

• 实验研究 •

5-HT_{2A}受体激动剂改善脊髓损伤大鼠排尿
功能障碍的实验研究*陈加生¹ 吴刚¹ 涂红坚² 谷宝军¹

[摘要] 目的:研究 5-羟色胺-2A(5-HT_{2A})受体激动剂对慢性脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)大鼠排尿障碍的改善作用。方法:体重 175~200 gSD 雌性大鼠 14 只。随机分为两组:实验组 7 只,建立脊髓损伤模型;正常对照组 7 只。8 周后乌拉坦麻醉下,在正常大鼠和 SCI 大鼠颈静脉和膀胱内置管,连接压力感受器,记录大鼠膀胱内压图(cystometrogram, CMG)及排尿量、剩余尿量、膀胱容量。静脉注入 5-HT_{2A}受体激动剂 DOI(0.01~0.3 mg/kg),得到剂量-效应曲线后再给予 5-HT_{2A}受体抑制剂酮色林(ketanserin, 0.1 mg/kg)。结果:对照组正常大鼠用药前后排尿量、膀胱容量下降,而大鼠排尿效率的差异无统计学意义。DOI 能增加 SCI 大鼠排尿量,同时降低剩余尿量、膀胱容量,从而提高排尿效率,且效应随着 DOI 剂量增加而增加,差异有统计学意义。酮色林注入后能逆转 DOI 的作用。同时 DOI 能增加大鼠排尿时 CMG 中高频振动波(HFOs)活动,改善 SCI 大鼠尿道外括约肌高频舒张收缩功能,而对脊髓完好的正常大鼠作用微弱。结论:5-HT_{2A}受体激动剂 DOI 可以剂量依赖性地增强 SCI 大鼠排尿时尿道外括约肌高频舒张收缩,从而增加排尿量,减少剩余尿量,降低膀胱容量,提高排尿效率,改善排尿障碍。

[关键词] 脊髓损伤;排尿功能障碍;5-羟色胺受体;大鼠

[中图分类号] R651.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-1420(2012)12-0942-04

Improving the voiding dysfunction by a 5-HT_{2A} receptor agonist in
rats with chronic spinal cord injuryCHEN Jiasheng¹ WU Gang¹ TU Hongjian² GU Baojun¹

(¹Department of Urology, Sixth People Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200233, China; ²Soochow University)

Corresponding author: GU Baojun, E-mail: gubaojun@yahoo.com

Abstract Objective: To investigate the effect of 5-hydroxytryptamine serotonin receptor-2A agonists on micturition dysfunction in rats with chronic spinal cord injury(SCI). **Method:** Female SD rats with the weight of 175-200g weight were used. Seven of these rats were made into the spinal cord injury model. 8 weeks later, control rats and SCI rats were tested. Rats were anesthetized with urethane. Control rats and SCI rats were catheterized through the bladder dome for saline-filling cystometry. Dose-response curves for iv DOI were followed by ketanserin test. The capacity, residual volume, micturition volume and voiding pressure were measured. **Result:** Intact rats showed few significant changes in cystometric variable. SCI rats responded to DOI with dose-dependent increase in micturition volume and decrease in capacity, residual volume and voiding pressure, resulting in improvement in voiding efficiency. Effects of DOI were reversed by ketanserin. That DOI facilitated EUS bursting activity in spinal cord injured rats but the control group showed no significant change. **Conclusion:** The 5-HT_{2A} receptor agonist DOI may significantly enhance EUS bursting activity during voiding in urethane-anesthetized chronic spinal cord injured rats. And this could result in an increase in micturition volume, a decrease in bladder capacity, and thus an increase in voiding efficiency.

