

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.06.002

压力性尿失禁动物模型尿道功能和盆底肌力的比较*

何松明 刘 成 汤剑明 胡 鸣 李 洋 洪 莉[△]

(武汉大学人民医院妇产科 湖北 武汉 430060)

摘要 目的:比较不同压力性尿失禁(stress urinary incontinence, SUI)动物模型在尿流动力学和盆底肌力方面的差异,以寻求最能模拟 SUI 的动物模型。**方法:**取 64 只大鼠随机均分为阴道扩张模型组(vaginal distension, VD)和阴部神经压榨模型组(pudendal nerve crush, PNC)和阴部神经切断模型组(pudendal nerve transection, PNT)以及 VD+PNC 造模组 4 组,每组 16 只,另取 4 只大鼠作为正常对照组。造模后第 2 天,所有大鼠行喷嚏试验。造模后第 4 天、第 10 天、3 周、6 周,测定尿流动力学和盆底肌力。正常对照组大鼠在喷嚏试验后进行尿流动力学和盆底肌力测定。**结果:**喷嚏试验结果显示正常对照组未观察到阳性大鼠(0/4),各模型组喷嚏试验结果阳性率均显著高于正常对照组($P>0.05$)。动力学检测显示:与正常组(40.3 ± 3.4 cm H₂O)相比,VD 组在造模后 4d 的 LPP 值显著降低($P<0.05$),而造模后 10d、3 周和 6 周时的 LPP 值无统计学差异($P>0.05$);PNC 组和 PNC+VD 组在造模后 4d、10d、3 周时的 LPP 值均显著降低($P<0.05$),而在造模后 6 周时无统计学差异($P>0.05$);PNT 组在造模后 4d、10d、3 周和 6 周时的 LPP 值均显著降低($P<0.05$)。最大膀胱容量测定显示:与正常组(2.42 ± 0.12 mL)相比,VD 组在造模后 10d 的 MBC 值显著降低($P<0.05$),而造模后 4d、3 周和 6 周时无统计学差异($P>0.05$);PNC 组在造模后 10d、3 周时显著降低($P<0.05$),而在造模后 4d 和 6 周时无统计学差异($P>0.05$);PNC+VD 组和 PNT 组在造模后 10d 及 3 周和 6 周时均显著降低($P<0.05$),而在造模后 4d 时无统计学差异($P>0.05$)。盆底肌力测定结果显示:与正常组的耻尾肌肌力值(2.71 ± 0.12 g/g)相比,VD 组在造模后 10d 显著降低($P<0.05$),而造模后 4d、3 周和 6 周时无统计学差异($P>0.05$);PNC 组在造模后 10d、3 周时显著降低($P<0.05$),而在造模后 4d 和 6 周时无统计学差异($P>0.05$);PNC+VD 组和 PNT 在造模后 10d 及 3 周和 6 周时均显著降低($P<0.05$),而在造模后 4d 时无统计学差异($P>0.05$)。**结论:**VD、PNC、VD+PNC 和 PNT 造模均能有效模拟出 SUI 发病中的盆底神经和肌肉损伤。其中,VD 造模主要引起盆底肌的直接损伤,但其恢复较快。PNC 和 PNT 造模则能损伤阴部神经并间接地造成盆底肌的失神经性萎缩,但 PNT 所造成的损伤较难恢复,不能有效地模拟 SUI 的自然修复过程。而 VD+PNC 造模则兼具 VD 和 PNC 两种造模方法的特点,能从多个层面模拟 SUI 的发病。因此,在实践中应根据实验研究的层面采用合适的动物模型。

关键词:压力性尿失禁;动物模型;盆底肌力;尿流动力学

中图分类号: R-33; R694.54 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2018)06-1008-06

Comparison of the Urethral Function and Pelvic Floor Muscle Strength in Animal Models of Stress Urinary Incontinence*

HE Song-ming, LIU Cheng, TANG Jian-ming, HU Ming, LI Yang, HONG Li[△]

(Department of Gynecology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, 430060, China)

ABSTRACT Objective: To compare the differences of urinary dynamics and pelvic floor muscle strength between different SUI models and find the best animal model for simulating SUI. **Methods:** 64 rats were randomly divided into VD (vaginal distension) group, PNC(pudendal nerve crush) group, VD+PNC group and PNT (pudendal nerve transection) group averagely, and another 4 rats served as the control group. After animal models were established, all rats were subjected to sneezing test on the second day after modeling, and then 4 rats were selected from each group at fourth, tenth, 3 and 6 weeks after modeling to measure urine flow dynamics and pelvic floor muscle strength. **Results:** Sneezing test showed no positive rat in control group (0/4), the positive rate of sneezing test in model groups were all significantly higher than that of the control group, but there was no statistical difference between the model groups($P>0.05$). According to urodynamic examination, when comparing with normal group (LPP = 40.3 ± 3.4 cm H₂O), the LPP values at 4d after modeling of VD group was statistically different ($P<0.05$), while no significant difference ($P>0.05$) was found at 10d, 3 weeks and 6 weeks after modeling. There was significant differences in the PNC group at 4d, 10d, 3 weeks after modeling($P<0.05$), with no significant difference was found at 6 weeks after modeling ($P>0.05$). The LPP values in PNC+VD group at 4d, 10d and 3 weeks were statistically different ($P<0.05$), with no significant difference in 6 weeks after modeling ($P>0.05$). The LPP values in PNT group at 4d, 10d, 3 weeks and 6 weeks after modeling were statistically different ($P<0.05$). The maximum bladder capacity (MBC) determination showed

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81771562)

