

中 药 研 究

中药尿石合剂预防实验性草酸钙肾结石的初步实验研究

中医研究院第二临床医学研究所 薛建中

指导教师：刘猷枋

早在隋·巢元方《诸病源候论》中就有“宿病淋，今得热而发者”的关于尿石症复发的记载。国外文献一般认为尿石症的长期随访复发率为80%⁽¹⁾，国内复发率约为7~18%⁽²⁾。

草酸钙结石在泌尿系各种结石中占80%，临床及实验研究中采取了不同的预防措施来预防草酸钙结石的复发。有的预防措施立足于使尿中草酸及钙的溶解度增加而不产生结石，如磷酸盐制剂⁽³⁾，但有些学者认为效果不可靠⁽⁴⁾。有些是通过阻断某些异常代谢来预防临床上的结石发生，如应用别嘌呤醇治疗高尿酸血症及高尿酸尿症⁽⁵⁾，用磷酸纤维素钠及噻嗪来纠正高钙尿症⁽⁶⁾，但长期服用这些药物既有副作用也难于持久，并且价钱昂贵⁽⁷⁾。大量饮水及长限制钙与草酸摄入为最常用的方法⁽⁸⁾，但这样作效果未必理想⁽⁹⁾。

在实验研究中有的学者发现丙氨酸能干扰结石基质的集聚，增加难溶盐类的溶解，但所需量大⁽¹⁰⁾。四环素⁽¹¹⁾、美兰等虽亦有防石作用，由于其很难推广于临床，因而实用价值很小。北京医学院应用磁化水及中药预防乙二醇所致的实验性草酸钙结石的发生⁽¹²⁾，中医研究院中药所也有类似的报道⁽¹³⁾。本文报告中药尿石合剂防石作用的初步实验研究结果。

材料与方法

尿石合剂由山甲、皂刺、乳香、没药、牛膝、白芷、青皮、薏苡仁、厚朴、枳壳各3克，三棱、莪术、车前子、赤芍各6克，金钱草9克组成。浓煎后酒提水沉制成1:3浓度的尿石合剂注射液，灭菌备用。

一、尿石合剂防石的初步筛选

体重180~200克的雄性大白鼠76只，随机平均分为对照组与尿石合剂组，尿石合剂组动物以尿石合剂2毫升/只腹腔内注射，对照组注射等量生理盐水。

1小时后分别于腹腔内注射下列四种成石药：(1)对照组及尿石合剂组各9只大鼠注射0.25% L-羟脯氨酸⁽¹⁴⁾ 2.5克/公斤；(2)对照组及尿石合剂组各9只大鼠注射0.1% 乙醛酸⁽¹⁵⁾ 120毫克/公斤；(3)对照组及尿石合剂组各10只大鼠注射1%草酸 25毫克/公斤；(4)对照组及尿石合剂组各10只大鼠注射0.22 M 草酸钠⁽¹⁶⁾ 90毫克/公斤。除注射草酸动物于给药后36小时处死外，其余3个给药组均于给药后24小时处死动物，在解剖显微镜下观察并记录鼠肾中结石生长情况。

二、尿石合剂预防 L-羟脯氨酸成石的观察

78只大鼠随机分为两组，尿石合剂组大白鼠受试时腹腔内注射尿石合剂2毫升/只，对照组注射等量生理盐水。1小时后按2.5克/公斤给予两组动物注射 L-羟脯氨酸，然后按下列程序分别进行实验观察：

1. 光镜观察甲：对照组、尿石合剂组各10只大鼠，24小时后处死动物，以10%福尔马林固定鼠肾，常规石腊包埋，切片，最后以HE、Kossa、茜素红三种染色方法染色，在光学显微镜下观察结石生长情况。

2. 光镜观察乙：对照组、尿石合剂组各5只大鼠，操作与甲组相同，唯以95%酒精固定标本。

3. 电镜观察：对照组、尿石合剂组各5只大鼠，24小时后处死动物，立即从肾乳头、皮质和髓质取材，置4%戊二醛固定液中4小时，以pH 7.4磷酸缓冲液保存于4℃冰箱内一夜，用1%锇酸固定3小时后，以梯度乙醇脱水，711环氧树脂包埋，经LKBV超薄切片机切片后双重染色，在电子显微镜(JEM-100, HU-11 A, 日本)下观察肾组织细胞改变。

