

周游, 吴茗慧, 汪雯, 等. 大鼠慢性缺血性肢体疼痛模型的探索性构建 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(4): 448-454.  
Zhou Y, Wu MH, Wang W, et al. Exploratory construction of chronic ischemic limb pain model in rats [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(4): 448-454.  
Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2021.04.004

# 大鼠慢性缺血性肢体疼痛模型的探索性构建

周游<sup>1</sup>, 吴茗慧<sup>1</sup>, 汪雯<sup>1,2</sup>, 杜俊英<sup>1</sup>, 邵晓梅<sup>1</sup>, 蒋永亮<sup>1</sup>, 刘伯一<sup>1</sup>, 梁宜<sup>1,3\*</sup>, 方剑乔<sup>1,3</sup>

(1. 浙江中医药大学第三临床医学院针灸神经生物学实验室 浙江省针灸神经病学重点实验室, 杭州 310053;  
2. 衢州市中医医院, 浙江 衢州 324202; 3. 浙江中医药大学附属第三医院针灸科, 杭州 310053)

**【摘要】** 目的 通过测定大鼠机械痛阈(paw withdrawal thresholds, PWTs)、足跖肿胀程度(paw thickness)、足跖部皮温(paw skin temperature)以及足跖部局部血流情况(paw blood flow), 探索一种简便、可靠的大鼠慢性缺血性肢体疼痛模型的构建方法。**方法** 将16只SD大鼠完全随机分为假模型组(sham CILP组,  $n=8$ )和慢性缺血性肢体疼痛模型组(CILP组,  $n=8$ )。慢性缺血性肢体疼痛模型组采用O型圈下肢近膝关节处小压力值缓慢加压, 加压强度为1.2~2.2 N, 加压每日1次, 一次加压30~40 min, 连续3周造模。检测两组大鼠对患侧于造模前, 加压后6、13、20 d的PWTs以及足跖部肿胀程度、皮温和局部血流情况。**结果** 造模20 d完成加压后, CILP组大鼠患侧对侧PWTs均显著低于同期假模型组( $P < 0.01$ ); CILP组大鼠患侧足跖部厚度均显著高于同期假模型组和同期对侧( $P < 0.01$ ); CILP大鼠患侧足跖皮温加压后显著低于同期假模型组( $P < 0.01$ ); CILP大鼠对患侧足跖平均血流量均显著低于同期假模型组( $P < 0.01$ )。**结论** 在大鼠下肢处通过长时间缓慢加压, 能够有效造成慢性缺血性肢体疼痛的情况, 从而建立大鼠慢性缺血性疼痛模型。

**【关键词】** 动物模型; 慢性缺血性疼痛; 足跖血流; 足跖皮温; 足跖厚度; 机械痛阈

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021)04-0448-07

## Exploratory construction of chronic ischemic limb pain model in rats

ZHOU You<sup>1</sup>, WU Minghui<sup>1</sup>, WANG Wen<sup>1,2</sup>, DU Junying<sup>1</sup>, SHAO Xiaomei<sup>1</sup>, JIANG Yongliang<sup>1</sup>, LIU Boyi<sup>1</sup>,  
LIANG Yi<sup>1,3\*</sup>, FANG Jianqiao<sup>1,3</sup>

(1. Department of Neurobiology and Acupuncture Research, the Third Clinical Medical College, Zhejiang Chinese Medical University, Key Laboratory of Acupuncture and Neurology of Zhejiang Province, Hangzhou 310053, China. 2. Quzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Quzhou 324202. 3. Department of Acupuncture and Moxibustion, Third Affiliated Hospital of Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053)

Corresponding author: LIANG Yi. E-mail: liangyiwww@zcmu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** By measuring paw withdrawal thresholds (PWTs), paw thickness, paw skin temperature, and paw blood flow in rats, we explored a simple and reliable method for constructing a chronic ischemic limb pain model in rats. **Methods** Sixteen rats were randomly divided into a sham chronic ischemic limb pain group (sham CILP group,  $n=8$ ) and a chronic ischemic limb pain group (CILP group,  $n=8$ ). The chronic ischemic pain model group used O-ring lower limbs near the knee joint to slowly pressurize the limb. The compression intensity was 1.2~2.2 N, with compression performed once a day as well as once a week for 30~40 min for 3 consecutive weeks. The PWTs and degree of swelling, skin temperature, and local blood flow of the two groups of rats before and after modeling were measured at 6, 13 and 20 days after compression. **Results** After 20 days of modeling, the ipsilateral and contralateral PWTs of the CILP group were

**【基金项目】** 国家自然科学基金(81674061), 浙江省自然科学基金(LY19H270010)。

Funded by the National Natural Science Foundation(81674061), the Natural Science Foundation of Zhejiang Province(LY19H270010)。

