

## 基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cxyb.003277

# 七叶皂苷钠对单侧输尿管梗阻后小鼠肾积水损伤的保护作用

闫聚瀚<sup>1</sup>,赵朋涛<sup>1</sup>,李佳程<sup>1</sup>,闫晓冬<sup>2</sup>,刘 鑫<sup>2</sup>,李向东<sup>2</sup>

(1. 河北北方学院研究生院,张家口 075132;2. 河北北方学院附属第一医院泌尿外科,张家口 075132)

**[摘要]**目的:探讨七叶皂苷钠对小鼠单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction, UUO)后肾积水损伤的改善及保护作用。方法:随机挑选 24 只健康雄性 8 周龄 WTC57BL/6 小鼠,将其分为假手术组(Sham 组)、模型组(单侧输尿管梗阻组, UUO 组)和七叶皂苷钠用药组(UUO+七叶皂苷钠组),每组 8 只。UUO 模型为肾积水研究最常用模型,采取腰部切口并丝线结扎一侧输尿管(结扎单侧输尿管,并切除对侧肾脏,以确保单侧出现肾积水,并排除对侧肾脏正常代偿的影响),构建单侧输尿管梗阻小鼠肾积水模型,对各组进行相应处理后,全自动生化分析仪检测血清肌酐(serum creatinine, Scr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)水平;试剂盒检测肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白细胞介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量;制备组织病理切片并行 HE 染色,光镜下观察肾组织病理学改变并做出对应的病理损伤评分;TUNEL 法检测细胞凋亡水平。结果:与 Sham 组比较, UUO 组 Scr(21.49 ± 2.87 vs. 11.21 ± 1.79)、BUN(19.80 ± 2.55 vs. 9.40 ± 1.78)、TNF-α(20.06 ± 1.32 vs. 10.18 ± 0.56)、IL-1β(9.65 ± 0.79 vs. 3.46 ± 0.59)、MDA(26.01 ± 1.02 vs. 15.12 ± 1.15)、细胞凋亡水平(150.02 ± 14.78 vs. 86.82 ± 5.66)、肾病理损伤评分(3.00 ± 0.46 vs. 0.00 ± 0.00)水平显著升高( $P=0.000$ ),以及显著降低的 SOD 水平(95.63 ± 3.13 vs. 143.66 ± 5.44,  $P=0.000$ )。与 UUO 组相比, UUO+七叶皂苷钠组 Scr(15.94 ± 0.74 vs. 21.49 ± 2.87)、BUN(13.08 ± 0.85 vs. 19.80 ± 2.55)、TNF-α(15.01 ± 0.90 vs. 20.06 ± 1.32)、IL-1β(5.62 ± 0.65 vs. 9.65 ± 0.79)、MDA(19.12 ± 1.08 vs. 26.01 ± 1.02)、细胞凋亡水平(103.97 ± 10.33 vs. 150.02 ± 14.78)、肾病理损伤评分(1.57 ± 0.36 vs. 3.00 ± 0.46)水平显著降低( $P=0.000$ ),以及显著增加 SOD 水平(121.04 ± 3.61 vs. 95.63 ± 3.13,  $P=0.000$ )。结论:七叶皂苷钠通过发挥其抗炎、抑制氧化应激反应以及抗渗出以扩张血管张力作用,从而对 UUO 后肾积水损伤产生保护作用,成为一种潜在的治疗选择。

**[关键词]**肾积水;单侧输尿管梗阻;肾损伤;七叶皂苷钠;炎症;氧化应激

**[中图分类号]**R692.2

**[文献标志码]**A

**[收稿日期]**2023-04-04

## Protective effect of sodium aescinate against hydronephrosis injury in mice after unilateral ureteral obstruction

Yan Juhuan<sup>1</sup>, Zhao Pengtao<sup>1</sup>, Li Jiacheng<sup>1</sup>, Yan Xiaodong<sup>2</sup>, Liu Xin<sup>2</sup>, Li Xiangdong<sup>2</sup>

(1. Graduate School of Hebei North University;2. The First Affiliated Hospital of Hebei North University)

**[Abstract]****Objective:** To investigate the role of sodium aescinate in improving and protecting against hydronephrosis injury in mice after unilateral ureteral obstruction (UUO). **Methods:** A total of 24 healthy male WTC57BL/6 mice, aged 8 weeks, were divided into sham-operation group (Sham group), model group (UUO group), and sodium aescinate group (UUO+sodium aescinate group), with 8 mice in each group. The UUO model was the most commonly used model for the study of hydronephrosis, and the ureter at one side was ligated with silk thread through a lumbar incision (the ureter at one side was ligated and the kidney at the contralateral side was removed to ensure unilateral hydronephrosis and rule out the influence of normal compensation of the kidney at the contralateral side) to establish a mouse model of hydronephrosis after UUO. After corresponding treatment was given for each group, an automatic biochemical analyzer was used to measure the levels of serum creatinine (Scr) and blood urea nitrogen (BUN); related kits were used to measure the content of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β), superoxide dismutase (SOD), and malondialdehyde (MDA); histopathological sections were prepared and then HE staining was used to observe renal histopathological changes under a light microscope and determine the corresponding pathological injury score; the TUNEL method was used to measure the level of cell apoptosis.

