

丹参多酚酸对 2 型糖尿病肾病大鼠肾小管间质激活素 A 表达的影响研究

王玲 吴秋枫

【摘要】 目的 采用高脂饮食加链脲佐菌素诱导 2 型糖尿病大鼠模型,观察丹参多酚酸对其肾脏是否有保护作用及其保护机理。**方法** 选取清洁级雄性 SD 大鼠 50 只,适应性喂养 10 天后随机分为正常组、糖尿病肾病组(模型组)以及丹参多酚酸低、中和高剂量治疗组,每组 10 只,模型建立成功后,正常组和模型组给予生理盐水 $0.1 \text{ mL}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 注射,丹参多酚酸低、中和高剂量分别给予丹参多酚酸 $10 \text{ mL}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 、 $20 \text{ mL}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 和 $40 \text{ mL}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 注射,8 周后处死大鼠,检测血糖、胰岛素、24 小时尿蛋白,同时 HE 染色观察肝脏病理学,免疫组化、Western blot 和 RT-PCR 检测肾脏组织中肾小管间质激活素 A(activin A, Act-A)的表达特点。**结果** 与正常组相比,模型组血糖明显升高($P<0.05$),胰岛素明显降低($P<0.05$),丹参多酚酸治疗后,与模型组相比,高剂量组血糖明显降低($P<0.05$),胰岛素含量明显升高($P<0.05$),而中剂量组和低剂量组并没有差异;与正常组相比,模型组肾脏肥大指数、24 小时尿蛋白以及 Scr 明显升高($P<0.05$),丹参多酚酸治疗后,含量均较模型组明显降低($P<0.05$);肾脏组织病理学可见,丹参多酚酸三个治疗组相较于模型组,炎症反应和肾间系膜增生明显减轻;此外,与正常组相比,免疫组化、Western blot 以及 RT-PCR 可见模型组 Act-A 明显升高($P<0.05$),采用高剂量治疗后其表达明显降低($P<0.05$),随着给药剂量的增加,呈明显剂量依赖性。**结论** 丹参多酚酸虽对降低 2 型糖尿病大鼠血糖以及提升胰岛素含量几乎没有作用,但其可明显改善肾脏 24 小时尿蛋白排泄,同时有效改善肾小管间质损伤,这可能与其可降低 Act-A 表达,进而延缓肾脏发生纤维化相关。

【关键词】 丹参多酚酸; 2 型糖尿病; 肾病; 激活素 A

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.11.006

基金项目:湖北省科技厅资助项目(2015CFC187)

作者单位:430064 武汉科技大学附属天佑医院中医科

作者简介:王玲(1982-),女,硕士,主治医师。研究方向:中医基础与临床研究。E-mail:904719370@qq.com

通信作者:吴秋枫(1966-),女,本科,主任医师。研究方向:中医基础与临床研究。E-mail:hb70521@

Effects of *Danshen* polyphenolic acid on expression of activin A of kidney tube interstitial in type 2 diabetic nephropathy rats WANG Ling, WU Qiufeng. Tianyou Hospital Affiliated, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430064, China

Corresponding author: WU Qiufeng, E-mail: hb70521@126.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of *Danshen* polyphenolic acid on the renal function of rats with type 2 diabetes mellitus induced by streptozotocin and high fat diet, meanwhile, analyze its protective mechanism. **Methods** Fifty male Sprague-Dawley rats were randomly divided into normal group, diabetic nephropathy group (model group) and low-dose, middle-dose and high-dose treatment group, 10 rats in each group. After the model was established successfully, the rats were given the corresponding treatment [normal group and model group was given 1 mL/(kg · d) rat body weight, *Danshen* polyphenolic acid low, medium and high doses were given *Danshen* polyphenolic acid 5 mg/kg, 10 mg/kg and 20 mg/kg], 8 weeks after the rats were sacrificed, blood glucose, insulin and 24 hours proteinuria were measured. At same time, HE staining was used to detect liver pathology, Western blot, immunohistochemistry and RT-PCR was used to detect the expression of Act-A protein in interstitial. **Results** Compared with the normal group, the blood glucose level in the model group was significantly increased ($P < 0.05$), the insulin was significantly decreased ($P < 0.05$). After treatment with *Danshen* polyphenolic acid, the blood glucose in the high dose group was significantly decreased ($P < 0.05$), insulin was significantly increased ($P < 0.05$), while there was no difference between the middle dose group and low dose. Compared with the normal group, the renal hypertrophy index, 24-hour proteinuria and Scr was significantly increased in the model group ($P < 0.05$), and the salivaryol polyphenolic acid was significantly decreased ($P < 0.05$). The pathological results of renal histopathology, in the three treatment groups compared with the model group, the inflammatory response and renal mesangial proliferation were significantly reduced after 8 weeks of treatment. In addition, the result of immunohistochemistry, Western blot and RT-PCR showed that compared with the normal group, the expression of Act-A in the model group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$), and Act-A was significantly decreased ($P < 0.05$) after treatment with *Danshen* polyphenolic acid. **Conclusion** *Danshen* polyphenolic acid has little effect on reducing blood glucose and increasing insulin content in type 2 diabetic rats, but it can significantly improve urinary protein excretion and improve renal tubulointerstitial injury. And it can reduce Act-A expression, and thus delay the renal fibrosis associated.

