

· 论 著 ·

单核细胞趋化蛋白-1 基因-2518G/A 多态性与 2 型糖尿病肾病的相关性研究*

王 芸¹, 陈军宁^{1△}, 蒋萍萍¹, 李小励¹, 韦家智¹, 李康惠¹, 于 健²

(桂林医学院附属医院:1. 泌尿内科;2. 内分泌科, 广西桂林 541001)

摘要:目的 探讨广西汉族人群单核细胞趋化蛋白-1 基因-2518G/A(MCP-1-2518G/A)多态性与糖尿病肾病(DN)的关系。方法 将 130 例 2 型糖尿病患者按 DN 诊断标准分为 DN 组与糖尿病非肾病(T2DM)组,另选健康体检者 80 例作为健康对照组(NC 组)。应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术分析各组基因型及等位基因频率的分布。结果 DN 组的收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、尿微量清蛋白排泄率(UAER)、肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)值均高于 NC 组及 T2DM 组($P < 0.05$)。DN 组与 T2DM 组、NC 组之间基因型分布差异有统计学意义($P < 0.01$),DN 组患者 GG 基因型频率和 G 等位基因频率均显著高于 NC 组和 T2DM 组($P < 0.01, P < 0.05$)。与 NC 组相比,携带 G 等位基因者发生 DN 的相对风险度增加 1.406 倍($P < 0.01, 95\% CI: 1.112 \sim 1.777$),携带 G 等位基因的 DN 患者血清三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平显著高于不携带者($P < 0.05$)。结论 MCP-1-2518G/A 多态性与广西地区汉族人群 DN 的发病存在相关性,G 等位基因可能是 DN 发病的遗传易感基因。

关键词:糖尿病,2 型;糖尿病肾病;趋化因子 CCL2;多态性,单核苷酸

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.04.002

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)04-0363-04

A correlation research between the monocyte chemoattractant protein-1 gene -2518G/A polymorphism and diabetic nephropathy*

Wang Yun¹, Chen Junning^{1△}, Jiang Pingping¹, Wei Jiazhi¹, Li Kanghui¹, Yu Jian²

(1. Department of Nephrology; 2. Department of Endocrinology, the Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin, Guangxi 541001, China)

Abstract: Objective To explore the relationship between monocyte chemoattractant protein-1 gene -2518G/A polymorphism and diabetic nephropathy (DN) in people of Han group in Guangxi. **Methods** One hundred and thirty patients with type 2 diabetes mellitus were divided into diabetic nephropathy (DN) group and diabetes without diabetic nephropathy (T2DM) group. Eighty healthy people were selected as normal control (NC) group. The genotypes and allele frequencies distribution were assessed by Polymerase chain reaction-restriction fragment length Polymorphism (PCR-RFLP). **Results** The values of systolic pressure blood (SBP), diastolic blood pressure (DBP), urine albumin excretion rate (UAER), creatinine (Cr), and blood urea nitrogen (BUN) in DN group were significantly higher than those of NC or T2DM group ($P < 0.05$). There was significant difference in the distribution of genotypes and allele frequencies between DN group and NC or T2DM group ($P < 0.01$). The GG genotypes and G allele frequency distributions in DN group were significantly higher than the NC group and T2DM group ($P < 0.01, P < 0.05$). The G allele carriers had 1.406 times larger risk for increased incidence of DN compared with healthy controls ($P < 0.01, 95\% CI: 1.112 \sim 1.777$). The values of TG, TC and LDL-C were significantly higher among carriers of G allele compared with non-carriers ($P < 0.05$). **Conclusion** The polymorphism of MCP-1-2518G/A is associated with the development of DN in Han nationality in Guangxi province. G allele may be a genetic risk factor incidence of DN.

