

· 动物模型研究 ·

阿霉素不同方式诱导 SD 大鼠建立局灶节段性肾小球硬化模型比较分析

李俊¹, 蒋亚², 左沙沙², 王木兰¹, 查晨亮¹, 江志辉¹, 龚琴¹(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006; 2. 江西中医药大学, 江西 南昌 330006)

摘要: **目的** 对比分析阿霉素 3 种不同诱导方式建立的局灶节段性肾小球硬化(Focal segmental glomerulosclerosis, FSGS)大鼠模型的差异。**方法** 将 25 只 SD 大鼠随机分为 4 组, 即正常组及模型 1、2、3 组。正常组大鼠不做处理; 模型 1 组大鼠分 2 次尾静脉注射阿霉素($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 间隔 14 d; 模型 2 组大鼠一次性尾静脉注射阿霉素 $7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 模型 3 组大鼠手术摘除右肾, 分别于术后第 4 天和第 8 天尾静脉注射阿霉素($3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 复制 FSGS 大鼠模型。采用生化法检测各组大鼠的 24 h 尿蛋白、血清白蛋白(ALB)、血肌酐(Cre)和尿素氮(BUN)水平, 连续观察 7 周; 采用糖原(PAS)染色法和 Masson 染色法检测各组大鼠肾脏组织病理形态学变化。**结果** 与正常组比较, 各模型组大鼠的 24 h 尿蛋白含量都有不同程度的升高($P < 0.05$, $P < 0.01$); 模型 2、3 组大鼠的血清白蛋白含量从第 2、3 周末时开始持续下降($P < 0.05$, $P < 0.01$); 第 2 周末各模型组大鼠的血清中尿素氮水平均明显升高($P < 0.05$); 模型 1 组大鼠的血肌酐含量始终无明显变化($P > 0.05$), 模型 2 组大鼠的血肌酐仅在第 4、5 周末有明显升高($P < 0.05$), 模型 3 组大鼠的血肌酐含量则一直呈现明显上升趋势, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。病理结果显示: 模型 1 组大鼠肾脏组织未见明显毛细血管祥病变, 肾小管轻度扩张, 少量管型蛋白; 模型 2 组大鼠肾脏有损伤, 肾小球轻度系膜增生, 但未见明显肾小球局灶节段性硬化; 模型 3 组大鼠肾小球毛细血管襻与肾小囊粘连, 有明显毛细血管祥狭窄、闭塞, 肾小管扩张, 管型蛋白等病理变化。与正常组比较, 3 个模型组大鼠肾脏组织 Masson 染色切片的平均光密度值均明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$), 肾脏组织有明显纤维化, 其中模型 3 组的平均光密度值最大, 表明其肾小球局灶性、节段性硬化更为严重。模型 2 组动物一般状态不佳, 死亡率为 33.3%; 模型 3 组动物状况良好, 无死亡。**结论** 模型 3 组大鼠局灶节段性硬化特点突出, “单侧肾摘除+分次小剂量注射阿霉素”是建立 FSGS 模型的最佳方式, 可为 FSGS 肾病研究提供参考。

关键词: 阿霉素; 局灶节段性肾小球硬化模型; SD 大鼠

中图分类号: R285.5; R-332 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2021)07-0998-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.07.013

A Comparative Analysis of Adriamycin Induced Model of Focal Segmental Glomerulosclerosis in SD Rats

LI Jun¹, JIANG Ya², ZUO Shasha², WANG Mulan¹, ZHA Chenliang¹, JIANG Zhihui¹, GONG Qin¹(1. National Engineering Research Center for Manufacturing Technology of Solid Preparation of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006 Jiangxi, China; 2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006 Jiangxi, China)

Abstract: Objective To establish focal segmental glomerular sclerosis (FSGS) model by comparing three different methods of adriamycin treatment. **Methods** Twenty-five SD rats were randomly divided into four groups, including normal group and model groups 1, 2 and 3. The normal group was not treated. The rats in model group 1 were

收稿日期: 2020-10-28

作者简介: 李俊, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 中药药效与毒理研究。Email: 21383492@qq.com。

