

DOI 10.19656/j.cnki.1002-2406.20240205

实验研究

瓜蒌薤白汤正丁醇部位对Ⅱ型心肾综合征大鼠内质网应激的调控作用

刘阳阳^{1,2}, 张云云^{1,2}, 李洁^{1,2}, 丁永芳^{1,2}✉, 彭蕴茹^{1,2}

(1. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏 南京 210028; 2. 江苏省中医药研究院, 江苏 南京 210028)

【摘要】目的:观察瓜蒌薤白汤(Gualou Xiebai Decoction, GXD)正丁醇部位对Ⅱ型心肾综合征大鼠内质网应激的影响,探讨瓜蒌薤白汤对心脏和肾脏的保护作用。方法:32只SPF级健康雄性Wistar大鼠随机分为假手术组、模型组和瓜蒌薤白汤高、低剂量组。除假手术组外,其余各组采用结扎左冠状动脉前降支的方法复制Ⅱ型心肾综合征大鼠模型,灌胃给予相应药物10周后,ELISA法检测血清中NT-proBNP、Cys-C的含量;取心脏、肾脏组织,HE染色观察心脏、肾脏的细胞形态学变化,Masson染色检测组织胶原沉积和纤维化程度;透射电镜观察内质网超微结构;RT-PCR检测心、肾组织I、Ⅲ型胶原含量;Western blot检测内质网相关蛋白ATF-6、GRP78、XBP-1s、ATF-4、p-eIF2 α 、CHOP的表达。结果:与假手术组比较,模型组大鼠血清中NT-proBNP、Cys-C的水平明显升高($P < 0.01$),瓜蒌薤白汤高、低剂量组较模型组明显降低($P < 0.01$)。与模型组比较,瓜蒌薤白汤组能显著改善由慢性心衰引起的大鼠心脏、肾脏组织病理学改变;透射电镜观察发现,模型组大鼠内质网肿胀、断裂,核糖体脱落,瓜蒌薤白汤组心脏、肾脏内质网基本恢复正常。RT-PCR结果表明,模型组心脏、肾脏中I、Ⅲ型胶原mRNA表达明显高于假手术组,瓜蒌薤白汤高、低剂量组明显低于模型组($P < 0.01$);瓜蒌薤白汤组内质网相关蛋白ATF-6、GRP78、XBP-1s、ATF-4、p-eIF2 α 、CHOP的表达显著低于模型组($P < 0.01$)。结论:瓜蒌薤白汤对Ⅱ型心肾综合征大鼠心脏、肾脏具有明显的保护作用,且该作用可能与抑制内质网应激有关。

【关键词】瓜蒌薤白汤;Ⅱ型心肾综合征;内质网应激

【引用格式】

刘阳阳,张云云,李洁,等.瓜蒌薤白汤正丁醇部位对Ⅱ型心肾综合征大鼠内质网应激的调控作用[J].中医药信息,2024,41(2):26-32.

LIU Y Y, ZHANG Y Y, LI J, et al. Regulation of N-butanol fraction of Gualou Xiebai Decoction on endoplasmic reticulum stress in rats with type II cardiorenal syndrome [J]. Information on TCM, 2024, 41(2):26-32.

心血管相关疾病一直是临床诊治的热点和难点,约2/3的心衰患者同时患有慢性肾衰疾病^[1],最终发展为终末期的纤维化状态,这属于临床上心肾综合征的特征之一。Ⅱ型心肾综合征(type II cardiorenal

syndrome, CRS)是慢性心肾综合征,由于慢性心衰而导致慢性肾病的发生和发展,心肾之间互相加重、恶性循环,约40%的慢性肾脏病患者因心血管疾病而死亡,其患病率的持续攀升严重威胁着国民健康,桎梏着

基金项目:国家自然科学基金项目(81973812);江苏省卫生健康委科研项目(M2020050)

第一作者简介:刘阳阳(1997-),女,2021级中药学专业硕士研究生,主要研究方向:中药药理学。

✉通信作者简介:丁永芳(1977-),女,研究员,主要研究方向:中药药理学。

我国心血管疾病的防治进程。与高患病率相对的是贫乏的治疗手段和较差的预后。治疗Ⅱ型CRS的常用药物为利尿剂和血管扩张药物,但在肾功能不全合并心力衰竭的患者中其有效性和安全性仍需大量临床研究证实。

