

[文章编号] 1671-587X(2024)05-1235-08

DOI:10.13481/j.1671-587X.20240506

玉竹多糖对顺铂诱导小鼠急性肾损伤的作用及其铁死亡机制

姜方阳¹, 肖静^{1,2}, 昌贺¹, 孙铭阳¹, 张文静¹, 律广富³, 林贺¹, 林喆¹, 黄晓巍^{1,4}, 王雨辰¹

(1. 长春中医药大学药学院临床药学与中药药理教研室, 吉林 长春 130117; 2. 中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100094; 3. 长春中医药大学吉林省人参研究科学院中药药理组, 吉林 长春 130117; 4. 长春中医药大学东北亚中医药研究院基础研究所, 吉林 长春 130117)

[摘要] **目的:** 探讨玉竹多糖 (POP) 对顺铂诱导的急性肾损伤 (AKI) 模型小鼠的作用, 并阐明其可能的作用机制。**方法:** 40只雄性C57BL/6小鼠随机分为对照组、模型组、POP组和铁死亡诱导剂Erastin联合POP组 (Erastin+POP组), 每组10只。POP组和Erastin+POP组小鼠灌胃POP (400 mg·kg⁻¹), 第7天时, 模型组、POP组和Erastin+POP组小鼠均腹腔注射顺铂 (20 mg·kg⁻¹) 制备AKI模型, 对照组小鼠腹腔注射等体积生理盐水, Erastin+POP组小鼠提前1 d (即实验第6天) 腹腔注射Erastin (40 mg·kg⁻¹)。9 d后处死小鼠, 收集血清和肾组织, 试剂盒检测各组小鼠血清肌酐 (Scr) 和血尿素氮 (BUN) 水平及肾组织中丙二醛 (MDA) 和还原型谷胱甘肽 (GSH) 水平, HE染色观察各组小鼠肾组织病理形态表现, 免疫组织化学染色法检测各组小鼠肾组织中铁死亡抑制蛋白1 (FSP1)、铁蛋白重链1 (FTH1) 和谷胱甘肽过氧化物酶4 (GPX4) 蛋白表达水平, Western blotting法检测各组小鼠肾组织中肾脏核因子E2相关因子2 (Nrf2) 和血红素氧合酶1 (HO-1) 蛋白表达水平。**结果:** 与对照组比较, 模型组小鼠血清中Scr和BUN水平均明显升高 ($P<0.01$), 肾组织中MDA水平明显升高 ($P<0.01$), GSH水平明显降低 ($P<0.01$); 多数肾小管管腔扩张, 上皮细胞肿胀, 空泡变性, 上皮细胞脱落, 管腔内可见蛋白样管型; 肾组织中FSP1、FTH1、GPX4、Nrf2和HO-1蛋白表达水平降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较, POP组小鼠血清中Scr和BUN水平均明显降低 ($P<0.01$), 肾组织中MDA水平降低 ($P<0.01$), GSH水平升高 ($P<0.01$); 肾小管管腔扩张, 上皮细胞肿胀, 空泡变性, 上皮细胞脱落均有减少; 肾组织中FSP1、FTH1、GPX4、Nrf2和HO-1蛋白表达水平升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与POP组比较, Erastin+POP组小鼠血清中Scr和BUN水平均明显升高 ($P<0.01$), 肾组织中MDA水平明显升高 ($P<0.05$), GSH水平明显降低 ($P<0.01$); 肾组织病理损伤明显加重; 肾组织中FSP1、FTH1、GPX4、Nrf2和HO-1蛋白表达水平降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。**结论:** POP可减轻顺铂诱导的小鼠AKI, 其机制可能与POP抑制顺铂引起的铁死亡有关。

[关键词] 玉竹多糖; 顺铂; 急性肾损伤; 铁死亡; 肾脏核因子E2相关因子2

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A

[收稿日期] 2023-11-15

[基金项目] 吉林省科技厅科技发展计划项目 (20210204014YY); 吉林省科技厅青年成长科技计划项目 (20210508001RQ); 吉林省教育厅科技一般项目 (JKH20210975KJ); 吉林省发改委创新能力建设项目 (2021C011)

[作者简介] 姜方阳 (1998—), 男, 河南省南阳市人, 在读硕士研究生, 主要从事心血管和内分泌药理学方面的研究。

[通信作者] 黄晓巍, 主任药师, 教授, 博士研究生导师 (E-mail: 15948000740@163.com);

王雨辰, 讲师 (E-mail: wangyc01@ccucm.edu.cn)

Effect of polygonatum odoratum polysaccharide on acute kidney injury in mice induced by cisplatin and its ferroptosis mechanism

