

· 基础研究 ·

蓝光通过脑-肾轴对大鼠肾结石形成的影响研究

方道成, 谢莉玲, 全霖杰, 张 奎, 温 晖

(上海交通大学医学院附属松江医院泌尿外科, 上海 201600)

Effects of blue light through the brain-kidney axis of rats on the formation of kidney stones

FANG Daocheng, XIE Liling, QUAN Linjie, ZHANG Kui, WEN Hui

(Department of Urology, Songjiang Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 201600, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the effects of blue light on the formation of kidney stones. Methods A total of 40 rats were randomly divided into 4 groups: A, B, C, and D, with 10 rats in each group. Rats in groups C and D were administered with a mixture of 10 g/L ethylene glycol, 20 g/L ammonium chloride, and 100 g/L calcium gluconate via gavage (2 mL per mouse), while rats in groups A and B received an equal volume of physiological saline via gavage. From the second day after gavage, rats in groups A and C were subjected to twice-daily blue light irradiation (one hour per session) as an intervention, while rats in groups B and D were subjected to fluorescent lamp irradiation using the same method. After 4 weeks of intervention, the 24-hour urine samples were collected, and the rats were then euthanized for the collection of blood and kidney tissue samples. Serum levels of antidiuretic hormone (ADH), urinary Ca^{2+} , and urinary oxalate (Oxa) were measured. Levels of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in kidney tissues were detected using ELISA. Von Kossa staining was performed to observe pathological changes in kidney tissues and the presence of calcium salt crystals in the kidneys. Results Compared with groups A and B, groups C and D showed higher accumulation of calcium salt crystals in renal tissues, as well as elevated levels of ADH, urinary Ca^{2+} , urinary Oxa, and MDA in renal tissues, additionally, the SOD level in renal tissues was lower ($P < 0.05$). Compared with group D, group C exhibited higher accumulation of calcium salt crystals in renal tissues, along with increased levels of ADH, urinary Ca^{2+} , urinary Oxa, and MDA in renal tissues; conversely, the SOD level in renal tissues was lower ($P < 0.05$). Conclusion Blue light may increase the formation of kidney stones in rats by promoting the secretion of ADH in serum and oxidative stress in kidney tissues through the brain-kidney axis.

KEY WORDS: blue light; brain-kidney axis; rats; kidney stones; antidiuretic hormone; malondialdehyde; superoxide dismutase

摘要: 目的 分析蓝光通过脑-肾轴对大鼠肾结石形成的影响。方法 将40只大鼠随机分为A、B、C、D4组,每组10只。C、D组大鼠采用10 g/L乙二醇+20 g/L氯化铵+100 g/L葡萄糖酸钙(2 mL/只)进行灌胃,A、B组大鼠给予等体积量生理盐水灌胃。A、C组大鼠从灌胃后第2天开始每日进行2次蓝光照射(1 h/次)干预,B、D组采用日光灯照射(方法同上),持续4周。收集大鼠24 h尿液后处死并收集其血液及肾脏组织样本。检测大鼠血清抗利尿激素(ADH)、尿 Ca^{2+} 和尿草酸(Oxa)水平,ELISA法检测大鼠肾脏组织丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)水平。Von Kossa染色观察肾组织病变以及肾脏中钙盐结晶情况。结果 与A、B组相比,C、D组大鼠肾脏组织中钙盐结晶积分较高,血清ADH、尿 Ca^{2+} 、尿Oxa及肾组织中MDA水平较高,而肾组织SOD水平较低($P < 0.05$);与D组相比,C组肾脏组织中钙盐结晶积分较高,血清ADH、尿 Ca^{2+} 、尿Oxa及肾组织中MDA水平较高,而肾组织SOD水平较低($P < 0.05$)。结论 蓝光可能通过脑-肾轴促进血清ADH分泌和肾脏组织氧化应激反应,进而促进大鼠肾结石的形成。