中医从整体治疗观出发,对Ⅱ型CRS有更好的疗效。瓜蒌薤白汤(Gualou Xiebai Decoction, GXD)出自《金匮要略》,由瓜蒌、薤白和白酒三味中药组成,具有通阳散结、行气祛痰之功效。课题组前期研究发现,瓜蒌薤白汤通过调控Ⅱ型CRS心、肾组织的上皮-间质转化,保护心脏和肾脏,抑制纤维化。但是瓜蒌薤白汤保护心、肾的具体分子机制还不明确,因此,本研究通过内质网应激通路来探讨瓜蒌薤白汤干预CRS的内在分子机制和具体作用靶点,为今后药物研发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

SPF级健康雄性Wistar大鼠,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,体质量250~300g,许可证号:SCXK(沪)2017-0005。大鼠饲养于江苏省中医药研究院动物中心[SYXK(苏)2021-0025],恒温20~25℃,恒湿50%~70%,明暗交替12h,本研究所有动物实验已获得江苏省中医药研究院动物实验伦理委员会批准。

瓜蒌皮(*Trichosanthes kirilowii* Maxim)、薤白(*Allium macrostemon*)购自江苏华洪药业科技有限公司,按1:1用50%乙醇提取、正丁醇萃取得到瓜蒌薤白汤正丁醇部位。

XBP-1s、ATF-4、phospho-eIF2 α 抗体(货号:40435、11815、3398, Cell Signaling TECHNOLOGY公司);CHOP抗体(批号:15204-1-AP, Proteintech公司),ATF-6、GRP78抗体(货号:ab37149、ab21685, Abcam公司);NT-proBNP ELISA试剂盒(E-EL-R3023, 武汉伊莱瑞特生物科技有限公司);Cys-C ELISA试剂盒(JL11506-96T, 江莱生物)。

电泳仪(PowerPac Basic, Bio-Rad);荧光PCR(QuantStudio DX, Thermo);凝胶成像系统(5200, Tanon);小动物呼吸机(ALC-V8S, 上海奥尔科特生物科技有限公司);透射电镜(HT7700, 日立)。

1.2 方法

1.2.1 动物造模及分组

按文献[2]方法,采用10%水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,仰卧位固定,气管插管,小动物呼吸机辅助呼吸。沿胸骨左缘第3、4肋间隙切开皮肤,钝性分离肌

肉,暴露心脏,距离主动脉约2/3位置,用6-0线结扎左冠状动脉前降支,之后逐层缝合胸壁。假手术组大鼠除不结扎外,其余操作同造模组。

术后72h将造模大鼠24只随机分为模型组和瓜蒌薤白汤高、低剂量组,其中瓜蒌薤白汤高、低剂量组分别给予灌胃瓜蒌薤白汤正丁醇部位12、6g/kg,给药容积为10mL/kg,假手术组($n=8$)和模型组给予等体积生理盐水,连续给药10周。

1.2.2 生化指标检测

末次给药后1h,麻醉动物后腹主动脉采血,离心分离血清后-80℃保存。按试剂盒说明书操作,ELISA法检测血清中NT-proBNP、Cys-C的含量。

1.2.3 组织病理学检测

取血后,动物开胸、开腹,取出心脏、肾脏组织,置于4%多聚甲醛固定,按标准步骤对心、肾组织切片进行HE和Masson染色,光学显微镜观察并照相。

1.2.4 超微病理学检测

取2mm×2mm×1mm大小心脏和肾脏组织块,冰生理盐水冲洗后立即投入电镜固定液中室温固定2h,再转移至4℃保存。制成电镜观察标本,利用透射电镜观察内质网超微结构,并进行图像采集。

1.2.5 RT-PCR检测collagen I、collagen III mRNA表达

称取50~80mg冻存心脏或肾脏组织于EP管中,加入Trizol研磨,氯仿抽提,异丙醇沉淀,采用HiScript III RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)试剂盒逆转录为cDNA,再按照Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix试剂盒说明书进行PCR扩增。以GAPDH作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算出目的基因mRNA的相对表达量。

目的基因collagen I上游引物为5'-GCTGCATACACAATGGCCTA-3',下游引物为5'-CTTCTGGG-CAGAAAGGACAG-3',预计扩增片段227bp;collagen III上游引物为5'-CAAGTCTGGAGTCGGAGGAA-3',下游引物为5'-ATGGACCAATAGCACCAGGA-3',预计扩增片段230bp;GAPDH上游引物为5'-GATCGTGG-AAGGGCTAATGA-3',下游引物为5'-GAGCTCTGGATGACTTTGC-3',预计扩增片段234bp。

1.2.6 Western blot检测ERS相关蛋白的表达

取20mg冻存心脏或肾脏组织,RIPA裂解30min,BCA法测定蛋白浓度,100℃水浴变性10min,每孔加入等量蛋白样品(10~30 μ g),采用SDS-PAGE凝胶电泳,转膜,封闭,分别加入GRP78、CHOP、p-eIF2 α 、ATF-4、ATF-6、XBP-1s抗体4℃过夜,室温孵育二

