

实验研究

通心络对自发性 2 型糖尿病 KK - Ay 小鼠肾功能及肾组织 MMP - 9、TIMP - 1 表达的影响

邹大威¹ 高彦彬¹ 王金羊¹ 张娜¹ 赵轩¹ 朱智耀¹ 周盛楠¹ 李骄阳¹ 马鸣飞² 姚静娟¹

(1 首都医科大学中医药学院, 北京, 100069; 2 北京中医药大学东方医院内分泌科, 北京, 100078)

摘要 目的: 观察通心络对自发性 2 型糖尿病 KK - Ay 小鼠肾功能及肾组织降解酶系 MMP - 9、TIMP - 1 及细胞外基质成分 FN、Col IV 表达的影响, 探讨通心络防治 DN 的作用机制。方法: 采用自发性 2 型糖尿病 KK - Ay 小鼠建立糖尿病肾病模型, 随机分为模型组、通心络组、西药组各 16 只, 设立 C57BL/6J 小鼠 16 只为空白组, 予通心络及缬沙坦干预 12 周后, 测定空腹血糖 (FPG)、24 h 尿微量白蛋白排泄率 (UAER)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、血清尿素氮 (BUN)、血清肌酐 (SCr) 含量, 采用 Western Blot 及 Realtime - PCR 方法检测基质金属蛋白酶 - 9 (MMP - 9)、基质金属蛋白酶组织抑制剂 - 1 (TIMP - 1) 蛋白及基因表达水平, 采用免疫荧光方法检测纤维连接蛋白 (FN)、IV 胶原 (Col - IV) 蛋白表达水平。结果: 与空白组比较, 模型组小鼠 24 h UAER、BUN、SCr、FPG、HbA1c 均明显升高 ($P < 0.05$), 肾组织 TIMP - 1、FN、Col IV 表达明显升高、MMP - 9 表达明显降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 经通心络及缬沙坦干预后 FPG 及 HbA1c 无明显变化 ($P > 0.05$), 24 h UAER、BUN、SCr 显著降低, 肾组织 TIMP - 1、FN、Col IV 表达降低、MMP - 9 表达升高 ($P < 0.05$)。结论: 通心络可降低自发性 2 型糖尿病 KK - Ay 小鼠尿白蛋白、保护肾功能, 调控降解酶系 MMP - 9/TIMP - 1 表达抑制细胞外基质沉积是其作用机制之一。

关键词 糖尿病肾病; MMP - 9; TIMP - 1; 通心络; KK - Ay 小鼠

Effects of Tongxinluo on Renal Function and MMP-9、TIMP-1 Expression of Renal Tissue in Type 2 Diabetic KK-ay Mice

Zou Dawei¹, Gao Yanbin¹, Wang Jinyang¹, Zhang Na¹, Zhao Xuan¹, Zhu Zhiyao¹, Zhou Shengnan¹, Li Jiaoyang¹, Ma Mingfei², Yao Jingjuan¹

(1 School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China;

2 Department of Endocrine, Dongfang Hospital of Beijing University of Traditional Chinese medicine, Beijing 100078, China)

Abstract Objective: To explore effects of Tongxinluo on renal function and expression of MMP-9, TIMP-1, FN, Col-IV on diabetic nephropathy mice model, and investigate mechanism of action. **Methods:** Diabetic male KK-Ay mice were randomly divided into three groups: the model group ($n = 16$), the Tongxinluo group ($n = 16$) and the Western medicine group ($n = 16$). A blank group was set up by male C57BL/6J ($n = 16$) mice. After intervention with Tongxinluo and valsartan for 12 weeks, 24 h Urinary albumin excretion (24h UAER), fasting plasma glucose (FPG), serum creatinine (Scr), HbA1c, serum urea nitrogen (BUN) were examined. Expression of MMP-9, TIMP-1 were assessed by Realtime-Pcr and Western Blot. Expression of FN, Col-IV were assessed by immunofluorescence. **Results:** Compared with blank group, model group increased significantly for the following parameters: 24 h UAER, BUN, SCr, FPG, HbA1c, TIMP-1, FN, Col IV expression ($P < 0.05$), and decreased significantly in MMP-9 expression. Compared with model group, both treatment group did not show significant changes in FPG and HbA1c ($P > 0.05$), but had lower 24 h UAER, BUN and SCr ($P < 0.05$), and Tongxinluo and valsartan can down-regulate TIMP-1, FN, Col IV expression and up-regulate the expression of MMP-9. **Conclusion:** Tongxinluo can decrease 24 UAER, protect renal function and inhibit extracellular matrix through regulating MMP-9/TIMP-1 expression.

