

基于 Nrf2/SLC7A11/Gpx4 通路研究当归芍药散对肾病综合征幼鼠干预作用

秦曼, 张天照*

黑龙江省中医药科学院 黑龙江省中医医院, 黑龙江 哈尔滨 150036

摘要 目的:探讨当归芍药散对肾病综合征(PNS)幼鼠肾脏核因子 E₂ 相关因子(Nrf2)/溶质载体家族 7A11(SLC7A11)/谷胱甘肽过氧化物酶 4(Gpx4)通路及氧化应激损伤干预作用。方法:4 周龄 SD 幼鼠随机分为 6 组,即空白组(CON 组)、模型组(MOD 组)、坎地沙坦组(KDS 组)、当归芍药散组(DSS 组)、联合组(COM 组)、阻断剂组(ANT 组),除 CON 组外,各组首先以阿霉素分次尾静脉注射建立肾病综合征模型,造模后各组分别以相应药物干预,联合组予以当归芍药散联合坎地沙坦方案,药物干预持续 4 周。第 4 周末以考马斯亮蓝法检测幼鼠 24 h 尿蛋白定量(24 h UTP)、生化法检测幼鼠血清白蛋白(ALB)、尿素氮(BUN)、肌酐(CREA),并以 ELISA 法检测幼鼠肾组织活性氧(ROS)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA),免疫荧光法检测谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)、8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)、亚铁离子(Fe²⁺)水平。采用 Western blot 法检测幼鼠肾脏 Nrf2/SLC7A11/Gpx4 通路相关因子。结果:干预 4 周后,与 CON 组比较,MOD 组生化指标 24 h UTP 水平升高,ALB 水平下降,氧化应激指标 ROS、MDA、8-OHdG、Fe²⁺ 水平升高,SOD、GSH 水平下降,Nrf2、SLC7A11、Gpx4 呈低表达,差异均有统计学意义($P < 0.05$),与 MOD 组比较,药物干预组即 KDS 组、DSS 组、COM 组,上述指标均有所改善,差异有统计学意义($P < 0.05$),COM 组与 DSS 组、KDS 组对比,改善更加明显,差异有统计学意义($P < 0.05$),阻断剂 ML385 干预后,ANT 组的改善作用大幅降低,与 DSS 组对比差异有统计学意义($P < 0.05$)。各组 BUN、CREA 未见明显变化($P > 0.05$)。结论:当归芍药散可调节肾病综合征幼鼠肾脏 Nrf2/SLC7A11/Gpx4 通路,缓解氧化应激损伤,对其肾脏具有保护作用。

关键词 当归芍药散;氧化应激;肾病综合征;幼鼠;Nrf2/SLC7A11/Gpx4 通路

中图分类号:R285

文献标识码:A

文章编号:1002-2392(2026)09-0027-07

DOI:10.19664/j.cnki.1002-2392.260175

原发性肾病综合征(Primary nephrotic syndrome, PNS)是小儿常见疾病,多因感染导致的免疫功能紊乱引起^[1]。当归芍药散出自《金匮要略》,具有养血调肝,健脾利湿之功效^[2]。前期研究中,以当归芍药散治疗 PNS,发现其对小儿 PNS 具有较好的治疗作用,但其作用机制尚未完全明确。目前关于肾脏疾病氧化应激损伤、铁死亡等方向的研究,多集中在糖尿病肾病、慢性肾衰竭等方面^[3],其发病、进展过程中多存在广泛的氧化应激,并可激活多条信号通路,造成细胞铁死亡,对肾小球持续造成损伤^[4],增加远期肾纤维化

等的风险^[5]。但在 PNS 尤其是儿童 PNS 中的研究较少。本研究将在前期研究基础上,深入探讨当归芍药散对肾病综合征幼鼠氧化应激损伤的干预作用。

1 材料与方法

1.1 动物

幼年(4 周龄)雄性(Sprague Dawley, SD)大鼠,共 60 只,均购自黑龙江中医药大学实验动物中心,体质量(100 ± 10)g。置于动物实验室饲养,环境依据动物研究:体内实验报告规范(Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments, ARRIVE)^[5]温度 22 ~ 24 ℃,湿度 50%,氨浓度 ≤ 20 ppm,垫料 3 d 更换 1 次。本研究实验方案经黑龙江省中医药科学院伦理委员会审核,符合伦理学规范,批件号:SY3R-2024053。

1.2 主要试剂及仪器

ROS 试剂盒(上海江莱,货号 JL21656,批号:25072209);SOD 试剂盒(上海酶研,货号:ml092620,

收稿日期:2025-12-15 修回日期:2026-06-05

基金项目:黑龙江省自然科学基金项目(PL2024H249);黑龙江省中医药管理局中医药科研项目(ZHY2025-091)

