文章编号:1000-5404(2005)14-1459-04

论著

ATP对正常及DI大鼠离体逼尿肌肌条自发性收缩的影响

李为兵,方 强,杨 昕,宋 波,金锡御 (第三军医大学西南医院全军泌尿外科中心,重庆 400038)

提 要:目的 初步探讨ATP对正常及DI大鼠离体逼尿肌肌条自发性收缩的影响。**方法** 通过建立大鼠逼尿肌不稳定模型,采用离体逼尿肌肌条实验观察ATP对正常及DI大鼠逼尿肌收缩特性的影响。**结果** 成功建立了稳定的大鼠DI模型,成功率76.67%。DI组离体逼尿肌肌条自发性收缩频率及收缩力明显高于对照组;ATP可以明显加快DI组逼尿肌肌条自发性收缩频率,而对收缩力无明显影响。**结论** ATP主要调节大鼠逼尿肌兴奋性方面,而在收缩力方面可能不起重要作用。

关键词:P2X受体;ATP;逼尿肌
中图法分类号:R322.62;R337.2 **文献标识码**:A

Effects of ATP on normal and instability detrusor smooth muscle strips of rat *in vitro*

LI Wei-bing, FANG Qiang, YANG Xin, SONG Bo, JIN Xi-yu (Urinary Surgery Research Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the effects of ATP on normal and instability detrusor smooth muscle strips of rat *in vitro*. Methods Bladder outlet obstruction was established in 40 female Wistar rats by ligating the proximal urethra in the perineum for 6 weeks. Another 20 female rats served as control. The alterative frequency of spontaneous contraction of isolated control and instable detrusor smooth muscle strips underwent the modulation of ATP was studied. Results Reflex micturition remained in conscious rats during *in vivo* cystometric evaluation. There were 76.67% obstructed rats that developed DI. Detrusor smooth muscle strips produced spontaneous contraction under a certain preload and the frequency significantly increased in DI group as compare with control. ATP elevated the contraction frequency of both control and DI detrusor smooth muscle strips with a greater alterative range in DI group. ATP could also influence the contraction tension of the detrusor strips, but without statistic difference. Conclusion ATP plays a very important role in the excitability but not in contraction tension on rat detrusor.

Key words: P2X receptor; ATP; detrusor

嘌呤能神经属于非胆碱能非肾上腺素能神经,它通过分泌神经递质ATP与效应细胞膜上的嘌呤受体相互作用实现功能。有关P2受体在逼尿肌中的作用研究较少。本研究通过建立大鼠逼尿肌不稳定(detrusor instability, DI)模型,采用离体逼尿肌肌条实验观察非特异性P2受体激动剂ATP对正常及DI大鼠逼尿肌收缩特性的影响,初步探讨P2受体在逼尿肌舒缩功能调节中的作用。

基金项目:重庆市应用基础研究项目基金资助课题(2003-31-18)
Supported by the Research Project Foundation for Basic Research and Application of Chongqing (2003-31-18)

作者简介:李为兵(1963-),男,重庆市人,硕士,主任医师,教授,主要从事尿动力学基础及临床方面的研究,发表论文20余篇。电话:(023)68765341

收稿日期:2005-03-04;**修回日期**:2005-05-12

1 材料与方法

1.1 动物

雌性Wistar大鼠60只,体质量120~150 g,购自第三军医大学实验动物中心,用随机数字表法分为梗阻组40只,对照组20只。

1.2 试剂

三水三磷酸腺苷二钠(ATP Disodium $3H_2O$):非特异性嘌呤能受体激动剂,白色粉剂,购自上海生工生物工程技术服务公司,以双蒸水配制成5%溶液备用。Kreb's营养液:一种人工组织液,其溶液中各离子浓度、渗透压、酸碱度与组织液相似。pH约为7.4。每次实验前用蒸馏水新鲜配制,并持续供给95%的O_2和5%的CO_2组成的混合气体。

1.3 仪器

尿动力仪(成都维信有限公司Nidoc970型)、微量灌注泵、

四通道多功能生理信号放大器、拉力传感器、生理信号记录仪、501型恒温水浴器官槽。

1.4 实验方法

1.4.1 大鼠DI模型的建立 膀胱出口部分梗阻模型的建立:大鼠戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉,仰卧固定并消毒后将直径1 mm的探子经尿道插入膀胱。于会阴部尿道与阴道之间剪开皮肤,分离尿道,在尽量靠近膀胱颈处1号丝线缝扎尿道,以稍用力能拔出探子为度,缝合皮肤。

