

疏利降浊方对尿毒症心肌病大鼠心肌细胞焦亡的影响

王艳文¹, 陈丽名², 牛锐², 屈杰², 李小会^{1,2*}

(1. 陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712000; 2. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712000)

摘要: **目的** 观察疏利降浊方对尿毒症心肌病 (UCM) 大鼠心功能的保护作用及机制。**方法** 采用 5/6 肾切除术建立 UCM 模型, 将造模成功的大鼠随机分为模型组、缬沙坦组 (8.33 mg/kg) 和疏利降浊方低、中、高剂量组 (7.19、14.38、28.76 g/kg), 另设假手术组, 共给药 8 周。给药结束后, 心脏彩超测量大鼠左心室舒张末期内径 (LVEDD)、左心室收缩末期内径 (LVESD)、射血分数 (EF)、缩短分数 (FS); 检测全心质量指数 (HMI)、左室质量指数 (LVMI); 检测肾功能 (血肌酐、尿素氮)、血红蛋白水平; 透射电镜观察心肌细胞线粒体; TUNEL 染色检测心肌细胞 DNA 损伤情况; ELISA 检测血清 IL-1 β 、IL-18、BNP 水平; RT-qPCR 及 Western blot 法检测大鼠心肌组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β mRNA、蛋白表达。**结果** 与假手术组比较, 模型组大鼠血肌酐、尿素氮水平升高 ($P<0.01$), 血红蛋白水平降低 ($P<0.01$); 心肌细胞胶原纤维排列紊乱, 线粒体严重肿胀, DNA 损伤严重; EF、FS 降低 ($P<0.05$), LVEDD、LVESD 增加 ($P<0.01$); HMI、LVMI 升高 ($P<0.01$); 血清 IL-1 β 、IL-18、BNP 水平升高 ($P<0.01$); 心肌细胞焦亡水平升高 ($P<0.01$), NLRP3、Caspase-1、IL-1 β mRNA、蛋白表达升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 疏利降浊方高剂量组大鼠血肌酐、尿素氮水平降低 ($P<0.01$), 血红蛋白水平升高 ($P<0.01$); 心肌细胞 DNA 及线粒体损伤减轻; LVEDD、LVESD 缩小 ($P<0.05$, $P<0.01$); HMI、LVMI 降低 ($P<0.01$); 血清 IL-1 β 、IL-18、BNP 水平降低 ($P<0.01$); 心肌细胞焦亡水平降低 ($P<0.01$), NLRP3、Caspase-1、IL-1 β mRNA、蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 疏利降浊方可改善 UCM 大鼠肾、心功能, 抑制左室肥厚及心室重构, 其机制与抑制 NLRP3/Caspase-1 信号通路活化及心肌细胞焦亡有关。

关键词: 疏利降浊方; 尿毒症心肌病; 细胞焦亡; NLRP3/Caspase-1 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)07-2213-08

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.012

Effects of Shuli Jiangzhuo Formula on cardiomyocyte pyroptosis in a rat model of uremic cardiomyopathy

WANG Yan-wen¹, CHEN Li-ming², NIU Rui², QU Jie², LI Xiao-hui^{1,2*}

(1. The Hospital Affiliated to Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China; 2. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China)

ABSTRACT: **AIM** To observe the protective effects and mechanism of Shuli Jiangzhuo Formula on cardiac function in a rat model of uremic cardiomyopathy (UCM). **METHODS** The successful UCM models established by 5/6 nephrectomy were randomly allocated into the model group, the valsartan group (8.33 mg/kg), and the low-dose, medium-dose and high-dose Shuli Jiangzhuo Formula groups (7.19, 14.38, 28.76 g/kg), in contrast to those of the sham operation group, followed by 8 weeks respective drug administration. Upon the completion of the pharmacological intervention, the rats had the left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD), left ventricular end-systolic diameter (LVESD), ejection fraction (EF) and fractional shortening (FS) measured by

收稿日期: 2024-08-28

基金项目: 国家中医优势专科 (肾病科) (国中医药医证函 [2024] 90 号); 陕西省科技厅重点研发计划 (2025SF-YBXM-494); 陕西省中医药管理局科研项目 (2019-ZZ-JC011); 陕西省中医药管理局伤寒学与经方辨治疑难病重点研究室项目 (2018); 咸阳市科技局项目 (L2024-ZDYF-ZDYF-SF-0057); 陕西中医药大学校级高水平重点学科 (伤寒论) (2024)

作者简介: 王艳文 (1994—), 女, 硕士, 住院医师, 从事肾病的基础、临床研究。Tel: 18220024737, E-mail: 273232898@qq.com

* **通信作者:** 李小会 (1972—), 女, 博士, 教授, 主任医师, 从事中医药防治慢性肾脏病的基础、临床研究。Tel: 13891072931, E-mail: jyht20050418@126.com

