

糖尿病大鼠肾脏 4 羟基壬烯醛的表达及普罗布考的干预研究

王雁飞 刘丽秋 刘桂美 黄俊彦 季文萱

【摘要】 目的 观察链脲菌素(STZ)诱导的糖尿病大鼠肾小球中 4 羟基壬烯醛(4-HNE)的表达,并探讨普罗布考的肾脏保护作用机制。方法 60 mg/kg STZ 一次性腹腔注射构建糖尿病大鼠模型,造模成功后按随机数字表法分为糖尿病组(D组, $n = 24$)和普罗布考干预组(P组, $n = 24$),同时选取健康大鼠作为正常对照组(C组, $n = 24$)。P组大鼠给予普罗布考 $110 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃, D组及C组给予相等体积蒸馏水灌胃。分别于 4 周、8 周及 12 周检测 24 h 尿蛋白量、血清胆固醇、三酰甘油、尿素氮及肌酐。HE 染色及 PAS 染色后光镜下观察肾脏病理变化,免疫组化观察肾组织 4-HNE 的表达, Western 印迹检测 4-HNE 的表达水平。结果 D 组 24 h 尿蛋白量、三酰甘油、胆固醇、尿素氮及肌酐在 4 周、8 周及 12 周逐渐升高,且均高于同时间的 C 组,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$), P 组以上指标均低于同时间的 D 组,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。P 组及 D 组 4 周、8 周及 12 周的肾脏病理改变逐渐加重,同时间的 P 组肾脏病理改变较 D 组轻,但仍重于 C 组。D 组 4 周、8 周及 12 周肾脏中的 4-HNE 的表达均显著高于 C 组,免疫组化染色积分差异有统计学意义($P < 0.05$), P 组 4-HNE 的表达量低于同时间的 D 组,差异亦有统计学意义($P < 0.05$); Western 印迹结果与免疫组化结果相符。结论 STZ 诱导的糖尿病大鼠肾小球中脂质过氧化标志物 4-HNE 明显升高,而普罗布考可能通过减少 4-HNE 的生成减轻脂质过氧化损伤,从而起到肾脏保护作用。

【关键词】 糖尿病肾病; 氧化性应激; 脂质过氧化作用; 普罗布考; 4 羟基壬烯醛

Expression of 4-hydroxynonenal in the kidney of diabetic rats and the effect of probucol

WANG Yan-fei, LIU Li-qiu, LIU Gui-mei, HUANG Jun-yan, JI Wen-xuan. Department of Nephrology, Qingdao Medical College Affiliated Hospital, Qingdao 266000, China

Corresponding author: LIU Li-qiu, Email: liuliquiu@medmail.com.cn

【Abstract】 **Objective** To investigate the expression of 4-hydroxynonenal (4-HNE) in the kidney of diabetic rats and the effect of probucol. **Methods** The rats were being intraperitoneal injected with STZ (60 mg/kg) to establish diabetic models. Then diabetic rats were randomly divided into diabetic group (group D, $n = 24$), probucol treated group (group P, $n = 24$). Normal rats were taken as control group (group C, $n = 24$). Rats in group P were treated by probucol ($110 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$); rats in group D and group C were given equal volume water instead. Scr, BUN, triglyceride (TG), total cholesterol (TC) and 24-hour urinary protein were measured at the 4th, 8th and 12th week. PAS staining and HE staining were used to evaluate the pathological changes of the kidney. The immunohistochemistry and Western blotting were used to detect the expression of 4-HNE in renal tissue. **Results** Levels of Scr, BUN, TG, TC and 24-hour urinary protein in group D were higher

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2013.09.010

基金项目: 青岛市科技局课题(2012-1-3-4-123-nsh)

作者单位: 266000 青岛大学医学院附属医院肾内科(王雁飞、刘丽秋); 青岛市中心医院(刘桂美、黄俊彦、季文萱)

