

枸杞多糖调节 Nrf2/HO-1/GPX4 铁死亡途径对妊娠期糖尿病大鼠胰岛素抵抗的改善作用

张翠翠, 谢 玲*, 孙文萍

(青海红十字医院产一科, 青海 西宁 810099)

摘要: **目的** 探讨枸杞多糖调节 Nrf2/HO-1/GPX4 铁死亡途径对妊娠期糖尿病 (GDM) 大鼠胰岛素抵抗的改善作用。**方法** 将 SD 成年大鼠雌雄合笼得到孕鼠, 建立 GDM 模型, 随机分为模型组, 枸杞多糖低、中、高剂量组, ferrostatin-1 组, 每组 8 只, 另设对照组, 腹腔注射等剂量柠檬酸缓冲液。末次给药 24 h 后, 检测大鼠 FBG、FINS、IRI 水平。再次复制 GDM 模型 32 只, 随机分为模型组、枸杞多糖组、ML385 组、枸杞多糖+ML385 组, 另设对照组。药物分组干预后, 检测大鼠 FBG、FINS、IRI、TG、TC 水平, 妊娠第 19 天检测母体及胎鼠体质量以及血清 IL-18、IL-6、SOD、MDA 水平, 子宫内膜组织 ACSL4、PTGS2、Nrf2/HO-1/GPX4 通路蛋白表达。**结果** 与对照组比较, 模型组大鼠 FBG、FINS、IRI, 母体及胎鼠体质量, 血清 TG、TC、IL-18、IL-6、MDA 水平, 子宫内膜组织 ACSL4、PTGS2 蛋白表达升高 ($P<0.05$), 血清 SOD 水平、子宫内膜组织 Nrf2、HO-1、GPX4 蛋白表达降低 ($P<0.05$); 与枸杞多糖+ML385 组比较, 枸杞多糖组大鼠 FBG、FINS、IRI, 母体及胎鼠体质量, 血清 TG、TC、IL-18、IL-6、MDA 水平, 子宫内膜组织 ACSL4、PTGS2 蛋白表达降低 ($P<0.05$), 血清 SOD、子宫内膜组织 Nrf2、HO-1、GPX4 蛋白表达升高 ($P<0.05$)。**结论** 枸杞多糖可通过促进 Nrf2/HO-1/GPX4 信号传导, 抑制铁死亡途径, 降低 GDM 大鼠血糖血脂水平, 减弱其胰岛素抵抗。

关键词: 枸杞多糖; 妊娠期糖尿病; 胰岛素抵抗; Nrf2/HO-1/GPX4; 铁死亡途径

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)02-0626-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.02.046

妊娠期糖尿病 (GDM) 是首次出现在妊娠期的糖尿病, 胰岛素抵抗是其主要病理特征, 可阻碍机体有效利用胰岛素, 导致血糖不受控地升高, 严重影响胎儿生长发育, 极大增加孕妇分娩结局不良的风险^[1-2]。氧化应激和炎症反应与 GDM 患者胰岛素抵抗的增强密切相关, 可影响糖脂代谢, 导致血糖升高, 并引发高血脂及肥胖, 通过抗炎、抗氧化和胰岛素增敏可有效改善孕妇肥胖症状, 利于胎儿发育及产妇安全分娩^[3]。枸杞多糖是枸杞子的主要活性成分, 可改善机体糖代谢紊乱^[4], 并可通过抑制炎症反应减轻糖尿病大鼠肾功能损伤^[5]。铁死亡在 2 型糖尿病、GDM 的发生发展过程中起到关键调控作用, 抑制铁死亡可减弱胰腺 β 细胞丢失和功能障碍^[6], 减轻高糖刺激下的滋养层细胞氧化应激损伤, 改善 GDM 症状^[7]。促进核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2)/血红素加氧酶-1 (HO-1)/谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPX4) 表达可抑制炎症和过氧化反应, 减轻细胞铁死亡, 改善糖尿病肾病症状^[8]。因此 Nrf2/HO-1/GPX4 信号可做防治 GDM 的潜在作用靶点, 但枸杞多糖是否可通过调节该途径改善 GDM 大鼠胰岛素抵抗, 目前还尚未研究清楚。本研究以枸杞多糖干预 GDM 大鼠, 探究其作用机

