病理学检查 行 HE 染色，观察各组肾皮质、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情况， 以及周围组织的病变、坏死等。

1.7.2 肾脏系数、血清尿素氮与肌酐、24 h 排尿量及 24 h 尿钙分泌量 实验结束前 1 d 用代谢笼分别收集各大鼠24 h 空腹尿液，测定 24 h 排尿量；最后一次给药 2 h 之后，水合氯醛麻醉，腹主静脉抽血，分离血清，–80 ℃ 冻存，用于生化测定：罗氏 COBASC501 全自动生化分析仪测定血清尿素氮（BUN）水平、肌酐（Cr）水平；完整分离两侧肾脏，称量肾脏重量，计算肾脏系数。一部分肾脏 4% 甲醛固定，行 HE 染色病理检查，其余肾脏组织 –80 ℃ 冰箱冻存，待将来测定肾组织钙含量。

1.8 统计学方法 采用统计软件 SPSS 19.0 版本。

2 结果

2.1 对肾结石大鼠肾组织病理学的影响 正常对照组大鼠肾组织内肾小管、肾小球形态结构正常，无明显炎症、坏死，无蛋白管型；模型组肾小管囊性扩张明显，部分扩张严重，部分肾小管内可见少量结石，肾间质内可见淋巴细胞浸润及少量出血，4 只大鼠肾组织内可见少量蛋白管型，肾小球无明显炎症、变性；阳性对照组肾组织内无明显结石，肾小管囊性扩张，肾间质炎细胞浸润程度较模型组较低，2 只大鼠可见少量蛋白管型；金海化石汤低剂量组肾小管中可见少量结石，肾小管囊性扩张，扩张程度少于模型组与阳性组，间质内炎细胞浸润程度低于模型组，炎细胞类型以淋巴细胞为主，3 只大鼠可见少量蛋白管型；金海化石汤中剂量组肾小管中未见明显结石，肾小管囊性扩张程度明显低于模型组，肾间质炎细胞浸润程度较低，3 只大鼠可见少量蛋白管型；金海化石汤高剂量组肾组织未见明显结石，肾小管囊性扩张程度低于模型组，间质内炎细胞浸润程度低于模型组，1 只大鼠可见少量蛋白管型，肾小球无明显炎症。HE 染色结果见图1。

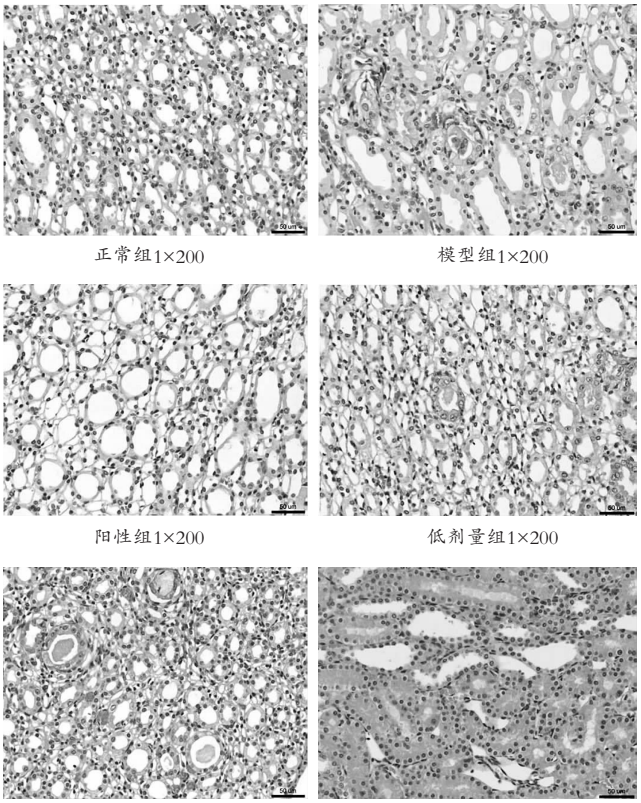

图1 金海化石汤对肾结石大鼠肾组织(HE染色)病理形态学的影响

2.2 对肾结石大鼠肾脏系数及排尿量的影响 肾脏系数模型组与正常组比较 $^{*}P\leqslant0.01$，与模型组比较，金海化石汤中、高剂量组肾脏系数均显著降低（$P\leqslant0.05$），低剂量组亦明显降低，各药物组 24 h 尿量比模型组显著增加（$P\leqslant0.05$）。见表1。

表1 金海化石汤对肾脏系数及排尿量的影响（$\bar{x}\pm s$，n=10）

组别	肾脏重量(g)	肾脏系数(%)	24 h 尿量(mL)
正常组	3.14±0.14	0.710 3±0.001 8	36.15±2.51
模型组	2.97±0.21	1.128 5±0.086 8**	22.23±2.78
阳性组	2.89±0.30	1.116 0±0.144 8	35.14±2.66#
高剂量组	2.70±0.27	0.954 3±0.037 3##	39.28±5.66#
中剂量组	2.25±0.36	0.907 1±0.057 1##	38.08±4.85#
低剂量组	2.94±0.42	0.971 0±0.188 9	33.45±4.22#

