

范正媛,李亚,李素云,等. 慢性阻塞性肺疾病合并慢性肾病大鼠模型建立与评价 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(10): 1271-1277.

Fan ZY, Li Y, Li SY, et al. Model establishment and evaluation of chronic obstructive pulmonary disease complicated with chronic kidney disease in rats [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(10): 1271-1277.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.10.004

慢性阻塞性肺疾病合并慢性肾病大鼠模型建立与评价

范正媛^{1,2}, 李亚^{2,3}, 李素云^{3,4*}, 李高峰¹, 李景梅¹

(1. 河南中医药大学第一临床医学院, 郑州 450046; 2. 河南中医药大学第一附属医院中药药理(呼吸)实验室河南省呼吸病防治中医药重点实验室, 郑州 450000; 3. 河南中医药大学第一附属医院呼吸科, 郑州 450000; 4. 河南中医药大学呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 郑州 450046)

【摘要】 目的 建立与评价慢性阻塞性肺疾病(COPD)合并慢性肾病(CKD)大鼠模型。**方法** 将 40 只雌雄各半 SPF 级 SD 大鼠随机分为对照组(Control 组)、COPD 组、CKD 组、COPD 合并 CKD 模型组(COPD + CKD 组), 每组 10 只。采用香烟烟雾暴露联合细菌滴注法制备 COPD 大鼠模型, 利用腺嘌呤诱导建立 CKD 大鼠模型, 两种方法协同制备 COPD 合并 CKD 的大鼠模型, 8 周后取材检测肺、肾功能, 观察组织形态学及血清炎症因子的表达水平。**结果** 造模成功后 COPD + CKD 组大鼠肺功能指标 FVC、FEV_{0.1} 及 FEV_{0.1}/FVC 显著降低($P < 0.01$), 肺组织病理学表现为肺泡壁断裂、融合的肺气肿改变及炎细胞浸润; 血 Cr、BUN 及 24 h 尿蛋白显著升高($P < 0.01$), 肾组织病理学表现为肾小球系膜增生, 基底膜增厚, 肾小管扩张及间质纤维化, 超微结构显示肾小球毛细血管襻部分闭合, 足突融合, 肾小管线粒体融合崩解, 溶酶体增多; 血清 IL-6、IL-13、IL-1 β 和 TGF- β 1 水平显著升高($P < 0.01$), 且明显高于单一模型组($P < 0.01$)。**结论** 采用香烟烟雾暴露联合细菌感染合并 2.5%腺嘌呤诱导的方法可成功构建 COPD 合并 CKD 的大鼠模型, 炎性反应可能在 COPD 合并 CKD 过程中起关键作用。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病; 慢性肾病; 大鼠模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 10-1271-07

Model establishment and evaluation of chronic obstructive pulmonary disease complicated with chronic kidney disease in rats

FAN Zhengyuan^{1,2}, LI Ya^{2,3}, LI Suyun^{3,4*}, LI Gaofeng¹, LI Jingmei¹

(1. the First Clinic School, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China. 2. Chinese Medicine Pharmacology (Respiratory) Laboratory, Henan Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine for the Prevention and Treatment of Respiratory Diseases, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000. 3. Respiratory Department of the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000. 4. Co-Construction Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine and Respiratory Diseases by Henan & Education Ministry of China, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046)

Corresponding author: LI Suyun. E-mail: lisuyun2000@126.com

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(82074413, 82374416), 河南省科技研发计划联合基金项目(222301420081)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (82074413, 82374416), Science and Technology R&D Program Joint Fund Project of Henan Province (222301420081).

