

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.11.003

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20220127.1420.004.html\(2022-01-28\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20220127.1420.004.html(2022-01-28))

夏枯草提取物对子痫前期大鼠氧化应激损伤及 AMPK/p62/Nrf2 通路的影响*

刘宝峰¹, 笱双江¹, 骆伟舜¹, 韩梅²

(1. 天津市第四中心医院药剂科 300140; 2. 天津市小淀社区卫生服务中心内科 300251)

[摘要] **目的** 探讨夏枯草提取物(PVE)对子痫前期(PE)大鼠氧化应激损伤及腺苷酸蛋白活化激酶(AMPK)/核孔糖蛋白 62(p62)/核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)通路的影响。**方法** 以皮下注射左旋硝基精氨酸甲酯的方法诱导构建 60 只 PE 大鼠模型,将其分为模型组、PVE 低剂量(6 mg/kg)组、PVE 中剂量(12 mg/kg)组、PVE 高剂量(24 mg/kg)组、硫酸镁(30 mg/kg)组,每组 12 只,另取 12 只妊娠大鼠皮下注射等剂量生理盐水,作为对照组,以药物分组干预处理后,测量各组大鼠妊娠晚期平均动脉压(MAP)、24 h 尿蛋白及血尿素氮(BUN)水平,评测各组大鼠妊娠结局,比较其平均子代数及平均子代体重;以相应试剂盒测量各组大鼠胎盘组织活性氧(ROS)、过氧化氢酶(CAT)及丙二醛(MDA)水平;以 Western blot 检测各组大鼠胎盘组织 AMPK/p62/Nrf2 通路蛋白表达。**结果** 与对照组比较,模型组大鼠平均子代数及平均子代体重、胎盘组织 CAT 水平、p-AMPK/AMPK、p62 及 Nrf2 蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$),妊娠晚期 MAP、24 h 尿蛋白及 BUN 水平、胎盘组织 ROS 及 MDA 水平明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,PVE 低、中、高剂量组及硫酸镁组大鼠平均子代数及平均子代体重、胎盘组织 CAT 水平、p-AMPK/AMPK、p62 及 Nrf2 蛋白表达水平平均升高($P < 0.05$),妊娠晚期 MAP、24 h 尿蛋白及 BUN 水平、胎盘组织 ROS 及 MDA 水平平均降低($P < 0.05$),且 PVE 各组呈剂量依赖性($P < 0.05$);与硫酸镁组比较,PVE 高剂量组大鼠各指标差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** PVE 可激活 AMPK/p62/Nrf2 通路,去除氧自由基,抑制 PE 大鼠氧化应激反应,降低血压、减轻蛋白尿症状,改善其妊娠结局促使子代存活。

[关键词] 夏枯草提取物;子痫前期;氧化应激;腺苷酸蛋白活化激酶/核孔糖蛋白 62/核因子 E2 相关因子 2 通路

[中图法分类号] R285.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2022)11-1813-05

Effect of *Prunella vulgaris* extract on oxidative stress damage and AMPK/p62/Nrf2 pathway in preeclamptic rats*LIU Baofeng¹, ZAN Shuangjiang¹, LUO Weishun¹, HAN Mei²

(1. Department of Pharmacy, Tianjin Municipal Fourth Central Hospital, Tianjin 300140, China;

2. Department of Internal Medicine, Xiaodian Community Health Service Center, Tianjin 300251, China)

[Abstract] **Objective** To study the effects of *Prunella vulgaris* extract (PVE) on the oxidative stress damage and adenylyate-activated protein kinase (AMPK)/p62/nuclear factor E2-related factor2 (Nrf2) pathway in preeclampsia (PE) rats. **Methods** Sixty PE rat models were established by induction of L-nitroarginine methyl ester subcutaneous injection, and the rats were randomly divided into the model group, low-dose PVE (6 mg/kg) group, middle-dose PVE (12 mg/kg) group, high-dose PVE (24 mg/kg) group and magnesium sulfate (30 mg/kg) group, 12 cases in each group. Other 12 pregnant rats were subcutaneously injected by the same dose of normal saline as the control group. After intervention treatment with the medication group, the mean arterial pressure (MAP) in the late pregnant rats was measured, 24 h urine protein and blood urea nitrogen (BUN) contents during the late pregnant rats in each group were measured, and the pregnancy outcome of each group was evaluated, and the average number of offspring and average weight of offspring were compared among the groups; the levels of reactive oxygen species (ROS), catalase (CAT) and malondialdehyde (MDA) in rat placental tissues in each group were measured with the kit; the expression of AMPK/p62/Nrf2 pathway protein in rat placental tissue in each group was detected by Western blot. **Results** Compared with the control group, the average number of offspring and average weight of offspring, the level of CAT in

