

刺五加注射液预处理对大鼠肾缺血再灌注损伤的影响

李强* 靳书滨 余在霞 赵志勇 陈月 李峰 霍韶军

(邯郸市中心医院泌尿外科, 邯郸 056001)

摘要 该研究探讨了刺五加(*Acanthopanax senticosus*, AS)注射液预处理对大鼠肾缺血再灌注损伤(ischemic reperfusion injury, IRI)的保护作用及其可能机制。采取单动脉夹闭法建立大鼠肾缺血再灌注损伤模型。检测各组大鼠血清肌酐(Scr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、血液中白介素-6(interleukin-6, IL-6)、尿液肾损伤分子-1(kidney injury molecule-1, KIM-1)、6-乙酰-B-D-氨基葡萄糖苷酶(6-acetyl-B-D-glucosaminidase, NAG)的含量。苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE)光镜下观察各组大鼠肾组织的病理变化。免疫组化测定各组大鼠肾组织中细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)蛋白质水平。结果表明, HE染色光镜下观察, IRI组及AS组肾组织出现病理改变, 对照组无明显病理变化, 而AS组大鼠肾组织损伤较IRI组减轻。AS预处理大鼠肾IRI, 可明显降低血清Scr、BUN、MDA、IL-6、尿液KIM-1、NAG量及肾组织中ICAM-1蛋白的表达。认为AS预处理对大鼠急性肾IRI具有明显保护作用, 可能与其可以减轻大鼠IRI的炎性损伤反应有关。

关键词 刺五加注射液; 肾缺血再灌注损伤; MDA; IL-6; KIM-1; NAG; ICAM-1

Effect of *Acanthopanax senticosus* Pretreatment on Acute Renal Ischemic Reperfusion Injury in Rats

Li Qiang*, Jin Shubin, She Zaixia, Zhao Zhiyong, Chen Yue, Li Feng, Huo Shaojun

(Department of Urology, Handan Central Hospital, Handan 056001, China)

Abstract This work aimed to investigate the protective effect of *Acanthopanax senticosus* (AS) injection on rats with acute renal ischemic reperfusion injury (IRI) and its possible mechanism. In this study, rats with acute renal ischemia reperfusion injury model was constructed by single-artery occlusion. Puncture bladder for urinary to measure kidney injury molecule-1 (KIM-1), 6-acetyl-B-D-glucosaminidase (NAG) by enzyme-linked immunosorbent-assay (ELISA). The levels of serum Scr, BUN, IL-6, MDA were measured, respectively. Pathological changes of renal tissues were observed by hematoxylin-eosin staining (HE) staining technique. The protein levels of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in renal tissues were detected by immunohistochemical method. The results of HE staining showed that IRI group and AS group had a certain degree of pathological changes, while all these pathological changes relieved in AS group but found no significant changes in control group. In AS group, levels of serum Scr, BUN, MDA, IL-6, KIM-1 and NAG content of urinary, the protein levels of ICAM-1 in renal tissues were significantly lower compared with IRI group. After acute renal ischemic reperfusion injury in rats, AS pretreatment could reduced levels of serum Scr, BUN, MDA, IL-6, KIM-1 and NAG content of urinary, the protein levels of ICAM-1 in renal tissue. AS

收稿时间: 2016-04-16 接受时间: 2016-10-24

邯郸市科学技术研究与发展计划项目(批准号: 1423108062-4)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0310-2118855, E-mail: xinghuoliqiang@163.com

Received: April 16, 2016 Accepted: October 24, 2016

This work was supported by Science and Technology Research and Development Project of Handan (Grant No.1423108062-4)

*Corresponding author. Tel: +86-310-2118855, E-mail: xinghuoliqiang@163.com

网络出版时间: 2016-12-20 16:07:34

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20161220.1607.006.html>

could protect the kidney against renal ischemia reperfusion injury. That might be realized by its inhibition of inflammation.

