

· 基础研究 ·

基于管球反馈机制探讨渴络欣胶囊对
糖尿病肾病大鼠早期高滤过的影响臧春雪¹ 高天舒² 张凤暖² 赖倚文²

摘要 **目的** 探讨渴络欣胶囊对糖尿病肾病大鼠疗效及是否通过管球反馈机制发挥作用。**方法** 自 100 只雄性 SD 大鼠中随机取 25 只作为正常组, 余 75 只采用高脂高糖饮食联合小剂量链脲佐菌素腹腔注射建立糖尿病大鼠模型, 将成模大鼠随机均分为模型组、渴络欣组和氯沙坦组, 每组 25 只。渴络欣组予渴络欣胶囊每日 5.4 g/kg 灌胃, 氯沙坦组予氯沙坦片每日 9 mg/kg 灌胃, 正常组和模型组予等体积蒸馏水灌胃, 持续 11 周。每 2 周测 1 次随机血糖。第 6、11 周结束后取材。采用酶联免疫吸附测定法检测 24 h 尿微量白蛋白、肾小管损伤相关蛋白和尿素氮、血尿肌酐; 行苏木素-伊红染色、糖原染色、马松染色观察大鼠肾脏病理变化; 免疫组化法观察大鼠肾钠-葡萄糖共转运蛋白 1 (SGLT1), 钠-葡萄糖共转运蛋白 2 (SGLT2)、钠-钾-氯协同转运蛋白 2 (NKCC2) 表达, 免疫荧光观察腺苷 1 型受体 (A1AR) 在肾脏定位; 蛋白免疫印迹法和实时荧光定量聚合酶链式反应检测肾组织 SGLT1、SGLT2、NKCC2、A1AR 的表达。**结果** 与正常组比较, 模型组大鼠基底膜增厚, 肾小管上皮细胞脱落, 渴络欣组较模型组改善。与正常组比较, 模型组大鼠随机血糖、24 h 尿微量白蛋白、肾小管损伤相关蛋白、肾脏指数和内生肌酐清除率均升高 ($P<0.05$)。与模型组比较, 渴络欣、氯沙坦组上述指标均好转 ($P<0.05$)。与正常组比较, 6、11 周时模型组 SGLT1, SGLT2 蛋白及 mRNA 表达均升高 ($P<0.05$), 与模型组比较, 渴络欣组 SGLT1, SGLT2 蛋白及 mRNA 表达下降 ($P<0.01$)。与正常组比较, 模型组 6 周时 NKCC2 蛋白表达升高 ($P<0.01$), 11 周时 A1AR 蛋白表达下降 ($P<0.01$)。与模型组比较, 11 周时渴络欣组及氯沙坦组 NKCC2 蛋白及 mRNA 表达升高 ($P<0.01$), A1AR 蛋白表达升高 ($P<0.01$)。**结论** 渴络欣具有改善 DKD 大鼠肾小球和肾小管损伤, 减轻早期肾脏高滤过的作用, 其机制可能与调节管球反馈有关。

关键词 糖尿病肾病; 渴络欣胶囊; 早期高滤过; 管球反馈; 中药

Effect of Keluoxin Capsule on Early Hyperfiltration in Diabetic Kidney Disease Rats Based on Tubuloglomerular Feedback Mechanism ZANG Chun-xue¹, GAO Tian-shu², ZHANG Feng-nuan², and LAI Yi-wen² ¹ Graduate School of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang (110847); ² Endocrinology Department of First Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang (110033)

ABSTRACT **Objective** To investigate the therapeutic effect of Keluoxin Capsule on diabetic kidney disease (DKD) in rats and explore whether it exerts its effects through the tubuloglomerular feedback mechanism. **Methods** Out of 100 male SD rats, 25 rats were randomly selected as the normal group, while the remaining 75 rats were fed a high-fat and high-sugar diet combined with low-dose streptozotocin (STZ) intraperitoneal injection to establish diabetic rat model. The rat models were randomly and equally divided into model group, Keluoxin group and losartan group, 25 rats in each group. The rats in the Keluoxin group were treated with Keluoxin Capsules (5.4 g·kg⁻¹·d⁻¹) by gavage, those in the losartan group were treated with losartan tablets (9 mg·kg⁻¹·d⁻¹) by gavage, and those in the normal group and the model group were both treated with an equivalent volume of distilled water by

基金项目: 北京医卫健康公益基金会资助项目 (No. YWJKJJHKYJJ-KH2019004); 沈阳市临床医学研究中心 (No. 沈科发 [2018]75 号-5)

作者单位: 1. 辽宁中医药大学研究生学院 (沈阳 110847); 2. 辽宁中医药大学附属医院内分泌科 (沈阳 110033)

通讯作者: 高天舒, Tel: 024-31961190, E-mail: gaotianshu67@163.com

DOI: 10. 7661/j. cjm. 20230407.070

gavage for 11 weeks. Random blood glucose was measured every 2 weeks. Samples were collected at the end of weeks 6 and 11. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to measure 24-hour urinary microalbumin, renal tubular injury-related proteins, blood urea nitrogen, blood and urine creatinine. Hematoxylin-eosin staining, glycogen staining, and Masson staining were performed to observe the pathological changes in the rat kidneys. Immunohistochemistry was utilized to assess the expression of sodium-glucose cotransporter 1 (SGLT1), sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2), and sodium-potassium-chloride cotransporter 2 (NKCC2) in the rat kidneys. Additionally, immunofluorescence was utilized to observe the localization of A1 adenosine receptor (A1AR) in the rat kidneys. The expressions of SGLT1, SGLT2, NKCC2 and A1AR in rat kidney tissue were detected by Western Blot and Real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction. **Results** Compared with the normal group, the model group rats had thickened basement membranes and detached renal tubular epithelial cells, which were improved in the Keluoxin group compared with the model group. Compared with the normal group, the model group rats had increased random blood glucose, 24-hour urinary microalbumin, renal tubular injury-related proteins, kidney index, and endogenous creatinine clearance rate ($P<0.05$). Compared with the model group, the above indicators were improved in the Keluoxin and losartan groups ($P<0.05$). Compared with the normal group, the expression of SGLT1 and SGLT2 proteins and mRNA in the model group rats was increased at 6th and 11th week ($P<0.05$), which was significantly decreased in the Keluoxin group compared with the model group ($P<0.01$). Compared with the normal group, the NKCC2 protein in the model group rats was increased at the 6th week ($P<0.01$), and the A1AR protein was down-regulated at the 11th week ($P<0.01$). Compared with the model group, the NKCC2 protein and mRNA were significantly increased in the Keluoxin group and losartan group at the 11th week ($P<0.01$), and A1AR protein was significantly increased ($P<0.01$). **Conclusion** Keluoxin has the effect of alleviating glomerular and tubular injury in DKD rats, alleviating early renal hyperfiltration, and its mechanism may be related to the regulation of tubuloglomerular feedback