**Results:** Compared with the Sham group, the UUO group had significant increases in the levels of Scr(21.49 ± 2.87 vs. 11.21 ± 1.79),

BUN(19.80 ± 2.55 vs. 9.40 ± 1.78), TNF-α(20.06 ± 1.32 vs. 10.18 ± 0.56), IL-1β(9.65 ± 0.79 vs. 3.46 ± 0.59), and MDA(26.01 ±

1.02 vs. 15.12 ± 1.15), the level of cell apoptosis(150.02 ± 14.78

vs. 86.82 ± 5.66), and renal pathological injury score(3.00 ± 0.46

vs. 0.00 ± 0.00)( $P=0.000$ ), as well as a significant reduction in the

level of SOD(95.63 ± 3.13 vs. 143.66 ± 5.44,  $P=0.000$ ). Compared

with the UUO group, the UUO+sodium aescinate group had signifi-

cant reductions in the levels of Scr(15.94 ± 0.74 vs. 21.49 ± 2.87),

作者介绍:闫聚瀚,Email:2013440810@qq.com,

研究方向:泌尿外科研究。

通信作者:李向东,Email:501882764@qq.com。

基金项目:河北省中医药管理局科研计划资助项目(编号:2023096)。

优先出版:<https://kns.cnki.net/kcms2/detail/50.1046.R.20230717.1546.026.html>

(2023-07-18)

BUN ( $13.08 \pm 0.85$  vs.  $19.80 \pm 2.55$ ) , TNF- $\alpha$  ( $15.01 \pm 0.90$  vs.  $20.06 \pm 1.32$ ) , IL-1 $\beta$  ( $5.62 \pm 0.65$  vs.  $9.65 \pm 0.79$ ) , and MDA ( $19.12 \pm 1.08$  vs.  $26.01 \pm 1.02$ ) , the level of cell apoptosis ( $103.97 \pm 10.33$  vs.  $150.02 \pm 14.78$ ) , and renal pathological injury score ( $1.57 \pm 0.36$  vs.  $3.00 \pm 0.46$ ) ( $P=0.000$ ) , as well as a significant increase in the level of SOD ( $121.04 \pm 3.61$  vs.  $95.63 \pm 3.13$ ,  $P=0.000$ ) . **Conclusion:** Sodium aescinate exerts a protective effect against hydronephrosis injury after UUO by exerting an anti-inflammatory effect, inhibiting oxidative stress response , and showing an anti-exudation effect to increase vascular tension , and therefore , it becomes a potential treatment option.

**[Key words]** hydronephrosis; unilateral ureteral obstruction; renal injury; sodium aescinate; inflammation; oxidative stress

肾积水是泌尿外科中一种常见多发病，其病因多因尿路结石、肿瘤(良、恶性)、先天畸形(如小儿先天性输尿管肾盂连接处狭窄、纤维束压迫等)、炎症刺激(炎症斑痕致输尿管狭窄)、膀胱输尿管反流等，其中以尿路结石和先天畸形最为常见<sup>[1-2]</sup>。输尿管发生梗阻后会出现排尿受阻、肾盂肾盏及肾小管压力性扩张、肾小球硬化、肾间质水肿、局灶性炎细胞浸润导致肾组织改变，进一步导致肾脏萎缩、肾纤维化<sup>[3]</sup>。若输尿管梗阻始终未得到解除，最终会因肾功能丧失而导致肾衰竭<sup>[2]</sup>。目前临幊上多以手术、药物治疗，临幊疗效一般，因此，新型有效药物还有待进一步研究。而在科研过程中通常采用结扎动物输尿管来模拟肾积水损伤的发生<sup>[4]</sup>。

近年来随着中医的复兴，中成药在预防和治疗各种疾病中扮演重要角色，七叶皂苷钠是传统中药娑罗子中提取的一类酯键三萜皂苷化合物<sup>[5]</sup>。七叶皂苷钠具有减轻炎症反应、抗渗出、减轻氧化应激反应、抗细胞凋亡、镇痛、调控能量代谢、提高血管张力等作用，临幊多应用于急性肺损伤、胃肠道保护、改善器官血液循环等作用。随着七叶皂苷钠研究的深入，特别是其通过有效消除多余氧自由基(ROS)来减轻氧化应激产物如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)的释放以及减少炎症介质如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )的释放，因此，其对人体组织器官损伤发挥潜在的保护作用越来越引起学者的重视<sup>[6-7]</sup>。基于这样的研究背景，本研究拟通过建立小鼠单侧输尿管梗阻致肾积水损伤模型进行实验研究，探讨七叶皂苷钠对单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction, UUO)后肾积水损伤的保护作用及机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 药物与配置 将七叶皂苷钠(北京索莱宝科技有限公司，98%纯度)用生理盐水进行溶解，制成七叶皂苷钠溶液。

