



# a 硫辛酸抑制单侧输尿管梗阻大鼠肾间质纤维化

李 莉<sup>1</sup> 万青松通讯作者<sup>2</sup>

(湖南环境生物职业技术学院医学院<sup>1</sup> 湖南衡阳 421001;南华大学附属第一医院肾内科<sup>2</sup> 湖南衡阳 421001)

**摘要:**目的:探讨 a 硫辛酸(ALA)对单侧输尿管梗阻(UUO)大鼠肾脏间质纤维化的影响。方法:将 27 只大鼠随机分为假手术组、模型组和 a 硫辛酸组,采用单侧输尿管梗阻模型,ALA 组术前 2 天腹腔注射 ALA 30mg/Kg,术后 7 天观察梗阻肾组织病理变化,比色法测定肾组织丙二醛(MDA)、还原性谷胱甘肽(GSH)和超氧化物歧化酶(SOD)。结果:与假手术组比较,模型组 MDA 含量明显升高,GSH 及 SOD 明显减少,肾间质纤维化明显加重( $p<0.01$ );ALA 组与模型组比较,肾组织 MDA 明显减少,GSH 及 SOD 含量明显升高,肾间质纤维化明显减轻( $p<0.05$ )。结论:a 硫辛酸能抑制 UUO 大鼠肾组织氧化应激而抑制肾间质纤维化。

Anti-fibrosis effect of alpha-lipoic acid on rat kidney with unilateral ureteral obstruction

(1. Department of Medicine, Hunan Environment-biological Polytechnic, Hengyang, Hunan Province,

China 421001 2. Department of Nephrology, The First Affiliated Hospital of the University of South China, Hengyang, Hunan Province, China 421001 )

Abstract: Objective To investigate the effect of alpha-lipoic acid (ALA) on kidney of rats with renal interstitial fibrosis after unilateral ureteral obstruction (UUO). Methods Twenty-seven rats were randomly assigned

shame operation group, UUO group and ALA group after unilateral ureteral obstruction .ALA 30mg/Kg was injected intraperitoneally 2 days before UUO induction, Renal tissues were examined by light microscopy 7 days after operation. Malondialdehyde(MDA)、reduced Glutathione(GSH) and superoxide dismutase (SOD)

content of kidney were measured. Results In comparison with shame operation group, MDA content in UUO group significantly increased, GSH and SOD content significantly decreased, renal interstitial fibrosis significantly aggravated ( $p<0.01$ ); In comparison with UUO group, MDA content inALA group significantly decreased, GSH and SOD content significantly increased, renal interstitial fibrosis significantly alleviated ( $p<0.05$ ) . Conclusions ALA can suppress renal interstitial fibrosis byrestraining renal tissues oxidative stress.

中图分类号: R256.12 文献标识码: A 文章编号: 1009-5187 (2018) 06-015-02

肾间质纤维化的特征是炎性细胞浸润、纤维组织增生、细胞外基质的过度沉积、肾小血管毁损、肾小管萎缩及肾小球硬化, UUO 是研究肾间质纤维化的经典模型。氧化应激指机体在遭受各种有害刺激时,体内高活性分子产生过多,氧化程度超出氧化物的清除,氧化系统和抗氧化系统失衡,从而导致组织损伤。氧化应激紊乱促进肾细胞凋亡、老化,钝化肾细胞再生能力,加速肾间质纤维化,大

多数研究表明对慢性肾脏病患者抗氧化治疗可抑制氧化应激而改善肾功能[1]。在 UUO 模型中,各种氧化应激的标志物明显升高,而机体抗氧化的标志物明显减少[2],因此,氧化应激是 UUO 肾间质纤维化的重要病理生理机制之一。a 硫辛酸是一种天然的二巯基化合物,功能上可作为线粒体生物能学酶的重要辅助因子,已被证实具有强大的抗氧化能力[3],基于以上理论,本课题探讨 a 硫辛酸对 UUO 大鼠肾氧化应激及肾间质纤维化的影响。

## 1.材料与方法

衡阳市科技局课题(2016KS43)

通讯作者:万青松,1972,6,男,湖北麻城,副教授,硕士,主要从事肾纤维化研究,Email: wanqs40@sina.com

### 1.1 实验动物及分组

SD 大鼠(南华大学动物实验中心提供)27 只,雌性,体重 220±30g,随机分为 3 组:假手术组、模型组及 a 硫辛酸组,每组大鼠为 9 只。

### 1.2 主要试剂及药物

a 硫辛酸(ALA)购于美国 sigma 公司,实验时将 a 硫辛酸溶于生理盐水配成浓度为 1200mg/L,丙二醛(MDA)、还原性谷胱甘肽(GSH)和超氧化物歧化酶(SOD)购于南京建成生物工程研究所。

