

金水宝片对顺铂所致大鼠急性肾损伤的保护作用及机制

刘学武^{1,2}, 周志敏^{1,2}, 姜德建^{1,2*}, 龙利^{3**}¹湖南省药物安全评价研究中心, 长沙 410331; ²新药药效与安全性评价湖南省重点实验室, 长沙 410331;³湖北省第三人民医院肾病科, 武汉 430033

摘要 考察金水宝片对顺铂诱导大鼠急性肾损伤的防治作用及机制。分别采用单次腹腔注射顺铂 5 mg/kg 和连续 5 d 静脉注射顺铂 2 mg/kg 诱导大鼠急性肾损伤模型。观察大鼠急性肾损伤模型分别经预防性或治疗性给予金水宝片后的肾功能的变化, 给药结束后进行肾脏组织病理学检查, 并检测肾脏肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和活性氧 (ROS) 的含量、半胱天冬酶 3 (Caspase 3) 活性以及 t-p38、p-p38、Bax 及 Bcl-2 的蛋白表达。结果显示, 金水宝片预防性给药和治疗性给药均能显著抑制顺铂诱导的大鼠急性肾损伤模型的血清尿素氮 (BUN) 和肌酐 (CRE) 水平的上升, 显著增加肾脏肌酐清除率, 显著改善肾小管变性和炎症浸润, 且预防性给药的起效时间较治疗性给药缩短。同时两种给药方式均能显著降低肾脏 TNF- α 、ROS 含量以及 Caspase 3 活性。Western blot 结果显示, 金水宝片能显著减少肾脏中 p-p38、t-p38 的蛋白表达, 显著增大 Bcl-2/Bax 比值。研究结果表明, 金水宝预防性给药和治疗性给药均能通过改善肾功能和肾脏组织病理变化, 以达到对顺铂所致急性肾损伤的防治作用, 且其作用机制可能与金水宝抑制 TNF- α , 抑制 ROS-p38MAPK-Caspase 3 通路, 进而抑制细胞凋亡有关。

关键词 金水宝片; 顺铂; 肾脏损伤; 作用机制

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2020)01-0076-08

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20200112

引用本文 刘学武, 周志敏, 姜德建, 等. 金水宝片对顺铂所致大鼠急性肾损伤的保护作用及机制[J]. 中国药科大学学报, 2020, 50(1): 76-83.

Cite this article as: LIU Xuewu, ZHOU Zhiming, JIANG Dejian, et al. Protective effect and mechanism of Jinshuibao tablet on acute kidney injury induced by cisplatin in rats[J]. J China Pharm Univ, 2020, 51(1): 76-83.

Protective effect and mechanism of Jinshuibao tablet on acute kidney injury induced by cisplatin in rats

LIU Xuewu^{1,2}, ZHOU Zhiming^{1,2}, JIANG Dejian^{1,2*}, LONG Li^{3**}¹Hunan Provincial Research Center for Safety Evaluation of Drugs, Changsha 410331;²Hunan Key Laboratory of Pharmacodynamics and Safety Evaluation of New Drugs, Changsha 410331;³Nephrology Department of the Third People's Hospital of Hubei Province, Wuhan 430033, China

Abstract This study aimed to observe the therapeutic effect and mechanism of Jinshuibao tablet on acute renal injury induced by cisplatin. Acute renal injury models in SD rats were induced separately by single intraperitoneal injection of cisplatin (5 mg/kg) and intravenous injection for 5 consecutive days at a dosage of 2 mg/kg per day. The renal function and renal histopathological changes were observed in rat acute renal injury models after prevention and treatment with Jinshuibao tablet, respectively. The content of tumor necrosis factor (TNF- α) and reactive oxygen species (ROS), the activity of Caspase 3 and the expression of t-p38, p-p38, Bax and Bcl-2 in the kidneys were detected. The results showed that preventive and therapeutic administration of Jinshuibao tablets could both significantly inhibit the increase of the blood urea nitrogen (BUN) and creatinine (CRE), increase the creatinine clearance rate, reduce the contents of TNF- α and ROS, and decrease the activity of Caspase 3 in acute

收稿日期 2019-09-14 通信作者 * Tel: 0731-83285167 E-mail: jiangdejian@hnsc.org

** Tel: 027-83745936 E-mail: 68335589@qq.com

基金项目 湖南省重点研发计划资助项目 (No. 2018SK2115)

renal injury models induced by cisplatin. The renal histopathological results showed that *Jinshuibao* tablets could significantly reduce renal histopathology scores, ameliorate renal tubule degeneration and inflammatory infiltration. Western blot results showed that *Jinshuibao* tablets could significantly decrease the expression of t-p38 and p-p38, while increasing the Bcl-2/Bax ratio in the kidneys. These results suggested that preventive and therapeutic administration of *Jinshuibao* tablets could both improve renal function and pathological changes of renal tissue, which might be related to the inhibition of TNF- α and the ROS-p38 MAPK-Caspase3 pathway and thus inhibition of apoptosis.

