

马唯刚,潘兴芳,邱继文,等. 智能针灸机器人针刺可行性及安全性评价实验动物平台建立的探索 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(5): 600-609.

MA W G, PAN X F, QIU J W, et al. Establishment of an experimental animal platform for evaluating the feasibility and safety of intelligent acupuncture robotic acupuncture [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(5): 600-609.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.05.007

智能针灸机器人针刺可行性及安全性评价 实验动物平台建立的探索

马唯刚¹, 潘兴芳¹, 邱继文¹, 高卫芳¹, 张永龙¹, 董钰格¹, 唐瑜紫¹,
任海燕^{1,2,3,4*}, 李忠正¹

(1. 天津中医药大学针灸推拿学院, 天津 301617; 2. 天津市现代中医理论创新转化重点实验室, 天津 301617;
3. 天津市智慧中医产业学院, 天津 301617; 4. 天津市智能中医诊疗技术与装备重点实验室, 天津 301617)

【摘要】 目的 本研究旨在探索智能针灸机器人针刺可行性及安全性评价的实验动物平台, 为后续进一步开展研究奠定基础。**方法** 将 6 只 2 月龄广西巴马小型猪作为实验对象, 进行麻醉后针刺验证。首先进行人工针刺验证, 每只实验动物选取 6 个穴位, 行提插捻转手法后留针 20 min, 并进行自身前后对照。实验共进行 28 d, 每 2 d 进行 1 次实验, 共 10 次。人工针刺验证后在已选 6 个穴位的基础上每个穴旁 10 mm 处取一点, 共 12 点, 使用针灸机器人智能针刺模块对实验动物进行不同频率及角度的针刺操作进一步验证动物平台的稳定性及可行性。**结果** 血常规中安全性相关指标均无异常, 较自身前后对比稳定。血生化指标无异常, 较自身前后对比稳定。在实验全程监测中动物的平均心率为每分钟 124 次。动物的平均血压为 87/36 mmHg。巴马小型猪在室温 25 °C 下的平均体温为 36 °C。体温在实验过程中及实验前后均无明显变化。在搭建的实验平台基础上, 针灸机器人智能针刺模块针刺手法操作预实验均顺利完成, 实验过程中未出现针刺相关异常情况如弯针、断针、滞针等, 实验动物未出现明显异常。**结论** 本研究借鉴了已有的小型猪实验方法, 初步建立起了稳定的智能针灸机器人针刺可行性及安全性评价实验动物平台, 为进一步智能针灸机器人的相关研究开展奠定基础。

【关键词】 智能针灸机器人; 智能针刺模块; 实验动物平台; 巴马小型猪; 安全性评价

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2024) 05-0600-10

Establishment of an experimental animal platform for evaluating the feasibility and safety of intelligent acupuncture robotic acupuncture

MA Weigang¹, PAN Xingfang¹, QIU Jiwen¹, GAO Weifang¹, ZHANG Yonglong¹, DONG Yuge¹,
TANG Yuzi¹, REN Haiyan^{1,2,3,4*}, LI Zhongzheng¹

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, School of Acupuncture-Moxibustion and Tuina, Tianjin 301617, China; 2. Tianjin Key Laboratory of Modern Chinese Medicine Theory of Innovation and Application, Tianjin 301617, China; 3. the Construction Unit of Tianjin Modern Industry College Intelligent Traditional Chinese Medicine Industry College, Tianjin 301617, China; 4. Tianjin Key Laboratory of Intelligent TCM Diagnosis and Treatment Technology and Equipment, Tianjin 301617, China)

Corresponding author: REN Haiyan. E-mail: rhyxiaotong@163.com

【基金项目】 国家重点研发计划项目 (2022YFB4703104)。

Funded by National Key R & D Program Project (2022YFB4703104)。

【作者简介】 马唯刚, 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 中医智能化, 针灸机器人。Email: ianvd7@163.com

【通信作者】 任海燕, 女, 博士, 讲师, 研究方向: 内经理论创新转化应用研究, 智慧中医, 中医标准化。Email: rhyxiaotong@163.com

[Abstract] Objective This study aimed to develop an experimental animal platform for evaluating the feasibility and safety of intelligent acupuncture robots and to lay the foundation for further research. **Methods** Six 2-month-old Guangxi Bama miniature pigs were used as experimental subjects for acupuncture verification after anesthesia. First, manual acupuncture verification was carried out. Six acupoints were selected for each experimental animal and the needles were left for 20 min after the lifting, inserting, and twisting manipulation. Before and after controls were included. The experiment was carried out for 28 days, and each experiment was conducted once every 2 days for a total of 10 times. After verification of manual acupuncture, a point 10 mm from each of the six selected acupoints was selected, with a total of 12 points, and acupuncture operations were carried out on the experimental animals using the intelligent acupuncture module of the acupuncture robot at different frequencies and angles, to further verify the stability and feasibility of the animal platform. **Results** Routine safety-related blood indicators and blood biochemistry indicators after the procedure were normal and stable compared with those before the procedure. The average heart rate of the animals was 124 beats/min, the average blood pressure was 87/36 mmHg, and the average body temperature of was 36 °C at a room temperature of 25 °C, with no significant change in body temperature during and after the experiment. On the basis of this experimental platform, acupuncture manipulation using the intelligent acupuncture module of the acupuncture robot was completed successfully, with no abnormalities related to acupuncture such as bending, breaking, or stagnation of needles during the experimental process, and the experimental animals showed no obvious abnormalities. **Conclusions** This study established a stable experimental animal platform for evaluating the feasibility and safety of acupuncture carried out by intelligent acupuncture robots, based on the existing experimental method of miniature pigs. These result lay a foundation for further research related to the use of intelligent acupuncture robots.

