

麦胚球蛋白对亚硝酸盐急性中毒大鼠肾损伤的保护作用

赵肃^{1,3}, 潘龙¹, 吴兴泉¹, 廖爱美¹, 黄继红^{1,2*}

¹河南工业大学生物工程学院 郑州 450001

²许昌学院食品与药学院 河南许昌 461000

³郑州粮食批发市场 郑州 450001

摘要 目的:探讨不同剂量的麦胚球蛋白(WEG)对亚硝酸盐急性中毒大鼠肾损伤的保护作用。方法:将 36 只大鼠分为空白组、模型组、麦胚球蛋白组(80 mg/kg)、麦胚球蛋白低、中、高剂量组(40, 80, 160 mg/kg)及维生素 C(80 mg/kg)组,持续干预 1 周,末次给药 12 h 后,按 60 mg/kg NaNO₂ 剂量进行攻毒。观察比较大鼠肾组织抗氧化活性、细胞凋亡因子含量以及部分肾功的变化,并以苏木精-伊红(HE)染色在显微镜下观察大鼠肾组织形态变化。结果:与模型组相比,不同剂量的麦胚球蛋白可以明显减轻大鼠肾脏系数,提高肾脏中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)、过氧化氢酶(H₂O₂)、抗氧化能力(T-AOC)的含量,减少丙二醛(MDA)的产生,降低血清中尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)水平($P < 0.05$),肾脏中半胱氨酸蛋白酶 3(Caspase 3)和半胱氨酸蛋白酶 8(Caspase 8)含量增加,病理学观察肾脏变性和坏死程度明显减轻。结论:麦胚球蛋白对亚硝酸盐引起的肾毒性具有潜在的保护作用,可有效改善肾组织抗氧化活性,提高抗氧化应激能力,促进抗炎因子与促炎因子平衡,进而使肾组织细胞结构和功能逐步恢复来达到保护作用。

关键词 麦胚球蛋白; 亚硝酸盐; 急性中毒; 肾损伤; 保护作用

文章编号 1009-7848(2022)03-0088-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.03.011

亚硝酸盐是食品工业中常用的食品添加剂,在肉制品加工过程中起增味、着色和抑菌等作用^[1]。此外,它被用作工业生产中亚硝基化合物、染料以及橡胶等化学产品^[2]。随着现代农业的发展,氮肥的大量使用、工业污水/废水处理不当以及食品中添加未加控制的亚硝酸盐,导致人类暴露于亚硝酸盐的几率大大增加。亚硝酸盐在低浓度下对人体有良好的生理作用,它是一氧化氮合成的前体物质,用作血管扩张剂、支气管扩张剂以及氰化物中毒的治疗剂^[3]。然而,高浓度亚硝酸盐会产生毒性作用,包括细胞毒性、胚胎毒性和致畸性^[4]。

最近针对人类饮食中的天然产物作为预防严重疾病的化学替代方法来减轻身体毒性成为研究热点。Al-Brakati 等^[5]研究表明黑种草籽油中的植物化学成分百里香醌和伊布硒能增强肾组织内源

抗氧化系统活性,抑制亚硝酸盐引起的氧化应激、炎症和细胞凋亡,减少肾组织损伤。多酚提取天然产物能够调节脂质代谢和清除自由基。Cheng 等^[6]研究表明,酚类化合物绿原酸(chlorogenic acid, CGA)能够降低大鼠体内的高铁血红蛋白水平,避免亚硝酸盐引起的细胞膜损伤、脂质过氧化以及氧化应激。长期口服 5 mg/kg 大蒜油(garlic oil)能够改善大鼠认知功能,减轻亚硝酸钠对大脑造成的神经毒性损伤,其机制可能与抑制炎症反应有关^[7]。此外,大蒜油还可以降低大鼠血清中的谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)以及碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)等肝、肾标志物水平^[8]。

麦胚球蛋白(wheat-embryo globulin, WEG)是脱脂麦胚中提取的一种蛋白质,氨基酸比例均衡,具有抗炎、免疫调节和抗衰老等作用,是一种营养价值极高的蛋白质资源^[9-11]。到目前为止,国内外研究主要集中于球蛋白营养功能开发,而对于麦胚球蛋白预防亚硝酸盐危害的关注较少。根据之前报道亚硝酸盐中毒会引起肾损伤^[12],本文以麦胚球蛋白为研究对象,探讨麦胚球蛋白对亚硝酸盐急性中毒大鼠的预防功效,为麦胚球蛋白产品

