

- 志, 2019, 35(11):2408-2425.
- [8] 陈涵彬, 熊振芳, 李敬文, 等. 肝硬化患者居家自我管理现状的质性研究[J]. 现代医学, 2020, 48(9):1202-1205.
- [9] FREUNDLICH G M, BAGER P. Health literacy levels in outpatients with liver cirrhosis [J]. Scand J Gastroenterol, 2018, 53(12):1584-1589.
- [10] 刘明. 护理质性研究[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [11] 司树玲. 肝硬化失代偿期患者健康自我管理现状及影响因素分析[D]. 济南: 山东大学, 2021.
- [12] 张媛媛, 庞春, 杨丽岚. 肝硬化患者自我管理能力的研究进展[J]. 当代护士(中旬刊), 2021, 28(12):1-4.
- [13] 肖国卿, 叶青, 韩涛, 等. 乙型肝炎肝硬化患者睡眠质量和精神心理状态研究[J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(4):852.
- [14] JI Y, DING Q, LI T, et al. The correlation and influencing factors of crisis response ability and psychological factors in patients with liver cirrhosis[J]. Iran J Public Health, 2020, 49(12):2384-2391.
- [15] 索莉娜, 刘梦珂, 陈燕, 等. 乙型肝炎肝硬化患者自我管理行为现状及影响因素[J]. 慢性病杂志, 2021, 22(3):469-471.
- [16] RAMKISSON S, PILLAY BJ, SIBANDA W. Social support and coping in adults with type 2 diabetes[J/OL]. Afr J Prim Health Care Fam Med, 2017, 9(1):e1-e8.DOI: 10.4102/phcfm.v9i1.1405.
- [17] GARCÍA-CARMONA M, GARCÍA-TORRES F, JACEK JM, et al. The influence of family social support on quality of life of informal caregivers of cancer patients [J]. Nurs Open, 2021, 8(6):3411-3419.
- [18] SALEH ZM, BLOOM PP, GRZYB K, et al. How do patients with cirrhosis and their caregivers learn about and manage their health? A review and qualitative study [J]. Hepatol Commun, 2021, 5(2):168-176.
- [19] BOUDREAU S, CHEN J, WU KY, et al. Self-management programmes for cirrhosis: a systematic review [J]. J Clin Nurs, 2020, 29(19/20):3625-3637.
- [20] 宋赛花, 姜伟伟, 高晓琴. 肝硬化失代偿期居家患者自我管理能力的因素分析[J]. 护理实践与研究, 2021, 18(9):1297-1300.

(收稿日期:2022-08-25, 修回日期:2022-09-23)

引用本文:董毅玲, 张文文, 闫琰, 等. 全反式维甲酸抑制核因子E2相关因子2和血红素加氧酶1加重大鼠肾脏缺血再灌注损伤表达[J]. 安徽医药, 2024, 28(4):741-745.DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2024.04.022.

◇临床医学◇



全反式维甲酸抑制核因子E2相关因子2和血红素加氧酶1加重大鼠肾脏缺血再灌注损伤表达

董毅玲, 张文文, 闫琰, 覃志成

作者单位: 山西医科大学第五临床医学院, 山西 太原 030012

通信作者: 覃志成, 男, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向为急性肾损伤, Email: taiyuantzc@163.com

基金项目: 山西省“136”兴医工程专项基金(SZ2019011)

