

黄海燕,李福记,林鹏,等. 3M 组织胶和电凝止血在尿毒症大鼠肾切除的应用[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(4): 41 - 45.
Huang HY,Li FJ,Lin P, et al. Application of 3M vetbond tissue adhesive and electrocoagulation in nephrectomy in a rat model of uremia [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(4): 41 - 45.
doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2019. 04. 007

3M 组织胶和电凝止血在尿毒症大鼠肾切除的应用

黄海燕,李福记,林 鹏,廖蕴华*

(广西医科大学第一附属医院,南宁 530021)

【摘要】 目的 对比两种止血方法在大鼠尿毒症模型的应用。方法 雄性 SD 大鼠分为 A、B 两组,均采用左肾 2/3 切除加右肾切除制作尿毒症模型。A 组左肾 2/3 切除时采用 3M 组织胶止血,B 组采用电凝止血,术中比较出血量、左肾血流阻断时间,术后对比大鼠的存活率,测肌酐值,以达到正常血肌酐值 2 ~3 倍者为尿毒症大鼠模型。肾脏组织行病理检查。结果 两种止血方法的血肌酐均升高达尿毒症模型要求;A 组左肾血流阻断时间为 (59. 97±7. 56)s,B 组为 (174. 1±15. 28)s ($P<0. 05$);A 组左肾切除的出血量为 (0. 11±0. 037) mL,B 组为 (0. 24±0. 056) mL ($P<0. 05$);两组肾组织病理学均提示肾小球缺血皱缩、小管间质纤维化;A 组的术后存活率明显高于 B 组 ($P<0. 05$)。结论 3M 组织胶无论是出血时间、出血量,还是术后存活率均优于电凝止血。

【关键词】 止血;组织胶;电凝;动物模型;氰基丙烯酸正丁酯;肾切除

【中图分类号】 R-33 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-7856 (2019) 04-0041-05

Application of 3M vetbond tissue adhesive and electrocoagulation
in nephrectomy in a rat model of uremia

HUANG Haiyan, LI Fuji, LIN Peng, LIAO Yunhua*

(The first affiliated hospital of guangxi medical university, Nanning 530021, China)

【Abstract】 **Objective** To compare the effects of two hemostatic methods including 3M vetbond tissue adhesive and electrocoagulation in a rat model of uremia. **Methods** Male SD rats were divided into groups A and B. To induce the uremia model, all rats underwent right and 2/3 left kidney resection. 3M vetbond tissue adhesive was used in the group A for hemostasis, while electric coagulation was used in group B. The amount of bleeding and the duration of left renal blood flow blockage during operation were assessed. The postoperative survival rates of the two groups were compared. The creatinine values of all rats after operation were measured, and rats for which the creatinine value was two to three times higher than normal were further regarded as a uremic model. Kidney tissues were examined by pathology. **Results** The serum creatinine after the application of both hemostatic method after 5/6 renal resection was 2-3 times higher than the normal level. Left renal blood flow blockage of group A was (59. 97 ±7. 56) s and that of group B was (174. 1±15. 28) s ($P<0. 05$). The blood loss of the group A during left renal resection was (0. 11±0. 037) mL, and that of group B was (0. 24 ±0. 056) mL ($P<0. 05$). Pathology of renal tissues in both groups indicated glomerular ischemic shrinkage and tubular interstitial fibrosis. The postoperative survival rate of group A was significantly higher than that of the group B ($P<0. 05$). **Conclusions** 3M vetbond tissue adhesive is more effective than electrocoagulation to shorten the bleeding time, decrease the bleeding amount, or increase the postoperative survival rate.

