

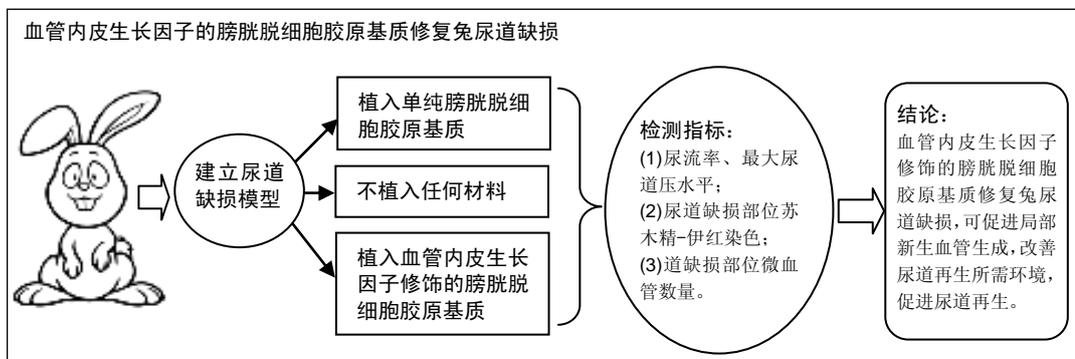
血管内皮生长因子修饰膀胱脱细胞胶原基质修复尿道缺损

李桂立¹, 赵启林² (¹山东医学高等专科学校附属医院, 山东省临沂市 276004; ²山东大学齐鲁医院泌尿科, 山东省济南市 250012)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0921

ORCID: 0000-0002-2796-4809(赵启林)

文章快速阅读:



李桂立, 男, 1976年生, 山东省金乡县人, 硕士, 主要从事生化检验、免疫检验研究。

通讯作者: 赵启林, 硕士, 副主任医师, 山东大学齐鲁医院泌尿科, 山东省济南市 250012

中图分类号: R318

文献标识码: A

稿件接受: 2018-03-28



文题释义:

膀胱脱细胞胶原基质: 采用化学方法去除膀胱壁全层的细胞成分, 保留整个膀胱壁的细胞外基质, 所得框架机械性能、结构与遗传角度更适于膀胱组织的再生。将其作为移植支架材料植入组织缺损部位后, 能为宿主细胞的生长、生殖提供空间, 并在新生组织中不断降解, 发挥一种辅助性作用, 实现组织器官的内重建。

血管内皮生长因子: 又称血管通透因子, 是一种高度特异性的促血管内皮细胞生长因子, 具有促进血管通透性增加、细胞外基质变性、血管内皮细胞迁移、增殖和血管形成等作用, 有 5 种不同的亚型, 根据氨基酸数目分别命名为血管内皮生长因子 121、血管内皮生长因子 145、血管内皮生长因子 165、血管内皮生长因子 189、血管内皮生长因子 206, 其中血管内皮生长因子 165 为主要存在形式。

摘要

背景: 研究表明将血管内皮生长因子修饰的膀胱脱细胞胶原基质作为支架用于尿道缺损中, 有助于缺损部位修复, 促进尿道再生, 但不同实验的结果存在争议。

目的: 探讨血管内皮生长因子修饰的膀胱脱细胞胶原基质修复家兔尿道缺损的效果。

方法: 将 48 只家兔随机分为 4 组, 每组 12 只, 正常组不进行任何处理; 模型组、对照组、实验组建立尿道缺损模型, 模型建立后即刻, 对照组与实验组缺损部分别植入膀胱脱细胞胶原基质、血管内皮生长因子修饰的膀胱脱细胞胶原基质, 模型组不植入任何材料。建模后 1 个月, 检测各组家兔尿流率、最大尿道压, 对尿道缺损部位进行苏木精-伊红染色, 观察尿道组织修复情况及微血管数量。

