DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.02.021
第24卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 2
164 2002年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)02-0164-03

M受体及其亚型与逼尿肌功能的关系研究

李 新[1],宋 波[1],李益人[2],金锡御[1] ([1]第三军医大学附属西南医院全军泌尿中心,重庆 400038;[2]成都军区60医院外一科,大理 671003)

提 要:目的 探讨M受体亚型与逼尿肌功能变化之间的关系。方法 根据膀胱压力容积测定结果将动物分为稳定组和不稳定组,通过体外肌条拉力试验记录不同M受体及其受体活性药物作用下逼尿肌肌条自发性收缩频率及收缩力变化。结果 正常大鼠中逼尿肌不稳定发生率为25.6%。在一定张力下逼尿肌有自发性收缩产生。不稳定组体外肌条自发性收缩频率及收缩力较稳定组升高。阿托品、4-DAMP和Methoctramin对肌条自发性收缩频率无影响。卡巴可能使自发性收缩频率和收缩力增加,阿托品和4-DAMP可部分抑制这种作用,Methoctramin作用不明显。结论 逼尿肌自律性不依赖M受体及其亚型,肌源性因素是逼尿肌不稳定产生的重要原因。M_3受体亚型能进一步增加逼尿肌自律性和收缩力。

关键词:M受体亚型;逼尿肌
中图法分类号:R322.6;R392.11 文献标识码:A

Relationship of muscarinic receptor and its subtypes to detrusor function in rats

LI Xin, SONG Bo, LI Yi-ren, JIN Xi-yu (Department of Urology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship of muscarinic receptor and its subtypes to the function of detrusor. Methods A total of 43 rats were divided into stable group and instable group accordine to cystometry changes of urodynamics were monitored with cystometric studies. Spontanouse contraction frequency and strength of detrusor strips mustarded respectively by carbachol (muscarinic receptor agonist), atropine (nonselective M antagonist), methoctramin (M_2 receptor selected antagonist), and 4-DAMP (M_3 receptor selected antagonist) were measured. Results In 43 rats, rats with Destrusor Instability(DI) took up 25.6%. Bladders of DI rats showed less capacity, lower compliance, and lower hyperreflexia. Detrusor of the 2 groups contracted at a certain tension. The spontaneous contraction frequency and strangth of destrusor strips in instable group was higher than those in stable group. There were no obvious changes when detrusor strips were mustarded by different muscarinic receptor antagonists. Carbachol raised detrusor strips' spontaneous contraction frequency, which were blocked partly by atropine and 4-DAMP but not by Methoctramin. Conclusions Detrusor is a rythmatic tissue at a certain tension. Rise of Exitability of detrusor is the main cause of DI. M_3 receptor can improve the exitability of detrusor and cause direct contraction of detrusor. The function of M_2 receptor is still unclear.

Key words: muscarinic receptor subtype; detrusor

逼尿肌不稳定(Detrusor instability, DI)为泌尿外科常见病,发生机制不清。临床常用抗胆碱能药物治疗,但效果并不理想,副作用明显[1]。本研究利用体外肌条收缩实验对不同M受体及其亚型活性药物对逼尿肌自律性和收缩性的影响进行观察,探讨逼尿肌不稳定的产生机制及其与M受体及其亚型的关系。

1 材料与方法

1.1 实验对象

采用健康雄性Wistar大鼠43只,体重180~220 g。

1.2 主要试剂

卡巴可、阿托品购自Sigma公司。4-DAMP、Methoctramine购自RBI公司。Kreb's营养液成分如下:NaCl 120.6 mmol/L, KCl 5.9 mmol/L, NaH_2PO_4 1.2 mmol/L, $MgCl_2$ 1.2 mmol/L, $NaHCO_3$ 15.4 mmol/L, $CaCl_2$ 2.5 mmol/L, $C_6H_{12}O_6$ 11.5 mmol/L, pH=7.4。

1.3 尿动力学检查

所有动物均行膀胱压力容积测定(膀胱灌注速率为0.2 ml/min,记录膀胱压力波形、大小变化),根据尿动力学检查结果将分为不稳定组(11只)和稳定组(32只)。

1.4 体外肌条收缩实验

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's液,通以95% O_2、5% CO_2混合气体。检测信号输入计算机,记录不同M受体及其受体活性药物作用下逼尿肌肌条自发性收缩频率及收缩力变化。