Key Words Diabetic nephropathy; MMP-9; TIMP-1; Tongxinluo; KK-Ay mice

doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2013.07.026

糖尿病肾病 (Diabetic Nephropathy, DN) 是糖尿病最主要的微血管病变之一, 也是糖尿病患者致死的主要原因之一。目前中国已有 9200 万糖尿病患者, 1.48

亿糖尿病前期患者, 随着全球范围内的糖尿病患者的不断增加, DN 的患病率也逐渐升高^[1]。在欧美发达国家和地区, DN 已成为终末期肾病的首位病因 (约占

基金项目: 国家重点基础研究发展计划课题 (973 计划) (编号: 2012CB518602)

第一作者: 邹大威 (1982.1—), 女, 医学博士, 从事中医药防治糖尿病及其并发症研究, E-mail: taotaosweetie@163.com

通信作者: 高彦彬 (1959.9—), 男, 博士生导师, 教授, 从事中医药防治糖尿病及其并发症研究, E-mail: dfyynfm@163.com

35%) ,在我国这一比例也逐年上升^[2]。DN 的病理改变主要为肾小球毛细血管基底膜增厚,系膜细胞增生和系膜基质增多,肾小管基膜增厚,最终导致弥漫性或结节性肾小球硬化及肾小管间质纤维化。近年研究表明高糖及糖基化可导致基质金属蛋白酶系—基质金属蛋白酶/金属蛋白酶组织抑制剂(Matrix Metalloproteinase/Tissue Inhibitor of Metalloproteinases, MMPs/TIMPs) 失衡,导致细胞外基质(Extracellular matrix, ECM) 合成与分解失衡引起 DN^[3-4]。本课题采用自发性 2 型糖尿病 KK - Ay 小鼠建立糖尿病肾病模型,探讨通心络能否通过调节肾脏降解酶系 TIMP - 1、MMP - 9,抑制细胞外基质沉积,保护肾功能、延缓糖尿病肾病进展。

1 材料

1.1 动物 8 周龄 SPF 级雄性 KK_{ay} 小鼠 48 只(生产许可号: SXCK 京 2009 - 0004), 8 周龄 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 16 只(生产许可号: SXCK 京 2009 - 0007), 购自北京华阜康生物科技股份有限公司。

1.2 药物 通心络超微粉(主药为人参、水蛭、全蝎、土鳖虫、蜈蚣、蝉蜕、赤芍等,由河北以岭医药研究院有限公司提供); 缬沙坦胶囊(北京诺华制药有限公司, 批号: X1241)。

1.3 试剂 Trizol 试剂盒(美国 Invitrogen, 批号: 47303), M - MLV 反转录试剂盒(日本 Takara, 批号: CK3401A), SYBR Mix(美国 ABI, 批号: 1209004), 小鼠尿白蛋白酶联免疫测定试剂盒(ICL, 批号: 24), MMP9 抗体(Abcam, ab38898), TIMP - 1 抗体(R&D, AF980), FN 抗体(Abcam, ab61213), Col - IV 抗体(Abcam, ab6586), 糖化血红蛋白仪专用试剂(美国 Primus, PDQ)。

1.4 仪器 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI, 7500), 凝胶成像系统(美国 Bio - rad, Gel Doc 2000), 紫外分光光度计(德国 eppendorf, Biophotometer), 模块化生化免疫分析系统(罗氏, Cobas 6000 C501), 酶标仪(深圳迈瑞, 型号: MR - 96A), 免疫荧光显微镜(奥林巴斯), 糖化血红蛋白仪(美国 Primus, PDQ)。

