DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.09.017
第24卷第9期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 9
2002年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2002

文章编号:1000-5404(2002)09-1037-03

论著

大鼠梗阻性低顺应性膀胱的组织结构改变

刘 南,宋 波,金锡御,熊恩庆 (第三军医大学附属西南医院全军泌尿中心,重庆 400038)

提 要:目的 观察大鼠梗阻性低顺应性膀胱细胞外基质成分的变化。方法 光镜、电镜观察大鼠梗阻性低顺应性膀胱壁上两种细胞外基质的主要成分胶原蛋白,弹性蛋白的改变。结果 与正常对照组相比,低顺应性膀胱组肌层内平滑肌束间的胶原蛋白浸润明显增多,而弹性蛋白则有所减少。结论 膀胱流出道梗阻后,膀胱壁上两种细胞外基质的主要成分胶原蛋白、弹性蛋白的沉积发生了变化,使膀胱纤维化,并最终可能对膀胱功能产生影响,使膀胱变为一种低容量,高压力的低顺应性膀胱。

关键词:低顺应性膀胱;膀胱流出道梗阻;胶原蛋白;弹性蛋白
中图法分类号:R322.62;R694.202 文献标识码:A

Structure remodeling of bladder wall in rats with obstructive low compliant bladder

LIU Nan, SONG Bo, JING Xi-Yu, XIONG En-Qing (Center of Urology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of excellular matrix of obstructive low compliant bladder in rats. Methods The amounts of collagen and elastin in bladder tissue were compared in low compliant bladder rats with the rats with normal compliance by light microscopy and electron microscopy. Results There were increased infiltration consisting of a deposition of collagen and decreased deposition in the interstitium of smooth muscle bundles of elastin in the obstruction low compliant bladder of rats. Conclusion After bladder outlet obstruction, the amounts of collagen and elastin of the bladder wall changed, leading to bladder fibrosis. Therefore the function of bladder is damaged, resulting in a low volume, and high pressure urinary cyst. And these bladders are functionally referred to as low compliant bladder.

Key words: low compliant bladder; bladder outlet obstruction; collagen; elastin

膀胱流出道梗阻(Bladder outlet obstruction, BOO)是泌尿外科临床上常见的问题之一,其原因有良性前列腺增生症(Benign prostatic hyperplasia, BPH),尿道狭窄和先天发育异常等[1~3]。BOO可造成膀胱功能及其结构的改变,最终造成上尿路功能的损害[4]。参照国外文献[5]报道,从2000年6月开始,我院在建立BOO动物模型的基础上,对低顺应性膀胱的功能与膀胱壁结构的变化做了研究。

1 材料和方法

1.1 大鼠低顺应性膀胱模型的建立

1.1.1 动物选择 体重为150~200 g的雌性Wistar大鼠,2~3月龄。

1.1.2 膀胱流出道梗阻的建立 70只雌性Wistar大鼠随机分为2组,40只为梗阻组,30只为对照组。

梗阻组 40只Wistar大鼠用异戊巴比妥行腹腔内注射麻醉(50 mg/kg),然后行下腹正中切口,找到膀胱,仔细游离膀胱—尿道交界处,于此处穿过3/0丝线,自尿道外口插入外径为1 mm聚乙烯探子入膀胱,以此为支撑,轻轻结扎膀胱—尿道交界处的丝线,结扎标准以尿道内支架管移动略紧为宜,逐层关闭切口,每2周观测体重变化。

对照组 30只雌性Wistar大鼠。采用同样的麻醉、同样的外科手术方法、游离膀胱尿道交界处,但不结扎,然后关闭腹腔。

1.1.3 尿流动力学检测 根据既往我们对大鼠流出道梗阻的研究,2月以后对大鼠行尿流动力学检测(尿动力仪为Nidoc-970尿动力学检测仪:成都电子科技大学维信有限公司,AVI270微量灌注泵:美国3M公司)。每月1次,用外径为1 mm的导管插入膀胱,用灌注泵以37 ℃温盐水行膀胱灌注,若导管不能插入膀胱可直接行下腹切口,暴露膀胱后,导管插入膀胱直接检测膀胱压力容积变化,梗阻组灌注率为50 ml/h,对照组为12 ml/h。

