

- 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 *Satholobus 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

核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2)、血红素加氧酶-1 (heme oxygenase 1, HO-1)、核因子 κ B p65 (nuclear factor κ B p65, NF- κ B p65)、 β -肌动蛋白 (β -actin)、组蛋白 H3 (Histone H3) 抗体 (批号 sc-722、sc-390991、sc-8008、sc-8432、sc-517385, 美国 Santa Cruz 公司); 辣根酶标记的羊抗兔 IgG 抗体 (批号 211217, 北京索莱宝科技有限公司)。

1.2 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 50 只, 体质量 200~220 g, 购自上海南方模式生物科技股份有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (沪) 2019-0002], 饲养于广州吉妮欧生物科技有限公司 [实验动物使用许可证号 SYXK (粤) 2022-0298], 自由饮水与摄食, 模拟昼夜环境, 每 12 h 更换 1 次光照条件, 保持室温 25 $^{\circ}$ C。动物处死后各项指标检测工作在本院中心实验室进行。本研究严格按照 3R 原则给予实验动物人道关怀, 研究方案经本院实验动物伦理委员会审批通过 (伦理号 GDY2102490)。

1.3 仪器 RM2016 型切片机 (德国 Leica 公司); DYS40 型显微镜 (上海点应光学仪器有限公司); MR-96A 型酶标仪 (南京贝登医疗股份有限公司); XCell SureLock Mini-Cell 型蛋白电泳系统 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

2 方法

2.1 分组及给药 SD 大鼠适应性饲养 3 d, 根据体质量分为假手术组、模型组及鸡血藤总黄酮低、中、高剂量组 (40、80、160 mg/kg), 每组 10 只, 鸡血藤总黄酮给药剂量参考文献 [5] 报道并结合预实验结果; 假手术组及模型组大鼠灌胃给予蒸馏水, 每天 1 次, 灌胃体积为 20 mL/kg, 共给药 7 d。

2.2 肾 IRI 模型复制 通过无创动脉夹夹闭双侧肾蒂法复制肾 IRI 模型^[9]。末次给药 1 h 后, 各组大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 (3 mL/kg) 麻醉, 用手术剪刀在大鼠腹正中处剪 2 cm 左右切口, 暴露双侧肾蒂后, 利用无创动脉夹夹闭阻断血流供应 0.5 h, 松开动脉夹使血流供应恢复, 完成血流的再灌注, 并将切口缝合; 假手术组无动脉夹夹闭操作, 其余操作相同。

表 1 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠血清 BUN 及 Scr 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	BUN/(μ mol·L ⁻¹)	Scr/(μ mol·L ⁻¹)
假手术组	—	15.44 \pm 2.36	92.05 \pm 12.74
模型组	—	69.52 \pm 8.80**	316.29 \pm 57.21**
鸡血藤总黄酮低剂量组	40	51.30 \pm 6.25##	265.42 \pm 34.38#
鸡血藤总黄酮中剂量组	80	38.83 \pm 5.49##	228.61 \pm 29.33##
鸡血藤总黄酮高剂量组	160	30.97 \pm 4.02##	173.18 \pm 25.47##

注: 与假手术组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

3.2 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠肾组织病理变化的影响 假手术组大鼠肾组织形态正常, 无变性坏死情况, 肾小管上皮细胞形态饱满, 肾小管管腔无扩张; 模型组大鼠肾组织出现严重损伤, 肾小管上皮细胞空泡变性、肿胀及脱落, 肾小管管腔扩张, 炎症细胞浸润明显, 肾间质充血、水肿; 鸡血藤总黄酮各剂量组大鼠肾组织损伤程度减轻, 肾小管上皮细胞空泡变性、肿胀缓解, 肾小管管腔扩张情

况有所改善, 炎症细胞浸润及肾间质充血、水肿情况减少, 其中鸡血藤总黄酮高剂量组作用最为显著, 见图 1。

2.3 BUN 及 Scr 水平检测 术后 24 h, 腹主动脉采血, 离心分离血清, 在 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中保存备用。分别采用尿素酶-谷氨酸脱氢酶法、肌氨酸氧化酶法检测大鼠血清 BUN 及 Scr 水平。