关键词: 蓝光;脑-肾轴;大鼠;肾结石;抗利尿激素;丙二醛;超氧化物歧化酶

中图分类号:R692.4

文献标志码:A

DOI:10.3969/j.issn.1009-8291.2025.03.015

收稿日期:2024-06-17

修回日期:2024-08-03

基金项目:上海市松江区科技攻关项目(No.2023SJKJGG84)

通信作者:张奎,主治医师。E-mail:18918288584@163.com

作者简介:方道成,博士研究生在读,住院医师。研究方向:泌尿系结石。E-mail:drfangdc@shsmu.edu.cn;谢莉玲,本科,护士。研究方向:泌尿系疾病。E-mail:5126067322@qq.com;全霖杰,本科,护士。研究方向:泌尿系疾病。E-mail:1290094037@qq.com。系共同第一作者

肾结石作为一种常见的泌尿系统疾病,全球发病率逐年升高,对公众健康构成了巨大威胁^[1-2]。当前,多项研究揭示了肾结石的形成是包括生活环境、饮食习惯以及代谢性疾病等多种因素作用下的复杂过程^[3-5]。脑-肾轴在肾脏疾病中扮演着重要的角色,是调控肾脏功能的重要生理网络,其发生异常可能通过

影响代谢途径引发肾结石的形成^[6-7]。

近期研究发现,光照尤其是蓝光,对人体生理功能有着潜在影响^[8-9]。蓝光与人体生物钟及代谢调节机制紧密相关,能够通过视网膜神经节细胞(retinal ganglion cell, RGC)的介导对大脑产生影响,并进一步影响相关生理功能^[10-11]。因此,我们推测蓝光可能通过调节大脑功能影响脑-肾轴,从而对肾脏产生影响。目前国内外关于脑-肾轴与肾结石关系的研究甚少,鉴于此,本研究通过构建肾结石大鼠模型,探究蓝光如何通过脑-肾轴影响大鼠肾结石的形成,并对其潜在的作用机制加以讨论。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF级SD雄性大鼠40只,平均体重(210±15)g,由上海交通大学医学院附属松江研究院(以下简称“本院”)动物中心提供。将大鼠饲养在动物实验中心实验室内,适应性喂养7d,温度为22~25℃,相对湿度为50%~60%。本研究经本院动物伦理委员会批准实施(2024SQ013)。

1.2 材料与仪器 丙二醛(malonaldehyde, MDA)试剂盒(合肥莱尔生物科技有限公司)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒(合肥莱尔生物科技有限公司)、草酸(oxalic acid, Oxa)检测试剂盒(上海优选生物科技有限公司)、蓝光激光器(上海熙隆光电科技有限公司)、多功能全波长酶标仪。

1.3 实验方法

1.3.1 大鼠分组与造模 将40只大鼠随机分为A、B、C、D组,每组10只。对C、D组大鼠采用10 g/L乙二醇+20 g/L氯化铵+100 g/L葡萄糖酸钙进行灌胃(2 mL/只),A、B组大鼠给予等体积量的9 g/L生理盐水灌胃。照射标准参考既往蓝光相关动物实验的方法,一般为1~2 h,为保证造模的成功率,故选择2 h照射时间,蓝光照射强度参考既往文献为1300 lux,日光灯照射的强度为3000 lux。A、C组大鼠于灌胃后的第2天开始每日进行2次蓝光照射(1 h/次),B、D组使用日光灯照射(方法同前),持续干预4周后,用代谢笼收集大鼠24 h尿液,用于尿液相关指标检测。处死大鼠并收集血液以及肾脏组织用于后续各项指标检测。

1.3.2 Von Kossa 染色观察 肾组织的病理变化取大鼠左侧肾脏,经生理盐水处理后用40 g/L的多聚甲醛进行固定处理。随后,遵循标准的Von Kossa染色方法处理程序进行染色,在光学显微镜下仔细观察肾组织的病理变化,并根据钙盐结晶量化评分评估