收稿日期: 2021-03-21

基金项目: 中国工程科技发展战略河南研究院战略咨询研究项目(2020HENZT13);中原学者工作站资助项目(214400510015);河南省重大公益专项(201300110300)

作者简介: 赵肃(1994—),男,硕士生

通信作者: 黄继红 E-mail: hjhktz@163.com

的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料 麦胚球蛋白,以脱脂麦胚为原料,按盐提法提取制备,由河南省科谱特医药科技研究院有限公司提供,其中麦胚球蛋白 $\geq 1\%$ 。

亚硝酸钠(分析纯),天津市致远化学试剂有限公司;维生素C(食品级),石药集团维生药业有限公司;总蛋白定量测定试剂盒(BCA)、蛋白定量测试盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、谷胱甘肽(GSH)试剂盒、过氧化氢(CAT)试剂盒、抗氧化能力(T-AOC)试剂盒,均购自于南京建成生物工程研究所;其它试剂均为分析纯。

1.1.2 试验动物与饲料 SPF级雄性SD大鼠(动物质量合格证号NO.41003100006969,许可证号SCXK豫2017-0001),郑州大学动物实验中心。

基础饲料配方:水分 ≤ 100 g,组氨酸 ≥ 5.5 g,铁 ≥ 120 mg,维生素B₁ ≥ 13 mg,粗蛋白 ≥ 200 g,色氨酸 ≥ 2.5 g,锰 ≥ 75 mg,维生素B₂ ≥ 12 mg,粗脂肪 ≥ 40 g,苯丙+酪氨酸 ≥ 13.0 g,铜 ≥ 10 mg,维生素B₆ ≥ 12 mg,粗纤维 ≤ 50 g,苏氨酸 ≥ 8.8 g,锌 ≥ 30 mg,烟酸 ≥ 60 mg,粗灰分 ≤ 80 g,亮氨酸 ≥ 17.6 g,碘 ≥ 0.3 mg,泛酸 ≥ 24 mg,钙10~13 g,异亮氨酸 ≥ 10.3 g,硒 $\geq 0.1\sim 0.2$ mg,叶酸 ≥ 6.00 mg,总磷6~12 g,缬氨酸 ≥ 11.7 g,维生素A $\geq 14\ 000$ IU,生物素 ≥ 0.2 mg,赖氨酸 ≥ 13.2 mg,镁 ≥ 2.0 mg,维生素D $\leq 1\ 500$ IU,维生素B₁₂ ≥ 0.022 mg,蛋+胱氨酸 ≥ 7.8 g,钾 ≥ 5.0 g,维生素E ≥ 120 IU,胆碱 $\geq 1\ 250$ mg,精氨酸 ≥ 11.0 g,钠 ≥ 2.0 g,维生素K ≥ 5.0 g;实验动物饲料由郑州大学动物实验中心提供。

1.2 主要仪器与设备

5810R台式高速冷冻离心机,德国Eppendorf公司;XHF-D高速分散器,宁波新生物股份有限公司;LT1002E电子天平,上海精密科学仪器有限公司;AU5800全自动生化分析仪,美国贝壳曼公司;Tecan Infinite pro型号酶标仪,瑞士帝肯有限公司;FMB-20制冰机,杭州聚同电子有限公司;Dk-98-II电热恒温水浴锅,天津市泰斯特仪器有

限公司;723N可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 实验动物分组与处理 选取42只体重(160~180 g)大鼠适应性饲养一周后,参照文献[13],用随机数字表法把大鼠分为空白组、模型组、麦胚球蛋白组(40 mg/kg)、麦胚球蛋白低剂量组(40 mg/kg)、麦胚球蛋白中剂量组(80 mg/kg)、麦胚球蛋白高剂量组(160 mg/kg)以及维生素C组(80 mg/kg),每组6只。末次给药12 h后,空白组和麦胚球蛋白组给予等体积的生理盐水,其它各组按60 mg/kg NaNO₂进行灌胃,所有剂量都用去离子水配置。在最后一次治疗24 h后,用乙醚麻醉后处死大鼠。大鼠饲养于河南工业大学生物工程学院,整个试验期间,室温控制在24~26℃,相对湿度为40%~70%,光暗周期为12 h,动物在整个治疗期间均可自由饮食和水。

