

虾青素对运动性力竭大鼠肾脏铁死亡的影响及机制研究

王志广¹, 卜彦丽¹, 杨晓东², 李海婷³

(1.河南农业大学 体育学院, 郑州 450046; 2.北京政法职业学院 体育教研室, 北京 102628; 3.河南牧业经济学院 体育部, 郑州 450046)

摘要:为探讨虾青素对运动性力竭大鼠肾脏铁死亡的影响及潜在调控机制, 研究选取60只8周龄SD雄性大鼠, 开展为期4周的力竭训练实验用于建立力竭性大鼠模型。除对照组外, 将建模成功的大鼠随机分为模型组、25 mg/kg 虾青素组、50 mg/kg 虾青素组、100 mg/kg 虾青素组和 ML385(Nrf2 抑制剂)+虾青素(100 mg/kg)组。4周后, 收集血液和肾脏样品并检查相关指标, 结果发现50和100 mg/kg 虾青素处理后, 运动性力竭大鼠血清中尿素氮(BUN)、酸酐(SCR)和肾损伤分子1(KIM-1)水平显著降低, 肾脏病理损伤明显改善, 肾组织中的活性氧(ROS)、Fe²⁺、8-OHdG 和丙二醛(MDA)含量显著降低, 谷胱甘肽(GSH)和超氧化物歧化酶(SOD)水平显著升高, 核因子E2相关因子2(Nrf2)、血红素加氧酶-1(HO-1)、溶质载体家族7成员11(SLC7A11)和谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)蛋白表达水平增加, Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白1(Keap1)表达水平降低。而ML385干预逆转了虾青素对运动性力竭大鼠肾脏铁死亡相关指标和Nrf2/HO-1信号通路的影响。研究表明虾青素可能通过激活Nrf2/HO-1信号通路来抑制运动性力竭大鼠肾脏铁死亡。

关键词:运动性力竭; 虾青素; 肾脏; 铁死亡; Keap1/Nrf2 信号通路

中图分类号: G804.2

文献标志码: A

文章编号: 1000-2367(2026)02-0117-07

运动性力竭作为高强度训练或比赛的常见生理极限状态, 能够诱发多种组织器官氧化应激与代谢紊乱^[1]。力竭运动可增加血液在肌肉血管中的流动, 但同时还会造成肾脏灌注的不足, 导致肾脏因血流量锐减及代谢废物蓄积而受损^[2]。既往研究证实, 运动性力竭后会造肾脏损伤^[3-4]。铁死亡是一种新型的细胞死亡方式, 其核心特征为铁离子依赖的脂质过氧化蓄积^[5]。有研究指出, 铁死亡参与了运动性力竭引起的肾脏损伤^[6]。针对铁死亡的调控有望为干预运动性力竭引发的肾损伤开辟新的靶点。

核因子E2相关因子2(Nrf2)/血红素加氧酶-1(HO-1)信号通路是细胞抗氧化应激反应的重要信号通路之一。力竭运动会导致肾脏中Nrf2/HO-1信号通路的抑制。作为一种天然类胡萝卜素, 虾青素广泛分布于微生物以及虾、蟹、鲑鱼等海洋生物体内。其独特的分子构型使其具备良好的抗氧化以及抗炎能力。研究发现虾青素通过抑制炎症反应以及细胞凋亡, 有效改善了力竭运动引起的大鼠肾脏损伤^[7]。此外, 虾青素能够通过调控Nrf2/HO-1信号通路, 改善力竭运动引起的组织损伤。越来越多的证据表明, 虾青素具有良好的铁稳态调控作用且Nrf2/HO-1信号通路与铁死亡的调控有着密切联系。然而, 虾青素对运动性力竭大鼠肾脏铁死亡的影响以及Nrf2/HO-1信号通路在其中发挥的作用仍不清楚。基于此, 本研究通过建立运动性力竭大鼠模型, 探讨虾青素对肾铁死亡的影响及潜在调控机制。

收稿日期: 2025-08-16; **修回日期:** 2025-09-18.

基金项目: 河南省软科学研究计划项目(242400410293).

作者简介: 王志广(1989-), 男, 河南周口人, 河南农业大学讲师, 研究方向为运动与健康促进, E-mail: 852751686@qq.com.

通信作者: 卜彦丽, E-mail: 610812196@qq.com.

引用本文: 王志广, 卜彦丽, 杨晓东, 等. 虾青素对运动性力竭大鼠肾脏铁死亡的影响及机制研究[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2026, 54(2): 117-123. (Wang Zhiguang, Bu Yanli, Yang Xiaodong, et al. Study on the effects and mechanisms of astaxanthin on ferroptosis in the kidneys of exercise-induced exhaustion rats[J]. Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition), 2026, 54(2): 117-123. DOI: 10.16366/j.cnki.1000-2367.2025.08.16.0001.)

1 材料与方法

60 只 8 周龄 SD 雄性大鼠, 体质量范围 210~230 g, 购自郑州大学实验动物中心. 本研究经河南农业大学生物医学研究伦理委员会批准(伦理号: HNND2024111701).

