

光照强度对远志相关生理指标及苯丙素类成分的影响

赵洁, 吴洋, 田娇, 岳明, 蔡成菲, 房敏峰*

西部资源生物与现代生物技术教育部重点实验室 西北大学生命科学学院, 西安 710069

摘要: 将生长至 8~10 片真叶的远志幼苗, 用市售遮阴网分组处理, 包括自然光照组 (CK)、轻度遮阴组 (30% 自然光照) 和重度遮阴组 (10% 自然光照), 于处理后 15、30 d 和 60 d 测定苯丙素类成分的含量, 60 d 时测定生理指标, 考察光照强度对远志相关生理指标及苯丙素类成分的影响。结果显示 3,6'-二芥子酰基蔗糖 (DISS) 含量与过氧化物酶 (POD) 活性显著正相关, 提示两者在对抗细胞氧化破坏方面可能具有协同作用。遮阴能提高远志幼苗地上、地下部分 DISS 含量, 这可为远志规范化栽培提供依据。

关键词: 光照强度; 远志; 苯丙素类; 生理指标

中图分类号: Q945.7

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.3.003

Effects of Light Intensity on Relative Physiological Index and Phenylpropanoids in *Polygala tenuifolia* Willd.

ZHAO Jie, WU Yang, TIAN Jiao, YUE Ming, CAI Cheng-fei, FANG Min-feng*

Key Laboratory of Resource Biological and Biotechnology in Western China,
College of Life Sciences, Northwest University, Shaanxi Xi'an 710069, China

Abstract: The seedlings of *Polygala tenuifolia* Willd. were under different treatments, including natural light group (CK), single shading network group (30% natural light) and double shading network group (10% natural light), and were collected after 15 d, 30 d and 60 d respectively. Related physiological indexes and phenylpropanoid constituents in *P. tenuifolia* were then detected to investigate the effects of light intensity on physiological indexes and phenylpropanoid constituents in *P. tenuifolia*. The results showed that, the activity of peroxidase (POD) were significantly correlated with the content of 3,6'-disinapoyl sucrose (DISS). It indicated that, both of them may had a synergistic effect on fighting against oxidative damage. Short term shade can increase the content of DISS. This study provided the basis for standardized cultivation of *P. tenuifolia*.

Key words: light intensity; *Polygala tenuifolia* Willd.; phenylpropanoid constituents; physiological indexes

光对植物生长作用特殊, 可作为能源控制光合作用, 还可作为环境因子, 调控抗氧化酶、色素等生理生化指标, 进而影响相关作用途径使植物适应外界环境^[1]。此外, 光照强度与植物体内的次生代谢产物形成和积累也关系密切^[2,3]。远志 (*Polygala tenuifolia* Willd.) 为阳生药用植物, 以皂苷和寡糖酯类成分为主要药效物质, 该成分结构上多数具有苯丙酰基结构, 同属苯丙素类衍生物^[4]。田娇等^[5]发现光照强度的变化会影响远志生物量及黄酮类成分的含量, 但对远志生理生化及苯丙素类成分的研究尚未见报。本研究以光合色素、丙二醛和抗氧化酶

等作为远志生长状态的生理指标, 3,6'-二芥子酰基蔗糖 (DISS)、总皂苷和总酚作为远志次生代谢的化学指标, 考察远志幼苗在生长过程中, 光照强度对上述指标的影响, 为远志规范化种植提供科学依据。

1 材料与仪器

1.1 实验材料

远志种子采购于陕西省合阳县水车头村, 经西安市食品药品检验所谢志民研究员鉴定为合阳栽培远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 的种子。

1.2 仪器与试剂

SHIMADZUCTO-10AS_{vp} 色谱工作站 (日本岛津), LC-20AT 高效液相色谱仪 (日本岛津), SPD-20A 紫外检测器 (日本岛津); U-3310 紫外-可见分光光度计 (日本日立); DZF 型真空干燥箱 (上海博

收稿日期: 2015-11-23

接受日期: 2016-01-12

基金项目: 陕西省科技厅社发攻关项目 (2013K14-03-02); 陕西省教育厅自然科学专项 (2013JK0808); 国家自然科学基金 (J1210063)