1.4.2 膀胱造瘘 大鼠尿道结扎6周后同上麻醉及固定,切开下腹部,膀胱顶部稍游离,经16号针头将剪有侧孔的硬膜外导管导入膀胱,缝闭穿孔处并固定导管,注水无明显渗漏后,膀胱置回原位,缝合切口,封闭导管远端,经皮下引至大鼠背部固定。对照组同期置管。

1.4.3 充盈性膀胱测压 大鼠置于测压笼中,稍加限制,加垫滤纸以观察排尿情况。导管于背部引出,剪去闭合段,排尽尿液,测压导管经三通管分别与尿动力仪及微量灌注泵相连。待大鼠安静后,开始灌注呋喃西林液,对照组流量0.2 ml/min,梗阻组视膀胱容量设为0.2~0.5 ml/min,排尿时终止灌注并继续测压,完毕后夹闭导管,置回皮下。所有手术或操作后均予腹腔内注射青霉素4万单位。

DI的诊断参照国际尿控协会标准。

1.4.4 体外肌条实验

1.4.4.1 动物分组 饲养6周后,对照组及DI组均随机选取10只大鼠用于肌条实验,体质量250~300 g。

1.4.4.2 逼尿肌肌条制备 于充盈性膀胱测压后第2天,猛击大鼠头部致昏,剪开下腹部,全切膀胱;称重。即刻放入4 ℃ Kreb's营养液中,取膀胱体部组织,去除粘膜及粘膜下组织;纵行切成10 mm×3 mm×3 mm肌条,每个膀胱可做2~3根肌条。

1.4.4.3 体外肌条拉力实验装置 取1根肌条,两端以丝线结扎,一端固定于器官槽底部,另一端与拉力传感器感应头相连。器官槽内充满通以95% O_2、5% CO_2混合气体,37 ℃恒温的Kreb's液。由微调螺旋调节肌条长度。拉力传感器与四通道多功能生理信号放大器相连,检测信号输入计算机。

1.4.4.4 ATP对离体逼尿肌肌条自发性收缩频率的影响 调节微螺旋,牵拉肌条至张力为0.5 g时固定肌条长度。首先检测肌条自发性收缩频率及收缩幅度,而后以浓度为10^{-3} mol/L的ATP(经预实验获得的肌条敏感浓度)作用于肌条,记录自发性收缩频率及收缩幅度。

1.4.4.5 观测指标 收缩频率(次/min):连续位相性收缩中舒张张力在收缩张力最高值1/3以上时,记为1次单收缩,频率记为单位时间内自发性收缩数目平均值;逼尿肌收缩力:指逼尿肌在特定条件下产生收缩的力量大小。在本实验中用体外实验测定肌条拉力代表。计算方法为逼尿肌基础张力之上的收缩幅度值;指标变化率:以用药前测定的频率为基准,(用药后频率-用药前频率)/用药前频率所得比值代表各指标变化率。

1.5 统计学分析

计量资料以$\bar{x}\pm s$表示,组间比较采用t检验,所有统计学处理采用SPSS 10.0软件完成。

2 结果

2.1 动物模型实验结果

成功建立了稳定的大鼠DI模型。梗阻组意外死亡5只,术后局部漏尿5只。模型成功30只,其中23只经充盈性膀胱测压确诊为DI,成功率76.67%(23/30)。两组大鼠生长良好,体质量增加无显著性差异($P>0.05$)。

2.2 肌条实验结果

2.2.1 DI组离体逼尿肌肌条自发性收缩频率明显加快 在相同前负荷下,正常及DI组大鼠离体逼尿肌均可出现自发性收缩,DI组离体逼尿肌肌条自发性收缩频率明显加快,相差显著($P<0.01$)(表1)。

2.2.2 DI组离体逼尿肌肌条自发性收缩力明显增强 在相同前负荷下,DI组逼尿肌自发性收缩收缩力较正常组明显增强,相差非常显著($P<0.01$)(表1)。

2.2.3 ATP对体外逼尿肌肌条自发性收缩频率及收缩力的影响 ATP可明显加快正常逼尿肌自发性收缩频率($P<0.05$),DI逼尿肌在给予ATP干预后自发性收缩频率增快非常显著($P<0.01$)。给药后正常组逼尿肌收缩力有增强趋势,但无统计学意义。而DI组逼尿肌收缩力略有降低(无统计学意义)(表1)。

