

脊神经后根对大鼠排尿和勃起功能的选择性传导机制研究^{*}

周谋望¹ 王文婷¹ 黄红拾¹ 陈亚平¹ 杨延砚¹ 朱根应¹

摘要

目的:探讨脊神经后根神经小束对SD大鼠排尿和勃起功能的选择性传导机制。

方法:成年雄性SD大鼠40只,10只用逆行神经示踪技术确定SD大鼠排尿和勃起功能的脊髓中枢,并对其腰骶部脊神经后根进行显微解剖学研究;30只进行电生理学研究;分别对大鼠排尿及勃起反射中枢所在脊髓节段的脊神经后根神经小束进行电刺激,同时记录膀胱内压、尿道灌注压和阴茎海绵体内压的变化情况,观察各神经小束对膀胱逼尿肌、尿道外括约肌和阴茎海绵体的选择性传导作用。

结果:SD大鼠排尿和勃起功能的低级中枢主要位于L6、S1脊髓节段。后根分束可达神经小束水平,电刺激L6、S1脊神经后根某些小束时,膀胱内压上升,但尿道灌注压和阴茎海绵体内压的变化幅度不大;电刺激其他一些小束时,尿道灌注压上升,但膀胱内压和阴茎海绵体内压在刺激前后的变化不大;或是阴茎海绵体内压急剧上升,但膀胱内压和尿道灌注压在刺激前后的变化不大;或是引起上述两个或三个压力的同时改变。

结论:SD大鼠L6、S1脊神经后根不同小束对膀胱逼尿肌、尿道外括约肌和阴茎海绵体的传导效能存在差异;通过显微解剖及电刺激可以区别L6、S1中主要传导膀胱逼尿肌、尿道外括约肌及阴茎海绵体的不同的后根神经小束。

关键词 脊神经后根;排尿;勃起;选择性传导;大鼠

中图分类号:R651.2,R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2010)-05-0393-05

Selective innervation of spinal nerve posterior rootlets for micturition and erection function in rats/ZHOU Mouwang,WANG Wenting,HUANG Hongshi,et al//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2010, 25(5): 393—397

Abstract

Objective: To investigate the selective innervation of spinal nerve posterior rootlets for micturition and erection function in rats.

Method: Forty male SD rats of clean grades, aged 6 weeks, were selected. Ten rats were conducted in retrograde nerve tract tracing study and microsurgical anatomy research. Thirty rats were chosen for electro-physiology research. The L6 and S1 posterior rootlets of anesthetic rats were applied electrostimulation respectively, the intravesical pressure, urethral perfusion pressure and intracavernous pressure were recorded simultaneously, and innervation effects were analyzed.

Result: CB-HRP labeled neurons were observed in L6 and S1 spinal cord segments. The posterior root were divided into 3-10 rootlets. When some posterior rootlets of L6 and S1 were applied with electrostimulation, intracavernous pressure rose obviously, but intravesical pressure and urethral perfusion pressure curve didn't show great change. When other rootlets were stimulated, the difference between max intravesical pressure and basic pressure could reach 45.17 cmH₂O, but urethral perfusion pressure and intracavernous pressure didn't show great

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2010.05.002

^{*} 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30672096)

1 北京大学第三附属医院康复医学科,100083

作者简介:周谋望,男,教授,主任医师;收稿日期:2009-07-20

change. When others were stimulated, the difference between max urethral perfusion pressure and basic pressure could be 39.87 cmH₂O maximally, but there was no great change in intravesical pressure and intracavernous pressure. Also there were some other rootlets which could induce 2 or 3 kinds of pressure mentioned above changing simultaneously.

Conclusion: The conduction of L6 and S1 posterior rootlets of rats' bladder detrusor, external urethral sphincter and penis cavernous are significantly distinct, different rootlets can be distinguished by microanatomy and electrostimulation.