Key words *Jinshuibao* tablets; cisplatin; acute kidney injury; mechanism

The study was supported by the Key Research and Development Program of Hunan Province (No. 2018SK2115)

药物性肾损伤在临床用药时十分常见,约占急性肾损伤的 20% 左右。能引起急性肾损伤的药物有很多,常见的有化疗药物、抗生素、非甾体抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)、血管紧张素转化酶抑制剂等。临床上发生药物性肾损伤时,通常在停药以及纠正酸碱度的同时,给予肾功能保护药,以加速肾功能的恢复。对已知有肾脏损伤的药物,通常可联合肾功能保护药物一起服用,以减少急性肾损伤的发生和发展。金水宝片主要用于各种病因所致的急性肾脏损伤的预防和治疗^[1-2],其疗效显著,但作用机制不甚明确。本研究采用顺铂诱导大鼠急性肾损伤模型,通过预防和治疗性给予金水宝片,以评价其疗效,并探索金水宝片治疗急性肾损伤的作用机制^[3]。

1 材 料

1.1 试 剂

金水宝片(江西济民可信金水宝制药有限公司);地塞米松片(广东南国药业有限公司);顺铂注射液(山东仁和堂药业有限公司);大鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α) ELSIA 试剂盒、大鼠活性氧簇(ROS) ELISA 试剂盒(武汉贝茵莱生物科技有限公司);大鼠 Caspase 3 活性检测试剂盒(碧云天生物技术有限公司);Anti-p38 抗体、Anti-p-p38 抗体、Anti-Bax 抗体、Anti-Bcl-2 抗体(英国 Abcam 公司);Anti- β -actin 抗体(美国 Proteintech 公司)。

1.2 仪 器

TP1020 型全自动脱水机、ASP300S 型全自动组织脱水机、RM2235 型石蜡切片机、EG1150H + C 型组织包埋(德国 Leica 公司);BX43 型生物显微镜 + MD50 型数码成像系统(日本奥林巴斯公司);LABOSPECT003 型自动生化分析仪(日本日立公司);SpectraMax i3x 型多功能酶标仪(上海美谷分

子仪器有限公司);164-5050 电泳仪(美国 Bio-Rad 公司);DYCZ-40A 转膜仪(北京六一仪器厂)。

1.3 动 物

SD 大鼠 144 只,SPF 级,雄性,(200 \pm 20) g,购于湖南斯莱克景达生物技术有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2016-0002;在湖南省药物安全评价研究中心屏障环境饲养,实验动物使用许可证号:SYXK(湘)2015-0016。所有动物实验均符合动物伦理委员会标准。

2 方 法

分别进行金水宝片预防性给药和治疗性给药实验,其中预防性给药实验采用大剂量的顺铂经腹腔注射诱导急性肾损伤模型;治疗性给药采用小剂量的顺铂经静脉注射诱导急性肾损伤模型。腹腔注射顺铂和静脉注射顺铂分别模拟临床大剂量或小剂量的顺铂进行化疗给药。

2.1 预防性给药对顺铂腹腔注射所致急性肾损伤的作用

雄性 SD 大鼠 66 只,按体质量随机分为正常组、模型组、阳性对照组(地塞米松,2 mg/kg)、金水宝片低、中、高剂量组(0.135、0.270、0.540 g/kg),其中正常组 6 只,其余各组均为 12 只。各组大鼠按 10 mL/kg 灌胃给予相应剂量金水宝片(研磨成粉末,用蒸馏水配制成相应浓度的药液),每日 1 次,连续 13 d,正常组、模型组灌胃给予等体积蒸馏水。于给药 7 d 后,各组大鼠按 5 mL/kg 一次性腹腔注射顺铂 5 mg/kg 诱导大鼠急性肾损伤模型,正常组腹腔注射给予等体积 0.9% 氯化钠注射液。

2.2 治疗性给药对顺铂静脉注射所致急性肾损伤的作用

雄性 SD 大鼠 78 只,选用其中 72 只大鼠作为

模型组,并按 1 mL/kg 经静脉注射顺铂 2.5 mg/kg,每日 1 次,连续 5 次,诱导大鼠急性肾损伤模型。另取 6 只雄性大鼠,采用相同方法注射给予等体积 0.9% 氯化钠注射液,作为正常组。各组大鼠于造模结束后眼眶静脉丛采血,检测肾功能尿素氮(BUN)和肌酐(CRE)水平,选取 CRE 水平最高的大鼠 60 只,根据血清 CRE 水平兼顾 BUN 和体重,随机分为模型组、阳性对照组(地塞米松,2 mg/kg)、金水宝片低、中、高剂量组(0.135、0.270、0.540 g/kg),每组 12 只。每日给药前将金水宝片(研磨成粉末)用蒸馏水配制成相应浓度药液。各组大鼠均按 10 mL/kg 灌胃给予相应剂量金水宝片,每日 1 次,连续 9 d,正常组、模型组灌胃给予等体积蒸馏水。

