

硫辛酸合成酶在 *Lepr^{db/db}* 小鼠肝肾中的表达

彭强, 赵英政, 闫婷婷, 翟晓楠, 张旭旭, 易宪文, 张合喜*, 徐光翠*

(新乡医学院公共卫生学院, 河南 新乡 453003)

【摘要】 目的 检测瘦素受体缺陷的 *Lepr^{db/db}* 小鼠体内肝、肾中硫辛酸合成酶(LIAS)的表达。方法 分别选取10周龄 *Lepr^{db/+}* 与 *Lepr^{db/db}* 雄性小鼠各8只,禁食8 h后,测量两组小鼠体重及空腹血糖(FPG);用乙醚麻醉动物,经腹主动脉采血,处死动物,取肝、肾并称量。取肝右叶和左肾经4%多聚甲醛固定,进行肝、肾组织病理学检查。分离血清,用试剂盒检测血清中CHO、TG、HDL、LDL含量。应用线粒体分离试剂盒分离肝、肾组织线粒体,提取总蛋白,采用western blot方法检测LIAS蛋白的表达。**结果** 组织病理观察,发现 *Lepr^{db/+}* 小鼠肝肾结构完整,而 *Lepr^{db/db}* 小鼠肝细胞出现脂肪变性,肾小球肥大,基底膜增厚,系膜区增宽;与 *Lepr^{db/+}* 小鼠比较, *Lepr^{db/db}* 小鼠体重、GLU、CHO、TG、LDL及AST明显增高,差异有显著性($P < 0.05$);与 *Lepr^{db/+}* 小鼠比较, *Lepr^{db/db}* 小鼠肝肾线粒体内LIAS蛋白表达量均增高,差异有显著性($P < 0.05$)。**结论** 瘦素受体缺陷的 *Lepr^{db/db}* 小鼠存在糖脂代谢紊乱、肝肾细胞损伤、肝肾组织线粒体LIAS蛋白的表达增高。

【关键词】 *Lepr^{db/db}* 小鼠;硫辛酸;肝;肾;瘦素

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2018) 02-0145-05

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.02.002

Effect of leptin on expression of lipoic acid synthase in the liver and kidney of *Lepr^{db/db}* mice

PENG Qiang, ZHAO Yingzheng, YAN Tingting, ZHAI Xiaonan, ZHANG Xuxu, YI Xianwen, Zhang Hexi*, XU Guangcui*

(Department of Public Health, Xinxiang Medical University, Xinxiang, He'nan 453003, China)

Corresponding author: XU Guangcui. E-mail: xuge166@163.com; ZHANG Hexi. E-mail: hexichang@xxmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To study the expression of lipoic acid synthase (LIAS) in the liver and kidney of *Lepr^{db/db}* mice with deficient leptin receptor. **Methods** Eight 10-week old male *Lepr^{db/+}* mice and *Lepr^{db/db}* mice were included in this study. The body weight of rats in the two groups was measured. Fasting blood glucose (FPG) was measured with blood glucose test strips for all mice after fasting for 8 hours. Blood samples were obtained from the abdominal aorta and the animals were sacrificed. The liver and kidney were weighed. The right lobe of liver and the left kidney samples were fixed in 4% paraformaldehyde for pathological examination. Serum samples were separated and the serum contents of CHO, TG, HDL and LDL were detected. The mitochondria of liver and kidney tissues were extracted with a mitochondrial isolation kit, and the protein was extracted. The expression of LIAS protein was detected by western blot. **Results** Histopathological observation showed that the liver and kidney tissues of *Lepr^{db/+}* mice have intact and clear structure. But the liver tissue of *Lepr^{db/db}* mice showed fatty degeneration, the kidney tissue showed glomerular hypertrophy, basement membrane thickening, mesangial area widened, including mesangial cells and mesangial matrix increased. The GLU,

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(No. 81370916);国家自然科学基金青年基金(No. 81703183);河南省科技厅科技攻关项目(No. 182102310078)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (No. 81370916), funded by the National Natural Science Foundation of China (No. 81703183), Funded by Scientific and technological research project of Henan provincial science and Technology Department(182102310078)。

