技术方法 文章编号:0253-3626(2009)01-0310-03

一种大鼠异体肾移植模型的建立

李家兵,吴小候,何云锋,夏 康,唐亚雄,吴建伟
(重庆医科大学附属第一医院泌尿外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:建立一种稳定,操作简便的肾移植模型。方法:以 SD 大鼠和 Wistar 大鼠分别作为供、受体。静脉用临时支架管,将供肾的下腔静脉与受体左肾静脉作端端吻合,供肾腹主动脉与受体腹主动脉端侧吻合,以及输尿管带膀胱瓣与膀胱吻合。结果:建立并改进了大鼠肾移植模型,手术总时间(130 ± 16) min,热缺血时间小于 20 s,冷缺血时间小于 50 min,手术成功率 90.77%。结论:此模型稳定、可靠,易于掌握。

【关键词】肾移植;大鼠;模型
【中国图书分类法分类号】R699.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-06-17

Establishment of a rat model for orthotopic allograft kidney transplantation

LI Jia-bing, et al
(*Department of Urology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To establish a feasible and stable rat model of kidney transplantation. *Methods*: SD and Wistar rats were used as the donors and the recipients. with the hellp of extradural catheter, the donor inferior vena was anastomosed end-to-end with the recipient left renal vein. An end-to-side anastomosis of abdominal aorta was operated. The donor ureter with ureterocystic flap was conducted to the recipient's bladder. *Results*: A modified rat model of kidney transplantation was successfully established. The average total operation time was(130 ± 20) min. The average time of warm ischemia and cold ischemia was less than 20 s and 50 min respectively. The success rate of operation reached about 90.77%. *Conclusion*: This feasible model of kidney transplantation is feasible and stable.

【Key words】Kidney transplantion; Rats; Model

大鼠肾移植模型早在 20 世纪 60 年代在国外就有成功报道。大鼠被认为是肾移植研究中一种较为优良的实验动物[1]。目前国内外学者大多数以大鼠肾移植模型作为研究器官排斥反应的重要实验手段之一。我们对原模型的方法进行了改进,在不借助外科显微镜下,建立了一种稳定可靠的大鼠肾移植模型。现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康雌性 SD 大鼠（供体）和 Wistar 大鼠（受体),体重 180~250 g,由重庆医科大学实验动物中心提供,温暖通风条件下普通饲料喂养。

1.1.2 手术器材 显微外科手术器械（上海医疗器械厂),医用无损伤缝合线 9-0、8-0(上海浦东金环医疗用品有限公司),显微手术血管夹等。

1.1.3 药品 水合氯醛,肝素钠,乳酸林格氏液,生理盐水,抗生素(青霉素)以及碘伏消毒液等其他耗材。

1.2 方法

供、受体均在术前禁食 24 h,不禁水,用 50 g/L 水合氯醛(6 ml/kg)腹腔内注射麻醉。

1.2.1 供体手术 取腹部中正大"+"字切口,入腹后,将胃肠道、脾脏推向右侧,充分暴露左肾及左肾动静脉、输尿管及腹主动脉、腔静脉。于左输尿管中段打开后腹膜,锐性游离输尿管,尽量多附带周围组织,分离输尿管至膀胱入口处,,打开膀胱,以输尿管入口为中心剪一直径约 0.4 cm 的圆形膀胱瓣。游离左肾,用显微剪锐性分离肾周脂肪囊,肾外缘残余一定的脂肪组织,电凝左肾上腺动静脉和左卵巢静脉,电凝腔静脉和腹主动脉的分支,用眼科镊钝性分离腔静脉和腹主动

作者介绍:李家兵(1973-),男,主治医师,博士,
研究方向:肾移植及泌尿系肿瘤。
通讯作者:吴小候,男,教授,E-mail:wuxiaohou86@hotmail.com。
基金项目:重庆市卫生局课题(No.08-2-83)。

脉，因静脉壁菲薄，分离时尽量靠近腹主动脉。以左肾血管水平面为中心向上游离 3 mm，向下游离 10 mm，并在游离的下腔静脉和腹主动脉的两端（上下端）分别放置 4-0 丝线备用。下腔静脉下端 9-0 无损伤血管线缝 3 针作牵引，腹主动脉下端缝 1 针作牵引。从尾静脉给予肝素 25 U/ml 的生理盐水约 2 ml。结扎备用线，立即在下腔静脉牵引线之间剪一小口作为灌注液的流出道，同时在腹主动脉牵引线处于前壁剪一孔，插入一直径 1.5 mm 的硬膜外麻醉导管，灌注 4℃有肝素林格氏液（25 U/ml）进行原位，缓慢均速灌注，直至肾脏颜色变苍白，下腔静脉流出液转清为止，灌注量 5~10 ml。从下腔静脉流出道插入硬膜外麻醉导管 5 mm，支撑腔静脉作用。左肾血管水平面上端 4-0 丝线结扎远侧离断血管等。切取了完整的左侧肾、输尿管及膀胱。整块放入盛有 0℃~4℃乳酸林格氏液的小盘里。

