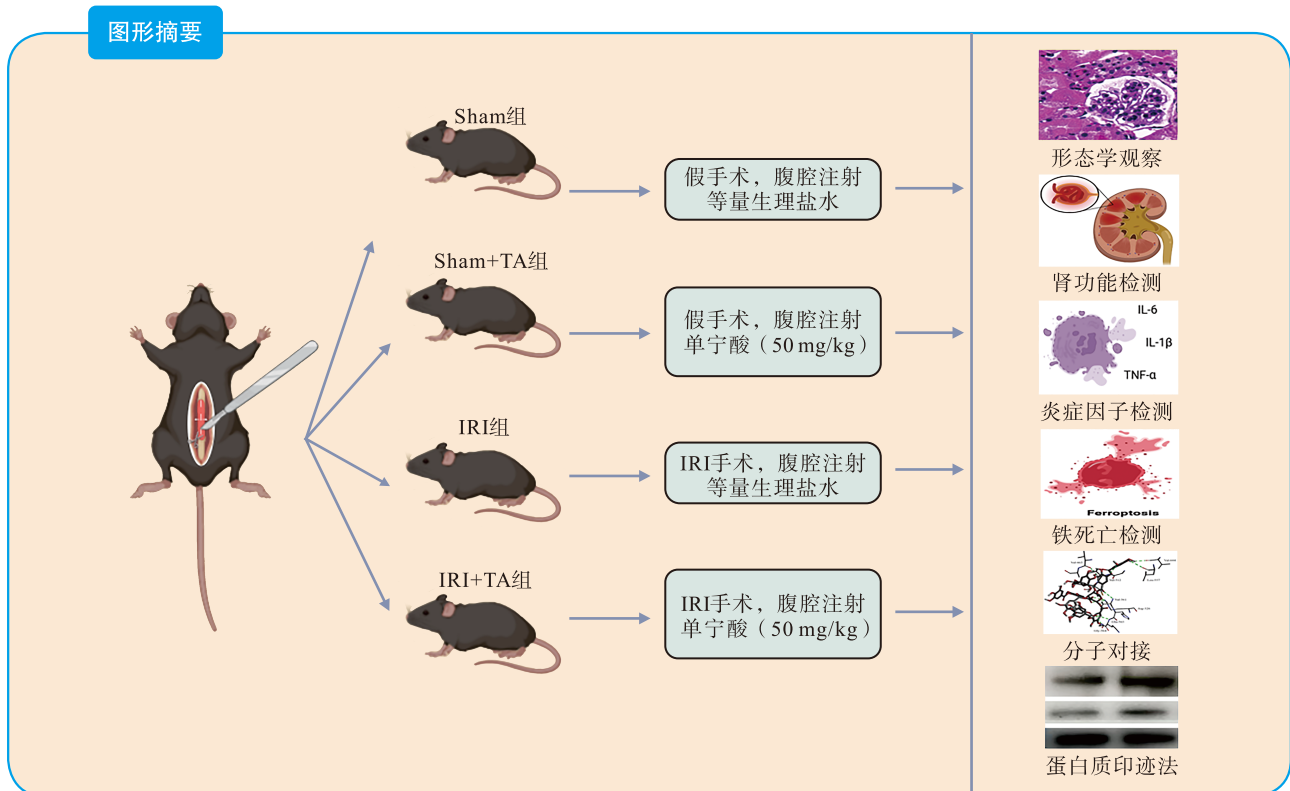


· 论著 ·

单宁酸通过抑制铁死亡改善小鼠肾脏缺血-再灌注损伤

王晓 刘东 庄锦场 黎忠大 李毅 申升



【摘要】 目的 探索单宁酸在小鼠肾脏缺血-再灌注损伤 (IRI) 中的作用及机制。方法 雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为假手术组 (Sham 组)、空白对照组 (Sham+TA 组)、实验组 (IRI 组) 和治疗组 (IRI+TA 组), 每组 20 只。观察肾脏 IRI 术后 48 h 小鼠生存情况。IRI 24 h 后留取小鼠血清和肾组织标本 (每组各 5 只), 检测小鼠血尿素氮与血清肌酐水平。检测肾组织炎症因子及铁死亡相关指标水平; 评估肾脏组织病理损伤。检测肾组织谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPX4)、酰基辅酶 A 合成酶长链家族 4 (ACSL4) 蛋白表达水平。使用分子对接软件探究单宁酸与核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 结合活性, 并验证 Nrf2、血红素加氧酶-1 (HO-1) 表达。结果 与 IRI 组相比, IRI+TA 组小鼠术后生存率较高 (0 比 60%), 血清肌酐、血尿素氮水平下降, 肾组织白细胞介素 (IL)-6、IL-1 β 、肿瘤坏死因子 (TNF)- α 水平下降, 肾组织损伤改善, 肾组织丙二醛、亚铁离子水平降低, 谷胱甘肽水平

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2024218

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (82000089)

作者单位: 510317 广州, 暨南大学附属广东省第二人民医院器官移植科 (王晓、刘东、庄锦场、黎忠大、申升); 中南大学湘雅医院呼吸与危重症医学科 (李毅)

作者简介: 王晓 (ORCID 0009-0000-1294-8630), 硕士, 主治医师, 研究方向为肾脏缺血-再灌注损伤机制, Email: wangxiaoly2010@163.com

通信作者: 申升 (ORCID 0009-0005-4147-1102), 硕士, 副主任医师, 研究方向为肾脏缺血-再灌注损伤机制, Email: shsh0844@