【作者简介】 范正媛(1994—), 女, 在读博士研究生, 研究方向: 中医药防治呼吸系统疾病。Email: fanzhengyuan0225@163.com

【通信作者】 李素云(1965—), 教授, 主任医师, 研究方向: 中医药防治呼吸系统疾病。Email: lisuyun2000@126.com

【Abstract】 Objective To establish and evaluate a model of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) combined with chronic kidney disease (CKD) in rats. **Methods** Forty SPF grade SD rats were randomly divided into Control group, COPD group, CKD group, and COPD combined with CKD model (COPD + CKD) group, with 10 rats in each group. The COPD rat model was prepared by cigarette smoke exposure combined with the bacterial drip method, the CKD rat model was established by adenine induction, and the COPD combined with CKD rat model was prepared by both method. **Results** After successful modeling, lung function indexes including forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in 0.1 s ($FEV_{0.1}$), and $FEV_{0.1}/FVC$ were significantly reduced in the COPD + CKD group ($P < 0.01$), and lung histopathology showed emphysematous changes with alveolar wall fracture and fusion as well as inflammatory cell infiltration. Serum Cr, BUN, and 24 h urine protein were significantly increased ($P < 0.01$). Renal histopathology showed glomerular mesentery proliferation, basement membrane thickening, tubular dilatation, and interstitial fibrosis. The ultrastructure showed that glomerular capillary loops were partially closed, foot processes were fused, renal tubule mitochondria were fused and disintegrated, and lysosome was increased. Serum IL-6, IL-13, IL-1 β , and TGF- β 1 levels were significantly increased ($P < 0.01$) and were significantly higher than those in single model groups ($P < 0.01$). **Conclusions** Cigarette smoke exposure combined with bacterial infection and 2.5% adenine induction successfully establishes a model of COPD complicated with CKD in rats, and the inflammatory response might play a major role in the process of COPD complicated with CKD.

【Keywords】 chronic obstructive pulmonary disease; chronic kidney disease; rat model

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

慢性阻塞性肺病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种进行性发展的慢性气道疾病, 由于气道和 (或) 肺泡暴露于有害颗粒或气体而导致不完全可逆的气流受限和相应的呼吸系统症状, 已成为我国和全球第三大疾病死亡原因^[1-2]。COPD 的病理生理变化不仅局限于气道和肺部, 更是一种累及全身, 具有多种合并症的系统性炎症综合征, 其中慢性肾病 (chronic kidney disease, CKD) 是 COPD 常见的并发症之一^[3-4], 发病率 6.5% ~ 26.2%^[5], 老年 COPD 患者发病率高达 31%^[6]。CKD 是一种慢性进行性肾疾病, 以肾结构和功能改变为特征, 全球患病率超过 10%, 预计 2040 年将成为全球第五大疾病死亡原因^[7-8], COPD 合并 CKD 可进一步增加患者的住院时间、死亡风险和经济负担^[9]。然而目前有关 COPD 合并 CKD 的研究多集中于临床流行病学调查, 相关的实验研究仍非常有限, 因此本研究拟建立 COPD 合并 CKD 大鼠模型, 为深入探讨其发病机制、寻求有效治疗方法提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

40 只 6 ~ 8 周龄 SPF 级 SD 健康大鼠, 体重 180 $\pm$ 20 g, 雌雄各半, 由北京斯贝福生物技术有限公司提供【SCXK (京) 2019-0010】。饲养环境湿度为

45% ~ 55%, 维持 25℃ 恒温, 每天 12 h 光照, 适应性喂养 1 周, 饲养于河南省中医药大学第一附属医院中心实验室 SPF 级动物房【SYXK (豫) 2017-0001】。本研究由河南中医药大学第一附属医院实验动物伦理委员会审查通过 (YFYDW2021002)。

1.1.2 细菌

肺炎克雷伯杆菌 (46117), 购自中国医学细菌保藏管理中心。

1.1.3 红旗渠过滤嘴香烟

购自河南中烟工业有限责任公司, 焦油量 10 mg, 烟气一氧化碳含量 12 mg, 烟碱量 1.0 mg。

1.1.4 药物

腺嘌呤 (V900471) 购自美国 Sigma 公司。

1.1.5 主要试剂与仪器

HE 染液 (CR2203235)、PAS 染液 (CR2206022)、Masson 染液 (CR2203222) 试剂盒购自武汉赛维尔生物科技有限公司。大鼠白细胞介素-6 (IL-6, E-EL-R0015c)、白细胞介素-1 β (IL-1 β , E-EL-R0012c)、白细胞介素-13 (IL-13, E-EL-R0563c)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α , E-EL-R2856c) 试剂盒购自武汉 Elabscience 公司; 转化生长因子 β 1 (TGF- β 1, KE20010) 试剂盒购自美国 Proteintech 公司。

IVC-II 型独立送风隔离笼具 (江苏冯氏实验动物设备有限公司); FinePointe™ 型 PFT 测量系统及全身体积描记系统 (美国 BUXCO 公司); URIT-1600 型全自动尿液分析仪 (桂林优利特医疗电子有限公

司);C8000 全自动生化仪(美国雅培公司);Donatello 型脱水机、Giotto 型染色机(意大利 Diapath 公司);SpectraMax i3x 型酶标仪(美国 Molecular Devices 公司);RM2245 型切片机、DM6000B 光学显微镜、全自动树脂处理机、全自动超薄切片机(德国 Leica 公司);EM-1400 型透射电子显微镜(日本 JEOL 公司);BS210S 电子天平(德国赛多利斯公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与处理

