

益肾活血通络法对单侧输尿管梗阻大鼠肾脏缺氧诱导因子-1 血管内皮生长因子信号通路干预作用的实验研究

钟建 李夏露

【摘要】 目的 探讨缺氧诱导因子 α (hypoxia-inducible factor α , HIF- α) 诱导血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 表达的作用机制及微血管损伤发生的机制及“益肾活血通络法”干预效果,为中医药治疗肾间质纤维化提供新的依据。**方法** 实验采用单侧输尿管梗阻 (unilateral urethral obstruction, UUO) 造成肾纤维化动物模型,并以益肾活血方、氯沙坦灌胃对其进行治疗性干预,分别在术后第 7 天、14 天、21 天采集肾脏标本,运用免疫组化法检测 HIF- α 、VEGF 在肾脏中的分布、表达。**结果** 与假手术组比较,模型组、治疗组在各时间点 HIF- α 、VEGF 表达均显著上调 ($P < 0.01$);在各时间点,益肾活血方组和氯沙坦组较模型组大鼠 HIF- α 、VEGF 表达均下调 ($P < 0.01$)。随着干预时间的延长,模型组、治疗组 HIF- α 、VEGF 表达都逐渐增强,但增强幅度明显下调;益肾活血方组较氯沙坦组大鼠 HIF- α 、VEGF 下调明显,有统计学差异 ($P < 0.05$)。**结论** 益肾活血方能有效地降低 HIF- α 及 VEGF 表达,改善 UUO 大鼠内源性低氧状态,减轻微血管损伤,发挥抗肾纤维化的作用。

【关键词】 肾纤维化; 血管新生; 益肾活血方; 缺氧诱导因子; 血管内皮生长因子

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2014.01.003

Regulation of HIF-VEGF signaling pathway by Yishen Huoxue herbs in a rat UUO model ZHONG Jian, LI Xia-lu. Department of nephropathy, First affiliated hospital of Guangxi traditional Chinese medicine university, Nanning 530023, China

Corresponding author: ZHONG Jian, E-mail: zhongjian@medmail.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate the mechanism how hypoxia-inducible factor α (HIF- α)-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) leads to microvascular injury, and the efficacy of Yishen Huoxue herbs in treatment of renal interstitial fibrosis, so as to provide references for treatment of renal interstitial fibrosis using traditional Chinese medicine. **Methods** Renal fibrosis model of rat was constructed by unilateral urethral obstruction (UUO) and was treated with oral Tongluo Huoxue herbs and losartan. Then kidney specimen was collected at 7, 14 and 21 days after surgery, and expression and distribution of HIF- α and VEGF in kidney were determined by immunohistochemistry. **Results** At each of the specified time points, HIF- α and VEGF expression levels significantly increased in both the model group and the treated group than in the sham group ($P < 0.01$), but they were lower in the treated group than in the model group ($P < 0.01$). During this period, HIF- α and VEGF levels of both the model group and treated group showed a tendency of falling back to normal, and the decrease was significantly larger in the treated group than in the model group ($P < 0.05$). **Conclusion** Yishen Huoxue herbs can effectively reduce HIF- α and VEGF expression in UUO rat model, thus alleviate the endogenous hypoxia status, reduce microvascular injury, and play an anti-renal fibrosis role.

基金项目:广西教育厅面上项目(200710MS020);广西卫生厅重点课题项目(重 200821);广西青年基金项目(2010GXNSFB013073)

作者单位:530023 南宁,广西中医药大学第一附属医院肾内科

作者简介:钟建(1975-),博士,副教授,硕士生导师。研究方向:中西医结合治疗慢性肾脏疾病。E-mail:zhongjian@medmail.com.cn

【Key words】 Kidney fibrosis; Angiogenesis; Yishen Huoxue herbs; Hypoxia-inducible factor α ; Vascular endothelial growth factor

