

· 论 著 ·

膀胱出口部分梗阻大鼠逼尿肌中糖原变化及其意义

李海洋¹,王道英²,钟甘平^{3△},王志平³,史庭恺³,马俊林³

(1. 甘肃省人民医院泌尿外科,兰州 730000;2. 甘肃武威肿瘤医院放疗科,甘肃武威 733000;

3. 兰州大学第二医院泌尿外科,兰州 730030)

摘要:目的 探讨大鼠膀胱出口部分梗阻(partial bladder outlet obstruction, PBOO)后逼尿肌中糖原变化及其意义。方法 建立大鼠 PBOO 模型,每周测量一批大鼠尿动力学数据后获取膀胱组织,采用 PAS 染色观察逼尿肌细胞中糖原变化,根据含量和分布的不同分为 0 分、1 分、2 分、3 分共 4 个等级(组),并分析这种变化和膀胱尿动力学功能的关系。结果 逼尿肌细胞中检测到了糖原,随着糖原含量的增加它出现的位置从近浆膜处通过肌层向靠近膀胱上皮处延伸;梗阻时间、膀胱湿重总体上随糖原评分增加呈增加趋势,差异有统计学意义($P < 0.05$);膀胱最大压力、容量方面,2 分组、3 分组与 0 分组、1 分组比较值的增加差异有统计学意义($P < 0.05$),3 分组和 2 分组的差异无统计学意义($P > 0.05$);膀胱顺应性方面,2 分组与 1 分组相比值的减小差异有统计学意义($P < 0.05$),3 分组和 2 分组相比值的减小差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 近浆膜的逼尿肌层内是否有糖原沉积可预测膀胱功能恢复的潜力;逼尿肌中糖原变化有可能作为膀胱逼尿肌功能分析的一个重要参数。

关键词:膀胱;梗阻;糖原;尿动力学;缺血

中图分类号:R365.694

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)02-0143-03

Changes of glucogen in detrusor of rats with partial bladder outlet obstruction and their implicationLI Hai-yang¹, WANG Dao-ying², ZHONG Gan-ping^{2△}, et al.

(1. Department of Urology, People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730000, China;

2. Department of Radiotherapy, Wuwei Tumor Hospital, Wuwei, Gansu 733000, China;

3. Department of Urology, Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730030, China)

Abstract: Objective To explore the changes of glucogen in detrusor of rats with partial bladder outlet obstruction(PBOO) and their implication. **Methods** The PBOO rat model was created and the control group had a sham operation for comparison. The individual urodynamic data and bladder samples were obtained weekly. Bladder sections were stained with periodic acid schiff (PAS) to assess overall glycogen granule density and disposition location, scored from 0 to 3. The results were demonstrated with the 5%, 25%, 75%, 95% percentile. The relationship between glycogen scores and bladder function values were observed. **Results** Glycogen granules were seen in the detrusor, as their number increased their location expanded from only close to the serosa (glycogen score 1) through the detrusor (score 2) up to the urothelium (score 3); the week of obstruction and bladder humid weight were increased in accompany with the glycogen score increased ($P < 0.05$); the max bladder pressure and volume of the score 2 and 3 group were higher than that in score 0 and 1 group ($P < 0.05$), there was no statistical significance between score 2 and 3 group ($P > 0.05$). For the bladder compliance of score 2 was decreased compared to score 1 group ($P < 0.05$), and was also no statistical significance between score 2 and 3 groups ($P > 0.05$). **Conclusion** The occurrence of glycogen deposits in the detrusor near the serosa is an indicator for bladder with more potential of functional recovery; this finding may be an important parameter for functional analysis of bladder detrusor.