placental tissue, protein expression levels of p-AMPK/AMPK, p62 and Nrf2 in the model group were significantly reduced ($P < 0.05$), the levels of MAP, 24h urine protein and BUN in the late pregnant period, and levels of ROS and MDA in placental tissue were significantly increased ($P < 0.05$); compared with the model group, the average number of offspring and average weight of offspring, the level of CAT in placental tissue, the protein expression levels of p-AMPK/AMPK, p62 and Nrf2 in the drug intervention groups were significantly increased ($P < 0.05$), the MAP, 24h urine protein and BUN levels in the late pregnancy, and levels of ROS and MDA in placental tissue were significantly reduced, and the PVE groups were dose-dependent ($P < 0.05$); compared with the magnesium sulfate group, the various indexes in the high-dose PVE groups showed no statistically significant difference ($P > 0.05$). **Conclusion** PVE could activate the AMPK/p62/Nrf2 pathway, remove the oxygen free radicals, inhibit the oxidative stress response of PE rats, decrease the blood pressure, alleviate the symptoms of proteinuria, improve their pregnancy outcomes, and promote the survival of offspring.

[Key words] prunella vulgaris extract; preeclampsia; oxidative stress; adenylylate-activated protein kinase/p62/nuclear factor E2-related factor2 pathway

子痫前期 (preeclampsia, PE) 是特发于妊娠期的一种高血压疾病, 患者出现血压升高、蛋白尿症状, 且其肝、肾功能及胎盘功能发生障碍, 极大威胁母婴生命安全, 亦是导致死胎、孕产妇死亡的重要原因^[1-2]。胎盘缺血缺氧是 PE 的一个主要特征, 可导致炎症信号异常激活, 促进氧自由基大量释放, 最终引发母体全身氧化应激及胎盘组织脂质过氧化, 造成母体高血压及胎儿发育受限, 减轻氧化应激可有效防治 PE^[3-4]。腺苷酸活化蛋白激酶 (adenylylate-activated protein kinase, AMPK) 是一种蛋白激酶, 刺激其激活, 可扩张血管, 恢复 PE 患者胎盘血流灌注, 缓解其缺血缺氧症状, 还可上调下游核孔糖蛋白 62 (p62)、核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2-related factor2, Nrf2) 信号分子表达, 增强机体自噬与抗氧化活性, 减轻氧化应激损伤, 促进胎儿生长发育, 改善 PE 症状^[5-7], 因而激活 AMPK/p62/Nrf2 信号是 PE 的一个有效治疗手段。夏枯草是广泛用于清热消炎、软坚散结、降火明目的一种常用中药, 而夏枯草提取物 (prunella vulgaris extracts, PVE) 具有明显的清除自由基、消炎及抗氧化的功效, 可增强抗氧化酶活性, 减轻急性束缚诱发的小鼠氧化应激损伤, 还可降低血压, 改善老年高血压患者各种临床症状^[8-9], 但 PVE 是否可用于治疗 PE 及其对 PE 大鼠模型 AMPK/p62/Nrf2 通路的影响, 目前尚未见确切报道, 本文以不同剂量 PVE 干预处理 PE 模型大鼠, 并对此进行探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SD 大鼠 150 只 (雌、雄各 75 只), 生产许可 SCXK (沪) 2018-0004, 雌性 180~220 g, 雄性 260~300 g, 均来自上海杰思捷实验动物有限公司, 于天津市第四中心医院动物中心的屏障系统适应饲养, 饲养房内温度 22.5~25.5 °C, 相对湿度 52%~57%, 照明为 12 h/12 h 明暗循环光照, 房内保持噪音小、通气良好。本研究通过天津市第四中心医院伦理委员会审批。

