DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.22.017
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 2005

文章编号:1000-5404(2003)22-2005-04

论著

# 钙激活钾/氯通道对大鼠逼尿肌不稳定调节作用的实验研究

杨 航,宋 波,金锡御,杨 昕 (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 研究钙激活钾/氯通道对逼尿肌不稳定的调节作用的变化,探讨其在逼尿肌不稳定(Detrusor instability,DI)发生中的作用。方法 采用Wistar大鼠DI模型,常规制备正常及DI逼尿肌条,体外张力测定其自发收缩频率和幅度,观察通道阻断剂及开放剂的作用。结果 DI组自发收缩频率与张力较对照组显著增加。大电导钙激活钾通道(Big conductance calcium activated potassium channel,BKca)阻断后,对照组频率降低而张力增加,DI组仅频率明显提高,开放后对照组频率与张力均降低,DI组仅频率明显下降。小电导钙激活钾通道(Small conductance calcium activated potassium channel,SKca)阻断后两组的频率与张力均明显增加,而开放后则对照组均降低,DI组仅频率下降。钾通道阻断或开放后对照组频率与张力的变化幅度明显高于DI组。钙激活氯通道(Calcium activated chloride channel,Clca)阻断后,DI组频率与张力下降,而对照组无明显改变。结论 钙激活钾/氯通道反馈调节逼尿肌的收缩,DI时Kca作用下调而Clca作用上调,提示钙相关的调节异常在DI的发生中具有重要作用。

关键词:逼尿肌不稳定;钙激活钾通道;钙激活氯通道;收缩
中图法分类号:R334.3;R337.2;R329.27 文献标识码:A

# Modulating effect of calcium activated potassium and chloride channels on detrusor instability

YANG Hang, SONG Bo, JIN Xi-yu, YANG Xin (Center for Urology of PLA, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**Abstract**: Objective To study the modulation alterations of calcium activated potassium channel (Kca) and calcium activated chloride channels (Clca) on detrusor instability (DI) and their roles in DI. Methods The detrusor instability (DI) animal model was established using female Wistar rats. Detrusor strips were obtained from normal and DI rats. The contraction frequency and amplitude of the strips were measured by an *in vitro* tension test. The actions of channel openers and blockers were studied. Results Spontaneous contraction frequency and amplitude of DI increased significantly. The block of big conductance calcium activated potassium channel (Bkca) by Iberiotoxin resulted in decrease of frequency but increase of amplitude in the control, but only increase of frequency in DI. The opener, NS1619, resulted in decreases of frequency and amplitude in the control, but only decreases of frequency in DI. The block of small conductance Kca (Skca) by apamin resulted in increases of frequency and amplitude in both control and DI groups, but the opener, Chlorzoxazone, resulted in decreases of frequency and amplitude in the control, but only decrease of frequency in DI. The contraction alterations of DI were significantly lower than those of the control no matter Kca was blocked or opened. NFA, a selective Clca blocker, resulted in no significant frequency and amplitude alteration in the control, but significant decrease in DI. Conclusion These results suggested that Kca and Clca play a critical role in the modulation of detrusor contraction, and the down-regulation of Kca and up-regulation of Clca suggests that disorder of calcium-related regulation may play an important role in DI.

**Key words**: detrusor instability; calcium activated potassium channel; calcium activated chloride channel; contraction

逼尿肌产生自发性兴奋和收缩的能力受到细胞膜电位和相关离子及通道等多种因素的影响,其中钙是细胞内参与兴奋和收缩调节的主要离子。与钙相关的离子通道主要有钙激活钾通道(Kca)和氯通道(Clca),它们分别对细胞膜电位产生复极化和去极化作用,通

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30277920)
Supported by the National Natural Science Foundation of China(30277920)
作者简介:杨 航(1968-),男,四川省成都市人,博士,主治医师,主要从事膀胱的生理及病理方面的研究。电话:(023)68754186
通信作者:宋 波,电话:(023)68754186
收稿日期:2003-07-08;修回日期:2003-09-10

