

## • 实验研究 Experimental research •

## 血管介入法构建兔对比剂急性肾损伤模型的氧化应激和病理学改变

王征宇, 相建峰, 彭志清, 陈 亮, 李万斌, 王永利

**【摘要】 目的** 采用血管介入方法构建对比剂急性肾损伤(CI-AKI)动物模型,观察其肾功能、氧化应激和病理学变化。**方法** 新西兰大白兔随机分为4组:12 h CI-AKI组( $n=3$ )、24 h CI-AKI组( $n=3$ )、48 h CI-AKI组( $n=3$ )和对照组( $n=3$ )。所有实验兔均在DSA下接受经颈动脉血管内介入术。各CI-AKI组经腹主动脉内导管注入对比剂碘海醇构建兔CI-AKI模型,对照组经导管注入等量0.9%氯化钠注射液。分别于术前1 h、术后1 h、2 h、12 h、24 h(24 h、48 h CI-AKI组和对照组)和48 h(48 h CI-AKI组和对照组)检测肾功能和氧化应激反应。实验兔分别于术后12 h、24 h、48 h安乐死后检测肾组织匀浆氧化应激反应,并观察肾组织皮质和髓质病理学变化。**结果** 各CI-AKI组兔术后12 h时血清肌酐(sCr)升高均 $>25\%$ ,血清尿素氮(BUN)显著升高;血清丙二醛(MDA)术后一过性下降,随后显著升高;血清髓过氧化物酶(MPO)术后显著升高,细胞总抗氧化能力(TAC)、过氧化氢酶(CAT)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)显著降低;肾组织匀浆MDA和MPO较对照组高,TAC、CAT、T-SOD均低于对照组;肾脏病理学检查显示肾小管上皮细胞出现不同程度的空泡样改变、颗粒变性、肾小管刷状缘节段性脱落和消失、线粒体肿胀和灶性空泡化及自噬体形成;病理学变化与sCr、BUN、MDA、MPO、TAC、CAT和T-SOD变化显著相关。对照组兔sCr、BUN及血清、肾组织匀浆MDA、MPO、TAC、CAT和T-SOD均无明显变化,病理学检查显示仅有个别肾小管上皮细胞发生空泡样改变和颗粒变性,部分线粒体肿胀、灶性空泡化。**结论** 血管介入法可构建CI-AKI兔模型,其可产生氧化应激和肾损伤病理改变。氧化应激和肾脏病变与肾功能损害直接相关。

**【关键词】** 对比剂急性肾损伤;动物模型;血管内介入术;肾功能;氧化应激;病理学检查

中图分类号:R692.9 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2021)-04-0368-06

**Oxidative stress and pathological changes of contrast-induced acute kidney injury established by endovascular intervention in experimental rabbit models** WANG Zhengyu, XIANG Jianfeng, PENG Zhiqing, CHEN Liang, LI Wanbin, WANG Yongli. Department of Interventional Radiology, Affiliated Sixth People's Hospital South Branch, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201499, China

Corresponding author: WANG Yongli, E-mail: yongliwang2008@163.com

**【Abstract】 Objective** To establish an animal model of contrast-induced acute kidney injury(CI-AKI) by using endovascular intervention, and to observe the changes in renal function, oxidative stress and pathological manifestations. **Methods** Twelve New Zealand white rabbits were randomly divided into four groups: 12-hour CI-AKI group( $n=3$ ), 24-hour CI-AKI group( $n=3$ ), 48-hour CI-AKI group( $n=3$ ) and control group( $n=3$ ). DSA-guided endovascular interventional procedure via carotid artery was carried out for each experimental rabbit of all groups. Injection of the contrast medium of iohexol through a catheter placed in the abdominal aorta was performed for the rabbits of the three CI-AKI groups to establish the CI-AKI models, while for the rabbits of control group the same amount of 0.9% sodium chloride was injected. The renal function and oxidative stress biomarkers were tested at one hour before intervention, as well as at one hour, 2 hours, 12 hours and 24 hours(only for 24-hour CI-AKI group, 48-hour CI-AKI group and control group) and 48 hours after intervention(only for 48-hour CI-AKI group and control group). The experimental rabbits were separately

