

· 实验研究 ·

养心颗粒调控 GSK3 β 、COX2 和 AQP2 干预 心衰大鼠水钠潴留的作用机制

王洋¹, 张军茹², 代鑫¹, 王聪¹, 高小龙³, 刘歌¹, 任得志^{2*}

1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西省中医医院, 陕西 西安 710000;
3. 延安大学西安创新学院, 陕西 延安 716000

摘要 目的: 探究养心颗粒调控 GSK3 β 、COX2 和 AQP2 干预心衰大鼠水钠潴留的作用机制。方法: SPF 级 SD 大鼠 100 只, 随机分为假手术组(10 只)和造模组(90 只), 将造模组结扎冠状动脉左前降支 2 周, 诱导心肌梗死后心衰大鼠模型, 随后将造模组随机分为模型组, 养心颗粒低、中、高剂量组, 托伐普坦组和联合干预组(托伐普坦联合养心颗粒), 各组大鼠接受 1 次/d 的药物干预, 在给药第 2 周和第 4 周, 分别在 6、12、24 h 的时间点收集尿量。末次给药后取材, 通过超声心动图记录各组大鼠的左室射血分数(LVEF)和左室短轴缩短分数(LVFS)。记录大鼠尿量、体质量, 计算得出心脏和肾脏指数。ELISA 法检测大鼠血清脑钠肽(BNP)水平; HE 和 Masson 染色对大鼠心肌组织进行病理学观察; Western blot 法检测大鼠肾脏组织中 GSK3 β 、COX2 和 AQP2 蛋白的表达水平。结果: 与模型组比较, 养心颗粒可以使心衰大鼠尿量增加($P < 0.05$, $P < 0.01$), 血清 BNP 水平下降($P < 0.05$), 心功能指标 LVEF、LVFS 值升高($P < 0.05$, $P < 0.01$), 并使 COX2 的表达上调($P < 0.05$)。与模型组比较, 托伐普坦组及养心颗粒 + 托伐普坦组 GSK3 β 及 AQP2 的表达下调($P < 0.01$); 养心颗粒能改善心衰大鼠心肌组织损伤及炎性细胞浸润。结论: 养心颗粒可通过调控肾小管 GSK3 β 、COX2 的表达, 继而抑制 AQP2, 减少水的重吸收, 发挥改善心力衰竭水钠潴留的作用。

关键词 养心颗粒; 心力衰竭; 水钠潴留; GSK3 β ; COX2; AQP2

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1002-2392(2026)01-0010-09

DOI: 10.19664/j.cnki.1002-2392.260003

慢性心力衰竭(Chronic heart failure, CHF)是一种以心室泵血能力减退为特征的心脏结构与功能异常性疾病, 表现为呼吸困难、乏力以及液体潴留等, 后者广泛涉及体循环、肺循环以及外周组织的血液瘀积与水肿, 具有患病率高、病情严重且预后不佳等特点^[1]。针对慢性心衰患者普遍存在的液体潴留问题, 利尿剂是治疗的基石^[2], 然而, 临床实践中发现, 部分患者在接受大剂量利尿剂治疗后, 仍难以有效改善液体潴留

情况, 此现象被定义为利尿剂抵抗(Diuretic resistance, DR)^[3]。利尿剂抵抗的机制涉及多个方面^[4], 长期应用利尿剂时, 机体会出现适应性调节, 肾远曲小管与集合管的钠转运蛋白活性上调, 使得钠、水重吸收作用增强, 这会削弱利尿剂原本促进钠、水排泄的作用。另外, 交感神经系统的兴奋状态可引发肾血管收缩, 肾脏灌注量随之减少, 进而造成肾小球滤过率降低, 最终导致尿液生成量减少, 使得利尿剂难以充分发挥其预期作用, 由此引发利尿剂抵抗现象。近年来, 慢性心衰利尿剂抵抗已经成为心衰管理中的一个棘手难题, 这也凸显出研发安全、高效的药物用于防治利尿剂抵抗具有重要意义。

中药依托其悠久的历史与丰富的经验, 在 CHF 的防治中独具优势。中医理论认为, 本病病机复杂, 本虚标实交织, 气虚为本, 血瘀为标, 常兼阴虚、阳虚、痰浊、水饮。中药通过辨证施治, 益气养阴、活血化瘀、化痰

收稿日期: 2024-10-20 修回日期: 2025-06-16

基金项目: 陕西省中西医结合心血管病防治重点实验室开放课题(KF2222); 陕西省自然科学基金基础研究计划(2023-JC-YB-764)

作者简介: 王洋(1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 中西医结合治疗心血管病。

* 通信作者: 任得志(1983-), 男, 博士, 副主任医师, 研究方向: 中西医结合治疗心血管病。

利尿等多法并举,精准作用于病机,实现全面调控与个体化治疗相结合,为CHF患者提供有效治疗措施。张军茹教授立足经典,从心衰病机出发,在王朝宏教授创制的养心合剂基础上制备了养心颗粒,广泛用于心肾阳虚,血瘀水停的CHF患者,可以有效缓解利尿剂抵抗,显著增加尿量,改善患者心脏功能,提升整体生活质量及长期预后^[5]。网络药理学分析发现该方可作用于导致CHF的88个致病基因,其中基于节点拓扑分析发现GSK3 β 和环氧合酶2(COX2)可能具有重要作用;而在核心致病基因分析中,发现养心颗粒可能作用于GSK3 β 、COX2和血管加压素受体2(AVPR2)等,另外,既往研究^[6-7]还显示GSK3/COX2是肾小管AQP2的重要调节因子。前期研究^[8-9]发现养心颗粒能降低患者血浆AVP、尿液AQP2水平,从而抑制水钠的重吸收,增加24 h尿量,改善利尿剂抵抗,达到治疗CHF水钠潴留的效果,但其具体作用机制尚未明确。本次研究旨在探讨养心颗粒调控GSK3 β 、COX2和AQP2的机制,进一步明确其干预慢性心衰水钠潴留的作用机制。

1 材料

1.1 动物

SD大鼠100只,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,生产许可证号为SCXK(京)2019-0010,体重(200 $\pm$ 20)g。大鼠饲养于陕西中医药大学北校区SPF级标准实验动物房中,采用标准合成饲料及纯净水进行饲养,并维持适宜的温度(22~25℃)、湿度(45%~50%)和照明(12 h交替周期),以及良好通风条件,适应性饲养时间为1周。本实验动物研究方案已顺利通过陕西省中医医院伦理委员会的严格审查与批准,伦理审查批准编号:(2024)动物伦审第(04)号。