2 方法

2.1 模型建立及分组给药 本实验采用 8 周龄 2 型糖尿病 KK - Ay 小鼠建立糖尿病肾病模型, 设立 C57BL/6J 小鼠 16 只为空白组, 空白组 C57BL/6J 小鼠予以普通饲料喂养、KK - Ay 小鼠予以高脂饲料喂养。4 周后测定 24 h 尿白蛋白排泄率(Urinary Albumin Excretion Rate, UAER)及血糖, KK - Ay 小鼠血糖 ≥ 16.7 mmol/L, 与空白组相比, 24 h UAER 明显升高($P < 0.05$) 视为糖尿病肾病模型建立成功。造模成功的 KK

- Ay 小鼠随机分为模型组, 西药组, 通心络组各 16 只。造模成功次日开始灌胃, 西药组予缬沙坦 10 mg/kg · d 灌胃, 通心络组予通心络 0.75 g/kg · d 灌胃, 空白组及模型组予等体积蒸馏水灌胃, 连续给药 12 周。

2.2 指标收集与检测 实验期间, 采用尾静脉取血法每月动态监测各组小鼠血糖。于 12 周龄、16 周龄、20 周龄、24 周龄各时点, 将各组小鼠置于代谢笼中收集 24 h 尿液并记录尿量, 采用酶联免疫法测定 24 h UAER。各组动物连续给药 12 周(小鼠 24 周龄)时, 各组小鼠空腹 8 h 于次日清晨摘眼球取血 1 mL 左右, 其中 400 μ L 用 EDTA 抗凝后 4 $^{\circ}$ C 保存, 采用亲和层析高效液相色谱法测定糖化血红蛋白(HA1c); 其余分离出血清 4 $^{\circ}$ C 保存测定血清肌酐(Scr), 尿素氮(BUN), 采用模块化生化免疫分析系统进行测定。同时, 剖取肾脏, 部分保存于液氮中, 用于 Western blot 和 Real - time PCR 测定; 部分肾组织用 4% 多聚甲醛固定, 用于免疫荧光测定。

2.3 肾组织 MMP - 9; TIMP - 1 mRNA 检测

2.3.1 引物设计 根据 GeneBank 提供的基因序列, 由生工生物工程上海有限公司用 Primer Premier 5.0 软件设计合成, 具体见表 1。

表 1 MMP - 9, TIMP - 1 基因引物序列

基因名称	基因库编号	引物序列	基因片段长度/bp
MMP - 9	31560795	F: 5'- GCGTGCTCTGGAGATTTCGAC - 3'	163
		R: 5'- GAAACTCACACGCCAGAAGA - 3'	
TIMP - 1	113205062	F: 5'- TGCACAGTGTTCCTCTTT - 3'	152
		R: 5'- GATCTCCAGGTGCACAAGCC - 3'	
GAPDH	126012538	F: 5'- GCAAGTTCACGGCACAG - 3'	141
		R: 5'- CGCCAGTAGACTCCACGAC - 3'	

注: F: 上游引物; R: 下游引物。

2.3.2 总 RNA 提取 采用 Trizol 法, 取小鼠肾脏 100 mg, 放入液氮中研成粉末, 加入 1 mL Trizol 提取 RNA, 核酸紫外分光光度计测定经稀释的 RNA 提取物的 OD 值和浓度, 判断 RNA 纯度, 计算 RNA 浓度。

2.3.3 RNA 的体外反转录 在 0.5 mL 的离心管中加入 RNA 3 μ L, Oligo(dT) 1 μ L, dd H₂O (DEPC 处理) 9.5 μ L, 以上首先 70 $^{\circ}$ C 孵育 5 min, 然后迅速放在冰上。然后加入 5X Buffer 5 μ L, dNTP (10 mM) 5 μ L, Ribonuclease inhibitor 0.5 μ L, M - MLV RT 1 μ L 构成共 25 μ L 的反应体系, 以上反应体系 42 $^{\circ}$ C 孵育 60 min, 然后 70 $^{\circ}$ C 10 min, 获得反应产物 cDNA。

