DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.22.016
第25卷第22期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 22
2002 2003年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2003

论著

文章编号:1000-5404(2003)22-2002-03

大鼠BOO对膀胱逼尿肌生物力学特性的影响

龚 宇,宋 波,熊恩庆,金锡御 (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 建立能较好模拟膀胱出口梗阻(Bladder outlet obstruction, BOO)的稳定的大鼠实验模型,探讨对逼尿肌收缩功能及顺应性的影响及其机制。方法 实验采用Wistar雌性大鼠近端尿道不全结扎法建立BOO模型;采用灌流肌槽,以胆碱类药物(氯化氨基甲酰胆碱carbachol,非选择性M受体激动剂)作为刺激因素,测定离体逼尿肌条的主动收缩功能。充盈期膀胱压力测定检测膀胱顺应性及低压充盈期末容积的变化。结果 2周后手术组膀胱出现典型的梗阻后表现。低压充盈期膀胱容积及膀胱湿重(ml,g)均显著大于假手术组(ml,g)。出现逼尿肌不稳定(Detrusor instability, DI)者收缩力逼尿肌条显著低于假手术组,逼尿肌稳定(Detrusor stability, DS)者梗阻2周时及梗阻4周时分别表现为高于和低于假手术组。梗阻后不稳定组大鼠逼尿肌呈低顺应性,而稳定组逼尿肌顺应性升高。结论 ①成年Wistar大鼠采用内径1 mm的近端尿道不全结扎法,建立的BOO实验动物模型具有方法简便、存活率高、稳定性好等特点,适合于膀胱出口梗阻的相关实验研究。②梗阻后逼尿肌的收缩性有两种改变:不稳定组逼尿肌收缩性受损,稳定组逼尿肌收缩性出现双相性改变,即早期呈代偿性升高,继而降低。③梗阻后膀胱顺应性依逼尿肌稳定性而异:逼尿肌不稳定时呈低顺应性,而逼尿肌稳定组顺应性升高。

关键词:膀胱出口梗阻;逼尿肌;生物力学
中图法分类号:R322.62;R337.2;R694.2 文献标识码:A

Effects of bladder outlet obstruction on detrusor biomechanical properties

GONG Yu, 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 establish a stable animal model of bladder outlet obstruction (BOO) and to clarify the effects of BOO on the biomechanical properties of detrusor and the mechanisms. Methods BOO animal model was established by partial ligation of the proximal urethra of male Wistar rats forming, a urethra stricture with internal diameter of 1 mm. The active contraction of detrusor muscle stripes to carbachol was recorded with transfusor and organ bath tube. The compliance and maximum volume of bladder were examined by filling cystometry. Results The bladders demonstrated tropical post-obstruction alterations at week 2 after partial ligation of the proximal urethra. The maximum volume (3.3±1.9) ml and bladder wet weight (10.4±2.8) g increased significantly in BOO group as compared with those in sham-operation group [(1.6±0.8)ml and (7.2±3.5)g]. The detrusor contractile force of detrusor instability (DI) group was significantly lower than that in the control group. However, the contractile force in detrusor stability (DS) group was higher at week 2 but lower at week 4 after BOO than that in the sham-operation group. Conclusion BOO animal model established by partial ligation of the proximal urethra of adult rats is simple and can give high survival rate and good stability, suitable for the studies of bladder outlet obstruction. There are two types of the detrusor contraction after BOO: DI group with impaired contraction and DS group with bidirectional change which was higher at early stage (week 2) but lower at later stage (week 4). The changes of bladder compliance are related to the stability of bladder, decrease in DI but increase in DS.

Key words: bladder outlet obstruction; bladder; biomechanics

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970739)
Supported by the National Natural Science Foundation of China(39970739)
作者简介:龚 宇(1973-),男,浙江省金华市人,博士,主治医师,主要从事泌尿外科的基础及临床方面的研究,发表论文10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:2003-10-18

