

· 针灸推拿 ·

本文引用: 田楚宁, 罗小精, 彭佳丽, 胡 栓, 许 明, 邓石峰, 艾 坤, 卓 越, 张 泓. 不同时间窗电针干预对脊髓损伤后神经源性膀胱大鼠膀胱纤维化的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(5): 915-924.

不同时间窗电针干预对脊髓损伤后神经源性膀胱 大鼠膀胱纤维化的影响

田楚宁, 罗小精, 彭佳丽, 胡 栓, 许 明, 邓石峰, 艾 坤, 卓 越*, 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 观察不同时间窗启动电针干预对脊髓损伤(SCI)后神经源性膀胱(NB)大鼠膀胱功能、纤维化进程及相关调控蛋白表达的影响。方法 从 42 只成年雌性 SD 大鼠中随机选取 8 只为假手术组, 其余 34 只大鼠行 T8 脊髓完全横断手术, 以建立 NB 大鼠模型。将最终造模成功的 24 只大鼠二次随机分为模型组、电针 1 组、电针 2 组, 每组 8 只。电针 1 组、电针 2 组分别于术后第 19、29 天开始, 选取次髂、中极、三阴交给予电针干预, 20 min/次, 1 次/d, 连续干预 10 d。每天观察各组大鼠一般情况。待电针 2 组干预结束后, 采用超声影像学、尿流动力学检测大鼠膀胱壁厚度及膀胱功能; 肉眼观察膀胱形态并计算膀胱指数(BI); 采用 Masson 染色评估膀胱组织纤维化程度并计算胶原容积分数(CVF); 通过离体膀胱逼尿肌收缩试验观察逼尿肌兴奋性及收缩性; 采用 Western blot 检测膀胱组织转化生长因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)、结缔组织生长因子(CTGF)、I 型胶原(COL I)及 III 型胶原(COL III)的蛋白相对表达水平。结果 与假手术组相比, 模型组大鼠膀胱容积明显增加、膀胱壁明显增厚($P < 0.01$); 膀胱最大压力、膀胱灌注时间及膀胱最大容量显著增加($P < 0.01$); 膀胱代偿性增大, BI 显著升高($P < 0.01$); 膀胱组织 CVF 显著升高($P < 0.01$), 伴胶原纤维沉积增加、平滑肌束排列紊乱; 离体逼尿肌收缩幅度显著降低、收缩频率显著增加($P < 0.01$); 膀胱组织 COL I、COL III、TGF- $\beta 1$ 及 CTGF 蛋白相对表达均显著升高($P < 0.01$)。与模型组相比, 电针 1 组和电针 2 组膀胱容积明显下降($P < 0.01$), 膀胱壁厚度减少($P < 0.05, P < 0.01$); 膀胱最大压力、膀胱灌注时间及膀胱最大容量均减少($P < 0.05, P < 0.01$); BI 下降($P < 0.05, P < 0.01$); 膀胱组织 CVF 降低($P < 0.05, P < 0.01$), 胶原纤维沉积减少、平滑肌束排列较为规整; 离体逼尿肌收缩幅度显著增加($P < 0.01$), 收缩频率降低($P < 0.05, P < 0.01$); 膀胱组织 COL I、COL III、TGF- $\beta 1$ 及 CTGF 蛋白相对表达均降低($P < 0.05, P < 0.01$)。与电针 2 组相比, 电针 1 组膀胱容积下降、膀胱壁厚度减少($P < 0.05$); 膀胱最大压力、膀胱灌注时间及膀胱最大容量均减少($P < 0.05$); BI 下降($P < 0.05$); 膀胱组织 CVF 降低($P < 0.05$), 胶原纤维分布减少, 平滑肌束排列更为规整; 离体逼尿肌收缩幅度增加、收缩频率降低($P < 0.05$); 膀胱组织 COL I、COL III、TGF- $\beta 1$ 及 CTGF 蛋白相对表达均降低($P < 0.05$)。结论 不同时间窗启动电针干预的效应存在差异, 较早启动电针干预在改善 SCI 后 NB 大鼠的膀胱功能、减轻膀胱纤维化病理改变及下调相关蛋白表达方面, 疗效显著优于较晚启动。

〔关键词〕 脊髓损伤; 神经源性膀胱; 电针; 干预时机; 膀胱功能; 尿流动力学; 胶原沉积; 纤维化

〔中图分类号〕 R245

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.05.006

Effects of electroacupuncture initiated at different time windows on bladder fibrosis in rats with neurogenic bladder following spinal cord injury

TIAN Chuning, LUO Xiaojing, PENG Jiali, HU Shuan, XU Ming, DENG Shifeng, AI Kun,
ZHUO Yue*, ZHANG Hong*

School of Acupuncture-moxibustion, Tuina and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha,
Hunan 410208, China

〔收稿日期〕 2025-11-06

〔基金项目〕 国家自然科学基金项目(82274666, 82505781); 湖南省自然科学基金青年项目(2024JJ6340); 湖南省教育厅科学研究优秀青年项目(23B0350); 湖南中医药大学校级优秀青年科研项目(Z2023XJYQ06); 湖南中医药大学研究生创新项目(2024CX034)。

〔通信作者〕 * 张 泓, 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: zh5381271@sina.com; 卓 越, 男, 博士, 硕士研究生导师, E-mail: nedved823@163.com。

