

实验管理中心—机能实验学 II



影响尿生成的因素

肾缺血-再灌注损伤

Factors Affecting Urine Production
and Renal Ischemia-Reperfusion Injury



一、实验目的



- **观察和分析正常与急性肾损伤情况下某些体液因素对家兔尿生成的影响**
- **掌握家兔颈动、静脉和输尿管插管技术以及肾缺血再灌注损伤模型的复制方法**

二、相关理论



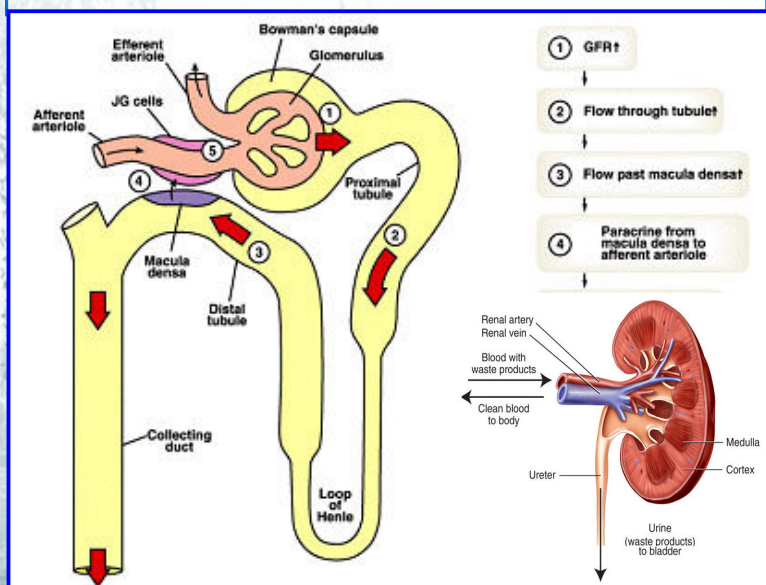
(一) 尿的生成过程

1. 肾小球的滤过作用

形成原尿, 125ml/min, 180L/d

2. 肾小管与集合管的重吸收和分泌作用

形成终尿, 超滤液中99%的水被重吸收, 约1.5L/d



实验设计

iv-NA

iv-NS

iv-
20%Glu

iv-呋塞米

