

基于 Gadd45 α -p38MAPK 通路研究葛根素对子痫前期大鼠胎盘氧化应激的影响及作用机制

王锋, 徐静, 刘晴, 崔利娜, 付秀虹* (漯河市中心医院妇产科, 河南 漯河 462000)

摘要: 目的 探讨葛根素(puerarin, Pue)通过 Gadd45 α -p38MAPK 通路对子痫前期大鼠的影响及作用机制。方法 孕鼠随机分为对照组、模型组、Pue 低剂量组、Pue 高剂量组、阳性药物组。除对照组外,其余各组自孕 7 d 开始,皮下注射 L-精氨酸甲酯(L-arginine methyl ester, L-NAME)诱导子痫前期。孕 14 d 开始, Pue 低剂量组、Pue 高剂量组分别按 40, 80 mg·kg⁻¹ 体重腹腔注射 Pue 注射液,阳性药物组按 80 mg·kg⁻¹ 体重腹腔注射硫酸镁,对照组和模型组腹腔注射等量生理盐水。分别于孕 13, 17, 21 d 测量大鼠尾动脉压和 24 h 尿蛋白;称取胎盘质量和仔鼠体质量;检测胎盘组织中活性氧(reactive oxygen species, ROS)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和一氧化氮(nitric oxide, NO)浓度;Western blotting 检测胎盘组织相关蛋白表达。结果 与模型组比较, Pue 低剂量组、Pue 高剂量组和阳性药物组孕 17, 21 d 尾动脉压和 24 h 尿蛋白含量、胎盘组织中 ROS、MDA 水平降低,胎盘质量、胎盘组织中 NO 水平升高,胎盘组织中 Gadd45 α -p-p38MAPK 蛋白相对表达量降低($P<0.05$)。结论 Pue 对子痫前期大鼠具有降血压作用,可减少氧化应激损伤,改善相关症状,可能通过抑制 Gadd45 α /p38MAPK 信号通路发挥作用。

关键词: 子痫前期; 葛根素; 氧化应激

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2022)16-2090-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.16.007

引用本文: 王锋, 徐静, 刘晴, 等. 基于 Gadd45 α -p38MAPK 通路研究葛根素对子痫前期大鼠胎盘氧化应激的影响及作用机制[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(16): 2090-2095.

Study on the Effect and Mechanism of Puerarin on Placenta Oxidative Stress in Rats with Preeclampsia Based on Gadd45 α -p38MAPK Pathway

WANG Feng, XU Jing, LIU Qing, CUI Lina, FU Xiuhong* (Department of Obstetrics and Gynecology, Luohe Central Hospital, Luohe 462000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the effect of puerarin(Pue) on preeclampsia rats through Gadd45 α -p38 MAPK pathway and its mechanism. **METHODS** Pregnant rats were randomly divided into control group, model group, Pue low-dose group, Pue high-dose group, and positive drug group. Except for the control group, the other groups received subcutaneous injection of L-arginine methyl ester(L-NAME) from the 7th day of pregnancy to induce preeclampsia. From the 14th day of pregnancy, Pue low-dose group and Pue high-dose group were injected intraperitoneally with Pue injection at 40, 80 mg·kg⁻¹ respectively according to body weight, and the positive drug group was injected with magnesium sulfate intraperitoneally at 80 mg·kg⁻¹ according to body weight, the same amount of saline was injected intraperitoneally in control group and model group. Rats tail artery pressure and 24 h urine protein on 13th, 17th, and 21st gestation days were measured. The weight of placenta and offspring were weighed, reactive oxygen species(ROS), malondialdehyde(MDA) and nitric oxide (NO) were detected. Western blotting was used to detect the expression of placental tissue-related proteins. **RESULTS** Compared with the model group, 17, 21 d tail artery pressure and 24 h urine protein content, ROS and MDA levels in placental tissue decreased, placenta weight, NO levels in placental tissue increased, Gadd45 α and p-p38MAPK protein expression in placental tissue decreased in Pue low-dose group, Pue high-dose group and positive drug group($P<0.05$). **CONCLUSION** Pue has a hypotensive effect on preeclampsia rats, can reduce oxidative stress damage and improve related symptoms, and may play an effect by inhibiting Gadd45 α /p38MAPK signaling pathway.

