

论著·基础研究

高血糖对非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝脏超微结构及细胞凋亡的影响^{*}

常业飞, 胡滔, 洪颖, 钟勇, 王宏刚, 高迪, 郑盛

(云南省第三人民医院检验科, 云南昆明 650011)

摘要:目的 探讨高血糖对非酒精性脂肪性肝炎 (NAFLD) 大鼠肝脏超微结构及细胞凋亡的影响。
方法 将 58 只 SPF 级雄性大鼠采用随机数字表法分为正常组 ($n=10$)、高血糖模型组 ($n=12$)、复合模型组 (高血糖合并 NAFLD, $n=12$)、氨基胍组 ($n=12$)、格列美脲组 ($n=12$), 检测各组血糖值, 在电镜下观察肝脏超微结构, 应用 TUNEL 染色法观察肝细胞凋亡情况, 以酶联免疫吸附试验测定血浆基质金属蛋白酶抑制因子-1 (TIMP-1)、转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)、晚期糖基化终产物 (AGEs) 水平。**结果** 氨基胍组、格列美脲组大鼠血糖值低于高血糖模型组、复合模型组 ($P<0.05$), 且氨基胍组血糖值高于正常组 ($P<0.05$), 格列美脲组血糖值与正常组比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。与正常组比较, 高血糖模型组、复合模型组肝组织出现细胞超微结构改变, 核周围存在脂滴, 且肝细胞浆中线粒体、内质网变形; 而与复合模型组比较, 格列美脲组肝细胞超微结构较正常, 可观察到核周围脂滴分布明显改善, 线粒体及内质网形态趋于正常, 而氨基胍组核周围脂滴分布、线粒体与内质网形态有所改善。肝细胞凋亡率大小: 复合模型组>高血糖模型组>正常组, 复合模型组、高血糖模型组>格列美脲组 ($P<0.05$)。各组血浆 TIMP-1、TGF- $\beta 1$ 、AGEs 水平排序均为: 复合模型组>高血糖模型组>正常组, 复合模型组>氨基胍组、格列美脲组 ($P<0.05$)。**结论** 高血糖可能会促进 NAFLD 大鼠肝纤维化、肝脏超微结构改变及肝细胞凋亡, 降低血糖或减少 TIMP-1、TGF- $\beta 1$ 、AGEs, 有助于减轻或抑制肝脏超微结构改变及肝细胞凋亡。

关键词: 高血糖; 非酒精性脂肪性肝炎; 大鼠; 肝脏超微结构; 细胞凋亡

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.18.009

中图法分类号: R-33; R446.1

文章编号: 1673-4130(2018)18-2234-05

文献标识码: A

Effects of hyperglycemia on liver ultrastructure and apoptosis in rats with nonalcoholic fatty liver disease^{*}

CHANG Yefei, HU Tao, HONG Ying, ZHONG Yong, WANG Honggang, GAO Di, ZHENG Sheng

(Department of Clinical Laboratory, Yunnan Third People's Hospital, Kunming, Yunnan 650011, China)

Abstract: **Objective** To explore the effects of hyperglycemia on liver ultrastructure and apoptosis in rats with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Methods** Totally 58 cases of SPF male rats were divided into the normal group ($n=10$), the hyperglycemia model group ($n=12$), the complex model group (hyperglycemia complicated with NAFLD, $n=12$), the aminoguanidine group ($n=12$) and the glimepiride group ($n=12$). Blood glucose levels were measured among the groups and the ultrastructure of the liver was observed under electron microscope, and the apoptosis of liver cells was observed by TUNEL staining. The levels of plasma matrix metalloproteinase inhibitor -1 (TIMP-1), transforming growth factor- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) and advanced glycation end products (AGEs) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** The rats blood glucose value in the aminoguanidine group and the glimepiride group was lower than the hyperglycemia model group and the complex model group ($P<0.05$), and the value in the aminoguanidine group was higher than that in the normal group ($P<0.05$), and there was no significant difference in the value between the glimepiride group and the normal group ($P>0.05$). Compared with the normal group, ultrastructural changes were observed in the liver tissue and there were lipid droplets around the nucleus, and the deformity of mitochondria and endoplasmic reticulum in the liver cells cytoplasm in the hyperglycemic model group and the complex model group. Compared with the complex model group, the ultrastructure of liver cells was in normal condition, and the lipid droplet distribution around the nucleus was improved obviously and the morphology of mi-

