

·基础研究·

## 卡格列净对肾病综合征的治疗作用及超声评价

洪文娟<sup>1,2</sup>, 李红俊<sup>2,3</sup>, 邹久林<sup>2,4</sup>, 环薇<sup>2</sup>, 李潇<sup>1,2</sup>, 成家茂<sup>5</sup>, 陈海燕<sup>2,3</sup>

(1. 大理大学第一附属医院肾脏内科, 云南大理 671000; 2. 大理大学临床医学院, 云南大理 671000; 3. 大理大学第一附属医院超声科, 云南大理 671000; 4. 大理大学第一附属医院泌尿外科, 云南大理 671000; 5. 大理大学基础医学院, 云南大理 671000)

**摘要:**【目的】探讨抗糖药物卡格列净(CGLZ)对阿霉素所致肾病综合征(NS)模型大鼠的治疗作用,以及超声造影(CEUS)联合彩色多普勒血流显像(CDFI)在治疗过程中的评价作用。【方法】56只SD雄性大鼠随机分为正常组(NG)、模型组(MG)、泼尼松(PAT)组(PG)、小剂量CGLZ组(LSCG)、大剂量CGLZ组(HSCG)、小剂量CGLZ+PAT组(LUCG)和大剂量CGLZ+PAT组(HUCG),每组8只。采用阿霉素2次尾静脉注射法诱导制备NS大鼠模型,以常规PAT治疗为参照予以每日药物灌胃处理,连续6周。在灌胃前1d和灌胃2、4、6周末分别行24h-UTP定量检测,灌胃6周末行右肾动脉CDFI及右肾CEUS检查,次日取腹主动脉血行血清学检测。【结果】与NG大鼠的检测指标相比, MG大鼠的24h-UTP升高( $P<0.01$ ),血清ALB降低, TG、TC、LDL升高( $P<0.01$ ), CDFI显示RRCT变薄( $P<0.01$ ), 肾动脉血流指标RA-PI、RA-RI、RA-S/D升高( $P<0.05$ ), CEUS图像显示TIC曲线参数TTP、AT、AUC升高, DPI、A下降( $P<0.01$ )。药物治疗后,与MG大鼠的检测指标相比,24h-UTP检测结果显示2周后仅LSCG组下降( $P<0.01$ ),6周后各药物组均明显下降( $P<0.01$ );血清学检测结果显示6周后所有CGLZ治疗组大鼠的血清ALB升高( $P<0.05$ ),LSCG大鼠的TG下降( $P<0.01$ ),LUCG大鼠的TC、LDL下降( $P<0.05$ );CDFI检查显示所有CGLZ治疗组大鼠肾脏的RRCT变薄程度减轻( $P<0.01$ ),LSCG大鼠的RA-PI、PG大鼠的RA-RI以及PG、LSCG、HSCG、LUCG大鼠的RA-S/D均降低( $P<0.05$ );CEUS检查显示所有药物治疗组大鼠肾脏TIC曲线的TTP、AT、AUC降低( $P<0.01$ ),PG、HSCG、LUCG、HUCG大鼠的DPI升高( $P<0.01$ )。【结论】CGLZ具有治疗NS作用,以小剂量用药为最佳。CEUS联合CDFI检查可用来评估NS模型大鼠及其药物治疗前后的肾脏形态及血流动力学变化,有助于指导临床应用。

**关键词:**肾病综合征;钠-葡萄糖协同转运蛋白2抑制剂;卡格列净;超声造影;彩色多普勒血流显像技术

中图分类号:R692.6

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2023)01-0071-07

DOI:10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2023.0116

## Therapeutic Effect of Canagliflozin on Nephrotic Syndrome and Its Ultrasonic Evaluation

HONG Wen-juan<sup>1,2</sup>, LI Hong-jun<sup>2,3</sup>, ZOU Jiu-lin<sup>2,4</sup>, HUAN Wei<sup>2</sup>,

LI Xiao<sup>1,2</sup>, CHENG Jia-mao<sup>5</sup>, CHEN Hai-yan<sup>2,3</sup>

(1. Department of Nephrology, The First Affiliated Hospital of Dali University, Dali 671000, China; 2. College of Clinical Medicine, Dali University, Dali 671000, China; 3. Department of Ultrasound, The First Affiliated Hospital of Dali University, Dali 671000, China; 4. Department of Urinary Surgery, The First Affiliated Hospital of Dali University, Dali 671000, China; 5. College of Basic Medicine, Dali University, Dali 671000, China)

Correspondence to: CHENG Jia-mao, E-mail: chjmao@163.com; CHEN Hai-yan, E-mail: 316573230@qq.com

**Abstract:**【Objective】To investigate the therapeutic effect of antidiabetic drug canagliflozin (CGLZ) on adriamycin-

收稿日期:2022-07-26

基金项目:云南省教育厅科学研究基金(2022J0695);大理市科技计划项目(2021KBC009);云南省教育厅科学研究基金(2021J0382);大理大学第一附属医院杰出中青年人才项目(NO.1)

