

白藜芦醇通过调节 SIRT1/NF- κ B 通路减轻力竭训练致大鼠肾的炎症反应

李 方, 曹建民*, 王传军, 胡 戈, 董 丽, 吉 喆

(北京体育大学 运动人体科学学院 运动生物化学教研室, 北京 100084)

摘要 白藜芦醇是天然存在的沉默信息调节因子2相关酶1(sirtuin1, SIRT1)小分子激动剂,其肾的保护作用已在多种肾疾病动物模型中得到了验证。然而,白藜芦醇是否能够改善力竭训练导致的大鼠肾损伤,以及是否通过 SIRT1/NF- κ B 信号通路调节运动性肾损伤大鼠肾炎症反应,尚缺乏系统研究。本研究将32只SD大鼠随机分为安静对照组(Con组),白藜芦醇组(Rsv组),力竭运动组(Ex组),力竭运动+白藜芦醇组(Ex+Rsv组)。Rsv和Ex+Rsv组每天灌胃50 mg/kg体重剂量的白藜芦醇,Ex和Ex+Rsv组进行4周力竭训练,最后1次训练后24 h取材。本研究结果显示,与Con组相比,Ex组大鼠Scr(175.66 ± 16.08 vs. 153.34 ± 8.67 , $P < 0.01$)、BUN(6.67 ± 0.53 vs. 5.37 ± 0.19 , $P < 0.01$)和尿NGAL(9.01 ± 0.18 vs. 7.48 ± 0.31 , $P < 0.01$)水平均显著升高,Ex组大鼠肾组织NF- κ B P65在蛋白质水平表达显著升高(0.77 ± 0.10 vs. 0.27 ± 0.03 , $P < 0.01$);各组大鼠肾组织SIRT1在蛋白质水平表达上,Rsv组显著高于Con组(0.90 ± 0.14 vs. 0.43 ± 0.15 , $P < 0.05$),Ex+Rsv组显著高于Ex组(1.0 ± 0.28 vs. 0.38 ± 0.12 , $P < 0.01$);与Ex组相比,Ex+Rsv组大鼠肾组织NF- κ B P65(0.57 ± 0.13 vs. 0.77 ± 0.10 , $P < 0.05$)和Ac-NF- κ B P65(0.52 ± 0.13 vs. 0.78 ± 0.11 , $P < 0.05$)在蛋白质水平表达显著降低。以上结果表明,4周大强度力竭运动导致大鼠出现运动性肾损伤,并激活大鼠肾NF- κ B的表达。白藜芦醇可显著提高大鼠肾组织SIRT1在蛋白质水平的表达,并增加脱乙酰化作用,降低NF- κ B P65蛋白质乙酰化修饰水平,进一步降低NF- κ B的表达。白藜芦醇减轻力竭训练致大鼠肾的炎症反应的机制可能与SIRT1/NF- κ B通路有关。

关键词 白藜芦醇;沉默信息调节因子2相关酶1;力竭运动大鼠;肾;炎症因子

中图分类号 G804.7

Resveratrol Reduces Renal Inflammatory Response Induced by Exhaustive Exercise in Rats by Regulating SIRT1/NF- κ B Pathway

LI Fang, CAO Jian-Min*, WANG Chuan-Jun, HU Ge, DONG Li, JI Zhe

(Sport Biochemistry Laboratory, Sport Science College, Beijing Sport University, Beijing 100084, China)

Abstract Resveratrol is a naturally sirtuin1 activator, its renal protective effects have been validated in a variety of animal models of kidney disease. However, there is still no systematic study on the effects of resveratrol in rat kidney damage caused by exhaustive training, and its signaling regulation of renal inflammatory response. In this study, 32 SD rats were randomly divided into: control group (Con), resveratrol group (Rsv), exhaustive exercise group (Ex), and exhaustive exercise + resveratrol group (Ex+Rsv). Rsv and Ex+Rsv groups were given resveratrol (50 mg/kg body weight) by gavage. Ex and

收稿日期: 2019-03-13; 修回日期: 2019-04-21; 接受日期: 2019-04-22

北京体育大学自主课题(No.2018XS006)资助

* 通讯作者 Tel: 010-62989584; E-mail: bsucaojianmin@aliyun.com

Received: March 13, 2019; Revised: April 21, 2019; Accepted: April 22, 2019

Supported by Beijing Sport University Independent Project (No.2018XS006)