基金项目: 国家重点研发计划资助项目(2019YFC1712300)。

injected twice with adriamycin through the caudal vein ($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ each time, 14 days interval). Model group 2 rats were given a one-time injection of adriamycin ($7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) *via* caudal vein. The right kidney was surgically removed in model group 3, and adriamycin was injected into the tail vein at $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ on the 4th and 8th day, respectively, to replicate the rat FSGS model. The 24 h urine protein, serum albumin (ALB), serum creatinine (Cre) and urea nitrogen (BUN) were detected by biochemical method, and the results were observed for 7 weeks. Glycogen (PAS) staining and Masson staining were used to detect the pathological morphological changes of renal tissues in each group. **Results** Compared with the normal group, the 24 h urinary protein contents in model groups were increased to different degrees ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The serum albumin contents of model groups 2 and 3 began decreasing from the end of the second and third week ($P < 0.05$, $P < 0.01$). At the end of the second week, the serum urea nitrogen levels in model groups were significantly increased ($P < 0.05$). The serum creatinine content of model group 1 had no significant change all the time ($P > 0.05$), and the serum creatinine content of model group 2 only increased significantly at the end of the 4th and 5th week ($P < 0.05$), while the serum creatinine content of model group 3 showed a significant upward trend all the time, with statistical significance ($P < 0.01$). The pathological results showed that there was no obvious capillary loop lesion in the kidney tissue of model group 1 rats, and the renal tubules were slightly dilated with a small amount of tubular protein. The kidney injury in model group 2 was accompanied by mild mesangial hyperplasia of the glomerulus, but no obvious focal segmental sclerosis of the glomerulus was observed. In model group 3, the capillary loops of the glomerulus were adhered to the renal capsule, and there were obvious pathological changes such as capillary loop stricture and occlusion, renal tubules dilatation and tubular protein. Compared with the normal group, the mean optical density values of Masson staining slices of kidney tissue in the three model groups were significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$), and the renal tissue showed obvious fibrosis; among which the mean optical density values in the model group 3 were the highest, indicating that the focal and segmental glomerular sclerosis was the most serious. Model group 2 was in poor general condition and the mortality rate was 33.3%. The animals in model group 3 were in good condition and had no death. **Conclusion** Model group 3 rats had prominent features of focal segmental sclerosis. The "unilateral kidney excision+ fractional injection of adriamycin" is the best way to establish FSGS model, which can provide reference for the study of FSGS nephropathy.

Keywords: Adriamycin; focal segmental glomerular sclerosis model; SD rats

局灶节段性肾小球硬化 (Focal segmental glomerulosclerosis, FSGS) 由 Rich^[1] 在 1957 年首次定义, 其发病率一直呈上升趋势, 发病机制尚不清楚, 临床表现为大量蛋白尿和肾病综合征, 预后不良^[2-3]。肾脏纤维化是 FSGS 的病理基础, 近 50% 患者可发生肾脏纤维化^[4]。国内外公认较好的 FSGS 实验模型为阿霉素肾病模型, 因为其能更好地模拟人类微小病变及 FSGS 肾病综合征^[5-7]。

目前采用阿霉素建立 FSGS 模型的方法大致分为 3 类: ①保留双肾, 单次注射大剂量阿霉素; ②保留双肾, 分次注射小剂量阿霉素; ③单侧肾摘除+分次注射小剂量阿霉素。“保留双肾, 单次大剂量注射阿霉素”是较为简便、快速复制 FSGS 模型的方法, 现大多用于建立小鼠 FSGS 模型^[8-10]。但大剂量阿霉素

引起的心脏毒性及免疫相关副作用导致实验动物状态不佳、死亡率较高而成为对研究者的极大困扰^[11]。“保留双肾, 分次注射较小剂量阿霉素”复制 FSGS 模型周期较长, 对阿霉素剂量的选择和复制模型时间长短有较高的要求^[12]。“单侧肾摘除+分次注射小剂量阿霉素”是较常用的一种方法, 但分次注射阿霉素的间隔时间和用量有所不同, 所以导致模型复制结果也不尽相同。一般来说, 分次剂量越小, 间隔时间越长, 则模型形成的时间越长, 反之则越短^[13-15]。