KEYWORDS diabetic kidney disease; Keluoxin Capsule; early hyperfiltration; tubuloglomerular feedback; Chinese herbal medicine

糖尿病肾病 (diabetic kidney disease, DKD) 是糖尿病最常见的微血管并发症之一,也是糖尿病致残、致死的重要原因。糖尿病相关慢性肾脏病的患病率为 27.1%~83.6%,占中国糖尿病人群总死因的 5.2%^[1, 2]。研究显示,自 2011 年起 DKD 发病率逐年攀升,已经超过慢性肾小球肾炎,成为慢性肾脏病的主要病因^[3, 4],严重危害人体健康和生命。

DKD 发病机制除糖脂代谢紊乱、炎症因子增加和晚期肾小球纤维化等因素外,肾血流动力学改变和肾小球压力增加也是其发病的重要机制。DKD 早期出现持续的微量白蛋白尿,病理特点为肾脏处于高滤过状态。肾小球高滤过目前被认为是导致肾脏损伤与 DKD 进展的重要危险因素之一^[5, 6],因此改善 DKD 早期高滤过将有助于延缓疾病的进展,防止进展至终末期肾病。目前影响 DKD 早期高滤过的机制尚未完全明确,主要与管球反馈 (tubuloglomerular feedback, TGF) 调节有关。TGF 是一种负反馈调节,主要发生在致密斑 (macula densa, MD),是肾血流量和肾小球滤过率自身调节的重要机制之一。研究发现,钠-葡萄糖共转运蛋白 1 (sodium-glucose

Cotransporter1, SGLT1), 钠-葡萄糖共转运蛋白 2 (sodium-glucose cotransporter1, SGLT2) 在糖尿病时肾脏近端小管 S3、S1 段高表达,血糖重吸收增加,同时使到达 MD 处的 Na^+ 浓度下降,从而启动 TGF,使肾小球滤过率增加^[7-9]。腺苷 I 型受体 (adenosine type I receptor, A1AR) 是参与 TGF 必要的因子之一,当敲除 A1AR, TGF 几近消失,且导致 DKD 早期高滤过及肾脏损伤^[10-12]。因此,通过调节 TGF 干预 DKD 早期高滤过成为治疗的重要靶点之一。

渴络欣胶囊具有益气养阴、活血化瘀功效,临床研究表明其治疗 DKD 疗效确切^[13, 14]。荟萃分析显示,在常规西药治疗基础上联合渴络欣胶囊,可显著改善 DKD 患者的糖脂代谢,降低尿白蛋白排泄率,延缓病情进展^[15, 16]。渴络欣治疗 DKD 靶点丰富,其中研究发现渴络欣可降低早期 DKD 高滤过,但具体机制尚不明确^[17, 18]。故本实验观察渴络欣胶囊对肾小球高滤过的影响,探讨其治疗 DKD 疗效及是否通过调节 TGF 发挥作用,为中医药防治 DKD 提供实验依据。

材料与方法

1 动物及饲料 SPF 级雄性 SD 大鼠 100 只, 8 周龄, 体重 (180 ± 20) g, 购自辽宁长生生物科技股份有限公司 [实验动物质量合格证号: No. SCXK (辽) 2020-0001, No.211002300062198]。饲养于辽宁中医药大学 SPF 级动物房, 实验按照辽宁中医药大学实验动物伦理委员会动物实验操作要求严格执行 (No.21000042020018)。高脂高糖饲料由沈阳前珉实验动物饲料厂提供 (批号: 202009)。

2 药物 氯沙坦 (杭州默沙东制药, 100 mg/片, 批号: T022591), 溶于双蒸水, 浓度为 1 mg/mL。渴络欣胶囊 [(组成: 黄芪、太子参、枸杞、女贞子、水蛭、大黄) 成都康弘制药, 0.5 g/粒, 批号: 2001002], 溶于双蒸水, 浓度为 0.1 g/mL。

3 试剂及仪器 链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ, 美国 Sigma 公司); 尿微量白蛋白试剂盒, 尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN) 试剂盒, N-乙酰 β -D-氨基葡萄糖苷酶 (N-acetyl- β -D-glucosaminidase, NAG) 试剂盒, 视黄醇结合蛋白 (retinol conjugated protein, RBP) 试剂盒, β 2 微球蛋白 (β 2-microglobulin, β 2-MG) 试剂盒, α 1 微球蛋白 (α 1-microglobulin, α 1-MG) 试剂盒 (上海酶联生物科技有限公司, 批号依次为 ml025063、ml076479、ml028428、ml003388、ml028477、ml003337); 血尿酸试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号 C011-2-1); 苏木素-伊红染色试剂盒 (HE)、糖原染色试剂盒 (PAS)、马松染色试剂盒 (Masson) (索莱宝生物科技有限公司, 批号分别为 G1120、G1281、G1340); 兔抗 SGLT2 多克隆抗体、兔抗钠-钾-氯协同转运蛋白 2 (sodium-potassium-chloride cotransporter 2, NKCC2) 多克隆抗体 (中国武汉, Proteintech, 批号分别为 24654-1-AP, 18970-1-AP), 兔抗 SGLT1 多克隆抗体 (正能生物, 861119), 兔抗 A1AR 多克隆抗体 (美国 Abcam, ab82477), 小鼠抗 α -tubulin 单克隆抗体 (景杰生物, PTM-5001); RIPA 裂解液, BCA 蛋白浓度测定试剂盒, 辣根过氧化物酶标记羊抗兔二抗, Alexa Fluor® 488 标记的山羊抗兔 IgG, ECL 增强化学发光试剂, 2 $\times$ SYBR Green qPCR Master Mix (Low ROX), SweScript RT I First Strand cDNA Synthesis Kit (武汉赛维尔生物科技有限公司, 批号依次为 G2002、G2026、G1213、GB25303、G2014、G3321-01、G3330-50); Animal Total RNA Isolation Kit (成都福

际生物, 批号 RE-03014)。光学显微镜和倒置荧光显微镜 (Nikon, 日本), 酶标仪 (Epoch, 美国), 化学发光成像仪 (Tanon, 上海), 实时荧光定量 PCR 仪 (Thermo Fisher, 美国)。

