

ID - LC - MS/MS 评估糖尿病大鼠 DNA 和 RNA 氧化损伤

王晚霞 罗顺斌 夏梦明 胡国新 蔡剑平

摘要 **目的** 评估高血糖对 DNA 和 RNA 氧化损伤的影响。**方法** 以链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠为模型,运用放射性核素稀释高效液相-串联质谱(ID-LC-MS/MS)法检测大鼠肾性、心性、肝性、肺、脑、睾丸、附睾、血浆和尿中的核酸氧化标志物 8-氧化脱氧鸟苷(8-oxo-dGsn)和 8-氧化鸟苷(8-oxo-Gsn)的含量,并进行比较分析。**结果** 虽然不同脏器 DNA 中 8-oxo-dGsn/ 10^6 dGsn 和 RNA 中 8-oxo-Gsn/ 10^6 Gsn 的基础水平不一致,但是模型组 SD 大鼠不同脏器中 8-oxo-Gsn/ 10^6 Gsn 和 8-oxo-dGsn/ 10^6 dGsn 的水平均高于对照组,6 月组糖尿病大鼠肾脏、肺脏和睾丸中 8-oxo-dGsn/ 10^6 dGsn 的水平高于对照组相应脏器的水平($P < 0.05$);3 月组糖尿病大鼠肾脏、心脏和睾丸中 8-oxo-Gsn/ 10^6 Gsn 的水平高于对照组相应脏器的水平($P < 0.05$);除了脑和肺脏,6 月组糖尿病大鼠各脏器中 8-oxo-Gsn/ 10^6 Gsn 的水平均高于其对照组($P < 0.05$);糖尿病大鼠血浆 8-oxo-dGsn 和 8-oxo-Gsn 浓度明显高于其同龄对照大鼠,且随着高糖血症的持续而增加。尿液检测结果的趋势与血浆中的检测结果一致,RNA 氧化代谢产物 8-oxo-Gsn 均高于 DNA 的氧化代谢产物 8-oxo-dGsn。**结论** 高血糖引起的氧化应激增强可以造成多器官 DNA 和 RNA 氧化损伤增加,DNA 和 RNA 氧化损伤随着高糖血症的持续而增加;RNA 氧化损伤水平高于 DNA 氧化损伤,其标志物尿液 8-oxo-Gsn 可以作为评估糖尿病氧化应激状态的良好指标。

关键词 8-氧化鸟苷 8-氧化脱氧鸟苷 RNA 氧化 糖尿病 氧化应激

中图分类号 R318 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.12.006

Evaluation of DNA and RNA Oxidation in Hyperglycemic SD Rats Using ID - LC - MS/MS Wang Wanxia, Luo Shunbin, Xia Mengming, et al. Laboratory Center, Gansu Provincial People's Hospital, Gansu 730000, China

Abstract **Objective** To evaluate DNA and RNA oxidation in diabetes mellitus. **Methods** We used a sensitive and accurate method based on isotope dilution high-performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (ID-LC-MS/MS) to determine the levels of 8-oxo-7,8-dihydro-2-deoxyguanosine (8-oxo-dGsn) and 8-oxo-7,8-dihydroguanosin (8-oxo-Gsn) in various tissue specimens, plasma and urine of hyperglycemic SD rats induced by streptozotocin (STZ). **Results** The oxidative DNA and RNA damage were observed in various organs and the amounts of 8-oxo-dGsn and 8-oxo-Gsn derived from DNA and RNA were increased with hyperglycemic status. The levels of 8-oxo-Gsn in urine and plasma were significantly higher compared to that of 8-oxo-dGsn, which most likely reflected the RNA damage that occurs more frequently compared to DNA damage. **Conclusion** For the oxidative stress induced by hyperglycemia, 8-oxo-Gsn in urine may be a sensitive biomarker based on the results in urine, plasma and tissues.

Key words 8-oxo-7,8-dihydroguanosine; 8-oxo-7,8-dihydro-2-deoxyguanosine; RNA oxidation; Diabetes mellitus; Oxidative stress

氧化应激是影响糖尿病发展的主要因素^[1]。活性氧、自由基引起的核酸氧化损伤是氧化应激增强所致损伤的重要一环,ROS 增多可引起 DNA 或 RNA 中

碱基修饰,产生氧化修饰的核苷,DNA 或 RNA 中鸟嘌呤核苷常在自由基的作用下形成 8-氧化脱氧鸟苷(8-oxo-7,8-dihydro-2-deoxyguanosine,8-oxo-dGsn)或 8-氧化鸟苷(8-oxo-7,8-dihydroguanosin,8-oxo-Gsn),进而导致错配和异常蛋白质的产生。最近研究发现尿 8-oxo-Gsn 可以作为糖尿病患者的病死率独立预测指标,表明 RNA 氧化损伤可能与糖尿病及糖尿病并发症的联系密切^[2-4]。为了进一步评估高糖引起的氧化应激增强对核酸氧化的影响,探索其在糖尿病及其并发症发

