

耻骨后途径膀胱颈部分结扎与经尿道途径尿道部分结扎制作犬膀胱出口梗阻模型的比较^{*}

李 磊 吴 越^{**} 张国飞 邓 玮 陈安龙

(新疆医科大学第六附属医院泌尿外科, 乌鲁木齐 830002)

【摘要】 目的 比较两种犬膀胱出口梗阻 (bladder outlet obstruction, BOO) 诱导膀胱过度活动症 (overactivity bladder, OAB) 模型制备方法的效果。 **方法** 将 26 只雌性比格犬随机分成 3 组, 模型 A 组 10 只, 耻骨后途径膀胱颈部分结扎; 模型 B 组 10 只, 经尿道途径尿道部分结扎; 对照组 (假手术组) 6 只, 耻骨后途径暴露膀胱颈不做结扎。术后 12 周进行尿动力学检测。 **结果** 建模所需手术时间 B 组 < 对照组 < A 组 [(10.7 ± 3.9) vs. (15.2 ± 2.1) vs. (18.4 ± 3.2) min, $F = 67.97$, $P = 0.02$]。3 组术前尿动力学检查结果差异无显著性 ($P > 0.05$), 术后 12 周 A 组 8 只犬、B 组 10 只犬在储尿期观察到逼尿肌不稳定收缩波, 对照组未出现, A、B 组逼尿肌压力、最大膀胱容量、残余尿明显高于对照组和术前, 膀胱最大顺应性明显低于对照组和术前 ($P < 0.05$), A、B 组间差异无显著性 ($P > 0.05$), 对照组术后与术前比较差异均无显著性 ($P > 0.05$)。 **结论** 两种方法都能成功建立膀胱出口梗阻模型, 但经尿道途径操作简便, 手术时间短, 术后并发症少, 更适合作为经尿道腔内微创手术治疗 OAB 研究的动物模型。

【关键词】 膀胱出口梗阻; 耻骨后途径; 尿道途径; 膀胱过度活动症; 犬

文献标识: A 文章编号: 1009-6604(2016)01-0064-04

doi: 10.3969/j.issn.1009-6604.2016.01.018

Comparison of Retropubic Bladder Neck Partial Ligation and Transurethral Urethral Partial Ligation in the Establishment of Bladder Outlet Obstruction Model in Dogs Li Lei, Wu Yue, Zhang Guofei, et al. Department of Urology, Sixth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830002, China

Corresponding author: Wu Yue, E-mail: xjjg_wuyue@126.com

【Abstract】 Objective To compare two methods for establishing an animal model of overactivity bladder caused by bladder outlet obstruction in beagle dogs. **Methods** Twenty-six healthy female beagles were randomly divided into three groups, which were group A ($n = 10$), group B ($n = 10$), and control group ($n = 6$). The group A was given a retropubic approach midprostatic obstruction. The group B was given an urethral partial ligation through transurethral way. The control group underwent just exposure of the bladder neck without midprostatic obstruction through retropubic approach. Urodynamic study was carried out in these groups after 12 weeks. **Results** The operation time of the group B (10.7 ± 3.9 min) was shorter than the control group (15.2 ± 2.1) min, which was further shorter than the group A (18.4 ± 3.2 min) ($F = 67.97$, $P = 0.02$). Urinary dynamics test showed no significant difference among the 3 groups before the operation of ($P > 0.05$). At 12 weeks after the operation, 8 dogs from the group A and 10 dogs from group B were found with detrusor contraction wave in urine storage period, while the control group did not appear. The detrusor pressure, maximum bladder capacity, residual urine in the group A and group B were significantly higher than the control group and before operation ($P < 0.05$). The bladder compliance in the group A and group B was significantly lower than the control group and before operation ($P < 0.05$). There was no significant difference between the group A and B ($P > 0.05$), and there was no significant difference in the control group between preoperation and postoperation ($P > 0.05$). **Conclusions** Both retropubic and transurethral approaches can be used to successfully establish bladder outlet obstruction in female beagles. As compared to retropubic approach, the transurethral approach has advantages such as shorter operation time, better reproducibility and stability of the animal models, which is suitable for studying transurethral intracavitary treated by minimally invasive surgery.

