

Application of Diagnostic Method Model in Side Effects of Cisplatin

Jiandong Han, Meiling Wang, Gegentana, Yanqing Du, Fengying Liang, Eerdun

Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia

Email: 523074081@163.com

Received: Feb. 11th, 2019; accepted: Feb. 26th, 2019; published: Mar. 4th, 2019

Abstract

Cisplatin is a classic anti-tumor drug used to treat a wide variety of malignancies. However, the main side effect of its dose limitation is kidney damage. To help understand the mechanisms involved in the development of kidney damage, rodent models have been developed to explore the side effects of cisplatin. Given the complex pathogenesis of kidney injury, which involves local effects in the kidney and interdependent systemic effects *in vivo*, animal models are essential in studying the underlying mechanisms and potential therapeutic strategies for acute and chronic kidney injury. Despite the simplicity and wide applicability of animal models for methodological diagnosis, the deficiencies of various models need to be considered when using various diagnostic models of cisplatin. This article aims to briefly introduce the application of diagnostic methods in the side effects of cisplatin, mainly based on animal models, and compare the similarities and differences of various models, as well as the summary factors that may seriously affect the model and research results.

Keywords

Diagnostics, Cisplatin, Side Effects

诊断学方法模型在顺铂副作用中的应用

韩建冬, 王美玲, 格格塔娜, 杜艳青, 梁凤英, 额尔敦

内蒙古医科大学, 内蒙古 呼和浩特

Email: 523074081@163.com

收稿日期: 2019年2月11日; 录用日期: 2019年2月26日; 发布日期: 2019年3月4日

摘要

顺铂是一种经典抗肿瘤药物, 用于治疗各种各样的恶性肿瘤。然而, 其主要的剂量限制的副作用是肾损

文章引用: 韩建冬, 王美玲, 格格塔娜, 杜艳青, 梁凤英, 额尔敦. 诊断学方法模型在顺铂副作用中的应用[J]. 医学诊断, 2018, 8(4): 63-68. DOI: 10.12677/md.2018.84010

伤。为了帮助理解肾损伤发展中涉及的机制,已开发出探究顺铂副作用的啮齿动物模型。鉴于肾损伤的复杂发病机制,其涉及肾脏中的局部作用以及体内相互依赖的全身作用,动物模型在研究急性和慢性肾损伤的潜在机制和潜在治疗策略中是必不可少的。尽管方法学诊断的动物模型具有简单性和广泛适用性,但在使用顺铂各种各样诊断学模型时也需要考虑各种模型的缺陷。本文旨在简要介绍诊断学方法在顺铂副作用中的应用,其中主要以动物模型为主,并且比较各种模型的异同点,以及可能严重影响模型和研究结果的概述因素。

关键词

诊断学, 顺铂, 副作用

Copyright © 2018 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

顺铂是一种经典的抗肿瘤药物,用于治疗各种恶性肿瘤。由于其副作用,特别是肾毒性,令其在临床实践中的用途有限。如今,尽管治疗环境以及治疗机制有所改善,但仍有 20%~30% 的患者在顺铂治疗后出现急性肾损伤(AKI) [1]。不仅发生 AKI 的患者人数众多,而且发生慢性肾损伤(CKI)的患者也很多。为了帮助理解肾损伤发展过程中涉及的复杂机制,各种各样的诊断学方法模型已被开发并广泛用于研究顺铂代谢和顺铂肾毒性的机制,并测试新问世的铂类化疗药物或辅助治疗药物。

诊断学方法模型已被公认为具有较高临床相关性和简单的重复操作性[2]。过去,诊断学方法模型主要用于研究急性肾毒性。对 CKI 病情的发展研究没有得到广泛关注,虽然已知顺铂在单次或多次给药后可对大鼠肾脏的结构和功能产生长期影响[3]。由于最新研究报告显示,人体重复顺铂治疗通常与肾间质纤维化相关,进而导致 CKI,并且 CKI 可能在未被发现的情况下发展。