1.2.2 修整供肾 组织块置于 0℃~4℃乳酸林格氏液中修整。修剪多余的腹主动脉，保留肾动脉开口附近的腹主动脉约 4 mm；修剪靠近肾静脉开口的近心端多余的下腔静脉，在下腔静脉断端，9-0 无损伤血管线缝 3 针牵引线，防止支撑管滑脱后，寻找下腔静脉开口困难。

1.2.3 受体手术 麻醉成功后，常规消毒，铺巾，取上腹部左正中旁切口，长约 3 cm，温湿盐水纱布将肠管推向右侧，充分显露左肾和所属血管以及下腔静脉和腹主动脉。近肾门处结扎左肾动静脉及输尿管并切除，切除受体左肾。用眼科镊钝性分离左肾动脉和静脉之间的粘连，于肾门端 1/3 处结扎肾动脉，并远侧离断。小心仔细剔除多余的脂肪组织，以便血管吻合。在裸眼直视下进行血管吻合。移植术期间供肾置于湿棉纱上，上面再覆盖一冷棉纱，在其上面放置冰屑。术中需补充冰屑以保持供肾低温。静脉吻合：采用端端吻合，在受体左肾静脉起始部上一显微手术血管夹，于结扎线稍下方剪去肾静脉残端。肝素生理盐水冲洗受体左肾静脉腔。将供体下腔静脉内的支架管插入受体左肾静脉内，先用 9-0 无损伤血管线缝合四角，相邻两针之间分别间断缝合两针，最后相邻四针缝合线不打结，放松缝合线，抽去支架管，再分别将吻合线打结。动脉吻合：采用端侧吻合，用 9-0 无损伤血管线先缝合上下角，均打结，再缝合吻合口左右侧壁中点，予不打结，相邻两针之间再缝合一针，最后分别予打结。动静脉吻合在收紧最后一针打结前，均要在血管内注入肝素生理盐水排出空气，防治空气栓塞，检查吻合口是否漏水，同时避免开放前血管内血栓形成。依次开放肾静脉及腹主动脉（先开放腹主动脉下端的动脉夹）血流。检查吻合口有无漏血，如有渗血，可以用棉签在吻合口处轻压 1 min，如为活动性出血应追补吻合 1 针。当血流恢复后，移植肾颜色逐渐转为红润、明亮、均匀，肾静脉充盈，肾动脉搏动明显，5~10 min 左右可见输尿管规则蠕动，并有清亮尿液流出。将供肾外缘残余的脂肪组织与受体腰部肌肉缝合两针固定供肾。

尿路重建：耻骨上纵行切一 1 cm 手术切口，显露膀胱，用眼科镊将输尿管瓣从上腹部左正中旁切口经过腹腔至耻骨上切口，注意输尿管不要扭曲，于受体膀胱顶部剪除一与供体输尿管膀胱瓣大小一致的膀胱壁，用 8-0 无损伤线两定点连续缝合行受、供体膀胱吻合[2]。

1.2.4 术毕肌肉注射青霉素 10 万单位 根据术中失血情况通过尾静脉注射生理盐水。用 4-0 丝线分两层间断关腹。术后用 100 W 灯保温至大鼠清醒，将其放于单独鼠笼，可予自由饮食。

2 结 果

前期经过 2 个多月 40 多次训练，我们熟练地掌握了不借助外科显微镜大鼠肾移植外科技术。后期共施行大鼠肾移植 65 台手术，存活 59 只（存活超过 3 d），手术成功率 90.77%。取肾时间 30 min，植肾时间 50min，热缺血时间小于 20 s，冷缺血时间小于 50 min，总手术时间（130±16）min，死亡原因有术中出血，血栓形成，麻醉过量，空气栓塞等。

3 讨 论

大鼠肾移植模型是研究人体肾移植后急性和慢性排斥反应的重要手段[3]。1965 年 Fisher B 和 Lee S [4]首次报道采用肾动脉、静脉分别与受体腹主动脉、腔静脉端侧吻合。吻合血管的大鼠肾移植模型以来，大鼠肾移植作为移植免疫的研究模型得到广泛应用。目前多数学者采用在借助外科显微镜下建立肾移植模型，而显微外科技术条件要求高，操作复杂，手术难度大等。我们在不借助外科显微镜，在裸眼下进行了肾移植手术，简化了肾移植模型手术操作，模型稳定性较高。