* 通讯作者 Tel: 86-29-88302411; E-mail: fff885@126.com

讯);TGL-16G 高速离心机(上海安宁科学仪器);USB4000-UV-VIS Ocean Optics 光纤光谱仪(美国海洋光学)。

对照品:DISS(批号:10112324,上海同田生物技术有限公司),阿魏酸(批号:110773-201012,中国药品生物制品检验所)、远志皂苷元(批号:111572-200702,中国药品生物制品检验所);乙腈、甲醇为色谱纯(美国 Fisher 公司);实验用水为超纯水(自制);其它试剂均为分析纯。

2 实验方法

于聚乙烯材质的塑料盆中播种,待长至 8~10 片真叶时遮阴处理,分 3 组:自然光照组、轻度遮阴组(30% 自然光照)与重度遮阴组(10% 自然光照),每组各 10 盆。在第 15 d、30 d 和 60 d 采集样品,70 °C 烘干,打粉过筛备用,用以测定苯丙素类成分的含量。处理后 60 d,采集叶片样品测定其生理生化指标。

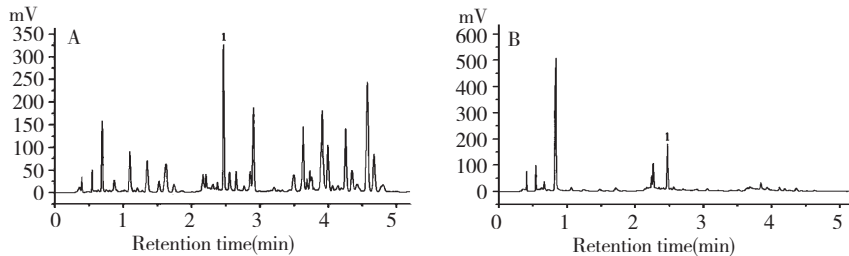


图 1 远志根部样品(A)及地上甲醇提取液(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of *P. tenuifolia* root sample (A) and aerial part sample (B)

1:3,6'-二芥子酰基蔗糖

2.3 远志总酚的含量测定

以阿魏酸为对照品,采用福林酚法测定远志总酚的含量。纵坐标为吸光度,横坐标为对照品溶液浓度(mg/mL),得阿魏酸回归方程为 $Y = 7.0802X + 0.0225$, $R^2 = 0.9990$,该成分在 0.00~0.17 mg/mL 范围内线性关系良好。精密取样,分别加入福林试剂(自制)和 10% (质量分数)碳酸钠溶液,黑暗反应 1 h,于 778 nm 处测定吸光度,根据回归方程计算含量。

2.4 远志总皂苷的含量测定

以远志皂苷元为对照品测定远志总皂苷含量。纵坐标为吸光度,横坐标为对照品溶液浓度(mg/mL),得远志皂苷元回归方程为 $Y = 15.355X - 0.3965$, $R^2 = 0.9992$,该成分在 0.00~0.06 mg/mL

2.1 生理生化指标测定

光合色素、紫外吸收物和花青素的含量测定分别参考 Wellburn^[6]、Teklemariam^[7] 和 Mancinelli^[8] 法;过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)的活性参考愈创木酚法测定^[9];丙二醛(MDA)参考硫代巴比妥酸法测定^[10];脯氨酸参考茚三酮法测定^[11]。

2.2 3,6'-二芥子酰基蔗糖的含量测定

色谱条件:GL Inertsil ODS-SP C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱;流动相:A:0.03% 磷酸水(体积分数),B:0.03% 磷酸乙腈(体积分数),洗脱梯度:0~13 min:82% (体积分数,下同)A;13~28 min:74% A;28~46 min:68% A;46~52 min:40% A;检测波长:320 nm,柱温:30 °C,进样量:10 μL,流速:0.8 mL/min。纵坐标为峰面积,横坐标为对照品浓度(mg/mL),得 DISS 的回归方程为 $Y = 3E + 07X + 88795$, $R^2 = 0.9991$,该成分在 0.005~1.000 mg/mL 范围内线性关系良好。精密取样,稀甲醇超声提取 40 min,上清液即为供试品溶液,根据回归方程计算含量。测定结果如图 1 所示。

