

# 葛根素对大鼠肾脏草酸钙结石形成的影响

王安喜, 朱晓雨, 黄霆, 程义东, 徐玉峰

南京中医药大学第三附属医院泌尿外科, 江苏 南京 210001

**[摘要]** 目的: 初步探讨葛根素对大鼠肾脏草酸钙结石的防治效果及其作用机制。方法: 雄性 4 周龄 SD 大鼠随机分为 6 组, 分别为空白组、模型组、友莱特组、低剂量葛根素组、中剂量葛根素组、高剂量葛根素组, 每组 10 只。空白组自由饮取自来水, 其他各组予以 1% 乙二醇溶液构成的成石液建立大鼠肾脏草酸钙结石模型。2 周后, 低、中、高各剂量葛根素组分别予 5 mg/kg、10 mg/kg、20 mg/kg 的葛根素灌胃, 友莱特组给予 1 g/kg 的枸橼酸氢钾钠颗粒 (友莱特) 灌胃, 持续 3 周。检测各组大鼠 24 h 尿液中草酸和尿钙的含量; 血清尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cr)、Ca<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 及 K<sup>+</sup> 含量; 肾组织中丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、一氧化氮 (NO) 含量; 骨桥蛋白 (OPN) 的表达水平; 肾组织行 HE 染色, 光镜下观察各组肾小管腔内的结石晶体及肾小管扩张情况; TUNEL 凋亡染色观察各组凋亡情况。结果: 与空白组比较, 其他各组的尿草酸含量、尿钙含量、血清 BUN 含量、血清 Cr 含量、OPN mRNA 相对表达量、NO 含量、MDA 含量均显著升高, SOD 活性均显著降低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。与模型组比较, 高、中剂量葛根素组、友莱特组的尿草酸含量、尿钙含量、血清 BUN 含量、血清 Cr 含量、OPN mRNA 相对表达量、NO 含量、MDA 含量均显著降低, SOD 活性均显著升高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。与友莱特组比较, 高、中、低各剂量葛根素组尿草酸含量、尿钙含量、血清 BUN 含量、血清 Cr 含量、OPN mRNA 相对表达量、NO 含量、MDA 含量均较高, SOD 活性均较低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。结论: 葛根素可以减少大鼠的肾脏草酸钙结石的形成, 作用机制可能是通过抗氧化应激反应和降低骨桥蛋白的表达来实现的。

**[关键词]** 肾结石; 草酸钙结石; 葛根素; 枸橼酸氢钾钠颗粒; 动物实验; 大鼠

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2017) 03-0005-05

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2017.03.002

## Effect of Puerarin on the Formation of Renal Calcium Oxalate Stone in Rats

WANG Anxi, ZHU Xiaoyu, HUANG Ting, CHENG Yidong, XU Yufeng

**Abstract:** Objective: To primarily discuss the control effect and mechanism of puerarin on the formation of renal calcium oxalate stone in rats. Methods: Divided four-week old male SD rats into six groups randomly. They were respectively divided into the blank group, model group, potassium sodium hydrogen citrate group, puerarin low dosage group, puerarin middle dosage group, and puerarin high dosage group, 10 rats in each group. Blank group were given water for freely drinking, and the other groups were given liquid made from glycol solution of 1% concentration to establish the rats model of renal calcium oxalate stone. After two weeks, puerarin low, middle and high dosage groups were respectively given puerarin of concentrations of 5 mg/kg, 10 mg/kg, and 20 mg/kg by gavage, and potassium sodium hydrogen citrate group was given 1 g/kg of potassium sodium hydrogen citrate by gavage. All administration lasted for three weeks. Detected content of oxalic acid in urine and urinary calcium content, blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr), contents of Ca<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, and K<sup>+</sup>, contents of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), and nitric oxide (NO) in renal tissue, expression levels of osteopontin (OPN), renal tissue stained with HE, and light microscopic observation of the calculus crystal in renal tubules, and the expansion of renal tubules in each groups; observed apoptosis in each group through apoptosis staining by TUNEL (TdT-mediated dUTP Nick-End Labeling). Results: Comparing with those in blank group, contents of oxalic acid in urine and urinary calcium contents, contents of BUN and Cr, relative expression levels of OPN mRNA, and contents of NO and MDA in other groups were all increased significantly, and activities of SOD in other groups were decreased obviously, differences being significant ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Comparing with those in model group, in puerarin middle and high dosage groups and