2.3 生理指标检测

2.3.1 对肾功能的影响 预防性给药和治疗性给药实验的各组大鼠分别于造模后各时间点进行眼眶静脉丛采血,检测血清 BUN 和 CRE,以监测肾功能的变化。每次采血前均禁食不禁水 6 h,然后眼眶采血约 1 mL,3 000 r/min 离心 10 min,取上层血清,采用自动生化仪检测血清 BUN 和 CRE。于造模第 6 天采用代谢笼收集各组大鼠 6 h 尿量,测量排尿量,并用自动生化仪检测尿肌酐水平,并计算肌酐清除率(mL/min) = 尿肌酐 \times 排尿量 / (360 \times 血肌酐)。

2.3.2 对肾脏组织病理变化的影响 各组大鼠分别于末次给药后禁食不禁水 6 h,CO₂ 麻醉,放血安乐死,取左侧肾脏,福尔马林固定,石蜡包埋,切片,HE 染色,光镜下观察肾脏组织炎症细胞浸润和肾小管上皮细胞变性等病理改变,并进行病理评分,具体评分标准如下:肾小管上皮:正常,完好无损,记“0”分;极少细胞变性坏死,记“1”分;轻度,记“2”分;中度,记“3”分;重度,记“4”分。透明管型:无,记“0”分;极少,记“1”分;轻度,记“2”分;中度,记“3”分;重度,记“4”分。炎细胞浸润:无,记“0”分;极少,记“1”分;轻度,记“2”分;中度,记“3”分;重度,记“4”分。将各类病理改变的评分进行累加,计算总分作为肾脏损伤的整体病理评分。

2.3.3 对细胞因子的影响 各组大鼠分别于末次给药后禁食不禁水 6 h,取右侧肾脏 0.025 g,用冰预冷 PBS 洗组织,加入 RIPA 裂解液 200 μL 于匀浆器中反复研磨至看不见组织块,冰上蛋白裂解

10 min,4 $^{\circ}\text{C}$,12 000 r/min 离心 15 min,取上清液,采用 ELISA 试剂盒检测肾脏组织中 TNF- α 、ROS 的水平和 Caspase 3 活性。

2.3.4 对肾脏凋亡相关蛋白表达的影响 取左侧肾脏,福尔马林固定,石蜡包埋,切片,HE 染色,同时取右侧肾脏 0.025 g,用冰预冷 PBS 洗组织,加入 RIPA 裂解液 200 μL 于匀浆器中反复研磨组织直至看不见组织块,冰上蛋白裂解 10 min,4 $^{\circ}\text{C}$,12 000 r/min 离心 15 min,将离心后的上清液分装到 0.5 mL 的离心管中,并进行蛋白定量。分别取总蛋白 50 μg 上样,进行凝胶电泳,半干法转聚偏二氟乙烯(PVDF)膜,以 5% 的脱脂奶粉封闭 1.5 h。用多克隆一抗(兔抗大鼠 t-p38、p-p38、Bax、Bcl-2)与 PVDF 膜 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,TBST 洗 3 次,每次 15 min。用 HRP 标记的二抗室温孵育 90 min,TBST 洗 3 次,每次 15 min,ECL 化学发光法曝光扫描拍照,用 Quantity One 软件分析各组大鼠肾脏中 t-p38、p-p38、Bax、Bcl-2 的蛋白相对表达量,并计算各组中相应蛋白的表达与内参 β -actin 的相对比值。

2.4 统计方法

本实验数据采用 SPSS16.0 进行数据统计,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。用 Leven's test 方法检验方差齐性。用单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行统计分析,用 LSD test(参数法)进行两两比较分析。

3 结果

3.1 对肾功能的影响

3.1.1 对血清 BUN 的影响 如图 1 所示,经预防性给药,金水宝片在造模后第 3 天起效,且持续给药,各给药组 BUN 在造模后给药第 5 天达到峰值,其中低剂量组血清 BUN 在造模后给药第 3 天较模型组显著降低($P < 0.05$),中、高剂量组血清 BUN 在第 3 ~ 6 天均较模型组显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),各组大鼠血清 BUN 在造模后给药第 6 天可见恢复趋势。经治疗性给药,金水宝片在造模后给药第 5 天起效,且持续给药,各给药组 BUN 在造模后给药第 5 天达到峰值,其中低、中剂量组血清 BUN 在造模后给药第 7、9 天较模型组显著降低($P < 0.05$),高剂量组血清 BUN 在第 5 ~ 9 天均较模型组显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),各给药组 BUN 在造模后给药第 7 天可见恢复趋势。

