文章编号:1000-5404(2006)08-0823-03

论著

急性尿潴留大鼠膀胱功能损害与组织结构改变的关系

李文刚[1],方 强[1],李为兵[1],杨 景[2],宋 波[1],文前军[1] (第三军医大学西南医院:[1]全军泌尿外科中心,[2]病理学研究所,重庆 400038)

提 要:目的 研究急性尿潴留对大鼠膀胱功能和组织结构损害及其二者的关系。**方法** 健康雌性 Wistar 大鼠随机分为正常对照组(C组)及实验组。以2倍于正常膀胱容量生理盐水过度充盈2 h建立急性尿潴留模型。实验组按充盈2 h(E0组,$n=5$)、排空后1 h(E1组,$n=5$)、排空后2 h(E2组,$n=5$)、排空后3 h(E3组,$n=5$)、排空后4 h(E4组,$n=5$)分为5个时相点。测定膀胱容量及最大膀胱收缩压;观察膀胱形态学变化和组织细胞凋亡(TUNEL法)。**结果** 急性尿潴留后膀胱容量及最大膀胱收缩压均降低。E0组膀胱组织表现为轻度炎症反应,细胞凋亡率轻度增加;膀胱排空后(E1-E4组)组织炎症反应明显,以黏膜及黏膜下组织渗出更明显,细胞凋亡率明显增加,明显高于C组和E0组($P<0.01$),E1-E4各组无显著差异($P>0.05$)。**结论** 急性尿潴留后组织炎症渗出及细胞凋亡是膀胱功能改变的结构基础。

关键词:急性尿潴留;膀胱;凋亡;炎症
中图法分类号:R322.62;R334.3;R694.550.2 **文献标识码**:A

Effect of acute urinary retention on tissue damage of bladders in rats

LI Wen-gang[1], FANG Qiang[1], LI Wei-bing[1], YANG Jing[2], SONG Bo[1], WEN Qian-jun[1] ([1]Urinary Surgery Research Center, [2]Department of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the impaired effect of acute urinary retention (AUR) on function and tissue of bladders in rats. **Methods** Thirty female Wistar rats of experimental groups and 5 controls were over-filled with physiological saline to 2-fold normal capacity and remained for 2 h. After 2-hour over-distention (E0 group) and at 1 h (E1 group), 2 h(E2 group), 3h(E3 group) or 4 h (E4 group) after emptying, the cystometry was performed. Finally the bladders of all rats were removed and fixed immediately in formalin for H-E staining and TUNEL assay. **Results** After AUR, the bladder volume and maximal contractive pressure decreased. AUR caused inflammation and cellular apoptosis in bladder. Mild inflammation and slightly increased apoptosis rates appeared in E0 group, severe inflammation and obvious exudation from mucous membrane and submucous tissues in E1 to E4 groups. Apoptosis rates were higher in E1 to E4 groups than in E0 group and control group ($P<0.01$), but no significant difference was observed among E1 to E4 groups ($P>0.05$). **Conclusion** Inflammatory reaction and apoptosis in rat bladders caused by AUR may be structural basis of bladder dysfunction.

Key words: acute urinary retention; bladder; apoptosis; inflammation

急性尿潴留(acute urinary retention, AUR)是泌尿外科常见并发症,其危害是易造成膀胱功能严重受损,膀胱功能延迟恢复,有的甚至无法恢复[1,2]。目前临床上主要采用引流尿液的方法被动等待膀胱功能的恢复。缺乏减轻膀胱损害、促使膀胱功能恢复的措施及对其预后进行有效预测的指标。我们推测急性尿潴留膀胱功能损害必定存在一定的结构基础。为此,我们从AUR后膀胱功能损害与组织形态学变化的关系来研究AUR造成膀胱损害的机制,为治疗和改善AUR引起的膀胱功能不全提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康雌性Wistar大鼠(购自第三军医大学实验动物中心),4~5月龄,体质量(200~245) g。根据预实验结果将30只大鼠完全随机分为6组,每组5只,正常对照组(C组)仅行充盈性膀胱测压。实验组以2倍于正常膀胱容量生理盐水充盈膀胱2 h,按充盈2 h(即未排空)、排空后1 h、排空后2 h、排空后3 h、排空后4 h分为E0组、E1组、E2组、E3组、E4组。

1.2 主要试剂

TUNEL试剂盒(Roche公司),DAB显色试剂盒(北京中山生物技术公司),蛋白酶K(武汉博士德生物技术公司)。

作者简介:李文刚(1966-),男,陕西省蓝田县人,硕士,主治医师,主要从事泌尿外科临床方面的研究,现在解放军303医院工作。电话:13978798190
通讯作者:宋 波,电话:(023)68754186,E-mail: songb-mr@vip.sina.com
收稿日期:2005-09-28;修回日期:2005-12-01

