

本文引用:崔海鹏,刘玉玲,刘凯,孙晓旭,王途,赵娟,张树峰.泽泻汤加味方对盐敏感性 HBZY21 细胞中 AngII-NADPH-ROS 信号通路的影响[J].湖南中医药大学学报,2019,39(3):331-336.

泽泻汤加味方对盐敏感性 HBZY21 细胞中 AngII-NADPH-ROS 信号通路的影响

崔海鹏,刘玉玲,刘凯,孙晓旭,王途,赵娟,张树峰*
(承德医学院,河北承德 067000)

[摘要] **目的** 探讨泽泻汤加味方对盐敏感性肾小球系膜细胞中 AngII-NADPH-ROS 信号通路的作用机制。**方法** 采用高盐和 AngII 诱导大鼠肾小球系膜细胞的方法建立盐敏感性高血压体外细胞模型,设正常组、模型组、阳性药缬沙坦组、泽泻汤加味方(高、中、低剂量)组。CKK-8 法测定细胞活性;RT-qPCR 方法检测细胞中 Agtr1a、Cyba、NOX4 的 mRNA 表达水平;Western blot 方法检测细胞中 AT1R、P22、P47、NOX4 的蛋白质表达水平;活性氧检测试剂盒检测细胞中 ROS 水平。**结果** 与正常组比较,模型组细胞中 Agtr1a、Cyba、NOX4 的 mRNA 表达水平、AT1R、P22、P47、NOX4 蛋白表达水平以及 ROS 表达水平显著升高 ($P<0.05$)。与模型组比较,缬沙坦组及泽泻汤加味方中剂量组 Agtr1a、Cyba、NOX4 的 mRNA 表达水平、AT1R、P22、P47、NOX4 蛋白表达水平以及 ROS 表达水平显著降低($P<0.05$)。不同浓度泽泻汤加味方组间,中剂量组对 AngII-NADPH-ROS 信号通路的下调作用最为明显。**结论** 泽泻汤加味方对盐敏感性高血压肾损害的保护作用可能与抑制 AngII-NADPH-ROS 信号通路有关。

[关键词] 盐敏感性高血压;肾损伤;泽泻汤;血管紧张素 II;AngII-NADPH-ROS 信号通路

[中图分类号]R285.5 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2019.03.010

Impact of Modified Zexie Decoction on the AngII-NADPH-ROS Signaling Pathway in Salt-Sensitive HBZY21 cells

CUI Haipeng, LIU Yuling, LIU Kai, SUN Xiaoxu, WANG Tu, ZHAO Juan, ZHANG Shufeng*
(Chengde Medical College, Chengde, Hebei 067000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of modified Zexie Decoction on the angiotensin II (AngII)-NADPH-reactive oxygen species (ROS) signaling pathway in salt-sensitive glomerular mesangial cells. **Methods** An in vitro cell model of salt-sensitive hypertension was established by inducing rat glomerular mesangial cells with high salt and AngII. Cells were divided into normal group, model group, positive valsartan group, and high-, medium-, and low-dose modified Zexie Decoction groups. CKK-8 assay was used to determine the cell viability. RT-PCR was used to determine the mRNA expression levels of Agtr1a, Cyba, and NOX4. Western blot was used to determine the protein expression levels of AT1R, P22, P47, and NOX4 in cells. The ROS levels in cells were measured by a ROS assay kit. **Results** Compared with the normal group, the model group had significantly higher mRNA levels of Agtr1a, Cyba, NOX4, protein levels of AT1R, P22, P47, and NOX4, and ROS levels ($P<0.05$). Compared with the model group, the valsartan group and the medium-dose modified Zexie Decoction group had significantly lower mRNA levels of Agtr1a, Cyba, and NOX4, protein levels of AT1R, P22, P47, and NOX4, and ROS levels ($P<0.05$). Among the