通信作者: 刘丽秋, Email: liuliquiu@medmail.com.cn

than those in group C at the 4th, 8th and 12th week(all $P < 0.05$); Levels of Scr, BUN, TG, TC and 24-hour urinary protein in group P were lower than those in group D at 4th, 8th and 12th week (all $P < 0.05$). The pathological changes of the kidney in group D were more serious than that in group P. The expression of 4-HNE in group D were higher than group C at the 4th, 8th and 12th week (all $P < 0.05$); The expression of 4-HNE in the kidneys of group P decreased significantly compared to that of group D at the same time ($P < 0.05$). **Conclusions** As an indicator of lipid peroxidation, the expression of 4-HNE significantly increases in the kidney of diabetic rat. Probucol may protect the diabetic kidney through decreasing the expression of 4-HNE and the level of lipid peroxidation.

【Key words】 Diabetic nephropathies; Oxidative stress; Lipid peroxidation; Probucol; 4-hydroxynonenal

随着生活水平的提高及饮食结构的改变,糖尿病已经成为发达国家继心血管病变、肿瘤之后第三大严重威胁人类健康的非传染性疾病^[1]。全球糖尿病患者已超过 1.5 亿人,而我国糖尿病发病率高达 9.7%,患者人群居世界第 2 位^[1-2]。近几年发现氧化应激损伤在糖尿病的发生及发展中起重要作用^[3]。4 羟基壬烯醛(4-HNE)是细胞膜上的不饱和脂肪酸在活性氧产物的作用下发生脂质过氧化的产物,在极低浓度时参与细胞的正常生理活动,当其浓度升高时可导致细胞凋亡,影响细胞信号转导,并可产生细胞毒性作用,影响细胞正常的生理活动^[4]。本实验通过观察糖尿病大鼠肾脏中 4-HNE 的表达,评价肾脏脂质过氧化的水平,并通过观察应用普罗布考干预治疗后 4-HNE 的表达变化探讨普罗布考对肾脏的保护机制。

材料与方 法

1. 实验动物与主要试剂: 6~8 周龄清洁级健康雄性 Wistar 大鼠 50 只,体质量为 200~250 g,购自山东鲁抗实验动物中心。兔抗大鼠 4-HNE 抗体(美国 Abcam),血糖试纸(美国强生),链脲菌素(STZ,美国 Sigma),普罗布考(齐鲁制药有限公司),辣根过氧化物酶标记二抗(美国 Santa Cruz)。

2. 糖尿病大鼠模型的建立与分组: 大鼠适应性喂养 1 周,禁食 24 h 后一次性腹腔注射 STZ 60 mg/kg 构建糖尿病大鼠模型。STZ 用前溶于 0.1 mmol/L 枸橼酸-枸橼酸钠缓冲液(pH = 4.5)。腹腔注射 STZ 72 h 后鼠尾静脉测随机血糖,血糖 > 16.7 mmol/L 并能维持 1 周者为造模成功,50 只中 48 只造模成功。将模成功的糖尿病大鼠按随机数字表法分为糖尿病组(D 组, $n = 24$)及普罗布

考干预治疗组(P 组, $n = 24$),并设置健康对照组(C 组, $n = 24$)。

3. 治疗及标本收集方法: 用蒸馏水将普罗布考配成 2.5% 混悬液, P 组大鼠给予普罗布考 110 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 灌胃, D 组和 C 组给予等体积的蒸馏水灌胃, 各组分别于 4 周、8 周、12 周处死 8 只大鼠, 处死前 1 d 大鼠放入代谢笼留取 24 h 尿, 记录 24 h 尿量后 1500 r/min(离心半径 13.5 cm)离心 10 min, 留取上清, -30℃ 冰箱冻存; 5% 水合氯醛 3 ml/kg 腹腔注射麻醉后, 内眦静脉取血, 3500 r/min(离心半径 13.5 cm)离心 10 min, 留取血清, -80℃ 冰箱冻存; 鼠尾静脉取血测血糖; 并于麻醉后开腹取双肾, 清除肾蒂处的血管及结缔组织, 去除肾脏表面包膜, 并将肾脏纵向剖开, 取 1/2 左侧肾脏固定于 10% 中性甲醛溶液中, 其余肾组织放于液氮中冻存。

