

朱道仙,陆江,郝福星,等. 基于尿液代谢组学研究青蒿琥酯对庆大霉素诱导犬急性肾功能衰竭的保护机制[J]. 江苏农业科学,2022,50(2):137-142.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.02.023

基于尿液代谢组学研究青蒿琥酯对庆大霉素诱导犬急性肾功能衰竭的保护机制

朱道仙¹, 陆江², 郝福星¹, 吴植¹

(1. 江苏农牧科技职业学院动物医学院, 江苏泰州 225300; 2. 江苏农牧科技职业学院宠物科技学院, 江苏泰州 225300)

摘要:为观察青蒿琥酯对庆大霉素诱导犬急性肾功能衰竭尿液代谢物的调节作用及其机制。将 24 只泰迪型贵宾犬,随机等分为 3 组:对照组(control 组)、肾衰组(CRF 组)和青蒿琥酯组(ART 组)。除对照组,其他组犬采用注射庆大霉素建立急性肾功能衰竭模型。然后,ART 组给予青蒿琥酯,对照组和 CRF 组给予相同体积生理盐水。用生化分析仪测定肌酐(Cr)和尿素氮含量,用气相色谱-质谱法(GC-MS)测定尿液中的代谢物水平。结果显示,与 CRF 组比较,ART 组血清 Cr 和尿素氮含量极显著降低($P < 0.01$);共有 14 种代谢物水平发生改变,其中, α -酮戊二酸、色氨酸、酪氨酸、琥珀酸、花生四烯酸、苹果酸、柠檬酸及棕榈酸等含量降低;葡萄糖酸、牛磺酸、甘氨酸、肌酐、丝氨酸及甘油等含量升高。代谢通路分析发现共涉及三羧酸循环、甘氨酸代谢、酪氨酸代谢、色氨酸生物合成、谷胱甘肽代谢、甘油磷脂代谢及不饱和脂肪酸生物合成等 7 条代谢途径。以上结果表明,青蒿琥酯可有效改善庆大霉素诱导犬急性肾功能衰竭,可能与调节脂代谢、氨基酸代谢和能量代谢等通路有关。

关键词:青蒿琥酯;庆大霉素;犬;急性肾功能衰竭;尿液代谢组学;代谢通路

中图分类号:S858.292 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)02-0137-05

犬的急性肾功能衰竭是由多种病因引起的肾功能快速下降而出现的以氮质血症为特征的一种临床综合征,近年发病率逐渐升高。目前,常采取对症治疗、纠正酸碱平衡紊乱、维持残肾功能等方法进行治疗,效果不一,部分动物病情恶化甚至死亡,尚无有效的治疗方法。研究报道,对急性肾功能衰竭进行早期干预可降低肾功能进一步恶化的风险^[1-2]。青蒿琥酯(artesunate, ART)具有抗氧化应激、抗炎、抗肿瘤及免疫调节等作用^[3]。大量研究表明,ART 对多种原因引起的肾损伤具有保护作用^[4-5],然而其作用机制尚不明确。代谢组学是研究细胞、组织、器官或整个生命有机体代谢物(相对分子质量在 1 000 以下)的组成及这些代谢产物在内外因素刺激下动态变化的一门科学^[6]。由于代谢组学侧重于反映生物体内真实的病理生理变化

状态,对药物干预后的作用趋势具有指导意义,目前代谢组学技术已在各系统疾病的研究中广泛应用^[7]。因此,本研究拟采用气相色谱-质谱法(GC-MS)的尿液代谢组学检测方法,探讨青蒿琥酯对庆大霉素诱导急性肾功能衰竭模型犬的干预作用,以期阐明青蒿琥酯防治犬急性肾衰竭的作用机制。

1 材料与方法

1.1 试验动物

泰迪型贵宾犬,约 4 岁,体质量(7 ± 1) kg,雄性,江苏农牧科技职业学院宠物美容犬房提供。

1.2 试验设计

于 2020 年 5 月,选取 24 只泰迪型贵宾犬饲养于江苏农牧科技职业学院实验动物房,随机等分为 3 组:对照组(control 组)、肾衰组(CRF 组)和青蒿琥酯组(ART 组)。所有犬均以商品化成年犬粮(冠能成年犬犬粮,规格 12 kg/袋,雀巢普瑞纳宠物食品有限公司)进行 7 d 适应性饲喂后,除对照组,其他各组犬参考张萍等的方法^[8],每天 09:00 按照 40 mg/kg 体质量肌肉注射硫酸庆大霉素注射液(购于天津药业焦作有限公司),连续注射 5 d,若血清