**【作者简介】** 周游(1994—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 针刺镇痛研究。Email: zhouyou0955@163.com

**【通信作者】** 梁宜(1980—), 女, 博士, 研究员、主任中医师, 研究方向: 针灸镇痛和免疫调节的基础和临床研究。

Email: liangyiwww@zcmu.edu.cn

significantly lower than those of the sham CILP group ( $P < 0.01$ ). The ipsilateral paw thickness of the CILP group was significantly thicker than that in the same period in the sham CILP group as well as the contralateral paw thickness of the CILP group ( $P < 0.01$ ) over the same period. Furthermore, the ipsilateral skin temperature of the CILP group was significantly lower than that of the sham CILP group ( $P < 0.01$ ). In addition, the average ipsilateral blood flow of the CILP group was significantly lower than that of the sham CILP group during the same period ( $P < 0.01$ ). **Conclusions** Long-term low pressure in the lower limbs of rats can effectively cause chronic ischemic limb pain, as demonstrated by the establishment of a rat model of chronic ischemic limb pain.

**[Keywords]** animal model; chronic ischemic pain; paw blood flow; paw skin temperature; paw thickness; paw withdrawal thresholds

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

严重肢体缺血 (chronic critical limb ischemia, CLI) 代表周围血管闭塞性疾病 (peripheral arterial occlusive disease, PAOD) 的最后阶段, 其特征为难以治愈性疼痛和组织坏死, 出现缺血性休息疼痛、溃疡或坏疽, 伴随动脉供血不足的血液动力学依据<sup>[1-2]</sup>。CLI 的发病率占成年美国人口 1.3% ~ 2.3%, 随着人口老龄化的增加呈逐年增长趋势。在没有成功进行血运重建的情况下, 多达 40% 的患者需要截肢, 年死亡率超过 20%<sup>[3]</sup>。CLI 存在高发病率和死亡率高, 预后较差, 并且患者往往需要长期忍受疾病伴随的缺血性休息疼痛, 严重影响患者的生存质量<sup>[4]</sup>。目前针对此项肢体性缺血的相关研究, 更多将目光放在了血管性疾病如动脉粥样硬化等疾病的预防和治疗上, 而忽略了 CLI 引起的缺血性肢体疼痛这一症状, 因此需要有更多针对缺血性肢体疼痛这一症状的关注。

选择恰当的肢体缺血性模型开展研究, 是推动肢体缺血发展机制研究和创新治疗手段过程中必不可少的重要环节。目前现有模型存在明显不足, 针对慢性缺血性疼痛这一疼痛类疾病尚未有较好的动物造模方法。现有缺血类动物模型侧重于关注血管损伤带来的疾病状态, 而非慢性缺血引起的疼痛状态, 存在与临床疾病不符以及手术带来额外损伤等问题。因此, 本研究使用 O 型圈通过将 SD 大鼠下肢近膝关节处小压力值缓慢加压, 观察患侧大鼠足跖 PWTs、足跖厚度、足跖皮温和足跖局部血流情况等指标, 以期探索一种新型的慢性缺血性肢体疼痛模型, 便于后续研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

16 只 6 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠, 体重 ( $180 \pm$

20) g。购自中国科学院上海实验动物中心【SCXK (沪) 2018-0006】, 由浙江中医药大学实验动物中心饲养【SYXK (浙) 2018-0012】。饲养期间给予啮齿类动物标准颗粒饲料 (由实验动物中心提供) 及自由饮水, 12 h 循环灯光, 恒定湿度, 室温 ( $23 \pm 2$ ) °C。本实验所有操作均符合中华人民共和国《实验动物管理调条例》, 本实验所有操作均符合浙江中医药大学实验动物管理与伦理委员会实验伦理学要求 (伦理审批号: IACUC-20190715-03)。

#### 1.1.2 主要试剂与仪器

异氟烷 (生产厂家: 鲁南贝特制药有限公司; 批号: 64170901)。RFP-WX1801 压力测量仪 (生产厂家: 宇博智能科技有限公司; 型号: 601, 量程: 005 N); 薄膜压力感应器 (型号: RFP-601, 量程 500 g); 激光多普勒血流灌注成像仪 (生产厂家: 帕瑞医疗科技有限公司; 型号: 1100047s); 医用红外体温计 (生产厂家: 速尔康有限公司; 型号: PC868); 游标卡尺 (生产厂家: 上海美耐特实业有限公司; 型号: MNT-150); 麻醉剂空气泵 (生产厂家: 瑞沃德有限公司; 型号: C9M01-002); 氧气流量计 (生产厂家: 瑞沃德有限公司; 型号: C5D01-062); 橡皮圈 1.2 N 型 (内径 10 mm, 宽度 5 mm)、橡皮圈 2.2 N 型 (内径 12 mm, 宽度 5 mm)。

