

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00165

## 通络方剂减轻糖尿病大鼠肾小球足细胞损伤

孙亮亮<sup>1</sup>, 李文桐<sup>2</sup>, 冯晓云<sup>1</sup>, 张兰予<sup>1</sup>, 邹俊杰<sup>1</sup>, 石勇铨<sup>1</sup>, 刘志民<sup>1\*</sup>

1. 第二军医大学长征医院内分泌科, 上海 200003  
2. 上海警备区第一干休所, 上海 200040

**[摘要]** **目的** 观察通络方剂(TLR)和抗氧化剂 $\alpha$ -硫辛酸减轻糖尿病大鼠肾小球足细胞损伤的作用,探讨糖尿病肾病足细胞损伤的可能机制。**方法** 通过高脂饮食和腹腔注射链脲佐菌素(35 mg/kg)制作糖尿病大鼠模型,将成模大鼠随机分为糖尿病组(DM组,8只)、糖尿病 $\alpha$ -硫辛酸干预组(DM+ALA组,8只)、糖尿病TLR干预组(DM+TLR组,8只),另设正常对照组(CON组,8只)。DM+ALA组大鼠予以 $\alpha$ -硫辛酸( $0.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )灌胃,DM+TLR组大鼠予以TLR( $0.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )灌胃,DM组和CON组每日均在同一时间予同体积蒸馏水一次性灌胃。干预12周后测定各组大鼠肾质量/体质量比值及24 h尿蛋白定量、BUN、Cr、Alb/Cr等肾功能指标;采用体视学方法计数足细胞和计算足细胞相对密度;采用蛋白质印迹分析法检测足细胞nephrin蛋白的表达;测定血浆和肾皮质中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性和脂质过氧化产物丙二醛(MDA)含量。**结果** 12周时,与CON组相比,DM组大鼠肾质量/体质量增大,24 h尿蛋白、尿白蛋白/肌酐升高( $P$ 均 $<0.01$ );足细胞计数减少、足细胞密度降低且nephrin表达减少( $P$ 均 $<0.01$ );DM+ALA组和DM+TLR组大鼠肾质量/体质量、24 h尿蛋白、尿白蛋白/肌酐均低于DM组( $P<0.01$ ),足细胞计数、足细胞相对密度和nephrin表达量均高于DM组( $P<0.01, P<0.05$ )。与CON组相比,DM组、DM+ALA组和DM+TLR组大鼠在观察终点血浆和肾皮质SOD、GSH-Px活性均降低( $P<0.01, P<0.05$ ),MDA含量则升高( $P<0.01, P<0.05$ );与DM组相比,DM+ALA组和DM+TLR组血浆和肾皮质SOD、GSH-Px活性增加( $P$ 均 $<0.01$ ),MDA含量降低( $P<0.01, P<0.05$ )。DM+ALA组与DM+TLR组之间差异无统计学意义。**结论** TLR可改善糖尿病大鼠肾小球足细胞损伤,可能与其抗氧化应激作用有关。

**[关键词]** 通络方剂;糖尿病肾病;足细胞;氧化性应激

**[中图分类号]** R 587.24 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)02-0165-05

### Protective effects of *Tongluo* recipe against injury of glomerular visceral epithelial cells in diabetic rats

SUN Liang-liang<sup>1</sup>, LI Wen-tong<sup>2</sup>, FENG Xiao-yun<sup>1</sup>, ZHANG Lan-yu<sup>1</sup>, ZOU Jun-jie<sup>1</sup>, SHI Yong-quan<sup>1</sup>, LIU Zhi-min<sup>1\*</sup>

1. Department of Endocrinology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China  
2. The First Sanatorium for Retired Cadre, Garrison Command of Shanghai, Shanghai 200040, China