结果与结论: ①建模后 1 个月, 实验组尿流率、最大尿道压水平高于模型组、对照组 ($P < 0.05$), 与正常组比较差异无显著性意义; 模型组尿流率、最大尿道压水平低于正常组、对照组 ($P < 0.05$); ②建模后 1 个月, 正常组尿道组织清晰, 上皮细胞排列规律; 模型组尿道组织相对模糊, 上皮细胞排列无序, 大量炎性细胞浸润; 实验组黏膜上皮修复良好, 胶原基质部分降解, 可见新生血管, 未见炎性细胞浸润; 对照组黏膜上皮修复一般, 未见明显新生血管, 少许炎性细胞浸润; ③建模后 1 个月, 实验组微血管数量高于其他 3 组 ($P < 0.05$), 对照组微血管数量高于模型组 ($P < 0.05$); ④结果表明, 采用血管内皮生长因子修饰的膀胱脱细胞胶原基质修复家兔尿道缺损, 可促进局部新生血管生成, 改善尿道再生所需环境, 促进尿道再生。

关键词:

膀胱脱细胞胶原基质; 血管内皮生长因子; 尿道缺损; 修复效果; 局部微环境; 动物模型; 血管再生; 生物材料

主题词:

血管内皮生长因子类; 膀胱; 尿道; 组织工程

基金资助:

山东省卫生科研重点课题(2015ZR0156)

Li Gui-li, Master, Affiliated Hospital of Shandong Medical College, Linfen 276004, Shandong Province, China

Corresponding author: Zhao Qi-lin, Master, Associate chief physician, Department of Urology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, Shandong Province, China

Vascular endothelial growth factor-modified bladder acellular collagen matrix for repair of urethral defects

Li Gui-li¹, Zhao Qi-lin² (¹Affiliated Hospital of Shandong Medical College, Linfen 276004, Shandong Province, China; ²Department of Urology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, Shandong Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Modification by vascular endothelial growth factors (VEGF) contributes to the repair of urethral

defects using bladder acellular collagen matrix scaffolds. However, there is a dispute in different experimental results.

OBJECTIVE: To investigate the effect of VEGF-modified bladder acellular collagen matrix in the repair of rabbit urethral defects.

METHODS: Forty-eight rabbits were randomized into four groups ($n=12$ per group): no intervention was done in normal group; an animal model of urethral defect was made in the model, control and experimental groups, followed by implantation of nothing, bladder acellular collagen matrix and VEGF-modified bladder acellular collagen matrix, respectively. Rabbit urinary flow rate and maximal urethral pressure were measured. Hematoxylin-eosin staining was performed on the urethral defects to observe the urethral tissue repair and to detect the number of microvessels at 1 month after modeling.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) At 1 month after modeling, the urinary flow rate and maximal urethral pressure in the experimental group had no statistical significance compared with the normal group ($P > 0.05$), but were significantly higher than those in the model and control groups ($P < 0.05$). The urinary flow rate and maximal urethral pressure in the model group were significantly lower than those in the normal and control groups ($P < 0.05$). (2) At 1 month after modeling, the urethral tissue in the normal group was clear with the epithelial cells being arranged regularly. The urethral tissues in the model group were relatively ambiguous shown by hematoxylin-eosin staining, the epithelial cells were arranged disorderly, and a large amount of inflammatory cells in the repair tissue were infiltrative. The epithelium in the experimental group was well repaired, incompletely degraded collagen matrix and new blood vessels were detected, and no inflammatory cell infiltration was observed. The mucosal epithelium in the control group was generally repaired, but no obvious neovascularization was visible, with a few inflammatory cell infiltrations. (1) At 1 month after modeling, the number of microvessels in the experimental group was significantly higher than that in the other three groups ($P < 0.05$), and the number of microvessels in the control group was also higher than that in the model group ($P < 0.05$). Overall, the use of VEGF-modified bladder acellular collagen matrix in the repair of rabbit urethral defects can promote local neovascularization and improve the environment for promoting urethral regeneration.