## 1.2 方法

### 1.2.1 模型制备

慢性缺血性肢体疼痛 (chronic ischemia-induced limb pain, CILP) 大鼠模型制备方法为: 如图 1 所示, 清醒状态下, 实验大鼠用布套固定, 将橡皮圈套于大鼠左后肢股部, 橡皮圈下缘距离膝关节约 1 cm 处作为固定施加压力点 (局部备皮后, 用记号笔标记固定点)。按照表 1 所列具体参数施以加压处理模拟人体肢端慢性缺血。



图 1 大鼠加压和压力测定示意图

Figure 1 Schematic diagram of rat pressurization and pressure measurement

表 1 大鼠 CILP 造模参数设置表

Table 1 Rat CILP model parameter setting table

造模时间段 Modeling time period	压力值(N) Pressure value (N)	单次加压时间(min) Once band time (min)	频次* Frequency*
1 ~ 6 d	1.2 ± 0.2	30	每天 1 次
8 ~ 13 d	1.2 ± 0.2	30	每天 1 次
15 ~ 20 d	2.2 ± 0.2	40	每天 1 次

注: \* 表示于每日 9:00 ~ 11:00 时间段进行加压。

Note. \* Shows pressurize at 9:00 ~ 11:00 daily.

### 1.2.2 分组处理

将 CILP 组给予相应造模处理;假模型组仅使用橡皮圈(做剪断处理)疏松地系于相同部位,其余处理与 CILP 组相同。

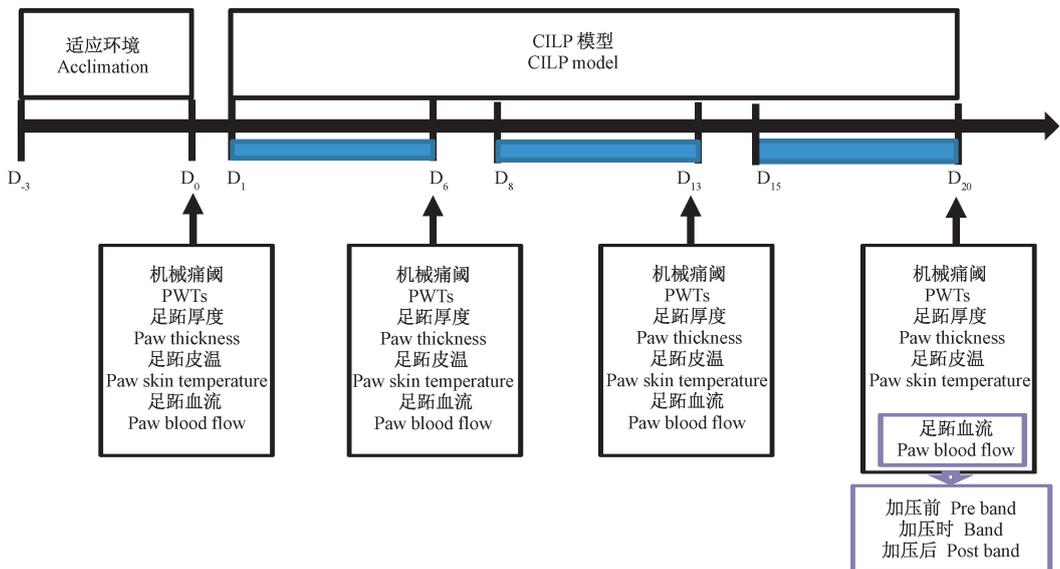
### 1.2.3 指标检测

主要检测实验大鼠足跖 PWTs、足跖厚度、足跖

皮温和足跖局部血流情况,具体检测时间点见实验流程图(见图 2)。

(1)PWTs 检测:分别于造模前,加压后  $D_8$ 、 $D_{13}$ 、 $D_{20}$  四个时间点测定双侧足跖的 PWTs,于解除橡皮圈束缚 2 h 后在 30 min 内完成 PWTs 测定。正式测定前将大鼠置于铁丝网上的透明有机玻璃箱内(20 cm × 20 cm × 15 cm),使其适应环境 30 min。待大鼠停止梳理毛发和探索性活动,选用不同 Von Frey 丝(0.4、0.6、1、2、4、6、8、15、26 g)垂直刺激大鼠右后足底中部,向大鼠足垫施加压力至 Von Frey 丝轻微弯曲并持续 5 s。若大鼠出现缩腿或舔足反应则为阳性反应,记为“X”并给予相邻小一级力度的刺激。当该力度的 von Frey 纤维刺激不能引起阳性反应时,则记为“O”并给予相邻大一级力度的纤维刺激,每次刺激间隔 30 s。由此可得到一串以“O”或“X”组合的序列,并使用 Chaplan 等<sup>[5]</sup>描述的方法进行计算。若计算得出 50% PWTs > 26.0 g 或 < 0.4 g,仍以 26.0 g 或 0.4 g 作为最大或最小值。有待注意的是,本次实验检测 PWTs 时间点为加压后 2 h。经由前期预实验结果表明,加压后短时间内如 0.5 h,大鼠足跖部检测效果不佳,虽大鼠足跖部出现明显黑紫肿胀,却未有检测到痛阈下降,猜测可能是短时间内大鼠由于足跖部疼痛过度而导致对 Von frey 丝的刺激未有反应,故将检测时间点更改为加压后 2 h。