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2021.04.012

基金项目:上海市奉贤区科委科学技术发展基金(奉科20131302)、上海市奉贤区脑卒中临床诊疗中心建设项目(沪奉卫计-2017-118)

作者单位:201499 上海交通大学附属第六人民医院南院介入科

通信作者:王永利 E-mail: yongliwang2008@163.com



sacrificed at 12 hours, 24 hours and 48 hours. The oxidative stress reactions of renal tissue homogenate were checked, and the pathological changes in renal cortex and medulla were examined. **Results** In all three CI-AKI groups the postoperative 12-hour serum creatinine(sCr) levels were increased by more than 25%, the blood urea nitrogen(BUN) was remarkably increased; the postoperative serum malondialdehyde(MDA) showed a transient falling with subsequent striking up-rising; the postoperative serum myeloperoxidase(MPO) was significantly increased, while the total antioxidant capacity(TAC) of cells, catalase(CAT) and total superoxide dismutase(T-SOD) were prominently decreased; the levels of MDA and MPO in renal tissue homogenates were higher than those in the control group, while the levels of all TAC, CAT and T-SOD were lower than those in the control group. Pathologically, in the CI-AKI groups different degrees of vacuole-like changes, granular degeneration, segmental shedding and disappearance of the brush borders of renal tubules, swollen and focal mitochondrial vacuolization, and autophagosome formation were observed in renal tubular epithelial cells. These pathological changes were closely correlated with the changes of sCr, BUN, MDA, MPO, TAC, CAT and T-SOD levels. In the control group, there were no obvious changes in sCr, BUN, MDA, MPO, TAC, CAT and T-SOD levels, and pathological examination showed that only a few tubular epithelial cells developed vacuole-like changes and granular degeneration, and some mitochondria were swollen and focally vacuolated. **Conclusion** Animal models of CI-AKI can be prepared by using endovascular intervention method, as it can produce oxidative stress and pathological changes of renal injury. The oxidative stress reactions and renal pathological changes are directly related to the impaired renal function. (J Intervent Radiol, 2021, 30: 368-373)

**【Key words】** contrast-induced acute kidney injury; animal model; endovascular intervention; renal function; oxidative stress; pathological examination

随着介入诊疗技术发展,碘对比剂更多地应用于血管内诊治,从而导致对比剂急性肾损伤(contrast-induced acute kidney injury, CI-AKI)发生。目前认为 CI-AKI 发病机制主要与肾血管收缩引起的肾缺血、肾小管直接毒性和肾小管细胞氧化应激反应等因素有关<sup>[1-2]</sup>,但现有研究仍不能完全明确其发病机制和病理变化。本研究通过血管介入技术构建兔 CI-AKI 模型,旨在观察评估其肾功能改变、氧化应激反应、肾组织病理变化及其相关性,为临床防治 CI-AKI 提供实验证据支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验器械和试剂

4F 导管鞘(日本 Terumo 公司),碘海醇(300mg I/mL, 美国 GE 公司),血清肌酐(sCr)和血清尿素氮(BUN)测试试剂盒(Olympus Diagnostica 爱尔兰公司),丙二醛(MDA)、髓过氧化物酶(MPO)、细胞总抗氧化能力(TAC)、过氧化氢酶(CAT)及总超氧化物歧化酶(T-SOD)测试试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

### 1.2 实验动物

12 只健康、清洁、雄性新西兰大白兔,2~3 个月龄,体重约 2 500 g(由上海奉贤辉煌养殖场购入),予 1 周适应性分笼饲养,每笼 1 只,提供足量饮水、标准兔食。饲养环境良好,室温 20~25℃,相

