

· 论著 ·

清醒大鼠急性高血糖模型的建立及其“肾毒性”损伤特点及机制研究

岳晓丹 常宝成 贾俊亚 单春艳 朱红 杨菊红 郑妙艳 杨少华 郭振红
徐俊 张欣荣 王靖宇

【摘要】 目的 建立大鼠清醒状态下急性高血糖模型,观察急性高血糖引起肾损伤的特点,并探讨其可能机制。**方法** 应用随机数字表法将 Sprague-Dawley 大鼠分为高糖组和对照组($n = 10$),颈静脉置管术后行高葡萄糖钳夹实验建立急性高血糖模型。术后第 5 天高糖组经颈静脉置管泵入 50% 葡萄糖溶液,使血糖维持于 16~18 mmol/L;对照组以同等速度泵入生理盐水,实验持续 6 h,留取 24 h 尿液后处死大鼠并取材。光镜和透射电镜观察肾脏结构损伤,检测肾功能、尿微量白蛋白(UMA)及肾损伤分子-1(KIM-1)等肾损伤指标,检测超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛及 8-羟基-2'-脱氧鸟苷(8-OHdG)评估氧化应激水平。**结果** 高糖组出现明显肾脏结构和功能损伤。结构上可见近曲小管细胞肿胀,细胞内线粒体肿胀、排列紊乱;与对照组相比,高糖组 24 h UMA、KIM-1 及中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(NGAL)均显著升高($t = -2.969$ 、 -2.220 、 -2.791 , P 均 < 0.05),而血清及肾组织 SOD 活性明显下降($t = 2.537$ 、 2.599 , P 均 < 0.05),血清丙二醛、肾组织丙二醛及尿 8-OHdG 明显升高($t = -2.532$ 、 -2.600 、 -2.968 , P 均 < 0.05)。**结论** 成功建立大鼠急性高血糖模型。急性高血糖可导致肾脏结构和功能损伤,以肾小管损伤为主,氧化应激及线粒体损伤参与急性高血糖“肾毒性”损伤的发生、发展。

【关键词】 高糖毒性;肾小管;氧化应激

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81603461,81473472,81373864);天津市应用基础与前沿技术研究计划(15JCYBJC50300,13JCZDJC30500,17JCZDJC34700);卫生部激素与发育重点实验室开放课题(2014DX04);天津医科大学科学基金项目(2015KYZM03)

The modeling of acute hyperglycemia in conscious rats and the kidney damaging characteristics and mechanism Yue Xiaodan*, Chang Baocheng, Jia Junya, Shan Chunyan, Zhu Hong, Yang Juhong, Zheng Miaoyan, Yang Shaohua, Guo Zhenhong, Xu Jun, Zhang Xinrong, Wang Jingyu. * Department of Diabetic Nephropathy, Key Laboratory of Hormones and Development (Ministry of Health), Tianjin Key Laboratory of Metabolic Diseases, The Metabolic Diseases Hospital & Tianjin Institute of Endocrinology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Corresponding author: Wang Jingyu, Email: elsaj_0521@163.com

【Abstract】 Objective To establish the modeling of acute hyperglycemia, observe the characteristics of acute hyperglycemia induced kidney damages, and to explore its possible mechanisms. **Methods** Sprague-Dawley rats were divided into hyperglycemia group and control group according to the random number table, and underwent catheterization through jugular vein before acute hyperglycemic clamp to establish the modeling of acute hyperglycemia. Rats in hyperglycemia group were infused with 50% glucose solution at the 5th day after the surgery to maintain the blood glucose between 16 and 18 mmol/L, and rats in control group were infused with normal saline for 6 hours. Then 24-hour urine was collected and the rats were killed. Renal structure alterations were observed under optical and transmission electron microscope, renal injury were evaluated by detecting renal function, urinary microalbumin (UMA) and kidney injury molecule-1

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2017.04.003

作者单位:300070 天津医科大学代谢病医院糖尿病肾病科,内分泌研究所,卫生部激素与发育重点实验室,天津市代谢性疾病重点实验室(岳晓丹,常宝成,单春艳,杨菊红,郑妙艳,杨少华,郭振红,徐俊,张欣荣,王靖宇);300052 天津医科大学总医院肾科(贾俊亚);300070 天津医科大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系(朱红)