**[Abstract]** **Objective** To observe the protective effect of  $\alpha$ -lipoic acid (ALA) and *Tongluo* recipe(TLR) against injury of glomerular visceral epithelial cells in diabetic rats, so as to discuss the possible mechanism for injury of glomerular visceral epithelial cells in diabetes. **Methods** Rat diabetes model was induced by high-fat diet and a single intraperitoneal injection of streptozotocin (35 mg/kg). The diabetic model rats were randomly divided into three groups ( $n=8$ ): diabetes mellitus (DM) group, DM+TLR and DM+ALA group; another 8 rats served as normal controls (CON group). Rats in the DM+TLR group received  $0.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  TLR and DM+ALA group received  $0.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  ALA throughout the experiment. Rats in the DM group and control (CON) group were given celiac perfusion of distilled water once at the same time and volume. After 12 weeks of treatment, kidney mass/body mass index, 24 h urinary protein, blood urea nitrogen, and urinary albumin/Cr were determined in each group. The number and the density of podocytes in glomeruli were measured by stereological disector/fractionator methods. The expression of nephrin in renal cortical tissue was detected by Western blotting analysis. The activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and the content of malondialdehyde (MDA) were measured

**[收稿日期]** 2011-11-03 **[接受日期]** 2012-01-04

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(“973”计划, 2005CB523304). Supported by the National Program on Key Basic Research(“973” Projects, 2005CB523304).

**[作者简介]** 孙亮亮, 博士, 讲师、主治医师. E-mail: sun\_liang@yahoo.com.cn

\* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81885377, E-mail: zmliu\_cz@hotmail.com

in the plasma and renal cortical tissues. **Results** After 12 weeks, the kidney mass/body mass index, 24 h urinary protein and urinary albumin/Cr in DM group were significantly increased compared to control group ( $P < 0.01$ ); the number and density of podocytes in the glomerulus and nephrin expression in DM group were significantly decreased ( $P < 0.01$ ). The kidney mass/body mass index, 24 h urinary protein and urinary albumin/Cr in DM+TLR and DM+ALA groups were significantly decreased compared to DM group ( $P < 0.01$ ); the number and density of podocytes and nephrin expression in DM+TLR and DM+ALA groups were significantly increased compared to DM group ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ). GSH-Px and SOD activities were significantly decreased in the plasma ( $P < 0.01$ ) and renal cortical tissue ( $P < 0.01$ ) in DM, DM+ALA and DM+TLR groups compared to those in the CON group, and the content of MDA was significantly increased ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ). GSH-Px and SOD activities were significantly increased in the plasma and renal cortical tissue ( $P$  both  $< 0.01$ ) and MDA content was significantly decreased in DM+TLR and DM+ALA groups ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ) compared to those in the DM group. No significant differences were found between DM+ALA group and DM+TLR group concerning the above parameters. **Conclusion** TLR can ameliorate podocyte injury in diabetic rats, which might be associated with its anti-oxidative effect.

[**Key words**] *Tongluo* recipe; diabetic nephropathies; podocytes; oxidative stress

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(2):165-169]

糖尿病肾病是糖尿病微血管并发症,是导致终末期肾病的主要病因之一。肾小球足细胞数量减少、足突裂孔膜蛋白丢失是早期糖尿病肾病的重要改变,并且足细胞损伤在蛋白尿发生、发展中起到了关键作用<sup>[1-2]</sup>。因此,积极寻找有效的对足细胞损伤有直接保护作用的药物具有重要意义。糖尿病肾小球足细胞损伤的机制和病理生理基础尚未被完全阐明<sup>[3-4]</sup>,氧化应激在糖尿病慢性并发症的发生、发展过程中发挥了重要作用。实验性糖尿病大鼠肾脏组织中存在广泛的氧化应激和代谢紊乱,这是导致肾小球固有细胞形态和功能异常的重要因素<sup>[5-6]</sup>。通络方剂(*Tongluo* recipe, TLR)是根据中医络病学理论研制而成的复方制剂,由人参、水蛭、全蝎、蜈蚣、土鳖虫和赤芍等药物组成<sup>[7]</sup>。动物实验已证实,通络方剂能有效减少链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的糖尿病大鼠的蛋白尿<sup>[8]</sup>。为进一步阐明通络方剂对肾小球足细胞的保护作用及其可能的机制,本研究应用高热量饮食及小剂量STZ诱导具有高糖高脂特点的糖尿病大鼠模型,以抗氧化剂 $\alpha$ -硫辛酸( $\alpha$ -lipoic acid, ALA)为对照,观察通络方剂对足细胞损伤的改善作用。