作者简介:洪文娟,硕士,主治医师,研究方向:肾病综合征的防治及其机制,E-mail:657526361@qq.com;成家茂,通信作者,副教授,研究方向:中医药抗肝纤维化作用及其机制,E-mail:chjmao@163.com;陈海燕,通信作者,副教授,研究方向:医学超声基础与临床,E-mail:316573230@qq.com

induced nephrotic syndrome (NS) in rats, and the evaluation of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) combined with color Doppler flow imaging (CDFI) during the treatment.【Methods】A total of 56 male SD rats were randomly divided into normal group (NG), model group (MG), prednisone (PAT) group (PG), low-dose single CGLZ group (LSCG), high-dose single CGLZ group (HSCG), low-dose CGLZ + PAT group (LUCG) and high-dose CGLZ + PAT group (HUCG), with 8 rats in each group. The NS model in rats was induced by injecting adriamycin twice into the tail vein, and then the NS rats were treated by intragastric administration daily for 6 weeks with reference of PAT. Twenty-four hour urine total protein (24 h-UTP) was assessed one day before the start of oral administration and at the end of 2, 4 and 6 weeks after oral administration, respectively. CDFI and CEUS were performed on the right renal artery at the end of 6 weeks after oral administration, and the blood of abdominal aorta was taken for serological test the next day.【Results】Compared with those detection index of NG rats, the 24-hour UTP of MG rats increased ( $P<0.01$ ), the serum ALB decreased and TG, TC, LDL increased ( $P<0.01$ ), and CDFI shows that RRCT was thinner ( $P<0.01$ ) and the renal artery blood flow indicators RA-PI, RA-RI, RA-S/D all increased ( $P<0.05$ ), and CEUS image shows that the TIC curve parameters TTP, AT, AUC all increased and DPI decrease in MG rats ( $P<0.01$ ). After drug treatment, compared with those detection index of MG rats, 24 h-UTP decrease in LSCG after 2 weeks ( $P<0.01$ ), and decrease significantly in all drug groups after 6 weeks ( $P<0.01$ ); the serological test results show that the serum ALB in all CGLZ groups increased ( $P<0.05$ ), TG decrease in LSCG ( $P<0.01$ ), TC and LDL also decrease in LUCG after 6 weeks ( $P<0.05$ ); CDFI shows that the RRCT thinning degree in all CGLZ is reduced ( $P<0.01$ ), and the RA-PI in LSCG, RA-RI in PG, and RA-S/D in PG, LSCG, HSCG and LUCG rats all decreased ( $P<0.05$ ); CEUS shows that the TTP, AT and AUC of renal TIC curve in drug treatment groups all decreased ( $P<0.01$ ), and the DPI in PG, HSCG, LUCG and HUCG rats increased ( $P<0.01$ ).【Conclusions】CGLZ has the effect of treating NS, and the small dose is the best. CEUS combined with CDFI can be used to evaluate the renal morphology and hemodynamic changes of NS model rats before and after drug treatment, which is helpful to guide clinical application.

**Key words:** nephrotic syndrome; sodium glucose cotransporter 2 inhibitor; canagliflozin; contrast-enhanced ultrasound; color doppler flow imaging

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2023, 44(1):71-77]

肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)是慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)的常见类型<sup>[1]</sup>。CKD的进展与肾脏血流灌注密切相关,可造成肾小球内微血管瘤和微血栓形成,肾微血管血流动力学改变和微循环功能障碍<sup>[1-3]</sup>。准确、客观地对肾脏微循环灌注进行定量评估是非常必要的。彩色多普勒超声血流显像(color doppler flow imaging, CDFI)检查不仅可以显示肾脏形态学是否异常,还能够反映肾脏主要大血管的血流情况。与CDFI相比,超声造影(contrast enhanced ultrasound, CEUS)能快速、实时显示肾脏组织中造影剂的灌注与廓清过程,可以提供更多的肾脏血流图像和更丰富的肾脏微循环信息<sup>[4]</sup>,以此可评估肾脏的血流灌注情况。本研究通过观察钠-葡萄糖协同转运蛋白2抑制剂(sodium glucose cotransporter 2 inhibitor, SGLT2i)卡格列净(canagliflozin, CGLZ)对阿霉素(adriamycin, ADR)诱导NS模型大鼠的治疗效果,并采用CEUS联合CDFI的超声检查方法评价肾微血管灌注情况,旨在指导NS的临床用药及其超声评价作用。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物

SPF级SD雄性大鼠56只,体质量为(250±20)g,6~8

周龄,由成都达硕实验动物有限公司购置,许可证号:SCXK(川)2020-030。普通进食和饮水。本实验所有操作均符合大理大学实验动物伦理要求。

### 1.2 主要药物

阿霉素(ADR,深圳万乐药业有限公司,批准文号:国药准字H44024359);卡格列净片(CGLZ,西安杨森制药有限公司,注册证号:H20170375);醋酸泼尼松片(Prednisolone acetate, PAT, 华中药业股份有限公司,批准文号:国药准字H42021526)。

