

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.001613

烟碱对大鼠肾脏冷缺血再灌注损伤的作用及机制研究

张琪琳, 苏 帅, 王云龙, 冉瑞图, 尹志康

(重庆医科大学附属第一医院泌尿外科, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨烟碱对大鼠肾脏冷缺血再灌注损伤(ischemia reperfusion injury, IRI)的保护作用及机制。**方法:**雄性 SD 大鼠 30 只, 随机分为假手术组、IRI 组和烟碱组(40、400、4 000 $\mu\text{g/kg}$), 每组 6 只。IRI 组制备左肾冷缺血再灌注损伤模型, 切除右肾; 假手术组仅切除右肾, 不行左肾冷缺血再灌注; 烟碱组在关腹前腹腔注射烟碱, 其余同 IRI 组。比色法测定血清肌酐(creatinine, Cr)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)浓度, 酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)和白细胞介素-1 β (interleukin, IL-1 β)浓度, 免疫印迹法(Western blot, WB)及免疫组织化学法(immunohistochemistry, IHC)测定肾脏细胞内及核内转录因子- κB p65(nuclear transcription factor, NF- κB p65)的表达, 苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色观察肾脏组织病理改变。**结果:**IRI 可导致大鼠肾脏病理改变, 引起血清肌酐($P=0.005$)、尿素氮($P=0.003$)升高, 肾小管上皮细胞核内 NF- κB p65($P=0.002$)增加, 血清 TNF- α ($P=0.011$)和 IL-1 β ($P=0.007$)增多。术后腹腔注射烟碱可减少肾小管上皮细胞 NF- κB p65($P=0.003$)核内含量, 与 IRI 组相比, 可降低大鼠 Cr($P=0.005$)、BUN($P=0.004$)、TNF- α ($P=0.009$)和 IL-1 β ($P=0.007$)水平, 但 3 个剂量组之间无明显差异。**结论:**烟碱对肾脏缺血再灌注损伤有保护作用, 其机制可能与抑制肾小管上皮细胞 NF- κB p65 的入核, 从而减轻炎症反应, 减少 TNF- α 和 IL-1 β 水平有关。

【关键词】缺血再灌注损伤; 烟碱; 肾脏; 胆碱能抗炎通路**【中图分类号】**R459.9**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2017-12-17Effects and mechanism of nicotine
on cold ischemia reperfusion injury in rats kidney

Zhang Qilin, Su Shuai, Wang Yunlong, Ran Ruitu, Yin Zhikang

(Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the protective effect and mechanism of nicotine on cold ischemia reperfusion injury in rats. **Methods:** Totally 30 male SD rats were randomly divided into sham operation group, IRI group and nicotine groups (40, 400, 4 000 $\mu\text{g/kg}$), 6 rats in each group. The left renal ischemia-reperfusion injury model was set up in IRI group, and the right kidney was removed. The right kidney was removed only in the sham operation group. The nicotine groups injected nicotine into the abdominal cavity before closing it, while the rest were the same as those in the IRI group. The concentrations of serum creatinine and blood urea nitrogen were determined by colorimetric method. The concentrations of interleukin-1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in serum were detected by ELISA. The concentrations of nuclear factor κB (NF- κB) in cell nucleus were detected by Western blot and method of SP immunohistochemistry. HE staining was performed to observe the pathological changes of renal tissue. **Results:** IRI can cause pathological changes of kidney in rats, increase the level of serum creatinine ($P=0.005$) and blood urea nitrogen ($P=0.003$), increase the level of NF- κB p65 ($P=0.002$) in the nucleus of renal tubular epithelial cells, and increase serum TNF- α ($P=0.011$) and IL-1 β ($P=0.007$). Compared with those in IRI group, the intraperitoneal injection of nicotine can reduce the content of NF- κB p65 ($P=0.003$) in the nucleus of renal tubular epithelial cells, reduce the level of serum creatinine ($P=0.005$), blood urea nitrogen ($P=0.004$), TNF- α ($P=0.009$) and IL-1 β ($P=0.007$). But there was no significant difference between the three dose groups. **Conclusion:** Nicotine has protective effect on renal ischemia reperfusion injury, and its mechanism may be related to the inhibition of

