

방광내 전기자극 시 나타나는 방광의 구심성 신경의 변화

Change of Bladder Afferent Neuron after Intravesical Electrical Stimulation

Chang Hee Hong, Young Sik Kim¹, Jang Hwan Kim², Ji Yeun Noh³, Hae Kyung Ko³, Chan Soo Kim², Sang Won Han²

From the Department of Urology, Hallym University College of Medicine, Chunchon and the ¹Departments of Urology, Ilsan Hospital, National Health Insurance Corporation, Koyang, and the ²Departments of Urology and ³Brain Korea 21 Project for Medical Science, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: There have been reports on the clinical benefits of intravesical electrical stimulation (IVES) in patients with an increased residual urine or reduced bladder capacity. However, studies on the underlying mechanism of IVES have been limited to the A δ afferent and parasympathetic neurons. This study sort to investigate the changes in the expression of the C-fos protein in the thoracolumbar and lumbosacral spinal cord in order to determine the effect of IVES on the C fiber afferent nerve.

Materials and Methods: Twenty Sprague-Dawley rats were divided into four groups; group 1 (n=5) served as a sham operation, groups 2 (n=5) were instilled with normal saline, groups 3 (n=5) were instilled with 1% acetic acid, and group 4 (n=5) received IVES prior to the administration of 1% acetic acid. The spinal cord was removed at the thoracolumbar (T13-L2) and lumbosacral (L5-S1) levels. Changes in the levels of the C-fos protein in the spinal cord were measured by western-blot analysis.

Results: The relative density of the C-fos expression, 2 hours after IVES, was significantly higher, and the fos protein expression induced by IVES was decreased to the sham levels by the 5th day following the IVES. Therefore, it was decided that a 5 day interval between the IVES and the noxious stimulation with acetic acid should be used to avoid the superimposition of C-fos expression. The relative density of the C-fos protein, following noxious stimulation with 1% acetic acid, was significantly higher compared to the saline distension in both the T13-L2 and L5-S1 levels of the spinal cord. However, the IVES prior to the administration of 1% acetic acid significantly decreased the relative density of the C-fos protein at both the T13-L2 and L5-S1 levels of the spinal cord compared to the rats with noxious stimulation alone.

Conclusions: IVES reduces the expression of C-fos, which is mainly conveyed by the unmyelinated C fibers in the noxiously stimulated rats. These results suggest that the bladder C fiber afferent is also involved in modulating the micturition reflex caused by IVES. (Korean J Urol 2003;44:468-472)

Key Words: Electric stimulation, Neurons, afferent, C-fos

대한비뇨기과학회지
제 44 권 제 5 호 2003

한림대학교 의과대학 비뇨기과학교실,
¹국립건강보험공단 일산병원 비뇨기과,
연세대학교 의과대학 ²비뇨기과학교실,
³BK21 사업단

홍창희 · 김영식¹ · 김장환² · 노지연³
고혜경³ · 김찬수² · 한상원²

접수일자 : 2002년 12월 13일
채택일자 : 2003년 4월 3일

교신저자 : 한상원
신촌 세브란스병원 비뇨기과
서울시 서대문구 신촌동 134
☎ 120-752
Tel: 02-361-5801
Fax: 02-312-2538
E-mail: swhan@yumc.
yonsei.ac.kr

서 론

방광내 전기자극치료 (intravesical electrical stimulation, IVES)는 1958년 Katona¹가 처음 소개하면서 북유럽에서는 1980년대 이후부터 활발히 방광내 전기자극치료를 시행하고 있으며 방광내 전기자극치료에 대해 보수적이었던 미국에서도 1998년 FDA 승인을 받게 되었고 배뇨근 수축이 약

화된 신경인성 방광이나 방광용적이 감소된 척수수막류 환자에서 선택적으로 시술되어 왔다.^{2,3} 지금까지 알려진 이 방광 내 전기자극이 배뇨근 수축을 유도하는 기전은 방광내 전기자극이 직접 방광 배뇨근을 수축하는 것이 아니라, 방광점막내 기계적 수용체를 활성화하고, A δ 구심성 신경 섬유를 통해 중추신경계로 전달되는 경로를 자극함으로써, 중추신경계의 조절을 받는 적절한 조화로운 배뇨근 수축을 유발하여 나타나는 것으로 알려져 있다.⁴