Key words: diabetes mellitus, type 2; diabetic nephropathy; chemokine CCL2; polymorphism, single nucleotide

单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)是由内皮细胞、血管平滑肌细胞和单核巨噬细胞分泌的一种趋化因子,与糖尿病肾病(DN)的发生关系密切。MCP-1 可趋化单核巨噬细胞于糖尿病肾组织中,介导溶酶体释放,产生氧自由基,加剧肾小球基底膜增厚和细胞外基质堆积,进而发展为肾小球硬化和间质纤维化^[1]。近来研究发现 MCP-1 基因转录起始位点-2518 的 G/A 多态性可影响 MCP-1 的转录及表达水平^[2],与 DN 的发病可能存在相关性。本研究以广西地区汉族人群为研究对象,对其 MCP-1 基因-2518G/A 多态性进行分析,探讨 MCP-1 基因多态性与 DN 的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取在桂林医学院附属医院确诊的 2 型糖尿病患者 130 例,均符合 1999 年 WHO 制定的糖尿病诊断及分型标准。根据 DN 诊断标准:尿微量清蛋白排泄率(UAER) > 30 mg/24 h 或血肌酐(Cr) > 133 μmol/L,尿素氮(BUN) > 7.8 mmol/L,排除原发性泌尿系统疾病、其他慢性疾病引起的继发性肾病以及使用肾毒性药物者,将其分为:DN 组 62 例,男 35 例,女 27 例,平均年龄(59.68 ± 11.71)岁;糖尿病非肾病(T2DM)组 68 例,男 38 例,女 30 例,平均年龄(58.97 ± 12.10)岁。另外选择健康体检者 80 例作为健康对照组(NC 组),其

中男 46 例,女 34 例,平均年龄(58.03±11.80)岁,均排除感染、心血管疾病、糖尿病及相应疾病家族史。以上 3 组均为广西地区汉族人群,无血缘关系,且年龄性别匹配。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 受试者空腹肘正中静脉取血 5 mL 用 EDTA 抗凝,其中 2 mL 在 -20 °C 保存,用于提取 DNA,另 3 mL 分离并提取血浆,用于酶法检测 Cr、BUN、三酰甘油(TG)及总胆固醇(TC)等生化指标,提取血细胞检测糖化血红蛋白(HbA1c)。

1.2.2 MCP-1 基因多态性的检测 (1)基因组 DNA 提取:取外周静脉血 2 mL(EDTA 抗凝),用全血 DNA 提取试剂盒(上海捷瑞生物公司)抽提基因组 DNA,-20 °C 保存;(2)目的基因扩增:利用等位基因特异性扩增(ASA)技术,引物序列经查基因库并参考文献设计,由上海生工生物工程技术有限公司合成。上游引物:5'-CCG AGA TGT TCC CAG CAC AG-3',下游引物:5'-CTG CTT TGC TTG TGC CTC TT-3'。聚合酶链反应(PCR)反应使用 PCR 反应试剂盒(Fermentas 公司):模板 DNA 2 μL,上下游引物各 1 μL,2.5 mmol/L dNTP 混合液 2 μL,高保真 PCR 缓冲液 2.5 μL,25 mmol/L MgCl₂ 1.75 μL,高保真 PCR 酶混合液 0.15 μL,灭菌去离子水补足至 25 μL。PCR 循环条件:95 °C 预变性 5 min,然后 94 °C 变性 50 s,56 °C 退火 40 s,72 °C 延伸 1 min,重复 34 个循环,最后 72 °C 延伸 10 min;(3)扩增产物的限制性酶切:取 PCR 扩增产物 10 μL,加入限制性内切酶 Pvu II 1 μL,10×快速消化缓冲液 2 μL,去离子水 17 μL,在 37 °C 水浴 5 h。酶切产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳,在紫外灯下观察结果。

1.3 统计学处理 用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理。运用 Hardy-Weinberg 平衡检验确认研究样本的群体代表性。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料用率(%)表示。各组间数据的比较依据资料的性质,用 *t* 检验、方差分析,组间基因型及等位基因频率的比较用 χ^2 检验。基因型与疾病发病的相对危险程度用比数比(OR)及 95% 可信区间(CI)来表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组临床资料的比较 与 NC 组相比,DN 组的收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、空腹血糖(FPG)、HbA1c、UAER、Cr、BUN、TG、TC 的值均升高($P < 0.05$)。DN 组的 SBP、DBP、UAER、Cr、BUN 值均高于 T2DM 组($P < 0.05$)。3 组间体质指数(BMI)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)值比较差异无统计学意义。见表 1。

