文章编号:1000-5404(2010)09-0959-04

论著

消旋聚乳酸输尿管支架管在家犬体内的降解变化及输尿管病理学表现

王 炜[1],李 牧[1],刘绍虔[1],徐 缓[2],李 虹[3] (523018 广东 东莞,广东省东莞市人民医院泌尿外科[1];610041 成都,四川大学华西医院:病理科[2],泌尿外科[3])

[摘要] **目的** 观察消旋聚乳酸输尿管支架管在家犬输尿管内的降解变化以及输尿管组织病理学表现。**方法** 经手术将消旋聚乳酸输尿管支架管置于19只家犬输尿管内,每2周取出支架管在电镜下观察支架管材料结构的降解变化,并经凝胶渗透色谱仪测量支架管相对分子质量变化。同时切取输尿管组织在光镜下观察其病理改变。**结果** 支架管降解前相对分子质量为68 900,第7周相对分子质量降解为8 033,降解率达到88.3%。电镜下支架管表面的孔隙逐渐增多增大,材料不断被浸析降解。输尿管组织病理学变化主要表现为无菌性炎症。**结论** 消旋聚乳酸输尿管支架管具有良好的动物体内降解性能和组织相容性。

[关键词] 聚乳酸;降解;输尿管;支架管; 家犬
[中图法分类号] R318.08; R313; R693.02 [文献标志码] A

In vivo biodegradation of poly-DL-lactic acid ureteral stent in canine and pathological change in its ureter

Wang Wei[1], Li Mu[1], Liu Shaoqian[1], Xu Huan[2], Li Hong[3] ([1]Department of Urology, Dongguan People's Hospital, Dongguan, Guangdong Province, 523018; [2]Department of Pathology, [3]Department of Urology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan Province, 610041, China)

[**Abstract**] Objective To observe the *in vivo* degradation of poly-DL-lactic acid ureteral stent in canine and the pathological change in canine ureter. Methods Poly-DL-lactic acid ureteral stent was inserted into 19 canine ureters, respectively. The stents were taken out every two weeks with their degradation observed with electronic microscopy and their molecular weight change detected by gel permeation chromatography. Pathological change in ureteral tissue specimens stained with hematoxylin and eosin was observed by light microscopy. Results The molecular weight of poly-DL-lactic acid ureteral stent was decreased to 8 033 seven weeks after degradation from 68 900 before degradation, with a degradation rate of 88.3%. Electronic microscopy showed that the number of pores in stent was gradually increased and their diameter became larger. The stent was degraded. The main pathological change observed in canine ureter tissue was non-specific inflammation. Conclusion Poly-DL-lactic acid ureteral stent is good in degradation property and tissue compatibility *in vivo*.

[**Key words**] poly-lactic acid; degradation; ureter; stent; canine

Corresponding author: Li Hong, Tel: 86-28-85422449, E-mail: davidwung@163.com

聚乳酸(poly-lactic acid, PLA)在人体内可自然降解为二氧化碳和水,其中间产物乳酸也是正常糖代谢的产物。目前,PLA及其共聚物已广泛应用于外科缝线、纱布、药物控释体系、骨科内固定和组织修复材料以及尿道支架管等方面。PLA支架管较早期主要作为尿道支架治疗尿道狭窄及前列腺增生[1-4]。近年来,越来越多的研究发现不同化学结构的PLA共聚物可能是可降解输尿管支架管的理想材料[5-7]。但是现有实验结果大多停留于动物实验阶段,这主要是因为PLA应用于输尿管支架管的研究还存在以下问题:①在机械性能和降解时间等方面均能满足临床应用的PLA支架管材料的具体构成还不确定;②可降解支架管在体内引起的输尿管组织学变化有待观察。本研究结合目前现有的实验结果以及技术材料,选择在前期体外实验中降解速度以及物理强度都基本满足临床需要的消旋聚乳酸(poly-DL-lactic acid, PDLLA)作为动物体内实验的材料[8],对以下两方面做初步观察:①观察PDLLA支架管在动物体内的降解变化;②观察PDLLA支架管引起的动物输尿管组织病理学变化。