Keywords *Acanthopanax senticosus* injection; renal ischemia reperfusion injury; MDA; IL-6; KIM-1; NAG; ICAM-1

肾脏缺血再灌注损伤(ischemic reperfusion injury, IRI)是常见的临床疾病,可致急性肾功能衰竭。多项研究结果显示,刺五加(*Acanthopanax senticosus*, AS)注射液具有良好的抗氧化、清除氧自由基、抑制炎症和增强机体抗氧化功能的作用^[1]。我们前期研究发现,AS对大鼠肾IRI具有保护作用,可提高肾组织中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性,增强抗氧化作用,减轻氧化损伤,抑制肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)活性,减轻炎症反应损伤,降低血清肌酐(Scr)水平,减轻病理改变,肾功能明显好转^[2-3]。本研究进一步从炎症损伤方面观察AS注射液对大鼠肾IRI的作用。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

刺五加注射液购自黑龙江乌苏里江制药有限公司。KIM-1 ELISA检测试剂盒购自R&D公司。MDA试剂盒、大鼠尿NAG试剂盒购自南京建成生物工程研究所。ICAM-1二抗体购自北京博奥森生物有限公司。DAB显色试剂盒购自北京中杉生物技术有限公司。722分光光度计购自江苏省柯达智能仪器厂。电热恒温隔水式培育箱购自湖北黄石医疗器械厂。高速低温离心机购自Sigma公司。超低温冰箱购自Forma scientific公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 选用普通级健康SD(Sprague-Dawley)大鼠36只,8~10周龄,体重220~230 g。实验时动物的饲养和取材严格按照实验动物管理和保护的相关规定进行。随机分为6组:24 h对照组(Control group 24 h)、48 h对照组(Control group 48 h)、24 h缺血再灌注组(IRI group 24 h)、48 h缺血再灌注组(IRI group 48 h)、24 h刺五加注射液组(AS group 24 h)、48 h刺五加注射液组(AS group 48 h)。

1.2.2 建模方法 采用单肾动脉阻断法构建大鼠肾IRI模型。麻醉、消毒后,于上腹正中切口打开腹腔,肝素盐水2 mL(肝素200 U/mL)注入腹腔,10 min后全身肝素化,打开侧腹膜,探及右肾,结扎肾蒂并切除右肾;仔细分离出左肾动、静脉,将对照组大鼠

肠管复位,关闭腹腔,计时45 min后再次开腹,观察左肾,再次关腹并计时,分别于24 h、48 h后取标本。对IRI组及AS组大鼠用无创动脉夹将左肾动脉夹闭,肾脏呈现紫黑色,并记时开始,45 min后松开血管夹恢复血流,关腹于再灌注5 h、10 h后取标本。如肾脏颜色从黑色逐渐变为红色表明模型建立成功,建模过程见图1,如果5 min后颜色未转变,则造模失败。AS组术前给予AS,按100 mg/kg腹腔注射(1次/d,共5 d),对照组及IRI组则相同时间内以同样方法注射同等剂量的生理盐水。

1.2.3 标本收集 及时抽取各组大鼠腹主动脉血,膀胱穿刺抽取尿液及取肾脏组织标本,离心,将尿液与血清分装并置于-20 °C冰箱保存待测。肾脏组织制作石蜡切片,进行苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE)及免疫组化检测。

1.3 观察指标及方法

1.3.1 大鼠肾组织病理检查 将大鼠组织用甲醛固定后,乙醇阶梯脱水,二甲苯透明,HE染色,连续切片。切片厚度为3~4 μ m,光学显微镜下观察肾脏组织的病理变化。

1.3.2 血清生化指标检测 用试管采集大鼠血液并静置1 h后,用低温低速离心机(4 °C、3000 r/min离心15 min)离心,完毕后用移液管取上清液分别装入EP管中,盖紧,标号置于-20 °C冰箱中保存,采用我院化验室全自动生化仪进行检测。

1.3.3 ELISA法测定 大鼠尿液KIM-1、NAG和血清IL-6含量;各组大鼠血清MDA检测严格按照试剂盒说明进行。

1.3.4 免疫组化法测定 采用二步法免疫组化检测,细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)阳性染色为棕黄色,用BI2000医学图像分析系统软件进行平均光密度值分析每张切片随机选择10个高倍连续不重叠视野(400 \times),测出每个视野的平均光密度值,取这10个视野光密度值的平均数作为这张切片的光密度值。

1.4 统计学分析

实验数据是计量资料,数据采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,SPSS 16.0统计软件包进行统计学处理。在同一时间点(如

24 h或48 h, 每个时间点包含3个实验组), 组内比较采用单因素方差分析(ANOVA), 组间比较采用LSD法; IRI组24 h和48 h这2组之间比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有显著性。