JIANG Fangyang¹, XIAO Jing^{1,2}, CHANG He¹, SUN Mingyang¹, ZHANG Wenjing¹, LYU Guangfu³, LIN He¹, LIN Zhe¹, HUANG Xiaowei^{1,4}, WANG Yuchen¹

(1. Department of Clinical Pharmacy and Pharmacology of Chinese Medicine, School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 2. Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100094, China; 3. Department of Pharmacology of Chinese Medicine, Jilin Ginseng Academy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 4. Basic Research Institute, Northeast Asia Institute of Chinese Medicine, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

ABSTRACT Objective: To discuss the protective effect of polygonatum odoratum polysaccharide (POP) on the mice with cisplatin-induced acute kidney injury (AKI), and to clarify its possible mechanism. **Methods:** Forty male C57BL/6 mice were randomly divided into control group, model group, POP group, and ferroptosis inducer Erastin combined with POP (Erastin+POP) group, and there were 10 mice in each group. The mice in POP group and Erastin+POP group were given intragastric administration of POP (400 mg·kg⁻¹), and on the 7th day, the mice in model group, POP group, and Erastin+POP group were intraperitoneally injected with cisplatin (20 mg·kg⁻¹) to establish the AKI models, the mice in control group were injected with the same volume of normal saline, and the mice in Erastin+POP group were intraperitoneally injected with Erastin (40 mg·kg⁻¹) one day in advance (on the 6th day of the experiment). After 9 d, the mice were killed and the serum and kidney tissue were collected, and the levels of serum creatinine (Scr) and blood urea nitrogen (BUN) and the levels of malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) in kidney tissue of the mice in various groups were detected by kit; HE staining was used to observe the pathomorphology of kidney tissue of the mice in various groups; the expression levels of ferroptosis suppressor protein 1 (FSP1), ferritin heavy chain 1 (FTH1), and glutathione peroxidase 4 (GPX4) proteins in kidney tissue of the mice in various groups were detected by immunohistochemistry; Western blotting method was used to detect the expression levels of nuclear factor-E2-related factor 2 (Nrf2) and heme oxygenase-1 (HO-1) proteins in kidney tissue of the mice in various groups. **Results:** Compared with control group, the levels of Scr and BUN of the mice in model group were significantly increased ($P<0.01$), the level of MDA in kidney tissue was significantly increased ($P<0.01$), and the level of GSH was significantly decreased ($P<0.01$); most kidney tubules were dilated, the epithelial cells were swollen, the vacuolar degeneration and epithelial cells fell off, and the protein-like tubules could be seen in the lumen; the expression levels of FSP1, FTH1, GPX4, Nrf2, and HO-1 proteins in kidney tissue were decreased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with model group, the levels of Scr and BUN of the mice in POP group were significantly decreased ($P<0.01$), the level of MDA in kidney tissue was significantly decreased ($P<0.01$), and the level of GSH was significantly increased ($P<0.01$); the dilatation of kidney tubular lumen, epithelial cell swelling, vacuolar degeneration, and epithelial cell exfoliation were decreased; the expression levels of FSP1, FTH1, GPX4, Nrf2, and HO-1 proteins in kidney tissue of the mice in POP group were significantly increased ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with POP group, the levels of Scr and BUN of the mice in Erastin+POP group were significantly increased ($P<0.01$), the level of MDA in kidney tissue was

increased ($P < 0.05$), and the level of GSH was significantly decreased ($P < 0.01$); the pathological injury of kidney tissue was aggravated obviously; the expression levels of FSP1, FTH1, GPX4, Nrf2, and HO-1 proteins in kidney tissue were significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** POP can reduce the AKI in the mice induced by cisplatin, and its mechanism may be related to the inhibitory effect of POP on the ferroptosis induced by cisplatin.

KEYWORDS Polygonatum odoratum polysaccharide; Cisplatin; Acute kidney injury; Ferroptosis; Nuclear factor-E2-related factor 2

