·基础研究·

增龄是雄性大鼠碘对比剂急性肾损伤的促进因素

段绍斌*，汪 翩，刘 芳，王娜娜，潘 鹏，刘改灵，许向青，王予慧，刘伏友，凌光辉，李 瑛

（中南大学湘雅二医院肾内科，长沙 410011）

【摘 要】目的 研究年龄对雄性大鼠碘对比剂急性肾损伤（CI-AKI）的影响。**方法** 36 只雄性 SD 大鼠根据月龄分为 4 月龄组、12 月龄组和 24 月龄组，每组 12 只，各年龄组大鼠再随机分为正常对照组和对比剂组 6 个亚组，每组 6 只。禁水 24 h 后，不同年龄鼠对比剂组大鼠尾静脉注射碘对比剂 76%泛影葡胺（10 ml/kg），相应对照组大鼠尾静脉注射等量生理盐水。检测尿肌酐（UCr）、尿 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶（NAG）、血肌酐（SCr）、内生肌酐清除率（Ccr）、肾组织匀浆脂质过氧化物丙二醛（MDA）含量及血管紧张素转换酶（ACE）活性水平。48 h 后处死动物，观察肾脏的病理改变并检测肾组织 Sp1 蛋白表达。**结果** 注射对比剂后 48h, 24 月龄鼠对比剂组 SCr 水平显著升高（$P < 0.01$），且升高幅度超过对照组的 25%, Ccr 明显下降（$P < 0.05$），肾组织匀浆 ACE 活性和 MDA 含量和肾小管损伤分数均明显增加（$P < 0.01$），肾组织 Sp1 蛋白的表达明显上调（$P < 0.05$）；注射对比剂后 24 h 尿 NAG 酶活性明显较注射前 24 h 增高（$P < 0.001$）。12 月龄鼠注射对比剂组与相应对照组比较, Scr 明显上升（$P < 0.05$），但升高幅度小于对照组的 25%，肾组织匀浆 MDA 和 ACE、肾小管损伤分数以及肾组织 Sp1 蛋白表达有上升趋势，但均无统计学意义（$P > 0.05$）。4 月龄鼠注射对比剂组与相应对照组相比，上述各项指标比较均无统计学意义（$P > 0.05$）。**结论** 增龄是雄性大鼠碘 CI-AKI 的促进因素，氧化性应激、ACE 和核转录因子 Sp1 在老龄雄性大鼠碘 CI-AKI 发病机制中起一定作用。

【关键词】对比剂；急性肾损伤；对比剂肾病；氧化性应激；血管紧张素转换酶；核转录因子 Sp1

【中图分类号】 R692.5 **【文献标识码】** A **【DOI】** 10.3724/SP.J.1264.2012.00138

Aging is an aggravating factor of iodinated contrast induced acute kidney injury in male rats

DUAN Shaobin*, WANG Pian, LIU Fang, WANG Nana, PAN Peng, LIU Gailing, XU Xiangqing, WANG Yuhui, LIU Fuyou, LING Guanghui, LI Ying

(Department of Nephrology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

【Abstract】 Objective To study the effect of age on iodinated contrast induced acute kidney injury (CI-AKI) in male rats. **Methods** According to the age category, 36 healthy SD male rats were divided into three age groups (n=12/group), including 4 months, 12 months and 24 months group, and then each age group were randomly divided into control group and contrast media(CM) group(n=6). After 24h water deprivation, all three CM groups were intravascularly injected with 76% diatrizoate (10 ml/kg) through a caudal vein. The other three control groups were injected with equal volumes of saline in parallel. Urine creatinine (UCr), enzyme activity of urine N-acetyl-beta-D-glucosaminidase(U_{NAG}), serum creatinine (SCr), creatinine clearance rate (Ccr), malondialdehyde (MDA) level and angiotensin-converting enzyme(ACE) activity were determined. The rats were sacrificed after 48 h. Then pathological changes of the right kidney tissue and the expression of Sp1 protein in the renal tissue were examined. **Results** At 48 h after CM administration, 24 months rats showed a significant increase in SCr by > 25% from baseline ($P < 0.01$) and a decline in Ccr ($P < 0.05$); the levels of ACE and MDA in renal tissues and scores of tubular injury were also increased ($P < 0.01$); the expression of Sp1 protein in renal tissue was significantly upregulated ($P < 0.05$). At 24 h after CM administration, the enzyme activity of U_{NAG} was significantly higher($P < 0.001$). In 12 months rats with CM injection, the level of SCr was increased by <25% from baseline($P < 0.05$). There was an increasing trend but no significant statistic difference in levels of MDA and ACE in renal tissue, scores of tubular injury, and expression of Sp1 protein between control group and CM group of 12 months rats. There was no difference between control group and CM group of 4 months rats in all above parameters (P>0.05). **Conclusion** Aging is a risk factor for CI-AKI in rat. Oxidative stress, ACE, and transcription factor Sp1 play a role in nephrotoxcity induced by iodinated contrast media in the aging male rats.

