

## • 论 著 •

## 构建基于脱水的对比剂肾病大鼠模型\*

陈珍珍<sup>1</sup>, 李高叶<sup>2</sup>, 陈务贤<sup>2△</sup>

(1. 广西医科大学, 广西 南宁 530021; 2. 广西医科大学第一附属医院, 广西 南宁 530021)

**[摘要]** **目的** 建立对比剂肾病(CIN)动物模型,通过肾功能检测判断模型构建成功,为 CIN 研究提供模型构建依据。**方法** 选择 SPF 级 7~8 周龄的雄性 SD 大鼠为实验对象,正常饲养 1 周后,取健康雄性 SD 大鼠 24 只,用于药物诱导建立急性肾损伤大鼠模型。将 24 只大鼠随机分为 A 组(空白对照组)、B 组(CIN 组)、C 组[对比剂(CM)组],每组 8 只。对 A、B、C 组大鼠禁水 48 h 后,分别静脉注射 10 mL/kg 生理盐水、消炎痛(吲哚美辛)+N-硝基-L-精氨酸甲酯+CM、CM,检测各组大鼠各时间点肾损伤标志物[血清肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、胱抑素 C(Cys C)]并比较其变化。**结果** A 组大鼠在干预后 72 h 内检测 Scr、BUN、Cys C 水平与同组 0 h 比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),而 C 组大鼠干预后 24、48 h Scr 水平较同组 0 h 显著升高,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),但 B 组干预后 24 h Scr 水平较同组 0 h 升高更加明显,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。B、C 组大鼠干预后 24 h BUN 水平均高于同组 0 h,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。B、C 组大鼠干预后 24 h Scr 水平均超过同组 0 h 的 50%,而 B 组大鼠干预后 24、48 h Scr 水平较 C 组升高,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 利用综合指标分析评估,建立了一种新的基于脱水和碘普罗胺暴露的 CIN 大鼠模型,并验证了该模型有助于了解 CIN。

**[关键词]** 对比剂肾病; 碘普罗胺; 禁水; 脱水; 急性肾损伤; 肾损伤标志物; 动物模型

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2023.09.002 中图法分类号:R-33

文章编号:1009-5519(2023)09-1446-05

文献标识码:A

## Construction of a contrast-induced nephropathy rat model based on dehydration\*

CHEN Zhenzhen<sup>1</sup>, LI Gaoye<sup>2</sup>, CHEN Wuxian<sup>2△</sup>

(1. Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China; 2. First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish the animal model of contrast-induced nephropathy (CIN), the success of the model was judged by renal function test, and to provide the basis for the model construction of CIN research. **Methods** Male Sprague Dawley (SD) rats of the specific pathogen free (SPF) grade aged seven to eight weeks were selected as experimental subjects. After one week of normal rearing, a total of 24 healthy male SD rats were used for drug induction to establish a rat model of acute kidney injury. They were randomly divided into three groups: group A (the control group), group B (the CIN group), and group C [the contrast agent (CM) group], with eight in each group. After water deprivation for 48 h for rats in groups A, B and C, 10 mL/kg normal saline, indomethacin+N-nitro-L-arginine methyl ester+CM and CM were injected by vein respectively. The changes in renal injury markers of rats [Serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), cystatin C (Cys C)] in each group were examined and compared at each time point. **Results** In group A, the levels of Scr, BUN, and Cys C were measured within 72 h after the intervention, which were compared with those at 0 h in the same group, with no statistically differences ( $P>0.05$ ). In group C, the Scr level was significantly increased at 24 h and 48 h after intervention compared with those at 0 h in the same group, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). In group B, the Scr level at 24 h after the intervention increased more significantly than at 0 h in the same group ( $P<0.05$ ). In group B and C, the BUN level at 24 h after the intervention were significantly higher than those in the same group at 0 h ( $P<0.05$ ), and the Scr levels at 24 h after intervention exceeded 50% of those at 0 h in the same group. However, the Scr level in

\* 基金项目: 广西医科大学第一附属医院护理临床研究攀登天使启明星计划项目(YYZS2020032)。

作者简介: 陈珍珍(1996—), 硕士研究生在读, 护师, 主要从事心血管临床护理研究。 △ 通信作者, E-mail: nncwx@163.com。

group B at 24 h and 48 h after the intervention was higher compared with group C, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** A new CIN rat model based on dehydration and iopromide exposure is established by comprehensive index analysis and evaluation, and it is verified that this model is helpful to understand CIN.