作者介绍: 张琪琳, Email: 654402564@qq.com,

研究方向: 肾移植、肾缺血再灌注损伤。

通信作者: 尹志康, Email: yinzhikang2005@sina.com。

基金项目: 重庆市科委资助项目(编号: cstc2014jcyjA)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180408.1515.068.html>

(2018-04-09)

the nucleation of NF- κB p65 in renal tubular epithelial cells, reducing the inflammatory reaction and reducing the level of TNF- α and IL-1 β .**【Key words】**ischemia reperfusion injury; nicotine; kidney; cholinergic anti-inflammatory pathway

缺血再灌注损伤 (ischemia reperfusion injury, IRI) 常继发于肾移植、低容量性休克和心脏体外循环手术等, 可诱发移植肾功能恢复延迟和急性肾衰竭^[1-2]。减轻肾脏 IRI 是亟需解决的重大临床问题。烟碱 (nicotine) 是一种胆碱能受体激动剂, 研究发现烟碱在炎症性肠病中有较多应用, 可以降低活动性结肠炎的急性神经肌肉症状^[3], 可以缓解肠道痛苦和不适, 减轻肠道炎症反应^[4-6]; 烟碱可明显减轻心肌缺血再灌注损伤大鼠的心肌细胞损伤、减小缺血面积, 同时对肝、肺组织均具有保护作用^[7]。本研究通过建立大鼠肾脏冷缺血再灌注模型, 探讨烟碱对大鼠肾脏冷缺血再灌注损伤的保护作用及机制。

1 材料与方法

1.1 主要仪器和试剂

显微外科手术器械、无创血管夹 (上海医用器械集团有限公司), 奥林巴斯十目显微镜, 95% 烟碱 (云南玉溪红树林化工有限公司), ELISA 检测盒、肌酐试剂盒、尿素氮试剂盒 (上海信帆生物科技有限公司), 免疫组化试剂盒 (SP-0023, 北京博奥森生物技术有限公司), 细胞浆细胞核蛋白抽提试剂盒 (P0027, 碧云天生物技术有限公司), H3 及核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) p65 兔抗 (北京博奥森生物技术有限公司)。

1.2 实验动物分组和模型构建

30 只雄性 SD 大鼠, 体质量 (250 ± 10) g, 由重庆医科大学实验动物中心提供。在 SPF 动物房适应性喂养 1 周后, 随机分为假手术组、肾脏缺血-再灌注损伤组 (IRI 组) 和烟碱各剂量 (40、400、4 000 μ g/kg) 处理组, 共 5 组, 每组 6 只。烟碱组在术后立即行烟碱腹腔注射 (40、400、4 000 μ g/kg)。假手术组和 IRI 组则腹腔注射等量生理盐水, IRI 组和烟碱组对肾脏行缺血再灌注损伤。手术方式: SD 大鼠腹腔注射水合氯醛麻醉满意后, 取腹部正中切口。逐层开腹, 游离, 充分暴露双侧肾脏、肾动脉及左肾静脉, 游离腹主动脉。用血管夹夹闭腹主动脉上至右肾动脉开口, 下至左肾动脉开口, 夹闭左肾静脉。用肝素 (25 U/L) 乳酸林格氏液从右肾动脉处进入, 灌注左肾, 速度 0.1 mL/s, 以左肾上腺静脉作为流出道, 直至左肾变苍白。结扎右肾动、静脉, 切除右肾。取出腹主动脉血管夹, 夹闭左肾动、静脉。将左肾放入 0~4 $^{\circ}$ C 生理盐水冰屑的自制肾袋中, 行冷缺血 45 min。然后松开血管夹, 恢复肾脏血流灌注, 关腹。术后安置于电热毯上待其苏醒, 术后给予正常饮食饮水。假手术与上述方法相同, 仅开腹和切除右肾, 不行左肾缺血再灌注。再灌注后 24 h 以水合氯醛麻醉大鼠, 逐层开腹, 取血清和肾脏标本。

