

四甲基尿酸对镉致小鼠肾脏损伤的保护作用

龚频¹, 杨倩¹, 何蓉蓉², 马逢乐¹, 陈福欣³

(1. 陕西科技大学食品与生物工程学院, 陕西西安 710021)

(2. 暨南大学中药及天然药物研究所, 广东广州 510632) (3. 西安科技大学化学与化工学院, 陕西西安 710054)

摘要: 本文主要研究了镉对小鼠肾脏的损伤程度及不同剂量条件下的四甲基尿酸对肾脏的保护作用效果。实验中采用对小鼠腹腔注射氯化镉建立氧化损伤肾脏组织模型。雄性昆明小鼠50只, 随机分为空白组、损伤组、及低、中、高不同剂量保护组, 共五组, 每组十只。空白组和模型组灌胃等体积生理盐水, 保护组依次用10 mg/kg、20 mg/kg、40 mg/kg的四甲基尿酸混悬液进行灌胃, 连续处理14 d后, 颈椎脱臼法处死, 取出肾脏组织, 检测肾脏内脂质过氧化(MDA)、蛋白羰基化(PCO)、一氧化氮(NO)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、以及谷胱甘肽(GSH)的含量, 观察肾病理变化。结果表明, 与空白组相比, 模型组肾脏组织中MDA、PCO、NO含量显著升高($p<0.01$), 分别为空白组的1.89倍、3.32倍、1.64倍, 而SOD、CAT、GSH活性显著降低($p<0.01$), 分别为空白组的76.25%、77.12%、45.61%。与模型组相比, 保护组均不同程度降低了肾脏组织中MDA、PCO、NO含量, 提高了SOD、CAT、以及GSH活性, 降低肾脏损伤的程度, 病理切片显示, 中剂量四甲基尿酸保护肾脏损伤效果最佳。由结果可知, 四甲基尿酸对镉致小鼠肾脏损伤程度起到一定的保护作用, 能有效降低肾脏氧化损伤程度并维持酶与抗氧化酶的平衡状态, 其机制可能与抗氧化有关。

关键词: 肾脏; 镉; 四甲基尿酸; 氧化损伤

文章编号: 1673-9078(2019)11-1-6

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.11.001

Protective Effect of Theacrine on Cadmium-induced Mice Kidney Damage

GONG Pin¹, YANG Qian¹, HE Rong-rong², MA Feng-le¹, CHEN Fu-xin³

(1.School of Food and Biological Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

(2.Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

(3.School of Chemistry and Chemical Engineering, Xi'an University of Science and Technology, Xi'an 710054, China)

Abstract: The degree of cadmium damage to kidney in mice and the protective effect of theacrine on kidney under different doses were studied. In the research, the model of oxidative damage of kidney tissue in mice was established by intraperitoneal injection of cadmium chloride. Fifty male Kunming mice were randomly divided into blank group, injury group and low, medium and high dose protection group, with 10 mice in each group. The blank group and model group were given normal saline of equal volume by gastric perfusion, in the protective group were given theacrine suspension of 10 mg/kg, 20 mg/kg, 40 mg/kg by gastric perfusion. After 14 days of treatment, cervical dislocation was performed and kidney tissues were taken out. The contents of lipid peroxidation (MDA), protein carbonylation (PCO), nitric oxide (NO), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), and glutathione (GSH) in the kidney were detected. The pathological changes of nephropathy were observed. The results showed that compared with the blank group, the contents of MDA, PCO and NO in the kidney tissue of the model group increased significantly ($p<0.01$), which were 1.89, 3.32 and 1.64 times content of the blank group respectively, while the activities of SOD, CAT and GSH decreased significantly ($p<0.01$), only 76.25%, 77.12% and 45.61% of the blank group respectively. Compared with the model group, the protective group reduced the contents of MDA, PCO and NO, increased SOD, CAT and GSH activities, and reduced the degree of kidney injury. Pathological sections showed that middle dose of theacrine had the best protective effect on kidney injury. The results showed that theacrine had protective effect on cadmium-induced renal injury in mice. It can effectively reduce the degree of oxidative damage and maintain the balance between enzymes and antioxidant enzymes. The mechanism may be related to antioxidant activity.