[收稿日期]2018-10-31

[基金项目]河北省高等学校科学技术研究项目(ZD2015126);河北省教育厅优秀青年基金项目(YQ2013005);河北省青年拔尖人才项目(冀组字[2016]9号);河北省高校重点学科建设项目资助(冀教高[2013]4号)。

[作者简介]崔海鹏,男,讲师,硕士,研究方向:中药临床应用基础研究。

[通讯作者]*张树峰,男,教授,博士研究生导师,E-mail:cdyxyzsf@163.com。

three modified Zexie Decoction groups, the medium-dose group had the greatest downregulation of the AngII-NADPH-ROS signaling pathway. **Conclusion** The protective effect of modified Zexie Decoction against renal injury induced by salt-sensitive hypertension might relate to the inhibition of the AngII-NADPH-ROS signaling pathway.

[**Keywords**] salt-sensitive hypertension; renal injury; Zexie Decoction; angiotension II; AngII-NADPH-ROS signaling pathway

盐敏感性高血压作为最常见的继发性高血压,严重威胁人类健康^[1]。肾素-血管紧张素-醛固酮系统(renin angiotensin aldosterone system, RAAS)相关的信号通路转导分子(AngII-NADPH-ROS 信号通路)异常被认为是盐敏感性高血压发生的重要机制之一^[2-4]。越来越多的研究表明,中医药治疗盐敏感性高血压,具有独特优势^[5-6],前期研究证实,泽泻汤加味方在临床治疗盐敏感性高血压效果明显^[7],动物实验表明,泽泻汤加味方对高盐高血压大鼠肾脏有明显的保护作用^[8-9]。然而缺少运用科学实验方法对泽泻汤加味方治疗盐敏感性高血压作用及机制的实验研究。本文以盐敏感性高血压细胞模型作为研究对象,初步研究了泽泻汤加味方对 RAAS 相关信号通路 AngII-NADPH-ROS 信号通路的影响,为进一步将泽泻汤加味方研发成高效、安全的治疗盐敏感性高血压的新型降压药物提供可靠的实验依据。

1 材料

1.1 药物

泽泻汤加味方:泽泻(批号 0171422112)、白术(批号 160180101)、泽兰(批号 512150401)、石菖蒲(批号 170630),由承德医药集团有限责任公司提供;缬沙坦胶囊(批号 X0796)购于北京诺华制药有限公司。

1.2 细胞株

大鼠肾小球系膜细胞株:HBZY21(武汉大学中国典型培养物保藏中心)。

1.3 主要试剂

DMEM-H(美国 Hyclone 公司);胎牛血清(美国 Sigma 公司);Trizol 裂解液、RIPA 裂解液、Bradford 蛋白浓度测定试剂盒、超敏 ECL 化学发光试剂盒、活性氧检测试剂盒(碧云天生物技术有限公司);TIANScrip cDNA 第一链合成试剂盒、SuperReal PreMix SYBR Green 荧光定量检测试剂盒(天根生化科技有限公司);兔抗大鼠 AT1R、P22、NOX4(Ab-

cam 公司);P47 (Santa 公司);兔抗大鼠 β -actin 抗体、HRP 标记山羊抗兔二抗(Bioworld 公司)。PCR 引物(大连宝生物工程有限公司合成),引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列(5'-3')	引物长度(bp)
Agr1a	上游引物: CCCACTCAAGCCTGTCTACGAA	22
	下游引物: GTGTGCTTTGAACCTGTCACTCC	23
Cyba	上游引物: CATGTGGCCAAACGAACAG	19
	下游引物: GTACTCCAGCAGACAGATGAGCA	23
NOX4	上游引物: ACTGGTGAAGATTTGCCTGGAAG	23
	下游引物: CACAGTATAGGCACAAAAGTCCAGA	25
β -actin	上游引物: CAGGCATTGCTGACAGGATG	20
	下游引物: TGCTGATCCACATCTGCTGG	20