1.2 药物及制备

养心颗粒购自陕西省中医药研究院,其由熟地黄15 g,桂枝10 g,制附子10 g,黄芪30 g,山茱萸12 g,麦冬12 g,丹参15 g,泽泻10 g,茯苓15 g组成。养心颗粒的制备工艺包括原料处理、有效成分提取、浓缩干燥、制粒等步骤,前期研究^[10]通过正交试验确定养心颗粒的提取工艺,可以确保颗粒质量稳定可靠。将养心颗粒研磨成细粉状后,加入0.9%生理盐水配制成混悬液,4℃冰箱保存备用,使用前取相应剂量药液温水浴加热。托伐普坦片(国药准字H20213152,江苏恒瑞医药股份有限公司,15 mg $\times$ 8片)碾碎成细小颗粒后加入温开水,充分搅拌使其溶解,按照治疗心力衰竭引起水钠潴留的推荐剂量15 mg/d,依据“人与大鼠间体表面积折算等效剂量比值表”进行计算,最终确定

大鼠的托伐普坦等效剂量为1.57 mg $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹。

1.3 主要试剂

Rat BNP ELISA Kit(优尔生,批号:L230823508);苏木素染色液(Servicebio,批号:G1077);伊红染色液(Servicebio,批号:G1002);Masson三色染色液(Servicebio,批号:G1006);组织细胞固定液(Servicebio,批号:G1101);BCA蛋白浓度测定试剂盒(Servicebio,批号:G2026);PVDF膜(Servicebio,批号:WGPVDF45);10 $\times$ 电泳转移缓冲液(Servicebio,批号:G2148);10 $\times$ 电泳缓冲液(Servicebio,批号:G2149);TBST缓冲液(Servicebio,批号:G2150);ECL发光试剂盒(Servicebio,批号:G2020);脱脂奶粉(Servicebio,批号:GC310001);RIPA裂解液(Servicebio,批号:G2002)。

1.4 主要仪器

BCM生物型超净工作台(苏净安泰);ME203E/02型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];D3024R型台式高速冷冻离心机(DRAGONLAB);KZ-III-FP型研磨仪(Servicebio);SMB-MC型金属浴(Servicebio);Epoch型酶标检测仪(Rayto);GA1049型小动物超声波成像系统(Servicebio);HXC-258型4℃冰箱(海尔);DW-86L579BPT型-80℃冰箱(海尔);BX53型显微镜(OLYMPUS);YB-6LF型生物组织包埋机(湖北亚光);ZT-14S3型生物组织自动脱水机(湖北亚光);SVE-2型蛋白电泳仪(BIO-RAD);ChemiDoc MP型凝胶成像系统(BIO-RAD)。

2 方法

2.1 造模方法

构建心肌梗死后慢性心力衰竭模型时,选用经典的“左冠状动脉前降支结扎术”^[11]。①实验前启动吸入式动物麻醉机,通入异氟烷(瑞沃德R510-22-10),将大鼠放置于麻醉舱内,待其昏迷后取出并固定于操作台上,持续吸入异氟烷以维持麻醉,在麻醉状态下造模;②随机选择10只大鼠作为假手术组,用6-0无创缝线,仅对其左冠状动脉前降支进行穿线而不结扎,其余大鼠则穿线并结扎左冠状动脉前降支;③沿大鼠左侧心脏搏动最明显处打开胸廓、撕开心包层,将心脏迅速挤压至胸外,在肺动脉圆锥与左心耳边缘交界下1 mm处穿线并进行结扎;④结扎后可见心室壁颜色变苍白,结扎完成后将心脏复位,关闭胸腔(保持胸腔负压状态),缝合并消毒,置于保温垫上待其苏醒;⑤剔除术后死亡大鼠,所有存活大鼠经2周正常喂养后均行心脏超声检测,以LVEF $\leq$ 50%为标准,判定心肌梗后心力衰竭模型的成功构建^[12]。

2.2 分组

造模手术 2 周后,对成功建模且存活的大鼠进行随机分组,分为假手术组 10 只(Sham 组)、模型组 8 只(Model 组)、养心颗粒低剂量组 8 只(L-YXKL 组)、养心颗粒中剂量组 7 只(M-YXKL 组)、养心颗粒高剂量组 8 只(H-YXKL 组)、托伐普坦组 8 只(TFPT 组)以及养心颗粒联合托伐普坦干预组 8 只(TFPT+YXKL 组)。

2.3 药物干预

假手术组与模型组大鼠仅给予等体积 0.9% 生理盐水灌胃处理,养心颗粒低、中、高剂量组分别给予 $1.58 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $3.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $6.30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 养心颗粒灌胃;托伐普坦组大鼠给予托伐普坦 $1.57 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 的剂量灌胃;养心颗粒联合托伐普坦干预组给予中剂量养心颗粒溶液和托伐普坦溶液灌胃。各组按个体给药量,将药物溶解于适量生理盐水后进行灌胃。

2.4 动物取材

在灌胃的第 2、4 周将大鼠安置在代谢笼中,正常喂养,收集 6 h、12 h、24 h 尿量数据。灌胃 4 周后,对所有大鼠行心功能检测,称量并记录其体质量。异氟烷吸入诱导大鼠麻醉,采用腹主动脉穿刺法取血,每只采集血液 10 mL,4 ℃ 静置 2 h 后进行离心处理(4 ℃, 3 000 r/min, 10 min),取上清液分装于 1.5 mL 无菌 EP 管内,每管 500 μL ,置于 -80 ℃ 冰箱保存待测。完成取血后,迅速解剖大鼠胸腹腔,摘取其心脏与肾脏组织,用 4 ℃ 生理盐水清理干净并剥离多余组织,再次以生理盐水清洗 2~3 次,吸干水分并称重记录,随后将肾脏组织迅速液氮冷冻, -80 ℃ 冰箱低温保存,将左心室剥离出来置于 4% 多聚甲醛溶液中固定,常温保存待测。

2.5 指标检测及方法

2.5.1 一般指标观察

造模前观察大鼠的摄食习性、精神状态、皮毛光泽度、活动频率、反应灵敏度等,确保各组大鼠在基线水平上的均衡性。造模后加强对大鼠术后恢复情况的监控,同时持续监测上述基础指标,并特别留意大鼠的粪便性状,是否出现紫绀或水肿等异常体征。

2.5.2 心脏超声检测大鼠心功能

检测前 4 h,对灌胃 4 周后的各组大鼠进行禁食处理(饮水不限制),通过异氟烷吸入方式诱导麻醉。麻醉稳定后,将左胸进行脱毛处理,利用心脏超声技术捕捉心脏影响,记录大鼠 LVEF、LVFS 数值,连续检测 3~5 个心动周期并计算平均值,科学评估大鼠心脏结构和功能状态。