4 造模及给药方法 100 只 SD 大鼠适应性喂养 1 周后, 采用随机数字表法选取 25 只设为正常组, 予普通大鼠饲料。余 75 只给予高脂高糖饲料喂养 4 周后, 禁食不禁水 12 h 以上, 将 STZ 溶解于 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液中, 配制成 1% 溶液 (pH 4.4), 按 42 mg/kg 剂量一次性腹腔注射, 同时正常组以等体积柠檬酸缓冲液注射。72 h 后尾静脉采血测定随机血糖, 随机血糖 >16.7 mmol/L 为糖尿病造模成功^[19]。将随机血糖 >16.7 mmol/L 大鼠纳入进行分组, 采用随机数字表法分为模型组、渴络欣组、氯沙坦组, 每组 25 只; 随机血糖 <16.7 mmol/L 的大鼠依据血糖情况再次腹腔注射 STZ, 若 72 h 后随机血糖仍然 <16.7 mmol/L, 予以排除。根据文献进行等效剂量换算, 以 70 kg 成人剂量的 6.3 倍作为中等剂量^[20]。前期预实验结果显示, 渴络欣低剂量 (2.7 g/kg)、中剂量 (5.4 g/kg)、高剂量 (10.8 g/kg) 治疗 DKD 大鼠, 中高剂量组改善尿微量白蛋白及病理结果优于低剂量组, 但中高剂量 2 组间差异无统计学意义, 故本实验采用中剂量 5.4 g/kg 作为最佳研究剂量。予以渴络欣组每日 5.4 g/kg、氯沙坦组每日 9 mg/kg 灌胃, 正常组和模型组予等体积蒸馏水灌胃。每周称重 1 次, 并根据体重变化调整给药剂量, 连续给药 11 周, 每日 1 次。在后续灌胃过程中, 模型组大鼠死亡 3 只, 渴络欣死亡 2 只, 氯沙坦组死亡 1 只, 考虑大鼠因血糖过高, 出现高渗性昏迷, 酮症酸中毒等造成死亡。给药第 6 周末和第 11 周末每组分别随机处死一半大鼠, 进行指标检测。

5 标本收集 给药干预 6 周和 11 周后, 使用代谢笼收集大鼠 24 h 尿液, 记录尿量后, 留取 5 mL 尿液标本, 3 000 r/min 离心后放置 -80 °C 冰箱中, 用于测 24 h 尿微量白蛋白 (urinary microalbumin excretion rate, UAER)、RBP、 β 2-MG、 α 1-MG、NAG。后采用 10% 水合氯醛 0.35 mL/100g 麻醉处死动物, 腹主动脉取血, 静置 1 h, 3 000 r/min 离心取血清放置 -80 °C 冰箱中, 用于血尿素氮、血肌酐测定。后迅速摘除双肾, 左肾沿正中冠状面剖开, 置于 4% 多聚甲醛液中固定备用。右肾称重后, 置于 -80 °C 冰箱中备用。肾脏指数 (mg/g) = 肾重 (mg) / 体重 (g)。

6 检测指标及方法

6.1 肾脏组织病理学观察 肾组织经 4% 多聚

甲醛液固定后,常规脱水、石蜡包埋,制作连续切片、厚约 4 μm ,行 HE、PAS、Masson 染色。光镜下观察。

6.2 免疫组化检测 (immunohistochemistry, IHC) 肾组织 SGLT1/2、NKCC2 定位 常规脱蜡至水,10% 蛋白酶 K 修复抗原,3% H_2O_2 消除内源性过氧化物酶。5%BSA 封闭。一抗孵育 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜 (SGLT1 浓度为 1:50, SGLT2 浓度为 1:100, NKCC2 浓度为 1:500),滴加二抗 IgG 室温孵育 (1:300),以 PBS 代替一抗作为阴性对照,DAB 显色,苏木素复染。

6.3 免疫荧光法 (immunofluorescence, IF) 检测肾组织 A1AR 定位 肾组织制作冰冻,枸橼酸法修复,封闭,一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜 (A1AR 浓度为 1:200),滴加荧光二抗室温孵育 (1:500),DAPI 复染细胞核,封片,于荧光显微镜下观察并采集图像。

6.4 蛋白免疫印迹法 (Western Blot) 检测 SGLT1/2、NKCC2、A1AR 表达水平 切取 50 mg 肾脏组织,RIPA 裂解提取总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,采用等质量上样方法,用 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离,湿转至 PVDF 膜。室温下摇床封闭 1 h,孵育一抗 SGLT1 (1:500)、SGLT2 (1:1 000)、NKCC2 (1:1 000), α -tubulin (1:1 000),4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。洗膜后二抗 IgG (1:1 000) 孵育 1 h,ECL 发光液显影,曝光呈像。用 Image J 软件对 Western Blot 条带进行相对定量分析。

6.5 酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 检测肾功能及 24 h UAER 加样、加酶标试剂、温育、洗涤、显色、终止反应,最后在 450 nm 波长测量各孔吸光度值。内生肌酐清除率 (creatinine clearance rate, Ccr) 以尿量和体重进行校正, $\text{Ccr} = \text{尿肌酐} \times \text{尿量} (\text{mL/min}) / \text{血肌酐} \times \text{体重} (\text{kg})$ 。

6.6 实时荧光定量聚合酶链式反应 (Real-time PCR) 检测 TGF 相关指标 mRNA 表达 取 15 mg 肾脏组织,提取总 RNA,并验证 RNA 浓度和纯度,进行逆转录及 Real time PCR 反应的操作,反应条件为预变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s、退火 60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min (40 个循环)。结束后通过 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算各组基因相对表达量。由武汉赛维尔生物科技设计并合成引物,序列见表 1。

7 统计学方法 应用 GraphPad Prism 9.0 软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。数据均进行正态性和方差齐性检验,若满足,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验;若不满足,则进行非参数检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠随机血糖水平比较 (表 2) 与正常比较,模型组各个时间点血糖值均显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,2、4 周时给药 2 组差异无统计学意义 ($P > 0.05$),6、8 周时渴络欣组血糖下降 ($P < 0.05$)。10、11 周时,与模型组比较,给药 2 组血糖均下降 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

2 各组大鼠肾脏指数比较 (表 3) 与正常组比较,6、11 周模型组肾脏指数均显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,给药 2 组下降但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 3 各组大鼠肾脏指数比较 (mg/g, $\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	6 周	11 周
正常	9	2.95 $\pm$ 0.28	2.76 $\pm$ 0.31
模型	9	5.65 $\pm$ 0.47*	5.76 $\pm$ 0.61*
渴络欣	9	5.86 $\pm$ 0.69	5.06 $\pm$ 0.69
氯沙坦	9	5.65 $\pm$ 0.55	5.18 $\pm$ 1.18

