

电针联合甲强龙对椎间盘脱出大鼠的有效性和安全性研究

张荣¹, 纪婷¹, 饶宇腾², 姜代勋¹, 李佳¹, 陈武^{1*}

(1. 北京农学院兽医学(中医药)北京市重点实验室, 北京 102206)

2. 宠福鑫中西结合国际动物诊疗中心, 北京 102206)

【摘要】 目的 观察电针联合甲强龙与单独使用电针或甲强龙对椎间盘脱出 24 h 后大鼠模型的肢体运动功能和神经细胞尼氏小体的影响, 为临床合理应用提供依据。**方法** 将 112 只 SD 大鼠随机分为假手术组(Sham)、模型组(Model)、预先电针联合甲强龙组(EA + MP)、电针组(EA)和甲强龙组(MP), 采用自制硅胶垫片压迫法制备椎间盘脱出模型, 各组分别进行处理, 并在不同时间点进行 BBB 肢体运动功能评分或采集脊髓组织 Nissl 染色观察神经细胞尼氏小体的变化, 以及副作用和死亡率。**结果** 1) BBB 评分, 各组在治疗后均呈上升趋势, EA + MP 组在第 3、7 天时压迫侧后肢与 EA 组和 MP 组相比显著升高 ($P < 0.05$), 第 14 天时各组均显著高于 Model 组 ($P < 0.05$), 并与 Sham 组接近 ($P > 0.05$)。2) Nissl 染色可见, 与模型组相比各治疗组神经细胞损坏程度轻, 尼氏小体数量多, 其中 EA + MP 组优于其他两组。3) 副作用发生率, MP 组为 30%, EA + MP 组为 4.16%, EA 组为 0; 死亡率, MP 组为 20%, EA + MP 组和 EA 组为 0。**结论** 3 种治疗方案均可不同程度增加尼氏小体数量, 维持神经细胞形态, 改善椎间盘脱出 24 h(超过甲强龙作用时间窗)大鼠的肢体运动功能。其中, EA + MP 效果最佳, 且显著降低了 MP 疗法的副作用和死亡率的发生, 也优于单独 EA 的疗效。

【关键词】 椎间盘脱出; 尼氏小体; 电针; 甲强龙; 大鼠

【中图分类号】 Q95 - 33

【文献标识码】 A

【文章编号】 1005-4847(2018) 06-0739-07

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2018.06.011

Study on the efficacy and safety of electroacupuncture combined with methylprednisolone sodium succinate in rat models of intervertebral disc extrusion

ZHANG Rong¹, JI Ting¹, RAO Yuteng², JIANG Daixun¹, LI Jia¹, CHEN Wu^{1*}

(1. Beijing Key Laboratory of Traditional Chinese Veterinary Medicine, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China. 2. Chong Fu Xin International Animal Medical Center, Beijing 102206)

Corresponding author: CHEN Wu. E-mail: tcvmchenwu@Hotmail.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of electroacupuncture combined with methylprednisolone sodium succinate and electroacupuncture or methylprednisolone sodium succinate alone for intervertebral disc extrusion. The effects on the limb movement function and Nissl bodies of rat models after 24 h were analyzed, and the incidence of side effects in each group was analyzed to provide a basis for clinical application. **Methods** A total of 112 SD rats were randomly divided into sham operation group (Sham), model group (Model), electroacupuncture before methylprednisolone sodium succinate group (EA + MP), electroacupuncture group (EA), and methylprednisolone sodium succinate group (MP). The intervertebral disc extrusion model was prepared using a custom-made silicone gasket compression method. Each group was

【基金项目】 国家自然科学基金(31372473)。

Founded by National Natural Science Foundation of China (31372473).