Author's address Dept. of Rehabilitation Medicine, Peking University Third Hospital, Beijing, 100191, China

Key words spinal nerve posterior rootlet; micturition; erection; selective conduction; rat

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)有较高的发病率,北京市 2002 年脊髓损伤发病率为 60/10^[1]。膀胱功能障碍和尿路感染导致肾功能衰竭是 SCI 患者死亡的第一位原因^[2]。1976 年唐山大地震后 42 万伤员中有近 5000 例脊髓损伤,20 年后调查其死亡原因 49%—66%与尿毒症有关^[3]。2008 年 5 月 12 日发生在四川省汶川地区的强烈地震,造成 1000 例脊髓损伤。脊髓损伤后神经源性膀胱的治疗对于提高患者的生存质量,降低死亡率具有十分重要的意义。

临床对于脊髓损伤后的排尿功能障碍的治疗,主要分手术和非手术方法,近年兴起的尿道外括约肌注射 A 型肉毒素^[4]、骶神经根磁刺激^[5]等都有一定的疗效,但也各有不足之处。我们前期研究对 SD 大鼠腰骶部脊神经前根进行了显微外科解剖学观察^[6],本实验着重探讨各骶神经后根神经小束对膀胱、尿道和阴茎海绵体的选择性传导作用,为从骶神经途径治疗 SCI 后神经源性膀胱提供基础理论依据。

1 材料与方法

1.1 逆行神经示踪研究

清洁级成年雄性 SD 大鼠 10 只,腹腔注射复合麻醉剂(3ml/kg),用微量注射器分别将 10—15μl 3%CB-HRP(Sigma 公司)多点注射入一侧膀胱壁、尿道外括约肌和会阴肌内,72h 后动物灌注固定,取 L1—S4 脊髓,连续冰冻切片,片厚 20μm。TMB 方法显色,脱水、透明及封片。于 OLIMPUS 光学显微镜下观察 CB-HRP 阳性神经元的分布位置,并记录每个脊髓切片上阳性细胞的数目。在切片之前进行显微外科解剖学观察。

1.2 显微外科解剖学观察

从正中中线处切开硬脊膜和蛛网膜,即可见到腰

骶段脊神经后根。在手术显微镜(15×)下对后根的数目、长度和直径进行测量和记录,用显微镜下专用标尺(精确到 0.01mm)测量其直径,位置在脊神经节近端约 1cm 处,用游标卡尺(精确度为 0.1mm)测量神经束走行的距离(脊神经节远侧端到后根近端第一次出现分叉的部位,该段定义为脊神经束)之后,用显微器械在后根中剥离出神经亚束(从神经束的第一次分叉处到第二次分叉处之间部位,定义为神经亚束)和神经小束(从神经束的第二次分叉到第三次分叉处之间的部位,定义为神经小束),分别观察其数目,并对其长度和直径进行测量并记录,亚束及小束的长度和直径均用显微镜下专用标尺进行测量。

1.3 电生理学研究

清洁级成年雄性 SD 大鼠 30 只,以 3%戊巴比妥钠(30mg/kg)进行腹腔麻醉。分别将 3 个 PE-10 测压导管经膀胱顶部插入,其中 2 个插入膀胱,1 个插入后尿道,荷包缝合膀胱壁。1 个膀胱插管用于抽出膀胱内残余尿液后,连接微量灌注泵,以 0.02ml/min 的速度向膀胱内灌注生理盐水,直到尿道外口有尿液溢出,记录此时的灌注量即大鼠的膀胱容量。结扎尿道和双侧输尿管形成密闭系统。会阴部正中横切口,将充满肝素的 1ml 注射器针头插入一侧阴茎脚内并固定于白膜。抽出膀胱内多余生理盐水,至膀胱内充盈量为膀胱最大容量的 1/3 时,另 1 个膀胱插管、尿道插管和阴茎海绵体插管分别连接 3 个 YH-4 型生理压力传感器(北京航天医学工程研究所),用 BL-420 生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司)记录膀胱内压(intravesical pressure, IVP)、尿道灌注压(urethral perfusion pressure, UPP)和阴茎海绵体内压(intracavernous pressure, ICP)的变化。动物俯卧位,取背部正中切口,暴露

T13—L3 椎体,暴露脊髓,剪开硬脊膜,滴注液体石蜡防止神经组织干燥。在 10 倍手术显微镜(江苏镇江中天光学仪器有限责任公司)下分离两侧 L6 及 S1 脊神经后根,用一根短的丝线分离神经小束,用自制不锈钢双钩电极对后根各神经小束进行电刺激。刺激参数如下:连续单相方波刺激,强度为 4V,波宽 0.2ms,频率 30Hz,刺激时程为 5s。电刺激结束后,处死动物,进一步咬除 L4—L6 椎板,分离 L6 脊神经节并向上追踪,进一步确定所刺激的脊髓节段。