1.3.2 肾组织脏器系数测定 大鼠断颈处死后立即解剖取出肾脏,用预冷生理盐水清洗血液,滤纸吸干,称重并计算脏器系数。

肾脏系数(%)=肾脏质量(mg)/体重(g) $\times 100$

1.3.3 血清生理生化指标测定 将抗凝血3 000 r/min离心10 min,分离血清,用全自动生化分析仪检测。

1.3.4 肾组织抗氧化指标测定 肾组织当中SOD、MDA、GSH、CAT、T-AOC的测定均按照试剂盒说明书进行操作。

1.4 Caspase 3和Caspase 8活力测定

取适量肾脏组织匀浆,其它均按照试剂盒说明书进行操作。

1.5 肾组织病理学检查

大鼠处死后,迅速取肾组织置于4%多聚甲醛中固定,固定24 h后用水冲洗,经梯度乙醇脱水,二甲苯作透明剂,常规石蜡包埋处理后切成5 μ m厚薄片,HE染色,在 $\times 200$ 倍显微镜下观察肾组织切片的形态变化。

2 数据处理

以上所有数据结果以平均值 \pm 标准差表示,每组试验保持3个平行,采用SPSS 26.0统计软件进行单因素(One-Way ANOVA)方差分析。 $P < 0.05$

表示具有显著性差异。

3 结果与分析

3.1 麦胚球蛋白对亚硝酸盐中毒大鼠肾质量及肾脏系数的影响

麦胚球蛋白对大鼠肾质量及肾系数的影响结果见表 1,与空白组相比,亚硝酸盐急性中毒会引

起模型组大鼠肾重和肾脏系数升高 ($P<0.05$),与之前报道一致^[2]。经麦胚球蛋白干预后,麦胚球蛋白各组肾重和肾脏系数分别降低($P<0.05$)。此外,麦胚球蛋白各组大鼠肾相对质量和肾系数均与空白组相比无显著差异,说明麦胚球蛋白可以减轻亚硝酸盐引起的肾损伤。

表 1 麦胚球蛋白对大鼠肾质量及肾系数的影响

Table 1 Effects of WEG on kidney mass and their coefficients of rats

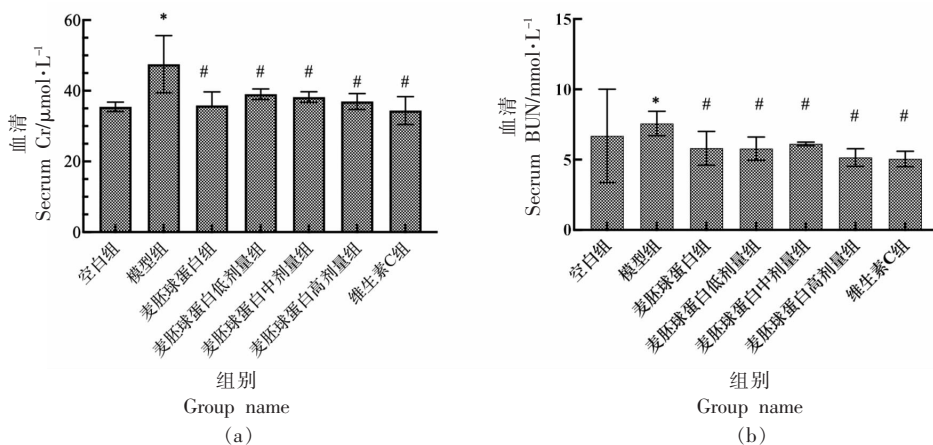
组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	肾脏质量/g	肾脏系数/%
空白组	-	2.33 ± 0.095	8.55 ± 0.85
模型组	-	$3.04 \pm 0.342^*$	$10.73 \pm 1.92^*$
麦胚球蛋白组	80	$2.28 \pm 1.81^{\#}$	$9.2 \pm 0.94^{\#}$
麦胚球蛋白低剂量组	40	$2.41 \pm 0.49^{\#}$	$8.31 \pm 1.45^{\#}$
麦胚球蛋白中剂量组	80	$2.43 \pm 0.09^{\#}$	$8.29 \pm 1.52^{\#}$
麦胚球蛋白高剂量组	160	$2.76 \pm 0.12^{\#}$	$8.34 \pm 0.24^{\#}$
维生素 C 组	80	$2.5 \pm 0.34^{\#}$	$9.54 \pm 0.35^{\#}$

