

· 论著 ·

两种输尿管不全梗阻肾积水动物模型制作方法的比较

杨 洋¹ 张潍平¹ 彭 芸¹ 温 洋¹ 杨吉刚²

【摘要】 目的 比较两种输尿管不全梗阻致肾积水动物模型制作方法的优劣。**方法** 将 10 周龄雄性新西兰兔 24 只随机分为腰大肌组和塑料套管组, 每组 12 只, 分别应用腰大肌包埋输尿管法及塑料套管压迫法制作右侧肾盂输尿管连接部梗阻动物模型。模型建立前后 10 周分别对两组样本行核医学肾动态显像及 CT 灌注扫描, 测得肾小球滤过率(GFR)、肾实质厚度、肾盂前后径、肾皮质及髓质的血容量(BV)、血流量(BF)、平均通过时间(MTT)及表面通透性(PS)等, 并以血肌酐、尿素氮、B 超及病理检查为佐证, 观察两组样本各项参数的变化, 进行统计学分析。**结果** 两组样本右侧肾脏均呈慢性肾积水表现, 血肌酐、尿素氮术前升高, 两组右肾 GFR、肾实质厚度以及 CT 灌注参数 BV、BF、PS 均较术前下降, 但套管组下降更为明显($P < 0.05$); 两组右肾肾盂前后径较术前增大, 套管组增大更为明显($P < 0.05$)。**结论** 两种方法制作肾盂输尿管连接部梗阻模型均具可行性。但塑料套管压迫法制作模型较为稳固, 肾积水效果显著, 相比于腰大肌包埋输尿管法具有一定的优势, 可作为肾积水模型的优先选择方法。

【关键词】 输尿管梗阻; 肾积水; 模型, 动物

Comparison of two different methods to establish animal model of hydronephrosis due to incomplete ureteral obstruction. YANG Yang¹, ZHANG Wei-ping¹, PENG Yun², et al. 1. Department of Surgery, 2. Department of Imaging Center, Beijing Childrens Hospital of Capital Medical University, Beijing 100045, China; 3. Department of Radiology, Beijing Friendship Hospital of Capital Medical University, Beijing 100050, China)

【Abstract】 Objective To establish and compare two different methods of hydronephrosis due to ureteropelvic junction obstruction in rabbit. **Methods** Twenty-four New Zealand rabbits (10-week-old, Male) were randomly assigned to two groups: group A (12 rabbits) were embedded the right ureter of ureteropelvic junction under the psoas major muscle and group B (12 rabbits) were embolized the right ureter of ureteropelvic junction into a plastic cannula. All rabbits were performed both on SPECT and CT perfusion preoperative and postoperative respectively, and parameters including GFR, thickness of renal cortical, diameter of pelvis, BV, BF, MTT and PS were assessed and the statistical significance of differences was determined, in terms of BUN, CR, ultrasound result, pathologic diagnoses pathology result and statistical analyses were performed simultaneously on the GFR of SPECT and CT perfusion parameters. **Results** The success rate of animal model was 83.3% in group A and 91.7% in group B, respectively. All models presented chronic hydronephrosis by pathologically confirmed. BUN and CR of right kidney both group A and group B were increased after operation, Perfusion parameters including BV, BF, PS and GFR of both group A and group B were decreased but rate of decline of group A was more significant than group B ($P < 0.05$). Both of group showed dilation of renal calyx and pelvis, as well as there was statistically significant difference between the two sets ($P < 0.05$). **Conclusions** Both two method provide highly feasibility for hydronephrosis in rabbit model, but we would recommend method of plastic cannula is the best and first the choice.

