

刘茜,王新婷,程培培,等. II型心肾综合征大鼠模型制备方法的改良[J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(11): 1381-1388.
Liu Q, Wang XT, Cheng PP, et al. Improvement in the establishment method for the type II cardio-renal syndrome rat model [J].
Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(11): 1381-1388.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.11.001

II型心肾综合征大鼠模型制备方法的改良

刘茜¹,王新婷¹,程培培¹,戎靖枫¹,杨天舒²,周华^{1*}

(1. 上海中医药大学附属曙光医院中西医结合心血管研究室,上海 201203;
2. 上海中医药大学附属市中医医院心内科,上海 200071)

【摘要】 目的 建立一种改良的II型心肾综合征大鼠模型并进行评估。**方法** 将20只雄性SD大鼠随机分为假手术组(7只)与模型组(13只)。采用在小动物麻醉机下挤心脏法进行永久性结扎冠状动脉左前降支造成心肌梗死,1周后行单侧肾(右肾)切除术,第6周行心脏超声、病理学染色及血液、尿液等检测来验证模型的建立。**结果** 与假手术组相比,模型组大鼠心超检测的心功能、内生肌酐清除率明显下降($P < 0.01$),脑钠肽、血肌酐、尿素氮、24 h尿蛋白明显升高($P < 0.01$);HE染色发现模型组大鼠心肌排列紊乱,肾小球萎缩伴炎症细胞浸润。苦味酸-天狼猩红染色发现模型组大鼠心肌胶原纤维明显增多,肾小管排列不规则,大量胶原沉积,阳性染色面积比明显升高($P < 0.01$)。**结论** 本改良造模方法能够制备一种操作简便、手术创伤小、死亡率低的II型心肾综合征大鼠模型,模拟了早期心脏、肾功能损伤和病理改变,为系统深入研究II型心肾综合征的发病机制及药效作用机理奠定了基础。

【关键词】 动物模型; II型心肾综合征;SD大鼠;纤维化

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 11-1381-08

Improvement in the establishment method for the type II cardio-renal syndrome rat model

LIU Qian¹, WANG Xinting¹, CHENG Peipei¹, RONG Jingfeng¹, YANG Tianshu², ZHOU Hua^{1*}

(1. Institute of Cardiovascular Disease of Integrated Traditional Chinese Medicine and Western Medicine, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China. 2. Cardiology Department, Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071)

Corresponding author: ZHOU Hua. E-mail: zhouhua@shutcm.edu.cn

【Abstract】 Objective To establish an improved type II cardio-renal syndrome rat model and evaluate it. **Methods** Twenty male SD rats were randomly divided into sham and model groups with 7 rats in the sham group and 13 rats in the model group. The model group received the method of squeezing the heart under a small animal anesthesia machine to permanently ligate the left anterior descending branch of the coronary artery to cause myocardial infarction. One week later, unilateral nephrectomy (right nephrectomy) was performed. The rats underwent cardiac echocardiography, pathological staining, and blood and urine tests at 6 weeks to verify model establishment. **Results** Compared with the sham group, the cardiac function assessed by echocardiography and the endogenous creatinine clearance rate in the model group rats were significantly decreased ($P < 0.01$), and the levels of brain natriuretic peptide, blood creatinine, urea nitrogen, and 24 h urine protein in the model group were significantly increased ($P < 0.01$). HE staining revealed a

【基金项目】国家自然科学基金面上项目(82274306),国家自然科学基金青年项目(82204859),上海申康医院发展中心重大临床研究项目(SHDC2020CR1053B)。

Funded by the National Natural Science Foundation General Fund(82274306), National Natural Science Foundation Youth Fund(82204859), Major Clinical Research Projects of Shanghai Shenkang Hospital Development Center(SHDC2020CR1053B)。

【作者简介】刘茜(1987—),女,助理研究员,硕士,研究方向:中西医结合防治心血管疾病。Email:715810815@qq.com

【通信作者】周华(1962—),男,教授,硕士,研究方向:中西医结合防治心血管疾病。Email:zhouhua@shutcm.edu.cn

disordered myocardial arrangement, glomerular atrophy, and inflammatory cell infiltration in model group rats. Picric acid-Sirius red staining showed a significant increase in myocardial collagen fibers, an irregular arrangement of renal tubules, and a large amount of collagen deposition in model group rats. The positive staining area ratio was also significantly increased ($P < 0.01$). **Conclusions** This improved modeling method provided a type II cardio-renal syndrome rat model with a simple operation, minimal surgical trauma, and low mortality rate. This model simulates the early onset of cardiac and renal function damage and pathological changes in type II CRS, laying the foundation for systematic and in-depth research on the pathogenesis and pathological mechanism of type II cardio-renal syndrome.

