

基于网络药理学与腹主动脉缩窄模型的芪参益气滴丸肾保护作用研究

李艳阳¹, 袁 鹏², 王云姣⁴, 王 强³, 左一鸣⁴, 贾云凤⁴, 范 鹿⁴, 吕仕超^{4*}, 朱林平^{5*}

1. 天津中医药大学 研究生院, 天津 301617
2. 郑州大学第五附属医院, 河南 郑州 450052
3. 上海市中西医结合医院, 上海 200080
4. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300381
5. 天津中医药大学第二附属医院, 天津 300350

摘 要: **目的** 探讨芪参益气滴丸对腹主动脉缩窄大鼠的肾保护效应和机制。**方法** 通过网络药理学筛选芪参益气滴丸活性成分及肾损伤靶点, 构建“中药-成分-靶点-疾病”网络和蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络, 并进行分子对接; 采用腹主动脉缩窄复制压力超负荷大鼠模型, 随机分为假手术组、模型组、缬沙坦组、芪参益气滴丸组。药物干预 8 周后检测肾功能指标、肾组织病理及纤维化标志物变化。**结果** 筛选芪参益气滴丸活性成分 124 个, 药物-疾病共同靶点 203 个; 关键活性成分为槲皮素、木犀草素、山柰酚、丹参酮II_A等, 核心靶点为 AKT1、TNF、IL-6 等; 基因本体(GO)注释及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析显示 PI3K-Akt 通路、AGE-RAGE、MAPK 通路等是潜在的作用环节; 分子对接证实丹参酮II_A与核心靶点结合亲和力强; 与模型组比较, 芪参益气滴丸干预能够降低腹主动脉缩窄大鼠血清肌酐、尿素氮水平及 24 h 尿蛋白含量($P < 0.05$ 、 0.01), 显著改善大鼠肾功能; 肾脏胶原容积分数亦明显降低($P < 0.01$), 且抑制转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)、结缔组织生长因子(CTGF)蛋白表达($P < 0.01$), 减轻肾纤维化。**结论** 芪参益气滴丸具有多成分、通过多靶点、作用多环节发挥肾脏保护效应, 其机制可能与抑制 TGF- $\beta 1$ 、CTGF 表达相关。

关键词: 芪参益气滴丸; 腹主动脉缩窄; 肾损伤; 网络药理学; 丹参酮II_A

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)10-2800-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.10.008

Research on renal protection of Qishen Yiqi Dripping Pills based on network pharmacology and abdominal aortic coarctation model

LI Yanyang¹, YUAN Peng², WANG Yunjiao⁴, WANG Qiang³, ZUO Yiming⁴, JIA Yunfeng⁴, FAN Lu⁴, LÜ Shichao⁴, ZHU Linping⁵

1. Graduate School, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China
2. The Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China
3. Shanghai Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai 200080, China
4. The First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300381, China
5. The Second Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300350, China

Abstract: Objective To investigate the renoprotective effects and mechanisms of Qishen Yiqi Dripping Pills in rats with abdominal aortic constriction. **Methods** The active ingredients of Qishen Yiqi Dripping Pills and targets associated with kidney injury were screened using network pharmacology, which was also used to build “TCM-component-target-disease” networks, protein-protein interaction networks, and molecular docking; Abdominal aortic constriction was used to create a pressure overload rat model, which was then randomly assigned to four groups: sham operation, model, valsartan, Qishen Yiqi Dripping Pills, and. Renal function indicators, renal histology, and fibrosis markers were evaluated following an 8-week medication intervention. **Results** A total of 124

收稿日期: 2025-04-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(81603559); 苏州工业园区东方华夏心血管健康研究院——力·心中药科研创新基金项目(2024-CCA-TCM-005)

作者简介: 李艳阳, 博士研究生, 主要从事中西医结合防治恶性肿瘤及其肿瘤治疗相关心血管毒性研究。E-mail: 78223854@qq.com

*通信作者: 吕仕超, 医学博士, 主任医师, 研究方向为中医药防治老年心血管疾病。E-mail: dr_lv@foxmail.com
朱林平, 医学博士, 主任医师, 研究方向为中医药防治心血管疾病。E-mail: liyanyang@tjmuch.com

active components of Qishen Yiqi Dropping Pills were tested, and 203 common drug-disease targets were found. Key active components were quercetin, luteolin, kaempferol, and tanshinone II_A, with main targets such as AKT1, TNF, and IL-6. GO functional and KEGG enrichment studies identified the PI3K-Akt, AGE-RAGE, and MAPK pathways as probable mechanisms of action. Molecular docking confirmed a significant binding affinity between tanshinone II_A and the key targets. Qishen Yiqi Dropping Pills effectively lowered serum creatinine, blood urea nitrogen levels, and 24 h urine protein content in rats with abdominal aortic constriction ($P < 0.05$, 0.01), leading to improved renal function. Renal collagen volume fraction decreased significantly ($P < 0.01$), whereas TGF- β 1 and CTGF protein expression were suppressed ($P < 0.01$), resulting in reduced renal fibrosis. **Conclusion** Qishen Yiqi Dropping Pills exert renoprotective effects through multiple components acting on multiple targets and pathways, with mechanisms potentially related to inhibition of TGF- β 1 and CTGF expression.

Key words: Qishen Yiqi Dropping Pills; abdominal aortic constriction; renal injury; network pharmacology; tanshinone II_A

心肾综合征 (CRS) 是指心力衰竭与肾功能不全并存且存在双向因果关系、相互影响的一组病理状态。其特征任在于任一器官发生急性或慢性功能异常, 均可诱发另一器官出现相应的急性或慢性损害, 最终导致机体多系统、多脏器功能进行性受累与恶化^[1]。在人口老龄化进程加速及多重危险因素持续作用的背景下, 心力衰竭合并肾功能不全的发病率呈持续上升趋势, 流行病学资料显示 45.0%~63.6% 的心力衰竭患者合并慢性肾脏病^[2]。心、肾脏器之间的相互作用不仅增加了疾病治疗难度、降低了生存质量、延长了患者的病程, 且进一步影响预后、增加病死率。

循证医学证据表明, 中医药在心血管疾病和肾脏疾病的治疗中均展现出良好的临床疗效, 然而针对 CRS 这一复杂病理状态的研究, 中药的干预效果与机制研究尚存在不足^[3-5]。芪参益气滴丸由黄芪、丹参、三七和降香组成, 临床上广泛应用于心血管疾病的治疗^[6], 《中国心力衰竭诊断和治疗指南 2024》推荐其用于慢性心力衰竭的治疗^[7-8]。课题组前期研究采用腹主动脉缩窄诱导的压力超负荷大鼠模型, 证实了芪参益气滴丸能够有效减轻心肌肥大、改善心肌纤维化、延缓心肌重构进程, 发挥显著的心肌保护作用^[9-11]。然而, 芪参益气滴丸对于腹主动脉缩窄大鼠的肾脏组织是否具有保护效应及其潜在机制, 目前仍不明确。因此, 本研究旨在整合网络药理学分析与在体动物实验, 深入探究芪参益气滴丸在压力超负荷模型中的肾保护作用及其作用机制。

1 材料

1.1 动物

雄性 Wistar 大鼠 40 只, SPF 级, 体质量 180~200 g, 购自军事医学科学院实验动物中心[许可证号: SCXK (军) 2012-0004]。实验大鼠饲养于恒温

(22±2) °C、恒湿 (55±10) %, 维持 12 h/12 h 光照、黑暗昼夜节律, 自由摄取标准饲料及灭菌饮水。按照美国国立卫生研究院出版的《实验室动物的护理和使用指南》(NIH 出版物第 85-23 号, 1996 年修订) 开展实验, 实验方案得到天津中医药大学动物伦理委员会的批准 (TCM-LAEC2016016)。

