

顺铂致兔急性肾损伤的序贯观察

乔 实¹, 贾化平², 梁会泽¹, 李 华², 张明明², 宋文静²

(1. 安徽医科大学解放军306临床学院超声医学科, 北京 100101; 2. 中国人民解放军306医院超声医学科, 北京 100101)

【摘要】 目的 探讨单次静脉注射顺铂致兔急性肾损伤(AKI)的病程进展规律。**方法** 雄性新西兰兔40只, 随机分为5组, 每组8只。经耳缘静脉单次注射顺铂(5 mg/kg)制作急性肾损伤模型, 按照观察时间点分为注射顺铂后6 h组(T_6)、12 h组(T_{12})、24 h组(T_{24})、36 h组(T_{36})及48 h组(T_{48}), 分别于注射前及注射后相应时间点检测兔静脉血血尿素氮(BUN)及血肌酐(SCr)值。应用SPSS 22.0统计软件对数据进行统计分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。在各实验节点, 处死实验兔, 获取各组兔肾组织标本, 常规石蜡切片, HE染色光镜下观察。**结果** 与注射前相比, 注射顺铂后各组BUN及SCr值均明显升高, 建模24 h以后各组所有实验兔达到急性肾损伤标准, 损伤呈进行性加重。HE染色光镜下观察以 T_{48} 组变化更明显。**结论** 单次静脉注射顺铂可引起兔急性肾功能损害, 48 h内呈进行性加重。

【关键词】 兔; 肾损伤; 顺铂; 生化指标

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 02-0055-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.02.010

Sequential observation of acute kidney injury induced by cisplatin in rabbits

QIAO Shi¹, JIA Hua-ping², LIANG Hui-ze¹, LI Hua²,
ZHANG Ming-ming², SONG Wen-jing²

(Department of Ultrasound, the 306th Clinical College of PLA, Anhui Medical University, Beijing 100101, China;

2. Department of Ultrasound, the 306th Hospital of PLA, Beijing 100101)

【Abstract】 Objective To evaluate the disease course of acute kidney injury (AKI) induced by single intravenous injection of cisplatin in rabbits. **Methods** Forty male New Zealand rabbits were divided into 5 groups, 8 rabbits in each group. Acute kidney injury models were made by a single injection of cisplatin in the ear vein of rabbits, and five groups were defined as T_6 , T_{12} , T_{24} , T_{36} and T_{48} according to the detection time of the blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine (SCr) in the rabbits. Blood BUN and SCr were detected before and immediately after cisplatin injection. The data were analyzed with SPSS 22.0 software, and $P < 0.05$ was considered as statistically significant. The rabbits were sacrificed and kidney samples were taken for routine pathological examination. **Results** Compared with the data pre-injection, the blood BUN and SCr were increased significantly, and the experimental rabbits were consistent with the criteria of AKI according to the criteria of "Kidney Disease: Improving Global Outcomes Organization (KDIGO standard)" at 24 h after injection of cisplatin. The acute kidney injury of the rabbits was progressively worsening in 48 hours. More severe pathological changes were observed in the 48 hour group than in the other groups. **Conclusions** Progressive renal

[作者简介] 乔实(1989-), 男, 医师, 在读硕士, 专业: 超声诊断。E-mail: 401043236@qq.com。

[通讯作者] 梁会泽(1957-), 男, 硕士生导师, 教授。E-mail: lianghuize@126.com; 贾化平(1972-), 男, 硕士生导师, 副教授。E-mail: 283407206@qq.com。

injury of rabbit kidney can be induced by single intravenous injection of cisplatin.

【Key words】 Rabbits; Kidney injury; Cisplatin; Bio-marker

顺铂(CDDP)是目前临床上常用的肿瘤化疗药物之一,对多种恶性肿瘤具有良好的治疗效果,其疗效与剂量成正比,但顺铂具有肾毒性、耳毒性、胃肠道毒性及致吐等副作用,其中以肾毒性最为常见,其损伤程度亦与剂量成正比^[1]。顺铂肾毒性机制尚未完全阐明,据统计,约有 3 成的患者在使用顺铂后会出现肾功能损伤,其中大部分为急性发病,具有起病急、发展快的特点^[2]。肾毒性是限制顺铂使用剂量的主要因素,了解顺铂致急性肾损伤的进展规律,是进行相关研究的基础。目前,临床上仍以血尿素氮(BUN)及血肌酐(SCr)作为顺铂致肾功能损伤监测指标^[3],本研究对顺铂致兔急性肾损伤模型 BUN 及 SCr 进行序贯检测,以期了解顺铂致急性肾损伤的病程进展规律。

