

2 种逼尿肌功能障碍模型的建立

韩 静¹, 叶笑然¹, 孟宪军², 陈 玄¹, 黄晓卿¹

(1. 福建省中医药研究院, 福建 福州 350003; 2. 厦门大学医学院中医系, 福建 厦门 361005)

摘要: 目的 建立满足针刺疗效机理研究的逼尿肌功能障碍模型。方法 将新西兰兔随机分为对照组、模型 A 组、模型 B 组, 3 组经尿道插管行膀胱持续以 20 mL/h 匀速定量灌注并动态测定膀胱内压, 模型 A 组注射 0.005% 新斯的明 10 mL, 模型 B 组注射 0.05% 山莨菪碱 10 mL, 对照组注射 10 mL 生理盐水, 记录该期间膀胱内压波动及给药结束即时的尿液排出速度。结果 模型 A 组膀胱内压不稳定波型的例数显著高于对照组, 排尿速度显著大于对照组; 模型 B 组稳定型膀胱内压波型的例数显著多于对照组, 排尿速度显著小于对照组。结论 经静脉匀速注射新斯的明可建立膀胱逼尿肌过度活跃模型, 经静脉匀速注射山莨菪碱可建立膀胱逼尿肌过度抑制模型, 2 种模型均为无创性, 为在整体功能完整条件下, 对排尿功能障碍性疾病的针刺疗效机理研究提供了动物模型基础。

关键词: 针刺疗法; 逼尿肌; 动物模型; 新斯的明; 山莨菪碱

中图分类号: R246.6 文献标志码: A 文章编号: 1004-5627(2011)03-0022-04

针刺疗法治疗排尿障碍症的规律和机理尚不明确, 临床上存在穴位选取及刺激参数不确定的问题, 影响了疗效的提高。因此, 有必要对针刺疗法治疗排尿障碍症的规律及其机制进行研究, 建立适合针刺研究的排尿障碍动物模型, 这是进行研究的必备条件。现有的排尿障碍动物模型多需进行手术, 对动物损伤较大, 不符合某些非器质性损伤所致排尿障碍的生理病理条件, 也不利于某些需在动物整体功能完整条件下的研究。本研究旨在无创条件下建立以膀胱逼尿肌功能亢进或功能减弱为主要特征的稳定、可靠、简便易行的家兔排尿障碍模型, 为针刺治疗排尿障碍症及其机制的研究奠定动物模型基础。

1 材料与方 法

1.1 动物 新西兰兔, 雄性, 普通级, 2~2.5 kg/只, 上海生旺实验动物养殖有限公司提供, 许可证号: SCXK(沪)2007-0007。

1.2 药品 氨基甲酸乙酯(国药集团化学试剂有限公司, 批号: T20061101); 甲硫酸新斯的明注射液(上海信谊金朱药业有限公司, 批号: 060204); 盐酸消旋山莨菪碱注射液(郑州卓峰制药厂, 批号: H20043411)。

1.3 仪器 RM6240B 型多道生理信号采集处理系统(成都仪器厂); YPJ01H 型高灵敏压力换能器(成都仪器厂); YBWZ-12 型微量注射泵(上海爱特沃德电气有限公司); 恒温兔手术台; 膀胱充盈管为人用 8 号双腔导尿管改制, 前端有 1 个充气囊。

1.4 膀胱逼尿肌功能亢进模型的建立 实验步骤: ① 分组: 雄性新西兰兔 24 只, 随机分为对照组、模型 A 组, 每组 12 只。每天上午 8:00~12:00 进行实验。② 麻醉: 20% 氨基甲酸乙酯溶液, 5 mL/kg, 耳缘静脉注射。③ 仰卧位固定动物, 经尿道插入膀胱充盈管, 向气囊内注入空气以固定尿管。注射器缓慢抽吸排空膀胱内尿液。④ 连接三通管: 其一端连接高灵敏度压力换能器接多道生理记录仪, 一端接膀胱充盈管连通膀胱腔, 另一端接注射泵行膀胱充盈生理盐水, 充盈速度 50 mL/h, 充盈时间 30 min。膀胱充盈的同时, 模型 A 组以 20 mL/h 的速度匀速静脉注射 0.005% 甲硫酸新斯的明溶液 10 mL, 对照组注射等体积生理盐水, 充盈时期用生理记录仪记录膀胱内压波形。⑤ 膀胱排尿速度的检测: 充盈结束即刻, 将膀胱充盈管外端口接生理记录仪的液体记滴装置, 膀胱内液经充盈管滴出至记滴探测电极, 经多道生理信号采集处理

收稿日期: 2011-01-04

基金项目: 福建省自然科学基金资助课题(2009J05070), 福建省卫生厅中医药科研重点课题(WZZQ0902)