【Key words】 *Salvia miltiorrhiza* polyphenolic acid; Type 2 diabetes mellitus; Nephropathy; Activin A

近年来,随着人们生活水平的提高,过量碳水化合物摄入增加,2型糖尿病的发生率也急剧增加^[1]。2型糖尿病发生率增高,进而可引起糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)发病率增加^[2]。最新的一份调查研究显示^[3],在世界范围内 DN 的发生率均呈高发的态势,以欧美国家为例,其发病率极高,占糖尿病人数的 25% ~ 42%,而中国目前还较低,为 6% ~ 10%。DN 危害极大,其不仅表现有肾脏微血管的病变,同时也是导致肾小球硬化的危险因素,而肾小球硬化是糖尿病最为严重的并发症之一,也是引起患者死亡的主要死因^[4]。丹参多酚酸注射液是目前临床中常用的一种稳定性心绞痛药物,其具有活血、化瘀、通脉的作用^[5],而课题组在临床研究统计中发现,糖尿病心脏损害的患者在给予注射丹参多酚酸后,其肾功能明显改善。因此通

过建立 2 型糖尿病大鼠模型,给予 8 周丹参多酚酸治疗,以观察其对 DN 是否有治疗作用,及其作用的机制,为丹参多酚酸的开发和糖尿病肾病的治疗提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 对象

选用 SPF 级雄性 SD 大鼠[湖北中医药高等专科学校实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(鄂)2014-0017],大鼠 6 周龄,体重 180 ~ 220 g。大鼠购买后立即置于标准饲养间,适应性喂养期间由其自由饮水和饮食,控制明暗周期为 12 小时,温度保持在 18 ~ 26℃ 之间,相对湿度控制 65% ~ 75%。

1.2 实验材料与试剂

1.2.1 实验主要药品 链脲佐菌素(STZ)购于美

国 Sigma 公司;丹参多酚酸购于天津天士力之骄药业有限公司。

1.2.2 实验主要试剂 水合氯醛购于上海生化试剂公司;Scr 试剂盒、血糖测定试剂盒、胰岛素测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所;柠檬酸钠缓冲液自行配制;0.9%氯化钠注射液购于广西裕源药业有限公司;Act-A 抗体、ECL 发光试剂盒购于美国 Santa 公司,胶卷购于柯达公司,引物由上海英俊公司设计并生产。其他常规试剂由武汉科技大学附属天佑医院生化实验室病理科提供。

1.3 糖尿病大鼠模型的分组、制备与治疗

所有大鼠在适应性喂养 10 天后随机分为正常组、模型组以及丹参多酚酸低、中和高剂量治疗组。除正常组给予普通饲料外,其余 4 组给予高脂饮水 1 个月,1 个月后正常组给予一次性腹腔注射用柠檬酸缓冲液,其余 4 组给予 55 mg/kg STZ 溶液,一次性腹腔注射造模。72 小时后,检测其血糖水平,当连续 7 天血糖值大于等于 15.6 mmol/L 时确定造模成功。造模成功后,正常组和模型组给予生理盐水 0.1 mL/(kg·d) 大鼠体重注射,丹参多酚酸低、中和高剂量组分别给予丹参多酚酸 5 mL/(kg·d)、10 mL/(kg·d) 和 20 mL/(kg·d) 注射治疗。

