

陈姣姣,陈小真,郁晨,等. 丹酚酸 A 对 ZDF 大鼠肾脏的保护作用和抑制脂蛋白相关磷脂酶 A2 的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(2): 25-31.

Chen JJ, Chen XZ, Yu C, et al. Protective effect of salvianolic acid A on kidney of ZDF rats and inhibition of lipoprotein-associated phospholipase A2[J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(2): 25-31.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019. 02. 005

丹酚酸 A 对 ZDF 大鼠肾脏的保护作用和抑制脂蛋白相关磷脂酶 A2 的研究

陈姣姣,陈小真,郁晨,徐松涛,施佳君,马全鑫,陈民利

(浙江中医药大学动物实验研究中心/比较医学研究中心,杭州 310053)

【摘要】 目的 观察丹酚酸 A (salvianolic acid A, SAA) 对 Zucker 糖尿病肥胖 (zucker diabetic fatty rat, ZDF) 大鼠肾病的保护作用和对脂蛋白相关磷脂酶 A2 (lipoprotein-associated phospholipase A2, Lp-PLA2) 表达的影响。**方法** 取 11~12 周的雄性 ZDF 大鼠 40 只,根据体重与血糖,随机分为模型对照组、SAA 0.25 mg/kg、0.5 mg/kg、1 mg/kg 剂量组和阳性 (25 mg/kg darapladib) 对照组,每组 8 只,另取 8 只同周龄 ZL 大鼠作为正常对照组,各给药组每日给药一次,模型对照组和正常对照组每日给予同体积生理盐水,连续 12 周后,测定 ZDF 大鼠肾微循环血流速度,并检测血清中 Lp-PLA2 活性、尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、肌酐 (creatinine, Crea)、尿中转铁蛋白 (urinary transferrin, TRF)、微量白蛋白 (microalbumin, mALB) 和视黄醇结合蛋白 (retinol binding protein, RBP) 的含量以及肾组织中 Lp-PLA2 mRNA 与蛋白表达,同时进行肾脏组织病理学观察。**结果** 与正常对照组比,模型对照组大鼠出现明显的肾脏病理结构改变和肾微循环血流速度明显降低 ($P<0.01$),而血清 Lp-PLA2 活性、BUN 水平以及尿中 TRF、mALB 和 RBP 均明显升高 ($P<0.01$),并且肾组织中 Lp-PLA2 mRNA 和蛋白表达升高 ($P<0.01$);给予 SAA 和 Lp-PLA2 抑制剂 (darapladib) 后能明显改善上述指标的改变,且 SAA 给药组中以 0.5 mg/kg、1 mg/kg 剂量组改善尤为显著。**结论** SAA 对 ZDF 大鼠肾脏有明显的保护作用,其机制可能与抑制 Lp-PLA2 有关。

【关键词】 丹酚酸 A;ZDF 大鼠;2 型糖尿病肾病;脂蛋白相关磷脂酶 A2 (Lp-PLA2)

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 02-0025-07

Protective effect of salvianolic acid A on kidney of ZDF rats and inhibition of lipoprotein-associated phospholipase A2

CHEN Jiaojiao, CHEN Xiaozhen, YU Chen, XU Songtao, SHI Jiajun, MA Quanxin, CHEN Minli*
(Animal Experimental Research Center/Institute of Comparative Medicine,
Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

【Abstract】 Objective To observe the protective effect of salvianolic acid A (SAA) on nephropathy and the expression of lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) in Zucker diabetes fatty rats (ZDF). **Methods** According to the body weight and blood glucose, 40 male ZDF rats aged 11-12 weeks were randomly divided into five

