

严森森, 吕梦迪, 杨学思, 等. 硫辛酸合成酶低表达对小鼠抗氧化能力的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(1): 64-69.
Yan SS, Lyu MD, Yang XS, et al. Effects of low expression of lipoic acid synthase on antioxidant capacity in mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(1): 64-69.
Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2022.01.008

硫辛酸合成酶低表达对小鼠抗氧化能力的影响

严森森, 吕梦迪, 杨学思, 陶映君, 徐光翠, 赵英政*

(新乡医学院公共卫生学院, 河南 新乡 453003)

【摘要】 目的 建立一种硫辛酸合成酶基因低表达的基因修饰小鼠, 并检测其抗氧化能力。**方法** 将硫辛酸合成酶基因 3'-UTR 区域 Loxp 小鼠与 E2a-Cre 小鼠杂交, 从子代小鼠中鉴定出 *Lias*^{L/+} 小鼠并进一步繁殖、鉴定基因型。选取基因型为 *Lias*^{L/L} 和 *Lias*^{+/+} 的 8 周龄雄性小鼠各 10 只; 称重、麻醉后经股动脉采血, 然后分离小鼠肺、肾及肝, 并称重。应用 Western Blot、免疫组化方法检测肺、肾、肝组织中硫辛酸合成酶 (LIAS) 蛋白的表达水平; 分离血清, 检测总抗氧化能力 (TAC); 对肾、肝、肺匀浆后提取总蛋白, 检测其 SOD、CAT 酶活性及 MDA 含量。**结果** Western Blot 及免疫组化分析显示, 除小鼠肝 LIAS 免疫组化分析结果外, *Lias*^{L/L} 组小鼠较 *Lias*^{+/+} 组小鼠肾、肝及肺组织中 LIAS 蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.05$)。与 *Lias*^{+/+} 组小鼠相比, *Lias*^{L/L} 组小鼠血清 TAC 水平显著降低 ($P < 0.05$), *Lias*^{L/L} 小鼠肾、肝、肺脏器中 SOD、CAT 酶活性显著降低, MDA 水平显著升高 ($P < 0.05$)。**结论** 本研究鉴定了硫辛酸合成酶基因低表达的基因修饰小鼠, 其在肾、肝及肺中表达较野生型小鼠均降低, 并导致相应脏器的氧化损伤。

【关键词】 硫辛酸合成酶; 基因分型; 氧化损伤; 小鼠模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2022) 01-0064-06

Effects of low expression of lipoic acid synthase on antioxidant capacity in mice

YAN Sensen, LYU Mengdi, YANG Xuesi, TAO Yingjun, XU Guangcui, ZHAO Yingzheng*

(School of Public Health, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, China)

Corresponding author: ZHAO Yingzheng. E-mail: yingzhengzhao@126.com

【Abstract】 Objective To establish a lipoic acid synthase gene-modified mouse model and detect their antioxidant capacity. **Methods** Mice with a loxP-modified 3'-UTR region of the lipoic acid synthase gene were hybridized with EIIa-Cre mice. *Lias*^{L/+} mice were identified from their offspring genotypes, and further propagated. Three genotypes of offspring were identified. Ten 8-week-old male mice with *Lias*^{L/L} and *Lias*^{+/+} genotypes were randomly selected. After weighing and anesthesia, blood was collected via the femoral artery, and then the kidneys, livers and lungs were collected and weighed. Western Blot and immunohistochemistry were used to detect expression levels of lipoic acid synthase (LIAS) protein in kidney, liver and lung tissue. Serum was collected to detect total antioxidant capacity (TAC). The total protein of tissue homogenates from kidney, liver and lung samples were used to detect the activities of superoxide dismutase and catalase, and the content of malondialdehyde. **Results** The expression levels of *Lias* in kidney, liver and lung samples from *Lias*^{L/L} mice were significantly lower than those from *Lias*^{+/+} mice by semi-quantitative western blotting and immunohistochemical analysis ($P < 0.05$). Compared with the *Lias*^{+/+} group, serum levels of TAC and enzyme activities of superoxide dismutase and catalase in kidney, liver and lung samples were decreased, and the malondialdehyde level increased in the *Lias*^{L/L}

【基金项目】 国家自然科学基金 (81773399, 81370916), 研究生科研创新支持计划项目 (YJSCX202155Y)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China (81773399, 81370916), Research and Innovation Support Program for Graduate Students (YJSCX202155Y).

