文章编号:1000-5404(2009)19-1821-03

论著

雌性大鼠尿道括约肌组织结构的增龄变化

胡丽娟,杜广辉,胡卫峰,陈 彪,章慧平,叶章群 (华中科技大学同济医学院附属同济医院泌尿外科,武汉 430030)

摘 要:目的 观察尿道括约肌各组织成分年龄变化,探讨与增龄相关的括约肌功能障碍的形态学基础。**方法** 分别取6、12、24、32月龄雌性未生育Fisher大鼠28只,每组7只,尿道标本常规石蜡包埋切片,Masson's Trichrome染色,光学显微镜观察并用计算机图像分析系统定量分析尿道括约肌各组织成分和空间形态的年龄变化。**结果** 尿道横纹肌含量从12月龄开始减少;从24月龄开始尿道黏膜变薄、黏膜下血管数量减少、尿道嵴面积缩小、尿道腔最长径/最短径比值增大,胶原结缔组织含量增加;尿道背侧壁厚度变薄,尿道腔面积扩大仅见于32月龄组。尿道平滑肌和尿道总面积随年龄增加没有发生明显变化。**结论** 随着年龄增长,雌性大鼠尿道横纹括约肌减少致关闭尿道的动力减弱,尿道黏膜变薄使密封效果减弱,尿道腔扩大使关闭距离增加等系列变化可能是增龄相关的尿道括约肌功能障碍性疾病的形态学基础。

关键词: 雌性大鼠;尿道括约肌;老龄改变
中图法分类号: R322.63; R337; R339.3 **文献标识码:** A

Morphological aging change of female rat urinary sphincter

HU Li-juan, DU Guang-hui, HU Wei-feng, CHEN Biao, ZHANG Hui-ping, YE Zhang-qun (Department of Urology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract: Objective To investigate the aging changes of histological components of the urinary sphincter in female rats and explore the morphology to discuss the mechanism of age-related urinary continence dysfunction. **Methods** Twenty-eight adult female nonporous Fisher rats at different ages were divided equally into 4 groups, group Ⅰ (6 months), group Ⅱ (12 months), group Ⅲ (24 months) and group Ⅳ (32 months). The dorsal urethra wall thickness, urethral lumen area, cross section area of crista urethralis, mucosa thickness and area, number of submucosal vessels, the mount of collagen and striated and smooth muscle fibers of the mid-urethra cross-sections of adult female rats at different ages were evaluated by computerized morphometric analysis system after staining with Masson's Trichrome procedure. **Results** The amount of striated muscle fibers was decreased remarkably from 12 months old female rats. The mucosal area, the number of submucosal vessels and the cross section area of crista urethralis were decreased from 24 months (each $P<0.05$). While the amount of collagen ($P=0.047$) and the radio of the longest and shortest urethral diameters ($P=0.049$) were increased. The urethral lumen area ($P=0.026$) and the dorsal urethra wall thickness ($P=0.034$) were changed in 32 months rats. It was verified that the whole urethra area and the amount of smooth muscle fibers did not change significantly with aging (each $P>0.05$). **Conclusion** There are a series of changes in the microarchitecture and morphology of the urinary sphincter with aging. These changes provide insight into the understanding of the aging changes of urethral sphincter function.

Key words: female rats; urinary sphincter; aging

尿道括约肌功能障碍如压力性尿失禁等是中老年女性的常见病和多发病,因其高发病率和对生活质量的显著影响而广受关注[1-4]。新近的研究显示,人类女性尿道括约肌结构和形态随年龄而发生的变化,是中老年女性控尿功能障碍的重要解剖和形态学基础[5]。雌性大鼠是最常用于尿道括约肌结构和功能研究的实验动物之一。然而,有关雌性大鼠尿道括约肌结构和空间形态随年龄而发生变化的特点和规律则

基金项目:国家自然科学基金(30772290);教育部留学回国人员科研启动基金(教外司留[2007]1108)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30772290) and the Starting Foundation for Overseas Returning Scholars of Ministry of Education ([2007]1108)
作者简介:胡丽娟,女,湖北省荆门市人,硕士,主治医师,主要从事泌尿外科和老年医学方面的研究。现在广州市第一人民医院综合外科。电话:(020)81048286,E-mail: hulijuan1997@126.com
通信作者:杜广辉,电话:(027)8362844,E-mail: ghdu@tjh.tjmu.edu.cn
收稿日期:2009-01-15;修回日期:2009-04-28