作者简介:何松明(1990-),男,硕士研究生,主要研究方向:盆底功能障碍性疾病, E-mail: 1596719248@qq.com

[△] 通讯作者:洪莉(1970-),博士,教授,主任医师,研究方向:盆底功能障碍性疾病和妇科肿瘤

(收稿日期:2017-11-17 接受日期:2017-12-12)

that, when comparing with the normal group (2.42 ± 0.12 mL, MBC values in VD group at 10d after modeling were statistically different ($P < 0.05$), with no significant difference at 4d, 3 weeks and 6 weeks after modeling ($P > 0.05$). There were significant differences in PNC group at 10d and 3 weeks ($P < 0.05$), with no significant difference at 4d and 6 weeks after modeling ($P > 0.05$). There were significant differences in PNC+VD group at 10d and 3 and 6 weeks ($P < 0.05$), with no significant difference at 4d after modeling ($P > 0.05$). There were significant differences in PNT group at 10d and 3 and 6 weeks ($P < 0.05$), with no significant difference at 4d after modeling ($P > 0.05$). The pelvic floor muscle strength measurement showed that pelvic muscle strength of the pubococcygeus in normal group was 2.71 ± 0.12 g/g. There was significant difference in VD group at 10d after modeling ($P < 0.05$), with no significant difference at 4d, 3 and 6 weeks after modeling ($P > 0.05$). There were significant differences in PNC group at 10d and 3 weeks after modeling ($P < 0.05$), with no significant difference at 4d and 6 weeks after modeling ($P > 0.05$). In PNC+VD group, there were significant differences at 10d and 3 and 6 weeks ($P < 0.05$), but there was no difference at 4d after modeling ($P > 0.05$). In PNT group, there were significant differences at 10d, 3 and 6 weeks after modeling ($P < 0.05$), with no significant difference at 4d after modeling ($P > 0.05$). **Conclusion:** VD, PNC, VD+PNC and PNT models can effectively simulate the injury of pelvic floor nerves and muscles of SUI. The VD model mainly directly caused the injury of pelvic floor muscle, and can recover very soon. Both PNC and PNT models can damage the pudendal nerve and indirectly cause the denervated atrophy of pelvic floor muscle, but the damage caused by PNT is difficult to recover which may not effectively simulate the natural repair process of SUI. However, VD+PNC model has the characteristics of both VD and PNC which may simulate the onset of SUI from multiple levels. Therefore, corresponding animal models can be selected according to the experimental design.

Key words: Stress urinary incontinence; Rat model; Pelvic floor muscle strength; Urodynamics

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R694.54 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)06-1008-06

前言

压力性尿失禁(Stress Urinary incontinence, SUI)是指腹压增高状态下尿液不自主地流出,是常见的尿失禁类型^[1]。研究显示 40 岁以上女性 SUI 的发病率已经超过 30%, 预计到 2030 年,其发病率将提高 250%-300%,中国成年女性 SUI 的患病率高达 18.9%,在 50~59 岁年龄段,SUI 的患病率最高,达到了 28.0%^[2,3]。大部分轻中度 SUI 患者都存在由分娩或手术损伤所引起的尿道外括约肌(external urethral sphincter, EUS)和盆底肌肌力减弱,并可由老化和激素水平的下降造成的营养不足所加剧,经阴道分娩可造成女性盆底肌肉、器官、神经和韧带的损伤,引发 SUI^[4-7]。目前,通过模拟产伤构建的 SUI 动物模型包括阴道扩张模型(vaginal distension, VD)和阴部神经压榨模型(pudendal nerve crush, PNC)和阴部神经切断模型(pudendal nerve transection, PNT)等^[8]。基于这些模型的研究显示 SUI 的恢复与盆底肌的修复和阴部神经的再生相关^[9,10]。本研究进一步比较了 VD、PNC、VD+PNC 和 PNT 四种 SUI 大鼠模型排尿功能和盆底肌力恢复的区别,旨在建立能最大程度模拟 SUI 的动物模型。

1 材料与方法

1.1 动物来源

在武汉大学动物实验中心购买雌性非经产 Sprague Dawley 大鼠 75 只,鼠龄 6-8 周,体重 280~300 g(由于在实验过程中可能会出现大鼠死亡,其中 7 只用于对实验过程中死亡的大鼠进行补充),由专人饲养。保持环境温度为 $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,湿度为 40%~60%,用光照维持自然昼夜节律。

1.2 主要仪器

史密斯 WZ-50C6 单道注射泵购自宁夏新源同德医疗设备

有限公司,PowerLab 数据采集分析系统购自埃德仪器国际贸易(上海)有限公司。

1.3 动物分组与处理

1.3.1 造模前准备 将 64 只大鼠随机均分为 4 组,每组 16 只。称重后,用 4%水合氯醛(0.7 mL/100g)行腹腔麻醉后,按照各组的要求分别取俯卧位或仰卧位固定、备皮。再分别按下述四种方法进行造模。

1.3.2 VD 模型组 用酒精分别消毒大鼠阴道口和改良的 8F 双腔导尿管后,将导尿管的一头插入大鼠阴道内 2~3 cm,并用 3-0 丝线将其在阴道口缝合固定,再向气囊内注入 4 mL 无菌生理盐水。使尿管靠近操作台边缘,使其自然下垂并给于约 100 g 的拉力,维持 4 h 后退出导尿管,阴道口消毒,自然饲养,待检测^[11]。

