DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.22.003
第25卷第22期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 22
1972 2003年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2003

论著

文章编号:1000-5404(2003)22-1972-03

骶神经根电刺激对大鼠神经源性膀胱储尿功能影响的实验研究

李龙坤,宋 波,金锡御,熊恩庆,曾冬梅 (第三军医大学附属西南医院全军泌尿专科中心,重庆 400038)

提 要:目的 探讨骶神经根埋植式电刺激对大鼠神经源性膀胱储尿功能的影响。方法 制作神经源性大鼠膀胱模型,并将其随机分为电刺激组及对照组,前者予埋植式骶神经根电刺激治疗,后者予假手术,电刺激1个月后观察尿动力学改变及caspase3 mRNA表达的变化。结果 电刺激1个月后膀胱储尿能力明显加强,膀胱容量由(0.59±0.34) ml增加至(0.67±0.09) ml,顺应性由(2.07±0.39) ml/cmH_2O增加至(2.46±0.44) ml/cmH_2O,caspase3 mRNA表达较对照组显著降低[(0.72±0.49) *vs* (1.30±0.10) ml/cmH_2O]。结论 骶神经根电刺激可显著改善神经源性膀胱的储尿能力,并能延缓逼尿肌细胞的凋亡,保存逼尿肌功能。

关键词:骶神经根电刺激;神经源性膀胱;尿动力学
中图法分类号:R694.5;R322.85;R454.1 文献标识码:A

Effects of sacral nerve root stimulation on the urine storage of neurogenic bladder in rats

LI Long-kun, SONG Bo, JIN Xi-yu, XIONG En-qing, ZENG Dong-mei (Center for Urology of PLA, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of sacral nerve root stimulation on the urine storage of neurogenic bladder in rats. Methods Rat model of neurogenic bladder was established. The rats were randomized into the stimulation group and the control group. Sacral nerve root stimulation was performed on rats in the stimulation group, but those in the control group underwent sham operation. After stimulation for 1 month, changes of urodynamics and the Caspase3 mRNA expression were detected. Results After stimulation for 1 month, the bladder capacity increased significantly from 0.59±0.34 to 0.67±0.09 ml, the bladder compliance increased from 2.07±0.39 to 2.46±0.44 and caspase3 mRNA expression significantly decreased against the control group (0.72±0.49 *vs* 1.3±0.10). Conclusion Sacral nerve root simulation can significantly improve the urine storage of neurogenic bladder in rats and can also preserve the functions of the detrusor by means of postponing the apoptosis of detrusor cells.

Key words: sacral nerve root stimulation; neurogenic bladder; urodynamics

神经源性膀胱是泌尿外科的常见疾病,其临床表现多样,病情复杂,治疗亦较为困难。本病最为典型也最有临床意义的表现为患者的储尿期功能障碍,其发生大多直接或间接与骶神经根功能的失调有关,因而骶神经根埋植式电刺激被认为是一种可能的较好的治疗手段,可通过对骶髓排尿及控尿中枢的调节而改善储/排尿[1]。本研究拟探讨骶神经根埋植式电刺激对大鼠神经源性膀胱储尿功能的影响及可能的机制。

1 材料与方法

1.1 动物及处理

1.1.1 动物分组 Wistar大鼠20只,来自第三军医大学实验动物中心,体质量180~220 g,随机分为电刺激组(10只)和对照组(10只)。

1.1.2 膀胱造瘘 1%戊巴比妥钠溶液腹腔注射,麻醉成功后行膀胱造瘘,术后予抗生素腹腔注射,全身抗菌治疗及膀胱冲洗。

1.1.3 脊髓横断 于膀胱造瘘术后1周行脊髓横断。麻醉成功后以8号注射用针头于$L_{1\sim2}$处横断脊髓。所有动物均行脊髓横断。术后加强抗感染治疗。

1.2 安放骶神经根电刺激器

1.2.1 刺激器承制单位 成都电子科技大学维信公司。主要参数:电压8~10 mA,频率15 Hz,波长200 ns,连续刺激4周。

1.2.2 方法 于脊髓横断后1周安放埋植式骶神经根电刺激器。麻醉成功后俯卧位,背部$S_{2\sim4}$入路,行半椎板切除,找到S3神经根(电刺激后会有大拇趾的背曲反应),于前后根交界处安置电极。对照组于相同时间行相同部位假手术。

