槲皮素对心肾综合征大鼠心肾功能的保护作用及机制Δ

孔露娇*,鲁　华#,王　心,李　帅,刘　静,郭晓阳(邢台市人民医院肾内科,河北 邢台　054000)

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408(2024)13-1612-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.13.12

摘　要　目的　基于磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)/核因子κB(NF-κB)信号通路探讨槲皮素对心肾综合征(CRS)大鼠心肾功能的保护作用及机制。**方法**　取SD大鼠,采用左冠状动脉前降支结扎结合肾急性缺血再灌注的方法构建CRS模型,将造模成功的大鼠随机分为模型组、槲皮素低剂量组(35 mg/kg)、槲皮素高剂量组(70 mg/kg)、槲皮素高剂量+740Y-P组(70 mg/kg槲皮素+3.5 mg/kg PI3K/Akt/NF-κB信号通路激活剂740Y-P),每组12只;另取12只正常大鼠设为假手术组。每天给药1次,连续14 d。给药结束后,检测大鼠心功能指标[左心室射血分数(LVEF)、舒张末期容积(EDV)、等容舒张时间(IVRT)]与肾功能指标[血尿素氮(BUN)、血肌酐(Scr)、24 h尿蛋白];观察大鼠心肾组织纤维化情况;检测大鼠血清与心肾组织中炎症指标[白细胞介素1β(IL-1β)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)]水平及心肾组织中PI3K/Akt/NF-κB信号通路相关蛋白表达。**结果**　与假手术组比较,模型组大鼠BUN、24 h尿蛋白、Scr水平,心肾组织的胶原容积分数,血清与心肾组织中IL-1β、TNF-α水平,心肾组织中PI3K、Akt、NF-κB p65蛋白磷酸化水平均显著升高($P<0.05$),LVEF、IVRT、EDV均显著降低($P<0.05$)。与模型组比较,槲皮素低、高剂量组大鼠上述指标均显著改善($P<0.05$),且高剂量组的改善效果更好($P<0.05$)。740Y-P逆转了高剂量槲皮素对各指标的改善作用($P<0.05$)。**结论**　槲皮素可减轻CRS大鼠心肾纤维化和功能损伤,其作用机制可能与抑制PI3K/Akt/NF-κB信号通路激活有关。

关键词　槲皮素;PI3K/Akt/NF-κB信号通路;心肾综合征;心肾功能;纤维化

Protective effect and mechanism of quercetin on cardiac and renal functions in rats with cardiorenal syndrome

KONG Lujiao, LU Hua, WANG Xin, LI Shuai, LIU Jing, GUO Xiaoyang (Dept. of Nephrology, Xingtai People's Hospital, Hebei Xingtai 054000, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the protective effect and mechanism of quercetin on the cardiac and renal functions of rats with cardiorenal syndrome (CRS) based on the phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt)/nuclear factor kappa-B (NF-κB) signaling pathway. **METHODS** CRS model of SD rats was induced by left anterior descending coronary artery ligation combined with acute renal ischemia-reperfusion. Model rats were randomly separated into model group, quercetin low-dose group (35 mg/kg), quercetin high-dose group (70 mg/kg), high-dose of quercetin+740Y-P group (70 mg/kg quercetin+3.5 mg/kg PI3K/Akt/NF-κB signaling pathway activator 740Y-P), with 12 rats in each group. Another 12 normal rats were selected as sham operation group. They were given relevant drugs, once a day, for 14 consecutive days. After administration, the cardiac function indexes [left ventricular ejection fraction (LVEF), end-diastolic volume (EDV), isovolumic relaxation time (IVRT)] and renal function indicators [blood urea nitrogen (BUN), 24-hour urine protein, and serum creatinine (Scr)] were detected, and fibrosis in the cardiac and renal tissues was observed; the levels of inflammatory indexes [interleukin-1β (IL-1β) and tumor necrosis factor-α (TNF-α)] in the serum and cardiac and renal tissues as well as the expression of PI3K/Akt/NF-κB pathway-related proteins in the cardiac and renal tissues were detected. **RESULTS** Compared with sham operation group, the levels of BUN, 24-hour urine protein and Scr, collagen volume fraction of cardiac and renal tissues, the levels of IL-1β and TNF-α in serum and cardiac and renal tissues, and the phosphorylation of PI3K, Akt and NF-κB p65 protein in cardiac and renal tissues were increased significantly in model group ($P<0.05$); the levels of LVEF, IVRT and EDV were reduced significantly ($P<0.05$). Compared with the model group, the above indexes were reversed significantly in quercetin low-dose and high-dose groups ($P<0.05$), and the reversal effect was better in the high-dose group ($P<0.05$). 740Y-P restored the reverse effect of high-dose quercetin on the indexes ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Quercetin can alleviate cardiac and renal fibrosis and function injury, the mechanism of which may be associated with inhibiting the activation of the PI3K/Akt/NF-κB signaling pathway.

