维普资讯 http://www.cqvip.com

山羊颈部肾移植模型的建立

姜 庆[1],吴 军[2],方玉华[1],黄赤兵[3],陈希炜[2],张 宁[2]
(第三军医大学:1.附属大坪医院野战外科研究所泌尿外科,重庆 400042;2.西南医院烧伤研究所,重庆市器官移植基础研究所,重庆 400038;3.新桥医院泌尿外科,重庆 4000037)

[摘 要] **目的** 建立一种简便可靠的大动物肾移植模型。**方法** 建立山羊自体和异体颈部肾移植模型,观察肾移植术后血肌酐、移植肾血流和病理变化。**结果** 山羊颈部肾移植模型稳定;异体山羊颈部肾移植术后血肌酐、移植肾血流和病理检查出现典型的急性排斥反应表现。**结论** 山羊颈部肾移植模型制作简便、可靠,可用于移植免疫学研究。

[关键词] 肾移植;山羊
[中图分类号] R699.2 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2003)05-0329-02

The establishment of renal transplantation model in caprine neck

JIANG Qing, WU Jun, FANG Yu-hua, HUANG Chi-bing, CHENG Xi-wei, ZHANG Ning
(Department of Urology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To establish a simple and reliable renal transplantation model. **Methods** Goat renal transplantation model was performed in neck with autograft and allograft. Postoperative serum creatinine, blood stream and pathological examination of transplanted kidney were observed. **Results** Classical changes of acute renal rejection in goat renal transplantation could be observed in allograft by serum creatinine, blood stream and pathological examination of transplanted kidney. It showed that goat kidney transplantated in the neck was reliable. **Conclusion** Goat renal transplantation in neck is simple and stable, it can be used as a model to study transplantation immunity.

Keywords: renal transplantation; goat

鼠等小动物肾移植是目前研究移植免疫排斥反应及其治疗手段的最常用模型之一,但是此类肾移植模型建立较困难,而大动物肾移植模型建立,相对简便,稳定性好,便于多次取材。本研究成功地建立了山羊颈部肾移植模型,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

本地杂种山羊16只,体重15~17 kg,随机分为自体移植和异体移植组。所有动物于相同条件下饲养,室内通风良好,室温15~28 ℃新鲜饲料配合精饲料饲养,每日清洁并消毒房间,避免外来生物性和化学污染,预防群体传染病流行。

1.2 动物模型的制作

1.2.1 取肾 采用3%戊巴比妥钠1 ml/kg静脉麻醉,常规消毒铺巾,先左侧卧位切取右肾,同法切取左肾。取肋缘下斜切口,长10 cm,依次切开腹壁各层,结扎止血,于腹膜外间隙游离肾脏,充分保证输尿管血供,于距离肾门6~7 cm处切断输尿管,结扎输尿管残端;于近腹主动脉处切断肾动、静脉,残端予以结扎,肾脏迅速置入4 ℃ HCA灌注液中。取肾过程中,供体山羊静脉滴注肝素3 000~4 000 U,在分离解剖肾门血管时尽可能避免牵拉肾动脉。

1.2.2 肾脏灌注保存 将取下的肾脏,仔细修整肾动、静脉血管,以4 ℃ HCA灌注液100 ml灌注肾动脉至肾脏苍白,肾静脉流出液清亮时停止灌注,同时予以1%普鲁卡因封闭肾动脉及其分支,肾脏保存于4 ℃ HCA灌注液。

1.2.3 肾脏移植 同法麻醉受体山羊,建立静脉通道。仰卧位,颈部备皮,常规消毒铺巾,取气管旁纵行切口,长8 cm,分别游离颈动、静脉血管,以两无损伤血管钳分别钳夹颈动、静脉近心端,远心端予以结扎,在血管钳与结扎处间切断颈动、静脉,近心端血管用肝素盐水冲洗干净后,用6/0无损伤缝合线分别行肾脏动脉与颈部动脉间断缝合,肾脏静脉与颈部静脉连续缝合,之后肾动、静脉血流同时开放,移植肾脏迅速充血红润。开放血流后,迅速静脉推注速尿60 mg,地塞米松10 mg,1~2 min后输尿管开始蠕动排尿,皮下游离肾窝,彻底止血后将肾脏植入,周围腔隙缝合固定肾脏。输尿管内置直径2 mm硅胶管并丝线缝合固定,另行切口引出并固定于皮肤,皮下置橡皮引流条,依次缝合各层,敷料包裹伤口,术后第1天拔出橡皮引流条。术中一次性静脉滴注氨苄青霉素2 g预防感染。同法进行自体肾移植。

1.3 彩色多普勒检查

采用日产ALT Ultramark 9 HDI型彩色多普勒检查移植肾的

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(39993430-2);国家自然科学基金面上项目(39970756);国家科技部重点项目(96-920-20-10);全军医药重点项目(98Z081)
[收稿日期] 2003-10-08 [修回日期] 2003-11-25