收稿日期:2021-05-07

基金项目:江苏现代农业产业技术体系建设项目(编号:JATS[2018]238);江苏农牧科技职业学院校级课题(编号:NSF201706)。

作者简介:朱道仙(1978—),女,安徽寿县人,硕士,讲师,主要从事动物临床营养及代谢病研究。E-mail:331802901@qq.com。

通信作者:陆江,硕士,副教授,主要从事动物临床营养及代谢病研究。E-mail:vetlj@163.com。

肌酐 (Cr) 含量及临床症状无明显变化, 则按 40 mg/kg 体质量间隔 12 h 重复给药, 直至 Cr 含量 >270 $\mu\text{mol/L}$, 尿素氮含量升高, 停止用药, 犬急性肾衰模型建立成功。对照组给予等量生理盐水作为对照。然后, ART 组犬按 1 mg/kg 体质量肌肉注射青蒿琥酯注射液 (购于哈尔滨市宏达动物药品厂), CRF 组和 Control 组给予等量生理盐水, 1 次/d, 连续 5 d。

1.3 血液肾功能指标测定

分别于慢性肾衰造模前 (0 d)、造模后 (7 d) 和试验结束 (12 d) 时的 08:00, 空腹经头静脉采集各组试验犬的血液并制备血清, 用 M149928 - 全自动干式生化分析仪测定血清肌酐和尿素氮含量。

1.4 GC-MS 法检测尿液代谢物

1.4.1 尿液采集 试验结束时, 经膀胱穿刺收集新鲜尿液后迅速置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存, 待测。

1.4.2 尿样处理 参考孟欣等的方法^[9], 将“1.4.1”节保存的尿液室温下融化后, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 15 min 后取上清液。取上清液 200 μL , 加入 20 μL 脲酶, 混合均匀于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中孵化反应 20 min, 加入 800 μL 冰冷色谱级乙醇, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 15 min, 吸取 200 μL 上清液转入高回收率玻璃衍生小瓶中, 采用温和氮气吹干提取液。向干燥物中加入 30 μL 20 mg/mL 盐酸甲氧胺吡啶溶液, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 脲化反应 90 min。取出后继续加入 30 μL N,O-双(三甲基硅基)三氟乙酰胺 (含 1% 三甲基一氯硅烷) 的衍生试剂, 密闭并于 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 反应 60 min。取出样本, 室温放置 30 min, 进行 GC-MS 代谢组学分析。

1.4.3 GC-MS 反应条件 GC-MS 试验的仪器分析平台为安捷伦 7890A/5975C GC-MS 系统, 毛细管色谱柱为 Agilent J&W Scientific 公司的 HP-5 ms (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm)。程序升温条件: 初始柱温 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保留 1 min, 以 $20\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 $320\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保留 4 min。进样口温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, 四极杆温度 $150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 高纯氦气作为载气, 不分流进样, 进样量 1.0 μL 。质谱条件: 电离方式 EI, 碰撞能量为 70 eV, 离子源温度 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$, 离子传输线温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, 溶剂延迟时间为 4 min, 扫描方式为全扫描, 质谱检测范围为 50 ~ 600 质荷比 (m/z)。

1.5 数据处理

计量资料采用“平均值 \pm 标准差”表示, 采用 SPSS 22.0 统计软件 ANOVA 程序单因素方差分析

(one-way ANOVA), 并进行多重比较 (*LSD*) 组间两两比较, 同组不同时间点数据用重复测量数据资料方差分析比较。GC-MS 所得的样品数据通过 m/z 识别、匹配和归一化等计算过程, 得到矩阵, 将其导入 SIMCA-P 12.0 软件中进行主成分分析 (PCA), 及偏最小二乘判别分析 (PLS-DA), 采用 MetaboAnalyst 网站 (<http://www.metaboanalyst.ca/>) 进行代谢物的代谢通路富集分析。

