

## · 基础研究 ·

## 济阴决渎强心方对心肾综合征模型大鼠水钠排泄的影响

刘成帅<sup>1</sup> 孔 森<sup>1</sup> 查玉玲<sup>2</sup> 安 成<sup>3</sup> 于 萍<sup>1</sup> 周育平<sup>1</sup>

**摘要** 目的 观察济阴决渎强心方对心肾综合征(CRS)大鼠水钠排泄的影响。方法 采用冠状动脉结扎联合3/4肾脏切除术复制CRS大鼠模型。将30只造模成功大鼠按随机数字表法分为模型组、奥美沙坦酯组及济阴决渎强心方组,每组10只。另设9只SD大鼠为假手术组。以济阴决渎强心方[2g/(100g·d)]和奥美沙坦酯[0.3mg/(100g·d)]为干预手段,模型组和假手术组予饮用水每天2mL灌胃,疗程28天。检测大鼠尿液指标,称量大鼠体重,检测血清学指标和心肾功能,计算分析指标间的相关性,HE染色后于光镜下观察肾脏组织病理学改变。结果 与假手术组比较,模型组24h尿量(24h-UV)、24h尿水通道蛋白2(24hAQP-2)、体重、血清Cl<sup>-</sup>、左心室射血分数(LVEF)、左心室短轴缩短率(LVFS)降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),尿钠浓度(UNa)、尿微白蛋白(UMA)、尿微白蛋白与肌酐比值(ACR)、血清尿素氮(BUN)、血肌酐(SCr)、左心室收缩末内径(LVESd)、左心室舒张末内径(LVEDd)升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),病理显示模型组肾小球萎缩、肾小管上皮细胞萎缩、肾静脉扩张。与模型组比较,奥美沙坦酯组和济阴决渎强心方组B型脑钠肽(BNP)水平降低( $P<0.05$ ),LVEF升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ );济阴决渎强心方组ACR、BUN、SCr、血清Na<sup>+</sup>水平降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),LVFS升高( $P<0.01$ )。与奥美沙坦酯组比较,济阴决渎强心方组BUN、SCr降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),LVEF、LVFS升高( $P<0.05$ )。与模型组比较,各干预组肾小球、肾小管结构改善。经相关性分析发现,24h-UV与尿钠排泄率(UNaV)呈正相关( $r=0.39$ ,  $P<0.05$ ),UNaV与24hAQP-2呈正相关( $r=0.40$ ,  $P<0.05$ ),24hAQP-2与LVEF呈正相关( $r=0.39$ ,  $P<0.05$ )。结论 济阴决渎强心方能改善CRS大鼠ACR、BUN、SCr、BNP、LVEF,改善肾脏组织病理损伤,增加AQP-2排出的作用,可能是改善心肾功能,增加水钠排泄的原因之一。

**关键词** 心肾综合征;济阴决渎强心方;水钠排泄;心肾功能;中药复方

**Effect of Jiyin Juedu Qiangxin Formula on the Excretion of Water and Sodium in Rats with Cardiorenal Syndrome**

LIU Cheng-shuai<sup>1</sup>, KONG Miao<sup>1</sup>, ZHA Yu-ling<sup>2</sup>, AN Cheng<sup>3</sup>, YU Ping<sup>1</sup>, and ZHOU Yu-ping<sup>1</sup> 1 Department of Cardiovascular, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100053); 2 Graduate School of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100029); 3 Department of Clinical Laboratory, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100053)

**ABSTRACT Objective** To observe the effect of Jiyin Juedu Qiangxin Formula (JJQF) on the excretion of water and sodium in cardiorenal syndrome (CRS) rats. **Methods** The CRS model was established by coronary artery ligation combined with 3/4 nephrectomy. According to the random digit table, totally successfully modeled 30 rats were randomly divided into model group, olmesartan medoxomil group and JJQF group, with 10 rats in each group. Another 9 SD rats were selected as a sham operation group. Rats in the JJQF group were intragastrically administered with JJQF (2 g · 100 g<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>), and rats in the olmesartan medoxomil group were

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81470185)

作者单位:1. 中国中医科学院广安门医院心血管科(北京 100053); 2. 北京中医药大学研究生院(北京 100029); 3. 中国中医科学院广安门医院检验科(北京 100053)