^{*} 基金项目: 云南省教育厅科学研究基金项目 (2016ZDX112)。

作者简介: 常业飞, 女, 主管技师, 主要从事检验生化、微生物研究。

本文引用格式: 常业飞, 胡滔, 洪颖, 等. 高血糖对非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝脏超微结构及细胞凋亡的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2018,

tochondria and endoplasmic reticulum was back to the normal condition in the glimepiride group while the lipid droplets distribution around the nucleus and the morphology of mitochondria and endoplasmic reticulum were improved in the aminoguanidine group. The comparison of the hepatocyte apoptosis size was that: the complex model group > the hyperglycemia group > the normal group, the complex model group, the hyperglycemia group > the glimepiride group ($P < 0.05$). The levels of TIMP-1, TGF- β 1 and AGEs in the plasma of all groups were: the complex model group > the hyperglycemia model group > the normal group, the complex model group > the aminoguanidine group and the glimepiride group ($P < 0.05$). **Conclusion** Hyperglycemia may promote liver fibrosis, liver ultrastructural changes and hepatocyte apoptosis in NAFLD rats, and the reduced levels of blood glucose or TIMP-1, TGF- β 1 and AGEs can help reduce or inhibit liver ultrastructural changes and liver cells apoptosis.

Key words: hyperglycemia; nonalcoholic fatty liver disease; rats; liver ultrastructure; apoptosis

非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 是除酒精、病毒、细菌以外因素引起的肝损伤性临床代谢综合征, 其病理特征为肝细胞脂肪贮积及变性, 包括单纯性脂肪肝及由其演变的脂肪性肝炎、肝硬化, 该病发病率较高, 是目前重要的公共卫生问题^[1-2]。虽然对于 NAFLD 病理机制尚不明确, 但考虑与胰岛素抵抗 (IR)、氧化应激、脂质代谢紊乱及相关细胞因子等密切相关, 尤其是糖尿病, 研究认为 NAFLD 与糖尿病之间存在强烈相互作用。有研究显示, 在 2 型糖尿病中 NAFLD 流行比例达 34%~74%, 而在合并肥胖症的 2 型糖尿病患者中 NAFLD 普遍存在, 在 NAFLD 患者中, 若存在 IR 则会使三酰甘油在肝脏积聚而导致胰岛素抑制肝糖输出作用减弱, 进一步引起高胰岛素血症及血糖升高^[3-5]。学者 YANG 等^[6]的动物实验研究结果发现, 肥胖状态下的肝 NFE2/miR-423-5p 轴激活在 2 型糖尿病及 NAFLD 进展中起着重要作用, 其机制可能为抑制 AKT 信号通路的 fam3a ATP, 但目前国内外关于高血糖对 NAFLD 肝脏超微及细胞凋亡的研究较少。因此, 本实验探讨了高血糖对 NAFLD 大鼠肝脏超微结构、细胞凋亡的影响及采用降糖药物处理后的效果与机制, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选取饲养于湖北中医药大学实验动物中心 SPF 环境下的 SPF 级雄性 SD 大鼠 58 只, 均达 8 周龄, 体质量 (201±20)g, 均购自上海斯莱克实验动物有限公司, 许可证号: SCXK(沪)2012-0002。

1.1.2 实验主要材料 血糖试纸、血糖测试仪购自强生中国医疗器械有限公司; 柠檬酸三钠、柠檬酸, 购自无锡晶科化工有限公司; 链脲佐菌素 (STZ) (Sigma-S0130)、盐酸氨基胍购自美国 Sigma 公司; 格列美脲片购自北京赛诺菲安万特制药有限公司; JSM-6510 扫描电子显微镜购自怡星公司; 血浆基质金属蛋白酶抑制因子-1 (TIMP1) 检测试剂盒 (abcam, 批号 GR127277)、转化生长因子 β 1 (TGF- β 1) 测试盒 (abcam, 批号 GR122868), TUNEL 细胞凋亡原位检测试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司; 大鼠晚期