KEYWORDS　quercetin; PI3K/Akt/NF-κB signaling pathway; cardiorenal syndrome; cardiac and renal function; fibrosis

Δ **基金项目** 河北省2023年度医学科学研究课题计划项目(No. 20232016)

* **第一作者** 主治医师,硕士。研究方向:心肾综合征的诊治及基础研究。E-mail:448626740@qq.com

通信作者 主任医师,博士。研究方向:各种急慢性肾脏疾病的诊治。E-mail:31612677@qq.com

心肾综合征（cardiorenal syndrome，CRS）是指心脏或肾脏中一个器官功能损伤导致另一个器官急性或慢性功能障碍，最终导致心肾共同损伤而形成的一种临床综合征，发病率高且预后差，严重威胁患者生命安全，是临床中亟待解决的一个难题[1-2]。CRS发病机制复杂，与交感神经过度兴奋、氧化应激、炎症反应等有关，其中炎症反应在CRS发病过程中起到关键作用，研究发现，减轻炎症反应可有效缓解CRS引起的心肾损伤[3-4]。磷脂酰肌醇3激酶（phosphoinositide 3-kinase，PI3K）/蛋白激酶B（protein kinase B，Akt）/核因子κB（nuclear factor kappa-B，NF-κB）是机体重要的炎症信号，可通过调控炎症反应和细胞生长、代谢与凋亡等介导各种炎性疾病的发生发展过程[5]。研究显示，PI3K/Akt/NF-κB信号通路介导了右心室功能障碍诱导的Ⅱ型CRS发病过程[6]，而抑制PI3K/Akt/NF-κB信号通路激活可减少炎症因子产生并减轻Ⅱ型CRS大鼠心脏和肾脏组织病理损伤[7]。由此可知，PI3K/Akt/NF-κB信号通路是治疗CRS的潜在靶点。

槲皮素是一种天然黄酮类化合物，广泛存在于多种植物的花、叶、果实中，具有显著抗炎、抗凋亡与抗纤维化功效。研究显示，槲皮素可有效改善压力超负荷和缺血再灌注后啮齿动物模型心功能障碍症状[8]，可通过抑制铁死亡而对糖尿病肾病小鼠起到肾保护作用[9]，还可抑制NF-κB信号传导并通过其抗氧化、抗炎和抗凋亡作用而显著减轻大鼠肾缺血再灌注损伤[10]，因而笔者推测槲皮素可能通过调控PI3K/Akt/NF-κB信号通路影响CRS的发病过程。基于此，本文通过构建CRS大鼠模型，探究槲皮素调节PI3K/Akt/NF-κB信号通路对其心肾功能的保护作用，以期为寻找治疗CRS的新药提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

BK-400型全自动生化分析仪购自济南童鑫生物科技有限公司；KR-C80型彩色多普勒超声诊断仪购自徐州市凯尔医学仪器有限公司；LS-206型轮转式石蜡切片机购自达科为（深圳）医疗设备有限公司；CKX41型倒置光学显微镜购自日本Olympus公司；KD-810A型酶标仪购自科迪云享生物科技（南京）有限公司；1658033型垂直电泳套装购自美国Bio-Rad公司等。

1.2 主要药品与试剂

槲皮素（批号100081-201610，含量99.8%）购自南京森贝伽生物科技有限公司；PI3K/Akt/NF-κB信号通路激活剂740Y-P（批号220306，纯度98%）购自武汉科斯坦生物科技有限公司；Masson染色试剂盒（批号220507）购自北京索莱宝生物科技有限公司；大鼠白细胞介素1β（interleukin-1β，IL-1β）酶联免疫吸附试验（ELISA）试剂盒、肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）ELISA试剂盒和兔源磷酸化NF-κB p65（p-NF-κB p65）、磷酸化PI3K（p-PI3K）、磷酸化Akt（p-Akt）、PI3K、Akt、NF-κB p65、GAPDH抗体以及辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗（批号分别为ab255730、ab236712、ab239882、ab182651、ab38449、ab191606、ab8805、ab16502、ab181602、ab6721）均购自英国Abcam公司等。