通讯作者:周育平, Tel: 010-88001018, E-mail: maomao7227@sina.com

DOI: 10.7661/j.cjm.20230829.059

intragastrically administered with olmesartan medoxomil ( $0.3 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ). Rats in the sham operation group and model group were given drinking water (2 mL/d). The medication lasted for 28 successive days. The urine indexes of rats were detected. The weight of rats was weighed. The serological indexes and heart and kidney function were detected. The correlation between each index was calculated and analyzed. The pathological changes of the kidney were observed under a light microscope after HE staining. **Results** Compared with the sham operation group, the levels of the 24 h urine volume (24 h-UV), 24 h aquaporin 2 (24 h AQP-2), Weight,  $\text{Cl}^-$ , left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular fractional shortening (LVFS) in the model group decreased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), while urine sodium concentration (UNa), urine microalbumin (UMA), urine microalbumin to creatinine ratio (ACR), serum urea nitrogen (BUN), serum creatinine (SCr), left ventricular end systolic diameter (LVESd), left ventricular end diastolic diameter (LVEDd) increased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The pathological results showed glomerular atrophy, renal tubular epithelial cell atrophy and renal vein dilatation in the model group. Compared with the model group, the level of B-type natriuretic peptide (BNP) decreased ( $P < 0.05$ ), and LVEF increased ( $P < 0.05$ ) in olmesartan medoxomil group and JJQF group. The levels of ACR, BUN, SCr and serum  $\text{Na}^+$  decreased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), while LVFS increased ( $P < 0.01$ ) in JJQF group. Compared with olmesartan medoxomil group, BUN and SCr decreased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), LVEF and LVFS increased ( $P < 0.05$ ) in JJQF group. Compared with the model group, the structure of glomeruli and renal tubules in the intervention group was improved. The correlation analysis showed that 24 h-UV was positively correlated with urine sodium excretion (UNaV) ( $r = 0.39$ ,  $P < 0.05$ ), UNaV was positively correlated with 24 h AQP-2 ( $r = 0.40$ ,  $P < 0.05$ ), and 24 h AQP-2 was positively correlated with LVEF ( $r = 0.39$ ,  $P < 0.05$ ). **Conclusion** JJQF can improve ACR, BUN, SCr, BNP and LVEF, and improve renal tissue pathological damage, and increase AQP-2 excretion in CRS rats, which may be one of the reasons for improving heart and kidney function and increasing water and sodium excretion.

**KEYWORDS** cardiorenal syndrome; Jiyin Juedu Qiangxin Formula; water and sodium excretion; cardiac and renal function; Chinese herbal compound

II 型心肾综合征 (cardiorenal syndrome, CRS) 又称狭义 CRS, 是指慢性心力衰竭 (heart failure, HF) 引起的进行性肾功能损害, 是 HF 的终末期表现<sup>[1]</sup>。CRS 患者肾素—血管紧张素—醛固酮系统 (renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)、交感神经系统等过度激活, 加重心肾功能恶化, 导致水钠滞留, 容量超负荷, 是 HF 病死率的独立危险因素<sup>[2-4]</sup>。济阴决渎强心方是临床治疗 CRS 的有效方剂<sup>[5, 6]</sup>, 本研究以冠状动脉结扎 (coronary artery ligation, CAL) 联合 3/4 肾脏切除的方法制备 CRS 大鼠模型, 使用济阴决渎强心方为干预手段, 观察其改善心肾功能和排出水钠的作用。

### 材料与方 法

1 动物 清洁级雄性 SD 大鼠 56 只, 体重 ( $200 \pm 10$ ) g [北京华阜康生物科技股份有限公司提供, 许可证号: SCXK (京) 2019-0008], 中国中医科学院广安门医院实验动物中心饲养。实验动物的处置严格按照中国中医科学院广安门医院实验动物中心的伦理相关规定进行, 已通过中国中医科学院广安门医院动物伦理委员会审核批准 (No. IACUC-

GAMH-2023-024)。

2 药物 济阴决渎强心方配方颗粒 (组成: 黄芪 36 g 升麻 6 g 人参 12 g 猪苓 30 g 茯苓 30 g 阿胶 12 g 等 10 味药, 四川新绿色药业科技发展有限公司, 批号: 20120127); 奥美沙坦酯片 [20 mg/片 第一三共制药 (上海) 有限公司, 批号: SY015 YA]。

3 主要试剂与仪器 主要试剂: 鼠 B 型脑钠肽 (B-type natriuretic peptide, BNP) ELISA Kit、鼠尿水通道蛋白 2 (aquaporin 2, AQP-2) ELISA Kit、鼠精氨酸加压素 (arginine vasopressin, AVP) ELISA Kit (均为上海酶联生物科技有限公司生产, 批号为 ml003039-2、ml003086-2、ml364189-2)。主要仪器: 酶免分析仪 (塞默飞世尔, MK3), 全自动生化分析仪 (贝克曼库尔特, AU5821), ALOKA 超声波诊断仪 (ProSound SSD-5000SV), HX-300 动物呼吸机 (成都泰盟科技有限公司), 生理记录仪 (ADInstruments), 恒温水箱 (北京中兴伟业仪器有限公司) 等。

4 动物模型制备及分组 参照文献<sup>[7]</sup>建立模型。选择 SPF 级 SD 大鼠 47 只, 将大鼠适应性饲养 1 周, 以 1% 戊巴比妥钠 0.4 mL/100 g 腹腔注射麻醉,

结扎心脏前降支近端,以部分心室前壁苍白,心电图 ST 段明显弓背抬高为结扎成功。1 周 (CAL+1 W) 后行右侧 1/2 肾脏切除术,2 周 (CAL+2 W) 后行左肾摘除术,术后 1 周 (CAL+3 W) 以大鼠心脏超声左心室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF) <45% 为造模成功标准。30 只造模成功,造模成功率 64%。将造模成功的 CRS 模型大鼠按随机数字表法分成 3 组,模型组、奥美沙坦酯组、济阴决渎强心方组,每组 10 只。另选择 9 只 SD 大鼠为假手术组,假手术组胸部手术只穿线不结扎,腹部手术不切除肾脏,其余操作与模型组相同。

