

血必净对脓毒症大鼠肾脏细胞凋亡及相关蛋白表达的影响

孙雪东, 严一核, 褚韦韦, 张亦婷, 应利君(绍兴市人民医院, 浙江 绍兴 312000)

摘要: **目的** 探讨早期应用血必净对脓毒症导致急性肾损伤后肾小管细胞凋亡的影响, 及凋亡相关蛋白 Bcl-2 和 Bax 表达的变化。**方法** 54 只 SD 大鼠, ♂, 随机分为假手术组、脓毒症组、血必净组, 每组 18 只; 各组再分为 3 个亚组, 每组 6 只。根据实验要求分别以术后 12, 24, 48 h 作为时间观察点, 在各时间点检测大鼠的血液生化指标, 测定肾脏血流, 并留取肾脏组织观察病理学变化, 测定肾小管损伤评分, 采用原位末端标记法测定肾小管凋亡细胞, 并计算积分光密度值(IOD)。采用免疫印迹法测定 Bcl-2、Bax 的变化。**结果** 血必净组能明显改善肾功能, 稳定血流动力学, 减轻组织病理学变化, 减少肾小管细胞凋亡, 肾小管损伤评分和 IOD 值与脓毒症组相比有显著差异($P<0.01$)。同时, 血必净组能升高 Bcl-2 的表达, 抑制 Bax 的表达, 保持 Bcl-2/Bax 的平衡, 与脓毒症组相比有显著差异($P<0.01$)。**结论** 早期应用血必净可以减少肾小管细胞在脓毒症进程中的凋亡, 改善脓毒症导致急性肾损伤的病理学改变, 保持 Bcl-2/Bax 的平衡, 减轻脓毒症导致的肾损伤。

关键词: 血必净; 脓毒症; 急性肾损伤; 凋亡; Bcl-2/Bax

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2017)02-0210-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.02.013

Effects of Xuebijing Injection on Tubular Apoptosis and Associated Protein Expression in Sepsis Induced Acute Kidney Injure Rats

SUN Xuedong, YAN Yihe, CHU Weiwei, ZHANG Yiting, YING Lijun(Shaoxing People's Hospital, Shaoxing 312000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of early application of Xuebijing injection in sepsis induced acute kidney injure(SI-AKI) by observing tubular apoptosis and Bcl-2/Bax expression. **METHODS** Fifty-four male SD rats were randomly divided into 3 groups: sham group (sham), sepsis group and Xuebijing group, eighteen rats in each group. Each group were divided into 3 sub-groups, six rats in each group. After model was established, the phases of 12, 24, 48 h were respectively regarded as observation point, and blood biochemical parameters, renal blood flow, renal pathological changes and renal tubular injury scores were measured; renal tubular cell apoptosis was determined by TUNEL method and integrated optical density (IOD) was calculated. The expressions of Bcl-2 and Bax were detected by Western blot. **RESULTS** Xuebijing injection could significantly improve renal function, hemodynamics of kidney, pathological changes and reduce tubular cell apoptosis. Tubular damage scores and the IOD had a significant difference in Xuebijing group compared with CLP group($P<0.01$). Meanwhile, Xuebijing injection could increase the expression of Bcl-2, and inhibit the Bax, keep the balance of Bcl-2/Bax ratio; there were significant differences($P<0.01$) in Xuebijing group compared with sepsis group. **CONCLUSION** Early application of Xuebijing injecton may improve renal dysfunction and the pathological changes, reduce the tubular cell apoptosis, keep the balance of Bcl-2/ Bax ratio in SI-AKI.

KEY WORDS: Xuebijing; sepsis; acute kidney injury; apoptosis; Bcl-2/Bax

尽管重症医学飞速发展, 严重脓毒症和脓毒性休克仍然是 ICU 内患者的主要死因, 其死亡率高达 25%~80%^[1]。由于细胞通路产生大量炎症因子的瀑布样作用, 传统的治疗方法往往疗效甚微。近年来, 细胞的异常调节和凋亡已经被认为是脓毒症的主要致病和致死的原因。严重脓毒症往往引起多脏器功能不全, 细胞凋亡通路的激活被认为是导致早期急性脓毒性肾损伤的重要原因^[2]。目前研究证明血必净有肾脏保护作用, 但未从细胞