1.2 主要试剂

芪参益气滴丸 (批号: 100706) 购自天士力制药集团股份有限公司; 缬沙坦胶囊 (批号: X1034) 购自北京诺华制药有限公司; 苏木素-伊红 (HE) 染色液 (货号 DH0006)、Masson 三色染色液 (货号 DC0032) 购自北京雷根生物技术有限公司; 肌酐 (Scr) 测试盒 (货号 C011-1)、尿素氮 (BUN) 测试盒 (货号 C013-2-1) 购自南京建成生物工程研究所; 转化生长因子 β 1 (TGF- β 1) 抗体 (货号 BA0290)、结缔组织生长因子 (CTGF) 抗体 (货号 BA0752)、即用型 SABC-POD (兔 IgG) 试剂盒 (货号 SA1022)、DAB 显色试剂盒、二喹啉甲酸法 (BCA) 蛋白浓度测定试剂盒 (货号 AR1189) 购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 主要仪器

L500 台式低速离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); CM1900 石蜡切片机 (德国 Leica 公司); TP1020 自动台式组织脱水机 (德国 Leica 公司); DM3000 光学显微镜 (德国 Leica 公司); LS-B50L 立式压力蒸汽灭菌器 (上海华线医用核子仪器有限公司); ELx800 酶标仪 (美国 Bio Tek 公司); XB70 制冰机 (上海康华生化仪器制造有限公司)。

2 方法

2.1 网络药理学分析

2.1.1 芪参益气滴丸活性成分及相关靶点的收集 利用中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>, Version 2.3) 检索黄

芪、丹参、三七和降香的成分。基于药物口服给药后能够被有效吸收并发挥作用的需求,并确保药物与已知活性化合物之间具有一定的结构相似性,从而增加其可能的生物活性,以口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18 筛选符合标准的成分^[12]。基于目标成分筛选,通过 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>, ver. 2025_03)限定物种为“Homo sapiens”,检索并提取相应的靶点基因名称。

2.1.2 肾损伤靶点收集 借助 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>, ver. 5.24.0)和 OMIM 数据库(<https://omim.org/>),以“renal fibrosis”为关键词筛选与肾损伤相关的潜在靶标。

2.1.3 共同靶点及“中药-成分-靶点-疾病”网络构建 基于 Venny 2.1.0 平台对芪参益气滴丸活性组作用靶标与肾损伤相关靶点进行 Venn 图分析,提取共有靶点集并定义为该方改善肾损伤的潜在作用靶点;进一步在 Cytoscape 3.8.0 软件中调用 Network Analyzer 插件计算网络拓扑特征参数,依据关键拓扑学指标筛选核心基因,最终构建“中药-活性成分-作用靶点-疾病”多维互作关系的网络模型。

2.1.4 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络的构建 使用 STRING 数据库(<https://string-db.org/>, ver. 12.0),限定物种范围为“Homo sapiens”,输入靶点基因集并过滤离散靶点,构建 PPI 网络。

2.1.5 通路和功能富集的分析 基于 R 语言计算平台,对芪参益气滴丸干预肾损伤的核心靶标进行基因本体(GO)注释及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。根据 $P < 0.05$,筛选出显著富集的 GO 通路,包括生物过程(BP)、分子功能(MF)、细胞成分(CC)及 KEGG 通路,并采用富集气泡图实现结果可视化。

2.1.6 分子对接 通过 TCMSP 与 PubChem 数据库获取小分子配体的 mol2 文件,由 STRING 数据平台及 PDB 数据库下载大分子靶蛋白的 PDF 格式文件。采用 AutoDockTools 4.0 软件对受体与配体分别进行加氢与去水预处理,并在 PyMOL 2.5 软件开展活性位点分子对接。

2.2 动物实验

2.2.1 腹主动脉缩窄大鼠模型建立 Wistar 大鼠适应性饲养 3~5 d,术前禁食 12 h,饮水不限。称质量后以 3%戊巴比妥钠 $45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip 麻醉,待角膜反射消失、肌张力降低后固定于手术台,于腹部正中约 $3 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$ 范围剃毛备皮,碘伏常规消毒。在

左肋弓下缘 0.5 cm、腹中线左侧 0.5 cm 处行 2.0~2.5 cm 纵行切口,分层切开入腹。以 0.9%氯化钠溶液湿纱布将肠管推向右侧,同时将胃体与脾脏向上轻推以充分暴露腹主动脉。于右肾动脉分支近心端约 0.5 cm 处游离腹主动脉,平行置入 7 号针头(直径 0.7 mm),以 4 号手术线(直径约 0.3 mm)将腹主动脉与针头一并结扎后抽出针头。随后复位脏器,向腹腔滴注青霉素 20 万 U,分层缝合腹肌与皮肤。术后予以充分保温,并给予糖盐混合液(4:1),待大鼠完全苏醒后归笼,术后连续 3 d 给予青霉素 20 万 U^[13]。假手术组仅穿线不结扎,其余步骤相同。

2.2.2 动物分组及给药 腹主动脉缩窄术后 4 周,剔除不成模大鼠,每组保留 8 只。将造模成功大鼠随机分为模型组(等体积蒸馏水, ig)、缬沙坦组($7.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ig)、芪参益气滴丸组(简称芪参益气组, $135 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ig),并以假手术组(等体积蒸馏水, ig)作为对照。根据《药理实验方法学》的种属等效剂量换算原则,确定缬沙坦胶囊及芪参益气滴丸的大鼠给药剂量,使用蒸馏水配制适宜浓度实施 ig^[14]。给药前称体质量,各组大鼠每天上午给药 1 次,连续干预 8 周。

2.2.3 标本采集与处理 ①尿液:采用无菌代谢笼收集大鼠 24 h 尿液,留样期间不禁食、不限水。记录总尿量后取 2 mL 样本,经 $2\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 去除沉渣,上清液于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存备用。②血清:经 ip 3%戊巴比妥钠($45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)实施麻醉,待麻醉深度达标后行腹主动脉穿刺采血。全血样品以 $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,分离血清并分装于冻存管中, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温保存待测。③肾脏:取血后即刻摘除双肾,经 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预冷 0.9%氯化钠溶液漂洗,滤纸吸干表面水分后称质量,计算肾脏指数。沿肾脏纵轴剖开,部分组织浸入 4%中性甲醛固定液,剩余样本置液氮中速冻后转移至 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 深低温冰箱保存。

肾脏指数 = 肾脏质量/体质量

2.2.4 肾脏组织病理形态 肾脏组织经石蜡包埋前常规处理(梯度脱水、透明、浸蜡)后包埋成型。采用石蜡切片机沿冠状面制备 $5\text{ }\mu\text{m}$ 连续切片, $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴展平后,使用多聚赖氨酸包被载玻片贴附组织切片, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温烘箱过夜烘片固化。①苏木精-伊红(HE)染色:切片经二甲苯脱蜡,梯度酒精脱水,苏木素染核,1%盐酸乙醇分化,0.5%伊红溶液复染,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,光镜下观察。②Masson 染色:石蜡切片经二甲苯脱

蜡及梯度乙醇水化后,苏木精染核(1%盐酸乙醇分化返蓝)。随后进行 Masson 复合液染色,经 1%磷钼酸处理,苯胺蓝复染,1%冰醋酸水洗,最后梯度乙醇脱水、二甲苯透明,中性树胶封固。显微镜下胶原纤维呈特征性蓝色,应用 Image-Pro Plus 6.0 软件对每张切片系统随机采集 5 个视野,测定胶原纤维面积占比,计算胶原容积分数,取其均值作为该肾脏的胶原容积分数。

胶原容积分数=胶原纤维面积/图像总面积

2.2.5 血清 Scr、BUN 及 24 h 尿蛋白定量检测

采用苦味酸比色法检测血清 Scr 水平、脲酶法检测血清 BUN 含量、BCA 法检测 24 h 尿蛋白浓度,按照试剂盒说明进行操作。

2.2.6 免疫组化检测肾脏 TGF- β 1、CTGF 蛋白表达

切片常规脱蜡脱水,以 30% H_2O_2 与蒸馏水按 1:9 配制工作液,室温孵育 10 min 以阻断内源性过氧化酶活性。置于 0.02 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.2~7.6)中,微波高火煮沸后自然冷却。滴加 5% BSA 封闭液 37 °C 共育 30 min,移除多余液体免洗。加兔抗大鼠 IgG 一抗(4 °C 过夜 $\geq$ 16 h),PBS (pH 7.2~7.6) 浸洗 3 次(每次 10 min)。继加生物素化羊抗兔 IgG 二抗(37 °C 30 min),PBS 同前浸洗。滴加 SABC 复合物 37 °C 反应 30 min, PBS 浸洗。DAB 显色液(A:B:C=1:1:1)室温避光显色,显微镜下监控显色程度,蒸馏水终止。苏木精淡染复核,梯度乙醇脱水,二甲苯透明化,中性树胶封固。阳性判定标准:组织结构完整且特异性染色显著强于背景,靶部位见棕黄色颗粒沉积;无染色或与背景一致判为阴性。定量分析:每切片随机选取 5 个非重叠视野(400 $\times$),使用 Image-Pro Plus 计算积分吸光度值进行半定量评估。