1.4 主要仪器

T100 RT-qPCR 仪、Mini-PROTEAN Tetra 小型垂直电泳仪、半干转膜仪、多功能荧光酶标仪均购于美国 Bio-Rad 公司。

2 方法

2.1 药物制备

泽泻汤加味方:泽泻 21 g,白术 9 g,泽兰 15 g,石菖蒲 15 g 按比例配备,加 8 倍体积超纯水浸泡 4 h,煎煮 1 h,过滤取滤液,药渣中再加 6 倍体积超纯水,煎煮 1 h,过滤取滤液,将 2 次滤液合并,浓缩制成 60 g/L 水煎剂,保存于 -20 °C 冰箱中备用。

2.2 盐敏感性高血压细胞模型建立

复苏 HBZY21 细胞,用加有 10%胎牛血清、1%青链霉素的 DMEM-H 培养基,置于 37 °C、5%CO₂ 培养箱培养。待细胞长至培养皿 80%开始传代,取第 5~9 代细胞对数生长期的细胞接种于 6 孔板内培养,采用 NaCl 137 mmol/L 和 AngII10⁻⁶ mmol/L 刺激 HBZY21 细胞 24 h,设模型组、缬沙坦(1 μ mol/L)组、泽泻汤加味方高(2 mg/L)、中(1 mg/L)、低(0.5 mg/L)剂量组,分别干预处理 24 h,另设正常肾小球细胞作为对照。收集细胞,分别提取总 RNA 及

蛋白质,以备后续实验。

2.3 细胞活力检测

采用 CCK-8 法,取对数增长期的细胞,按 1×10^5 个/mL 密度接种于 96 孔板内,每组设 5 个复孔,加入含 NaCl 137 mmol/L 和 AngII 10^{-6} mmol/L 培养基内培养 24 h,分为空白(无细胞)对照组,模型组,不同浓度的泽泻汤加味方组:0.2、0.5、1、2、3、5 mg/L,置于 37°C 、5%CO₂ 培养箱中培养 24 h,每孔加入 10 μL 的 5 g/L 的 CKK-8 液,置于培养箱内孵育 1~2 h,于酶标仪 460 nm 波长处测定各孔 OD 值。

细胞活力=(泽泻汤加味方组 OD 值-空白对照组 OD 值)/(模型组 OD 值-空白对照组 OD 值) $\times 100\%$ 。

2.4 RT-qPCR 法检测 mRNA 的表达

根据细胞活力实验设定泽泻汤加味方高(2 mg/L)、中(1 mg/L)、低(0.5 mg/L)剂量组,另设模型组、缬沙坦(1 $\mu\text{mol/L}$)组,各组均采用 NaCl 137 mmol/L 和 AngII 10^{-6} mol/L 刺激 HBZY21 细胞 24 h,再分别给药处理 24 h。收集正常组和各处理组细胞,分别提取总 RNA 及蛋白质,以备后续实验。Trizol 法提取各组细胞总 RNA,紫外分光光度计进行定量,TIANScript cDNA 第一链合成试剂盒合成 cDNA,SuperReal PreMix SYBR Green 荧光定量检测试剂盒分别检测 Agtr1a、Cyba、NOX4、 β -actin mRNA 的 ct 值,扩增条件: 94°C 5 min; 94°C 30 s, 60°C 34 s,40 个循环;做溶解曲线。以各目的基因 ct 值与 β -actin mRNA 的 ct 值的差值为 Δct ,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{ct}}$ 法计算各基因 mRNA 的相对表达水平。

2.5 Western blot 法检测蛋白质的表达

RIPA 裂解液处理提取各组细胞的总蛋白,Bradford 蛋白浓度测定试剂盒进行蛋白定量。45 μg 蛋白于 SDS-PAGE 12%分离胶分离并转膜,常温封闭 1 h,AT1R (1:800)、P47 (1:100)、P22 (1:500)、P47(1:100)、NOX4(1:2 000)、 β -actin(1:10 000)一抗 4°C 孵育过夜,洗膜后,加入 HRP 标记山羊抗兔二抗、兔抗小鼠二抗(1:5 000),常温孵育 1 h,洗膜后用超敏 ECL 化学发光试剂盒显影。各蛋白目的条带灰度值与 β -actin 条带灰度值的比值作为各蛋白质的相对表达水平。