1.3 实验动物

本研究所用动物为SPF级SD雄性健康大鼠，体重（220±10）g，6～7周龄，购自湖北贝恩特生物科技有限公司[动物生产许可证号为SCXK（鄂）2021-0027]。大鼠在独立动物房中饲养，环境条件为温度（23.5±2）℃、相对湿度（60±5）%、光照12 h明/12 h暗。本研究已获得邢台市人民医院医学伦理委员会批准，伦理批号为2022[092]。

2 方法

2.1 构建CRS大鼠模型及分组干预

参照文献方法[11]，采用左冠状动脉前降支结扎结合肾急性缺血再灌注的方法构建CRS大鼠模型：取SD雄性健康大鼠60只，腹腔注射40 mg/kg戊巴比妥钠麻醉后做气管插管，连接呼吸机辅助呼吸，同时于肢体皮下插入电极监控心电图，于胸骨左缘第3、4肋间做一个纵向切口，打开胸膜和心包膜，寻找左冠状动脉前降支起始部并进行结扎，肉眼观察到大鼠左心室壁由红色变为苍白色且心电图ST段抬高超过0.1 mV，表明心肌缺血大鼠模型构建成功。将大鼠心脏迅速送回胸腔，同时挤出胸腔内的血液和气体，收拢荷包关闭胸腔，局部消毒，复苏大鼠。整个开胸时间不超过1 min，术后腹腔注射青霉素预防感染。1周后麻醉大鼠并打开腹腔，暴露肾蒂后将一侧肾血管进行结扎，缺血30 min后恢复血流，当术后6 h出现无尿或少尿，且伴有尿蛋白增高、血肌酐（serum creatinine，Scr）水平升高时，表明CRS大鼠模型构建成功。最后，剔除造模失败或死亡的大鼠12只，共48只大鼠造模成功。

将造模成功的大鼠随机分为模型组、槲皮素低剂量组（35 mg/kg[12]）、槲皮素高剂量组（70 mg/kg[12]）、槲皮素高剂量+740Y-P组（70 mg/kg槲皮素+3.5 mg/kg 740Y-P[13]），每组12只；另取12只正常大鼠仅暴露器官或血管，不做缺血处理，设为假手术组。槲皮素低、高剂量组大鼠灌胃相应药液（临用时以生理盐水溶解），槲皮素高剂量+740Y-P组大鼠先按70 mg/kg灌胃槲皮素溶液，再按3.5 mg/kg腹腔注射740Y-P；假手术组和模型组大鼠均灌胃并腹腔注射10 mL/kg的生理盐水。每天干预1次，连续14 d。

2.2 大鼠心肾功能指标检测

末次给药24 h后，麻醉各组大鼠，仰卧固定后以超声诊断仪检测其心功能，包括左心室射血分数（left ven-

tricular ejection fraction，LVEF）、舒张末期容积（end-diastolic volume，EDV）和等容舒张时间（isovolumic relaxation time，IVRT）。超声检测后采集各组大鼠尾静脉血约0.8 mL，采用全自动生化分析仪测定其血尿素氮（blood urea nitrogen，BUN）、Scr水平。提前收集各组大鼠末次给药后24 h内的尿液，采用全自动生化分析仪测定其尿蛋白浓度，乘以24 h尿液量，即可得到24 h尿蛋白水平。

2.3 大鼠心肾组织纤维化病理学观察

大鼠心肾功能指标检测结束后再次采集各组大鼠尾静脉血，以2 000 r/min离心10 min，收集上清液，即得大鼠血清样品，备用。麻醉大鼠，打开胸腔取出心脏和肾脏，分别剪下约0.6 g心肌组织和0.6 g肾组织，保存在液氮中以备后续检测。剩余心肾组织分别以生理盐水漂洗、4%多聚甲醛固定、30%蔗糖脱水、二甲苯透明、浸蜡包埋后切片；选取完好的心肾组织切片，浸泡二甲苯脱蜡后进行分级水化处理，然后以蒸馏水漂洗后行Masson染色[14]。采用显微镜观察大鼠心肾组织胶原沉积情况并拍照，然后运用Image J软件对心肾组织中胶原面积和视野总面积进行定量后计算心肾组织的胶原容积分数（collagen volume fraction，CVF），具体公式为CVF＝胶原面积/视野总面积×100%。

2.4 大鼠血清与心肾组织中炎症指标检测

取“2.3”项下血清样品，按ELISA试剂盒方法检测大鼠血清中IL-1β、TNF-α水平。另外，取“2.3”项下心肾组织适量，以RIPA裂解液裂解，研磨匀浆，再以3 000 r/min离心15 min，取上清液，即得心肾组织样品溶液。取部分心肾组织样品溶液（剩余部分用于后续实验）按ELISA试剂盒方法检测大鼠心肾组织中IL-1β、TNF-α水平。