制, 以期为其深入研究提供依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 SD 大鼠购自湖北省实验动物研究中心, 实验动物生产许可证号 SCXK (鄂) 2015-0018, 雌雄比例为 2:1, 雄性体质量 190~210 g, 雌性体质量 170~190 g。严格遵循《中华人民共和国实验动物管理条例》的规定, 并经过青海红十字医院动物伦理委员会批准 (伦理号 202102-11), 于青海红十字医院动物中心分笼适应饲养, 实验动物使用许可证号 SYXK (青) 2020-0001, 每笼 5~6 只, 实验操作均符合 3R 原则。

1.2 试剂与药物 枸杞多糖 (纯度 $\geq 90\%$, 批号 20170523), 生理盐水溶解混匀, 制得质量浓度为 10、20、40 mg/mL 的枸杞多糖药液^[9]; 铁死亡抑制剂 ferrostatin-1 (纯度 $>98.00\%$, 批号 20160213), 生理盐水溶解混匀, 制得质量浓度为 0.07 mg/mL 的 ferrostatin-1 药液^[10]。链脲佐菌素 (纯度 $\geq 98\%$, 批号 20190406) 购自北京索莱宝科技有限公司; ML385 (纯度 $>98.00\%$, 批号 20150427) 购自美国 Glpbio 公司; 全蛋白提取试剂盒 (批号 20180426)、白细胞介素-6 (IL-6) 测试盒 (批号 20141120)、羊抗兔二

收稿日期: 2023-01-11

基金项目: 青海省科技项目 (2016-SF-127)

作者简介: 张翠翠 (1983—), 女, 副主任医师, 从事妇产科方向基础研究。Tel: 18997289949, E-mail: zcui077@163.com

* 通信作者: 谢 玲 (1973—), 女, 主任医师, 从事妊娠期糖尿病研究。Tel: 18997285541, E-mail: xieling200873@126.com

抗（批号 20170711）、白细胞介素-18（IL-18）试剂盒（批号 20181105）、BCA 法总蛋白定量检测试剂盒（批号 20180921）购自南京建成生物工程研究所有限公司；丙二醛（MDA）试剂盒（批号 20190610）、超氧化物歧化酶（SOD）试剂盒（批号 20190421）、兔源 β -actin 一抗（批号 20131103）购自上海碧云天生物技术有限公司；兔源长链脂酰辅酶 A 合成酶 4（ACSL4）一抗（批号 20150622）、兔源环加氧酶 2（PTGS2）一抗（批号 20160321）、兔源 Nrf2 一抗（批号 20140724）、兔源 GPX4 一抗（批号 20140724）、兔源 HO-1 一抗（批号 20190417）购自英国 Abcam 公司。

1.3 仪器 全自动干式生化分析仪（型号 SD1）购自成都斯马特科技有限公司；葡萄糖/乳酸分析仪（型号 BIOSEN C_Line）购自北京德福康科贸有限公司；多功能酶标仪（型号 SpectraMax iD3）购自美国 Molecular Devices 公司；电泳仪（型号 JS-power600）、化学发光成像系统（型号 JS-1070P）购自上海培清科技有限公司；快速湿转仪（型号 eBlot L1）购自南京贝登医疗股份有限公司。

2 方法

2.1 GDM 大鼠模型制备及分组干预 以 2：1 的比例将性成熟雌、雄大鼠合笼，次日检查阴栓即得到孕鼠 43 只，标记为妊娠第 1 天，同时腹腔注射 45 mg/kg 链脉佐菌素（以柠檬酸缓冲液溶解），3 d 后采集尾静脉血，检测空腹血糖（FBG），选择 FBG ≥ 16.7 mmol/L 的孕鼠作为造模成功大鼠进入后续实验^[11]。40 只造模成功的大鼠以随机数表法分为模型组，枸杞多糖低、中、高剂量组（100、200、400 mg/kg），ferrostatin-1 组（0.7 mg/kg），每组 8 只。另设对照组注射等体积柠檬酸缓冲液。

枸杞多糖各剂量组孕鼠分别灌胃给予枸杞多糖药液 10 mL/kg，同时腹腔注射生理盐水 10 mL/kg；ferrostatin-1 组孕鼠灌胃给予生理盐水 10 mL/kg，同时腹腔注射 ferrostatin-1 药液 10 mL/kg；对照组、模型组孕鼠灌胃并腹腔注射给予生理盐水 10 mL/kg，各组孕鼠均于妊娠第 4 天后给药，每天 1 次，连续 14 d。