2.6 活性氧检测试剂盒检测 ROS 的表达水平

取对数增长期的细胞,按 1×10^5 个/mL 密度接

种于 96 孔板内,每组设 5 个复孔,加入含 NaCl 137 mmol/L 和 AngII 10^{-6} mmol/L 培养基内培养 24 h,设模型组、缬沙坦(1 $\mu\text{mol/L}$)组、泽泻汤加味方中药高(2 mg/L)、中(1 mg/L)、低(0.5 mg/L)剂量组,分别干预处理 24 h,另设分为空白(无细胞)对照组,正常肾小球细胞作为对照。去除培养液,每孔加入荧光探针 DCFH-DA10 $\mu\text{mol/L}$, 37°C 孵育 20 min,用无血清的无酚红培养基洗涤细胞 3 次,加入无酚红培养基后于荧光酶标仪下检测各孔 OD 值,激发波长 488 nm,发射波长 525 nm。以正常组 OD 值与空白对照组 OD 值之间的差值的平均值并归一后作为正常组 ROS 表达水平,其他各组

ROS 相对表达水平=(实验组 OD 值-空白对照组 OD 值)/(正常组 OD 值-空白对照组 OD 值)。

2.7 统计学分析

采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析,数据以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,各组间数据两两比较采用单因素方差分析检验。

3 结果

3.1 泽泻汤加味方对盐敏感性高血压细胞活力的影响

与模型组相比,0.2 mg/L 泽泻汤加味方显著提高了细胞活力($P < 0.05$);而 0.5、1、2 mg/L 泽泻汤加味方不同程度地降低了细胞存活率($P < 0.05$),1 mg/L 泽泻汤加味方抑制细胞增殖作用最明显;此外,3、5 mg/L 泽泻汤加味方对细胞存活率无显著影响。见表 2。

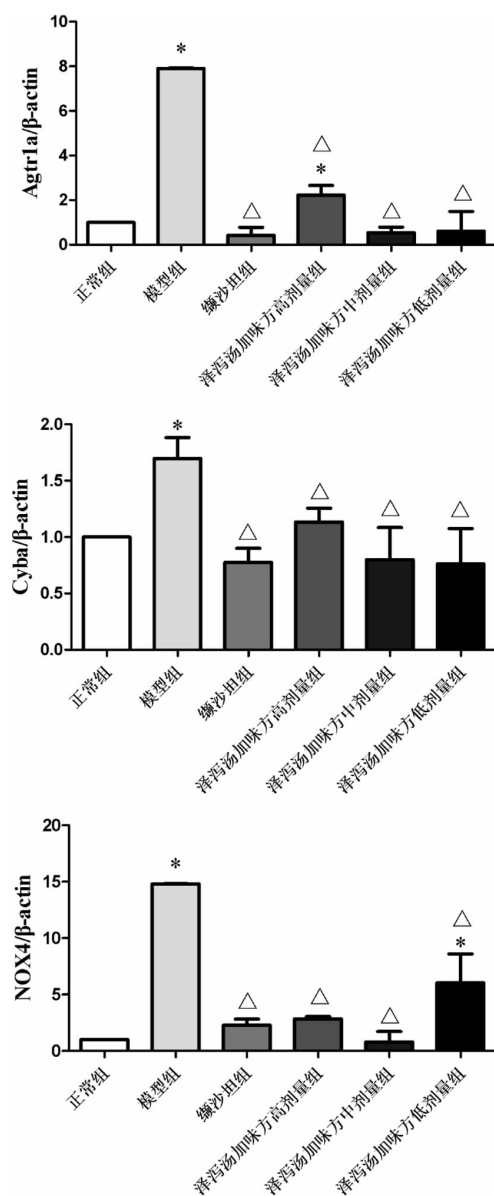
表 2 不同浓度泽泻汤加味方对肾小球系膜细胞活性的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	浓度/(mg·L ⁻¹)	OD 值	细胞活力/%
空白对照组	0	0.24 \pm 0.00	
模型组	0	1.76 \pm 0.02	100.00
泽泻汤加味方组	0.2	2.30 \pm 0.26	134.97 \pm 15.49*
	0.5	1.33 \pm 0.08	71.71 \pm 5.67*
	1.0	1.24 \pm 0.03	65.51 \pm 3.20*
	2.0	1.29 \pm 0.03	69.02 \pm 1.48*
	3.0	1.74 \pm 0.07	99.05 \pm 4.71
	5.0	1.80 \pm 0.12	102.54 \pm 8.39