(2)足跖厚度:分别于造模前,加压后  $D_6$ 、 $D_{13}$ 、 $D_{20}$  四个时间点测定双侧足跖的厚度值。橡皮圈束



注:图中蓝色区域指代时间点代表加压。

图 2 实验流程图

Note. Blue area in the figure refers to the band time period.

Figure 2 Experimental flowchart

缚结束 1 h 内完成足跖厚度测定。在 25℃ 的安静环境中,将大鼠置于布套内候其安静,检测者固定大鼠腿部使其充分暴露足跖部,使用游标卡尺读取大鼠患侧足跖部厚度(足背高点与足底的垂直高度),连续取 3 次测量值的均值记为该足跖部厚度。

(3) 足跖皮温:分别于造模前,加压后  $D_6$ 、 $D_{13}$ 、 $D_{20}$  四个时间点测定双侧足跖的皮温值,橡皮圈束缚结束 30 min 内完成足跖部皮温测定。在 25℃ 的安静环境中,将大鼠置于布套内候其安静,检测者固定大鼠腿部使其充分暴露足跖部,以红外线温度计连续 3 次测定大鼠患对侧足底的皮温,取 3 次数值的平均值作为该侧足底皮温。

(4) 足跖血流:分别于造模前,加压后  $D_6$ 、 $D_{13}$ 、 $D_{20}$  四个时间点观测记录双侧血流情况,观测经过 3 周缓慢加压后,CILP 组和 sham CILP 组两组大鼠患对侧足跖部血流情况;并且于造模  $D_{20}$  再行检测加压前、加压时、加压后 CILP 组和 sham CILP 组患对侧血流情况,即加压前后血流情况示意图。橡皮圈束缚结束 30 min 内完成多普勒测定。将待测大鼠于麻醉状态下进行局部血流血流检测,采用异氟烷(输出浓度为 2%)以 500 mL/min 氧气流量进行低流量吸入麻醉。打开激光多普勒血流灌注成像仪,使用 PIM Soft 软件,镜下找到合适监测点来观测患对侧的足跖部血流,记录 1 min 内大鼠患对侧足跖部的平均血流灌注量。

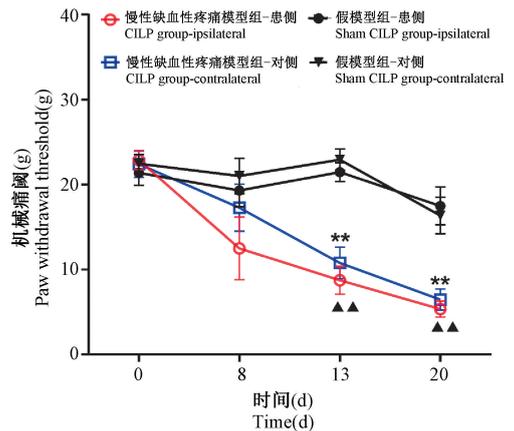
### 1.3 统计学分析

本研究中所有数据采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。符合正态分布的数据采用平均值  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,不满足正态分布则采用中位数表示( $P_{25}$ ,  $P_{75}$ )。采用独立样本  $t$  检验、重复测量方差分析(正态分布)或秩和检验(非正态分布)进行比较,以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠痛阈变化情况

加压前( $D_0$ ),两组大鼠对、患侧足跖 PWTs 均无明显差异。加压后 13、20 d,CILP 大鼠患侧足跖 PWTs 均显著低于同期假模型组( $P < 0.01$ );CILP 大鼠对侧足跖 PWTs 在加压后 13、20 d 时低于同期假模型组大鼠( $P < 0.01$ )结果提示单侧加压导致的慢性缺血性肢体疼痛可诱发双侧肢体出现疼痛,患侧呈现出渐进性疼痛,对侧呈现出与患侧同步疼痛(见图 3)。



注:与对侧假模型组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与患侧假模型组比较,▲ $P < 0.05$ ,▲▲ $P < 0.01$ 。(下图同)

图 3 各组大鼠不同时间点 PWTs 变化情况

Note. Compared with the contralateral sham CILP group, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ . Compared with the ipsilateral sham CILP group, ▲ $P < 0.05$ , ▲▲ $P < 0.01$ . (The same in the following figures)