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

储尿和排尿是膀胱的两个重要生理功能, 表现为: 储尿期逼尿肌依靠其良好的顺应性及容纳性舒张作用, 扩大膀胱容量的同时保持低压状态, 避免尿失禁并保护上尿路功能; 排尿期, 逼尿肌发挥整体协调性收缩的强度与速度, 有效地排空膀胱内的尿液, 避免残余尿的出现[1]。作为空腔脏器管壁的平滑肌往往随腔内压力的变化而发生长度和功能上的改变, 表现为对一定范围内压力刺激作用的正常适应能力, 一旦前内压力超过此范围, 平滑肌就会发生自身生物力学性质的异常[2]。因此, 对于膀胱出口梗阻(Bladder outlet obstruction, BOO), 应用实验方法研究逼尿肌的生物力学特性意义十分重大。事实上这种方法虽早已应用对骨骼肌、胃肠道平滑肌的研究[3], 但应用于逼尿肌则很少。本实验拟采用 Wistar 雌性大鼠探讨建立稳定、可重复的膀胱出口梗阻 2 周及 4 周动物模型; 利用灌流肌槽测定离体逼尿肌条对胆碱类药物刺激的收缩功能, 充盈期膀胱压力测定检测逼尿肌顺应性改变。

1　材料与方法

1.1　实验动物

3~4 月龄雌性 Wistar 大鼠 54 只, 体质量 180~200 g, 购自第三军医大学实验动物中心。分组: 根据充盈期膀胱压力测定将大鼠分为: 假手术组或对照组(C, 10 只)、梗阻 2 周逼尿肌不稳定组(DI2, 8 只)及稳定组(DS2, 11 只), 梗阻 4 周逼尿肌不稳定组(DI4, 10 只)及 稳定组(DS4, 15 只)。

1.2　制作梗阻模型

1%苯巴比妥(40 mg/kg)腹腔注射麻醉, 下腹部正中切口, 直径为 1 mm 的聚乙烯探子插入尿道, 近端尿道稍作分离, 2-0 丝线结扎尿道, 松紧以牵拉探子周围组织可随之移动, 而探子又可轻易拔出为度, 拔出探子, 关闭切口。假手术组或对照组除不予结扎尿道外其余操作均同上。

1.3　充盈期膀胱压力测定[4]

乌拉坦(1 g/kg)皮下注射麻醉, 大鼠仰卧位固定, 硬膜外导管经尿道插入膀胱, 接 7 号针头, 经三通管与尿动力仪及微量灌注泵相连。轻压腹部, 排净尿液。膀胱灌注速度(0.2 ml/min, 生理盐水)。

1.4　离体逼尿肌条的制备

猛击大鼠头部致昏, 剪开下腹部, 全切膀胱, 称质量。即刻置入盛有 4 ℃ Krebs 营养液的平皿中, 取膀胱体部组织, 解剖镜下仔细剔除粘膜, 纵行切取 8 mm×2 mm×12 mm 肌条, 每个膀胱制作 2~3 根肌条。

离体逼尿肌条收缩功能测定, 见图 1。肌条两端以丝线结扎, 下端固定于盛有 37 ℃ Krebs 液的灌流肌槽底部, 肌条完全浸入 Krebs 液中, 上端连接拉力传感器, 后者与四通道多功能生理信号放大器相连, 检测信号输入计算机。Krebs 液中通以 95%O_2、5%CO_2 混合气体。Carbachol 收缩试验: 静息张力平衡至 0.5 g, 依次以浓度为 10^{-7}、10^{-6}、10^{-5}、10^{-4}、10^{-3}、10^{-2} mmol/L 的 carbachol 刺激肌条测定肌条产生的收缩力, 可反映逼尿肌对乙酰胆碱的敏感性。每种浓度试验后冲洗肌条 3 次并平衡 10 min 以清除残留的 carbachol。

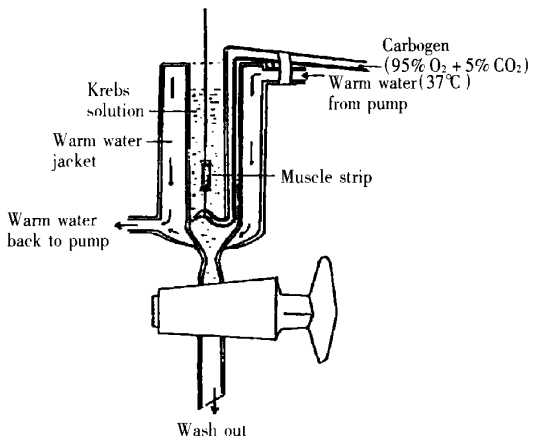


图 1　灌流肌槽及逼尿肌条体外收缩功能实验示意图

Fig 1　Scheme of organ bath for contractile response of detrusor stripes *in vitro*