诊断学方法中的动物模型也是研究的热点。但方法学诊断中的动物模型不能将 AKI 的治疗策略应用于人体。方法学诊断中的动物模型缺乏某些方面与人类 AKI 的相似性[4]。因此,重要的是要注意顺铂模型的方法学诊断中的动物模型具有局限性。动物模型的主要弱点,特别是小鼠顺铂模型,是由于没有标准化的标准品。这意味着几乎每个实验室都使用自己的制作的标准品。因此,研究中的方案有着显著不同(即从低肾毒性到极高致死剂量的顺铂)。因此,如果使用多种方案会导致结果比较有很大的困难。此外,实验证明尤其是动物模型中的小鼠,经常遭受严重的身体损伤。顺铂的副作用不仅可以产生不同程度的肾毒性,还可以产生肾外毒性甚至全身毒性[5]。因此,出于伦理和科学原因,为了减小严重的毒副作用,用诊断学方法模型建立顺铂给药方案是十分重要的。

2. 顺铂的代谢机制

利用实验诱导顺铂的肾毒性首次报道于 1971 年[6]。在过去几年中,研究人员已证明顺铂肾毒性是由于剂量的频率性和累积性产生的。根据剂量,顺铂注射频率和顺铂的累积剂量,动物可能出现不同程度的急性早期和慢性晚期肾损伤。在啮齿动物中,通常通过腹膜内注射顺铂,并且不太经常静脉注射或皮下注射。为了更好地理解顺铂方案(单/多剂量治疗,低/高肾毒性剂量和致死剂量)之间的变化,简要总结了关于顺铂肾毒性的药代动力学和潜在机制的基本知识。

顺铂是水溶性和低分子量药物[7]。在单次腹膜内给药后,顺铂进入全身循环,在那里不可逆地与血浆蛋白结合形成无活性的复合物,这种反应通常被认为会使药物代谢失活。然而未结合的顺铂会非常迅速地分布到几乎所有器官。在1小时内,血浆顺铂水平显著下降。顺铂主要由肾脏消除,其次是胆汁和肠道排泄。顺铂衰变的动力学本质上是双相的。在药物初始积累后(15分钟内),顺铂浓度在肾脏中迅速降低,但随后在单次顺铂给药后48~72小时再次升高并达到第二个峰值[8][9][10]。此后它的降低非常缓慢。在单次肾毒性剂量的顺铂后,在肾脏中发现显著水平的药物能够长达1个月或甚至3个月。在最初的24小时内,大约43%~50%的药物在尿液中被消除,在前48小时内为60%~76%,在单次顺铂给药后72小时内为91%(剂量4~10毫克/千克)。在顺铂给药后72小时,在线粒体中发现最高浓度的顺铂(37%),其次是胞质溶胶(27%),细胞核(22%)和微粒体(14%)。使用可视化的操作方法,结果显示顺铂主要积聚在大鼠肾的内皮质和皮质髓质连接处,这是近端和远端肾小管的位置(剂量:5 mg/kg;观察时间:第5天)。当使用致死剂量(16 mg/kg)时,顺铂发现肾上柱(观察时间:第3天),而在髓质(亨利环和收集管环的位置)中顺铂水平最低。此外,发现顺铂的腹膜内应用具有储库效应,与静脉途径相比,从而延长了顺铂的血清半衰期。另外在多次重复给予顺铂(ip; 5个循环,16 mg/m²;每个循环之间经过的时间为21天)后,肾脏中相对顺铂浓度在第一和第二周期之间降低;从第二个周期到第五个周期,体内浓度几乎保持不变,而在第五个周期后,浓度显著增加。同样,另一个研究小组观察到,顺铂的多次重复给药导致每个周期肾脏清除率降低和顺铂在顺铂中的积累增加(静脉注射;5个/kg的3个周期,每个周期之间的21天清除期)[11][12][13][14][15]。

3. 顺铂的代谢机制

在啮齿动物中,顺铂从肾小球滤液进入肾上皮细胞主要通过铜转运蛋白1(Ctr1)介导的主动转运,通过有机阳离子转运蛋白2(OCT2),并且在较小程度上通过被动扩散(胞饮作用)。在啮齿动物中,Ctr1主要位于近端和左侧小管的基底外侧,OCT2在近端小管的基底外侧膜高度表达,MATE1定位于近端小管的刷状缘膜,而被动扩散(胞饮作用)通过细胞膜(脂筏)发生在近端小管上皮细胞的顶膜[16][17][18]。