2.4 肾组织病理变化观察 取各组大鼠部分肾组织, 依次经固定、包埋、切片及苏木精伊红 (hematoxylin eosin, HE) 染色后, 观察肾组织病理变化。

2.5 氧化应激及炎症反应指标检测 取于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中冻存的血清及肾组织 (肾组织需进行匀浆后分离取上清液), 按照试剂盒说明书, 采用酶联免疫吸附法检测各组大鼠血清及肾组织 MDA 水平、CAT、SOD 活性等氧化应激指标和 TNF- α 、IL-6、IL-10 水平等炎症反应指标。

2.6 Western blot 法检测肾组织 Nrf2、HO-1、NF- κ B p65 蛋白表达 各组大鼠肾组织在冰上用高速匀浆器进行匀浆, 按照试剂盒说明书分别提取总蛋白、核蛋白及浆蛋白, 取等量蛋白与上样缓冲液混合后, 煮沸变性, 进行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 然后转移至硝酸纤维素膜, 用脱脂牛奶封闭 2 h, TBST 缓冲液漂洗, 分别与 Nrf2 (1 : 500)、HO-1 (1 : 500)、NF- κ B p65 (1 : 500)、 β -actin (1 : 1 000)、Histone H3 (1 : 1 000) 抗体在 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜, TBST 缓冲液漂洗, 加入 IgG 二抗 (1 : 2 000) 在室温下继续孵育 2 h, TBST 缓冲液漂洗, 在暗室中用化学发光法显影, 拍照后用 Image J 软件分析条带灰度值。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理, 数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果
3.1 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠血清 BUN 及 Scr 水平的影响 如表 1 所示, 与假手术组比较, 模型组大鼠血清 BUN 及 Scr 水平升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 鸡血藤总黄酮各剂量组大鼠血清 BUN 及 Scr 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 表明鸡血藤总黄酮可以改善肾 IRI 大鼠的肾脏功能。

3.2 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠肾组织病理变化的影响 假手术组大鼠肾组织形态正常, 无变性坏死情况, 肾小管上皮细胞形态饱满, 肾小管管腔无扩张; 模型组大鼠肾组织出现严重损伤, 肾小管上皮细胞空泡变性、肿胀及脱落, 肾小管管腔扩张, 炎症细胞浸润明显, 肾间质充血、水肿; 鸡血藤总黄酮各剂量组大鼠肾组织损伤程度减轻, 肾小管上皮细胞空泡变性、肿胀缓解, 肾小管管腔扩张情

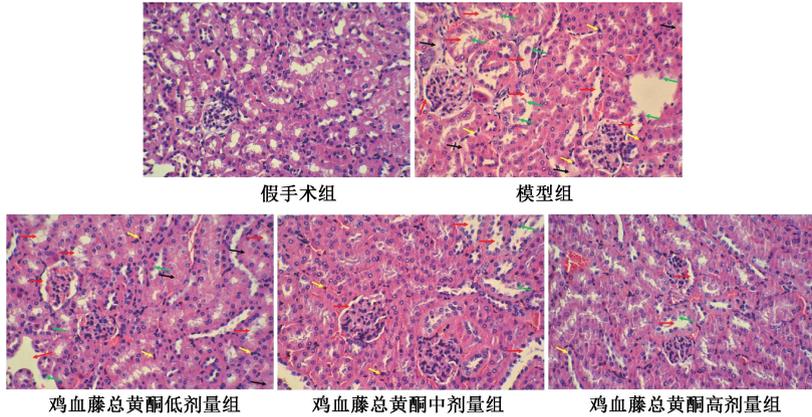
况有所改善, 炎症细胞浸润及肾间质充血、水肿情况减少, 其中鸡血藤总黄酮高剂量组作用最为显著, 见图 1。

3.3 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠血清 MDA 水平及 CAT、SOD 活性的影响 如表 2 所示, 与假手术组比较, 模型组大鼠血清 MDA 水平升高 ($P<0.01$), CAT、SOD 活性降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, 鸡血藤总黄酮各剂量组大鼠血清 MDA 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), CAT、SOD 活性升

高 ($P < 0.01$)。

3.4 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠肾组织 MDA 水平及 CAT、SOD 活性的影响 如表 3 所示,与假手术组比较,模型组大鼠肾组织 MDA 水平升高 ($P < 0.01$),CAT、SOD 活性降