【Keywords】 hemostatic; vetbond tissue adhesive; electrocoagulation; animal model; N-butyl cyanoacrylate; nephrectomy

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (81360111);国家自然科学基金项目 (81660133);广西科技厅攻关项目 (1598011-6)。
[作者简介] 黄海燕 (1985—) 女,硕士研究生,研究方向:慢性肾脏病的诊治。E-mail: huanghaiyan005@ 163.com
[通信作者] 廖蕴华 (1962—) 女,教授,硕士生导师。E-mail: yunhualiao1989@ sina.com

慢性肾病(chronic kidney disease, CKD)是一个全球性的公共卫生问题,随着人口老龄化以及社会经济的发展,慢性肾病发病率逐年上升。据调查,我国 18 岁以上成年人群中的 CKD 的患病率为 10.8%^[1]。终末期肾病(end stage renal disease, ESRD)是各种肾疾病的最终发展趋势。而死于慢性肾病及其并发症的病例越来越多。流行病学报道,至 2016 年,全球每年有超过 2100 万起 CKD 事件,2.76 亿起流行病例,近 120 万起病例死于 CKD,3500 万起因 CKD 丧失健康生活^[2]。目前慢性肾病的发病机制仍不明确,发病后对机体的影响研究仍需要不断的进行。人体的研究常受到诸多不可控因素的影响。所以,慢性肾功能衰竭的动物模型成为研究慢性肾病的重要补充。目前制作慢性肾衰竭的方法有物理方法和化学方法。其中物理方法中肾大部分切除由于更接近临床实际、简便易行、稳定性重复性好等优点被人们广泛应用^[3]。在肾大部分切除模型中,迅速而有效的止血又是模型成功的关键。目前的止血方法有缝合止血法、电凝止血法、生物胶止血法、止血药物止血、压迫止血。肾属于深部器官,压迫止血难以达到效果。同时它是血运丰富、脆性大的实质性器官,缝合止血极易产生针眼、组织切割破损,造成针眼出血或裂口出血等不良反应,对于动物模型肾止血困难、术后并发症多,所以缝合止血成功率低^[4-5]。生物胶和电凝止血法相对于其他止血方法,手术成功率高,止血效果确切。本研究旨在比较 3M 组织胶止血和电凝止血在建立慢性肾疾病中的应用。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 SD 雄性大鼠 80 只,体重(200±20)g,购于广西医科大学广西实验动物中心[SCXK(桂)2014-0002][SYXK(桂)2014-0003]。饲养条件:温度 25℃,湿度 40%~60%,昼夜循环各 12 h,标准高压消毒饲料,不限制进食和饮水。本实验操作符合实验动物福利与伦理委员会相关要求(福利伦理审查号 201702002)。

1.2 实验材料

3M 组织胶购买于 Minnesota Mining and Manufacturing(USA),型号 1469SB,规格 3 mL 液体。异氟烷购于深圳市瑞沃德生命科技有限公司。气体麻醉机由广西医科大学实验动物中心提供(深圳

市瑞沃德生命科技有限公司生产)。

1.3 实验方法

1.3.1 尿毒症模型的建立

动物随按随机数字表法分为两组,A 组:3M 组织胶止血($n=40$),B 组:电凝止血($n=40$)。适应性喂养一周后开始试验。采用 5/6 肾切除制作尿毒症大鼠模型。A 组:异氟烷气体麻醉成功后,右侧卧位,常规备皮,消毒、铺巾。在左侧肋下 1 cm、脊柱肌肉往腹部方向旁开 0.5 cm 行约 1 cm 的纵行切口,依次打开皮下组织、肌肉层,暴露左侧肾,分离肾组织,剥离肾包膜,止血夹夹住肾蒂阻断血流,按双肾体重占大鼠体重的 0.74%,切除肾上下极各 1/3 并称重,用 3M 组织胶水 2~3 滴(约 0.1~0.15 mL)滴于切口,数秒后胶水自然风干,观察上下两极切口均无出血后逐层缝合伤口,术后肌肉注射青霉素钠 40 万单位。B 组:按上述同样的方法暴露左肾并切除左肾上下极各 1/3 并称重,切面使用电凝彻底止血,观察无出血后逐层缝合伤口。所有大鼠左肾 2/3 切除后一周,同样的方法切除右肾,术后肌肉注射青霉素钠 40 万单位。