Key words: kidney; cadmium; theacrine; oxidative damage

收稿日期: 2019-06-13

基金项目: 陕西省科技厅一般项目-农业领域 (2017NY-1030); 陕西省科技厅一般项目-农业领域, 农业部农产品加工重点实验室开放基金 (2017KF-07); 陕西省缺血性心血管疾病重点实验室开放基金 (2016ZDKF-05)

作者简介: 龚频 (1983-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 药理生理

通讯作者: 何蓉蓉 (1983-), 女, 教授, 研究方向: 药理学, 中医药

镉作为一种具有强烈毒性的重金属^[1,2],很多国际机构将其列入环境监测的主要有害物质。可由工业生产产生并通过空气传播进入人体内,短期内会导致慢性镉中毒,而长期的体内蓄积会对器官造成损伤严重时会影响人类生命安全,其中以镉损伤的肾脏较为明显。有研究表明,镉进入机体后会产生活性氧自由基,增强氧化应激反应的可能性进而对机体造成氧化损伤^[3,4]。因此,研究镉对肾脏损伤及治疗手段是十分有意义的,目前有研究表明,大豆异黄酮因抗炎抗氧化独特性对保护糖尿病肾病大鼠的肾脏中氧化应激及炎症反应表现出显著作用^[5]。同时,茶多糖也可明显改善糖尿病肾病小鼠发病过程中的生化指标,这可能与其SOD升高,降低MDA含量以及调节氧化-抗氧化系统平衡有关^[6]。

目前,有研究发现云南苦茶类有较好的降火、消炎利尿、清热解毒及增强免疫力的功能,能明显降低高血症患者的血清总胆固醇、甘油三酯等,对高血压、高血脂及糖尿病有明显的防治作用。结合相关研究表明,四甲基尿酸作为云南苦茶中提取物的有效成分,是一种嘌呤生物碱四甲基尿酸具有抗抑郁、镇静催眠、抗炎止痛的药理作用,其结构式如图1所示^[7];进一步研究机制发现,四甲基尿酸可明显降低大鼠血液和肾脏组织中丙二醛的含量,并提高其自由基吸收容量^[8]。通过研究发现四甲基尿酸也可作为一种对抗体内的自由基、保护肾脏组织的重要物质,大鼠长期口服苦茶碱单体能够抵抗大鼠镉染毒产生的氧化损伤^[9],而氧化应激对镉诱导的肾脏损伤有明显的毒性机制^[10-13],但对于其研究国内外鲜有报道。因此本实验通过构建镉诱导的小鼠肾脏损伤模型,来研究四甲基尿酸对镉致肾脏的氧化损伤的保护作用,为四甲基尿酸开发成为重金属镉中毒防治药物提供一定的数据支持和理论依据。

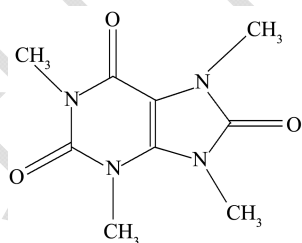


图1 1,3,7,9-四甲基尿酸化学结构式

Fig.1 Chemical structure of 1,3,7,9-theacrine

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

雄性昆明小鼠、饲料,体质量为 25 ± 5 g, SPF级,

购自第四军医大学实验动物中心,许可证号:SCXK(陕)2012-003;1,3,7,9-四甲基尿酸(theacrine),试剂购于苏州嘉叶生物有限公司(纯度 $\geq 98\%$);氯化镉(CdCl_2),购自天津市福晨化学试剂厂;硫代巴比妥酸(TBA)、N-1-萘乙二胺盐酸、5,5'-二巯代-2-硝基苯甲酸、2,4-二硝基苯肼(DNPH)、钼酸铵,均购自Alfa Aesar公司;考马斯亮蓝G-250,购于瑞士阿达玛斯公司;其余试剂均为分析纯。

752型紫外分光光度计,上海光谱仪器有限公司;HH-2数显恒温水浴锅,国华电器有限公司;7230G可见分光光度计;78-1磁力加热搅拌器,国华电器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物建模

清洁级雄性昆明小鼠50只,随机将小鼠分成5组,分别为空白组、镉损伤组、四甲基尿酸3个浓度梯度的保护组,分别标记为K、S、A、B、C,每组10只,分别编号为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10,本研究过程中对实验用鼠的喂养及后期一系列操作均符合伦理会的管理规定。