4. 血、尿相关指标检测: 24 h 尿蛋白量、三酰甘油、胆固醇、尿素氮及肌酐采用美国 Beckcoulter DXC800 全自动生化分析仪进行检测。

5. 肾脏病理: 常规肾组织固定、切片(厚度 2 μm), HE 染色及 PAS 染色, 光镜下观察肾脏组织形态学及结构的变化。

6. 免疫组化测定 4-HNE 的表达: 二甲苯脱蜡, 梯度乙醇脱水, 室温 3% 过氧化氢孵育 10 min, PBS 浸洗 5 min, 滴加抗原修复液室温孵育 10 min, PBS 清洗 3 次, 滴加封闭用山羊血清, 室温孵育 10 min, 加入兔抗大鼠 4-HNE 抗体(1:500), 4℃ 过夜, 复温 10 min, PBS 冲洗 2 min×3 次。滴加抗兔二抗, 37℃ 孵育 20 min, PBS 漂洗 5 min×3 次。DAB 显色, 苏木素复染后封片观察, 应用 PBS 代替一抗作阴性对照。光镜下每张切片随机选择 5 个视野, 计算阳性细胞百分率(R)评分 A(R < 1% 为 0 分, 1% ≤ R ≤ 10% 为 1 分, 10% < R ≤ 50% 为 2

分, 50% < R ≤ 80% 为 3 分, 80% < R ≤ 100% 为 4 分); 染色强度评分 B (无着色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分)。免疫组化评分 = A × B, 以染色积分反映 4-HNE 的表达水平^[5]。

7. Western 印迹法测定 4-HNE 的表达: 取液氮保存后的肾组织, 充分研磨、裂解、离心后, 取上清液测定蛋白浓度, 100℃ 加热 5 min, 取 40 μg 上样后电泳, 样本用 15% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白后, 电泳转到 PVDF 膜上, 5% 的脱脂牛奶封闭 2 h, 以 1 × TBST 洗涤后, 与兔抗大鼠 4-HNE 抗体 (1:500) 4℃ 过夜, 然后加入辣根过氧化物酶标记的二抗 (1:2000) 室温孵育 1 h, 应用 ECL 检测样本的免疫活性, 暗室曝光, X 线胶片显影, 应用美国 UVP 分析仪器扫描胶片, 得出灰度值, 用同样方法标记鼠单克隆抗体 β-actin 作为胞质蛋白内参对照。

8. 统计学处理: 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较应用 Bonferroni 检验。免疫组化染色积分采用非参数统计方法, $P < 0.05$ 视为差异有统计学意义, 所有资料应用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析。

结 果

1. 血、尿相关指标: C 组大鼠尿素氮、肌酐、胆固醇、三酰甘油及 24 h 尿蛋白在 4 周、8 周及 12 周无明显变化; D 组大鼠以上指标于 4 周、8 周及 12 周逐渐升高, 显著高于同时间的 C 组, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$); 应用普罗布考干预治疗的 P 组大鼠以上指标均低于同时间的 D 组, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。见表 1。

2. 肾脏病理: HE 染色结果发现, 4 周时 D 组及 P 组肾脏病理变化不明显; 8 周时与 C 组比较, D 组肾小球体积增大, 系膜区面积增宽, 局灶性的系膜基质增加; 12 周时 D 组肾小球系膜区面积明显增宽, 系膜基质明显增加, 可见轻微肾小球硬化; 应用普罗布考干预治疗的 P 组以上病理改变明显减轻。PAS 染色结果发现, 除上述病理改变外, 12 周时 D 组出现肾小球基底膜增厚, 肾小囊腔明显狭小, P 组大鼠肾组织以上病理改变较 D 组明显减轻, 但仍重于 C 组。见图 1, 图 2。