1.3.2 实验观察指标

分别记录两组实验过程中实际左肾切除的出血量、左肾蒂阻断血流的时间。同时记录 1 周、2 周、3 周、4 周的死亡数。观察各鼠手术后精神状态、食量、毛色等一般情况。分别采用内眦采血法采取各大鼠术前、术后 1 月的血检测血尿素氮、肌酐。收取大鼠 24 h 尿并检测 24 h 尿蛋白定量。

1.3.3 标本采集及处理

采血后以 3000 r/min 离心分离血清。送本院检验科检测血清肌酐、尿素氮。同时测定 24 h 尿蛋白定量。在二次手术后 6 月两组大鼠各取 5 只处死,左侧残肾用 4% 中性甲醛缓冲液浸泡后,石蜡包埋切片,行 HE 染色。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 24.0 软件统计,计量资料以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间两两比较采用配对 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物模型的构建情况

两组大鼠手术前内眦静脉血测肌酐及尿素氮,作为正常值。在二次肾切除术后 1 月和 8 月再次内

眈采血测血肌酐及尿素氮,二者达到术前 2~3 倍为造模成功^[6-7]。术后各存活鼠逐渐出现精神萎靡,食量下降,弓背蜷缩,活动量下降,毛色干枯、疏松不齐、无光泽。

2.2 两组大鼠术后存活率

A 组和 B 组术后 1 周内大鼠存活数量分别是 38 只和 32 只,存活率分别为 95% (38/40) 和 80% (32/40),差异有统计学意义($P<0.05$)。术后 2 周内存活数量分别是 38 只和 30 只,存活率分别是 95% (38/40) 和 75% (30/40),差异有统计学意义($P<0.05$)。3 周内存活数量分别是 38 只和 27 只,存活率分别是 95% (38/40) 和 67.5% (27/40),差异有统计学意义($P<0.05$)。四周内存活数量分别是 38 只和 27 只,存活率分别是 95% (38/40) 和 67.5% (27/40),差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 左肾阻断血流时间以及出血量的评估

左肾阻断血流时间以及出血量的评估见表 1,两组差异有统计学意义。

2.4 肾功能检测指标

两种手术止血方法术后血清尿毒氮及肌酐水平。见表 2,根据 Zareie 等^[7] 报告结果为正常大鼠的 2~3 倍为造模成功,本研究两种止血方法的大鼠尿毒症模型制作均成功。

2.5 肾组织病理学改变

两种手术止血方法大鼠残余肾肾小球缺血皱缩,球囊粘连,部分肾小球代偿性增加,结构紊乱,肾小管内可见蛋白管型,小管间质纤维化,肾间质可见大量炎症细胞浸润。见图 1。

2.6 尿蛋白定量

术前 24 h 尿蛋白定量 (10.66±4.26) mg/24 h,术后测 24 h 尿蛋白定量 (83.90±109.78) mg/24 h。

3 讨论

本研究表明,两种止血方法均成功制作慢性肾衰竭大鼠尿毒症模型。3M 组织胶在制造慢性肾衰竭动物模型肾切除术中,术后存活率高于电凝止血。肾蒂血流阻断时间、手术时间、术中出血量均低于电凝止血。

3M 组织胶水是一种氰基丙烯酸正丁酯粘合剂,具有聚合热低、粘接强度高、生物组织相容性和扩散性能好,在水或血液中的阴离子作用下迅速固化成和人体组织韧性相近的生物薄膜等优良特点^[8-9],具备在聚合过程中抑制细胞生长、低炎症反应、可以降解的特性^[10-11]。该类型粘合剂在人体中有报道研究主要应用在皮肤等表浅部位的粘合,也有用于头颈部手术的粘合。其在皮肤缝合中的效

表 1 左肾血流阻断时间和出血量 ($\bar{x}\pm s$)
Table 1 Bloodstream occlusion time and blood loss of left kidney