本研究拟选用对阿霉素较为敏感的 SD 大鼠品系作为实验载体^[16-17], 通过动态观察比较上述 3 种模型复制方式下的大鼠蛋白尿、血清生化指标及光镜下的肾脏病理变化情况, 评价并筛选出最佳的造模方式, 以为后续相关研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 动物 雄性 SD 大鼠 25 只, SPF 级, 体质量为(240±20)g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 动物生产许可证号: SCXK(湘)2013-0004。动物饲养于江西中医药大学实验动物科技中心, 使用许可证号: SYXK(赣)2017-0004。实验获得江西中医药大学实验动物伦理委员会的批准, 伦理审查证号: JZLLSC2017-0021。

1.2 主要试剂及仪器 注射用盐酸多柔比星(国药准字 H44024359), 深圳万乐药业有限公司, 批号: 19006111; 尿素氮(BUN)试剂盒, 日本纯药工业株式会社, 批号: TR368/DF774; 肌酐(Cre)试剂盒(批号: 7082216)、尿蛋白(CSF)试剂盒(批号: CS7480/19012801)、血清白蛋白(ALB)试剂盒(批号: 2400806), 均购自北京利德曼生化股份有限公司; 糖原(PAS)染色试剂盒, 安徽雷根生物技术有限公司, 批号: 1022A19; Masson 染色试剂盒, 北京索莱宝科技公司, 批号: 20190829。Hitachi 7100 型全自动生化分析仪, 日本日立公司; 5810R 型冷冻离心机, 德国 Eppendorf 公司; H550L 型光学显微镜, 日本尼康公司。

1.3 模型复制 大鼠适应性喂养 1 周后, 收集 24 h 尿液检测尿蛋白含量, 并随机分为正常组(6 只)、模型 1 组(6 只)、模型 2 组(6 只)、模型 3 组(7 只)。正常组大鼠不做处理; 模型 1 组大鼠分 2 次尾静脉注射阿霉素(4 mg·kg⁻¹), 间隔 14 d; 模型 2 组大鼠一次性尾静脉注射阿霉素(7 mg·kg⁻¹); 模型 3 组大鼠手术摘除右肾, 分别于术后第 4 天和第 8 天尾静脉注射阿霉素(3 mg·kg⁻¹), 复制 FSGS 大鼠模型。连续观察 7 周, 实验结束后, 动物脱颈椎处死, 取出肾脏组织, 以 4% 甲醛溶液固定。

1.4 24 h 尿蛋白检测 模型复制 2 周后, 将大鼠置于代谢笼中空腹收集 24 h 尿液, 以量筒量取体积并记录。留取 1 mL 尿液以离心半径 9 cm、1 500 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取上清。采用 Hitachi 7100 型全自动生化分析仪检测大鼠尿蛋白, 此后每周检测 1 次, 连续

7 周。

1.5 血清肾功能指标检测 收集尿液后, 各组动物吸入异氟烷麻醉, 采用眼眶取血。取血液 0.5 mL, 以离心半径 9 cm、3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取血清; 采用 Hitachi 7100 型全自动生化分析仪检测血清白蛋白、尿素氮、肌酐的含量。此后每周检测 1 次, 连续 7 周。

1.6 肾脏组织病理形态学观察 取固定好的肾脏组织, 常规进行梯度乙醇脱水(80%乙醇 24 h, 90%乙醇 4 h, 无水乙醇 30 min), 二甲苯透明 25 min, 浸蜡 2 h; 用包埋机制作蜡块, 石蜡切片机切片(厚度 4 μm), 45 °C 水浴展片后, 在干燥箱中 37 °C 烘片 3 h。按照说明书操作步骤进行糖原染色和 Masson 染色, 于光学显微镜下观察肾脏组织病理形态学变化。Masson 染色图片用 Image-Pro Plus 软件分析肾脏组织中蓝绿色区域面积(Area)及累积光密度(IOD)值, 计算: 平均光密度值=IOD/ Area。