2 结果与分析

2.1 肾功能指标的变化

由图 1-a 可知, 7 d, CRF 组和 ART 血中 Cr 浓度升高, 超出生理阈值 (红色虚线), 约为对照组的 2.5 倍; 12 d, 与 CRF 组比较, ART 组 Cr 含量极显著降低 ($P < 0.01$), 与对照组比较, CRF 组 Cr 含量极显著升高 ($P < 0.01$)。由图 1-b 可知, 7 d, CRF 组和 ART 血中尿素氮浓度升高, 约为对照组的 4 倍; 12 d, 与 CRF 组比较, ART 组尿素氮浓度极显著降低 ($P < 0.01$); 与对照组比较, CRF 组尿素氮浓度极显著升高 ($P < 0.01$)。提示 ART 处理可以改善 CRF 模型犬的肾功能。

2.2 尿液代谢物的 GC-MS 总离子流图的变化

对所有样本的总离子流色谱图进行可视化检查, 显示所有样本的仪器分析具有信号强、峰容量大且保留时间重现性好等特点。各组以其中 1 个样本的总离子流色谱图为代表, 由图 2 可知, 不同组间的总离子流色谱图有较大差异。

2.3 多元分析组间差异

在 Simca-P 11.0 软件中, 采用默认的 UV 格式化 (unit variance scaling) 和平均中心 (mean-centered) 处理, 对各组代谢物进行主成分分析 (PCA), PCA 得分图 (scores plot) 见图 3-a, 横坐标为第 1 主成分得分, 用 $t[1]$ 表示; 纵坐标为第 2 主成分得分, 用 $t[2]$ 表示, 所有样本处于 95% 置信区间 (hotelling T2 ellipse) 外, 无异常样本, PCA 第 1 主成分 (R2X1) 与第 2 主成分 (R2X2) 总累积解释率 47.04%, 为各组间的样本点完全分离, 各组内样本点聚集较好。与 CRF 组比较, ART 有向对照组回调趋势。采用 PLS-DA 的多维统计分析方法分别对 3 组样本进行模型分析, 由图 3-b 可知, 累积解释率为 75.53%, 说明 3 组样本间具有显著代谢差异。对 PLS-DA 分析模式随机置换 200 次, 进行置换检测, $R^2 = 0.512$, $Q^2 = -0.0568$, 提示本模型均有较