【作者简介】 彭强(1985—), 硕士生, 主要从事遗传毒理学研究。E-mail: 376584559@qq.com

【通信作者】 徐光翠(1977—), 副教授, 主要从事环境遗传毒理学研究。E-mail: xuge166@163.com; 张合喜(1957—), 教授, 主要从事环境毒理学研究。E-mail: hexichang@xxmu.edu.cn

CHO, TG, LDL and AST of *Lepr^{db/db}* mice were significantly increased compared with those of *Lepr^{db/+}* mice ($P < 0.05$). Compared with *Lepr^{db/+}* mice, the LIAS protein expression was significantly increased in the liver and kidney mitochondria of *Lepr^{db/db}* mice ($P < 0.05$). **Conclusions** There is impaired glucose and lipid metabolism in the *Lepr^{db/db}* mice which has defect leptin receptor, and the expression of LIAS protein in liver and kidney of the *Lepr^{db/db}* mice is higher than that of *Lepr^{db/+}* mice.

[Key words] *Lepr^{db/db}* mice; lipoic acid; liver; kidney; leptin

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

肥胖和糖尿病严重威胁人类健康,2016 年的一项研究显示我国肥胖人口数全球第一,18 岁及以上成年人中糖尿病患病率高达 11.6%^[1-2]。瘦素受体缺陷的 *Lepr^{db/db}* 小鼠由于阻断了其瘦素信号通路,使食物摄入量增加,产热量下降,导致小鼠肥胖,其发病过程与人类的 2 型糖尿病的发生过程类似^[3]。硫辛酸(lipoic acid)是一种强抗氧化剂,临床上已用于防治糖尿病周围神经病变。硫辛酸是在线粒体内由硫辛酸合成酶(lipoic acid synthase, LIAS)合成,其作用与硫辛酸合成酶的表达密切相关。目前关于瘦素和硫辛酸合成酶的作用关系还不清楚,*Lepr^{db/db}* 小鼠体内 LIAS 蛋白表达的研究尚未见报道。本实验通过检测 *Lepr^{db/db}* 小鼠糖脂代谢相关指标及肝、肾中 LIAS 蛋白的表达,探讨阻断瘦素信号通路导致的小鼠糖脂代谢紊乱是否与 LIAS 蛋白的表达量相关,为明确硫辛酸在调控糖脂代谢中的作用机理,探索肥胖和糖尿病的防治新策略提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级 *Lepr^{db/+}* 及 *Lepr^{db/db}* 小鼠来自 Jackson 实验室(北卡罗来纳大学易宪文教授赠送)。动物饲养于 SPF 级动物房【SYXK(豫)2014-0005】,自由摄食(上海斯莱康 SPF 级小鼠专用饲料)和饮水,室温 20~25℃,相对湿度 60%~70%,昼夜明暗交替时间 12 h/12 h。所有动物实验操作将遵守新乡医学院实验动物伦理管理条例。

1.1.2 试剂和仪器

总胆固醇试剂盒(南京建成,中国,批号 20170708)、甘油三酯试剂盒(南京建成,中国,批号 20170708)、高密度脂蛋白试剂盒(南京建成,中国,批号 20161229)、低密度脂蛋白试剂盒(南京建成,中国,批号 20161228)、谷丙转氨酶(ALT)试剂盒(南京建成,中国,批号 20170719)、谷草转氨酶

(AST)试剂盒(南京建成,中国,批号 20170719)、磷酸酶抑制剂、RIPA 裂解液、线粒体分离试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天,中国)、蛋白质 marker(北京全式金,中国)、兔多抗 LIAS 抗体(Proteintech,美国)、兔多抗 GAPDH 抗体(杭州贤至,中国);强生稳豪型血糖仪(强生,美国),低温离心机(Eppendorf,德国,5424R),电泳仪(北京六一,中国,JY300C),多功能酶标仪(Thermo,美国,EnSpire™ 2300)。