**[收稿日期]** 2016-09-12

**[基金项目]** 南京市科学技术委员会课题 (201402044)

**[作者简介]** 王安喜 (1965-), 男, 主任医师, 研究方向: 泌尿系统疾病的中西医结合治疗。

potassium sodium hydrogen citrate group, contents of oxalic acid in urine and urinary calcium contents, contents of BUN and Cr, relative expression levels of OPN mRNA, and contents of NO and MDA were all declined significantly, and activities of SOD were raised evidently, differences being significant ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Comparing with those in potassium sodium hydrogen citrate group, in puerarin low, middle and high dosage groups, contents of oxalic acid in urine and urinary calcium contents, contents of BUN and Cr, relative expression levels of OPN mRNA, and contents of NO and MDA were relatively lower, differences being significant ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Conclusion: Puerarin can decrease the formation of renal calcium oxalate stone in rats. And this may be accomplished by oxidative stress and reducing the levels of OPN expression.

**Keywords:** Kidney calculi; Puerarin; Calcium oxalate stone; Potassium sodium hydrogen citrate; Animal experiment; Rats

肾结石是一种全球性的常见病和多发病,随着目前结石成分分析仪的不断推广和应用,我们发现草酸钙结石是最常见的结石类型<sup>[1]</sup>,但迄今为止草酸钙结石术后的高复发率和并发症尚未有效解决。有研究表明,葛根素具有抗氧化、利尿及舒张膀胱尿道平滑肌的作用<sup>[2-3]</sup>,但尚无其防治泌尿系结石方面的研究。本文拟通过研究不同剂量的葛根素对大鼠肾脏草酸钙结石形成过程中的影响,初步探讨其防治草酸钙结石的作用机制。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物分组及给药** 清洁级雄性 4 周龄 SD 大鼠 60 只,体质量 104~135 g,购自上海杰思捷实验动物有限公司,许可证号 SCXK(沪)2014-0006,实验地点为南京军区总医院实验室。实验室室温( $20 \pm 2$ ) $^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度 50%,分笼饲养,普通饲料,5 只/笼,每天更换笼子垫料以保持其生活环境清洁干燥。动物实验通过动物伦理委员会的审批。将 SD 大鼠随机分为 6 组,每组 10 只,分别为空白组、模型组、友莱特组、低剂量葛根素组、中剂量葛根素组、高剂量葛根素组。通过查阅文献,我们通过在草酸代谢通路上加大中间代谢产物乙二醇的含量,诱导大鼠体内草酸含量增加,形成肾脏草酸钙结石模型<sup>[4]</sup>。空白组自由饮取自来水,其他 5 组予自由饮 1% 乙二醇溶液构成的成石液。2 周后,低、中、高各剂量葛根素组分别予 5 mg/kg、10 mg/kg、20 mg/kg 的葛根素灌胃,友莱特组给予 1 g/kg 的枸橼酸氢钾钠颗粒(友莱特)灌胃,持续 3 周,每周复测 1 次体质量,调整灌胃剂量。

**1.2 实验仪器** 梯度 PCR 扩增仪:日本 TaKaRa 公司。实时荧光定量 PCR 仪:ABI7300,美国 ABI 公司。低温高速离心机、可调式微量移液器、紫外分光光度计均为德国 Eppendorf 公司产品。高压消毒锅:上海申安医疗器械厂。超净工作台:上海博讯实业有限公司。酶标仪:赛默飞世尔科技(中国)有限公司(MultiSkan FC)。全自动生化仪:日本日立公司 7600。全自动尿液生化仪:瑞士万通 883。

**1.3 实验试剂** RNA 提取相关试剂:TRizol(Takara 公司),氯仿,异丙醇,焦炭磷酸二酯 DEPC。反转录试剂盒:PrimeScrip<sup>TM</sup> RT-PCR Kit (Takara 公司), PrimeScrip<sup>®</sup> RT