Figure 3 Changes of PWTs at different time points in each group of rats

### 2.2 各组大鼠足跖厚度变化情况

加压前( $D_0$ )、加压后 6 d( $D_6$ ) 两组大鼠双侧足跖部厚度均无明显差异。加压后 13、20 d 后,CILP 大鼠患侧足跖部厚度均显著高于同期假模型组和同期对侧(均  $P < 0.01$ )。CILP 大鼠对侧足跖部厚度出现轻度增厚,在加压后 13、20 d 时低于同期假模型组大鼠( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )(见图 4)。

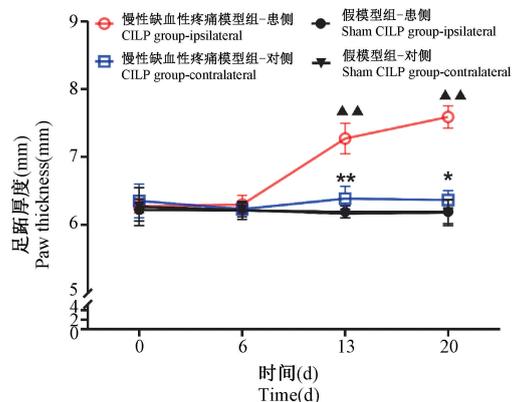


图 4 各组大鼠不同时间点足跖部厚度变化情况

Figure 4 Changes of paw thickness at different time points in each group of rats

### 2.3 各组大鼠足跖皮温变化情况

加压前( $D_0$ ),两组大鼠双侧足跖皮温均无明显差异。CILP 大鼠患侧足跖皮温加压后 6、20 d 时均显著低于同期假模型组( $P < 0.01$ ),对侧足跖皮温

在  $D_{13}$  时有一过性升高 ( $P < 0.01$ )。而且 CILP 组大鼠加压后 6、13、20 d 患侧足跖部皮温明显低于同期对侧 ( $P < 0.01$ ) (见图 5)。

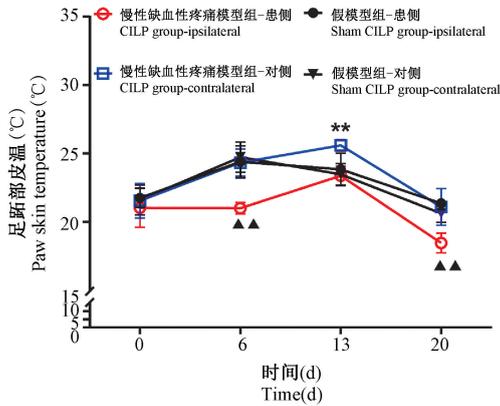


图 5 各组大鼠不同时间点足跖皮温变化情况

Figure 5 Changes of paw skin temperature at different time points in each group of rats

#### 2.4 各组大鼠足跖血流变化情况

于橡皮圈束缚结束 30 min 内行多普勒检测。加压前 ( $D_0$ ), 两组大鼠双侧足跖平均血流量无差异。加压后 20 d, CILP 大鼠对侧和患侧足跖平均血流量均显著低于同期假模型组 ( $P < 0.01$ ) (见图 6)。