* Corresponding author Tel: 010-62989584; E-mail: bsucaojianmin@aliyun.com

Ex+Rsv groups were subjected to exhaustive training for 4 weeks. Anesthesia was applied at 24 hours after the last training. The results showed that Scr (175.66 ± 16.08 vs. 153.34 ± 8.67 , $P < 0.01$), BUN (6.67 ± 0.53 vs. 5.37 ± 0.19 , $P < 0.01$) and urinary NGAL (9.01 ± 0.18 vs. 7.48 ± 0.31 , $P < 0.01$) in the Ex group were significantly increased as compared with the Con group. Furthermore, the expression of NF- κ B P65 (0.77 ± 0.10 vs. 0.27 ± 0.03 , $P < 0.01$) was also significantly increased in Ex group; the expression of SIRT1 in Rsv group was significantly higher than that in Con group (0.90 ± 0.14 vs. 0.43 ± 0.15 , $P < 0.05$), Ex+Rsv group was significantly higher than Ex group (1.0 ± 0.28 vs. 0.38 ± 0.12 , $P < 0.01$); Compared with the Ex group, the NF- κ B P65 (0.57 ± 0.13 vs. 0.77 ± 0.10 , $P < 0.05$) and Ac-NF- κ B P65 (0.52 ± 0.13 vs. 0.78 ± 0.11 , $P < 0.05$) in Ex+Rsv showed a significant decrease in protein level. The above results indicate that high-intensity exhaustive exercise leads to renal injury in rats and activates the expression of NF- κ B in rat kidney. Resveratrol can significantly increase the expression of SIRT1 at the protein level and increase the deacetylation to reduce the level of acetylation of NF- κ B P65 protein, further reducing the expression of NF- κ B. The mechanism by which resveratrol reduces the inflammatory response induced by exhaustive training in rats may be related to the SIRT1/NF- κ B pathway.

Key words resveratrol; sirtuin1 (SIRT1); exhaustive exercise rats; kidney; inflammatory factors

科学的体育运动有益身体健康,是提高身体素质、增强自身免疫力的重要保证。而不科学、没有经过专业指导或者挑战身体极限的运动则不会带来健康益处,甚至导致损伤。肾组织是剧烈运动中容易损伤的器官之一,可发生创伤和非创伤性损伤。剧烈运动引起的非创伤性肾损伤表现为血尿、蛋白尿、血红蛋白尿、肌红蛋白尿、横纹肌溶解甚至急性肾功能衰竭等。研究表明,马拉松等极限运动引起的急性肾损伤发生率高达 30%~80%^[1,2]。海军某部越野训练^[3]和竞技运动训练人群中也有相关报道。因此,人体器官运动损伤后的机制研究和早期诊治成为人们关注的健康问题之一。

白藜芦醇(反式-3,5,4-三羟基二苯乙烯)作为一种多酚类植物抗毒素,在应激刺激、微生物或真菌感染时产生^[4]。20 世纪 40 年代,日本科学家高岗道夫首次从毛叶芦藜中分离获得^[5]。白藜芦醇在水果、蔬菜和巧克力等食物中被发现,并且作为葡萄和葡萄酒的成分而广受关注^[6]。白藜芦醇是天然存在的沉默信息调节因子 2 相关酶 1 (sirtuin1, SIRT1)小分子激动剂^[7]。SIRT1 是一种 NAD⁺依赖性蛋白质脱乙酰酶,是哺乳动物中沉默信息调节因子 2 家族的成员。通过关键转录因子、酶和蛋白质的去乙酰化在调节代谢、炎症、DNA 修复和细胞存活中发挥重要作用^[8]。白藜芦醇被认为是一种通过调节 SIRT1 介导的信号通路参与抗炎反应的保护因子。白藜芦醇对肾的保护作用已经在糖尿病肾病、药物性肾损伤、醛固酮诱导的肾损伤、缺血再灌注肾损伤、败血症相关肾损伤和单侧输尿管梗阻等动物模型中得到了验证^[9]。白藜芦醇对人体的有

效性、安全性和药代动力学已在 244 项临床试验中得到证实^[10]。

本研究旨在探究白藜芦醇是否可对大强度运动致肾损伤发挥保护作用,以及是否通过激活 SIRT1,降低炎症因子发挥作用,为防治运动肾损伤保健品的开发提供一定研究依据与理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

32 只 8 周龄 SPF 级 SD 雄性大鼠(体重 335.7 ± 12.4 g)由维通利华实验中心提供,动物许可证号:SCXK(京)2016-0006,北京体育大学 SPF 级动物实验室饲养,温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 55%~75%,正常昼夜节律,标准大鼠笼饲养,国家标准固体饲料喂养。大鼠适应性饲养 3 d,各组自由进食进水。按随机分组法将大鼠分为 4 组,每组 8 只:安静对照组(Con 组),白藜芦醇组(Rsv 组),力竭运动组(Ex 组),力竭运动+白藜芦醇组(Ex+Rsv 组)。