1.3 标本收集

各组大鼠在肾脏再灌注 24 h 后以水合氯醛麻醉大鼠, 逐层开腹, 取动脉血, 立即于室温下 3 000 r/min 离心 15 min 后, 取上清液于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存。取下左肾, 二分之一置于多聚甲醛固定, 其余肾组织立即冰上行细胞核蛋白抽提, 抽提得到的核蛋白于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存。

1.4 肾脏病理检查

肾脏标本多聚甲醛固定后脱水、包埋, HE 染色, 光镜下观察缺血再灌注对肾脏的损伤。

1.5 检测指标

按照 ELISA 试剂盒说明书操作步骤, 稀释标准品后加样、温育、洗涤, 加入酶标试剂后温育、洗涤、显色及终止反应, 检测血清中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α) 和白细胞介素-1 β (interleukin, IL-1 β) 的表达水平。用比色法测定血肌酐和血尿素氮含量。

1.6 蛋白免疫印迹法检测肾组织细胞核内 NF- κ B p65 表达

取左侧肾脏组织匀浆液, 按细胞核蛋白抽提试剂盒说明操作, 提取肾组织细胞核蛋白, BCA 法测定蛋白浓度后, 加入上样缓冲液煮沸 5 min, 上样 40 μ g, 在 SDS-PAGE 凝胶上电泳后转入 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶封闭 2~4 h, 一抗 (p65/H3、 β -actin) 1:1 000 于 4 $^{\circ}$ C 过夜, TBST 洗膜, 二抗 (羊抗兔, 1:5 000) 室温孵育 1 h, 洗膜, ECL 化学发光显影。用 Imagepro Plus 6.0 软件测定条带 IOD 值, 以 p65/H3 表示 NF- κ B p65 蛋白表达量。

1.7 免疫组织化学法检测肾组织细胞内 NF- κ B p65 表达

肾脏切片常规烘干、脱蜡, 于二甲苯和各浓度梯度乙醇水化后, 行柠檬酸盐热修复, 冷却至室温后按试剂盒说明书操作, 滴加兔抗鼠 p65 抗体 1:100 于湿盒内 4 $^{\circ}$ C 过夜, 羊抗兔二抗, 室温 20 min, DAB 显色, 苏木素核复染, 脱水, 透明, 封片。阴性对照用 PBS 代替一抗。每切片高倍镜 (400 $\times$) 下观察 6 个视野, 以平均光密度值表示阳性表达强度, 用 Imagepro Plus 6.0 软件测量。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。计量资料用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK- q 法, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 烟碱对大鼠血清肌酐和尿素氮的影响

与假手术组比较, IRI 组血清肌酐 ($q=9.67, P=0.005$) 及尿素氮值 ($q=14.59, P=0.003$) 明显增加。与 IRI 组比较, 烟碱组血清肌酐明显降低: 40 μ g/kg ($q=9.73, P=0.005$), 400 μ g/kg ($q=9.05, P=0.005$), 4 000 μ g/kg ($q=7.48, P=0.005$), 但 3 个剂量组间差异无统计学意义。与 IRI 组比较, 烟碱组血清尿素氮明显降低: 40 μ g/kg ($q=11.78, P=0.004$), 400 μ g/kg ($q=11.36, P=0.004$), 4 000 μ g/kg ($q=8.70, P=0.004$), 3 个剂量组间无明显差异。见表 1。

表 1 各组血清肌酐和尿素氮表达水平
Tab.1 Expressions of creatinine and blood urea nitrogen in each group

组别	血清肌酐($\mu\text{mol/L}$)	血尿素氮(mmol/L)
假手术组	41.7 ± 7.6	7.4 ± 0.9
IRI组	130.2 ± 41.1^a	17.8 ± 2.3^a
烟碱组(40 $\mu\text{g/kg}$)	46.4 ± 20.3^b	9.4 ± 1.5^b
烟碱组(400 $\mu\text{g/kg}$)	47.4 ± 7.4^b	9.7 ± 1.4^b
烟碱组(4 000 $\mu\text{g/kg}$)	61.7 ± 17.3	11.6 ± 2.2^b
F 值	16.267	31.193
P 值	0.000	0.000