echocardiography; the whole heart mass index (HMI) and left ventricular mass index (LVMI) detected; the renal function (serum creatinine, blood urea nitrogen) and the hemoglobin concentration detected; the mitochondrial morphology analyzed by observation of cardiomyocyte ultrastructure using transmission electron microscopy; the DNA damage in cardiomyocytes detected by TUNEL staining; the serum levels of IL-1 β , IL-18 and BNP detected by ELISA; and the myocardial mRNA and protein expressions of NLRP3, Caspase-1 and IL-1 β detected by RT-qPCR and Western blot. **RESULTS** Compared with the sham operated controls, the model group demonstrated significant elevation of serum creatinine and urea nitrogen ($P<0.01$); decreased hemoglobin concentration ($P<0.01$); disorganized myocardial collagen fiber architecture, and pronounced mitochondrial swelling with ultrastructural damage; decreased EF and FS ($P<0.05$); increased LVEDD and LVESD ($P<0.01$); increased HMI and LVMI ($P<0.01$); increased levels of serum IL-1 β , IL-18 and BNP ($P<0.01$); increased cardiomyocyte pyroptosis ($P<0.01$); and enhanced mRNA and protein expressions of NLRP3, Caspase-1 and IL-1 β ($P<0.01$). Compared to model group controls, the high-dose Shuli Jiantuo Formula intervention exhibited decreased levels of serum creatinine and urea nitrogen ($P<0.01$); increased hemoglobin concentration ($P<0.01$); reduced DNA fragmentation, alleviated mitochondrial swelling and mitigated ultrastructural damage; reduced LVEDD and LVESD ($P<0.05$, $P<0.01$); decreased HMI and LVMI ($P<0.01$); downregulated levels of serum IL-1 β , IL-18 and BNP ($P<0.01$); decreased cardiomyocyte pyroptosis ($P<0.01$); and inhibited mRNA and protein expressions of NLRP3, Caspase-1 and IL-1 β ($P<0.05$, $P<0.01$). **CONCLUSION** Shuli Jiangzhuo Formula demonstrates dual cardiorenal protective effects in UCM rats through suppression of the left ventricular hypertrophy progression and inhibition of the adverse ventricular remodeling processess. The therapeutic efficacy primarily stems from targeted suppression of NLRP3/Caspase-1 signaling pathway activation and substantial attenuation of cardiomyocyte pyroptosis cascade.

KEY WORDS: Shuli Jiangzhuo Formula; uremic cardiomyopathy; pyroptosis; NLRP3/Caspase-1 signaling pathway

尿毒症心肌病 (uremic cardiomyopathy, UCM) 是在慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD) 基础上发生的心脏结构重塑和心肌病变^[1], 也是导致 CKD 患者死亡的主要原因^[2], 表现为左心室肥厚 (left ventricular hypertrophy, LVH)、心功能障碍及心脏纤维化^[3-4], 其中 LVH 是其特征性改变, 超过 70% 的尿毒症患者会出现^[5], 是导致生存率下降的独立危险因素^[6], 病理可见心肌细胞肥大、变性、胶原沉积及间质纤维化、心室重塑等^[7]。UCM 发病机制复杂, 与高血压、贫血、容量超负荷、肾素-血管紧张素-醛固酮系统激活及炎症反应、尿毒素、代谢紊乱等有关, 其中炎症反应是重要因素^[8-9], 并且常呈不可逆性进展, 目前仍缺乏有效的防治策略。

细胞焦亡是一种新的细胞程序性死亡方式, 目前研究最多的是 NOD 样受体家族核苷酸结合寡聚化结构域样受体 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein3, NLRP3) 炎症小体-半胱天冬酶 1 (Caspase-1) 介导的细胞焦亡^[10], 参与心脏疾病进展, 故抑制该现象是改善

心肌损伤的重要靶标^[11]。课题组前期证实, 疏利降浊方 (院内制剂名肾康片) 能改善慢性肾衰患者和模型动物肾功能, 减轻肾脏病理损害^[12-16], 但该方防治 UCM 的作用机制尚不清楚。因此, 本研究采用 5/6 肾切除术建立 UCM 大鼠模型, 从抑制心肌细胞焦亡角度探讨疏利降浊方作用机制。

1 材料

1.1 动物 雄性 SPF 级 SD 大鼠 65 只, 体质量 (180 $\pm$ 20) g, 购于西安交通大学实验动物中心 [实验动物生产许可证号 SCXK (陕) 2018-001], 饲养于陕西中医药大学动物实验室 [实验动物使用许可证号 SCXK (陕) 2021-001]。研究通过陕西中医药大学动物实验伦理委员会批准 (伦理号 SUCMDL20210321001)。

1.2 药材与药物 疏利降浊方由柴胡、炒黄芩、生黄芪、制附子、酒大黄、党参、麸炒白术、茯苓、丹参、桂枝组成, 各药材均购于陕西中医药大学附属医院, 加水煎煮, 浓缩至质量浓度分别为 0.719、1.438、2.876 g/mL, 作为低、中、高剂量。缙沙坦胶囊 (北京诺华制药有限公司, 批号

X2972)，加纯水制成混悬液（0.833 mg/mL）。

1.3 试剂 2.5%戊二醛固定液（北京雷根生物技术有限公司，批号 DF-0156）。白介素（interleukin, IL）-1 β 、IL-18、脑钠肽（brain natriuretic peptide, BNP）试剂盒（江苏酶免实业有限公司，批号 38108A、30206、30204）； β -actin（北京博奥森生物技术有限公司，批号 bs0061-R）；BCA 蛋白浓度检测试剂盒（武汉博士德生物工程有限公司，批号 AR0146）；NLRP3 抗体（美国 Affinity Biosciences 公司，批号 DF7438）；Caspase-1、IL-1 β 抗体（美国 Santa Cruz 公司，批号 Sc-398715、Sc-515598）；Trizol 总 RNA 提取试剂、TUNEL 试剂盒（武汉赛维尔生物科技有限公司，批号 G3013、G1502）。

1.4 仪器 JEM-1400 Flash 型透射电子显微镜（日本 JEOL 公司）；RM2255 型石蜡切片机（德国 Leica 公司）；Vevo 2100 小动物超声成像系统（日本 FUJIFILM 公司）；荧光定量 PCR 仪、电泳仪、酶标仪、蛋白免疫印迹（Western blot）凝胶成像分析系统（美国 Bio-Rad 公司）。