糖基化终产物 (AGEs) 试剂盒购自武汉 Uscnk 公司, 批号 L13052173。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物分组 将 58 只 SPF 大鼠采用随机数字表法分为正常组 ($n=10$)、高血糖模型组 ($n=12$)、复合模型组 (高血糖合并 NAFLD, $n=12$)、氨基胍组 ($n=12$)、格列美脲组 ($n=12$)。

1.2.2 实验动物模型制备 正常组入组后给予蒸馏水 0.02 mL/g, 其余 4 组大鼠造模前 1 d 禁食禁水 12 h, 经一次性腹腔注射 STZ (65 mg/kg) 建立高血糖模型, 注射后 3 周内每周检测空腹血糖, 血糖值 > 16.7 mmol/L 时即造模成功。氨基胍组、格列美脲组、复合模型组大鼠给予高脂饮食 (胆固醇 2.0%、胆酸钠 0.5%、丙硫氧嘧啶 0.2%、蔗糖 5.0%、三酰甘油 10.0%、基础饲料 82.3%) 喂养 9 周。氨基胍组给予氨基胍 10 mg/mL 灌胃, 剂量 1 mL/100 g; 格列美脲组予以格列美脲 1 mg/mL 灌胃, 剂量 1 mL/100 g; 复合模型组给予等量 0.9% 氯化钠溶液灌胃。3 组均每日灌胃 1 次, 共 9 周。实验总周期为 12 周。

1.3 指标检测

1.3.1 空腹血糖测定 应用血糖仪测定各组大鼠空腹血糖, 前 3 周每周测 2 次, 第 4~12 周每周测 1 次, 共 15 次, 取 15 次测定所得平均值进行统计学分析。

1.3.2 电镜下观察大鼠肝脏超微结构 取肝组织切片, 以 2.5% 预冷的戊二醛及 1% 锇酸双固定, 后修块成 1 mm³ 大小, 以 0.1 mol/L 磷酸缓冲液漂洗 3 次, 应用 50%、70%、80%、95%、100% 乙醇梯度脱水 2 次, 每次 15 min, 采用环氧树脂包埋, 纯包埋液浸透 1 h, 后在 37℃、60℃ 下分别固化 24 h、48 h, 按 60 nm 厚度切片, 硝酸铅及醋酸双氧铀染色, 透射电镜 (电压 80 kV) 观察肝脏超微结构。

1.3.3 TUNEL 法检测大鼠肝组织细胞凋亡率 制作切片, 对石蜡切片脱蜡脱苯, 漂洗后封闭; 浸入 1×PBS 3 次, 滴加 100 μ L Proteinase K 工作液。制作阳性片: 滴加 100 μ L DNase I 反应液, 浸入 1×PBS 3 次, 加 50 μ L TdT 酶, 漂洗、标记、显色、复染后脱水, 透明、封片、观察并拍照, 根据阳性细胞分布情况, 在

各组别每张切片 400 倍镜下选择 3 个阳性视野,计数 200 个细胞中阳性细胞数作为阳性细胞数,凋亡率(%)=阳性细胞数/总细胞数×100%,取平均值。

1.3.4 血浆 TIMP1、TGF-β1、AGEs 检测 以普朗 DNМ-9606 酶标分析仪测定血浆 TIMP1、TGF-β1、AGEs,设置标准品孔、样本孔及空白孔,在标准品中加入 100 μL 梯度标准品,样本孔中加等量样本,在各孔中加入 100 μL 标记的检测抗体,洗涤,甩干后,每孔加入 100 μL HRP-链霉亲和素,加入 100 μL TMB 显色液及 50 μL 终止液,即刻检测在 450 nm 波长下的吸光度(A)值,测定 TIMP1、TGF-β1、AGEs 水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件处理数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