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

过二者的共同作用而实现平滑肌兴奋收缩功能的稳态调节。

逼尿肌不稳定(DI)产生的一个重要机制是肌源性的改变,针对钙离子及钙通道的研究表明钙在DI发生中具有重要作用[1],因此,钙相关离子通道对逼尿肌稳态调节作用的改变在DI发生中也将起到重要作用,但目前还缺乏这方面的深入研究。

本实验针对钙激活钾/氯通道对不稳定逼尿肌的收缩功能调节进行研究,探讨其在DI发生中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 40只健康雌性Wistar大鼠由我校实验动物中心提供,体质量120~150 g。

1.1.2 仪器设备 张力传感器(中国航天医学工程研究所),Syd4228型四通道电生理信号记录仪(第三军医大学野战外科研究所),501型恒温水浴器官槽(重庆实验设备厂),尿动力仪(成都维信有限公司Nidoc970型),微量灌注泵(美国3M公司)。

1.1.3 试剂 Iberiotoxin(终浓度100 nmol/L)、NS1619(30 μmol/L)、Apamin(100 nmol/L)以三蒸水、Chlorzoxazone(1 mmol/L)、Niflumic Acid (NFA, 50 μmol/L)以二甲亚砜(DMSO)按所示终浓度配制成500× 的储存液,上述试剂均购自Sigma。Krebs液:NaCl 119 mmol/L, KCl 4.7 mmol/L, $MgSO_4$ 1.2 mmol/L, $KH_2PO_4$ 1.2 mmol/L, $NaHCO_3$ 25 mmol/L, $CaCl_2$ 2.5 mmol/L, Glu 11 mmol/L, pH 7.4。

### 1.2 方法

1.2.1 DI模型 按我室常规[2],大鼠尿道经会阴部结扎,6周后膀胱造瘘,对照组同期置管,膀胱测压并确定为DI的19只,对照组21只。

1.2.2 离体逼尿肌条制备 大鼠击昏后经下腹切口取出膀胱,即刻于4 ℃ Krebs液中漂洗,纵行剪成约6 mm× 2 mm的肌条,一端固定于充满37 ℃恒温Krebs液的器官槽的底部,另一端联结张力传感器,信号输入计算机并绘制曲线。器官槽外壁恒温水浴循环,槽内持续通入95%$O_2$和5%$CO_2$混合气体。

1.2.3 肌条收缩曲线测定 肌条静置15 min,微调螺旋牵拉至出现自发收缩时固定长度,调定曲线零点,外加张力至0.5 g,测定收缩曲线。加入药物孵育10~15 min后继续测定,每步实验后更换肌条。

### 1.3 统计学处理

连续位相性收缩中舒张张力在收缩张力最高值1/3以上时计为一次单收缩,收缩频率(次/min)为单位时间内自发性收缩波数目,张力(g)为一次测定中各收缩波张力的平均值。频率与张力变化幅度为加药前后变化值/加药前测值的%,结果以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS程序 $t$ 检验。

## 2 结果

### 2.1 逼尿肌条自发性收缩

DI组频率为(4.13±0.98)次/min,张力为(0.35±0.12)g,对照组分别为(2.31±0.52)次/min与(0.13±0.04)g,两组差异具有显著性($P<0.01$)。

### 2.2 钙激活钾通道阻断剂作用

大电导钙激活钾通道(Big conductance calcium activated potassium channel, BKca)阻断剂Iberiotoxin使对照组收缩频率下降低,张力增加,而DI组仅频率增加,张力无显著性改变。小电导钙激活钾通道(Small conductance calcium activated potassium channel, SKca)阻断剂Apamin则显著提高两组的频率及张力,结果见表1。