1.3.3 PNC 模型组 大鼠取俯卧位,固定、备皮、消毒,在大鼠骶尾部的脊柱两侧各做一个长约 1 cm 的横行切口。钝性分离肌层,在坐骨直肠窝中下部可见较为粗大的坐骨神经和与其伴行的较为细小的阴部神经。分离出阴部神经后,用微型镊钳夹两次,之间间隔 5 秒,每次持续 30 秒。依次缝合肌肉和皮肤,自然饲养,待检测^[12]。

1.3.4 VD+PNC 模型组 按照上述方法依次行 VD 和 PNC。

1.3.5 PNT 模型组 同上述方法暴露阴部神经后,将阴部神经游离约 1-1.5 cm,居中切断阴部神经约 2 mm。依次缝合肌肉和皮肤,自然饲养,待检测。

1.3.6 正常对照组 随机选取 4 只大鼠,不予造模处理,直接行喷嚏实验、尿流动力学测定和盆底肌力测定,结果与造模组进行比较。

1.4 观察指标及方法

造模后,观察大鼠的切口恢复以及肢体活动等情况。造模后第 2 天,行喷嚏试验。造模后第 4 天、第 10 天、3 周、6 周,从

各造模组分别选取 4 只大鼠行尿流动力学测定和盆底肌力测定,检测方法如下。

1.4.1 喷嚏试验 大鼠取仰卧位,将硬膜外导管的一头经尿道插入膀胱,排空膀胱,将硬膜外导管的另一头连接微量泵,按 10 mL/h 的速度注入生理盐水,至尿道口有液体溢出时计算出生理盐水的注入量。再次排空膀胱,注入前次注入量一半的生理盐水。用鼠须刺激大鼠鼻孔以诱发喷嚏反射,当在出现喷嚏反射的同时有液体从尿道口流出为喷嚏实验阳性,否则为阴性,统计两类大鼠的数量。

1.4.2 尿流动力学检测 检测前一天用硬膜外导管对待检测大鼠行膀胱置管^[15]。通过 PowerLab 数据采集分析系统,采用 Lab Chart 7.0 软件记录膀胱压力。排空膀胱,用微量泵以 10 mL/h 的速度注入生理盐水,至尿道口有液体溢出时记录此时的膀胱内压力,即为漏尿点压力(leak point pressure, LPP),计算生理盐水的注入量:注入速度×注入时间=最大膀胱容量(Maximum bladder capacity, MBC)。测量三次,取平均值。

1.4.3 盆底肌力测定 使用张力换能器和 PowerLab 数据采集分析系统,并用 Lab Chart 软件予以记录。将大鼠取仰卧位固定、备皮、消毒后,逐层分离盆底组织,暴露出耻尾肌体部,将耻尾肌耻骨端肌腱游离,用 3-0 丝线将其与张力换能器相连。用铂丝电极(刺激参数为:频率=1 次/秒,5V,10 ms)刺激耻尾肌体部,调节肌肉的最适初长度和刺激电压,记录单收缩时的最大肌张力。检测完成后切断耻尾肌并称重,计算出耻尾肌单收缩力与肌重的比值。

1.5 统计学处理

使用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,计数资料的比较采用 χ^2 检验,计量资料以均数±标准差表示,组间比较采用独立样本的 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般状态的比较

表 1 各组大鼠喷嚏实验阳性率的比较

Table 1 Comparison of the positive rate of sneezing test between different groups

Groups	VD Group	PNC Group	VD+ PNC Group	PNT Group
sneezing test	50%(8/16)	69%(11/16)	75%(12/16)	85%(13/16)
P value	0.117	0.026	0.014	0.007

Note: the left side of symbols/in the brackets was the number of positive rats, the right side the total number of rats.

2.2 各组尿流动力学检测结果的比较

尿流动力学检测显示:与正常组(40.3 ± 3.4 cm H₂O)相比,VD 组在造模后 4d 的 LPP 值 (20.3 ± 1.2 cm H₂O) 显著降低($P<0.05$),而两组造模后 10d、3 周和 6 周时的 LPP 值比较差异无统计学意义($P>0.05$);PNC 组在造模后 4d(19.4 ± 3.2 cm H₂O)、10d (23.3 ± 3.4 cm H₂O)、3 周(32.3 ± 2.7 cm H₂O)时的 LPP 值均显著降低($P<0.05$),而两组在造模后 6 周时差异无统计学意义($P>0.05$);PNC+VD 组同样在造模后 4d (17.6 ± 2.1 cm H₂O)、10d (21.6 ± 2.8 cm H₂O)及 3 周(31.5 ± 1.4 cm H₂O)均显著降低($P<0.05$),而两组在造模后 6 周时比较差异无统计学意义($P>0.05$)。PNT 组在造模后 4d (16.5 ± 2.6 cm H₂O)、10d (19.7 ± 3.1 cm



图 1 左图为大鼠取俯卧位时,左侧坐骨神经、阴部神经及其分支;右图显示的是耻尾肌肌力测定的过程

Fig. 1 The left figure shows sciatic nerve, pudendal nerve and its branches of the rats in the prone position. The right figure shows the determination of pubococcygeus muscle strength

VD+PNC 组有 1 只大鼠在造模后第二天死亡,可能是造模损伤较大所致;PNC 组有 1 只大鼠在造模后 3 天伤口化脓感染较为严重。将以上 2 只大鼠予以剔除,并用备用的大鼠进行补充。其它大鼠造模后摄食饮水及大小便均表现正常,造模后的切口处无感染征象,各组毛发差异不明显。