1.2 方法

1.2.1 线粒体的制备

选取 10 周龄的 *Lepr^{db/+}* 及 *Lepr^{db/db}* 雄性小鼠各 8 只,即为 *Lepr^{db/+}* 组和 *Lepr^{db/db}* 组。禁食 8 h 后,测量两组小鼠体重,同时,采用强生稳豪型血糖仪测定小鼠空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)。经乙醚麻醉,腹主动脉采血后,处死动物,分离肝、肾并称量。取肝右叶及左肾组织于 4% 多聚甲醛固定,其余肝、肾组织 -80℃ 保存。取 200 mg 肝、肾组织,用玻璃匀浆器于冰水浴中匀浆 20 次。用线粒体分离试剂盒采用差速离心法提取肝、肾组织线粒体。

1.2.2 肝肾组织病理学检查

组织固定 24 h 后,酒精梯度脱水,常规石蜡包埋,切片(4 μm),苏木素-伊红(HE)染色,封片后光镜下观察两组肝、肾组织病理变化并拍照。

1.2.3 血清生化指标检测

分离血清,按试剂盒说明书进行操作,采用酶标仪检测血清中总胆固醇(CHO)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)含量。

1.2.4 Western blot 法检测肝、肾组织线粒体内 LIAS 蛋白的表达

取已制备的线粒体,加入 200 μL 临用前添加了苯甲基磺酰氟(PMSF)(终浓度为 1 mmol/L)的线粒体裂解液。裂解后的蛋白样品采用 BCA 法进行蛋白定量。参照解现星等^[4]的方法检测肝、肾组织线粒体内 LIAS 蛋白。蛋白变性后,采用 SDS-聚丙烯

酰胺凝胶电泳分析。用电转膜仪转到 PVDF 膜上, 用含 5% 脱脂奶粉的封闭液 (TBST) 室温封闭 2 h, 按 1:2000 加入 LIAS 抗体, 按 1:1000 加入 GADPH 抗体, 4℃ 孵育过夜。TBST 充分洗涤 PVDF 膜, 按 1:8000 的稀释倍数加入二抗, 37℃ 孵育 2 h, 再次用 TBST 洗涤, 用 ECL 显色并曝光, 采用 BandScan 分析胶片灰度值。

1.3 统计学处理

实验数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 应用 SPSS21.0 软件包进行统计分析, 检验水准为双侧 α

表 1 *Lepr^{db/+}* 和 *Lepr^{db/db}* 小鼠体重、肝肾重量及其脏器系数比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Tab.1 Comparison of body weight, liver, kidney weight and their organ coefficients in the *Lepr^{db/+}* and *Lepr^{db/db}* mice ($n=8, \bar{x} \pm s$)

动物组 Groups	体重(g) Weight	肝重(g) Liver weight	肝器系数(%) Liver coefficient	肾重(g) Kidney weight	肾器系数(%) Kidney coefficient
<i>Lepr^{db/+}</i> 组	23.33 ± 1.92	1.06 ± 0.15	4.52 ± 0.46	0.32 ± 0.02	1.37 ± 0.18
<i>Lepr^{db/db}</i> 组	50.17 ± 5.14*	2.83 ± 0.43*	5.74 ± 1.19*	0.42 ± 0.03*	0.96 ± 0.22*

注: * 与 *Lepr^{db/+}* 组比较, * $P < 0.05$ 。
Note. Compared with the *Lepr^{db/+}* mice, * $P < 0.05$.

2.2 *Lepr^{db/+}* 和 *Lepr^{db/db}* 小鼠肝肾组织病理学观察

由图 1 可见, 对照组 *Lepr^{db/+}* 小鼠肝、肾组织结构完整, 无明显病理学改变; 而 *Lepr^{db/db}* 小鼠肝细胞出现脂肪变性, 肾小球肥大, 基底膜增厚, 系膜区增宽, 系膜细胞和系膜基质增多等病理学改变。