1.2 光镜观察

取标本置10%的福尔马林溶液中固定,酒精梯度脱水,常规石蜡包理、切片、常规VG(Van-Gieson)染色和Verhoeff染色。

1.3 透射电镜观察

标本经3%的戊二醛固定后,切成1 mm^3大小,再经2%的饿酸固定,50%~100%的酒精梯度脱水,EPP pon812环氧树脂包埋,半薄切片(1 μm)常规定位后切制超薄切片(50 nm),醋酸铀和枸橼酸铅染色,PHILPS-CM10型透射电镜观察。

1.4 图像分析

TIGER™真彩色细胞图像分析仪

VG染色:每张切片取10个视场在×100放大下,统计胶原纤维所占的面积,取其平均值。Verhoeff染色,每张切片取10个视场在×100放大下,统计弹性纤维所占的面积,取其平均值。

1.5 统计学处理

应用SYSTATE统计学软件处理,结果以$\bar{x}\pm s$表达。

2 结果

2.1 低顺应性膀胱动物模型

40只雌性Wistar大鼠,膀胱流出道梗阻后4~5月行尿动力学检测,16只出现低顺应性膀胱,19只死亡,5只未出现低顺应性膀胱,低顺应性膀胱发生率为76%(16/21)。16只出现低顺应性膀胱的大鼠被处死,取出膀胱置液氮罐中保存。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970739)
作者简介:刘 南(1967—),男,重庆市人,博士研究生,主治医师,主要从事尿动力学方面的研究,发表论文5篇。电话:13068320045
收稿日期:2002-04-26;修回日期:2002-06-27

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

假手术对照组 Wistar 大鼠，梗阻后 5 月仍有 21 只存活，处死大鼠，取下膀胱组织置液氮中保存。

梗阻性低顺应性膀胱组膀胱顺应性为 0.059±0.012 ml/cm$_2$H$_2$O，正常对照组膀胱顺应性为 0.103±0.018 ml/cm$_2$H$_2$O，两相比较差异非常显著（$P<0.01$）。

2.2 光镜观察

VG 染色：与对照相比，低顺应性膀胱组光镜下见肌层内平滑肌束间被大量的红色的胶原纤维浸润，见图 1，2。

Verhoeff 染色　与正常对照组相比，低顺应性膀胱组肌层内平滑肌束间黑色的弹力纤维有所减少，见图 1，3。

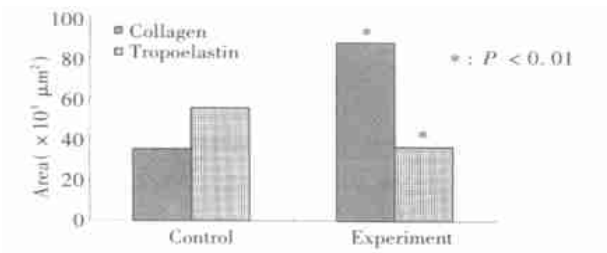


图 1　低顺应性膀胱胶原纤维、弹性纤维的改变

Fig 1　Change of collagen and elastin fibers of bladder wall during low compliant bladder of rats

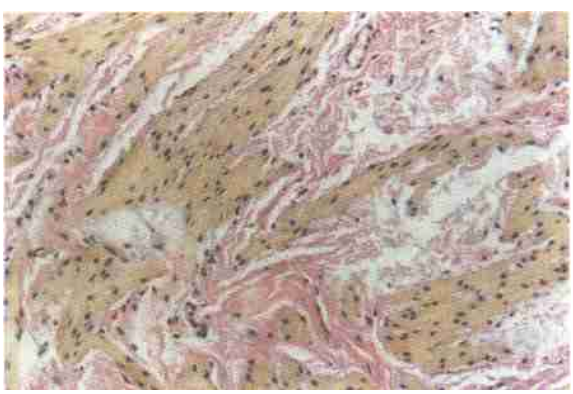


图 2　低顺应性膀胱 VG 染色可见大量红色胶原纤维浸润于肌束间　（VG× 100）

Fig 2　Abundant collagen fibers infiltrating the muscle bundles in low compliant bladder of rats　（VG×100）



