

# 原花青素通过SIRT1/AMPK信号通路对庆大霉素致大鼠急性肾损伤的改善机制<sup>Δ</sup>

符妹丽<sup>1\*</sup>, 江强<sup>1</sup>, 符圣亮<sup>1</sup>, 符书山<sup>1</sup>, 谢桃梅<sup>2</sup>, 黎珊珊<sup>2</sup> (1. 儋州市人民医院肾内科, 海南儋州 571700; 2. 儋州市人民医院内分泌科, 海南儋州 571700)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2024)07-0807-06  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.07.07



**摘要** **目的** 探究原花青素对庆大霉素致大鼠急性肾损伤(AKI)的改善机制。**方法** 通过腹腔注射硫酸庆大霉素构建AKI大鼠模型,将造模成功的大鼠随机分为模型对照组、盐酸贝那普利5 mg/kg组(阳性对照)、原花青素50 mg/kg组、原花青素100 mg/kg组、原花青素200 mg/kg组,每组10只;另取10只正常大鼠作为正常对照组。各给药组大鼠灌胃相应药液,正常对照组和模型对照组大鼠灌胃等体积生理盐水。所有大鼠每天给药1次,连续28 d。末次给药后,检测血清中血清肌酐(SCr)、尿素氮(BUN)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)及24 h尿液中尿蛋白(UP)水平;计算肾脏指数;观察大鼠肾组织病理变化并进行病理评分;检测肾组织细胞凋亡率和胱天蛋白酶-3(Caspase-3)、B细胞淋巴瘤2基因相关X蛋白(Bax)表达水平,以及沉默信息调节因子1(SIRT1)、AMP活化蛋白激酶(AMPK)蛋白的磷酸化水平。**结果** 与模型对照组比较,各给药组大鼠SCr、BUN、UP、MDA水平,肾脏指数,肾组织病理评分,肾组织细胞凋亡率及肾组织中Caspase-3、Bax蛋白表达水平均显著降低,SOD、GSH-Px水平和肾组织中SIRT1、AMPK蛋白的磷酸化水平均显著升高( $P<0.05$ ),且原花青素的作用存在剂量依赖性( $P<0.05$ );原花青素200 mg/kg组与盐酸贝那普利5 mg/kg组比较,上述指标差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** 原花青素对AKI大鼠的改善作用可能与其激活SIRT1/AMPK信号通路进而抑制氧化应激有关。

**关键词** 原花青素;SIRT1/AMPK信号通路;急性肾损伤;氧化应激

## Improvement mechanism of proanthocyanidins on gentamicin-induced acute kidney injury of rats through SIRT1/AMPK signaling pathway

FU Meili<sup>1</sup>, JIANG Qiang<sup>1</sup>, FU Shengliang<sup>1</sup>, FU Shushan<sup>1</sup>, XIE Taomei<sup>2</sup>, LI Shanshan<sup>2</sup> (1. Dept. of Nephrology, Danzhou People's Hospital, Hainan Danzhou 571700, China; 2. Dept. of Endocrinology, Danzhou People's Hospital, Hainan Danzhou 571700, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To explore the improvement mechanism of proanthocyanidins on acute kidney injury (AKI) induced by gentamicin in rats. **METHODS** Gentamicin sulfate was injected intraperitoneally to construct the AKI rat model; the model rats were randomly divided into model control group, benazepril hydrochloride 5 mg/kg group (positive control), proanthocyanidins 50 mg/kg group, proanthocyanidins 100 mg/kg group, and proanthocyanidins 200 mg/kg group, with 10 rats in each group; in addition, 10 normal rats were selected to be treated as the normal control group. The rats in each administration group were given corresponding liquid intragastrically, and the normal control group and model control group were given equal volumes of normal saline intragastrically, once a day, for 28 consecutive days. After the last administration, the levels of serum creatinine (SCr), blood urea nitrogen (BUN), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and 24 h urinary protein (UP) were detected; the renal index was calculated; the pathological changes of renal tissue were observed and the pathological score was calculated; the apoptotic rate of cells in renal tissue and the expression levels of Caspase-3 and Bcl-2 associated X protein (Bax), as well as the phosphorylation levels of silent information regulator of transcription 1 (SIRT1) and AMP-activated protein kinase (AMPK) were detected. **RESULTS** Compared with the model control group, the levels of SCr, BUN, UP and MDA, the renal index, the pathological score of renal tissue, the apoptotic rate of cells in renal tissue, the protein expression levels of Caspase-3 and Bax in renal tissue of rats in each administration group were decreased significantly; SOD and GSH-Px levels, phosphorylation levels of SIRT1 and AMPK protein were increased significantly ( $P<0.05$ ), and the effect of proanthocyanidins was in a dose-dependent manner ( $P<$

<sup>Δ</sup>基金项目 海南省卫生健康行业科研项目(No.21A200541)

\* 第一作者 主治医师。研究方向:肾脏疾病。E-mail: meilifu682@sina.com

0.05). There were no significant differences in the above indexes between proanthocyanidins 200 mg/kg group and benazepril hydrochloride 5 mg/kg group ( $P>0.05$ ). **CONCLUSIONS** The improvement effect of proanthocyanidins on AKI rats may be related to the activation of SIRT1/AMPK signaling pathway to inhibit oxidative stress.

