

输尿管导管逆行灌注凝血酶对大鼠肾脏 穿刺术后出血的影响

施子诺^{1,2}, 林沁¹, 陈建¹

(1. 南京军区福州总医院肾脏病科 福建医科大学福州总医院临床学院, 福州 350025

2. 福建泉州市第一医院, 泉州 362000)

【摘要】 目的 应用逆行输尿管导管灌注凝血酶溶液观察大鼠肾脏出血肉眼血尿局部止血的疗效。方法 通过单侧肾穿刺配合全身肝素化制备大鼠肾脏出血肉眼血尿模型。32只SD大鼠模型随机分作4组,分别以低、中、高三种不同浓度的凝血酶及生理盐水经输尿管导管行该侧肾盂逆行灌注。检测灌注前及灌注后各组大鼠尿红细胞计数值、外周血色素水平、出血时间、凝血时间及血肌酐水平等指标。结果 三种不同剂量的凝血酶溶液灌注后尿红细胞计数水平与生理盐水对照组相比均有显著差异($P < 0.05$);其中凝血酶溶液中、高剂量组给药后5 min及40 min尿红细胞计数水平均显著低于低剂量组($P < 0.05$);不同剂量的凝血酶溶液组与生理盐水对照组在灌注后40 min检测的大鼠外周血色素水平比较均有明显差异($P < 0.05$);其中凝血酶中、高剂量组灌注后40 min大鼠外周血色素水平显著高于低剂量组($P < 0.05$)。灌注凝血酶溶液前、后的出血时间、凝血时间及血肌酐水平均无明显变化($P > 0.05$)。结论 逆行灌注凝血酶溶液对大鼠肾穿刺术后严重的肾出血有明显迅速的止血效果,且有一定的量效依存关系;同时对大鼠凝血功能及肾功能未发现明显影响。

【关键词】 模型; 血尿; 凝血酶

【中图分类号】 R692 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2011)07-0039-05

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2011.07.008

Haemostasis Effect of Retroperfusion Thrombase Through Ureteral Catheter on Nephrorrhagia Rats

SHI Zi-nuo^{1,2}, LIN Qin¹, CHEN Jian¹

(1. Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command & Fuzhou General Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350025, China; 2. The First People's Hospital of Quanzhou, Quanzhou, 362000, China)

【Abstract】 Objective To investigate haemostasis effect of thrombase retroperfusion through ureteral catheter on nephrorrhagia rats. **Methods** After renal biopsy with systemic heparinization, the models of nephrorrhagia rats with gross hematuria had been established, 32 SD rats weighing 350 ~ 400g were divided into 4 groups randomly (8 rats in each group). All rats were retroperfused by three different doses of thrombase or NS through ureteral catheter respectively. Lab index: Urinary red cell, blood pigment, serum creatinine, bleeding time (BT) and clotting time (CT) were detected in all rats before retroperfusion, 5 min and 40 min after retroperfusion. **Results** ① Compared with NS group, the level of red blood cell count in urine of the other 3 groups was significantly different respectively ($P < 0.05$), and the level of above-mentioned index among high-dose group and middle-dose group was lower than low-dose group ($P < 0.05$). While the

[基金项目]福建省青年科技人才创新项目(2003J055)。

[作者简介]施子诺(1973-),男,主治医师,研究生,研究方向:临床肾脏病学。

[通讯作者]陈建, Email: doctorj1@163.com。

difference of blood pigment between different distinctive dose groups and NS group was significant in 40 min after retroperfusion ($P < 0.05$). The level of above-mentioned index among high-dose group (500 U/mL) and middling-dose group (250 U/mL) was distinguished higher versus low-dose group respectively. ② Among 4 groups, the difference of bleeding time (BT), clotting time (CT) and serum creatinine between the former and the latter was not significant ($P > 0.05$).

Conclusion All three different doses of thrombase had haemostasis effect on renal hemorrhage rats by retroperfusion through ureteral catheter, and the effects were related to the medicament and the dosage; while retroperfusion thrombase did not affect BT, CT and the level of serum creatinine of rats.

