

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research姜黄素通过 CytC/Apaf - 1 通路对急性有机磷
农药中毒大鼠肺损伤的保护作用Protective effects of curcumin on lung injury in rats with acute organophosphorus
pesticide poisoning through the CytC/Apaf - 1 pathway李寿彭^{1a}, 揭凤英^{1b}, 金屹恒^{1a},
杨璐瑜^{1b}(1. 武汉市第三医院/武汉大学 附属同仁医院,
a. 急诊医学科; b. 重症医学科, 湖北 武汉
430060)LI Shou - peng^{1a}, JIE Feng - ying^{1b},
JIN Yi - heng^{1a}, YANG Lu - yu^{1b}(1. a. Department of Emergency Medicine;
b. Department of Severe Medicine, The
Third Hospital of Wuhan/Tongren Hospital
of Wuhan University, Wuhan 430060,
Hubei Province, China)基金项目:湖北省自然科学基金计划基金资助
项目(2023AFB843)作者简介:李寿彭(1978 -),男,副主任医师,
主要从事中毒、肺损伤、脓毒症的相关研究通信作者:杨璐瑜,副主任医师
MP:17702730706

E - mail:p64hah@163.com

摘要:目的 探讨姜黄素通过细胞色素 C/凋亡酶激活因子 - 1 (CytC/Apaf - 1) 通路对急性有机磷农药中毒 (AOPP) 大鼠肺损伤的影响。**方法** 将 SD 大鼠分为对照组、模型组、抑制药组和低、高剂量实验组,每组 10 只。除对照组外,其余 4 组大鼠通过灌胃 20 mg · kg⁻¹ 氧乐果建立有机磷农药中毒大鼠模型。造模成功后,低、高剂量实验组灌胃 100、200 mg · kg⁻¹ 姜黄素,抑制药组肌肉注射 67.8 mg · kg⁻¹ ZYZ - 488,模型组和对照组灌胃和肌肉注射等体积 0.9% NaCl。5 组大鼠每天给药 1 次,连续给药 28 d。用线粒体膜电位检测试剂盒检测线粒体膜电位 (MMP),用酶联免疫吸附试验法检测血清白细胞介素 - 10 (IL - 10) 水平,用 TUNEL 法检测肺组织细胞的凋亡情况,用蛋白质印迹法检测肺组织 CytC 和 Apaf - 1 蛋白的表达水平。**结果** 低、高剂量实验组、对照组、模型组和抑制药组的 MMP 分别为 (0.64 ± 0.05)、(0.78 ± 0.09)、(0.93 ± 0.06)、(0.51 ± 0.04) 和 (0.76 ± 0.08) RFU · mg⁻¹, IL - 10 水平分别为 (67.58 ± 6.82)、(104.29 ± 11.37)、(148.62 ± 13.54)、(32.84 ± 3.51) 和 (98.74 ± 8.76) pg · mL⁻¹, 凋亡率分别为 (29.37 ± 3.28)%、(16.58 ± 1.87)%、(5.72 ± 0.64)%、(43.68 ± 4.91)% 和 (17.32 ± 2.14)%, CytC 蛋白相对表达水平分别为 0.89 ± 0.07、0.63 ± 0.05、0.42 ± 0.04、1.16 ± 0.12 和 0.65 ± 0.06, Apaf - 1 蛋白相对表达水平分别为 0.73 ± 0.06、0.48 ± 0.04、0.32 ± 0.03、0.97 ± 0.08 和 0.49 ± 0.05。模型组的上述指标与低、高剂量实验组及抑制药组、对照组比较,在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。**结论** 姜黄素可能通过抑制 CytC/Apaf - 1 通路降低大鼠炎症反应和氧化应激,减轻肺组织和线粒体结构损坏,进而改善 AOPP 大鼠肺损伤。

关键词:姜黄素;细胞色素 C/凋亡酶激活因子 - 1 通路;急性有机磷农药中毒;肺损伤

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.11.016

中图分类号:R285.5 文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2025)11-1589-06