2.5 大鼠心肾组织中PI3K/Akt/NF-κB信号通路相关蛋白表达检测

取“2.4”项下各组大鼠剩余的心肾组织样品溶液适量，加入蛋白缓冲液，于沸水浴内煮沸变性，然后每组分别取出20 μg心肌组织和肾组织总蛋白样品进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜；以5%脱脂奶粉溶液封闭膜上蛋白，加入p-NF-κB p65、p-PI3K、p-Akt、PI3K、Akt、NF-κB p65与GAPDH抗体（稀释度均为1∶1 000）孵育过夜，然后再加入相应二抗（稀释度为1∶5 000）孵育2 h。采用化学发光法显色后拍摄蛋白条带图像，运用Image J软件分析蛋白灰度值，以GAPDH为内参量化p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、p-NF-κB p65、NF-κB p65蛋白表达水平，并以p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-NF-κB p65/NF-κB p65表示PI3K、Akt、NF-κB p65蛋白的磷酸化水平。

2.6 统计学方法

采用GraphPad Prism8.0软件进行统计学分析。数据以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用SNK-q检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 槲皮素对大鼠心功能指标的影响

与假手术组比较，模型组大鼠LVEF、IVRT、EDV均显著降低（$P<0.05$）。与模型组比较，槲皮素低、高剂量组大鼠LVEF、IVRT、EDV均显著升高，且具有剂量依赖性（$P<0.05$）。与槲皮素高剂量组比较，槲皮素高剂量+740Y-P组大鼠LVEF、IVRT、EDV均显著降低（$P<0.05$）。结果见表1。

表1 各组大鼠LVEF、IVRT、EDV比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	LVEF/%	IVRT/ms	EDV/μL
假手术组	84.51±3.20	47.98±2.73	67.25±3.32
模型组	61.42±2.05[a]	29.69±1.81[a]	46.13±2.10[a]
槲皮素低剂量组	71.32±2.43[b]	37.15±2.20[b]	55.34±2.71[b]
槲皮素高剂量组	82.06±2.96[bc]	45.76±2.45[bc]	64.02±3.24[bc]
槲皮素高剂量+740Y-P组	62.84±2.12[d]	31.23±1.79[d]	47.92±2.35[d]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与槲皮素低剂量组比较，$P<0.05$；d：与槲皮素高剂量组比较，$P<0.05$。

3.2 槲皮素对大鼠肾功能的影响

与假手术组比较，模型组大鼠BUN、24 h尿蛋白、Scr水平均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，槲皮素低、高剂量组大鼠BUN、24 h尿蛋白、Scr水平均显著降低，且具有剂量依赖性（$P<0.05$）。与槲皮素高剂量组比较，槲皮素高剂量+740Y-P组大鼠BUN、24 h尿蛋白、Scr水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见表2。

表2 各组大鼠BUN、24 h尿蛋白、Scr水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	BUN/（mmol/L）	24 h尿蛋白/mg	Scr/（μmol/L）
假手术组	21.53±3.83	23.61±2.40	30.74±7.81
模型组	53.96±5.72[a]	52.85±5.13[a]	112.36±12.52[a]
槲皮素低剂量组	37.85±4.75[b]	38.13±4.26[b]	72.94±9.83[b]
槲皮素高剂量组	23.30±3.69[bc]	24.98±2.53[bc]	33.41±8.16[bc]
槲皮素高剂量+740Y-P组	51.74±5.41[d]	49.72±4.78[d]	103.58±13.10[d]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与槲皮素低剂量组比较，$P<0.05$；d：与槲皮素高剂量组比较，$P<0.05$。

3.3 槲皮素对大鼠心肾组织纤维化的影响

与假手术组比较，模型组大鼠心肾组织CVF均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，槲皮素低、高剂量组大鼠心肾组织CVF均显著降低，且具有剂量依赖性（$P<0.05$）。与槲皮素高剂量组比较，槲皮素高剂量+740Y-P组大鼠心肾组织CVF均显著升高（$P<0.05$）。结果见图1和表3。

3.4 槲皮素对大鼠血清中IL-1β、TNF-α水平的影响

与假手术组比较，模型组大鼠血清中IL-1β、TNF-α水平均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，槲皮素低、高剂量组大鼠血清中IL-1β、TNF-α水平均显著降低，且具有剂量依赖性（$P<0.05$）。与槲皮素高剂量组比较，槲皮素高剂量+740Y-P组大鼠血清中IL-1β、TNF-α水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见表4。