范围内线性关系良好。精密取样,加入新鲜配置的 5% 香草醛-冰醋酸试液和高氯酸,60 °C 显色 15 min 后于冰水浴中静置 5 min,585 nm 处测定吸光度,根据回归方程计算含量。

2.5 数据分析

以 GraphPad Prism 5 软件作图并分析,以 SPSS17.0 软件对实验结果进行方差分析和 LSD 检验。

3 结果与分析

3.1 光照强度对远志叶片光合色素的影响

光合色素含量是反应植株光合效率和营养状况的重要指标,叶绿素 a/b 反应植物利用光能力的大小,类胡萝卜素可防止光照伤害叶绿素。结果见表 1。

表 1 光照强度对远志光合色素含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3, \text{mg/g}$)Table 1 Effect of light intensity on photosynthetic pigments of *P. tenuifolia* ($\bar{x} \pm s, n = 3, \text{mg/g}$)

处理 Treatment	总叶绿素 Total chlorophyll	叶绿素 b Chlorophyll b	叶绿素 a Chlorophyll a	叶绿素 a/b Chlorophyll a/b	类胡萝卜素 Carotenoids
自然光照 Natural light	1.13 ± 0.02 ^a	0.43 ± 0.02 ^a	0.69 ± 0.02 ^a	1.60 ± 0.02 ^a	0.27 ± 0.04 ^a
30% 自然光照 30% Natural light	1.24 ± 0.07 ^a	0.48 ± 0.14 ^a	0.77 ± 0.03 ^a	1.62 ± 0.11 ^a	0.31 ± 0.06 ^a
10% 自然光照 10% Natural light	0.95 ± 0.13 ^b	0.35 ± 0.17 ^b	0.60 ± 0.10 ^b	1.71 ± 0.07 ^b	0.22 ± 0.11 ^a

注:同一列不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

Note: Different letters in the same column indicated significant differences ($P < 0.05$), same as below.

表 1 显示,短期轻度遮阴对光合色素的影响不显著;重度遮阴下,叶绿素和类胡萝卜素的含量有明显的下降,叶绿素 a/b 有明显的增加。

3.2 光照强度对远志叶片中紫外吸收物和花青素含量的影响

植物在强光的诱导下能合成紫外吸收物,具有反射、吸收太阳光,保护植物免受强光伤害的功能。花青素是水溶性色素,能强烈吸收太阳光,减少强光迫害。结果见表 2。

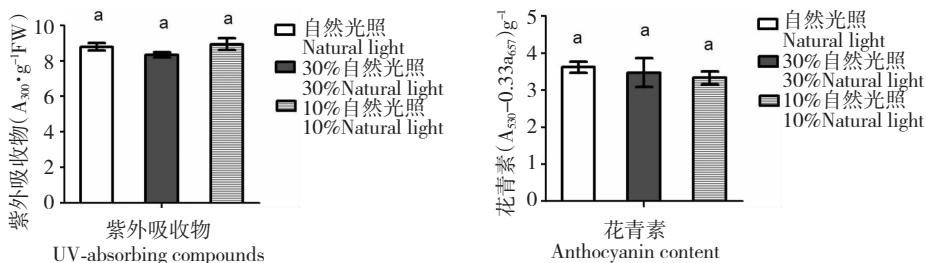


图 2 光照强度对远志叶片紫外吸收物和花青素含量的影响

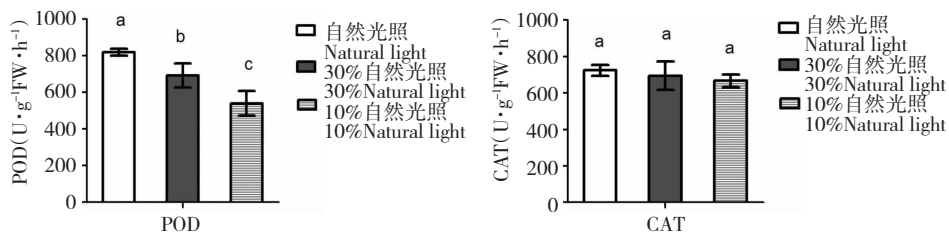
Fig. 2 Effect of light intensity on UV-absorbing compounds and anthocyanin contents in leaves of *P. tenuifolia*