[基金项目] 浙江省中医药管理局重点项目 (2015ZZ009)。

[作者简介] 陈姣姣 (1993—), 女, 硕士, 研究方向: 实验动物与比较药理, E-mail: CJJ0425@126.com

[通信作者] 陈民利 (1963—), 女, 教授、博导, 研究方向: 实验动物与比较医学, E-mail: cmli991@zcmu.edu.cn

groups ($n=8$ per group), namely, a model group, 0.25, 0.5, and 1 mg/kg SAA groups, and a positive (Lp-PLA2 inhibitor at 25 mg/kg) group. Meanwhile, another eight ZL rats of the same age were used as a normal group. Each drug administration group was given the corresponding drug once a day. Simultaneously, the model group and the normal group were administered normal saline of the same volume daily. After 12 weeks of continuous intervention, the renal microcirculation blood flow of ZDF rats was measured. Lp-PLA2 activity, blood urea nitrogen (BUN), and creatinine (Crea) in serum as well as transferrin (TRF), microalbumin (mALB), and retinol binding protein (RBP) in urine were analyzed. Lp-PLA2 mRNA and protein expression in renal tissue was also examined. Moreover, renal histopathological observation was performed. **Results** Compared with the control group, the pathological structure of the kidney was clearly changed and renal microcirculation blood flow was significantly decreased in the model group ($P<0.01$), whereas serum Lp-PLA2 activity and BUN levels and urinary TRF, mALB, and RBP were all notably increased ($P<0.01$). Moreover, the expression of Lp-PLA2 mRNA and protein in renal tissues was markedly increased ($P<0.01$). The changes of these indicators were dramatically ameliorated after the administration of SAA and Lp-PLA2 inhibitor, especially in the groups with SAA at doses of 0.5 and 1 mg/kg. **Conclusions** SAA can improve the symptoms of DN in type 2 diabetic rats, which may be related to the inhibition of Lp-PLA2 activity and mass.

[Keywords] salvianolic acid A; ZDF rat; Type 2 diabetic nephropathy; Lp-PLA2

糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 是严重危害人民健康的常见病、多发病之一^[1], 糖尿病肾病 (Diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病代谢异常引起的肾小球硬化症, 是 DM 常见的微血管并发症之一, 是导致慢性肾功能衰竭最重要的原因之一, 亦是导致糖尿病患者死亡的主要因素^[2]。目前对 DN 尚无特效的治疗方法, 但中医药在控制 DN 症状及延缓病情发展方面有着极其重要的作用。

丹酚酸 A (SAA) 是丹参有效水溶性成分之一, 具有广泛的药理活性, 如抗炎、抗氧化、抗血小板聚集等^[3-4]。目前已有多项研究表明 SAA 对糖尿病肾病有显著的改善作用^[5-9]。糖脂代谢紊乱、炎症、氧化应激等多种危险因素促进 DN 发生与恶化, 近年来, 有研究发现脂蛋白相关磷脂酶 A2 (Lp-PLA2), 是预测心血管事件的独立危险指标, 也可反应肾脏损伤和动脉硬化的进展^[10]。Lp-PLA2 可通过促进炎症级联反应, 阻断胰岛素受体信号的负反馈回路, 加速 DN 发生与发展^[11]; 而抑制 Lp-PLA2 可降低微血管通透性, 改善糖尿病微血管病变^[12]。本课题组前期研究也发现, SAA 可减缓和改善糖尿病视网膜病变的同时, 可显著降低糖尿病视网膜病变大鼠血清中 Lp-PLA2 的活性^[13]。视网膜病变和糖尿病肾病均为糖尿病微血管并发症, 故而推测 SAA 改善糖尿病肾病的作用机制可能与降低 Lp-PLA2 水平相关。因此, 本实验自发性糖尿病大鼠 Zucker Diabetes Fatty (ZDF) 大鼠作为早期糖尿病肾病模型, 观察 SAA 对 ZDF 大鼠肾脏的保护作用以及对 Lp-PLA2 的调节作用, 为 SAA 的开发应用研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 7~8 周龄雄性 ZDF 大鼠 40 只 (体重 200 ± 10 g) 及同周龄的雄性瘦型 ZL 大鼠 8 只 (体重 170 ± 10 g), 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供 [SCXK(京)2012-001]; 饲养于浙江中医药大学动物实验研究中心屏障实验室 [SYXK(浙)2013-184], 环境温度: $(22\pm 2)^{\circ}\text{C}$, 相对湿度: 50%~60%, 光照: 12 h/12 h 明暗交替, 噪声 <50 dB; 在 IVC 笼内饲养, 自由饮食。经浙江中医药大学实验动物伦理审查委员会通过, 决议编号: ZSLL-2015-72。

1.2 主要试剂与仪器

丹酚酸 A 粉针剂, 由正大青春宝药业有限公司提供; Lp-PLA2 抑制剂: darapladib, 由中国科学院上海药物所提供。BUN、Crea 试剂盒购自上海申能-德赛诊断技术有限公司; 酶联免疫吸附法检测 (ELISA) 试剂盒: TRF、mALB、RBP 购自杭州诚维生物有限公司; Lp-PLA2 活性检测试剂盒, 购自 Abcam 公司; PAS 染色试剂盒, 购自珠海贝索生物技术有限公司; RNA 提取试剂盒 (MiniBEST Universal RNA Extraction Kit)、逆转录试剂盒 (One Step PrimeScript miRNA cDNA Synthesis Kit) 和荧光定量试剂盒 (SYBR Premix TaqTM II), 购自日本 TaKaRa 公司; Lp-PLA2 抗体、羊抗 (二抗), 购自 Abcam 公司。

