

敌草快中毒与 Nrf2 信号通路关系的研究进展

王建红 刘同英 周满红

遵义医科大学附属医院急诊科, 贵州遵义 563003

通信作者: 周满红, Email: manhongzhou@sina.com

【摘要】 自2016年我国禁止生产和使用百草枯以来,敌草快(DQ)的使用逐年增加,在临床上DQ中毒的病例也呈现出逐年增加的趋势。DQ中毒的治疗是一个世界性的医学难题,暂无特效解毒剂。据报道,DQ中毒后氧化应激、脂质过氧化、神经毒性作用、生殖与发育毒性在DQ中毒过程中具有关键作用。核因子E2相关因子2(Nrf2)可通过调节其上下游信号分子蛋白表达,抑制氧化应激、脂质过氧化及炎症反应。因此,近年来Nrf2信号通路在DQ中毒及治疗中的作用成为急诊危重症研究人员关注的热点。本文对Nrf2信号通路与DQ中毒的关系进行综述,以期制定DQ中毒治疗策略提供理论依据。

【关键词】 敌草快; 核因子E2相关因子2; 氧化应激; 脂质过氧化; 活性氧; NAD(P)H:醌氧化还原酶1

基金项目: 国家自然科学基金(82060346)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210816-01185

Research progress on the relationship between diquat poisoning and nuclear factor E2-related factor 2 signaling pathway

Wang Jianhong, Liu Tongying, Zhou Manhong

Department of Emergency, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563003, Guizhou, China

Corresponding author: Zhou Manhong, Email: manhongzhou@sina.com

【Abstract】 Since the production and use of paraquat was banned in China in 2016, the use of diquat (DQ) has been increasing and the clinical cases of DQ poisoning have also shown an increasing trend every year. The treatment of DQ poisoning is a worldwide medical problem, and there is no specific antidote. Studies have found that oxidative stress, lipid peroxidation, neurotoxicity, reproductive and developmental toxicity play an important role in DQ poisoning. Nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) can inhibit oxidative stress, lipid peroxidation and inflammation by regulating the protein expression of upstream and downstream signaling molecules. Therefore, the role of Nrf2 signaling pathway in the poisoning and treatment of DQ has become a hot spot of attention for emergency critical care researchers in recent years. This paper reviews the relationship between Nrf2 signal pathway and DQ poisoning, in order to provide a theoretical basis for improving the treatment strategy for DQ poisoning.

【Key words】 Diquate; Nuclear factor E2-related factor 2; Oxidative stress; Lipid peroxidation; Reactive oxygen species; NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82060346)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210816-01185

敌草快(diquat, DQ)是一种非选择性触杀性除草剂,与百草枯(paraquat, PQ)同属联吡啶类化合物。DQ的化学名为1,1'-亚乙基-2,2'-联吡啶,通常以二溴盐的形式存在。DQ中毒可对肝、肾、心、脑、肺等多种组织造成损伤,其中对肝、肾的损害最为显著^[1-3]。也有研究表明,临床上DQ中毒造成的肺损伤也较为明显,但不能排除导致中毒的毒物中含有PQ成分^[4]。自2016年以来,我国已经明确禁止PQ水剂在国内销售,因此DQ在农业上得到广泛应用;规范使用DQ对人畜危害较小,但因误服、自服、皮肤伤口、黏膜、呼吸道吸收等方式导致人畜急性DQ中毒的事件也逐年上升^[5]。有研究表明,DQ的摄入量与患者组织器官结构及功能损伤程度呈正相关,DQ摄入致死剂量为6~12g,病死率高达20%~60%^[6]。研究DQ中毒及其机制,尤其是信号通路,显得十分重要。

核因子E2相关因子2(nuclear factor E2-related factor 2,

Nrf2)是“帽领”(cap'n collar, CNC)家族的碱性亮氨酸拉链(basic leucine zipper, bZIP)转录因子,是抗氧化剂的主要调节因子,激活Nrf2可以减轻大多数以氧化应激损伤为主要发病机制的疾病损伤。在生理状态下,Nrf2可被细胞质中的Kelch样ECH相关蛋白1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)抑制;但在氧化应激状态时,Nrf2可以通过泛素化、蛋白酶体降解或磷酸化修饰Keap1-Nrf2复合物,使Nrf2与Keap1解耦联后进入细胞核,与DNA上游区的抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)结合,诱导其下游如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、血红素加氧酶-1(hemeoxygenase-1, HO-1)、谷胱甘肽S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)等解毒酶和抗氧化酶的表达,从而产生抗氧化作用^[7]。有研究表明,对敲除Nrf2基因的小鼠通过脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)干预后可以显著增加炎症因子(包括细胞因子、趋化因子和黏附分子等)的表达,加重炎症损

