

红景天苷预处理对大鼠移植肾缺血再灌注损伤的保护

张蓬杰 樊小宝 杜鹏 段斌 丁通 陈瑞
710068 西安, 陕西省人民医院肾病血透中心

【摘要】目的 探讨红景天苷预处理对移植肾缺血再灌注损伤的保护机制。**方法** 建立近交系雄性 SD 大鼠同基因肾移植模型。共设 3 个组, 假手术组、红景天苷预处理组、移植缺血再灌注模型组, 每组 24 只。观察红景天苷预处理对大鼠移植肾缺血再灌注过程中血清尿素氮(BUN)、肌酐(SCr)、过氧化物歧化酶(SOD)、脂质过氧化产物丙二醛(MDA)水平变化的影响; 取移植肾组织 HE 染色后光镜观察肾组织病理学改变; 荧光探针 DCFH-DA 检测活性氧(ROS)含量; 采用免疫组织化学染色和放射免疫法分别检测肾组织中核转录因子 κ B(NF- κ B) 阳性细胞数目和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素 1(IL-1)、白介素-6(IL-6)的表达。**结果** 红景天苷预处理组大鼠 BUN、SCr、MDA 在术后轻度升高, 与假手术组比较无统计学差异($P > 0.05$), 与模型组比较有统计学差异($P < 0.01$); SOD 在术后 24 h 增加最明显, 与假手术组比较有统计学差异($P < 0.05$), 与模型组比较有统计学差异($P < 0.05$)。ROS 含量在红景天苷预处理组术后上升, 与假手术组比较有统计学差异($P < 0.05$), 但不如模型组升高明显, 两组比较有统计学差异($P < 0.01$)。红景天苷预处理组肾脏病理表现损伤较轻, 与模型组比较有统计学差异($P < 0.05$)。NF- κ B 阳性细胞数目在红景天苷预处理组术后表达略增加, 在模型组表达明显增加, 两组比较有统计学差异($P < 0.01$)。肾组织匀浆中 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 含量在假手术组和红景天苷预处理组各时间段均未见明显变化, 两组间比较无统计学差异($P > 0.05$), 而模型组含量明显增加, 与其他两组比较差异有显著性($P < 0.01$)。**结论** 红景天苷预处理通过抑制氧化应激和减轻炎症因子对大鼠肾脏移植缺血再灌注后损伤具有一定的预防和保护作用。

【关键词】 红景天苷; 肾移植; 缺血再灌注; 氧化应激; 炎症损伤

DOI: 10.3969/j.issn.1671-2390.2019.03.008

Prevention of salidroside pre-treatment against ischemia-reperfusion injury in rats after kidney transplantation ZHANG Peng-jie, FAN Xiao-bao, DU Peng, DUAN Bin, DING Tong, CHEN Rui. Center for kidney Diseases and hemodialysis, Shanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, 710068, China

【Abstract】Objective To explore the mechanism of prevention of salidroside pre-treatment against ischemia-reperfusion injury in rats after kidney transplantation. **Methods** The allogeneic kidney transplantation model inbred male SD (Sprague Dawley, SD) rats was established. All of rats were randomly divided into 3 groups (24 one in each group): sham-operation group, salidroside pretreatment group and ischemia-reperfusion transplantation model group. Effects of salidroside pre-treatment on the levels of blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (SCr), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) during ischemia-reperfusion in the transplan-

ted kidney were observed in the rats. The transplanted kidney tissue was taken to conduct HE staining, and then pathological changes in the kidney tissue were observed under an optical microscope. Content of reactive oxygen species (ROS) was detected with the fluorescent probe DCFH-DA. Immunohistochemical staining and immunoradiometric assay method were adopted to detect the number of nuclear transcription factor κ B (NF- κ B) positive cells and expression of tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin 1 (IL-1) and interleukin 6 (IL-6) in the kidney tissue.