通信作者:王靖宇,Email: elsaj_0521@163.com

(KIM-1), and oxidative stress activation were assessed by detecting superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG). **Results** The renal morphologic and functional injuries were found in hyperglycemia group, and severe damages were found in tubular epithelial cells including the enlargement of epithelial cells, the swelling and disarrangement of mitochondria of epithelial cells. Compared with control group, UMA, KIM-1, and neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) level were increased significantly in hyperglycemia group ($t = -2.969, -2.220, -2.791$, all $P < 0.05$). Moreover, compared with control group, serum and renal SOD activity were decreased ($t = 2.537, 2.599$, all $P < 0.05$), while serum MDA, renal MDA and urinary 8-OHdG level were increased significantly in hyperglycemia group ($t = -2.532, -2.600, -2.968$, all $P < 0.05$). **Conclusions** The acute hyperglycemia model in healthy rats are set up successfully. Acute hyperglycemia causes significant damages of renal morphology and functions, especially to tubular epithelial cells, mitochondria injuries and oxidative stress activation may play important roles in acute hyperglycemia induced kidney injuries.

【Key words】 Hyperglycemic toxicity; Renal tubule; Oxidative stress

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81603461, 81473472, 81373864); Tianjin Research Program of Application Foundation and Advanced Technology (15JCYBJC50300, 13JCZDJC30500, 17JCZDJC34700); Foundation of Key Lab of Hormones and Development (Ministry of Health) (2014DX04); Science Fundation of Tianjin Medical University (2015KYZM03)

急性高血糖可抑制胰岛 β 细胞功能,称为胰岛 β 细胞的“高糖毒性”^[1]。临床中经常会遇到这样的现象:初诊糖尿病患者急性高血糖状态下,会出现尿白蛋白阳性而被诊断为“糖尿病肾病”,特别是伴有酮症的患者。因此,急性高血糖是否也会导致除胰岛以外的其他组织的急性损伤,如“肾毒性”损伤?大量研究提示,严重创伤、手术或重症疾病等情况伴发的急性高血糖常导致急性肾功能衰竭的发生率增加,严格控制血糖可明显改善预后^[2]。然而,在这些模型中,往往有麻醉、手术以及药物等因素影响,不能反映急性高血糖本身的作用,损伤机制亦不明确。因此,本研究通过高葡萄糖钳夹技术建立大鼠清醒状态下急性高血糖模型,最大限度排除其他因素的影响,以观察急性高血糖对肾脏结构和功能的损伤及其特征,并对其可能机制作初步的探讨,为临床急性高血糖肾脏损伤的早期发现和及时干预提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 雄性 Sprague-Dawley 大鼠 20 只[动物批号:1140070010553;许可证号:SCXK(京)2012-0001],清洁级,微生物检测合格,体重(260 ± 10)g,购于北京华阜康科技股份有限公司。大鼠分笼喂养,5 只/笼,自由摄食和饮水,每日更换垫料,饲养环境清洁,自然光照,温度 $20 \sim 25^\circ\text{C}$,湿度 $50\% \sim 70\%$,通风良好。大鼠以经⁶⁰钴照射的普通饲料喂养,适应性喂养 1 周后应用随机数字表法分为对照组和高糖组,每组 10 只。

1.2 实验方法

1.2.1 颈静脉置管术 大鼠禁食不禁水 12 h,称量体重,按 0.3 ml/kg 的剂量腹腔注射 10% 水合氯醛麻

醉,之后取仰卧位固定于手术台上,行颈静脉置管术,置管预先充满 50 U/ml 的肝素生理盐水溶液,经皮下从后背穿出,与肝素帽相连,术后关闭皮肤切口,待大鼠清醒后,密切观察其精神状态、进食等一般状态,5 d 后行高葡萄糖钳夹实验。