注:与模型组比较,* $P < 0.05$

3.2 泽泻汤加味方对各组细胞 Agtr1a、Cyba、NOX4 mRNA 表达的影响

RT-qPCR 结果显示,与正常组比较,模型组、泽泻汤加味方高剂量组细胞中 Agtr1a 的 mRNA 表达水平显著升高 ($P<0.05$),模型组细胞中 Cyba 的 mRNA 表达水平显著升高 ($P<0.05$),模型组、泽泻汤加味方低剂量组细胞中 NOX4 的 mRNA 表达水平显著升高 ($P<0.05$)。与模型组比较,缬沙坦组及泽泻汤加味方高、中、低剂量组 Agtr1a、Cyba、NOX4 的 mRNA 表达水平显著降低 ($P<0.05$)。各剂量泽泻汤加味方组中,泽泻汤加味方中剂量组 Agtr1a、Cyba、NOX4 的 mRNA 表达水平最接近正常组水平,组间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见图 1。



注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,△ $P<0.05$

图1 各组细胞中 Agtr1a、Cyba、NOX4 mRNA 的表达水平比较

3.3 泽泻汤加味方对各组细胞 AT1R、P22、P47、NOX4 蛋白表达的影响

Western blot 结果显示,与正常组比较,模型组细胞中 AT1R、P22、P47、NOX4 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$),泽泻汤加味方高、低剂量组细胞中 AT1R、P47、NOX4 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$),泽泻汤加味方低剂量组细胞中 P22 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$)。与模型组比较,缬沙坦组及泽泻汤加味方中剂量组 AT1R、P22、P47、NOX4 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$),泽泻汤加味方高剂量组细胞中 AT1R、P22、NOX4 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$),泽泻汤加味方低剂量组细胞中 AT1R 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$)。各剂量泽泻汤加味方组间,泽泻汤加味方中剂量组对 AngII-NADPH-ROS 信号通路相关蛋白的下调作用最为明显。见图 2。