肾组织病理改变的严重程度^[12]。

1.3.3 血清抗利尿激素及尿Ca²⁺、尿Oxa检测 采集腹主动脉取2 mL血液,离心(3500 r/min)15 min,送本院检验科检测血清抗利尿激素(antidiuretic hormone, ADH)。采集尿液,离心(3500 r/min)20 min,使用全自动生化仪检测尿Ca²⁺含量,严格按照试剂盒的说明进行尿Oxa的测定。

1.3.4 ELISA法检测MDA、SOD 取右肾制成体积分数为10%的匀浆,3500 r/min离心15 min后取上清液,按照试剂盒的说明进行操作,设定酶标仪波长读取吸光度值,检测MDA、SOD的含量。

1.4 统计学方法 采用SPSS 22.0软件对所得数据进行分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间比较采用 t 检验;方差不齐时,采用Kruskal-Wallis检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Von Kossa 染色观察肾组织的病理变化 A、B两组大鼠肾脏组织无明显病理改变,未见钙盐结晶形成。与A、B组相比,C、D组可见肾小管扩张伴少量炎细胞浸润,合并有钙盐结晶形成(黑色晶体),钙盐结晶积分偏高($P < 0.05$);相较于D组,C组肾脏组织内钙盐结晶积分偏高($P < 0.05$,图1)。

2.2 四组大鼠血清ADH、尿Ca²⁺及尿Oxa水平比较 A、B两组大鼠间血清ADH、尿Ca²⁺及尿Oxa水平差异无统计学意义($P > 0.05$);与A、B组相比,C、D组血清ADH、尿Ca²⁺及尿Oxa水平偏高($P < 0.05$);与D组相比,C组血清ADH、尿Ca²⁺及尿Oxa水平偏高($P < 0.05$,表1)。

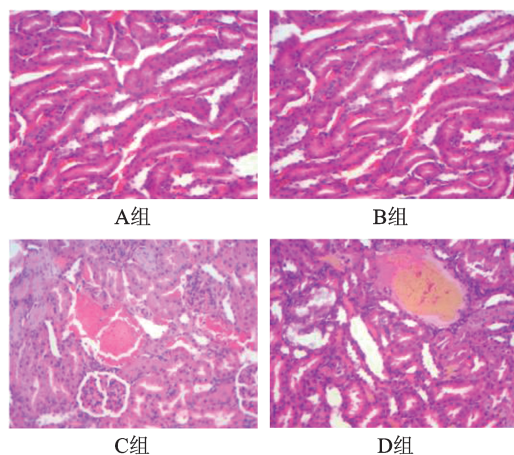
表1 各组大鼠血清ADH、尿Ca²⁺及尿Oxa水平比较

组别	$(\bar{x} \pm s)$		
	血清ADH/ (ng/L)	尿Ca ²⁺ / (mmol/L)	尿Oxa/ (μmol/L)
A组	0.28±0.06	1.50±0.15	120.04±15.39
B组	0.36±0.10	1.58±0.13	131.04±15.69
C组	1.65±0.33*#	3.93±0.16*#	236.17±22.05*#
D组	1.31±0.29*	3.11±0.20*	211.64±23.97*

ADH: 抗利尿激素; Oxa: 草酸; *与A、B组相比, $P < 0.05$; #与D组相比, $P < 0.05$ 。

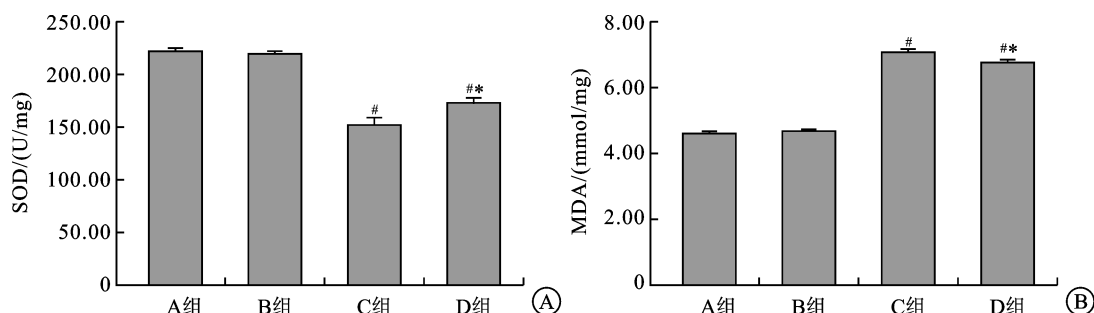
2.3 四组大鼠肾组织MDA、SOD水平比较 A、B两组大鼠间肾组织MDA、SOD水平差异无统计学意义($P > 0.05$);与A、B组相比,C、D组肾组织SOD水平偏低、MDA水平偏高($P < 0.05$);与D组相比,C