Subject headings: Vascular Endothelial Growth Factors; Urinary Bladder; Urethra; Tissue Engineering

Funding: the Hygienic Science and Technology Research Project of Shandong Province, No. 2015ZR0156

0 引言 Introduction

先天性畸形、创伤或肿瘤等疾病均可造成尿道损伤、狭窄或缺损,多数患者需要行手术完成尿道的修复、重建^[1]。传统的外科手术多采用自身包皮、阴囊组织完成原位修复,部分患者采用颊黏膜、膀胱黏膜等自体组织完成缺损部位修复,虽然能满足手术治疗需要,但术后尿道瘘、尿道再狭窄及尿道结石发生率较高,多数患者需要行二次手术^[2]。同时,对于尿道缺损相对较长者,存在自身修复材料不足等问题,难以满足患者修复需要^[3]。国内有研究表明,将膀胱细胞基质作为游离移植物用于尿道缺损中能诱导尿道再生^[4],但是难以从根本上解决植入后局部移植物缺乏血运、挛缩等问题,术后并发症发生率较高。出现这种现象的原因是多方面的,主要是由于移植物填充尿道缺损部位后尿道细胞进入支架,难以解决营养物质进入与代谢产物排出问题^[5]。数据报道显示,对于细胞团块体积超过 3 mm^3 者,无法依靠组织液弥散汲取营养,支持团块内细胞生存,必须利用血管再生方式获得^[6]。

既往研究表明,尿道缺损部位植入支架组织后构建局部组织网络相对较慢,细胞在增殖代谢过程中无法将营养代谢产物及时排出,导致尿道局部微环境发生明显变化,不仅不利于细胞的增殖、迁移,还会影响尿道的缺损修复,增加尿道狭窄等并发症的发生率^[7]。血管内皮生长因子具有诱导血管生成等作用,能改善组织再生微环境,有助于促进细胞的增殖、生长,并且其还能加快内皮细胞再生,利于创面愈合^[8]。

研究表明将血管内皮生长因子修饰的膀胱脱细胞胶原基质作为支架用于尿道缺损中,有助于缺损部位修复,改善尿道再生所需环境,促进尿道再生^[9],但不同学者的实验结果存在争议。因此,实验探讨血管内皮生长因子修饰膀胱脱细胞胶原基质的分离方法,以及其在家兔尿道缺损中的修复效果。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 动物随机对照实验。

1.2 时间及地点 实验于2015年5月至2016年6月在山东大学齐鲁医院完成。

1.3 材料

实验动物: 雄性家兔48只,体质量 $2.5\sim 3.6\text{ kg}$,平均 $(2.94\pm 0.56)\text{ kg}$,由山东大学齐鲁医院医学动物实验中心提供,许可证号:SYXK(鲁)2015-0007;饲养时保持恒温 $(20\pm 2)\text{ }^\circ\text{C}$,恒湿 $50\%\sim 60\%$;实验过程中均进行常规饲养,自由摄食、饮水,光照 12 h ,建模前 12 h 禁食。实验通过医院动物委员会批准同意。

实验主要仪器和试剂: 血管内皮生长因子(瑞典perpotech公司); Triton-x100(sigma公司); 水合氯醛(上海国药集团化学试剂有限公司); 伊红染色剂(北京赛驰生物公司); 相差倒置显微镜(Olympus公司,日本); 尿流率测试仪器(laborie医疗技术公司); 小容量离心机(上海求精设备厂); 包埋用石蜡(北京化学试剂公司); 多任务尿动力系统(11Rel 5 Build 10B, laborie医疗技术公司)。

1.4 方法

1.4.1 血管内皮生长因子修饰膀胱脱细胞胶原基质的制备

膀胱脱细胞胶原基质的制备: 从市场购置新鲜的猪膀胱,保存在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ PBS中,在无菌条件下对膀胱进行修剪,去除周围的筋膜、脂肪组织,从膀胱中间切开,使得膀胱呈片状摊开,利用PBS进行多次反复冲洗,常温下将膀胱放置在含 0.1% 叠氮化钠的PBS中, 24 h 震荡,震荡完毕后放置在浓度为 0.5% 的Triton-x100溶液中,采用PBS漂洗 30 min ,加入浓度 0.5% 胰蛋白酶-EDTA连续消化 24 h ,加入 4% 脱氧胆酸钠、PBS浸泡搅拌 24 h ,最后将获得的膀胱脱细胞胶原基质放置在真空冷冻干燥机中,冻干,经过体积分数 75% 乙醇消毒后,备用^[10]。

