

• 实验研究 Experimental research •

肾动脉移植骨髓间充质干细胞对阿霉素肾病大鼠肾纤维化的影响

杨 扬, 王家平, 万珊杉, 李天祎, 杨素萍

【摘要】 目的 分析经肾动脉移植骨髓间充质干细胞(BMSC)对阿霉素慢性肾脏病(CKD)大鼠的治疗作用,评估不同移植方式对肾脏纤维化的影响。**方法** 实验动物为 50 只雄性 Sprague-Dawley 大鼠,其中 2 只 4 周龄大鼠用于体外分离培养 BMSC;36 只 16 周龄大鼠经尾静脉注射阿霉素构建 CKD 动物模型,造模成功后随机分为模型组(CKD 组)、经尾静脉移植 BMSC 组(V-M 组)和经肾动脉移植 BMSC 组(A-M 组),每组各 12 只;12 只健康大鼠作为正常对照组(N 组),经尾静脉输注等量 0.9%氯化钠溶液。移植 BMSC 后第 7、14 天检测各组大鼠血肌酐、血尿素氮、24 h 尿蛋白水平;制作肾脏病理切片行 HE 染色观察肾脏结构病理改变,Masson 三色染色评估肾脏纤维化程度。**结果** CKD 组、V-M 组、A-M 组在各观察点血肌酐、血尿素氮、24 h 尿蛋白水平均显著高于 N 组($P<0.01$)。移植后第 7 天,V-M 组、A-M 组 24 h 尿蛋白水平均低于 CKD 组($P<0.05$),且 A-M 组低于 V-M 组($P<0.05$);A-M 组血肌酐、血尿素氮显著低于 CKD 组($P<0.01$)。移植后第 14 天,V-M 组、A-M 组 24 h 尿蛋白水平均低于 CKD 组,但差异无统计学意义($P>0.05$);A-M 组血肌酐、血尿素氮均低于 V-M 组、CKD 组($P<0.05$)。CKD 组、V-M 组、A-M 组肾脏组织 HE 染色呈慢性肾病改变,Masson 三色染色示肾间质及肾小囊周围不同程度纤维化,但 A-M 组纤维化程度较 V-M 组、CKD 组有所改善。**结论** 经肾动脉移植 BMSC 可抑制或延缓 CKD 大鼠肾脏纤维化,并发挥积极的治疗作用。

【关键词】 骨髓间充质干细胞;慢性肾脏病;肾脏纤维化;肾动脉;移植治疗

中图分类号:R457 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2020)-08-0802-05

The influence of renal arterial transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells on renal fibrosis in experimental rats with adriamycin-induced nephropathy YANG Yang, WANG Jiaping, WAN Shanshan, LI Tianyi, YANG Suping. Department of Radiology, Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan Province 650101, China

Corresponding author: WANG Jiaping, E-mail: jiapingwang12@163.com

【Abstract】 Objective To analyze the therapeutic effect of bone marrow mesenchymal stem cells (BMSC) transplantation via renal artery on adriamycin-induced chronic kidney disease(CKD) in experimental rats and to evaluate the effect of different transplantation methods on renal fibrosis. **Methods** A total of 50 male Sprague-Dawley rats were used in this study, 2 of which were 4-week-old SD rats used for isolating and culturing BMSC in vitro. CKD animal models were established in 36 16-week-old SD rats by injection of adriamycin via caudal vein. The successfully established animal models were randomly and equally divided into model group(CKD group, $n=12$), via caudal vein transplantation BMSC group(V-M group, $n=12$) and via renal artery transplantation BMSC group(A-M group, $n=12$). The remaining 12 healthy rats were used as normal control group(N group), which received same amount of 0.9% sodium chloride solution injection through caudal vein. The levels of serum creatinine, blood urea nitrogen and 24-hour urinary protein of the rats in all groups were measured on the 7th and 14th day after BMSC transplantation. HE staining of the renal pathological

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2020.08.014

基金项目:国家自然科学基金(81860144)、昆明医科大学研究生创新基金(2019S149)