1.2.2 高葡萄糖钳夹实验 大鼠禁食不禁水 12 h,固定于固定器中,尾尖采血测定空腹血糖。将 Alaris® GH 微量注射泵 (ALARIS 医疗器械公司) 与颈静脉置管连接。高糖组以 50% 的葡萄糖溶液以 $0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速度泵入,持续 3 ~ 5 min,使血糖水平迅速上升,之后以 $0.6 \sim 1.2 \text{ ml/h}$ 的速度持续泵入,每 5 min 尾尖采血测定血糖,根据血糖水平调整泵入速度,使血糖维持于 $16 \sim 18 \text{ mmol/L}$; 对照组以同等速度持续泵入生理盐水,每 5 min 尾尖采血测定血糖。实验持续 6 h。

1.2.3 标本留取 高糖钳夹实验后,将大鼠置于代谢笼留取 24 h 尿液, -80°C 冰箱冻存。股动脉放血法处死大鼠,留取动脉血, $3\,500 \text{ r/min}$ ($r = 80 \text{ mm}$) 离心 5 min,分离血清, -80°C 冰箱冻存。大鼠处死后,迅速剖开腹腔,分离并切取肾脏,左肾切取一半固定于电镜固定液送电镜室观察,另一半固定于 4% 多聚甲醛溶液;右肾分装后立即放入液氮中冷冻,之后转移至 -80°C 冰箱保存。

1.2.4 指标检测

1.2.4.1 形态学检测 将固定于 4% 多聚甲醛溶液中的组织取出,蜡块包埋,连续切片 (厚度 $4 \mu\text{m}$),苏木素-伊红 (HE) 染色,光镜观察肾脏形态结构变化。取出电镜固定液中的标本,包埋,用 LEICA ULTRACUT-R 超薄切片机做超薄切片 (厚度 $50 \text{ nm} \pm$), HITACHI-7500 透射电子显微镜观察, Megaview 数字化

电镜摄影系统摄片。

1.2.4.2 一般指标检测 日立7600A-020全自动生化分析仪测定血清尿素氮(BUN)、血清肌酐,并计算肌酐清除率(Ccr)。美国罗氏分析仪测定24 h微量白蛋白(UMA)、视黄醇结合蛋白(RBP)及N-乙酰-β-氨基葡萄糖苷酶(NAG)。ELISA法检测尿肾损伤分子-1(KIM-1)、白细胞介素-18(IL-18)及中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(NGAL),严格按试剂盒说明书操作。

制备10%肾组织匀浆,BCA法测定蛋白浓度。取血清及肾组织匀浆,用黄嘌呤氧化酶法测定血清及肾组织匀浆超氧化物歧化酶(SOD)活性;硫代巴比妥酸法测定丙二醛含量,严格按试剂盒说明书操作,根据说明书中公式计算结果。ELISA测定尿8-羟基-2'-脱氧鸟苷(8-OHdG)水平。

1.3 统计学处理 应用SPSS 20.0统计学软件进行数据分析,所有数据均进行正态性检验和方差齐性检验,符合正态分布者,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较应用独立样本 t 检验;不符合正态分布者应用非参数检验,检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功建立大鼠急性高血糖模型 大鼠颈静脉置管术后1~2 h苏醒,术后单笼喂养,大鼠一般状态良好,高糖钳夹实验前精神状态、体重基本恢复至术前水平。钳夹实验中,高糖组血糖在实验开始后3~5 min内迅速上升至接近目标值,之后血糖波动于16~18 mmol/L;对照组血糖维持于4~6 mmol/L(图1)。