### 1.3 UUO 模型建立

在无菌条件下将 27 只大鼠腹腔注射氯胺酮(40mg/kg),背部背区开腹后结扎左侧肾下极输尿管,缝合腹腔,即制备 UUO 模型,假手术组不结扎输尿管,其余操作同上。术前 48 小时及术后每日 a 硫辛酸组予(每天 ALA 30mg/kg)2.5ml 腹腔注射,假手术组及模型组予

2.5ml 生理盐水腹腔注射,术后第 7 天,每组处死 9 只大鼠取左侧肾脏。

### 1.4 肾组织病理检查

肾组织纵切,一部分用于测 MDA、GSH 和 SOD,另一部分 10%中性甲醛固定,经梯度酒精脱水、石蜡包埋,组织切片 4μm,作 HE 染色。在不知实验分组的情况下观察病理切片,每张切片选择左上、右上、左下、右下及中间 5 个不同视野,依据肾间质损伤指数分值评分【4】。每一样本在 200 倍光镜下取 10 个不重叠的区域,拍照,用 IPP 软件计算纤维化面积与肾间质总面积的比值,以各指标的均值作为判断肾间质纤维化积分的数值【5】。

### 1.5 MDA、GSH 及 SOD 测定

肾组织在预冷的磷酸盐缓冲液中匀浆,匀浆予离心机离心 10min,收集上清液,比色法分别测定肾组织 MDA、GSH 及 SOD 含量,按试剂盒说明书操作。

### 1.7 统计学方法

采用 SPSS15.0 统计软件,实验数据以( $\bar{x}\pm s$ )表示,用方差分析 F 检验, $p<0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

2.1 大鼠肾脏组织病理改变 HE 染色结果:模型组病理片表现肾小管上皮萎缩,间质水肿,炎性细胞浸润,管腔扩张,上皮细胞管型,间质纤维化。a 硫辛酸组也有以上表现,但表现较模型组明显减轻( $p<0.05$ )。假手术组以上病理改变轻,与模型组比较差别明显( $p<0.01$ )。(表 1)。

表 1 各组大鼠肾小管间质损伤指标及间质纤维化积分 ( $\bar{x}\pm s$  n=9)

组别	肾小管间质损伤指数	间质纤维化积分
假手术组	1.06±0.29	3.10±0.86
模型组	9.62±2.18▲	31.49±2.73▲
a 硫辛酸组	5.75±4.15▲▼	21.17±2.19▲▼

(下转第 18 页)



## ·论 著·

定论,发病机制可能与吸烟、职业影响、恶劣环境、大气污染以及辐射影响等有密切关系,男性患者发病率与死亡率均较高,女性发病率与死亡率较男性低,大量研究资料显示,烟龄时间长以及吸烟年龄小的人群患病率较正常人高[2]。肺癌有病情传播、转移速度快的特点,主要临床症状表现为咳嗽、咯血、胸部疼痛、胸闷以及胸腔积液等,严重将引起患者多处器官病变,对患者正常生活以及身心健康影响明显,因此应对肺癌患者采取有效治疗措施的同时,对患者采取有效护理措施也十分有必要[3]。

随着人们生活水平以及思想意识的不断改变,常规护理主要围绕疾病进行护理的这种模式已不被大多数患者及其家属接受,护理人员应从患者本身出发,针对其具体情况制定全程护理措施,对缓解其不良心理情绪、改善生活质量有重要作用。本研究通过对肺癌化疗患者

进行入院宣教、心理干预、饮食护理、疼痛护理等全程护理,生活质量改善明显,在化疗过程中无明显不良反应出现,能将治疗效果进行显著提高[4]。

综上所述,全程护理干预对肺癌化疗患者生活质量的改善效果好,值得临床广泛应用。

## 参考文献:

- [1]许微微.全程护理在提高肿瘤化疗患者生命质量中的应用价值[J].中国药物经济学,2017,12(10):98-100.
- [2]孟凡静.全程营养管理对肺癌放疗患者康复及并发症的影响[J].护理实践与研究,2017,14(17):86-88.
- [3]张京慧,李雪兵,贺连香等.肺癌合并上腔静脉梗阻患者股静脉留置PICC导管的研究[J].中华护理杂志,2015,50(6):692-696.
- [4]韩萍,杨媛,李小荣等.肺癌化疗患者护理干预相关问题探讨(附58例报告)[J].中国保健营养(中旬刊),2014,24(1):296-297.