将大鼠随机分为对照组(Control 组)、慢性阻塞性肺疾病模型组(COPD 组)、慢性肾病模型组(CKD 组)、COPD 合并 CKD 模型组(COPD + CKD 组),每组各 10 只。

1.2.2 COPD 模型的制备

1 ~ 8 周,将大鼠连接熏烟箱,使箱内烟雾浓度达到 3000 ± 500 ppm,熏吸暴露 30 min,每天 2 次,同时将浓度为 6×10^8 CFU/mL 的肺炎克雷伯杆菌液滴入大鼠鼻腔,每只 0.1 mL,5 d 1 次。Control 组给与等体积的生理盐水滴鼻。

1.2.3 CKD 模型的制备

1 ~ 2 周不予处理,3 ~ 6 周给予大鼠含有 2.5%腺嘌呤的 CMC-Na 混悬液,250 mg/(kg·d)灌胃,7 ~ 8 周减为 125 mg/(kg·d)灌胃。Control 组给予等体积 0.5% CMC-Na 溶液灌胃。

1.2.4 建立 COPD 合并 CKD 模型

采用香烟暴露联合细菌感染合并腺嘌呤诱导的方法协同建立 COPD 合并 CKD 大鼠模型。1 ~ 2 周先给予香烟暴露联合细菌感染,3 ~ 8 周在此基础上进行 2.5%腺嘌呤灌胃。

1.2.5 留取血、尿、肺、肾组织标本

造模结束后,收集大鼠 24 h 尿液测定 24 h 尿蛋白;经腹主动脉取血,分离血清检测肾功能及炎症因子水平;处死动物后取肺、肾组织进行组织形态学观察。

1.2.6 肺功能检测

以 3%戊巴比妥钠麻醉大鼠(60 mg/kg,腹腔注射)后,气管插管检测大鼠用力肺活量(FVC)、第 0.1 秒用力呼气容积($FEV_{0.1}$)及 $FEV_{0.1}/FVC$ 。

1.2.7 肺组织病理学观察

将大鼠左右肺分离,结扎右主支气管,左肺连灌流系统,用 4%甲醛溶液灌注固定 20 min,脱水,固定,石蜡包埋,切片后进行 HE 染色,观察大鼠肺泡、细支气管、小血管的结构变化。

1.2.8 肾功能检测

应用全自动生化仪检测大鼠血清尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)水平。

1.2.9 肾组织病理学观察

将大鼠左肾去除包膜,取一部分组织切成 1 mm^3 小块,Gluta 固定液固定,经脱水、渗透、包埋、聚合、切片、染色后进行投射电镜观察肾组织超微结构变化(电镜图片由河南中医药大学电镜中心提供)。将剩余肾组织横切厚度为 3 mm 的组织块,固定、石蜡包埋、切片分别进行 HE、PAS 及 Masson 染色,观察大鼠肾基本病理形态、基底膜及间质纤维化改变。

1.2.10 炎症因子检测

取大鼠血清,按试剂盒说明书,ELISA 法检测血清炎症因子 IL-6、IL-1 β 、IL-13 和 TGF- β 1 水平。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件分析数据,结果以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较使用单因素方差分析,方差齐使用最小显著值法,方差不齐使用 Dunnett's T3 法,以 $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠肺功能情况

与 Control 组相比,COPD 组大鼠肺功能值显著降低($P < 0.01$)。CKD 组大鼠肺功能呈降低趋势,但与 Control 组相比无显著性差异。COPD + CKD 组大鼠肺功能显著低于 Control 组($P < 0.01$),且 $FEV_{0.1}$ 及 $FEV_{0.1}/FVC$ 显著低于 COPD 组($P < 0.01$)。见表 1。

2.2 大鼠肺组织病理变化

Control 组肺泡结构完整,大小均匀,气管管周存在少量炎性细胞。COPD 组肺泡壁断裂,肺泡腔融合,出现肺大疱,肺泡腔内及气管管周炎性细胞浸润,结合肺功能情况说明成功构建 COPD 大鼠模型。CKD 组肺泡结构较完整,但与 Control 组相比气道及肺泡内存在大量的炎性细胞。COPD + CKD 组病理改变同 COPD 组,且肺气肿、炎细胞浸润更明显,可见红细胞漏出。见图 1。