作者单位:650101 昆明医科大学第二附属医院放射科

通信作者:王家平 E-mail: jiapingwang12@163.com

sections was made and the pathological changes of renal structure were examined. The degree of renal fibrosis was evaluated by Masson trichrome staining. **Results** The levels of serum creatinine, blood urea nitrogen and 24-hour urinary protein measured at all observation time points in CKD group, V-M group and A-M group were significantly higher than those in N group ($P < 0.05$). On the 7th day after transplantation, the level of 24-hour urinary protein in V-M group and A-M group was lower than that in CKD group ($P < 0.05$), and in A-M group was lower than that in V-M group ($P < 0.05$). The levels of serum creatinine, blood urea nitrogen in A-M group were lower than those in CKD group ($P < 0.01$). On the 14th day after transplantation, the 24-hour urinary protein level in V-M group and A-M group was lower than that in CKD group, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). The levels of serum creatinine and blood urea nitrogen in A-M group were lower than those in V-M group and CKD group ($P < 0.05$). Pathological examination of HE staining renal tissue of CKD group, V-M group and A-M group revealed evidence of chronic nephropathy. Masson trichrome staining demonstrated different degrees of fibrosis in renal interstitium and around renal capsule, but the degree of fibrosis in A-M group was milder than that in V-M group and CKD group. **Conclusion** BMSC transplantation via renal artery can inhibit or delay renal fibrosis in CKD rats, and it actually plays a positive therapeutic role for renal fibrosis. (J Intervent Radiol, 2020, 29: 802-806)

【Key words】 bone marrow mesenchymal stem cell; chronic kidney disease; renal fibrosis; renal artery; transplant therapy

慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)患病率逐年增高, 调查显示全球总患病率为 10.8%, 我国就有约 1.195 亿 CKD 患者^[1]。CKD 是由多种原发性或继发性肾脏疾病持续性发展而来, 随着病程进展, 出现肾小球硬化及肾间质纤维化病理改变, 临床上表现为肾小球滤过率进行性下降, 尿蛋白显著增加, 最终肾衰竭, 治疗方式仅为透析或肾脏移植, 手段有限。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC)作为再生医学中修复损伤组织和脏器的种子细胞, 能够靶向归巢至受损组织及炎症部位, 通过直接分化为肾脏固有细胞、旁分泌多种细胞因子促进血管再生, 减少足细胞损伤并延缓肾脏纤维化, 对受损肾组织发挥积极的修复作用^[2-5]。然而不同的 BMSC 移植途径将直接影响其归巢至受损肾组织的数量, 从而影响其对受损肾脏的修复作用。本研究旨在评估经肾动脉移植 BMSC 对阿霉素肾病大鼠受损肾组织的修复作用及对肾脏纤维化的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

50 只清洁级雄性 Sprague-Dawley 大鼠由昆明医科大学动物中心提供。2 只为 4 周龄, 用于体外分离培养 BMSC; 48 只 16 周龄, 用作实验分组, 体重(356±18) g, 其中 36 只用于构建 CKD 动物模型, 12 只为正常对照组。主要试剂: 胎牛血清(FBS)和低糖培养基(L-DMEM)(美国 Gibco 公司), 阿霉

素(美国 Sigma 公司), 青链霉素双抗和 0.25% 胰蛋白酶-乙二胺四乙酸(EDTA)消化液(北京索莱宝科技公司)。

1.2 阿霉素慢性肾病动物模型构建和实验分组

购进大鼠后适应性喂养 1 周, 期间予以自由饮食。固定大鼠, 经尾静脉注射阿霉素, 第 1 次剂量为 3 mg/kg, 间歇 14~20 d 予以相同剂量第 2 次注射, 之后每周尾静脉采血测血肌酐、血尿素氮水平, 收集 24 h 尿液检测 24 h 尿蛋白含量, 以血肌酐、血尿素氮和 24 h 尿蛋白水平升高, 肾脏病理切片苏木精-伊红(HE)染色示慢性肾病改变为造模成功标准, 平均时间约为 7 周。将造模成功大鼠随机分为 3 个组: 模型组(CKD 组)、经尾静脉移植 BMSC 组(V-M 组)和经肾动脉移植 BMSC 组(A-M 组), 每组各 12 只; 剩余 12 只健康大鼠为正常对照组(N 组), 经尾静脉输注等量 0.9% 氯化钠溶液。