知之甚少,本研究报告我们对这一问题的观察和研究结果。

1 材料与方法

1.1 动物

正常雌性未生育 Fisher 大鼠共 28 只(中国科学院上海实验动物中心购买),体质量 230 ~ 380 g。按年龄分为 4 组:6 月龄为第 1 组,12 月龄为第 2 组,24 月龄为第 3 组,32 月龄为第 4 组,每组 7 只。

1.2 方法

将 Fisher 大鼠称量体质量,用 0.3% 戊巴比妥钠溶液按 1.0 ml/100 g 剂量的 2/3 进行腹腔注射麻醉。测量体长后取膀胱颈至尿道外口全段尿道标本, Bouins 液固定 2 d。将尿道标本等分为近、中、远 3 段,平均长度为 0.4 cm,取中段尿道常规石蜡包埋切片,厚 5 μm,Masson's Trichrome 染色。光学显微镜观察尿道各层次结构,计算机图像采集系统采集图像,输入 HMIAS-2000 全自动彩色医学图文分析系统(千屏影像技术有限公司,中国)测定和定量分析尿道括约肌各组织成分的变化。在 10 × 10 倍光镜下分别测定以下参数:(1)尿道腔面积 UL 及尿道总面积 UA(μm²)及 UL/UA 值;(2)尿道黏膜层厚度 MT(μm)和面积 MA(μm²)以及 EA/UA 值;(3)尿道嵴面积 CA(μm²)以及 CA/UA 值;(4)尿道最长径 ML(μm)与最短径 MS(μm)及比值;(5)尿道正中背侧壁厚度 DWT(μm);(6)结缔组织占尿道的面积比 CT/UA;(7)平滑肌占尿道的面积比 SM/UA;(8)横纹肌占尿道面积比 STM/UA。在 10 × 40 倍光镜下计数黏膜下血管数 VN。

1.3 统计学方法

数据由 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计分析使用 SPSS 12.0 统计分析软件采用单因素方差分析完成。

2 结果

在 Masson's Trichrome 染色的尿道组织切片上可以清晰地观察和识别尿道壁的显微组织结构:以胶原纤维为主要成份的致密结缔组织呈蓝色,横纹肌纤维呈深红色,平滑肌纤维呈浅红色,细胞核呈蓝褐色,黏膜呈棕红色。雌性大鼠中段尿道从内到外依次为尿道黏膜层、结缔组织层、厚的纵形平滑肌层和薄的环形平滑肌层和横纹肌层。中段尿道存在明显的尿道嵴,横纹肌纤维从尿道前壁向后壁走行,呈倒 U 型排列,其缺口由致密结缔组织板样结构联接。

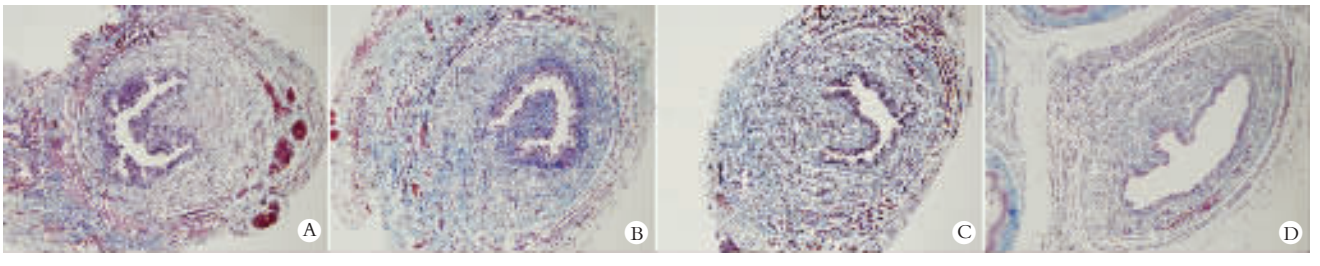
随着年龄增长,光镜下可以看到尿道两侧壁夹角变小,使尿道外形逐渐变扁;横纹肌肌层变薄,尿道壁厚度逐渐变薄,尿道黏膜层变薄,尿道嵴缩小,而尿道腔相应增大;结缔组织增多,其间的血管窦腔隙变大而数量减少而使尿道壁组织渐显疏松(图 1)。尿道括约肌各组织成分变化的定量测定和统计分析见表 1。

从表 1 可以看到:随年龄增加,尿道横纹肌含量减少发生早且显著(12 月龄开始);随后发生显著减少的是尿道嵴及尿道黏膜面积、黏膜厚度、背侧尿道壁厚度、黏膜下血管数(24 月龄开始);尿道腔面积变化最晚(32 月龄);尿道总面积和尿道平滑肌含量随年龄没有明显改变。