[Abstract] Objective To investigate the effects of electroacupuncture (EA) initiated at different time windows on bladder function, fibrotic progression, and the expression of fibrosis-related regulatory proteins in rats with neurogenic bladder (NB) following spinal cord injury (SCI). **Methods** Among 42 adult female SD rats, 8 were randomly assigned to the sham operation group, while the remaining 34 rats underwent complete transection of the spinal cord at the T8 level to establish an NB model. Twenty-four successfully modeled rats were further randomly divided into model group, EA1 group, and EA2 group, with 8 rats in each group. EA intervention was initiated on postoperative days 19 and 29 in the EA1 and EA2 groups, respectively. Acupoints Ciliao (BL32), Zhongji (CV3), and Sanyinjiao (SP6) were selected for EA treatment, 20 min each time, once daily, for 10 consecutive days. General conditions of the rats were observed daily. After completion of the intervention in EA2 group, ultrasonography and urodynamic testing were used to assess bladder wall thickness and bladder function. Bladder morphology was examined visually, and the bladder index (BI) was calculated. Masson staining was performed to evaluate the degree of fibrosis in bladder tissues and to calculate the collagen volume fraction (CVF). An isolated bladder detrusor contraction assay was performed to observe detrusor excitability and contractility. Western blot was used to determine the relative protein expression levels of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), connective tissue growth factor (CTGF), collagen type I (COL I), and collagen type III (COL III) in bladder tissues. **Results** Compared with the sham operation group, rats in the model group exhibited significantly increased bladder volume and bladder wall thickness ($P < 0.01$), along with marked increases in maximum bladder pressure, bladder perfusion time, and maximum cystometric capacity ($P < 0.01$). Compensatory bladder enlargement and a significantly elevated BI were also observed ($P < 0.01$). An increased CVF ($P < 0.01$), accompanied by excessive collagen deposition and disorganized smooth muscle bundles were also observed. In addition, the contraction amplitude of isolated detrusor strips was significantly decreased, while contraction frequency was significantly increased ($P < 0.01$). The relative protein expression levels of COL I, COL III, TGF- β 1, and CTGF were significantly elevated ($P < 0.01$). Compared with the model group, both EA1 and EA2 groups showed significant reductions in bladder volume ($P < 0.01$), bladder wall thickness ($P < 0.05$, $P < 0.01$), maximum bladder pressure, bladder perfusion time, and maximum cystometric capacity ($P < 0.05$, $P < 0.01$), as well as decreased BI ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The CVF in bladder tissues was significantly reduced ($P < 0.05$, $P < 0.01$), with decreased collagen fiber deposition and more orderly arrangement of smooth muscle bundles. The contraction amplitude of isolated detrusor strips was significantly increased ($P < 0.01$), while contraction frequency was decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The relative protein expression levels of COL I, COL III, TGF- β 1, and CTGF in bladder tissues were all significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the EA2 group, the EA1 group showed greater reductions in bladder volume, bladder wall thickness ($P < 0.05$), maximum bladder pressure, bladder perfusion time, and maximum cystometric capacity ($P < 0.05$), as well as a lower BI ($P < 0.05$). The CVF was further decreased ($P < 0.05$), with reduced collagen fiber deposition and more organized smooth muscle bundles. The contraction amplitude of isolated detrusor strips was increased, while contraction frequency was decreased ($P < 0.05$). Additionally, the relative expression levels of COL I, COL III, TGF- β 1, and CTGF in bladder tissues were further reduced ($P < 0.05$). **Conclusion** The effects of electroacupuncture vary depending on the time window of initiation. Earlier initiation of electroacupuncture is significantly superior to later initiation in improving bladder function, alleviating pathological changes of bladder fibrosis, and downregulating the expression of related proteins in rats with NB after SCI.

[Keywords] spinal cord injury; neurogenic bladder; electroacupuncture; timing of intervention; bladder function; urodynamics; collagen deposition; fibrosis

神经源性膀胱(neurogenic bladder, NB)是脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)后常见且严重的并发症^[1],以膀胱内高压、膀胱容量明显增大、残余尿量增多为主要病理特征,以排尿困难及尿潴留为主要临床症状^[2]。随着病程进展,在持续膀胱内高压及尿潴留所致异常机械刺激和炎症环境的共同作用下,多数患者会出现以细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过度沉积为特征的神经源性膀胱纤维化(neurogenic bladder fibrosis, NBF),从而进一步加重排尿障碍并

危及上尿路功能^[3-4]。因此,有效地预防和延缓 SCI 后 NBF,是当前该病治疗及康复中亟待解决的重要临床问题。

电针作为针刺疗法的重要形式,已广泛应用于 NB 的临床干预,在改善排尿功能、降低膀胱内压及减少残余尿量等方面显示出良好疗效^[5-7]。本课题组前期研究初步发现,电针次髎、中极、三阴交具有一定的抗 NBF 效应,并能有效改善膀胱功能^[8-10]。但现有研究多从单一时间点评估电针的抗 NBF 作用,而 NBF

病理过程具有明显阶段性演变特征,电针干预在不同病程阶段对纤维化进程及膀胱功能的调控效应是否存在差异,尚缺乏系统研究。

本课题组前期研究表明,SCI后NB大鼠模型约在术后第18天趋于稳定^[1],在此基础上,本课题组通过对SCI术后1~8周大鼠膀胱结构与功能动态变化的系统评估发现,NBF病变在术后4周形成,并随时间推移逐渐加重。基于上述理由,本研究选择在NB模型稳定但尚未形成明显纤维化病变的术后第19天,以及已发生明显纤维化病变的术后第29天开始电针干预,系统评价不同病程阶段介入电针干预对膀胱纤维化进程及膀胱功能障碍的影响,以期临床电针干预时机的选择提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 动物

选用SPF级雌性SD大鼠42只,10~12周龄,体质量(230±20)g,由湖南斯莱克实验动物有限责任公司提供,动物许可证号:SCXK(湘)2019-0004。所有大鼠饲养于湖南中医药大学动物实验中心,在环境温度24~26℃、相对湿度50%~70%、光暗交替周期为12h的条件下,适应性喂养1周后进行实验。实验过程中遵照《实验动物管理条例》及《关于善待实验动物的指导性意见》对实验大鼠进行处置,经湖南中医药大学伦理委员会审批,伦理审批号:HNUCM21-2508-01。

1.2 主要试剂

异氟烷(批号:2024071201,山东安特牧业科技有限公司);青霉素钠(批号:140051248,江西省科达动物药业有限公司);乳酸钠林格注射液(批号:M24040902,四川科伦白健安科技有限公司);Masson染液套装、免冰浴快速转膜缓冲液(批号:G1006、G2148-1L,武汉赛维尔生物科技有限公司);BCA试剂盒(批号:E-BC-K318-M,武汉伊莱瑞特生物技术有限公司);RIPA组织细胞裂解液(批号:R0010,北京索莱宝科技有限公司);蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂(批号:A1320914、A2679231,美国Ambeed公司);I型胶原蛋白(collagen type I, COL I)、III型胶原蛋白(collagen type III, COL III)抗体(批号:ab260043、ab184993,英国Abcam公司);转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)抗体(批号:AF1027,江苏亲科生物研究中心有限公司);结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)抗体(批号:25474-1-AP,武汉三鹰生物科技

有限公司);PAGE凝胶快速制备试剂盒、电泳缓冲液(批号:PG212、PS105S,上海雅酶生物科技有限公司)。

1.3 主要仪器

多通道生理记录仪(型号:MP160-WSW,美国BIOPAC公司);垂直电泳槽及转印系统(型号:1658001,美国Bio-Rad公司);彩色多普勒超声诊断仪(型号:EZU-MT28-S1,日本HITACHI公司);离体组织浴槽系统、恒温灌流器(型号:TOBS2000、TP21,北京金工鸿泰科技有限公司);电针治疗仪(型号:SDZ-V,苏州医疗用品厂有限公司);正置光学显微镜成像系统(型号:Eclipse E100,日本Nikon公司)。