1.4.1 体外逼尿肌肌条自律性测定 牵拉肌条至张力为0.8 g时固定肌条长度,连续记录肌条张力变化15 min,记录收缩峰数,计算检测此长度下自发收缩频率及振幅。

1.4.2 M受体及其亚型活性药物对体外逼尿肌肌条自发性收缩频率的影响 实验组分别用含10^{-8} mol/L卡巴可Kreb's液、含10^{-6} mol/L阿托品Kreb's液、含10^{-5} mol/L Methoctramine Kreb's液和含10^{-6} mol/L 4-DAMP Kreb's液孵育肌条30 min,对照组以Kreb's液孵育肌条30 min,记录不同孵育条件下逼尿肌肌条自发性收缩频率变化。

1.4.3 M受体及其亚型拮抗剂对卡巴可所致体外逼尿肌肌条自发性收缩频率变化的影响 先用含10^{-8} mol/L卡巴可的Kreb's液孵育肌条,以后分别加入10^{-6} mol/L阿托品、10^{-5} mol/L Methoctramine和10^{-6} mol/L 4-DAMP,连续记录肌条张力变化及收缩峰数,计算自发收缩频率及振幅。

1.4.4 卡巴可对体外逼尿肌肌条收缩力的影响 空白Kreb's液孵育肌条,待肌条收缩活动恢复后分别加入10^{-9}、

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970739)
作者简介:李 新(1973-),男,云南省大理市人,博士研究生,医师,主要从事排尿功能障碍性疾病方面的研究,发表论文8篇。电话:(023)68754186
收稿日期:2001-02-20;修回日期:2001-10-10

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

10^{-8}、10^{-7}、10^{-6}、10^{-5}和 10^{-4} mol/L 卡巴可, 记录每种浓度下肌条收缩力变化。

1.4.5　M 受体及其亚型拮抗剂对卡巴可所致体外逼尿肌肌条收缩力变化的影响　　用含不同浓度阿托品(10^{-8}、10^{-7}、10^{-6} mol/L)、Methoctramine(10^{-7}、10^{-6}、10^{-5} mol/L)和 4-DAMP(10^{-8}、10^{-7}、10^{-6} mol/L)的 Kreb' s 液孵育肌条 30 min, 待肌条收缩活动恢复后分别加入 10^{-9}、10^{-8}、10^{-7}、10^{-6}、10^{-5}和 10^{-4} mol/L 等不同浓度卡巴可, 记录肌条收缩力变化。

1.5　统计学方法

计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表达, 用 t 检验和方差分析。

2　结果

2.1　尿动力学检查结果

43 只大鼠中有 11 只表现为逼尿肌不稳定, 发生率为 25.6%, 在膀胱充盈过程中出现多个无抑制收缩波, 将其分为不稳定组(11 只), 其余部分为稳定组(32 只)。两组间膀胱顺应性和容量与稳定组差异不明显, 见表 1。

表 1　鼠膀胱最大容积与顺应性比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Maximum capacity and compliance of rat($\bar{x}\pm s$)

	n	Maximum capacity (ml)	Compliance (ml/cmH_2O)
Instable	11	1.104±0.027 *	0.0262±0.032 *
Stable	32	1.156±0.026	0.0289±0.020

*: $P>0.05$ *vs* stable

2.2　体外肌条收缩实验

2.2.1　体外逼尿肌肌条自律性比较　　各组逼尿肌肌条在本实验条件下(基础张力达到 0.8 g)均有自发性的收缩, 不稳定组自发性收缩频率较稳定组明显增加, 见图 1。