摘要 **目的** 观察用全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)抑制核因子E2相关因子2(Nrf2)和血红素加氧酶1(HO-1)是否会加重大鼠肾脏缺血再灌注损伤(IRI)表达。**方法** 2020年10月至2022年2月选取24只健康成年雄性SD大鼠切除右肾, 并按随机数字表法分为3组($n=8$), 即假手术组(Sham)、肾脏缺血再灌注(I/R)组、全反式维甲酸(I/R+ATRA)组。其中Sham组和I/R组给予腹腔注射玉米油($1\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)1周, ATRA组则给予腹腔注射溶于玉米油的ATRA($10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)1周后, 3组大鼠用10%的水合氯醛($0.3\text{ mL}/100\text{ g}$)进行麻醉后固定四肢, 将其在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下沿腹中线打开腹腔并分离出左肾动脉。其中Sham组切除右肾, 不予以夹闭左肾动脉; I/R组和ATRA组采用右肾切除联合左肾动脉夹闭45 min后再灌注24 h的方法建立大鼠肾脏I/R模型。实验结束后收集3组大鼠血清及肾组织标本, 用比色法检测血清肌酐(Scr)、血尿素氮(BUN)浓度; HE染色法观察肾组织病理改变; TUNEL法进行肾组织细胞凋亡的检测; 二氢乙啶(DHE)荧光染色评估肾组织活性氧的表达情况; 通过比色法检测肾组织丙二醛(MDA)浓度、超氧化物歧化酶(SOD)活性; 用蛋白质印迹法分别对Nrf2、HO-1的表达进行检测。**结果** 与Sham组相比, I/R组大鼠肾组织Nrf2、HO-1蛋白表达量均增加($P<0.01$), 活性氧表达量增加, SOD活性下降, MDA含量、血清Scr、BUN浓度升高($P<0.01$), 肾小管损伤评分及凋亡细胞表达较高($P<0.05$), 其中Nrf2蛋白和HO-1蛋白分别为 0.52 ± 0.09 和 0.37 ± 0.79 , 高于Sham组的 0.06 ± 0.01 和 0.02 ± 0.01 。与I/R组相比, I/R+ATRA组大鼠肾组织Nrf2、HO-1蛋白显著减少($P<0.01$), 活性氧表达量明显增加, SOD活性严重下降, MDA含量、血清Scr、BUN浓度明显升高($P<0.01$), 肾小管损伤评分显著增加, 肾脏凋亡细胞表达亦增高($P<0.05$), 其中I/R+ATRA组Nrf2蛋白和HO-1蛋白分别为 0.29 ± 0.04 和 0.15 ± 0.03 , 显著低于I/R组。**结论** Nrf2/HO-1通路参与肾脏缺血再灌注损伤过程, ATRA可能通过抑制Nrf2/HO-1通路, 加重氧化应激, 进一步加重肾脏缺血再灌注损伤。

关键词 急性肾损伤; 再灌注损伤; 核因子E2相关因子2; 血红素加氧酶1; 全反式维甲酸

ATRA inhibits Nrf2 and HO-1 expression to aggravate the renal ischemia-reperfusion injury in rats

DONG Yiling, ZHANG Wenwen, YAN Yan, TAN Zhicheng

Author Affiliation: The Fifth Clinical Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030012, China

Abstract Objective To investigate whether inhibition of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) and heme oxygenase-1 (HO-1) expression by all-trans retinoic acid (ATRA) aggravates the renal ischemia-reperfusion injury (I/R) in rats. **Methods** From October 2020 to February 2022, 24 healthy adult male SD rats were selected to remove their right kidneys, and they were randomly assigned into three groups: sham operation group (Sham), I/R group, and ATRA group, with 8 rats in each group. The rats in Sham and I/R groups were given intraperitoneal injection of corn oil ($1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) for 1 week. The rats in the ATRA group were injected intraperitoneally with ATRA dissolved in corn oil ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) for 1 week. 3 groups of rats were anesthetized with 10% chloral hydrate ($0.3 \text{ mL}/100 \text{ g}$) and fixed limbs. The abdominal cavity was opened along the abdominal midline and the left renal artery was separated at 37°C . In the Sham group, the right kidney was excised without blocking the left renal artery. Renal I/R model was established by right nephrectomy combined with left renal artery occlusion for 45 min followed by 24 h reperfusion in I/R and ATRA groups. After the experiment, three groups of rats serum and kidney tissue samples were collected. The concentrations of serum creatinine (Scr) and blood urea nitrogen (BUN) were detected by colorimetric method. HE staining was used to observe the pathological changes of kidney tissue. The apoptosis of renal tissue cells was detected by TUNEL staining. The expression level of reactive oxygen species (ROS) in renal tissue was evaluated by dihydroethidium (DHE) fluorescence staining. A colorimetric method was used to determine the contents of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in the kidney tissue. The protein expression levels of Nrf2 and HO-1 were detected by Western blotting. **Results** Compared with the sham group, the protein expressions of Nrf2 and HO-1 in renal tissues of rats in I/R group were significantly increased ($P < 0.01$). The contents of ROS, MDA, Scr, BUN were increased and SOD activity was decreased ($P < 0.01$). Renal tubular injury score and positive rate of apoptotic cells were higher ($P < 0.05$), among them, Nrf2 protein and HO-1 protein were 0.52 ± 0.09 and 0.37 ± 0.79 , respectively, which were higher than those of Sham group 0.06 ± 0.01 and 0.02 ± 0.01 . Compared with the I/R group, the expressions of Nrf2 and HO-1 protein in kidney tissue of ATRA group was significantly decreased ($P < 0.01$). The contents of ROS, MDA, Scr and BUN were significantly increased and the SOD activity was reduced ($P < 0.01$). The renal tubular injury score and positive rate of apoptotic cells were significantly increased ($P < 0.05$). Among them, The protein levels of Nrf2 and HO-1 in ATRA group were 0.29 ± 0.04 and 0.15 ± 0.03 , respectively, which were significantly lower than those in I/R group. **Conclusion** Nrf2/HO-1 signaling pathway is involved in the process of renal I/R injury. ATRA may further aggravate renal I/R injury by inhibiting Nrf2/HO-1 pathway and aggravating oxidative stress.