KEYWORDS: preeclampsia; puerarin; oxidative stress

子痫前期是一种常见妊娠期并发症,以妊娠 20 周后发生高血压、蛋白尿和水肿为主要特征,可涉及多器官结构和功能损害,是引起孕产妇及

胎儿死亡的主要原因之一^[1]。子痫前期尚不能预防,目前临床主要以降压、扩容、镇静、解痉以及补充蛋白等对症手段进行治疗,并适时终止妊

作者简介:王锋,男,硕士,副主任医师 E-mail: qingqing_6@aliyun.com

*通信作者:付秀红,女,主任医师 E-mail: fxx0430@sina.com

娠,但总体治疗效果差,治标不治本^[2]。临床研究显示,胎盘组织氧化应激反应通过对内皮损伤造成胎盘灌注减少,在子痫前期中发挥重要作用,通过补充抗氧化剂可降低高危孕妇产前发病率^[3]。鉴于子痫前期孕妇体内氧化应激损伤水平升高,从抗氧化应激角度防治发病对临床治疗有重要意义。葛根素(puerarin, Pue)是一种异黄酮类衍生物,具有抗氧化、改善微循环、抗血栓形成、解痉等多种生物活性和广泛药理作用,临床常用于治疗血管性疾病,可改善心脑血管病及神经性疾病缺血缺氧状态,抑制过氧化损伤^[4-5]。Gadd45 α 参与细胞凋亡、DNA 修复等,与 p38 MAPK 在子痫前期发生发展过程中发挥重要作用。Pue 可改善氧化应激,但其在子痫前期中的作用机制尚不明确,是否通过 Gadd45 α -p38MAPK 通路发挥作用尚未见报道,鉴于此,本研究通过建立子痫前期大鼠模型,观察 Pue 对子痫前期胎盘氧化应激的影响及其可能作用机制,期望为临床防治该病提供新的选择和理论参考。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级 SD 大鼠,10 周龄,♂,25 只,体质量(280±20)g;♀,50 只,体质量(260±10)g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(京)2016-0011。大鼠购入后于温度(24±2)℃,相对湿度(55±10)%,通风环境中适应性饲养 7 d,正常饲喂饮水。

1.2 试剂和仪器

BL-410 血压测量仪(成都泰盟科技有限公司);CFX96 型实时荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司);Fisher Biotech 电泳仪(美国赛默飞世尔公司)。

Pue 注射液(扬子江药业有限公司,批号:190213;规格:25 mg·mL⁻¹);硫酸镁(批号:10034-99-8)、L-精氨酸甲酯(L-arginine methyl ester, L-NAME)(批号:S-N5751-25G)均购自美国 Sigma 公司;活性氧(reactive oxygen species, ROS)试剂盒(批号:190118)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒(批号:181229)、一氧化氮(nitric oxide, NO)试剂盒(批号:190327)均购自南京建成生物工程研究所;兔抗大鼠 Gadd45 α 多抗(美国 Millipore 公司,批号:ZY534Hu011);兔抗大鼠 p38MAPK 多抗(批号:ab221012)、p-p38MAPK 多抗(批号:ab254122)均购自美国 Abcam 公司;山羊抗兔 IgG-HRP(北京

中杉金桥生物技术有限公司,批号:ZB2306)。

1.3 模型建立及分组

将 50 只发情期雌鼠与雄鼠按 2:1 比例合笼饲养,以阴道栓脱落当日记为妊娠 1 d,孕鼠随机分为对照组、模型组、Pue 低剂量组、Pue 高剂量组、阳性药物组,每组各 10 只孕鼠。除对照组外,其余各组自孕 7 d 开始,按 100 mg·kg⁻¹体质量皮下注射 L-NAME,每日 1 次,连续给药至孕 21 d,孕 13 d 检测尾动脉压和尿蛋白显著高于孕 7 d,表示建模成功^[6],模型组和 Pue 低剂量组各有 1 只建模不成功大鼠。对照组孕鼠皮下注射等量生理盐水。