4. 生化测定：对照组和尿石合剂组大鼠各14只，其中各5只动物于注射 L-羟脯氨酸后，分别置代谢笼

中收集 24 小时尿液, 24 小时后取血测定 血和尿中的钙、磷、尿酸水平。其余大鼠处死后留取肾脏, 干燥后测定肾组织中草酸及钙含量。

5. 同位素测定: 对照组和尿石合剂组各 5 只大鼠, 在注射 L 羟脯氨酸时, 每只大白鼠加入 ^3H 标记的 L 羟脯氨酸 50 微居里 (由原子能研究所提供)。24 小时后处死动物, 分别称取肾、肝、脾等共 13 个样品, 每个重 20 毫克, 消化后置闪烁液中用 FJ-2101 型双道液体闪烁计数器 (国产) 测试每个样品的脉冲数。

三、丙氨酸预防 L 羟脯氨酸成石作用

20 只雄性大鼠随机分为两组, 丙氨酸组动物喂饲含 10% 丙氨酸的饲料, 对照组喂饲普通饲料, 连续 5 天, 而后按 2.5 克/公斤给予两组动物注射 L 羟脯氨酸。24 小时后用解剖显微镜观察肾中结石生长情况。

四、尿石合剂及四种大鼠血样品氨基酸含量测定

尿石合剂测定样品: 尿石合剂经数次酒提水沉, 澄清后用 KLA-5 型氨基酸分析仪 (日本) 测定氨基酸的含量 (下同)。四种大鼠血样品: (1) 正常大鼠血浆; (2) L 羟脯氨酸成石大鼠血浆: 按 2.5 克/公斤注射 L 羟脯氨酸, 24 小时后抽血测定; (3) 尿石合剂防石大鼠血浆: 大鼠腹腔内注射尿石合剂 2 毫升/只, 1 小时后按 2.5 克/公斤注射 L 羟脯氨酸, 24 小时后抽血测定; (4) 丙氨酸防石大鼠血浆: 给大鼠喂饲含 10% 丙氨酸的饲料 5 天, 而后按 2.5 克/公斤注射 L 羟脯氨酸, 24 小时后抽血测定。上述四种血样品, 每组样品测 3 只大鼠, 测定后取两个接近值中的一个。

结 果

一、尿石合剂防石的初步筛选

从表 1 可见, 尿石合剂可以明显阻断 L 羟脯氨酸的成石作用, 并可减少肾积水的发生; 但对乙醛酸、草酸、草酸钠的成石无明显的预防作用。

二、尿石合剂预防 L 羟脯氨酸成石的观察

1. 光镜观察甲: 光镜下对照组肾组织在 HE 染色时, 10 只动物中有 7 只动物的肾小管内可见草酸钙结晶, Kossa 染色时 10 只动物肾内均可见大量结晶, 结晶以肾集合管及远曲小管为著。尿石合剂组 10 只动物用两种染色方法肾脏内均未见结晶。(图 1~3)

2. 光镜观察乙: 在 HE 及 Kossa 染色时, 可在光镜下观察到对照组肾内大量草酸钙结晶, 以下段肾小管为主。尿石合剂组在 Kossa 染色时, 可见肾内草酸钙结晶以上段肾小管内沉淀为主, 量很少, 并可在肾小球囊内见到 (图 4~6)。

表 1 尿石合剂对四种药物成石的影响

成石药	分 组	实验动物数 (只)	肾结石动物数 (只)	肾积水动物数 (只)
L 羟脯氨酸	对 照 组	9	8	6
	尿石合剂组	9	2*	1**
乙醛酸	对 照 组	9	9	4
	尿石合剂组	9	8	1
草 酸	对 照 组	10	8	3
	尿石合剂组	10	7	2
草酸钠	对 照 组	10	10	1
	尿石合剂组	10	10	0

* 与对照组比较 $P < 0.01$;

** 与对照组比较 $P < 0.05$

茜素红染色均为阴性, 证明结晶不是磷酸盐。

3. 电镜观察: 电镜下可见对照组肾组织细胞中有大量空泡样变, 胞浆内线粒体明显减少, 并可见到肾小管上皮细胞坏死及管腔内坏死组织碎片 (图 7、8)。尿石合剂组肾组织细胞基本正常, 小管腔内无渗出, 细胞内线粒体正常, 并可见到溶酶体深染增多。(图 9~11)