2 结果

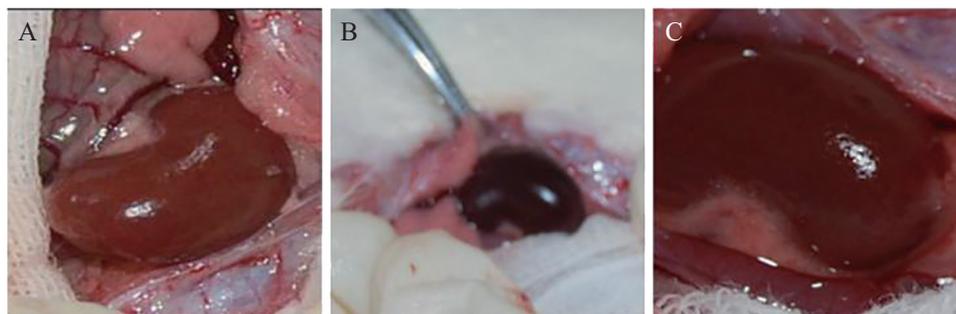
2.1 刺五加注射液对大鼠肾IRI后病理变化的影响

本实验HE染色结果(图2)显示, 对照组大鼠肾小球、肾小管结构正常, 肾小管上皮细胞无肿胀变性、崩解等病理改变, 肾间质改变不明显, 无炎性细胞浸润。IRI组肾小管病理变化明显, 出现肾小管上皮细胞水肿变性、结构紊乱、管腔狭窄、管腔可见

脱落的上皮细胞碎片等病理改变, 说明夹闭肾动脉45 min开放血流后, 大鼠肾脏发生了缺血再灌注损伤, 组织发生明显病理变化, 部位主要在肾小管。AS组显示, 肾小管细胞水肿变性、管腔狭窄, 上皮细胞崩解、脱落等病理改变明显减轻。故从大鼠肾组织结构病理变化的改变上, 认为刺五加预处理对大鼠急性肾IRI具有一定的保护作用。

2.2 各组大鼠Scr、BUN水平的变化

表1结果显示, 在缺血再灌注损伤24 h、48 h时各组的比较。与对照组比较, IRI组中Scr、BUN均明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(Scr 24 h, $P < 0.001$; Scr 48 h, $P < 0.01$; BUN 24 h, $P < 0.01$; BUN 48 h, $P < 0.01$)。



A: 左肾动脉夹闭前; B: 左肾动脉夹闭后; C: 解除动脉夹闭后。

A: before the left renal artery was occluded; B: after the left renal artery was occluded; C: after the artery clamp was lifted.

图1 建立大鼠肾缺血再灌注损伤模型

Fig.1 The model of the rats with acute renal ischemia reperfusion injury

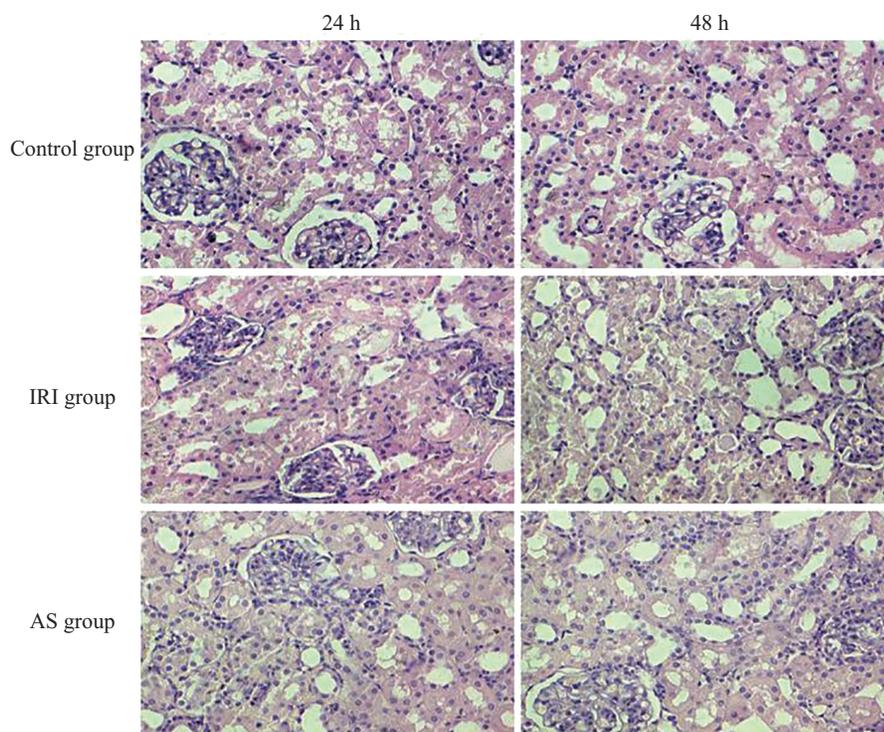


图2 HE染色观察各组大鼠肾组织病理变化(200×)