2 结果

2.1 SD 大鼠排尿和勃起反射低级中枢的确定

将跨神经节示踪剂 CB-HRP 注射于大鼠一侧膀胱壁内的结果显示,CB-HRP 阳性神经元分布于 L1—S3 全长,其中以 L1—2、L6—S1 最集中,L3—L5、S2—3 偶见,S4 未见阳性细胞。其中 L1—L2 节段阳性神经元个数所占比例约为 30%左右,L6—S1 节段占 55%左右。将神经示踪剂注射到大鼠单侧尿道外括约肌和单侧会阴肌内,阳性神经元集中分布于大鼠脊髓 L6 和 S1 节段,L5 和 S2 节段偶见,其他节段未见阳性神经元表达。

2.2 脊神经后根显微解剖学观察

第一骶髓节段位于 L1 与 L2 之间,其相对位置并非恒定不变,但上下波动不大,脊髓腰骶部直径最大的部位一般为 L3 或 L4 脊髓节段处。从 L1 开始各节段后根的小束数目逐渐增加,以 L3—L5 节段的小束数目最多,然后略减少。各束均有束膜包裹,这些膜比较疏松、菲薄,按照自然分束规律,用显微外科器械轻轻扩大间隙,即可分离神经束。在神经束形成的过程中,各神经小束之间互不粘连,分界较清。

2.3 电刺激 L6 和 S1 后根神经小束时 IVP、UPP 及 ICP 的变化

电刺激 SD 大鼠 L6、S1 某些脊神经后根小束时,阴茎海绵体内压的变化情况类似于尿道灌注压,刺激开始时压力急剧上升,最高可达 96.07 cmH₂O,在刺激的过程中压力维持在较高水平,与基础阴茎海绵体内压的差值最大可达 59.06cmH₂O,当刺激结束时,压力缓慢下降,这一点不同于尿道灌注压的变化。刺激另外一些脊神经后根小束时,膀胱内压的变化幅度最大可达 45.17cmH₂O,但尿道灌注压和阴茎