5 给药方法 依据《中药药理实验方法学》<sup>[8]</sup>和《药理实验方法学》<sup>[9]</sup>等效剂量换算法计算给药量,并参考课题组前期研究<sup>[10]</sup>。奥美沙坦酯组每日灌服奥美沙坦酯 0.3 mg/100 g (相当于 60 kg 成人每日剂量的 9 倍),济阴决渎强心方组每日灌服济阴决渎强心方 (蒸馏水溶解,60 °C 震荡,浓度为 3.9 g/mL) 2 g/100 g (相当于 60 kg 成人每日剂量的 6 倍)。模型组和假手术组每日予饮用水 2 mL 灌胃。周期为 28 天。干预过程模型组死亡 1 只 (肺脓肿),存活率为 90%;奥美沙坦酯组无死亡,存活率 100%,济阴决渎强心方组死亡 1 只 (食管破裂伤),存活率为 90%。

## 6 检测指标及方法

6.1 尿液指标检测 疗程结束后,禁食状态下使用代谢笼收集 24 h 尿液,测量尿量 (24 h urine volume, 24 h-UV), 4 °C, 3 500 r/min, 10 min, 留取上清液。使用全自动生化仪测量尿钠浓度 (urine sodium concentration, UNa), 计算 24 h 尿钠 (24 h UNa)、尿钠排泄率 (urine sodium excretion, UNaV) [UNaV= (UNa × 24 h-UV) / 24 h]; 测量尿微白蛋白 (urinary microalbumin, UMA)、尿微白蛋白与肌酐比值 (ratio of urinary albumin to creatinine, ACR)、尿肌酐 (urinary creatinine, UCr)。使用酶联免疫吸附试验法测定 AQP-2 浓度,计算 24 h AQP-2、AQP-2 与 UCr 比值 (AQP-2/UCr)。

6.2 体重及血清指标检测 收集大鼠 24 h 尿液后,称量大鼠体重 (Weight),麻醉后腹主动脉采血 5 mL,离心取血清。使用酶联免疫吸附试验法测定血清 BNP、AVP;使用全自动生化仪测量血清中尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、血肌酐 (serum creatinine, SCr)、白蛋白 (albumin, ALB) 和离子 (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>、K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>)。

6.3 心脏、肾脏血流超声检测 大鼠麻醉后取仰卧位,使用 7.5 MHz 超声探头,获取胸骨旁左室

长轴二维图像及左室 M 型曲线,测量 3 个心动周期,得到 LVEF、左心室收缩末内径 (left ventricular end systolic diameter, LVESd)、左心室舒张末内径 (left ventricular end diastolic diameter, LVEDd) 和左心室短轴缩短率 (left ventricular fractional shortening, LVFS)。获取大鼠右肾冠状面,取大鼠肾门处肾动脉,采集肾动脉收缩期峰值流速 (peak systolic velocity, PSV)、舒张末期流速 (end diastolic velocity, EDV)、阻力指数 (resistance index, RI)、搏动指数 (pulse index, PI)、平均流速 (mean flow velocity, MFV)。

6.4 肾脏病理变化 将肾上极 (包含皮质、髓质) 以 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋、切片 (厚 8 μm),HE 染色,观察肾脏组织结构。

6.5 相关性分析 将尿液指标 (24 h-UV、UNaV、24 h AQP2、ACR), Weight, 血清指标 (BNP、AVP) 和 LVEF 进行相关性分析。

7 统计学方法 使用 SPSS 23.0 进行数据处理。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,非正态分布计量资料用中位数和四分位数表示 [ $M (P_{25}, P_{75})$ ],符合正态分布的计量资料多组间比较采用完全随机单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-t 检验。若不符合正态分布的计量资料,进行 lg 转化后分析,或使用非参数秩和检验,非参数检验组间比较采用 Kruskal-Wallis H 秩和检验。相关性分析采用 Spearman 相关分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1 各组大鼠尿液指标比较 (表 1) 与假手术组比较,模型组 24 h-UV、24 h AQP-2 水平降低 ( $P < 0.05$ ), UNa、UMA、ACR 水平升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );与模型组比较,济阴决渎强心方组 ACR 水平降低 ( $P < 0.05$ ),奥美沙坦酯组和济阴决渎强心方组其余各指标差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

2 各组大鼠 Weight 及血清理化指标比较 (表 2) 与假手术组比较,模型组 Weight、Cl<sup>-</sup> 水平降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), BUN、SCr 水平升高 ( $P < 0.01$ );与模型组比较,奥美沙坦酯组大鼠 BNP 水平降低 ( $P < 0.05$ );济阴决渎强心方组大鼠 BNP、BUN、SCr、血清 Na<sup>+</sup> 水平降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );与奥美沙坦酯组比较,济阴决渎强心方组大鼠 BUN、SCr 水平降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