本试验所用七叶皂苷钠剂量( $60 \text{ mg/kg}$ ，为以往相关实验研究推荐剂量)，且七叶皂苷钠对组织的改善作用不受其剂量大小影响。

1.1.2 实验动物与分组 24 只健康 SPF 级 8 周龄雄性 WTC57BL/6 小鼠为实验动物，体质量为  $(20 \pm 2) \text{ g}$ ，均为河北北方学院实验室提供[SYXK(冀)2019-004]。动物实验在河北北方学院标准动物实验室进行，恒定室温  $24\text{--}26^\circ\text{C}$ ，相对湿度  $40\%\text{--}60\%$ 、通风良好的标准环境，采用昼夜周期为  $12 \text{ h}/12 \text{ h}$  的模式进行，所有实验动物均可自由获取专用的食物和水，符合河北北方学院实验室动物饲养与实验准则，本实验已经本院伦理委员会批准。使用简单随机法将其分为 3 个数量相同的组( $n=8$ )：假手术组(Sham 组)、模型组(单侧输尿管梗阻组，UUO 组)、七叶皂苷钠用药组(UUO+七叶皂苷钠组)。

1.1.3 试剂与实验设备 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、SOD、MDA、TUNEL 试剂盒均购自武汉云克隆科技有限公司；全自动生化分析仪(由河北北方学院附属第一医院中心实验室提供，购自迈瑞医疗器械有限公司)； $-80^\circ\text{C}$ 、 $4^\circ\text{C}$  低温冰箱(Thermo)购自上海赛默飞世尔科技公司；冰冻切片机(CM3050S)、显微镜购自德国 LEICA 公司；石蜡包埋机、低温高速离心机均购自山东博科医疗器械有限公司；恒温水浴锅购自北京科伟永兴仪器公司；外科无菌器械、医用缝合针、医用缝合线均购自上海医疗器械(集团)有限公司；移液器、多功能酶标仪均购自上海懿洋仪器有限公司。

### 1.2 实验过程

实验前对小鼠适应性饲养 1 周，小鼠麻醉前  $6 \text{ h}$  禁食，用  $5\%$  戊巴比妥钠(按  $50 \text{ mg/kg}$ )进行腹腔注射麻醉，待小鼠充分麻醉后，依次备皮、消毒。

Sham 组：行左或右单侧腰部切口逐层切开小鼠皮肤，暴露一侧肾及输尿管，充分游离一侧输尿管中上段后不做任何输尿管结扎处理(仅游离不结扎输尿管)。UUO 组：行单侧腰部切口，充分游离一侧输尿管中上段后，用 3-0 无菌外科丝线对输尿管中上部进行结扎(结扎单侧输尿管，并切除对侧肾脏，以确保单侧出现肾积水，并排除对侧肾脏正常代偿的影响)。UUO+七叶皂苷钠组：术前行七叶皂苷钠溶液灌胃  $20 \text{ d}$  ( $60 \text{ mg/kg}$ )，后同 UUO 组，行一侧输尿管中上部结扎。并在术后第  $10$  天，充分麻醉条件下行小鼠眼眶内眦静脉丛取血，并取单侧积水肾，标本获得后，采用断颈法将小鼠处死。收集的血液标本离心后提取上清液待测，肾脏标本用  $10\%$  多聚甲醛溶液固定并放于  $-80^\circ\text{C}$  冰箱待用。

### 1.3 指标检测

1.3.1 小鼠血清 Scr、BUN 水平分析 将小鼠眼内眦静脉取

出血后,室温放置2 h后于低温高速离心机(4 °C、3 500 r/min、10 min)离心,小心抽取上清液后,用全自动生化分析仪进行血肌酐、尿素氮数值的检测,对术后小鼠肾功能进行分析。

**1.3.2 组织病理形态学观察** 断颈法处死小鼠,取出积水侧肾脏,置于体积分数为10%中性甲醛溶液中固定,经全自动脱水机完全脱水后,行石蜡包埋并制作4 μm厚的组织切片,常规HE染色后封片,光学显微镜下观察肾小管坏死及肾小球硬化情况并进行肾组织损伤评分。每只小鼠肾脏切片随机选取6个视野观察,根据肾小管坏死、肾小管管型、肾小管扩张、肾小球硬化程度进行肾脏组织损伤病理评分:0分(无损伤)、1分(<10%的损伤)、2分(11%~25%的损伤)、3分(26%~45%的损伤)、4分(46%~75%的损伤)和5分(≥76%的损伤)。

**1.3.3 小鼠血清TNF-α及IL-1β含量检测** 取经充分离心后制备好的血清,使用TNF-α及IL-1β试剂盒,所有操作步骤均严格按照试剂盒内说明书对TNF-α及IL-1β水平进行检测。

**1.3.4 小鼠血清SOD、MDA含量检测** 取肾组织制成10%的组织匀浆,使用SOD、MDA试剂盒,并严格按照试剂盒说明书逐步操作,分别于532 nm吸光度处检测MDA水平,在450 nm吸光度处检测SOD水平。

**1.3.5 细胞凋亡与细胞凋亡指数检测** 取肾组织制成10%的组织匀浆后,使用TUNEL试剂盒法测定细胞凋亡水平,严格按照试剂盒说明书逐步操作后,置于荧光显微镜下观察。其中,凋亡(阳性)细胞在荧光显微镜下呈现绿色荧光,每张TUNEL阳性切片选取5个阳性细胞数最多的高倍镜视野,并按照公式凋亡指数=凋亡细胞数(或阳性细胞数)÷细胞总数×100%计算凋亡指数。