2.5.3 大鼠尿量测定

将代谢笼中收集到的大鼠 2、4 周尿量进行 3 个时间段(6 h、12 h、24 h)的测定并记录。

2.5.4 大鼠体质量、心脏指数、肾脏指数测定

将记录好的大鼠体质量、心脏质量、肾脏质量,依据标准化的脏器指数计算公式(脏器湿重/体质量 $\times 100\%$),计算大鼠心脏指数与肾脏指数。

2.5.5 ELISA 检测大鼠血清中 BNP 水平

取预存于 EP 管中待测的血清上清液,严格遵守 ELISA 试剂盒操作指南,进行 BNP(脑钠肽)含量的定量分析。

2.5.6 HE 染色、Masson 染色观察大鼠心肌组织病理学变化

将固定于 4% 多聚甲醛溶液中的心肌组织取出适量,常规脱水处理,石蜡包埋制作成病理切片,再将切片依次过二甲苯、乙醇,缓慢冲洗去除乙醇。准备完成后依次通过 HE 染色(苏木素-伊红染色法)和 Masson 染色(苏木素-丽春红-苯胺蓝染色法),分别展现心肌细胞的形态结构及胶原纤维的分布情况,借助显微镜观察并分析心肌组织的病理变化。

2.5.7 Western blot 法检测大鼠肾脏组织中 GSK3 β 、COX2、AQP2 蛋白水平

将 -80 ℃ 冷冻保存的肾脏组织提前取出解冻,分别装进 1.5 mL 无菌 EP 管,加入蛋白裂解液进行裂解,超声破碎仪低温研磨组织以破碎细胞,离心(4 ℃, 12 000 r/min, 10 min)后收集上清液(即总蛋白)。用 BCA 法进行蛋白定量,制备适宜浓度的蛋白样品,在其中加入上样缓冲液,加热煮沸 5 min,进行 SDS-PAGE 电泳分离,转膜后用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h,然后加入特异性一抗,4 ℃ 孵育过夜,使用 TBST 洗涤 3 次,每次 5 min;接着加入特异性二抗,室温下孵育 1 h,使用 TBST 洗涤 3 次,每次 5 min,使用 ECL 试剂盒检测目标蛋白的表达水平。内参对照为 GAPDH,最后,利用凝胶成像系统对检测结果进行成像与分析。

2.6 统计分析

运用 SPSS26.0 统计软件对实验过程中收集到的数据进行统计学分析,为确保数据的直观性与精确性,所有数据均以“平均值 $\pm$ 标准差”表示。本实验各组数据均进行正态分布检验和方差齐性检验,单因素方差分析用于多组间差异的比较,多组间两两对比用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠一般状态比较

Sham 组大鼠精神状态良好、毛发光泽、进食饮水

均正常、活动度良好、反应敏捷,体质量显著增长;Model 组大鼠在造模 4 周后表现出病态特征,如食欲下降、精神萎靡、嗜睡、活动量减少、毛发干燥并脱毛、反应迟钝、乏力倦怠,部分大鼠出现口唇紫绀、皮下水肿、体质量下降等情况;TFPT 组大鼠状态介于 Sham 组与 Model 组,进食尚可、精神状态一般、毛发光泽,活动稍减少,反应迟钝,无明显四肢水肿;H - YXKL 组在连续给药 4 周后,其状态较 Model 组有明显改善,进食饮水尚正常、精神状态良好、毛发尚光泽、活动尚可、反应稍迟缓、无明显四肢水肿、口唇紫绀等情况;TFPT + YXKL 组大鼠与 Sham 组大鼠情况相近。

3.2 养心颗粒对大鼠心功能的影响

心衰大鼠给药 4 周后,心脏超声检测各组大鼠的心功能情况。与 Sham 组相比,Model 组大鼠的 LVEF、LVFS 均显著降低($P < 0.01$),证实了大鼠左心室心脏结构及心功能均呈现出病理状态。与 Model 组相比,L - YXKL 组差异无统计学意义($P > 0.05$),M - YXKL 组大鼠的 LVEF、LVFS 明显升高($P < 0.05$),其余各药物组大鼠的 LVEF、LVFS 均显著升高($P < 0.01$)。与 TFPT 组相比,L - YXKL 组、M - YXKL 组、H - YXKL 组的 LVEF、LVFS 差异均有统计学意义($P < 0.01$);TFPT + YXKL 组表现出明显差异性($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 养心颗粒对大鼠心脏超声 LVEF、LVFS 的影响($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	LVEF	LVFS
Sham 组	10	75.90 ± 3.17	46.12 ± 2.92
Model 组	8	34.86 ± 5.82 ^{**}	17.57 ± 3.23 ^{**}
L - YXKL 组	8	36.10 ± 5.35 ^{▲▲}	18.26 ± 2.94 ^{▲▲}
M - YXKL 组	7	41.55 ± 5.17 ^{###▲▲}	21.37 ± 3.07 ^{###▲▲}
H - YXKL 组	8	46.79 ± 5.79 ^{###▲▲}	24.63 ± 3.63 ^{###▲▲}
TFPT 组	8	54.44 ± 5.16 ^{###}	29.36 ± 3.43 ^{###}
TFPT + YXKL 组	8	59.56 ± 5.05 ^{###▲}	32.79 ± 3.57 ^{###▲}

注:与 Sham 组比较,^{**} $P < 0.01$;与 Model 组比较,[#] $P < 0.05$,^{###} $P < 0.01$;与 TFPT 组比较,[▲] $P < 0.05$,^{▲▲} $P < 0.01$ 。

3.3 养心颗粒对大鼠 6 h、12 h、24 h 尿量的影响

给药 2 周后,与 Sham 组相比,Model 组大鼠 6 h 尿量明显减少($P < 0.05$),12 h、24 h 尿量显著减少($P < 0.01$)。给予药物干预后,与 Model 组相比,H - YXKL 组 24 h 尿量显著增加($P < 0.01$);TFPT 组 6 h 尿量明显增加($P < 0.05$),12 h、24 h 尿量显著增加($P < 0.01$);TFPT + YXKL 组各时间段尿量均显著增加($P < 0.01$)。与 TFPT 组相比,L - YXKL 组在 6 h 时间段表现出明显差异($P < 0.05$),在 12 h 及 24 h 表现出显著差异($P < 0.01$);M - YXKL 组在 12 h 表现出明显差异($P < 0.05$);TFPT + YXKL 组在 24 h 尿量明显增多

($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 养心颗粒对给药 2 周后大鼠 6 h、12 h、24 h 尿量的影响($\bar{x} \pm s, \text{mL}$)