Results After operation, BUN, SCr and MDA in the rats in the salidroside pretreatment group increased slightly; and, compared to the sham-operation group there was no statistical difference ($P > 0.05$), compared to the model group there was statistical difference ($P < 0.01$). SOD values in the salidroside pretreatment group were increased most significantly at 24 h after operation; and, compared to the sham-operation group there was statistical difference ($P < 0.05$), and compared to the model group there was statistical difference ($P < 0.05$). Content of ROS in the salidroside pretreatment group increased after operation; and, compared to the sham-operation group there was statistical difference ($P < 0.05$). But the increase was not as significant as that in the model group, and there was statistical difference between the two groups ($P < 0.01$). Renal pathology in the salidroside pretreatment group showed less injury, and compared to the model group there was statistical difference ($P < 0.05$). Number of NF- κ B positive cell in the salidroside pretreatment group showed slight increase and significant increase in the model group, and there was statistical difference between the two groups ($P < 0.01$). Contents of TNF- α , IL-1 and IL-6 in the homogenate of kidney tissues had not any significant changes at each time period in both the sham-operation group and the salidroside pretreatment group, with no statistical difference between the two groups salidroside pretreatment group; while in the model group the contents increased significantly, with statistical significance of difference compared to the other two groups.

Conclusions Salidroside injection pretreatment can prevent and protect against ischemia-reperfusion injury in rats after kidney transplantation by inhibiting oxidative stress reactions and inflammatory cascade reactions.

【Key words】 Salidroside; Kidney transplantation; Ischemia-reperfusion; Oxidative stress reaction; Inflammatory injury

肾脏移植术后移植肾功能损伤的预防和治疗对于提高肾移植患者术后存活率和生存质量具有重要意义。移植肾的损伤除由移植术后免疫介导的急性排异反应引起外^[1], 肾移植过程中存在的缺血再灌注损伤也是一个重要因素^[2], 缺血再灌注损伤是构成急性缺血性肾衰竭的重要损伤环节, 也是肾移植中影响移植肾早期功能恢复, 作为重要的非免疫因素导致排斥反应、慢性移植肾病的主要原因。有文献报道, 红景天有效成分红景天苷对动物的心肌、小肠、肾脏、肝脏及大脑缺血再灌注损伤有良好的保护作用^[3-5]。本实验拟观察红景天苷对移植肾脏缺血再灌注损伤中氧化应激及炎症反应的抑制作用, 从而为肾移植术后患者肾功能的保护提供新的治疗思路。

材料和方法

一、实验动物

清洁级健康近交系同基因 SD 大鼠, 均为雄性, 体质量 250~300 g, 由长沙市天勤生物有限公司提供, 动物许可证号: SCXK(湘)2014-0010。经适应性喂养 5 d 后用于实验。

二、实验材料和试剂

红景天苷购自上海乔羽生物科技有限公司, 批号 QY-D10847, 类白色粉末, 可溶于甲醇和水, 用时以生理盐水配成 5 g/L 后使用, 4 °C 保存, 过滤除菌后使用。超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、活性氧(ROS)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素(IL-1)、IL-6放射免疫试剂盒, 购自上海百蕊生物科技有限公司, 卫药生证字第 1707 号。兔抗鼠核转录因子 κ B(NF- κ B) 购自 Santa Cruz Biotechnolog 公司, SABC 免疫组化试剂盒购自武汉博士德公司。

三、主要仪器

高速冷冻离心机 (EVOLUTIONMKC, 美

国), 721 分光光度计, 酶标仪 (BIO-RAD-MODEL550, 日本), 光学显微镜 (OLYMPUS BX41)。全自动生化分析仪 (日立 7180), 显微外科手术器械若干。石蜡切片机 (Leica, Germany), 离心机, 生物照相显微镜 (OLYMPUS, 日本), 全自动生化分析仪, 北航真彩色医学图像处理系统 CM2000B。

四、分组、造模与给药方法

取清洁级健康近交系同基因雄性 SD 大鼠, 随机分成 3 组: 假手术组、红景天苷预处理组和肾移植缺血再灌注模型组, 每组各 24 只。假手术组: 剖开腹腔后暴露肾脏, 45 min 后关腹, 于术前 72 h、48 h、24 h 经腹腔注射生理盐水 2 mL/kg。移植缺血再灌注模型组: 行肾移植手术, 术前处理和假手术组相同。红景天苷预处理组: 行肾移植手术, 于术前 72 h、48 h、24 h 腹腔注射红景天苷溶液 0.4 g/kg (以生理盐水配成 5 g/L), 术后不再注射。大鼠肾移植手术全部操作在肉眼直视下进行。供受体均在术前 12 h 禁食, 自由饮水。取 10% 水合氯醛, 按 3.5 mL/kg 体质量腹腔注射麻醉, 在术中大鼠如有苏醒可适当腹腔加注 10% 水合氯醛 0.1 mL。获取供肾后用 9/0 医用无损伤缝线作供肾腹主动脉与受体腹主动脉端-侧吻合, 供肾下腔静脉与受体鼠左肾静脉端-端吻合, 移植肾尿路重建采用带膀胱瓣的输尿管与受体鼠膀胱吻合。然后切除受体鼠右肾。

