

电针对椎间盘脱出模型犬体感诱发电位的影响

李拓¹, 孔学礼¹, 丛心宇¹, 朱玉欣^{1,2}, 姜代勋^{1,2}, 陈武^{1,2*}

(1. 北京农学院动物科学技术学院, 北京 102206; 2. 北京农学院兽医学(中医药)北京市重点实验室, 北京 102206)

【摘要】 目的 研究电针对椎间盘脱出模型犬脊髓损伤的修复作用及其对体感诱发电位(somatosensory evoked potential, SEP)的影响。**方法** 比格犬随机分为三组, 模型组和电针组采用球囊压迫法制作椎间盘脱出模型, 电针组术后每天电针治疗; 对照组进行假手术处理。术前(0 d)和术后1、4、7、14 d 每只犬均使用德克萨斯犬脊髓损伤 Texas Spinal Cord Injury Scale for Dogs (TSCIS) 评分法评分, 使用肌电诱发电位仪测量 SEP 并分析其潜伏期和波幅。**结果** 术后1 d 模型组和电针组与对照组 TSCIS 评分相比均显著降低($P < 0.01$), 术后14 d, 电针组与模型组相比差异有显著性($P < 0.01$); 术后4 d 模型组和电针组的 SEP 潜伏期相比显著降低($P < 0.05$), 术后14 d, 电针组与模型组的潜伏期相比差异有显著性($P < 0.05$); 术后1 d 模型组和电针组的 SEP 波幅与对照组相比显著降低($P < 0.05$), 术后14 d, 电针组与模型组的波幅相比差异有显著性($P < 0.05$)。**结论** 电针能够有效促进椎间盘脱出模型犬的脊髓损伤修复, 提高 TSCIS 评分, 恢复 SEP 波形, 缩短其潜伏期, 提升其波幅; SEP 能够在一定程度上反应脊髓损伤程度, 评价电针治疗效果。

【关键词】 椎间盘脱出模型犬; 电针; 体感诱发电位; 潜伏期; 波幅; 犬

【中图分类号】 Q95-33

【文献标识码】 A

【文章编号】 1005-4847(2017) 05-0519-05

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2017.05.009

Effect of electroacupuncture on somatosensory evoked potentials in dog models of intervertebral disc prolapse

LI Tuo¹, KONG Xue-li¹, CONG Xin-yu¹, ZHU Yu-xin^{1,2}, JIANG Dai-xun^{1,2}, CHEN Wu^{1,2*}

(1. Animal Science and Technology College, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China;

2. Beijing Key Laboratory of Traditional Chinese Veterinary Medicine, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206)

【Abstract】 Objective To study the effect of electroacupuncture on repair of spinal cord injury and its effect on somatosensory evoked potential (SEP) in dog models of intervertebral disc prolapse. **Methods** Nine Beagle dogs were randomly divided into three groups. In the model group and electroacupuncture group, the dog disc prolapse models were made by balloon compression, and in the electroacupuncture group, electroacupuncture was used every day for 14 days after operation. The model group was not treated after surgery. Sham operation was performed in the control group. Each dog was scored according to the Texas Spinal Cord Injury Scale for Dogs (TSCIS) scores before surgery (day 0) and on days 1, 4, 7, 14 after surgery. At the same time, SEP wave was measured using an EMG Evoked Potential Measuring System and its latency and amplitude were analyzed. **Results** There was a significant difference in TSCIS scores between the model group, electroacupuncture group and control group at 1 day after operation. There was a significant difference between the electroacupuncture and model groups at 14 days after surgery. The amplitude of SEP in the model and electroacupuncture groups was significantly different from that in the control group at 1 day after operation, and there was a significant difference between the electroacupuncture and model groups at 14 days after operation. There was a significant difference in the latency of SEP between the model and electroacupuncture groups at 4 days after operation, and between the electroacunc-