组别	<i>n</i>	6 h	12 h	24 h
Sham 组	10	6.96 ± 0.86	11.56 ± 1.80	21.86 ± 2.56
Model 组	8	3.43 ± 0.98 [*]	6.23 ± 2.38 ^{**}	10.80 ± 2.72 ^{**}
L - YXKL 组	8	3.06 ± 0.65 [▲]	6.93 ± 0.71 ^{▲▲}	11.00 ± 3.73 ^{▲▲}
M - YXKL 组	7	4.86 ± 2.57	7.60 ± 1.73 [▲]	15.36 ± 2.95
H - YXKL 组	8	4.80 ± 2.15	8.90 ± 1.32	19.13 ± 3.23 ^{###}
TFPT 组	8	6.76 ± 1.58 [#]	12.06 ± 1.70 ^{###}	20.90 ± 3.89 ^{###}
TFPT + YXKL 组	8	8.40 ± 0.85 ^{###}	13.66 ± 2.90 ^{###}	26.66 ± 1.75 ^{###▲}

注:与 Sham 组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与 Model 组比较,[#] $P < 0.05$,^{###} $P < 0.01$;与 TFPT 组比较,[▲] $P < 0.05$,^{▲▲} $P < 0.01$ 。

给药 4 周后,与 Sham 组相比,Model 组大鼠 6 h、12 h、24 h 尿量显著减少,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。与 Model 组相比,L - YXKL 组在各时间段差异无统计学意义($P > 0.05$);M - YXKL 组在 24 h 明显增多($P < 0.05$);余各给药组的尿量在各个时间段均显著增多($P < 0.01$)。而与 TFPT 组相比,L - YXKL 组在各时间段差异均有统计学意义($P < 0.01$);M - YXKL 组在 6 h、24 h 表现出明显差异($P < 0.05$),在 12 h 差异有统计学意义($P < 0.01$);H - YXKL 组在 12 h 表现出明显差异($P < 0.05$);TFPT + YXKL 组各时间段尿量明显增多($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 养心颗粒对给药 4 周后大鼠 6 h、12 h、24 h 尿量的影响($\bar{x} \pm s, \text{mL}$)

组别	<i>n</i>	6 h	12 h	24 h
Sham 组	10	9.70 ± 1.67	14.80 ± 1.05	24.73 ± 4.38
Model 组	8	3.96 ± 1.55 ^{**}	5.90 ± 1.27 ^{**}	10.23 ± 1.83 ^{**}
L - YXKL 组	8	5.96 ± 1.09 ^{▲▲}	7.06 ± 2.21 ^{▲▲}	11.50 ± 2.95 ^{▲▲}
M - YXKL 组	7	7.63 ± 0.87 ^{###▲}	11.93 ± 2.13 ^{###▲▲}	18.03 ± 3.62 ^{#▲}
H - YXKL 组	8	9.03 ± 0.77 ^{###}	12.60 ± 4.06 ^{###▲}	21.63 ± 4.49 ^{###}
TFPT 组	8	11.46 ± 2.72 ^{###}	17.30 ± 1.10 ^{###}	25.53 ± 5.10 ^{###}
TFPT + YXKL 组	8	14.33 ± 1.33 ^{###▲}	21.47 ± 2.20 ^{###▲}	32.63 ± 1.04 ^{###▲}

注:与 Sham 组比较,^{**} $P < 0.01$;与 Model 组比较,[#] $P < 0.05$,^{###} $P < 0.01$;与 TFPT 组比较,[▲] $P < 0.05$,^{▲▲} $P < 0.01$ 。

3.4 养心颗粒对大鼠体质量、心脏指数、肾脏指数的影响

与 Sham 组相比,Model 组大鼠体质量显著降低、心脏指数及肾脏指数显著提高($P < 0.01$)。与 Model 组相比,M - YXKL 组、H - YXKL 组、TFPT 组的体质量显著升高($P < 0.01$),而 L - YXKL 组、TFPT + YXKL 组差异无统计学意义($P > 0.05$);与 TFPT 组相比,各组均未表现出明显差异性($P > 0.05$)。与 Model 组相

比,除 L - YXKL 组,其余各给药组心脏指数均显著降低($P < 0.01$);与 TFPT 组相比,L - YXKL 组表现出显著差异($P < 0.01$)。与 Model 组相比,L - YXKL 组大鼠肾脏指数明显降低($P < 0.05$),其余各给药组显著降低($P < 0.01$);与 TFPT 组相比,L - YXKL、H - YXKL 组差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 养心颗粒对大鼠体质量、心脏指数、肾脏指数的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	体质量/g	心脏指数/%	肾脏指数/%
Sham 组	10	437.6 ± 25.08	0.27 ± 0.02	0.72 ± 0.01
Model 组	8	343.75 ± 18.24**	0.41 ± 0.02**	0.91 ± 0.03**
L - YXKL 组	8	354.88 ± 17.03	0.40 ± 0.02▲▲	0.88 ± 0.02▲
M - YXKL 组	7	368.86 ± 14.67###	0.35 ± 0.02###	0.86 ± 0.02###
H - YXKL 组	8	380.37 ± 17.45###	0.34 ± 0.02###	0.83 ± 0.02###▲
TFPT 组	8	370.25 ± 7.70###	0.35 ± 0.03###	0.86 ± 0.02###
TFPT + YXKL 组	8	360.50 ± 12.16	0.36 ± 0.02###	0.87 ± 0.03###

注:与 Sham 组比较,** $P < 0.01$;与 Model 组比较,# $P < 0.05$,### $P < 0.01$;与 TFPT 组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$ 。

3.5 养心颗粒对大鼠血清中 BNP 的影响

与 Sham 组比较,Model 组 BNP 水平显著升高,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。而与 Model 组相比,M - YXKL 组、H - YXKL 组 BNP 水平明显降低($P < 0.05$),TFPT 组及 TFPT + YXKL 组疗效更佳($P <$

0.01),但两组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。TFPT 组与 L - YXKL 组相比差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 5。

表 5 养心颗粒对大鼠血清 BNP 的影响($\bar{x} \pm s$,pg/mL)