注：与正常组比较，$^{**}P\leqslant0.01$，$^{*}P\leqslant0.05$；与模型组比较，$^{\#\#}P\leqslant0.01$，$^{\#}P\leqslant0.05$

2.3 对肾结石大鼠肾功及 24 h 尿钙分泌量的影响 与正常组比较，肾结石模型组大鼠血清尿素氮、肌酐显著增加（$P<0.01$）；与模型组比较，金海化石汤低、中剂量组大鼠血清尿素氮显著降低（$P\leqslant0.01$），肌酐水平有所降低；高、低剂量组与模型组及阳性组比较，24 h 尿钙分泌量显著增加（$P<0.01$）。

表2 对血清尿素氮、肌酐及 24 h 尿钙分泌量的影响（$\bar{x}\pm s$，n= 10）

组别	BUN(mmol/L)	Crea(μmol/L)	尿Ca^{2+}(μmol/24 h)
正常组	7.93±0.40	35.95±4.95	56.60±8.72
模型组	18.04±2.97**	51.40±6.80	20.77±12.49
阳性组	17.38±2.14	51.60±7.89	11.26±8.91

续表2 对血清尿素氮、肌酐及 24 h 尿钙分泌量的影响（$\bar{x}\pm s$，n=10）

组别	BUN(mmol/L)	Crea(μmol/L)	尿Ca^{2+}(μmol/24 h)
高剂量组	14.22±2.79	43.0±6.72	53.10±44.94##
中剂量组	11.82±2.48##	46.17±3.66	30.43±27.86
低剂量组	11.64±2.30##	46.67±7.06	89.04±31.45##

注：与正常组比较，$^{**}P\leqslant0.01$，$^{*}P\leqslant0.05$；与模型组比较，$^{\#\#}P\leqslant0.01$，$^{\#}P\leqslant0.05$

3 讨论

泌尿系结石是泌尿外科的一种常见病、多发病，在中医学上属于“淋证”“石淋”范畴，其中 80% 左右属于草酸钙结石。本研究采用 1.25% 乙二醇加 1% 氯化铵法诱导大鼠制成肾结石模型，效果显著、稳定、简便[2]，也是肾结石治疗重要的实验研究方法。

本研究发现金海化石汤能改善模型大鼠肾脏组织病变、抑制肾脏系数、增加排尿量，降低模型大鼠血液中尿素氮及肌肝水平，显著提高 24 h 尿钙含量，从而达到治疗肾结石的目的。

中医学认为，肾结石发病原因多为与下焦湿热、下焦瘀滞、肾阴与肾气亏虚等有关。方中以清热利湿、通淋排石药物金钱草、海金砂、鸡内金等为君药，以茯苓、猪苓利尿渗湿，泽泻泄热利水为臣药，以增强君药利湿排石之功效；佐以延胡索、地龙、枳壳、莪术以行气止痛，并推进结石排出，又佐以何首乌补肝肾、以增强肾功能，黄芪补气利水以增强利尿作用，麦冬滋阴，以免伤阴太过，茜草收敛止血，以治疗结石在下移过程中损伤尿道而引起的出血。各药配伍，共同发挥利湿通淋、排石、止血之功，从而治疗下焦湿热、下焦瘀滞、肾阴与肾气亏虚等各型泌尿系结石，对合并有肾积水、血尿、疼痛等并发症均能收到很好的治疗作用。

参考文献

[1] 吴阶平，顾方六，郭应禄，等. 吴阶平泌尿外科学[M]. 济南：山东科学技术出版社，2004(5):745-746.
[2] 刘玉园，刘虹，柴华旗. IgA 肾病肾损伤机制研究进展[J]. 中国中西医结合肾病杂志，2016，17(1)：79-81.
[3] 史复，侯垒，崔功静，等. 体外冲击波碎石治疗输尿管结石的影响因素分析[J].中国综合临床，2016，32(1)：76-79.
[4] 刘弘展，王大太，曲龙嘉，等. ESWL 治疗单侧输尿管结石致肾形态缩小 18 例分析[J]. 临床军医杂志，2011，39(4)：684-686.
[5] 李仙. ESWL 治疗不当致肾萎缩、输尿管狭窄 5 例分析[J]. 中国误诊学杂志，2009，9(16)：3896-3897.
[6] 肖政华，杨辉. 自拟九味排石汤治疗泌尿系结石 76 例临床观察[J]. 中医药导报，2006，12(7)：38-39.
[7] 陈文智. 自拟排石汤加减治疗尿路结石 100 例临床研究[J]. 中医药导报，2012，18(4)：102-103.
[8] 李鹏. 排石汤联全浓缩颗粒剂治疗泌尿系结石的临床观察[J]. 中医药导报，2014，20(7)：111-112.
[9] 赵宗江，余波，宋秀英，等. 筛选乙二醇法复制肾结石大鼠模型最佳剂量的比较研究[J].中国中西结合肾病杂志 2007，8(11)：628.

（本文编辑：李海燕　本文校对：冯传平　收稿日期：2018-11-16）