1.3 尿动力学检测

所有动物均于脊髓横断前、埋植式电刺激后行膀胱压力容

作者简介:李龙坤(1971-),男,四川省大竹县人,博士,主治医师,讲师,主要从事尿动力学方面的研究,发表论文14篇。电话:(023)68754186
通信作者:宋 波,电话:(023)68754186
收稿日期:2002-08-18;修回日期:2003-09-10

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

积测定。测压方法为: 1%戊巴比妥钠腹腔注射, 成功后取俯卧位, 经三通管将膀胱造瘘管与微量灌注泵和尿动力学检查仪连接。标定零点后用微量灌注泵以 0.2 ml/min 速率灌注生理盐水, 同步记录随容积增加膀胱压力波形、大小变化, 至灌注液自尿道口流出时停止灌注, 记为膀胱最大容积, 记录膀胱压力 40 cmH_2O 时膀胱容积。每只动物实验均重复 3 次, 取平均值。

1.4　RT-PCR 方法测定膀胱逼尿肌细胞凋亡指数

两组均参照 Kaushal 等[2] 的方法, 以 RT-PCR 方法检测细胞凋亡指数 Caspase3 mRNA 的表达, 引物及 β-actin 阳性产物内参照由上海生物工程公司进行引物设计, 图像分析采用 Doc Gel 2000 凝胶图像分析系统, PCR 产物量以吸光度 1 nt× 面积表示。以目的产物量与 β-actin 产物量的比值表示最终结果。

1.5　统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 以 SPSS 统计学软件 t 检验。

2　结果

2.1　尿动力学检查

电刺激组接受刺激后膀胱容量显著增加, 膀胱顺应性显著升高, 对照组变化不明显, 见表 1。

表 1　尿动力学变化($\bar{x}\pm s$)

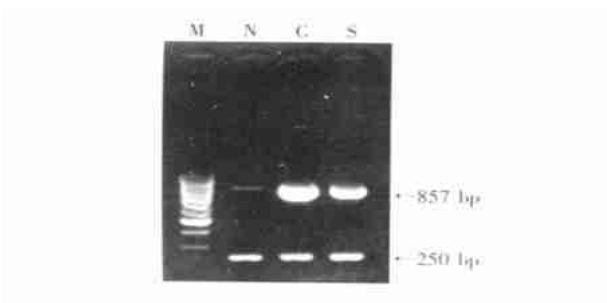
Tab 1　Urodynamic changes($\bar{x}\pm s$)

	Bladder capacity(ml)	Bladder compliance(ml/ cmH_2O)
Control	0.59±0.34	2.07±0.39
Stimulation	0.67±0.09 *	2.46±0.44 *

*: $P<0.05$ *vs* control

2.2　凋亡因子 Caspase3 mRNA 表达变化

放置骶神经根电刺激器组凋亡家族 caspase3 mRNA 表达较之对照组显著减低, 此两组均较正常大鼠表达增高, 见图 1。刺激组产物与 β-actin 比值为 0.72±0.49, 对照组产物与 β-actin 比值为 1.30±0.10 ($P<0.05$)。



M: Marker; N: Normal; C: Control; S: Stimulation

图 1　Caspase3 mRNA 的表达

Fig 1　Caspase3 mRNA expression

3　讨论

脊髓横断是制作神经源性膀胱模型的基本方法, 可采用多个部位, 有胸高位、胸低位及腰高位等。如果横断脊髓平面过高, 动物常因呼吸衰竭和植物神经反射亢进而死亡。如果在胸$_{8\sim10}$平面横断, 则虽然避免了胸腰段脊髓损伤引起的心血管系统功能异常, 但由于横断平面仍很高, 对机体影响较大, 动物体重有较明显的下降, 导致实验结果的不稳定。本实验选取腰$_{1\sim2}$平面横断脊髓, 在保证骶髓排尿中枢($S_{2\sim4}$)完整性的同时, 还减少了自主神经反射异常等机体功能变化对膀胱排尿功能的影响, 因而可以更好地研究脊髓横断后低位排尿中枢与膀胱逼尿肌功能之间的关系。同时, 为防止脊髓横断后的逼尿肌－尿道括约肌协同失调对本研究的影响, 本实验对所有动物均施行膀胱造瘘, 间断开放造瘘管引流膀胱[3~5]。