2.2.7 统计学方法

采用 SPSS 11.5 统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间差异比较采用单因素方差分析,事后两两比较采用 LSD 法。以 $P < 0.05$ 判定差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 芪参益气滴丸干预肾损伤的网络药理学结果

通过 TCMSP 数据库进行成分的靶点预测,获得芪参益气滴丸活性成分 129 个,其中黄芪、丹参、三七和降香分别为 20、65、7 和 37 个。经拓扑结构去重处理保留 124 种有效成分,映射 267 个作用靶点。同步检索 GeneCards 与 OMIM 数据库获取肾损伤相关靶基因,经数据整合与去重处理得到 8 994

个疾病靶点。借助 jvenn 在线工具对 267 个药物靶点与 8 994 个疾病靶点进行 Venn 分析,提取 203 个药物-疾病共有靶点(图 1)。

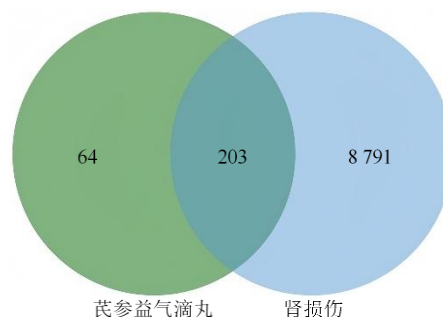


图 1 芪参益气滴丸-肾损伤共同作用靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of common targets Qishen Yiqi Dropping Pills-renal injury

运用 Cytoscape 3.8.0 软件对 203 个共同靶点进行药物-活性成分-疾病靶点网络的构建,见图 2。利用 Cytoscape 3.8.0 软件的“Network analyzer”功能,根据度值筛选排名前 5 名的活性成分,分别是槲皮素(quercetin)、木犀草素(luteolin)、山柰酚(kaempferol)、丹参酮 II_A (tanshinone II_A)、芒柄花素(formononetin);将芪参益气滴丸和肾损伤交集靶点进行 PPI,采用中间度(Betweenness)、紧密度(Closeness)和度值(Degree)进行核心靶点筛选,共得到 35 个核心靶点(图 3)。

GO 富集分析显示,BP 显著富集于外源刺激应答、氧化应激响应、氧稳态调控及活性氧代谢通路;CC 主要定位膜筏等膜微结构域;MF 以 G 蛋白耦联受体与核受体活性最为显著(图 4)。KEGG 通路分析识别 184 条关键通路,包括 PI3K-Akt、AGE-RAGE、MAPK、TNF、IL-17 和 HIF 信号轴,表明芪参益气滴丸可能通过调控上述通路干预肾损伤病理进程(图 5)。

3.2 芪参益气滴丸活性成分与关键靶点的分子对接

应用 AutoDock Vina 软件对 PPI 网络中核心靶点蛋白(AKT1、TNF、IL-6、JUN、IL-1 β 、HIF-1 α 、PTGS2、TP53、MMP9、CASP3、EGFR、ESR1、STAT3、BCL2、PPARG、TGF- β 1)与槲皮素(quercetin)、山柰酚(kaempferol)、木犀草素(luteolin)、丹参酮 II_A(tanshinone II_A)、芒柄花素(formononetin)进行分子对接。结果显示,丹参酮 II_A与 AKT1、IL-6、JUN、IL-1 β 、HIF-1 α 、ATP53、CASP3、EGFR、ESR1、STAT3、BCL2、TGF- β 1 结合能最佳,木犀草素与 PTGS2、MMP9 结合能最佳,山柰酚与 PPARG 结合能最佳。

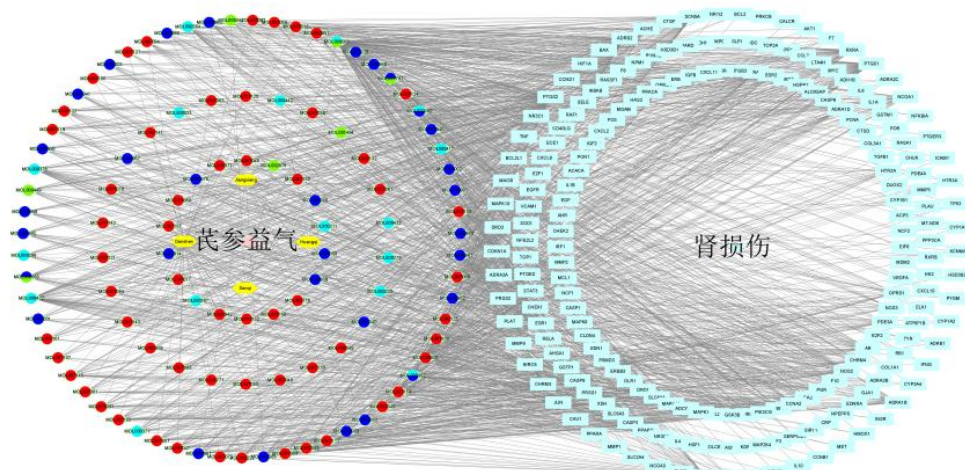


图 2 药物-成分-靶点-疾病相互作用网络图

Fig. 2 Drug-ingredient-target-disease interaction network diagram

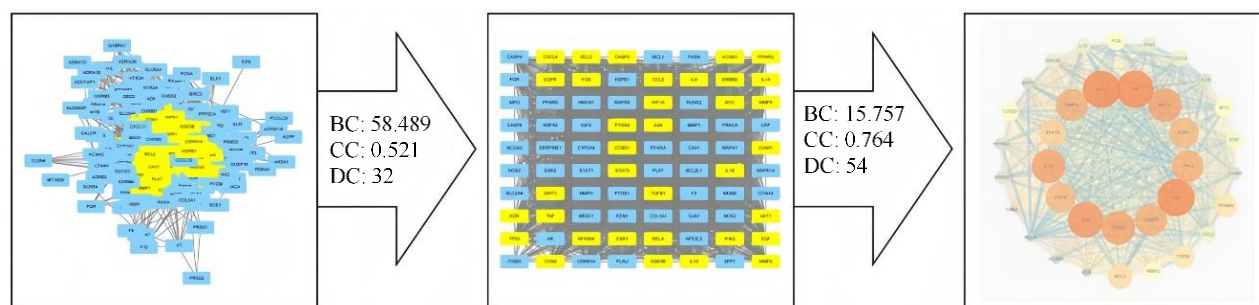


图 3 芪参益气滴丸干预肾损伤核心靶点识别

Fig. 3 Identification of core targets of renal injury intervention with Qishen Yiqi Dropping Pills