2.2 大鼠胰岛素抵抗指数检测 末次给药 24 h 后，采集各组大鼠尾静脉血，葡萄糖/乳酸分析仪检测 FBG 水平，全自动分析仪检测胰岛素（FINS）水平，计算胰岛素抵抗指数（IRI），公式为 IRI=FBG×FINS/22.5，评估胰岛素抵抗水平。

2.3 大鼠 IRI 和血脂检测 按“2.1”项下方法制备 GDM 大鼠模型，随机分为模型组、枸杞多糖（400 mg/kg）组、ML385（Nrf2 抑制剂，30 mg/kg）组、枸杞多糖（400 mg/kg）+ML385（30 mg/kg）组，每组 8 只；另设对照组，注射等体积柠檬酸缓冲液。参照“2.1”项下给药方法分组给药，枸杞多糖（灌胃）与 ML385（腹腔注射）^[12]的剂量分别为 400、30 mg/kg，同样于妊娠第 4 天后给药，每天 1 次，连续 14 d。

末次给药 24 h 后，采集各组大鼠尾静脉血，检测

FBG、FINS 水平，并计算 IRI，同时以全自动分析仪检测孕鼠总胆固醇（TC）、甘油三酯（TG）水平。

2.4 大鼠母体与胎鼠体质量检测 末次给药 24 h 后，各组大鼠置于乙醚气体中麻醉，采集腹主动脉血 1.3 mL，离心吸取上清，分组标记后于-80 ℃保存备用。测得各组孕鼠体质量后断头处死，打开子宫取出胎鼠，无流产记录，计数胎鼠数目，测得所有胎鼠体质量后算出平均值，分离子宫内膜组织，剪下 0.6 g 于液氮中保存备用。

2.5 ELISA 法检测大鼠血清 IL-18、IL-6、SOD、MDA 水平 以冰水浴溶解“2.4”项下血清后，按照相关试剂盒说明书操作，检测血清 IL-18、IL-6、SOD、MDA 水平。

2.6 Western blot 法检测大鼠 PTGS2、ACSL4、Nrf2、HO-1、GPX4 蛋白表达 取各组大鼠液氮处理的子宫内膜组织，研碎，提取蛋白并定量后，每组取 20 μ g 总蛋白煮沸变性，上样电泳，湿转，以脱脂奶粉溶液封闭，经 ACSL4、PTGS2、Nrf2、HO-1、GPX4 兔源一抗孵育、漂洗、羊抗兔二抗孵育、漂洗后，采用化学发光法显影，通过化学发光成像系统采集蛋白条带图像，以 β -actin 为内参，分析灰度值，计算各组蛋白相对表达量。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 24.0 软件进行处理，数据以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，多组间比较采用单因素方差分析，两组间比较采用 *t* 检验，组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 枸杞多糖对 GDM 大鼠 FBG、FINS、IRI 的影响 与对照组比较，模型组大鼠 FBG、FINS、IRI 升高（*P*<0.05）；与模型组比较，各给药组大鼠 FBG、FINS、IRI 降低（*P*<0.05），并且枸杞多糖作用呈剂量依赖性；与枸杞多糖高剂量组比较，ferrostatin-1 组大鼠 FBG、FINS、IRI 升高（*P*<0.05），见表 1。

表 1 枸杞多糖对 GDM 大鼠 FBG、FINS、IRI 的影响（ $\bar{x}\pm s$ ，*n*=8）

组别	FINS/(IU·L ⁻¹)	FBG/(mmol·L ⁻¹)	IRI
对照组	8.34±0.72	4.73±0.45	1.75±0.36
模型组	21.30±2.09 [*]	17.34±1.36 [*]	16.42±1.87 [*]
枸杞多糖低剂量组	17.25±1.21 [#]	13.26±1.04 [#]	10.17±1.04 [#]
枸杞多糖中剂量组	13.16±0.93 [#]	9.17±0.68 [#]	5.36±0.78 [#]
枸杞多糖高剂量组	9.16±1.02 [#]	5.32±0.47 [#]	2.17±0.42 [#]
ferrostatin-1 组	13.08±1.07 ^{#&}	9.12±0.79 ^{#&}	5.30±0.86 ^{#&}