1.3 BMSC 体外分离培养

采用全骨髓贴壁培养法分离纯化大鼠 BMSC。2 只 4 周龄清洁级 SD 大鼠, 体重 80 g, 脱颈处死, 75% 乙醇全身浸泡 10 min, 0.9% 氯化钠溶液冲洗干净; 超净工作台下取双侧股骨、胫骨, 剔除肌肉等组织, 剪去骨髓端, 暴露骨髓腔, 用 5 mL 注射器抽取磷酸缓冲液(PBS)冲洗骨髓腔 3~5 次, 直至观察到骨髓腔变白; 收集骨髓腔冲洗液于离心管中, 充分吹打混匀, 100 μ m 细胞筛过滤后, 1 500 r/min 离心 5 min, 轻轻倒去 PBS, 用含 10% FBS、1% 青链霉素双抗的 L-DMEM 重悬细胞, 再次充分吹打混匀, 制

成单细胞悬液,接种至 T25 细胞培养瓶中,置于 37℃、5%CO₂ 细胞培养箱中孵育;48 h 后首次换液,以后每隔 3 d 换液 1 次。待细胞生长融合达 90%~100%时,用 0.25%胰蛋白酶-EDTA 消化细胞,按 1:4 比例传代。取 P3 代细胞进行成骨、成脂诱导分化培养,流式细胞仪行细胞表面抗原鉴定。

1.4 不同途径移植 BMSC

将生长状态良好、融合度达 100%的 BMSC 用 0.25%胰蛋白酶-EDTA 消化,倒置相差显微镜下见细胞呈圆形后加入 L-DMEM 培养基终止消化,1 500 r/min 离心 5 min,弃上清液,PBS 重悬细胞,充分吹打混匀制成单细胞悬液,细胞计数器计数细胞,调整单细胞悬液成 2×10^6 个/mL,冰盒保存备用。A-M 组大鼠:10%水合氯醛(0.3 mL/100 g)腹腔注射麻醉,仰卧位固定于手术台,剃除颈部毛发,聚维酮碘消毒,铺无菌手术单;充分暴露颈部,正中做约 4 cm 垂直切口,钝性分离出左颈总动脉,眼科剪在左颈总动脉作 T 字型切口,参照文献^[6]方法插入 PE10 导管,DSA 下动态观察,直至导管推送至右肾动脉,注射少量对比剂证实后推注 500 μ L BMSC 悬液;术毕结扎左颈总动脉,逐层缝合颈部手术切口,肌内注射抗生素预防感染,将大鼠放置保温箱中,密切观察,待其自然清醒后归笼继续饲养。

V-M 组大鼠:经尾静脉注射等量 BMSC 悬液。CKD 组大鼠:经尾静脉注射等量 PBS。N 组大鼠:经尾静脉注射等量 0.9%氯化钠溶液。

1.5 样本收集与检测

分别于移植 BMSC 后第 7、14 天,将各组大鼠放入代谢笼内,收集 24 h 尿液,尾静脉采血分离血清;采用 Chemray 240 型全自动生化分析仪检测 24 h 尿蛋白、血肌酐和血尿素氮水平。移植 BMSC 后第 14 天处死各组大鼠,快速取肾,固定脱水后制成 5 μ m 石蜡切片,行 HE 染色和 Masson 三色染色,观察肾脏结构病理改变及纤维化情况。纤维化评分标准:根据病变由轻至重程度,依次半定量评估,极少量或无病变为“-”记 0,轻度或少量“+”记 1,中度或中等量“++”记 2,重度或多量“+++”记 3,极重度或大量“++++”记 4。