1.7 统计学处理方法 采用 Graphpad Prism 8 统计软件进行数据分析, 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(One-way ANOVA), 两两比较用 *t* 检验; 以 *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠的一般状况及体质量变化 正常组大鼠皮毛光滑, 灵活好动, 饮食、饮水正常。各模型组大鼠出现皮毛粗糙、消瘦、活动减少, 且随着时间的延长, 笼内潮湿程度增加; 大鼠尾部出现不同程度溃烂, 尾根部和睾丸出现黑斑, 部分动物后足肿胀。上述现象以模型 2 组大鼠最为明显, 实验过程中模型 2 组大鼠在第 7 周死亡 2 只, 死亡率为 33.3%, 其他各组均无死亡。与正常组比较, 模型复制 2 周后, 模型 2 组、模型 3 组大鼠的体质量明显降低(*P* < 0.01)。5 周末时模型 3 组大鼠体质量有所回升, 实验结束时基本恢复至模型复制前水平; 模型 2 组大鼠体质量处于持续下降趋势。结果见表 1。

表 1 各组大鼠的体质量变化($\bar{x} \pm s$, *n*=6~7)

Table 1 Changes in body weight of rats in each group($\bar{x} \pm s$, *n*=6~7)

组别	体质量/g						
	0 周	2 周	3 周	4 周	5 周	6 周	7 周
正常组	304 ± 39	368 ± 57	378 ± 62	369 ± 50	406 ± 43	421 ± 34	441 ± 20
模型 1 组	283 ± 27	312 ± 31	332 ± 20	313 ± 14	353 ± 16	357 ± 20*	361 ± 21*
模型 2 组	290 ± 23	252 ± 14**	253 ± 18**	239 ± 19**	258 ± 30**	243 ± 56**	250 ± 43**
模型 3 组	288 ± 24	244 ± 18**	248 ± 24**	234 ± 32**	266 ± 31**	272 ± 26**	280 ± 19**

注: 与正常组比较, **P* < 0.05, ***P* < 0.01

2.2 各组大鼠 24 h 尿蛋白含量的变化 结果见表 2。模型复制 2 周后开始观察至 7 周末，与正常组比较，各模型组大鼠的 24 h 尿蛋白含量都有不同程度的升高，差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P <$

0.01)。模型 2 组大鼠的 24 h 尿蛋白在第 2 周末时就达到一个较高水平，并且维持至 7 周末。模型 3 组大鼠的 24 h 尿蛋白在第 2 周末时并无明显升高，第 3 周末时开始并持续升高。

表 2 各组大鼠 24 h 尿蛋白含量的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n=6\sim 7$)

Table 2 Changes of urinary protein at 24 h of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6\sim 7$)

组别	24 h 尿蛋白/mg						
	0 周	2 周	3 周	4 周	5 周	6 周	7 周
正常组	4.2±0.9	2.8±1.3	4.6±3.2	5.2±4.1	8.5±5.1	7.6±3.9	6.6±4.3
模型 1 组	4.8±1.2	18.7±12.7*	24.4±13.4*	24.1±16.7	33.2±14.8*	40.6±15.8*	48.9±14.1*
模型 2 组	4.2±1.1	52.4±13.1**	50.1±31.0*	57.5±37.5*	45.0±20.3*	50.3±23.5*	56.4±1.2*
模型 3 组	4.0±1.0	5.3±3.1	47.9±14.1**	52.4±22.2**	59.4±15.0**	61.1±9.2**	63.4±20.2*

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

2.3 各组大鼠血清白蛋白含量的变化 结果见表 3。与正常组比较，模型 2 组大鼠的血清白蛋白含量从第 2 周末时开始持续下降至实验结束 ($P < 0.01$)；模型 3 组大鼠的血清白蛋白含量在 3 周末开始明显下降并持续至实验结束 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；模型 1 组大鼠的血清白蛋白含量直至第 6 周仍无明显变化，第 7 周末时才出现较明显的下降 ($P < 0.05$)。

2.5 各组大鼠血肌酐含量的变化 结果见表 5。与正常组比较，模型 1 组大鼠的血肌酐含量无明显变化 ($P > 0.05$)；模型 2 组大鼠的血肌酐含量有升高的趋势，在第 4、5 周末有明显升高 ($P < 0.05$)，但第 6、7 周末又有下降趋势 ($P > 0.05$)；模型 3 组大鼠的血肌酐含量则一直呈现明显上升趋势，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

表 3 各组大鼠血清白蛋白含量的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n=6\sim 7$)

Table 3 Changes of serum albumin of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6\sim 7$)