### 1.3 动物分组与模型制备

将56只大鼠适应性饲养1周后,随机分成正常组(NG)、造模组(MG)、PAT干预组(PG)、小剂量CGLZ干预组(LSCG)、大剂量CGLZ干预组(HSCG)、小剂量CGLZ+PAT联合干预组(LUCG)和大剂量CGLZ+PAT联合干预组(HUCG),每组各8只。MG及各药物干预组大鼠首次给予尾静脉推注ADR 4 mg/kg,1周后再次予注射2.5 mg/kg,建立NS模型<sup>[5]</sup>,NG大鼠推注等量无菌生理盐水。7d后眼眶静脉采血1 mL检测血清白蛋白及血脂,并留取24 h尿液检测24 h尿液总蛋白(24 h-UTP),验证是否造模成功<sup>[6]</sup>。

### 1.4 药物干预

按目前临床给病人常规用药剂量PAT 1 mg/kg·d,小剂量CGLZ 100 mg/d,大剂量CGLZ 300 mg/d,换算成大鼠用药

量 PAT 6.3 mg/kg (PG)、CGLZ 10.5 mg/kg (LSCG)、CGLZ 31.5 mg/kg (HSCG)、CGLZ 10.5 mg/kg + PAT 6.3 mg/kg (LUCG)和 CGLZ 31.5 mg/kg + PAT 6.3 mg/kg (HUCG), NG、MG 大鼠给予等量生理盐水灌胃。每天用药现配现用,清晨 8 点定时灌胃 1 mL/100 g,连续给药 6 周。

### 1.5 一般情况观察

每天在灌胃前查看大鼠的一般状态,包括进食、饮水、精神状态、毛色光泽程度、活动情况、体表温度、二便、水肿变化等,每周定期称量空腹体质量 2 次。

### 1.6 24 小时尿蛋白定量检测

灌胃前 1 d 和灌胃后第 2、4、6 周末均于清晨 8 时将大鼠单独放置于代谢检测笼,期间禁食不禁水,24 h 后收集尿液,采用日立 7600 全自动生化分析仪(7000 120+ISE+ID 型)检测。

### 1.7 血液生化检测

药物干预 6 周末,各组大鼠经腹腔注射乌拉坦(1.5 g/kg)麻醉后,开腹取腹主动脉血 5 mL,室温静置 30 min,1 400 × g,离心 15 min 后分离出血清,采用全自动生化分析仪检测血清白蛋白(ALB)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)及低密度脂蛋白(LDL)浓度。

### 1.8 超声检查

处死大鼠取血前,腹腔注射乌拉坦(1.5 g/kg)麻醉并固定大鼠,腹部备皮后采用CDFI 观察大鼠双肾形态,检测右肾皮质厚度(RRCT)及右肾动脉主干的血流动力学指标:肾动脉搏动指数(RA-PI)、肾动脉阻力指数(RA-RI)、肾动脉收缩舒张比(RA-S/D)。随后经尾静脉穿刺团注造影剂声诺维(SonoVue) 0.1 mL,并立刻推注生理盐水 2 mL。在团注造影剂同时进行计时,开启仪器对比程序和图像采集系统,观测和记录随后 180 s 内的动态图像,选择离超声探头最近的可探测肾皮质最大区域作为感兴趣区(ROI)<sup>[7]</sup>,生成时间强度曲线(TIC),获取参数到达时间(AT)、达峰时间(TTP)、曲线上升支斜率(A)、峰值强度(DPI)和曲线下面积(AUC)。

### 1.9 统计学处理

应用 SPSS 20.0 统计软件分析,以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示计量资料。多组计量资料之间的对比采用单因素方差分析,用最小显著性差异法(least-significant difference, LSD)进行两两比较,体质量变化趋势采用多变量方差分析(MANOVA);不符合正态分布或方差不齐者,则采用秩和检验。双侧检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 造模情况

与生理盐水组相比,两次注射 ADR 大鼠在 7 d 后血液生化检测出现低蛋白血症[ALB: (19.56 ± 1.53) g/L]、高脂血症[TC: (4.18 ± 0.32) mmol/L, TG: (2.77 ± 0.31) mmol/L],且尿液检测出现 24 h 大量蛋白尿(24 h-UTP 大于 100 mg),表明药物诱导肾病综合征大鼠模型造模成功。造模成

功的比例达 100 %。

### 2.2 动物一般情况

MG 大鼠的进食和行动均减少,体质量明显下降,毛发无光泽,偶有大便稀溏。各药物组大鼠一般情况较 MG 大鼠明显好转。体质量变化在分组中呈现出显著差异性( $F = 5.654, P < 0.001$ ),在时间上亦呈现出显著差异性( $F = 8.285, P < 0.001$ ),总体呈现先降低后逐渐升高趋势(图 1)。

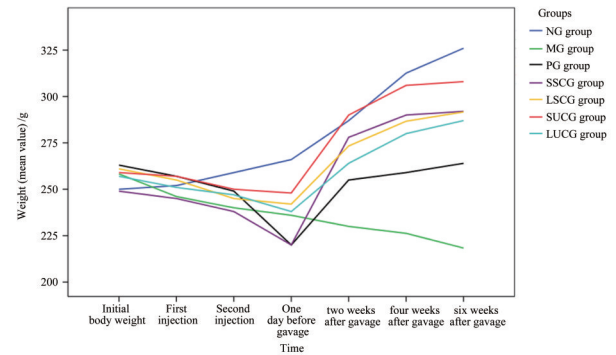


图 1 各组 SD 大鼠灌胃前后体质量变化

Fig. 1 Changes of body weight of SD rats in each group before and after intragastric administration