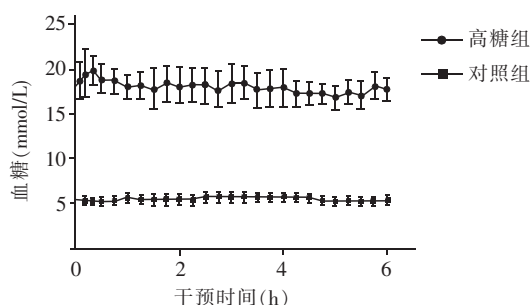


图1 大鼠高糖钳夹实验血糖变化趋势

2.2 急性高血糖导致的大鼠肾组织形态学损伤特征

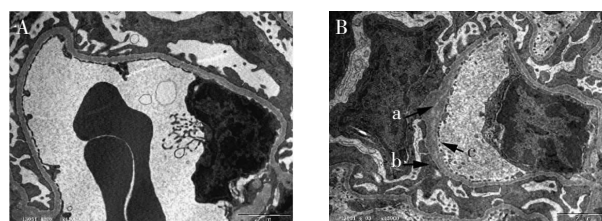
2.2.1 HE染色 高糖组与对照组相比,肾小球无明显变化,毛细血管祥开放良好,无毛细血管基底膜增厚及炎细胞浸润;对照组肾小管结构清晰,管腔无扩张和萎缩,肾小管上皮细胞无空泡变性,间质无水肿;高糖组可见近曲小管细胞肿胀、结构紊乱、管腔狭窄,远曲小管未见明显异常(图2,封3)。

2.2.2 透射电镜 肾小球超微结构:对照组肾小球滤过膜均匀规则、无增厚,足突排列整齐清晰,血管内皮细胞无异常;与对照组相比,高糖组肾小球滤过膜增厚,足细胞体积增大,足突融合,内皮细胞膜孔开大、局灶性断裂(图3)。

肾小管超微结构:对照组肾小管基膜无增厚,肾小管上皮细胞排列清晰,线粒体排列规则,线粒体嵴结构清晰;与对照组相比,高糖组可见肾小管基膜增厚,肾小管上皮细胞迷路结构不清晰,细胞内可见较大的空泡形成,部分细胞核可见凋亡样改变;肾小管线粒体肿胀、排列紊乱,线粒体嵴结构不清晰(图4);肾小管周小血管内皮细胞胞质突起断裂、脱落,线粒体结构模糊不清(图5)。

2.3 一般指标及肾功能相关指标比较 两组体重、BUN、血肌酐及Ccr差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。高糖组24 hUMA较对照组明显升高($P < 0.05$)。在肾小管损伤指标中,两组间RBP、NAG差异均无统计学意义(P 均 >0.05),而与对照组相比,高糖组急性肾损伤指标KIM-1及IL-18、NGAL均显著升高(P 均 <0.05 ,表1)。

2.4 氧化应激指标比较 与对照组相比,高糖组血清及肾组织匀浆SOD活性明显下降,丙二醛含量及尿8-OHdG水平明显升高(P 均 <0.05 ,表2)。

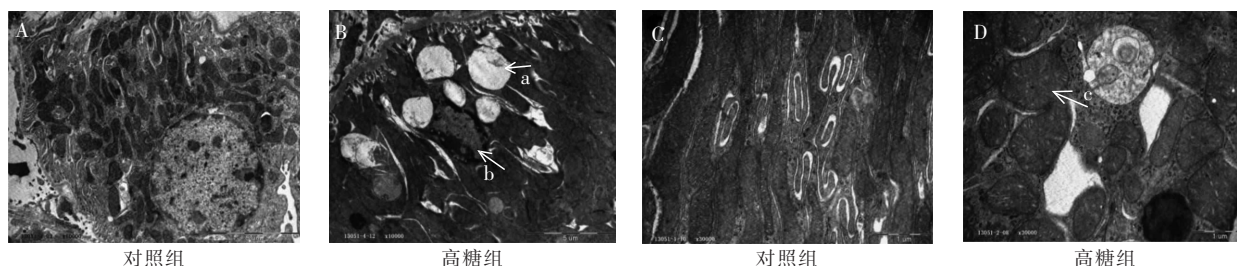


对照组

高糖组

注:a:肾小球基底膜增厚;b:足突融合;c:肾小球血管内皮细胞膜孔开大

图3 高糖组和对照组肾小球滤过膜透射电镜结果(15 000×)



对照组

高糖组

对照组

高糖组

注:a:迷路内空泡形成;b:凋亡样改变的细胞核;c:线粒体肿胀、嵴结构不清晰

图4 高糖组和对照组肾小管上皮细胞透射电镜结果(10 000×)