五、待测样品的制备

1. 血清 大鼠尾静脉采血 2~3 mL, 室温静置 15 min, 3 000 r/min 离心 20 min, 吸取上清液, -70 °C 保存后集中检测。

2. 10% 肾组织匀浆 处死动物后迅速取出再灌注后的左肾, 置于冰上, 切取适量肾组织 (包括肾皮质和肾髓质) 用 PBS 冲洗干净, 称重, 放于 -70 °C 保存。测试时每 1 g 肾组织加 9 mL 冷 PBS 液, 用组织研磨器制成 10% 组织匀浆, 2 000 r/min 离心 10 min, 取上清待用。

3. 病理组织标本 各组肾脏标本经 10% 中性甲醛溶液固定后, 进行 HE 染色, 并于光镜下观察左侧肾脏标本经 10% 中性甲醛溶液固定。在 400 倍光学病理显微镜下随机选取 5 个视野, 每个视野选择 10 个肾小管计分, 肾小管病变程度采用 Paller 氏标准评分。

4. 免疫组织化学染色标本 左侧肾脏标本经 10% 中性甲醛溶液固定包埋, 制成蜡块, 切片 2 μ m 制成蜡片待用。

六、检测指标

1. 生化指标检测 移植前 15 min, 移植后 1 h、3 h、24 h 采集静脉血, 采用全自动生化分析仪测定血清 SOD、MDA、肌酐 (Cr)、尿素氮 (BUN) 的含量。

2. ROS 含量测定 肾移植后 1、3、7 d 处死部分大鼠, 采用 Lautraite 等^[6]报道的方法检测移植 ROS 含量。依据 ROS 检测试剂盒说明进行。

3. 肾组织的病理学检查 肾移植后 1、3、7 d 取部分移植肾进行石蜡包埋切片, HE 染色观察红景天苷预处理后肾组织的病理学改变。

病理切片观察分级标准: “-”为基本正常, 几乎无病变; “+”为轻度损伤, 被膜有炎症细胞浸润, 其余均轻; “++”为中度损伤, 血管扩张充血, 部分肾小管管腔内有红染蛋白物, 偶见凋亡小体; “+++”为重度损伤, 血管扩张, 充血明显, 较多肾小管管腔内有红染蛋白物。

4. 炎症因子检测 采用免疫组织化学染色和放射免疫法分别检测肾组织中 NF- κ B 和 TNF- α 、IL-1、IL-6 的表达。

七、统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计软件分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示, 各组指标比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 法。P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

一、实验动物分析

实验动物分为 3 组, 每组 24 只。假手术组死亡 1 只, 23 只大鼠进入实验分析。预处理组和模型组分别死亡 2 只, 两组均有 22 只大鼠进入实验分析。

二、对肾移植大鼠血清 BUN、Cr 和 SOD、MDA 的影响

假手术组术前、术后血清 BUN、Cr、SOD、MDA 变化不大, 无统计学意义 (P > 0.05)。红景天苷预处理组随术后时间延长 BUN、Cr、MDA 轻度升高, 与术前比较差异无统计学意义 (P > 0.05), 与假手术组比较差异无统计学意义 (P > 0.05), 术后 SOD 逐渐增加, 术后 24 h 尤为显著, 与术前比较有统计学差异 (P < 0.05), 与假手术组比较有统计学差异 (P < 0.05)。移植缺血再灌注模型组术后 BUN、Cr、MDA 水平迅速升高, 至术后 24 h 最为显著, 与术前比较有统计学差异 (P < 0.01), 与预处理组比较有统计学差异 (P < 0.01); SOD 水平在术后各时间段变化不大, 与术前比较略降低 (P > 0.05), 与预处理组比较有统计学差异 (P < 0.05)。(表 1)