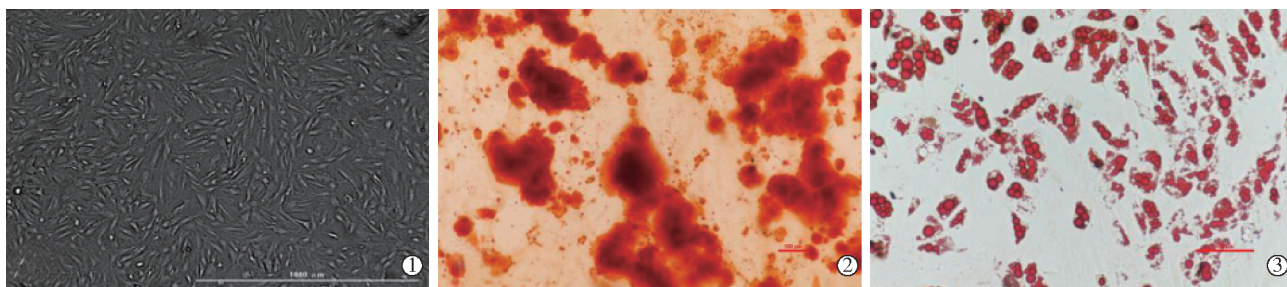
1.6 统计学方法

采用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用重复测量资料方差分析,两两比较用最小显著性差异 *t* 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 BMSC 分离、纯化和鉴定

倒置相差显微镜下见大鼠 BMSC 呈多角形、梭形,“鱼群状”或“旋涡状”贴壁生长。成骨诱导培养 28 d 后行茜素红染色,可见被染成橘红色的钙结节;成脂诱导培养 20 d 后行油红 O 染色,可见被染成红色的脂滴(图 1)。P3 代 BMSC 表面抗原 CD11b、CD45、CD29、CD90 表达率分别为 2.23%、1.94%、99.98%、99.97%。



①P3 代大鼠 BMSC 呈梭形,鱼群状或旋涡状贴壁生长($\times 100$);②成骨诱导培养茜素红染色见橘红色钙结节($\times 100$);③成脂诱导培养油红 O 染色胞质内见红色脂滴($\times 200$)

图 1 倒置相差显微镜下大鼠 P3 代 BMSC 及诱导分化培养结果

2.2 BMSC 移植治疗结果

与 N 组相比,CKD 组、V-M 组、A-M 组血肌酐、血尿素氮、24 h 尿蛋白均显著升高($P < 0.01$)。移植 BMSC 后第 7 天,与 CKD 组比较,V-M 组、A-M 组 24 h 尿蛋白均降低($P < 0.05$),且 A-M 组低于 V-M 组($P < 0.05$);V-M 组血肌酐、血尿素氮与 CKD 组相比无明显改善,但 A-M 组较 CKD 组改善明显($P <$

0.01)。移植 BMSC 后第 14 天,V-M 组血肌酐、血尿素氮较 CKD 组有所下降,差异无统计学意义($P > 0.05$),但 A-M 组与 V-M 组、CKD 组相比下降明显($P < 0.05$);V-M 组、A-M 组 24 h 尿蛋白水平仍低于 CKD 组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)(表 1)。