抗1 h, ECL显影, 凝胶成像系统中成像并分析结果, 以GAPDH为内参, 检测目的蛋白表达情况。

1.2.7 统计学方法

采用GraphPad Prism 8软件进行统计分析, 采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血清中NT-proBNP、Cys-C水平比较

造模10周后, 模型组大鼠血清中NT-proBNP、Cys-C的水平明显升高, 与假手术组比较差异有统计学意义($P < 0.01$); 连续给药10周, 与模型组比较, 瓜蒌薤白汤高、低剂量组NT-proBNP、Cys-C含量明显降低($P < 0.01$)。提示慢性心衰大鼠心脏、肾脏功能发生明显损害, 瓜蒌薤白汤可明显保护由慢性心衰导致的II型CRS大鼠的心、肾功能。结果见表1。

2.2 各组大鼠心、肾组织病理变化情况比较

HE和Masson染色结果显示, 假手术组的心肌细胞结构清晰, 间隙均匀, 排列规则, 细胞核呈椭圆形或扁长形, 大小形态正常; 模型组的心肌细胞出现坏死, 排列紊乱, 胞核不规则, 肌纤维断裂, 有大量炎性细胞浸润和成纤维细胞增生, 蓝色胶原纤维沉积增多, 纤维化程度增强。与模型组比较, 瓜蒌薤白汤高、低剂量组心肌纤维排列相对规则, 细胞坏死和炎性细胞浸润有不同程度的改善, 胶原纤维沉积减少。

假手术组的肾小球基底膜完整, 大小形态正常, 肾小管结构清晰、排列紧密; 模型组大鼠的肾小管扩张, 肾小球萎缩, 肾间质中可见广泛的蓝色胶原沉积。瓜

蒌薤白汤高、低剂量组肾小管上皮细胞脱落减少, 炎性细胞浸润有所改善, 肾间质纤维化程度显著减轻。结果见图1、2。

2.3 各组大鼠心脏、肾脏组织内质网超微结构的比较

心脏、肾脏电镜观察发现, 假手术组细胞结构清晰, 细胞核基本呈圆形, 粗面内质网呈轨道样致密、连贯排列, 核糖体附着在内质网表面; 模型组心、肾组织内质网肿胀, 断裂, 连贯性破坏, 核糖体脱落; 与模型组相比, 瓜蒌薤白汤高、低剂量组心、肾组织中内质网结构基本恢复正常。表明瓜蒌薤白汤可减轻II型CRS内质网损伤, 保持内质网结构的完整性。结果见图3。

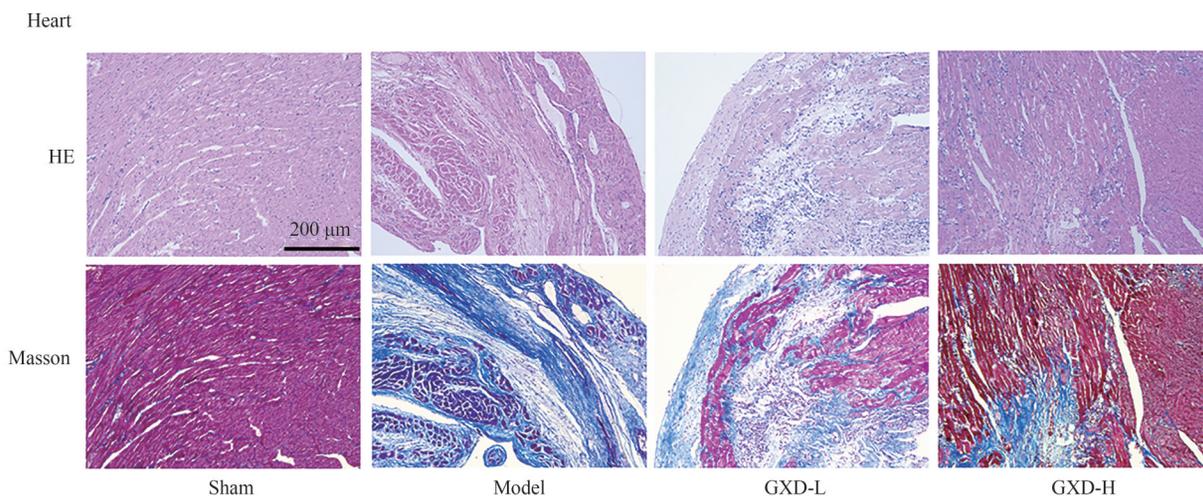
2.4 各组大鼠心脏、肾脏I、III型胶原mRNA表达水平比较

采用RT-PCR法对II型CRS大鼠Col I、Col III的表达情况进行检测。与假手术组比较, 模型组心脏、肾脏胶原表达水平显著增高($P < 0.01$); 与模型组比较, 瓜蒌薤白汤组剂量依赖性地降低了Col I、Col III的表达水平($P < 0.01$)。表明瓜蒌薤白汤对II型CRS中心脏、肾脏的胶原沉积有明显的改善作用。结果见表2。

