

# 三七总皂苷对顺铂肾损害大鼠的保护作用

丘岳, 杨玉芳\*, 黄振光, 周金玲, 梁雪艳, 黄莉, 蔡正文  
(广西医科大学第一附属医院, 南宁 530021)

**[摘要]** **目的:**应用血清代谢组学方法探讨三七总皂苷(PNS)对早期的顺铂肾损害大鼠的保护作用。**方法:**顺铂组大鼠单剂量腹腔注射顺铂,PNS干预组大鼠注射顺铂后再腹腔注射PNS,每天1次。24 h后,评价大鼠肾功能,苏木精-伊红染色(HE)观察肾脏组织病理学的改变,并使用核磁共振代谢组学技术进行血清代谢组学的检查。**结果:**PNS可降低血清肌酐(SCr),血尿素氮(BUN)的浓度和改善肾组织病理损伤。另外,血清标本的主成分分析(PCA),偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)和正交偏最小二乘法判别(OPLS-DA)分析显示,顺铂模型组,PNS干预组均与正常组有显著的区别,而顺铂模型组与PNS干预组之间有部分重叠。与正常组比较,顺铂模型组和PNS干预组的丙酮,n-乙酰糖蛋白信号,丙酮酸,脂质和极低密度脂蛋白(VLDL)表达降低,而葡萄糖、缬氨酸和酪氨酸的表达升高。而且,顺铂模型组的乳酸表达较PNS干预组高。另外,正常组和PNS干预组大鼠苯丙氨酸的表达较顺铂模型组高,而酪氨酸的表达较顺铂模型组低。差异代谢物涉及的代谢通路主要有戊糖磷酸途径、糖酵解/糖异生途径、丙酮酸途径等与能量代谢相关的通路。**结论:**PNS对顺铂肾毒性有保护作用,其保护机制可能和逆转顺铂肾损害引起的代谢紊乱尤其是能量代谢障碍有关。

**[关键词]** 三七总皂苷; 顺铂; 肾毒性; 核磁共振; 代谢组学; 血清

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)21-0104-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016210104

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160906.0907.018.html>

**[网络出版时间]** 2016-09-06 9:07

## Protection Effect of Panax Notoginseng Saponins in Rats with Cisplatin-induced Nephrotoxicity

QIU Yue, YANG Yu-fang\*, HUANG Zhen-guang, ZHOU Jin-ling,  
LIANG Xue-yan, HUANG Li, CAI Zheng-wen

(The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the protective effects of panax notoginseng saponins (PNS) in rats with early stage of cisplatin-induced nephrotoxicity through serum metabonomic analysis. **Method:** The rats received intraperitoneal injection with a single dose of cisplatin, and a subset of rats were also intraperitoneally injected with PNS once a day. After 24 hours, the renal functions of the rats were evaluated; the pathological changes of renal tissues were observed by using hematoxylin-eosin staining (HE); and the serum metabolic profiles were analyzed by using nuclear magnetic resonance-based metabonomics technology. **Result:** PNS decreased the concentration of serum creatinine (SCr) and blood urea nitrogen (BUN), and improved the renal histopathological damages. Additionally, principal component analysis (PCA), partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) of the serum samples showed a clear difference for the normal control group from cisplatin-only group and the cisplatin-PNS group, and showed a part overlap between the cisplatin-only group and the cisplatin-PNS group. Moreover, acetone, n-acetyl glycoprotein signals, pyruvate, lipid and very low density lipoprotein (VLDL) expression levels were lower, while glucose,

**[收稿日期]** 20160118(013)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81260598, 81560729)

**[第一作者]** 丘岳, 硕士, 副主任医师, 从事临床药学工作, Tel: 0771-5356154, E-mail: 398455921@qq.com

**[通讯作者]** \* 杨玉芳, 博士, 主任药师, 从事药源性疾病的防治研究, Tel: 0771-5356379, E-mail: yyf\_69@163.com

valine and tyrosine expression levels were higher in the cisplatin-only group and the cisplatin-PNS group when compared with the normal control group. The expression level of lactate in the cisplatin-only group was higher than that in the cisplatin-PNS group. In addition, the expression level of phenylalanine in cisplatin-PNS group and normal control group was higher, while the expression level of tyrosine was lower than those in the cisplatin-only group. Metabolic pathways of different metabolites mainly included pentose-phosphate pathway, glycolysis / gluconeogenesis pathways, pyruvate pathways and other pathways related with energy metabolism. **Conclusion:** PNS had a protective effect on cisplatin-induced nephrotoxicity, and its protective mechanism may be associated with reversing the disturbed metabolism induced by cisplatin, especially the disturbed energy metabolism.