肾间质纤维化(renal interstitial fibrosis, RIF)是导致各种病因的进展性肾病(progressive renal disease, PRD)进展至终末期肾脏病(end stage renal Disease, ESRD)的共同病理过程。在 RIF 过程中,肾间质微血管病变[主要指肾小管周围血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的损伤]是最为关键的病理改变,肾微血管损伤和丢失导致局部缺血发生,可引发肾间质局部低氧状态。近年的研究表明,肾间质纤维化过程中普遍存在低氧状态,间质病变过程中的水肿、炎症、纤维化可增加血氧弥散的距离,而随着纤维化进展,球后微血管网会不断受损和减少,使局部的血流量进一步降低,另外低氧能致使肾小球后毛细血管内皮细胞的损伤,组织因子的暴露,从而激活外源性凝血途径,进而加剧血供障碍^[1]。此外有研究证明,肾间质纤维化的实质可能为肾脏微血管的一种炎症反应^[2],减轻肾间质微血管的炎症状态能明显抑制肾间质纤维化的进展。综上所述,局部缺血低氧和微炎症状态的发生是肾间质纤维化进展中最为重要的影响因素。目前尚缺乏针对肾脏微血管损伤治疗的现代化学药物,而具有“益肾活血通络”作用的中医药能有效地减轻肾微血管毁损,从而延缓慢性肾纤维化进程。

1 实验材料

1.1 动物与分组

雄性成年远交群(sprague dawley, SD)大鼠 96 只,体重 180~250 g,随机分为假手术组、单侧输尿管梗阻(unilateral urethral obstruction, UUO)模型组、氯沙坦治疗组、益肾活血方治疗组各 8 只,各组观察时间点均为术后 7 天、14 天、21 天。UUO 模型组、益肾活血方组、氯沙坦组大鼠左侧输尿管取肾门处和输尿管中上 1/3 处结扎,造成单侧输尿管梗阻模型,假手术组仅简单分离单侧输尿管后行腹部缝合。治疗组大鼠晨间分别予灌胃处理直至处死。其余各组予正常饮食饮水直至处死。

1.2 药物与试剂

益肾活血方:由黄芪 15 g、当归 15 g、丹参 15 g、红花 15 g、大黄 15 g、三七 15 g 组成,由广西中医药大学第一附属医院药剂科提供。先将药材用相当于药材 5 倍的自来水浸泡 2 小时,煮沸后再微火煎煮 30 分钟,过滤后收集煎液,原药渣加少量水煎煮,得二煎

液。两煎液混合,于水浴恒温器上浓缩至浓度为每毫升药液含生药 1 g。

氯沙坦:即科素亚,由北京诺华制药有限公司生产,批准文号:H20040217。每片 50 mg,研磨成粉末,以蒸馏水配成浓度为 5 mg/ml 溶液备用。

从大鼠术后第一天开始晨间分别予氯沙坦、益肾活血方灌胃给药,按照《实验动物学》中人与 SD 大鼠用药换算公式,氯沙坦、益肾活血方均采用 10 ml/kg·d,1 次/天,每天晨间经灌胃给药,自术后第 1 天开始至大鼠处死当天结束。

2 实验方法

2.1 大鼠体重、肾脏重量观察

分别在第 7、14、21 天观察各组大鼠的体重、肾脏重量,每组取平均值做统计分析。

2.2 肾功能检测

各组大鼠以 10% 水合氯醛腹腔麻醉后,均用 10 ml 一次性注射器从大鼠腹腔静脉采集静脉血,分装进灭菌离心管,静置 1~2 小时后,在高速离心机上离心,分离血清,用全自动生化分析仪检测血尿素氮(Bun)、血清肌酐(Scr)。

2.3 肾组织病理检测

取肾组织,HE 染色、Masson 染色,肾小管、肾间质病理损害评价办法:按 Raij 法评价 6 项指标^[3]:肾小管扩张、萎缩、上皮细胞变性、上皮细胞坏死,肾间质纤维化、炎性细胞浸润。肾小管间质损害程度的判定,按 Piraini 法^[4]进行半定量计分:肾小管无病理变化,即没有肾小管扩张、萎缩、管型、坏死或小管炎症评 0 分,轻度病理改变评 1 分(发生病变的肾小管范围<视野的 20%~40%),严重评 3 分(发生病变的肾小管范围>视野的 40%)。每张标本切片光镜(移动范围 10 mm×40 mm)随机选取 10 个视野,分别计算评分,取其平均值,作为该标本的肾间质指数。