3 各组大鼠心脏超声和肾血流超声比较 (表 3、4) 与假手术组比较,模型组 LVEF、LVFS 降低

表 1 各组大鼠尿液指标比较 [M (P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>) /  $\bar{X} \pm s$ ]

组别	n	24 h-UV (mL)	UNa (mmol/mL)	24 h UNa (mmol/L)	UNaV (mmol/min)
假手术	9	23.50 (18.50, 36.90)	13.00 (11.60, 13.60)	339.35 ± 123.23	0.23 ± 0.09
模型	9	14.50 (8.00, 25.80)*	26.10 (17.70, 41.40)**	414.77 ± 179.14	0.29 ± 0.12
奥美沙坦酯	10	14.15 (10.00, 17.30)	30.95 (26.20, 35.00)	426.59 ± 113.07	0.30 ± 0.08
济阴决渎强心方	9	11.60 (8.50, 19.20)	29.50 (16.40, 41.20)	342.73 ± 138.87	0.26 ± 0.07
组别	n	UMA (ug)	ACR (mg/g)	24 h AQP-2 (pg)	AQP-2/UCr (pg/μmol)
假手术	9	188.03 (137.95, 356.22)	27.55 (17.76, 32.31)	1 232.87 ± 616.61	11.88 (10.47, 23.07)
模型	9	429.20 (229.90, 755.94)*	64.99 (34.97, 101.95)**	705.92 ± 398.23*	9.99 (6.21, 14.66)
奥美沙坦酯	10	311.83 (245.00, 378.10)	39.92 (31.76, 46.75)	686.36 ± 237.78	9.10 (6.96, 11.27)
济阴决渎强心方	9	210.00 (171.70, 512.64)	32.49 (25.12, 43.73) <sup>△</sup>	720.35 ± 478.72	8.02 (6.96, 10.37)

注:与假手术组比较,\*P<0.05,\*\*P<0.01;与模型组比较,<sup>△</sup>P<0.05

表 2 大鼠体重及血清理化指标比较 [M (P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>) /  $\bar{X} \pm s$ ]

组别	n	Weight (g)	BNP (ng/mL)	AVP (ng/mL)	BUN (mmol/L)	SCr (μmol/L)
假手术	9	503.67 ± 51.03	3.10 ± 0.38	0.02 (0.01, 0.07)	5.06 ± 0.44	38.89 ± 3.37
模型	9	398.33 ± 43.18**	3.57 ± 0.91	0.85 (0.07, 1.37)	9.11 ± 1.37**	74.11 ± 13.45**
奥美沙坦酯	10	416.60 ± 27.47	2.66 ± 0.62 <sup>△</sup>	1.09 (0.15, 4.61)	9.67 ± 1.23	73.60 ± 6.87
济阴决渎强心方	9	426.00 ± 36.03	2.81 ± 0.46 <sup>△</sup>	0.70 (0.08, 2.54)	7.85 ± 0.90 <sup>△▲▲</sup>	63.33 ± 6.20 <sup>△▲</sup>
组别	n	ALB (g/L)	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/L)	K <sup>+</sup> (mmol/L)	Cl <sup>-</sup> (mmol/L)	Na <sup>+</sup> (mmol/L)
假手术	9	27.39 ± 1.83	26.60 (22.80, 27.70)	5.17 (4.71, 5.41)	104.98 ± 4.66	142.16 ± 1.79
模型	9	28.24 ± 1.64	25.70 (23.50, 28.10)	4.68 (4.57, 4.94)	101.57 ± 1.27*	141.87 ± 1.50
奥美沙坦酯	10	27.98 ± 1.64	24.30 (22.40, 25.20)	4.78 (4.71, 5.28)	102.70 ± 2.12	140.85 ± 0.80
济阴决渎强心方	9	28.38 ± 1.90	25.40 (25.30, 26.70)	4.55 (4.40, 4.64)	102.32 ± 1.63	140.08 ± 1.23 <sup>△▲</sup>

注:与假手术组比较,\*P<0.05,\*\*P<0.01;与模型组比较,<sup>△</sup>P<0.05,<sup>△▲</sup>P<0.01;与奥美沙坦酯组比较,<sup>▲</sup>P<0.05,<sup>▲▲</sup>P<0.01

表 3 各组大鼠心脏超声比较 ( $\bar{X} \pm s$ )

组别	n	LVEF (%)	LVESd (cm)	LVEDd (cm)	LVFS (%)
假手术	9	78.88 ± 4.05	0.33 ± 0.04	0.57 ± 0.05	0.42 ± 0.04
模型	9	38.50 ± 8.41**	0.59 ± 0.08**	0.70 ± 0.09**	0.16 ± 0.04**
奥美沙坦酯	10	47.81 ± 11.68 <sup>△</sup>	0.58 ± 0.11	0.72 ± 0.10	0.21 ± 0.66
济阴决渎强心方	9	56.54 ± 8.14 <sup>△▲▲</sup>	0.49 ± 0.09	0.67 ± 0.10	0.26 ± 0.05 <sup>△▲▲</sup>

