

葶苈子水提液对 CHF 大鼠利尿作用的影响

张晓丹¹, 范春兰¹, 余迎梅¹, 刘旺¹, 张彦卓² (1. 哈尔滨商业大学药学院, 哈尔滨 150076; 2. 沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016)

摘要: 目的 观察葶苈子对 CHF 大鼠的尿量及尿离子的影响, 并探讨其可能的机制。方法 采用腹主动脉缩窄法将 Wistar 大鼠成功建造 CHF 模型后, 术后 8 周, 将大鼠随机分成生理盐水组, CHF 模型组, 葶苈子高、中、低剂量组共 5 组, 分别灌胃给药, 连续给药 4 周后, 代谢笼在水负荷条件下测定各组大鼠 6 h 排尿量, 并采用 MPT 光谱仪测定尿中 Na^+ 、 K^+ 浓度, 滴定法测定 Cl^- 浓度。结果 葶苈子高、中剂量组能显著增加 CHF 大鼠排尿量, 与模型组比较差异非常显著 ($P < 0.01$); 葶苈子高、中剂量组尿 Na^+ 、 Cl^- 排出量较模型组明显增加 ($P < 0.01$), 高剂量组 K^+ 排出明显减少 ($P < 0.05$)。结论 葶苈子具有显著的利尿作用, 利尿作用的机理可能是通过抑制肾小管对 Na^+ 、 Cl^- 和水的重吸收, 从而促进 Na^+ 、 Cl^- 和水的排出。

关键词: 心力衰竭; 利尿作用; 尿量; 尿离子

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2010)03-0210-04

Diuretic Effect of Aqueous Extract of Tinglizi on CHF Rats

ZHANG Xiaodan¹, FAN Chunlan¹, YU Yingmei¹, LIU Wang¹, ZHANG Yanzhuo² (1. School of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China; 2. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the diuretic effect of Tinglizi and study its possible mechanisms. **METHODS** Chronic heart failure model was established by the coarctation of abdominal aorta. After 8 weeks of operation, 40 CHF rats were divided into four groups randomly as follows: model group, Tinglizi groups (high-dose group, mid-dose group, low-dose group), with 10 rats for each group, and 10 sham operation rats were taken as control (physiological saline, 2 mL). Adopting metabolism cage gathered the urinary output of the loading rats in 6 hours, and tested the urinary contents of Na^+ , K^+ by microwave plasma torch atomic emission spectrometry (MPT-AES), tested the urinary contents of Cl^- by titration method. **RESULTS** Compared with the model group, high-dose group and mid-dose group could significantly increase the urinary output and contents of Na^+ , Cl^- in the CHF rats' urine; and high-dose group could reduce the contents of K^+ in the CHF rats' urine. **CONCLUSION** Tinglizi manifests considerable diuretic effect. Its function mechanism had probably associated with inhibition of renal tubular to reabsorb water, sodium, and chloride, then caused an increase in water, sodium and chloride excretion.

KEY WORDS: heart failure; diuretic effect; urine output; urine ion

充血性心力衰竭 (congestive heart failure, CHF) 是由于心脏器质性损害导致心室充盈和射血不能满足机体组织代谢需要而引起的一种临床综合征, 是几乎所有心脏病的终末过程^[1]。肾血流的减少和一系列神经、体液激素的激活是慢性心力衰竭症候群的主要病理生理基础。多数心衰患者肾脏有效血流量的减少与心排出量的下降相平行。肾脏对慢性心衰心排出量下降的反应为水、钠和一些代谢产物排泄的减少及钾和镁从尿液中丢失的增加, 这也是构成慢性心衰临床症状的主要成分^[2]。葶苈子为十字花科植物独行菜 *Lepidium*

apetalum Willd. 或播娘蒿 *Descurainia Sophia* (L.) Webb ex Prantl 的干燥成熟种子, 为泻肺降气、祛痰平喘、利水消肿的传统中药^[3]。近年研究证明, 葶苈子治疗心力衰竭疗效显著, 本试验旨在观测葶苈子对 CHF 大鼠的尿量及尿液中钠、钾、氯离子浓度的影响, 并探讨其利尿的可能机制。

1 材料

1.1 动物

健康 Wistar 大鼠, ♀ ♂ 各半, 体重 (180 ± 20) g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号 SCXK(京)2007-0001。实验期间, 大鼠饲养条