Key words spinal cord injury; urethral dysfunction; serotonin receptor; rat

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)后神经性膀胱功能障碍会导致尿潴留及尿路感染等许多并发症,严重降低患者的生活质量^[1]。脊髓损伤后下尿

路排尿障碍治疗的关键在于抑制逼尿肌反射亢进和改善逼尿肌括约肌功能失协调,其中心是保护肾功能,这是维系患者生命的首要因素。目前脊髓损伤后神经源性膀胱的治疗主要包括导尿管理、药物治疗、神经电刺激、外科治疗及行为治疗等。为探讨 5-HT_{2A}受体激动剂对脊髓损伤后排尿功能的影响,我们利用 SD 雌性大鼠作为模型进行了实验研究,现报告如下。

* 基金项目:国家自然科学基金项目(编号 30872568),上海市科委启明星追踪项目(编号 09QH1402000)

¹上海交通大学附属第六人民医院泌尿外科(上海,200233)

²苏州大学

通信作者:谷宝军, E-mail: gubaojun@yahoo.com

1 材料与方法

1.1 实验动物

SD 雌性大鼠 14 只,质量 175~200 g。其中 7 只在 T₉~T₁₀ 间隙行脊髓横断,建立 SCI 大鼠模型。另外 7 只大鼠设为对照组。

1.2 脊髓损伤模型的建立

异氟醚吸入麻醉下,在 T₉-T₁₀ 间隙行椎板切除,锐性切断脊髓。7 只动物术后均存活。手法按压排尿每天 2 次,持续 2 周,再饲养 6~8 周后行膀胱内压测定。

1.3 膀胱内压测定

乌拉坦(1.3 g/kg,美国 Sigma 公司)腹腔注射麻醉。在大鼠左侧颈静脉置入 PE-50 聚乙烯导管;PE-90 聚乙烯导管置入膀胱顶部,用缝线固定,另外一端连接三通管,一个连接注射器持续注入室温生理盐水诱发膀胱收缩排尿,另一个连接压力转换器用于记录 CMG。灌注速度根据大鼠膀胱容量(SCI 大鼠 0.30~1.10 ml/min,对照组正常大鼠 0.11~0.15 ml/min)确定。排出的尿液收集在一个容器内,再连接重力传感器计量。记录膀胱内压图、排尿量、剩余尿量,观察膀胱容量、膀胱内最大压力及排尿时 CMG 中高频振荡波(HFOs)个数。

1.4 实验方法

SCI 和对照组大鼠均先测量 3 次充盈性诱发排尿各数据后,颈静脉注入空白生理盐水或 5-HT_{2A}受体激动剂 DOI(0.01~0.3 mg/kg)并进行测定,且连续追加剂量。对于 SCI 大鼠,每次 DOI

注射后引起剂量-反应曲线后再静脉注射 5-HT_{2A}受体抑制剂酮色林(ketanserin, 0.1 mg/kg)。DOI 和酮色林(美国 Sigma 公司)均溶解于蒸馏水。药物溶液 0.2 ml 注入动物体内,再用 0.2 ml 盐水冲洗。

1.5 统计学方法

所得数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用 SPSS16.0 统计软件包进行数据处理和统计分析。两组大鼠给药前后排尿量、剩余尿量、膀胱容量、膀胱内最大压力以及排尿时膀胱压力曲线上 HFOs 个数的变化比较行随机区组方差分析,两两间比较采用 LSD 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同剂量的 DOI 对正常大鼠排尿的影响

正常对照组大鼠平均排尿量为(0.28±0.08)ml,平均膀胱容量为(0.33±0.10)ml,平均剩余尿量为(0.05±0.03)ml,平均膀胱内最大压力为(19.67±3.92)cmH₂O,平均排尿效率为(85.28±7.13)%。使用 DOI 后,随着其剂量增加,正常大鼠的排尿量、膀胱容量呈逐渐下降趋势,于 DOI 剂量为 0.1 mg/kg 时与生理盐水组的差异有统计学意义($P < 0.05$),而剩余尿量、排尿效率及膀胱内最大压力的变化差异无统计学意义(表 1)。5-HT_{2A}受体抑制剂酮色林(0.1 mg/kg)不能逆转 DOI 减少正常大鼠排尿量及膀胱容量的作用。