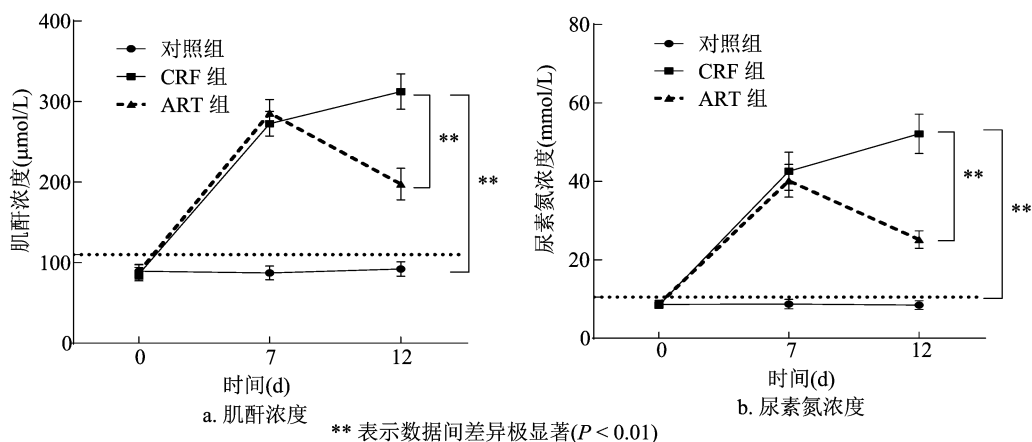


图1 各组肾功能指标比较

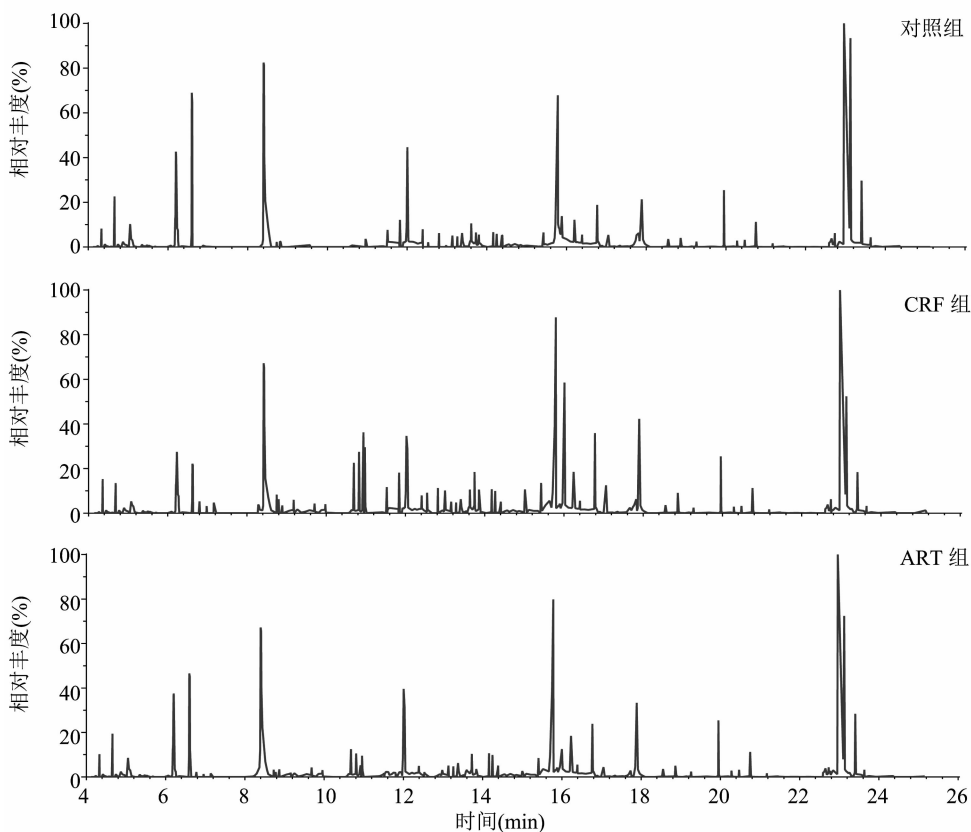


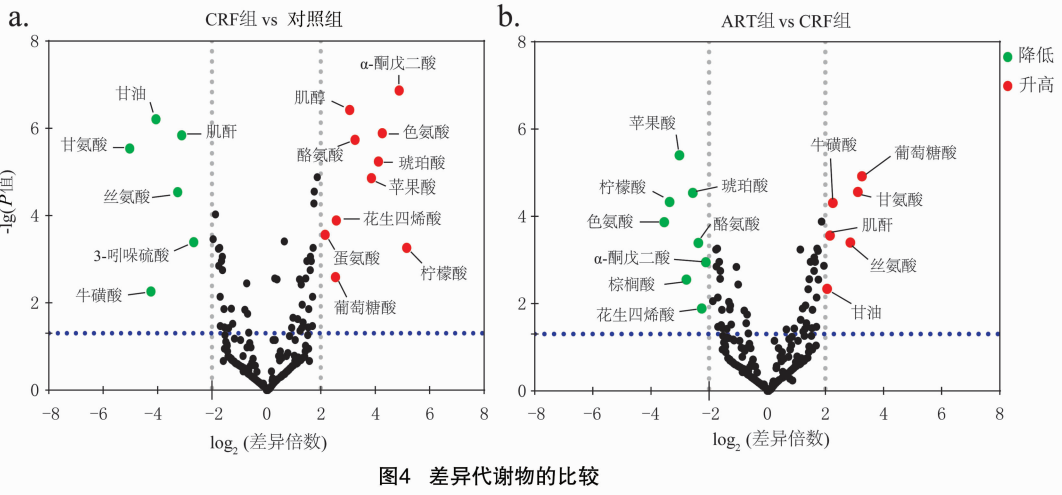
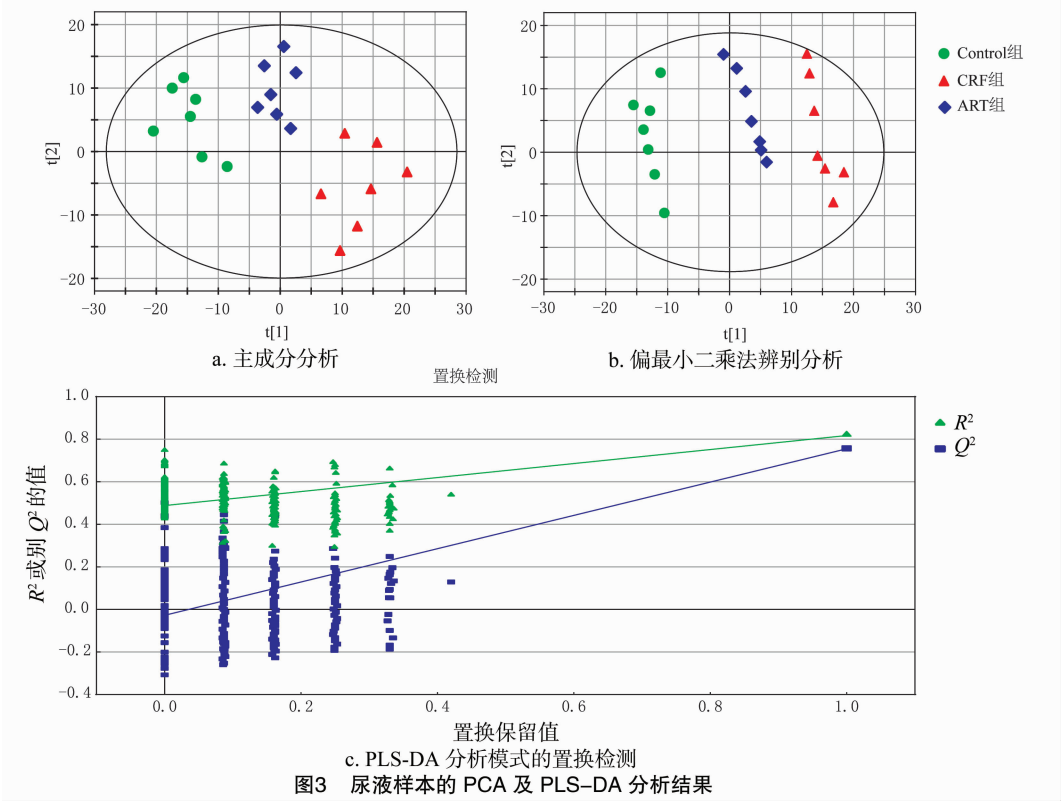
图2 各组代表性总离子流色谱

好的稳定性及可预测性且不存在过拟合现象,模型建立成功,见图 3 - c。

2.4 差异代谢物筛选

由图 4 - a 可知,采用 PLS - DA 模型第 1 主成分得到 VIP (variable importance in the projection) 值 ($VIP > 1$)、 t 检验 P 值 ($P < 0.05$),并结合变化倍数 \log_2 (差异倍数) > 4 来寻找差异性代谢物。将潜在差异代谢物的二级谱图与 Metlin、HMDB 及 KEGG 等数据库进行比对。与对照组比较,CRF 组有 16 种

差异代谢物,其中甘油、甘氨酸、肌酐、丝氨酸、3 - 吡啶硫酸及牛磺酸等含量下降; α - 酮戊二酸、肌醇、色氨酸、酪氨酸、琥珀酸、苹果酸、花生四烯酸、苹果酸、柠檬酸及棕榈酸等含量升高。由图 4 - b 可知,与 CRF 组比较,ART 组有 14 种差异代谢物,其中, α - 酮戊二酸、色氨酸、酪氨酸、琥珀酸、花生四烯酸、苹果酸、柠檬酸及棕榈酸等含量降低;葡萄糖酸、牛磺酸、甘氨酸、肌酐、丝氨酸及甘油等含量升高。