3. 4-HNE 的表达变化: 免疫组化结果发现, C 组 4 周、8 周及 12 周 4-HNE 的表达较少, 积分较

表 1 各组大鼠不同时间生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	第 4 周末	第 8 周末	第 12 周末
Scr(μmol/L)			
D 组	67.00 ± 2.41 ^a	79.75 ± 5.56 ^a	88.23 ± 8.45 ^a
P 组	62.51 ± 3.11 ^b	72.51 ± 4.43 ^b	82.70 ± 5.65 ^b
C 组	51.10 ± 6.16	48.65 ± 7.55	48.78 ± 5.15
BUN(mmol/L)			
D 组	8.88 ± 0.77 ^a	9.68 ± 0.44 ^a	12.99 ± 2.39 ^a
P 组	7.57 ± 0.17 ^b	8.62 ± 0.54 ^b	10.12 ± 2.11 ^b
C 组	5.55 ± 0.89	5.31 ± 0.69	6.09 ± 1.11
TG(mmol/L)			
D 组	0.64 ± 0.05 ^a	1.26 ± 0.08 ^a	1.39 ± 0.18 ^a
P 组	0.41 ± 0.22 ^b	0.91 ± 0.25 ^b	1.10 ± 0.14 ^b
C 组	0.38 ± 0.12	0.46 ± 0.14	0.55 ± 0.23
胆固醇(mmol/L)			
D 组	1.84 ± 0.13 ^a	1.86 ± 0.16 ^a	1.98 ± 0.29 ^a
P 组	1.09 ± 0.30 ^b	1.46 ± 0.18 ^b	1.61 ± 0.13 ^b
C 组	1.07 ± 0.93	1.17 ± 0.11	1.13 ± 0.13
24 h 尿蛋白量(mg)			
D 组	15.34 ± 1.63 ^a	27.23 ± 4.90 ^a	50.67 ± 10.39 ^a
P 组	11.26 ± 2.15 ^b	19.40 ± 1.55 ^b	30.48 ± 5.69 ^b
C 组	5.67 ± 0.99	4.23 ± 1.24	4.19 ± 1.43

注: 与同时时间点的 C 组比较, ^a $P < 0.05$; 与同时时间点的 D 组比较, ^b $P < 0.05$

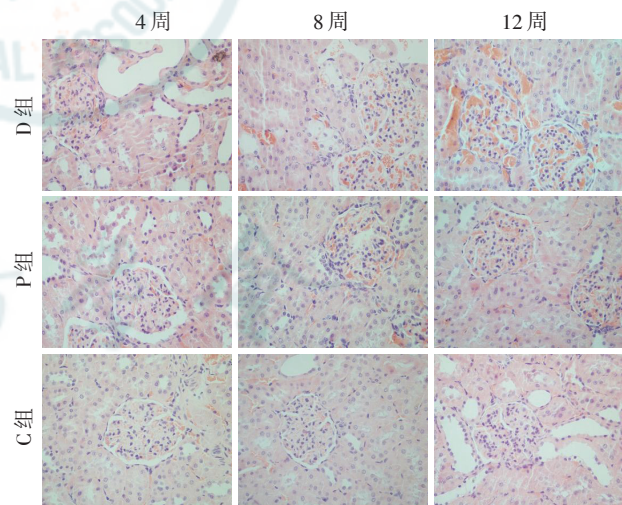


图 1 各组大鼠肾组织 4 周、8 周及 12 周病理改变 (HE 染色 × 200)

低; D 组及 P 组 4 周时 4-HNE 在肾小球仅有少量表达, 8 周及 12 周时 D 组及 P 组的表达量明显升高, 染色积分高于同时间的 C 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); P 组免疫组化积分显著低于同时间的 D 组, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。见图 3。Western 印迹结果发现, C 组大鼠肾组织 4 周、8