【基金项目】 国家自然科学基金项目(No. 31372473); 北京农学院学位与研究生教育改革与发展项目(No. 5056516004/024)。

【作者简介】 李拓(1991-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 中兽医学, 中西医结合临床兽医。Email: lituo208@163.com

【通讯作者】 陈武(1966-), 男, 教授, 博士, 研究方向: 中兽医学, 中西医结合临床兽医。Email: tcvmchenwu@hotmail.com

ture and model groups after at 14 days after operation. **Conclusions** Electroacupuncture can effectively promote healing of spinal cord injury in dogs with intervertebral disc prolapse, improve the TSCIS scores, restore SEP waveform, shorten the latency and enhance the amplitude. SEP can reflect the degree of spinal cord injury to a certain extent, and can be used to evaluate the effect of electroacupuncture treatment in these dogs.

【Key words】 Intervertebral disc prolapse; Electroacupuncture; Somatosensory evoked potential; Latency; Amplitude; Dogs

Corresponding author: CHEN Wu. E-mail: tcvnchenwu@hotmail.com

犬椎间盘脱出症是指由于纤维环破裂,髓核脱出压迫脊髓,而导致的患犬神经机能障碍。其治疗方法主要有:内科疗法、外科手术和电针治疗^[1-3]。实践表明,电针在犬椎间盘脱出症的治疗中具有很好的效果,对有深部痛觉的瘫痪犬治愈率达 90% 以上,对丧失深部痛觉的瘫痪犬有效率达 71.43%^[4]。应用影像技术可以诊断脊髓受压迫的位置,但其无法判断患犬的脊髓功能受损程度。体感诱发电位(somatosensory evoked potential, SEP)是刺激感觉器官或感觉神经,在中枢神经系统引导出的电位,其可以反映受压迫处脊髓的功能状态^[5],能够弥补影像学的不足。在国外小动物临床中,SEP 已被用于中枢神经系统疾病诊断和脊髓手术术中监测等方面^[6]。本研究电针对椎间盘脱出模型犬 SEP 的影响及其促进脊髓损伤修复的作用,探讨能否使用 SEP 检查评价脊髓损伤的严重程度和电针的治疗效果。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

普通级比格犬 9 只,雌雄不限,年龄 3~4 岁,体重 10~13 kg,均购买于北京市海淀区兴隆实验动物养殖厂【SCXK(京)2016-0003】,饲养于北京农学院动科楼【SYXK(京)2015-0004】。随机分为:对照组($n=3$),模型组($n=3$)和电针组($n=3$)。

1.2 主要仪器和试剂耗材

肌电诱发电位仪,型号:MEB-9402C,日本光电子工业株式会社;磁共振检查仪,型号:0.3T,宁波鑫高义有限公司;呼吸麻醉机,美国 SurgiVet;高频电刀,型号:T400D 型,北京中科科仪技术发展有限责任公司;种植机,型号:Surgic XT,日本精工株式会社;针灸针,规格:0.35×25 mm,苏州针灸用品有限公司;电针仪,型号:KWD-808 I,常州市武进长城医疗器械有限公司。

丙泊酚,批号:1512151,西安立邦制药有限公司;异氟烷,批号:151201,山东科源制药有限公司。

1.3 体感诱发电位测定

参照 Vanderzant 等^[7]的报道和国际脑电图学会制定的 10/20 系统标准^[8],将针灸针刺入 Cz 区皮下做为记录针电极,将针灸针刺入鼻根上方的 Fz 区皮下做为参考针电极,使用鳄鱼夹电极夹住针柄,调节至两极间阻抗小于 5 k Ω ,刺激电极固定于胫神经上,接地电极固定于第七腰椎棘突上方。刺激参数为:波宽 0.2 ms,刺激频率 5 Hz,刺激强度 3~10 mA,调节至可引起脚趾明显抖动,平均叠加 1000 次,记录得到如图 1 所示的体感诱发电位图,手术前 0 d 和手术后 1、4、7、14 d,测量左右侧体感诱发电位,并分析其潜伏期和波幅的变化。