Keywords Acute kidney injury; Reperfusion injury; Nuclear factor erythroid-2 related factor 2 (Nrf2); Heme oxygenase1 (HO-1); All-trans retinoic acid (ATRA)

肾脏缺血再灌注损伤(ischemia/reperfusion injury, IRI)是由于肾脏血液供给不足,随后恢复血液灌注后肾脏功能无法恢复正常,造成其功能代谢障碍及结构受损的一种病理状态^[1]。在临床上,缺血再灌注损伤是导致急性肾损伤(acute renal injury, AKI)的主要原因之一,其病理生理过程包括氧化应激、炎症、肾小管上皮细胞凋亡、铁死亡等^[2-3]。其中缺血再灌注损伤发生的主要原因是氧化应激。目前相关研究发现 Nrf2/HO-1 信号通路是调节氧化应激的重要因子。核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2)是一种基因转录因子,主要通过调控下游抗氧化酶血红素加氧酶 1(heme oxygenase1, HO-1)基因影响细胞的氧化状态,从而调节细胞的氧化还原平衡^[4]。全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)又名视黄酸,是体内维生素 A 的中间代谢产物之一,ATRA 可以抑制

Nrf2 与抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)的结合能力,其抑制作用是迅速、完全且不可逆转的^[5-6]。根据此特性,本研究于 2020 年 10 月至 2022 年 2 月通过以大鼠肾脏 IRI 为模型,观察 ATRA 抑制 Nrf2、HO-1 表达是否会加重肾脏 IRI,同时阐明 Nrf2/HO-1 通路在肾脏 IRI 中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料 24 只雄性无特定病原体(SPF)级 6~8 周龄 SD 大鼠,体质量范围 260~350 g,购于山西省人民医院动物实验中心。采用常规饲养,在禁食 12 h 后用于本实验,主要试剂:全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)购于美国 Sigma 公司,水合氯醛购于阿拉丁试剂有限公司,兔抗大鼠 Nrf2 抗体、抗 HO-1 抗体、山羊抗兔 IgG 抗体购于北京博奥森生物有限公司,末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记(TdT-mediated dUTP nick end

labeling, TUNEL)细胞凋亡检测试剂盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒、丙二醛(malonic dialdehyde, MDA)试剂盒、尿素氮(BUN)试剂盒及血肌酐(Scr)试剂盒均购于南京建成生物公司,组化试剂盒DAB显色剂、PIPA裂解液、PBS缓冲液、SDS-PAGE凝胶制备试剂盒购于武汉塞维尔生物科技有限公司。本研究符合一般动物实验伦理学原则。