注:a, IRI 组与假手术组比较, $P < 0.01$; b: 烟碱组与 IRI 组比较, $P < 0.01$

2.2 烟碱对肾脏病理改变的影响

假手术组未见明显形态改变。IRI 组镜下肾组织缺血再灌注损伤明显, 间质充血, 细胞脱落、坏死, 刷状缘消失, 可见管型, 肾小球结构破坏, 散在炎症细胞浸润。烟碱组可见肾小管上皮细胞坏死减少, 间质充血减轻, 少见管型。烟碱可减轻 IRI 导致的肾脏病理改变(图 1)。

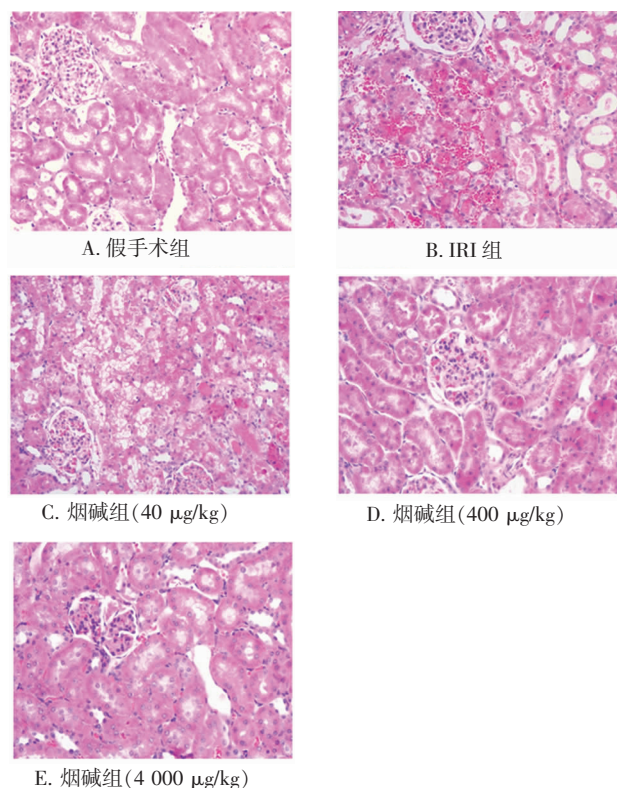


图 1 各组大鼠肾脏病理改变(200 $\times$)

Fig.1 Pathological changes of kidney in rats in each group(200 $\times$)

2.3 烟碱对肾脏细胞内及核内 NF- κ B p65 含量的影响

假手术组可见散在炎症细胞, 轻度抗原抗体反应。与假手术组比较, IRI 组肾脏组织细胞内 NF- κ B p65 平均光密度值明显增加($q=33.88$, $P=0.002$), 肾小管上皮细胞阳性表达明显增加, 胞核胞质均深染。与假手术组比较, IRI 组肾脏组织细胞核内 NF- κ B p65 灰度值明显增加($q=8.57$, $P=0.005$)。肾脏组织细胞内 NF- κ B p65 平均光密度值各烟碱组与 IRI 组

比较: 40 $\mu\text{g/kg}$ ($q=23.43$, $P=0.002$), 400 $\mu\text{g/kg}$ ($q=27.23$, $P=0.001$), 4 000 $\mu\text{g/kg}$ ($q=16.47$, $P=0.003$), 可见烟碱组肾脏组织细胞内 NF- κ B p65 平均光密度值明显降低; 3 个剂量组间比较, 40 $\mu\text{g/kg}$ 与 4 000 $\mu\text{g/kg}$ ($q=6.96$, $P=0.006$), 40 $\mu\text{g/kg}$ 与 400 $\mu\text{g/kg}$ ($q=3.80$, $P=0.023$), 400 $\mu\text{g/kg}$ 与 4 000 $\mu\text{g/kg}$ ($q=10.76$, $P=0.004$)。肾脏组织细胞核内 NF- κ B p65 灰度值各烟碱组与 IRI 组比较, 40 $\mu\text{g/kg}$ ($q=15.63$, $P=0.003$), 400 $\mu\text{g/kg}$ ($q=19.77$, $P=0.003$), 4000 $\mu\text{g/kg}$ ($q=13.02$, $P=0.003$), 烟碱组肾脏组织细胞核内 NF- κ B p65 灰度值明显降低; 3 个剂量组间灰度值以 400 $\mu\text{g/kg}$ 为最低, 与其他剂量比较差异均有统计学意义, 400 $\mu\text{g/kg}$ 与 40 $\mu\text{g/kg}$ ($q=4.14$, $P=0.009$), 400 $\mu\text{g/kg}$ 与 4 000 $\mu\text{g/kg}$ ($q=5.82$, $P=0.008$) (表 2, 图 2、图 3)。