作者简介: 张晓丹, 女, 博士, 教授, 硕导

Tel: (0451)84605022

E-mail: huiling3@163.com

件: 室温20~26 ℃, 相对湿度40%~70%, 自由饮水, 常规适应性饲养1周后进行实验。

1.2 药品与试剂

葶苈子购于哈尔滨世一堂中药饮片有限责任公司, 经本校中药鉴定教研室金哲雄教授鉴定为十字花科植物播娘蒿*Descurainia Sophia* (L.) Webb ex Prantl 的干燥成熟种子(南葶苈子)。将其制备为含生药2 g·mL⁻¹的水提液, 实验时用生理盐水配成所需浓度。硝酸银标准液[对氯离子的滴定度1 mg·mL⁻¹(批号0091010, 哈尔滨东方化学试剂研究所)]; 铬酸钾10%指示剂(批号0091020, 哈尔滨东方化学试剂研究所); 钠光谱分析溶液标准物质[1 000 μg·mL⁻¹, 国家标准溶液(MC GBW(E) 080513, 核工业北京化工冶金研究所)]; 钾光谱分析溶液标准物质[1 000 μg·mL⁻¹, 国家标准溶液(MC GBW(E) 080514, 核工业北京化工冶金研究所)]。浓硝酸, 浓高氯酸, 盐酸(均为优级纯); 双重蒸馏水。

1.3 仪器

BIOPAC十六导生理记录仪(美国BIOPAC公司); 1020 MPT 光谱仪(长春吉大·小天鹅仪器有限公司)。

2 方法

2.1 动物的筛选

大鼠置代谢笼中适应48 h后, 禁食18~24 h, 以生理盐水3 mL·(100 g)⁻¹灌胃, 并使排尽膀胱内余尿。收集2 h内尿液。尿量为给水量40%以上者为合格动物^[4]。

2.2 CHF大鼠模型的复制

利尿实验经筛选合格大鼠60只, 参照文献方法^[5], 大鼠用3%戊巴比妥钠以0.3 mL·(100 g)⁻¹腹腔注射麻醉, 剑突下腹正中切口, 分层打开腹腔, 在肾动脉分支以上钝性游离腹主动脉, 将9号注射器针头平行置于腹主动脉上, 用4号手术丝线将腹主动脉和9号针头一同结扎, 然后缓慢将针头撤出, 使大鼠腹主动脉直径减少40%~50%, 关腹, 分层缝合, 术后每天用青霉素(10万单位·只⁻¹)腹腔注射1周。手术8周后用十六导生理记录仪测量左室收缩压(LVSP)、左室舒张末压力(LVEDP)、左心室压力变化最大速率(+dp/dt_{max}和-dp/dt_{min})血流动力学数值。以LVEDP≥15 mmHg为模型成功的主要标志^[6]。将复制模型成功大鼠随机分为模型组(ig 0.9%生理盐水2 mL·d⁻¹), 葶苈子高剂量组(ig 15

g·kg⁻¹·d⁻¹), 葶苈子中剂量组(ig 10 g·kg⁻¹·d⁻¹), 葶苈子低剂量组(ig 5 g·kg⁻¹·d⁻¹), 每组10只。另取假手术组大鼠10只(ig 0.9%生理盐水2 mL·d⁻¹), 该组只开腹游离腹主动脉, 但不缩窄。以上各组连续给药4周。

2.3 对大鼠尿量的影响

实验前禁食不禁水15 h。按表1剂量给予水负荷生理盐水3 mL·kg⁻¹, 模型组及空白对照组给予等量生理盐水, 给药前轻压大鼠下腹, 排尽余尿。每只代谢笼放1只大鼠, 每2 h收集尿液1次, 共6 h, 每次收集尿液前轻压大鼠下腹, 使尿液排入代谢量筒内, 尿量以毫升计, 计算累计尿量, 比较各组尿量, 室温20 ℃。

2.4 对大鼠尿液中离子浓度的影响

2.4.1 钠离子及钾离子标准曲线的绘制 将钠标准液和钾标准液分别用1%盐酸稀释为0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1 μg·mL⁻¹的溶液, 定容于100 mL量瓶中, 进样测定。以峰面积(A)对浓度(C)线性回归, 得钠标准曲线方程 $A=18\,428\,C+449.1$, $r=0.999\,5$; 钾标准曲线方程 $A=41\,227\,C-1\,132.5$, $r=0.999\,4$ 。