作者简介:秦曼(1968-),女,博士,主任医师,从事中医儿科相关研究。

*通信作者:张天照(1985-),男,硕士,副主任医师,从事中医儿科相关研究。

批号:MY25090513);MDA 试剂盒(武汉佰瑞得,货号 A-QEK13162,批号:BRD25041806);8-OHdG 试剂盒(Cell Biolabs,货号 STA-325,批号:L25067);Nrf2 试剂盒(Sigma-Aldrich,货号 SAB5701902,批号:ST-BH25048);SLC7A11 试剂盒(Assay Genie,货号 CAB15604,批号:AG25081402);Gpx4 试剂盒(上海莼试,货号 CS-001-0720,批号:CS25052911)。

解剖板(上海玉研,30350);鼠软组织器械包(江苏拜尔,BR-ST-M18);灌胃针(上海亚泽,YZ-GW-16#);离心管、EP管、一次性吸管、枪头购自美国 Corning 公司,离心管型号:430790(15 mL)、430828(50 mL);微量离心管(EP管)型号:MCT-150-C(1.5 mL)、MCT-200-C(2.0 mL);一次性血清移液管型号:4487(5 mL)、4488(10 mL)、4490(50 mL);移液器吸头型号:4711(10 μ L)、4712(200 μ L)、4713(1 000 μ L);中性固定标本瓶(上海圻名,QM-BB-40);载玻片(武汉赛维 G6012-1、G6012-2、G6017-20),高压蒸汽灭菌器(Panasonic,日本,型号:MLS-3751L-PC);病理切片机(上海徠卡,型号:Histo Core BIOCUT R),组织摊片机(浙江科迪,型号:KD-PⅢ)。全波长酶标仪(美国 Thermo 赛默飞,Multiskan FC);台式低温高速离心机(德国 Eppendorf,5810R);恒温孵育箱(上海一恒,LRH-250);多通道移液器(德国 Eppendorf,Research plus);Western blot(WB)垂直电泳仪、转膜仪(美国 Bio-Rad 伯乐,Mini-PROTEAN Tetra);化学发光成像系统(上海天能,Tanon-5200Multi);制冰机(斯科茨曼,AF103AS);超纯水机(美国 Millipore,Milli-Q Integral 10)。

1.3 药物及制备

注射用阿霉素(Sigma-Aldrich Trading Co. Ltd,货号:D1515,规格:10 mg,批号 STBB2865),配制为 1 mg/mL 溶液,保存于医用冷藏箱中,温度 2 $^{\circ}$ C;ML385(AbMole,货号 M8692,规格 5 mg,批号 M25081673);戊巴比妥钠(Sigma-Aldrich Trading Co. Ltd,货号:P3761,批号 STBC3109),配置为 1% 溶液;坎地沙坦酯片(珠海联邦,批准文号:国药准字 H20090016,规格:4 mg,批号 25030802),蒸馏水制备为 20 mg/mL 混悬液备用。当归芍药散组方:当归 12 g,白芍药 20 g,川芎 12 g,茯苓 12 g,泽泻 15 g,炒白术 15 g。药材打碎成小块,足量水浸泡 1 h,煎药机煎煮 3 次,混合后恒温浓缩为生药浓度 1.5 g/mL 的药液,熬制由黑龙江省中医药科学院药局完成。

1.4 动物模型制备

幼鼠喂养 3 d 后按随机法分为 6 组,每组 10 只,

即空白组(CON 组)、模型组(MOD 组)、坎地沙坦组(KDS 组)、当归芍药散组(DSS 组)、联合组(COM 组)、阻断剂组(ANT 组)。除 CON 组外,其余组以阿霉素尾静脉注射建立肾病综合征模型,操作步骤如下:幼鼠 12 h 禁食不禁水后测量体质量,固定幼鼠于鼠类固定架并暴露尾部,50 $^{\circ}$ C 温水浸泡鼠尾约 1 min,扩张其尾静脉后以碘伏消毒。然后以 4.0 mg/kg 计算阿霉素剂量,1 mL 注射器抽取阿霉素溶液,自幼鼠尾部腹侧远端以 15 $^{\circ}$ 角斜刺入幼鼠尾静脉,回抽见血后迅速更换阿霉素药液缓慢推注,完毕后以 0.2 mL 0.9% 氯化钠注射液冲净针头内阿霉素残余,避免渗漏,CON 组予以等体积 0.9% 氯化钠注射液注射。1 周后重复上述步骤,阿霉素以 2.5 mg/kg 给药^[6]。第 2 次给药 1 周后以尿蛋白试纸检测幼鼠 24 h 蛋白,阳性为造模成功。

