

· 实验研究 ·

输尿管双极电凝热损伤的动物实验研究

陆 立^① 陆安伟* 黄 林^② 李 惠^③ 潘佩英^③

(贵阳市妇幼保健院妇科, 贵阳 550003)

【摘要】 目的 探讨输尿管双极电凝损伤后机能改变及其并发症发生的原因。 方法 日本长耳兔 36 只。一期实验 12 只, 动物处死后于 24 条输尿管下段共取 60 条输尿管平滑肌条, 分为正常组(20 条), 电凝损伤 1 秒组(20 条)、3 秒组(20 条), 电凝损伤组以双极电凝 40 W 在时间继电器控制下分别作用 1 秒或 3 秒, 行输尿管离体平滑肌收缩频率及收缩力测定, HE 染色观察损伤节段病理形态改变。二期实验 24 只, 随机再分为电凝 1 秒(12 只), 电凝 3 秒(12 只) 2 组, 选择单侧兔输尿管距肾盂 8 cm 处分别予以双极电凝 1 秒或 3 秒。实验后饲喂 2 周, 观察术后输尿管并发症, 取损伤节段输尿管测定机能状况及病理形态改变。 结果 一期实验中, 正常输尿管收缩频率、收缩力分别为 (15.85 ± 3.65) 次/min、 (0.835 ± 0.182) g, 电凝 1 秒组分别为 (36.35 ± 9.54) 次/min、 (0.335 ± 0.096) g, 电凝 3 秒组分别为 (43.95 ± 10.03) 次/min、 (0.320 ± 0.096) g。电凝损伤后输尿管节段收缩频率加快, 收缩力变小(P 均 = 0.000)。二期实验中, 电凝 1 秒组有 2 例(2/12, 17%) 出现尿漏, 自行停止, 输尿管收缩频率与收缩力分别为 (25.58 ± 3.20) 次/min、 (0.483 ± 0.093) g, 与一期实验电凝 1 秒组相比呈现低频率($P = 0.001$)、收缩力增高($P = 0.000$) 趋势; 电凝 3 秒组发生尿漏 6 例(6/12, 50%), 8 例(8/11, 73%) 损伤节段输尿管出现狭窄, 收缩频率与收缩力分别为 (40.45 ± 7.95) 次/min、 (0.305 ± 0.113) g, 与一期实验电凝 3 秒组相比收缩频率($P = 0.329$), 收缩力($P = 0.718$) 差异均无显著性。电凝损伤后均出现炎症反应, 损伤部位细胞空泡化改变, 2 周后炎症反应程度重。电凝 1 秒对输尿管损伤严重程度较 3 秒轻。电凝 3 秒损伤输尿管平滑肌全层及腔内假复层上皮层, 二期实验中有肌层挛缩, 假复层上皮层剥离表现。 结论 输尿管双极电凝热损伤后尿漏、输尿管狭窄的发生与损伤后输尿管机能改变、局部细胞结构损伤有关。

【关键词】 输尿管; 双极电凝; 电热损伤; 机能学; 并发症

中图分类号: R-332

文献标识: A

文章编号: 1009-6604(2013)04-0357-04

Electro-thermal Injury to the Ureter by Bipolar Electrocoagulation in Rabbits Lu Li, Lu Anwei*, Huang Lin, et al.
* Department of Gynaecology, Guiyang Maternal and Child Health Hospital, Guiyang 550003, China