## 1 材料和方法

1.1 动物模型的制备 雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠,体质量(180±20) g,购自中国科学院上海实验动物中心[实验动物生产许可证号:SYXK(沪)2007-0003]。高热量饮食(脂肪提供49%热量)饲养4周后,给予STZ 35 mg/kg 单次腹腔注射,72 h 测尾静脉血糖 $\geq 16.7$  mmol/L 则确定为糖尿病造模成功。正常对照组予以等体积溶剂(柠檬酸缓冲液)腹

腔注射。

1.2 动物分组及处理 造模成功的24只糖尿病大鼠随机分为糖尿病未干预组(DM组,8只)、糖尿病 $\alpha$ -硫辛酸干预组(DM+ALA组,8只)和糖尿病通络方剂干预组(DM+TLR组,8只),另设正常对照组(CON组,8只)。DM+ALA组大鼠给予 $\alpha$ -硫辛酸( $0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 溶于0.05%羧甲基纤维素钠溶液)灌胃,DM+TLR组予以TLR( $0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 溶于0.05%羧甲基纤维素钠溶液)灌胃,CON组、DM组均在每日同一时间以同等剂量蒸馏水一次性灌胃。

1.3 主要试剂及仪器 STZ、 $\alpha$ -硫辛酸购自美国Sigma公司,TLR由石家庄以岭药业股份有限公司提供。超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所。兔抗鼠WT-1抗体、羊抗鼠nephrin抗体购自美国Santa Cruz公司;HRP标记二抗IgG购自武汉博士德生物工程有限公司。

主要仪器:罗氏优越型血糖仪(瑞士罗氏公司),日立H-600透射显微镜(日本日立公司),DU640分光光度计(美国Beckman公司)。

1.4 标本采集及肾功能检查 干预12周后,予10%水合氯醛3 ml/kg 腹腔注射,迅速分离双肾,取肾皮质;腹主动脉放血处死,留取全血,分离血浆;处死前1 d 代谢笼留取24 h 尿标本,送第二军医大学长征医院实验诊断科测定24 h 尿蛋白定量;血肌酐、尿素氮、尿白蛋白测定由第二军医大学长征医院实验诊断科全自动生化仪完成,并计算尿白蛋白/肌酐比值。

1.5 足细胞计数方法 肾皮质经10%甲醛溶液固

定,石蜡包埋后按  $2\ \mu\text{m}$  厚连续切片,每隔 10 张切片取一对毗邻的切片,每个肾小球取 4 对切片行免疫酶法标记足细胞核蛋白 WT-1,每张片子随机观察 5 个肾小球。运用体视框/分合法<sup>[9]</sup> (disector/fractionator) 原理,结合 Image-Pro plus 6.0 图像分析软件测量平均肾小球体积 (mean glomerular volume, mGV),计数每肾小球足细胞数量 (podocyte number per glomerulus, PN),计算足细胞相对密度。足细胞密度以每足细胞肾小球体积 (glomerular volume/podocyte, GV/P) 表示。

1.6 足细胞标志蛋白 nephrin 检测及抗氧化指标检测 肾皮质组织以冷 0.9% 氯化钠溶液冲洗后准确称取质量,制成 10% 匀浆,  $956\times g$  离心 10 min,取上清液,严格按照试剂盒说明操作,测定蛋白含量,采用蛋白质印迹分析法检测 nephrin 蛋白的表达。采用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活性,二硫代二硝基苯甲酸 (DTNB) 法定量测定 GSH-Px 活性,硫代巴比妥酸 (TBA) 法测定脂质过氧化产物 MDA 含量。采腹主动脉血,抗凝摇匀,  $1\ 300\times g$  离心 10 min,取上清液置  $-20^\circ\text{C}$  保存,血浆用于 SOD、GSH-Px 和 MDA 检测。