虾青素(纯度 $\geq 96\%$, 货号: A9241, 北京索莱宝科技有限公司); ML385(Nrf2 抑制剂)(货号: HY-100523, 美国 MCE 公司); 尿素氮(BUN, 货号: C013-2-1)和血清肌酐(SCR, 货号: C011-2-1 试剂盒, 南京建成生物工程研究所有限公司); 大鼠肾损伤分子 1(KIM-1)酶联免疫吸附(ELISA)测定试剂盒(货号: CSB-E08808r, 上海希美化学有限公司); 大鼠 8 羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)ELISA 检测试剂盒(货号: SBJR0065, 南京森贝伽生物科技有限公司); 核蛋白分离试剂盒、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)检测试剂盒以及 4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)染液(货号分别为: P0027、S0131S、S0101S、S0053, 上海碧云天生物有限公司); 亚铁离子(Fe^{2+})检测试剂盒(货号: G4323)、苏木素伊红(HE)染色试剂盒(货号: G1040)、二氢乙锭(DHE, 产品货号: G1706)购自武汉塞维尔生物科技有限公司. 核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)、Kelch 样 ECH 相关蛋白 1(Keap1)、血红素氧合酶-1(HO-1)、核纤层蛋白 B1(Lamin B1)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、溶质载体家族 7 成员 11(SLC7A11)、谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)一抗、HRP 标记的羊抗兔和羊抗鼠二抗以及 Cy3 和 FITC 标记的荧光二抗均购自江苏亲科生物研究中心有限公司(货号分别为: BF8017、AF5266、AF5393、BF8009、AF7021、DF12059、DF6701、S0001、S0002、S0011、S0008).

2 实验方法

2.1 建立模型与分组给药

实验开始前 7 d 选 50 只大鼠进行适应性训练, 采用阶梯式适应第 1~3 天: 10 m/min, 15 min; 第 4~6 天: 15 m/min, 20 min; 第 7 天: 20 m/min, 25 min. 然后开展为期 4 周的力竭训练实验, 初始速度为 10 m/min, 间隔时间为 5 min 增加 5 m/min, 直至 30 m/min, 以此速度作为最大运动性力竭建模. 跑台坡度 5° , 每天 1 次, 每周训练 6 d, 休息 1 d. 力竭模型构建成功判定标准^[8]: 大鼠在电刺激(0.3~0.5 mA)下连续 10 s 无法返回跑道即判定力竭. 运动停止后的大鼠会表现出如下症状: 翻身迟缓、呼吸急促、驱赶和电刺激大鼠 2~5 s 无应答无跑动迹象等. 对照组大鼠则自由活动.

除对照组外, 将建模成功的大鼠分为模型组、25 mg/kg 虾青素组、50 mg/kg 虾青素组、100 mg/kg 虾青素组和 ML385+虾青素(100 mg/kg)组. 将虾青素溶于橄榄油中进行灌胃, 对照组与模型组则灌胃等量的橄榄油, 每天 1 次, 灌胃 4 周. ML385+虾青素组大鼠通过腹腔注射 Nrf2 抑制剂 ML385, 注射剂量为 30 mg/kg. 其余各组腹腔等量的生理盐水, 每天 1 次, 干预 4 周.

2.2 血液、肾脏样品的采集与血清指标测定

末次给药结束后, 将大鼠禁食不禁水 12 h. 通过腹腔注射 2%(体积分数)戊巴比妥钠的方式(每千克体质量 1.6 mL)对动物进行麻醉. 采用腹主动脉取血的方式来获得血液样品, 室温静置 30 min. 3 000 r/min 离心 15 min, 收集上层血清. 将双侧肾脏完整摘取, 左侧肾脏用于病理学检测和 DHE 染色, 右侧肾脏则冻存于 -80°C . 按照生化试剂盒说明书来检测血清 BUN 和 SCR 水平. 根据 ELISA 试剂盒说明书的方法, 测定血清中 KIM-1 水平.

2.3 染色实验

采用横切的方式将固定后的肾组织样本进行切割, 随后依次进行梯度乙醇脱水、二甲苯透明及石蜡浸渍处理; 之后使用组织包埋机进行包埋, 切片机进行切片(厚度为 $5\ \mu\text{m}$). 石蜡切片经 60°C 烘箱烘烤过夜后, 按以下程序进行 HE 染色: 脱蜡、水化、苏木素染色、分化、流水返蓝、伊红染色、梯度脱水、透明、封片. 最后将染色后的切片置于切片扫描系统进行图像的采集工作.

将新鲜的大鼠用 OCT 包埋后迅速冷冻, 用于制备冰冻切片; 采用 DHE 染色工作液($20\ \mu\text{mol/L}$)在避光环境下(37°C)孵育 20 min; 待磷酸盐缓冲液漂洗后滴加 DAPI 染色对细胞核染色 5 min; 加入抗荧光淬灭封片剂用来封片; 置于切片扫描系统下进行图像的扫描工作. 使用 Image J 软件对荧光强度进行分析.