海绵体内压的变化幅度不大;电刺激其他一些小束时,尿道灌注压的变化幅度最大可达 39.87cmH₂O,但膀胱内压和阴茎海绵体内压在刺激前后的变化不大。

2.4 L6 和 S1 后根神经小束对膀胱、尿道和阴茎海绵体的选择性传导作用

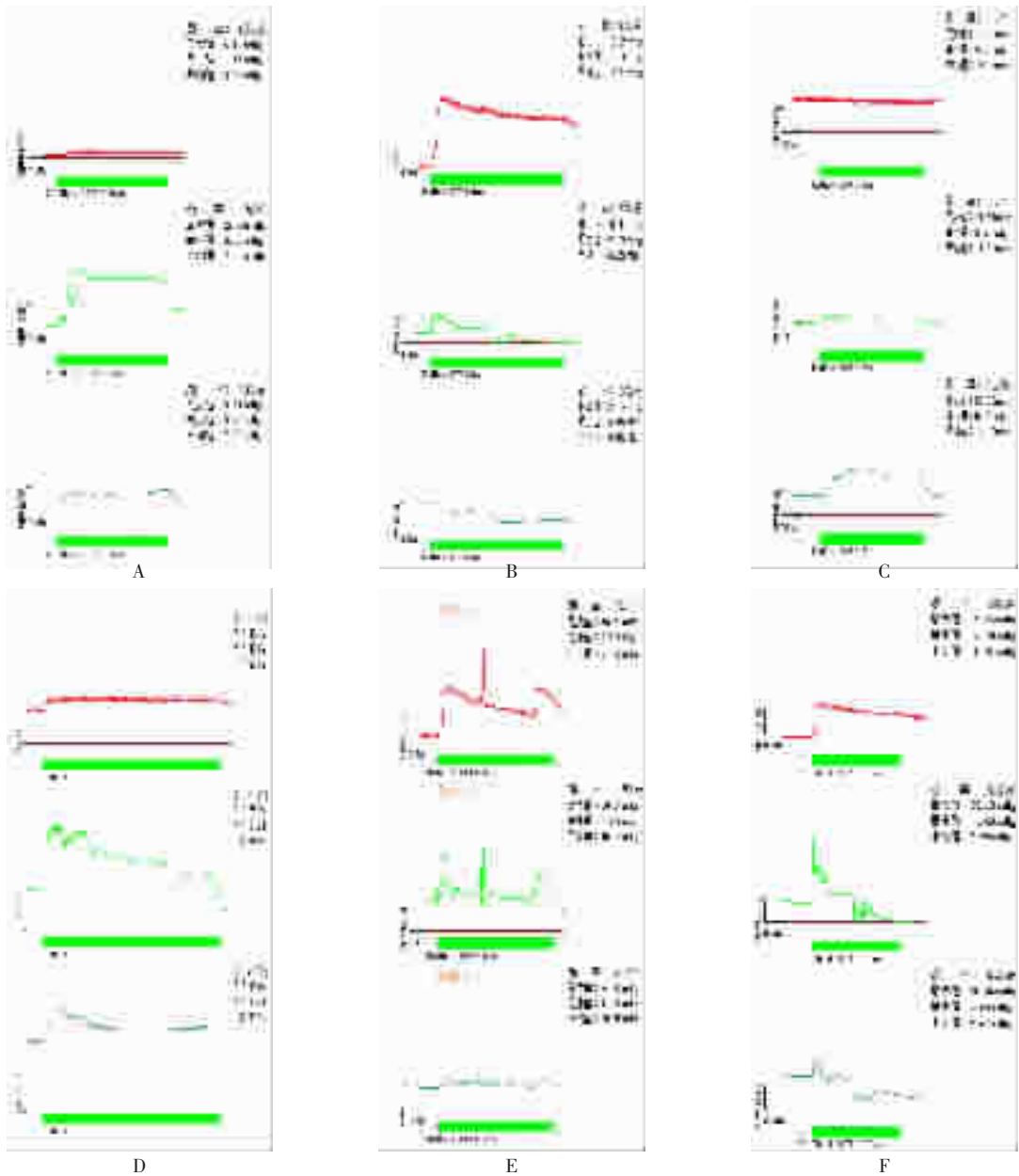
不同的 L6、S1 后根小束对膀胱、尿道和阴茎海绵体的传导效能不同(图 1A,B,C),有的主要引起膀胱内压的升高;有的主要引起尿道灌注压的升高;另外一些则主要引起阴茎海绵体内压的改变;在 L6、S1 后根,刺激某些小束也可以引起上述两个、甚至三个压力的同时改变(图 1D,E,F)。可以通过显微解剖并在手术过程中对各个小束进行电刺激,加以区别。

3 讨论

有关脊髓损伤后痉挛性膀胱治疗研究的一个主要方向是减轻或消除膀胱痉挛,提高逼尿肌与括约肌的协同性,寻求膀胱低压力排尿。除了导尿术、视觉反馈排尿训练^[7]、中医治疗^[8]、膀胱尿道的结构性手术外,支配膀胱尿道的神经性手术是目前研究的热点。国外学者从显微解剖、横纹肌与平滑肌的收缩特性不同、躯体神经与内脏神经的兴奋性不同、传导性不同等方面,进行了不少实验研究,提出了刺激后排尿、高频阻断阴部神经等方法,结果显示,可短时间改善逼尿肌与括约肌的协同不良,但未见有关长期疗效的报道,这些方法均无临床应用的报道。有学者曾采用骶神经后根完全切断术治疗截瘫后痉挛性膀胱。虽然有效地缓解了逼尿肌、括约肌痉挛,提高了膀胱的贮尿功能,但由于逼尿肌、括约肌过度松弛,其排尿功能并没有得到明显改善而未被广泛采用。

1976 年英国 Brindley^[9]在动物实验成功的基础上将骶神经前根电刺激技术(sacral anterior root stimulation, SARS)配合完全性膀胱去传入(complete bladder deafferentation)应用于人体,在骶神经前根安放电极,获得电刺激控制下的排尿,获得了良好的治疗效果。目前,SARS 配合完全性膀胱去传入被认为是治疗圆锥上脊髓损伤所致痉挛性膀胱的理想方法之一。至 2000 年,该手术已在全世界开展了 2000 多例^[10—13],90%以上施行于完全性 SCI