163.com

升高, GPX4 表达增多, ACSL4 表达减少 (均为 $P<0.05$)。单宁酸可与 Nrf2 形成合适的空间互补, 其结合能为 -8.7 kcal/mol, 单宁酸与 Nrf2 具有较强的结合能力。IRI+TA 组小鼠肾脏组织中 Nrf2、HO-1 蛋白水平上调。

结论 单宁酸可能与 Nrf2 蛋白结合, 激活 Nrf2/HO-1 通路抑制铁死亡, 改善小鼠肾脏 IRI。

【关键词】 单宁酸; 肾移植; 缺血-再灌注损伤; 铁死亡; 核因子 E2 相关因子 2; 血红素加氧酶-1; 炎症因子; 分子对接

【中图分类号】 R617, R692 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445 (2024) 06-0010-08

Tannic acid alleviates renal ischemia-reperfusion injury in mice by inhibiting ferroptosis Wang Xiao*, Liu Dong, Zhuang Jinyang, Li Zhongda, Li Yi, Shen Sheng. *Department of Organ Transplantation, Guangdong Second Provincial General Hospital Affiliated to Jinan University, Guangzhou 510317, China
Corresponding author: Shen Sheng, Email: shsh0844@163.com

【Abstract】 Objective To explore the role and mechanism of tannic acid in renal ischemia-reperfusion injury (IRI) in mice. **Methods** Male C57BL/6J mice were randomly divided into sham operation group (Sham group), blank control group (Sham+TA group), experimental group (IRI group) and treatment group (IRI+TA group), with 20 mice in each group. The survival of mice after renal IRI was observed 48 h after surgery. Serum and renal tissue samples were collected from mice 24 h after IRI (5 mice per group), and the levels of blood urea nitrogen and serum creatinine were detected. The levels of inflammatory factors and ferroptosis-related indicators in renal tissue were detected. The pathological damage of renal tissue was assessed. The protein expression levels of glutathione peroxidase 4 (GPX4) and acyl-CoA synthetase long-chain family 4 (ACSL4) in renal tissue were detected. Molecular docking software was used to explore the binding activity of tannic acid with nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) and to verify the expression of Nrf2 and heme oxygenase-1 (HO-1). **Results** Compared with the IRI group, the postoperative survival rate of mice in the IRI+TA group was higher (0 vs. 60%), the levels of serum creatinine and blood urea nitrogen were decreased, the levels of interleukin (IL)-6, IL-1 β , and tumor necrosis factor (TNF)- α in renal tissue were decreased, the renal tissue injury was improved, the levels of malondialdehyde and ferrous ions in renal tissue were reduced, the level of glutathione was increased, the expression of GPX4 was increased, and the expression of ACSL4 was decreased (all $P<0.05$). Tannic acid may form a suitable spatial complement with Nrf2, with a binding energy of -8.7 kcal/mol, indicating a strong binding ability of tannic acid with Nrf2. The protein levels of Nrf2 and HO-1 in the renal tissue of mice in the IRI+TA group were upregulated. **Conclusions** Tannic acid may bind to Nrf2 protein, activate the Nrf2/HO-1 pathway to inhibit ferroptosis, and alleviate renal IRI in mice.

【Key words】 Tannic acid; Kidney transplantation; Ischemia-reperfusion injury; Ferroptosis; Nuclear factor E2-related factor 2; Heme oxygenase-1; Inflammatory factor; Molecular docking

肾缺血-再灌注损伤 (ischemia-reperfusion injury, IRI) 常见于肾移植术后, 也是导致急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 的主要原因之一^[1]。尽管新型免疫抑制药、缩短冷热缺血时间等治疗策略已成功应用于临床, 但肾移植仍然面临着众多严峻挑战, 其中移植肾功能延迟恢复、急慢性排斥反应、移植肾存活较短等问题严重影响肾移植受者预后, 与 IRI 密切相关^[2]。IRI 病理生理机制十分复杂, 与氧化自由基生成增加、细胞因子风暴、细胞内钙超载等机制密切相关^[3-6], 但其机制目前尚未阐明, 仍然缺乏有效治疗靶点与药物。

铁死亡是一种细胞死亡方式, 其发生发展与脂质过氧化、铁代谢紊乱、炎症损伤密切相关^[7-8]。近年来研究发现铁死亡在 IRI 中发挥着至关重要的作用, 抑制铁死亡发生, 可有效减轻肾、心、脑、肠、肝 IRI^[9-11]。针对铁死亡这一治疗靶点, 研究者们发现人尿液干细胞及右美托咪定、纳米硒、克唑替尼等药物可通过抑制细胞铁死亡, 显著改善肾 IRI^[12-14]。因此, 以细胞铁死亡作为潜在治疗靶点, 对于防治 IRI 临床意义重大。单宁酸是一种天然多酚类化合物, 广泛存在于木质植物、绿茶、咖啡, 以及葡萄等新鲜水果中, 其结构十分复杂, 含有多个酚羟基, 可

有效清除机体产生的自由基,具有强效抗氧化应激的作用^[15]。随着研究深入,研究者们还发现单宁酸具有抗炎、抗抑郁、抗肿瘤、抗病原微生物等多种药理作用^[15-17]。本研究通过构建 IRI 小鼠模型,探索单宁酸在 IRI 中作用,并结合分子对接的方法探索其具体作用机制,为 IRI 寻找潜在治疗药物。

1 材料与方法

1.1 实验材料

雄性 C57BL/6J 小鼠,7~8 周龄,体质量 20~22 g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司。小鼠饲养于中南大学实验动物学部,饲养于无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级环境中,维持合适的饲养温度 (20~26 °C)、湿度 (40%~70%)、光照 (光照 12 h、黑暗 12 h,保持昼夜节律),给予小鼠充足的食物与饮水。动物实验方案均经过中南大学湘雅医院实验动物伦理委员会批准 (批准号:2023020225)。