全自动生化分析仪 (7020, 日立公司, 日本); Thermo 多功能酶标仪 (Varioskan Flash Thermo 公司, 美国); Nana Zoomer 数字切片扫描设备 (2.0 RS, 滨松公司, 日本); 半自动石蜡切片机 (RM2245,

Leica 公司,德国);自动染色机(Autostainer XL, Leica 公司,德国);激光多普勒血流仪(ML191,埃德仪器国际贸易有限公司,澳大利亚);RT-PCR 仪(iQ5 型,Bio-Rad 公司,美国);红外荧光扫描成像系统(CLx,Odysey 公司,美国)。

1.3 实验方法

1.3.1 分组与给药

取 7~8 周龄雄性 ZDF 大鼠 40 只,饲喂 Purina #5008 饲料,饲养 4 周后,根据体重与血糖值,分为 5 组,即模型对照组,SAA 0.25 mg/kg、0.5 mg/kg、1 mg/kg 剂量组和阳性对照组,每组 8 只。另取 8 只同周龄 ZL 大鼠饲喂基础饲料,作为正常对照组。参考马全鑫等^[12]的研究设置 SAA 各剂量组 ZDF 大鼠每日分别尾静脉注射 SAA 0.25 mg/kg、0.5 mg/kg、1 mg/kg,阳性对照组大鼠每天经口灌服 25 mg/kg darapladib,模型对照组和正常对照组每日一次经口灌服 5 mL/kg 生理盐水,连续给药 12 周。

1.3.2 肾功能与肾微循环血液流变学的变化

给药 12 周后,用大鼠代谢笼法收集 24 h 尿液,检测 TRF、mALB、RBP 的含量,另外,各组大鼠禁食不禁水 12 h,尾静脉取血 0.5 mL,分离血清,全自动生化仪检测 Bun、Crea 的含量。随后,各组大鼠经 3%~4%异氟烷诱导麻醉后,将其仰卧位固定于鼠板上,并用 1%~2%异氟烷维持麻醉,按外科手术方法打开腹腔,用激光多普勒血流仪检测双肾表面血流速度。

1.3.3 肾脏组织病理学观察

所有大鼠进行 CO₂ 安乐死后,取肾脏,甲醛固定,脱水,包埋切片,分别行苏木素-伊红(HE)染色与 PAS 染色,观察肾脏组织病理变化。

1.3.4 Lp-PLA2 活性测定

给药前及给药 4、8、12 周时,大鼠禁食不禁水 12 h,尾静脉取血 0.5 mL,分离血清,使用 ELISA 试剂盒检测 Lp-PLA2 活性。

1.3.5 肾组织中 Lp-PLA2 基因和蛋白的表达

取部分肾组织提取总 RNA,反转录成 cDNA,设计 Lp-PLA2 引物(GAPDH: F: 5'-GGCACAGTCAA GGCTGAGAATG-3', R: 5'-ATGCTGCTGAAGACG CCAGTA-3', Lp-PLA2: F: 5'-CTGACGGGACTTTT GTAAGTGG-3', R: 5'-AGCCTTGTGTTGTTGAGGTC TATG-3'),使用 RT-PCR 仪将 cDNA 进行二步法扩增,所有反应信息资料由 Bio-Rad iQ5 PCR 仪收集。

GAPDH 基因作为内参对照,目的基因转录水平通过公式 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算肾组织中 Lp-PLA2 mRNA 表达量。

同时,称取 20 mg 肾脏,加入裂解液进行匀浆处理,高速离心 10 min,取上清至预冷的 1.5 mL 离心管中;按照 5:1 的比例加入变性剂,在加热器上,加热 5 min;按蛋白含量上样,浓缩胶恒压 80 V (20 min),分离胶恒压 200 V,待溴酚蓝移至分离胶底部时,终止电泳。将蛋白转至 NC 膜上,电转 200 mA, 90 min,BSA 封闭 2 h,孵育一抗(1:10000)过夜、孵育二抗(1:10000)1 h,将 NC 膜放至 Odyssey 红外荧光扫描仪上进行扫描,分析蛋白条带,计算灰度值来反映肾组织中 Lp-PLA2 蛋白表达量。

1.4 统计学处理

所有数据采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,用平均值±标准误($\bar{x} \pm s\bar{x}$)表示,单因素方差分析进行多组间数据比较,组间比较采用 LSD 分析,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SAA 对 ZDF 大鼠肾微循环血流及肾功能的影响