1.1.2 主要试剂与仪器

(1) 试剂: 左旋硝基精氨酸甲酯 (L-nitro arginine methyl ester, L-NAME, 货号 FT011014) 购自上海梵态生物科技有限公司; 夏枯草全草 (批号 20141005) 购自西安天瑞生物技术有限公司; 硫酸镁 (批号 20180125)、放射免疫沉淀法 (radio immunoprecipitation assay, RIPA) 裂解液 (货号 P0013B) 购自上海碧云天生物技术有限公司; 活体组织活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 测定试剂盒 (货号 HL10016.4) 购自上海哈灵生物科技有限公司; 过氧化氢酶 (catalase, CAT) 活性测定试剂盒 (货号 ab83464)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 检测试剂盒 (货号 ab238537)、二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 蛋白检测试剂盒 (货号 ab102536)、兔源 Anti-三磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 一抗 (货号 ab181602)、兔源 Anti-AMPK 一抗 (货号)、兔源 Anti-p-AMPK 一抗 (货号 ab133448)、兔源 Anti-p62 一抗 (货号 ab109012)、兔源 Anti-Nrf2 一抗 (货号 ab31163)、羊抗兔二抗 (ab150077) 购自美国 Abcam 公司。(2) 仪器: 电子尾袖式血压计 (型号 HD-QB52) 购自美国 ITC 公司; 自动生化分析仪 (型号 Au1000) 购自日本 Olympus 公司; 精密电子天平 (型号 MS-TS) 购自瑞士梅特勒-托利多公司; 酶标仪 (型号 Power Wave XS) 购自美国 Bio-Tek 公司; 电泳仪 (型号 iniPROTEAN Tetra) 购自美国 Bio-Rad 公司; 一体式凝胶成像仪、转印电泳仪 (型号 WD-9413D、DYCZ-40D) 均购自北京六一生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 构建 PE 模型大鼠及分组给药

将雌、雄 SD 大鼠以 1:1 比例合笼, 次日早上检查, 发现阴栓即可得到孕鼠, 最终获取孕鼠 72 只, 此时为妊娠 1 d, 取 60 只孕鼠于妊娠 13 d 皮下注射 200 mg/kg^[10] 的 L-NAME, 每天注射 1 次, 连续注射 4 次, 然后测量大鼠血压, 若升高 30 mm Hg 及以上即

表明 PE 模型构建成功,将 60 只 PE 构建成功大鼠分为模型组、PVE 低剂量(6 mg/kg)组、PVE 中剂量(12 mg/kg)组、PVE 高剂量(24 mg/kg)组、硫酸镁(30 mg/kg)组,每组 12 只。另取 12 只妊娠 13 d 大鼠皮下注射等剂量生理盐水,作为对照组。将夏枯草全草剪碎后,加入 10 倍量的蒸馏水煮沸后过滤、浓缩,得到生药浓度为 1 g/mL 的浓缩液,加入磷酸盐缓冲液(PBS)稀释,配制成浓度分别为 0.6、1.2、2.4 mg/mL 的药液^[11],以 PBS 溶解硫酸镁,配制成浓度为 3 mg/mL 的药液^[12],各药物干预组大鼠均以 10 mL/kg 的剂量灌胃给药,模型组与对照组大鼠灌胃 10 mL/kg 的 PBS 干预,于妊娠 16 d 开始每天 1 次,持续至妊娠 21 d。

1.2.2 大鼠妊娠晚期血压及 24 h 尿蛋白、血尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)水平测定

以血压测试仪测量妊娠 21 d 大鼠收缩压、舒张压,并计算得出平均动脉压(mean arterial pressure,MAP)。以代谢笼收集妊娠 21 d 大鼠 24 h 内尿液,取少量尾静脉血,采用全自动生化分析仪测量 24 h 尿液中尿蛋白及尾静脉血中 BUN 水平。

1.2.3 大鼠妊娠结局情况及标本收集

将妊娠 21 d 大鼠置于乙醚气体中麻醉,开腹,取出胎鼠,计数后,测量其体重,得到每组孕鼠平均子代数与平均子代体重;然后找到胎盘,分离出后剪下约 0.8 g,加入 RIPA 裂解液,剪碎后匀浆、离心,收集上清液获得蛋白样品液,通过 BCA 法进行蛋白定量后保存在 -80 °C 冰箱中备用。