2.3 肾组织 HE 染色和 Masson 三色染色结果

N 组肾组织 HE 染色未见明显病理改变,肾小

表 1 移植 BMSC 后各组大鼠血肌酐、血尿素氮、24 h 尿蛋白值比较

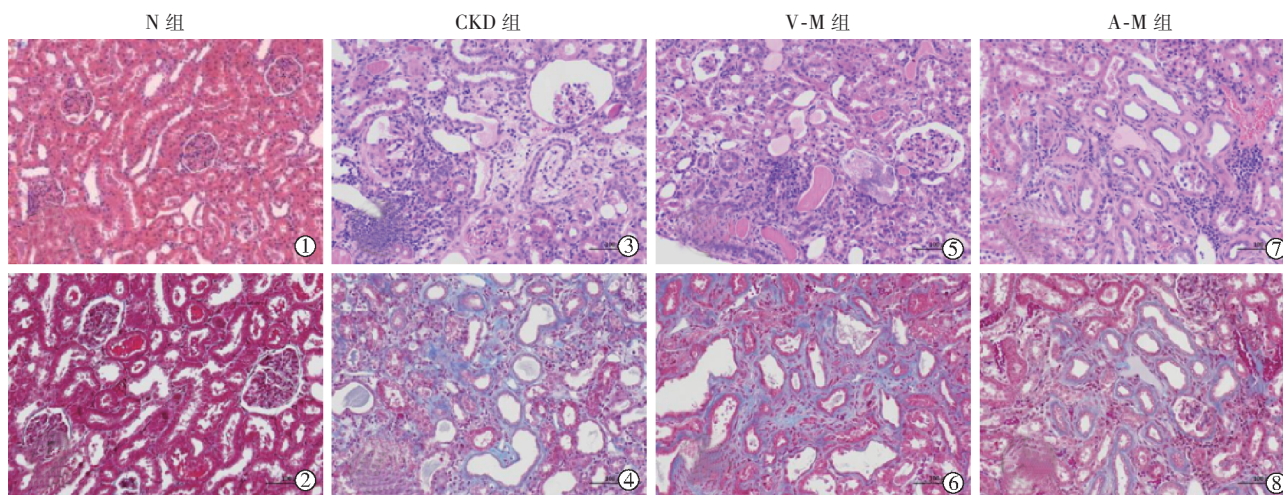
n=12

组别	血肌酐/($\mu\text{mol/L}$)		血尿素氮/(mmol/L)		24 h 尿蛋白/(mg/L)	
	7 d	14 d	7 d	14 d	7 d	14 d
N 组	34.79 \pm 3.41	33.21 \pm 3.06	2.14 \pm 0.13	2.31 \pm 0.46	24.35 \pm 1.73	26.33 \pm 1.42
CKD 组	91.60 \pm 4.62 ^a	104.35 \pm 7.01 ^a	7.22 \pm 0.34 ^a	6.75 \pm 0.59 ^a	55.11 \pm 1.89 ^a	49.83 \pm 1.87 ^a
V-M 组	89.24 \pm 3.74 ^a	100.54 \pm 5.81 ^a	5.31 \pm 0.39 ^{ab}	6.61 \pm 0.40 ^a	39.47 \pm 1.65 ^{ab}	39.54 \pm 2.09 ^{ab}
A-M 组	71.20 \pm 5.30 ^{abc}	89.44 \pm 2.03 ^{abc}	3.63 \pm 0.58 ^{abc}	5.38 \pm 0.20 ^{abc}	30.64 \pm 2.09 ^{abc}	37.66 \pm 2.54 ^{ab}

^a 与 N 组比较, $P<0.01$; ^b 与 CKD 组比较, $P<0.01$, ^c 与 V-M 比较, $P<0.05$

球大小和形态均一、正常,基底膜正常,间质无炎性细胞浸润,肾小管无萎缩;Masson 三色染色未见胶原纤维沉积,评分 0 分。CKD 组 HE 染色见大量肾小管间质炎性细胞浸润伴结缔组织增生,肾小管萎缩,管腔变小,基底膜增厚,肾小囊腔扩张,大量肾小球损伤,毛细血管扩张并出现空泡、系膜增厚、细胞减少,呈局灶节段性硬化改变;Masson 三色染色见大面积肾小管间质及肾小球囊周围胶原增生,纤维化评分为 3 分。V-M 组 HE 染色见较多肾小管间质炎性细胞浸润伴结缔组织增生,肾小

管扩张,上皮细胞扁平化,腔内充满蛋白液,形成肾小管管型,部分肾小管萎缩,基底膜增厚,个别肾小球坏死;Masson 三色染色见肾小管间质纤维增生,评分为 2 分。A-M 组 HE 染色见少量肾小管间质炎性细胞浸润伴少量结缔组织增生,部分肾小球出现囊腔扩张,空泡变性及毛细血管扩张程度下降,肾小管萎缩数量减少,基底膜存在不同程度增生,少量肾小管内充满嗜酸性蛋白液形成管型;Masson 三色染色可见少量蓝色着染胶原纤维,评分为 1 分,见图 2。