急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 多由败血症、脓毒症、造影剂、缺血再灌注、输尿管梗阻和顺铂等多种诱因引起肾小球滤过率迅速恶化与体内血清肌酐 (serum creatinine, Scr) 含量累积, 常伴随血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN) 水平升高、水电解质失衡、酸碱平衡紊乱和尿量减少, 是一种常见的临床综合征^[1-2]。AKI的病理生理特征是肾功能突然恶化、肾小管细胞损伤和肾血管功能障碍, 最终可导致慢性肾病和终末期肾脏疾病。顺铂是一种常见且有效的抗肿瘤药物, 其临床应用多受到肾毒性的限制。顺铂进入肾脏后优先驻留在近端肾小管上皮细胞中, 在上皮细胞中的浓度为血浆中的3倍^[3]。顺铂引起的AKI会导致肾组织炎症、氧化应激、血管损伤、内质网应激、细胞坏死、细胞凋亡和铁死亡^[4]。铁死亡是一种独特的铁依赖形式的调节性细胞死亡, 表现为脂质过氧化物积累、线粒体收缩和线粒体嵴减少或消失等, 诱发机制主要是铁代谢紊乱、脂质代谢失衡、谷胱甘肽 (glutathione, GSH) /谷胱甘肽过氧化物酶4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 通路异常和核因子E2相关因子2 (nuclear factor-E2-related factor 2, Nrf2) 通路抑制等^[5]。研究^[6]显示: 抑制铁死亡是治疗肾组织损伤的重要方法。玉竹作为一种传统中药, 用于防治糖尿病、高脂血症和癌症, 而玉竹多糖 (polygonatum odoratum polysaccharide, POP) 是其关键生物活性物质之一^[7]。研究^[8-9]显示: POP具有抗氧化、降糖、抗肿瘤和免疫调节等药理作用, 但POP是否可以通过抗氧化缓解顺铂诱导的AKI尚不清楚。本研究探讨POP对顺铂诱导AKI小鼠模型的影响, 从铁死亡的角度探讨其作用机制, 旨在为POP改善顺铂肾毒性的临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物、主要试剂和仪器 40只雄性无特定病原体级C57BL/6小鼠购于长春亿斯实验动物

技术有限公司, 动物生产许可证号: SCXK (吉) 2020-0002, 体质量18~22 g。小鼠饲养于长春中医药大学实验动物中心, 光照/黑暗周期为12 h, 温度: 23 °C~25 °C, 湿度: 40%~70%, 自由饮食。所有动物实验操作遵循实验动物伦理与规范, 动物实验方案经长春中医药大学伦理委员会批准 (伦理批准号: 2023058)。POP (兰州沃特莱斯生物科技有限公司, 生产批号: WTLS221008), 铁死亡诱导剂Erastin (美国MedChemExpress公司, 批号: 20230512), 顺铂 (美国MedChemExpress公司, 批号: 278251), Scr、BUN、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 和微量GSH水平检测试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号: 20230817、20230817、20230821 和 20230821), HE染色试剂盒 (武汉百仟度生物科技有限公司, 货号: B1001), 二氨基联苯胺 (diaminobenzidine, DAB) 显色试剂盒 (江苏世泰实验器材有限公司, 货号: 2005289), GPX4抗体 (英国Abcam公司, 货号: ab125066), 铁蛋白重链1 (ferritin heavy chain 1, FTH1) 抗体、铁死亡抑制蛋白1 (ferroptosis suppressor protein 1, FSP1) 抗体、Nrf2抗体和血红素氧合酶1 (heme oxygenase-1, HO-1) 抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司, 货号: 15146-1-AP、16396-1-AP 和 10701-1-AP)。电泳仪 (美国Bio-Rad公司, 型号: BE6085), 多功能微孔酶标仪 (美国Thermo公司, 型号: Multiskan FC), 荧光发光凝胶成像仪 (瑞士Tecan公司, 型号: Alliance Q9)。

1.2 实验动物分组、模型制备和给药 40只小鼠随机分为对照组、模型组、POP组和Erastin+POP组。POP组和Erastin+POP组小鼠灌胃POP (400 mg·kg⁻¹), 第7天时, 模型组、POP组和Erastin+POP组小鼠均腹腔注射顺铂 (20 mg·kg⁻¹) 制备AKI模型, 对照组小鼠腹腔注射等体积生理盐水, Erastin+POP组小鼠提前1 d (即实验的第6天) 腹腔注射Erastin (40 mg·kg⁻¹)。9 d后处死

各组小鼠。

1.3 试剂盒检测各组小鼠血清中Scr和BUN水平及肾组织中MDA和GSH水平 取各组小鼠血清和肾组织标本,按照试剂盒操作步骤测定各组小鼠血清中Scr和BUN水平及肾组织中MDA和GSH水平。

1.4 HE染色观察各组小鼠肾组织病理形态表现

各组小鼠肾组织标本置于4%甲醛中固定24 h,随后进行石蜡包埋处理,制备厚度为4 μm 切片,切片脱蜡、脱水,按照HE试剂盒说明书进行染色,显微镜下观察各组小鼠肾组织病理形态表现。