1.5 分组及给药方法

造模成功后第 2 天开始,KDS、COM 组以坎地沙坦酯混悬液灌胃,DSS 组及 COM 组予以当归芍药散药液灌胃,剂量参考公式:幼鼠剂量(g/kg)=儿童剂量(g/kg) $\times$ 折算系数(6.3)^[7],计算出当归芍药散剂量为 8.6 g/(kg $\cdot$ d),坎地沙坦酯剂量为 10 mg/(kg $\cdot$ d)。药物每日分 2 次灌胃,溶液体积不超过 10 mL/d。ANT 组予以当归芍药散灌胃同时予以 ML385 腹腔注射,剂量为 15 mg/kg,每日 1 次;空白组及模型组予以等体积生理盐水灌胃及腹腔注射,持续 4 周。

1.6 指标检测

第 4 周末将各组幼鼠置入代谢笼中,收集 24 h 尿液,考马斯亮蓝法检测 24 h 尿蛋白。随后以 1% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔注射麻醉幼鼠,腹主动脉采血 1~2 mL,并取肾脏,检测以下指标。

1.6.1 生化指标

采用考马斯亮蓝法检测幼鼠 24 h 尿蛋白定量(24-hour urinary total protein,24 h UTP),生化法检测幼鼠血清白蛋白(Albumin,ALB)、尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)、肌酐(creatinine,CREA)水平。

1.6.2 氧化应激指标

ELISA 法检测幼鼠肾脏活性氧(ROS)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA),免疫荧光法检测谷胱甘肽过氧化物酶(GpX)、8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)、亚铁离子(Fe^{2+})水平。

1.6.3 Nrf2/SLC7A11/Gpx4 通路因子

Western blot 法检测幼鼠肾脏核因子 E₂ 相关因子(Nuclear factor erythroid 2-related factor,Nrf2)、溶质载体家族 7A11(Solvent carrier family 7 member 1,

SLC7A11)、谷胱甘肽过氧化物酶 4 (Glutathione peroxidase 4, Gpx4) 水平。

1.6.4 病理检测

将幼鼠肾脏固定、包埋、切片,将切片进行苏木素-伊红 (Hematoxylin and Eosin Staining, HE) 染色,观察其病理变化。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件对所得数据进行统计分析,符合正态分布的计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,不符合正态分布的采用中位数(四分位数)表示,计数资料以样本数(率)表示,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差

异有统计学意义。

2 结果

2.1 生化指标

干预 4 周后,与 CON 组比较,MOD 组 24 h UTP 水平升高,ALB 水平下降,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),与 MOD 组比较,药物干预组即 KDS 组、DSS 组、COM 组上述指标差异有统计学意义 ($P < 0.05$),COM 组与 MOD 组、DSS 组、KDS 组对比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),ANT 组与 DSS 组对比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),各组 BUN、CREA 未见明显变化 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组生化指标结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	24 h UTP/[g/(kg·24 h)]	ALB/(g/L)	BUN/(mmol/L)	CREA/(μmol/L)
CON 组	0.12 ± 0.01	29.73 ± 2.17	12.80 ± 2.00	0.62 ± 0.05
MOD 组	1.72 ± 0.45 *	19.20 ± 1.83 *	12.56 ± 2.49	0.62 ± 0.04
KDS 组	1.05 ± 0.47 #	22.54 ± 3.03 #	12.68 ± 1.88	0.63 ± 0.06
DSS 组	1.02 ± 0.12 #	23.63 ± 2.09 #	12.55 ± 1.81	0.61 ± 0.06
COM 组	0.77 ± 0.17 # ^{○△}	26.61 ± 1.90 # ^{○△}	12.32 ± 2.15	0.62 ± 0.06
ANT 组	1.69 ± 0.38 [△]	19.08 ± 1.83 [△]	12.29 ± 1.73	0.61 ± 0.01

注:与 CON 组对比, * $P < 0.05$;与 MOD 组对比, # $P < 0.05$;与 KDS 组对比, [○] $P < 0.05$;与 DSS 组对比, [△] $P < 0.05$ 。

2.2 氧化应激指标

干预 4 周后,与 CON 组比较,MOD 组 ROS、MDA、8-OHdG、Fe²⁺ 水平升高,SOD、GSH 水平下降,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),与 MOD 组比较,各药物干