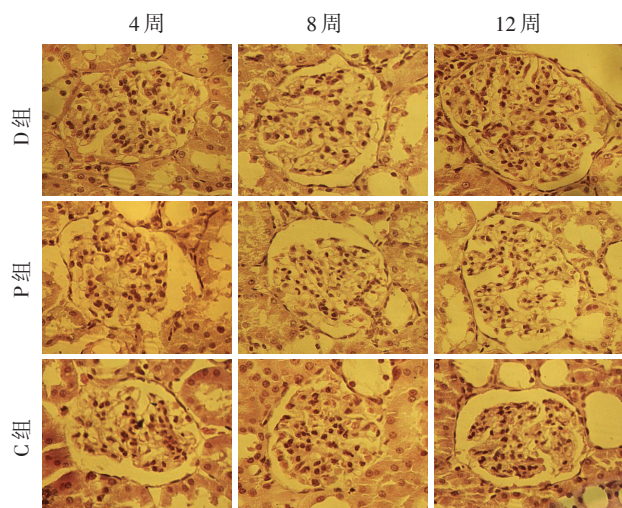
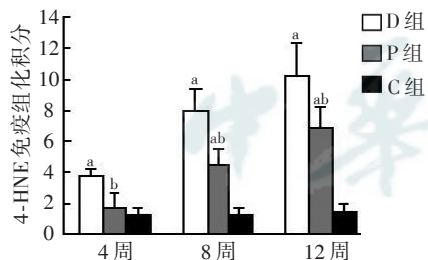
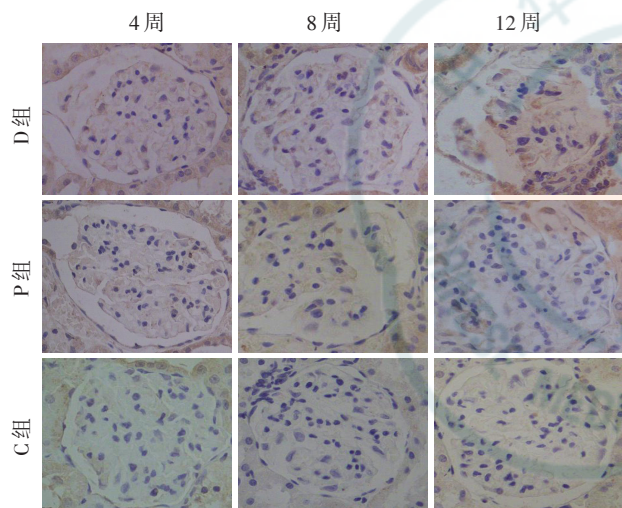


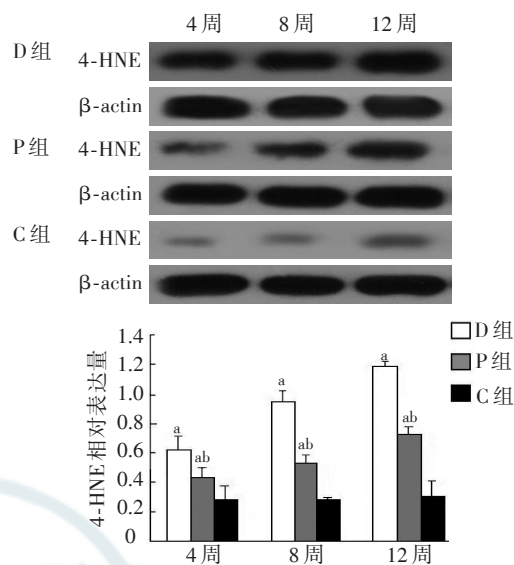
图2 各组大鼠肾组织病理改变(PAS ×400)



注:与同时间点C组比较,^a $P < 0.05$;与同时间点D组比较,^b $P < 0.05$

图3 各组大鼠肾组织4-HNE的表达(免疫组化 ×400)

周及12周4-HNE的表达量极少,且4周、8周及12周的表达无明显变化;D组肾组织4周、8周及12周4-HNE的表达量逐渐升高,且明显高于同时时间点的C组,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$);应用普罗布考干预治疗的P组4周、8周及12周4-HNE的表达量均高于C组,但均低于同一时间的D组,