表 2 各组肾脏组织细胞核内 NF- κ B p65 表达水平
Tab.2 Expressions of NF- κ B p65 in the nucleus of renal tissue in each group

组别	平均光密度值	NF- κ B/H3
假手术组	0.0421 ± 0.0082	0.5078 ± 0.1409
IRI组	0.1803 ± 0.0341^a	0.8396 ± 0.0599^a
烟碱组(40 $\mu\text{g/kg}$)	0.0847 ± 0.0088^b	0.2348 ± 0.0663^b
烟碱组(400 $\mu\text{g/kg}$)	0.0689 ± 0.0097^b	0.0747 ± 0.0322^b
烟碱组(4 000 $\mu\text{g/kg}$)	0.1131 ± 0.0131^b	0.3001 ± 0.1304^b
F 值	53.168	56.808
P 值	0.000	0.000

注:a, IRI 组与假手术组比较, $P < 0.01$; b: 烟碱组与 IRI 组比较, $P < 0.01$

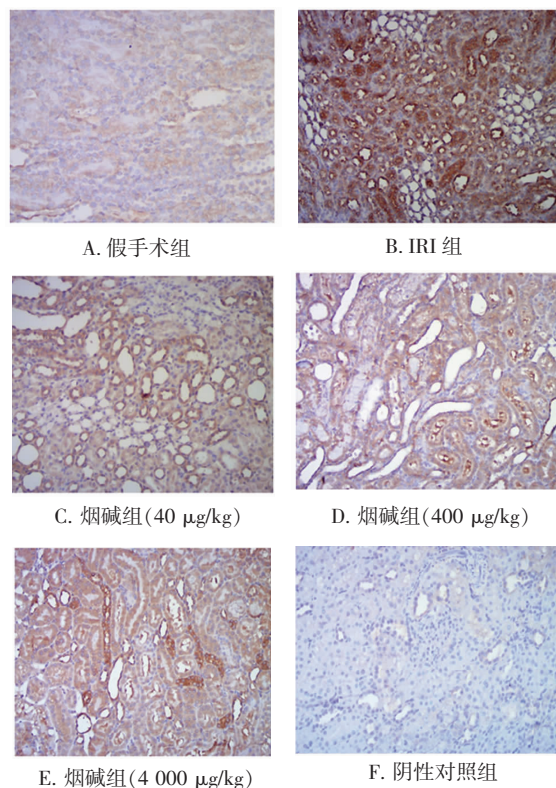


图 2 免疫组化下各组肾脏组织细胞内 NF- κ B p65 变化(200 $\times$)

Fig.2 Changes of NF- κ B p65 in the renal tissue in each group under IHC(200 $\times$)

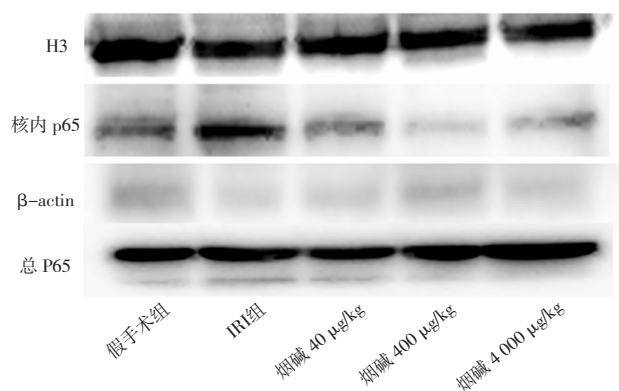


图 3 蛋白免疫印迹下肾脏组织细胞内 NF-κB p65 变化

Fig.3 Changes of NF-κB p65 in renal tissue cells in each group under Western blot