图 3 光照强度对远志叶片 POD 和 CAT 活性的影响

Fig. 3 Effect of light intensity on POD and CAT activities in leaves of *P. tenuifolia*

由图 3 可见,POD 与 CAT 活性均表现为:自然光照组 > 30% 自然光照组 > 10% 自然光照组,且光照强度对 POD 活性影响效果更为显著。提示遮阴会降低远志抗氧化能力,增加体内活性氧水平。

3.4 光照强度对远志叶片丙二醛和脯氨酸含量的影响

MDA 是膜脂质过氧化的最终产物之一,其积累

由图 2 可见,不同光照强度下的紫外吸收物总量无显著差异,而花青素含量随着光照强度的减弱呈降低趋势。提示远志对长期隐蔽环境具有比较高的适应性。

3.3 光照强度对远志叶片抗氧化酶活性的影响

POD 和 CAT 广泛存在于植物中,可将 H_2O_2 转化为 H_2O ,使活性氧维持在较低的水平上,是植物体内良好的活性氧清除剂。结果见表 3。

的含量是判断活性氧毒害程度的重要标志。游离脯氨酸是植物体内重要的渗透调节物质之一,可反应植物抗渗透胁迫的能力。结果见图 4。

由图 4 可见,光照强度的变化对远志叶片中脯氨酸含量的影响无显著差异,MDA 含量随光照强度的减弱增加显著,提示长期遮阴会加剧远志的膜质过氧化程度。

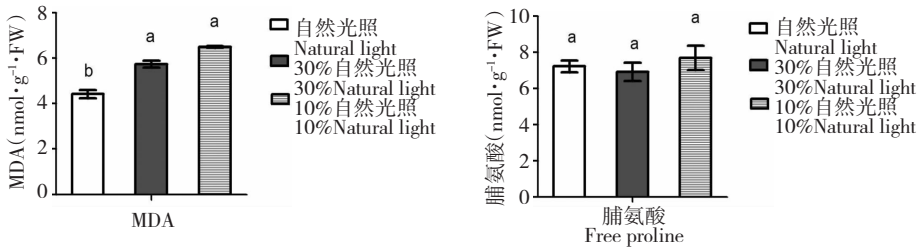


图4 光照强度对远志叶片丙二醛和脯氨酸含量的影响

Fig. 4 Effect of light intensity on malondialdehyde and free proline content in leaves of *P. tenuifolia*

3.5 光照强度对远志3,6'-二芥子酰基蔗糖含量的影响

远志中的寡糖酯类为抗抑郁的主要活性成分,

表2 光照强度对远志中3,6'-二芥子酰基蔗糖含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 3, \text{mg/g}$)Table 2 Effect of light intensity on the content of the 3,6'-disinapoyl sucrose in *P. tenuifolia* ($\bar{x} \pm s, n = 3, \text{mg/g}$)

部位 Parts	处理 Treatment	15 d	30 d	60 d
根部 Roots	自然光照 Natural light	1.641 ± 0.004 ^b	2.199 ± 0.007 ^a	1.962 ± 0.007 ^a
	30%自然光照 30% Natural light	1.836 ± 0.002 ^a	1.410 ± 0.003 ^b	1.821 ± 0.007 ^b
	10%自然光照 10% Natural light	1.395 ± 0.004 ^c	1.277 ± 0.003 ^c	1.378 ± 0.007 ^c
地上 Aerial part	自然光照 Natural light	0.507 ± 0.005 ^b	0.417 ± 0.003 ^c	0.780 ± 0.002 ^a
	30%自然光照 30% Natural light	0.527 ± 0.004 ^a	0.522 ± 0.001 ^a	0.748 ± 0.003 ^b
	10%自然光照 10% Natural light	0.438 ± 0.002 ^c	0.460 ± 0.010 ^b	0.583 ± 0.002 ^c

