

· 基础研究 ·

肾衰养真胶囊对慢性肾衰竭营养不良大鼠
UPP 通路的影响邓 聪^{1,2} 魏连波³ 汪东涛³ 鲁 路³ 赖艳娴¹ 王康玮¹ 耿振波³

摘要 目的 观察肾衰养真胶囊对慢性肾衰竭(chronic renal failure, CRF)营养不良大鼠泛素蛋白酶体通路(ubiquitin proteasome pathway, UPP)的影响。**方法** 采用 5/6 肾切除同时予 4% 酪蛋白饮食制备 CRF 营养不良大鼠模型。40 只 SD 大鼠按体重随机分为假手术组、模型组、肾衰养真胶囊组和开同组, 每组 10 只。术后 1 周肾衰养真胶囊组给予每天肾衰养真胶囊 0.28 g/mL 灌胃, 开同组给予开同片每天 0.21 g/mL 灌胃, 同时模型组予等体积的生理盐水灌胃, 假手术组不施加任何干预, 持续干预 4 周。检测肌酐(SCr)、尿素氮(BUN)、24 h 尿蛋白(24 h Upro)、白蛋白(Alb)、血红蛋白(Hb)水平, 应用免疫组化检测骨骼肌泛素(Ub)蛋白表达, 免疫荧光检测骨骼肌肌肉萎缩蛋白(MAFbx)和肌环指蛋白-1(MuRF-1)蛋白表达。**结果** 与假手术组比较, 模型组 SCr、BUN、24 h Upro 水平升高, Alb、Hb 水平下降, 骨骼肌 Ub、MAFbx、MuRF-1 蛋白表达水平升高($P < 0.01$)。与模型组比较, 开同组和肾衰养真胶囊组 SCr、BUN 水平下降, Alb 水平升高, Ub、MAFbx、MuRF-1 蛋白表达水平下降($P < 0.05$, $P < 0.01$); 肾衰养真胶囊组 24 h Upro 水平下降, Hb 水平升高($P < 0.01$)。与开同组比较, 肾衰养真胶囊组 24 h Upro 水平下降, BUN、Hb 水平升高更明显($P < 0.05$, $P < 0.01$), 开同组 MAFbx 蛋白表达水平较肾衰养真胶囊组下降更明显($P < 0.01$)。**结论** 肾衰养真胶囊可能通过减少骨骼肌 Ub、MAFbx 和 MuRF-1 蛋白表达, 从而抑制 UPP 信号通路的活性, 减少蛋白分解, 改善 CRF 营养不良。

关键词 肾衰养真胶囊; 慢性肾衰竭; 营养不良; 泛素蛋白酶体通路

Effects of Shenshuai Yangzhen Capsule on Ubiquitin Proteasome Pathway in Chronic Renal Failure Rats with Malnutrition DENG Cong^{1,2}, WEI Lian-bo³, WANG Dong-tao³, LU Lu³, LAI Yan-xian¹, WANG Kang-wei¹, and GENG Zhen-bo³ 1 Chinese Medicine Department, Nansha Hospital of Guangzhou First People's Hospital, Guangzhou(511457); 2 Second Clinical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou(510120); 3 Department of Integrated Medicine on Nephropathy, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Kidney Disease Key Disciplines of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou(510282)

ABSTRACT Objective To observe the effect of Shenshuai Yangzhen Capsule (SSYZC) on ubiquitin proteasome pathway (UPP) in chronic renal failure (CRF) rats with malnutrition (MN). **Methods** CRF-MN model was established by 5/6 nephrectomy and 4% casein diet. Forty SD rats were randomly divided into four groups, the Sham operation group(A), the model control group(B), the Ketosteril group(C) and the SSYZC group(D). One week after surgery, SSYZC was administered by gastrogavage at daily does of 0.28 g/mL to the group D. Ketosteril was administered by gastrogavage at daily does of 0.21 g/mL to the group C. Equal volume of normal saline was given by gastrogavage to rats in the group B, the group A did not exert any intervention. After 4 weeks of treatment, the renal function related indexes, including blood urea nitrogen (BUN), serum