1.2 实验方法

1.2.1 动物模型制备 24只雄性SD大鼠随机分为3组:假手术组(sham组)、肾脏缺血再灌注组(Ischemia/reperfusion, I/R组)及全反式维甲酸组(I/R+ATRA组),每组8只。1周前开始对3组大鼠进行腹腔注射,Sham组、I/R组腹腔注射1 mL/kg玉米油,每天1次;将ATRA溶于玉米油中(100 mg/10 mL玉米油),ATRA组腹腔注射溶于玉米油的ATRA(10 mg/kg),每天1次。持续1周以后,3组大鼠分别腹腔注射10%水合氯醛(0.3 mL/100 g)进行麻醉,待小鼠对刺激无反应时,表明麻醉成功,将其处于仰卧位固定在37℃恒温垫上,清洁手术区域后沿腹中线逐层切开各层组织,暴露双侧肾脏,先结扎右侧肾蒂,然后摘除右肾。Sham组不予以夹闭左肾动脉;I/R组:用无创动脉夹夹闭左肾动脉,使左肾缺血,夹闭后看到肾脏颜色变为暗紫色,在缺血期间随时将伤口用纱布覆盖,并补充0.9%氯化钠溶液,缺血45 min后取出血管夹,恢复肾脏血供,当肾脏颜色回至正常颜色时,表明肾脏再灌注成功。I/R+ATRA组:与I/R组实验过程相同,建立肾脏I/R模型。逐层缝合手术切口,整个实验操作过程注意无菌操作,待大鼠清醒后,放入笼中进行饲养。3组大鼠于实验结束24 h后留取各组血液及肾组织标本。

1.2.2 蛋白质印迹法检测肾组织蛋白水平 将切开的肾组织、匀浆珠、RIPA裂解液进行充分研磨,离心后提取上清液及总蛋白。用BCA试剂盒测定蛋白浓度,通过沸水浴将蛋白溶液变性后,分别进行电泳、转膜、封闭、加入一抗(Nrf2为1:1 000, HO-1为1:1 000)孵育过夜后,加入二抗(按1:5 000进行稀释)在室温下孵育半小时后,用TBST缓冲液冲洗3次。最后用ECL化学发光法曝光。用Alpha软件分析、定量蛋白质水平,记录数据。

1.2.3 肾组织SOD、MDA检测 取肾组织约50 mg,将其制作成10%匀浆液,根据试剂盒说明书,通过比色法检测肾组织的SOD活性及MDA含量。

1.2.4 肾组织活性氧检测 DHE染色评估肾组织活性氧:将冷冻的肾组织冰冻切片,进行DHE染色,在荧光显微镜(日本尼康)下观察红色荧光。分别

测量每张切片中6个视野阳性的累积光密度值(OD)以及对应的组织像素面积(Area),并计算出活性氧相对表达量即面密度(Areal density)=OD/Area进行分析,记录数据。

1.2.5 血清Scr、BUN检测 将装有实验大鼠血清的EP管进行离心,取上层血清成分,通过全自动生化分析仪,根据试剂盒说明书,检测肌酐和尿素氮的含量。

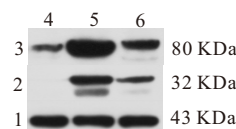
1.2.6 组织病理学检查 用石蜡包埋肾脏组织,将大鼠肾组织切片切成3 μm厚,苏木精-伊红(HE)染色处理后,显微镜下观察肾脏病理形态变化。肾小管损伤程度评分:0分,代表正常;1分,代表微创伤(外髓质和皮质破坏<5%);2分,代表轻度破坏(外髓质和皮质破坏5%~25%);3分,代表中度破坏(外髓质和皮质破坏>25%~75%);4分,代表严重破坏(外髓质和皮质破坏>75%)^[7]。每张切片至少选8个皮髓交界部视野观察(×200)。

1.2.7 肾脏组织凋亡细胞检测 根据TUNEL染色试剂盒说明书进行操作。每张切片取6个细胞分布不重叠的视野,采集图像。使用Image-Pro Plus 6.0软件对图像进行分析。

1.3 统计学方法 采用SPSS 26.0软件进行统计学分析,采用GraphPad Prism5软件进行统计并绘图,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间两两比较采用LSD-*t*检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肾组织Nrf2、HO-1蛋白相对表达量比较 与Sham组相比,I/R组大鼠的肾组织Nrf2、HO-1蛋白表达均增加,差异有统计学意义($P < 0.01$);与I/R组相比,I/R+ATRA组Nrf2、HO-1蛋白表达均减少,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图1,表1。



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—血红素加氧酶1(HO-1);3—核因子E2相关因子2(Nrf2);4—假手术(Sham)组;5—肾脏缺血再灌注(I/R)组;6—全反式维甲酸(I/R+ATRA)组。

图1 各组大鼠肾组织Nrf2、HO-1蛋白相对表达量

2.2 肾组织SOD、MDA表达 与Sham组比较,I/R组肾组织SOD活性减弱,MDA含量增高($P < 0.05$);与I/R组比较,ATRA处理后的肾组织SOD活性明显下降,MDA含量明显增高($P < 0.05$)。见表2。