注:与正常组比较,* $P < 0.01$

表 1 引物序列

引物名称	引物上游序列 (5'-3')	引物下游序列 (5'-3')	长度 (bp)
β -actin	TGCTATGTTGCCCTAGACTTCG	GTTGGCATAGAGGTCTTTACGG	240
SGLT1	CCGCCCTTTACACCATCACAG	CTCGGAAAGCAAACCCAGTCA	111
SGLT2	TGATTTATACTGTGACAGGAGGGC	CACTGCTCCCAGGTATTTGTCTG	155
NKCC2	CCAACCAATGACATCCGAATAA	TGGTAGTTGAAGAAGCCTCTGGAT	197
A1AR	CTTATCAACATTGGGCCACAGAC	GCTGGGTCCACCACTGTCTTGTA	163

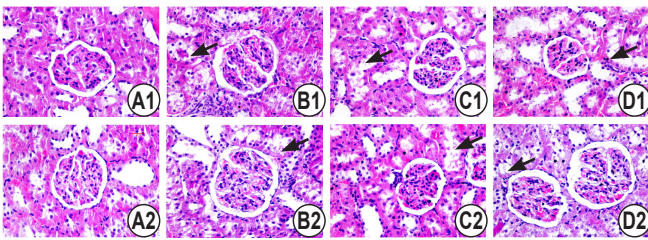
表 2 各组大鼠随机血糖水平比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	2 周	4 周	6 周	8 周	10 周	11 周
正常	12	6.60 $\pm$ 0.78	6.74 $\pm$ 0.72	6.67 $\pm$ 0.65	6.67 $\pm$ 0.86	6.79 $\pm$ 0.64	6.69 $\pm$ 0.79
模型	12	32.42 $\pm$ 1.25*	29.18 $\pm$ 3.01*	32.47 $\pm$ 2.12*	29.31 $\pm$ 1.20*	28.95 $\pm$ 2.20*	29.96 $\pm$ 2.18*
渴络欣	12	30.33 $\pm$ 3.40	29.56 $\pm$ 0.30	26.52 $\pm$ 4.63 $^{\Delta}$	23.85 $\pm$ 5.74 $^{\Delta}$	22.03 $\pm$ 3.41 $^{\Delta\Delta}$	21.46 $\pm$ 4.13 $^{\Delta\Delta}$
氯沙坦	12	31.68 $\pm$ 2.08	30.66 $\pm$ 0.04	31.32 $\pm$ 2.60	29.10 $\pm$ 1.63	25.78 $\pm$ 2.54 $^{\Delta}$	26.59 $\pm$ 2.45 $^{\Delta}$

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $^{\Delta}$ $P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}$ $P < 0.01$

3 各组大鼠 BUN、Ccr、24hUAER、尿 α 1-MG、 β 2-MG、RBP 和 NAG 比较 (表 4) 与正常组比较, 模型组 6、11 周时 BUN 水平下降, Ccr、24 h UAER、 α 1-MG、 β 2-MG、RBP 和 NAG 水平显著升高 (均 $P<0.01$)。与模型组比较, 渴络欣组、氯沙坦组 6、11 周时 α 1-MG、 β 2-MG、RBP 和 NAG 水平均下降 (均 $P<0.01$), 11 周时渴络欣组、氯沙坦组 Ccr、24hUAER 水平下降 ($P<0.01$)。

4 各组大鼠肾组织病理学比较 (图 1、2) HE 染色: 正常组大鼠肾小球、肾小管结构清晰, 大致正常; 模型组肾小球体积增大, 肾小管上皮肿胀, 空泡化改变, 如图 1。PAS 染色: 正常组无病理改变, 其余各组均有基底膜均质性增厚, 肾小管上皮有脱落, 空泡化改变, 模型组最明显, 如图 2。与 6 周时比较, 11 周时模型组病理改变略为严重, 氯沙坦组、渴络欣组好转。



注:A 为正常组;B 为模型组;C 渴络欣组;D 为氯沙坦组;1 为 6 周, 2 为 11 周;黑色箭头所指为肾小管上皮肿胀, 有空泡化改变;红色箭头所指为基底膜均质性增厚;图 2 同

图 1 各组大鼠肾脏病理形态改变 (HE, $\times 400$)

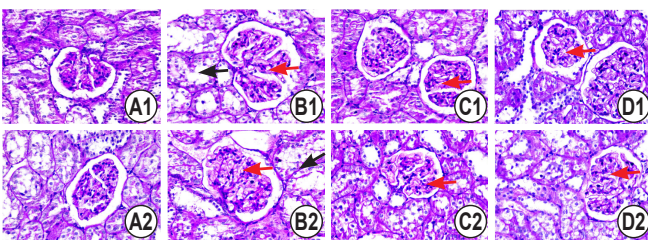
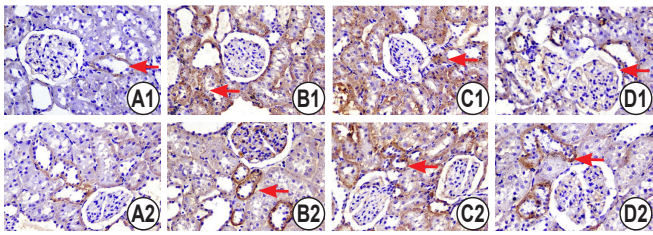


图 2 各组大鼠肾脏病理形态改变 (PAS, $\times 400$)

5 各组大鼠肾 SGLT1、SGLT2、NKCC2、A1AR 表达情况 (图 3~6) 如图 3 和图 4, 肾脏 SGLT1 和 SGLT2 表达均定位在近端小管处。如图 5, NKCC2 表达定位于 MD 和其他远端小管处。如图 6, A1AR 主要在肾脏入球动脉表达。



注:A 为正常组;B 为模型组;C 渴络欣组;D 为氯沙坦组;1 为 6 周, 2 为 11 周;红色箭头所指为各个蛋白表达定位;图 4~6 同

图 3 各组大鼠肾 SGLT1 表达 (IHC, $\times 400$)