【作者简介】 严森森 (1995—), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 肺纤维化机制及干预。Email: xhldyjs@163.com

【通信作者】 赵英政 (1979—), 男, 副教授, 研究方向: 职业性肺疾患防治研究。Email: yingzhengzhao@126.com

group ($P < 0.05$). **Conclusions** Kidney, liver and lung expression levels of *Lias* were lower in mice with a modified 3'-UTR region of *Lias* than those of wild-type mice, with corresponding oxidative damage observed in these organs.

【Keywords】 lipoic acid synthase; genotyping; oxidative damage; mice model

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

机体内抗氧化系统能清除由于内源或外源刺激生成的自由基,维持自由基在机体内的平衡。然而,当自由基过量产生或机体对其清除能力下降时,过量的自由基会损伤生物大分子,损害细胞、组织及器官,导致氧化损伤。研究表明肿瘤、糖尿病及心血管等疾病发病均与氧化损伤有关^[1-3]。

硫辛酸为一种生成于线粒体的强抗氧化剂,可以清除自由基,减缓机体衰老,并能还原再生维生素 C、维生素 E 和谷胱甘肽等其他抗氧化剂^[4]。临床上 α -硫辛酸已用于减轻糖尿病患者外周神经病变^[5]。硫辛酸合成酶(lipoic acid synthase, LIAS)是合成硫辛酸的关键酶^[6]。本研究鉴定了应用 Cre-Loxp 技术修饰 LIAS 基因的 3'-UTR 区域,使硫辛酸合成酶基因体内低表达的小鼠模型,并检测了小鼠抗氧化能力。应用该小鼠模型将有利于探讨氧化应激相关疾病的发病机制及进行抗氧化治疗效果评估。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

10 只 6 周龄的 SPF 级雄性以 C57BLKS/J 小鼠为遗传背景的 LIAS 基因 3'-UTR 区域修饰的 *Lias*^{loxp/loxp} 小鼠,体重 19 ~ 21 g,由北卡罗来纳大学教授赠送。10 只 6 周龄 SPF 级雌性 E2a-Cre 小鼠购自赛业生物科技有限公司【SCXK(苏)2018-0003】。*Lias*^{loxp/loxp} 小鼠与 E2a-Cre 小鼠交配后将使 LIAS 基因的 3'-UTR 表达不稳定,从而使 LIAS 表达降低。从 *Lias*^{loxp/loxp} 小鼠与 E2a-Cre 小鼠的子代小鼠中鉴定出 *Lias*^{L/+} 小鼠并进一步繁殖、基因型鉴定。随机各选择 10 只 8 周龄 SPF 级雄性 *Lias*^{L/L} 和 *Lias*^{+/+} 小鼠,体重为 (22 ± 2) g,用于抗氧化相关指标检测。小鼠均饲养于新乡医学院公共卫生学院具有独立通风系统(IVC)的动物房【SYXK(豫)2016-0006】。室内温度控制在 20 ~ 25℃,相对湿度 60% ~ 70%,明暗周期 12 h/12 h。饲养期间小鼠自由进食饮水(上海斯莱康提供 SPF 级小鼠饲料)。动物实验所有操作均遵守新乡医学院动物研究伦理规范(审批号:XYLL-2017087)。

1.1.2 主要试剂与仪器

DNA 提取试剂盒及 PCR 引物由上海生工提供,GoTaq® Master Mixes 购自 Promega (M7123);RIPA 细胞/组织裂解液(北京索莱宝科技有限公司),BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物科技公司),一抗兔多抗 LIAS 抗体(Proteintech,美国),一抗兔单抗细胞色素 C 氧化酶(cytochrome oxidase, COX)亚基 IV(COX IV)(Cell Signaling,美国)、二抗山羊抗兔 IgG (H+L)-HRP(Proteintech,美国);丙二醛(MDA)试剂盒(上海碧云天生物科技公司),超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(上海碧云天生物科技公司),过氧化氢酶(CAT)试剂盒(北京索莱宝科技有限公司);凝胶电泳仪(Bio-Rad,美国),化学发光成像系统(ProteinSimple,美国),多功能酶标仪(Thermo,美国)。

