

本文引用:卓越,许明,邓石峰,刘琼,彭嘉颖,唐丽亚,艾坤,张泓.大鼠骶上不同节段脊髓损伤后神经源性膀胱模型比较及尿流动力学分析[J].湖南中医药大学学报,2022,42(9):1426-1433.

大鼠骶上不同节段脊髓损伤后神经源性膀胱模型比较及尿流动力学分析

卓越,许明,邓石峰,刘琼,彭嘉颖,唐丽亚,艾坤*,张泓*
(湖南中医药大学针灸推拿与康复学院,湖南长沙410208)

〔摘要〕目的 基于尿流动力学等手段比较第8胸椎下和第10胸椎下两种常见骶上脊髓损伤后神经源性膀胱大鼠模型差异,并优化改良模型制备及术后管理方案,为实验研究中该病动物模型的选择提供依据。方法 从48只成年雌性SD大鼠中随机抽取12只为假手术组,剩余36只再随机均分为模型1组(第8胸椎下脊髓横断)和模型2组(第10胸椎下脊髓横断),然后进行优化改良式的模型制备及术后管理,每组18只。从术后第1~18天,记录各组大鼠一般情况及每日手法排尿量,并于术后第19天行尿流动力学检测。结果 (1)两模型组均有部分不良事件发生,处理后结果尚佳,模型1组存活率为83.3%、成模率为72.2%,模型2组存活率为88.9%、成模率为77.8%;(2)两模型组每日手法排尿量具有术后第4~5天最高,术后第7~8天明显下降,并于术后第16~18天趋于稳定的特点;(3)尿流动力学示:与假手术组比,模型1组和模型2组漏尿点压力和膀胱最大压力均升高($P<0.01$),模型1组膀胱最大压力更大($P<0.05$);与假手术组和模型2组比较,模型1组膀胱最大容量及残余尿量增多($P<0.01$),而模型2组膀胱最大容量小于假手术组($P<0.01$)。结论 (1)本优化改良式模型制备、术后管理方案提高了造模效率及术后生存率和成模率;(2)第8胸椎下脊髓横断所致的神经源性膀胱以逼尿肌-括约肌协同失调为主要类型,膀胱容量增大、排尿困难、残余尿增多、尿潴留是其主要特征;(3)第10胸椎下脊髓横断所致的神经源性膀胱以逼尿肌反射亢进为主要类型,膀胱容量相对变小、储尿困难、残余尿量部分存在、尿失禁是其主要特征。

〔关键词〕 骶上脊髓损伤;神经源性膀胱;动物模型;成模率;尿流动力学;漏尿点压力;膀胱最大压力;膀胱最大容量

〔中图分类号〕R744;R2 **〔文献标志码〕**A **〔文章编号〕**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.09.003

Urodynamic study of neurogenic bladder model after suprasacral spinal cord injury in different segments in rats

ZHUO Yue, XU Ming, DENG Shifeng, LIU Qiong, PENG Jiaying, TANG Liya, AI Kun*, ZHANG Hong*

(College of Acupuncture & Tuina and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

〔Abstract〕 Objective To compare the differences of neurogenic bladder in rat models after suprasacral spinal cord injury under the 8th and 10th thoracic vertebrae based on urodynamics and other means, and to provide a basis for animal model selection in experimental studies of the disease. **Methods** Among 48 adult female SD rats, 12 were randomly selected as the sham-operated group. The remaining 36 were randomly divided into model group 1 (the 8th thoracic subspinal cord transection) and model group 2 (the 10th thoracic subspinal cord transection) for optimized and modified model preparation and postoperative management, with 18 rats in each group. From postoperative day 1-18, the general condition and daily manipulated urine output of each group were recorded, and urodynamic measurements were performed on postoperative day 19. **Results** (1) Both model groups

〔收稿日期〕2022-03-02

〔基金项目〕国家自然科学基金面上项目(81874510);湖南省自然科学基金面上项目(2022JJ30036);湖南省教育厅科学研究重点项目(20A363);湖南省教育厅科学研究一般项目(20C1432);长沙市自然科学基金项目(kq2007041);湖南省研究生科研创新重点项目(CX20210682)。

〔第一作者〕卓越,男,博士研究生,研究方向:神经系统疾病的中西医结合康复机理与临床研究。

〔通信作者〕*张泓,男,教授,博士研究生导师,E-mail:zh5381271@sina.com;艾坤,男,教授,硕士研究生导师,E-mail:aikun650@qq.com。