1.4 方法

1.4.1 造模方法 采用改良Hassan-Shaker脊髓完全横断法^[2],结合本课题组前期研究经验^[1],建立T8脊髓完全横断大鼠模型。大鼠经异氟烷吸入麻醉后,行背部备皮与常规消毒,沿T8-T9棘突正中切开皮肤及筋膜,显露T8、T9椎板,使用显微咬骨钳咬除T8椎板及双侧椎弓根以暴露脊髓,继而以眼科剪快速横断脊髓。术中行止血及抗感染处理,术后逐层缝合肌肉、筋膜及皮肤。

1.4.2 术后管理 术后将大鼠置于电热毯上复温,待苏醒后按每笼3只的密度饲养,保持垫料干燥清洁。为预防术后并发症,术后第1~3天,每12h皮下注射乳酸钠林格液(20 mL/kg),并肌肉注射青霉素钠(20×10⁴ U/只);术后第4~7天,停用乳酸钠林格液,青霉素钠改为每24h给药1次;术后第1~7天,每天用0.5%聚维酮碘消毒手术切口及尿道口。术后每天采用Crede法人工辅助按压膀胱排尿3次(8:00、12:00、16:00),并严格控制饮水量在20 mL以内。

1.4.3 模型评估 成模标准^[13]:(1)后肢运动功能评估:造模术后至脊髓休克期,大鼠后肢运动功能完全性丧失,Basso、Beattie和Bresnahan运动评分量表(Basso, Beattie, and Bresnahan, BBB)评分为0分。(2)膀胱肉眼形态及功能评估:造模术后至脊髓休克期,大鼠自主排尿困难,膀胱胀大明显,需手法辅助排尿;脊髓休克期结束后,多数大鼠膀胱胀大程度较休克期有所减轻,但仍呈“橄榄”状胀大,无法恢复自主排尿,表现为膀胱高内压伴尿潴留为主的状态。剔除标准:造模术后至实验结束期间,若大鼠出现下肢自主运动、死亡或恢复自主排尿功能,以及明显自残行为、反复严重脓血尿、难以愈合性压疮等不良事

件,均予以剔除。

1.5 分组

采用随机数字表法抽取 8 只大鼠设为假手术组,仅切开皮肤与肌肉,暴露相应节段椎板即可;其余 34 只行 T8 脊髓完全横断术,以建立 NB 模型。造模术中死亡 1 只,术后护理期死亡 8 只(其中 4 只死于腹胀、4 只死于伤口感染),另有 1 只因术后下肢残留自主运动未达到成模标准而被剔除。最终 24 只大鼠符合成模标准,经二次随机分为模型组、电针 1 组、电针 2 组,每组 8 只。

1.6 干预方案

电针 1 组、电针 2 组分别自术后第 19、29 天开始电针干预,均连续干预 10 d。选取次髂、中极、三阴交作为干预穴位,根据国家“十三五”统编教材《实验针灸学》^[14]中大鼠标准穴位图谱进行定位:次髂位于大鼠骶部髂后上棘内下方第 2 骶后孔处;中极位于大鼠腹部神阙穴与耻骨联合上缘连线上 4/5 与下 1/5 交点处(注:神阙穴位于腹正中线上,胸剑联合与耻骨联合上缘连线上 3/4 与下 1/4 交点);三阴交位于大鼠后肢内踝直上方 1 cm 处。操作方法^[15]:将大鼠固定在鼠架上,采用 30 号 1 寸毫针,双侧次髂直刺 15 mm,中极针尖朝向膀胱斜刺 5 mm,双侧三阴交直刺 5 mm;中极与一侧三阴交接为一组(双侧三阴交隔日交替进行),双侧次髂接为一组,组成 2 组电针干预点,先行腹侧穴位干预后再行背侧穴位干预。选用疏密波,频率 10 Hz/50 Hz,刺激强度以大鼠下肢轻微颤动为宜,每天 1 次,每组干预 20 min。此外,假手术组、模型组大鼠均以相同方式抓取、束缚同样时间,不进行电针干预。所有大鼠均于电针 2 组干预结束后,行相关检测并取材。

1.7 观察指标及检测方法

1.7.1 一般情况观察 每天观察各组大鼠的一般情况,记录其摄食量、饮水量、排尿量、排便性状、行为活动、有无自残、撕咬及死亡等情况。

1.7.2 膀胱超声检测 末次电针处理结束后,各组于 10:00 统一排空大鼠膀胱尿液,并于 15:00 进行超声检测。大鼠经异氟烷吸入麻醉后取仰卧位,固定于自制大鼠固定板上,以电动剃毛机剃除腹部毛发,充分暴露检测区域后在下腹部均匀涂抹超声耦合剂。使用 12 MHz 线阵探头,分别沿矢状面垂直及平行方向轻置于大鼠耻骨联合上方区域,采集膀胱横切面及纵切面图像。测量膀胱的左右径、前后径及

上下径后,依据长轴椭圆球体公式计算膀胱容积^[16]:
膀胱容积=左右径(cm)×前后径(cm)×上下径(cm)× $\pi/6$,其中 $\pi/6 \approx 0.52$ 。

1.7.3 尿流动力学检测 研究人员在尽量排空大鼠膀胱尿液后,将其仰卧固定于自制大鼠固定板上,经异氟烷吸入麻醉后,通过尿道将 F3 型导尿管插入膀胱内,测压管经三通管分别与尿动力仪和微量灌注泵相连,以 0.2 mL/min 的速率注入常温 0.9%氯化钠注射液,记录膀胱最大压力、膀胱灌注时间和膀胱最大容量。

1.7.4 肉眼观察大鼠膀胱形态及计算膀胱指数 尿流动力学检测结束后,每组随机选取 4 只大鼠,采用过量戊巴比妥钠腹腔注射处死,称取各组大鼠体质量和膀胱湿重,将膀胱置于洁净的纱布上,肉眼观察膀胱组织形态、拍照记录,并将解剖分离的膀胱组织置于冰上,用手术刀切取膀胱体中间部,将其浸泡于 4%多聚甲醛溶液中固定,将剩余部分置于-80℃冰箱冻存。计算膀胱指数(bladder index, BI)=膀胱湿重(mg)/体质量(g)^[17]。

1.7.5 大鼠膀胱组织 Masson 染色 取每组 4 只大鼠的膀胱组织,固定于 4%多聚甲醛溶液中,经脱水、石蜡包埋后制备厚 5 μm 连续切片。切片经 4℃重铬酸钾溶液过夜处理后,双蒸水冲洗;按 1:1 比例将铁苏木素 A 和 B 液混合;将切片置于染液中染色并冲洗;使用返蓝液进行返蓝,双蒸水冲洗;酸性品红染色,双蒸水漂洗;磷钨酸处理后直接将切片放入苯胺蓝染液;最后分化、脱水、透明、封片。染色后将切片置于显微镜下观察并采集图像,将切片上的视野随机分成 4 个不同的观察区域,利用 ImageJ 软件,测量观察区域内膀胱胶原纤维面积,计算膀胱胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF)=(膀胱蓝色胶原纤维面积/膀胱总面积)×100%。最终膀胱 CVF 取 4 个观察区域的平均值。正常情况下,膀胱平滑肌组织呈红色,蓝色的胶原纤维分布于平滑肌肌束间和膀胱黏膜下等部位。