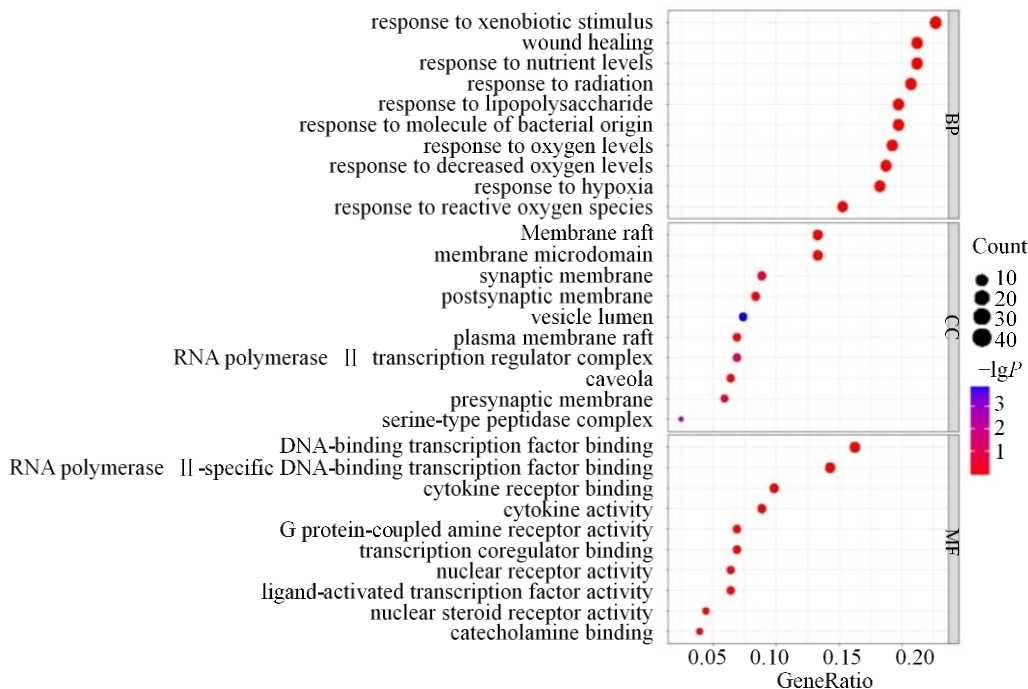


图 4 GO 功能富集分析

Fig. 4 GO functional enrichment analysis

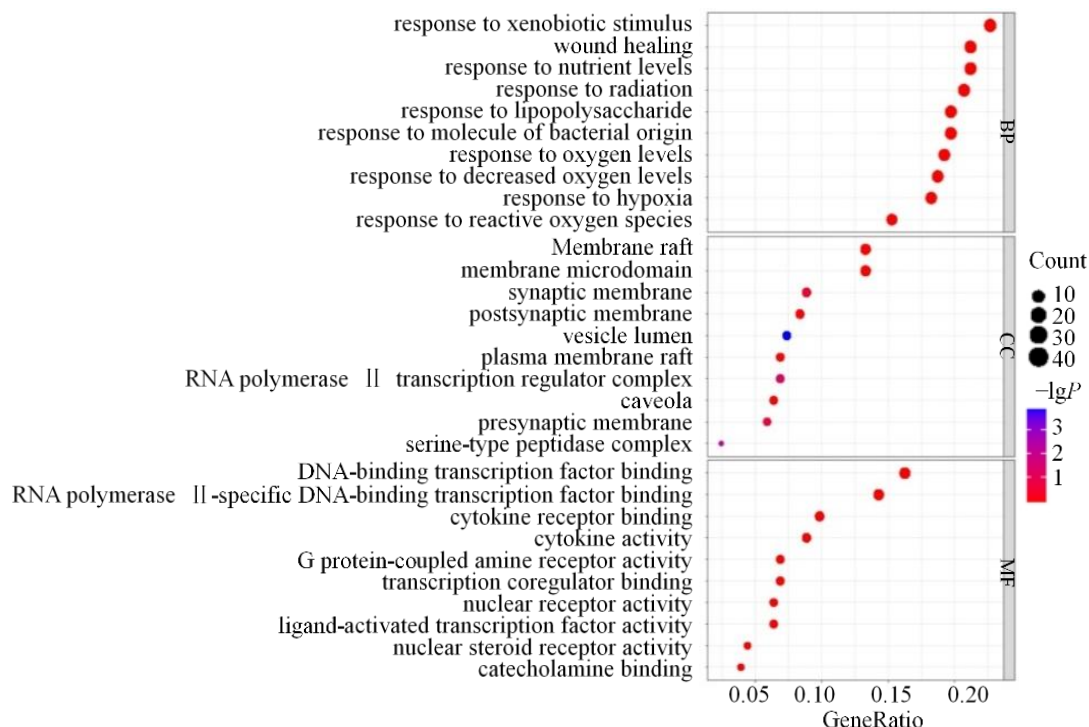


图 5 KEGG 通路分析

Fig. 5 KEGG pathway analysis

同时，针对筛选获得的显著结合活性成分及核心靶点，实施分子对接验证，并借助 Pymol 软件实现对接复合物三维构象可视化，见图 6、7。

3.3 芪参益气滴丸对腹主动脉缩窄大鼠肾脏一般形态的影响

与假手术组比较，模型组大鼠体质量无统计学意义 ($P>0.05$)，双肾质量、肾脏指数均降低 ($P<0.05$ 、 0.01)。与模型组比较，缬沙坦组、芪参益气组大鼠体

质量无统计学意义 ($P>0.05$)，双肾质量、肾脏指数均升高 ($P<0.05$ 、 0.01)，提示芪参益气滴丸对腹主动脉缩窄大鼠的肾脏可能具有保护作用。见图 8。

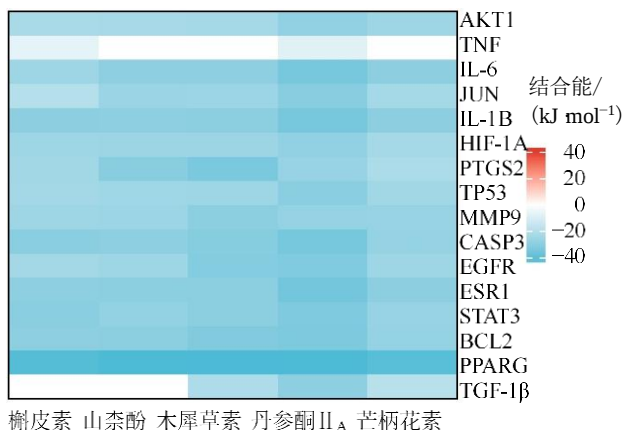
3.4 芪参益气滴丸对腹主动脉缩窄大鼠肾功能的影响

与假手术组比较，模型组大鼠血清 Scr、BUN 水平及 24 h 尿蛋白含量均升高 ($P<0.01$)。与模型组比较，缬沙坦组、芪参益气组大鼠血清 Scr、BUN 水平及 24 h 尿蛋白含量均降低 ($P<0.05$ 、 0.01)，提示芪参益气滴丸可以改善腹主动脉缩窄大鼠的肾功能。见图 9。

3.5 芪参益气滴丸对腹主动脉缩窄大鼠肾脏病理形态的影响

HE 染色观察显示，与假手术组相比，模型组大鼠肾组织呈现典型病理损伤：肾小球基本结构虽存，但近曲小管上皮细胞可见明显空泡变性及灶状坏死，管腔内存在大量脱落的细胞碎屑与蛋白管型。经药物干预后，缬沙坦组与芪参益气组均能改善上述病理变化，肾小球形态趋于正常，肾小管结构完整性得以有效维持，损伤程度较模型组明显减轻。