**KEYWORDS** proanthocyanidins; SIRT1/AMPK signaling pathway; acute kidney injury; oxidative stress

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是一种临床综合征,其主要特征是肾小球滤过率降低导致新陈代谢废物积聚、血清肌酐(serum creatinine, SCr)水平升高,主要并发症有电解质紊乱、药物毒性和尿毒症等<sup>[1-2]</sup>。近年来,AKI发生率逐年上涨,其病死率高达60%,目前以庆大霉素为代表的抗生素等药物大剂量使用已成为诱发AKI的主要因素之一<sup>[3]</sup>。因此有效防治庆大霉素等药物造成的药源性AKI至关重要。

葡萄籽提取物原花青素作为一种天然抗氧化剂,能有效清除机体氧自由基,对黄曲霉毒素B<sub>1</sub>诱导的AKI具有明显的保护作用<sup>[4]</sup>,能改善脓毒症相关AKI的肾组织结构、减轻肾损伤<sup>[5]</sup>,但其作用机制尚不明确。沉默信息调节因子1(silent information regulator of transcription 1, SIRT1)/AMP活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)在维持细胞能量稳态、衰老、炎症和氧化应激中具有重要作用,激活该通路可有效改善AKI程度<sup>[6]</sup>。因此本研究基于SIRT1/AMPK信号通路,探讨原花青素对庆大霉素致大鼠AKI的改善机制,以期为AKI防治药物的寻找提供数据参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

BS-280型全自动生化分析仪购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司;RT2100C型全自动酶标仪购自德国IFP公司;SZX16-6141型显微镜购自日本Olympus公司;Gel IX Imager型凝胶成像仪购自德国Royal Intas公司。

### 1.2 主要药品与试剂

原花青素原料药(纯度99%,批号D1724-20)购自上海宝曼生物科技有限公司;盐酸贝那普利片(规格5 mg,批号20200711)购自深圳信立泰药业股份有限公司;硫酸庆大霉素注射液(规格2 mL,批号20220619)购自武汉爱民制药股份有限公司;SCr、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、尿蛋白(urinary protein, UP)检测试剂盒(批号分别为SYIN-167、SYIN-179、SYIN-507)均购自上海双赢生物科技有限公司;丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)

酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号分别为QY-WN1921、QY-WR1922、QY-PD7238)均购自北京寰宇科创生物科技发展有限公司;苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(批号AR1180-100)购自上海恒斐生物科技有限公司;TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(批号3152)购自上海中乔新舟生物科技有限公司;蛋白提取试剂盒、BCA蛋白检测试剂盒(批号分别为BC3711-50T、PC0020-500)均购自上海吉至生化科技有限公司;兔抗胱天蛋白酶-3(Caspase-3)、B细胞淋巴瘤2基因相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、SIRT1、磷酸化SIRT1(phosphorylated AMPK, p-SIRT1)、AMPK、p-AMPK、 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体和羊抗鼠IgG二抗(批号分别为C2603、C2531、C4970、C9661、C2772、C9011、C4075、C0012)均购自美国CST公司。

### 1.3 实验动物

SPF级雄性SD大鼠,10周龄,体质量334~352 g,购自江苏汉煌农业科技有限公司,动物生产许可证号为SCXK(苏)2021-0014。大鼠适应性饲养于温度21~25℃、相对湿度45%~55%、12 h明暗交替的环境中1周,自由饮水及摄食,实验前禁食12 h。动物实验经徐州市人民医院伦理委员会批准,批准编号为LS2022-034号。

## 2 方法

### 2.1 造模、分组与给药

参考相关文献<sup>[7]</sup>方法建立AKI大鼠模型:大鼠连续7 d腹腔注射硫酸庆大霉素(140 mg/kg),若血清中SCr、BUN及24 h尿液中UP水平同时不低于造模前2倍则表明造模成功。将造模成功的大鼠随机分为模型对照组、盐酸贝那普利5 mg/kg组(阳性对照)<sup>[8]</sup>、原花青素50 mg/kg组、原花青素100 mg/kg组、原花青素200 mg/kg组<sup>[9]</sup>,每组10只;另取10只正常大鼠作为正常对照组。各给药组大鼠灌胃相应药液(生理盐水为溶剂),给药体积为10 mL/kg,正常对照组和模型对照组大鼠灌胃等体积生理盐水。所有大鼠每天给药1次,连续28 d。