2.3.4 实时定量荧光 PCR 检测(Real - time PCR) 在实时荧光定量 PCR 仪上扩增并检测荧光, 反应体系 20 μ L: cDNA 1.5 μ L, 上游引物(10 pmol/ μ L) 0.5 μ L, 下

游引物(10 pmol/μL) 0.5 μL,SYBR mix 10μL,dd H₂O 7.5 μL,加入 0.2 mL 的离心管中混匀。反应条件:94℃预变性 2 min;(94℃ 15 s,60℃ 60 s),共 40 个循环;72℃延伸 10 min。每个样本均做 3 次,取平均值减少误差,采用 2^{-ΔΔCt}方法对 MMP-9、TIMP-1 mRNA 的表达水平进行定量。

2.4 Western Blot 将肾组织在预冷的研钵中迅速研磨放入 EP 管后,加入细胞裂解液,离心取上清后煮沸,Bradford 法测定蛋白浓度。取 40 μg 蛋白在 10% SDS-PAGE 胶上电泳分离,之后转印至硝酸纤维素膜(Millipore,USA)。5% TBS-T 脱脂奶粉封闭振荡 1 h,采用 MMP-9、TIMP-1 抗体 4℃ 孵育过夜,10 min X 3 次洗膜后加入辣根过氧化物酶标记的二抗 37℃ 振荡 1 h,用大量 TBS-T 漂洗液 10 min X 3 次洗膜后用 ECL 试剂暗室内胶片曝光。用 IPP 软件对扫描图像的目的条带进行灰度分析。

2.5 免疫荧光测定 将多聚甲醛固定的肾组织石蜡包埋,制成石蜡切片,厚度 4 μm,PBS 漂洗,5% 牛血清白蛋白室温封闭 1 h。加一抗 FN、Col-IV 后 4℃ 孵育,48 h 后 PBS 洗涤,加荧光二抗 37℃ 孵育 2 h,PBS 洗涤后滴加 DAPI 染色剂,防淬灭封片剂封片,荧光显微镜下观察。采用每组选取 5 个样本,每个标本随机选取 5 个视野 400 倍镜下观察,使用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件对荧光部分进行积分光密度值(Integrated Optical Density,IOD)检测并分析。

2.6 统计方法 采用 SPSS 13.0 软件进行数据分析,计算均值±标准差($\bar{x} \pm s$),进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠血糖、糖化血红蛋白、24 h 尿白蛋白排泄率比较 如图 1、2 所示,与空白组相比,12、16、20、24 周龄模型组小鼠 FPG、24 h UAER 明显升高($P < 0.05$),提示糖尿病肾病模型建立成功。与模型组相比,12、16、20、24 周龄通心络组及西药组小鼠 FPG 无明显变化($P > 0.05$),24 h UAER 明显降低($P < 0.05$)。24 周龄时,与空白组相比,模型组小鼠 HbA1c 明显升高($P < 0.05$),与模型组相比,通心络组及西药组小鼠 HbA1c 无明显变化($P > 0.05$)。

3.2 各组小鼠血尿素氮、肌酐比较 如表 2 所示,24 周龄时,与空白组相比,模型组小鼠的 BUN、SCr 明显高于空白组($P < 0.05$);与模型组相比,西药组、通心络组小鼠的 BUN、SCr 均有不同程度的降低($P < 0.05$),各干预组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