1.7 统计学处理 应用 SPSS 13.0 软件包进行统计分析。计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,采用单因素方差分析,组间比较采用 LSD-*t* 检验。检验水准 ( $\alpha$ ) 为 0.05。

## 2 结果

2.1 大鼠一般情况 成模大鼠出现多饮、多尿、多食、体质量不增甚至减轻等糖尿病症状,毛色变暗,无光泽,易脱落,精神差,反应迟钝。经 ALA、TLR 干预后,糖尿病大鼠反应变灵敏,毛发光泽度有所增加。CON 组大鼠饮食、饮水、尿量正常,毛发光亮,体质量自然增加。

2.2 各组大鼠的肾质量/体质量比值、血肌酐、尿素氮、24 h 尿蛋白及尿白蛋白/肌酐比值 与 CON 组相比,DM 组、DM+ALA 组和 DM+TLR 组大鼠肾质量/体质量比值、24 h 尿蛋白定量、尿白蛋白/肌酐比值均升高 ( $P$  均  $<0.01$ ),血肌酐、尿素氮差异无统计学意义;与 DM 组相比,DM+ALA 组和 DM+TLR 组大鼠肾质量/体质量比值减小,24 h 尿蛋白定量、尿白蛋白/肌酐比值减少,差异有统计学意义 ( $P<0.01$ );DM+ALA 组与 DM+TLR 组比较差异无统计学意义 (表 1)。

表 1 各组大鼠肾质量/体质量比值、血肌酐、尿素氮、24 h 尿蛋白及尿白蛋白/肌酐比值的比较

Tab 1 Comparison of kidney mass/body mass, Scr, BUN, and 24 h urinary protein and urinary albumin/Cr in each group

$n=8, \bar{x}\pm s$

Group	Kidney mass/body mass ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	Scr $\text{c}_B/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	BUN $\text{c}_B/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$	24 h urinary protein $m/\text{mg}$	Urinary albumin/Cr
CON	$2.9\pm 0.2$	$35.2\pm 4.2$	$6.7\pm 0.5$	$20.1\pm 4.5$	$5.3\pm 1.9$
DM	$6.1\pm 0.4^{**}$	$31.3\pm 2.0$	$8.7\pm 1.7$	$116.0\pm 25.9^{**}$	$18.4\pm 9.8^{**}$
DM+ALA	$4.1\pm 0.5^{**}\Delta\Delta$	$33.5\pm 4.6$	$7.1\pm 1.3$	$77.9\pm 10.7^{**}\Delta\Delta$	$9.6\pm 2.7^{**}\Delta\Delta$
DM+TLR	$4.2\pm 0.2^{**}\Delta\Delta$	$33.0\pm 4.3$	$7.6\pm 2.0$	$81.8\pm 11.9^{**}\Delta\Delta$	$10.5\pm 3.7^{**}\Delta\Delta$

DM: Diabetic mellitus; ALA:  $\alpha$ -lipoic acid; TLR: *Tongluo* recipe; Scr: Serum creatine; BUN: Blood urea nitrogen.  $^{**}P<0.01$  vs CON group;  $\Delta\Delta P<0.01$  vs DM group

2.3 各组大鼠足细胞损伤指标 与 CON 组相比,DM 组、DM+ALA 组和 DM+TLR 组在观察终点 mGV 增大 ( $P<0.01, P<0.05$ ),PN 减少 ( $P<0.01, P<0.05$ ),GV/P 增大 ( $P<0.01, P<0.05$ )。与 DM 组相比,DM+ALA 组和 DM+TLR 组 mGV 减小,PN 增加,GV/P 减小 ( $P$  均  $<0.01$ ),见表 2。与 CON 组相比,DM 组大鼠肾皮质足突标志蛋白 nephrin 表达减少 ( $P<0.01$ ),DM+ALA 组和 DM+TLR 组 nephrin 蛋白的表达与 CON 组相比差异无统计学意义,DM+ALA 组与 DM+TLR 组比较差异无统计学意义 (图 1)。