预组即 KDS 组、DSS 组、COM 组,上述指标差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),COM 组与 MOD、DSS、KDS 组对比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),ANT 组与 DSS 组对比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组氧化应激指标结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	ROS/(pg/mL)	SOD/(U/mg)	MDA/(nmol/mg)	GSH/(nmol/mg)	8-OHdG/(U/mg)	Fe ²⁺ /(ng/mg)
CON 组	91.37 ± 2.69	31.72 ± 4.43	2.49 ± 0.37	70.97 ± 2.45	0.32 ± 0.03	4.27 ± 2.22
MOD 组	181.55 ± 11.93 *	10.17 ± 1.70 *	6.59 ± 0.43 *	35.39 ± 2.42 *	1.63 ± 0.09 *	15.71 ± 1.68 *
KDS 组	168.10 ± 11.55 #	12.58 ± 1.80 #	6.00 ± 0.50 #	39.60 ± 2.37 #	1.41 ± 0.09 #	13.32 ± 1.01 #
DSS 组	165.97 ± 12.17 #	13.18 ± 2.44 #	5.94 ± 0.43 #	40.04 ± 1.94 #	1.37 ± 0.06 #	13.14 ± 1.93 #
COM 组	150.80 ± 8.27 # ^{○△}	15.74 ± 2.43 # ^{○△}	5.45 ± 0.40 # ^{○△}	47.11 ± 2.64 # ^{○△}	1.24 ± 0.09 # ^{○△}	10.8 ± 1.82 # ^{○△}
ANT 组	180.48 ± 7.53 [△]	10.84 ± 0.92 [△]	6.45 ± 0.53 [△]	35.90 ± 1.64 [△]	1.61 ± 0.10 [△]	15.14 ± 1.03 [△]

注:与 CON 组对比, * $P < 0.05$;与 MOD 组对比, # $P < 0.05$;与 KDS 组对比, [○] $P < 0.05$;与 DSS 组对比, [△] $P < 0.05$ 。

2.3 Nrf2/SLC7A11/Gpx4 通路因子指标

干预 4 周后,与 CON 组比较,MOD 组 Nrf2、SLC7A11、Gpx4 呈低表达,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),与 MOD 组相比,各药物干预组即 KDS 组、DSS 组、COM 组差异有统计学意义 ($P < 0.05$),COM 组与 MOD、DSS、KDS 组对比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),ANT 组与 DSS 组对比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 3、图 1。

表 3 各组 Nrf2/SLC7A11/Gpx4 通路相关蛋白相对

表达量($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	Nrf2	SLC7A11	Gpx4
CON 组	0.51 ± 0.02	0.57 ± 0.03	0.45 ± 0.03
MOD 组	0.23 ± 0.02 *	0.27 ± 0.03 *	0.19 ± 0.02 *
KDS 组	0.31 ± 0.02 #	0.34 ± 0.02 #	0.26 ± 0.02 #
DSS 组	0.34 ± 0.04 #	0.36 ± 0.03 #	0.27 ± 0.02 #
COM 组	0.43 ± 0.03 # ^{○△}	0.47 ± 0.04 # ^{○△}	0.38 ± 0.04 # ^{○△}
ANT 组	0.24 ± 0.02 [△]	0.28 ± 0.05 [△]	0.20 ± 0.04 [△]

注:与 CON 组对比, * $P < 0.05$;与 MOD 组对比, # $P < 0.05$;与 KDS 组对比, [○] $P < 0.05$;与 DSS 组对比, [△] $P < 0.05$ 。

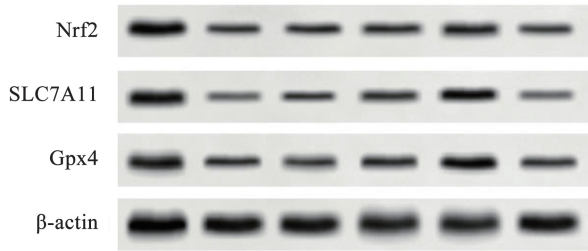


图 1 各组大鼠肾组织 Nrf2、SLC7A11、Gpx4 蛋白表达印迹图

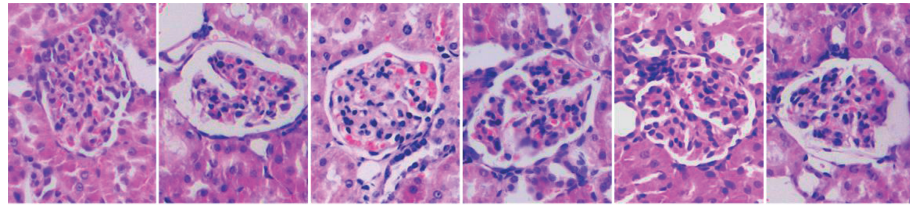


图 2 各组病理结果(HE 染色, ×200)

3 讨论

儿童 PNS 是一种常见的儿科肾脏疾病,临床表现以蛋白尿、低白蛋白血症、水肿和高脂血症为主,并包括感染、高凝状态、钙及维生素 D 代谢紊乱等多种并发症^[8-9]。中医学依据症状表现将儿童 PNS 归纳为“水肿”“尿浊”等范畴,《素问·至真要大论》记载:“诸湿肿满,皆属于脾”,其病机多为小儿脾弱易伤,肾虚易损,导致水液运化失常,发为水肿^[10]。当归芍药散见于《金匱要略·妇人杂病脉证并治第二十五》,“妇人怀妊,腹中疝痛,当归芍药散主之”,具有养血柔肝、利水活血之功,现用于多种疾病的治疗^[11]。前期研究发现当归芍药散对 PNS 患儿具有较好的治疗作用,可改善其证候积分^[12],对患儿尿蛋白^[13],血清白蛋白^[14]、脂毒性^[15]、高凝状态^[16]等具有调节作用,对 PNS 治疗过程中合并其他疾病如肺炎等亦有较好的治疗作用^[17],且可通过保护 PNS 幼鼠足细胞肌动蛋白骨架^[18-19]、调节其肾脏 OPG/RANK/RANKL/NF- κ B 信号通路、PI3K/AKT^[20]、PKC/ERK^[21] 信号通路等对 PNS 起到治疗作用。