伤,且明显增加内毒素诱导的脓毒性休克患者的病死率^[8]。也有文献报道,激活 Nrf2 信号通路可以减少 LPS 诱导的促炎细胞因子的产生^[9]。Nrf2 可以对氧化应激和炎症反应发挥重要的保护作用^[10]。相关文献报道,在 PQ 中毒小鼠模型中,某些药物可以通过激活 Nrf2 信号通路来促进抗氧化蛋白表达,并抑制氧化应激反应,从而减轻 PQ 对小鼠的肾脏损伤^[11-12]。此外,DQ 与 PQ 同属吡啶类化合物,二者的化学结构相似;因此,激活 Nrf2 及其信号通路有望为 DQ 中毒患者提供新的治疗方式。现就 DQ 中毒与 Nrf2 介导的抗氧化应激和脂质过氧化(lipid peroxidation, LPO)反应等的关系进行综述。

1 DQ 中毒机制及其治疗

1.1 氧化应激: DQ 主要以扩散的方式通过细胞膜进入细胞,也有极少部分以主动转运的方式通过细胞磷脂双分子层进入细胞质^[13]。由于 DQ 具有较高的氧化还原电位值(redox potential, E_0),而 E_0 值是衡量电子亲和力的指标,因此 DQ 导致的氧化应激损伤更加严重。DQ 中毒的主要毒理学机制与循环氧化还原反应有关。DQ²⁺ 进入细胞后,通过细胞色素 P450 还原酶参与氧化还原反应,接收来自还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)的 1 个电子而被还原,形成 NADP⁺ 和高度不稳定的单阳离子自由基(DQ^{•+}),然后 DQ^{•+} 将电子转移到氧分子(O_2)上生成超氧化物阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$),与此同时 DQ^{•+} 失去 1 个电子又转化成 DQ²⁺,通过这个连续的循环氧化还原反应过程可以产生大量的 $O_2^{\cdot-}$,这些 $O_2^{\cdot-}$ 与 SOD 中和,生成过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2)和 O_3 。 H_2O_2 在过氧化氢酶(catalase, CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)作用下生成水^[14]。除活性氧(reactive oxygen species, ROS)外,DQ 诱导的活性氮(reactive nitrogen species, RNS)如肝细胞过氧亚硝基阴离子(peroxynitrite anion, ONOO⁻)的产生也参与氧化应激^[15]。然而,随着细胞内 ROS 和 RNS 的大量增加,细胞内的谷胱甘肽(glutathione, GSH)、硫氧化还原蛋白、硒、维生素 C、维生素 E,以及抗氧化酶(如 SOD、GPx、CAT 等)被耗尽,从而导致氧化应激及细胞功能障碍和死亡^[16-17]。

1.2 LPO: DQ 中毒的一个重要机制是 DQ^{•+} 和 $O_2^{\cdot-}$ 能将铁蛋白中的铁离子(Fe^{3+})转化为亚铁离子(Fe^{2+}),而且体内铁的储存量越大, DQ 的毒性就越强^[18]。Higuchi 等^[19]研究表明, Fe^{2+} 与 H_2O_2 发生芬顿反应形成更强的氧化剂羟自由基(hydroxyl radical, HO[•]),进一步增强 DQ 对机体的毒性作用。Valavanidis 等^[20]研究表明,随着 ROS 产生增多,大量 ROS 与细胞膜上的多不饱和脂肪酸的烯丙基氢发生一系列化学反应,从而导致氢过氧自由基生成增加;随后氢过氧自由基通过 LPO 反应形成大量脂质氢过氧化物,加重组织和细胞损害。LPO 可能使膜结合受体或酶失活,降低膜的流动性,增加膜的渗透性,诱导细胞膜、线粒体膜受损,从而发生组织和细胞死亡^[21]。Valavanidis 等^[20]通过研究还发现,蛋白质通过脂依赖和非脂依赖途径发生羰基化,诱导蛋白质产生错

误折叠及氧化反应,并破坏生物体重要的生物学功能;也就是说,在循环系统中,蛋白质羰基化可导致蛋白酶或血液蛋白载体功能障碍。此外,金属阳离子可通过其聚阴离子结构穿过细胞膜黏附到细胞核 DNA 上,从而形成 HO[•],进而导致 DNA 双链断裂、染色体异常及干扰细胞周期。总之,在 DQ 中毒过程中,LPO 可导致细胞膜、线粒体膜通透性增加及流动性降低、蛋白质功能障碍、DNA 双链破坏,且严重损害细胞功能,并造成组织损伤。