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81173457, No. 81373808);广东省中医药局科研课题(No. 20161182);广州市医药卫生科技项目(No. 20142A011019);广州市第三批优秀中医临床人才研修项目(No. GZYC03201602)

作者单位:1. 广州市第一人民医院南沙医院中医科(广州 511457);2. 广州中医药大学第二临床医学院(广州 510120);3. 南方医科大学珠江医院中西医结合肾病中心 国家中医药管理局肾病重点学科(广州 510282)

通讯作者:魏连波, Tel:18664810831, E-mail: weilianbo@163.com

DOI:10. 7661/j. cjim. 20170821. 202

creatinine (SCr), 24 hours urine protein (24 h Upro), albumin (Alb), and haemoglobin (Hb) were detected. The expression of Ub protein, muscle atrophy F box (MAFbx) and Muscle RING-finger protein1 (MuRF-1) in skeletal muscle were determined by immunohistochemistry and immunofluorescence respectively. Results Compared with the group A, the levels of SCr, BUN, 24 h Upro, and protein expression of Ub, MAFbx, MuRF-1 increased, while Alb and Hb decreased in the group B ($P < 0.01$). Compared with the group B, the levels of SCr, BUN, and protein expression of Ub, MAFbx, MuRF-1 declined, Alb levels raised in the group C and the group D ($P < 0.05$, $P < 0.01$), at the same time, the levels of 24 h Upro decreased and Hb increased in the group D ($P < 0.01$). The levels of BUN, Hb were significantly higher, and 24 h Upro decreased compared to those of group C ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The MAFbx expression was down-regulated markedly in the group C compared with the group D ($P < 0.05$). Conclusion SSYZC could improve the MW in rats with CRF through down-regulating Ub, MAFbx and MuRF-1 protein expression, inhibiting the activity of UPP, and reducing protein breakdown.

KEYWORDS Shenshuai Yangzhen Capsule; chronic renal failure; malnutrition; ubiquitin proteasome pathway

营养不良是慢性肾衰竭(chronic renal failure, CRF)患者最常见的并发症之一,据统计其患病率高达 60%~86%,其中 9.6%的 CRF 患者死于严重营养不良^[1],是 CRF 患者预后的独立危险因素和高住院率、高病死率的主要原因^[2]。本课题组前期临床观察发现肾衰养真胶囊可显著升高 CRF 患者的白蛋白(albumin, Alb)水平,增加肱三头肌皮褶厚度和臂中肌周径及上臂围,并从蛋白合成障碍角度研究肾衰养真胶囊的治疗机理,在实验过程中发现该药同时还能降低 CRF 蛋白的分解^[3]。新近研究发现细胞内 80%~90%的蛋白通过泛素蛋白酶体通路系统(ubiquitin proteasome pathway, UPP)降解^[4,5],其中泛素(Ub)底物及其调控蛋白肌肉萎缩基因(muscle atrophy F box, MAFbx)和肌环指蛋白-1 基因(muscle RING-finger protein 1, MuRF-1)起关键作用,但具体机制尚不清楚。本实验通过建立 CRF 营养不良大鼠模型,检测 Ub、MAFbx 和 MuRF-1,进一步探讨该药对 CRF 营养不良的作用机制。

材料与方法

1 动物 40 只雄性 SD 大鼠,体重 200~250 g, SPF 级,由南方医科大学实验动物中心提供(实验动物中心许可证号:SCXK 2006-0015),合格证号:No. 0048741。

2 药物 肾衰养真胶囊由黄芪、当归、大黄、砂仁等 6 味药物组成(广东省药材公司提供),经南方医科大学中药制剂室鉴定,并由南方医科大学中药新药实验室按处方比例提取制成胶囊,每克成药含生药 5.67 g。开同片(0.63 g/片,北京费森尤斯卡比医药有限公司,批号:U1430)。