1.2 方法

1.2.1 PCR 扩增技术鉴定小鼠基因型

剪 3 ~ 5 mm 小鼠尾巴放入 PCR 管中,4℃ 保存,用试剂盒提取基因组 DNA,作为 PCR 模板。采用上游引物 5'-CTAAAGTGTAGCCAAGCCCT-3',下游引物:5'-CTTCTCTGACTGCAGATCCT-3',鉴定修饰的 LIAS 基因;采用上游引物 5'-CTAAAGTGTAGCCAAGCCCT-3',下游引物:5'-GTCACGGAGTCCATATGTGT-3',鉴定野生型 WT 基因。PCR 反应体系:2 × EasyTaq SuperMix 6.25 μ L,超纯水 3.05 μ L,浓度为 10.0 μ mol/L 的下游引物与下游引物各 0.3 μ L, DNA 模板 0.5 μ L。PCR 反应条件为:预变性 94℃,5 min;变性 94℃,30 s;退火 60℃,30 s;延伸 72℃,30 s;共进行 34 个循环;终延伸 72℃,10 min。取 PCR 反应终产物 8.0 μ L,在 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,电压 110 V,时间 25 min。采用凝胶成像分析系统观察分析条带。野生型产生 500 bp 目标片段,而 LIAS 修饰基因产生 300 bp 目标片段。

1.2.2 动物处理和样品采集

对选择的 *Lias*^{L/L} 和 *Lias*^{+/+} 小鼠称重后,以 4% 异氟烷麻醉,股动脉采血后处死动物;分离小鼠肺、肾、肝并称重。将左肺下叶,左侧肾及约 5.0 mg 肝组织置于 4% 多聚甲醛中固定,剩余肺、肝组织以及

右肾用于检测 LIAS 蛋白表达及抗氧化能力相关指标。将采集的外周血室温静置 2 h 后, 2000 rpm 离心 5 min 分离血清, 用于检测总抗氧化能力。所有样品均保存于 -80°C 。

1.2.3 Western Blot 检测 LIAS 蛋白表达

采用蛋白印迹法检测小鼠肺、肾、肝组织 LIAS 蛋白表达水平。3 种组织各称取 20 mg, 剪碎, 加入 200 μL RIPA 裂解液和 2.0 μL 的 PMSF, 充分混匀, 然后用组织破碎仪 70 Hz 匀浆 3 ~ 5 min。将匀浆液 4°C 、11 304 rpm 离心 10 ~ 15 min, 取上清液采用 BCA 法定量总蛋白。用浓度为 12% 的分离胶进行电泳, PVDF 膜进行转膜, 5% 脱脂牛奶封闭 2 h, 封闭后加一抗兔多抗 LIAS 抗体 (1:2000)、COXIV (1:2000) 室温下孵育 2 h。用 TBST 缓冲液洗涤 3 次, 每次 10 min, 加入二抗山羊抗兔 IgG (H+L)-HRP (1:4000), 37°C 孵育 1 h, TBST 缓冲液洗涤 3 次, 每次 10 min。使用 AI600 凝胶成像系统显像, 用 Image J 软件进行分析, 测定目的蛋白与相应内参的灰度比值。以 COXIV 为内参蛋白, 比较 LIAS 蛋白的相对表达水平。

1.2.4 免疫组化检测 LIAS 蛋白表达

肺、肾、肝组织固定 24 h 后, 石蜡包埋, 切片脱蜡至水, 3% 双氧水封闭, 用柠檬酸缓冲液进行微波修复, 冷却。3% BSA 室温封闭 30 min, 加 LIAS 抗体 (1:200), 4°C 过夜。之后用 PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min。加入二抗山羊抗兔 IgG (H+L)-HRP (1:200), 室温孵育 50 min。PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min。加 DAB 显色, 在显微镜下观察终止显色。用苏木素轻微复染, 脱水、透明、封片, 在光镜下观察。苏木素染细胞核为蓝色, DAB 显出的阳性表达为棕黄色。

1.2.5 抗氧化能力检测

用总抗氧化能力 (total antioxidant capacity, TAC) 检测试剂盒 (美国 Cell Biolabs 公司) 检测小鼠

血清总抗氧化能力, 采用 Cu^{2+} 还原法用酶标仪测定在 490 nm 波长下吸光度, 结果以尿酸当量 (uric acid equivalents, UAE) 表示血清 TAC 含量; 肺、肝和肾组织测定总蛋白后, 采用比色法试剂盒检测超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 活性以及丙二醛 (malonaldehyde, MDA) 含量, 分别在 560、240 及 532 nm 波长处用酶标仪测量吸光度。所有检测的操作均按照试剂盒说明书进行。

