

褪黑素对大鼠缺血再灌注肾脏线粒体氧化应激及炎症状态的影响

易晔, 胡婷婷, 王莹, 黄薇, 余雅, 陈建武

湖北省第三人民医院肾病内科, 湖北 武汉 430033

摘要: **目的** 通过动物实验观察褪黑素(MT)对缺血再灌注后大鼠肾脏线粒体氧化应激及炎症状态的影响。**方法** 60只SD大鼠随机分为假手术组(Sham组, $n=10$)、缺血再灌注组(IR组, $n=25$)及缺血再灌注+MT 3.0 mg/kg组(MT 3.0 mg组, $n=25$)。建立再灌注模型,于缺血再灌注6、24 h后留取静脉血检测血清尿素氮(BUN)、血清肌酐(Scr)水平;取一侧肾脏上极制作HE染色标本用于观察肾脏组织结构改变(并作Paller法肾小管损伤程度评分)和免疫组化法检测肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及白介素6(IL-6)蛋白表达;取另一侧肾皮质制备匀浆、提取肾组织线粒体,用酶联免疫吸附法检测线粒体中TNF- α 、高敏C反应蛋白(hs-CRP)、IL-6、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)水平。**结果** 缺血再灌注6 h及24 h后,与Sham组各时点比较,IR组BUN、Scr水平,Paller评分,肾脏组织IL-6、TNF- α 表达及肾脏线粒体中hs-CRP、TNF- α 、IL-6、MDA水平均升高($P<0.01$),GSH-Px、SOD水平均降低($P<0.01$);与IR组各时点比较,加MT后的MT 3.0 mg组上述各指标均呈现反向变化,差异均有统计学意义($P<0.01$)。**结论** MT能改善缺血再灌注时肾脏线粒体氧化应激及炎症状态,有效缓解缺血再灌注所致的大鼠肾脏损伤并改善肾功能。

关键词: 肾损伤; 缺血再灌注; 褪黑素; 线粒体; 氧化应激; 炎症

中图分类号: R692 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2023)01-0018-05

Effects of melatonin on oxidative stress and inflammatory state of mitochondria in rats with renal ischemia reperfusion injury

YI Ye, HU Ting-ting, WANG Ying, HUANG Wei, YU Ya, CHEN Jian-wu

Department of Nephrology, The Third People's Hospital of Hubei Province, Wuhan, Hubei 430033, China

Corresponding author: HU Ting-ting, E-mail: 369859317@qq.com

Abstract: Objective To observe the effects of melatonin (MT) on oxidative stress and inflammation state of renal mitochondria after renal ischemia reperfusion injury (IRI) in rats. **Methods** Sixty SD rats were randomly divided into sham-operation group (Sham group, $n=10$), ischemia reperfusion group (IR group, $n=25$) and ischemia reperfusion plus MT (3.0 mg/kg) group (MT 3.0 mg group, $n=25$). At 6- and 24-hour after successful establishment of ischemia-reperfusion model, venous blood was taken to detect the levels of serum urea nitrogen (BUN) and serum creatinine (Scr). The upper pole of one kidney was taken for HE staining specimen to observe the renal histomorphological changes (the score of renal tubule injury degree evaluated by Paller method) and the protein expressions of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) by immunohistochemistry. The renal cortex homogenate from the other unilateral kidney was prepared for extracting mitochondria, which was used for the detection of the levels of TNF- α , high-sensitive C-reactive protein (hs-CRP), IL-6, malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-Px) and superoxide dismutase (SOD) by Enzyme linked immunosorbent assay. **Results** After 6- and 24-hour of ischemia-reperfusion, compared with those in Sham group at each time point, the levels of BUN and Scr, Paller score, the expressions of IL-6 and TNF- α in renal tissue and the levels of hs-CRP, TNF- α , IL-6 and MDA in renal mitochondria significantly increased ($P<0.01$), and

the levels of GSH-Px and SOD decreased in IR group ($P<0.01$); compared with those in IR group at each time point, the above indicators showed reverse changes in MT 3.0 mg group ($P<0.01$). **Conclusion** MT can attenuate the oxidative stress and inflammatory of renal mitochondria during ischemia-reperfusion, effectively alleviate renal IRI and improve renal function.