1.2.2 实验分组

实验前适应性喂养3 d,自由取食饮水,适应期后分别为:①空白组:腹腔注射生理盐水并给予生理盐水灌胃;②镉损伤组:腹腔注射 CdCl_2 水溶液(2 mg/kg)并灌胃生理盐水;③低剂量保护组:分别腹腔注射 CdCl_2 (2 mg/kg)和灌胃四甲基尿酸混悬液(10 mg/kg);④中剂量保护组:分别腹腔注射 CdCl_2 (2 mg/kg)和灌胃四甲基尿酸混悬液(20 mg/kg);⑤高剂量保护组:分别腹腔注射 CdCl_2 (2 mg/kg)和灌胃四甲基尿酸混悬液(40 mg/kg)。连续喂养14 d,末次注射后禁食12 h后,颈椎脱臼法处死,取出肾脏组织,于 -80°C 冰箱保存。

1.2.3 指标测定

称取肾脏样品0.1 g用 $\text{pH}=7.4$ 的磷酸缓冲溶液制备成10%的组织匀浆,考马斯亮蓝法^[14]测定蛋白,硫代巴比妥酸法^[15]测肾脏丙二醛(MDA)含量,2,4-二硝基苯肼(DNPH)法测定肾脏蛋白羰基化程度(PCO),Griess法来测定一氧化氮(NO)含量,联苯三酚自氧化法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性,钼酸铵显色法测定过氧化氢酶(CAT)活性,DTNB(5,5'-二巯代-2-硝基苯甲酸)法测量还原型谷胱甘肽(GSH)。

1.2.4 肾脏组织病理观察

另取测定氧化损伤指标后保存的剩余组织,生理

盐水冲洗后用10%甲醛固定,依次用从小到大不同浓度的乙醇溶液进行洗脱,浸蜡后用石蜡包埋并切片,切片厚度为5 μm ,脱蜡后用苏木精-曙红(HE)染色进行处理,在光学显微镜下进行观察。

1.3 统计学分析

所有的实验数据都以 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 来表示,平均值用单向方差分析法(one-way analysis of variance, ANOVA)和相应Student's t-test进行统计学分析, $p < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 镉的毒性对氧化指标MDA含量的影响

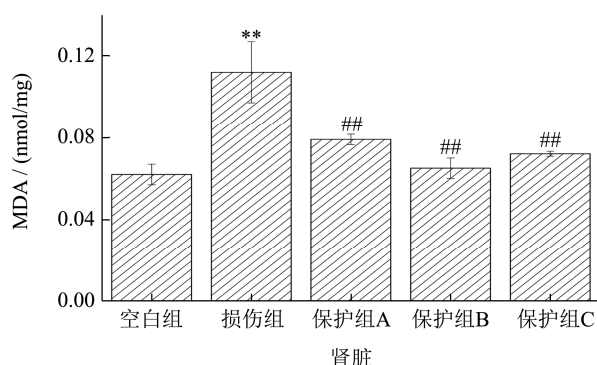


图2 镉诱导小鼠肾脏损伤的脂质过氧化程度

Fig.2 Degree of MDA in cadmium-induced kidney injury mice

注: **: 与空白组相比差异显著, $p < 0.01$; ##: 与损伤组相比差异显著, $p < 0.01$ 。

由图2可以看出,与空白组相比,损伤组体内MDA含量明显升高了0.05 nmol/mg ($p < 0.01$),在灌胃不同浓度的四甲基尿素后,均能够缓解体内MDA含量的升高($p < 0.01$),当浓度为20 mg/kg时,MDA的含量降低了45.28%,保护作用最为显著($p < 0.01$),这证明了镉的毒性可以诱发肾脏的脂质过氧化反应,使肾脏受到损伤,而四甲基尿酸可以减少小鼠体内的脂质过氧化程度,降低小鼠体内MDA含量,减少肾脏的损伤[16]。