2.4 免疫组化检测

采用 PV 二步法免疫组化检测 HIF- α 、VEGF 蛋白在肾脏的表达。主要操作步骤:将肾脏标本迅速放入 10% 的甲醛溶液中固定,制作成石蜡切片;切片常规脱蜡;H₂O₂ 中孵育、PBS 缓冲液冲洗;切片入缓冲液(pH6),微波炉加热,自然冷却;滴加预先稀释的 HIF- α 、VEGF 一抗溶液,4℃ 环境中, PBS 缓冲液冲洗;滴加 0.1 ml Dako K4001、K4002 二抗溶液,

37℃孵育、PBS 缓冲液冲洗;苏木素复染;常规脱水至透明,中性树胶封片,显微镜下观察。采用 HMIAS-2000 高清晰度彩色医学图文分析系统对 HIF- α 、VEGF 进行免疫组化半定量分析。

3 统计学方法

计量资料用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组均数比较用方差分析;组间差异用单因素方差分析(Oneway ANOVA)。方差齐时组间多重比较用 LSD 和 SNK 检验。全部数据采用 SPSS 21.0 统计软件,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

4 结果

4.1 各组大鼠体重变化情况

术后第 7 天,各组大鼠体重差异无统计学意义($P>0.05$)。术后第 14 天、第 21 天,各组大鼠体重均有所上升,但与假手术组对比,模型组、益肾活血方组、氯沙坦组大鼠体重明显减轻,差异有统计学意义($P<0.05$);益肾活血方组和氯沙坦组体重差异不显著($P>0.05$)。21 天后,益肾活血方组、氯沙坦组和模型组大鼠体重相比明显增加,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

表 1 各组大鼠不同时间点体重变化比较(g) ($\bar{x}\pm s$)

组别	7 天 (n=8)	14 天 (n=8)	21 天 (n=8)
假手术组	203.31 \pm 8.76	228.19 \pm 8.92	257.34 \pm 6.11
模型组	211.28 \pm 6.74	220.32 \pm 7.74 ^a	230.96 \pm 8.24 ^a
益肾活血方组	209.42 \pm 7.01	221.87 \pm 6.23 ^a	241.37 \pm 6.41 ^{ab}
氯沙坦组	210.57 \pm 8.76	223.63 \pm 7.87 ^a	238.98 \pm 9.79 ^{ab}

注:与假手术组对比,^a $P<0.05$;与模型组对比,^b $P<0.01$ 。

4.2 各组大鼠肾脏重量变化情况

术后第 7 天,与假手术组对比,其他各组大鼠的肾脏重量均增加,差异有统计学意义($P<0.01$)。术后第 14 天,治疗组和模型组相比,大鼠肾脏重量减轻,差异有统计学意义($P<0.05$);益肾活血方组与氯沙坦组相比,大鼠肾脏重量减轻,差异有统计学意义($P<0.05$)。术后第 21 天,治疗组与模型组相比,大鼠肾脏重量明显减轻,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 2。

4.3 各组大鼠 Bun、Scr 情况比较

各组结果显示:手术组大鼠血肌酐和尿素氮均

高于假手术组,差异有统计学意义($P<0.01$);益肾活血方组和氯沙坦组与模型组相比,血肌酐和尿素氮有所减低,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 3,表 4。

表 2 各组大鼠不同时间点肾脏重量变化情况比较(g) ($\bar{x}\pm s$)

组别	7 天 (n=8)	14 天 (n=8)	21 天 (n=8)
假手术组	1.04 \pm 0.15	1.10 \pm 0.12	1.08 \pm 0.15
模型组	1.72 \pm 0.23 ^a	2.02 \pm 0.21 ^a	2.12 \pm 0.16 ^a
益肾活血方组	1.59 \pm 0.26 ^{ad}	1.67 \pm 0.18 ^{abd}	1.71 \pm 0.20 ^{ac}
氯沙坦组	1.64 \pm 0.19 ^a	1.71 \pm 0.21 ^{ab}	1.79 \pm 0.17 ^{ac}

注:与假手术组对比,^a $P<0.01$;与模型组对比,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$;与氯沙坦组对比,^d $P<0.05$ 。