2.4 烟碱对血清促炎症因子浓度的影响

与假手术组比较,IRI 组血清 TNF-α 值明显增加($q=3.41$, $P=0.011$)。与假手术组比较,IRI 组血清 IL-1β 值明显增加($q=5.40$, $P=0.007$)。与 IRI 组比较,烟碱组血清 TNF-α 明显降低,40 μg/kg($q=4.59$, $P=0.010$),400 μg/kg($q=5.20$, $P=0.009$),4 000 μg/kg($q=5.65$, $P=0.009$),但 3 个剂量组间差异无统计学意义。与 IRI 组比较,烟碱组血清 IL-1β 明显降低,40 μg/kg($q=7.31$, $P=0.007$),400 μg/kg($q=6.07$, $P=0.007$),4 000 μg/kg($q=6.21$, $P=0.008$),但 3 个剂量组间差异无统计学意义。见表 3。

表 3 各组血清 TNF-α 和 IL-1β 表达水平(ng/L)

Tab.3 Expressions of Serum TNF-α and IL-1β in each group(ng/L)

组别	TNF-α	IL-1β
假手术组	322.8 ± 31.3	690.5 ± 125.7
IRI 组	390.1 ± 17.7 ^a	910.6 ± 73.5 ^b
烟碱组(40 μg/kg)	299.5 ± 67.4 ^c	612.3 ± 96.9 ^c
烟碱组(400 μg/kg)	287.6 ± 66.9 ^c	663.0 ± 124.7 ^c
烟碱组(4 000 μg/kg)	278.6 ± 36.9 ^c	657.2 ± 73.5 ^c
F 值	5.143	7.947
P 值	0.004	0.000

注:a,IRI 组与假手术组比较, $P<0.05$;b,IRI 组与假手术组比较, $P<0.01$;c,烟碱组与 IRI 组比较, $P<0.01$

3 讨论

肾脏是高灌流器官,对缺血再灌注十分敏感,当缺血一段时间后重新恢复血流,不仅不能使组织结构和功能恢复,反而会引起肾脏的组织结构损伤和功能障碍,即肾脏缺血再灌注损伤。肾脏缺血再灌注损伤可导致肾脏功能严重受损和肾脏病理改变增加^[1-2]。而在临床肾移植过程中,会不可避免地出现肾脏冷缺血再灌注损伤。本研究充分模拟了临床肾移植出现的冷缺血再灌注损伤。发现 IRI 组大

鼠血清肌酐(creatinine,Cr)和血尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)水平较假手术组明显升高,说明在肾脏缺血 45 min 后再灌注 24 h 可以造成肾功能的明显受损,结合 IRI 组大鼠肾组织病理改变,表明 IRI 模型建立成功。在烟碱各组大鼠血清 Cr 和 BUN 水平较 IRI 组明显降低,提示烟碱对大鼠肾缺血再灌注损伤具有一定的保护作用。

21 世纪初 Borovikova 等^[8]提出“胆碱能抗炎通路”的概念。胆碱能抗炎通路通过刺激外周迷走神经或应用中枢性毒蕈受体激动剂等对炎症反应发挥免疫调节作用。胆碱能抗炎通路主要通过 4 个方面来发挥抗炎作用:①抑制细胞因子、趋化因子的产生与释放^[9-10]。②抑制 NF-κB 入核:LPS 刺激后 NF-κB 活化,可增强 TNF-α 和 IL-1β 的合成与释放;胆碱能减弱 LPS 所致 NF-κB 通路活化,这一效应主要由烟碱样乙酰胆碱受体(α7 nicotinic acetylcholine receptor,α7nAChR)所介导^[9]。胆碱抑制 NF-κB 通路活化后,可以进而抑制 HMGB1 及其他促炎介质由细胞核向胞质释放^[11-12]。③阻止 T 细胞的分化与成熟^[13]。④抑制中性粒细胞和单核细胞的杀伤功能^[14]。同时细胞因子 TNF-α 和 IL-1β 在肾脏缺血再灌注损伤的发生发展过程中发挥重要的介导作用^[15]。IL-1β 可诱导中性粒细胞浸润肾组织,加重肾损伤。TNF-α 不仅具有直接的细胞毒作用,而且能促进 IL-1β 和其他细胞因子产生,产生放大效应,从而加重炎症细胞的浸润和聚集。