1.4 干预方法

自孕 14 d 开始,根据人与大鼠体表面积折算用药量,Pue 低剂量组、Pue 高剂量组分别按 40, 80 mg·kg⁻¹体质量腹腔注射葛根素注射液,阳性药物组按 80 mg·kg⁻¹体质量腹腔注射硫酸镁,对照组和模型组腹腔注射等量生理盐水,每日 1 次,各组均连续干预至孕 21 d。

1.5 测定大鼠尾动脉血压及 24 h 尿蛋白

分别于孕 13, 17, 21 d 将大鼠固定于 35℃ 的恒温箱中,使用血压仪测量孕鼠尾动脉血压,每只孕鼠测量 6 次,弃前 3 次数值,取后 3 次均值。测完血压后,收集 24 h 蛋白尿,采用比色法测定尿蛋白浓度。

1.6 胎盘及仔鼠相关指标检测

末次测完 24 h 尿蛋白,行剖宫产术,称取胎盘质量和仔鼠体质量,取部分胎盘组织,研磨制成组织匀浆,4℃ 条件下 12 000 r·min⁻¹(离心半径 12 cm)离心 30 min,留取上清,按照试剂盒操作步骤,胎盘组织中 ROS、MDA 和 NO 分别采用硫代巴比妥酸法、光泽精法以及硝酸还原酶法测定。

1.7 Western blotting 检测胎盘组织相关蛋白表达

部分胎盘组织置于液氮中保存。取液氮保存胎盘组织 70 mg,冰上研磨,加入 RIPA 裂解液,离心取上清,BCA 法测定蛋白含量,蛋白沸水浴中加热 5 min,上样,进行 SDS-PAGE 电泳,停止电泳后,转至 PVDF 膜,加入封闭液室温孵育 2 h,分别滴加稀释后的一抗[Gadd45 α (1:800)、p38MAPK(1:1 000)、p-p38MAPK(1:1 000)],4℃ 冰箱过夜,TBST 溶液洗膜,加入稀释后的 IgG-HRP 二抗(1:2 000),37℃ 孵育 1 h, TBST

溶液洗膜,滴加 ECL 液,充分反应后,曝光采集图片,采用 Image 软件分析各蛋白条带吸光度值,目的蛋白相对表达水平以其与内参条带灰度比值表示。

1.8 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多样本计量资料比较采用单因素方差分析,两两样本比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠不同时间尾动脉压比较

孕 17, 21 d 尾动脉压组间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组比较,模型组、Pue 低剂量组、Pue 高剂量组和阳性药物组 17, 21 d 尾动脉压升高($P < 0.05$);与模型组比较,Pue 低剂量组、Pue 高剂量组和阳性药物组 17, 21 d 尾动脉压降低($P < 0.05$);与 Pue 低剂量组比较,Pue 高剂量组和阳性药物组 17, 21 d 尾动脉压降低($P < 0.05$);Pue 高剂量组和阳性药物组 17, 21 d 尾动脉压比较,差异无统计学意义。模型组、Pue 低

剂量组尾动脉压随着时间延长而升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);其他组尾动脉压随时间变化差异无统计学意义。各组大鼠 13 d 尾动脉压比较,差异无统计学意义。结果见表 1。