2.4 肾组织中 Fe^{2+} , 8-OHdG, MDA, GSH 和 SOD 水平测定

取适量的大鼠组织,加入 9 倍体积预冷的生理盐水,放置在冰浴条件下进行匀浆,匀浆后的组织经 10 000 r/min 离心 10 min,吸取上清部分,按照试剂盒说明书,分别检测肾脏组织中的 Fe^{2+} , 8-OHdG, MDA, GSH 和 SOD 水平。

2.5 Western blot 法检测 Nrf2、Keap1 和 HO-1 蛋白表达

采用细胞核蛋白分离试剂盒来提取肾脏组织核蛋白成分,通过加入预冷的 RIPA 裂解液来提取肾脏组织总蛋白,冰浴条件下充分匀浆,在 4 °C, 12 000 r/min 条件下离心 15 min,用于上清液的收集,采用 BCA 蛋白定量试剂盒对蛋白浓度进行测定,将蛋白样本与上样缓冲液按比例混合,放入 100 °C 煮沸 10 min 用于蛋白的变性,蛋白样品经 12% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶电泳分离,随后将蛋白转移至聚偏氟乙烯膜(PVDF)上,使用含质量分数 5% 脱脂奶粉的封闭液在室温条件下封闭 2 h,提取的核蛋白用来孵育 Nrf2 和 Lamin B1 抗体,提取的总蛋白孵育 Keap1、HO-1 和 GAPDH 抗体,将孵育抗体的 PVDF 膜置于 4 °C 过夜孵育,随后在室温条件下孵育 HRP 标记山羊抗兔二抗 1 h, ECL 化学发光显影后使用 Image J 软件进行灰度值分析,分别以 Lamin B1 和 GAPDH 作为内参进行标准化处理。

2.6 免疫荧光检测肾脏 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达

大鼠肾脏组织切片经过脱蜡和抗原修复,随后放入透化液中对细胞膜进行透化处理;在透化好的组织上滴加封闭液,室温放置 1 h;在组织上滴加足量稀释好的 SLC7A11 和 GPX4(稀释比例均为 1:200)一抗,在湿盒中过夜孵育(4 °C);磷酸盐缓冲液洗涤 3 次后,分别使用 FITC 和 Cy3 标记的荧光二抗,在室温条件下孵育 1 h(注意避光);DAPI 染液对细胞核进行染色(避光 5 min);最后加入抗荧光淬灭封片剂用来封片,采用数字切片扫描系统对图像进行采集,使用 Image J 软件对荧光强度进行分析。

2.7 数据的分析与统计

采用 SPSS 28.0 进行统计分析,多组间的数据比较采用单因素方差分析,组间比较采用 LSD-*t* 检验,计量资料按照平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

3 结 果

3.1 各组大鼠血清中 BUN、SCR 和 KIM-1 水平变化

与对照组进行比较,模型组大鼠血清中的 BUN、SCR 和 KIM-1 水平升高,有显著差异($p < 0.05$);与模型组进行比较,25 mg/kg 虾青素组大鼠血清中 BUN、SCR 和 KIM-1 水平降低,无显著差异($p < 0.05$);与模型组进行比较,50 和 100 mg/kg 虾青素组大鼠血清中 BUN、SCR 和 KIM-1 水平降低,有显著差异($p < 0.05$);与 100 mg/kg 虾青素组进行比较,ML385+虾青素组大鼠血清中 BUN、SCR 和 KIM-1 水平升高,有显著差异($p < 0.05$),结果见附录表 S1。

3.2 各组大鼠肾脏组织病理形态学的变化

对照组大鼠肾脏组织结构形态正常,模型组大鼠肾脏肾小球受损和肾小管上皮细胞出现肿胀、空泡与变性;25 mg/kg 虾青素组大鼠肾脏损伤情况未见明显缓解;50 和 100 mg/kg 虾青素组大鼠肾脏肾小球和肾小管上皮细胞受损情况得到明显缓解;ML385 抑制了虾青素对运动性力竭大鼠肾脏损伤的保护作用,结果见图 1。

3.3 各组大鼠肾脏组织 ROS 水平变化

首先检测了各组大鼠 ROS 水平变化,与对照组进行比较,模型组大鼠肾脏组织 ROS 水平显著增强($p < 0.05$);与模型组比较,25 mg/kg 虾青素组大鼠肾脏 ROS 水平降低,无显著差异($p < 0.05$);与模型组进行比较,50 和 100 mg/kg 虾青素组大鼠肾脏 ROS 水平降低,有显著差异($p < 0.05$);与 100 mg/kg 虾青素组进行比较,ML385+虾青素组大鼠肾脏 ROS 水平升高,有显著差异($p < 0.05$),结果见图 2 和附录表 S2。

3.4 各组大鼠肾脏 ROS、 Fe^{2+} 、8-OHdG、MDA、GSH 和 SOD 水平变化

进一步检测了铁死亡相关标志物的变化,结果发现,与对照组进行比较,模型组大鼠肾组织中 ROS、 Fe^{2+} 、8-OHdG 和 MDA 含量显著升高($p < 0.05$),GSH 和 SOD 水平显著降低($p < 0.05$);与模型组进行比较,25 mg/kg 虾青素组大鼠肾组织中 ROS、 Fe^{2+} 、8-OHdG 和 MDA 含量降低,GSH 和 SOD 水平升高,未见

明显差异($p > 0.05$);与模型组进行比较,50 和 100 mg/kg 虾青素组大鼠肾组织中 ROS、 Fe^{2+} 、8-OHdG 和 MDA 含量显著降低($p < 0.05$),GSH 和 SOD 水平显著升高($p < 0.05$);与 100 mg/kg 虾青素组进行比较,ML385+虾青素组大鼠肾组织中 ROS、 Fe^{2+} 、8-OHdG 和 MDA 含量显著升高($p < 0.05$),GSH 和 SOD 水平显著降低($p < 0.05$).结果见表 S2.