1.2 试剂

NGAL 酶联免疫试剂盒, TNF- α 酶联免疫试剂盒, IL-1 β 酶联免疫试剂盒, IL-6 酶联免疫试剂盒均由北京金海科隅生物科技发展有限公司提供。碱性苦味酸法检测血清肌酐(serum creatinine, Scr), 紫外-谷氨酸脱氢酶法测血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN), 试剂盒由上海科华生物工程股份有限公司提供。抗体以及稀释浓度为: NF- κ B P65 (acetyl K310) (Abcam, Ab19870) 兔单克隆抗体, 稀释浓度 1:2 000; NF- κ B P65 (CST, 8242) 兔单克隆抗体, 稀释浓度 1:1 000; SIRT1 (Abcam, Ab110304) 鼠

单克隆抗体,稀释浓度 1:1 000;β 肌动蛋白(CST, 4967)兔单克隆抗体,稀释浓度 1:1 000。

1.3 动物运动与营养干预方案

Con 和 Rsv 组普通饲养,Ex 组和 Ex+Rsv 组进行 4 周力竭跑台训练。正式训练前,进行 3 d 运动预适应,每天以 10 m/min 的速度跑台训练 30 min。正式训练方案结合文献^[11]和前期研究基础,进行 4 周大强度力竭训练,速度从 10 m/min,每 5 min 增加速度 5 m/min,直至 35 m/min,直至大鼠力竭。跑台坡度为 10 度,运动频率为 1 次/d,5 d/周,共进行 4 周。力竭判断标准为用毛刷驱赶不能坚持运动,停止运动后,大鼠翻身反射迟缓。根据文献^[12]与预实验结果,Rsv 组和 Ex+Rsv 组用专业灌胃针灌胃 1 次,灌胃剂量 50 mg/kg,灌胃体积 5 mL/kg。Con 组和 Ex 组灌胃等体积溶解液 0.5 %羧甲基纤维素钠。

1.4 动物取材

最后一次训练后 24 h 处死大鼠。2%戊巴比妥钠溶液腹腔注射,膀胱穿刺法取尿,腹主动脉取血,并放入促凝管中,静置 2 h 待血清和血细胞分离后,将其放入 4 ℃的低温离心机进行 3 000 r/min,离心 15 min,取上层血清分装,并置-20 ℃冰箱中保存待测。取左右肾并剔除筋膜,左侧肾纵切,浸入 4 %多聚甲醛固定液中,右侧肾置于预冷的生理盐水中洗净血污,迅速投入液氮暂存,随后保存于-80 ℃冰箱冻存待测。

1.5 肾组织结构变化观察

将肾从固定液中取出,流水洗涤 12 h,梯度酒精脱水后透明,石蜡包埋,制成 4 μm 切片,苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE)染色。在 200 倍光镜下观察肾组织结构病理学变化。

1.6 检测指标及方法

双抗体夹心法酶联免疫吸附(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法检测大鼠尿 NGAL 和肾组织 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 含量。Western 印迹

法检测肾 SIRT1、NF-κB P65、NF-κB P65 (acetyl K310)的表达:将于-80 ℃保存的肾样品取出研磨裂解,每孔道加等量蛋白质经 6 % SDS-PAGE 分离电泳后,转至聚偏二氯乙烯膜。BSA 封闭后,一抗孵育过夜,洗涤后再二抗孵育。Thermo Pierce ECL 化学发光液显色,X 光暴露成像,采用软件 Image Lab 4.0 进行灰度分析。

1.7 统计学方法

使用 SPSS 21.0 统计软件处理数据,结果用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,数据采用 Shapiro Wilk 检验对数据进行正态分布检验,组间分析采用单因素方差分析(one-way ANOVA)。方差齐采用 LSD 法,方差不齐采用 Tamhane 法。 $P < 0.05$ 表示为差异显著, $P < 0.01$ 表示为差异极显著。

2 结果

2.1 力竭运动 4 周显著升高大鼠肾功能指标

血清肌酐(serum creatinine, Scr)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)和尿中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)是肾功能标志物。Scr 和 BUN 是常用的检测肾功能的传统指标。各种实质性肾损伤或肾功能不全,均可引起 Scr 和 BUN 的显著升高。NGAL 是近年来常用的炎症和急性肾损伤的新型生物标志物。本研究使用 ELISA 检测大鼠尿 NGAL,碱性苦味酸法检测 Scr,紫外-谷氨酸脱氢酶法测 BUN,并对各组大鼠肾功能指标的变化进行分析,结果如 Table 1。从各组大鼠尿 NGAL 水平可知,力竭训练组大鼠显著高于安静对照组($P < 0.01$);灌胃白藜芦醇的力竭训练组则显著低于单纯力竭训练组($P < 0.01$)。和安静对照组相比,力竭运动组的 Scr、BUN 和尿 NGAL 均显著高于 Con 组($P < 0.01$)。结果提示,大强度力竭运动 4 周,导致大鼠运动性肾损伤。