注：与对照组比较，^{*}*P*<0.05；与模型组比较，[#]*P*<0.05；与枸杞多糖高剂量组比较，[&]*P*<0.05。

3.2 抑制 Nrf2 逆转枸杞多糖对大鼠 FBG、FINS、IRI 的影响 与对照组比较，模型组大鼠 FBG、FINS、IRI 升高（*P*<0.05）；与模型组、枸杞多糖+ML385 组比较，枸杞多糖组大鼠 FBG、FINS、IRI 均降低（*P*<0.05），ML385 组大鼠 FBG、FINS、IRI 均升高（*P*<0.05），见表 2。

3.3 枸杞多糖对大鼠血脂水平的影响 与对照组比较，模型组大鼠血清 TG、TC 水平升高（*P*<0.05）；与模型组、枸杞多糖+ML385 组比较，枸杞多糖组大鼠血清 TG、TC 水

平降低 ($P<0.05$)，ML385 组大鼠血清 TG、TC 水平升高 ($P<0.05$)，见表 3。

表 2 抑制 Nrf2 对 GDM 大鼠 FBG、FINS、IRI 的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	FINS/(IU·L ⁻¹)	FBG/(mmol·L ⁻¹)	IRI
对照组	8.21±0.67	4.76±0.51	1.74±0.41
模型组	21.62±1.90 [*]	17.42±1.45 [*]	16.74±1.51 [*]
枸杞多糖组	9.24±0.62 ^{#△}	5.53±0.34 ^{#△}	2.27±0.29 ^{#△}
ML385 组	30.15±0.59 ^{#△}	23.79±1.63 ^{#△}	31.88±3.17 ^{#△}
枸杞多糖+ML385 组	20.13±1.72	16.81±1.02	15.04±0.84

注：与对照组比较，^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ；与枸杞多糖+ML385 组比较，[△] $P<0.05$ 。

表 3 各组大鼠血清 TG、TC 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	TG/(mmol·L ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)
对照组	0.45±0.09	1.41±0.32
模型组	1.71±0.18 [*]	6.83±0.75 [*]
枸杞多糖组	0.50±0.14 ^{#△}	1.52±0.36 ^{#△}
ML385 组	2.92±0.22 ^{#△}	10.91±0.58 ^{#△}
枸杞多糖+ML385 组	1.64±0.13	6.41±0.62

注：与对照组比较，^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ；与枸杞多糖+ML385 组比较，[△] $P<0.05$ 。

表 5 各组大鼠血清 IL-6、IL-18、SOD、MDA 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	IL-18/(ng·L ⁻¹)	IL-6/(ng·L ⁻¹)	SOD/(U·L ⁻¹)	MDA/(nmol·L ⁻¹)
对照组	26.41±3.12	50.63±9.82	27.56±3.64	13.81±2.24
模型组	58.67±6.03 [*]	189.75±34.21 [*]	10.02±1.13 [*]	36.92±4.13 [*]
枸杞多糖组	28.52±3.96 ^{#△}	59.02±10.25 ^{#△}	24.97±4.01 ^{#△}	15.62±2.46 ^{#△}
ML385 组	79.24±8.31 ^{#△}	253.18±15.93 ^{#△}	3.12±0.45 ^{#△}	50.31±5.39 ^{#△}
枸杞多糖+ML385 组	56.13±4.02	182.91±27.36	11.93±1.27	34.75±3.62

注：与对照组比较，^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ；与枸杞多糖+ML385 组比较，[△] $P<0.05$ 。

3.6 枸杞多糖对大鼠子宫内组织 PTGS2、ACSL4、Nrf2、HO-1、GPX4 蛋白表达的影响 与对照组比较，模型组大鼠子宫内组织 PTGS2、ACSL4 蛋白表达升高 ($P<0.05$)，Nrf2、HO-1、GPX4 蛋白表达降低 ($P<0.05$)；与模型组、枸杞多糖+ML385 组比较，枸杞多糖组大鼠子宫内组织 PTGS2、ACSL4 蛋白表达降低 ($P<0.05$)，Nrf2、HO-1、GPX4 蛋白表达升高 ($P<0.05$)，ML385 组大鼠子宫内组织 PTGS2、ACSL4 蛋白表达升高 ($P<0.05$)，Nrf2、HO-1、GPX4 蛋白表达降低 ($P<0.05$)，见图 1、表 6。