组别	血清白蛋白/(g·L ⁻¹)					
	2 周	3 周	4 周	5 周	6 周	7 周
正常组	38.8±3.5	40.1±4.6	40.1±5.3	43.7±4.1	43.2±2.6	44.1±1.0
模型 1 组	40.4±5.6	40.7±4.6	39.4±4.0	39.3±4.1	38.1±4.9	36.6±4.4*
模型 2 组	28.1±2.0**	27.0±1.9**	24.6±3.5**	26.1±2.8**	24.2±2.2**	23.4±0.8**
模型 3 组	36.1±5.5	30.8±5.0*	28.2±5.6**	27.9±5.0**	27.6±3.6**	27.3±3.0**

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

2.4 各组大鼠血清尿素氮水平的变化 结果见表 4。与正常组比较，2 周末各模型组大鼠的血清尿素氮水平均明显升高 ($P < 0.05$)。第 3 周末各模型组大鼠的血清尿素氮水平均有所恢复，与正常组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，模型 2 组和模型 3 组大鼠的血清尿素氮水平始终维持高于正常组的水平。

表 5 各组大鼠血肌酐含量的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n=6\sim 7$)

Table 5 Changes in serum creatinine content of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6\sim 7$)

组别	肌酐/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)					
	2 周	3 周	4 周	5 周	6 周	7 周
正常组	19.6±1.9	22.0±3.0	20.6±2.1	24.1±5.5	25.7±4.0	23.6±4.6
模型 1 组	15.5±0.9*	19.7±2.0	21.6±2.4	25.5±3.6	24.4±0.6	23.2±2.1
模型 2 组	20.9±0.9	24.2±2.0	24.4±2.0*	30.6±2.7*	27.5±2.0	28.8±3.6
模型 3 组	25.8±2.9**	31.5±4.3**	32.4±5.5**	38.7±2.3**	36.6±1.8**	42.3±4.2**

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

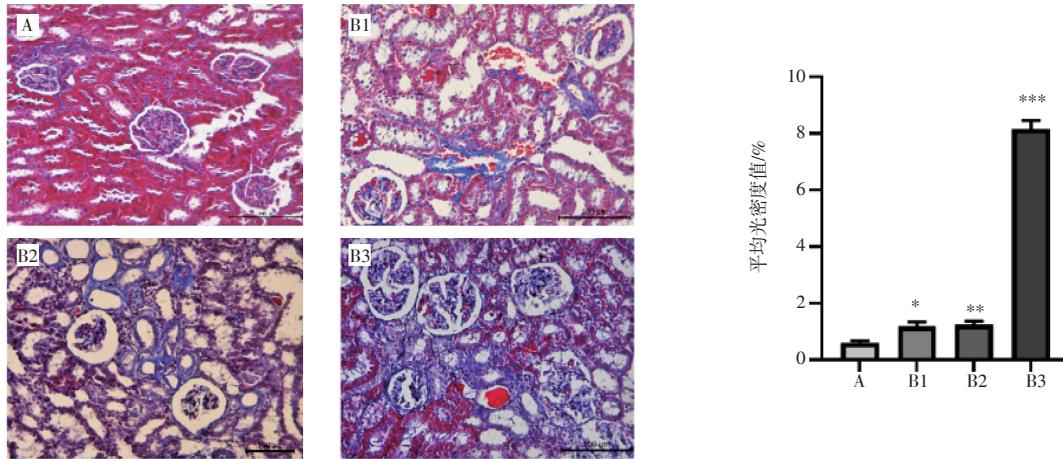
表 4 各组大鼠血清尿素氮水平的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n=6\sim 7$)

Table 4 Changes of serum urea nitrogen of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6\sim 7$)

组别	尿素氮/(mg·dl ⁻¹)					
	2 周	3 周	4 周	5 周	6 周	7 周
正常组	21.3±1.8	19.3±2.8	26.8±1.6	17.1±3.3	16.0±0.4	16.6±1.8
模型 1 组	25.2±0.4*	18.2±4.1	17.4±1.3**	13.9±1.1	15.9±2.2	15.3±3.2
模型 2 组	28.7±6.8*	20.3±2.5	37.3±14.1	17.3±2.4	24.0±10.3	33.8±13.9
模型 3 组	33.5±8.8*	21.9±7.6	42.9±28.0	21.3±1.7*	19.0±3.7	19.5±5.9