1 材料和方法

1.1 动物模型的建立

雄性新西兰兔 40 只,由北京海淀区兴隆实验动物养殖场提供【SCXK(京)2011-0006】,体重 2.1~2.4 kg,平均 2.29±0.29 kg,随机分为 5 组,每组 8 只,经耳缘静脉单次注射顺铂(5 mg/kg)建立急性

肾损伤模型,按照观察时间点分为注射后 6 h 组(T₆)、12 h 组(T₁₂),24 h 组(T₂₄),36 h 组(T₃₆)及 48 h 组(T₄₈),分别于注射顺铂前及注射后相应时间点,经耳缘静脉抽取 1 mL 静脉血,检测 BUN 及 SCr 值。在各实验节点,处死实验兔,获取各组兔肾组织标本,10% 甲醛溶液固定,常规石蜡包埋、切片,HE 染色光镜下观察。

1.2 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 22.0 统计软件对数据进行统计分析, $P < 0.05$ 为差异具有显著性意义。

2 结果

2.1 各组资料均满足正态分布,配对设计 *t* 检验

结果证实:各组实验兔血 BUN 及 SCr 在造模后 48 h 内均较造模前发生了不同程度的升高(表 1,图 1~2),通过分析各组实验兔造模前后 BUN 及 SCr 值,根据 KDIGO 标准^[3],T₆ 组仅有 2 只实验兔发生了 AKI,T₁₂ 组有 6 只实验兔发生了 AKI,T₂₄、T₃₆ 及 T₄₈ 组实验兔均发生了 AKI。

表 1 注射顺铂前后兔静脉血 BUN 及 SCr 值比较
Tab.1 Comparison of blood BUN and SCr before and after the injection of cisplatin

组别 Group	注射时间 Time of injection	血尿素氮 BUN	<i>t</i>	<i>p</i>	血肌酐 SCr	<i>t</i>	<i>p</i>
T6	注射前 Before injection	12.01 ± 2.53	-7.934	0.000	105.13 ± 29.20	-3.046	0.019
	注射后 After injection	17.13 ± 2.72 *			146.88 ± 57.15 *		
T12	注射前 Before injection	8.23 ± 1.48	-5.982	0.001	81.38 ± 11.08	-4.246	0.004
	注射后 After injection	17.73 ± 5.12 *			160.00 ± 53.53 *		
T24	注射前 Before injection	10.54 ± 3.58	-4.548	0.003	79.29 ± 16.85	-3.805	0.009
	注射后 After injection	30.34 ± 15.24 *			175.29 ± 72.67 *		
T36	注射前 Before injection	10.84 ± 3.39	-10.869	0.000	75.37 ± 19.47	-8.830	0.000
	注射后 After injection	49.56 ± 8.49 *			478.38 ± 139.19 *		
T48	注射前 Before injection	8.37 ± 1.53	-10.296	0.000	101.38 ± 12.20	-9.426	0.000
	注射后 After injection	50.34 ± 10.76 *			582.25 ± 140.31 *		

注: * 与建模前相较 $P < 0.05$
Note. * $P < 0.05$ vs. before injection

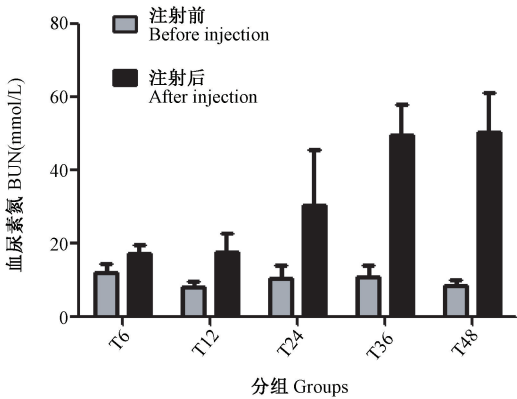


图1 注射顺铂前后兔静脉血 BUN 值比较
Fig.1 Comparison of blood BUN before and after the injection of cisplatin