1.4 标本采集

1.4.1 实验大鼠尿液标本留取 分别于造模前、治疗 4 周后以及治疗 8 周后早上 8 点将大鼠置于金属代谢笼中,收集 24 小时尿量蛋白,并记录,尿液收集后将其统一保存于超低温冰箱中保存(-78℃),以备统一检测定量。

1.4.2 实验大鼠血液标本留取 于实验第 8 周后处死大鼠,处死前先称重,之后给予 2% 的水合氯醛腹腔注射麻醉(5 mL/kg),麻醉后将其固定于解剖板,之后迅速打开胸腔,找到腹主动脉,用无菌注射器斜插进腹主动脉后取血,血液收集后置于 1.5 mL 离心管中离心,离心后收集血清,备用检测相关指标。

1.4.3 实验大鼠肾脏组织标本留取 血液收集后,将大鼠双侧肾脏小心切除,切除后称重。之后统一切除肝左叶置于 10% 的中性福尔马林溶液中保存,备用 HE 染色,其余置于灭活的冻存管中,同时置于超低温冰箱中保存备用(-78℃)。

1.5 观测指标及方法

1.5.1 一般情况 在整个实验过程中密切监视大鼠的精神状态、毛色、大小便以及饮食特点,同时每

周对其体重进行一次测量。

1.5.2 24 小时尿蛋白排泄量 24 小时尿蛋白排泄量由本院检验科完成,检测方法采用双缩脲法蛋白法,计算公式为:24 小时尿蛋白排泄量(mg)=24 小时尿蛋白浓度(mg/mL)×24 小时尿量(mL)。

1.5.3 血清生化指标 血液 Scr、胰岛素和血糖等生化指标的检测严格参照说明书进行即可,其中 Scr 和血糖检测仪器为分光光度计,胰岛素检测仪器为酶标仪。

1.5.4 HE 染色 HE 染色参照文献进行^[6],肾脏组织在用石蜡包埋后给予梯度酒精脱色处理,切片机切片后 HE 染色即完成,完成后使用盖玻片密封、光学图像采集显微镜照相即完成。

1.5.5 免疫组化 免疫组化的检测也参照文献进行^[7],中性树胶封片后,采用光学图像采集显微镜照片观察统计即可,以图片中棕黄色的位置、多少和深浅判定其表达量。

1.5.6 蛋白表达 Act-A 蛋白的检测方法采用 Western Blot 法,具体为:(1)将 100 mg 的肾脏组织置于 1 mL 的总蛋白提取液中,之后研磨并提取上清液定量,在定量后调平,然后每组各取 40 μg 进行凝胶电泳,电泳完成后半干转移法转膜,转膜后采用脱脂牛奶密封 2 小时,2 小时后洗涤三次,加入一抗过夜,之后再次洗涤三次后加入二抗密封 2 小时后即进行 ECL 发光显色胶片感光即可,完成后扫描图像,用 Image J 计算每个条带的灰度值,以 Act-A/β-actin 的灰度值设置为 Act-A 的相对含量。

1.5.7 半定量 PCR Act-AmRNA 的检测采用半定量 RT-PCR 法,取 30 mg 肾脏组织用 Trizol 法提取总 RNA,提取后定量调平,取 2 μg 逆转录,之后进行扩增,扩增条件为:95℃ 5 分钟,94℃ 变性 60 秒,65℃ 退火 60 秒,72℃ 延伸 60 秒,共进行 35 个循环,最后 72℃ 最后延伸 5 分钟。在反应完成后,每组给取 5 μL 进行琼脂糖凝胶电泳,最后采用凝胶图像收集仪收集图像,image J 计算光度值,以 Act-A/β-actin 的灰度值设置为 Act-A 的相对含量。具体引物序列见表 1。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计软件对所有数据进行统计分析,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组均数间比较用单因素方差分析(One way ANOVA)进行比较,首先进行正态性检验,用 Homogeneity of

Variances Test 进行方差齐性检验,任意两组间比较方差齐时采用 LSD-*t* 检验,方差不齐时采用非参数检验,以 $P<0.05$ 判定为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠一般情况

