

柯井卫,朱永生,唐海,等. 棱术排石颗粒对肾草酸钙结石作用机制的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(8): 82-87.

Ke JW, Zhu YS, Tang H, et al. Study of the mechanism whereby lengzhupaishi (rixolipite) granules prevent renal calcium oxalate stones [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(8): 82-87.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2021.08.012

棱术排石颗粒对肾草酸钙结石作用机制的研究

柯井卫,朱永生,唐海,刘鑫,赖俊谕,刘星*

(西南医科大学附属中医医院泌尿外科,四川 泸州 646000)

【摘要】 **目的** 探讨棱术排石颗粒对肾草酸钙结石作用及对蛋白激酶C(PKC)-核因子E2相关因子2(Nrf2)/抗氧化反应元件(ARE)信号通路的影响。**方法** 将32只SPF级SD大鼠随机分为4组($n=8$):对照组、模型组、治疗组和抑制剂组。除对照组外,所有大鼠28d内连续给予乙二醇及氯化铵诱导大鼠泌尿系草酸钙结石形成,造模同时,治疗组灌胃给予10.0 g/kg的棱术排石颗粒,抑制剂组在此基础上腹腔注射30 mg/kg R031-8220,每天1次,连续28d。实验结束后,检测各组大鼠24h尿量、尿pH值、尿草酸(Ox)分泌量、血和24h尿中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 含量、血液中尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)水平。Vonkossa染色、Western blot检测各组大鼠肾组织病理改变和PKC、Keap1、Nrf2、ARE蛋白的表。**结果** 与对照组相比,模型组大鼠24h尿量、尿pH及血、尿中 Mg^{2+} 明显降低,肾中SOD酶活性明显下降,Ox、血、尿中 Ca^{2+} 、肾MDA水平、ROS荧光强度水平与PKC、Keap1、Nrf2、ARE蛋白表达量明显升高($P<0.05$);经棱术排石颗粒治疗后,上述指标均明显逆转,差异均具有统计学意义($P<0.05$);抑制剂组与模型组差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 棱术排石颗粒可有效改善肾草酸钙结石大鼠的病理状态,可能与激活PKC-Nrf2/ARE抗氧化信号通路降低氧化应激水有关。

【关键词】 棱术排石颗粒;草酸钙;泌尿系结石;氧化应激

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2021)08-0082-06

Study of the mechanism whereby lengzhupaishi (rixolipite) granules prevent renal calcium oxalate stones

KE Jingwei, ZHU Yongsheng, TANG Hai, LIU Xin, LAI Junyu, LIU Xing*

(Department of Urology, Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000)

【Abstract】 **Objective** To determine the effects of rixolipite granules on renal calcium oxalate calculi and protein kinase C (PKC)-nuclear factor erythroid-2-related factor 2 (Nrf2) signaling to antioxidant response elements (AREs). **Methods** Thirty-two specific pathogen-free Sprague Dawley rats were randomly allocated to four groups ($n=8$ each): a control group, a model group, a treatment group, and an inhibitor group. All of the rats except the controls were administered ethylene glycol and ammonium chloride in their diet to induce urinary calcium oxalate calculus formation within 28 days. The treatment group was also administered 10.0 g/kg Lengzhu Paishi granules, and the inhibitor group was administered 30 mg/kg r031-8220 once daily by gavage for 28 days. Afterward, 24 h urine volume, urine pH, urinary oxalic acid (Ox) concentration, the circulating Ca^{2+} and Mg^{2+} concentrations and the 24 h urinary output of each, blood urea nitrogen (BUN), and circulating creatinine (Cr) concentrations were measured. The protein expression of PKC, Keap1, Nrf2 was characterized using von Kossa staining and Western blot. **Results** The model group had significantly

【基金项目】西南医科大学院级课题(2018ZRQN-068)。

【作者简介】柯井卫(1984—),硕士,副主任医师,研究方向:结石预防复发及男科。E-mail:2327883682@qq.com

【通信作者】刘星(1986—),男,汉族,硕士,主治医师,研究方向:结石预防及复发。E-mail:543518689@qq.com

lower 24 h urine volume, urine pH, circulating Mg^{2+} , urinary Mg^{2+} , and renal superoxide dismutase activity than the control group; and the Ox, circulating and urinary Ca^{2+} , renal malondialdehyde concentration, reactive oxygen species fluorescence intensity, and PKC, Keap1, and Nrf2 protein expression were significantly higher ($P < 0.05$). Lengzhu Paishi granule treatment significantly ameliorated all these effects ($P < 0.05$). There was no significant difference between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusions** Lengzhu Paishi granules prevent the pathological changes associated with renal calcium oxalate calculus formation in rats, which may be mediated through the activation of the antioxidant signaling pathway PKC-Nrf2/ARE and a reduction in oxidative stress.