4 讨论

随着生活水平提高，人们饮食结构改变，营养过剩普遍存在，我国 GDM 发生率也逐年提升，严重威胁妇女生殖健康^[13-14]。本研究于 SD 大鼠腹腔内注射链脲佐霉素诱导建立 GDM 模型，结果显示链脲佐菌素注射可破坏胰岛细胞功能，升高血糖血脂水平，促使炎症细胞因子合成释放，进而引发炎症与氧化应激，增加血中胰岛素水平，造成胰岛素抵抗，最终导致母体及胎鼠肥胖，体质量明显增加，表明 GDM 模型建立成功。

胰岛素抵抗是引发糖脂代谢紊乱，促使 GDM 发生的主要病理基础，炎症反应、氧化应激等多种致病因素参与其

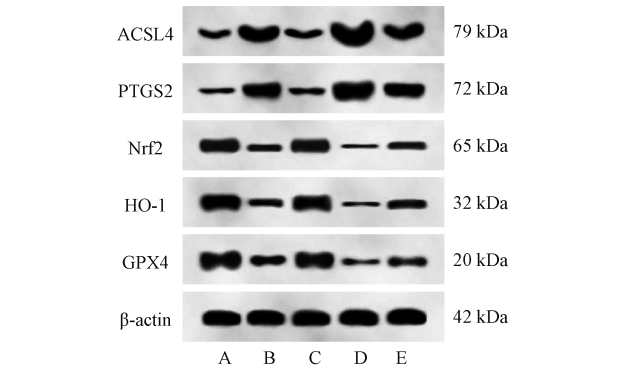
3.4 枸杞多糖对大鼠母体及胎鼠体质量的影响 与对照组比较，模型组大鼠母体体质量、胎鼠体质量升高 ($P<0.05$)；与模型组、枸杞多糖+ML385 组比较，枸杞多糖组大鼠母体体质量、胎鼠体质量降低 ($P<0.05$)，ML385 组大鼠母体体质量、胎鼠体质量升高 ($P<0.05$)，见表 4。

表 4 各组大鼠母体及胎鼠体质量比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	母体体质量/g	平均子鼠数量/只	胎鼠体质量/g
对照组	310.48±4.12	10.50±1.84	4.22±0.15
模型组	361.23±5.36 [*]	11.13±1.68	5.70±0.42 [*]
枸杞多糖组	315.02±6.03 ^{#△}	10.75±1.52	4.84±0.36 ^{#△}
ML385 组	389.78±3.92 ^{#△}	10.25±1.46	6.85±0.39 ^{#△}
枸杞多糖+ML385 组	356.84±3.28	10.88±1.34	5.36±0.37

注：与对照组比较，^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ；与枸杞多糖+ML385 组比较，[△] $P<0.05$ 。

3.5 枸杞多糖对大鼠血清 IL-6、IL-18、SOD、MDA 水平的影响 与对照组比较，模型组大鼠血清 IL-6、IL-18、MDA 水平升高 ($P<0.05$)，SOD 水平降低 ($P<0.05$)；与模型组、枸杞多糖+ML385 组比较，枸杞多糖组大鼠血清 IL-6、IL-18、MDA 水平降低 ($P<0.05$)，SOD 水平升高 ($P<0.05$)，ML385 组大鼠血清 IL-6、IL-18、MDA 水平升高 ($P<0.05$)，SOD 水平降低 ($P<0.05$)，见表 5。



注：A 为对照组，B 为模型组，C 为枸杞多糖组，D 为 ML385 组，E 为枸杞多糖+ML385 组。

图 1 各组大鼠子宫内组织 ACSL4、PTGS2、Nrf2、HO-1、GPX4 蛋白条带图

中，限制炎症反应、降低氧化应激可提高胰岛素敏感性，减轻 GDM 孕妇高血糖症状^[15-16]。枸杞多糖具有降糖降脂、抗氧化应激、消炎抑菌及增强免疫力等多种功效，能抑制 NF-κB 信号激活，减少高糖诱导的促炎因子合成^[17]，降低 2 型糖尿病大鼠血糖并减弱其胰岛素抵抗^[18]。本实验以不同剂量枸杞多糖处理 GDM 大鼠，可降低 FINS、FBG 水平