表 1 高糖组和对照组一般指标及肾功能相关指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	体重(g)	血糖(mmol/L)	24 hUMA(μg/24 h)	BUN(mmol/L)	Scr(μmol/L)	Ccr(ml·min ⁻¹ ·kg ⁻¹)
对照组	10	262.4±10.2	5.27±0.47	33.81±13.81	7.65±1.53	24.7±3.9	9.58±3.32
高糖组	10	262.7±7.7	17.66±1.06	68.01±27.09	7.76±1.08	25.3±5.3	9.83±3.04
<i>t</i> 值		-0.065	-32.288	-2.969	-0.175	-0.224	-0.122
<i>P</i> 值		0.949	<0.001	0.014	0.864	0.826	0.906

组别	例数	RBP(mg/L)	NAG(U/L)	KIM-1(μg/L)	IL-18(ng/L)	NGAL(μg/L)
对照组	10	0.396±0.110	32.53±6.07	1.41±0.43	153.92±28.91	0.988±0.305
高糖组	10	0.376±0.113	33.40±8.36	1.95±0.52	181.22±18.39	1.648±0.574
<i>t</i> 值		0.357	-0.145	-2.220	-2.253	-2.791
<i>P</i> 值		0.727	0.892	0.045	0.041	0.016

注:UMA:尿微量白蛋白;BUN:血清尿素氮;Scr:血清肌酐;Ccr:肌酐清除率;RBP:视黄醇结合蛋白;NAG:N-乙酰- β -氨基葡萄糖苷酶;KIM-1:肾损伤分子-1;IL-18:白细胞介素-18;NGAL:中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白

表 2 高糖组和对照组氧化应激指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	血清 SOD(U/ml)	血清 MDA($\mu\text{mol/L}$)	肾组织 SOD(U/mg prot)	肾组织 MDA($\mu\text{mol/g prot}$)	尿 8-OHdG($\mu\text{g/L}$)
对照组	10	136.29 \pm 14.46	2.41 \pm 0.34	154.04 \pm 7.82	2.05 \pm 0.23	4.49 \pm 2.25
高糖组	10	115.74 \pm 19.24	2.94 \pm 0.50	143.63 \pm 8.59	2.39 \pm 0.31	8.80 \pm 3.42
<i>t</i> 值		2.537	-2.532	2.599	-2.600	-2.968
<i>P</i> 值		0.021	0.023	0.020	0.019	0.011

注:SOD:超氧化物歧化酶;MDA:丙二醛;8-OHdG:8-羟基-2'-脱氧鸟苷

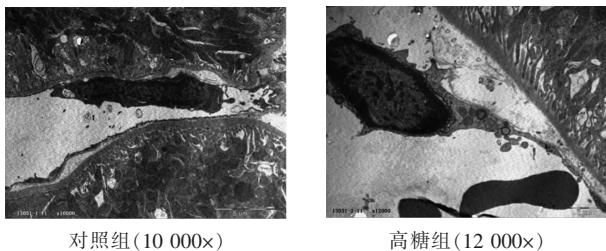


图 5 高糖组和对照组肾小管周小血管内皮细胞透射电镜结果

3 讨论

传统观点认为,糖尿病肾病主要表现为肾小球损伤。近年来,肾小管损伤在糖尿病肾病中的地位逐渐升高,有研究甚至认为其可能早于肾小球损伤^[3-5]。本研究结果显示,6 h高糖干预后,光镜下肾小球并无明显变化;而近曲小管上皮细胞已经出现明显的肿胀、结构紊乱、管腔狭窄等变化。通过电镜进一步观察其超微结构,肾小球可见基底膜增厚、足突融合、内皮细胞膜孔开大等病理改变;而肾小管可见基膜增厚,上皮细胞线粒体肿胀、嵴结构不清,部分细胞核可见凋亡样改变;肾小管周小血管内皮细胞胞质突起断裂、脱落等明显损伤。提示急性高糖可导致明显肾脏结构损伤,以肾小管上皮细胞及管周小血管损伤为主,而管周小血管损伤可直接导致肾小管上皮细胞缺血、缺氧损伤。因此,笔者推测在急性高血糖导致肾脏结构损伤中,肾小管损伤比肾小球损伤更为严重。