收稿日期： 2011-12-18; **修回日期：** 2012-02-18

基金项目： 湖南省科技厅科技攻关项目(2010FJ6008)

通讯作者： 段绍斌, Tel: 0731-85295000, E-mail: duansb528@hotmail.com

【Key words】 contrast media; acute kidney injury; oxidative stress; angiotensin-converting enzyme; transcription factor Sp1

This work was supported by Science and Technology Research Projects In Hu'nan Province (2010FJ6008)

临床上约 10%的急性肾损伤（acute kidney injury, AKI）由对比剂所致，对比剂急性肾损伤（contrast-induced acute kidney injury, CI-AKI）已成为当前院内 AKI 的第三大原因[1]。临床研究显示，原有肾脏损害、糖尿病肾病、对比剂的渗透性和剂量、充血性心力衰竭、老年（＞70 岁）是 CI-AKI 的独立危险因素[2,3]；但老龄作为 CI-AKI 独立危险因素尚无基础实验研究的文献证实，且作用机制尚不清楚。

目前大部分学者认为，CI-AKI发病机制与肾缺血、氧化性应激和直接肾小管毒性有关[2]。血管紧张素转换酶（angiotensin converting enzyme, ACE）是肾素-血管紧张素系统（renin angiotensin system, RAS）中一个关键酶，现有的研究表明，正常肾功能患者造影后血、尿ACE活性明显升高[4]；血管紧张素转换酶抑制剂和血管紧张素受体拮抗剂对CI-AKI有一定的保护作用[5,6]。

Sp1蛋白为锌指家族中一种重要的核转录因子，在多种组织中广泛表达，与细胞增殖、凋亡、分化、炎症修复和新生物的转化过程等密切相关[7]。但是，注射对比剂后肾脏局部组织中ACE活性的变化及Sp1在CI-AKI发病中的作用均未见文献报道。本研究主要探讨年龄对大鼠碘对比剂急性肾损伤的影响，探讨氧化性应激、肾组织ACE和核转录因子Sp1在增龄大鼠碘对比剂急性肾损伤中的作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

Sp1 一抗购自美国 Santa Cruz 公司，N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶（N-acetyl-β-D-glocosaminidase, NAG）检测试剂盒购自上海太阳生物技术有限公司，脂质过氧化物丙二醛（malonaldehyde, MDA）检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所，ACE 测定试剂盒（紫外法）购自北京海军总医院，免疫组织化学二抗试剂盒购自深圳生物晶美科技有限公司，76%泛影葡胺购自上海信宜制药厂，BCA 试剂盒购自江苏碧云天生物科技有限公司。

1.2 实验动物分组与处理

36 只健康雄性 SD 大鼠（购自中南大学湘雅二医院实验动物中心）根据月龄分为 4 月龄、12 月龄和 24 月龄组，每组 12 只，各年龄组大鼠再随机分为正常对照组和对比剂组，每组 6 只。禁水 24 h 后，对比剂组大鼠尾静脉注射碘对比剂 76%泛影葡胺（10 ml/kg），对照组大鼠尾静脉注射等量生理盐水，分别收集注射前和注射后 24 h 尿液测尿 NAG 酶；收集注射后 24～48 h 期间 24 h 尿液测尿肌酐（urine creatinine, UCr）；注射后 48 h，采用 10%水合氯醛（3 ml/kg）腹腔注射麻醉，腹主动脉采血后处死大鼠。