2 方法

2.1 造模、分组与给药 大鼠适应性喂养 1 周后随机抽取 10 只，作为假手术组，其余行 5/6 肾切除术建立 UCM 模型。参照文献 [17] 报道，大鼠麻醉前称定体质量，腹腔注射 3%戊巴比妥钠（30 mg/kg）麻醉，切除左肾上下极的 2/3，1 周后将右肾完整摘除；假手术组仅分离肾包膜，术后喂养 16 周，随机抽取 5 只模型大鼠进行肾功能及心脏彩超检查，检验 UCM 造模是否成功。将造模成功的大鼠随机分为模型组、缬沙坦组和疏利降浊方低、中、高剂量组，每组 11 只，假手术组和模型组每天灌胃给予 10 mL/kg 蒸馏水，缬沙坦组每天灌胃给予 8.33 mg/kg 药物，疏利降浊方低、中、高剂量组每天分别灌胃给予 7.19、14.38、28.76 g/kg 药物，连续 8 周。

2.2 标本采集及指标检测 给药 8 周后，每组随机抽取 3 只大鼠进行心脏彩超检查，完成后腹腔注射 3%戊巴比妥钠（30 mg/kg）麻醉，腹主动脉采血，分离血清，于-80℃保存。再取心脏，称定质量，分离左室心肌组织，用于电镜、TUNEL、RT-qPCR、Western blot 检测。

2.2.1 心脏彩超检查 采用超声仪 250 探头（21 MHz）测量大鼠左心室舒张末期内径（left ventricular end diastolic dimension, LVEDD）、左心

室收缩末期内径（left ventricular end systolic dimension, LVESD）、射血分数（ejection fraction, EF）、缩短分数（fractional shortening, FS），取连续 3 个心动周期的平均值。

2.2.2 生化检测 采用全自动生化分析仪检测血红蛋白、尿素氮、血肌酐水平。

2.2.3 心脏质量指数计算 采用电子天平称定全心质量（heart mass, HM）及左心室质量（left ventricular mass, LVM），计算全心质量指数（heart mass index, HMI）和左室质量指数（left ventricular mass index, LVMI），评判左心室重构程度，公式分别为 $HMI = (HM/BM) \times 100\%$ 、 $LVMI = (LVM/BM) \times 100\%$ 。

2.2.4 透射电镜观察心肌组织超微结构 大鼠心肌组织用 2.5%戊二醛固定，0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液（PBS）漂洗，1%四氧化锇固定，漂洗，脱水，包埋聚合，切片，染色，于透射电镜下观察、拍照。

2.2.5 TUNEL 染色检测心肌组织细胞 DNA 损伤情况 大鼠心肌组织经乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、脱蜡水化、蛋白酶 K 修复后，加 50 μ L TUNEL 反应混合液，37℃避光孵育 60 min，PBS 清洗，滴加 100 μ L DAPI 染色液，孵育 20 min，PBS 清洗，抗荧光淬灭剂封片，采集图像。通过 Image J 图像分析软件统计 TUNEL 阳性细胞数与总细胞数，计算阳性率。

2.2.6 ELISA 法检测血清 IL-1 β 、IL-18、BNP 水平 按试剂盒说明书操作，检测大鼠血清 IL-1 β 、IL-18、BNP 水平。

2.2.7 RT-qPCR 法检测心肌组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β mRNA 表达 Trizol 法提取大鼠心肌组织 RNA，逆转录成 cDNA，随后进行 PCR 扩增反应，扩增条件为 95℃ 10 min；95℃ 15 s，60℃ 30 s，共 40 个循环。以 GAPDH 为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目的基因相对表达，引物由武汉赛维尔生物科技有限公司合成，序列见表 1。

2.2.8 Western blot 法检测心肌组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白表达 提取大鼠心肌组织蛋白，BCA 法测定蛋白浓度，经上样、电泳、转膜、封闭后，加一抗 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β （1：1 000）、 β -actin（1：5 000），4℃孵育过夜，次日加二抗（1：5 000），室温置于摇床上孵育 90 min。ECL 法发光、显影，通过 Image J 软件分析条带灰度值，计算其与内参 β -actin 灰度值的比值。

表 1 引物序列
Tab. 1 Primer sequences

基因	引物序列	片段长度/bp
NLRP3	正向 5'-GATTTCTCCACAACACCCAA-3'	112
	反向 5'-AGTCTGGAAGAACAGGCAACAT-3'	
Caspase-1	正向 5'-TGCCTGGTCTTGTGACTTGGAG-3'	132
	反向 5'-TGCTCTGGGAAGAGGTAGAAACG-3'	
IL-1β	正向 5'-GAACAACAAAAATGCCTCGTGC-3'	264
	反向 5'-GACAAACCGCTTTTCCATCTTCT-3'	
GAPDH	正向 5'-CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG-3'	138
	反向 5'-GGTGAAGAATGGGAGTTGCT-3'	

2.3 统计学分析 通过 SPSS 25.0 软件进行处理，数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差

分析，2 组间比较采用独立样本 t 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 疏利降浊方对 UCM 大鼠心脏结构及功能的影响 与假手术组比较，模型组大鼠 EF、FS 降低 ($P<0.05$)，LVEDD、LVESD 增加 ($P<0.01$)，提示 5/6 肾切除后左心室扩大并有心功能减退，即造模成功；与模型组比较，各给药组大鼠 EF、FS 无明显变化 ($P>0.05$)，缬沙坦组和疏利降浊方高剂量组大鼠 LVEDD、LVESD 减小 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)，左心室扩大得到改善，见图 1、表 2。