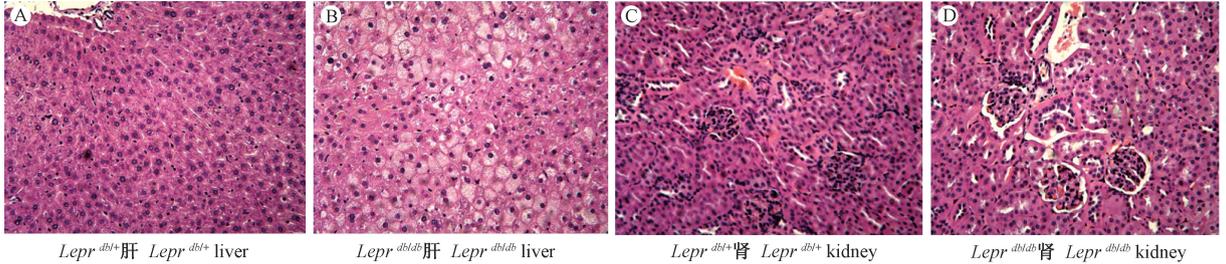


图 1 *Lepr^{db/+}* 和 *Lepr^{db/db}* 两组小鼠肝、肾细胞形态病理观察 (HE 染色, ×100)

Fig.1 Pathological observation of cellular morphology from liver and kidney tissues in the *Lepr^{db/+}* and *Lepr^{db/db}* mice (HE staining, ×100)

表 2 *Lepr^{db/+}* 和 *Lepr^{db/db}* 小鼠糖、脂代谢及肝 AST、ALT 酶活性相关生化指标比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Tab.2 Comparison of blood glucose, lipid metabolism-related biochemical indexes, and liver AST, ALT enzyme activities in the *Lepr^{db/+}* and *Lepr^{db/db}* mice ($n=8, \bar{x} \pm s$)

动物组 Animal groups	空腹血糖 FPG (mmol/L)	总胆固醇 CHO (mmol/L)	甘油三脂 TG (mmol/L)	高密度脂蛋白 HDL (mmol/L)	低密度脂蛋白 LDL (mmol/L)	谷草转氨酶 AST (U/L)	谷丙转氨酶 ALT (U/L)
<i>Lepr^{db/+}</i> 组	5.63 ± 1.61	2.56 ± 0.54	0.70 ± 0.19	3.36 ± 0.42	0.21 ± 0.03	24.83 ± 9.29	12.66 ± 4.39
<i>Lepr^{db/db}</i> 组	14.42 ± 4.60**	4.89 ± 1.29*	1.43 ± 0.31*	2.91 ± 0.43	1.35 ± 0.61*	25.47 ± 5.77	50.20 ± 16.52**

注: 与 *Lepr^{db/+}* 组比较, * $P < 0.05$; 与 *Lepr^{db/+}* 组比较, ** $P < 0.01$ 。
Note. Compared with the *Lepr^{db/+}* mice, * $P < 0.05$. Compared with the *Lepr^{db/+}* mice, ** $P < 0.01$.

2.4 Western blot 法检测 *Lepr^{db/+}* 和 *Lepr^{db/db}* 小鼠肝肾线粒体中 LIAS 蛋白表达

Western blot 检测结果显示, *Lepr^{db/db}* 小鼠在肝肾

= 0.05, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

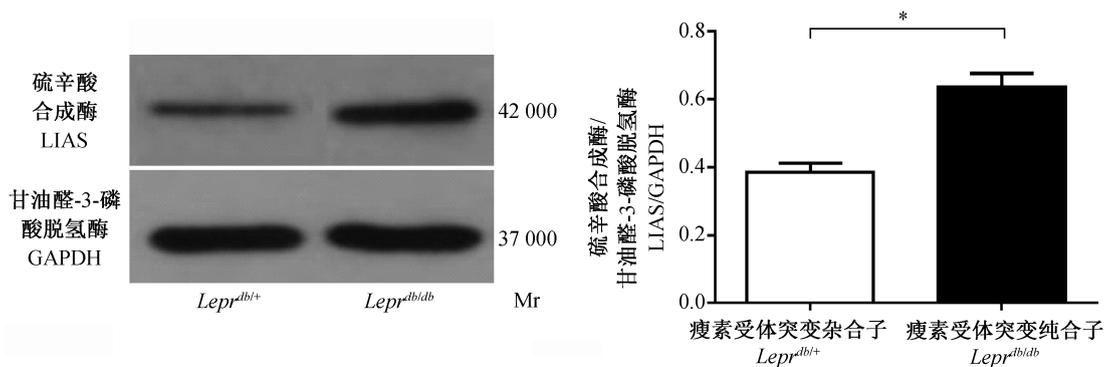
2.1 *Lepr^{db/+}* 和 *Lepr^{db/db}* 小鼠体重及其脏器系数比较