注:与同时间点C组比较,^a $P < 0.05$;与同时间点D组比较,

^b $P < 0.05$

图4 各组大鼠肾组织4-HNE的表达(Western印迹)

差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见图4。

讨 论

在高糖及糖基化终产物等因素的作用下,机体氧化应激水平升高,导致活性氧产物(ROS)产生增多,ROS可攻击细胞膜磷脂双分子层的多不饱和脂肪酸(PUFA),而PUFA上的氢原子可启动脂质过氧化反应,产生脂质过氧化产物,其中醛基产物是脂质过氧化反应的终末产物,包括乙醛、辛烯酸及4-HNE。4-HNE是 $\omega 3$ 和 $\omega 6$ 不饱和脂肪酸经过氧化反应产生的多不饱和脂肪醛,是脂质过氧化产物中最具代表性也是生物活性最高的产物^[4],其产生后一部分可保留在细胞膜中,一部分可向周围扩散,攻击远距离的靶目标,影响机体的正常生理活动。4-HNE可以与谷胱甘肽直接结合,或在谷胱甘肽-S-转移酶的催化下与其结合,形成无活性的复合物,从而保护组织免受脂质过氧化的损伤。

目前研究发现大鼠慢性脑缺血所致的白质损伤时脑白质内的脂质过氧化产物4-HNE明显升高^[6],也有研究发现吸烟可导致肺组织匀浆中及气道上皮细胞中4-HNE表达增多^[7]。Lee等^[8]发现在遗传性易卒型大鼠及大脑中动脉闭塞诱发中风的大鼠血浆中4-HNE的表达明显升高,并且静脉应用4-HNE可以提高ROS的水平,下调超氧化

物歧化酶(MnSOD)水平及谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽(GSH/GSSG)比值,导致氧化应激损伤。研究发现糖尿病大鼠氧化应激水平升高时可导致晶状体中4-HNE的表达升高^[9];顾萍等^[10]发现糖尿病小鼠胰腺中氧化应激水平明显升高,同时脂质过氧化产物4-HNE的表达也明显升高。机体血糖升高时肾脏中的氧化应激水平也显著升高,而目前对于糖尿病肾脏中脂质过氧化水平及4-HNE的表达的研究较少,本研究观察了糖尿病大鼠4周、8周及12周时4-HNE的表达情况,并观察了应用抗氧化剂普罗布考后肾组织4-HNE表达的变化,结果发现随着糖尿病病程的延长,肾组织中4-HNE的表达高于同一时间点的健康对照组,主要表达部位在肾小球,而应用普罗布考干预治疗后4-HNE的表达低于同一时间的糖尿病组,且肾脏的病理改变显著改善,24 h尿蛋白量少于糖尿病组,说明脂质过氧化参与了糖尿病肾病的发生及发展,而普罗布考可降低肾脏的脂质过氧化水平,减少4-HNE的表达,从而起到肾脏保护作用。

4-HNE生成增多的机制如下:首先血糖升高时在高糖及糖基化产物的作用下使ROS的产生增多,作用于细胞膜脂质双分子层的多不饱和脂肪酸,使其发生脂质过氧化导致4-HNE生成增多^[4];其次,4-HNE可激活转录激活蛋白AP-1,后者可以与转化生长因子 β (TGF- β)启动子片段结合诱导TGF- β 的表达,而TGF- β 又可增强氧化应激、减少还原型谷胱甘肽的合成^[11-13],以上反应一方面促进4-HNE的合成,另一方面又可导致4-HNE的代谢减少,最终产生恶性循环,导致组织内4-HNE增多以及机体的氧化应激损伤。