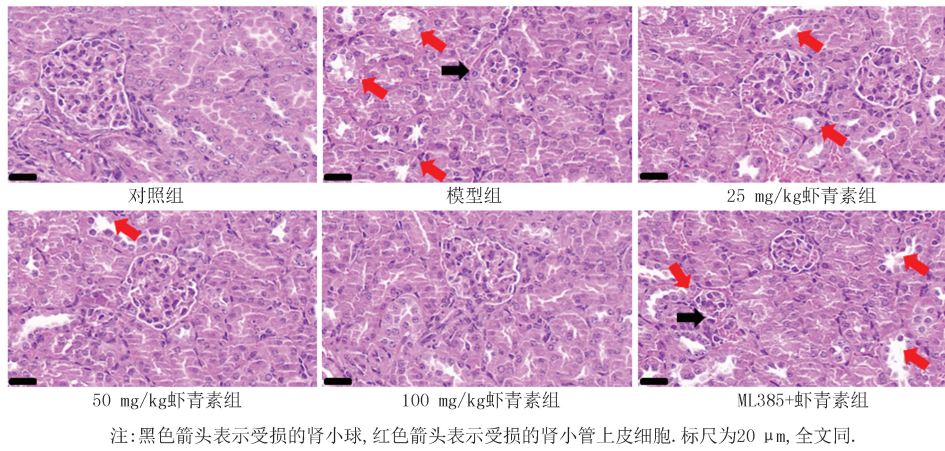


图1 HE染色观察虾青素对大鼠肾脏组织病理学的影响

Fig.1 HE staining to observe the effect of astaxanthin on the histopathology of rat kidney tissue

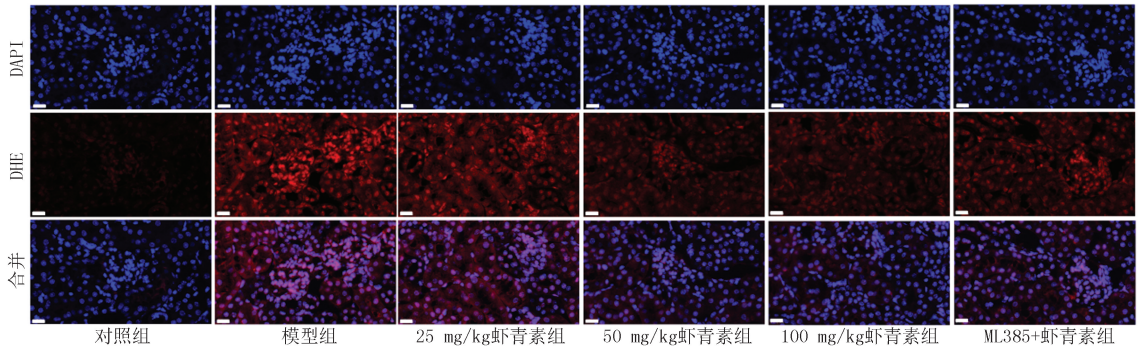


图2 各组大鼠肾脏DHE染色图

Fig.2 DHE staining of kidneys in each group of rats

3.5 各组大鼠肾脏 Nrf2/HO-1 信号通路变化

采用 Western blot 的方法来探究虾青素对于 Nrf2/HO-1 信号通路的影响.采用 Western blot 的方法来探究虾青素对于 Nrf2/HO-1 信号通路的影响.与对照组进行比较,模型组大鼠肾脏组织中的 Keap1 蛋白表达水平升高($p < 0.05$),核 Nrf2 以及 HO-1 蛋白表达水平降低($p < 0.05$);与模型组进行比较,25 mg/kg 虾青素组大鼠肾组织中 Keap1 蛋白表达水平降低,核 Nrf2 以及 HO-1 蛋白表达水平升高,无显著差异($p > 0.05$);与模型组进行比较,50 和 100 mg/kg 虾青素组大鼠肾组织中 Keap1 蛋白表达水平降低,核 Nrf2 以及 HO-1 蛋白表达水平升高,有显著差异($p < 0.05$);与 100 mg/kg 虾青素组进行比较,ML385+虾青素组大鼠肾组织中 Keap1 蛋白表达水平升高,核 Nrf2 以及 HO-1 蛋白表达水平降低,有显著差异($p < 0.05$).结果见图 3 和附录表 S3.

3.6 各组大鼠肾脏组织中 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达

采用免疫荧光染色的方法,观察 Nrf2 信号通路在调控铁死亡相关蛋白 SLC7A11 和 GPX4 表达中的作用.与对照组进行比较,模型组大鼠肾脏组织中 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平降低($p < 0.05$);与模型组进行比较,25 mg/kg 虾青素组大鼠肾组织中 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平升高,无显著差异($p > 0.05$);与模型组进行比较,50 和 100 mg/kg 虾青素组大鼠肾组织中 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平升高,有显著差异($p < 0.05$);与 100 mg/kg 虾青素组进行比较,ML385+虾青素组大鼠肾组织中 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平降低,有显著差异($p < 0.05$).结果见图 4 和附录表 S4.

4 讨 论

力竭运动会引起肾脏的损伤^[9].本研究结果进一步证实,运动性力竭能够诱导大鼠肾脏功能指标 BUN 和 SCR 水平的升高以及肾脏组织结构损伤.KIM-1 作为一种在肾小管上皮细胞中表达的蛋白,它是肾脏损伤的重要标志物之一.运动性力竭大鼠血清中 KIM-1 水平明显升高.虾青素干预后血清中 BUN、SCR 以及 KIM-1 水平明显降低,肾脏病理损伤情况显著改善.这些结果提示,虾青素能够改善运动性力竭引起的大鼠肾脏损伤.