在肾上皮细胞中顺铂经历代谢活化至高反应性分子,其影响细胞抗氧化系统(氧化和亚硝化状态),通过降低的超氧化物歧化酶(SOD),过氧化氢酶(CAT),谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)活性证明)谷胱甘肽(GSH),谷胱甘肽二硫化物(GSSG)和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)水平降低,并与不同的细胞成分和大分子相互作用,引起蛋白质的功能和结构损伤(通过羰基的形成和P的减少证明)-SH-巯基蛋白质),脂质(增加的丙二醛(MDA),4-羟基壬烯醛-(4-HNE-)氧化损伤)和细胞器如线粒体和内质网,并且许多分子途径在肾小管上皮细胞中被触发。顺铂肾毒性导致溶酶体和线粒体的数量和大小改变,细胞骨架完整性和细胞极性的破坏,刷状缘的丧失,膜蛋白的错误定位,如钠/钾ATP酶,减少的数量水通道蛋白水通道(集合管中的AQP2和AQP3以及近端肾单位和肾微血管中的AQP1)。根据剂量的不同,顺铂可能导致细胞损伤或细胞死亡,即自噬,细胞凋亡和坏死。为了响应顺铂,许多细胞因子被上调;各种受体和各种白细胞群体被增加或激活,从而导致炎症。肾间质的炎症还会导致严重的肾损伤。局部分泌的细胞因子将循环白细胞吸引到肾组织中。由于红细胞积聚,白细胞堵塞,毛细血管通透性增加以及血浆水渗漏到肾间质中会影响肾功能,导致近端和远端肾小管重吸收能力受损,肾血流量发生可逆变化,肾血管阻力增加(过滤减少)在大鼠顺铂给药后2~3天观察到由于传入小动脉血管收缩引起的压力,5 mg/kg腹膜内注射。顺铂对啮齿动物的脉管系统和肾小球有直接影响[19]。肾脏血管损伤在顺铂给药后1天报告。通过电子显微镜观察到管周微血管的结构变化为内皮细胞肿胀,细胞质空泡化,核变性和脱离。近端和远端小管的损伤降低了肾小管细胞的再吸收能力,导致肾小球滤过率(GFR)降低,多尿是由于肾单位水通道表达减少导致肾小管重吸收减少,即水通道蛋白,尿液浓缩能力明显缺陷,蛋白质排泄增加,糖尿(尿糖萎缩),镁

排泄增加,降低肌酐(Cr)清除率,增加过氧化氢的产生,并降低抗氧化能力[20]。广泛的形态学损伤和功能障碍最终导致肾脏无法清除血液中的含氮废物。结果,血尿素氮(BUN)和尿酸在血液中积聚(即,氮质血症表示血液中含氮废物产物水平升高,高尿酸血症表示血液中过量的尿酸)。用作诊断啮齿动物肾毒性的生物标志物的最常见代谢物是 BUN 和血清 Cr,而由于技术原因 GFR 测量较少[21] [22] [23] [24] [25]。经典的 GFR 测量包括在延长的时间段(5~24 小时)内重复进行血液和/或连续尿液采样,而新的 GFR 方法包括植入经皮装置[26] [27] [28] [29] [30]。