2.2 镉的毒性对氧化指标PCO含量的影响

如图3所示,与空白组相比,损伤组肾脏组织中PCO含量升高了3.21 nmol/mg ($p < 0.01$),在进行四甲基尿酸保护之后,低、中、高剂量组PCO含量分别降低了0.99 nmol/mg、0.15 nmol/mg、0.89 nmol/mg ($p < 0.01$),说明四甲基尿酸对小鼠肾脏有保护作用,小鼠肾脏损伤后体内加重蛋白羰基化水平,反应组织处于氧化应激状态,也使蛋白质的功能发生紊乱。试

验表明,镉导致小鼠体内PCO程度增加,蛋白质功能出现紊乱[17,18],细胞膜的结构与功能遭到破坏,对肾脏造成损伤。而四甲基尿酸可减弱PCO程度,对肾脏起到一定的保护作用。

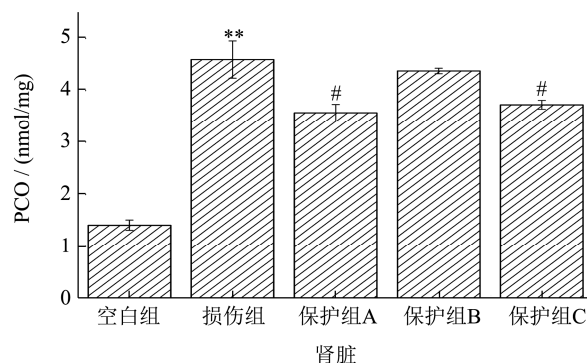


图3 镉诱导小鼠肾脏损伤蛋白羰基化程度

Fig.3 Degree of PCO in cadmium-induced kidney injury mice

注: **: 与空白组相比差异显著, $p < 0.01$; #: 与损伤组相比差异显著, $p < 0.05$ 。

2.3 镉的毒性对氧化指标NO含量的影响

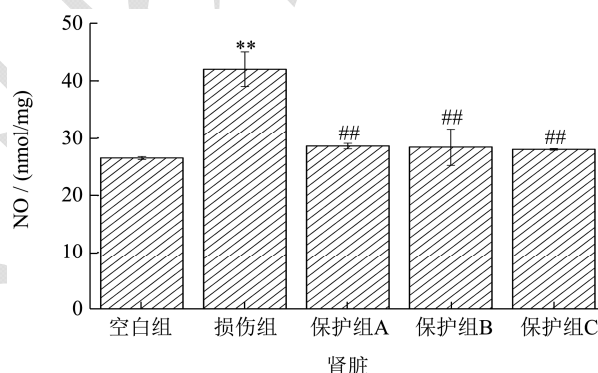


图4 镉诱导小鼠肾脏损伤的一氧化氮含量

Fig.4 Content of NO in cadmium-induced kidney injury mice

注: **: 与空白组相比差异显著, $p < 0.01$; ##: 与损伤组相比差异显著, $p < 0.01$ 。

如图4所示,与空白组相比,损伤组小鼠肾脏中NO含量升高了15.51 nmol/mg,给予不同浓度的四甲基尿酸后,保护组NO含量显著降低($p < 0.01$),其含量约为损伤组的59.63%。诱导性一氧化氮合酶参与体内NO的合成,当机体发生氧化应激时iNOS的表达量增加,生成过量的NO,引起脂质过氧化,试验结果表明,镉导致NO数量急剧增加[19,20],对组织和细胞造成伤害,而小鼠给予四甲基尿酸保护后NO含量显著下降,减少了脂质过氧化物对肾脏的伤害。