表 6 各组大鼠子宫内 膜组织 PTGS2、ACSL4、Nrf2、HO-1、GPX4 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	ACSL4	PTGS2	Nrf2	HO-1	GPX4
对照组	0.48±0.06	0.35±0.04	0.87±0.09	0.94±0.14	1.01±0.22
模型组	1.21±0.14 [*]	0.96±0.11 [*]	0.43±0.05 [*]	0.47±0.06 [*]	0.52±0.07 [*]
枸杞多糖组	0.59±0.07 ^{#△}	0.43±0.05 ^{#△}	0.81±0.10 ^{#△}	0.90±0.12 ^{#△}	0.95±0.06 ^{#△}
ML385 组	1.75±0.15 ^{#△}	1.41±0.18 ^{#△}	0.12±0.03 ^{#△}	0.13±0.02 ^{#△}	0.20±0.04 ^{#△}
枸杞多糖+ML385 组	1.16±0.13	0.92±0.16	0.45±0.07	0.51±0.10	0.54±0.12

注：与对照组比较,^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较,[#] $P<0.05$ ；与枸杞多糖+ML385 组比较,[△] $P<0.05$ 。

及 IRI，具有剂量依赖性，表明枸杞多糖可改善糖代谢紊乱，有效降低血糖水平，减弱胰岛素抵抗。以高剂量枸杞多糖处理 GDM 大鼠，不仅可降低 FINS、FBG 水平及 IRI，还可降低血脂及炎性细胞因子水平，减弱氧化应激，最终改善母体及胎鼠肥胖症状。

铁死亡在 GDM 的发病机制及病情发展中发挥着重要作用，减弱铁死亡可减轻氧化应激损伤，有效改善 GDM 大鼠子宫和胎盘功能失调^[19]。本研究以铁死亡特异性抑制剂 ferrostatin-1 处理 GDM 大鼠，可明显降低 FINS、FBG 水平及 IRI，表明铁死亡参与介导 GDM 的发生发展，抑制铁死亡可减轻 GDM 大鼠胰岛素抵抗，改善母体及胎鼠肥胖症状。Nrf2/HO-1/GPX4 信号可抑制早期炎症和氧化应激，降低胰岛细胞铁死亡水平，改善胰岛功能障碍，促使移植的胰岛存活，有效治疗 1 型糖尿病^[20]。本研究以 Nrf2 抑制剂 ML385 处理 GDM 大鼠，可降低 Nrf2/HO-1/GPX4 通路蛋白表达，促使炎性细胞因子进一步合成释放，升高氧化应激水平，使铁死亡标志蛋白 ACSL4^[11]、PTGS2^[19]表达升高，促进铁死亡，加重孕鼠胰岛素抵抗及肥胖症状。当 ML385 和枸杞多糖联合处理 GDM 大鼠，ML385 可减弱枸杞多糖对铁死亡及胰岛素抵抗的抑制作用，并逆转其对 GDM 大鼠母体及胎鼠健康的保护作用。

综上所述，枸杞多糖可上调 Nrf2/HO-1/GPX4 通路蛋白表达，从而减少炎性细胞因子合成释放，减轻氧化应激，抑制铁死亡途径，增强胰岛素敏感性，促使糖脂代谢恢复，减弱胰岛素抵抗。本研究为枸杞多糖的临床推广应用、克服 GDM 潜在危害、预防相关疾病进一步发展提供了新的科学依据，并为 GDM 的防治做出了一定贡献。

参考文献：

[1] Wu Y X, Liu B Y, Sun Y B, *et al.* Association of maternal prepregnancy diabetes and gestational diabetes mellitus with congenital anomalies of the newborn[J]. *Diabetes Care*, 2020, 43(12): 2983-2990.

[2] Feng W H, Wang Y X, Guo N, *et al.* Effects of astaxanthin on inflammation and insulin resistance in a mouse model of gestational diabetes mellitus [J]. *Dose Response*, 2020, 18 (2): 1559325820926765.

[3] Formoso G, Baldassarre M P A, Ginestra F, *et al.* Inositol and antioxidant supplementation: Safety and efficacy in pregnancy [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2019, 35(5): e3154-e3167.