Master Mix Perfect Real Time(Takara 公司)。PCR 实验相关试剂:Taq DNA 聚合酶(Takara 公司),SYBR<sup>®</sup>Premix Ex Taq<sup>TM</sup> II(Takara 公司),DNA marker(Takara 公司)。TUNEL 染色试剂盒(50T):In situ cell death detection kit,POD 11684817910(罗氏 Roche 公司)。氧化应激指标丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、一氧化氮(NO)ELISA 检测试剂盒购自 Angle Gene。

**1.4 实验药品** 葛根素(Puerarin),别名黄豆甙元 8- c- 葡萄糖甙,购自西安开来生物工程有限公司,批号 K151022,葛根素含量 80.96%。枸橼酸氢钾钠颗粒(友莱特),规格 100 g,产地:德国马博士大药厂,购自南京市中医院。

**1.5 动物取材** 灌胃结束后将大鼠置于清洁级代谢笼中收集 24 h 尿液,进行尿液生化分析。次日,予水合氯醛进行腹腔麻醉后,摘除同侧眼球取血 5~7 mL,后常规消毒铺单,腹部正中中线切开,逐层暴露至腹腔,显微器械分离肾脏筋膜,显露肾脏。摘除大鼠同侧肾脏,沿冠状面切成均等两半,一半放置于 10% 福尔马林固定后行石蜡包埋,另一侧的肾脏则用匀浆机匀浆后 4 $^{\circ}\text{C}$ ,1 000 r/min 高速离心 20 min 后取上清液,待做 ELISA 实验时使用。

**1.6 检测指标及检测方法** ①全自动尿液生化分析仪检测大鼠 24 h 尿液草酸含量和尿钙含量。②全自动血液生化分析仪检测大鼠血尿素氮(BUN)、血肌酐(Cr)、Ca<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 及 K<sup>+</sup> 含量。③通过定量 PCR 法检测骨桥蛋白(OPN)的表达情况:利用 Trizol 提取总 RNA(参照 TaKaRa 公司 Trizol 说明书),然后反转录合成 cDNA, RNA 反转录在 PCR 仪上进行,采用 10  $\mu\text{L}$  反转录体系:5x PrimeScript RT Master Mix, 1  $\mu\text{L}$ , RNA $\leq$  500 ng;无 RNA 酶水补足 10  $\mu\text{L}$ 。反应得到的 cDNA 产物稀释 5 倍以后,采用 Real-time PCR 技术,以  $\beta$ -actin 为内参来检测相关基因 OPN 的表达情况。④通过 ELISA 法检测肾组织中 MDA、SOD、NO 含量。⑤通过 tunel 染色观察细胞凋亡情况。⑥肾组织行 HE 染色,在光镜下观察肾小管中草酸钙结晶分布和肾小管扩张的情况。

**1.7 统计学方法** 采用 SPSS20.0 统计软件进行分析,组间比较采用 one-way ANOVA 配合 LSD 分析,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )

表示。

## 2 结果

2.1 实验动物脱落 模型组、低剂量葛根素组、高剂量葛根素组大鼠各脱落2只，中剂量葛根素组大鼠脱落1只，共脱落7只。脱落原因是实验中发生的啮齿类动物之间的啃食造成动物死亡。

2.2 各组大鼠24 h尿液草酸含量和尿Ca<sup>+</sup>含量比较 见表1。与空白组比较，其他各组的尿草酸、尿钙含量显著升高，差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。与模型组比较，高、中剂量葛根素组、友莱特组的尿草酸、尿钙含量显著降低，差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。与友莱特组比较，高、中、低各剂量葛根素组的尿草酸、尿钙含量较高，差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。

2.3 各组大鼠血清BUN、Cr、Ca<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>及K<sup>+</sup>含量比较 见表2。与空白组比较，其他各组的血清BUN、Cr含量显著升高，差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )；Ca<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>的含量变化不

明显。与模型组比较，高、中剂量葛根素组、友莱特组的BUN、Cr含量显著降低，差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与友莱特组比较，高、中、低各剂量葛根素组的BUN、Cr含量较高，差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。