本研究中所采用的电刺激器是根据埋植式电刺激器的基本原理, 参照国外同类产品而自行设计制造的, 对骶神经根产生了较好的刺激效果, 主要表现在: ①在植入后进行刺激时能检测到收缩反应, 供临床检测是否安放到位; ②中等刺激强度时, 大鼠未有较明显的抵抗及不适反应; ③刺激产生了明显的治疗效果。本研究选择在神经源性膀胱形成早期即进行骶神经根埋植电刺激器治疗, 以改进因截瘫所致的饲养困难, 并可减少脊髓的进行性损害。由于脊髓损伤超急性期时有脊休克存在, 因而本研究采用在膀胱造瘘术后 1 周行骶神经根安放电极治疗, 电极放置时间为 1 个月左右, 收到了较好的治疗效果。由于神经源性膀胱尿道功能障碍的主要表现均发生于膀胱[6], 因而本研究将就电刺激对脊髓损伤后的神经源性膀胱的膀胱功能方面的改变进行探讨。

骶髓上神经损害后逼尿肌收缩力变化: 腰$_{1\sim2}$平面脊髓横断后逼尿肌收缩力升高, 其原因可能在于腰$_{1\text{-}2}$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。

电刺激组与对照组对骶髓上损害后所致功能变化有着不同影响。在骶神经根电刺激组及对照组假手术中, 研究显示经过 1 个月左右的骶神经根埋植电刺激治疗, 两组在尿动力学检查上呈现出较为明显的差异, 电刺激组在膀胱储尿能力、膀胱容量及膀胱顺应性等方面较之对照组均有较为明显的改善, 神经源性膀胱得到较好的控制, 膀胱处于低压储尿状态。

凋亡是正常细胞的一种生理性死亡形式, 时至今日, 其启动和运行机制仍未明了[7]。近年研究表明, 半胱氨酸蛋白酶 caspase 家族在细胞凋亡过程中起着非常重要的作用[8], 其中, caspase-3 的活化参与了细胞凋亡

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

的执行,是凋亡终末途径中不可缺少的效应分子[8]。本研究显示,对照组在行脊髓横断后 caspase-3 mRNA 水平较正常显著升高,而电刺激组与对照组比较则显著降低,显示电刺激骶神经根可明显抑制细胞凋亡,提示电刺激骶神经根可能通过抑制 caspase-3 基因的表达而延缓逼尿肌细胞凋亡,有利于保存残存的逼尿肌功能。

参考文献:

[1] 李龙坤, 宋 波, 金锡御, 等. 电刺激羊盆底肌对尿动力学影响的实验研究[J]. 第三军医大学学报, 2000, 22(3): 257-258.

[2] Kaushal G P, Singh A B, Shah S V. Identification of gene family of caspases in rat kidney and altered expression in ischemia-reperfusion injury [J]. Am J Physiol, 1998, 274(3 Pt 2): F587-595.

[3] Jezernik S, Grill W M, Sinkjaer T. Detection and inhibition of hyperreflexia-like bladder contractions in the cat by sacral nerve root recording and electrical stimulation[J]. Neurourol Urodyn, 2001, 20(2): 215-230

[4] Wang Y, Zhou Y, Mourad M S, *et al*. Neuromodulation reduces urinary frequency in rats with hydrochloric acid-induced cystitis[J]. BJU Int, 2000, 86(6): 726-730.

[5] Shaker H S, Tu L M, Robin S, *et al*. Reduction of bladder outlet resistance by selective sacral root stimulation using high-frequency blockade in dogs: an acute study[J]. J Urol, 1998, 160(3 Pt 1): 901-907.

[6] Walter J S, Wheeler J S, Robinson C J, *et al*. Inhibiting the hyperreflexic bladder with electrical stimulation in a spinal animal model[J]. Neurourol Urodyn, 1993, 12(3): 241-252

[7] Kerr J F, Winterford C M, Harmon B V. Apoptosis: Its significance in cancer and cancer therapy. Cancer, 1994, 73(8): 2013-2026.

[8] Earnshaw W C, Martins L M, Kaufmann S H. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis[J]. Annu Rev Biochem, 1999, 68: 383-424.