(上接第15页)

▲ $p < 0.01$ , 与假手术组比较; ▼ $p < 0.05$ , 与模型组比较。

2.2 各组大鼠肾组织MDA、GSH及SOD含量的比较,在本实验中,模型组MDA较假手术组明显升高,a硫辛酸组MDA较假手术组也明显升高,但较模型组明显降低( $p < 0.01$ ),模型组GSH、SOD较假手术组明显降低( $p < 0.05$ ),a硫辛酸组GSH、SOD较假手术组明显降低( $p < 0.05$ ),而较模型组明显升高( $p < 0.05$ )。结果见表2。

表2 各组大鼠肾组织MDA、GSH及SOD含量( $\bar{x} \pm s$  n=9)

组别	MDA (nmol/mgprot)	GSH(mg/gprot)	SOD (U/mgprot)
假手术组	2.81±0.56	8.33±1.18	144.57±15.63
模型组	7.85±1.17★	4.69±0.79★	80.69±10.45★
a硫辛酸组	5.34±1.03★■	6.41±0.86★	108.89±11.74★■

★ $p < 0.01$ , 与假手术组比较; ■ $p < 0.05$ , 与模型组比较。

## 3 讨论

在UUO模型中,各种氧化应激的标志物明显升高,如DNA氧化破坏的标志物8-羟脱氧鸟苷(8-OHdG)、脂质过氧化的标志物丙二醛(MDA)、氧化应激反应分子热休克蛋白-70(HSP-70),等等;而机体抗氧化的物质明显降低,如还原性谷胱甘肽(GSH)、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)和超氧化物歧化酶(SOD),因此,氧化应激是UUO肾纤维化的重要病理生理机制之一。

a硫辛酸被认为是全能的抗氧化物质,它具有清除自由基、螯合金属、再生内源性抗氧化物质及调节信号转导途径的特性[6]。在所有抗氧化物质中,它是唯一在氧化状态或还原状态以及在脂溶性或水溶性环境下都可以发挥抗氧化作用的还原剂[6]。Orawan等研究证明a硫辛酸可抑制TGF $\beta$ 1而改善UUO大鼠肾组织损害[7],刘倩等研究证明a硫辛酸可通过对肾脏线粒体内氧化应激的治疗作用使糖尿病肾

病大鼠肾纤维化减轻、蛋白尿减少,王国贤等研究认为a硫辛酸通过抑制肾组织TGF $\beta$ 1、CTGF的表达而发挥其抗纤维化的作用。

本实验a硫辛酸降低肾组织MDA含量且升高GSH及SOD含量,证实a硫辛酸具有拮抗UUO大鼠氧化应激的作用。模型组病理片表现肾小管上皮萎缩,间质水肿,炎性细胞浸润,管腔扩张,上皮细胞管型,间质纤维化,证明本实验UUO模型制作成功,结合肾小管间质损伤指数及间质纤维化积分的比较,证明a硫辛酸组能够明显抑制UUO大鼠肾间质纤维化。综上所述,我们的研究显示,a硫辛酸能通过改善UUO大鼠氧化应激反应而抑制肾间质纤维化。

## 参考文献:

- [1] Small DM, Coombes JS, Bennett N, et al. Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease[J]. Nephrology, 2014, 17(4):311-321.
- [2] Dendooven A, Ishola DA Jr, Nguyen TQ, et al. Oxidative stress in obstructive nephropathy[J]. Int J Exp Pathol, 2013 92(3): 202-210.
- [3] Singh U, Jialal I. Alpha-lipoic acid supplementation and diabetes[J]. Nutr Rev, 2008, 66(11): 646-657.
- [4] 汪海洋,陈宇诗,金大春,等.木犀草素对单侧输尿管梗阻模型大鼠肾脏的抗炎及抗纤维化作用[J].重庆医学,2016,45(2):167-170.
- [5] 袁静,杨霞.厄贝沙坦对单侧输尿管梗阻大鼠肾组织缺氧诱导因子1 $\alpha$ 和结缔组织生长因子表达的影响[J].中华肾脏病杂志,2013,19(3):5-8.
- [6] Gorąca A, Huk-Kolega H, Piechota A, et al. Lipoic acid - biological activity and therapeutic potential - a review[J]. Pharmacol Rep, 2011,63(4):849-858.
- [7] Wongmekiat O, Leejarungrayub D, Thamprasert K. Alpha-Lipoic Acid Attenuates Renal Injury in Rats with Obstructive Nephropathy[J]. Biomed Res Int, 2013, 2013(9):13879.