Fig.2 Morphology changes of kidney tissues in each group by HE (200×)

与对照组比较, AS组Scr、BUN也明显升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)(Scr 24 h, $P<0.05$; Scr 48 h, $P<0.001$; BUN 24 h, $P<0.001$; BUN 48 h, $P<0.001$)。与IRI组比较, AS组Scr、BUN明显降低, 差异有统计学意义($P<0.05$)(Scr 24 h, $P<0.01$; Scr 48 h, $P<0.001$; BUN 24 h, $P<0.001$; BUN 48 h, $P<0.01$)。从IRI 24 h组和IRI 48 h组相比较的结果来看, IRI 48 h组Scr、BUN明显升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)(Scr: $t=-5.439$, $P<0.001$; BUN: $t=-5.426$, $P<0.001$)。

2.3 各组大鼠血清MDA、IL-6水平变化

表2结果提示, 与对照组相比, IRI组、AS组MDA、IL-6含量升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)(IRI组MDA 24 h, $P<0.001$; MDA 48 h, $P<0.001$; IL-6 24 h, $P<0.01$; IL-6 48 h, $P<0.001$)(AS组MDA 24 h, $P<0.001$; MDA 48 h, $P<0.01$; IL-6 24 h, $P<0.01$; IL-6 48 h, $P<0.001$)。与IRI 24 h组比较, IRI 48 h组MDA、IL-6含量升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)(MDA: $t=-5.315$, $P<0.001$; IL-6: $t=-5.316$, $P<0.001$)。AS组大鼠肾组织中MDA、IL-6含量比IRI组均明显降低, 差异均有统计学意义($P<0.05$)(MDA 24 h, $P<0.001$; MDA

48 h, $P<0.01$; IL-6 24 h, $P<0.001$; IL-6 48 h: $P<0.001$)。

2.4 各组大鼠尿液KIM-1、NAG水平变化

表3结果显示, 在缺血再灌注24 h、48 h中, 与对照组比较, IRI组KIM-1、NAG含量明显升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)(KIM-1 24 h, $P<0.01$; KIM-1 48 h, $P<0.001$; NAG 24 h, $P<0.01$; NAG 48 h, $P<0.001$)。AS组与对照组比较, KIM-1、NAG含量明显升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)(KIM-1 24 h, $P<0.001$; KIM-1 48 h, $P<0.001$; NAG 24 h, $P<0.001$; NAG 48 h, $P<0.001$)。AS组与IRI组比较, KIM-1、NAG含量则下降, 差异有统计学意义($P<0.05$)(KIM-1 24 h, $P<0.001$; KIM-1 48 h, $P<0.001$; NAG 24 h, $P<0.001$; NAG 48 h, $P<0.001$)。

2.5 各组大鼠肾组织ICAM-1蛋白质水平变化

表4可见各组大鼠肾组织ICAM-1蛋白质阳性在24 h、48 h两个时间点比较结果: 与对照组相比, IRI组、AS组均明显升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)(IRI 24 h, $P<0.001$; IRI 48 h, $P<0.001$; AS 24 h, $P<0.01$; AS 48 h, $P<0.001$)。与IRI组相比, AS组ICAM-1含量降低, 差异有统计学意义($P<0.05$)(24 h, $P<0.001$; 48 h, $P<0.01$)。IRI 48 h和IRI 24 h组比较, IRI 48 h

表1 各组大鼠Scr和BUN水平变化

Table 1 Comparison of the levels of Scr and serum BUN in each group

组别 Group	<i>n</i>	肌酐($\mu\text{mol/L}$) Scr ($\mu\text{mol/L}$)	尿素氮(mmol/L) BUN (mmol/L)
Control group 24 h	6	33.32 \pm 2.20	3.67 \pm 0.18
Control group 48 h	6	42.31 \pm 2.80	4.15 \pm 0.26
IRI group 24 h	6	150.20 \pm 13.54*	15.68 \pm 1.69*
IRI group 48 h	6	220.19 \pm 17.65* ⁺	19.20 \pm 2.30* ⁺
AS group 24 h	6	101.34 \pm 7.50* [#]	7.48 \pm 5.33* [#]
AS group 48 h	6	102.51 \pm 8.90* [#]	10.43 \pm 1.24* [#]

表中数据为 $\bar{x}\pm s$, * $P<0.05$, 与对照组比较; [#] $P<0.05$, 与同时点IRI组比较; ⁺ $P<0.05$, 与IRI 24 h组比较。

The data were expressed as $\bar{x}\pm s$, * $P<0.05$ compared with the control group; [#] $P<0.05$ compared with the IRI group; ⁺ $P<0.05$ compared with IRI 24 h group.