Key words: bladder; obstruction; glycogen; urodynamics; ischaemia

本实验观察大鼠膀胱出口部分梗阻(partial bladder outlet obstruction, PBOO)后逼尿肌中糖原变化,探讨其与膀胱功能变化的关系,以期预测和监测膀胱功能提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验对象与分组 健康雌性 Wistar 大鼠 70 只(清洁级, 2~3 个月龄, 180~250g, 购自兰州军区总医院动物实验中心), 根据预实验结果将大鼠分为实验组(44 只)和对照组(18 只), 同时按得分情况分为 0、1、2、3 分组。每周有一批做尿动力学测定后切除膀胱进行组织分析(表 1), 有 8 只大鼠在饲

养中途死亡。

1.2 PBOO 模型建立和膀胱造瘘 用石洪波法建立 PBOO 动物模型^[1], 术后 3d 每天各大鼠给青霉素 40 万单位腹腔注射, 以后连续 3d 饮水中加入环丙沙星胶囊, 浓度为 1‰; 用周德荣法于每周尿动力学测定前行大鼠膀胱造瘘^[2]。

1.3 膀胱功能测定 水合氯醛腹腔麻醉后, 剪开皮肤缝合线结, 经造瘘管行充盈性膀胱测压, 导管经三通管与尿动力学仪和灌注泵连接, 轻压膀胱排空尿液, 室温下以 0.2 mL/min 的流速从导管灌注生理盐水, 记录最大膀胱压力(cm H₂O)、最大膀胱

△ 通讯作者, 电话: 13893206128; E-mail: zhongganping@sohu.com。

容量(mL),计算漏尿点时的膀胱顺应性($\Delta mL/\Delta cm H_2O$)。

1.4 PAS 染色及组织分析 尿动力学测定后留取膀胱,天平称重,标本用 Carney's 液固定 2h 后做组织切片;PAS 染色后,由 4 个实验员(盲法)对糖原含量与分布情况进行评分,评分标准:0 分组即没有糖原;1 分组糖原出现在近浆膜的逼尿肌层内;2 分组糖原出现在肌层深处;3 分组糖原在逼尿肌全层可见,糖原颗粒在靠近固有层处也可见。要求实验员内部对于一个样本的差异都小于 1 分。

1.5 统计学方法 应用 SPSS15.0 统计学软件分析,结果用 5%、25%、75%、95% 百分位数值表示,并采用 Box-Whisker Plots 图分析,用 Mann-Whitney U 检验来检验糖原评分差异有无统计学意义, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 实验组和对照组每周处死的大鼠数

周	实验组(n=44)	对照组(n=18)
1	6	2
2	3	1
3	8	2
4	6	2
5	2	1
6	3	2
7	8	3
8	3	2
9	2	2
10	3	1

2 结果

2.1 实验组和对照组大鼠在不同糖原评分中的数量分布情况

见表 2。表 2 显示,对照组中有 45.44% 的标本为 0 分,实验组有 43% 为 1 分,而总的来说有 40% 为 1 分。两组分布差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 PAS 染色结果 糖原颗粒出现在肌细胞细胞质中,呈紫红色。本实验发现,随着糖原含量的增加,糖原沉积的位置也从肌层近浆膜处向黏膜固有层延伸(图 1)。

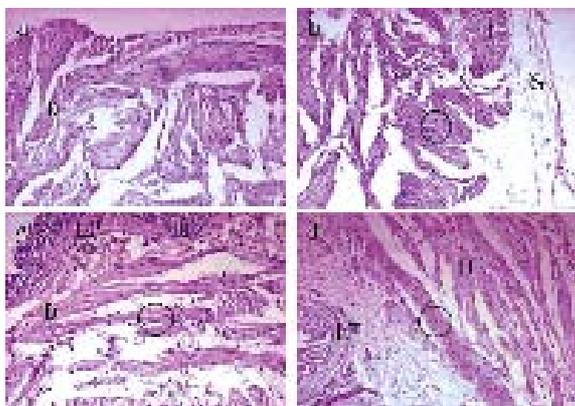


图 1 不同糖原评分的膀胱组织切片 PAS 染色($\times 200$)

2.3 糖原变化和尿动力学参数的关系(Box-Whisker Plots 图)

图 2a、b 示:PBOO 时间、膀胱湿重和糖原评分呈正相关,2、3 组数据分布较宽。图 2c、d、e 示:2 分组和 3 分组的膀胱最大压力、容量和膀胱顺应性与 0 分、1 分组相比差异有统计学意义($P < 0.05$),3 分组和 2 分组的差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 实验组和对照组在不同糖原评分组中的数量分布情况[n(%)]