【Keywords】 animal models; Type II cardio-renal syndrome; SD rats; fibrosis

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

心肾综合征 (cardio-renal syndrome, CRS) 是指心脏和肾任意一个器官急性或慢性功能不全导致的另一器官急性或慢性损伤而引起的临床综合征, 根据其病理生理特点和病程长短, 可分为 5 个亚型: I 型为急性心肾综合征, 即急性心功能障碍 (如急性失代偿性心力衰竭、急性冠脉综合征) 导致的急性肾损伤; II 型为慢性心肾综合征, 即慢性心功能障碍 (如慢性心力衰竭、先天性心脏病) 导致的慢性肾损伤; III 型为急性肾心综合征, 即急性肾损伤 (如急性肾小管坏死、急性肾小球疾病) 导致的急性心功能障碍; IV 型为慢性肾心综合征, 即慢性肾病 (如慢性肾小球或间质病变) 导致的心功能障碍; V 型为继发性心肾综合征, 即全身性疾病 (如脓毒血症、糖尿病) 导致的心脏、肾功能同时发生障碍^[1-2]。在心血管领域, 2021 年流行病学数据显示, 全球心力衰竭患者人数已达 6430 万^[3], 约 63% 的慢性心力衰竭患者存在 II 型 CRS, 明确 II 型 CRS 的发病机制并研发安全有效的药物迫在眉睫, 急需通过高度模拟临床 II 型 CRS 的动物模型为发病机制研究及药物开发提供依据。目前很多心肾综合征的动物模型构建相对笼统, 并未区分以上 5 个亚型, 而现有的 II 型 CRS 动物模型构建术式繁多, 手术创伤大, 有些并不能很好地模拟发病和病情进展过程^[4-5]。本研究参考国内外学者的研究方法并进行改良, 通过结扎冠状动脉 + 单侧肾切除术成功建立 II 型 CRS 大鼠动物模型, 为进一步的发病机制及药物开发研究奠定了良好的基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

20 只 SPF 级健康的 6 ~ 7 周龄 SD 雄性大鼠, 体重 180 ~ 200 g, 购于上海市计划生育科学研究所实验动物经营部【SCXK (沪) 2018-0006】。饲养环

境: 室温 (23 ± 2) °C, 湿度 (50 ± 5) %, 12 h 光照/12 h 黑暗, 普通饲料喂养, 自由获取纯净水, 饲养于上海中医药大学实验动物中心【SYXK (沪) 2020-0009】。本实验开展获得了上海中医药大学实验动物伦理委员会审核批准 (IACUC: PZSHUTCM 2303220006)。

1.1.2 主要试剂与仪器

异氟烷 (220405, 深圳市瑞沃德生命科技有限公司), 庆大霉素 (2207202222, 辰欣药业股份有限公司), 苏木素-伊红 (HE) 染色试剂盒 (C0105S, 上海碧云天生物技术有限公司), 改良天狼星红染色试剂盒 (G1472, 北京索莱宝科技有限公司), 大鼠脑钠肽 (BNP) 酶联免疫检测试剂盒 (H166-1-2, 南京建成生物工程研究所有限公司), 肌酐 (Cr) 测定试剂盒 (肌氨酸氧化酶法) (C011-2-1, 南京建成生物工程研究所有限公司), 尿素氮 (BUN) 测试盒 (二乙酰肼比色法) (C013-1-1, 南京建成生物工程研究所有限公司), 尿蛋白定量测试盒 (CBB 法) (C035-2-1, 南京建成生物工程研究所有限公司)。

小动物麻醉机 (R540, 瑞沃德), 动物心电图机 (VECG-2302B, 广州市三锐电子科技有限公司), 心脏超声仪器 (Vivid, GE), 石蜡包埋机 (HistoCore Arcadia H, LEICA), 组织包埋冷台 (HistoCore Arcadia C, LEICA), 手动轮转式切片机 (HistoCore BIOCUT, LEICA), 石蜡切片水浴摊片机 (HI1210, LEICA), 组织病理学用烘片仪 (HI1220, LEICA), 显微数码 CCD (DP71, Olympus), 多功能酶标仪 (Synergy H1, BioTek), 离心机 (Avanti J-15R, Beckman Coulter)。

1.2 方法

1.2.1 分组和造模

20 只 SD 大鼠经适应性喂养 1 周后被随机分为假手术组 ($n = 7$) 和模型组 ($n = 13$)。II 型 CRS 造模: 心肌梗死造模 1 周后行单侧肾切除术, 第 6 周 II

型 CRS 成模(图 1)。

心肌梗死后慢性心衰模型的建立:在 Johns 法建立心梗模型的基础上,参考文献^[6-8]略作修改,采取结扎大鼠冠状动脉前降支制备慢性心衰大鼠模型。取雄性 SD 大鼠术前禁食禁水 12 h,将大鼠放入诱导盒中 3% 异氟烷诱导麻醉,待大鼠麻醉后仰卧位固定在手术台上,使用面罩将大鼠脸部罩住,予 2% 异氟烷维持麻醉。常规胸部消毒、备皮,于心尖搏动最强处稍上(第 4、5 肋间)与胸骨平行处作一长约 2 ~ 3 cm 的横向切口,钝性分离胸大肌,右手持钝头剪紧靠胸骨左缘插入肋间肌,沿肋骨走向扩大胸腔,暴露心脏,剪开心包膜,双手挤压胸部使心脏自行跳出胸腔外,迅速于左冠状动脉前降支起始处下方约 2 mm 处用 6-0 带线缝针进行永久性结扎(深度约 2 mm,宽度约 3 mm),结扎后确认心肌明显发白,回纳心脏至胸腔,逐层缝合胸部肌肉和皮

肤,乙醇消毒术口。以上操作均严格在无菌条件下进行。术后立即行心电图检查,以标准导联 II(纸速 25 mm/s,电压 10 mm/mV)中 ST 段弓背抬高为心肌梗死形成的标准。假手术组除不结扎冠状动脉,其余操作同前。术后腹腔注射庆大霉素预防感染。