Masson 染色结果显示，假手术组肾脏结构正常，未见明显病理改变。与假手术组相比，模型组肾组织中可见多灶性单个核细胞浸润及肾小管萎



槲皮素 山柰酚 木犀草素 丹参酮 II_A 芒柄花素

图 6 活性成分与核心靶点分子对接结果

Fig. 6 Molecular docking results of active components with core targets

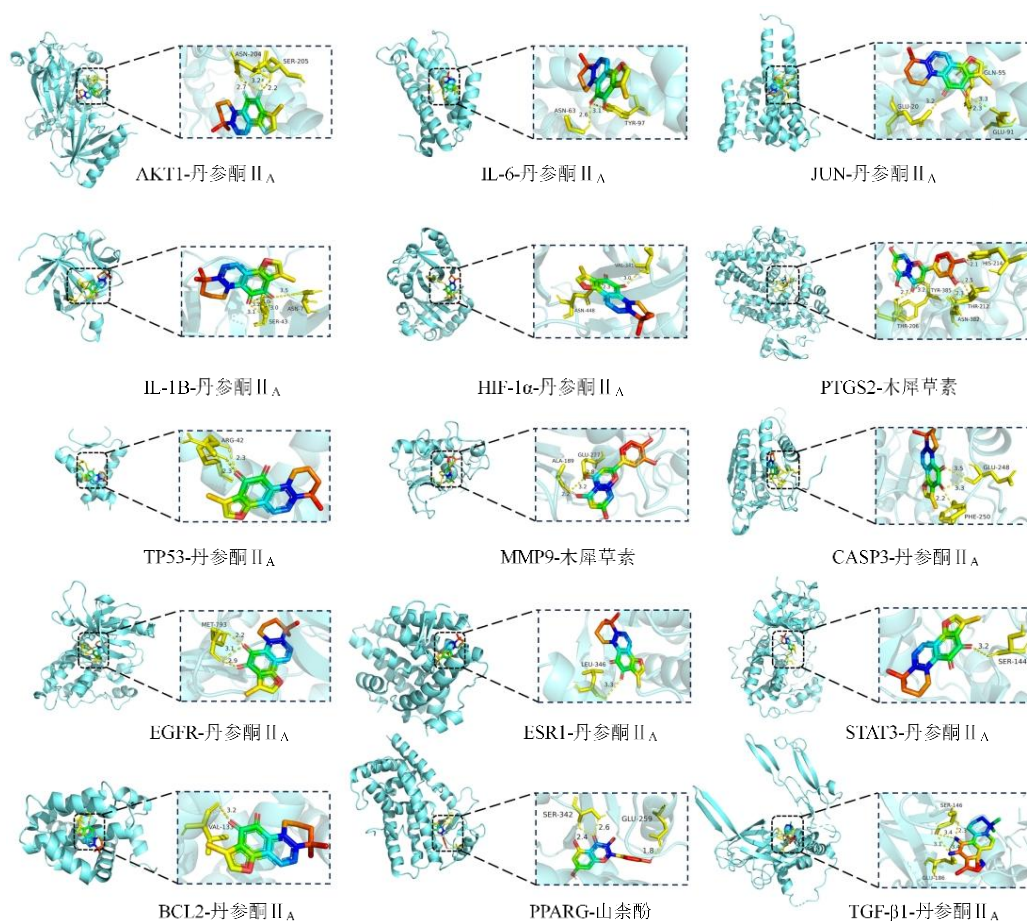
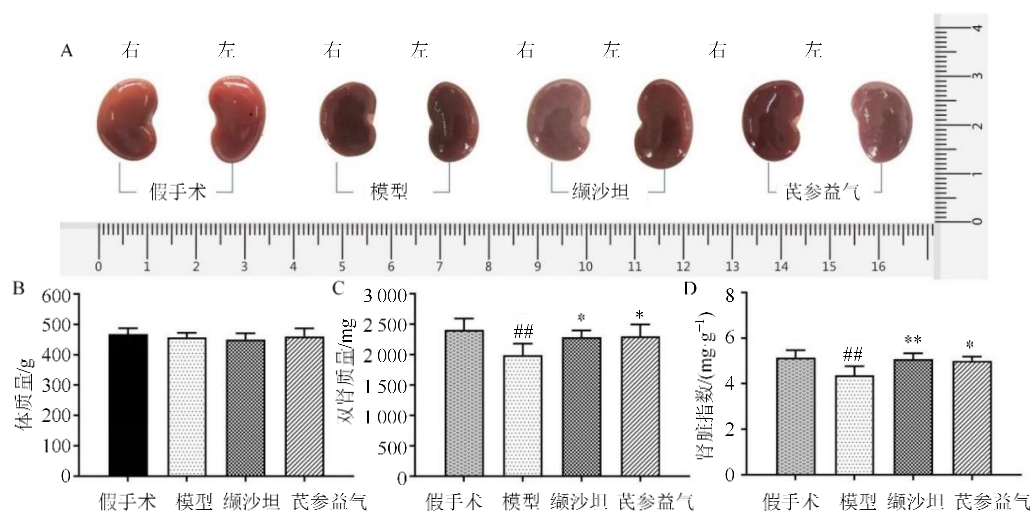


图 7 分子对接结果可视化

Fig. 7 Visualization of molecular docking results

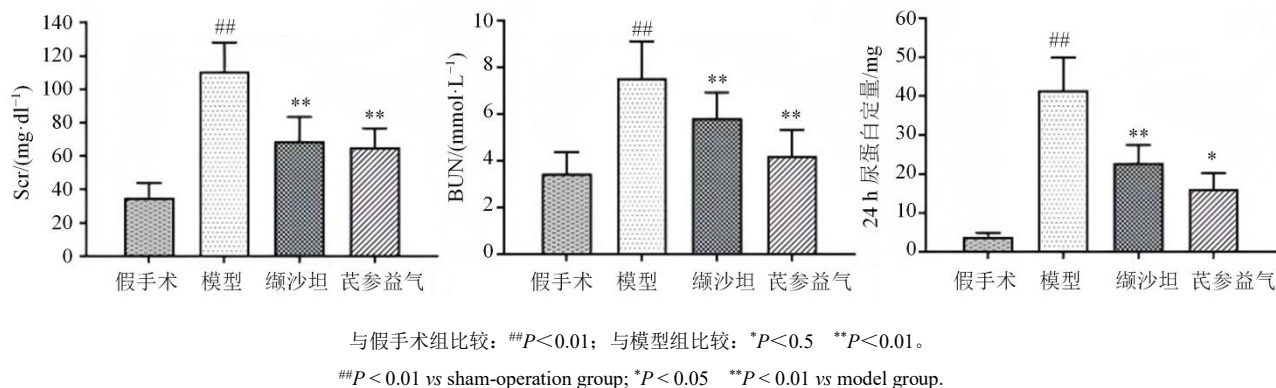


A-大鼠肾脏一般形态; B-大鼠体质量; C-大鼠双肾质量; D-肾脏指数; 与假手术组比较: $^{###}P<0.01$; 与模型组比较: $^{*}P<0.5$ $^{**}P<0.01$ 。

A-gross morphology of rat kidneys; B-body weight; C-bilateral kidney weight; D-kidney index; ^{###} $P < 0.01$ vs sham-operation group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

图8 芪参益气滴丸对腹主动脉缩窄大鼠肾脏一般形态的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 8 Effects of Qishen Yiqi Dropping Pills on gross renal morphology in rats with abdominal aortic constriction ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

图 9 芪参益气滴丸对腹主动脉缩窄大鼠肾功能的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)Fig. 9 Effects of Qishen Yiqi Dropping Pills on renal function in rats with abdominal aortic constriction ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

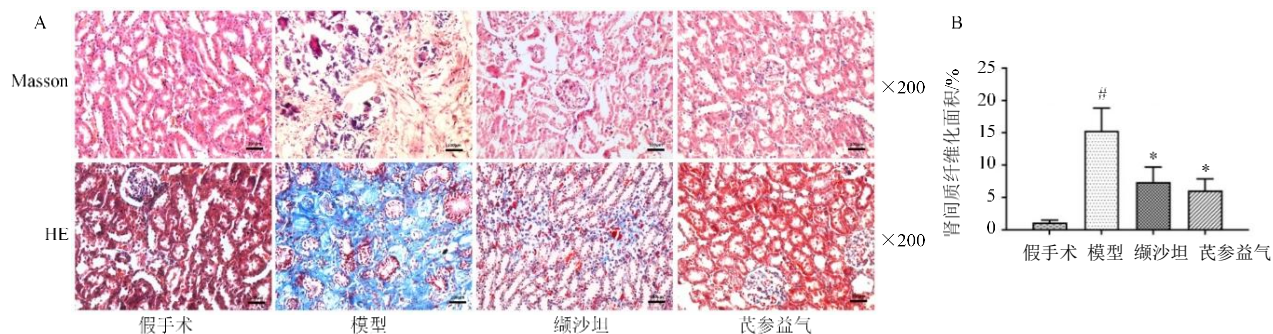
缩; 间质内可见大量蓝色胶原纤维沉积, 肾脏胶原容积分数较假手术组显著增高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 缬沙坦组及芪参益气组肾间质水肿减轻, 胶原纤维增生减少, 胶原容积分数亦下降 ($P < 0.01$), 提示芪参益气滴丸可以改善腹主动脉缩窄大鼠的肾纤维化程度。见图 10。