表1 各组大鼠血清NT-proBNP、Cys-C含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NT-proBNP/(pg/mL)	Cys-C/(ng/mL)
假手术组	8	963.93 ± 105.00	1.09 ± 0.15
模型组	8	2789.32 ± 247.65 [#]	2.31 ± 0.24 [#]
瓜蒌薤白汤低剂量组	8	2340.99 ± 243.83 ^{**}	1.88 ± 0.27 ^{**}
瓜蒌薤白汤高剂量组	8	2191.51 ± 108.94 ^{**}	1.77 ± 0.24 ^{**}

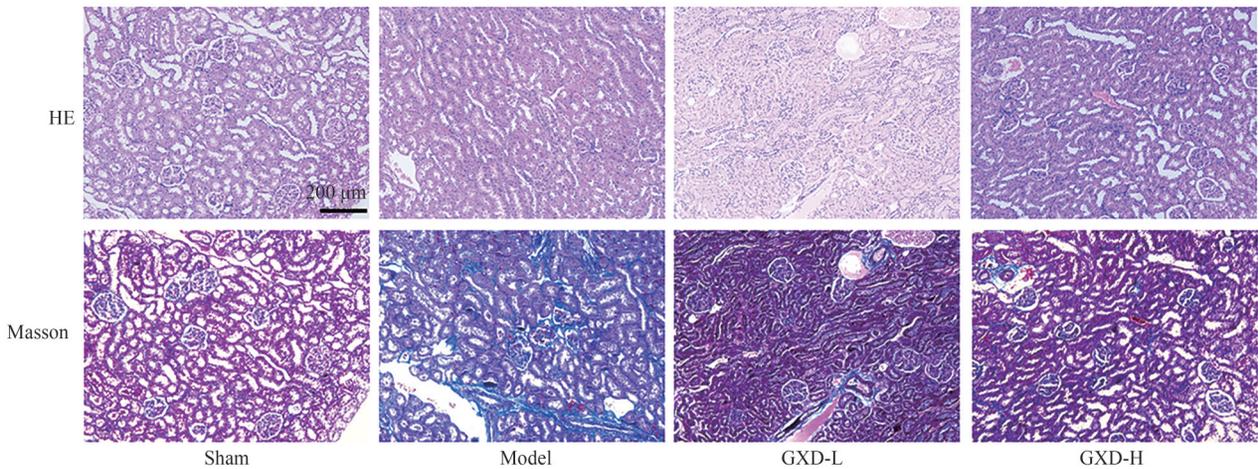
注: 与假手术组比较, [#] $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{**} $P < 0.01$ 。



注: Sham为假手术组; Model为模型组; GXD-L为瓜蒌薤白汤低剂量组; GXD-H为瓜蒌薤白汤高剂量组。

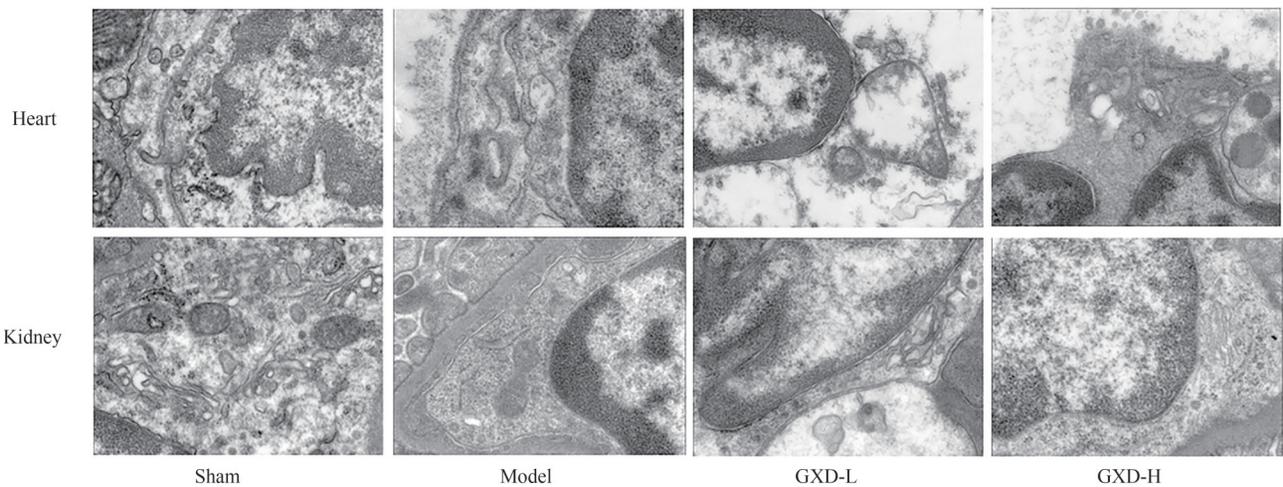
图1 各组大鼠心脏HE和Masson染色图(×100)