### 2.3 24 小时尿蛋白定量测定结果

灌胃前 1 d 检测 MG 及各药物组大鼠 24 h-UTP,均较 NG 大鼠明显升高( $P < 0.01$ );灌胃 2 周后,LSCG 大鼠 24 h-UTP 较 MG 和 PG 大鼠明显下降( $P < 0.01$  或 0.05),而 4 周后仅较 MG 大鼠有所下降( $P < 0.05$ );灌胃 6 周后,各药物组大鼠 24 h-UTP 均较 MG 大鼠明显下降( $P < 0.01$ ),且 LSCG、HSCG、LUCG 各组大鼠 24 h-UTP 较 PG 大鼠明显下降( $P < 0.01$ ;表 1)。结果表明,小剂量 CGLZ 降低 24 h-UTP 作用自 2 周末开始起效,疗效稳定,其余药物组均在 6 周后起效;且单用 CGLZ 或小剂量 CGLZ 联用 PAT 的疗效,优于单独使用 PAT 及大剂量 CGLZ 联用 PAT。

### 2.4 血液生化检测结果

与 NG 大鼠比较, MG、PG 大鼠的 ALB 均下降, TG、LDL 均升高( $P < 0.01$  或 0.05), MG 大鼠的 TC 升高( $P < 0.01$ );与 MG 大鼠比较, LSCG、HSCG、LUCG、HUCG 大鼠的 ALB 均升高( $P < 0.05$  或 0.01),而 LSCG 大鼠的 TG 和 LUCG 大鼠的 TC、LDL 均下降( $P < 0.01$  或 0.05);与 PG 大鼠相比, HSCG、LUCG 大鼠的 ALB 均升高( $P < 0.05$  或 0.01),而 LSCG 大鼠的 TG 下降( $P < 0.01$ ;表 2)。结果说明,单用 PAT 并无升高 ALB 和改善脂质代谢紊乱的作用,而使用 CGLZ 时均可升高 ALB 和改善脂质代谢紊乱,但大剂量 CGLZ 改善脂质代谢紊乱的作用并无统计学意义。

### 2.5 彩色多普勒血流显像检查结果

NG 大鼠肾脏声像图呈椭圆形,包膜光滑平整,连续性较好,肾实质呈均匀的低回声,肾内血管树呈放射状排列,结构清晰;MG 大鼠肾脏无明显缩小,但肾皮质变薄,包膜光滑程度欠佳,肾实质回声增强,肾内结构不清;使用 CGLZ

表1 各实验组大鼠24 h-UTP比较

Table 1 Comparison of 24 h-UTP of rats between each experimental group ( $\bar{x} \pm s$ , mg,  $n=8$ )

Groups	1 d before treatment	Treatment for 2 weeks	Treatment for 4 weeks	Treatment for 6 weeks
NG	7.71 ± 1.62	8.11 ± 1.93	7.71 ± 2.20	8.11 ± 3.44
MG	173.66 ± 34.81 <sup>1)</sup>	330.15 ± 41.97 <sup>1)</sup>	409.21 ± 53.75 <sup>1)</sup>	504.81 ± 64.25 <sup>1)</sup>
PG	190.05 ± 23.93 <sup>1)</sup>	301.78 ± 45.71 <sup>1)</sup>	282.05 ± 112.97 <sup>1)</sup>	167.87 ± 116.13 <sup>1)3)</sup>
LSCG	155.59 ± 45.91 <sup>1)</sup>	248.05 ± 30.44 <sup>1)3)6)</sup>	141.59 ± 51.99 <sup>4)</sup>	29.07 ± 26.82 <sup>3)5)</sup>
HSCG	180.62 ± 20.82 <sup>1)</sup>	290.98 ± 52.64 <sup>1)</sup>	180.62 ± 20.82	44.44 ± 35.81 <sup>3)5)</sup>
LUCG	172.52 ± 17.83 <sup>1)</sup>	316.20 ± 29.74 <sup>1)</sup>	164.88 ± 24.69	57.50 ± 39.82 <sup>3)5)</sup>
HUCG	165.72 ± 24.32 <sup>1)</sup>	318.33 ± 39.93 <sup>1)</sup>	158.17 ± 16.88	100.10 ± 66.17 <sup>2)3)</sup>
<i>F</i>	26.874	44.891	27.806	41.127
<i>P</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

24 h-UTP: 24 hour urine total protein; NG: normal group; MG: model group; PG: prednisolone group; LSCG: low-dose single canagliflozin group; HSCG: high-dose single canagliflozin group; LUCG: low-dose canagliflozin united with prednisolone group; HUCG: high-dose canagliflozin united with prednisolone group. vs. NG, <sup>1)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ; vs. MG, <sup>3)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.05$ ; vs. PG, <sup>5)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>6)</sup>  $P < 0.05$ .