[9] Chen J, Nagayama T, Jin K, *et al*. Induction of caspase-3-like protease may mediate delayed neuronal death in the hippocampus after transient cerebral ischemia[J]. J Neurosci, 1998, 18(13): 4914-4928.

(编辑 汪勤俭)

(上接 1971 页)

3 讨论

人体由平原急速进入高原(海拔 3 658 m),由于环境氧分压的急剧降低,机体适应性未充分发挥,导致缺氧状态。由于缺氧造成的低氧血症对主动脉体及颈动脉窦化学感受器的刺激,反射性地刺激呼吸中枢,使呼吸加深加快;同时兴奋交感神经使心率加快,搏血量增多,多向组织供血、供氧;血液重新分配,脾血管收缩,排出贮存血,以利于更多的血红蛋白携氧进入组织[1]。由本研究结果可知,急进高原 1、3 d 时血清中电解质,肝功、肾功等指标与平原时相比无明显变化。提示急进高原对人体的肝、肾功能无明显影响。但心肌酶谱有明显改变。

心肌细胞含有多种酶类,参与多种重要的生理代谢过程,血清中心肌酶活性的改变可反映心肌细胞的破坏或细胞膜通透性的改变。人体急进高原时,由于缺氧、心率增快、搏出量的增加,明显刺激心肌,使心肌细胞膜通透性升高,引起胞内酶的大量释放。其中,LD 和 HBD 在急进高原 1 d 时活性增加最明显,3 d 时仍然非常明显地高于平原时水平,但与 1 d 时相比,两酶的活性有明显下降,说明随着进入高原时间的增加,机体逐渐适应,心肌细胞缺氧状况减轻,细胞膜通透性逐渐恢复。AST 活力虽然在 1 d 时明显增加,但急进高原 3 d 时就明显降低,与平原时无显著差异。CK 活力无显著变化。由于本实验未测定 CK-MB,因此用总 CK 活力反映心肌细胞膜通透性特异性稍差。文献[2,3]报道高原对人体血清心肌酶的影响,结果与本研究相似。但本实验采取同一个体前后对照的方法进行研究,结果更准确可靠。

高原缺氧引起心肌细胞膜通透性改变可能由于:①缺氧、低压等应激使细胞膜 ATP 酶活力降低,致使细胞内某些生化反应不全或障碍,细胞活动功能降低,细胞膜代谢障碍从而通透性增高[4],使 LD、HBD、AST 3 种酶溢出增多,导致血清中酶活性增高。②高原环境低氧压引起 Na^+ 泵功能下降,Na^+ 在细胞内积聚,胞内渗透压升高,细胞膜稳定性下降,也使胞内酶溢出增加[4]。③低氧和较强紫外线的高原环境使机体内自由基产生增多,细胞膜的脂质过氧化损伤增高[5],使心肌细胞受损,细胞膜的通透性升高。④急性氧分压下降引起肺小动脉痉挛,产生肺动脉高压,Ca^{2+} 内流,线粒体膜受损,破坏三羧酸循环和电子传递,产能障碍[5],使细胞膜通透性增加。⑤低氧应激使儿茶酚胺类物质分泌增加,也导致心肌酶活力升高。

总之,急进高原时低氧、低压等应激主要使人体的心肌细胞膜通透性增加,其影响主要发生在急进高原的第 1、3 天后血清中心肌酶活性明显下降,细胞膜通透性逐渐恢复。

关键词:急进高原;LD;HBD;AST
中图法分类号:R446 文献标识码:B

参考文献:

[1] 西藏军区总医院编. 高原病学[M]. 拉萨:西藏人民出版社, 2001. 39-40.

[2] 吴明延, 于 晟, 解好群, 等. 青年士兵进驻不同海拔高度血液生化全项的改变[J]. 高原医学杂志, 2001, 11(1): 6-7.

[3] 崔建华, 张西洲, 何富文, 等. 进驻高原不同海拔高度不同时间健康青年血清心肌酶活性的变化[J]. 西藏医药杂志, 1999, 20(3): 3-5.

[4] 张彦博. 人与高原[M]. 西宁:青海人民出版社, 1996. 142-149.

[5] 周其全, 支东学, 高丽菊, 等. 小鼠高原低氧环境暴露下脑内脂质过氧化损伤与高原脑水肿的关系[J]. 西北国防医学杂志, 2000, 21(2): 92-95.

(编辑 张大春)

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