1.5 免疫组织化学染色法检测各组小鼠肾组织中FSP1、FTH1和GPX4蛋白表达水平

取各组小鼠肾组织标本,经固定、脱水和石蜡包埋,制备厚度为3 μm 切片,将石蜡切片脱蜡至水、磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)清洗后,将组织切片置于柠檬酸抗原修复缓冲液修复盒(pH=6.0)中,在微波炉内进行抗原修复15 min,室温下3%过氧化氢氧化15 min,5%山羊血清室温封闭30 min,分别滴加FTH1抗体(1:400)、FSP1抗体(1:800)和GPX4抗体(1:200)于4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,采用PBS缓冲液去一抗,分别加入辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔二抗(1:500),37 $^{\circ}\text{C}$ 中孵育1 h, DAB滴注显色完全后,蒸馏水冲洗,苏木素复染,盐酸乙醇分化,蒸馏水冲洗,脱水后中性树脂封片,光镜下观察并拍照。FTH1、FSP1和GPX4蛋白阳性表达为肾细胞胞浆或细胞膜出现相应的褐色或棕褐色,采用Image J软件分析切片蛋白阳性表达的积分光密度,计算平均光密度(mean optical density, MOD)值。MOD=积分光密度/面积,以MOD代表目的蛋白表达水平。

1.6 Western blotting法检测各组小鼠肾组织中Nrf2和HO-1蛋白表达水平

小鼠取血后,取各组小鼠左侧肾组织,将组织匀浆,同时加入放射性免疫沉淀同位素(radio-immunoprecipitation assay, RIPA)裂解液,置于冰上孵育0.5 h,离心取上清液。采用二喹啉甲酸法测其蛋白浓度,上样电泳,并将蛋白转移至聚偏二氟乙烯印迹膜上,室温封闭1 h。加入Nrf2抗体(1:2 000)、HO-1抗体(1:1 000)和GAPDH抗体(1:5 000),4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育,然后采用TBST洗膜。加入山羊抗兔IgG二抗(1:2 500),室温孵育2 h,洗涤后滴加增强型

化学发光试剂显影。采用凝胶成像仪拍照,以GAPDH为内参,计算目的蛋白表达水平。目的蛋白表达水平=目的蛋白条带灰度值/GAPDH蛋白条带灰度值。

1.7 统计学分析 采用SPSS 22.0统计软件进行统计学分析。各组小鼠血清中Scr和BUN水平,肾组织中MDA和GSH水平,肾组织中FSP1、FTH1、GPX4、Nrf2和HO-1蛋白表达水平符合正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间样本均数比较采用单因素方差分析,组间样本均数两两比较采用LSD-*t*检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠血清中Scr和BUN水平 与对照组比较,模型组小鼠血清中Scr和BUN水平均明显升高($P<0.01$);与模型组比较,POP组小鼠血清中Scr和BUN水平均明显降低($P<0.01$);与POP组比较,Erastin+POP组小鼠血清中Scr和BUN水平均明显升高($P<0.01$)。见表1。

表1 各组小鼠血清中Scr和BUN水平

Tab. 1 Levels of Scr and BUN in serum of mice in various groups ($n=10, \bar{x}\pm s$)

Group	Scr [$c_B/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$]	BUN [$c_B/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$]
Control	75.32 \pm 8.63	14.36 \pm 3.62
Model	192.63 \pm 12.55*	66.35 \pm 5.47*
POP	92.37 \pm 12.01 $^{\Delta}$	25.21 \pm 4.37 $^{\Delta}$
Erastin+POP	154.38 \pm 9.56 $^{\#}$	50.36 \pm 6.04 $^{\#}$

* $P<0.01$ vs control group; $^{\Delta}P<0.01$ vs model group; $^{\#}P<0.01$ vs POP group.

2.2 各组小鼠肾组织中MDA和GSH水平 与对照组比较,模型组小鼠肾组织中MDA水平明显升高($P<0.01$),GSH水平明显降低($P<0.01$);与模型组比较,POP组小鼠肾组织中MDA水平明显降低($P<0.01$),GSH水平明显升高($P<0.01$);与POP组比较,Erastin+POP组小鼠肾组织中MDA水平升高($P<0.05$),GSH水平明显降低($P<0.01$)。见表2。

2.3 各组小鼠肾组织病理形态表现 HE染色结果显示:对照组小鼠肾脏结构完整清晰,肾小球体积正常,系膜未见增生,肾小管上皮细胞轮廓较清晰,细胞核完整;模型组小鼠多数肾小管管腔扩张,上皮细胞肿胀,空泡变性,上皮细胞脱落,管

表 2 各组小鼠肾组织中MDA和GSH水平

Tab. 2 Levels of MDA and GSH in kidney tissue of mice in various groups [n=10, $\bar{x}\pm s, m_B/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1})$]