3.1 术前准备

术前 24 h 供受体禁食，自由饮水，可避免大鼠过多进食而出现胃内容物增加而至胃扩张，遮住左肾从而缩小了手术视野，妨碍手术操作，增加了手术难度，同时也有利于大鼠术后的肠道功能的恢复。

大鼠体重严格控制在 180~250 g 之间，体重太小则会增加手术难度，尤其是在吻合血管的时候，并且大鼠在术后抵抗力差，增加死亡率；如果大鼠体重过大，将会因其腹腔中脂肪过多而延长手术解

剖剖时间,导致术后恢复延迟及增加低体温危险性[5]。

3.2 术中操作

本模型采用国内外常规的切取左肾且供肾放于左侧的方法,其原因在于左肾解剖变异少,且左肾静脉长,操作比较方便、简单[6]。

受体手术切口的选择:取上腹部左正中旁切口,长约 3 cm,温湿盐水纱布将肠管推向右侧,能充分显露左肾和所属血管以及下腔静脉和腹主动脉。此切口较大多数学者采用的腹部正中切口(上至剑突,下至耻骨)明显小,且能充分显露手术视野,避免了大切口对受体的创伤以及易引起体液丢失对受体生理的影响。

血管吻合:肾静脉吻合我们采用供体下腔静脉与受体肾静脉端端吻合,并不阻断腔静脉的血流,因此下肢不会发生回流受阻的现象,有利大鼠的恢复,且不会引起血栓。与传统相比,极大的降低了手术风险。cuff 套管简单,但静脉容易扭曲不通,会造成血流的改变,容易形成血栓[7],且套管要求高,不易寻找到合适的套管。我们通过实践发现连续缝合虽然操作速度快,术后极少发生渗漏,但因缝线被抽紧而容易导致吻合口狭窄。故我们采用间断缝合法。我们在黄赤兵等[8]的一种改良的静脉吻合技术上稍加改进,将供体下腔静脉内的支架管插入左肾静脉内,先用 9-0 无损伤血管线缝合四角,相邻两针之间分别间断缝合两针,最后相邻四针缝合线不打结,放松缝合线,抽去支架管,再分别将吻合线打结。置入支架管后,菲薄静脉壁被完全撑起,没有缝合到对侧静脉壁的顾虑。且取出支架管更简单、容易。动脉吻合:动脉缝合后血管张力应适当,张力过大,容易引起吻合口漏血,张力过小又会影响血流。故在缝合前应将两吻合端试拉在一起,看吻合后血管张力是否合适。我们采用供受体腹主动脉端侧吻合,用 9-0 无损伤血管线先缝合上下角,均打结,再缝合吻合口左右侧壁中点,予不打结,相邻两针之间再缝合一针,最后分别予打结,这样便予缝合操作,操作简单化,吻合口对合准确,术后通畅率高。关于尿路重建,采用 8-0 无损伤线两定点连续缝合,吻合术后无输尿管狭窄、尿漏等并发症,但瓣不宜过大,一般直径 2~3 mm 左右,以免血运不佳,发生吻合口坏死。

3.3 术后处理

术后补液及保暖是降低受体鼠围手术期死亡率的重要措施;单次青霉素肌肉注射,预防腹腔和伤口感染,均提高了手术成功率。

参 考 文 献

[1] Yin JL, Pilmore HL, Yan YQ, et al. Expression of growth arrest-specific gene 6 and its receptors in a rat model of chronic renal transplant rejection[J]. Transplantation, 2002, 73(4): 657-660.

[2] 刘忠国,温端改,潘 浩,等. 改良性大鼠同种异体肾移植模型的建立[J]. 中华实验外科杂志, 2007, 24(6): 756.

[3] Pilmore HL, Yan Y, Eris JM, et al. Time course of upregulation of fibrogenic growth factors and cellular infiltration in a rodent model of chronic renal allograft rejection[J]. Transpl Immunol, 2002, 10(4): 245-254.

[4] Fisher B, Lee S. Microvascular surgeral techniques in research, with special reference to renal transplantation in the rat[J]. Surgery, 1965, 58: 904-905.

[5] 朱佳庚,张 炜,钱立新,等. 一种大鼠肾移植模型的建立[J]. 中华实验外科杂志, 2004, 21(1): 103-104.

[6] Schumacher M, Van Vliet BN, et al. Ferrari P. Kidney transplantation in rats: an appraisal of surgical techniques and outcome[J]. Microsurgery, 2003, 23(4): 387-394.

[7] Chin J, Zhong R, Duff J. Microsurgical renal transplant models in rats: a comparison of four anastomotic techniques[J]. Transplant Proc, 1989, 21(2): 3351-3352.

[8] 黄赤兵,吴 军,罗高兴,等. 一种改良的静脉吻合技术用于大鼠肾移植模型的建立[J]. 重庆医学, 2002, 31(8): 666-667.

(责任编辑:关蕴良)