had some adverse events with fair results after treatment, with a survival rate of 83.3%, a modeling rate of 72.2% in model group 1, and with a survival rate of 88.9%, a modeling rate of 77.8% in model group 2. (2) The daily manipulated urine output in both model groups had the characteristics of being the highest on postoperative day 4–5, decreasing significantly on postoperative day 7–8, and stabilizing on postoperative day 16–18. (3) Urodynamics showed that, compared with the sham-operated group, the leak point pressure and maximum bladder pressure were increased in both model group 1 and model group 2 ($P<0.01$), and the maximum bladder pressure was greater in model group 1 ($P<0.05$); compared with the sham-operated group and model group 2, the maximum bladder capacity and residual urine volume were increased in model group 1 ($P<0.01$), while the maximum bladder capacity in model group 2 was smaller than that in the sham-operated group ($P<0.01$). **Conclusion** (1) The optimized and improved model preparation and postoperative management plan improved the modeling efficiency, postoperative survival and modeling rate. (2) The neurogenic bladder caused by the 8th thoracic subspinal cord transection was mainly characterized by detrusor sphincter dyssynergia, with increased bladder capacity, difficulty in urination, increased residual urine, and urinary retention. (3) The neurogenic bladder caused by the 10th thoracic subspinal cord transection was mainly characterized by detrusor hyperreflexia, with relatively smaller bladder capacity, difficulty in urine storage, partial presence of residual urine volume, and urinary incontinence.

[**Keywords**] suprasacral spinal cord injury; neurogenic bladder; animal model; modeling rate; urodynamics; leak point pressure; maximum bladder pressure; maximum bladder capacity

近年来,我国脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)的发病率日趋升高^[1-2]。神经源性膀胱(neurogenic bladder, NB)是SCI后常见的泌尿系并发症,严重危害到患者远期生存率及终身生活质量^[3]。临床上,超过80%的SCI患者均属于骶上脊髓损伤(supersacral spinal cord injury, SSCI)^[4]。根据尿道括约肌协同与否,SSCI后的NB可表现为逼尿肌反射亢进和逼尿肌-括约肌协同失调两种主要类型,从而呈现以尿失禁为主或以尿潴留为主的两种截然不同的症状表现,其治疗方案与研究侧重点也有所差别^[5]。

动物实验研究依赖于稳定动物模型的建立,大鼠因其与人类生理病理情况高度相似且成本低廉、易于处理,成为目前SCI后NB的主要实验动物^[6]。在既往工作中,本团队总结探索出了一套改良 Hassan Shaker 脊髓完全性横断法,并分别建立了骶上与骶髓损伤后不同类型NB大鼠模型^[7-8],且一直致力于研究电针治疗该类疾病的疗效及其作用机制,已取得部分成果^[9-11];国内相关学者亦对骶上与骶髓损伤后NB进行了较全面的比较与探索^[12-13]。然而,随着研究逐渐深入发现,关于不同节段SSCI导致两种不同类型NB大鼠模型的系统性对比分析尚少,故亟须对该问题进行探索研究。

膀胱储排尿功能受到高位脑桥-皮质排尿中枢和低位脊髓交感-副交感排尿中枢协同支配,根据不同节段SSCI与脊髓交感-副交感排尿中枢的位置关系以及大鼠脊髓节段与椎骨解剖学对应范围,本

研究选择第8胸椎下(约对应T10脊髓节段)和第10胸椎下(约对应L1脊髓节段)^[14-15]脊髓完全性横断致NB大鼠为模型,通过观察每日手法排尿量及尿流动力学检测,对比分析上述两种不同节段SSCI后NB的不同表现,验证其与两类NB之间的关系,以为该领域科研实验动物模型的选择提供一定的科学参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

SPF级成年SD雌性大鼠48只(根据前期预实验中约70%以上的成模率计算得出),体质量250~280 g,由湖南中医药大学动物实验中心提供与饲养[许可证号:SYXK(湘)2019-0004]。动物在温度24~26℃、湿度50%~70%、12 h:12 h明暗交替、食水自取的条件下,适应性喂养1周后进行分组。首先,按随机数字表法从48只大鼠中抽取12只作为假手术组,剩下的36只大鼠再随机分为模型1组(第8胸椎下脊髓横断)和模型2组(第10胸椎下脊髓横断),每组18只。本研究中实验动物条件符合《实验动物管理条例》要求,且实验过程中对动物的处置严格依照《关于善待实验动物的指导性意见》执行。本实验方案已获得湖南中医药大学实验动物伦理委员会批准(伦理编号:LL2021091504)。

1.2 主要试剂与仪器

异氟烷(深圳市瑞沃德生命科技有限公司,100 mL,

批号:R510-22);生理盐水(哈药集团有限公司,300 mL,批号:C22010509);青霉素钠(哈药集团有限公司,80万U/支,批号:220106);乳酸钠林格注射液(安徽环球药业股份有限公司,500 mL,批号:20211218-2);5%葡萄糖注射液(贵州天地药业有限公司,500 mL,批号:20080802);苦苹果防舔防咬喷剂(美国 Grannick 公司,236 mL);乳果糖口服溶液(荷兰 Abbott Biologicals B.V.公司,15 mL/袋,批号:H20171057);医用石蜡油(黑龙江省运加医疗科技有限公司,10 mL/支,批号:黑械注准 2019214009)。导尿管(上海上医康鸽医用器材有限责任公司,型号:F3);MP-150 多通道生理记录仪(美国 BIOPAC 公司,型号:MP150-WSW);微量注射泵(浙江史密斯医学仪器有限公司,型号:WZ-50C6)。