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

2.6 各组大鼠肾脏组织的纤维化变化 结果见图 1。正常组大鼠的肾脏结构清晰，肾小球、肾小管及肾间质结构基本正常，无纤维组织增生。模型 1 组大鼠的肾小管间质有纤维组织增生，肾小球毛细血管襻无明显变化。模型 2 组大鼠的肾间质纤维化明显，肾小球基底膜增生。模型 3 组大鼠的肾小球明显系膜细胞增生及基底膜增厚，肾小球毛细血管襻与鲍曼囊粘连，部分肾小管管腔内可见蛋白管型，肾纤维组织增生明显。与正常组比较，3 个模型组大鼠肾脏组织 Masson 染色切片的平均光密度值均明显升高，差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$)，表明 FSGS 大鼠肾脏组织有明显纤维化。其中模型 3 组的平均光密度值最大，其肾小球局灶



注: A. 正常组; B1. 模型 1 组; B2. 模型 2 组; B3. 模型 3 组。与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

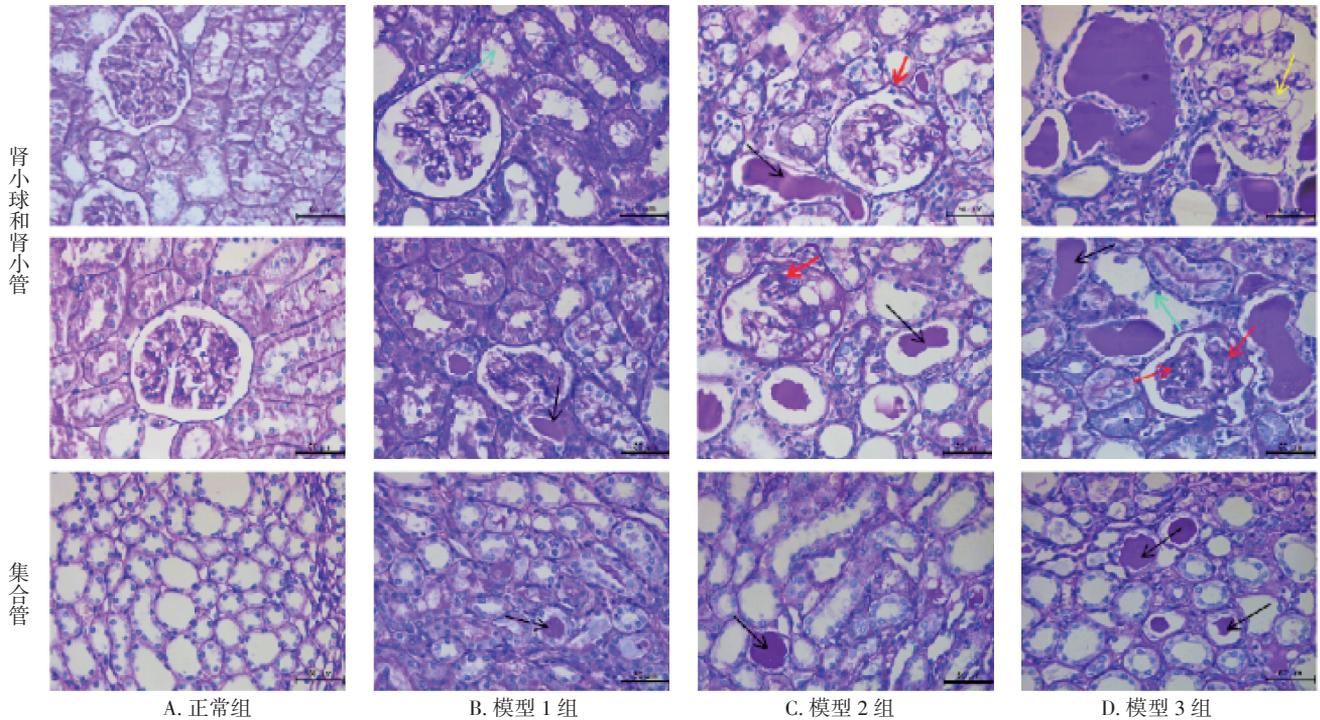
图 1 各组大鼠肾脏组织的纤维化变化(Masson 染色, $\times 200$)

Figure 1 Changes of renal fibrosis in the renal tissues of rats in each group(Masson staining, $\times 200$)