2.4 镉的毒性对抗氧化酶CAT的影响及四甲基尿酸的保护作用

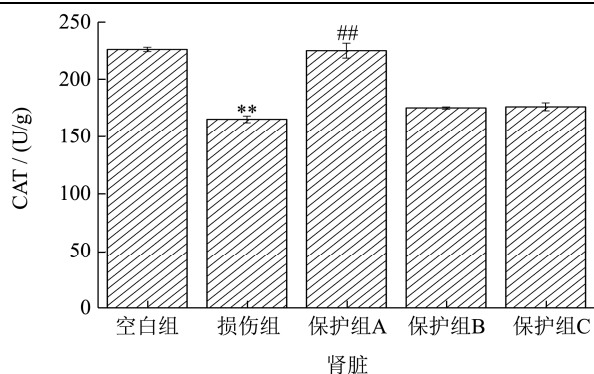


图5 镉诱导小鼠肾脏损伤过氧化氢酶活性水平

Fig.5 Activity of CAT in cadmium-induced kidney injury mice

注: **: 与空白组相比差异显著, $p < 0.01$; ##: 与损伤组相比差异显著, $p < 0.01$ 。

由图5可以看出,与空白组相比,损伤组肾脏组织中CAT含量降低了55.52 U/g,与模型组相比,灌胃不同浓度的四甲基尿酸后,当四甲基尿酸浓度为10 mg/kg时,肾脏中CAT含量升高了52.16 U/g ($p < 0.01$),中、高剂量保护组也有CAT含量降低趋势,但差异不明显。在镉致肾脏损伤模型中, H_2O_2 可能是组织损伤的重要介质,试验表明,镉导致小鼠肾脏中可能含有大量暴露的 H_2O_2 ,导致CAT活性降低,肾脏的抗氧化能力减弱^[21],产生的有害物质对小鼠肾脏造成损伤,小鼠给予四甲基尿酸保护后,保护组CAT活性较损伤组增加,在一定程度上对肾脏有保护作用。

2.5 镉的毒性对抗氧化酶SOD的影响及四甲

基尿酸的保护作用

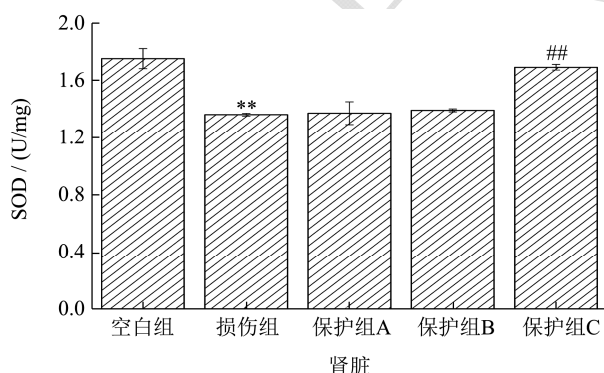


图6 镉诱导小鼠肾脏损伤超氧化物歧化酶活性水平

Fig.6 Activity of SOD in cadmium-induced kidney injury mice

注: **: 与空白组相比差异显著, $p < 0.01$; ##: 与损伤组相比差异显著, $p < 0.01$ 。

由图6可知当注射 $CdCl_2$ 后,与空白组相比,损伤组肾脏中的SOD含量降低了0.39 U/mg,与模型组相比,低、中、高剂量组分别升高了0.02 U/mg、0.03 U/mg ($p < 0.05$)、0.39 U/mg ($p < 0.01$),组织中SOD活力

的降低会使脂质过氧化反应增强。试验表明,镉导致小鼠肾脏SOD活性降低,氧自由基大量形成,脂质过氧化反应增强,对肾脏造成损伤^[22],而给予四甲基尿酸保护后,抑制了镉引起的SOD活性降低,提高镉损伤模型小鼠的肾脏抗氧化能力,减少了肾脏受到的损伤。