表 3 各组大鼠不同时间点血清肌酐($\mu\text{mol/L}$)测定结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	7 天 (n=8)	14 天 (n=8)	21 天 (n=8)
假手术组	42.82 \pm 6.76	42.90 \pm 7.87	41.33 \pm 6.11
模型组	74.28 \pm 8.74 ^a	78.59 \pm 10.11 ^a	85.96 \pm 8.24 ^a
益肾活血方组	65.15 \pm 8.01 ^{ac}	73.26 \pm 4.92 ^{ab}	78.18 \pm 6.41 ^{ab}
氯沙坦组	66.57 \pm 7.76 ^{ac}	75.63 \pm 5.60 ^{ab}	79.98 \pm 9.79 ^{ab}

注:与假手术组对比,^a $P<0.01$;与模型组对比,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$ 。

表 4 各组大鼠不同时间点血清尿素氮(mmol/L)测定结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	7 天 (n=8)	14 天 (n=8)	21 天 (n=8)
假手术组	6.43 \pm 0.60	6.59 \pm 1.20	6.51 \pm 0.75
模型组	12.70 \pm 0.66 ^a	13.48 \pm 0.46 ^a	16.83 \pm 1.08 ^a
益肾活血方组	10.36 \pm 0.76 ^{ac}	12.96 \pm 0.25 ^{ab}	14.14 \pm 0.27 ^{ab}
氯沙坦组	10.41 \pm 0.62 ^{ac}	13.16 \pm 0.42 ^{ab}	14.51 \pm 0.38 ^{ab}

注:与假手术组对比,^a $P<0.01$;与模型组对比,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$ 。

4.4 光镜下各组大鼠肾组织病理改变的比较

与假手术组对比,手术组大鼠肾间质损伤程度明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$),肾间质纤维化程度随着时间的推移而逐渐加强,第 7 天时最轻,第 21 天时最重;与模型组比较,益肾活血方组和氯沙坦组肾间质损伤程度均下降,差异有统计学意义($P<0.01$),各时间点内,治疗组大鼠肾间质纤维化的变化趋势与模型组一致,但随着时间的推移,肾间质纤维化的加重幅度逐渐减小。益肾活血方

组和氯沙坦组肾间质损伤程度无统计学差异 ($P > 0.05$), 见表 5。

表 5 各组大鼠肾间质纤维化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	视野数	7 天 ($n=8$)	14 天 ($n=8$)	21 天 ($n=8$)
假手术组	10	1.83 ± 0.25	2.07 ± 0.22	1.88 ± 0.10
模型组	10	21.97 ± 1.53 ^a	28.54 ± 2.55 ^a	40.57 ± 3.62 ^a
益肾活血方组	10	13.26 ± 1.20 ^{abc}	15.69 ± 1.36 ^{abc}	16.98 ± 1.42 ^{de}
氯沙坦组	10	13.26 ± 1.20 ^{ab}	16.15 ± 1.36 ^{ab}	17.95 ± 1.41 ^{de}

注:各时间点与假手术组比较,^a $P < 0.01$,^d $P < 0.001$;各时间点治疗组与模型组比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$,各时间点与氯沙坦组比较,^e $P < 0.05$ 。

4.5 免疫组化法测定各组大鼠肾组织 HIF- α 、VEGF 蛋白表达的比较

HIF- α 的表达:假手术组 HIF- α 微量表达,模型组和益肾活血方组、氯沙坦组大鼠第 7 天时肾间质内 HIF- α 蛋白表达增加,随结扎时间的延长表达逐渐增加,第 21 天时表达最强,主要在肾皮髓质交界处,与假手术组相比差异具有统计学意义 ($P < 0.01$);益肾活血方组和氯沙坦组较模型组 HIF- α 表达下调,差异具有统计学意义 ($P < 0.01$),治疗组随着干预时间延长,HIF- α 表达逐渐增多,但增长幅度逐渐变小;益肾活血方组和氯沙坦组对比,益肾活血方组 HIF- α 表达显著下调,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 6。

表 6 各组大鼠不同时间点肾组织 HIF- α 表达的平均光密度值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	7 天 ($n=8$)	14 天 ($n=8$)	21 天 ($n=8$)
假手术组	0.007 ± 0.005	0.008 ± 0.007	0.009 ± 0.006
模型组	0.196 ± 0.008 ^a	0.217 ± 0.008 ^a	0.243 ± 0.011 ^a
益肾活血方	0.165 ± 0.006 ^{abc}	0.173 ± 0.013 ^{abc}	0.191 ± 0.007 ^{abc}
氯沙坦组	0.178 ± 0.005 ^{ab}	0.191 ± 0.009 ^{ab}	0.217 ± 0.006 ^{ab}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.01$,与模型组比较,^b $P < 0.01$,与氯沙坦组比较,^c $P < 0.05$ 。