【Key words】 Ureteral Obstruction; Uronephrosis; Model, Animal

先天性肾积水是小儿泌尿外科常见疾病, 先天

性肾盂输尿管连接部梗阻是小儿肾积水的最常见原因, 发生率约为 0.13%~0.16%^[1], 主要病理类型包括肾盂输尿管连接部狭窄、瓣膜、息肉及迷走血管或副血管压迫肾盂输尿管连接部等, 其中肾盂输尿管

doi:10.3969/j.issn.1671-6353.2011.02.009

作者单位: 1, 首都医科大学附属北京儿童医院(北京市, 100045), 2, 首都医科大学附属友谊医院放射科(北京市, 100050) E-mail: yangyang80000@sina.com

连接部狭窄占 94.3%^[2]。如何评估积水形态和量化评价上尿路梗阻致肾脏积水肾功能受损程度,对于正确把握手术适应证,选择手术时机,乃至判断肾脏的保留价值,具有重要意义。建立可复性慢性输尿管不全梗阻致肾积水的动物模型,能帮助临床深入研究梗阻后积水肾脏的功能损害程度、病理、超微结构等改变以及梗阻解除后肾脏功能的恢复情况。本研究比较两种输尿管不全梗阻致肾积水动物模型的制作方法。

材料与方法

一、实验动物

实验用标准雄性新西兰兔,10 周龄,体重 2 000 ~ 2 500 g。随机分为腰大肌组 12 只,塑料套管组 12 只。

二、主要实验设备和药物

SPECT(Philips 公司的 Irix SPECT,简称 ECT);^{99m}Tc(^{99m}technetium, ^{99m}Tc) 标记后生成的 ^{99m}Tc-DTPA;64 排螺旋 CT 扫描仪(GE 公司的 LightspeedVCT64);非离子型造影剂优维显(300 mg/mL);手术器械一套;氯胺酮 100 mg/2 mL。

三、模型制作

1. 腰大肌包埋输尿管法:氯胺酮 8 mg/kg 经兔耳缘静脉注射麻醉。仰卧位四肢外展固定于手术台,常规手术区备皮。在腹部触及右侧肾脏的位置,取右侧肾脏在体表投影位置做纵切口,长约 2.5 ~ 3 cm,分离皮下组织,纵行切开腹壁肌肉,分离腹膜,把腹腔脏器推至内侧。找到右侧肾脏及肾盂输尿管交界部,钝性分离肾盂输尿管交界部以远输尿管长约 3 cm,蚊式止血钳钝性分离输尿管背侧的腰大肌,深约 0.5 cm,长 2 ~ 2.5 cm。用分离的腰大肌包埋分离的输尿管,4/0 丝线间断缝合 3 针,针距约 0.3 cm,充分止血后以 4/0 可吸收线全层缝合腹壁肌肉,5/0 可吸收线皮内缝合皮肤。术后肌注抗生素 3 d,并在与术前相同的饲养条件下饲养。

2. 塑料套管压迫法:利用一种可量化内径的塑料管包裹输尿管形成梗阻^[3]。麻醉方法同上,仰卧位固定,常规去毛消毒铺巾。同前方法找到右侧肾脏及肾盂输尿管交界部,钝性分离肾盂输尿管连接部以远输尿管,长 2 ~ 2.5 cm,将一根长约 1.5 cm 内径 1 mm 左右的聚乙烯塑料管(6 号普通导尿管)纵形剖开,于肾盂输尿管连接部下方约 0.5 cm 处把输尿管套入其中,4 号丝线结扎固定 3 针使管壁对

合即可。针距约 0.3 cm,还纳输尿管至正常解剖位置,关腹。术后肌肉注射抗生素 3 d,于术前相同饲养条件下饲养。

四、相关检查及评估

术前分别测得血 BUN、CR、双肾 GFR、积水肾脏肾实质厚度、肾盂前后径、肾脏皮质及髓质的血容量(BV)、血流量(BF)、平均通过时间(MTT)以及表面通透性(PS)等。分别于术后 2、4、6、8 周对模型动物进行 CT 平扫,以了解肾积水的变化过程。术后第 10 周时模型趋于稳定,再次对全部样本进行以上各项检查,获取相应参数。完成检查后处死样本,获取积水肾脏及对侧正常肾脏标本进行病理检查。