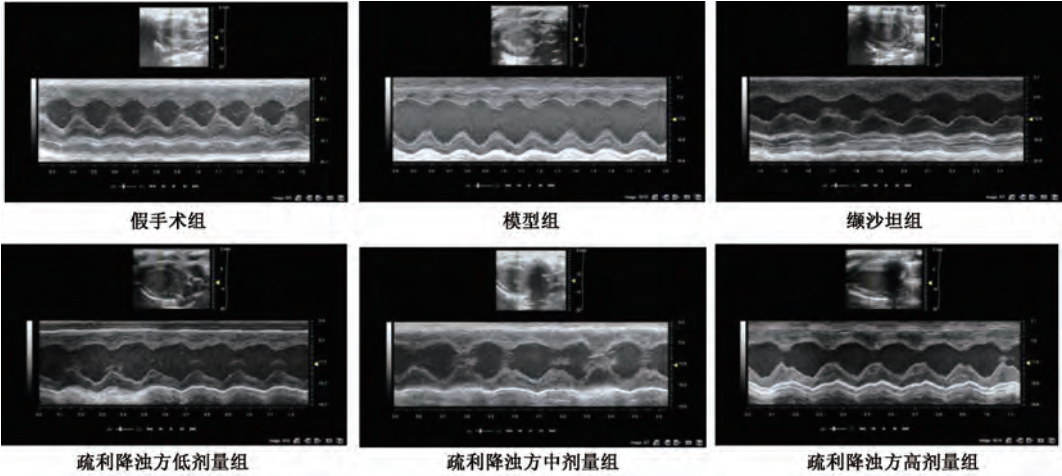


图 1 各组大鼠心脏超声检查
Fig. 1 Ultrasonic examination of rat heart in each group

表 2 各组大鼠 EF、FS、LVEDD、LVESD 值比较 ($\bar{x}\pm s$ ， $n=3$)
Tab. 2 Comparison of EF, FS, LVEDD and LVESD values in rats in each group ($\bar{x}\pm s$ ， $n=3$)

组别	EF/%	FS/%	LVEDD/mm	LVESD/mm
假手术组	87.26±8.37	58.97±10.74	5.59±0.39	2.31±0.81
模型组	66.81±8.28 [#]	38.62±6.64 [#]	7.80±0.63 ^{##}	4.81±0.61 ^{##}
缬沙坦组	80.89±9.60	51.78±11.23	6.67±0.74 [*]	3.14±0.60 ^{**}
疏利降浊方低剂量组	74.96±6.61	45.44±6.16	7.35±0.20	3.99±0.49
疏利降浊方中剂量组	76.43±10.94	47.53±11.55	7.34±0.63	3.80±0.56
疏利降浊方高剂量组	79.74±8.47	49.94±8.38	6.30±0.27 ^{**}	3.31±0.77 [*]

注：与假手术组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

3.2 疏利降浊方对 UCM 大鼠血肌酐、尿素氮、血红蛋白水平的影响 与假手术组比较，模型组大鼠血肌酐、尿素氮水平升高 ($P<0.01$)，血红蛋白水平降低 ($P<0.01$)，表明造模成功，并且出现肾性贫血；与模型组比较，缬沙坦组和疏利降浊方各剂量组大鼠血肌酐、尿素氮水平均降低 ($P<0.01$)，血红蛋白升高 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)，见表 3。

3.3 疏利降浊方对 UCM 大鼠血清 IL-1β、IL-18、BNP 水平的影响 与假手术组比较，模型组大鼠血清 IL-1β、IL-18、BNP 水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，缬沙坦组和疏利降浊方各剂量组大鼠血清 IL-1β、IL-18、BNP 水平降低 ($P<0.01$)，见表 4。

3.4 疏利降浊方对 UCM 大鼠心脏质量指数的影响 与假手术组比较，模型组大鼠 BM 降低 ($P<0.01$)，HM、LVM 增加 ($P<0.01$)，HMI、LVMI 升高 ($P<0.01$)，提示出现左心室肥厚；与模型组比较，缬沙坦组和疏利降浊方各剂量组大鼠 BM 增加 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)，HM、LVM 减少 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)，HMI、LVMI 降低 ($P<0.01$)，见表 5。

表 3 各组大鼠血肌酐、尿素氮、血红蛋白水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab. 3 Comparison of serum creatinine, urea nitrogen and hemoglobin levels in rats in each group ($\bar{x}\pm s$)				
组别	动物数/只	血肌酐/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	尿素氮/($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	血红蛋白/($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
假手术组	10	31.50±3.34	6.44±0.52	161.50±8.67
模型组	8	162.75±28.14 ^{##}	32.03±7.99 ^{##}	116.00±12.13 ^{##}
缬沙坦组	9	82.78±7.45 ^{**}	16.45±0.93 ^{**}	139.56±6.21 ^{**}
疏利降浊方低剂量组	9	110.89±15.46 ^{**△△}	20.11±2.68 ^{**△△}	127.56±14.15 ^{*△△}
疏利降浊方中剂量组	9	89.78±12.10 ^{**}	17.28±1.18 ^{**}	138.78±6.76 ^{**}
疏利降浊方高剂量组	9	80.44±11.52 ^{**}	15.63±2.85 ^{**}	141.33±7.23 ^{**}

注：与假手术组比较,^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ ；与缬沙坦组比较,^{△△} $P<0.01$ 。

表 4 各组大鼠血清 IL-1β、IL-18、BNP 水平比较 (ng/L, $\bar{x}\pm s$)