注:*表示与空白组对比有明显差异性($P<0.05$);#表示与模型组对比有明显差异性($P<0.05$)。

3.2 麦胚球蛋白对亚硝酸盐中毒大鼠肾功能的的影响

麦胚球蛋白对大鼠肾功能指标 Cr 和 BUN 的影响结果见图 1,与空白组相比,各麦胚球蛋白组

以及维生素 C 组中的 BUN 和 Cr 含量均未出现显著差异。与模型组相比,BUN 和 Cr 含量出现明显降低,差异明显($P<0.05$),说明麦胚球蛋白能够维持大鼠正常肾功能。



注:*表示与空白组对比有明显差异性($P<0.05$);#表示与模型组对比有明显差异性($P<0.05$)。

图 1 麦胚球蛋白对亚硝酸盐急性中毒大鼠肾功的影响

Fig.1 Effects of WEG on renal function of rats

3.3 麦胚球蛋白对大鼠肾脏抗氧化能力的影响

麦胚球蛋白对大鼠肾脏抗氧化能力影响如表 2 所示。与空白组相比,模型组大鼠肾脏中的 SOD、

CAT、T-AOC 和 GSH 活性均低于空白组 ($P<0.05$);与模型组相比,补充麦胚球蛋白和维生素 C 以后可以明显改善亚硝酸盐急性中毒肾组织

SOD、CAT、T-AOC 和 GSH 含量, 差异性显著 ($P < 0.05$), 表明麦胚球蛋白可以清除体内自由基, 调节体内脂质代谢紊乱, 减轻脂质过氧化程度。

表 2 麦胚球蛋白对亚硝酸盐急性中毒大鼠肾组织抗氧化活性的影响

Table 2 Effects of WEG on antioxidant activity of rats kidney

组别	CAT/U·mL ⁻¹	SOD/U·mL ⁻¹	T-AOC/U·mL ⁻¹	MDA/nmol·mL ⁻¹	GSH/g·mL ⁻¹
空白组	3.62 ± 0.37	515.89 ± 20.30	16.02 ± 2.71	3.57 ± 1.20	1.31 ± 0.19
模型组	1.67 ± 0.36*	464.59 ± 5.79*	9.07 ± 2.52*	7.19 ± 4.31*	0.73 ± 0.11*
麦胚球蛋白组	3.53 ± 1.00 [#]	524.6 ± 11.49 [#]	18.38 ± 2.81 [#]	4.3 ± 1.34 [#]	1.33 ± 0.33 [#]
麦胚球蛋白低剂量组	3.62 ± 0.44 [#]	495.9 ± 43.06	15.82 ± 1.17 [#]	4.31 ± 1.32 [#]	1.27 ± 0.34 [#]
麦胚球蛋白中剂量组	3.7 ± 0.55 [#]	508.12 ± 9.93 [#]	16.67 ± 6.7 [#]	2.54 ± 0.46 [#]	1.42 ± 0.26 [#]
麦胚球蛋白高剂量组	3.8 ± 2.89 [#]	520.71 ± 18.02 [#]	16.84 ± 5.6 [#]	2.21 ± 0.70 [#]	1.51 ± 0.16 [#]
维生素 C 组	3.0 ± 0.44 [#]	507.42 ± 22.88 [#]	17.24 ± 5.42 [#]	3.33 ± 1.32 [#]	1.6 ± 0.65 [#]

注: * 表示与空白组对比有明显差异性 ($P < 0.05$); [#] 表示与模型组对比有明显差异性 ($P < 0.05$)。

3.4 麦胚球蛋白对大鼠肾组织中 Caspase 3 和 Caspase 8 的影响

麦胚球蛋白对大鼠肾脏 Caspase 3 和 Caspase 8 能力影响如表 3 所示。与空白组相比, 模型组大鼠肾脏中 Caspase 3 和 Caspase 8 蛋白表达水平

上升明显 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 补充麦胚球蛋白以及维生素 C 以后 Caspase 3 和 Caspase 8 蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.05$), 表明麦胚球蛋白可能抑制肾脏上皮细胞凋亡, 对亚硝酸盐引起的肾组织氧化应激具有减缓作用。