[ **Key words** ] panax notoginseng saponins; cisplatin; nephrotoxicity; nuclear magnetic resonance; metabonomic; serum

顺铂是临床上应用最广的化疗药物之一,但肾毒性是限制顺铂临床应用的主要不良反应之一。顺铂肾毒性的机制尚未完全阐明。之前的研究表明其机制可能涉及多个机制包括 DNA 损伤、氧化应激、炎症反应<sup>[1]</sup>和细胞凋亡等<sup>[2]</sup>。而且,目前尚缺乏对顺铂肾损害具有确切保护作用的药物。三七总皂苷(PNS)是由传统中草药三七提取,含有一系列活性成分,包括三七皂苷 R<sub>1</sub>,以及人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>, R<sub>b<sub>1</sub></sub>, R<sub>e</sub>等多种成分。因此,PNS 具有多种药理作用,比如抗氧化、抗凋亡<sup>[3]</sup>和抗增殖等。研究发现 PNS 能升高肾小管上皮细胞存活率<sup>[4]</sup>,降低顺铂肾损害大鼠血清肌酐(SCr),血尿素氮(BUN)水平,体现出保护肾脏的作用<sup>[5]</sup>。近期相关报道显示,PNS 可以改善免疫功能,抑制肿瘤生长,增强顺铂的抗肿瘤作用<sup>[6]</sup>。除此以外,本课题组前期研究发现 PNS 保护顺铂肾损害可能与其抗氧化损伤有关<sup>[7]</sup>。由上可知,顺铂引起的肾损害以及 PNS 对其保护作用均涉及多个环节、多个通路,有必要采用高通量技术进行系统地研究。

基于核磁共振(<sup>1</sup>H-NMR)的代谢组学技术是高通量技术之一,可用于疾病的诊断、预测疾病的进展、以及药物的治疗作用及其机制<sup>[8]</sup>等的研究。已经有不少成功例子利用<sup>1</sup>H-NMR 代谢组学方法研究疾病状态下尿液、血浆和其他生物标本的代谢改变<sup>[9-10]</sup>。而在顺铂肾损害方面,Portilla 等<sup>[11]</sup>研究发现,利用<sup>1</sup>H-NMR 代谢组学对顺铂暴露大鼠的尿液进行检测,结果表明,该方法可用于研究顺铂诱导的急性肾功能衰竭。Kwon 等<sup>[12]</sup>通过动物尿液的<sup>1</sup>H-NMR 谱预测顺铂致肾损害的特发性毒性,并发现标记代谢物可以解释特发性毒性的机制。但至今未见有关顺铂肾损害及 PNS 干预后大鼠血清的代谢组学研究报道。本实验采用<sup>1</sup>H-NMR 代谢组学技术对顺铂肾损害早期及 PNS 干预后大鼠血清的代谢物

进行研究,以系统地探讨顺铂肾损害以及 PNS 保护作用的分子机制,寻找潜在的保护药物。

## 1 材料

SD 雄性大鼠 45 只,体重(200 ± 20)g,由广西医科大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(桂)2009-0002。经广西医科大学动物伦理委员会批准(批准号 12061726)。

三七总皂苷粉针剂[广西梧州制药(集团)股份有限公司,批号 20110115],顺铂粉针剂(齐鲁制药有限公司,批号 0070152DB),肌酐(SCr),尿素氮(BUN),β-N-乙酰胺基葡萄糖苷酶(NAG)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 C011-1, C013-2, A031)。重水(D<sub>2</sub>O),氘代三氯甲烷(CDCl<sub>3</sub>),TSP(美国 Cambridge Isotope Laboratories 公司,批号分别为 DLM-4TPB-PK, DLM-66, DLM-48-PK)。

Varian Inova 600 MHz 核磁共振光谱仪(美国 Varian 公司),WG-1000-7 型核磁共振(NMR)管(*d* = 5 mm,美国 Wilmad-Labglass 公司)。