Table 1 Levels of biomarkers in rat renal function

	Con	Rsv	Ex	Ex+Rsv
uNGEL/ng/mL	7.48 ± 0.31	7.33 ± 0.28	9.01 ± 0.18**	8.10 ± 00.27##
Scr/μmol/L	153.34 ± 8.67	148.73 ± 10.07	175.66 ± 16.08**	165.66 ± 8.54
BUN/mmol/L	5.37 ± 0.19	5.61 ± 0.30	6.67 ± 0.53**	6.11 ± 0.36

Con: control group, Rsv: rats were given 50 mg/kg resveratrol by gavage, Ex: rats performed 4-week exhaustive exercise, Ex+Rsv: rats were given 50 mg/kg resveratrol and performed 4-week exhaustive exercise. Date represent Mean ± SD of 8 rats in each group, ** $P < 0.01$ (Ex vs. Con); ## $P < 0.01$ (Ex+Rsv vs. Ex)

2.2 力竭运动 4 周改变大鼠肾组织形态

为能够更直接的反映各组大鼠肾组织形态的变化,本研究将大鼠肾组织的石蜡切片进行 HE 染色,

并在 200 倍光镜下观察,结果如 Fig.1。图中显示,Con 组肾小球结构完整,改变不明显,肾小球系膜细胞,内皮细胞等结构均正常。Rsv 组肾小球毛细血

管襻结构清晰,肾小球系膜细胞,内皮细胞等结构均正常;肾小管上皮细胞结构正常,肾小管刷状缘排列比 Con 组更整齐规则。Ex 组肾小球囊腔狭窄,血管球与囊腔壁界限不清楚,小管上皮细胞水肿,空泡变

性,管腔扩张严重,管腔有少量脱落绒毛和上皮细胞,出现各种管型。Ex+Rsv 组肾小球囊腔狭窄,部分血管球与囊腔壁界限不清楚,小管上皮细胞水肿,空泡变性,管腔扩张等程度较 Ex 组有所减轻。

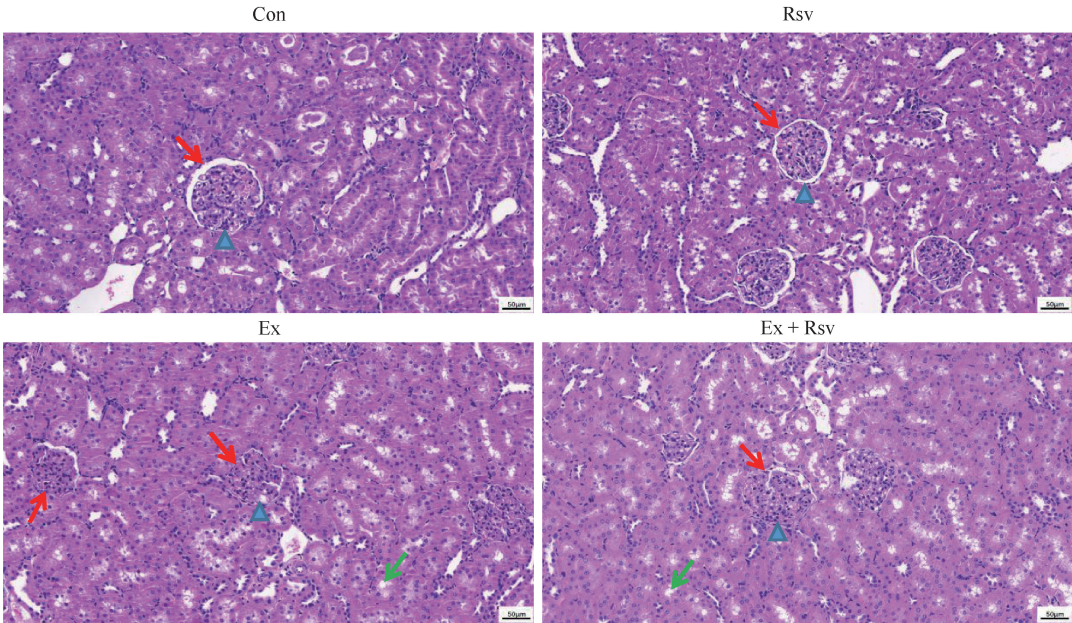


Fig.1 HE staining results of the renal tissue in each group Four weeks of exhaustive training leads to changes in the kidney structure of rats. Resveratrol improved renal pathological morphology and reduced cell damage, scale bar is 50 μm . Blue triangle: glomerular; red arrow: cyst cavity; green arrow: renal tubular vacuolar degeneration