2.2.2　M 受体及其亚型活性药物对体外逼尿肌肌条自律性的影响　　不同 M 受体拮抗剂对不稳定组和稳定组逼尿肌自发性收缩频率均无明显影响, 卡巴可可使逼尿肌自发性收缩频率明显增加, 不稳定组自发性收缩频率上升更为明显, 见图 1。

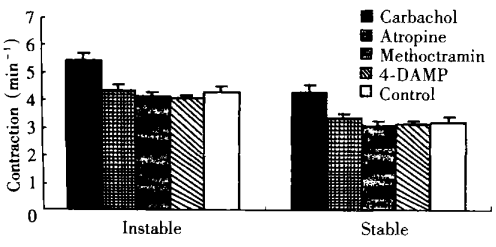


图 1　M 受体及其亚型对体外逼尿肌肌条自律性的影响

Fig 1　M agents on detrusor contrction frequency *in vitro*

2.2.3　M 受体及其亚型拮抗剂对卡巴可所致体外逼尿肌肌条自发性收缩频率变化的影响　　阿托品和 4-AMP 可抑制卡巴可所致逼尿肌收缩频率增加, Methoctramin 无明显影响, 见图 2。

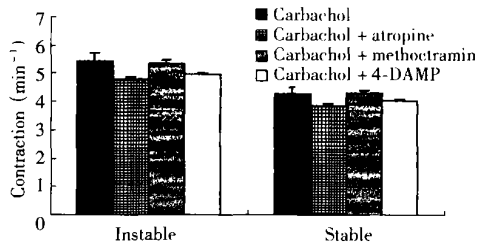


图 2　M 受体及其亚型拮抗剂对卡巴可所致肌条自律性变化的影响

Fig 2　M agents on changes of detrusor contrction frequency caused by carbachol

2.2.4　卡巴可对逼尿肌肌条收缩力的影响　　随卡巴可浓度上升, 肌条收缩力增强; 相同浓度下不稳定组收缩力较稳定组差别不明显; 但不稳定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, 对照组肌条未测出收缩, 见图 3。

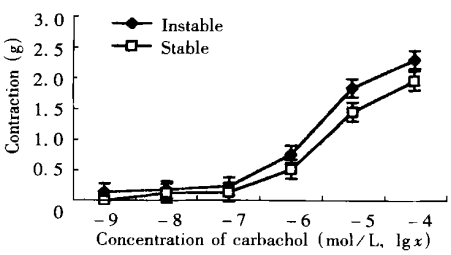
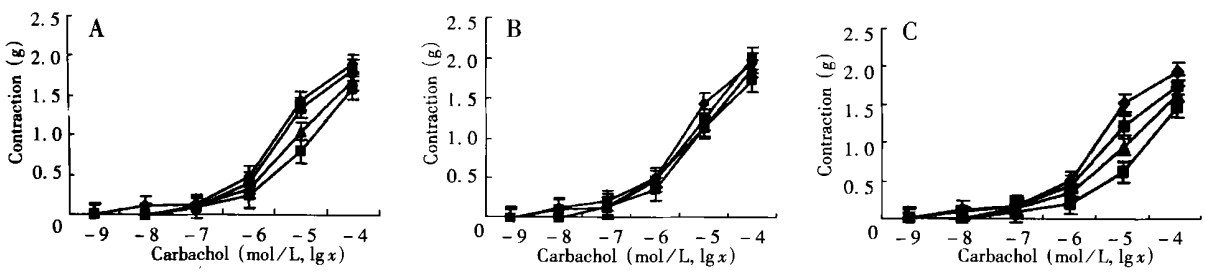


图 3　卡巴可引起逼尿肌肌条收缩力变化

Fig 3　Changes of detrusor contraction caused by carbachol

2.2.5　M 受体及其亚型拮抗剂对卡巴可所致体外逼尿肌肌条收缩力变化的影响　　分别用不同浓度非选择性 M 受体拮抗剂阿托品和 M_2 受体选择性拮抗剂 Methoctramin、M_3 受体选择性拮抗剂 4-DAMP 孵育体外逼尿肌肌条, 然后加入梯度浓度卡巴可刺激肌条收缩, 观察逼尿肌肌条收缩力变化并绘制量效曲线: 阿托品和 4-DAMP 孵育肌条可使量效曲线右移, 即阿托品和 4-DAMP 可以显著降低卡巴可的正性肌力作用, 且其拮抗强度随浓度增加而增大; 而 Methoctramin 仅能使量效曲线轻微右移, 即 Methoctramin 对卡巴可引起的逼尿肌收缩作用不明显, 见图 4。表明 M 受体中的 M_3 亚型是引起逼尿肌收缩的主要受体, 而 M_2 受体对逼尿肌收缩无显著性作用。



From left to right are different concentrations of atropine 0, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6} mol/L(A), methoctramin 0, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5} mol/L(B) and 4-DAMP 0, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6} mol/L(C)

图 4　不同浓度阿托品、methoctramin、4-DAMP 对抗卡巴可正性肌力作用量效曲线图

Fig 4　Effects of atropine, methoctramin, 4-DAMP on the carbachol caused detrusor contraction in instable groups

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

3 讨论

逼尿肌不稳定是指储尿期出现自发或诱发的不能抑制的期相性的压力大于或等于 15 cmH_2O 的逼尿肌收缩。以尿频、尿急为主要表现,严重时可引起紧迫性尿失禁。发生率极高,治疗困难[1]。本研究发现正常大鼠中逼尿肌不稳定发生率为 25.6%,与文献[2]报道较一致。尽管此种疾病在临床上极为常见,由于绝大多数逼尿肌不稳定者原因不明,治疗机制不明确,治疗多以对症为主。