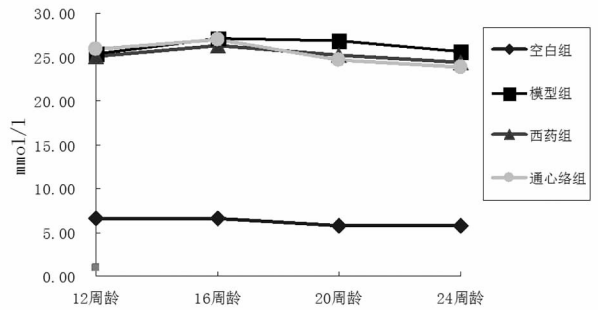


图1 各组小鼠血糖比较

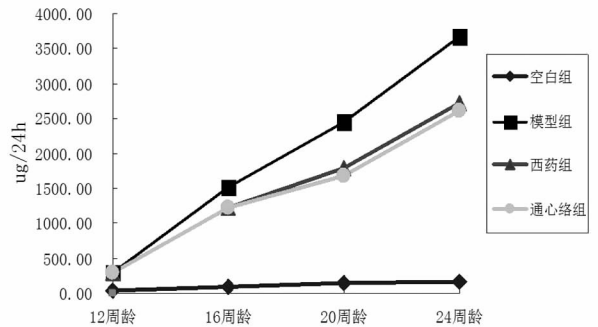


图2 各组小鼠 24 h 尿白蛋白排泄率比较

表2 各组小鼠 24 周龄 BUN、SCr 比较($\bar{x} \pm s$) (n = 15 - 16)

组别	剂量/kg ⁻¹ ·d ⁻¹	BUN (mmol/L)	SCr (μmol/L)
空白组	-	8.86 ± 2.71	20.50 ± 3.56
模型组	-	14.35 ± 2.91 *	26.50 ± 2.59 *
通心络组	0.75g	10.12 ± 1.54 △	22.78 ± 2.78 △
西药组	10mg	10.77 ± 1.12 △	23.60 ± 3.05 △

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,△ $P < 0.05$ 。

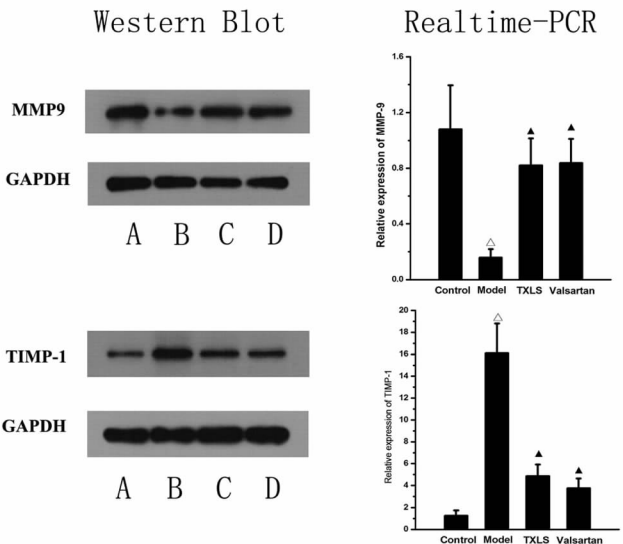


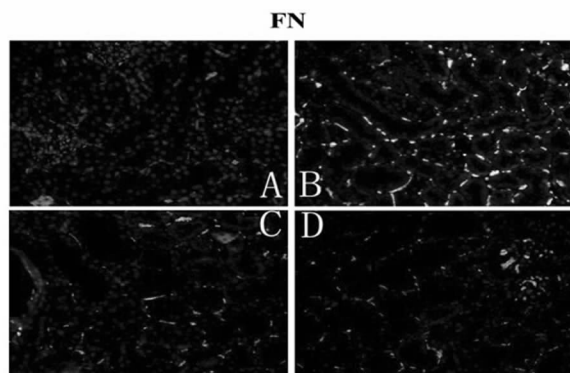
图3 各组小鼠 MMP-9、TIMP-1 蛋白及基因表达检测

(注释:A:空白组,B:模型组,C:通心络组,D:西药组)

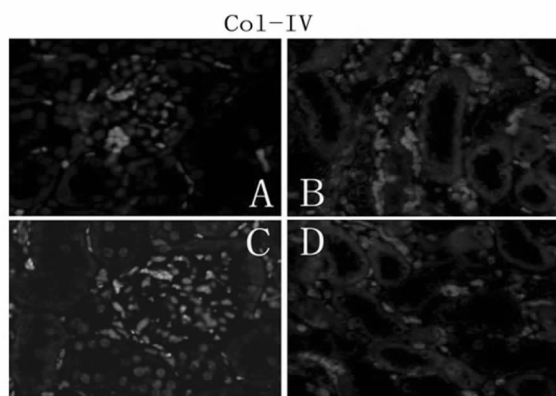
3.3 通心络对降解酶系 MMP-9、TIMP-1 表达的影响 本实验采用 Western Blot 和 Realtime-PCR 检测各组小鼠基质金属蛋白酶-9(Matrix Metalloproteinase-9,MMP-9)及基质金属蛋白酶组织抑制剂(Tissue