1.3 统计学分析

所有数据采用 SPSS 19.0 及 GraphPad Prism 8 进行处理。正态分布数值变量资料以平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。两组间比较方差齐时采用 t 检验, 方差不齐时采用 t' 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 基因型鉴定

如图 1 所示。野生型 ($Lias^{+/+}$) 小鼠仅 500 bp 显示出条带, 而杂合子 ($Lias^{+/-}$) 小鼠分别在 500 bp 和 300 bp 显示出两个条带。纯合子 ($Lias^{L/L}$) 小鼠仅在 300 bp 处产生目的条带。阴性对照无条带显示。

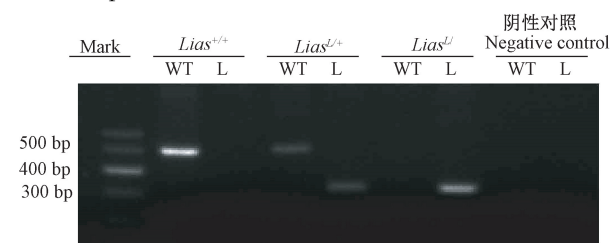


图 1 3 种小鼠基因型鉴定电泳图

Figure 1 Electrophoretic map for genotyping in three genotype mice

2.2 $Lias^{+/+}$ 和 $Lias^{L/L}$ 小鼠体重及其脏器重比较

与 $Lias^{+/+}$ 组小鼠比较, $Lias^{L/L}$ 组小鼠体重、肺重及肾重无显著性差别 ($P > 0.05$), 而肝重量显著性升高 ($P < 0.05$) (见图 2)。

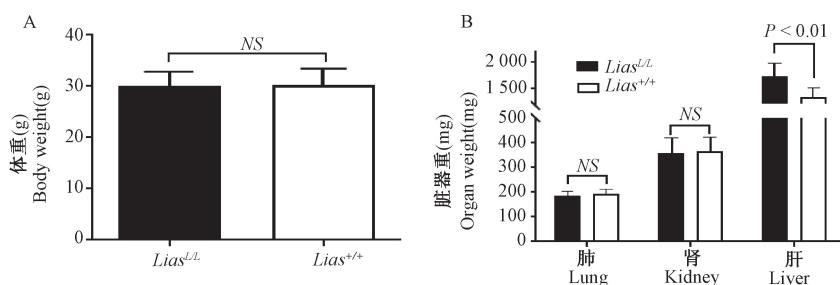


图 2 $Lias^{+/+}$ 和 $Lias^{L/L}$ 小鼠体重及其脏器重比较

Figure 2 Comparison of the body weight and organ weight between $Lias^{+/+}$ and $Lias^{L/L}$ mice

2.3 $Lias^{+/+}$ 和 $Lias^{L/L}$ 小鼠肺、肾及肝中 LIAS 蛋白的表达

2.3.1 免疫组化结果

如图 3A 所示。与野生型 $Lias^{+/+}$ 小鼠比较, $Lias^{L/L}$ 小鼠肺泡间隔出现淋巴细胞的浸润; $Lias^{L/L}$ 小鼠出现肾间质炎症细胞浸润, 肾小球肥大、系膜细

胞和系膜基质增多等病理学改变; $Lias^{L/L}$ 小鼠肝细胞内多呈大泡样混合型脂滴, 伴散在炎症细胞浸润。如图 3B、3C、3D 所示。与 $Lias^{+/+}$ 小鼠比较, $Lias^{L/L}$ 小鼠肺及肾中 LIAS 蛋白表达量降低, 差异有显著性 ($P < 0.05$); 两组小鼠肝中 LIAS 蛋白表达量无显著性差异 ($P > 0.05$)。