VEGF 的表达:假手术组弱表达。手术组 VEGF 主要分布在肾小球足细胞、集合管上皮细胞的胞浆内。与假手术组对比,手术组 VEGF 表达上调,差异具有统计学意义 ($P < 0.01$);益肾活血方组和氯沙

坦组较模型组 VEGF 表达下调,差异具有统计学意义 ($P < 0.01$),治疗组随着干预时间延长,VEGF 表达逐渐增多,但增长幅度逐渐变小;益肾活血方组和氯沙坦组对比,益肾活血方组 VEGF 表达显著下调,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 7。

表 7 各组大鼠不同时间点肾组织 VEGF 表达的平均光密度值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	7 天 ($n=8$)	14 天 ($n=8$)	21 天 ($n=8$)
假手术组	2.29 ± 1.08	2.27 ± 1.02	2.29 ± 1.21
模型组	6.35 ± 1.01 ^a	8.49 ± 1.08 ^a	9.86 ± 1.13 ^a
益肾活血方组	3.69 ± 1.32 ^{abc}	4.06 ± 1.41 ^{abc}	4.49 ± 1.43 ^{abc}
氯沙坦组	5.46 ± 1.43 ^{ab}	6.01 ± 1.08 ^{ab}	6.21 ± 1.02 ^{ab}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.01$,与模型组比较,^b $P < 0.01$,与氯沙坦组比较,^c $P < 0.05$ 。

5 讨论

瘀血是由脏腑功能失调所产生的病理产物,导致瘀血的原因总起来不外乎虚实两端。因虚致瘀,因瘀而正愈虚;因实致瘀,因瘀而邪更恋。且常常表现为虚实相兼之证,这是慢性肾病发生发展过程中病机之特点。《读医随笔·虚实补泻论》^[5]中说:“久病必治络,其所谓病久则气血推行不利,血络之中,必有瘀凝,故病气缠绵不去,疏其血络而病气可尽也。”气为血帅,气行则血行,气虚则血瘀。因此,现代中医理论认为血瘀是肾纤维化形成及发展过程中的重要病理因素。且基于中医络病理论的研究发现:络脉主要具有濡养周身、互化津血、贯通气血、通调经气等功能,在人体气血津液的输布环流中起着重要的枢纽和桥梁作用,而现代研究表明,络脉中发挥最重要作用的孙络的生理结构和功能与肾微血管相似^[6]。另外,中医络病理论中将肾纤维化机制归纳为络脉瘀阻、络脉瘀塞、络息成积三种^[7],此三种病机均与血络瘀滞相关,因此,血瘀致肾纤维化与中医络病理论中脉络相关疾病理论一致。根据上述病因病机,可以认为,肾纤维化的主要发病机制为久病成瘀、病久入络,血瘀而致脉络不通,发而为病。因此,中医以益肾活血通络为治法,本实验的基础方为:黄芪、当归、丹参、红花、大黄、三七。方中以黄芪为君药,味甘,气微温,气薄而味浓,可升可降,阳中之阳也。本方中取其补气行气之功效。当归为臣药,当归味甘而重,故专能

补血,其气轻而辛,故又能行血,补中有动,行中有补,与黄芪合用,能行气活血而通络消瘀。方中大黄为佐药,性味苦寒,与黄芪合用时取其活血祛瘀之功效,且大黄能泻下攻积,使浊毒邪气从下而解。方中还加入丹参、三七、红花等活血祛瘀之品,以增强活血化瘀之功效。现代药理学研究也发现,益肾、活血、通络之药能明显改善局部微炎症状态,促进微血管新生,抑制纤维化的进展,从而达到治疗肾间质纤维化的目的。