Tab. 4 Comparison of serum IL-1β, IL-18 and BNP levels in rats in each group (ng/L, $\bar{x}\pm s$)				
组别	动物数/只	IL-1β	IL-18	BNP
假手术组	10	39.83±2.40	137.48±5.17	76.09±4.13
模型组	8	52.82±1.47 ^{##}	189.30±4.53 ^{##}	101.80±4.05 ^{##}
缬沙坦组	9	45.64±1.20 ^{**}	158.52±3.13 ^{**}	88.76±2.29 ^{**}
疏利降浊方低剂量组	9	49.18±0.87 ^{**△△}	180.16±6.16 ^{**△△}	95.92±3.66 ^{**△△}
疏利降浊方中剂量组	9	47.33±1.87 ^{**△}	166.23±4.65 ^{**△△}	92.16±3.95 ^{**}
疏利降浊方高剂量组	9	45.00±1.33 ^{**}	155.31±6.92 ^{**}	84.76±4.50 ^{**△}

注：与假手术组比较,^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较,^{**} $P<0.01$ ；与缬沙坦组比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$ 。

表 5 各组大鼠心脏质量指数比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab. 5 Comparison of rat cardiac mass index in each group ($\bar{x}\pm s$)						
组别	动物数/只	HM/g	LVM/g	BM/g	HMI/%	LVMI/%
假手术组	10	1.01±0.02	0.51±0.02	464.40±30.78	0.22±0.01	0.11±0.01
模型组	8	1.35±0.10 ^{##}	0.83±0.07 ^{##}	342.00±36.92 ^{##}	0.40±0.02 ^{##}	0.24±0.02 ^{##}
缬沙坦组	9	1.19±0.06 ^{**}	0.63±0.03 ^{**}	384.89±26.92 ^{**}	0.31±0.02 ^{**}	0.16±0.01 ^{**}
疏利降浊方低剂量组	9	1.25±0.09 [*]	0.76±0.03 ^{**△△}	371.89±23.68 [*]	0.34±0.03 ^{**△}	0.20±0.01 ^{**△△}
疏利降浊方中剂量组	9	1.20±0.11 ^{**}	0.64±0.05 ^{**}	376.44±23.58 [*]	0.32±0.03 ^{**}	0.17±0.01 ^{**}
疏利降浊方高剂量组	9	1.17±0.11 ^{**}	0.61±0.06 ^{**}	409.22±23.29 ^{**}	0.28±0.03 ^{**△}	0.15±0.02 ^{**}

注：与假手术组比较,^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ ；与缬沙坦组比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$ 。

3.5 疏利降浊方对 UCM 大鼠心肌细胞及线粒体的影响 假手术组大鼠心肌细胞形态正常，细胞膜完整连续，肌原纤维排列整齐紧密，肌节暗带及 Z 线、M 线清晰，线粒体含量丰富且结构正常；模型组大鼠心肌细胞胶原纤维排列紊乱，肌节收缩，仅剩暗带和 Z 线可见且结构模糊，大量线粒体肿胀，嵴断裂，细胞膜不连续；缬沙坦组和疏利降浊方各剂量组大鼠心肌细胞损伤减轻，细胞形态结构正常，胶原纤维排列紧密，线粒体轻度肿胀，以疏利降浊方高剂量组改善最明显，即细胞膜完整连续，肌节结构完整，仅见少量轻度肿胀的线粒体，见图 2。

3.6 疏利降浊方对 UCM 大鼠心肌组织细胞 DNA 损伤的影响 TUNEL 染色后，焦亡细胞核呈红色荧光，为阳性细胞；DAPI 染色后，总细胞核呈蓝色荧光。与假手术组比较，模型组大鼠心肌组织阳性细胞增多 ($P<0.01$)，提示心肌细胞 DNA 损伤严重，心肌细胞焦亡增加；与模型组比较，缬沙坦组和疏利降浊方中、高剂量组大鼠心肌组织阳性细

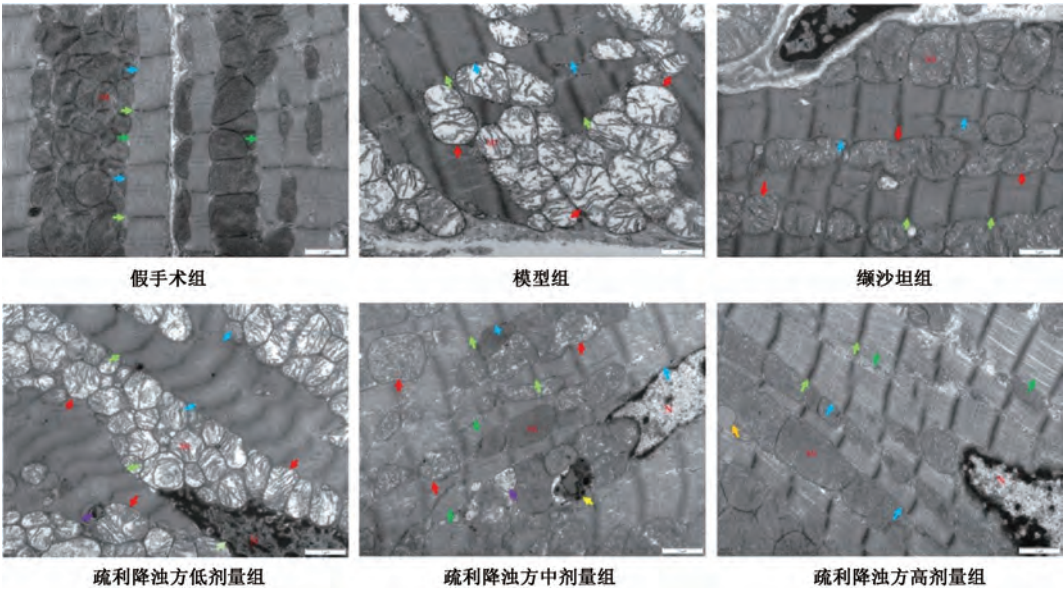
胞减少 ($P<0.05$, $P<0.01$)，心肌 DNA 损伤减轻，见图 3、表 6。