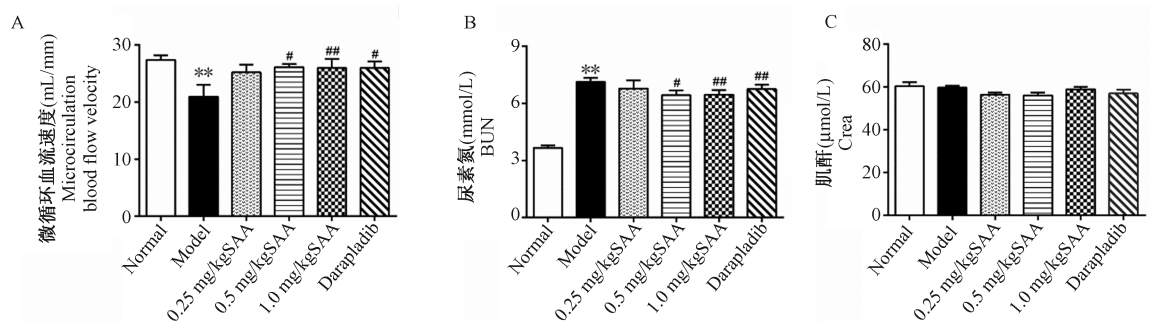
与正常对照组比,模型对照组肾微循环血流速度变慢($P < 0.01$),与模型对照组比,给予 0.5 mg/kg、1 mg/kg 的 SAA 以及 25 mg/kg darapladib 后,均可显著提高微循环血流速度($P < 0.05$, $P < 0.01$)。另外,模型对照组血清 BUN 明显高于正常对照组($P < 0.01$),除 0.25 mg/kg 的 SAA 外,其余各给药组的 BUN 水平均显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),但给药组 Crea 水平均无明显影响($P > 0.05$),见图 1。

2.2 SAA 对 ZDF 大鼠尿中 TRF、mALB、RBP 的影响

模型对照组 ZDF 大鼠尿 TRF、mALB、RBP 水平均显著高于正常对照组($P < 0.01$);与模型对照组比,0.5 mg/kg SAA 组能显著降低尿 TRF 水平($P < 0.05$),1 mg/kg SAA 组能显著降低尿 TRF、mALB、RBP 水平($P < 0.01$),darapladib 组亦能显著降低 TRF 和 RBP 水平($P < 0.05$, $P < 0.01$),见图 2。

2.3 SAA 对肾脏组织病理的影响

HE 染色显示,正常对照组肾小球结构完整,系膜区未见异常,无明显病理变化;模型对照组大鼠肾脏结构紊乱,系膜细胞明显增生、分布弥散,炎性

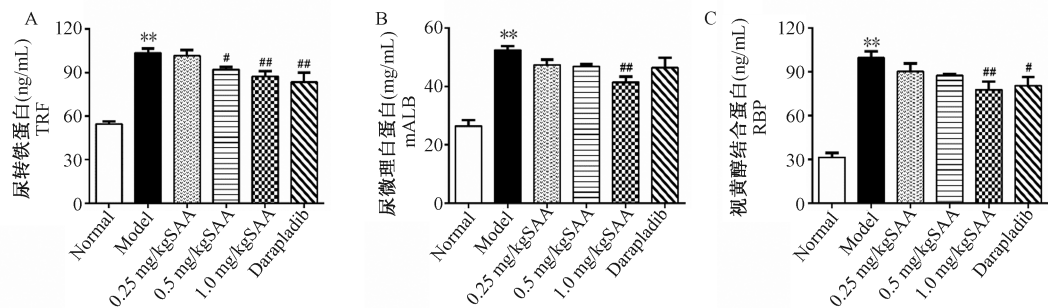


注:A 为微循环血流速度,B 为尿素氮水平,C 为肌酐水平。与正常对照组比,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。与模型对照组比,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

图 1 SAA 对 ZDF 大鼠肾微循环血流及肾功能的影响

Note. A: Microcirculation blood flow velocity, B: BUN level, C: Crea level; Compared with control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$. Compared with model group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$.

Figure 1 Effects of SAA on renal microcirculation blood flow and function in the ZDF rats



注:A 为 TRF 水平,B 为 mALB 水平,C 为 RBP 水平。与正常对照组比,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。与模型对照组比,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

图 2 SAA 对 ZDF 大鼠尿 TRF、mALB、RBP 的影响

Note. A: TRF level, B: mALB level, C: RBP level; Compared with control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$. Compared with model group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$.