[4] 赵贵芳, 贾旭, 何江双, 等. 枸杞多糖在防治糖尿病中的

作用[J]. 吉林医药学院学报, 2019, 40(6): 442-444.

[5] 曲芳萱, 边义莹, 于洋, 等. 枸杞多糖通过 TLR4/MyD88 通路抑制糖尿病肾病大鼠炎症反应[J]. 解剖科学进展, 2020, 26(4): 378-382.

[6] Li D, Jiang C J, Mei G B, *et al.* Quercetin alleviates ferroptosis of pancreatic β cells in type 2 diabetes[J]. *Nutrients*, 2020, 12(10): 2954-2968.

[7] Han D D, Jiang L L, Gu X L, *et al.* SIRT3 deficiency is resistant to autophagy-dependent ferroptosis by inhibiting the AMPK/mTOR pathway and promoting GPX4 levels[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(11): 8839-8851.

[8] Wu Y, Zhao Y, Yang H Z, *et al.* HMGB1 regulates ferroptosis through Nrf2 pathway in mesangial cells in response to high glucose[J]. *Biosci Rep*, 2021, 41(2): BSR20202924.

[9] 卢海霞, 张晓霞, 朱丽丽, 等. 枸杞多糖对 2 型糖尿病大鼠外周血、肾脏与脾脏髓源抑制性细胞及血浆炎症因子的影响[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(11): 2600-2605.

[10] Li N, Wang W, Zhou H, *et al.* Ferritinophagy-mediated ferroptosis is involved in sepsis-induced cardiac injury[J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 160: 303-318.

[11] 杨春荣, 张莉莉, 韩曦. 妊娠期糖尿病大鼠子宫内 膜组织中 NF- κ B 及 GLUT4 表达与胰岛素抵抗发生的相关性[J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(13): 1365-1369.

[12] Shan W Y, Liao X Y, Tang Y X, *et al.* Dexmedetomidine alleviates inflammation in neuropathic pain by suppressing NLRP3 *via* Nrf2 activation[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(4): 1046-1054.

[13] Zhu W Q, Shen Y P, Liu J W, *et al.* Epigenetic alternations of microRNAs and DNA methylation contribute to gestational diabetes mellitus [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24 (23): 13899-13912.

[14] Wu Y T, Zhang C J, Mol B W, *et al.* Early prediction of gestational diabetes mellitus in the chinese population *via* advanced machine learning [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2021, 106(3): e1191-e1205.

[15] Li L, Bai Y, Du R Y, *et al.* The role of Smad4 in the regulation of insulin resistance, inflammation and cell proliferation in HTR8-Svneo cells [J]. *Cell Biochem Funct*, 2021, 39(1): 126-138.

[16] Feng Y, Feng Q, Yin S H, *et al.* Stress adaptation disorders play a role in rat gestational diabetes with oxidative stress and glucose transporter-4 expression[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2020, 36(9): 786-790.

[17] 王凌霄, 刘婷婷, 杨晓辉, 等. 枸杞多糖对髓样分化因子 88

- 基因敲除小鼠 2 型糖尿病模型炎症因子的影响[J]. 上海交通大学学报 (医学版), 2019, 39(2): 136-141.
- [18] 白桂荣, 罗 丽, 谢晓敏, 等. 枸杞多糖对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗及其骨骼肌中 GLUT4 表达的影响[J]. 宁夏医科大学学报, 2020, 42(5): 528-531.
- [19] Zhang Y H, Hu M, Jia W Y, *et al.* Hyperandrogenism and insulin resistance modulate gravid uterine and placental ferroptosis in PCOS-like rats [J]. *J Endocrinol*, 2020, 246 (3): 247-263.
- [20] Yao Q, Sun R, Bao S H, *et al.* Bilirubin protects transplanted islets by targeting ferroptosis[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 907-917.