低 ($P < 0.01$);与模型组比较,鸡血藤总黄酮各剂量组大鼠肾组织 MDA 水平降低 ($P < 0.01$),CAT、SOD 活性升高 ($P < 0.01$)。



注:红色箭头表示间隙变大,黑色箭头表示水肿,绿色箭头表示上皮细胞脱落,黄色箭头表示炎症细胞浸润。

图 1 各组大鼠肾组织病理变化 (HE 染色, $\times 200$)

表 2 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠血清 MDA 水平及 CAT、SOD 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	MDA/($\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$)	CAT/($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)	SOD/($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)
假手术组	—	3.61 ± 0.58	96.37 ± 14.82	184.09 ± 23.95
模型组	—	$6.52 \pm 0.84^{**}$	$39.80 \pm 5.77^{**}$	$97.85 \pm 11.06^{**}$
鸡血藤总黄酮低剂量组	40	$5.69 \pm 0.71^{\#}$	$55.65 \pm 7.36^{\#\#}$	$114.32 \pm 14.47^{\#\#}$
鸡血藤总黄酮中剂量组	80	$4.76 \pm 0.57^{\#\#}$	$76.11 \pm 9.23^{\#\#}$	$156.13 \pm 19.82^{\#\#}$
鸡血藤总黄酮高剂量组	160	$4.20 \pm 0.69^{\#\#}$	$88.46 \pm 10.31^{\#\#}$	$168.72 \pm 17.54^{\#\#}$

注:与假手术组比较, $^{**}P < 0.01$;与模型组比较, $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$ 。

表 3 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠肾组织 MDA 水平及 CAT、SOD 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	MDA/($\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$)	CAT/($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$)	SOD/($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$)
假手术组	—	4.80 ± 0.63	187.75 ± 23.95	343.51 ± 45.69
模型组	—	$9.69 \pm 1.26^{**}$	$87.23 \pm 10.53^{**}$	$156.60 \pm 19.05^{**}$
鸡血藤总黄酮低剂量组	40	$7.02 \pm 0.95^{\#\#}$	$128.42 \pm 15.40^{\#\#}$	$180.12 \pm 21.81^{\#\#}$
鸡血藤总黄酮中剂量组	80	$6.15 \pm 0.82^{\#\#}$	$159.33 \pm 18.79^{\#\#}$	$221.29 \pm 25.37^{\#\#}$
鸡血藤总黄酮高剂量组	160	$4.72 \pm 0.54^{\#\#}$	$170.98 \pm 21.76^{\#\#}$	$269.38 \pm 30.23^{\#\#}$

注:与假手术组比较, $^{**}P < 0.01$;与模型组比较, $^{\#\#}P < 0.01$ 。

3.5 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠血清 TNF- α 、IL-6 及 IL-10 水平的影响 如表 4 所示,与假手术组比较,模型组大鼠血清 TNF- α 、IL-6 水平升高 ($P < 0.01$),IL-10 水平降低

($P < 0.01$);与模型组比较,鸡血藤总黄酮各剂量组大鼠血清 TNF- α 、IL-6 水平降低 ($P < 0.05, P < 0.01$),IL-10 水平升高 ($P < 0.05, P < 0.01$)。

表 4 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠血清 TNF- α 、IL-6 及 IL-10 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	TNF- α /($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	IL-6/($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	IL-10/($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
假手术组	—	142.08 ± 17.81	72.36 ± 9.78	103.78 ± 12.71
模型组	—	$395.60 \pm 44.24^{**}$	$203.21 \pm 25.29^{**}$	$61.51 \pm 8.28^{**}$
鸡血藤总黄酮低剂量组	40	$276.45 \pm 30.15^{\#\#}$	$170.12 \pm 22.26^{\#}$	$69.11 \pm 9.20^{\#}$
鸡血藤总黄酮中剂量组	80	$243.26 \pm 28.46^{\#\#}$	$137.29 \pm 15.87^{\#\#}$	$88.29 \pm 12.64^{\#\#}$
鸡血藤总黄酮高剂量组	160	$189.73 \pm 21.69^{\#\#}$	$114.77 \pm 13.12^{\#\#}$	$95.84 \pm 10.37^{\#\#}$

