DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.22.004
第25卷第22期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 22
2003年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2003

文章编号:1000-5404(2003)22-1975-04

论著

大鼠脊髓横断后逼尿肌的结构与功能变化

李 新[1],庞 建[2],宋 波[1],熊恩庆[1],金锡御[1] ([1]第三军医大学附属西南医院全军泌尿专科中心,重庆 400038;[2]成都市第六人民医院泌尿外科,成都 610051)

提 要:目的 探讨脊髓横断后逼尿肌功能与结构变化的关系。方法 于$L_{1\sim2}$平面横断大鼠脊髓,3周后行膀胱压力容积测定和体外肌条拉力试验,同时使用光、电镜观察比较逼尿肌结构变化。结果 实验组大鼠膀胱体积、湿质量或是膀胱壁厚均较对照组明显增加。平滑肌细胞数量增多、体积增大,伴少量纤维增生。核内颗粒增多,胞浆内肌丝数量增多,细胞间可见大量锯齿状的胞突连接以及较多紧密连接。实验组为低顺应性和不稳定膀胱。在一定张力下逼尿肌有自发性收缩产生。实验组体外肌条自发性收缩频率及收缩力较对照组高。阿托品对肌条自发性收缩频率无影响。结论 逼尿肌反射亢进的形成有着其特殊的原因和病理生理变化,而上述功能及结构变化等肌源性因素在在逼尿肌不稳定的形成中占有重要地位。

关键词:逼尿肌;结构;功能
中图法分类号:R322.81;R338.61;R741.02 文献标识码:A

Changes of structures and functions in detrusor hyperreflexia in rats following spinal cord transection

LI Xin, PANG Jian, SONG Bo, XIONG En-qing, JIN Xi-yu (Center for Urology of PLA, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between the changes of structures and functions of detrusor hyperreflexia. Methods Spinal cord transection (SCT) was performed in rats at the L1-2 level. In week 3 after transection, detection of the bladder pressure and volume and *in vitro* test of the tension of the detrusor strip were performed. Structure changes of the detrusor in SCT and control rats were monitored by cystometry and pathological changes in detrusor were observed with light and electron microscopes. Results The bladders of SCT group were larger and heavier than those of the control. The detrusor smooth muscle cells appeared hypertrophy. More gaps and protrusion junctions were found. Bladders of SCT rats showed lower capacity, lower compliance and hyperreflexia. Detrusors of rats in both groups contracted at definite tension. The contraction frequency in instable group was higher than that in stable group. Atropine had no effect on the spontaneous contraction of detrusor strips. Conclusion Detrusor hyperreflexia is resulted from specific causes and pathophysiological changes. The changes of functions and structures may attribute to the formation of detrusor instability.

Key words: detrusor; structure; function

逼尿肌不稳定(Detrusor instability, DI)是指储尿期出现自发的或诱发的不能抑制的期相性压力大于或等于15 cmH_2O的逼尿肌收缩[1]。发生率高达总人群的39%[2]。绝大多数逼尿肌不稳定者原因不明,骶髓上脊髓损害是常见原因之一,因神经损害所致的逼尿肌不稳定称为逼尿肌反射亢进(Detrusor hyperreflexia, DH)。逼尿肌反射亢进对膀胱储尿功能及上尿路尿液输送功能有极大的影响,治疗困难,许多患者最终死于肾积水引起的肾衰。因DH病因不明,治疗多以对症为主,疗效不佳[3]。本研究通过横断大鼠$L_{1\sim2}$节段脊髓(Spinal cord transection, SCT),制作逼尿肌反射亢进模型,利用尿动力学检查和光、电镜对膀胱逼尿肌的结构变化进行观察,同时切取膀胱逼尿肌肌条行肌条体外收缩实验,观察脊髓横断后逼尿肌自律性和收缩性变化,探讨脊髓横断后逼尿肌反射亢进的机制,为临床治疗逼尿肌反射亢进提供新的思路和方法。

作者简介:李 新(1974-),男,云南省大理市人,博士,主治医师,主要从事排毒功能障碍方面的研究,发表论文14篇。电话:(023)68754186
通信作者:宋 波,电话:(023)68754186
收稿日期:2002-09-18;修回日期:2003-09-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1 材料与方法

