文章编号:1000-5404(2006)09-0973-03

论著

急性尿潴留大鼠膀胱组织黄嘌呤氧化还原酶活性变化及其意义

李文刚,方 强,卢根生,宋 波,贾卓敏 (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 探讨在急性尿潴留时大鼠膀胱组织黄嘌呤氧化还原酶(xanthine oxidoreductase, XOD)活性变化的意义。**方法** 以2倍于正常膀胱容量充盈膀胱2 h建立大鼠急性尿潴留模型。分别于充盈2 h及排空后1、2、3、4 h检测膀胱功能及膀胱组织中XOD活性及脂质过氧化产物丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量;并观察超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)对膀胱的保护作用。**结果** 急性尿潴留期膀胱不稳定性收缩频率无显著改变,而排空后其不稳定性收缩频率增加。XOD活性在尿潴留期增高,排空后1 h活性降低,排空后2 h再次升高,随后逐渐降至正常。MDA在尿潴留期轻度增高,排空后早期明显增高,4 h后接近正常对照组水平。SOD治疗后逼尿肌不稳定性收缩频率、XOD活性及MDA含量与排空后2 h比较显著降低($P<0.01$,0.05)。**结论** AUR时黄嘌呤氧化还原酶活性变化特征呈双相性改变。提示AUR后膀胱再灌注损害中内源性活性氧可能起诱导、促进炎症损害作用,外源活性氧在急性尿潴留排空后膀胱功能损害中可能起重要作用。

关键词:急性尿潴留;逼尿肌不稳定;黄嘌呤氧化还原酶;丙二醛;活性氧
中图法分类号:R322.62; R345; R694.550.2 **文献标识码**:A

Changes of XOD activity induced by acute urinary retention in rats

LI Wen-gang, FANG Qiang, LU Gen-sheng, SONG Bo, JIA Zhuo-min (Urinary Surgery Research Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the changes of xanthine oxidoreductase (XOD) activity induced by acute urinary retention (AUR) in rats and its significance. **Methods** Twenty-eight female Wistar rats were used to establish acute urinary retention model by filling bladder with 2-fold bladder volume and maintaining for 2 h. Cystometry, XOD activity and malondialdehyde (MDA) concentration assays were performed at the end of over-distention and 1 h, 2 h, 3 h, 4 h after emptying respectively. The effect of superoxide dismutase (SOD) was observed by injecting 500 U SOD into the left cardiac ventricle of 7 model rats 10 min before emptying. Another 7 rats were filled with normal bladder volume as controls and underwent filling cystonetry. **Results** The frequency of detrusor over-activity increased more obviously after emptying than during over-distention. XOD activity increased obviously during over-distention period as compared to controls, reduced 1 h after emptying, then increased again 2 h after emptying, finally down to normal level slowly. The concentration of MDA increased during over-distention and early period after emptying and peaked at 1 h after emptying and then recovered slowly. After SOD treatment, the frequency of detrusor over-activity, XOD activity and MDA concentration reduced as compared with that in model rats 2 h after emptying ($P<0.01$). **Conclusion** The XOD activity is characterized of diphasic changes, which indicates that exogenous reactive oxygen species (ROS) may play an important role in bladder damage after AUR, while endogenous ROS may induce inflammation and reperfusion injury after AUR.

Key words: acute urinary retention; detrusor overactivity; xanthine oxidoreductase; malondialdehyde; reactive oxygen species

急性尿潴留(acute urinary retention, AUR)可导致膀胱功能损害,本中心前期研究表明氧化应激是导致膀胱功能损害的重要机制之一[1]。但是,有关急性尿潴留时活性氧的来源仍不十分清楚,AUR时膀胱组织产生的内源性ROS在组织损害作用如何,尚少见文献报道。黄嘌呤氧化还原酶(xanthine oxidoreductase, XOD)是病理条件下组织自身产生活性氧的重要途径之一。为此,本研究拟通过动态测定组织黄嘌呤氧化还原酶活性变化了解内源性活性氧在膀胱损害中的作用。

