

小鼠肾缺血再灌注损伤模型的研究进展^{*}

闫聚瀚¹ 赵朋涛¹ 闫晓冬² 刘鑫² 综述 李向东² 审校

(1. 河北北方学院研究生学院, 河北 张家口 075000; 2. 河北北方学院附属第一医院, 河北 张家口 075000)

【摘要】 肾脏是发生缺血再灌注损伤(IRI)的重要器官之一,肾 IRI 是导致急性肾损伤(AKI)的主要原因,是一种伴随着高发病率及高死亡率的肾脏疾病。目前,许多体内、外实验模型已用于缺血性 AKI 的致病机制和对肾脏保护作用的研究。其中,因小鼠体积小、饲养方便、易控性好、繁殖快等特点,研究者使用夹闭小鼠肾蒂建造肾 IRI 模型的方法被广泛应用。然而,要想建立良好稳定的小鼠肾 IRI 模型并不容易,因小鼠对外界刺激极其敏感,常导致实验结果出现一定差异。因此,本文对双侧肾 IRI 小鼠模型建立的经验 and 进展作一综述,以此为基础为建立标准肾 IRI 模型提供一定的参考价值,也为其他研究者建立良好、可靠的肾 IRI 小鼠模型提供帮助。

【关键词】 肾脏缺血再灌注损伤;急性肾损伤;小鼠模型;野生型 C57 小鼠

【中图分类号】 R692.5 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2023.10.029

Research progress in mouse models of renal ischemia-reperfusion injury

YAN Juhan¹, ZHAO Pengtao¹, YAN Xiaodong², LIU Xin² reviewing LI Xiangdong² checking

(1. Graduate School, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China;

2. The First Affiliated Hospital, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China)

【Abstract】 The kidney is one of the important organs in the occurrence of ischemia-reperfusion injury (IRI). Renal IRI is the main cause of acute kidney injury (AKI). At present, many in vivo and in vitro experimental models have been used to study the pathogenic mechanism and renal protection of ischemic AKI. Among them, due to the characteristics of small size, convenient feeding, good controllability, and fast reproduction of mice, the method of establishing renal IRI models by clipping mouse renal pedicles is widely used. However, it is not easy to establish a good and stable mouse kidney IRI model, because mice are extremely sensitive to external stimuli, which often leads to certain differences in experimental results. Therefore, this paper reviews the experience and progress of the establishment of the bilateral renal IRI mouse model, and based on this, it provides a certain reference value for the establishment of a standard renal IRI model, and also for other researchers to establish a good and reliable renal IRI mouse model provide help.

【Key words】 Renal ischemia-reperfusion injury; Acute renal injury; Mouse model; Wild-type C57 mice

肾缺血再灌注损伤(Ischemia reperfusion injury, IRI)是指肾组织经缺血缺氧处理再恢复其血液供应后造成肾脏出现损伤的一种病理生理过程,肾 IRI 发生后,随着肾脏物质代谢、结构和功能损伤程度逐步加重,甚至可能会引起一系列不可逆的损伤^[1]。而且肾脏是人体内一个对缺血缺氧环境非常敏感的强血液灌注器官,肾 IRI 会诱发炎症因子过表达、氧化应激、Ca²⁺ 超载及细胞线粒体自噬而发生急性肾损伤(Acute kidney injury, AKI)^[2-3],其中休克、败血症、肾移植是造成 AKI 的主要

原因,严重的 AKI 甚至会发展成慢性肾脏病(Chronic kidney disease, CKD),最终导致器官衰竭而危及生命^[4-5]。有研究^[6-7]报道,近年来 AKI 的发病率和死亡率不断上升,临床 AKI 发病率估计在 20%。故肾脏的缺血缺氧仍是 AKI 发病的重要因素之一,且目前针对 AKI 的治疗措施仍不完善,这不仅增加了患者的负担,还加重了临床工作的压力,目前临床工作者和研究人员仍在通过动物模型建造的不断完善以进一步探索更有效的治疗方法^[8]。

近几年以来,随着 AKI 与 CKD 临床患者人数的增加以及科研工作的需要,对肾 IRI 的研究受到了越来越多科研人员的关注,他们分别使用了不同的实验建模方法对肾 IRI 进行了研究^[9-10]。有研究^[11]发现,肾 IRI 模型主要包括用于研究组织细胞学的体外模型以及用于研究其机制、肾功能指标监测、炎症因子和不同通路作用的体内模型。但是,体外模型建立条件相

基金项目: 河北省中医药管理局科研计划项目(2023096)

通讯作者: 李向东,主任医师,教授, E-mail: lixiangd4568@163.com

引用本文: 闫聚瀚, 赵朋涛, 闫晓冬, 等. 小鼠肾缺血再灌注损伤模型的研究进展[J]. 西部医学, 2023, 35(10): 1555-1560. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2023.10.029