1.2.4 大鼠胎盘组织 ROS、CAT、MDA 水平测定

取出 1.2.3 中的胎盘组织蛋白样品液,提前放入 4 °C 冰箱中,解冻后每组各取 0.15 mL,参照各自试剂盒说明书指导步骤测定其中 ROS、CAT、MDA 水平。

1.2.5 Western blot 检测大鼠胎盘组织 Nrf2/血红素氧合酶-1(hemeoxygenase-1,HO-1)/醌氧化还原酶 1(quinone oxidoreductase-1,NQO1)通路蛋白水平

取 1.2.4 中剩余的蛋白样品液,每组均上样 20 μg 总蛋白,经电泳后通过湿转膜,以 3% 牛血清白蛋白封闭液孵育 1.5 h 后,以均稀释 2 000 倍的一抗溶液 4 °C 条件下处理 9 h,漂洗后以稀释 1 000 倍的二抗溶液室温处理 1.5 h,以化学发光试剂显色,在凝胶成像仪中成像,通过 Image J 软件对图像中各蛋白条带完成灰度定量,使用 GAPDH 作内参,对目的蛋白与内参蛋白灰度值比值进行统计分析,即可得到各个蛋白的相对表达水平。

1.3 统计学处理

数据采用 SPSS24.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析进行组间比较,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠妊娠晚期 MAP、24 h 尿蛋白及 BUN

水平比较

与对照组比较,模型组大鼠妊娠晚期 MAP、24 h 尿蛋白及 BUN 水平明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,PVE 低、中、高剂量组及硫酸镁组大鼠妊娠晚期 MAP、24 h 尿蛋白及 BUN 水平均降低($P < 0.05$),且 PVE 各组呈剂量依赖性($P < 0.05$);与硫酸镁组比较,PVE 高剂量组大鼠妊娠晚期 MAP、24 h 尿蛋白及 BUN 水平差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 各组大鼠妊娠晚期 MAP、24 h 尿蛋白及 BUN 水平比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	MAP(mm Hg)	24 h 尿蛋白(mg)	BUN(mmol/L)
对照组	89.12±3.63	4.63±0.52	3.96±0.46
模型组	125.08±5.91 ^a	10.96±1.72 ^a	13.18±1.93 ^a
PVE 低剂量组	112.52±4.86 ^b	8.75±1.38 ^b	10.26±1.84 ^b
PVE 中剂量组	98.67±4.21 ^{bc}	6.67±1.01 ^{bc}	7.17±1.23 ^{bc}
PVE 高剂量组	90.01±3.37 ^{bcd}	4.71±0.57 ^{bcd}	5.08±0.53 ^{bcd}
硫酸镁组	89.92±3.13 ^{bcd}	4.68±0.61 ^{bcd}	5.02±0.71 ^{bcd}

^a: $P < 0.05$,与对照组比较;^b: $P < 0.05$,与模型组比较;^c: $P < 0.05$,与 PVE 低剂量组比较;^d: $P < 0.05$,与 PVE 中剂量组比较。

2.2 PVE 对 PE 大鼠妊娠结局情况的影响

与对照组比较,模型组大鼠妊娠晚期平均子代数、平均子代体重明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,PVE 低、中、高剂量组及硫酸镁组大鼠妊娠晚期平均子代数、平均子代体重均升高($P < 0.05$),且 PVE 各组呈剂量依赖性($P < 0.05$);与硫酸镁组比较,PVE 高剂量组大鼠妊娠晚期平均子代数、平均子代体重差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 各组大鼠妊娠晚期平均子代数、平均子代体重比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	平均子代数(只)	平均子代体重(g)
对照组	13.78±0.84	2.24±0.11
模型组	8.13±0.38 ^a	1.03±0.07 ^a
PVE 低剂量组	9.85±0.36 ^b	1.42±0.08 ^b
PVE 中剂量组	11.47±0.41 ^{bc}	1.81±0.12 ^{bc}
PVE 高剂量组	13.57±0.55 ^{bcd}	2.20±0.10 ^{bcd}
硫酸镁组	13.62±0.60 ^{bcd}	2.22±0.17 ^{bcd}

^a: $P < 0.05$,与对照组比较;^b: $P < 0.05$,与模型组比较;^c: $P < 0.05$,与 PVE 低剂量组比较;^d: $P < 0.05$,与 PVE 中剂量组比较。