1.3 充盈性膀胱测压

大鼠麻醉后经尿道插入硬膜外导管，4#丝线环绕尿道缝扎、固定导尿管，排空膀胱。导管尾端接T形三通管，一侧端与压力传感器相连，另一端与微量灌注泵连接。以0.9%生理盐水0.1 ml/min灌注膀胱，膀胱容量定为灌注时膀胱压达15 cmH_2O对应的灌注量为膀胱容量(volume，Vol)。在一排尿周期中测定最大膀胱收缩压(Pmax)。

1.4 急性尿潴留大鼠模型的建立

参照Chien等[3]所建膀胱过度充盈模型进行，即充盈性膀胱测压后排空膀胱，以同样灌注速度充盈膀胱，灌注量为2倍的膀胱容量，保持2 h，E0组于充盈2 h不排空膀胱，切开下腹部，切除膀胱放入10%中性甲醛溶液中固定。其余各组分别于排空后1、2、3、4 h切取膀胱并固定。对照组于膀胱测压结束后取材。

1.5 凋亡细胞原位检测

参照试剂盒说明进行，简言之，切片经蛋白酶消化、POD信号转化和DAB染色等步骤，然后显微镜下观察。结果判定：细胞核中有棕黄色颗粒者为阳性细胞。每个标本在10×40倍显微镜下随机选择5个视野，计阳性细胞数、细胞总数，凋亡率=阳性细胞数/细胞总数×100%。

1.6 统计方法

实验结果以$\bar{x}\pm s$表示，采用SPSS 10.0软件进行单变量方差分析。

2 结果

2.1 AUR后膀胱功能改变

对照组与各实验组在膀胱充盈前膀胱容量及Pmax均无统计学差异，急性尿潴留后(E1-E3组)膀胱容量及Pmax均明显降低，与充盈前有显著的统计学差异($P<0.01$)。在排空后4 h Pmax逐渐恢复，与充盈前无显著的差异($P>0.05$)，见表1。

表1 急性尿潴留后膀胱功能的变化

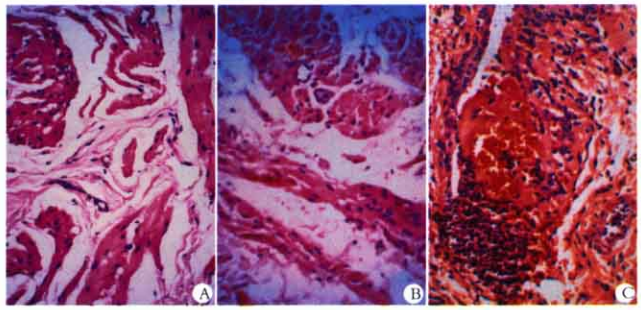
组别	膀胱容量(ml)		最大膀胱收缩压(cmH_2O)	
	Pre-OD	Post-OD	Pre-OD	Post-OD
C	1.08±0.15	-	50.2±8.5	-
E0	1.32±0.19	-	47.4±10.2	-
E1	1.14±0.11	0.60±0.12[a]	48.4±6.9	35.0±4.1[a]
E2	1.18±0.18	0.66±0.09[a]	49.2±5.6	33.4±5.3[a]
E3	1.28±0.19	0.72±0.14[a]	48.0±5.9	36.2±4.4[a]
E4	1.20±0.20	0.68±0.11[a]	48.4±6.0	37.4±6.3
	$F=79.794$，$P<0.01$		$F=55.913$，$P<0.01$	

a：$P<0.01$，与Pre-OD比较

2.2 AUR后膀胱组织形态学改变

正常膀胱组织HE染色显示膀胱移行上皮细胞4～5层，排列整齐，固有层为致密的结缔组织，可见丰富的毛细血管，并见胶原纤维有序排列；肌层细胞呈束，间有血管和结缔组织分布；膀胱外膜为一单层浆膜。正常膀胱组织无渗血和中性粒细胞渗出，在黏膜下层可见散在淋巴细胞，见图1 A。

E0组可见膀胱黏膜层及黏膜下层有少量白细胞渗出，无出血，肌层及浆膜层无异常，见图1 B。膀胱排空后(E1-E4组)膀胱全层组织显示急性炎症改变，以黏膜下层最显著，血管显著充血、扩张，散在中性粒细胞浸润，局部有小脓肿形成，局部黏膜下可见出血，部分黏膜上皮脱落，而肌层炎性反应明显弱于前二者，见图1 C。