【作者简介】 张荣(1992—), 女, 执业兽医师, 硕士生, 中西结合临床兽医学方向。Email: renee.z@foxmail.com

【通信作者】 陈武(1966—), 男, 教授, 博士, 中西结合临床兽医学方向。Email: tcvmchenwu@Hotmail.com

treated separately, and the BBB limb motor function score or Nissl staining of spinal cord tissue was observed at different time points to observe the changes of nerve cell Nissl bodies, as well as side effects and mortality. **Results** 1) BBB scores showed an upward trend in all groups after treatment, while on the third day and seventh day in the EA + MP group, the average BBB scores of hindlimbs of the compression side were significantly higher than those of the EA group and the MP group ($P < 0.05$). Moreover, on the 14th day, each group was significantly higher than the Model group ($P < 0.05$) and was close to the Sham group ($P > 0.05$). (2) Nissl staining showed that, compared with the levels in the model group, the damage of nerve cells in each treatment group was mild, and the number of Nissl bodies was high. The average BBB scores of EA + MP group was superior to the other two groups in Nissl bodies protection. (3) The incidence of side effects was 30% in the MP group, 4.16% in the EA + MP group, and 0% in the EA group. The mortality rate in the MP group was 20%, while that in the EA + MP and EA groups was 0%. **Conclusions** The three treatment regimens increase the number of Nissl bodies to varying degrees, maintain neuronal cell morphology, and improved limb motor function in rats with intervertebral disc extrusion for 24 h (more than the time window for methylprednisolone sodium succinate). Among the regimens, EA + MP has the best effect, significantly reduce the side effects and mortality rate of MP therapy, and produce a better curative effect than EA alone.

【Keywords】 intervertebral disc extrusion; Nissl body; electroacupuncture; methylprednisolone sodium succinate; rat

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

甲泼尼龙琥珀酸钠 (methylprednisolone sodium succinate, MPSS, 甲强龙) 作为一种强效的甾体类抗炎药, 常被用于临床治疗急性脊髓损伤性炎症。但是, 对其在椎间盘脱出治疗中的有效性见解不一, 对损伤超过 8 h 的有效性多为否定意见^[1-2]。我们在兽医临床通过大量的案例观察到, 电针联合甲强龙对犬的椎间盘脱出疗效显著, 即使发病超过 48 h 甚至一周以上的患犬的恢复过程也明显快于单独使用甲强龙或单独电针组。针灸的基本作用原理是调动调节机体固有机能, 电针是否通过某种机制与甲强龙产生协同作用需要进一步研究。为此, 本试验以大鼠为模型, 观察了电针联合甲强龙组 (EA + MP), 单独电针组 (EA) 和甲强龙组 (MP) 对运动机能、脊髓神经细胞尼氏小体的影响和副作用的发生率等, 以期临床运用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

清洁级 SD 大鼠 112 只, 雌雄不限, 体重 (200 ± 20) g, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司【SCXK (京) 2014 - 0004】, 饲养于北京农学院动物科楼九层屏障环境中【SYXK (京) 2015 - 0004】, 保证供给实验动物充足的饮水与食物, 环境温度 (24 ± 2) °C, 湿度 50% ~ 70%。本实验得到北京农学院动物伦理委员会许可 (伦理审查批准编号: 2012 - 0611)。

1.1.2 主要试剂及仪器设备

显微镊 (上海金钟手术器械厂, WT3080); 自制

硅胶垫片 (长 4 mm、宽 2 mm、厚 1 mm, 取材于 6Fr 无菌双腔导尿管, CREATE MEDIC CO., LTD., 日本); 电针仪 (北京欣东华电子仪器有限公司, WQ-6F); 针灸针 (苏州天协针灸器械有限公司, 0.2 mm × 25 mm); 组织脱水机 (上海徕卡仪器有限公司, EG1150H); 石蜡包埋机 (上海徕卡仪器有限公司, EG1160); 石蜡切片机 (上海徕卡仪器有限公司, RM2235); 展片机 (天津天利航空机电有限公司, ZPJ-1 A); 倒置荧光显微镜 (Olympus, RE-3000); 多赖处理防脱片 (北京中杉金桥生物技术有限公司, 17010501); 尼氏染液 (上海碧云天生物技术有限公司, C0117); 戊巴比妥钠 (Sigma, 57-33-0); 无水乙醇 (北京化工厂, 20170216); 二甲苯 (北京化工厂, 20170216); 中性树胶 (上海标本模型厂, 规格: 100 g/瓶)。

1.2 方法

1.2.1 分组

大鼠常规饲养适应 1 周后开始试验, 随机分为分别为假手术 Sham 组 (20 只)、模型 Model 组 (20 只)、甲强龙 MP 组 (24 只), 电针 EA 组 (24 只), 电针联合甲强龙 EA + MP 组 (24 只)。各组按取样时间点分 4 个亚组。

1.2.2 模型制备及穴位选取

大鼠椎间盘模型参照卢知松等的方法制作^[3]。腹腔注射戊巴比妥 (50 mg/kg), 胸腰结合处背正中中线部位剃毛、消毒, 背侧做 2 cm 切口切开第一腰椎 (L1) 至第二腰椎 (L2) 处, 钝性分离肌肉组织, 剥离背最长肌和多裂肌, 至完全暴露 L1 与 L2 之间相连