1.7.6 离体膀胱逼尿肌收缩试验 每组剩余的 4 只大鼠,采用过量戊巴比妥钠腹腔注射处死,迅速剪取膀胱组织,制备成约 3 mm×3 mm×8 mm 的膀胱逼尿肌肌条。将肌条浸入 37℃Krebs 生理溶液(pH 7.2~7.4)中,一端固定,另一端与离体组织器官实验系统的张力传感器相连,持续通入 95%O₂与 5%CO₂的混合气体。每根肌条给予 1 g 预张力;平衡 30 min 后,再给予 1 g 张力,待肌条稳定,通过计算机记录

分析肌条自发性收缩幅度及收缩频率。

1.7.7 大鼠膀胱组织相关蛋白 Western blot 检测
每组随机选取4只大鼠,从每个膀胱组织样本中取50 mg组织,根据相关试剂说明书,采用PMSF蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂和RIPA裂解液提取样本总蛋白,并通过BCA法测定蛋白浓度,随后将提取的总蛋白样本存放于 -20°C 冰箱以备后续使用。电泳采用10%PAGE凝胶,电压为150 V,至溴酚蓝到达分离胶底部时结束电泳。转膜采用电流300 mA,时间45 min。快速封闭液封闭30 min,TBST冲洗1次。将切片置于COL I、COL III、CTGF、TGF- β 1(1:1 000)、 β -actin(1:5 000)、GAPDH(1:50 000)的一抗稀释液中, 4°C 孵育过夜。次日,回收一抗,并用TBST洗涤3次,每次10 min,室温下二抗孵育1.5 h。二抗孵育后,再次用TBST洗涤3次,每次10 min。ECL显影后,用ImageJ软件分析蛋白相对表达量。

1.8 统计学方法

采用SPSS 26.0统计软件进行分析,计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。计量资料符合正态分布且方差齐性时,采用单因素方差分析进行多组间比较,进一步两两比较采用LSD检验;若方差不齐,则采用Tamhane

检验。不符合正态分布的数据采用秩和检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况结果

一般情况观察结果显示,假手术组大鼠术后状态良好,进食饮水正常,活动度良好,被毛光整。模型组大鼠表现为进食饮水减少、精神萎靡、活动减少,被毛粗乱,双下肢拖行,膀胱明显膨大呈椭圆状,伴尿潴留及排便障碍,部分大鼠笼内可见尿液污染。与模型组相比,电针1组和电针2组上述异常表现均有所改善。

2.2 各组大鼠膀胱超声影像学检测结果

超声结果显示,膀胱腔内呈无回声、膀胱壁及周围组织呈高回声,其中假手术组膀胱形态规则、体积适中,膀胱壁厚度均匀。与假手术组相比,模型组大鼠膀胱形态呈椭圆状,呈过度充盈状态,膀胱容积明显增加($P<0.01$),膀胱壁明显增厚($P<0.01$)。与模型组相比,电针1组、电针2组大鼠膀胱充盈程度降低,膀胱容积明显下降($P<0.01$),膀胱壁厚度减少($P<0.05$, $P<0.01$)。与电针2组相比,电针1组膀胱容积下降($P<0.05$),膀胱壁厚度减少($P<0.05$)。详见图1。

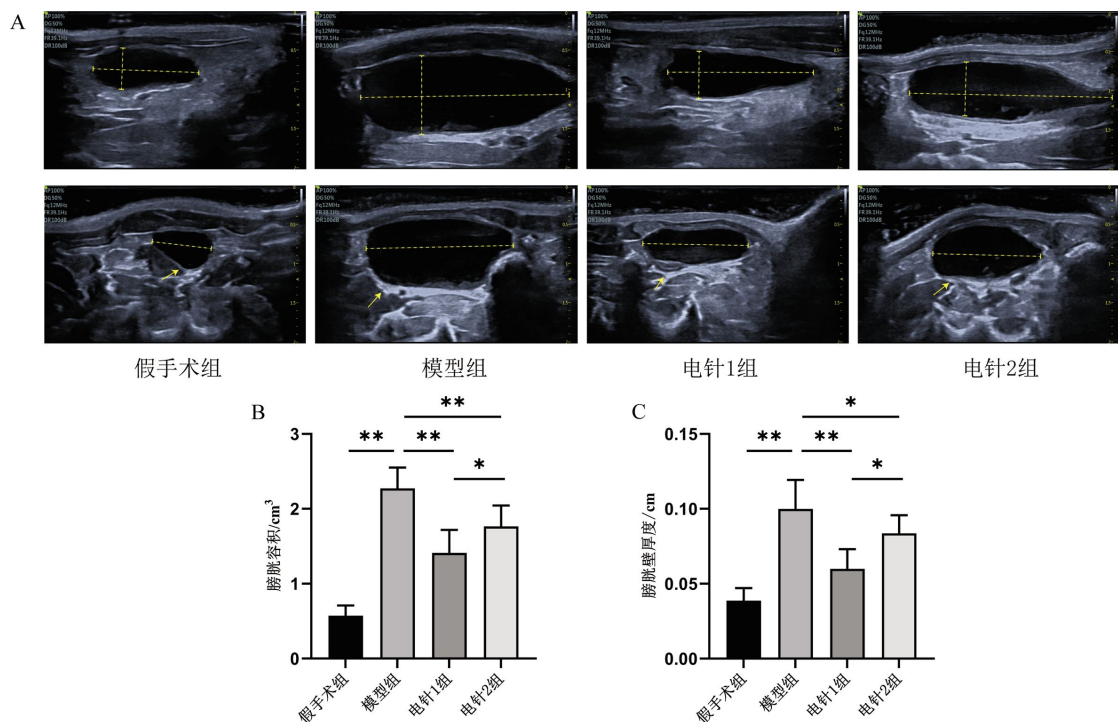


图1 各组大鼠膀胱超声影像学检测结果($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Fig.1 Ultrasonographic findings of the bladder among different groups of rats ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

注:A.各组大鼠膀胱超声形态、径线测量及膀胱壁厚度图;上排图像为纵切面,用于测量膀胱上下径及前后径,下排图像为横切面,用于测量膀胱左右径及膀胱壁厚度,箭头指示膀胱壁位置;B.各组大鼠膀胱容积比较;C.各组大鼠膀胱壁厚度比较。