对湿度为 45%~65%。本实验经医院伦理委员会批准,符合动物伦理要求。

### 1.3 兔 CI-AKI 模型构建

将实验兔随机分为 4 组:12 h CI-AKI 组( $n=3$ )、24 h CI-AKI 组( $n=3$ )、48 h CI-AKI 组( $n=3$ )和对照组( $n=3$ ),均在 AXIOM Artis dTA DSA 系统(德国 Siemens 公司)下进行血管内介入手术造模。经兔耳缘静脉注射 1.5%戊巴比妥钠(1 mL/kg,初次剂量 5 mL,随后根据情况追加剂量)麻醉后,将兔置于导管床,钝性分离左颈总动脉,采用改良 Seldinger 技术逆行穿刺左颈总动脉成功后,经导丝引入 4 F 导管鞘中扩张管作为血管内导管,头端位于腹主动脉上段,注入 1~2 mL 碘海醇确认双肾动脉和肾实质显影,将导管固定;各 CI-AKI 组经导管持续注入碘海醇,剂量为 14 g/kg,总量约 120 mL,对照组注入等量 0.9%氯化钠注射液,灌注时间均为 30 min;灌注完毕拔除导管并结扎此颈总动脉,局部缝合包扎,常规喂养。

### 1.4 血液学和组织学标本获取

分别于术前 1 h,术后 1 h、2 h、12 h、24 h(24 h、48 h CI-AKI 组和对照组)和 48 h(48 h CI-AKI 组和对照组)经兔耳静脉抽血 10 mL,用于肾功能和氧化应激反应检测。分别于术后 12 h(12 h CI-AKI 组)、24 h(24 h CI-AKI 组)、48 h(48 h CI-AKI 组和对照



组),5%戊巴比妥钠经兔耳缘静脉注射(5 mL/只)致安乐死,立即称重并取下双肾,左肾用于病理学检查,右肾分离皮、髓质后用于肾组织匀浆检测。

### 1.5 实验室检查和组织病理学检查

根据试剂盒说明进行 sCr 和 BUN 检测,同时检测血液和肾皮质、髓质匀浆中 MDA、MPO、TAC、CAT、T-SOD。

将各组兔肾脏标本制成光镜病理切片,分别采用苏木精-伊红(HE)、高碘酸-无色品红(PAS)、过碘酸六胺银(PASM)和 Masson 染色法染色后进行光镜病理学检查。取 48 h CI-AKI 组 2 只和对照组 1 只兔肾脏标本,制作电镜病理切片,采用钨铅双染色后进行观察。光镜下对肾损伤病理变化程度进行分级:0 级,无损伤;1 级,轻度损伤(<25%);2 级,中度损伤(25%~<50%);3 级,严重损伤(50%~75%);4 级:非常严重损伤(>75%)<sup>[3]</sup>。资料采集和分析均由 2 名有经验的专业病理医师通过盲法进行。

### 1.6 统计学方法

采用 SPSS 24.0 软件对所有数据进行统计学分析。均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )描述正态分布的定量资料,单因素方差分析比较各时间点组间各标记物差异,组间差异有统计学意义的用 LSD-*t* 检验行两两比较,独立样本 *t* 检验比较两组间定量资料分布差异,配对样本 *t* 检验比较各组术后各时间点各标记物与

术前的差异,Pearson 相关分析比较各标记物间相关性,Spearman 相关分析比较病理损伤与各标记物间相关性,Kruskal-Wallis H 检验比较组间肾组织病理损伤程度差异,组间差异有统计学意义的用 Mann-Whitney U 检验进行两两比较。本研究所有检验均为双侧检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 实验动物一般情况

术后兔在笼中自然苏醒,无死亡,活动自如,各 CI-AKI 组兔精神萎靡,饮水和进食较术前减少 1/4~1/2,对照组兔精神状态无明显变化,饮水和进食与术前基本一致。术前各 CI-AKI 组与对照组体重差异无统计学意义( $t = -0.366, P = 0.722$ ),术后各 CI-AKI 组体重较术前减轻,显著低于对照组( $t = -2.457, P = 0.034$ ),其中 48 h CI-AKI 组术后体重较术前减轻,差异有统计学意义( $t = 5.500, P = 0.032$ )。