单侧肾切除造模:心梗术后 1 周,术前禁食禁水 12 h。腹腔注射 2% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉大鼠,使大鼠俯卧位固定于手术台上,右侧肋下脊直肌外侧常规消毒、备皮,在右侧肋弓下 1 cm 处,脊柱向右旁开 1 cm 处切开一平行于脊柱长约 1.5 cm 切口,逐层切开肌肉进入腹腔,暴露右肾,分离肾包膜,暴露肾门,永久性结扎右侧肾蒂,切除右肾,注意不要伤及肾上腺。逐层缝合背部肌肉、皮肤,乙醇消毒伤口。假手术组除了不结扎肾蒂、不切除右肾,余操作同前。术后腹腔注射庆大霉素预防感染。

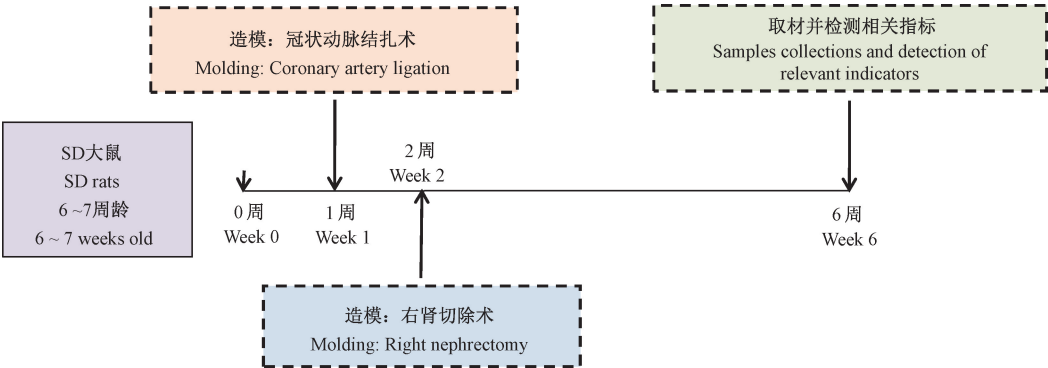


图 1 II 型心肾综合征造模路线图
Figure 1 Model road map for type II cardio-renal syndrome

1. 2. 2 超声心动图检测

两组大鼠于 II 型 CRS 建模完成后进行超声心动图检测,注射戊巴比妥钠麻醉大鼠,应用 GE Vivid 心脏超声仪器,M 型超声心动图测量大鼠左心室射血分数(left ventricular ejection fractions,LVEF)和左心室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening,LVFS)。

1. 2. 3 样本采集及心脏、左肾重量指数测定

在大鼠取血前 1 d,将大鼠放入代谢笼收集 24 h 尿液,并记录 24 h 尿液总量。将留取的尿液离心(常温,1500 r/min,5 min),取上清液放入-80℃保存。留取完大鼠尿液后,称取大鼠体重,注射戊巴比妥钠麻醉大鼠,采用腹主动脉取血法收集大鼠血液标本,静置 2 h 后离心(4℃,3000 r/min,15 min),

取上清液放入-80℃保存。取完血后开胸、开腹依次取出心脏、左肾,用生理盐水泡洗,滤纸吸干心脏、左肾表面水分,分别称量心脏、左肾重量。心脏重量指数=(心脏重量/体重)×100%。左肾重量指数=(左肾重量/体重)×100%。

1. 2. 4 心脏、肾生化指标检测

采用竞争法检测血脑钠肽(BNP),并用酶标仪分析计算吸光度。以肌氨酸氧化酶法检测大鼠血肌酐(Scr)、尿肌酐(Ucr)。以二乙酰肟比色法检测血尿素氮(BUN)。以 CBB 法检测 24 h 尿蛋白。计算内生肌酐清除率(creatinine clearance rate,Ccr):Ccr(mL/min)=尿肌酐×24 h 尿量(mL)/血肌酐×1440。

1. 2. 5 组织病理学检查

取大鼠心脏、左肾组织,置于 4% 多聚甲醛固

定、不同浓度乙醇脱水、二甲苯透明,石蜡包埋、切片。常规脱蜡后按说明书进行 HE、苦味酸-天狼星红染色,封片后采用 OlympusDP71 显微数码 CCD 采集图片,用 Image-Pro Plus 6.1 软件进行心脏、左肾组织天狼星红阳性染色面积比(%)分析。

1.3 统计学分析

实验数据采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。计量资料若符合正态分布、方差齐性,组间分析采用两独立样本 *t* 检验,并采用平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 进行统计描述。若不符合正态分布、方差齐性,组间分析采用两独立样本非参数检验方法 Mann-Whitney U 检验,并采用中位数、四分位数间距 $M(P_{25}, P_{75})$ 进行统计描述。统计检验均采用双侧检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