1.1 动物分组

采用健康雄性Wistar大鼠37只(第三军医大学实验动物中心提供),体质量180~220 g,随机分为实验组(18只)和对照组(19只)。

1.2 主要试剂

卡巴可(Cabochol,非选择性M受体激动剂)、阿托品(非选择性M受体拮抗剂)购自Sigma公司。

1.3 动物模型制作

1%戊巴比妥钠腹腔注射(38 mg/kg)麻醉下行膀胱造瘘。1周后实验组于L_{1-2}横断脊髓,对照组行假手术。

1.4 膀胱压力容积测定(Cystometry)

所有动物脊髓横断前及3周后均行膀胱压力容积测定(以0.2 ml/min速率灌注生理盐水),记录膀胱压力波形、大小变化。

1.5 肌条收缩实验

全切膀胱,制作8 mm×3 mm×3 mm肌条,于器官槽内与拉力传感器相连。槽内充满37 ℃恒温Kreb液,通以95%O_2、5%CO_2混合气体。检测信号输入计算机,记录逼尿肌肌条自发性收缩频率及收缩力的变化及M受体活性药物对其的影响。

1.6 病理观察

每只大鼠均留存膀胱组织标本,修剪成5 mm×4 mm×4 mm大小,10%福尔马林溶液固定,常规石蜡包埋,HE染色,行光镜检查。另取2 mm×1 mm×1 mm肌肉组织,2%戊二醛溶液固定,制作超薄切片,行透射电镜检查。

1.7 统计学方法

资料采用$\bar{x}\pm s$表示,行t检验和方差分析。

2 结果

2.1 体外肌条收缩实验

2.1.1 体外逼尿肌肌条自律性变化 实验组肌条在较低张力条件下(0.4 g)即出现自发性收缩,逼尿肌在一定张力下(0.5 g)时均有自发性收缩,实验组自发性收缩频率较对照组明显增加($P<0.05$)。使用阿托品孵育肌条后自发性收缩频率变化不明显($P>0.05$),见图1。

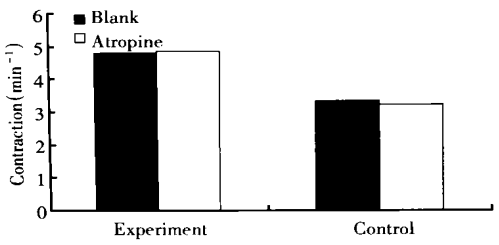


图1 M受体及其亚型对体外逼尿肌肌条自律性的影响

Fig 1 Changes of spontaneous contraction of detrusor strips caused by M receptor and its subunit

2.1.2 逼尿肌肌条收缩力变化 实验组对卡巴可敏感性增强,当卡巴可浓度为10^{-9} mol/L时即引起逼尿肌肌条收缩,对照组肌条则无明显变化;随卡巴可浓度上升,肌条收缩力增强;相同浓度下实验组收缩力较对照组明显增高($P<0.05$),见图2。

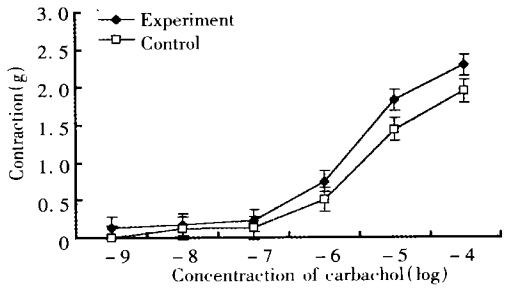


图2 卡巴可引起逼尿肌肌条收缩力变化

Fig 2 Changes of detrusor strip contraction caused by carbachol

2.2 病理观察

2.2.1 大体 实验组大鼠膀胱体积、湿质量或是膀胱壁厚均较对照组明显增加,见表1。

表1 脊髓横断后大鼠膀胱逼尿肌病理变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Pathological changes of rat detrusor after spinal cord transection($\bar{x}\pm s$)

	Volume(mm^3)	Weight (wet)(g)	Thickness of wall(mm)
SCT	168±23 *	1.8±0.4 *	4.2±0.2 *
Control	54±12	0.3±0.1	1.9±0.1