表1 Kca阻断剂对正常与DI逼尿肌条的作用比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Comparson of the effects of calcium activated $K^+$ channels blockers on normal and DI detrusor stripes($\bar{x}\pm s$)

| | | Iberiotoxin | | Apamin | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Before treatment | After treatment | Befor treatment | After treatment |
| Control | Frequency | 2.35±0.59 | 1.77±0.33 * | 2.22±0.45 | 3.92±0.75 ** |
| | Amplitude | 0.14±0.03 | 0.20±0.05 ** | 0.12±0.03 | 0.21±0.05 ** |
| DI | Frequency | 4.19±0.97 | 5.42±1.47 * | 4.17±0.72 | 5.33±1.08 ** |
| | Amplitude | 0.33±0.07 | 0.38±0.07 | 0.34±0.08 | 0.51±0.10 ** |

*: $P<0.05$; **: $P<0.05$ *vs* before

### 2.3 钙激活钾通道开放剂作用

BKca开放剂NS1619和SKca开放剂Chlorzoxazone均显著降低对照收缩频率及张力,DI组仅频率下降,而张力无显著性改变,结果见表2。

表2 Kca开放剂对正常与DI逼尿肌条的作用比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Comparson of the effects of calcium activated $K^+$ channels openers on normal and DI detrusor stripes($\bar{x}\pm s$)

| | | NS1619 | | Chlorzoxazone | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Before | After | Before | After |
| Control | Frequency | 2.38±0.56 | 1.54±0.28 * | 2.37±0.60 | 1.21±0.38 * |
| | Amplitude | 0.14±0.06 | 0.10±0.04 # | 0.14±0.03 | 0.09±0.03 * |
| DI | Frequency | 4.29±1.03 | 3.26±0.72 * | 4.21±1.11 | 2.75±0.89 * |
| | Amplitude | 0.37±0.13 | 0.31±0.11 | 0.33±0.11 | 0.27±0.10 |

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

### 2.4 钙激活氯通道阻断剂作用

NFA显著抑制DI组频率及张力,对照组则无明显变化,结果见表3。

表3 Clca阻断剂对正常及DI逼尿肌条的作用比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 3 Comparson of the effects of calcium activated chloride channels blockers on normal and DI detrusor stripes($\bar{x}\pm s$)

| | | Niflumic Acid (NFA) | |
|---|---|---|---|
| | | Before | After |
| Control | Frequency | 2.24±0.52 | 1.98±0.40 |
| | Amplitude | 0.13±0.03 | 0.11±0.03 |
| DI | Frequency | 4.01±1.07 | 2.23±0.80 * |
| | Amplitude | 0.36±0.12 | 0.18±0.04 * |

*: $P<0.01$ *vs* before

### 2.5 肌条频率与张力变化幅度

除Iberiotoxin使两组频率呈反向变化外,对照组Kca阻断

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

或开放后变化幅度显著高于 DI 组, 而 Clca 阻断后则显著降低。结果见表 4、5。

表 4　Kca 阻断后逼尿肌条收缩频率及张力增加幅度比较(%, $\bar{x}\pm s$)

**Tab 4　Comparson of increased rate of frequency and amplitude of detrusor stripes after Kca blocked** (%, $\bar{x}\pm s$)

| | Iberiotoxin | | Apamin | |
|---|---|---|---|---|
| | Frequency | Amplitude | Frequency | Amplitude |
| Control | 23.4±10.0 # | 53.5±20.4 | 77.2±15.7 * | 75.2±18.5 |
| DI | 28.7±11.4 * | 15.7±8.7 * | 27.2±10.13 * | 49.7±12.2 * |

*: $P<0.01$ *vs* control; #: decreased after blocked

表 5　Kca 开放及 Clca 阻断后肌条收缩频率及张力下降幅度比较(%, $\bar{x}\pm s$)