Inhibitor of Metalloproteinases, TIMP-1) 蛋白及基因表达水平, 研究表明: 与空白组相比, 模型组小鼠 MMP-9 蛋白及基因表达明显降低 ($P < 0.05$), TIMP-1 蛋白及基因表达明显升高 ($P < 0.05$), 经通心络及缬沙坦干预后 MMP-9 蛋白及基因明显升高 ($P < 0.05$), TIMP-1 蛋白及基因表达明显降低 ($P < 0.05$), 组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。(见图 3)

3.4 通心络对细胞外基质成分 FN、Col-IV 表达的影响 本实验采用免疫荧光方法检测各组小鼠肾组织纤维连接蛋白 (Fibronectin, FN)、IV 胶原 (Collagen-IV, Col-IV) 表达的变化, 研究表明: 与空白组相比, 模型组小鼠肾组织 FN、Col-IV 表达明显升高, 经通心络、缬沙坦干预后 FN、Col-IV 表达明显降低 ($P < 0.05$), 组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。(见图 4)



($\times 200$)



($\times 400$)

图 4 各组小鼠 FN、Col-IV 免疫荧光观察

(注释: A: 空白组, B: 模型组, C: 通心络组, D: 西药组)

4 讨论

KK-Ay 小鼠是在 KK 小鼠的基础上转入黄色肥胖基因 (Ay) 而成, 16 周龄后即出现中度肥胖、多食、多尿、中度高血糖, 符合 2 型糖尿病动物模型的特点, 同时其尿蛋白增加, 肾脏病理肾小球细胞外基质增加、增厚, 是研究早期 2 型糖尿病肾病的理想动物模型^[5-6]。本研究结果表明, 与 C57BL/6J 小鼠相比, 模型组 KK-

ay 小鼠的 16、20、24 周龄时血糖、24 h UAER 明显升高, 提示 DN 模型建立成功, 通心络干预后肌酐、尿素氮、24 h UAER 明显降低, 证实通心络具有降低尿蛋白、保护肾功能的作用。

我们通过总结古今文献及大量 DN 患者的临床观察认为糖尿病肾病是消渴病日久出现的肾系并发症, 主要表现为尿浊、水肿、腰痛、癃闭、关格, 其病位在肾, 继发于消渴病, 因此称为消渴病肾病^[7]。消渴病肾病的病位在肾, 基本病理改变是肾之络脉结构损伤, 导致肾功能失常, 其病理演变规律是早期肾络瘀滞, 表现为肾小球肥大, 肾小球滤过率增高; 中期肾络瘀阻, 表现为系膜基质增生及肾小球基底膜增厚; 晚期肾络瘀结, 表现为肾小球硬化及肾间质纤维化^[8]。1) 发病之初, 病在肝肾, 气阴两虚, 肾络瘀滞: 肾主水, 司开阖, 消渴病日久, 肾阴亏损, 阴损耗气, 而致肾气虚损, 固摄无权, 开阖失司, 可见尿频尿多, 尿浊而甜; 肝肾阴虚, 阴虚阳亢, 则头晕、耳鸣、血压偏高; 2) 病程迁延, 阴损及阳, 可致脾肾虚衰, 肾络瘀阻: 致使水液代谢障碍, 水湿潴留, 泛溢肌肤, 出现面足水肿, 甚则胸水腹水; 阳虚不能温煦四末, 则畏寒肢冷; 3) 病变晚期, 肾络瘀结, 肾体劳衰, 肾用失司, 浊毒内停, 五脏受损, 气血阴阳衰败: 肾阳衰败, 水湿泛滥, 浊毒内停, 变证蜂起。浊毒上泛, 胃失和降, 则恶心呕吐、食欲不振; 脾肾衰败, 浊毒内停, 血液化生无源, 则见面色萎黄、唇甲舌淡等血虚之候; 水湿浊毒上犯, 凌心射肺, 则心悸气短, 胸闷喘憋不能平卧; 肾元衰竭, 浊邪壅塞三焦, 肾关不开, 则少尿或无尿, 发展为关格病终末阶段。吴以岭院士认为气阴两虚是糖尿病肾病的发病基础, 络脉瘀阻、津凝痰聚是糖尿病肾病的主要病理环节, 络息成积是糖尿病肾病主要病理改变^[9]。