1.3 血尿生化指标检测

自动生化分析仪（Beckmen Synchron CX3, USA）测定血清肌酐（serum creatinine, SCr）水平；采用碱性苦味酸法测定尿肌酐；内生肌酐清除率（endogenous creatinine clearance rate, Ccr）=每分钟尿量（ml/min）×尿肌酐浓度（mg/dl）/血清肌酐浓度（mg/dl）。根据试剂盒说明书采用比色法测定尿 NAG 酶。

1.4 肾组织匀浆 MDA 含量和 ACE 活性测定

取 0.2g 肾皮质组织，根据试剂盒说明书制备肾组织匀浆液，采用硫代巴比妥法测定肾组织 MDA 含量，采用马尿酰甘氨酰苷氨酸法测定肾组织 ACE 活性，组织蛋白浓度采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定；肾组织 MDA 含量和 ACE 活性均以蛋白质量进行校正。

1.5 肾脏组织病理形态学观察

取大鼠右侧肾脏下极组织包括皮质和髓质，用 10%中性福尔马林固定12～24 h，常规脱水，石蜡包埋，3 μm切片，HE染色，光镜检查每组肾脏病理标本的变化并根据Capasso等[8]采用的肾小管损伤的半定量评分标准进行评分。

1.6 免疫组织化学方法检测核转录因子 Sp1 蛋白在肾脏组织的表达

常规石蜡切片，二甲苯脱蜡，100%～75%乙醇梯度脱水，用柠檬酸盐缓冲液进行抗原热修复，加兔抗大鼠一抗 Sp1（1:200），4℃过夜，37℃恒温烤箱复温 30 min，加生物素标记的二抗，DAB 显色，苏木素复染，PBS 缓冲液为阴性对照，光镜下观察 Sp1 抗体染色阳性的细胞。采用 Image-Pro Plus 6.0 在 200

倍视野下进行免疫组化染色图像分析。阳性细胞呈棕黄色，每张切片随机选取 10 个不含肾小球的互不重叠视野分析各视野下阳性目标光密度和阳性面积百分比代表待测抗原的量；每个样本重复 3 次，取其均数作为统计分析的原始数据。

1.7 统计学处理

所有数据采用SPSS16.0统计学分析软件分析，计量资料以均数 ± 标准差表示，同年龄段组资料比较采用组间*t*检验，不同年龄段组资料组间比较采用单因素方差分析，多个样本之间的两两比较采用LSD-*t*检验。$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠血、尿生化指标的变化

表 1 结果表明，4 月龄鼠对比剂组与对照组比较，Scr、Ccr 和注射对比剂前后 24h NAG 酶水平差异均无统计学意义（$P > 0.05$）；12 月龄鼠对比剂组与对照组比较，Scr 水平差异有统计意义（$P < 0.05$），但升高幅度小于其对照组的 25%；24 月龄鼠对比剂组与对照组比较，Scr 水平明显升高（$P < 0.01$），且 Scr 平均值的升高幅度超过其对照组的 25%，Ccr 明显降低（$P < 0.05$），注射对比剂后 24 h 尿 NAG 酶水平较注射造影前明显升高（$P < 0.001$；表 1，表 2）。

表 1 各组大鼠注射对比剂或生理盐水后 Scr 和 Ccr 的比较
Table 1 Scr and Ccr after injection of contrast media or normal saline in rats of different groups (n=6, $\bar{x} \pm s$)

月龄	组别	体质量(g)	Scr(μmol/L)	Ccr (ml·100g/min)
4月龄	对照组	257.5 ± 24.85	24.13 ± 1.48	0.45 ± 0.02
	对比剂组	255.8 ± 21.54	27.97 ± 3.05	0.44 ± 0.03
12月龄	对照组	536.7 ± 58.28	31.42 ± 1.76	0.43 ± 0.02
	对比剂组	531.7 ± 68.24	35.15 ± 2.08*	0.42 ± 0.02
24月龄	对照组	610.0 ± 79.12	30.53 ± 1.94	0.43 ± 0.02
	对比剂组	585.5 ± 70.24	38.53 ± 4.53**	0.39 ± 0.03*