对简易方便以及在模拟人整体性和复杂性方面存在着明显的局限性,而体内模型的建立虽较为复杂,但更多的应用于科学研究。小鼠肾 IRI 体内模型多采取背部切口和腹部切口的手术方式,主要通过双侧钳夹肾蒂、单侧钳夹肾蒂两种方式模拟肾 IRI,从而对肾 IRI 进行进一步的研究。自上世纪 90 年代以来,建立小鼠模型研究肾 IRI 的方法受到越来越多研究者的青睐,而且,小鼠模型具有可获得性和简易性的优点,可以大大提高模型建立的效率。但是,小鼠对于饲养或实验环境的细微变化非常敏感,可能会导致模型的建立并不稳定。另外,有研究证实,建模成功与否与建模条件(温度、湿度、饲养及实验环境等)有关,目前在以小鼠模型模拟肾缺血再灌注损伤的科研实验中,建模条件各异,并没有统一的建模条件,这就要求实验者不断完善并形成自己需要的建模条件。本文对小鼠肾 IRI 建模研究的进展进行综述,以此为建立稳定、可靠的小鼠肾 IRI 模型提供一定参考价值。

1 小鼠品系的选择

最近一项研究表明,129/S 与瑞士小鼠和野生型 C57 小鼠相比,对缺血性 AKI 表现出较低的敏感性,这表明不同小鼠品系甚至同一小鼠品系的不同个体之间,对缺血性 AKI 的敏感性都存在明显的差异。另外,许多转基因小鼠虽然与野生型 C57 小鼠具有同样的遗传背景,但是这些转基因小鼠至少经过 5 代繁殖后,对缺血性 AKI 的敏感性明显高于一般的野生型 C57 小鼠。所以,有关小鼠品系的选择, Sun 等^[12]研究者认为优先选择野生型 C57(WT C57) 雄性小鼠,因为 WT C57 是一种近交系小鼠,且价格低廉、对环境适应性强、易获得和饲养,属于一种常用的实验小鼠^[13-14]。另外,关于不同性别小鼠的选择问题,考虑到雌鼠有雌激素的保护作用^[15],可能会导致血清肌酐的水平受到影响^[16],而且雌鼠卵巢血管的走行与输尿管相近,造成肾蒂及血管游离困难而增加了肾缺血再灌注手术的难度,所以,大多数研究者都选择了雄性小鼠进行肾 IRI 实验。另外,选择合适周龄的雄鼠是影响实验效果的重要因素,目前, Zhang 等^[17]研究者认为 ≥ 8 周龄的小鼠更适合作为实验建模的手术对象,小鼠周龄过大或者过小都会影响建模效果,同时指出周龄过小(≤ 6 周)影响建模的原因主要体现在以下几方面:① ≤ 6 周龄的小鼠器官发育未成熟,而术中对于游离小鼠的组织器官等操作要求非常精确,可能会因组织器官体积小造成肉眼游离不充分、不彻底而增加实验结果的偏差。② ≤ 6 周龄的小鼠对于局麻药物的抵抗能力较弱,麻醉药剂量控制稍有不慎,就可能增加小鼠的死亡概率。③ ≤ 6 周龄的小鼠术后采血时因血量较少,经离心后血清容积可能不足 150 μl 而无法进行后续的实验研究。因此,相比较而言, ≥ 8 周龄的小鼠术后采血,经离心后所需血清容积一般可以稳定在 150 μl 以上^[18],能满足后续实验的进行,且 ≥ 8 周龄的小鼠对于麻醉剂的耐受程度较好,抗寒能力和抗饥饿能力也均较强,另外, ≥ 8 周龄的小鼠术后苏醒较快,术后因肠粘连而发生肠梗阻的概率较小,基本能维持小鼠肾 IRI 后机体功能的正常运行。此外,对于周龄过大的小鼠,有研究证实,肾脏的老化会引起肾脏的结构发生改变以及肾脏代谢功能出现明显的衰退,在肾 IRI 逐步诱导 AKI 发生后,其血清肌酐、血尿素氮的值达到预期水平

所需的时间更长,因此,小鼠也更易出现死亡^[19-20]。

2 小鼠术前处理

2.1 小鼠所处环境及实验前饲养 研究^[21]表明,在恒定室温 22~26 $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 40%~60%且通风良好的标准环境下采用昼夜周期为 12 h:12 h 的模式对小鼠进行实验前饲养一周左右,使小鼠的各项生理机能保持在一个良好的状态,同时也能抵抗一部分手术给小鼠带来的损伤,从而加快术后恢复的速度。若小鼠于实验前数天内未进行饲养,使小鼠长时间处于饥饿或应激状态,这不仅会加重小鼠在术中的损伤程度,而且对术后组织器官功能的恢复也会带来很大影响,而且,从人文关怀的角度出发,生命均需得到尊重^[22]。另外,有相关研究还发现,肾 IRI 模型建立的最佳时间段与小鼠肾脏脱水的程度密切相关,有研究人员发现,小鼠在黑暗环境下较兴奋,饮水次数也相对较多,而且,在上述昼夜周期模式下饲养的小鼠在每日 14~17 点时间段内脱水最严重,因此,认为每日 14~17 点是建立肾 IRI 模型的最佳时间段^[23]。