接的关节突,用咬骨钳于 L1 和 L2 椎间孔避开神经根及血管,分别向前向后各咬掉 L1 及 L2 侧椎板的 1/2,暴露脊髓。Model 组、MP 组、EA 组和 EA + MP 组大鼠用自制硅胶片 (4 mm × 2 mm × 1 mm) 填塞入胸腰椎结合部脊髓腹侧,Sham 组不填塞,生理盐水冲洗创口并清理残留血液,切口逐层常规缝合。术后按分组分笼饲养,完全清醒后不做任何处理饲养 24 h 后进行 Basso、Beattie and Bresnahan (BBB) 评分, BBB 评分压迫侧后肢介于 0 - 2 分、对侧后肢介于 0 - 10 分者,纳入实验,随机分组,评分不符合实验要求者做淘汰处理,数量不足组进行补齐。

EA 组及 EA + MP 组进行电针治疗所选穴位:左右膀胱俞;左右足三里、趾间。分别接电针仪,连续波,频率 2 Hz、输出以每只大鼠所能耐受最大强度为准,每天 1 次 20 min,至取样时间进行取样。

1.2.3 处理方法

各组大鼠造模后常规饲养 24 h 开始相应处理,记为实验第 0 天。

(1) Sham 组

仅暴露脊髓,不填塞垫片,术后常规饲养,不做任何处理。

(2) Model 组

暴露脊髓并填塞垫片,造成椎间盘脱出大鼠模型,压迫程度符合实验要求者入组,常规饲养不做任何处理。

(3) EA + MP 组

暴露脊髓并填塞垫片,造成椎间盘脱出大鼠模型,压迫程度符合实验要求者入组,于实验第 0 天开始先电针 20 min,后给甲强龙按 30 mg/kg 剂量腹腔注射给药,实验第 1 天仍先电针 20 min 后再次给药,第 2 天开始每日仅针灸;

(4) EA 组

暴露脊髓并填塞垫片,造成椎间盘脱出大鼠模型,压迫程度符合实验要求者入组,于实验第 0 天开始,每日针灸 1 次,每次电针 20 min。

(5) MP 组

暴露脊髓并填塞垫片,造成椎间盘脱出大鼠模型,压迫程度符合实验要求者入组,于实验第 0 天开始,按 NASCIS III 所述给药方案^[4],采用 30 mg/kg 腹腔注射,1 ~ 48 h 内选取 4 个时间点按 5.4 mg/(kg·h) 药量腹腔注射给药。

1.2.4 实验大鼠 BBB 评分

对大鼠实施造模手术 24 h 后,采用 BBB 评分法^[5]对大鼠双后肢运动情况进行观察与评价。实验过程中保证同一实验员每天采用大鼠 BBB 运

动机能评分方法,于实验开始第 0 天对大鼠左、右后肢分别评分。BBB 评分总分 21 分,得分越高运动机能越好。

1.2.5 实验大鼠脊髓神经元病理变化观察

各组大鼠于相应时间点(实验第 1、3、7、14 天)腹腔注射戊巴比妥 (50 mg/kg),呈 U 型剪开胸部,暴露心脏、剪破左心房,主动脉弓处插入 0.7 × 25 TWLB 静脉输液针,0.9% 生理盐水快速灌注直至肝脏发白。于冰盒上快速剪下脊髓压迫部位,正中向头 0.3 cm 用于尼氏染色,置于 4% 多聚甲醛缓冲液中固定后 4℃ 冰箱备用,向尾侧 0.5 cm 置于 -80℃ 冰冻保存用于其他检测。用于尼氏染色段脊髓经脱水、透明、透蜡、包埋、切片及烘干等步骤制备石蜡切片,层厚 5 μm。常规切片脱蜡至水,尼氏染液室温下染色 3 ~ 10 min,取出切片,蒸馏水快速冲洗后常规脱水、透明、封片,显微镜下观察脊髓神经元尼氏小体,并于 400 倍镜下拍照。

1.2.6 大鼠活跃度及安全性观察

每日安排同一位观察人员对各组大鼠的活跃度及体况进行观察、评分。

对大鼠的活跃度进行评分(1 - 4 分),评分标准为:1 分:大鼠萎靡、蜷缩、对外界环境反应弱、进食进水减少;2 分:大鼠不爱运动、进食进水正常;3 分:大鼠机警、主动进食进水、偶尔活动;4 分:大鼠活泼、爬笼子玩耍、互相打闹。

