

两肾一夹型高血压大鼠模型的改良及评价

王文靖, 潘毅*, 杨涛
(广州中医药大学, 广州 510405)

[摘要] 目的:采用 Goldblatt 经典肾性高血压大鼠模型并加以改进,建立简易稳定的两肾一夹型高血压大鼠模型。方法:将 70 只雄性 SD 大鼠,随机分为模型组和假手术组,其中模型组大鼠从背部开口以丝线结扎左肾动脉,假手术组大鼠除不结扎左肾动脉,余步骤同模型组。术后测定 4 周内不同时间点血压及观察一般情况对所建模型进行评价。结果:模型组术后成活率达 94.5%,成模率达 89.1% 模型组大鼠自造模后 3 d 血压开始升高,此后呈持续性升高,与实验前和假手术组比较均保持显著性差异($P < 0.05$)。结论:从背部开口以丝线结扎大鼠左肾动脉是一种安全性高和手术操作简便的新方法。

[关键词] 两肾一夹;肾性高血压;大鼠模型

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)01-0203-03

Evaluation and Modification of Goldblatt 2K1C
Renovascular Hypertensive Rat Models

WANG Wen-jing, PAN Yi*, YANG Tao
(Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To establish two-kidney one-clip(2K1C) renovascular hypertensive rat model with improved Goldblatt classic hypertensive rat model. **Method:** Seventy male SD rats were randomly divided into two groups: modol group and sham-operation group. Left renal artery of model rats was occluded by clips from back incising. Left renal artery of control rats was liberated but not narrowed, other operation was as same as the model rats. After the operation, we evaluated results by observing blood pressure. **Result:** The model rats had high survival rate(94.5%) after operation. The model establishing rate was 89.1%. Compared with control rats and the results before the surgery, the blood pressure in model rats was significantly increased after 3 days of surgery and increased continuously($P < 0.05$). **Conclusion:** The modification of 2K1C renovascular hypertensive models by narrowing left renal arteries by medical silk suture from back incising in rats is a simple operating and safe approach, suggesting the practical utility of this new method.

[Key words] two-kidney one-clip; renovascular hypertensive; rat model

研究证实^[1-2],目前所建立的高血压模型以肾性高血压大鼠模型为主,其中两肾一夹(2K1C)型大鼠血压稳定,手术成功率高,而且宜于作长期慢性实验观察,因此成为肾性高血压大鼠模型之首选。但以往的 2K1C 型大鼠模型通常以腹部为开口途径分

离肾动脉,我们发现,以腹部途径开口制作的 2K1C 型大鼠模型易造成肾静脉破裂,从而导致模型死亡率高。我们采用了背部作为开口途径,此方法不仅容易找到肾脏,而且也很容易剥离肾动脉却不致肾静脉破裂,这在很大程度上降低了手术难度,保证了模型的成功率。

1 材料

1.1 动物 健康 SD 雄性大鼠 70 只,SPF 级,体重 180 ~ 220 g,购自广州中医药大学实验动物中心,合格证号 0086880。

1.2 药品及仪器 10% 水合氯醛(天津科密欧化

[收稿日期] 2011-09-09

[基金项目] 广东省科技计划项目(2010B030700036)

[第一作者] 王文靖,在读博士生,主治医师, Tel: 15302211612, E-mail: doudouwwj@sohu.com

[通讯作者] * 潘毅, Tel: 13533718763

学试剂有限公司,批号 20100920),注射用青霉素钠(广州瑞舒生物科技有限公司,批号 20110421)。无菌针灸针,规格 0.25 mm × 25 mm(中国苏州医疗用品公司),手术丝线,规格 1/0 和 5/0(泰科医疗器材国际贸易有限公司),常规手术器械,BP-6 大鼠无创血压测量仪、BL-420F 生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组和术前准备 70 只大鼠随机分为假手术组($n=15$)和模型组($n=55$)。各组大鼠均在广州中医药大学实验动物中心分笼饲养,室温 20 ~ 26 ℃,日照 12 h,相对湿度 40% ~ 70%,通风良好,饲喂普通颗粒饲料,自由饮水。手术前适应性喂养 1 周,并在术前 12 h 禁食不禁水。所有手术器械高压蒸气灭菌备用。