组肾组织 SOD 水平偏低、MDA 水平偏高($P < 0.05$,



A: 四组大鼠 Von Kossa 染色($\times 400$), A、B 组肾组织内无晶体沉积, 未见明显病理学改变, C 组肾小管内可见大量结晶形成, D 组肾小管内可见少量结晶沉积; B: 四组大鼠钙盐结晶积分比较。# 与 A、B 组比较, $P < 0.05$; * 与 C 组比较, $P < 0.05$ 。

图 1 四组大鼠的病理染色以及钙盐结晶积分图



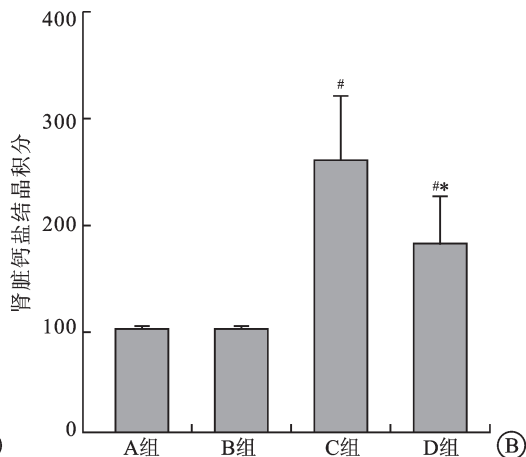
A: 超氧化物歧化酶(SOD)水平比较; B: 丙二醛(MDA)水平比较。# 与 A、B 组相比, $P < 0.05$; * 与 C 组相比, $P < 0.05$ 。

图 2 四组大鼠肾组织超氧化物歧化酶、丙二醛水平比较

3 讨论

肾结石是泌尿外科最常见的疾病之一,可能伴有肾功能异常、泌尿系感染等其他并发症发生^[2]。尽管其发病机理尚不完全明确,但多因素相互作用的理论已被广泛接受^[3]。随着相关研究的深入,人们发现脑-肾轴在肾脏疾病中起着一定作用^[7,13]。脑-肾轴涉及中枢神经系统与肾脏的交互,主要通过下丘脑-垂体和肾交感神经系统实现。下丘脑通过垂体调节相关激素的分泌,进而影响肾脏的多种功能。肾交感神经系统则调节肾血管,进而影响血流量和尿液生成^[13]。下丘脑中的室旁核(paraventricular nucleus, PVN)是下丘脑调节内分泌和自主神经系统信息输出的关键节点^[14]。视上核(supraoptic nucleus, SON)与 PVN 共同在肾脏水盐平衡调节、神经调节及内分泌功能调节中起重要作用。SON 和 PVN 可以调控合成 ADH,作用于肾脏集合管,调节液体代谢平衡^[15]。本研究结果显示,与 D 组大鼠相比, C 组大鼠的血清 ADH 水平显著升高。这提示在病理状态下,