凋亡的角度进一步深入研究。本研究从细胞凋亡的角度出发, 研究相关蛋白 Bcl-2、Bax 表达的变化, 进一步研究血必净对脓毒性急性肾损伤(sepsis induced acute kidney injure, SI-AKI)的保护作用, 并探讨可能的机制。

1 材料

1.1 动物

清洁级 SD 大鼠, ♂, 体质量(200±20)g, 由浙江大学医学院实验动物中心提供和饲养, 合格证号:

基金项目: 绍兴市科技计划(2014B70066)

作者简介: 孙雪东, 男, 硕士, 副主任医师

Tel: (0575)88229323

E-mail: drsxd@tom.com

SYXK(浙)2010-0126。实验造模前适应性饲养 1 周, 本实验通过医院伦理委员会论证。

1.2 仪器

7600 型全自动生化分析仪(日本日立); AJ210A 型玻璃匀浆器(上海实生生物); ML191 型激光多普勒血流仪(澳大利亚 ADI); ALLEGRA X-12 型低温高速离心机(美国 BECKMAN)。

1.3 药物

血必净注射液(天津红日药业, 每支 10 mL, 国药准字 Z2004003); 戊巴比妥(浙江震元医药, 批号: S0803511)。

1.4 试剂

原位细胞死亡检测(TUNEL)试剂盒(德国 Roche-Mannheim, 批号: 20120507); Bax、Bcl-2、 β -actin(美国 Santa Cruz, 批号分别为 20121223, 20121223 和 20130326), RIPA 裂解液, ECL 试剂显色(杭州益生科技, 批号: 20130908, 20110301)。

2 方法

2.1 动物分组和脓毒症模型的制备

参照相关文献以盲肠接扎穿孔(cecal ligation and puncture, CLP)法制造脓毒症模型^[3]。分假手术组、脓毒症组、血必净组, 每组 18 只; 各组分为 3 个亚组, 每组 6 只, 根据实验要求分别以术后 12, 24, 48 h 作为时间观察点。CLP 后 0.5 h 以大鼠精神软弱, 活动减少, 毛色杂乱无光泽, 呼吸稍促, 喜饮水, 解稀便作为动物模型成功的判定标准。

2.2 给药

假手术组麻醉后开腹翻动肠道, 随即关腹; 脓毒症组和血必净组术后 0.5 h 分别尾静脉注射生理盐水(normal saline, NS)或血必净注射液 $4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。所有大鼠在手术后都常规予以注射 NS $30 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 进行液体复苏。之后每 12 h 对脓毒症组和血必净组分别予以 NS 或血必净注射液 $4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 进行治疗。

2.3 标本留取

各亚组大鼠在手术后 12, 24, 48 h 观察点用戊巴比妥($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)对大鼠进行腹腔注射麻醉, 破腹暴露肾脏并测定肾脏血流, 记录血流灌注(blood perfusion unit, PBU)情况, 对腹主动脉采血, 并收集上述各亚组大鼠各时间观察点的尿量。最后摘取肾脏, 液氮冷冻后转至 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存备用。

2.4 生化指标测定

血液标本用全自动生化仪测血肌酐(sCr, $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、血尿素氮(BUN, $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$); 用 $\text{CrCl}_2 = \text{UV}/\text{P}$ 计算肌酐清除率, 其中 U 代表尿肌酐(uCr, $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), V 代表每分钟尿量($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$), P 代表血浆肌酐(sCr, $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); CrCl_2 予以体质量进行矫正, 用 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$ 表示。

2.5 病理组织学观察

对肾脏组织常规固定、脱水、石蜡包埋、切片和 HE 染色。在光镜下利用盲法原则观察病理结果, 作半定量分析进行肾小管损伤评分。肾小管损伤定义为: 肾小管退化、空泡变性, 管型形成, 小管坏死和炎症浸润。评分标准: 0 分, 正常组织; 1 分, 单细胞、点灶性坏死; 2 分, 小管受损面积 $<25\%$; 3 分, 小管受损面积 $25\% \sim 50\%$; 4 分, 小管受损面积 $50\% \sim 75\%$; 肾小管受损面积 $>50\%$ ^[4]。