【Key Words】 Bladder outlet obstruction; Retropubic approach; Transurethral; Overactivity bladder; Dog

* 基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (2014211C133)

** 通讯作者, E-mail: xjjg_wuyue@126.com

膀胱过度活动症(overactivity bladder, OAB)是一种患病率很高的慢性疾病,严重影响患者的生活、社交活动和社会发展,对伴有急迫性尿失禁患者影响尤为明显。目前治疗 OAB 的相关研究多为药物及开放手术,腔镜技术已成为当今泌尿外科更安全、有效的治疗技术,所以建立可进行腔内微创手术操作的动物模型对 OAB 的治疗研究至关重要。本文通过比较耻骨后途径膀胱颈部分结扎与经尿道途径尿道部分结扎两种方法制备犬膀胱出口梗阻(bladder outlet obstruction, BOO)诱导犬 OAB 模型并进行尿动力学方面的评价分析,期待为今后开展经尿道腔内微创手术治疗 OAB 的研究提供一种操作简单、成功率高的建模方法。

1 材料与方法

本研究经新疆医科大学第一附属医院动物实验医学伦理委员会审批(IACUC20150210-01)。

1.1 实验动物

雌性健康成年未育比格犬 26 只,体重(15 ± 0.9)kg,月龄 12~13 个月,均购自新疆医科大学动物实验中心,术前均无尿失禁及其他尿路器质性疾病。犬适应性喂养 1 周,称重后随机分为 3 组:模型 A 组 10 只,耻骨后途径膀胱颈部分结扎;模型 B 组 10 只,经尿道途径牵出尿道部分结扎;对照组 6 只,耻骨后途径暴露膀胱颈但不做结扎。所有犬术前及术后均在相同饲养条件下喂养。

1.2 建模方法

1.2.1 模型 A 组 犬肌注速眠新 II 注射液(0.1 ml/kg)麻醉,仰卧固定。下腹部剃毛备皮,碘伏消毒下腹部、尿道口、会阴、双侧大腿根部及尾根部。于尿道内置入 8Fr 一次性导尿管作支撑,取下腹正中切口,长约 4 cm,于腹直肌旁钝性分离各层组织,打开腹腔,显露膀胱,游离膀胱颈后用 4 号丝线于膀胱颈处结扎(结扎处位于双侧输尿管口下方),结扎松紧度以线结紧贴膀胱颈部黏膜、移动导尿管无阻力为宜,退出尿管,关闭切口。术后连续 5 天每日肌注青霉素 160 万 U,并着腹绷带,带伊丽莎白圈,防止犬舔咬切口。每天检查清洗切口,并在切口周围喷洒聚维酮碘。10 天后拆除腹部切口缝线。

1.2.2 模型 B 组 麻醉、体位及术区消毒方法同 A 组,拉钩暴露尿道口后先将 8F 导尿管置入膀胱,见尿液流出后充导尿管气囊,用卵圆钳钳夹尿道口黏膜并同时向外牵拉导尿管协助显露尿道,直视下用 4 号丝线行尿道环形荷包缝扎,打结时助手来回牵拉活动导尿管,防止结扎过紧。术后连续 3 天每日肌注青霉素 160 万 U 预防感染。

1.2.3 对照组(假手术组) 麻醉、手术及术后处

理方法同 A 组,只游离膀胱-尿道交界处,不做结扎。

1.3 尿动力学检测

术前于犬进笼喂养 1 周后进行尿动力学检测,测完直接建模。术后 12 周时再次进行尿动力学检测。采用加拿大 Laboria UDS-600 型尿流动力学检测仪进行尿动力学检测。待犬排尿后立即用速眠新 II 麻醉,仰卧位固定,会阴悬空。将 F5 尿动力学测压管经尿道置入膀胱,用注射器抽出膀胱内的尿液即为残余尿量。将 F9 直肠测压管置入直肠,标注 0 点,连接测压管。准备完毕后给犬肌注苏醒灵 3 号,约 1 分钟后犬即可清醒。犬清醒后以生理盐水 30 ml/min 灌注速度做充盈性膀胱测压,同步记录膀胱压力波形、大小变化,以尿道外口出现尿液作为排尿开始标志,测出此时逼尿肌压力、最大膀胱容量和膀胱最大顺应性[膀胱最大顺应性 = 最大膀胱容量 / (充盈静止压 - 空虚静止压)]。检测时,若观察到膀胱充盈期高于 $10 \text{ cm H}_2\text{O}$ 的期相性或终末性逼尿肌不稳定收缩波存在,则判定模型建立成功。