对大鼠体况进行观察记录:观察、记录大鼠是否出现如血尿、抽搐等异常症状,并对其发生率进行计算。

1.3 统计学方法

应用 GraphPad Prism 5 软件对实验数据进行统计学处理,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用双因素方差分析方法进行分析,组间两两比较采用 Bonferroni 检验, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠 BBB 运动功能评分

BBB 评分结果如图 1,术后各时间点,Model 组大鼠运动功能评分均显著降低,与 Sham 组比较差异有显著性 ($P < 0.05$)。治疗 3、7、14 d 时间点,MP 组、EA 组、EA + MP 组大鼠左右后肢肢体运动功能评分均有所升高。

对左后肢(压迫侧) BBB 评分数据进行分析:EA + MP 组 3、7 d 时与 EA 组、MP 组比较差异有显著性 ($P < 0.05$)。EA + MP 组 7、14 d 时与 Sham 组水平接近 ($P > 0.05$);MP 组、EA 组 14 d 时与 Sham

组水平接近 ($P > 0.05$); Model 组在全部时间点均与 Sham 组相比差异有显著性 ($P < 0.05$)。EA + MP 组与 EA 组在 3、7、14 d 时与 Model 组比较差异有显著性 ($P < 0.05$); MP 组在 7、14 d 时与 Model 组比较差异有显著性 ($P < 0.05$)。

对右后肢(非压迫侧) BBB 评分数据进行分析: EA + MP 组 3、7 d 时与 MP 组比较差异有显著性 ($P < 0.05$)。EA + MP 组、EA 组在 3、7、14 d 时与 Sham 组水平接近 ($P > 0.05$); MP 组在 14 d 时与 Sham 组水平接近 ($P > 0.05$); Model 组各时间点与 Sham 组比较均差异有显著性 ($P < 0.05$)。EA + MP 组、MP 组在 1、3、7、14 d 时与 Model 组相比差异有显著性 ($P < 0.05$); EA 组在 3、7、14 d 时与 Model 组相比差异有显著性 ($P < 0.05$)。

以上结果表明,三组治疗组均能不同程度改善椎间盘脱出发生 24 h 后大鼠的肢体运动功能,其中电针联合甲强龙组在起效时间及改善程度上均优于甲强龙组及电针组。(见图 1)

2.2 尼氏染色观察各组大鼠脊髓组织神经细胞变化结果

染色结果显示: Sham 组(图 2-E)神经元形态正常,尼氏小体数量较多,着色均匀,胞体呈蓝紫色染色。1 d 的 Model 组(图 2-A1)神经细胞数量减少,胞体皱缩,细胞结构受损,部分细胞和周围尼氏小体破碎消失; EA + MP 组(图 2-B1)、EA 组(图 2-C1)、MP 组(图 2-D1)均有部分神经细胞肿胀破碎,尼氏小体消失,其中 EA + MP 组相比其他各组损伤程度最轻,损伤的神经细胞数量较少,仍保留较多形态结构正常的神经元细胞; 3 d 的 Model 组(图 2-A2)神经细胞损坏明显,细胞核周边尼氏小体破碎消失,细胞质染色不明显; EA + MP 组(图 2-B2)相比其他各组保留的正常神经元细胞最多; EA 组(图 2-C2)及 MP 组(图 2-D2)细胞形态略好于 Model 组(图 2-A2), EA 组可见神经元胞体肿胀、尼氏小体空泡化、细胞质染色变浅; MP 组神经元胞体萎缩,尼氏小体数量减少,细胞质染色变浅; 7 d 的 Model 组(图 2-A3)可见损伤区神经元大量坏死,胞体肿胀、出现空泡样细胞,尼氏染色较浅,视野内可见胶质细胞增生; EA + MP 组(图 2-B3)神经元数量增加,少有细胞破损,部分尼氏小体减少,细胞质深染; EA 组(图 2-C3)及 MP 组(图 2-D3)正常神经元数量、尼氏小体染色深度均优于 3 d 时,仍有部分神经元胞体肿胀破损,尼氏小体染色深度均介于模型组与电针联合甲强龙组之间,二者间甲强龙组神经元形态较好; 14 d 时,除 Model 组(图 2-A4)神经细胞损坏

严重,尼氏小体破碎消失染色变浅之外,其他各组正常神经元数量虽仍少于 Sham 组(图 2-E),但均有不同程度增加,其中 EA + MP 组(图 2-B4)神经细胞形态较正常,尼氏小体数量明显增多,且核仁、尼氏小体清晰可见,着色均匀。