铁死亡是一种特殊的细胞死亡形式,其核心机制是铁离子的积累导致细胞内脂质过氧化损伤,从而引发细胞死亡^[10-11].铁死亡的典型生物学特征主要包括以下几个方面:Fe²⁺ 含量的升高、ROS 水平的增加、脂质过氧化产物水平的增加以及 GSH 和 SOD 水平的降低.过量 Fe²⁺ 通过 Fenton 反应来诱导 ROS 过量产生,进而加剧组织细胞脂质过氧化损伤.GSH 作为 GPX4 酶促反应的必需辅因子,GPX4 可以促进 GSH 的合成,其耗竭直接削弱细胞对脂质过氧化物的清除能力.SLC7A11 作为胱氨酸-谷氨酸逆向转运系统的重要组成部分,它可以调控胱氨酸的流入以及谷氨酸的流出.SLC7A11 表达受到抑制会使得 GPX4 的失活,进而造成 ROS 积累以及 GSH 的合成受阻,诱导铁死亡的发生.最新的研究指出,铁死亡与运动性力竭引起的机体损伤有密切的关系^[12-13].虾青素具有良好的铁死亡调控效应^[14],一方面它能够激活谷胱甘肽转运系统提高细胞抗氧化防御能力^[15-19],另一方面也能够通过抑制铁蛋白降解来降低细胞内游离 Fe²⁺ 水平^[20].本研究的结果显示,运动性力竭大鼠的肾组织中 Fe²⁺、ROS、脂质过氧化产物 MDA 水平以及氧化应激标志物 8-OHdG 水平均明显增加,而 GSH 和 SOD 水平以及 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达则明显降低,提示运动性力竭会导致大鼠肾脏铁死亡.虾青素干预逆转了运动性力竭对大鼠肾脏铁死亡相关指标的影响.

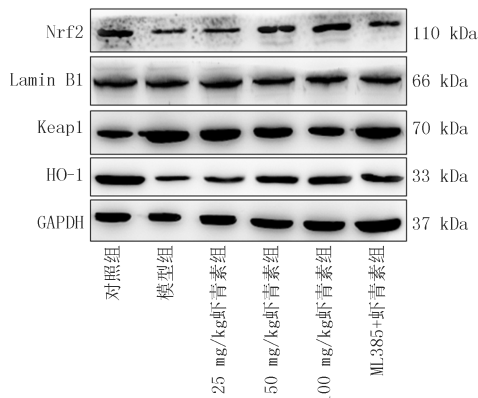


图3 各组大鼠肾脏Nrf2/HO-1通路相关蛋白免疫印迹图
Fig.3 Western Blot analysis of Nrf2/HO-1 pathway-related proteins in the kidneys of rats in each group

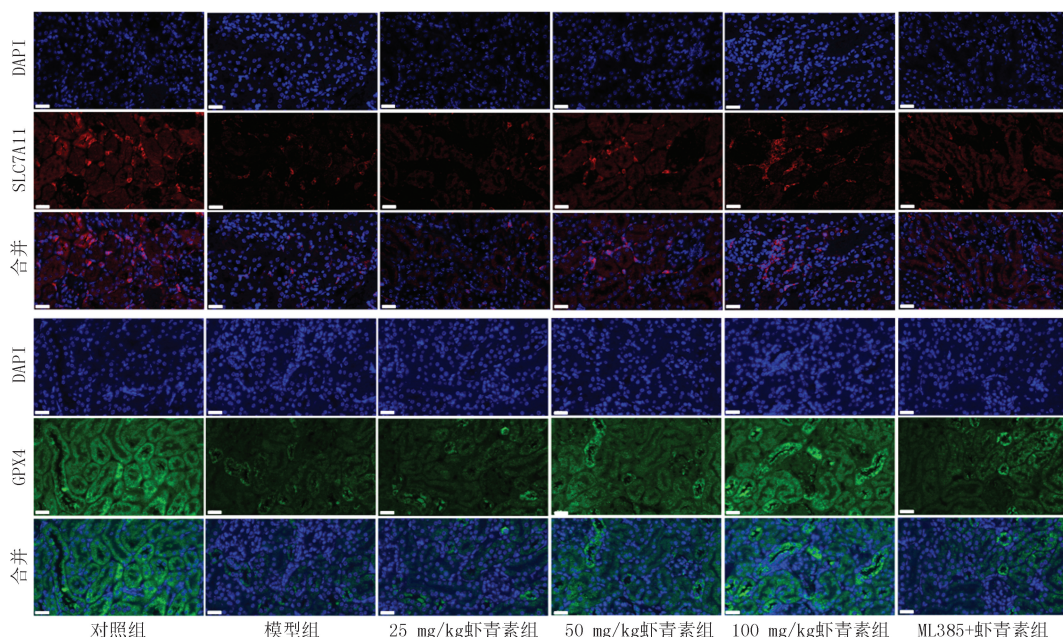


图4 各组大鼠肾脏组织SLC7A11和GPX4免疫荧光图

Fig.4 Immunofluorescence images of SLC7A11 and GPX4 in renal tissues of rats in each group