#### 1.4 统计学处理

采用SPSS 20.0统计软件进行统计学处理。所有数据采用均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用t检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结 果

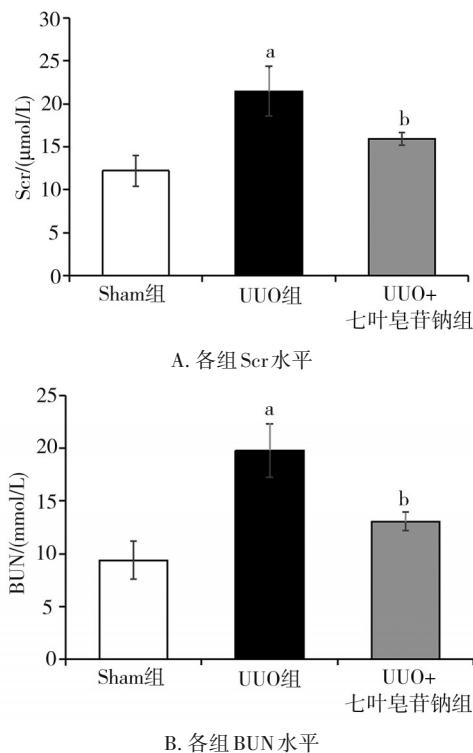
### 2.1 小鼠血清Scr、BUN水平

与Sham组血清Scr、BUN水平( $11.21 \pm 1.79$ 、 $9.40 \pm 1.78$ )相比,UUO组血清Scr、BUN水平升高( $21.49 \pm 2.87$ 、 $19.80 \pm 2.55$ , $P=0.000$ );与UUO组相比,UUO+七叶皂苷钠组小鼠血清Scr、BUN水平降低( $15.94 \pm 0.74$ 、 $13.08 \pm 0.85$ , $P=0.000$ ),见表1和图1A、B。

表1 各组小鼠Scr、BUN水平( $n=8$ , $\bar{x} \pm s$ )

组别	Scr/(μmol/L)	BUN/(mmol/L)
Sham组	$11.21 \pm 1.79$	$9.40 \pm 1.78$
UUO组	$21.49 \pm 2.87^a$	$19.80 \pm 2.55^a$
UUO+七叶皂苷钠组	$15.94 \pm 0.74^b$	$13.08 \pm 0.85^b$
F值	53.008	77.778
P值	0.000	0.000

注:a,与Sham组比较, $P=0.000$ ;b:与UUO组比较, $P=0.000$



注:a,与Sham组比较, $P=0.000$ ;b:与UUO组比较, $P=0.000$

图1 各组小鼠Scr、BUN水平比较( $n=8$ , $\bar{x} \pm s$ )

### 2.2 小鼠肾组织病理改变

在光学显微镜下,假手术组小鼠肾组织结构基本正常,肾小管结构清晰,肾小管上皮细胞排列整齐,无或少量炎性细胞浸润,病理损伤评分为0分,如图2A所示;光镜下UUO组小鼠肾组织明显损伤,肾小球出现不同程度变性、坏死,弥漫性肾小管坏死、管腔扩张,肾小囊见不同程度血浆蛋白、红细胞沉积,病理损伤评分多维持在3~4分,如图2B所示;光镜下UUO+七叶皂苷钠用药组小鼠肾组织损伤均减轻,有不同程度的炎症浸润水肿,肾小球变性坏死情况明显改善,病理评分维持在1~2分,如图2C所示。各组小鼠肾脏病理损伤评分结果显示,与Sham组( $0.00 \pm 0.00$ )相比,UUO组病理损伤评分升高( $3.00 \pm 0.46$ , $P=0.000$ );与UUO组相比,UUO+七叶皂苷钠组小鼠病理损伤评分降低( $1.57 \pm 0.36$ , $P=0.000$ ),见表2。

表2 各组小鼠肾损伤病理评分( $n=8$ , $\bar{x} \pm s$ )

组别	得分
Sham组	$0.00 \pm 0.00$
UUO组	$3.00 \pm 0.46^a$
UUO+七叶皂苷钠组	$1.57 \pm 0.36^b$
F值	156.921
P值	0.000

注:a,与Sham组比较, $P=0.000$ ;b:与UUO组比较, $P=0.000$

### 2.3 小鼠血清TNF-α、IL-1β水平

与Sham组血清TNF-α、IL-1β水平( $10.18 \pm 0.56$ 、 $3.46 \pm 0.59$ )相比,UUO组血清TNF-α、IL-1β水平升高( $20.06 \pm 0.59$