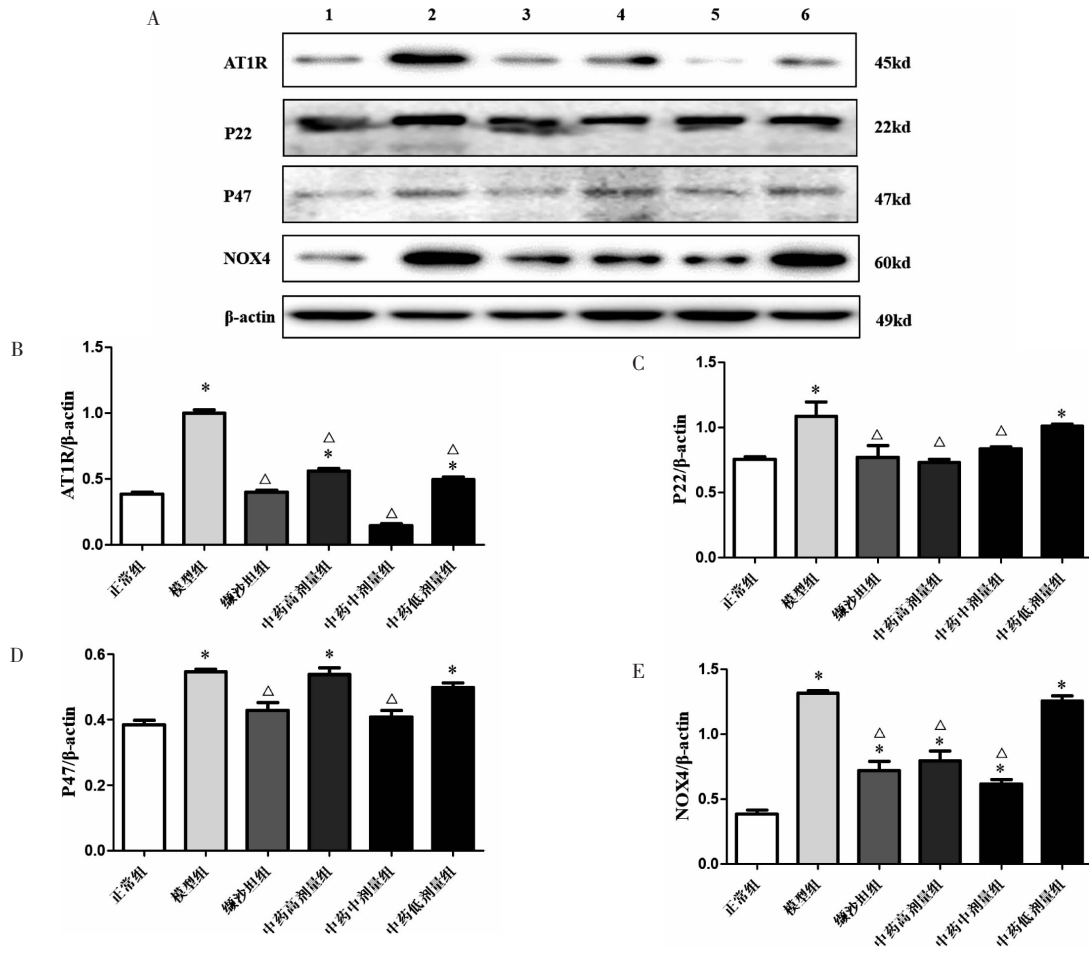
3.4 泽泻汤加味方对各组细胞中 ROS 表达的影响

ROS 检测结果显示,与正常组比较,模型组、泽泻汤加味方高剂量组、低剂量组细胞中 ROS 的相对表达水平显著升高 ($P<0.05$)。与模型组比较,缬沙坦组及各泽泻汤加味方给药组细胞中 ROS 的相对表达水平显著降低 ($P<0.05$),其中泽泻汤加味方中剂量组 ROS 的相对表达水平接近正常组水平,组间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 3。

4 讨论

中国 60% 的高血压患者属于“盐敏感性高血压”,即机体摄入高盐大大超过肾脏的排盐能力范围继而血压随之升高,是造成我国盐敏感性高血压发病率明显增高的主要原因^[1],韩运峰等^[10]发现在感觉神经损伤性盐敏感性高血压大鼠中,RAAS 不完全受抑制,提示该模型的形成与 RAAS 中 AngII-NADPH-ROS 信号通路异常激活有关。

血管紧张素 II (angiotensin II, AngII) 是 RAAS 中最重要效应因子。正常情况下,AngII 通过与其受体 AT1R 结合,使交感神经末梢释放递质增多来维持体液稳态,起到正常调节血压作用。然而在各种致病因素的损害下,使这种体液稳态被破坏,则可导致盐敏感性高血压的发生^[11-12]。故本研究采用高盐和 AngII 作为致病因素来破坏 HBZY21 大鼠肾小球系膜细胞的体外生存稳态,在体外水平模拟盐敏感



注:1.正常组;2.模型组;3.缬沙坦组;4.泽泻汤加味方高剂量组;5.泽泻汤加味方中剂量组;6.泽泻汤加味方低剂量组;与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