iv-ADH

(二) 影响因素

1. 影响原尿形成的因素

(1) 滤过膜的面积和通透性

(2) 有效滤过压

肾小球毛细血管压

血浆胶体渗透压

肾小囊内压

(3) 肾血浆流量

2. 影响终尿形成的因素

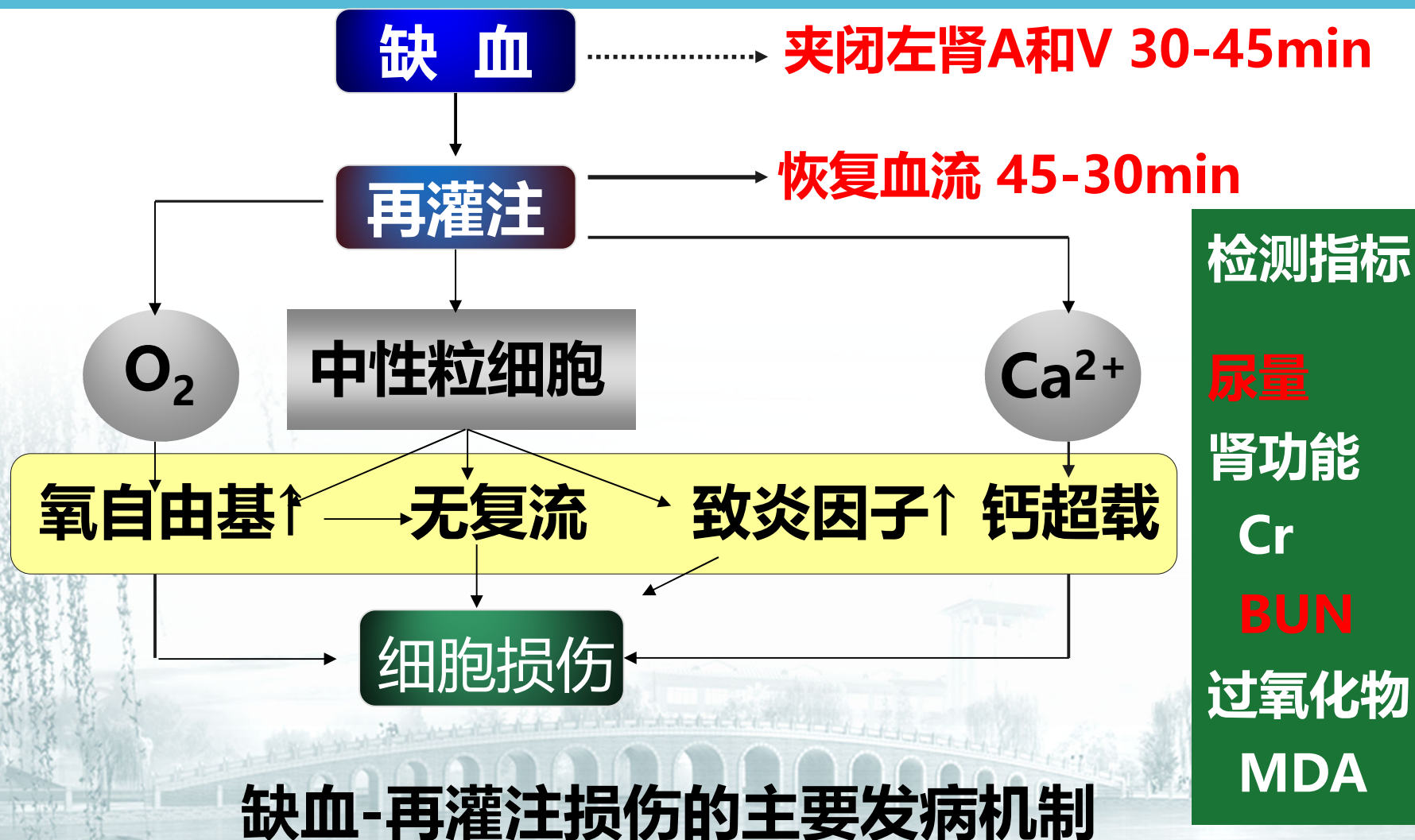
(1) 小管液中溶质的浓度

(2) 影响肾小管上皮细胞重吸收作用的体液因子和药物

抗利尿激素: ↑对水的通透性, ↑重吸收

醛固酮: ↑钠离子的主动重吸收, ↑重吸收

二、相关理论

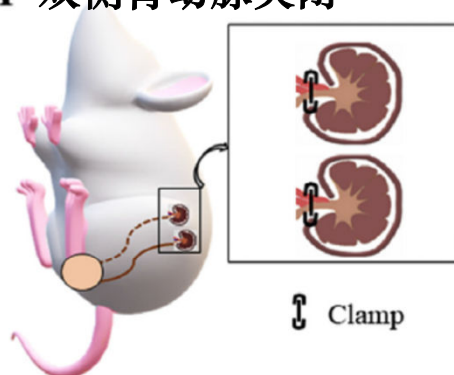




N. Shiva, et al.

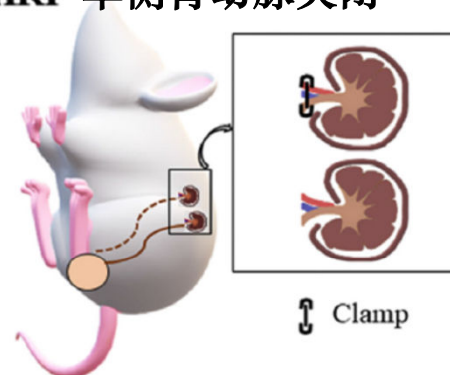
Ischemia 20-45 min
More than 24 h of reperfusion