1.3 造模方法及术后管理

1.3.1 造模方法

以 Hassan Shaker 脊髓横断法^[6]为基础,结合本团队前期经验^[7-9]以及本研究中提出的优化改良法进行髓上不同节段(第8胸椎下/第10胸椎下)脊髓完全性横断致 NB 大鼠模型制备。具体如下:术前1 d,大鼠禁食不禁水;术前2 h,腹腔注射20万U青霉素钠预防术中及术后感染;使用3%~4%异氟烷诱导大鼠进入麻醉状态,待其夹尾反射和角膜反射消失后行俯卧位温和固定,然后调整麻醉浓度为2%~2.5%以维持术中麻醉状态,随后进行手术定位、备皮、铺巾、消毒;从大鼠头骨后正中线下沿脊柱棘突触摸到的第1个明显竖长突起处为第2胸椎棘突,继续沿此方向触摸到第2个中立位宽大突出处即为第10胸椎棘突,以此为骨性标志再向上顺摸2个锥体棘突即可定位第8胸椎(见图1),本次实验中脊髓横断处分别为第8胸椎下和第10胸椎下;沿T8/T9或T10/T11锥体棘突纵向切开皮肤及皮下筋膜2~3 cm后,使用玻璃分针钝性分离棘突与椎板两侧肌肉,暴露T8/T9或T10/T11锥体棘突及相邻椎弓,用显微咬骨器从尾侧向头侧咬开T8或T10椎板及两侧椎弓根,直至椎管内脊髓充分暴露;将牙科弯钩平头轻穿过脊髓腹后部,用眼科剪以垂直方向沿弯钩平头整齐迅速地横断脊髓,并确认无神经纤维残留;确认大鼠生命体征无异常后,进行创口清理与逐层缝合。假手术组大鼠仅切开并暴露T8至T10节段棘突与相邻椎弓后立即缝合。

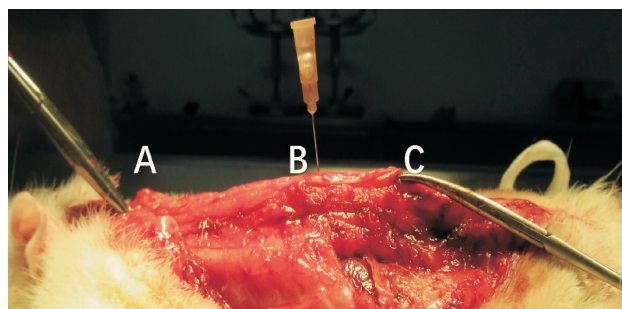


图1 大鼠骨性标志定位

注:A.T2棘突;B.T10棘突;C.浮肋连接T13棘突。

1.3.2 术后管理

(1)存活管理:术后立即将大鼠平送至电热毯上,以头尾四肢伸展俯卧位进行复温,并使用肛温计检测体温变化;待其苏醒及生命体征平稳后转至单笼饲养,保持笼内垫料干燥蓬松。(2)喂养管理:术后当天仅予以10 mL 5%葡萄糖注射液对口滴食以补充能量,减轻消化及泌尿系统负担;术后第2~3天,开始逐渐辅以少量固体饲料喂养(小于20 g);术后第4天开始,恢复常规固体饲料喂养。(3)并发症管理:术后第1~3天,每隔12 h皮下注射乳酸钠林格注射液(20 mL/kg)以防止酸碱失衡和电解质紊乱,每隔12 h腹腔注射青霉素钠(20万U/只)以抗感染和减轻脓血尿;术后第4~7天,停用乳酸钠林格注射液,青霉素钠改为每24 h使用1次;术后第8天停用青霉素钠,仅在有明显感染症状时对症使用;另外,术后至创口完全结痂前,每日均使用聚维酮碘消毒创口及周围5 cm皮肤,并用50%乙醇溶液擦拭大鼠腹部及双下肢以防止压疮;每日于大鼠后肢喷涂苦苹果喷雾以预防大鼠啃食自残。(4)二便管理:术后第1天开始,每隔8 h(即每日6:00、14:00、22:00)用Crede法^[7-9]人工辅助大鼠排尿;每次排尿结束后予以顺时针手法按摩大鼠下腹部10 min,以促进排便和预防肠梗阻;对于术后已经出现明显便秘及腹胀的大鼠,予以乳果糖灌胃2 mL/d,严重时配合医用石蜡油灌肠后揉腹导便。

1.4 模型评估

结合本团队前期观察以及国内外相关研究,本实验模型评估标准如下。

1.4.1 脊髓休克期及成模时间评估

造模术后大鼠会立即进入脊髓休克期,该期间动物生命体征及模型表征尚不稳定,故需待脊髓休克期结束后才可出

现稳定性高的动物模型。本团队前期研究已经明确,SSCI致NB模型大鼠在术后1周左右度过脊髓休克期^[8],稳定成模时间约为术后第18天^[7],故本研究在大鼠术后第19天予以尿流动力学检测。