**[Key words]** Contrast-induced nephropathy; Iopromide; Water deprivation; Dehydration; Acute kidney injury; Renal injury markers; Animal model

对比剂肾病(CIN)是指临床上直接接触对比剂(CM) 24~72 h 后所致的急性肾损伤(AKI)<sup>[1-2]</sup>,其主要症状是血清肌酐(Scr)水平升高(Scr 在 48~72 h 内比基线增加 25% 或  $44 \mu\text{mol/L}$ ),呈现一过性蛋白尿及少尿,近年来,随着医学影像学、放射诊断技术的不断发展,特别是在心血管疾病的介入治疗和诊疗上,均要求使用高剂量的对比剂。在一般人群中,CIN 的患病率为 0.6%~2.3%,而在高风险群体中,CIN 的患病率可高于 20%<sup>[3]</sup>。CIN 致死率达到 35%<sup>[4-5]</sup>,是引起急性肾功能衰竭的第三大原因,且 CIN 在医源性急性肾衰竭的发病原因中占比达到 10%。过去对 CIN 进行研究的动物模型多是建立在高渗透造影剂、药物或外科治疗等基础上,但由于时间较长,临床应用较少,有必要在前期的研究基础上开发一种具有高度可靠和可重复使用的 CIN 动物模型。CIN 的定义目前尚未统一,但 Scr 在术后 72 h 内较基线增高 25% 以上仍然是 CIN 的一个明显特征<sup>[2]</sup>。依据渗透压和溶解度的不同,CM 可分为离子型、非离子型、高渗透型、低渗透型和等渗透型<sup>[6-7]</sup>。当前的指南推荐采用等渗或低渗透 CM 作为防治 CIN 的方法,可以降低肾脏损害<sup>[8]</sup>。碘普罗胺是目前临床上广泛使用的一种非离子低渗透压 CM,本文以其为代表,探讨其动物模型的构建,为进一步临床研究 CIN 提供新的思路。

## 1 材料及方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** 选择 SPF 级 7~8 周龄的雄性 SD 大鼠,购自广西医科大学实验动物研究中心(CXK 桂 2020-0003)。本实验分别在广西医科大学动物试验中心和广西医科大学临床实验中心进行。实验大鼠被隔离在独立的金属笼中,12 h 的黑暗/光照环境循环,20~23 °C,并为其提供食物和饮水。实验符合广西壮族自治区医学实验动物的道德规范,并与国家卫生研究院实验动物福利试验规范相一致。

**1.1.2 主要试剂及仪器** Biomek FX AU5800 全自动生化分析(Beckman 公司),碘普罗胺(370 mgI/mL : 7mOsm/g,德国 Bayer 公司),吲哚美辛(消炎痛,上海皓元生物医药科技有限公司),N-硝基-L-精氨酸甲酯(上海皓元生物医药科技有限公司),Scr、尿素氮(BUN)、胱抑素 C(Cys C)检测试剂盒及其他检测试

剂(卓一生物科技股份有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 实验分组及干预方式** 正常饲养 1 周后,取健康雄性 SD 大鼠 24 只,用于药物诱导建立 AKI 大鼠模型。将 24 只大鼠随机分为 A 组(空白对照组)、B 组(CIN 组)、C 组(对比剂组),每组各 8 只。A 组:禁水 48 h 后+生理盐水(NS),B 组:禁水 48 h 后给予消炎痛+N-硝基-L-精氨酸甲酯+CM 治疗,C 组:禁水 48 h 后+CM 治疗。