### 2.2 大鼠血清和尿液中生化指标及血清氧化应激指标检测

末次给药后,取各组大鼠腹主动脉血3 mL,以3 000

r/min 离心 10 min, 取上清液, 使用全自动生化分析仪检测血清中 SCr、BUN 水平, 使用酶标仪检测血清中氧化应激指标 MDA、SOD、GSH-Px 水平; 收集各组大鼠 24 h 尿液, 使用全自动生化分析仪检测 24 h 尿液中 UP 水平。具体方法按试剂盒说明书操作。

### 2.3 大鼠肾脏指数测定及肾组织病理观察

各组大鼠尿液收集后, 颈椎脱臼处死, 称体重和肾脏质量, 计算肾脏指数: 肾脏指数 = [肾脏质量(g)/体重(g)] × 100%。每组随机选取 5 只大鼠的肾组织, 置于 4% 多聚甲醛中固定 24 h 后脱水, 石蜡包埋, 切片 (4 μm), 使用二甲苯进行脱蜡, 梯度乙醇处理后进行 HE 染色, 脱水, 封片, 于显微镜下观察, 根据肾损伤面积百分比进行病理评分, 评分标准<sup>[10]</sup>: 无肾损伤, 0 分; 肾损伤面积百分比 ≤ 10%, 1 分; 肾损伤面积百分比 11%~25%, 2 分; 肾损伤面积百分比 26%~45%, 3 分; 肾损伤面积百分比 46%~75%, 4 分; 肾损伤面积百分比 ≥ 76%, 5 分。

### 2.4 大鼠肾组织细胞凋亡率检测

取“2.3”项下各组大鼠肾组织切片, 经脱蜡、梯度乙醇处理后用磷酸盐缓冲液冲洗, 加入 TUNEL 溶液孵育 1 h 后用二氨基联苯胺显色 10 min, 苏木精复染, 封片, 使用显微镜观察, 随机选取 5 个视野计数阳性细胞数 (呈棕褐色), 并计算细胞凋亡率: 细胞凋亡率 (%) = 阳性细胞数/总细胞数 × 100%。

### 2.5 大鼠肾组织中凋亡相关蛋白和 SIRT1/AMPK 信号通路相关蛋白表达检测

采用免疫印迹法进行检测。取“2.3”项下各组剩余 5 只大鼠的肾组织, 经裂解液裂解后提取总蛋白, 经 BCA 法检测总蛋白含量; 取上样缓冲液与蛋白混匀后 100 °C 变性 5 min, 以每孔 40 μg 的量进行凝胶电泳, 低温转移蛋白至聚偏氟乙烯膜上, 5% 的脱脂奶粉封闭 1 h 后, 加入兔抗 Caspase-3、Bax、SIRT1、p-SIRT1、AMPK、p-AMPK、β-actin 一抗 (稀释比例均为 1:1 000), 孵育 (4 °C) 过夜; 用磷酸盐缓冲液清洗 3 次后加入羊抗鼠 IgG 二抗 (稀释比例为 1:3 000), 孵育 2 h, 显色, 于凝胶成像仪上成像。采用 Image J 软件分析, 以目的蛋白与内参蛋白 (β-actin) 的灰度比值评价目的蛋白的表达水平, 再以 p-SIRT1 与 SIRT1、p-AMPK 与 AMPK 的表达水平比值评价 SIRT1、AMPK 蛋白的磷酸化水平。

### 2.6 统计学处理

采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验。检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 3 结果

### 3.1 原花青素对 AKI 大鼠血清和尿液生化指标的影响

与正常对照组比较, 模型对照组大鼠血清中 SCr、BUN 水平和 24 h 尿液中 UP 水平均显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型对照组比较, 各给药组大鼠血清中 SCr、BUN 水平和 24 h 尿液中 UP 水平均显著降低 ( $P < 0.05$ ), 且原花青素的作用存在剂量依赖性 ( $P < 0.05$ ); 与盐酸贝那普利 5 mg/kg 组比较, 原花青素 200 mg/kg 组大鼠血清中 SCr、BUN 水平和 24 h 尿液中 UP 水平差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结果见表 1。