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

2.3 各组大鼠尿流动力学检测结果

尿流动力学结果显示,假手术组大鼠膀胱最大压力、膀胱灌注时间及膀胱最大容量均维持在正常范围。与假手术组相比,模型组大鼠上述指标均显著增加($P<0.01$)。与模型组相比,电针 1 组、电针 2 组上述指标均减少($P<0.05$, $P<0.01$)。与电针 2 组相比,电针 1 组上述指标均减少($P<0.05$)。详见图 2。

2.4 各组大鼠膀胱组织形态学观察及 BI 结果

膀胱组织形态学与 BI 结果显示,假手术组膀胱呈粉红色卵圆形,表面光滑饱满。与假手术组相比,模型组膀胱明显增大,BI 显著升高($P<0.01$)。与模型组相比,电针 1 组和电针 2 组大鼠膀胱过度扩张程度明显减轻,BI 下降($P<0.05$, $P<0.01$)。与电针 2 组相比,电针 1 组在减轻膀胱病理性扩张方面更为显著,BI 下降($P<0.05$)。详见图 3A、3C。

2.5 各组大鼠膀胱组织 Masson 染色结果

Masson 染色结果显示,假手术组大鼠膀胱组织胶原纤维分布较少,平滑肌束排列整齐,肌束间隙清晰。与假手术组比较,模型组大鼠膀胱组织胶原纤维呈片状或条索状,广泛分布于平滑肌束间,平滑肌束排列紊乱,CVF 显著升高($P<0.01$)。与模型组相比,电针 1 组和电针 2 组大鼠膀胱组织胶原纤维分布范围缩小,平滑肌束排列较为规整,CVF 均降低($P<0.05$, $P<0.01$)。与电针 2 组相比,电针 1 组大鼠膀胱组织胶原纤维分布进一步减少,平滑肌束排列更为规整,CVF 降低($P<0.05$)。详见图 3B、3D。

2.6 各组大鼠离体膀胱逼尿肌收缩试验结果

与假手术组相比,模型组大鼠逼尿肌自发性收缩幅度显著降低($P<0.01$),而收缩频率显著增加($P<0.01$)。与模型组相比,电针 1 组和电针 2 组逼尿肌自发性收缩幅度增加($P<0.01$),收缩频率降低($P<0.05$, $P<0.01$)。与电针 2 组相比,电针 1 组逼尿肌自发性收缩幅度增加及收缩频率降低($P<0.05$)。详见图 4。

2.7 各组大鼠膀胱组织相关蛋白 Western blot 检测结果

与假手术组相比,模型组大鼠膀胱组织 COL I、COL III、TGF- β 1、CTGF 蛋白相对表达显著升高($P<0.01$)。与模型组相比,电针 1 组、电针 2 组上述蛋白相对表达均降低($P<0.05$, $P<0.01$)。与电针 2 组相比,电针 1 组上述蛋白相对表达均降低($P<0.05$)。详见图 5。

3 讨论

中医学将 NB 归属于“遗溺”“癃闭”等范畴,其核心病机为 SCI 后督脉受损、肾气亏虚,导致膀胱气化失司、开阖不利。病程初期,以气机郁滞、气化功能障碍为主,病变偏于功能层面。若气化失司迁延不愈,则水湿内停,久病入络,由气及血,致使湿瘀互结、形质受损,逐渐由“以气化障碍为主”演变为“以形质损害为重”,出现膀胱壁肥厚、挛缩失柔等结构性改变,与现代医学所述的膀胱纤维化病变相对应^[18-19]。由于疾病不同病程阶段存在差异,其对针刺调控的反应程度可能有所不同,这为探讨不同时间窗启动电针干预的疗效差异提供了中医理论依

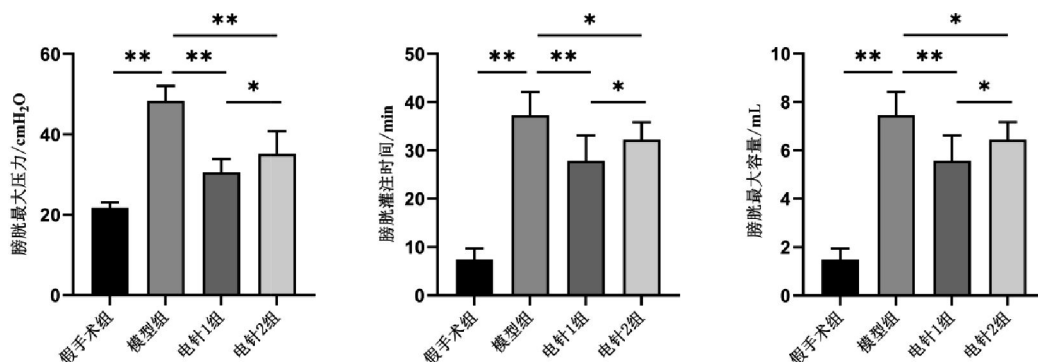


图 2 各组大鼠尿流动力学检测结果($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Fig.2 Urodynamic findings among different groups of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

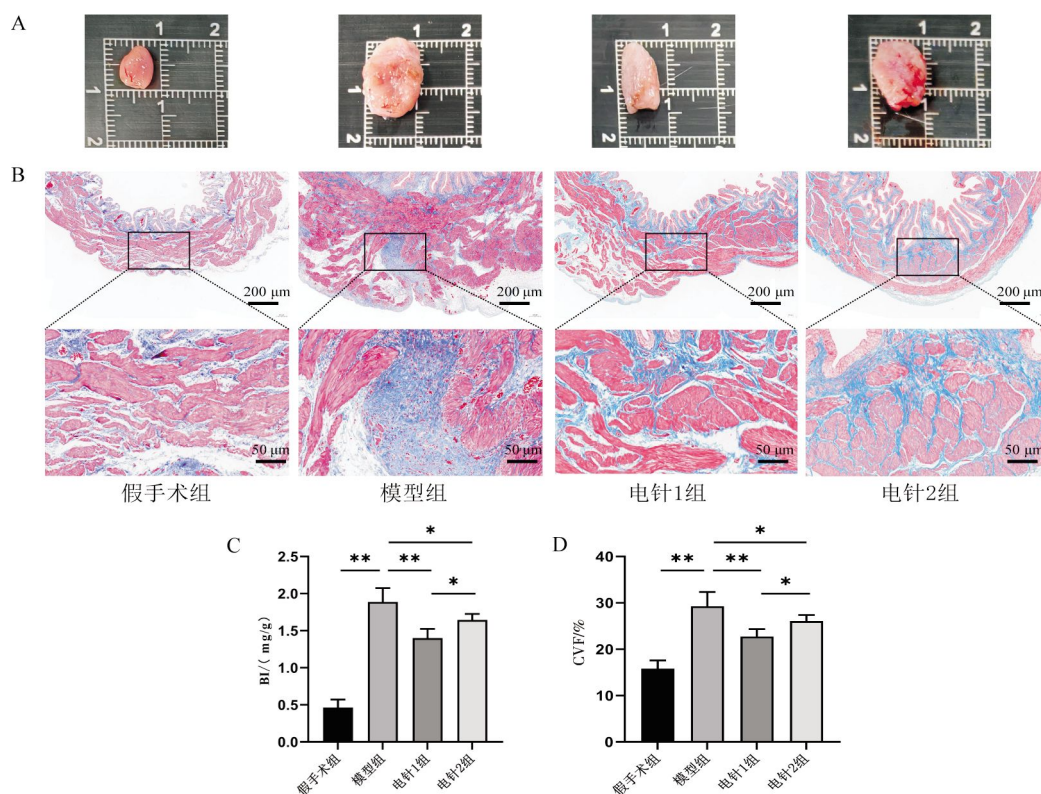


图3 各组大鼠膀胱组织形态学及病理学结果($\bar{x} \pm s, n=4$)