表 3 麦胚球蛋白对亚硝酸盐急性中毒大鼠肾组织中 Caspase 3 和 Caspase 8 的影响

Table 3 Effects of WEG on Caspase 3 and Caspase 8 of rats kidney

组别	Caspase 3/ β -actin	Caspase 8/ β -actin
空白组	0.18 ± 0.22	0.09 ± 0.15
模型组	0.6 ± 0.99*	0.12 ± 0.56*
麦胚球蛋白组	0.44 ± 0.29 [#]	0.1 ± 0.14 [#]
麦胚球蛋白低剂量组	0.32 ± 0.99 [#]	0.11 ± 0.043 [#]
麦胚球蛋白中剂量组	0.38 ± 0.46 [#]	0.1 ± 0.05 [#]
麦胚球蛋白高剂量组	0.30 ± 0.18 [#]	0.09 ± 0.04 [#]
维生素 C 组	0.28 ± 0.15 [#]	0.1 ± 0.08 [#]

注: * 表示与空白组对比有明显差异性 ($P < 0.05$); [#] 表示与模型组对比有明显差异性 ($P < 0.05$)。

3.5 WEG 对大鼠肾组织的影响

大鼠肾组织切片 HE 染色效果如图 2 所示, 与空白组相比, 模型组大鼠肾组织中的肾小管严重坏死, 肾小管扩张, 管型形成, 炎症细胞浸润。而相比于模型组, 麦胚球蛋白各组以及维生素 C 组中大鼠肾小管坏死、管型形成、炎症细胞浸润程度均得到明显缓解。

4 讨论与结论

亚硝酸盐作为食品添加剂用于维持或改善食品的营养价值、味道和质地, 与胺反应会生成亚硝

胺和自由基, 这些产物可能会对人体器官造成损害。因此摄入一定量天然抗氧化剂可以预防器官炎症损伤、控制相关疾病以及自由基的形成。本研究以麦胚球蛋白为研究对象, 根据预设人均体重 60 kg, 每日应摄入麦胚球蛋白 40 mg/kg 的量, 设置了 3 个剂量, 分别为 40, 80, 160 mg/kg, 进行 7 d 喂养后进行攻毒。亚硝酸盐中毒剂量 60 mg/kg 是参考以往文献中毒剂量^[12], 此剂量会造成大鼠中毒, 但是不会造成大鼠死亡, 本试验也用此剂量进行了预试验证明。在整个灌胃麦胚球蛋白期间, 各组大鼠发育良好, 背毛浓密有光泽, 活动正常、较

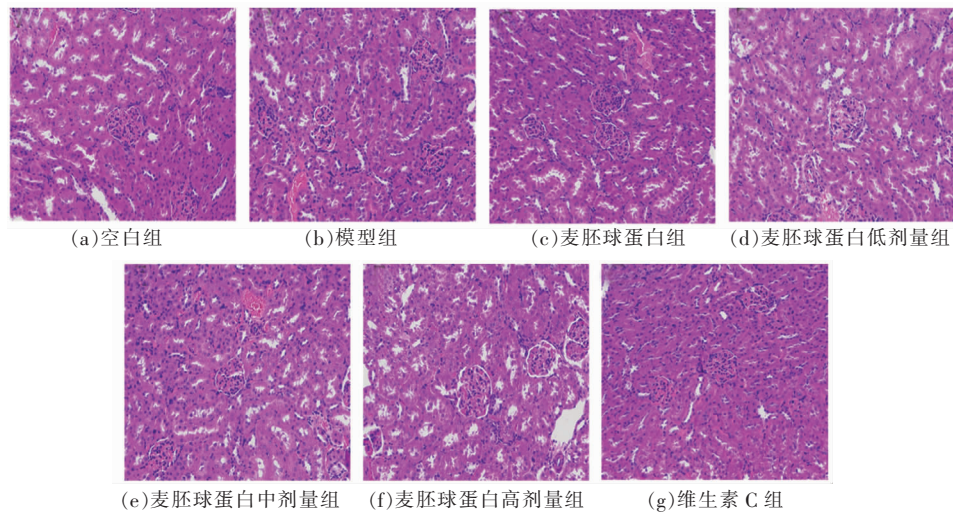


图2 麦胚球蛋白对肾组织的影响(200×)

Fig.2 The effect of WEG on the kidney (200×)