烟碱作为非选择性的 α7nAChR 激动剂,可激活胆碱能抗炎通路。有人发现在肾小管上皮细胞中表达功能性胆碱能受体,这说明 α7nAChR 激动剂可直接作用于肾小管上皮细胞,激活胆碱能抗炎通路,起到减少细胞因子水平、延缓肾脏失功的作用^[16]。本研究通过经 IR 处理后的大鼠腹腔注射非选择性的 α7nAChR 激动剂即烟碱来激活胆碱能抗炎通路,各烟碱组无论是从肾功能、病理改变还是血清炎症因子含量均较 IRI 组明显减低,说明胆碱能抗炎通路在肾脏缺血再灌注损伤中发挥了抗炎作用。有研究也提示了类似的结果^[16-17],但本研究发现肾脏细胞(主要为肾小管上皮细胞)核内 p65 在应用烟碱后明显降低,而细胞内总 p65 蛋白含量无明显变化,提示其抗炎作用可能与 NF-κB 通路抑制 p65 的核转位有关。

NF-κB 是调控众多致炎细胞因子及其他炎症介质表达的核转录因子,在多种自身免疫性疾病、脓毒症及败血症中起核心作用,抑制 NF-κB 可以缓

解系统的炎症反应。NF- κ B 家族由 5 个不同的亚基组成:RelA(p65)、RelB、c-Rel、NF- κ B1(p50/p105)和 NF- κ B2(p52/p100),可形成不同的同源或异源二聚体^[18],其中以 p65/p50 异源二聚体最常见。在未受刺激的细胞内,NF- κ B 二聚体与抑制性蛋白-I κ B (inhibitory kappa B,I κ B)结合而存在于细胞浆中。当有感染、创伤等外界刺激时,I κ B 蛋白被磷酸化和泛素化,随后被特定蛋白酶降解,从而暴露 NF- κ B 的核定位序列,激活的 NF- κ B 变成游离状态进入细胞核内^[19],通过 p50 的核定位序列与核内靶基因启动子区域的 κ B 序列结合,进行促炎基因转录的诱导,使炎症相关因子及酶类物质的表达增高,如 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 。同时对 I κ B 蛋白进行编码,使细胞恢复稳态^[20]。研究发现,缺血时可使 NF- κ B 活化,NF- κ B 于再灌注 12 h 后开始升高,于 2~3 d 后到达最高^[21]。本研究发现,相比较假手术组,实验组肾脏组织细胞(主要为肾小管上皮细胞)核内 p65 明显升高,这表明 IRI 时胞质中的 NF- κ B 被激活,I κ B 蛋白被降解后 NF- κ B 由结合状态变为游离状态进入细胞核,从而调控炎症因子如 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 的表达。有研究表明在肾脏缺血再灌注损伤中,肾小管上皮细胞内 NF- κ B 发挥了非常重要的作用^[21]。本研究也发现相比较 IRI 组,烟碱各剂量组肾脏组织细胞(主要为肾小管上皮细胞)核内 p65 明显降低,说明烟碱可以通过激活胆碱能抗炎通路抑制核内 NF- κ B 的含量,进而抑制 NF- κ B 通路的活化,到达抗炎的目的。但 3 个剂量组之间并无明显差异,可能与 3 个组之间剂量差别过大有关。

综上所述,烟碱可能是通过激活胆碱能抗炎通路,减少肾小管上皮细胞核内 p65 含量抑制 NF- κ B 的激活,减少大鼠血清 TNF- α 及 IL-1 β 浓度,改善肾功能和肾脏病理改变从而减轻缺血再灌注损伤。