4. 生化测定: 结果见表 2。尿石合剂可以显著降低注射 L 羟脯氨酸后大白鼠肾脏中草酸的含量, 并可使大鼠血钙、尿酸水平相应降低, 但无显著性差异。

表 2 尿石合剂对注射 L 羟脯氨酸后大鼠血、尿、肾的生化测定影响

测定项目	对照组 (毫克%) 均值 $\pm$ 标准误	尿石合剂组 (毫克%) 均值 $\pm$ 标准误
血 钙	11.24 $\pm$ 0.67	9.80 $\pm$ 0.30
血 磷	2.68 $\pm$ 0.52	3.19 $\pm$ 0.58
血 尿 酸	3.64 $\pm$ 0.72	2.20 $\pm$ 0.27
尿 钙	43.86 $\pm$ 15.16	36.14 $\pm$ 10.10
尿 磷	9.73 $\pm$ 1.63	6.50 $\pm$ 1.19
尿 尿 酸	951.55 $\pm$ 179.28	550.94 $\pm$ 125.70
肾 草 酸	21.02 $\pm$ 1.23	9.65 $\pm$ 1.82*
肾 钙	5.59 $\pm$ 0.74	5.48 $\pm$ 0.38

* 与对照组比较 $P < 0.001$

5. 同位素测定: 实验证明, 在对照组与尿石合剂组动物的肝、脾、肾上腺、甲状腺、胸腺、脑、肌肉、粪便中所测得的脉冲数基本相同, 而在肾、肺、心、血、尿标本中差别较大 (见表 3)。

三、丙氨酸预防 L 羟脯氨酸成石作用

对照组 10 只大鼠中有 8 只发生肾结石, 并有 6 只发生肾积水; 丙氨酸组只有 2 只发生肾结石, 显著



图 1 对照组大白鼠注射 L 羟脯氨酸后, 在肾乳头部形成大量草酸钙结石, 并伴显著肾积水。图 2 对照组大白鼠注射 L 羟脯氨酸后肾皮质、髓质部的结石。图 3 尿石合剂组大白鼠注射 L 羟脯氨酸后未见结石发生。图 4 对照组大白鼠注射 L 羟脯氨酸后肾集合管及远曲肾小管内可见显著的草酸钙结晶。图 5 尿石合剂组大白鼠注射 L 羟脯氨酸后形成的少量结晶多位于上段肾小管内, 图中为罕见的肾小球内草酸钙结石。图 6 尿石合剂组大白鼠注射 L 羟脯氨酸后肾小管内未见草酸钙结晶。图 7 对照组大白鼠注射 L 羟脯氨酸后可见肾组织细胞内大量空泡样变。图 8 对照组大白鼠注射 L 羟脯氨酸后肾集合管腔内的坏死细胞的碎片。图 9 尿石合剂组大白鼠注射 L 羟脯氨酸后肾近曲小管、基膜等组织大致正常。图 10 尿石合剂组大白鼠注射 L 羟脯氨酸后肾小球大致正常。图 11 尿石合剂组大白鼠注射 L 羟脯氨酸后肾集合管腔内无渗出。

表 3 尿石合剂对³H-L-羟脯氨酸在部分脏器及样本中脉冲数的影响

组 别	肾*	肺*	心*	血**	尿***
对 照 组	121.74	35.40	48.40	267.80	16.20
尿石合剂组	771.70	102.20	132.40	217.40	238.00

* 测定值单位为万次 CPM/100 克;

** 测定值的单位为万次 CPM/24 毫升;

*** 测定值的单位为万次 CPM/24 小时。

少于对照组($P < 0.01$); 但有 3 只发生肾积水。

四、尿石合剂及四种大鼠血浆氨基酸含量测定

表 4 结果表明, 无论用丙氨酸、L-羟脯氨酸或尿石合剂都会使大鼠血浆氨基酸含量重新组合。尿石合剂可使大鼠全血浆氨基酸含量降低, 其中 L-羟脯氨酸降低 38.6%。尿石合剂组大鼠的血浆氨基酸含量曲线与丙氨酸完全不同(图12)。

表 4 尿石合剂及四种大鼠血样品中各类氨基酸含量

氨基酸	尿石合剂 (毫克/毫升)	大鼠血浆(毫克/100毫升)			
		正常鼠	L-羟脯氨酸 成石大鼠	丙氨酸 防石大鼠	尿石合剂 防石大鼠
赖氨酸	0.0360				
氨酸	0.0812				
精氨酸	0.0998				
天冬氨酸	0.0374	4.04	4.60	2.40	4.08
苏氨酸	0.0134	41.52	30.96	14.76	20.69
丝氨酸	0.0468	22.28	18.76	12.12	18.96
谷氨酸	0.0133	8.08	11.16	20.40	6.64
脯氨酸	0.1326	26.68	17.12	19.80	18.56
甘氨酸	0.0056	9.44	13.60	1.28	1.36
丙氨酸	0.0516	20.72	13.96	66.24	18.76
缬氨酸	0.0120	9.12	9.60	12.16	3.40
甲硫氨酸		2.32	3.72	6.08	2.72
异亮氨酸	0.0106	5.04	5.00	5.84	1.60
亮氨酸	0.0144	9.44	9.08	12.08	5.12
酪氨酸	0.0321	5.68	6.92	5.60	4.36
苯丙氨酸	0.0054	4.16	5.44	6.08	3.28
羟脯氨酸		6.52	11.92	6.68	4.00
总 量	0.5927	175.04	161.84	191.52	113.53