表2可见,短期轻度遮阴(30%光照,15 d)可显著提高远志根和地上 DISS 的含量;但长期遮阴(30 d,60 d)会显著抑制远志根中 DISS 的积累,下降幅度达41.93%,且随着遮阴程度增加,DISS 含量降低幅度增大。

表3 光照强度对远志总酚含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 3, \text{mg/g}$)Table 3 Effect of light intensity on the content of total phenolics in *P. tenuifolia* ($\bar{x} \pm s, n = 3, \text{mg/g}$)

部位 Parts	处理 Treatment	15 d	30 d	60 d
根部 Roots	自然光照 Natural light	74.267 ± 0.033 ^b	71.367 ± 0.895 ^a	85.915 ± 0.888 ^a
	30%自然光照 30% Natural light	85.590 ± 0.355 ^a	51.623 ± 1.008 ^c	82.637 ± 1.155 ^b
	10%自然光照 10% Natural light	84.998 ± 1.763 ^a	63.959 ± 1.024 ^b	80.872 ± 0.524 ^b
地上 Aerial part	自然光照 Natural light	183.681 ± 1.334 ^b	167.924 ± 2.671 ^a	134.282 ± 0.429 ^a
	30%自然光照 30% Natural light	195.221 ± 0.978 ^a	134.128 ± 0.272 ^c	109.735 ± 0.502 ^c
	10%自然光照 10% Natural light	172.492 ± 0.832 ^c	139.768 ± 1.533 ^b	112.780 ± 1.424 ^b

表3可见,短期遮阴(15 d)可显著提高远志根部总酚含量,长期遮阴(30 d,60 d)则抑制远志根部和地上总酚的积累。

DISS 为远志寡糖酯的代表性成分^[12]。光强对其影响见表2。

3.6 光照强度对远志总酚含量的影响

远志酚类物质包括远志黄酮、皂苷和寡糖酯类等,其中以皂苷和寡糖酯类为主体的苯丙素类衍生物是远志总酚的主要组成部分。光照强度对其影响见表3。

3.7 光照强度对远志总皂苷含量的影响

远志皂苷是祛痰止咳、镇静的的主要活性成分,在远志的地下部分大量存在。光强对其影响见表4。

表4 光照强度对远志总皂苷含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3, \text{mg/g}$)Table 4 Effect of light intensity on the content of total saponins in *P. tenuifolia* ($\bar{x} \pm s, n = 3, \text{mg/g}$)

部位 Parts	处理 Treatment	15 d	30 d	60 d
根部 Roots	自然光照 Natural light	87.715 ± 0.740 ^a	85.665 ± 1.271 ^a	116.011 ± 1.228 ^a
	30% 自然光照 30% Natural light	82.035 ± 1.100 ^b	86.195 ± 1.040 ^a	116.119 ± 1.784 ^a
	10% 自然光照 10% Natural light	69.808 ± 0.740 ^c	67.729 ± 1.404 ^b	90.044 ± 1.204 ^b
地上 Aerial part	自然光照 Natural light	37.483 ± 1.249 ^b	38.130 ± 0.124 ^a	40.621 ± 1.168 ^a
	30% 自然光照 30% Natural light	40.406 ± 1.539 ^a	38.832 ± 0.398 ^a	38.403 ± 0.032 ^b
	10% 自然光照 10% Natural light	36.567 ± 0.778 ^b	36.139 ± 0.641 ^b	36.597 ± 0.919 ^c

表4可见,不同程度的遮阴均会抑制远志地上及根部总皂苷的积累,相较于轻度遮荫(30%自然光照),重度遮阴(10%自然光照)对远志根部总皂苷的抑制更为显著。

3.8 远志中过氧化物酶丙二醛与苯丙素类成分的相关性分析

对远志主要成分含量与部分变化较显著的生理

生化指标进行相关性分析(60 d),结果见表5。叶片中POD活性与远志根及地上DISS含量均呈现极显著正相关,与根部总酚(r 总酚)和地上总皂苷(a 总皂苷)含量显著正相关;叶片中MDA含量与地上总酚(a 总酚)含量呈现显著负相关。此外,DISS、总皂苷、总酚之间呈极显著正相关,与三者结构均具有苯丙酰基结构有关。