注:与假手术组比较, $^{**}P < 0.01$;与模型组比较, $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$ 。

3.6 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠肾组织 TNF- α 、IL-6 及 IL-10 水平的影响 如表 5 所示,与假手术组比较,模型组大鼠肾组织 TNF- α 、IL-6 水平升高 ($P < 0.01$),IL-10 水平降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,鸡血藤总黄酮各剂量组大鼠肾组织 TNF- α 、IL-6 水平降低 ($P < 0.01$),IL-10 水平升

高 ($P < 0.05, P < 0.01$)。

3.7 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠肾组织 Nrf2 及 HO-1 蛋白表达的影响 与假手术组比较,模型组大鼠肾组织 Nrf2 及 HO-1 蛋白表达降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,鸡血藤总黄酮各剂量组大鼠肾组织 Nrf2 蛋白表达升高 ($P < 0.05, P <$

表5 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠肾组织 TNF- α 、IL-6 及 IL-10 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TNF- α /(pg·g ⁻¹)	IL-6/(pg·g ⁻¹)	IL-10/(pg·g ⁻¹)
假手术组	—	1674.01±195.17	561.46±65.43	868.61±109.36
模型组	—	3785.40±424.95**	1627.58±188.26**	543.09±62.40**
鸡血藤总黄酮低剂量组	40	2911.29±314.53##	1383.84±152.76##	612.47±71.74#
鸡血藤总黄酮中剂量组	80	2489.27±307.66##	1142.11±148.08##	649.85±86.84##
鸡血藤总黄酮高剂量组	160	2056.45±226.32##	950.23±123.41##	727.93±75.09##

注：与假手术组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

0.01)，中、高剂量组 HO-1 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，低剂量组 HO-1 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$)，见图 2、表 6。

3.8 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠肾组织细胞核与细胞浆中 NF- κ B p65 蛋白表达的影响 与假手术组比较，模型组大鼠肾组织细胞核 NF- κ B p65 蛋白表达升高 ($P<0.01$)，细胞浆 NF- κ B p65 蛋白表达降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，

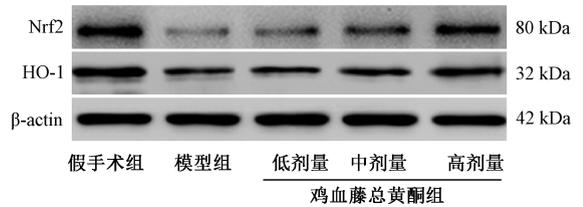


图2 各组大鼠肾组织 Nrf2 及 HO-1 蛋白条带图

表6 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠肾组织 Nrf2 及 HO-1 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Nrf2/ β -actin	HO-1/ β -actin
假手术组	—	0.73±0.10	0.94±0.12
模型组	—	0.11±0.02**	0.26±0.04**
鸡血藤总黄酮低剂量组	40	0.20±0.04#	0.28±0.03
鸡血藤总黄酮中剂量组	80	0.37±0.05##	0.39±0.06#
鸡血藤总黄酮高剂量组	160	0.52±0.07##	0.67±0.08##

注：与假手术组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

鸡血藤总黄酮各剂量组大鼠肾组织细胞核 NF- κ B p65 蛋白表达降低 ($P<0.01$)，细胞浆 NF- κ B p65 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见图 3、表 7。

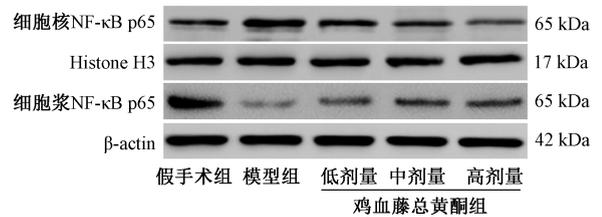


图3 各组大鼠肾组织 NF- κ B p65 蛋白条带图

表7 鸡血藤总黄酮对肾 IRI 大鼠肾组织细胞核与细胞浆中 NF- κ B p65 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	细胞核 NF- κ B p65/Histone H3	细胞浆 NF- κ B p65/ β -actin
假手术组	—	0.32±0.04	0.89±0.11
模型组	—	0.93±0.10**	0.15±0.02**
鸡血藤总黄酮低剂量组	40	0.48±0.06##	0.23±0.03#
鸡血藤总黄酮中剂量组	80	0.35±0.05##	0.31±0.04##
鸡血藤总黄酮高剂量组	160	0.26±0.03##	0.38±0.04##