[通信作者] 李 虹,电话:(028)85422449,E-mail:davidwung@163.com

1 材料与方法

1.1 实验动物

家犬来自四川大学华西医院实验动物中心,均为符合动物实验标准的合格动物。犬龄24~36个月,体质量12~20 kg,雄性11只,雌性8只。

1.2 实验材料合成方法

聚乳酸合成消旋丙交酯:单分子乳酸在180 ℃、压力为5 mmHg的环境中以三氧化二锑为催化剂合成消旋丙交酯。将消旋丙交酯及引发剂置于反应瓶中,氮气保护、抽真空、气体置换、密闭后于150~160 ℃、0.1~0.2 mmHg的压力环境中反应5 h。产物溶于氯仿,用乙醇沉淀,纯化数次,得到消旋聚乳酸,于50 ℃下真空干燥2 d。

1.3 手术方法

实验动物称体质量后,10%水合氯醛腹腔内麻醉。经下腹部正中切口打开腹腔显露膀胱及双侧输尿管,纵行切开右侧输尿管置入PDLLA支架管后5-0肠线间断缝合输尿管切口。术中补液生理盐水500 ml,阿莫西林1.0 g静脉滴注,术后阿莫西林1.0 g肌注,每天1次,连续3 d。分别于术后第2、4、6、8周分批处死动物,观察输尿管有无梗阻及肾积水,并在输尿管切口处切取输尿管组织送检。病理切片HE染色在光镜下观察组织变化。

1.4 凝胶渗透色谱测量支架管相对分子质量变化

将从家犬体内取出的支架管溶于四氢呋喃溶液,凝胶渗透色谱测试仪预热15 min,待支架管完全溶解后,以0.35 ml/min的速度向色谱柱加样孔注射四氢呋喃液,凝胶渗透色谱测试仪自动测试受试物质的相对分子质量。凝胶渗透色谱测试仪Waters 515 Pump,Waters 2410 Refractive Index Detector;色谱柱:Styragel HR5E,4.3 mm×300 mm column,色谱柱温度:30 ℃。

2 结果

2.1 动物存活情况

19只家犬中,2只死于术后切口感染,1只死于术后尿外渗引起的腹腔感染,共有16只家犬纳入体内实验。存活的16只家犬,未发现支架管近端输尿管扩张及肾积水,术中及术后膀胱尿培养均未见细菌生长。

2.2 消旋聚乳酸支架管在电镜下的形态学变化

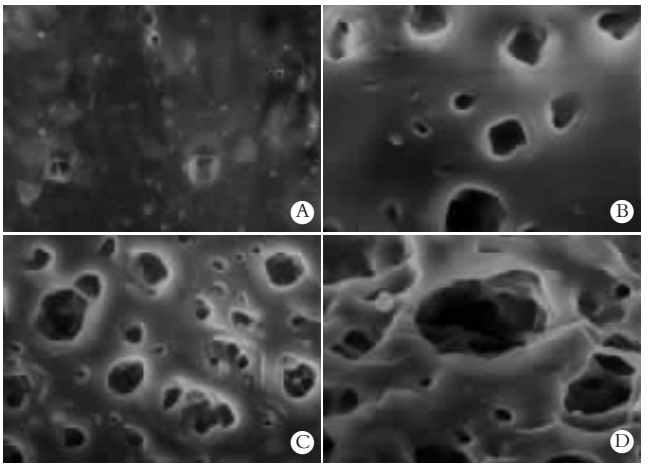
支架管在降解前具有微小的孔隙,随着降解进行,表面的孔隙逐渐变大、数量逐渐增多,支架管不断被裂解浸析(图1)。

2.3 凝胶渗透色谱分析结果

支架管降解前相对分子质量为68 900,支架管在家犬输尿管内第1周降解速度很慢,相对分子质量为67 475,降解率为2.1%。从第2周起降解速度明显加快,到第7周相对分子质量降解为8 033,降解率达到88.3%(图2)。第8周时动物输尿管内已无支架管存留,估计支架管降解残片已被尿液冲刷排出体外,因而未能测试到其相对分子质量。