하지만 지금까지 방광내 전기자극과 관련된 연구는 전기 생리학적 연구와 부교감신경계 (L6-S1)의 Aδ fiber에 제한적으로 시행되었다. 저자들은 acetic acid로 자극된 흰쥐 방광에서 방광내 전기자극을 시행하여 C 구심성 섬유에 의해 전달되는 C-fos 단백질의 변화를 부교감신경과 교감신경의 척수분절에서 비교하여 방광내 전기자극이 방광의 C 구심성 신경에 미치는 영향을 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험군 분류

실험동물로는 몸무게 250-300g인 흰쥐 (Sprague-Dawley) 를 사용하였고 길보기 수술군 (sham operation, 5마리), 생리 식염수 주입군 (5마리), acetic acid 자극군 (5마리), 방광내 전기자극 후 acetic acid 자극군 (5마리)으로 분류하였다. 길보기 수술군은 하복부를 절개하고 방광의 정부에 catheter 삽입만을 시행하였고 생리식염수 주입군과 acetic acid 자극군은 길보기 수술군의 외과적 처치 후에 catheter를 통해 2시간 동안 생리식염수와 1% acetic acid를 주입하였다. 방광내 전기자극 후 acetic acid 자극군은 방광내 전기자극을 시행하고 5일 후에 방광을 acetic acid로 자극하였다. 또한, 방광내 전기자극에 의한 자극이 L5-S1 척수분절에 C-fos 발현을 유도하는지를 평가하기 위해 흰쥐 14마리를 사용하여 방광내 전기자극을 시행한 후 7일 동안 C-fos 발현의 변화를 알아보았다.

2. 실험방법

(1) **방광내 전기자극:** 마취상태에서 하복부를 절개하고 방광을 노출한 다음 방광의 정부에 절개를 가하고 4Fr. double lumen catheter를 삽입하고 고정하였다. 백금 wire를 catheter 내로 삽입하여 Intravesical electrode를 cathode로 이용하였고 brass plate를 방광의 위치에 고정하여 anode로 이용하였다. 방광내 전기자극은 임상에서 적용하는 MS-310 (Vitacon, Trondheim, Norway)을 사용하였다. 방광을 비운 다음 방광 용적의 절반에 해당하는 생리식염수를 방광에 채우고 20Hz의 주파수와 10mA의 강도로 20분간 continuous stimulation을 시행하였다.

(2) **Acetic acid 자극:** Acetic acid 자극군과 방광내 전기자극 처치 후 acetic acid 자극군에서 1% acetic acid를 사용하여 방광을 자극하였다. 방광내 전기자극과 동일한 방법으로 방광에 catheter를 위치시키고 1%의 acetic acid를 2시간 동안 0.12ml/min의 속도로 계속하여 주입하였다. 방광의 과팽창을 방지하기 위해 요도는 개방된 상태로 유지하였고 회음부의 화학적 자극을 최소화하기 위해 Mineral oil을 요도

구 주위에 도포하였다.

(3) **Western blotting method:** Acetic acid 또는 생리식염수로 2시간 동안 방광내 주입이 끝난 후 교감신경 (T13-L2)과 부교감신경 (L5-S2)의 척수분절을 적출하고 바로 liquid nitrogen에 보관하였다. 채취한 척수분절을 50 mM Tris buffer 용액에 균질화하고 4°C에서 13,000g으로 15분간 원심분리하였다. 상청액을 침사로 옮기고 western blot 분석에 사용하였다. 단백질의 농도는 BCA kit (Pierce, Rockford, IL, USA)을 사용하여 측정하였다. 60ug의 단백질을 12% sodium dodecylpolyacrylamide gel에서 120volt로 2시간 동안 전기영동하고 PVDF membrane (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)에 이동시켰다. 실온에서 blot을 blocking buffer에 1시간 동안 정지시켰고 c-fos (Oncogene, Cambridge, MA, USA) 항체를 넣고 실온에서 1시간 동안 보관하였다. 3회 이상 PBST로 세척한 후 지방이 없는 2.5% 우윳가루로 희석된 horseradish peroxidase conjugated 2차 항체 (Santa Cruz, San Francisco, CA, USA)에 노출시켰다. 이 막을 다시 PBST로 세척하였고 chemiluminescence reagent (ECL kit, Amersham, Arlington Height, IL, USA)을 이용하여 발색을 촉진시켰고 blot을 autoradiographic film에 노출시켰고 면역반응 밴드의 강도는 densitometric scanning analysis를 이용하여 정량하였고 background unit와의 상대적 밀도로 표시하였다.