【Keywords】 LengShu Paishi granule; calcium oxalate; urinary calculus; oxidative stress

泌尿系结石在全球范围内属于高发病,不同国家或地区发病率存在差异,我国发病率大约为 6% 左右,而其中大约 80% 的泌尿系结石由草酸钙组成^[1]。泌尿系统结石是一个复杂的过程,目前的研究认为与饮食、地理、气候、种族及遗传等多种因素有关^[2],但不同结石类型的发病机制尚未完全明确。随着临床上治疗设备及技术的发展,采用冲击波或其他外科手术等方法已经广泛应用于泌尿系结石的治疗。然而临床中发现,上述治疗手段治疗肾结石的过程中往往不可避免的会引起创伤性损伤甚至严重影响肾功能,且治疗后复发率可高达 70% 左右^[3]。目前在药物治疗方面,磷酸纤维素钠、正磷酸盐及噻嗪类利尿药等可应用于泌尿系结石治疗及预防其复发,但临床疗效不能达到满意效果,而且存在引起副作用的风险^[4]。中草药治疗泌尿系统结石具有悠久的历史,且在临床中取得了一定的效果,作为微创治疗方法其还具有副作用少、成本低廉等优点,被广泛应用于泌尿系结石的治疗及其研究中^[5]。本研究探讨中药复方棱术排石颗粒对大鼠尿草酸钙结石形成的作用机制进行初步探讨,从而为临床提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物

12~13 周龄的雄性 SD 大鼠 32 只,SPF 级,体重 200~220 g,购自西南医科大学实验动物中心[SCXK(川)2018-17],饲养在本单位的实验动物中心[SYXK(川)2018-065],饲养室保持良好通风,饲养环境温度(25±2)℃,湿度(50±10)%,12 h 循环光照。正常饲养 1 周以适应环境,第 2 周开始进行实验,实验过程中遵循 3R 原则。本实验已通过西南医科大学附属中医医院动物伦理委员会审批批准(XNFS(A)-2019-062)。

1.2 主要试剂与仪器

棱术排石颗粒(药方比例为:三棱 200 g、川芎

200 g、海金沙 300 g、糊精 700 g、莪术 200 g、金钱草 600 g、牵牛子(醋制)200 g、白芍 300 g、川木通 300 g、威灵仙 300 g)有我院药剂科提供;蛋白激酶 C (Protein kinase C, PKC) 特异性抑制剂 R031-8220 (EK-0514) 采购自美国 Selleck 公司;二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 浓度测定试剂盒 (AE-0294)、3,3-二氨基联苯胺 (diaminobenzidine, DAB) 化学发光试剂盒 (AE-29984) 采购自 Sigma 公司; Vonkossa 试剂盒 (BK-29402)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 检测试剂盒 (BT-019942)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 检测试剂盒 (BA-00032) 购自上海碧云天生物技术公司; PKC(ab-03941)、Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1 (epoxy chloropropane Kelch sample related protein-1, Keap1) (ab-23992)、结核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2-related factor2, Nrf2) (ab-12323)、抗氧化反应元件 (antioxidant response elements, ARE) 抗体 (ab-02994)、兔抗 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) (ab-05132) 以及山羊抗兔 IgG(ab-08274) 采购自美国 abcam 公司;2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐 (2,7-dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFH-DA) 试剂盒 (R-029442)、Western blot 试剂盒 (R-033245) 购自德国 Rebstock 公司。