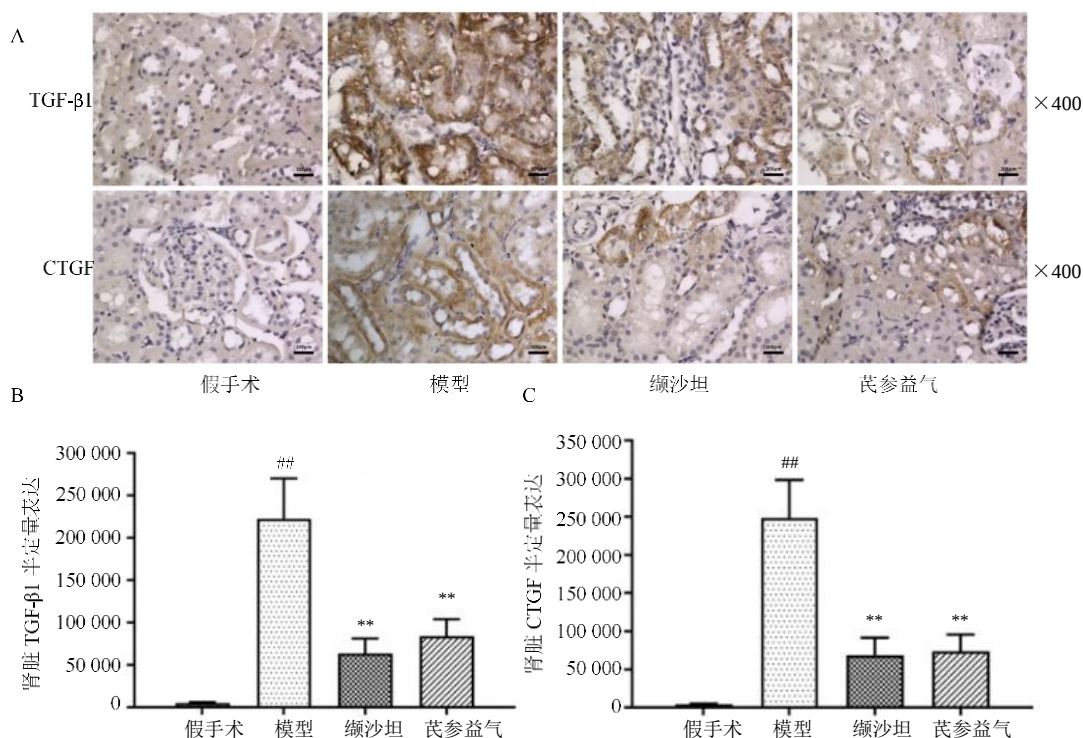
3.6 芪参益气滴丸对腹主动脉缩窄大鼠肾脏 TGF- β 1、CTGF 蛋白的影响

肾脏组织免疫组化染色结果显示: 与假手术组相比, 模型组大鼠肾组织 TGF- β 1、CTGF 蛋白表达明显增强 ($P < 0.01$), 主要表达于肾间质细胞、肾小管上皮细胞。与模型组相比, 缬沙坦组、芪参益气组肾组织 TGF- β 1、CTGF 蛋白的表达明显降低 ($P < 0.01$), 提示芪参益气滴丸的肾保护效应与抑制 TGF- β 1、CTGF 表达相关。见图 11。

CRS 以其复杂的病理生理机制和严峻的临床预后, 一直作为医学研究的重点与难点。2010 年 *European Heart Journal* 发表了关于 CRS 定义、分

型、诊断和治疗的专家共识文件^[15]; 2018 年, *Circulation* 杂志刊载的美国心脏协会 (AHA) 科学声明侧重于阐述 CRS 的病理生理机制、新兴诊断与治疗策略, 并特别关注了糖尿病患者等特殊人群的心肾相互作用特点, 同时明确了未来的研究需求^[16]; 2024 年 *Nature Reviews Nephrology* 发表文章基于既往分型提出新见解: 鉴于慢性心脏病和慢性肾脏病常并存且难以区分先后, 二者可视为由共同危险因素驱动的单一疾病实体, 因此建议将传统的 CRS 亚型 2 (慢性心功能不全导致慢性肾功能恶化) 与亚型 4 (慢性肾脏病导致慢性心功能不全) 合并^[17]。尽管国际共识文件不断更新其定义、分型及机制认识, 但其病理生理机制仍未完全阐明, 临床治疗策略亦未达成广泛共识。CRS 管理的关键挑战是权衡容量负荷管理与肾脏灌注维护, 实现抗心衰与肾功能保全的双重目标。现行治疗以改善心肾功能、减缓疾病进展、预防与处理并发症为导向, 常采用药物、超滤及心脏再同步化等干预手段^[18]。利尿剂是 CRS 管理

A-大鼠肾脏 HE、Masson 染色; B-大鼠肾间质纤维化面积; 与假手术组比较: $^{*}P < 0.05$; 与模型组比较: $^{*}P < 0.05$ 。A-renal HE and Masson's trichrome staining level in rats; B-renal interstitial fibrosis area in rats; $^{*}P < 0.05$ vs sham-operation group $^{*}P < 0.05$ vs model group.图 10 芪参益气滴丸对腹主动脉缩窄大鼠肾脏病理形态的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)Fig. 10 Effects of Qishen Yiqi Dropping Pills on renal histopathology in rats with abdominal aortic constriction ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)



A-大鼠肾脏 TGF-β1、CTGF 免疫组化染色; B~C-大鼠肾脏 TGF-β1、CTGF 蛋白积分吸光度值; 与假手术组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$ 。

A-Immunohistochemical staining of renal TGF-β1 and CTGF; B-C-integrated absorbance value of renal TGF-β1 and CTGF protein; ^{##} $P < 0.01$ vs sham-operation group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

图 11 芪参益气滴丸对腹主动脉缩窄大鼠肾脏 TGF-β1、CTGF 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Fig. 11 Effects of Qishen Yiqi Dropping Pills on renal TGF-β1 and CTGF protein expression in rats with abdominal aortic constriction ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

中的常用药物,能有效缓解水钠潴积并降低心脏前后负荷,然而长期或过度应用可致低血容量与肾灌注压下降,从而加重肾损伤;血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)与血管紧张素Ⅱ受体拮抗剂(ARB)虽可延缓病程进展,但同样可能减少肾灌注、损害肾功能;而肾脏替代治疗(RRT)在实施过程中亦可能诱发或加剧炎症反应、氧化应激及免疫失衡等不良影响^[19-20]。CRS 病理机制的复杂性涉及血流动力学紊乱、神经体液系统过度激活、炎症风暴、代谢失调及氧化应激等多重因素的交织与互动,治疗难度大,死亡率高^[21-24]。传统化学药多为单靶点、短时调控模式,难以覆盖 CRS 复杂的多机制病理网络,在通路间普遍存在交叉调控与串扰的背景下,针对单一通路或机制的药物难以达到预期的治疗效果。在既有治疗框架下,预后改善不甚理想,CRS 发生率和病死率仍居高不下,亟需探寻一种长期稳定且有效的治疗策略。因而具有多靶点、多通路治疗特点的中医药有可能在 CRS 中有突破性的疗效。

鉴于 CRS 机制的复杂性,构建能可靠模拟其

核心病理生理特征动物模型是深入研究的基础。目前 CRS 动物模型主要分为单一因素诱导型和复合因素诱导型,单一因素诱导包括主动脉缩窄动物模型、冠状动脉结扎动物模型、自发性高血压模型、动静脉瘘动物模型、给药动物模型和转基因小鼠模型等,复合因素诱导则常采用如冠脉结扎联合肾切除动物模型或药物联合肾切除模型等^[25]。其中腹主动脉缩窄术系在大鼠双肾动脉之间对腹主动脉进行机械性缩窄,通过显著提高外周血管阻力引发压力性负荷过重,促使小动脉出现腔道狭窄,由此造成肾脏相对低灌注,诱发肾素分泌上调,进而激活并增强肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS),同时一氧化氮(NO)生物有效性下降,导致血压持续升高,并加重多脏器功能与结构的进行性、不可逆性改变,最终出现高血压与心室重构等心血管病理表型,两者合并存在,相互影响,互为因果,最终促进 CRS 的发生发展。研究表明,腹主动脉缩窄大鼠的 Scr、B 型利钠肽(BNP)、左心室舒张末期压力(LVEDP)、左心室质量指数(LVMI)水平明显