表2 各实验组大鼠血液生化指标比较

Table 2 Comparison of blood biochemical indexes of rats between each experimental group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

Groups	ALB/(g/L)	TG/(mmol/L)	TC/(mmol/L)	LDL/(mmol/L)
NG	23.93 ± 3.65	0.52 ± 0.11	1.49 ± 0.37	0.21 ± 0.05
MG	18.00 ± 1.58 <sup>1)</sup>	2.98 ± 0.33 <sup>1)</sup>	4.54 ± 0.73 <sup>1)</sup>	0.95 ± 0.22 <sup>1)</sup>
PG	18.75 ± 3.98 <sup>1)</sup>	5.71 ± 4.61 <sup>1)</sup>	3.52 ± 1.92	0.86 ± 0.48 <sup>2)</sup>
LSCG	21.67 ± 1.25 <sup>4)</sup>	0.61 ± 0.23 <sup>3)5)</sup>	2.15 ± 0.14	0.42 ± 0.10
HSCG	22.90 ± 0.71 <sup>3)6)</sup>	1.06 ± 0.04	2.58 ± 0.24	0.45 ± 0.01
LUCG	24.27 ± 1.06 <sup>3)5)</sup>	1.01 ± 0.27	1.57 ± 0.06 <sup>3)</sup>	0.34 ± 0.03 <sup>4)</sup>
HUCG	21.28 ± 2.49 <sup>4)</sup>	0.97 ± 0.21	2.58 ± 0.84	0.54 ± 0.35
<i>F</i>	5.027	28.503	24.670	22.155
<i>P</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

ALB: albumin; TG: triglyceride; TC: total cholesterol; LDL: low density lipoprotein. vs. NG, <sup>1)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ; vs. MG, <sup>3)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.05$ ; vs. PG, <sup>5)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>6)</sup>  $P < 0.05$ .

后肾脏声像图及其皮质厚度均有明显改善(图2)。

MG和各用药组大鼠的RRCT均较NG大鼠明显下降( $P < 0.01$ ),使用CGLZ各组大鼠的RRCT均较MG、PG大鼠明显升高( $P < 0.01$ ),而PG大鼠的RRCT较MG大鼠无明显改善(表3)。

与NG大鼠比较, MG、HUCG大鼠的RA-PI、RA-S/D值及MG、LSCG、HSCG、LUCG、HUCG大鼠的RA-RI值均明显增高( $P < 0.01$ 或 $0.05$ );与MG大鼠比较, LSCG大鼠的RA-PI值, PG大鼠的RA-RI值, 以及PG、LSCG、HSCG、LUCG大鼠的RA-S/D值均呈下降趋势( $P < 0.01$ 或 $0.05$ );与MG外的各组大鼠相比, HUCG大鼠的RA-PI、RA-RI、RA-S/D值均明显升高( $P < 0.01$ 或 $0.05$ ;表3)。上述结果表明, CGLZ

可有效减轻造模大鼠肾皮质变薄的程度, 小剂量CGLZ及单独使用PAT均可改善肾动脉血流动力学, 但大剂量CGLZ联用PAT时反而继续升高了肾动脉血流阻力。

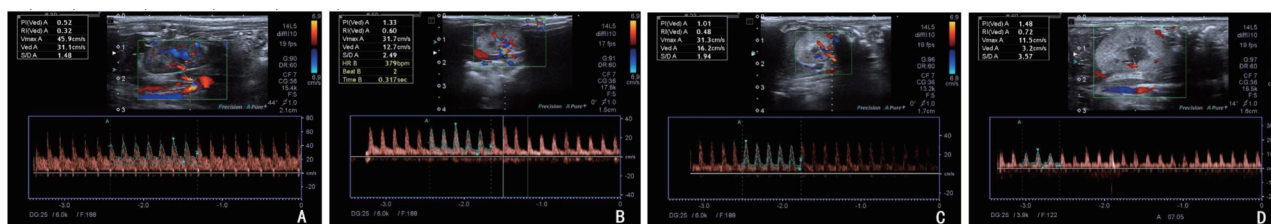
## 2.6 超声造影检测结果

团注造影剂后, 各组大鼠肾脏显影顺序一致, 但MG及各药物组大鼠肾皮质区的增强速度减慢, 显影不均匀, 包膜下边界不光滑(图3)。TIC曲线相关参数结果显示(表4), MG较NG大鼠的TTP、AT升高而DPI下降( $P < 0.01$ ), 而MG、HUCG较NG大鼠的A均下降而AUC升高( $P < 0.05$ 或 $0.01$ );所有用药组较MG大鼠的TTP、AT、AUC均出现降低( $P < 0.01$ ), 除LSCG组外其它用药大鼠的DPI均出现升高( $P < 0.01$ ), 但HUCG相较其他用药大鼠的AUC下降程度