2.3 白藜芦醇显著提高大鼠肾组织 SIRT1 在蛋白质水平的表达

白藜芦醇作为一种天然 SIRT1 激动剂,可通过调节 SIRT1 介导的信号通路参与抗炎反应。为探究白藜芦醇是否通过激活 SIRT1 的表达发挥作用。本研究用 Western 印迹分析各组大鼠肾组织

中 SIRT1 在蛋白质水平的表达,结果如 Fig. 2 所示。结果显示, Rsv 组和 Ex+Rsv 组大鼠肾的 SIRT1 在蛋白质水平的表达分别显著高于 Con 组 ($P < 0.05$)和 Ex 组 ($P < 0.01$)。结果提示,灌胃白藜芦醇可显著提高大鼠肾组织 SIRT1 在蛋白质水平的表达。

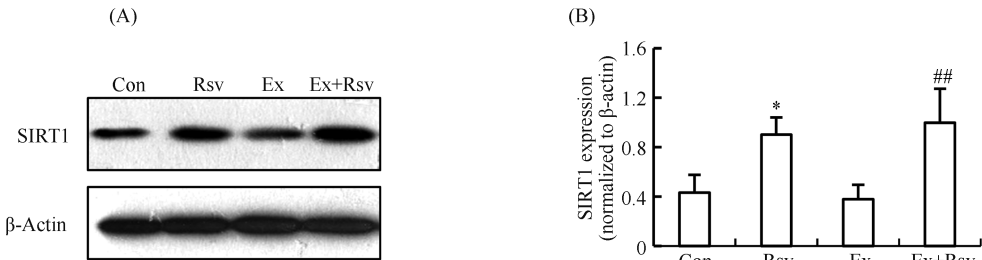


Fig.2 Resveratrol significantly increased the expression of SIRT1 in the renal of rats (A) The levels of SIRT1 in the renal tissues of rats were analyzed by Western blot. β -Actin was used as an internal control. (B) The histograms show that the quantified data of SIRT1 protein levels normalized to β -actin was significantly elevated in Rsv and Ex+Rsv groups. Data represent Mean \pm SD of three rats in each group. * $P < 0.05$ (Rsv vs. Con); ## $P < 0.01$ (Ex+Rsv vs. Ex)

2.4 白藜芦醇降低力竭运动大鼠肾组织 NF- κ B P65 在蛋白质水平的表达

核因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) P65 是由 Rel 蛋白质家族中 2 种蛋白质分子组成的二聚

体,在细胞的炎症反应、免疫应答等过程中 NF- κ B 发挥关键性作用。为进一步探究白藜芦醇的作用机制,本研究用 Western 印迹,分析各组大鼠肾组织中 NF- κ B P65 和 Ac-NF- κ B P65 的表达,结果如 Fig. 3 所示。

力竭组大鼠 Ac-NF-κB P65 和 NF-κB P65 在蛋白质水平的表达均显著高于安静对照组 ($P < 0.01$), 灌胃白藜芦醇的力竭训练组显著低于力竭训练组 ($P < 0.05$), 分别如 Fig. 3 (B) 和 Fig. 3 (C)。Ac-NF-κB

P65 /NF-κB P65 的相对表达量也呈现一致的变化, 如 Fig. 3(D)。该结果提示, 白藜芦醇增加了力竭训练大鼠肾组织中 NF-κB P65 的脱乙酰化修饰作用, 降低了 NF-κB P65 在蛋白质水平的表达。