Figure 2 Effects of SAA on urine TRF, mALB, and RBP in the ZDF rats

浸润,可见显著性病变;各给药组肾脏组织病理有所改善,见图 3-1;另外,PAS 染色显示,正常对照组糖原沉积较少,着色较淡,结构完整,基底膜与系膜区无明显病变;模型对照组大鼠糖原沉积明显,着色较深,结构不清,肾小球系膜区增大,肾小管基膜增厚;各给药组大鼠结构明显改善,病变减轻,见图 3-2。

2.4 SAA 对 ZDF 大鼠血清 Lp-PLA2 活性的影响

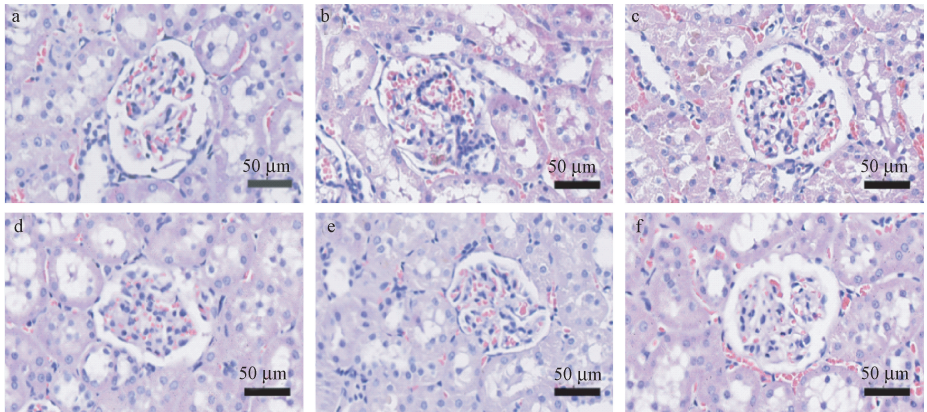
与正常对照组比,模型对照组 Lp-PLA2 活性在给药前及给药后 4、8、12 周时显著升高($P<0.01$);与模型对照组比,给予 0.5 mg/kg 和 1 mg/kg SAA 组和 darapladib 组 Lp-PLA2 活性显著降低($P<0.05$, $P<0.01$),见表 1。

与正常对照组相比,模型对照组 ZDF 大鼠肾组织 Lp-PLA2 mRNA 与蛋白表达水平均显著升高($P<$

0.01);与模型对照组比,各给药组 ZDF 大鼠肾组织 Lp-PLA2 mRNA 表达均显著降低($P<0.05$, $P<0.01$),同时,0.5 mg/kg 和 1 mg/kg SAA 组和 darapladib 组均能显著降低 ZDF 大鼠肾组织 Lp-PLA2 蛋白表达($P<0.01$),见图 4。

3 讨论

ZDF 大鼠是从出现糖尿病表型的 Zucker 大鼠中筛选出来的,是一种自发性 2 型糖尿病大鼠,具有胰岛素抵抗,脂质紊乱、糖耐量异常等特征,在 16 周龄时可出现早期微血管并发症,包括早期肾病、视网膜病变、心肌病变较为突出,脑神经元轻微病变^[14],在其 20 周龄时蛋白排泄和滤过异常,肾功能减退,逐步发展成为 DN^[15]。DN 的临床症状主要有水肿、高血压、持续性蛋白尿,肾脏微循环血流障碍

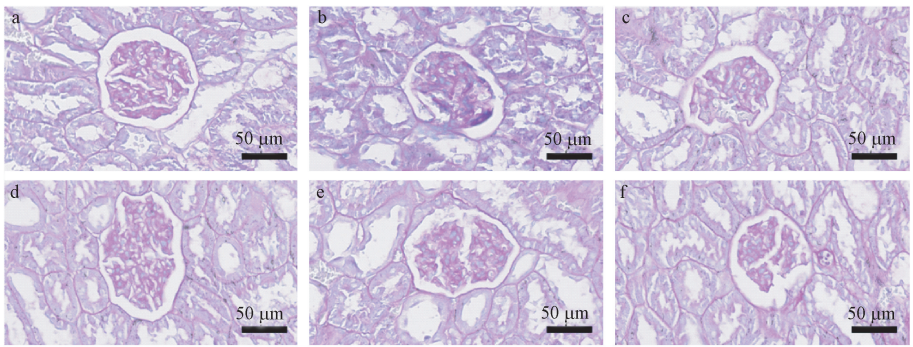


注:a:正常对照组,b:模型对照组,c-e 分别为 0.25 mg/kg、0.5 mg/kg、1 mg/kg SAA 组,f: Darapladib 组。

图 3-1 SAA 对 ZDF 大鼠肾脏组织病理学的影响(HE 染色, ×400)

Note. a: Control group, b: Model group, c-e: 0.25 mg/kg, 0.5 mg/kg, 1 mg/kg SAA group, f: Darapladib group.