Abstract: Objective To investigate the effect of curcumin on lung injury in rats with acute organophosphorus pesticide poisoning (AOPP) through the cytochrome C/apoptotic protease activating factor - 1 (CytC/Apaf - 1) pathway. **Methods** SD rats were divided into control group, model group, inhibitor group, experimental - L and experimental - H groups, with 10 rats in each group. Except for the control group, the rats in the other 4 groups were administrated with 20 mg · kg⁻¹ oxomethoate to establish the rat model of organophosphorus pesticide poisoning. After the modeling was successful, the rats in the experimental - L and experimental - H groups were given 100 and 200 mg · kg⁻¹ curcumin by

intragastric administration, and the rats in the inhibitor group were given $67.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ YZ-488 intramuscularly, and the model group and control group were given equal volume of normal saline in the same way by intragastric administration and intramuscularly. Five groups of rats were given the drug once a day for 28 days. Mitochondrial membrane potential detection kits were applied to detect mitochondrial membrane potential (MMP). Enzyme-linked immunosorbent assay method was applied to detect levels of serum interleukin-10 (IL-10); apoptosis in lung tissue was detected by TUNEL; Western blot was applied to detect the expression levels of CytC and Apaf-1 proteins in lung tissue. **Results** The MMP of experimental-L and experimental-H groups, control group, model group, and inhibitor group were (0.64 ± 0.05) , (0.78 ± 0.09) , (0.93 ± 0.06) , (0.51 ± 0.04) and (0.76 ± 0.08) RFU $\cdot \text{mg}^{-1}$, respectively; IL-10 levels were (67.58 ± 6.82) , (104.29 ± 11.37) , (148.62 ± 13.54) , (32.84 ± 3.51) and (98.74 ± 8.76) pg $\cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the apoptosis rates were $(29.37 \pm 3.28)\%$, $(16.58 \pm 1.87)\%$, $(5.72 \pm 0.64)\%$, $(43.68 \pm 4.91)\%$ and $(17.32 \pm 2.14)\%$, respectively; the relative expression levels of CytC protein were 0.89 ± 0.07 , 0.63 ± 0.05 , 0.42 ± 0.04 , 1.16 ± 0.12 and 0.65 ± 0.06 , respectively; the relative expression levels of Apaf-1 protein were 0.73 ± 0.06 , 0.48 ± 0.04 , 0.32 ± 0.03 , 0.97 ± 0.08 and 0.49 ± 0.05 , respectively. The above indexes of the model group were statistically significant compared with those in the experimental-L and experimental-H groups, inhibitor group and control group (all $P < 0.05$). **Conclusion** Curcumin may reduce inflammatory response and oxidative stress in rats by inhibiting the CytC/Apaf-1 pathway, alleviate lung tissue and mitochondrial structural damage, and thereby improve lung injury in rats with AOPP.

Key words: curcumin; cytochrome C/apoptotic protease activating factor-1 pathway; acute organophosphorus pesticide poisoning; lung injury

据统计,世界上每年有近300万农药中毒患者,而急性有机磷农药中毒(acute organophosphorus pesticide poisoning, AOPP)占80%以上^[1]。AOPP造成肺、心、脑等主要脏器损伤,其中肺损伤最为严重。目前,针对AOPP患者的治疗措施效果不佳,且存在严重后遗症^[2]。姜黄素是一种天然 β -二酮类化合物,具有抗炎、抗氧化、修复组织损伤等多种药理特性^[3]。吸入纳米姜黄素可以降低百草枯中毒大鼠炎症和氧化应激,减轻肺组织损伤^[4]。细胞色素C/凋亡酶激活因子-1(cytochrome C/apoptotic protease activating factor-1, CytC/Apaf-1)通路是线粒体凋亡经典通路,可引起凋亡蛋白活化,促进细胞死亡,阻断CytC/Apaf-1通路可以抑制大鼠神经元凋亡改善新生大鼠缺氧性脑损伤^[5]。CytC/Apaf-1通路在细胞凋亡和组织损伤过程中承担重要作用。本研究旨在探索姜黄素是否可以通过调节CytC/Apaf-1通路进而改善AOPP大鼠的肺损伤。