Fig.3 Morphological and histopathological findings of bladder tissues among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=4$)

注:A.各组大鼠膀胱组织形态学观察;B.各组大鼠膀胱组织 Masson 染色图(上排标尺:200 μm ,下排标尺:50 μm);C.各组大鼠 BI 比较;D.各组大鼠膀胱 CVF 比较。* $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

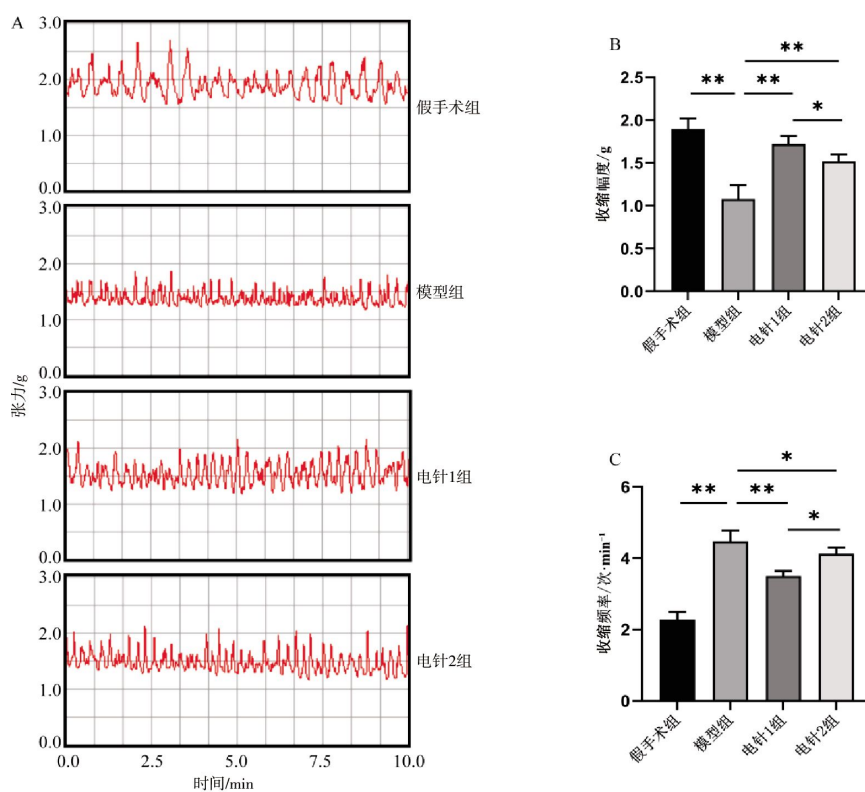


图4 各组大鼠离体膀胱逼尿肌收缩试验结果($\bar{x} \pm s, n=4$)

Fig.4 Results of the isolated bladder detrusor contraction assay among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=4$)

注:A.各组大鼠代表膀胱逼尿肌自发性收缩曲线图;B.各组大鼠逼尿肌自发性收缩幅度比较;C.各组大鼠逼尿肌自发性收缩频率比较。

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

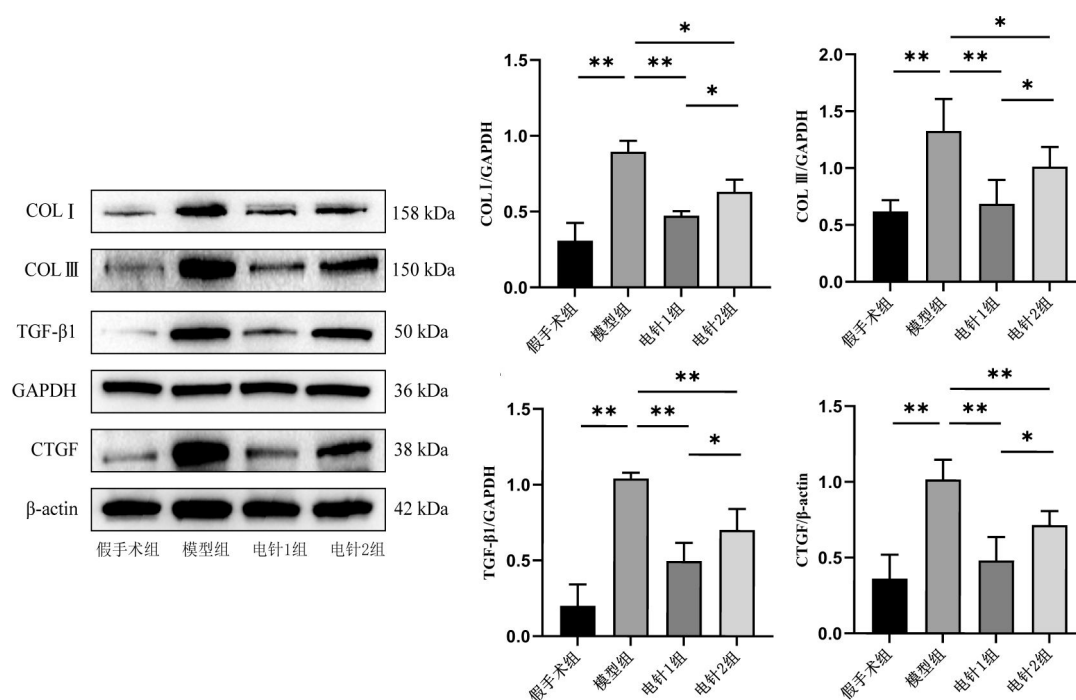


图5 各组大鼠膀胱组织相关蛋白 Western blot 检测结果 ($\bar{x} \pm s, n=4$)

Fig.5 Western blot results for related proteins in bladder tissues among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=4$)