Figure 3-1 Effects of SAA on renal pathology in the ZDF rats(HE staining)



注:a:正常对照组,b:模型对照组,c-e 分别为 0.25 mg/kg、0.5 mg/kg、1 mg/kg SAA 组,f: Darapladib 组。

图 3-2 SAA 对 ZDF 大鼠肾脏组织病理学的影响(PAS 染色, ×400)

Note. a: Control group, b: Model group, c-e: 0.25 mg/kg, 0.5 mg/kg, 1 mg/kg SAA group, f: Darapladib group.

Figure 3-2 Effects of SAA on renal pathology in the ZDF rats(PAS staining)

及尿生化指标异常^[16-17]。本实验以 Zucker 瘦型大鼠 ZL 作为正常对照组,研究发现 ZDF 大鼠 23-24 周时也出现肾微循环血流速度显著下降,尿 mALB, TRF 和 RBP 等尿生化指标异常升高,肾小球基底膜增厚、糖原积累等病理学改变,与 DN 临床表现一致,表明 ZDF 大鼠 DN 模型成立。给予 SAA 的 ZDF 大鼠肾脏微循环血流速度增高、尿生化指标水平得到改善,肾小球和肾小管糖原沉积减少,系膜区与基底膜增生、增厚情况均明显减轻,与 Hou 等研究结果一致^[8],提示 SAA 对 DN 具一定的保护作用。

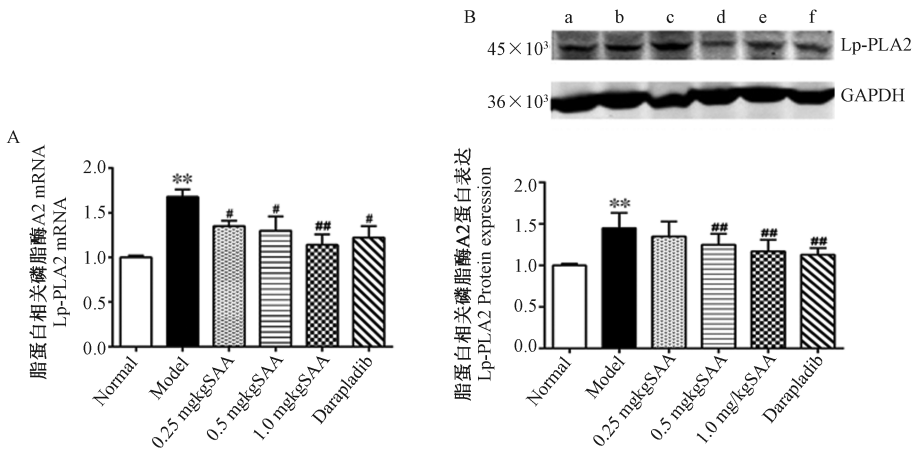
mALB、TRF、RBP 是诊断早期 DN 的独立风险因子^[18],这些尿蛋白指标增高是肾脏发生肾小管损

害、肾小球滤过障碍、血管内皮功能下降的有力证据,可被视为 DN 严重程度的量度。给予 SAA 后能明显降低尿 TRF、mALB 和 RBP 水平,且呈一定的剂量依赖性;同时也发现 SAA 干预后能显著降低血清中 BUN 水平,但对 Crea 无明显影响,这可能与本研究中的 ZDF 大鼠模型还处于 DN 早期阶段,以尿蛋白代谢紊乱为主,表明 SAA 对 ZDF 大鼠早期 DN 的蛋白代谢紊乱具有明显的改善作用;另外也发现给予 darapladib 后并未直接降低尿 mALB 水平,但可抑制尿 TRF、RBP 水平,提示 darapladib 可能通过抗炎作用^[19],间接降低 BUN,从而改善蛋白代谢紊乱,其机理还需进一步研究。

表 1 SAA 对 ZDF 大鼠血清 Lp-PLA2 活性的影响($\bar{x} \pm s\bar{x}, n = 8$)
Table 1 Effects of SAA on serum Lp-PLA2 activity in the ZDF rats

组别 Groups	给药时间(周)(Time of administration, week)			
	0	4	8	12
正常对照组 Control group	4. 87 ±0. 05	4. 62 ±0. 10	4. 87 ±0. 09	4. 96 ±0. 11
模型对照组 Model group	8. 07 ±0. 40 **	12. 00 ±0. 38 **	13. 28 ±0. 44 **	13. 93 ±0. 54 **
0. 25 mg/kg SAA 组 0. 25 mg/kg SAA group	8. 14 ±0. 16	11. 52 ±0. 47	12. 27 ±0. 43	12. 90 ±0. 22
0. 5 mg/kg SAA 组 0. 5 mg/kg SAA group	8. 06 ±0. 49	11. 28 ±0. 28	11. 82 ±0. 28 [#]	11. 75 ±0. 51 ^{##}
1 mg/kg SAA 组 1 mg/kg SAA group	8. 10 ±0. 03	8. 04 ±0. 57 ^{##}	7. 67 ±1. 11 ^{##}	9. 20 ±0. 98 ^{##}
Darapladib 组 25 mg/kg darapladib group	8. 11 ±0. 19	4. 80 ±0. 25 ^{##}	4. 91 ±0. 04 ^{##}	8. 21 ±0. 13 ^{##}