表 1 各组家兔尿流率、最大尿道压水平的比较

($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of urinary flow rate and maximum urethral pressure in rabbits among groups

组别	尿流率(mL/s)				最大尿道压(kPa)			
	建模后即刻	建模后 1 个月	t 值	P 值	建模后即刻	建模后 1 个月	t 值	P 值
实验组	3.71±0.15 ^a	3.94±0.21 ^{bc}	11.442	0.032	2.452±0.241 ^a	2.814±0.249 ^{bc}		0.033
对照组	3.70±0.14 ^a	3.89±0.17 ^b	10.894	0.041	2.449±0.240 ^a	2.732±0.245 ^b		0.016
模型组	3.72±0.17 ^a	3.79±0.19	10.846	0.028	2.481±0.243 ^a	2.541±0.248	31.295	0.019
正常组	3.96±0.16	3.96±0.15	-	-	2.842±0.256	2.840±0.251	0.392	0.073
F 值	6.936	7.132			6.442	3.295		
P 值	0.042	0.019			0.034	0.021		

表注：与正常组比较，^a $P < 0.05$ ；与模型组比较，^b $P < 0.05$ ；与对照组比较，^c $P < 0.05$ 。

表 2 建模后 1 个月各组家兔尿道缺损部位微血管数量比较(平均每视野血管数量)

Table 2 Comparison of the number of microvessels (average number of vessels per field of view) at 1 month after modeling among groups

组别	建模后 1 个月
实验组	13.29±3.41 ^{abc}
对照组	11.47±3.29 ^{ab}
模型组	9.12±2.53 ^a
正常组	14.33±4.58
F 值	9.326
P 值	0.029

表注：与正常组比较，^a $P < 0.05$ ；与模型组比较，^b $P < 0.05$ ；与对照组比较，^c $P < 0.05$ 。

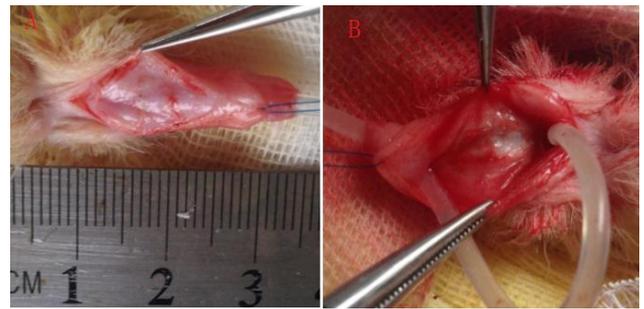


图 1 家兔尿道缺损模型建立及处理过程

Figure 1 Establishment and processing of a rabbit urethral defect model

图注：图中 A 为切开兔阴茎腹侧的包皮、尿道；B 为切除阴茎背侧的尿道，建立模型。

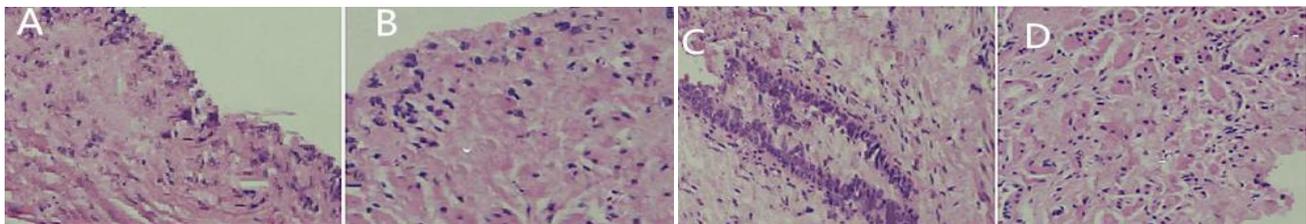


图 2 修复后 1 个月各组家兔尿道缺损部位组织学观察(苏木精-伊红染色, $\times 200$)