现代医学认为 DN 以肾小球基底膜增厚、系膜基质增生为特征的肾小球硬化和肾间质纤维化为主要病理改变, 而细胞外基质大量增生及 ECM 降解酶系调控失常是其重要的发病机制, 这与肾络病变引起的络息成积的病理变化是一致的。ECM 是一类由胶原、蛋白聚糖及糖蛋白等大分子物质组成动态网状结构, 位于肾小球毛细血管袢基膜和系膜区, 是肾小球基底膜的主要基质形式。ECM 主要由 FN、层粘连蛋白及各型胶原组成。MMPs/TIMPs 作用 ECM 在肾小球内的沉积过程及发生机制十分复杂, 持续或间断的高糖环境及促纤维化因子的活化可通过改变基质金属蛋白酶系 MMPs/TIMPs 导致 ECM 降解减少, 使 ECM 合成与降解调控失衡进一步加重 DN^[3]。MMP-9 是 MMPs 家族的重要成员, 其主要功能是参与 ECM 的降解、调节

生理和病理状态下 ECM 的合成和代谢平衡,已知的四种 TIMPs 在肾脏中均有表达,但对 MMPs 发挥抑制作用的主要是 TIMP-1/2,其中 TIMP-1 可特异性的阻断 MMP-9 活性,在 ECM 积聚和降解中起着关键作用,其过度表达将导致 ECM 沉积。因此,调控细胞外基质的含量、改善降解酶系的比例失调能够抑制肾小球肥大、肾小球硬化、肾间质纤维化及肾功能不全。本实验研究结果表明,模型组肾小球及肾间质的细胞外基质成分 FN 及 Col-IV 明显升高,通心络干预能够通过升高 MMP-9,降低 TIMP-1,调控降解酶系 MMP-9/TIMP-1 的比例,抑制 DN 细胞外基质的沉积。

络病的内涵包括疾病发展过程中不同致病因素伤及络脉导致的络脉功能障碍及结构损伤的自身病变,外延包括络脉病变的致病因素及络脉病变引起的继发性脏腑组织病理改变。大量的临床及基础研究表明络病是冠心病及糖尿病微血管并发症(如糖尿病肾病)重大疾病的共性病理基础,通络治疗重大疾病均取得较好的疗效^[10]。通心络在临床上应用多年,是通络干预的代表方药,治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病心绞痛疗效确切^[11-12],临床研究亦表明通心络能够治疗 DN,降低 DN 患者的 UAER^[13-15],肾之络脉从结构上相当于由肾动脉依次分出的肾小球微血管,符合络病学说中络脉的概念,因此,“络以通为用”为总则的通络干预可用于治疗糖尿病肾病。通心络是根据中医络病理论研制而成的中药复方制剂,由人参、水蛭、全蝎、蜈蚣、土鳖虫、蝉蜕、赤芍等组成,包括全蝎、蜈蚣、水蛭、土鳖虫、蝉蜕 5 种虫类药物,具有强大的通络功效,以及活血化瘀的赤芍和益气的人参等,全方共奏益气通络、活血化瘀之效,降低早期 DN 患者的肾小球滤过率,改善肾小球基底膜病理损伤,并能延缓糖尿病肾功能衰竭^[16]。现代药理研究表明,人参具有降低 DN 动物模型的血脂、血糖、改善胰岛素抵抗的作用^[17]。赤芍具有抑制血小板聚集、降低血黏度、抗凝、改善微循环等作用^[18]。水蛭有抑制血小板聚集、抗凝、抗栓、降低血脂、抗纤维化、改善肾功能的作用^[19]。全蝎具有抗凝、抗血栓、促纤溶的作用^[20];蜈蚣具有调节脂代谢、改善血液流变学、降低血脂的作用^[21]。