1.4.2 后肢运动功能评估 造模术后至脊髓休克期内大鼠后肢运动功能应完全性丧失,在前肢行走时后肢处于拖动状态。具体而言,由同一人采用Basso Beattie Bresnahan(BBB)评分进行评估,即将大鼠放入笼盒之中,轻敲笼壁促其移动,并观察其躯干和臀、膝、踝、足等关节活动及协调情况,评分范围为0~21分,0分为双后肢活动不可见,分数越高代表活动越正常^[7]。本研究中,大鼠术后BBB评分应为0分;反之,则予以剔除。

1.4.3 膀胱肉眼形态及功能评估 造模术后至脊髓休克期内,大鼠膀胱功能处于无反射期,自主排尿困难,尿潴留及膀胱胀大明显,需手法辅助排尿;而脊髓休克期结束后,骶上不同节段脊髓损伤大鼠膀胱形态及功能会出现明显差异。具体而言,多数第8胸椎下脊髓横断大鼠膀胱胀大情况较脊髓休克期时减轻,但仍呈“橄榄”状胀大,不能恢复自主排尿,仅偶有下腹部及笼内垫料潮湿,呈尿潴留为主的临床表现;而多数第10胸椎下脊髓横断大鼠膀胱胀大情况较脊髓休克期时明显减轻,出现反射性排尿或漏尿明显,且其下腹部及笼内垫料经常性潮湿,呈尿失禁为主的临床表现^[7-8]。

1.4.4 其他评估 造模术后至整个实验过程中,若大鼠出现死亡或恢复正常排尿功能以及出现明显自残、反复严重脓血尿、难以愈合性压疮等不良事件^[7-8],则及时记录并予以剔除。

1.5 观察指标及检测方法

1.5.1 一般情况 观察各组大鼠术后生存率及成模率情况,记录期间不良事件情况及处理方式和处理结果。

1.5.2 每日手法排尿量 比较两个模型组大鼠每日手法排尿(见图2)的尿量变化情况,即造模术后第1~18天大鼠每日3次(6:00、14:00、22:00)用Crede法排出尿量的总和(均由同一人操作与记录)。

1.5.3 尿流动力学 使用膀胱造瘘法进行测量,先用异氟烷(使用方式及参数设置同造模时)麻醉大鼠后行仰卧位固定,轻柔手法尽量排空膀胱内尿液后,行下腹部备皮与消毒。随后经三通管将MP-150的



图2 每日手法排尿

测压管与微量注射泵、F3导尿管相连接,并准备好温度为25~35℃的生理盐水,设置6.0 mL/h的速度准备膀胱灌注。将F3导尿管先平放于膀胱水平以设置MP-150压力模块基线值,然后沿大鼠前正中线耻骨联合上1 cm处纵向切开2 cm并暴露膀胱,于膀胱穹窿处用眼科剪剪开小口后,插入F3导管至膀胱体内正中,用2-0手术线捆绑导管与膀胱开口处,确认无渗漏后用10 mL注射器连接三通管空头将膀胱内残余尿吸出并记录为“残余尿量”。静置30 min后,开始灌注并电脑同步记录膀胱压力曲线情况。重点观察大鼠尿道口首次液体流出时的膀胱内压,即“漏尿点压力”,以及此刻的灌注量,即“膀胱最大容量”。待漏尿点出现后继续灌注出4~5个稳定波形后结束检测,记录膀胱内压峰值,即“膀胱最大压力”^[7,9]。

1.6 统计学方法

使用SPSS 23.0软件进行数据统计分析,本研究中实验结果以“ $\bar{x} \pm s$ ”形式表示。计量资料若符合正态分布且方差齐,两组比较使用两样本均数 t 检验;三组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较用邦弗伦尼检验;方差不齐时使用塔姆黑尼检验;不符合正态分布时采用秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异有显著统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

2.1.1 假手术组 12只大鼠生命体征稳定,无不良事件发生,存活率为100%。

2.1.2 模型1组 18只大鼠造模术后:1只失血过多死亡;4只大鼠出现便秘及腹胀,对症处理后3只存活、1只死亡(见图3);1只大鼠因左下肢啃食自

残后严重感染死亡。该组大鼠最终存活15只,经模型评估13只大鼠呈尿潴留为主要症状的NB合格模型,故模型1组存活率为83.3%、成模率为72.2%。详见表1。

2.1.3 模型2组 18只大鼠造模术后:1只因体温过低死亡;4只大鼠先后出现脓血尿,抗炎处理后3只痊愈,1只因脓肾死亡(见图4)。该组大鼠最终存活16只,经模型评估14只大鼠呈尿失禁为主要症状的NB合格模型,故模型2组存活率为88.9%,成模率为77.8%。详见表1。