2.4 输尿管切口部位组织学变化

输尿管的组织病理学变化主要表现为无菌性炎症。术后第2周移行上皮有较为明显的脱落,固有层水肿明显,肌层结构被破坏(图3A)。第4周与第2周相比变化不明显(图3B)。到第6周组织结构较前几周明显规则,移行上皮基本恢复正常,固有层水肿消除,仅在固有层发现有小血管充血(图3C)。术后第8周,输尿管全层组织基本恢复正常(图3D)。



A:降解前(×2 000);B:降解第2周(×2 000);C:降解第6周(×1 500);D:降解第8周(×1 500)

图1 消旋聚乳酸支架管降解不同时间的电镜观察

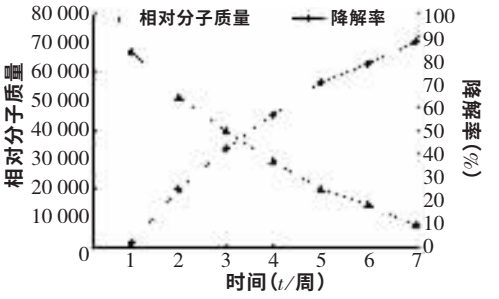
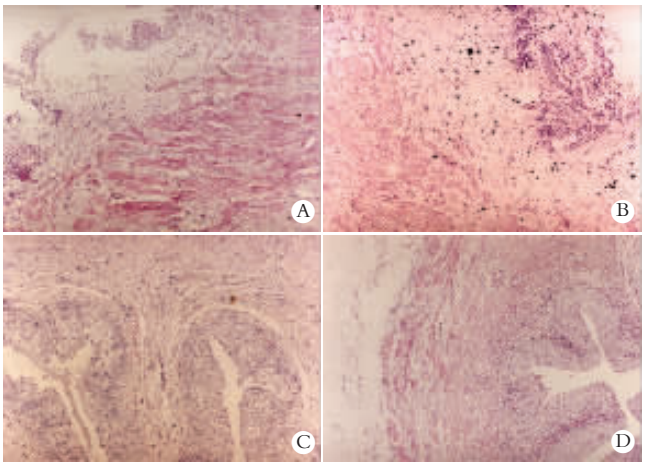


图2 凝胶渗透色谱仪检测消旋聚乳酸支架管相对分子质量的降解变化



A:降解第2周(×90);B:降解第4周(×90);C:降解第6周(×180);D:降解第8周(×90)

图3 消旋聚乳酸支架管置入后不同时间输尿管切口组织HE染色观察

3 讨论

自1975年聚乳酸-聚羟基乙酸共聚物制成的手术缝线应用于临床以来,PLA作为可降解的高分子聚合物备受医师青睐。由于其良好的生物相容性和可降解性,目前已被广泛应用于外科缝线、内固定材料和组织修复材料以及药物控制释体系等领域,PLA的安全性也得到美国FDA的认可[9]。

自增强左旋聚乳酸(SR-PLLA)尿道支架管在尿道内的降解时间为2~6个月[1,2],而目前临床上输尿管支架管在体内的放置时间一般不超过4~6周,所以可降解输尿管支架管的材料须在具备一定机械强度的同时降解时间不宜过长,否则难以完全降解且有可能增加输尿管梗阻积水。本实验选择相对分子质量为68 900的消旋聚乳酸作为输尿管支架管的材料,是因为在动物体外实验中发现PDLLA支架管在磷酸缓冲液中8周左右即可降解完成,其降解时间和输尿管切口的愈合时间基本吻合[8]。在术后早期切口尚未愈合时,支架管机械强度变化不明显,起着良好的支撑和引流作用。随着切口的愈合支架管机械强度逐渐降低。