Keywords: Renal injury; Ischemia reperfusion; Melatonin; Mitochondrion; Oxidative stress; Inflammation

Fund program: General Project of Medical Science Research of Wuhan Health Commission(WX19C37)

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)发生率近年来呈上升趋势,作为一种常见的临床危重病,其死亡率高,预后差,仅少数患者能完全康复^[1]。同时AKI也是慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)的独立危险因素^[2]。部分AKI患者临床缓解后仍然发展为CKD,最终进展至终末期肾脏疾病(end stage of renal disease, ESRD)^[3]。缺血再灌注损伤(ischemic reperfusion injury, IRI)是临床AKI发病的主要原因,当肾脏发生缺血再灌注时,肾脏固有细胞(内皮细胞、肾小管上皮细胞等)内线粒体发生功能及结构损伤,引起活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生增多、细胞内钙超载、炎症状态等变化,导致肾脏细胞的损伤和凋亡^[4-5]。褪黑素(melatonin, MT)作为一种有效的抗氧化剂及自由基清除剂,在延缓衰老、抗肿瘤、抗氧化、抗炎、镇静、保护神经细胞等方面表现出很大的应用前景,对心、脑、肝等器官IRI也具有较强的保护作用,具有多种临床用途^[6-8]。有鉴于此,本研究采用随机对照方法,观察MT对大鼠缺血再灌注肾脏细胞线粒体氧化应激及炎症状态的影响。

1 材料与方法

1.1 动物分组及模型建立 成年清洁级健康SD大鼠60只(购自华中科技大学同济医学院实验动物中心),体质量220~250g,雌雄各占一半。随机分为假手术组(Sham组, $n=10$)、缺血再灌注组(IR组, $n=25$)和缺血再灌注+MT 3.0 mg组($n=25$)。所有大鼠在20℃室温下使用乙醚麻醉;仰卧位固定消毒,IR组逐层剖开腹腔,微血管夹夹闭双侧肾蒂,可见双肾颜色由鲜红转变成暗红,缺血处理45 min后松开动脉夹,确认恢复肾脏灌注后缝合腹腔;Sham组找到双侧肾蒂但不夹闭;MT 3.0 mg组在夹闭肾蒂前30 min先予3.0 mg/kg的MT腹腔注射;其余操作相同^[8]。本研究经医院医学伦理委员会涉及动物实验的生物医学研究的学术论文伦理审查批准。

1.2 主要仪器和试剂 MT由医院提供,肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、高敏C反应蛋白(hs-CRP)、白介素6(IL-6)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)采用酶联免疫吸附法

(ELISA)检测,试剂盒均由美国Rapidbio(R&B)公司提供;DAB显色试剂盒(G1212-200T)、SABC免疫组化染色试剂盒、兔抗鼠IL-6、TNF- α 多克隆抗体均由武汉赛维尔生物科技有限公司提供;日本Olympus公司Au2700型全自动生化分析仪,-85℃超低温冰箱、电热恒温水箱、离心机等均由湖北省第三人民医院提供。

1.3 标本制备与指标测定 造模成功后,3组大鼠于再灌注后不同时间点(6 h、24 h)处死,再灌注6 h后处死大鼠共31只(Sham组, $n=5$; IR组, $n=13$; MT 3.0 mg组, $n=13$),再灌注24 h后处死大鼠共29只(Sham组, $n=5$; IR组, $n=12$; MT 3.0 mg组, $n=12$),留取下腔静脉血,离心后取血清,全自动生化分析仪检测血清尿素氮(BUN)、血清肌酐(Scr)变化。采血后取一侧肾脏上极部分,10%中性甲醛固定,石蜡包埋切片,HE染色观察肾脏的组织结构改变。Paller法对肾小管损伤程度评分:每高倍镜视野下随机选10个肾小管计算,小管扩张明显、细胞扁平1分;刷状缘损伤1分,脱落2分;管型2分,管腔内有脱落的、坏死的细胞(未成管型或细胞碎片)计1分。免疫组化检测组织中TNF- α 及IL-6表达,以胞浆和或胞核出现黄色或棕黄色颗粒为阳性细胞,光学显微镜观察并拍照测定平均吸光度值;另一侧肾取皮质,称重后液氮保存,制备匀浆,提取肾组织线粒体,ELISA法检测大鼠肾脏线粒体IL-6、TNF- α 、SOD、GSH-px、MDA、hs-CRP水平。