注：与假手术组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

甚至凋亡^[10]。在肾 IRI 发生过程中，MDA 水平增加，CAT、SOD 活性降低，氧化应激水平升高；三七茎叶皂苷、罗格列酮等药物对大鼠肾 IRI 的保护作用均与降低 MDA 水平，增加 CAT、SOD 活性，进而抑制氧化应激反应有关^[11-12]。鸡血藤总黄酮也可以抑制心肌组织 MDA 水平的升高和 SOD 活性的降低，在大鼠心肌缺血模型中同样表现出了抗氧化活性^[13]。Nrf2/HO-1 信号通路在机体调控氧化应激反应中占据关键位置，对于保护肾 IRI 具有重要意义^[14]。Nrf2 是作用最强的抗氧化应激调控因子，能够促进抗氧化酶 HO-1 的转录和表达，减轻氧化应激水平，改善肾 IRI^[15]。研究发现，刺五加注射液能够激活肾 IRI 大鼠 Nrf2/HO-1 信号通路，降低氧化应激水平，减轻肾脏功能损伤^[16]。积雪草苷

同样具有保护肾 IRI 作用，其机制与激活 Nrf2/HO-1 信号通路、增加 SOD 活性、降低 MDA 水平等有关^[17]。本研究同样发现，鸡血藤总黄酮可以降低模型大鼠血清及肾组织 MDA 水平，增加 CAT、SOD 活性，同时也可以升高模型大鼠肾组织 Nrf2 及 HO-1 蛋白表达，表明其可以通过活化 Nrf2/HO-1 信号通路发挥抗氧化应激作用。

炎症反应是肾 IRI 发生的重要因素，可以引起一系列的病理级联反应，抑制炎症反应是避免或减轻肾 IRI 的关键^[18]。地奥司明可减少肾 IRI 病理过程中促炎因子 TNF- α 、IL-6 的释放，增加抗炎因子 IL-10 的释放，抑制炎症反应，减轻肾 IRI，发挥保护肾脏功能的作用^[19]。姜黄素预处理也能减轻肾 IRI 大鼠肾组织损伤，并改善肾脏功能，该作

用与提高肾组织中 IL-10 水平及降低 TNF- α 、IL-6 水平有关^[20]。当肾 IRI 发生时, 肾组织氧化应激水平升高, NF- κ B 被活化发生核转位, 使下游的 TNF- α 、IL-6 等促炎因子表达增加, 进一步加重肾缺血再灌注部位的损伤^[21]。研究发现, 抑制 NF- κ B 活化, 阻止 NF- κ B p65 的核转位, 有助于维持肾组织正常形态, 减轻肾 IRI 的炎症反应, 进而发挥肾脏保护作用^[22]。既往研究证实, 鸡血藤总黄酮在体内外均具有较好的抗炎作用^[23]。本研究同样发现, 鸡血藤总黄酮可以降低模型大鼠血清及肾组织中 TNF- α 、IL-6 水平, 升高 IL-10 水平, 具有抗炎作用; 进一步研究发现, 鸡血藤总黄酮预处理后, 肾组织细胞核 NF- κ B p65 蛋白表达降低, 细胞浆 NF- κ B p65 蛋白表达增加, 鸡血藤总黄酮具有阻止 NF- κ B p65 核转位的作用。

综上所述, 鸡血藤总黄酮可以改善肾缺血再灌注损伤大鼠的肾脏功能, 减轻肾组织病理变化, 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。

参考文献:

[1] Meurer M, Höcherl K. Renal ischemia-reperfusion injury impairs renal calcium, magnesium, and phosphate handling in mice[J]. *Pflugers Arch*, 2019, 471(6): 901-914.

[2] Malek M, Nematbakhsh M. Renal ischemia/reperfusion injury; from pathophysiology to treatment[J]. *J Renal Inj Prev*, 2015, 4(2): 20-27.