3 主要试剂及仪器 酪蛋白(购自广东环凯微生物科技公司,批号:200903225)。肌酐(serum creatinine, SCr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、Alb、血红蛋白(Hb)试剂盒,购自北京中生生物工程高技术公司。24 h 尿蛋白(24 hours urine protein, 24 h Upro)试剂盒,购自南京建成生物工程研究所。抗 MAFbx 山羊多克隆,批号:06/2013;抗 MuRF-1 山羊多克隆,批号:06/2013;抗 Ub 山羊多克隆,批号:06/2013;驴抗山羊 IgG,批号:09/2013;鸡抗山羊 IgG 荧光素异硫氰酸酯,批号:09/2013;鸡抗山羊 IgG-TR,批号:09/2013,购自美国 Santa Cruz 公司。DU640 分光光度仪,美国 Beckman 公司;Centrifuge 5410D 台式离心机,美国 Eppendorf 公司;CM3050S 冰冻切片机,德国 Leica 公司;Legaci 超低温冰箱,美国 Revco 公司;DK-8AD 型电热恒温水槽,上海一恒科技有限公司;RM2135 型超薄组织切片机,德国 Leica 公司;免疫荧光镜,日本 Nikon 公司;光学显微镜,日本 Olympus 公司。

4 动物模型制备及分组 大鼠适应性饲养 1 周,按体重随机选取 10 只为假手术组,余均采用二步法 5/6 肾切除制作 CRF 模型,按照参照文献[6]采用 10%水合氯醛腹腔麻醉,第一次手术行左肾 2/3 切除术,切除左肾上下极各 1/3 的组织,10 日后行第二次手术行摘除右肾。假手术组大鼠同样进行两期手术,仅剥离肾包膜,不作肾切除。手术中无大鼠死亡。术后 1 周,造模后大鼠按体重随机分为模型组、肾衰养真胶囊组和开同组,每组 10 只,均给予低蛋白饮食(4%酪蛋白)喂养,制作 CRF 营养不良大鼠模型^[7]。假手术组给予正常蛋白饮食。各组均自由饮水。

5 药物干预 按照参考文献[8],200 g 大鼠与 70 kg 成人的体表面积比为 1/56 换算药物剂量。肾衰养真胶囊组予肾衰养真胶囊 0.28 g/mL 灌胃 [成人用量成药 15 g/d (含生药 85 g),换算为大鼠剂量成药 1.4 g/(kg·d) (含生药 8 g)],开同组予开同片 0.21 g/mL 灌胃 [成人用量 7.56~15.12 g/d,取中剂量 11.34 g/d,换算为大鼠剂量 1 g/(kg·d)],模型组予等体积的生理盐水灌胃。每 200 g 大鼠灌胃量 1 mL,每日 1 次,连续干预 4 周。假手术组不施加任何干预。

6 标本收集 灌胃 4 周末,代谢笼收集 24 h 尿液,检测 24 h Upro。禁食 12 h,10% 水合氯醛腹腔麻醉,腹主动脉采血,进行生化检测;迅速分离大鼠比目鱼肌、腓肠肌和胫骨前肌,在玻璃皿上用手术刀切取 100、500 mg 骨骼肌组织,浸入固定液(4% PA 液),于 4℃ 后固定 6~8 h。固定处理后做冰冻组织,移入 30% 蔗糖溶液(0.1 mol/L PB 配制, pH7.2~7.4)中,于 4℃ 保存,待标本沉底即可进行切片,片厚 5 μm。经后固定做石蜡切片的组织标本,以流水冲洗 24 h,充分去除残存的固定剂,之后将组织进行修块(肌组织修切成长方体,其长轴与肌纤维的纵轴一致),剔除明显的脂肪和结缔组织。

7 检测指标及方法

7.1 肾功能、白蛋白、Hb 检测 SCr 采用苦味酸(除蛋白)法,BUN 采用尿素酶法,Alb 采用溴甲酚绿法,24 h Upro 采用磺柳酸-硫酸钠比浊法,Hb 采用碱化 Hb 比色法。