4. 诊断学方法模型在顺铂副作用中的应用

分诊断学方法动物模型结果表明,顺铂啮齿动物模型与人肾毒性具有很多相似之处。但是,需要更好的标记。在临床实践中,肾损伤的诊断主要基于临床标志物如 BUN 和血清 Cr,补充了用不同方程估计的 GFR 数据,其中包括年龄,性别和种族等其他变量。在啮齿动物中,肾毒性的诊断基于血清中 BUN 和/或 Cr 的测定和组织学评估。BUN 和 Cr 的水平可能受到许多其他生理事件的影响,例如蛋白质合成的变化,由于饥饿或体重减轻导致的退化,胃或肠道出血和脱水,所有这些都是通常见于顺铂模型,可能导致潜在低估肾实质损害程度。此外,BUN 和 Cr 缺乏检测肾损伤早期的敏感性。在 BUN 或 Cr 增加之前,肾脏内的结构损伤可能存在。在轻度 AKI 的情况下,BUN 和 Cr 通常处于正常水平。在大鼠和人类中超过 50%的肾单位功能受损之前,通常看不到 BUN 和 Cr 的增加,而在小鼠中,在 70%~75%的肾单位丢失后,BUN 和 Cr 升高。这通常表示严重的肾毒性。由于目前肾功能参数的缺点,组织学评估是目前确定动物研究中肾毒性程度最可靠的方法,特别是在轻度至中度 AKI 的小鼠中。

生物标志物应该非侵入性的,指示肾脏损伤,并且能够在发生显着的组织学或功能变化之前检测肾损伤。在啮齿动物中,在肾损伤的急性期收集血液(用于生物标志物测量),可能会导致恶化 AKI,并且可能导致动物死亡。已经鉴定了几种 AKI 在大鼠中的候选生物标志物,例如肾损伤分子-1 (KIM-1),凝集素和骨桥蛋白。在尿液或血液中检测到的一些蛋白质被批准用于非临床药物开发。

关于顺铂模型,特别是小鼠模型的一个不可忽视的问题是,啮齿动物的形态变化与人体活检中观察到的不同。有人认为,人肾活检中的急性肾小管坏死并不能准确反映这种情况下的形态变化。本质上,ATN (急性肾小管坏死)是这样一种情况,即有充足的肾脏灌注,以便有足够的血流量来维持肾小管的完整性,但不能维持肾小球滤过。研究报告显示,在临床环境中患有严重 AKI 的患者显示几乎正常的组织学图像或仅有近端小管,远端小管和集合管中的变性,坏死和再生变化的散发性轻度病变。重要的是,在临床实践中,AKI 的诊断主要基于临床标志物如 BUN 和血清 Cr 的升高和/或尿量的下降。肾活检很少在重症患者中进行,主要是由于感知出血并发症的风险和一般缺乏治疗[31]。

5. 展望

顺铂肾毒性是一种非常复杂的疾病,它涉及肾脏中复杂的局部事件和体内复杂的相互联系和相互依赖的全身作用。因此,诊断学方法模型在急性和慢性肾损伤的研究中是必不可少的。虽然顺铂啮齿动物模型易于诱导,并不昂贵,并且与人顺铂肾毒性有许多相似之处,但重要的是要考虑到顺铂剂量方案的选择显著影响着模型的特征和研究结果。但另一方面,如果使用诊断学方法模型不当,可能会妨碍结果的解释和有用性,例如,当顺铂剂量导致全身毒性而不是肾毒性或当没有最佳选择诊断轻度肾损伤的时间范围或方法时。因此,重要的是要认识到每种顺铂方案都有其自身的优点和局限性。因此,诊断学方法模型的选择应基于特定研究的范围和目标以及特定顺铂方案的特征和限制。然而,由于道德和科学原因,应避免使用引起急性全身毒性的顺铂方案。此外,研究表明,许多因素可影响啮齿动物对顺铂毒性的易感性。