1.3 神经毒性: 有研究表明,DQ 中毒后中枢神经系统特殊的解剖结构及功能大脑区域(皮质、纹状体和海马)的氮氧化物(nitrogen oxide, NOx)和 $O_2^{\cdot-}$ 明显升高,LPO 反应增强,共同诱发神经细胞毒性作用^[22]。Powell 等^[23]研究发现,患者因服用 DQ 后在临床治疗的过程中逐渐出现嗜睡,在 DQ 中毒 96 h 后仅对疼痛刺激有反应,颅脑 CT 扫描显示脑干密度降低,提示梗死;患者死亡后行脑组织病理检查显示,病变局限于脑桥,显微镜下显示有小区域出血与多个微小的梗死区域。也有文献指出,DQ 中毒死亡病例可出现脑桥脱髓鞘性改变^[24]。总之,DQ 中毒后可引起显著的神经毒性作用,但具体中毒机制目前仍不清楚。

1.4 生殖及发育毒性: 有研究表明,长期接触 DQ 可对雌鼠的卵母细胞及颗粒细胞产生毒性作用,其通过诱导颗粒细胞凋亡和卵泡闭锁,降低雌鼠卵母细胞质量和发育能力,以及通过影响胎儿发育和产仔数等途径,对雌性生殖系统产生毒性作用^[25]。DQ 中毒后对野鸭胚胎导致的畸形主要包括大脑、眼睛、嘴、四肢和骨盆的缺陷,以及骨骼脊柱侧弯、不完整的骨化,并出现皮下水肿等^[26]。

1.5 DQ 中毒的治疗: ① 停止继续与中毒物质接触:将 DQ 中毒患者转移至清洁安全场所,更换患者被农药污染的衣服,以温水清洗全身的毒物;② 清除机体尚未完全吸收的中毒物质:催吐、洗胃、导泻、灌肠、使用活性炭或者白陶土溶液等吸附剂等方式;③ 促进机体已经吸收的毒物排出体外:血液灌流、血浆置换、连续性肾脏替代治疗(continuous renal replacement therapy, CRRT)等;④ 使用特效解毒剂:如患者所服用毒物有特效解毒药物,应及时给予解毒剂;⑤ 对症治疗:大量补液,维持患者机体内环境稳定,预防可能出现的并发症,并采用给氧、保护肝肾功能等措施。然而,这些治疗方法都不能完全改善 DQ 诱导的肝肾损害。有研究表明,在 DQ 诱导的非洲绿猴的肾细胞 Vero 中毒模型中,使用褪黑素或 2,3-二氢褪黑素能够预防 DQ 导致的肾细胞 Vero 活性降低,从而发挥保护作用^[27]。Chen 等^[28]报道,紫檀芪通过上调 Nrf2 及其下游抗氧化基因 HO-1、SOD1、GST α 2 和谷氨酸半胱氨酸连接酶催化亚基(glutamate-cysteine ligase catalytic subunit, GCLC)的 mRNA 表达,以及增加线粒体功能相关基因[沉默信息调节因子 2 同源蛋白 1(silent mating type information regulation 2 homolog 1, SIRT1)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活物 1 α (peroxisome proliferators-activated receptor gamma coactivator 1 α , PGC1 α)和核呼吸因子 1(nuclear respiratory factor 1, NRF1)]表达来抑制细胞凋

亡,从而减轻DQ中毒导致的肝脏损害。Zhang等^[29]报道,紫檀芪能够在氧化应激下增加肝脏SIRT1基因的活性,同时改善细胞和线粒体对氧化应激的抵抗力,也可以有效防止超氧化物的过度产生,增强抗氧化功能,并改善DQ中毒对仔猪肝脏氧化应激和线粒体功能障碍的影响。也有研究报道,核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)抑制剂抑制了DQ诱导的神经细胞PC12细胞核中NF- κ B和p53表达,减少了细胞中促炎因子NF- κ B和p53的生成,从而通过抑制p53信号转导来降低细胞毒性作用^[30]。据报道,白皮杉醇通过激活Nrf2介导的抗氧化基因的表达来激活Nrf2通路,上调DQ中毒引起的抗氧化基因NAD(P)H醌氧化还原酶1 [NAD(P)H: quinine oxidoreductase 1, NQO1]、GST α 1和SOD1基因的表达,并降低Keap1的蛋白表达水平,同时增强抗氧化酶SOD、GPx活性及GSH含量,从而降低丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量。因此,白皮杉醇可以通过改善氧化还原状态、减少LPO、保护线粒体功能和防止细胞过度凋亡来保护DQ中毒诱导的仔猪肝脏功能损害^[31]。总之,抗氧化和清除氧自由基、清除炎症介质、抑制LPO和抗炎在治疗DQ中毒方面有一定效果。