注：Scr：血清肌酐；Ccr：内生肌酐清除率。与同月龄鼠对照组比较，$^{*}P < 0.05$，$^{**}P < 0.01$

表2 各组大鼠注射对比剂或生理盐水前后尿NAG酶的变化
Table 2 Urinary NAG before and after injection of contrast or normal saline in rats of different groups (n=6, U/L, $\bar{x} \pm s$)

月龄	组别	注射前	注射后
4 月龄	对照组	14.82 ± 2.12	15.24 ± 2.24
	对比剂组	15.46 ± 2.84	16.61 ± 2.92
12 月龄	对照组	16.43 ± 3.05	17.69 ± 3.54
	对比剂组	16.73 ± 3.02	19.13 ± 3.12
24 月龄	对照组	17.71 ± 2.42	19.24 ± 2.90
	对比剂组	17.80 ± 3.03	25.18 ± 3.33**

注：NAG：N-乙醇-β-D-氨基葡萄糖苷酶。与注射前比较，$^{**}P < 0.01$

2.2 各组大鼠肾组织匀浆 MDA 含量和 ACE 活性的变化

表 3 结果表明，4 月龄鼠和 12 月龄鼠对比剂组分别和相应的对照组比较，肾组织 ACE 和 MDA 水平差异均无统计学意义（$P > 0.05$）；24 月龄鼠对比剂组肾组织 ACE 和 MDA 水平均显著高于对照组（$P < 0.01$）。

表 3 各组大鼠肾组织匀浆液MDA含量和ACE活性的变化
Table 3 MDA level and ACE activity of renal tissue of rats in different groups (n=6, $\bar{x} \pm s$)

月龄	组别	ACE (U/mg prot)	MDA (nmol/mg prot)
4 月龄	对照组	1.75 ± 0.71	2.90 ± 0.69
	对比剂组	2.10 ± 0.84$^{\#\#}$	3.24 ± 0.60$^{\#\#}$
12 月龄	对照组	2.81 ± 1.15	3.35 ± 0.91
	对比剂组	4.10 ± 1.69$^{\#\#}$	3.89 ± 1.16$^{\#\#}$
24 月龄	对照组	2.61 ± 0.49	5.43 ± 1.53
	对比剂组	7.84 ± 2.19**	7.65 ± 2.03**

注：ACE：血管紧张素转换酶；MDA：丙二醛。与同月龄鼠对照组比较，$^{**}P < 0.01$；与 24 月龄鼠对比剂组比较，$^{\#\#}P < 0.01$

2.3 各组大鼠肾组织病理变化

HE 染色结果提示，4 月龄鼠和 12 月龄鼠对照组肾小管、肾小球、肾间质区结构大致正常，24 月龄鼠对照组可见肾小球肥大、局灶肾小管上皮细胞空泡变性及肾小管上皮细胞萎缩；4 月龄鼠对比剂组和 12 月龄鼠造影组分别与相应对照组比较，可见局灶肾小管上皮细胞空泡变性，肾间质轻微水肿，24 月龄鼠对比剂组可见肾小管上皮细胞空泡变性，管腔明显扩大，刷状缘丢失，大量上皮细胞核脱落，部分小管上皮细胞坏死（图 1）。

半定量分析结果显示，4 月龄鼠和 12 月龄鼠对比剂组分别与相应对照组比较，肾小管损伤分数无统计学差异（$P > 0.05$），24 月龄鼠对比剂组肾小管损伤分数明显高于其他组（$P < 0.01$；表 4）。

2.4 免疫组织化学方法检测各组大鼠肾组织 Sp1 蛋白表达的变化

4 月龄鼠对比剂组与 12 月龄鼠对比剂组分别与相应的对照组比较，Sp1 蛋白表达均无明显差异（$P > 0.05$）；24 月龄对比剂鼠肾组织 Sp1 蛋白阳性表达明显增强（$P < 0.05$；图 2）。