注:与正常对照组比, * $P<0. 05$, ** $P<0. 01$;与模型对照组比, [#] $P<0. 05$, ^{##} $P<0. 01$ 。
Note. Compared with control group, * $P<0. 05$, ** $P<0. 01$, Compared with model group, [#] $P<0. 05$, ^{##} $P<0. 01$.



注:A为 Lp-PLA2 mRNA 表达量,B为 Lp-PLA2 蛋白表达量;图 B 中 a 为正常对照组,b 为模型对照组,c-e 分别为 0. 25 mg/kg、0. 5 mg/kg、1 mg/kg SAA 组,f 为 Darapladib 组;与正常对照组比, * $P<0. 05$, ** $P<0. 01$;与模型对照组比,[#] $P<0. 05$,^{##} $P<0. 01$ 。

图 4 SAA 对 ZDF 大鼠肾组织 Lp-PLA2 表达的影响

Note. A: Lp-PLA2 mRNA expression, B: Lp-PLA2 protein expression; In Fig. B, a: Normal group, b: Model group, c-e: 0. 25 mg/kg, 0. 5 mg/kg, 1 mg/kg SAA group, f: Darapladib group. Compared with control group, * $P<0. 05$, ** $P<0. 01$. Compared with model group, [#] $P<0. 05$,^{##} $P<0. 01$.

Figure 4 Effects of SAA on the renal mRNA and protein expression of Lp-PLA2 in the ZDF rats

Lp-PLA2 是一种炎症性疾病的新颖标记物,可水解氧化低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 中的氧化磷脂,生成溶血磷脂胆碱 (lysophosphatidylcholine, LPC) 和氧化游离脂肪酸 (oxidized free fatty acid, OX-NEFA)^[20-21],二者具有促氧化、促炎等作用,损伤内皮细胞,诱导血管通透性障碍。苗艳等^[22]对 240 名 DN 患者血清 Lp-PLA2 活性进行检测,发现其与尿微量白蛋白含量及 DN 严重程度呈正相关。在本研究中 ZDF 大鼠 DN 模型中的血清 Lp-PLA2 活性上升,肾脏 Lp-PLA2

的基因和蛋白表达显著升高($P<0. 01$),证实了 Lp-PLA2 的活性和在肾脏中表达水平与 DN 的严重程度有关。有研究表明给予 Lp-PLA2 抑制剂可通过降低空腹血糖和胰岛素水平改善胰岛素敏感性,从而在一定程度上修复糖尿病妊娠大鼠的代谢异常^[23]。同样本研究中 Lp-PLA2 抑制剂 (darapladib) 干预 ZDF 大鼠后亦能在一定程度上改善 DN 状态;且 0. 5 mg/kg、1 mg/kg SAA 能明显抑制 ZDF 大鼠血清中 Lp-PLA2 的活性及其在肾脏组织中的表达,这也证实了 SAA 具有抗炎作用,与 Fan 等报道一

致^[24]。由此提示,SAA 可能是通过抑制 Lp-PLA2 的活性,降低机体慢性炎症状态;同时通过抑制 Lp-PLA2 在肾脏中的表达,改善肾小球血管通透性和肾组织局部的炎症微环境,从而起到保护 ZDF 大鼠肾脏的作用。

综上所述,SAA 可改善 2 型糖尿病大鼠肾微循环和尿蛋白代谢紊乱,改善肾组织炎症,减缓 DN 的发展,其机制可能与抑制血清 Lp-PLA2 活性和抑制肾组织中 Lp-PLA2 的表达有关。

参考文献:

- [1] Wang L, Gao P, Zhang M, et al. Prevalence and ethnic pattern of diabetes and prediabetes in China in 2013[J]. JAMA, 2017, 317(24): 2515-2523.
- [2] Donate-Correa J, Martín-Núñez E, Muros-de-Fuentes M, et al. Inflammatory cytokines in diabetic nephropathy[J]. J Diabetes Res, 2015, 23(2): 88-95.
- [3] 张作凯,王学凯,高振芳,等.丹酚酸 A 通过抗炎抗氧化发挥对急性肾损伤大鼠的保护作用[J].烟台大学学报(自然科学与工程版),2017,30(02):124-130.
- [4] Zhang H, Liu Y, Jiang Q, et al. Salvianolic acid a protects RPE cells against oxidative stress through activation of Nrf2/HO-1 signaling[J]. Free Radic Biol Med, 2014, 69(9): 219-228.
- [5] 蔡红蝶. 丹参茎叶对慢性肾功能损伤的改善作用及机制研究[D].南京中医药大学,2017.
- [6] Wu P, Yan Y, Ma L, et al. Effects of the Nrf2 modulator salvianolic acid A alone or combined with metformin on diabetes-associated macrovascular and renal injury[J]. J BiolChem,2016, 115(2):703-712.
- [7] 吴平,阎雨,侯碧玉,等. 丹酚酸 A 增强二甲双胍对糖尿病血管病及肾病的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2015(b11): 180-181.
- [8] Hou B, Qiang G, Zhao Y, et al. Salvianolic acid a protects against diabetic nephropathy through ameliorating glomerular endothelial dysfunction via inhibiting AGE-RAGE signaling[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 44(6): 2378-2394.
- [9] 杨涛涛. 丹酚酸 A 对 STZ-DN 大鼠的治疗作用研究[C].2014 浙江省医学会临床药学会、浙江省中西医结合学会中药分会学术会议论文汇编. 2014;2.
- [10] 陆梦丽,吕礼应.脂蛋白相关磷脂酶 A2 检测方法及其临床应用进展[J].国际检验医学杂志,2018(18):2313-2316.
- [11] Maeda H, Sogawa K, Sakaguchi K, et al. Urinary albumin and transferrin as early diagnostic markers of chronic kidney disease [J]. J Vet Med Sci, 2015, 77(8): 937-943.

- [12] Teng F, Yin Y, Cui Y, et al. Salvianolic acid A inhibits endothelial dysfunction and vascular remodeling in spontaneously hypertensive rats[J]. Life sci, 2016, 144(8): 86-93.
- [13] 马全鑫,陈小真,戎亦骊,等.丹酚酸 A 改善 ZDF 大鼠视网膜病变及其作用机制[J].中国比较医学杂志,2017,27(10):40-46.
- [14] 陈小真,戎亦骊,马全鑫,等.糖尿病 ZDF 大鼠早期微血管并发症的生化指标及病理组织学变化[J].中国比较医学杂志, 2016,26(05):63-70.
- [15] Wang X, DuBois DC, Sukumaran S, et al. Variability in Zucker diabetic fatty rats: differences in disease progression in hyperglycemic and normoglycemic animals[J]. Diabetes Metab Syndr Obes., 2014, 7: 531-541.
- [16] 白静,刘易新,王旭东.糖化白蛋白及相关代谢指标与 2 型糖尿病早期肾功能损害发生的相关性研究[J].中国新药杂志, 2018,27(16):1872-1876.
- [17] 芮旭辉.检测糖尿病肾病患者的肾功能指标在诊断其病情中的临床价值分析[J].当代医药论丛,2018,16(12):47-48.
- [18] Williams ME. Diabetic nephropathy: the proteinuria hypothesis [J]. Am J Nephrol., 2005, 25(2): 77-94.
- [19] Acharya NK, Qi X, Goldwaser EL, et al. Retinal pathology is associated with increased blood-retina barrier permeability in a diabetic and hypercholesterolaemic pig model: Beneficial effects of the LpPLA2 inhibitor Darapladib[J]. Diab Vasc Dis Res, 2017, 14(3): 200-213.
- [20] Wang Y, Li SS, Na SP, et al. Characterization of lipoprotein-associated phospholipase A2 in serum in patients with stage 3-5 chronic kidney disease[J]. Am J Med Sci, 2016, 352(4): 348-353.
- [21] Canning P, Kenny BA, Prise V, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) as a therapeutic target to prevent retinal vasopermeability during diabetes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113(26): 7213-7218.
- [22] 苗艳,阎磊,朱清,等.血清脂蛋白相关磷脂酶 A2 水平对糖尿病肾病患者尿白蛋白排泄率和血肌酐的影响[J].新乡医学院学报,2015,32(06):522-525.
- [23] Wang GH, Jin J, Sun LZ. Effect of lipoprotein-associated phospholipase A2 inhibitor on insulin resistance in streptozotocin-induced diabetic pregnant rats[J]. Endocr J, 2018,65(9): 903-913.
- [24] Fan HY, Yang MY, Qi D, et al. Salvianolic acid A as a multifunctional agent ameliorates doxorubicin-induced nephropathy in rats[J]. Sci Rep,2015, 5: 12273.

[收稿日期] 2018-09-17