表 1 原花青素对 AKI 大鼠血清和尿液生化指标的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	SCr/(μmol/L)	BUN/(mmol/L)	UP/(mg/L)
正常对照组	50.53 ± 5.41	5.10 ± 1.12	731.22 ± 35.17
模型对照组	135.80 ± 8.72 <sup>a</sup>	16.78 ± 1.41 <sup>a</sup>	1 980.15 ± 304.83 <sup>a</sup>
盐酸贝那普利 5 mg/kg 组	59.57 ± 5.06 <sup>abcd</sup>	6.19 ± 1.55 <sup>abcd</sup>	824.63 ± 37.22 <sup>abcd</sup>
原花青素 50 mg/kg 组	109.33 ± 6.09 <sup>b</sup>	14.02 ± 1.66 <sup>b</sup>	1 443.44 ± 249.50 <sup>b</sup>
原花青素 100 mg/kg 组	87.29 ± 5.44 <sup>bc</sup>	10.63 ± 1.14 <sup>bc</sup>	1 073.27 ± 130.19 <sup>bc</sup>
原花青素 200 mg/kg 组	61.05 ± 4.76 <sup>abcd</sup>	6.82 ± 1.52 <sup>abcd</sup>	830.24 ± 35.15 <sup>abcd</sup>

a: 与正常对照组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与模型对照组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与原花青素 50 mg/kg 组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与原花青素 100 mg/kg 组比较,  $P < 0.05$ 。

### 3.2 原花青素对 AKI 大鼠血清中氧化应激指标的影响

与正常对照组比较, 模型对照组大鼠血清中 MDA 水平显著升高, SOD、GSH-Px 水平均显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型对照组比较, 各给药组大鼠血清中 MDA 水平均显著降低, SOD、GSH-Px 水平均显著升高 ( $P < 0.05$ ), 且原花青素的作用存在剂量依赖性 ( $P < 0.05$ ); 与盐酸贝那普利 5 mg/kg 组比较, 原花青素 200 mg/kg 组大鼠血清中 MDA、SOD、GSH-Px 水平差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结果见表 2。

表 2 原花青素对 AKI 大鼠血清中氧化应激指标的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	MDA/(nmol/mg)	SOD/(U/mg)	GSH-Px/(U/mg)
正常对照组	2.58 ± 0.34	125.71 ± 10.12	46.33 ± 3.22
模型对照组	6.31 ± 0.63 <sup>a</sup>	71.63 ± 6.14 <sup>a</sup>	21.14 ± 2.03 <sup>a</sup>
盐酸贝那普利 5 mg/kg 组	3.04 ± 0.40 <sup>abcd</sup>	120.16 ± 10.23 <sup>abcd</sup>	44.55 ± 3.42 <sup>abcd</sup>
原花青素 50 mg/kg 组	5.30 ± 0.35 <sup>b</sup>	86.08 ± 5.57 <sup>b</sup>	26.17 ± 2.06 <sup>b</sup>
原花青素 100 mg/kg 组	4.25 ± 0.39 <sup>bc</sup>	101.05 ± 6.44 <sup>bc</sup>	35.23 ± 2.31 <sup>bc</sup>
原花青素 200 mg/kg 组	3.14 ± 0.25 <sup>abcd</sup>	118.28 ± 9.31 <sup>abcd</sup>	43.98 ± 3.17 <sup>abcd</sup>

a: 与正常对照组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与模型对照组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与原花青素 50 mg/kg 组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与原花青素 100 mg/kg 组比较,  $P < 0.05$ 。

### 3.3 原花青素对 AKI 大鼠肾脏指数的影响

与正常对照组比较, 模型对照组大鼠肾脏指数显著增加 ( $P < 0.05$ ); 与模型对照组比较, 各给药组大鼠肾脏指数均显著降低 ( $P < 0.05$ ), 且原花青素的作用存在剂量依赖性 ( $P < 0.05$ ); 与盐酸贝那普利 5 mg/kg 组比较,

原花青素 200 mg/kg 组大鼠肾脏指数差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。结果见表 3。

表 3 原花青素对 AKI 大鼠肾脏指数和肾组织病理评分的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	肾脏指数/(n=10)	病理评分/(n=5)
正常对照组	2.72±0.20	0.17±0.02
模型对照组	5.36±0.24 <sup>a</sup>	3.63±0.49 <sup>a</sup>
盐酸贝那普利 5 mg/kg 组	3.10±0.22 <sup>bcd</sup>	0.59±0.08 <sup>bcd</sup>
原花青素 50 mg/kg 组	4.65±0.26 <sup>c</sup>	2.60±0.32 <sup>b</sup>
原花青素 100 mg/kg 组	3.88±0.22 <sup>bc</sup>	1.61±0.23 <sup>bc</sup>
原花青素 200 mg/kg 组	3.21±0.25 <sup>bcd</sup>	0.63±0.10 <sup>bcd</sup>

a: 与正常对照组比较,  $P<0.05$ ; b: 与模型对照组比较,  $P<0.05$ ; c: 与原花青素 50 mg/kg 组比较,  $P<0.05$ ; d: 与原花青素 100 mg/kg 组比较,  $P<0.05$ 。