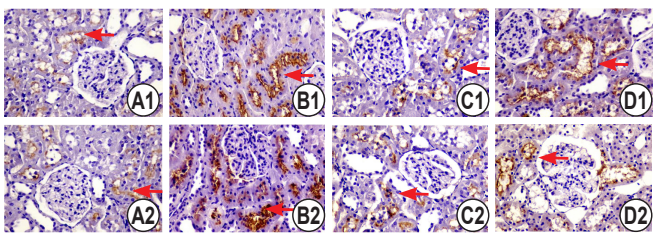


图 4 各组大鼠肾 SGLT2 表达 (IHC, $\times 400$)

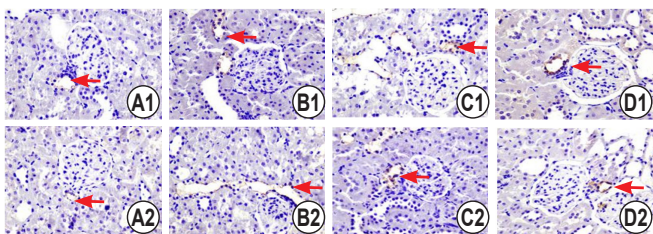


图 5 各组大鼠肾 NKCC2 表达 (IHC, $\times 400$)

6 各组大鼠 TGF 相关蛋白表达水平比较 (表 5, 图 7) 与正常组比较, 模型组 6、11 周时 SGLT1、SGLT2 蛋白表达均显著增加 ($P<0.05$, $P<0.01$), 6 周时 NKCC2 蛋白表达升高 ($P<0.01$), 11 周时 A1AR 表达水平下降 ($P<0.01$)。与模型组比较,

表 4 各组大鼠 BUN、Ccr、24hUAER、尿 α 1-MG、 β 2-MG、RBP 和 NAG 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	时间	BUN (mmol/L)	Ccr [mL/(kg·min)]	24hUAER (ug/24 h)	α 1-MG (pg/mL)	β 2-MG (ng/mL)	RBP (μ g/mL)	NAG (ng/mL)
正常	9	6 周	38.19 $\pm$ 6.48	0.92 $\pm$ 1.15	149.81 $\pm$ 23.35	36.40 $\pm$ 8.41	74.34 $\pm$ 7.60	50.53 $\pm$ 6.35	153.60 $\pm$ 19.71
		11 周	33.82 $\pm$ 15.73	0.49 $\pm$ 0.86	227.79 $\pm$ 73.71	30.77 $\pm$ 5.33	65.03 $\pm$ 1.25	49.10 $\pm$ 0.83	129.50 $\pm$ 3.27
模型	9	6 周	27.12 $\pm$ 5.32*	21.31 $\pm$ 10.03*	4 089.15 $\pm$ 852.76*	129.30 $\pm$ 12.36*	154.10 $\pm$ 10.12*	122.10 $\pm$ 9.15*	405.70 $\pm$ 36.68*
		11 周	19.08 $\pm$ 4.29*	86.65 $\pm$ 19.62*	4 529.70 $\pm$ 529.02*	174.30 $\pm$ 8.20*	241.70 $\pm$ 13.66*	182.00 $\pm$ 13.24*	590.90 $\pm$ 35.82*
渴络欣	9	6 周	27.50 $\pm$ 1.09	19.40 $\pm$ 16.61 Δ	2 911.31 $\pm$ 489.88	66.60 $\pm$ 4.88 Δ	104.30 $\pm$ 10.04 Δ	56.79 $\pm$ 0.70 Δ	213.40 $\pm$ 17.44 Δ
		11 周	29.77 $\pm$ 9.39	9.43 $\pm$ 6.19 Δ	2 278.70 $\pm$ 622.63 Δ	45.02 $\pm$ 1.78 Δ	92.45 $\pm$ 4.12 Δ	64.44 $\pm$ 8.68 Δ	200.10 $\pm$ 10.48 Δ
氯沙坦	9	6 周	21.63 $\pm$ 2.54	18.46 $\pm$ 11.90 Δ	2 802.46 $\pm$ 610.32	86.23 $\pm$ 10.13 Δ	117.60 $\pm$ 8.50 Δ	53.96 $\pm$ 7.07 Δ	301.00 $\pm$ 26.45 Δ
		11 周	26.93 $\pm$ 5.39	59.45 $\pm$ 9.45 Δ	2 944.53 $\pm$ 726.77 Δ	48.66 $\pm$ 3.91 Δ	85.91 $\pm$ 29.43 Δ	68.38 $\pm$ 3.65 Δ	247.90 $\pm$ 19.49 Δ

注:与正常组同期比较, * $P<0.01$;与模型组同期比较, $\Delta P<0.01$

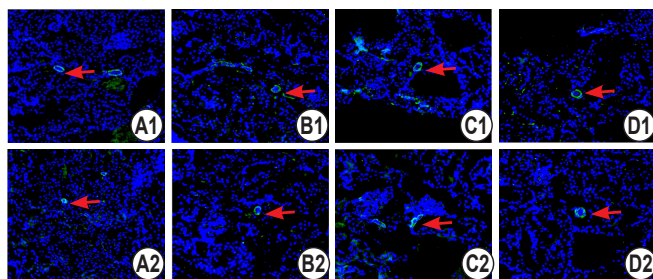
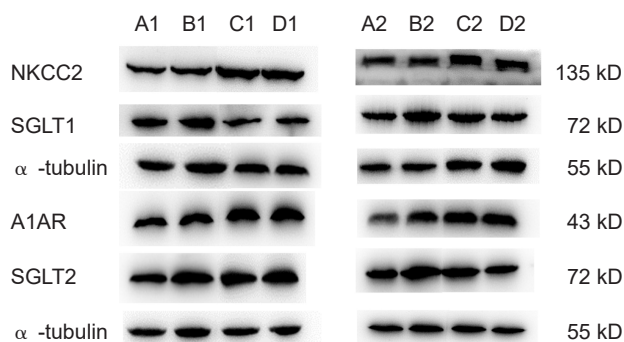


图 6 各组大鼠肾 A1AR 表达 (IF, ×200)



注: A 为正常组; B 为模型组; C 为氯沙坦组; D 为渴洛欣组; 1 为 6 周; 2 为 11 周

图 7 各组大鼠肾 TGF 相关蛋白表达

6、11 周给药 2 组 SGLT1、SGLT2 蛋白表达均不同程度的减少 ($P<0.05$), NKCC2 蛋白表达增高 ($P<0.05$, $P<0.01$); 11 周时渴洛欣组、氯沙坦组 A1AR 表达增加 (均 $P<0.01$)。