【Abstract】 Objective To explore the causes of clinical complications after electro-thermal injury to the ureter by bipolar electrocoagulation. Methods Thirty-six Japanese long-eared rabbits (1.9-2.4 kg, 6-8 months old) were randomly divided into two groups for phase I and II experiments (12 and 24 animals respectively). In phase I experiment, totally 60 pieces of smooth muscles were collected from the 24 ureters of the 12 rabbits. The 60 pieces of ureteral smooth muscles were then divided into control, and 1- and 3-second electrocoagulation (bipolar electrocoagulation at 40 W) groups with 20 in each. The extent and frequency of smooth muscles contraction in the 1- and 3-second electrocoagulation groups, as well as histopathological changes of the injured segments were determined. In phase II experiment, the rest 24 rabbits were randomly divided into 1- and 3-second electrocoagulation groups with 12 in each; electrocoagulation was made at the ureter at one side, 8 cm away from the renal pelvis. We observed the complications occurred to the ureter during two weeks after the operation, and then killed the rabbits to collect the injured ureter to determine its histopathological changes. Results In phase I experiment, the frequency and extent of contraction of the ureteral smooth muscles were (15.85 ± 3.65) times/min and (0.835 ± 0.182) g; (36.35 ± 9.54) times/min and (0.335 ± 0.096) g, and (43.95 ± 10.03) times/min and (0.320 ± 0.096) g, respectively in the control, and 1- and 3-second electrocoagulation groups. After electrocoagulation, the frequency of muscle contraction increased significantly, and extent of contraction decreased significantly (both $P = 0.000$). In phase II experiment, in 1-second electrocoagulation group, 2 cases of urine leakage were detected (2/12, 17%), which was cured spontaneously afterwards; the frequency and extent of ureteral contraction were (25.58 ± 3.20) times/min and (0.483 ± 0.093) g, which were significantly lower and higher respectively than those in the 1-second electrocoagulation group in phase I ($P = 0.001$ and 0.000, respectively). In 3-second electrocoagulation group, 6 cases (6/12, 50%) of urine leakage and 8 cases (8/11, 73%) of ureteral stricture were found; the frequency and extent of ureteral contraction were (40.45 ± 7.95) times/min

* 通讯作者, E-mail: luanwei1115@sohu.com

① (遵义医学院附属医院泌尿外科, 遵义 563003)

② (贵阳医学院附属医院妇科, 贵阳 550001)

③ (贵阳市妇幼保健院病理科, 贵阳 550003)

and (0.305 ± 0.113) g, respectively, which were not significant different from those in the 3-second electrocoagulation group in phase I ($P = 0.329$ and 0.718). Inflammation response and cell vacuolization of the injured site occurred after electrocoagulation, and the inflammation response deteriorated in two weeks. 1-second electrocoagulation was less damaging than 3-second electrocoagulation, which damaged the whole layer of the local ureteral smooth muscle, as well as the pseudostratified epithelium in the ureteral tubule. In phase II experiment, 3-second electrocoagulation groups showed local smooth muscle contracture and detachment of pseudostratified epithelium. **Conclusion** Urine leakage and stricture after bipolar electrocoagulation are related to the ureteral dysfunction and local cellular structure changes.

【Key Words】 Ureter; Bipolar electrocoagulation; Electro-thermal injury; Functional study; Complication

输尿管损伤是盆腔手术常见的并发症。随着腹腔镜手术的普及,高频电刀造成输尿管损伤的病例报道逐渐增多^[1,2]。本实验参照动物离体平滑肌实验方法^[3,4],旨在探索双极电凝损伤输尿管后其机能状况、病理形态改变情况及临床并发症的可能机制,为临床处理输尿管并发症提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物和分组

日本长耳兔 36 只,6~8 月龄,体重 $1.9 \sim 2.4$ kg, (2.12 ± 0.15) kg,雌雄不论,贵阳医学院动物实验中心提供[证书号:SCXK(黔)2002-0001]。随机分为一期实验组 12 只,二期实验组 24 只。二期实验组依据随机数字表再将动物随机分成电凝 1 秒组(12 只),电凝 3 秒组(12 只)。

1.2 主要材料与仪器

参照离体平滑肌实验建立实验动物模型^[2,3]。按机能学实验教材要求配制 Krebs-Ringer 缓冲液,试剂由上海化学试剂公司生产。ERBE-ICC300 双极电凝由贵阳市妇幼保健院提供。欧姆龙 H5CNT-XCN 时间继电器。成都泰盟科技有限公司 BL-420F 生物机能实验系统、张力换能器、HW-400S 恒温平滑肌槽。实验药品、器材由贵阳医学院机能学实验室提供。

1.3 实验步骤

1.3.1 一期实验离体输尿管标本制备 空气栓塞法处死动物,置于仰卧位,迅速做腹部纵行切口进入腹腔,打开输尿管侧外方后腹膜,游离出输尿管中下段。以 12 只动物 24 条输尿管下段为输尿管平滑肌条选择部位,电凝损伤组以双极电凝在时间继电器控制下双钳闭合,40 W 功率条件下直接电凝输尿管表面浆膜层,分别电凝 1 秒或 3 秒。分别取电凝损伤 1 秒组(20 条)、3 秒组(20 条)和正常输尿管节段(20 条),每段输尿管肌条长 2 cm(每条输尿管能取 3 条输尿管肌条)。术后在显微镜下将输尿管肌条黏膜剔除,置入常温 Krebs-Ringer 缓冲液中备用,输尿管肌条两端予以小圆针带 0 号丝线引入固定。