作者简介:李文刚(1966-),男,陕西省蓝田县人,硕士,主治医师,主要从事膀胱功能障碍的临床和基础方面的研究,现在解放军303医院泌尿外科,南宁 530021。电话:(0771)2870137, E-mail: lwg2843610@yahoo.com.cn

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:2006-03-03

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康雌性 Wistar 大鼠 35 只(购自第三军医大学实验动物中心),4~5 个月龄,体质量 200~245 g,完全随机分为 7 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、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;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)治疗组(SOD 组),在膀胱排空前 10 min 经心内注射 1 250 U/ml SOD 0.4 ml,其余处理同 E2 组。

1.2 主要试剂

XOD 活性及 MDA 检测试剂盒(南京建成生物工程公司)、超氧化物歧化酶(SOD,Sigma 公司)。

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 号丝线环绕尿道缝扎、固定导尿管,排空膀胱。导管尾端接 T 形三通管,一侧端与 Dantec 尿动力仪(丹麦)压力传感器相连,另一端与微量灌注泵(3M 公司,美国)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 cm/H_2O 对应的灌注量为膀胱容量并观察膀胱有无不稳定收缩。

1.4 急性尿潴留大鼠模型的建立

参照 Chien 等[2]所建膀胱过度充盈模型进行,即膀胱测压后排空膀胱,以同样灌注速度充盈膀胱,灌注量达到测定膀胱容量的 2 倍,保持 2 h 后排空膀胱,分别于充盈 2 h 及排空后 1、2、3、4 h 行膀胱功能测定,灌注量为过度充盈前所测定的正常膀胱容量,各组动物于测压结束后立即切除膀胱,液氮保存用于 XOD 活性和丙二醛含量测定。

1.5 膀胱组织 XOD 酶及 MDA 测定

XOD 活性及 MDA 含量测定步骤参照试剂盒说明书进行。

1.6 统计学方法

实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计学处理采用 SPSS 10.0 软件进行单变量方差分析、重复测量方差分析及 t 检验。

2 结果

2.1 急性尿潴留前后膀胱不稳定收缩改变

各组大鼠在过度充盈前与对照组大鼠膀胱不稳定收缩频率无统计学差异($P>0.05$),即无或偶发不稳定收缩(0~1 次/10 min)。E0 组即单纯膀胱充盈组,充盈期末不稳定性收缩频率与充盈前相近,无统计学差异($P>0.05$)。而 E1~E4 组在膀胱排空后其不稳定性收缩频率与充盈前相比较发生显著变化:不稳定性收缩显著增加(6.20±2.00)~(8.10±1.70)次/10 min,与充盈前相比有显著的统计学差异($P<0.01$),E1~E4 组在膀胱排空后其不稳定性收缩频率无显著性差异($P>0.05$)。实验组膀胱不稳定性收缩频率在观察时间内未见显著恢复。SOD 治疗组在膀胱排空后其不稳定性收缩频率轻度增加(2.7±0.81 次/10 min),与充盈前有显著的统计学差异($P<0.01$);但与 E2 组比较,SOD 组大鼠膀胱不稳定性收缩频率显著降低,二者有显著的统计学差异($P<0.05$)。说明预先给予 SOD 对膀胱功能有一定保护作用。

2.2 急性尿潴留前后膀胱组织 XOD 活性变化

正常膀胱组织 XOD 活性为(1.06±0.09) U/mg,E0 组其活性明显升高(1.83±0.35) U/mg,排空后早期即 E1 组其活性显著降低,为(1.30±0.20) U/mg,在 E2 组 XOD 活性相对增高(1.61±0.30) U/mg,E3 组、E4 组逐渐恢复。E1、E2 组与对照组比较有显著的统计学差异($P<0.05$);SOD 组 XOD 活性为(1.09±0.09) U/mg,较 E2 组明显降低,有显著的统计学差异($P<0.01$)。

