

一种梗阻性肾病动物模型的建立

梗阻性肾病是外科常见病,及时解除梗阻是最主要的治疗手段。但梗阻解除前后,如何保护肾功能、促进肾功能恢复尚缺乏针对性的治疗。本研究模拟临床发病特点,建立梗阻性肾病动物模型,为开展相关研究提供技术平台。

1 材料与方法

1.1 分组

新西兰大白兔,共20只。雌雄各半,体质量(2000±200)g(由广州中医药大学实验动物中心提供)。随机分为模型组12只,对照组(假手术组)8只。

1.2 造模

用3%戊巴比妥钠(用量:1 ml/kg)耳缘静脉注入麻醉。将实验兔仰卧位固定于手术板上,术野剃毛,常规消毒、铺无菌孔巾。取下腹部正中切口约3 cm切开入腹,暴露膀胱及双侧输尿管下段,钝性分离输尿管,以细丝线做轻悬吊,测量兔输尿管静息期管径。模型组:将银夹连接部制成圆弧样(银夹弧部直径=1/2输尿管管径),在膀胱输尿管连接部上方约1 cm处,以银夹弧部套于输尿管上以缩窄双侧输尿管。依次缝合切口,用金霉素眼膏外涂伤口。对照组:只分离输尿管,不用银夹缩窄。术后常规喂养2周。

1.3 资料采集

1.3.1 记录一般情况 包括精神、活动情况、进食量、体重。

1.3.2 实验室检查 两组动物分别于造模手术前(当日)、梗阻手术后第3、7、14天静脉抽血检测:血肌酐(Scr)、血尿素氮(Bun)。

1.3.3 病理检查 梗阻术后2周,通过空气栓塞法处死动物,解剖并摘除双肾、双输尿管。

大体标本:观察肾脏的颜色,形态,肾盂、输尿管扩张情况,统一测量右肾实质厚度(分别测量肾上、中、下三极肾实质厚度,取平均值)。光镜:统一检测左肾,标本以10%甲醛固定,石蜡包埋后制成普通病理切片,经HE染色后,观察肾小球、肾小管以及间质的病理学改变。

1.3.4 统计学分析 实验数据用SPSS_{12.0}软件进行统计学处理,采用单向方差分析、独立样本t检验。

2 结果

2.1 实验动物生存情况

模型组有两只动物分别在造模手术时因麻药过量以及造模手术后第4天死亡。后者解剖见腹腔积液约100 ml,一侧输尿管轻度扩张,另一侧输尿管无扩张,但上银夹处粘连明显,考虑为该侧输尿管损伤,尿液外渗导致腹腔感染所致。所有动物均无伤口感染。

2.2 一般情况

术后第1天所有动物均表现为精神疲倦(对木棒刺激反应迟钝), 进食及活动度减少, 从第2天开始两组各项指标均逐渐改善, 但从第4至第6天起模型组各指标先后出现下降。至实验2周结束时, 对照组体质量较术前增加($P<0.05$), 模型组体质量较术前减轻($P<0.05$), 两组体重有显著差异($P<0.01$)。见表1。

表1 造模前后两组实验兔体质量的变化($n, \bar{x}\pm s$) 单位:kg

组别	造模前	造模后	<i>P</i>
模型组	2.08±0.06(11)	1.80±0.11(10)	<0.05
对照组	2.09±0.07(8)	2.31±0.05(8) ^①	<0.05

①: $P<0.01$ 与模型组比较

2.3 实验室指标

模型组术后第3天Scr、Bun与术前及对照组比较无统计学差异, 从第7天起较术前及对照组均有差异($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 且从第3天起逐渐升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。对照组各时间段均无差异($P>0.05$)。见表2、3。

表2 造模前后两组 Scr 变化($n, \bar{x}\pm s$) 单位: $\mu\text{mol/L}$

组别	造模前	造模第3天	造模第7天	造模2周
模型组	87.4±11.8(11)	119.1±40.3(11) ^①	184.7±27.5(10) ^②	278.7±126.6(10) ^③
对照组	93.4±11.04(8)	91.4±11.9(8) ^①	87.0±11.3(8) ^①	93.1±21.7(8) ^①
<i>P</i>	$P>0.05$	$P>0.05$	$P<0.01$	$P<0.01$

①: $P>0.05$, ②: $P<0.05$, ③: $P<0.01$ 与前一组比较

表3 造模前后两组 Bun 变化($n, \bar{x}\pm s$) 单位: mmol/L

组别	造模前	造模第3天	造模第7天	造模2周
模型组	7.36±1.33(11)	10.88±2.95(11) ^①	16.61±3.95(10) ^②	26.65±10.16(10) ^③
对照组	8.30±1.61(8)	8.58±1.33(8) ^①	8.25±1.00(8) ^①	8.56±1.12(8) ^①
<i>P</i>	$P>0.05$	$P>0.05$	$P<0.01$	$P<0.01$