## 2 方法

**2.1 动物分组及给药** SD 大鼠自然昼夜条件下自由进食、饮水,经适应性饲养 1 周后随机分为 3 组,每组 15 只。正常组给予等量的生理盐水。顺铂组给予单剂量顺铂(5 mg·kg<sup>-1</sup>)。PNS 干预组先给予单剂量顺铂(5 mg·kg<sup>-1</sup>),再给予 PNS(31.35 mg·kg<sup>-1</sup>)。顺铂组和 PNS 干预组大鼠给予顺铂来诱导肾损害。顺铂,PNS 给药剂量参照由成人的临床常用剂量换算为大鼠的给药剂量和本课题组的前期研究结果<sup>[7,13]</sup>。所有药物均采用腹腔注射给药。给药 24 h 后,所有大鼠静脉注射戊巴比妥钠(30 mg·kg<sup>-1</sup>)进行麻醉,采自大鼠内眦静脉的全血 3 000 r·min<sup>-1</sup>,离心 15 min。在 -80 °C 备用。

**2.2 血清 BUN,SCr 和尿 NAG 浓度测定** 采用氧



于正常组。虽然顺铂模型组和 PNS 干预组的样本分布有部分重叠,但是仍能看到这两个组之间存在一定的区分,PNS 干预组的样本主要分布在二维图的纵坐标左侧。见图 3。

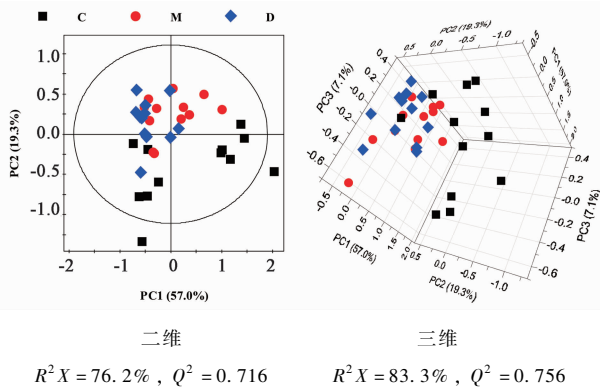


图 3 各组之间进行 PCA 分析后的得分

Fig. 3 Scores plots of PCA analysis from three groups

在 PLS-DA 模型验证图中(图 4,右), $R^2$ , $Q^2$  参数分别代表在随机化  $y$  变量模型下对数据的解释程度和对模型的预测能力,回归线的斜率越大,与纵轴的截距越小,提示数据解释度越好,模型的预测能力也好;图中左端任何一次随机排列所产生的  $R^2$ , $Q^2$  均小于右端的原始值,说明原始模型的预测能力大于任何一次随机排列  $y$  变量的预测能力,即模型有效。从图 4 可知,顺铂组与正常组之间( $R^2X =$

$17.3%$ ,  $R^2Y = 96.4%$ ,  $Q^2 = 0.514$ ),PNS 干预组与正常组之间( $R^2X = 20.3%$ ,  $R^2Y = 94.2%$ ,  $Q^2 = 0.549$ )均存在明显的差异,而且这两个组与正常对照组之间的差异具有良好的真实性和可预测性。顺铂模型组和 PNS 干预组之间的差异具有良好的真实性,但预测率稍低( $R^2X = 21.6%$ ,  $R^2Y = 90.3%$ ,  $Q^2 = 0.342$ )。

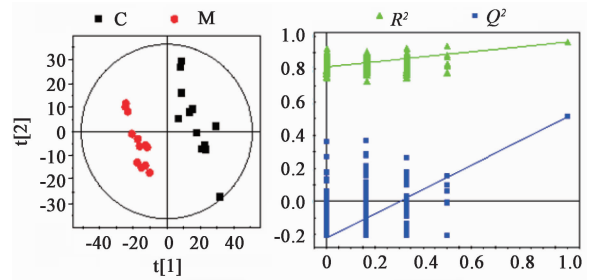
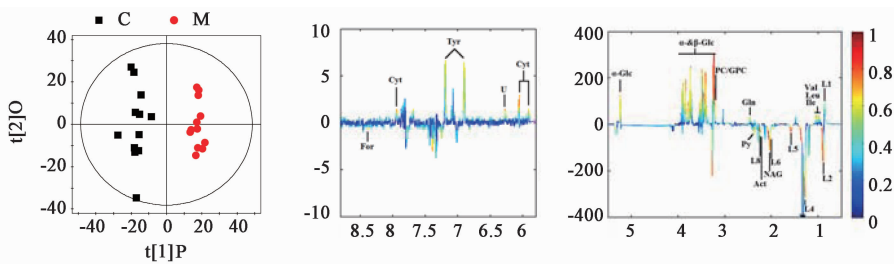


图 4 大鼠血清 PLS-DA 得分图(左)和验证图(右)