7 各组大鼠肾 TGF 相关指标 mRNA 表达水平比较 (表 6) 与正常组比较, 11 周时模型组 SGT1 mRNA 表达增高 ($P<0.05$), 6、11 周时 SGLT2 mRNA 表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较, 11 周时氯沙坦组 SGT1 mRNA 表达降低, 渴洛欣组 SGLT2 mRNA 表达降低 ($P<0.05$); 11 周时渴洛欣组及氯沙坦组 NKCC2 mRNA 表达升高 ($P<0.01$)。各组 A1AR mRNA 表达比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

讨 论

DKD 是一种复杂难治性肾病, 其发病率逐年上升, 是终末期肾病的主要原因。目前主要治疗方法包括降低血糖、控制血压、降低尿蛋白等, 缓解效果值得肯定, 但对于干预早期 DKD 药物有限, 延缓疾病进展证据尚不充足。目前 DKD 发病机制主要有糖基化终末产物 (advanced glycation end-products, AGEs) 增加和蛋白激酶 C 通路激活等参与的糖脂代谢紊乱, NADPH 活性增强、线粒体功能障碍等导致的肾脏氧化应激损伤, 肿瘤坏死因子、白介素 -6 等炎症因子增多、自噬功能失调等诱导的足细胞凋亡^[21]。除以上机制外, 肾脏血流动力学因素也是导致 DKD 发病的重要原因。DKD 发病早期出现“高滤过、高灌注、高血压”三高状态的血流动

表 5 各组大鼠 TGF 相关蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	时间	SGLT1	SGLT2	NKCC2	A1AR
正常	3	6 周	0.82 ± 0.42	0.81 ± 0.06	0.62 ± 0.03	0.94 ± 0.08
		11 周	0.83 ± 0.07	0.78 ± 0.08	0.66 ± 0.05	0.91 ± 0.07
模型	3	6 周	0.90 ± 0.02*	1.13 ± 0.06**	0.79 ± 0.03**	0.79 ± 0.08
		11 周	1.16 ± 0.05**	1.31 ± 0.05**	0.66 ± 0.01	0.61 ± 0.06**
渴洛欣	3	6 周	0.89 ± 0.03	0.89 ± 0.05 ^{△△}	0.91 ± 0.02 [△]	0.96 ± 0.13
		11 周	0.82 ± 0.06 ^{△△}	0.75 ± 0.06 ^{△△}	1.04 ± 0.03 ^{△△}	1.32 ± 0.04 ^{△△}
氯沙坦	3	6 周	0.96 ± 0.03	0.97 ± 0.05 [△]	0.94 ± 0.06 ^{△△}	0.85 ± 0.09
		11 周	0.94 ± 0.05 ^{△△}	1.04 ± 0.07 ^{△△}	1.06 ± 0.09 ^{△△}	1.27 ± 0.07 ^{△△}

注: 与正常组同期比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与模型组同期比较, [△] $P<0.05$, ^{△△} $P<0.01$

表 6 各组大鼠肾 TGF 相关指标 mRNA 表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	时间	SGLT1	SGLT2	NKCC2	A1AR
正常	3	6 周	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
		11 周	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
模型	3	6 周	1.48 ± 0.37	2.09 ± 0.12*	1.23 ± 0.11	3.12 ± 0.56
		11 周	2.55 ± 0.47*	2.74 ± 0.42**	1.09 ± 0.10	2.92 ± 0.33
渴洛欣	3	6 周	1.67 ± 1.14	2.18 ± 0.26	1.55 ± 0.15	5.83 ± 3.73
		11 周	1.81 ± 0.36	2.03 ± 0.19 [△]	1.67 ± 0.05 ^{△△}	7.05 ± 1.37
氯沙坦	3	6 周	0.96 ± 0.20	2.11 ± 0.25	1.48 ± 0.59	3.91 ± 0.22
		11 周	1.37 ± 0.18 [△]	2.57 ± 0.36	1.75 ± 0.03 ^{△△}	6.75 ± 3.45

注: 与正常组同期比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与模型组同期比较, [△] $P<0.05$, ^{△△} $P<0.01$

力学改变,此改变发生主要与入球小动脉的扩张相关^[22]。目前 DKD 与高滤过之间关系尚未完全明确,一方面高血糖引起 AGEs 增加,继而释放血管活性介质,如前列腺素 E2、一氧化氮、胰岛素生长因子等,使入球小动脉扩张,肾小球滤过压增加^[23];另一方面与 TGF 机制失调有关,肾小球滤过液到达 MD,反馈于入球小动脉使其收缩或舒张^[24]。研究表明 TGF 发生于近端肾小管,远端肾小管的髓襻升支粗段,入球小动脉三个部位,依靠 Na⁺ 的浓度变化互相调节,互相影响,使 Na⁺ 浓度变化与传入小动脉的收缩相结合^[24]。DKD 近端小管 SGLT1 和 SGLT2 表达增加,使重吸收葡萄糖分子和 Na⁺ 离子增多,到达 MD 处的 Na⁺ 减少,引起 Na⁺-Ca²⁺ 交换逆向转运,细胞内 Ca²⁺ 增加,激活 P38mapk/Cox2 信号通路,促进肾素释放^[25],主要收缩出球小动脉使滤过率增加。当 SGLT1 和 SGLT2 表达下调后,到达 MD 的 Na⁺ 增加,NKCC2 作为 MD 管腔 Na⁺ 的感受器,主动转运 Na⁺ 消耗 ATP。ATP 降解为腺苷,与入球小动脉上 A1AR 结合,引起入球小动脉收缩降低 GFR^[26, 27],从而降低早期高滤过。研究表明渴络欣可改善早期 DKD 高滤过而保护肾脏,但是否通过调节 TGF 发挥作用尚未明确^[17, 18]。

DKD 属于中医学“消肾”“肾劳”“水肿”等范畴,是多种因素导致机体气化功能失常,水谷精微不能如常运化,从而影响脾肾等脏腑生理功能而发病。DKD 治疗关键在于早期气阴两虚阶段,此为延缓疾病进一步发展的重要时期^[13]。其病机主要是气阴两虚为本,瘀血阻络为标,属本虚标实之证,故益气养阴、活血化瘀是治疗的重要原则。渴络欣胶囊作为一种中成药,具有益气养阴,活血化瘀作用,其中黄芪益气固表、利水消肿,太子参补益脾肺,益气生津,二者相伍,加强益气养阴之功,共为君药。女贞子补肝肾阴,枸杞子滋补肝肾,益精明目。二者合用,功擅滋养肝肾,共为臣药。大黄少量取其活血通瘀之功,水蛭为虫类药,善走窜,可逐瘀通络,为佐使药。药理学研究发现黄芪具有减轻 DKD 尿蛋白、降糖、改善血液流变学和肾小管损伤的作用^[28]。太子参具有降糖和促进胰岛素分泌的药理学作用^[29]。枸杞子可改善糖尿病小鼠胰腺 β 细胞受损^[30, 31],可降低患者血糖,改善胰岛素生成指数^[32]。女贞子和水蛭均可通过抗炎、抗氧化保护 DKD 小鼠肾脏损伤^[33, 34]。大黄可改善高粘综合征,影响血流动力学^[35]。故推测渴络欣胶囊具有降糖、减轻尿蛋白,改善血液动力学的作用,可改善肾小球高灌注与高滤过。