性、节段性硬化更为严重。

2.7 各组大鼠肾脏组织的病理形态学变化 结果见图 2。正常组大鼠的肾脏结构清晰, 肾小球、肾小管及间质均无异常改变, 毛细血管袢开放正常, 无基底膜增厚。模型 1 组大鼠的肾小球无明显毛细血管袢狭窄闭塞, 未有明显的肾小球局灶性、节段性硬化。肾小管轻度扩张, 少有蛋白管型。模型 2 组大鼠的肾脏明显可见肾小球毛细血管袢开放面积减少, 基底膜轻度增厚, 少部分毛细血管袢狭窄、闭

塞, 肾小球呈局灶节段性硬化; 肾小管明显扩张, 部分肾小管上皮细胞脱落, 有明显的蛋白管型。模型 3 组大鼠的肾小球毛细血管袢开放面积大量减少, 基底膜增厚, 大部分毛细血管袢狭窄、闭塞, 大部分肾小球呈局灶性、节段硬化; 部分肾小球肥大, 球囊严重粘连, 毛细血管袢结构疏松, 肾小球内固有细胞出现空泡变性; 肾小管明显扩张, 肾小管上皮细胞部分脱落, 并有大量蛋白管型。



注: 红色箭头: 肾小球局灶性、节段性硬化; 黑色箭头: 蛋白管型; 绿色箭头: 肾小管上皮细胞脱落; 黄色箭头: 细胞空泡变性

图 2 各组大鼠肾脏组织的病理形态学变化(PAS 染色, $\times 400$)

Figure 2 Pathomorphological changes of renal tissues in rats of each group(PAS staining, $\times 400$)

3 讨论

局灶节段性肾小球硬化(FSGS)的特征性病理学改变为肾小球局灶和节段分布的硬化性病变,具有典型的肾病综合征特点^[18]。本研究结果表明,模型 1 组“保留双肾,分次注射小剂量阿霉素”虽然能够对大鼠肾脏造成一定的损伤,但局灶节段性硬化并不明显;模型 2 组“保留双肾,单次注射大剂量阿霉素”和模型 3 组“单侧肾摘除+分次小剂量注射阿霉素”均能成功复制 FSGS 大鼠模型。模型 2 组虽然模型复制成功,但其动物死亡率为 33%,且模型复制期间动物体质量一直呈下降趋势,动物状态不佳,恐再难延长实验时间,而且大剂量阿霉素所产生的心脏毒副作用可能是模型动物死亡的重要原因。动物在模型复制 2 周后就出现大量蛋白尿,且血肌酐和尿素氮也一并升高,实验结束时仍维持在一个较高水平,血清白蛋白含量严重下降,在模型复制 2 周甚至可能更早便出现低蛋白血症,实验结束时仍有下降趋势。模型 3 组大鼠至实验结束时未出现死亡,动物状态稳定,体质量基本恢复至模型复制前水平。尿蛋白含量、血肌酐和尿素氮是评价肾功能的重要指标,低蛋白血症也是 FSGS 的一个重要特征^[19-22]。动物尿蛋白、血肌酐和尿素氮含量随着实验时间的延长而缓慢升高,低蛋白血症在第 14 天到第 21 天出现,之后持续缓慢降低。与模型 2 组比较,模型 3 组能够更好地动态观察大鼠肾脏的损伤程度并且能够相对延长实验时间,从而逐渐形成稳定的 FSGS 动物模型。

综上所述,“单侧肾摘除+分次小剂量注射阿霉素”的模型复制方式不但避免了大剂量注射阿霉素所致的各种毒性反应,而且能够更好地复制 FSGS 模型,同时缩短实验周期,为应用稳定的 FSGS 大鼠模型开展相关研究提供了实验依据。

参考文献:

[1] RICH A R. A hitherto undescribed vulnerability of the juxtamedullary glomeruli in lipoid nephrosis[J]. Bull Johns Hopkins Hosp, 1957, 100(4): 173-86.

[2] D'AGATI V D, KASKEL F J, FALK R J. Focal Segmental Glomerulosclerosis[J]. N Engl J Med, 2011, 365(25): 2398-411.

[3] NAGATA M, KOBAYASHI N, HARA S. Focal segmental glomerulosclerosis: why does it occur segmentally[J]. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology, 2017, 469(2): 1-6.