材料与方法

1 材料

动物 SPF级雄性SD大鼠,鼠龄6周,体质量180~200 g,威凯检测技术有限公司提供。动物许可

证号:SYXK(粤)2022-0297。本实验经武汉华联科生物技术有限公司伦理委员会批准(伦理批号:HLK-2023082122)。

药品与试剂 姜黄素,规格:每瓶20 mg,纯度: $\geq 98\%$,批号:H458377,上海阿拉丁生化科技股份有限公司生产;氧乐果,规格:每瓶100 mg,批号:S240113,山东百农思达生物科技有限公司生产;YZ-488(CytC/Apaf-1通路抑制药),规格:每瓶10 mg,批号:K1470302,美国MCE公司生产。苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色试剂盒,伊艾博科技股份有限公司生产;线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)试剂盒,上海杰美基因医药公司生产;白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-10、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒,均由江苏酶免实业有限公司生产;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒,均由上海恒科生物科技有限公司生产;蛋白提取试剂盒,北京普非生物科技有限公司生产;B淋巴细胞瘤-2相关X蛋白(B-cell lymphoma-2-associated X protein, Bax)、B淋巴细胞瘤-2拮抗药/杀伤因子(B-cell lymphoma-2 antagonist/killer,

Bak)、CytC、Apaf-1、胱天蛋白酶9(Caspase-9)一抗及二抗,均由英国 Abcam 公司生产。

仪器 SZ61-L4K 电子显微镜,深圳市汇视嘉盛光电仪器有限公司产品;JEM-2100Plus 透射电镜,上海铸金分析仪器有限公司产品;PHERAstar FSX 荧光酶标仪,德国 BMG LABTECH 产品。

2 实验方法

2.1 模型构建、动物分组与给药方法

将 SD 大鼠分为对照组、模型组、抑制药组和低、高剂量实验组,每组 10 只。除对照组外,其余 4 组大鼠灌胃 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的氧乐果建立有机磷农药中毒大鼠模型^[6]。造模成功标志:大鼠出现流涎、肌颤、呼吸困难症状。对照组灌胃等体积 0.9% NaCl。造模成功后,低、高剂量实验组分别灌胃 100 和 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 姜黄素^[7],抑制药组肌内注射 $67.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ZYZ-488^[8],模型组和对照组灌胃和肌内注射等体积 0.9% NaCl。5 组大鼠每天给药 1 次,连续给药 28 d。

2.2 样本采集

将大鼠麻醉后,取大鼠腹动脉血 2 mL;剪开腹腔,取出肺组织,其中一部分用 4% 多聚甲醛固定,一部分用戊二醛固定,其余部分置于 -80°C 保存。

2.3 HE 染色法观察大鼠肺组织形态变化^[7]

将“2.2”中固定在多聚甲醛中的大鼠肺组织通过梯度乙醇脱水,二甲苯透明后进行石蜡包埋,切片。将切片在 70°C 烤 30 min,并立即放入二甲苯中脱蜡,在梯度乙醇中水化;将水吸干,添加苏木素染色液,5 min 后流水洗掉苏木素染色液;切片在 1% 盐酸乙醇分化 2 s,水洗后在自来水中浸泡返蓝 5 min;加入 0.5% 伊红染液染色 10 s,蒸馏水清洗后通过梯度乙醇脱水;切片在二甲苯中透明 2 次,室温下晾干,中性树脂胶封片。24 h 后在显微镜下观察肺组织形态变化。

2.4 透射电镜观察肺组织线粒体超微结构^[9]

将大鼠肺组织剪切为约 1 mm^3 左右的小块,用 2.5% 戊二醛迅速固定 30 min,然后用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 二甲砷酸缓冲液冲洗,再用 1% 四氧化锇固定 2 h,缓冲液再冲洗,室温下通过丙酮脱水,环氧树脂 Epon812 包埋后制成超薄切片,通过醋酸铀和枸橼酸铅双重染色,于透射电镜下观察大鼠肺组织线粒体超微结构。

2.5 荧光酶标仪检测线粒体膜电位^[10]

将大鼠肺组织剪碎,用胰蛋白酶消化,在 4°C 下,以 $2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,弃上清液,加入磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)重悬细胞,于 6 孔板内培养 48 h,弃去培养液,用 PBS 洗涤,根据线粒体膜电位试剂盒说明书步骤检测线粒体膜电位(mito-

chondrial membrane potential, MMP),用荧光酶标仪在 490/590 nm 处测量激发/发射波长,记录膜电位数。

2.6 ELISA 法检测血清炎症因子 IL-6、TNF- α 和 IL-10 水平^[9]

将大鼠血清以 $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液,严格按照 ELISA 试剂盒说明书的步骤进行操作,检测 IL-6、TNF- α 和 IL-10 水平。

2.7 试剂盒检测大鼠肺组织 SOD、CAT 活性和 MDA 含量^[9]