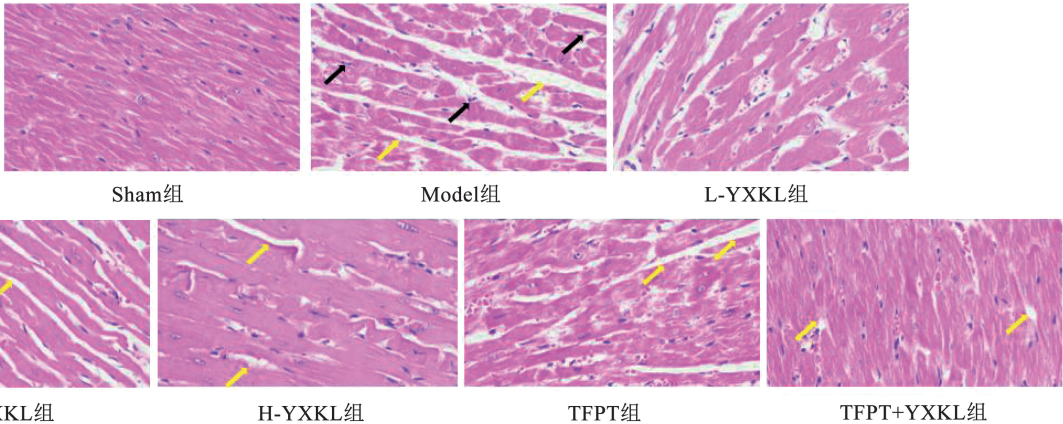
组别	<i>n</i>	BNP
Sham 组	10	22.83 ± 6.94
Model 组	8	50.20 ± 12.75**
L - YXKL 组	8	48.58 ± 7.96▲▲
M - YXKL 组	7	38.49 ± 14.11#
H - YXKL 组	8	37.29 ± 11.25#
TFPT 组	8	31.18 ± 9.48##
TFPT + YXKL 组	8	30.09 ± 12.42##

注:与 Sham 组比较,** $P < 0.01$;与 Model 组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$;与 TFPT 组比较,▲▲ $P < 0.01$ 。

3.6 大鼠心肌组织病理学检测结果

3.6.1 HE 染色结果

Sham 组大鼠心肌纤维排列整齐,心肌细胞形态结构完好,细胞核未见破裂或缺失。Model 组大鼠则表现出明显的心肌纤维排列紊乱、不清晰,细胞间隙宽大水肿,部分胞核破碎,明显的组织损伤及大量炎性细胞浸润。通过对细胞间隙面积比率进行分析,与 Model 组相比,各给药组大鼠心肌组织细胞间隙面积差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图 1、表 6。



注:黑色箭头表示心肌组织细胞核破碎或缺失;黄色箭头表示心肌细胞间隙宽大水肿,炎性细胞浸润。

图 1 各组大鼠 HE 染色结果(×200)

表 6 养心颗粒对大鼠心肌细胞间隙水肿的影响($\bar{x} \pm s$,%)

组别	<i>n</i>	细胞间隙面积比率
Sham 组	10	14.00 ± 1.48
Model 组	8	49.60 ± 0.69**
L - YXKL 组	8	38.13 ± 0.51***▲▲
M - YXKL 组	7	34.75 ± 0.37***
H - YXKL 组	8	19.95 ± 1.04###▲▲
TFPT 组	8	34.12 ± 0.84***
TFPT + YXKL 组	8	31.65 ± 0.58***

注:与 Sham 组比较,** $P < 0.01$;与 Model 组比较,## $P < 0.01$;与 TFPT 组比较,▲▲ $P < 0.01$ 。

3.6.2 Masson 染色结果

Sham 组的大鼠心肌组织细胞内胶原分布未见明显分布;Model 组心肌组织间可见大量的蓝色胶原沉积,出现心肌纤维化;在给药处理后,与 Model 组相比,各给药组大鼠心肌纤维化面积差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图 2、表 7。

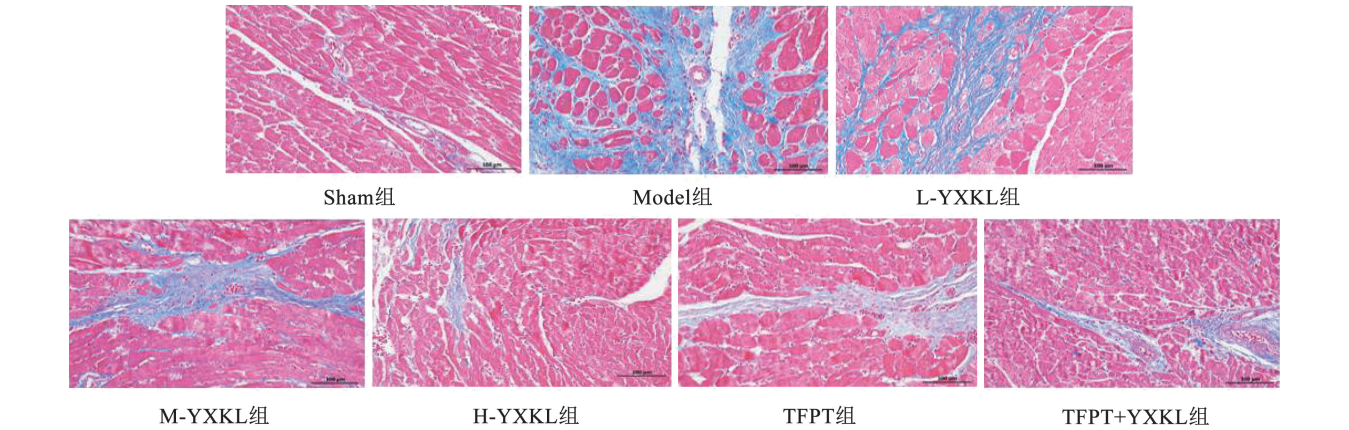


图 2 各组大鼠 Masson 染色结果(×200)

表 7 养心颗粒对大鼠心肌纤维化的影响($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	纤维化面积比率
Sham 组	10	1.36 ± 0.29
Model 组	8	51.84 ± 1.96 **
L - YXKL 组	8	26.01 ± 3.11 ***▲▲
M - YXKL 组	7	16.96 ± 1.69 ***▲▲
H - YXKL 组	8	3.45 ± 0.71 ▲▲▲
TFPT 组	8	7.42 ± 0.46 ***
TFPT + YXKL 组	8	6.02 ± 0.21 ***

注:与 Sham 组比较, ** $P < 0.01$; 与 Model 组比较, ## $P < 0.01$; 与 TFPT 组比较, ▲▲ $P < 0.01$ 。

3.7 Western blot 检测大鼠肾脏组织中 GSK3β、COX2、AQP2 蛋白的结果

与 Sham 组比较, Model 组大鼠肾脏组织细胞中 GSK3β、AQP2 表达显著升高、COX2 表达显著降低($P < 0.01$)。与 Model 组比较, H - YXKL 组大鼠 GSK3β 表达降低, 但差异无统计学意义($P > 0.05$), TFPT 组及 TFPT + YXKL 组的 GSK3β 表达均降低($P < 0.01$); 与 TFPT 组比较, L - YXKL 组及 M - YXKL 组

的 GSK3β 表达明显降低($P < 0.05$)。与 Model 组比较, M - YXKL 组及 H - YXKL 组的 COX2 表达明显升高($P < 0.05$); 与 TFPT 组比较, M - YXKL 组及 H - YXKL 组的 COX2 表达明显升高($P < 0.05$)。与 Model 组比较, TFPT 组及 TFPT + YXKL 组的 AQP2 表达均降低($P < 0.01$); 与 TFPT 组比较, 养心颗粒低、中、高剂量组的 AQP2 表达均显著升高($P < 0.01$)。见表 8、图 3。