在整个实验过程中,正常组大鼠毛色光滑发白、饮食和饮水均正常,此外活泼好动,精神活跃;而模型组大鼠在整个实验过程中死亡 2 只,可能为血糖过高导致,同时其他存活的大鼠表现有明显的体型消瘦、饮水量和尿液量较多,毛色发黄、黏连等病理学特点;丹参多酚酸三个治疗组在整个治疗期间内没有死亡,但其基本症状并没有明显好转,与模型组一致,表现有明显的多饮多食、精神不活跃等。

2.2 对实验大鼠 24 小时尿蛋白的影响

在造模前五个组别 24 小时蛋白尿并没有明显差异,而在治疗 4 周和 8 周后,模型组 24 小时蛋白尿明显高于正常组 ($P<0.05$),而丹参多酚酸三个治疗组相较于模型组则明显降低 ($P<0.05$),此外丹参多酚酸对 24 小时蛋白尿呈现明显的剂量依赖性。详见表 2。

2.3 对大鼠血糖和胰岛素含量的影响

与正常组相比,模型组血糖值明显升高 ($P<0.05$),此外胰岛素含量明显降低 ($P<0.05$);与模型组相比,丹参多酚酸高剂量组血糖含量明显较低 ($P<0.05$),胰岛素含量明显升高 ($P<0.05$),而丹参多酚酸低和中剂量组则没有差异。详见表 3。

表 3 大鼠血糖值以及胰岛素含量比较 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	血糖值 (mg/L)	胰岛素含量 (pg/mL)
正常组	5.12±0.68	224.54±41.12
模型组	17.87±4.35 ^a	156.68±28.84 ^a
丹参多酚酸低剂量组	15.46±3.57 ^a	168.18±16.26 ^a
丹参多酚酸中剂量组	15.72±3.12 ^a	170.72±24.34 ^a
丹参多酚酸高剂量组	14.12±5.28 ^{ab}	176.18±25.12 ^{ab}

注:与正常组相比,^a $P<0.05$;与模型组相比,^b $P<0.05$ 。

2.4 对实验大鼠的血肌酐及肾脏肥大指数的影响

与正常组相比,模型组肾脏肥大指数以及肾功能指标 Scr 明显升高 ($P<0.05$),丹参多酚酸治疗 8 周后,与模型组相比,丹参多酚酸中剂量和高剂量组肾脏肥大指数明显低于模型组 ($P<0.05$),低剂量组则和模型组没有差异;此外,与模型组相比,丹参多酚酸三个剂量组 Scr 明显降低 ($P<0.05$),且呈明显的剂量依赖性。详见表 4。

表 4 大鼠肾脏肥大指数以及 Scr 含量比较 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	肾脏肥大指数 (mg/g)	Scr (μmol/L)
正常组	4.384±0.262	24.871±4.128
模型组	10.298±0.567 ^a	56.755±8.232 ^a
丹参多酚酸低剂量组	9.589±0.667 ^a	48.702±6.256 ^{ab}
丹参多酚酸中剂量组	8.725±0.751 ^{ab}	42.793±4.132 ^{ab}
丹参多酚酸高剂量组	7.924±0.512 ^{ab}	36.472±5.142 ^{ab}

注:与正常组相比,^a $P<0.05$;与模型组相比,^b $P<0.05$ 。

2.5 肾脏病理变化

肾脏组织病理学变化特点采用 HE 染色观察,由图 1 可以明显看出,正常组肾小管和肾小球结构完整形态规则,无任何增生反应,而模型组则有明

表 1 大鼠心肌组织中 Act-A 引物

项目	上游引物	下游引物	产物长度
Act-A	5-GCTACCTTCTGCCAGC-3	5-CCATGAAGCTGGACACG-3	434
β-actin	5-GGTGCATTGGCTACCCG-3	5-GCCTCATCTCGCATCTGGG-3	602

表 2 各组大鼠 24 小时尿蛋白比较 ($\bar{x}\pm s, \text{mg}$)