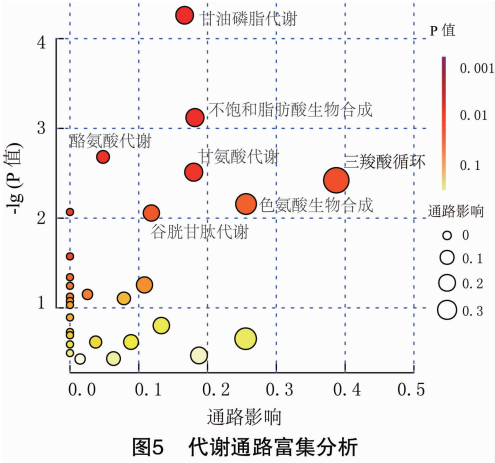


2.5 差异代谢物代谢途径富集分析

由图 5 可知,共有 7 条潜在代谢靶标途径可能参与 CRF 发生和 ART 干预,分别为三羧酸循环、甘氨酸代谢、酪氨酸代谢、色氨酸生物合成、谷胱甘肽代谢、甘油磷脂代谢及不饱和脂肪酸生物合成。说明 CRF 组犬体内代谢紊乱主要与脂代谢、氨基酸代谢和能量代谢等通路有关,经 ART 干预后部分代谢物出现回调趋势,提示代谢通路的紊乱得到相应调节。

3 讨论与结论

本试验使用硫酸庆大霉素诱导犬急性肾衰竭



模型,以血液 Cr 浓度增加至参考值上限的 50% 为犬急性肾功能衰竭模型建造成功标准^[8],成功诱导犬急性肾衰竭模型,试验犬无死亡且易于观察。造模 7 d,血清 Cr 浓度约为对照组 2.5 倍,尿素氮浓度约为对照组 4 倍,证明了犬急性肾衰竭模型复制成功。给予 ART 治疗后,血清 Cr 和尿素氮浓度等指标均有所改善,说明 ART 对犬急性肾衰竭具有良好的治疗作用。

代谢组学技术是用于考察生物体受到刺激(药物或环境等)后,其代谢产物发生的动态变化,从而分析生物体生理病理状态,从整体上反映生物体的变化状态,避免了以往单一或少数指标研究病理生理变化^[10]。GC-MS 技术具有分离效果好、分辨率和检测灵敏度较高,有参考比较的标准图谱等优点,且尿液样本容易采集,对动物无损伤^[11-13]。因此,本研究采用尿液进行 GC-MS 分析。

对尿液中代谢物进行差异分析发现,CRF 组甘氨酸、肌酐及牛磺酸等含量低于对照组。徐婷婷等^[14]在商陆致大鼠肾损伤的代谢组学研究中,发现尿液肌酐含量降低,与本结果研究一致。尿中肌酐含量降低,结合血清肌酐含量及尿素氮含量升高,进一步提示 CRF 的发生。在线粒体中进行的三羧酸循环是机体提供能量的主要方式, α -酮戊二酸、琥珀酸、苹果酸及柠檬酸等物质是其重要的中间产物。本研究结果显示,CRF 组尿中这些物质含量高于对照组,提示急性肾衰竭时三羧酸循环发生异常,也间接反映线粒体功能的失调,而线粒体损伤是导致氧化应激的重要因素。给予青蒿琥酯(ART 组)后可使 α -酮戊二酸、琥珀酸、苹果酸及柠檬酸等含量回调,说明 ART 组改善了 CRF 组患犬三羧酸循环的状态。甘氨酸作为一种抗氧化剂,可调控脂质过氧化产物丙二醛(MDA)和氧化亚氮水平^[15]。牛磺酸具有抗氧化、抗细胞凋亡、调节内质网应激反应、促线粒体蛋白质合成、维持渗透平衡等功能从而达到保护细胞膜的目的^[16-17]。CRF 组甘氨酸和牛磺酸含量降低,说明机体抗氧化能力减弱,发生氧化应激反应。连续给予青蒿琥酯后甘氨酸、牛磺酸及肌酐含量均显著回调,而且谷胱甘肽代谢通路改善显著,表明青蒿琥酯可提高抗氧化物质含量,改善机体氧化应激。提示抑制氧化应激可能是青蒿琥酯对庆大霉素诱导犬肾衰发挥保护作用的主要机制之一。此外,与炎症有关的代谢物花生四烯酸和棕榈酸^[18-19],在庆大霉素诱导肾衰竭犬

的尿液中含量升高,而给予青蒿琥酯治疗后降低,这说明青蒿琥酯可以改善庆大霉素诱导肾衰竭时发生的炎症反应。

综上所述,庆大霉素诱导犬肾衰竭后体内一系列代谢途径发生紊乱和代谢物发生改变,而给予青蒿琥酯干预后,肾衰竭犬的肾功能得到改善,可能与青蒿琥酯调节体内脂代谢、氨基酸代谢和能量代谢等通路有关。