**Tab 5　Comparson of decreased rate of frequency and amplitude of detrusor stripes after Kca opened or Clca blocked** (%, $\bar{x}\pm s$)

| | NS1619 | | Chlorzoxazone | | NFA | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Frequency | Amplitude | Frequency | Amplitude | Frequency | Amplitude |
| Control | 34.3±6.8 | 27.4±12.2 | 48.9±6.5 | 41.7±8.9 | 9.4±20.5 | 14.1±14.2 |
| DI | 23.1±9.2 # | 13.9±6.2 * | 35.1±7.8 * | 19.5±10.1 * | 44.2±16.4 * | 47.1±14.7 * |

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

## 3　讨论

逼尿肌不稳定的机制尚未完全明确。本实验结果显示正常与 DI 逼尿肌条在一定前负荷作用下均可产生自发性收缩, DI 肌条的收缩频率及张力均较对照组显著增加, 表明 DI 逼尿肌的兴奋性和收缩力增加, 肌源性因素是 DI 的重要机制之一[1,3]。

逼尿肌自发性兴奋和收缩受到静息电位、阈电位及相关离子通道性状等因素的共同影响, 其中钙内流增加和钾外流减少是重要的原因[2], 但以 L 型钙通道阻断剂和 ATP 钾通道开放剂为代表的药物并未取得临床预期疗效[4], 提示 DI 是多种机制共同作用的结果。钙是调节细胞兴奋和收缩的主要离子, 但目前钙相关机制在 DI 逼尿肌中的作用还缺乏研究。

平滑肌中与钙相关的离子通道主要有 Kca 与 Clca 两类, 前者包括大电导的 BKca 和小电导的 SKca 两种亚型。BKca 受胞内一过性局部钙增加即钙火花($Ca^{2+}$ Sparks)激活而产生外向电流, 参与动作电位的复极与快速超极化, 动作电位期胞外钙内流则进一步激活 BKca 和 SKca, 后者参与细胞电位后超极化[5,6]。$Ca^{2+}$ Sparks 也激活 Clca 产生内向电流, 促使膜电位去极化[6]。$Ca^{2+}$ Sparks 在膜电位较低时以激活 Clca 为主, 膜电位较高时以激活 Kca 为主, 对膜电位产生稳态的调节作用, 并进一步调控肌细胞的收缩状态[7]。

实验结果显示, 对照肌条在 BKca 特异性阻断剂 Iberiotoxin 作用下, 收缩频率下降, 而张力明显升高, 由于张力增加的幅度远大于频率减少的幅度, 因此肌条的总体收缩能力仍然呈增强的表现[8], 其机制与钾外流减少, 动作电位时程延长[9], 钙内流增加有关。特异开放剂 NS1619 则降低肌条的收缩频率与张力[11], 因此, BK 对逼尿肌功能起负性调节作用。

实验显示, DI 组在 BKca 阻断后收缩频率升高, 而开放后频率下降, 但张力均无明显变化, 且 DI 组变化幅度均较对照组显著降低, 提示 DI 时 BKca 作用下调, 对逼尿肌负性调节减弱。逼尿肌收缩频率的调节与 BKca 的β亚单位有关。BKca 由α和β两个亚单位组成, β区参与调节 BKca 与钙的亲合力, β区完整时阻断 BK 可降低肌条收缩频率, β区缺失时则使频率增加[11]。因此 DI 时可能由于 BKca 减少或合并有β区缺失, 造成β区的绝对或相对数量减少, 表现为 BKca 阻断后收缩频率升高, 对此进行深入研究对阐明 DI 的机制有重要价值。

实验结果显示, SKca 特异性阻断剂 Apamin 使肌条收缩频率及张力显著性增加, 这是由于 SKca 阻断可抑制细胞膜电位后超极化, 从而提高了静息电位和动作电位幅度所致[12]。Skca 开放使肌条的频率及张力下降, 表现为舒张效应[13], 表明 Skca 也对逼尿肌进行负性调节。DI 组在 Skca 阻断或开放后频率及张力变化幅度较对照组显著下降, 提示了 DI 时 Skca 的调节作用下调。