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

据。基于对文献的分析总结及团队多年的研究成果积累^[20-21],本研究选取次髎、中极、三阴交作为干预腧穴。次髎属膀胱经八髎穴之一,符合近部取穴原则,可调节下焦水道功能;中极为任脉之膀胱募穴,直达病所,与膀胱气化功能密切相关;三阴交为肝、脾、肾三经交会穴,可健脾温肾,协同调节下焦气机与水液代谢。现代医学研究表明,次髎所在区域邻近骶神经根,刺激该区域可影响逼尿肌与尿道括约肌的神经调控^[22];中极穴所在区域分布有参与膀胱自主神经调节的神经纤维网络^[23];三阴交的刺激信号可通过外周神经传入中枢,经膀胱相关副交感神经调节,参与储排尿功能的控制^[24]。

T8 节段 SCI 后形成的尿潴留型 NB,其主要病理特征为逼尿肌-尿道括约肌协同失调,导致排尿受限、残余尿量增加及持续性膀胱高压^[25]。既往研究表明,生理性机械牵张是维持膀胱组织结构与功能稳态的重要调节因素^[26]。而长期病理性高压负荷的力学刺激,可激活 TGF-β1/Smad 及 Yes 相关蛋白/转录共激活因子等机械信号转导通路,诱导膀胱平滑肌细胞及间质成纤维细胞发生异常表型转化与持续活化,导致 ECM 代谢失衡与胶原过度沉积,从而推动膀胱纤维化的形成与发展^[27-29]。本研究的膀胱超声与尿流动力学结果显示,NB 模型大鼠呈现膀胱高

压、高容量并伴排尿效率下降的尿潴留状态;离体膀胱逼尿肌肌条实验进一步证实,模型组逼尿肌自发性收缩幅度降低而频率升高,提示逼尿肌兴奋性发生改变且收缩效能与协调性受损。组织学观察显示,模型组膀胱呈代偿性增大,BI 升高,逼尿肌胶原纤维沉积增加,提示 NB 模型大鼠膀胱发生纤维化病变,与既往研究结果一致^[30-31]。

本研究结果显示,电针干预可在不同程度上改善膀胱功能指标、逼尿肌收缩特性及组织学异常。进一步比较不同时间窗启动电针干预的疗效发现,在病程较早阶段开始电针干预,在改善膀胱功能、调节逼尿肌异常收缩模式及延缓 NBF 进程方面更具优势,提示电针干预效应与病理进程阶段密切相关。从疾病演变过程看,NB 早期阶段主要以逼尿肌兴奋性改变及收缩协调障碍所致的功能失调为主,膀胱壁结构尚处于代偿性重塑阶段,胶原沉积与组织重塑程度相对有限^[32]。此时电针干预通过调节逼尿肌异常收缩并降低膀胱内压负荷,更有利于改善异常力学环境,从而减轻持续高压对膀胱壁结构重塑的驱动作用。随着病程进展,长期高压负荷及异常收缩状态持续存在,胶原沉积逐渐增加,膀胱顺应性下降,结构性改变趋于稳定,此时功能调控对既有结构改变的影响相对减弱,从而使电针干预效果相对下

降。因此,在膀胱纤维化尚未广泛形成的阶段启动电针干预,更有利于改善膀胱功能状态并延缓膀胱纤维化进程。从临床角度分析,目前NB的治疗重点主要在于维持低压储尿、安全排空并保护上尿路功能,而针对膀胱纤维化本身尚缺乏成熟有效的特异性干预手段^[33]。一旦纤维化明显形成,治疗多以控制进展和功能补救为主,已有的结构重塑通常较难逆转^[34]。因此,相较于在纤维化已明确形成后再行补救性干预,于纤维化尚未明显形成阶段尽早介入并延缓其发生发展,可能具有更高的临床价值。

基于以上结果,本研究进一步检测了膀胱纤维化相关分子的表达。TGF- β 1是纤维化进程中的重要促纤维化因子之一,在持续机械刺激或组织损伤条件下可被上调,并参与成纤维细胞活化及胶原合成过程^[35-36]。CTGF作为TGF- β 1介导纤维化反应的下游效应分子,参与调控ECM的持续沉积,在纤维化进展中发挥重要作用^[37-38]。COL I和COL III是膀胱ECM的核心组成成分,二者异常沉积是膀胱纤维化的重要特征^[39]。在NB病理状态下,膀胱平滑肌细胞受到压力刺激后可合成更多的COL I和COL III,导致其在膀胱壁中异常沉积,进而引起膀胱壁弹性下降、顺应性减弱及平滑肌功能受损,并进一步加重膀胱高压及功能障碍^[40]。本研究Western blot检测结果显示,模型组膀胱组织中TGF- β 1、CTGF、COL I、COL III的相对表达水平均明显升高,提示纤维化相关分子已被激活。经电针干预后,上述分子相对表达水平均明显下降。进一步比较不同时间窗启动电针干预发现,较早阶段启动电针干预时下降幅度更为显著,提示较早启动电针可能更有利于抑制促纤维化分子的持续激活,从而延缓膀胱结构重塑进程。

综上所述,不同时间窗启动电针干预的效应存在差异,较早启动电针干预在改善膀胱功能、减轻纤维化相关改变及下调相关蛋白表达方面优于较晚启动干预。本研究仍存在一定局限性,如各组动物在相同病程终点进行检测,虽有助于在一致的疾病进展背景下比较不同时间窗启动电针干预的综合效应,但由于两个电针干预组干预结束至检测的时间间隔不同,组间差异可能受到该时间间隔差异的影响。此外,本实验仅设置了两个时间点进行干预观察,未来可通过增加干预时间节点、延长观察周期,并分别于干预结束后即刻及同一病程终点开展检