2.2 各组大鼠不同时间 24 h 尿蛋白含量比较

孕 17, 21 d 的 24 h 尿蛋白含量组间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组比较,模型组、Pue 低剂量组、Pue 高剂量组和阳性药物组 17, 21 d 的 24 h 尿蛋白含量升高($P < 0.05$);与模型组比较,Pue 低剂量组、Pue 高剂量组和阳性药物组 17, 21 d 的 24 h 尿蛋白含量降低($P < 0.05$);与 Pue 低剂量组比较,Pue 高剂量组和阳性药物组 17, 21 d 的 24 h 尿蛋白含量降低($P < 0.05$);Pue 高剂量组和阳性药物组 17, 21 d 的 24 h 尿蛋白含量比较,差异无统计学意义。各组大鼠 13 d 的 24 h 尿蛋白比较,差异无统计学意义。模型组 24 h 尿蛋白含量在造模后随着时间延长而升高,Pue 低剂量组、Pue 高剂量组和阳性药物组造模后 24 h 尿蛋白含量先升高后逐渐降低,维持在较低水平,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果见表 2。

表 1 各组大鼠不同时间尾动脉压比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of tail artery pressure in different groups of rats at different times($\bar{x} \pm s$)		mmHg		
组别	<i>n</i>	13 d	17 d	21 d
对照组	10	109.16±11.25	109.37±12.26	110.74±11.53
模型组	9	110.28±12.17	139.45±13.17 ¹⁾⁴⁾	154.28±15.76 ¹⁾⁴⁾⁵⁾
Pue 低剂量组	9	110.15±11.62	126.97±12.15 ¹⁾²⁾⁴⁾	137.57±12.48 ¹⁾²⁾⁴⁾⁵⁾
Pue 高剂量组	10	109.10±12.45	114.26±13.42 ¹⁾²⁾³⁾	121.49±13.36 ¹⁾²⁾³⁾
阳性药物组	10	110.89±12.28	114.77±12.85 ¹⁾²⁾³⁾	120.97±12.59 ¹⁾²⁾³⁾
<i>F</i> 值		0.040	8.382	15.360
<i>P</i> 值		0.997	0.011	0.000

注:与对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较,²⁾ $P < 0.05$;与 Pue 低剂量组比较,³⁾ $P < 0.05$;与 13 d 比较,⁴⁾ $P < 0.05$;与 17 d 比较,⁵⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with model group, ²⁾ $P < 0.05$; compared with Pue low dose group, ³⁾ $P < 0.05$; compared with 13 d, ⁴⁾ $P < 0.05$; compared with 17 d, ⁵⁾ $P < 0.05$.

表 2 各组大鼠不同时间 24 h 尿蛋白含量比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of 24 h urine protein content in different groups of rats at different times($\bar{x} \pm s$)		mg·L ⁻¹		
组别	<i>n</i>	13 d	17 d	21 d
对照组	10	142.58±17.12	141.26±18.03	143.55±17.87
模型组	9	141.26±20.76	346.58±30.26 ¹⁾⁴⁾	368.49±31.28 ¹⁾⁴⁾⁵⁾
Pue 低剂量组	9	143.28±21.26	324.79±28.59 ¹⁾²⁾⁴⁾	264.77±25.57 ¹⁾²⁾⁴⁾⁵⁾
Pue 高剂量组	10	141.87±18.93	305.83±29.53 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	176.29±24.63 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾
阳性药物组	10	142.59±21.48	301.72±27.61 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	172.25±26.74 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾
<i>F</i> 值		0.014	81.662	119.216
<i>P</i> 值		1.000	0.000	0.000

注:与对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较,²⁾ $P < 0.05$;与 Pue 低剂量组比较,³⁾ $P < 0.05$;与 13 d 比较,⁴⁾ $P < 0.05$;与 17 d 比较,⁵⁾ $P < 0.05$ 。Note:

Compared with control group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with model group, ²⁾ $P < 0.05$; compared with Pue low dose group, ³⁾ $P < 0.05$; compared with 13 d, ⁴⁾ $P < 0.05$; compared with 17 d, ⁵⁾ $P < 0.05$.