在肾功能评价方面,本研究结果显示,高糖干预 6 h后,两组 BUN、血肌酐及Ccr差异均无统计学意义(P 均>0.05),可能与本模型肾小球损伤较轻、指

标敏感性略差有关。

24 hUMA一直被认为是反映早期糖尿病肾小球损伤的指标,但有研究发现,链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠早期发生微量白蛋白尿时,肾小球滤过率并未发生明显变化,白蛋白尿的发生是肾小管上皮细胞重吸收减少所致^[6]。因此,UMA在糖尿病早期更早反映了肾小管重吸收功能受损。本研究显示,高糖组 24 hUMA显著高于对照组,肾小管损伤更为严重,考虑UMA的升高主要与肾小管重吸收功能损伤有关;另外,急性高糖导致的肾小球高滤过亦可能参与其中。

RBP是由肝脏分泌的小分子蛋白,游离RBP可自由通过肾小球,几乎全部被肾小管重吸收,常被用来反映肾小管重吸收功能。NAG在近曲小管上皮细胞中含量丰富,当近曲小管上皮细胞受损时,尿NAG活性显著升高,且升高程度与肾小管损伤程度正相关。然而在本研究中,两组尿RBP和NAG相比差异均无统计学意义(P 均>0.05),因此,笔者认为尽管RBP和NAG是慢性高血糖所致肾脏损伤的早期预测指标,但不能作为反映急性高血糖所致肾脏损伤的预测指标。

KIM-1、IL-18及NGAL是近年来发现的更早检测急性肾损伤的新指标,在造影剂肾病、缺血性肾病及毒物所致急性肾损伤(AKI)等的早期发现中起重要作用,联合检测对预测病情变化趋势更有优势。KIM-1在正常肾组织中表达量低,在缺血及肾毒性损伤后近端小管上皮细胞中表达量明显增加,并与

损伤程度呈正相关^[7-9]。IL-18是由近端肾小管上皮细胞等合成的生物前体分子。在术后患者急性肾损伤风险及缺血性肾损伤中均有很高的预测价值^[10-11]。NGAL主要表达于中性粒细胞和上皮细胞,在肾缺血、毒性损伤数小时内即出现尿NGAL水平升高。在ICU患者中,NGAL预测AKI的敏感性为91%,特异性为95%^[12]。另外,在AKI恢复过程中,尿NGAL水平回落也有较高预测价值^[13]。

本实验中,与对照组相比,高糖组尿KIM-1、IL-18及NGAL水平均明显升高(P 均 <0.05)。即急性高血糖可明显导致肾小管损伤,KIM-1、IL-18及NGAL检测可有效反映急性高血糖“肾毒性”损伤。

大量研究提示,氧化应激激活在高糖导致肾脏损伤中起关键作用^[14]。细胞内绝大部分活性氧簇来源于线粒体,当其产生显著高于清除时,可引发一系列氧化应激损伤。高糖干预下,线粒体呼吸链传递障碍,活性氧簇产生增加;且高糖可同时抑制线粒体相关抗氧化酶的活性,使活性氧簇清除减少,加重细胞代谢紊乱。笔者研究结果显示,在高糖干预6 h后,电镜下可见线粒体明显肿胀、线粒体嵴结构不清晰等线粒体损伤的形态学改变。笔者同时发现,血清及肾组织SOD活性明显下降,丙二醛含量升高,尿8-OHdG水平亦明显升高,即急性高血糖可导致肾脏明显氧化应激损伤。

本研究未设立渗透压对照组,不能除外渗透压本身对肾小管的损伤作用,考虑到渗透压升高为急性高血糖的直接效应,笔者观察的目的是急性高血糖对肾脏的损伤,包括急性高血糖的直接效应(包括渗透压升高)所带来的结果。另外,体外研究发现,高浓度葡萄糖(30 mmol/L)干预肾小管上皮细胞,可导致肾小管上皮细胞线粒体损伤,细胞凋亡,且这种作用不受渗透压的影响^[15]。尽管如此,未设立渗透压对照组仍是本研究的遗憾之一,即不能完全除外渗透压对肾小管等的损伤作用,笔者会在后续的研究中完善实验设计,以除外渗透压等因素的干扰。