7.2 骨骼肌 Ub 蛋白表达 采用免疫组化法。骨骼肌石蜡切片经脱蜡、水化、热抗原修复、灭活内源性过氧化物酶后,滴加 5% BSA 封闭液,置于 37℃ 恒温箱孵育 20 min 封闭非特异性抗原,滴加 Ub (1:50 稀释),置于 37℃ 恒温箱孵育 60 min。PBS 冲洗,5 min×3 次。以 PBS 替代一抗作为空白对照。滴加二抗,孵育 30 min。PBS 冲洗,5 min×3 次。DAB 显色,苏木素染色,中性树脂固定。于高倍镜(10×40)下观察免疫组织化学染色切片,各观察区随机取 5 个不重叠视野,采用 Olympus-IX50 成像系统拍摄,Image-Pro Plus 5.1 图像处理软件进行半定量分析。Ub 蛋白表达水平以整合光密度值(average

optical density,AOD)表示,AOD=阳性细胞面积×校正光密度值(测量区光密度-背景光密度)。AOD 数值越大,蛋白表达水平越高。

7.3 骨骼肌 MAFbx、MuRF-1 蛋白表达 采用免疫荧光法。骨骼肌冰冻切片后,待其达室温且未干时,铺加 PBS 于切片上。加入稀释的 MAFbx 或 MuRF-1 (1:100)抗体(每载玻片加 40~50 μL),在切片的一端吸去玻片上的 PBS,盖上加湿盒,室温孵育 1 h。PBS 冲洗,5 min×3 次。加入稀释的免疫荧光二抗(1:50),加湿盒中室温孵育 1 h。PBS 冲洗,5 min×3 次。DAPI 染核,封片,湿盒避光保存。荧光显微镜下观察荧光并采集图像,在高倍视野(40×10)下,每张切片上随机选择 5 个区域,用 Image-pro plus (the proven solution) 医学图像分析系统对每一区域进行荧光强度分析,取 MAFbx、MuRF-1 蛋白阳性染色的平均荧光强度(MFI)值。MFI 数值越大,蛋白表达水平越高。

8 统计学方法 采用 SPSS 11.5 统计软件进行统计分析。实验资料结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较方差齐采用 One-Way ANOVA;方差不齐采用 Kruskal-wallis,两两比较方差齐采用 LSD;方差不齐采用 Dunnett T3。P<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 大鼠一般情况及实验完成情况 假手术组大鼠表现机警,饮食正常,皮毛致密有光泽,体重逐渐增加;模型组大鼠精神萎靡,食欲减退,体重增加缓慢,皮毛枯槁无光泽;肾衰养真胶囊组和开同组大鼠一般情况较模型组有一定程度的改善。灌胃 4 周后,模型组 2 只大鼠、肾衰养真胶囊组 1 只大鼠和开同组 1 只大鼠均因感染导致的衰竭死亡,而假手术组无死亡。

2 各组 SCr、BUN、Alb、24 h Upro、Hb 水平比较(表 1) 与假手术组比较,模型组 SCr、BUN、24 h Upro 水平升高,Alb、Hb 水平下降(P<0.01)。与模型组比较,开同组和肾衰养真胶囊组 SCr、BUN 水平下降,Alb 水平升高(P<0.05, P<0.01);肾衰养真胶囊组 24 h Upro 水平下降,Hb 水平升高(P<0.01)。与开同组比较,肾衰养真胶囊组 24 h Upro 水平下降,BUN、Hb 水平升高明显(P<0.05, P<0.01)。

表 1 各组 SCr、BUN、Alb、24 h Upro、Hb 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SCr (μmol/L)	BUN (mmol/L)	Alb (g/L)	24 h Upro (mg/24h)	Hb (g/L)
假手术	10	40.83 ± 4.07	7.52 ± 0.49	53.79 ± 2.98	5.71 ± 0.18	144.31 ± 4.49
模型	8	88.76 ± 5.44 [*]	15.34 ± 0.31 [*]	42.30 ± 2.34 [*]	10.61 ± 0.72 [*]	122.24 ± 5.29 [*]
开同	9	55.26 ± 6.12 ^{△△}	4.63 ± 0.49 ^{△△}	48.52 ± 2.94 ^{△△}	7.30 ± 1.38	121.31 ± 5.89
肾衰养真胶囊	9	58.71 ± 1.03 ^{△△}	5.20 ± 0.32 ^{△△▲▲}	46.05 ± 1.95 [△]	7.06 ± 1.41 ^{△△▲}	129.98 ± 5.45 ^{△△▲}