bIRI 双侧肾动脉夹闭



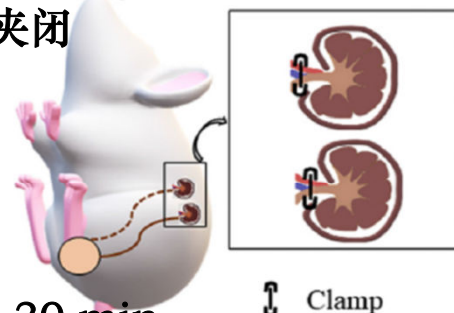
Ischemia 30 min
More than 24 h of reperfusion

uIRI 单侧肾动脉夹闭



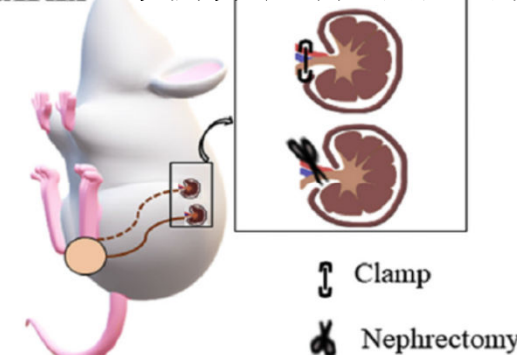
Renal artery and vein IRI

双侧肾动、静脉夹闭



Ischemia 25-30 min
More than 2 h of reperfusion

uIRIx 单侧肾动脉夹闭加对侧肾切除



For studying
chronic kidney
pathologies

Fig. 2. Animal models for IRI-AKI.

bIRI - bilateral IRI clamping, it includes clamping of renal arteries/veins/pedicle in both the kidneys of the animal; uIRI - unilateral IRI clamping, it involves clamping of the renal arteries/veins/pedicle in either of the kidneys, leaving the contralateral kidney unharmed; Renal artery and vein clamping - it involves the clamping of the renal artery and/or renal vein divisions either in one/both the kidneys; uIRIx - unilateral IRI with contralateral nephrectomy, it involves unilateral clamping of renal arteries/veins/pedicle in either of the kidneys followed by an immediate contralateral nephrectomy.

三、实验材料



动物： 成年新西兰大耳兔，雌雄不拘，2 kg左右。
购自南方医科大学动物中心

器材： BL-420N生物信号采集处理系统，家兔实验
一般手术器械，压力换能器，注射器等

试剂： 20% 乌拉坦，0.2% 肝素，生理盐水 (NS)
20% GS，1% 呋塞米，抗利尿激素 (ADH)
，1:10000 去甲肾上腺素 (NA)，0.1%
Vitamin C (VC)

四、方法与步骤



1. 麻醉：20%乌拉坦（5 ml/kg，**先快后慢**，判断麻醉深度）

2. 插管：**模板——自定义实验——机能学实验2025**

①右颈V（补液/给药，插管后 iv 5% GNS 15 ml/kg）

水浴箱大烧杯中抽取

②左颈A（记录血压、采血）——注意调零、防堵

③**左输尿管**：向肾脏方向插入1~2 cm

（全程保持输尿管不扭转、通畅）

用刻度试管收集尿液

输尿管导
管插管前
充肝素

四、方法与步骤



3. 尿生成调节实验

① 记录尿量(ml/10min) 并**取血测第一次BUN**——注意正确取血

② **1----4 组**

iv NS 10 ml/kg , 记录尿量、血压变化

5----8 组

iv 20% GS 4ml/kg , 记录尿量、血压变化

9----16 组

iv 呋塞米 0.25ml/kg, 记录尿量、血压变化

再每2组 iv ADH 3.0、2.5、2.0、1.5 U/kg, 记录尿量、血压变化

17----20 组

iv 1:10000 NE 0.2 ml/kg , 记录尿量、血压变化

每次推完药物再推1 ml肝素冲管、抗凝

四、方法与步骤



4. 肾缺血再灌注损伤：（造模前根据血压适量推注NS、升压药）

- ① 腹部左侧腋中线纵切口（左肋弓下方摸到左肾，以其平齐处为中点，开口约4~5cm），暴露左肾
- ② 动脉夹夹闭左肾A+V 30-45 min
- ③ 记录尿量(ml/30min)、血压，30-45 min时**取血测第二次BUN**
- ④ 松开动脉夹，并静脉给药：
1%呋塞米0.5 ml/kg + 0.1%VC 1 ml/kg + 20% GS 4ml/kg
记录尿量(ml/30min)、血压
松开动脉夹30min时，**取血测第三次BUN**
- ⑤ 处死动物：10% KCL 2ml/Kg 静脉快速推注