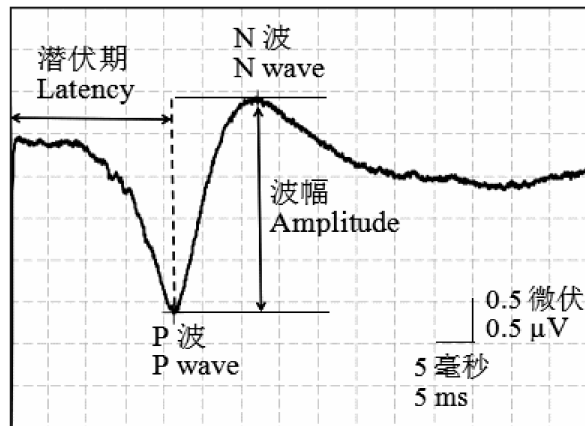


图 1 正常犬的体感诱发电位图

Fig. 1 Somatosensory evoked potential in a normal dog

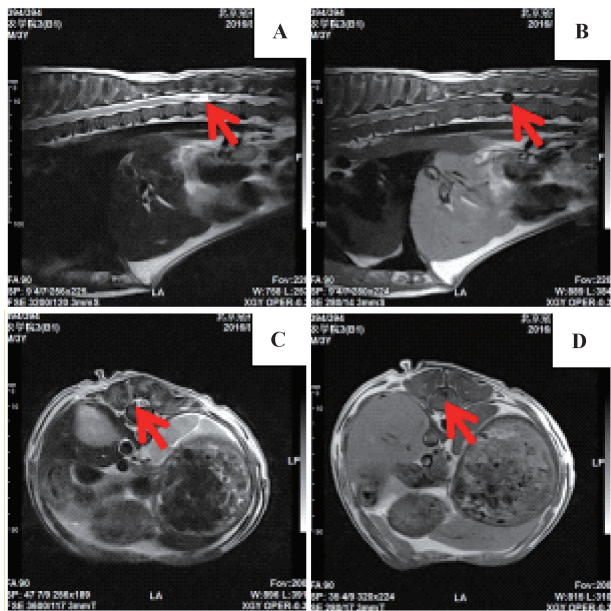
1.4 脊髓损伤评分

采用德克萨斯犬脊髓损伤 Texas spinal cord injury scale for dogs (TSCIS) 评分法^[9],分别于手术前(0 d)和手术后 1、4、7、14 d,从步态(6 分)、本体感受器定位(2 分)和痛觉感受(2 分)三方面对每只犬进行运动机能评分,正常为 10 分。

1.5 椎间盘脱出模型犬的制作

实验犬经丙泊酚(6 mg/kg)诱导麻醉,使用异氟烷维持呼吸麻醉,氧流量调至 2.0 L/min,异氟烷挥发罐刻度调至 2。实验犬麻醉后,俯卧保定,常规消毒。以第一、二腰椎(L1、L2)左侧乳头突的中点为中心,依次切开皮肤、脂肪、筋膜、肌肉约 5 cm,电

凝止血,使用骨膜剥离器钝性分离两乳头突之间的肌肉,暴露椎体后,用种植机在 L1、L2 乳头突的中点处打磨椎体暴露脊髓。将双腔导尿管球囊部塞入模型组和电针组犬的脊髓腹侧,给球囊注入 0.2 mL 生理盐水压迫脊髓,术后使用 MRI 检查压迫程度(图 2),对照组不放置压迫物。



注:箭头指示为压迫球囊,A:矢状面 T2 加权像信号升高;B:矢状面 T1 加权像信号降低;C:横断面 T2 加权像信号升高;D:横断面 T1 加权像信号降低。

图 2 椎间盘脱出模型犬 MRI 影像

Note. The arrows indicate compression of the balloon, A: sagittal T2-weighted image signal increased; B: sagittal T1-weighted image signal decreased; C: T2-weighted cross-sectional image signal increased; D: T1-weighted cross-sectional image signal decreased.