2 Nrf2 信号通路

2.1 Nrf2 结构与激活: Nrf2是CNC家族的bZIP转录因子,是抗氧化剂的主要调节因子^[32]。Nrf2蛋白由7个Nrf2-ECH同源结构域(Nrf2-ECH homology domains, Neh)组成,分别命名为Neh1~Neh7。Neh1的bZIP结构域可以与细胞核中小分子肌腱纤维肉瘤(small musculoaponeurotic fibrosarcoma, sMaf)蛋白的DNA结合形成二聚体;Neh2具有两个高度保守的氨基酸结合位点,分别为DLG基序和ETGE基序,通过与Keap1的Kelch结构域结合而抑制Nrf2的激活,对Nrf2进行泛素化修饰和降解;C端Neh3~Neh5结构域可以共同参与Nrf2的激活,促进抗氧化基因的转录;Neh6结构域是一个富含丝氨酸的区域,包括DSGIS和DSAPGS两个模序,参与非Keap1依赖的Nrf2降解,对维持Nrf2稳定具有重要作用;Neh7结构域通过两种蛋白质之间的物理联系参与维甲酸X受体 α (retinoid X receptor α , RXR α)对Nrf2转录活性的抑制^[33]。Keap1包含3个功能区域,分别是BTB结构域、干预区(intervening region, IVR)和Kelch结构域。Keap1的N端的BTB结构域与E3泛素连接酶(cullin3, Cul3)相互作用形成二聚体。Kelch结构域可以与Nrf2的Neh2结构域结合,对调节Nrf2信号通路生理功能具有重要作用^[34]。当机体处于生理状态时,Keap1通过泛素化和蛋白酶体等方式降解Nrf2,抑制Nrf2激活其下游靶基因表达;而当细胞受到氧化应激时,Nrf2可以通过泛素化、蛋白酶体降解或磷酸化修饰Keap1-Nrf2复合物,从而使Nrf2与Keap1解耦联后进入细胞核,与ARE结合,进而激活抗氧化作用的基因转录。ARE基因主要分为三类:①细胞内的氧化还原蛋白:维持细胞的氧化还原能力和清除ROS的 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶(γ -glutamylcysteine synthetase, γ -GCS)、硫氧化还原蛋白还原酶(thioredoxin reductase, TrxR)和HO-1;②II期解

毒酶:NADPH、NQO1和GST等;③生物转运体:多耐药相关蛋白^[35-36]。因此,上述基因可以激活Nrf2信号通路基因表达,有效减轻氧化应激损伤。据文献报道,在对乙酰氨基酚^[37]、五氯苯酚^[38]和四氯化碳^[39]等化学物质通过氧化应激诱导的肝损伤模型中,敲除Nrf2基因小鼠的肝损伤程度较野生型小鼠更严重。

2.2 Nrf2 与氧化应激: 激活Keap1/Nrf2不仅可上调机体抗氧化蛋白的表达,还可以减少ROS的生成,对提升机体抗氧化能力具有保护作用。有研究表明,在敲除Nrf2基因的小鼠中II期解毒酶和抗氧化剂基因表达降低,血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)活性增加,肝细胞严重坏死,甚至有小鼠死于肝衰竭^[37];然而提升Nrf2的活性可以通过ARE上调抗氧化基因表达,保护由对乙酰氨基酚诱导的肝毒性损害^[40]。Bae等^[41]研究表明,长时间摄入乙醇会增加肝氧化酶细胞色素P4502E1(cytochrome P450 2E1, CYP2E1)基因的表达水平,导致肝脏中ROS生成增加,加重肝损伤;而激活Nrf2可以促进肝脏中抗氧化基因HO-1和NQO1的表达增加,减少ROS的生成,对乙醇诱导的肝损害起保护作用^[42]。也有文献指出,通过激活Keap1/Nrf2信号通路,促进肝癌细胞HepG2抗氧化蛋白Nrf2、HO-1、NQO1和 γ -GCS的表达水平,可改善HepG2细胞功能障碍^[43]。在急性和慢性氧化应激和炎症条件下,Nrf2被激活并通过调节细胞保护性蛋白和酶的基因表达来降低ROS水平,减轻炎症反应和细胞死亡,对氧化性和炎症性疾病发挥保护作用^[44]。研究表明,在急性乙醇诱导的小鼠脂肪肝模型中,莱菔硫烷可通过激活Nrf2信号通路的细胞抗氧化酶表达,抑制氧化应激,从而改善乙醇诱导的肝脂肪变性^[45]。据报道,DQ中毒产生的ROS会导致Nrf2激活及上调Nrf2基因转录,同时GSH的合成增加,可预防超氧阴离子及其产物的毒性作用。因此,激活Nrf2可以上调抗氧化酶的基因表达,对生物体具有重要的保护作用^[46]。