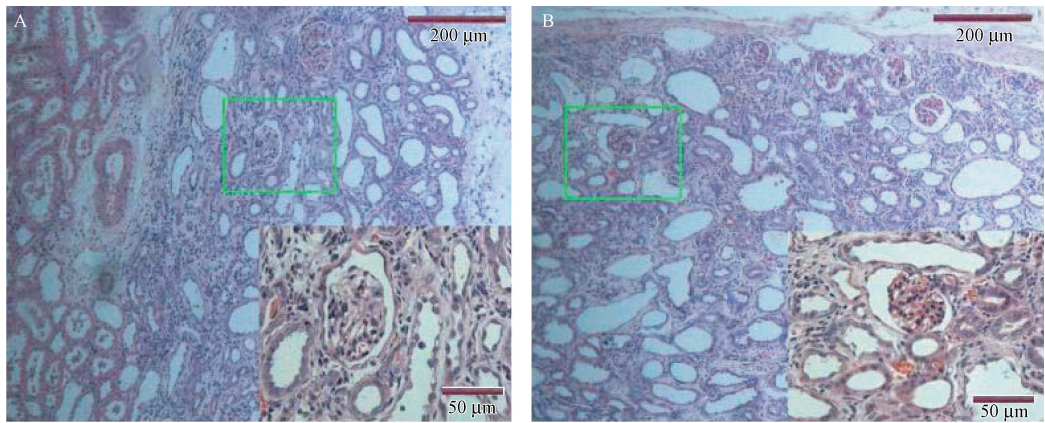
分组 Groups	左肾血流阻断时间(s) Occlusion time of the left renal bloodstream	左肾出血量(mL) Left renal hemorrhage
3M 组织胶组 3M vetbond tissue adhesive group	59.97±7.56	0.11±0.037
电凝组 Electrocoagulation group	174.1±15.28 *	0.24±0.056 *

注:与 3M 组织胶组相比, * $P<0.05$ 。
Note. Compared with the 3M vetbond tissue adhesive group, * $P<0.05$.

表 2 两组血肌酐及尿素氮对比
Table 2 Comparison of serum creatinine and urea nitrogen between the two groups

分组 Groups	3M 组织胶组 3M vetbond tissue adhesive group		电凝组 Electrocoagulation group	
	尿素氮 (mmol/L) Urea nitrogen	肌酐 (μmol/L) Creatinine	尿素氮 (mmol/L) Urea nitrogen	肌酐 (μmol/L) Creatinine
术前 Preoperative	5.92±1.50	21.69±5.73	5.92±1.50	21.69±5.73
术后 1 月 Postoperative 1 month	14.57±4.62	55.11±11.45	13.98±3.36	54.07±9.16
术后 8 月 Postoperative 8 months	20.55±7.44	110.75±52.09	18.03±4.77	106.52±36.18

注:术后两组血肌酐及尿素氮均升高,达到大鼠尿毒症模型标准。
Note. The serum creatinine and urea nitrogen of the two groups were increased postoperation, which reached the standard of animal uremia model.



注: A 为 3M 组织胶组, B 为电凝组。两组均可见肾小球缺血皱缩, 小管间质纤维化, 有炎细胞浸润。

图 1 肾组织病理学改变(HE 染色, $\times 100, \times 400$)

Note. A is for the 3M vetbond tissue adhesive group and B is for the electrocoagulation group. In both groups, glomerular ischemic shrinkage, tubular interstitial fibrosis, and inflammatory cell infiltration were observed.