2.6 镉的毒性对抗氧化酶GSH的影响及四甲

基尿酸的保护作用

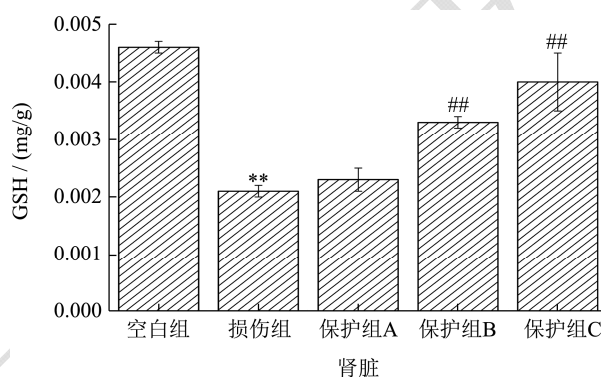


图7 镉诱导小鼠肾脏损伤谷胱甘肽程度

Fig.7 Degree of GSH in cadmium-induced kidney injury mice

注: **: 与空白组相比差异显著, $p < 0.01$; ##: 与损伤组相比差异显著, $p < 0.01$ 。

由图7可以看出,与空白组相比,损伤组肾脏中GSH含量降低了0.0026 mg/g,与模型组相比,给予四甲基尿酸保护后,低剂量组GSH含量升高了0.00025 mg/g,中剂量组GSH含量升高了0.0012 mg/g ($p < 0.01$)、高剂量组GSH含量升高了0.0017 mg/g ($p < 0.01$),当浓度为40 mg/kg时,保护作用最为显著 ($p < 0.01$),试验表明,镉导致小鼠体内GSH减少,无法有效清除体内自由基,大量聚集的自由基导致GSH下降,过量的自由基对肾脏造成氧化损伤,加入四甲基尿酸保护之后,保护组GSH活性较损伤组增加,GSH可直接通过供 H^+ 拮抗氧自由基毒性,清除体内的超氧离子及其他自由基,减少了对肾脏的损伤程度。

2.7 小鼠肾组织病理观察

由图8的肾组织形态学HE染色切片可见,空白组(K)小鼠肾脏组织结构完整,肾小球及肾小管结构清晰、形态正常并无异常病理表现。与空白组相比,损伤组(S)肾组织出现明显病变,可见部分出现肾小球萎缩和肾间质水肿,且肾小管扩张并模糊不清,内细胞数量增多,内皮细胞及系膜细胞增生,并有大量炎症细胞浸润等明显肾炎症状,肾脏出现明显损伤现象;而给予不同剂量四甲基尿酸保护后,保护组(A、

B、C) 肾组织病变均不同程度得到减轻, 肾小球结构基本恢复正常, 肾组织水肿、肾小管损伤等症状均得到缓解, 其中中剂量保护组肾小球结构与空白组最为接近, 肾小球体积大大减小, 内细胞减少, 无内容物渗出, 说明其对镉致小鼠肾损伤的防护效果最显著。由此表明, 保护组四甲基尿酸均可不同程度地减轻镉损伤造成的肾小球和肾小管细胞压力, 降低肾脏的氧化损伤程度。

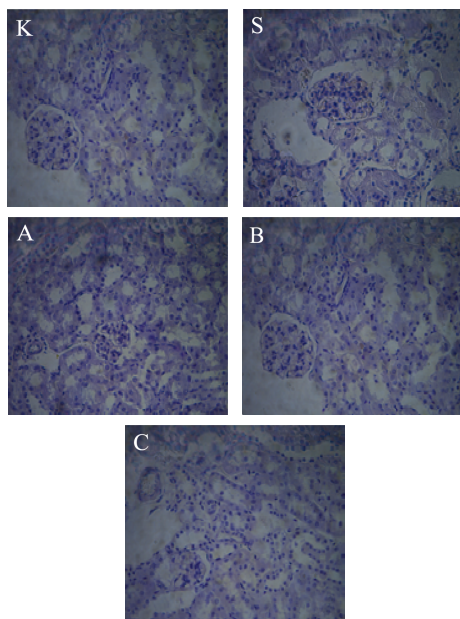


图8 小鼠肾组织病理图 (HE, 200x)

Fig.8 The pathology picture of mice kidney tissue (HE, 200x)

注: K: 空白组; S: 损伤组; A~C: 四甲基尿酸低、中、高剂量保护组。

3 结论

3.1 综上所述, 与空白组相比, 模型组肾脏组织中MDA、PCO、NO分别含量升高了0.05 nmol/mg, 3.21 nmol/mg, 15.51 nmol/mg, SOD、CAT、GSH含量降低了0.39 U/mg, 55.52 U/mg, 0.0026 mg/g ($p < 0.01$)。与模型组相比, 各剂量保护组均可降低肾脏组织中MDA、PCO、NO含量, 升高SOD、CAT、以及GSH含量。结合现今研究, 镉在小鼠肾脏内大量聚积时, 肾脏内产生大量的NO等自由基^[23], 当自由基数量达到一定程度时, 抗氧化系统功能受到抑制, 机体发生氧化损伤, 导致脂质过氧化反应, 产生MDA。大量聚积的镉还对核酸和蛋白质等生物大分子造成破坏, 氧化蛋白质 (PCO), 影响抗氧化酶活性, 导致肾脏内氧化平衡失调, 引起肾脏功能障碍^[24]。作为生物体内的重要抗氧化酶CAT和SOD, 对于清除机体内的活性氧和保护抗氧化体系有显著作用; 而GSH的含量是衡量细胞氧化至还原状态的一个重要指标, 降低机体过