血尿素氮、血清肌酐检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。检测白细胞介素 (interleukin, IL)-6、IL-1 β 、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 的酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immune absorbent assay, ELISA) 试剂盒购自联科生物公司。丙二醛、谷胱甘肽试剂盒购自碧云天生物公司,亚铁离子检测试剂盒采购自北京索莱宝科技有限公司。谷胱甘肽过氧化酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4)、酰基辅酶 A 合成酶长链家族 4 (acyl-CoA synthetase long-chain family 4, ACSL4)、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)、 β -actin 抗体购自美国 Proteintech 公司。单宁酸购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.2 实验分组与模型构建

将 80 只雄性 C57BL/6J 小鼠完全随机分为假手术组 (Sham 组)、单纯药物干预组 (Sham+TA 组)、实验组 (IRI 组) 和治疗组 (IRI+TA 组),每组 20 只。Sham+TA 组与 IRI+TA 组术前腹腔注射单宁酸 (50 mg/kg),其余两组在相同时间点腹腔注射等体积生理盐水。

使用氯胺酮 (50 mg/kg) 与甲苯噻嗪 (10 mg/kg) 腹腔注射麻醉小鼠后,放置于恒温加热板上 [体温维持在 (36.0 \pm 0.5) °C],碘酒消毒小鼠术区皮肤,腹部

正中切口,切除右侧肾脏,无损伤血管夹夹闭左侧肾蒂,左侧肾脏由鲜红色变为暗紫色视为有效缺血,持续夹闭 25 min 后,松开血管夹,恢复肾脏灌注,肾脏由暗紫色逐渐变为鲜红色,缝合腹部切口,构建 IRI 模型。假手术组分离双侧肾蒂,并且切除右侧肾脏,不夹闭左侧肾蒂。

处理 24 h 后,每组 5 只取血清和肾组织进行后续处理,10 只观察生存率,观察截止时间为术后 48 h。

1.3 研究内容

1.3.1 肾功能检测 小鼠 IRI 后 24 h,麻醉后腹主动脉取血,留取血清,使用试剂盒检测血尿素氮、血清肌酐水平。

1.3.2 炎症因子及铁死亡相关因子检测 取等量肾脏组织匀浆后,按照 ELISA 试剂盒说明书检测 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平,用试剂盒检测丙二醛、谷胱甘肽、亚铁离子水平。

1.3.3 肾脏组织病理学评估 左肾使用多聚甲醛固定后进行包埋,4 μ m 切片后进行苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色,光镜下进行观察,评估肾脏病理损伤情况。肾脏损伤评估采用 Paller 评分^[18]:肾小管上皮细胞扁平 (1 分);刷状缘损伤、消失 (1 分);细胞膜出现肿胀空泡 (1 分或 2 分);间质水肿 (1 分);细胞质空泡化 (1 分);细胞坏死 (1 分或 2 分);肾小管管腔出现脱落或者坏死细胞阻塞,管型出现 (1 分或 2 分)。

1.3.4 蛋白表达检测 肾脏组织匀浆后提取总蛋白以及核蛋白,电泳后转膜,5% 脱脂奶粉封闭 1 h 后 GPX4 (1 : 1 000)、Nrf2 (1 : 500)、HO-1 (1 : 1 000)、 β -actin (1 : 2 000)、ACSL4 (1 : 1 000) 一抗 4 °C 孵育过夜,后二抗室温孵育 1 h,化学发光试剂孵育后显像。

1.3.5 分子对接 使用 Autodock Vina (1.1.2) 软件与 LeDock 软件进行分子对接,探索单宁酸与 Nrf2 蛋白结合活性。小鼠源 Nrf2 蛋白 (ID: Q60795) 分子结构下载自 Uniprot 网上数据库 (<https://www.uniprot.org/>)。药物单宁酸 (PubChem CID: 16129778) 化学结构从 Pubchem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载。分子对接结果使用 Pymol 软件 (2.5.4) 进行可视化,Discovery studio visualization 2021 软件分析单宁酸与 Nrf2 蛋白的相互作用,并展示单宁酸与 Nrf2 蛋白的 2D 相互作用图。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料采用均数±标准差表示，两组间计量资料比较采用独立样本 *t* 检验，多组间计量资料比较采用单因素方差分析。使用 Kaplan-Meier 曲线进行生存分析，log-rank 检验比较生存率差异。 $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 单宁酸降低肾 IRI 小鼠病死率

术后 48 h，IRI 组小鼠全部死亡，IRI+TA 组小鼠生存率为 60%。与 IRI 组比较，IRI+TA 组小鼠术后生存率升高 ($P = 0.022$ ，图 1)。

2.2 单宁酸改善肾 IRI 小鼠肾功能

与 Sham 组比较，IRI 组血清肌酐与血尿素氮水平升高；与 IRI 组比较，IRI+TA 组血清肌酐、血尿素氮水平降低 (均为 $P < 0.05$ ，图 2)。Sham 组与

Sham+TA 组血清肌酐与血尿素氮比较，差异无统计学意义 (均为 $P > 0.05$ ，图 2)。

2.3 单宁酸缓解 IRI 小鼠肾组织病理损伤

Sham 组与 Sham+TA 组肾小管上皮细胞形态规整，肾小球与肾小管结构基本正常；IRI 组肾小管上皮细胞肿胀明显，肾小管管腔扩张明显，管腔内可见脱落坏死细胞，肾小管管型出现，刷状缘坏死脱落，间质水肿，大量炎症细胞浸润；IRI+TA 组肾脏组织以上病理损伤减轻 (图 3A)。与 Sham 组比较，IRI 组肾组织病理评分升高；与 IRI 组比较，IRI+TA 组肾组织病理评分降低 (均为 $P < 0.05$ ，图 3B)。