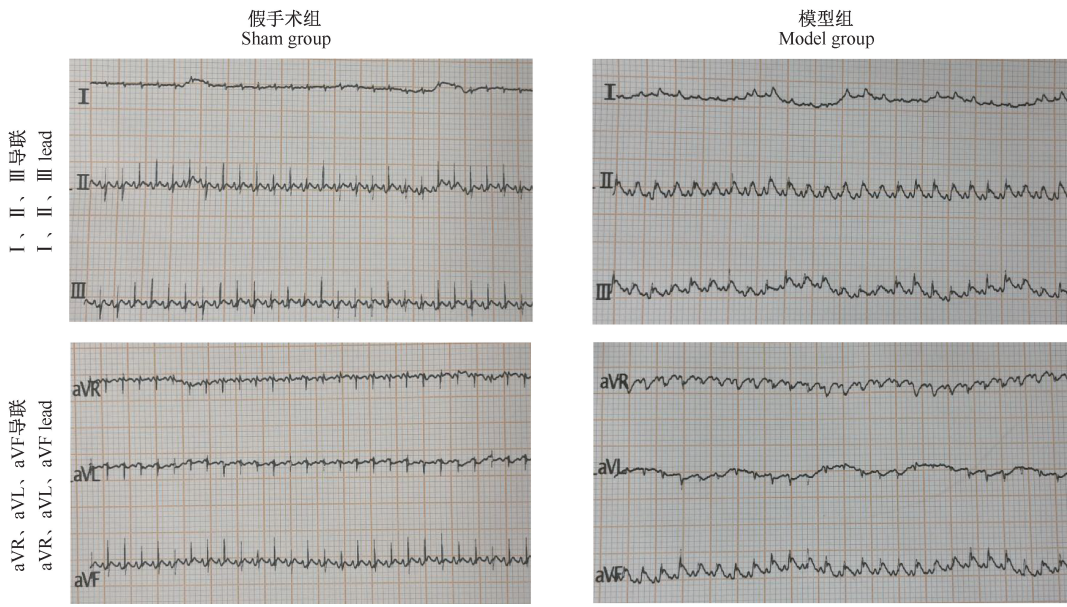


图2 假手术组和模型组大鼠心肌梗死造模后心电图

Figure 2 Electrocardiograms of rats in the sham group and model group after myocardial infarction modeling

2.3 超声心动图检查结果

采用两独立样本 *t* 检验分析显示,与假手术组相比,模型组大鼠 LVEF 明显降低 ($P < 0.01$)。采用 Mann-Whitney U 检验分析显示,与假手术组相比,模型组大鼠 LVFS 明显降低 ($P < 0.01$)。提示模型组大鼠心功能受损明显,心衰模型造模成功(图3)。

2.4 心脏、左肾重量指数比较

采用两独立样本 *t* 检验分析显示,模型组大鼠的心脏重量指数较假手术组明显升高 ($P < 0.01$)。采用 Mann-Whitney U 检验分析显示,模型组大鼠的左肾重量指数较假手术组明显升高 ($P < 0.01$)。提

2 结果

2.1 造模死亡率及心衰成功率

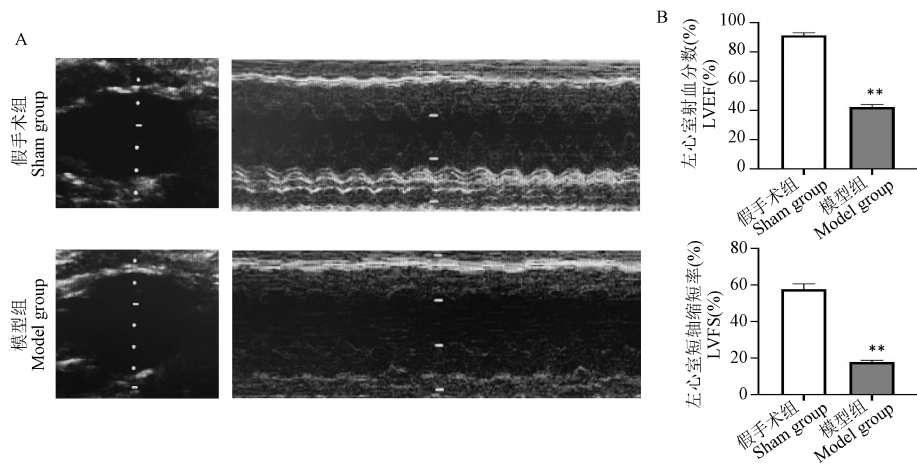
实验结束后,假手术组无大鼠死亡;模型组大鼠死亡 3 只,剩余 10 只,死亡率为 23.1% (3/13),心梗造模术后 24 h 内死亡 2 只,考虑死亡原因为心源性休克;心梗 + 单侧肾切除术后 2 周死亡 1 只,考虑死亡原因为心、肾功能衰竭。心梗术后 4 周行心脏超声检测,EF > 50% 则心衰造模失败,故剔除大鼠 2 只,大鼠心衰成功率为 80% (8/10)。

2.2 心电图检测结果

与假手术组相比,模型组大鼠心梗造模后心电图显示 I、II、III、aVF 导联 ST 段呈弓背向上型抬高,提示心肌梗死造模成功(图2)。

示模型组大鼠的心脏、左肾体积存在代偿性增大(表1)。

表1 心脏、左肾重量指数比较($\bar{x} \pm s, M(P_{25}, P_{75})$)			
Table 1 Comparison of heart weight/body weight and left kidney weight/body weight($\bar{x} \pm s, M(P_{25}, P_{75})$)			
组别 Groups	<i>n</i>	全心重量 指数(%) Heart weight/body weight(%)	左肾重量指数(%) Left kidney weight/ body weight(%)
假手术组 Sham group	7	0.31 ± 0.01	0.36(0.34, 0.36)
模型组 Model group	8	0.41 ± 0.02**	0.49(0.48, 0.49)**