2.2 各组喷嚏试验结果的比较

喷嚏实验过程中以观察到尿道口有美兰液流出为阳性。正常对照组未观察到阳性大鼠。VD 组 16 只大鼠中有 8 只表现为阳性,PNC 组 16 只大鼠中有 11 只表现为阳性,VD+PNC 组 16 只大鼠中有 12 只表现为阳性,PNT 组 16 只大鼠中有 13 只表现为阳性。上述各组喷嚏试验结果阳性率均显著高于正常对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),但各组之间差异均无统计学意义($P>0.05$)。

H₂O)、3 周 (23.8 ± 1.9 cm H₂O) 和 6 周 LPP 值 (29.3 ± 3.0 cm H₂O)均显著降低($P<0.05$)。

2.4 各组最大膀胱容量的比较

最大膀胱容量测定显示:与正常组(2.42 ± 0.12 mL)相比,VD 组在造模后 10d 的最大膀胱容量值(1.34 ± 0.32 mL)显著降低,差异具有统计学意义($P<0.05$),而两组造模后 4d、3 周和 6 周时比较无统计学差异 ($P>0.05$);PNC 组造模后 10d (1.26 ± 0.18 mL)、3 周(1.59 ± 0.30 mL)最大膀胱容量值显著降低,差异具有统计学意义($P<0.05$),而两组造模后 4d 和 6 周时比较无统计学差异($P>0.05$);PNC+VD 组造模后 10d(1.19 ± 0.26 mL)及 3 周(1.48 ± 0.28 mL)和 6 周(2.04 ± 0.31 mL)时最大膀胱容量值显

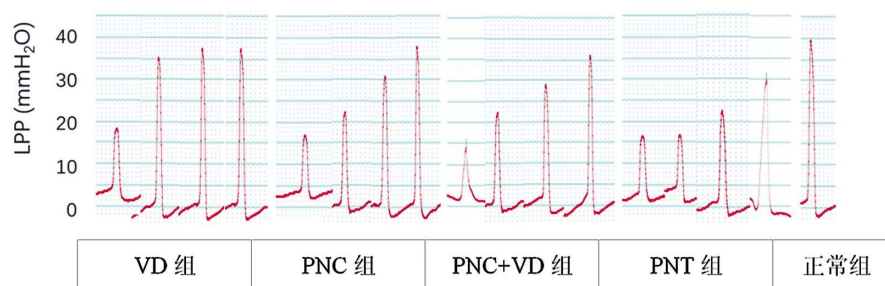


图2 各组大鼠模型在建模后 4d、10d、3w 和 6w 时所测得的 LPP 曲线图

Fig. 2 The LPP curves measured at 4d, 10d, 3w and 6w after modeling in each group

表2 各组大鼠模型在建模后 4d、10d、3 周和 6 周时所测得的 LPP 值

Table 2 LPP values measured at 4d, 10d, 3w and 6w after modeling in each group

Groups	4d (cm H ₂ O)	10d (cm H ₂ O)	3 weeks (cm H ₂ O)	6 weeks (cm H ₂ O)
VD group	20.3± 1.2*	38.0± 5.5	39.4± 3.6	40.1± 3.2
PNC group	19.4± 3.2*	23.3± 3.4*	32.3± 2.7*	39.4± 1.8
PNC+VD group	17.6± 2.1*	21.6± 2.8*	31.5± 1.4*	38.5± 1.2
PNT group	16.5± 2.6*	19.7± 3.1*	23.8± 1.9*	29.3± 3.0*
Control group	40.3± 3.4			

Note: Compared with the control group, * was significantly different($P<0.05$).

著降低,差异具有统计学意义($P<0.05$),而两组造模后 4d 时的最大膀胱容量比较无统计学差异;PNT 组在造模后 10d(1.15 ± 0.34 mL)、3 周(1.34 ± 0.14 mL)和 6 周(1.75 ± 0.29 mL)最大膀胱容量值显著降低,差异具有统计学意义($P<0.05$),而两组造模后 4d 时最大膀胱容量比较无统计学差异($P<0.05$)。

表3 各组大鼠在造模后 4d、10d、3 周和 6 周时的最大膀胱容量

Table 3 Maximum bladder capacity at 4d, 10d, 3 and 6 weeks after modeling in rats of each group

Groups	4d (V/mL)	10d (V/mL)	3 weeks (V/mL)	6 weeks (V/mL)
VD group	2.43± 0.12	1.34± 0.32*	2.38± 0.22	2.36± 0.19
PNC group	2.36± 0.24	1.26± 0.18*	1.59± 0.30*	2.21± 0.27
PNC+VD group	2.48± 0.30	1.19± 0.26*	1.48± 0.28*	2.04± 0.31*
PNT group	2.45± 0.15	1.15± 0.34*	1.34± 0.14*	1.75± 0.29*
Control group	2.42± 0.12			

Note: Compared with the control group, * was significantly different($P<0.05$).

2.5 各组盆底肌力测定结果的比较

盆底肌力测定结果显示:与正常组(2.71 ± 0.12 g/g)相比,VD 组在造模后 10d 的耻尾肌肌力值 (1.54 ± 0.22 g/g) 显著降低,差异具有统计学意义($P<0.05$),而两组造模后 4d、3 周和 6 周时比较无统计学差异($P>0.05$);PNC 组在造模后 10d(1.46 ± 0.30 g/g)、3 周(1.95 ± 0.15 g/g)时耻尾肌肌力值均显著降低,差异具有统计学意义($P<0.05$),而两组在造模后 4d 和 6 周时比较无统计学差异($P>0.05$);PNC+VD 组在造模后 10d(1.33 ± 0.14 g/g)及 3 周(1.74 ± 0.16 g/g)和 6 周(2.02 ± 0.21 g/g)时耻尾肌肌力值均显著降低,差异具有统计学意义($P<0.05$),而两组在造模后 4d 时比较无统计学差异 ($P>0.05$);PNT 组在造模后 10d (1.38 ± 0.18 g/g)、3 周(1.63 ± 0.17 g/g)和 6 周(1.92 ± 0.22 g/g)耻尾肌肌力值均显著降低,差异具有统计学意义($P<0.05$),而两组在造模后 4d 时比较无统计学差异($P>0.05$)。