2.4 单宁酸抑制 IRI 介导的炎症风暴

与 Sham 组比较，IRI 组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平升高；与 IRI 组相比，IRI+TA 组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平下降 (均为 $P < 0.05$ ，图 4)。

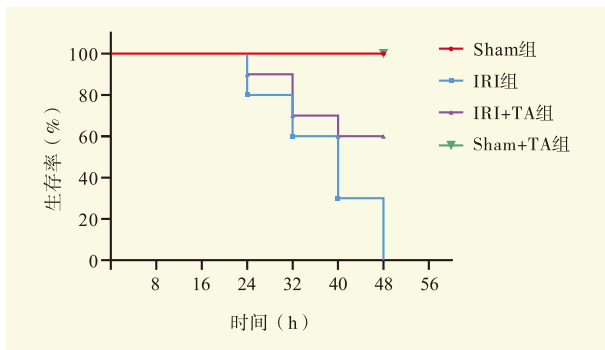
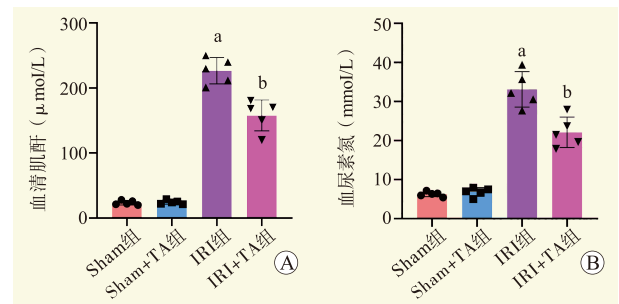


图 1 各组小鼠术后生存情况

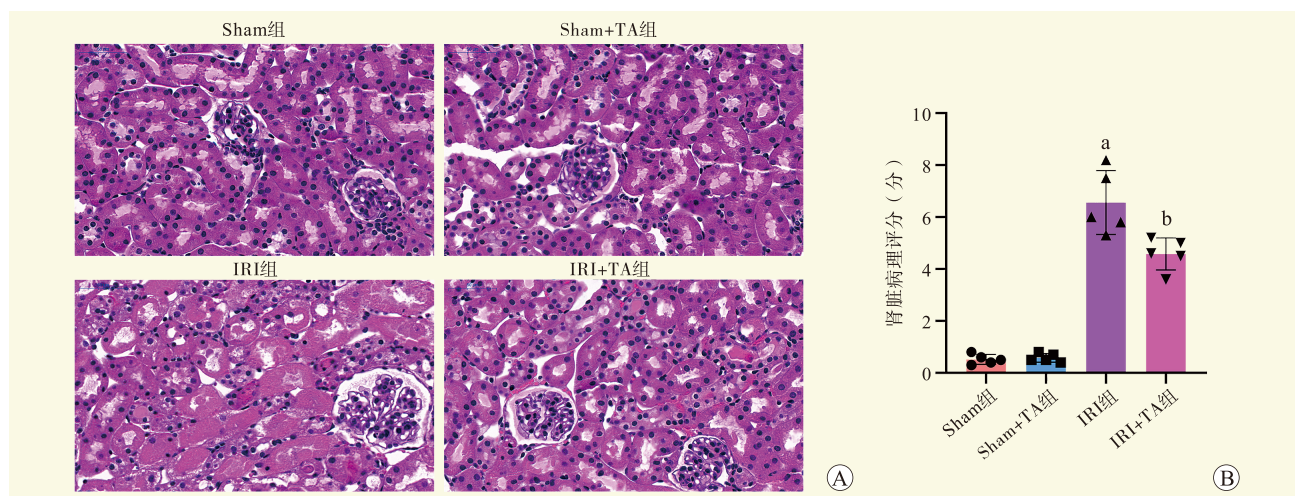
Figure 1 Postoperative survival of mice in each group



注：与 Sham 组比较，^a $P < 0.05$ ；与 IRI 组比较，^b $P < 0.05$ 。

图 2 各组小鼠肾功能比较

Figure 2 Comparison of renal function of mice among each group



注：与 Sham 组比较，^a $P < 0.05$ ；与 IRI 组比较，^b $P < 0.05$ 。

图 3 各组小鼠肾组织病理改变 (HE, ×400)