参考文献

- [1] Uccelli, A., Moretta, L. and Pistoia, V. (2008) Mesenchymal Stem Cells in Health and Disease. *Nature Reviews Immunology*, **8**, 726-736. <https://doi.org/10.1038/nri2395>
- [2] Chawla, L.S., Eggers, P.W., Star, R.A. and Kimmel, P.L. (2014) Acute Kidney Injury and Chronic Kidney Disease as Interconnected Syndromes. *The New England Journal of Medicine*, **371**, 58-66. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1214243>
- [3] Ozkok, A. and Edelstein, C.L. (2014) Pathophysiology of Cisplatin-induced Acute Kidney Injury. *BioMed Research International*, **2014**, Article ID: 967826.
- [4] Zhang, J., Goering, P.L., Espandiar, P., et al. (2009) Differences in Immunolocalization of Kim-1, RPA-1, and RPA-2 in Kidneys of Gentamicin-, Cisplatin-, and Valproic Acid-Treated Rats: Potential Role of iNOS and Nitrotyrosine. *Toxicologic Pathology*, **37**, 629-643. <https://doi.org/10.1177/0192623309339605>
- [5] Cepeda, V., Fuentès, M.A., Castilla, J., Alonso, C., Quevedo, C. and Pérez, J.M. (2007) Biochemical Mechanisms of Cisplatin Cytotoxicity. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, **7**, 3-18. <https://doi.org/10.2174/187152007779314044>
- [6] Zhu, S., Pabla, N., Tang, C., He, L. and Dong, Z. (2015) DNA Damage Response in Cisplatin-Induced Nephrotoxicity. *Archives of Toxicology*, **89**, 2197-2205. <https://doi.org/10.1007/s00204-015-1633-3>
- [7] Ali, B.H. and Al Moundhri, M.S. (2006) Agents Ameliorating or Augmenting the Nephrotoxicity of Cisplatin and Other Platinum Compounds: A Review of Some Recent Research. *Food and Chemical Toxicology*, **44**, 1173-1183. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.01.013>
- [8] Večerić-Haler, Ž., Cerar, A. and Perse, M. (2017) (Mesenchymal) Stem Cell-Based Therapy in Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury Animal Model: Risk of Immunogenicity and Tumorigenicity. *Stem Cells International*, **2017**, Article ID: 7304643.
- [9] Heyman, S.N., Rosen, S. and Rosenberger, C. (2009) Animal Models of Renal Dysfunction: Acute Kidney Injury. *Expert Opinion on Drug Discovery*, **4**, 629-641.
- [10] Dobyán, D.C., Levi, J., Jacobs, C., Kosek, J. and Weiner, M.W. (1980) Mechanism of Cis-Platinum Nephrotoxicity: II. Morphologic Observations. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **213**, 551-556.
- [11] Dobyán, D.C. (1985) Long-Term Consequences of Cis-Platinum-induced Renal Injury: A Structural and Functional Study. *Anatomical Record*, **212**, 239-245. <https://doi.org/10.1002/ar.1092120304>
- [12] Sendao, M.C., Francescato, H.D., Antunes, L.M., Costa, R.S. and Bianchi Mde, L. (2006) Comparative Study of Multiple Dosage of Quercetin against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity and Oxidative Stress in Rat Kidneys. *Pharmacological Reports*, **58**, 526-532.
- [13] Amate, J.Y., Ishida, A., Tsujino, K., et al. (1996) Immunohistochemical Study of Rat Renal Interstitial Fibrosis Induced by Repeated Injection of Cisplatin, with Special Reference to the Kinetics of Macrophages and Myofibroblasts. *Toxicologic Pathology*, **24**, 199-206. <https://doi.org/10.1177/019262339602400208>
- [14] Yamate, J., Sato, K., Ide, M., et al. (2002) Participation of Different Macrophage Populations and Myofibroblastic Cells in Chronically Developed Renal Interstitial Fibrosis after Cisplatin-Induced Renal Injury in Rats. *Veterinary Pathology*, **39**, 322-333. <https://doi.org/10.1354/vp.39-3-322>
- [15] Yamate, J., Machida, Y., Ide, M., et al. (2005) Cisplatin-Induced Renal Interstitial Fibrosis in Neonatal Rats, Developing as Solitary Nephron Unit Lesions. *Toxicologic Pathology*, **33**, 207-217. <https://doi.org/10.1080/01926230490523978>
- [16] Palant, C.E., Amdur, R.L. and Chawla, L.S. (2016) The Acute Kidney Injury to Chronic Kidney Disease Transition: A Potential Opportunity to Improve Care in Acute Kidney Injury. *Contributions to Nephrology*, **187**, 55-72.
- [17] Palant, C.E., Chawla, L.S., Faselis, C., et al. (2016) High Serum Creatinine Nonlinearity: A Renal Vital Sign? *American Journal of Physiology Renal Physiology*, **311**, F305-F309. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00025.2016>
- [18] Sharp, C.N. and Siskind, L.J. (2017) Developing Bettermouse Models to Study Cisplatin-Induced Kidney Injury. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, **313**, F835-F841. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00285.2017>
- [19] Skrypnik, N.I., Siskind, L.J., Faube, S. and de Caestecker, M.P. (2016) Bridging Translation for Acute Kidney Injury with Better Preclinical Modeling of Human Disease. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, **310**, F972-F984. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00552.2015>
- [20] Rosen, S. and Heyman, S.N. (2001) Difficulties in Understanding Human "Acute Tubular Necrosis": Limited Data and Flawed Animal Models. *Kidney International*, **60**, 1220-1224. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2001.00930.x>
- [21] Heyman, S.N., Rosenberger, C. and Rosen, S. (2011) Acute Kidney Injury: Lessons from Experimental Models. *Contributions to Nephrology*, **169**, 286-296. <https://doi.org/10.1159/000313957>