近年来,儿童 PNS 氧化应激损伤亦研究较多,通常情况下,肾脏可自行调节其本身氧化-抗氧化平衡^[22],轻度氧化应激可自行调节^[23],但当受到外界刺激造成较强的损伤时,肾脏可产生大量有害因子如 ROS 等,ROS 是氧化应激的主要介质,过量产生会损伤细胞结构,对邻近组织产生不可逆损伤^[24],ROS 甚至可直接攻击细胞 DNA 分子中的脱氧鸟苷,造成 DNA 氧化损伤^[25],其生成的 8-OHdG 可诱发或加重肾脏损伤,8-OHdG 是 DNA 氧化损伤的标志物,可反

2.4 病理变化

幼鼠肾小球符合肾病综合征微小病变型改变,模型组可见上皮细胞增厚,空泡样、脂肪样变性,部分可见基质增宽,或可见局灶系膜增生、增厚。药物干预组上述变化可见缓解,其中 COM 组缓解最为明显,阻断剂组未见明显缓解。见图 2。

映 DNA 氧化损伤^[26]。SOD 属于保护性抗氧化酶,能够清除阴离子,GpX 家族可激活谷胱甘肽还原过氧化氢和脂质过氧化物,二者均能够有效清除体内氧自由基,且可作为反应氧化应激的理想指标^[27]。Nrf2/SLC7A11/Gpx4 通路中,当细胞内 Nrf2 被激活后,会刺激 SLC7A11 的生成,进而加速 GSH 的形成,并最终提高 Gpx4 的活性,本研究中,Nrf2/SLC7A11/Gpx4 呈低表达,提示该通路可反映机体抗氧化程度,MDA 是脂质过氧化物的终产物,在氧化应激反应中属终产物,由多种酶将不饱和脂肪酸催化而来,可反映细胞膜氧化损伤的过程以及脂质过氧化反应程度,能通过增加血管组织的通透性而对肾脏造成较为严重的损伤^[28]。

PNS 存在大量蛋白尿,会间接导致肾组织内抗氧化物质流失,肾内炎症因子 TNF- α 、IL-6 等蓄积,促进 Keap1 介导的 Nrf2 泛素化降解,使 Nrf2 无法入核启动下游基因转录^[29]。PNS 存在高脂血症,其引发的脂毒性会直接损伤肾小管上皮细胞,进一步抑制 Nrf2 的核转移效率,削弱通路的上游调控能力^[30]。受 Nrf2 活性降低的直接影响,肾组织中 SLC7A11 基因转录减少,细胞膜胱氨酸/谷氨酸转运体表达不足,细胞摄取胱氨酸的能力下降。另外,PNS 低蛋白血症会导致体内氨基酸代谢紊乱,半胱氨酸供给不足,双重因素共同导致肾细胞内 GSH 合成严重耗竭。GSH 是 Gpx4 的必需底物,GSH 耗竭直接导致 Gpx4 活性完全丧失,无法清除细胞膜上的脂质过氧化物^[31]。另外,外界刺激如高糖、毒性药物等,可导致细胞内 Fe²⁺ 大量累积,通过芬顿反应产生大量自由基,从而加剧脂质过氧化反应

进程,这一过程也被称为铁死亡^[32]。推测 PNS 状态下同样存在肾组织铁代谢失衡:肾小球滤过膜损伤导致转铁蛋白流失,肾内铁离子蓄积,通过芬顿反应生成大量 ROS,进一步加剧脂质过氧化链式反应,最终触发细胞铁死亡^[33]。但其详细机制还需要更加深入的研究。

本研究以当归芍药散干预肾病综合征幼鼠,观察其肾脏氧化应激、铁死亡方面情况,结果表明,模型诱导 4 周后,MOD 组大鼠 24 h UTP 显著增多,ALB 明显降低;同时肾组织 ROS、MDA、8-OHdG、Fe²⁺ 等氧化应激损伤标志物表达上调,抗氧化相关指标 SOD、GSH 含量下降,Nrf2、SLC7A11、Gpx4 表达被显著抑制,上述差异与空白组比较均有统计学意义($P < 0.05$)。相较于 MOD 组,DSS 组、KDS 组及 COM 组经药物干预后,幼鼠生化指标、肾组织氧化应激指标均得到不同程度回调($P < 0.05$);其中 COM 组对各项指标的调控效果显著优于 DSS 组与 KDS 组($P < 0.05$)。予以 Nrf2 特异性阻断剂 ML385 预处理后,当归芍药散的肾脏保护效应被显著削弱,ANT 组相关指标改善幅度显著低于 DSS 组,组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。实验周期内各组大鼠血尿素氮(BUN)、血肌酐(CREA)无显著组间波动,说明本次造模及药物干预尚未造成实验动物肾功能滤过指标明显异常。