【Key words】 Model; Hematuria; Thrombase

肾脏穿刺活检术对于诊断肾脏疾病, 指导治疗, 判断预后都具有重要的意义。但作为一种创伤性检查存在着以出血为主的多种并发症, 其中术后血尿为最常见的并发症, 肉眼血尿的发生率为 2% ~ 7%, 可出现严重大出血, 排出大量血块, 造成尿路阻塞、休克等严重的后果^[1]。对于肾脏穿刺术后大出血, 内科止血效果差, 持续性出血者则应及时进行选择肾动脉造影和动脉栓塞治疗或外科手术止血甚至摘除肾脏, 创伤大, 花费多, 患者难以接受, 从而阻碍了肾脏穿刺活检术的普及。

本研究应用肾穿刺活检枪穿刺大鼠肾脏配合全身使用适量肝素, 制作出一种模拟人类肾挫裂伤出血的病理生理变化过程的大鼠肾脏出血模型, 通过对该模型应用逆行输尿管导管至肾盂局部灌注不同浓度的凝血酶溶液, 观察其止血效果及对模型全身凝血功能的影响等指标, 探讨最佳止血效果的凝血酶剂量。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选用体重 350 ~ 400g 的成年雄性 SD 大鼠 (清洁级), 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供 [SCXK(沪) 2003-0003]。

1.2 主要药品及仪器

凝血酶由珠海市生化制药厂提供, 单通道输液泵 - 323 型有以色列凯撒医用电子有限公司提供, 自动负压肾活检枪由福州总医院研制^[2]。

1.3 实验方法

1.3.1 制作动物模型 选取成年雄性 SD 大鼠 37 只, 予腹腔注射 1% 戊巴比妥钠溶液 (40 mg/kg 体重), 以静脉留置针穿刺鼠颈内静脉, 接输液泵建立静脉通路, 全身肝素化 (0.1 U/g 输液泵静脉注射) 后续生理盐水 0.1 mL/g·h 匀速输入补充血容量, 并以速尿 5 mg 利尿, 维持尿量。大鼠仰卧, 常规备皮消毒后取腹部正中纵行切口, 暴露一侧肾脏及输尿

管。游离一侧输尿管中下段, 以 1 号丝线结扎阻断输尿管, 输尿管充盈膨胀后用套管针 (Y 型静脉留置针) 在输尿管的充盈膨胀处逆行穿刺插管, 缓慢退出针芯立即可见有清亮尿液从导管中流出, 导管插入深度至肾盂输尿管连接处, 并以 1 号丝线将导管结扎固定。导管后接引流管收集并观察尿液。再用自动负压肾活检枪在肾脏中部对向肾盂垂直穿刺, 控制进针深度约 10 mm, 穿刺后即可见输尿管导管引流出肉眼血尿, 并立即在肾脏穿刺点处局部滴加 504 止血胶^[3], 至肾包膜创面上不再有活动性出血。确认肾脏无明显的瘀血、苍白或坏死, 即造成肾脏出血大鼠模型, 立即用于实验。

1.3.2 实验分组 37 只大鼠于造模后其中有 3 只大鼠因出血量过大死亡; 另有 2 只大鼠在肾穿刺术后该侧肾脏无尿, 从实验组中剔除。将成功造成单侧肾脏大出血模型的 32 只大鼠, 随机分为 4 组 (每组 8 只), 分别以凝血酶低、中、高剂量 (分别以 125 U/mL、250 U/mL、500 U/mL 的溶液) 三种不同浓度的凝血酶按 5 mL/kg 经输尿管导管行该侧肾盂逆行灌注, 并保留 2 ~ 3 min; 对照组灌注等量的生理盐水。

1.4 检测指标与方法

1.4.1 一般情况 观察动脉收缩血压及一般情况; 2 h 大鼠存活率及肉眼观察肾脏形态学改变。

1.4.2 尿红细胞镜检计数 留取尿液 0.5 ~ 1 mL 充分混匀后, 用微量毛细吸管吸取 2 uL, 加入生理盐水稀释一定倍数 (肉眼血尿稀释 100 倍, 非肉眼血尿稀释 10 倍); 再次充分摇匀, 取稀释后的标本 15 ~ 20 uL 小心滴入血球计数板内, 沉淀 3 min; 在 400 倍显微镜下计数计数池中红细胞数。于灌注前及灌注后 5 min、40 min 各检测一次, 所有标本均由一人 (单盲) 认真仔细操作, 并在留尿后 2 h 内检验完毕。

1.4.3 外周血象检测血色素 在大鼠一侧内眦静脉丛取血 2 uL, 用 AC-900 + 血液分析仪常规测定。

各实验组于逆行输尿管导管给药后 40 min 检测一次。

1.4.4 血清肌酐检测 全自动生化仪,比浊法。各实验组灌注前、灌注后 40 min 各收集一次血清检测。分别在大鼠一侧内眦静脉丛取血 1 mL,测定各组大鼠血清尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)。

