

造模周期对单侧输尿管结扎大鼠模型的影响及其代谢物质基础研究

任肖鹏^{1,2}, 洪美琪^{1,2}, 吴若岚², 肖雪¹, 王小莹^{1,3*}, 李莎莎^{2*}

1. 广东药科大学 广东省代谢病中西医结合研究中心(中医药研究所), 广东 广州 510006

2. 广州中医药大学 第二临床医学院, 广东 广州 510120

3. 天津中医药大学 中药学院, 天津 301617

摘要: **目的** 探究不同造模周期对单侧输尿管结扎(UUO)诱导大鼠肾纤维化模型表型的影响及可能的代谢物质基础。**方法** 54只SD雄性大鼠随机分为9组,除对照组外,其余各组均采用UUO的方法诱导大鼠肾纤维化模型,各模型组分别于7、14、21、28、35、42、49、56d取材。检测大鼠24h尿量,尿蛋白及血清肌酐、尿素氮、白蛋白、总蛋白、三酰甘油、总胆固醇水平,测定肾比重(术侧与对侧肾脏质量比)及肾脏、心脏、脾脏、膀胱组织脏器系数,苏木素-伊红(HE)染色和马松(Masson)染色检测术侧肾脏病理变化。采用液相色谱串联质谱技术(LC-MS/MS)对血清代谢物进行非靶向检测分析,结合模式识别技术筛选血清差异代谢物,初步揭示UUO模型的代谢物质基础。为进一步评价差异代谢物用于肾纤维化疾病诊断和疗效监测的可行性,采用马来酸依那普利治疗UUO大鼠28d(术后第2天开始给药),检测血清中差异代谢物相对含量。**结果** UUO术后1周,大鼠24h尿量、尿蛋白含量、肾比重、血肌酐和尿素氮等生化指标含量显著上升,病理检测可见肾小球萎缩、早期硬化,皮质区可见少量炎症细胞浸润,血清代谢指纹谱与对照组相比明显偏移,血清中内源性代谢物硫酸吡哆酚、2-氨基马尿酸、黄嘌呤核苷的含量急剧上升。术后2周,机体代偿功能发挥作用,心脏、脾脏及右肾脏器指数明显上升,尿蛋白、血肌酐、白蛋白、三酰甘油及差异代谢物含量较第1周有所下降,血清中正相代谢物二十二碳六烯酸(DHA)含量上升。术后3~4周,大鼠尿液、血生化指标以及溶血磷脂酰乙醇胺(20:4)、黄嘌呤核苷等血清代谢物呈波动性变化,病理可见肾脏组织充血、结缔组织增生等病变,血清代谢指纹谱相对稳定,形成局灶型肾脏纤维化模型。术后5~8周,除肾脏组织病理持续恶化外,血清代谢指纹谱及各项血液、尿液指标处于相对稳定状态。术后5~6周时2-氨基马尿酸、马尿酸、2-苯乙酰胺、DHA、硫酸吡哆酚等代谢物含量存在波动。术后7~8周代谢物含量呈现稳定状态,形成弥散型肾脏纤维化模型。体内验证实验显示,与模型组相比,马来酸依那普利组大鼠血清中硫酸吡哆酚、黄嘌呤核苷、马尿酸、2-氨基马尿酸、2-苯乙酰胺等差异代谢物含量呈现显著回调($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001)。**结论** UUO造模4周可形成局灶型肾脏纤维化模型,造模8周可形成稳定的弥散型肾脏纤维化模型。硫酸吡哆酚、黄嘌呤核苷、马尿酸、2-氨基马尿酸、2-苯乙酰胺、DHA等内源性血清代谢物是评价UUO致肾脏纤维化疾病进程的灵敏度高的潜在指标。

关键词: 单侧输尿管结扎模型; 肾脏纤维化; 血清代谢物; 造模周期; 硫酸吡哆酚; 黄嘌呤核苷; 马尿酸; 2-氨基马尿酸; 2-苯乙酰胺

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)09-2420-13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.09.004

Effect of modeling cycle on unilateral ureteral ligation rats and its basic metabolites

REN Xiaopeng^{1,2}, HONG Meiqi^{1,2}, WU Ruolan², XIAO Xue¹, WANG Xiaoying^{1,3}, LI Shasha²

1. Guangdong Metabolic Disease Research Center of Integrated Chinese and Western Medicine (Institute of Traditional Chinese Medicine), Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. The Second Clinical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China

3. School of Chinese Pharmacy, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

收稿日期: 2025-04-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82304849); 广东省自然科学基金资助项目(2021A151110784); 广州市基础研究的计划市校(院)联合资助项目(202201020329)。

作者简介: 任肖鹏(2000—), 硕士研究生, 研究方向为中药学。E-mail: renxiaopeng1010@163.com

*通信作者: 王小莹, 博士, 教授, 主要从事中药复方药理学研究。E-mail: wxy@tjutcm.edu.cn

李莎莎, 博士, 助理研究员, 主要从事中医药系统生物学研究。E-mail: liss326818@gzucm.edu.cn

Abstract: Objective To systematically evaluate the impact of modeling duration on the progression of renal fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction (UUO) in rats, utilizing pathophysiological indices and serum metabolite analysis. **Methods** A total of 54 male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly assigned to nine groups. With the exception of the control group, all other groups underwent unilateral ureteral ligation. Each experimental group was assessed at 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 d post-induction. The 24 h urine volume of rats was detected. The urine protein, serum creatinine, urea nitrogen, albumin, total protein, triglyceride and total cholesterol levels were detected by the kit method. The renal specific gravity (the mass ratio of the surgical side to the contralateral kidney) and the organ coefficients of the kidney, heart, spleen and bladder tissues were also detected. Hematoxylin-eosin (HE) staining and Masson staining were used to detect the pathological changes of the operated kidney. Differential serum metabolites were identified using high-resolution liquid chromatography-mass spectrometry in conjunction with pattern recognition techniques. More, UUO rats were treated with ACEI drugs (enalapril maleate) for 28 d, and the relative contents of differential metabolites in serum were detected to evaluate the feasibility of differential metabolites in the diagnosis and curative effect monitoring of renal fibrosis diseases. **Results** One week following the UUO procedure, significant increases were observed in the 24 h urine volume, urinary protein concentration, renal specific gravity, serum creatinine, and blood urea nitrogen levels in the rats. Histological examination via HE staining revealed glomerular atrophy and presclerosis, and a few inflammatory cell infiltration in cortex. In comparison to the control group, the serum metabolic profile exhibited significant deviations, characterized by a marked increase in the levels of endogenous metabolites such as indoxyl sulfate, 2-aminohippuric acid, and xanthosine. Two weeks post-surgery, compensatory physiological mechanisms appeared to be activated, as evidenced by notable increases in the organ indices of the heart, spleen, and right kidney. Concurrently, there was a significant reduction in the levels of urinary protein, serum creatinine, albumin, triglycerides, and other differential metabolites when compared to the first week, alongside an increase in the serum concentration of DHA. Between three to four weeks following the operation, fluctuations were observed in biochemical markers and serum metabolites, such as lysoPE (20:4) and xanthosine. Additionally, pathological assessments revealed renal congestion and hyperplasia of connective tissue, while the serum metabolic profile stabilized. Focal renal fibrosis model was established in this point. By the fifth to eighth week post-operation, despite a continued deterioration in renal histopathology, both the serum metabolic profile and various hematological and urinary parameters remained relatively stable. By the fifth to eighth week post-operation, despite a persistent decline in renal histopathology, both the serum metabolic profile and various hematological and urinary parameters exhibited relative stability. Metabolites, including 2-aminohippuric acid, hippuric acid, 2-phenylacetamide, DHA and indoxyl sulfate, demonstrated fluctuations during the fifth to sixth week period post-operation. And the metabolite levels stabilized by the seventh to eighth week period. Model of diffuse renal fibrosis was established in this point. *In vivo* verification experiments demonstrated that the serum levels of indoxyl sulfate, xanthosine, hippuric acid, 2-aminohippuric acid, and 2-phenylacetamide in renal fibrosis rats were significantly decreased, showing statistically significant differences compared with the model group ($P < 0.05$, 0.01 , and 0.001). **Conclusion** UUO induces a focal renal fibrosis model within four weeks and a stable diffuse renal fibrosis model by eight weeks. Endogenous serum metabolites, such as indoxyl sulfate, xanthosine, hippuric acid, 2-aminohippuric acid, 2-phenylacetamide and DHA, are potential indicators with heightened sensitivity to evaluate the progression of renal fibrosis induced by UUO.