### 2.2 手术前后肾功能变化

术前各 CI-AKI 组 sCr 和 BUN 与对照组比较,差异无统计学意义( $t = 0.512, P = 0.620$ )。各 CI-AKI 组术后 1 h 时 sCr 均显著升高且高于对照组( $P < 0.05$ ),12 h 时升高均 > 25%(表 1);BUN 高于对照组( $P < 0.05$ ),其中 12 h CI-AKI 组、48 h CI-AKI 组术后 BUN 均高于术前 12 h CI-AKI 组。

表 1 手术前后 sCr 变化

组别	术前	术后 1 h	术后 2 h	术后 12 h	术后 24 h	术后 48 h
12 h CI-AKI 组( $n=3$ )	80.00±5.57	105.67±14.01*	116.33±19.66*	148.33±14.98*	—	—
24 h CI-AKI 组( $n=3$ )	85.33±3.51	93.33±5.86*	104.00±7.21*	121.00±10.15*	137.00±11.14*	—
48 h CI-AKI 组( $n=3$ )	89.00±5.20	98.67±5.03*	111.33±10.69	122.33±12.42*	135.33±17.62*	162.00±5.00*
CI-AKI 组整体	84.78±5.74*	99.22±9.63*	110.56±12.92*	130.56±17.28*	136.17±13.21*	162.00±5.00*
对照组( $n=3$ )	83.00±2.00	83.00±3.00	85.33±2.52	80.33±2.52	82.33±2.08	82.00±2.65
<i>t</i> 值	0.512	2.792	5.548	4.862	6.784	24.495
<i>P</i> 值	0.620	0.019	<0.001	0.001	<0.001	<0.001

\*与术前比较, $P < 0.05$

### 2.3 手术前后血清和肾组织氧化应激反应标记物变化

各 CI-AKI 组血清 MDA 术后 1 h 较术前有所降低,术后 2 h 后开始升高;血清 MPO 术后 1 h 即开始明显升高;血清 TAC、CAT、T-SOD 术后 1 h 即开始下降。24 h CI-AKI 组、48 h CI-AKI 组术后血清 MDA,各 CI-AKI 组术后 MPO 均高于术前及对照组( $P < 0.05$ );12 h CI-AKI 组术后血清 TAC,各 CI-AKI 组术后血清 CAT、T-SOD 均低于术前( $P < 0.05$ ),其中 CAT 低于对照组( $P < 0.05$ )。对照组术后各标记物与术前差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。各 CI-AKI 组肾皮质和髓质匀浆 MDA、MPO 均较对照组增高,TAC、

CAT、T-SOD 均下降,其中 24 h CI-AKI 组、48 h CI-AKI 组 MPO 均高于对照组( $P < 0.05$ ),各 CI-AKI 组肾髓质匀浆各标记物与对照组差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。表 2~5。

### 2.4 sCr、BUN 与氧化应激反应标记物变化相关性

sCr 与 BUN,血清 MDA、MPO,肾皮质 MPO,肾髓质 MDA、MPO 呈正相关,与肾髓质 T-SOD 呈负相关;BUN 与血清 MDA、MPO 呈正相关,与血清 T-SOD 呈负相关。

### 2.5 术后肾组织病理改变

肾组织病理学检查结果显示,各 CI-AKI 组有



表 2 手术前后血清 MDA 变化

nmol/mL,  $\bar{x} \pm s$ 

组别	术前	术后 1 h	术后 2 h	术后 12 h	术后 24 h	术后 48 h
12 h CI-AKI 组 ( $n=3$ )	2.24±0.07	1.93±0.23	3.39±1.17	5.14±1.32	—	—
24 h CI-AKI 组 ( $n=3$ )	3.56±0.81	2.97±0.29	4.12±0.97	5.11±1.33*	5.50±0.84*	—
48 h CI-AKI 组 ( $n=3$ )	3.10±0.95	2.88±1.18	3.60±1.44	4.63±0.65*	5.32±1.02	5.45±0.65*
CI-AKI 组整体	2.97±0.85	2.59±0.79	3.70±1.10	4.96±1.02	5.41±0.84	5.45±0.65
对照组 ( $n=3$ )	2.75±0.92	2.85±0.77	2.75±0.35	2.45±1.13	2.45±0.90	3.25±0.57
$t$ 值	0.385	-0.494	2.291	3.601	4.876	4.393
$P$ 值	0.708	0.632	0.045	0.005	0.002	0.012