2.4.2 精密度和回收率实验 吸取一定量Na和K标准液, 进行精密度考察, 计算得RSD分别为2.32%, 1.56%。采用标准加入法测得回收率, Na和K的回收率分别为101.7%, 98.6%。

2.4.3 尿钾、钠离子浓度的测定 准确移取尿液1 mL于小烧杯中, 加入混合酸1 mL(浓硝酸: 浓高氯酸=4: 1), 隔夜后置电热丝刚发红的电炉上加热, 低温下消解至溶液透明, 蒸发至近干。加去离子水少许, 加热近沸, 冷却后将尿液用1%盐酸稀释5 000倍, 100 mL量瓶定容^[7]。样品引入1020 MPT 光谱仪, 对钠离子、钾离子进行测定, 计算钠离子、钾离子浓度, 同时做标样空白和试样空白。

2.4.4 尿氯离子浓度的测定 准确吸取尿液0.5 mL, 置于白瓷蒸发皿中, 加去离子水9.5 mL, 10%K₂CrO₄溶液2滴, 慢慢滴入AgNO₃标准液, 随滴随摇, 至呈不褪色的桔红色为止。记录所消耗的AgNO₃标准液的毫升数, 计算尿液中的氯离子浓度。

2.5 统计分析

数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 均数比较用单因素方差分析(one-way ANOVA), 所有统计学处理均由SPSS 16.0软件统计完成。 $P<0.05$ 为差异显著, $P<0.01$ 为差异非常显著。

3 结果

3.1 对CHF大鼠的排尿量的影响

模型组与生理盐水组相比，尿量显著减少

表 1 葶苈子水提液对 CHF 大鼠尿量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab 1 Effect of Tinglizi on urine volume in CHF rats($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	剂量/g·kg ⁻¹	各时段尿量/V·mL ⁻¹			6 h总尿量
		0~2 h	2~4 h	4~6 h	
生理盐水组	—	3.59±0.54	2.37±0.35	1.36±0.14	7.32±0.85
模型组	—	2.89±0.31 ¹⁾	1.66±0.28 ¹⁾	0.90±0.12 ¹⁾	5.45±0.59 ¹⁾
葶苈子低剂量组	5	3.11±0.42	1.80±0.37	1.17±0.19 ²⁾	6.08±0.90
葶苈子中剂量组	10	3.47±0.47 ²⁾	2.31±0.48 ²⁾	1.39±0.26 ²⁾	7.17±1.14 ²⁾
葶苈子高剂量组	15	4.32±0.61 ²⁾	2.91±0.53 ²⁾	2.02±0.29 ²⁾	9.25±1.30 ²⁾

注：与生理盐水组比较，¹⁾ $P<0.01$ ；与模型组比较，²⁾ $P<0.01$

Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.01$

3.2 对CHF大鼠尿液中Na⁺、K⁺、Cl⁻浓度的影响

模型组与生理盐水组相比Na⁺、Cl⁻排出显著减少($P<0.01$)，K⁺排出显著增多($P<0.01$)。葶苈子中、

($P<0.01$)。灌胃葶苈子6 h后，中、高剂量组对CHF大鼠排尿量有明显的促进作用，与模型组比较，均有显著性差异($P<0.01$)。结果见表1。

高剂量组与模型组相比，Na⁺、Cl⁻排出显著增加($P<0.01$)，高剂量组K⁺排出明显减少($P<0.05$)。结果见表2。

表 2 葶苈子水提液对 CHF 大鼠尿液离子浓度的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab 2 Effect of Tinglizi on the contents of urine ion in CHF rats($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	剂量/g·kg ⁻¹	C _{Na⁺} /μg·mL ⁻¹	C _{K⁺} /μg·mL ⁻¹	C _{Cl⁻} /mmol·L ⁻¹
生理盐水组	—	1 206.70±172.64	466.30±89.10	49.06±13.78
模型组	—	862.90±193.39 ¹⁾	515.90±113.34 ¹⁾	32.32±14.73 ¹⁾
葶苈子低剂量组	5	902.30±150.66	508.20±71.21	34.66±13.79
葶苈子中剂量组	10	1 378.00±182.33 ²⁾	499.40±119.36	47.12±16.54 ²⁾
葶苈子高剂量组	15	1 561.90±157.53 ²⁾	486.50±127.04 ³⁾	56.38±19.20 ²⁾