注:与假手术组比较,*P<0.01;与模型组比较,△P<0.05,△△P<0.01;与开同组比较,▲P<0.05,▲▲P<0.01

3 各组 Ub、MAFbx、MuRF-1 蛋白表达水平比较(表 2,图 1~3) 与假手术组比较,模型组骨骼肌 Ub、MAFbx、MuRF-1 蛋白表达水平升高($P < 0.01$)。与模型组比较,开同组和肾衰养真胶囊组 Ub、MAFbx、MuRF-1 蛋白表达水平下降($P < 0.01$),开同组 MAFbx 蛋白表达水平较肾衰养真胶囊组下降更明显($P < 0.01$)。

表 2 各组 Ub、MAFbx、MuRF-1 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Ub(AOD)	MAFbx(MFI)	MuRF-1(MFI)
假手术	10	2.35 ± 0.21	2.44 ± 0.24	2.45 ± 0.24
模型	8	8.02 ± 0.28 *	8.55 ± 0.24 *	8.36 ± 0.33 *
开同	9	5.21 ± 0.10 [△]	5.40 ± 0.11 [△]	5.30 ± 0.09 [△]
肾衰养真胶囊	9	4.84 ± 0.24 [△]	6.60 ± 0.03 ^{△▲}	5.67 ± 0.15 [△]

注:与假手术组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.01$;与开同组比较,[▲] $P < 0.01$

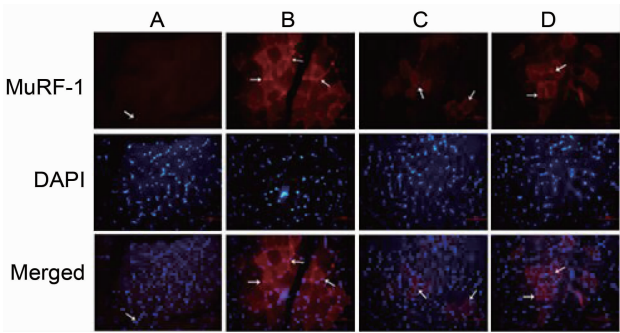
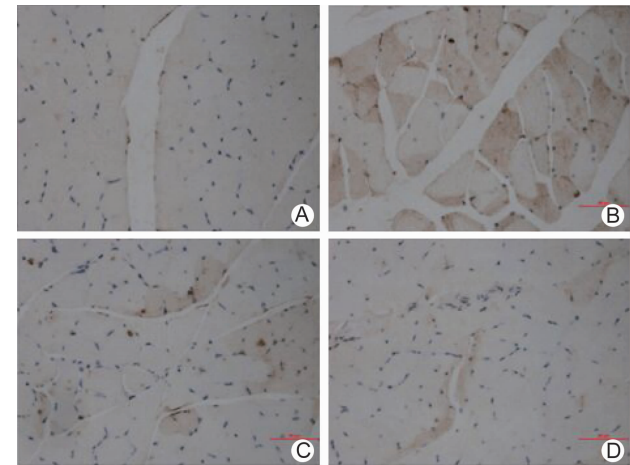


图 3 免疫荧光检测各组骨骼肌 MuRF-1 的 MFI 值 ($\times 400$)

仍然很高,在众多死亡因素中,营养不良占重要地位^[9]。营养不良可导致免疫功能低下、贫血、频发感染、心血管事件等,甚至多脏器衰竭。CRF 营养不良表现为一种肌肉消耗性营养不良^[10,11],进行性骨骼肌萎缩,瘦体质量丢失,机体蛋白质储备减少,白蛋白水平下降,甚至恶液质,其发生与代谢异常导致的肌肉蛋白分解增加和合成减少有关。