具体方法:①SPECT 扫描:SPECT 进行双侧肾脏动态灌注及肾图显像。共采集 30 min:第 1 分钟 1 帧/2 s,采集 30 帧;之后每 30 s 采集 1 帧。扫描过程:麻醉后俯卧位,放置 ECT 扫描床上,根据肾脏大致位置确定扫描区域,1 mL 注射器抽取 0.7 ~ 0.8 mL ^{99m}Tc-DTPA,耳缘静脉“弹丸注射”,同时开始采取图像,用时 30 min,中间根据兔子生命体征及外部反应情况采取不同措施,如发现麻醉过深,呼吸抑制,停止采集图像,行心肺复苏。如发现麻醉转浅(如眨眼、呼吸加快、部分身体轻微移动),及时追加药物。②CT 灌注扫描:先行常规 CT 平扫,测量出各样本肾皮质厚度及肾盂前后径数值。之后选用非离子型造影剂(300 mg/mL 优维显),采用高压注射器经耳缘静脉团注入造影剂 5 ~ 6 mL,注射速度为 0.6 mLPS。以 perfusion 扫描方式进行同层动态扫描。可得到主动脉、肾皮质及髓质的时间-密度曲线,由此获得肾脏皮质及髓质的血容量(BV)、血流量(BF)、平均通过时间(MTT)以及表面通透性(PS)等参数。③病理检查:采用常规 HE 染色,了解两组模型积水肾脏肾小球、肾小管及肾间质的病理学改变。

五、统计学处理

应用 SPSS13.0 统计学软件处理,分别将两组样本中测得的 GFR 值、肾实质厚度、肾盂前后径及 CT 灌注参数进行配对 *t* 检验比较,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示;*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

一、动物实验结果

在模型建立过程中腰大肌组由于麻醉过深引起呼吸抑制死亡 1 只;术后 15 d 左右,套管组因手术

打击、饮食不调、过度消耗及感染等出现腹泻死亡 1 只,解剖尸体见肠淤胀,腹腔闻及恶臭,右侧肾盂较正常侧稍有扩张,包埋部位以上输尿管稍有扩张;腰大肌组死亡 1 只,原因无法解释,解剖未见明显异常,可能为养殖不当引起。腰大肌组建模成功率 83.3%。塑料套管组建模成功率 91.7%。

二、SPECT 结果

1. 术前对两组样本行 SPECT 检查,对总 GFR,左、右肾 GFR 行两两 t 检验比较,差异无统计学意义($P>0.05$,表 1)。

表 1 术前 SPECT 双肾 GFR(mL/min)

组别	双肾	右肾	左肾
腰大肌组	572.6 ± 228.3 [▲]	293.4 ± 119.1 [◆]	279.2 ± 59.2 [■]
套管组	561.7 ± 115.7 [▼]	277.6 ± 214.5 [●]	284.1 ± 41.8 [★]

注: ▲▼ $P=0.436$, ◆● $P=0.514$, ■★ $P=0.227$

2. 术后 10 周再次对两组样本行 SPECT 扫描,对两组总 GFR 及分肾 GFR 进行两两 t 检验比较。①套管组总 GFR 低于腰大肌组,差异有统计学意义($P<0.05$),说明总肾功能下降,与实验室检查中血 BUN 及 CR 增高相一致;②套管组右肾 GFR 低于腰大肌组,差异有统计学意义($P<0.05$),说明套管组右肾功能下降较腰大肌组显著;③两组左肾 GFR 无统计学差异($P>0.05$);说明手术对左侧非手术侧基本无影响,见表 2。

表 4 两组手术前后右肾 3 个感兴趣区的 BF、BV 值

部位	腰大肌组		套管组	
		BF(mL/min/100 g)	BV(mL/100 g)	
动脉	术前	993.92 ± 6.40	57.85 ± 4.03	982.56 ± 12.75
	术后	997.14 ± 6.28 [▲]	60.08 ± 2.89 [▼]	973.14 ± 7.42 [△]
皮质	术前	755.42 ± 49.45	55.38 ± 8.24	712.26 ± 12.71
	术后	537.23 ± 21.62 [◆]	29.39 ± 7.87 [■]	125.76 ± 10.58 [◇]
髓质	术前	143.43 ± 8.33	27.09 ± 0.93	135.16 ± 9.54
	术后	101.61 ± 15.79 [★]	20.74 ± 1.71 [●]	43.25 ± 0.57 [☆]

注: 两组 BF 比较: 动脉 ▲△ $P=0.156$, 皮质 ◆◇ $P=0.002$, 髓质 ★☆ $P=0.026$; 两组 BV 比较: 动脉 ▼▽ $P=0.093$, 皮质 ■□ $P=0.017$, 髓质 ●○ $P=0.008$