### 3.4 原花青素对 AKI 大鼠肾组织病理形态的影响

正常对照组大鼠肾小管及肾小球结构清晰、正常, 未出现炎症细胞浸润、系膜增生情况; 模型对照组大鼠肾组织炎症细胞浸润、系膜增生现象严重, 肾小管萎缩、上皮细胞空泡变性、肿胀, 肾小球血管网结构模糊、血管充血; 各给药组大鼠肾组织炎症细胞浸润、肾小管上皮细胞空泡变性及肿胀等病理现象均有不同程度改善。结果见图 1。

与正常对照组比较, 模型对照组大鼠肾组织病理评分显著增加 ( $P<0.05$ ); 与模型对照组比较, 各给药组大鼠肾组织病理评分均显著降低 ( $P<0.05$ ), 且原花青素的作用存在剂量依赖性 ( $P<0.05$ ); 与盐酸贝那普利 5 mg/kg 组比较, 原花青素 200 mg/kg 组大鼠肾组织病理评分差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。结果见表 3。

### 3.5 原花青素对 AKI 大鼠肾组织细胞凋亡率及凋亡相关蛋白表达的影响

与正常对照组比较, 模型对照组大鼠肾组织细胞凋亡率和肾组织中 Caspase-3、Bax 蛋白表达水平均显著升高 ( $P<0.05$ ); 与模型对照组比较, 各给药组大鼠肾组织细胞凋亡率和肾组织中 Caspase-3、Bax 蛋白表达水平均显著降低 ( $P<0.05$ ), 且原花青素的作用存在剂量依赖性 ( $P<0.05$ ); 与盐酸贝那普利 5 mg/kg 组比较, 原花青素 200 mg/kg 组大鼠肾组织细胞凋亡率和肾组织中 Caspase-3、Bax 蛋白表达水平差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。结果见图 2、图 3 和表 4。

### 3.6 原花青素对 AKI 大鼠肾组织中 SIRT1/AMPK 信号通路相关蛋白表达的影响

与正常对照组比较, 模型对照组大鼠肾组织中 SIRT1、AMPK 蛋白的磷酸化水平均显著降低 ( $P<0.05$ ); 与模型对照组比较, 各给药组大鼠肾组织中 SIRT1、AMPK 蛋白的磷酸化水平均显著升高 ( $P<$

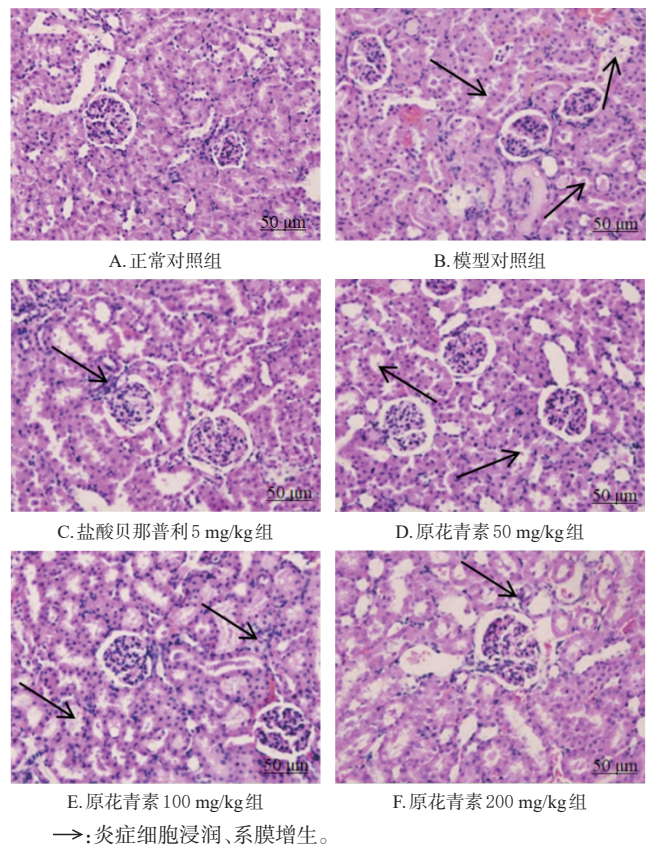


图 1 原花青素对 AKI 大鼠肾组织病理影响的显微图 (HE 染色)