四、方法与步骤



5. 血BUN测定:

将装有1ml全血的EP管（精制肝素 50 μ l），5000r/min离心3min（注意配平）

取上清20 μ l，加入预装有2ml试剂一和试剂二混合液的玻璃试管中混匀，保鲜膜封口扎洞，沸水浴15min，自来水中冷却

520nm处，以蒸馏水调零，测OD值

标准管、空白管的测定：由老师提供数据

6. 血BUN计算

$$\text{尿素氮含量(mmol/L)} = \frac{\text{测定管OD值} - \text{空白管OD值}}{\text{标准管OD值} - \text{空白管OD值}} \times \text{标准品浓度}$$

BUN标准品浓度: 10 mmol/L

标准管OD: 0.404

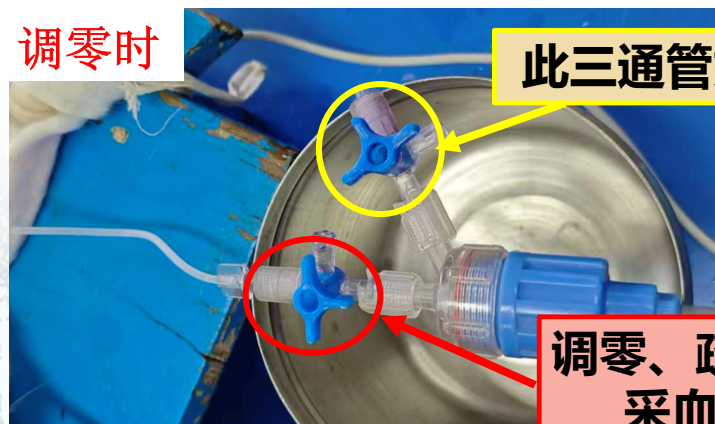
空白管OD: 0.018

五、 注意事项



1. 采血：先用5ml注射器抽出动脉导管中的肝素及约1 ml血（采完血推回并用1ml肝素冲管），关闭三通管，拔注射器换预装有50 μ l肝素的EP管，通过三通管控制血液流速**取血约1 ml**至EP管中。

调零时



此三通管始终保持关闭，不要动

采样时



调零、疏通导管、补液给药、
采血均操控此处三通管

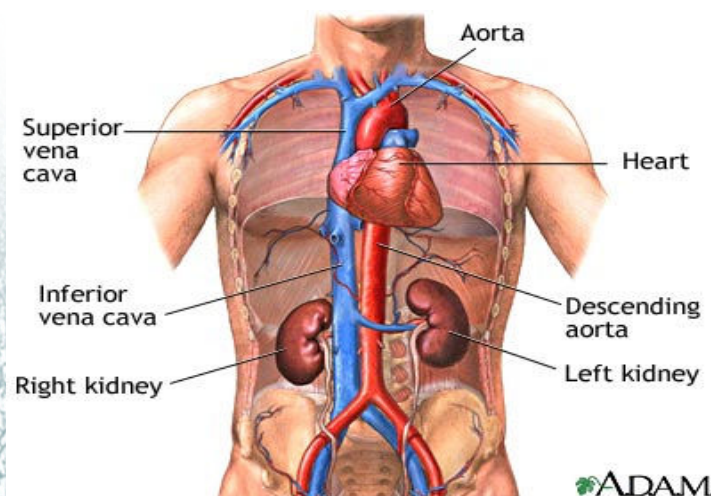
2. 输尿管插管：若膀胱端插管失败，可距离肾脏 > 2cm处重新插管，插管时勿牵拉触碰肾脏，随时注意导管是否通畅，**勿扭曲**，内侧管口勿触壁堵塞