维普资讯 http://www.cqvip.com

大体形态和血流学改变。

1.4 病理学检查

定期在彩色多普勒监视下行移植肾穿刺活检或切取移植肾，将组织标本用10%福尔马林固定后行组织脱水，石蜡包埋，切片，HE染色，在Olympus光学显微镜下观察。

2 结果

本实验肾脏移植时间40～60 min，其中5例(异体移植组3例)开放血流后出现肾动脉及其分支广泛痉挛，肾门血管搏动微弱，肾脏张力很低，肾脏多处呈暗红或暗紫色缺血并迅速蔓延及全肾。迅速用5号针头向肾动脉腔内注射654-2约2～5 mg，肾门予以1%普鲁卡因封闭肾动脉及其分支，同时不断予以45 ℃热盐水纱布热敷肾脏，4例血供恢复正常，1例未恢复，行移植肾脏切除，病理报告示超急性排斥反应。两组其余山羊术后均显示活泼，食欲好，移植肾大小及尿量正常，异体移植组术后第11天时，移植肾增大，尿量减少，血肌酐迅速升高。彩色多普勒检查自体移植组术后第3、7、11、14天移植肾形态和血流正常；异体移植组术后第3、7天移植肾形态和血流正常，术后第11、14天移植肾增大，断面圆钝，回声减低，肾皮质厚径增大，锥体普遍增大呈无回声区，多普勒血流检测，从肾动脉至叶间动脉均可见血管阻力增大，甚至出现舒张期血流频谱反转。病理检查见自体移植组术后第7和第11天移植肾结构基本正常，间质无水肿及淋巴细胞浸润；异体移植组术后第7天移植肾小球、肾小管结构基本正常，术后第11天移植肾间质水肿，有散在淋巴细胞浸润，部分肾小管上皮细胞变性，肾小管腔内少量淋巴细胞，术后第14天移植肾明显增大、肾间质水肿加重及大量淋巴细胞浸润，较多肾小管上皮细胞充血，水肿变性。

3 讨论

1964年Pierce等[1]首次在狗颈部成功地进行了肾移植，发现此术式对受者生理干扰小，可利用的血管长度充足，操作方便，而且移植肾部位表浅，便于术后观察，必要时可进行探查或活检。从此颈部肾移植成为最常用的术式之一[2-3]。但以狗为研究对象，术后管理和观察困难。小鼠、大鼠肾移植，对手术者的技术要求较高，血管吻合困难，吻合口狭窄及血栓发生率较高，并发症较多，手术稳定性不高[4]。用狒狒进行肾移植研究较好，但是其价格昂贵，不便于广泛开展。1969年Pedersen等[5]又成功地对绵羊进行了颈部肾移植，并广泛应用于移植免疫学研究。能否用山羊进行研究未见报道。本实验用山羊为研究对象，进行自体和异体颈部肾移植，发现山羊手术耐受性强，成功率高，操作方便，通过改进输尿管皮肤造口，外支架硅胶管接尿袋便于观察记录尿量；山羊较温顺，便于术后管理和观察。自体肾移植术后肾功能正常，彩色多普勒检查和病理检查未见异常。异体肾移植术后第11天肾功能、彩色多普勒和病理检查出现典型的急性排斥反应表现。

有资料表明，神经、体液因素以及牵拉、寒冷等刺激均可引起动脉痉挛[6-7]。在本实验中发现，山羊比较容易发生移植肾动脉痉挛。由于本实验为离体肾，肾动脉痉挛与神经反射无关，推测可能由于手术操作中肾动脉受到牵拉，亦可能由于肾脏移植中采用冰屑降温，移植肾开放血流后肾内血流温差太大，导致肾动脉受刺激产生痉挛。因此我们通过改进实验，在吻合血管过程中，动作尽可能轻柔，尽可能避免牵拉肾脏动脉血管；同时在吻合完肾静脉后，去掉冰屑，让肾脏逐步复温，使开放肾脏血流后温差减小，减少温差对肾动脉的刺激，从而使肾动脉痉挛的发生率明显减少，使山羊肾移植模型更为稳定。总之，本研究提示山羊颈部肾移植模型制作简便、稳定，并发症少，便于术后管理和观察，并出现典型的肾移植排斥反应，可以作为肾移植免疫学研究的动物模型。

[参考文献]

[1] Pierce JG, Varco RL. Technical considerations in the transplantation of the kidney to the dog's neck[J]. J Surg Res, 1964, 4(5): 275-279.

[2] Wilson RE, Rippin A, Dagher RK, et al. Prolonged canine renal allograft survival after pretreatment with solubilized antigen[J]. Transplantation, 1969, 7(5): 360-371.

[3] Wilson RE, Maggs PR, Vanwijck R, et al. Active enhancement of renal allografts in dog and rat by subcellular antigen[J]. Transplant Proc, 1971, 3(1): 705-707.

[4] 朱晓明. 大鼠异体肾移植操作体会[J]. 上海实验动物科学, 1996, 16(2): 90-91.

[5] Pedersen NC, Morris B. The role of the lymphatic system in the rejection of homografts: a study of lymph from renal transplants [J]. J Exp Med, 1970, 131(5): 936-969.

[6] 冯友贤. 血管外科学[M]. 第2版. 上海: 上海科学技术出版社, 1992. 18.

[7] 王桂生. 骨科手术学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1985. 567-585.

(编辑：余汇洋)