[3] 谭 静, 林红强, 王 涵, 等. 鸡血藤的药理作用及临床应用研究进展[J]. *中药与临床*, 2018, 9(5): 61-65.

[4] 刘 静, 王晓静, 戴 忠, 等. 鸡血藤研究进展[J]. *中国药事*, 2019, 33(2): 188-194.

[5] 徐爱钰, 陈从显, 许 勇, 等. 鸡血藤总黄酮对大鼠脑缺血的保护作用及机制研究[J]. *滨州医学院学报*, 2012, 35(5): 339-341.

[6] 亢泽春, 刘少华, 高 聪. 鸡血藤总黄酮对酒精性肝损伤的保护作用及机制[J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(23): 5951-5953.

[7] 赖克道, 李冬梅, 韦桂宁, 等. 基于 CREB/BDNF 通路探讨鸡血藤总黄酮对抑郁大鼠海马神经可塑性的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(5): 55-61.

[8] Aboutaleb N, Jamali H, Abolhasani M, et al. Lavender oil (*Lavandula angustifolia*) attenuates renal ischemia/reperfusion injury in rats through suppression of inflammation, oxidative stress and apoptosis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 110: 9-19.

[9] 齐平平, 徐祖清, 金 华. 芦荟素对大鼠肾缺血再灌注损伤

的作用机制[J]. *中成药*, 2022, 44(4): 1272-1276.

[10] Malekinejad Z, Aghajani S, Jeddi M, et al. Prazosin treatment protects brain and heart by diminishing oxidative stress and apoptotic pathways after renal ischemia reperfusion[J]. *Drug Res (Stuttg)*, 2022, 72(6): 336-342.

[11] 阎 曦, 赵 华, 李 丽. 三七茎叶皂苷对大鼠肾缺血再灌注损伤保护作用的研究[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2022, 56(5): 430-433.

[12] 李昌联, 张 炯. 罗格列酮对大鼠肾缺血再灌注损伤的保护作用研究[J]. *国际泌尿系统杂志*, 2020, 40(2): 297-301.

[13] 李 丽, 王林萍. 鸡血藤总黄酮对大鼠急性心肌缺血的保护作用[J]. *中成药*, 2015, 37(10): 2303-2306.

[14] Pei J, Cai S, Song S, et al. Normobaric hyperoxia plays a protective role against renal ischemia-reperfusion injury by activating the Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 532(1): 151-158.

[15] Younis N S, Ghanim A M H. The protective role of celastrol in renal ischemia-reperfusion injury by activating Nrf2/HO-1, PI3K/AKT signaling pathways, modulating NF- κ B signaling pathways, and inhibiting ERK phosphorylation[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2022, 80(1): 191-202.

[16] 李 强, 靳书滨, 霍韶军. 刺五加注射液调控 Nrf2/HO-1 通路减轻大鼠肾缺血再灌注损伤作用[J]. *现代药物与临床*, 2022, 37(4): 681-686.

[17] 朱时玉, 胡 彦, 王锁刚, 等. 积雪草苷对肾缺血再灌注损伤模型大鼠的保护作用[J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(23): 3609-3614.

[18] Shao G, He J, Meng J, et al. Ganoderic acids prevent renal ischemia reperfusion injury by inhibiting inflammation and apoptosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10229.

[19] 袁 铭, 石炳毅, 钱叶勇. 地奥司明对肾缺血/再灌注大鼠血清和肾组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 IL-10 水平的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2012, 28(6): 1066-1070.

[20] Cui X, Lin L, Sun X, et al. Curcumin protects against renal ischemia/reperfusion injury by regulating oxidative stress and inflammatory response [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 8490772.

[21] Yamashita M, Yoshida T, Hayashi M. Podocyte NF- κ B is dispensable for the pathogenesis of renal ischemia-reperfusion injury[J]. *Physiol Rep*, 2016, 4(16): e12912.

[22] Jia Y, Zhao J, Liu M, et al. Brazilin exerts protective effects against renal ischemia-reperfusion injury by inhibiting the NF- κ B signaling pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(1): 210-216.

[23] 陈海兰, 赵尉丹, 付远妨, 等. 鸡血藤总黄酮抗炎活性的研究[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2017, 527(11): 211-213.