三、3 组肾组织 ROS 含量变化

假手术组术后 1 d、3 d、7 d ROS 含量变化不大 ($P>0.05$)。红景天苷预处理组术后第 1 天 ROS 含量最高,后期逐渐下降,变化有统计学意义 ($P<0.05$),与假手术组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。模型组 ROS 含量术后 1 d 升高,术后 3 d 尤为显著,术后 7 d 下降,各时间段与假手术组和红景天苷预处理组比较差异均有统计学意义 ($P<0.01$)。(表 2)

四、3 组肾组织的病理学改变

肾移植后 1、3、7 d 取部分移植肾进行石蜡包埋切片,HE 染色观察 3 组肾组织的病理学改变,见表 3、图 1。假手术组:肾小球、肾小管未发现明显异常,在术后第 3 天仅 2 例出现轻度小管损伤及少量

炎性细胞浸润(图 1A)。红景天苷预处理组:肾病理表现为小管结构清楚,少数上皮细胞轻度水肿,肾小管管腔狭窄、管壁增厚及间质充血均较模型组有不同程度减轻(图 1B)。缺血再灌注模型组:肾小管上皮细胞肿胀,不同程度的变性坏死,间质充血,有炎症细胞浸润。少数上皮细胞核固缩深染,部分肾小管腔内有蛋白性液体积聚。突出表现为肾间质血管扩张充血;部分髓质区血管也高度扩张充血(图 1C)。

五、采用免疫组织化学染色和放免法

分别检测肾组织中 NF- κ B 和 TNF- α 、IL-1、IL-6 的表达。3 组中 NF- κ B 表达均位于肾小管上皮细胞,肾小球未见表达。假手术组 NF- κ B 表达极少,预处理组 NF- κ B 表达较假手术组增加,但无统计学

表 1 3 组大鼠 BUN、Cr、SOD、MDA 变化($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	BUN(mmol/L)	Cr(μ mol/L)	SOD(kU/g)	MDA(μ mol/g)
假手术组	23	术前 15 min	4.2 \pm 2.9	37.04 \pm 14.65	71.2 \pm 10.4	61.04 \pm 8.43
		术后 1 h	5.10 \pm 1.0	50.10 \pm 8.13	67.1 \pm 12.0	63.47 \pm 11.48
		术后 3 h	4.9 \pm 1.6	51.53 \pm 0.19	47.1 \pm 11.0	77.35 \pm 15.32
		术后 24 h	6.4 \pm 1.8	60.19 \pm 14.16	60.1 \pm 4.9	72.10 \pm 0.19
预处理组	22	术前 15 min	5.1 \pm 1.9	62.04 \pm 9.63	58.4 \pm 15.4	64.16 \pm 5.84
		术后 1 h	6.1 \pm 2.1 ^a	77.10 \pm 8.04 ^a	142.0 \pm 19.0 ^b	79.43 \pm 15.43 ^a
		术后 3 h	7.5 \pm 4.1 ^a	60.52 \pm 14.42 ^a	199.6 \pm 18.4 ^d	79.07 \pm 20.63 ^d
		术后 24 h	6.9 \pm 2.5 ^a	74.94 \pm 10.67 ^a	335.54 \pm 34.6 ^e	87.58 \pm 19.42 ^a
模型组	22	术前 15 min	3.5 \pm 1.6	60.01 \pm 13.42	69.4 \pm 15.3	67.17 \pm 12.10
		术后 1 h	9.5 \pm 3.4 ^c	93.57 \pm 19.47 ^c	70.4 \pm 11.5 ^f	83.42 \pm 10.84 ^c
		术后 3 h	11.5 \pm 5.2 ^c	184.52 \pm 15.47 ^c	40.5 \pm 9.0 ^f	122.53 \pm 16.48 ^c
		术后 24 h	15.4 \pm 3.6 ^c	273.32 \pm 35.26 ^c	55.5 \pm 16.4 ^f	210.42 \pm 36.25 ^c

注:与假手术组比较,^a $P>0.05$,^b $P<0.05$,^c $P<0.05$,^d $P<0.05$,^e $P<0.05$,^f $P>0.05$;与模型组比较,^g $P<0.05$