2.3 大鼠肾功能情况

与 Control 组相比,COPD 组大鼠血 Cr 及 24 h 尿蛋白定量显著升高($P < 0.05$)。CKD 组及 COPD + CKD 组大鼠血 Cr、BUN 及 24 h 尿蛋白均显著高于 Control 组($P < 0.05$),且 COPD + CKD 组大鼠血

表 1 大鼠肺功能情况($\bar{x} \pm s, n = 8 \sim 10$)

Table 1 Pulmonary function of rats($\bar{x} \pm s, n = 8 \sim 10$)			
组别 Groups	用力肺活量(mL) FVC(mL)	第 0.1 秒用力呼气容积(mL) FEV _{0.1} (mL)	FEV _{0.1} /FVC(%)
Control 组 Control group	8.19 ± 1.46	7.51 ± 1.03	92.28 ± 3.79
COPD 组 COPD group	6.07 ± 0.44 ^{aa}	4.70 ± 0.14 ^{aa}	77.66 ± 5.13 ^{aa}
CKD 组 CKD group	8.05 ± 1.70	6.77 ± 1.04	84.97 ± 5.14
COPD + CKD 组 COPD + CKD group	4.80 ± 0.71 ^{aa}	2.72 ± 0.76 ^{aabb}	57.36 ± 15.54 ^{aabb}

注:与 Control 组相比, ^{aa} $P < 0.01$;与 COPD 组相比, ^{bb} $P < 0.01$ 。(下表同)
Note. Compared with Control group, ^{aa} $P < 0.01$. Compared with COPD group, ^{bb} $P < 0.01$. (The same in the following tables)

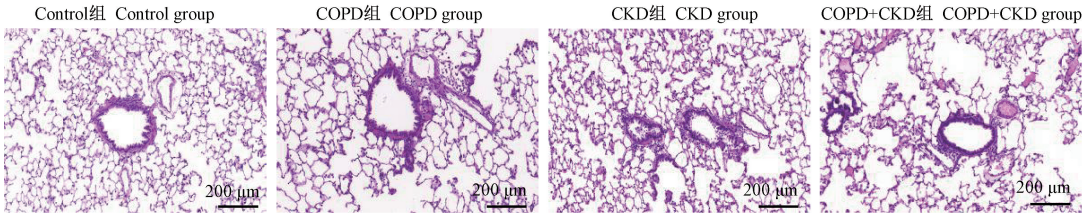


图 1 大鼠肺组织病理
Figure 1 Lung pathology of rats

Cr、BUN 及 24 h 尿蛋白水平较 COPD 组及 CKD 组均显著升高($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 大鼠肾组织病理变化

Control 组肾小球、肾小管及肾间质未见明显异常。CKD 组肾小球系膜增生,基底膜增厚,球囊腔扩张,肾小管细胞脱落坏死,管腔扩张,可见褐色结晶沉积,肾间质炎细胞浸润,纤维组织增生,结合肾功能表现说明 CKD 大鼠模型构建成功。COPD 组肾小球未见明显异常,肾小管上皮细胞排列紊乱,细胞肿胀,胞质染色不均,肾间质有纤维组织增生。COPD + CKD 组病理改变同 CKD 组,可见更明显的肾小管扩张和间质纤维化。见图 2。

2.5 大鼠肾组织超微结构改变

与 Control 组相比,COPD 组大鼠肾小球足细胞

部分足突融合,肾小管细胞间隙增大,线粒体减少。CKD 组肾小球内皮细胞增生,毛细血管襻部分闭合,基底膜厚度不均,足细胞足突融合、微绒毛化,肾小管细胞破裂,线粒体融合崩解、脊模糊减少,溶酶体增多。COPD + CKD 组超微结构改变同 CKD 组,且肾小管细胞内出现脂滴沉积。见图 3。

2.6 大鼠血清炎症因子表达

如表 3 所示,COPD 组、CKD 组及 COPD + CKD 组血清 IL-6、IL-13 和 IL-1 β 水平均显著高于 Control 组($P < 0.05$)。CKD 组及 COPD + CKD 组血清 TGF- β 1 表达均较 Control 组显著升高($P < 0.01$)。其中,COPD + CKD 组血清 IL-6、IL-13、IL-1 β 和 TGF- β 1 水平不仅高于 COPD 组,也高于 CKD 组($P < 0.01$)。

表 2 大鼠肾功能情况($\bar{x} \pm s, n = 8 \sim 10$)