1.4.5 出血时间(BT)的测定 参照文献方法^[4],各实验组灌注前、灌注后 40 min 共检测二次。

1.4.6 凝血时间(CT)的测定 参照文献方法^[5],各实验组灌注前、灌注后 40 min 共检测二次。

1.5 统计学处理

实验数据采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析。计量资料采用方差分析和 SNK 检验,计数资料采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法,取 $P < 0.05$ 差别有统计学意义。

2 结果

2.1 局部灌注凝血酶前、后血尿情况的观察比较,见图 1:不同剂量的凝血酶组大鼠肾尿红细胞计数与对照组比较明显降低,差异显著($P < 0.05$);与凝血酶低剂量组比较,中剂量组、高剂量组大鼠尿

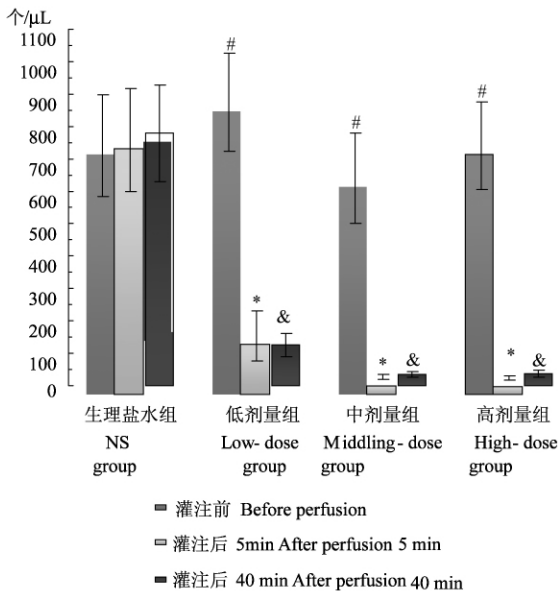


图 1 各实验组对大鼠肾出血造成尿红细胞计数的影响 (103 个/uL)

Fig. 1 The level of red blood cell count in urine by 4 groups
注: GLM repeated measure 检验, SNK 法进行两两比较。

、& 与# 灌注前比较差异显著 ($P < 0.05$) 配对 t 检验。

Indicate: GLM repeated measure test SNK test pairwise comparison, significant difference between before ($P < 0.05$), paired t test.

红细胞计数降低得更为明显 ($P < 0.05$); 中剂量组与高剂量组比较, 无显著差异 ($P > 0.05$); 与灌注前比较, 低剂量组、中剂量组、高剂量组灌注后 5 min 及 40 min 尿红细胞计数水平明显降低 ($P < 0.05$); 对照组灌注前后比较无显著差异 ($P > 0.05$); 各组给药后 5min 与 40min 相比较, 无显著差异 (配对 t 检验 $P > 0.05$)。

2.2 局部灌注 40 min 后的大鼠外周血色素水平的比较, 见图 2 不同剂量的凝血酶组与生理盐水对照组在灌注后 40 min 检测的大鼠外周血色素水平的比较有显著差异 ($P < 0.05$); 其中凝血酶中剂量组灌注后 40 min 大鼠外周血色素水平显著高于低剂量组 ($P < 0.05$); 而与高剂量组相比无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.3 局部灌注凝血酶溶液对大鼠全身凝血功能的影响, 见表 1。

2.4 局部灌注凝血酶溶液对大鼠肾功能的影响, 见表 2。

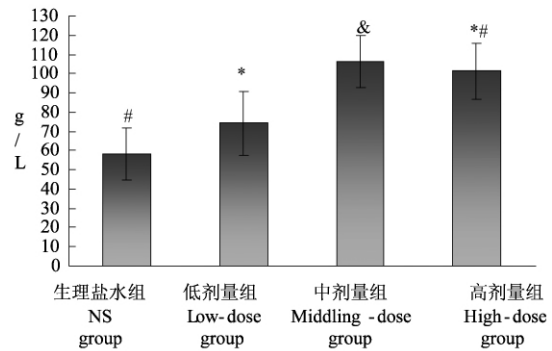


图 2 灌注 40 min 后的大鼠外周血色素的比较

Fig. 2 The level of blood pigment after perfusion 40 min

注: ANOVA $P < 0.05$, * 组与#比较 $P < 0.05$;

&、* #组与* 比较 $P < 0.05$.