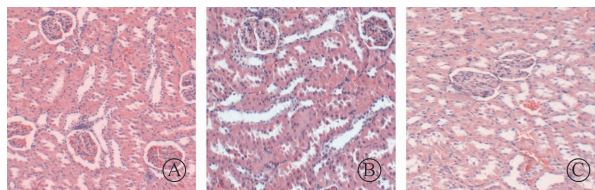
表 2 3 组肾组织不同时间段 ROS 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ROS(kU \cdot mg ⁻¹ \cdot pro ⁻¹)		
		术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d
假手术组	23	63.2 \pm 12.4	70.2 \pm 10.3	55.4 \pm 7.5
预处理组	22	89.6 \pm 7.5 ^{ac}	84.3 \pm 6.9 ^{ac}	70.4 \pm 10.4 ^{ac}
模型组	22	165.0 \pm 7.0 ^b	327.2 \pm 30.4 ^b	173.5 \pm 20.5 ^b

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与模型组比较,^c $P<0.01$

表 3 大鼠肾组织病理形态学改变的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	损伤程度			
			-	+	++	+++
假手术组	术后 1 d	8	7	1	0	0
	术后 3 d	7	5	2	0	0
	术后 7 d	8	8	0	0	0
预处理组	术后 1 d	7	0	0	4	3
	术后 3 d	7	0	3	4	0
	术后 7 d	8	1	5	1	1
模型组	术后 1 d	7	0	0	3	4
	术后 3 d	7	0	0	2	5
	术后 7 d	8	0	1	4	3



注:A 为假手术组, B 为预处理组, C 为模型组

图 1 HE 染色检测各组肾脏组织病理改变(光镜, ×400)

差异($P > 0.05$)。模型组 NF- κ B 表达明显增加, 术后 7 d 尤为显著, 与预处理组比较差异有显著性($P < 0.01$)。3 组肾组织匀浆中 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 含量在假手术组和红景天苷预处理组各时间段均未见明显变化, 两组间比较无统计学差异($P > 0.05$)。模型组 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 含量明显增加, 且随术后时间推移进一步增高, 与其他两组比较差异有显著性($P < 0.01$)。(表 4)

讨 论

肾脏是血流高灌流器官, 对缺血十分敏感, 当肾脏缺血再灌注后不仅不能使组织结构和功能恢复, 反而会加重肾脏的结构损伤和导致功能障碍^[7]。肾移植过程发生的肾脏缺血再灌注损伤在移植术后早期导致移植肾功能延迟恢复, 诱发急性排斥反应, 在移植后期可导致慢性移植肾肾病^[8]。目前, 关于缺血再灌注的发病机制尚未彻底阐明, 但大量的研究资料表明其可能与氧自由基生成过多或者清除不利有关^[9], 氧自由基可以导致膜脂质过氧化、细胞内钙超载、能量的消耗、细胞因子和白细胞黏附、细胞骨架的紊乱等。缺血再灌注还可通过炎症反应加重肾损伤, 这一炎症反应过程主要由 IL-1、IL-6、TNF- α 等细胞因子、趋化因子及白细胞浸润等共同介导^[2]。有报道发现, 缺血缺氧还可引起 NF- κ B 系统的活化, 进而引起炎症因子的产生^[10]。

红景天苷是红景天的主要有效成分^[11]。有研究

者用红景天苷处理心肌缺血再灌注损伤大鼠, 结果发现心肌组织 SOD 活力增加, 脂质过氧化产物 MDA 的含量降低, 从而发挥对缺血再灌注心肌细胞的保护作用^[3]。还有研究发现, 在脑缺血再灌注损伤中红景天苷预处理能够缓解脑水肿, 降低 TNF- α 的表达, 活化 SOD, 降低 MDA 含量, 进而保护缺血再灌注损伤的脑组织^[12]。那么, 对于肾移植过程出现的移植肾缺血再灌注损伤, 红景天苷是否也有保护作用呢?