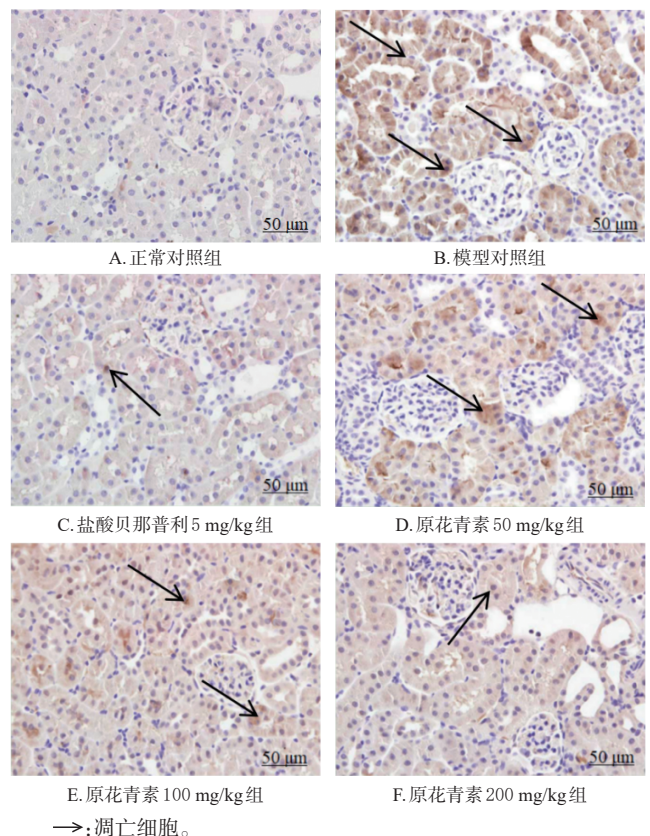
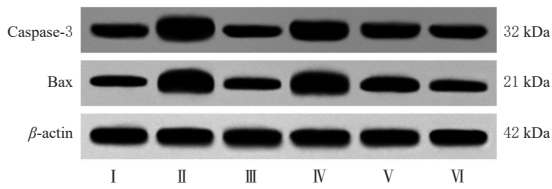


图 2 原花青素对 AKI 大鼠肾组织细胞凋亡影响的显微图 (TUNEL 染色)



I: 正常对照组; II: 模型对照组; III: 盐酸贝那普利5 mg/kg组; IV: 原花青素50 mg/kg组; V: 原花青素100 mg/kg组; VI: 原花青素200 mg/kg组。

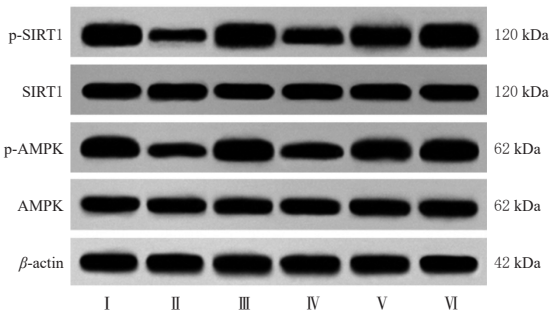
图3 原花青素对AKI大鼠肾组织凋亡相关蛋白表达影响的电泳图

表4 原花青素对AKI大鼠肾组织细胞凋亡率及凋亡相关蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	细胞凋亡率/%	Caspase-3/ $\beta$ -actin	Bax/ $\beta$ -actin
正常对照组	0.94 $\pm$ 0.18	0.65 $\pm$ 0.10	0.52 $\pm$ 0.11
模型对照组	46.30 $\pm$ 5.87 <sup>a</sup>	1.55 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>	1.49 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>
盐酸贝那普利5 mg/kg组	6.40 $\pm$ 1.01 <sup>bd</sup>	0.66 $\pm$ 0.11 <sup>bd</sup>	0.54 $\pm$ 0.13 <sup>bd</sup>
原花青素50 mg/kg组	33.45 $\pm$ 5.08 <sup>b</sup>	1.20 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	1.21 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>
原花青素100 mg/kg组	22.12 $\pm$ 4.81 <sup>bc</sup>	0.89 $\pm$ 0.14 <sup>bc</sup>	0.95 $\pm$ 0.14 <sup>bc</sup>
原花青素200 mg/kg组	6.71 $\pm$ 1.60 <sup>bd</sup>	0.67 $\pm$ 0.12 <sup>bd</sup>	0.56 $\pm$ 0.11 <sup>bd</sup>

a: 与正常对照组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与模型对照组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与原花青素50 mg/kg组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与原花青素100 mg/kg组比较,  $P < 0.05$ 。