3 讨论

女性控尿机制和压力性尿失禁发病机制的研究经历了长期和曲折过程。经过解剖学、组织学、胚胎发育学、电生理学,特别是以单克隆抗体免疫组化染色、计算机三维重建、磁共振显像、现代尿流动力学为代表的新兴技术的研究,目前已明确尿道括约肌特别是由环绕于尿道外层的倒 U 型横纹括约肌是女性实现控尿的主要结构基础[6,7]。尿道横纹肌括约肌、尿道平滑肌括约肌和尿道黏膜下结缔组织和尿道黏膜等结构共同参与构成了一个构造精细而有序的尿道括约肌复合体或称尿道括约肌系统[5,8,9]。

与增龄相关的尿道括约肌功能障碍性疾病如压力



A:6 月龄;B:12 月龄;C:24 月龄;D:32 月龄

图 1 雌性大鼠中段尿道显微组织结构的增龄变化 (Masson Trichrome × 100)

表 1 雌雄大鼠尿道括约肌组织成分和空间形态的增龄变化($n = 7$, $\bar{x} \pm s$)

组别	UA(μm²)	UL/UA	CA/UA	MA/UA	ML/MS	MT(μm)	DWT(μm)	STM/UA	SM/UA	CT/UA	VN
6 月龄	4 581.4 ± 109.4	0.043 ± 0.001	0.055 ± 0.003	0.089 ± 0.002	1.076 ± 0.039	7.826 ± 0.205	37.36 ± 1.35	0.262 ± 0.099	0.191 ± 0.014	0.195 ± 0.006	28.75 ± 6.99
12 月龄	4 653.2 ± 109.1	0.049 ± 0.002	0.049 ± 0.002	0.079 ± 0.009	1.178 ± 0.098	7.198 ± 0.097	36.22 ± 0.14	0.245 ± 0.058[a]	0.204 ± 0.027	0.209 ± 0.007	21.50 ± 0.29
24 月龄	4 453.2 ± 178.1	0.045 ± 0.006	0.038 ± 0.001[a]	0.064 ± 0.005[a]	1.426 ± 0.062[a]	4.758 ± 0.558[a]	29.73 ± 3.39	0.213 ± 0.018[a]	0.198 ± 0.027	0.214 ± 0.054[a]	16.25 ± 0.96[a]
32 月龄	4 273.5 ± 40.5	0.144 ± 0.019[a]	0.022 ± 0.004[a]	0.044 ± 0.008[a]	1.536 ± 0.025[a]	2.583 ± 0.447[a]	26.18 ± 2.61[a]	0.167 ± 0.061[b]	0.174 ± 0.018	0.227 ± 0.006[a]	12.23 ± 0.96[a]

a:$P < 0.05$,b:$P < 0.01$,与 6 月龄比较

性尿失禁的发生与尿道括约肌各组织结构和功能的缺陷和受损有关。Macura 等[10]发现和正常女性相比,压力性尿失禁女性患者的尿道横纹肌明显地短和薄弱,肌肉总量明显减少,并与尿失禁的严重程度有关。Carlile 等[11]对女性尿道各组织成分进行分析发现,随着年龄的增加,女性尿道的横纹肌和血管数量减少,结缔组织成分增加,而平滑肌成分无变化。Strasser 等[12]发现,尿道横纹肌数量的减少与年龄的增加呈现明显的线性关系。Perucchini 等[13,14]对 25 例女尸尿道横纹肌肌纤维数量研究发现,随着年龄增长,尿道横纹括约肌肌纤维的总数和密度进行性下降。以上观察结果提示,女性尿道横纹括约肌数量的减少是尿道控尿功能障碍和压力性尿失禁发生的解剖形态学基础。

研究发现,尽管各物种之间存在细节上的差别,一些雌性动物如雌性大鼠、猪、狗等均具有与人类女性尿道相似的解剖组织结构。其中,雌性大鼠已成为对压力性尿失禁进行基础研究时最常用的模型动物。研究雌性大鼠尿道括约肌组织结构的年龄变化规律和特点,探讨括约肌组织成分的变化对尿道空间构象的影响,有助于从解剖形态学角度直观地理解尿道括约肌组织成分的年龄变化对括约肌控尿功能的影响。