2.3 Nrf2 与 LPO: Fe²⁺与H₂O₂通过芬顿反应生成过氧化氢自由基等强氧化剂,这些强氧化剂进一步与不饱和脂肪酸发生一系列复杂的化学反应,从而诱导LPO。LPO可使膜结合受体或酶失活,降低膜的流动性,增加膜的渗透性,最终导致细胞膜、线粒体膜破裂及DNA断裂,从而导致组织和细胞坏死^[21-47]。有研究表明,通过Nrf2激动剂(如莱菔硫烷)激活Nrf2信号通路可预防小鼠成纤维细胞的LPO,减轻氧化应激损伤及细胞死亡^[48]。据文献报道,在LPO终产物4-羟基壬烯醛(4-hydroxynonenal, 4-HNE)诱导的氧化应激模型中,激活Nrf2可促进抗氧化基因和解毒基因表达,降低细胞氧化应激诱导的LPO反应代谢物对细胞的毒性作用^[49]。有研究表明,在急性乙醇中毒诱导的脂肪肝小鼠模型中,莱菔硫烷通过激活Nrf2信号通路抑制了LPO,从而减轻了肝脏功能损害^[45]。

2.4 Nrf2 与炎症: Nrf2除了可以作为抗氧化信号的主调节器以外,它还参与调节了促炎与抗炎基因表达。有研究表明,在敲除Nrf2基因的小鼠中,大量与先天性免疫反应相关的

促炎基因表达增加,从而导致了严重的免疫失调,加重了小鼠的急性炎症反应^[8]。Xu 等^[50]的研究结果表明,通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路可增强自噬和受损线粒体的清除能力,减少 ROS 的产生,进而降低肝脏缺血/再灌注损伤诱导的炎症反应和继发性肝损害。据文献报道,在不同疾病模型中,激活 Nrf2 均可抑制抗炎基因的表达,限制 ROS 对炎症组织细胞的负面作用,从而抑制炎症反应^[51]。据文献报道,莱菔硫烷可激活 Nrf2,上调 HO-1 的表达,抑制白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 的过度分泌,对人单核/巨噬细胞具有抗炎作用^[52]。也有文献指出,在脑出血损伤模型中,异甘草素可通过激活 Nrf2 和上调 Nrf2 诱导的抗氧化剂,抑制 ROS 和 NF- κ B 诱导的炎症反应,从而减轻早期脑损伤及神经功能障碍^[53]。此外,还有研究表明,在雄性 SD 大鼠肝移植模型中,激活 Nrf2 信号通路产生的 HO-1 及其代谢产物具有明显的抗炎作用^[54]。

3 Nrf2 信号通路与 DQ 中毒

Nrf2 是一种重要的抗氧化基因转录激活因子,可产生重要的抗氧化保护反应,绝大多数抗氧化剂会激活 Nrf2,减轻炎症反应,改善线粒体功能,激活自噬,降解有毒蛋白质和功能紊乱的细胞器,对细胞功能发挥保护作用^[55]。研究表明,激活 Keap1-Nrf2 信号通路在保护 DQ 中毒诱导的体内氧化应激导致的肝和肺损伤中起着重要的保护作用,这种保护作用与 Nrf2 调节的细胞 GSH 水平升高,参与 GSH 合成和其他抗氧化途径的基因表达有关^[56]。据文献报道, Nrf2 信号通路激活后,细胞核中 Nrf2 的蛋白质水平及细胞内 GSH 含量增加,从而恢复细胞内 GSH 相关的氧化还原作用,提高肠上皮细胞在 DQ 中毒后的存活率。此外,使用 Nrf2 抑制剂可加重肠上皮细胞损伤^[57]。也有研究表明,激活 Nrf2 基因可促进 HO-1、NQO1、CAT、SOD 和 GST 等具有抗氧化作用基因的表达,从而减轻 DQ 诱导的肠上皮细胞功能损害^[58]。总之,越来越多的研究证明,激活 Nrf2 信号通路可能对 DQ 中毒发挥保护作用, Nrf2 信号通路在人类和动物的 DQ 中毒治疗过程中具有潜在的应用价值。

DQ 中毒导致急性肝损伤的机制很复杂,具体作用机制目前仍不十分清楚,其中氧化应激、LPO、神经毒性、生殖毒性是其主要中毒机制。因此,抑制氧化应激、LPO 及炎症反应,清除炎症介质成为研究热点。DQ 中毒可以导致细胞功能障碍,而激活 Nrf2 信号通路可以通过减轻氧化应激、抑制 LPO、降低炎症介质水平,从而改善细胞功能,这为进一步研究 DQ 治疗提供了一个新的思路。但是 Nrf2 信号通路在 DQ 中毒中的具体机制仍然需要进一步研究,并且有望成为一个新的研究途径。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Jones GM, Vale JA. Mechanisms of toxicity, clinical features, and management of diquat poisoning: a review [J]. *J Toxicol Clin Toxicol*, 2000, 38 (2): 123-128. DOI: 10.1081/elt-100100926.
[2] Jović-Stosić J, Babić G, Todorović V. Fatal diquat intoxication [J]. *Vojnosanit Pregl*, 2009, 66 (6): 477-481. DOI: 10.2298/vsp0906477j.