测,以区分电针的即时效应与持续效应。同时,结合更深入的分子机制研究以进一步阐明电针在不同病程阶段调控NBF的作用特点,为临床干预时机的优化提供实验依据。

参考文献

- [1] WELK B, ZHONG T Y, MYERS J, et al. Identifying bladder phenotypes after spinal cord injury with unsupervised machine learning: A new way to examine urinary symptoms and quality of life[J]. *The Journal of Urology*, 2024, 212(1): 114-123.
- [2] FITZPATRICK M A, NWAFO N. Urinary tract infection diagnostic and management considerations in people with spinal cord injury and neurogenic bladder[J]. *Infectious Disease Clinics of North America*, 2024, 38(2): 381-393.
- [3] 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.
- [4] LI Q, LV L, ZHANG Y P, et al. Identification of inflammation-related biomarkers and therapeutic targets for neurogenic bladder fibrosis via multi-omics analysis[J]. *Computers in Biology and Medicine*, 2025, 196: 110721.
- [5] LU J Y, CHENG B, LIN L. Urodynamic analysis of the effect of electroacupuncture at different acupoints on the bladder after spinal cord injury[J]. *Neurourology and Urodynamics*, 2024, 43(8): 2065-2075.
- [6] 王 琼, 陈小聪, 马迎歌, 等. 电针结合膀胱功能训练治疗脊髓损伤后神经源性膀胱的临床疗效: meta分析[J]. *中国康复医学杂志*, 2024, 39(5): 712-717.
- [7] 王学乾, 王东利, 郝有志, 等. “调神疏通固本”法针灸治疗脊髓损伤后神经源性膀胱尿潴留34例[J]. *中国针灸*, 2024, 44(7): 770-772.
- [8] 罗小精, 田楚宁, 展立芬, 等. 电针对脊髓损伤后神经源性膀胱大鼠TGF- β 1/Smads信号通路和上皮-间质转化相关蛋白表达的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2025, 32(10): 120-126.
- [9] 展立芬, 曾学究, 梁柔筠, 等. 电针通过TGF- β 1/Smad2信号通路调控神经源性膀胱大鼠膀胱纤维化趋势的研究[J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(5): 2423-2429.
- [10] 焦子远, 卓越, 梁柔筠, 等. 电针改善脊髓损伤大鼠逼尿肌的形态结构和膀胱功能[J]. *中国组织工程研究*, 2024, 28(28): 4484-4490.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 卓越, 许 明, 邓石峰, 等. 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.
- [14] 唐 勇. 实验针灸学[M]. 3 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2021: 146-148.
- [15] 卓 越, 艾 坤, 许 明, 等. 电针对骶上脊髓损伤后大鼠神经源性膀胱及血清外泌体 miRNA 差异表达的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2023, 38(5): 577-588.
- [16] SARTORI A M, SCHWAB M E, KESSLER T M. Ultrasound: A valuable translational tool to measure postvoid residual in awake rats[J]. *European Urology Focus*, 2020, 6(5): 916-921.
- [17] WANG J X, REN L D, LIU X Q, et al. Transcriptomics reveals molecular features of the bilateral pelvic nerve injury rat model of detrusor underactivity[J]. *Biomolecules*, 2023, 13(8): 1260.
- [18] 展立芬, 田楚宁, 梁柔筠, 等. 从“不独膀胱、不离膀胱”论治神经源性膀胱纤维化病变[J]. 上海中医药杂志, 2025, 59(5): 44-48.
- [19] YANG X H, PU Q S, WEN Y B, et al. Activation of the TGF- β 1/Smads/ α -SMA pathway is related to histological and functional changes in children with neurogenic bladder[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12: 9285.
- [20] 贺煜竣, 范郁山, 苗芙蕊, 等. 基于数据挖掘技术分析针灸治疗神经源性膀胱的选穴规律[J]. 针刺研究, 2024, 49(2): 198-207.
- [21] 王 璇, 许 明, 刘 琼, 等. 电针治疗神经源性膀胱的选穴用经规律分析[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(12): 1527-1532.
- [22] 金 洵, 丁曙晴, 时飞跃, 等. CT 三维重建下深刺八髎穴进针角度和效应深度的研究[J]. 针刺研究, 2017, 42(6): 537-541.
- [23] DE GROAT W C, GRIFFITHS D, YOSHIMURA N. Neural control of the lower urinary tract[J]. *Comprehensive Physiology*, 2015, 5(1): 327-396.
- [24] PARK C H, YOON Y C, NA C S. Neurologic study of SP6 (Sanyinjiao) acupuncture on bladder parasympathetic nerve, tibial nerve and blood pressure in rats[J]. *Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society*, 2002, 19(1): 175-188.
- [25] SHIMIZU N, SAITO T, WADA N, et al. Molecular mechanisms of neurogenic lower urinary tract dysfunction after spinal cord injury[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(9): 7885.
- [26] QUACHEBEUR J, BUSH M, SHKARUPA D, et al. A brief physiology and pathophysiology of the bladder[J]. *Annals of Translational Medicine*, 2024, 12(2): 24.
- [27] CHEN J, LI Q, HONG Y F, et al. Inhibition of the NF- κ B signaling pathway alleviates pyroptosis in bladder epithelial cells and neurogenic bladder fibrosis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(13): 11160.
- [28] ZHAO M M, DING N, WANG H Y, et al. Activation of TRPA1 in bladder suburothelial myofibroblasts counteracts TGF- β 1-induced fibrotic changes[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(11): 9501.
- [29] DI X P, JIN X, AI J Z, et al. YAP/Smad3 promotes pathological extracellular matrix microenvironment-induced bladder smooth muscle proliferation in bladder fibrosis progression[J]. *Med Comm*, 2022, 3(4): e169.
- [30] WANG R C, WANG M X, CHEN J, et al. Targeting STING alleviates pyroptosis of bladder epithelial cells and ameliorates bladder fibrosis in neurogenic bladder[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2025, 241: 117177.
- [31] CHEN Y, MA Y, HE Y L, et al. The TGF- β 1 pathway is early involved in neurogenic bladder fibrosis of juvenile rats[J]. *Pediatric Research*, 2021, 90(4): 759-767.
- [32] FRY C H, KITNEY D G, PANIKER J, et al. Fibrosis and the bladder, implications for function ICI-RS 2017[J]. *Neurourology and Urodynamics*, 2018, 37(S4): S7-S12.
- [33] GINSBERG D A, BOONE T B, CAMERON A P, et al. The AUA/SUFU guideline on adult neurogenic lower urinary tract dysfunction: Diagnosis and evaluation[J]. *Journal of Urology*, 2021, 206(5): 1097-1105.
- [34] KIM S J, KIM J, NA Y G, et al. Irreversible bladder remodeling induced by fibrosis[J]. *International Neurourology Journal*, 2021, 25(Suppl 1): S3-S7.
- [35] WANG W, XIAO D X, LIN L D, et al. Antifibrotic effects of tetrahedral framework nucleic acids by inhibiting macrophage polarization and macrophage-myofibroblast transition in bladder remodeling[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2023, 12(11): 2203076.
- [36] LIN F Y, YANG X. TGF- β signaling in aortic aneurysm: Another round of controversy[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2010, 37(9): 583-591.
- [37] 刘 倩, 王军锋, 马 楠, 等. 结缔组织生长因子在神经源性膀胱纤维化过程中的影响因素研究[J]. 中华小儿外科杂志, 2018, 39(7): 539-545.
- [38] REBOLLEDO D L, LIPSON K E, BRANDAN E. Driving fibrosis in neuromuscular diseases: Role and regulation of Connective tissue growth factor (CCN2/CTGF)[J]. *Matrix Biology Plus*, 2021, 11: 100059.
- [39] LI W, CHI N W, RATHNAYAKE R A C, et al. Distinctive roles of fibrillar collagen I and collagen III in mediating fibroblast-matrix interaction: A nanoscopic study[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2021, 560: 66-71.
- [40] FULLER A M, EISINGER-MATHASON T S K. Context matters: Response heterogeneity to collagen-targeting approaches in desmoplastic cancers[J]. *Cancers*, 2022, 14(13): 3132.