Figure 2 Histological observation of the urethral defect site in rabbits at 1 month after modeling (hematoxylin-eosin staining, $\times 200$)

图注：图中 A 为模型组，尿道组织相对模糊，上皮细胞排列无序，大量炎性细胞浸润；B 为对照组，黏膜上皮修复一般，未见明显新生血管，有少量许炎性细胞浸润；C 为实验组，黏膜上皮修复良好，可见未完全降解的胶原基质，且存在新生血管长入，未见炎性细胞浸润；D 为正常组，尿道组织清晰，上皮细胞排列规律。

血管内皮生长因子修饰膀胱脱细胞胶原基质制备：将制备好的膀胱脱细胞胶原基质放置在 0.04 mg/L 血管内皮生长因子溶液中，37 °C 下连续孵化 24 h，振荡后过夜，使得血管内皮生长因子充分与膀胱脱细胞胶原基质混合，制备血管内皮生长因子修饰的膀胱脱细胞胶原基质^[11]。

1.4.2 兔尿道缺损模型建立及分组处理 随机取 48 只家兔中的 12 只，作为正常组，不进行任何干预与处理。

取剩余的 36 只家兔，制作尿道缺损模型。在无菌操作下采用 10.0% 水合氯醛 (0.5 mL/kg) 麻醉兔，待麻醉生效后进行常规消毒、铺巾，对下腹部、会阴部位进行常规备皮、完成阴部清洗。将家兔固定在动物操作台上，充分暴露腹部及会阴部位。将 F8 硅胶尿管放置在膀胱部位，充分引流

后排空膀胱内的残余尿液，利用庆大霉素 (16×10⁴ U) 混合 250 mL 生理盐水经导尿管完成膀胱的清洗。在阴茎头前端牵引线，牵拉伸直阴茎并保持一定张力^[12]。建模过程中以尿管作为支撑，从阴茎侧中部纵行作长为 3.5 cm 的手术切口，依次切开阴茎皮肤、皮下组织，充分暴露尿道，沿着尿道壁钝性分离尿道后壁，完成中段尿道的游离，切除长为 3 cm 的中段尿道，建立家兔尿道缺损模型，利用探针热灼止血加热后完成断端部位的处理，见图 1^[13]。

模型建立后，将 36 只家兔随机分 3 组干预：模型组不采取任何措施处理；对照组采用膀胱脱细胞胶原基质修复，将膀胱脱细胞胶原基质在刻度尺下修剪成 4 mm×10 mm 形态，放置在紫外线下消毒 1 h，然后放置在高温高压超纯水

中水化24 h, 采用6-0可吸收PDS缝线将膀胱脱细胞胶原基质材料修补在尿道缺损部位; 实验组采用血管内皮生长因子修饰的膀胱脱细胞胶原基质修复, 采用6-0可吸收PDS缝线将血管内皮生长因子修饰的膀胱脱细胞胶原基质缝合在尿道缺损部位, 修复完毕后, 利用自制头架固定头颈部3 d。将家兔放置在动物饲养房内, 避免由于尿管、手术刺激引起的烦躁、撕咬, 同时, 每天利用碘对切口部位进行两三次消毒, 注射 1×10^4 U/mL庆大霉素, 保持伤口、周围组织的干燥、清洁, 每天注射 50×10^4 U的青霉素钠, 降低术后感染率, 连续饲养1个月^[14]。

1.5 主要观察指标

一般情况: 观察家兔术后精神状况、饮食。

尿流率、最大尿道压水平: 建模后即刻、建模后1个月, 采用多任务尿动力系统(11Rel 5 Build 10B)测定家兔尿流率、最大尿道压水平^[15]。

苏木精-伊红染色: 修复1个月后, 4组大鼠每组以断颈方式处死家兔3只, 取尿道缺损修复部位组织, 制备切片, 行苏木精-伊红染色, 倒置显微镜下观察缺损部位上皮修复、新生血管数量^[16]。