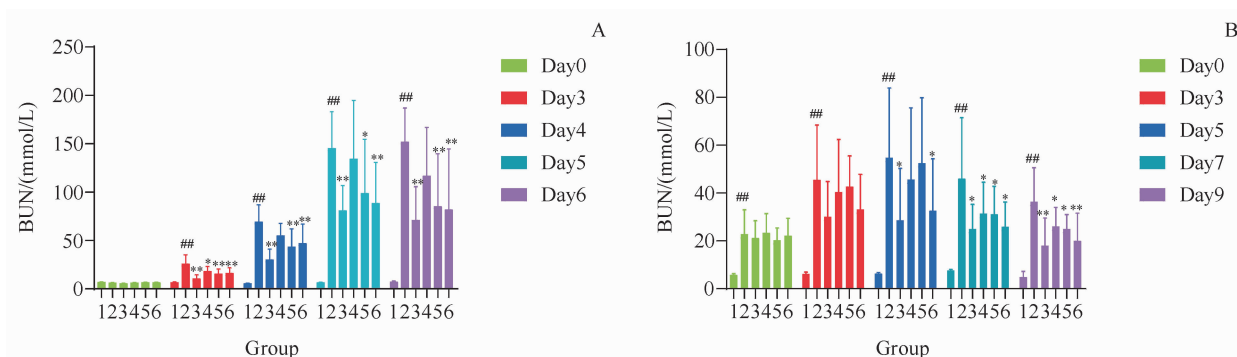


Figure 1 Prophylactic effect (A) and therapeutic effect (B) of Jinshuibao tablet on blood urea nitrogen (BUN) level of cisplatin induced acute renal injury model in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6-10$)

1: Normal; 2: Model; 3: Positive control; 4: Jinshuibao tablet (0.135 g/kg); 5: Jinshuibao tablet (0.270 g/kg); 6: Jinshuibao tablet (0.540 g/kg)

$P < 0.01$ vs normal group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group

3.1.2 对血清 CRE 的影响 如图 2 所示,经预防性给药,金水宝片在造模后第 3 天起效,且持续给药,各给药组 CRE 在造模后给药第 5 天达到峰值,其中低剂量组血清 CRE 在造模后各时间点均与模型组无明显差异;中、高剂量组血清 CRE 在第 3~6 天均较模型组显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),各组大鼠血清 CRE 在造模后给药第 6 天可见恢复趋

势。经治疗性给药,金水宝片在造模后给药第 5 天起效,且持续给药,各给药组 CRE 在造模后给药第 5 天达到峰值,其中低、中剂量组血清 CRE 分别在造模后给药第 7、9 天较模型组显著降低 ($P < 0.05$),高剂量组血清 CRE 在第 5~9 天均较模型组显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),各给药组 CRE 在造模后给药第 7 天可见恢复趋势。

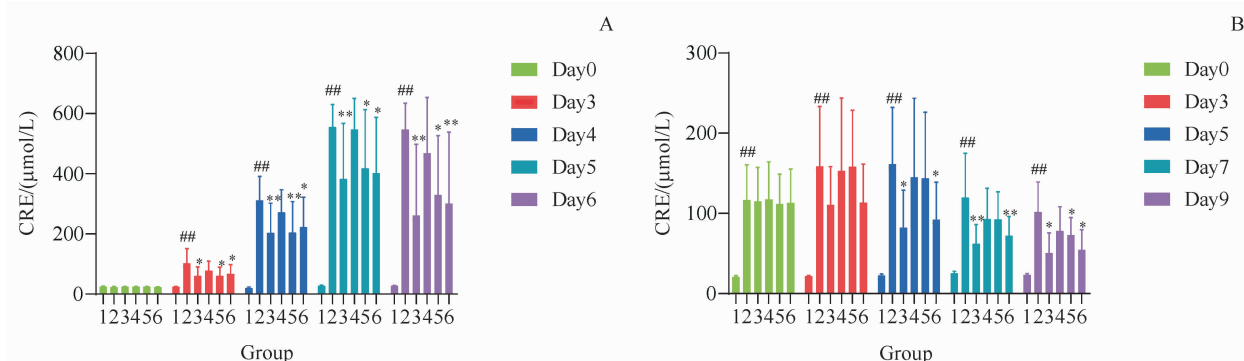


Figure 2 Prophylactic effect (A) and therapeutic effect (B) of Jinshuibao tablet on serum creatinine (CRE) level of cisplatin induced acute renal injury model in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6-10$)

1: Normal; 2: Model; 3: Positive control; 4: Jinshuibao tablet (0.135 g/kg); 5: Jinshuibao tablet (0.270 g/kg); 6: Jinshuibao tablet (0.540 g/kg)

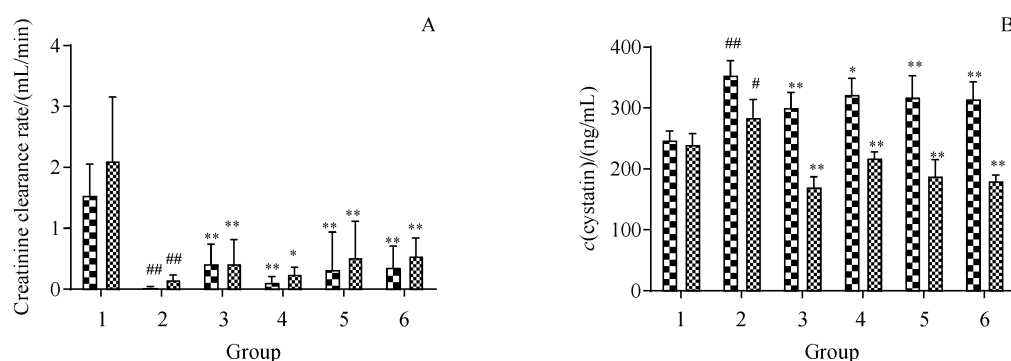
$P < 0.01$ vs normal group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group