**1.2.2 动物模型制作及采样** SD 大鼠在 1 周的适应期后,于手术前进行称重。3 组大鼠在禁水 48 h 后,用 3% 戊巴比妥钠 4 mL/kg 腹腔注射麻醉,再从其眼球内眦静脉丛中取出血液,置入 1 支有促凝剂的采血管中,等血液凝固后,在 3 000 r/min 下离心 15~20 min,取血清-80 °C 保存。用 75% 乙醇消毒后,将 3 组大鼠股静脉、周边血管和神经分离并结扎,分别注射 10 mL/kg 的生理盐水(A 组)或 10 mL/kg CM(B、C 组),再对 B 组大鼠静脉推注 10 mL/kg 消炎痛及 10 mL/kg N-硝基-L-精氨酸甲酯。在各组模型建立后,分别于 0、24、48、72 h 抽取 3 组大鼠 1~2 mL 血液。取血标本后将大鼠颈部脱臼处死。测定各组大鼠 Scr、BUN、Cys C 水平。Scr 水平比基线提高 25% 或高于  $44.5 \mu\text{mol/L}$ ,均判定为 CIN 模型成功。

**1.2.3 检测方法** 利用 Beckman Biomek FX-AU5800 全自动生化分析仪测定以上肾损伤标志物。用苦味酸比色法测定血清 Scr,用相应的标志物进行测定。用脲酶-谷氨酸脱氢酶测定血清 BUN 水平。Cys C 按照检测试剂盒说明测定。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS22.0 统计学软件进行数据处理。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组比较行方差齐性检验后的方差分析;多重比较采用 LSD 法或 Tukey's 多重检验,方差不齐采用秩和检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

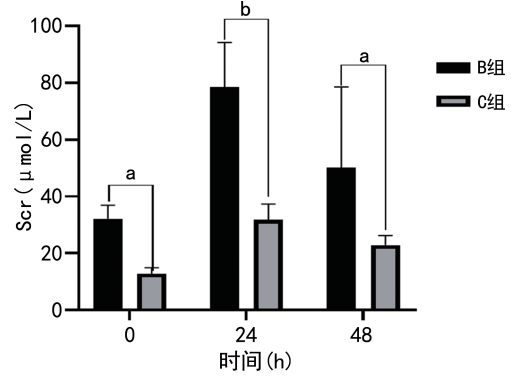
**2.1 取血标本前大鼠生存状况** A 组大鼠干预后均存活,肢体活动度及饮食状态良好;B 组大鼠干预后有 2 只死亡,其余大鼠肢体活动度明显减弱,精神状态明显萎靡,毛发干枯,进食状态不佳;C 组大鼠干预后仅有 1 只死亡,其余大鼠肢体活动度良好,精神状

态轻度萎靡,可正常进食。大鼠死亡原因可能是股静脉注射感染、麻醉呼吸抑制作用及造影剂过敏等。最终每组纳入 6 只大鼠进行数据分析。

**2.2 各组大鼠各时间点肾损伤标志物水平比较** 各组大鼠干预前检测各指标比较,差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。B 组大鼠干预后 24 h Scr 水平与同组术前(0 h)比较,差异有统计学意义 ( $P=0.0001$ );C 组大鼠干预后 24、48 h Scr 水平与同组 0 h 比较,差异均有统计学意义 ( $P=0.0001, 0.0001$ )。B、C 组大鼠干预后 24 h BUN 水平与同组 0 h 比较,差异均有统计学意义 ( $P=0.0001, 0.018$ )。B 组大鼠干预后 24 h CysC 水平与同组 0 h 比较,差异有统计学意义 ( $P=0.0001$ )。C 组大鼠干预后 24、48 h Cys C 水平与同组 0 h 比较,差异均无统计学意义 ( $P=0.719, 0.838$ )。B、C 组大鼠干预后 24 h 以上肾损伤标志物水平均较 0 h 显著升高,且 Scr 水平超过同组 0 h 的 50%;而 B 组大鼠干预后 24、48 h Scr 水平较 C 组升高,差异均有统计学意义 ( $P=0.001, 0.001$ )。见表

1、图 1。

**2.3 各组大鼠干预后 72 h 内 Scr、BUN、Cys C 水平动态趋势** A 组大鼠干预后 72 h 内 Scr、BUN、Cys C 水平无明显变化趋势;B、C 组大鼠 Scr、BUN、Cys C 水平以干预后 24 h 达高峰,之后逐渐下降,到 72 h 逐渐恢复到基线水平,但 B 组其上升趋势与 C 组相比趋势更加显著。见图 2。