**表3 各实验组大鼠肾皮质厚度及肾动脉血流指标比较**  
**Table 3 Comparison of renal cortical thickness and renal artery blood flow indexes of rats**  
**between each experimental group** ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Groups	RRCT/mm	RA-PI	RA-RI	RA-S/D
NG	3.10 ± 0.354	0.67 ± 0.150	0.44 ± 0.120	1.87 ± 0.385
MG	1.71 ± 0.207 <sup>1)</sup>	1.11 ± 0.205 <sup>2)</sup>	0.64 ± 0.078 <sup>1)</sup>	3.42 ± 0.460 <sup>1)</sup>
PG	1.81 ± 0.188 <sup>1)</sup>	0.79 ± 0.252	0.51 ± 0.099 <sup>4)</sup>	2.17 ± 0.486 <sup>3)</sup>
LSCG	2.31 ± 0.190 <sup>1)3)5)</sup>	0.74 ± 0.431 <sup>4)7)</sup>	0.56 ± 0.101 <sup>2)7)</sup>	2.47 ± 0.641 <sup>4)7)</sup>
HSCG	2.24 ± 0.114 <sup>1)3)5)</sup>	0.85 ± 0.070 <sup>7)</sup>	0.56 ± 0.035 <sup>2)7)</sup>	2.26 ± 0.185 <sup>3)7)</sup>
LUCG	2.55 ± 0.292 <sup>1)3)5)</sup>	0.94 ± 0.141 <sup>7)</sup>	0.58 ± 0.054 <sup>2)8)</sup>	2.45 ± 0.291 <sup>4)7)</sup>
HUCG	2.32 ± 0.239 <sup>1)3)5)</sup>	1.57 ± 0.456 <sup>1)5)</sup>	0.71 ± 0.096 <sup>1)5)</sup>	4.14 ± 1.322 <sup>1)5)</sup>
<i>F</i>	5.027	28.503	24.670	22.155
<i>P</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

RRCT: right renal cortical thickness; RA-PI: renal arterial pulsatility index; RA-RI: renal arterial resistive index; RA-S/D: renal arterial systolic/diastolic ratio. vs. NG, <sup>1)</sup> *P* < 0.01, <sup>2)</sup> *P* < 0.05; vs. MG, <sup>3)</sup> *P* < 0.01, <sup>4)</sup> *P* < 0.05; vs. PG, <sup>5)</sup> *P* < 0.01, <sup>6)</sup> *P* < 0.05; vs. LUCG, <sup>7)</sup> *P* < 0.01, <sup>8)</sup> *P* < 0.05.



A: NG; B: In MG, the values of RA-RI, RA-PI and RA-S/D increased; C: In LSCG, the values of RA-RI, RA-PI and RA-S/D decreased; D: In HUCG, the values of RA-RI, RA-PI, and RA-S/D increased.

图2 大鼠右肾动脉CDFI超声图像

Fig. 2 CDFI ultrasound images of the right renal artery of rats

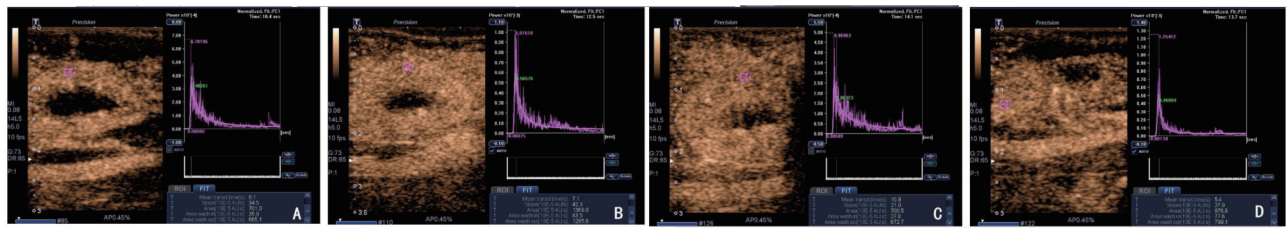
**表4 各实验组大鼠CEUS指标比较**  
**Table 4 Comparison of CEUS indexes of rats between each experimental group** ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Groups	TTP/s	AT/s	DPI/dB	A/(dB/s)	AUC/(dB.s)
NG	9.4 ± 0.79	7.60 ± 0.63	40.20 ± 4.98	77.60 ± 12.04	30.10 ± 4.36
MG	11.9 ± 0.85 <sup>1)</sup>	9.37 ± 0.36 <sup>1)</sup>	28.22 ± 3.73 <sup>1)</sup>	40.49 ± 4.32 <sup>1)</sup>	64.95 ± 8.17 <sup>1)</sup>
PG	7.63 ± 0.44 <sup>3)</sup>	5.76 ± 0.04 <sup>3)</sup>	37.17 ± 4.02 <sup>3)</sup>	52.33 ± 7.73	26.32 ± 3.41 <sup>3)7)</sup>
LSCG	8.45 ± 0.20 <sup>3)</sup>	7.20 ± 0.24 <sup>3)</sup>	33.65 ± 3.12	57.30 ± 6.34	23.95 ± 0.67 <sup>3)7)</sup>
HSCG	9.75 ± 0.67 <sup>3)</sup>	7.05 ± 0.28 <sup>3)</sup>	36.85 ± 3.84 <sup>3)</sup>	50.15 ± 2.85	27.55 ± 4.58 <sup>3)7)</sup>
LUCG	9.52 ± 0.93 <sup>3)</sup>	6.65 ± 0.43 <sup>3)</sup>	35.79 ± 3.33 <sup>3)</sup>	48.61 ± 7.06	21.39 ± 3.34 <sup>3)7)</sup>
HUCG	8.01 ± 0.26 <sup>3)</sup>	6.16 ± 0.29 <sup>3)</sup>	37.65 ± 4.25 <sup>3)</sup>	42.48 ± 6.97 <sup>1)</sup>	37.08 ± 2.90 <sup>2)3)</sup>
<i>F</i>	24.051	51.915	4.796	22.779	56.294
<i>P</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

AT: arriving time; TTP: time to peak; DPI: derived peak intensity; A: slope rate of ascending curve; AUC: area under curve. vs. NG, <sup>1)</sup> *P* < 0.01, <sup>2)</sup> *P* < 0.05; vs. MG, <sup>3)</sup> *P* < 0.01, <sup>4)</sup> *P* < 0.05; vs. PG, <sup>5)</sup> *P* < 0.01, <sup>6)</sup> *P* < 0.05; vs. LUCG, <sup>7)</sup> *P* < 0.01, <sup>8)</sup> *P* < 0.05.