Key words: unilateral ureteral obstruction model; renal fibrosis; serum metabolites; model period; indoxyl sulfate; xanthosine; hippuric acid; 2-aminohippuric acid; 2-phenylacetamide

肾脏纤维化是肾脏受到创伤、感染、炎症等多种致病因素刺激后，脏器愈合过程的病理延伸，是公认的慢性肾脏疾病的核心病理改变^[1-3]。肾脏纤维化是各种类型的慢性肾脏疾病向终末期肾衰竭转化的关键，决定肾脏疾病的发展和预后，是肾脏疾病研究领域的热点^[4]。

肾脏纤维化疾病进程主要涵盖 3 个阶段，即炎症反应期、纤维化形成前期以及瘢痕形成期。在炎症反应期及纤维化形成前期，尽管肾脏受损细胞的功能有所减弱，但仍能行使部分原有功能，且在此

阶段通过恰当的治疗，可促使受损细胞向正常细胞转化，是纤维化形成与进展的可逆时期。因此对这一阶段的及时治疗对于患者的康复以及疾病的逆转具有至关重要的意义。而进入瘢痕形成期后，有效功能肾单位数量逐渐减少乃至消失，肾功能呈进行性衰竭态势，此时对于已经形成瘢痕的肾脏组织进行修复极为困难。此阶段的药物治疗主要以阻止肾脏纤维化进程为目标^[5-7]。因此，结合疾病进程开展药效学研究对于准确阐释药物疗效、深入挖掘药物作用机制具有重要的指导意义。

目前肾脏纤维化模型建立方法主要有手术[单侧输尿管结扎(UUO)、肾脏缺血-再灌注等]和药物诱导(环孢素 A、氨基糖苷类抗生素、肾毒性药物等)2 大类^[8], 其中, UUO 模型应用最为广泛, 该模型具有成模率高、对动物损伤小、死亡率低、制作方法可靠、稳定性高、制备周期短、实验重现性好等优点, 且与临床实际情况相符, 是研究肾脏纤维化发病规律及机制的理想动物模型^[9]。然而, 现有文献报道中, UUO 诱导纤维化的时间跨度从 1 周到 8 周不等, 差异较大^[10-14]。因此, 系统评价 UUO 诱导肾脏纤维化的造模进程, 不仅为肾脏纤维化相关研究提供基础模型数据, 还可有效指导药物的给药节点及周期, 是精准评价药物疗效的基础保障。

本研究通过建立 UUO 大鼠模型, 观测不同造模时长下大鼠的尿液指标、脏器系数、血生化指标以及病理组织切片, 深入探讨肾脏纤维化疾病发展过程中的病理生理变化, 从而为治疗药物的干预节点、给药周期等参数的选择提供参考。同时, 运用高分辨质谱技术构建大鼠血样代谢指纹谱, 借助模式识别技术表征 UUO 肾脏纤维化发生发展过程中的内源性差异代谢物, 为肾脏纤维化的病程评价提供潜在标志物信息。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级成年雄性 SD 大鼠 54 只, 8 周龄, 体质量(180 ± 20) g, 随机分为 9 组($n=6$): 对照组、模型组(7、14、21、28、35、42、49、56 d); SPF 级成年雄性 SD 大鼠 30 只, 体质量(200 ± 20) g, 随机分为 3 组($n=10$): 对照组、模型组、马来酸依那普利(ELM)组, 模型组和 ELM 组构建 UUO 模型。大鼠由广东省医学实验动物中心提供, 实验动物生产许可证号 SCXK(粤)2012-0002, 饲养于广东省中医院动物实验中心, 实验动物使用许可证号 SYXK(粤)2013-0094, 温度 20~26 °C, 湿度 40%~70%, 本实验经广东省中医院伦理委员会批准(编号 2012028)。

1.2 主要试剂

ELM(广州彼迪药业有限公司, 货号 2012031); Pierce BCA 蛋白定量分析试剂盒(美国 Thermo Scientific 公司); 肌酐、尿素氮生化试剂盒(宁波美康生物科技股份有限公司); HPLC 级乙腈、HPLC 级甲酸(美国默克公司); AB Sciex 5600 Triple TOF 校正液(美国 AB Science 公司); 0.9%氯化钠溶液

(青岛华仁药业股份有限公司); 4%多聚甲醛组织通用型固定液(广州永津生物科技有限公司)。

1.3 主要仪器

Epoch 超微量微孔板分光光度计(美国 BioTek 公司); Trilogy 超微量全自动血生化仪(英国 Drew 公司); BX53 正置显微成像系统(日本 OLYMPUS 公司); AB Sciex 5600 Triple TOF 液质联用仪(美国 AB Science 公司); Acquity BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)(美国 Waters 公司); Velocity 14R 高速冷冻离心机(澳大利亚 Dynamic 公司); MS2 型旋涡混匀器(德国 IKA 集团)。

2 方法

2.1 造模^[9]

大鼠背部左肋下备皮, 常规消毒, 沿腋后线从左肋下向尾部方向剪开皮肤, 钝性分离皮下组织及肌层, 暴露左肾, 沿肾蒂向肾下极方向寻找输尿管, 在输尿管上段进行双线结扎, 在两结扎点之间剪断输尿管, 逐层缝合皮下组织及皮肤。

2.2 给药及取材

对照组于造模前取材。首批造模 54 只大鼠分别于造模后 7、14、21、28、35、42、49、56 d, 10%水合氯醛 ip 麻醉($0.3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$), 腹主动脉取血, 置于促凝采血管中, $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 室温离心 5 min, 上清转移至 1.5 mL 离心管中, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存, 用于检测大鼠肌酐、尿素氮等生化指标。取双侧肾脏及心脏、脾脏、膀胱组织称质量。术侧肾脏组织横贯面切开, 一半液氮速冻后置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存, 另一半 0.9%氯化钠溶液清洗后置于 4%多聚甲醛溶液中固定。心脏、脾脏、膀胱液氮速冻后置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存。

第 2 批大鼠按体质量随机分为对照组、模型组、ELM 组, 其中 ELM 组在术后第 2 天按 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量 ig 给予 ELM, 对照组和模型组 ig 给予 10 mL·kg⁻¹ 蒸馏水, 连续给药 28 d。给药结束后, 腹主动脉取血, 置于促凝采血管中, $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 室温离心 5 min, 上清转移至 1.5 mL 离心管中, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存, 用于差异血清代谢物的检测。

2.3 检测指标

大鼠每次取材前 1 d 置于代谢笼内, 留取 24 h 尿液, 记录 24 h 尿量。尿液 $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 室温离心 10 min, 取上清按照 Pierce BCA 蛋白定量分析试剂盒说明书测定尿蛋白含量。

血清室温复融, 根据试剂盒说明书测定肌酐

(碱性苦味酸法)、尿素氮(酶偶联速率法)、白蛋白(溴甲酚绿法)、总蛋白(双缩脲法)、总胆固醇(酶法, CHOD-PAP)、三酰甘油(酶法)。

计算肾比重及肾脏、心脏、脾脏、膀胱组织脏器系数, 肾比重为术侧肾脏(左肾, 含内部积水)与对侧肾脏(右肾)的质量比值; 脏器系数是脏器质量与体质量的比值。

固定的术侧肾脏组织依次进行脱水、石蜡包埋后, 切片并进行苏木素-伊红(HE)染色和马松(Masson)染色, 光学显微镜下观察组织病理变化并使用 Image J 软件进行图像采集分析, 观察肾小球萎缩硬化、肾间质纤维化、炎症细胞浸润、蛋白管型、小管扩张、小管细胞空泡变性等现象。

2.4 血清代谢物检测

2.4.1 样本制备 冻存血清室温复融, 取 300 μL 血清加入 900 μL 乙腈, 2 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 涡旋 2 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 15 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 转移上清液至液相进样瓶中, 进样 2 μL 。

2.4.2 液相条件 Acquity BEH C_{18} 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm , Waters, MA, 美国), 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$, 体积流量 0.4 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 0.1%甲酸水溶液(A相)-乙腈(B相)梯度洗脱: 0~2 min, 98%A; 2~4 min, 98%~75%A; 4~10 min, 75%~50%A; 10~12 min, 50%~35%A; 12~22 min, 35%~15%A; 22~28 min, 15%~2%A。

2.4.3 质谱条件 质谱在负离子模式下 ESI 源进行检测, 采用高分辨、动态背景扣除模式, 分别设定 1 级(TOF MS)和 2 级(Product Ion)检测参数。