Table 2 Renal function of rats($\bar{x} \pm s, n = 8 \sim 10$)			
组别 Groups	尿素氮(mmol/L) BUN(mmol/L)	肌酐(μ mol/L) Cr(μ mol/L)	24 h 尿蛋白定量(g/24 h) 24 h urine protein(g/24 h)
对照组 Control group	9.39 ± 1.73	69.85 ± 29.23	27.91 ± 6.22
COPD 组 COPD group	14.23 ± 1.02	179.50 ± 27.36 ^a	70.59 ± 14.60 ^{aa}
CKD 组 CKD group	17.40 ± 2.44 ^a	299.60 ± 47.86 ^{aa}	166.70 ± 22.95 ^{aa}
COPD + CKD 组 COPD + CKD group	32.48 ± 7.33 ^{aabccc}	577.20 ± 111.30 ^{aabccc}	194.60 ± 26.52 ^{aabbc}

注:与 Control 组相比, ^a $P < 0.05$;与 CKD 组相比, ^c $P < 0.05$, ^{cc} $P < 0.01$ 。(下表同)
Note. Compared with Control group, ^a $P < 0.05$. Compared with the CKD group, ^c $P < 0.05$, ^{cc} $P < 0.01$. (The same in the following tables)

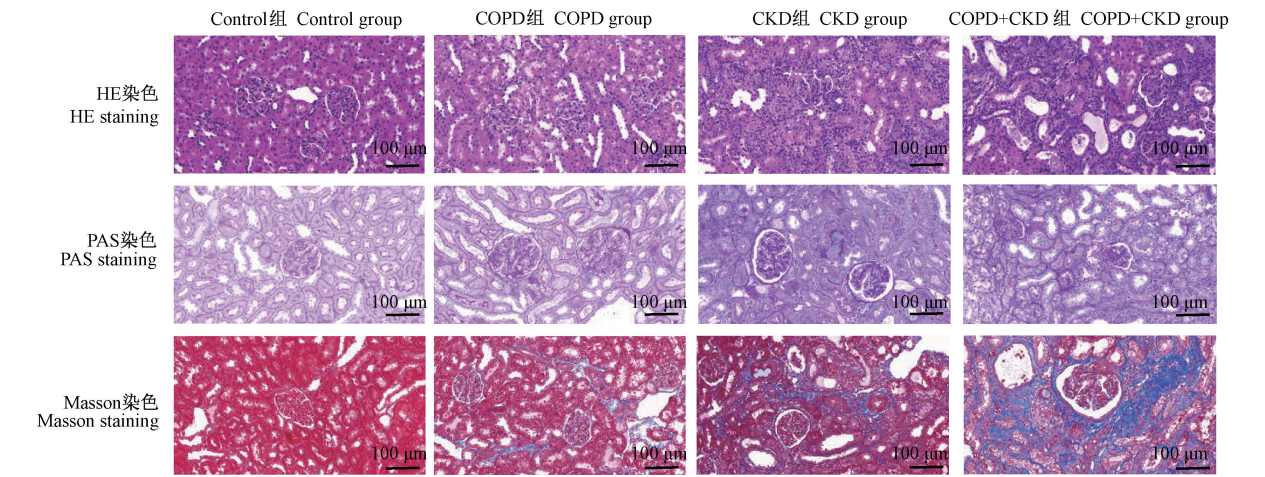


图 2 大鼠肾组织病理
Figure 2 Renal pathology of rats

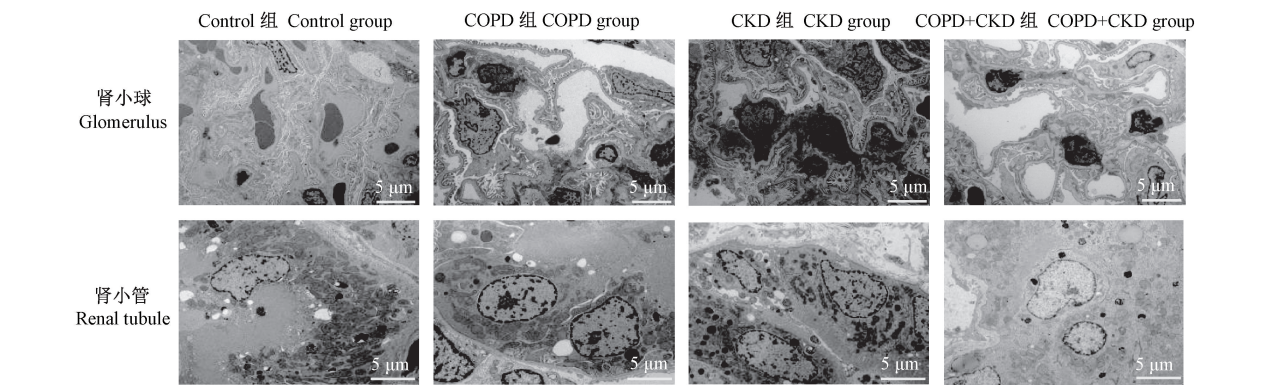


图 3 大鼠肾组织超微结构
Figure 3 Renal ultrastructure of rats

表 3 大鼠血清炎症因子表达($\bar{x} \pm s, n = 8 \sim 10$)
Table 3 Serum inflammatory factor expression of rats ($\bar{x} \pm s, n = 8 \sim 10$)

组别 Groups	白介素-6 (pg/mL) IL-6 (pg/mL)	白介素-13 (pg/mL) IL-13 (pg/mL)	白介素-1β (pg/mL) IL-1β (pg/mL)	转化生长因子-β1 (pg/mL) TGF-β1 (pg/mL)
对照组 Control group	63.06 ± 12.47	22.80 ± 2.99	5.95 ± 3.70	4.62 ± 0.58
COPD 组 COPD group	103.40 ± 13.04 ^{aa}	35.32 ± 3.22 ^a	48.34 ± 20.82 ^{aa}	11.88 ± 1.69