输尿管支架管起着支撑管腔、通畅引流尿液的作用,所以在支架管降解过程中,会不会因为机械强度的降低而阻塞输尿管引起肾积水是一个十分重要的问题。PDLLA支架管体外降解实验中,支架管在术后第6周降解速度明显加快,机械张力明显减弱。术后第8周,绝大多数降解物已溶于磷酸缓冲液,只残留有少量的降解碎片[8]。本研究中PDLLA支架管在家犬体内降解到第8周时,输尿管内已几乎见不到支架管残余物,估计可能在尿液冲刷和输尿管蠕动作用下被排出体外。在所有纳入实验的动物中,都未发现因支架管降解残片梗阻输尿管而引起肾积水的现象。由于本实验动物最长饲养周期为支架管置入术后8周,因而未能观察到远期输尿管狭窄及积水发生。

Olweny等[10]报道经腔镜行猪肾盂切开后置入聚乳酸-聚羟基乙酸共聚物支架管,术后行逆行造影未见上尿路积水征象。同时发现有未降解的支架管残片移位到输尿管外,在实体肾盂切口周边组织中也确实发现了被上皮包裹的支架管残片。因此,推测支架管降解残余物有2种转归:一是被尿液冲刷排出体外;二是经肾盂切口进入腹膜后间隙通过"细胞降解"(cellular degradation)途径被降解为二氧化碳和水。

输尿管支架管可被排出体外和移位到腹膜后间隙这一现象给我们提供了一个有益提示:在选择可降解输尿管支架管材料的时候,可以允许材料的降解时间稍长于我们希望它在体内的存留时间。因为输尿管支架管降解的特殊性就在于当支架管的强度下降至一定程度时可被排出体外,无需在体内被完全降解。

可降解高分子材料的降解性能是其能否应用于临床的一个重要基础。另一方面,生物材料组织相容性的优劣同样决定着其临床应用的前景。聚乳酸在动物体内引起的植入反应在早期表现为轻度的无菌性炎症,纤维包膜尚未形成。中期浸润炎细胞数量下降,纤维包膜疏松。晚期炎细胞明显减少,纤维包膜形成完整、致密[11-14]。泌尿道支架管引起的组织学变化与聚乳酸内固定材料引起的组织学变化有所不同。因为后者聚乳酸的降解主要在组织间液中进行,组织细胞尤其是吞噬细胞在其降解过程中发挥着重要作用,并且内固定材料始终存在于体内,不能被排出体外。而泌尿道支架管的降解由于有充足的水环境,而且降解残片还可能因尿液直接冲刷和输尿管蠕动而排出体外或经肾盂、输尿管切口进入腹膜后间隙,所以,支架管在体内存留的时间往往比完全降解时间短。因此,泌尿道支架管引起的组织学反应相对而言更轻微、恢复更迅速。

我们观察到置入PDLLA支架管后输尿管组织病理学变化主要表现为:移行上皮脱落、坏死、淋巴细胞浸润、固有层水肿、肌层断裂等。随着输尿管切口的愈合和消旋聚乳酸的降解,无菌性炎症逐渐减轻,在术后第8周左右基本恢复正常。这些变化并非支架管引起的特异性反应,从本质上讲就是无菌性炎症,所有手术创伤以及异物反应均可表现出上述变化。Marx等[15]认为输尿管支架管引起的组织学变化与多种因素有关,如支架管材料、在体内的放置时间、有无尿路感染等。不同种类材料由于其材料构成、亲水性、表面电荷以及材料表面光滑程度不尽相同,因而引起的组织学反应不同。

从我们的初步观察来看,首先,PDLLA支架管具有良好的降解性能,在提高提纯技术和制造工艺后,有希望提供满足临床工作需要的支架管成品。其次,PDLLA具有良好的生物体内组织相容性,通过开放手术置入体内后仅表现为非特异性的创伤性炎症表现,推测如果经泌尿系自然腔道利用腔镜技术置入支架可能引起更轻微的组织反应。

参考文献:

[1] Fu W J, Zhang X, Zhang B H, *et al*. Biodegradable urethral stents seeded with autologous urethral epithelial cells in the treatment of post-traumatic urethral stricture: a feasibility study in a rabbit model [J]. BJU Int, 2009, 104(2): 263-268.