表 1 正常大鼠予以不同剂量 DOI 时膀胱测压参数比较

$\bar{x} \pm s$

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	排尿量/ml	剩余尿量/ml	膀胱容量/ml	排尿效率/%	No/个	Peak p/cmH ₂ O
生理盐水		0.28±0.08	0.05±0.03	0.33±0.10	85.28±7.13	23.86±9.06	19.67±3.92
DOI	0.01	0.26±0.09	0.04±0.02	0.31±0.10	85.25±3.72	21.57±9.50	19.34±5.04
	0.03	0.25±0.09	0.06±0.03	0.31±0.10	81.13±7.42	21.43±8.54	19.05±2.27
	0.10	0.24±0.08 ¹⁾	0.04±0.02	0.28±0.08 ¹⁾	85.19±8.50	19.43±8.54	21.40±6.01
	0.30	0.23±0.10 ¹⁾	0.04±0.02	0.27±0.10 ¹⁾	84.02±5.97	18.57±7.63	22.80±5.81
酮色林	0.10	0.23±0.06	0.05±0.03	0.28±0.07	80.77±9.42	18.57±8.18	20.83±4.19

注:No;排尿时膀胱压力曲线上 HFOs 的个数;Peak p;膀胱内最大压力;¹⁾与生理盐水组相比, $P < 0.05$

2.2 不同剂量 DOI 对 SCI 大鼠排尿的影响

如表 2 所示,随着 DOI 剂量增加,SCI 大鼠排尿量由(0.24±0.09)ml 增加到(0.52±0.13)ml,剩余尿量由(3.97±1.23)ml 下降到(2.99±0.30)ml,膀胱容量由(4.21±1.29)ml 下降到(3.50±0.36)ml,膀胱内最大压力由(35.64±6.23)cmH₂O 下降到(32.73±5.81)cmH₂O,且酮色林(0.1 mg/kg)能逆转 DOI 的作用。与排尿量增加及膀胱容量下降相一致,SCI 大鼠排尿效率由(5.64±1.34)%增加到(14.68±3.03)%,使用酮色林(0.1 mg/kg)后又下降至(6.20±2.89)%。DOI 剂量为

0.03~0.30 mg/kg 时,SCI 大鼠的排尿量、剩余尿量、膀胱容量、排尿效率及膀胱内最大压力的变化与生理盐水组比较差异均有统计学意义。酮色林(0.1 mg/kg)能逆转 DOI 的效应,各项膀胱测压参数与 DOI(0.3 mg/kg)组比较差异均有统计学意义。