鸡血藤总黄酮对大鼠肾缺血再灌注损伤氧化应激及炎症反应的影响

赖 雯, 范路梅, 徐祖清, 于 晴, 靳文鹏, 丁兆义*
(深圳市龙华区中心医院重症医学科, 广东 深圳 518110)

摘要: **目的** 探讨鸡血藤总黄酮对大鼠肾缺血再灌注损伤氧化应激及炎症反应的影响。**方法** SD 大鼠分为假手术组、模型组及鸡血藤总黄酮低、中、高剂量组 (40、80、160 mg/kg), 连续灌胃给药 7 d 后, 通过夹闭双侧肾蒂法复制肾缺血再灌注损伤模型, 尿素酶-谷氨酸脱氢酶法、肌氨酸氧化酶法检测 BUN 及 Scr 水平, HE 染色法观察肾组织病理变化, 酶联免疫吸附法检测氧化应激指标及炎症反应指标, Western blot 法检测肾组织 NF- κ B p65、Nrf2 及 HO-1 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 鸡血藤总黄酮组大鼠血清 BUN、Scr 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 肾组织病理损伤缓解, 血清及肾组织 MDA、TNF- α 、IL-6 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), CAT、SOD 活性及 IL-10 水平升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 肾组织 Nrf2、HO-1 和细胞浆 NF- κ B p65 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 细胞核 NF- κ B p65 蛋白表达降低 ($P<0.01$)。**结论** 鸡血藤总黄酮具有保护大鼠肾缺血再灌注损伤作用, 该作用与活化 Nrf2/HO-1 信号通路, 阻止 NF- κ B p65 核转位, 进而降低氧化应激水平及抑制炎症反应有关。

关键词: 鸡血藤总黄酮; 肾缺血再灌注损伤; 氧化应激; 炎症反应; NF- κ B p65; Nrf2/HO-1 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)02-0630-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.02.047

肾缺血再灌注损伤 (ischemia reperfusion injury, IRI) 是指肾组织缺血并重新获取血流灌注后使原有损伤进一步加重的现象, 在肾移植排斥与急性肾衰竭的发病中具有重要意义, 并与多种慢性肾脏疾病的进展关系密切, 但目前临床尚缺少有效缓解肾 IRI 的策略^[1-2]。鸡血藤具有保护肝脏损伤、降血糖、抗病毒、抗肿瘤、促进造血功能等多种药理作用, 黄酮类化合物是鸡血藤的重要功效成分之一^[3-4]。研究发现, 鸡血藤总黄酮能减轻脑缺血模型大鼠脑水肿, 降低缺血区面积及丙二醛 (malonaldehyde, MDA) 水平, 并提高超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 等抗氧化物酶活性^[5], 但其对肾缺血或肾 IRI 模型是否具有保护作用未见报道。在乙醇所致的小鼠肝损伤模型中, 鸡血藤总黄酮可以通过降低氧化应激水平发挥抗肝损伤作用^[6]; 在大鼠慢性不可预知应激诱导的抑郁模型中, 鸡血藤总黄酮能通过抑制炎症反应减轻抑郁症状^[7]。由此推测鸡血藤总黄酮对肾 IRI 具有潜在的防治效果^[8]。本研究通过建立大鼠肾 IRI 模型, 探讨鸡血藤总黄酮保护

大鼠肾 IRI 的作用及其与氧化应激、炎症反应的关联性, 为其用于肾 IRI 的防治提供实验依据。

1 材料

1.1 药物与试剂 鸡血藤 (产地云南) 购自药材市场, 经深圳市龙华区中心医院药学部张志威副主任药师鉴定为豆科植物密花豆 *Spatholobus suberectus* Dunn 的藤茎, 经 50% 乙醇提取、分离, 通过聚酰胺树脂精制, 最终获得鸡血藤总黄酮 (质量分数 $\geq 85.0\%$)。血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、肌酐 (serum creatinine, Scr) 检测试剂盒 (批号 ml076479、ml059735, 上海酶联生物科技有限公司); MDA、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、SOD 检测试剂盒 (批号 TW30294、TW30805、TW30284, 上海通蔚实业有限公司); 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin 6, IL-6)、IL-10 检测试剂盒 (批号 20210726、20211103、20211024, 武汉博士德生物工程有限公司); 细胞核/细胞浆蛋白抽提试剂盒 (批号 20196ES60, 上海翊圣生物技术有限公司); 兔抗鼠

收稿日期: 2023-07-19

基金项目: 深圳市龙华区医疗卫生机构科研项目 (2022152)

作者简介: 赖 雯 (1992—), 女, 硕士, 研究方向为重症医学。Tel: 13928408196, E-mail: 13928408196@163.com

* 通信作者: 丁兆义 (1966—), 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向为重症医学。Tel: 15814402292, E-mail: dzy2016dzy@sina.com