注:与假手术组比较,\*P<0.05,\*\*P<0.01;与模型组比较,<sup>△</sup>P<0.05,<sup>△▲</sup>P<0.01;与奥美沙坦酯组比较,<sup>▲</sup>P<0.05

表 4 各组大鼠肾血流超声比较 [M (P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>) /  $\bar{X} \pm s$ ]

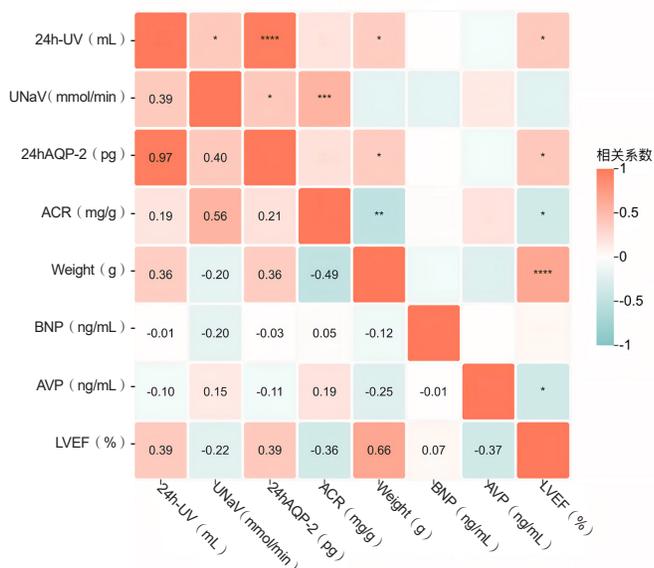
组别	n	PSV (m/s)	EDV (m/s)	RI	PI	MFV (m/s)
假手术	9	0.22 (0.21, 0.25)	0.12 (0.12, 0.13)	0.43 ± 0.08	0.90 (0.67, 1.10)	0.13 (0.10, 0.14)
模型	9	0.20 (0.17, 0.27)	0.12 (0.10, 0.13)	0.45 ± 0.11	0.80 (0.47, 0.91)	0.12 (0.12, 0.15)
奥美沙坦酯	10	0.21 (0.18, 0.23)	0.12 (0.10, 0.12)	0.43 ± 0.04	0.60 (0.50, 0.73)	0.14 (0.14, 0.16)
济阴决渎强心方	9	0.20 (0.19, 0.23)	0.11 (0.10, 0.12)	0.45 ± 0.04	0.69 (0.58, 0.79)	0.14 (0.12, 0.15)

(P<0.01), LVESd、LVEDd 升高 (P<0.01);与模型组比较,奥美沙坦酯组、济阴决渎强心方组大鼠 LVEF 升高 (P<0.05, P<0.01);济阴决渎强心方组 LVFS 升高 (P<0.01);与奥美沙坦酯组比较,济阴决渎强心方组 LVEF、LVFS 升高 (P<0.05)。各组大鼠 PSV、EDV、RI、PI、MFV 差异无统计学意义 (P>0.05)。

4 相关性分析 (图 1) 经相关性分析,24 h-UV 与 UNaV、LVEF 均呈正相关 (r=0.39, P<0.05; r=0.39, P<0.05);UNaV 与 24 h AQP-2、ACR 均呈

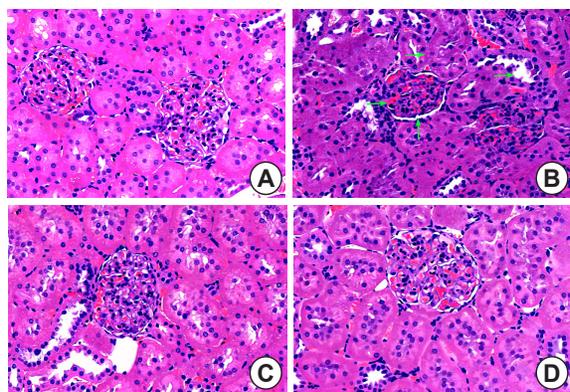
正相关 (r=0.40, P<0.05; r=0.56, P<0.01);24 h AQP-2 与 LVEF 呈正相关 (r=0.39, P<0.05);ACR 与 Weight、LVEF 均呈负相关 (r=-0.49, P<0.01; r=-0.36, P<0.05);Weight 与 LVEF 呈正相关 (r=0.66, P<0.05);AVP 与 LVEF 呈负相关 (r=-0.37, P<0.01)。具体相关性分析结果见图 1 (红色表示正相关性,绿色表示负相关性,颜色越深,表示相关性越强)。

5 各组大鼠肾脏组织病理学改变 (图 2) 与假手术组比较,CRS 模型组大鼠肾脏呈现肾小球萎缩,



注: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$

图 1 相关性分析矩阵图



注: 箭头所指处为典型病变; A 为假手术组; B 为模型组; C 为奥美沙坦酯组; D 为济阴决渎强心方组

图 2 各组大鼠肾脏组织病理学变化 (HE 染色,  $\times 200$ )