图1 电刺激 L6、S1 后根某小束时膀胱内压(上)、尿道灌注压(中)和阴茎海绵体内压(下)的变化情况



A 示该神经小束主要介导尿道外括约肌冲动,而传导膀胱逼尿肌和阴茎海绵体的冲动少;B 示该神经小束主要介导膀胱逼尿肌的传入,而对阴茎海绵体和尿道的传导作用小;C 示该神经小束主要介导阴茎海绵体的传入,而对膀胱逼尿肌和尿道的传导作用小;D 示该神经小束主要介导尿道和阴茎海绵体的传入,而对膀胱逼尿肌的传导作用小;E 示该神经小束主要介导膀胱逼尿肌和尿道的传入,而对阴茎海绵体的传导作用小;F 示该神经小束对膀胱逼尿肌、尿道和阴茎海绵体的传入均有介导作用。

患者,效果良好。2005 年 8 月,我们成功为 1 例颈脊髓完全性损伤后痉挛性膀胱的男性患者施行 SARS 手术,半年后患者自主控制排尿,膀胱最大容量从 300ml 增至 500ml;残余尿量从 200ml 降至 30ml;术后反射性尿失禁消失,未再发生尿路感染;亦未出现自主神经功能障碍症状;输尿管上段扩张恢复正常;

大便时间比手术前明显缩短;但是患者术后反射性阴茎勃起丧失^[14]。

脊髓损伤多见于青年男性,切断后根导致反射性阴茎勃起的丧失;对于不完全性 SCI 患者,还会失去骶部感觉功能,严重影响患者的生存质量,所以寻求一种在治疗脊髓损伤后痉挛性膀胱功能的同时

保留反射性勃起的治疗方法很有必要。Martinez-Pineiro 等^[15]认为 SD 大鼠是通过电刺激研究膀胱和尿道外括约肌失调的良好动物模型。大鼠价廉、繁殖快、供给充足、麻醉及手术需人力较少、饲养及术后护理较易,大鼠神经系统与人神经系统较接近^[16],其阴茎解剖及勃起时海绵体内生理变化与人类阴茎非常相似^[17],常被用于神经泌尿学外科实验,尤其是与勃起功能有关的研究。我们首先将逆行示踪剂 CB-HRP 注入大鼠一侧膀胱壁、一侧尿道外括约肌和一侧会阴肌内,初步确定大鼠参与排尿和勃起反射的低级中枢主要位于 L6、S1 脊髓节段,这与刘莎等^[18]的结果一致。

对大鼠 L1—S4 脊神经后根自然分束的显微解剖研究的结果表明,SD 大鼠腰骶部脊神经后根的形态学特点与人的基本一致,排尿反射低级中枢所在的 L6、S1 脊髓节段位于 L1—2 椎体之间,其相对位置上下不超过 1/3 个椎板,这一点有助于我们在实验手术中更快、更准确的定位 L6、S1 脊髓节段。腰骶部脊神经后根神经小束的数量为 3—10 束。所有的神经束分出一直到出椎间孔之前,始终保持相对独立性,各束之间并未见合并或混合。我们前期对 SD 大鼠腰骶部脊神经前根神经小束的显微观察有类似结果^[6]。这使得进一步的电生理学研究能顺利进行。

我们的研究发现,电刺激不同的 L6、S1 后根小束,有的主要引起膀胱内压升高;有的主要引起尿道灌注压升高;另外一些则主要引起阴茎海绵体内压改变;刺激某些小束也可以引起上述两个、甚至 3 个压力同时改变。说明 L6、S1 脊神经后根神经小束对膀胱、尿道和阴茎海绵体的传导效能不同。它们有的以传导膀胱逼尿肌为主,有的以传导尿道外括约肌为主,有的传导以阴茎海绵体为主。但是有的骶神经后根小束对盆腔泌尿生殖道的传导存在交叉及重复。