当归芍药散中芍药为君,可养血调经,柔肝止痛;当归为臣,可辅助芍药滋养肝血,君臣配伍,共奏养血柔肝之功;方中佐药为茯苓、白术、泽泻,三药主要功效为健脾燥湿,利水消肿,使药为川芎,功效为活血止痛,可行血中瘀滞。全方养血活血,健脾柔肝,利水消肿,应“血不利则为水”之理,使血、水同利而治水肿。现代研究表明,当归芍药散具有抗氧化作用,能够改善氧化应激相关疾病。有学者指出,当归富含阿魏酸以及多糖类成分,可直接清除 ROS 等氧自由基^[34],并能激活 Nrf2/ARE 通路,上调 HO-1、SOD 等抗氧化酶,提高 GPx 活性,降低肾缺血再灌注损伤模型 MDA、8-OHdG 水平^[35]。白芍富含芍药苷、氧化芍药苷,能够抑制 NADPH 氧化酶(NOX),减少 ROS 产生;上调 Nrf2 通路,增加 GPx 合成,并能降低糖尿病肾病模型的尿 8-OHdG 水平^[36]。川芎富含川芎嗪、阿魏酸,可协同当归共同抑制线粒体 ROS 形成,并能调节多条通路改善氧化磷酸化,可缓解高血压肾损伤的纤维化趋势^[37]。茯苓、白术富含的茯苓多糖、白术内酯以及三萜类等成分,可阻断 ROS 下游氧化应激通路,上调 Nrf2/HO-1 通路^[20],降低慢性肾病肾脏 MDA 水

平^[38]。泽泻富含的泽泻醇可减少负氧离子产生,并能激活 PI3K/Akt/Nrf2 通路,减轻高脂血症模型的肾脏氧化应激水平^[39]。当归芍药散还具有协同作用,可多靶点清除 ROS,激活并上调内源性抗氧化系统,如 Nrf2 通路等^[40]。其抗氧化的同时具有抗炎作用,能够抑制 NF- κ B 和 MAPK 等通路,减少炎症对氧化应激的放大作用^[41]。

综上所述,当归芍药散可一定程度上缓解肾病综合征幼鼠氧化应激损伤,对其肾脏具有保护作用。

参考文献:

- [1] 徐李亚星,王晓明,吴晓庆,等.微小病型肾病的研究新进展[J].中国现代医药杂志,2025,27(3):70-73.
- [2] 周鹏,孙姐男,李勇,等.原发性肾病综合征的中医药治疗研究进展[J].中国医药导报,2025,22(6):72-75.
- [3] ZABALA RAMIREZ M J,STEIN E J,JAIN K. Nephrotic syndrome for the internist[J]. Med Clin North Am,2023,107(4):727-737.
- [4] MATTOO T K,SANJAD S. Current understanding of nephrotic syndrome in children[J]. Pediatr Clin North Am,2022,69(6):1079-1098.
- [5] KILKENNY C,BROWNE W J,CUTHILL I C,et al. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research[J]. Animals,2014,4(1):35-44.
- [6] 贺升升,李爱平,张王宁,等.阿霉素肾病模型及其病理机制研究进展[J].中草药,2018,49(22):5426-5434.
- [7] 邓延莉,李宜为,许东贤,等.常见慢性肾脏病动物模型建立方法的研究现状[J].中国中西医结合肾病杂志,2024,25(8):749-752,10010.
- [8] 罗国健,朱灿阳,杨承烨,等.儿童激素敏感型肾病综合征的药物治疗进展[J].海南医学,2025,36(6):899-907.
- [9] 范晓青.小儿水肿中医文献分析及病证诊断疗效标准研究[D].郑州:河南中医药大学,2023.
- [10] 林雄凯,陈雁雁,王国杰.《幼科发挥》关于小儿水肿的诊治[J].中医儿科杂志,2019,15(6):41-43.
- [11] 郑丰富,程丰,李伟,等.当归芍药散药理研究及临床应用进展[J].中医学报,2024,39(5):980-985.
- [12] 王文婷.加味当归芍药散治疗儿童原发性肾病综合征脾肾两虚型临床观察[D].哈尔滨:黑龙江省中医药科学院,2021.
- [13] 王东琦.加味当归芍药散治疗儿童原发性肾病综合征(气虚血瘀型)临床观察[D].哈尔滨:黑龙江省中医药科学院,2023.
- [14] 蒋刘锦.二妙当归芍药散治疗儿童原发性肾病综合征(湿热蕴结型)临床观察[D].哈尔滨:黑龙江省中医药科学院,2023.
- [15] 秦曼,张天照.当归芍药散对肾病综合征患儿脂肪因子及脂毒性的干预作用[J].中医学报,2025,53(5):91-96.
- [16] 童懂,谢卓君,仲维娜,等.加味当归芍药散联合激素治疗小儿原发性肾病综合征合并高凝状态的疗效观察[J].医学信息,2025,38(10):105-108.
- [17] 张天照,秦曼.当归芍药散加味联合中医定向透药对儿童 PNS 合并肺炎疗效及凝血、免疫功能的干预作用[J].中医学报,2025,53(11):65-70.