综上所述,通心络具有明显的保护 2 型糖尿病 KK-Ay 小鼠肾功能、降低尿白蛋白的作用,调控降解酶系 MMP-9/TIMP-1 抑制细胞外基质沉积可能是其作用机制之一。

参考文献

- [1] Yang W, Lu J, Weng J, et al. Prevalence of diabetes among Men and Women in China[J]. N Engl J Med, 2010, 362 (12): 1090-1101.
- [2] 王海燕. 肾脏病学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 1414.
- [3] 李俊. 细胞外基质降解酶系与糖尿病肾病[J]. 医学综述, 2008, 14 (17): 2610-2613.
- [4] Thrall KM, Clay Bunn R, Fowlkes JL. Matrix metallo- proteinases: their potential role in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. Endocrine, 2009, 35 (1): 1-10.
- [5] Iwatsuka H, Shino A, Suzuoki Z. General survey of diabetic features of yellow KK mice[J]. Endocrinol Jpn, 1970, 17 (1): 23235.
- [6] 董哲毅, 华参, 高翔, 等. 2 型糖尿病动物模型 KK-Ay 小鼠糖尿病肾病的鉴定[J]. 山东医药, 2008, 48 (13): 17-19.
- [7] 高彦彬, 赵慧玲. 从络病学说论治糖尿病慢性并发症[J]. 世界中医药, 2007, 2 (6): 357-358.
- [8] 高彦彬. 络病与糖尿病慢性并发症[J]. 北京中医药大学学报: 中医临床版, 2008, 15 (3): 17-20.
- [9] 吴以岭, 魏聪, 贾振华, 等. 从络病学说论治糖尿病肾病及相关研究[J]. 上海中医药大学学报, 2007, 21 (5): 5-8.
- [10] 吴以岭. 脉络论[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2010: 8-11.
- [11] 王纲, 李金平. 通心络胶囊对老年冠心病心绞痛患者血清 IL-18 和 hs-CRP 的影响[J]. 广东医学, 2012, 33 (2): 276-277.
- [12] 刘新灿, 李胜军, 张晓毅, 等. 通心络胶囊对冠心病心绞痛患者脉搏波传导速度、踝臂指数及内皮功能的影响. [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2013, 11 (4): 408-409.
- [13] 丁冬梅. 通心络胶囊联合贝那普利治疗早期糖尿病肾病 34 例[J]. 陕西中医, 2009, 30 (12): 1593-1594.
- [14] 徐庆海, 毕业东, 刘洪正. 通心络胶囊防治糖尿病早期肾病临床观察[J]. 山东医药, 2008, 48 (45): 61-62.
- [15] 曹立平. 替米沙坦联合通心络胶囊对早期糖尿病肾病的疗效观察[J]. 河北医药, 2011, 33 (24): 3727-3728.
- [16] 孙世宁, 黄红芳. 通心络胶囊对早期糖尿病肾病患者血浆、尿内皮素的影响[J]. 新中医, 2004, 36 (4): 32-33.
- [17] 赵选, 张凡, 曲胜军, 等. 人参主要成分药理研究进展[J]. 亚太传统医药, 2012, 11 (8): 171-174.
- [18] 王瑞, 鲁岚, 李颖伟, 等. 赤芍与白芍的药理作用比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16 (7): 112-114.
- [19] 袁红霞, 张莉芹, 马瑾, 等. 水蛭药用成分及主要药理功效研究进展[J]. 甘肃医药, 2013, 32 (4): 270-273.
- [20] 徐天子. 全蝎的药理作用及临床新用[J]. 中国民族民间医药, 2010 (5): 29-30.
- [21] 秦晋之, 闫智勇. 蜈蚣的药理作用和临床应用研究进展[J]. 河北农业科学, 2008, 12 (10): 164-166.

(2013-06-08 收稿)