Fig. 2 MRI image of a dog model of intervertebral disc prolapse

1.6 电针治疗及参数设置

电针组术后每天一次电针治疗,每次 30 min,连续治疗 14 d。根据本课题组前期研究和宠物临床实践经验,选取以下四组穴位:百会穴(DU20)、命门穴(DU4);左右膀胱俞(BL28);左足三里(ST36)、左

趾间穴(EX-LE10);右足三里(ST36)、右趾间穴(EX-LE10)。参数设置:选用连续波,频率 2 Hz,输出强度 4 级。

1.7 统计学处理

数据用平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 Graphpad Prism 5 软件,采用 *t* 检验分析差异性,*P* < 0.05 为差异有显著性。

2 结果

2.1 脊髓损伤评分结果

由表 1、2 可见,手术前各组评分均为满分,术后 1、4、7、14 d,对照组评分都为满分,表明手术通路对脊髓无损伤,对运动机能无影响。术后 1 d 电针组和模型组左右后肢的评分均显著降低(*P* < 0.01),表明压迫对脊髓造成了严重损伤,运动机能显著下降。术后 4 d 电针组和模型组评分相比差异有显著性(*P* < 0.05),术后 14 d 相比差异有显著性(*P* < 0.01),表明电针能够有效减轻脊髓损伤,有利于神经功能的恢复。

2.2 SEP 检测结果

由表 3、4 可见,手术前各组潜伏期均无差异,术后对照组各时间段与术前相比均无差异,表明手术通路对潜伏期无影响。电针组和模型组术后左右侧潜伏期均明显延长,术后 4 d,电针组和模型组左后肢潜伏期与对照组相比差异有显著性(*P* < 0.05),术后 14 d,电针组左右后肢潜伏期与模型组相比差异有显著性(*P* < 0.05)。表明脊髓受到损伤时,潜伏期会发生延长,电针能够使延长的潜伏期缩短。

由表 5、6 可见,手术前各组波幅均无差异,对照组术后与术前各时间段相比均无差异,说明手术通路对波幅无影响。术后电针组和模型组的波幅明显降低,术后 1 d,电针组和模型组右后肢波幅与对照组相比差异有显著性(*P* < 0.05),术后 14 d,电针组和模型组左右后肢波幅与对照组相比差异有显著性(*P* < 0.05)。表明脊髓受损后,波幅会显著下降,电针治疗后有所恢复。

表 1 各组不同时间左后肢 TSCIS 评分($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Tab. 1 TSCIS scores of the left hind limb at different time points in each group					
组别 Groups	0 d	1 d	4 d	7 d	14 d
对照组 Control group	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0
模型组 Model group	10 ± 0	0.6667 ± 0.5774 ^A	0.6667 ± 0.5774 ^A	1.333 ± 0.5774 ^A	1.333 ± 0.5774 ^A
电针组 Electroacupuncture group	10 ± 0	0.6667 ± 0.5774 ^A	1.333 ± 0.5774 ^{Ab}	2.333 ± 0.5774 ^{AB}	6.333 ± 1.155 ^B

注:A:与对照组比,*P* < 0.01;a:与对照组比,*P* < 0.05;B:与模型组比,*P* < 0.01;b:与模型组比,*P* < 0.05。(下表同)。
Note. A: Compared with the control group, *P* < 0.01; a: Compared with the control group, *P* < 0.05; B: compared with the model group, *P* < 0.01; b: Compared with the model group, *P* < 0.05. (The same in the following tables).