本实验造模采用高脂饲料加注射小剂量 STZ 进行糖尿病造模,造模成功率高,后续大鼠不易死亡。结果显示模型组大鼠血糖 2~11 周均在 30 mmol/L 上下波动,一直处于较高水平,且尿微量白蛋白在 6 周时开始升高,是正常组 25 倍以上,结合肾脏病理,可判定 6 周时大鼠已经进展为早期 DKD^[36],提示 STZ 联合高脂饲料造模方法基本可靠。与模型组血糖水平比,渴络欣组血糖大幅度下降,且下降趋势稳定,无明显波动。氯沙坦组血糖总体呈下降趋势,但波动幅度较大,研究显示血糖波动可诱导更多肾小球系膜细胞凋亡,加重肾脏损伤^[37]。以上说明渴络欣具有一定的降低血糖作用,11 周后血糖降至 21 mmol/L 左右,未来可以延长实验周期,观察其最终降糖效果。在 6 周时可见大鼠肾脏出现轻度病理改变,11 周时更明显,包括肾小球体积增大、肾小管上皮肿胀、肾小球弥漫性系膜扩张伴系膜细胞增殖等 DKD 早期病变,结果表明渴络欣和氯沙坦均可改善肾脏病理损伤。本研究结果表明渴络欣可大幅度降低尿白蛋白、减轻肾小球损伤,发挥治疗作用时间早且疗效显著,优于氯沙坦。DKD 肾脏损伤不仅集于肾小球病变,肾小管损伤也是 DKD 病理改变的重要原因。DKD 早期出现高滤过状态,到达肾小管的流量明显增多,加重 ATP 依赖的肾小管负荷,及高血糖等刺激因素作用于肾小管,使其极易损伤^[38]。尿 α 1-MG、 β 2-MG、NAG 及 RBP 是判断肾小管损伤的关键标记物。本实验结果显示模型组大鼠 4 种蛋白排泄明显增多,且病程越长,排泄越多。而渴络欣可显著减少这 4 种蛋白的产生,随着治疗时间增加,排出变少,说明其具有改善肾小管损伤的作用。

研究发现在早期 DKD 患者中,GFR 越高可能引起更快的 GFR 下降,最终 GFR 会更低^[39, 40]。DKD 早期高滤过与晚期病变严重程度正相关,当滤过压升高,可引起肾小球上皮细胞足突融合,系膜细胞和细胞外基质显著增生,肾小球肥大,最终导致肾小球硬化,故减少肾小球高滤过对延缓 DKD 进展有重要意义^[38]。本研究结果显示渴络欣具有减小肾脏指数和 Ccr 的作用,且优于氯沙坦,这表明其可改善 DKD 大鼠肾脏肥大及减少 GFR,减轻高滤过。其机制可能与渴络欣具有下调 SGLT1、SGLT2 水平,促进 NKCC2 和 A1AR 表达的作用有关。SGLT1、SGLT2 表达减少,近端小管重吸收超滤液中的葡萄糖和 Na⁺ 相对减少,到达 MD 处 Na⁺ 浓度增加,通过 MD 处 NKCC2 进行主动转运,消耗能量释放 ATP。ATP 水解后产生腺苷,腺苷扩散至肾小球传入小动脉与

A1AR 结合, 触发细胞浆内 Ca^{2+} 增加^[41], 诱导入球小动脉收缩, 降低肾小球的血流量和压力, 从而调节 GFR。

综上所述, 渴络欣能够改善糖代谢, 减少 DKD 肾小球和肾小管损伤, 减轻肾组织病理损伤, 改善肾脏肥大。渴络欣通过抑制 SGLT1、SGLT2、上调 NKCC2、A1AR 调节 TGF, 从而改善肾小球高滤过, 可能是其治疗 DKD 的作用机制之一。关于渴络欣对 TGF 的调节过程期待更进一步的研究。

利益冲突: 本文不存在任何利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Fiona B, Michael VH, Andri I, et al. Association between diabetes and cause-specific mortality in rural and urban areas of China[J]. JAMA, 2017, 317 (3): 280-289.
- [2] Digsu NK, Dianna JM, Robert GN, et al. The global epidemiology of diabetes and kidney disease[J]. Adv Chronic Kidney Dis, 2018, 25 (2): 121-132.
- [3] Zhang L, Zhao M, Zuo L, et al. China Kidney Disease Network (CK-NET) 2016 annual data report[J]. Kidney Int Suppl (2011), 2020, 10 (2): e97-e185.
- [4] Chao Y, Haibo W, Xinju Z, et al. CKD in China: evolving spectrum and public health implications[J]. Am J Kidney Dis, 2020, 76 (2): 258-264.
- [5] Nagata T, Fukuzawa T, Takeda M, et al. Tofogliflozin, a novel sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor, improves renal and pancreatic function in db/db mice[J]. Br J Pharmacol, 2013, 170 (3): 519-531.
- [6] Premaratne E, Verma S, Ekinici EI, et al. The impact of hyperfiltration on the diabetic kidney[J]. Diabetes Metab, 2015, 41 (1): 5-17.
- [7] Washburn WN. Development of the renal glucose reabsorption inhibitors: a new mechanism for the pharmacotherapy of diabetes mellitus type 2[J]. J Med Chem, 2009, 52 (7): 1785-1794.
- [8] Vrhovac I, Balen ED, Klessen D, et al. Localizations of Na (+)-D-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2 in human kidney and of SGLT1 in human small intestine, liver, lung, and heart[J]. Pflugers Arch, 2015, 467 (9): 1881-1898.
- [9] Vallon V. Molecular determinants of renal glucose reabsorption. Focus on "Glucose transport by human renal Na+/D-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2"[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2011, 300 (1): C6-C8.
- [10] Faulhaber-Walter R, Chen L, Oppermann M, et al. Lack of A1 adenosine receptors augments diabetic hyperfiltration and glomerular injury[J]. J Am Soc Nephrol, 2008, 19 (4): 722-730.
- [11] Brown R, Ollerstam A, Johansson B, et al. Abolished tubuloglomerular feedback and increased plasma renin in adenosine A1 receptor-deficient mice[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2001, 281 (5): R1362-R1367.
- [12] Vallon V, Schroth J, Satriano J, et al. Adenosine A (1) receptors determine glomerular hyperfiltration and the salt paradox in early streptozotocin diabetes mellitus[J]. Nephron Physiol, 2009, 111 (3): p30-p38.
- [13] 中国中西医结合学会内分泌专业委员会. 渴络欣胶囊治疗糖尿病肾脏疾病临床应用专家共识 [J]. 中国中西医结合杂志, 2020, 40 (8): 979-984.
- [14] 林兰, 倪青, 刘喜明, 等. 糖微康胶囊治疗早期 2 型糖尿病肾病 195 例临床研究 [J]. 医学研究杂志, 2008, 37 (1): 46-50.
- [15] 柏力菊, 李俊, 赵静, 等. 渴络欣胶囊辅助治疗糖尿病肾病的荟萃分析 [J]. 世界科学技术 - 中医药现代化, 2019, 21 (1): 65-73.
- [16] 赵豫梅, 吴于滨, 宋滇平. 渴络欣胶囊联合 ARB 类药物治疗糖尿病肾病有效性及安全性的系统评价 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2017, 18 (7): 610-613.
- [17] 魏军平. 中药糖微康治疗糖尿病肾病的机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2004.
- [18] 林兰, 倪青, 刘喜明, 等. 糖微康对糖尿病大鼠肾功能的保护作用药效学研究 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28 (1): 66-70.
- [19] Lutz TA. An overview of rodent models of obesity and type 2 diabetes[J]. Methods Mol Biol, 2020, 2128: 11-24.
- [20] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9 (9): 1069-1072.