1.5　统计学处理

结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间以 t 检验和方差分析进行处理。

2　结果

2.1　BOO 模型建立情况

膀胱容量及膀胱湿质量: 梗阻组(3.3±1.9) ml, (10.4±2.8) g 均显著大于对照组(1.6±0.8) ml, (7.2±3.5) g($P<0.01$)。

2.2　逼尿肌条对梯度浓度氯化氨基甲酰胆碱(carbachol)刺激产生的收缩力

离体逼尿肌 carbachol 刺激试验发现: 出现逼尿肌不稳定(DI)者收缩力逼尿肌条显著低于假手术组, 逼尿肌稳定(DS)者梗阻 2 周时及梗阻 4 周时分别表现为高于($P<0.01$)和低于($P<0.01$)假手术组。

2.3　BOO 后膀胱顺应性的改变

逼尿肌的顺应性: BOO 不稳定组 2 周及 4 周时均显著低于对照组, BOO 不稳定组 2 周及 4 周时均高于对照组, 见表 1。

表 1　BOO 后膀胱顺应性改变($\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Changes of compliance after BOO($\bar{x}\pm s$)

	Control(n=10)	DS2(n=11)	DI2(n=8)	DS4(n=15)	DI4(n=10)
C(ml/cmH_2O)	0.186±0.053	0.248±0.084 **	0.109±0.030 **	0.313±0.142 **	0.141±0.055 *

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* control

3　讨论

3.1　关于逼尿肌生物力学特性的概念

考察某一种组织对外界应力性作用的动力学效应及其动力学响应机制, 就是研究该组织的生物力学特性, 显然, 这是认识生物体对外界多种物理性刺激因素所产生反应的本质[5]。BOO 对膀胱或逼尿肌功能的效应, 实质上是由于膀胱出口阻力增加、膀胱内压升高, 导致逼尿肌承受超过正常生理负荷的牵拉刺激(呈

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

长时间且为周期性)。因此从致伤因素看,BOO 是典型的生物力学过程。

3.2 膀胱出口梗阻动物模型的制作

关于 BOO 动物模型的方法,文献有较多报道,采用的实验动物种类于方式不尽相同,各有其优缺点[6]。在模型制作中最为重要的是制作方法中应尽量避免非梗阻因素对逼尿肌功能的影响。如曾有报道采用双氢睾酮与α受体拮抗剂 Prazocin 皮下注射,使前列腺增生以制作 BOO 模型,但显然该方法不能排除激素对逼尿肌及全身的影响[7]。本实验采用的方法关键在于选择探子的口径和掌握尿道结扎的力度。内径太粗或结扎尿道过松,不能造成梗阻,内径太细或结扎过紧则往往因完全性急性尿潴留及局部组织缺血坏死,导致模型动物短期内死亡。

因此,我们采用的方法其优点在于:①近端尿道结扎后内径均为 1 mm,保证成年大鼠形成的梗阻程度和效果接近一致;②以结扎后探子恰好能在尿道内移动作为松紧的标准,同时提高了模型的存活率与成功率;③操作简单,对尿道及膀胱颈局部损伤小,成本低,手术时间短,适合于较大数量的动物实验研究。因此我们认为,该动物模型制作方法适用于前列腺增生等所致膀胱出口梗阻的相关基础研究。

3.3 BOO 对逼尿肌收缩性的影响

逼尿肌的收缩性是指逼尿肌细胞能够在肌膜动作电位的触发下产生收缩反应,表现为等长收缩的主动张力或等张收缩的收缩速度。逼尿肌内部的组织结构、功能状态、收缩前的初长度、收缩需克服的阻力即后负荷均可影响逼尿肌的收缩性。关于 BOO 对逼尿肌收缩性的影响,文献报道不一致。在本研究中我们发现,对逼尿肌收缩性这种多样性变化与梗阻时间及逼尿肌稳定性密切相关:出现逼尿肌不稳定(DI)者收缩力逼尿肌条显著低于假手术组,逼尿肌稳定(DS)者梗阻 2 周时及梗阻 4 周时分别表现为高于和低于假手术组。证明 BOO 后不稳定逼尿肌其收缩功能受损,稳定逼尿肌收缩性变化为:梗阻后发生逼尿肌代偿,如果梗阻仍未解除,则逼尿肌收缩性损害,最终导致逼尿肌的不可逆的收缩功能丧失;但随着梗阻时间的延长是否可再转为失代偿,尚待进一步研究。显然,这里讨论的是相对于急性尿潴留类型的慢性渐进性 BOO,具有较为广泛的临床意义,而前者逼尿肌收缩性的损伤迅速和直接,甚至可以未经发挥代偿功能即已进入失代偿阶段。