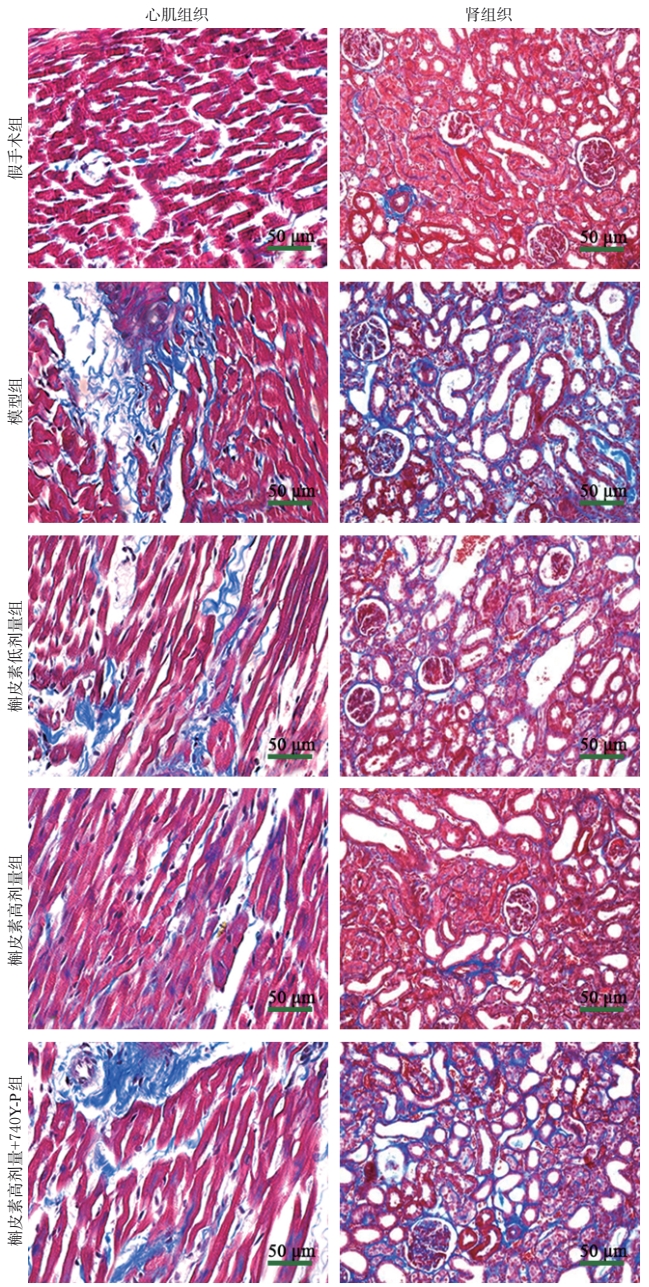


图1　各组大鼠心肾组织病理形态学观察结果（Masson染色）

表3　各组大鼠心肾组织CVF比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$，%）

组别	心肌组织CVF	肾组织CVF
假手术组	4.12±1.25	3.87±1.31
模型组	28.79±2.93[a]	27.96±2.84[a]
槲皮素低剂量组	17.36±2.01[b]	16.18±1.97[b]
槲皮素高剂量组	5.20±1.34[bc]	4.75±1.43[bc]
槲皮素高剂量+740Y-P组	26.58±2.73[d]	26.01±2.76[d]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与槲皮素低剂量组比较，$P<0.05$；d：与槲皮素高剂量组比较，$P<0.05$。

3.5　槲皮素对大鼠心肾组织中IL-1β、TNF-α水平的影响

与假手术组比较，模型组大鼠心肾组织中IL-1β、TNF-α水平均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，槲皮素低、高剂量组大鼠心肾组织中IL-1β、TNF-α水平均显著降低，且具有剂量依赖性（$P<0.05$）。与槲皮素高剂量组比较，槲皮素高剂量+740Y-P组大鼠心肾组织中IL-1β、TNF-α水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见表4、表5。

表4　各组大鼠血清中IL-1β、TNF-α水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$，pg/mL）

组别	IL-1β	TNF-α
假手术组	29.64±6.26	53.96±9.63
模型组	113.85±11.10[a]	140.12±16.04[a]
槲皮素低剂量组	73.21±8.85[b]	99.83±12.59[b]
槲皮素高剂量组	33.28±6.14[bc]	59.76±9.31[bc]
槲皮素高剂量+740Y-P组	106.15±11.32[d]	131.02±15.86[d]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与槲皮素低剂量组比较，$P<0.05$；与槲皮素高剂量组比较，$P<0.05$。