表1 ATP对正常及DI逼尿肌肌条收缩频率及收缩力的影响($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Changes of tension and contraction frequency of normal and DI rats by 10^{-3} mol/L ATP ($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Group	Control		DI	
	Frequency (min^{-1})	Tension (g)	Frequency (min^{-1})	Tension (g)
Before ATP action	1.19±0.5	0.19±0.04	3.26±0.42△△	0.77±0.34△△
After ATP action	1.54±0.42*	0.20±0.07	4.86±0.64**	0.74±0.27

△△: $P<0.01$, *vs* control; *: $P<0.05$, **: $P<0.01$, *vs* before ATP action

3 讨论

3.1 关于逼尿肌不稳定模型

逼尿肌不稳定的常见原因有膀胱出口部分梗阻(BOO)、神经源性病变及一些特发因素,临床中以BOO最为常见[1]。国外用于制作BOO模型的动物包括大鼠、豚鼠、兔、猫、狗、猪等,其中以大鼠最为常用。方法多为切开大鼠下腹部,分离近端尿道并于近膀胱颈部结扎,获得BOO所致的DI模型[2],但这一方法须解剖大鼠的盆腔结构,创伤较大且可能造成神经损害,术后局部瘢痕有可能造成膀胱变形和尿道缩窄程度的差异,不利于实验结果的标准化。

本实验在会阴部尿道与阴道之间分离尿道,操作

简单且减少了创伤和局部瘢痕，使流出道梗阻的程度在同一组大鼠之间更为稳定，建立了一种方法简单、可重复性高、能多次准确测压、接近生理状态的大鼠 DI 模型，可为膀胱的病理生理和临床治疗研究提供实验依据。

3.2　ATP 作为神经递质参与器官功能调节的作用概况

ATP 最初被认为是一种单纯能源提供物质，但自 1929 年 Drury 和 Szent-Gyorgyi 首次证明腺核苷酸和腺苷在细胞外作用时有明显的生物学效应以来，对于核苷酸和腺苷有关药理学和细胞外作用方面的报道逐渐增多，现在认为 ATP 在细胞外有多种作用，如参与痛觉传导；组织修复等[3,4]。同时越来越多的研究提示细胞外 ATP 参与肌肉舒缩功能调节，这种调节主要通过嘌呤类受体完成，因在不同组织嘌呤受体类型分布不同，ATP 所起作用也不尽相同[5,6]。

嘌呤能神经是非胆碱能非肾上腺素能神经的重要成员之一。根据国际药理协会（IUPHAL）1998 年对受体和药物的分类命名，其中对胞外腺苷敏感的受体称 P1，属 G 蛋白耦联受体家族，包括 A1，A2A、A2B、A3 4 类；胞外核苷酸的受体称为 P2，包括 P2X 和 P2Y 两类，其中 P2Y 属 G 蛋白耦联受体家族，P2X 则是配体 ATP 门控离子通道，到目前为止已发现了 7 种亚型，广泛分布于脑、脊髓、支气管上皮、平滑肌等组织。P2X 受体作用分为神经元和非神经元两个方面。在神经元方面目前认为其主要参与机体的痛觉感受。而在非神经元方面主要参与机体心脏、血管、胃肠道及泌尿生殖系统等处的平滑肌的舒缩功能调节[7]。

3.3　ATP 与膀胱逼尿肌收缩功能之间的关系

对于嘌呤受体在逼尿肌中的作用，O′Reilly 等[8]研究报道 P2X 受体相对特异的 αβ-MeATP 使 P2X 受体失活后对于正常逼尿肌肌条收缩无明显影响，而在 DI 逼尿肌，逼尿肌肌条收缩幅度下降近 50%；Wada 等[9]的膀胱测压实验结果表明，正常及膀胱出口梗阻（BOO）大鼠膀胱最大收缩压在阿托品作用下可分别下降 30% 和 60%，再予以嘌呤受体拮抗剂 PPADS 可使 BOO 组收缩压进一步降低，而对正常膀胱则无作用，提示 P2X 受体对逼尿肌的收缩功能起着重要的调节作用，这种调节作用在不稳定逼尿肌中尤显明显。