表2 各组大鼠肾组织MDA和IL-6水平变化

Table 2 Comparison of the concentration of tissue MDA and IL-6 in each group

组别 Group	<i>n</i>	丙二醛($\mu\text{mol/L}$) MDA ($\mu\text{mol/L}$)	白介素-6(mmol/L) IL-6 (mmol/L)
Control group 24 h	6	7.06 \pm 1.19	5.69 \pm 1.18
Control group 48 h	6	5.90 \pm 1.24	6.39 \pm 1.39
IRI group 24 h	6	21.15 \pm 3.15*	14.58 \pm 1.57*
IRI group 48 h	6	38.34 \pm 3.22* ⁺	15.76 \pm 1.50* ⁺
AS group 24 h	6	15.28 \pm 2.34* [#]	9.45 \pm 1.34* [#]
AS group 48 h	6	12.25 \pm 1.90* [#]	10.15 \pm 1.35* [#]

表中数据为 $\bar{x}\pm s$, * $P<0.05$, 与对照组比较; [#] $P<0.05$, 与同时点IRI组比较; ⁺ $P<0.05$, 与IRI 24 h组比较。

The data were expressed as $\bar{x}\pm s$, * $P<0.05$ compared with the control group; [#] $P<0.05$ compared with the IRI group; ⁺ $P<0.05$ compared with IRI 24 h group.

表3 各组大鼠尿液中KIM-1、NAG水平变化
Table 3 Comparison of KIM-1 and NAG content of urinary in each group

组别 Group	<i>n</i>	肾损伤分子-1(ng/L) KIM-1 (ng/L)	6-乙酰-B-D-氨基葡萄糖酶苷(mmol/L) NAG (mmol/L)
Control group 24 h	6	22.32±2.43	24.68±3.18
Control group 48 h	6	24.19±6.45	24.15±5.26
IRI group 24 h	6	48.25±4.34*	44.58±5.57*
IRI group 48 h	6	57.18±6.54* ⁺	54.28±5.30* ⁺
AS group 24 h	6	34.56±6.50* [#]	37.38±4.32* [#]
AS group 48 h	6	38.29±6.80* [#]	39.32±3.24* [#]

表中数据为 $\bar{x}\pm s$, * $P<0.05$, 与对照组比较; [#] $P<0.05$, 与同时点IRI组比较; ⁺ $P<0.05$, 与IRI 24 h组比较。

The data were expressed as $\bar{x}\pm s$, * $P<0.05$ compared with the control group; [#] $P<0.05$ compared with the IRI group; ⁺ $P<0.05$ compared with IRI 24 h group.

表4 各组大鼠肾组织ICAM-1的表达变化
Table 4 Comparison of the levels of ICAM-1 in each group

分组 Group	<i>n</i>	细胞间黏附分子-1 ICAM-1
Control group 24 h	6	0.102±0.020
Control group 48 h	6	0.104±0.023
IRI group 24 h	6	0.267±0.023*
IRI group 48 h	6	0.334±0.026* ⁺
AS group 24 h	6	0.167±0.021* [#]
AS group 48 h	6	0.176±0.021* [#]

表中数据为 $\bar{x}\pm s$, * $P<0.05$, 与对照组比较; [#] $P<0.05$, 与同时点IRI组比较; ⁺ $P<0.05$, 与IRI 24 h组比较。

The data were expressed as $\bar{x}\pm s$, * $P<0.05$ compared with the control group; [#] $P<0.05$ compared with the IRI group; ⁺ $P<0.05$ compared with IRI 24 h group.