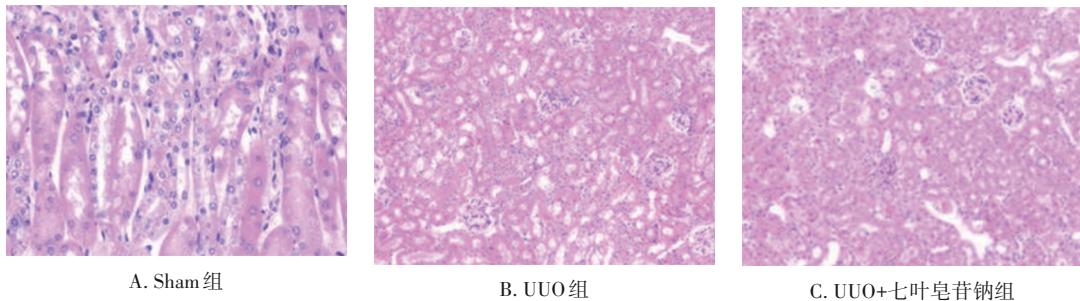


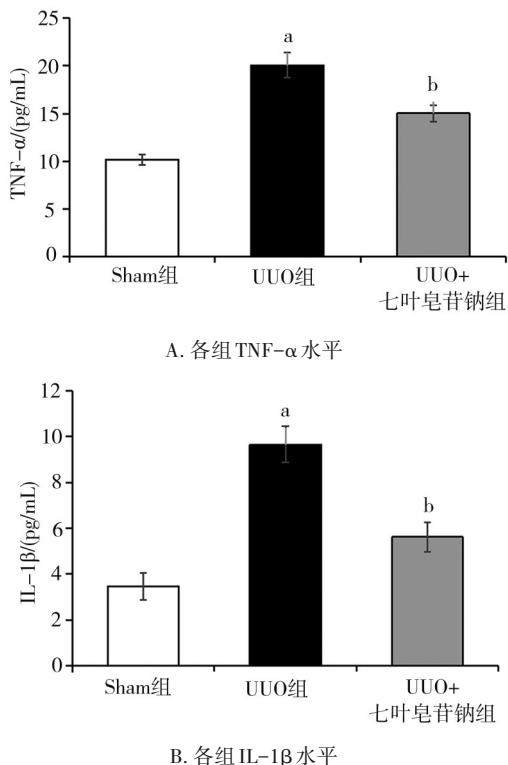
图2 各组小鼠肾脏形态及病理改变(HE染色,200×)

1.32、 $9.65 \pm 0.79$ ,  $P=0.000$ ;与UUO组相比,UUO+七叶皂苷钠组血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平降低( $15.01 \pm 0.90$ 、 $5.62 \pm 0.65$ ,  $P=0.000$ ),见表3和图3A、B。

表3 各组小鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平( $n=8$ , $\bar{x} \pm s$ ;pg/mL)

组别	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$
Sham组	$10.18 \pm 0.56$	$3.46 \pm 0.59$
UUO组	$20.06 \pm 1.32^a$	$9.65 \pm 0.79^a$
UUO+七叶皂苷钠组	$15.01 \pm 0.90^b$	$5.62 \pm 0.65^b$
F值	204.177	168.905
P值	0.000	0.000

注:a,与Sham组比较, $P=0.000$ ;b:与UUO组比较, $P=0.000$



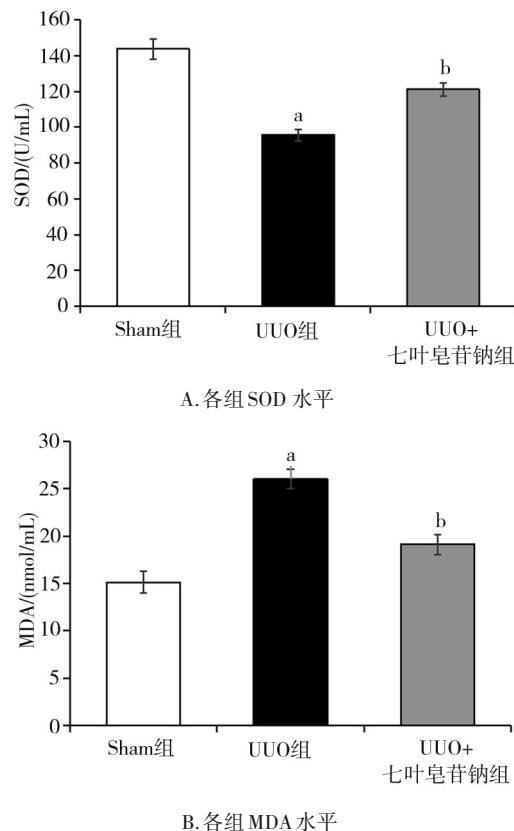
注:a,与Sham组比较, $P=0.000$ ;b:与UUO组比较, $P=0.000$

图3 各组小鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平( $n=8$ , $\bar{x} \pm s$ )