2.2 小鼠术前禁食 关于小鼠术前 4~6 h 内是否禁食,与以往研究对比发现小鼠在术前 4~6 h 内采取禁食对手术有一定的帮助,对于那些只开腹行双侧肾蒂血管夹闭或行右侧肾切除伴左侧肾蒂夹闭的小鼠而言,采取术前禁食,小鼠并不会出现重要消化器官的损伤^[24-25],唯一的影响是术中肠管方向可能比较混乱。因此,这也对术后对小鼠肠管大致位置的复位提出了严格的要求,在进行肠管复位时,可根据肠管中的内容物判断肠管的大致位置。有研究^[26-27]还证实了术前禁食可以调控免疫球蛋白 A(IgA)在维持肠道稳态中的作用,所以只要术中注意操作谨慎,未损伤肠管,术前 4~6 h 内禁食对于术后小鼠的恢复和存活并无太大影响。

2.3 手术麻醉方案 麻醉方式分为全身麻醉和局部麻醉^[28],关于小鼠肾 IRI 模型麻醉方式的选择,国内外研究者们最早普遍采用腹腔注射氯胺酮/甲苯噻嗪的方式对小鼠进行麻醉,但后来发现这种麻醉方式会导致小鼠死亡率升高;之后的研究者采用了异氟烷对小鼠进行麻醉,结果发现这种麻醉方式不受控,而且,在发生肾 IRI 时,此麻醉方式除了可以发挥麻醉效果,同时还会对肾功能存在一定的保护作用而造成实验结果出现明显的偏差^[29]。相比较而言,戊巴比妥钠用于小鼠肾 IRI 建模的麻醉效果较好,因此,近几年越来越多的研究者都选择采用腹腔注射戊巴比妥钠的麻醉方式,此操作相对简捷,注射 30 min 后小鼠便可达深度麻醉状态,其药物剂量按照 50 mg/kg 换算,8 周左右 20 g 重的小鼠,所需麻醉剂(5%戊巴比妥钠)的剂量约为 0.1 mL,而周龄 > 8 周的小鼠可按其体重少量添加戊巴比妥钠的剂量^[30]。但是,最近有研究者发现,在实际实验操作中,用 1 mL 注射器取合适剂量的麻醉剂腹腔注射后,注射器中一般还会残留少量的麻醉剂,这就可能会造成部分小鼠在术中会因为麻醉剂的剂量不足出现疼痛躁动,进而影响手术的正常操作^[31],这时可以用 0.9%浓度的生理盐水对注射器中剩余的麻醉剂(约 0.02~0.05 mL)稀释后进行腹腔喷洒,或者在注射戊巴比妥钠后,按 50 g/kg 的剂量皮下注射丁丙诺啡 3~5 min 后,再用力按压小鼠足部,若小鼠对用力挤压产生的疼痛没有任何反应,则可继续进行后续的实验操作。上述两种处

理方式不仅可以有效的减轻实验中小鼠因麻醉剂量不足而产生的疼痛,而且还可以提高术后小鼠的成功苏醒以及降低实验中小鼠的死亡率^[32-33]。

3 小鼠术中处理

3.1 术中小鼠体温 近几年,有大量研究发现,饲养小鼠的室内温度和实验过程中小鼠体温的变化是肾 IRI 后肾功能指标出现明显变化的关键因素。所以,在充分考虑这个因素后,研究者在实验中使用了恒温系统,此恒温系统的顶端有一个探针,实验中需要将探针插入小鼠的直肠内,就可以精准地调节肾 IRI 实验小鼠体温的变化,从而可以很大程度降低因温度的变化导致的实验结果偏差。在最近的一项实验中,将小鼠充分麻醉后放置于恒温系统(37.0 °C 恒温手术台,且温度控制在±0.1 °C 范围内波动)上进行后续的实验操作,然后对比小鼠在有恒温系统时血清肌酐、血尿素氮水平的差异:他们在前期实验中,未使用恒温系统,致使小鼠血清肌酐水平不稳定,在后期实验中,他们在 37.0 °C 恒温系统的控制下进行实验,发现小鼠血清肌酐、血尿素氮的水平随温度的升高而升高^[34-35]。另外,Wong 等^[36-37]研究已证实,AKI 血清肌酐的标准值为 1.5 mg/dL (133 μmol/L),若在 48 h 内血清肌酐值迅速升高超过 3 mg/dL (265 μmol/L)或血清肌酐值在其标准值的基础上增加 50%则代表发生了 AKI。不仅如此,通过对小鼠术后血肌酐水平以及其术后恢复程度方面进行比较,发现经恒温系统下处理的小鼠血肌酐水平显著升高,肾损伤程度也更严重,小鼠术后恢复较慢、精神状态和活动度均较差。实验结果表明:术中温度的恒定是肾 IRI 后小鼠血肌酐升高的关键步骤,小鼠实验中经 37.0 °C 恒温系统处理后,术后肾功能和生化指标会出现明显的变化^[38]。