参 考 文 献

- [1] Kusch A,Hoff U,Bubalo G,et al. Novel signalling mechanisms and targets in renal ischaemia and reperfusion injury[J]. *Acta Physiol (Oxf)*,2013,208(1):25-40.
- [2] Glodowski SD,Wagener G. New insights into the mechanisms of acute kidney injury in the intensive care unit[J]. *J Clin Anesth*,2015,27(2):175-180.
- [3] Thomas GA,Rhodes J,Ingram JR. Mechanisms of disease:nicotine—a review of its actions in the context of gastrointestinal disease[J]. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*,2005,2(11):536-544.
- [4] Costa R,Motta EM,Manjavachi MN,et al. Activation of the α 7 nicotinic acetylcholine receptor (α 7nAChR) reverses referred mechanical hyperalgesia induced by colonic inflammation in mice[J]. *Neuropharmacology*,2012,63(5):798-805.
- [5] Karban A,Eliakim R. Effect of smoking on inflammatory bowel disease: Is it disease or organ specific?[J]. *World J Gastroenterol*,2007,13(15):2150-2152.
- [6] van der Heide F,Dijkstra A,Weersma RK,et al. Effects of active and passive smoking on disease course of Crohn's disease and ulcerative colitis[J]. *Inflamm Bowel Dis*,2009,15(8):1199-1207.
- [7] 贾宝辉,张瑞星,徐宏平,等. 烟碱激活胆碱能抗炎通路治疗心肌缺血再灌注损伤的实验研究[J]. *中国医药指南*,2012,10(24):4-6.
- [8] Borovikova LV,Ivanova S,Zhang M,et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin[J]. *Nature*,2000,405(6785):458-462.
- [9] Parrish WR,Rosas-Ballina M,Gallowitsch-Puerta M,et al. Modulation of TNF release by choline requires α 7 subunit nicotinic acetylcholine receptor-mediated signaling[J]. *Mol Med*,2008,14(9-10):567-574.
- [10] Wang H,Liao H,Ochani M,et al. Cholinergic agonists inhibit HMB1 release and improve survival in experimental sepsis[J]. *Nat Med*,2004,10(11):1216-1221.
- [11] Wang H,Yu M,Ochani M,et al. Nicotinic acetylcholine receptor α 7 subunit is an essential regulator of inflammation[J]. *Nature*,2003,421(6921):384-388.
- [12] Lloyd GK,Williams M. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors as novel drug targets[J]. *J Pharmacol Exp Ther*,2000,292(2):461-467.
- [13] Tracey KJ. Physiology and immunology of the cholinergic anti-inflammatory pathway[J]. *J Clin Invest*,2007,117(2):289-296.
- [14] van Westerloo DJ,Giebelen IA,Florquin S,et al. The vagus nerve and nicotinic receptors modulate experimental pancreatitis severity in mice[J]. *Gastroenterology*,2006,130(6):1822-1830.
- [15] Prieto-Moure B,Lloris-Carsi JM,Belda-Antoli M,et al. Allopurinol protective effect of renal ischemia by downregulating TNF- α , IL-1 β , and IL-6 response[J]. *J Invest Surg*,2017,30(3):143-151.
- [16] Yeboah MM,Xue X,Duan B,et al. Cholinergic agonists attenuate renal ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *Kidney Int*,2008,74(1):62-69.
- [17] Sadis C,Teske G,Stokman G,et al. Nicotine protects kidney from renal ischemia/reperfusion injury through the cholinergic anti-inflammatory pathway[J]. *PLoS One*,2007,2(5):e469.
- [18] Ghosh S,Hayden MS. Celebrating 25 years of NF- κ B research[J]. *Immunol Rev*,2012,246(1):5-13.
- [19] Hinz M,Arslan SÇ,Scheidereit C. It takes two to tango:I κ Bs,the multifunctional partners of NF- κ B[J]. *Immunol Rev*,2012,246(1):59-76.
- [20] Natoli G. NF- κ B and chromatin:ten years on the path from basic mechanisms to candidate drugs[J]. *Immunol Rev*,2012,246(1):183-192.
- [21] Markó L,Vigolo E,Hinze C,et al. Tubular epithelial NF- κ B activity regulates ischemic AKI[J]. *J Am Soc Nephrol*,2016,27(9):2658-2669.

(责任编辑:罗 萍)