石蜡切片机 (M2016, 上海徠卡仪器有限公司, 中国);全自动酶标仪 (680 型, 伯乐公司, 美国);电泳仪 (DYY-6C, 北京六一仪器厂, 中国);凝胶成像系统 (GelDoc XR+, 伯乐公司, 美国);分光光度计 (Nanodrop 2000, 赛默飞世尔公司, 美国);实时荧光定量 PCR 仪 (LightCycler96, 罗氏公司, 英国)。

1.3 实验方法

1.3.1 收集分析结石标本

经自行排石、外冲击波碎石、经皮肾镜碎石取石、开放性手术取石、输尿管软镜或硬镜下碎石取石、膀胱镜下碎石取石、开放性手术取石等方式收

集结号标本。结石成分通过傅立叶红外光谱仪 Turbo FT 型(美国 D&P)测定。

1.3.2 分组处理

大鼠适应性饲养 1 周后随机分为 4 组,即:对照组、模型组、治疗组和抑制剂组,每组 8 只。除对照组外,所有大鼠 28 d 内连续给予 1%乙二醇及 2%氯化铵诱导大鼠泌尿系草酸钙结石形成^[6],造模同时进行药物处理,治疗组灌胃给药 10.0 g/kg 的棱术排石颗粒,抑制剂组在治疗组基础上腹腔注射 30 mg/kg R031-8220,对照组和模型组给予等量的生理盐水。

1.3.3 尿液样本收集及尿液指标分析

28 d 后,用代谢笼收集各组大鼠 24 h 尿液,测定 24 h 尿量、尿液 pH 值后,取 2 mL 尿液中加入 0.5 mL 浓硫酸,300 r/min 离心 10 min,采用原子吸收光度法测定尿液中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 含量。另去部分尿液采用高锰酸钾法测定尿草酸(oxalic acid, Ox)分泌量。

1.3.4 血液生化指标检测

收集尿液后,称取大鼠重量并处死各组大鼠,下腔静脉取血,3000 r/min 离心 10 min 后取上血清,使用全自动生化分析仪检测各组大鼠血清中尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine ratio, Cr)中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 含量。

1.3.5 Vonkossa 染色观察病理学变化

左侧肾用 10%多聚甲醇固定后,常规石蜡包埋,经 Vonkossa 染色,制成切片,光镜下观察各组大鼠左侧肾的病理改变。

1.3.6 DCFH-DA 染色检测各组大鼠肾组织中活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)及与 MDA、SOD 酶的活性

取出各组大鼠的肾组织,冰冻切片,二甲苯浸

洗两次,添加 10 $\mu\text{mol/L}$ DCFH-DA 染色 2 h,荧光显微镜下拍照记录,并用 Image 8.0 软件分析图像,注意所用染色剂要保证现用现配^[7]。按照各试剂盒说明书要求操作,使用相应试剂盒检测试剂盒来检测细胞中 MDA 的含量和 SOD 活性。

1.3.7 Western blot 检测检测各组大鼠肾组织 PKC、Keap1、Nrf2、ARE 的表达水平

取出各组大鼠左肾组织匀浆,冰上裂解 30 min 后,离心获得上清,蛋白浓度采用 BCA 试剂盒测定,每个样品取 50 μg ,然后进行 SDS-PAGE 电泳、PVDF 转膜、TBST 液封闭,维持 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孕育,后分别加入一抗(PKC、Keap1、Nrf2、ARE)(1:1500),孕育 1 h,洗涤加入抗辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG(1:10000),加入 ECL 显色 30 min,以 GAPDH 作为内参表示蛋白相对表达水平。

1.4 统计学方法

数据分析采用软件 SPSS 16.0,符合正态分布的计量资料采用平均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)进行表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用独立样本 t 检验, $P<0.05$ 表示差异显著,具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠尿液指标的比较

各组大鼠尿液生化指标如表 1 所示,与对照组相比,模型组大鼠 24 h 尿量、尿 pH、 Mg^{2+} 明显降低, Ox、 Ca^{2+} 水平明显升高($P<0.05$);经棱术排石颗粒治疗后,与模型组相比,治疗组大鼠 24 h 尿量、尿 pH、 Mg^{2+} 明显升高, Ox、 Ca^{2+} 水平明显降低($P<0.05$);抑制剂组与模型组差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 棱术排石颗粒对草酸钙结石大鼠尿液指标的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)
Table 1 Effect of Riangzhipeishi granule on urine index of calcium oxalate calculi rats