CKD 组 CKD group	119.90 ± 10.93 ^{aa}	47.03 ± 3.45 ^{aa}	44.41 ± 15.42 ^{aa}	22.21 ± 7.83 ^{aa}
COPD + CKD 组 COPD + CKD group	176.30 ± 21.00 ^{aabbc}	65.41 ± 15.61 ^{aabbc}	91.58 ± 16.04 ^{aabbc}	54.45 ± 8.98 ^{aabbc}

3 讨论

越来越多的研究表明,CKD 是 COPD 的重要合并症之一,由于 CKD 起病隐匿,早期常无明显临床症状,被发现时肾功能大多受损较重进入终末期,除肾替代治疗,尚无有效的措施以延缓肾功能恶化^[10],CKD 在 COPD 合并症医疗花费支出中排在首位,也加大了 COPD 的死亡风险和治疗难度^[11-12]。

因此,建立 COPD 合并 CKD 大鼠模型,对阐释 COPD 引发 CKD 的分子机制,寻求新的治疗手段至关重要。

COPD 大鼠模型分为单因素及复合因素诱导^[13],课题组前期建立的香烟暴露联合细菌鼻腔滴注的复合方法,可成功构建 COPD 大鼠模型,较单因素诱导的 COPD 模型更符合人类 COPD 的病理生理特征,且造模时间更短^[14]。本研究采用 COPD 诊断

金标准的肺功能检测结合肺病理学观察发现 COPD 大鼠模型制备成功^[15],且 COPD + CKD 组肺功能指标 $FEV_{0.1}$ 、 $FEV_{0.1}/FVC$ 显著低于 COPD 组,肺组织肺气肿及炎细胞浸润更明显。

近年来研究报道单一 COPD 模型即可引发肾损伤。张伟等^[16]以改良烟熏加气管滴注脂多糖法干预 28 d 建立 COPD 大鼠模型,发现 COPD 组大鼠尿 Cys-C 表达显著升高,肾病理表现可见肾小管上皮细胞肿胀,超微结构改变;Pabón 等^[17]以单纯香烟暴露 6 个月建立 COPD 小鼠模型,发现慢性香烟暴露导致肾小球基底膜增厚、间质胶原沉积和肾小管细胞脂质沉积。本研究结果与以上研究基本一致,COPD 组大鼠血 Cr 及 24 h 尿蛋白定量显著升高,肾小球部分足突融合,肾小管细胞肿胀,线粒体脊减少,肾间质胶原纤维增多。

CKD 的造模方法有手术干预、化学诱导等,考虑到手术操作死亡率较高、可用肾组织较少等因素,本研究采用腺嘌呤诱导建立 CKD 大鼠模型^[18]。肾功能指标 Cr、BUN、24 h 尿蛋白定量在 CKD 的临床诊断、疗效判定、动物模型构建中具有较为重要的地位^[19]。腺嘌呤可代谢生成难溶性的 2,8-二羟基腺嘌呤,在肾小管中形成晶体,增加血清 Cr 和 BUN 水平,产生蛋白尿,并诱发肾小管萎缩和间质纤维化,这与 CKD 患者的临床病理特征相似^[20],因此腺嘌呤诱导法被广泛应用于探索 CKD 发病机制和治疗靶点的研究^[21]。本研究结合肾功能及肾组织病理变化证实 CKD 大鼠模型复制成功,同时 COPD + CKD 组肾功能指标显著高于 CKD 组,肾小管扩张及间质纤维化更明显,电镜结果显示肾小管细胞内出现脂滴沉积。以上结果均证实 COPD 合并 CKD 大鼠模型制备成功。