①③⑤⑦为 HE 染色;②④⑥⑧为 Masson 染色

图 2 各组大鼠肾脏 HE 染色和 Masson 三色染色病理图片($\times 200$)

3 讨论

阿霉素经注射后主要累积在肾脏,氧化后产生大量氧自由基,在多种活化因子作用下能诱导肾小球上皮细胞损伤,破坏滤过膜,从而造成肾脏损伤。这是经典的肾病模型构建方法。根据造模时间和给药次数不同,可分为急性肾病模型和慢性肾病模型^[7]。急性肾病模型造模时间较短,单次大量注射阿霉素后 4 周左右即可成模型,病理类型为微小病变型肾病,类似人类肾病综合征;慢性肾病模型造模时间相对较长(>5 周),且需多次给药,病理类型为局灶节段性肾小球硬化型肾病,类似人类慢性肾小球肾炎。值得注意的是,阿霉素亦对其他脏器有强

烈的毒性作用和不良反应,实验过程中引起造模大鼠死亡的原因主要有胃肠出血、肠胀气、腹水、心肌损伤及肺肿瘤等^[8],这与给药剂量和给药间歇时间密切相关。本研究中采用尾静脉注射阿霉素造模,首次剂量为 3 mg/kg,间歇 14~20 d 以相同剂量再次给药,约 7 周成功建立 CKD 模型。与大剂量(>4 mg)、间歇 1 周再次给药的造模方法相比,在造模时间相近前提下,显著降低了大鼠死亡率,有效保证了实验动物数量,而与单侧肾切除联合阿霉素注射法相比,该法操作简单,效率较高。

目前,BMSC 已被证实对慢性肾病确有一定的治疗作用,但具体机制尚不清楚。研究表明,注射

BMSC 能显著改善 CKD 大鼠肾功能,肾脏损伤程度较小的 2/3 肾切除组治疗效果优于损伤程度重的 5/6 肾切除组,经 BMSC 处理后巨噬细胞(ED-1 阳性细胞)数、 α -平滑肌肌动蛋白(SMA)及增殖细胞核抗原(PCNA)表达显著降低($P<0.01$),Masson 染色示肾间质纤维化和肾小球硬化程度下降,提示早期进行 BMSC 干预 CKD 大鼠治疗效果更优^[9]。Villanueva 等^[10]等研究结果与上述研究一致,不同的是其采用尾静脉单次移植 BMSC,结果表明 BMSC 可增强肾脏修复过程,显著改善肾功能,并发现血管生成标志物血管内皮细胞生长因子(VEGF)和血管生成素家族受体 Tie-2 表达增加,推测 BMSC 对 CKD 受损肾组织的修复作用可能与诱导肾血管生成途径有关。白彝华等^[11]通过颈动脉肾动脉插管输注 BMSC 至阿霉素 CKD 大鼠受损肾组织,发现血肌酐、尿素氮明显下降,血红蛋白显著升高,肾脏 HE 染色示 BMSC 处理组大鼠肾组织中炎性细胞浸润程度下降、范围减小,提示经肾动脉移植 BMSC 有助于 CKD 肾组织修复。上述研究均表明 BMSC 对 CKD 具有治疗作用,观察指标主要是肾功能测定,如血肌酐、尿素氮、24 h 尿蛋白、血清白蛋白等变化,而与 CKD 疾病后期发展至肾脏纤维化有关的文献报道并不多。本研究通过对比尾静脉和肾动脉两种途径移植 BMSC 治疗阿霉素 CKD 大鼠发现,两种途径均对受损肾组织发挥修复治疗作用,移植后第 7 天 V-M 组、A-M 组 24 h 尿蛋白与 CKD 组比较均降低($P<0.05$),且 A-M 组低于 V-M 组($P<0.01$),一直至第 14 天 A-M 组、V-M 组 24 h 尿蛋白水平仍低于 CKD 组;A-M 组血肌酐、尿素氮水平较 CKD 组、V-M 组下降,说明在移植 BMSC 后一段时间内,经肾动脉移植 BMSC 对 CKD 大鼠治疗效果优于经尾静脉移植;各组大鼠肾脏 HE 染色和 Masson 三色染色分析发现,BMSC 干预可减少 CKD 大鼠肾组织炎性细胞浸润,萎缩肾小管数量减少,扩张肾小管趋于正常,基底膜虽然仍存在不同程度增生,但与 CKD 组相比,BMSC 干预后情况有所改善;随着病程延长,大鼠肾纤维化程度加深,主要表现为肾间质纤维化和肾小球硬化,Masson 染色见 CKD 组肾组织出现大面积蓝染物质沉积于肾间质和肾小球囊周围,而移植 BMSC 后发现肾组织中蓝染面积缩小,着色程度减轻,说明 BMSC 移植治疗能减轻或延缓 CKD 大鼠肾脏纤维化,修复肾组织。