与 *Lepr^{db/+}* 小鼠比较, *Lepr^{db/db}* 小鼠体重、肝重、肝器系数及肾重均明显升高, 而肾器系数降低, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.3 *Lepr^{db/+}* 和 *Lepr^{db/db}* 小鼠生化指标的测定

表 2 可见, 空腹血糖 *Lepr^{db/db}* 小鼠明显高于 *Lepr^{db/+}* 小鼠, 两者相比较差异有显著性 ($P < 0.01$); 与 *Lepr^{db/+}* 小鼠比较, *Lepr^{db/db}* 小鼠 CHO、TG、LDL、ALT 均明显升高差异有显著性 ($P < 0.05$)。

线粒体中 LIAS 蛋白表达量均高于 *Lepr^{db/+}* 小鼠, 差异均有显著性 ($P < 0.05$)。见图 2、3。



注: * 与 $Lepr^{db/+}$ 组比较, * $P < 0.05$ 。下同。

图 2 Western blot 法检测 $Lepr^{db/+}$ 和 $Lepr^{db/db}$ 小鼠肝线粒体中 LIAS 蛋白表达

Note. compared with the $Lepr^{db/+}$ mice. The same in the following Fig

Fig. 2 Expressions of LIAS in mitochondria of $Lepr^{db/+}$ and $Lepr^{db/db}$ mouse liver tissues by western blot analysis

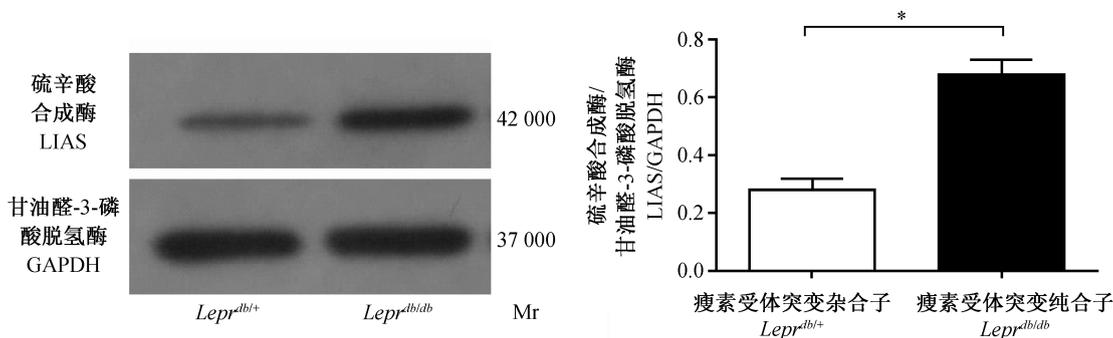


图 3 Western blot 法检测 $Lepr^{db/+}$ 和 $Lepr^{db/db}$ 小鼠肾线粒体中 LIAS 蛋白表达

Fig. 3 Expressions of LIAS in mitochondria of $Lepr^{db/+}$ and $Lepr^{db/db}$ mouse renal tissues by western blot analysis

3 讨论

随着生活水平的提高,饮食过剩和运动不足使肥胖成为全球性流行病,而肥胖容易引起胰岛素抵抗,导致糖尿病^[5]。糖尿病是以慢性高血糖为特征的一种代谢性疾病,其中 2 型糖尿病占该病的 95%,已成为严重威胁人类健康的常见慢性疾病,在全世界范围内的发病率呈现逐年增长趋势。对肥胖、糖尿病及其并发症的研究已成为生物医学研究的热点。