组别	0 分	1 分	2 分	3 分
对照组(n=18)	8(44.44)	6(33.33)	2(11.11)	2(11.11)
实验组(n=44)	7(15.91)	19(43.18)	13(29.55)	5(11.36)*
合计	15(24)	25(41)	15(24)	7(11)

与对照组比较,*: $P < 0.05$ 。

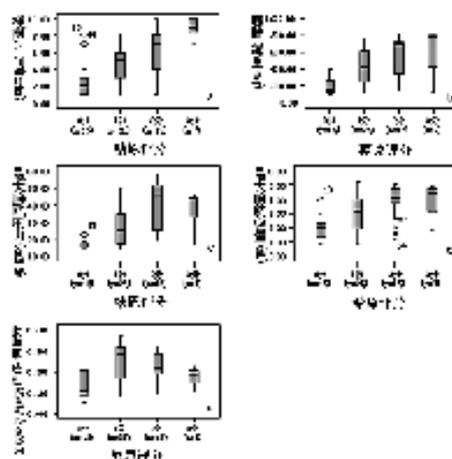


图 2 糖原评分和尿动力学参数关系的 Box-Whisker Plots 图

3 讨论

本实验建立 PBOO 动物模型,从分析膀胱组织和功能入手,着眼于膀胱逼尿肌中糖原的变化,并采用 PAS 染色来检测膀胱逼尿肌细胞中的糖原,研究 PBOO 后膀胱功能的变化发展。这种模型的优点在于可以每周进行尿动力学分析,而且很容易获得膀胱活组织,并描绘膀胱功能变化的时间过程:从功能正常到过度收缩和没有顺应性,或者甚至没有收缩性。还可以完全了解每只大鼠膀胱的尿动力学变化过程。

本研究发现,膀胱中糖原沉积的程度和位置与获得组织标本时尿动力学功能有关。糖原评分的增加与膀胱功能障碍的严重性有关,又与梗阻的期限有关;同时显示,糖原评分和 PBOO 时间呈正相关,但是数据分布宽窄不同,2 分组数据分布最宽,这表明此时间段内梗阻造成的糖原变化最明显,但不是膀胱功能变化最明显。虽然在膀胱压力、膀胱容量和顺应性方面不好比较,但可通过反应非常不同的糖原评分来区分,本实验结果显示糖原评分超过 1 分,就说明膀胱功能开始恶化。Levin 等^[3]认为代偿期进入失代偿期没有明确的时间标准,但本实验结果提示,评分为 1 分可以大概区分代偿期和失代偿期,这个结果提示,如果对处于糖原评分为 1 分的膀胱进行及时的治疗,理论上效果是非常满意的。实验结果中膀胱压力、膀胱容量和顺应性方面 3 分组和 2 分组间差异没有统计学意义说明膀胱功能已经恶化,但是继续恶化不明显,原因可能是手术造模时梗阻较轻,或者是样本量太小所致。本实验的一个局限性

在于对糖原的评分方法过于主观,尚有待于进一步改进。值得提出的是本实验中顺应性的变化出现一个先增加的过程,可能是由于膀胱容量增加所致。

最近研究表明,糖原的沉积和逼尿肌对膀胱内高压引起的组织缺血产生的适应有关,受累的肌细胞被迫在缺氧的情况下工作,此时代偿功能增强,糖原大量产生并沉积下来作为储备^[4-7]。Pessina 等^[8]报道,人、猴子、豚鼠的离体膀胱逼尿肌条在一段时间的缺氧后糖原含量会下降,这和体内整个器官的糖原储存的表现是矛盾的,体内实验发现发生缺血的时间越长,糖原颗粒就越多。本实验关于体内膀胱的研究结果表明 PBOO 后一段时间逼尿肌细胞糖原是增多的,而且还重点观察了糖原颗粒的分布情况,但是上述研究方法学上和本实验不同,故本结果还无法与文献进行比较。