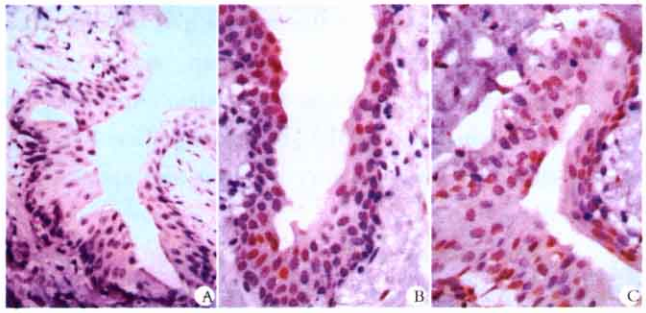
A：对照组；B：E0组；C：E2组

图1 急性尿潴留前后膀胱组织形态学改变 (HE×200)

2.3 AUR后膀胱组织凋亡率变化

正常膀胱组织在黏膜层表面偶见TUNEL染色阳性细胞，肌层及浆膜层未见阳性细胞，见图2A。E0组在膀胱黏膜层可见大量TUNEL染色阳性细胞，而肌层组织偶见TUNEL染色阳性细胞。细胞凋亡率显著高于对照组，有显著的统计学差异($P<0.01$)，见图2B。

E1－E4组膀胱全层组织均可见TUNEL染色阳性细胞，以黏膜层、黏膜下层最显著，肌层及浆膜层也可见散在的阳性细胞；随着排空时间延长凋亡细胞轻度增加，细胞凋亡率远高于对照组和E0组，并有显著的统计学差异($P<0.01$)。而E1-E4组各组间细胞凋亡率无显著的统计学差异($P>0.05$)，见表2、图2C。



A：对照组；B：E0组；C：E2组

图2 急性尿潴留前后膀胱组织细胞凋亡检测 (TUNEL×400)

表2 急性尿潴留前后膀胱组织细胞凋亡率变化

组别	凋亡率(%)
C	0.6±0.1
0	8.2±1.5[a]
E1	19.1±2.4[ab]
E2	19.8±2.5[ab]
E3	20.9±3.0[ab]
E4	21.2±2.6[ab]

$F=73.969$，$P<0.01$；a：$P<0.01$，*vs* C组；b：$P<0.01$，*vs* E0组

3　讨论

AUR 是下尿路梗阻常见的一种并发症，已引起研究者的重视。目前建立 AUR 模型常采用容积恒定法[3]，即给动物以超过正常膀胱容量（多为 2 倍）的生理盐水充盈膀胱，维持 1 ~ 2 h 后排空膀胱。由于 AUR 造成膀胱功能损害主要在尿潴留期和排空早期[4]，所以，我们在观察其对组织损害效应时只设计尿潴留期和排空后 1 ~ 4 h 的形态学改变。

AUR 常可导致膀胱功能的损害，严重者可造成膀胱收缩功能的丧失。近期研究限于 AUR 对逼尿肌收缩功能和神经功能的影响上。Yu 等[4]研究发现膀胱过度充盈前后膀胱神经电活动减低，逼尿肌收缩力下降。我们的结果显示 AUR 后膀胱容量和 Pmax 均减低，提示膀胱顺应性和收缩力减低，与文献结论相一致。目前膀胱出口梗阻时组织学改变的研究主要限于慢性出口梗阻。Levin 等[5]发现慢性膀胱出口梗阻（BOO）时组织学呈现增生、肥大与变性共存改变。另外，膀胱各组织细胞在梗阻后的反应表现存在一定的时间差异最先出现损害的是神经触突变性，而梗阻中晚期出现平滑肌细胞的水肿和变性[6]。然而有关 AUR 引起的膀胱结构损害尚少见文献报道。我们发现 AUR 引起组织损害的程度及表现与慢性梗阻时组织学变化不同。前者组织结构改变以炎症反应及变性坏死为主。即在尿潴留期膀胱组织学改变为轻度的炎症反应和移行上皮细胞的凋亡，膀胱排空后早期组织炎症反应加重，并伴有大量细胞凋亡，以黏膜层及黏膜下层尤明显。此结果说明 AUR 时排空期膀胱组织损害比尿潴留期更严重。Saito 等[7]以急性膀胱充盈模型观察的结果为膀胱过度充盈时血流降低，初始对膀胱功能无明显影响，而充盈 30 min 后膀胱收缩力轻度减低，膀胱排空后血流恢复、逼尿肌收缩力明显降低，推测收缩力减低主要与膀胱组织缺血再灌注损害有关。而 Bratslavsky 等[8]通过膀胱缺血再灌注模型进一步证实了缺血再灌注对逼尿肌收缩力损害作用，再灌注期的损害效应比缺血期更严重。本研究结果从组织形态学支持 AUR 时缺血再灌注引起膀胱的损害。我们在研究中还发现 AUR 时膀胱各层组织对缺血再灌注的耐受性不同，肌层最强，而黏膜及黏膜下层最弱。其原因可能为上皮及黏膜下层组织代谢活跃，对缺血缺氧敏感；另一方面，由于该层组织血管丰富，再灌注时大量白细胞渗出释放活性氧及组织水解酶多，所以其损害更明显。再者可能与基层组织的抗氧化能强有关。