Kidney



注: Sham为假手术组; Model为模型组; GXD-L为瓜蒌薤白汤低剂量组; GXD-H为瓜蒌薤白汤高剂量组。

图2 各组大鼠肾脏 HE 和 Masson 染色图(×100)



注: Sham为假手术组; Model为模型组; GXD-L为瓜蒌薤白汤低剂量组; GXD-H为瓜蒌薤白汤高剂量组。

图3 各组大鼠心脏、肾脏内质网结构图(×12 000)

表2 各组大鼠 I、III 型胶原 mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	心		肾	
		Col I	Col III	Col I	Col III
假手术组	3	1.000 ± 0.020	1.002 ± 0.068	1.007 ± 0.144	1.023 ± 0.278
模型组	3	10.750 ± 0.701 ^{##}	13.000 ± 0.371 ^{##}	12.290 ± 3.084 ^{##}	9.259 ± 0.488 ^{##}
瓜蒌薤白汤低剂量组	3	2.734 ± 0.040 ^{**}	2.300 ± 0.159 ^{**}	5.427 ± 0.845 ^{**}	3.805 ± 0.302 ^{**}
瓜蒌薤白汤高剂量组	3	2.287 ± 0.059 ^{**}	1.789 ± 0.110 ^{**}	4.059 ± 1.075 ^{**}	2.554 ± 0.260 ^{**}

注:与假手术组比较,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{**} $P < 0.01$ 。

2.5 各组大鼠心脏、肾脏组织中内质网应激通路相关蛋白表达水平比较

Western blot 结果显示,与假手术组比较,模型组心、肾组织中 ATF-6、GRP78 BiP、XBP-1s、ATF-4、p-eIF2 α 、CHOP 等内质网应激通路相关蛋白的表达水平明显上调($P < 0.01$)。与模型组比较,给药组心、

肾组织中 ATF-6、GRP78 BiP、XBP-1s、ATF-4、p-eIF2 α 、CHOP 等蛋白的表达水平显著下调($P < 0.05 \sim 0.01$)。表明瓜蒌薤白汤对 II 型心肾综合征大鼠心、肾组织中的内质网应激通路相关蛋白有一定的调控作用,通过维持内质网稳态,从而改善心、肾功能。结果见表 3、表 4 和图 4。

表3 各组大鼠心脏ERS相关蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

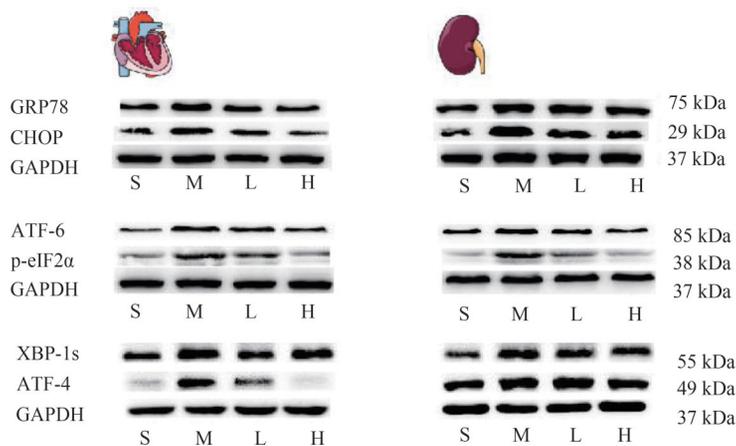
组别	n	GRP78	CHOP	ATF-6	p-eIF2 α	XPB-1s	ATF-4
假手术组	3	1.000 \pm 0.008	1.000 \pm 0.012	1.000 \pm 0.019	1.000 \pm 0.013	1.000 \pm 0.030	1.000 \pm 0.012
模型组	3	2.253 \pm 0.022 ^{##}	1.802 \pm 0.019 ^{##}	1.977 \pm 0.021 ^{##}	4.401 \pm 0.041 ^{##}	6.583 \pm 0.096 ^{##}	2.272 \pm 0.025 ^{##}
瓜蒌薤白汤低剂量组	3	2.143 \pm 0.013 ^{**}	1.462 \pm 0.021 ^{**}	1.314 \pm 0.023 ^{**}	4.430 \pm 0.059	4.849 \pm 0.120 ^{**}	2.153 \pm 0.017
瓜蒌薤白汤高剂量组	3	0.992 \pm 0.014 ^{**}	1.186 \pm 0.002 ^{**}	0.998 \pm 0.014 ^{**}	3.770 \pm 0.022 ^{**}	1.858 \pm 0.030 ^{**}	1.066 \pm 0.125 ^{**}