3.2 术中手术操作 实验者发现,实验中对小鼠进行常规麻醉后,在剪开腹腔时小鼠都会出现不同程度的疼痛反应,仔细观察小鼠的反应,判断其疼痛程度,若不影响后续手术进程以及各指标的监测,就尽量不再增加麻醉药物的剂量,否则将会延长术后小鼠的苏醒时间及增加小鼠的死亡丢失率^[39]。另外,研究者们还指出,在术中使用棉签、拉钩、玻璃分针、动脉夹等器械时动作一定要轻柔,避免造成腹腔内组织器官的损伤。其中,使用大小合适的拉钩可以增加术野的暴露、方便后续手术操作以及减少手术的时长。综上,实验中每一步操作都应缓慢谨慎,特别是在游离肾蒂时,要密切注意附近的血管和组织,以免造成实验中肾脏或者邻近器官出现不必要的损伤而导致实验结果出现较大的差异。

3.3 双侧肾蒂夹闭和右侧肾切除伴左侧肾蒂夹闭 根据以往小鼠实验的研究,大多数研究者在实验中分别通过双侧夹闭小鼠肾蒂 30 min、40 min、右侧肾切除伴左侧肾蒂夹闭 30 min 的方式分别诱导肾 IRI 的发生,观察肾脏颜色的变化,当颜色由鲜红色变为紫黑色时,即可判断为肾缺血模型建造成功,然后,夹闭双侧或单侧肾蒂使肾脏缺血至相应的时间后立即松开微型动脉夹以恢复肾脏的血流灌注,当血供恢复后,肾脏颜色也由紫黑变回鲜红色,即可认为肾缺血后再灌注成功。Behaghel 等^[40]在肾 IRI 后通过对肾功能和相应血清生化指标的监测,观察到各建模方式术后血清肌酐值的变化为:双侧夹闭

肾蒂 30 min 后血肌酐值在 100 μmol/L~150 μmol/L 范围内波动、双侧夹闭肾蒂 40 min 后血肌酐值在 120~240 μmol/L 范围内波动、右侧肾切除伴左侧肾蒂夹闭 30 min 后血肌酐值在 150~200 μmol/L 范围内波动,而造成血肌酐值不同的原因除了单、双侧夹闭肾蒂方式的不同,他们认为还要考虑的是术中肾蒂及血管游离不彻底或者动脉夹夹闭肾蒂时有邻近组织嵌入的原因。另外,需要特别指出的是,上述建模方式中提到的单侧钳夹肾蒂伴对侧肾切除建立肾 IRI 的方式也是目前研究 AKI 一个较好的选择,此方式常用于从急性肾损伤到肾小管间质纤维化发展进程的研究^[41-42],因此,后续越来越多的实验采取了以右侧肾切除伴左侧肾蒂夹闭的方式,显微镜下游离肾蒂和血管,待充分分离后,使用微型动脉夹夹闭肾蒂及血管 25 min,并且,单侧钳夹肾动脉伴对侧肾切除的方式还可以应对高强度的肾缺血,血清肌酐和血尿素氮的值在肾 IRI 发生 6 h 后显著升高,并在 24 h 内达到峰值(术后 24 h 肌酐水平维持在 100~150 μmol/L 左右)。

肾 IRI 后判断肾功能损伤的程度可以通过血清肌酐、血尿素氮以及尿蛋白水平的变化体现,但用于定位肾脏具体损伤的部位和程度,则需要行 HE 染色、PAS 染色以及 TUNEL 测定法进行进一步判断。缺血性 AKI 最典型的组织病理变化是近端肾小管上皮细胞发生坏死凋亡(需要用 TUNEL 测定法进行判断),艾娜等^[43]关于肾 IRI 对足细胞损伤的研究中表明肾 IRI 发生后会导致肾小管上皮细胞坏死并沉积于肾小管的管腔,经 PAS 染色后观察发现肾小管发生严重的扩张坏死并伴有刷状缘的消失,同时足突紊乱融合,足细胞消失,基底膜增厚,这些变化的原因可能与 ROS 的变化密切相关。另外,有研究表明肾小管的近端小管分为 S1-S3 段,在缺血性 AKI 中,肾小管损伤最严重的是 S3 段。刁爱芹等^[44-45]在 TIR/BB 环拟似物 AS-1 对小鼠肾缺血再灌注损伤的保护作用研究中明确证实:在肾 IRI 后,将小鼠处死,将肾脏进行脱水包埋后切片,每只小鼠肾脏切片随机选取 20 个视野在 200 倍光镜下进行观察,根据肾小管坏死程度,常用 HE 染色法对肾小管的损伤进行分级评分(0 分:正常肾脏,无损伤;1 分:≤10%,2 分:11%~25%区间的肾小管损伤;3 分:26%~45%区间的肾小管损伤;4 分:46%~75%区间的肾小管损伤;5 分:≥76%区间的肾小管损伤),其评分越高说明肾小管坏死越严重(最高 5 分)。