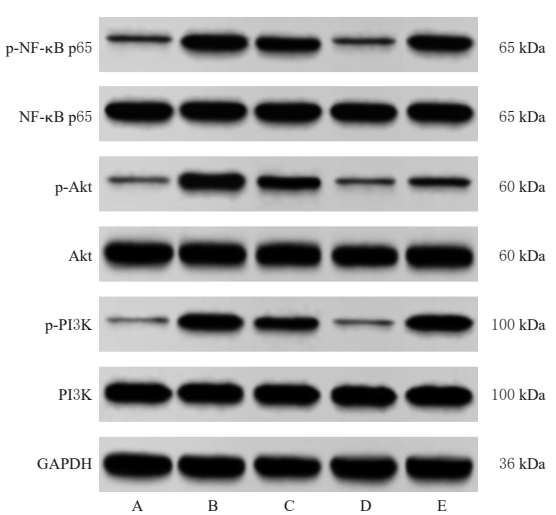
表5　各组大鼠心肾组织中IL-1β、TNF-α水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$，pg/mg pro）

组别	心肌组织		肾组织	
	IL-1β	TNF-α	IL-1β	TNF-α
假手术组	41.72±8.14	89.52±13.41	40.22±9.83	87.62±15.34
模型组	138.45±16.73[a]	230.16±22.78[a]	132.98±17.14[a]	221.83±23.02[a]
槲皮素低剂量组	91.21±11.32[b]	162.43±17.25[b]	88.31±11.63[b]	152.20±18.35[b]
槲皮素高剂量组	46.10±8.26[bc]	97.32±13.63[bc]	45.10±10.25[bc]	94.75±16.18[bc]
槲皮素高剂量+740Y-P组	131.16±15.63[d]	219.27±21.96[d]	123.25±16.78[d]	210.39±22.43[d]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与槲皮素低剂量组比较，$P<0.05$；与槲皮素高剂量组比较，$P<0.05$。

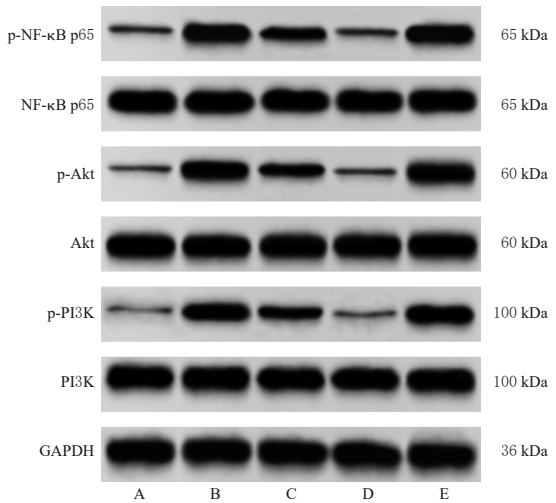
3.6　槲皮素对大鼠心肾组织中PI3K/Akt/NF-κB信号通路相关蛋白的影响

与假手术组比较，模型组大鼠心肾组织中PI3K、Akt、NF-κB p65蛋白磷酸化水平均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，槲皮素低、高剂量组大鼠心肾组织中PI3K、Akt、NF-κB p65蛋白磷酸化水平均显著降低，且具有剂量依赖性（$P<0.05$）。与槲皮素高剂量组比较，槲皮素高剂量+740Y-P组大鼠心肾组织中PI3K、Akt、NF-κB p65蛋白磷酸化水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见图2、图3、表6。



A：假手术组；B：模型组；C：槲皮素低剂量组；D：槲皮素高剂量组；E：槲皮素高剂量+740Y-P组。

图2　各组大鼠心肌组织中PI3K/Akt/NF-κB信号通路相关蛋白表达的电泳图



A：假手术组；B：模型组；C：槲皮素低剂量组；D：槲皮素高剂量组；E：槲皮素高剂量+740Y-P组。

图3　各组大鼠肾组织中PI3K/Akt/NF-κB信号通路相关蛋白表达的电泳图

表6　各组大鼠心肾组织中PI3K/Akt/NF-κB信号通路相关蛋白表达水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	心肌组织			肾组织		
	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-NF-κB p65/NF-κB p65	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-NF-κB p65/NF-κB p65
假手术组	0.07±0.01	0.09±0.02	0.12±0.03	0.08±0.02	0.10±0.02	0.11±0.02
模型组	0.91±0.08[a]	0.90±0.09[a]	0.89±0.10[a]	0.92±0.07[a]	0.86±0.07[a]	0.87±0.10[a]
槲皮素低剂量组	0.49±0.04[b]	0.48±0.05[b]	0.60±0.06[b]	0.49±0.05[b]	0.46±0.04[b]	0.48±0.07[b]
槲皮素高剂量组	0.08±0.02[bc]	0.10±0.03[bc]	0.13±0.04[bc]	0.09±0.03[bc]	0.11±0.03[bc]	0.12±0.03[bc]
槲皮素高剂量+740Y-P组	0.88±0.07[d]	0.16±0.14[d]	0.86±0.08[d]	0.89±0.08[d]	0.84±0.08[d]	0.85±0.09[d]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与槲皮素低剂量组比较，$P<0.05$；d：与槲皮素高剂量组比较，$P<0.05$。