肾小球毛细血管瘤样扩张, 毛细血管扩张淤血, 肾小囊腔扩张; 肾小管基底膜增厚, 肾小管上皮细胞萎缩、上皮细胞减少, 肾小管细胞胞浆嗜碱性变, 肾小管间隔不清; 肾静脉扩张; 组织内有较多炎性细胞浸润。奥美沙坦酯组、济阴决渎强心方组均有所改善。

### 讨论

CRS 患者主要表现为喘憋、尿少和顽固性水肿, 属于中医“心水”范畴。水饮是心水的核心病机, 与现代医学认为的容量负荷增加相一致。CRS 阶段的组织严重水肿与有效循环血量不足, 可以认为是局部水饮停聚与全身阴液(精)不足的矛盾, 这主要是由于久病不愈, 加之过度利尿, 损伤阴精, 出现阴虚和水停并存状态。滋阴利水, 益气强心能够缓解这一矛盾, 济阴决渎强心方以猪苓汤合升陷汤加减, 其中阿胶益

精补血, 提高胶体渗透压, 茯苓、猪苓等利水不伤阴。升陷汤不仅益气升陷, 还能起到提壶揭盖, 防止心肾不交, 水火不济的作用。研究表明, 使用加味猪苓汤可显著改善慢性心力衰竭患者的心功能<sup>[11]</sup>。黄芪的主要成分皂苷、多糖、黄酮等具有抑制心室重构和心肌细胞凋亡、抗肾间质纤维化、降低炎症反应等作用<sup>[12, 13]</sup>。因此本研究使用济阴决渎强心方观察益气滋阴利水法改善 CRS 大鼠肾功能和钠排出的作用。

CAL 联合肾脏切除是制备大鼠 CRS 模型的常用方法, 被认为一定程度反映了缺血性心力衰竭合并肾功能不全的病理过程<sup>[14]</sup>。本课题组前期研究显示, CAL 联合单侧肾脏切除操作简单, 成活率高, 但 8 周后大鼠肾脏功能得到部分代偿<sup>[10]</sup>。吴英智等<sup>[7]</sup>采用 CAL 联合 3/4 肾切除造模, 本研究复制其模型, 成功率 64%, 造模成功后 4 周, 模型组大鼠血清 BUN、SCr、BNP 水平显著升高, 同时肾脏出现肾小球、肾小管、肾静脉改变, 反映了大鼠肾功能明显下降。本研究结果显示, 各干预组在疗程结束后大鼠血清 BNP 水平降低, LVEF 升高, 表明济阴决渎强心方在 4 周疗程结束时改善心脏功能的作用与阳性对照药物奥美沙坦酯相当。同时济阴决渎强心方组 ACR 减少, BUN、SCr 降低, 其中 BUN、SCr 与奥美沙坦酯组比较降低, 表明济阴决渎强心方改善 CRS 大鼠肾脏功能的作用优于奥美沙坦酯。RAAS 阻断剂被认为能够截断 RAAS 的过度激活, 是治疗 HF 的重要用药。但研究显示, HF 进展到 CRS 阶段, 由于 RAAS 阻断剂可能导致肾灌注压下降、高钾、低血压、SCr 升高、eGFR 下降等而使用受限<sup>[15]</sup>。本研究中奥美沙坦酯组大鼠 BUN、SCr 均未见明显下降, 与文献研究相同<sup>[16]</sup>。

HF 失代偿时心输出量减少和增高的右心超负荷通过中心静脉传递到肾静脉, 共同减少肾血流量<sup>[17]</sup>。正常情况下大鼠肾脏血流是高 PSV、EDV, 低 RI, 即高流速低阻力的状态<sup>[18]</sup>。本研究发现 CRS 大鼠肾脏血流呈低流速高阻力的状态, 这与病理所见的肾静脉扩张相一致。这种肾脏的低流量状态激活了 RAAS, 导致水钠重吸收, 因此利尿剂是 HF 治疗的基石。目前研究显示, 测量 UNa 能够较准确反应肾脏功能和利尿剂反应<sup>[19]</sup>。2021 年《欧洲心脏病学会急性心力衰竭诊断和治疗指南》提出将利尿剂使用后 2 h UNa  $< 50 \sim 70$  mEq/L 为利尿剂抵抗的诊断标准<sup>[20]</sup>。本研究引入 UNa 水平评价济阴决渎强心方和奥美沙坦酯干预 CRS 大鼠水钠的排出。结果显示, 虽然干预后 UNa、24 h UNa、UNaV、肾血流超声差

异无统计学意义, 但各干预组有 UNa 浓度升高、PI 降低、MFV 升高的趋势, 其中济阴决渎强心方组血清  $\text{Na}^+$  低于模型组。本研究虽然未得到阳性结果, 但不能因此否定滋阴利水法和血管紧张素受体阻滞药 (angiotensin receptor blockers, ARB) 类药物对水钠排出的作用<sup>[21]</sup>。由于目前研究多以点尿液 UNa 浓度作为水钠排出效率的观察指标<sup>[22, 23]</sup>, 故下一步研究中应探索不同时间点的 UNa 浓度测定, 客观评价滋阴利水法和 ARB 的排 Na 作用。