逼尿肌的兴奋性是指逼尿肌细胞可以产生动作电位的能力，表现为逼尿肌收缩波，逼尿肌是可兴奋组织，即具有单式平滑肌的自律性，又具有复式平滑肌的植物神经依赖性，其自发性收缩是由造成逼尿肌细胞膜去极化的刺激引起，逼尿肌电兴奋通过兴奋收缩耦联引起逼尿肌收缩[10]。在正常情况下，储尿期逼尿肌保持舒张，不产生收缩，因此，逼尿肌被认为是与胃肠道、心肌等具有自律性的组织不同的特殊类型器官。在本研究中，我们采用牵引逼尿肌肌条产生张力（施加前负荷），观察体外肌条收缩状况，发现无论实验组或对照组肌条在施加一定的前负荷情况下均可产生自发性收缩。这说明在一定的前负荷下，逼尿肌具有产生自发性收缩的能力，也即是说在特定条件下逼尿肌是具有自发兴奋能力的组织[11]。

离体逼尿肌肌条自发性收缩测定结果显示在相同负荷条件下 DI 组逼尿肌的自发性收缩频率较正常逼尿肌明显加快（$P<0.01$），说明 DI 组逼尿肌自发兴奋性较正常逼尿肌高。在给予外源性 ATP 干预后，正常逼尿肌和不稳定逼尿肌自发性收缩频率都明显升高，提示无论在正常逼尿肌以及不稳定逼尿肌 ATP 都可增加肌肉的兴奋性，其中以在不稳定逼尿肌中兴奋性增加更明显，说明在不稳定逼尿肌中嘌呤能受体对肌肉的兴奋性调节作用较在正常逼尿肌中强。而在膀胱分布有由 ATP 介导的 P2X 和 P2Y 受体，P2Y 受体结合 ATP 后也主要起舒张效应，P2X 识别结合 ATP 后可诱导细胞膜去极化引起膀胱收缩。因此我们认为 ATP 可以增加逼尿肌兴奋性，这种兴奋性的增加可能通过 P2X 受体实现，此结果与 Yoshida 等[12]实验结果相符。

逼尿肌的收缩性是指逼尿肌细胞能够在肌膜动作电位的触发下产生的收缩反应，表现为等长收缩的主动张力或等张收缩的收缩速度。逼尿肌内部的组织结构、功能状态以及收缩前的初长度均可影响逼尿肌的收缩性。本实验结果提示：在相同前负荷下，不稳定逼尿肌的收缩力较正常逼尿肌收缩力增加，二者有明显差异，表明 DI 组逼尿肌收缩性较正常逼尿肌强；在给予外源性 ATP 干预后发现给药前后，无论是正常逼尿肌还是不稳定逼尿肌的收缩力都未发生明显改变，结果提示 ATP 在逼尿肌的收缩性改变中可能不起重要作用。

总之，在逼尿肌的舒缩功能调节过程中，ATP 所介导的作用主要体现在提高肌肉兴奋性，这种兴奋性的提高在 DI 逼尿肌尤为明显，对于肌肉收缩性的改变不明显。由于 ATP 可激活 P2X 受体，也可激活 P2Y 受体，这种肌肉兴奋性增高可能由于 P2X 受体变化所致，也可能为 P2Y 受体表达变化引起。逼尿肌上 ATP 受体的表达及其功能尚有待进一步研究。

参考文献：

[1] 杨　航，宋　波，金锡御，等. 清醒状态膀胱测压在大鼠逼尿肌不稳定模型中的应用[J]. 第三军医大学学报，2003，25(22)：2053

-2054.

[2] Gong Y, Song B, Jin X Y, *et al*. Effect of bladder outlet obstruction on detrusor smooth muscle cell: an *in vitro* study[J]. J Surg Res, 2003, 114(2): 202-209.

[3] Schwiebert E M, Zsembery A. Extracellular ATP as a signaling molecule for epithelial cells[J]. Biochim Biophys Acta, 2003, 1615(1-2): 7-32.

[4] Boehm S. Signaling via nucleotide receptors in the sympathetic nervous system[J]. Drug News Perspect, 2003, 16(3): 141-148.

[5] Kumar V, Templeman L, Chapple C R, *et al*. Recent developments in the management of detrusor overactivity[J]. Curr Opin Urol, 2003, 13(4): 285-291.

[6] Vassort G. Adenosine 5′-triphosphate: a P2-purinergic agonist in the myocardium[J]. Physiol Rev, 2001, 81(2): 767-806.