组别 Groups	24 h 尿量(mL) 24 h urine output	pH	Ox(mmol/L)	Ca^{2+} (mmol/L)	Mg^{2+} (mmol/L)
对照组 Control group	14.79 \pm 2.43	6.45 \pm 0.04	0.22 \pm 0.03	0.31 \pm 0.07	0.63 \pm 0.06
模型组 Model group	6.58 \pm 0.89*	5.34 \pm 0.13*	0.45 \pm 0.10*	0.55 \pm 0.09*	0.40 \pm 0.06*
治疗组 Treatment group	11.81 \pm 1.18 [#]	6.19 \pm 0.09 [#]	0.28 \pm 0.04 [#]	0.41 \pm 0.08 [#]	0.54 \pm 0.09 [#]
抑制剂组 Inhibitor group	8.85 \pm 0.87 Δ	5.87 \pm 0.07 Δ	0.36 \pm 0.04 Δ	0.47 \pm 0.07 Δ	0.56 \pm 0.05 Δ

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与治疗组比较, Δ $P<0.05$ 。下同。

Note. Compared with the control group, * $P<0.05$. Compared with the model group, [#] $P<0.05$. Compared with the treatment group, Δ $P<0.05$. The same as below.

2.2 各组大鼠血液生化指标比较

各组大鼠血液生化指标如表 2 所示,与对照组相比,模型组大鼠血清 BUN、Cr、Ca²⁺ 水平明显升高, Mg²⁺ 明显降低 ($P < 0.05$); 经棱术排石颗粒治疗后,与模型组相比,治疗组大鼠血清 BUN、Cr 水平明显降低, Mg²⁺ 明显升高 ($P < 0.05$); 抑制剂组与模型组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 Vonkossa 染色检测各组大鼠肾组织病理变化

Vonkossa 染色结果如图 1 所示,对照组大鼠肾表面光滑且富有弹性,色泽正常,其他组大鼠肾苍白。对照组大鼠中肾内膜层细胞排列规整,内皮连续完整,无缺损现象出现。模型组大鼠肾中膜、内膜细胞排列紊乱,内皮凸起伴有大量淋巴细胞填

充,肾皮质及肾乳头内有草酸钙沉积,手触摸有明显颗粒感;治疗组大鼠肾中膜、内膜细胞排列较整齐,内皮轻微凸起少见淋巴细胞填充,肾皮质及肾乳头内有少草酸钙沉积,手触摸颗粒感不明显;而抑制剂组大鼠肾病理变化与模型组相似。

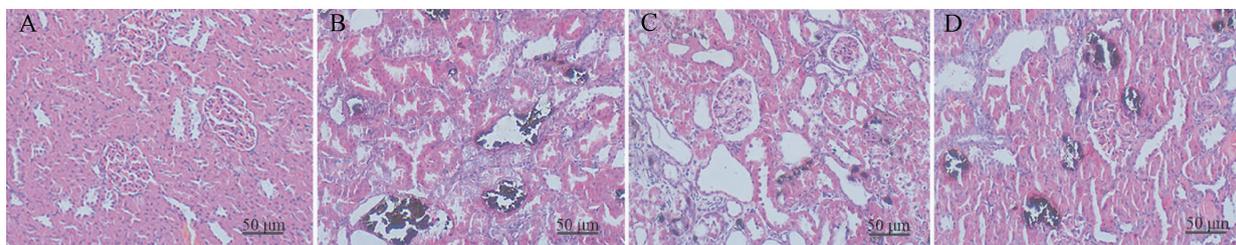
2.4 各组大鼠肾 MDA、SOD、ROS 水平的比较

与对照组相比,模型组大鼠肾 MDA 水平、ROS 荧光强度明显增加,而 SOD 酶活性明显降低,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组相比,治疗组大鼠肾组织中 MDA 水平、ROS 荧光强度明显降低,而 SOD 酶活性明显增强,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 抑制剂组与模型组差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见图 2,表 3。

表 2 棱术排石颗粒对草酸钙结石大鼠血生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effects of Riangzhipeishi granule on blood biochemical indexes of calcium oxalate calculi rats