TOF MS 参数: 扫描时间 0.08 s; 采集时间 30 min; 采集范围 m/z 100~2 000; 雾化气体体积流量 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 脱溶剂气体体积流量 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 气帘气体体积流量 35 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 脱溶剂气温度 500 $^{\circ}\text{C}$; 离子喷雾电压-4 500 V; 去簇电压-80 V; 碰撞能-10 V; 动态背景扣除模式; 质谱漂移范围 0.05。

Product Ion 参数: 扫描时间 0.1 s; 采集时间 30 min; 采集范围 50~1 000; 雾化气体体积流量 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 脱溶剂气体体积流量 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 气帘气体体积流量 35 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 脱溶剂气温度 500 $^{\circ}\text{C}$; 离子喷雾电压-4 500 V; 去簇电压-80 V; 碰撞能-35 V; 碰撞能分散度 15 V; 离子释放延迟 67; 离子束宽度 25; 动态背景扣除模式; 质谱漂移范围 0.05。

2.4.4 数据处理 质谱数据采用 MarkerView 软件

进行分析, 数据采集范围为 0.1~28.0 min, 最小峰强度设定为基峰强度的 10%, 最小峰宽 5×10^{-5} 。同一保留时间同时检测 6 个质谱峰, 保留时间的偏差为 0.05 min, m/z 偏差为 5×10^{-5} 。经 MarkerView 4.1 软件(Waters, MA, 美国)预处理的数据导入 SIMCA-P13.0 软件, 进行主成分分析(PCA)和偏最小二乘判别分析(PLS-DA)。

2.5 统计分析

采用 SPSS 18.0 统计分析软件处理, 实验结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示。两两比较采用成组 t 检验分析; 多组资料比较, 方差齐性时采用最小显著差异法(LSD)分析, 方差不齐时采用非参数多重比较法(Games-Howell)分析。

3 结果

3.1 体质量及尿液指标检测

UUO 造模后, 大鼠出现精神萎靡、体毛蓬松、进食减少、体质量增长缓慢等症状。1 周之后, 大鼠精神状态有所好转, 松毛得到改善, 体质量稳定增长。大鼠 24 h 尿量及尿蛋白含量检测结果显示(表 1), 术后 1 周大鼠 24 h 尿量明显减少, 尿蛋白含量明显上升, 与对照组相比具有显著差异($P<0.01$), 肾比重呈上升趋势。随着造模时间的延长, 24 h 尿量未出现明显变化, 但尿蛋白含量呈波动式上升, 造模 6 周后进入相对稳定期(6.6~7.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)。术后 2~8 周, 大鼠肾比重维持在 4.8 左右, 呈现相对稳定状态。

造模 3~4 周时, 大鼠尿蛋白含量与对照组相比呈现一定的上升趋势, 但并无统计学差异。结合文献报道^[15], 推测该现象与大鼠机体的代偿功能相关。在肾脏受损初期, 机体启动代偿机制, 对侧非梗阻性肾脏补偿了梗阻肾脏的功能损失, 维持尿蛋白含量。随着时间的推移, 肾脏损伤持续加重, 尿蛋白含量逐渐上升, 5 周后与对照组相比具有显著差异($P<0.01$)。

3.2 脏器系数

本实验对 UUO 大鼠的心脏、脾脏、膀胱以及非术侧肾脏的质量进行测定, 观察 UUO 对大鼠循环系统、免疫系统以及泌尿系统脏器的影响。结果(图 1)显示, 随着造模时间的延长, 大鼠心脏、脾脏、膀胱和非术侧肾脏的脏器系数均呈现波动性增长。输尿管结扎后, 尿液排泄受阻, 肾脏内压力升高, 引发肾小球滤过率下降、肾小管功能受损等病理变化^[9]。同时, 梗阻部位的炎症细胞浸润及炎症因子

表 1 大鼠体重、尿液及肾比重检测结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 1 Results of weight, urine volume, and kidney gravity in rats ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	体质量/g	24 h 尿量/mL	24 h 尿蛋白含量/(mg·mL ⁻¹)	肾比重
对照	186.08±15.80	16.40±2.07	3.08±2.07	1.077 0±0.034 4
造模1周	192.33±12.50	11.07±1.11**	4.49±2.41**	2.183 4±0.215 1
造模2周	215.95±36.00	10.83±0.66**	4.22±2.26*	4.847 4±0.381 4**
造模3周	235.67±21.66	11.14±1.26**	3.33±2.07	4.917 0±0.858 8**
造模4周	255.00±25.67	10.79±1.40**	3.47±2.31	4.699 8±1.076 4**
造模5周	261.00±12.73	10.82±1.11**	5.37±2.64**	4.735 8±0.370 7**
造模6周	285.50±39.58	11.00±1.44**	6.61±1.29**	4.756 2±0.712 8**
造模7周	309.33±40.50	10.37±1.02**	6.74±2.03**	4.859 3±0.163 8**
造模8周	325.06±38.55	10.11±1.05**	7.03±2.37**	4.806 1±0.669 4**

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$.

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group.

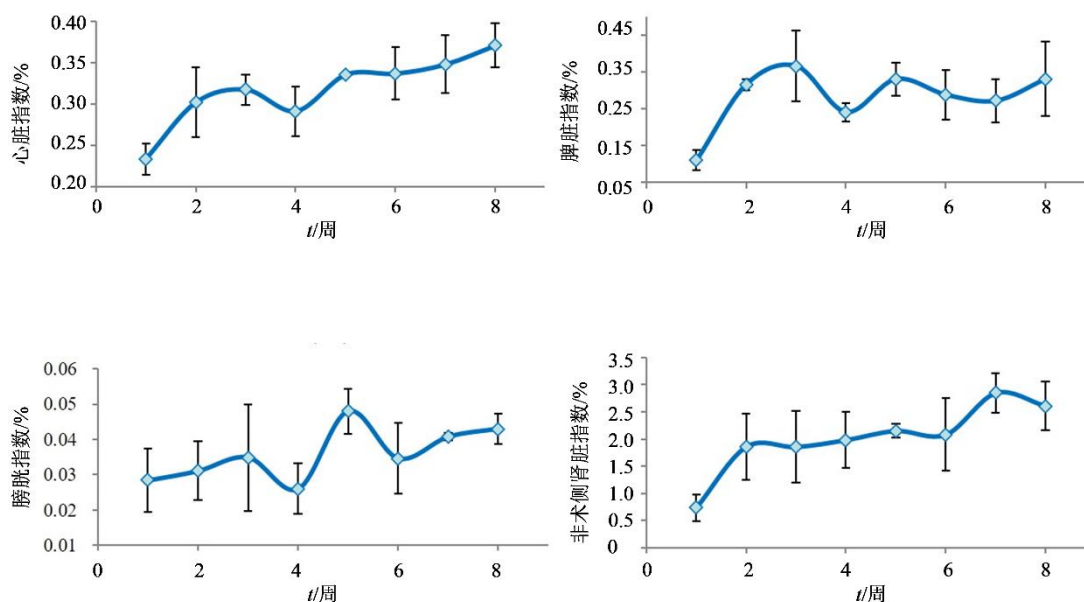


图 1 大鼠脏器系数变化曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Fig. 1 Variation curve of organ coefficient in rats ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

的释放,导致肾脏损伤进一步加重,并影响机体免疫系统。脾脏作为免疫系统的重要器官,在机体应对损伤和炎症反应时,发生形态和功能的改变。此外,输尿管梗阻造成肾血流量减少,可导致全身血压调节异常,进而影响心脏等循环系统脏器的功能。在造模初期,机体对 UUO 的反应较为强烈,代偿机制迅速启动,导致脏器系数快速增长。随着时间的推移,代偿达到一定限度,同时损伤的持续积累可能使机体的代偿能力逐渐下降,变化幅度有所降低。

3.3 血生化指标

结果(表 2)显示,与对照组比较,模型大鼠血肌酐含量显著上升($P<0.05$ 、 0.01),尤其是术后

第 1 周表现最为明显,而第 2 周血肌酐含量与对照组无统计学差异,推测与应激性刺激和机体代偿有关。随着肾功能损伤加重,大鼠血肌酐含量从造模第 3 周开始逐渐增加,造模 4 周时达到稳定的高含量状态。大鼠血浆中尿素氮、白蛋白、总蛋白、三酰甘油和总胆固醇的含量呈波动性升高,与对照组相比具有显著差异($P<0.05$ 、 0.01)。