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81171028,81571058)

作者单位:730000 兰州,甘肃省人民医院检验中心(王晚霞);100730 北京,国家卫生和计划生育委员会北京老年医学研究所(王晚霞、罗顺斌、夏梦明、蔡剑平);323000 丽水市人民医院临床药学院(罗顺斌);315000 宁波市医疗中心李惠利东部医院(夏梦明);325035 温州医科大学药学院(胡国新)

通讯作者:蔡剑平,电子信箱:caijp61@vip.sina.com

生、发展中的作用,本研究以链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病大鼠为模型,运用放射性核素稀释高效液相-串联质谱(ID-LC-MS/MS)法,评估糖尿病模型鼠各脏器及全身核酸氧化的情况并进行比对。

材料与方法

1. 材料:(1)实验动物:Sprague-Dawley大鼠(SD大鼠)购自中国科学院上海实验动物中心。(2)主要试剂:链脲佐菌素(STZ)、8-氧化脱氧鸟苷(8-oxo-dGsn,纯度>98%)、脱氧鸟苷(dGsn,纯度>98%)、甲磺酸去铁铵(DFOM)、甲醇(HPLC级)均购自美国Sigma-Aldrich公司;放射性核素内标8-oxo-[$^{15}\text{N}_5$]dGsn、[$^{15}\text{N}_5$]dGsn、8-oxo-[$^{15}\text{N}_2^{13}\text{C}_1$]Gsn和[$^{15}\text{N}_5$]Gsn均购自美国Cambridge Isotope Laboratories公司;醋酸铵(HPLC级)购自美国Fisher Scientific公司;DNase-free RNase A购自日本TaKaRa公司;蛋白酶K购自美国Ameresco公司;核酸酶P1购自日本WAKO公司;碱性磷酸酶购自美国NEB公司。(3)主要仪器:岛津UFLCxr高效液相系统联用API 5000三重四级杆质谱仪(美国应用生物系统中国公司);Milli-Q Plus超纯水装置(美国Millipore公司);120S型精密电子分析天平(德国赛多利斯公司);核酸蛋白测定仪(德国Eppendorf公司);U-3900H型全波长分光光度计(日本HITA-CHI公司);Thermomixer compact金属浴(德国Eppendorf公司)。

2. 方法:(1)SD大鼠糖尿病模型的制备:选取2月龄SD大鼠,体重约249~281g,空腹血糖<8.0mmol/L,将大鼠置SPF级动物房中,12h昼夜交替,可自由饮水及进食。将SD大鼠分为4组,即3月对照组(3CR, $n=8$)、3月糖尿病组(3DR, $n=13$)、6月对照组(6CR, $n=8$)、6月糖尿病组(6DR, $n=13$)。分组后接受单次腹腔注射,糖尿病模型组注射链脲佐菌素(STZ, 70mg/kg),对照组均注射生理盐水。注射后每周称量1次体重,同时尾静脉采血,便携式血糖仪测定空腹血糖。空腹血糖>16.7mmol/L即造模成功,剔除血糖未达标的大鼠。根据实验设计的时间点采集尿液后,处死大鼠并采集血液,心脏灌注后冰上快速分离肾脏、心脏、肝脏、肺、脑、睾丸及附睾,-80℃冻存。(2)ID-LC-MS/MS检测8-oxo-dGsn和8-oxo-Gsn的含量:1)各脏器DNA和RNA的提取及水解:基因组DNA抽提方法根据欧洲DNA氧化损伤标准委员会(ESCODD)推荐方法,稍做修改,TRizol法抽提RNA^[5]。取20μg DNA或RNA,用ddH₂O(含1mmol/L DFOM)定容至80μl,