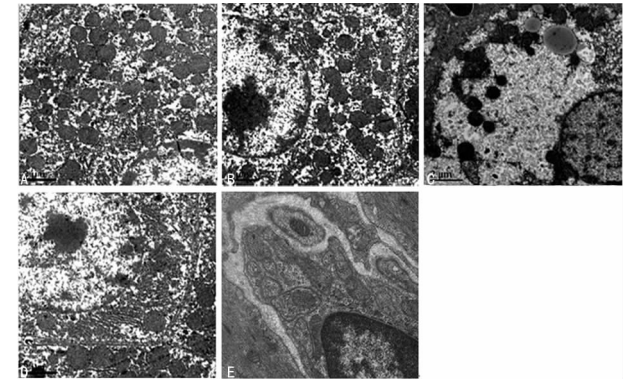
2.1 各组血糖值测定结果比较 与正常组比较,高血糖模型组、复合模型组血糖值较高($P < 0.05$);氨基胍组、格列美脲组血糖值低于高血糖模型组、复合模型组($P < 0.05$),但氨基胍组血糖值仍高于正常组($P < 0.05$),而格列美脲组血糖值与正常组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。氨基胍组血糖值高于格列美脲组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组血糖值测定结果比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)		
组别	<i>n</i>	血糖值
正常组	10	5.16±0.53
高血糖模型组	12	22.20±2.72 [*]
复合模型组	12	22.18±3.69 [*]
氨基胍组	12	13.89±1.45 ^{*#&}
格列美脲组	12	5.29±0.58 ^{#&△}
<i>F</i>		15.872
<i>P</i>		0.000

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.05$;与高血糖模型组比较,[#] $P < 0.05$;与复合模型组比较,[&] $P < 0.05$;与氨基胍组比较,[△] $P < 0.05$

2.2 肝脏超微结构改变情况比较 电镜下可观察到正常组大鼠肝脏组织结构完整、清晰,呈卵圆或圆形,可见结构正常而含有量丰富的线粒体、粗面内质网、核仁、清晰连续的核膜及分布均匀的染色质,胞浆中未见脂滴;复合模型组可见肝细胞排列紊乱,部分肝

组织结构破坏,为早期凋亡样改变,核周围可见大量脂滴及散在的糖原颗粒,肝细胞浆中线粒体变形肿胀,呈多种不规则形状,甚至有崩解破裂情况,大量内质网出现肿胀与脱颗粒,粗面内质网数量减少而滑面内质网数量增多;高血糖模型组部分肝细胞排列紊乱,未见脂肪变性,肝细胞浆中线粒体变形、内质网肿胀等程度小于复合模型组;氨基胍组大鼠肝组织形态较复合模型组未见明显改善,仍可见肝细胞坏死及炎细胞浸润,但核周围脂滴分布及线粒体与内质网变形程度有所减轻;与复合模型比较,格列美脲组肝细胞超微较正常,可观察到核周围脂滴分布明显改善,线粒体及内质网形态趋于正常。见图 1。



注:A 为正常组,B 为高血糖模型组,C 为复合模型组,D 为氨基胍组,E 为格列美脲组

图 1 电镜下各组肝脏超微结构观察结果(×4 000)

2.3 各组肝细胞凋亡率比较 高血糖模型组、复合模型组、氨基胍组、格列美脲组肝细胞凋亡率明显高于正常组,且高血糖模型组、复合模型组、氨基胍组肝细胞凋亡率均高于格列美脲组($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组肝细胞凋亡率比较(%, $\bar{x} \pm s$)		
组别	<i>n</i>	肝细胞凋亡率
正常组	10	25.98±2.75
高血糖模型组	12	50.62±5.14 ^{*#}
复合模型组	12	53.18±5.42 ^{*#}
氨基胍组	12	49.46±5.05 ^{*#}
格列美脲组	12	35.12±3.78 [*]
<i>F</i>		9.781
<i>P</i>		0.000

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.05$;与格列美脲组比较,[#] $P < 0.05$

表 3 各组血浆 TIMP-1、TGF-β1、AGEs 水平比较 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)				
组别	<i>n</i>	TIMP-1	TGF-β1	AGEs
正常组	10	3.41±0.36	113.20±12.10	28.45±2.59
高血糖模型组	12	3.92±0.41 [*]	145.16±14.58 [*]	54.58±5.58 [*]
复合模型组	12	4.09±0.42 [*]	163.24±16.55 ^{*#}	116.28±11.75 ^{*#}
氨基胍组	12	3.56±0.37 ^{#&}	138.95±13.90 ^{#&}	75.18±7.62 ^{*#&}
格列美脲组	12	3.47±0.36 ^{#&△}	125.39±12.61 ^{*#&△}	75.81±7.63 ^{*#&}
<i>F</i>		8.059	7.984	13.587
<i>P</i>		0.000	0.002	0.000