0.05), 且原花青素的作用存在剂量依赖性( $P < 0.05$ ); 与盐酸贝那普利5 mg/kg组比较, 原花青素200 mg/kg组大鼠肾组织中SIRT1、AMPK蛋白的磷酸化水平差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。结果图4和表5。



I: 正常对照组; II: 模型对照组; III: 盐酸贝那普利5 mg/kg组; IV: 原花青素50 mg/kg组; V: 原花青素100 mg/kg组; VI: 原花青素200 mg/kg组。

图4 原花青素对AKI大鼠肾组织中SIRT1/AMPK信号通路相关蛋白表达影响的电泳图

表5 原花青素对AKI大鼠肾组织中SIRT1/AMPK信号通路相关蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	p-SIRT1/SIRT1	p-AMPK/AMPK
正常对照组	1.62 $\pm$ 0.30	1.54 $\pm$ 0.24
模型对照组	0.55 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	0.68 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>
盐酸贝那普利5 mg/kg组	1.60 $\pm$ 0.26 <sup>bd</sup>	1.53 $\pm$ 0.25 <sup>bd</sup>
原花青素50 mg/kg组	0.82 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	0.90 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>
原花青素100 mg/kg组	1.22 $\pm$ 0.19 <sup>bc</sup>	1.23 $\pm$ 0.18 <sup>bc</sup>
原花青素200 mg/kg组	1.58 $\pm$ 0.35 <sup>bd</sup>	1.52 $\pm$ 0.27 <sup>bd</sup>

a: 与正常对照组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与模型对照组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与原花青素50 mg/kg组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与原花青素100 mg/kg组比较,  $P < 0.05$ 。

## 4 讨论

据临床统计, AKI发生率和死亡率常年居高不下, 而抗生素等药物大量使用所引起的药源性AKI是造成近年来该疾病发生率增加的主要原因之一<sup>[11]</sup>。庆大霉素作为常用的抗生素药物之一, 连续使用1周极易造成AKI的发生, 这可能与其造成的细胞凋亡和氧化应激有关<sup>[12]</sup>, 因此有效防治庆大霉素诱导的AKI极具临床研究价值。已有研究显示, 盐酸贝那普利能够降低肾小球的囊内压, 进而改善蛋白尿, 对肾功能有保护作用, 可作为肾脏疾病研究的阳性对照药物<sup>[8, 13]</sup>。所以, 本研究构建AKI大鼠模型, 以盐酸贝那普利作为阳性对照药物, 探究原花青素对AKI大鼠的改善作用。结果显示, 不同剂量原花青素均能显著降低AKI大鼠血清中SCr、BUN及24 h尿液中UP水平, 肾脏指数, 肾组织病理评分, 肾组织细胞凋亡率及Caspase-3、Bax蛋白表达水平, 并改善肾组织病理现象, 表明原花青素对AKI大鼠具有改善作用, 且200 mg/kg原花青素的改善作用与阳性对照药物盐酸贝那普利相当, 提示原花青素有潜力成为AKI的治疗药物。

SIRT1作为一种依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD<sup>+</sup>)的脱乙酰酶, 在细胞凋亡、炎症中具有重要作用; AMPK作为一种AMP能量传感器, 在维持细胞能量稳态时起到关键作用。SIRT1能通过激活肝激酶B<sub>1</sub>来促使AMPK激活, 抑制SIRT1/AMPK信号通路会促进糖尿病肾病的发展, 激活该通路可通过减轻氧化应激及炎症反应来维持肾细胞稳态<sup>[14-15]</sup>。本研究结果显示, 不同剂量原花青素均能显著降低AKI大鼠血清中MDA水平, 升高SOD、GSH-Px水平及肝组织中SIRT1和AMPK的磷酸化水平, 且200 mg/kg原花青素对AKI大鼠上述指标的影响与阳性对照药物盐酸贝那普利相当。

综上所述, 原花青素对AKI大鼠的改善作用可能与其激活SIRT1/AMPK信号通路进而抑制氧化应激有关。后续将通过反向验证实验进一步明确SIRT1/AMPK信号通路是否与原花青素改善AKI的作用机制相关。

## 参考文献

- [1] OUYANG X, HE Z M, FANG H, et al. A protein encoded by circular ZNF609 RNA induces acute kidney injury by activating the AKT/mTOR-autophagy pathway[J]. Mol Ther, 2023, 31(6): 1722-1738.
- [2] DEVARAJAN P. Pathogenesis of intrinsic acute kidney injury[J]. Curr Opin Pediatr, 2023, 35(2): 234-238.
- [3] RAHIMI MONFARED S, VALIBEIK A, JAFARIPOUR L, et al. Role of cineole in alleviation of acute kidney in-