现代关于肾纤维化机理的研究发现,肾纤维化是多因素驱动的病理过程,涉及低氧缺血、微炎症、氧化应激、多种细胞因子的作用及信号级联、细胞凋亡、成纤维细胞增殖和活化,以及上皮细胞向成纤维细胞转化等。但是没有一种细胞能够独立完成肾脏纤维化过程,肾脏纤维化是由多种自身细胞和浸润细胞共同作用和相互影响的结果^[7]。目前研究认为,在肾纤维化的缺氧、缺血损伤中,HIF- α 作为血管新生的启动和调控因子对 VEGF 表达具有重要作用,其发生机制如下:(1)上调 VEGF 受体、配体以及 NO 水平,使血管通透性增加,为血管形成作好准备。(2)降解细胞外基质,增加金属蛋白水解酶活性,为 VEGF 的生长提供环境。(3)通过 VEGF 和整合素,使血管内皮细胞由血管芽腔形成血管网。(4)最后通过血管生成素、血小板源性生长因子等作用于基质细胞,使新生血管成熟^[8]。因此,通过本研究认为,在调控肾间质纤维化进展过程中,HIF- α 和 VEGF 以级联信号通路的形式发挥着积极的作用。在组织或细胞内缺氧时,HIF- α 是调节氧代谢的重要因子,缺氧后 HIF- α 表达上调,与 VEGF 启动子中的缺氧反应元件发生特异性结合,增强 VEGF 生物学功能的稳定性,同时促进 VEGF 表达、转录和翻译。

在本课题中,使用益肾活血中药方干预肾间质纤维化大鼠,实验结果表明,随着干预时间越来越长,益肾活血中药方对大鼠的影响如下:(1)与模型组相比,益肾活血方组大鼠体重随着时间延长而体重增加越明显;(2)肾脏重量方面,益肾活血方组肾脏重量与模型组相比,随着时间延长,增长越不明显;(3)肾功能方面,随着干预时间延长,益肾活血方组大鼠血肌酐、尿素氮增加不明显,且增幅小于氯沙坦组;(4)肾脏病理肾损伤分数方面,随着时间

增加,益肾活血方组肾损伤分数减小;(5)免疫组化检测方面,随着干预时间延长,益肾活血方组与模型组相比 HIF- α 、VEGF 表达下调,且较氯沙坦组下调更明显。以上数据显示,随着干预时间的增长,大鼠肾间质纤维化的进程得到明显缓解,而益肾活血方能改善大鼠肾功能,促进组织低氧的改善,使大鼠损伤的微血管能得以恢复,因此可以推测:(1)益肾活血方及氯沙坦均能减轻肾纤维化微血管损伤,延缓肾小管间质纤维化进展,显著改善肾脏功能;(2)益肾活血方能有效地改善大鼠肾功能,促进组织低氧的改善,使大鼠损伤的微血管能得以恢复,其机制可能是通过下调 HIF- α 的表达,进而减少 VEGF 的表达,并最终改善 UUO 大鼠内源性低氧状态,减轻微血管损伤,发挥抗肾间质纤维化的作用。

通过本实验,初步证明肾纤维化的机理主要是由于肾脏局部内源性低氧缺血的发生。而益肾活血方能改善内源性低氧状态,达到延缓肾间质纤维化进展。同时也证明了益肾活血通络类中药对肾纤维化的治疗是有效的,为中医药治疗肾纤维化提供了强有力的实验依据。

参 考 文 献

- [1] 张旗. 祛瘀化痰法防治肾纤维化的作用及机理研究[D]. 广州:广州中医药大学,2012.
- [2] 张书征,杨巧红,苏俊芳,等. 糖肾安对糖尿病肾病大鼠的保护作用及对肾脏 ICAM-1 的影响[J]. 新中医,2011,8(43):142-144.
- [3] Raji L, Azar S, Keane W, et al. Mesangial immune injury hypertension and progressive glomerular damage in Dahl rats[J]. Kidney Int, 2004, 26(2):137-143.
- [4] 李志辉,易著文. 洛沙坦延缓阿霉素肾病鼠慢性病理进展的实验研究[J]. 中华儿科杂志,2001,39(12):712-717.
- [5] 清·周学海. 读医随笔[M]. 北京:中国中医药出版社,1997:49.
- [6] 吴以岭教授访谈:络病与心脑血管病的治疗[J]. 健康大视野,2006,14(7):40-41.
- [7] 清·叶天士. 临证指南医案[M]. 上海:上海科学技术出版社,2000:207-725.
- [8] Liu Y. Renal fibrosis: New insight into the Pathogenesis and therapeutics. [J]. Kidney Int, 2006, 69(2):213-217.

(收稿日期:2013-09-18)

(本文编辑:董历华)