Nrf2 是铁死亡调控中的关键因子,位于多个关键基因的上游,参与细胞内抗氧化反应、铁代谢、蛋白质

稳态等过程^[21-22].Nrf2在正常情况下位于细胞质中,与其负性的调节因子Keap1进行结合,然后通过泛素化而被快速降解.当发生氧化应激反应时,Nrf2能够与Keap1发生解离,进入到细胞核中,进而发挥相应的转录活性.HO-1是Nrf2信号的下游靶蛋白.本研究发现,在运动性力竭大鼠的肾脏组织中,Keap1表达水平升高,而核Nrf2以及HO-1蛋白表达水平明显降低.虾青素作为一种潜在的Nrf2激活剂,能够诱导Nrf2信号的激活.虾青素干预后,运动性力竭大鼠肾脏组织中的Keap1蛋白表达水平降低,核Nrf2、HO-1、SLC7A11和GPX4蛋白表达水平增加.Nrf2抑制剂ML385逆转了虾青素对肾脏Nrf2/HO-1信号通路以及铁死亡的影响.

综上所述,虾青素能够抑制运动性力竭引起的大鼠肾脏组织铁死亡,其可能是通过激活Nrf2/HO-1信号通路来实现的.除Nrf2/HO-1通路外,铁死亡还可能涉p53及其他信号通路,未来需进一步研究这些通路在虾青素干预下的变化,以期更全面地揭示虾青素的作用机制.

附录见电子版(DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2025.08.16.0001).

参 考 文 献

- [1] KIRKMAN D L,BOHMKE N,CARBONE S,et al.Exercise intolerance in kidney diseases:physiological contributors and therapeutic strategies[J].American Journal of Physiology Renal Physiology,2021,320(2):F161-F173.
- [2] 聂梦俭,李方,任盼红.力竭运动对大鼠肾功能和肾组织紧密连接蛋白的影响[J].河南师范大学学报(自然科学版),2024(5):142-149.
NIE M J,LI F,REN P H.Effects of exhaustive exercise on renal function and tight junction protein in rats[J].Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition),2024(5):142-149.
- [3] 夏岩石.力竭运动对老年大鼠肾脏铁死亡的影响及机制[J].中国老年学杂志,2025,45(7):1728-1732.
XIA Y S.The effect and mechanism of exhaustive exercise on ferroptosis in the kidneys of elderly rats[J].Chinese Journal of Gerontology,2025,45(7):1728-1732.
- [4] 侯晓宁,张育昆,陈祉晴,等.虾青素对D-半乳糖致衰老大鼠肾脏和心脏组织氧化损伤的修复作用[J].现代食品科技,2022(12):146-153.
HOU X N,ZHANG Y K,CHEN Z Q,et al.Repair effect of astaxanthin on oxidative damage of kidney and heart tissue in aging rats induced by D-galactose[J].Modern Food Science and Technology,2022(12):146-153.
- [5] XUE Q,YAN D,CHEN X,et al.Copper-dependent autophagic degradation of GPX4 drives ferroptosis[J].Autophagy,2023,19(7):1982-1996.
- [6] JIANG X J,STOCKWELL B R,CONRAD M.Ferroptosis:mechanisms,biology and role in disease[J].Nature Reviews Molecular Cell Biology,2021,22(4):266-282.
- [7] 李锋,曹卉,曹建民,等.虾青素介导Nrf2信号通路对高强度运动诱导大鼠肾脏损伤的保护作用[J].山东体育学院学报,2020(2):71-78.
LI F,CAO H,CAO J M,et al.Protective effect of astaxanthin-mediated Nrf2 signaling pathway on kidney injury induced by high intensity exercise in rats[J].Journal of Shandong Sport University,2020(2):71-78.
- [8] 苏龙,陶瑞松,栳梗皂苷D对大鼠力竭运动性肾损伤的保护作用研究[J].中国临床药理学杂志,2024,40(8):1194-1197.
SU L,TAO R X.Protective effect of platycodon D on renal injury induced by exhaustive exercise in rats[J].The Chinese Journal of Clinical Pharmacology,2024,40(8):1194-1197.
- [9] 牛衍龙,曹建民,周海涛,等.6周高强度训练对大鼠肾功能的影响及其机制[J].中国应用生理学杂志,2018,34(1):65-68.
NIU Y L,CAO J M,ZHOU H T,et al.Effects and mechanisms of 6-week intensive training on renal function in rats[J].Chinese Journal of Applied Physiology,2018,34(1):65-68.
- [10] 张驰昊,郑迪,张成,等.虾青素通过上调PINK1/parkin通路增强线粒体自噬并减轻大鼠对比剂急性肾损伤[J].中国病理生理杂志,2022(8):1430-1439.
ZHANG C H,ZHENG D,ZHANG C,et al.Astaxanthin enhances mitochondrial autophagy and alleviates contrast-induced acute kidney injury in rats by up-regulating PINK1/parkin pathway[J].Chinese Journal of Pathophysiology,2022(8):1430-1439.
- [11] 孔海军,李新龙,甘胜前,等.不同形式高原训练对运动员免疫功能及抗氧化能力标志物影响的网状Meta分析[J].河南师范大学学报(自然科学版),2024(2):146-156.
KONG H J,LI X L,GAN S Q,et al.Meta-analysis of the influence of different forms of altitude training on immune function and antioxidant capacity markers of athletes[J].Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition),2024(2):146-156.
- [12] HU Z X,ZHANG H,YI B,et al.VDR activation attenuate cisplatin induced AKI by inhibiting ferroptosis[J].Cell Death & Disease,2020,11:73.
- [13] CHENG Y F,ZHENG G B,HUANG H M,et al.GLSP mitigates vascular aging by promoting Sirt7-mediated Keap1 deacetylation and Keap1-Nrf2 dissociation[J].Theranostics,2025,15(10):4345-4367.
- [14] XIE J J,HE X S,FANG H H,et al.Identification of heme oxygenase-1 from golden pompano(*Trachinotus ovatus*) and response of Nrf2/HO-1 signaling pathway to copper-induced oxidative stress[J].Chemosphere,2020,253:126654.