表5 远志中各成分的相关性

Table 5 Correlation between different ingredients in *P. tenuifolia*

	MDA	POD	r DISS	r 总酚 r total phenolics	r 总皂苷 r total saponins	a DISS	a 总酚 a total phenolics	a 总皂苷 a total saponins
MDA	1							
POD	-0.335	1						
r DISS	0.060	0.920 ^{**}	1					
r 总酚 r total phenolics	-0.391	0.998 [*]	0.895 ^{**}	1				
r 总皂苷 r total saponins	0.293	0.803	0.972	0.766	1			
a DISS	0.141	0.885 ^{**}	0.997 ^{**}	0.856 ^{**}	0.988	1		
a 总酚 a total phenolics	-0.763 ^{**}	0.865	0.600	0.893	0.395	0.532	1	
a 总皂苷 a total saponins	-0.285	0.999 [*]	0.940 ^{**}	0.994 ^{**}	0.833	0.909 ^{**}	0.837	1

注:用双尾显著性检验,** $P < 0.01$ 极显著相关; * $P < 0.05$ 显著相关。 r 代表根, a 代表地上。

Note: Using double tail test, ** $P < 0.01$ indicated extremely significant correlation, * $P < 0.05$ indicated significant correlation. r : root sample, a : aerial part sample.

4 讨论与结论

长期遮阴会使远志叶片中叶绿素含量增加,色素构成改变,花青素和紫外吸收物总量降低,POD和CAT活性降低,MDA含量增加,使膜质过氧化加剧,损害植物生长。短期适度遮阴能够提高远志幼苗地上以及根部的总酚、DISS的含量,这可为远志的规范化种植及其品质的定向调控提供科学依据。

光照强度发生变化时,会诱发植物的氧化应激反应,引起抗氧化酶体系活性的变化;从植物适应性的角度出发,也会使一些具有抗氧化活性的次生代

谢产物的产生与积累发生变化^[13]。本实验结果显示远志中的次生代谢产物寡糖酯类成分DISS含量与POD活性显著正相关,推测远志植物中的DISS与POD在抗氧损伤作用上具有协同作用,这与Ende WV^[14]提出的寡糖酯类成分与氧化应激密切相关的结论相一致。

参考文献

- 1 Wu NB(吴能表), Tan F(谈锋), Xiao WJ(肖文娟), et al. Effects of light intensity on morphologic and physiological indexes and safrol content of *Cinnamomum pauciflorum* seed-