Figure 3 Pathological changes in renal tissue of mice in each group

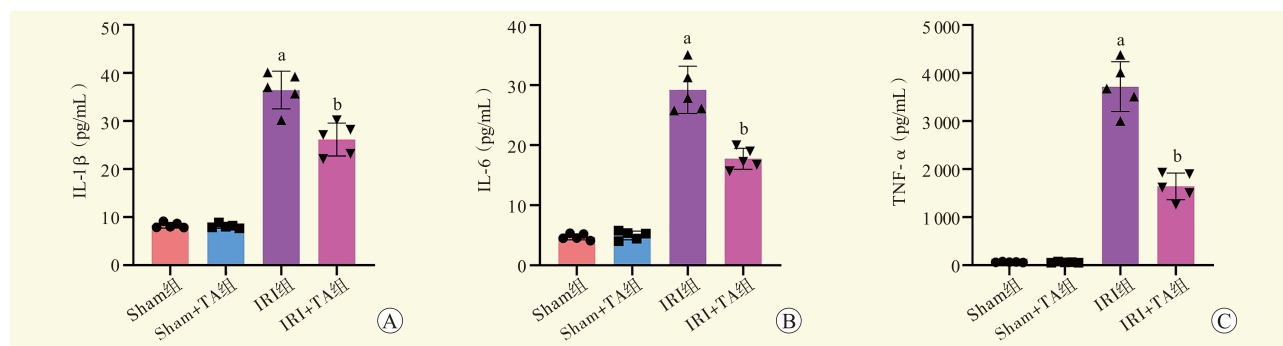
2.5 单宁酸抑制 IRI 中细胞铁死亡

与 Sham 组比较, IRI 组丙二醛、亚铁离子水平升高, 谷胱甘肽水平下降; 与 IRI 组相比, IRI+TA 组小鼠肾组织丙二醛、亚铁离子水平降低, 谷胱甘肽水平升高 (均为 $P < 0.05$, 图 5A~C)。

IRI 组小鼠肾脏中 GPX4 表达减少, ACSL4 表达增多; IRI+TA 组小鼠肾组织中 GPX4 表达增多, ACSL4 表达减少 (图 5D)。

2.6 单宁酸与铁死亡关键因子 Nrf2 分子对接结果

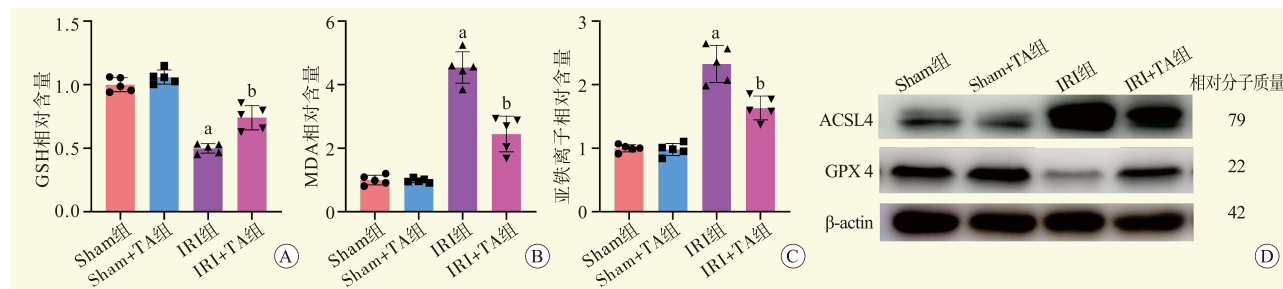
单宁酸可与 Nrf2 蛋白结合部位形成合适的空间互补 (图 6A), 单宁酸可能与 Nrf2 的氨基酸残基位点以氢键的方式连接, 结合的氨基酸残基分别为 Val (604)、Val (465)、Leu (557)、Val (512)、Val (561)、Arg (326)、Gln (563)、Gly (564) (图 6B)。单宁酸与铁死亡关键蛋白 Nrf2 结合能为 -8.7 kcal/mol , 具有较强的结合活性。



注: 与 Sham 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 IRI 组比较, ^b $P < 0.05$ 。

图 4 各组小鼠肾组织炎症因子水平比较

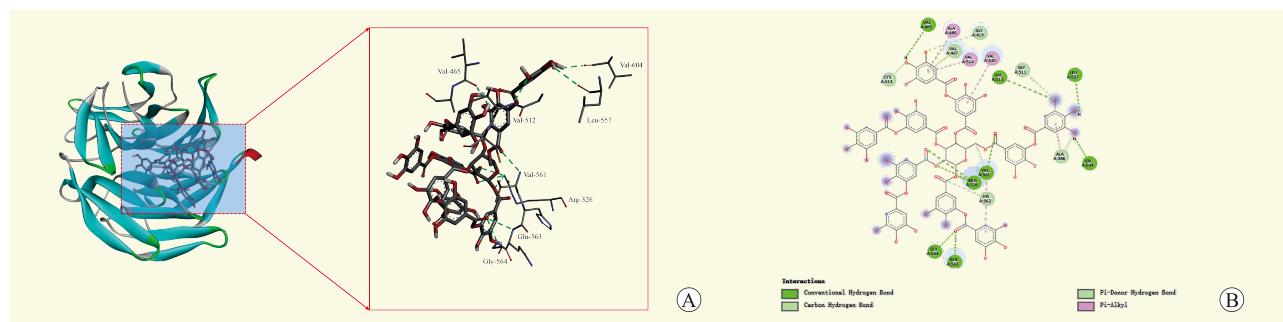
Figure 4 Comparison of inflammatory cytokine levels in renal tissue of mice among each group



注: A 图为各组谷胱甘肽相对含量; B 图为各组丙二醛相对含量; C 图为各组亚铁离子相对含量; D 图为铁死亡相关蛋白表达量。与 Sham 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 IRI 组比较, ^b $P < 0.05$ 。

图 5 各组小鼠肾组织铁死亡相关因子及蛋白表达

Figure 5 Ferroptosis related factors and protein expression in renal tissue of mice in each group



注: A 图为单宁酸与 Nrf2 分子结合的 3D 结构图, 绿色虚线代表氨基酸残基与单宁酸之间可能的氢键连接; B 图为单宁酸与 Nrf2 分子 2D 结合结构图, 绿色圆球代表可能与单宁酸结合的氨基酸残基, 绿色虚线代表两者连接的氢键。