1.4 统计学方法

应用 SPSS20.0 统计软件,计数资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,3 组间比较用 One-Way ANOVA,两两比较采用 LSD,手术前后比较采用配对 t 检验。 $P < 0.05$ 认为有显著差异。

2 结果

A 组 1 只犬因切口感染死亡,1 只因解剖分离时膀胱颈损伤建模失败,剩余 8 只建模成功;B 组无死亡,其中 9 只犬一次性建模成功,1 只犬术后 2 周内线结脱落再次结扎尿道后建模成功;A 组、B 组、对照组(C 组)手术时间分别为(18.4 ± 3.2)min、(10.7 ± 3.9)min、(15.2 ± 2.1)min, B 组 $<$ 对照组 $<$ A 组($F = 67.97, P = 0.02, P_{A-B} = 0.01, P_{A-C} = 0.03, P_{B-C} = 0.02$)。

3 组术前尿动力学检查结果差异无显著性($P > 0.05$),术后 12 周 A 组 8 只犬、B 组 10 只犬在储尿期观察到逼尿肌不稳定收缩波,对照组未出现,A、B 组逼尿肌压力、最大膀胱容量、残余尿明显高于对照组和术前,膀胱最大顺应性明显低于对照组和术前($P < 0.05$),A、B 组间差异无显著性($P > 0.05$),对照组术后与术前比较差异均无显著性($P > 0.05$)。

3 讨论

BOO 是引发 OAB 的常见原因,且该类模型的建立方法较为简单,目前 OAB 研究模型通常采用该方法建立^[1~3]。常用的建模动物如大鼠、家兔等^[4],难以进行膀胱镜检等相关腔内手术操作。比格犬性

表 1 BOO 犬术前与术后 12 周尿动力学检测结果

组别	逼尿肌压力 (cm H ₂ O)			最大膀胱容量 (ml)		
	术前	术后	<i>t</i> , <i>P</i> 值	术前	术后	<i>t</i> , <i>P</i> 值
A 组 (<i>n</i> = 8)	44.3 ± 1.7	54.9 ± 4.6	8.82, 0.01	132.3 ± 11.9	191.9 ± 13.4	17.48, 0.01
B 组 (<i>n</i> = 10)	43.6 ± 2.4	58.4 ± 2.5	16.48, 0.02	134.9 ± 23.5	203.9 ± 24.8	12.57, 0.01
对照 (C) 组 (<i>n</i> = 6)	43.2 ± 1.6	43.5 ± 4.1	0.31, 0.76	122.0 ± 15.2	124.3 ± 15.4	0.79, 0.46
<i>F</i> , <i>P</i> 值	0.77, 0.47	31.46, 0.01		1.03, 0.34	33.54, 0.01	
<i>P</i> _{A-B} 值		0.06			0.21	
<i>P</i> _{A-C} 值		0.01			0.01	
<i>P</i> _{B-C} 值		0.01			0.01	

组别	膀胱最大顺应性 (ml/cm H ₂ O)			残余尿 (ml)		
	术前	术后	<i>t</i> , <i>P</i> 值	术前	术后	<i>t</i> , <i>P</i> 值
A 组 (<i>n</i> = 8)	7.6 ± 0.6	5.2 ± 0.7	22.53, 0.01	3.1 ± 1.8	22.8 ± 4.3	10.15, 0.01
B 组 (<i>n</i> = 10)	8.2 ± 0.7	4.9 ± 1.1	15.54, 0.01	4.3 ± 2.5	23.6 ± 5.1	8.64, 0.01
对照 (C) 组 (<i>n</i> = 6)	7.4 ± 0.7	7.9 ± 0.8	0.65, 0.54	3.3 ± 1.0	4.5 ± 1.9	1.66, 0.15
<i>F</i> , <i>P</i> 值	0.59, 0.56	21.78, 0.01		1.20, 0.32	43.41, 0.01	
<i>P</i> _{A-B} 值		0.49			0.78	
<i>P</i> _{A-C} 值		0.01			0.01	
<i>P</i> _{B-C} 值		0.01			0.01	