2.3 不同剂量 DOI 对正常大鼠和 SCI 大鼠 CMG 的影响

图 1A 为正常大鼠经膀胱灌注诱导膀胱收缩时的 CMG,每个排尿周期主要分为三个阶段:IVP 最初上升期;IVP 高频振荡期(HFOs,图 1B);IVP 再

表 2 SCI 大鼠予以不同剂量 DOI 时膀胱测压参数比较

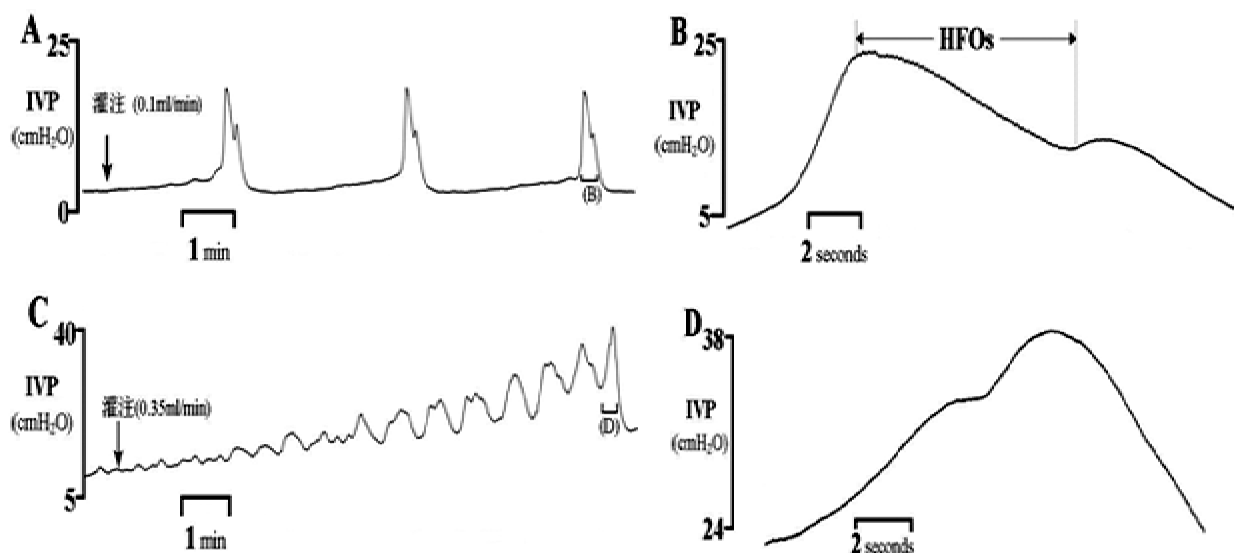
 $\bar{x} \pm s$

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	排尿量/ml	剩余尿量/ml	膀胱容量/ml	排尿效率/%	No/个	Peak p/ cmH_2O
生理盐水		0.24 ± 0.09	3.97 ± 1.23	4.21 ± 1.29	5.64 ± 1.34	2.57 ± 0.98	35.64 ± 6.23
DOI	0.01	0.33 ± 0.09	3.40 ± 0.49	3.73 ± 0.55	8.76 ± 1.77	$4.29 \pm 1.38^{1)}$	35.07 ± 5.68
	0.03	$0.40 \pm 0.14^{1)}$	$3.17 \pm 0.48^{1)}$	$3.57 \pm 0.55^{1)}$	$11.09 \pm 2.87^{1)}$	$5.14 \pm 2.12^{1)}$	$33.52 \pm 4.95^{1)}$
	0.10	$0.45 \pm 0.21^{1)}$	$3.01 \pm 0.47^{1)}$	$3.46 \pm 0.54^{1)}$	$12.77 \pm 5.65^{1)}$	$6.86 \pm 2.54^{1)}$	$32.93 \pm 4.95^{1)}$
	0.30	$0.52 \pm 0.13^{1)}$	$2.99 \pm 0.30^{1)}$	$3.50 \pm 0.36^{1)}$	$14.68 \pm 3.03^{1)}$	$7.71 \pm 2.98^{1)}$	$32.73 \pm 5.81^{1)}$
酮色林	0.10	$0.26 \pm 0.17^{2)}$	$3.83 \pm 0.75^{2)}$	$4.04 \pm 0.78^{2)}$	$6.20 \pm 2.89^{2)}$	$3.71 \pm 1.38^{2)}$	$34.80 \pm 4.52^{2)}$

注:No:排尿时膀胱压力曲线上 HFOs 的个数;Peak p:膀胱内最大压力;¹⁾与生理盐水组相比, $P < 0.05$;²⁾与 DOI(0.30 mg/kg)组相比, $P < 0.05$

次上升后下降期。HFOs 期出现尿液排出,且 HFOs 由多个小振荡波组成。SCI 大鼠 CMG 表现为排尿波前先出现数个不同的非排尿性收缩波,而后是单个或多个幅度较大的排尿收缩波。SCI 大鼠 CMG 中 HFOs 减少或消失。静脉给予 DOI 后,SCI 大鼠排尿时 HFOs 活动呈剂量依赖性增加。

排尿时 CMG 上 HFOs 的平均个数由(2.57 ± 0.98)个增加到(7.71 ± 2.98)个,且酮色林(0.1 mg/kg)能逆转 DOI 的作用,差别有统计学意义。而 DOI 对正常大鼠排尿时膀胱压力曲线上 HFOs 个数的影响微弱,变化差异无统计学意义。



B、D 分别为放大后 A、C 图中括号内曲线;HFOs 为高频振荡波;横坐标代表时间,纵坐标代表膀胱内压力

图 1 不同大鼠的 CMG 表现

3 讨论

下尿路正常的储尿和排尿功能依赖于膀胱、尿道及尿道外括约肌的协同作用。正常大鼠膀胱开始充盈时,尿道外括约肌收缩,直到开始排尿。当膀胱充盈到一定量后,传入冲动增加,兴奋脑桥的排尿中枢,由此下传的通路兴奋骶髓副交感神经节前神经元,导致膀胱收缩,同时兴奋脊髓背侧灰质联合的抑制性中间神经元,进而抑制了尿道外括约肌的运动神经元,表现为膀胱逼尿肌收缩时尿道外括约肌出现协调性松弛,顺利排空膀胱。不同于人类尿道外括约肌的持续性松弛,排尿时大鼠尿道外括约肌表现为高频舒张收缩,这样可以帮助大鼠尿道像“泵”一样有效地排空尿液。