取部分肺组织低温研磨匀浆,制备组织匀浆,以 $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min,取上清液,严格按照试剂盒说明书的步骤进行操作,待反应结束后,计算 SOD、CAT 活性和 MDA 含量。

2.8 TUNEL 染色法检测肺组织凋亡率^[7]

取“2.3”制备的石蜡切片,加入 TUNEL 试剂,反应结束后观察细胞凋亡情况。细胞凋亡率 = TUNEL 阳性细胞数/总细胞数 $\times 100\%$ 。

2.9 蛋白质印迹法检测 Bax、Bak、CytC、Apaf-1、Caspase-9 蛋白的表达水平^[10]

取部分肺组织冰浴研磨匀浆,提取总蛋白质,用 BCA 法检测蛋白含量。待蛋白变性后,进行电泳,然后转移到 PVDF 膜,脱脂奶粉中封闭 2 h,加入 Bax、Bak、CytC、Apaf-1、Caspase-9 一抗, 4°C 孵育过夜,用 TBST 洗涤后,再加入山羊抗兔免疫球蛋白 G 二抗孵育,再加入 ECL 显色,用 Image-Pro Plus 软件分析蛋白的表达情况。

3 统计学处理

用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用单因素方差分析组间差异, SNK-q 检验用于组内两两比较。

结 果

1 姜黄素对大鼠肺组织形态和线粒体超微结构的影响

低、高剂量实验组分别给予 100 和 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 姜黄素,抑制药组给予 $67.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ZYZ-488,模型组和对照组均给予等体积 0.9% NaCl。

HE 染色结果显示:对照组肺组织结构清晰;模型组大鼠肺泡壁结构被破坏,肺泡隔和泡腔内有明显出血,伴有大量炎性细胞浸润;低、高剂量实验组和抑制药组大鼠肺组织结构破坏程度均显著减轻,肺泡隔和泡腔内出血显著减少。结果见图 1。

电镜结果显示:对照组线粒体结构形态完整;模

型组线粒体明显肿胀,线粒体嵴断裂变形,线粒体膜被破坏,形成大量空泡,细胞内细胞器也明显减少;低、高剂量实验组和抑制药组大鼠线粒体损伤程度均显著减轻。结果见图1。

2 姜黄素对大鼠肺组织线粒体膜电位变化的影响

低、高剂量实验组和对照组、模型组、抑制药组的MMP分别为 (0.64 ± 0.05) 、 (0.78 ± 0.09) 、 (0.93 ± 0.06) 、 (0.51 ± 0.04) 和 (0.76 ± 0.08) RFU $\cdot$ mg $^{-1}$ 。模型组的MMP较对照组显著降低,在统计学上差异有统计学意义($P < 0.05$);低、高剂量实验组和抑制药组的MMP均较模型组显著升高,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

3 姜黄素对大鼠血清IL-6、IL-10和TNF- α 水平的影响

模型组血清IL-6、TNF- α 水平均显著高于对照组,IL-10水平显著低于对照组,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);低、高剂量实验组和抑制药组血清IL-6、TNF- α 水平均显著低于模型组,

IL-10水平均显著高于模型组,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见表1。

4 姜黄素对大鼠肺组织SOD、CAT和MDA的影响

模型组肺组织SOD、CAT活性均显著低于对照组,MDA含量高于模型组,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);低、高剂量实验组和抑制药组肺组织SOD、CAT活性均显著高于模型组,MDA含量均显著低于模型组,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见表2。

5 姜黄素对大鼠肺组织凋亡的影响

低、高剂量实验组和对照组、模型组、抑制药组的凋亡率分别为 $(29.37 \pm 3.28)\%$ 、 $(16.58 \pm 1.87)\%$ 、 $(5.72 \pm 0.64)\%$ 、 $(43.68 \pm 4.91)\%$ 和 $(17.32 \pm 2.14)\%$,低、高剂量实验组及抑制药组、对照组的上述指标与模型组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