2.3 胎盘质量和仔鼠体质量比较

胎盘质量、仔鼠体质量组间比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组比较, 模型组、Pue 低剂量组、Pue 高剂量组和阳性药物组胎盘质量降低($P<0.05$); 与模型组比较, Pue 低剂量组、Pue 高剂量组和阳性药物组胎盘质量升高($P<0.05$); 与 Pue 低剂量组比较, Pue 高剂量组和阳性药物组胎盘质量升高($P<0.05$); Pue 高剂量组和阳性药物组胎盘质量比较, 差异无统计学意义。模型组仔鼠体质量低于对照组、Pue 低剂量组、Pue 高剂量组和阳性药物组($P<0.05$); 对照组、Pue 低剂量组、Pue 高剂量组和阳性药物组仔鼠体质量比较, 差异无统计学意义。结果见表 3。

表 3 胎盘质量和仔鼠体质量比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of placenta mass and offspring body mass($\bar{x} \pm s$) g

组别	n	胎盘质量	仔鼠体质量
对照组	10	0.69±0.07	5.31±0.55
模型组	9	0.42±0.04 ¹⁾	4.03±0.45 ¹⁾
Pue 低剂量组	9	0.49±0.05 ¹⁾²⁾	4.87±0.49 ²⁾
Pue 高剂量组	10	0.57±0.06 ¹⁾²⁾³⁾	4.98±0.53 ²⁾
阳性药物组	10	0.58±0.07 ¹⁾²⁾³⁾	5.03±0.52 ²⁾
F 值		26.875	4.786
P 值		0.000	0.000

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$; 与 Pue 低剂量组比较, ³⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$; compared with Pue low dose group, ³⁾ $P<0.05$ 。

2.4 胎盘组织中 ROS、MDA、NO 水平比较

胎盘组织中 ROS、MDA 和 NO 水平组间比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组比较, 模型组、Pue 低剂量组、Pue 高剂量组和阳性药物组胎盘组织中 ROS、MDA 含量升高, NO 水平下降($P<0.05$); 与模型组比较, Pue 低剂量组、Pue 高剂量组和阳性药物组胎盘组织中 ROS、MDA 水平

降低, NO 水平升高($P<0.05$); 与 Pue 低剂量组比较, Pue 高剂量组和阳性药物组胎盘组织中 ROS、MDA 水平降低, NO 水平升高($P<0.05$); Pue 高剂量组和阳性药物组胎盘组织中 ROS、MDA 和 NO 水平比较, 差异无统计学意义。结果见表 4。

2.5 胎盘组织中 Gadd45α、p38MAPK、p-p38MAPK 蛋白相对表达水平比较

胎盘组织中 Gadd45α、p-p38MAPK 蛋白相对表达量组间比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组比较, 模型组、Pue 低剂量组、Pue 高剂量组和阳性药物组胎盘组织中 Gadd45α、p-p38MAPK 蛋白相对表达量升高($P<0.05$); 与模型组比较, Pue 低剂量组、Pue 高剂量组和阳性药物组胎盘组织中 Gadd45α、p-p38MAPK 蛋白相对表达量降低($P<0.05$); 与 Pue 低剂量组比较, Pue 高剂量组和阳性药物组胎盘组织中 Gadd45α、p-p38MAPK 蛋白相对表达量降低($P<0.05$); Pue 高剂量组和阳性药物组胎盘组织中 Gadd45α、p-p38MAPK 蛋白相对表达量比较, 差异无统计学意义。各组胎盘组织中 p38MAPK 相对表达量比较, 差异无统计学意义。结果见图 1, 表 5。

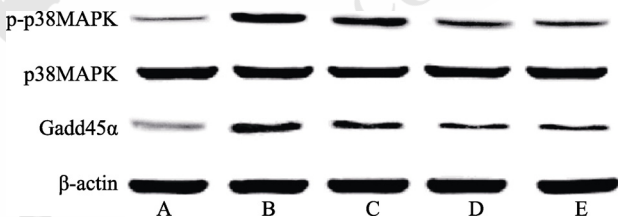


图 1 胎盘组织中 Gadd45α、p38MAPK、p-p38MAPK 蛋白表达电泳图

A-对照组; B-模型组; C-Pue 低剂量组; D-Pue 高剂量组; E-阳性药物组。

Fig. 1 Gadd45α, p38MAPK, p-p38MAPK protein expression in placenta tissue

A-control group; B-model group; C-Pue low dose group; D-Pue high dose group; E-positive drug group.