表1 各组大鼠24 h尿液草酸含量和尿Ca<sup>+</sup>含量比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	草酸(mg/L)	尿Ca <sup>+</sup> (μmol/24 h)
空白组	10	63.73 ± 12.44	14.05 ± 4.13
模型组	8	159.58 ± 12.98 <sup>①</sup>	69.42 ± 10.48 <sup>①</sup>
高剂量葛根素组	8	108.11 ± 6.39 <sup>①②③</sup>	36.59 ± 8.20 <sup>①②③</sup>
中剂量葛根素组	9	126.57 ± 8.39 <sup>①②③</sup>	46.87 ± 7.84 <sup>①②③</sup>
低剂量葛根素组	8	154.63 ± 14.51 <sup>①③</sup>	62.51 ± 8.07 <sup>①③</sup>
友莱特组	10	88.25 ± 10.53 <sup>①②</sup>	26.39 ± 6.17 <sup>①②</sup>

与空白组比较，<sup>①</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较，<sup>②</sup> $P < 0.01$ ；与友莱特组比较，<sup>③</sup> $P < 0.01$

表2 各组大鼠血清BUN、Cr、Ca<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>及K<sup>+</sup>含量比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	BUN(mmol/L)	Cr(μmol/L)	Ca <sup>+</sup> (mmol/L)	Na <sup>+</sup> (mmol/L)	K <sup>+</sup> (mmol/L)
空白组	10	5.47 ± 1.21	64.69 ± 11.28	2.49 ± 0.14	140.86 ± 3.89	8.10 ± 1.19
模型组	8	13.34 ± 1.21 <sup>①</sup>	183.97 ± 52.87 <sup>①</sup>	2.43 ± 0.13	139.44 ± 5.55	8.29 ± 0.66
高剂量葛根素组	8	10.02 ± 1.01 <sup>①②③</sup>	130.80 ± 20.80 <sup>①②③</sup>	2.44 ± 0.15	142.12 ± 4.10	8.50 ± 1.12
中剂量葛根素组	9	11.41 ± 0.87 <sup>①②③</sup>	159.41 ± 20.10 <sup>①②③</sup>	2.43 ± 0.17	140.71 ± 3.30	8.44 ± 1.78
低剂量葛根素组	8	13.24 ± 0.93 <sup>①③</sup>	175.07 ± 49.87 <sup>①③</sup>	2.43 ± 0.11	141.35 ± 4.68	8.54 ± 1.04
友莱特组	10	8.04 ± 0.82 <sup>①②</sup>	110.54 ± 18.50 <sup>①②</sup>	2.41 ± 0.11	139.68 ± 6.08	8.61 ± 1.31

与空白组比较，<sup>①</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较，<sup>②</sup> $P < 0.05$ ；与友来特组比较，<sup>③</sup> $P < 0.01$

2.4 各组大鼠骨桥蛋白OPN表达比较 见表3。与空白组比较，其他各组OPN mRNA相对表达量均显著升高，差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ )。与模型组比较，高、中剂量葛根素组、友莱特组的OPN mRNA相对表达量均显著降低，差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。与友来特组比较，高、中、低各剂量葛根素组OPN mRNA相对表达量较高，差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。

表3 各组大鼠骨桥蛋白OPN表达比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	OPNmRNA相对表达量
空白组	10	1.000 0
模型组	8	7.872 1 ± 0.087 1 <sup>②</sup>
高剂量葛根素组	8	3.854 3 ± 0.046 0 <sup>②③④</sup>
中剂量葛根素组	9	5.758 2 ± 0.042 3 <sup>②③④</sup>
低剂量葛根素组	8	7.672 3 ± 0.052 1 <sup>②④</sup>
友来特组	10	2.085 1 ± 0.063 2 <sup>②③</sup>

与空白组比较，<sup>①</sup> $P < 0.05$ ，<sup>②</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较，<sup>③</sup> $P < 0.01$ ；与友来特组比较，<sup>④</sup> $P < 0.01$

2.5 各组大鼠氧化应激指标MDA、NO含量，SOD活性比较

见表4。与空白组比较，其他各组NO、MDA含量均显著升高，SOD活性均显著降低，差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与模型组比较，高、中剂量葛根素组、友来特组NO、MDA含量均显著降低，SOD活性均显著升高，差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。与友来特组比较，高、中、低各剂量葛根素组NO、MDA含量较高，SOD活性较低，差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