本实验显示, 在大鼠肾移植缺血再灌注损伤后, 红景天苷预处理组 ROS、MDA 含量升高, 氧自由基清除剂 SOD 也相应增加, 而模型组 ROS、MDA 含量升高更加显著, SOD 含量却没有明显变化, 说明肾移植缺血再灌注一旦发生, 体内 ROS、MDA 即生成增加, 而经红景天苷处理后 SOD 的生成增加更加明显, ROS 清除更快, MDA 相比于模型组生成减少, 并且经红景天苷预处理的肾移植大鼠的 BUN、Scr 影响更小, 更加稳定。ROS、MDA、SOD 含量的变化反映出氧化应激的程度, 也反映细胞受损的程度, 同时也验证了自由基介导缺血再灌注损伤的机制, 表明由自由基介导的氧化应激反应是造成组织损伤的一种形式, 而红景天苷预处理后对移植肾的保护作用证明了红景天苷可以促进 SOD 的生成, 抑制氧化应激反应的发生。

文献报道缺血再灌注损伤后 NF- κ B 在肾小管表达增加, 并在上皮细胞和炎症细胞中被激活, 通过促进细胞因子的转录功能从而有助于白细胞浸润作用、增加缺血再灌注损伤后细胞存活、减少移植后移植耐受^[10]。研究发现, 红景天苷可以通过抑制 NF- κ B 和有丝分裂原活性蛋白激酶的活化而发挥炎症抑制作用甚至可以作为乳腺炎的预防药物^[13]。邹毅清等^[14]研究红景天苷处理对大鼠全脑缺血再灌注后全身及海马区炎症反应的影响, 发现经红景天苷处理后血清 TNF- α 和 IL-6 浓度及海马区 MPO 活力

表 4 各组肾组织 NF- κ B 阳性细胞数及 TNF- α 、IL-1、IL-6 的含量($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	NF- κ B 阳性细胞数	TNF- α (ng/g)	IL-1(ng/g)	IL-6(ng/g)
假手术组	术后 1 d	8	4.8 ± 4.3	2.74 ± 0.79	4.9 ± 1.6	2.14 ± 0.56
	术后 3 d	7	6.6 ± 4.8	2.79 ± 0.16	5.8 ± 1.1	3.00 ± 0.96
	术后 7 d	8	7.5 ± 2.6	3.12 ± 1.46	5.3 ± 0.5	2.96 ± 1.10
预处理组	术后 1 d	7	5.6 ± 4.9 ^{ac}	3.81 ± 0.85 ^{ac}	4.3 ± 1.0 ^{ac}	2.22 ± 0.16 ^{ac}
	术后 3 d	7	9.0 ± 7.4 ^{ac}	4.67 ± 1.70 ^{ac}	6.6 ± 1.6 ^{ac}	4.48 ± 1.24 ^{ac}
	术后 7 d	8	7.2 ± 9.4 ^{ac}	5.8 ± 0.95 ^{ac}	7.5 ± 1.5 ^{ac}	5.5 ± 0.28 ^{ac}
模型组	术后 1 d	7	107.8 ± 15.0 ^b	11.29 ± 2.82 ^b	10.3 ± 2.6 ^b	12.00 ± 1.46 ^b
	术后 3 d	7	143.6 ± 16.6 ^b	17.47 ± 3.97 ^b	19.4 ± 5.4 ^b	17.69 ± 1.24 ^b
	术后 7 d	8	169.5 ± 6.1 ^b	25.37 ± 5.38 ^b	24.5 ± 4.1 ^b	25.68 ± 4.56 ^b

注:与假手术组比较, ^a $P > 0.05$, ^b $P < 0.01$;与模型组比较, ^c $P < 0.01$

和 NF- κ B DNA 结合活力均明显下降,表明红景天苷可缓解大鼠脑缺血再灌注后全身和海马区的炎症反应。我们的研究与其他文献报道结果相同。

缺血再灌注损伤的发病机制中细胞因子的作用也受到重视^[15]。TNF- α 对免疫反应、炎症反应具有重要的调节和介导作用。通过刺激单核巨噬细胞诱导其他细胞分泌 IL-1 等炎症因子,参与缺血再灌注器官的损伤。研究发现,红景天苷可调节炎症反应,通过阻断 NF- κ B 和细胞外信号调节激酶/丝裂原活化蛋白激酶的活化作用,减少 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 的分泌,抑制炎症反应,用于治疗炎症反应介导的内毒素血症^[16]。本实验结果提示:模型组 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 含量明显增加,且随术后时间推移进一步增高,也说明了 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 在大鼠移植肾缺血再灌注损伤中的作用是明确的,而红景天苷可以减少细胞因子产生,保护移植肾功能的作用也被进一步证实。