[2] Kotsar A, Isotalo T, Mikkonen J, *et al*. A new biodegradable braided self-expandable PLGA prostatic stent: an experimental study in the rabbit [J]. J Endourol, 2008, 22(5): 1065-1069.

[3] Fu W J, Zhang B H, Gao J P, *et al*. Biodegradable urethral stent in

the treatment of post-traumatic urethral strictures in a war wound rabbit urethral model [J]. Biomed Mater, 2007, 2(4): 263 - 268.
[4] Kotsar A, Isotalo T, Juuti H, *et al*. Biodegradable braided poly(lactic-co-glycolic acid) urethral stent combined with dutasteride in the treatment of acute urinary retention due to benign prostatic enlargement: a pilot study [J]. BJU Int, 2009, 103(5): 626 - 629.
[5] Hadaschik B A, Paterson R F, Fazli L, *et al*. Investigation of a novel degradable ureteral stent in a porcine model [J]. J Urol, 2008, 180(3): 1161 - 1166.
[6] Beiko D T, Knudsen B E, Denstedt J D. Advances in ureteral stent design [J]. J Endourol, 2003, 17(4): 195 - 199.
[7] Lumiaho J, Heino A, Kauppinen T, *et al*. Drainage and antireflux characteristics of a biodegradable self-reinforced, self-expanding X-ray-positive poly-L, D-lactide spiral partial ureteral stent: an experimental study [J]. J Endourol, 2007, 21(12): 1559 - 1564.
[8] 王炜, 刘钰, 徐缓, 等. 消旋聚乳酸输尿管支架管体外降解: 时间及结构变化 [J]. 中国临床康复, 2005, 9(14): 36 - 37.
[9] 朱悦琦, 程英升, 李明华. 生物可降解支架在良性管腔狭窄成形术中应用的研究进展[J]. 介入放射学杂志, 2008, 17(9): 675 - 680.
[10] Olweny E O, Landman J, Andreoni C, *et al*. Evaluation of the use of a biodegradable ureteral stent after retrograde endopyelotomy in a porcine model [J]. J Urol, 2002, 167(5): 2198 - 2202.
[11] 王春喜, 侯宇川, 姜凤鸣, 等. 丙交酯乙交酯共聚材料输尿管支架的动物实验研究 [J]. 中华外科杂志, 2006, 44(18): 1261 - 1262.
[12] 刘斌, 张基昌, 陈宏勃, 等. 生物可降解冠状动脉支架涂层材料聚乙二醇-聚乳酸-聚谷氨酸共聚物的生物相容性研究[J]. 中国实验诊断学, 2006, 10(9): 975 - 978.
[13] 侯宇川, 王春喜, 郑佐柱, 等. 生物降解输尿管支架材料丙交酯/乙交酯共聚物的生物相容性及体内外降解特性[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2005, 31(4): 526 - 529.
[14] 矫树生, 李兵仓, 陈建梅, 等. 嗅鞘细胞与聚乳酸-聚羟基乙酸共聚物材料的细胞相容性研究[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(5): 370 - 373.
[15] Marx M, Bettmann M A, Bridge S, *et al*. The effects of various indwelling ureteral catheter materials on the normal canine ureter [J]. J Urol, 1988, 139(1): 180 - 185.

(**收稿**:2009-12-01;**修回**:2010-02-24)
(编辑 王 红)

(上接958页)

混合型,临床上以淋巴结型最为常见。其主要临床表现为:无痛性颈淋巴结增大、贫血、高γ球蛋白血症、血沉增快、体质量减轻等,肝脾一般不肿大。约43% RDD患者伴结外组织受累[2],23%的患者仅有结外组织受累,以皮肤和软组织发病率最高(16%),其次为鼻腔鼻窦、眼部、骨、腮腺、中枢神经系统、口腔、泌尿生殖系统、呼吸道、肝脏、扁桃体、胸部、食道和心脏[3]。本例患者伴有左眼病变,是否为眼部RDD,还需眼科确诊。