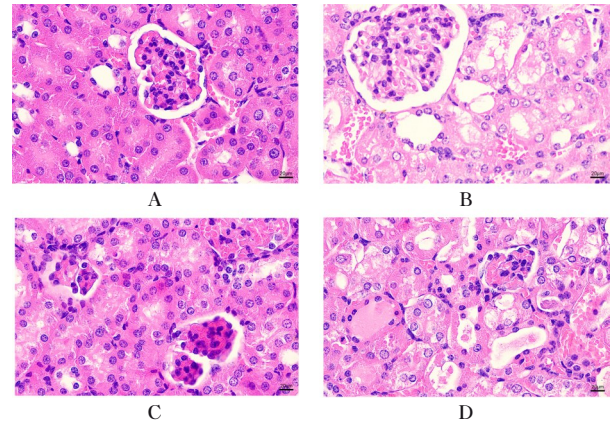
Group	MDA	GSH
Control	7.64±2.41	32.74±4.81
Model	16.73±4.58*	16.38±2.46*
POP	11.68±2.19 [△]	27.61±3.57 [△]
Erastin+POP	15.35±3.47 [#]	18.36±2.42 ^{##}

* $P<0.01$ vs control group; [△] $P<0.01$ vs model group; [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ vs POP group.

腔内可见蛋白样管型; POP组小鼠肾脏组织病理形态改变较模型组明显减轻; Erastin+POP组小鼠肾脏组织病理形态改变较POP组明显加重。见图1。

2.4 各组小鼠肾组织中FSP1、FTH1和GPX4蛋白表达水平 免疫组织化学染色结果显示: 与对照组比较, 模型组小鼠肾组织中FSP1、FTH1和GPX4蛋白表达水平明显降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, POP组小鼠肾组织中FSP1、FTH1和GPX4蛋白表达水平明显升高 ($P<0.01$); 与POP组比较, Erastin+POP组小鼠肾组织中FSP1、FTH1和GPX4蛋白表达水平明显降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。见图2和表3。

2.5 各组小鼠肾组织中Nrf2和HO-1蛋白表达水平 与对照组比较, 模型组小鼠肾组织中Nrf2和HO-1蛋白表达水平明显降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, POP组小鼠肾组织中Nrf2和HO-1蛋白表达水平明显升高 ($P<0.01$); 与POP组比较,



A: Control group; B: Model group; C: POP group; D: Erastin+POP group.

图 1 各组小鼠肾组织病理形态表现(HE, ×400)

Fig. 1 Pathomorphology of kidney tissue of mice in various groups (HE, ×400)

Erastin+POP组小鼠肾组织中Nrf2和HO-1蛋白表达水平明显降低 ($P<0.01$)。见图3。

3 讨论

顺铂在临床上常用于治疗肿瘤, 其可单独或与其他抗肿瘤药联合使用, 也可作为手术或放疗后的辅助治疗^[10]。由于顺铂的肾毒性、耳毒性和神经毒性较大, 临床使用受到限制。在使用顺铂治疗期间, 肾脏肾小管顺铂浓度高于血药浓度2倍, 肾小管细胞死亡被认为是肾毒性和AKI的主要病理生理表现^[11]。顺铂进入肾脏后, 水分子取代氯原子形成水合顺铂。水合顺铂可调节膜转运蛋白的表达

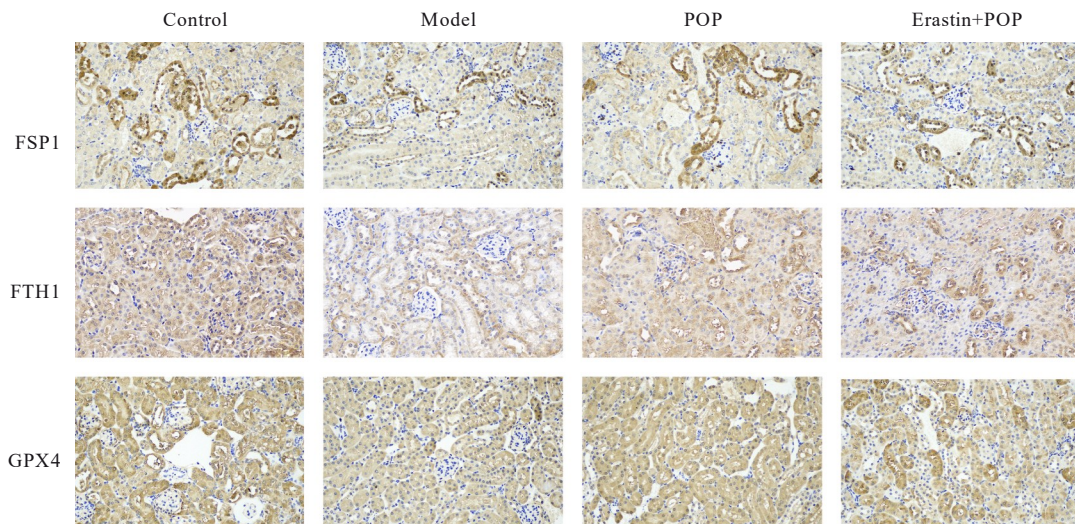


图 2 各组小鼠肾组织中FSP1、FTH1和GPX4蛋白表达情况(免疫组织化学染色, ×200)