[4] 杨梦蝶, 李亚好. TGF- β 1/MAPK 通路在局灶节段性肾小球硬化中的作用研究进展[J]. 浙江医学, 2019, 41(15): 1678-1681.

[5] WANG Y M, ZHANG G Y, WANG Y, et al. Foxp3-transduced polyclonal regulatory T cells protect against chronic renal injury from adriamycin[J]. J Am Soc Nephrol, 2006, 17(3): 697-706.

[6] WHITESIDE C, PRUTIS K, CAMERON R, et al. Glomerular epithelial detachment, not reduced charge density, correlates with proteinuria in adriamycin and puromycin nephrosis[J]. Lab Invest, 1989, 61(6): 650-660.

[7] 郭继光, 白杨, 周广滨. 阿霉素肾病动物模型的研究进展[J]. 江苏大学学报(医学版), 2014, 24(2): 181-184.

[8] 刘国勇, 汤玲玲, 余健, 等. α -倒捻子素抑制阿霉素诱导的小鼠 FSGS[J]. 中南大学学报(医学版), 2018, 43(10): 1089-1096.

[9] 任凌燕, 朱鸣, 霍丽霞, 等. Kindlin-2 介导足细胞损伤在局灶节段性肾小球硬化症模型小鼠发病中的作用研究[J]. 浙江中西医结合杂志, 2018, 28(9): 730-734, 816-817.

[10] 刘娜, 王艳秋, 杜丰, 等. 阿霉素诱导小鼠 FSGS 肾病模型的研究[J]. 实用药物与临床, 2014, 17(12): 1536-1540.

[11] SKUTELSKY E, HARTZAN S, SOCHER R, et al. Modifications in glomerular polyanion distribution in adriamycin nephrosis[J]. J Am Soc Nephrol, 1995, 5(10): 1799-1805.

[12] 杨维娜, 于琳华, 郭尚温, 等. 改良阿霉素肾病大鼠模型的建立[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2009, 30(4): 445-448, 452.

[13] 窦一田, 李翀, 马鸿杰, 等. 辛通畅络法复方肾苏 II 阻抑局灶节段性肾小球硬化大鼠肾间质纤维化及转化生长因子 β 1 表达的影响[J]. 天津医药, 2017, 45(3): 239-244.

[14] 赵晰, 杨洪涛, 李蔓, 等. 辛通畅络疏利祛浊法治疗大鼠局灶性节段性肾小球硬化的研究[J]. 北京中医药大学学报, 2016, 39(9): 750-754.

[15] 袁博寒, 朱晓玲, 王永钧. 复方积雪草防治 FSGS 模型大鼠足细胞损伤的实验研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2013, 14(6): 480-483, 567.

[16] XING Y, DING J, FAN Q, et al. Diversities of podocyte molecular changes induced by different antiproteinuria drugs[J]. Exp Biol Med(Maywood), 2006, 231(5): 585-593.

[17] JI Z, HUANG C, LIANG C, et al. Protective effects of blocking renin-angiotensin system on the progression of renal injury in glomerulosclerosis[J]. Cell Mol Immunol, 2005, 2(2): 150-154.

[18] 刘娜, 王立范, 杨馨, 等. 水蛭对以血管内皮生长因子为介导的局灶节段性肾小球硬化足细胞损伤的干预作用[J]. 黑龙江中医药, 2019, 48(6): 345-347.

[19] 陈威辛, 戴恩来, 王新斌, 等. 淫羊藿苷对 FSGS 模型大鼠泼尼松抵抗的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2019, 26(11): 46-51.

[20] 杜华, 许光远, 曹云松, 等. 益肾活血方抑制足细胞转分化减缓 FSGS 模型大鼠疾病进展的实验研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2019, 20(9): 755-758, 847.

[21] 支勇, 吕艳, 曹式丽. 辛通畅络法对 FSGS 大鼠肾小球毛细血管袢及血管紧张素 II 表达的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(7): 1541-1543.

[22] 杨琴, 李佳承, 杨帆, 等. 儿童原发性局灶节段性肾小球硬化症临床病理及预后分析[J]. 医学信息, 2019, 32(12): 89-92.

(编辑: 邹元平)