\* 与术前比较,  $P<0.05$ 

表 3 手术前后血清 MPO 变化

U/L,  $\bar{x} \pm s$ 

组别	术前	术后 1 h	术后 2 h	术后 12 h	术后 24 h	术后 48 h
12 h CI-AKI 组 ( $n=3$ )	38.94±3.79	46.20±1.32*	52.05±6.65	66.10±13.22	—	—
24 h CI-AKI 组 ( $n=3$ )	29.28±5.49	40.64±4.09	44.82±3.33	63.25±8.60*	66.21±3.00*	—
48 h CI-AKI 组 ( $n=3$ )	39.25±5.94	49.82±17.63	49.58±19.16	63.59±9.29*	65.13±6.44*	79.05±2.30*
CI-AKI 组整体	35.82±6.64	45.55±9.92	48.82±10.76	64.31±9.25	65.67±4.53	79.05±2.30
对照组 ( $n=3$ )	43.66±8.31	32.13±11.16	41.96±20.16	45.23±8.57	48.45±10.83	49.16±5.20
$t$ 值	-1.680	1.978	0.779	3.139	3.509	9.098
$P$ 值	0.124	0.076	0.454	0.011	0.010	0.001

\* 与术前比较,  $P<0.05$ 

表 4 手术前后血清 CAT 变化

U/mL,  $\bar{x} \pm s$ 

组别	术前	术后 1 h	术后 2 h	术后 12 h	术后 24 h	术后 48 h
12 h CI-AKI 组 ( $n=3$ )	10.81±1.01	6.90±2.94	5.61±2.64*	3.49±0.64*	—	—
24 h CI-AKI 组 ( $n=3$ )	4.74±2.17	2.74±2.04*	2.55±2.08*	0.79±0.42	0.54±0.09	—
48 h CI-AKI 组 ( $n=3$ )	11.16±3.13	9.50±2.90*	8.03±2.10*	6.65±0.96	4.29±0.71	3.42±1.06
CI-AKI 组整体	8.90±3.69	6.38±3.74	5.40±3.09	3.64±2.61	2.42±2.10	3.42±1.06
对照组 ( $n=3$ )	4.34±1.24	6.39±2.63	8.68±2.88	8.16±0.84	6.56±2.13	5.28±0.24
$t$ 值	2.044	-0.004	-1.615	-2.863	-2.774	-2.962
$P$ 值	0.068	0.997	0.137	0.017	0.028	0.087

\* 与术前比较,  $P<0.05$ 

表 5 手术前后血清 T-SOD 变化

U/mL,  $\bar{x} \pm s$ 

组别	术前	术后 1 h	术后 2 h	术后 12 h	术后 24 h	术后 48 h
12 h CI-AKI 组 ( $n=3$ )	457.02±21.84	401.89±16.90*	322.83±85.38	257.33±62.80*	—	—
24 h CI-AKI 组 ( $n=3$ )	533.60±36.09	501.45±36.90*	460.78±15.37*	444.79±37.97	413.33±14.69	—
48 h CI-AKI 组 ( $n=3$ )	510.87±42.85	485.86±52.76*	469.55±50.67*	462.90±53.45*	430.80±80.62	417.50±71.10*
CI-AKI 组整体	500.50±45.43	463.07±57.08	417.72±87.19	388.34±108.52	422.07±52.70	417.50±71.10
对照组 ( $n=3$ )	477.57±8.80	468.94±27.82	489.43±29.33	471.96±40.94	463.54±16.11	501.28±37.45
$t$ 值	1.435	-0.168	-1.360	-1.270	-1.293	-1.806
$P$ 值	0.184	0.870	0.204	0.233	0.237	0.145