3 讨论

在临床上,SUI 的诊断可将患者的主观陈述作为重要的依据,而在动物实验中,SUI 的诊断只能通过对动物的体征和尿动力学等检测结果进行分析后才能加以判断。喷嚏实验可以作为判断 SUI 模型建立成功与否的重要指标之一,因为喷嚏实验符合 SUI 的定义,即腹压增高状态下出现尿液不自主流出。Lin 等^[13]首次采用喷嚏实验检测啮齿类动物 SUI 模型的尿失禁情况。首先剪一根大鼠的触须刺激其鼻子,即使在麻醉状态下,大鼠也会产生喷嚏反射,引起膀胱和下尿道的腹部压力突然增加,如果大鼠在打喷嚏的同时出现漏尿,则为喷嚏实验阳性,如果在打喷嚏的同时未流出尿液,则为喷嚏实验阴性^[14]。Lin 等^[13]研究发现正常对照组的大鼠均为喷嚏实验阴性,而分娩后 4 周的大鼠约有 30% 出现喷嚏实验阳性。这与本实验的结果基本相一致。正常组未出现喷嚏实验阳性,而造模组均出现一定比例的阳性大鼠,其中 VD 组在本实验中与正常组相比无统计学差异,可能与样本量较少有关。目前普遍认为尿道膀胱造影和尿

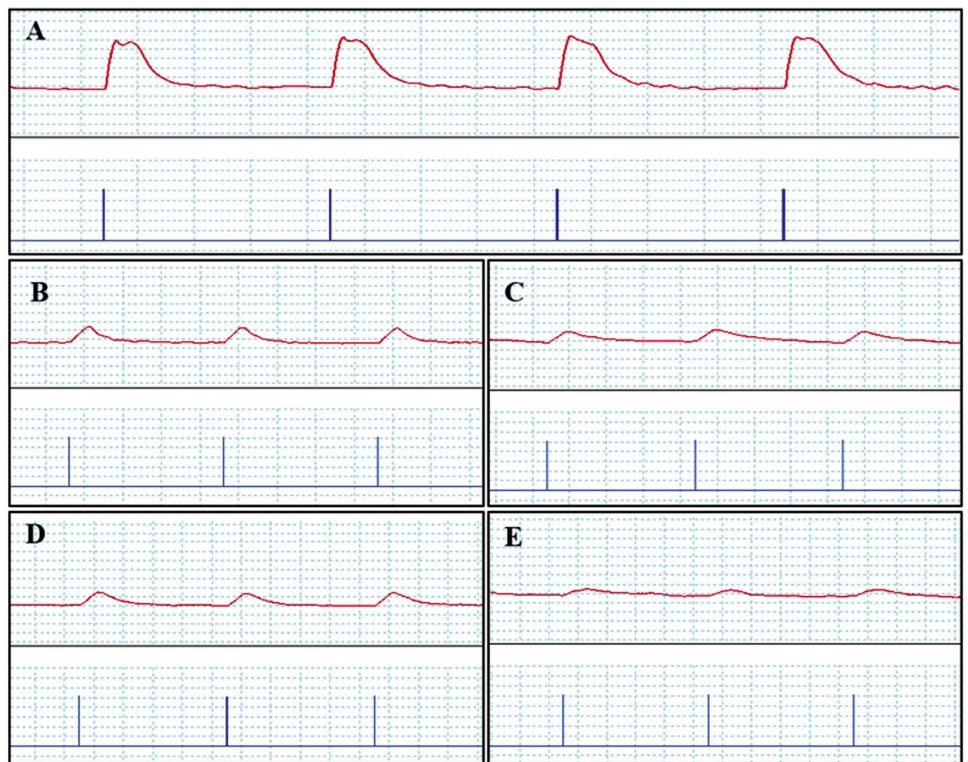


图 3 各组大鼠耻尾肌肌力图形,图 A、B、C、D、E 分别代表正常组、VD 组、PNC 组、PNC+VD 组和 PNT 组,蓝线为耻尾肌电刺激时间点,红线为肌力的变化曲线

Fig. 3 Muscle strength of pubococcygeus. A, B, C, D and E represent the normal group, VD group, PNC group, PNC+VD group and PNT group respectively, the blue lines show the electrical stimulation time point of pubococcygal muscle, the red line for the curve of muscle contraction force

表 4 各组耻尾肌单收缩力 / 肌重的比值变化

Table 4 The ratio of contractile force of pubococcygal muscle to muscle weight of different groups

Groups	4d (g/g)	10d (g/g)	3 weeks (g/g)	6 weeks (g/g)
VD Group	2.51± 0.13	1.54± 0.22*	2.63± 0.26	2.62± 0.31
PNC Group	2.43± 0.21	1.46± 0.30*	1.95± 0.15*	2.59± 0.29
PNC+VD Group	2.65± 0.19	1.33± 0.14*	1.74± 0.16*	2.02± 0.21*
PNT Group	2.37± 0.29	1.38± 0.18*	1.63± 0.17*	1.92± 0.22*
Control Group		2.71± 0.12		

Note: Compared with the control group, * was significantly different($P<0.05$).