氧化物及脂质过氧化物产物, 增强抗氧化酶活性, 改善机体的抗氧化状态。实验结果表明, 四甲基尿酸能增强抗氧化酶SOD和CAT的活性, 拮抗机体的氧化压力, 减少NO的生成等。最终通过抗氧化以及抗炎作用协同保护肾脏。通过四甲基尿酸能够降低MDA、PCO、NO的含量, 提高SOD、CAT的活性, 减少镉引起的GSH消耗作用, 进一步阐明了镉致肾脏氧化损伤的作用机制, 也为云南苦茶及四甲基尿酸的开发提供了一定的理论依据。

3.2 与咖啡碱相比, 四甲基尿酸的结构中多了一个甲基, 使其具有抗抑郁、镇痛抗炎的作用, 可减少炎症因子的发生, 促进与氧化物结合而保护脂质化合物不被氧化, 氧化后释放出的 H^+ 也能阻碍自由基的链式反应进行, 从而具有清除自由基的作用。徐军^[25]等研究也表明了四甲基尿酸之所以能明显减少甘油三酯蓄积, 改善脂肪变性状态, 可能是其通过抑制活性氧簇生成以及阻止相关磷酸化反应而实现。李伟欣^[26]等研究还发现其可通过抑制血清中氧化酶的表达, 降低小鼠的肝脏肥大指数, 减轻氧化应激反应而引起的肝脏损伤, 使得SOD和CAT含量降低, 减缓肝脏炎症细胞的发生以及局部坏死程度; 而我们的研究还表明了四甲基尿酸可通过调节体内氧化及抗氧化指标, 来平衡氧化压力, 从而对肾脏起到一定的保护效果。

3.3 本实验通过建立镉致小鼠肾脏损伤模型, 以研究MDA、PCO、NO、SOD、CAT、GSH等氧化及抗氧化指标为对象, 结合四甲基尿酸的抗氧化能力, 来研究不同剂量条件下四甲基尿酸对肾脏损伤的保护作用。实验结果表明: 镉诱导是导致小鼠肾脏损伤的主要原因, 四甲基尿酸对肾脏起到一定的保护作用是由于它能够通过清除体内过多自由基来减少氧化压力, 但因其作用机制较复杂, 还需进一步的研究。

参考文献

- [1] Hartwig A. Cadmium and cancer [J]. Metal Ions in Life Sciences, 2013, 11: 491-507
- [2] 张人俊, 马萍, 嵇辛勤, 等. 重金属镉的毒性研究进展[J]. 贵州畜牧兽医, 2016, 40(4): 27-33
ZHANG Ren-jun, MA Ping, JI Xin-qin, et al. Research progress on toxicity of heavy metal cadmium [J]. Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2016, 40(4): 27-33
- [3] Edwards J R, Prozialeck W C. Cadmium, diabetes and chronic kidney disease [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2009, 238(3): 289-293
- [4] Stohs S J, Bagchi D, Hassoun E, et al. Oxidative mechanism