1.3.2 输尿管平滑肌收缩实验 将输尿管标本两端缝线一端固定于张力传感器,一端固定于盛有 100 ml Krebs-Ringer 缓冲液的恒温平滑肌槽中,37℃ 恒温下温浴 10 min。通入 95% O_2 + 5% 空气混合气体,以每分钟 4~6 个气泡为准。张力传感器经连

线与双通道 BL-420F 生物机能实验系统电脑相连。在平滑肌槽内 Krebs-Ringer 缓冲液中靠近输尿管加入 10% KCl 1 ml,诱导输尿管平滑肌产生自主收缩波形,描记收缩波形及收缩产生的张力大小。将输尿管肌条回收后福尔马林固定,HE 染色观察损伤部位输尿管病理形态。

1.3.3 二期实验步骤及方法 随机分为电凝 1 秒组(12 只)及电凝 3 秒组(12 只),分组后编号,腹部剃毛。3% 戊巴比妥钠注射液以 1 ml/kg 剂量经耳缘静脉注射麻醉,仰卧位固定。做腹部纵行切口进入腹腔,随机选择单侧输尿管,在输尿管侧外方打开后腹膜予以游离,不分离输尿管管壁黏膜,距离肾盂 8 cm 处分别在时间继电器控制下双极电凝直接作用输尿管管壁浆膜 1 秒或 3 秒。输尿管电凝处外侧置入 9Fr 硅胶管一根经侧外方皮肤引出接引流袋并固定,逐层缝合关闭腹腔。术毕将动物放入 25℃ 恒温箱内,麻醉清醒后送回动物实验中心分笼饲养。术后 3 日以青霉素 10 万 U/kg + 生理盐水 2 ml 深部肌肉注射。排便后开始进食。记录输尿管电凝点引流管引流情况,监测动物体温及重量。饲养 14 天后空气栓塞法处死动物,取损伤节段输尿管行平滑肌收缩波形及张力测定,并行病理切片观察。

1.3.4 实验数据处理及统计方法 数据处理采用 SPSS 11.0 软件。分别计算输尿管收缩频率及收缩力的均数和标准差,并采用 one-way ANOVA 对资料进行分析,数据间两两比较采用 Scheffe 多重比较检验。二期试验输尿管并发症发生率采用 Fisher 确切概率法进行检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

日本长耳兔输尿管长度为 $10.5 \sim 12$ cm, (11.25 ± 0.44) cm,内径约 0.1 cm。一期实验中,与正常输尿管节段相比,电凝 1 秒组、3 秒组收缩频率高,收缩力小(P 均 = 0.000);电凝 3 秒组损伤节段输尿管收缩频率高于电凝 1 秒组($P = 0.019$),收缩力差异无显著性($P = 0.933$)。电凝损伤后输尿管收缩频率、收缩力与正常组相比呈现低收缩力、高频次收缩状态(表 1)。

二期实验术后,电凝 1 秒组与电凝 3 秒组分别有 12 只和 11 只完成实验。术后第 7 日电凝 3 秒组动物死亡 1 只,经解剖腹腔证实非麻醉意外、大出血

表 1 一期输尿管离体实验 3 组收缩频率及收缩力比较($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组别	收缩频率(次/min)	收缩力(g)
正常组①	15.85 ± 3.65	0.835 ± 0.182
电凝 1 秒组②	36.35 ± 9.54	0.335 ± 0.096
电凝 3 秒组③	43.95 ± 10.03	0.320 ± 0.096
<i>F, P</i> 值	61.818, 0.000	99.601, 0.000
<i>P</i> ₁₋₂ 值	0.000	0.000
<i>P</i> ₁₋₃ 值	0.000	0.000
<i>P</i> ₂₋₃ 值	0.019	0.933