逼尿肌中的 SKca 主要包括 SKca2 和 SKca3 两种亚型, Chlorzoxazone 是主要针对 SKca2 的一种开放剂[14], 目前尚无特异性的 SKca3 开放剂, 因而在通道道开放特异性上有一定的局限, 加之 DI 时 SKca 作用的下调, 因而 Chlorzoxazone 应用前后 DI 逼尿肌的张力无明显变化。

实验显示, DI 肌条在 Clca 特异性阻断剂 NFA 作用下收缩频率及张力均显著性降低, 而对照组无明显变化, 提示 Clca 在正常时对细胞的兴奋和收缩的调节作用有限, 而 DI 时 Clca 作用上调, 使内向的氯电流增强, 细胞趋于去除化, 兴奋性增高, 这可能是逼尿肌兴奋性升高又一个重要原因。Clca 还参与了平滑肌细胞: α1 肾上腺素受体(α1 AR)介导的钙内流, NFA 尤其对: α1D AR 介导的 $Ca^{2+}$ 内流具有明显的抑制作用[15], 有证据表明 DI 时逼尿肌中 αAR 表达由 α1A 转为以 α1D 为主[16], 因此, Clca 在 DI 中的作用值得进一步的深入研究。

钙激活钾/氯通道对逼尿肌的自发收缩具有稳态的调节作用, DI 时 Kca 作用下调和 Clca 作用上调将会影响这一稳态调节机制, 因此, 深入研究其调节作用对于阐明 DI 有重要价值。

参考文献:

[1] 李　新, 宋　波. M 受体及其亚型与逼尿肌功能的关系研究[J].

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

第三军医大学学报, 2002, 24(2): 164－166.
[2] 杨 航, 宋 波, 金锡御, 等. 清醒状态膀胱测压在大鼠逼尿肌不稳定模型中的应用[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(22): 2053－2054.
[3] 李卫兵, 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.
[4] Andersson K E. Treatment of overactive bladder: other drug mechanisms [J]. Urology, 2000, 55(5A Suppl): 51－57.
[5] Herrera G M, Nelson M T. Differential regulation of SK and BK channels by Ca(2+) signals from Ca(2+) channels and ryanodine receptors in guinea-pig urinary bladder myocytes[J]. J Physiol, 2002, 541(Pt 2): 483－492.
[6] Herrera G M, Nelson M T. Sarcoplasmic reticulum and membrane currents [J]. Novartis Found Symp, 2002, 246: 189－203.
[7] Zhu Ge R, Sims S M, Tuft R A, *et al*. $Ca^{2+}$ sparks activate $K^+$ and $Cl^-$ channels, resulting in spontaneous transient currents in guinea-pig tracheal myocytes[J]. J Physiol, 1998, 513(Pt 3): 711－718.
[8] Herrera G M, Heppner T J, Nelson M T. Regulation of urinary bladder smooth muscle contractions by ryanodine receptors and BK and SK channels [J]. Am J Physiol, 2000, 279(1): R60－68.
[9] Heppner T J, Bonev A D, Nelson M T. Ca(2+)-activated $K^+$ channels regulate action potential repolarization in urinary bladder smooth muscle[J]. Am J Physiol, 1997, 273(1Pt1): C110－117.
[10] Imai T, Okamoto T, Yamamoto Y, *et al*. Effects of different types of $K^+$ channel modulators on the spontaneous myogenic contraction of guinea-pig urinary bladder smooth muscle[J]. Acta Physiol Scand, 2001, 173(3): 323－333.
[11] Petkov G V, Bonev A D, Heppner T J, *et al*. Beta1-subunit of the $Ca^{2+}$-activated $K^+$ channel regulates contractile activity of mouse urinary bladder smooth muscle[J]. J Physiol, 2001, 537(Pt 2): 443－452.
[12] Cingolani L A, Gymnopoulos M, Boccaccio A, *et al*. Developmental regulation of small-conductance $Ca^{2+}$-activated $K^+$ channel expression and function in rat Purkinje neurons[J]. J Neurosci, 2002, 22(11): 4456－4467.
[13] Buckner S A, Milicic I, Daza A V, *et al*. Spontaneous phasic activity of the pig urinary bladder smooth muscle: characteristics and sensitivity to potassium channel modulators[J]. Br J Pharmacol, 2002, 135(3): 639－648.
[14] Cao Y, Dreixler J C, Roizen J D, *et al*. Modulation of recombinant small-conductance $Ca^{2+}$-activated K(+) channels by the muscle relaxant chlorzoxazone and structurally related compounds[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2001, 296(3): 683－689.
[15] 阮红梅, 关永源, 贺 华, 等. 氯通道阻断剂对α1-肾上腺素受体亚型引起的 $Ca^{2+}$ 内流的影响[J]. 中国药理学通报, 2001, 17(2): 147－150.
[16] Price D. Potential mechanisms of action of superselective alpha (1)-adrenoceptor antagonists[J]. Eur Urol, 2001, 40 (Suppl 4): 5－11.