研究表明多种病理生理机制促进 COPD 与 CKD 的关联性,其中炎症因子诱发的免疫炎症反应可能在 COPD 合并 CKD 中起到重要作用^[22]。气道上皮作为天然免疫的第一道防线,受各种外界环境刺激的影响。香烟烟雾中的有害成分、细菌等可刺激巨噬细胞、中性粒细胞和 T 细胞等多种免疫细胞高度活化,释放 IL-6、IL-1 β 等多种促炎细胞因子和趋化因子,不仅导致肺组织破坏,产生肺气肿、气流受限等肺内炎症表现^[23],还可造成全身炎症状态,引发血管生成、内源性生长因子 TGF- β 等释放、成纤维细胞募集,促进肾实质细胞损伤,诱导肾间质纤维化^[24]。据报道,CKD 患者体内 IL-6、IL-13、IL-

1 β 及 TGF- β 水平升高,且炎症状态的加重与肾功能下降呈正相关^[25-28]。同时,肾损伤后由于炎症介质的清除不足,又可进一步加重肺部疾病,研究报道 CKD 小鼠肺组织炎细胞浸润,间质纤维化,氧化应激水平升高^[29];肾缺血再灌注大鼠模型中,肺 TNF- α 水平升高,诱发肺部炎症损伤,形成肺肾串扰的恶性循环^[30]。本研究结果发现 COPD、CKD、COPD + CKD 组血清炎症因子水平均升高,联合组升高最为显著,高于单一模型组,这些结果进一步证实了炎症反应在 COPD 合并 CKD 中的关键作用。

综上,通过对大鼠肺肾功能及组织病理学的检测表明采用香烟烟雾暴露联合细菌感染合并 2.5% 腺嘌呤诱导的方法可成功构建 COPD 合并 CKD 的大鼠模型。相较于单一模型,合并模型在肺、肾功能、组织形态学、炎症指标方面表现出明显的差异,说明两种造模方法联合可进一步促进疾病进展,与临床相符合,可应用于 COPD 合并 CKD 的基础研究。但由于目前对该合并模型的相关研究尚不充分,有待进一步研究评估其稳定性和代表性。

参 考 文 献 (References)

- [1] Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of COPD. GOLD Reports [EB/OL]. [2023-05-30]. <http://www.goldcopd.org/>.
- [2] Mortality and global health estimates. WHO [EB/OL]. [2023-06-03]. <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>.
- [3] Putcha N, Drummond MB, Wise RA, et al. Comorbidities and chronic obstructive pulmonary disease: prevalence, influence on outcomes, and management [J]. *Semin Respir Crit Care Med*, 2015, 36(4): 575-591.
- [4] Kiani FZ, Ahmadi A. Prevalence of different comorbidities in chronic obstructive pulmonary disease among Shahrekord PERSIAN cohort study in southwest Iran [J]. *Sci Rep*, 2021, 11: 1548.
- [5] Recio Iglesias J, Díez-Manglano J, López García F, et al. Management of the COPD patient with comorbidities: an experts recommendation document [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2020, 15: 1015-1037.
- [6] Yoshizawa T, Okada K, Furuichi S, et al. Prevalence of chronic kidney diseases in patients with chronic obstructive pulmonary disease; assessment based on glomerular filtration rate estimated from creatinine and cystatin C levels [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2015, 10: 1283-1289.
- [7] Kalantar-Zadeh K, Jafar TH, Nitsch D, et al. Chronic kidney disease [J]. *Lancet*, 2021, 398(10302): 786-802.
- [8] GBD Chronic Kidney Disease Collaboration. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017