95℃金属浴变性3min,插入冰中急速冷却后,加入10μl核酸酶P1(1U/μl),37℃水浴2h,取出EP管,加入10μl碱性磷酸酶(1U/μl),适度混匀,37℃水浴孵育1h,10000×g、4℃离心5min,取90μl上清于内插管中,分别加入相应的内标各5μl,吹打混匀。直接进行质谱检测或者-80℃保存。2)血浆样品处理:取冻存的血浆置37℃水浴5min,使其充分融化。取200μl血浆于1.5ml EP管中,加入5μl [$^{15}\text{N}_5$]8-oxo-dGsn(20pg/μl),涡旋混匀后加入3倍体积乙腈(约600μl),剧烈震荡涡旋混匀,4℃、4000r/min离心5min,取上清置于另一个1.5ml EP管中,氮吹仪吹干,加入100μl ddH₂O,涡旋混匀,4℃、10000×g离心5min,取上清约90μl于内插管中,直接进行质谱检测或者-80℃保存。3)尿液样品处理:将冻存的尿液置37℃水浴5min,使其完全解冻,4℃、7500×g离心5min。于200μl尿液上清加入200μl工作液A[含有70%甲醇和30%10mmol/L醋酸铵(pH=3.7)的溶液],加入480pg/μl的8-oxo-dGsn-IS 10μl,涡旋混匀2min;置于37℃生化培养箱10min后,4℃12000×g 15min离心,取100μl上清液直接检测或-80℃冻存待测,检测时进样量为5μl。4)ID-LC-MS/MS检测:①液相色谱条件:色谱柱采用Waters Atlantis dCl8(2.1×150mm,5I.Lm);流动相A为含有0.1%甲酸和10mmol/L醋酸铵的蒸馏水,B为质谱级别的甲醇。梯度洗脱如下:0~1min,A:B=50%:50%;1~2min,B相从50%~5%;2~13min,A:B=95:5;流速:0.2ml/min;柱温:30℃;②质谱条件:电喷雾(ESI)离子源正离子模式,多反应检测扫描(MRM);辅助气压力1(GSI):60.0kPa;辅助气压力2(GSII):60.0kPa;气帘气压(CUR):25.0kPa;碰撞气(CAD):Medium;电喷雾电压(IS):5500V;离子源温度(TEM):500℃;驻留时间为100ms;监测8-oxo-dGsn、dGsn、8-oxo-Gsn、Gsn及其放射性核素内标离子对以获取其峰面积,以样品中8-oxodGsn或8-oxo-Gsn与其相应放射性核素内标峰面积比值,代入标准曲线回归方程,计算样品中8-oxodGsn或8-oxo-Gsn的含量。(3)尿液肌酐的检测:将冻存的尿液置37℃水浴5min使其完全解冻,12000×g离心5min,取上清50μl,加入30%甲醇200μl,12000×g离心5min后,取上清100μl进行液相检测,流动相A为20mmol/L NH₄AC,流动相B为质谱级别的甲醇。色谱柱为SunFrie Column 4.6×250mm,进样体积为10μl,运行时间10min,UV检测器波长为233nm。将

尿肌酐含量的检测结果用于计算尿 8-oxo-dGsn/Cre ($\mu\text{mol/mol}$) 和 8-oxo-Gsn/Cre ($\mu\text{mol/mol}$), 作为尿液中核酸氧化代谢产物的含量。

3. 统计学方法: 实验数据用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 的形式来表示计量资料, 应用 SPSS 19.0 统计学软件进行方差分析和 t 检验, 判定组间或两组均数的差异, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 动物模型的一般生理和生化特征: 糖尿病模型鼠的空腹血糖显著高于其对照组, 表现为多饮、多尿、多食、体重降低。具体数据见表 1。

2. 糖尿病大鼠各脏器 DNA 中 8-oxo-dGsn 的含量: 不同脏器 8-oxo-dGsn/ 10^6 dGsn 的基础水平不一致, 有器官特异性分布, SD 大鼠附睾中 8-oxo-dGsn/ 10^6 dGsn 水平最高; 模型组 SD 大鼠不同脏器中

8-oxo-dGsn/ 10^6 dGsn 的水平略高于对照组。仅 6 月糖尿病大鼠肾脏、肺脏和睾丸中 8-oxo-dGsn/ 10^6 dGsn 的水平与其对照组比较差异有统计学意义。尽管 6 月组糖尿病大鼠各脏器中 8-oxo-dGsn/ 10^6 dGsn 的水平大部分高于其在 3 月组糖尿病大鼠相应脏器的 8-oxo-dGsn/ 10^6 dGsn 水平, 但差异无统计学意义 (图 1)。

表 1 大鼠的血糖和体重 ($\bar{x} \pm s$)

组别	数量	腹腔注射	血糖 (mmol/L)	体重 (g)
3 月对照组	4	生理盐水	5.89 $\pm$ 0.42	599.25 $\pm$ 26.00
3 月糖尿病组	10	链脲佐菌素	25.06 $\pm$ 1.82 *	222.13 $\pm$ 16.70 *
6 月对照组	4	生理盐水	5.73 $\pm$ 0.50	752.5 $\pm$ 53.15
6 月糖尿病组	10	链脲佐菌素	25.58 $\pm$ 2.33 *	247.80 $\pm$ 11.73 *