[3] Saeed SA, Wilks MF, Coupe M. Acute diquat poisoning with intracerebral bleeding [J]. *Postgrad Med J*, 2001, 77 (907): 329-332. DOI: 10.1136/pmj.77.907.329.
[4] 杨一红,刘洪波,李彩侠,等. 28 份包装标注为敌草快成分的除草剂检测分析 [J]. *实用检验医师杂志*, 2021, 13 (1): 38-41. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2021.01.013.
[5] 王鸾,王洋,赵敏. 急性敌草快中毒患者死亡危险因素分析 [J]. *中国实用内科杂志*, 2020, 40 (2): 158-161. DOI: 10.19538/j.nk2020020115.
[6] Fussell KC, Udasin RG, Gray JP, et al. Redox cycling and increased oxygen utilization contribute to diquat-induced oxidative stress and cytotoxicity in Chinese hamster ovary cells overexpressing NADPH-cytochrome P450 reductase [J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 50 (7): 874-882. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.035.
[7] Ma Q. Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2013, 53: 401-426. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-011112-140320.
[8] Thimmulappa RK, Lee H, Rangasamy T, et al. Nrf2 is a critical regulator of the innate immune response and survival during experimental sepsis [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116 (4): 984-995. DOI: 10.1172/JCI25790.
[9] Kobayashi EH, Suzuki T, Funayama R, et al. Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11624. DOI: 10.1038/ncomms11624.
[10] Itoh K, Chiba T, Takahashi S, et al. An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 236 (2): 313-322. DOI: 10.1006/bbrc.1997.6943.
[11] 王瑜,周满红,陆元兰,等. 5-氨基水杨酸通过 Nrf2-ARE 信号通路对百草枯中毒大鼠肾脏起保护作用 [J]. *中华危重病急救医学*, 2017, 29 (11): 961-966. DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2017.11.001.
[12] 高利娜,袁慧雅,曹志鹏,等. 5-羟基-1-甲基海因对百草枯中毒小鼠肾脏损伤的防护作用研究 [J]. *中华危重病急救医学*, 2018, 30 (12): 1184-1189. DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2018.12.016.
[13] Baldwin RC, Pasi A, MacGregor JT, et al. The rates of radical formation from dipyrpydium herbicides paraquat, diquat, and morfamquat in homogenates of rat lung, kidney, and liver: an inhibitory effect of carbon monoxide [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1975, 32 (2): 298-304. DOI: 10.1016/0041-008x(75)90220-3.
[14] Circu ML, Maloney RE, Aw TY. Diquat-induced cellular pyridine nucleotide redox changes and alteration of metabolic enzyme activities in colonic carcinoma cells [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 264: 43-51. DOI: 10.1016/j.cbi.2017.01.007.
[15] Fu Y, Sies H, Lei XG. Opposite roles of selenium-dependent glutathione peroxidase-1 in superoxide generator diquat- and peroxynitrite-induced apoptosis and signaling [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276 (46): 43004-43009. DOI: 10.1074/jbc.M106946200.
[16] Lu T, Piao XL, Zhang Q, et al. Protective effects of Forsythia suspensa extract against oxidative stress induced by diquat in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48 (2): 764-770. DOI: 10.1016/j.fct.2009.12.018.
[17] Yin J, Liu MF, Ren WK, et al. Effects of dietary supplementation with glutamate and aspartate on diquat-induced oxidative stress in piglets [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (4): e0122893. DOI: 10.1371/journal.pone.0122893.
[18] Abe T, Kinda T, Takano Y, et al. Relationship between body iron stores and diquat toxicity in male Fischer-344 rats [J]. *Biomaterials*, 2006, 19 (6): 651-657. DOI: 10.1007/s10534-006-9002-6.
[19] Higuchi M, Yoshikawa Y, Orino K, et al. Effect of diquat-induced oxidative stress on iron metabolism in male Fischer-344 rats [J]. *Biomaterials*, 2011, 24 (6): 1123-1131. DOI: 10.1007/s10534-011-9471-0.
[20] Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, et al. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2006, 64 (2): 178-189. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2005.03.013.
[21] Zhang LF, Wei W, Xu JM, et al. Inhibitory effect of melatonin on diquat-induced lipid peroxidation *in vivo* as assessed by the measurement of F2-isoprostanes [J]. *J Pineal Res*, 2006, 40 (4): 326-331. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2005.00311.x.