1.4 统计学方法 数据分析采用SPSS 19.0软件。计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,比较采用单因素方差分析及两两比较的LSD- t 检验。取 $\alpha=0.05$ 为检验水准,双侧检验。

2 结果

2.1 MT对各组大鼠肾脏组织形态学变化的影响

Sham组各时间点肾脏外观无明显改变;IR组肾脏可见外观肿胀,部分有散在出血点,肾皮质色苍白,髓质充血呈暗红色,24 h改变较6 h明显。与IR组对比,MT 3.0 mg组肾脏肿胀和淤血程度均明显减轻。光镜下观察:Sham组肾小管无明显损伤(图1A)。IR组肾小管受损明显,可见肾小管上皮细胞肿胀、变性、坏死、管腔明显扩张,间质水肿,与6 h(图1B)比较,24 h加重(图1C)。MT 3.0 mg组各时间点肾小管上皮细胞损伤

范围及程度(图 1D、1E)均显著轻于 IR 组。Paller 法肾小管损伤程度评分, Sham 组最低, IR 组最高, MT 3.0 mg 组较 IR 组降低 ($P < 0.01$)。见表 1。

2.2 MT 对大鼠 BUN 和 Scr 的影响 IR 组各时间点的 BUN 和 Scr 较 Sham 组均明显升高 ($P < 0.01$); MT

3.0 mg 组各时间点的 BUN 和 Scr 与 IR 组比较均显著下降 ($P < 0.01$)。见表 1。表 1~4 中,再灌注 6 h, Sham 组、IR 组、MT 3.0 mg 组大鼠分别为 5、13、13 只;再灌注 24 h, Sham 组、IR 组、MT 3.0 mg 组大鼠分别为 5、12、12 只。

表 1 三组大鼠血清 BUN、Scr 及肾脏组织 Paller 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of BUN and Scr serum levels and Paller score of renal tissue among three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	BUN (mmol/L)		Scr (μ mol/L)		Paller 评分(分)	
	6 h	24 h	6 h	24 h	6 h	24 h
Sham 组	6.75 \pm 1.22	7.11 \pm 2.21	8.67 \pm 2.69	9.43 \pm 2.51	11.10 \pm 2.13	12.67 \pm 3.53
IR 组	20.35 \pm 1.55 ^a	23.01 \pm 3.08 ^a	20.78 \pm 2.37 ^a	24.79 \pm 2.55 ^a	69.21 \pm 6.86 ^a	75.56 \pm 7.56 ^a
MT 3.0 mg 组	15.56 \pm 1.59 ^b	14.57 \pm 1.87 ^b	15.93 \pm 2.13 ^b	17.26 \pm 1.69 ^b	49.93 \pm 3.12 ^b	58.77 \pm 5.12 ^b
F 值	166.111	170.390	100.057	184.789	490.652	381.439
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 Sham 组比较,^a $P < 0.01$;与 IR 组比较,^b $P < 0.01$ 。

2.3 MT 对大鼠肾脏组织 TNF- α 、IL-6 表达的影响 免疫组化显示,各时间点 Sham 组肾组织中 TNF- α 、IL-6 无明显表达(图 2A 及图 3A);IR 组各时间点肾组织中 TNF- α (图 2B、2C)、IL-6(图 3B、3C)呈阳性表达;MT 3.0 mg 组 TNF- α 、IL-6 各时间点的表达较 IR 组显著减弱(图 2D、2E 及图 3D、3E)。IR 组各时间点肾组织中 TNF- α 、IL-6 蛋白表达量均明显高于 Sham 组 ($P < 0.01$),其中以 24 h 阳性表达最强;MT 3.0 mg 组各个时间点蛋白表达量均明显低于 IR 组 ($P < 0.01$)。见表 2。