注:与假手术组比较,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{**} $P < 0.01$ 。

表4 各组大鼠肾脏ERS相关蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	GRP78	CHOP	ATF-6	p-eIF2 α	XPB-1s	ATF-4
假手术组	3	1.000 \pm 0.009	1.000 \pm 0.059	1.000 \pm 0.022	1.000 \pm 0.061	1.000 \pm 0.028	1.000 \pm 0.037
模型组	3	1.322 \pm 0.031 ^{##}	2.753 \pm 0.079 ^{##}	1.424 \pm 0.041 ^{##}	2.099 \pm 0.041 ^{##}	2.029 \pm 0.051 ^{##}	1.654 \pm 0.038 ^{##}
瓜蒌薤白汤低剂量组	3	1.351 \pm 0.010	2.292 \pm 0.040 ^{**}	1.261 \pm 0.027 ^{**}	1.696 \pm 0.033 ^{**}	1.896 \pm 0.026	1.255 \pm 0.007 ^{**}
瓜蒌薤白汤高剂量组	3	1.181 \pm 0.015 ^{**}	1.852 \pm 0.046 ^{**}	1.054 \pm 0.024 ^{**}	1.171 \pm 0.061 ^{**}	1.701 \pm 0.028 ^{**}	1.082 \pm 0.032 ^{**}

注:与假手术组比较,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{**} $P < 0.01$ 。



注:S为假手术组;M为模型组;L为瓜蒌薤白汤低剂量组;H为瓜蒌薤白汤高剂量组。

图4 各组大鼠ERS相关蛋白表达图

3 讨论

瓜蒌薤白汤主治胸痹之症,包括胸痛彻背、喘息咳唾、短气等症,现代临床用于治疗冠心病、心绞痛、心肌梗死等心血管疾病。本课题组前期研究表明瓜蒌薤白汤具有抗慢性心衰作用^[3-4],进一步研究发现其可明显改善Ⅱ型心肾综合征大鼠心肌纤维化和肾纤维化程度,保护心、肾功能,其机制可能与抑制内皮/上皮-间质转化(EndMT/EMT)有关^[5]。本研究在前期研究的基础上,通过构建心肾综合征大鼠模型进一步探讨瓜蒌薤白汤对Ⅱ型心肾综合征的影响及其可能的机制。

NT-proBNP是心力衰竭诊断的重要生物标志物,其表达水平与慢性心力衰竭的严重程度呈正相关^[6-7];Cys-C是反映肾小球滤过率的内源性标志物,肾小球损伤时即可发生明显变化,NT-proBNP和Cys-C均升高的患者处于预后相对危险的状态,两者结合可以作为临床判断心力衰竭和肾功能损伤预后的指标^[8-10]。本研究结果表明,瓜蒌薤白汤组NT-proBNP、

Cys-C水平显著低于Ⅱ型CRS模型组,表明其对心脏、肾脏功能有一定的保护作用,经过治疗后,心、肾功能得到了明显的恢复。

真核细胞内质网结构是重要的细胞器,主要有粗面和滑面内质网两种基本类型。附着有核糖体的粗面内质网主要负责分泌蛋白质和肽类激素的合成,无核糖体附着的滑面内质网主要负责蛋白质的运输。当机体处于危险情况下,则会启动内质网应激反应,起初的未折叠蛋白反应(unfold protein response, UPR)是为了保护机体,长时间的UPR造成不可逆损伤,细胞稳态难以维持。未折叠蛋白持续的蓄积,造成蛋白激酶RNA样内质网激酶(protein-kinase RNA-like ER kinase, PERK)、活化转入因子-6(activating transcription factor-6, ATF-6)及肌醇依赖酶1(inositol requiring 1, IRE1)等与葡萄糖调节蛋白78(glucose-regulated protein 78, GRP78)解离,进而IRE1-XBP1、PERK-eIF2 α 、ATF4下游相关通路被活