2.6 各组大鼠肾脏组织病理切片比较 见图1。空白组光镜下可见肾小管结构正常(见箭头处)，并未见明显的草酸钙结晶。模型组中可见肾小管明显扩张(见箭头处)，晶体主要位于近曲小管和远曲小管，可见无色透明的呈连续性的草酸钙结晶，部分肾小管内可见草酸钙晶体堆积成团，上皮细胞明显肿胀、变性、坏死。低剂量葛根素组可见肾小管明显扩张，大多数肾小管内可见无色透明的草酸钙结晶，部分肾小管内可见草酸钙晶体堆积成团，与模型组比较，未见明显差异。中剂量葛根素组肾小管中可见簇状草酸钙结晶，与模型组比较，肾小管轻度扩张，草酸钙结晶较模型组明显减少。高剂量葛根素组肾小管中可见少部分簇状草酸钙结晶，大多数为点状结晶，与模型组比较，肾小管轻度扩张，草酸钙结晶较模型组明显减少。

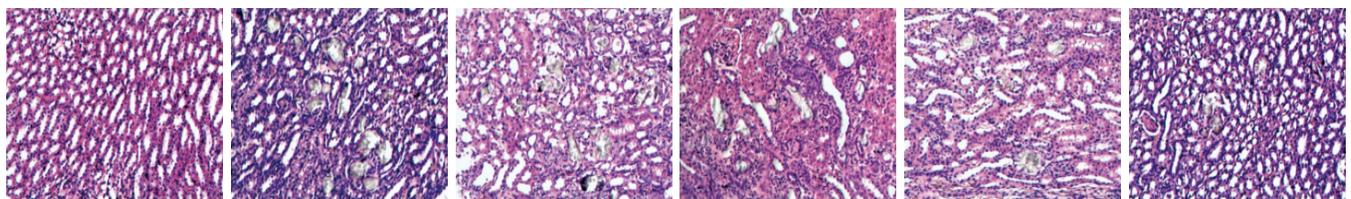
友莱特组肾小管主要为点状草酸钙结晶，肾小管轻扩张不明显，草酸钙结晶较模型组明显减少。

2.7 各组大鼠肾脏细胞凋亡比较 见图2。空白组偶可见散在的凋亡细胞。模型组因细胞凋亡加速，见大量高密度的凋亡细胞染色成棕色，可见染色质浓缩、边缘化，核膜裂解，染色质分割成块状，而未染色细胞胞膜完整，可有发泡现象。友莱特组凋亡细胞较模型组明显减少，但仍然多于空白组，局部可见点状凋亡细胞。低剂量葛根素组镜下可见大量斑块状的深染凋亡细胞，与模型组比较，未见明显减少。中剂量葛根素组可见凋亡细胞稍减少，染色较轻，但密度较大。高剂量葛根素组见散在团簇状凋亡细胞，染色较轻，与正常细胞界限清楚。

表4 各组大鼠氧化应激指标MDA、NO含量，SOD活性比较( $\bar{x} \pm s$ )