糖尿病组和其同龄对照组比较, * $P < 0.01$

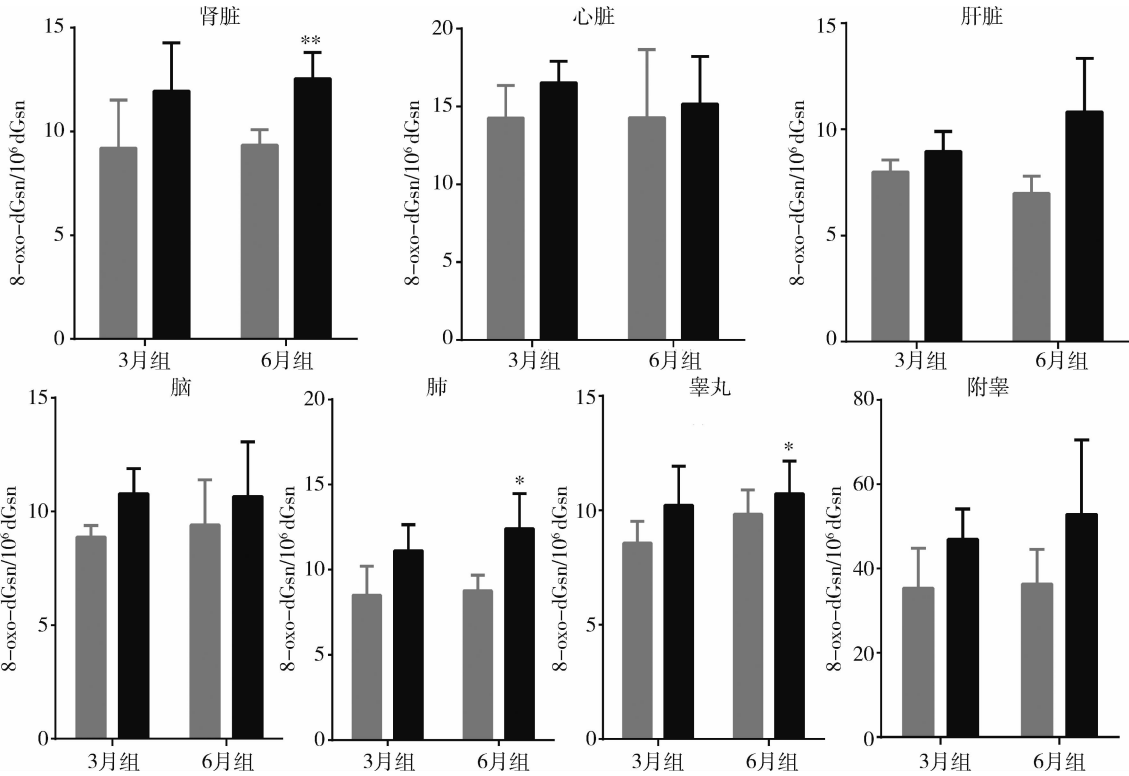


图 1 SD 大鼠各脏器 DNA 中 8-oxo-dGsn 的含量

糖尿病及其对照组大鼠不同脏器中 DNA 氧化 (8-oxo-dGsn/ 10^6 dGsn) 定量测定结果, 数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 糖尿病组和其同龄对照组比较; ■, 糖尿病组; 3 月组. 链脲佐菌素诱导后 3 月组及其同龄对照; 6 月组. 链脲佐菌素诱导后 6 月组及其同龄对照

3. 糖尿病大鼠各脏器 RNA 中 8-oxo-Gsn 的含量: 不同脏器 8-oxo-Gsn/ 10^6 Gsn 的基础水平不一致, 同样存在器官特异性分布, SD 大鼠睾丸中 8-oxo-Gsn/ 10^6 Gsn 水平最高; 糖尿病 SD 大鼠不同脏器中 8-oxo-Gsn/ 10^6 Gsn 的水平高于对照组, 3 月组

糖尿病大鼠肾脏、心脏和睾丸中 8-oxo-Gsn/ 10^6 Gsn 的水平高于其对照组相应脏器的水平, 且差异有统计学意义; 除了脑和肺脏, 6 月组糖尿病大鼠各脏器中 8-oxo-Gsn/ 10^6 Gsn 的水平均高于其对照组, 差异有统计学意义; 6 月组糖尿病大鼠各脏器中 8-oxo-Gsn/ 10^6 Gsn 的水平高于其对照组, 3 月组