组别	<i>n</i>	0 周	4 周	8 周
正常组	10	5.328±3.574	6.482±3.279	8.659±3.154
模型组	10	5.258±3.237	56.461±18.178 ^a	156.476±38.438 ^a
丹参多酚酸低剂量组	10	5.531±4.667	45.368±16.491 ^{ab}	78.487±16.193 ^{ab}
丹参多酚酸中剂量组	10	5.590±2.618	42.569±14.591 ^{ab}	62.572±14.761 ^{ab}
丹参多酚酸高剂量组	10	5.436±3.487	41.468±15.337 ^{ab}	56.336±15.161 ^{ab}

注:与正常组相比,^a $P<0.05$;与模型组相比,^b $P<0.05$ 。

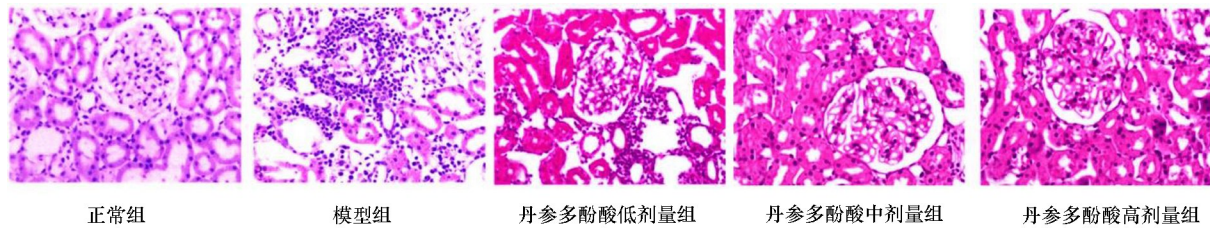


图 1 各组大鼠肾脏病理改变 HE 染色图 (×200)

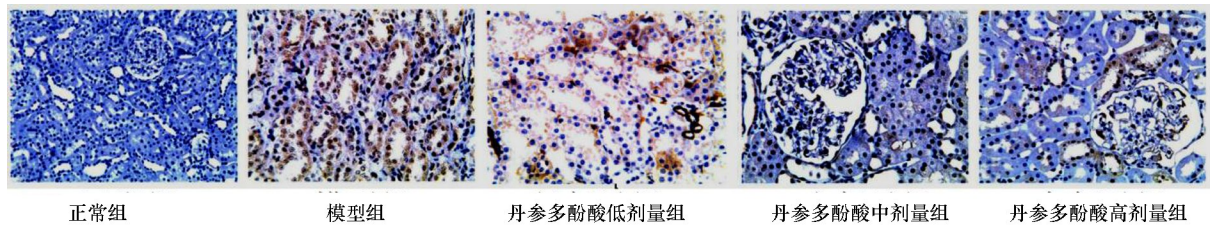


图 2 各组大鼠肾脏组织中 Act-A 免疫组化图 (×200)

显的肾小球肥大症状,此外还表现有一定的肾小管萎缩,肾间质系膜增生。丹参多酚酸三个治疗组相较于模型组,症状明显好转,特别是上皮细胞空泡情况明显改善,同时增生情况也减弱,且随着丹参多酚酸给药剂量的增加,症状好转有进一步的剂量依赖性。

2.6 免疫组化

与正常组相比,模型组 Act-A 含量明显增高,丹参多酚酸治疗后,低剂量组相较于模型组只有略微改善,而中剂量组和高剂量组则有明显的改善,但相较于正常组仍有较高表达。详见图 2。

2.7 Western blotting 和半定量 PCR 检测

正常组 Act-A 蛋白和 mRNA 表达较少,而模型组表达明显升高 ($P < 0.05$),高剂量丹参多酚酸治疗后,相较于模型组,其表达量明显降低 ($P < 0.05$)。详见图 3、图 4 和表 5。