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.05$;与高血糖模型组比较,[#] $P < 0.05$;与复合模型组比较,[&] $P < 0.05$;与氨基胍组比较,[△] $P < 0.05$

2.4 各组血浆 TIMP-1、TGF- β 1、AGEs 水平比较
5 组血浆 TIMP-1、TGF- β 1、AGEs 水平排序均为:复合模型组>高血糖模型组>正常组,且复合模型组>氨基胍组、格列美脲组($P<0.05$),氨基胍组、格列美脲组的 TGF- β 1 比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

3 讨 论

肝细胞弥散性大泡性脂肪病变为 NAFLD 的主要特征,近年来 NAFLD 发病率呈上升趋势,该病可导致肝纤维化及肝硬化^[7]。内质网应激(ERS)引起的肝脏超微结构改变在 NAFLD 发生发展中起着重要作用,当内质网功能失衡时会引发 ERS,造成肝脂质代谢紊乱及肝细胞凋亡,因此,探寻引起 NAFLD 中肝细胞超微结构改变及细胞凋亡的机制有重要意义^[8-9]。糖尿病、NAFLD 在发病时多会出现 IR 及 AGEs 过度蓄积现象,因此,两者可能有相同发病基础并相互促进,糖尿病患者体内 AGEs 过度累积,可在肝组织引起氧化应激及炎症,继而损伤肝细胞,肝脏受损时会分泌大量 TIMP-1、TGF- β 1,促进肝组织纤维化,同时,血糖升高也会增加机体代谢功能障碍,加重肝组织损伤^[10-11]。国外有学者的研究显示,NAFLD 小鼠在喂食 3~42 d 时,肝脏出现脂肪堆积,炎症细胞浸润增加,且由 STZ 诱导的高血糖状态加剧,而给予胰岛素则逆转了这些现象^[12],因此,得出高血糖可能加重炎症反应而促进 NAFLD 早期进展的结论,国内学者在分析波动高血糖对糖尿病大鼠肾脏及肝脏损伤机制时发现,糖尿病大鼠 12 周时肾脏、肝脏出现明显损伤,且血糖波动可能加重其损伤程度^[13],但目前关于高血糖对 NAFLD 大鼠肝脏超微结构与细胞凋亡影响的研究甚少。

杜卫东等^[14]的研究结果显示,氨基胍组、格列美脲组大鼠血糖值均低于高血糖模型组与复合模型组,本研究结果显示,高血糖模型组、复合模型组血糖值较正常组高($P<0.05$),而氨基胍组、格列美脲组血糖值较高血糖模型组、复合模型组低($P<0.05$),且格列美脲组血糖值与正常组差异无统计学意义($P>0.05$),这与上述报道结果基本相似,因而高血糖对 NAFLD 发生发展有一定影响,而采用降糖药物如格列美脲,较氨基胍有明显降血糖作用,可延缓 NAFLD 进展。LUCCHESI 等^[15]的研究显示,诱导后糖尿病大鼠表现为持续高血糖,肝脏肝窦扩张、肝细胞脂肪变性、进展性肝脏结构损伤,同时汇管区纤维化,胞浆内胞器数目减少,线粒体、内质网及细胞核发生变形,本研究在电镜下观察五组肝脏超微结构,结果显示高血糖模型组、复合模型组肝组织出现细胞超微结构改变,核周围存在脂滴,且肝细胞浆中线粒体、内质网变形,而与复合模型比较,格列美脲组肝细胞超微结构较正常,可观察到核周围脂滴分布明显改善,线粒体及内质网形态趋于正常,氨基胍组核周围脂滴分布、