较小( $P < 0.01$ )。结果表明,模型鼠的肾皮质TTP、AT延长, DPI、A降低, AUC增大,提示肾血流灌注减少,流速减慢,存

在肾损害;给予PAT和CGLZ后均可改善肾损害,但大剂量CGLZ联用PAT治疗的效果可能较差。



A: NG; B: In MG, the values of TTP, AT and AUC increased, DPI and A decreased; C: In LSCG, the values of TTP, AT and AUC decreased; D: In LUCG, the values of TTP, AT and AUC decreased, DPI increased.

图3 大鼠肾脏皮质ROI的CEUS图像及TIC曲线

Fig. 3 CEUS images and time-intensity curves (TIC) in the region of interest (ROI) of the rat renal cortex

### 3 讨论

NS为CKD临床诊断中的常见类型,约占肾活检病例的40%<sup>[8-9]</sup>,临床主要表现为大量蛋白尿(24 h-UTP > 3.5 g/d)、低白蛋白血症(ALB < 30 g/L)、水肿和(或)高脂血症<sup>[10]</sup>。SGLT2i对肾脏保护作用的循证医学证据,包括CANVAS研究、CVOT试验、DECLARE-TIMI58研究、EMPA-REG OUT-COMR研究、CANVAS-R研究、CREDENCE研究<sup>[11-12]</sup>。这些证据充分显示,SGLT2i可以延缓包括NS在内的肾病进程,影响肾脏病的预后及结局,可以用于CKD的治疗。其中,CREDENCE研究证实CGLZ使血清肌酐倍增、终末期肾病、肾脏或心血管原因死亡等综合风险降低了30%<sup>[13]</sup>。本研究采用ADR 2次尾静脉注射法诱导制备NS大鼠模型,造模后的大鼠尿蛋白、血脂均升高、血清白蛋白下降,符合NS临床诊断标准。给予药物治疗6周后,不同药物治疗大鼠的24 h-UTP均明显下降,使用CGLZ各组大鼠的ALB升高,小剂量CGLZ大鼠的TG水平和小剂量CGLZ联用PAT大鼠的TC、LDL均明显降低,且小剂量CGLZ对NS大鼠的治疗效果明显优于其他治疗组,而大剂量CGLZ与PAT联合治疗并未达到和其他组一致的治疗效果,未能有效改善血流灌注。因此,大剂量CGLZ对血流灌注的改善作用还有待进一步验证。本研究认为,CGLZ合并使用糖皮质激素或使用大剂量CGLZ并非更好的选择,这有助于提醒临床医生有必要慎用药物。

SGLT2i通过抑制近端小管钠和葡萄糖的重吸收,增加

向远端致密斑输送钠、氯和水,通过管球反馈使肾小球传入小动脉扩张,降低了肾小球内的灌注压和滤过压,使肾脏血流灌注得以改善<sup>[14]</sup>。最新研究证实,CKD患者的内皮祖细胞(EPCs)功能障碍,导致内皮再生和肾脏灌注不良,而CGLZ通过改善EPCs的迁移作用来改善内皮功能<sup>[15]</sup>;而在肾细胞癌患者中,EPCs从骨髓和/或动脉中动员,以取代功能失调的内皮细胞并挽救缺血组织中的血液灌注<sup>[16]</sup>。因此,SGLT2i有可能通过改善EPCs的功能来达到恢复肾脏血流灌注的效果,这是我们后续研究值得关注的新课题。

肾血流灌注减少被认为是人类和啮齿类动物CKD发生发展机制的一个中心环节,在疾病早期未出现临床症状时即可出现血流动力学的变化,故及时有效的肾血流动力学评价可为早期肾脏病的诊断提供重要依据<sup>[17]</sup>。CEUS能有效评估脏器的血流灌注情况<sup>[18]</sup>,但目前CEUS在肾脏病方面的研究并不多。研究认为超声造影评估的肾血流与血清肌酐之间具有良好的相关性<sup>[19]</sup>,且CEUS的某些灌注参数和TIC的形状变化可用于定量和直观地评估经皮肾血管成形术和支架植入术后肾皮质血流灌注的变化<sup>[20]</sup>。本研究采用CEUS联合CDFI检查,可有效判断药物干扰前后大鼠肾皮质厚度及肾动脉血流动力学变化。研究结果不仅显示SGLT2i可用于NS的治疗,且采用超声联合检查技术评估肾灌注情况与尿液、血液生化检查结果之间基本上趋于一致。因此,在临床工作中,结合尿液、血清学、超声血流动力学、CEUS等检测指标进行综合判断,有助于肾脏疾病的早期诊断及药物疗效评估。

#### 参考文献

- [1] Fischer K, Meral FC, Zhang Y, et al. High-resolution renal perfusion mapping using contrast-enhanced ultrasonography in ischemia-reperfusion injury monitors changes in renal microperfusion[J]. *Kidney Int*, 2016, 89(6): 1388-1398.
- [2] 吴际, 赵静瑜, 李晓勇, 等. 原发性肾病综合征患者血清TXNIP、miR-146a-5p表达及相关性[J]. *广东医学*, 2022, 43(9): 1155-1159.