2.3 急性尿潴留前后膀胱组织 MDA 含量变化

正常膀胱组织 MDA 含量在(0.91±0.18) nmol/mg,在膀胱过度充盈期间,组织中 MDA 含量增高,排空后 1 h 达高峰(1.68±0.28) nmol/mg,至排空后 2 h 仍保持高水平,排空后 3 h~4 h 逐渐下降,但仍高于对照组。SOD 组 MDA 含量为(1.06±0.18) nmol/mg,比排空后 2 h 显著降低,二者有显著的统计学差异($P<0.05$)。

3 讨论

膀胱出口梗阻存在典型的缺血再灌注损害[3,4],在此过程中有大量活性氧(ROS)形成,ROS 可引起脂质过氧化、蛋白质及核酸氧化,从而损害组织细胞[5]。我们的结果显示急性尿潴留前后组织中 MDA 含量在排空后明显升高,在排空后同时伴有膀胱不稳定性收缩显著增多;膀胱排空前给予 SOD 一方面降低组织 MDA 含量,同时显著改善了膀胱功能。进一步证实了 ROS 是导致膀胱功能改变的重要原因。与此同时,本研究结果显示急性尿潴留前后不同时间膀胱组织 ROS 形成量不同,主要在膀胱排空后。Saito 等[4]通过急性尿潴留模型亦证实尿潴留后逼尿肌收缩力下降,活性氧主要在膀胱排空后生成,推测 ROS 在膀胱功能损害中发挥重要作用。

目前急性尿潴留后有关 ROS 生成的主要来源一直尚未明确——是以膀胱自身组织为主,还是以膀胱外组织细胞来源为主。Lin 等[5]通过组织形态学改变及化学发光法观察组织活性氧形成,发现膀胱自身组织(上皮、逼尿肌及间叶组织)及血液中中性粒细胞均参与活性氧形成,但是该方法未能区分那种来源占主要。而黄嘌呤氧化还原酶(XOD)主要分布于哺乳类动物组织中,血液中除巨噬细胞外其余血液细胞均无 XOD 存在,在生理情况下多以无活性形式存在,组织缺血缺氧时其活性增高[6]。我们通过测定膀胱组织 XOD 活性,结果显示在尿潴留期末 XOD 酶活性增高,膀胱排空后 1 h 其活性显著下降,排空后 2、3 h 轻度增高,排空后 4 h 恢复正常水平。此结果说明急性尿潴留期膀胱组织活性氧主要由膀胱组织产生,而排空后膀胱自身产生活性氧显著减少,而大量活性氧可能主要源于血液中渗出的中性粒细胞。

根据本研究膀胱功能动态变化及组织 XOD 活性变化特征提示内源性 ROS 参与了膀胱功能损害，但不是起主导作用，而膀胱损害主要发生在膀胱排空后，可能与再灌注期大量中性粒细胞渗出释放活性氧有关。Duilio 等[7] 给予大鼠注射中性粒细胞抗体——抗 CD18，阻止了白细胞粘附、渗出，消除了缺血再灌注造成的心肌损害。我们在实验中观察到与实验组相比较，膀胱排空前给予注射 SOD 减轻了膀胱排空后组织出血、渗出，膀胱功能显著改善。由此可见，内源性活性氧形成增多，在介导膀胱炎症反应、再灌注损害中可能起诱导、促进作用。

XOD 在急性尿潴留时活性变化与心肌组织 ATP、AMP、次黄嘌呤及黄嘌呤变化和 XOD 活性改变不相一致。Zweier 等[8] 发现心肌缺血时 ATP 含量降低，而 AMP、次黄嘌呤及黄嘌呤含量增高，XOD 活性增强。本研究结果显示 XOD 活性呈双相性改变，即尿潴留期（缺血期）酶活性增高，排空早期（再灌注期早期）其活性显著下降，随后轻度增高，然后再逐渐恢复正常。XOD 活性改变的这一特征的原因仍不十分清楚，有待进一步研究。