图 3　与正常对照相比，低顺应性膀胱组织 Vaehoeff 染色见肌束间黑色弹性纤维的量有所减少　（Vaehoeff× 200）

Fig 3　Few elastin fibers in muscle bundles in low compliant bladder of rats　（Vaehoeff× 200）

2.3 透射电镜观察

与对照组相比，低顺应性膀胱组中一些肌束上的平滑肌细胞周围的胶原纤维明显增多，见图 4。

另一个超微结构改变是：部分平滑肌细胞在外观上类似于纤维母细胞，其主要特点是-在细胞的中心区域可见具有活跃分泌功能的粗面内质网，胞质中有一些肌丝朝向外，沿着这些细胞的基膜延伸可见一些微纤维成分，见图 5。



图 4　低顺应性膀胱平滑肌细胞变得类似于纤维母细胞，细胞间的胶原纤维明显增多　（TEM× 3 500）

Fig 4　Smooth muscle cells showing fibroblastic features with more intercellular collagen fibrils in low compliant bladder of rats　（TEM× 3 500）

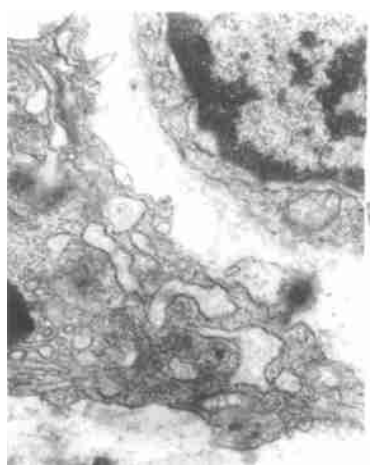


图 5　低顺应性膀胱平滑肌细胞在外观上类似于纤维母细胞，在细胞的中心区域可见具有活跃分泌功能的粗面内质网，胞质中有一些肌丝朝向外，沿这些细胞的基膜延伸可见一些微纤维成分　（TEM× 10 000）

Fig 5　Smooth muscle cells in low compliant bladder of rats displaying "fibroblast-like" in appearance, with the myofilaments protruding towards the periphery, prominent rough endoplasmic reticula in central region, and microfibrils extending along with the basal lamina of these cells　（TEM× 10 000）

3 讨论

正常情况下，在膀胱充盈期，随膀胱容量增加，膀

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

胱内应持续保持低压状态, 即压力一般在 14.7 kPa (15 cm H_2O)以下, 这种充盈期的△V/△P 即为膀胱的顺应性 C(Compliance)。已有研究显示在膀胱流出道梗阻后, 膀胱壁由于结缔组织积聚而发生重塑(Remodeling)[6], 从而引起膀胱纤维化, 使正常膀胱变为一种小容量、高压力的低顺应性膀胱, 这种膀胱在贮存尿液时膀胱内压较正常高, 升高的膀胱内压可引起上尿路功能损害。McGuire 等研究表明当膀胱的漏尿点压≥40 cm H_2O 柱时可造成上尿路功能的损害[7]。

有作者研究表明: 低顺应性膀胱的主要结构改变在于细胞外基质蛋白异常沉积于膀胱壁的肌层上。Landau 等[8]对 29 例低顺应性膀胱患者所做的研究显示: 低顺应性膀胱组, 结缔组织的百分含量为 35.19±2.84, 结缔组织/平滑肌的比值为 0.60±0.08, 而正常对照组分别为 10.60±0.20 和 0.131±0.021, 两相比较 $P<0.05$, 有显著差异, 即低顺应性膀胱组结缔组织的百分含量、结缔组织/平滑肌的比率明显升高。而 Ewalt等[9]则进一步用免疫组化的方法对人低顺应性膀胱的形态学特点进行了研究, 他们发现是胶原蛋白在低顺应性膀胱肌层中的沉积明显增加, 在对低顺应性膀胱纤维化的研究中, 人们对胶原蛋白的变化研究得较多, 现已基本达成一致。但膀胱壁细胞外基质的另一种主要成分弹性蛋白由于其结构的特殊性, 对它的研究则非常困难, 先前对一些梗阻性疾病的研究发现组织中弹性蛋白是增加, 但当梗阻持续存在, 膀胱变为僵硬的低顺应性膀胱后, 弹性蛋白究竟如何变化? 这方面的研究很少。