升高,左肾萎缩明显,右肾代偿性增大,左右肾质量之比差异显著,提示模型组大鼠心肾损害严重^[26];腹主动脉缩窄术构建的高血压犬模型组织学结果也显示肾脏动脉损伤轻微至轻度^[27]。团队前期工作已证实腹主动脉缩窄大鼠模型能成功诱导显著的心肌纤维化、胶原沉积失衡及炎症浸润等心脏重塑特征^[9-11]。这为利用该模型探究 CRS 相关的心肾交互作用提供了实验基础,因此本研究沿用腹主动脉缩窄方法制备 CRS 大鼠模型,结果显示模型组大鼠的双肾质量、肾脏指数均降低;血清 BUN、Scr 水平,24 h 尿蛋白及肾脏胶原容积分数均明显升高,提示大鼠肾脏出现了功能障碍和病理损伤,模拟了 CRS 的关键肾脏表型。

芪参益气滴丸作为融合中医理论与现代制剂技术的复方中药,多组分协同作用是其药效基础,主要包括黄芪皂苷、丹参酮、原儿茶醛和三七总皂苷等成分^[28-29]。黄芪皂苷是黄芪的主要成分之一,研究显示黄芪和黄芪甲苷通过激活 PI3K/Akt 途径来保护免受脓毒症引起的肾小管损伤^[30]。丹参酮和原儿茶醛是丹参的主要提取物,研究表明丹参酮联合氯沙坦可以安全有效地治疗高血压肾病,并通过减少炎症和氧化应激来减轻肾脏和内皮损伤^[31];原儿茶醛不仅能抑制 NRK-52E 细胞中 TGF- β 1 诱导的上皮-间充质转化(EMT),还抑制了单侧输尿管结扎(UUO)模型诱导的 EMT 和肾纤维化,或可作为补充剂或药物用于预防和治疗肾纤维化^[32]。三七总皂苷是三七的主要有效成分,其通过下调长链非编码 RNA-ANRIL 抑制 NLRP3 炎症小体介导的细胞焦亡从而改善 4 型 CRS^[33]。此外,芪参益气滴丸通过 RPS19 介导的 TGF- β 1/Smads 通路改善缺血/再灌注引起的心肌纤维化^[34];通过改善线粒体生物合成和动态稳态来减轻心肌梗死引起的铁死亡,发挥心脏保护作用^[35]。通过抗氧化、抗炎活性以及抑制 PI3K-Akt 通路来治疗糖尿病肾病^[36];选择性地抑制 TGF- β 1 诱导的 β -catenin 上调和下游基因转录从而减轻肾间质纤维化,发挥肾脏保护作用^[37]。这些机制与本研究网络药理学预测结果高度契合,共同指向芪参益气滴丸可能通过抑制炎症、氧化应激和关键促纤维化通路发挥综合保护作用。基于上述多途径保护机制,本研究聚焦芪参益气滴丸对腹主动脉缩窄大鼠肾损伤的保护作用及其潜在机制。结果显示:芪参益气滴丸干预显著改善了模型大鼠的肾功能指标,减轻了肾脏结构损伤,并有效抑制了

肾脏胶原的异常沉积,证明芪参益气滴丸对压力超负荷所致 CRS 相关肾损伤具有保护作用。

进一步探讨其作用机制,纤维化作为炎症、氧化应激及内皮功能障碍的共同病理结局,广泛存在于高血压、缺血及器官损伤等疾病中,是慢性心脏病与慢性肾脏病的核心病理特征^[38-39]。越来越多的证据表明纤维化可能是多种 CRS 病理生理进程的关键驱动因素,其中心脏、大血管和肾脏的间质性纤维化尤为关键^[22]。TGF- β 1 是纤维化发生与进展的核心调控枢纽,能直接驱动成纤维细胞向肌成纤维细胞表型转化,介导上皮细胞发生 EMT,并上调细胞外基质(ECM)蛋白的合成与沉积^[40]。其促纤维化作用在临床与基础研究中均得到证实,合并急性肾损伤(AKI)的冠状动脉疾病(CAD)患者 TGF- β 1 水平显著增加^[41];真武汤能够通过降低 2 型 CRS 大鼠 TGF- β 1 mRNA 水平,延缓肾纤维化进程^[42]。CTGF 作为 TGF- β 1 关键的下游效应因子,介导了 TGF- β 1 的多种促纤维化作用。TGF- β 1 可特异性诱导 CTGF 表达,而 CTGF 则直接参与调控 ECM 的产生,发生间质纤维化时,其蛋白表达水平显著升高^[43]。本研究结果证明,模型大鼠肾组织中 TGF- β 1 和 CTGF 蛋白表达显著上调,这与观察到的肾脏纤维化表型相一致。而既往有研究表明,LCZ696 通过下调 TGF- β 1/Smad2/3/CTGF/Collagen IV 通路减轻 CRS 小鼠的 EMT 和肾纤维化^[44]。本研究经芪参益气滴丸干预后结果显示,大鼠 TGF- β 1 和 CTGF 蛋白表达均降低。这一发现与芪参益气滴丸减轻肾脏病理损伤和纤维化的效应关联,提示芪参益气滴丸对腹主动脉缩窄大鼠的肾保护效应可能与其抑制肾组织 TGF- β 1/CTGF 蛋白表达密切相关。

本研究结合网络药理学与腹主动脉缩窄大鼠模型探讨了芪参益气滴丸的肾保护作用机制,揭示芪参益气滴丸或通过调控 TGF- β 1/CTGF 通路抑制肾纤维化,为中医药多靶点干预 CRS 提供实验依据。然而,本研究仅初步探讨了芪参益气滴丸的肾保护效应,仍需后续体外实验补充完善;未深入探究芪参益气滴丸各成分的协同作用机制。未来可结合单细胞测序与代谢组学技术,进一步解析其精准作用网络,进一步揭示其多靶点、多环节的效应机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Ronco C, House A A, Haapio M. Cardiorenal syndrome: Refining the definition of a complex symbiosis gone