化,而GRP78的水平异常升高,UPR进一步加重,最终以上述三条信号通路为主激活CHOP,细胞内质网稳态失衡,功能紊乱^[11-12]。

现已证实,ERS在心血管和肾脏疾病发生过程中起重要介导作用。目前研究表明ERS是心肌梗死、心肌肥厚、动脉粥样硬化、心力衰竭、高血压等心血管疾病发病的重要细胞分子机制,亦是心血管疾病治疗的新靶点^[13-14]。内质网应激3条信号通路途径均参与诱导心肌细胞凋亡,提示ERS可能与心肌梗死后心力衰竭的心肌细胞凋亡有关^[15]。ERS诱导GRP78促使IRE1-XBP1、PERK-eIF2 α 、ATF-4通路活化,最终导致心肌细胞凋亡而发生心力衰竭,因此,通过抑制以上蛋白表达可减轻细胞凋亡来治疗心力衰竭^[16]。内质网也可以协助线粒体进行Ca²⁺的运输,所以内质网功能异常导致心肌细胞线粒体功能障碍。大量研究表明内质网应激参与了肾小管上皮细胞、肾脏足细胞以及系膜细胞的损伤过程,可能是肾脏疾病的重要机制之一,肾损伤时GRP78及CHOP蛋白水平显著增高,过度的内质网应激通过激活凋亡通路触发细胞凋亡,进一步促进肾小球的损伤;内质网应激介导的肾小管细胞凋亡可能是肾间质损伤的潜在机制,通过上调肾小管上皮细胞GRP78表达激活Caspase-12导致细胞凋亡^[17-18]。因此,ERS作为机体对有害刺激应答的重要通路在心脏、肾脏疾病进展中发挥重要的调控作用。本研究电镜检查发现,II型CRS模型组心脏、肾脏的内质网结构严重破坏,瓜蒌薤白汤对内质网结构形态有显著改善作用。Western blot结果表明,模型组内质网应激通路上的相关蛋白ATF-6、GRP78、XBP-1s、ATF-4、p-eIF2 α 、CHOP均有明显的上调作用,而瓜蒌薤白汤对以上蛋白均有显著的下调作用。结果提示内质网应激介导了II型心肾综合征的心、肾损伤,瓜蒌薤白汤对心、肾的保护作用可能是通过维持内质网稳态、下调ERS通路相关蛋白表达实现的。

综上所述,本研究通过结扎冠状动脉前降支复制II型心肾综合征大鼠模型,发现瓜蒌薤白汤可能通过抑制内质网应激实现对心脏、肾脏的保护作用,下一步本课题组将在细胞水平运用基因敲除技术对相关机制进行详细探讨。

【参考文献】

[1] DE JAGER D J, VERVLOET M G, DEKKER F W. Noncardiovascular mortality in CKD: an epidemiological perspective [J]. *Nature Reviews Nephrology*, 2014, 10(4): 208-214.
[2] 李娟, 丁永芳, 葛海燕, 等. 冠状动脉结扎致心肌纤维化大鼠模型的建立[J]. *中国实验动物学报*, 2012, 20(5): 1-4.