- [15] YANG Y W, CAI F F, ZHOU N, et al. Dimethyl fumarate prevents ferroptosis to attenuate acute kidney injury by acting on NRF2[J]. *Clinical and Translational Medicine*, 2021, 11(4): e382.
- [16] KOPPULA P, ZHUANG L, GAN B Y. Cystine transporter SLC7A11/xCT in cancer: ferroptosis, nutrient dependency, and cancer therapy [J]. *Protein & Cell*, 2021, 12(8): 599-620.
- [17] 张成, 彭旌峰, 郑迪, 等. 虾青素通过激活 Nrf2/GPX4 通路抑制铁死亡减轻大鼠对比剂急性肾损伤[J]. *中国老年学杂志*, 2025, 45(10): 2416-2422.
- ZHANG C, PENG J F, ZHENG D, et al. Astaxanthin inhibits ferroptosis by activating the Nrf2/GPX4 pathway, mitigating acute kidney injury induced by contrast agents in rats.[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2025, 45(10): 2416-2422.
- [18] 祁宏, 王洋, 石艳香. 细胞凋亡、坏死和焦亡信号网络关键节点的识别[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2024(1): 51-59.
- QI H, WANG Y, SHI Y X. Identification of key nodes of apoptosis, necrosis and focal death signal network[J]. *Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition)*, 2024(1): 51-59.
- [19] DENG Y J, ZENG L Y, LIU H X, et al. Silibinin attenuates ferroptosis in acute kidney injury by targeting FTH1[J]. *Redox Biology*, 2024, 77: 103360.
- [20] LI Y, LI K, ZHAO W H, et al. VPA improves ferroptosis in tubular epithelial cells after cisplatin-induced acute kidney injury[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2023, 14: 1147772.
- [21] 沈嘉月, 王思怡, 蒙诗语, 等. 毛蕊花糖苷通过 Nrf2/HO-1 通路改善小鼠肾脏缺血再灌注损伤的作用机制[J]. *中药新药与临床药理*, 2025(6): 859-868.
- XIAN J Y, WANG S Y, MENG S Y, et al. Mechanism of verbascoside improving renal ischemia-reperfusion injury in mice through Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology*, 2025(6): 859-868.
- [22] 王淦民, 王瑶, 陈士坤, 等. Sirt6 通过 Nrf2/HO-1 信号途径抑制铁死亡并延缓 D-Gal 诱导的小鼠骨骼肌衰老[J]. *中国病理生理杂志*, 2025(7): 1354-1364.
- WANG G M, WANG Y, CHEN S K, et al. Sirt6 inhibits iron death and delays skeletal muscle aging induced by D-Gal in mice through Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2025(7): 1354-1364.

Study on the effects and mechanisms of astaxanthin on ferroptosis in the kidneys of exercise-induced exhaustion rats

Wang Zhiguang¹, Bu Yanli¹, Yang Xiaodong², Li Haiting³

(1. College of Physical Education, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China; 2. Beijing Politics and Law Vocational College, Physical Education Research Office, Beijing 102628, China; 3. Department of Physical Education, Henan University of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: To investigate the effects of astaxanthin on renal ferroptosis in exercise-induced exhausted rats and its potential regulatory mechanisms, sixty 8-week-old male Sprague Dawley (SD) rats were selected for a 4-week exhaustion training experiment to establish the exhaustion rat model. Except for the control group, the successfully modelled rats were randomly divided into a model group, 25 mg/kg astaxanthin group, 50 mg/kg astaxanthin group, 100 mg/kg astaxanthin group, and ML385 (Nrf2 inhibitor) plus astaxanthin (100 mg/kg) group. After 4 weeks, blood and kidney samples were collected to examine relevant indicators. The results showed that treatments with 50 and 100 mg/kg astaxanthin significantly reduced serum blood urea nitrogen (BUN), creatinine (SCR), and kidney injury molecule 1 (KIM-1) levels in exercise-induced exhausted rats, markedly improved kidney pathological damage, significantly decreased reactive oxygen species (ROS), Fe²⁺, 8-OHdG and MDA contents in renal tissue, and significantly increased glutathione (GSH) and superoxide dismutase (SOD) levels. Additionally, protein expression levels of nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2), haem oxygenase-1 (HO-1), solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11), and glutathione peroxidase 4 (GPX4) increased, while Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1) expression decreased. ML385 intervention reversed the effects of astaxanthin on renal ferroptosis-related indicators and the Nrf2/HO-1 signalling pathway in exercise-induced exhausted rats. The study indicates that astaxanthin may inhibit renal ferroptosis in exercise-induced exhausted rats by activating the Nrf2/HO-1 signalling pathway.