3. 결과의 비교분석 방법

교감신경 (T13-L2)과 부교감신경 (L5-S2) 척수분절 조직에서 면역반응밴드의 상대적 밀도는 평균값±표준편차로 표시하였다. 각 실험군 간의 비교는 univariate analysis of variance (ANOVA)을 사용하였고 p값이 0.05 미만을 통계학적으로 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. 방광내 전기자극이 C-fos 발현에 미치는 영향

방광내 전기자극이 C-fos 단백질 발현을 일으키는지를 알아보고 방광내 전기자극 후 acetic acid 자극군에서 방광내 전기자극과 1% acetic acid의 의한 C-fos 발현의 중복을 피하기 위해 방광내 전기자극을 시행하고 7일 동안의 C-fos 발현을 L5-S1 척수분절에서 관찰하였다. 방광내 전기자극을 시행하고 2시간 후 C-fos의 상대적 밀도는 acetic acid 자극군의 밀도와 비슷한 증가가 관찰되었다. 방광내 전기자극에 의한 C-fos 발현의 증가는 3일 후까지 지속되었고 5일째에 길보기 수술군의 밀도로 감소하였다 (Fig. 1). 방광내 전기자극 후 acetic acid 자극군에서 방광내 전기자극과 acetic acid에 의한 C-fos 발현의 중복을 피하기 위해 방광내 전기

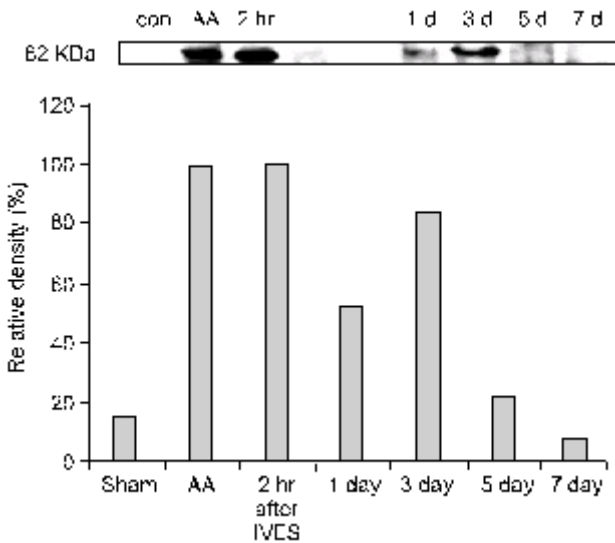


Fig. 1. Immunoblots and the changes of C-fos expression in L5-S1 spinal cord after Ives. The relative density of C-fos protein 2 hours after Ives was significantly higher ($p < 0.05$) and was very close to the acetic acid group (AA). Fos protein expression induced by Ives was decreased at 5 days after Ives to sham group level.

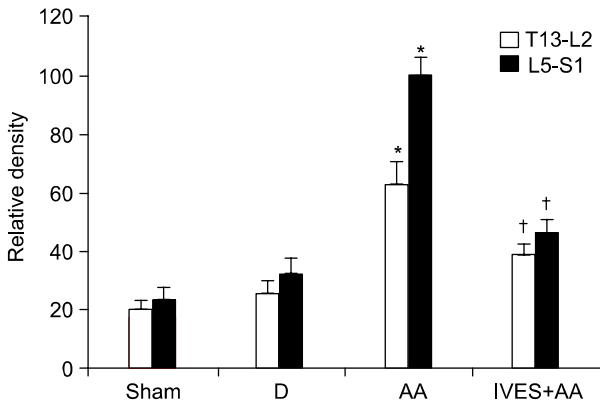


Fig. 2. Proportion of the relative densities of C-fos in the spinal cord. The relative density of C-fos following acetic acid instillation (AA) was significantly higher compared to the saline distension group (D) in both the T13-L2 and L6-S1 spinal cord ($*p < 0.05$). Ives before acetic acid instillation (Ives+AA) significantly decreased the C-fos expression when compared to AA group in both the T13-L2 and L6-S1 spinal cord ($†p < 0.05$).