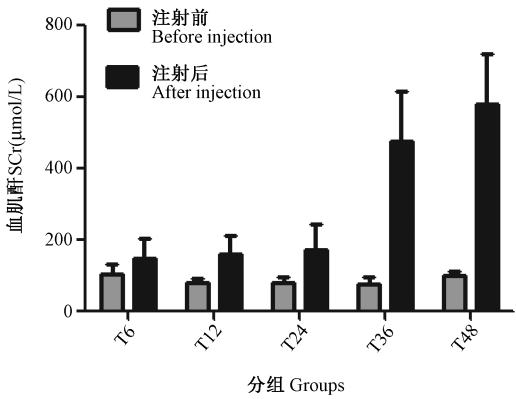
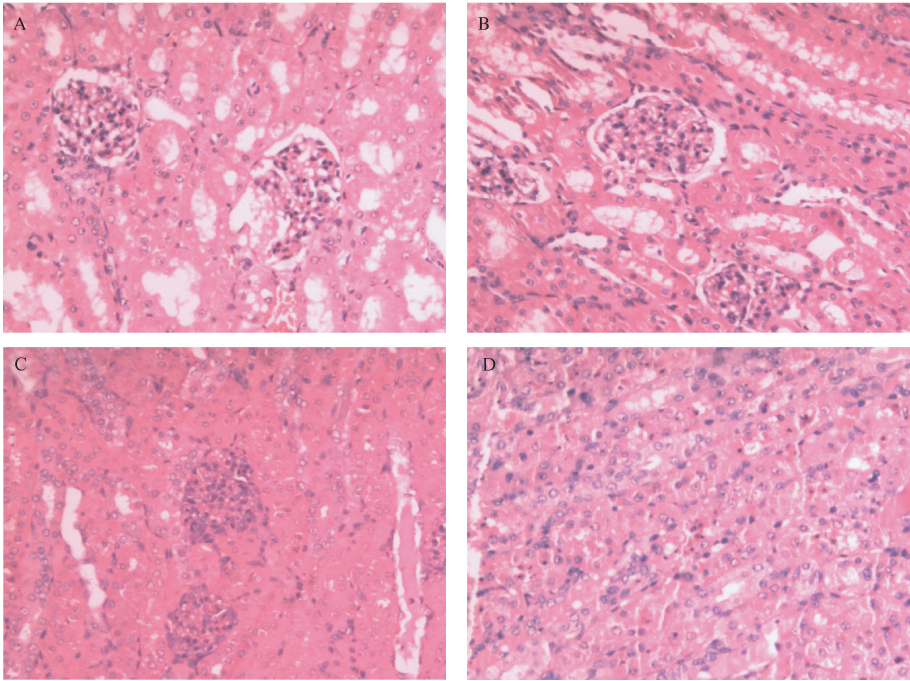


图2 注射顺铂前后兔静脉血 SCr 值比较
Fig.2 Comparison of blood SCr before and after the injection of cisplatin

对所有组造模后数据采用 SNK-q 检验进行两两之间比较,发现:(1) T₆ 组及 T₁₂ 组 BUN 之间无明显差异;(2) T₂₄ 组 BUN 相较于 T₆ 组及 T₁₂ 组明显升高,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); (3) 相较于其他组, T₃₆ 组及 T₄₈ 组 BUN 升高最为显著,但两者间没有明显差异 ($P > 0.05$); (4) T₆ 组、T₁₂ 组及 T₂₄ 组间 SCr 两两比较无明显差异 ($P > 0.05$); (5) T₃₆ 组 SCr 水平高于 T₆ 组、T₁₂ 组及 T₂₄ 组,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); (6) T₄₈ 组 SCr 水平显著高于其他

组 ($P < 0.05$)。
2.2 病理结果显示

T₆ 组及 T₁₂ 组家兔肾小管上皮细胞未发生明显的水肿及空泡样改变,周围无明显的炎性细胞,肾小管腔内无管型阻塞。T₂₄ 及 T₃₆ 组切片可见渗出的炎性细胞排列于肾小管上皮细胞周围,部分肾小管腔内有管型阻塞,肾小管上皮局部水肿增厚,发生空泡样改变,部分上皮变性坏死。T₄₈ 组切片炎性细胞渗出明显,肾小管上皮水肿、空泡样变、坏死较其



(A: 正常组; B: T₁₂ 组; C: T₃₆ 组; D: T₄₈ 组) HE 染色 X100

图3 肾脏病理切片

A: Normal control group; B: T₁₂ group; C: T₃₆ group; D: T₄₈ group. HE staining. ×100

Fig.3 Pathological changes in the rabbit kidney tissues.