2.6 肾脏细胞凋亡检测

按 TUNEL 试剂盒说明进行操作: 对石蜡切片常规脱蜡脱水, 用蛋白酶 K 孵育, 标记, 信号转化和分析。荧光染色后 TUNEL 阳性细胞即凋亡细胞被染色, 荧光显微镜下显示为亮绿色, 用 Image-Pro Plus-6.0 软件对图像的积分光密度值(integrated optical density, IOD)进行盲法分析。

2.7 凋亡相关蛋白检测

取肾脏髓质 40 mg 在 $400 \mu\text{L}$ 的 RIPA 裂解液中进行匀浆, 然后在 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 下离心 15 min ($12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 2 次), 除去未破裂的细胞、细胞核和线粒体。细胞上清液转移到新的试管, 测定总蛋白浓度。所有细胞上清液调整到相同的蛋白浓度, 并在 SDS 缓冲液 $65 \text{ }^\circ\text{C}$ 中加温 15 min, 保存到 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 备用。最后进行 SDS-PAGE 电泳、转膜, 用一抗 Bax (1 : 1 000)、Bcl-2 (1 : 1 000)、 β -actin (1 : 2 000) 孵育过夜, 最后用二抗孵育 2 h, ECL 试剂显色, JY-Clear ECL 型化学发光凝胶成像分析系统进行成像。

2.8 统计学分析

采用 SPSS 18.0 进行统计学分析, 正态分布的定量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA), 两两比较采用 SNK-q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 生化指标和肾脏血流动力学的比较

脓毒症发生 12 h 后, 生化指标上脓毒症组、

血必净组与假手术组比较均无明显差异, 但肾动脉血流变化上脓毒症组和血必净组血流明显快于假手术组($P<0.05$)。脓毒症组在脓毒症发生 24 h 后 sCr 和 BUN 升高, 并且持续升高到 48 h; 血必净组虽然这 2 个指标有升高趋势, 但与 CLP 相比趋势偏缓, 在 24, 48 h 2 个时间点上均有明显差异($P<0.05$); 而 CrCl 上也呈相同在趋势。肾脏血流动力学上脓毒症组在 12 h 血流增快达到高峰, 24, 48 h 血流持续变缓慢; 而血必净组 12 h 后也出现血流增快, 24 h 后血流未减慢, 与脓毒症组比有显著差异($P<0.05$), 到 48 h 并没有血流瘀滞, 与 CLP 比血流明显增加($P<0.01$), 见表 1。

表 1 血必净对 3 组 SI-AKI 大鼠各时间点生化指标和肾动脉血流比较影响($n=6, \bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effect of Xuebijing injection on biochemistry indices and hemodynamics changes of kidney in 3 groups rats with SI-AKI($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	时间/h	sCr/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	BUN/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	CrCl/ $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot$ $(100\text{ g})^{-1}$	BPU
假手术组	12	35.7±4.7	10.4±4.7	1.8±0.3	185±21.6
	24	38.9±4.0	12.2±3.7	1.9±0.8	195±20.5
	48	39.7±5.7	11.0±4.1	1.8±0.6	189±19.3
脓毒症组	12	39.8±4.9	17.9±4.0	1.8±0.1	295±51.8 ¹⁾
	24	49.8±8.9 ¹⁾	20.9±3.5 ¹⁾	2.8±0.4 ¹⁾	115±45.8 ¹⁾
	48	89.8±4.9 ²⁾	39.9±6.4 ²⁾	5.8±0.5 ²⁾	79±31.8 ²⁾
血必净组	12	41.4±3.7	17.2±5.4	1.7±0.4	249±31.7 ¹⁾
	24	37.9±3.8 ³⁾	20.2±4.9 ³⁾	2.3±0.3 ³⁾	155±29.8 ³⁾
	48	46.1±5.2 ¹⁾³⁾	19.2±4.4 ³⁾	2.7±0.5 ¹⁾³⁾	159±37.7 ⁴⁾

注: 与假手术组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与脓毒症组比较, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with sham group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with sepsis group, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$ 。

3.2 病理改变和肾小管损伤评分

脓毒症发生 12 h 后各组肾脏病理组织改变不明显。24 h 后假手术组基本正常, 脓毒症组出现部分肾小管细胞退化、空泡变, 伴有单核细胞浸润, 血必净组也出现肾小管坏死, 但数量较脓毒症组少。48 h 后假手术组病理改变仍基本正常, 脓毒症组在肾髓质可以看到明显的肾小管退化、空泡变、坏死和细胞管型或透明管型并伴有单核细胞浸润; 血必净组病理改变较脓毒症组明显减少, 见图 1。肾小管损伤评分来比较, 24, 48 h 后脓毒症组肾小管损伤评分持续升高, 与假手术组比差异明显($P<0.05$); 血必净组也呈升高趋势, 与