Gsn/ 10^6 Gsn 的水平也高于其在 3 月模型组相应脏器 (图 2)。

8-oxo-Gsn/ 10^6 Gsn 的含量,但差异无统计学意义

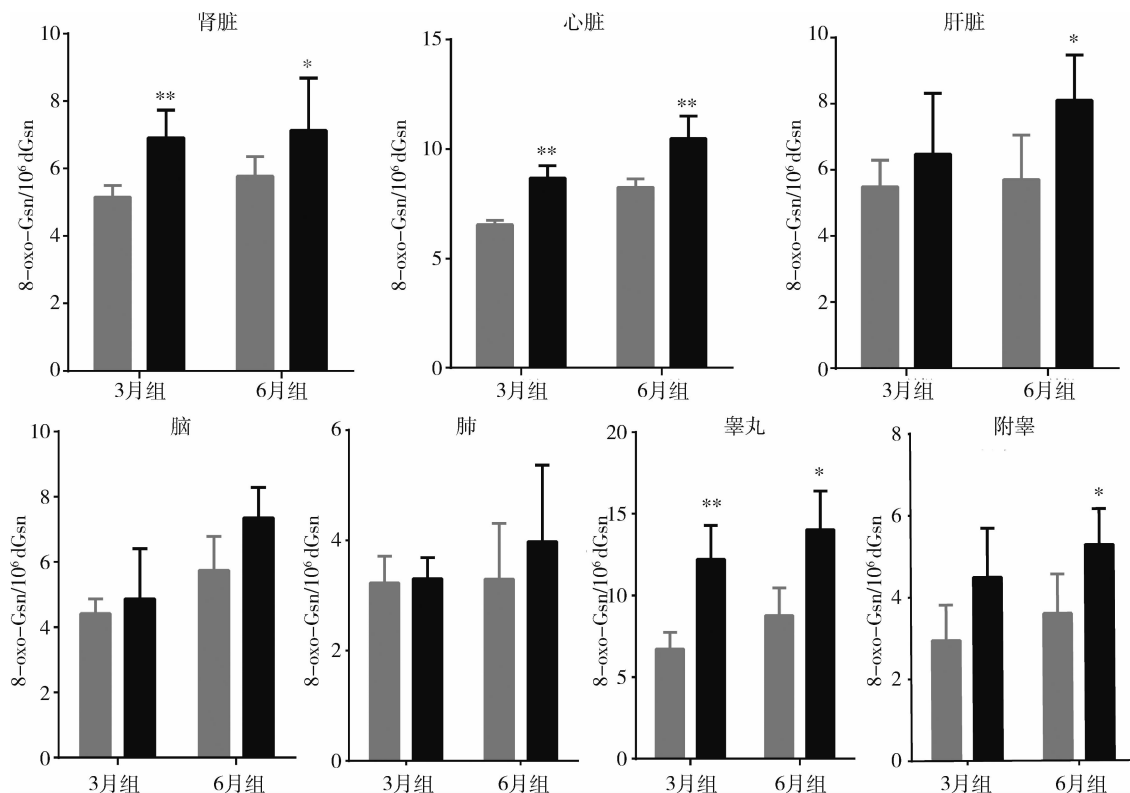


图2 SD大鼠各脏器RNA中8-oxo-Gsn的含量

糖尿病及其对照组大鼠不同脏器中RNA氧化(8-oxo-Gsn/ 10^6 Gsn)定量测定结果,数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示;* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$,糖尿病组和其同龄对照组比较;■. 糖尿病组;3月组. 链脲佐菌素诱导后3月组及其同龄对照;6月组. 链脲佐菌素诱导后6月组及其同龄对照组