AVP-AQP2 轴是 HF 时容量调节的另一个关键机制<sup>[24]</sup>。HF 时有效循环血容量不足, 刺激左心房及大静脉内的容量感受器释放 AVP。而且, AQP-2 还受到前列腺素 E、缓激肽等影响<sup>[25, 26]</sup>。AVP 与肾脏集合管细胞表面的 V2 受体结合, 诱导集合管中 AQP2 的表达和顶端靶向, 使细胞具有透水性, 促进水的重吸收<sup>[27]</sup>。AQP-2 是中医药治疗 HF、肾功能不全等水液代谢疾病的重要靶点<sup>[28]</sup>。研究证实尿脱落 AQP2 水平可以作为反应水排泄的指标<sup>[29, 30]</sup>。目前对于尿脱落 AQP-2 与水钠排出的关系有两种观点, 一种认为 AQP-2 与尿量成反比, 另一种认为 AQP-2 与尿量成正比<sup>[31]</sup>。本研究显示, 疗后血清 AVP 水平表现出奥美沙坦酯组 > 模型组 > 济阴决渎强心方组的趋势, 24 h AQP-2 则表现出济阴决渎强心方组 > 模型组 > 奥美沙坦酯组的趋势, 提示济阴决渎强心方可以增加尿 AQP-2 的排出。

UNaV 与 ACR 呈正相关, UNaV 反应肾小管对尿  $\text{Na}^+$  的重吸收, ACR 反映了肾小球对蛋白的漏出<sup>[32, 33]</sup>, 两者同时增高, 这与 CRS 模型中所见肾小球和肾小管的病理改变结果相一致。本研究中发现, UNaV 与 24 hAQP-2 呈正相关。理论上尿 AQP2 反映水排出, 随着水排出增加, 尿液被稀释, UNaV 应降低, 但本研究得到相反结论, 这可能与高尿  $\text{Na}^+$  可以导致高尿  $\text{Ca}^{2+}$ , 进一步激活钙感受体 (calcium sensing receptor, CaSR) 等有关<sup>[34]</sup>。

综上所述, 滋阴利水法指导下创制的济阴决渎强心方能够改善 CRS 大鼠心脏收缩功能, 降低血清 BNP, 改善肾病理损伤, 作用与奥美沙坦酯相似。同时能减少尿 ACR, 降低血清 BUN 和 SCr, 作用优于奥美沙坦酯。本方增加尿 AQP-2 排出的作用, 可能是改善心肾功能, 增加水钠排泄的原因之一。本研究还发现济阴决渎强心方有降低血清 AVP, 增加 UNa, 改善肾血流的趋势, 尚待进一步研究。

利益冲突: 所有作者声明不存在利益冲突关系。

## 参 考 文 献

- [1] Ronco C, McCullough P, Anker SD, et al. Cardio-renal syndromes: report from the consensus conference of the acute dialysis quality initiative [J]. *Eur Heart J*, 2010, 31 (6): 703-711.
- [2] 中国医师协会心力衰竭专业委员会, 中华心力衰竭和心肌病杂志编辑委员会. 心力衰竭容量管理中国专家建议 [J]. *中华心力衰竭和心肌病杂志*, 2018, 2 (1): 8-16.
- [3] Rangaswam J, Bhalla V, Blair JEA, et al. Cardiorenal syndrome: classification, pathophysiology, diagnosis, and treatment strategies: a scientific statement from the american heart association [J]. *Circulation*, 2019, 139 (16): e840-e878.
- [4] Savira F, Magaye R, Liew D, et al. Cardiorenal syndrome: multi-organ dysfunction involving the heart, kidney and vasculature [J]. *Br J Pharmacol*, 2020, 177 (13): 2906-2922.
- [5] 周育平, 安成, 张振鹏. 交泰丸加减方干预肾综合征进展期心肾功能恶化的临床观察 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23 (14): 183-187.
- [6] 张代刚. 温阳益气、化癥利水法治疗肾心综合征的临床研究 [D]. 吉林: 长春中医药大学, 2020.
- [7] 吴英智, 杭丽玮, 傅强, 等. 新型心肾综合征大鼠动物模型建立与评价 [J]. *中华高血压杂志*, 2018, 26 (5): 435-443.
- [8] 李仪奎主编. 中药药理实验方法学 [M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 39.
- [9] 徐叔云, 卞如镰, 陈修主编. 药理实验方法学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1861.
- [10] 安成, 侯雪筠, 周育平. 复方交泰汤对心肾综合征模型大鼠心功能的影响 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2019, 17 (18): 2748-2750.
- [11] 王馨瀚. 加味猪苓汤治疗慢性心力衰竭 (气阴两虚兼水热互结证) 疗效观察 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2018.
- [12] 施敏, 魏佳明, 袁惠, 等. 黄芪活性成分治疗心力衰竭作用机制的研究进展 [J/OL]. *中国实验方剂学杂志*: 1-8. [2023-09-6]. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20231102>.
- [13] 宋沛颖, 鹿扩建, 李慧勇, 等. 中药治疗慢性肾衰竭的研究进展 [J]. *黑龙江医药*, 2022, 35 (5): 1150-1156.