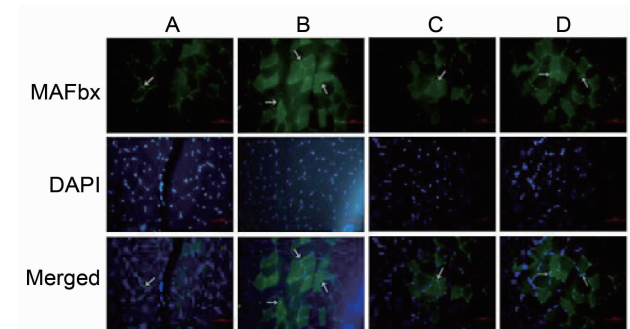
UPP 是细胞内最重要的蛋白降解系统,一种高效蛋白质降解通路,主要负责真核细胞内蛋白的选择性降解,其包括 Ub、E1、E2、E3 和 26S。Ub 的主要功能是共价结合细胞浆内错误折叠或半衰期较短的蛋白;E1、E2、E3 负责活化并介导 Ub 与特异性靶蛋白结合,形成泛素-蛋白耦联体。而其中 E3 起到了关键的特异性作用,E3 能通过识别和结合特异的靶蛋白序列或降解决定子,使 Ub 介导的底物蛋白降解具有高度选择性,即 E3 决定了 UPP 降解蛋白的特异性和速率。MAFbx 和 MuRF-1 同属于 E3-SCF 家族,是调控该酶的重要基因,在分解代谢旺盛的机体内有特异性的表达^[12]。近年研究表明,CRF 的并发症微炎症状态(micro-inflammatory state,MIS)、代谢性酸中毒(metabolic acidosis,MA)、胰岛素抵抗(insulin Resistance,IR)均可通过启动 UPP 引起蛋白分解增加^[13,14]。大鼠 MA 时 Ub 结合蛋白、Ub mRNA 等表达上调,引起蛋白降解加速,出现低蛋白血症和骨骼肌萎缩等营养不良表现^[15]。MIS 时增加静息能量消耗,出现消瘦、低蛋白血症的营养不良^[16]。Lee SW 等^[17]对非糖尿病的血透患者进行骨骼肌活检证明了 IR 具有促进蛋白分解的作用。

本课题组在对 CRF 营养不良的长期治疗和研究过程中,总结出 CRF 营养不良以恶心、呕吐、舌苔厚腻等症状为标证,若湿浊不降,单纯益气养血,反而助湿碍脾,关门留寇。据此魏连波教授认为 CRF 营养不良其病在肾,关键在脾,脾胃功能失调贯穿 CRF 营养不良全过程,并研发创立了肾衰养真胶囊(发明专利号



注:A 为假手术组;B 为模型组;C 为开同组;D 为肾衰养真胶囊组;图 2、3 同

图 1 免疫组化检测各组骨骼肌 Ub 的 AOD 值 ($\times 400$)



注:箭头所指为阳性染色区域;图 3 同

图 2 免疫荧光检测各组骨骼肌 MAFbx 的 MFI 值 ($\times 400$)