2.3 肾组织活性氧表达 用活性氧荧光探针DHE染色,荧光显微镜下观察发现,相比于Sham组,I/R

表1 各组大鼠肾组织 Nrf2、HO-1 蛋白相对表达量/ $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	Nrf2 相对表达量	HO-1 相对表达量
Sham 组	8	0.06±0.01	0.024±0.007
I/R 组	8	0.52±0.09 ^①	0.37±0.79 ^①
I/R+ATRA 组	8	0.29±0.04 ^②	0.15±0.03 ^②
F 值		120.62	106.79
P 值		<0.001	<0.001

注:Nrf2 为核因子 E2 相关因子 2,HO-1 为血红素加氧酶 1。
①与 Sham 组比较, $P<0.01$ 。②与 I/R 组比较, $P<0.01$ 。

表2 各组大鼠肾组织 SOD 活性和 MDA 含量比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	SOD/(U/mg)	MDA/(nmol/mg)
Sham 组	8	366.92±36.01	15.71±1.73
I/R 组	8	281.99±9.96 ^①	23.14±2.51 ^①
I/R+ATRA 组	8	190.37±11.23 ^②	30.47±3.74 ^②
F 值		122.92	56.17
P 值		<0.001	<0.001

注:SOD 为超氧化歧化酶,MDA 为丙二醛。
①与 Sham 组比较, $P<0.05$;②与 I/R 组比较, $P<0.05$ 。

肾组织细胞内有微弱的红色荧光,活性氧相对表达量增加($t=7.76,P<0.001$,其中 Sham 组和 I/R 组的活性氧相对表达量分别为(0.20±0.04)%和(0.97±0.27)%;与 I/R 组比较,I/R+ATRA 组红色荧光明显增强,活性氧相对表达量(2.14±0.46)%明显增加($F=79.34,P<0.001$)。见图 2。

2.4 各组大鼠 Scr 及 BUN 表达 与 Sham 组相比,I/R 组血清 Scr、BUN 水平均升高($P<0.01$);与 I/R 组相比,I/R+ATRA 组血清 Scr、BUN 含量均明显升高($P<0.01$)。见表 3。

表3 各组大鼠血清 Scr、BUN 水平比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	Scr/(μ mol/L)	BUN/(mmol/L)
Sham 组	8	74.38±7.57	6.36±1.33
I/R 组	8	121.97±13.94 ^①	16.46±1.37 ^①
I/R+ATRA 组	8	341.48±23.73 ^②	23.31±1.23 ^②
F 值		597.89	338.21
P 值		<0.001	<0.001

注:Scr 为肌酐,BUN 为尿素氮。
①与 Sham 组比较, $P<0.01$ 。②与 I/R 组比较, $P<0.01$ 。

2.5 各组大鼠肾脏病理情况比较 Sham 组肾小球、肾小管、肾间质结构及组织学正常,肾小管损伤病理评分为(0.75±0.46)分;与 Sham 组比较,I/R 组可见部分肾小管上皮细胞肿胀、变性,间质有炎性细胞浸润,肾小管损伤评分(3.13±0.64)分较高($t=8.50,P<0.001$);与 I/R 组相比,I/R+ATRA 组病理改变明显加重,肾小管管腔明显水肿、扩大,刷状缘消失,伴大量空泡变性,肾小管间质出现纤维化病变,伴大量炎性细胞浸润,肾小管损伤评分(4.88±0.35)

分明增高($F=137.17,P<0.001$)。见图 3。

2.6 各组大鼠肾组织的细胞凋亡情况 Sham 组有微量凋亡细胞表达,凋亡细胞阳性率为(0.48±0.09)%;与 Sham 组相比,I/R 组大鼠肾组织凋亡细胞表达增加($P<0.05$),凋亡细胞阳性率为(1.06±0.26)%;与 I/R 组比较,I/R+ATRA 组凋亡细胞表达明显增加($P<0.05$),其凋亡细胞阳性率为(1.74±0.08)%,差异有统计学意义($F=117.64,P<0.001$),见图 4。