等并发症所致,可疑为冻死。电凝 1 秒组发生 2 例(2/12,17%)尿漏,发生时间分别为术后 27、36 h,均于术后第 4 天停止。电凝 3 秒组发生尿漏 6 例(6/11,55%),发生时间为术后 24~35 h,于第 5~7 天停止。术后 14 天处死动物,以输尿管损伤点为中心取标本。电凝 1 秒组输尿管损伤节段局部与肠系膜局部粘连,损伤节段以上未发现明显输尿管扩张,损伤节段下方插入 3Fr 硅胶管均通过,3 例稍感有阻力,推注 1% 亚甲蓝注射液均通畅。电凝 3 秒组 8 例损伤节段上方输尿管呈现均匀扩张,直径 3~6 mm,试插 3Fr 硅胶管,7 例未插入通过,推注 1% 亚甲蓝注射液 5 例未通过。电凝 3 秒组输尿管狭窄发生率明显高于电凝 1 秒组($P = 0.000$),但输尿管尿漏发生率差异无显著性($P = 0.193$)(表 2)。机能学检测表明:与一期实验中输尿管收缩力、收缩频率相比,电凝输尿管 1 秒损伤 2 周后呈现低频率($P = 0.001$),收缩力增高改变($P = 0.000$)。电凝 3 秒 2 周后输尿管收缩频率($P = 0.329$)、收缩力($P = 0.718$)与一期实验组相比差异无显著性(表 3)。

表 2 二期实验中 2 个电凝组并发症发生率的比较

组别	尿漏	输尿管狭窄
电凝 1 秒组	17% (2/12)	0 (0/12)
电凝 3 秒组	50% (6/12) *	73 (8/11)
<i>P</i> 值 (Fisher 检验)	0.193	0.000

* 死亡动物也发生输尿管尿漏

表 3 一期实验与二期实验电凝组收缩频率及收缩力比较

组别	收缩频率(次/min)	收缩力(g)
一期实验电凝 1 秒组($n = 20$)	36.35 ± 9.54	0.335 ± 0.096
二期实验电凝 1 秒组($n = 12$)	25.58 ± 3.20	0.483 ± 0.093
<i>t</i> 值	3.761	-4.249
<i>P</i> 值	0.001	0.000
一期实验电凝 3 秒组($n = 20$)	43.95 ± 10.03	0.320 ± 0.096
二期实验电凝 3 秒组($n = 11$)	40.45 ± 7.95	0.305 ± 0.113
<i>t</i> 值	0.994	0.364
<i>P</i> 值	0.329	0.718

镜下可见兔输尿管结构由外向内大体分为三层:最外层为外膜层,主要为脂肪组织,混有供应血

管;中层平滑肌层,微观上(400 倍视野下)还可分出横行肌和纵行肌;腔内为移行上皮(图 1)。一期实验中炎症反应细胞淋巴细胞主要集中在血管周围。电凝 1 秒组表现为外膜层及浅肌层组织细胞空泡化,腔内移行上皮层完整(图 2);3 秒组则外膜层、局部平滑肌全层及局部腔内移行上皮层组织细胞均有空泡化改变,部分图片中可见肌层局部断裂,管腔内移行上皮层剥离改变(图 3)。二期实验中,可见炎症细胞浸润范围更广,出现在脂肪组织、血管周围、间质,并出现多核巨细胞。电凝 1 秒损伤输尿管节段 2 周后其管壁局部细胞空泡化程度较一期实验减轻(图 4);电凝 3 秒组输尿管管壁淋巴细胞浸润程度较一期实验明显,并有输尿管肌层紊乱,局部有肌层挛缩现象,但肌细胞空泡化程度较一期实验减轻,管腔内移行上皮层剥离改变(图 5)。对同一标本组织连续薄层切片显示,输尿管电凝损伤以电凝中心点损伤最重,随着距电凝中心点的距离增加,损伤程度逐渐减轻。

3 讨论

输尿管与盆腔器官等解剖关系密切,其最常见的损伤部位集中在输尿管中、下段。从近年的报道来看,盆腔手术输尿管损伤发生率没有下降趋势,大多数学者认为电外科器械是致其损伤的主要原因^[5-8]。