表 2 各组不同时间右后肢 TSCIS 评分($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Tab. 2 TSCIS scores of the right hind limb at different time points in each group					
组别 Groups	0 d	1 d	4 d	7 d	14 d
对照组 Control group	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0
模型组 Model group	10 ± 0	0.6667 ± 0.5774 ^A	0.6667 ± 0.5774 ^A	1.333 ± 0.5774 ^A	1.667 ± 0.5774 ^A
电针组 Electroacupuncture group	10 ± 0	0.6667 ± 0.5774 ^A	2.333 ± 0.5774 ^{Ab}	3.667 ± 0.5774 ^{AB}	6.667 ± 1.528 ^B

表 3 各组不同时间左后肢潜伏期(ms, $\bar{x} \pm s, n = 3$)

Tab. 3 The latency of the left hind limb at different time points in each group					
组别 Groups	0 d	1 d	4 d	7 d	14 d
对照组 Control group	21.43 ± 2.074	21.82 ± 2.170	21.77 ± 1.384	21.15 ± 0.5074	22.22 ± 1.015
模型组 Model group	21.90 ± 1.238	27.83 ± 5.168	34.60 ± 7.027 ^a	50.80 ± 1.213 ^A	41.52 ± 7.663 ^a
电针组 Electroacupuncture group	20.92 ± 1.855	29.00 ± 7.314	31.88 ± 5.558 ^a	28.75 ± 7.826 ^B	24.30 ± 1.604 ^b

表 4 各组不同时间右后肢潜伏期(ms, $\bar{x} \pm s, n = 3$)

Tab. 4 The wave latency of the right hind limb at different time points in each group					
组别 Groups	0 d	1 d	4 d	7 d	14 d
对照组 Control group	20.72 ± 0.8036	22.75 ± 1.064	22.02 ± 1.833	22.18 ± 1.735	21.47 ± 0.6292
模型组 Model group	21.43 ± 2.074	25.45 ± 1.711	30.92 ± 5.878	47.78 ± 1.606 ^A	35.08 ± 3.724 ^A
电针组 Electroacupuncture group	21.47 ± 0.3819	28.75 ± 7.100	28.05 ± 2.928 ^a	27.10 ± 6.151	23.98 ± 2.351 ^b

表 5 各组不同时间左后肢波幅($\mu V, \bar{x} \pm s, n = 3$)

Tab. 5 The wave amplitude of the left hind limb at different time points in each group					
组别 Groups	0 d	1 d	4 d	7 d	14 d
对照组 Control group	2.428 ± 0.9082	2.543 ± 1.293	2.555 ± 1.011	2.873 ± 1.259	2.263 ± 1.137
模型组 Model group	3.108 ± 1.485	0.4060 ± 0.2386 ^a	0.1960 ± 0.02606 ^a	0.2810 ± 0.1224 ^a	0.3007 ± 0.1602 ^a
电针组 Electroacupuncture group	3.881 ± 1.237	0.8207 ± 0.07257 ^b	0.5730 ± 0.3556 ^{ab}	0.3653 ± 0.3635 ^a	0.9927 ± 0.2997 ^b

表 6 各组不同时间右后肢波幅($\mu V, \bar{x} \pm s, n = 3$)

Tab. 6 The amplitude of the right hind limb at different time points in each group					
组别 Groups	0 d	1 d	4 d	7 d	14 d
对照组 Control group	2.998 ± 1.691	2.520 ± 0.7620	3.131 ± 1.068	3.363 ± 0.7327	2.412 ± 0.9084
模型组 Model group	2.510 ± 0.6165	0.5520 ± 0.3182 ^a	0.2143 ± 0.05840 ^A	0.3503 ± 0.06658 ^A	0.4163 ± 0.3840 ^a
电针组 Electroacupuncture group	3.254 ± 1.361	0.9943 ± 0.4101 ^a	0.5960 ± 0.3127 ^a	0.5150 ± 0.3119 ^A	1.126 ± 0.1137 ^b