本研究观察发现,构成尿道括约肌系统的各组织成分中,随年龄发生变化的成分有横纹肌、黏膜和黏膜下血管。其中变化最早、最显著的是横纹肌成分,这与在人类女性的发现一致。不同成分发生年龄变化的时间和顺序不同:12 月龄时尿道横纹肌含量即开始减少,24 月龄时尿道黏膜开始变薄、黏膜下血管数量减少。这些变化进一步导致了尿道嵴缩小、尿道腔最长径/最短径比值增大、胶原结缔组织含量增加。尿道背侧壁厚度变薄,尿道腔面积扩大只见于 32 月龄组。尿道平滑肌和尿道总面积随年龄增加没有发生明显变化,这一观察结果也与此前对人类女性尿道以及雌性 beagle 犬尿道平滑肌不随年龄变化的观察相一致[15]。本研究还注意到,尿道括约肌各成分的变化是一个渐进的过程,表现为在月龄相近的组间变化不显著,而在月龄跨度较大的组间变化显著。尿道横纹肌数量的减少将使收缩力下降,尿道闭合压特别是应力期的尿道闭合压降低;黏膜层的变薄使其密封功能降低;黏膜下血管的减少,尿道嵴的缩小使尿道腔隙变大,尿道关闭的距离增大;加上结缔组织的增多使尿道弹性减弱,最终导致控尿段尿道关闭功能减弱,控尿机能受损。

本研究结果显示,雌性大鼠的尿道括约肌随着年龄的增加发生与人类女性相似的组织形态学方面的增龄改变,是研究人类尿道括约肌结构和功能老化的较好动物模型。观察发现,尿道括约肌不同成分发生老年变化的时间和程度不同,这提示我们,在进行预防和治疗性干预时,不同组织成分应给予区别对待,比如进行干细胞尿道括约肌重建治疗女性压力性尿失禁时,以横纹肌细胞作为主要的重建成分可能更具合理性。

参考文献:

[1] Tozun M, Ayranci U, Unsal A. Prevalence of urinary incontinence among women and its impact on quality of life in a semirural area of Western Turkey[J]. Gynecol Obstet Invest, 2009,67(4):241 – 249.

[2] Nygaard I, Turvey C, Burns T L, *et al*. Urinary incontinence and depression in middle-aged United States women[J]. Obstet Gynecol, 2003, 101(1):149 – 156.

[3] 陈　园, 杜广辉, 杨为民,等. 武汉市社区人群尿失禁发病情况的流行病学调查[J]. 临床泌尿外科杂志, 2004,19(5):297 – 299.

[4] Long R M, Giri S K, Flood H D. Current concepts in female stress urinary incontinence[J]. Surgeon, 2008, 6(6):366 – 372.

[5] 杜广辉. 女性尿道括约肌控尿和压力性尿失禁发病的机制[J]. 临床泌尿外科学, 2007, 22(4):241 – 243.

[6] Yucel S, Baskin L S. An anatomical description of the male and female urethral sphincter complex[J]. J Urol, 2004, 171(5): 1890 – 1897.

[7] Zini L, Lecoeur C, Swieb S, *et al*. The striated urethral sphincter of the pig shows morphological and functional characteristics essential for the evaluation of treatments for sphincter insufficiency[J]. J Urol, 2006,176(6 Pt 1): 2729 – 2735.

[8] Kim R J, Kerns J M, Liu S, *et al*. Striated muscle and nerve fascicle distribution in the female rat urethral sphincter[J]. Anat Rec (Hoboken), 2007, 290(2):145 – 154.

[9] Mitterberger M, Pinggera G M, Mueller T, *et al*. Dynamic transurethral sonography and 3-dimensional reconstruction of the rhabdosphincter and urethra: initial experience in continent and incontinent women[J]. J Ultrasound Med, 2006, 25(3):315 – 320.

[10] Macura K J, Genadry R R. Female urinary incontinence: pathophysiology, methods of evaluation and role of MR imaging[J]. Abdom Imaging, 2008,33(3):371 – 380.

[11] Carlile A, Davies I, Rigby A, *et al*. Age changes in the human female urethra: a morphometric study[J]. J Urol, 1988, 139(3): 532 – 535.

[12] Strasser H, Tiefenthaler M, Steinlechner M, *et al*. Age dependent apoptosis and loss of rhabdosphincter cells[J]. J Urol, 2000, 164(5):1781 – 1785.

[13] Perucchini D, DeLancey J O, Ashton-Miller J A, *et al*. Age effects on urethral striated muscle. Ⅰ. Changes in number and diameter of striated muscle fibers in the ventral urethra[J]. Am J Obstet Gynecol, 2002, 186(3):351 – 355.

[14] Perucchini D, DeLancey J O, Ashton-Miller J A, *et al*. Age effects on urethral striated muscle. Ⅱ. Anatomic location of muscle loss[J]. Am J Obstet Gynecol, 2002, 186(3):356 – 360.

[15] Ahmed H, Moriyama N, Fukasawa R, *et al*. Contractile properties of urethral smooth muscles of young and aged female dogs: morphological and pharmacological aspects[J]. Int J Urol, 2000, 7(8):298 – 306.

（编辑　王　红）