大鼠肾移植模型技术的改进

孙建军,陈国勇,曲青山,苗书斋,蔡文利,邢 利 (郑州人民医院器官移植科,河南 郑州 450003)

[摘 要] **目的** 对大鼠异体肾移植模型技术进行改进,为开展器官移植实验研究提供依据。**方法** 使用Wistar大鼠分别作为供者和受者,供者主动脉、下腔静脉分别与受者主动脉、下腔静脉进行端侧吻合,在受者膀胱上剪去一个与供者相同大小的圆瓣,然后进行一层膀胱吻合。**结果** 手术成功率为90%左右,动物死亡的原因主要为血管吻合口出血、麻醉过深、休克、血栓形成以及膀胱漏尿致弥漫性腹膜炎。**结论** 通过技术改进建立大鼠异体肾移植模型不需要特殊的器械或设备,可在常规条件的实验室开展。

[关键词] 肾移植;动物模型;大鼠

[中图分类号] R334.1;R617 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2010)01-0018-02

The improvement of rat model for kidney transplantation

SUN Jian-jun, CHEN Guo-yong, QU Qing-shan, MIAO Shu-zhai, CAI Wen-li, XING Li (Department of Organ Transplantation, People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou Henan 450003, China)

Abstract: Objective To improve the model for kidney transplantation, and provide basis for the study experiments of organ transplant. **Methods** Wistar rats were divided into donor and donee for kidney transplantation. The arteriae aorta and inferior caval vein of the donor's were anastomosed end-to-side respectively. A same cyclo-flap with the donor's was snip in the donee's bladder and then anastomosed them to each other. **Results** The achievement ratio of the operation was 90%. The main reasons of death were: the anastomotic stoma hemorrhage, excess anesthesia, circulatory collapse, thrombosis and diffuse peritonitis; general peritonitis resulting from cystorrhea. **Conclusion** The new method of establishing kidney transplantation model don't need experimental equipment, and is feasible for common laboratory.

Keywords: kidney transplantation; animal model; rat

在器官移植实验模型中,大鼠被认为是肾移植研究中一种较为优越的实验动物[1-2]。目前大鼠肾移植模型主要有:动脉常用端端或端侧吻合法;静脉可用缝合法、套扎法;输尿管输尿管端端吻合或套管,输尿管带瓣膀胱端侧吻合及输尿管皮肤造瘘术[3]。我们对上述的模型进行了一些改进,建立起一种简单易行的大鼠肾移植模型,为外科手术人员学习和掌握动物肾移植技术提供帮助。现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

选用健康成年雄性Wistar大鼠(郑州大学实验动物中心提供)为实验动物,体重为200~250 g,温暖通风条件下普通饲料喂养。器械:普通内瘘术手术器械,医用无损伤缝合线9/0、8/0,显微手术血管夹等。药品:戊巴比妥钠(上海试剂);0~4 ℃的HCA肾保液(上海长征医院);肝素钠(江苏万邦);头孢唑啉钠(珠海联邦)。供、受体均在术前禁食12 h,自由饮水,30 mg/kg体重戊巴比妥钠腹腔注射麻醉。

1.2 方法

1.2.1 供体手术 麻醉成功后备皮,2%碘伏常规消毒,行清洁手术。取腹部正中切口,由剑突至耻骨联合。以自制拉钩将腹壁拉开,将肠管推向右侧,并用盐水纱布覆盖减少体液丧失。先游离膀胱及输尿管,于左输尿管中段锐性剪开脂肪织,结扎并切断生殖静脉,分离左肾上腺静脉并结扎、切断,完全游离左肾,片状游离左输尿管至膀胱颈部,于膀胱颈部剪断膀胱。结扎并切断肠系膜上动、静脉,切除右肾,距右肾蒂上约1 cm分别游离腹主动脉及下腔静脉,距左侧肾蒂下约1 cm游离腹主动脉及下腔静脉,其后留置3/0丝线,结扎其分支和属支,右肾蒂上约1 cm游离腹主动脉及下腔静脉,分别以血管夹夹闭,迅速以头皮针穿刺腹主动脉留置线于远心端,并剪断毗邻下腔静脉,以HCA肾保液(0~4 ℃)匀速灌注至左肾变黄白色,静脉流出液变澄清后结扎留置线,远心端切断后取出置于冰盆中备用。然后从供体主动脉或门静脉采血约2~3 mL,留给受体输血用。

1.2.2 受体手术 受体鼠先切除左肾。游离左肾动脉以下的腹主动脉和下腔静脉,游离长度约2 cm,游离、结扎从二者发出的分支及属支。移植物略作修剪,将供肾放在腹部切口的右侧缘,供肾上下面覆盖一冷棉花薄片,并放冰屑至手术结束,以防止供肾温度升高。在受体腹主动脉、下腔静脉长约2 cm一段的上下端用无创性血管夹一并夹住,于下腔静脉管腔沿管腔长轴剪开一个椭圆形口,口径与供体下腔静脉端相符,以6/0锦纶线在供肾下腔静脉口和受体下腔静脉口两角各吊1针并打结,然后分别行连续缝合。于腹主动脉管腔沿管腔长轴剪开一椭圆形口,口径与供体腹主动

[作者简介] 孙建军(1972-),男,河南省郑州市人,主治医生,硕士,主要从事器官移植临床和实验方面的研究。电话:(0371)65281151,E-mail:andydapao@163.com

[收稿日期] 2009-10-23 [修回日期] 2009-11-19

脉端相符,间断缝合约12针,并以明胶海绵小条置于动静脉吻合口之间及周围。开放血流,移植肾颜色逐渐转为鲜红、均匀、明亮,肾动脉搏动明显,肾静脉充盈,吻合口饱满。如吻合口有渗血以棉花棒轻压几分钟即可止血。开放血流后30 min内便可见输尿管口有清亮尿液流出。