讨 论

一、防石药的序贯筛选

复制实验性草酸钙结石的动物模型多年来受到普遍的重视, 其方法就是将草酸或其先质给予动物, 使动物最终体内草酸含量增加, 在肾中排泄时与钙结合

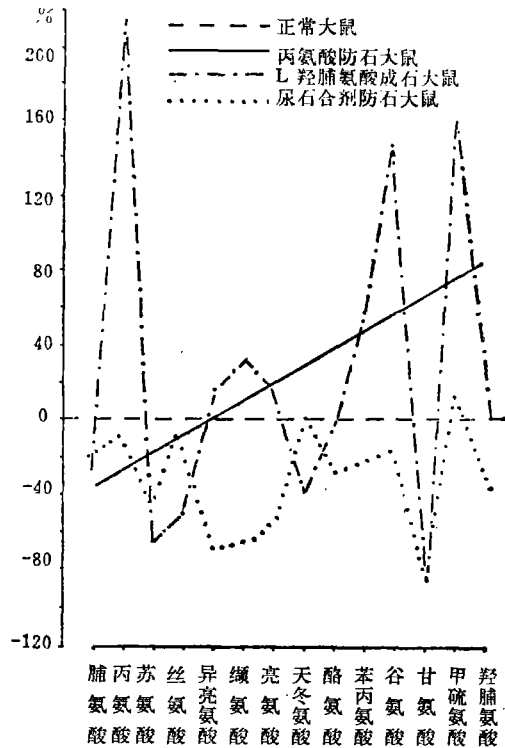
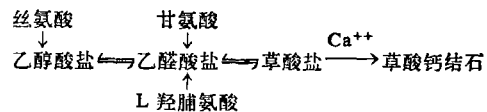


图 12 四种大鼠血样品中各类氨基酸含量(%)曲线

成为草酸钙结石。



用 L-羟脯氨酸、乙醛酸、草酸及草酸钠复制草酸钙结石动物模型及筛选药物国内文献报道不多。这四种动物模型成石方法迅速, 成石率高, 筛选效果肯定。序贯筛选法筛选防石药物可避免重要遗漏, 并可估计阻断环节。

二、关于肾结石形成的部位

以往各学者对肾结石形成的部位争论较多, Vermeulen⁽¹⁷⁾ 用草酰胺喂饲大白鼠后发现肾乳头的结石, 他认为结石发生于肾乳头。Aufderheide⁽¹⁸⁾ 在因麻醉而致肾衰的病人近曲肾小管发现结晶沉淀, 他推测结石发生于近曲小管。Jordan⁽¹⁹⁾ 等在大白鼠的肾皮质髓质均发现草酸钙颗粒。Khan⁽¹⁰⁾ 认为结石就在肾近曲小管内形成。一般认为草酸与钙均由肾小球滤出, 滤出后随着近曲小管的重吸收而逐步形成草酸钙结晶。我们在实验中大白鼠肾小球内发现草酸钙结晶, 因而我们推测结石形成的部位比传统的看法要早, 很可能在肾小球囊内已形成微晶, 只不过绝大部分被尿液冲到远端, 在近曲小管以后才逐渐长大为可见的

结石(图5)。

三、尿石合剂预防 L 羟脯氨酸的成石作用

尿石合剂可以有效地阻断 L 羟脯氨酸的成石作用, 而对乙醛酸、草酸、草酸钠的成石作用则无影响。这说明阻断作用可能发生于 L 羟脯氨酸代谢为乙醛酸之前。

在光学显微镜下可见到对照组的肾结石多发生于下段肾小管, 而应用尿石合剂后少数动物的少量结石多位于上段肾小管。这些分布与肾脏中所含草酸的量和结石形成的时间有关。少量草酸并且形成结石不久时则结石沉淀于上段肾小管⁽¹⁹⁾。电镜下对照组特征性的改变为肾组织细胞大量空泡样变及坏死, 而尿石合剂可能有稳定溶酶体膜的作用, 因而细胞基本正常。