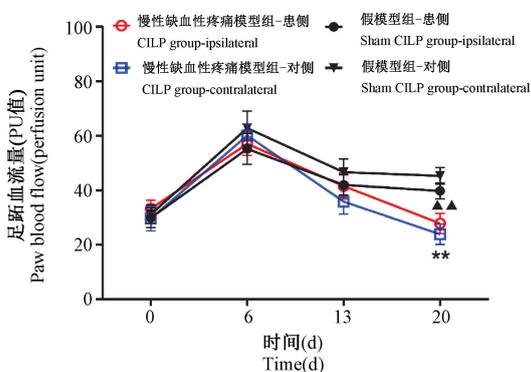


图 6 各组大鼠不同时间点足跖血流灌注量变化情况

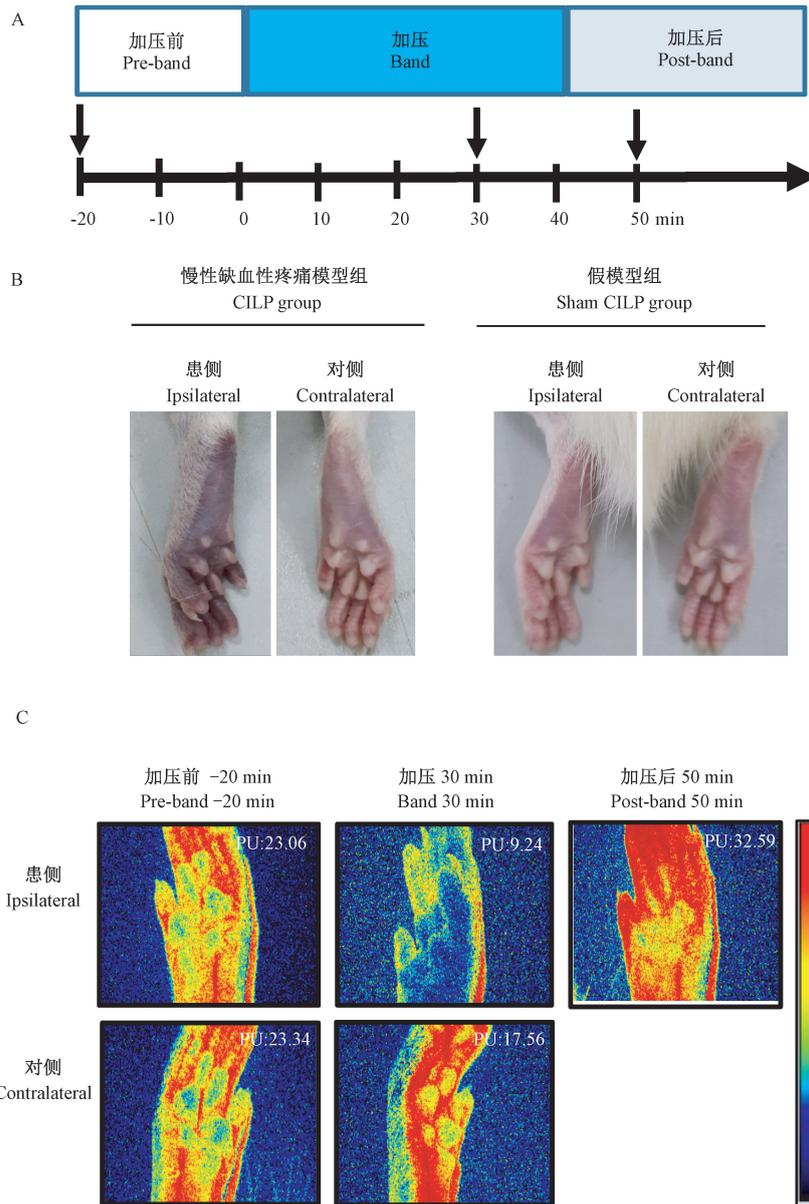
Figure 6 Changes of paw blood perfusion unit at different time points in each group of rats

进一步观察了大鼠在橡皮圈加压(束缚期)、加压后(束缚后)不同时点的足跖平均血流量变化情况,结果如图 7 所示,加压 30 min 时患侧足跖平均血流量明显减小呈低灌注状态,肉眼可见足跖呈现瘀血状。加压后 10 min,大鼠患侧足跖平均血流量呈现短暂的充盈,提示患侧肢体于加压后存在缺血再灌注现象。

### 3 讨论

肢体缺血性模型是研究严重肢体缺血甚至外周动脉疾病的基础,能够模拟临床肢体缺血疾病的症状和体征,为肢体缺血疾病的研究提供科学依据。由于严重肢体缺血发病机制复杂、多样,因此需要各种具有临床针对性的理想的肢体缺血动物模型。在现有的动物模型中,制备方法上存在动脉结扎法、动脉期收缩法、骨折后固定法、诱导血管栓塞法以及加压止血带法,方法上较为多样,尚未有统一论。

模型中存在手术制备的模型为动静脉结扎法<sup>[6-7]</sup>、动脉收缩器法<sup>[8-9]</sup>,以及骨折后固定法<sup>[10]</sup>,造模过程中手术创伤较大,具有人为因素以及造成二次损伤;诱导血管栓塞法则包括通过经皮耳廓动脉等使用大颗粒混合物注射以进行远端肢体血管的大颗粒致血管栓塞法<sup>[11]</sup>,以及使用氯化亚铁诱导法<sup>[12]</sup>导致特定动脉的缺铁性缺血,均存在大颗粒制备操作复杂、注射剂量不可控的问题,目前相关后续研究较少。现有研究较多采用的模型制备为加压止血带法,包括 O 型圈止血带法<sup>[13]</sup>以及可控压力止血带法<sup>[14-16]</sup>。前者为麻醉情况下,将止血带(紧密贴合的 O 形环)放置在麻醉大鼠的单侧下肢靠近踝关节处 3 h,之后将其移除使之再灌注。在再灌注后 2 ~ 4 h 后,大鼠表现出缺血性后爪的充血和水肿/血浆外渗<sup>[13]</sup>。由于该模型涉及到多种疼痛如神经病理性疼痛、炎性痛等,其余常见研究方向为复杂性区域疼痛的相关机制,也有用于缺血预处理的相关机制研究。Hu 等<sup>[17]</sup>采用机械痛、热痛等痛行为学方法进行评价该模型的缺血性疼痛程度。但是考虑到该类缺血再灌造成的缺血性疼痛于临床上少见,多为模拟临床上外科手术长时间使用止血带造成的缺血再灌注情况,尚存在改进空间。此外,类似止血带的应用上加入了可控压力这一概念,即可控压力止血带法。Bonheur 等<sup>[14]</sup>最早使用环状橡皮筋在小鼠的大腿近端施加分级的周向张力,通过转动绞盘将止血带的张力增加到 0.2 kg 会引起缺血。通过释放止血带上的张力来启动再灌注。Drysck 等<sup>[15]</sup>研究表明,为了诱导局部缺血,将止血带缠绕在小鼠后肢上,使用 0.6 N 的力引起血管闭塞。可控压力止血带法均为利用压力感应器械的非手术侵入法,可较为精准模拟不同压力下的缺血情况。值得注意的是,所选用实验动物不同以及达到血流阻塞的效果不同,应选用的压力值也有