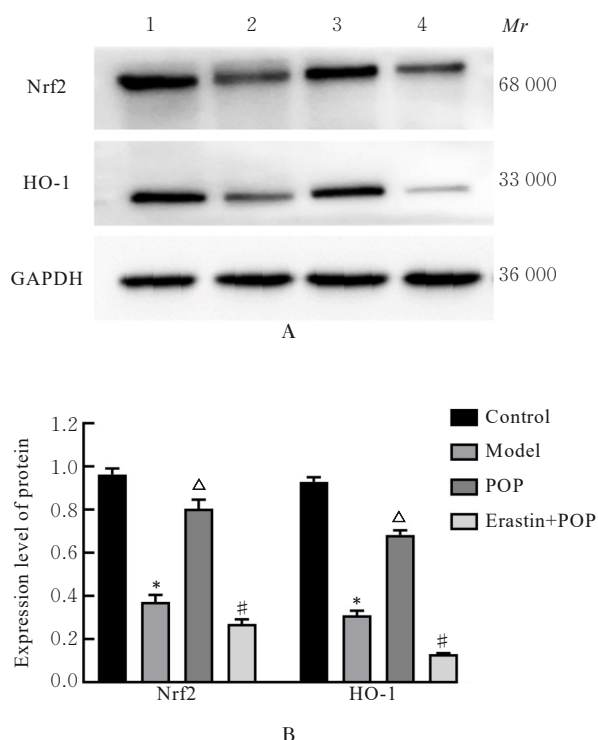
Fig. 2 Expressions of FSP1, FTH1, and GPX4 proteins in kidney tissue of mice in various groups (Immunohistochemistry, ×200)

表3 各组小鼠肾组织中FSP1、FTH1和GPX4蛋白表达水平
Tab. 3 Expression levels of FSP1, FTH1, and GPX4 proteins in kidney tissue of mice in various groups

($n=10, \bar{x} \pm s$)

Group	FSP1	FTH1	GPX4
Control	24.45±1.86	21.16±1.51	37.13±2.14
Model	12.65±1.05*	8.62±0.47*	25.10±1.82*
POP	21.45±1.64 [△]	16.97±1.42 [△]	32.59±2.08 [△]
Erastin+POP	16.84±1.43 ^{##}	12.08±0.75 [#]	28.66±1.93 [#]

* $P<0.01$ vs control group; [△] $P<0.01$ vs model group; [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ vs POP group.



Lane 1: Control group; Lane 2: Model group; Lane 3: POP group; Lane 4: Erastin+POP group. * $P<0.01$ vs control group; [△] $P<0.01$ vs model group; [#] $P<0.01$ vs POP group.

图3 各组小鼠肾组织中Nrf2和HO-1蛋白表达电泳图(A)和直条图(B)

Fig. 3 Electrophoregram (A) and histogram (B) of expressions of Nrf2 and HO-1 proteins in kidney tissue of mice in various groups

进而抑制线粒体功能,大量活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生,从而诱导氧化应激和线粒体损伤,引起细胞死亡,包括坏死、凋亡、焦亡和铁死亡等^[12],目前尚无针对性的预防方法。玉竹作为传统中药具有多种药理作用,其主要药效成分POP已被证实具有抗氧化作用^[13]。本研究结

果显示:POP处理可以降低AKI小鼠血清中Scr和BUN水平,改善肾组织病变程度,表明POP可以减轻顺铂所致的AKI。

近年来,有研究^[14]显示:氧化应激是顺铂诱导肾毒性的重要机制之一。顺铂通过抑制肾脏氧化系统,使细胞抗氧化与氧化平衡失控,导致肾脏损伤,其特征是MDA水平升高,超氧化物歧化酶和过氧化氢酶水平降低。顺铂诱导AKI的机制包括氧化应激、线粒体功能障碍、DNA损伤、细胞凋亡和铁死亡等。因此,活性氧清除剂和抗氧化剂对顺铂的肾毒性可能具有保护作用。研究^[15-16]显示:自由基清除剂(如维生素C和维生素E等)可以有效地预防顺铂所致AKI。ALMAGHRABI^[17]探讨槲皮素对顺铂诱导大鼠肾脏损伤的影响发现:槲皮素可通过降低自由基水平来增强抵抗氧化应激的能力。本研究结果显示:POP可以增加AKI小鼠肾组织中GSH水平,降低MDA水平,提示POP可以减轻顺铂所致的AKI。