*: $P<0.05$ *vs* control

2.2.2 光镜 可见平滑肌细胞数量增多、体积增大,伴少量纤维增生,见图3、4。

2.2.3 电镜 可见实验组细胞体积增大、核体积增大,核内颗粒增多,胞浆内肌丝数量增多,细胞间可见大量锯齿状的胞突连接以及较多紧密连接,见图5。

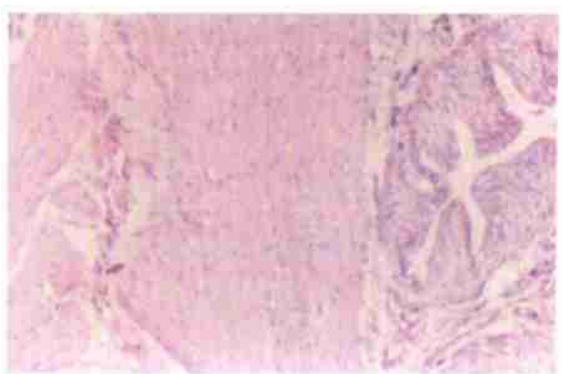


图3 正常膀胱全层切片 (HE×100)

Fig 3 Full-thickness section of normal bladder (HE×100)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

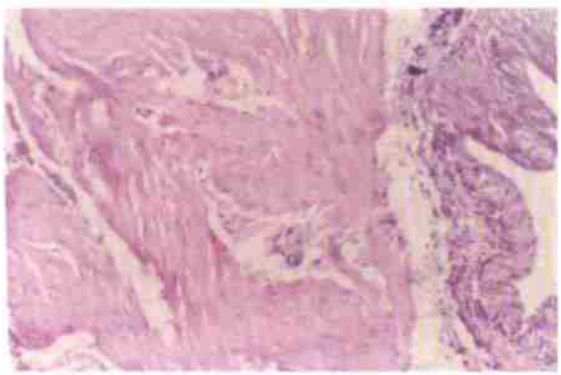
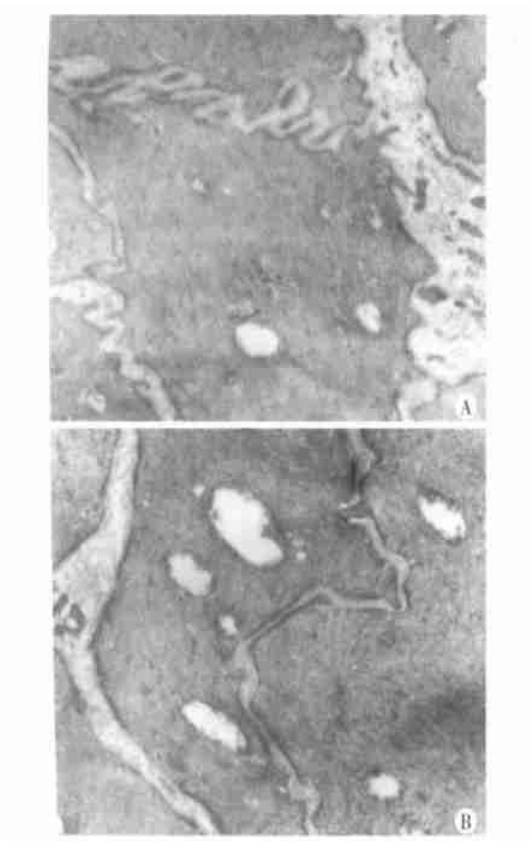


图 4　逼尿肌反射亢进膀胱全层切片　(HE× 100)

Fig 4　Full-thickness section of DH bladder　(HE× 100)



A: Plenty of intercellular denticular junctions are visible　(TEM× 8 000);

B: Plenty of intercellular gap junctions are visible　(TEM× 12 000)

图 5　逼尿肌反射亢进膀胱平滑肌细胞电镜照片

Fig 3　Smooth muscles of DH bladder

2.3　尿动力学检查结果

实验组 18 只大鼠均出现逼尿肌反射亢进, 在充盈过程中出现无抑制收缩波, 膀胱顺应性较对照组增高[分别为(0.015 1±0.032) ml/cmH_2O 和(0.029 9±0.020) ml/cmH_2O], 40 cmH_2O 时膀胱容积较对照组明显减少[分别为(0.604±0.027) ml 和(1.196±0.026) ml](*P*< 0.01)。