图 6 单宁酸与 Nrf2 分子对接

Figure 6 Molecule docking of tannic acid and Nrf2

IRI 组肾组织中 Nrf2 与 HO-1 表达增多, IRI+TA 组小鼠肾组织中 Nrf2、HO-1 表达量进一步增多 (图 7)。

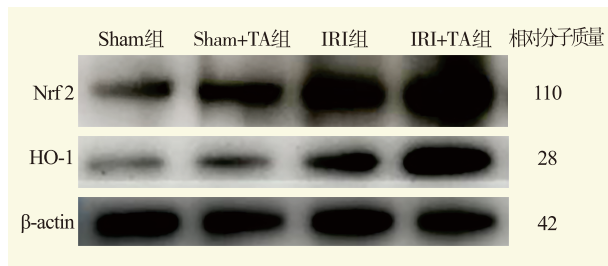


图 7 肾组织 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达

Figure 7 Expression of Nrf2 and HO-1 proteins in renal tissue

3 讨论

目前, 肾移植是终末期肾病患者最有效的治疗手段, 但在肾移植过程中不可避免会出现肾 IRI。研究表明肾 IRI 可造成移植物功能延迟恢复、排斥反应、移植物无功能, 严重影响肾移植受者预后^[19-20]。然而, 目前肾 IRI 机制尚不明确, 缺乏有效的治疗靶点。本研究构建了小鼠肾 IRI 模型, 发现 IRI 24 h 后, 小鼠血尿素氮、血清肌酐大幅度上升, 且均在术后 48 h 内死亡, 组织病理学显示肾脏组织中肾小管上皮细胞出现脱落坏死, 刷状缘脱落, 肾小管管型出现, 间质水肿, 大量炎症细胞浸润, 而单宁酸干预后, IRI 小鼠生存率提高, 肾功能与肾组织病理损伤改善, 炎症因子水平下降。

铁死亡是一种细胞死亡方式, 与细胞脂质膜过氧化、铁离子代谢紊乱密切相关。细胞发生铁死亡的生理作用多种多样^[21]: 一方面器官结构细胞发生铁死亡, 导致结构细胞失去功能, 例如肾小管上皮细胞发生铁死亡, 导致细胞死亡, 影响重吸收功能。另外, 细胞发生铁死亡后, 会释放细胞体内的损伤相关分子模式, 引发强烈炎症反应, 引发机体炎症损伤。近来, 多个研究表明铁死亡与 IRI 密切相关, 抑制铁死亡发生, 可有效改善心、肾、脑等 IRI^[22-25]。以铁死亡为治疗靶点的基础研究也发现: 药物抑制铁死亡, 有效改善动物模型 IRI^[12, 24]。本研究中, IRI 组小鼠肾脏组织中 MDA 与亚铁离子水平显著上调, GSH 水平下调, 铁死亡抑制蛋白 GPX4 表达下调, 而促铁死亡蛋白 ACSL4 表达上调, 而单宁酸可显著抑制细胞铁死亡。

Nrf2 是机体抗氧化应激关键转录因子, 机体在氧化应激损伤压力下, Nrf2 激活进入细胞核, 促进下游抗氧化因子转录, 启动机体抗氧化应激系统^[26-27]。近来研究发现 Nrf2 也是铁死亡关键负调控因子, Nrf2 调控许多铁死亡相关蛋白转录, 例如活性氧自由基清除系统相关蛋白 (HO-1、GPX4)、谷胱甘肽合成相关蛋白 (GSS、SLC7A11、GCLC) 以及铁代谢相关蛋白^[28-31]。在 Nrf2 转录调控蛋白中, HO-1 对于维持机体铁代谢平衡、抗炎症损伤、抗氧化应激至关重要, 发挥细胞保护作用^[32-34]。Nrf2/HO-1 通路激活可有效抑制细胞铁死亡, 改善组织损伤^[35-38]。既往研究者发现, 在多种 IRI 模型中, Nrf2、HO-1 蛋白表达量显著上升, Nrf2/HO-1 通路激活, 机体抗氧化损伤通路被激活^[39-42]。本研究中也观察到相同结果: 与 Sham 组相比, IRI 组中 Nrf2、HO-1 蛋白表达量显著上调, 机体抗氧化应激防御系统开启。分子对接发现单宁酸与铁死亡关键调控蛋白 Nrf2 有很强的结合活性, 进一步实验验证发现, 与 IRI 组相比, 单宁酸干预小鼠后 Nrf2 蛋白含量显著上调, 下游 HO-1 蛋白表达量也随之上调, Nrf2/HO-1 通路进一步被激活, 进一步增强机体抗氧化应激能力, 从而改善 IRI。单宁酸可有效改善小鼠 IRI, 且在人体中安全性得到广泛验证, 在 IRI 防治方面临床潜力巨大, 但其有效性与剂量安全阈值仍需要大样本临床试验验证。

综上所述, 本研究发现单宁酸可有效改善肾 IRI, 其机制可能是与 Nrf2 蛋白结合, 激活 Nrf2/HO-1 通路, 抑制铁死亡。因此, 靶向激活铁死亡关键因子 Nrf2, 抑制细胞铁死亡可作为 IRI 潜在治疗方法。未来, 我们将借助生物信息学手段, 进一步探索单宁酸调控 IRI 的可能机制, 阐明 IRI 病理生理机制, 寻找有临床潜力的治疗靶点。

参考文献:

- [1] HUANG R, ZHANG C, XIANG Z, et al. Role of mitochondria in renal ischemia-reperfusion injury[J]. FEBS J, 2024, DOI: 10.1111/febs.17130[Epub ahead of print].
- [2] ZHAO H, ALAM A, SOO AP, et al. Ischemia-reperfusion injury reduces long term renal graft survival: mechanism and beyond[J]. EBioMedicine, 2018, 28: 31-42. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.01.025.
- [3] LI C, YU Y, ZHU S, et al. The emerging role of regulated cell death in ischemia and reperfusion-induced acute kidney injury: current evidence and future