#### 2.4 小鼠肾组织SOD水平及MDA含量

与Sham组SOD水平及MDA含量( $143.66 \pm 5.44$ 、 $15.12 \pm 1.15$ )相比,UUO组肾组织SOD水平明显降低

( $95.63 \pm 3.13$ ,  $P=0.000$ ),MDA含量明显升高( $26.01 \pm 1.02$ ,  $P=0.000$ );与UUO组相比,UUO+七叶皂苷钠组肾组织SOD水平明显升高( $121.04 \pm 3.61$ ,  $P=0.000$ ),MDA含量降低( $19.12 \pm 1.08$ ,  $P=0.000$ ),见表4和图4A、B。



注:a,与Sham组比较, $P=0.000$ ;b:与UUO组比较, $P=0.000$

图4 各组小鼠肾组织SOD和MDA含量( $n=8$ , $\bar{x} \pm s$ )表4 各组小鼠肾组织SOD和MDA含量( $n=8$ , $\bar{x} \pm s$ )

组别	SOD/(U/mL)	MDA/(nmol/mL)
Sham组	$143.66 \pm 5.44$	$15.12 \pm 1.15$
UUO组	$95.63 \pm 3.13^a$	$26.01 \pm 1.02^a$
UUO+七叶皂苷钠组	$121.04 \pm 3.61^b$	$19.12 \pm 1.08^b$
F值	264.344	206.025
P值	0.000	0.000

注:a,与Sham组比较, $P=0.000$ ;b:与UUO组比较, $P=0.000$

## 2.5 小鼠肾组织细胞凋亡水平与相应凋亡指数

与 Sham 组肾组织细胞凋亡水平及凋亡指数 ( $86.82 \pm 5.66$ 、 $8.68 \pm 0.57$ ) 相比, UUO 组肾组织细胞凋亡水平及凋亡指数升高 ( $150.02 \pm 14.78$ 、 $15.00 \pm 1.48$ ,  $P=0.000$ ) ;与 UUO 组相比, UUO+七叶皂苷钠组肾组织细胞凋亡水平及凋亡指数降低 ( $103.97 \pm 10.33$ 、 $10.40 \pm 1.03$ ,  $P=0.000$ ), 见表 5。

表 5 各组小鼠肾组织细胞凋亡水平及凋亡指数 ( $n=8$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	细胞凋亡水平/mm <sup>2</sup>	细胞凋亡指数/%
Sham 组	$86.82 \pm 5.66$	$8.68 \pm 0.57$
UUO 组	$150.02 \pm 14.78^a$	$15.00 \pm 1.48^a$
UUO+七叶皂苷钠组	$103.97 \pm 10.33^b$	$10.40 \pm 1.03^b$
F 值	71.742	71.868
P 值	0.000	0.000

注: a, 与 Sham 组比较,  $P=0.000$ ; b, 与 UUO 组比较,  $P=0.000$

## 3 讨 论

肾积水常继发于结石、肿瘤压迫侵犯、手术瘢痕狭窄等导致上尿路梗阻发生时。其中, 上尿路结石是导致成人肾积水的主要病因<sup>[8-9]</sup>。结石以上部位尿液排出受阻, 导致尿液积聚在肾盂肾盏内。随着积水量增多, 长时间挤压肾盂肾盏会导致肾小管扩张、炎症介质浸润、肾小球坏死, 进一步导致肾实质病变<sup>[10]</sup>和肾功能降低。目前, 手术解除输尿管中上段梗阻是临床治疗肾积水首选<sup>[2]</sup>。若未及时救治, 可导致肾单位破坏加重, 最终导致肾衰竭发生, 严重影响患者生活质量<sup>[11]</sup>。本实验选择单侧腰部切口并用手术无菌丝线结扎单侧小鼠输尿管中上部, 建立单侧 UUO 后小鼠肾积水损伤模型, 术前行七叶皂苷钠溶液灌胃 20 d (60 mg/kg)。术后第 10 天后, UUO 组小鼠血清 Scr、BUN 水平明显升高, 病理学观察发现肾小管上皮细胞变性凋亡致肾小管扩张和纤维化, 肾小球坏死, 肾病理损伤评分明显升高, 说明小鼠 UUO 模型成功模拟了肾积水损伤的发生。与 UUO 组比较, UUO+七叶皂苷钠组小鼠血清 Scr、BUN 水平明显下降, 肾脏损伤评分明显降低, 说明七叶皂苷钠对小鼠 UUO 后肾积水损伤具有改善及保护作用。

目前为止, 已知发生肾积水损伤的机制表明, 炎症因子聚集、氧化应激反应、肾小管损伤、肾小球坏死硬化等都是肾积水损伤发生的一些重要因素<sup>[12-14]</sup>。肾积水损伤可激活肾血管内皮细胞释放大量炎症因子, 募集趋化中性粒细胞在血管内皮的附着、浸润、激活, 从而引起强烈的炎症反应, 进而导致肾血管收缩、肾小管上皮细胞损伤以及水钠潴