Fig. 4 PLS-DA scores plots and verification plots

从 OPLS-DA 模型分析(图 5)可见,正常组与顺铂模型组有显著差异( $R^2X = 17.3%$ ,  $Q^2 = 0.749$ ),可解释变量  $R^2$  和可预测变量  $Q^2$  说明顺铂肾损害大鼠模型制作成功;正常组与 PNS 干预组也有显著差异( $R^2X = 20.3%$ ,  $Q^2 = 0.659$ );顺铂模型组和 PNS 干预组( $R^2X = 21.6%$ ,  $Q^2 = 0.129$ ),可预测性偏低。



$R^2X = 17.3%$ ,  $Q^2 = 0.749$

图 5 大鼠血清 OPLS-DA 得分图(左)和相应系数加载图(中、右)

Fig. 5 OPLS-DA scores plots and corresponding coefficient loading plots

**3.3.3 差异代谢物的筛选与鉴定** 通过 OPLS-DA 分析,以及分析各代谢物相应的相关系数,对有统计意义的代谢物进行进一步归纳。在相关系数图中,将每一个变量的载荷值与其标准偏差的平方根值相乘后进行数据的回溯转换。然后与相应的相关系数临界值表进行比对,得到引起组间差异的代谢物。表 1 列出各组间主要的差异代谢物。

**3.3.4 差异代谢物涉及的代谢通路分析** 基于 KEGG 数据库,顺铂致肾损害和 PNS 干预后的代谢

通路的改变见表 2。这些差异代谢物可能参与了碳代谢、糖酵解/糖异生代谢,以及甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢等代谢通路,而这些通路均与丙酮酸、葡萄糖有关,提示能量代谢障碍是主要原因。这些代谢通路异常可能与顺铂肾损害和 PNS 的干预相关。

#### 4 讨论

本课题组采用核磁共振代谢组技术研究大鼠顺铂和 PNS 干预后早期血清代谢物的改变。在本实验中大鼠腹腔注射单剂量顺铂后,血清 BUN 和 SCr

表 1 各组之间主要的血清代谢物的相关性

Table 1 Major serum metabolites of each group

代谢物 <sup>1)</sup>	C-M	C-D	M-D
丙酮	-0.625	-0.569	-
胞苷	0.736	0.725	-
低密度脂蛋白, CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> -	-	0.600	-
极低密度脂蛋白, CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> -	-0.735	-0.618	-
脂质, -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -C=O	-0.698	-0.655	-
乳酸	-	-	-0.658
苯丙氨酸	-0.632	-	0.792
丙酮酸	-0.565	-0.610	-
酪氨酸	0.583	0.634	-0.654
缬氨酸	0.631	0.789	-
α-葡萄糖	0.734	0.780	-
β-葡萄糖	0.798	0.886	-

注: <sup>1)</sup> 相关系数, 正负标志分别表示浓度的正相关和负相关。以  $P=0.05$  和自由度  $df=11$  为统计意义, 相关系数  $|r| > 0.553$  被作为具有统计意义的截点。“-”为相关系数  $|r| < 0.553$ 。

表 2 差异代谢物所涉及的代谢通路

Table 2 Metabolic pathways of difference metabolites

代谢通路	差异代谢物
代谢途径	丙酮酸, 甲酸, 丙酮, β-D-葡萄糖, α-D-葡萄糖, 胞嘧啶核苷, N, N-二甲基甘氨酸
碳代谢	丙酮酸, 甲酸, β-D-葡萄糖, α-D-葡萄糖
糖酵解/糖异生	丙酮酸, β-D-葡萄糖, α-D-葡萄糖
甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢	丙酮酸, N, N-二甲基甘氨酸
戊糖磷酸途径	丙酮酸, β-D-葡萄糖
芳香化合物的降解	丙酮酸, 甲酸
丙酮酸代谢	丙酮酸, 甲酸
乙醛酸和二羧酸代谢	丙酮酸, 甲酸
淀粉和蔗糖代谢	β-D-葡萄糖, α-D-葡萄糖

水平显著升高, 病理检查发现肾组织损害<sup>[16]</sup>。而且, PNS 能显著降低顺铂诱导升高的血清 BUN 和 SCr 水平, 改善肾脏病理损伤<sup>[16]</sup>。这些结果提示顺铂肾损害的模型制作成功, PNS 具有保护顺铂肾损害的作用。