动力学检测等方法是判断动物 SUI 成模与否的较为理想的依据,而喷嚏试验可以作为判断重度 SUI 的指标,但不能作为较敏感的判断成模与否的指标。

Cannon 等^[15]开发并验证了一种能够有效检测大鼠 LPP 值的方法,该方法能有效地比较正常组与实验组之间 LPP 之间的差异。Masuda H 等^[16]采用了一种改良的装置进行 LPP 的检测。正常雌性大鼠的 LPP 大约是 40 cm H₂O^[17]。有学者使用经尿道插入导管代替膀胱置管检测 LPP 值^[18],但由于经尿道插入导管可增加尿道出口阻力,因而增加了膀胱压力,所以膀胱置管仍应作为首选方法。本实验采用膀胱置管后测量 LPP 值,正常组的 LPP 值与文献报道的差异不大,而造模组在不同时间点测得的 LPP 值呈现出造模后下降并达到最低值,此后逐渐增加,这可能与 SUI 大鼠的组织自我修复有关。其中,VD 组大鼠 LPP 值最快恢复正常,PNC 组、PNC+VD 组恢复相对较慢,这可能与这两组大鼠的组织损伤较大和神经较肌肉组织的自我修复

较慢有关。PNT 组直至观察末期仍未恢复至正常,这可能与 PNT 将阴部神经直接截断,形成了一种不可逆性的损伤相关。

对大鼠行阴道扩张处理可导致尿道、膀胱、阴道、肛提肌、和神经束的组织结构的损伤^[13]。Lin 等^[13]指出 VD 后 24 小时可出现肛提肌细胞肿胀、间质水肿,4 周后可出现肛提肌细胞变性、坏死,肌纤维形状和大小不规则化以及 I 类肌纤维 /II 类肌纤维的比例较大的变化,此外,尿失禁大鼠的尿道平滑肌减少,阴道和尿道之间的组织变薄。有学者使用高频率微超声 (high-frequency micro-ultrasound, US) 评估 VD 大鼠 SUI 模型的尿道外括约肌 (External sphincter of urethra, EUS) 功能发现,VD 大鼠的 EUS 功能较对照组显著下降^[19]。Chen 等从分子水平上研究发现,VD 大鼠 SUI 模型尿道组织中所表达的肌球蛋白较正常对照组显著下降^[20]。除引起肌肉损伤外,VD 还会导致神经源性损伤。Lin 等^[13]指出 VD 大鼠脊髓 L6 和 S1 节段的背角神经元和中央管中 c-fos 的表达呈现免疫反应阳性,表明相

应神经损伤或兴奋,此外,VD 大鼠阴道后外侧神经丛中神经节细胞显著减少,并且支配尿道的神经末梢显著减少。因此,VD 大鼠模型可以最好地用以研究组织损伤和恢复的机制以及 SUI 的病理生理机制。

阴部神经主要支配 EUS,对分娩造成的神经拉伸和挤压伤比较敏感^[21]。阴部神经末端运动潜伏期是从阴部神经电刺激开始到 EUS 初始反应时间,神经损伤会引起大的有髓神经纤维减少,从而引起运动潜伏期延长^[21]。阴部神经末梢运动潜伏期延长与经阴道分娩、高龄和 SUI 呈正相关^[22]。因为这项研究显示与阴部神经远端相比,经阴道分娩更容易引起阴部神经近端损伤,有学者据此开发了一个针对产妇阴部神经损伤的动物模型^[23]。该模型中的大鼠在双侧坐骨直肠窝处行 PNC,造模后 4 天 LPP 下降约 1/3,并达到最低点,较对照组有显著性差异^[23]。在 PNC 2 周后 LPP 恢复到接近正常值,但 EUS 及其周围的神经束的组织学变化尚未恢复正常^[23]。由于行神经切断的大鼠 2 周后 LPP 仍显著下降,说明 PNC 2 周后 LPP 功能上的恢复部分是由于神经再生所引起的^[24],PNC 3 个月后有约 50% 的神经恢复了对 EUS 的再支配^[25]。因此,PNC 模型可用于神经损伤和恢复机制的研究,如探讨神经再生药物和糖尿病、衰老和肥胖等因素对神经再生和组织恢复影响的研究。

LPP 在行单侧 PNT 6 周后会显著下降,并在行双侧 PNT 的大鼠中下降更明显,双侧 PNT 大鼠在膀胱测压时的排尿效率明显降低,而残尿量较单侧和假手术组明显增加。同样,单侧 PNT 大鼠的排尿效率和残尿量介于双侧 PNT 大鼠和假手术组之间,并相互有显著性差异。这些结果表明雌性大鼠的阴部神经及其靶器官 EUS,不仅在维持尿道阻力和控尿过程中发挥作用,并在排尿过程中有助于膀胱的完全排空。但 PNT 不能作为模拟产伤的模型,因为分娩所造成的阴部神经损伤应该是一个可逆的挤压伤,而不是不可逆的截断性损伤。

综上所述,VD、PNC、VD+PNC 和 PNT 造模均能有效模拟出 SUI 发病中的盆底神经和肌肉损伤。其中,VD 造模主要引起盆底肌的直接损伤,但其恢复较快。PNC 和 PNT 造模则能损伤阴部神经并间接地造成盆底肌的失神经性萎缩,但 PNT 所造成的损伤较难恢复,不能有效地模拟 SUI 的自然修复过程。而 VD+PNC 造模则兼具 VD 和 PNC 两种造模方法的特点,能从多个层面模拟 SUI 的发病。因此,在实践中应根据实验研究的层面采用合适的动物模型。