- lings. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 2005, 25:1159-1164.
- 2 Wang Y (王洋), Dai SJ (戴绍军), Yan XF (阎秀峰). Effects of light intensity on secondary metabolite camptothecin production in leaves of *Camptotheca acuminata* seedlings. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 2004, 24:1118-1122.
 - 3 Leng PS (冷平生), Su SC (苏淑钗), Wang TH (王天华). Effects of light intensity and light quality on photosynthesis, flavonol glycoside and terpene lactone contents of *Ginkgo biloba* L. seedlings. *J Plant Res Environ*, 2002, 11(1):1-4.
 - 4 Liang X (梁晓), Zhang XL (张学兰), Li HF (李慧芬), et al. Effect of *Polygala tenuifolia* steamed with licorice extract on content changes of on jisaponin B and tenuifolin. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2015, 37:824-827.
 - 5 Tian J (田娇), Wu Y (吴洋), Liu Y (刘园), et al. Effects of light intensity on xanthenes accumulation and biomass in *Polygala tenuifolia* Willd. *J Northwest Univ, Nat Sci* (西北大学学报, 自科版), 2015, 45:261-265.
 - 6 Wellburn A. The spectral determination of chlorophyll a and chlorophyll b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J Plant Physiol*, 1994, 144:307-313.
 - 7 Teklemariam T, Blake TJ. Effects of UV-B preconditioning on heat tolerance of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Environ Exp Bot*, 2003, 50:169-182.
 - 8 Mancinelli AL, Yang CPH, Lindquist P, et al. Photocontrol of anthocyanin synthesis: III. The action of streptomycin on the synthesis of chlorophyll and anthocyanin. *Plant Physiol*, 1975, 55:251-257.
 - 9 Dhindsa RS, Dhindsa PP, Thorpe TA. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *J Exp Bot*, 1981, 32:93-101.
 - 10 Gao JF (高俊凤). *Plant Physiology Experiment*. Beijing: Higher Education Press, 2006.
 - 11 Bates L, Waldren R, Teare I. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*, 1973, 39:205-207.
 - 12 Hu Y, Liu P, Guo DH, et al. Antidepressant effects of the extract YZ-50 from *Polygala tenuifolia* in chronic mild stress treated rats and its possible mechanisms. *Pharm Biol*, 2010, 48:794-800.
 - 13 Hou Y (侯娅), Ma Y (马阳), Zou LS (邹立思), et al. The effects of ecological factors on the secondary metabolites in medicinal plants and their research methods. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2015, 26:187-190.
 - 14 Van den Ende W, Valluru R. Sucrose, sucrosyl oligosaccharides, and oxidative stress: scavenging and salvaging. *J Exp Bot*, 2009, 60(1):9-18.

(上接第 423 页)

- 2 Margetts PJ, Kolb M, Yu L, et al. A chronic inflammatory infusion model of peritoneal dialysis in rats. *Perit Dial Int*, 2001, 21:368-372.
- 3 Borges FR, Silva MD, Cordova MM, et al. Anti-inflammatory action of hydroalcoholic extract, dichloromethane fraction and steroid alpha-spinasterol from *Polygala sabulosa* in LPS-induced peritonitis in mice. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151:144-150.
- 4 Han JY, Fan JY, Horie Y, et al. Ameliorating effects of compounds derived from *Salvia miltiorrhiza* root extract on microcirculatory disturbance and target organ injury by ischemia and reperfusion. *Pharmacol Ther*, 2008, 117:280-295.
- 5 Yin X, Yin Y, Cao FL, et al. Tanshinone IIA attenuates the inflammatory response and apoptosis after traumatic injury of the spinal cord in adult rats. *PLoS One*, 2012, 7:e38381.
- 6 Fu J, Huang H, Liu J, et al. Tanshinone IIA protects cardiac myocytes against oxidative stress-triggered damage and apoptosis. *Eur J Pharmacol*, 2007, 568:213-221.
- 7 Aroeira LS, Lara-Pezzi E, Loureiro J, et al. Cyclooxygenase-2 mediates dialysate-induced alterations of the peritoneal membrane. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20:582-592.
- 8 Yokoi H, Kasahara M, Mori K, et al. Pleiotrophin triggers inflammation and increased peritoneal permeability leading to peritoneal fibrosis. *Kidney Int*, 2012, 81:160-169.
- 9 Gangji AS, Brimble KS, Margetts PJ. Association between markers of inflammation, fibrosis and hypervolemia in peritoneal dialysis patients. *Blood Purif*, 2009, 28:354-358.
- 10 Ha H, Lee HB. Reactive oxygen species amplify glucose signalling in renal cells cultured under high glucose and in diabetic kidney. *Nephrology (Carlton)*, 2005, 10:7-10.
- 11 Lee HB, Yu MR, Song JS, et al. Reactive oxygen species amplify protein kinase C signaling in high glucose-induced fibronectin expression by human peritoneal mesothelial cells. *Kidney Int*, 2004, 65:1170-1179.
- 12 Lu Y, Shen H, Shi X, et al. Hydrogen sulfide ameliorates high-glucose toxicity in rat peritoneal mesothelial cells by attenuating oxidative stress. *Nephron Exp Nephrol*, 2014, 126:157-165.
- 13 Wagener FA, Dekker D, Berden JH, et al. The role of reactive oxygen species in apoptosis of the diabetic kidney. *Apoptosis*, 2009, 14:1451-1458.