多元模式识别分析的结果显示, 在正常对照组和顺铂模型组之间存在明显的差异。如 OPLS-DA 系数载荷图和表 1 所示, 与正常组比较, 顺铂组的特点有丙酮、丙酮酸、苯丙氨酸、低密度脂蛋白、极低密度脂蛋白和脂质的水平降低, 以及天冬酰胺, 胞苷, 酪氨酸, 缬氨酸, α-葡萄糖, β-葡萄糖的水平升高, 说明在顺铂模型组, 代谢模式发生改变, 脂质代谢受到抑制, 糖酵解和糖异生出现异常。

从图 3, 4 可见, 在正常组和 PNS 组之间存在明显的差别; 虽然在顺铂组和 PNS 组之间存在小部分的重叠(图 3), 但顺铂组和 PNS 组明显被划分

在不同的象限(图 4)。另外, 图 5 和表 1 显示, 在正常组和 PNS 组之间存在一系列的血清差异代谢物, 而在顺铂模型组和 PNS 干预组之间大鼠血清差异代谢物较少。提示 PNS 干预后 24 h, 大鼠血清的代谢模式与顺铂组的有相似之处, 但仍有部分不同。结合肾脏病理和肾功能检测的结果, PNS 对顺铂肾损害的保护作用可能体现在血清差异代谢物的改变上。

葡萄糖经糖酵解途径生成丙酮酸, 丙酮酸通过三羧酸循环产生 ATP, 也可以在无氧条件下生成乳酸。丙酮酸参与糖、脂肪和氨基酸之间的相互转化, 其在三大营养物质代谢中发挥关键作用。由于丙酮酸能快速提供 ATP 和 GTP 及抗氧化作用, 故其能改善酒精性肝病患者的肝功能<sup>[17]</sup>。研究表明丙酮酸能够改善各种组织的缺血再灌注损伤。Gurji 等<sup>[18]</sup>报道在中央血容量不足和缺血再灌注过程中, 丙酮酸能通过提高心肌能量状态和保护肌酸激酶活性来稳定心脏电功能。同时丙酮酸和葡萄糖显然是关于细胞压力、细胞和器官功能状态的具体反映<sup>[19]</sup>。在本实验中, 顺铂组、PNS 干预组的血清丙酮酸表达较正常组低, 而葡萄糖却较正常组高, 提示暴露于顺铂的大鼠, 糖酵解通路障碍, 使得葡萄糖升高而丙酮酸减少, 从而导致 ATP 生成减少。能源产生不足, 将影响组织细胞的各项生命活动的正常运转。另外, 从表 2 中可见, 这些代谢通路基本都与丙酮酸有关, 以及淀粉和蔗糖代谢通路又与葡萄糖有关, 说明能量代谢障碍是主要的问题。因此, 糖酵解通路异常可能是本次差异代谢物所涉及的代谢通路中最重要的通路。这可能是顺铂肾损害的重要机制之一。

在这些差异代谢物之中, 乳酸在顺铂组较 PNS 组高表达, 提示顺铂组细胞厌氧呼吸增强。另外, 与正常组比较, 顺铂组的苯丙氨酸表达下降而酪氨酸表达升高, PNS 干预后可改善这个情况, 即 PNS 使苯丙氨酸表达升高和酪氨酸表达降低, 使之和正常组的靠近。苯丙氨酸是必须氨基酸之一, 正常情况下, 摄入的苯丙氨酸部分在苯丙氨酸羟化酶的作用下变为酪氨酸<sup>[20]</sup>, 其余的用于合成各种蛋白质。苯丙氨酸转换为酪氨酸反映苯丙氨酸羟化酶活性及与炎症反应的相关性<sup>[21]</sup>。提示 PNS 可能改善苯丙氨酸解氨酶的活性。这些可能与 PNS 保护顺铂肾损害的机制有关。

综上所述, 顺铂肾损害大鼠早期的血清代谢物发生明显改变, PNS 干预可以改善代谢的改变。结

果显示采用<sup>1</sup>H 核磁共振代谢组学技术检测和验证代谢的变化是可行和有意义的。

[参考文献]

[ 1 ] Kodama A, Watanabe H, Tanaka R, et al. Albumin fusion renders thioredoxin an effective anti-oxidative and anti-inflammatory agent for preventing cisplatin-induced nephrotoxicity [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840 (3): 1152-1162.

[ 2 ] Domitrović R, Cvijanović O, Pernjak-Pugel E, et al. Berberine exerts nephroprotective effect against cisplatin-induced kidney damage through inhibition of oxidative/nitrosative stress, inflammation, autophagy and apoptosis [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 62: 397-406.