表 8 各组大鼠肾脏组织中 GSK3β、COX2、AQP2 的蛋白表达($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	GSK3β	COX2	AQP2
Sham 组	10	0.87 ± 0.17	1.04 ± 0.25	0.31 ± 0.15
Model 组	8	2.46 ± 0.50 **	0.06 ± 0.02 **	1.17 ± 1.11 **
L - YXKL 组	8	2.46 ± 0.50 ▲	0.06 ± 0.02 **	1.17 ± 1.11 ▲▲
M - YXKL 组	7	2.46 ± 0.50 ▲	0.44 ± 0.24 #▲	0.97 ± 0.07 ▲▲
H - YXKL 组	8	1.71 ± 0.47	0.44 ± 0.24 #▲	0.97 ± 0.06 ▲▲
TFPT 组	8	1.34 ± 0.29 ##	0.06 ± 0.01	0.18 ± 0.06 ##
TFPT + YXKL 组	8	0.61 ± 0.26 ##	0.19 ± 0.07	0.06 ± 0.02 ##

注:与 Sham 组比较, ** $P < 0.01$; 与 Model 组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与 TFPT 组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$ 。

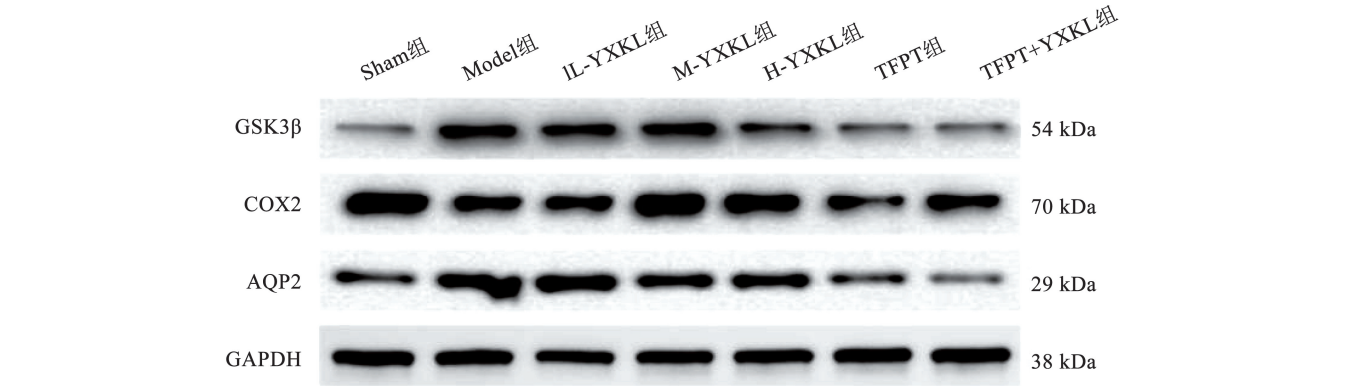


图 3 各组大鼠 GSK3β、COX2、AQP2 蛋白表达印迹图

4 讨论

慢性心力衰竭(CHF)是各类心血管疾病的终末阶段,我国正面临心血管疾病患者数量激增的严峻形势,总数已突破 3.30 亿,其中心衰患者群体更是庞大至 890 万^[13],且这一数字随人口老龄化的加剧而不断攀升^[14],目前,我国心力衰竭患者的住院病死率仍高达 4.1%^[15]。而利尿剂作为治疗心衰的基础药物,通过调节体液平衡减轻心脏负荷,控制心衰症状。利尿剂抵抗现已成为心衰治疗的难点,其发生率可达 20%~50%^[16],并且对利尿剂反应钝化的患者,其近、远期病死率明显增高^[17],但增加利尿剂用量和种类易引起多种并发症。利尿剂抵抗已经成为心衰患者病情恶化、出院后病死率和心衰再住院率增加的独立预测因子^[18-20]。这无疑给心衰的治疗带来了额外的挑战,因此,寻找新的方法防治利尿剂抵抗有助于提升患者的生活质量、减轻社会医疗负担。

现代药理研究^[21]发现,袢利尿剂起效存在明显的量效曲线,即利尿作用会随利尿剂剂量的提升而增强。然而在 CHF 患者体内,由于利尿剂阈剂量提升,延长了药物的达峰时间和半衰期,而利尿剂必须跨越这一阈值浓度才能发挥治疗作用,因此,即便是相同剂量的利尿剂,也难以复制既往的治疗效果,长此以往,可能诱发利尿剂抵抗^[22]。常用的袢利尿剂如呋塞米,主要是通过抑制分布在髓袢升支粗段管腔膜侧的 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$ 同向转运蛋白,进而抑制 NaCl 的重吸收,使管腔中渗透压升高,干扰尿液的浓缩稀释过程,从而发挥利尿作用^[23];非甾体抗炎药通过抑制环氧化酶的活性来减少前列腺素的合成,进而削弱利尿效果;青霉素、抗组胺药物、甲氨蝶呤等因与袢利尿剂转运途径相似,可能导致竞争性抑制,降低利尿效果;研究证明,当呋塞米与丙磺舒同用后,其利尿效果会降低^[24]。

张军茹教授立足经典,辨证论治,在多年的临床应用基础上创制养心颗粒,由熟地黄、桂枝、制附子、黄芪、山茱萸、麦冬、丹参、泽泻、茯苓组成,其中熟地黄滋补肝肾,泽泻、茯苓利尿消肿,又加入丹参、山茱萸活血化瘀,配伍桂枝、附子温通经脉,麦冬滋阴清热,黄芪滋养心气,协同诸药,共同发挥“温阳以化水饮,益气而活血通络”之功。现代药理研究^[25]发现,熟地黄提取物能上调血小板衍生生长因子(PDGF)的表达,改善心肌梗死大鼠的心功能,纠正其病理损伤;桂枝中的桂皮醛和桂皮酸可以通过抗氧化和抗炎来减轻大鼠的急性心肌梗死的症状^[26];于武华等^[27]通过实验发现附子能抑制心肌组织 $\beta 1\text{AR}$ mRNA 表达并上调 $\beta 2\text{AR}$ mRNA 表达,改善心力衰竭大鼠心功能、减轻其炎症反

应;丹参有效成分具有扩张血管、抗凝、改善微循环^[28]作用;泽泻中含有的泽泻醇 A、泽泻醇 B 等,均可抑制 RAAS 的作用,达到利尿的效果^[29];茯苓多糖可以通过调整 $\text{AVP} - \text{V2R} - \text{AQP2}$ 通路,发挥利尿作用,进而改善心脏负荷、保护受损的心肌^[30];另外,黄芪的核心成分黄芪甲苷^[31]、麦冬提取物麦冬皂苷 D^[32]被广泛应用于心血管疾病的治疗,改善心肌凋亡,保护心肌细胞。