图 2 各组细胞中 AT1R、P22、P47、NOX4 蛋白的表达水平比较

表 3 泽泻汤加味方对肾小球系膜细胞 ROS 表达水平的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	OD 值	ROS 相对表达水平
空白对照组	0.11±0.00	
正常组	1.17±0.05	1
模型组	2.94±0.10	2.67±0.07*
缬沙坦组	1.35±0.09	1.17±0.05 Δ
泽泻汤加味方高剂量组	1.45±0.10	1.27±0.07* Δ
泽泻汤加味方中剂量组	1.37±0.03	1.19±0.07 Δ
泽泻汤加味方低剂量组	1.57±0.05	1.37±0.03* Δ

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

性高血压模型。实验结果发现,模型组细胞中 Agtr1a 的 mRNA 以及其翻译的 AT1R 蛋白表达水平较正常组显著升高,表明高盐和 AngII 的共同刺激可促进 AT1R 的表达,AngII 进入细胞与其受体 AT1R 的结合在细胞中发挥关键作用。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase, NADPH)氧化酶是一个由 NADPH

氧化酶 NOX4、催化亚基 p22 和调节亚基 p47 等组成的多亚基复合体,在细胞内,AngII 可与 AT1R 结合促进 NADPH 释放电子到细胞膜外与氧分子结合生成活性氧物质(reactive oxygen species, ROS)^[13]。在病理状态下,ROS 的过表达可引起盐敏感性高血压患者氧化应激反应增强,促进肾小球系膜细胞的增殖,肾小管血管内皮功能障碍或损伤,血管壁中膜肥厚,纤维化及炎症反应,加剧肾损害^[14-15]。本实验结果发现,盐敏感性高血压细胞内 NOX4 的 mRNA 表达水平以及 P47、NOX4 蛋白表达水平显著升高,说明 AngII-NADPH-ROS 信号通路的活化在盐敏感性高血压细胞中发挥关键作用。

缬沙坦可阻断 AngII 与其受体 AT1R 结合,抑制 AngII-NADPH-ROS 信号通路的活化^[16],最终达到治疗盐敏感性高血压的目的。本实验结果也证明缬沙坦可显著抑制盐敏感性高血压细胞中 AngII-NADPH-ROS 信号通路的活性。但长期服用缬沙坦

等药物,患者会出现头痛、头晕、病毒感染、上呼吸道感染、咳嗽、腹泻、疲劳、鼻炎、背痛、恶心、咽炎及关节痛等副作用,对患者机体造成新的损害^[7]。中药则具有药性温和、不良反应少等特点。本研究采用的中药泽泻汤加味方在临床治疗盐敏感性高血压效果明显^[7],然而其具体治疗作用的分子机制研究较少。

泽泻汤加味方是在汉·张仲景《金匱要略》泽泻汤(泽泻、白术)的基础上,结合高血压病程中普遍存在的水浊内结、痰湿阻滞、瘀血阻络的研究成果,加用活血、祛痰、开窍的泽兰、石菖蒲组成。有研究表明,泽泻汤加味方可下调高盐高血压肾损害大鼠肾皮质中 AT1R、AT2R 的 mRNA 表达水平^[18]。本研究中发现,采用 0.5、1、2 mg/L 的泽泻汤加味方可显著抑制盐敏感性高血压细胞的活性力。同时,进一步的分子机制研究发现,泽泻汤加味方中剂量组(1 mg/L)较模型组细胞中 Agtr1a、Cyba、NOX4 的 mRNA 及 AT1R、P21、P47、NOX4 的蛋白表达水平显著降低,其细胞内的 ROS 的活性显著降低。由此表明泽泻汤加味方中剂量组对 AngII-NADPH-ROS 信号通路的下调作用最为明显。

综上所述,泽泻汤加味方可下调盐敏感性高血压细胞中 AngII-NADPH-ROS 信号通路的活化水平。我们推断其作用机制,可能是通过占据缬沙坦 AT1R 结合部位,阻断 AngII 与其受体结合,抑制 AngII-NADPH-ROS 信号通路有关的信号转导分子表达,进而起到治疗高血压的作用。而其具体作用机制有待于进一步证实。

参考文献

[1] 中国高血压防治指南修订委员会. 中国高血压防治指南 2010[J]. 中华高血压杂志,2011,19(8):707-743.