4　讨论

目前临床中针对CRS的治疗方式主要是透析、利尿等，虽可在一定程度上缓解心肾功能障碍症状，但并不能从根本上治愈[15—16]。因此，对该疾病进行研究并探寻更有效的治疗方法是临床工作者亟须解决的问题。槲皮素作为一种天然抗炎与抗氧化剂，对心脏代谢疾病具有多种保护作用，可通过减轻炎症反应和改善糖脂代谢失调来减轻糖尿病心肌病小鼠心功能障碍和心肌纤维化[12]，还可通过减轻肾细胞损伤和凋亡来缓解造影剂诱导的急性肾损伤[17]。以上研究表明槲皮素具有治疗心、肾疾病的潜力。本研究采用左冠状动脉前降支结扎结合肾急性缺血再灌注的方法构建CRS大鼠模型，结果显示，与模型组大鼠相比，假手术组大鼠心功能指标LVEF、IVRT、EDV均显著降低，肾功能指标BUN、24 h尿蛋白、Scr水平均显著升高，心肾组织均发生明显纤维化变性，表明模型组大鼠出现了心肾组织纤维化病变及心肾功能障碍，提示CRS模型构建成功。

CRS作为一种复杂的双向病理生理过程，动脉充盈不足、炎症、纤维化、细胞凋亡和内皮功能障碍等可能是其发生机制，其中炎症因子引发的瀑布式炎症级联反应是诱发并加剧心肾组织损伤的主要病理基础[18]。因此抑制炎症反应可在CRS病情进展中有效保护心肾功能。本研究结果显示，以槲皮素处理CRS大鼠后，可降低大鼠BUN、24 h尿蛋白、Scr水平，心肾组织CVF，血清、心肾组织中IL-1β、TNF-α水平；升高大鼠LVEF、IVRT、EDV。这表明槲皮素可减少炎症因子分泌，抑制炎症反应与心肾组织纤维化，减轻CRS大鼠心肾功能损伤。

PI3K/Akt/NF-κB信号通路是介导巨噬细胞激活和炎症因子分泌等病理过程的重要调节信号，激活该通路可通过引发炎症反应而参与包括CRS在内的炎性疾病的发病过程[5—6]；抑制其激活可降低炎症因子表达水平，进而通过抵抗炎症减轻脂多糖诱导的肺-气-血屏障功能障碍和肺损伤[19]；阻断PI3K/Akt/NF-κB信号通路传导还可有效减轻CRS引发的心脏、肾脏纤维化和心肾功能障碍，进而起到保护心肾功能的作用[6,20]。因而抑制PI3K/Akt/NF-κB信号通路激活是治疗CRS的潜在策略。本研究结果显示，以槲皮素处理CRS大鼠后，大鼠心肾组织中PI3K、Akt、NF-κB p65蛋白磷酸化水平均显著降低。PI3K/Akt/NF-κB信号通路激活剂740Y-P可提高PI3K、Akt蛋白磷酸化水平，进而激活PI3K/Akt/NF-κB信号通路，加速Ⅱ型CRS进展[7]。笔者进一步加入740Y-P发现，740Y-P可逆转槲皮素对该信号通路的抑制作用，由此表明，槲皮素对CRS大鼠心肾功能的保护作用是通过抑制该信号通路激活实现的。

综上所述，槲皮素可减轻CRS大鼠心肾纤维化和功能损伤，其作用机制可能与抑制PI3K/Akt/NF-κB信号通路激活有关。

参考文献

[1] MCCALLUM W, SARNAK M J. Cardiorenal syndrome in the hospital[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2023, 18(7): 933-945.

[2] MCCALLUM W, TESTANI J M. Updates in cardiorenal syndrome[J]. Med Clin North Am, 2023, 107(4): 763-780.

[3] COSTANZO M R. The cardiorenal syndrome in heart failure[J]. Cardiol Clin, 2022, 40(2): 219-235.

[4] AMADOR-MARTÍNEZ I, APARICIO-TREJO O E, BERNABE-YEPES B, et al. Mitochondrial impairment: a link for inflammatory responses activation in the cardiorenal syndrome type 4[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(21): 15875.