4-HNE可以通过多种途径影响正常生理活动。首先4-HNE具有亲电子特性,一些含有巯基的蛋白质如半胱氨酸、赖氨酸及组氨酸具有很强的亲核性,4-HNE可与其发生1,4加合反应,对相关位点进行修饰,从而导致蛋白质功能障碍^[4];其次,Chaudhary等^[15]研究发现4-HNE可激活凋亡信号调节激酶(Ask1)、c-Jun氨基末端激酶(JNK)及caspase-3,通过Fas介导的DISC非依赖的凋亡途径导致细胞凋亡,还可激活Bax、P21、JNK及caspase-3,通过p53途径介导细胞凋亡;此外,4-HNE还可以对细胞外基质蛋白进行修饰,诱导巨噬细胞的聚集与活化,刺激巨噬细胞产生ROS

及单核细胞趋化蛋白(MCP-1)等炎性介质,从而导致组织的炎性反应及破坏,并且研究显示4-HNE与核酸结合形成的复合物是强有力的诱变剂,优先诱发p53基因的249密码子发生基因突变,这与人类恶性肿瘤的发生密切相关^[16]。4-HNE除了影响正常生理活动外,还可以激活机体的自我保护机制对抗自身的毒性。4-HNE可使死亡结构域相关蛋白(Daxx)668及671位点的Ser磷酸化,从而使Daxx从细胞核转移至细胞质中,并与Fas相结合,抑制细胞凋亡^[15];此外4-HNE还可以激活热休克蛋白活化因子1(HSF1)^[15],后者可转移至细胞核中与HSP70基因的相关位点结合,诱导HSP70的表达,HSP70可以清除在氧化应激作用下错误折叠的蛋白质,并可以通过抑制NADPH氧化酶减少ROS的产生。

普罗布考是具有两个酚羟基的断链抗氧化剂,可以作为单电子供体和单线态氧的捕捉剂发挥抗氧化作用。酚羟基极易被氧化,形成稳定的酚氧基,消耗了体内的过氧游离基、氧自由基等活性氧产物^[17],ROS产生减少后细胞膜上的不饱和脂肪酸的脂质过氧化产物4-HNE的生成减少,其次研究表明普罗布考可以抑制JAK2、信号转导及转录激活因子(STAT)1及STAT3的活性,从而减少高糖诱导的系膜细胞TGF- β 的表达^[18]。国内赵宁等^[19]研究也发现普罗布考可以降低糖尿病大鼠肾脏中TGF- β 、Smad2/Smad4及Smad7的表达,在抑制肾脏纤维化的同时,减少了TGF- β 对谷胱甘肽合成的影响,增加了4-HNE的代谢,终止了TGF- β -4-HNE-氧化应激损伤的恶性循环,从而减少了肾脏的脂质过氧化水平,起到肾脏保护作用。这对进一步了解糖尿病肾病的氧化应激损伤有重要意义,并可为临床提供新的治疗靶点。

对于脂质过氧化及其产物4-HNE在糖尿病肾病的发生及发展中的具体作用机制尚未完全明了,尚需进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] 陆再英,钟南山. 内科学. 第7版. 北京:人民卫生出版社, 2008: 770.
- [2] 王吉耀. 内科学. 第2版. 北京:人民卫生出版社, 2012: 1028.
- [3] Endo K, Miyashita Y, Sasaki H, et al. Probuco delays progression of diabetic nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract*.