[2] 王 丽,卢成志,张 欣,等.经皮肾脏交感神经射频消融术对顽固性高血压患者肾素血管紧张系统的影响[J].中华心血管病杂志,2013,41(1):3-7.

[3] VON LUEDER T G, KRUM H. RAAS inhibitors and cardiovascular protection in large scale trials[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2013, 27(2):171-179.

[4] PRAJAPATI H, MCCALLUM A, FINLAY E. Hypertension, secondary to a renal artery aneurysm, treated by ex vivo aneurysm repair

and autotransplantation[J]. *BMJ Case Reports*, 2012,19(6): 1725-1726.

[5] 曾 勇,张 稳,叶舒婷,等.中西药物对高血压炎症反应干预作用的研究进展[J].*中西医结合心脑血管病杂志*,2014;12(1):85-87.

[6] 王 超,孙 磊,王振滔,等.联合中药对高血压治疗的研究进展[J].*吉林医药学院学报*,2018,39(4):290-292.

[7] 范洪亮,张树峰,张连和,等.泽泻汤加味方治疗高血压 80 例降压效果临床观察[J].*中国心脏与心律电子杂志*,2016,4(1):3-6.

[8] 张婷婷,蒋希成,吴鑫宇,等.泽泻汤加味方对高盐条件下 Dahl 大鼠高血压调节及肾功能的保护作用[J].*中医药信息*,2017,34(3): 44-46.

[9] 何红梅,梅爱敏,田河林,等.泽泻汤加味方对高盐诱导大鼠高血压肾功能损害的保护作用[J].*山东医药*,2017,57(17):31-33.

[10] 韩达峰,苏诚坚,区碧如.非洛地平缓释片及缬沙坦对感觉神经损伤性盐敏感性高血压大鼠的降压作用及其机制探讨[J].*中华心血管病杂志*,2005,33(3):255-259.

[11] WOLAK T, ALIEV E, ROGACHEV B, et al. Renal safety and angiogenesis II blockade medications in patients undergoing non-emergent coronary angiography: a randomized controlled study[J]. *Israel Medical Association Journal*, 2013,5(11): 682-687.

[12] TUCKER S, CHEN Y, ABELL R. In patients with chronic diabetic nephropathy, do angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEI) have greater renal protective effect as compared to angiotensin receptor blockers(ARB)[J]. *J Okla State Med Assoc*, 2013,106(7): 294-295.

[13] KUSHIRO T, FUJITA H, HISAKI R, et al. Oxidative stress in the Dahl salt-sensitive hypertensive rat[J]. *Clinical and Experimental Hypertension*, 2005,27(1):9-15.

[14] LIU L, WU X, XU H, et al. Myocardin-related transcription factor A (MRTF-A) contributes to acute kidney injury by regulating macrophage ROS production[J]. *Biochim et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2018, 1864(10):3109-3121.

[15] 简怡娟,程锦国,董飞侠.NOX 通过 ROS 介导促肾纤维化作用[J].*中国医师杂志*,2015,17(7):1108-1110.

[16] ARDIANA F, SUCIATI, INDRAYANTO G. Valsartan[J]. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*, 2015,40: 431-493.

[17] 冯 柏,王 屏,宁 彰.缬沙坦致不良反应 74 例文献分析[J].*中国新药杂志*,2010,19(12):1094-1096.

[18] 陈景彦,陈炳宏,范洪亮,等.泽泻汤加味方对高盐高血压肾损害大鼠 AT1R、AT2R mRNA 表达的影响[J].*中医杂志*,2016,57(5): 428-430.

(本文编辑 苏 维)