3 讨论

椎间盘脱出属于宠物临床多发病,极易导致患犬瘫痪,临床实践表明,电针治疗对其具有很好的疗效^[4,10]。通过本实验不同时间段模型组和电针组的 TSCIS 评分变化可以看出,电针能够有效促进椎间盘脱出模型犬脊髓功能的恢复,与临床病例电针治疗结果相符。结合实验室前期研究^[11,12],分析其可能是由于电针能够显著增加椎间盘脱出模型动物的脊髓微循环血流灌注量和微血管数量^[13,14],减轻脊髓神经损伤,从而促进运动机能恢复^[15]。

犬脊髓损伤评分主要采用 TSCIS 评分法,其操作简单,易于掌握,能够独立的评估每个肢体的步态、本体感受器定位和痛觉感受是否异常,比 Tarlov 评分法更加精细、准确^[16]。本实验观察到,造模手术前,实验犬运动机能评分均为满分(10 分),术后 1 d 评分降至 1 分左右。模型组术后未进行任何治

疗,14 d 时运动机能评分仍为 1 分左右,并无改善。电针组经过 14 d 电针治疗,评分逐渐恢复至 7 分左右,与模型组相比差异有显著性。TSCIS 评分法在一定程度上真实地反映了实验犬的运动机能。

与 TSCIS 评分法相比 SEP 是一种定量的电生理检查方法,能够更加客观准确地评价脊髓受损程度。SEP 与刺激之间有固定的锁时关系,主要有潜伏期和波幅两个指标。潜伏期能够反映神经纤维的电传导速度,波幅能够反映灰质神经元的电活动^[17]。SEP 能够直接反映躯体本体感觉传导通路的功能状态,间接反映运动功能受损程度。Machida 等^[18]报道 SEP 诊断脊髓损伤的准确率为 91.3%。

本实验观察到,术前所有实验犬均可测得波形良好的双向 SEP 波,各组潜伏期和波幅均无差异,模型组和电针组术后 SEP 波形不规则,潜伏期明显延长,4 d 时差异显著;波幅显著降低,1 d 时差异有显著性。14 d 时,模型组的潜伏期和波幅均与电针

组相比差异有显著性。

有研究表明丙泊酚具有减轻脊髓损伤,促进神经修复的作用^[19-22]。本实验因造模需要使用丙泊酚诱导麻醉,但在各时间段均未观察到模型对照组 SEP 的潜伏期和波幅显著恢复。说明,一次性短时间使用丙泊酚对本试验中持续压迫造成的脊髓损伤未显示有效的促进神经修复的作用。而电针组经过数次治疗后,SEP 有较好的恢复,表现为潜伏期的缩短和波幅的升高,提示受损脊髓功能恢复,说明电针是有效的治疗手段,并具可操作性和临床意义。

综上所述,电针能够有效的恢复椎间盘脱出模型犬的脊髓损伤,提高脊髓损伤评分,促进 SEP 波形恢复正常,缩短其潜伏期,升高其波幅。SEP 能够在一定程度上反应脊髓损伤程度,评价电针治疗效果,可以用于宠物临床神经系统疾病的辅助诊断。