1.2.3 尿路重建 供体膀胱沿左输尿管口剪成一圆形瓣(直径约0.5 cm)并与受体膀胱顶部剪的瓣状洞做全层连续缝合,注意针距,一般缝合8~10针即可。吻合后放好输尿管的位置以防止扭曲。移植完毕后随即切除受体右肾。

1.2.4 术后处理 术毕腹腔注入头孢唑啉钠50 mg。依据术中体液丧失情况适当补液或输血。灯照保温1 h后,放置于笼内正常饲养,鼠笼底垫白纸垫,起保温和观察大鼠排尿情况。所有大鼠在成功移植死亡后均作移植肾病理切片观察。

2 结果

以受体存活时间超过3 d为成功。本组共进行大鼠肾脏移植100例,成功90例,成功率90%。动物死亡的原因主要为血管吻合口出血、麻醉过深、休克、血栓形成以及膀胱漏尿致弥漫性腹膜炎等,见表1。

表1 大鼠受体死亡原因

死亡原因	例数	发生率(%)
动脉吻合口出血	4	40
漏尿性腹膜炎	1	10
血栓形成	3	30
其他	2	20
合计	10	100

3 讨论

在目前大鼠肾移植中,应用最多的还是原位移植法。从20世纪70年代建立至今,得到了不断地发展和完善,各种外科操作方法均围绕着如何缩短移植时间、减少肾血管及输尿管的并发症以及提高移植物成活率而不断地改良。目前大鼠的肾移植模型有:①将移植肾置于受体颈部,输尿管皮肤造瘘;②采用大鼠原位肾移植术,供者肾动静脉分别与受者肾动静脉端端吻合,效果较好,但手术难度大,对术者和手术器械的要求条件都比较高;③在第二种方法的基础上,利用受体肾动静脉袖口式套叠方法吻合,此法套管制备困难;④Fisher等1965年提出的采用肾动静脉与受体腹主动脉及下腔静脉端侧吻合,此法需要使用显微器械并在显微镜下操作[3]。我们将Fisher的方法进行了改进,切取供肾前结扎切断腹主动脉及下腔静脉的分支及属支,尤其需结扎及切断肠系膜血管,于受体右肾蒂上方游离腹腔血管0.5~1 cm并分离腹主动脉及下腔静脉。因下腔静脉此处较厚,并带有致密的结缔组织,切断后管腔可自然张开,且管径较粗,利于吻合,受体的腹主动脉和下腔静脉的切口口径也容易对合[4-5]。

本组大鼠肾脏移植100例,成功90例,成功率90%。有10%的大鼠死亡,其原因主要为血管吻合口出血、麻醉过深、休克、血栓形成以及膀胱漏尿致弥漫性腹膜炎等。我们在经历多次实验摸索后,血管吻合成功率和供体摘取速度大大提高,受体吻合出血和血栓的发生率则降低。我们的体会是:①由于近心端血管较粗,动脉吻合时要注意针距,一般直径为2 mm的血管间断缝合12针即可;②静脉吻合为连续缝合,两端可事先留置牵引线,因静脉口自然张开,吻合较为容易;③膀胱瓣不宜过大,避免血运不佳,发生吻合口坏死。尽管本模型中移植大鼠的肾脏只应用左侧肾脏作为供肾,但与同时取双肾分别进行肾移植以及用肾动静脉做吻合的模型相比,还是有优点的,因为后者对实验条件要求高,手术难度大,成功率不高。同时本文认为一个完整的肾移植模型应该切除受体的自身的双肾,这样易于判定移植肾的功能[6-8]。

本模型可在肉眼下使用普通内瘘器械完成,不但让外科手术人员学习和掌握肾移植的技术和技巧,而且也能锻炼外科基本技能。本实验也发现大鼠间进行肾移植,受者接受供者特异性输血后,受者存活时间可以延长,推迟急性排斥反应的来临[9],这与应用骨髓干细胞输注诱导肾脏移植免疫耐受有相似之处,输血对肾移植后排斥的影响还有待于今后进一步研究。

[参考文献]

[1] Karatzas T, Santisgo S, Xanthos T, et al. An easy and safe model of kidney transplantation in rats[J]. Microsurgery, 2007, 27(8): 668.

[2] Silber SJ, Crudop J. Kidney transplantation in inbred ratsp[J]. Am J Surg, 1973, 125(5): 551-553.

[3] Fisher B, Lee S. Microvascular surgeral techniques in research, with special reference to renal transplantation in the rat[J]. Surgery, 1965, 5(8): 904.

[4] 李家兵,吴小候,何云锋,等. 一种大鼠异体肾移植模型的建立[J]. 重庆医科大学学报, 2009, 34(3): 310-312.

[5] 高 松,梁军丽,刘建华,等. 大鼠肾移植模型的建立方法及技巧[J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(1): 1217-1219.

[6] 毕旭东,赵 晶. 大鼠肾移植模型技术的改进[J]. 锦州医学院学报, 2002, 23(1): 13-15.

[7] 臧崇森,李 祎,傅耀文,等. 大鼠原位肾移植模型的建立[J]. 中国实验诊断学, 2009, 13(1): 40-42.

[8] 潘 浩,温端改,欧阳骏,等. 同种异体大鼠肾移植实验动物模型的建立[J]. 苏州大学学报(医学版), 2007, 27(3): 354-355.

[9] 项 平,诸禹平,陈 昊,等. 大鼠同种异体原位肾移植动物模型的建立[J]. 安徽医科大学学报, 2008, 43(5): 523-526.

(编辑:郭光金)