2.3 PVE 对 PE 大鼠胎盘组织 ROS 水平的影响

与对照组比较,模型组大鼠胎盘组织 ROS、MDA 水平明显升高,CAT 水平明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,PVE 低、中、高剂量组及硫酸镁组大鼠胎盘组织 ROS、MDA 水平均降低,CAT 水平均升高,且 PVE 各组呈剂量依赖性,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与硫酸镁组比较,PVE 高剂量组大鼠胎盘组织 ROS、MDA、CAT 水平差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

2.4 PVE 对 PE 大鼠胎盘组织 AMPK/p62/Nrf2 通

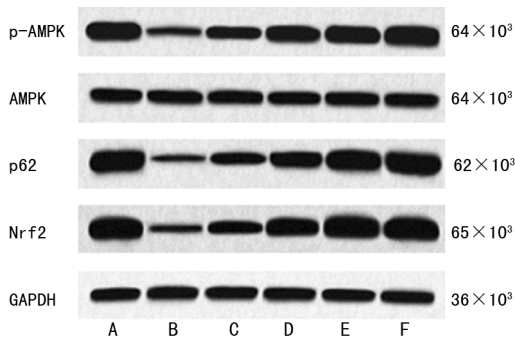
路相关蛋白表达的影响

与对照组比较,模型组大鼠胎盘组织 p-AMPK/AMPK、p62 及 Nrf2 蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,PVE 低、中、高剂量组及硫酸镁组大鼠胎盘组织 p-AMPK/AMPK、p62 及 Nrf2 蛋白表达水平均升高($P < 0.05$),且 PVE 各组呈剂量依赖性($P < 0.05$);与硫酸镁组比较,PVE 高剂量组大鼠胎盘组织 p-AMPK/AMPK、p62 及 Nrf2 蛋白表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 1、表 4。

表 3 各组大鼠胎盘组织 ROS、CAT 等水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	ROS (U/kgprot)	CAT (U/mgprot)	MDA (nmol/mgprot)
对照组	0.95±0.11	4.13±0.43	1.65±0.18
模型组	5.22±0.57 ^a	0.92±0.14 ^a	6.52±0.57 ^a
PVE 低剂量组	3.85±0.43 ^b	2.05±0.32 ^b	4.02±0.46 ^b
PVE 中剂量组	2.41±0.47 ^{bc}	3.07±0.37 ^{bc}	2.81±0.39 ^{bc}
PVE 高剂量组	1.01±0.35 ^{bcd}	4.09±0.33 ^{bcd}	1.72±0.34 ^{bcd}
硫酸镁组	0.98±0.40 ^{bcd}	4.11±0.37 ^{bcd}	1.70±0.42 ^{bcd}

^a: $P < 0.05$, 与对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 PVE 低剂量组比较; ^d: $P < 0.05$, 与 PVE 中剂量组比较。



A: 对照组; B: 模型组; C: PVE 低剂量组; D: PVE 中剂量组; E: PVE 高剂量组; F: 硫酸镁组。

图 1 Western blot 检测各组大鼠胎盘组织相关蛋白表达

表 4 各组大鼠胎盘组织 p-AMPK/AMPK、p62 及 Nrf2 蛋白相对表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	p-AMPK/ AMPK	p62	Nrf2
对照组	2.12±0.40	2.31±0.42	2.54±0.44
模型组	0.22±0.05 ^a	0.19±0.03 ^a	0.21±0.05 ^a
PVE 低剂量组	0.87±0.12 ^b	0.90±0.15 ^b	0.96±0.21 ^b
PVE 中剂量组	1.55±0.17 ^{bc}	1.61±0.20 ^{bc}	1.70±0.17 ^{bc}
PVE 高剂量组	2.09±0.34 ^{bcd}	2.27±0.13 ^{bcd}	2.50±0.14 ^{bcd}
硫酸镁组	2.10±0.35 ^{bcd}	2.29±0.16 ^{bcd}	2.52±0.18 ^{bcd}

^a: $P < 0.05$, 与对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 PVE 低剂量组比较; ^d: $P < 0.05$, 与 PVE 中剂量组比较。