3.1.3 对肌酐清除率和胱抑素 C 的影响 如图 3 所示,与正常组相比,模型组大鼠肌酐清除率显著减小 ($P < 0.01$),血清胱抑素 C 水平显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与模型组比较,金水宝片预防性给药和治疗性给药后,金水宝片低、中、高剂量组肌酐清除率均显著增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),血清胱抑素 C 水平均显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3.2 对肾脏组织的影响

如图 4 所示,正常组肾脏皮质、髓质结构清

晰,肾单位形态结构正常,间质未见炎症细胞浸润。模型组肾脏大量肾小管上皮细胞变性、坏死,并可见纤维化,大量管内可见透明管型,间质可见炎症细胞浸润;经预防性给药或治疗性给药后,金水宝片各剂量组的肾小管变性、坏死以及炎症浸润等程度均较模型组有显著改善,且具有显著的剂量依赖关系,其中预防性给药的起效剂量为低剂量 (0.135 g/kg),治疗性给药的起效剂量为中剂量 (0.270 g/kg)。



■ Prophylactic administration; ■ Therapeutic administration

Figure 3 Prophylactic effect and therapeutic effect of *Jinshuibao* tablet on creatinine clearance rate (A) and cystatin C level (B) of cisplatin induced acute renal injury model in rats ($\bar{x} \pm s, n=6-10$)

1: Normal; 2: Model; 3: Positive control; 4: *Jinshuibao* tablet (0.135 g/kg); 5: *Jinshuibao* tablet (0.270 g/kg); 6: *Jinshuibao* tablet (0.540 g/kg)

$P < 0.01$ vs normal group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group

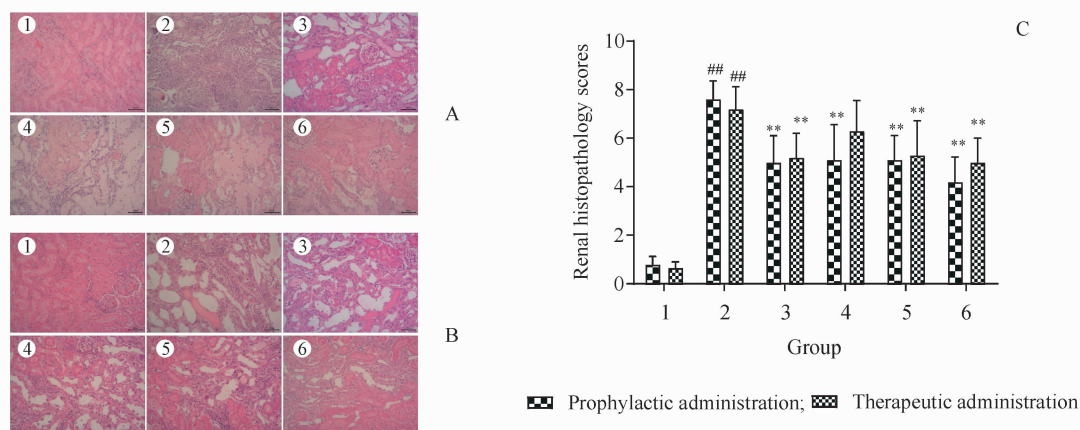


Figure 4 Prophylactic effect and therapeutic effect of *Jinshuibao* tablet on the changes of renal histopathology of cisplatin induced acute renal injury model in rats ($\bar{x} \pm s, n=6-10$)

A: Prophylactic administration; B: Therapeutic administration; C: Renal histopathology scores

1: Normal; 2: Model; 3: Positive control; 4: *Jinshuibao* tablet (0.135 g/kg); 5: *Jinshuibao* tablet (0.270 g/kg); 6: *Jinshuibao* tablet (0.540 g/kg)

$P < 0.01$ vs normal group; ** $P < 0.01$ vs model group

3.3 对肾脏炎症和氧化应激相关因子的影响

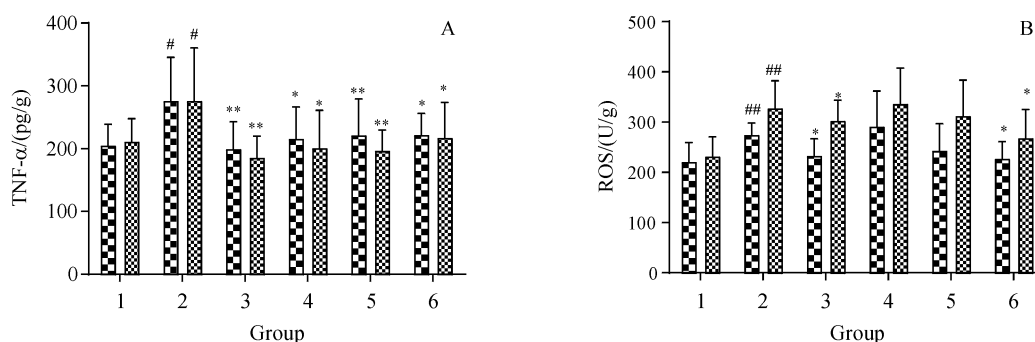
如图5所示,与正常组比较,模型组大鼠肾脏组织中 TNF- α 、ROS 含量升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与模型组比较,金水宝片预防性给药和治疗性给药均能显著降低大鼠急性肾损伤模型肾脏组织 TNF- α 和 ROS 含量 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且其药效作用具有明显的剂量依赖关系。