参考文献:

- [1] Meersch M, Schmidt C, Hoffmeier A, et al. Prevention of cardiac surgery associated AKI by implementing the KDIGO guidelines in high risk patients identified by biomarkers; the PrevAKI randomized controlled trial[J]. Intensive Care Med, 2017, 43(11): 1551-1561.
- [2] Balasubramanian G, Al-Aly Z, Moiz A, et al. Early nephrologist involvement in hospital-acquired acute kidney injury: a pilot study[J]. Am J Kidney Dis, 2011, 57(2): 228-234.
- [3] 岑彦艳, 赵伟博, 李攀, 等. 青蒿琥酯的药代动力学以及相关药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(19): 3970-3978.
- [4] 陶磊, 李婷婷, 马旖旎, 等. 青蒿琥酯对阿霉素致大鼠肾损伤的保护作用[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(11): 47-51.
- [5] 梁晨, 李维, 陈怡, 等. 青蒿琥酯对糖尿病大鼠肾脏的保护作用及机制[J]. 山东医药, 2020, 60(14): 9-12.
- [6] 张丹, 王丽, 韩梅. 代谢组学在肾脏疾病中的研究进展[J]. 中国现代医生, 2020, 58(30): 189-192.
- [7] 徐文丽, 胡瑞雪, 梁元昊, 等. 中医中药代谢组学生物标记物的研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(6): 756-760.
- [8] 张萍, 杜娟, 沙聪, 等. 庆大霉素诱导的犬肾衰竭模型治疗期间的 NGAL 和 Cys-C 变化[J]. 动物医学进展, 2020, 41(2): 74-79.
- [9] 孟欣, 汪受传, 谢彤, 等. 基于 GC-MS 代谢组学的 RSV 肺炎小鼠尿液和粪便生物标记物研究[J]. 南京中医药大学学报, 2017, 33(2): 198-206.
- [10] Kalim S, Rhee E P. An overview of renal metabolomics[J]. Kidney Int, 2017, 91(1): 61-69.
- [11] 吴惠勤, 张春华, 黄晓兰, 等. 气相色谱-串联质谱法同时检测尿液中 15 种有毒生物碱[J]. 分析测试学报, 2013, 32(9): 1031-1037.
- [12] 吴坚, 全淑花, 钱舒怡, 等. 基于 GC-MS 技术研究八角枫对大鼠血浆与尿液代谢的影响[J]. 新中医, 2020, 52(16): 12-15.
- [13] 汤柳英, 高燕红, 王晶, 等. 不同储存条件下人尿中小分子代谢物表征差异的初步研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(5): 612-617.
- [14] 徐婷婷, 甄滢滢, 金若敏, 等. 商陆致大鼠肾损伤的代谢组学研究[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(11): 4120-4123.
- [15] Wang Z W, Zhang J Q, Chen L, et al. Glycine suppresses AGE/RAGE signaling pathway and subsequent oxidative stress by restoring

肖亦辰,杨颖,马平,等. 新型鹅星状病毒一步法 RT-PCR 检测方法的建立与应用[J]. 江苏农业科学,2022,50(2):142-146.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.02.024

新型鹅星状病毒一步法 RT-PCR 检测方法的建立与应用

肖亦辰^{1,2}, 杨颖^{1,2}, 马平^{1,2}, 赵冬敏¹, 章丽娇¹, 刘青涛¹, 杨婧¹, 李银¹, 刘宇卓¹, 韩凯凯¹, 黄欣梅^{1,2}

(1. 江苏省农业科学院兽医研究所/农业部兽用生物制品工程技术重点实验室/国家兽用生物制品工程技术研究中心, 江苏南京 210014;

2. 南京农业大学动物医学院, 江苏南京 210095)