目前国内外临床上诊断 PBOO 主要通过尿动力学检查。Franco 等^[9]认为,诊断和评估膀胱出口梗阻(BOO)尿动力学检查结果最准确,但是尿动力检查可重复性及稳定性差,不能准确评价膀胱功能。徐涛等^[10]的研究结果显示,应用充盈性膀胱测压检查前列腺增生症(BPH)伴 BOO 患者获得的参数结果中,只有最大尿流率时逼尿肌压力(PdetQ_{max})不论在同一次检查还是在间隔较长时间的再重复检查都具有较优的重测信度。这说明尽管选择的参数很多,但是可供选择的准确参数并不多。通过研究,作者认为糖原沉积还没有超过近浆膜的逼尿肌层时膀胱功能恢复的潜力较大,所以本实验结果有可能成为评价膀胱功能的一个重要参数。但是 de Jong 等^[11]关于雄性豚鼠 PBOO 模型中逼尿肌中糖原的研究结果认为逼尿肌靠近固有膜处有糖原沉积意味着膀胱功能恢复的潜力小,与本实验结果有出入,有可能是动物种属差异和(或)造模引起的梗阻程度不同所致。

本实验关于 PBOO 后逼尿肌中糖原变化的研究结果基于膀胱标本的获取,而且仅限于动物实验,临床应用要获取膀胱标本是不现实的,但是结合当前快速发展的拉曼分光镜检术及其在组织分析中的应用,作者有可能利用此项技术避免临床上活组织检查就能获得数据,这些数据可能在很大程度上用于帮助膀胱功能分析的应用,为评价外科手术和药物治疗 PBOO 效果以及预测、监测膀胱功能提供重要依据。

参考文献:

[1] 石洪波,孙晓松,余志远,等.膀胱出口梗阻大鼠逼尿肌中神经生长因子 mRNA 的变化及意义[J].中华实验外科

杂志,2007,24:331.

- [2] 周德荣,章振保.大鼠膀胱出口梗阻模型的建立及其尿动力学检测[J].汕头大学医学院学报,2004,17:165.
- [3] Levin RM,Levin SS,Zhao Y,et al. Cellular and molecular aspects of bladder hypertrophy[J]. Eur Urol,1997,32 (Supp 11):15.
- [4] Greenland JE, Hvistendahl JJ, Andersen H, et al. The effect of bladder outlet obstruction on tissue oxygen tension and blood flow in the pig bladder[J]. BJU Int,2000,85:1109.
- [5] Azadzi KM, Tarcan T, Kozlowski R, et al. Overactivity and structural changes in the chronically ischemic bladder[J]. J Urol,1999,162:1768.
- [6] Brading A, Pessina F, Esposito L, et al. Effects of metabolic stress and ischaemia on the bladder, and the relationship with bladder overactivity[J]. Scand J Urol Nephrol Suppl,2004,215:84.
- [7] Gosling JA, Kung LS, Dixon JS, et al. Correlation between the structure and function of the rabbit urinary bladder following partial outlet obstruction[J]. J Urol,2000,163:1349.
- [8] Pessina F, Solito R, Maestrini D, et al. Effect of anoxia-glucopenia and re-superfusion on intrinsic nerves of mammalian detrusor smooth muscle: importance of glucose metabolism[J]. NeuroUrol Urodyn,2005,24:389.
- [9] Franco G, De Nunzio C, Minardi V, et al. Patients with bladder outlet obstruction who refuse treatment show no clinical and urodynamic change after long-term follow-up[J]. Arch Ital Urol Androl,2004,76:6.
- [10] 徐涛,张小东,王晓峰,等.膀胱出口梗阻患者充盈性膀胱测压参数的重测信度评价[J].中华泌尿外科杂志,2006,27:304.
- [11] de Jong BW, Wolffenbuttel KP, Arentshorst ME, et al. Detrusor glycogen reflects the functional history of bladders with partial outlet obstruction[J]. BJU Int,2007,100(4):846.

(收稿日期:2009-04-13 修回日期:2009-07-27)

启事

接中国学术期刊评价委员会通知,《重庆医学》杂志在《中国学术期刊评价研究报告》(2009—2010)中被评为“RCCSE 中国核心学术期刊”。

特此公告

《重庆医学》编辑部