$Lepr^{db/db}$ 小鼠是 leptin 受体基因缺陷导致先天肥胖并呈现 2 型糖尿病特征的模型动物。该小鼠位于 4 号染色体的瘦素受体基因发生突变,主要表现为下丘脑缺陷,对饱感物质(瘦素)缺乏反应,具有高血糖、高胰岛素血症、糖代谢异常等特征,与人类 2 型糖尿病临床症状极为相似,是研究人类 2 型糖尿病良好的动物模型^[6]。

实验动物脏器重量和脏器系数是鉴定动物遗

传质量的重要依据,反应了模型动物的生物学特性及相应脏器的损害^[7]。本研究结果显示, $Lepr^{db/db}$ 小鼠体重、肝、肝器系数及肾重量明显大于 $Lepr^{db/+}$ 组小鼠,而肾器系数小于 $Lepr^{db/+}$ 组小鼠,与吕晶晶等^[9]研究结果一致^[8]。2 型糖尿病动物模型会出现胰岛增生肥大的病理改变,糖尿病肾病是典型的糖尿病并发症,也是造成慢性肾功能衰竭的常见原因。本研究发现 $Lepr^{db/db}$ 小鼠血清 AST 明显升高。AST 主要分布在肝细胞浆和肝细胞线粒体中,是反映肝损伤的一个重要指标,它的升高提示肝细胞损伤达到了细胞器水平。 $Lepr^{db/db}$ 小鼠出现了糖尿病发展过程中肝、肾的典型病理改变,镜下可见 $Lepr^{db/db}$ 小鼠肝细胞出现脂肪变性,肾小球肥大,基底膜增厚,系膜区增宽,包括系膜细胞和系膜基质增多等形态学改变。

血糖是评价糖尿病的重要指标,高血糖是由于对胰岛素作用的抵抗以及胰岛素分泌代偿不足造成的。2 型糖尿病是一种机体对胰岛素抵抗而引起

的病变,而胰岛素抵抗常引起脂质代谢异常。因为胰岛素有促进脂蛋白分解的作用,当胰岛素抵抗时,富含甘油三酯的脂蛋白在血中堆积,包括乳糜微粒、极低密度脂蛋白、中密度脂蛋白等,导致患者血液中的甘油三酯明显升高,同时,低密度脂蛋白胆固醇、极低密度脂蛋白胆固醇也会不同程度的升高。脂肪代谢紊乱对糖尿病及其并发症的发生有着重要的作用。本研究结果显示 *Lepr^{db/db}* 小鼠空腹血糖明显高于 *Lepr^{db/+}* 小鼠, *Lepr^{db/db}* 小鼠 CHO、TG、LDL 均明显升高,这与文献报道结果一致^[8,10]。

硫辛酸是由线粒体中硫辛酸合成酶 (LIAS) 产生的强抗氧化剂,可以清除体内多种自由基并能还原其他抗氧化剂,在体内抗氧化系统调控中发挥重要作用^[11-13]。由于其在线粒体内生成,可通过抗氧化而发挥保护线粒体作用,同时参与能量代谢,是几种线粒体酶如丙酮酸脱氢酶复合酶的辅酶,因而硫辛酸合成酶对糖尿病及其慢性并发症发挥重要调控作用^[14]。本研究利用 Western blot 法检测 *Lepr^{db/+}* 和 *Lepr^{db/db}* 小鼠肝肾线粒体中 LIAS 蛋白表达,发现 *Lepr^{db/db}* 小鼠的肝肾线粒体中 LIAS 蛋白表达量均高于 *Lepr^{db/+}* 小鼠,差异有显著性,表明 LIAS 蛋白在 *Lepr^{db/db}* 小鼠和 *Lepr^{db/+}* 小鼠中有着不同表达,其在瘦素受体缺陷导致的糖脂代谢紊乱中可能发挥调节作用。