因此,我们推测,利用脊神经后根小束的这种特性;通过显微解剖及电刺激加以区别 L6、S1 中主要传导膀胱逼尿肌、尿道外括约肌及阴茎海绵体不同的后根神经小束,在 SARS 技术配合完全性膀胱去传入手术时按照需要仅切断主要传导膀胱逼尿肌、尿道外括约肌的后根神经小束,而同时保留传导阴茎海绵体的后根神经小束,这样即可以达到治疗痉

挛性膀胱的效果,同时保留患者阴茎的反射性勃起功能。另外,对于脊髓损伤后逼尿肌与括约肌协同不良,也可以在尿流动力学检查的监控下按照需要切断某些传导膀胱逼尿肌、尿道外括约肌的后根神经小束,达到调节膀胱顺应性的目的。当然将上述设想应用于临床还需要更进一步研究。

参考文献

- [1] 李建军,周红俊,洪毅,等. 2002 年北京市脊髓损伤发病率调查[J]. 中国康复理论与实践,2004,7,10(7):412.
- [2] Frankel HL, Coll JR, Charlifue SW, et al. Long term survival in spinal cord injury: a fifty year investigation [J]. Spinal Cord, 1999, 36:266.
- [3] 郭友仁.唐山大地震脊髓损伤 15 年康复工作回顾[J]. 伤残医学杂志,1994,2(4):282.
- [4] 敖丽娟,左毅刚,李咏梅,等. BTXA 治疗脊髓损伤后神经源性膀胱的临床研究[J]. 中国康复医学杂志,2008,23(5):391.
- [5] 潘钰,陈晓松,宋为群,等. 骶神经根磁刺激对脊髓损伤后逼尿肌反射亢进的作用[J]. 中国康复医学杂志,2007,22(6):518.
- [6] 黄红拾,王文婷,周谋望,等. SD 大鼠腰骶部脊神经前根显微外科解剖学观察[J]. 中国临床解剖学杂志,2009, 27(1): 90.
- [7] 陈亚平,杨延斌,周谋望,等. 视觉反馈排尿训练在治疗脊髓损伤后神经源性膀胱中的应用 [J]. 中国康复医学杂志,2008,23(2): 117.
- [8] 陈真,刘志顺,宋为群,等. 中医治疗脊髓损伤后神经源膀胱的临床研究进展[J]. 中国康复医学杂志,2007,22(10):943.
- [9] Brindley GS, Polkey CE, Rushton DN. Sacral anterior root stimulators for bladder control in paraplegia [J]. Paraplegia, 1982,20:365.
- [10] Huang JC, Deletis V, Vodusek DB, et al. Preservation of pudendal afferents in sacral rhizotomies [J]. Neurosurgery, 1997,41(2):411.
- [11] Salmy S, Downie JW, Awad SA, et al. Effect of acute selective sacral rhizotomy in cats on bladder and urethral function and the response to bethanechol chloride [J]. J Urol, 1985,134(4):795.
- [12] 张世民,侯春林.骶神经前根电刺激治疗脊髓损伤患者的排尿功能障碍[J]. 国外医学·泌尿系统疾病分册,1999,19(4):175—177.
- [13] 侯春林,张世民,袁鸿宾,等. 脊髓损伤后的排尿功能重建 [J]. 现代康复, 2000,4(6):815—817.
- [14] 周谋望,陈亚平,黄红拾,等. Brindley 技术重建脊髓损伤后患者膀胱功能的疗效观察 [J]. 中华物理医学与康复杂志, 2007,29(10):695—697.
- [15] Martinez-Pineiro L, Trigo-Rocha F, Hsu GL, et al. Response of bladder, urethral and intracavernous pressure to ventral lumbosacral root stimulation in Sprague-Dawley and Wistar rats [J]. J Urol, 1992,148(3):925—929.
- [16] Xiao CG, Godec CJ. A possible new reflex pathway for micturition after spinal cord injury [J]. Paraplegia, 1994,32(5): 300—307.
- [17] 崔险峰,张云山,邢俊平.阴茎勃起动物模型的建立和监测研究进展[J]. 山西医药杂志, 2006,35(10):907—908.
- [18] 刘莎,李淑芬,吴建中.大鼠膀胱初级传入纤维向中枢的定位投射——CB-HRP 跨神经节追踪研究[J]. 动物学杂志.1996,31(1): 27.