作者简介: 韩静(1980—), 女, 助理研究员, 主要从事中西医结合基础研究。

通讯作者: 黄晓卿(1957—), 女, 研究员。E-mail: huangxq6@yahoo.com.cn

系统记录膀胱排液的滴速,连续记录 5 min。

1.5 膀胱逼尿肌功能减弱模型的建立 雄性新西兰兔 36 只,随机分为对照组、模型 B 组,每组 18 只。动物麻醉及经尿道插管等步骤同 1.4 项,连接三通管后,将生理盐水以 50 mL/h 速度充盈膀胱 90 min,在充盈 50 min 时,模型组以 20 mL/h 的速度匀速静脉注射 0.05% 山莨菪碱(654-2)注射液 10 mL,对照组注射等体积生理盐水。充盈期间记录膀胱内压波形。充盈结束,记录 10 min 膀胱排液的滴速,方法同 1.4 项。

1.6 观察指标 观察对照组和模型组充盈期膀胱压力波形以及排尿期的每分末瞬时排尿滴速。

1.7 统计学处理 将膀胱压力波形分为稳定型和不稳定型,3 组间的比较采用 χ^2 检验。每分末瞬时排尿滴速的比较采用单因素方差分析,建立排尿速度与时间的直线回归方程,用协方差分析进行两直线斜率和截距的比较,用 SPSS 13.0 统计软件进行统计处理, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

表 2 新斯的明对 2 组膀胱排尿速度的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	每分末瞬时排尿滴速/(滴/分末)				
		1	2	3	4	5
对 照 组	12	48.8 ± 18.6	42.9 ± 11.4	39.5 ± 12.3	38.2 ± 12.4	35.4 ± 11.7
模 型 A 组	12	85.6 ± 46.9 ¹⁾	70.4 ± 33.9 ¹⁾	54.3 ± 32.8	39.4 ± 30.4	23.6 ± 26.4

注:与对照组比较,1) $P < 0.01$ 。

表 2 所示 2 组排尿期前 5 min 每分末的瞬时尿滴速,模型 A 组的排尿初始速度显著高于对照组($P < 0.01$)。将 2 组以时间为自变量,排尿速度为因变量进行曲线拟合,可得 2 组的回归方程:

对照组 $V = 47.87 - 2.09 t \quad R^2 = 0.909$

模型 A 组 $V = 81.13 - 8.13 t \quad R^2 = 0.888$

由 R^2 可见排尿速度与时间的直线相关性良好。2 组直线方程的比较结果显示,模型 A 组回归方程的斜率显著大于对照组($P < 0.01$)。

2.2 膀胱逼尿肌功能减弱模型的建立

2.2.1 模型 B 组与对照组充盈期膀胱压力波型的比较 膀胱充盈过程中,可见对照组膀胱内压缓慢平稳上升,在充盈 60 min 时,对照组新西兰兔开始出现膀胱内压不规律的收缩波。充盈 50 min 时,同时静脉匀速给予 654-2,不规则收缩波显著减少。对照组与模型 B 组出现不规则收缩的例数见表 3,模型 B 组稳定型膀胱内压波形的例数显著高于对照组($P < 0.05$)。

2 结 果

2.1 膀胱逼尿肌功能亢进模型的建立

2.1.1 模型 A 组与对照组充盈期膀胱压力波型的比较 膀胱充盈期间,对照组膀胱内压稳定缓慢上升,较少出现幅度 $\geq 15 \text{ mmHg}$ 的压力波动;膀胱充盈同时静脉注射甲硫酸新斯的明,膀胱压力波动显著增多,表现为幅度 $\geq 15 \text{ mmHg}$ 的期相性压力波动。对照组与模型 A 组出现不稳定型波形的例数见表 1,模型 A 组出现不稳定型波形的例数显著高于对照组($P < 0.05$)。

表 1 新斯的明对 2 组充盈期膀胱内压波形的影响

组 别	n	充盈期膀胱内压波形	
		稳定型	不稳定型
对 照 组	12	11	1
模 型 A 组	12	3 ¹⁾	9 ¹⁾

注:与对照组比较,1) $P < 0.05$ 。

2.1.2 模型 A 组与对照组排尿速度的比较 见表 2。

表 3 654-2 对充盈期膀胱内压波型的影响

组 别	n	充盈期膀胱内压波形	
		稳定型	不稳定型
对 照 组	18	3	15
模 型 B 组	18	16 ¹⁾	2 ¹⁾

注:与对照组比较,1) $P < 0.05$ 。

2.2.2 模型 B 组与对照组排尿速度的比较 90 min 充盈结束,记录 10 min 膀胱排尿的分时速度,见表 4。模型 B 组在排尿 10 min 期间,每分末的排尿滴速均低于对照组。将 2 组以时间为自变量,排尿滴速为因变量进行曲线拟合,可得 2 组的回归方程:

对照组 $V = -3.09 t + 121.09 \quad R^2 = 0.719$

模型 B 组 $V = -2.14 t + 98.46 \quad R^2 = 0.901$

由 R^2 可见排尿滴速与时间的直线相关性良好。2 组直线方程的比较结果显示,模型 B 组回归方程的斜率与对照组无显著差异,但截距显著小于对照组($P < 0.01$)。

表 4 654-2 对排尿期膀胱排尿速度的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	每分末瞬时排尿滴速(滴/分末)				
		1	2	3	4	5
对照组	18	128.3 ± 29.8	118.2 ± 26.9	105.1 ± 25.0	99.0 ± 18.3	105.7 ± 20.6
模型 B 组	18	96.6 ± 13.1 ¹⁾	93.4 ± 11.2 ¹⁾	94.6 ± 23.2	88.7 ± 12.6 ¹⁾	86.5 ± 9.3 ¹⁾

组别	n	每分末瞬时排尿滴速(滴/分末)				
		6	7	8	9	10
对照组	18	97.4 ± 18.8	99.3 ± 18.7	98.7 ± 25.7	95.7 ± 26.6	93.5 ± 26.4
模型 B 组	18	83.2 ± 18.8 ¹⁾	87.7 ± 17.2 ¹⁾	80.7 ± 17.2 ¹⁾	77.0 ± 16.4 ¹⁾	78.6 ± 21.5

注:与对照组比较,1) $P < 0.01$ 。

3 讨论

3.1 膀胱逼尿肌的功能完善是排尿活动得以正常完成的必要条件。各种排尿功能障碍均有其相应的逼尿肌舒缩活动的异常表现,主要表现为逼尿肌功能亢进或减弱。排尿活动可分为膀胱充盈期和排尿期,充盈期膀胱内压的波动性是用以反映储尿期逼尿肌功能的一个重要指标。排尿最主要的动力来自逼尿肌的收缩,因此排尿速度是反映排尿期逼尿肌回缩力的一个指标^[1]。本研究以充盈期膀胱内压的波动性和排尿期膀胱排尿速度这 2 个膀胱状态要素为指标,作为膀胱逼尿肌功能状态的指标,探索使这 2 个功能指标呈现异常状态的非损伤的方法。目前动物模型中常用的膀胱内压检测方式主要有清醒状态下耻骨上膀胱造瘘插管测压^[2]和麻醉状态下经尿道膀胱测压^[3-4]的方式。本研究选择的是后者,其实施较为方便,操作快速简便,且动物麻醉后受到干扰因素较少,测得的尿动力学指标相对稳定,并可以实施其他药物等干预手段^[5]。本文采用的膀胱灌注速度为 50 mL/h,此速度与大多数文献报道的膀胱顺应性检测法的灌注速度相当,可近似反映生理状态下的膀胱储尿过程。生理条件下,膀胱内压的大小是膀胱逼尿肌压、腹压和尿道压综合作用的结果,我们在早前的预实验中测定了直肠压(可反映腹压),发现在本实验条件下直肠压无明显变化。本研究采用的膀胱测压管可排除尿道的影响,因此本研究中测得的膀胱内压即为逼尿肌压,可反映膀胱逼尿肌的舒缩活动。

3.2 膀胱逼尿肌上存在着丰富的 M 胆碱受体,主要受副交感神经支配。副交感神经节后神经末梢释放递质乙酰胆碱(Ach),Ach 激动膀胱逼尿肌上的 M 受体,使逼尿肌收缩。新斯的明是乙酰胆

碱酯酶抑制剂,可抑制胆碱酯酶的活性,使 Ach 降解减少而发挥拟胆碱作用,增强逼尿肌的收缩。本研究结果显示,静脉匀速注射 0.005% 的新斯的明会使充盈期膀胱内压呈现不稳定,即波动增多,提示在新斯的明的作用下,储尿期膀胱逼尿肌的收缩亢进;新斯的明模型组排尿期排尿初速度增加,排尿速度与时间的直线拟合方程的斜率显著大于对照组,表明排尿速度随时间下降的幅度增大,提示在排尿期膀胱逼尿肌也处于收缩亢进状态。实验结果显示,本模型可表现出膀胱逼尿肌功能亢进的特征。

3.3 654-2 是 M 胆碱受体的选择性拮抗剂,具有拮抗胆碱能兴奋,减弱膀胱逼尿肌收缩的效应。本研究选择 654-2 减弱膀胱逼尿肌的兴奋性,结果显示,静脉匀速注射 0.05% 654-2 使充盈期膀胱内压波动减少,提示在 654-2 的作用下,储尿期膀胱逼尿肌兴奋性减弱。排尿期排尿速度降低,排尿速度与时间的直线拟合方程的截距显著小于对照组,表明 654-2 模型组的排尿速度整体下降较为明显,提示在排尿期膀胱逼尿肌的收缩减弱。