表 1 3 组间临床资料的比较($\bar{x} \pm s$)

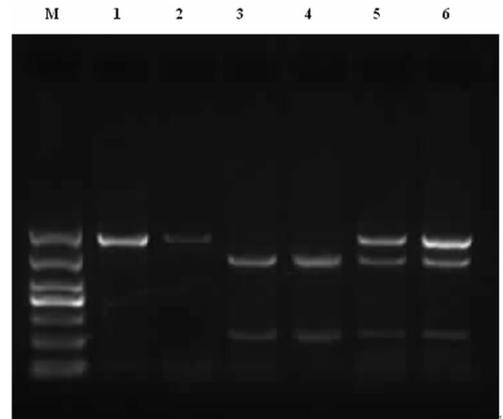
组别	<i>n</i>	BMI(kg/m ²)	SBP(mm Hg)	DBP(mm Hg)	FPG(mmol/L)	HbA1c(%)	UAER(mg/24 h)
NC 组	80	23.45±1.57	125.75±6.09	75.00±7.52	4.36±0.52	4.49±0.54	16.13±2.36
T2DM 组	68	24.50±1.83	136.04±7.33	85.50±5.68	8.93±0.88	9.06±1.30	21.77±3.41
DN 组	62	24.03±1.75	143.31±7.53*△	97.25±6.79*△	9.41±1.09*	9.23±1.09*	288.84±69.11*△

续表 1 3 组间临床资料的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Cr(μmol/L)	BUN(mmol/L)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)
NC 组	80	60.40±6.75	4.04±0.45	1.07±0.09	4.11±0.27	1.16±0.24	2.45±0.16
T2DM 组	68	82.69±12.23	4.47±0.87	2.17±0.34	4.63±0.57	1.09±0.24	2.56±0.38
DN 组	62	119.81±22.44*△	7.36±0.97*△	2.28±0.32*	4.94±0.56*	1.06±0.16	2.61±0.44

*: $P < 0.05$,与 NC 组比较;△: $P < 0.05$,与 T2DM 组比较。

2.2 MCP-1-2518 G/A 基因多态性的琼脂糖凝胶电泳分析 MCP-1 基因 PCR 扩增后,产物片段大小为 930 bp,根据限制性内切酶 Pvu II 酶切片段的情况,基因型分为 3 种:野生型纯合子 AA 出现一条带(930 bp),突变型纯合子 GG 出现两条带(708 bp,222 bp),杂合子 AG 出现三条带(930 bp,708 bp,222 bp)。见图 1。



1,2:AA 基因型;3,4:GG 基因型;5,6:AG 基因型;M:DNA 标准相对分子质量。

图 1 MCP-1-2518 G/A 基因多态性电泳图

2.3 3 组 MCP-1-2518 G/A 基因型和等位基因频率分布情况 经 Hardy-Weinberg 平衡定律检验 MCP-1 基因-2518 位点基因型分布符合遗传平衡定律,符合等位基因频率在不同种族人群中的分布。DN 组 MCP-1 基因-2518 基因型分布及等位基因频率与 NC 组及 T2DM 组比较差异有统计学意义,DN 组 GG 基因型及 G 等位基因频率显著高于 NC 组($\chi^2_1 = 8.847, P_1 < 0.05; \chi^2_2 = 8.073, P_2 < 0.01$);DN 组 GG 基因型及 G 等位基因频率显著高于 T2DM 组($\chi^2_1 = 6.198, P_1 < 0.05; \chi^2_2 = 5.103, P_2 < 0.05$)。与 NC 组比较,携带 G 等位基因的个体患 DN 的相对风险增加 1.406 倍($P < 0.01, 95\% CI: 1.112 \sim 1.777$),而 T2DM 组与 NC 组相比,其基因型频率和等位基因频率差异无统计学意义。见表 2。

2.4 DN 组 MCP-1-2518 各基因型间血糖、血压、血脂水平比较 DN 组中 GG+AG 基因型者的血清 TG、TC 及 LDL-C 水平均显著高于 AA 基因型($P < 0.05$),而 FPG、SBP、DBP 及 HDL-C 值比较差异均无统计学意义。见表 3。