3.4 术中无创伤微型动脉夹的选择 国内外相关实验研究均未提及实验中夹闭肾蒂所用动脉夹的具体要求和品牌,大部分肾 IRI 实验中所采用的是神经外科用于临时阻断动脉瘤的无创伤微型动脉夹,夹力大小为 73 n,但是,由于这种用于夹闭小鼠肾蒂的微型动脉瘤夹非常容易损坏,所以,应使用专门设计的镊子辅助实验操作,以免造成任何不必要的损害。实验结束后取下动脉夹后观察发现血管并未出现明显损伤,证实了夹闭小鼠肾蒂时使用这种无创性微型动脉夹对小鼠血管有较好的保护作用,避免了血管破裂的发生^[46]。有些实验团队在之前实验模型建立中使用了脑动脉瘤无创微型动脉夹行肾蒂夹闭,但术后发现血清肌酐水平没有出现显著的变化,主要考虑是实验中动脉夹夹闭肾蒂不彻底导致小鼠部分血管仍残留血液循环的原因。判断动脉夹是否彻底夹闭了肾蒂及血管,主要通过夹

闭肾蒂后观察肾脏外观有无出现颜色深浅不均来判断。此外,对于动脉夹的选择,有国外文献^[47]报道还可以使用微型塞拉芬夹(The micro serrafine clips)对肾蒂进行夹闭,经检测,使用此动脉夹术后血清肌酐水平也可以达到缺血再灌注损伤的预期范围。这些研究表明,虽然夹闭肾蒂的动脉夹没有统一的标准,但是,彻底夹闭肾蒂是建模成功以及血肌酐、尿素氮等指标达到标准的关键。

3.5 术中夹闭肾蒂结束后肠管的复原 有些实验中小鼠在术前 4~6 h 内未做禁食处理,在术中发现部分肠管中有肠内容物残留,此时,可以先用无菌棉签轻推肠管,彻底游离出一侧肾脏进行肾蒂彻底游离后夹闭,同样的方法处理对侧肾脏。待双侧肾脏均处理完毕后,需按肠管的原位置进行复位,并且复位时注意肠管有无损伤。

4 小鼠术后护理

4.1 术后腹腔喷洒 0.9%生理盐水量 由于实验中小鼠长时间暴露腹腔,致使肠管较大面积长时间暴露于空气中,小鼠肠管水分丢失较严重,所以术后小鼠应行腹腔注射 0.9%生理盐水进行补充。Iwaki 等^[48]的实验中有部分小鼠术后腹腔未注射生理盐水,导致小鼠术后苏醒时间较长、活动度较差。他们通过实验研究表明术后关闭腹腔时应使用 1 mL 左右 0.9%生理盐水腹腔注射。但后续研究者在实验中发现腹腔注射 1 mL 生理盐水对于小鼠而言,剂量偏大,缝合时有液体外溢现象,导致小鼠皮肤毛发潮湿,易造成术后小鼠体温失衡,进而增加术后小鼠死亡丢失的概率,而注射 0.5 mL 的生理盐水对于小鼠腹腔体积较合适,缝合时无明显液体外溢^[49]。所以,建议在小鼠腹部切口闭合后,均立即腹腔注射 0.5 mL 温热无菌生理盐水,然后将小鼠放在加热垫上,直到其完全恢复意识,然后再放回鼠笼中。以上数据表明,术后经腹腔注射生理盐水的小鼠术后苏醒时间无明显延长以及小鼠活动度均较好。

4.2 术后复温 实验结束后,小鼠于 26 °C 的环境保暖,且进行复温 40 min 处理,复温有助于加速血液凝固、组织器官功能的恢复以及伤口更好的愈合,复温的同时需为小鼠补充水与饲料^[50]。实验中有部分小鼠,术后未行复温处理,直接放置于常温鼠盒中,导致这些未行复温处理小鼠的苏醒时间及伤口愈合时间均长于术后行复温处理的小鼠。

5 其他细节

目前,肾 IRI 模型的建立,研究者们均比较倾向于选择腹部正中切口^[51-52],也有文献记载可以采用背部切口和双侧切口^[53],但大多数实验者考虑到手术时间等问题还是选择采用腹部正中切口。Lu 等^[54-55]通过实验表明,在夹闭肾蒂过程中,将夹闭右肾蒂和左肾蒂之间的时间间隔控制在 1~1.5 min 内。尽管从哪一侧开始夹闭并不重要,但他们建议首先夹闭右侧,因为右椎弓根相对较短且较难夹紧,先将右肾蒂夹紧后,很容易在 1~1.5 min 内完成左椎弓根的夹闭。但是,在双侧肾蒂被完全夹闭后,要分别记录每侧肾脏的缺血时间,以确保两个肾脏都接受相同的持续缺血时间。夹闭完成后,使用湿无菌纱布覆盖手术切口,这对于暴露的腹腔较少的丢失水分有较大帮助。他们还指出,关闭腹腔时使用 5-0 组织缝合线进行腹膜连续缝合和腹壁间断缝合,因小鼠术后可能会主动撕咬缝合