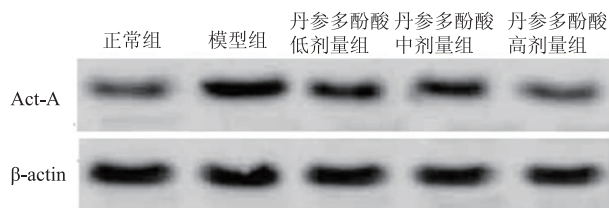


图 3 大鼠肾脏组织中 Act-A 蛋白表达水平

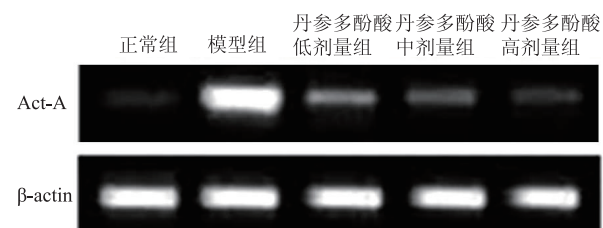


图 4 大鼠肾脏组织中 Act-A mRNA 表达水平

表 5 大鼠肾脏组织中 Act-A 蛋白及 mRNA 相对表达含量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Act-AmRNA	Act-A 蛋白
正常组	10	0.28±0.23	0.36±0.12
模型组	10	0.89±0.16 ^a	1.72±0.21 ^a
低剂量组	10	0.63±0.15 ^a	1.01±0.22 ^a
中剂量组	10	0.57±0.13 ^a	0.79±0.13 ^a
高剂量组	10	0.42±0.13 ^{ab}	0.47±0.16 ^{ab}

注:与正常组相比,^a $P < 0.05$;与模型组相比,^b $P < 0.05$ 。

3 讨论

糖尿病肾病是由糖尿病血糖升高等所带来的肾脏损害性疾病,目前随着糖尿病在中国的高发,糖尿病肾病发生率也逐年升高,因此也日益引起医学工作者的关注,关于其发病机制的研究也形成了众多的理论^[8-10]。现有的研究证实,异常血糖升高的刺激、血管血流动力学的变化、代谢紊乱、氧化应激、炎症刺激等多种因素均可以造成糖尿病肾病的发生和发展。而上述的几条发病因素又相互影响,相互刺激,进而加重了本病的进展^[11]。本次课题组采用高脂饮食加一次性链脲佐菌素构建糖尿病肾病模型,采用高脂饮食喂养比单纯性给予链脲佐菌素的优势在于其所造成的糖尿病肾病大鼠具有明显的胰岛素抵抗性质,与人体糖尿病发展模式相像,此外,采用链脲佐菌素一次性注射可以破坏大鼠的胰岛细胞,所造成的模型,更符合中晚期糖尿病特点。课题组采用丹参多酚酸治疗糖尿病肾病大鼠发现,虽然给予高剂量有一定的降低血糖的效果,但其使用剂量已经达到临床使用量的 2 倍,这可能带来新的问题。

丹参又名紫丹参、赤参、红根等,中医理论认为,丹参功效主要为:安神宁心,活血祛瘀,止痛,可治疗月经不调、痛经、血崩带下、经闭、瘀血腹痛、癥瘕以及心绞痛,此外对骨节疼痛、惊悸不眠以及恶疮肿毒具有较好的疗效^[12-13]。丹参多酚酸是从丹参中提取的一类化合物,而多酚酸盐是目前临床中常用的一种冠心病稳定型心绞痛的药物,为浅棕色块状物,味道微苦,中医主要将其用于活血化瘀以及舒筋通络方面,因此在治疗心绞痛方面得到广泛应用^[14-15]。而在临床治疗糖尿病心绞痛患者时,课题组发现其对糖尿病引起的肾脏损害具有很好的保护作用,因此考查丹参多酚酸对糖尿病肾脏损害是否有保护作用,研究结果证实,丹参多酚酸对糖尿病肾病大鼠肾脏肥大指数以及血清肾功能指标 Scr 有着很好的保护作用,且这种保护作用呈现明显的剂量依赖性,这进一步证实了其对糖尿病肾脏具有很好的保护作用。

丹参多酚酸对肾脏的保护作用可能与 Act 家族蛋白有关。Act 家族蛋白最早发现于性腺,其是有二个 13 亚基的肽链借助于 2 硫键结合而成,主要功能是对细胞的生理过程起到调控作用,特别是对细胞增殖、凋亡以及代谢等的调控^[16-17]。有研究显示^[18],Act 一般在体内维持一个正常的平衡状态,其异常增高或者降低均会造成组织细胞分化,Act 蛋白有多种,而与肾脏密切相关的为 Act-A 蛋白,国外有研究表明^[19],Act-A 的过量分泌可以引起肾脏肾小管发生纤维化,进而引起肾脏肌纤维化,最终引起肾脏的损害,而糖尿病本身处于多种因子的刺激下,Act-A 可能在肾脏的损害中起到促进作用,因此 Act-A 可以作为肾小管细胞转分化的一个标志。本研究发现丹参多酚酸可以明显降低糖尿病大鼠肾脏组织中 Act-A 蛋白的表达,组织炎症反应和增生反应明显减轻,其机制可能是通过调控 Act-A 蛋白表达实现的。尽管丹参多酚酸并不是一种有效的降糖药物,但是对降低大鼠 24 小时尿蛋白排泄、改善肾小管间质损伤和增生具有很好的作用,这可能与它可以抑制 Act-A 表达,进而延缓肾脏发生纤维化相关。