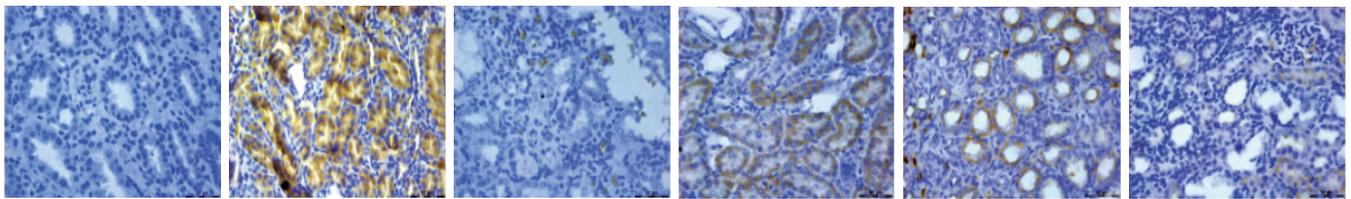
组别	n	MDA(nmol/L)	NO( $\mu$ mol/L)	SOD(U/L)
空白组	10	0.403 6 $\pm$ 0.01 6	458.697 4 $\pm$ 2.424	45.021 0 $\pm$ 0.139
模型组	8	0.956 0 $\pm$ 0.056 <sup>①</sup>	800.673 6 $\pm$ 1.997 <sup>①</sup>	31.620 1 $\pm$ 0.305 <sup>①</sup>
高剂量葛根素组	8	0.586 1 $\pm$ 0.003 <sup>①②③</sup>	522.283 8 $\pm$ 4.346 <sup>①②③</sup>	41.272 9 $\pm$ 0.290 <sup>①②③</sup>
中剂量葛根素组	9	0.721 8 $\pm$ 0.01 3 <sup>①②③</sup>	628.845 0 $\pm$ 6.162 <sup>①②③</sup>	35.481 4 $\pm$ 0.272 <sup>①②③</sup>
低剂量葛根素组	8	0.896 1 $\pm$ 0.007 <sup>①③</sup>	797.065 0 $\pm$ 17.01 9 <sup>①③</sup>	32.586 0 $\pm$ 0.478 <sup>①③</sup>
友莱特组	10	0.477 8 $\pm$ 0.003 <sup>①③</sup>	485.868 3 $\pm$ 3.133 <sup>①③</sup>	43.297 0 $\pm$ 0.640 <sup>①③</sup>

与空白组比较，①P<0.05；与模型组比较，②P<0.01；与友莱特组比较，③P<0.05



空白组 模型组 低剂量葛根素组 中剂量葛根素组 高剂量葛根素组 友莱特组

图1 各组大鼠肾脏组织病理切片比较( $\times 100$ )



空白组 模型组 友莱特组 低剂量葛根素组 中剂量葛根素组 高剂量葛根素组

图2 各组大鼠肾脏细胞凋亡比较( $\times 40$ )

### 3 讨论

越来越多的证据证实泌尿系结石是一种系统性的功能失调，可以导致终末肾疾病，并可导致高血压、冠心病、代谢综合征和糖尿病的发病风险升高<sup>[5]</sup>，其中草酸钙结石占泌尿系结石约90%<sup>[1]</sup>。目前处理草酸钙结石的主要方法还是通过体外冲击波碎石、经皮肾镜、输尿管软镜、腹腔镜下或传统的开放手术取石，但迄今为止草酸钙结石术后的高复发率和并发症尚未有效解决，有研究表明草酸钙结石治愈后复发率高达60%~80%<sup>[6]</sup>。

植物药物抗结石研究成为近年来研究热点之一。金钱草和石韦是具有缓解疼痛、减少血尿及促进排石等功效的经典中草药，但《福建民间草药》等述及其对于阴疽诸毒、脾虚泄泻者具有明显的副作用，亦有应用金钱草见粒细胞减少现象及引起接触性皮炎的报告<sup>[7]</sup>，因此寻求一种有效、价格低廉、无毒性并适宜长期服用的防治结石中草药显得十分必要。葛根素(Puerarin, Pue)是从豆科植物葛根中提取的一种异黄酮成分，近年来发现，黄酮类化合物可能是除维生素E、维生素C类

和胡萝卜素外的另一类天然强抗氧化剂<sup>[8]</sup>，能清除超氧离子等活性氧自由基，临床主要应用于 $\beta$ -高敏症、心绞痛、心肌梗死和高血压等心血管病患者。

有研究表明，高浓度的草酸本身具有细胞毒性作用，肾上皮细胞在草酸或/和草酸钙环境中会导致活性氧产物增加、细胞损伤及炎症反应、氧化应激增加，这是致肾草酸钙结石形成的重要因素<sup>[9]</sup>。本实验发现，大鼠服用有效剂量的葛根素后，24 h尿液中的草酸和尿钙含量均明显少于模型组，这与光镜下观察到中、高剂量葛根素组肾小管中的草酸钙晶体沉积均多于空白组却明显少于模型组相吻合。