- perspectives[J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10(1): 216. DOI: 10.1038/s41420-024-01979-4.
- [4] CHEN Y, LI Z, ZHANG H, et al. Mitochondrial metabolism and targeted treatment strategies in ischemic-induced acute kidney injury[J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10(1): 69. DOI: 10.1038/s41420-024-01843-5.
- [5] ZHANG M, LIU Q, MENG H, et al. Ischemia-reperfusion injury: molecular mechanisms and therapeutic targets[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 12. DOI: 10.1038/s41392-023-01688-x.
- [6] LASORSA F, RUTIGLIANO M, MILELLA M, et al. Ischemia-reperfusion injury in kidney transplantation: mechanisms and potential therapeutic targets[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(8): 4332. DOI: 10.3390/ijms25084332.
- [7] STOCKWELL BR. Ferroptosis turns 10: emerging mechanisms, physiological functions, and therapeutic applications[J]. *Cell*, 2022, 185(14): 2401-2421. DOI: 10.1016/j.cell.2022.06.003.
- [8] DIXON SJ, OLZMANN JA. The cell biology of ferroptosis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, 25(6): 424-442. DOI: 10.1038/s41580-024-00703-5.
- [9] 刘思齐, 杨正飞. 铁死亡: 心肌缺血再灌注损伤分子机制和药物治疗研究新靶点[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2022, 43(5): 712-719. DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2022.0504.
- LIU SQ, YANG ZF. Ferroptosis: novel research targets of molecular mechanism and drug therapy for myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *J Sun Yat Sen Univ (Med Sci)*, 2022, 43(5): 712-719. DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2022.0504.
- [10] XIANG Q, YI X, ZHU XH, et al. Regulated cell death in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2024, 35(3): 219-234. DOI: 10.1016/j.tem.2023.10.010.
- [11] CHEN F, KANG R, TANG D, et al. Ferroptosis: principles and significance in health and disease[J]. *J Hematol Oncol*, 2024, 17(1): 41. DOI: 10.1186/s13045-024-01564-3.
- [12] ZUO Z, LUO M, LIU Z, et al. Selenium nanoparticles alleviate renal ischemia/reperfusion injury by inhibiting ferritinophagy via the XBP1/NCOA4 pathway[J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22(1): 376. DOI: 10.1186/s12964-024-01751-2.
- [13] SUN Z, WU J, BI Q, et al. Exosomal lncRNA TUG1 derived from human urine-derived stem cells attenuates renal ischemia/reperfusion injury by interacting with SRSF1 to regulate ASCL4-mediated ferroptosis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 297. DOI: 10.1186/s13287-022-02986-x.
- [14] TAO WH, SHAN XS, ZHANG JX, et al. Dexmedetomidine attenuates ferroptosis-mediated renal ischemia/reperfusion injury and inflammation by inhibiting ACSL4 via α 2-AR[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 782466. DOI: 10.3389/fphar.2022.782466.
- [15] 王灿, 梁如铭, 李健, 等. 单宁酸及其纳米颗粒的药理作用研究进展[J]. *中国现代中药*, 2023, 25(12): 2643-2650. DOI: 10.13313/j.issn.1673-4890.20230301005.
- WANG C, LIANG RM, LI J, et al. Research progress in pharmacological effects of tannic acid and its nanoparticles[J]. *Mod Chin Med*, 2023, 25(12): 2643-2650. DOI: 10.13313/j.issn.1673-4890.20230301005.
- [16] LIANG X, CAO K, LI W, et al. Tannic acid-fortified zein-pectin nanoparticles: stability, properties, antioxidant activity, and in vitro digestion[J]. *Food Res Int*, 2021, 145: 110425. DOI: 10.1016/j.foodres.2021.110425.
- [17] GUIMARÃES I, COSTA R, MADUREIRA S, et al. Tannic acid tailored-made microsystems for wound infection[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(5): 4826. DOI: 10.3390/ijms24054826.
- [18] PALLER MS, HOIDAL JR, FERRIS TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat[J]. *J Clin Invest*, 1984, 74(4): 1156-1164. DOI: 10.1172/JCI111524.
- [19] SMITH SF, HOSGOOD SA, NICHOLSON ML. Ischemia-reperfusion injury in renal transplantation: 3 key signaling pathways in tubular epithelial cells[J]. *Kidney Int*, 2019, 95(1): 50-56. DOI: 10.1016/j.kint.2018.10.009.
- [20] FAN H, LIU J, SUN J, et al. Advances in the study of B cells in renal ischemia-reperfusion injury[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1216094. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1216094.
- [21] TANG D, CHEN X, KANG R, et al. Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications[J]. *Cell Res*, 2021, 31(2): 107-125. DOI: 10.1038/s41422-020-00441-1.
- [22] ZHANG Y, YE P, ZHU H, et al. Neutral polysaccharide from *Gastrodia elata* alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting ferroptosis-mediated neuroinflammation via the Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2024, 30(3): e14456. DOI: 10.1111/cns.14456.
- [23] GAO Q, LI C, ZHONG P, et al. GDF15 restrains myocardial ischemia-reperfusion injury through inhibiting GPX4 mediated ferroptosis[J]. *Aging*, 2024, 16(1): 617-626. DOI: 10.18632/aging.205402.
- [24] FENG W, ZHU N, XIA Y, et al. Melanin-like nanoparticles alleviate ischemia-reperfusion injury in the kidney by scavenging reactive oxygen species and inhibiting ferroptosis[J]. *iScience*, 2024, 27(4): 109504. DOI: 10.1016/j.isci.2024.109504.
- [25] JIA D, WU K, LUO J, et al. Wogonin alleviates DCD liver ischemia/reperfusion injury by regulating ALOX15/iNOS-mediated ferroptosis[J]. *Transplantation*, 2024, DOI: 10.1097/TP.0000000000005123 [Epub ahead of print].
- [26] MURAKAMI S, KUSANO Y, OKAZAKI K, et al. Nrf2 signalling in cytoprotection and metabolism[J]. *Br J Pharmacol*, 2023, DOI:10.1111/bph.16246 [Epub ahead of print].
- [27] YI M, CRUZ CISNEROS L, CHO EJ, et al. Nrf2