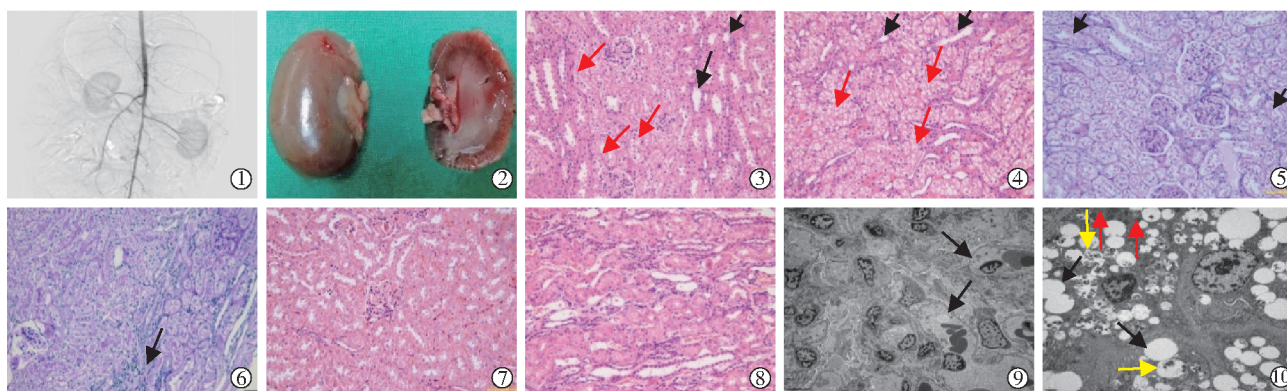
\* 与术前比较,  $P<0.05$ 

严重的皮质、髓质近端肾小管损伤、较轻的皮质远端肾小管损伤及轻度的肾小球损伤;对照组仅有轻度病理学改变,见图 1。皮质、髓质近端肾小管损伤,各组间差异有统计学意义( $\chi^2=9.680, P=0.021$ ;  $\chi^2=10.866, P=0.012$ ),各 CI-AKI 组损伤均高于对照组( $P<0.05$ )。皮质近端肾小管损伤与 sCr,血清 MDA、MPO,皮质 MPO,髓质 MDA、MPO 呈正相关,与血清 CAT、髓质 T-SOD 呈负相关。髓质近端肾小管损伤与 sCr,血清 MDA、MPO,皮质 MPO,髓质 MDA 呈正相关,与血清、髓质 T-SOD 呈负相关。

### 3 讨论

目前文献报道的 CI-AKI 动物实验多来自大鼠模型,但在啮齿类动物中,兔肾脏形态学表现与人体更接近<sup>[3]</sup>。据文献报道,单次注射含碘对比剂 5 g/kg 即可在兔体内诱导 CI-AKI 发生,而在大鼠和小鼠体内却不会引起明显肾损伤<sup>[4-5]</sup>,因此兔更适合构建 CI-AKI 模型<sup>[6]</sup>。既往研究中基本采用外周静脉注射方式,多联合应用脱水或肾毒性药物共同诱导 CI-AKI 发生<sup>[7]</sup>,但不一定能真实反映经导管血管内治疗中 CI-AKI 发生情况及病理生理变化。因此,本





①兔腹主动脉置管后双肾动脉和肾实质显影;②CI-AKI 模型构建后肾脏标本;▲CI-AKI 组光镜病理表现(200 倍);③24 h CI-AKI 组 HE 染色见皮质近端肾小管上皮细胞弥漫性大小不等的空泡形成和颗粒变性,肾小管上皮细胞脱落(红箭头),皮质远端肾小管散在较小空泡形成,少量颗粒变性(黑箭头);④24 h CI-AKI 组 HE 染色见髓质近端肾小管上皮细胞多发大小不等的空泡形成和颗粒变性(红箭头),远端肾小管正常(黑箭头);⑤24 h CI-AKI 组 PAS 染色皮质肾小管刷状缘脱落、消失(箭头);⑥48 h CI-AKI 组 PAS 染色见肾间质散在炎症细胞浸润(箭头);⑦对照组 HE 染色见皮质肾小管局灶颗粒变性和个别空泡变性;⑧HE 染色髓质无明显异常表现;▲CI-AKI 组电镜病理表现;⑨肾小球系膜细胞和基质节段性轻度增生,足突节段性融合(箭头);⑩近端肾小管上皮细胞肿胀,重度空泡变性(黄箭头),见大量自噬体形成(黑箭头),线粒体肿胀、空泡化(红箭头)