余组进一步加重,肾小管管型阻塞普遍,部分肾小管结构崩解,原有结构难以辨识(图 3)。所有组肾小球形态基本完整,结构未发生明显改变。

3 讨论

顺铂是目前临床上用于肿瘤化疗的主要药物之一,对前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌等多种实体肿瘤具有良好的疗效。但由于其毒性及疗效均与使用剂量成正比,致使其在临床诊疗工作中的使用剂量受到限制^[4]。顺铂最主要的不良反应是肾损伤,尽管目前临床已采用水化等措施预防肾毒性的发生,但其发生率仍高达 1/3^[5],多疗程化疗时甚至可达 75%^[2]。肾毒性是限制顺铂使用剂量的主要因素,了解顺铂致急性肾损伤的进展规律,是进行相关研究的基础。

目前临床使用最广泛、接受度最高的 AKI 诊断标准由 KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes,改善全球肾脏病预后组织)制定,认为符合以下情况之一者即可诊断为 AKI:(1)48 h 内血清肌酐值增加 ≥ 0.3 mg/dL ($26.5 \mu\text{mol/L}$);(2)在发病前 7 d 血清肌酐值较基线增高 ≥ 1.5 倍;(3)尿量 < 0.5 mL/kg/h,持续 6 h 以上。由于既往文献报道中,未制定兔急性肾损伤的诊断标准,因物种不同,靠观测血肌酐升高值及尿量减少值,并不能诊断兔的急性肾损伤,因此本研究采用 KDIGO 标准第二条即在发病前 7 d 血清肌酐值较基线增高 ≥ 1.5 倍为标准诊断兔急性肾损伤。

通过对所有实验兔造模前、后 BUN 及 SCr 的观察比对,根据 KDIGO 标准,造模后 24 h AKI 已发生,说明顺铂致 AKI 起病早,发展快。有学者经腹腔灌注顺铂造成兔的急性肾损伤,并将造模后 24 h、48 h BUN 及 SCr 与造模前进行比较,发现两者在造模后 24 h 升高明显,在 48 h 升高更加显著^[6],腹腔灌注顺铂的小型猪急性肾损伤的实验中,造模后 3 h 尿液 BUN 及 SCr 就出现显著改变^[7],另有学者制作顺铂所致大鼠急性肾损伤模型,亦于早期发现 BUN 及 SCr 的显著改变^[8],这些研究与本实验结果一致。在经腹腔注射顺铂制作大鼠急性肾损伤模型的实验研究中,发现在造模后 6 h BUN 与 SCr 较造模前无明显变化^[9],推测可能是由于实验动物的不同,使得结果与本实验不同,提示不同物种对顺铂肾毒性耐受性的差异。另有多个实验使用甘油肌注法制作兔肾损伤模型,发现在造模后 6 h 及 24 h BUN

及 SCr 测值未均发生明显变化^[10-12],推测可能是由于模型制作途径的不同,致使结果与本实验不同。

造模后 12 h 内 BUN、SCr 测值及病检结果之间比较无显著差异,提示顺铂所致肾损伤在初期较为稳定,已有的实验研究亦证实了这一点^[9]。T₂₄ BUN 较 T₁₂显著升高,T₃₆SCr 较 T₂₄显著升高(图 1、2),说明顺铂所致肾功能障碍恶化加重,镜下表现亦证实了这一改变趋势(图 3)。本研究结果提示在预测顺铂致兔肾损伤病情的加重上,BUN 要比 SCr 敏感,申俊等^[13]在动物实验研究中发现,在顺铂所致肾损伤成功的基础上,BUN 比 SCr 升高的时间点早,认为 BUN 比 SCr 在预测顺铂所致肾损伤病情加重上更加敏感,该结论也与本研究的结果相同。T₄₈组与 T₃₆组 BUN 相比未发生显著改变($P > 0.05$),可能与这两组实验兔在造模后期均发生了不同程度上的拒食、水现象及顺铂胃肠道毒性有关。BUN 大部分来源于食物中的蛋白质代谢,易受到饮食影响,造模后期实验兔受顺铂致吐及胃肠道毒性影响而拒食,故其 BUN 短时间内不再升高^[14]。

顺铂所致肾损伤具有起病急,进展快的特点,早发现、早处理对提高肿瘤化疗效果,指导临床化疗工作意义重大。本研究揭示了单次静脉注射顺铂致兔早期肾损伤的进展规律,为该方面的研究提供了实验依据。

参考文献:

- [1] Karasawa T, Steyger PS. An integrated view of cisplatin-induced nephrotoxicity and ototoxicity [J]. Toxicol Lett, 2015, 237(3): 219-227.
- [2] 赵晓燕,张福鹏,高继宁.化疗药物对老年肿瘤患者的肾损伤[J].实用老年医学,2014,28(4):341-342.
- [3] Palevsky PM, Liu KD, Brophy PD, et al. KDOQI US commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury [J]. Am J Kidney Dis, 2013, 61(5): 649-672.
- [4] Domitrović R, Potočnjak I, Željka Crnčević-Orlić, et al. Nephroprotective activities of rosmarinic acid against cisplatin-induced kidney injury in mice [J]. Food Chem Toxicol, 2014, 66(4): 321-328.
- [5] Razzaque MS. Cisplatin nephropathy: is cytotoxicity avoidable? [J]. Nephrol Dial Transplant, 2007, 22: 2112-2116.
- [6] Kim YK, Choi TR, Kwon CH, et al. Beneficial effect of pentoxifylline on cisplatin-induced acute renal failure in rabbits [J]. Renal Failure, 2003, 25(25): 909-922.
- [7] 陶琦,姚源璋.急性肾衰竭动物模型研究进展[J].中国中西医结合肾病杂志,2013,14(7):654-655.

visual function in retinitis pigmentosa[J]. Curr Opin Neurobiol, 2011, 21(6): 942–946.

[46] Tonegawa S, Liu X, Ramirez S, et al. Memory engram cells have come of age[J]. Neuron, 2015, 87(5): 918–931.

[47] Perkel J P D. Lighting our memories[J]. Biotechniques, 2016, 60(6): 268–272.

[48] Diester I, Kaufman M T, Mogri M, et al. An optogenetic toolbox designed for primates[J]. Nat Neurosci, 2011, 14(3): 387–397.

[49] Han X, Qian X, Bernstein J G, et al. Millisecond-timescale optical control of neural dynamics in the nonhuman primate brain[J]. Neuron, 2009, 62(2): 191–198.

[50] Berdyeva T K, Reynolds J H. The dawning of primate optogenetics[J]. Neuron, 2009, 62(2): 159–160.

[修回日期]2016–10–31

(上接第 28 页)

[4] 吴思昇, 王箐, 高昌, 等. 实验用斑马鱼主要疾病及其实验动物标准化研究过程面临的主要问题 [J]. 实验动物科学, 2009, 26(4): 51–55.

[5] Lü A, Hu X, Wang Y, et al. Comparative analysis of the acute response of zebrafish Danio rerio skin to two different bacterial infections [J]. J Aquat Anim Health, 2013, 25(4): 243–51.

[6] 钟女奇, 赵勇, 洪迅, 等. 实验动物细菌检测中的生物安全控制与预防 [J]. 实验动物科学, 2011, 28(3): 51–54.

[7] Crim MJ, Riley LK. Viral diseases in zebrafish: what is known and unknown [J]. ILAR J, 2012, 53(2): 135–143.

[8] Kent ML, Spitsbergen JM, Matthews JM, et al. Diseases of zebrafish in research facilities [M]. ZIRC, 2012, 4.

[9] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册 [M]. 北京科学出版社, 2001, 106–121.

[10] 杨守明, 王民生. 嗜水气单胞菌及其对人的致病性 [J]. 疾病控制杂志, 2006, 10(5): 511–514.

[11] 陆承平. 致病性嗜水气单胞菌及其所致鱼病综述 [J]. 水产学报, 1992, 16(3): 282–288.

[修回日期]2016–06–16

(上接第 58 页)

[8] 杨玉芳, 曾健, 劳山. 黄芪对顺铂肾损害大鼠肾功能及组织病理学的影响 [J]. 广西医科大学学报, 2013, 30(5): 669–671.

[9] 李传刚, 舒晓宏, 姜妙娜, 等. 大剂量顺铂所致大鼠急性肾损害过程中血浆内皮素-1 与肾功能变化的关系 [J]. 大连医科大学学报, 2008, 30(6): 524–526.

[10] 蒋智, 黄晓玲, 杨红, 等. 超声造影观察兔急性肾衰竭前后肾皮、髓质血流灌注变化 [J]. 中国介入影像与治疗学, 2010, 7(1): 54–57.

[11] 董怡, 王文平, 丁红, 等. 超声造影定量技术评价兔急性肾功能衰竭早期灌注改变 [J]. 中国医学科学院学报, 2008, 30(1): 45–48.

[12] 李伟超, 刘俊平, 王宇, 等. 超声造影技术评价犬急性肾衰竭模型的研究 [J]. 内蒙古农业大学学报: 自然科学版, 2015, 36(2): 9–13.

[13] 申俊, 刘妍, 张金晓, 等. 尿中肾损伤分子 1 水平升高对大鼠早期肾损伤的预测作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26(2): 212–218.

[14] 王海燕. 肾脏病学 (第 3 版) [M]. 北京: 人民卫生出版社. 2009: 440.

[修回日期]2016–07–13