微血管数量: 建模后1个月, 每组分别取3只家兔, 断颈处死, 取尿道缺损修复部位, 制备切片, 行苏木精-伊红染色, 倒置显微镜下取10个视野, 观察每一个视野下微血管数量, 最后取平均值^[17]。

1.6 统计学分析 采用SPSS 18.0软件进行统计学处理, 计数资料采用 $n/\%$ 表示, 行卡方检验; 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用 F 检验, $P < 0.05$ 提示差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 48只家兔全部进入结果分析, 中途无脱落。

2.2 各组家兔术后一般情况观察 正常组家兔精神状况良好, 正常饮食; 模型组家兔建模后精神状况较差, 1只家兔术后出现感染, 经处理后感染得到控制; 对照组与实验组兔建模后精神状况良好, 能正常饮食, 未见术后并发症。

2.3 各组家兔尿流率、最大尿道压水平的比较 建模后即刻, 实验组、对照组尿流率、最大尿道压水平与阳性对照组比较差异无显著性意义($P > 0.05$), 此3组尿流率、最大尿道压水平均低于正常组($P < 0.05$)。建模后1个月, 实验组尿流率、最大尿道压水平高于模型组、对照组($P < 0.05$), 与正常组比较差异无显著性意义; 模型组尿流率、最大尿道压水平低于正常组、对照组($P < 0.05$), 见表1。

2.4 各组家兔修复后尿道缺损部位苏木精-伊红染色结果 正常组尿道组织清晰, 上皮细胞排列规律; 模型组尿道组织相对模糊, 上皮细胞排列无序, 大量炎性细胞浸润; 实验组黏膜上皮修复良好, 可见未完全降解的胶原基质, 且存在新生血管长入, 未见炎性细胞浸润; 对照组黏膜上皮

修复一般, 未见明显新生血管, 见少许炎性细胞浸润, 见图2。

2.5 各组家兔修复后尿道缺损部位微血管数量比较 实验组建模后1个月微血管数量高于其他3组($P < 0.05$), 对照组微血管数量高于模型组($P < 0.05$), 见表2。

3 讨论 Discussion

先天性或后天性因素引起的尿道狭窄发生率较高, 且目前多以尿道重建手术治疗为主, 而阴茎及阴囊组织均为其首选的修复材料, 虽然能满足基本修复需要, 但是失败率较高, 多数需要进行二次手术^[18]。为了提高尿道缺损修复效果, 多数学者开始尝试利用膀胱黏膜、口腔黏膜等进行尿道缺损修复, 虽然取得了阶段性成果, 但是替代组织的挛缩、尿道重建后再狭窄问题依旧未能解决^[19]。

膀胱无细胞胶原基质能作为天然的支架材料, 是组织工程应用于泌尿系统组织中的研究热点, 其原因是多方面的^[20]: 由于膀胱脱细胞胶原基质在分离、制备过程中去除了细胞成分, 仅保留原有组织的三维结构, 使得该结构中含有大量的胶原、蛋白及血管支架, 后经一系列物理、化学技术处理后制备成为移植体支架材料, 植入组织缺损部位后能为宿主细胞的增殖、生殖提供空间, 并且支架属于是一种高分子材料, 会逐渐在新生组织中不断降解, 使新生组织逐渐代替植入材料, 发挥一种辅助性作用, 实现组织器官的内重建^[21]。同时, 膀胱脱细胞胶原基质材料具备与泌尿组织相仿的强度、拉力等特点, 成本相对低廉, 有助于降低手术风险。研究表明, 由于膀胱脱细胞胶原基质材料中不存在细胞成分, 理论上植入机体后不会与宿主细胞发生排斥反应, 成为使用较多的支架材料^[22]。此次研究中, 实验组修复后的尿流率、最大尿道压水平与正常组比较差异无显著性意义($P > 0.05$), 高于对照组与模型组($P < 0.05$); 对照组建模后1个月的尿流率、最大尿道压水平高于模型组($P < 0.05$)。提示膀胱脱细胞胶原基质用于尿道缺损修复中能发挥一定作用。