尿石合剂可以使应用 L 羟脯氨酸的大鼠肾脏草酸含量显著降低, 而同位素测定表明尿石合剂组动物肾、肺、心、血、尿中脉冲数高于对照组。我们推测, 尿石合剂可能使草酸或其先质以可溶的形式由肾脏排除而没有形成草酸钙结石。此外, 尿石合剂降低大鼠血钙与尿酸水平的趋势, 对防止结石发生亦有一定意义。

尿石合剂可使大鼠全血浆氨基酸含量降低。甚至作为结石形成阻断因子的谷氨酸、天冬氨酸亦然⁽²⁰⁾。由于尿石合剂可使 L 羟脯氨酸降低 38.6%, 因而防止了结石的发生。我们推测可能尿石合剂使机体合成代谢加强, 氨基酸进入组织中, 从而使血中含量下降; 也可能作用于别的环节, 使血浆氨基酸重新组合。

四、丙氨酸预防 L 羟脯氨酸成石作用

丙氨酸可以防止乙醇酸和乙二醇所致的草酸钙结石发生⁽¹⁰⁾, 但尚未见有预防 L 羟脯氨酸成石作用的报道。我们观察到丙氨酸可以预防 L 羟脯氨酸的成石作用, 但不能防止肾积水的发生。与尿石合剂比较, 二者对大鼠注射 L 羟脯氨酸后血浆氨基酸水平影响曲线截然不同, 我们推测, 丙氨酸与尿石合剂是通过不同途径预防了结石的发生。

承王永潮、沈绍基、刘忠敏副教授、王维民、王秀茹、李香、吴志奎、刘风云等老师对本文的具体指导和帮助, 特此致谢。

参 考 文 献

- (1) Williams RE, et al: Brit J Urol 35:416, 1963.
- (2) 施锡恩等主编: 泌尿外科学。235 页, 人民卫生出版社, 1978。
- (3) William CT, et al: Kid Int 13:390, 1978.
- (4) Ettinger B: Am J Med 67:245, 1979.
- (5) Smith WJV: J Urol 117:690, 1977.
- (6) Blacklock NJ, et al: Brit J Urol 46:385, 1974.
- (7) Rose GA, et al: Ibid 46:261, 1974.
- (8) Wilson DM: Geriatrics 34:(8) 65, 1979.
- (9) Baker LRI, et al: Brit J Urol 51:181, 1979.
- (10) Chow FU-HO C, et al: Invest Urol 11:38, 1973.
- (11) Selikowitz SM, et al: Ibid 14:124, 1976.
- (12) 顾方六等: 中华医学杂志 59(1): 20, 1979.
- (13) 杨立新等: 中医杂志 (3):73, 1980.
- (14) Tawashi R, et al: Urol Res 8:121, 1980.
- (15) Melon JM, et al: Thérapie 26:(5) 991, 1971.
- (16) Khan RS, et al: Invest Urol 17:(3) 199, 1979.
- (17) Vermeulen CW, et al: J Urol 97:573, 1967.
- (18) Aufderheide AC: Arch Pathol 92:162, 1971.
- (19) Jordan WR: Invest Urol 15:465, 1978.
- (20) Garti N, et al: Ibid 18:149, 1980.

朱砂安神丸合磁朱丸治愈夜游症 1 例

湖南中医学院内经教研室 熊继柏

龙××, 男, 14 岁, 学生。1970 年就诊。

家长代诉, 患儿每于睡梦中惊起, 启门而出, 跌仆于田野荒丘, 依然沉睡。甚则出走至五里之外, 以至跌仆受伤。如此迁延半载, 每夜必有人伴睡。遍求医治, 屡药鲜效。见患儿神态如常, 询之曰: 自觉心烦耳鸣, 夜卧而出并不知觉, 唯多梦多惊而已。舌红苔黄, 脉弦数。

详思此症, 为火热内扰神魂之候。张景岳云: “神之为德, 如光明爽朗, 聪慧灵通之类皆是也; 魂之为

言, 如梦寐恍惚, 变幻游行之境皆是也。”盖神属心所主, 魂为肝所藏。今火扰于心而心烦; 火升木亢而耳鸣; 火热扰于肝, 则神失守而魂飘荡, 于是梦寐恍惚, 变幻游行。治当清心泻火安神, 镇肝定魂, 予朱砂安神丸合磁朱丸。

处方: 生地 60 克, 黄连 18 克, 当归 30 克, 甘草 15 克, 煅磁石 30 克, 建曲 18 克。上六味碾末和蜜为丸, 外以朱砂 9 克水飞为丸衣, 丸如黄豆大。早晚各吞服一次, 每服 30 丸。服完二料丸剂, 其病竟瘳。