- in the toxicity of chromium and cadmium ions [J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol, 2000, 19 (3): 201-213
- [5] 周雪,李贲,李志红,等.大豆异黄酮保护糖尿病肾病大鼠肾脏炎症及氧化应激损伤的研究[J].解剖学研究,2019,41(2): 107-109,118
- ZHOU Xue, LI Ben, LI Zhi-hong, et al. Study on the protection effect of soy isoflavones in kidney inflammation and oxidative stress in rats with diabetic nephropathy [J]. Anatomy Research, 2019, 41(2): 107-109, 118
- [6] 王玲,吴秋枫.茶多酚通过 TRB-3/AKT 信号通路改善大鼠糖尿病肾病的分子机制[J].现代中西医结合杂志,2017, 26(34):3766-3770
- WANG Ling, WU Qiu-feng. Molecular mechanism of tea polyphenols in improving diabetic nephropathy in rats through TRB-3/AKT signaling pathway [J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2017, 26(34): 3766-3770
- [7] 宋晓虹,王园园,叶创兴,等.苦茶碱的制药应用:中国, CN101543498[P], 2009,9,06
- SONG Xiao-hong, WANG Yuan-yuan, YE Chuang-xing, et al. Pharmaceutical application of bitter theophylline: China, CN101543498 [P], 2009, 9, 06
- [8] 井娟,王庆伟,胡聪,等.1,3,7,9-四甲基尿酸的研究进展[J].中国药师,2016,19(2):344-346
- JING Juan, WANG Qing-wei, HU Cong, et al. Research progress of 1,3,7,9-tetramethyl uric acid [J]. China Pharmacist, 2016, 19(2): 344-346
- [9] 张娟萍,张喜凤.镉污染对人体危害的初探[J].价值工程, 2013,32(25):282-283
- ZHANG Juan-ping, ZHANG Xi-feng. Study on the harm of cadmium pollution to human body [J]. Value Engineering, 2013, 32(25): 282-283
- [10] Xu J, Zhang W, Kurihara H, et al. Theacrine, a special purine alkaloid from *Cammelia assamica* var. kucha, prolongs pentobarbital induced-sleep time of mice exposed to acute and chronic restraint stresses [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2009, 25: 334-334
- [11] 沈莉敏,吴晨光.氧化应激及其介导的细胞凋亡在糖尿病肾病中的作用[J].医学研究生学报,2008,11:1222-1225
- SHEN Li-min, WU Cheng-guang. The role of oxidative stress and its mediated apoptosis in diabetic nephropathy [J]. Journal of Medical Postgraduate, 2008, 11: 1222-1225
- [12] 杨望,赵先英,张定林,等.镉的毒性及损伤机制研究进展[J].职业与健康,2013,29(8):1001-1003
- YANG Wang, ZHAO Xian-ying, ZHANG Ding-lin, et al. Research progress in toxicity and damage mechanism of cadmium [J]. Occupation and Health, 2013, 29(8): 1001-1003
- [13] 杨林燕,李英.抗氧化应激对糖尿病肾病肾脏损害的保护作用[J].中国中西医结合杂志,2016,17(6):554-556
- YANG Lin-yan, LI Ying. Protective effects of anti-oxidative stress on renal damage in diabetic nephropathy [J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2016, 17(6): 554-556
- [14] 蒋大程,高珊,高海伦,等.考马斯亮蓝法测定蛋白质含量中的细节问题[J].实验科学与技术,2018,16(4):143-147
- JIANG Da-cheng, GAO Shan, GAO Hai-lun, et al. Detailed problems in determination of protein content by coomassie brilliant blue method [J]. Experiment Science and Technology, 2018, 16(4): 143-147
- [15] 张琪,方虹霞,张慧丽,等.硫代巴比妥酸多晶型的太赫兹光谱和 DFT 理论分析[J].光谱学与光谱分析,2017,37(12): 3677-3682
- ZHANG Qi, FANG Hong-xia, ZHANG Hui-li, et al. The terahertz spectroscopy and DFT theoretical analysis of thiobarbituric acid polymorphs [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2017, 37(12): 3677-3682
- [16] 龚频,文和,王兰,等.咖啡酸苯乙酯对糖尿病大鼠肾的保护作用[J].中国临床药理学杂志,2016,32(11):1021-1023,1030
- GONG Pin, WEN He, WANG Lan, et al. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on kidney of diabetic rats [J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2016, 32(11): 1021-1023, 1030
- [17] 王钦文,戴新新,项想,等.丹酚酸和丹参酮干预糖尿病肾病的分子机制研究进展[J/OL].药学报:1-8[2019-06-10]. <https://doi.org/10.16438/j.0513-4870.2018-1044>
- WANG Qin-wen, DAI Xin-xin, XIANG Xiang, et al. Advances in the molecular mechanism of salvianolic acid and tanshinone in the intervention of diabetic nephropathy [J/OL]. Pharmaceutical Journal: 1-8[2019-06-10]. <https://doi.org/10.16438/j.0513-4870.2018-1044>
- [18] 孙平,彤雪,李廷恩,等.氧化应激诱导的糖尿病肾病的中医药研究进展(综述)[J].安徽卫生职业技术学院学报,2019, 18(1):20-22
- SUN Ping, TONG Xue, LI Ting-en, et al. Research progress of traditional Chinese medicine in oxidative stress-induced diabetic nephropathy: Review [J]. Journal of Anhui Health Vocational and Technical College, 2019, 18(1): 20-22

(下转第 24 页)