可见,椎间盘脱出 24 h 后给予电针联合甲强龙治疗、电针治疗或甲强龙治疗均可不同程度降低神经细胞损伤、防止细胞肿胀、尼氏小体破碎消失,其中电针联合甲强龙疗法效果最佳,能够较好的改善神经细胞形态,增加尼氏小体数量,进而提高神经细胞功能活性。见图 2。

2.3 安全性及活跃度观察

对各组大鼠的安全性进行观察记录: 甲强龙组出现副作用大鼠共 9 只,其中 3 只出现血尿(未死亡)、6 只不明原因死亡,部分死亡前抽搐,最终甲强龙组一共消耗 30 只,副作用发生率 30%,死亡率 20%; 电针联合甲强龙组 1 只出现血尿(未死亡),副作用发生率 4.16%,死亡率 0; 电针组副作用发生率 0,死亡率 0。

对各组大鼠活跃度进行观察评分: 电针联合甲强龙组 3.8 分,电针组 3.6 分,甲强龙组 1.5 分。甲强龙组存活大鼠整体消瘦,精神状态一般,安静; 另外两组针灸大鼠整体状态活跃,体态丰满,恢复行走的大鼠,大多有打闹、爬笼子等行为,表明电针治疗或电针联合甲强龙治疗可降低其不适感,有效改善椎间盘脱出大鼠生活质量,且副作用发生率相比甲强龙组明显降低。

3 讨论

椎间盘脱出致病的本质是从纤维环脱出到椎管的髓核压迫脊髓造成的急性脊髓损伤。急性脊髓损伤包括原发性和继发性损伤两个主要阶段。直接损伤作用于神经元和神经胶质细胞的同时也造成缺血、缺氧等继发性,引发一系列的生化级联反应导致组织损伤范围不断扩大^[6-7],同时发生邻近神经元和胶质细胞凋亡、坏死。所以在发生椎间盘脱出后,如何有效减缓原发性和继发性损伤是治疗的关键。

甲强龙(MPSS)被认为具有改善神经传导兴奋、促进脊髓血液循环、减少脂质过氧化反应、稳定细胞膜通道、促进钙离子外流、抑制伤后儿茶酚胺水平增高,抑制损伤局部白细胞介素类物质释放,从而达到减缓脊髓水肿、炎症反应的效果^[8-9],因此在脊髓损伤的治疗中广受期待。美国急性脊髓损伤研究会(NASCIS)给出了使用甲强龙的推荐标