RDD可能由免疫缺陷、自体免疫性疾病或特殊感染引起,如佛里德兰德杆菌、布鲁菌、水痘-带状疱疹病毒、EB病毒、巨细胞病毒、HHV-6和HHV-8[4,5]。其组织病理学显著特点为:组织细胞内吞噬数量不一、形态完整的淋巴细胞(淋巴细胞吞噬作用或伸入运动)。免疫组化特点为:组织细胞S-100(+)、CD68(+), CD1a(-)、SMA(-)、CD34(-)。无结外淋巴结受累的RDD极易误诊,需病理和免疫组化确诊。该病例曾被误诊为慢性炎症,常见的鉴别诊断有:①单发性浆细胞瘤:见不成熟浆细胞,无泡沫样细胞,S-100(-),CD20(+)。②朗格汉斯组织细胞增生症:组织细胞体积较小,细胞核见明显纵行核沟,大量嗜酸性粒细胞和多核巨细胞, S-100(+),CD68(-),CD1a(+)。③鼻硬结病:无伸入运动,细胞中缺乏溶酶体,S-100(-)。吉姆萨染色下泡沫样细胞中可见鼻硬结杆菌。④纤维组织细胞瘤:肿瘤性纤维组织增生,呈漩涡状结构。可见卵圆形或长形胞核的成纤维细胞,伴有圆形或不规则胞核且细胞质丰富的组织细胞,S-100(-)。⑤霍奇金病:以中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的背景下可见RS细胞。⑥库特纳瘤:表现为导管集群优势,缺乏腺泡腺体,腺体纤维化。

RDD大多表现为良性过程,少数可自行消退。但也有部分病例因全身免疫功能低下而出现局部浸润或复发,严重者甚至死亡,死亡率为7%[6]。目前尚无系统的治疗方法,各种治疗方法也无明显优势。当RDD病变较轻,无重要器官受损,伴有无感染发热>38 ℃,或淋巴结突然增大,可用类固醇药物治疗。当淋巴结或结外组织增大引起呼吸道阻塞或其他重要器官并发症时需行手术和放疗,手术后需长期随访。此患者仅行手术治疗,术后随访6个月,鼻内镜检查示双侧鼻腔通畅,未见新生物复发。化疗对RDD一般无较大疗效,如蒽环霉素、长春新碱、烷化剂[7]。大剂量干扰素(IFN)证实对RDD有一定疗效[8]。

参考文献:

[1] Rosai J, Dorfman R F. Sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy. A newly recognized benign clinicopathological entity[J]. Arch Pathol, 1969, 87(1): 63 - 70.
[2] Naidu R K, Urken M L, Som P M, *et al*. Extranodal head and neck sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy [J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 1990, 102(6): 764 - 767.
[3] Shi S S, Sun Y T, Guo L. Rosai-Dorfman disease of lung: a case report and review of the literatures[J]. Chin Med J (Engl), 2009, 122(7): 873 - 874.
[4] Ortonne N, Fillet A M, Kosuge H, *et al*. Cutaneous Destombes-Rosai-Dorfman disease: absence of detection of HHV-6 and HHV-8 in skin [J]. J Cutan Pathol, 2002, 29(2): 113 - 118.
[5] Lober M, Rawlings W, Newell G R, *et al*. Sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy. Report of a case associated with elevated EBV antibody titers[J]. Cancer, 1973, 32(2): 421 - 425.
[6] Kattner K A, Stroink A R, Roth T C, *et al*. Rosai-Dorfman disease mimicking parasagittal meningioma: case presentation and review of literature[J]. Surg Neurol, 2000, 53(5): 452 - 457.
[7] Pulsoni A, Anghel G, Falcucci P, *et al*. Treatment of sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy (Rosai-Dorfman disease): report of a case and literature review[J]. Am J Hematol, 2002, 69(1): 67 - 71.
[8] Lohr H F, Godderz W, Wolfe T, *et al*. Long-term survival in a patient with Rosai-Dorfman disease treated with interferon-alpha[J]. Eur J Cancer, 1995, 31A(13/14): 2427 - 2428.

(**收稿**:2010-01-20;**修回**:2010-02-20)
(编辑 栾 嘉)