脓毒症组比 24 h 时无明显差异, 但在 48 h 时明显下降($P<0.01$), 结果见表 2。

3.3 细胞凋亡的检测

用 TUNEL 法荧光染色显示亮绿色为凋亡细胞(箭头处), 提示脓毒症导致肾小管细胞的凋亡。脓毒症发生 12 h 后各组肾小管凋亡细胞不明显。24, 48 h 后脓毒症组看到大量 TUNEL 阳性细胞, 并且持续增加, 血必净组中 24 h 和 48 h 组的凋亡细胞无增加趋势, 见图 2。血必净组在 24, 48 h 的各时间点的 IOD 值均少于脓毒症组, 统计学上有明显差异($P<0.01$), 结果见表 2。

表 2 血必净对 3 组 SI-AKI 大鼠各时间点肾小管损伤评分和 TUNEL 染色影响($n=6, \bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effect of Xuebijing injection on renal tubular injury score and IOD in 3 groups rats with SI-AKI($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	时间/h	得分	IOD/%
假手术组	12	0.40±0.54	10.40±1.51
	24	0.60±0.54	10.60±2.07
	48	0.60±0.55	10.40±2.60
脓毒症组	12	1.40±0.54	34.40±5.02 ²⁾
	24	2.80±0.83 ²⁾	48.00±5.78 ²⁾
	48	3.60±0.55 ²⁾	53.80±6.68 ²⁾
血必净组	12	1.20±0.44	26.60±6.87 ²⁾³⁾
	24	1.60±0.54 ¹⁾	38.20±6.87 ²⁾⁴⁾
	48	1.80±0.83 ¹⁾⁴⁾	37.60±2.17 ²⁾⁴⁾

注: 与假手术组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与脓毒症组比较, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$ 。

Note: compared with sham group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with sepsis group, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$ 。

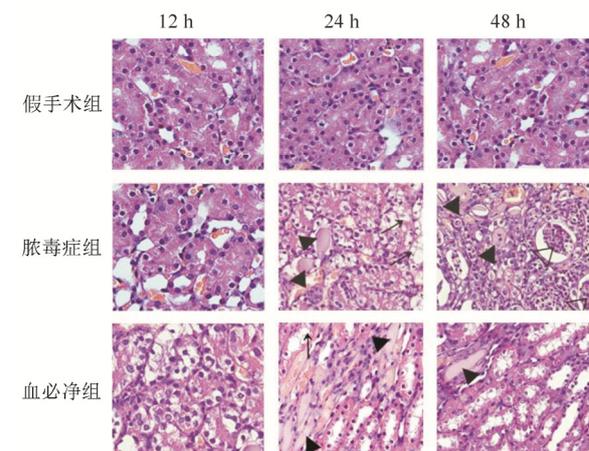


图 1 各组大鼠光镜下肾脏病理变化(HE, 200×)

Fig. 1 Pathological changes of kidney tissues in rats with SI-AKI of different group(HE, 200×)

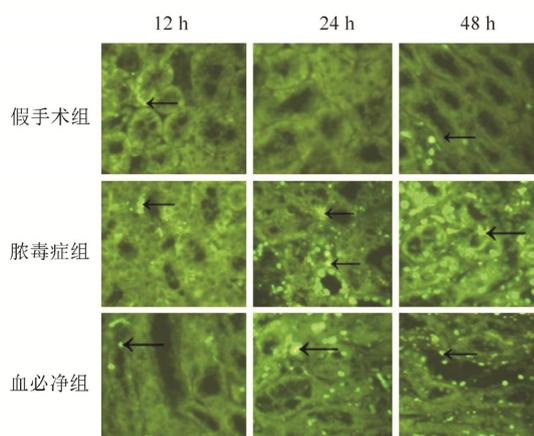


图 2 各组大鼠肾脏免疫荧光染色结果(TUNEL 染色, 400×)

Fig. 2 Result of immunofluorescence microscopy of kidney tissues in different group rats with SI-AKI(TUNEL dyeing, 400×)