图 1 兔 CI-AKI 模型构建后肾组织病理改变

研究采用血管内介入技术制作兔 CI-AKI 模型,经颈动脉入路操作较为简便,且对比剂可随血流方向进入双侧肾动脉,更容易造模成功。由于目前尚无动物 CI-AKI 诊断标准,本研究参考了临床最常用且比较公认的诊断标准:应用对比剂 48~72 h 内 sCr 增加  $44 \mu\text{mol/L}$  或较基础值升高  $>25\%$ ,并排除其他肾功能损害<sup>[8]</sup>。本研究中各 CI-AKI 组实验兔在 12 h 时 sCr 水平平均升高  $>25\%$  并具有统计学意义,且 sCr 和 BUN 变化水平显著高于对照组;肾功能改变结合临床表现证实,模型组兔在对比剂应用后 12 h 均发生 CI-AKI,表明血管介入技术可构建 CI-AKI 动物模型。

MDA、MPO 作为氧化应激反应终产物,过量生成会导致氧化性组织损伤,CAT、T-SOD 作为体内主要抗氧化酶,分解活性氧,避免自由基对人体细胞的氧化损伤,而 TAC 可反映血浆和体内所有抗氧化剂总的作用<sup>[9-10]</sup>。本研究中各 CI-AKI 组血清 MDA 在术后 1 h 有一过性下降,提示氧化应激反应初期兔抗氧化能力较强,可抑制血清 MDA 形成,但随着氧自由基增加,氧化应激系统失代偿,因而在 2 h 开始明显升高。MPO 升高和 CAT、T-SOD、TAC 下降提示抗氧化酶过度消耗,兔总体抗氧化能力降低,结合肾组织匀浆标记物变化,表明氧化应激反应发生,体内活性氧自由基过量产生导致肾损伤<sup>[10-11]</sup>。同时,各 CI-AKI 组 sCr、BUN 升高与氧化应激反应标记物变化显著相关。因此,氧化应激反应发生和加重与肾功能损害一致,即在血管介入诊疗中,强烈的氧

化应激反应导致 CI-AKI 发生。

药物性肾损伤包括急性肾小管坏死和急性间质性肾炎,病理上主要表现为近端肾小管损伤和肾间质淋巴细胞、单核细胞、浆细胞等炎症细胞浸润。本研究中兔 CI-AKI 模型病理表现为皮质和髓质近端肾小管损伤、皮质远端肾小管程度较轻损伤、肾间质炎症细胞浸润及线粒体破坏,符合药物性急性肾损伤表现。电镜下可看到肾小球有一定程度损伤,但与 CI-AKI 是否直接相关尚不能确定。肾间质无明显纤维化提示,对比剂导致的肾损伤为急性病理改变。因此,实验兔经动脉注入对比剂后造成了比较严重的急性肾损伤,其病理变化与 sCr、氧化应激反应标记物显著相关。目前认为,近端肾小管比远端肾小管更容易发生缺血和毒性物质损伤的主要原因,在于其产生无氧糖酵解三磷酸腺苷能力较低,缺乏抗氧化剂和抗凋亡蛋白并对线粒体毒性更加敏感<sup>[12-14]</sup>。肾小管细胞接触对比剂后受到外来毒性刺激并发生缺血、缺氧,线粒体发生肿胀、分裂和线粒体吞噬,以减少对肾小管的损害<sup>[15]</sup>,线粒体功能受损并产生更多活性氧自由基,导致凋亡<sup>[16-17]</sup>。因此,本研究在电镜下观察到近端肾小管明显的线粒体损伤表现,并可观察到用于清除损伤线粒体的自噬体增多。