总之,急性高血糖可导致明显“肾毒性”损伤,形态学表现为以肾小管上皮细胞损伤为主,兼有管周小血管内皮细胞损伤。肾小球滤过膜损伤可能是导致蛋白尿发生的原因之一,肾小管结构及重吸收功能损伤亦可促进UMA的升高。与传统肾功能指标BUN、血肌酐、Ccr和肾小管损伤指标RBP、NAG相比,尿KIM-1、IL-18及NGAL检测可更早期发现急性高血糖肾脏损伤。氧化应激及线粒体损伤参与了急性高血糖“肾毒性”损伤的发生、发展。

参 考 文 献

- [1] Francini F, Del Zotto H, Gagliardino JJ. Effect of an acute glucose overload on islet cell morphology and secretory function in the toad [J]. Gen Comp Endocrinol, 2001, 122 (2): 130-138. DOI:10.1006/gcen.2001.7617.
- [2] Akhtar S, Barash PG, Inzucchi SE. Scientific principles and clinical implications of perioperative glucose regulation and control [J]. Anesth Analg, 2010, 110 (2): 478-497. DOI:10.1213/ANE.0b013e3181c6be63.
- [3] Tonolo G, Cherchi S. Tubulointerstitial disease in diabetic nephropathy [J]. Int J Nephrol Renovasc Dis, 2014, 7: 107-115. DOI:10.2147/IJNRD.S37883.
- [4] Comper WD. Albuminuria is controlled primarily by proximal tubules [J]. Nat Rev Nephrol, 2014, 10 (3): 180. DOI:10.1038/nrneph.2013.58-c1.
- [5] Bonventre JV. Can we target tubular damage to prevent renal function decline in diabetes? [J]. Semin Nephrol, 2012, 32 (5): 452-462. DOI:10.1016/j.semnephrol.2012.07.008.
- [6] Russo LM, Sandoval RM, Campos SB, et al. Impaired tubular uptake explains albuminuria in early diabetic nephropathy [J]. J Am Soc Nephrol, 2009, 20 (3): 489-494. DOI:10.1681/ASN.2008050503.
- [7] Medi B, Rovcanin B, Vujovic KS, et al. Evaluation of novel biomarkers of acute kidney injury: the possibilities and limitations [J]. Curr Med Chem, 2016, 23 (19): 1981-1997.
- [8] Bonventre JV. Kidney injury molecule-1: a translational journey [J]. Trans Am Clin Climatol Assoc, 2014, 125: 293-299.
- [9] Ren H, Zhou X, Dai D, et al. Assessment of urinary kidney injury molecule-1 and interleukin-18 in the early post-burn period to predict acute kidney injury for various degrees of burn injury [J]. BMC Nephrol, 2015, 16: 142. DOI: 10.1186/s12882-015-0140-3.
- [10] Parikh CR, Coca SG, Thiessen-Philbrook H, et al. Postoperative biomarkers predict acute kidney injury and poor outcomes after adult cardiac surgery [J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22 (9): 1748-1757. DOI:10.1681/ASN.2010121302.
- [11] Khalid U, Jenkins RH, Pino-Chavez G, et al. A localized ischemic preconditioning regimen increases tumor necrosis factor α expression in a rat model of kidney ischemia-reperfusion injury [J]. Exp Clin Transplant, 2015, 13 (6): 535-542.
- [12] Makris K, Markou N, Evodia E, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as an early marker of acute kidney injury in critically ill multiple trauma patients [J]. Clin Chem Lab Med, 2009, 47 (1): 79-82. DOI: 10.1515/CCLM.2009.004.
- [13] Moon SJ, Park HB, Yoon SY, et al. Urinary biomarkers for early detection of recovery in patients with acute kidney injury [J]. J Korean Med Sci, 2013, 28 (8): 1181-1186. DOI:10.3346/jkms.2013.28.8.1181.
- [14] Gorin Y, Wauquier F. Upstream regulators and downstream effectors of NADPH oxidases as novel therapeutic targets for diabetic kidney disease [J]. Mol Cells, 2015, 38 (4): 285-296. DOI: 10.14348/molcells.2015.0010.
- [15] Sun L, Xie P, Wada J, et al. Rap1b GTPase ameliorates glucose-induced mitochondrial dysfunction [J]. J Am Soc Nephrol, 2008, 19 (12): 2293-2301. DOI:10.1681/ASN.2008030336.

(收稿日期:2016-10-17)