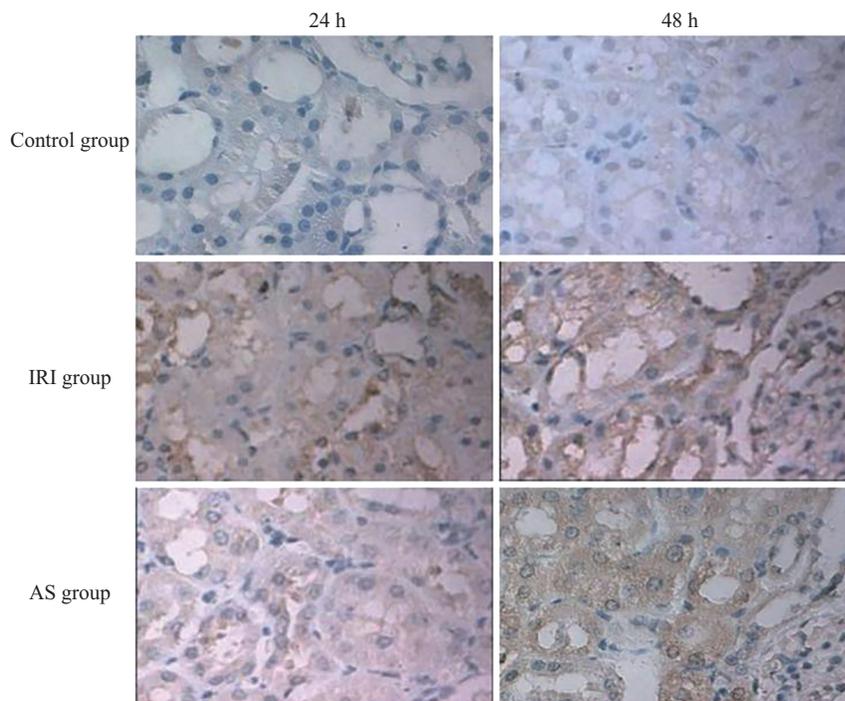


图3 各组大鼠肾组织中ICAM-1蛋白质水平比较(400×)

Fig.3 Comparison of the levels of ICAM-1 in each group (400×)

组ICAM-1含量升高, 差异有统计学意义($P<0.05$) ($t=-5.287$, $P<0.001$)。此结果说明, 大鼠肾脏IRI发生后, 肾组织中ICAM-1表达明显升高, 且随缺血再灌

注时间延长, 在早期内逐渐升高, AS预处理后可使大鼠肾IRI组织ICAM-1的阳性表达减少。

从图3中可看出, 对照组几乎见不到ICAM-1表

达,在IRI组大鼠的肾小管上皮细胞胞质、肾小球和肾间质有不同程度表达,表现为棕黄色。AS组上述表现较IRI组减轻,表示ICAM-1表达较IRI组减少。

3 讨论

目前研究急性肾IRI常用的方法为动物实验。构建成功的IRI模型是首要的环节。研究可采用大鼠、犬、兔等动物建立模型,但以大鼠最为常用。雌性大鼠肾周脂肪组织多,不易操作,故选用雄性大鼠建立模型。在给药方式上采用腹腔注射,较静脉注射及灌胃操作更方便、安全。术前行肝素盐水2 mL注入大鼠腹腔,预防缺血后肾脏血管内凝血。术后大鼠注意保温。

器官IRI损伤的出现及严重程度与缺血时间的长短、对血氧需求量的多少、对缺氧的耐受能力以及是否存在侧枝循环等多种因素有关。一般情况下,肾脏缺血短于30 min,组织损伤不明显,如缺血时间长于60 min,再灌注损伤则很难逆转,缺血30~60 min内恢复组织血流容易诱发缺血再灌注损伤,特别是对氧需求高,不易形成侧枝循环的组织器官容易诱发缺血再灌注损伤。故本研究夹闭左肾动脉45 min。国内常采用将一侧肾动脉阻断把另一侧肾脏切除,防止其代偿作用,有利于从功能和形态方面观察缺血再灌注损伤引起的变化^[4]。本术中研究切除右肾,无损伤动脉夹夹闭左肾动脉45 min后松开动脉夹,恢复大鼠肾脏血流24 h、48 h后取材。对于模型构建是否成功参考文献[5],夹闭左肾动脉后肾脏颜色如由红转黑,表明动脉被阻塞,松开动脉夹后5 min内转变为正常红色,表示再灌注成功,否则造模失败。

IRI是非常复杂的一种病理过程,在临床上十分常见,如失血、心脏骤停、休克、体外冲击波碎石、肾动脉重建、肾积水、肾挤压伤等。在泌尿外科,肾部分切除、肾移植等手术目前开展较为广泛,手术过程中不可避免地发生缺血再灌注损伤,但目前尚无有效的防治方法,在泌尿外科其为研究热点。目前研究表明,肾IRI病理生理过程与大量氧自由基的生产、钙超载、中性粒细胞激活及其致炎细胞因子释放介导的损伤均有密切关系^[6]。

*Radix et caulis Acanthopanax sentieosus*是五加科植物刺五加(*Acanthopanax sentieosus*)的根和根茎,而刺五加注射液为其经水醇法提取而制成。刺五加