活跃,均未出现死亡和异常现象。本文通过对大鼠的肾功能、抗氧化指标以及细胞凋亡因子含量测定,初步探讨得到麦胚球蛋白对亚硝酸盐急性中毒大鼠肾损伤具有保护作用。

血清 BUN 是指血液中除蛋白质以外的含氮化合物,是体内蛋白质代谢的主要产物,主要通过肾小球排出体外,当肾小球滤率下降到正常值 50%时,BUN 水平会迅速升高^[14]。血清 Cr 作为高能量化合物磷酸肌酸的分解物,由肌肉组织及神经组织释放至血液中,血液中的 Cr 经肾小球过滤后大部分不再被吸收,而是直接由尿液排出体外。血清中的 Cr 浓度会因肾功能不全、尿毒症等因素而上升,Cr 作为肾功能的检测指标在肾脏疾病的诊断及治疗过程中具有重要意义^[15]。所以血清 BUN 和 Cr 是临床评价肾功能状态的重要指标,当肾功能受损时,BUN 和 Cr 数值会明显升高。以上结果说明,麦胚球蛋白能缓解亚硝酸盐导致的肾功能损伤。

当亚硝酸盐进入机体时,会在代谢活动过程中产生大量自由基,如超氧阴离子、羟基自由基、过氧化氢等,造成机体的脂质过氧化和一些重要酶类的氧化,从而导致机体器官组织损伤。T-AOC 是评估体内各类抗氧化物质之间的协同作用,对包括酶体系与非酶体系在内的整个氧化防御酶系统做出宏观评价的一个重要参考指标^[16]。抗氧化酶是机体通过对氧化损伤防御的第一道防线,其

中 SOD 是生物体内重要的抗氧化酶,它具有特殊的生理活性,是清除自由基的主要酶^[17]。SOD 可以保护细胞免受氧化自由基造成的损伤,并修复自由基诱导的细胞损伤。GSH 是一种广泛存在于体内的重要氧化物酶。GSH 的主要生物学功能是降低脂质过氧化,迅速清除 H_2O_2 。CAT 是体内抗氧化系统的一部分,能阻止 H_2O_2 转变为 $\cdot OH$,使之分解为 H_2O 和氧气^[18]。MDA 是一种脂质过氧化物,是将脂质过氧化活性氧转化为活性化学剂即非自由基分解产物,并通过链式或支链反应放大活性氧的氧化能力^[19],通常能反映体内的脂质过氧化以及细胞损伤程度。根据试验结果表明,与空白组相比,模型组大鼠肾组织中的 MDA 水平显著升高,同时 T-AOC、SOD、GSH 以及 CAT 显著降低($P<0.05$),而经麦胚球蛋白以及维生素 C 干预后能显著提高 T-AOC、SOD、GSH 以及 CAT 含量,且呈现一定程度剂量效应的关系。以上试验结果表明麦胚球蛋白能够提高机体抗氧化活力,清除氧自由基和预防脂质过氧化,降低氧化损伤程度。

细胞凋亡是急性亚硝酸盐肾功能损伤的重要机制,而 Caspase 家族是控制细胞凋亡和炎症反应平衡的重要基因家族^[20]。当炎症反应发生时加速细胞凋亡,Caspase 3 和 Caspase 8 不管在细胞外还是细胞内凋亡途径中均扮演重要的角色,因此本试验研究选择 Caspase 3 和 Caspase 8 作为重要的检测指标。Caspase 3 是细胞凋亡途径的

最终凋亡因子,进而激活细胞蛋白酶级联反应,使细胞内重要的蛋白质发生降解失去活性,引起细胞凋亡^[21]。Caspase 8 作为凋亡启动因子,位于级联反应中的核心地位,可在其它蛋白辅助下,发生自我活化,最终诱发凋亡^[22]。试验结果表明亚硝酸盐急性中毒时麦胚球蛋白治疗各组中的肾组织 Caspase 3 和 Caspase 8 的表达明显低于模型组。两部分试验同时验证了麦胚球蛋白预防后的肾组织的凋亡率明显低于模型组,麦胚球蛋白预防亚硝酸盐所致的急性肾损伤的机制与减少组织细胞的凋亡保护有效肾细胞具有重要关系。与此同时,由病理切片可以看出,模型组大鼠肾组织中的肾小管严重坏死,肾小管扩张,管型形成,炎症细胞浸润。而麦胚球蛋白以及维生素 C 各组相比出现明显改善,细胞肿胀减少,炎症程度明显减轻。病理切片与各指标测定结果相符合,进一步说明麦胚球蛋白在预防亚硝酸盐对肾毒性损伤的可能性,为麦胚球蛋白的开发提供新思路。

综上所述,亚硝酸盐摄入会导致大鼠肾组织损伤,引起脂质代谢紊乱,降低机体抗氧化能力,对肝脏造成严重损伤。麦胚球蛋白能够改善亚硝酸盐造成的肾组织氧化应激能力,提高抗氧化能力,从而对大鼠肾组织具有一定保护作用。