表 3 血必净对 3 组 SI-AKI 大鼠各时间点肾脏凋亡相关蛋白的影响($n=6, \bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Effect of Xuebijing injection on kidney apoptosis associated protein in 3 groups rats with SI-AKI($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	时间/h	Bcl-2	Bax	Bcl-2/Bax
假手术组	12	1.50±0.07	0.5±0.12	3.15±0.50
	24	1.47±0.86	0.56±0.18	2.85±0.41
	48	1.50±0.10	0.52±0.21	3.16±0.39
脓毒症组	12	1.08±0.22	1.85±0.92 ²⁾	0.58±0.22 ²⁾
	24	0.76±0.09 ²⁾	1.95±0.90 ²⁾	0.41±0.07 ²⁾
	48	0.51±0.07 ²⁾	2.69±0.39 ²⁾	0.19±0.12 ²⁾
血必净组	12	1.12±0.13	1.12±0.07 ²⁾³⁾	0.94±0.09 ²⁾
	24	1.30±0.11 ¹⁾	1.19±0.17 ²⁾³⁾	1.08±0.08 ²⁾³⁾
	48	2.12±0.12 ¹⁾³⁾	1.48±0.15 ²⁾³⁾	1.37±0.07 ²⁾³⁾

注: 与假手术组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与脓毒症组比较, ³⁾ $P<0.01$ 。
Note: Compared with sham group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with sepsis group, ³⁾ $P<0.01$.

4 讨论

脓毒症是感染后导致全身炎症反应综合征, 并由其导致的器官功能障碍; 严重脓毒症导致多器官功能障碍, 包括 SI-AKI, SI-AKI 使患者死亡率成倍增加甚至高达 75%^[5]。尽管抗菌药物不断升级、治疗手段不断改善, 包括肾脏替代治疗的开展, 不但大大增加医疗成本, 而且没有明显减少脓毒症的死亡率, 细胞凋亡通路的激活被认为是导致早期急性脓毒性肾损伤的重要原因^[6]。本研究从中药血必净入手, 从细胞凋亡的角度研究对 SI-AKI 的保护作用。

脓毒症造模成功后脓毒症组的肾脏血流早期流速增快, 随着时间推移脓毒症的进一步发展, 血流速度减慢、瘀滞, 这符合脓毒症临床的发展, 脓毒症早期往往是高排低阻, 进一步出现血流动力学障碍; 而在血必净组早期也是血流增加, 随着血必净疗效的逐步显现, 肾脏血流并没有出现进一步的下降。目前文献也报道: 早期导致 SI-AKI 的进展不是血流减少, 由于细胞通路产生大量炎症因子的瀑布样作用, 以及细胞的异常调节和凋亡, 因此传统的治疗方法往往疗效甚微^[7-8]。本研究进一步从血必净对肾小管的凋亡蛋白来研究其作用机制。

凋亡是指程序性死亡, 是一个清除坏死和异常细胞的自我保护机制。这种自我保护机制可以被内在的线粒体依赖的旁路或外在的细胞受体介导的旁路激活^[9]。TUNEL 法是目前较常用的检测细胞凋亡的方法, 脓毒症组的阳性细胞随着脓毒症的发展不断增加, 而血必净组在 48 h 后与脓毒症组比较明显减少, IOD 上分析也存在显著的统计学差异。但 TUNEL 法对区分凋亡细胞和坏死细胞尚存假阳性的争议, 所以进一步从参与其中一系列的蛋白入手, 来研究早期的细胞凋亡。Bcl-2 家族是凋亡调节蛋白, 能调节细胞膜的通透性; Bcl-2 是抗凋亡蛋白, Bcl-2 相关的 X 蛋白即 Bax 是促凋亡蛋白。细胞内 Bcl-2/Bax 比值比单一蛋白更有意义, 更能决定细胞的凋亡和生存, 在细胞的凋亡过程中起着重要的作用。有研究表明, 脓毒症发生后, 凋亡的 DNA 碎片从肾小管髓质分泌, 脓毒症可以上调 Bax mRNA, 下调 Bcl-2 mRNA^[10]; 这同本研究结果一致, 脓毒症可以导致肾小管细胞的凋亡, 使 Bcl-2 表达增强, Bax 表达降低。本研究观察到, 在脓毒症发生 12 h 后 Bcl-2/Bax、Bcl-2 的改变并不明显, 但 Bax 的表达逐步增强; 到 24, 48 h 在血必净组 Bcl-2/Bax 的比值显著增加, Bax 的表达受到抑制, Bcl-2 被激活; 说明血必净可以抑制 Bax 蛋白的过度表达, 促进 Bcl-2 的合成, 保持 Bcl-2/Bax 的平衡。