[5] LIU J, ZONG C G, YU X, et al. Alanyl-glutamine (Ala-gln) ameliorates dextran sulfate sodium (DSS)-induced acute colitis by regulating the gut microbiota, PI3K-Akt/NF-κB/STAT3 signaling, and associated pulmonary injury [J]. ACS Infect Dis, 2023, 9(4): 979-992.

[6] CHEN K T, HUANG X X, XIE D X, et al. RNA interactions in right ventricular dysfunction induced type Ⅱ car-

diorenal syndrome[J]. Aging,2021,13(3):4215-4241.
[7] WANG Y Y,LIU Y Y,LI J,et al. Gualou xiebai decoction ameliorates cardiorenal syndrome type Ⅱ by regulation of PI3K/Akt/NF-κB signaling pathway[J]. Phytomedicine,2024,123:155172.
[8] SITI H N,JALIL J,ASMADI A Y,et al. Effects of quercetin on cardiac function in pressure overload and postischemic cardiac injury in rodents:a systematic review and meta-analysis[J]. Cardiovasc Drugs Ther,2022,36(1):15-29.
[9] FENG Q,YANG Y,QIAO Y J,et al. Quercetin ameliorates diabetic kidney injury by inhibiting ferroptosis via activating Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. Am J Chin Med,2023,51(4):997-1018.
[10] BAGHERI A,RADMAN G,ARIA N,et al. The effects of quercetin on apoptosis and antioxidant activity in a renal ischemia/reperfusion injury animal model[J]. Drug Res,2023,73(5):255-262.
[11] 王时光,刘攀,任超,等. 黄芪甲苷对心肾综合征大鼠的肾功能保护作用研究[J]. 中国临床药理学杂志,2023,39(3):363-367.
WANG S G,LIU P,REN C,et al. Protective effect of astragaloside Ⅳ on renal function in rats with cardiorenal syndrome[J]. Chin J Clin Pharmacol,2023,39(3):363-367.
[12] JIANG C J,LI D,CHEN L,et al. Quercetin ameliorated cardiac injury via reducing inflammatory actions and the glycerophospholipid metabolism dysregulation in a diabetic cardiomyopathy mouse model[J]. Food Funct,2022,13(14):7847-7856.
[13] 王万民,田涛. 甲状腺功能亢进症模型大鼠心肌细胞PI3K/Akt通路与胰岛素抵抗的关系[J]. 广东医学,2020,41(24):2526-2530.
WANG W M,TIAN T. The correlation between PI3K/Akt pathway and insulin resistance in cardiomyocytes of rat models of hyperthyroidism[J]. Guangdong Med J,2020,41(24):2526-2530.
[14] 吴英智,李志梁,赖俊,等. 白术内酯Ⅰ对心肾综合征大鼠心肾功能的影响及机制[J]. 现代中西医结合杂志,2023,32(20):2788-2797.
WU Y Z,LI Z L,LAI J,et al. Atractylenolide Ⅰ protects cardiac and renal function of rats with cardiorenal syndrome via suppressing fibrosis synthesis[J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med,2023,32(20):2788-2797.
[15] GALLO G,LANZA O,SAVOIA C. New insight in cardiorenal syndrome:from biomarkers to therapy[J]. Int J Mol Sci,2023,24(6):5089.
[16] GEORGOPOULOU T,PETRAKIS I,DERMITZAKI K,et al. Cardiorenal syndrome:challenges in everyday clinical practice and key points towards a better management[J]. J Clin Med,2023,12(12):4121.
[17] LUO M,LIU Z Y,HU Z R,et al. Quercetin improves contrast-induced acute kidney injury through the HIF-1α/lncRNA NEAT1/HMGB1 pathway[J]. Pharm Biol,2022,60(1):889-898.
[18] POVEDA J,VÁZQUEZ-SÁNCHEZ S,SANZ A B,et al. TWEAK-Fn14 as a common pathway in the heart and the kidneys in cardiorenal syndrome[J]. J Pathol,2021,254(1):5-19.
[19] DU L,ZHANG J R,ZHANG X Y,et al. Oxypeucedanin relieves LPS-induced acute lung injury by inhibiting the inflammation and maintaining the integrity of the lung air-blood barrier[J]. Aging,2022,14(16):6626-6641.
[20] TSUKAMOTO S,WAKUI H,UEHARA T,et al. Combination of sacubitril/valsartan and blockade of the PI3K pathway enhanced kidney protection in a mouse model of cardiorenal syndrome[J]. Eur Heart J Open,2023,3(6):oead098.

（收稿日期:2024-01-17　修回日期:2024-05-19）
（编辑:唐晓莲）