参 考 文 献

- [1] 陈武. 犬椎间盘病防治 [J]. 中国动物保健, 2003, 5(9): 45-46.
- [2] 吉才回, 袁小兵, 邓婵娟, 等. 偏侧椎板切除术结合电针灸治疗犬胸腰椎间盘脱出的研究 [J]. 中国兽医杂志, 2016, 52(4): 86-89.
- [3] 杨晓静. 犬胸腰段椎间盘突出诊断与治疗 [D]. 西北农林科技大学, 2016, 17-26.
- [4] 陈武, 吴英伟, 郭泽领, 等. 犬椎间盘病的中西医结合诊疗与病例分析 [C]. 中国畜牧兽医学会论文集, 2003, 128-131.
- [5] Orta DS. Somatosensory evoked potentials present, past and future [J]. Clin Neurophysiol, 2016, 127(9): 313.
- [6] Atalan G, Parkinson TJ, Barr FJ, et al. Urine volume estimations in dogs recovering from intervertebral disc prolapse surgery [J]. Berliner und Muenchener Tieraerztliche Wochenschrift, 2002, 115(7-8): 303-305.
- [7] Vanderzant CW, Schott RJ, Natale JE, et al. Somatosensory evoked potentials of the dog: recording techniques and normal values [J]. J Neurosci Methods, 1989, 27(3): 253-263.
- [8] 木村淳, 郭铁成, 朱愈. 神经肌肉疾病电诊断学原理与实践 [M]. 天津: 天津科技翻译出版公司, 2008, 426-428.
- [9] Gwendolyn JL, Jonathan ML, Christine MB, et al. Description and repeatability of a newly developed spinal cord injury scale for dogs [J]. Prev Vet Med, 2009, 89: 121-127.
- [10] 王贵波, 刘鹏, 丁明星, 等. 电针配合药物治疗犬椎间盘突出 [J]. 中国畜牧兽医, 2010, 37(11): 185-187.
- [11] 王雪乔, 饶宇腾, 吴伟澎, 等. 犬椎间盘脱出模型的建立及其脊髓微循环与组织学变化观察 [J]. 中国比较医学杂志, 2014, 24(6): 22-26.
- [12] 陈武, 姜威, 张玉忠, 等. 椎间盘脱(突)出犬相关穴位微循环变化及电针效应初探 [J]. 中国兽医杂志, 2004, 40(11): 34-36.
- [13] 卢知松, 陈益山, 姜代勋, 等. 椎间盘脱出大鼠模型的脊髓血流量变化及电针效应 [J]. 中国实验动物学报, 2011, 19(5): 381-386.
- [14] 吴伟澎, 李伟, 程鹏, 等. 椎间盘脱出模型大鼠脊髓血管生成因子 mRNA 的表达变化及电针对其影响 [J]. 中国实验动物学报, 2015, 23(3): 261-266.
- [15] 程鹏, 李伟, 李拓, 等. 椎间盘脱出模型大鼠脊髓巢蛋白和音猬因子变化及电针效应 [J]. 北京农学院学报, 2016, 31(1): 42-45.
- [16] 虞攀峰. 新型犬脊髓损伤模型的建立和激光多普勒脊髓血流评价 [D]. 中国人民解放军军医进修学院, 2011.
- [17] 刘峰. 诱发电位对脊髓压迫性损伤后神经功能的评价—动物实验及临床研究 [D]. 山东大学, 2006, 31-32.
- [18] Machida M, Yamada T, Krain L, et al. Magnetic stimulation: examination of motor function in patients with cervical spine or cord lesion [J]. Spinal Disord. 1991, 4(2): 123-130.
- [19] Kaptanoglu E, Sen S, Beskonakli E, et al. Antioxidant actions and early ultrastructural findings of thiopental and propofol in experimental spinal cord injury [J]. J Neurosurg Anesthesiol, 2002, 14(2): 114-122.
- [20] Yamamoto Y, Kawaguchi M, Kurita N, et al. Effects of xenon on ischemic spinal cord injury in rabbits: a comparison with propofol [J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2010, 54(3): 337-342.
- [21] Wang YX, Sun JJ, Zhang M, et al. Propofol injection combined with bone marrow mesenchymal stem cell transplantation better improves electrophysiological function in the hindlimb of rats with spinal cord injury than monotherapy [J]. Neural Regen Res, 2015, 10(4): 636-643.
- [22] Zhou YJ, Liu JM, Wei SM, et al. Propofol promotes spinal cord injury repair by bone marrow mesenchymal stem cell transplantation [J]. 2015, 10(8): 1305-1311.

[收稿日期] 2016-12-25