3.4 病理组织切片

造模后引发肾积水,肾实质被挤压于高压的肾盂和坚韧的肾包膜之间,造成梗阻肾脏体积增大。将梗阻侧肾脏沿横贯面剖开后,可见内部红黑色肾积水,肾盂肾盏变形扩张,肾皮质变薄。

表 2 大鼠血液生化指标检测结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)
Table 2 Results of blood biochemical indexes in rats ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	肌酐/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	尿素氮/ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	白蛋白/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	总蛋白/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	三酰甘油/ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	总胆固醇/ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)
对照	32.67±2.89	15.35±0.90	21.50±1.94	45.50±2.98	1.17±0.12	1.01±0.05
造模 1 周	52.95±2.84**	18.01±1.38**	24.23±2.78*	49.67±2.89*	1.53±0.23**	1.30±0.14**
造模 2 周	32.72±3.91	18.90±1.04**	23.87±1.05*	56.00±4.00**	1.38±0.10**	1.78±0.13**
造模 3 周	37.42±6.38*	18.63±1.25**	27.07±0.51**	59.33±4.16**	1.34±0.06*	1.49±0.12**
造模 4 周	48.58±7.92**	18.12±1.09**	31.65±1.40**	64.66±4.95**	1.28±0.13	1.52±0.11**
造模 5 周	47.56±3.86**	19.27±0.80**	31.23±1.17**	69.00±7.21**	1.40±0.15**	1.76±0.15**
造模 6 周	47.86±3.97**	19.90±0.59**	29.90±1.65**	60.67±2.08**	1.31±0.10	1.75±0.04**
造模 7 周	46.18±4.16**	21.31±1.66**	29.93±1.07**	62.67±4.51**	1.53±0.15**	1.83±0.43**
造模 8 周	45.82±4.94**	20.95±1.04**	31.15±0.91**	64.07±4.84**	1.38±0.11*	1.89±0.19**

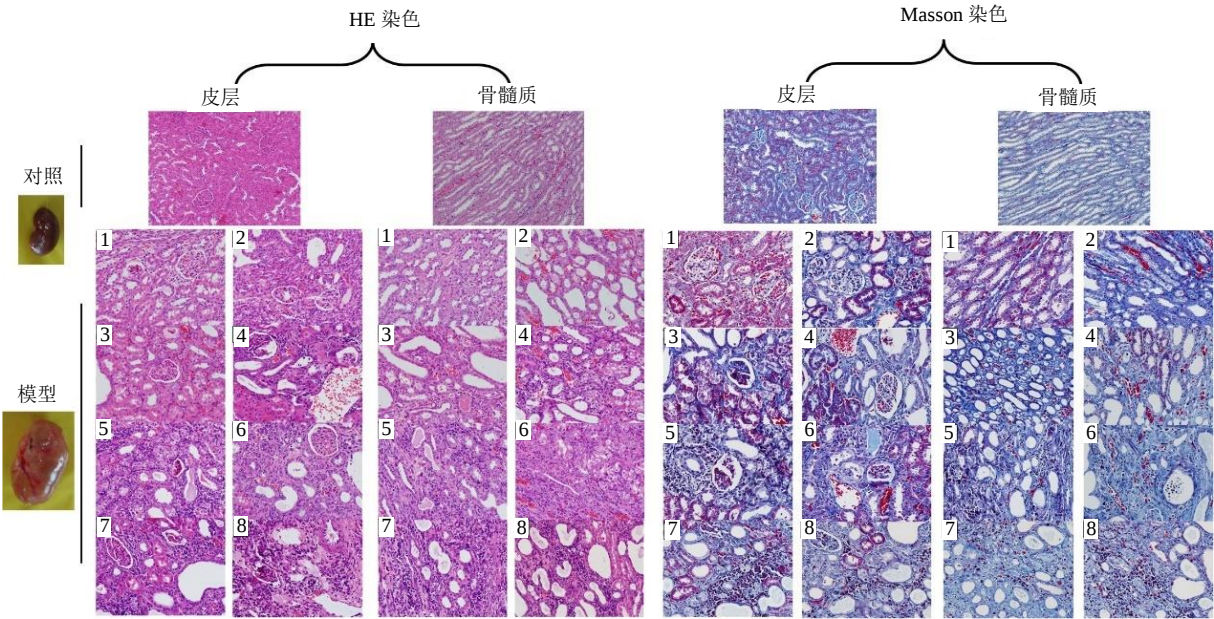
与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ 。
* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group.

将固定的术侧肾脏组织常规石蜡包埋切片, 进行 HE 及 Masson 染色, 如图 2 所示, 梗阻侧肾脏呈透亮红棕色, 肾表面血管为暗红色。结果如表 3 所示, 肾小球在造模 1 周后即出现萎缩及早期硬化现象, 且随着造模时间的延长不断加重。肾皮质部位术后 2 周时可观察到明显的单核细胞炎症浸润, 并由皮质区逐步扩散至骨髓质; 在肾积水的挤压下, 肾小管及髓质细胞结构日益弥散, 呈现退行性病变。造模 3 周后, 肾小管呈现囊性扩张, 间质充血现象明显, 同时可观察到纤维结缔组织

增生。造模 4 周, 可在近曲小管和集合管内分别观察到玻璃样变及蛋白管型, 肾小管间质纤维化现象明显。造模 5~8 周, 纤维化程度随着造模时间的延长逐步由局灶型演变为弥散型, 各项病理变化指标呈现不同程度的恶化。

3.5 血清差异代谢物分析

UPLC/Q-TOF MS 获得血样代谢指纹谱如图 3-A 所示。采用 PCA 对不同组别之间的主成分进行识别 (图 3-B), 结果显示对照组与各模型组之间呈现出良好的聚类分离效果, 说明 UUO 造模可显著



1~8-造模 1~8 周。
1—8-1—8 weeks after model.

图 2 肾脏损伤病理染色结果 ($\times 200$)
Fig. 2 Pathological staining results of kidney ($\times 200$)