[3] DING Y F, PENG Y R, LI J, et al. Gualou Xiebai Decoction prevents myocardial fibrosis by blocking TGF- β /Smad signalling [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2013, 65(9): 1373-1381.
[4] DING Y F, PENG Y R, SHEN H, et al. Gualou Xiebai Decoction inhibits cardiac dysfunction and inflammation in cardiac fibrosis rats [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2015, 16(1): 1-8.
[5] 张云云, 张小羽, 王姗姗, 等. 基于内皮/上皮-间质转化探讨瓜蒌薤白汤治疗II型心肾综合征的作用机制[J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(6): 1173-1181.
[6] 王伟佳, 张秀明, 王前, 等. NT-proBNP和BNP检测在急性脑梗死合并心力衰竭患者的诊断性能比较研究[J]. *中华检验医学杂志*, 2012, 35(10): 890-893.
[7] 王魏魏, 陈彦, 姜婷, 等. 评价BNPNT-proBNP对心力衰竭诊断价值的Meta分析[J]. *中国急救医学*, 2015, 35(5): 418-425.
[8] DELGADO C, BAWEJA M, CREWS D C, et al. A unifying approach for GFR estimation: recommendations of the NKF-ASN task force on reassessing the inclusion of race in diagnosing kidney disease [J]. *Am J Kidney Dis*, 2022, 79(2): 268-288.
[9] 李岗峰, 李刘文, 刘璐. 慢性心力衰竭患者血清内源性Apela, NT-proBNP及Cys C水平与并发肾功能不全的相关性分析[J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(3): 167-171.
[10] 李晓龙, 赵瑛, 周立新, 等. 血清NT-proBNP联合胰岛素抵抗指数对老年2型糖尿病合并射血分数保留心力衰竭的诊断价值[J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42(6): 1326-1329.
[11] SHI F, WANG Z, WU Q, et al. Iron deficiency promotes aortic media degeneration by activating endoplasmic reticulum stress-mediated IRE1 signaling pathway [J]. *Pharmacol Res*, 2022, 183: 106366.
[12] CHEN X, CUBILLOS-RUIZ J R. Endoplasmic reticulum stress signals in the tumour and its microenvironment [J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(2): 71-88.
[13] MOON S Y, KIM H S, NHO K W, et al. Endoplasmic reticulum stress induces epithelial-mesenchymal transition through autophagy via activation of C-Src kinase [J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2014, 126(3): 127-40.
[14] REN J, BI Y, SOWERS J R, et al. Endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response in cardiovascular diseases [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2021, 18(7): 499-521.
[15] ZUO S, KONG D, WANG C, et al. CRTH2 promotes endoplasmic reticulum stress-induced cardiomyocyte apoptosis through m-calpain [J]. *EMBO Mol Med*, 2018, 10(3): e8237.
[16] HAMID T, GUO S Z, KINGERY J R, et al. Cardiomyocyte NF- κ B p65 promotes adverse remodelling, apoptosis, and endoplasmic reticulum stress in heart failure [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 89(1): 129-138.
[17] PARK S J, LI C, CHEN Y M. Endoplasmic reticulum calcium homeostasis in kidney disease: pathogenesis and therapeutic targets [J]. *Am J Pathol*, 2021, 191(2): 256-265.
[18] CYBULSKY A V. Endoplasmic reticulum stress, the unfolded protein response and autophagy in kidney diseases [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13(11): 681-696.

(收稿日期: 2023-07-11)

Regulation of N – Butanol Fraction of Gualou Xiebai Decoction on Endoplasmic Reticulum Stress in Rats with Type II Cardiorenal Syndrome

LIU Yangyang^{1,2}, ZHANG Yunyun^{1,2}, LI Jie^{1,2}, DING Yongfang^{1,2✉}, PENG Yunru^{1,2}

(1. Hospital of Integrative Chinese and Western Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China; 2. Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

【Abstract】 Objective: To observe the effect of Gualou Xiebai Decoction (GXD) n – butanol fraction on endoplasmic reticulum stress in rats with type II cardiorenal syndrome, and explore the protective effects of GXD on the heart and kidneys. Methods: Thirty – two healthy male Wistar rats with SPF grade were randomly divided into sham operation group, model group, GXD high – dose and low – dose groups. Except the sham operation group, the other groups were treated with ligation of the anterior descending branch of the left coronary artery to produce the rat model of type II cardio – renal syndrome. The contents of NT – proBNP and Cys – C in serum were detected by ELISA after 10 weeks of administration of the corresponding drugs. Heart and kidney tissues were taken, and cellular morphological changes in the heart and kidneys were observed with HE staining, and collagen deposition and fibrosis degree were detected with Masson staining. The ultrastructure of the endoplasmic reticulum was observed by transmission electron microscopy. RT – PCR was used to determine the levels of collagen type I and III in the heart and kidney tissue. The endoplasmic reticulum related proteins ATF – 6, GRP78, XBP – 1s, ATF – 4, p – eIF2 α and CHOP were detected by Western blot. Results: Compared with the sham surgery group, the levels of NT – proBNP and Cys – C in the serum of rats in the model group significantly increased ($P < 0.01$), and the levels of NT – proBNP and Cys – C in the groups of GXD were significantly lower than those in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, the GXD groups could significantly improve the pathology in the heart and kidney tissues of rats with chronic heart failure. The transmission electron microscopy showed that the endoplasmic reticulum of the model group rats was swollen, broken, and ribosome fell off, and the endoplasmic reticulum of the GXD group basically returned to normal. The RT – PCR results showed that the mRNA expression of type I and III collagen in the heart and kidney of the model group was significantly higher than that of the sham group, while that of GXD high – dose and low – dose groups was significantly lower than that of the model group ($P < 0.01$). The expressions of the endoplasmic reticulum – related proteins ATF – 6, GRP78, XBP – 1s, ATF – 4, p – eIF2 α and CHOP were significantly lower in the GXD group than those in the model group. Conclusion: Gualou Xiebai Decoction has obvious protective effects on the heart and kidney of type II cardiorenal syndrome rats, and this effect may be related to the inhibition of endoplasmic reticulum stress.

【Key words】 Gualou Xiebai Decoction; Type II cardiorenal syndrome; Endoplasmic reticulum stress