五、 注意事项

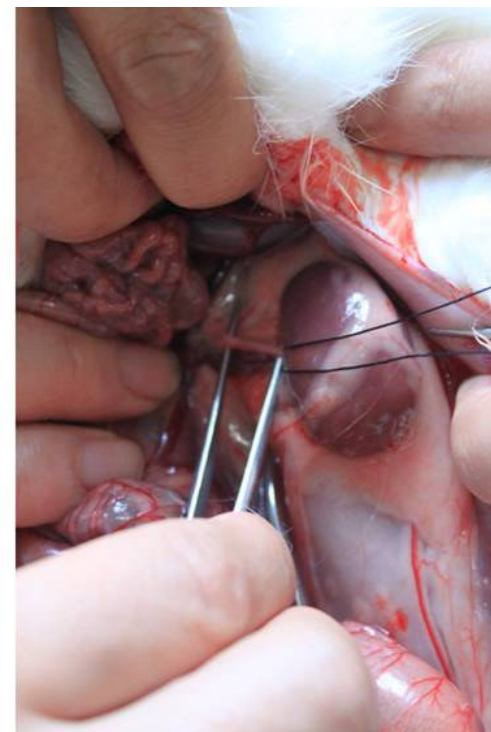


3. 夹闭左肾A和V:

- 若采用正中切口，肾脏切口与输尿管插管切口切勿连续
- 夹闭血管后迅速将脏器回纳腹腔，钳夹皮肤关腹，盖上湿纱布



家兔肾脏左低右高



五、 注意事项



4. 血BUN检测:

- ① 样品和试剂要**垂直加入**试管，勿加在试管壁上
- ② 移液器量程已调节好，**勿随意调动**
- ③ 离心前一定要**配平**，离心机上若有血渍要及时清理
- ④ 按操作指引操作**分光光度计**



5. 结束后尽快撤出动物，器材洗净擦干、排放整齐并核对，登记签字，数据共享,下次课时交论文



尿生成与肾缺血再灌注损伤实验结果记录表（注意表格格式）

操作项目与步骤	血流动力学指标(mmHg)		心 率 (次/分)	尿量 (mL/min)	血浆BUN (mmol/L)
	收缩压/舒张压	脉压差			
正常（完成所有插管后）					
iv NS 10 ml/kg iv 20%GS 4ml/kg iv 呋塞米 0.25ml/kg iv ADH ? U/kg iv NA 0.2ml /kg					不检测
夹闭肾 A+V 后 30min					
1% 呋塞米 0.5 ml/kg + 0.1% VC 1ml/kg + 20% GS 4ml/kg + 再灌30min后					

六、思考题



1. 阐述影响正常尿生成的因素及其机制。
2. 简述肾缺血-再灌注损伤的机制。

机能实验学学习资源



机能实验学（第3版）

金春华 主编

2023

南方医科大学爱课平台

-- 《**机能实验学**》

微信二维码

实验管理中心



谢谢大家！



实验流程



手术：静脉插管——补液 5% GNS 15 ml/kg，同步左颈动脉、左输尿管插管

尿生成调节实验

根据血压适量推
注NS、升压药

- ① 记录尿量(ml/10min) 、血压；取血测第一次BUN
- ② iv NS 10 ml/kg，记录尿量、血压变化 (1 – 4 组)
iv 20% GS 4ml/kg，记录尿量、血压变化 (5 – 8 组)
iv 呋塞米 0.25ml/ kg，记录尿量、血压变化 (9 – 16 组)
iv ADH 3.0、2.5、2.0、1.5 U/kg，记录尿量、血压变化
iv 1:10000 NE 0.2 ml/kg，记录尿量、血压变化 (17 – 20 组)

缺血30min

- ① 暴露左肾
- ② 动脉夹夹闭左肾A+V 30 min
- ③ 记录尿量(ml/30min) 、血压，30 min时取血测第二次BUN

再灌注30min

- ④ 松开动脉夹，并静脉给药：
1%呋塞米0.5 ml/kg + 0.1%VC 1 ml/kg + 20% GS 4ml/kg
记录尿量(ml/30min) 、血压
松开动脉夹30min时，取血测第三次BUN

处死 iv10% KCL 2ml/Kg