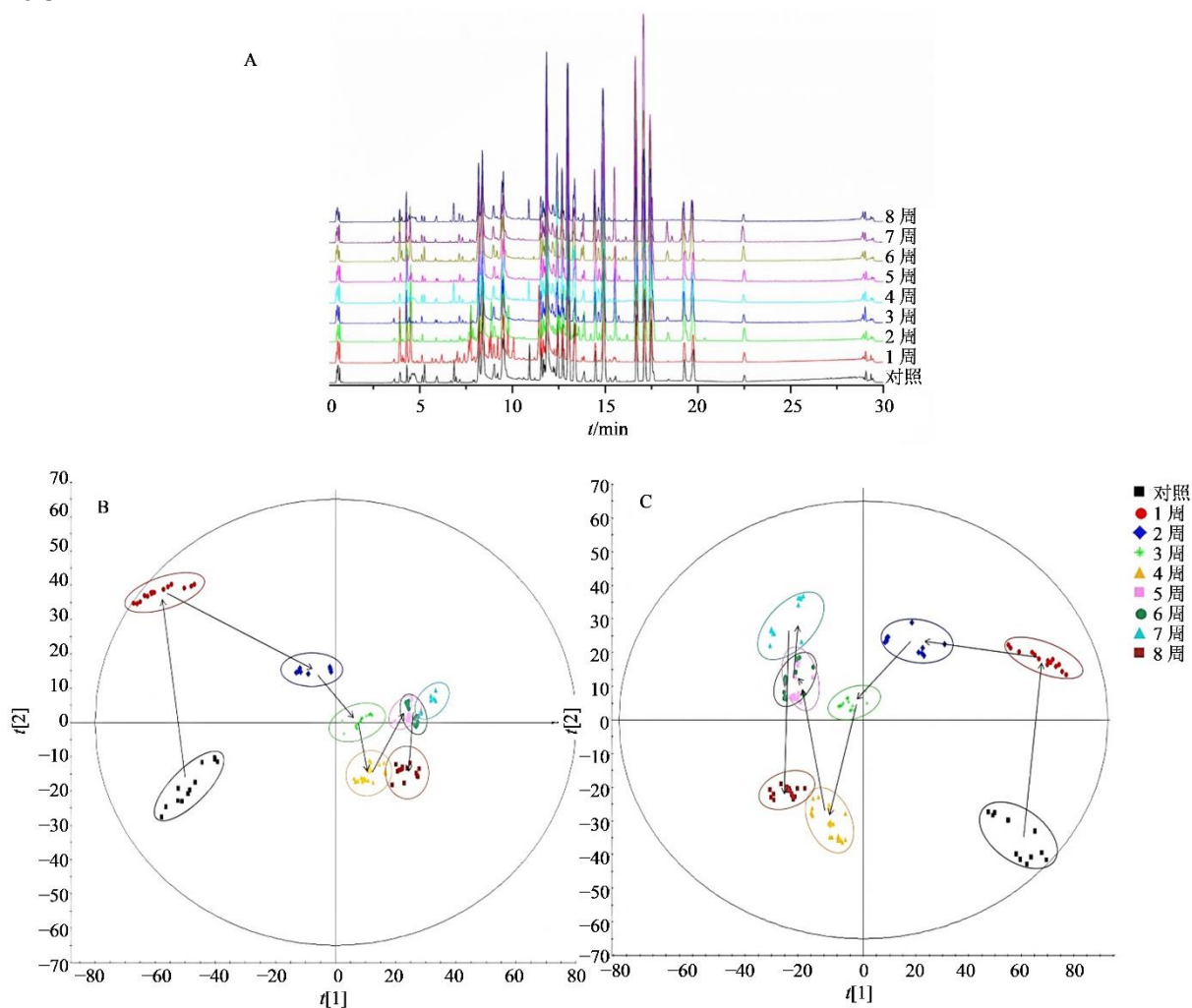
表 3 大鼠肾脏组织病理变化评价

Table 3 Evaluation of pathological changes in rat kidney

组别	肾小球萎缩、硬化	炎症细胞浸润	充血	肾小管囊性扩张	蛋白管型	玻璃样变	肾小管间质纤维化	纤维结缔组织增生
造模 1 周	+	±	+	—	±	—	—	—
造模 2 周	+	+	—	+	±	±	±	±
造模 3 周	+	+	+	+	±	±	±	+
造模 4 周	++	+	+	+	+	+	+	+
造模 5 周	++	++	+	+	+	+	+	++
造模 6 周	+++	++	+	+	++	++	+	++
造模 7 周	+++	++	+	+	++	++	+	++
造模 8 周	+++	+++	+	++	++	++	+	++

每个样本随机选择 10 个不重叠的视野进行分析。—全视野未观察到病变；±-全视野偶见病变，病变范围<2%；+-每视野病变范围<10%；++-每视野病变范围 10%~25%；+++每视野病变范围>25%。

Each sample randomly selects 10 non-overlapping visual fields for analysis. —No lesions were observed in the whole field of vision; ±-Occasional lesions in the whole field of vision, with the lesion range < 2%; +-The lesion range per visual field is < 10%; ++-10%—25% per visual field; +++-lesion range per visual field is > 25%.



A-大鼠血清代谢谱；B-PCA score 图；C-PLS-DA score 图。

A-serum metabolic profiling of rats; B-PCA score; C-PLS-DA score.

图 3 大鼠血清代谢谱及模式识别分析

Fig. 3 Results of serum metabolism in rats

影响大鼠的代谢状态。造模后，不同时间点的大鼠血清代谢指纹谱聚类分离效果良好，并随着造模时间的延长呈现顺序性的变化，充分表明血清代谢指纹谱与纤维化病程之间存在着紧密的相关性。其中，术后 1~2 周的代谢谱迁移最为明显，术后 3 周开始进入相对稳定期，而在 5~7 周时未观察到显著迁移。术后 4 周与 8 周的血清代谢状态较为接近。

随后采用 PLS-DA 对代谢谱差异进行最大限度的分析（图 3-C）。在采用 PLS-DA 法分析时，先对数学模型的完整性进行了评估， Q^2_Y 和 R^2_Y 分别为 0.907 和 0.935，表明该模型具有良好的拟合度和预

测能力。PLS-DA 结果与 PCA 一致。

根据 PLS-DA 中变量投影重要性（VIP）值，结合单因素方差分析方法，筛选 $VIP>1$ 且 $P<0.05$ 的化合物作为主要差异成分。差异成分定性分析采用 PeakView 软件（AB Science）进行分析，根据同位素峰相对比值确定化合物元素组成，利用软件中 Chemspider Service 搜索 HMDB、PubChem、NIST、MassBank、京都基因与基因组百科全书（KEGG）数据库对选定的代谢物进行检索，根据二级质谱离子碎片及化学键断裂规律确定化合物结构。结合定性成分在体内的分布及其来源，最终聚焦分析鉴定 23 种潜在生物标志物，结果见表 4。

表 4 差异代谢物
Table 4 Differential metabolites

编号	R_t/min	m/z	差异化合物英文名称	差异化合物中文名称	类别	VIP	F
1	0.70	283.068 9	xanthosine	黄嘌呤核苷	核苷	1.527	2.425
2	0.70	335.024 5	uric acid	尿酸	氨基酸	1.505	11.487
3	3.64	203.083 7	tryptophan	色氨酸	氨基酸	1.622	2.049
4	3.64	317.060 4	5-carboxy-2'-deoxyuridine	5-羧基-2'-脱氧尿苷	核苷	1.595	1.893
5	3.64	333.040 4	glycerophosphoinositol	甘油磷酸肌醇	磷脂	1.636	1.993
6	3.94	212.003 2	indoxyl sulfate	硫酸吲哚酚	氨基酸代谢物	1.009	7.336
7	4.02	193.050 1	2-aminohippuric acid	2-氨基马尿酸	氨基酸	1.514	1.643
8	4.07	134.060 4	2-phenylacetamide	2-苯乙酰胺	有机酰胺	1.566	0.345
9	4.07	178.049 1	hippuric acid	马尿酸	氨基酸	1.578	1.373
10	11.54	293.174 5	9(10)-EpODE	9(10)-环氧十八碳烯酸	不饱和脂肪酸	1.518	8.362
11	12.41	500.280 1	lysoPE(20:4)	溶血磷脂酰乙醇胺(20:4)	磷脂	1.728	12.259
12	13.64	295.229 9	9,10-epoxyoctadecenoic acid	9,10-环氧十八碳烯酸	不饱和脂肪酸	1.791	8.267
13	14.01	433.236 3	lysoPA(18:2)	溶血磷脂酸(18:2)	磷脂	1.713	3.140
14	14.45	501.229 2	sulfolithocholic acid	磺基石胆酸	胆汁酸	1.699	3.374
15	15.15	293.176 8	17-hydroxylinolenic acid	17-羟基亚麻酸	不饱和脂肪酸	1.646	11.251
16	16.16	357.160 0	2-phenylaminoadenosine	2-苯氨基腺苷	核苷	1.521	7.480
17	16.18	341.183 2	2,3-dinor-6-keto-PGF1 a	2, 3-dinor-6-keto-前列腺素 F1 α	花生四烯酸	1.519	7.966
18	16.68	327.235 4	DHA	二十二碳六烯酸	不饱和脂肪酸	1.000	12.444
19	16.69	367.199 5	20-dihydroxy LTB4	20-二羟基白三烯 B4	花生四烯酸	1.540	2.928
20	16.69	457.189 4	lysoPA(20:4)	溶血磷脂酸(20:4)	磷脂	1.586	8.572
21	16.70	253.220 0	palmitoleic acid	棕榈油酸	不饱和脂肪酸	1.541	1.991
22	16.71	649.432 3	PA(29:1)	磷脂酸(29:1)	磷脂	1.591	2.157
23	20.98	650.445 0	lysoPC(24:1)	溶血磷脂酰胆碱(24:1)	磷脂	1.628	4.315

结果显示，差异代谢物主要为磷脂、花生四烯酸、氨基酸以及不饱和脂肪酸类化合物。各代谢物以对照组为参比，其相对含量的变化曲线如图 4 所示，可见硫酸吲哚酚、2-氨基马尿酸、马尿酸、二十二碳六烯酸（DHA）、黄嘌呤核苷、2-苯乙酰胺以

及溶血磷脂酰乙醇胺（20：4）7 种代谢物的变化最为显著。采用 MetaboAnalyst 对差异代谢物进行通路分析，富集到 5 条代谢通路（图 5），包括甘油磷脂代谢（Glycerophospholipid metabolism）、亚油酸代谢（Linoleic acid metabolism）、嘌呤代谢（Purine