6 姜黄素对大鼠肺组织Bax、Bak、CytC、Apaf-1和Caspase-9蛋白表达的影响

如图2所示:低、高剂量实验组和对照组、模型

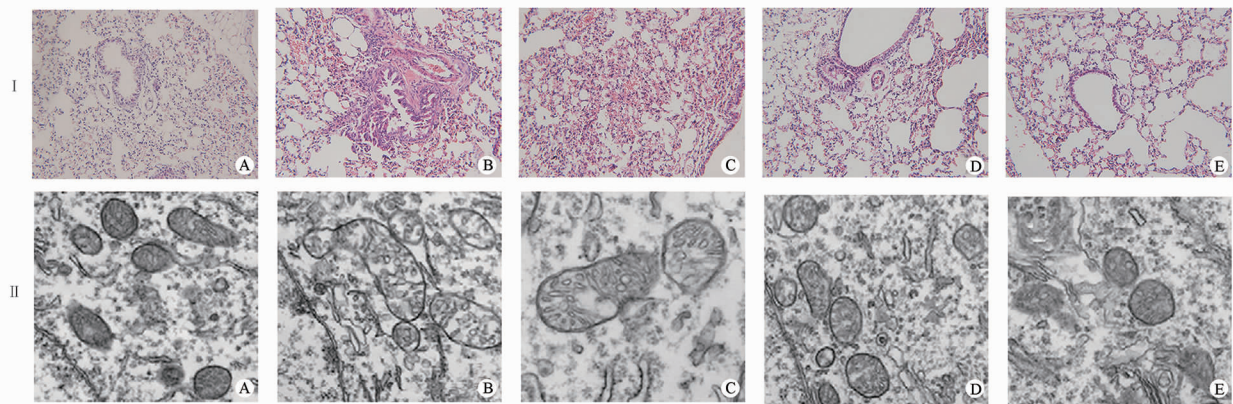


图1 各组大鼠肺组织的苏木精-伊红染色(I, $\times 200$)和线粒体超微结构(II, $\times 1.5 \times 10^4$)

Figure 1 Hematoxylin-eosin staining (I, $\times 200$) and mitochondrial ultrastructure (II, $\times 1.5 \times 10^4$) of lung tissue of rats in each group

A: Control group, intragastric administration and intramuscular injection of 0.9% NaCl; B: Model group, intragastric administration 20 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ of omethoate + intramuscular injection of 0.9% NaCl; C, D: Experimental-L, -H groups, intragastric administration 20 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ of omethoate and 100, 200 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ curcumin + intramuscular injection of 0.9% NaCl, respectively; E: Inhibitor group, intragastric administration 20 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ of omethoate + intramuscular injection of 67.8 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ ZYZ-488.

表1 姜黄素对大鼠血清白细胞介素(IL)-6、IL-10和肿瘤坏死因子(TNF)- α 的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of curcumin on serum interleukin (IL)-6, IL-10 and tumor necrosis factor (TNF)- α in rats ($\bar{x} \pm s$)

Group	Dose (mg $\cdot$ kg $^{-1}$)	n	IL-6 (pg $\cdot$ mL $^{-1}$)	TNF- α (pg $\cdot$ mL $^{-1}$)	IL-10 (pg $\cdot$ mL $^{-1}$)
Control	-	10	67.63 $\pm$ 6.84	46.38 $\pm$ 5.72	148.62 $\pm$ 13.54
Model	-	10	286.57 $\pm$ 24.62 *	208.64 $\pm$ 21.39 *	32.84 $\pm$ 3.51 *
Experimental-L	100.00	10	213.74 $\pm$ 19.58 #	157.72 $\pm$ 16.41 #	67.58 $\pm$ 6.82 #
Experimental-H	200.00	10	123.48 $\pm$ 13.71 # Δ	92.87 $\pm$ 10.54 # Δ	104.29 $\pm$ 11.37 # Δ
Inhibitor	67.80	10	118.92 $\pm$ 12.46 #	95.42 $\pm$ 11.26 #	98.74 $\pm$ 8.76 #

Compared with control group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$; Compared with experimental-L group, $\Delta P < 0.05$.

表 2 姜黄素对大鼠肺组织超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和丙二醛(MDA)的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of curcumin on superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and malondialdehyde (MDA) in lung tissue of rats($\bar{x} \pm s$)

Group	MDA	SOD	CAT
	(nmol · mg prot ⁻¹)	(U · mg prot ⁻¹)	(U · mg prot ⁻¹)
Control	1.38 ± 0.12	357.54 ± 38.32	4.03 ± 0.42
Model	2.94 ± 0.25 *	206.34 ± 23.47 *	2.16 ± 0.20 *
Experimental - L	2.46 ± 0.21 #	254.79 ± 25.84 #	2.82 ± 0.27 #
Experimental - H	1.83 ± 0.17 #△	296.38 ± 27.53 #△	3.48 ± 0.31 #△
Inhibitor	1.78 ± 0.22 #	302.27 ± 36.54 #	3.52 ± 0.36 #

Dose and *n* refer to table 1; Compared with control group, * *P* < 0.05; Compared with model group, # *P* < 0.05; Compared with experimental - L group, △ *P* < 0.05.