表 2 3 组 MCP-1-2518 G/A 基因型和等位基因频率比较[n(%)]

组别	n	基因型频率分布			等位基因频率分布	
		AA	AG	GG	A	G
NC 组	80	31(38.8)	31(38.8)	18(22.5)*	93(58.1)	67(41.9)#
T2DM 组	68	24(35.3)	27(39.7)	17(25.0)*	75(55.1)	61(44.9)#
DN 组	62	10(16.1)	31(50.0)	21(33.9)	51(41.1)	73(58.9)

*: $P < 0.05$; #: $P < 0.01$, 与 DN 组比较。

表 3 DN 组 MCP-1-2518 各基因型间血糖、血压、血脂水平比较($\bar{x} \pm s$)

基因型	n	FPG(mmol/L)	SBP(mm Hg)	DBP(mm Hg)	TG(nmol/L)	TC(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)
AA	10	9.37±0.86	140.3±7.63	95.8±7.95	2.14±0.23	4.61±0.37	1.13±0.20	2.42±0.34
GG+AG	52	9.59±0.82	144.7±5.49	99.2±6.55	2.42±0.32*	4.99±0.41*	0.99±0.17	2.74±0.43*

*: $P < 0.05$, 与 AA 基因型比较。

3 讨 论

DN 是常见的糖尿病慢性微血管并发症之一,其基本病理改变为肾小球系膜细胞增殖、肾小球基底膜增厚、细胞外基质增多和肾小球硬化;在功能上表现为高滤过、高灌注状态以及肾小球滤过屏障改变^[3]。近年研究发现糖尿病外周血单核细胞上 MCP-1 的表达水平与尿清蛋白排泄率呈正相关^[4],MCP-1 mRNA 及蛋白质的表达明显高于正常肾组织,并与肾损害程度呈正相关,提示 MCP-1 可能参与了肾小球的损伤,是 DN 发生、发展的危险因素。Rovin 等^[5]通过基因测序发现了 MCP-1 转录起始位置的多态性位点-2518(G/A)和-2076(A/T),而其基因启动子区-2518 位点存在 3 种基因型:野生型纯合子 AA、杂合子 AG 和突变型纯合子 GG,构成了 MCP-1 基因的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism,SNP)现象。同时有研究发现 MCP-1 的远端调控区-2518G/A 多态性可影响 MCP-1 表达,G(-2518)等位基因与 MCP-1 的含量增加有关,含 G 者较 AA 基因型具有更高的血浆 MCP-1 含量^[6]。可能是由于-2518 位点靠近 IL-1 β 反应增强区的两个 NF- κ B 结合修饰区,区域内的任何一个基因突变都会阻断 IL-1 β 诱导的 MCP-1 活性。因此,-2518 位点一个单核苷酸改变可能改变 IL-1 β 增强子的构象,从而影响 MCP-1 的表达^[7-8]。

目前,已发现 MCP-1 转录起始位点-2518 的基因多态性与酒精性慢性胰腺炎、心肌梗死、子宫内膜癌等多种疾病的发生存在相关性^[9-11],MCP-1 基因启动子区域的-2518 位点的 SNP 还影响人类胰岛 MCP-1 基因表达和功能^[12]。本研究将 NC 组、T2DM 组及 DN 组 3 组人群 MCP-1-2518 G/A 基因型和等位基因频率进行比较,发现其基因型分布有显著性差异,DN 组的 GG 基因型频率和 G 等位基因频率均显著高于 NC 组和 T2DM 组($P < 0.01, P < 0.05$),携带 G 等位基因者发生 DN 的相对风险度增加 1.406 倍($P < 0.01, 95\%CI 1.112 \sim 1.777$),提示 MCP-1 基因-2518G/A 多态性与广西地区汉族人群 DN 的发病有相关性,G 等位基因可能是 DN 发病的遗传易感基因。同时本研究还发现,G 等位基因携带者的血清 TG、TC 及 LDL-C 水平均显著高于 AA 基因型者($P < 0.05$),说明携带 G 等位基因者更容易引起血脂代谢异常。目前,已发现 DN 患者处于高血糖状态常伴随血脂代谢紊乱^[13],即 HDL-C 降低, TG、TC、LDL-C 及 VLDL-C 升高,而 LDL-C 更易被氧化成 OX-LDL-C,刺激 MCP-1 mRNA 表达,且异常的脂质成分可上调巨噬细胞膜上的 MCP-1 受体 CCR2 的表达,促使 MCs 产生