- [ 14 ] 查玉玲, 孔淼, 周育平, 等. II 型肾综合征动物模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29 ( 4 ): 535-541.
- [ 15 ] Kim JA, WU L, Rodriguez M, et al. Recent developments in the evaluation and management of cardiorenal syndrome: a comprehensive review [J]. *Curr Probl Cardiol*, 2023, 48 ( 3 ): 101509.
- [ 16 ] Vlahakos DV, Tsioufis C, Manolis A, et al. Inhibition of the renin-angiotensin system in the cardiorenal syndrome with anaemia: a double-edged sword [J]. *J Hypertens*, 2019, 37 ( 11 ): 2145-2153.
- [ 17 ] Xiaohua H, Shereen M, Wenqing Z, et al. Angiotensin II and the renal hemodynamic response to an isolated increased renal venous pressure in rats [J]. *Front Physiol*, 2021, 16 ( 12 ): 753355.
- [ 18 ] 张秀丽, 张艳, 王学清. 彩色多普勒超声评估厄贝沙坦对糖尿病肾病大鼠肾脏血流动力的影响 [J]. 中国实验诊断学, 2016, 20 ( 4 ): 533-536.
- [ 19 ] Testani JM, Hanberg JS, Cheng S, et al. Rapid and highly accurate prediction of poor loop diuretic natriuretic response in patients with heart failure [J]. *Circ Heart Fail*, 2016, 9 ( 1 ): e002370.
- [ 20 ] Mcdonagh TA, Metra M, Adamo M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure [J]. *Eur Heart J*, 2021, 42 ( 36 ): 3599-3726.
- [ 21 ] Kidoguchi S, Sugano N, Takane K, et al. Azilsartan causes natriuresis due to its sympatholytic action in kidney disease [J]. *Hypertens Res*, 2019, 42 ( 10 ): 1507-1517.
- [ 22 ] Rao VS, Ivey-Miranda JB, Cox ZL, et al. Natriuretic equation to predict loop diuretic response in patients with heart failure [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2021, 77 ( 6 ): 695-708.
- [ 23 ] 邸亚丽, 纪征, 孙淑娴, 等. 接受利尿剂治疗老年急性充血性心力衰竭患者尿钠水平与肾功能相关性及其预后不良危险因素分析 [J]. 临床军医杂志, 2021, 49 ( 12 ): 1365-1368.
- [ 24 ] Yumi N, Sei S. Updates and perspectives on aquaporin-2 and water balance disorders [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 ( 23 ): 12950.
- [ 25 ] Tamma G, Wiesner B, Furkert J, et al. The prostaglandin E2 analogue sulprostone antagonizes vasopressin-induced antidiuresis through activation of Rho [J]. *J Cell Sci*, 2003, 116 ( Pt 16 ): 3285-3294.
- [ 26 ] Li JH, Chou CL, Li B, et al. A selective EP4 PGE2 receptor agonist alleviates disease in a new mouse model of X-linked nephrogenic diabetes insipidus [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119 ( 10 ): 3115-3126.
- [ 27 ] Dema A, Faust D, Lazarow K, et al. Cyclin-dependent kinase 18 controls trafficking of aquaporin-2 and its abundance through ubiquitin ligase STUB1, which functions as an AKAP [J]. *Cells*, 2020, 9 ( 3 ): 673.
- [ 28 ] 张健, 崔向宁, 曹骥. 芪苈强心胶囊对改善慢性心力衰竭大鼠心功能及 AQP-2 表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20 ( 10 ): 183-187.
- [ 29 ] Klusmann E. Aquaporin-2 is not alone [J]. *Kidney Int*, 2023, 103 ( 3 ): 458-460.
- [ 30 ] Zhang Y, Huang H, Kong Y, et al. Kidney tubular transcription co-activator, yes-associated protein 1 ( YAP ), controls the expression of collecting duct aquaporins and water homeostasis [J]. *Kidney Int*, 2023, 103 ( 3 ): 501-513.
- [ 31 ] 林晟, 许顶立, 赖文. 短期应用利尿剂对正常大鼠尿液水通道蛋白排泄浓度的影响研究 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2011, 19 ( 9 ): 1475-1477.
- [ 32 ] 孙连芹, 段俗言, 孙志颖, 等. 慢性肾脏病患者尿钠和容量超负荷的相关性 [J]. 中华医学杂志, 2021, 101 ( 30 ): 2392-2399.
- [ 33 ] Tagawa K, Tsuru Y, Yokoi K, et al. Albuminuria intensifies the link between urinary sodium excretion and central pulse pressure in the general population: the Wakuya study [J]. *Am J Hypertens*, 2021, 34 ( 8 ): 851-857.
- [ 34 ] Ranieri M, Zahedi K, Tamma G, et al. CaSR signaling down-regulates AQP2 expression via a novel microRNA pathway in pendrin and NaCl cotransporter knockout mice [J]. *Faseb J*, 2018, 32 ( 4 ): 2148-2159.

(收稿: 2021-12-24 在线: 2023-10-16)

责任编辑: 白霞