参 考 文 献

[1] 金波,刘志红,葛永纯,等. 肾活检患者中糖尿病肾病流行病学特点的变迁[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志,2009,18(2):133-139.

- [2] 陈伟,田鲁,李易,等. 苦瓜总皂苷对 2 型糖尿病肾病大鼠肾脏组织中 HIF-1 α 和 VEGF 表达的作用研究[J]. 环球中医药,2016,9(6):659-663.
- [3] 孙小会. 2 型糖尿病肾病发生的流行病学特征及其影响因素的分子流行病学研究[D]. 广州:暨南大学,2013.
- [4] 金波. 肾活检病人中糖尿病肾病患者流行病学特点的变迁[D]. 南京:南京大学,2009.
- [5] 王晓娟. 丹参多酚酸盐对大鼠骨髓间充质干细胞增殖及血管内皮生长因子表达的影响[J]. 环球中医药,2013,6(7):492-495.
- [6] 方云芸,黄金珠,马洁,等. 右归丸对雄激素致排卵障碍型不孕大鼠血清 E₂、T 和 IGF-1 的水平影响[J]. 环球中医药,2010,3(3):194-197.
- [7] 宋良玉,吕威,景泉凯,等. 两种电针对脊髓损伤 14 天后大鼠运动功能、神经元及 MEK2、p-ERK1 表达的影响[J]. 环球中医药,2016,9(5):557-562.
- [8] 赵鹏鸣,王俭勤,梁耀军. 内皮细胞损伤在糖尿病肾病发病机制中的作用[J]. 中华糖尿病杂志,2016,24(2):169-172.
- [9] 张媛媛,李健,孙新宇,等. 自噬在糖尿病肾病发病机制中的作用[J]. 糖尿病新世界,2016,19(16):197-198.
- [10] 刘宝军. 糖尿病肾病发病机制探讨及治疗进展[J]. 医学信息,2016,29(18):24-25.
- [11] 王婷,丁英钧,王燕炯,等. 糖尿病肾病的发病机制及中医病机进展[J]. 中西医结合心血管病杂志:电子版,2016,4(15):178-179.
- [12] 徐晨光,闫洁,陈蓝羽,等. 丹参有效成分抗肝纤维化作用机制的研究进展[J]. 环球中医药,2013,6(4):305-308.
- [13] 付旭,李均. 丹参水溶性成分在慢性肾脏病中的研究进展[J]. 环球中医药,2013,6(9):697-700.
- [14] 卢结文. 丹参多酚酸盐治疗冠心病心绞痛 68 例[J]. 环球中医药,2009,2(4):278-279.
- [15] 赵亲寿. 丹参多酚酸盐治疗急性缺血性脑卒中的疗效[J]. 环球中医药,2015,(S2):261-262.
- [16] O'Donnell M P. The Genetic Information Nondiscrimination Act-A Wake-Up Call: Great Intentions, but a Setback for Health Impact and Cost-Effectiveness of Workplace Health Promotion[J]. American Journal of Health Promotion,2010,24(3):4-5.
- [17] Preskill H. Evaluation's Second Act: A Spotlight on Learning[J]. American Journal of Evaluation,2008,29(2):127-138.
- [18] 徐梅华,许桦林,郑国荣,等. 激活素 A 基因的过表达与大肠癌的侵袭转移[J]. 实用医学杂志,2006,22(4):385-387.
- [19] Esfeld L, Loup A. Constitutional challenges to the patient protection and affordable care act-a snapshot. [J]. 2011,13(11):787-791.

(收稿日期:2017-02-25)

(本文编辑:董历华)