本实验以兔输尿管双极电凝热损伤动物模型,模拟临床工作中常用功率(40 W)在瞬间(1 秒),常规电凝止血时间(3 秒)的手术模式,对输尿管外膜直接电凝损伤。实验结果表明,双极电凝损伤输尿管局部出现不同深度的输尿管肌层、细胞损害,与正常输尿管相比相呈现高频率、低收缩力的状态。电凝损伤后 2 周,观察到输尿管尿漏、输尿管狭窄并发症出现。电凝 3 秒组输尿管狭窄发生率明显高于电凝 1 秒组($P = 0.000$),但输尿管尿漏发生率 2 组间无明显差异($P = 0.193$);电凝 1 秒组损伤节段输尿管收缩力及收缩频率均有向正常代偿趋势,而电凝 3 秒组输尿管机能代偿不明显。病理切片证实电凝 1 秒组 2 周后输尿管局部炎性细胞增生,受损组织部分得以修复;而电凝 3 秒组输尿管节段局部有肌层挛缩,腔内假复层剥离表现。提示输尿管局部电凝作用时间越长,其机能状况在短期内越难以改善。

正常输尿管平滑肌之间存在传导电兴奋的间桥结构^[9]。双极电凝直接作用于输尿管外膜层,势必会损伤间桥结构及肌肉合体细胞,影响电兴奋的产生及传导,尿液通过损伤节段输尿管时其流体力学状态也会相应改变。由实验结果我们推断,输尿管尿漏的发生可能与以下因素有关:①局部输尿管肌层断裂;②局部损伤节段输尿管电兴奋传导异常,呈现高频、低收缩力改变,局部输尿管不协调收缩;③尿流在输尿管损伤部位出现动力学改变。而尿漏的自然停止,可能与局部炎症粘连,实验动物本身尿流

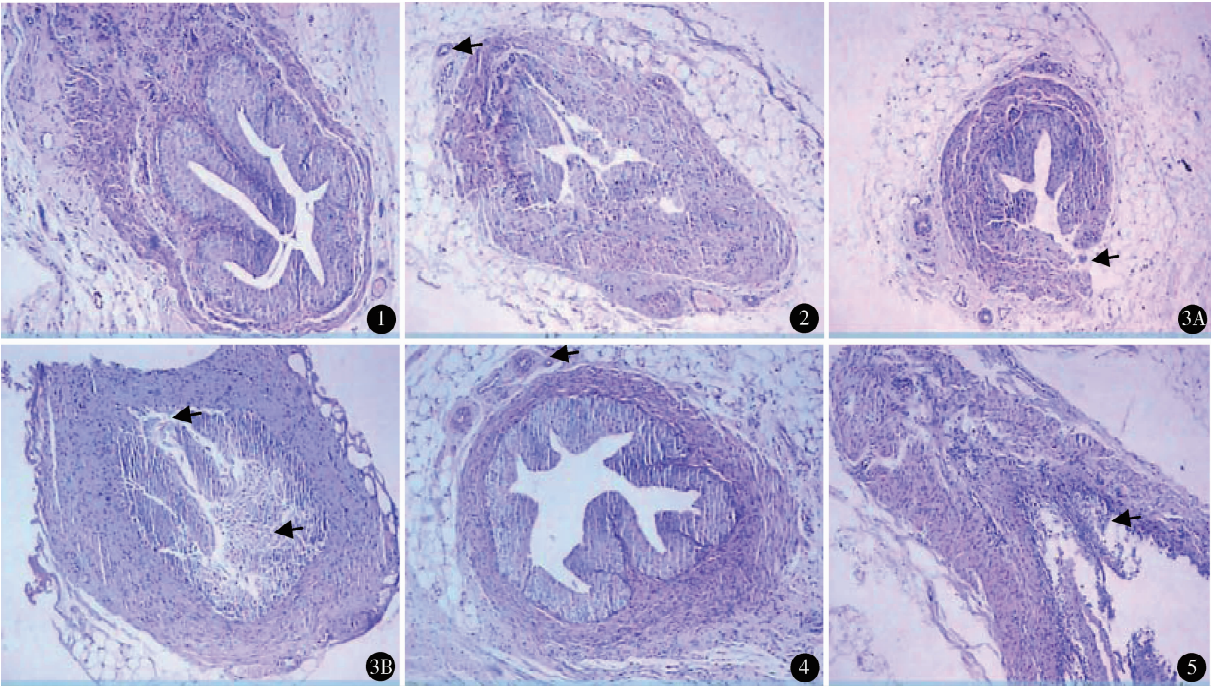


图 1 正常输尿管 图 2 一期实验电凝 1 秒组,输尿管管壁局部空泡化,淋巴细胞集中在血管周围 图 3 一期实验电凝 3 秒组,管壁细胞空泡化,输尿管局部肌层断裂(A),输尿管腔内黏膜上皮部分脱落(B) 图 4 二期实验电凝 1 秒组,输尿管管壁局部空泡化,淋巴细胞浸润到周围新生血管、间质 图 5 二期实验电凝 3 秒组,输尿管管腔内假复层上皮脱落 图 1~5 均为 HE 染色,×400