2.5 24 月龄鼠对比剂组肾组织 Sp1 蛋白表达、MDA 含量、ACE 活性与 SCr 和肾小管损伤分数的相关分析

相关分析结果显示，24 月龄鼠对比剂组肾组织 Sp1 蛋白表达、MDA 含量、ACE 活性均与 Scr、肾小管损伤分数呈正相关（$\gamma = 0.877$, $\gamma = 0.897$, $\gamma = 0.845$, $P < 0.05$; $\gamma = 0.819$, $\gamma = 0.820$, $\gamma = 0.816$, $P < 0.05$）。

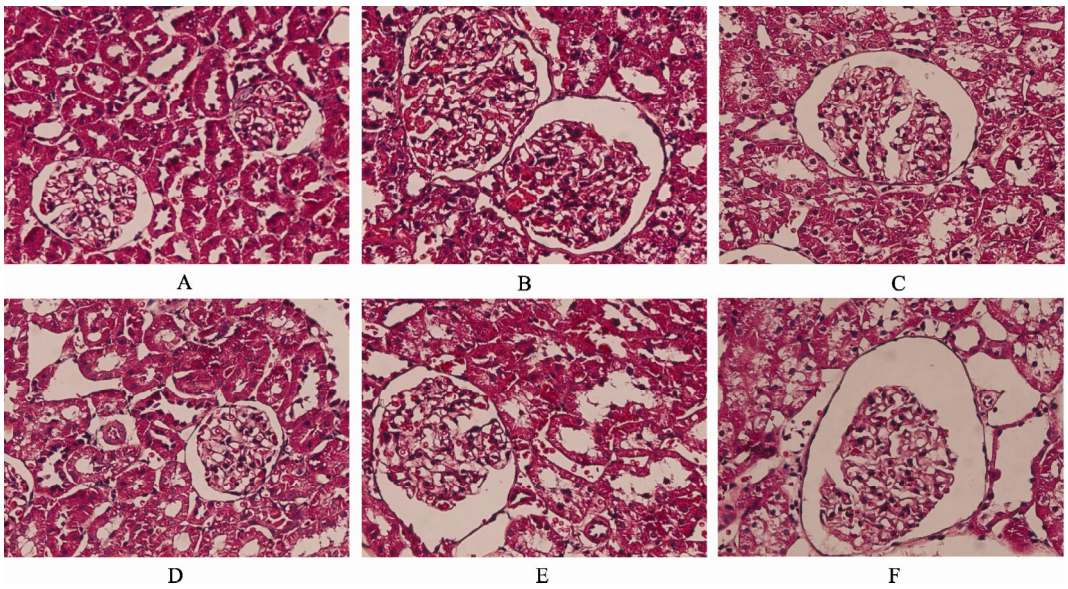


图 1 各组肾脏病理改变

Figure 1 Pathological changes of kidney in rats of different groups (HE ×200)

A: 4 月龄鼠对照组; B: 12 月龄鼠对照组; C: 24 月龄鼠对照组; D: 4 月龄鼠对比剂组; E: 12 月龄鼠对比剂组; F: 24 月龄鼠对比剂组

表4 各组大鼠肾小管损伤分数

Table 4 Renal tubular injury score of rats in different groups (n=6, $\bar{x} \pm s$)

月龄	组别	肾小管损伤分数
4 月龄	对照组	0.12 ± 0.03
	对比剂组	0.14 ± 0.04$^{\#\#}$
12 月龄	对照组	0.22 ± 0.03
	对比剂组	0.25 ± 0.04$^{\#\#}$
24 月龄	对照组	1.26 ± 0.17
	对比剂组	3.46 ± 0.68*