本研究不足之处乃样本量较小,且应用了较高剂量对比剂,因而达到 100%造模成功,这是预实验中所用剂量 12 g/kg 时 sCr 升高未达到 25%以上的缘故。进一步实验中会扩大样本量,并尽量减少对



比剂用量,以更接近临床实际情况观察动物模型肾损伤发生。

总之,采用血管介入法经动脉插管注入对比剂可成功构建 CI-AKI 兔模型,其存在明显的肾功能减退、氧化应激反应和肾损伤病理改变。氧化应激反应和肾脏病变与碘对比剂所致肾功能损害直接相关。

#### [参 考 文 献]

- [1] Iordache AM, Docea AO, Buga AM, et al. Sildenafil and tadalafil reduce the risk of contrast-induced nephropathy by modulating the oxidant/antioxidant balance in a murine model [J]. Food Chem Toxicol, 2020, 135: 111038.
- [2] 赵凯凯,司友娇,黄九宁,等. 肝癌患者 TACE 术后对比剂肾病的危险因素[J]. 介入放射学杂志, 2019, 28:942-946.
- [3] Tsamouri MM, Rapti M, Kouka P, et al. Histopathological evaluation and redox assessment in blood and kidney tissues in a rabbit contrast-induced nephrotoxicity model[J]. Food Chem Toxicol, 2017, 108: 186-193.
- [4] Lauver DA, Carey EG, Bergin IL, et al. Sildenafil citrate for prophylaxis of nephropathy in an animal model of contrast-induced acute kidney injury[J]. PLoS One, 2014, 9: e113598.
- [5] Pettersson G, Towart R, Grant D, et al. The rabbit renal toxicity test: a sensitive in vivo test for the nephrotoxicity of contrast agents[J]. Acad Radiol, 2002, 9(Suppl 1): S62-S64.
- [6] Kiss N, Hamar P. Histopathological evaluation of contrast-induced acute kidney injury rodent models[J]. Biomed Res Int, 2016, 2016: 3763250.
- [7] Liu K, Zhou LY, Li DY, et al. A novel rat model of contrast-induced nephropathy based on dehydration[J]. J Pharmacol Sci, 2019, 141: 49-55.
- [8] 中华医学会放射学分会对比剂安全使用工作组. 碘对比剂使用指南[J]. 中华医学杂志, 2014, 94:3363-3369.
- [9] He L, He T, Farrar S, et al. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive Oxygen species[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 44: 532-553.
- [10] Lushchak VI. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification[J]. Chem Biol Interact, 2014, 224: 164-175.
- [11] Pisani A, Riccio E, Andreucci M, et al. Role of reactive oxygen species in pathogenesis of radiocontrast-induced nephropathy[J]. Biomed Res Int, 2013, 2013: 868321.
- [12] Tiong HY, Huang P, Xiong S, et al. Drug-induced nephrotoxicity: clinical impact and preclinical in vitro models[J]. Mol Pharm, 2014, 11: 1933-1948.
- [13] Gobe GC, Johnson DW. Distal tubular epithelial cells of the kidney: potential support for proximal tubular cell survival after renal injury [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2007, 39: 1551-1561.
- [14] Kiyama S, Yoshioka T, Burr IM, et al. Strategic locus for the activation of the superoxide dismutase gene in the nephron [J]. Kidney Int, 1995, 47: 536-546.
- [15] Tran M, Parikh SM. Mitochondrial biogenesis in the acutely injured kidney[J]. Nephron Clin Pract, 2014, 127: 42-45.
- [16] Di Meo S, Reed TT, Venditti P, et al. Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions [J]. Oxid Med Cell Longev, 2016, 2016: 1245049.
- [17] Lei R, Zhao F, Tang CY, et al. Mitophagy plays a protective role in iodinated contrast-induced acute renal tubular epithelial cells injury[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 46: 975-985.

(收稿日期:2020-03-02)

(本文编辑:边 伟)