组、抑制药组的 Bax 蛋白相对表达水平分别为 0.57 ± 0.06、0.34 ± 0.03、0.21 ± 0.02、0.78 ± 0.07 和 0.36 ± 0.04, Bak 蛋白相对表达水平分别为 0.78 ± 0.06、0.52 ± 0.05、0.28 ± 0.02、1.04 ± 0.09 和 0.53 ± 0.06, CytC 蛋白表达水平分别为 0.89 ± 0.07、0.63 ± 0.05、0.42 ± 0.04、1.16 ± 0.12 和 0.65 ± 0.06, Apaf - 1 蛋白相对表达水平分别为 0.73 ± 0.06、0.48 ± 0.04、0.32 ± 0.03、0.97 ± 0.08 和 0.49 ± 0.05,

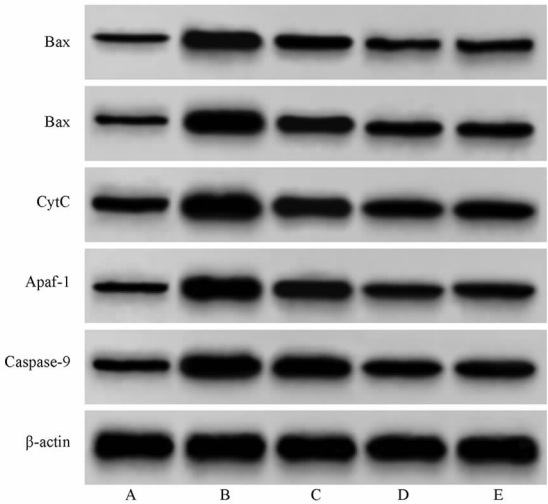


图 2 各组大鼠肺组织 B 淋巴细胞瘤 - 2 相关 X 蛋白 (Bax)、B 淋巴细胞瘤 - 2 拮抗药/杀伤因子 (Bak)、细胞色素 C (CytC)、凋亡酶激活因子 - 1 (Apaf - 1) 和胱天蛋白酶 9 (Caspase - 9) 蛋白表达

Figure 2 Expression of B - cell lymphoma - 2 - associated X protein (Bax), B - cell lymphoma - 2 antagonist/killer (Bak), cytochrome C (CytC), apoptotic protease activating factor - 1 (Apaf - 1) and Caspase - 9 in lung tissue of rats in each group A - E refer to figure 1.

Caspase - 9 蛋白相对表达水平分别为 0.82 ± 0.07、0.58 ± 0.06、0.37 ± 0.04、1.08 ± 0.09 和 0.56 ± 0.05。低、高剂量实验组及抑制药组、对照组的上述指标与模型组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 *P* < 0.05)。