3.4 对肾脏细胞凋亡蛋白的影响

3.4.1 对肾脏 Caspase 3 活性以及 t-p38、p-p38 MAPK 蛋白表达的影响 如图6、7所示,与正常组比较,模型组大鼠肾脏组织 Caspase 3 活性显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), t-p38、p-p38 蛋白表达显著增加 ($P < 0.01$);与模型组比较,经预防性给药和治疗性给药后,金水宝片低、中、高剂量组

Caspase 3 活性均显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),肾脏组织 t-p38 和 p-p38 蛋白的表达 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) 显著减少,且均具有明显的剂量依赖关系。

3.4.2 对肾脏 Bax、Bcl-2 蛋白表达以及 Bax/Bcl-2 比值的影响 如图7、8所示,与正常组比较,模型组肾脏 Bax 的蛋白表达显著增加 ($P < 0.01$), Bcl-2 蛋白表达显著减少 ($P < 0.01$), Bcl-2/Bax 比值显著减小 ($P < 0.01$);预防性给药和治疗性给药均能显著减少肾脏组织 Bax 蛋白的表达 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),增加 Bcl-2 的蛋白表达 ($P < 0.01$),并显著增大 Bcl-2/Bax 比值 ($P < 0.01$),且均具有明显剂量依赖关系。

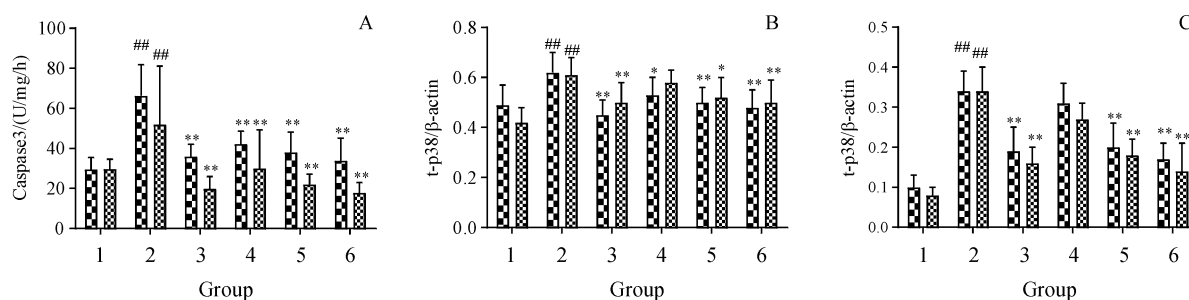


■ Prophylactic administration; ■ Therapeutic administration

Figure 5 Prophylactic effect and therapeutic effect of *Jinshuibao* tablet on the content of TNF- α (A) and ROS (B) of cisplatin induced acute renal injury model in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6-10$)

1: Normal; 2: Model; 3: Positive control; 4: *Jinshuibao* tablet (0.135 g/kg); 5: *Jinshuibao* tablet (0.270 g/kg); 6: *Jinshuibao* tablet (0.540 g/kg)

$P < 0.01$ vs normal group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group

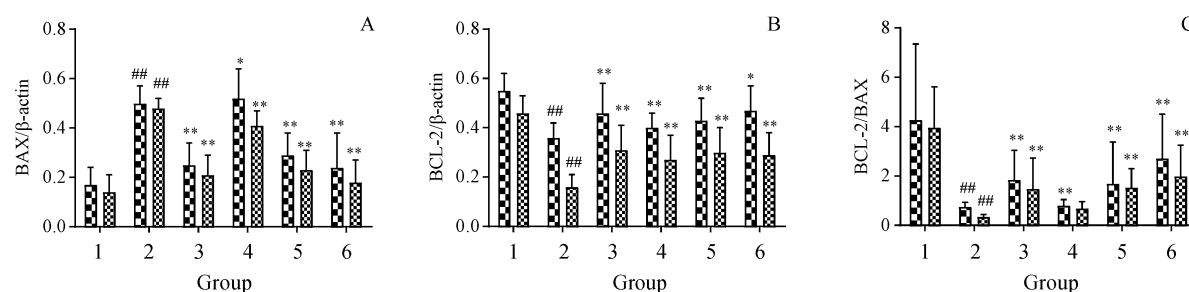


■ Prophylactic administration; ■ Therapeutic administration

Figure 6 Prophylactic effect and therapeutic effect of *Jinshuibao* tablet on the protein expression of t-p38 (A), p-p38 (B) and the activity of Caspase 3 (C) of cisplatin induced acute renal injury model in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6-10$)