Indicate: ANOVA $P < 0.05$, significant difference between * and NS group ($P < 0.05$), significant difference between # and low-dose group ($P < 0.05$).

3 讨论

随着肾脏穿刺装置自动化的改进, 肾脏穿刺活检术后大出血的发生率已明显降低, 但作为创伤性检查, 肾脏穿刺活检术仍有导致出血等并发症的危险。临床上如何既安全地获取满意的肾活检组织, 又减少和控制肾穿刺术后肾出血导致的严重肉眼血尿的发生, 是肾脏科医生关注的问题。对该急症的恰当处理应该成为肾脏病专科人员必备的知识。

表 1 局部灌注前后大鼠凝血时间(CT)和出血时间(BT)的变化

Tab.1 CT and BT in rats before and after perfusion

组别 Group	例数 Number	凝血时间 CT (S)		出血时间 BT (min)	
		灌注前	灌注后 40 min	灌注前	灌注后 40 min
		Before perfusion	after perfusion 40 min	Before perfusion	after perfusion 40 min
对照组 NS group	8	186.80 ± 33.64	176.80 ± 43.24	21.80 ± 4.33	22.80 ± 4.33
低剂量组 Low-dose group	8	173.36 ± 43.12	182.30 ± 48.92	19.36 ± 3.12	19.30 ± 8.92
中剂量组 Middling-dose group	8	191.68 ± 46.24	183.47 ± 37.87	22.68 ± 4.24	19.47 ± 3.87
高剂量组 High-dose group	8	177.35 ± 45.25	188.84 ± 38.34	18.35 ± 3.25	21.84 ± 4.34

注: ANOVA 检验, 各凝血酶组与生理盐水组对出、凝血时间的影响无显著差异 ($P > 0.05$); 各组灌注前、后无显著差异 (配对 t 检验, $P > 0.05$)。Indicate: ANOVA test, Among 4 groups, the difference of BT, CT was not significant ($P > 0.05$), no significance between Before perfusion and after perfusion (paired t test, $P > 0.05$).

表 2 局部灌注前后大鼠血肌酐比较 (umol/L)

Tab.2 The level of serum creatinine before and after perfusion

组别 Group	例数 Number	灌注前 Before perfusion	灌注后 40 min after perfusion 40 min	P 值
生理盐水组 NS group	8	42.81 ± 12.42	44.81 ± 13.53	$P > 0.05$
低剂量组 Low-dose group	8	39.81 ± 13.51	42.81 ± 12.35	$P > 0.05$
中剂量组 Middling-dose group	8	45.81 ± 15.37	52.81 ± 17.15	$P > 0.05$
高剂量组 High-dose group	8	42.81 ± 12.22	42.81 ± 15.11	$P > 0.05$

注: 四组灌注前后无显著差异 (配对 t 检验, $P > 0.05$)。

Indicate: No significance between Before perfusion and after perfusion (paired t test, $P > 0.05$).

肾脏穿刺术后大出血的内科治疗,传统的方法是卧床休息、输血及全身应用止血药物,其中脑垂体后叶素止血效果较好,但大量、长程使用该药物时其副作用大,易造成高血压、肾灌注不足所致的肾前性肾功不全和低钠血症等电解质紊乱。应用全身止血药物,有一定的止血疗效,但大量使用时可出现血块堵塞尿路,甚至造成梗阻性肾衰,引起患者腰痛、尿痛、辗转躁动,导致再次新鲜出血,形成恶性循环;同时,对原发肾脏疾病高凝血血症的患者有致血栓形成的危险。如上述内科药物治疗效果差、持续性出血者应及时进行选择性肾动脉造影和动脉栓塞治疗或外科手术止血甚至摘除肾脏,创伤大,花费多,患者难以接受,易引起医疗纠纷。正因为对肾脏穿刺术后大出血目前没有确定的、有效的内科治疗方法,致使不少病人对其望而却步,心存顾虑,阻碍了肾脏穿刺活检术的推广普及。

受到胃镜局部应用凝血酶治疗上消化道出血^[6]、纤维支气管镜局部应用凝血酶治疗咯血^[7]的启发,我们在临床上试用逆行输尿管导管肾盂局部注射凝血酶治疗肾脏穿刺术后大出血 1 例,疗效明显^[8]。但由于临床上肾脏穿刺术后大出血的发生率低,难以大量样本观察,故设计此动物实验,观察逆行输尿管导管肾盂局部注射凝血酶,治疗肾脏穿刺术后大出血的疗效及安全性。