- pathway and oxidative stress as a common target for treatment of diabetes and its comorbidities[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(2): 821. DOI: 10.3390/ijms25020821.
- [28] YAN R, LIN B, JIN W, et al. Nrf2, a superstar of ferroptosis[J]. *Antioxidants*, 2023, 12(9): 1739. DOI: 10.3390/antiox12091739.
- [29] JIANG X, YU M, WANG WK, et al. The regulation and function of Nrf2 signaling in ferroptosis-activated cancer therapy[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2024, 45(11): 2229-2240. DOI: 10.1038/s41401-024-01336-2.
- [30] DENG X, CHU W, ZHANG H, et al. Nrf2 and ferroptosis: a new research direction for ischemic stroke[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2023, 43(8): 3885-3896. DOI: 10.1007/s10571-023-01411-y.
- [31] 张鹏, 葛亮, 孔令国, 等. 咪达唑仑通过调节 Nrf2/HO-1 信号通路对宫颈癌细胞铁死亡的作用及机制研究[J]. *实用医学杂志*, 2023, 39(14): 1740-1745. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2023.14.003.
- ZHANG P, GE L, KONG LG, et al. The effect and mechanism of midazolam on ferroptosis in cervical cancer cells by regulating the Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *J Pract Med*, 2023, 39(14): 1740-1745. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2023.14.003.
- [32] FAHRER J, WITTMANN S, WOLF AC, et al. Heme oxygenase-1 and its role in colorectal cancer[J]. *Antioxidants*, 2023, 12(11): 1989. DOI: 10.3390/antiox12111989.
- [33] LEAL EC, CARVALHO E. Heme oxygenase-1 as therapeutic target for diabetic foot ulcers[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(19): 12043. DOI: 10.3390/ijms231912043.
- [34] GRUNENWALD A, ROUMENINA LT, FRIMAT M. Heme oxygenase 1: a defensive mediator in kidney diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 2009. DOI: 10.3390/ijms22042009.
- [35] 王赛, 高静. 富马酸二甲酯对过氧化氢诱导心脏微血管内皮细胞铁死亡的影响[J]. *实用医学杂志*, 2023, 39(12): 1494-1499. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2023.12.006.
- WANG S, GAO J. Effects of dimethyl fumarate on ferroptosis of cardiac microvascular endothelial cells induced by hydrogen peroxide and its mechanism[J]. *J Pract Med*, 2023, 39(12): 1494-1499. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2023.12.006.
- [36] 张方圆, 刘刚. 右美托咪定通过激活 Nrf2/HO-1/GPX4 通路抑制肾小管上皮细胞的铁死亡[J]. *南方医科大学学报*, 2024, 44(6): 1135-1140. DOI: 10.12122/j.issn.1673-4254.2024.06.14.
- ZHANG FY, LIU G. Dexmedetomidine inhibits ferroptosis of human renal tubular epithelial cells by activating the Nrf2/HO-1/GPX4 pathway[J]. *J South Med Univ*, 2024, 44(6): 1135-1140. DOI: 10.12122/j.issn.1673-4254.2024.06.14.
- [37] LUO L, HUANG F, ZHONG S, et al. Astaxanthin attenuates ferroptosis via Keap1-Nrf2/HO-1 signaling pathways in LPS-induced acute lung injury[J]. *Life Sci*, 2022, 311(Pt A): 121091. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.121091.
- [38] LI J, LU K, SUN F, et al. Panaxydol attenuates ferroptosis against LPS-induced acute lung injury in mice by Keap1-Nrf2/HO-1 pathway[J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 96. DOI: 10.1186/s12967-021-02745-1.
- [39] SHI M, WANG J, BI F, et al. Diosmetin alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury through Keap1-mediated Nrf2/ARE signaling pathway activation and NLRP3 inflammasome inhibition[J]. *Environ Toxicol*, 2022, 37(6): 1529-1542. DOI: 10.1002/tox.23504.
- [40] CHEN Y, LI T, TAN P, et al. Kaempferol from *Penthorum chinense* pursh attenuates hepatic ischemia/reperfusion injury by suppressing oxidative stress and inflammation through activation of the Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 857015. DOI: 10.3389/fphar.2022.857015.
- [41] ZHENG Y, LU H, HUANG H. Desflurane preconditioning protects against renal ischemia-reperfusion injury and inhibits inflammation and oxidative stress in rats through regulating the Nrf2-Keap1-ARE signaling pathway[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 1351-1362. DOI: 10.2147/DDDT.S223742.
- [42] MOHAMED ME, ELMORSY MA, YOUNIS NS. Renal ischemia/reperfusion mitigation via geraniol: the role of Nrf-2/HO-1/NQO-1 and TLR2, 4/MYD88/NFκB pathway[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(8): 1568. DOI: 10.3390/antiox11081568.

(收稿日期: 2024-07-24)

(本文编辑: 方引超 吴秋玲)