자극을 시행하고 5일 후에 1% acetic acid의 방광내 주입을 시행하였다.

2. 교감신경 척수분절 (T13-L2)의 C-fos의 변화

생리식염수를 방광에 주입하여 2시간 동안 계속적인 배뇨근 수축을 유도한 생리식염수군에서는 절보기 수술군과 비교하였을 때 C-fos 단백질의 상대적 밀도는 유의한 차이를

보이지 않았다 (Fig. 2). Acetic acid로 방광을 자극한 acetic acid 자극군의 C-fos의 상대적 밀도 (63.06 ± 7.2)는 생리식염수 주입군 (25.8 ± 4.1)과 비교하였을 때 통계학적으로 유의한 증가가 관찰되었다 ($p < 0.05$). 방광내 전기자극을 시행한 후 acetic acid로 자극한 군 (38.63 ± 2.4)에서 방광내 전기자극은 acetic acid 자극에 의해 증가되었던 C-fos 단백질의 상대적 밀도를 통계학적으로 유의하게 감소시켰다 ($p < 0.05$).

3. 부교감신경 척수분절 (L5-S1)의 C-fos 변화

부교감신경 척수분절의 C-fos 변화는 교감신경 척수분절의 C-fos 변화와 동일한 양상으로 관찰되었다 (Fig. 2). 생리식염수 주입군은 절보기 수술군의 C-fos 상대적 밀도와 비교하였을 때 증가가 관찰되었으나 통계학적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다. Acetic acid 자극군의 C-fos 발현의 상대적 밀도 (98.87 ± 3.6)는 생리식염수 주입군 (32.46 ± 7.5)과 비교하여 C-fos 발현의 유의한 증가가 관찰되었다 ($p < 0.05$). Acetic acid 주입 전에 시행한 방광내 전기자극 (46.3 ± 4.4)은 acetic acid 자극에 의해 증가된 C-fos 발현의 상대적 밀도를 통계학적으로 유의하게 감소시켰다 ($p < 0.05$).

고 찰

방광내 전기자극의 작용기전에 관한 보고에 의하면 방광내 전기자극은 Aδ 구심성 신경을 직접 자극하여 자극을 중추로 전달하고, 중추에 전달된 자극은 좀 더 조화되고 강한 배뇨근 수축을 유발한다고 한다.^{5,8} 또한 방광내 전기자극에 의한 방광반사의 증대는 운동성 섬유나 C 구심성 섬유의 활성화에 의한 것이 아니며 Aδ 기계적 수용체의 활성화 및 이로 인한 배뇨 중추에서의 흥분성 신경세포 연결부 신경전달 (excitatory synaptic neurotransmission) 증대를 통해 궁극적인 중추 배뇨반사의 조절을 이룬다고 알려져 있다. 하지만 기존의 방광내 전기자극 기전에 관한 연구는 정상적인 배뇨반사를 보이는 정상 쥐에서 제한적으로 이루어졌다는 한계를 가지고 있다. 방광의 구심성 섬유는 Aδ 섬유와 C 섬유로 분류할 수 있다. 정상방광의 구심성 신경섬유의 분포는 대부분 (60-70%)이 무수신경 C 섬유로 구성되어 있고 나머지가 정상 배뇨반사에 관여하는 Aδ 섬유로 알려져 있다. C 섬유는 정상에서는 방광의 팽창에 반응하지 않고 통증이 있을 때 반응을 보이는 것으로 알려져 있으나 척수손상이나 염증반응과 같은 병적 상태에서는 배뇨반사에 관여하는 것으로 알려져 있다.^{9,10} 즉 정상상태에서는 역할이 불분명하지만 병적인 상태에서는 C 섬유가 배뇨반사와 밀접한 관련이 있다는 것이다. 기존의 방광내 전기자극의 기전에 관한 연구는 정상배뇨 상태의 쥐에서 Aδ 구심성

신경섬유에 한정되어 있어 병적인 방광에서 방광내 전기자극이 C 섬유에 미치는 영향에 관한 연구는 없는 실정이다.