表 4 各组大鼠胎盘组织中 ROS、MDA、NO 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of ROS, MDA and NO levels in placenta tissues of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ROS/RLU·min ⁻¹ ·g ⁻¹	MDA/nmol·g ⁻¹	NO/μmol·g ⁻¹
对照组	10	146.58±23.28	163.78±23.49	37.62±3.58
模型组	9	325.74±33.15 ¹⁾	343.25±35.26 ¹⁾	16.46±2.31 ¹⁾
Pue 低剂量组	9	269.56±30.23 ¹⁾²⁾	273.67±31.22 ¹⁾²⁾	22.68±2.85 ¹⁾²⁾
Pue 高剂量组	10	193.24±25.64 ¹⁾²⁾³⁾	219.51±23.38 ¹⁾²⁾³⁾	29.53±3.27 ¹⁾²⁾³⁾
阳性药物组	10	197.57±26.48 ¹⁾²⁾³⁾	213.72±25.75 ¹⁾²⁾³⁾	30.12±3.36 ¹⁾²⁾³⁾
F 值		58.934	53.848	60.930
P 值		0.000	0.000	0.000

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$; 与 Pue 低剂量组比较, ³⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$; compared with Pue low dose group, ³⁾ $P<0.05$ 。

表 5 胎盘组织中 Gadd45α、p38MAPK、p-p38MAPK 蛋白相对表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 5 Comparison of relative expression levels of Gadd45α, p38MAPK and p-p38MAPK protein in placenta tissues ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Gadd45α	p38MAPK	p-p38MAPK
对照组	10	0.36±0.04	0.95±0.09	0.26±0.04
模型组	9	0.83±0.09 ¹⁾	0.96±0.10	0.81±0.08 ¹⁾
Pue 低剂量组	9	0.67±0.00 ¹⁾²⁾	0.97±0.09	0.57±0.06 ¹⁾²⁾
Pue 高剂量组	10	0.52±0.06 ¹⁾²⁾³⁾	0.95±0.10	0.45±0.05 ¹⁾²⁾³⁾
阳性药物组	10	0.51±0.07 ¹⁾²⁾³⁾	0.93±0.09	0.46±0.04 ¹⁾²⁾³⁾
F 值		63.120	0.247	118.504
P 值		0.000	0.910	0.000

注: 与对照组比较, ¹⁾P<0.05; 与模型组比较, ²⁾P<0.05; 与 Pue 低剂量组比较, ³⁾P<0.05。

Note: Compared with control group, ¹⁾P<0.05; compared with model group, ²⁾P<0.05; compared with Pue low dose group, ³⁾P<0.05.

3 讨论

子痫前期是妊娠期特发性高血压疾病, 其病因和病机尚不完全清楚, 与免疫调节、内皮损伤、遗传等多种因素有关, 氧化应激参与胎盘滋养层细胞侵袭及血管重塑过程, 被认为是引起该病的主要因素之一^[7-8]。机体正常情况下维持着氧化/抗氧化动态平衡, 子痫前期患者胎盘产生活性多肽物质增加, 加之氧化应激反应产生过多 ROS 沉积于血管内皮, 导致氧化/抗氧化状态失衡, 引起血管损伤及功能障碍, 进而发展为子痫前期^[9]。通过探讨氧化应激损伤在子痫前期中的发病机制及其在病理过程中的作用, 使用合理的抗氧化剂以减少氧化应激损伤对患者的影响, Pue 具有抗氧化作用, 其作为抗氧化剂治疗子痫前期氧化应激损伤, 能够从病因入手, 发挥抗氧化作用。