注: 与同月龄鼠对照组比较, $^{*}P < 0.05$; 与 24 月龄鼠对比剂组比较, $^{\#\#}P < 0.01$

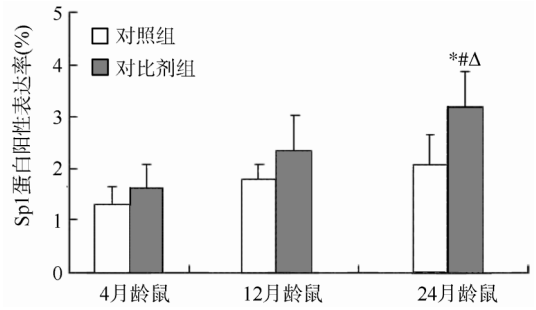


图 2 免疫组织化学检测各组大鼠肾脏组织 Sp1 蛋白阳性表达率

Figure 2 Expression rate of Sp1 protein assessed with immunohistochemical method

与同月龄鼠对照组比较, $^{*}P < 0.05$; 与 4 月龄鼠对比剂组比较, $^{\#}P < 0.05$; 与 12 月龄鼠对比剂组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

3 讨 论

CI-AKI 是 X 线对比剂使用后严重并发症之一, 2010 年欧洲泌尿系统放射学会对比剂安全委员会对 1999 年对比剂急性肾损伤指南进行更新, 提出年龄大于 70 岁是 CI-AKI 的危险因素[2]。但另有研究表明, 年龄不是 CI-AKI 的危险因素[9,10]。本研究表明, 24 月龄鼠注射对比剂后, SCr 显著升高, 且升高幅度超过同组对照鼠的 25%, Ccr 明显降低, 注射对比剂后 24 h 尿 NAG 酶水平较注射造影剂前明显升高, 肾组织出现明显损害, 肾小管损伤分数明显升高; 而 12 月龄鼠注射对比剂后, Scr 虽然明显上升, 但升高幅度小于同组对照鼠的 25%; 4 月龄鼠注射对比剂后与其对照鼠比较, 上述各项指标均无明显变化, 提示年龄是促进雄性大鼠对比剂急性肾损伤的危险因素, 进一步支持老龄是 CI-AKI 的危险因素。

目前大部分学者认为, 对比剂急性肾损伤的发病机制与肾缺血、直接肾毒性及氧化性应激有关。Gupta 等[11]认为对比剂引起肾脏血流量下降可能与 RAS 的活性增高引起的肾血管收缩有关; Gami 等[12]通过复习文献指出, Ang Ⅱ 可能参与了对比剂引起的肾血管收缩。ACE 是 RAS 中一个关键酶, 正常肾脏组织 ACE 主要定位于近曲小管刷状缘, 较少存在于肾小球, 组织损伤可以导致 ACE 活性的变化。本课题组过去的研究发现, 在注射对比剂后 24 h 和 48 h, 患者血、尿 ACE 活性明显升高[4]; 对比剂可导致肾脏局部 Ang Ⅱ 水平的明显升高, 血管紧张素转换酶抑制剂和血管紧张素受体拮抗剂对 CI-AKI 有保护作用[5,6]。本实验进一步观察到, 24 月龄鼠注射对比剂后肾组织 ACE 活性显著升高, 肾组织 ACE 活性与 SCr、肾小管损伤分数呈显著正相关, 提示肾脏局部 ACE 激活在 24 月龄鼠 CI-AKI 中起一定作用。其机理可能是对比剂促使肾脏局部 ACE 活性增强, 激活肾脏 RAS 系统, 导致肾脏组织局部 Ang Ⅱ 急性升

高，引起肾脏血管收缩，加重氧化性应激导致的肾脏损害。

氧化性应激在对比剂肾病发生发展中的作用已引起广泛关注，活性氧可增加肾小球入球动脉阻力和肾小球出球动脉阻力，且肾小球入球动脉阻力 > 肾小球出球动脉阻力，因而降低了肾小球超滤系数，加剧了对比剂引起的肾缺血[13]。本课题组过去的研究表明，对比剂可引起肾组织匀浆液中 MDA 水平增高[14]；本研究结果进一步提示，24 月龄鼠注射对比剂后，肾组织 MDA 水平较同组对照鼠及 4 月龄和 12 月龄对比剂大鼠均明显增高，肾脏出现明显病理损害，肾组织 MDA 含量分别与 SCr 和肾小管损伤分数呈正相关，提示氧化性应激在 24 月龄鼠 CI-AKI 发病机制中亦起一定作用。