表 2 各组大鼠肾小球足细胞计数

Tab 2 Number and density of podocytes

in glomerulus of each group

$n=8, \bar{x}\pm s$

Group	PN	mGV ( $\times 10^6, \mu\text{m}^3$ )	GV/P ( $\mu\text{m}^3$ )
CON	$655\pm 55$	$1.02\pm 0.08$	$1\ 557\pm 145$
DM	$373\pm 46^{**}$	$1.96\pm 0.6^{**}$	$5\ 254\pm 130^{**}$
DM+ALA	$508\pm 43^{**}\Delta\Delta$	$1.34\pm 0.3^{**}\Delta\Delta$	$2\ 638\pm 698^{**}\Delta\Delta$
DM+TLR	$495\pm 39^{**}\Delta\Delta$	$1.54\pm 0.2^{**}\Delta\Delta$	$3\ 111\pm 513^{**}\Delta\Delta$

DM: Diabetic mellitus; ALA:  $\alpha$ -lipoic acid; TLR: *Tongluo* recipe; PN: Podocyte number per glomerulus; mGV: Mean glomerular volume; GV/P: Glomerular volume/podocyte.  $^{**}P<0.05, ^{**}P<0.01$  vs CON group;  $\Delta\Delta P<0.01$  vs DM group

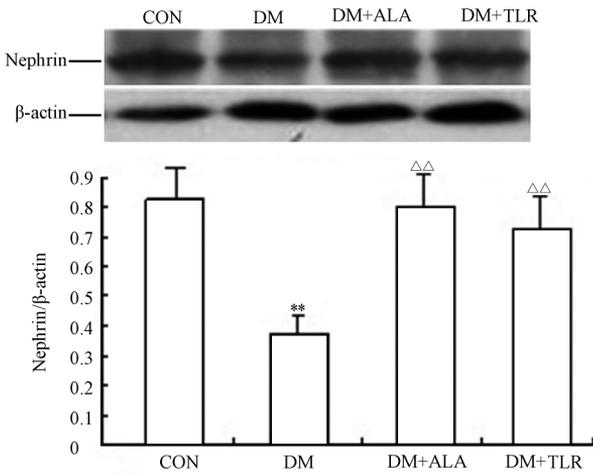


图 1 干预 12 周后大鼠肾皮质 nephrin 蛋白的表达

Fig 1 Nephrin expression in glomeruli in each group 12 weeks after intervention

CON: Control group; DM: Diabetic mellitus group; DM+ALA: ALA ( $\alpha$ -lipoic acid) treated group; DM+TLR: *Tongluo* recipe treated group. \*\*  $P < 0.01$  vs CON group,  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs DM group;  $n = 8, \bar{x} \pm s$

表 3 各组大鼠血浆及肾皮质组织 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量

Tab 3 SOD and GSH-Px activities and MDA levels in rat plasma and renal cortical tissues of each group

$n = 8, \bar{x} \pm s$

Group	Plasma			Renal cortical tissue		
	SOD $z_B / (U \cdot ml^{-1})$	GSH-Px $z_B / (U \cdot ml^{-1})$	MDA $c_B / (\mu mol \cdot L^{-1})$	SOD $z_B / (U \cdot mg^{-1})$	GSH-Px $z_B / (U \cdot mg^{-1})$	MDA $(\mu mol \cdot mg^{-1})$
CON	241.75 ± 20.13	421.11 ± 24.30	5.23 ± 0.69	42.76 ± 3.78	56.54 ± 12.32	3.15 ± 0.76
DM	79.82 ± 12.22 **	200.21 ± 26.72 **	12.45 ± 2.34 **	9.03 ± 1.43 **	20.12 ± 5.01 **	10.33 ± 0.96 **
DM+ALA	198.39 ± 22.69 * $\Delta\Delta$	312.45 ± 31.10 * $\Delta\Delta$	7.01 ± 0.56 * $\Delta\Delta$	29.98 ± 4.03 * $\Delta\Delta$	40.47 ± 5.76 * $\Delta\Delta$	4.98 ± 0.84 * $\Delta$
DM+TLR	163.17 ± 18.50 * $\Delta\Delta$	298.23 ± 23.45 * $\Delta\Delta$	8.69 ± 0.75 * $\Delta\Delta$	27.65 ± 1.78 * $\Delta\Delta$	35.90 ± 4.73 * $\Delta\Delta$	5.72 ± 1.02 * $\Delta$