大多数脊髓损伤发生于腰骶髓以上水平,切断

了大脑高位排尿中枢对下尿路的调控。根据物种的不同,在脊髓损伤后几周至几个月建立脊髓低级排尿反射,开始出现反射性排尿^[2]。即使在膀胱容量较低的情况下,脊髓低级反射能够引起膀胱逼尿肌过度活动,出现逼尿肌反射亢进。当膀胱容量较大时,在脊髓低级反射作用下,膀胱内压增大,同时膀胱传入信号诱导阴部神经兴奋,使尿道外括约肌收缩,而完全的脊髓损伤阻止了大脑高位排尿中枢对人排尿时尿道外括约肌的抑制性作用,类似的脊髓损伤大鼠尿道外括约肌的高频舒张收缩活动也被抑制,造成膀胱逼尿肌和尿道外括约肌失协调,这明显降低了排尿效率,造成排尿障碍。

5-羟色胺是重要的中枢神经递质,药理学和生理学研究已经证明其作用于泌尿反射的脊髓和脊

髓上通路,参与影响下尿路排尿的神经控制。研究发现脊髓交感和副交感神经中分布有大量起始于尾侧脑干脊核的含 5-羟色胺类物质的神经纤维,随后的药理研究揭示 5-羟色胺类物质直接作用于交感和副交感节前神经可以改变其活动性,静脉给予 5-羟色胺前体物质或 5-羟色胺受体激动剂或拮抗剂可以影响包括排尿反射在内的多种自主神经反射^[3]。另外,我们之前的研究已经筛选出 5-羟色胺受体中 5-HT_{1A}^[4]和 5-HT₇^[5]亚型的激动剂可以改善排尿期膀胱逼尿肌和尿道括约肌的协调功能,从而提高脊髓损伤大鼠的排尿效率。

本研究结果显示,静脉给予 5-HT_{2A}受体激动剂 DOI 能使 SCI 大鼠的排尿量增加,剩余尿量下降,排尿效率上升,排尿时膀胱压力曲线上 HFOs 的个数增加。并且此作用可以被 5-HT_{2A}受体选择性抑制剂酮色林所逆转。排尿时膀胱压力曲线上 HFOs 的变化,包括 HFO 个数的增加有显著意义。研究表明 IVP 图中的 HFOs 是由大鼠尿道外括约肌高频舒张收缩所产生。因为大鼠尿道外括约肌高频舒张收缩时肌电图表现与 HFOs 一一对应,且阻断尿道外括约肌的神经肌肉连接后 HFOs 消失^[6]。因此,推测 SCI 大鼠使用 DOI 后排尿效率增加,很可能是由于 DOI 增加了排尿时尿道外括约肌的高频舒张收缩,增强尿道外括约肌“泵”一样的作用,减少排尿阻力所形成。同时还发现 DOI 能降低脊髓完好大鼠的排尿量、膀胱容量,对正常大鼠排尿时尿道外括约肌高频舒张收缩活动影响微弱,正常大鼠的排尿效率无明显改变。

5-HT_{2A}受体在中枢神经系统内广泛分布,其中在丘脑、下丘脑、孤束核和海马等控制排尿的中枢部位相对高表达。通过免疫组化方法证实^[7],5-HT_{2A}受体广泛分布于整个脊髓,特别在脊髓背角、交感神经节前细胞柱及支配尿道外括约肌的骶髓运动神经核(Onuf's nucleus)高水平表达。最新研究还发现,在 SCI 大鼠中,损伤脊髓以下水平脊髓内 5-HT_{2A}受体表达明显上调^[8]。此外,药理学实验已经证明,5-HT_{2A}受体激动剂能够兴奋正常大鼠尿道外括约肌的活动^[9]。提示位于脊髓的 5-HT_{2A}受体可能参与调控尿道外括约肌的活动。