尽管膀胱脱细胞胶原基质用于尿道缺损中能发挥作用, 但是实际使用过程中存在瘢痕挛缩、移植体脱落及神经修复不彻底等弊端^[23]。国外学者尝试从血管再生角度改善膀胱脱细胞胶原基质, 尽可能提高移植体再生能力, 实验中向膀胱脱细胞胶原基质中加入碱性成纤维细胞生长因子, 结果表明碱性成纤维细胞生长因子的加入有助于新生血管的形成^[24]。此次课题中尝试将血管内皮生长因子修饰的膀胱脱细胞胶原基质进行尿道缺损修复, 苏木精-伊红染色结果显示, 正常组尿道组织清晰, 上皮细胞排列规律, 局部血供丰富; 模型组尿道组织相对模糊, 黏膜上皮细胞排列无序, 无新生血管; 实验组上皮修复良好, 可见未完全降解的胶原基质, 且存在新生血管长入; 对照组黏膜上皮修复一般, 未见明显新生血管。由此看出: 血管内皮生长因子的加入有助于促进尿道缺损部位新生血管的形成。

血管内皮生长因子属于是一种糖蛋白,在机体内能促进血管内皮细胞的有丝分裂,加速新生血管的形成。国内学者研究表明,血管内皮生长因子是多种血管生成因子中促进血管生成效应最强的因子,属于内皮细胞有丝分裂、微血管渗透性调节的刺激性因素,具备较强的血管再生能力,有助于促进局部组织的修复^[25]。此次研究建模后1个月,实验组的微血管数量高于其他3组($P < 0.05$),对照组微血管数量高于模型组($P < 0.05$)。由此看出,血管内皮生长因子修饰的膀胱脱细胞胶原基质能促进尿道缺损修复部位微血管的形成,利于缺损部位修复。

综上所述,将血管内皮生长因子修饰的膀胱脱细胞胶原基质用于家兔尿道缺损中,能促进局部新生血管生成,改善尿道再生所需环境,促进尿道再生,具有广泛的应用价值。

作者贡献: 李桂立进行实验设计,实验实施为赵启林。

经费支持: 该文章接受了“山东省卫生科研重点课题(2015ZR0156)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

机构伦理问题: 实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。实验动物在麻醉下进行所有的手术,并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。文章的撰写与编辑修改后文章遵守了《动物实验体内实验研究报告规范指南》(ARRIVE 指南)。

写作指南: 该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审,符合本刊发稿宗旨。

生物统计学声明: 本文统计学方法已经山东医学高等专科学校附属医院生物统计学专家审核。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁,可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享3.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

[1] 杜小文,陈浩浩,刘庆,等.内纵外螺旋双层结构管状尿道支架复合体修复尿道缺损的可行性及其血管化方法[J].中华泌尿外科杂志,2017,38(1):59-65.

[2] 徐秀娟,陈恕柱,吴昊,等.保留尿道板尿道下裂修复术后并发症危险因素分析[J].中华男科学杂志,2017,23(4):347-352.

[3] Wang DJ,Li MY,Huang WT,et al.Repair of urethral defects with polylactid acid fibrous membrane seeded with adipose-derived stem cells in a rabbit model.Connect Tissue Res. 2015;56(6):434-439.

[4] 陈刚,白建华,朱新锋,等.脱细胞真皮基质修复猪胆管缺损:促进血管及胆管上皮再生[J].中国组织工程研究,2015,19(43):6940-6945.

[5] Fu Q,Zhang YM,Barbagli G,et al.Factors that influence the outcome of open urethroplasty for pelvis fracture urethral defect (PFUD): an observational study from a single high-volume tertiary care center.World J Urol.2015;33(12):2169-2175.

[6] 王忠新,李钢,洪宝发,等.新型药物缓释尿道支架修复创伤性尿道狭窄[J].中华创伤杂志,2015,31(7):660-663.