注:与 C 组比较, <sup>a</sup> $P<0.01$ , <sup>b</sup> $P<0.001$ 。

图 1 B、C 组大鼠干预后 48 h Scr 水平比较

表 1 各组大鼠各时间点肾损伤标志物水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

检测指标	时间	A 组 (n=6)	B 组 (n=6)	C 组 (n=6)	F/Z	P
Scr(μmol/L)	术前	17.71±1.13	17.00±2.72	15.12±2.30	1.379	0.275 0 <sup>a</sup>
	术后 24 h	13.14±1.95	78.50±15.74 <sup>③</sup>	31.75±5.60 <sup>③</sup>	19.594	0.000 1 <sup>a</sup>
	术后 48 h	13.28±3.63	56.37±43.00	28.87±8.10 <sup>③</sup>	16.308	0.000 1 <sup>b</sup>
	术后 72 h	22.14±2.03	23.25±1.91 <sup>③</sup>	24.00±3.21 <sup>③</sup>	1.058	0.366 0 <sup>a</sup>
BUN(mmol/L)	术前	5.72±0.90	7.03±1.28	6.28±1.43	2.127	0.145 0 <sup>a</sup>
	术后 24 h	5.92±1.08	29.70±2.61 <sup>③</sup>	9.08±1.91 <sup>①</sup>	321.092	0.000 1 <sup>a</sup>
	术后 48 h	4.96±0.83	20.28±2.54 <sup>③</sup>	14.96±3.22 <sup>③</sup>	17.674	0.001 0 <sup>b</sup>
	术后 72 h	6.30±1.15	14.50±1.69 <sup>②</sup>	8.72±1.90 <sup>②</sup>	57.740	0.000 1 <sup>a</sup>
Cys C(mg/L)	术前	0.20±0.06	0.22±0.06	0.20±0.06	0.654	0.672 0 <sup>a</sup>
	术后 24 h	0.16±0.07	1.01±0.22 <sup>③</sup>	0.69±0.19	17.709	0.000 1 <sup>b</sup>
	术后 48 h	0.15±0.03	0.67±0.15 <sup>③</sup>	0.48±0.15	26.555	0.000 1 <sup>a</sup>
	术后 72 h	0.15±0.04	0.48±0.11	0.16±0.08	8.449	0.015 0 <sup>b</sup>

注: <sup>a</sup> 为方差分析; <sup>b</sup> 为非参数检验;与同组 0 h 比较, <sup>①</sup> $P<0.05$ ; <sup>②</sup> $P<0.01$ ; <sup>③</sup> $P<0.001$ 。

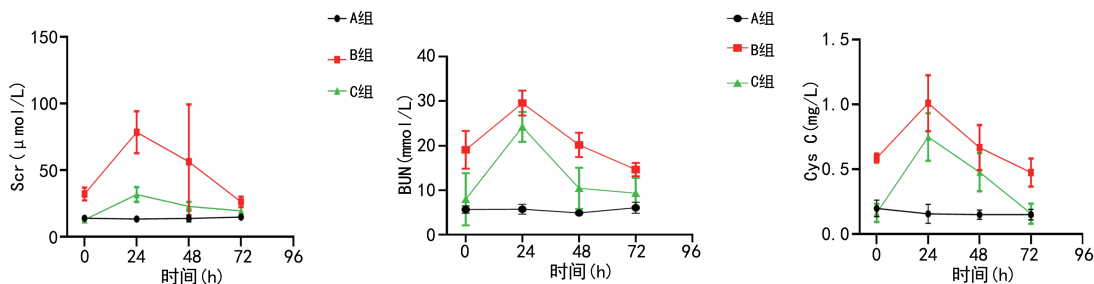


图 2 各组大鼠干预后 72h 内肾损伤标志物变化趋势

3 讨 论

本研究基于脱水和低渗碘造影剂联合使用建立

了一种 AKI 动物模型。CIN 是一种自限性的急性肾衰竭综合征,其病理、生理机制尚不清楚。可能包括

肾脏和髓质缺血、氧化应激的形成、一氧化氮的产生减少,以及肾小管上皮或血管内皮损伤<sup>[8-9]</sup>。在健康动物中,单纯使用含碘造影剂不易引起 AKI 的临床表现,但使用与人类肾脏损害相关的危险因素对动物加以处理,可以诱导 AKI 的发生<sup>[10]</sup>。在以往的研究中,预处理包括引入肾脏缺血性损害<sup>[11]</sup>、使用一些肾毒性药物(如氨基糖苷类、环孢素 A、甘油、顺铂、阿霉素等)<sup>[12]</sup>和脱水<sup>[13]</sup>。然而肾毒性药物和缺血损伤的预处理方式并不能真正地模拟临床实践,干扰实验结果的科学性<sup>[11]</sup>。