注:A:大鼠心脏超声心动图代表图像;B:大鼠 LVEF、LVFS 结果;与假手术组相比, ** $P < 0.01$ 。(下图/表同)

图 3 大鼠超声心动图检查结果

Note. A. Representative echocardiographic images of rats. B. Results of LVEF and LVFS in rats. Compared with the sham group, ** $P < 0.01$. (The same in the following figures and tables)

Figure 3 Results of rat echocardiography examination

2.5 心脏、肾生化指标检测结果

2.5.1 心脏生化指标检测结果

采用两独立样本 t 检验分析显示,与假手术组相比,模型组大鼠 BNP 水平明显升高 ($P < 0.01$),提示模型组大鼠心功能降低明显(表 2)。

2.5.2 肾生化指标检测结果

采用 Mann-Whitney U 检验分析显示,与假手术组相比,模型组大鼠 Scr、BUN 水平升高 ($P < 0.01$)。采用两独立样本 t 检验分析显示,与假手术

组相比,模型组大鼠 24 h 尿蛋白水平升高 ($P < 0.01$),Ccr 降低 ($P < 0.01$)。提示模型组大鼠肾功能降低(表 2)。

2.6 组织病理学改变

2.6.1 体表形态

假手术组大鼠心脏表面血管分布清晰,色泽红润,肾表面光滑有色泽。模型组大鼠心脏呈暗红色,左心室壁梗死区明显发白,肾表面凹凸不平,可见瘀斑(图 4)。

表 2 心脏、肾生化指标比较($\bar{x} \pm s, M(P_{25}, P_{75})$)

Table 2 Comparison of biochemical indicators of heart and kidney($\bar{x} \pm s, M(P_{25}, P_{75})$)

组别 Groups	<i>n</i>	脑钠肽 (ng/L) BNP (ng/L)	血肌酐 (μmol/L) Scr (μmol/L)	尿素氮 (mmol/L) BUN (mmol/L)	内生肌酐清除率 (mL/min) Ccr (mL/min)	24 h 尿蛋白 (mg) 24 h urinary protein (mg)
假手术组 Sham group	7	57.38 ± 7.90	15.28 (14.44, 16.15)	4.46 (4.40, 4.47)	2.43 ± 0.10	4.79 ± 0.58
模型组 Model group	8	152.19 ± 15.09**	50.13 (49.40, 56.90)**	6.98 (6.37, 7.27)**	0.94 ± 0.06**	14.69 ± 1.83**

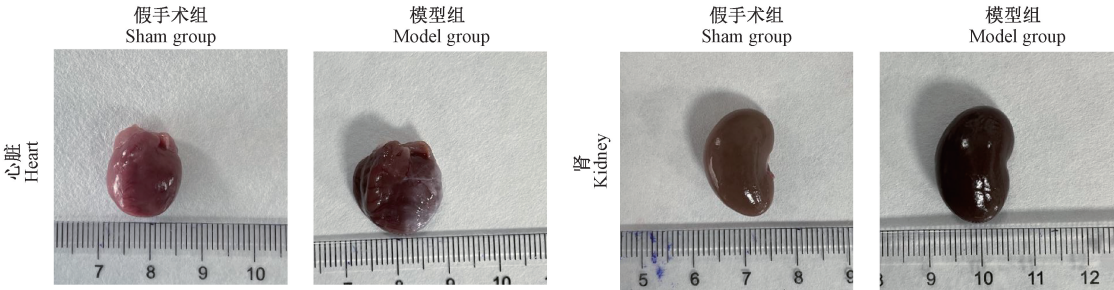


图 4 大鼠心脏和肾体表形态

Figure 4 Surface morphology of rats' heart and kidney

2.6.2 HE 染色结果

假手术组的心肌细胞大小正常,心肌纤维排列整齐、分界轮廓清晰,间质内无明显炎症细胞浸润。模型组的心肌细胞排列紊乱,心肌细胞明显水肿甚至坏死,管壁外及间质中有炎症细胞浸润,结缔组

织增生。假手术组的肾小管和肾小球形态正常,无萎缩肿胀,肾小管间质无明显炎症细胞浸润。模型组的肾小管萎缩,肾小管壁增厚伴管腔扩张,排列不规则,间质内可见炎症细胞浸润及粘液物质(图 5)。