2.4 MT 对大鼠肾脏线粒体 hs-CRP、MDA、TNF- α 、IL-6、GSH-Px、SOD 水平的影响 IR 组各时间点与 Sham 组比较,肾脏线粒体 hs-CRP、MDA、TNF- α 、IL-6 水平均显著升高 ($P < 0.01$),GSH-Px、SOD 水平显著

降低 ($P < 0.01$);MT 3.0 mg 组各时间点与 IR 组比较,肾脏线粒体 hs-CRP、MDA、TNF- α 、IL-6 水平均显著降低 ($P < 0.01$),GSH-Px、SOD 水平显著升高 ($P < 0.01$)。见表 3、表 4。

表 2 三组大鼠肾脏组织 IL-6、TNF- α 蛋白表达 (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Protein expressions of IL-6、TNF- α in kidney tissue of rats among three groups (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-6		TNF- α	
	6 h	24 h	6 h	24 h
Sham 组	1.22 \pm 0.13	1.23 \pm 0.09	1.15 \pm 0.17	1.16 \pm 0.05
IR 组	5.06 \pm 0.23 ^a	6.85 \pm 0.12 ^a	5.29 \pm 0.36 ^a	6.96 \pm 0.26 ^a
MT 3.0 mg 组	3.83 \pm 0.28 ^b	4.87 \pm 0.36 ^b	3.97 \pm 0.21 ^b	4.95 \pm 0.25 ^b
F 值	920.157	1 732.617	762.585	1 155.506
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 Sham 组比较,^a $P < 0.01$;与 IR 组比较,^b $P < 0.01$ 。

表 3 三组大鼠肾脏线粒体氧化应激指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of oxidative stress indexes in renal mitochondria of rats among three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	MDA (nmol/mgPro)		SOD (U/mgPro)		GSH-Px (U/mgPro)	
	6 h	24 h	6 h	24 h	6 h	24 h
Sham 组	3.23 \pm 0.35	3.58 \pm 0.31	39.57 \pm 4.78	37.10 \pm 2.51	6.30 \pm 2.15	6.85 \pm 2.36
IR 组	5.86 \pm 0.97 ^a	7.37 \pm 0.28 ^a	19.10 \pm 2.57 ^a	17.52 \pm 2.60 ^a	2.97 \pm 1.37 ^a	2.11 \pm 1.20 ^a
MT 3.0 mg 组	3.43 \pm 0.53 ^b	3.97 \pm 0.39 ^b	29.98 \pm 3.33 ^b	27.26 \pm 3.10 ^b	5.30 \pm 1.82 ^b	5.68 \pm 1.62 ^b
F 值	67.333	669.378	134.722	152.338	16.633	36.485
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

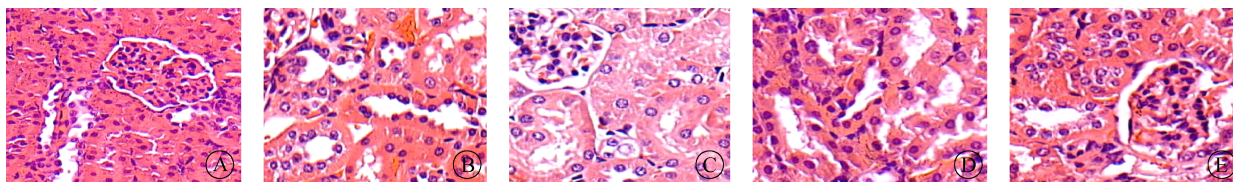
注:与 Sham 组比较,^a $P < 0.01$;与 IR 组比较,^b $P < 0.01$ 。