图 2)。



蓝光可以通过影响脑-肾轴刺激 ADH 的生成增加,从而促进肾结石的形成。

既往观点认为中枢神经系统因血脑屏障而具有免疫特性,但近期研究揭示了中枢神经系统与免疫系统存在重要的交互作用^[13]。神经系统的多种细胞能够释放细胞因子和趋化因子,从而激发炎症反应和氧化应激^[16-17]。在肾损伤大鼠模型的研究中观察到神经递质水平发生了显著变化,这种变化对机体的多个方面均产生了深远影响。同时,先天免疫中的 Toll 样受体(TLRs),特别是 TLR2 和 TLR4,在肾脏受损时被激活,对脑肾之间的交互产生重要影响,并与局部炎症、神经元损伤以及细胞因子表达的调控密切相关^[12]。本研究结果发现与 D 组相比, C 组 SOD 水平偏低、MDA 水平偏高,提示脑-肾轴可能通过诱导氧化应激在肾结石的发病过程中发挥重要作用。

目前已有研究显示,光学调节在脑-肾轴功能中扮演着关键角色^[9]。光的作用不仅局限于视觉引导,还涉及一系列非视觉效应。这些非视觉效应部分是由最新发现的对蓝光极为敏感的 RGC 所介导的^[10]。

其影响范围广泛,包括激素分泌、心率、睡眠倾向、体温以及基因表达等多个生理过程^[19]。深入研究后,人们发现了一种新型的感光细胞——内在光敏感视网膜神经节细胞(intrinsically photosensitive retinal ganglion cell, ipRGC)。这些特殊的细胞虽占 RGC 的一小部分,却在昼夜节律、睡眠和情绪等多个非视觉功能中发挥关键作用^[20]。特别是 ZHANG 等^[21]的研究进一步指出,刺激 ipRGC 能够影响下丘脑相关神经递质的分泌。进一步的研究还发现,在相同光照强度下,波长约为 460 nm 的短波光(即蓝光)对神经的刺激效果尤为显著^[11]。

本研究发现 C、D 组肾脏组织内钙盐结晶积分、大鼠血清 ADH、尿 Ca^{2+} 及尿 Oxa 水平高于 A、B 组大鼠;C 组大鼠肾脏组织内钙盐结晶积分、血清 ADH、尿 Ca^{2+} 及尿 Oxa 水平高于 D 组;并且与 A、B 组相比,C、D 组肾组织 SOD 水平偏低、MDA 水平偏高;与 D 组相比,C 组肾组织 SOD 水平偏低、MDA 水平偏高(均 $P < 0.05$),而 A、B 组大鼠间相关数据差异无统计学意义。这些发现提示,在病理条件下,蓝光可能通过脑-肾轴影响体内 ADH 水平,并促进氧化应激反应,从而促进肾结石的形成。这一观察结果与既往关于 ADH 和氧化应激在肾结石形成中作用的研究结论相吻合^[12,22]。本研究进一步分析显示,尽管 A、B 组大鼠相关数据间差异无统计学意义,但 B 组大鼠血清 ADH、尿 Ca^{2+} 、尿 Oxa、肾组织 MDA 水平均高于 A 组,这表明在生理条件下,蓝光照射可能并不直接导致结石的生成,但可能是结石生长的潜在促进因素。这一发现为深入理解蓝光对肾结石形成的影响提供了新视角,即在正常生理条件下,也应关注蓝光照射可能带来的潜在风险,尤其是在当今科技快速发展、人们普遍长期面对蓝光照射的背景下。

本研究虽然初步揭示了脑-肾轴在肾结石形成中的可能作用,但仍存在一定的局限性。首先,实验样本量相对不足。其次,本研究并未深入探讨脑-肾轴在肾结石发病过程中的具体作用机制,以及蓝光如何通过脑-肾轴发挥作用。综上所述,本研究初步证实了脑-肾轴在肾结石形成中可能发挥的作用,为后续深入研究其机制奠定了基础。

作者贡献:方道成参与实验设计、实施研究、采集数据、撰写文章;谢莉铃、全霖杰参与采集数据;张奎参与实验设计、分析数据、批阅文章;温晖参与实验设计、技术支持。

参考文献:

- [1] ZENG G, MAI Z, XIA S, et al. Prevalence of kidney stones in China: an ultrasonography based cross-sectional study[J]. BJU Int, 2017, 120(1): 109-116.
- [2] SOROKIN I, PEARLE MS. Medical therapy for nephrolithiasis: state of the art[J]. Asian J Urol, 2018, 5(4): 243-255.
- [3] WAGNER CA. Etiopathogenic factors of urolithiasis[J]. Arch Esp Urol, 2021, 74(1): 16-23.
- [4] 方道成, 陈立新, 胡媛媛. 肥胖与肾结石的研究进展[J]. 现代泌尿外科杂志, 2021, 26(4): 356-359.
- [5] 方道成, 胡媛媛. 钙和维生素 D 与肾结石形成关系的研究进展[J]. 中华腔镜泌尿外科杂志(电子版), 2023, 17(6): 653-656.
- [6] YANG T, RICHARDS EM, PEPINE CJ, et al. The gut microbiota and the brain-gut-kidney axis in hypertension and chronic kidney disease[J]. Nat Rev Nephrol, 2018, 14(7): 442-456.
- [7] 达静静, 查艳. 慢性肾脏病营养代谢中的脑-肾对话[J]. 中国实用内科杂志, 2019, 39(11): 937-940.
- [8] JOHNS EJ, KOPP UC, DIBONA GF. Neural control of renal function[J]. Compr Physiol, 2011, 1(2): 731-767.
- [9] OSBORN JW, TYSHYNSKY R, VULCHANOVA L. Function of renal nerves in kidney physiology and pathophysiology[J]. Annu Rev Physiol, 2021, 83: 429-450.
- [10] VANDEWALLE G, MAQUET P, DIJK DJ. Light as a modulator of cognitive brain function[J]. Trends Cogn Sci, 2009, 13(10): 429-438.
- [11] ANTEMIE RG, SAMOILA OC, CLICHICI SV. Blue light-ocular and systemic damaging effects: a narrative review[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(6): 5998.
- [12] 方道成, 陈立新, 王勇, 等. N-乙酰半胱氨酸对纳米细菌致大鼠肾结石形成的影响[J]. 现代泌尿外科杂志, 2021, 26(7): 611-614.
- [13] ARITON DM, JIMENEZ-BALADO J, MAISTERRA O, et al. Diabetes, albuminuria and the kidney-brain axis[J]. J Clin Med, 2021, 10(11): 2364.
- [14] WEN S, WANG C, GONG M, et al. An overview of energy and metabolic regulation [J]. Sci China Life Sci, 2019, 62(6): 771-790.
- [15] 达静静. Klotho/Vasopressin 通过脑肾轴调节 2 型糖尿病肾病异位肾脏脂质沉积的机制研究[D]. 贵州大学, 2022.
- [16] 朱立志, 李郭锦, 田鹤, 等. 大鼠缺血性急性肾损伤对海马 CA1 区的形态学影响[J]. 天津医药, 2014(2): 164-166.
- [17] LIU CC, YAMAZAKI Y, HECKMAN MG, et al. Tau and apolipoprotein E modulate cerebrovascular tight junction integrity independent of cerebral amyloid angiopathy in Alzheimer's disease[J]. Alzheimers Dement, 2020, 16(10): 1372-1383.
- [18] GHOSHAL S. Renal and electrolyte disorders and the nervous system[J]. Continuum (Minneapolis), 2023, 29(3): 797-825.
- [19] GRONFIER C. Circadian clock and non-visual functions: the role of light in humans[J]. Biol Aujourd'hui, 2014, 208(4): 261-267.
- [20] MURE LS. Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells of the human retina[J]. Front Neurol, 2021, 12: 636330.
- [21] ZHANG Z, LIU WY, DIAO YP, et al. Superior colliculus GABAergic neurons are essential for acute dark induction of wakefulness in mice[J]. Curr Biol, 2019, 29(4): 637-644.
- [22] KAVOURAS SA, SUH HG, VALLET M, et al. Urine osmolality predicts calcium-oxalate crystallization risk in patients with recurrent urolithiasis[J]. Urolithiasis, 2021, 49(5): 399-405.

(编辑 郭楚君)

[1] ZENG G, MAI Z, XIA S, et al. Prevalence of kidney stones in Chi-