2.2 手术过程^[2-3] 10% 水合氯醛(3.5 mL·kg⁻¹) ip 麻醉大鼠,浅麻醉后大鼠俯卧位固定于手术台上,于背部左肾处脱毛,暴露皮肤后用 5% 乙醇碘酒消毒,75% 乙醇脱碘,然后于触及浮肋即 T13 肋(大约为背部第 3 腰椎棘突水平)水平处开始,靠脊椎左侧 1 cm 处作平行于背部后正中中线约 1.5 cm 长的手术切口。开口后可立即看到左肾,用无齿手术镊小心将其拉出,并用生理盐水纱布包好推向左侧,此时在近肾门处可以明显看到肾静脉和肾动脉,肾动脉一般位于肾静脉的上后方且极有韧性(辨别时可用无齿小弯镊挑起来,此时呈透明色,放开后立即呈现红色)。用无齿小弯镊钝性分离出左肾动脉(长度约 0.5 cm),然后穿入无菌丝线(规格为 1/0),把直径为 0.25 mm 的针灸针与肾动脉血管长轴紧贴平行放置,然后用无菌丝线扎紧肾动脉和针灸针,以狭窄后左肾颜色变为“浅红色”为宜,然后抽出针灸针,剪去多余的线头,以青霉素钠 20 万单位冲洗预防感染,逐层缝合伤口,创口消毒处理并去除血迹,手术完成。假手术组除不放置针灸针和不用丝线紧扎外,其余手术操作均同上。术后连续 3 d im 青霉素钠 10 万单位以防感染,并密切观察皮肤切口、精神状态及进食进水情况。注意事项:为保证麻醉效果,水合氯醛配制时间不超过 4 h;开口尽量小,便于缝合;以十字缝合,以免术后裂开感染。

2.3 血压测定

2.3.1 测定时间 造模前 1 周,观察大鼠状态,测量血压训练,以适应环境。造模前 3 d 连续测量血

压 3 次,取平均值。造模后 3,7,14,21,28 d 测量血压 3 次,取平均值。

2.3.2 血压测试方法 采用 BL-420F 生物机能实验系统测定大鼠清醒状态下的尾动脉收缩压。测量前打开电源预热 30 min,然后将大鼠小心装入专用鼠笼,直至大鼠不能随意移动为宜,然后将鼠尾套袖放置于鼠尾的根部并固定,关闭箱门预热。观察脉搏信号,待波形均匀稳定后,启动自动充气功能,显示屏脉搏信号波形逐渐变小直至消失,当尾部重新出现脉搏时,选第一个描记波峰读取大鼠的收缩压数值,重复以上操作 3 次,取平均值。注意事项:测压过程动作要轻柔,不能激惹大鼠而引起血压波动;尾套尺寸要合适并要固定紧,以免大鼠挣脱而影响血压;室温要恒定,避免对血压造成影响。

2.3.3 高血压判定标准 选取收缩压 85 ~ 155 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa)的正常血压大鼠。造模后,定时测量血压,当大鼠收缩压比手术前高 20 mmHg(或 > 正常血压 3 个标准差)以上且同时 > 140 mmHg,确定为 2K1C 高血压模型成功^[4]。

2.4 一般行为观察 每周 1 次观察大鼠体重、活动、神情、毛发、大小便等状况。观察存活率和成模率。

2.5 统计学处理 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠存活率及成模率 本实验研究观测到 4 周末,有 64 只大鼠存活,其中 4 只麻醉过深导致死亡;1 只术后 1 h 内死亡,考虑为结扎不当造成急性肾功能衰竭;1 只于术后 1 周内感染死亡。术后 4 周有 3 只血压上升 < 30 mmHg,模型组存活率和成模率分别为 94.5%,89.1%,假手术组分别为 80.0%,80.0%。

3.2 高血压形成情况 与假手术组比较,模型组在造模后 3 d 收缩压开始升高,以后随时间延长血压逐步上升,至 21,28 d 达峰值并趋于稳定。自造模 3 d 起,各时点与假手术组具有显著性差异($P < 0.05$)。见表 1。

3.3 一般行为观察 与假手术组大鼠相比,模型组大鼠精神较紧张,易激惹,同笼大鼠间时常有打斗现象,且大鼠毛色无光泽,局部脱落较多,小便色清量多,抓持时遗尿现象较普遍,大便质软甚至稀便,腐臭味明显。