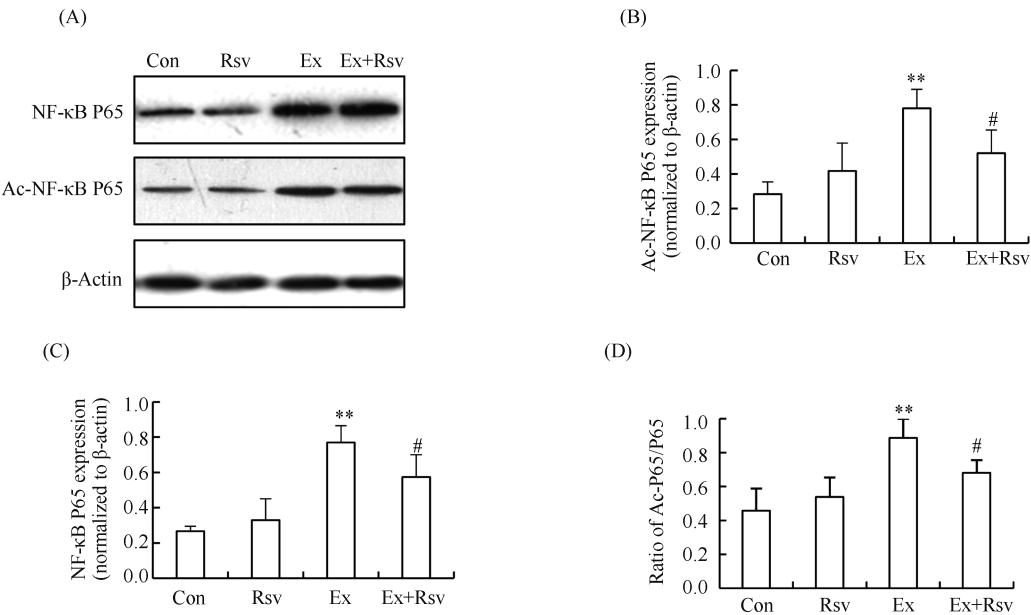


Fig.3 Resveratrol reduced the expression of NF-κB P65 in the renal tissues of exhaustive exercise rats (A) The levels of NF-κB P65 and Ac-NF-κB P65 in the renal tissues of rats were analyzed by Western blot. β-Actin was used as an internal control. (B) The histograms showed the ratio of Ac-NF-κB P65/NF-κB P65. (C) The histograms showed the quantified data of NF-κB P65 protein levels normalized to β-actin. (D) The histograms showed the quantified data of Ac-NF-κB P65 protein levels normalized to β-actin. Data represent Mean ± SD of three rats in each group. ** $P < 0.01$ (Ex vs. Con); # $P < 0.05$ (Ex+Rsv vs. Ex)

2.5 白藜芦醇显著减致力竭运动大鼠肾组织炎症因子

在众多炎症细胞因子中, 肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白细胞介素-1β (interleukin-1β, IL-1β)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 等促炎细胞因子发挥主要作用。为探究白藜芦醇对力竭训练大鼠肾组织炎症反应的影响, 用 ELISA 方法检测各组大鼠肾组织炎症因子的含量,

结果如 Table 2 所示。

从各组大鼠肾组织炎症因子浓度的变化可知, TNF-α、IL-1β 和 IL-6 呈现一致的变化。Ex 组 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 均显著高于 Con 组 ($P < 0.01$)。Ex + Rsv 组 TNF-α 显著低于 Ex 组 ($P < 0.05$), IL-1β 和 IL-6 均显著低于 Ex 组 ($P < 0.01$)。表明白藜芦醇的补充可显著减轻运动致肾损伤大鼠的肾炎症反应。

Table 2 Inflammatory factors in kidney tissues of rats in each group

	Con	Rsv	Ex	Ex+Rsv
TNF-α/pg/mg	41. 73 ± 2. 10	41. 77 ± 1. 82	51. 47 ± 1. 90**	48. 59 ± 1. 06#
IL-1β/pg/mg	5. 03 ± 0. 23	5. 02 ± 0. 19	6. 61 ± 0. 22**	5. 91 ± 0. 28##
IL-6/pg/mg	52. 49 ± 0. 54	53. 37 ± 1. 03	64. 12 ± 1. 15**	58. 68 ± 1. 80##

Data represent Mean ± SD of eight rats in each group. ** $P < 0.01$ (Ex vs. Con); # $P < 0.05$ (Ex+Rsv vs. Ex), ## $P < 0.01$ (Ex+Rsv vs. Ex)

3 讨论

迄今为止, 运动性肾损伤的潜在机制尚未被完全阐明。但越来越多的研究表明, 促炎因子和抑炎因子之间平衡被打破是出现一系列炎症反应、细胞

凋亡等肾损伤表现的基础^[13, 14]。研究表明, 大负荷训练使大鼠肾组织 IL-1β、TNF-α、IL-6 在蛋白质水平的表达明显上调, 并与肾缺血再灌注损伤有密切的关系^[14]。本研究表明, 大强度力竭训练 4 周使大鼠出现运动性肾损伤。表现为肾组织结构改变, 肾

组织促炎因子显著升高。促炎细胞因子的水平升高是运动性肾损伤的发生发展机制的关键。NF- κ B 是 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎症基因的关键转录调节因子。在静息状态下,NF- κ B 与 I κ B α 结合存在于细胞质中。当 Toll 样受体或细胞因子受体响应促炎刺激物,I κ B α 被 I κ B 激酶 (I κ B kinase, IKK) 磷酸化并受泛素依赖性影响蛋白酶降解,从而使 NF- κ B 易位至细胞核,并激活一系列促炎细胞因子和趋化因子的转录,诱导炎症反应^[15, 16]。本研究结果,肾组织 NF- κ B 在 4 周大强度运动下被激活,诱导并加剧大鼠的肾炎症反应,造成大鼠运动性肾损伤。可能是在大强度运动过程中,机体产生大量 ROS,诱发肾细胞 NF- κ B 激活,进而导致其易位进入细胞核,发挥炎症作用^[17],最终导致大鼠肾功能受损,这与大强度运动刺激激活 NF- κ B,加剧炎症反应造成骨骼肌、心肌等器官或细胞损伤的相关研究一致^[18, 19]。