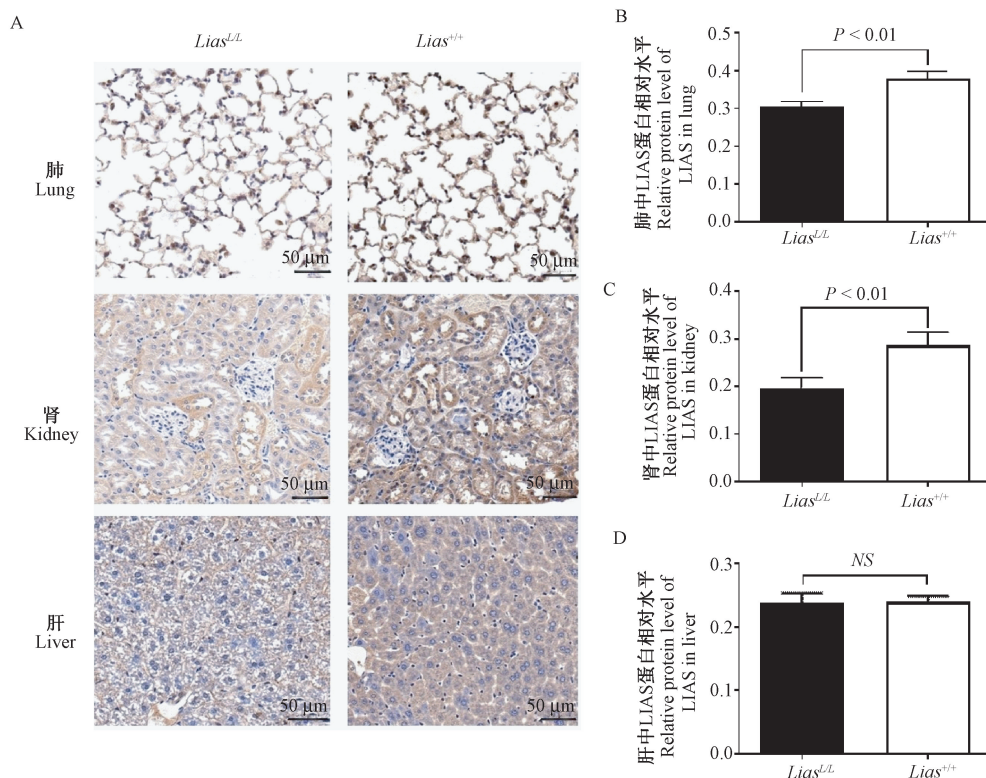


图 3 $Lias^{+/+}$ 和 $Lias^{L/L}$ 小鼠肺、肾及肝中 LIAS 蛋白表达的免疫组化结果

Figure 3 LIAS protein expression of lungs, kidneys and livers in $Lias^{+/+}$ and $Lias^{L/L}$ mice by immunohistochemical staining

2.3.2 Western Blot 检测结果

结果如图 4 所示: 与 $Lias^{+/+}$ 组小鼠比较, $Lias^{L/L}$ 组小鼠肺、肾及肝组织中 LIAS 蛋白表达均显著降低 ($P < 0.05$)。

2.4 LIAS 低表达对小鼠抗氧化能力的影响

与 $Lias^{+/+}$ 组小鼠比较, $Lias^{L/L}$ 组小鼠血清中 TAC 含量显著性降低 ($P < 0.05$); 与 $Lias^{+/+}$ 小鼠比较, $Lias^{L/L}$ 小鼠肺、肾及肝组织中 CAT、SOD 水平均降低, MDA 含量增高, 差异均具有显著性 ($P < 0.05$) (见图 5)。

3 讨论

培育和建立疾病动物模型是深入研究疾病发生发展机制的重要手段, 有助于认识疾病发生发展规律。本研究通过 Cre-Loxp 技术建立了内源性硫

辛酸合成酶基因低表达的氧化损伤 $Lias^{L/L}$ 小鼠模型, 该特性能够在子代中稳定遗传。目前在抗氧化相关研究中主要是通过化学物刺激或手术干预的方式来构建氧化损伤模型^[7-8]。与这些造模方式不同, 本研究建立的小鼠模型造成的氧化损伤是内源性的, 可以持续存在, 能够保持动物模型的相对稳定; 此外, 该小鼠模型属于遗传损伤模型, 通过繁殖易于获得。