讨 论

有机磷农药进入人体后不仅能引起中枢神经过度兴奋和中毒,导致患者呼吸衰竭,还可引起线粒体功能障碍,促进细胞氧化损伤,诱导细胞凋亡,造成器官组织损伤^[11]。目前,治疗 AOPP 方法有洗胃、灌肠、药物(如阿托品、解磷定、长托宁)治疗等,但这些疗法单一,且疗效不全面,仍缺乏治疗 AOPP 的有效方法^[12]。姜黄素是一种从姜黄中提取的中药成分,其可以降低百草枯诱导的大鼠肺部炎症和氧化应激,并改善百草枯诱导的仔猪线粒体功能障碍^[13-14]。近期研究显示,姜黄素可以通过抑制炎症和氧化应激减轻急性百草枯中毒大鼠肝损伤^[15]。线粒体在产生能量时会将电化学能储存于线粒体内膜,形成 MMP。MMP 可反映线粒体功能,MMP 降低是细胞早期凋亡的特征^[16]。有机磷农药进入人体后,发生应激反应,促进炎症因子 TNF - α、IL - 6 大量释放,进而引起炎症反应,对机体器官组织造成严重损伤。IL - 10 为炎症抑制因子,具有抗炎作用^[17]。MDA 为氧化损伤产物,SOD 和 CAT 具有清除体内活性氧的作用,可以降低氧化损伤^[18]。本研究发现,AOPP 大鼠 MMP 降低,TNF - α、IL - 6 水平和 MDA 含量升高,IL - 10 水平和 SOD 和 CAT 活性降低,这与既往研究结果^[19-21]相似,提示 AOPP 与线粒体损伤、炎症反应和氧化应激密切相关;姜黄素干预可以提高 AOPP 大鼠 MMP,降低 TNF - α、IL - 6 水平和 MDA 含量,升高 IL - 10 水平和 SOD 和 CAT 活性。Bax 和 Bak 为凋亡相关蛋白,细胞受损时,Bak 将线粒体切割成小球,Bax 在小球上戳出无数小孔促进小球内含物释放到细胞中,进而诱导细胞凋亡^[22]。本研究发现,姜黄素干预后可以显著降低 AOPP 大鼠肺组织 Bax 和 Bak 蛋白表达,减轻肺组织细胞凋亡。进一步通过 HE 染色和透射电镜观察发现,姜黄素干预可以显著降低 AOPP 诱导的大鼠肺组织损伤,并减轻线粒体结构破坏程度。这提示姜黄素可以降低 AOPP 大鼠炎症反应和氧化应激,改善线粒体功能,减轻肺损伤。

Cyt - c 是细胞凋亡过程中的关键调控因子,Apaf - 1 是凋亡复合体的主要成分,MMP 下降可释放 Cyt - c,加重线粒体损伤,Cyt - c 释放到胞浆后激活 Apaf - 1,Apaf - 1 进一步激活下游 Caspase - 9 表达,

诱导细胞凋亡^[23]。ZHONG等^[24]研究表明,抑制CytC/Apaf-1/Caspase-9通路可以降低氧化应激、炎症反应和细胞凋亡,改善线粒体功能,进而改善糖尿病大鼠肾损伤。在有机磷中毒心肌损伤患者血清中Caspase-9表达增高^[25]。本研究发现,AOPP大鼠肺组织中CytC/Apaf-1/Caspase-9蛋白表达增高,与上述研究一致;而姜黄素和CytC/Apaf-1通路抑制药ZYZ-488干预均可以显著降低CytC/Apaf-1/Caspase-9蛋白表达,且高剂量姜黄素与抑制药的作用一致,提示姜黄素可以减轻AOPP大鼠肺组织损伤,可能与抑制CytC/Apaf-1信号通路有关。

本研究提示:姜黄素可以减轻大鼠炎症反应、氧化应激和肺组织细胞凋亡,改善肺组织和线粒体结构损坏,进而缓解AOPP大鼠肺损伤,可能与抑制CytC/Apaf-1通路有关。引起AOPP的机制复杂,姜黄素是否通过抑制CytC/Apaf-1信号通路来改善AOPP大鼠肺损伤还需进一步深入研究。

参考文献:

- POIRIER L, JACQUET P, PLENER L, et al. Organophosphorus poisoning in animals and enzymatic antidotes[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2021, 28(20):25081—25106.
- RAMADORI G P. Organophosphorus poisoning: Acute respiratory distress syndrome (ARDS) and cardiac failure as cause of death in hospitalized patients[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7):6658—6676.
- 鞠佳芮,戴俊东,朱笑颜,等. 姜黄素自微乳结肠炎症靶向微丸的处方研究[J]. *长春中医药大学学报*, 2022, 38(9):977—982.
- GHASEMI S Z, BEIGOLI S, BEHROUZ S, et al. Evaluation of nano-curcumin against inhaled paraquat-induced lung injury in rats[J]. *Pharmacol Rep*, 2023, 75(3):671—681.
- GAO Y, ZHANG Y, DONG Y, et al. Dexmedetomidine mediates neuroglobin up-regulation and alleviates the hypoxia/reoxygenation injury by inhibiting neuronal apoptosis in developing rats[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11(14):555532—555541.
- 崔艳,曹小平. 有机磷农药中毒致Sprague-Dawley大鼠急性肺损伤的实验研究[J]. *华西医学*, 2014, 29(6):1025—1028.
- 李小娜,樊少卿,赵二贤,等. 姜黄素改善七氟烷致老年大鼠认知功能障碍的机制[J]. *西北药学杂志*, 2023, 38(3):91—97.
- WANG Y, ZHANG Q, ZHONG L, et al. Apoptotic protease activating factor-1 inhibitor mitigates myocardial ischemia injury via disturbing procaspase-9 recruitment by Apaf-1[J/OL]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017:9747296. 2017-11-27 [2024-05-10]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2017/9747296>.
- DHLAMINI Q, WANG W, FENG G, et al. FGF1 alleviates LPS-induced acute lung injury via suppression of inflammation and oxidative stress[J]. *Mol Med*, 2022, 28(1):73—87.
- 段天梦,贾莹,张天雅,等. 补阳还五汤对糖尿病大鼠视网膜病变线粒体途径细胞凋亡的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(17):2527—2531.
- YU C, ZHAO M, PAN Z, et al. Butyrylcholinesterase nanodepots with enhanced prophylactic and therapeutic performance for acute organophosphorus poisoning management[J]. *J Mater Chem B*, 2021, 9(7):1877—1887.
- 吴必刚,张晓刚,夏大洋. 长托宁改良方案治疗急性重度有机磷农药中毒效果的临床研究[J]. *环境与职业医学*, 2022, 39(5):556—560.
- GHASEMI S Z, MEMARZIA A, BEHROUZ S, et al. Comparative effects of Curcuma longa and curcumin on paraquat-induced systemic and lung oxidative stress and inflammation in rats[J]. *Avicenna J Phytomed*, 2022, 12(4):414—424.
- LI X, ZHU J, LIN Q, et al. Effects of curcumin on mitochondrial function, endoplasmic reticulum stress, and mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes in the jejunum of oxidative stress piglets[J]. *J Agric Food Chem*, 2022, 70(29):8974—8985.
- 汪子昊,顾亮,孙明,等. 姜黄素减轻急性百草枯中毒肝损伤机制研究[J]. *中国工业医学杂志*, 2024, 37(3):229—233, 262, 333.
- 杨冰清,尹静亚,王琦. 肝线粒体功能障碍在非酒精性脂肪性肝病发病中的作用机制[J]. *临床肝胆病杂志*, 2024, 40(1):147—150.
- BAE E J, CHOI M, KIM J T, et al. TNF- α promotes α -synuclein propagation through stimulation of senescence-associated lysosomal exocytosis[J]. *Exp Mol Med*, 2022, 54(6):788—800.
- SINCIHU Y, LUSNO M F D, MULYASARI T M, et al. Wistar rats hippocampal neurons response to blood low-density polyethylene microplastics: A pathway analysis of SOD, CAT, MDA, 8-OHdG expression in hippocampal neurons and blood serum A β 42 levels[J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2023, 19(1):73—83.
- 王文娟,孔维伟,邵利,等. 高压氧联合乌司他丁对急性有机磷农药中毒大鼠胆碱乙酰转移酶、丙二醛及心肌功能的影响[J]. *中国热带医学*, 2024, 24(8):995—1000.
- 刘玲,黄磊,彭婷,等. 涤痰解毒方对有机磷农药中毒模型大鼠线粒体呼吸链复合物的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2023, 34(2):143—148.
- 刘玲,邵良,凌峰,等. 涤痰解毒方对急性有机磷农药中毒大鼠阿托品化后血清炎症因子水平和重要脏器超微结构的影响[J]. *广西医学*, 2022, 44(22):2641—2644.
- COSENTINO K, HERTLEIN V, JENNER A, et al. The interplay between BAX and BAK tunes apoptotic pore growth to control mitochondrial-DNA-mediated inflammation[J]. *Mol Cell*, 2022, 82(5):933—949.
- LIU Y H, HUANG Q H, WU X, et al. Polydatin protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice via anti-oxidative and anti-apoptotic activities[J]. *Food Funct*, 2018, 9(1):5891—5902.
- ZHONG Y, LIU J, SUN D, et al. Dioscin relieves diabetic nephropathy via suppressing oxidative stress and apoptosis, and improving mitochondrial quality and quantity control[J]. *Food Funct*, 2022, 13(6):3660—3673.
- 付晶,常莉. 有机磷中毒心肌损伤患者血清凋亡促进因子及抑制因子的表达变化研究[J]. *中国医学创新*, 2019, 16(3):124—127.

(收稿日期 2024-12-10)