- [22] Kociba, R.J. and Sleight, S.D. (1971) Acute Toxicologic and Pathologic Effects of cis-Diamminedichloroplatinum (NSC-119875) in the Male Rat. *Cancer Chemotherapy Reports*, **55**, 1-8.
- [23] Fillastre, J.P. and Raguenez-Viotte, G. (1989) Cisplatin Nephrotoxicity. *Toxicology Letters*, **46**, 163-175. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(89\)90125-2](https://doi.org/10.1016/0378-4274(89)90125-2)
- [24] Yao, X., Panichpisal, K., Kurtzman, N. and Nugent, K. (2007) Cisplatin Nephrotoxicity: A Review. *The American Journal of the Medical Sciences*, **334**, 115-124. <https://doi.org/10.1097/MAJ.0b013e31812dfe1e>
- [25] Dasari, S. and Tchounwou, P.B. (2014) Cisplatin in Cancer Therapy: Molecular Mechanisms of Action. *European Journal of Pharmacology*, **740**, 364-378. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.025>
- [26] dos Santos, N.A.G., Rodrigues, M.A.C., Martins, N.M. and dos Santos, A.C. (2012) Cisplatin-Induced Nephrotoxicity and Targets of Nephroprotection: An Update. *Archives of Toxicology*, **86**, 1233-1250. <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0821-7>
- [27] Miller, R.P., Tadagavadi, R.K., Ramesh, G. and Reeves, W.B. (2010) Mechanisms of Cisplatin Nephrotoxicity. *Toxins (Basel)*, **2**, 2490-2518. <https://doi.org/10.3390/toxins2112490>
- [28] Sanchez-Gonzalez, P.D., Lopez-Hernandez, F.J., Lopez-Novoa, J.M. and Morales, A.I. (2011) An Integrative View of the Pathophysiological Events Leading to Cisplatin Nephrotoxicity. *Critical Reviews in Toxicology*, **41**, 803-821. <https://doi.org/10.3109/10408444.2011.602662>
- [29] Okada, A., Fukushima, K., Fujita, M., *et al.* (2017) Alterations in Cisplatin Pharmacokinetics and Its Acute/Sub-Chronic Kidney Injury over Multiple Cycles of Cisplatin Treatment in Rats. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **40**, 1948- 1955. <https://doi.org/10.1248/bpb.b17-00499>
- [30] Siddik, Z.H., Newell, D.R., Boxall, F.E. and Harrap, K.R. (1987) The Comparative Pharmacokinetics of Carboplatin and Cisplatin in Mice and Rats. *Biochemical Pharmacology*, **36**, 1925-1932. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(87\)90490-4](https://doi.org/10.1016/0006-2952(87)90490-4)
- [31] Teobaldi, G., Hofer, W.A., Bikondoa, O., Pang, C.L. Cabailh, G. and Thornton, G. (2007) Modelling STM Images of TiO₂(1 1 0) from First-Principles: Defects, Water Adsorption and Dissociation Products. *Chemical Physics Letters*, **437**, 73-78. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2007.01.068>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2164-540X, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: md@hanspub.org