[7] Khakh B S, Burnstock G, Kennedy C, *et al*. International union of pharmacology. XXIV. Current status of the nomenclature and properties of P2X receptors and their subunits[J]. Pharmacol Rev, 2001, 53(1): 107-118.

[8] O'Reilly B A, Kosaka A H, Knight G F. P2X receptors and their role in female idiopathic detrusor instability[J]. J Urol, 2002, 167(1): 157-164.

[9] Wada H, Otomo R, Shimoda N, *et al*. Acceleration of ATP-induced contraction in the obstructed bladder of the rat[J]. Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi, 2003, 94(3): 439-447.

[10] Madersbacher H G. Neurogenic bladder dysfunction[J]. Curr Opin Urol, 1999, 9(4): 303-307.

[11] Montgomery B S, Fry C H. The action potential and net membrane currents in isolated human detrusor smooth muscle cells[J]. J Urol, 1992, 147(1): 176-184.

[12] Yoshida M, Homma Y, Inadome A, *et al*. Age-related changes in cholinergic and purinergic neurotransmission in human isolated bladder smooth muscles[J]. Exp Gerontol, 2001, 36(1): 99-109.

(编辑 周 芳)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2005)14-1462-01

微晶换肤术在面部美容中的应用

Microdermabrasion in facial aesthetic surgery

徐晓霞 (第三军医大学新桥医院整形美容科,重庆 400037)

面部皮肤的各种常见皮损,虽然不会引起功能障碍,但严重影响美观,影响人们的自信心,且某些皮损的治疗效果不太理想。自2003年3月以来,我科采用最新型的微晶换肤术治疗面部皮肤的粗糙老化、粗大毛孔、青春痘痕、各种疤痕、色素斑、细小皱纹等共185例,取得了满意的疗效,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

185例病例均为门诊病人,其中面部皮肤粗糙老化48例,毛孔粗大43例,青春痘痕37例,面部疤痕20例,色斑患者26例,色斑大部分为黄褐斑,部分为痤疮留下的色素沉着,眼、前额、嘴角细小皱纹11例。

1.2 治疗方法

使用英国BHC国际公司生产的"二合一"多功能微晶换肤仪。首先认真做好患者面部皮肤的清洁,保证清除面部油脂并要保持干燥,然后根据患者皮肤特征及治疗部位,选择设置恰当的能量档次,一般选择1~2档,重症可以选择3档。微晶粒子一般用细晶粒,但皮肤比较粗糙有结皮样改变的可用较粗的晶粒。在治疗过程中,患者需平卧在床上,操作者将治疗手柄在患者面部以病变部位为中心,从里到外,由上至下地来回移动、移动的速度要均匀,每次治疗时间为25 min。然后进行15 min再生素增压按摩(英国BHC专有),最后涂上再生素原液,整个过程就结束了。其间患者能感觉到无数细粒在冲击面部,绝大部分人没有不适应感,只有极少皮肤敏感者有灼热感。治疗结束后患者可以立刻进行户外活动或参加社交活动,但一定要注意防晒。每7~10 d接受1次治疗,8~10次为1个疗程,1个疗程后每1~2个月接受1次治疗,以保证效果。

2 结果

1个疗程(8~10次)后,皮肤即可获得彻底改善,肤质明显光洁白嫩。疗效标准按照中华医学美学与美容学会皮肤美容学组制定的标准,治愈:疗效指数>95%,显效:疗效指数70%~95%,有效:疗效指数50%~70%,无效:疗效指数<20%[1]。治疗结果见表1。

表1 各种面部皮损的治疗结果

病种	病例数	治愈数	有效数	无效数	总有效率(%)
皮肤粗糙老化	48	28(58.3%)	20(41.7%)	0	100.0
青春痘痕	37	23(62.2%)	14(37.8%)	0	100.0
毛孔粗大	23	14(60.9%)	9(39.1%)	0	100.0
疤痕	20	12(60.0%)	8(40.0%)	0	100.0
色斑	26	10(38.5%)	14(53.8%)	2(7.7%)	92.3
细小皱纹	11	5(45.5%)	5(45.5%)	1(9.0%)	91.0

作者简介:徐晓霞(1966-),女,湖北省潜江市人,主管技师,主要从事面部美容治疗方面的研究。电话:(023)68774647

收稿日期:2005-03-01;修回日期:2005-05-10

(下转1470页)