4. 血浆中8-oxo-dGsn和8-oxo-Gsn的含量:3月组和6月组糖尿病大鼠血浆8-oxo-dGsn和8-oxoGsn浓度明显高于其对照大鼠(图3)。血

浆中两种氧化鸟嘌呤随着高血糖的持续而增加,血浆8-oxoGsn浓度是8-oxo-dGsn水平的4~6倍不等。

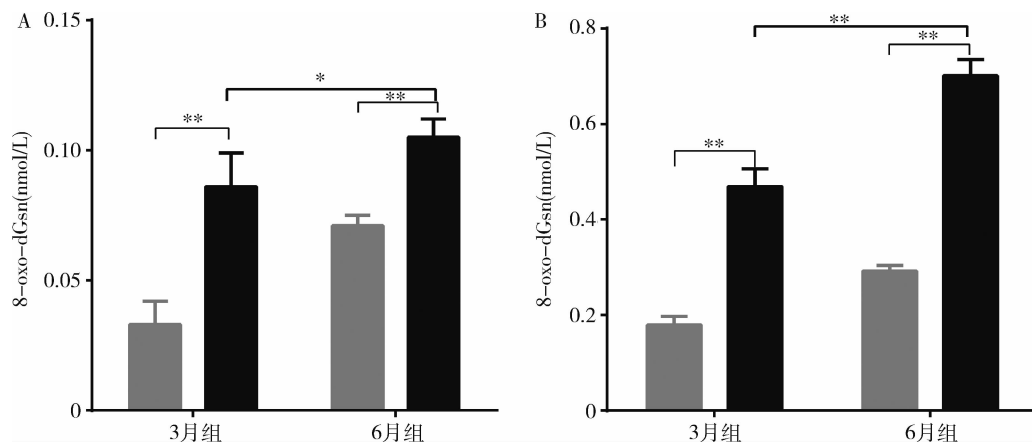
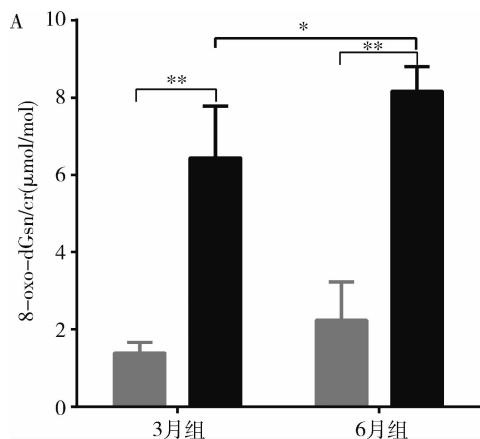


图3 SD大鼠血浆8-oxo-dGsn和8-oxoGsn的含量

A. 8-oxo-dGsn; B. 8-oxo-Gsn; 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示;* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;■. 对照组;■. 糖尿病组;3月组. 链脲佐菌素诱导后3月组及其同龄对照;6月组. 链脲佐菌素诱导后6月组及其同龄对照组

5. 尿液中 8-oxo-dGsn 和 8-oxo-Gsn 的含量:尿液检测结果的趋势与血浆中的检测结果一致,模型组两种氧化鸟苷水平都高于其相应对照组,尿液



中两种氧化鸟苷水平的增加也随高血糖的持续而增加, RNA 氧化产物 8-oxo-Gsn 高于 DNA 的氧化产物 8-oxo-dGsn(图 4)。

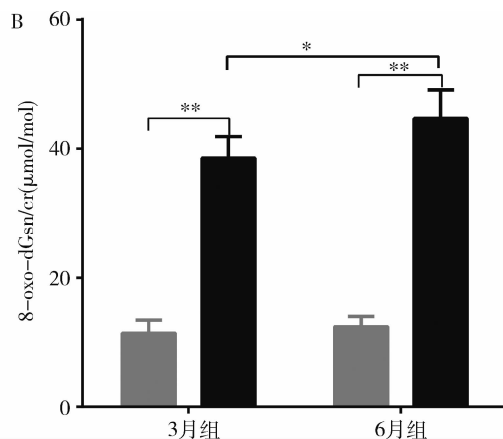


图 4 SD 大鼠尿液中 8-oxo-dGsn 和 8-oxoGsn 的含量

A. 8-oxo-dGsn; B. 8-oxo-Gsn, 数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; ■ 对照组; ■ 糖尿病组; 3 月组. 链脲佐菌素诱导后 3 月组及其同龄对照; 6 月组. 链脲佐菌素诱导后 6 月组及其同龄对照

讨 论

氧化应激增强是糖尿病并发症发生的共同机制^[6-8]。活性氧、自由基引起的核酸氧化损伤是氧化应激增强所致损伤的重要一环, DNA 氧化损伤使生物体内基因变异积累并可能引发基因组的不稳定性, 是肿瘤、神经退行性疾病和糖尿病等多种年龄相关性疾病的发病风险因素之一^[9-12]。RNA 氧化最近也被认为是见于神经退行性疾病和糖尿病早期的新致病机制^[13,14]。为了明确高糖时氧化应激增强对机体核酸氧化损伤的影响, 本研究运用实验室建立的 ID-LC-MS/MS 方法, 检测了不同月龄链脲佐菌素 (STZ) 诱导的糖尿病大鼠器官、血浆和尿中的核酸氧化标志物的含量^[5]。研究发现, 在高血糖状态下, 不同样本中 8-oxo-dGsn 和 8-oxo-Gsn 的含量均有升高, 这与前期文献报道结果趋势一致^[4, 6, 9, 15]。