正常大鼠排尿收缩时,大脑高位排尿中枢持续传入信号兴奋脊髓背侧灰质联合的抑制性中间神经元,这些抑制性中间神经元可能是调控尿道外括约肌出现高频舒张收缩的脊髓低位中枢^[10]。正因为脊髓横断使大脑神经信号传入丧失,所以,尿道外括约肌持续出现强直性收缩,即逼尿肌尿道外括约肌失协调,从而出现排尿障碍。而脊髓损伤后,位于脊髓控制尿道外括约肌的低位中枢相对保持完整,且可能与传入神经等形成新的神经通路^[4]。补充 5-HT_{2A}受体激动剂 DOI,则可能通过作用于

脊髓低位中枢或者直接作用于控制尿道外括约肌的 Onuf's 核,呈剂量依赖性的增加排尿时尿道外括约肌的高频舒张收缩,提高排尿效率。

正常大鼠使用 DOI 后,大鼠的排尿量、膀胱容量下降,这可能是 5-HT_{2A}受体激动剂能够促进排尿反射发生,排尿周期变短所引起^[11],但大鼠的排尿效率并未发生改变。在脊髓完好的大鼠,排尿时尿道外括约肌正常的高频舒张收缩,已经能够有效地完成正常排尿,因此,DOI 对正常大鼠膀胱压力几乎无影响。

本实验结果证实,控制尿道外括约肌的 Onuf's 核至少部分是由 5-HT_{2A}受体参与调控支配的,而脊髓损伤阻断了大脑高位排尿中枢神经信号的传入,无法激活 5-HT_{2A}受体来诱发尿道外括约肌高频舒张收缩活动,出现逼尿肌尿道外括约肌失协调。因此,5-HT_{2A}受体可以作为治疗脊髓损伤后排尿障碍的靶受体,从而提高排尿效率。

参考文献

- [1] MIGLIORINI C E, NEW P W, TONGE B J. Quality of life in adults with spinal cord injury living in the community[J]. *Spinal Cord*, 2011, 49:365-370.
- [2] de GROAT W C, YOSHIMURA N. Plasticity in reflex pathways to the lower urinary tract following spinal cord injury[J]. *Exp Neurol*, 2012, 253(1):123-132.
- [3] de GROAT W C. Influence of central serotonergic mechanisms on lower urinary tract function[J]. *Urology*, 2002, 59:30-36.
- [4] GU B J, DOLBER P C, THOR K B, et al. Activation of the external urethral sphincter central pattern generator by a 5-HT_{1A} receptor agonist in rats with chronic spinal cord injury[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2007, 292(4):1699-1706.
- [5] 吴刚,陈加生,谷宝军,等. 5-HT₇受体激动剂改善脊髓损伤大鼠排尿障碍[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2012, 27(1):68-71.
- [6] VERA P L, NADELHAFT I. Effects of the atypical neuroleptic clozapine on micturition parameters in anesthetized rats[J]. *NeuroUrol Urodyn*, 2001, 20:623-639.
- [7] ZENG F Q, XU C, XU G. Distribution of serotonin 5-HT_{2A} and 5-HT₇ receptors in the Onuf's nucleus of the rat spinal cord[J]. *Neural Regen Res*, 2008, 3(8):853-857.
- [8] DRACHEVA S, NAVARRETT S, COLLIER L, et al. Alterations of serotonin 2C and 2A receptors in response to T10 spinal cord transection in rat[J]. *Neurosci Lett*, 2012, 506(1):74-78.
- [9] MBAKI Y, MCMURRY G, RAMAGE A G, et al. 5-HT_{2A} receptor activation of the external urethral sphincter and 5-HT_{2C} receptor inhibition: A study based on pharmacokinetics in the anesthetized female rat[J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 682(1-3):142-152.
- [10] FOWLER C J, GRIFFITHS D, de GROAT W C. The neural control of micturition[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2008, 9(6):453-466.
- [11] MBAKI Y, RAMAGE A G. Investigation of the role of 5-HT₂ receptor subtypes in the control of the bladder and the urethra in the anesthetized female rat[J]. *Br J Pharmacol*, 2008, 155(3):343-356.

(收稿日期:2012-07-12)