线,所以腹壁有行间断缝合的必要性。不建议使用夹子闭合伤口而不缝合肌肉层,因为可能会导致伤口愈合不完全或发生感染。另外,小鼠复温后给予喂食适量的生理盐水,对于小鼠可以较快的恢复活动能力提供一定的帮助。

6 小结与展望

本文综述了肾 IRI 小鼠模型建造过程中术前、术中及术后的操作及注意事项,并结合以往国内外实验中小鼠肾 IRI 建模的研究对目前建模条件进行综述,总结出目前双侧肾 IRI 模型的建立是国内外研究肾 IRI 应用最多的建模方式,查阅相关文献并归纳后认为,目前最优的双侧肾 IRI 模型建立的条件是:选择 8 周龄左右雄性 WTC57 小鼠,适应性喂养一周后(温度:22~26 °C,湿度 40%~60%,昼夜各 12 h),于术前禁食 4~6 h 后,用 5%戊巴比妥钠行腹腔注射麻醉,充分麻醉后将小鼠置于 37 °C 恒温台上,行腹部正中切口逐层切开腹腔,小心并彻底游离双侧肾蒂周围组织,用无损伤微型动脉夹夹闭双侧肾蒂 30 min 后恢复血流灌注并还原肠管至原本的解剖位置,为防止脱水腹腔内注入 1 mL 温热生理盐水,并逐层缝合腹腔,术后将小鼠放置于 26 °C 且食物充足环境内等待苏醒。另外有研究发现小鼠对实验环境异常敏感,即使同条件下不同批次实验,术后结果有时也会出现大范围波动。目前随着临床 AKI 患病率不断升高,模拟并建立稳定的肾 IRI 模型以期对肾 IRI 病理生理机制的进一步研究至关重要。因此,之后研究者们对小鼠肾 IRI 模型建立的进一步优化将有助于更加精细的模拟 AKI 的发生发展机制,也为后续建立更加可靠、稳定的小鼠肾 IRI 模型及研究提供可靠的理论依据。

【参考文献】

- [1] OW C P C, NGO J P, ULLAH M M, *et al.* Absence of renal hypoxia in the subacute phase of severe renal ischemia-reperfusion injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 315(5): F1358-F1369.
- [2] DING M, TOLBERT E, BIRKENBACH M, *et al.* Treprostinil, a prostacyclin analog, ameliorates renal ischemia-reperfusion injury: preclinical studies in a rat model of acute kidney injury[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2021, 36(2): 257-266.
- [3] CHEN C, YAO W, WU S, *et al.* Crosstalk between connexin32 and mitochondrial apoptotic Signaling Pathway Plays a Pivotal Role in Renal Ischemia Reperfusion-Induced Acute kidney injury[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2019, 30(12): 1521-1538.
- [4] DU Y, NING J Z. MiR-182 promotes ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury in rat by targeting foxO3[J]. *Urol Int*, 2021, 105(7-8): 687-696.
- [5] ERPICUM P, ROWART P, DEFRAIGNE J O, *et al.* What we need to know about lipid-associated injury in case of renal ischemia-reperfusion[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 315(6): F1714-F1719.
- [6] HOSTE E A J, KELLUM J A, SELBY N M, *et al.* Global epidemiology and outcomes of acute kidney injury[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2018, 14(10): 607-625.
- [7] HOSSZU A, FEKETE A, SZABO A J. Sex differences in renal ischemia-reperfusion injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*,