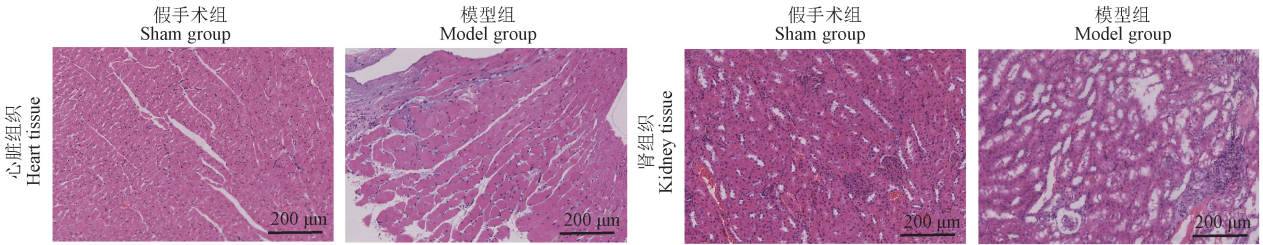
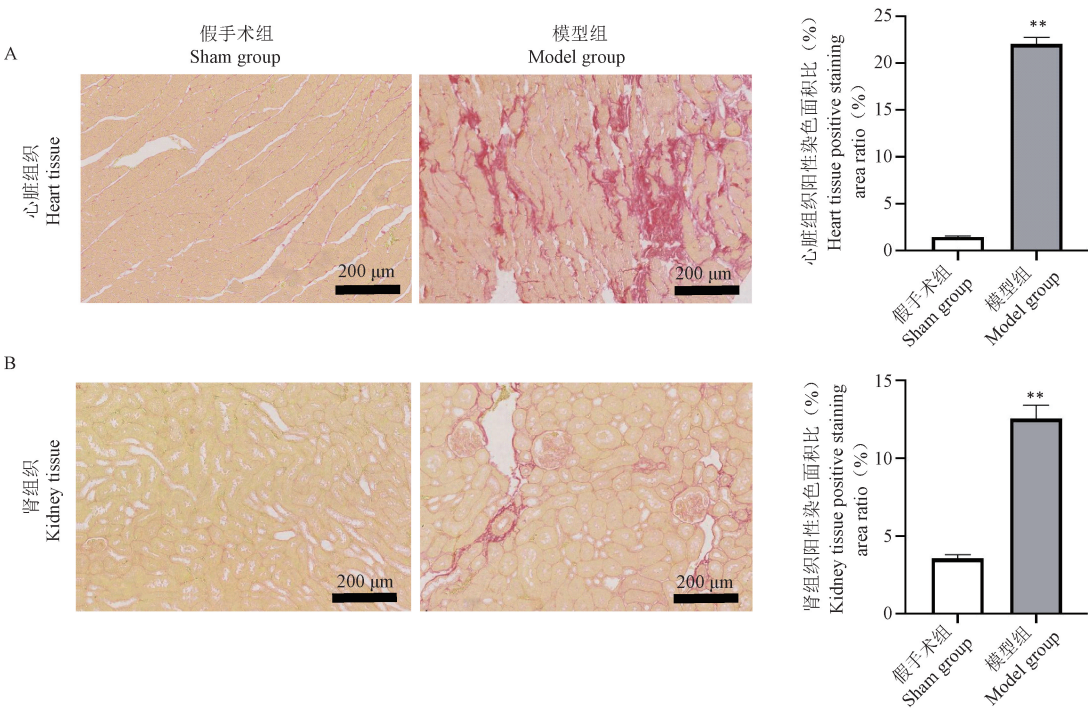


图 5 大鼠心脏组织和肾组织 HE 染色
Figure 5 HE staining of rats' heart tissue and kidney tissue

2.6.3 苦味酸-天狼星红染色结果

假手术组心肌胶原纤维分布均匀、排列整齐、集成束。模型组心肌胶原纤维明显增多,分布不均,排列紊乱,粗大的胶原纤维互相交错成网状。假手术组肾小管和肾小球结构正常,无萎缩肿胀,

无纤维组织增生。模型组可见肾间质中大量胶原纤维沉积,肾小球结构紊乱伴周围纤维化,肾小管排列不规则。采用 Mann-Whitney U 检验分析显示,模型组心脏、肾的天狼星红阳性染色面积比均较假手术组明显增加($P < 0.01$)(图 6)。



注:A:大鼠心脏组织苦味酸-天狼星红染色和阳性染色面积比;B:大鼠肾组织苦味酸-天狼星红染色和阳性染色面积比。

图 6 大鼠心脏组织、肾组织苦味酸-天狼星红染色及阳性染色面积比

Note. A. Picric acid Sirius red staining of rats' heart tissue and positive staining area ratio in rats. B. Picric acid Sirius red staining of rats' kidney tissue and positive staining area ratio in rats.

Figure 6 Picric acid Sirius red staining and positive staining area ratio in rats' heart tissue and kidney tissue

3 讨论

Ⅱ型 CRS 是近年来全球关注的热点和难点问题,构建规范的、高度模拟临床Ⅱ型 CRS 的动物模型可以为Ⅱ型 CRS 的发病机制研究和药物开发提供依据。Ⅱ型 CRS 的造模可分为单一模型和复合模型。单一模型造模时间长,其中给药动物模型与人体 CRS 发生过程存在差异,目前最常用的是冠脉结扎联合 5/6 肾切除的复合模型^[9-10]。根据文献报道,冠脉结扎多采用戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后先行气管插管,再开胸结扎冠状动脉,结扎完后关闭胸腔,待大鼠恢复自主呼吸后拔除气管插管完成造模^[11]。此心梗造模方法耗时长,气管插管不当可引起喉头水肿、气道损伤,增加了感染率,气管穿孔、出血、分泌物过多则易阻塞气道,引起窒息等并发症,增加造模的死亡率。5/6 部分肾切除采用腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,切除一侧肾皮质的 2/3 或结扎肾动脉的 2/3 分支,1 周后再行第 2 次手术,同样方法麻醉,切除另一侧肾^[12-13]。5/6 肾切除需要二次开腹,残留肾少,手术创伤大,死亡率高。尽管上述复合模型使大鼠在短时间出现严重的心、肾功能损伤,但对于后期进行药效学研究,尤其治疗周期长的研究,心、肾功能衰竭导致的死亡率会增加,需扩大模型样本量。