图3 肠道胀满及膀胱尿潴留明显

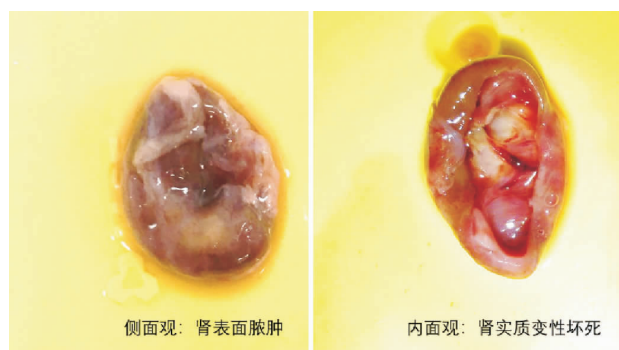


图4 尿液反流及泌尿系感染导致脓肾

2.2 每日手法排尿量比较

记录模型1组及模型2组大鼠每日3次手法排尿总量后发现:两组大鼠手法排尿量在术后第4~5天达到峰值,随后缓慢下降;术后第7~8天,两组大鼠手法排尿量明显下降;随后,模型1组手法排尿量呈平稳下降趋势,并于术后第16~18天趋于稳定,而模型2组手法排尿量呈快速下降趋势,也于术后第16~18天趋于稳定。详见图5。

对模型1组及模型2组大鼠每日手法排尿量进行统计分析后发现:两组大鼠术后前7日手法排尿量比较,差异无统计学意义($P>0.05$);从术后第8天开始,模型1组大鼠手法排尿量明显多于模型2组,两组差异有显著统计学意义($P<0.01$)。详见图6。

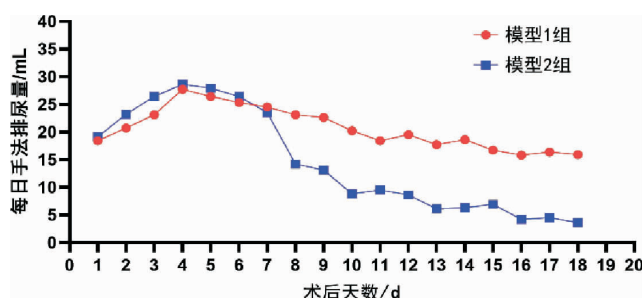


图5 两组模型大鼠术后第1~18天每日手法排尿量情况

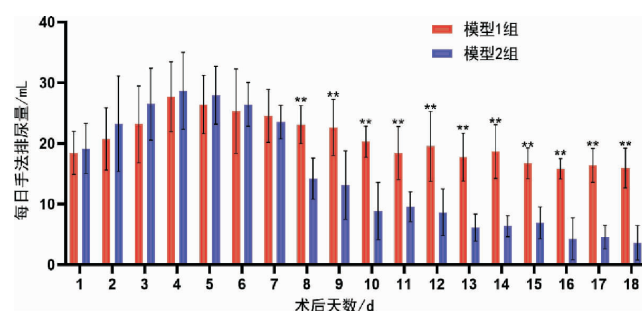


图6 术后第1~18天每日手法排尿量比较($\bar{x}\pm s$,模型1组 $n=13$,模型2组 $n=14$)
注:与模型2组比较,** $P<0.01$ 。

表1 各组大鼠术后一般情况

组别	n	不良事件		处理措施及其结果	存活率/%	成模率/%
		类型	数量 比例/%			
假手术组	12	—	无 —	无	100	0
模型1组	18	术后失血过多	1 5.6	纱布按压止血无效后死亡	83.3	72.2
		术后便秘及腹胀	4 22.2	乳果糖灌胃;温水调制石蜡油灌肠配合揉腹;3只存活,1只死亡		
		啃食自残后感染	1 5.6	伤口止血包扎及消毒无效后死亡		
		脓血尿	6 33.3	腹腔注射青霉素钠抗感染后均痊愈		
		压疮	1 5.6	保持创口干燥及垫料蓬松后痊愈		
模型2组	18	术后体温过低	1 5.6	电热毯复温无效后死亡	88.9	77.8
		术后便秘及腹胀	5 27.7	乳果糖灌胃;温水调制石蜡油灌肠配合揉腹后均存活		
		脓血尿	4 22.2	腹腔注射青霉素钠抗感染后,3只存活,1只因感染性脓肾死亡		
		创口皮下血肿	1 5.6	注射器负压抽吸并加压包扎后痊愈		

2.3 尿流动力学比较

与假手术组和模型2组比较,模型1组膀胱最大容量及残余尿量增多,差异均有显著统计学意义($P<0.01$),而模型2组膀胱最大容量小于假手术组,差异有显著统计学意义($P<0.01$),模型2组较假手术组残余尿量有增多趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$);与假手术组比,模型1组和模型2组漏尿点压力和膀胱最大压力均升高,差异均有显著统计学意义($P<0.01$),模型1组漏尿点压力有高于模型2组的趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$),模型1组膀胱最大压力较模型2组更大,差异有统计学意义($P<0.05$)。详见图7。

3 讨论

本研究结果提示,第8胸椎下脊髓横断所致NB以逼尿肌-括约肌协同失调为主要类型,膀胱容量增大、排尿困难、残余尿增多,尿潴留是其主要特征;而第10胸椎下脊髓横断所致NB以逼尿肌反射亢进为主要类型,膀胱容量相对变小、储尿困难、残余尿量部分存在、尿失禁是其主要特征。完整的排尿周期分为储尿期和排尿期两个阶段,正常膀胱储排尿功能受中枢神经系统与外周神经系统的协同支配,即在高位脑桥-皮质排尿中枢的控制下,通过协调低位脊髓交感-副交感排尿中枢,调节脊髓交感、副交感神经核及 Onuf's 核的活动使支配膀胱的外周