妊娠期胎盘代谢功能旺盛, 耗氧量增加, 产生 ROS 增多, 介导氧化应激反应, 胎盘滋养层细胞及内皮细胞氧化损伤后产生 MDA 增多, MDA 含量可反映氧化损伤程度。NO 具有舒张血管并抑制血小板聚集的作用, 发生氧化应激后, 血管内皮受损, NO 合成减少。子痫前期患者对自由基的清除效率及抗氧化酶活性较正常孕妇低, 导致其抗氧化防御能力降低, 引起一系列妊娠高血压反应^[10]。通过补充抗氧化剂可中和 ROS 造成的氧化损伤, 提高患者抗氧化能力, 减轻氧化应激, 改善妊娠和胎儿结局。Pue 可抑制细胞内氧化应激水平发挥抗氧化作用, 用于治疗盐敏感性高血压大鼠, 可明显降低血压, 改善血管内皮功能^[11]。加入 Pue 培养缺氧状态人肝癌细胞, 可明显降低细

胞中 MDA 含量, 增加 SOD 含量^[12]。另外, Pue 可减轻糖尿病大鼠炎症反应, 减少氧化应激, 阻止糖尿病白内障的发展^[13]。本研究模型组尾动脉压、24 h 尿蛋白、胎盘组织中 ROS 及 MDA 水平显著高于对照组, 表明模型复制成功且存在明显过氧化损伤, 经 Pue 治疗后, 大鼠尾动脉压和尿蛋白明显下降, 胎盘质量和仔鼠体质量明显增加, ROS、MDA 水平下降, NO 水平升高, 且 Pue 高剂量组与阳性药物组效果相当, 提示 Pue 对子痫前期大鼠具有一定抗氧化作用, 可有效改善子痫前期血管内皮功能。

子痫前期患者胎盘中 p38MAPK 表达高于正常妊娠孕妇, p38MAPK 表达增加可调节血管内皮生长因子表达, 参与胎盘螺旋动脉重塑^[14]。Gadd45α 是 DNA 损伤后诱导表达的基因之一, p38MAPK 通路是 Gadd45α 发挥生物学作用的关键信号通路之一, 机体受到氧化应激等因素刺激后, Gadd45α 可活化下游 p38MAPK 为 p-p38MAPK, 损伤内皮血管, 抑制滋养层细胞的侵袭能力, 导致滋养层细胞侵袭力不足, 促进子痫前期发生^[15-16]。既往研究证实, 子痫前期胎盘组织中 Gadd45α 表达明显上调, 负性调控滋养层细胞生物学功能, 敲降 Gadd45α 对滋养层细胞侵袭和迁移具有促进作用^[17]。Pue 可通过抗氧化作用改善子痫前期大鼠相关症状, 但其是否通过调节 Gadd45α-p38MAPK 通路尚需明确, 本研究进一步采用 Western blotting 检测各组大鼠胎盘中 Gadd45α、p38MAPK、p-p38MAPK 蛋白表达, 结果显示, 模型组 Gadd45α、p-p38MAPK 蛋白表达较对照组显著升高, 表明 p38MAPK 被激活, 经 Pue 治疗后 Gadd45α、p-p38MAPK 蛋白表达明显下降, 提示 Pue 可抑制子痫前期大鼠体内 Gadd45α-p38MAPK 通路激活, 其对大鼠妊娠高血压症状改善作用及抗氧化应激作用, 可能与调控 Gadd45α-p38MAPK 通路关键蛋白表达有关。

综上所述, Pue 对子痫前期大鼠具有降血压作用, 可减少氧化应激损伤, 改善高血压相关症状, 可能是通过抑制 Gadd45α-p38MAPK 信号通路发挥改善作用, 为临床治疗子痫前期提供理论依据。

REFERENCES

- [1] WANG X, YUAN R. Effects of nifedipine combined with enoxaparin sodium on hypertension during pregnancy in