综上,瘦素受体缺陷的 *Lepr^{db/db}* 小鼠存在糖脂代谢紊乱,肝、肾细胞病理损伤;*Lepr^{db/db}* 小鼠肝、肾线粒体中 LIAS 蛋白表达明显高于 *Lepr^{db/+}* 小鼠。提示对 LIAS 蛋白表达的调控有望成为防治肥胖和糖尿病的新策略。

参 考 文 献 (References)

- [1] NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in diabetes since 1980; a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants [J]. Lancet (London, England), 2016, 387(10027): 1513 - 1530.
- [2] Xu Y, Wang L, He J, et al. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults [J]. JAMA, 2013, 310(9): 948 - 959.
- [3] 刘芳,杨华,周文江,等. 诱发性 2 型糖尿病小鼠模型与自发性 db/db 小鼠特性的比较 [J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(06): 54 - 59.
- Liu F, Yang H, Zhou WJ, et al. Comparison of the characteristics of induced and spontaneous db/db mouse models of type 2 diabetes mellitus [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2014, 22(06): 54 - 59.
- [4] 解现星,张涛,赵爽,等. 苏子油对肥胖大鼠 肝脏极低密度脂蛋白合成关键 基因 表达 的 影响. 中国实验动物学报, 2015, 23(05): 474 - 478.
- Xie XX, Zhang T, Zhao S, et al. Effect of perilla oil on the key gene expression regulating hepatic VLDL synthesis in obese rats [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2015, 23(05): 474 - 478.
- [5] 吴静,王华旻,李晶,等. db/db 小鼠的实验室应用 [J]. 生理科学进展, 2013, 44(1): 12 - 18.
- Wu J, Wang HM, Li J, et al. The research applications of db/db mouse [J]. Prog Physiol Sci, 2013, 44(1): 12 - 18.
- [6] Portha B. Programmed disorders of beta-cell development and function as one cause for type 2 diabetes? The GK rat paradigm [J]. Diab Metab Res Rev, 2005, 21(6): 495 - 504.
- [7] 田小芸,辉时锋,周森妹,等. C57BL/KsJ-db/db、+/db 小鼠主要脏器重量及脏器系数的测定 [J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16(4): 220 - 222.
- Tian XY, Yun SF, Zhou SM, et al. The weight of main organs and organ coefficient in db/db and +/db mice [J]. Chin J Comp Med, 2006, 16(4): 220 - 222.
- [8] 吕晶晶,王彩霞,魏娜,等. 自发性 2 型糖尿病小鼠 db/db 的生物学特性 [J]. 沈阳药科大学学报, 2013, 30(6): 455 - 459.
- Lyu JJ, Wang CX, Wei N, et al. Study on biological characteristics of spontaneous type 2 diabetic db/db mice [J]. J Shenyang Pharmaceutical University, 2013, 30(6): 455 - 459.
- [9] Homo-Delarche F, Calderari S, Irminger J C, et al. Islet inflammation and fibrosis in a spontaneous model of type 2 diabetes, the GK rat [J]. Diabetes, 2006, 55(6): 16 - 25.
- [10] 江丽青,王晓武,谭延振,等. GDF11 对 II 型糖尿病小鼠心肌损伤的保护作用 [J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(4): 362 - 367.
- Jiang LQ, Wang XW, Tan YZ, et al. Protective effect of growth differentiation factor 11 on myocardial injury in type II diabetic mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2017, 25(4): 362 - 367.
- [11] Packer L, Kraemer K, Rimbach G. Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications [J]. Nutrition, 2001, 17(10): 888 - 895.
- [12] Liu J. The effects and mechanisms of mitochondrial nutrient alpha-lipoic acid on improving age-associated mitochondrial and cognitive dysfunction: an overview [J]. Neurochem Res, 2008, 33(1): 194 - 203.
- [13] Jones W, Li X, Qu ZC, et al. Uptake, recycling, and antioxidant actions of alpha-lipoic acid in endothelial cells [J]. Free Radical Biol Med, 2002, 33(1): 83 - 93.
- [14] Ames BN. Review article: Delaying the mitochondrial decay of aging—a metabolic tune-up [J]. Ann New York Acad Sci, 2004, 1019(5-6): 331 - 338.