注:A:实验流程图;B:大鼠足跖部代表图;C: CILP 大鼠足跖部多普勒代表图。

图 7 不同时间点大鼠足跖部代表图

Note. A. Experimental flowchart. B. Representative images of rat paw. C. Doppler representative images of CILP rat paw.

Figure 7 Representative images of rat paw at different time points

所区别。李飞等<sup>[16]</sup>发现,使用该法在血管吊带两端施加 3.3 N 的压力值,可在 8 ~ 10 周 SD 大鼠上建立后肢缺血处理模型,达到后肢完全缺血的效果。在此研究基础上,本研究基于非手术制备以及贴合临床的考虑,采用改良版加压止血带法,本研究使用 O 型圈将 SD 大鼠下肢近膝关节处小压力值(1.2 ~ 2.2 N)缓慢加压,以期更贴合临床上缺血性疼痛的产生状况。

上述模型中,针对血管性疾病如血管栓塞<sup>[18]</sup>及动脉粥样硬化<sup>[19]</sup>等疾病有较为完备的研究,而对于严重肢体缺血引起的难治性疼痛,则相关模型较

少,目前较为公认的为 CPIP (chronic post-ischemia pain, CPIP) 模型,也是研究复杂区域疼痛综合症 (complex regional pain syndrome-Type I, CRPS-I) 的常用动物模型<sup>[13]</sup>。该类疼痛模型在方法上也属于 O 型圈止血带加压法,但是制备过程中存在肢体完全性急性缺血 3 ~ 4 h 后再灌注的情况,与临床上常见的缺血性疼痛的成因有所不同,对临床慢性缺血性疼痛指导意义稍有欠缺,因此需要研究更为贴合临床中慢性以及下肢非完全性缺血症状的模型。本研究可显示出慢性缺血性下肢疼痛类疾病中持续性疼痛、肢端冰冷、局部肿胀以及血流量降低等

特点<sup>[20]</sup>:造模 20 d 完成加压后,CILP 组大鼠患对侧 PWTs 显著降低,模后大鼠出现患侧肢体疼痛,伴有对侧肢体一过性疼痛;CPIP 组大鼠患侧足跖部厚度均显著增高,模后患侧足跖皮温降低、对患侧足跖平均血流量均显著低于同期,可较好模拟临床慢性缺血性疼痛。值得注意的是,在加压 13、20 d,CILP 组大鼠对侧 PWTs 均显示出下降趋势,出现这一现象的或与镜像痛(mirror-image pain, MIP)的产生机制类似。在许多神经病性疼痛(neuropathic pain, NPP)的实验动物模型中报告了由周围神经损伤引起的镜像痛<sup>[21]</sup>,例如慢性坐骨神经压迫损伤模型(chronic constriction injury, CCI),脊神经结扎模型(spinal nerve ligation, SNL)和坐骨神经分支损伤模型(spared nerve injury, SNI)。据临床报道,5%患有复杂区域疼痛综合症的患者观察到双侧肢体的疼痛症状<sup>[21]</sup>。因此,认为本研究中出现该种现象在一定程度上还原了临床。

综上所述,对大鼠进行长时间后肢小压力值缓慢加压可成功建立模型,能够广泛应用于严重肢体缺血类慢性下肢缺血性疼痛类疾病,对严重下肢缺血等疾病有重要应用价值。诚然本模型构建中也存在造模时间长、尚未有后续相关研究等问题,仍处于模型研究的探索性阶段,期待随着对大鼠慢性缺血性肢体疼痛模型的研究不断深入,能有更贴合临床更利于后续研究的动物模型成功研制。