本研究发现, 虽然在高血糖状态下被测脏器组织中 8-oxo-dGsn 和 8-oxo-Gsn 均有轻度增高, 但是不同脏器 DNA 和 RNA 氧化损伤的增高幅度均不同, 糖尿病大鼠 DNA 氧化损伤显著增加仅见于少数器官且出现较晚, 而 RNA 氧化损伤增加涉及器官较多且出现较早。由此可以看出, 核酸氧化损伤是高糖时较为普遍的现象, 相对于 DNA 氧化损伤来说, RNA 氧化损伤在器官组织中出现更早且影响更为广泛。然而, 由于组织中测得的 8-oxo-dGsn 和 8-oxo-Gsn 含量受该脏器采集时产生和清除速率的影响, 仅组织 DNA 和 RNA 中 8-oxo-dGsn 和 8-oxo-Gsn

含量升高很难得出高糖所致核酸氧化损伤增高的结论^[12]。

测定血浆和尿中 8-oxo-dGsn 或 8-oxo-Gsn 的含量可以评估氧化应激造成核酸氧化损伤的整体水平^[12,16]。糖尿病大鼠血浆和尿中 8-oxo-dGsn 或 8-oxo-Gsn 的水平均高于其对照组, 6 月组糖尿病大鼠尿和血浆中 8-oxo-dGsn 和 8-oxo-Gsn 的水平高于 3 月组, 表明高血糖状态下 DNA 和 RNA 氧化持续增加。尿中和血浆核酸氧化标志物的波动趋势一致, 鉴于检测尿液中 8-oxodGsn 和 8-oxo-Gsn 评估核酸氧化损伤更加便利^[16]。研究也证实测定尿中 8-oxo-dGsn 或 8-oxo-Gsn 含量有利于疾病的预先评估^[3,17]。尿中 8-oxo-dGsn 或 8-oxo-Gsn 可以作为高糖所致 DNA 或 RNA 氧化损伤的良好指标。

实际上已有大量研究探索了 DNA 氧化和糖尿病及其并发症的关系, 而最近才发现 RNA 氧化损伤与 2 型糖尿病有关^[2-4]。目前糖尿病及其并发症状态下 RNA 氧化损伤的研究极少, 本研究发现, 3 月组糖尿病大鼠 RNA 氧化损伤增加涉及脏器已经远多于 DNA 氧化损伤, 血浆和尿中 8-oxo-Gsn 的含量显著高于 8-oxo-dGsn, 这些结果不仅证实高糖状态下 RNA 更易受到氧自由基的攻击, 同样也支持 RNA 氧化损伤可能是糖尿病危险因素的假设^[3,4,6]。此外, 本研究已经证实 RNA 氧化损伤增加见于 3 月组糖尿病大鼠肾脏、心脏、睾丸, 6 月组糖尿病大鼠肾脏、心

脏、肝脏、睾丸及附睾,这为继续探寻 RNA 氧化损伤与特定糖尿病并发症之间的联系,找寻 RNA 氧化损伤与糖尿病的病死率关联的确切原因提供了良好的基础。

综上所述,本研究发现高糖引起的氧化应激增强可以造成多器官核酸氧化损伤增加,高糖引起的氧化应激增强所致核酸氧化损伤程度随着脏器的不同而不同,证实不同脏器对核酸氧化损伤的易感性不同。DNA 和 RNA 氧化损伤随着高糖血症的持续而增加,这一现象在不同器官、血浆和尿液中表现一致,在高糖引起的氧化应激增强所致多器官核酸氧化损伤中, RNA 氧化损伤更为广泛,尿液 8-oxo-Gsn 可以作为糖尿病氧化应激状态的良好指标。

参考文献

- 1 Ashcroft FM, Rorsman P. Diabetes mellitus and the beta cell: the last ten years[J]. *Cell*, 2012, 148(6):1160-1171
- 2 Broedbaek K, Siersma V, Henriksen T, *et al.* Urinary markers of nucleic acid oxidation and long-term mortality of newly diagnosed type 2 diabetic patients[J]. *Diabetes Care*, 2011, 34(12):2594-2596
- 3 Broedbaek K, Siersma V, Henriksen T, *et al.* Association between urinary markers of nucleic acid oxidation and mortality in type 2 diabetes: a population-based cohort study [J]. *Diabetes Care*, 2013, 36(3):669-676
- 4 Broedbaek K, Siersma V, Henriksen T, *et al.* Urinary markers of nucleic acid oxidation and cancer in type 2 diabetes[J]. *Redox Biol*, 2015, 4:34-39
- 5 Gan W, Nie B, Shi F, *et al.* Age-dependent increases in the oxidative damage of DNA, RNA, and their metabolites in normal and senescence-accelerated mice analyzed by LC-MS/MS: urinary 8-oxoguanosine as a novel biomarker of aging[J]. *Free Rad Biol Med*, 2012, 52(9):1700-1707
- 6 Liu X, Gan W, Zou Y, *et al.* Elevated levels of urinary markers of oxidative DNA and RNA damage in type 2 diabetes with complications [J]. *Oxidat Medi Cellular Longevity*, 2016, 2016:4323198
- 7 Kahn SE, Cooper ME, Del Prato S. Pathophysiology and treatment of