- [J]. *Lancet*, 2020, 395(10225): 709–733.
- [9] Gembillo G, Calimeri S, Tranchida V, et al. Lung dysfunction and chronic kidney disease: a complex network of multiple interactions [J]. *J Pers Med*, 2023, 13(2): 286.
- [10] Visconti L, Santoro D, Cernaro V, et al. Kidney-lung connections in acute and chronic diseases: current perspectives [J]. *J Nephrol*, 2016, 29(3): 341–348.
- [11] Lisspers K, Larsson K, Johansson G, et al. Economic burden of COPD in a Swedish cohort: the ARCTIC study [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2018, 13: 275–285.
- [12] Chen W, FitzGerald JM, Sin DD, et al. Excess economic burden of comorbidities in COPD: a 15-year population-based study [J]. *Eur Respir J*, 2017, 50(1): 1700393.
- [13] 张迪, 夏艺, 范丽, 等. 慢性阻塞性肺疾病大鼠模型的建立与评价 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(2): 230–235.
- Zhang D, Xia Y, Fan L, et al. Establishment and evaluation of rat models of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(2): 230–235.
- [14] Li Y, Li SY, Li JS, et al. A rat model for stable chronic obstructive pulmonary disease induced by cigarette smoke inhalation and repetitive bacterial infection [J]. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35(10): 1752–1760.
- [15] Bouwens JDM, Bischoff EWMA, In't Veen JCCM, et al. Diagnostic differentiation between asthma and COPD in primary care using lung function testing [J]. *NPJ Prim Care Respir Med*, 2022, 32(1): 32.
- [16] 张伟, 韩佳, 姚玉强, 等. 慢性阻塞性肺疾病大鼠尿 Cys-C mRNA 表达及肺肾之间的相关性探讨 [J]. *生物医学工程研究*, 2012, 31(4): 224–228.
- Zhang W, Han J, Yao YQ, et al. The expression of the cys-c mRNA of copd rats' urine and the study of correlation between lung and kidney [J]. *J Biomed Eng Res*, 2012, 31(4): 224–228.
- [17] Pabón MA, Patino E, Bhatia D, et al. Beclin-1 regulates cigarette smoke-induced kidney injury in a murine model of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *JCI Insight*, 2018, 3(18): e99592.
- [18] Diwan V, Brown L, Gobe GC. Adenine-induced chronic kidney disease in rats [J]. *Nephrology*, 2018, 23(1): 5–11.
- [19] Shuvy M, Nyska A, Beer R, et al. Histopathology and apoptosis in an animal model of reversible renal injury [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2011, 63(4): 303–306.
- [20] López-Novoa JM, Rodríguez-Peña AB, Ortiz A, et al. Etiopathology of chronic tubular, glomerular and renovascular nephropathies: clinical implications [J]. *J Transl Med*, 2011, 9: 13.
- [21] Corremans R, Neven E, Maudsley S, et al. Progression of established non-diabetic chronic kidney disease is halted by metformin treatment in rats [J]. *Kidney Int*, 2022, 101(5): 929–944.
- [22] Satta E, Alfaroni C, de Maio A, et al. Kidney and lung in pathology: mechanisms and clinical implications [J]. *Multidiscip Respir Med*, 2022, 17(2): 819.
- [23] Kumar H, Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and innate immunity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 388(4): 621–625.
- [24] Lv W, Booz GW, Wang Y, et al. Inflammation and renal fibrosis: recent developments on key signaling molecules as potential therapeutic targets [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 820: 65–76.
- [25] 姚登湖, 向海燕, 张明霞. 2 型固有淋巴细胞与肾脏病 [J]. *临床肾脏病杂志*, 2021, 21(9): 780–784.
- Yao DH, Xiang HY, Zhang MX. Type 2 innate lymphoid cell and kidney disease [J]. *J Clin Nephrol*, 2021, 21(9): 780–784.
- [26] Dai Y, Zhang W, Wen J, et al. A2B adenosine receptor-mediated induction of IL-6 promotes CKD [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(5): 890–901.
- [27] Nowak KL, Chonchol M, Ikizler TA, et al. IL-1 inhibition and vascular function in CKD [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(3): 971–980.
- [28] Soomro A, Khajehei M, Li R, et al. A therapeutic target for CKD: activin A facilitates TGFβ1 profibrotic signaling [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2023, 28(1): 10.
- [29] Nemmar A, Karaca T, Beegam S, et al. Lung oxidative stress, DNA damage, apoptosis, and fibrosis in adenine-induced chronic kidney disease in mice [J]. *Front Physiol*, 2017, 8: 896.
- [30] Yousefi H, Ahmadiasl N, Alihemmati A, et al. Effect of renal ischemia-reperfusion on lung injury and inflammatory responses in male rat [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2014, 17(10): 802–807.

[收稿日期] 2023-06-29