MCP-1,引起肾小球内募集过多活化的单核细胞,导致肾小球硬化的发生。因此携带 G 等位基因者更易引起血脂代谢异常从而促进 DN 的发生、发展。

但是,关于 MCP-1 基因多态性与糖尿病及肾脏疾病的相关性研究仍存在争议。于南南等^[14]的研究发现 MCP-1G(-2518)等位基因可能是 2 型糖尿病发生的危险因素,MCP-1 基因多态性可能与 2 型糖尿病的发生有一定的相关性。而 Karadeniz 等^[15]研究发现 MCP-1A(-2518)等位基因为 2 型糖尿病进展的独立危险因素,AA 基因型和 A 等位基因可能决定糖尿病易感性。韩国的一项研究也显示 A 等位基因与糖尿病肾衰竭显著相关^[16],在某些人群中,A 等位基因可能更关系到糖尿病肾病的发展。已有研究发现 MCP-1-2518 位点的基因型分布及等位基因频率可能因地域和种族的不同存在差异,因此,对 MCP-1 基因多态性与相关疾病进行研究时应考虑种族和地域性差异的影响^[17]。

综上所述,研究不同基因型在人群中的分布,有助于从基因水平更深刻的阐明各种疾病在不同种族、不同性别人群中存在不同发病率和不同临床表现的内在机制。DN 遗传易感性模式至今尚不清楚,研究结果也不尽一致,可能与研究策略、研究人群和 DN 发病机制本身的复杂性等因素有关。本研究发现 MCP-1 基因多态性与广西地区汉族人群 DN 的发病存在相关性,G 等位基因可能是 DN 发病的遗传易感基因,但是对于 MCP-1 基因多态性在 DN 发生发展过程中的确切机制仍有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] Rivero A, Mora C, Muros M, et al. Pathogenic perspectives for the role of inflammation in diabetic nephropathy [J]. Clin Sci(Lond), 2009, 116(6):479-492.
- [2] Ruster C, Wolf G. The role of chemokines and chemokine receptors in diabetic nephropathy[J]. Front Biosci, 2008, 13(8):944-955.
- [3] Usui HK, Shikata K, Sasaki M, et al. Macrophage scavenger receptor-a-deficient mice are resistant against diabetic nephropathy through amelioration of microinflammation [J]. Diabetes, 2007, 56(2):363-372.
- [4] Tesch GH. MCP-1/CCL2: a new diagnostic marker and therapeutic target for progressive renal injury in diabetic