3 讨论

PE 不仅可损害母体肝、肾功能,若病情未能有效控制,还可诱发脑出血、代谢紊乱、早产等各种并发

症,并明显增加产妇及新生儿的死亡,虽然近年来医疗科技进展迅速,但其发病机制复杂,目前仍无特别安全有效的防治措施,因而 PE 一直是学者亟待解决的临床难点和热点^[13-14]。本文采用皮下注射 L-NAME 的方法诱导建立 PE 大鼠模型,结果显示, L-NAME 可诱导 ROS 大量产生释放,引发严重的氧化应激反应,并导致孕鼠出现高血压及蛋白尿症状,危害胎鼠生长发育,使大鼠平均子代数及平均子代体重降低,妊娠晚期 MAP、24 h 尿蛋白及 BUN 水平升高。本研究结果显示,皮下注射 L-NAME 可较全面的模拟 PE 病理症状,本实验模型构建成功。

研究发现,PE 患者机体抗氧化活性减弱,氧化应激增强,降低氧自由基水平,可抑制氧化应激发生及进展,从而减轻胎盘组织损伤,改善 PE 症状^[15-16]。夏枯草作为一种药食同源植物,能清肝明目、降火祛瘀、散结消肿,在临床中得到了广泛应用,不仅可抑制小胶质细胞活化引发的神经炎症,减轻氧化应激反应,在临床中通过抗炎及抗氧化活性而用于阿尔茨海默病、桥本甲状腺炎等疾病的治疗,还可明显降低老年高血压患者血压,缓解其临床症状^[8-9,17-18]。邓静等^[19]研究表明,夏枯草对酒精诱导的肝损伤大鼠具有很好的保护作用,因而可推测 PVE 可能对 PE 具有较好的治疗作用。本实验以不同剂量 PVE 干预处理 PE 模型大鼠,可降低胎盘组织 ROS 及 MDA 水平,升高胎盘组织 CAT 水平,减轻胎盘氧化应激反应,降低妊娠大鼠血压,并改善大鼠蛋白尿症状,最终提高其平均子代数及平均子代体重。本研究结果表明,PVE 具有良好的抗氧化作用,能明显抑制 ROS 产生释放,增强 PE 大鼠抗氧化水平,降低胎盘氧化应激损伤,保证胎鼠的正常生长发育,提升其生存率,且随 PVE 剂量升高而作用增强。

AMPK/p62/Nrf2 是机体调控氧化应激、细胞代谢与凋亡的重要信号通路,广泛参与介导 PE 的发病及病情进展过程,刺激 AMPK 磷酸化,可促进下游 Nrf2、p62 蛋白分子的表达,明显抑制氧自由基的产生,增强组织细胞抗氧化活性,减轻过氧化氢诱导的滋养层细胞氧化应激损伤,降低母体血压,修复胎盘功能,保证胎儿正常发育生长,改善 PE 临床症状^[5-7,20-21],因而,AMPK/p62/Nrf2 信号可作为 PE 的一个重要治疗靶点。本研究结果显示,PE 模型大鼠胎盘组织 p-AMPK/AMPK、p62 及 Nrf2 蛋白表达水平明显降低,经 PVE 干预处理后,其表达水平均升高,且呈剂量依赖性,表明 AMPK/p62/Nrf2 通路参与介导 PE 的病理过程,PVE 可刺激其激活,减轻孕鼠氧化应激损伤,促使胎鼠发育及存活,并改善 PE 症状。

综上所述,PVE 可增强 AMPK 磷酸化,上调 p62 及 Nrf2 蛋白表达,降低氧自由基水平,提升内源性抗氧化活性,减轻 PE 大鼠胎盘组织氧化应激损伤,降低其血压,减轻蛋白尿症状,改善孕鼠胎盘功能,提升其

子代生存率,减少不良妊娠结局发生,促进 AMPK/p62/Nrf2 信号途径传导可能是其发挥上述药理功效的分子机制。本研究证实了 PVE 对 PE 大鼠具有很好的治疗作用,是本研究的创新点,为 PE 的临床治疗提供了新的候选药物,但本文关于其药理机制的研究还不全面,后续还会进行回复实验进行深入研究。