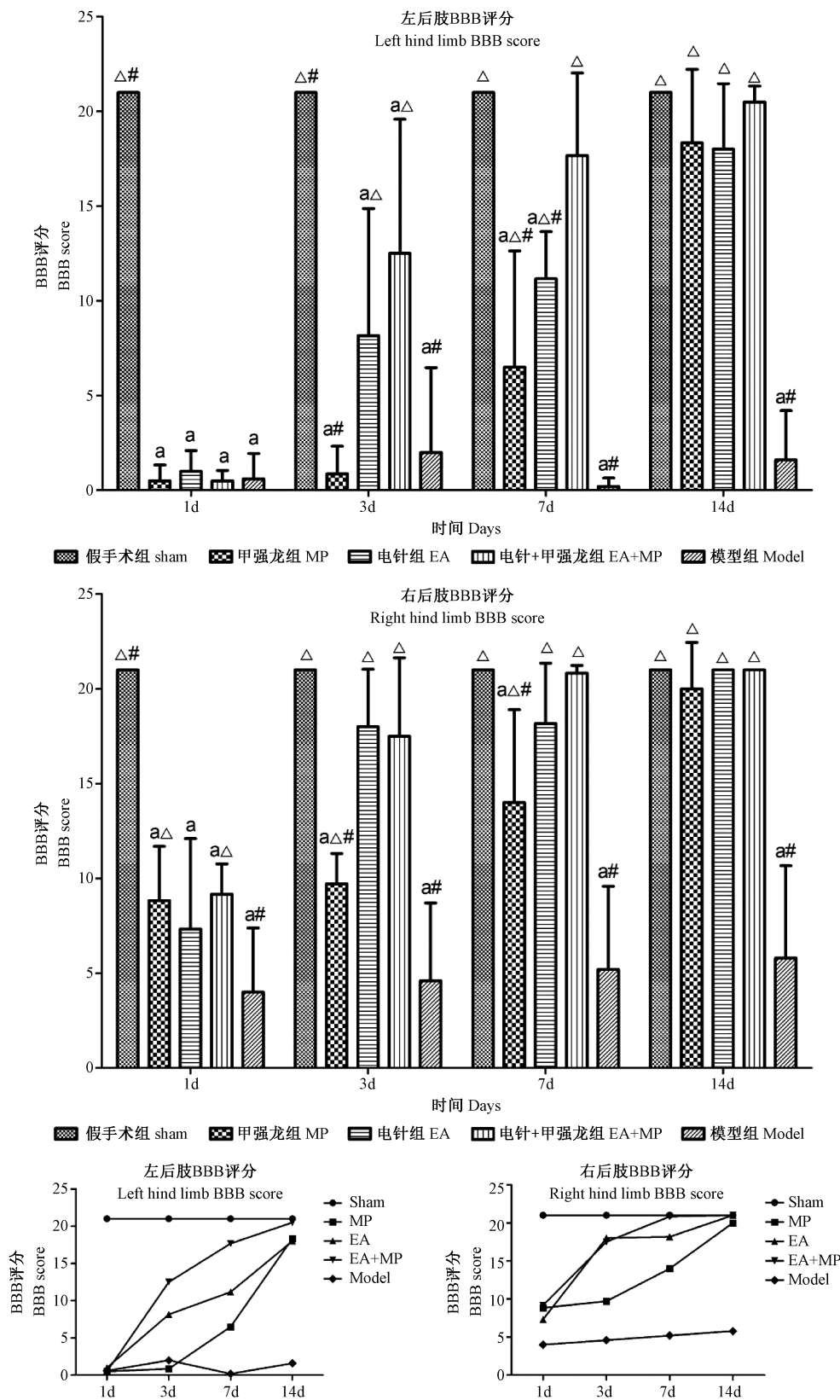
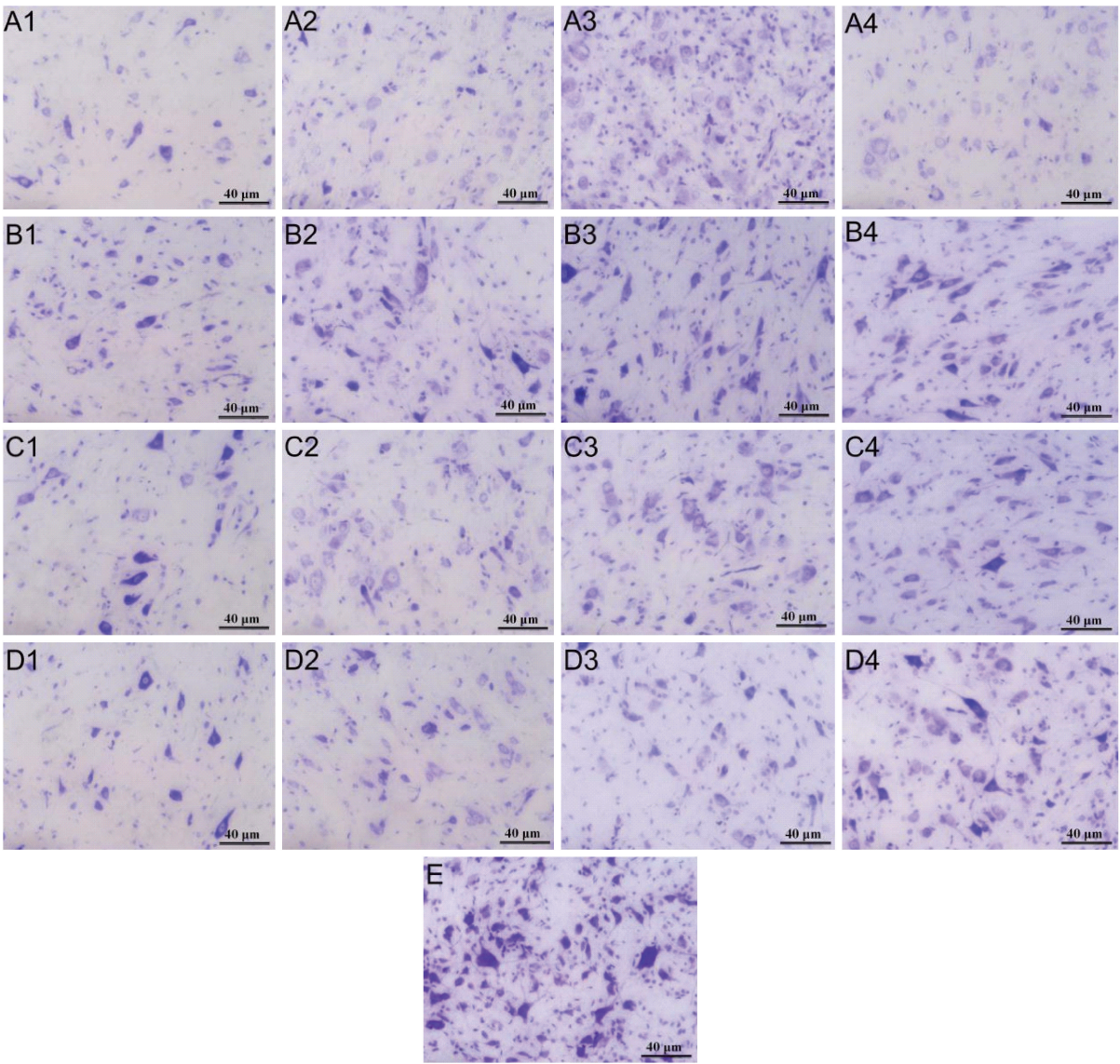