凝血酶作为凝血因子 II a,可不需经过血液凝固的第一、第二阶段而直接作用于纤维蛋白,使血液

快速凝固、填塞出血点而达到止血的目的。它的作用机理还包括激活凝血因子 VII,增强凝血因子 X III 和 V 的活性,促进血小板发生不可逆的聚集。此外,凝血酶还能促进上皮细胞生成,减少创面渗出,可使创面愈合时间缩短一半^[9]。鉴于凝血酶上述止血特点,该药临床上广泛应用于结扎有困难的小血管、毛细血管及实质性脏器出血的止血。可口服或局部喷洒、涂布,直接作用于出血部位,一般使用浓度为 10 ~ 1000 U/mL,在某些情况下可将凝血酶干粉直接施用在渗血的表面。其止血速度快,疗效确切。创面渗血、出血 2 min 内止血;此外还具有用药方便、安全,不干扰体内凝血功能;对凝血功能障碍者,如血小板减少性紫癜,高血压及慢性肝炎伴凝血功能低下者,仍有良好止血效果;长期、反复及大剂量应用均无明显不良反应,无毒副作用,无刺激性等特点。值得注意的是,凝血酶应用时必须与出血创面直接接触才有效,宜在临用时现配现用,配制液体以 pH 值 7.0、温度 4 ~ 37℃ 的生理盐水为佳。凝血酶疗效与其剂量有一定的量效依存关系。

本实验通过成功建立肾脏出血大鼠模型,应用逆行输尿管导管技术灌注凝血酶溶液进行局部止血的观察,结果表明逆行灌注凝血酶溶液对大鼠肾出血致严重肉眼血尿有明显的止血效果,具有起效迅速、安全,未见有阻塞输尿管等不良反应的优点。与凝血酶低剂量组比较,中剂量组、高剂量组大鼠尿红细胞计数降低得更为显著。本研究为临床上

进一步应用凝血酶提供了实验参考依据。

经肾动脉栓塞是肾脏穿刺活检术后大出血常用的止血方法,效果肯定。但为有创性,对肾脏损伤程度的轻重取决于超选择栓塞准确度的提高及栓塞剂被吸收的时间。同时,动脉栓塞尚有多种并发症,如栓塞后综合征(即恶心、呕吐、局部疼痛和发热等不良反应)、肾血管性高血压、异位栓塞、造影剂肾毒性及过敏反应;动脉插管可造成局部血肿、动脉内膜损伤,严重者还可引起非靶器官被栓塞、肝肾功能衰竭等并发症。

应用逆行输尿管导管局部灌注止血药治疗肾脏穿刺活检术后大出血尤其适合于一般治疗无效或不能耐受手术的患者,能最大限度地保护正常组织特别是肾功能,使患者易于接受。临床医生只要掌握输尿管插管技术就可进行本法治疗,且所用药物价格低廉。对于不具备肾动脉导管技术的基层单位,本方法不失为一简便微创的止血手段,可在临床上进一步推广应用。

参考文献:

[1] 中华医学会. 临床技术操作规范. 肾脏病学分册[M],北京:

人民军医出版社 2009:1-7。

- [2] 陈建,谢福安,高信祥等. 肾活检新技术装置[J]. 中华肾脏病杂志. 1999,15(3) 198-199.
- [3] Shen HB, Lu XM, Zheng QC, et al. Clinical application of laparoscopic spleen-preserving operation in traumatic spleen rupture[J]. Chin J Traumatol, 2005, Oct 8(5): 293-296.
- [4] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民出版社. 1991. 948-949.
- [5] Caione P, Micali S, Rinaldi S, et al. Retroperitoneal laparoscopy for renal biopsy in children[J]. J Urol, 2000, 164(3 pt 2): 1080.
- [6] 李静. 联合凝血酶治疗门脉高压食管静脉曲张破裂大出血疗效探讨. 现代医院[J], 2005, 5(5): 36-37.
- [7] 傅恩清, 金发光, 王琰等. 纤维支气管镜下注入凝血酶与立止血救治咯血疗效对比分析[J]. 中国急救医学, 2005, 25(11): 791-792.
- [8] 陈建, 林沁, 施子禄. 经输尿管导管逆行肾盂灌注凝血酶治疗肾穿刺术后大出血一例[J]. 中华肾脏病杂志, 2009, 25(2) 133.
- [9] 施子禄, 林沁, 陈建. 局部止血药物与材料的应用概况[J]. 中国药房, 2007, 18(4): 307-308

(修回日期)2011-05-05