AUR 后膀胱容量减低提示膀胱顺应性降低，而最大膀胱收缩压减低提示逼尿肌收缩力下降。膀胱顺应性降低可能与组织炎症渗出有关。Azadzoi 等[9]证实慢性膀胱出口梗阻后组织炎症介质增多可引起膀胱过度活动，继而导致膀胱顺应性降低。移行上皮细胞凋亡，使膀胱肌层与膀胱腔保护屏障破坏，尿液刺激膀胱也可是膀胱顺应性降低。白细胞渗出释放大量活性氧可造成细胞坏死或凋亡，使有收缩能力的逼尿肌细胞减少，膀胱收缩压降低。在体外 H_2O_2 可直接引起逼尿肌条收缩力降低[10]。缺血缺氧及活性氧可使细胞钙稳态破坏，后者一方面引起细胞兴奋性异常，另一方面可导致细胞凋亡[11,12]。由此可见，AUR 后组织炎症渗出和细胞凋亡是膀胱功能不全的结构基础。

由于 AUR 导致膀胱损害在排空后更严重。因此，治疗 AUR 进行尿液引流时，应减慢尿排出速度，可减轻血流再灌注造成的膀胱组织结构和功能的损害。这为临床治疗急性尿潴留时缓慢排空膀胱提供了实验依据。

参考文献：

[1] ROEHRBORN C G, BRUSKEWITZ R, NICKEL J C, *et al*. Sustained decrease in incidence of acute urinary retention and surgery with finasteride for 6 years in men with benign prostatic hyperplasia[J]. J Urol, 2004, 171(3): 1194 - 1198.

[2] O'LEARY M P. Lower urinary tract symptoms/benign prostatic hyperplasia: maintaining symptom control and reducing complications[J]. Urology, 2003, 62(3 Suppl 1): 15 - 23.

[3] CHIEN C T, YU H J, CHENG Y J, *et al*. Reduction in renal haemodynamics by exaggerated vesicovascular reflex in rats with acute urinary retention[J]. J Physiol, 2000, 526(Pt 2): 397 - 408.

[4] YU H J, CHIEN C T, LAI Y J, *et al*. Hypoxia preconditioning attenuates bladder overdistension-induced oxidative injury by up-regulation of Bcl-2 in the rat[J]. J Physiol, 2004, 554(Pt 3): 815 - 828.

[5] LEVIN R M, CHICHESTER P, HASS M A, *et al*. Obstructive bladder dysfunction: morphological, biochemical and molecular changes[J]. Eur Urol Suppl, 2002, 1(9): 14 - 20.

[6] GOSLING J A, KUNG L S, DIXON J S, *et al*. Correlation between the structure and function of the rabbit urinary bladder following partial outlet obstruction[J]. J Urol, 2000, 163(4): 1349 - 1356.

[7] SAITO M, MIYAGAWA I. Bladder dysfunction after acute urinary retention in rats[J]. J Urol, 2001, 165(5): 1745 - 1747.

[8] BRATSLAVSKY G, KOGAN B A, MATSUMOTO S, *et al*. Reperfusion injury of the rat bladder is worse than ischemia[J]. J Urol, 2003, 170(5): 2086 - 2090.

[9] AZADZOI K M, SHINDE V M, TARCAN T, *et al*. Increased leukotriene and prostaglandin release, and overactivity in the chronically ischemic bladder[J]. J Urol, 2003, 169(5): 1885 - 1891.

[10] AIKAWA K, LEGGETT R E, LEVIN R M. Effect of age on hydrogen peroxide mediated contraction damage in the male rat bladder[J]. J Urol, 2003, 170(5): 2082 - 2085.

[11] FEUERSTEIN G Z. Apoptosis--new opportunities for novel therapeutics for heart diseases[J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2001, 15(6): 547 - 551.

[12] CHAN S L, CULMSEE C, HAUGHEY N, *et al*. Presenilin-1 mutations sensitize neurons to DNA damage-induced death by a mechanism involving perturbed calcium homeostasis and activation of calpains and caspase-12[J]. Neurobiol Dis, 2002, 11(1): 2 - 19.

（编辑　栾　嘉）