表 4 三组大鼠肾脏线粒体炎症指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of inflammatory indexes in renal mitochondria of rats among three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	hs-CRP (mg/L)		IL-6 (ng/ml)		TNF- α (ng/ml)	
	6 h	24 h	6 h	24 h	6 h	24 h
Sham 组	0.23 \pm 0.11	0.27 \pm 0.09	0.50 \pm 0.06	0.55 \pm 0.03	0.43 \pm 0.05	0.46 \pm 0.04
IR 组	0.89 \pm 0.27 ^a	0.93 \pm 0.22 ^a	4.89 \pm 0.17 ^a	5.16 \pm 0.15 ^a	5.37 \pm 0.20 ^a	6.15 \pm 0.31 ^a
MT 3.0 mg 组	0.70 \pm 0.13 ^b	0.74 \pm 0.23 ^b	2.22 \pm 0.11 ^b	2.40 \pm 0.12 ^b	3.55 \pm 0.15 ^b	4.50 \pm 0.26 ^b
F 值	29.995	27.458	3 474.609	4 615.703	3 592.712	1 375.953
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

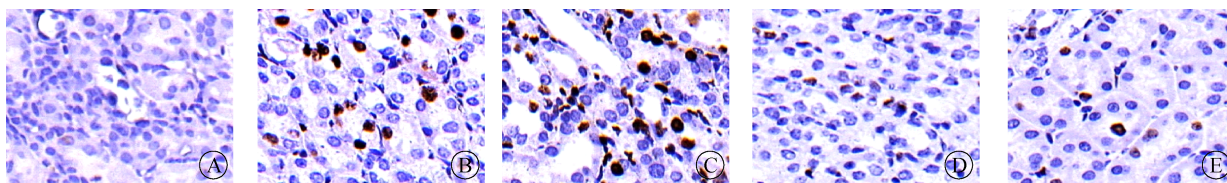
注:与 Sham 组比较,^a $P < 0.01$;与 IR 组比较,^b $P < 0.01$ 。



注:A为Sham组,大鼠肾小管无明显损伤现象;B为IR组缺血再灌注6h后,可见细胞肿胀、细胞坏死脱落、核固缩;C为IR组缺血再灌注24h后,可见肾小管片状坏死;D为MT 3.0 mg组缺血再灌注6h后;E为MT 3.0 mg组缺血再灌注24h后;与B、C比较,经MT处理后D、E两时间点肾缺血再灌注引起的损伤分别减轻。

图1 大鼠肾组织病理 (HE, ×200)

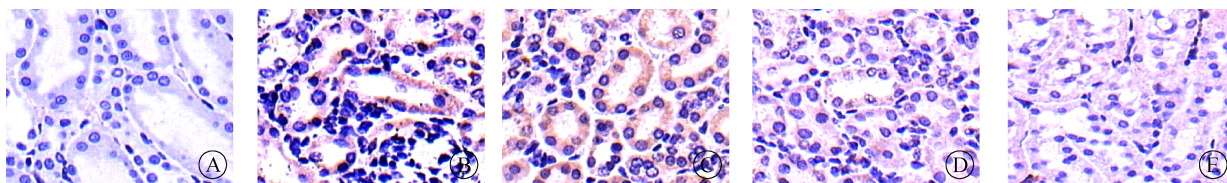
Fig. 1 Pathology of renal tissue of rats (HE, ×200)



注:A为Sham组;B为IR组缺血再灌注6h后;C为IR组缺血再灌注24h后;D为MT 3.0 mg组缺血再灌注6h后;E为MT 3.0 mg组缺血再灌注24h后。

图2 大鼠肾组织IL-6表达 (HE, ×200)

Fig. 2 Expression of IL-6 in renal tissue of rats (HE, ×200)



注:A为Sham组;B为IR组缺血再灌注6h后;C为IR组缺血再灌注24h后;D为MT 3.0 mg组缺血再灌注6h后;E为MT 3.0 mg组缺血再灌注24h后。

图3 大鼠肾组织TNF-α表达 (HE, ×200)

Fig. 3 Expression of TNF-α in renal tissue of rats (HE, ×200)