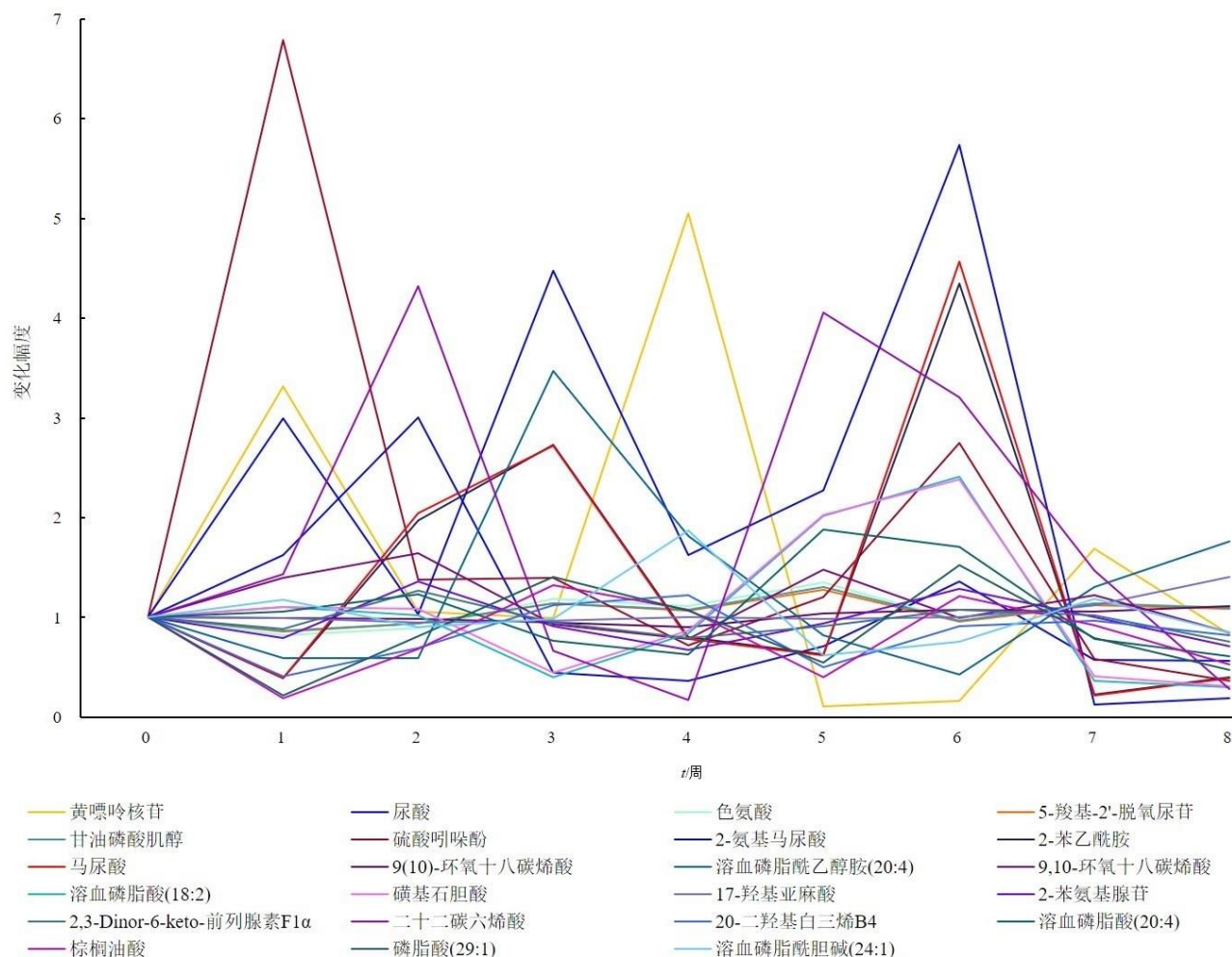


图 4 差异代谢物趋势变化图

Fig. 4 Trend diagram of differential metabolites

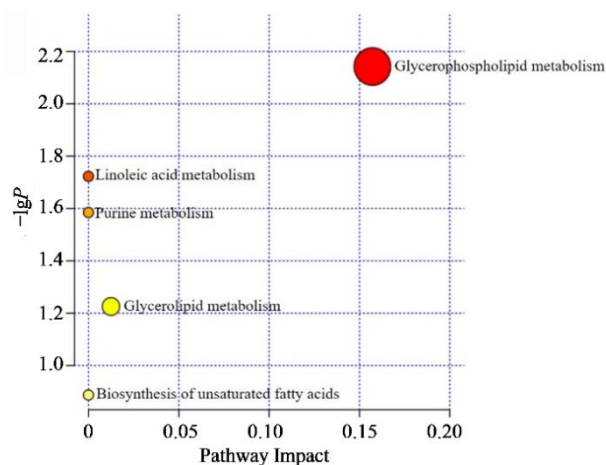


图 5 通路分析

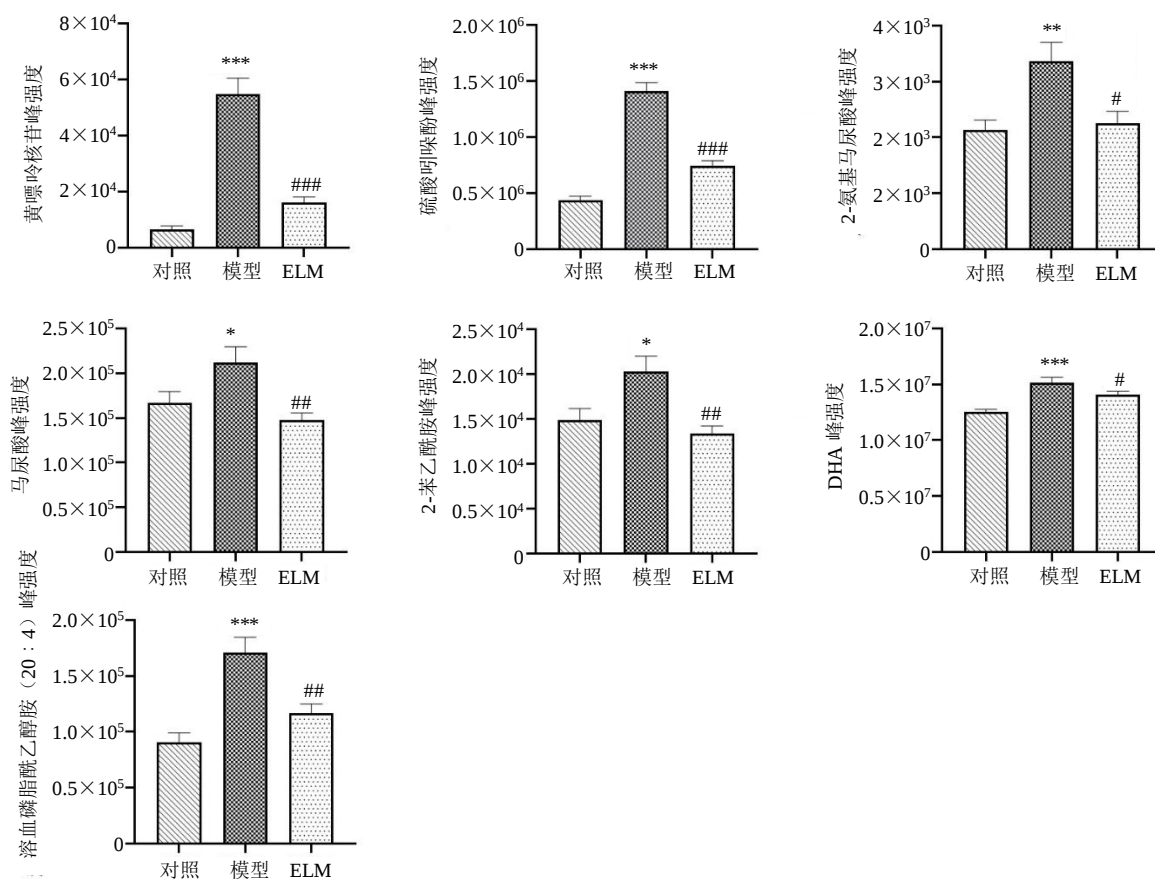
Fig. 5 Pathway analysis

metabolism)、甘油脂代谢 (Glycerolipid metabolism) 及不饱和脂肪酸的生物合成途径 (Biosynthesis of

unsaturated fatty acids)。

3.6 阳性药验证实验

ELM 是血管紧张素转换酶抑制剂 (ACEI) 类药物, 可通过降压、减少尿蛋白、减少 ECM 积聚、降低肾间质纤维化和肾小球硬化等作用延缓肾脏损伤, 是治疗肾纤维化的经典药物。为验证差异代谢物用于肾纤维化疾病诊断和疗效监测的可行性, 本研究采用 ELM 治疗 UUO 大鼠 28 d, 并采用 UPLC-Q/TOF MS 技术检测各组大鼠血清中差异代谢物的相对含量。结果显示 (图 6), 与对照组比较, 模型大鼠血清中黄嘌呤核苷、硫酸吡嗪酚、2-氨基马尿酸、马尿酸、2-苯乙酰胺、DHA 以及溶血磷脂酰乙醇胺 (20:4) 7 种代谢物相对含量显著上升 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001); 与模型组比较, ACEI 干预后, 各差异标志物含量呈下降趋势, 差异显著 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group.