①: $P>0.05$, ②: $P<0.05$, ③: $P<0.01$ 与前一组比较

2.4 病理改变

2.4.1 大体标本 模型组: 肾体积增大, 颜色淡, 见呈灶状分布的小出血点, 包膜易剥离, 肾盂、肾盏扩张, 肾实质变薄, 皮髓质界限模糊, 梗阻以上输尿管扩张。对照组: 肾脏体积无增大, 颜色红润, 肾盂、肾盏无扩张, 皮髓质界限清晰, 输尿管无扩张。其中, 造模组肾实质厚度为 0.59 ± 0.08 cm, 对照组为 1.16 ± 0.06 cm, 两者有显著差异($P<0.01$)。见图1。



图1 大体标本：模型组(左侧) 对照组(右侧)

2.4.2光镜 模型组：肾小管上皮细胞部分变扁、萎缩或坏死，部分细胞落入管腔，管腔扩张；间质面积增宽，炎症细胞浸润，内见局灶性出血；大部分肾小球形态正常，少量可见萎缩。对照组：肾小管形态分布正常，上皮细胞无变性；间质无水肿，未见炎症细胞浸润；肾小球形态正常。见图2。

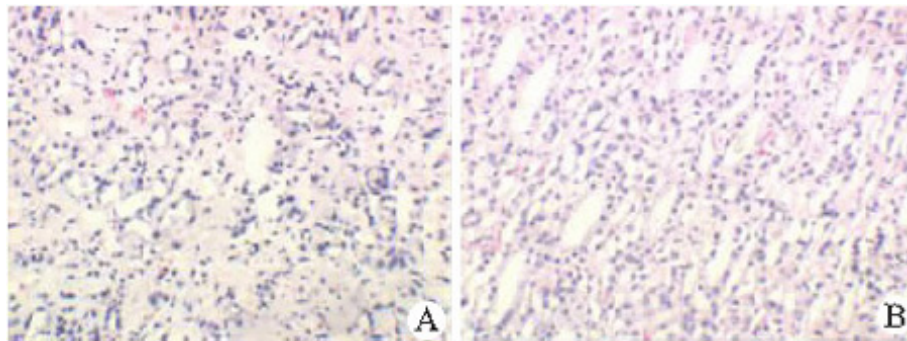


图2 A：模型组肾组织病理切片(HE染色 ×100)

3 讨论

目前有关梗阻性肾病的实验研究大多是建立在单侧输尿管完全梗阻(CUUO)动物模型的基础上的。该模型作为肾间质纤维化的病理模型是成功的，但作为梗阻性肾病的疾病模型用于实验研究有一定的局限性。

本模型模拟临床常见的以下尿路及双侧上尿路梗阻为特征的梗阻性肾病发病特点，采用银夹半环夹双侧输尿管的方法，建立双侧输尿管不完全梗阻性梗阻性肾病的动物模型。从造模过程及结果分析，模型组输尿管缩窄后，逐渐出现纳差、疲倦、体质量下降等肾功能损害的外在表现。理化检查提示梗阻后Scr、Bun缓慢、进行性升高，梗阻早期，由于肾盂、输尿管扩张积液以及梗阻后多种回流途径的缓冲作用，造模3 d后总肾功能较术前并无明显改变。其后梗阻持续存在，超出了自体的代偿能力，肾损害逐渐加重。病理方面，表现为上尿路的扩张积液，肾脏体积增大，出现以肾间质损害为主的明显的病理损害，符合梗阻性肾病的临床及实验室诊断，说明造模成功。本模型既可模拟梗阻性肾病的病理改变，又能模拟继发于病理改变而出现的临床改变，是从“病”的角度，整体反映梗阻性肾病发病特点的疾病病理模型，为开展本病的全方位研究提供技术平台。

与现有的尿路梗阻模型比较[1][2][3]，本模型的梗阻方法具有以下特点。(1)可控性：梗阻材料选用银夹，该材料质地较软，具有良好的可塑性，可根据实验要求，准确控制梗阻程度，使模型的病理进程保持相对的一致性，提高模型的标准程度。(2)易操作性：通过下腹小切口完成手术，只需简单分离就能满意暴露膀胱及双侧输尿管下段，组织创伤小，手术时间短，整个过程约需15 min。(3)组织相容性：梗阻材料银夹是外科常用手术材料，具有良好的组织相容性，长时间留置体内，不会因排斥反应及炎症反应影响实验结果。另外，术后若须解除梗阻，也易于显露及取出。(4)可复性：模型选择的梗阻部位表浅，易于显露，梗阻材料具有良好的组织相容性，均有利于梗阻的解除。

参考文献：

[1]曾甫清, 鲁功成, 刘 博, 等. 一种新的可复性慢性不全梗阻性肾积水动物模型的建立[J]. 临床泌尿外科杂志, 1996, 11(5): 299-301.

[2]赵春利, 蔡文清. 慢性输尿管梗阻解除后兔肾扫描电镜观察[J]. 解剖学报, 2005, 36(6):692-4.

[3] 杨关天, 杨建军, 姚茂银. 输尿管部分梗阻致肾功能损害及肾间质纤维化的研究[J]. 东南大学学报(医学版), 2005, 24(5):339-43.

回结果列表