Keywords: exercise-induced exhaustion; astaxanthin; kidney; ferroptosis; keap1 / Nrf2 signaling pathway

附录

表 S1 虾青素对运动性力竭大鼠血清 BUN、SCR 和 KIM-1 水平的影响 (n=10)

Tab. S1 The effect of astaxanthin on the levels of serum BUN, SCR, and KIM-1 in exercise-induced exhaustion rats (n=10)

组别	BUN/(mmol · L ⁻¹)	SCR/(μmol · L ⁻¹)	KIM-1/(pg · mL ⁻¹)
对照组	5.98 ± 0.29	50.13 ± 3.52	1.76 ± 0.28
模型组	7.94 ± 0.41 *	95.93 ± 11.06 *	10.48 ± 0.74 *
25 mg/kg 虾青素组	7.61 ± 0.40	89.47 ± 9.11	9.03 ± 1.05
50 mg/kg 虾青素组	7.19 ± 0.32 [#]	77.67 ± 8.36 [#]	6.54 ± 0.47 [#]
100 mg/kg 虾青素组	6.83 ± 0.33 [#]	62.43 ± 18.60 [#]	4.42 ± 0.32 [#]
ML385+虾青素组	7.66 ± 0.48 ^{&}	80.74 ± 11.39 ^{&}	8.19 ± 0.53 ^{&}

注:与对照组比较,*表示 p<0.05;与模型组比较,#表示 p<0.05;与 100 mg/kg 虾青素组比较,&表示 p<0.05.下表同.

表 S2 虾青素对运动性力竭大鼠肾脏 ROS、Fe²⁺、8-OHdG、MDA、GSH 和 SOD 水平的影响 (n=10)

Tab. S2 The effect of astaxanthin on the levels of ROS, Fe²⁺, 8-OHdG, MDA, GSH, and SOD in the kidneys of rats with exercise-induced exhaustion (n=10)

组别	ROS 水平	Fe ²⁺ / (μmol · g ⁻¹ prot)	MDA/ (nmol · mg ⁻¹ prot)	8-OHdG/ (ng · L ⁻¹)	GSH/ (μmol · g ⁻¹ prot)	SOD/ (U · mg ⁻¹ prot)
对照组	1.00 ± 0.93	8.93 ± 1.68	2.27 ± 0.38	24.72 ± 4.55	15.81 ± 2.17	158.52 ± 11.46
模型组	3.15 ± 0.34 *	13.77 ± 3.05 *	3.81 ± 0.38 *	49.29 ± 6.03 *	10.14 ± 1.30 *	93.39 ± 8.68 *
25 mg/kg 虾青素组	2.98 ± 0.27	12.89 ± 2.07	3.60 ± 0.27	44.35 ± 5.12	10.95 ± 1.84	102.37 ± 10.29
50 mg/kg 虾青素组	2.03 ± 0.16 [#]	10.77 ± 1.65 [#]	3.14 ± 0.20 [#]	37.08 ± 4.46 [#]	12.70 ± 2.05 [#]	120.45 ± 11.05 [#]
100 mg/kg 虾青素组	1.72 ± 0.19 [#]	10.17 ± 1.31 [#]	2.29 ± 0.36 [#]	30.95 ± 4.61 [#]	13.67 ± 1.77 [#]	136.07 ± 12.89 [#]
ML385+虾青素组	2.54 ± 0.22 ^{&}	12.51 ± 1.50 ^{&}	3.35 ± 0.24 ^{&}	41.91 ± 5.07 ^{&}	11.03 ± 1.29 ^{&}	104.28 ± 13.61 ^{&}

表 S3 虾青素对运动性力竭大鼠肾脏核 Nrf2、Keap1 和 HO-1 蛋白表达的影响 (n=6)

Tab. S3 The effect of astaxanthin on the expression of nuclear Nrf2, Keap1, and HO-1 proteins in the kidneys of exercise-induced exhaustion rats (n=6)

组别	核 Nrf2 蛋白相对表达	Keap1 蛋白相对表达	HO-1 蛋白相对表达
对照组	1.00 ± 0.09	1.00 ± 0.07	1.00 ± 0.10
模型组	0.43 ± 0.05 *	2.57 ± 0.23 *	0.36 ± 0.03 *
25 mg/kg 虾青素组	0.49 ± 0.06	2.40 ± 0.31	0.39 ± 0.05
50 mg/kg 虾青素组	0.81 ± 0.08 [#]	1.82 ± 0.19 [#]	0.67 ± 0.06 [#]
100 mg/kg 虾青素组	0.90 ± 0.10 [#]	1.54 ± 0.16 [#]	0.78 ± 0.08 [#]
ML385+虾青素组	0.55 ± 0.06 ^{&}	2.27 ± 0.21 ^{&}	0.45 ± 0.05 ^{&}

表 S4 虾青素对运动性力竭大鼠肾脏 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达的影响($n=6$)

Tab. S4 The effect of astaxanthin on the protein expressions of SLC7A11 and GPX4 in the kidneys of exercise-induced exhaustion rats($n=6$)

组别	SLC7A11 蛋白相对表达	GPX4 蛋白相对表达
对照组	1.00 ± 0.12	1.00 ± 0.09
模型组	0.39 ± 0.03 *	0.41 ± 0.05 *
25 mg/kg 虾青素组	0.44 ± 0.04	0.47 ± 0.03
50 mg/kg 虾青素组	0.70 ± 0.06 #	0.65 ± 0.07 #
100 mg/kg 虾青素组	0.81 ± 0.09 #	0.88 ± 0.11 #
ML385+虾青素组	0.45 ± 0.04 &	0.56 ± 0.06 &