根据文献报道,大鼠冠脉结扎 2 周后即可出现心衰^[14],4 周后心衰模型明确建立^[7]。大鼠单侧肾切除术常用于制备早期肾功能不全模型,肾切除第 2 周时另一侧肾进入代偿期^[15],第 4 周出现肾功能损伤^[16]。冠脉结扎联合单侧肾切除术的复合模型制备Ⅱ型 CRS 的研究发现,2 周内分别行冠脉结扎+单侧肾切除术,第 6 周Ⅱ型 CRS 即可成模^[17-18]。因此,在确保心脏、肾功能出现障碍的前提下应选择最短成模时间,节约造模成本,缩短实验周期。

本研究参考了上述成模时间并对术式进行改良,通过小动物麻醉机下挤心脏法进行永久性结扎冠状动脉左前降支造成心肌梗死,1 周后行单侧肾(右肾)切除术,第 6 周建立Ⅱ型心肾综合征大鼠动物模型。麻醉机下挤心脏法所需麻醉时间短,无需气管插管,不存在气道损伤,减少了感染风险,降低了死亡率。单侧肾切除减轻了造模对肾的损伤,避免了二次开腹,减少了麻药使用及感染风险。尽管单侧肾切除不能在短时间内引起严重的肾损伤,但更符合Ⅱ型 CRS 的发病特点,即慢性心功能障碍导

致的慢性肾损伤^[15]。

本研究改良的大鼠模型,降低了死亡率,同时,造模成功率也得验证。心超中 EF、FS 主要反映左心室的收缩功能,EF、FS 越低提示心肌收缩力越弱,心衰越严重。BNP 主要储存于心室内,心衰时大量分泌,是评价心功能紊乱最敏感和特异性最高的指标之一,常用于心衰的诊断和治疗。本研究中模型组大鼠 EF、FS 较假手术组明显降低,BNP 明显升高,提示大鼠心功能损伤明显,心衰造模成功。Scr、BUN、Ccr 和 24 h 尿蛋白都是常用的反映肾功能的经典指标,当出现肾功能受损时,肾小球滤过功能下降,使得血液中 Scr、BUN 排泄受到影响,造成 Scr、BUN 在血液中积累。Ccr 反映肾小球的滤过功能,判断肾小球损伤程度,滤过率越低则肾损伤越大。肾小球损伤使滤过膜通透性增加,尿液中蛋白质含量升高,24 h 尿蛋白是反映早期肾损伤的主要指标^[19]。与假手术组相比,模型组大鼠 Scr、BUN、24 h 尿蛋白水平明显升高,Ccr 明显降低,提示模型组大鼠肾功能降低。CRS 发病机制复杂,目前较为公认的机制包括交感神经系统过度兴奋、RAAS 过度激活、炎症反应、氧化应激等,最终表现为心肌重构和肾纤维化^[20-22]。本研究通过组织学检查发现,模型组大鼠心肌细胞排列紊乱,管壁外及间质中炎症细胞浸润,结缔组织增生,心肌胶原纤维明显增多且排列紊乱。肾小球结构紊乱伴周围纤维化,肾小管排列不规则,间质内可见炎症细胞浸润、粘液物质及胶原纤维沉积。模型组心脏、肾的天狼星红阳性染色面积比较假手术组明显增加,提示模型组大鼠出现了心肌重构及肾纤维化。上述实验结果证实了本模型制备方法的改良能较好地模拟Ⅱ型 CRS 发病早期的心脏、肾功能损伤和病理改变。

综上所述,本研究采用在小动物麻醉机下挤心脏法进行永久性结扎冠状动脉左前降支造成心肌梗死,1 周后行单侧肾(右肾)切除术,成功建立Ⅱ型心肾综合征大鼠动物模型。此改良模操作简便、手术创伤小、死亡率低,能很好地模拟了Ⅱ型心肾综合征早期的心脏、肾功能损伤和病理改变,为系统深入研究Ⅱ型心肾综合征的发病机制及药效作用机理奠定基础。

参 考 文 献(References)

- [1] Ronco C, McCullough P, Anker SD, et al. Cardio-renal syndromes: report from the consensus conference of the acute dialysis quality initiative [J]. Eur Heart J, 2010, 31(6): 703-711.