Sp1 蛋白是锌指家族中一种重要的核转录因子，与细胞增殖、凋亡、分化、炎症修复和新生物的转化过程等密切相关[7]。本实验结果发现，24 月龄鼠注射对比剂后肾组织 Sp1 蛋白表达较对照组明显升高，肾脏局部 Sp1 蛋白与 SCr、肾小管损伤分数呈正相关，提示 Sp1 可能在老年 CI-AKI 中起一定作用。

综上所述，增龄是对比剂急性肾损伤的危险因素，其发病机制除与肾缺血、氧化性应激、肾组织 Sp1 蛋白高表达等因素有关外，可能还与随着年龄的增长，肾脏的储备能力下降、不同程度的周围血管硬化、肾血流量改变、机体调节功能差、对急性外源性损伤因素的抵抗能力降低、对许多易致急性肾衰竭的危险因素的敏感性增高有关。

【参考文献】

[1] Cronin RE. Contrast-induced nephropathy: pathogenesis and prevention[J]. Pediatr Nephrol, 2010, 25(2): 191-204.

[2] Stacul F, van der Molen AJ, Reimer P, *et al*. Contrast induced nephropathy: updated ESUR Contrast Media Safety Committee guidelines[J]. Eur Radiol, 2011, 21(12): 2527-2541.

[3] Mehran R, Aymong ED, Nikolsky E, *et al*. A simple risk score for prediction of contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary intervention: development and initial validation[J]. J Am Coll Cardiol, 2004, 44(7): 1393-1399.

[4] Duan SB, Wu HW, Luo JA, *et al*. Assessment of renal function in the early stages of nephrotoxicity induced by iodinated contrast media[J]. Nephron, 1999, 83(2): 122-125.

[5] Duan SB, Wang YH, Liu FY, *et al*. The protective role of telmisartan against nephrotoxicity induced by X-ray contrast media in rat model[J]. Acta Radiol, 2009, 50(7): 754-759.

[6] 段绍斌，邹 琴，李英娟，等. 高渗和低渗对比剂肾毒性及福辛普利或替米沙坦的保护作用[J]. 中南大学学报(医学版), 2007, 32(5): 812-818.

[7] Ishibashi H, Nakagawa K, Onimaru M, *et al*. Sp1 decoy transfected to carcinoma cells suppresses the expression of vascular endothelial growth factor, transforming growth factor beta1, and tissue factor and also cell growth and invasion activities[J]. Cancer Res, 2000, 60(22): 6531-6536.

[8] Capasso G, Di Gennaro CI, Della Ragione F, *et al*. *In vivo* effect of the natural antioxidant hydroxytyrosol on cyclosporine nephrotoxicity in rats[J]. Nephrol Dial Transplant, 2008, 23(4): 1186-1195.

[9] Pakfetrat M, Nikoo MH, Malekmakan L, *et al*, Risk factors for contrast-related acute kidney injury according to risk, injury, failure, loss, and end-stage criteria in patients with coronary interventions[J]. Iran J Kidney Dis, 2010, 4(2): 116-122.

[10] 李美花，范 利. 老年人造影剂肾病及临床相关因素分析[J]. 中国老年医学杂志, 2005, 25(6): 649-650.

[11] Gupta RK, Kapoor A, Tewari S, *et al*. Captopril for prevention of contrast-induced nephropathy in diabetic patients: a randomised study[J]. Indian Heart J, 1999, 51(5): 521-526.

[12] Gami AS, Garovic VD. Contrast nephropathy after coronary angiography[J]. Mayo Clin Proc, 2004, 79(2): 211-219.

[13] Pflueger A, Abramowitz D, Calvin AD, *et al*. Role of oxidative stress in contrast-induced acute kidney injury in diabetes mellitus[J]. Med Sci Monit, 2009, 15(6): 125-136.

[14] Duan SB, Liu FY, Luo JA, *et al*. Nephrotoxicity of high- and low-osmolar contrast media. The protective role of amlodipine in a rat model[J]. Acta Radiol, 2000, 41(5): 503-507.

（编辑：任开环）