- 2020, 319(2): F149-F154.
- [8] OW C, NGO J P, MAHBUB U M, *et al.* Absence of renal hypoxia in the subacute phase of severe renal ischemia reperfusion injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 315(5): F1358-F1369.
- [9] FU Y, TANG C, CAI J, *et al.* Rodent models of AKI-CKD transition[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 315(4): F1098-F1106.
- [10] SHIVA N, SHARMA N, KULKARNI Y A, *et al.* Renal ischemia/reperfusion injury: An insight on in vitro and in vivo models[J]. *Life Sci*, 2020, 256: 117860
- [11] WEI J, WANG Y, ZHANG J, *et al.* A mouse model of renal ischemia-reperfusion injury solely induced by cold ischemia[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2019, 317(3): F616-F622.
- [12] SUN M, FAN H, LE J, *et al.* Protective effects of Klotho protein on acute kidney injury in septic mice and its mechanism[J]. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*, 2019, 31(2):160-164.
- [13] WEI J, ZHANG J, WANG L, *et al.* New mouse model of chronic kidney disease transitioned from ischemic acute kidney injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2019, 317(2): F286-F295.
- [14] SORANNO D E, GIL H W, KIRKBRIDE-ROMEO L, *et al.* Matching human unilateral AKI, a reverse translational approach to investigate kidney recovery after ischemia[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2019, 30(6): 990-1005.
- [15] SINGH A P, SINGH N, SINGH BEDI P M. Estrogen attenuates renal IRI through PPAR- γ agonism in rats[J]. *J Surg Res*, 2016, 203(2): 324-330.
- [16] NAHAVANDI S, AHMADI S, SOBHANI S A, *et al.* A high dose of estrogen can improve renal ischemia-reperfusion-induced pulmonary injury in ovariectomized female rats[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2021, 99(12): 1241-1252.
- [17] ZHANG J, WANG X, WEI J, *et al.* A two-stage bilateral ischemia-reperfusion injury-induced AKI to CKD transition model in mice[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2020, 319(2): F304-F311.
- [18] MOHAMMAD B I, RAHEEM A K, HADI NR, *et al.* Renoprotective effects of TAK-242 on acute kidney injury in a rat model[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(1): 304-308.
- [19] WANG X, BONVENTRE J V, PARRISH A R. The aging kidney: increased susceptibility to nephrotoxicity[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(9): 15358-15376.
- [20] LIU D, LUN L, HUANG Q, *et al.* Youthful systemic milieu alleviates renal ischemia-reperfusion injury in elderly mice[J]. *Kidney Int*, 2018, 94(2): 268-279.
- [21] HYOJU S K, ADRIAANSENS C, WIENHOLTS K, *et al.* Low-fat/high-fibre diet prehabilitation improves anastomotic healing via the microbiome: an experimental model[J]. *Br J Surg*, 2020, 107(6): 743-755.
- [22] KIM S W, KIM M, SHIN H S. Affective empathy and prosocial behavior in rodents[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2021, 68: 181-189.
- [23] GAO M, ZHANG L, WANG Y, *et al.* Influence of humanistic care based on Carolina care model for ovarian cancer patients on postoperative recovery and quality of life[J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(4): 3390-3399.
- [24] HUANG W, YAN Y, WU M, *et al.* Preoperative fasting confers protection against intestinal ischaemia/reperfusion injury by modulating gut microbiota and their metabolites in a mouse model[J]. *Br J Anaesth*, 2022, 128(3): 501-512.
- [25] BROCKEL M A, KENNY M C, SEVICK C J, *et al.* The role of preoperative instructions in parents' understanding of preoperative fasting for outpatient pediatric urology procedures[J]. *Pediatr Surg Int*, 2020, 36(9): 1111-1116.
- [26] LARA-PADILLA E, GODINEZ-VICTORIA M, DRAGOSERRANO ME, *et al.* Intermittent fasting modulates IgA levels in the small intestine under intense stress: a mouse model [J]. *J Neuroimmunol*, 2015, 285: 22-30.
- [27] PINTO F C S, SILVA A A M, SOUZA S L. Repercussions of intermittent fasting on the intestinal microbiota community and body composition: a systematic review[J]. *Nutr Rev*, 2022, 80(3): 613-628.
- [28] KIM B R, YOON S, SONG G Y, *et al.* The impact of total intravenous anesthesia versus inhalation anesthesia on acute kidney injury after major abdominal surgery: a propensity score analysis[J]. *J Anesth*, 2021, 35(1): 112-121.
- [29] AKYÜZ O, ERGÜN M. The effectiveness of jet (needle-free) injector to provide anesthesia in child circumcision under local anesthesia[J]. *J Invest Surg*, 2022, 35(1): 44-48.
- [30] DUTTON JW 3 R D, ARTWOHL J E, HUANG X, *et al.* Assessment of pain associated with the injection of sodium pentobarbital in laboratory mice (*mus musculus*) [J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2019, 58(3): 373-379.
- [31] ZHANG J, SUN X, CHENG W, *et al.* Application of different doses of dexmedetomidine combined with general anesthesia in anesthesia of patients with traumatic tibiofibular fractures and its effect on the incidence of adverse reactions[J]. *J Healthc Eng*, 2021, 2021: 3080098.
- [32] NYBERG J, LI H, WESSMARK P, *et al.* Population kinetics of 0.9% saline distribution in hemorrhaged awake and isoflurane-anesthetized volunteers [J]. *Anesthesiology*, 2019, 131(3): 501-511.
- [33] MOSAFFA F, HOSSEINI F, DABIR S. Saline vs. dextrose for local anesthetic dilution in brachial plexus block: A randomized study[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2020, 33(1): 79-83.
- [34] LAI L L, SEE M H, RAMPAL S, *et al.* Significant factors influencing inadvertent hypothermia in pediatric anesthesia[J]. *J Clin Monit Comput*, 2019, 33(6): 1105-1112.
- [35] STRAND K, SØREIDE E, KIRKEGAARD H, *et al.* The influence of prolonged temperature management on acute kidney injury after out-of-hospital cardiac arrest: A post hoc analysis of the TTH48 trial[J]. *Resuscitation*, 2020, 151: 10-17.
- [36] WONG F. Acute kidney injury in liver cirrhosis: new definition and application[J]. *Clin Mol Hepatol*, 2016, 22(4): 415-422.
- [37] WONG F, O'LEARY J G, REDDY K R, *et al.* A cut-off ser-