3.4 目前,用来进行排尿障碍研究的动物模型造模方法主要有通过手术法和非手术法。通过手术造模的方式主要有损伤脊髓造成逼尿肌反射亢进或尿潴留^[5-6];或结扎尿道使膀胱流出道部分梗阻而造成不稳定膀胱^[7]。手术方式造模的缺点是对动物的损伤较大,影响动物机体整体功能的完善,也不适应于某些由于非器质性病变导致的排尿功能障碍疾病的研究。非手术方式造模有通过膀胱灌注大分子药物造成膀胱炎症,导致膀胱过度活跃状态^[8];或腹腔注射兴奋排尿中枢的药物导致膀胱过度活跃^[9],这些方法由于药物注射为冲击性给药,难以保持血药稳定的浓度,造成稳定的膀胱功能障碍。

综上所述,我们研究所采用的造模方法实施较为方便,操作简便快速,干扰因素较少,测得的尿动力指标相对稳定,造模药物剂量安全,无损伤性,故适宜用于研究针刺治疗排尿障碍症的穴位间差异的比较以及刺激参数差异的比较,通过比较以获得优化的治疗方案。

参考文献:

- [1] 金锡御,宋波.临床尿动力学[M].北京:人民卫生出版社,2002:96
- [2] 张武合,宋波,胡利发,等.神经源性、梗阻性和特发性逼尿肌不稳定模型的建立和尿动力学测定[J].西北国防医学杂志,2007,28(3):198-200.
- [3] TYAGI P,CHANCELLOR M,YOSHIMURA N,et al. Activity of different phospholipids in attenuating hyperactivity in bladder irritation[J]. BJU Int,2008,101(5):627-632.
- [4] CHUANG Y C,CHANCELLOR M B,SEKI S,et al. Intravesi-

cal protamine sulfate and potassium chloride as a model for bladder hyperactivity[J]. Urology,2003,61(3):664-670.

- [5] 孙双权,陈忠,叶章群,等.两种大鼠膀胱测压方法的比较[J].中国比较医学杂志,2008,18(7):50-53.
- [6] ZVARA P,SAHI S,HASSOUNA M M. An animal model for the neuromodulation of neurogenic bladder dysfunction[J]. Br J Urol,1998,82(2):267-271.
- [7] 邱功阔,宋波,金锡御,等.大鼠逼尿肌肌源性变化与逼尿肌反射亢进及逼尿肌不稳定的关系[J].中国康复医学杂志,2006,21(7):596-598.
- [8] MITOBE M,INOUE H,WESTFALL T D et al. A new method for producing urinary bladder hyperactivity using a non-invasive transient intravesical infusion of acetic acid in conscious rats[J]. J Pharmacol Toxicol Methods,2008,57(3):188-193.
- [9] 张淑静,吴学飞,汪司右,等.从血管活性肠肽、酪氨酸羟化酶研究电针抑制左旋多巴诱发大鼠膀胱机能亢进的神经生物学机制[J].针刺研究,2006,31(6):342-346.

Two kinds of Non-invasive Detrusor Dysfunction in Rabbits Models for Acupuncture Mechanism Study

HAN Jing¹, YE Xiaoran¹, MENG Xianjun², et al

(1. Fujian Academy of TCM and Pharmacy, Fuzhou, Fujian 350003, China;

2. Department of TCM, Medical College of Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China)

ABSTRACT: **Objective** To establish the non-invasive detrusor dysfunction models used for the acupuncture mechanism study. **Methods** New Zealand rabbits were divided into control group, model group A and model group B. Urinary bladder was quantitatively perfused with uniform speed via transurethral catheterization and cystometry were performed. Rabbits in model group A were given neostigmine (0.005%, 10 mL) by intravenous injection, in model group B and control group were given anisodamine (0.05%, 10 mL), normal sodium (10 mL) respectively by intravenous injection, and the change of intravesical pressure (IP) was recorded through continuous cystometry and urination flow velocity was recorded at the end of administration. **Results** In model group A, the number of unstable IP wave was significantly more than that of control group, and the urination flow velocity was significantly faster than that of control group. In model group B, the number of stable IP wave was significantly more than that of control group, and the urination flow velocity was significantly slower than that of control group. **Conclusion** Intravenous infusion of neostigmine can induce detrusor of bladder hyperactivity, while intravenous infusion of anisodamine can induce detrusor of bladder over-inhibition. The two kinds of model are both non-invasive, and they provide bases for the acupuncture mechanism study of voiding dysfunction under the condition of body function integrity.

KEY WORDS: acupuncture; detrusor; animal model; neostigmine; anisodamine