- 2006, 71:156-163.
- [4] Fritz KS, Galligan JJ, Smathers RL, et al. 4-Hydroxynonenal inhibits SIRT3 via thiol-specific modification. *Chem Res Toxicol*, 2011, 24: 651-662.
- [5] Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, et al. Cox-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors. *Cancer*, 2000, 89: 2637-2645.
- [6] 刘汉兴, 章军建, 熊丽, 等. 氧化应激在慢性缺血性脑白质损伤中的作用. *中华神经医学杂志*, 2010, 9: 245-249.
- [7] Yao H, Edirisinghe I, Rajendrasozhan S, et al. Cigarette smoke-mediated inflammatory and oxidative responses are strain-dependent in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 294: L1174-L1186.
- [8] Lee WC, Wong HY, Chai YY, et al. Lipid peroxidation dysregulation in ischemic stroke: plasma 4-HNE as a potential biomarker? *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 425: 842-847.
- [9] 肖天林, Mohammad S, Naseem H, 等. 4-羟基壬烯醛在糖尿病大鼠白内障中的代谢及发病中的作用. *中华眼科杂志*, 2009, 45: 248-253.
- [10] 顾萍, 邵加庆, 杜宏, 等. 替米沙坦对 db/db 小鼠胰岛内氧化应激损伤的影响. *中国全科医学*, 2010, 13: 4107-4110.
- [11] Sampey BP, Carbone DL, Doorn JA, et al. 4-Hydroxy-2-nonenal adduction of extracellular signal-regulated kinase (Erk) and the inhibition of hepatocyte Erk - Est-like protein - 1-activating protein - 1-activating protein - 1 signal transduction. *Mol Pharmacol*, 2007, 71: 871-883.
- [12] 许建英, 安晓洁, 庞敏, 等. 转化生长因子 β 1对香烟诱导的大鼠肺泡巨噬细胞 γ -谷氨酰半胱氨酸合酶表达的影响. *中国病理生理杂志*, 2008, 24: 602-604.
- [13] Hazel JD, William MN, Kenneth DD, et al. Molecular mechanism of transforming growth factor β 1 induced glutathione depleting in alveolar epithelial cells. *J Biol Chem*, 2002, 277: 21158-21166.
- [14] Doom JA, Petersen DR. Covalent modification of amino acid nucleophiles by the lipid peroxidation products 4-hydroxy-2-nonenal and 4-oxo-2-nonenal. *Chem Res Toxicol*, 2002, 15: 1445-1450.
- [15] Chaudhary P, Sharma R, Sharma A, et al. Mechanisms of 4-hydroxy-2-nonenal induced pro- and anti-apoptotic signaling. *J Biochemistry*, 2010, 49: 6263-6275.
- [16] Feng Z, Hu W, Tang MS. Trans-4-hydroxy-2-nonenal inhibits nucleotide excision repair in human cells: a possible mechanism for lipid peroxidation-induced carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101: 8598-8602.
- [17] Li T, Chen W, An F, et al. Probulcol attenuates inflammation and increases stability of vulnerable atherosclerotic plaques in rabbits. *Tohoku J Exp Med*, 2011, 225: 23-24.
- [18] Du J, Wang L, Liu X, et al. Janus kinase 2/signal transducers and activators of transcription signal inhibition regulates protective effects of probucol on mesangial cells treated with high glucose. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33: 768-772.
- [19] 赵宁, 费晓, 王鸣, 等. 普罗布考对糖尿病大鼠肾组织 Smads 蛋白表达的影响. *中国中西医结合肾病杂志*, 2009, 10: 1073-1076.

(收稿日期: 2013-06-06)

(本文编辑: 杨克魁)

中华医学会

· 消息 ·

中华医学会系列杂志网上在线订阅通知

为加强中华医学会系列杂志整体品牌宣传, 扩大中华医学会系列杂志的影响力, 做好期刊征订工作, 开辟新的发行征订渠道, 方便广大读者订阅, 中华医学会杂志社在中华医学网上搭建了“中华医学会系列杂志网上在线征订在线支付平台”, 现已正式开通。在线订阅不仅改变了原有单一的邮局征订渠道, 而且较传统邮局征订具有更大的优势: 使期刊征订工作不再是阶段性的, 可以实现全年征订; 同时网上订阅减少了订阅环节, 节约了时间和成本, 使杂志订阅更加便捷。欢迎广大读者网上在线订阅中华医学会系列杂志。订阅办法: 请登陆中华医学网 <http://www.medline.org.cn/>, 点击“在线订阅”或登陆 <http://ebook.medline.org.cn/> 进行在线订阅和在线支付。

联系电话: 010-85158339、85158299 传真: 010-85158391

电子邮件地址: info@cma.org.cn

中华医学会杂志社