- um creatinine value of 1.5 mg/dl for AKI—to be or not to be[J]. *J Hepatol*, 2015, 62(3): 741-743.
- [38] EPSTEIN RH, DEXTER F, HOFER IS, *et al.* Perioperative temperature measurement considerations relevant to reporting requirements for national quality programs using data from anesthesia information management systems[J]. *Anesth Analg*, 2018, 126(2): 478-486.
- [39] SCHMIDT B, BHAMBHANI H P, GREENBERG D R, *et al.* Bupivacaine local anesthetic to decrease opioid requirements after radical cystectomy: Does formulation matter? [J]. *Urol Oncol*, 2021, 39(6): 369.e1-369.e8.
- [40] BEHAGHEL V, TAMAREILLE S, RABANT M, *et al.* Remote ischemic conditioning in a model of severe renal ischemia-reperfusion injury[J]. *Shock*, 2019, 51(6): 795-799.
- [41] LE CLEF N, VERHULST A, D'HAESE P C, *et al.* Unilateral renal ischemia-reperfusion as a robust model for acute to chronic kidney injury in mice[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0152153.
- [42] KIM M G, YANG J, KO Y S, *et al.* Impact of aging on transition of acute kidney injury to chronic kidney disease[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 18445.
- [43] 艾娜, 谢席胜, 王强, 等. 肾缺血再灌注损伤大鼠模型足细胞损伤及机制研究[J]. *西部医学*, 2015, 27(2): 170-174.
- [44] 刁爱芹, 张光际, 王卉, 等. TIR/BB 环拟似物 AS-1 对小鼠肾缺血再灌注损伤的保护作用研究[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2022, 42(8): 1080-1086.
- [45] 赵侠勇, 李彦平, 乔晓如, 等. 人参皂苷和异氟醚预处理对心肌缺血再灌注损伤大鼠的保护作用[J]. *西部医学*, 2020, 32(2): 189-193.
- [46] DUTTA G, JAGTIA A, SRIVASTAVA A K, *et al.* Intraoperative cerebral blood flow assessment by indocyanine green video-angiography after temporary arterial occlusion in aneurysm surgery and its clinical implications: a prospective study[J]. *J Cerebrovasc Endovasc Neurosurg*, 2021, 23(3): 210-220.
- [47] HESKETH E E, CZOPEK A, CLAY M, *et al.* Renal ischemia reperfusion injury: a mouse model of injury and regeneration[J]. *J Vis Exp*, 2014, (88): 51816.
- [48] IWAKI T, BENNION B G, STENSON E K, *et al.* PPAR α contributes to protection against metabolic and inflammatory derangements associated with acute kidney injury in experimental sepsis[J]. *Physiol Rep*, 2019, 7(10): e14078.
- [49] GAO S, JIN F, SHUI K, *et al.* A rat model of orthotopic kidney transplantation based on nonanastomotic technique [J]. *Transplant Proc*, 2021, 53(10): 3080-3086.
- [50] HORIOKA K, TANAKA H, ISOZAKI S, *et al.* Rewarming from accidental hypothermia enhances whole blood clotting properties in a murine model[J]. *Thromb Res*, 2020, 195: 114-119.
- [51] SENSOY E, AKCAN AC, KORKMAZ M, *et al.* Investigation of the effects of systemic meperidine administration on fascia healing in an experimental rat model[J]. *Acta Cir Bras*, 2020, 35(11): e351107.
- [52] KWAK J, KIM J H, JANG H N, *et al.* Erythropoietin ameliorates ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury via inflammation suppression in mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10): 3453.
- [53] SKRYPNYK N I, HARRIS R C, DE CAESTECKER M P. Ischemia-reperfusion model of acute kidney injury and post injury fibrosis in mice[J]. *J Vis Exp*, 2013, 78: 50495.
- [54] LU X, LI N, SHUSHAKOVA N, *et al.* C57BL/6 and 129/Sv mice: genetic difference to renal ischemia-reperfusion [J]. *J Nephrol*, 2012, 25(5): 738-743.
- [55] WEI Q, DONG Z. Mouse model of ischemic acute kidney injury: technical notes and tricks[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 303(11): F1487-F1494.

(收稿日期: 2022-10-05; 修回日期: 2023-01-04; 编辑: 王小菊)