3 讨论

急性肾损伤常见的原因是肾脏 IRI,肾脏 IRI 是一种复杂的病理生理事件,而氧化应激是肾脏 IRI 发生发展的主要病理生理机制^[8]。在肾脏缺血再灌注阶段,组织重新获得氧从而产生大量的活性氧,直接造成细胞内抗氧化物质、抗氧化酶数量减少,进而导致氧化-抗氧化能力失衡,加重细胞损伤、坏死^[9]。有相关证据表明,减少与肾脏 IRI 相关的氧化应激有助于改善肾脏功能,提高生存率,缓解肾 IRI^[10]。

Nrf2 作为机体抗氧化应激的重要转录因子,正常情况下,Nrf2 主要与其抑制剂 Keap1 (Kelch-like ech-associated protein 1,Keap1)结合保留在细胞质中,维持低转录活性^[11]。在细胞受到亲电试剂或其他活性物质(如活性氧)刺激时,Nrf2 与 Keap1 解耦联,活化的 Nrf2 从细胞质转入细胞核,并与 Maf 蛋白结合形成异质二聚体后与 ARE 结合,导致一系列基因的转录激活,调控Ⅱ相解毒酶、抗氧化酶(HO-1、过氧化物酶-1、谷氨酸半胱氨酸连接酶等)或药物转运体的转录活性^[12-13]。HO-1 能促进产生胆绿素、铁离子和一氧化碳,这些产物在保护细胞免受氧化损伤、调节细胞凋亡、细胞炎症以及促进血管生成等方面发挥重要作用^[14]。有研究表明,许多疾病的发生、发展与 Nrf2/HO-1 通路抑制导致的氧化应激增强有关。例如在横纹肌溶解的急性肾损伤中,Nrf2 基因敲除的小鼠活性氧显著增加,其肾功能和生存率明显降低^[15]。因此 Nrf2/HO-1 是生物进化过程中对外界刺激形成防御的一种抗损伤机制,也是机体抗氧化应激的主要信号通路^[16-17]。

在缺血再灌注状态下,体内的氧化物质大量堆积,而抗氧化物质大量丢失,导致膜脂质过氧化增强,蛋白质功能抑制,核酸及染色体破坏,进一步加重病情恶化^[18]。许多研究表明活性氧作为体内强氧化物,可以氧化核酸、蛋白质、脂质及染色体等物质;同时导致线粒体膜通透性增加,阻断 ATP 合成,进一步介导细胞凋亡,促进缺血再灌注的发生、发展^[19]。而 SOD 作为细胞内氧自由基清除剂可清除

活性氧,在减轻IRI中发挥重要作用^[20]。自由基可通过作用于脂质发生过氧化反应,生成丙二醛(MDA),可直接引起细胞毒性损伤,因此,组织MDA含量被认为是脂质过氧化的一个重要指标^[21]。本实验结果显示,与Sham组相比,I/R组肾组织活性氧表达升高,SOD的活性受到抑制,MDA含量上升,伴血清Scr、BUN升高,肾脏病理、肾脏组织细胞凋亡增加,说明大鼠肾脏缺血再灌注损伤会导致氧化应激的产生。同时与Sham组相比,I/R组大鼠肾组织的Nrf2、HO-1表达增加,进一步说明Nrf2/HO-1通路可能参与肾脏缺血再灌注损伤过程。

此外本研究结果显示,与I/R组相比,大鼠造模前行Nrf2阻断剂ATRA预处理后,肾组织Nrf2、HO-1的表达显著减少,SOD活性严重下降,活性氧、MDA含量明显增加,伴肾功能、肾病理损伤加重,肾脏组织细胞凋亡亦明显增加。研究结果提示,ATRA通过抑制肾IRI中Nrf2和HO-1蛋白的表达,降低组织抗氧化损伤的作用,加重肾组织细胞的病理损伤及凋亡,进一步加重肾脏IRI,说明ATRA抑制Nrf2、HO-1表达会加重肾脏缺血再灌注损伤进程。

综上所述,Nrf2/HO-1通路参与肾脏缺血再灌注损伤过程,行ATRA预处理后会抑制大鼠肾脏Nrf2、HO-1表达,加重氧化应激,进一步加重肾脏IRI。研究结果提示,在肾脏缺血再灌注过程中激活Nrf2/HO-1信号通路,可以增强组织细胞的抗氧化能力,减轻肾脏IRI损伤,这为我们治疗或减轻肾脏IRI进程提供了理论依据。

(本文图2~4见插图4-3)