总之，本研究通过急性尿潴留时组织中 XOD 活性变化初步提示内源性活性氧在膀胱再灌注损害中起诱导和促进炎症反应损伤，而由血液中白细胞渗出后释放的外源性活性氧在急性尿潴留时膀胱功能损害中发挥重要作用。此结果提示在治疗急性尿潴留时可通过多种途径减少活性氧的产生：一是阻止白细胞渗出，如给予粒细胞抗体阻断白细胞黏附；二是在膀胱排空前给予外源性抗氧化剂（如 VitE、VitC、SOD 等）。一方面可清除内源性活性氧，减轻膀胱排空后组织的炎症渗出，从而达到间接减少外源性活性氧的释放；另一方面足量抗氧化剂可直接清除外源性活性氧。通过以上措施综合治疗最终达到减轻活性氧引起的膀胱功能损害。

参考文献：

[1] 李文刚，方　强，杨　景，等. 活性氧在急性尿潴留大鼠膀胱功能损害中的作用研究[J]. 第三军医大学学报，2005，27(4)：331－333.

[2] 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.

[3] 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.

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

[5] LIN A T, CHEN K K, YANG C H, *et al.* Mannitol facilitates rabbit urinary bladder recovery from overdistension injury[J]. Urology, 2000, 56(4): 702－707.

[6] BERRY C E, HARE J M. Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications[J]. J Physiol, 2004, 555(Pt 3): 589－606.

[7] DUILIO C, AMBROSIO G, KUPPUSAMY P, *et al.* Neutrophils are primary source of O2 radicals during reperfusion after prolonged myocardial ischemia[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001, 280(6): H2649－H2657.

[8] ZWEIER J L, BRODERICK R, KUPPUSAMY P, *et al.* Determination of the mechanism of free radical generation in human aortic endothelial cells exposed to anoxia and reoxygenation[J]. J Biol Chem, 1994, 269(39): 24156－24162.

（编辑　栾　嘉）

《现代美容整形外科学》征订启事

由著名美容整形外科专家、第三军医大学西南医院教授领衔主编，国内外数十名经验丰富的美容整形外科专家和学者编撰，系统阐述了以常见经典手术为主的各类美容整形外科手术的基本原则及操作技术等最新知识的专著《现代美容整形外科学》将于2006年4月由人民军医出版社出版，全国发行。本书有以下特点：① 70余位美容整形专家鼎力奉献，中韩13位著名权威专家主编、审定。② 系统介绍了头颅、颅颞、面颈、牙颌、五官、胸壁、乳房、四肢、会阴、生殖器等部位的美容整形手术的适应证、禁忌证、术前准备、麻醉与体位、手术步骤、术中注意要点、术后注意事项、术后处理以及并发症等都进行了详细阐述，并配有大量精细的局部解剖和手术操作示意图或照片。全面阐述了美容整形、显微外科、创伤美容、麻醉、皮肤色斑及体表肿瘤、皮肤软组织扩张、吸脂减肥、组织移植、生物材料、组织工程、瘢痕的预防和治疗的最新知识和冷冻、文刺、计算机、内镜、超声、光子、纳米、激光等技术在美容整形外科的应用。根据当今美容整形外科的发展特点，特别加入了人体美学、心理学、康复医学以及医学美容法规及医疗纠纷的防范等内容。③ 全书共计1848页，插图1160余幅，其中彩色插图80余幅。开本正16开，80 g双面铜版纸彩色印刷。豪华精装加封面套盒。定价：680元/册。

本书作者在参阅国内外大量最新文献的基础上，较全面地反映了美容整形外科学的发展水平。《现代美容整形外科学》是一部系统、全面介绍美容整形外科技术的专著，是从事美容整形外科的工作人员案头必备参考书，是各级各类美容整形医疗单位、医学院校师生、图书馆、资料室重点收藏图书。

邮局汇款：地　址：重庆市沙坪坝区高滩岩正街第三军医大学学报编辑部　　邮　编：400038

联系人：王　红　　电话：(023)68752782，68752189-84