- [21] Mistry KN, Dabhi BK, Joshi BB. Evaluation of oxidative stress biomarkers and inflammation in pathogenesis of diabetes and diabetic nephropathy[J]. Indian J Biochem Biophys, 2020, 57 (1): 47–50.
- [22] Carlström M, Wilcox CS, Arendshorst WJ. Renal autoregulation in health and disease[J]. Physiol Rev, 2015, 95 (2): 405–511.
- [23] Lin YC, Chang YH, Yang SY, et al. Update of pathophysiology and management of diabetic kidney disease[J]. J Formos Med Assoc, 2018, 117 (8): 662–675.
- [24] Li L, Lai EY, Huang Y, et al. Renal afferent arteriolar and tubuloglomerular feedback reactivity in mice with conditional deletions of adenosine 1 receptors[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2012, 303 (8): F1166.
- [25] Schnermann J, Briggs JP. Synthesis and secretion of renin in mice with induced genetic mutations[J]. Kidney Int, 2012, 81 (6): 529–538.
- [26] Vallon V. Tubuloglomerular feedback and the control of glomerular filtration rate[J]. News Physiol Sci, 2003, 18: 169–174.
- [27] Zhang J, Wei J, Jiang S, et al. Macula Densa SGLT1-NOS1-Tubuloglomerular feedback pathway, a new mechanism for glomerular hyperfiltration during hyperglycemia[J]. J Am Soc Nephrol, 2019, 30 (4): 578–593.
- [28] Zhang J, Wu C, Gao L, et al. Astragaloside IV derived from *Astragalus membranaceus*: a research review on the pharmacological effects[J]. Adv Pharmacol, 2020, 87: 89–112.
- [29] Chen J, Pang W, Kan Y, et al. Structure of a pectic polysaccharide from *Pseudostellaria heterophylla* and stimulating insulin secretion of INS-1 cell and distributing in rats by oral[J]. Int J Biol Macromol, 2018, 106: 456–463.
- [30] Zhao R, Li Q, Xiao B. Effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on the improvement of insulin resistance in NIDDM rats[J]. Yakugaku Zasshi, 2005, 125 (12): 981–988.
- [31] Gao D, Li Q, Liu Z, et al. Hypoglycemic effects and mechanisms of action of *Cortex Lycii Radicis* on alloxan-induced diabetic mice[J]. Yakugaku Zasshi, 2007, 127 (10): 1715–1721.
- [32] Cai H, Liu F, Zuo P, et al. Practical application of antidiabetic efficacy of *Lycium barbarum* polysaccharide in patients with type 2 diabetes[J]. Med Chem, 2015, 11 (4): 383–390.
- [33] Luan R, Sun L, Zhang X, et al. The protective effect of ethyl acetate and n-butanol fractions of wine-steamed *Ligustri Lucidi fructus* on diabetic nephropathy in rats[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021: 6512242.
- [34] Han J, Pang X, Zhang Y, et al. Hirudin protects against kidney damage in streptozotocin-induced diabetic nephropathy rats by inhibiting inflammation via P38 MAPK/NF-kappaB pathway[J]. Drug Des Devel Ther, 2020, 14: 3223–3234.
- [35] Gao D, Wu SN, Zhang CE, et al. Exploration in the mechanism of rhubarb for the treatment of hyperviscosity syndrome based on network pharmacology[J]. J Ethnopharmacol, 2020, 261: 113078.
- [36] Brosius FR, Alpers CE, Bottinger EP, et al. Mouse models of diabetic nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2009, 20 (12): 2503–2512.
- [37] Ying C, Wang S, Lu Y, et al. Glucose fluctuation increased mesangial cell apoptosis related to AKT signal pathway[J]. Arch Med Sci, 2019, 15 (3): 730–737.
- [38] Thomas MC, Brownlee M, Susztak K, et al. Diabetic kidney disease[J]. Nat Rev Dis Primers, 2015, (1): 15018.
- [39] 路丽. 2 型糖尿病肾病患者肾小球高滤过对肾功能影响的研究[J]. 中国药物与临床, 2020, 20 (9): 1513–1515.
- [40] Moriya T, Tsuchiya A, Okizaki S, et al. Glomerular hyperfiltration and increased glomerular filtration surface are associated with renal function decline in normo- and microalbuminuric type 2 diabetes[J]. Kidney Int, 2012, 81 (5): 486–493.
- [41] Vallon V, Schroth J, Satriano J, et al. Adenosine A₁ receptors determine glomerular hyperfiltration and the salt paradox in early streptozotocin diabetes mellitus[J]. Nephron Physiol, 2009, 111 (3): 30–38.

(收稿: 2022-07-14 在线: 2023-06-12)

责任编辑: 汤 静