图 6 差异代谢物相对含量

Fig. 6 Relative content of differential metabolites

4 讨论

本实验采用 UUO 的方法诱导肾脏纤维化模型,通过对不同造模周期大鼠病理生理指标及血清代谢物研究,系统评价 UUO 致肾脏纤维化模型的疾病进程。结果显示,术后 1 周为急性应激期,肾小球萎缩并出现早期硬化,皮质区可见少量炎症细胞浸润,尿蛋白、肌酐和尿素氮等指标含量显著上升,大鼠血清代谢指纹谱与对照大鼠相比具有明显偏移,血清中内源性代谢物硫酸吡啶酚、2-氨基马尿酸、黄嘌呤核苷的含量急剧上升。急性应激期内,肾小球病变及肾血流量异常导致肾脏滤过功能下降,肾脏无法及时排泄体内的小分子代谢物,引起血清中硫酸吡啶酚、2-氨基马尿酸、黄嘌呤核苷等代谢产物含量急剧上升。

硫酸吡啶酚属于尿毒症毒素,是由色氨酸肠道代谢产物吡啶在肝脏与硫酸结合而形成的代谢产物^[16]。黄嘌呤核苷属于嘌呤代谢中间体,在体内代

谢后以尿酸的形式排泄。2-氨基马尿酸是由苯甲酸和甘氨酸在肝脏内生成,并几乎全部通过肾小管分泌排出体外,且不被肾小管重吸收,其清除率主要依赖于肾血流量。2-氨基马尿酸异常积聚表明肾血流量显著减少。与病理切片相比,血清代谢物检测可以更有效、更灵敏地指征肾小管功能的微小变化^[17-19]。血清代谢指纹谱与差异代谢物的变化可以明显表征术后应激期肾脏异常的滤过功能和分泌功能^[20]。

术后 2 周,机体代偿功能发挥作用,表现为心脏、脾脏及右肾脏器系数明显上升。对侧非梗阻性肾脏补偿了梗阻肾脏的功能损失^[21],尿蛋白、肌酐、白蛋白及三酰甘油含量较第 1 周有所下降,血清中硫酸吡啶酚、2-氨基马尿酸、黄嘌呤核苷含量降低,DHA 的含量显著上升。据报道,DHA 可以剂量和时间相关性地抑制转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 诱导的 HK-2 细胞纤维化,减轻 5/6 肾切除大鼠尿蛋白以及肾脏中硫酸吡啶酚、活性氧、肿瘤坏死因子

(TNF)- α 水平和组织纤维化程度, 调节磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) /蛋白激酶 B (Akt) 信号通路以维持肾脏细胞的正常增殖和凋亡, 具有肾脏保护作用^[22-24]。脏器系数的上升、肾脏功能指标的下降以及 DHA 含量的上升表明机体可通过内源性调节在一定程度上抵抗肾脏损伤。

术后 3~4 周, 肾脏纤维化模型进入发展中期, 各项生化指标逐渐趋于稳定, 镜下观察到肾脏组织炎性浸润、充血、结缔组织增生等纤维化病变的各项指征, 术侧肾脏呈现明显的局灶型纤维化。该阶段大鼠血清代谢指纹谱的变化趋于平缓, 内源性差异代谢物含量呈波动幅度下降, 其中变化最为明显的差异代谢物为溶血磷脂酰乙醇胺 (20:4)、黄嘌呤核苷和 2-氨基马尿酸。

溶血磷脂酰乙醇胺 (20:4) 属于溶血磷脂酯类成分, 可通过激活蛋白激酶 C (PKC) 信号通路、诱导巨噬细胞分泌炎症因子、抑制 Bcl-2 蛋白促进细胞凋亡等途径, 加速肾脏纤维化的发展^[25-26]。除溶血磷脂酰乙醇胺 (20:4) 外, 血清代谢物中存在显著差异的还有甘油磷酸肌醇、溶血磷脂酸 (18:2)、溶血磷脂酸 (20:4)、磷脂酸 (29:1)、溶血磷脂酰胆碱 (24:1) 等磷脂酯类成分。磷脂作为细胞膜的关键组成部分, 在维持着细胞结构和正常功能、调节细胞内外信号传导方面发挥重要作用^[27]。在急性肾损伤情况下, 细胞膜受损, 磷脂酶被激活, 导致磷脂大量水解产生溶血磷脂。随着肾功能的逐渐减退, 肾脏对溶血磷脂的代谢清除能力下降, 造成溶血磷脂在体内蓄积。蓄积的溶血磷脂不仅会直接损伤肾脏细胞, 激活炎症和氧化应激反应, 还会刺激肾间质成纤维细胞活化和增殖, 促进细胞外基质的合成与沉积, 加速肾脏纤维化进程^[27-31]。此外, 2-氨基马尿酸的显著增加表明肾小管功能的下降, 与肾小管间质纤维化及结缔组织增生出现时间相符。

术后 5~8 周, 大鼠肾脏大部分区域被纤维组织所占据, 纤维化程度进入相对稳定状态的终末期。因非术侧正常肾脏的存在, 大鼠尿量、尿蛋白含量及血肌酐、尿素氮等生化指标含量与 3~4 周并无显著改变, 代谢指纹谱亦无明显迁移。但术后 5~6 周差异代谢物的含量仍存在一定的波动, 其中 2-氨基马尿酸、马尿酸、2-苯乙酰胺、DHA、硫酸吡啶酚变化幅度最大。术后 7~8 周代谢物含量呈现相对稳定状态, UUO 模型进入稳定期。

除以上差异代谢物外, 本研究中亦筛选获得

2,3-dinor-6-keto-前列腺素 F1 α 和 20-二羟基白三烯 B4 两种花生四烯酸类化合物以及 9(10)-环氧十八碳烯酸、9,10-环氧十八碳烯酸、17-羟基亚麻酸、DHA 和棕榈油酸等不饱和脂肪酸类化合物, 可通过调节脂质代谢、炎症及氧化应激参与肾脏纤维化进程^[30, 32-33]。其中, 2,3-dinor-6-keto-前列腺素 F1 α 是前列腺素 I₂ (PGI₂) 的代谢产物, 通过抑制成纤维细胞的过度活化, 发挥抗纤维化和保护肾功能的作用^[34]。20-二羟基白三烯 B4 是白三烯 B4 的代谢产物, 可以引导中性粒细胞等炎症细胞到达受损部位, 启动炎症修复过程, 刺激肾间质成纤维细胞活化和增殖, 促进细胞外基质的合成, 诱导肾血管收缩, 减少肾脏的血液灌注^[33, 35]。研究显示, 2,3-dinor-6-keto-前列腺素 F1 α 和 20-二羟基白三烯 B4 的含量变化与肾脏疾病的类型和严重程度呈一定的相关性, 是肾脏疾病的潜在诊断标志物和治疗靶点^[36-37]。

体内验证实验显示, UUO 模型大鼠血清差异代谢物水平与对照组相比具有统计学差异。ELM 治疗 28 d 后, UUO 大鼠血清中差异代谢物水平呈现明显回调趋势, 与模型组相比具有统计学差异。以上结果提示, 内源性血清代谢物是评价 UUO 致肾脏纤维化疾病进程的灵敏度更高的潜在指标, 为肾脏纤维化的评价提供依据。

病理生理指标及血清代谢物研究显示, UUO 造模 4 周可形成局灶型肾脏纤维化模型, 造模 8 周可形成稳定的弥散型肾脏纤维化模型。UUO 大鼠因肾脏功能受损, 体内代谢发生明显异常, 异常的小分子代谢物通过激活炎症、氧化应激等途径, 反馈性刺激肾间质成纤维细胞活化和增殖, 参与肾脏纤维化进程。其中, 硫酸吡啶酚、黄嘌呤核苷、马尿酸、2-氨基马尿酸、2-苯乙酰胺、DHA 等内源性血清代谢物是 UUO 致肾脏纤维化疾病进程的潜在评价指标。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Huang R S, Fu P, Ma L. Kidney fibrosis: From mechanisms to therapeutic medicines [J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 129.
- [2] Humphreys B D. Mechanisms of renal fibrosis [J]. Annu Rev Physiol, 2018, 80: 309-326.
- [3] Reiss A B, Jacob B, Zubair A, et al. Fibrosis in chronic kidney disease: Pathophysiology and therapeutic targets [J]. J Clin Med, 2024, 13(7): 1881.