저자들은 방광내 전기자극이 acetic acid 자극에 의해 증가된 C-fos 단백질의 상대적 밀도를 부교감신경 척수분절에서 유의하게 감소시킴을 확인할 수 있었다. 방광에서 배뇨충만감이나 방광통증은 골반신경을 통해서 척수 S2-4 (흰쥐는 L6-S1) 분절로 전달되어 중추신경계를 경유하여 배뇨반사가 이루어진다. C-fos는 중추신경계에서 fos-protein을 합성하는 proto-oncogene으로 배뇨반사에 관여하는 신경의 활성을 나타내는 표식인자로 간주되고 있다.¹¹ 척수의 C-fos gene은 방광의 생리적 상태에서는 발현이 없다가 주로 무수 C 섬유에 의해 전달된 침해성 자극이 척수의 감각신경세포에 노출되면 활성화된다.¹² 특히 방광내 acetic acid 주입은 척수의 C-fos 발현을 증가시키는 대표적인 자극물질로 지속적인 자극 2시간 후에 L6와 S1 척수에서 C-fos 양성 세포를 유의하게 증가시킨다고 한다.¹³ 요천추 척수의 C-fos 발현에 관여하는 구심성 신경은 capsaicin 과민 구심성 방광신경으로 알려져 있다. Capsaicin은 작은 직경의 구심성 신경을 탈감작시키는 신경독소로 acetic acid로 방광을 자극하기 전에 capsaicin으로 처치하면 acetic acid로 유발되는 C-fos의 발현을 감소시킨다.¹⁴ 이러한 결과는 acetic acid와 같은 방광유해자극은 capsaicin 과민 무수신경 C 섬유에 의해 척수의 C-fos 단백질의 발현을 일으킴을 시사한다. Yu와 de Groat¹⁵도 이러한 결과를 확인하였는데 acetic acid로 2시간 동안 방광을 자극하였을 때 L6와 S1에서 C-fos 발현이 증가하였고 방광내압측정에서도 배뇨근 수축 횟수가 증가하였다. 하지만 acetic acid로 방광을 자극하기 전에 capsaicin을 처치하면 L6와 S1에서 C-fos 발현이 감소할 뿐만 아니라 acetic acid에 의한 방광 과반사도 감소하였다고 한다. 저자들은 방광내 전기자극이 acetic acid에 의해 유도된 C-fos 발현을 감소시킴을 확인할 수 있었는데 이것은 방광내 전기자극이 척수분절에 C-fos 발현을 유도하는 무수신경 C 섬유의 활성을 억제할 뿐만 아니라 C 섬유를 매개로 출현하는 병적 배뇨반사를 억제하는 neuromodulation 효과가 있음을 시사한다고 볼 수 있다.

Acetic acid로 자극한 이후 교감신경 척수분절 (T13-L2)에서 C-fos 단백질의 상대적 밀도는 절보기 수술군과 비교할 때 유의한 증가를 나타냈고 방광내 전기자극을 시행하고 나서 acetic acid로 자극한 군에서 방광내 전기자극이 acetic acid 자극에 의해 증가되었던 C-fos 단백질의 상대적 밀도를 유의하게 감소시켰다. 하복신경 중 교감신경 원심성 섬유는 배뇨근에는 억제성 기능을 가지고 있고 방광경부에는 흥분성 기능을 가지고 있으나 하부요로에 관한 구심성 섬유의 역할은 충분히 연구되지 못하였다. Birder와 de Groat¹³는