- [18] 张天照. 当归芍药散对肾病综合征幼鼠足细胞肌动蛋白骨架的保护作用[J]. 中国医学创新, 2020, 17(22): 1-5.
- [19] 张承杰. 当归芍药散对 NS 幼鼠 FN、LN、Col-IV 的影响[D]. 哈尔滨: 黑龙江省中医药科学院, 2020.
- [20] QIN M, ZHANG T Z. Danggui Shaoyao San attenuates doxorubicin induced Nephrotic Syndrome through regulating on PI3K/Akt Pathway[J]. *Funct Integr Genom*, 2023, 23(2): 148.
- [21] 秦曼, 张天照. 针灸联合当归芍药散调控 PKC/ERK 通路对肾病综合征幼鼠干预研究[J]. 针灸临床杂志, 2025, 41(11): 82-87.
- [22] 文浩维, 徐健婷, 曾纪斌. 真武汤加味治疗糖尿病肾病综合征患者的临床疗效及对其肾损伤、氧化应激及炎症因子的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2024, 19(10): 2032-2037.
- [23] CHEN W H, ZHANG K, CUI H Y, et al. Baicalin-2-ethoxyethyl ester alleviates gentamicin-induced acute kidney injury via NF- κ B signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 172: 116276.
- [24] WAN Y Z, WANG S P, CHEN K X, et al. High-sulfated derivative of polysaccharide from *Ulua pertusaimproves* Adriamycin-induced nephrotic syndrome by suppressing oxidative stress[J]. *Food Funct*, 2023, 14(20): 9167-9180.
- [25] CAVDAR S, ACAR A G, CAMYAR A, et al. Effect of octreotide on oxidative stress in the erythrocyte and kidney tissue in adriamycin-induced experimental nephrotic syndrome model[J]. *Braz J Nephrol*, 2024, 46(1): 18-28.
- [26] WANG Y N, MIAO H, YU X Y, et al. Oxidative stress and inflammation are mediated via aryl hydrocarbon receptor signalling in idiopathic membranous nephropathy[J]. *Free Radic Biol Med*, 2023, 207: 89-106.
- [27] 徐静, 高宁, 王蒙, 等. 防己不同组分对阿霉素诱导的肾病综合征大鼠肾损伤的影响[J]. 中药药理与临床, 2023, 39(7): 59-64.
- [28] SOMAYYEH M, SARA H, MOUSAALEZHA H, et al. Kidney dysfunction and oxidative stress in doxorubicin-induced nephrotic rat: Protective role of sesame oil[J]. *Saudi J Kidney DisTranspl*, 2021, 32(5): 1243-1252.
- [29] 徐睿, 雍军, 郭小平, 等. 芪苓糖肾方调控 Nrf2/Gpx4 通路改善糖尿病肾病肾纤维化的机制研究[J]. 海南医科大学学报, 2026, 32(11): 845-853.
- [30] 吕斌, 凌圣惠, 黎高文, 等. 萝卜硫素基于 Nrf2/ARE 通路改善肾病综合征幼鼠的肾功能[J]. 西北药学杂志, 2023, 38(1): 44-48.
- [31] 姜丽娜, 孔玮晶, 丁瑛雪. 线粒体氧化应激及 m6A 表观遗传调控 TRPC6 钙通道在肾病综合征发病中的作用研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2024, 23(8): 785-789.
- [32] 孙德胤, 孙艺, 郑华. 他克莫司通过调节 Nrf2-Keap1 信号通路改善大鼠肾病综合征中的氧化应激反应[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2022, 23(4): 296-299, 后插 2.
- [33] 谭俊杰. 1. 他克莫司对嘌呤霉素损伤的肾小球足细胞 Park7 表达的影响 2. 以激素耐药型肾病综合征起病 Alport 综合征 15 例临床分析[D]. 广州: 广州医科大学, 2021.
- [34] GONG K, ZHOU S, XIAO L, et al. Danggui Shaoyao San ameliorates Alzheimer's disease by regulating lipid metabolism and inhibiting neuronal ferroptosis through the AMPK/Sp1/ACSL4 signaling pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2025(16): 1588375.
- [35] HE J W, JIN Y J, HE C X, et al. Danggui Shaoyao San: comprehensive modulation of the microbiota-gut-brain axis for attenuating Alzheimer's disease-related pathology[J]. *Front Pharmacol*, 2024(14): 1338804.
- [36] CHEN H M, ZHANG G Y, PENG Y, et al. Danggui Shaoyao San protects cyclophosphamide-induced premature ovarian failure by inhibiting apoptosis and oxidative stress through the regulation of the SIRT1/p53 signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024(323): 117718.
- [37] ZHAO Y H, ZHAO M, WANG Z Y, et al. Danggui Shaoyao San: Chemical characterization and inhibition of oxidative stress and inflammation to treat CCl4-induced hepatic fibrosis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024(318): 116870.
- [38] YANG J F, LI C R, LIU Y, et al. Using network pharmacology to explore the mechanism of Danggui-Shaoyao-San in the treatment of diabetic kidney disease[J]. *Front Pharmacol*, 2022(13): 832299.
- [39] 李亚, 何慧慧, 王晶, 等. 当归芍药散对 PM2.5 致雄性大鼠生殖损伤的保护作用及其抗氧化机制[J]. 辽宁中医杂志, 2022, 49(9): 199-204, 228.
- [40] 彪雅宁, 张睦清, 韩雪, 等. 当归芍药散对非酒精性脂肪肝大鼠 Keap1/Nrf2 信号通路的调节作用[J]. 中药药理与临床, 2022, 38(1): 13-18.
- [41] LUO Y X, CHEN H S, TSOI B, et al. Danggui-Shaoyao-San (DSS) ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury via activating SIRT1 signaling and inhibiting NADPH oxidases[J]. *Front Pharmacol*, 2021(12): 653795.