3 讨论

线粒体是机体能量代谢的中心,同时也是体内ROS产生的重要场所^[9]。IRI所致的AKI中,线粒体损伤是其发生发展的关键环节^[5]。AKI是肾脏组织血流量下降,引起组织缺血缺氧,再灌注后反而进一步加重缺血组织的损伤,其原因是在缺血再灌注这个过程中导致了肾脏固有细胞线粒体损伤,能量代谢降低,大量产生氧自由基;而氧化应激状态是肾脏IRI的重要因素之一^[10]。MDA作为脂质过氧化的主要终末产物,同时也是评估氧化应激的重要指标^[11];血清SOD、GSH-Px则是体内重要的氧自由基清除剂,当氧化应激发生时,GSH-Px、SOD水平下降表明机体抗氧化应激能力的减弱^[12]。炎性状态同样也是肾脏IRI的主要机制之一。研究证实NF-κB信号通路在介导肾脏IRI中有至关重要的作用^[5]。IL-6、TNF-α是NF-κB信号通路中重要的下游因子,均为单核-巨噬细胞被激活后产生的细胞因子^[13]。TNF-α作为调

控炎症网络重要的核心因子,是炎症反应过程中最早产生的细胞因子,同时又为介导炎症反应“瀑布效应”中的重要递质,IL-6则是调节炎性与免疫反应的多功能细胞因子。它们不仅直接作用于组织细胞,参与机体的炎症反应;同时激活其他炎症因子发挥作用,加快肾脏疾病的进展,也可以作为微炎症状态存在的指标^[14]。当AKI发生时,肾小管上皮细胞和肾实质细胞所产生的IL-6、TNF-α上调炎症因子的表达,炎症细胞进入肾组织中并引起组织及细胞损伤;同时激活Caspase-3诱导肾组织细胞的凋亡,加重IRI^[5]。hs-CRP是临床上作为快速精确反映炎症状态的常用指标^[15]。本实验中可见IR组各时间点肾线粒体中MDA、TNF-α、IL-6、hs-CRP水平均显著增高,氧自由基清除酶GSH-Px、SOD的活力水平则明显降低,肾组织中IL-6、TNF-α表达明显升高,SUN和Scr水平显著升高,肾脏组织形态及细胞损伤明显,IR后24h上述指标较6h时损伤更为严重,这表明氧化应激及炎症反应在肾脏IRI的过程中发挥了关键

性的作用,与相关文献报道一致^[5,16]。同时本实验还发现,在缺血再灌注早期进行MT干预后,与IR组对比各时间点线粒体中hs-CRP、MDA、TNF- α 、IL-6水平显著降低,GSH-Px、SOD水平显著升高,肾组织中IL-6、TNF- α 表达降低,血清SUN和Scr水平显著下降,肾脏组织形态及细胞损伤明显改善,说明MT可以减轻肾脏线粒体氧化应激及炎症反应,对缺血再灌注时肾脏损伤有保护作用。

MT是松果体分泌的一种神经内分泌激素,作为一种强大的抗氧化剂,MT及其代谢产物可直接清除氧自由基,调节线粒体氧化还原酶、SOD和其他重要的酶以减轻线粒体的氧化损伤,降低炎症反应^[17-18]。综上所述,分析MT对肾脏IRI保护作用的可能机制如下:(1)强大的自由基清除能力,能中和羟自由基和过氧化自由基^[16]。(2)上调GSH-Px、SOD的表达,增强抗氧化作用。(3)抑制炎症因子(TNF- α 、IL-6等)的表达,直接抑制NF- κ B信号通路活性,减轻炎症反应及其调控的细胞凋亡发生。(4)其具有脂溶性及水溶性特点,能够不受限制自由通过线粒体膜,具有靶向性,可以充分发挥其抗氧化和改善炎症状态、减轻线粒体损伤的作用^[18]。