参 考 文 献

- [1] IZUMI K, CASSENS R G, GREASER M L. Reaction of nitrite with ascorbic acid and its significant role in nitrite-cured food[J]. *Meat Ence*, 1989, 26(2): 141-153.
- [2] A L W, B X W, A F Y, et al. Nitrogen removal performance and ammonia- and nitrite-oxidizing bacterial community analysis of a novel industrial waste-based biofilter[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2016, 299(1): 156-166.
- [3] HODGSON J M, CROFT K D, BONDONNO C P, et al. Dietary nitrate, nitric oxide, and cardiovascular health[J]. *Critical Reviews in Food Ence and Nutrition*, 2016, 56(9/12): 2036-2052.
- [4] ARCHER M C. Hazards of nitrate, nitrite, and n-nitroso compounds in human nutrition[M]. *Iowa: Nutritional Toxicology*, 1982: 327-381.
- [5] AL-BRAKATI A, KASSAB R, LOKMAN M, et al. Role of thymoquinone and ebselen in the prevention of sodium arsenite-induced nephrotoxicity in female rats[J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2018, 38(4): 482-493.
- [6] CHENG D, WANG G, WANG X, et al. Chlorogenic acid improves lipid membrane peroxidation and morphological changes in nitrite induced erythrocyte model of methemoglobinemia[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2020, 44(5): e13172.
- [7] HASSAN H A, HAFEZ H S, ZEGHEBAR F E. Garlic oil as a modulating agent for oxidative stress and neurotoxicity induced by sodium nitrite in male albino rats[J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2010, 48(7): 1980-1985.
- [8] HASSAN H A, EL-AGMY S M, GAUR R L, et al. *In vivo* evidence of hepato- and reno-protective effect of garlic oil against sodium nitrite-induced oxidative stress[J]. *International Journal of Biological Ence*, 2009, 5(3): 249-255.
- [9] 毕振原, 黄继红, 刘娜, 等. 麦胚球蛋白的体外抗炎活性研究[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2017, 38(2): 63-68.
- [10] 吕行. 麦胚球蛋白对 D-半乳糖诱导衰老小鼠多重保护作用研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2020.
- [11] 纪小国. 麦胚球蛋白组学分析及其对肠道微生物区系的影响研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2018.
- [12] 许明贤, 曹舒晴, 董伟, 等. 牛磺酸对脂多糖诱导
- [13] BI Z Y, HUANG J H, LIU N, et al. The Anti-inflammatory function of wheat of grem globulin *in vitro*[J]. *Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition)*, 2017, 38(2): 63-68.
- [14] LV X. Multi-protective effects of wheat embryo globulin on D-gal-induced aging mice[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2020.
- [15] JI X G. Poteomic analysis of wheat germ globulin and its effects on intestinal microfloras[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2018.
- [16] ANSARI F A, ALI S N, KHAN A A, et al. Acute oral dose of sodium nitrite auses redox imbalance and DNA damage in rat kidney[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2018, 119(4): 3744-3754.
- [17] ANSARI F A, KHAN A A, MAHMOOD R. Protective effect of carnosine and N-acetylcysteine against sodium nitrite-induced oxidative stress and DNA damage in rat intestine[J]. *Environmental Science & Pollution Research*, 2018, 25(20): 19380-19392.