- [2] Ajibowo AO, Okobi OE, Emore E, et al. Cardiorenal syndrome: a literature review [J]. *Cureus*, 2023, 15(7): e41252.
- [3] Bragazzi NL, Zhong W, Shu J, et al. Burden of heart failure and underlying causes in 195 countries and territories from 1990 to 2017 [J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2021, 28(15): 1682-1690.
- [4] 王蕾, 郝迪, 李旭, 等. 心肾综合征动物模型研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(11): 1496-1498.
- Wang L, Hao D, Li X, et al. Research progress in animal models of cardiorenal syndrome [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2013, 29(11): 1496-1498.
- [5] 查玉玲, 孔森, 周育平, 等. II 型心肾综合征动物模型研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2021, 29(4): 535-541.
- Zha YL, Kong M, Zhou YP, et al. Advances in the study of animal models of type II cardiorenal syndrome [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2021, 29(4): 535-541.
- [6] Johns TN, Olson BJ. Experimental myocardial infarction. I. A method of coronary occlusion in small animals [J]. *Ann Surg*, 1954, 140(5): 675-682.
- [7] 田颖, 王江, 李振魁, 等. 大鼠心肌梗死后心力衰竭模型的建立和评估 [J]. *心脏杂志*, 2006, 18(4): 404-405, 410.
- Tian Y, Wang J, Li ZK, et al. Establishment and assessment of rat model of heart failure after myocardial infarction [J]. *Chin Heart J*, 2006, 18(4): 404-405, 410.
- [8] Li H, Huang J, Liu C, et al. A new model of heart failure post-myocardial infarction in the rat [J]. *J Vis Exp*, 2021(172): e5497.
- [9] Szymanski MK, de Boer RA, Navis GJ, et al. Animal models of cardiorenal syndrome: a review [J]. *Heart Fail Rev*, 2012, 17(3): 411-420.
- [10] Bongartz LG, Braam B, Gaillard CA, et al. Target organ cross talk in cardiorenal syndrome: animal models [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 303(9): F1253-F1263.
- [11] 李军, 吕双红, 薛剑, 等. 大鼠心肌梗死后心力衰竭模型的建立及评价 [J]. *标记免疫分析与临床*, 2015, 22(10): 1037-1041.
- Li J, Lv SH, Xue J, et al. Establishment and evaluation of heart failure model after myocardial infarction in rats [J]. *Labeled Immunoass Clin Med*, 2015, 22(10): 1037-1041.
- [12] 李宁, 王国泰. 扶正泄浊保肾汤对 5/6 肾切除 CRF 大鼠 PTH 的影响研究 [J]. *中外医学研究*, 2019, 17(30): 1-3.
- Li N, Wang GT. The effects of fuzheng Xiezhuo Baoshen Decoction on PTH in CRF rats with 5/6 nephrectomy [J]. *Chin Foreign Med Res*, 2019, 17(30): 1-3.
- [13] 王蒙, 杨柳易, 杨婧, 等. 肾衰 II 号方对 5/6 肾切除大鼠残余肾组织凋亡相关蛋白表达的影响 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2019, 26(5): 64-68.
- Wang M, Yang LY, Yang J, et al. Effects of Shenshuai II prescription on apoptosis-related protein expression in renal tissue of chronic renal failure rats induced by 5/6 nephrectomy [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med*, 2019, 26(5): 64-68.
- [14] Li M, Zheng C, Sato T, et al. Vagal nerve stimulation markedly improves long-term survival after chronic heart failure in rats [J]. *Circulation*, 2004, 109(1): 120-124.
- [15] 刘晓雪, 王静璇, 刘松玲, 等. 1/2 及 5/6 肾切除大鼠肾脏病变规律研究 [J]. *中国奶牛*, 2018, 342(5): 1-6.
- Liu XX, Wang JX, Liu SL, et al. Study on kidney lesions in 1/2 and 5/6 nephrectomies rats [J]. *Chin Dairy Cattle*, 2018, 342(5): 1-6.
- [16] Mori K, Katsumata SI, Miyajima K, et al. Effects of dietary phosphorus concentration and phosphate salt form on renal tubule function in unilateral nephrectomized rats [J]. *Nutr Health*, 2022; 2601060221122223.
- [17] 盛晓生, 林丽, 俞章平, 等. 和肽素检测在心肾综合征大鼠模型中的诊断价值 [J]. *中国现代医生*, 2017, 55(34): 24-27, 31.
- Sheng XS, Lin L, Yu ZP, et al. The diagnostic value of copeptin detection in rat models of cardiorenal syndrome [J]. *Chin Modern Dr*, 2017, 55(34): 24-27, 31.
- [18] 安成, 侯雪筠, 周育平. 复方交泰汤对心肾综合征模型大鼠心功能的影响 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2019, 17(18): 2748-2750.
- An C, Hou XY, Zhou YP. Influences of Fufang Jiaotai Decoction on the cardiac function in the rats with cardiorenal syndrome [J]. *Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis*, 2019, 17(18): 2748-2750.
- [19] Chebotareva N, Vinogradov A, McDonnell V, et al. Urinary protein and peptide markers in chronic kidney disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(22): 12123.
- [20] 刘茜, 周华, 瞿惠燕, 等. 心肾综合征发病机制和治疗的研究进展 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2018, 26(2): 1-5.
- Liu Q, Zhou H, Qu HY, et al. Progress on pathogenesis and treatment of cardio-renal syndrome [J]. *Pract J Cardiac Cereb Pneumal Vasc Dis*, 2018, 26(2): 1-5.
- [21] Xu X, Zhang B, Wang Y, et al. Renal fibrosis in type 2 cardiorenal syndrome: an update on mechanisms and therapeutic opportunities [J]. *Biomedecine Pharmacother*, 2023, 164: 114901.
- [22] Zucker I, Xia Z, Wang HJ. Potential neuromodulation of the cardio-renal syndrome [J]. *J Clin Med*, 2023, 12(3): 803.

[收稿日期] 2023-08-11