神经协同的生理过程^[14]。具体而言,膀胱外周神经支配主要包括腹下神经、盆神经及阴部神经。腹下神经属交感神经,主要支配尿道内括约肌(膀胱颈、后尿道)及其兴奋性收缩,实现储尿期膀胱内低压和储尿;盆神经属副交感神经,主要支配膀胱逼尿肌及其兴奋性收缩,实现排尿期膀胱内压上升直至尿液排出;而阴部神经属躯体神经,主要支配尿道外括约肌,可在高位皮质排尿中枢的协调下主观性辅助控制膀胱储排尿功能。

大鼠膀胱神经支配结构与人类相似,但其核团位置相对靠下,大鼠腹下神经出自L1~L2脊髓节段,大致对应其T10~T12椎体范围;盆神经和阴部神经出自L6~S1脊髓节段,大致对应L1~L2椎体范围^[14-15,18]。本研究中,第8胸椎下脊髓横断造成的脊髓直接及继发性损伤集中在T10上下脊髓平面,此时高位排尿中枢对低位脊髓交感-副交感排尿中枢的协调性支配严重损害,出现高反射逼尿肌与高反射括约肌,即逼尿肌-括约肌协同失调^[9]。第8胸椎下脊髓横断造成NB的病理本质为逼尿肌无抑制性收缩过程中括约肌间断或持续性舒张不能,其膀胱内压增大,但由于膀胱颈处括约肌梗阻,导致排尿困难,残余尿增多,呈以尿潴留为主的临床表现,而大量残余尿及长期尿潴留则会进一步引起膀胱容量的增大。故尿流动力学可见其膀胱最大容量及残余尿量明显上升,膀胱最大压力及漏尿点压力显著升高。第10胸椎下脊髓横断造成的直接及继发性损伤主要累及L1上

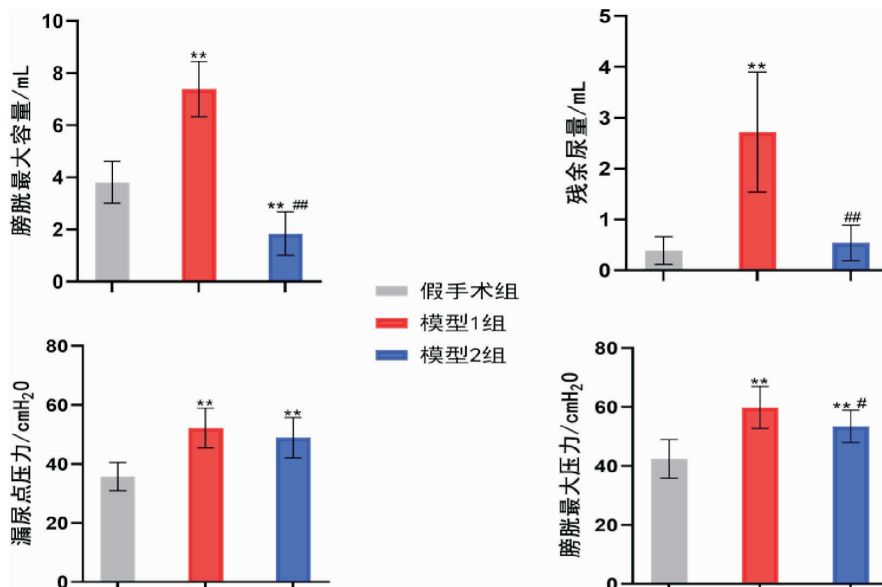


图7 各组大鼠尿流动力学指标比较($\bar{x}\pm s$,假手术组 $n=12$,模型1组 $n=13$,模型2组 $n=14$)

注:与假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型1组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

下脊髓平面,该损伤平面相对偏下,使得高位排尿中枢对脊髓交感排尿中枢的协同性控制得到一定程度保留,逼尿肌-括约肌协调情况相对较好,病理本质以脊髓副交感排尿中枢过度兴奋导致的逼尿肌反射亢进为主。故该类 NB 最大压力及漏尿点压力仍增高,但程度较前组轻,其以储尿困难、膀胱容量相对变小为特征,并呈现出尿失禁为主的临床表现^[20],该组尿流动力学结果亦符合以上特征。值得注意的是,本研究中虽然模型 2 组残余尿量与假手术组差异并无统计学意义,但考虑其膀胱容量相对缩小,依然可以认为其有部分残余尿存在,这也与临床实际情况相符合^[21]。