线粒体与内质网形态有所改善,这与上述观察结果基本一致,考虑是因为高血糖可通过“第一次打击”、“第二次打击”损伤肝脏超微结构中线粒体而引发肝细胞凋亡,通过机体细胞表面死亡受体介导途径(外源性)及线粒体介导途径(内源性)加速细胞凋亡,线粒体途径中活性氧(ROC)增加会导致线粒体通透性转换孔开放,线粒体膜电位改变,继而诱发细胞凋亡^[16]。此外本研究结果也显示,高血糖模型组、复合模型组、氨基胍组、格列美脲组肝细胞凋亡率较正常组高,格列美脲组肝细胞凋亡率则明显降低,且复合模型组、高血糖模型组血浆 TIMP-1、TGF- β 1、AGEs 水平较正常组高,而氨基胍组、格列美脲组 TIMP-1、TGF- β 1、AGEs 水平低于复合模型组,这与项标等^[17]的研究结果相近。因此,高血糖会加速 NAFLD 大鼠肝脏超微结构改变、肝纤维化,促进肝细胞凋亡,可能是因为在高血糖环境下,发生蛋白质非酶糖化,形成 AGEs,而 AGEs 与细胞膜表面受体交联,激活 TGF- β 1 等细胞因子,促进肝组织发生纤维化,同时,NAFLD 大鼠大量肝星状细胞被激活,TIMP-1 活性也增加,加速肝纤维化进展,而采用氨基胍、格列美脲等降糖药物干预后,可下调 TIMP-1、TGF- β 1、AGEs 水平,继而增强对胶原的降解能力,达到抗纤维化目的,尤其是采用格列美脲干预效果更明显。

4 结 论

高血糖在 NAFLD 大鼠肝脏超微结构改变、肝纤维化、肝细胞凋亡中有一定促进作用,采用格列美脲等降糖药物干预,可降低血糖及 TIMP-1、TGF- β 1、AGEs 水平,改善肝脏超微结构,延缓肝纤维化。

参考文献

- [1] 李晓冰,何德根,彭通,等.新生大鼠低血糖所致代谢紊乱与非酒精性脂肪肝相关性研究[J].国际医药卫生导报,2016,22(14):2039-2041.
- [2] 范明娟,黄宇.肾素抑制剂对非酒精性脂肪肝干预机制的研究[J].国际检验医学杂志,2016,37(10):1320-1321.
- [3] 宋军营,贾亚泉,吕靖,等.糖尿病对大鼠脑组织超微结构及微血管内皮相关因子表达的影响[J].中国糖尿病杂志,2016,24(10):940-944.
- [4] 沈静雪,张亚杰,蔡凤,等.二甲双胍对 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪肝大鼠肝脏功能及炎症反应的影响[J].山东医药,2017,57(30):36-39.
- [5] 罗惠金,刘艳,陈容平,等.沙格列汀对糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病大鼠模型肝脏炎症损伤的保护作用及机制[J].中华内分泌代谢杂志,2015,31(6):538-540.
- [6] YANG W, WANG J, CHEN Z, et al. NFE2 induces miR-423-5p to promote gluconeogenesis and hyperglycemia by repressing the hepatic FAM3A-ATP-Akt pathway[J]. Diabetes, 2017, 66(7):1819-1832.
- [7] 王永芹.非酒精性脂肪肝患者免疫球蛋白及补体水平的变化及临床意义[J].国际检验医学杂志,2016,37(8):1153-1154.

骨髓瘤患者的初筛,出现异常 M 带或者根据临床症状怀疑 MM 的患者,进一步行免疫固定电泳明确分型,同时检测 κ/λ 、 $\beta 2$ 微球蛋白等相关化验,有助于早期诊断和评估病情及预后。血清蛋白电泳,血清免疫固定电泳, κ/λ 、 $\beta 2$ 微球蛋白对 MM 及 MM 肾损伤的诊断具有重要临床价值。

参考文献

[1] 陈宗云,叶晓艺. 29 例多发性骨髓瘤实验室结果分析[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(10):1413-1415.

[2] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2007:232-234.

[3] 冉学兵. 免疫固定电泳对诊断多发性骨髓瘤的临床价值[J]. 临床医学研究与实践,2017,2(2):87-88.

[4] 陈云峰,葛亮,沈建江. 免疫固定电泳及免疫球蛋白定量在多发性骨髓瘤诊断和分型中的应用[J]. 中国实验诊断学,2016,20(11):1881-1883.

[5] 段丽娟,李超,杨如玉. 多发性骨髓瘤患者血清 $\beta 2$ -微球蛋白、TNF- α 、CRP 及 IL-6 水平检测[J]. 中国实验血液学杂志,2015,23(5):1362-1365.

[6] 谭转欢. 多发性骨髓瘤患者血清 $\beta 2$ -微球蛋白、TNF- α 、hs-CRP 及 IL-6 水平检测的临床意义[J]. 检验与临床,2012,50(11):90-92.