DM: Diabetic mellitus; ALA:  $\alpha$ -lipoic acid; TLR: *Tongluo* recipe; SOD: Superoxide dismutase; GSH-Px: Glutathione peroxidase; MDA: Malondialdehyde. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs CON group;  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs DM group

化能力,基因突变、免疫因素、血流动力学异常、高糖、高脂及氧化应激均能导致足细胞异常、凋亡和数量减少。足细胞损伤在糖尿病肾病早期微量蛋白尿期有重要意义<sup>[1-2]</sup>。近年来发现的裂孔膜蛋白如 nephrin、CD2AP、podocin 等的共同生理学功能是维持肾小球的正常滤过屏障,相邻足细胞间的 nephrin 分子参与构成裂孔膜拉链状结构,其纯合子突变会导致严重的肾病综合征<sup>[10]</sup>,说明 nephrin 分子对肾小球滤过屏障具有十分重要的作用。既往研究发现,在糖尿病肾病早期 nephrin mRNA 表达增加,尿中出现 nephrin 蛋白,后期 nephrin mRNA 表达则逐渐下降<sup>[11]</sup>。免疫组化发现,1 型和 2 型糖尿病合并肾病的患者 nephrin 染色的阳性区域广泛减少,且其分布由曲线变为不连续的颗粒状<sup>[12]</sup>。糖尿病

2.4 各组大鼠血浆和肾皮质组织氧化应激指标 结果(表 3)表明:与 CON 组相比,DM 组、DM+ALA 组和 DM+TLR 组在观察终点血浆和肾皮质组织内 SOD 活性、GSH-Px 活性均降低 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ),MDA 含量则升高 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。与 DM 组相比,DM+ALA 组和 DM+TLR 组血浆和肾皮质组织内 SOD 活性、GSH-Px 活性增加 ( $P$  均  $< 0.01$ ),MDA 含量降低 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。DM+ALA 组与 DM+TLR 组差异无统计学意义。

### 3 讨论

肾小球脏层上皮细胞即足细胞 (podocyte) 是维持肾小球滤过屏障结构和功能正常的主要细胞之一。大量形态学研究证实,许多肾小球疾病可见足细胞结构异常,包括足突增宽、融合、消失,以及足细胞减少<sup>[5-6]</sup>。足细胞是终末分化细胞,无增殖、再分

肾病早期 nephrin mRNA 水平的升高可能是对 nephrin 蛋白从尿中丢失的代偿性变化,nephrin 可以作为肾小球足细胞损伤的一个早期指标,对于临床早期诊断糖尿病肾病具有一定的指导意义。糖尿病肾病的肾小球存在着高糖、球内高压造成的机械张力,这些因素共同引起 nephrin 表达的下调,并继发足突融合及蛋白尿增加<sup>[13]</sup>。

$\alpha$ -硫辛酸是丙酮酸脱氢酶的辅助因子,是参与三羧酸循环过程中不可缺少的物质,它是代谢性抗氧化剂。近年来,在抗氧化、糖代谢、糖尿病并发症和其他多种疾病治疗方面, $\alpha$ -硫辛酸的重要作用受到了高度关注<sup>[14-16]</sup>。通络方剂由人参、水蛭、全蝎、蜈蚣、土鳖虫、赤芍等药物组成。药理研究表明,人参皂苷具有抗氧化作用;水蛭有利尿、消除尿蛋白的

作用,并能改善微循环;土鳖虫、全蝎具有抗凝、抗血栓形成的作用;赤芍具有降低全血浓度、抑制血小板聚集、降低血小板黏附性、降低纤维蛋白原水平等作用。全方具有扩张血管、抗凝、降低血浓度、改善微循环的作用<sup>[7]</sup>。