#### 参 考 文 献(References)

- [ 1 ] Rutherford RB, Baker JD, Ernst C, et al. Recommended standards for reports dealing with lower extremity ischemia; revised version [J]. *J Vasc Surg*, 1997, 26(3): 517-538.
- [ 2 ] Farber A. Chronic limb-threatening ischemia [J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(2): 171-180.
- [ 3 ] Becker F, Robert EH, Ricco JB, et al. Chapter I: definitions, epidemiology, clinical presentation and prognosis [J]. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2011, 42: 4-12.
- [ 4 ] Clair D, Shah S, Weber J. Current state of diagnosis and management of critical limb ischemia [J]. *Curr Cardiol Rep*, 2012, 14(2): 160-170.
- [ 5 ] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw [J]. *J Neurosci Methods*, 1994, 53(1): 55-63.
- [ 6 ] Nicholson CD. Experimental models of chronic lower extremity arterial occlusive disease: lessons for drug development [J]. *Vasc Med*, 1996, 1(1): 43-49.
- [ 7 ] Paek R, Chang DS, Brevetti LS, et al. Correlation of a simple direct measurement of muscle po2 to a clinical ischemia index and histology in a rat model of chronic severe hindlimb ischemia [J]. *J Vasc Surg*, 2002, 36(1): 172-179.
- [ 8 ] Yu J, Dardik A. A murine model of hind limb ischemia to study angiogenesis and arteriogenesis [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1717: 135-143.
- [ 9 ] Liddell RP, Patel TH, Weiss CR, et al. Endovascular model of rabbit hindlimb ischemia: A platform to evaluate therapeutic angiogenesis [J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2005, 16(7): 991-998.
- [ 10 ] Guo TZ, Offley SC, Boyd EA, et al. Substance p signaling contributes to the vascular and nociceptive abnormalities observed in a tibial fracture rat model of complex regional pain syndrome type I [J]. *Pain*, 2004, 108(1-2): 95-107.
- [ 11 ] Del Giudice C, Ifergan G, Goudot G, et al. Evaluation of a new model of hind limb ischemia in rabbits [J]. *J Vasc Surg*, 2018, 68(3): 849-857.
- [ 12 ] Kwon SG, Roh DH, Yoon SY, et al. Acid evoked thermal hyperalgesia involves peripheral P2Y1 receptor mediated TRPV1 phosphorylation in a rodent model of thrombus induced ischemic pain [J]. *Mol Pain*, 2014, 10(1): 2.
- [ 13 ] Coderre TJ, Xanthos DN, Francis L, et al. Chronic post-ischemia pain (cpip): A novel animal model of complex regional pain syndrome-type I (crps-I; reflex sympathetic dystrophy) produced by prolonged hindpaw ischemia and reperfusion in the rat [J]. *Pain*, 2004, 112(1-2): 94-105.
- [ 14 ] Bonheur JA, Albadawi H, Patton GM, et al. A noninvasive murine model of hind limb ischemia-reperfusion injury [J]. *J Surg Res*, 2004, 116(1): 55-63.
- [ 15 ] Drysch M, Wallner C, Schmidt SV, et al. An optimized low-pressure tourniquet murine hind limb ischemia reperfusion model: Inducing acute ischemia reperfusion injury in C57BL/6 wild type mice [J]. *PLoS One*, 2019, 14(1): e0210961.
- [ 16 ] 李飞, 皮艳娜, 赵阳, 等. 一种大鼠肢体缺血预处理模型的建立 [J]. *中华显微外科杂志*, 2016, 39(3): 276-278.  
Li F, Pi YN, Zhao Y, et al. Establishment of a rat limb ischemic preconditioning model [J]. *Chin J Microsurg*, 2016, 39(3): 276-278.
- [ 17 ] Hu Q, Zheng X, Li X, et al. Electroacupuncture alleviates mechanical allodynia in a rat model of complex regional pain syndrome type-I via suppressing spinal CXCL12/CXCR4 signaling [J]. *J Pain*, 2020, 21(9-10): 1060-1074.
- [ 18 ] Westvik TS, Fitzgerald TN, Muto A, et al. Limb ischemia after iliac ligation in aged mice stimulates angiogenesis without arteriogenesis [J]. *J Vasc Surg*, 2009, 49(2): 464-473.
- [ 19 ] Long CA, Timmins LH, Koutakis P, et al. An endovascular model of ischemic myopathy from peripheral arterial disease [J]. *J Vasc Surg*, 2017, 66(3): 891-901.
- [ 20 ] Niyama H, Huang NF, Rollins MD, et al. Murine model of hindlimb ischemia [J]. *J Vis Exp*, 2009, 23(23): 1035.
- [ 21 ] Huang D, Yu B. The mirror-image pain: an unclered phenomenon and its possible mechanism [J]. *Biobehav Rev*, 2010, 34(4): 528-532.