图 1 各组大鼠左后肢、右后肢运动功能评分比较

Note. Compared with the Sham group, ^a $P < 0.05$. Compared with the Model group, [△] $P < 0.05$. Compared with EA + MP group, [#] $P < 0.05$.

Figure 1 Motor function scores of left and right hindlimbs in the rat models of intervertebral disc extrusion



注:A. Model 组,B. EA + MP 组,C. EA 组,D. MP 组,E. Sham 组;1. 1 d 时间点,2. 3 d 时间点,3. 7 d 时间点,4. 14 d 时间点。

图2 各组大鼠脊髓组织神经细胞变化(Nissl 染色, × 40)

Note. A. Model group, B. EA + MP group, C. EA group, D. MP group, E. Sham group. 1. 1 d, 2. 3 d, 3. 7 d, 4. 14 d.

Figure 2 Using Nissl staining to observe Nissl bodies of each group (× 40)

准^[4,10-11],但其有效作用时间规定为损伤 8 h 内,且需注意引起的副作用。大量文献记载 MPSS 的使用可能增加感染风险^[2,4,10-12],相似的情况也发生在动物上,多项研究还表明使用糖皮质激素的患犬出现胃肠道出血和溃疡的风险较高^[13-14],而兽医临床上大量的病例多在发病 1 d 后,甚至几天后才会就诊,给甲强龙的使用带来极大的困惑。

然而,我们在临床中对经过核磁确诊的 44 例椎间盘脱出引起的 1-5 级瘫痪犬,采用了以电针为主,早期结合甲强龙短时间的冲击疗法(先电针 20 min 后即刻,30 mg/kg,1 h 内静注,连用 2 d),其中 41 例患犬在 2 周内不同程度恢复行走,该数据表

明,电针联合甲强龙方法对于恢复 IVDD 患犬行走能力的有效率超过 93%,显示了极高的临床价值。

犬椎间盘脱出属“痿症”的范畴,脊髓气血的不足或气滞血瘀是该病的基本病理^[15-16],针灸疗法理应最为对症。我们之前的研究通过临床病例和动物模型证明电针治疗可在压迫持续存在下改善脊髓的血液循环^[3],恢复临床患犬和模型犬的神经机能和运动机能,并长期保持稳定^[17],说明解除脊髓压迫并非治疗椎间盘脱出导致瘫痪的必须条件。这些动物试验的结果,无可辩驳地证明针灸疗效的客观性,而绝不是所谓的主观性“心理安慰”作用;这点在本研究的大鼠运动机能的 BBB 评分也得到

再次证明(图 1)。

尼氏小体为神经元胞体或树突内大的嗜碱性团块和颗粒,是神经元合成蛋白质的主要场所。尼氏小体大而数量多,表明神经细胞合成蛋白质功能较强。本研究观察到 EA + MP 组尼氏小体的形态和数量显著优于对照组,且甲强龙的副作用发生率仅为 4.16%。提示电针联合甲强龙具有增强保护神经细胞形态、增加尼氏小体数量,进而改善肢体运动机能,且有效降低甲强龙副作用发生率,提高动物生存质量的功效。这一作用,可能与电针迅速改善脱出模型受压脊髓的微循环,增强损伤局部甲强龙的输送与疗效的发挥有关。