acetic acid로 방광을 자극한 후 교감신경 척수 분절 (L1)에서 C-fos 발현 세포를 거의 발견할 수 없었다고 하였지만 해석에 세심한 주의를 요한다고 하였다. 마취제로 사용한 urethane의 영향일 수도 있고 부교감신경의 시냅스전달과 차이가 있을 수 있기 때문이라고 하였다. Cruz 등¹⁶은 마취제로 chloral hydrate를 사용하고 acetic acid로 방광을 자극한 후 교감신경 분절인 T12-L2 척수분절에서 C-fos 발현의 유의한 증가가 관찰되었고 capsaicin으로 전처리하였을 때 acetic acid에 의한 C-fos 발현이 차단됨을 확인하여 하복신경에 의해 전달되는 자극도 capsaicin 과민 C 섬유를 통해 이루어진다고 보고하였다. Mitsui 등¹⁷은 하복신경 절단 흰쥐 모델에서 acetic acid 자극에 의한 C-fos 발현의 유의한 감소를 보고하면서 하복신경 구심성 섬유의 역할을 방광염증과 같은 흥분성 자극을 교감신경 척수분절을 통해 상부 배뇨 중추로 전달하고 빈뇨를 일으킨다고 결론지었다. 저자들의 결과에서 방광내 전기자극은 acetic acid로 증가된 하복신경 척수분절의 C-fos 발현을 유의하게 감소시켰다. 하복신경도 방광염증과 같은 병적 방광에서 병적 배뇨반사에 관계하다고 볼 때 방광내 전기자극은 하복신경의 무수신경 C 섬유에 의한 배뇨반사를 억제할 수 있음을 제시한다고 본다.

방광내 전기자극 처치 후 acetic acid 주입군에서 C-fos 발현의 상대적 밀도가 acetic acid 주입군과 비교할 때 유의하게 감소하였으나 생리식염수 주입군의 상대적 밀도보다는 증가되어 있다. 이러한 차이는 방광내 전기자극이 acetic acid를 주입하는 2시간 동안 요도를 통해 분출된 acetic acid로 인해 요도를 통해 척수분절로 전달되는 자극을 봉쇄하지 못한다는 것과 저자들이 적용한 방광내 전기자극 조건이 capsaicin 과민섬유를 완전히 탈감작시킬 수 있는 조건이 되지 못한 것과 관련지어 설명할 수 있다.

Jiang⁷은 20Hz의 주파수로 5분 동안의 지속적인 자극이라는 방광내 전기자극의 조건은 무수신경 C 섬유를 활성화시킬 수 있는 역치보다 낮은 자극이어서 방광내 전기자극으로 인한 무수신경 C 섬유의 활성화는 없다고 주장하였다. 방광내 전기자극에 의한 자극이 부교감신경 척수분절에서 C-fos 발현에 영향을 주는지를 보기 위한 저자들의 결과에서 방광내 전기자극 후 3일간 L5-S1 척수분절에서 C-fos 발현의 증가를 확인할 수 있었다. 이러한 결과의 해석으로 Jiang의 주장과는 달리 방광내 전기자극이 무수신경 C 섬유를 활성화시킨다는 결론을 내리는 데는 무리가 있다고 본다. Birder와 de Groat¹⁴는 acetic acid 자극뿐만 아니라 생리식염수의 지속적인 주입 후에도 부교감신경 척수분절에서 C-fos 발현의 증가가 있었다고 하였다. Capsaicin으로 전처리 하였을 때 acetic acid에 의한 C-fos 발현은 감소하지

만 생리식염수 주입에 의한 C-fos 발현의 감소는 관찰되지 않았다. 즉 방광 팽만에 의한 C-fos 발현과 유해자극에 의한 C-fos 발현은 다른 감각신경의 경로를 통해 전달된다는 것이다. 방광내 전기자극에 의한 부교감신경 척수분절의 C-fos 발현의 증가가 무수신경 C 섬유에 의한 것인지 아니면 방광 팽만과 같이 IVES에 의해 유도된 지속적 방광 수축에 의한 것인지는 분명하지 않다. 방광내 전기자극에 의한 C-fos 발현의 경로를 확인하기 위해서는 척수의 면역조직염색이 필요하다. 척수의 C-fos 면역조직염색에서 양성분포에 따라 medial dorsal horn (MDH), lateral dorsal horn (LDH), dorsal commissure (DCM), sacral parasympathetic nucleus (SPN)로 나눌 수 있는데 정상적인 방광 팽만에 의한 C-fos는 주로 SPN에 가장 많이 발현되고 화학적 자극에 의한 C-fos 발현은 DCM 부위에서 3.5배 이상 증가한다.¹³ 방광내 전기자극 후 부위별 C-fos 발현의 분포를 면역조직염색으로 확인한다면 방광내 전기자극에 의한 C-fos 발현의 경로를 추정할 수 있을 것으로 생각한다. 또한 방광내 전기자극 전에 capsaicin 투여하여 방광내 전기자극에 의한 C-fos 발현의 감소가 있는지를 확인한다면 방광내 전기자극에 의한 C-fos 발현이 capsaicin 과민 C 섬유에 의해 전달되는지를 확인할 수 있을 것으로 생각한다.