本研究通过 Western Blot 及免疫组化方法测定肺、肾及肝中 LIAS 蛋白的表达水平。结果发现除小鼠肝免疫组化灰度值分析结果外, $Lias^{L/L}$ 小鼠较野生型小鼠肺、肾及肝组织中 LIAS 蛋白表达均降低。这些结果表明在 Cre 工具小鼠提供的 CRE 酶的作用下剪切了 $Lias$ 基因启动子区域 Loxp 位点, 导致 $Lias$ 基因在全身各器官的低表达。实验动物体重、脏器重是动物实验中重要的观察指标, 有助于衡量

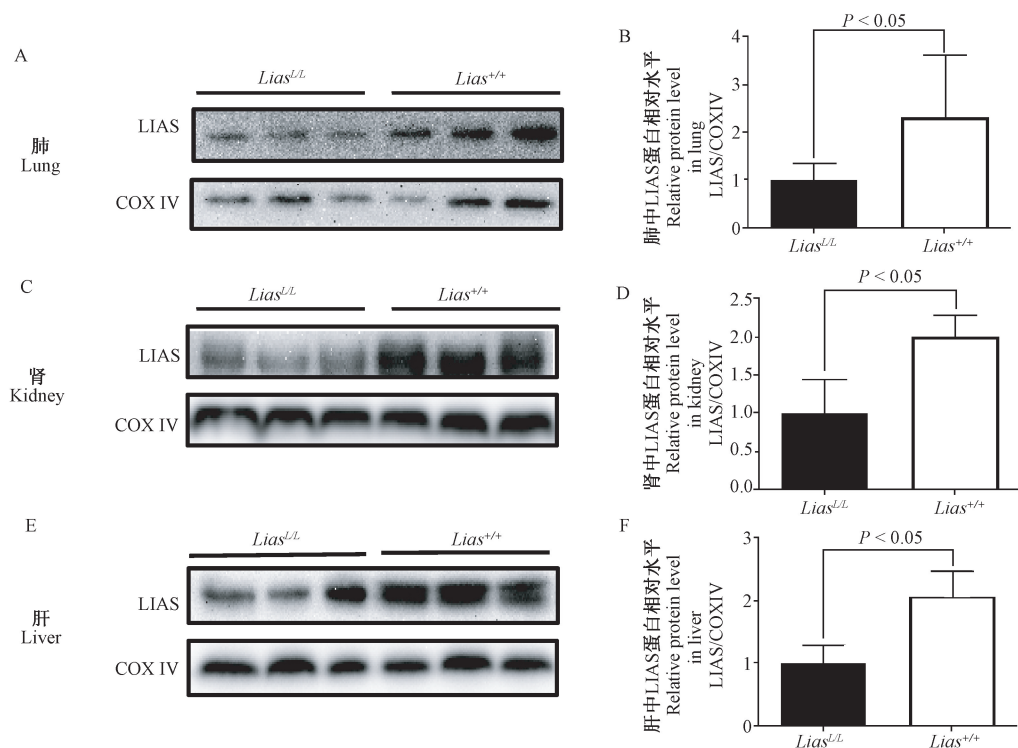


图 4 $Lias^{+/+}$ 和 $Lias^{L/L}$ 小鼠肺、肾及肝中 LIAS 蛋白表达的 Western Blot 检测结果

Figure 4 Expression of LIAS in lungs, kidneys and livers of $Lias^{+/+}$ and $Lias^{L/L}$ mice by Western Blot