表 1 造模后各组大鼠血压动态检测($\bar{x} \pm s$)

组别	n	血压/mmHg					
		0 d	3 d	7 d	14 d	21 d	28 d
假手术	12	110.38 ± 3.05	112.12 ± 4.10	109.23 ± 3.52	106.45 ± 3.84	110.74 ± 3.66	112.41 ± 3.33
模型	49	112.62 ± 3.21	121.55 ± 3.70 ¹⁾	139.69 ± 3.47 ¹⁾	148.96 ± 3.54 ¹⁾	157.83 ± 4.02 ¹⁾	164.91 ± 3.18 ¹⁾

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

高血压动物模型是研究高血压病发生发展机制的重要途径。根据发病原因可将高血压动物模型分为原发性和继发性两大类,原发性动物模型以 SHR 为主,此类模型价格昂贵,运输途径中很容易死亡,而且在中医证型上与继发性动物模型有所不同;根据造模方法的不同,又可将继发性动物模型分为药物性和肾性高血压模型^[5]。现代研究表明,肾性高血压模型是应用最为广泛的高血压动物模型,复制方法主要有几种:1K1C(一侧肾动脉狭窄,另一侧肾切除),2K1C(一侧肾动脉狭窄,另一侧肾保留)和2K2C(双肾动脉均狭窄)。狭窄肾动脉的方法众多,有用套管、U 型银夹、有机玻璃夹或丝线结扎等方法^[6-7]。

我们经过反复实践,最后采用从背部开口以手术丝线结扎左肾动脉来制作 2K1C 大鼠模型。实验结果表明,模型组大鼠存活率达 94.5%,成模率达 89.1%,本实验采用的经改良 2K1C 高血压大鼠的制作方法效果良好。

传统的 2K1C 型高血压模型均采用腹部开口,并以一特定直径的 U 型银夹导致左肾动脉狭窄。我们发现,以腹部为开口长度需 5 cm 左右,而背部开口只需 1.5 cm 左右,可减少缝合伤口时间;以腹部开口找肾动脉前,需翻转胃肠等腹内脏器显露后腹膜,破坏腹膜后方能暴露肾动脉,创伤大且易造成腹腔感染,而背部开口后立即显露出肾脏,轻轻拉出肾脏后很容易就可以找到肾动脉;最后,由于大鼠肾门处动、静脉被同一血管鞘包被,腹部开口时肾动脉不易剥离,很容易造成肾静脉或肾脏破裂而导致造模失败,而选择背部开口就避免了这一缺点。另外,

由于银夹很不易获得,而血管个体差异大,其直径难以控制,造模过程中很容易造成狭窄过度或狭窄过松而导致造模成功率下降;且造模 5 周后血压开始下降,血压不稳定,而用丝线结扎,不仅材料容易获得,而且丝线没有伸缩性,使肾动脉血流量比较恒定,模型成功率高。另外,我们的实验表明,结扎左侧肾动脉即可引起高血压,无需双肾都结扎,从而减低了手术难度,并且初步数据显示有更多成功率的倾向。因此选择从背部开口以丝线结扎左肾动脉是一种简易且成功率高的造模方法,值得推广。

[参考文献]

[1] 范平,司军强,刘政江,等. 自发性高血压大鼠模型的应用研究进展[J]. 农垦医学,2004,26(6):444.

[2] 戴勇,彭武建,徐卓佳. “两肾一夹”肾性高血压大鼠模型的改进[J]. 实验动物科学与管理,2006,2(23):60.

[3] 曹珊珊,李瑞芳,方伟进,等. 肾性高血压大鼠模型制作的改良方法[J]. 河南科技大学学报:医学版,2010,28(3):165.

[4] 顾德官,顾天华,宋代军,等. 试验性高血压大鼠的血压观察[J]. 上海第二医学院学报,1985,2:102.

[5] Sun Z J, Zhang Z E. Historic perspectives and recent advances in major animal models of hypertension[J]. Acta Pharmacol Sin,2005,26(3):295.

[6] 傅继华,陈宇飞,张琪. 肾性高血压大鼠实验模型制作改进[J]. 中国药科大学学报,1995,26(6):383.

[7] 孙琪,黄荣桂,郑兴中,等. 一肾一夹肾血管性高血压动物模型的制作[J]. 临床军医杂志,2007,35(6):812.

[责任编辑 何伟]