- Wu J, Zhao JY, Li XY, et al. Expression and correlation of serum TXNIP and miR-146a-5p in patients with primary nephrotic syndrome [J]. *J Guangdong Med*, 2022, 43(9): 1155-1159.
- [3] 涂美琳, 谢文佳, 陈洪宇, 等. 超声造影定量分析在早期原发性慢性肾病诊断中的应用价值[J]. *浙江医学*, 2019, 41(21): 2324-2327.
- Tu ML, Xie WJ, Chen HY, et al. Diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound in early primary chronic kidney disease [J]. *Zhejiang Med*, 2019, 41(21): 2324-2327.
- [4] Han BH, Park SB. Usefulness of contrast-enhanced ultrasound in the evaluation of chronic kidney disease [J]. *Curr Med Imaging*, 2021; 17(8): 1003-1009.
- [5] 贺升升, 李爱平, 张王宁, 等. 阿霉素肾病模型及其病理机制研究进展[J]. *中草药*, 2018, 49(22): 5426-5434.
- He SS, Li AP, Zhang WN, et al. Research progress of adriamycin nephropathy model and its pathological mechanism [J]. *Chin Herbal Med*, 2018, 49(22): 5426-5434.
- [6] 王嘉文, 宋璐, 赵良斌, 等. 补肾活血祛风方对阿霉素肾病大鼠的干预研究[J]. *中药与临床*, 2021, 12(2): 26-29.
- Wang JW, Song L, Zhao LB, et al. Effect of Bushen Huoxue Qufeng decoction on adriamycin nephropathy in rats [J]. *Chin Med Clin*, 2021, 12(2): 26-29.
- [7] Schneider AG, Goodwin MD, Schelleman A, et al. Contrast-enhanced ultrasonography to evaluate changes in renal cortical microcirculation induced by noradrenaline: a pilot study [J]. *Crit Care*, 2014, 18(6): 653.
- [8] Sugiyama H, Yokoyama H, Sato H, et al. Japan Renal Biopsy Registry: the first nationwide, web-based, and prospective registry system of renal biopsies in Japan [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2011, 15(4): 493-503.
- [9] Zhou FD, Shen HY, Chen M, et al. The renal histopathological spectrum of patients with nephrotic syndrome: an analysis of 1523 patients in a single Chinese centre [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(12): 3993-3997.
- [10] Agrawal S, Zaritsky JJ, Fornoni A, et al. Dyslipidaemia in nephrotic syndrome: mechanisms and treatment [J]. *Nature Reviews Nephrology*. 2018; 14(1): 57-70.
- [11] Alkabbani W, Gamble JM. Profile of ipragliflozin, an oral SGLT-2 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes: the evidence to date [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 15: 3057-3069.
- [12] McQuarrie EP, Gillis KA, Mark PB. Seven suggestions for successful SGLT2i use in glomerular disease - a standalone CKD therapy? [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2022, 31(3): 272-277.
- [13] Perkovic V, Jardine MJ, Neal B, et al. Canagliflozin and renal outcomes in type 2 diabetes and nephropathy [J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(24): 2295-2306.
- [14] Heerspink HJL, Kosiborod M, Inzucchi SE, et al. Renoprotective effects of sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors [J]. *Kidney Int*, 2018, 94(1): 26-39.
- [15] Nandula SR, Kundu N, Awal HB, et al. Role of canagliflozin on function of CD34+ve endothelial progenitor cells (EPC) in patients with type 2 diabetes [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2021, 20(1): 44.
- [16] Moccia F, Guerra G. Ca(2+) signalling in endothelial progenitor cells: friend or foe? [J]. *J Cell Physiol*, 2016, 231(2): 314-327.
- [17] Petrucci I, Clementi A, Sessa C, et al. Ultrasound and color doppler applications in chronic kidney disease [J]. *J Nephrol*, 2018, 31(6): 863-879.
- [18] 董尚鑫, 施辉波, 赵圆圆, 等. 超声造影在供肾质量评估中的应用 [J]. *器官移植*, 2022, 13(5): 678-682.
- Dong SX, Shi HB, Zhao YY, et al. Application of contrast-enhanced ultrasound in evaluation of donor kidney quality [J]. *Organ Transplant*, 2022, 13(5): 678-682.
- [19] Read DJ, Doleman B, Heinink T, et al. Contrast-enhanced ultrasound assessed renal microvascular perfusion may predict postoperative renal complications following colorectal surgery [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2021, 48(7): 971-977.
- [20] Ran X, Lin L, Yang M, et al. Contrast-enhanced ultrasound evaluation of renal blood perfusion changes after percutaneous transluminal renal angioplasty and stenting for severe atherosclerotic renal artery stenosis [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2020, 46(8): 1872-1879.