以前也有一些对大鼠 BOO 模型的研究, 但尚未见到大鼠梗阻性低顺应性膀胱模型的报道。本实验在建立雌性大鼠膀胱流出道轻度梗阻 4~5 月后, 成功模拟出低顺应性膀胱的模型。我们的研究显示: ①光镜下 VG 染色示低顺应性膀胱组肌层内平滑肌束间胶原纤维浸润明显增多; ②Verhoeff 染色, 低顺应性膀胱组肌层内平滑肌束间黑色的弹力纤维有所减少; ③透射电镜示: 低顺应性膀胱组肌束上的平滑肌细胞被多量的胶原纤维所隔开, 平滑肌细胞外观上变得类似于纤维母细胞。

既然我们发现在低顺应性膀胱肌层中胶原蛋白明显增多, 那么这些增多的胶原蛋白究竟来源于什么细胞? 有些作者认为是平滑肌细胞在某种因素刺激下其分泌胶原蛋白的能力被提高所致[10]。我们的透射电镜亦显示在部分平滑肌细胞的中心区域可见具有活跃分泌功能的粗面内质网, 胞质中有一些肌丝朝向外, 沿着这些基膜延伸可见一些微纤维成分, 这些成分也许是胶原蛋白的前体。当然, 想要对此问题作出结论尚需进一步的研究。

那么, 到底是什么机制造成梗阻性低顺应膀胱的结构重塑呢(肌层内胶原纤维增多, 弹力纤维减少)? 目前常见的有两种学说[11]: 其一是压力学说, 即膀胱内压的变化是造成膀胱壁结构变化的启动因素; 其二是细胞信号学说, 有人对 BOO 动物模型的研究发现, 膀胱上的几种生长因子发生了明显的变化, 这似乎提示梗阻时细胞间信号的传递亦可以引起平滑肌肥大和细胞外基质成分的改变, 但这些学说均有待于进一步证实。

参考文献:

[1] Shapiro E, Becich M J, Perlman E, *et al*. Bladder wall abnormalities in myelodysplastic bladders a computer assisted morphometric analysis [J]. J Urol, 1991, 145(5): 1 024—1 029.

[2] Workman S, Kogan B. Fetal bladder histology in posterior urethral valves and the prune belly syndrome[J]. J Urol, 1990, 144(2 pt 2): 337—339.

[3] Hongoh Y, Sakanaka M, Kitagawa Y, *et al*. Morphologic changes in detrusor muscules of patients with chronic obstructin of lower urinary tract[J]. Urology, 1991, 37(6): 584—589.

[4] Gosling J A, Kung L S, Dixon J S, *et al*. Correlation between the structure and function of the rabbit urinary bladder following partial outlet obstruction [J]. J Urol, 2000, 163(4): 1 349—1 356.

[5] Lluel P, Duquenne C, Martin D. Experimental bladder instability following bladder outlet obstruction in the female rat[J]. J Urol, 1998, 160(6 pt 1): 2 253—2 257.

[6] Pampinella F, Roelofs M, Castellucci E, *et al*. Time-dependent remodeling of the bladder wall in growing rabbit after partial outlet obstruction[J]. J Urol, 1997, 157(2): 677—682.

[7] Mcguire E J, Woodside J R, Borden T A, *et al*. Prognostic value of urodynamic testing in myelodysplastic patients[J]. J Urol, 1981, 126(2): 205—209.

[8] Landau E, Jayanthi V, Churchill B, *et al*. Loss of elasticity in dysfunctional bladders urodynamic and histochemical correlation [J]. J Urol, 1994, 152(2 pt 2): 702—705.

[9] Ewalt D H, Howard P S, Blyth B, *et al*. Is lamina propria matrix responsible for normal bladder complicance[J] ? J Urol, 1992, 148(2 pt 2): 544—549.

[10] Gosling J. Modification of bladder structure in response to outflow obstruction and aging[J]. Eur Urol, 1997, 32(suppl 1): 9—14.

[11] 刘　南, 宋　波. 梗阻性低顺应性膀胱的组织结构改变[J]. 国外医学: 泌尿系统分册, 2001, 21(增刊): 97—99.

(编辑　冷怀明)

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