表 6 各组大鼠心肌组织细胞 TUNEL 染色阳性率比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

Tab. 6 Comparison of positive rate of TUNEL staining in rat myocardial tissue cells in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)	
组别	阳性率/%
假手术组	1.00±0.33
模型组	91.95±6.81 ^{##}
缬沙坦组	62.43±11.90 ^{**}
疏利降浊方低剂量组	75.58±12.09
疏利降浊方中剂量组	69.96±12.90 [*]
疏利降浊方高剂量组	51.04±14.77 ^{**}

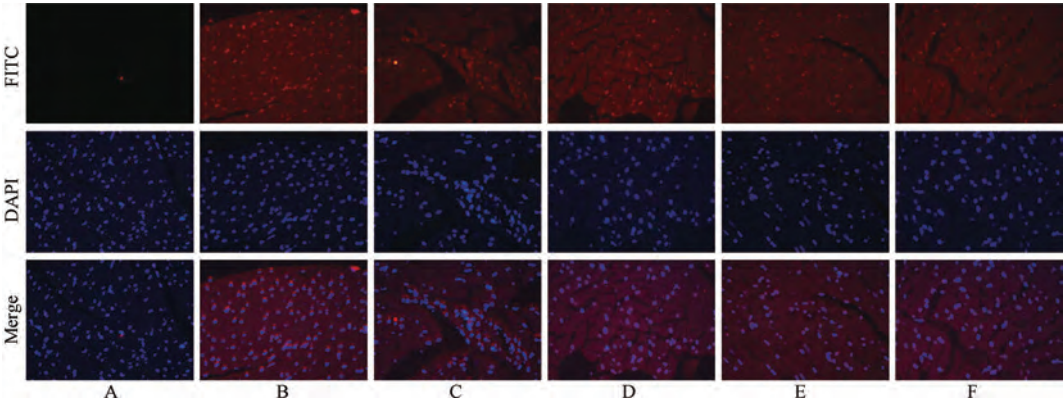
注：与假手术组比较,^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

3.7 疏利降浊方对 UCM 大鼠心肌组织 *NLRP3*、*Caspase-1*、*IL-1β* mRNA 表达的影响 与假手术组比较，模型组大鼠心肌组织 *NLRP3*、*Caspase-1*、*IL-1β* mRNA 表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，疏利降浊方高剂量组大鼠 *NLRP3*、*Caspase-1*、*IL-1β* mRNA 表达降低 ($P<0.05$)，见表 7。



注：N 为细胞核，Mi 为线粒体。红色箭头指示肿胀的线粒体，蓝色箭头指示暗带，浅绿色箭头指示 Z 线，绿色箭头指示 M 线，黄色箭头指示次级溶酶体，橙色箭头指示脂滴，紫色箭头指示自噬，淡黄色箭头指示细胞核皱缩。

图 2 各组大鼠心肌组织电镜超微结构 (×20 000)
Fig. 2 Ultrastructure of rat myocardial tissue in each group (×20 000)



注：A 为假手术组，B 为模型组，C 为缬沙坦组，D~F 分别为疏利降浊方低、中、高剂量组。

图 3 各组大鼠心肌组织细胞 TUNEL 染色
Fig. 3 TUNEL staining of rat myocardial cells in each group

表 7 各组大鼠心肌组织 *NLRP3*、*Caspase-1*、*IL-1β* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Tab. 7 Comparison of mRNA expressions of *NLRP3*, *Caspase-1* and *IL-1β* in rat myocardial tissue in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

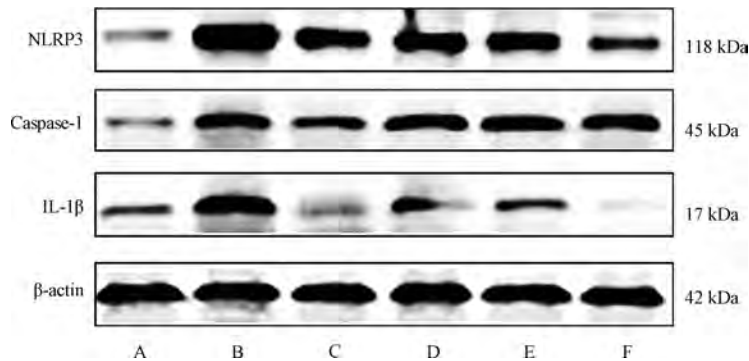
组别	<i>NLRP3</i> mRNA	<i>Caspase-1</i> mRNA	<i>IL-1β</i> mRNA
假手术组	0.96±0.05	0.74±0.16	0.35±0.43
模型组	4.57±0.24 ^{##}	1.72±0.30 ^{##}	3.41±0.63 ^{##}
缬沙坦组	3.47±1.42	1.12±0.47	1.50±1.02
疏利降浊方低剂量组	4.55±0.85	1.31±0.42	2.04±2.25
疏利降浊方中剂量组	3.73±1.11	1.12±0.46	1.76±1.33
疏利降浊方高剂量组	2.99±1.04 [*]	0.93±0.09 [*]	1.19±0.75 [*]