1: Normal; 2: Model; 3: Positive control; 4: *Jinshuibao* tablet (0.135 g/kg); 5: *Jinshuibao* tablet (0.270 g/kg); 6: *Jinshuibao* tablet (0.540 g/kg)

$P < 0.01$ vs normal group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group



■ Prophylactic administration; ■ Therapeutic administration

Figure 7 Prophylactic effect and therapeutic effect of *Jinshuibao* tablet on the protein expression of Bax (A), Bcl-2 (B) and the ratio of Bcl-2/Bax (C) of cisplatin induced acute renal injury model in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6-10$)

1: Normal; 2: Model; 3: Positive control; 4: *Jinshuibao* tablet (0.135 g/kg); 5: *Jinshuibao* tablet (0.270 g/kg); 6: *Jinshuibao* tablet (0.540 g/kg)

$P < 0.01$ vs normal group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group

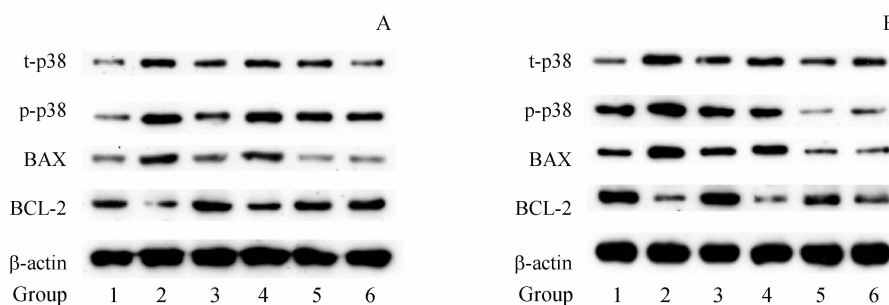


Figure 8 Prophylactic effect (A) and therapeutic effect (B) of Jinshuibao tablet on the protein expression of t-p38, p-p38, Bax and Bcl-2 of cisplatin induced acute renal injury model in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6-10$)

1: Normal; 2: Model; 3: Positive control; 4: Jinshuibao tablet (0.135 g/kg); 5: Jinshuibao tablet (0.270 g/kg); 6: Jinshuibao tablet (0.540 g/kg)

4 讨论

急性肾损伤是一种以短时间内肾小球滤过率迅速下降为主要特点的临床综合征,是临床常见的危重病症之一,发病后的病死率极高,其病理生理过程较为复杂,主要累及肾脏管状细胞和血管细胞的损害,且伴有明显的炎症反应。本研究分别通过单次大剂量腹腔注射 5 mg/kg 的顺铂和连续 5 d 小剂量静脉注射 2.0 mg/kg 的顺铂诱导大鼠急性肾损伤模型,其中腹腔注射和静脉注射分别与临床腹腔灌注给药和静脉注射给药的方式和剂量接近^[4-5]。经两种给药方案造模后,大鼠均表现为典型的急性肾损伤症状,如血清 CRE、BUN 显著升高,肌酐清除率显著下降,其中单次大剂量造模的大鼠血清 CRE 和 BUN 可升高至小剂量造模的 3 倍左右,胱抑素 C 水平可升高至小剂量造模的 1.2 倍左右,肌酐清除率可下降至小剂量造模的 20% 左右,组织病理学结果也显示了单次大剂量造模能引更严重的急性肾损伤。分别通过对单次大剂量造模大鼠进行预防性给药以及对多次小剂量造模的大鼠进行治疗性给药后发现,虽然单次大剂量造模能引起更严重的急性肾损伤,但预防性给药仍能较好的改善顺铂所致的急性肾损伤,且其疗效较治疗性给药更好,主要表现为血清 CRE、BUN 指标的起效时间缩短(3 d vs 5 d),且肌酐清除率可恢复到与治疗性给药方式的相当水平,提示在临床应用时,通过提前预防性给药,能较早的干预药物性肾损伤发生和发展。

研究表明,顺铂经肾脏排泄时,可损伤肾小管上皮而产生炎症和氧化等应激反应,并进一步释放炎症因子(TNF- α 、IL-6、IL-1 β 等)和氧化产物

(ROS)等^[6-7],进而引起速肾脏细胞的变性、凋亡和坏死^[8-9]。炎症和氧化应激做为刺激信号,可诱导 p38 的表达和磷酸化激活^[10-11],磷酸化的 p38 (p-p38)可进一步刺激各种细胞因子的分泌^[12-13],同时 p-p38 还能通过诱导 Bax 的转位和 Bcl-2 的表达来调控 Bax、Bcl-2 的变化^[14]。Bax 和 Bcl-2 可作为上游信使和下游底物调节 Caspase 3 的表达。Caspase 3 作为细胞凋亡的下游执行者,其高表达能加速细胞凋亡的进程^[14-16]。本研究结果显示,金水宝片均能通过抑制肾脏中 TNF- α 和 ROS 的含量来达到抗炎和抗氧化的作用,并通过降低 t-p38、p-p38 和 Bax 的蛋白表达,升高 Bcl-2 的蛋白表达来抑制 p38 MAPK 通路的活化、降低 Caspase 3 的活性,提示金水宝片对顺铂所致急性肾损伤的保护作用机制可能与其减少 TNF- α ,抑制 ROS-p38MAPK-Caspase 3 通路来诱导的细胞凋亡有关,且金水宝片预防性给药和治疗性的作用机制基本类似。