- [4] 杨惠元, 韦妙灵, 牧苏婉, 等. 肾脏纤维化的诊断、治疗与分子机制研究进展 [J]. 华夏医学, 2024, 37(5): 8-15.
Yang H Y, Wei M L, Mu S W, et al. Research progress in diagnosis treatment and molecular mechanisms of renal fibrosis [J]. Acta Med Sin, 2024, 37(5): 8-15.
- [5] 朱婷婷, 刘必成. 肾脏纤维化研究的早期历史回顾 (1836-2000) [J]. 中华肾脏病杂志, 2023, 39(7): 546-551.
Zhu T T, Liu B C. A narrative review on the research history of renal fibrosis from 1836 to 2000 [J]. Chin J Nephrol, 2023, 39(7): 546-551.
- [6] Meng X M. Inflammatory mediators and renal fibrosis [J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1165: 381-406.
- [7] Djurdjaj S, Boor P. Cellular and molecular mechanisms of kidney fibrosis [J]. Mol Aspects Med, 2019, 65: 16-36.
- [8] Nogueira A, Pires M J, Oliveira P A. Pathophysiological mechanisms of renal fibrosis: A review of animal models and therapeutic strategies [J]. In Vivo, 2017, 31(1): 1-22.
- [9] Chevalier R L, Forbes M S, Thornhill B A. Ureteral obstruction as a model of renal interstitial fibrosis and obstructive nephropathy [J]. Kidney Int, 2009, 75(11): 1145-1152.
- [10] 谢柯欢, 张浩军, 谭睿陟, 等. 柴黄益肾颗粒对单侧输尿管梗阻小鼠肾纤维化的作用及其机制 [J]. 解放军医学杂志, 2024, 49(7): 804-813.
Xie K H, Zhang H J, Tan R Z, et al. Effects of Chaihuang Yishen Granule on renal fibrosis in unilateral ureteral obstruction mice and its mechanisms [J]. Med J Chin People's Liberation Army, 2024, 49(7): 804-813.
- [11] 郑博文, 李宇玲, 刘华亭, 等. 复方蛇龙胶囊对单侧输尿管梗阻大鼠肾纤维化抑制作用及机制研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(12): 29-36.
Zheng B W, Li Y L, Liu H T, et al. Inhibitory effect and mechanism of Compound Shelong Capsules (复方蛇龙胶囊) on renal fibrosis in rats with unilateral ureteral obstruction [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2024, 26(12): 29-36.
- [12] 张孟娟, 王洪双, 许畅, 等. 益气活血通络方调控 Drp1 抑制血管新生减轻单侧输尿管梗阻大鼠肾纤维化 [J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(10): 1354-1362.
Zhang M J, Wang H S, Xu C, et al. Experimental study of Yiqi Huoxue Tongluo recipe inhibits angiogenesis to attenuate renal fibrosis in UUO rats [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2023, 34(10): 1354-1362.
- [13] 杨昊, 宋显瑞, 张蕾. 复合乳酸菌肠溶胶囊增强肾衰宁胶囊对肾纤维化保护作用研究 [J]. 药学研究, 2024, 43(2): 122-127, 199.
Yang H, Song X R, Zhang L. Study of the protective effect of Lactic Acid Bacteria Complex Enteric Capsules strengthen Shenshuaining Capsules on renal fibrosis [J]. J Pharm Res, 2024, 43(2): 122-127, 199.
- [14] 王佳祺, 张令歌, 孙明珠, 等. 1, 25-(OH)2D3 对大鼠肾纤维化的影响及其机制 [J]. 青岛大学学报: 医学版, 2020, 56(6): 640-644.
Wang J Q, Zhang L G, Sun M S, et al. Effect of 1, 25-(OH)2D3 on renal fibrosis in rats and its mechanism [J]. J Qingdao Univ Med Sci, 2020, 56(6): 640-644.
- [15] Rojas-Canales D M, Li J Y, Makuei L, et al. Compensatory renal hypertrophy following nephrectomy: When and how? [J]. Nephrology (Carlton), 2019, 24(12): 1225-1232.
- [16] 李流芳, 俞国庆, 庄永泽. 硫酸吡啶酚毒性作用的研究进展 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2024, 25(7): 651-653.
Li L F, Yu G Q, Zhuang Y Z. Research progress on toxic effects of indophenol sulfate [J]. Chin J Integr Tradit West Nephrol, 2024, 25(7): 651-653.
- [17] Lowenstein J, Grantham J J. The rebirth of interest in renal tubular function [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2016, 310(11): F1351-F1355.
- [18] Yin J, Wang J. Renal drug transporters and their significance in drug-drug interactions [J]. Acta Pharm Sin B, 2016, 6(5): 363-373.
- [19] Otani N, Ouchi M, Hayashi K, et al. Roles of organic anion transporters (OATs) in renal proximal tubules and their localization [J]. Anat Sci Int, 2017, 92(2): 200-206.
- [20] Nørregaard R, Mutsaers H A M, Frøkiær J, et al. Obstructive nephropathy and molecular pathophysiology of renal interstitial fibrosis [J]. Physiol Rev, 2023, 103(4): 2827-2872.
- [21] Chen Y, Zelnick L R, Wang K, et al. Kidney clearance of secretory solutes is associated with progression of CKD: The CRIC study [J]. J Am Soc Nephrol, 2020, 31(4): 817-827.
- [22] Li Y Z, Chen S Z, Tan J C, et al. Combination therapy with DHA and BMSCs suppressed podocyte injury and attenuated renal fibrosis by modulating the TGF- β 1/Smad pathway in MN mice [J]. Ren Fail, 2023, 45(1): 2120821.
- [23] Han S, Choi H, Park H, et al. Omega-3 fatty acids attenuate renal fibrosis via AMPK-mediated autophagy flux activation [J]. Biomedicines, 2023, 11(9): 2553.
- [24] Muramatsu H, Akimoto N, Yajima K, et al. Suppressing effects of docosahexaenoic acid-containing diets on oxidative stress and fibrosis in 5/6 nephrectomized rats [J]. Kidney360, 2023, 4(12): 1690-1701.
- [25] Bazzi M D, Youakim M A, Nelstuen G L. Importance of phosphatidylethanolamine for association of protein

- kinase C and other cytoplasmic proteins with membranes [J]. *Biochemistry*, 1992, 31(4): 1125-1134.
- [26] Vance J E, Tasseva G. Formation and function of phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine in mammalian cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1831(3): 543-554.
- [27] Kano K, Aoki J, Hla T. Lysophospholipid mediators in health and disease [J]. *Annu Rev Pathol*, 2022, 17: 459-483.
- [28] Tan S T, Ramesh T, Toh X R, et al. Emerging roles of lysophospholipids in health and disease [J]. *Prog Lipid Res*, 2020, 80: 101068.
- [29] Pradère J P, Gonzalez J, Klein J, et al. Lysophosphatidic acid and renal fibrosis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1781(9): 582-587.
- [30] Castelino F V. Lipids and eicosanoids in fibrosis: Emerging targets for therapy [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2012, 24(6): 649-655.
- [31] 肖欣, 魏佳莉. 溶血磷脂酸及其受体在肾脏纤维化中的研究进展 [J]. *河北医学*, 2024, 30(4): 700-704.
- Xiao X, Wei J L. Research progress of lysophosphatidic acid and its receptor in renal fibrosis [J]. *Hebei Med*, 2024, 30(4): 700-704.
- [32] Li X J, Suo P, Wang Y N, et al. Arachidonic acid metabolism as a therapeutic target in AKI-to-CKD transition [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1365802.
- [33] Li J, Guan Y, Xu Y Y, et al. Prostacyclin mitigates renal fibrosis by activating fibroblast prostaglandin I₂ receptor [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2024, 35(2): 149-165.
- [34] Wang T Q, Fu X J, Chen Q F, et al. Arachidonic acid metabolism and kidney inflammation [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(15): 3683.
- [35] Ujike-Omori H, Maeshima Y, Kinomura M, et al. The urinary levels of prostanoid metabolites predict acute kidney injury in heterogeneous adult Japanese ICU patients: A prospective observational study [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2015, 19(6): 1024-1036.
- [36] Rubinstein M, Dvash E. Leukotrienes and kidney diseases [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2018, 27(1): 42-48.

[责任编辑 兰新新]