- nephropathy[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 294(4):697-701.
- [5] Rovin BH, Lu L, Saxena R. A novel polymorphism in the MCP-1 gene regulatory region that influences MCP-1 expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 259(2):344-348.
- [6] Yang B, Houlberg K, Millward A, et al. Polymorphisms of chemokine and chemokine receptor genes in type 1 diabetes mellitus and its complications[J]. *Cytokine*, 2004, 26(3):114-121.
- [7] Kim HL, Lee DS, Yang SH, et al. The polymorphism of monocyte chemoattractant protein-1 is associated with the renal disease of SLE[J]. *Am J Kidney Dis*, 2002, 40(6):1146-1152.
- [8] Karrer S, Bosserhoff AK, Weiderer P, et al. The -2518 promoter polymorphism in the MCP-1 gene is associated with systemic sclerosis[J]. *J Invest Dermatol*, 2005, 124(1):92-98.
- [9] Lee SH, Ryu JK, Jeong JB, et al. Polymorphisms of the MCP-1 and HSP70-2 genes in Korean patients with alcoholic chronic pancreatitis[J]. *Dig Dis Sci*, 2008, 53(6):1721-1727.
- [10] Jemaa R, Rojban H, Kallel A, et al. Association between the -2518G/A polymorphism in the monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1) gene and myocardial infarction in Tunisian patients[J]. *Clin Chim Acta*, 2008, 390(1/2):122-125.
- [11] Attar R, Agachan B, Kuran SB, et al. Association of CCL2 and CCR2 gene variants with endometrial cancer in Turkish women[J]. *In Vivo*, 2010, 24(2):243-248.
- [12] Guerra SD, D'Aleo V, Gualtierotti G, et al. A common polymorphism in the monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1) gene regulatory region influences MCP-1 expression and function of isolated human pancreatic islets[J]. *Transplant Proc*, 2010, 42(6):2247-2249.
- [13] Chen CY, Lee CM, Hsu HC, et al. Proteomic approach to study the effects of various oxidatively modified low-density lipoprotein on regulation of protein expression in human umbilical vein endothelial cell[J]. *Life Sci*, 2007, 80(26):2469-2480.
- [14] 于南南, 程晓亮, 李郑芳. MCP-1A-2518G 基因多态性与 2 型糖尿病的相关研究[J]. *云南医药*, 2011, 32(1):6-8.
- [15] Karadeniz M, Erdogan M, Cetinkalp A, et al. Monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1) 2518G/A gene polymorphism in Turkish type 2 diabetes patients with nephropathy[J]. *Endocrine*, 2010, 37(3):513-517.
- [16] Moon JY, Jeong L, Lee S, et al. Association of polymorphisms in monocyte chemoattractant protein-1 promoter with diabetic kidney failure in Korean patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Korean Med Sci*, 2007, 22(5):810-814.
- [17] 聂锦山. 苏州地区汉族人群 MCP-1-2518 A/G, IL-8-251 A/T 基因多态性和种族差异的研究[J]. *吉林医学*, 2011, 32(6):1146-1148.
- (收稿日期:2012-09-03 修回日期:2012-10-11)
-
- (上接第 362 页)
- J Gastroenterol*, 2009, 15(2):1427-1430.
- [3] Ohsawa M, Ishikawa K, Takahashi M, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals[J]. *Nat Med*, 2007, 13(6):688-694.
- [4] Zheng X, Mao Y, Cai J, et al. Hydrogen-rich saline protects against intestinal ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Free Radic Res*, 2009, 43(5):478-484.
- [5] Rongione AJ, Kusske AM, Kwan K, et al. Interleukin 10 reduces the severity of acute pancreatitis in rats[J]. *Gastroenterology*, 1997, 112(3):960-967.
- [6] Cabiscol E, Tamarit J, Ros J. Oxidative stress in bacteria and protein damage by reactive oxygen species[J]. *Int Microbiol*, 2000, 3(1):3-8.
- [7] Escobar J, Pereda J, Arduini A, et al. Cross-talk between oxidative stress and pro-inflammatory cytokines in acute pancreatitis: a key role for protein phosphatases[J]. *Curr Pharm Des*, 2009, 15(26):3027-3042.
- [8] Raju GS, Gomez G, Xiao SY, et al. Effect of a novel pancreatic stent design on short-term pancreatic injury in a canine model[J]. *Endoscopy*, 2006, 38(3):260-265.
- [9] 尹志勇, 王正国, 刘海鹏, 等. 多功能小型生物撞击机的研制与应用[J]. *生物医学工程学杂志*, 2000, 17(3):309-312.
- [10] Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals[J]. *Nat Med*, 2007, 13(6):688-694.
- [11] Wood KC, Gladwin MT. The hydrogen highway to reperfusion therapy[J]. *Nat Med*, 2007, 13(6):673-674.
- [12] Singhal AB, Lo EH. Advances in emerging nondrug therapies for acute stroke 2007[J]. *Stroke*, 2008, 39(10):289-291.
- [13] Sun XJ, Zhang JH. Hydrogen an endogenous antioxidant in the body[J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2008, 29(3):233-235.
- [14] Chen H, Sun YP, Li Y, et al. Hydrogen-rich saline ameliorates the severity of L-arginine induced acute pancreatitis in rats[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 393(2):308-313.
- [15] Taysi S, Cikman O, Kaya A, et al. Increased oxidant stress and decreased antioxidant status in erythrocytes of rats fed with zinc-deficient diet[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2008, 123(1/3):161-167.
- (收稿日期:2012-09-05 修回日期:2012-10-22)