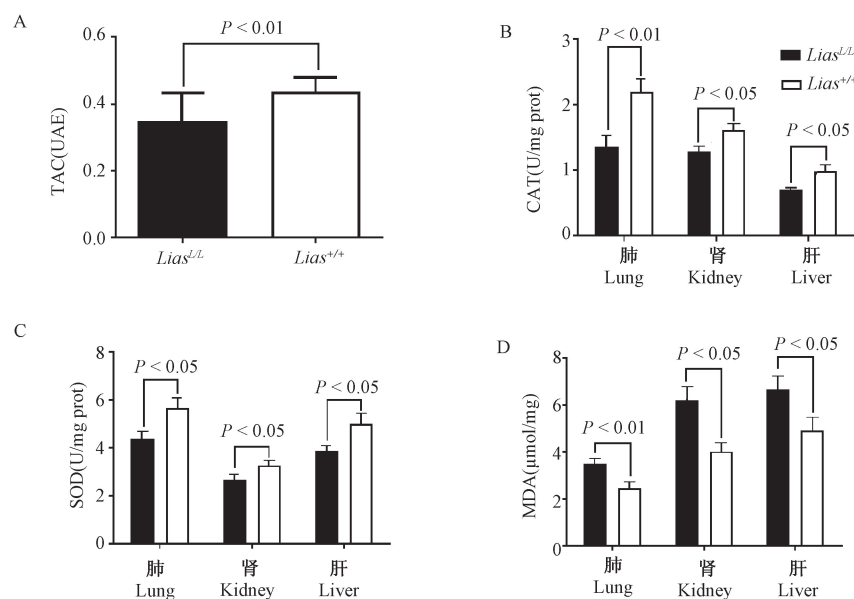


图 5 LIAS 低表达对小鼠抗氧化能力的影响

Figure 5 Effects of lower expression of LIAS on antioxidant capacity in $Lias^{L/L}$ mice

动物生长发育是否发育健康的重要依据^[9]。本研究结果显示,与 $Lias^{+/+}$ 小鼠比较, $Lias^{L/L}$ 小鼠体重、肺重及肾重无显著差异,而 $Lias^{L/L}$ 小鼠肝重显著增加,表明 LIAS 低表达可能导致了小鼠肝损伤。对免疫组化结果分析还发现,与 $Lias^{+/+}$ 小鼠比较, $Lias^{L/L}$ 小鼠肺泡间隔有明显淋巴细胞浸润,显示出炎症表

现; $Lias^{+/+}$ 小鼠肾组织结构完整,无明显病理学改变; $Lias^{L/L}$ 小鼠出现肾间质炎症细胞浸润,肾小球肥大、系膜细胞和系膜基质增多等病理学改变。这些结果表明在 $Lias^{L/L}$ 小鼠中 LIAS 基因低表达可对小鼠脏器造成了不同程度的损伤。

在线粒体内生成的硫辛酸具有强抗氧化作用。

已有研究证明补充外源硫辛酸可增加细胞内抗氧化剂 SOD、GSH、维生素 C 水平^[10-12]。本研究进一步探讨了 Lias 低表达小鼠抗氧化能力的改变。通过 Cu²⁺ 还原法检测机体血清中总抗氧化能力, 结果发现与 *Lias*^{+/+} 小鼠相比, *Lias*^{L/L} 小鼠外周血 TAC 水平显著性降低 ($P < 0.05$), 表明内源性 Lias 低表达降低了动物的整体抗氧化能力。*Lias*^{L/L} 小鼠肺、肾、肝中 SOD、CAT 酶活性降低, MDA 水平升高。这些结果表明 *Lias*^{L/L} 小鼠各脏器抗氧化能力降低, 并产生了氧化损伤。本研究还发现 *Lias*^{L/L} 小鼠肝细胞中存在脂肪堆积, 肝重增加可能与脂肪肝有关。有研究表明氧化应激及其导致脂质过氧化被认为脂肪肝发生的有害因素^[13-15]。因此, 推测 *Lias* 基因低表达导致的抗氧化能力降低, 清除内源自由基能力下降, 过量自由基对肝细胞产生氧化损伤。*Lias*^{L/L} 小鼠模型也可应用于非酒精性肝损伤的相关研究。

综上所述, 本研究建立的 *Lias*^{L/L} 小鼠具有较低的抗氧化水平, 导致机体肺、肾及肝的氧化损伤。*Lias*^{L/L} 小鼠为一种新型的氧化损伤小鼠模型, 可进一步应用于常见慢性疾病如糖尿病、动脉粥样硬化等疾病中氧化应激机制对疾病发生发展影响的研究以及应用于抗氧化剂抗氧化干预效果评价的研究。应用该新模型也有助于筛查新的抗氧化干预靶点, 从而改善氧化应激相关疾病的治疗干预策略。

参 考 文 献 (References)