研究者普遍认为,高渗透压的碘造影剂与发生 AKI 的风险呈正相关,不适用直接接触碘造影剂患者的临床研究<sup>[14]</sup>。相比之下,等渗或者低渗碘造影剂在临床工作中被广泛地推广使用<sup>[15-17]</sup>。然而,很少有动物模型系统地探讨低渗碘造影剂所诱导的 AKI。经过临床研究发现,AKI 在没有任何危险因素的患者中发生率相对较低,但在高危心血管危险因素的患者中,AKI 的发生率竟高达 50%<sup>[2]</sup>。本研究结果表明,在干预前禁水 48 h 与单纯使用低渗碘造影剂可很好地模拟临床上常见的 AKI 模型,但与联合使用肾毒性药物实验组(B、C 组)相比,后者促 AKI 表现更加明显。从 B、C 组 2 种 CIN 模型的 Scr 水平分析,根据其成模标准,2 种模型均能够成功,但肾损伤标志物反应在 B 组中联合使用肾毒性药物后更加明显,且死亡率也比 C 组高。作者推测可能通过延长肾毒性药物在肾脏的代谢周期可增加肾功能的损害。WANG 等<sup>[18]</sup>、BUYUKLU 等<sup>[19]</sup>基于低渗碘造影剂构建了 AKI 模型,但也均使用了肾毒性药物。通过 PubMed 数据库在线检索,SUN 等<sup>[20]</sup>提出一种基于脱水构建的 AKI 大鼠模型。本研究中,作者发现 Scr、BUN、Cys C 水平对脱水预处理比较敏感,这可能会使其含量高于基线值 1 倍以上。由此也能表明,Scr、BUN、Cys C 可作为对肾功能损伤的有效反映指标。本研究中,作者比较了 2 种预处理方案,发现碘造影剂注射前 48 h 脱水及联合消炎痛和 N-硝基-L-精氨酸甲酯均能成功构建 AKI 模型。在此条件下,获得了稳定和可重复性的 Scr、BUN、Cys C 水平升高及组织病理学变化,并与人体 AKI 模型中的肾功能改变具有一致性。本研究建立了以非离子型低渗碘造影剂诱导的 SD 大鼠 AKI 模型,为 CIN 的进一步研究提供理论依据。

综上所述,作者通过禁水、单独使用 CM 及联合使用 CM、消炎痛和 N-硝基-L-精氨酸甲酯建立 3 种 AKI 动物模型。结果提示术前禁水 48 h 联合 CM,或者在此基础上联合使用消炎痛和 N-硝基-L-精氨酸甲酯促 AKI 药物均能够建立 CIN 模型,且后者 Scr 水

平上升趋势更显著,能够清晰地反映 CIN 疾病的表型。

## 参考文献

- [1] LIU T Q, LUO W L, TAN X, et al. A novel contrast-induced acute kidney injury model based on the 5/6-nephrectomy rat and nephrotoxicological evaluation of iohexol and iodixanol in vivo[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014:427560.
- [2] 孙晓琳,董得时,杨世磊. 碘造影剂肾病的损伤机制和预防策略[J]. *中国现代应用药理学*, 2022, 39(2):261-268.
- [3] MALIK A. Prevention of contrast-induced acute kidney injury[J]. *Br J Hosp Med*, 2015, 76(12):685-689.
- [4] DEEK H, NEWTON P, SHEERIN N, et al. Contrast media induced nephropathy: A literature review of the available evidence and recommendations for practice[J]. *Aust Crit Care*, 2014, 27(4):166-171.
- [5] 张志明,林开阳,林茂强,等. 造影剂肾病动物模型研究进展[J]. *中国实验动物学报*, 2019, 27(5):678-682.
- [6] KELLUM J A, LAMEIRE N, KDIGO AKI Guideline Work Group. Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: A KDIGO summary (Part 1) [J]. *Crit Care*, 2013, 17(1):204.
- [7] FAHLING M, SEELIGER E, PATZAK A, et al. Understanding and preventing contrast-induced acute kidney injury[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13(3):169-180.
- [8] NOUGARET S, HORTA M, SALA E, et al. Endometrial Cancer MRI staging: Updated Guidelines of the European Society of Urogenital Radiology[J]. *Eur Radiol*, 2019, 29(2):792-805.
- [9] WU J J, SHEN J X, WANG W P, et al. A novel contrast-induced acute kidney injury mouse model based on low-osmolar contrast medium [J]. *Ren Fail*, 2022, 44(1):1345-1355.
- [10] SODAGARI F, MOZAFFARY A, WOOD 3RD C G, et al. Reactions to both nonionic iodinated and gadolinium-based contrast media: Incidence and clinical characteristics[J]. *AJR Am J Ro-*