参考文献(References)

- [1] Osman N I, Marzi V L, Cornu J N, et al. Evaluation and Classification of Stress Urinary Incontinence: Current Concepts and Future Directions[J]. *European Urology Focus*, 2016, 2(3): 238
- [2] Daneshgari F. Female pelvic surgery and urologists[J]. *Urology*, 2009, 74(5): 965-967
- [3] 中华医学会妇产科学分会妇科盆底学组. 女性压力性尿失禁诊断和治疗指南(2017)[J]. *中华妇产科杂志*, 2017, 52(5)
- [4] Komesu Y M, Schrader R M, Ketai L H, et al. Epidemiology of mixed, stress, and urgency urinary incontinence in middle-aged/older women: the importance of incontinence history [J]. *International Urogynecology Journal*, 2016, 27(5): 1-10
- [5] Vatché A. Minassian, Bazi T, Walter F. Stewart. Clinical epidemiological insights into urinary incontinence [J]. *International Urogynecology Journal*, 2017: 687-696
- [6] Bodner-Adler B, Bodner K, Kimberger O, et al. Role of serum steroid hormones in women with stress urinary incontinence: a case-control study[J]. *Bju International*, 2017
- [7] Augoulea A, Sioutis D, Rizos D, et al. Stress urinary incontinence and endogenous sex steroids in postmenopausal women.[J]. *Neurourology & Urodynamics*, 2017, 36(1): 121-125
- [8] Makarov A V, Fathudinov T H, Tuhovskaja E A, et al. Experimental models of stress urinary incontinence[J]. *Urologia*, 2015(4): 24
- [9] Amend B, Vaegler M, Fuchs K, et al. Regeneration of Degenerated Urinary Sphincter Muscles: Improved Stem Cell-based Therapies and Novel Imaging Technologies [J]. *Cell Transplantation*, 2015, 24(11): 2171
- [10] Hart M L, Izeta A, Herrera-Imbroda B, et al. Cell Therapy for Stress Urinary Incontinence[J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2015, 21(4)
- [11] Huang Y, Daneshgari F, Liu G. Successful induction of stress urinary incontinence in mice by vaginal distension does not depend on the estrous cycle[J]. *Urology*, 2014, 83(4): 958.e1-958.e6
- [12] Jiang H H, Gill B C, Dissaranan C, et al. Effects of acute selective pudendal nerve electrical stimulation after simulated childbirth injury [J]. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, 2013, 304(3): F239-F247
- [13] Lin A S, Carrier S, Morgan D M, et al. Effect of simulated birth trauma on the urinary continence mechanism in the rat [J]. *Urology*, 1998, 52(1): 143-151
- [14] Huang Y, Daneshgari F, Liu G. Successful induction of stress urinary incontinence in mice by vaginal distension does not depend on the estrous cycle[J]. *Urology*, 2014, 83(4): 958.e1
- [15] Cannon T W, Damaser M S. Effects of anesthesia on cystometry and leak point pressure of the female rat [J]. *Life Sciences*, 2001, 69(10): 1193
- [16] Masuda H. Editorial comment to longitudinal leak point pressure measurements in rats using a modified port à cath system [J]. *International Journal of Urology Official Journal of the Japanese Urological Association*, 2013, 20(12): 1242
- [17] Pan H Q, Kerns J M, Lin D L, et al. Increased duration of simulated childbirth injuries results in increased time to recovery [J]. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative & Comparative Physiology*, 2007, 292(4): R1738
- [18] Sievert K D, Bakircioglu M E, Tsai T, et al. The effect of labor and/or ovariectomy on rodent continence mechanism The neuronal changes [J]. *World Journal of Urology*, 2004, 22(4): 244-250
- [19] Hakim L, Endo M, Feola A, et al. High-frequency micro-ultrasound: A novel method to assess external urethral sphincter function in rats following simulated birth injury [J]. *Neurourology & Urodynamics*, 2015, 34(3): 264
- [20] Chen H Y, Chen C J, Lin Y N, et al. Proteomic analysis related to stress urinary incontinence following vaginal trauma in female mice [J]. *European Journal of Obstetrics & Gynecology & Reproductive Biology*, 2013, 171(1): 171-179