- 小鼠急性肾损伤的保护作用及机制[J]. 广东医学, 2019, 40(9): 62-65.
- XU M X, GAO S Q, DONG W, et al. Effects and mechanism of taurine on LPS - induced acute kidney injury of mice[J]. Guangdong Medical Journal, 2019, 40(9): 62-65.
- [15] 王健, 赵硕, 任博环. *N*-乙酰半胱氨酸对顺铂导致肾毒性的保护作用及作用机制分析[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(4): 390-394.
- WANG J, ZHAO S, REN B H. Protective effect and mechanism of *N*-acetylcysteine on cisplatin-induced nephrotoxicity[J]. Chinese Journal of Immunology, 2020, 36(4): 390-394.
- [16] 郭鑫伟, 张洋, 迟淑艳, 等. 三种铁源对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能, 肝脏抗氧化酶活性及肠道发育形态的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2020, 50(11): 53-61.
- GUO X W, ZHANG Y, CHI S Y, et al. Effects of three kinds Fe sources on growth performance, hepatic antioxidative enzymes and intestinal morphology of juvenile pearl gentian grouper *epinephelus lanceola*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2020, 50(11): 53-61.
- [17] 欧阳欣, 胡巧霞, 高大鹏. 丁苯酞注射液对急性脑梗死合并颅内动脉狭窄患者颅内动脉血流动力学, 氧化应激及血清 Hcy 和 CysC 水平的影响[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(12): 2485-2487.
- OUYANG X, HU Q X, GAO D P. Effects of butylphthalide injection on intracranial artery hemodynamics, oxidative stress and serum Hcy and CysC levels in patients with acute cerebral infarction complicated with intracranial artery stenosis[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2020, 40(12): 2485-2487.
- [18] 高峰, 孟令仪, 张晶莹, 等. 林蛙油粉对运动小鼠肝脏组织相关指标的影响[J]. 中国卫生工程学, 2020, 19(5): 670-672.
- GAO F, MENG L Y, ZHANG J Y, et al. Anti-fatigue effect of oviductus rana oil powder on exercise mice[J]. Chinese Journal of Public Health Engineering, 2020, 19(5): 670-672.
- [19] 秦永燕, 王好婕, 李颖, 等. 黄芪多糖对果蝇寿命和抗氧化作用的影响[J]. 食品工业科技, 2020, 442(2): 294-297.
- QIN Y Y, WANG Y J, LI Y, et al. Effects of Astragalus polysaccharide on life span and antioxidation of *drosophila melanogaster* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 442(2): 294-297.
- [20] WANG Y J, LIU M G, WANG J H, et al. Restoration of cingulate long-term depression by enhancing non-apoptotic caspase 3 alleviates peripheral pain hypersensitivity[J]. Cell Reports, 2020, 33(6): 108369.
- [21] 吴羽媛. 马氏珠母贝肿瘤坏死因子受体及其相关因子基因的克隆与功能研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2018.
- WU Y Y. Hazards of nitrate, nitrite, and *n*-nitroso compounds in human nutrition[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2018.
- [22] 蒋鹏飞, 彭俊, 吴大力, 等. 蛭蟾对兔光损伤视网膜变性 Caspase-8, Bax, Bid, Caspase-3 mRNA 表达的影响[J]. 中医药信息, 2020, 37(5): 1-4.
- JIANG P F, PENG J, WU D L, et al. Effects of grub extract on the expressions of Caspase 8 Bax Bid and Caspase 3 in rabbits with photorefractive retinal degeneration[J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2020, 37(5): 1-4.

Protective Effect of Wheat Embryo Globulin on Kidney Injury in Rats with Acute Nitrite Poisoning

Zhao Su^{1,3}, Pan Long¹, Wu Xingquan¹, Liao Aimei¹, Huang Jihong^{1,2*}

¹School of Biological Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001

²Food and Pharmacy College, Xuchang University, Xuchang 461000, Henan

³Zhengzhou Grain Wholesale Market, Zhengzhou 450001)

Abstract Objective: To investigate the protective effects of different doses of WEG on renal injury in rats with acute nitrite poisoning. Methods: Thirty six rats were divided into blank group, model group, wheat germ globulin group (80

mg/kg), low-, medium-, and high-dose groups (40, 80, 160 mg/kg) and vitamin C (80 mg/kg) groups. The rats were continuously intervened for one week. After 12 hours of the last administration, the rats were challenged with 60 mg/kg NaNO₂. The changes of antioxidant activity, apoptotic factor content and partial renal function were observed and compared, and the morphological changes of renal tissue were observed by hematoxylin eosin staining under microscope. Results: Compared with the model group, different doses of wheat germ globulin can significantly reduce the kidney coefficient, increase the contents of superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH), catalase (H₂O₂), antioxidant capacity (T-AOC), reduce the production of malondialdehyde (MDA), reduce the levels of urea nitrogen (BUN) and creatinine (CR) ($P < 0.05$), and increase the contents of caspase 3 and caspase 8 in kidney in addition, the degree of renal degeneration and necrosis was significantly reduced. Conclusion: Wheat germ globulin has potential protective effect on renal toxicity caused by nitrite. It can effectively improve the antioxidant activity of renal tissue, enhance the anti-inflammatory stress capacity, promote the balance of anti-inflammatory factors and pro-inflammatory factors, and has protective effect on renal injury caused by acute nitrite poisoning.

Keywords wheat germ globulin; nitrite; acute poisoning; kidney injury; protective effect