情温顺,与人亲近,生理生化指标及遗传性状稳定,是国际通用实验用犬,且其体型较大,易进行手术操作,神经系统和人比较相近,是神经泌尿科学的重要模型^[5],因而我们选用犬来建模。雄犬阴茎有骨性结构,膀胱镜不易插入,且尿液可由输精管返流入精囊腺,引起膀胱压力降低,影响膀胱功能的评估,因此本实验选用雌犬作为建模动物。目前 BOO 模型的制作方法有以下几种:经耻骨后途径结扎膀胱颈口^[6]、经会阴途径结扎球部尿道、在近端尿道套上环圈建立梗阻模型^[7]及对模型动物注射睾酮诱导前列腺增生造成 BOO 模型^[8],后两种方法研究者未进一步评估是否形成 BOO。本实验采用耻骨后途径结扎膀胱颈和经尿道途径结扎尿道法制作模型,并对所建模型进行鉴定和比较,期待为今后开展经自然通道进行微创手术治疗 OAB 提供一种操作简单、成功率高的建模方法。

雌犬尿道口位于阴道腹侧壁宫颈口远端,仰卧位时尿道口位于阴道口下方,距离阴户外口 4 ~ 6 cm,发情期距离会缩短。我们观察到几乎所有雌犬尿道旁都有一个先天性假道,易导致插导尿管失败,所以操作时最好有一名兽医在场进行解剖指导。建模后应密切观察犬是否出现感染等并发症,及时给予对症处理。模型 A 组中 1 只犬于术后 6 天切口感染,表现为精神萎靡、耳朵耷拉、毛发不整洁无光泽、见人后精神狂躁、出现攻击性举动、拒食、用身体摩擦地面等反常举止,最终因全身感染、拒食死亡。因此,为防止术后感染,应常规使用抗生素。如有下腹胀,考虑尿潴留时,可用手压迫犬下腹部协助排尿,必要时可予导尿。后期由于尿潴留不适犬的性情会变得烦躁,为了协助排尿,喜用后肢摩擦地面或

者喂养笼,易出现后肢溃烂,若处理不及时,可导致全身感染死亡。对于模型 A 组及对照术中应尽量缩小操作范围,只需将近膀胱颈部尿道前壁与周围脂肪组织及疏松结缔组织进行分离即可;术后还应着腹绷带,佩戴伊丽莎白圈,防止犬舔咬切口。同时还应每天检查清洗切口,喷适量的喷贝复剂或聚维酮碘,不要用刺激性大的碘伏和酒精。经尿道结扎途径,犬可通过舔咬或尿液腐蚀,致结扎线脱落,因此应定期观察犬尿线的粗细来判断结扎线是否脱落。A、B 两组模型在术后 2 周内即可出现尿频等不适症状,表现为犬双后肢频繁屈曲,做出排尿动作及舔咬尿道口等,此时应注意鉴别尿频是因为泌尿系感染还是梗阻引起,及时取尿液进行尿常规及尿培养以明确病因。目前对动物取尿液的方法大致有以下几种:挤压膀胱,膀胱穿刺及留置导尿管等,操作都相对麻烦。我们采用特制的接尿器^[9],成功收取犬的尿液进行尿常规等检验。在排除泌尿系感染的情况下,模型 A 组最早于术后 6 天即可出现尿频,模型 B 组最早于术后 9 天出现尿频。本实验在观察犬尿频时也是采用在犬腰部佩戴接尿器,每隔半小时观察一次接尿器内是否有尿液,记录排尿次数及尿量。