3　讨论

膀胱、尿道的舒缩是在神经系统控制下完成的。植物神经、躯体神经、肽能神经、嘌呤能神经、氮能神经等多种神经参与这一活动。神经系统病变必将引起的膀胱、尿道功能失调, 对膀胱储尿功能及上尿路尿液输送功能有极大影响, 治疗手段较多, 但治疗机制不明确, 效果并不理想, 副作用明显。因此有必要对其发生、发展机制进行深入的研究[4]。

平滑肌细胞是机体内分布广泛功能重要的细胞类型之一, 近年来多项观察中相继发现, 随所在器官不同, 平滑肌细胞的超微结构也有相应的不同, 进一步了解其共性及异性具有重要意义。正常情况下, 储尿期逼尿肌保持舒张, 不产生收缩, 因此, 逼尿肌一般被认为是与胃肠道、心肌等自律性组织不同的特殊类型器官[5]。逼尿肌不稳定者在膀胱尚未达到最大容量时即出现不可抑制的逼尿肌收缩, 而在正常情况下, 只有在储尿期末逼尿肌才发生收缩引起排尿[6]。在本研究中, 我们渐进性增加逼尿肌条张力, 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, 实验组在较低的前负荷下逼尿肌即可出现自发性收缩, 在相同负荷条件下实验组逼尿肌肌条收缩频率较对照组明显增高。这说明在特定条件下逼尿肌是具有自发兴奋能力的组织, 实验组逼尿肌产生自发性兴奋的能力增强, 提示逼尿肌自发兴奋能力增加与逼尿肌反射亢进的产生可能有关。

文献中对骶髓上神经损害后逼尿肌收缩力变化报道不一, 有认为收缩力增强, 也有认为收缩力减弱。其可能的解释为因动物模型不同, 尤其是模型时间不同, 以致于逼尿肌代偿状态不同[6]。本实验中以膀胱造瘘引流膀胱, 在很大程度上避免了膀胱过度充盈对逼尿肌的损害。研究显示, 相同卡巴可浓度下实验组肌条收缩力较对照组明显升高, 且实验组在 10^{-9} mol/L 时肌条即有收缩产生, 而对照组则到 10^{-8} mol/L 时方有收缩。这表明 $L_{1\sim2}$ 平面脊髓横断后逼尿肌收缩力升高, 且对卡巴可敏感性增强。产生此现象的可能原因有二: ①$L_{1\sim2}$ 平面脊髓横断后完整保留了骶髓排尿中枢, 形成一种上运动神经元麻痹状态, 骶髓上神经系统对低位神经中枢抑制作用消失, 低位神经中枢逼尿肌核自发性活动提高, 对逼尿肌收缩的易化作用增强; ②失去上位神经元支配后, 对卡巴可的敏感性增强。

M 受体在逼尿肌中含量丰富, 尤以膀胱体部含量最高, 膀胱颈和近侧尿道平滑肌中亦有少量分布, 其兴

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

奋是逼尿肌收缩的主要驱动因素，因此临床上常用抗胆碱能药物治疗 DI，但效果并不理想，副作用明显，在常规治疗剂量下即会引起口干、面红、便秘、视物模糊等副作用。自 1988 年较明确地将 M 受体分为 M_1~$_5$5 种亚型以来，已证明存在于逼尿肌的亚型为 M_2 和 M_3 两种，其中 M_3 与逼尿肌收缩功能密切相关[3]。在本实验中我们发现：①在特定前负荷下，在相对不受神经影响的体外实验中，逼尿肌能自发产生节律性收缩；②在相同实验条件下，不稳定组逼尿肌自发收缩频率显著高于稳定组；③非选择性 M 受体拮抗剂阿托品对逼尿肌自发性收缩频率无影响。本研究显示逼尿肌的自发性收缩并不依赖 M 受体及其亚型。M 受体拮抗剂是临床最主要的治疗逼尿肌不稳定的药物，它并不能有效消除逼尿肌的自发性收缩。这可能是临床应用抗胆碱药物治疗逼尿肌不稳定疗效不理想的主要原因。