注：与假手术组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ 。

3.8 疏利降浊方对 UCM 大鼠心肌组织 *NLRP3*、*Caspase-1*、*IL-1β* 蛋白表达的影响 与假手术组比较，模型组大鼠 *NLRP3*、*Caspase-1*、*IL-1β* 蛋白表达均升高 ($P<0.01$)，提示炎症通路激活，相关反应增加；与模型组比较，缬沙坦组和疏利降浊方高剂量组大鼠 *NLRP3*、*Caspase-1*、*IL-1β* 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，疏利降浊方中剂量组大鼠 *NLRP3*、*IL-1β* 蛋白表达降低 ($P<0.05$)，见图 4、表 8。

4 讨论

疏利降浊方以真武汤、柴苓汤、大黄附子汤化



注：A 为假手术组，B 为模型组，C 为缬沙坦组，D~F 分别为疏利降浊方低、中、高剂量组。

图 4 各组大鼠心肌组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1β 蛋白条带

Fig. 4 Protein bands of NLRP3, Caspase-1 and IL-1β in rat myocardial tissue in each group

表 8 各组大鼠心肌组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1β 蛋白表达比较 (x̄±s, n=4)

Tab.8 Comparison of protein expressions of NLRP3, Caspase-1 and IL-1β in rat myocardial tissue in each group (x̄±s, n=4)

组别	NLRP3 蛋白	Caspase-1 蛋白	IL-1β 蛋白
假手术组	0.57±0.10	0.47±0.18	0.53±0.06
模型组	0.88±0.13 ^{##}	1.04±0.06 ^{##}	0.95±0.11 ^{##}
缬沙坦组	0.67±0.14 ^{**}	0.89±0.13 [*]	0.73±0.14 [*]
疏利降浊方低剂量组	0.74±0.13	0.95±0.07	0.75±0.10
疏利降浊方中剂量组	0.71±0.03 [*]	0.91±0.07	0.72±0.22 [*]
疏利降浊方高剂量组	0.66±0.06 ^{**}	0.89±0.04 [*]	0.54±0.14 ^{**}

注：与假手术组比较，^{##} P<0.01；与模型组比较，^{*} P<0.05，^{**} P<0.01。

裁组成，方中柴胡、黄芩升降降浊，燥湿解毒，通利三焦水火气机；黄芪健脾补气，利尿消肿；酒大黄通腑泻浊，活血祛瘀；制附子温补脾肾，化气行水，既助大黄行水化湿，又制约其苦寒之性；丹参通行血脉，活血祛瘀；党参、白术、茯苓健脾补中，渗利水湿；桂枝通阳化气。诸药合用，以温肾健脾，疏利三焦，降浊排毒，从而取得较好疗效。

左心室肥厚是 CKD 最危险、最常见的心血管并发症之一，与患者死亡、心力衰竭、心律失常等密切相关，也是预测死亡危险度的重要指标。心脏指数增加是心肌肥厚的基本指标，而心脏重量比可反映其重构状况^[18]。岳娟娟等^[19]研究发现，大鼠行 5/6 肾切除术后 8 周，出现心肌肥厚、心功能下降；保靖夫^[20]、买买提艾力·艾则孜等^[21]发现，大鼠行 5/6 肾切除术后 12 周，心脏、左心室质量显著增加，心肌肥大及纤维化相关指标表达升高。本实验共造模 16 周，时间更长，大鼠肾衰竭更重，模型组血肌酐、尿素氮等检测指标比假手术组高 5 倍，并且发现随着疾病进展，模型组心脏功能及结构发生改变，血清 BNP 水平升高，左心室增大及

心肌肥厚，而各给药组血清 BNP 水平、超声 EF、FS、LVEDD、LVESD 均有所改善，提示疏利降浊方可改善 UCM 大鼠心功能及心脏结构变化，抑制左心室肥厚，减轻心肌损伤。

细胞焦亡是近年来发现的一种新的细胞死亡方式，其特征为细胞水肿、胞膜破裂形成膜孔、细胞核固缩、DNA 片段化、细胞内容物释放到胞外，诱发炎症反应^[22]，经典途径为 NLRP3 募集 ASC 衔接蛋白，触发 Caspase-1 前体（pro-Caspase-1）自切割，导致 Caspase-1 活化，活化的 Caspase-1 致细胞膜孔道形成及细胞核 DNA 断裂，启动细胞焦亡^[23]。NLRP3 炎症小体是炎症反应的核心，参与多种心血管疾病进展，Nie 等^[24]发现，NLRP3 介导的细胞焦亡和氧化应激参与心肌缺血/再灌注损伤；岳荣川等^[25]报道，NLRP3 抑制剂 MCC950 可抑制 I/R 心肌细胞 NLRP3 的活化，降低心肌细胞 Caspase-1、IL-1β 蛋白表达，减轻心肌梗死面积；梁国庆等^[26]指出，炎症反应伴随慢性心力衰竭心室重构过程，而 NLRP3 是心血管炎症的重要触发因素和内源性调节因子，其诱导 Caspase-1 活化启动细胞焦亡参与心力衰竭心肌纤维化的病理发展。本研究发现，模型组大鼠心肌组织胶原纤维排列紊乱，肌节收缩，结构模糊，线粒体严重肿胀、空泡化，嵴断裂；心肌组织细胞 DNA 损伤严重，焦亡率明显升高；心肌组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1β 蛋白、mRNA 表达明显升高，提示 UCM 大鼠心肌细胞 NLRP3 炎症通路活化，介导了心肌细胞焦亡，而疏利降浊方干预后，NLRP3、Caspase-1、IL-1β mRNA、蛋白表达均有不同程度的降低，心肌细胞 DNA 损伤减轻，焦亡细胞减少，心肌胶原纤维排列较紧密，线粒体肿胀减轻。

综上所述，疏利降浊方可改善 UCM 大鼠肾功

能及贫血，改善心肾功能，抑制左室肥厚及心室重构，其机制与抑制 NLRP3/Caspase-1 通路活化，抑制心肌细胞焦亡有关。

参考文献：

[1] 许圣淳, 张晓良. sKlotho 保护尿毒症心肌病的机制[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2024, 33(2): 177-181.