四、病理检查结果

镜下见两组样本均呈不同程度积水表现,肾盂扩张,肾实质变薄;髓质纤维化,肾小管部分消失,皮质间质纤维化,见灶状淋巴细胞,嗜酸性及中性粒细胞浸润,肾小管萎缩,部分管腔扩张,部分肾小球纤维化等,套管组变化明显较腰大肌组明显。

讨 论

国内外制作肾盂输尿管交界部梗阻致肾积水动

表 2 术后 10 周 SPECT 参数 GFR(mL/min)

组别	双肾	右肾	左肾
腰大肌组	485.6 ± 157.4 [▲]	204.4 ± 119.1 [◆]	281.2 ± 59.20 [■]
套管组	386.8 ± 90.8 [▼]	112.8 ± 89.9 [●]	274.0 ± 39.2 [★]

注: ▲▼ $P=0.017$, ◆● $P=0.006$, ■★ $P=0.149$

三、CT 灌注扫描结果

1. 形态学分析: 肾、输尿管 CT 重建显示两组梗阻以上肾盂输尿管扩张,以塑料套管组显著。两组肾皮质厚度分别为(10.3 ± 3.20) mm、(3.82 ± 1.37) mm,肾盂前后径分别为(11.39 ± 5.20) mm、(26.83 ± 5.74) mm,差异均有统计学意义(P 值均 <0.05)。

2. 功能分析: 两组皮髓质血流量(BF)、血容量(BV)及表面通透性(PS)均较术前下降,差异有统计学意义($P<0.05$)(表 4~5)。套管组 BV、BF 及 PS 值较腰大肌组下降明显,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组平均通过时间(MTT)无明显变化,差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 3 两组模型术后 10 周右侧肾皮质厚度及肾盂前后径

组别	右肾皮质厚度(mm)	右肾盂前后径(mm)
腰大肌组	10.3 ± 3.20	11.39 ± 5.20
套管组	3.82 ± 1.37	26.83 ± 5.74
P 值	0.036	0.027

物模型常用方法包括输尿管腰大肌包裹法、塑料套管压迫法(Cheng 式制作法)、 β 射线照射法、赛璐玢(cellophane)包裹法^[4-6]等。

腰大肌包裹输尿管法利用腰大肌对输尿管的压迫,使输尿管上段管腔变小,尿液引流受到抑制,输尿管进出腰大肌裂隙时形成的两个角度使其蠕动受到抑制,动物活动时腰大肌收缩产生的张力对输尿管的挤压作用^[5]。这样既可导致输尿管梗阻,引起肾积水,又能保持部分畅通,并用包埋一定深度及长度来控制梗阻的程度^[4]。但此方法造成的输尿管

表 5 两组手术前后右肾 3 个感兴趣区 MTT 及 PS 值

部位		腰大肌组		套管组	
		MTT/S	PS(mL/min/100 g)	MTT/S	PS mL/min/100 g)
动脉	术前	1.98 ± 0.005	4.55 ± 4.64	1.89 ± 0.005	4.25 ± 1.57
	术后	1.99 ± 0.004 [▲]	4.03 ± 3.86 [▼]	1.92 ± 0.003 [△]	3.98 ± 0.86 [▽]
皮质	术前	2.90 ± 0.057	86.16 ± 20.19	2.79 ± 0.32	76.9 ± 9.87
	术后	2.03 ± 0.45 [◆]	61.8 ± 11.55 [■]	1.02 ± 0.37 [◇]	21.5 ± 2.73 [□]
髓质	术前	28.71 ± 9.1	45.2 ± 29.2	31.52 ± 4.7	29.76 ± 5.44
	术后	25.45 ± 14.8 [★]	31.86 ± 8.14 [●]	15.71 ± 3.21 [*]	9.75 ± 1.02 [○]

注:平均通过时间 MTT 比较:动脉[▲]△ $P=0.85$,皮质[◆]◇ $P=0.933$,髓质[★]☆ $P=0.451$;表面通透性 PS 比较:动脉[▼]▽ $P=0.142$,皮质[■]□ $P=0.034$,髓质[●]○ $P=0.027$