大量研究表明,白藜芦醇的肾保护作用与 SIRT1 信号传导途径密切相关。NF- κ B 激活通过增强各种促炎细胞因子的转录,在运动性肾损伤的发生发展中发挥重要作用。但是,白藜芦醇对运动性肾损伤的保护作用是否与抑制 NF- κ B 激活有关,尚未有研究报道。本研究结果表明,NF- κ B 的表达在运动性肾损伤大鼠肾组织中显著增加,而灌胃白藜芦醇显著逆转了这种变化,提示白藜芦醇可能通过抑制运动性肾损伤大鼠肾中 NF- κ B 的活化来减少促炎因子的产生。继 Yeung 等^[20]初步报道,SIRT1 可使 NF- κ B 的 RelA/P65 亚基 lys310 残基脱乙酰化,降低 NF- κ B 转录活性,其他研究也证明了 SIRT1 对 NF- κ B 介导的炎症的抑制作用。SIRT1 敲除或敲低均可导致 NF- κ B 活化和促炎细胞因子释放增加,而 SIRT1 激活剂(SRT1720 或白藜芦醇)抑制 NF- κ B 介导的炎症介质在体外和体内释放^[21-23]。

NF- κ B 是 SIRT1 的靶点,NF- κ B 乙酰化对其活性至关重要,尤其是在炎症期间^[24]。长时间力竭运动诱发大鼠的肾炎症,而 NF- κ B 活化促进炎症期间炎性细胞因子的产生。SIRT1 与 NF- κ B 的 RelA/P65 亚基相互作用,并通过 RelA/P65 赖氨酸 310 残基去乙酰化来抑制转录^[25]。RelA/P65 的赖氨酸 310 乙酰化是炎症期间 NF- κ B 完全转录活性所必需的^[26]。本研究中,我们发现白藜芦醇降低了长期力竭运动大鼠肾组织中 NF- κ B P65 水平,降低了 NF- κ B P65 乙酰化水平。表明白藜芦醇通过增加 NF- κ B P65 脱乙酰化水平,从而降低 NF- κ B P65 的表达,进而降低了肾组织促炎因子的表达来发挥肾保

护作用。这与 Chen 等^[25]研究中,白藜芦醇过表达 SIRT1 促进 P65 的去乙酰化和 NF- κ B 对转录激活的抑制,从而在神经元中保护小胶质细胞依赖性淀粉样蛋白- β 毒性的机制是一致的。

总之,本研究表明,NF- κ B 信号通路在运动性肾损伤大鼠肾组织中被激活,并通过增加促炎细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的产生促进运动性肾损伤。而在大强度运动期间补充白藜芦醇对运动性肾损伤的发生发展有显著影响。白藜芦醇对运动性肾损伤的潜在机制可能与其抗炎作用密切相关。白藜芦醇通过激活 SIRT1 在蛋白质水平的表达,增加对 NF- κ B 的脱乙酰化修饰作用,抑制 NF- κ B 的表达和活化,从而抑制促炎细胞因子的产生。本研究表明,白藜芦醇在运动性肾损伤相关的炎症反应中具有潜在的应用价值。

参考文献 (References)

[1] Lipman GS, Shea K, Christensen M, *et al.* Ibuprofen versus placebo effect on acute kidney injury in ultramarathons: a randomised controlled trial [J]. *Emerg Med J*, 2017, **34** (10): 637- 642

[2] Lipman GS, Krabak BJ, Rundell SD, *et al.* Incidence and prevalence of acute kidney injury during multistage ultramarathons [J]. *Clin J Sport Med*, 2016, **26**(4) : 314-319

[3] 张朝阳,周春华,陈洪,等. IL-18、NAG、mALB 联合检测早期诊断高强度军事训练致肾损伤 [J]. *军事医学* (Zhang CY, Zhou CH, Chen H, *et al.* Combined detection of IL-18, NAG and mALB for early diagnosis of renal injury caused by high-intensity military training [J]. *Mil Med*), 2014, **38** (11): 912-914

[4] Chedea VS, Vicas SI, Sticozzi C, *et al.* Resveratrol: from diet to topical usage [J]. *Food Funct*, 2017, **8**(11): 3879-3892