参考文献

- [1] 满江位,杨立.中性粒细胞诱捕网在肾缺血再灌注损伤中的研究进展[J].兰州大学学报(医学版),2021,47(3):91-94.
- [2] 张蕊.Irisin预处理减轻缺血再灌注急性肾损伤的作用及其机制的研究[D].太原:山西医科大学,2020.
- [3] BONVENTRE JV, YANG L. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury[J]. J Clin Invest, 2011, 121(11):4210-4221.
- [4] LOBODA A, DAMULEWICZ M, PYZA E, et al. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism[J]. Cell Mol Life Sci, 2016, 73(17):3221-3247.
- [5] 刘涛.Nrf-2信号通路在大鼠脓毒症急性肺损伤中的保护机制[D].上海:第二军医大学,2014.
- [6] WANG XJ, HAYES JD, HENDERSON CJ, et al. Identification of retinoic acid as an inhibitor of transcription factor Nrf2 through activation of retinoic acid receptor alpha[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(49):19589-19594.
- [7] RABB H, MENDIOLA CC, DIETZ J, et al. Role of CD11a and CD11b in ischemic acute renal failure in rats[J]. Am J Physiol, 1994, 267(6 Pt 2):F1052-8.DOI: 10.1152/ajprenal.1994.267.6.F1052.
- [8] DIAO CH, CHEN ZY, QIU T, et al. Inhibition of PRMT5 attenuates oxidative stress-induced pyroptosis via activation of the Nrf2/HO-1 signal pathway in a mouse model of renal ischemia-reperfusion injury [J/OL]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019, 2019: 2345658. DOI:10.1155/2019/2345658.
- [9] 张晓林,刘文丽,李光远,等.基于NOD2信号通路探讨NADPH抑制剂对肾脏缺血再灌注损伤的影响[J].临床肾脏病杂志,2020,20(1):57-61.
- [10] ALASMARI AF, ALI N, ALHARBI M, et al. Geraniol ameliorates doxorubicin-mediated kidney injury through alteration of antioxidant status, inflammation, and apoptosis: potential roles of NF-kappaB and Nrf2/Ho-1[J]. Nutrients, 2022, 14(8):1620.
- [11] STROM J, XU B, TIAN X, et al. Nrf2 protects mitochondrial decay by oxidative stress[J]. FASEB J, 2016, 30(1):66-80.
- [12] HOU Y, PENG S, SONG Z, et al. Oat polyphenol avenanthramide-2c confers protection from oxidative stress by regulating the Nrf2-ARE signaling pathway in PC12 cells[J]. Arch Biochem Biophys, 2021, 706:108857.DOI: 10.1016/j.abb.2021.108857.
- [13] REN J, SU D, LI L, et al. Anti-inflammatory effects of aureusidin in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages via suppressing NF-kB and activating ROS and MAPKs-dependent Nrf2/HO-1 signaling pathways [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2020, 387(C): 114846.DOI: 10.1016/j.taap.2019.114846.
- [14] FACCHINETTI MM. Heme-oxygenase-1[J]. Antioxid Redox Signal, 2020, 32(17):1239-1242.
- [15] WANG Z, SHAH SV, LIU H, et al. Inhibition of cytochrome P450 2E1 and activation of transcription factor Nrf2 are renoprotective in myoglobinuric acute kidney injury [J]. Kidney Int, 2014, 86(2):338-349.
- [16] CEDERBAUM A. Nrf2 and antioxidant defense against CYP2E1 toxicity.m A[J].Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2009, 5(10): 1223-1244.
- [17] SADRKHANLOO M, ENTEZARI M, OROUEI S, et al. Targeting Nrf2 in ischemia-reperfusion alleviation: from signaling networks to therapeutic targeting [J]. Life Sci, 2022, 300: 120561. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.120561.
- [18] WU MY, YIANG GT, LIAO WT, et al. Current mechanistic concepts in ischemia and reperfusion injury [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 46(4):1650-1667.
- [19] YANG S, LIAN G. ROS and diseases: role in metabolism and energy supply[J]. Mol Cell Biochem, 2020, 467(1/2):1-12.
- [20] WU F, LIU R, SHEN X, et al. Study on the interaction and antioxidant activity of theophylline and theobromine with SOD by spectra and calculation[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2019, 215:354-362.
- [21] TSIKAS D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: analytical and biological challenges [J]. Anal Biochem, 2017, 524: 13-30.

(收稿日期:2022-09-04,修回日期:2022-10-29)