留, 造成肾损伤进一步加重<sup>[15]</sup>。肾积水损伤时, 中性粒细胞可进入肾损伤区被激活, 引发肾脏组织细胞损伤, 而炎症因子 TNF-α、IL-1β 释放可加速这一进程<sup>[16]</sup>。TNF-α 是引发炎症反应和调节自身免疫的一种促炎因子, 能够激活白细胞的黏附分子, 介导微循环功能障碍, 加重肾损伤区组织的炎症反应, 同时 TNF-α 可激活巨噬细胞促进 IL-1 等炎症因子的释放<sup>[17-18]</sup>。IL-1 能通过激活巨噬细胞, 促使其释放 TNF-α, 两者相互作用, 共同加重炎症反应。IL-1β 为 IL-1 家族的主要成员之一, 是引起肾组织在肾积水损伤后炎症反应的重要炎症因子<sup>[19]</sup>。本研究发现, 与 UUO 组比较, UUO+七叶皂苷钠组小鼠血清 TNF-α、IL-1β 水平明显降低, 提示七叶皂苷钠对肾积水损伤的保护作用可能与抗炎反应有关, 而且氧化应激是炎症发生的早期提示指标。

有研究表明肾积水损伤时可引起过量活性氧 (reactive oxygen, ROS) 积聚<sup>[20]</sup>, 引起严重的氧化应激反应<sup>[21]</sup>, 影响细胞内外的物质交换, 进而造成细胞凋亡<sup>[18]</sup>。抗氧化酶 SOD 是生物体内清除 ROS 的重要物质<sup>[22]</sup>, 而 MDA 可反映肾脂质氧化应激的程度。有研究表明, 七叶皂苷钠可通过提高 SOD 活性、减少 MDA 含量, 发挥抗氧化应激作用, 从而对肾小球系膜细胞<sup>[23]</sup>起保护作用。Pan H 等<sup>[24]</sup>发现用金属铂类络合物化疗药干扰小鼠可引起明显的肾功能损伤、肾脏组织病理学改变, 同时伴随 ROS、IL-1β、TNF-α 的高表达, 用七叶皂苷钠治疗小鼠可明显减轻铂类络合物诱导的肾脏氧化应激和炎症反应, 并改善肾脏功能。本研究发现, 与 UUO 组比较, UUO+七叶皂苷钠组小鼠 SOD 水平升高, MDA 水平明显降低, 提示七叶皂苷钠对小鼠 UUO 后肾积水损伤的保护作用可能与减轻氧化应激反应有关。

细胞凋亡是由基因控制的细胞自主有序的死亡, 是在病理条件下的一种维持机体内环境稳态的主动过程<sup>[25-26]</sup>, 而细胞凋亡受许多途径调控<sup>[27]</sup>, 最常见的是线粒体调控途径。有研究证实, 当组织损伤时, 线粒体内 ROS 大量积聚, 造成线粒体破坏<sup>[28]</sup>, 从而进一步增加细胞凋亡。本研究用 TUNEL 法检测细胞凋亡水平及计算细胞凋亡指数发现, 与 UUO 组比较, UUO+七叶皂苷钠组小鼠凋亡(阳性)细胞数与凋亡指数明显降低, 说明七叶皂苷钠对小鼠 UUO 后肾积水损伤具有改善及保护作用。