研究^[18]显示:MDA是脂质过氧化作用的产物,可诱发铁死亡。铁死亡是一种新的细胞程序性死亡,以细胞铁水平超载和氧化性损伤为主要特征。这种细胞死亡方式表现为当细胞内聚集过多铁时,会通过芬顿反应导致细胞中产生大量ROS,引起氧化损伤,诱发细胞铁死亡^[19]。FTH1作为人类铁蛋白外壳的重要组成部分,主要在细胞中铁水平较高的情况下合成,在细胞中铁水平较低时FTH1降解。增加的铁蛋白可将 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} 并储存起来,从而对抗芬顿反应,减少ROS的产生,抑制铁死亡^[20]。GPX4是铁死亡发生的关键蛋白,在铁死亡中发挥重要的抑制作用^[21]。GPX4被认为是一种关键的抗氧化酶,可减少细胞中ROS的积聚,保护其免受氧化应激。GSH作为GPX4的底物,供应不足会直接影响GPX4的功能,导致铁死亡。因此增加GSH水平且提高GPX4活性可以有效缓解铁死亡。BERSUKER等^[22]于2019年首次发现FSP1基因通过抑制自由基引起的脂质过氧化发展从而抑制铁死亡,与典型的GSH依赖的GPX4通路平行发挥作用。本研究结果显示:顺铂处理的小鼠肾组织中FSP1、FTH1和GPX4蛋白表达水平降低,而POP处理可使上述蛋白表达水平升高,提示POP可抑制顺铂诱导的铁死亡。研究^[23]显示:铁死亡在顺铂引起的AKI中起重要作用,抑制铁死亡可有效减轻顺铂所致的AKI。本研究结果显示:

采用铁死亡诱导剂 Erastin 处理可以拮抗 POP 的肾保护作用, 从另一侧面提示 POP 可能通过抑制顺铂诱导的铁死亡, 减轻顺铂所致的 AKI。

Nrf2/HO-1 信号通路在抑制 ROS 和防止氧化损伤的过程中起重要作用^[24]。Nrf2 是一种转录因子, 在正常生理条件下泛素化并快速降解。当细胞受到 ROS 攻击时, Nrf2 迅速易位到细胞核中, 触发靶基因转录, 发挥抗氧化作用^[25]。HO-1 是 Nrf2 调控的一种细胞中重要抗氧化酶, 可清除 ROS, 抵抗氧化损伤^[26]。研究^[27]显示: Nrf2 可以通过促进 HO-1 蛋白表达而抑制铁死亡。本研究结果显示: 顺铂处理的小鼠肾组织中 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平降低, 而 POP 处理可以升高上述蛋白的表达水平, 采用铁死亡诱导剂 Erastin 处理可以下调小鼠肾组织中 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平, 提示 POP 可能通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路, 抑制铁死亡, 发挥对顺铂诱导 AKI 的保护作用。

综上所述, POP 可通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路, 抑制小鼠肾脏内氧化应激, 减轻顺铂诱导的小鼠 AKI, 其机制可能与 POP 抑制顺铂引起铁死亡有关。本研究为 POP 用于 AKI 的预防和治疗提供了理论支持。

利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:

姜方阳参与实验方案的设计、数据整理分析和论文撰写, 肖静、吕贺、孙铭阳、张文静、律广富、林贺和林喆参与实验研究过程和数据收集整理, 黄晓巍和王雨辰参与研究设计指导和论文审校。

[参考文献]