组别 Groups	BUN (mmol/L)	Cr ($\mu\text{mol/L}$)	Ca ²⁺ (mmol/L)	Mg ²⁺ (mmol/L)
对照组 Control group	6.51±0.54	31.66±1.83	2.99±0.04	1.10±0.08
模型组 Model group	27.02±1.32*	62.46±2.28*	4.64±0.11*	1.10±0.05*
治疗组 Treatment group	17.42±1.17#	37.17±4.22#	3.44±0.08#	1.09±0.06#
抑制剂组 Inhibitor group	24.31±0.95 Δ	59.94±1.82 Δ	4.30±0.04 Δ	1.08±0.07 Δ



注: A: 对照组; B: 模型组; C: 治疗组; D: 抑制剂组。下同。

图 1 Vonkossa 染色检测各组大鼠肾组织病理变化

Note. A, Control group. B, Model group. C, Treatment group. D, Inhibitor group. The same as below.

Figure 1 Pathological changes of renal tissues of rats in each group detected by Vonkossa staining

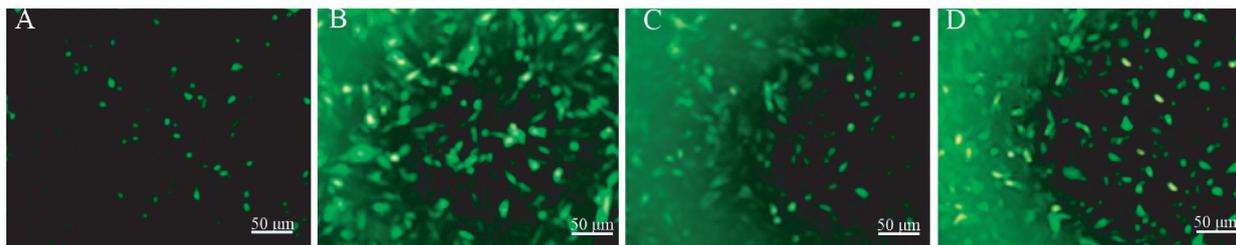


图 2 各组大鼠肾组织 ROS 水平的检测

Figure 2 Detection of ROS levels in renal tissues of rats in each group

2.5 Western blot 检测各组大鼠肾组织中 PKC、Keap1、Nrf2、ARE 蛋白的表达

与对照组相比,模型组大鼠肾组织中 PKC、Keap1、Nrf2、ARE 蛋白表达量明显升高,差异均具有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,治疗组大鼠肾组织中 PKC、Keap1、Nrf2、ARE 蛋白表达量明显下降,差异均具有统计学意义($P < 0.05$),抑制剂组与模型组差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 3,表 4。

3 讨论

根据流行病学统计^[7],泌尿系统结石的发病率逐年升高,且我国是世界上三大结石高发地之一,其中影响泌尿结石的最主要因素包括遗传、代谢、饮食和地理因素。目前临床诊断技术不断进步,大多数尿路结石患者可根据结石成分分析及代谢评估确定发病原因,这对结石的预防及治疗具有重要意义。本实验室前期分析了 1407 例四川地区尿路结石患者的结石成分,结果显示,尿路结石主要分布于上尿路,且 92.11% 的患者为草酸钙结石,该结石的位置分部与成分组成与报道基本相符^[8]。中药在治疗泌尿系统结石中取得了一定的疗效,其中

一经验方制成的中成药具有疗效确切、价格低廉且副作用低等特点具有良好的应用前景。棱术排石颗粒是我院常用治疗泌尿结石的药物,特别是对于肾草酸钙结石的治疗取得了满意的效果,但其作用机制尚无报道。