参考文献

- [1] WRIGHT D, WRIGHT A, NICOLAIDES K H. The competing risk approach for prediction of preeclampsia[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2020, 223(1): 12-23.
- [2] IVES C W, SINKEY R, RAJAPREYAR I, et al. Preeclampsia-Pathophysiology and clinical presentations: JACC State-of-the-Art review [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 76(14): 1690-1702.
- [3] ONAT T, AYDOGAN K D, BASER E, et al. The relationship between oxidative stress and preeclampsia. The serum ischemia-modified albumin levels and thiol/disulfide homeostasis [J]. *Turk J Obstet Gynecol*, 2020, 17(2): 102-107.
- [4] DEER E, VAKA V R, MCMASTER K M, et al. Vascular endothelial mitochondrial oxidative stress in response to preeclampsia: a role for angiotensin II type 1 autoantibodies[J]. *Am J Obstet Gynecol MFM*, 2021, 3(1): 100275-100298.
- [5] LANE S L, HOUCK J A, DOYLE A S, et al. AMP-activated protein kinase activator AICAR attenuates hypoxia-induced murine fetal growth restriction in part by improving uterine artery blood flow[J]. *J Physiol*, 2020, 598(18): 4093-4105.
- [6] PAN Y J, HE L, ZHOU S J, et al. Expression of urotensin II is associated with placental autophagy in patients with severe preeclampsia [J]. *J Hum Hypertens*, 2018, 32(11): 759-769.
- [7] WANG Z, CHEN Z, JIANG Z, et al. Cordycepin prevents radiation ulcer by inhibiting cell senescence via NRF2 and AMPK in rodents[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2538-2554.
- [8] 谭剑斌, 赵敏, 杨杏芬, 等. 夏枯草对氧化应激损伤的保护作用研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(4): 89-94.
- [9] 曾志红, 曾宇芳. 夏枯草汤治疗老年高血压的临床体会[J]. *药品评价*, 2020, 17(2): 26-27.
- [10] 史蔚, 冯伟伟, 谢咸晶, 等. 低分子肝素对子痫前期大鼠炎症反应, 肝功能及胎盘组织 Bcl-2, Bax 蛋白表达的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2021, 21(2): 210-213.
- [11] 田硕, 刘铜华, 孙文, 等. 夏枯草提取物对 2 型糖尿病 ZDF 大鼠肝糖原代谢的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(10): 101-106.
- [12] 彭敏, 胡娅萍, 王莹, 等. 雷公藤红素通过抑制 MMP-9/sFlt-1/TNF- α 减轻子痫前期模型大鼠症状的作用研究[J]. *中国药师*, 2020, 23(1): 5-9.
- [13] RUSSELL R. Preeclampsia and the anaesthesiologist: current management [J]. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2020, 33(3): 305-310.
- [14] TURBEVILLE H R, SASSER J M. Preeclampsia beyond pregnancy: long-term consequences for mother and child[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2020, 318(6): F1315-1326.
- [15] ZHANG Y, LIANG B, MENG F, et al. Effects of Nrf-2 expression in trophoblast cells and vascular endothelial cells in preeclampsia [J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(3): 1006-1021.
- [16] POPOVA I G, SITNIKOVA O G, NAZAROV S B, et al. Evaluation of oxidative stress and antioxidant activity in women with moderate and severe preeclampsia in the third trimester of pregnancy and their newborns[J]. *Klin Lab Diagn*, 2020, 65(12): 733-737.
- [17] 彭壮, 彭莎, 何超平, 等. 夏枯草抗阿尔茨海默病的成分靶点-通路的网络药理学研究[J]. *亚太传统医药*, 2019, 15(12): 151-158.
- [18] 杨云梅, 刘家斌, 侯宁. 夏枯草颗粒对桥本甲状腺炎相关神经系统损害患者氧化应激的影响研究[J]. *中国卫生标准管理*, 2018, 9(20): 100-102.
- [19] 邓静, 李利, 林丽美, 等. 基于代谢组学探讨夏枯草治疗酒精诱导的氧化应激大鼠模型的代谢机制[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(7): 1813-1821.
- [20] WU Y, MI Y, ZHANG F, et al. Suppression of bromodomain-containing protein 4 protects trophoblast cells from oxidative stress injury by enhancing Nrf2 activation[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2021, 40(5): 742-753.
- [21] LU J, JIANG H, LIU B, et al. Grape seed procyanidin extract protects against Pb-induced lung toxicity by activating the AMPK/Nrf2/p62 signaling axis[J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 116(Pt B): 59-69.