梗阻主要取决于腰大肌的张力,受动物体位、活动量及动物是否清醒等诸多因素的影响。另外,此方法中肾盂输尿管交界部梗阻的程度主要取决于结扎的松紧程度,难以量化,即难以使梗阻程度达到一个统一的标准,各样本之间可比性较差。术中腰大肌均用丝线结扎,如术后剧烈活动可能使腰大肌撕裂,导致手术失败。用此种方法一般在 4 周左右形成肾积水模型,但个体差异较大,有些甚至需要更长时间才能出现肾积水。如需进一步研究梗阻解除后的情况,可按上述方法找到包埋点后拆除缝合针线、分离松解输尿管即可。本实验中腰大肌包埋输尿管法制作的肾积水动物模型积水程度轻,可能与包埋深度不够及肌肉撕裂有关。

塑料套管压迫法是通过塑料套管对输尿管的轻微压迫作用使输尿管局部管腔变细,并使局部输尿管的蠕动受到限制,中空的套管使输尿管仍保持部分通畅,这种模型的制作方法符合慢性不全输尿管梗阻的要求^[3]。可根据选用适宜长度、内径的套管,建立不同梗阻程度的模型,量化梗阻程度,使建立模型之间具有可比性,又不致使管腔完全闭塞^[5]。缺点是活体动物本身对塑料套管具有不同程度的异物反应等。

β 射线照射法是利用 β 射线对输尿管局部进行照射,形成狭窄及梗阻。赛璐玢包裹法是利用化学物质在输尿管局部形成炎性狭窄,二者均属不可逆性梗阻,无法进行解除梗阻实验,射线、赛璐玢对输尿管周围组织甚至全身的影响亦应充分重视^[5-6]。

建立肾盂输尿管交界部不全梗阻致肾积水动物模型,能够详细观察肾积水的发展过程,了解其病理生理变化。临床上肾积水术后需长期观察术后恢复效果,模型的可复性发挥了重要作用,通过解除梗阻,对积水肾功能恢复情况进行长期观察,以选择一种术后随访最适合的检查方法。也可观察术后模型

动物肾功能恢复情况,对手术时机的选择及手术方法正确与否进行判断。

本研究探讨各种输尿管不全梗阻致肾积水动物模型制作方法的优劣,对临床试验中依据不同需要选择适当方法制作符合要求的动物模型有一定价值。但不同方法造成输尿管不全梗阻,进而导致肾脏积水,肾实质损害是急性还是慢性,怎么划分,与临床肾积水患儿的肾实质损伤过程是否完全一致,还需进一步探讨。此外,本实验中所使用的塑料套管压迫法,各样本之间采用的是统一管径和长度的套管,如果采用不同规格的套管,其引起肾积水发展变化的病理生理过程是否相同,还需进一步研究。腰大肌包埋输尿管法与塑料套管压迫法,制作肾盂输尿管连接部梗阻模型比较,塑料套管压迫法更为可靠,可作为肾积水模型的优先选择方法。

参考文献

- 马胜利,叶章群,陈志强. 输尿管部分梗阻后肾小球滤过率的时相性变化研究[J]. 武汉大学学报(医学版), 2006,27(3):399-402.
- 周显礼,李昭铸,王晓蕾,等. 小儿肾积水血流动力学观察及临床意义[J]. 中国临床医学影像杂志,2004,15(4):202-204.
- 黄澄如. 实用小儿泌尿外科学[M]. 北京:人民卫生出版社. 2006,198-209.
- 吕宇涛,文建国,张艳,等. 肾脏血流阻力指数比率在评估小儿肾积水肾脏功能中的价值[J]. 郑州大学学报(医学版),2003,38(2):182-184.
- 何上进,张杰,张孝斌,等. 肾内阻力指数对梗阻性积水肾功能的评估[J]. 临床外科杂志 2005,13(6):373-375.
- Perez-Brayfield MR, Kirsch AJ, Jones RA, et al. A prospective study comparing ultrasound, nuclear scintigraphy and dynamic contrast-enhanced MRI for the evaluation of hydronephrosis[J]. J Urol, 2003,170:1330-1334.