- type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future[J]. *Lancet*, 2014, 383(9922):1068-1083
- 8 Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, *et al.* Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage[J]. *Nature*, 2000, 404(6779):787-790
- 9 Waris S, Winklhofer-Roob BM, Roob JM, *et al.* Increased DNA dicarbonyl glycation and oxidation markers in patients with type 2 diabetes and link to diabetic nephropathy [J]. *J Diabetes Res*, 2015, 2015:915486
- 10 Pesch B, Lotz A, Koch HM, *et al.* Oxidatively damaged guanosine in white blood cells and in urine of welders: associations with exposure to welding fumes and body iron stores [J]. *Arch Toxicol*, 2014, 89(8):1257-1269
- 11 Munkholm K, Poulsen HE, Kessing LV, *et al.* Elevated levels of urinary markers of oxidatively generated DNA and RNA damage in bipolar disorder[J]. *Bipolar Disord*, 2015, 17(3):257-268
- 12 Poulsen HE, Nadal LL, Broedbaek K, *et al.* Detection and interpretation of 8-oxodG and 8-oxoGua in urine, plasma and cerebrospinal fluid [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840(2):801-808
- 13 Poulsen HE, Specht E, Broedbaek K, *et al.* RNA modifications by oxidation: a novel disease mechanism? [J]. *Free Rad Biol Med*, 2012, 52(8):1353-1361
- 14 Kong Q, Lin CL. Oxidative damage to RNA: mechanisms, consequences, and diseases[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2010, 67(11):1817-1829
- 15 Xavier DJ, Takahashi P, Evangelista AF, *et al.* Assessment of DNA damage and mRNA/miRNA transcriptional expression profiles in hyperglycemic versus non-hyperglycemic patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Mutation Res*, 2015, 776:98-110
- 16 Rossner P Jr., Orhan H, Koppen G, *et al.* Urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine analysis by an improved ELISA: An inter-laboratory comparison study[J]. *Free Rad Biol Med*, 2016, 95:169-179
- 17 Nishikawa T, Sasahara T, Kiritoshi S, *et al.* Evaluation of urinary 8-hydroxydeoxy-guanosine as a novel biomarker of macrovascular complications in type 2 diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2003, 26(5):1507-1512

(收稿日期:2017-04-09)

(修回日期:2017-04-24)

(接第 40 页)

- 9 González GE, Rhaleb NE, Nakagawa P, *et al.* N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline reduces cardiac collagen cross-linking and inflammation in angiotensin II-induced hypertensive rats [J]. *Clin Sci*, 2014, 126(1):85-94
- 10 González-Santamaría J, Villalba M, *et al.* Matrix cross-linking lysyl oxidases are induced in response to myocardial infarction and promote cardiac dysfunction [J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 109(1):67-78
- 11 Zhu TT, Zhang WF, Luo P, *et al.* LOX-1 promotes right ventricular hypertrophy in hypoxia-exposed rats [J]. *Life Sci*, 2017, 174:35-42
- 12 Ji F, Wang, Qiu L, *et al.* Hypoxia inducible factor 1α-mediated LOX expression correlates with migration and invasion in epithelial o-

varian cancer [J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(5):1578-1588

- 13 Gong K, Xing D, Li P, *et al.* Hypoxia induces downregulation of PPAR-γ in isolated pulmonary arterial smooth muscle cells and in rat lung via transforming growth factor-β signaling [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2011, 301:899-907
- 14 Rodríguez C, Martínez-González J, Raposo B, *et al.* Regulation of lysyl oxidase in vascular cells: lysyl oxidase as a new player in cardiovascular diseases [J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 79:7-13
- 15 Gong K, Xing D, Li P, *et al.* Hypoxia induces downregulation of PPAR-γ in isolated pulmonary arterial smooth muscle cells and in rat lung via transforming growth factor-β signaling [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2011, 301(6):899-907

(收稿日期:2017-04-09)

(修回日期:2017-04-09)