摘要:新型鹅星状病毒(goose astrovirus, GoAstV)感染引起的鹅痛风病,是近年严重危害我国养鹅业的传染病之一,给我国养鹅产业造成严重经济损失,快速准确诊断有助于更好地防控该病。为了建立一种鉴定新型 GoAstV 的一步法 RT-PCR 方法,根据新型 GoAstV *ORF2* 基因序列设计特异性引物,构建质粒标准品,并对引物用量和退火温度等反应体系和条件进行了优化。结果表明,该方法能特异性扩增新型 GoAstV 512 bp 基因片段,其他鹅常见病毒性病原扩增结果均为阴性,具有较高的特异性。敏感性试验结果提示,最小检测限量达 4.54×10^2 拷贝/ μL 。此外,该方法重复性良好,应用所建立的方法对新型 GoAstV 临床样品进行检测,102 份鹅泄殖腔拭子的阳性率为 46.08%,24 份痛风症状患病鹅内脏样本阳性率为 91.70%。本研究建立的新型 GoAstV 一步法 RT-PCR 检测方法具有良好的特异性、敏感性和重复性,且操作简便、经济、快速,可用于新型 GoAstV 的临床鉴别诊断和流行病学调查。

关键词:新型鹅星状病毒;一步法 RT-PCR;鉴别诊断;鹅痛风病;敏感性试验;临床样品检测

中图分类号:S855.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)02-0142-05

2016 年以来,我国东部主要养鹅地区暴发一种以内脏痛风为主要特征的急性传染病,给养鹅产业造成巨大经济损失^[1-2]。该病主要影响 21 日龄以内雏鹅,患病雏鹅表现为精神沉郁、食欲减退、腹泻、四肢瘫痪,剖检可见心脏、肝脏、肾脏等内脏器官表面、胸腹膜及关节腔内存在大量白色尿酸盐沉积,死亡率为 20%~50%。通过病原分离和动物回归试验,确定该病是由一种新型鹅星状病毒(goose astrovirus, GoAstV)感染引起。基因序列分析结果表明,近年引起鹅痛风的鹅星状病毒毒株(GD、AHQJ18、SDPY、JSHA 和 SD01)与以往从鸡、火鸡、

鸭和鹅等家禽体内分离的禽星状病毒的基因组同源性为 49.5%~67.7%,编码衣壳蛋白的 *ORF2* 基因核苷酸序列同源性仅为 41.0%~59.0%,遗传距离较远,形成独立的进化分支^[3-7]。

目前,尚无有效疫苗和药物预防或治疗新型 GoAstV 引起的鹅痛风病症。因此,早发现和准确诊断是预防该病流行和传播的重要手段。另外,含高蛋白的饲料引起的蛋白质代谢障碍、药物中毒引起的肾脏损伤也会导致血液中尿酸水平升高,引起鹅的痛风,需要注意与新型 GoAstV 感染引起的痛风鉴别诊断。经典的病毒分离及血清学诊断方法虽准确可靠,但存在费时、费力及对实验室条件和生物安全性要求高等缺点,无法满足临床诊断的需要。目前,已有文献报道检测新型 GoAstV 的荧光定量 RT-PCR(qRT-PCR)方法^[8-9]。尽管 RT-PCR 方法的灵敏度不如 qRT-PCR,但 RT-PCR 方法扩增的片段较长,经测序后可用于基因型的确定和遗

收稿日期:2021-05-06

基金项目:横向课题“雏鹅痛风病因确定和防控方法初探”。

作者简介:肖亦辰(1998—),女,陕西西安人,硕士研究生,主要从事家禽疫病防控研究。E-mail:1457747114@qq.com。

通信作者:黄欣梅,博士,副研究员,主要从事家禽疫病防控研究。

E-mail:hxmrene@126.com。

Glo1 function in the aorta of diabetic rats and in HUVECs[J].

Oxidative Medicine and Cellular Longevity,2019(4):1-14.

[16] Yang X H, Fu J J, Wan H F, et al. Protective roles and mechanisms of taurine on myocardial hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis[J]. Acta Cardiol Sin, 2019, 35(4):415-424.

[17] Bian Y Q, Wang H, Sun S. Taurine alleviates endoplasmic reticulum stress in the chondrocytes from patients with osteoarthritis[J].

Redox Rep, 2018, 23(1):118-124.

[18] 李侗宇, 闫素梅, 史彬林, 等. 壳聚糖对泌乳中期奶牛花生四烯酸免疫调节途径的影响[J]. 动物营养学报, 2019, 31(9): 4218-4225.

[19] 李树森, 杨晓燕, 李莹, 等. 体外棕榈酸诱导自噬调节奶牛肾细胞炎症通路[J]. 中国农业大学学报, 2021, 26(1):43-50.