注射液含有多种生物活性物质,主要是刺五加总苷、刺五加总黄酮和刺五加多糖。刺五加总黄酮可以扩张血管、降低血液黏稠度、促进血液循环、抗炎作用、抗应激,能清除氧自由基及提高人体SOD活力,促进蛋白质合成和组织修复^[7]。

Scr、BUN为肾功能指标,本研究中IRI组结果显示,大鼠肾IRI后早期Scr、BUN逐渐上升,大鼠肾功能发生明显障碍,表明IRI对肾功能影响显著,说明大鼠IRI模型构建比较成功。AS组与IRI组相比,Scr、BUN降低,可见AS预处理可使IRI后肾功能障碍明显改善,起到保护作用。

除Scr、BUN外,人们一直研究有否更早期、特异性高、灵敏的反映肾脏损伤的检测指标。KIM-1是Ichimura等^[8]于1998年在大鼠IRI的肾细胞中采用表象差异分析法发现的一种新的I型跨膜蛋白质,是在肾脏疾病时高度表达的一种敏感性和特异性均较高的蛋白质。通过近几年的研究证实,KIM-1可以作为诊断肾脏损伤的一种指标,具有特异性、敏感性高的特点,同时它还可能在肾损伤修复过程中发挥作用。Bjorkroth等^[9]研究发现,KIM-1在胎儿肝、肾组织未发现表达,在成年人肝、肾组织中也不表达或极少量表达,发现损伤的肾组织中KIM-1表达明显,说明其有较高特异性,与损伤的严重程度有关^[9]。氧化应激在肾损伤过程中起着重要的作用,因此它对KIM-1表达也有重要的影响,可能为促进KIM-1表达的始发因素。研究发现,KIM-1在急性肾损伤后,可以特征性地上调并持续地表达于损伤的近端肾小管上皮细胞,在金属蛋白酶的作用下裂解成可溶片段,进入细胞并随尿液排出,且尿液KIM-1与组织KIM-1水平呈正相关,并且KIM-1的表达一直维持到小管上皮细胞损伤恢复,稳定性高,因此尿KIM-1是诊断急性肾损伤的可靠的标志物^[10-12]。尿NAG为细胞内溶酶体的一种水解酶,主要存在于肾脏近曲小管的上皮细胞,如果尿液中含量明显升高,说明近曲小管受损伤。肾IRI过程中氧自由基增加,氧化生物膜,膜脂质过氧化终产物为MDA,MDA含量的高低可间接反映细胞受自由基攻击的严重程度。本实验结果显示,相对于对照组,IRI各组尿液中,KIM-1、NAG及血清MDA均升高,说明缺血再灌注时,肾小管上皮细胞受损,尿NAG明显升高,KIM-1基因在某些启动因子作用下开始上调并大量转录表达,从而产生KIM-1分子并参与了肾损伤

的整个过程; 由于氧自由基的大量产生, 细胞膜脂质过氧化损伤, 导致血液中MDA含量升高。与IRI组比较, 可看出给予AS预处理后, 大鼠尿KIM-1、NAG及血清MDA含量下降, 结合血液中Scr、BUN下降, 看出缺血再灌注损伤病理反应减轻, 肾功能有一定程度的好转, 认为AS预处理可对肾IRI产生保护作用。

白细胞激活介导的微血管损伤在缺血再灌注损伤的发病中起重要作用。缺血再灌注损伤细胞膜磷脂降解, 释放大量的趋化因子, 吸引大量中性粒细胞聚集于缺血区的血管内并进入组织。激活的中性粒细胞可释放TNF- α 、IL-1、IL-6, 引起血管内皮细胞和白细胞表面黏附分子暴露, 两者的亲和力增强, 还可以释放大量的炎症物质, 如氧自由基、蛋白酶等, 不但可改变自身的结构和功能, 也使周围组织细胞受到伤害导致局部炎症反应。细胞间黏附分子-1属于免疫球蛋白超家族的成员, 是细胞表面的糖蛋白, 属于内皮细胞结构的一部分, 可结合多种细胞表面抗原。在正常生理情况下, ICAM-1在肾组织中表达较少。有研究表明, 缺血再灌注时, 由黏附分子介导的中性粒细胞与内皮细胞相互黏附形成炎症级联反应, 在中性粒细胞聚集、活化和释放炎症介质过程中起重要作用, 引起微血管床及血液流变学改变, 是产生无复流现象的病理基础^[13]。有研究使用中性粒细胞黏附阻滞剂后可降低白细胞的聚集, 降低肾血管阻力, 减轻炎症损伤反应^[14]。本研究结果显示, IRI组、AS组相对于对照组, 血清IL-6、肾组织中ICAM-1含量升高, 且IRI组随缺血再灌注时间延长, 在早期的一段时间内逐渐升高, 说明大鼠肾IRI病理过程中, 炎症反应损伤较重; 也可看出, 给予AS预处理后, 大鼠血清IL-6、肾组织中ICAM-1含量下降, 同时肾功能有一定程度的好转, 认为AS预处理可对肾IRI产生保护作用, 推测其可能有部分抑制大鼠肾IRI过程中炎症爆发反应的某些环节, 使得炎症反应减轻, 组织ICMA-1、血清IL-6表达相应减少, 对缺血再灌注损伤起到保护作用。