乙二醇作为草酸的前体物质,可引起肾小管上皮细胞损伤引起高草酸尿症状并最终导致肾结石的形成,氯化铵可降低尿液 pH 值,促进草酸钙结晶的形成^[9],本研究以乙二醇和氯化铵构建大鼠肾草酸钙结石模型,结果显示,模型组大鼠 24 h 尿量、尿 pH、血清及尿中 Mg^{2+} 降低,而尿 Ox、血清肾功能指标 BUN、Cr 及血清和尿中 Ca^{2+} 水平均明显升高,草酸钙结石的形成分为多个阶段,包括晶核的形成、晶体成长、集聚和滞留等多个过程, Ca^{2+} 是结石形成的必要物质,草酸钙结石以 Ca^{2+} 升高为主要标志^[10]。高 Ox 尿是草酸钙结石形成的重要影响因子, Mg^{2+} 可络合 Ox,降低 Ox 的水平从而抑制草酸钙结石的形成^[11]。病理观察显示,模型大鼠肾组织中存在大量草酸钙结晶,说明模型构建成功。经棱术排石颗粒治疗后,上述指标及病理状态均明显改善,说明棱术排石颗粒可有效抑制肾草酸钙结石的形成。

表 3 各组大鼠肾组织 MDA、SOD、ROS 比较($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Comparison of MDA, SOD and ROS in renal tissues of rats in each group

组别 Groups	MDA (mmol/mg)	SOD (U/mg)	ROS (U/L)
对照组 Control group	0.50±0.04	55.54±1.99	102.00±2.67
模型组 Model group	1.83±0.15*	17.80±0.75*	444.38±19.32*
治疗组 Treatment group	1.08±0.09#	47.47±1.51#	225.38±18.75#
抑制剂组 Inhibitor group	1.62±0.12 Δ	19.16±0.53 Δ	415.88±21.43 Δ

表 4 各组大鼠肾组织中 PKC、Keap1、Nrf2、ARE 蛋白比较($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Comparison of PKC, Keap1, Nrf2, and ARE proteins in renal tissues of rats in each group

组别 Groups	PKC	Keap1	Nrf2	ARE
对照组 Control group	0.99±0.03	1.01±0.02	1.02±0.03	1.01±0.03
模型组 Model group	0.16±0.02*	0.19±0.03*	0.18±0.03*	0.20±0.03*
治疗组 Treatment group	0.87±0.03#	0.75±0.03#	0.61±0.02#	0.76±0.03#
抑制剂组 Inhibitor group	0.19±0.02 Δ	0.22±0.02 Δ	0.26±0.01 Δ	0.25±0.02 Δ

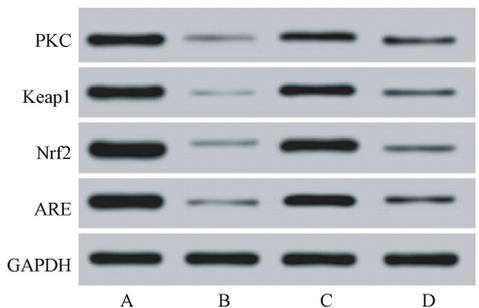


图 3 各组大鼠肾组织中 PKC、Keap1、Nrf2、ARE 蛋白表达

Figure 3 Protein expressions of PKC, Keap1, Nrf2, and ARE in renal tissues of rats in each group

研究发现,长期的高水平草酸可促进肾组织的氧化应激反应,产生大量的 ROS 可损伤肾小管,增加了肾小管上皮细胞表面的黏附效应,促进了草酸钙结石的形成^[12]。现代药理学研究表明,棱术排石颗粒中多种药材中含有具抗氧化活性成分,其中三棱中总萜类物质不仅能够清除活性氧,还可以抑制机体中氧自由基的生成以及抵抗脂质过氧化反应^[13]。研究发现,川芎可以改变糖尿病肾病氧化应激水平改善病理状态^[14]。金钱草提取物能够增加肾组织 SOD 水平,从而有效抑制结晶的形成^[15]。本研究结果显示,棱术排石颗粒治疗后大鼠 MDA 水平明显降低,SOD 酶活明显升高,说明棱术排石颗粒治疗肾草酸钙结石可能与改善氧化应激水平有关。PKC-Nrf2/ARE 信号通路是重要的抗氧化防御性转导通路^[16]。正常状态下,PKC 介导的通路下游蛋白 Nrf2 与 Keap1 结合以二聚体的形式存在,而氧化应激刺激可使 Keap1 半胱氨酸残基被修饰,从而使该二聚体发生解离,Nrf2 进入细胞核与抗氧化应激原件 ARE 相互作用,从而发挥抗氧化的作用^[17]。本研究结果显示,经过棱术排石颗粒治疗的肾草酸钙结石大鼠肾组织中 PKC、Keap1、Nrf2、ARE 蛋白表达含量均明显升高,说明棱术排石颗粒治疗的肾草酸钙结石可能是通过激活 PKC-Nrf2/ARE 抗氧化信号通路达到治疗效果。