综上所述, 七叶皂苷钠可明显减轻小鼠 UUO 后肾积水损伤, 其保护作用可能与减轻肾积水后炎症反应、抑制氧化应激有关, 但具体的保护机制及调

控方式仍需进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] Bhamani A, Srivastava M. Obstructed bifid ureteric system causing unilateral hydronephrosis[J]. Rev Urol, 2013, 15(3):131–134.
- [2] 陈杰. 重度肾积水梗阻解除后肾功能恢复的影响因素分析[D]. 遵义:遵义医科大学, 2022.
- Chen J. Analysis of influencing factors of renal function recovery after lifting of severe hydronephrosis[D]. Zunyi: Zunyi Medical University, 2022.
- [3] Wang FM, Yang YJ, Ma LL, et al. Berberine ameliorates renal interstitial fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction in rats[J]. Nephrology, 2014, 19(9):542–551.
- [4] An HJ, Kim JY, Kim WH, et al. The protective effect of melittin on renal fibrosis in an animal model of unilateral ureteral obstruction[J]. Molecules, 2016, 21(9):1137.
- [5] 陈青枝,江波涛,邹伟,等.七叶皂苷钠对大鼠肾热缺血再灌注损伤的影响[J].中国中西医结合肾病杂志,2015,16(11):959–961.
- Chen QZ, Jiang BT, Zou W, et al. Effects of sodium aescinat on renal ischemia-reperfusion injury in rats[J]. Chin J Integr Tradit West Nephrol, 2015, 16(11):959–961.
- [6] Suleyman Z, Sener E, Kurt N, et al. The effect of nimesulide on oxidative damage inflicted by ischemia-reperfusion on the rat renal tissue [J]. Ren Fail, 2015, 37(2):323–331.
- [7] 黄桑,林涛,蒙凌,等.七叶皂苷钠通过阻断TGF-β介导的信号通路对急性肺损伤大鼠肺纤维化和炎症因子的影响[J].中医药导报,2022,28(6):40–43,73.
- Huang S, Lin T, Meng L, et al. Effects of sodium aescinate on pulmonary fibrosis and inflammatory factors in rats with acute lung injury by blocking TGF-β-mediated signaling pathway[J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm, 2022, 28(6):40–43,73.
- [8] Dino MS, Tefera AT, Gebreselassie KH, et al. Complete duplex of the left ureter with lower moiety hydronephrosis secondary to ureteral stone in adult[J]. Case Rep Urol, 2022, 2022:6552889.
- [9] Vroomen LGPH, John NT, Fujimori M, et al. A new intrasurgical technique to safely and reproducibly induce partial unilateral urinary obstruction and renal scarring in a Rat Model[J]. Int Urol Nephrol, 2020, 52(7):1209–1218.
- [10] Pons M, Leporq B, Ali L, et al. Renal parenchyma impairment characterization in partial unilateral ureteral obstruction in mice with intravoxel incoherent motion-MRI[J]. NMR Biomed, 2018, 31(2):10.
- [11] Nemours S, Castro L, Ribatallada-Soriano D, et al. Temporal and sex-dependent gene expression patterns in a renal ischemia-reperfusion injury and recovery pig model[J]. Sci Rep, 2022, 12(1):6926.
- [12] 汪六林,巴元明.大黄素对UUO小鼠肾脏纤维化及炎症因子的影响[J].时珍国医国药,2022,33(10):2386–2388.
- Wang LL, Ba YM. Effects of emodin on renal fibrosis and inflammatory factors in UUO mice[J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2022, 33(10):2386–2388.
- [13] Xing L, Song EL, Yu CY, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells attenuate tubulointerstitial injury through multiple mechanisms in UUO model[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(6):9737–9746.
- [14] Xie YX, Lan F, Zhao J, et al. Hirudin improves renal interstitial fibrosis by reducing renal tubule injury and inflammation in unilateral ureteral obstruction (UUO) mice[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 81:106249.
- [15] Man JW, Yang L. Research progress of neutrophil extracellular traps in ischemia-reperfusion injury of kidney[J]. J Lanzhou Univ (Med Sci), 2021, 47(3):91–94.
- [16] Cui XY, Lin LL, Sun XL, et al. Curcumin protects against renal ischemia/reperfusion injury by regulating oxidative stress and inflammatory response[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021:8490772.
- [17] 王旸,刘娜,王立范,等.薯蓣皂苷对UUO小鼠肾脏病理变化和TNF-α表达的影响[J].中国中医药科技,2023,30(2):228–231.
- Wang Y, Liu N, Wang LF, et al. Effects of dioscin on renal histopathology changes and expression of TNF-α in unilateral ureteral obstruction mice[J]. Chin J Tradit Med Sci Technol, 2023, 30(2):228–231.
- [18] Kaeidi A, Sahamsizadeh A, Allahtavakoli M, et al. The effect of oleuropein on unilateral ureteral obstruction induced-kidney injury in rats: the role of oxidative stress, inflammation and apoptosis[J]. Mol Biol Rep, 2020, 47(2):1371–1379.
- [19] Haq M, Norman J, Saba SR, et al. Role of IL-1 in renal ischemic reperfusion injury[J]. J Am Soc Nephrol, 1998, 9(4):614–619.
- [20] Tian Y, Shu J, Huang RZ, et al. Protective effect of renal ischemic postconditioning in renal ischemic-reperfusion injury[J]. Transl Androl Urol, 2020, 9(3):1356–1365.
- [21] Qiao X, Wang LH, Wang YH, et al. Intermedin is upregulated and attenuates renal fibrosis by inhibition of oxidative stress in rats with unilateral ureteral obstruction[J]. Nephrology, 2015, 20(11):820–831.
- [22] Nantapong N, Murata R, Trakulnaleamsai S, et al. The effect of reactive oxygen species (ROS) and ROS-scavenging enzymes, superoxide dismutase and catalase, on the thermotolerant ability of *Corynebacterium glutamicum*[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2019, 103(13):5355–5366.
- [23] Zhang YX, Hao J, Ma XL, et al. Huoxue Jiedu Huayu recipe ameliorates mesangial cell pyroptosis in contralateral kidney of UUO rats[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020, 2020:2530431.
- [24] Pan H, Mukhopadhyay P, Rajesh M, et al. Cannabidiol attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity by decreasing oxidative/nitrosative stress, inflammation, and cell death[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2009, 328(3):708–714.
- [25] Sulistiowati I, Yunus J, Sari DCR, et al. Upregulation of p16, bax and bcl-2 mRNA expression associated with epithelial apoptosis and myofibroblast proliferation in kidney fibrosis model in mice[J]. Malays J Med Sci, 2020, 27(2):37–44.
- [26] Guo MJ, Lu B, Gan JL, et al. Apoptosis detection: a purpose-dependent approach selection[J]. Cell Cycle, 2021, 20(11):1033–1040.
- [27] Kondratskyi A, Kondratska K, Skryma R, et al. Ion channels in the regulation of apoptosis[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1848(10 Pt B):2532–2546.
- [28] Liao XH, Lv X, Zhang Y, et al. Fluorofenidone inhibits UUO/IRI-induced renal fibrosis by reducing mitochondrial damage[J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022:2453617.

(责任编辑:唐秋姗)