- [1] HOSTE E A J, KELLUM J A, SELBY N M, et al. Global epidemiology and outcomes of acute kidney injury[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2018, 14(10): 607-625.
- [2] PALIPOCH S. A review of oxidative stress in acute kidney injury: protective role of medicinal plants-derived antioxidants[J]. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2013, 10(4): 88-93.
- [3] MCSWEENEY K R, GADANEC L K, QARADAKHI T, et al. Mechanisms of cisplatin-induced acute kidney injury: pathological mechanisms, pharmacological interventions, and genetic mitigations[J]. *Cancers*, 2021, 13(7): 1572.
- [4] 樊 汇, 马 宇, 李曦铭. 预防对比剂相关性急性肾损伤的研究进展[J]. *天津医药*, 2023, 51(11): 1-5.
- [5] 张明娇, 朱杰夫, 吴雄飞. 顺铂诱导的肾损伤中的细胞死亡[J]. *生物技术进展*, 2023, 13(5): 718-724.
- [6] 许新杰, 葛勤敏. 铁死亡在急性肾损伤中的研究进展[J]. *上海医学*, 2023, 46(6): 401-405.
- [7] 李 婷, 邓碧莲, 欧阳征海, 等. 基于甜味受体整合中药“效味”和“滋味”探索玉竹甘味药性物质基础[J]. *中草药*, 2023, 54(3): 849-858.
- [8] LIU J R, CHEN B X, JIANG M T, et al. *Polygonatum odoratum* polysaccharide attenuates lipopolysaccharide-induced lung injury in mice by regulating gut microbiota[J]. *Food Sci Nutr*, 2023, 11(11): 6974-6986.
- [9] WANG Y, FEI Y Q, LIU L R, et al. *Polygonatum odoratum* polysaccharides modulate gut microbiota and mitigate experimentally induced obesity in rats[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3587.
- [10] ROMANI A M P. Cisplatin in cancer treatment[J]. *Biochem Pharmacol*, 2022, 206: 115323.
- [11] PABLA N, DONG Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies [J]. *Kidney Int*, 2008, 73(9): 994-1007.
- [12] PAN M L, WANG Z, WANG Y Y, et al. Celastrol alleviated acute kidney injury by inhibition of ferroptosis through Nrf2/GPX4 pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 166: 115333.
- [13] 何瑞阳, 王 锋, 苏小军, 等. 玉竹多糖低共熔溶剂提取工艺优化及其抗氧化和抗糖基化活性研究[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(8): 190-198.
- [14] JIANG M, WANG C Y, HUANG S, et al. Cisplatin-induced apoptosis in p53-deficient renal cells via the intrinsic mitochondrial pathway[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 296(5): F983-F993.
- [15] WEN Z Y, SUN C, LOU Y, et al. Vitamin D/Vitamin D receptor mitigates cisplatin-induced acute kidney injury by down-regulating C5aR [J]. *J Immunotoxicol*, 2023, 20(1): 2248267.
- [16] AJITH T A, ABHISHEK G, ROSHNY D, et al. Co-supplementation of single and multi doses of vitamins C and E ameliorates cisplatin-induced acute renal failure in mice[J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2009, 61(6): 565-571.
- [17] ALMAGHRABI O A. Molecular and biochemical investigations on the effect of quercetin on oxidative stress induced by cisplatin in rat kidney[J]. *Saudi J Biol Sci*, 2015, 22(2): 227-231.
- [18] 贾默然, 邵铁群, 盛东亚, 等. 白花丹素调控Nrf-2/Keap1信号通路诱导膀胱癌细胞铁死亡[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(20): 39-44.

- [19] BASIT F, VAN OPPEN L M, SCHÖCKEL L, et al. Mitochondrial complex I inhibition triggers a mitophagy-dependent ROS increase leading to necroptosis and ferroptosis in melanoma cells [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(3): e2716.
- [20] WANG Y Q, CHANG S Y, WU Q, et al. The protective role of mitochondrial ferritin on erastin-induced ferroptosis [J]. *Front Aging Neurosci*, 2016, 8: 308.
- [21] KRÜMMEL B, PLÖTZ T, JÖRNS A, et al. The central role of glutathione peroxidase 4 in the regulation of ferroptosis and its implications for pro-inflammatory cytokine-mediated beta-cell death [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2021, 1867(6): 166114.
- [22] BERSUKER K, HENDRICKS J M, LI Z P, et al. The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis [J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 688-692.
- [23] ZHOU L, YU P, WANG T T, et al. Polydatin attenuates cisplatin-induced acute kidney injury by inhibiting ferroptosis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 9947191.
- [24] BIAN H T, WANG G H, HUANG J J, et al. Dihydrolipoic acid protects against lipopolysaccharide-induced behavioral deficits and neuroinflammation via regulation of Nrf2/HO-1/NLRP3 signaling in rat [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 166.
- [25] 黄晓巍, 刘玥欣, 王晋冀, 等. 鹿茸多肽对轻度认知功能障碍大鼠学习记忆能力的改善作用及其调节Keap1/Nrf2/HO-1信号通路的机制 [J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2021, 47(5): 1215-1220.
- [26] ALI T, KIM T, REHMAN S U, et al. Natural dietary supplementation of anthocyanins via PI3K/akt/Nrf2/HO-1 pathways mitigate oxidative stress, neurodegeneration, and memory impairment in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(7): 6076-6093.
- [27] WANG S, ZHENG Y C, JIN S Z, et al. Dioscin protects against cisplatin-induced acute kidney injury by reducing ferroptosis and apoptosis through activating Nrf2/HO-1 signaling [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(12): 2443.