目前认为排尿是由神经触发协调一致的逼尿肌收缩引起的，逼尿肌细胞之间需通过中间连接和电偶联使收缩力或电信号由有神经支配的细胞向无神经支配的细胞传递，使逼尿肌细胞收缩同步叠加而排尿。中间连接是平滑肌细胞间机械偶联的媒介，电偶联（如桥粒连接和缝隙连接）则可快速传递细胞收缩的电信号[7]。正常逼尿肌中桥粒和缝隙连接很少或缺乏，在收缩亢进的膀胱中缝隙连接的数量有所上升，这也许就是逼尿肌细胞间电传导易化的结构基础。同样有人发现 BPH 梗阻后逼尿肌不稳定，突触连接和桥粒连接间隙很小，使两个相邻肌细胞成为“合胞体”，能介导快速的细胞电耦连，使得独立有限的肌细胞收缩能通过电耦连传导至邻近肌细胞，使之同时收缩，如传导累及较大的范围，则出现能测出的无抑制收缩。在本实验中，我们发现实验组膀胱体积、重量或是膀胱壁厚均较对照组明显增加，平滑肌细胞增生肥厚，胞浆内肌丝数量增多，但肌细胞之间以及胞内肌丝排列整齐。电镜下可见实验组胞核体积增大，核内颗粒增多，表明细胞处于一种功能较活跃状态，这可能是实验组中逼尿肌收缩力上升的结构基础，但随时间推移是否发生变化尚需进一步研究[8]。同时逼尿肌细胞间出现的大量锯齿状的胞突连接以及较多的桥粒与缝隙连接增加了细胞间接触面积、降低了细胞间的电阻，有利于肌细胞间耦合作用，这与文献报道的膀胱逼尿肌细胞间传导兴奋异常的理论较一致。亦有人用膜片钳技术证实单个逼尿肌细胞具有自发性除极引起兴奋和收缩的能力，逼尿肌反射亢进者自发性除极产生的频率较高[9]。这种逼尿肌兴奋性增高及由于细胞间连接变化引起的兴奋性传导易化可能是脊髓横断后逼尿肌产生不稳定的重要基础之一[10]。

综上所述，结构和功能永远是相辅相成的统一整体，生理学研究已证明平滑肌细胞有节律性及紧张收缩方式之别，而且兴奋扩布特征也有单单元和多单元二型，因此不同部位肌细胞也应具有与此相适应的异质特征。而对于逼尿肌来说，由于其自身结构变化，包括肌细胞自身结构及细胞间连接的变化，为逼尿肌不稳定的发生、发展提供了必要的结构基础。因此，我们认为逼尿肌反射亢进的形成有着其特殊的原因和病理生理变化，而上述功能及结构变化等肌源性因素在在逼尿肌不稳定的形成中占有重要地位[11,12]。

参考文献：

[1] 宋 波. 逼尿肌兴奋性及逼尿肌不稳定[J]. 第三军医大学学报，2003，25(22)：1969－1971.

[2] Ouslander J G，Palmer M H，Rovner B W，*et al*. Urinary incontinence in nursing homes：incidence，remission and associated factors[J]. J Am Geriatr Soc，1993，41(10)：1083－1089.

[3] Andersson K E. The overactive bladder：pharmacologic basis of drug treatment[J]. Urology，1997，50(6A Suppl)：74－84.

[4] Sekar P，Wallace D D，Waites K B，*et al*. Comparison of long-term renal function after spinal cord injury using different urinary management methods[J]. Arch Phys Med Rehabil，1997，78(9)：992－997.

[5] Cardozo L D. Biofeedback in overactive bladder[J]. Urology，2000，55(5A Suppl)：24－28.

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

[7] Zimmen P E，Lin V K，McConnell J D. Smooth-muscle ! physiology[J]. Urol Clin North Am，1996，23(2)：211－219.

[8] Fry C H，Skennerton D，Wood D，*et al*. The cellular basis of contraction in human detrusor smooth muscle from patients with stable and unstable bladders[J]. Urology，2002，59(5Suppl 1)：3－12.

[9] 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.

[10] Fry C H，Wu C，Mundy A R. Bladder instability and detrusor smooth muscle function[J]. Exp Physiol，1999，84(1)：161－169.

[11] Brading A F. A myogenic basis for the overactive bladder[J]. Urology，1997，50(6A Suppl)：57－67.

[12] 李 新，宋 波，李益人，等. M 受体及其亚型与逼尿肌功能的关系研究[J]. 第三军医大学学报，2002，24(2)：164－166.

（编辑 郭建秀）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net