- [22] Djukic M, Jovanovic MD, Ninkovic M, et al. Intraatrial pre-treatment with L-NAME protects rats from diquat neurotoxicity [J]. *Ann Agric Environ Med*, 2012, 19 (4): 666–672.
- [23] Powell D, Pond SM, Allen TB, et al. Hemoperfusion in a child who ingested diquat and died from pontine infarction and hemorrhage [J]. *J Toxicol Clin Toxicol*, 1983, 20 (5): 405–420. DOI: 10.3109/15563658308990609.
- [24] Xing JH, Chu Z, Han DF, et al. Lethal diquat poisoning manifesting as central pontine myelinolysis and acute kidney injury: a case report and literature review [J]. *J Int Med Res*, 2020, 48 (7): 300060520943824. DOI: 10.1177/0300060520943824.
- [25] Zhang JQ, Gao BW, Wang J, et al. Chronic exposure to diquat causes reproductive toxicity in female mice [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (1): e0147075. DOI: 10.1371/journal.pone.0147075.
- [26] Sewalk CJ, Brewer GL, Hoffman DJ. Effects of diquat, an aquatic herbicide, on the development of mallard embryos [J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2001, 62 (1): 33–45. DOI: 10.1080/00984100050201659.
- [27] Moravčík R, Okuliarová M, Kováčová E, et al. Diquat-induced cytotoxicity on Vero and HeLa cell lines: effect of melatonin and dihydromelatonin [J]. *Interdiscip Toxicol*, 2014, 7 (4): 184–188. DOI: 10.2478/intox-2014-0026.
- [28] Chen YN, Chen YP, Zhang H, et al. Pterostilbene as a protective antioxidant attenuates diquat-induced liver injury and oxidative stress in 21-day-old broiler chickens [J]. *Poult Sci*, 2020, 99 (6): 3158–3167. DOI: 10.1016/j.psj.2020.01.021.
- [29] Zhang H, Chen YN, Chen YP, et al. Comparison of the effects of resveratrol and its derivative pterostilbene on hepatic oxidative stress and mitochondrial dysfunction in piglets challenged with diquat [J]. *Food Funct*, 2020, 11 (5): 4202–4215. DOI: 10.1039/d0fo00732c.
- [30] Choi SE, Park YS, Koh HC. NF- κ B/p53-activated inflammatory response involves in diquat-induced mitochondrial dysfunction and apoptosis [J]. *Environ Toxicol*, 2018, 33 (10): 1005–1018. DOI: 10.1002/tox.22552.
- [31] Jia PL, Ji SL, Zhang H, et al. Piceatannol ameliorates hepatic oxidative damage and mitochondrial dysfunction of weaned piglets challenged with diquat [J]. *Animals (Basel)*, 2020, 10 (7): 1239. DOI: 10.3390/ani10071239.
- [32] Moi P, Chan K, Asunis I, et al. Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91 (21): 9926–9930. DOI: 10.1073/pnas.91.21.9926.
- [33] Hayes JD, Dinkova-Kostova AT. The Nrf2 regulatory network provides an interface between redox and intermediary metabolism [J]. *Trends Biochem Sci*, 2014, 39 (4): 199–218. DOI: 10.1016/j.tibs.2014.02.002.
- [34] Li GH, Li YR, Jiao P, et al. Therapeutic potential of *Salviae Miltiorrhizae Radix* et *Rhizoma* against human diseases based on activation of Nrf2-mediated antioxidant defense system: bioactive constituents and mechanism of action [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 7309073. DOI: 10.1155/2018/7309073.
- [35] Jaramillo MC, Zhang DD. The emerging role of the Nrf2-Keap1 signaling pathway in cancer [J]. *Genes Dev*, 2013, 27 (20): 2179–2191. DOI: 10.1101/gad.225680.113.
- [36] Lau A, Villeneuve NF, Sun Z, et al. Dual roles of Nrf2 in cancer [J]. *Pharmacol Res*, 2008, 58 (5–6): 262–270. DOI: 10.1016/j.phrs.2008.09.003.
- [37] Enomoto A, Itoh K, Nagayoshi E, et al. High sensitivity of Nrf2 knockout mice to acetaminophen hepatotoxicity associated with decreased expression of ARE-regulated drug metabolizing enzymes and antioxidant genes [J]. *Toxicol Sci*, 2001, 59 (1): 169–177. DOI: 10.1093/toxsci/59.1.169.
- [38] Umemura T, Kuroiwa Y, Kitamura Y, et al. A crucial role of Nrf2 in in vivo defense against oxidative damage by an environmental pollutant, pentachlorophenol [J]. *Toxicol Sci*, 2006, 90 (1): 111–119. DOI: 10.1093/toxsci/kjf076.
- [39] Xu WH, Hellerbrand C, Köhler UA, et al. The Nrf2 transcription factor protects from toxin-induced liver injury and fibrosis [J]. *Lab Invest*, 2008, 88 (10): 1068–1078. DOI: 10.1038/labinvest.2008.75.
- [40] Okawa H, Motohashi H, Kobayashi A, et al. Hepatocyte-specific deletion of the keap1 gene activates Nrf2 and confers potent resistance against acute drug toxicity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 339 (1): 79–88. DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.10.185.