- patients with severe preeclampsia[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2020, 37(1): 91-95.
- [2] REDMAN E K, HAUSPURG A, HUBEL C A, et al. Clinical course, associated factors, and blood pressure profile of delayed-onset postpartum preeclampsia[J]. Obstet Gynecol, 2019, 134(5): 995-1001.
 - [3] TENÓRIO M B, FERREIRA R C, MOURA F A, et al. Oral antioxidant therapy for prevention and treatment of preeclampsia: Meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2018, 28(9): 865-876.
 - [4] WANG Q F, WU Y P, XIANG F T, et al. Effects of puerarin on the pharmacokinetics of triptolide in rats[J]. Pharm Biol, 2019, 57(1): 407-411.
 - [5] ZHANG T, ZHANG H, SONG X F, et al. Protective effects of puerarin on high glucose-induced oxidative injury in HUVEC-12 cells[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2018, 40(6): 1248-1252.
 - [6] VAKA V R, MCMASTER K M, CUNNINGHAM M W, et al. Role of mitochondrial dysfunction and reactive oxygen species in mediating hypertension in the reduced uterine perfusion pressure rat model of preeclampsia[J]. Hypertens Dallas Tex, 2018, 72(3): 703-711.
 - [7] HOBSON S R, GURUSINGHE S, LIM R, et al. Melatonin improves endothelial function *in vitro* and prolongs pregnancy in women with early-onset preeclampsia[J]. J Pineal Res, 2018, 65(3): e12508.
 - [8] HARAM K, MORTENSEN J H, MYKING O, et al. The role of oxidative stress, adhesion molecules and antioxidants in preeclampsia[J]. Curr Hypertens Rev, 2019, 15(2): 105-112.
 - [9] ERLANDSSON L, DUCAT A, CASTILLE J, et al. Alpha-1 microglobulin as a potential therapeutic candidate for treatment of hypertension and oxidative stress in the STOX1 preeclampsia mouse model[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 8561.
 - [10] OSUNKALU V O, TAIWO I A, MAKWE C C, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase enzyme level and antioxidant activity in women with gestational hypertension and pre-eclampsia in Lagos, Nigeria[J]. J Obstet Gynaecol India, 2019, 69(4): 317-324.
 - [11] TAN C, WANG A, LIU C, et al. Puerarin improves vascular insulin resistance and cardiovascular remodeling in salt-sensitive hypertension[J]. Am J Chin Med, 2017, 45(6): 1169-1184.
 - [12] WU Z, KAN S, LI C, et al. Effect of puerarin on apoptosis of human hepatocellular carcinoma cells under oxidative stress and its mechanisms[J]. J Buon, 2019, 24(2): 628-633.
 - [13] ZHANG D Z, LI M. Puerarin prevents cataract development and progression in diabetic rats through Nrf2/HO-1 signaling[J]. Mol Med Report, 2019, 20(2): 1017-1024.
 - [14] ALESE M O, MOODLEY J, NAICKER T A. Signalling of ERK1/2, P38MAPK and P90RSK in HIV-associated pre-eclampsia[J]. J Obstet Gynaecol, 2019, 39(5): 612-618.
 - [15] HORI T, SAITO K, MOORE R, et al. Nuclear receptor CAR suppresses GADD45B-p38 MAPK signaling to promote phenobarbital-induced proliferation in mouse liver[J]. Mol Cancer Res, 2018, 16(8): 1309-1318.
 - [16] HAN Z, GAO Y L, LI Z F, et al. Effect of tanshinone II A on the expressions of GADD45 α , activator protein-1 and signaling pathway phosphorylation level in HaCaT cells induced by ultraviolet B irradiation[J]. J Chin Pract Diagn Ther(中华实用诊断与治疗杂志), 2018, 32(4): 323-326.
 - [17] LIU X, DENG Q, LUO X, et al. Oxidative stress-induced Gadd45 α inhibits trophoblast invasion and increases sFlt1/SEng secretions via p38 MAPK involving in the pathology of pre-eclampsia[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2016, 29(23): 3776-3785.

收稿日期: 2021-08-18

(本文责编: 陈怡心)