当出现肾小管上皮细胞损伤时，体内自由基的产生增加，同时机体对自由基清除能力开始下降，从而造成组织结构的损伤，最终则导致肾脏结石产生。超氧化物歧化酶(SOD)是体内最重要的过氧化物酶之一，能够及时地清除过多的氧自由基；丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)则是氧自由基引发过氧化反应的标志性指标。正常情况下，机体处于一种氧自由基的产生和清除的动态平衡状态，当体内这种平衡状态被打破，就会造成自

由基的蓄积,导致细胞损伤。在试验中,我们发现中、高剂量的葛根素通过提高大鼠血清 SOD 活性,降低其 MDA、NO 水平,可以减轻大鼠肾小管的氧化应激反应,对肾小管上皮细胞具有明显的保护作用。而从肾功能统计学分析中也能发现有效剂量的葛根素能降低肌酐(Cr)、血尿素氮(BUN)水平,从而减轻草酸对大鼠肾功能的损害,但并不参与体内电解质的代谢。TUNEL 细胞凋亡实验则证明有效剂量的葛根素可以抑制高浓度草酸毒性造成的肾脏细胞的变性坏死,从而起着保护肾小管的作用,符合实验设想。

研究发现高草酸尿通常可以诱导大鼠肾组织中 OPN 表达增加,草酸钙晶体的沉积可以上调 OPN 的表达<sup>[10]</sup>。大鼠诱导成石后 OPN 的过高表达是由大鼠饮用乙二醇后诱导产生的高草酸尿、高钙尿和草酸钙晶体在肾脏的沉积共同调控所致。在本次实验中空白组中可见到 OPN 蛋白的微弱表达,在模型组、低剂量葛根素组中可见到 OPN 蛋白呈现强表达,中/高剂量葛根素组、友莱特组大鼠肾组织中 OPN 表达强度低于模型组。表明葛根素可能通过降低 OPN 的表达来抑制草酸钙结晶的形成。

本实验证明葛根素可能是通过抗氧化应激反应和降低骨桥蛋白的表达,使饮用成石剂大鼠的肾脏草酸钙结晶形成减少。统计学证明葛根素存在剂量依赖性,与枸橼酸氢钾钠的效果也存在统计学差异,本次实验尚未找到葛根素治疗草酸钙结晶的最佳剂量,且其具体作用机制尚需进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] 叶章群. 泌尿系结石[M]. 北京:人民卫生出版社, 2003: 57-58.
- [2] Yan LP, Zhuang YL, Chan SW, et al. Analysis of the mechanisms underlying the endothelium-dependent antivasoconstriction of puerarin in rat aorta[J]. Naunyn

Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2009, 379(6): 587-597.

- [3] 黎豪, 曾文彤, 张永华. 尿畅舒胶囊对绝经后女性膀胱过度活动症尿动力学影响的研究[J]. 上海中医药杂志, 2011, 45(3): 50-52.
- [4] 李文峰, 施国海, 顾欣, 等. 实验性大鼠肾草酸钙结石模型的筛选研究[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2006, 26(1): 66-68.
- [5] Spivacow FR, Negri AL, Calvino I, et al. Clinical and metabolic risk factor evaluation in young adults with kidney stones[J]. Int Urol Nephrol, 2010, 42(2): 471-475.
- [6] 施国海, 张士青. 草酸钙结石预防的研究[J]. 医学综述, 2004, 10(9): 556-558.
- [7] 李静, 贺绍君, 赵书景, 等. 金钱草对草酸钙结石小鼠红、白细胞数的影响[J]. 赤峰医学院学报: 自然科学版, 2012, 28(9): 151-153.
- [8] 霍丽妮, 廖艳芳, 陈睿, 等. 狐狸尾不同极性溶剂提取物体外抗氧化活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23): 155-158.
- [9] Hirose M, Tozawa K, Okada A, et al. Role of osteopontin in early phase of renal crystal formation: immunohistochemical and microstructural comparisons with osteopontin knock-out mice [J]. Urol Res, 2012, 40(2): 121-129.
- [10] Gokhale JA, Glenton PA, Khan SR. Localization of tamm-horsfall protein and osteopontin in a rat nephrolithiasis model[J]. Nephron, 1996, 73(3): 456-461.

(责任编辑:冯天保,郑锋玲)