- [41] Bae SH, Sung SH, Cho EJ, et al. Concerted action of sulfiredoxin and peroxiredoxin I protects against alcohol-induced oxidative injury in mouse liver [J]. *Hepatology*, 2011, 53 (3): 945–953. DOI: 10.1002/hep.24104.
- [42] Kumar A, Singh CK, Lavoie HA, et al. Resveratrol restores Nrf2 level and prevents ethanol-induced toxic effects in the cerebellum of a rodent model of fetal alcohol spectrum disorders [J]. *Mol Pharmacol*, 2011, 80 (3): 446–457. DOI: 10.1124/mol.111.071126.
- [43] Chen L, Li K, Liu Q, et al. Protective effects of raspberry on the oxidative damage in HepG2 cells through Keap1/Nrf2-dependent signaling pathway [J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 133: 110781. DOI: 10.1016/j.fct.2019.110781.
- [44] Bataille AM, Manautou JE. Nrf2: a potential target for new therapeutics in liver disease [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2012, 92 (3): 340–348. DOI: 10.1038/clpt.2012.110.
- [45] Zhou R, Lin JJ, Wu DF. Sulforaphane induces Nrf2 and protects against CYP2E1-dependent binge alcohol-induced liver steatosis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840 (1): 209–218. DOI: 10.1016/j.bbagen.2013.09.018.
- [46] Osburn WO, Wakabayashi N, Misra V, et al. Nrf2 regulates an adaptive response protecting against oxidative damage following diquat-mediated formation of superoxide anion [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2006, 454 (1): 7–15. DOI: 10.1016/j.abb.2006.08.005.
- [47] Higdon A, Diers AR, Oh JY, et al. Cell signalling by reactive lipid species: new concepts and molecular mechanisms [J]. *Biochem J*, 2012, 442 (3): 453–464. DOI: 10.1042/BJ20111752.
- [48] Abeti R, Uzun E, Renganathan I, et al. Targeting lipid peroxidation and mitochondrial imbalance in Friedreich's ataxia [J]. *Pharmacol Res*, 2015, 99: 344–350. DOI: 10.1016/j.phrs.2015.05.015.
- [49] Huang Y, Li WG, Kong AN. Anti-oxidative stress regulator NF-E2-related factor 2 mediates the adaptive induction of antioxidant and detoxifying enzymes by lipid peroxidation metabolite 4-hydroxynonenal [J]. *Cell Biosci*, 2012, 2 (1): 40. DOI: 10.1186/2045-3701-2-40.
- [50] Xu DW, Chen LL, Chen XS, et al. The triterpenoid CDDO-imidazole ameliorates mouse liver ischemia-reperfusion injury through activating the Nrf2/HO-1 pathway enhanced autophagy [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8 (8): e2983. DOI: 10.1038/cddis.2017.386.
- [51] Hennig P, Garstkiewicz M, Grossi S, et al. The crosstalk between Nrf2 and inflammasomes [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19 (2): 562. DOI: 10.3390/ijms19020562.
- [52] An YW, Jhang KA, Woo SY, et al. Sulforaphane exerts its anti-inflammatory effect against amyloid- β peptide via STAT-1 dephosphorylation and activation of Nrf2/HO-1 cascade in human THP-1 macrophages [J]. *Neurobiol Aging*, 2016, 38: 1–10. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2015.10.016.
- [53] Zeng J, Chen YZ, Ding R, et al. Isoliquiritigenin alleviates early brain injury after experimental intracerebral hemorrhage via suppressing ROS- and/or NF- κ B-mediated NLRP3 inflammasome activation by promoting Nrf2 antioxidant pathway [J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14 (1): 119. DOI: 10.1186/s12974-017-0895-5.
- [54] Chi XJ, Yao WF, Xia H, et al. Elevation of HO-1 expression mitigates intestinal ischemia-reperfusion injury and restores tight junction function in a rat liver transplantation model [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 2015: 986075. DOI: 10.1155/2015/986075.
- [55] Pall ML, Levine S. Nrf2, a master regulator of detoxification and also antioxidant, anti-inflammatory and other cytoprotective mechanisms, is raised by health promoting factors [J]. *Acta Physiol Sinica*, 2015, 67 (1): 1–18. DOI: 10.13294/j.aps.2015.0001.
- [56] Wu KC, Zhang YC, Klaassen CD. Nrf2 protects against diquat-induced liver and lung injury [J]. *Free Radic Res*, 2012, 46 (10): 1220–1229. DOI: 10.3109/10715762.2012.700709.
- [57] Jia H, Zhang YC, Si XM, et al. Quercetin alleviates oxidative damage by activating nuclear factor erythroid 2-related factor 2 signaling in porcine enterocytes [J]. *Nutrients*, 2021, 13 (2): 375. DOI: 10.3390/nu13020375.
- [58] Tonelli C, Chio IIC, Tuveson DA. Transcriptional regulation by Nrf2 [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29 (17): 1727–1745. DOI: 10.1089/ars.2017.7342.