正常情况下储尿期逼尿肌保持舒张,不产生收缩,一般认为逼尿肌是与胃肠道、心肌等自律性组织不同的特殊类型。我们渐进增加逼尿肌肌条张力,发现无论实验组或对照组肌条在一定前负荷下均可产生自发性收缩,说明逼尿肌有产生自发性收缩的能力,即特定条件下逼尿肌是具有自发兴奋能力的组织。在逼尿肌不稳定者,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[3]。本实验发现相同负荷条件下不稳定组肌条收缩频率较稳定组增高,提示逼尿肌不稳定的产生可能与其自发兴奋能力增加有关。

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[4]。自 1988 年较明确地将 M 受体分为 $M_{1\text{-}5}$ 5 种亚型[5] 以来,已证明存在于逼尿肌的亚型为 M_2 和 M_3 两种[6],但这两种亚型与逼尿肌功能变化之间的关系尚未见完整报道。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不同 M 受体拮抗剂(阿托品、Methoctramin 和 4-DAMP)对逼尿肌自发性收缩频率无明显影响。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,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。

我们还发现 M 受体(主要是 M_3 受体)可增加逼尿肌自发性收缩,其依据为:①卡巴可使逼尿肌自发收缩频率增高;②非选择性 M 受体拮抗剂阿托品和 M_3 受体选择性拮抗剂 4-DAMP 可拮抗卡巴可所致逼尿肌自发收缩频率增高,而 Methoctramin 无明显作用。同时本研究证实,非选择性 M 受体拮抗剂阿托品和 M_3 受体拮抗剂 4-DAMP 可明显抑制卡巴可引起的逼尿肌收缩力增强,量效曲线分析显示这一作用具有剂量依赖性,而 M_2 受体拮抗剂 Methoctramin 仅有轻度作用。表明 M_3 受体是调节逼尿肌收缩力的主要受体[7],M_2 受体与逼尿肌的收缩力和自律性无明显关系,其作用仍需进一步研究。这可能是临床使用 M 受体拮抗剂治疗逼尿肌不稳定的理论基础,研制和开展 M_3 受体亚型特异性产品对提高治疗效果、减少副作用有较大意义。

文献[8]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。本实验中逼尿肌在特定条件下都具有自发性收缩的能力,逼尿肌不稳定者自发收缩频率更高且并不依赖 M 受体及其亚型。Brading 等[9] 发现收缩亢进逼尿肌细胞间缝隙连接、桥粒连接和胞突连接的数量有所上升,能增加细胞间电耦连,使两个相邻肌细胞成为“合胞体”,导致细胞间电传导易化,这可能是逼尿肌不稳定的重要结构基础。上述结果提示肌源性因素在逼尿肌不稳定的形成中可能发挥主要作用,从肌源性角度寻找病因根源可能是最终解决逼尿肌不稳定这一临床难题的新途径。

参考文献:

[1] Anderson K E. The overactive bladder: pharmacologic basis of drug treatment[J]. Urology, 1997, 50(6A suppl), 74—84.

[2] Ouslander M, Palmen M H, Rovnen K. Urinary incontinence in nursing homes: incidence remission and associated factors[J]. J Am Geriatr Soc, 1993, 42(10): 1 083—1 089.

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

[4] 吴阶平 主编. 泌尿外科[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1993. 801—831.

[5] Bonner T I, Buckey, Yang A C, *et al*. Identification of a family of muscarinic actylcholine receptor genes[J]. Science, 1987, 233(4 814): 527—532.

[6] Wang P, Luthin G R, Ruggieri M R. Muscarinic acetylcholine receptor subtypes mediating urinary bladder contractility and coupling to GTP binding proteins[J]. J Pharmacol Exp Ther 1995, 273(2): 959—966.

[7] SS Hegde, A Choppin, D Bonhaus, *et al*. Functional role of M2 and M3 muscarinic receptors in the urinary bladder of rats *in vitro* and *in vivo*[J]. Br J Phar, 1997, 120(8): 1 409—1 418.

[8] Ohya Y, Adachi N, Nakamura Y, *et al*. Stretch-activated channels in arterial smooth muscle of genetic hypertensive rats[J]. Hypertension, 1998, 31(1 Pt 2): 254—258.

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

(编辑 薛国文)

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