综上所述,BMSC 移植疗法可修复 CKD 大鼠受损肾组织,且在一定时间内,肾动脉途径移植治疗

效果要优于尾静脉途径,可能与干细胞归巢至肾组织数量有关^[6]。此外,BMSC 可抑制或延缓肾脏纤维化,并发挥积极的治疗作用,但具体作用机制尚不清楚。有研究提出细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过度沉积,可能是导致肾间质纤维化和肾小球硬化的原因,肾间质纤维化由 ECM 在基底膜和管周毛细血管之间沉积导致,肾小球硬化则可能是内皮细胞或足细胞代谢,机械或免疫损伤引起 ECM 在肾小球系膜细胞中增加所致^[12]。但本研究未涉及信号通路、分子机制研究,有待于进一步研究证实。

[参考文献]

- [1] Yano Y, Fujimoto S, Asahi K, et al. Prevalence of chronic kidney disease in China[J]. Lancet, 2012, 380:213-214.
- [2] Shahrar RA, Ali AAA, Wu CC, et al. Enhanced homing of mesenchymal stem cells overexpressing fibroblast growth factor 21 to injury site in a mouse model of traumatic brain injury[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20: 2624.
- [3] Jia X, Pan J, Li X, et al. Bone marrow mesenchymal stromal cells ameliorate angiogenesis and renal damage via promoting PI3k-Akt signaling pathway activation in vivo[J]. Cytotherapy, 2016, 18:838-845.
- [4] Chen Y, Chen J, Wan J, et al. Bone marrow - derived mesenchymal stem cells ameliorate nephrosis through repair of impaired podocytes[J]. Clin Invest Med, 2017, 40: E13-E24.
- [5] Wu HJ, Yiu WH, Li RX, et al. Mesenchymal stem cells modulate albumin-induced renal tubular inflammation and fibrosis[J]. PLoS One, 2014, 9:e90883.
- [6] 陆发承,王家平,邢艺苑,等. 肾动脉移植骨髓间充质干细胞治疗大鼠慢性肾病结果分析[J]. 介入放射学杂志, 2017, 26: 351-354.
- [7] 杨维娜,于琳华,郭尚温,等. 改良阿霉素肾病大鼠模型的建立[J]. 西安交通大学学报·医学版, 2009, 30:445-448.
- [8] 宁华英,邵世峰,郭云良,等. 阿霉素肾病大鼠模型建立的影响因素[J]. 江苏医药, 2018, 44:863-867.
- [9] Caldas HC, de Paula Couto TA, Fernandes IM, et al. Comparative effects of mesenchymal stem cell therapy in distinct stages of chronic renal failure[J]. Clin Exp Nephrol, 2015, 19: 783-789.
- [10] Villanueva S, Ewertz E, Carrion F, et al. Mesenchymal stem cell injection ameliorates chronic renal failure in a rat model[J]. Clin Sci(Lond), 2011, 121:489-499.
- [11] 白彝华,王家平,王剑松,等. 经肾动脉插管造影骨髓间充质干细胞移植对阿霉素肾病大鼠的影响[J]. 中国临床研究, 2015, 28:702-705.
- [12] Stoian M, Radulian G, Chitac D, et al. A clinical approach in regression of glomerulosclerosis[J]. Rom J Intern Med, 2007, 45:215-218.

(收稿日期:2019-09-22)

(本文编辑:边 倩)