耻骨后途径建模方法需切开下腹部,分离尿道,此法操作繁琐,且易损伤输尿管及膀胱周围血管丛,引起术后切口感染的几率较大。经尿道途径荷包缝扎部分尿道,只需用卵圆钳稍微牵拉暴露尿道即可,无手术切口,手术创伤小,涉及的解剖结构少,操作简单,手术时间短,术后感染等并发症少,建模成功率高于耻骨后途径。此外,在结扎膀胱颈或尿道时一定要宁松勿紧,避免造成急性梗阻而导致动物死

亡。我们在实验中用 F8 导尿管作支撑,可较好地避免出现急性尿路梗阻。除 B 组第一例模型因初次采用该方法建模,对犬尿道解剖及假道不甚清楚,术中操作时间过长,对犬尿道钳夹时间过长过重,术后出现尿道水肿,导致急性尿潴留,给予导尿及硫酸镁湿敷后好转,其余动物均未出现急性尿潴留。

在行尿动力学检测时,不同的麻醉药物会对检测结果有一定的影响。动物实验中常用麻醉剂如戊巴比妥钠、硫喷妥钠、氯胺酮+地西泮等均可明显抑制排尿反射,测压曲线随麻醉深浅而波动,还可诱发正常动物产生无抑制性收缩^[10]。速眠新Ⅱ为速效麻醉药,其主要成分赛拉唑有中枢肌松作用,而对外周神经肌肉传递无阻滞作用,醒后犬可立即站立行走,仅步态不稳,故我们认为此药适合用于犬行尿动力学检测前的麻醉^[11]。同时配合催醒药苏醒灵 3 号,可使犬快速苏醒,测得的尿动力学数据可最大程度接近犬真实状态。

本研究表明,经耻骨后和经尿道途径两种方法都能成功建立 BOO 模型,但经尿道途径操作简便,手术时间短,术后并发症少,更适合作为今后研究经尿道腔内微创手术治疗 OAB 的建模方法。

参考文献

- 1 Akino H, Maegawa M, Oyama N, et al. The pathophysiology underlying overactive bladder syndrome possibly due to benign prostatic hyperplasia. *Hinyokika Kiyo*, 2008, 54(6): 449-452.
- 2 Lee UJ, Scott VC, Rashid R, et al. Defining and managing overactive bladder: disagreement among the experts. *Urology*, 2013, 81(2): 257-262.
- 3 那彦群, 叶章群, 孙颖浩, 等. 中国泌尿外科疾病诊断治疗指南. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 2014. 330-339.
- 4 Cunningham RM, Larkin P, McCloskey KD. Ultrastructural properties of interstitial cells of Cajal in the Guinea pig bladder. *J Urol*, 2011, 185(3): 1123-1131.
- 5 Hassouna M, Li JS, Elhilali M. Dog as an animal model for neurostimulation. *Neurourol Urodyn*, 1994, 13(2): 159-167.
- 6 Yazaki J, Aikawa K, Shishido K, et al. Alpha 1-adrenoceptor antagonists improve bladder storage function through reduction of afferent activity in rats with bladder outlet obstruction. *Neurourol Urodyn*, 2011, 30(3): 461-467.
- 7 Lin WY, Guven A, Juan YS, et al. Free radical damage as a biomarker of bladder dysfunction after partial outlet obstruction and reversal. *BJU Int*, 2008, 101(5): 621-626.
- 8 Shin IS, Lee MY, Ha HK, et al. Inhibitory effect of Yukmijihwang-tang, a traditional herbal formula against testosterone induced benign prostatic hyperplasia in rats. *BMC Complement Altern Med*, 2012, 12: 48.
- 9 王金勇, 孙卫东, 王小龙. 羊、猪、犬等雄性动物接尿器的制备及临床应用. *畜牧与兽医*, 2006, 38(1): 43-44.
- 10 Matsuura S, Downie JW. Effect of anesthetics on reflex micturition in the chronic cannula-implanted rat. *Neurourol Urodyn*, 2000, 19(1): 87-99.
- 11 张忠云, 梁月有, 吴喜链, 等. 雌犬压力性尿失禁模型的尿动力学检测与分析. *实用医学杂志*, 2010, 26(17): 3095-3097.

(收稿日期: 2015-06-22)

(修回日期: 2015-09-26)

(责任编辑: 王惠群)