讨论

尽管肾脏替代治疗在不断发展,但终末期肾脏疾病(end stage renal disease,ESRD)患者的病死率

02134502.3),由黄芪、当归、大黄等药物组成。方中黄芪补肺脾之气、当归益血和营、大黄通腑降浊,攻补兼施,标本同治,共奏益气养血泻浊之功。研究表明,黄芪具有改善肾功能、促进肝脏合成蛋白质、改善微循环等作用^[18]。大黄能促进排泄有害物质,保护残存肾单位功能,改善机体营养状况等^[19]。本实验结果显示,模型组大鼠骨骼肌 Ub、MAFbx 和 MuRF-1 蛋白表达水平均较假手术组升高($P < 0.01$),提示 CRF 营养不良大鼠存在 UPP 通路激活,从而导致蛋白分解增加。经药物干预后,肾衰养真胶囊组大鼠骨骼肌 Ub、MAFbx 和 MuRF-1 蛋白表达水平与模型组比较均下降($P < 0.01$),同时肾衰养真胶囊组大鼠 SCr、24 h Upro 下降,Alb、Hb 上升。以上提示,肾衰养真胶囊能改善 CRF 营养不良大鼠的营养状况,其机制可能通过抑制 UPP 通路的活性,下调骨骼肌 Ub、MAFbx 和 MuRF-1 蛋白的表达,使蛋白分解减少。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] Amparo FC, Cordeiro AC, Carrero JJ, et al. Malnutrition-inflammation score is associated with handgrip strength in nondialysis-dependent chronic kidney disease patients[J]. J Ren Nutr, 2013, 23(4): 283–287.
- [2] Ikizler TA. A patient with CKD and poor nutritional status[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2013, 8(12): 2174–2182.
- [3] 魏连波,张颖,汪南海.肾衰养真颗粒治疗慢性肾脏病 4、5 期并发营养不良的临床观察[J].中国中西医结合肾病杂志,2009,10(8):696–699.
- [4] 邓聪,魏连波,黄丽雯,等.肾衰养真胶囊对慢性肾衰竭营养不良 Leptin-下丘脑 NPY、POMC 轴的影响[J].中国中西医结合杂志,2010,30(9):952–956.
- [5] Zhang YQ, Feng B, Yuan FH. Effect of chronic renal failure medium on the ubiquitin-proteasome pathway of arterial muscle cells[J]. Mol Med Rep, 2013, 7(3): 1021–1025.
- [6] 邓聪,魏连波,李玉明.肾衰养真胶囊对 CRF 营养不良大鼠下丘脑信号转导蛋白 STAT3 表达的影响[J].中华中医药学刊,2014,32(2):259–261.
- [7] 魏连波,刘冠贤,叶任高主编.肾脏病临床备要[M].北京:人民卫生出版社,1997:339–340.

- [8] 陈奇主编.中药药理实验方法[M].北京:人民卫生出版社,1994:206–207.
- [9] Bozzoli L, Sabatino A, Regolisti G, et al. Protein-energy wasting and nutritional supplementation in chronic hemodialysis[J]. G Ital Nefrol, 2015, 32(5), pii: gin/32.5.1.
- [10] Delafontaine P, Yoshida T. The Rrnin-angiotensin system and the biology of skeletal muscle: mechanisms of muscle wasting in chronic disease states[J]. Trans Am Clin Climatol Assoc, 2016, 127: 245–258.
- [11] Moorthi RN, Avin KG. Clinical relevance of sarcopenia in chronic kidney disease[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2017, 26(3): 219–228.
- [12] Bodine SC, Baehr LM. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogen-1[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2014, 307(6): 469–484.
- [13] Souza VA, Oliveira Dd, Mansur HN, et al. Sarcopenia in chronic kidney disease[J]. J Bras Nefrol, 2015, 37(1): 98–105.
- [14] Wang XH, Mitch WE. Mechanisms of muscle wasting in chronic kidney disease[J]. Nat Rev Nephrol, 2014, 10(9): 504–516.
- [15] Rajan VR, Mitch WE. Muscle wasting in chronic kidney disease: the role of the ubiquitin proteasome system and its clinical impact[J]. Pediatr Nephrol, 2008, 23(4): 527–535.
- [16] Kim JS, Wilson JM, Lee SR. Dietary implications on mechanisms of sarcopenia: roles of protein, amino acids and antioxidants[J]. J Nutr Biochem, 2010, 21(1): 1–13.
- [17] Lee SW, Park GH, Lee SW, et al. Insulin resistance and muscle wasting in non-diabetic end-stage renal disease patients[J]. Nephrol Dial Transplant, 2007, 22(9): 2554–2562.
- [18] 林开亮,徐学驹,王子坪,等.黄芪补中汤加减治疗终末期肾脏病合并脾肾气虚型营养不良 88 例疗效研究[J].中国中西医结合肾病杂志,2016,17(4):343–344.
- [19] 顾波,王汉青,马骏,等.大黄泻下法对老年维持性血液透析患者肾性骨病的临床作用[J].老年医学与保健,2016,22(2):126–129.

(收稿:2015-09-19 在线:2017-11-01)

责任编辑:白霞