综上所述, 本研究发现, AS可以减轻大鼠肾IRI的程度, 改善相应的肾功能, 其机制可能与抗氧化、抑制炎症反应有关。

参考文献 (References)

- 1 张涛, 朴俊虹, 袁蕾. 刺五加化学成分及自由基清除活性研究. 中草药(Zhang Tao, Piao Junhong, Yuan Lei. Chemical constituents of *Acanthopanax Senticosus* and their free radical scavenging activities. Chinese Traditional and Herbal Drugs) 2012; 43(6): 1057-60.
- 2 李强, 靳书滨, 李峰. 刺五加注射液对大鼠肾缺血再灌注损伤的影响. 海南医学(Li Qiang, Jin Shubin, Li Feng. Effect of aean thopanax pretreatment on acute renal ischemia-reperfusion injury inrats. Hai Nan Yi Xue) 2015; 26(4): 475-8.
- 3 李强, 靳书滨, 陈晶. 刺五加注射液预处理在大鼠肾缺血再灌注损伤中的抗氧化作用及其对肿瘤坏死因子- α 的影响. 海南医学(Li Qiang, Jin Shubin, Chen Jing. Effect of aeanthopanax senticosus on antioxidants and serum TNF- α during acute renal ischemia-reperfusion injury in rats. Hai Nan Yi Xue) 2015; 26(7): 941-3.
- 4 李文革, 陈香美, 廖洪军. 小鼠急性肾功能衰竭模型的建立. 中华实验外科杂志(Li Wenge, Chen Xiangmei, Liao Hongjun. Establishment of acute renal failure model in mice. Chinese Journal of Experimental Surgery) 1996; 13: 188-94.
- 5 Melnikov VY, Faubel S, Siegmund B, Lucia MS, Ljubanovic D, Edelstein CL. Neutrophil-independent mechanisms of Caspase-1 and IL-18-mediated ischemic acute tubular necrosis in mice. Clin Invest 2002; 110: 1083-91.
- 6 Ramesh G, Reeves WB. Inflammatory cytokines in acute renal failure. Kinney Int 2004; 91(Suppl): 56-62.
- 7 Lin J M, Qu F, Shan XQ. Determination of active oxygen species and their assoc principles. Chin J analchem 2002; 30(12): 1507-4.
- 8 Ichimura T, Bonventre JV, ASilly V, Wei H, Hession CA, Cate RL, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel im munoglobulin domain, is up-regulated in renal cellsafter injury. J Biol Chem 1998; 273(7): 4135-42.
- 9 Bjorkroth KJ, Schillinger U, Geisen R. Taxonomic study of Weissella confuse and description of Weissella cibaria sp. nov., detected in food and clinical samples. Int J Syst Evol Microbiol 2002; 52(Pt 1): 141-8.
- 10 Joserph V, Bonventre1. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): A yrinary biomarker and much more. Nephrol Dial Transplant 2009; 10(10): 1-4.
- 11 Wsikar SS, Bonventre JV. Biomarker for diagnosis of acute kidney injury. Curr Opin Nephrol Hypertens 2007; 16(6): 557-64.
- 12 Zhang Z, Humphreys BD, Bonventre JV. Shedding of the urinary biomarker kidney injury molecule-1 (KIM-1) is regulated by MAP kinases and juxtamembrane region. J Am Soc Nephrol 2007; 18(10): 1704-2714.
- 13 Patel NS, Chatteriee PK, Mazzon E, Mazzon E, Britti D, De Sarro A, et al. Endogenous interleukin-6 enhances the renal injury, dysfunction, and inflammation caused by ischemia reperfusion. J Pharmacol Exp Ther 2005; 312(3): 1170-8.
- 14 Zhou T, Lix W. Effect of anti-P-selectinmonoclonal antibody on renal ischemia reperfusion injury inrats. Chinese Med J 2000; 137(9): 790-3.