综上所述,棱术排石颗粒可有效改善肾草酸钙结石大鼠的病理状态,其机制可能与激活 PKC-Nrf2/ARE 抗氧化信号通路降低氧化应激水有关。

参考文献:

[1] 张雪松,高文锋,成海生.金石饮方剂与体外冲击波碎石联合治疗泌尿系结石的疗效观察及对患者血脂的影响分析[J].临床和实验医学杂志,2018,17(1):86-89.

[2] 叶子兴,乔逸,张寅生,等.泌尿系结石代谢评估数据库的建立及临床初步应用[J].中华医学杂志,2020,100(26):2036-2039.

[3] 周志均,李响.输尿管软镜碎石术前预置双J管必要性的荟萃分析[J].中华泌尿外科杂志,2020,41(2):138-146.

[4] Assimos DG. Re: saRNA-mediated activation of TRPV5 reduces renal calcium oxalate deposition in rat via decreasing urinary

calcium excretion [J]. J Urol, 2018, 199(2): 337.

[5] 赵扬,谭艳云,刘映红,等.中药"四金"治疗泌尿系结石的研究进展[J].中医药导报,2018,24(10):110-112.

[6] 邸彦橙,王志龙,张智慧,等.白藜芦醇通过调控 Keap1-Nrf2/HO-1 信号通路抑制大鼠肾草酸钙结石的形成[J].安徽医科大学学报,2020,55(1):70-74.

[7] 梁健鹏,张天禹,杨芳,等.1843 例泌尿系结石患者结石成分分析[J].重庆医学,2019,48(4):630-633.

[8] 汪海龙,张宗平,王安果,等.川东北地区泌尿系结石构成及其相关因素分析[J].现代泌尿外科杂志,2020,25(2):151-155.

[9] Ribeiro LS, José J, M6JJ De, et al. Hydrolytic hydrogenation of cellulose to ethylene glycol over carbon nanotubes supported Ru-W bimetallic catalysts [J]. Cellulose, 2018, 25(4): 2259-2272.

[10] van der Wijst J, van Goor MK, Schreuder MF, et al. TRPV5 in renal tubular calcium handling and its potential relevance for nephrolithiasis [J]. Kidney Int, 2019, 96(6): 1283-1291.

[11] Miyashita M, Yamada E, Kawano M. Influence of low-molecular-weight dicarboxylic acids on the formation of calcium carbonate minerals in solutions with Mg²⁺ ions [J]. J Miner Petrol Sci, 2018, 113(4): 207-217.

[12] Pavlakou P, Dounousi E, Roumeliotis S, et al. Oxidative stress and the kidney in the space environment [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(10): 3176.

[13] 蔡卉,韩小波,徐静静.加味三棱丸治疗原发性痛经模型大鼠的机理研究[J].中药材,2019,42(3):657-660.

[14] 张小敏,高磊,胡潇,等.川芎嗪对免疫介导骨髓衰竭小鼠肾脏氧化应激的影响[J].中国药理学通报,2019,35(11):1570-1574.

[15] 刘英,王志勇,杨德慧,等.广金钱草提取物对尿石症大鼠肾功能的保护作用[J].中国老年学杂志,2018,38(10):2467-2470.

[16] Zhang G, Yang W, Jiang F, et al. PERK regulates Nrf2/ARE antioxidant pathway against dibutyl phthalate-induced mitochondrial damage and apoptosis dependent of reactive oxygen species in mouse spermatocyte-derived cells [J]. Toxicol Lett, 2019, 308(6): 24-33.

[17] Yang B, Yin C, Zhou Y, et al. Curcumin protects against methylmercury-induced cytotoxicity in primary rat astrocytes by activating the Nrf2/ARE pathway independently of PKCδ [J]. Toxicology, 2019, 425(12): 152248.

[收稿日期]2020-10-31