- jury and renal function recovery following gentamicin administration in rats[J]. Iran J Basic Med Sci, 2023, 26(5): 504-510.
- [4] DENG Z J, ZHAO J F, HUANG F, et al. Protective effect of procyanidin B<sub>2</sub> on acute liver injury induced by aflatoxin B<sub>1</sub> in rats[J]. Biomed Environ Sci, 2020, 33(4): 238-247.
- [5] LIU J X, YANG C, LIU Z J, et al. Protection of procyanidin B<sub>2</sub> on mitochondrial dynamics in sepsis associated acute kidney injury via promoting Nrf2 nuclear translocation[J]. Aging, 2020, 12(15): 15638-15655.
- [6] LIN W H, JIANG W P, CHEN C C, et al. Renoprotective effect of *Pediococcus acidilactici* GKA4 on cisplatin-induced acute kidney injury by mitigating inflammation and oxidative stress and regulating the MAPK, AMPK/SIRT1/NF- $\kappa$ B, and PI3K/Akt pathways[J]. Nutrients, 2022, 14(14): 2877.
- [7] 程小玲, 丰姝姝, 张珂, 等. 白豆蔻挥发油对庆大霉素所致急性肾损伤大鼠中 Caspase-3、Bcl-2、Bax 及 NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达的影响[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2020, 38(5): 629-634.
- CHENG X L, FENG S S, ZHANG K, et al. Effect of *Amomum kravanh* volatile oil on the expression of Caspase-3, Bax, Bcl-2 and NF- $\kappa$ B p65 in kidney tissues of rats with gentamicin-induced acute kidney injury[J]. J Shihezi Univ Nat Sci, 2020, 38(5): 629-634.
- [8] 孙蒋, 罗静雯, 姚文杰, 等. 大黄素对急性肾损伤大鼠肠道菌群的调节作用[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(4): 758-764.
- SUN J, LUO J W, YAO W J, et al. Effect of emodin on gut microbiota of rats with acute kidney failure[J]. China J Chin Mater Med, 2019, 44(4): 758-764.
- [9] 王晓玲, 张先杰, 黄霜枝, 等. 葡萄籽原花青素对自发性高血压大鼠肾损伤的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(5): 43-47.
- WANG X L, ZHANG X J, HUANG S Z, et al. Protective effect of grape seed procyanidins against kidney injury in spontaneously hypertensive rats[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2017, 33(5): 43-47.
- [10] 夏田雨. 抑制氧化应激通过 NOD1 信号通路减轻肾脏缺血再灌注损伤[D]. 太原: 山西医科大学, 2020.
- XIA T Y. Inhibition of oxidative stress alleviates renal ischemia-reperfusion injury through the NOD1 signaling pathway[D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2020.
- [11] PERAZELLA M A, ROSNER M H. Drug-induced acute kidney injury[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2022, 17(8): 1220-1233.
- [12] TERANISHI K. Evaluation of the utilization of near-infrared fluorescent contrast agent ASP5354 for *in vivo* ureteral identification in renal diseases using rat models of gentamicin-induced acute kidney injury[J]. Diagnostics, 2023, 13(10): 1823.
- [13] 侯侠, 赵玥, 张颖, 等. 火绒草黄芪混煎液对系膜增生性肾小球肾炎模型大鼠的改善作用及机制[J]. 中国药房, 2022, 33(19): 2359-2363.
- HOU X, ZHAO Y, ZHANG Y, et al. Improvement effects of Huorongcaohuangqi admixture decoction on mesangial proliferative glomerulonephritis model rats and its mechanism[J]. China Pharm, 2022, 33(19): 2359-2363.
- [14] GAO H J, WU H. Maslinic acid activates renal AMPK/SIRT1 signaling pathway and protects against diabetic nephropathy in mice[J]. BMC Endocr Disord, 2022, 22(1): 25.
- [15] 邓九红, 郑超, 王声遥, 等. 醋酸泼尼松对糖尿病肾病模型大鼠肾功能、肾脏炎症反应及 AMPK/SIRT1 信号通路的影响[J]. 基础医学与临床, 2022, 42(2): 243-248.
- DENG J H, ZHENG C, WANG S Y, et al. Effects of prednisone acetate on renal function, renal inflammation and AMPK/SIRT1 signaling pathway in diabetic nephropathy rats[J]. Basic Clin Med, 2022, 42(2): 243-248.

(收稿日期: 2023-08-29 修回日期: 2024-02-23)

(编辑: 邹丽娟)