- entgenol, 2018, 210(4):715-719.
- [11] KOHL K, HERZOG E, DICKNEITE G, et al. Evaluation of urinary biomarkers for early detection of acute kidney injury in a rat nephropathy model[J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2020, 105:106901.
- [12] KODAMA A, WATANABE H, TANAKA R, et al. A human serum albumin-thioredoxin fusion protein prevents experimental contrast-induced nephropathy[J]. *Kidney Int*, 2013, 83(3):446-454.
- [13] DUARTE C G, ZHANG J, ELLIS S. The SHR as a small animal model for radiocontrast renal failure. Relation of nephrotoxicity to animal's age, gender, strain, and dose of radiocontrast[J]. *Ren Fail*, 1997, 19(6):723-743.
- [14] SEO N, OH H, OH H J, et al. Quantitative analysis of microperfusion in contrast-induced nephropathy using contrast-enhanced ultrasound: An animal study[J]. *Korean J Radiol*, 2021, 22(5):801-810.
- [15] SHIBATA S, MONIWA N, KUNO A, et al. Involvement of necroptosis in contrast-induced nephropathy in a rat CKD model[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2021, 25(7):708-717.
- [16] TEHRANI S, LAING C, YELLON D M, et al. Contrast-induced acute kidney injury following PCI[J]. *Eur J Clin Investig*, 2013, 43(5):483-490.
- [17] 刘颖, 杨继红, 施红, 等. 氧自由基在老年人造影剂肾病中作用的研究进展[J]. *中华老年医学杂志*, 2021, 40(3):397-400.
- [18] LIU K, ZHOU L Y, LI D Y, et al. Corrigendum to "A novel rat model of contrast-induced nephropathy based on dehydration" [J Pharmacol Sci 141 (2019) 49-55][J]. *J Pharmacol Sci*, 2020, 143(3):242.
- [19] WANG S, ZHAO P, ZHANG Y, et al. The therapeutic effects of curcumin in early septic acute kidney injury: An experimental study[J]. *Drug Des Devel Therapy*, 2021, 15:4243-4255.
- [20] BUYUKLU M, KANDEMIR F, OZKARACA M, et al. Beneficial effects of lycopene against contrast medium-induced oxidative stress, inflammation, autophagy, and apoptosis in rat kidney[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2015, 34(5):487-496.
- [21] SUN S, ZHANG T, NIE P, et al. A novel rat model of contrast-induced acute kidney injury[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 172:e48-e50.
- (收稿日期:2022-09-27 修回日期:2023-03-26)

(上接第 1445 页)

- [16] BERDYSHE V E V, SERBAN K A, SCHWEITZER K S, et al. Ceramide and sphingosine-1 phosphate in COPD lungs[J]. *Thorax*, (2021-01-29) [2022-05-26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33514670/>.
- [17] PETRACHE, IRINA, NATARAJAN, et al. Ceramide upregulation causes pulmonary cell apoptosis and emphysema-like disease in mice[J]. *Nat Med*, 2005, 11(5):491-498.
- [18] CARETTI A, VASSO M, BONEZZI F T, et al. Myriocin treatment of CF lung infection and inflammation: Complex analyses for enigmatic lipids[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2017, 390(8):775-790.
- [19] BODAS M, MIN T, VIJ N. Lactosylceramide-accumulation in lipid-rafts mediate aberrant-autophagy, inflammation and apoptosis in cigarette smoke induced emphysema[J]. *Apoptosis*, 2015, 20(5):725-739.
- (收稿日期:2022-07-27 修回日期:2023-02-27)