- claudin-1 and claudin-7 levels in patients with colorectal cancer [J]. *Molecular & Clinical Oncology*, 2015, 3(6): 1255
- [9] Zhong W, Yu Z, Zhan J, et al. Association of Serum Levels of CEA, CA199, CA125, CYFRA21-1 and CA72-4 and Disease Characteristics in Colorectal Cancer [J]. *Pathology & Oncology Research*, 2015, 21(1): 83
- [10] Thomas D S, Fourkala E O, Apostolidou S, et al. Evaluation of serum CEA, CYFRA21-1 and CA125 for the early detection of colorectal cancer using longitudinal preclinical samples [J]. *British Journal of Cancer*, 2015, 113(2): 268-274
- [11] Kocoglu H, Velibeyoglu F M, Karaca M, et al. Clinical efficacy and drug resistance of anti-epidermal growth factor receptor therapy in colorectal cancer [J]. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 2016, 8(1): 1
- [12] 王文佳,何杰,周有连,等. 基于 16S 核糖体 DNA 研究中国南方人群结直肠腺瘤患者肠道菌群特征 [J]. *中华生物医学工程杂志*, 2016, 22(6): 470-475
- Wang Wen-jia, He Jie, Zhou You-lian, et al. Characteristics of gut microbiota in southern Chinese population with colorectal adenoma based on 16S ribosomal DNA [J]. *Chinese Journal of Biomedical Engineering*, 2016, 22(6): 470-475
- [13] 蔡君,张涛. RSK4 蛋白在结直肠癌中的表达及临床意义[J]. *肿瘤学杂志*, 2015, 29(03): 252-254
- Cai Jun, Zhang Tao. Expression of RSK4 Protein in colorectal Cancer and Its Clinical Significance [J]. *Journal of Chinese Oncology*, 2015, 29(03): 252-254
- [14] 黄海啸,黄良祥,林达佳,等. 结直肠癌易感性与 p53 和 p73 基因多态性的关系[J]. *中华实验外科杂志*, 2014, 31(8): 1807-1808
- Huang Hai-xiao, Huang Liang-xiang, Lin Da-zhui, et al. Association of colorectal cancer susceptibility with p53 and p73 gene polymorphisms [J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 2014, 31(8): 1807-1808
- [15] 裴笑月,胡波,孙静阳,等. 突变型 p53 和 Pgp 在结直肠癌中表达的意义[J]. *诊断病理学杂志*, 2015, 22(04): 233-236
- Pei Xiao-yue, Hu Bo, Sun Jing-yang, et al. Expression of p53 and P-glycoprotein in colorectal carcinomas and their significance [J]. *Chinese Journal of Diagnostic Pathology*, 2015, 22(04): 233-236
- [16] Wu G C, Zhang Z T. Genetic association of single nucleotide polymorphisms in P53 pathway with gastric cancer risk in a Chinese Han population[J]. *Medical Oncology*, 2015, 32(1): 1-5
- [17] Miyoshi N, Ohue M, Shingai T, et al. Clinicopathological characteristics and prognosis of stage IV colorectal cancer [J]. *Mol Clin Oncol*, 2015, 3(5): 1093-1098
- [18] Miyata Y, Kumagai K, Nagaoka T, et al. Clinicopathological significance and prognostic value of Wilms' tumor gene expression in colorectal cancer[J]. *Cancer Biomarkers*, 2015, 15(6): 789-797
- [19] Moradi M T, Salehi Z, Aminian K, et al. Effects of p53 codon 72 and MDM2 SNP309 polymorphisms on gastric cancer risk among the Iranian population[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(17): 7413-7417
- [20] Lin S T, Tu S H, Yang P S, et al. Apple polyphenol phloretin inhibits colorectal cancer cell growth through inhibition of type 2 glucose transporter and activation of p53-mediated signaling proteins [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2016, 64(36): 6826
- [21] 赵喜连,郝彦凤,白文启,等. 错配修复蛋白和 p53 蛋白表达与结直肠癌的临床病理关系及其相关性 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2016, 32(04): 370-374
- Zhao Xi-lian, Xi Yan-feng, Bai Wen-qi, et al. Correlation of the expression of mismatch repair protein and p53 protein with clinicopathological features in colorectal cancer [J]. *Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2016, 32(04): 370-374
- [22] 吴小明,郑瑞明. 结直肠癌 MICA 基因的表达与 p53、K-ras 基因突变的关系研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2017, 27(11): 1598-1599
- Wu Xiao-ming, Zheng Rui-ming. The relationship between MICA gene expression of colorectal cancer and mutation of K - ras and p53 genes[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2017, 27(11): 1598-1599
- [23] 张少华,毕经旺. p70S6K1 及 4E-BP1 蛋白在结直肠癌中的作用 [J]. *国际肿瘤学杂志*, 2015, 42(5): 392-394
- Zhang Shao-hua, Bi Jing-wang. The effect of p70S6K1 and 4EBP1 protein in colorectal cancer [J]. *Journal of International Oncology*, 2015, 42(5): 392-394
- [24] 宋展,贺阳,孙万日,等. p53、表皮生长因子受体、性别决定区 Y 框蛋白 2 在结直肠癌组织的表达及其与术后预后的关系[J]. *中华实验外科杂志*, 2015, 32(10): 2563-2565
- Song Zhan, He Yang, Sun Wan-ri, et al. Relationship between expression levels of p53, epidermal growth factor receptor, sex determining region Y-box 2 and prognosis of colorectal cancer after operation [J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 2015, 32(10): 2563-2565
- [25] Kawahara D, Fujita F, Hayashi H, et al. The Significance of Combined Measurement of p53 Antibody and other Tumor Markers for Colorectal Cancer after Curative Resection [J]. *Hepato-gastroenterology*, 2015, 62(139): 624

(上接第 1013 页)

- [21] Snooks S J, Swash M, Henry M M, et al. Risk factors in childbirth causing damage to the pelvic floor innervation [J]. *International Journal of Colorectal Disease*, 1986, 1(1): 20
- [22] Tetzschner T, Sørensen M, Jønsson L, et al. Delivery and pudendal nerve function[J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1997, 76(4): 324-331
- [23] Ahn H, Lin D L, Esparza N, et al. Short-term timecourse of bilateral pudendal nerve injury on leak-point pressure in female rats[J]. *Journal of Rehabilitation Research & Development*, 2005, 42(1): 109-114
- [24] Gill B C, Balog B M, Dissaranan C, et al. Neurotrophin therapy improves recovery of the neuromuscular continence mechanism following simulated birth injury in rats [J]. *Neurourology & Urodynamics*, 2013, 32(1): 82
- [25] Gill B C, Lin D L, Balog B M, et al. Molecular Assessment of Neuroregenerative Response in the Pudendal Nerve: A Useful Tool in Regenerative Urology [J]. *Sdrp Journal of Biomedical Engineering*, 2016, 1(1)