[7] Hunter C,Shahrour W,Joshi P,et al.V12-02 pedicle preputial tube for pelvic fracture urethral defect and ischemic bulbar urethra.J Urol.2015;193(4):e977-e977.

[8] 唐勇,李养群,赵穆欣,等.口腔黏膜卷管游离移植一次性重建远段尿道[J].中华整形外科杂志,2017,33(1):34-36.

[9] Kulkarni SB,Shahrour W,Joshi P,et al.V12-01 laparoscopic omentoplasty to support anastomotic urethroplasty in complex and redo pelvic fracture urethral defect patients.J Urol. 2015; 193(4):e977-e977.

[10] 徐月敏,谢弘,吕向国,等.膀胱壁瓣重建新尿道治疗女性全尿道狭窄或缺如的疗效[J].中华泌尿外科杂志,2016,37(8):603-606.

[11] 林海,王玉芸,林国雄,等.带蒂睾丸鞘膜瓣覆盖技术在复发性尿道皮肤瘘修复中的应用[J].中华泌尿外科杂志,2016,37(4):289-291.

[12] Montgomery B,Husmann D.PD44-07 pelvic fracture urethral distraction defect (pfudd) with associated rectal injury: a review of acute and definitive urologic management with long term outcomes. J Urol.2016;195(4):e1000.

[13] 梁锋,章一新,陈昂.腹壁下动脉穿支皮瓣修复外阴癌根治术后创面的方法及效果[J].中国临床解剖学杂志,2016,34(1):33-35.

[14] D'Este M,Sprecher CM,Milz S,et al.Evaluation of an injectable thermoresponsive hyaluronan hydrogel in a rabbit osteochondral defect model.J Biomed Mater Res A. 2016;104(6):1469-1478.

[15] 杨世辉,孙维国,李永乐,等.右美托咪定用于骶管阻滞在小儿尿道下裂修复术后加速康复中的作用[J].广东医学,2017,38(16):2537-2539.

[16] Kulkarni SB,Barbagli G,Joshi PM,et al.Laparoscopic omentoplasty to support anastomotic urethroplasty in complex and redo pelvic fracture urethral defects.Urology.2015;85(5):1200-1205.

[17] 吕军,温海东,彭天洲,等.镶嵌式唇黏膜和膀胱黏膜修复复杂性尿道皮肤瘘的临床疗效分析[J].中华男科学杂志,2016,22(7):621-625.

[18] 唐耘漫,王学军,毛宇,等.横行带蒂岛状包皮瓣尿道成形造瘘术分期矫治尿道下裂[J].中国修复重建外科杂志,2016,9(5):594-598.

[19] 徐月敏,撒应龙,傅强,等.舌黏膜背侧替代一期尿道成形术治疗修复失败的尿道下裂患者的疗效[J].中华泌尿外科杂志,2015,36(3):217-220.

[20] Chen G,Yang L,Lv Y.Cell-free scaffolds with different stiffness but same microstructure promote bone regeneration in rabbit large bone defect model.J Biomed Mater Res A. 2016;104(4):833-841.

[21] 范志强,刘中华,皇甫雪军,等.皮瓣法重建阴茎段尿道在重度尿道下裂分期手术中的应用[J].中华整形外科杂志,2015,31(6):414-418.

[22] 张志勇,于光屹,陶丹丹,等.应用骨髓间充质干细胞复合关节软骨脱细胞基质修复兔软骨缺损的实验研究[J].中国医药指南,2017,15(22):53-54.

[23] [Omlor GW,Kleinschmidt K,Gantz S,et al.Increased bone formation in a rabbit long-bone defect model after single local and single systemic application of erythropoietin.Acta Orthop. 2016; 87(4):425.

[24] 杜昆峰.脂肪干细胞联合血管内皮细胞修复兔尿道缺损的实验研究[D].郑州大学,2016.

[25] 舒雄,郑蕊,杰永生,等.脂肪干细胞复合真皮脱细胞基质修复兔关节软骨缺损的实验研究[J].中国医药生物技术,2017,12(2):143-148.