综上所述,早期给予MT可有效减轻肾脏IRI,其机制与抗氧化、减轻炎症状态、保护线粒体功能、改善肾功能和肾实质损伤相关。

利益冲突 无

参考文献

- [1] Mehta RL, Cerdá J, Burdman EA, et al. International Society of Nephrology's Oby25 initiative for acute kidney injury (zero preventable deaths by 2025): a human rights case for nephrology [J]. *Lancet*, 2015, 385(9987): 2616-2643.
- [2] Hatakeyama Y, Horino T, Nagata K, et al. Transition from acute kidney injury to chronic kidney disease: a single-centre cohort study [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2018, 22(6): 1281-1293.
- [3] Goldstein SL, Jaber BL, Faubel S, et al. AKI transition of care: a potential opportunity to detect and prevent CKD [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2013, 8(3): 476-483.
- [4] Peerapomratana S, Manrique-Caballero CL, Gómez H, et al. Acute kidney injury from sepsis: current concepts, epidemiology, pathophysiology, prevention and treatment [J]. *Kidney Int*, 2019, 96(5): 1083-1099.
- [5] Kosieradzki M, Pratschke J, Kupiec-Węgliński J, et al. Ischemia/reperfusion injury, its mechanisms, and prevention [J]. *J Transplant*, 2012, 2012: 610370.
- [6] Hardeland R. Melatonin and inflammation-Story of a double-edged blade [J]. *J Pineal Res*, 2018, 65(4): e12525.
- [7] Sundberg I, Rasmusson AJ, Ramklint M, et al. Daytime melatonin levels in saliva are associated with inflammatory markers and anxiety disorders [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2020, 112: 104514.
- [8] Galbo H, Kall L. Circadian variations in clinical symptoms and concentrations of inflammatory cytokines, melatonin, and cortisol in polymyalgia rheumatica before and during prednisolone treatment: a controlled, observational, clinical experimental study [J]. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18(1): 174.
- [9] Paradies G, Paradies V, Ruggiero FM, et al. Protective role of melatonin in mitochondrial dysfunction and related disorders [J]. *Arch Toxicol*, 2015, 89(6): 923-939.
- [10] Hadj Ayed Tka K, Mahfoudh Boussaid A, Zaouali MA, et al. Melatonin modulates endoplasmic Reticulum stress and Akt/GSK₃-beta signaling pathway in a rat model of renal warm ischemia reperfusion [J]. *Anal Cell Pathol (Amst)*, 2015, 2015: 635172.
- [11] 张宏,李新伦,伦立德.不同血液净化模式对维持性血液透析患者蛋白结合类毒素的清除效果 [J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2016, 25(5): 425-430.
- [12] Zhang H, Li XL, Lun LD. Removal efficacy of protein-bound uraemic toxins by different blood purification strategies [J]. *Chin J Nephrol Dial Transplant*, 2016, 25(5): 425-430.
- [13] 朱振邦,茆翔,刘佰运.茶多酚对大鼠创伤性颅脑损伤的脑保护作用 [J]. *安徽医药*, 2014, 18(10): 1825-1828.
- [14] Zhu ZD, Mao X, Liu BY. The protective effect of tea polyphenols on traumatic brain injury in rats [J]. *Anhui Med Pharm J*, 2014, 18(10): 1825-1828.
- [15] Foley DP. Ischemia reperfusion injury: from basic mechanisms to innovative protective strategies [J]. *Transplant Rev (Orlando)*, 2012, 26(2): 53.
- [16] Trbojević-Stanković J, Stojimirović B, Bukumirić Z, et al. Depression and quality of sleep in maintenance hemodialysis patients [J]. *Srp Arh Celok Lek*, 2014, 142(7/8): 437-443.
- [17] Lapi Ć I, Padoan A, Bozzato D, Plebani M. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in acute inflammation [J]. *Am J Clin Pathol*, 2020, 153(1): 14-29.
- [18] Oguz E, Yilmaz Z, Ozbilge H, et al. Effects of melatonin on the serum levels of pro-inflammatory cytokines and tissue injury after renal ischemia reperfusion in rats [J]. *Ren Fail*, 2015, 37(2): 318-322.
- [19] Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, et al. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers [J]. *J Pineal Res*, 2016, 61(3): 253-278.
- [20] Lowes DA, Webster NR, Murphy MP et al. Antioxidants that protect mitochondria reduce interleukin-6 and oxidative stress, improve mitochondrial function, and reduce biochemical markers of organ dysfunction in a rat model of acute sepsis [J]. *Br J Anaesth*, 2013, 110: 472-480.

收稿日期:2022-03-30 修回日期:2022-04-29 编辑:石嘉莹