결 론

방광내 전기자극은 C 구심성 신경에 영향을 주지 않는다는 기존의 내용과는 달리 방광내 전기자극은 acetic acid 방광자극으로 C 구심성 신경에 의해 전달되어 활성화되는 C-fos 발현을 유의하게 감소시킴을 확인할 수 있었다. 이는 방광내 전기자극의 작용기전이 정상적인 배뇨반사 상태에서 A δ 구심성 신경섬유를 활성화하여 배뇨근 수축을 유도하는데 제한되어 있지 않고 C 섬유가 배뇨반사에 관여하는 병적인 상태에서는 C 섬유의 활성화를 억제하고 C 섬유에 의한 배뇨반사를 modulation할 수 있음을 시사한다고 생각한다.

REFERENCES

- Katona F. Stages of vegetative afferentation in reorganization of bladder control during intravesical electrotherapy. *Urol Int* 1975;30:192-203
- Kaplan WE, Richards I. Intravesical transurethral electrotherapy for the neurogenic bladder. *J Urol* 1986;136:243-6
- Cheng EY, Richards I, Balcom A, Steinhart G, Diamond M, Rich M, et al. Bladder stimulation therapy improves bladder compliance: results from a multi-institutional trial. *J Urol* 1996;156:761-4
- Ebner A, Jiang C, Lindstrom S. Intravesical electrical stimulation-an experimental analysis of the mechanism of action. *J Urol* 1992;148:920-4
- Jiang CH, Lindstrom S. Intravesical electrical stimulation induces a prolonged decrease in micturition threshold volume in the rat. *J Urol* 1996;155:1477-81
- Jiang CH, Lindstrom S. Optimal conditions for the long-term modulation of the micturition reflex by intravesical electrical stimulation; an experimental study in the rat. *BJU Int* 1999; 83:483-7
- Jiang CH. Modulation of the micturition reflex pathway by intravesical electrical stimulation; an experimental study in the rat. *NeuroUrol Urodyn* 1998;17:543-53
- Buyle S, Wyndaele JJ, D'Hauwers K, Wuyts F, Sys S. Optimal parameters for transurethral intravesical electrostimulation determined in an experiment in the rat. *Eur Urol* 1998; 33:507-10
- Andersson KE. Neurotransmitters and neuroreceptors in the lower urinary tract. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1996;8:361-5
- Yoshimura N, Erdman SL, Snider MW, de Groat WC. Effects of spinal cord injury on neurofilament immunoreactivity and capsaicin sensitivity in rat dorsal root ganglion neurons innervating the urinary bladder. *Neuroscience* 1998;83:633-43
- Wang Y, Hassouna MM. Neuromodulation reduces C-fos gene expression in spinalized rats: a double-blind randomized study. *J Urol* 2000;163:1966-70
- Birder LA, Roppolo JR, Iadarola MJ, de Groat WC. C-fos as a marker for subsets of visceral second order neurons in the rat lumbosacral spinal cord. *Soc Neurosci* 1990;16: abstract 703
- Birder LA, de Groat WC. Increased c-fos expression in spinal neuron after irritation of the lower urinary tract in the rat. *J Neurosci* 1992;12:4878-89
- Birder LA, de Groat WC. Induction of c-fos expression in spinal neurons by nociceptive and nonnociceptive stimulation of LUT. *Am J Physiol* 1993;265:R326-33
- Yu Y, de Groat WC. Effects of ZD6169, a KATP channel opener, on bladder hyperactivity and spinal c-fos expression evoked by bladder irritation in rats. *Brain Res* 1998;807:11-8
- Cruz F, Avelino A, Coimbra A. Desensitization follows excitation of bladder primary afferents by intravesical capsaicin, as shown by c-fos activation in the rat spinal cord. *Pain* 1996;64:553-7
- Mitsui T, Kakizaki H, Matsuura S, Ameda K, Yoshioka M, Koyanagi T. Afferent fibers of the hypogastric nerves are involved in the facilitating effects of chemical bladder irritation in rats. *J Neurophysiol* 2001;86:2276-84