[ 3 ] Chen S X, Liu J L, Liu X Y, et al. Panax notoginseng saponins inhibit ischemia-induced apoptosis by activating PI3K/Akt pathway in cardiomyocytes [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137(1): 263-270.

[ 4 ] Liu S J, Zhou S W. Panax notoginseng saponins attenuated cisplatin-induced nephrotoxicity [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2000, 21(3): 257-260.

[ 5 ] Liu W J, Tang H T, Jia Y T, et al. Notoginsenoside R1 attenuates renal ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Shock*, 2010, 34(3): 314-320.

[ 6 ] Zhang C L, Tong X H, Qi B Q, et al. Components of Panax notoginseng saponins enhance the cytotoxicity of cisplatin via their effects on gap junctions [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 8(3): 897-902.

[ 7 ] 席加喜, 刘晓霞, 杨玉芳, 等. 血栓通对顺铂肾损伤大鼠的肾功能和氧化指标的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(10): 263-266.

[ 8 ] Liu S M, Lu F, Wang X J, et al. Metabolomic study of a rat fever model induced with 2,4-dinitrophenol and the therapeutic effects of a crude drug derived from *Coptis chinensis* [J]. *Am J Chin Med*, 2011, 39(1): 95-109.

[ 9 ] Jeon J P, Yun T, Jin X, et al. <sup>1</sup>H-NMR-based metabolomic analysis of cerebrospinal fluid from adult bilateral moyamoya disease: comparison with unilateral moyamoya disease and atherosclerotic stenosis [J]. *Med (Baltimore)*, 2015, 94(17): e629.

[ 10 ] 刘锴, 韩林涛, 薛大权, 等. 基于核磁共振代谢组学方法检测灌服桂枝煎剂大鼠的血清代谢物 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(18): 80-84.

[ 11 ] Portilla D, Li S, Nagothu K K, et al. Metabolomic

study of cisplatin-induced nephrotoxicity [J]. *Kidney Int*, 2006, 69(12): 2194-2204.

[ 12 ] Kwon H N, Kim M, Wen H, et al. Predicting idiopathic toxicity of cisplatin by a pharmacometabonomic approach [J]. *Kidney Int*, 2011, 79(5): 529-537.

[ 13 ] Liu X W, Huang Z G, Zou X Q, et al. Panax notoginseng saponins attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity via inhibiting the mitochondrial pathway of apoptosis [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(12): 8391-8400.

[ 14 ] He J, Chen J, Wu L Y, et al. Metabolic response to oral microcystin-LR exposure in the rat by NMR-based metabonomic study [J]. *J Proteome Res*, 2012, 11(12): 5934-5946.

[ 15 ] Ouyang X, Dai Y, Wen J L, et al. <sup>1</sup>H-NMR-based metabolomic study of metabolic profiling for systemic lupus erythematosus [J]. *Lupus*, 2011, 20(13): 1411-1420.

[ 16 ] Liu X W, Huang Z G, Zou X Q, et al. Possible mechanism of PNS protection against cisplatin-induced nephrotoxicity in rat models [J]. *Toxicol Mech Methods*, 2015, 25(5): 347-354.

[ 17 ] Petkova I, Mateva L, Beniozef D, et al. Sodium pyruvate infusions in patients with alcoholic liver disease. Preliminary report [J]. *Acta Physiol Pharmacol Bulg*, 2000, 25(3/4): 103-108.

[ 18 ] Gurji H A, White D W, Hoxha B, et al. Pyruvate-fortified resuscitation stabilizes cardiac electrical activity and energy metabolism during hypovolemia [J]. *World J Crit Care Med*, 2013, 2(4): 56-64.

[ 19 ] Sui W G, Li L P, Che W T, et al. A proton nuclear magnetic resonance-based metabonomics study of metabolic profiling in immunoglobulin a nephropathy [J]. *Clinics;Sao Paulo*, 2012, 67(4): 363-373.

[ 20 ] Fuchs S, Behrends V, Bundy J G, et al. Phenylalanine metabolism regulates reproduction and parasite melanization in the malaria mosquito [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e84865.

[ 21 ] Felger J C, Li L, Marvar P J, et al. Tyrosine metabolism during interferon-alpha administration: association with fatigue and CSF dopamine concentrations [J]. *Brain Behav Immun*, 2013, 31(3): 153-160.

[责任编辑 邹晓翠]