血必净是在“菌、毒、炎”并治的理论指导下研制而成的水性溶液, 能抑制多种细胞炎症因子; 主要成分有川芎、赤芍、丹参、红花等, 具有行气活血、清热凉血、解毒止痛的功效, 能扩张外周微血管, 具有改善组织灌注与微循环, 能抑制过度的炎性介质释放。单味中药往往疗效甚微,

而成药内各味中药之间可以产生协调效应,并对多个靶器官起作用^[11-12]。从本研究的临床生化指标来看,在脓毒症早期应用血必净能明显改善肾功能的恶化,24 h 后血必净组的肾功能较脓毒症组明显改善,肌酐清除率明显增加。从组织形态学上来看,血必净能减轻肾脏组织学的形态学改变,减少肾小管上皮细胞坏死、细胞管型形成和肾脏髓质的充血。

本研究可以得出结论,早期应用血必净可以减少肾小管细胞在脓毒症进程中的凋亡,改善SI-AKI的病理学改变,保持Bcl-2/Bax的平衡,改善脓毒症导致的肾功能损害。临床上早期应用血必净可以从减少肾小管细胞凋亡的角度加强对SI-AKI的保护。

REFERENCES

- [1] WAN L, BAGSHAW S M, LANGENBERG C, et al. Pathophysiology of septic acute kidney injury: what do we really know? [J]. Crit Care Med, 2008, 36(4 Suppl): S198-203.
- [2] JOSEPH H, ZHEN W, KATHRYN A. Resveratrol improves renal microcirculation, protects the tubular epithelium, and prolongs survival in a mouse model of sepsis-induced acute kidney injury [J]. Kidney Int, 2012, 81(4): 370-378.
- [3] RITTIRSCH D, HUBER-LANG M S, FLIERL M A, et al. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture [J]. Nat Protoc, 2009, 4(1): 31-36.
- [4] LANGENBERG C, BAGSHAW S M, MAY C N, et al. The histopathology of septic acute kidney injury: a systematic review [J]. Crit Care, 2008, 12(2): R38. doi: 10.1186/cc6823.
- [5] ZANG Z D, YAN J. An analysis of clinical characteristics of septic acute kidney injury by using criteria of kidney disease: improving global outcomes [J]. Chin J Intern Med(中华内科杂志), 2013, 5(24): 299-304.
- [6] CHOI H M, JO S K, KIM S H, et al. Glucocorticoids attenuate septic acute kidney injury [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 435(4): 678-684.
- [7] PATHAK E, MAC MILLAN, CROW L A, et al. Role of mitochondrial oxidants in an *in vitro* model of sepsis-induced renal injury [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2012, 340(1): 192-201.
- [8] TRAN M, TAM D, BARDIA A, et al. PGC-1 α promotes recovery after acute kidney injury during systemic inflammation in mice [J]. J Clin Invest, 2011, 121(10): 4003-4014.
- [9] PARIKH S M. Therapeutic targeting of the mitochondrial dysfunction in septic acute kidney injury [J]. Curr Opin Crit Care, 2013, 19(6): 554-559.
- [10] ZHONG F F, WU C L, SUN X F, et al. Neural protective effects of Buyang Huanwu decoction combined with edaravone on mice of acute cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2016, 33(11): 1392-1396.
- [11] AI Y H, YAO Y M, DAI X G. Effect of various doses of Xuebijing injection on lipopolysaccharide-mediated apoptosis of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells *in vitro* [J]. Chin J Integr Tradit West Med Intensive Crit Care(中国中西医结合急救杂志), 2010, 17(3): 141-144.
- [12] CHEN L W, CHEN W, HU Z Q, et al. Protective effects of growth arrest-specific protein 6 (gas6) on sepsis-induced acute kidney injury [J]. Inflammation, 2016, 39(2): 575-582.

收稿日期: 2016-06-19