逼尿肌收缩力下降的原因主要包括:①逼尿肌萎缩和纤维化使最大逼尿肌排尿压下降;②逼尿肌严重肥厚、萎缩和纤维化致使逼尿肌变得僵硬,在膀胱容量减少时伴有显著的膀胱压力下降,这些患者在完全排空膀胱以前膀胱排尿压已小于尿道阻力,故而出现残余尿;③支配逼尿肌的神经损害,对此尚无完全统一的认识。

3.4 BOO 后逼尿肌顺应性的变化

逼尿肌在外力作用下的可扩展性称为逼尿肌的顺应性。在体内可用膀胱内单位压力改变引起容积改变的大小来表示。正常膀胱逼尿肌可在膀胱容积从零至最大膀胱容量这一较大容量变化范围内,保持膀胱内压始终保维持在较低水平,当膀胱充盈到一定容积后压力才会迅速升高[1]。

逼尿肌的顺应性受多种因素影响,它与其自身平滑肌细胞、间质、神经支配及膀胱的几何形状有关[8],逼尿肌细胞、神经轴突退行性变,间质弹力纤维增多,顺应性升高,尤是急性梗阻早期尿储溜,膀胱容积增大,同等容量的膀胱充盈引起较小的压力升高,因而逼尿肌顺应性更高;随梗阻时间的延长,逼尿肌细胞代偿肥大,间质内胶原纤维增加,弹性纤维减少,顺应性降低[9]。本研究显示:BOO 不稳定组 2 周及 4 周时均显著低于对照组,BOO 不稳定组 2 周及 4 周时均高于对照组。说明膀胱出口梗阻后 4 周内,顺应性改变与逼尿肌稳定性密切相关。随着膀胱功能代偿,逼尿肌顺应性逐渐恢复正常,但若进一步延长梗阻时间,膀胱又将进入失代尝,出现低顺应性膀胱。临床上所见前列腺增生患者最常出现低顺应性膀胱,但临床病例中更因梗阻程度、时间呈不规律变化,因而逼尿肌的顺应性变化也呈现出复杂的多样性,可以表现为高顺应性、低顺应性,甚至表现为在残余尿容量以前呈高顺应性、在达到残余尿容量以后呈低顺应性,其原因尚待深入研究。

参考文献:

[1] Abrams P. Urodynamics[M]. 2nd Edition. London: Spriger Verlag London Limited, 1997. 233-246.

[2] Sotoudeh M, Li Y S, Yajima N, *et al*. Induction of apoptosis in vascular smooth muscle cells by mechanical stretch[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002, 282(5): H1709-1716.

[3] Lutz G J, Sirsi S R, Shapard P, *et al*. Influence of myosin isoforms on contractile properties of intact muscle fibers from Rana pipiens[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2002, 282(4): C835-844.

[4] 李为兵, 鄢俊安, 宋 波, 等. 三种膀胱颈悬吊术治疗真性压力性尿失禁对照分析[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(9): 802-805.

[5] Buttyan R, Chen M W, Levin R M. Animal models of bladder outlet obstruction and molecular insights into the basis for the development of bladder dysfunction[J]. Eur Urol, 1997, 32(1): 32-39.

[6] Susset J G. Relationship between clinical urodynamic and pathological findings in prostatic obstruction in the rat[J]. Neurourol Urodyn, 1996, 15(1): 157-165.

[7] Lee J Z, Omata S, Tillig *et al*. Chronology and urodynamic characterizatioin of micturition in neurohormonally induced experimental prostate growth in the rat[J]. Neurourol Urodyn, 1998, 17(1): 55-69.

[8] Griffiths D J, McCracken P N, Harrison G M, *et al*. Urge incontinence and impaired detrusor contractility in the elderly[J]. Neurourol Urodyn, 2002, 21(2): 126-131.

[9] Ghafar M A, Shabsigh A, Chichester P, *et al*. Effects of chronic partial outlet obstruction on blood flow and oxygenation of the rat bladder[J]. J Urol. 2002, 167(3): 1508-1512.

(编辑 郭建秀)

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