综上所述,金水宝片预防性给药和治疗性给药均能显著改善顺铂所致的急性肾损伤模型的肾功能以及肾脏的组织病理变化,提示金水宝片对顺铂诱导的急性肾损伤具有显著防治作用,且其作用机制可能与金水宝片的抑制 TNF- α 、抑制 ROS-p38MAPK-Caspase 3 通路,进而抑制细胞凋亡有关。

参考文献

- [1] Chen CJ, Chen CN, Pan QZ, et al. Clinical study on the intervention therapy of Jinshuibao capsule on cisplatin-induced renal toxicity[J]. *Med Innov China* (中国医学创新), 2012, 9(2): 32-33.
- [2] Ye XL, Zhen XC, Yang XL, et al. Diclofenac sodium associated

- acute kidney injury[J]. *J ADR* (药物不良反应杂志), 2018, **20** (2): 146–147.
- [3] Liu W, Jiang SF, Tu L, *et al.* Mechanism of JinShuiBao capsule in ameliorating rat pneumoconiosis model[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2018, **49** (4): 476–482.
- [4] Yan YL, Zhang DM, Wang Y, *et al.* The comparative study of the effect of intraperitoneal perfusion and intravenous chemotherapy in advanced ovarian cancer[J]. *J Int Obstet Gynecol* (国际妇产科学杂志), 2014, **41** (6): 655–657.
- [5] Markman M. Intraperitoneal chemotherapy as primary treatment of advanced ovarian cancer: efficacy, toxicity, and future directions[J]. *Rev Recent Clin Trials*, 2007, **2** (3): 169–173.
- [6] Goren O, Matot I. Update on perioperative acute kidney injury[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2016, **22** (4): 370–378.
- [7] Yan W, Xu Y, Yuan YH, *et al.* Renoprotective mechanisms of Astragaloside IV in cisplatin-induced acute kidney injury[J]. *Free Radic Res*, 2017, **51** (7/8): 669–683.
- [8] Mulay SR, Anders HJ. Crystal nephropathies: mechanisms of crystal-induced kidney injury[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, **13** (4): 226–240.
- [9] Devarajan P. Acute kidney injury: still misunderstood and misdiagnosed[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, **13** (3): 137–138.
- [10] Mansouri A, Ridgway LD, Korapati AL, *et al.* Sustained activation of JNK/p38 MAPK pathways in response to cisplatin leads to Fas ligand induction and cell death in ovarian carcinoma cells[J]. *J Biol Chem*, 2003, **278** (21): 19245–19256.
- [11] He B, Tao HY, Liu SQ, *et al.* Carboxymethylated chitosan protects rat chondrocytes from NO-induced apoptosis via inhibition of the p38/MAPK signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2016, **13** (3): 2151–2158.
- [12] Wang JX, Chen HJ, Cao P, *et al.* Inflammatory cytokines induce caveolin-1/ β -catenin signalling in rat nucleus pulposus cell apoptosis through the p38 MAPK pathway[J]. *Cell Prolif*, 2016, **49** (3): 362–372.
- [13] Cai QH, Tang Y, Fan SH, *et al.* In vivo effects of dexmedetomidine on immune function and tumor growth in rats with ovarian cancer through inhibiting the p38MAPK/NF- κ B signaling pathway[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2017, **95**: 1830–1837.
- [14] Goldsmith EJ, Min XS, He HX, *et al.* Structural studies of MAP kinase cascade components[J]. *Methods Mol Biol*, 2010, **661**: 223–237.
- [15] Sabio G, Davis RJ. TNF and MAP kinase signalling pathways[J]. *Semin Immunol*, 2014, **26** (3): 237–245.
- [16] Ashraf M, Ebner M, Wallner C, *et al.* A p38MAPK/MK2 signaling pathway leading to redox stress, cell death and ischemia/reperfusion injury[J]. *Cell Commun Signal*, 2014, **12** (1): 6.



中国药科大学学报

中国精品科技期刊 中国高校精品科技期刊
中国中文核心期刊 中国科学引文数据库核心期刊

传播医药科技创新研究成果的优秀媒体

药学前沿

提供药学领域的前沿信息 反映最新的药学研究进展

创新成果

展示医药科技最新成果 构建学术交流的平台

研究论文

科学研究原创论文 国家重大药学研究基金产出论文

邮发代号: 28-115, 欢迎订阅, 欢迎投稿!