Figure 1 Pathological changes of the kidneys(HE staining)

果以及安全性与缝线缝合的相当,但是手术时间却明显缩短,这与本研究观察到的现象一致^[12]。

电凝是利用高频电流对组织产生热效应,使受热组织局部温度升高,致使组织细胞变性、坏死、干燥、气化、碳化,达到止血和分离作用^[13]。其利用高频高压电弧切割并电凝止血,对生物组织热损伤十分严重^[14]。

本研究中,从血清肌酐、尿素氮以及肾病理结果表明两种止血方法制作大鼠 5/6 肾切除尿毒症模型均成立。组织胶止血和电凝止血均是目前主流的止血方式,本研究表明组织胶止血展现出了明显的优势。组织胶止血组在出血量、肾血流阻断的时间、术后死亡率均较电凝止血法低。病理结果提示 3M 组织胶组创面愈合良好,炎症细胞浸润少。Espin 等^[15]报道组织胶和可吸收线缝合在胃大部分切开术缝合中组织病理以及炎症指标上无明显差异,但是组织胶组手术时间明显缩短。同样,本研究结果与临床上部分切除术的观察结果相似^[16]。Sultan^[17]报道称组织胶在颅骨手术中也同样显示出了操作简易、安全、物美价廉等方面的优点。报道称含该类有效成分的生物胶在使用后 6 月在大鼠体内降解^[18],研究人员在术后 8 月解剖大鼠时也发现手术切面无生物膜包裹,考虑为已降解。

相对 3M 组织胶止血,电凝止血存在一些缺点,创面渗血常导致止血困难,电灼使肾切面布满焦痂,创面的渗血需要电凝刀尖反复点灼,这个过程又将焦痂扯开,焦痂的脱落增加新的出血创面,反复的电灼导致残存肾皮质髓质的进一步损伤,破坏

残存肾的血供影响实际残存肾单位数量和功能。这可能是电凝止血组死亡率高的主要原因之一。此外,反复不断的对伤口进行烧灼止血,烧灼过程中不断的刮擦电凝刀头上的焦化组织也可能会增加感染的风险。而 3M 组织胶是一种生物制剂,有效成分氨基丙烯酸酯类,其聚合快速、热量低、粘合力高、组织相容性好,固化成膜固化时间 10 s^[19]。止血时间通常被认为是止血性能研究中最直观和常见的评价指标,出血量也是反映止血效果的重要指标^[20]。本研究表明,3M 组织胶无论在止血时间还是出血量上均优于电凝止血。已经有证据表明氨基丙烯酸酯抗菌作用,尤其对革兰阳性菌^[21-23]。组织胶组术后死亡率低,也可能是其有效成分具有抗菌作用有关系。

其次,从经济学角度来看,3M 组织胶每瓶 3 mL,市场价格 300 元左右,且购买渠道广泛,容易获得,另外,使用过程中不需要配备特殊的仪器设备,一定程度上可以有效地将成本降低。而电凝止血需要专门配置相应的电凝设施,其配套设施价格昂贵,且使用过程中电凝设备的耗损也进一步引起成本增加,这对于经济条件受限的单位和个人都是不容忽视的问题。所以,3M 组织胶止血对于电凝止血无论是在科学角度还是经济角度均占优势。

此研究具有一定的应用价值,目前进行的慢性肾功能不全的实验研究中,如何保护肾功能、延缓甚至逆转肾功能的进展是一个热门话题^[24]。那么成功的制作慢性肾功能不全的模型是尤为重要。而在手术切除肾制作该模型中,安全有效的止血是

关键。本研究表明,3M 组织胶的止血效果优于电凝止血。且在经济学角度看来,性价比更高。

参考文献:

- [1] 张路霞,王海燕.中国慢性肾脏病的现状及挑战——来自中国慢性肾脏病流行病学调查的启示[J].中华内科杂志,2012(7):497-498.
- [2] Xie Y, Bowe B, Mokdad AH, et al. Analysis of the Global Burden of Disease study highlights the global, regional, and national trends of chronic kidney disease epidemiology from 1990 to 2016[J]. Kidney Int, 2018,94(3), 567-581.
- [3] 肖炜,马云,傅江南.慢性肾衰动物模型方法学研究现状[J].中国比较医学杂志,2002,12(3):176-179.
- [4] 李传贵,宋亚军,宋波,等.生物胶及缝扎法对兔肾创伤治疗效果的研究[J].第三军医大学学报,2015,37(23):2364-2367.
- [5] 李东红,高华,李鹏熙,等.几种止血材料对兔实质脏器创伤止血性能的比较[J].创伤外科杂志,2012(5):435-438.
- [6] Ferrantelli E, Liappas G, Keuning ED, et al. A novel mouse model of peritoneal dialysis: combination of uraemia and long-term exposure to PD fluid [J]. BioMed Res Int, 2015, 2015:106902.
- [7] Zareie M, De Vriese AS, Hekking LH, et al. Immunopathological changes in a uraemic rat model for peritoneal dialysis[J]. Nephrol Dial Transplant,2005,20(7):1350-1361.
- [8] Kull S, Martinelli I, Briganti E, et al. Glubran2 surgical glue: in vitro evaluation of adhesive and mechanical properties[J]. J Surg Res, 2009,157(1):e15-21.
- [9] 李传贵,宋波,郑宗钊,等.生物胶对兔肾脏创伤出血治疗效果的研究[J].重庆医学,2015,44(6):743-745.
- [10] Schneider G, Otto K. In vitro and in vivo studies on the use of Histoacryl® as a soft tissue glue[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2012,269(7):1783-1789.
- [11] Boersema GSA, Vennix S, Wu Z, et al. Reinforcement of the colon anastomosis with cyanoacrylate glue: a porcine model[J]. J Surg Res, 2017,217:84-91.
- [12] Park YH, Chang AS, Choi GW, et al. A comparison of three

- methods of skin closure following repair of Achilles tendon rupture[J]. Injury,2018,49(10):1942-1946.
- [13] 戈静,王清.两种止血法对腹腔镜卵巢囊肿剥除术卵巢储备功能的影响[J].实用心脑血管病杂志,2012,31(9):77-80.
- [14] 倪加凤,栾翠芳.超声切割止血刀的手术室维护与保养[J].腹腔镜外科杂志,2010,15(7):541-541.
- [15] Espin Alvarez F, Rodriguez Rivero AM, Navines Lopez J, et al. Clinical feasibility of large gastrotomy closure using a flexible tissue glue based on N-Butyl-2-Cyanoacrylate: experimental study in pigs[J]. J Gastrointest Surg,2019,23(2):247-255.
- [16] 吴斌,张峰.单极电凝免缝合技术在腹腔镜肾部分切除术中初步应用[J].中华医学杂志,2016,96(48):3885.
- [17] Sultan A, Mohamed A. Efficacy and safety of using n-butyl cyanoacrylate in cranial fixation following trauma and other pathologies[J]. Turk Neurosurg, 2018,28(3):416-420.
- [18] 卜文,李彦,郎书惠,等.大鼠体内大脏器创伤模型涂布康派特医用胶后生物反应观测[J].医疗装备,2015(7):21-29.
- [19] 王养忠,朱豫,周丽君,等. EC 耳脑胶在眶壁修复术中应用[J].中国实用眼科杂志,2004,22(5):400.
- [20] 张宜,喻晶,曹利利,等.基于止血药研究的兔止血模型概述[J].华南国防医学杂志,2015,29(7):560-562.
- [21] Romero IL, Malta JB, Silva CB, et al. Antibacterial properties of cyanoacrylate tissue adhesive: Does the polymerization reaction play a role? [J]. Indian J Ophthalmol,2009,57(5):341-344.
- [22] Gonzalez E, Orta J, Quero C, et al. Ethyl 2 cyanoacrylate fixation of the cranial bone flap after craniotomy [J]. Surg Neurol,2000,53(3):288-289.
- [23] Yao J, Zhang Y, Hu Q, et al. Optimization of paeonol-loaded poly(butyl-2-cyanoacrylate) nanocapsules by central composite design with response surface methodology together with the antibacterial properties [J]. Eur J Pharm Sci, 2017,101:189-199.
- [24] 李红艳.大鼠慢性肾功能不全模型两种制作方式的比较[J].中国实验动物学报,2008,16(1):59-61.

[收稿日期] 2018-09-27