水通道蛋白(AQPs)是一类主要分布于肾脏集合管上皮细胞中的蛋白质,能够介导水分子的转运,从而维持体内水平衡。在水通道蛋白的众多亚型中, AQP2 是从管液中重吸收水分的重要通道,其活性决定最终的尿液是稀释还是浓缩^[33-34]。研究发现,在急性心梗诱导的大鼠心衰模型中,集合管中 AQP2 的表达水平明显增加,阻断肾交感神经激活对于降低肾主细胞中通过 AQP2 的钠和水重吸收显著有效^[35-36]。另一方面,CHF 时因肾脏灌注不足导致 RAAS 系统过度激活,血浆 AngII 水平升高可刺激血管紧张素受体,进一步促进集合管中 AQP2 表达的增加^[37]。故心衰时 AQP2 表达增加将引起水和钠潴留。细胞实验提示养心颗粒通过蛋白激酶(AKT)/糖原合成酶激酶 $\beta 3$ ($\text{GSK3}\beta$)/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路可减少心肌细胞的炎症、氧化应激和凋亡^[38]。养心颗粒含药血清可以增加心肌细胞中 $\text{GSK3}\beta$ 的磷酸化($\text{p} - \text{GSK3}\beta$)水平,使 $\text{GSK3}\beta$ 活性降低;利用网络药理学多重分析方法发现 $\text{GSK3}\beta$ 、 COX2 和 AVPR2 在养心颗粒治疗 CHF 中受到明显调控。本次研究显示,养心颗粒可显著改善慢性心衰大鼠一般状态,增加其尿量,增加慢性心衰大鼠的 6 h、12 h、24 h 尿量;降低血清 BNP 的水平,显著提高心脏左室射血分数以及肾脏指数;降低 $\text{GSK3}\beta$ 、 AQP2 的含量,升高 COX2 的含量;改善慢性心衰大鼠心肌组织病理学变化,减轻组织炎症反应,改善心肌纤维化,降低其损伤及坏死。

综上所述,本研究通过动物实验验证养心颗粒临床治疗心衰水钠潴留的有效性及科学性,其干预机制可能与调控 $\text{GSK3}\beta/\text{COX2}$ 信号通路,抑制 AQP2 的表达有关。通过下调 AQP2 的表达,减少水钠通道的数量,降低水、钠重吸收,从而发挥治疗慢性心力衰竭利尿剂抵抗、水钠潴留的作用。然而,慢性心衰利尿剂抵抗、水钠潴留的机制复杂,其深层次的机制仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] 许顶立,宋霖.《中国心力衰竭诊断和治疗指南 2024》解读[J]. 临床心血管病杂志,2024,40(6):437-439.

- [2] HEIDENREICH P A, BOZKURT B, AGUILAR D, et al. 2022 AHA/ACC/HFSA guideline for the management of heart failure A report of the American college of cardiology/American heart association joint committee on clinical practice guidelines [J]. J Am Coll Cardiol, 2022, 79(17): e263 – e421.
- [3] NEUBERG G W, MILLER A B, O'CONNOR C M, et al. Diuretic resistance predicts mortality in patients with advanced heart failure[J]. Am Heart J, 2002, 144(1): 31 – 38.
- [4] 曲连卉, 邵薪诺, 徐珂, 等. 心力衰竭中利尿剂抵抗机制研究新进展[J]. 临床心血管病杂志, 2024, 40(7): 584 – 588.
- [5] 马妍, 张军茹, 任得志. 养心颗粒改善心力衰竭大鼠模型水钠潴留的作用机制研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(14): 2333 – 2336.
- [6] BEHL T, KOTWANI A, KAUR I, et al. Mechanisms of prolonged lithium therapy – induced nephrogenic diabetes insipidus[J]. Eur J Pharmacol, 2015, 755: 27 – 33.
- [7] VALINSKY W C, TOUYZ R M, SHRIER A. Aldosterone, SGK1, and ion channels in the kidney [J]. Clin Sci (Lond), 2018, 132(2): 173 – 183.
- [8] 任得志, 张军茹, 李芳, 等. 养心合剂治疗慢性心力衰竭利尿剂抵抗的临床疗效[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(9): 1888 – 1890.
- [9] 任得志, 魏功昌, 张军茹, 等. 养心合剂对慢性心力衰竭利尿剂抵抗病人 AVP、AQP2 表达的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16(19): 2833 – 2835.
- [10] 李凡, 王卫锋, 张军茹, 等. 养心颗粒的制备工艺优选[J]. 西北药学杂志, 2017, 32(4): 490 – 493.
- [11] 黄嘉滢. 强心饮联合有氧运动调节 HIF1 α /VEGF 信号通路抑制大鼠心梗后慢性心衰的机制研究[D]. 上海: 上海中医药大学, 2021.
- [12] 魏斓, 王陵军, 何嘉琪, 等. 基于 AKT/GSK3 – β /SNAIL 通路探讨黄芪甲苷对心力衰竭心肌纤维化小鼠的保护作用[J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(9): 1231 – 1237.
- [13] 刘明波, 何新叶, 杨晓红, 等. 《中国心血管健康与疾病报告 2023》要点解读[J]. 中国心血管杂志, 2024, 29(4): 305 – 324.
- [14] 胡盛寿, 高润霖, 刘力生, 等. 《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志, 2019, 34(3): 209 – 220.
- [15] ZHANG Y H, ZHANG J, BUTLER J, et al. Contemporary epidemiology, management, and outcomes of patients hospitalized for heart failure in China: results from the China heart failure (China – HF) registry[J]. J Card Fail, 2017, 23(12): 868 – 875.
- [16] 杨雪卿, 王显. 络风宁 2 号方对慢性心衰利尿剂抵抗患者临床疗效及安全性观察[J]. 北京中医药大学学报, 2021, 44(3): 272 – 279.
- [17] MECKLAI A, SUBACIUS H, KATZ S. Diuretic resistance and clinical outcomes in patients hospitalized for worsening heart failure: insights from the EVEREST (efficacy of vasopressin antagonism in heart failure: outcome study with tolvaptan) trial[J]. J Card Fail, 2013, 19(8 Suppl): S33 – S34.
- [18] VALENTE M A E, VOORS A A, DAMMAN K, et al. Diuretic response in acute heart failure: clinical characteristics and prognostic significance[J]. Eur Heart J, 2014, 35(19): 1284 – 1293.
- [19] TER MAATEN J M, DUNNING A M, VALENTE M A E, et al. Diuretic response in acute heart failure – an analysis from ASCEND – HF[J]. Am Heart J, 2015, 170(2): 313 – 321.
- [20] VOORS A A, DAVISON B A, TEERLINK J R, et al. Diuretic response in patients with acute decompensated heart failure: characteristics and clinical outcome—an analysis from RELAX – AHF[J]. Eur J Heart Fail, 2014, 16(11): 1230 – 1240.
- [21] VADUGANATHAN M, KUMAR V, VOORS A A, et al. Unsolved challenges in diuretic therapy for acute heart failure: a focus on diuretic response[J]. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2015, 13(10): 1075 – 1078.
- [22] ARONSON D. The complexity of diuretic resistance[J]. Eur J Heart Fail, 2017, 19(8): 1023 – 1026.
- [23] OYAMA M A, ADIN D. Toward quantification of loop diuretic responsiveness for congestive heart failure[J]. J Vet Intern Med, 2023, 37(1): 12 – 21.
- [24] PRIETO – GARCÍA L, PERICACHO M, SANCHO – MARTÍNEZ SM, et al. Mechanisms of triple whammy acute kidney injury[J]. Pharmacol Ther, 2016, 167: 132 – 145.
- [25] 胡勇军, 彭翔, 王鹏, 等. 熟地黄提取物对心肌梗死模型大鼠血小板衍生长因子及 Bcl – 2 的影响[J]. 国际中医中药杂志, 2019, 41(6): 592 – 595.
- [26] SONG F, LI H, SUN J Y, et al. Protective effects of cinnamic acid and cinnamic aldehyde on isoproterenol – induced acute myocardial ischemia in rats[J]. J Ethnopharmacol, 2013, 150(1): 125 – 130.
- [27] 于武华, 钟凌云, 叶协滔, 等. 附子不同炮制品对慢性心力衰竭大鼠 β 1、 β 2 肾上腺素受体表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(6): 3138 – 3141.
- [28] 苏丙贺. 基于网络药理学探讨丹参对冠心病的作用机制[J]. 海南医学院学报, 2020, 26(5): 340 – 346.
- [29] CHEN H, YANG T, WANG M C, et al. Novel RAS inhibitor 25 – O – methylalisol F attenuates epithelial – to – mesenchymal transition and tubulo – interstitial fibrosis by selectively inhibiting TGF – β – mediated Smad3 phosphorylation[J]. Phytomedicine, 2018, 42: 207 – 218.
- [30] WU Z L, REN H, LAI W Y, et al. Scleroderma of Poria cocos exerts its diuretic effect via suppression of renal aquaporin – 2 expression in rats with chronic heart failure [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 155(1): 563 – 571.
- [31] SI J W, WANG N, WANG H, et al. HIF – 1 α signaling activation by post – ischemia treatment with astragaloside IV attenuates myocardial ischemia – reperfusion injury[J]. PLoS One, 2014, 9(9): e107832.
- [32] 林毅. 麦冬皂苷 D 调控 CYP2J 治疗心衰的分子机制研究[D]. 北京: 军事科学院, 2021.
- [33] WONG N L M, TSUI J K C. Upregulation of vasopressin V2 and aquaporin 2 in the inner medullary collecting duct of cardiomyopathic hamsters is attenuated by enalapril treatment [J]. Metabolism, 2002, 51(8): 970 – 975.
- [34] MICHAEL F G, ELLISON D H, MULLENS W, et al. Diuretic therapy for patients with heart failure: JACC state – of – the – art review[J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 75(10): 1178 – 1195.
- [35] ZHENG H, LIU X F, RAO U S, et al. Increased renal ENaC subunits and sodium retention in rats with chronic heart failure[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2011, 300(3): F641 – F649.