- [1] 肖莉, 张倩雨, 马莹, 等. 氧化应激在肿瘤糖代谢中的作用研究 [J]. 肿瘤, 2018, 38(9): 901-906.
Xiao L, Zhang QY, Ma Y, et al. Study on the role of oxidative stress in tumor glucose metabolism [J]. Tumor, 2018, 38(9): 901-906.
- [2] 原野, 王国坤. 氧化应激相关酶在心血管疾病中的研究进展 [J]. 第二军医大学学报, 2021, 42(5): 538-542.
Yuan Y, Wang GK. Research progress of oxidative stress related enzymes in cardiovascular diseases [J]. Acad J Second Mil Med Univ, 2021, 42(5): 538-542.
- [3] 阎婷婷, 赵英政, 易宪文, 等. 氧化应激及炎症对糖尿病肾病的影响 [J]. 新乡医学院学报, 2019, 36(8): 701-705.
Yan TT, Zhao YZ, Yi XW, et al. Effects of oxidative stress and inflammation on diabetic nephropathy [J]. J Xin Med Univ, 2019, 36(8): 701-705.
- [4] Chang MY, Xu GC, Xiong C, et al. Alpha-lipoic acid attenuates silica-induced pulmonary fibrosis by improving mitochondrial function via AMPK/PGC1 α pathway activation in C57BL/6J mice [J]. Toxicol Lett, 2021, 350: 121-132.
- [5] Nagamatsu M, Nickander KK, Schmelzer JD, et al. Lipoic acid improves nerve blood flow, reduces oxidative stress, and improves distal nerve conduction in experimental diabetic neuropathy [J]. Diabetes Care, 1995, 18(8): 1160-1167.
- [6] Cicchillo RM, Booker SJ. Mechanistic investigations of lipoic acid biosynthesis in Escherichia coli: both sulfur atoms in lipoic acid are contributed by the same lipoyl synthase polypeptide [J]. J Am Chem Soc, 2005, 127(9): 2860-2861.
- [7] 吴柳盛, 刘继先, 乌达, 等. 食管腺癌动物模型建立方法的研究进展 [J]. 医学综述, 2021, 27(14): 2783-2788.
Wu LS, Liu JX, Wu D, et al. Research progress in the establishment of animal model of esophageal adenocarcinoma [J]. Med Recapitulate, 2021, 27(14): 2783-2788.
- [8] Ruan Y, Robinson NB, Khan FM, et al. The translation of surgical animal models to human clinical research: A cross-sectional study [J]. Int J Surg, 2020, 77: 25-29.
- [9] 殷桐英, 刘娟, 曹德庆, 等. 宫内砷暴露对小鼠脏器重量和脏器系数的跨代遗传影响 [J]. 环境与健康杂志, 2017, 34(10): 861-864.
Yin GY, Liu J, Cao DQ, et al. Intergenerational genetic effects of intrauterine arsenic exposure on organ weight and organ coefficient in mice [J]. J Environ Health, 2017, 34(10): 861-864.
- [10] Jiang Z, Lu W, Zeng Q, et al. High glucose-induced excessive reactive oxygen species promote apoptosis through mitochondrial damage in rat cartilage endplate cells [J]. J Orthop Res, 2018, 36(9): 2476-2483.
- [11] 李晓波. 依帕司他联合硫辛酸治疗对糖尿病周围神经病变患者神经传导速度及血清 SOD 和 GSH 水平的影响 [J]. 当代医学, 2021, 27(15): 14-16.
Li XB. Effect of epalrestat combined with lipoic acid on nerve conduction velocity and serum SOD and GSH levels in patients with diabetic peripheral neuropathy [J]. Contemp Med, 2021, 27(15): 14-16.
- [12] 贾维娜, 顾庆, 王遂军, 等. α -硫辛酸注射液对糖尿病肾病患者氧化应激和代谢指标的影响 [J]. 临床和实验医学杂志, 2020, 19(13): 1384-1387.
Jia WN, Gu Q, Wang SJ, et al. Effect of Lipoic acid injection on patients with diabetic nephropathy [J]. J Clin Exp Med, 2020, 19(13): 1384-1387.
- [13] Ferro D, Baratta F, Pastori D, et al. New insights into the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease: gut-derived lipopolysaccharides and oxidative stress [J]. Nutrients, 2020, 12(9): 2762.
- [14] Yuan S, Pan Y, Zhang Z, et al. Amelioration of the lipogenesis, oxidative stress and apoptosis of hepatocytes by a novel proteoglycan from ganoderma lucidum [J]. Biol Pharm Bull, 2020, 43(10): 1542-1550.
- [15] Damba T, Bourgonje AR, Abdulle AE, et al. Oxidative stress is associated with suspected non-alcoholic fatty liver disease and all-cause mortality in the general population [J]. Liver Int, 2020, 40(9): 2148-2159.

[收稿日期] 2021-08-30