(编辑 郭建秀)

# 个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2003)22-2008-01

## 内镜下氩离子凝固术治疗消化道息肉的疗效与护理

## Endoscopic APC efficacy and nursing care in cases of ploops in the digestive tract

张晓荣, 王 阁, 彭安国, 闫庆军 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所消化内科, 重庆 400042)

氩离子凝固术(Argon plasma coagulation, APC)是一种新的非接触性电凝固技术, 我们对 47 例消化道息肉患者实施此手术, 无 1 例并发症发生。现就其临床价值及护理体会报告如下。

### 1 资料与方法

一般资料: 我科 2001 年 11 月至 2002 年 7 月, 收治 47 例消化道息肉患者, 男性 30 例, 女性 17 例, 平均年龄 45.3 岁。其中食道息肉 3 例, 胃息肉 25 例, 十二指肠息肉 13 例, 结肠息肉 6 例。息肉为宽基、扁平型, 直径均< 2 cm。病理活检: 慢性炎症改变 26 例, 炎性息肉 17 例, 腺瘤样息肉 4 例。

操作方法: APC300 内镜专用氩气刀购自美国 Erbe 公司, 电凝指数 A60。在电子内镜及电子肠镜直视下, 近镜观察病灶然后经内镜钳道插入氩离子凝固导管, 导管伸出内镜头端, 直至病灶上方 1～3 cm 处, 每次 1～2 s 的时间施以氩离子凝固治疗[1], 直径 1 cm 广基息肉需点灼 4～5 次, 也可根据病灶大小, 质地情况自行决定, 一般以内镜下息肉灼除为止。

### 2 结果

47 例患者皆用 APC 灼平息肉, 均有不同程度的胸骨后疼痛及腹痛, 其中胃息肉疼痛明显, 肠息肉疼痛轻微, 持续 8～24 h 缓解, 2～3 d 出院, 无其他并发症发生。

### 3 护理要点

①严格掌握适应证及禁忌证, 术前行血常规, 肝功检查, 观察血压、心电图, 严重的全身疾病忌实施手术。②术前一餐禁食水, 做好肠道准备, 术前 30 min 肌注安定、杜冷丁各半量, 测量体温、血压后, 推车送至治疗室。③术前做好心理疏导, 要根据患者不同的心理需求, 进行针对性的心理干预, 向患者介绍手术目的、方法及注意事项, 对极度敏感、忧郁、恐惧患者, 耐心倾听患者的诉说, 减少和消除引起恐惧的医源性相关因素, 做耐心解释工作, 对心理负担过重的个别患者, 采取让术后患者现身讲解。本组患者均能以最佳心理状态主动配合治疗。④术

(下转 2011 页)

作者简介: 张晓荣(1955－), 女, 河北省石家庄市人, 副主任护师, 主要从事消化专科临床护理方面的研究。电话: (023)68757342

收稿日期: 2002-11-08; 修回日期: 2003-08-30

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