[5] Takaoka M. Resveratrol, a new phenolic compound, from *Veratrum grandiflorum* [J]. *Nippon Kagapon Kaishi* 1939, **60**: 1090-1100

[6] Poulsen MM, Fjeldborg K, Ornstrup MJ, *et al.* Resveratrol and inflammation: Challenges in translating pre-clinical findings to improved patient outcomes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, **1852**(6) : 1124-1136

[7] Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, *et al.* Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan [J]. *Nature*, 2003, **425**(6954) : 191-196

[8] Haigis MC, Sinclair DA. Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance [J]. *Annu Rev Pathol*, 2010, **5**: 253-295

[9] Kitada M, Koya D. Renal protective effects of resveratrol [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2013, **2013**: 568093. doi: 10.1155/2013/568093

[10] Singh AP, Singh R, Verma SS, *et al.* Health benefits of resveratrol: evidence from clinical studies [J]. *Med Res Rev*, 2019, doi: 10.1002/med.21565. [Epub ahead of print]

[11] 林秀秀. 力竭运动致大鼠慢性肾损伤机制及促红细胞生成素干预研究 [D]. 湖南师范大学 (Lin XX. Mechanism of chronic kidney injury induced by exhaustive exercise and intervention of erythropoietin [D]. Hunan Normal Univ), 2011

[12] 王学龄. 白藜芦醇通过调节 SIRT1 缓解高糖刺激的肾小管上皮细胞损伤 [D]. 山东大学 (Wang XL. Resveratrol relieves high glucose-stimulated renal tubular epithelial cell damage by regulating SIRT1 [D]. Shandong Univ), 2017

[13] Roncal-Jimenez C, Lanasa MA, Jensen T, *et al.* Mechanisms by

- which dehydration may lead to chronic kidney disease [J]. *Ann Nutr Metab*, 2015, **66**(Suppl 3):10-13
- [14] 郭林. 大负荷训练导致大鼠肾组织微细结构变化和分子调控机理的探讨 [D]. 北京体育大学 (Guo L. Discussion on the microstructural changes and molecular regulation mechanism of rat kidney tissue under heavy load training [D], Beijing Sport Univ), 2005
- [15] Goh FG, Midwood KS. Intrinsic danger: activation of Toll-like receptors in rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2012, **51**(1): 7-23
- [16] Viatour P, Merville M P, Bours V, *et al*. Phosphorylation of NF-kappaB and IkappaB proteins: implications in cancer and inflammation [J]. *Trends Biochem Sci*, 2005, **30**(1): 43-52
- [17] Jiménez-Jiménez R, Cuevas MJ, Almar M, *et al*. Eccentric training impairs NF- κ B activation and over-expression of inflammation-related genes induced by acute eccentric exercise in the elderly [J]. *Mech Ageing Dev*, 2008, **129**(6): 313-321
- [18] Kramer HF, Goodyear LJ. Exercise, MAPK and NF-kappaB signaling in skeletal muscle [J]. *J Appl Physiol (1985)*, 2007, **103**(1): 388-395
- [19] Fernandez-Gonzalo R, De Paz JA, Rodriguez-Miguel P, *et al*. TLR4-mediated blunting of inflammatory responses to eccentric exercise in young women [J]. *Mediators Inflamm*, 2014, **2014**: 479395
- [20] Yeung F, Hoberg JE, Ramsey CS, *et al*. Modulation of NF- κ B-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase [J]. *EMBO J*, 2004, **23**(12): 2369-2380
- [21] Rajendrasozhan S, Yang SR, Kinnula VL, *et al*. SIRT1, an antiinflammatory and antiaging protein, is decreased in lungs of patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, **177**(8): 861-870
- [22] Milne JC, Lambert PD, Simon S, *et al*. Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes [J]. *Nature*, 2007, **450**(7170): 712-716
- [23] Yoshizaki T, Schenk S, Imamura T, *et al*. SIRT1 inhibits inflammatory pathways in macrophages and modulates insulin sensitivity [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010, **298**(3): E419-E428
- [24] Pan WW, Li JD, Huang S, *et al*. Synergistic activation of NF- κ B by bacterial chemoattractant and TNF α is mediated by p38 MAPK-dependent RelA acetylation [J]. *J Biol Chem*, 2010, **285**(45): 34348-34354
- [25] Chen LF, Williams SA, Mu Y, *et al*. NF-kappa B RelA phosphorylation regulates RelA acetylation [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, **25**(18): 7966-7975
- [26] Zhu X, Liu Q, Wang M, *et al*. Activation of Sirt1 by resveratrol inhibits TNF- α induced inflammation in fibroblasts [J]. *PLoS One*, 2011, **6**(11): e27081