[7] 翟洪顺,林丽淑,邹德学,等. 多发性骨髓瘤的实验室诊断指标对临床治疗和预后的意义[J]. 中国实验诊断学,2011,15(4):675-677.

[8] 蔡惠兴,苏荣,黄慧萍,等. 多发性骨髓瘤免疫球蛋白 M 蛋白测定的结果分析[J]. 现代医药卫生,2014,30(10):

1441-1442.

[9] LI J X, LI J, TONG X, et al. Comparing five diagnostic criteria for multiple myeloma: a retrospective study of 227 cases[J]. Tumori, 2014, 100(2): 207-213.

[10] 崇慧峰,孙芸,王传发,等. 免疫固定电泳和骨髓瘤形态学检查在多发性骨髓瘤临床分期中的价值比较[J]. 检验医学,2015,30(7):720-722.

[11] 周晖,王丁,宾利. κ/λ 比率在 M 蛋白病中的诊断价值[J]. 实用医学杂志,2000,16(6):508-509.

[12] 邱爽,孟瑞芳,蒋筱漪,等. 血清免疫固定电泳、蛋白电泳、免疫球蛋白及轻链定量在诊断多发性骨髓瘤中的临床应用[J]. 现代检验医学杂志,2015,30(2):61-64.

[13] TANG J, LI L, FENG W, et al. Diagnostic value of immunofixation electrophoresis and KAP/LAM ratio in multiple myeloma patients with renal injury[J]. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2016, 47(4): 551-555.

[14] CIRIT M, OZEN P, et al. The value of serum immunoglobulin free light chain assessment in patients with monoclonal gammopathies and acute renal failure[J]. Turkish journal of haematology [J]. Turkish J Hematol, 2012, 29(4): 385-391.

[15] KLEBER M, IHORST G, DESCHLER B, et al. Detection of renal impairment as one specific comorbidity factor in multiple myeloma: multicenter study in 198 consecutive patients[J]. Eur J Haematol, 2009, 83(6): 519-527.

(收稿日期:2018-01-12 修回日期:2018-04-21)

(上接第 2237 页)

[8] 谢慧臣,刘芬,罗丽华,等. 延龄草提取物抗非酒精性脂肪肝作用及对肝细胞超微结构的影响[J]. 中成药,2017,39(4):817-821.

[9] 李兆翌,田静,施军平,等. 复方楂金颗粒(CZJG)对非酒精性脂肪肝大鼠脂质代谢及肝细胞超微结构的影响[J]. 中华中药学刊,2016,34(5):1176-1179.

[10] 王羚,董梁,夏国园,等. 高脂高糖低蛋白构建大鼠非酒精性脂肪肝模型的实验研究[J]. 职业与健康,2015,31(2):190-192.

[11] 韩然,于燕妮,杨丹. 高糖饮食致大鼠非酒精性脂肪肝模型的建立[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2015,24(11):1354-1356.

[12] HARADA S, MIYAGI K, OBATA T, et al. Influence of hyperglycemia on liver inflammatory conditions in the early phase of non-alcoholic fatty liver disease in mice[J]. J Pharm Pharmacol, 2017, 69(6): 698-705.

[13] 李素娟,高凯旋,杨文娟,等. 波动血糖对糖尿病大鼠肾脏

和肝脏损伤的影响[J/CD]. 中国医学前沿杂志(电子版),2015,7(11):33-37.

[14] 杜卫东,夏超,项标,等. 高血糖对非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝星状细胞活化作用的研究[J]. 浙江医学,2014,36(8):640-643.

[15] LUCCHESI A N, CASSETTARI L L, SPADELLA C T. Alloxan-induced diabetes causes morphological and ultrastructural changes in rat liver that resemble the natural history of chronic fatty liver disease in humans[J]. J Diabetes Res, 2015, 15(5): 1-11.

[16] 聂文洁,曹秀琴,邵贵强. 高压氧治疗对 2 型糖尿病大鼠肝脏超微结构及细胞凋亡的影响[J]. 临床与病理杂志,2015,35(8):1511-1518.

[17] 项标,杜卫东,夏超,等. 高血糖对非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝纤维化形成的影响及机制探讨[J]. 浙江中西医结合杂志,2016,26(5):425-429.

(收稿日期:2018-01-21 修回日期:2018-04-26)