研究表明,对椎间盘脱出超过 8 h(即超过甲强龙最佳治疗时间窗)后的病例,采用电针联合甲强龙进行治疗为有效治疗方案,建议临床参考使用。

参 考 文 献(References)

- [1] Ito Y, Sugimoto Y, Tomioka M, et al. Does high dose methylprednisolone sodium succinate really improve neurological status in patient with acute cervical cord injury?: a prospective study about neurological recovery and early complications[J]. Spine, 2009, 34(20):2121.
- [2] Pointillart V, Petitjean ME, Wiart L, et al. Pharmacological therapy of spinal cord injury during the acute phase[J]. Spinal Cord, 2000, 38 (2): 71 - 76.
- [3] 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(05):381 - 386
Lu ZS, Chen YS, Jiang DX, et al. Changes of the spinal cord blood flow in rat models of intervertebral disc extrusion and the effect of electroacupuncture[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2011, 19(05):381 - 386
- [4] Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR, et al. Administration of methylprednisolone for 24 or 48 hours or tirilazad mesylate for 48 hours in the treatment of acute spinal cord injury. Results of the Third National Acute Spinal Cord Injury Randomized Controlled Trial. National Acute Spinal Cord Injury Study [J]. JAMA, 1997, 277 (20): 1597 - 1604.
- [5] Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU weight-drop device versus transection[J]. Exp Neurol, 1996, 139 (2): 244 - 256.
- [6] Bains M, Hall ED. Antioxidant therapies in traumatic brain and spinal cord injury[J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1822 (5): 675 - 684.
- [7] Olby NJ, Sharp NJ, Munana KR, et al. Chronic and acute compressive spinal cord lesions in dogs due to intervertebral disc herniation are associated with elevation in lumbar cerebrospinal fluid glutamate concentration [J]. J Neurotrauma, 1999, 16 (12): 1215 - 1224.
- [8] Forgiione N, Fehlings MG. Rho-ROCK inhibition in the treatment of spinal cord injury[J]. World Neurosurg, 2014, 82 (3 - 4): e535-e539.
- [9] Qu Y, Zhao J, Wang Y, et al. Silencing ephrinB3 improves functional recovery following spinal cord injury [J]. Mol Med Rep, 2014, 9 (5): 1761 - 1766.
- [10] Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, et al. A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal-cord injury. Results of the Second National Acute Spinal Cord Injury Study[J]. N Engl J Med, 1990, 322 (20): 1405 - 1411.
- [11] Bracken MB, Collins WF, Freeman DF, et al. Efficacy of methylprednisolone in acute spinal cord injury [J]. JAMA, 1984, 251 (1): 45 - 52.
- [12] George ER, Scholten DJ, Buechler CM, et al. Failure of methylprednisolone to improve the outcome of spinal cord injuries [J]. Am Surg, 1995, 61 (8): 659 - 663, 663 - 664.
- [13] Moore RW, Withrow SJ. Gastrointestinal hemorrhage and pancreatitis associated with intervertebral disk diseases in the dog [J]. J Am Vet Med Assoc, 1982, 180 (12): 1443 - 1447.
- [14] Davies M. Pancreatitis, gastrointestinal ulceration and haemorrhage and necrotising cystitis following the surgical treatment of degenerative disc disease in a dachshund[J]. Vet Rec, 1985, 116(15):398 - 399.
- [15] 陈武, 吴英伟, 郭泽领, 等. 中国畜牧兽医学会 2003 年学术年会论文集(小动物医学分册), 中国北京:中国畜牧兽医学会 2003 年学术年会, 2003:4.
Chen W, Wu YW, Guo ZL, et al. Chinese Association of Animal Science and Veterinary Medicine 2003 Annual Proceedings (Small animal medicine fascicule) [C]. Beijing, China: Chinese Association of Animal Science and Veterinary Medicine 2003 Annual Conference, 2003:4.
- [16] 陈武. 犬椎间盘病防治[J]. 中国动物保健, 2003(09):48 - 49.
Chen W. Prevention and treatment of canine intervertebral disc disease[J]. Chin Anim Health, 2003, (09):48 - 49.
- [17] 李拓, 丛心宇, 孔学礼, 等. 比格犬胫神经皮层体感诱发电位正常值研究[J]. 中国农学通报, 2017, 33(5):112 - 115.
Li T, Cong XY, Kong XL, et al. Normal value of tibial nerve somatosensory evoked potentials in beagle dogs[J]. Chin Agric Bull, 2017, 33 (5):112 - 115.

[收稿日期] 2018 - 07 - 15