SSCI 后,大鼠会首先进入脊髓休克期,即与高位中枢分离后,横断平面以下脊髓所支配的内脏和躯体反射、运动和感觉功能均明显减退甚至消失,该时期可持续数小时至数周不等,通常脊髓损伤平面越高,脊髓休克期越长^[22]。本团队前期研究中已发现 SSCI 模型大鼠脊髓休克期为 1 周左右^[8],本研究中也发现两组 SSCI 模型大鼠的每日手法排尿量均在术后第 4~5 天到达顶峰,这是由于此时膀胱功能处于无反射期,逼尿肌及括约肌松弛瘫痪,无法有效排出尿液,出现代偿性尿潴留状态,故需依靠手法辅助排出大量尿液。临床而言,留置导尿管也是患者该时期的首选方案^[23]。在术后第 7~8 天,两模型组大鼠每日手法排尿量明显下降,说明此时膀胱收缩功能开始恢复,基本脱离脊髓休克期。但由于高、低位排尿中枢间联系受阻,逼尿肌会出现持续性无抑制性收缩,即逼尿肌反射亢进^[24],此时大鼠呈现反射性排尿模式,故术后第 2 周开始,两组 SSCI 模型大鼠每日手法排尿量均呈下降趋势。

因此,从 SSCI 后膀胱的神经源性及肌源性调控角度而言,本研究中两种不同节段 SSCI 所引起的 NB 症状表现差异主要源于高位排尿中枢对低位脊髓交感排尿中枢调控的存废,以及导致的逼尿肌-括约肌协同性问题^[14]。这亦可以解释从术后第 2 周开始,模型 1 组大鼠每日排尿量下降趋势平稳,并最终于术后第 16~18 天稳定于尿潴留为主的病理状态,而模型 2 组大鼠每日排尿量下降趋势迅速,并于术后第 16~18 天稳定于尿失禁为主的病理状态的深层机制。同时,本研究还佐证了本团队前期发现的 SSCI 后 NB 大鼠模型在术后第 18 天左右趋于稳

定的重要问题^[7],为后续该病动物实验研究的开展奠定了良好的科学基础。

NB 是 SCI 后严重且难治性并发症之一,此外,临床上的 SCI 患者还存在包括泌尿系感染、神经源性胃肠功能障碍、压疮等在内的一系列问题^[25],这些也在本研究的动物模型中得到较全面的展现,证明该模型制备法是可靠且贴合实际的。相应地,本研究为更好地关注膀胱功能,对术后存在脓血尿的泌尿系感染大鼠使用抗生素短期消炎处理,而反复感染的则予以剔除以免药物影响实验结果。SCI 后胃肠道问题是该类动物模型死亡的重要因素,故本研究采用异氟烷吸入诱导大鼠麻醉,既满足医学动物伦理最新要求,也避免了既往水合氯醛所带来的胃肠道刺激等副作用。同时,本研究对术后 5 d 内大鼠先予以营养性液体再逐渐配合固体饲料的喂养顺序,有效减轻了其术后胃肠道负担,并针对已存在腹胀及便秘的大鼠予以每日摩腹的预防措施,效果不佳者予以渗透性泻剂乳果糖灌胃配合润滑性泻剂石蜡油灌肠。对压疮及啃食自残大鼠则予以及时护理和苦味剂喷涂处理等。以上优化改良措施都进一步提高了动物术后存活率及成模率^[7-8]。此外,本研究结合术中观察及相关文献^[25]后发现,大鼠脊椎上普遍存在易于体表定位的第 2 胸椎棘突,而下方的第 10 胸椎棘突高耸中立可触及,且第 9 胸椎及以上棘突方向朝尾侧、第 11~13 胸椎棘突朝头侧,易于术中辨认。故相较于以往浮肋连接定位第 13 胸椎后再向上逐个推按的易于出错且繁杂的定位方式,本研究中优化改良的手术定位方式,可以更快速精准地选定高位脊髓横断切口,缩短了手术时间,提高了造模效率。另外,本研究改用眼科平剪进行脊髓暴露后的横断,相比于刀片切割,其对神经纤维的横断更为快速彻底,且降低了大量出血的风险,也减小了手术创面。

综上所述,本研究优化了 SSCI 后 NB 大鼠模型的制备及术后管理方案,提升了手术造模效率及术后动物存活率和成模率。在此基础上,结合膀胱储排尿功能研究的金标准“尿流动力学”^[26]分析后提出:第 8 胸椎下脊髓横断所致 NB 以逼尿肌-括约肌协同失调为主要类型,膀胱容量增大、排尿困难、残余尿增多、尿潴留是其主要特征;第 10 胸椎下脊髓横断所致 NB 以逼尿肌反射亢进为主要类型,膀胱

容量相对变小、储尿困难、残尿量部分存在、尿失禁是其重要特征。高位排尿中枢对低位脊髓交感排尿中枢调控的存废,导致逼尿肌-括约肌协同与否,是两类NB模型差异的重要原因。该研究亦受制于样本量偏小,动物个体差异难以控制,机制研究不够深入以及模型观察时间较短等限制,使得研究结果存在一定局限性,今后应结合动物平滑肌张力测定、神经电生理、分子生物学等技术手段进一步加强本研究结论的客观全面性。