[2] Sucharov C C. Paracrine factors in uremic cardiomyopathy[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2020, 5(2): 167-168.

[3] 陈 铖, 邢昌赢, 毛慧娟. 尿毒症心肌病发病机制的新进展[J]. 南京医科大学学报 (自然科学版), 2022, 42(2): 279-285.

[4] Spence J D, Urquhart B L. Cerebrovascular disease, cardiovascular disease, and chronic kidney disease: interplays and influences[J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2022, 22(11): 757-766.

[5] Radhakrishnan A, Pickup L C, Price A M, *et al.* Coronary microvascular dysfunction: a key step in the development of uraemic cardiomyopathy? [J]. *Heart*, 2019, 105 (17): 1302-1309.

[6] Paoletti E, de Nicola L, Gabbai F B, *et al.* Associations of left ventricular hypertrophy and geometry with adverse outcomes in patients with CKD and hypertension[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2016, 11(2): 271-279.

[7] Wang X, Shapiro J I. Evolving concepts in the pathogenesis of uraemic cardiomyopathy[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2019, 15(3): 159-175.

[8] Curaj A, Vanholder R, Loscalzo J, *et al.* Cardiovascular consequences of uremic metabolites: an overview of the involved signaling pathways[J]. *Circ Res*, 2024, 134(5): 592-613.

[9] Junho C V C, Frisch J, Soppert J, *et al.* Cardiomyopathy in chronic kidney disease: clinical features, biomarkers and the contribution of murine models in understanding pathophysiology[J]. *Clin Kidney J*, 2023, 16(11): 1786-1803.

[10] Del Re D P, Amgalan D, Linkermann A, *et al.* Fundamental mechanisms of regulated cell death and implications for heart disease[J]. *Physiol Rev*, 2019, 99(4): 1765-1817.

[11] Zeng C, Wang R, Tan H. Role of pyroptosis in cardiovascular diseases and its therapeutic implications[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(7): 1345-1357.

[12] 李小会. 疏利降浊汤治疗 CRF 大鼠的拆方实验研究[J].

陕西中医学院学报, 2005, 28(2): 55-57.

[13] 杜治宏. 疏利降浊汤治疗慢性肾功能衰竭 30 例[J]. 陕西中医学院学报, 2006, 29(2): 28-30.

[14] 李小会, 雷根平, 潘冬辉. 名老中医杜雨茂教授运用经方辨治慢性肾脏病经验采撷[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2012, 13(2): 101-102.

[15] 李小会, 雷根平, 任艳芸, 等. 肾康片治疗慢性肾功能衰竭 180 例临床观察[J]. 中药材, 2012, 35(4): 672-674.

[16] 李小会, 雷根平, 潘冬辉, 等. 肾康片对慢性肾衰竭微炎症状态及水通道蛋白 2 影响的临床研究[J]. 中成药, 2012, 34(8): 1462-1464.

[17] Wang X, Chaudhry M A, Nie Y, *et al.* A mouse 5/6th nephrectomy model that induces experimental uremic cardiomyopathy[J]. *J Vis Exp*, 2017, 129: 55825-55830.

[18] 刘淑娟, 卢爱丽. 毒乃清颗粒对尿毒症心肌病大鼠心肌重塑的影响[J]. 中药材, 2007, 30(7): 845-848.

[19] 岳娟娟, 崔寒玥, 王 惠, 等. 氯沙坦钾对 5/6 肾切除慢性心衰大鼠心脏的保护作用[J]. 中国药科大学学报, 2016, 47(6): 734-739.

[20] 保靖夫. 啮齿类动物尿毒症心病模型构建研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2022.

[21] 买买提艾力·艾则孜, 买买提·依斯热依力, 王 琴, 等. 硫酸吡嗪酚诱导 5/6 肾切除慢性肾脏病大鼠心肌肥大及纤维化的作用机制研究[J]. 转化医学杂志, 2023, 12(4): 133-137; 142.

[22] Coll R C, Schroder K, Pelegrin P. NLRP3 and pyroptosis blockers for treating inflammatory diseases[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(8): 653-668.

[23] 赵奕凯, 吴帮卫, 李 剑. NLRP3 炎症小体在糖尿病心肌病 (DCM) 中作用机制的研究进展[J]. 复旦学报 (医学版), 2020, 47(1): 117-121.

[24] Nie C, Ding X, Rong A, *et al.* Hydrogen gas inhalation alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury by the inhibition of oxidative stress and NLRP3-mediated pyroptosis in rats[J]. *Life Sci*, 2021, 272(1): 119248.

[25] 岳荣川, 卢圣忠, 罗 瑜, 等. NLRP3 介导的细胞焦亡在大鼠心肌缺血/再灌注损伤中的作用[J]. 西部医学, 2021, 33(3): 330-335.

[26] 梁国庆, 夏 冉, 王银燕, 等. 基于 NLRP3/Caspase-1 信号通路探讨参芪健心方对慢性心力衰竭模型大鼠心肌细胞焦亡的影响[J]. 中医杂志, 2024, 65(1): 94-102.