Study on the Intervention of Danggui Shaoyao Powder on Oxidative Stress Injury of Kidneys in Juvenile Rats With Nephrotic Syndrome Based on the Nrf2/SLC7A11/Gpx4 pathway

QIN Man, ZHANG Tianzhao

Heilongjiang Academy of Chinese Medicine Science, Heilongjiang Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150036, China

Abstract Objective: To explore the intervention effect of Danggui Shaoyao Powder on the Nrf2/SLC7A11/Gpx4 pathway and oxidative stress injury in the kidneys of juvenile rats with nephrotic syndrome (PNS). Methods: 4-week-old SD rats were randomly divided into six groups: CON group, MOD group, KDS group, DSS group, COM group and

ANT group. Except for the CON group, in each group, the nephrotic syndrome model was established by intravenous injection of doxorubicin at regular intervals through the tail vein. After modeling, each group was intervened with the corresponding drug. The combined group was given the Danggui Shaoyao Powder combined with candesartan regimen. The drug intervention lasted for 4 weeks. At the 4th week, the 24 – hour urine protein quantification (24 hUTP) of the rats was detected by the Coomassie brilliant blue method, the serum albumin (ALB), blood urea nitrogen (BUN), and creatinine (CREA) of the rats were detected by the biochemical method, and the reactive oxygen species (ROS), superoxide dismutase (SOD), and malondialdehyde (MDA) in the renal tissue of the rats were detected by ELISA, and the levels of glutathione peroxidase (GPx), 8 – hydroxydeoxyguanosine (8 – OHdG), and iron ions (Fe^{2+}) were detected by immunofluorescence. The related factors of the Nrf2/SLC7A11/Gpx4 pathway in the kidneys of the rats were detected by Western blot method. Results: After 4 weeks of intervention, compared with the CON group, the 24 h UTP level was increased and the ALB level was decreased in the MOD group; the levels of ROS, MDA, 8 – OHdG and Fe^{2+} of oxidative stress indicators were elevated, while SOD and GSH levels declined, and the expressions of Nrf2, SLC7A11 and Gpx4 were significantly downregulated, with statistically significant differences ($P < 0.05$). Compared with the MOD group, all above indexes were markedly improved in KDS, DSS and COM groups ($P < 0.05$). The improvement in the COM group was superior to that in DSS and KDS groups ($P < 0.05$). After intervention with the blocker ML385, the protective efficacy of Danggui Shaoyao Powder was obviously abolished in the ANT group, and there was significant difference compared with the DSS group ($P < 0.05$). No obvious changes of BUN and CREA were observed among all groups ($P > 0.05$). Conclusion: Danggui Shaoyao Powder can regulate the Nrf2/SLC7A11/Gpx4 pathway in the kidneys of juvenile rats with nephrotic syndrome, alleviate oxidative stress damage, and exert a protective effect on their kidneys.

Key words Danggui Shaoyao Powder; Oxidative stress; Nephrotic syndrome; Juvenile rats; Nrf2/SLC7A11/Gpx4 pathway