- wrong [J]. *Intensive Care Med*, 2008, 34(5): 957-962.
- [2] Elsayed E F, Tighiouart H, Griffith J, et al. Cardiovascular disease and subsequent kidney disease [J]. *Arch Intern Med*, 2007, 167(11): 1130-1136.
- [3] Cheang I, Yao W M, Zhou Y L, et al. The traditional Chinese medicine Qiliqiangxin in heart failure with reduced ejection fraction: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Nat Med*, 2024, 30(8): 2295-2302.
- [4] Yang Y J, Li X D, Chen G H, et al. Traditional Chinese medicine compound (Tongxinluo) and clinical outcomes of patients with acute myocardial infarction: The CTS-AMI randomized clinical trial [J]. *JAMA*, 2023, 330(16): 1534-1545.
- [5] Zhao J, Tostivint I, Xu L D, et al. Efficacy of combined Abelmoschus manihot and irbesartan for reduction of albuminuria in patients with type 2 diabetes and diabetic kidney disease: A multicenter randomized double-blind parallel controlled clinical trial [J]. *Diabetes Care*, 2022, 45(7): e113-e115.
- [6] 唐媛媛, 王磊, 鲁大胜. 芪参益气滴丸联合非洛地平治疗冠心病心绞痛的临床研究 [J]. *现代药物与临床*, 2024, 39(5): 1216-1220.
- Tang Y Y, Wang L, Lu D S. Clinical study on Qishen Yiqi Dropping Pills combined with felodipine in treatment of heart disease and angina pectoris [J]. *Drugs Clin*, 2024, 39(5): 1216-1220.
- [7] Lu C M, Yang Y S, Lu Y M, et al. Qishen Yiqi Dripping Pills for cardiovascular diseases: Effects and mechanisms [J]. *Chin J Integr Med*, 2023, 29(9): 857-864.
- [8] 中华医学会心血管病学分会, 中国医师协会心血管内科医师分会, 中国医师协会心力衰竭专业委员会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2024 [J]. *中华心血管病杂志*, 2024, 52(3): 235-275.
- Chinese Society of Cardiology, Chinese Medical Association, Chinese College of Cardiovascular Physician, Chinese Heart Failure Association of Chinese Medical Doctor Association, et al. Chinese Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Heart Failure 2024 [J]. *Chin J Cardiol*, 2024, 52(3): 235-275.
- [9] Lv S C, Yuan P, Lu C M, et al. QiShenYiQi pill activates autophagy to attenuate reactive myocardial fibrosis via the PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. *Aging*, 2021, 13(4): 5525-5538.
- [10] Lv S C, Wang Q, Wu M F, et al. QiShenYiQi pill improves myocardial hypertrophy caused by pressure overload in rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 5536723.
- [11] Lv S C, Wu M F, Li M, et al. Effect of QiShenYiQi pill on myocardial collagen metabolism in rats with partial abdominal aortic coarctation [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 415068.
- [12] Liu H, Wang J N, Zhou W, et al. Systems approaches and polypharmacology for drug discovery from herbal medicines: An example using licorice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 146(3): 773-793.
- [13] 吕仕超, 张军平, 李萌, 等. 压力超负荷大鼠心肌胶原代谢的动态变化 [J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(4): 740-743.
- Lü S C, Zhang J P, Li M, et al. Dynamic changes of myocardial collagen metabolism in pressure-overloaded rats [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2017, 33(4): 740-743.
- [14] 徐叔云. 药理实验方法学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 202-204.
- Xu S Y. *Pharmacological Experimental Methodology* [M]. 3rd Ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002: 202-204.
- [15] Ronco C, McCullough P, Anker S D, 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.
- [16] Rangaswami J, Bhalla V, Blair J E A, 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.
- [17] Zoccali C, Mallamaci F, Halimi J M, et al. Chronic cardiovascular-kidney disorder: A new conceptual framework [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2024, 20: 201-202.
- [18] Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) [J]. *Eur Heart J*, 2008, 29(19): 2388-2442.
- [19] Sackner-Bernstein J D, Skopicki H A, Aaronson K D. Risk of worsening renal function with nesiritide in patients with acutely decompensated heart failure [J]. *Circulation*, 2005, 111(12): 1487-1491.
- [20] 夏亚萍, 雒云祥, 路小燕. 心肾综合征中西医结合治疗研究进展 [J]. *中西医结合研究*, 2021, 13(2): 115-117, 121.
- Xia Y P, Luo Y X, Lu X Y. Research progress on integrated traditional Chinese and western medicine treatment for cardiorenal syndrome [J]. *Res Integr Tradit Chin West Med*, 2021, 13(2): 115-117, 121.
- [21] Ruocco G, Palazzuoli A, Ter Maaten J M. The role of the kidney in acute and chronic heart failure [J]. *Heart Fail Rev*, 2020, 25(1): 107-118.
- [22] Zannad F, Rossignol P. Cardiorenal syndrome revisited [J].

- Circulation, 2018, 138(9): 929-944.
- [23] Cabandugama P K, Gardner M J, Sowers J R. The renin angiotensin aldosterone system in obesity and hypertension: Roles in the cardiorenal metabolic syndrome [J]. Med Clin North Am, 2017, 101(1): 129-137.
- [24] Banerjee S, Panas R. Diabetes and cardiorenal syndrome: Understanding the “triple threat” [J]. Hellenic J Cardiol, 2017, 58(5): 342-347.
- [25] 查玉玲, 孔淼, 周育平, 等. II 型心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.
- Zha Y L, Kong M, Zhou Y P, et al. Advances in the study of animal models of type II cardiorenal syndrome [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(4): 535-541.
- [26] 鲁成, 谭艳, 宋磊, 等. 益气温阳中药对腹主动脉缩窄诱导的心肾损害大鼠的干预研究 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2017, 18(3): 196-200.
- Lu C, Tan Y, Song L, et al. The therapeutic effects of the traditional Chinese medicine yi qi Wen Yang on the cardio-renal damages in rats induced by abdominal aortic coarctation [J]. Chin J Integr Tradit West Nephrol, 2017, 18(3): 196-200.
- [27] Li H J, Yu H, Zeng C Y, et al. Renal denervation using catheter-based radiofrequency ablation with temperature control: Renovascular safety profile and underlying mechanisms in a hypertensive canine model [J]. Clin Exp Hypertens, 2015, 37(3): 207-211.
- [28] 王婧媛, 吕春晓, 黄宇虹. 基于 MCDA 模型的芪参益气滴丸联合沙库巴曲缬沙坦治疗慢性心力衰竭效益风险评价 [J]. 中草药, 2024, 55(6): 1878-1883.
- Wang J Y, Lü C X, Huang Y H. Benefit-risk evaluation of Qishen Yiqi Dropping Pills combined with sacubitril valsartan in treatment of chronic heart failure based on MCDA model [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(6): 1878-1883.
- [29] Shao Y P, Zhang W, Tong L, et al. Simultaneous determination of eight bioactive components of Qishen Yiqi Dropping Pills in rat plasma using UFLC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study [J]. Biomed Chromatogr, 2017, 31(8).
- [30] Tang J L, Xin M, Zhang L C. Protective effect of *Astragalus membranaceus* and astragaloside IV in sepsis-induced acute kidney injury [J]. Aging, 2022, 14(14): 5855-5877.
- [31] Chen L Z, Wu J, Xu H S, et al. Effects of tanshinone combined with valsartan on hypertensive nephropathy and its influence on renal function and vascular endothelial function [J]. Am J Transl Res, 2021, 13(5): 4788-4795.
- [32] Chang Y T, Chung M C, Chang C H, et al. Anti-EMT and anti-fibrosis effects of protocatechuic aldehyde in renal proximal tubular cells and the unilateral ureteral obstruction animal model [J]. Pharm Biol, 2022, 60(1): 1198-1206.
- [33] Xu Y, Cao L X, Zou W L, et al. *Panax notoginseng* saponins inhibits NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis by downregulating lncRNA-ANRIL in cardiorenal syndrome type 4 [J]. Chin Med, 2023, 18(1): 50.
- [34] Zheng Q N, Wei X H, Pan C S, et al. QiShenYiQi Pills® ameliorates ischemia/reperfusion-induced myocardial fibrosis involving RP S19-mediated TGFβ1/Smads signaling pathway [J]. Pharmacol Res, 2019, 146: 104272.
- [35] Wu L L, Fan Z Y, Gu L F, et al. QiShenYiQi Dripping Pill alleviates myocardial ischemia-induced ferroptosis via improving mitochondrial dynamical homeostasis and biogenesis [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 308: 116282.
- [36] Li S H, Xu G B. Qishen Yiqi dripping pill protects diabetic nephropathy by inhibiting the PI3K-AKT signaling pathways in rats [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 6239829.
- [37] Zhou Z M, Hu Z, Li M, et al. QiShenYiQi attenuates renal interstitial fibrosis by blocking the activation of β-catenin [J]. PLoS One, 2016, 11(9): e0162873.
- [38] Huang R S, Fu P, Ma L. Kidney fibrosis: From mechanisms to therapeutic medicines [J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 129.
- [39] Ravarotto V, Bertoldi G, Stefanelli L F, et al. Pathomechanism of oxidative stress in cardiovascularrenal remodeling and therapeutic strategies [J]. Kidney Res Clin Pract, 2022, 41(5): 533-544.
- [40] Kim K K, Sheppard D, Chapman H A. TGF-β1 signaling and tissue fibrosis [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2018, 10(4): a022293.
- [41] Gilham D, Wasiak S, Rakai B D, et al. Apabetalone downregulates fibrotic, inflammatory and calcific processes in renal mesangial cells and patients with renal impairment [J]. Biomedicines, 2023, 11(6): 1663.
- [42] Xu X, Wang Y J, Song Q Q, et al. Mechanism of Zhenwu Decoction modulating TLR4/NF-κB/HIF-1α loop through miR-451 to delay renal fibrosis in type 2 CRS [J]. Phytomedicine, 2024, 132: 155632.
- [43] Trampuș S R, van Riet S, Nordling Å, et al. The role of CTGF in liver fibrosis induced in 3D human liver spheroids [J]. Cells, 2023, 12(2): 302.
- [44] Li Y, Kang L, Rong K, et al. Renal protective effects and mechanisms of the angiotensin receptor-neprilysin inhibitor LCZ696 in mice with cardiorenal syndrome [J]. Life Sci, 2021, 280: 119692.