注：与生理盐水组比较，¹⁾ $P<0.01$ ；与模型组比较，²⁾ $P<0.01$ ，³⁾ $P<0.05$

Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.05$

4 讨论

心力衰竭时心排出量、有效血容量和肾血流量的降低使肾小球出球小动脉的血管张力增加，肾小球滤过分数增加，导致进入肾小管周围毛细血管血液的胶体压升高，静水压降低，使NaCl-H₂O从近曲肾小管和相邻的组织间隙大量重吸收于球后肾小管周围毛细血管网^[1]。同时心竭时RAAS系统激活，Ang II促进肾上腺皮质球状带合成和分泌醛固酮，导致钠水潴留，钾、镁丢失^[8]。本实验结果显示，葶苈子中、高剂量在6 h内可持续增加CHF大鼠尿量，用药后2 h利尿强度最大，且葶苈子中、高剂量还能显著增加CHF大鼠尿中Na⁺、Cl⁻的排出。可见葶苈子利尿作用显著，并且极大改善了CHF时的钠水潴留，其机理可能与抑制肾小管对NaCl-H₂O的重吸收有关，从而使Na⁺、Cl⁻和水排出增加。另外，葶苈子高剂量还能显著减少CHF大鼠尿液K⁺的排出，其机理可能与葶苈子在心力衰竭的治疗中抑制RAAS系统激活，减少醛固酮的分泌有关。

20多年来，心力衰竭的治疗发生了很大的演

变，应用洋地黄类增强心肌收缩力和利尿剂消除液体潴留仍是心力衰竭治疗策略的重要组成部分。但由于本病是一种复杂的病理生理综合症，西药的副作用较大，可进一步引起电解质、神经内分泌紊乱及低血压和氮质血症等^[1]。以往研究显示葶苈子水提液能增强心肌收缩性，对心肌有正性肌力作用^[9]，本实验表明葶苈子亦能显著消除心衰时的液体潴留。可见，中药葶苈子副作用低，又能从多方面调节，治疗心力衰竭具有较大优势和意义。然而葶苈子的化学成分较复杂，主要成分有强心苷类、黄酮类、异硫氰酸类、挥发油及脂肪油类等^[9]，而利尿消肿的有效成分尚不明确，故更加深入的化学成分和药理研究还有待于进一步探索。

致谢: 本实验的完成需感谢哈尔滨商业大学食品学院的吴艳华教授在光谱检测尿液离子浓度实验中给予无私帮助，及药学院金哲雄教授在中药鉴定学上给予鉴定指导。

REFERENCES

[1] LIU Z Q. The foundation treatment of heart failure: Diuretic

- [J]. Chin J Cardiol(中华心血管病杂志), 2002, 30(5): 319-320.
- [2] HE Z Q. Advances in pharmacotherapy for congestive heart failure [J]. Int J Cardiovasc Dis(国际心血管病杂志), 2006, 33(1): 14-17.
- [3] Ch.P(2005)Vol II(中国药典 2005 版.一部)[S]. 2005: 234.
- [4] XU S Y, BIAN R L, CHEN X. Experiments of Pharmacology (药理实验方法学)[M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991: 1052.
- [5] MASSART P E, DONCKIER J, KYSELOVIC J, et al. Carvedilol and lacidipine prevent cardiac hypertrophy and endothelin-1 gene overexpression after aortic banding [J]. Hypertension, 1999, 34(6): 1197-1201.
- [6] TONNESSEN T, CHRISTENSEN G, QIE E, et al. Increased cardiac expression of endothelin-1 mRNA in ischemic heart failure in rats [J]. Cardiovasc Res, 1997, 33(3): 601-610.
- [7] MA W, YUAN H X, MA W Z. Determination of ten trace elements in *Prunella Vulgaris* L., Mulberry leaves, and *Dendrothema Indicum* L. by flame atomic absorption spectrometry [J]. Chin J Spectrosc Lab(光谱实验室), 2004, 21(4): 154-156.
- [8] VINAY T, GUILLERMO T A, MICHEAL M K. Aldosterone antagonism and congestive heart failure: a new look at an old therapy [J]. Curr Opin Cardiol, 2004, 19(4): 301-308.
- [9] SUN K, LI X. Progress in studies on chemical constituents and pharmacological effect of Semen Lepidii and Semen Descurainiae [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2002, 33(7): add 3-5.

收稿日期: 2009-07-21