量小有关。电凝损伤后发生不同程度的输尿管狭窄,是由于电凝损伤发生输尿管肌层坏死、断裂,输尿管平滑肌层挛缩所致;电凝作用时间越长,输尿管狭窄程度越重。

本实验观察到损伤节段输尿管 2 周内出现狭窄,肾脏积水。临床实践中,输尿管尿漏可通过早期手术处理获得成功,一般并无远期严重的并发症出现^[10,11]。一般情况下,单侧的输尿管部分梗阻(partial unilateral ureteral obstruction, PUUO)在 2 周内解除梗阻,对患侧肾脏功能并无明显的永久性损害,然而延迟处理必然损害患肾功能^[9]。可见早期干预是挽救输尿管机能,预防患侧肾脏功能损害最关键的因素。

综上,双极电凝 3 秒对组织热损伤程度较电凝 1 秒为重,除目标组织外还可造成局部的热传导损伤,其严重程度随距电凝作用点距离增加而减小。因此,手术中处理输尿管外膜表面的出血时,如需双极电凝止血,采用几次瞬间电凝代替 3 秒或 3 秒以上的持续电凝模式,对减少热损伤、降低输尿管并发症发生率,可能更为妥当。在二期实验中,我们观察到输尿管双极电凝损伤后出现了输尿管尿漏和输尿管节段性狭窄这两类并发症。因此,术后定期对损伤侧尿路行相应检查随访,及时发现并发症并处理,对于挽救患侧肾脏功能有实际意义。

参考文献

1 Bateman BT, Mhyre JM, Callaghan WM, et al. Peripartum

hysterectomy in the United States; nationwide 14 year experience. Am J Obstet Gynecol, 2012, 206(1): 63. e1 - 8.

2 Delacroix SE Jr, Winters JC. Urinary tract injuries: recognition and management. Clin Colon Rectal Surg, 2010, 23(2): 104 - 112.

3 茹 峰, 王东文, 双卫兵. 大鼠输尿管部分梗阻后平滑肌形态及功能改变. 中华泌尿外科杂志, 2009, 11(30): 745 - 748.

4 马胜利, 叶章群, 陈忠强. 兔输尿管部分梗阻后肾脏血流动力学变化的实验研究. 临床外科杂志, 2006, 14(9): 578 - 580.

5 Frankman EA, Wang L, Bunker CH, et al. Lower urinary tract injury in women in the United States, 1979 - 2006. Am J Obstet Gynecol, 2010, 202: 495. e1 - 5.

6 Siow A, Nikam YA, Ng C, et al. Urological complications of laparoscopic hysterectomy: a four-year review at KK Women's and Children's Hospital. Singapore Med J, 2007, 48(3): 217 - 221.

7 Parpala-Spärman T, Paananen I, Santala M, et al. Increasing numbers of ureteric injuries after the introduction of laparoscopic surgery. Scand J Urol Nephrol, 2008, 42(5): 422 - 427.

8 Worley MJ, Slomovitz BM, Ramirez PT, et al. Complications of laparoscopy in benign and oncologic gynecological surgery. Rev Obstet Gynecol, 2009, 2(3): 169 - 175.

9 吴阶平. 吴阶平泌尿外科学. 第 1 版. 济南: 山东科学技术出版社, 2004. 532, 538.

10 Ibeanu OA, Chesson RR, Echols KT, et al. Urinary tract injury during hysterectomy based on universal cystoscopy. Obstet Gynecol, 2009, 113(1): 6 - 10.

11 Gilmour DT, Das S, Flowerdew G. Rates of urinary tract injury from gynecologic surgery and the role of intraoperative cystoscopy. Obstet Gynecol, 2006, 107(6): 1366 - 1372.

(收稿日期: 2012 - 03 - 27)

(修回日期: 2012 - 11 - 16)

(责任编辑: 王惠群)