组织病理学证实红景天苷预处理组肾小管、间质、炎性细胞浸润等方面明显较模型组减轻,接近假手术组,说明红景天苷在移植肾术后可明显减轻大鼠肾脏缺血再灌注损伤,尤其是肾小管变性、坏死,提示红景天苷可明显改善缺血再灌注肾功能,促进肾功能恢复。

本研究证实,红景天苷预处理具有保护肾缺血再灌注损伤的作用,其机制可能是通过增加 SOD 的释放,减少 ROS 和 MDA 的生成,促进 ROS 的代谢清除,减轻氧化应激过程;减少 NF- κ B 阳性细胞数目,抑制炎症因子 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的释放,减轻炎症反应。然而,该研究仅限于大鼠肾移植模型,红景天苷是否对人的移植肾缺血再灌注损伤有保护作用还有待于我们进一步的试验研究。

参 考 文 献

- [1] Ramessur Chandran S, Han Y, Tesch GH, et al. Inhibition of spleen tyrosine kinase reduces renal allograft injury in a rat model of acute antibody-mediated rejection in sensitized recipients[J]. *Transplantation*, 2017, 101(8): e240-e248.
- [2] Bao DS, Wu YK, Fu SJ, et al. Hyperbaric oxygenation protects against ischemia-reperfusion injury in transplanted rat kidneys by triggering autophagy and inhibiting inflammatory response[J]. *Ann Transplant*, 2017, 2(10): 22, 75-82.
- [3] 李剑, 范维琥, 罗心平, 等. 预灌红景天对心梗大鼠心功能及 Flk-1mRNA 表达的影响[J]. *复旦学报(医学版)*, 2006, 33(3): 384-387.
- [4] 赵正维, 王为忠, 陈宏, 等. 红景天对大鼠小肠缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(43): 117-119.
- [5] 隋汝波, 李熙东, 刘媛媛, 等. 大鼠局灶性脑缺血再灌注血浆细胞因子和内皮素对红景天干预的反应[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(35): 23-25.
- [6] Lautraite S, Bigot-Lasserre D, Bars R, et al. Optimisation of cell-based assays for medium throughput screening of oxidative stress[J]. *Toxicol In Vitro*, 2003, 17(2): 207-220.
- [7] Malek M, Nematbakhsh M. Renal ischemia/reperfusion injury: from pathophysiology to treatment[J]. *J Renal Inj Prev*, 2015, 4(2): 20-27.
- [8] Alberú-Gómez JI, Hernández-Méndez EA, Oropeza-Barrera I, et al. Incidence of acute rejection in patients with renal graft dysfunction[J]. *Rev Invest Clin*, 2013, 65(5): 412-419.
- [9] Tsuda H, Kawada N, Kaimori JY, et al. Febuxostat suppressed renal ischemia-reperfusion injury via reduced oxidative stress[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 427(2): 266-272.
- [10] Cao CC, Ding XQ, Ou ZL, et al. In vivo transfection of NF- κ B decoy oligodeoxynucleotides attenuate renal ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Kidney Int*, 2004, 65(3): 834-845.
- [11] Yuan Y, Wu SJ, Liu X, et al. Antioxidant effect of salidroside and its protective effect against furan-induced hepatocyte damage in mice[J]. *Food Funct*, 2013, 4(5): 763-769.
- [12] Han T. Effects of salidroside pretreatment on expression of tumor necrosis factor- α and permeability of blood brain barrier in rat model of focal cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2013, 6(2): 156-158.
- [13] Li D, Fu Y, Zhang W, et al. Salidroside attenuates inflammatory responses by suppressing nuclear factor- κ B and mitogen activated protein kinases activation in lipopolysaccharide-induced mastitis in mice[J]. *Inflammation Res*, 2012, 62(2): 9-15.
- [14] 邹毅清, 蔡志扬, 李小宝, 等. 红景天苷预处理对大鼠全脑缺血再灌注后炎症反应的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2013, 22(3): 253-255.
- [15] Slegtenhorst BR, Dor FJ, Rodriguez H, et al. Ischemia/reperfusion injury and its consequences on immunity and inflammation[J]. *Curr transplant REP*, 2014, 1(3): 147-154.
- [16] Guan S, Feng H, Song B, et al. Salidroside attenuates LPS-induced pro-inflammatory cytokine responses and improves survival in murine endotoxemia[J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11(12): 2194-2199.

(收稿日期:2018-07-19)