本研究观察到,糖尿病大鼠尿蛋白增多的同时,肾小球足细胞数量明显减少,且足突相关分子nephrin表达显著下调;通络方剂和 $\alpha$ -硫辛酸均可以使糖尿病大鼠24h尿蛋白定量水平、尿白蛋白/肌酐比值减少,说明通络方剂对糖尿病大鼠肾脏具有一定的保护作用;抗氧化剂 $\alpha$ -硫辛酸减轻了糖尿病大鼠足细胞的损伤程度,表现出其对足细胞损伤具有一定的保护作用。同时,通络方剂使糖尿病大鼠肾皮质MDA产生减少,SOD活力损失减轻,提示通络方剂可能与抗氧化剂 $\alpha$ -硫辛酸作用机制一致,它对糖尿病肾病的保护作用可能是通过抗氧化应激实现的。

#### 4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] Wiggins J. Podocytes and glomerular function with aging[J]. *Semin Nephrol*,2009,29:587-593.
- [2] Thomas M C. Pathogenesis and progression of proteinuria[J]. *Contrib Nephrol*,2011,170:48-56.
- [3] Diez-Sampedro A, Lenz O, Fornoni A. Podocytopathy in diabetes: a metabolic and endocrine disorder[J]. *Am J Kidney Dis*, 2011,58:637-646.
- [4] Stieger N, Worthmann K, Schiffer M. The role of metabolic and haemodynamic factors in podocyte injury in diabetes[J]. *Diabetes Metab Res Rev*,2011,27:207-215.
- [5] Kashihara N, Haruna Y, Kondeti V K, Kanwar Y S. Oxidative stress in diabetic nephropathy[J]. *Curr Med Chem*, 2010, 17;

4256-4269.

- [6] Singh D K, Winocour P, Farrington K. Oxidative stress in early diabetic nephropathy: fueling the fire[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2011,7:176-184.
- [7] 吴以岭. 络病学基础与临床研究[M]. 北京:中国科学技术出版社,2005:10-11
- [8] 张春阳,邹俊杰,石勇铨,曲卫,孙亮亮,刘志民. 通络方剂对糖尿病大鼠肾脏氧化应激的影响[J]. *第二军医大学学报*, 2008,29:940-943.
- Zhang C Y, Zou J J, Shi Y Q, Qu W, Sun L L, Liu Z M. Effect of *Tongluo* recipe on oxidative stress in kidneys of diabetic rats [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*,2008,29:940-943.
- [9] White K E, Bilous R W. Estimation of podocyte number: a comparison of methods[J]. *Kidney Int*,2004,66:663-667.
- [10] Schlondorff J. Nephrin AKTs on actin: the slit diaphragm-actin cytoskeleton signaling network expands[J]. *Kidney Int*,2008, 73:524-526.
- [11] Toyoda M, Suzuki D, Umezono T, Uehara G, Maruyama M, Honma M, et al. Expression of human nephrin mRNA in diabetic nephropathy[J]. *Nephrol Dial Transplant*,2004,19:380-385.
- [12] Steffes M W, Schmidt D, McCreery R, Basgen J M; International Diabetic Nephropathy Study Group. Glomerular cell number in normal subjects and in type 1 diabetic patients[J]. *Kidney Int*, 2001,59:2104-2113.
- [13] Weil E J, Lemley K V, Yee B, Lovato T, Richardson M, Myers B D, et al. Podocyte detachment in type 2 diabetic nephropathy [J]. *Am J Nephrol*,2011,33 Suppl 1:21-24.
- [14] Borcea V, Nourooz-Zadeh J, Wolff S P, Klevesath M, Hofmann M, Urich H, et al. alpha-Lipoic acid decreases oxidative stress even in diabetic patients with poor glycemic control and albuminuria[J]. *Free Radic Biol Med*,1999,26(11-12):1495-1500.
- [15] Evans J L, Goldfine I D. Alpha-lipoic acid: a multifunctional antioxidant that improves insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Technol Ther*,2000,2:401-413.
- [16] Yi X, Maeda N. alpha-Lipoic acid prevents the increase in atherosclerosis induced by diabetes in apolipoprotein E-deficient mice fed high-fat/low-cholesterol diet[J]. *Diabetes*, 2006, 55: 2238-2244.

[本文编辑] 商素芳