参考文献

- [1] QUADRI S A, FAROOQUI M, IKRAM A, et al. Recent update on basic mechanisms of spinal cord injury[J]. *Neurosurgical Review*, 2020, 43(2): 425-441.
- [2] HAO D J, DU J P, YAN L, et al. Trends of epidemiological characteristics of traumatic spinal cord injury in China, 2009-2018[J]. *European Spine Journal*, 2021, 30(10): 3115-3127.
- [3] MANACK A, MOTSKO S P, HAAG-MOLKENTELLER C, et al. Epidemiology and healthcare utilization of neurogenic bladder patients in a us claims database[J]. *Neurourology and Urodynamics*, 2011, 30(3): 395-401.
- [4] 胥少汀,郭世绛.脊髓损伤基础与临床[M].3版.北京:人民卫生出版社,2012.
- [5] AMARENCO G, SHEIKH ISMAËL S, CHESNEL C, et al. Diagnosis and clinical evaluation of neurogenic bladder[J]. *European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine*, 2017, 53(6): 975-980.
- [6] KANAI A, ZABBAROVA I, IKEDA Y, et al. Sophisticated models and methods for studying neurogenic bladder dysfunction[J]. *Neurourology and Urodynamics*, 2011, 30(5): 658-667.
- [7] 许明,张泓,刘继生,等.完全性骶上脊髓损伤后神经源性膀胱大鼠模型的建立及尿流动力学分析[J].*中国康复理论与实践*, 2016,22(8):869-875.
- [8] 张雨辰,张泓,艾坤,等.大鼠脊髓损伤后神经源性膀胱模型的制备[J].*中国康复医学杂志*,2014,29(6):542-546.
- [9] 艾坤,刘琼,许明,等.电针对骶上脊髓损伤后神经源性膀胱尿流动力学及逼尿肌垂腺苷酸环化酶激活肽/环磷酸腺苷/蛋白激酶A信号通路的影响[J].*针刺研究*,2021,46(9):728-734,741.
- [10] 邓石峰,余雨荷,刘笑萌,等.电针对完全性骶髓损伤神经源性膀胱大鼠尿流动力学及逼尿肌组织中MLCK、MLC、p-MLC的影响[J].*湖南中医药大学学报*,2020,40(6):727-731.
- [11] 许明,张泓,张健,等.电针对骶上脊髓损伤后神经源性膀胱大鼠尿流动力学及脊髓组织中半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3表达的影响[J].*中国康复医学杂志*,2017,32(12):1338-1344.
- [12] 史晓东,胥少汀,刘智,等.兔脊髓不同平面损伤后尿流动力学与膀胱AchE、 α -SMA表达的研究[J].*中国脊柱脊髓杂志*,2002,12(5):359-362.
- [13] 曾晓勇,章慧平,陈忠,等.大鼠脊髓不同平面损伤后神经源性膀胱模型的尿流动力学检查[J].*中华物理医学与康复杂志*,2007,29(10):664-666.
- [14] HOU S P, RABCHEVSKY A G. Autonomic consequences of spinal cord injury[J]. *Comprehensive Physiology*, 2014, 4(4): 1419-1453.
- [15] INSKIP J A, RAMER L M, RAMER M S, et al. Autonomic assessment of animals with spinal cord injury: Tools, techniques and translation[J]. *Spinal Cord*, 2009, 47(1): 2-35.
- [16] SHAKER H, MOURAD M S, ELBIALY M H, et al. Urinary bladder hyperreflexia: A rat animal model[J]. *Neurourology and Urodynamics*, 2003, 22(7): 693-698.
- [17] 陈向荣,游思维,金大地.BBB评分评估脊髓损伤大鼠后肢运动功能的探讨[J].*中国脊柱脊髓杂志*,2004,14(9):547-549.
- [18] PADMANABHAN R, SINGH S. Observations on the topographical relations of spinal nerve roots in the rat[J]. *Cells Tissues Organs*, 1979, 105(3): 378-380.
- [19] ZABBAROVA I V, IKEDA Y, CARDER E J, et al. Targeting p75 neurotrophin receptors ameliorates spinal cord injury-induced detrusor sphincter dyssynergia in mice[J]. *Neurourology and Urodynamics*, 2018, 37(8): 2452-2461.
- [20] SHARMA N, REKHA K, SRINIVASAN K J. Efficacy of transcutaneous electrical nerve stimulation in the treatment of overactive bladder[J]. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 2016, 10(10): QC17-QC20.
- [21] FOWLER C J. Intravesical treatment of overactive bladder[J]. *Urology*, 2000, 55(5): 60-64.
- [22] 朱大年.生理学[M].7版.北京:人民卫生出版社,2008:302-314.
- [23] LIVECCHI M A. Spinal cord injury[J]. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, 2011, 17: 568-583.
- [24] HAMID R, AVERBECK M A, CHIANG H, et al. Epidemiology and pathophysiology of neurogenic bladder after spinal cord injury[J]. *World Journal of Urology*, 2018, 36(10): 1517-1527.
- [25] 尚云龙,李一帆,宁云峰,等.大鼠脊髓损伤模型的解剖学参考定位[J].*解剖学研究*,2013,35(6):412-414,481.
- [26] LU J Y, CHENG B, LIN L, et al. Urodynamic findings in patients with complete and incomplete suprasacral spinal cord injury at different stages after injury[J]. *Annals of Palliative Medicine*, 2021, 10(3): 3171-3178.

(本文编辑 匡静之)