- [36] ZHENG H, LIU X F, KATSURADA K, et al. Renal denervation improves sodium excretion in rats with chronic heart failure: effects on expression of renal ENaC and AQP2 [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2019, 317(5): H958 – H968.
- [37] LIU J L, IRVINE S, REID I A, et al. Chronic exercise reduces sympathetic nerve activity in rabbits with pacing – induced heart failure: a

role for angiotensin II [J]. *Circulation*, 2000, 102(15): 1854 – 1862.

- [38] REN D Z, LI F, CAO Q W, et al. Yangxin granules alleviate doxorubicin – induced cardiotoxicity by suppressing oxidative stress and apoptosis mediated by AKT/GSK3 β/β – catenin signaling [J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(8): 300060520945161.

Mechanism of Yangxin Granules in Regulating GSK3 β , COX2 and AQP2 to Intervene in Water – Sodium Retention in Heart Failure Rats

WANG Yang¹, ZHANG Junru², DAI Xin¹, WANG Cong¹, GAO Xiaolong³, LIU Ge¹, REN Dezhi²

1. *Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China;*

2. *Shaanxi Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710000, China;*

3. *Xi'an Innovation College, Yan'an University, Yan'an 716000, China*

Abstract To investigate the mechanism of Yangxin Granules in regulating GSK3 β , COX2 and AQP2 to intervene in water – sodium retention in heart failure rats. **Methods:** One hundred SPF – grade SD rats were randomly divided into sham operation group (10 rats) and modeling group (90 rats). The modeling group underwent ligation of the left anterior descending coronary artery for 2 weeks to establish a post – myocardial infarction heart failure model. The modeling group was then randomly divided into model group, Yangxin Granules low – dose, medium – dose, and high – dose groups, tolvaptan group, and combined intervention group (tolvaptan + Yangxin Granules). All groups received once – daily drug interventions. Urine output was collected at 6, 12, and 24 h during weeks 2 and 4 of treatment. After the final administration, cardiac ultrasound was performed to record left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular fractional shortening (LVFS). Urine output and body weight were recorded, and heart and kidney indices were calculated. Serum brain natriuretic peptide (BNP) levels were measured by ELISA. Myocardial tissue pathology was observed via HE and Masson staining. Western blot was used to detect expression levels of GSK3 β , COX2, and AQP2 proteins in renal tissues. **Results:** Compared with the model group, Yangxin Granules increased urine output ($P < 0.05$), decreased serum BNP levels ($P < 0.05$), improved cardiac function (LVEF and LVFS, $P < 0.05$, $P < 0.01$), and upregulated COX2 expression ($P < 0.05$). Compared with the model group, the tolvaptan and combination groups showed downregulated GSK3 β and AQP2 expression ($P < 0.01$). Yangxin Granules alleviated myocardial tissue damage and inflammatory cell infiltration. **Conclusion:** Yangxin Granules can regulate renal tubular GSK3 β and COX2 expression, thereby inhibiting AQP2, reducing water reabsorption, thus exerting therapeutic effects on water – sodium retention in heart failure.

Key words Yangxin Granules; Heart failure; Water – sodium retention; GSK3 β ; COX2; AQP2