[Keywords] intelligent acupuncture robot; intelligent acupuncture module; experimental animal platform; Bama miniature pig; safety evaluation

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

随着人工智能、信息通信技术、微电子技术以及多领域交叉融合,智能机器人技术正在快速发展。2023 年发布的《中医药振兴发展重大工程实施方案》中提出要推动实施中医药现代化关键技术装备项目,通过中医与现代科技结合解决目前基层居民优质医疗不足、人口老龄致医疗压力增加、重大传染病防控需求增加、中医诊疗客观化水平有限等问题,智能机器人与中医的结合势在必行^[1]。智能针灸机器人可实现专家手法复刻,实现针灸专家针刺手法的传承,对解决目前基层临床医疗机构优质资源及技术的缺乏等问题有巨大价值。国内已研发了中医类机器人,如艾灸机器人、按摩机器人,但其缺乏安全可靠的操作规范和标准体系^[2],在应用方面也存在诸多挑战^[3]。

本团队承担 2022 年国家科技部智能针灸机器人重点研发项目,其中智能针灸机器人可行性及安全性的验证是至关重要的环节,是进一步实现智能装备的研发及投入临床应用的基础。根据智能针灸机器人研发的需要,在其进入临床实验前需开展动物实验,完成基于动物实验的智能针灸机器人可行性及安全性评价。可行性及安全性验证两者密切相关,安全性验证建立在可行性验证的基础之

上,安全性验证同时存在于可行性验证之中,建立可靠的实验动物平台是完成可行性验证并进行安全性评价的核心内容。目前涉及可行性及安全性评价的动物平台在药物相关实验中较为成熟,如大鼠、小鼠、斑马鱼、家兔、灵长类动物等^[4-6],但关于智能针灸机器人针刺可行性及安全性评价动物平台尚缺乏。建立可靠的用于验证智能机器人的实验动物平台十分关键。

根据本项目的研究目的,需选择与人体结构相似的动物作为智能针灸机器人针刺手法操作可行性及安全性验证的实验动物,而小型猪在解剖学、生理学、血液学、罹患疾病类型等方面都与人类极其相似^[7-8],并且在医学各个不同领域的研究中有详实的实验资料记载,如皮肤病^[9]、心血管疾病^[10]、代谢性疾病^[11]等,是智能针灸机器人理想的针刺可行性及安全性评价实验动物^[12]。我国的小型猪实验于 20 世纪 80 年代正式开展,虽较欧美国家晚近 40 年,但动物资源相对丰富,培育出的小型猪具有体型小、性成熟早、遗传性状稳定等优点。其中实验动物化培育的小型猪品种包括:巴马小型猪、五指山小型猪、贵州小型猪、西藏小型猪等^[13]。而广西巴马小型猪是在由王爱德等^[14]以广西巴马香猪作

为原始模型,采用闭锁纯繁近交方式,精心选育出的优异实验猪。广西巴马小型猪种成年母猪体重约为 40 kg,成年公猪体重约为 35 kg,体型相对较小,另外广西巴马小型猪性情较为温顺,自身抗病能力强并且对饲养条件的要求低。目前广西巴马小型猪在诸多医学实验领域中都是较为理想的实验动物^[15-16]。

综合广西巴马小型猪遗传稳定、体重轻、生理结构与人类类似、性情温顺、适应性强等诸多因素,本研究选取广西巴马小型猪作为智能针灸机器人可行性及安全性评价的实验动物。本团队结合自身实践探索,通过动物选择、流程优化、平台验证 3 个环节首次建立了适用于智能针灸机器人针刺操作可行性及安全性验证评价的实验动物平台,为进一步开展智能针灸机器人有效性及安全性评价实验奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

实验选取普通级 8 周龄雄性广西巴马小型猪 6 只,体重 10 kg,购于天津市百农实验动物繁育科技有限公司【SCXK(津)2020-0002】,于天津中医药大学实验动物中心【SYXK(津)2020-0005】分笼饲养,

饲养温度 25 ± 2 ℃,湿度 20% ± 2%,12 h/12 h 明暗周期,自由饮食饮水。适应性饲养 7 d 后开始实验。本实验已通过天津中医药大学动物实验伦理审查(IACUC:TCM-LAEC 2023120)。实验过程中对动物的处置严格遵照中华人民共和国科学技术部 2006 年发布的《关于善待实验动物的指导性意见》

1.1.2 主要试剂与仪器

异氟烷(瑞普(天津)生物药业有限公司)、盐酸塞拉嗪注射液(速眠新Ⅱ型)(长沙拜特生物科技有限责任公司)。动物麻醉机(深圳市瑞沃德生命科技有限公司 R580S)、动物监护仪(深圳市瑞沃德生命科技有限公司 RM400S)、一次性无菌针灸针 0.30 mm × 40 mm(苏州医疗用品厂有限公司)、5 mL 一次性无菌注射器(江阴市长强医疗器械有限公司)、1 mL 一次性无菌注射器(江阴市长强医疗器械有限公司)、集尿袋(常州晓春医疗器械有限公司)、一次性静脉采血针(江西瑞邦实业集团有限公司)、采血管(江苏康捷医疗器械有限公司)、离心管(北京兰杰柯科技有限公司)。

1.2 方法

将 6 只 2 月龄广西巴马小型猪作为实验对象,麻醉后进行针刺操作,行提插捻转手法后留针 20 min,并进行自身前后对照。实验共进行 28 d,每 2 d 进行 1 次实验,共 10 次。具体操作流程如图 1。

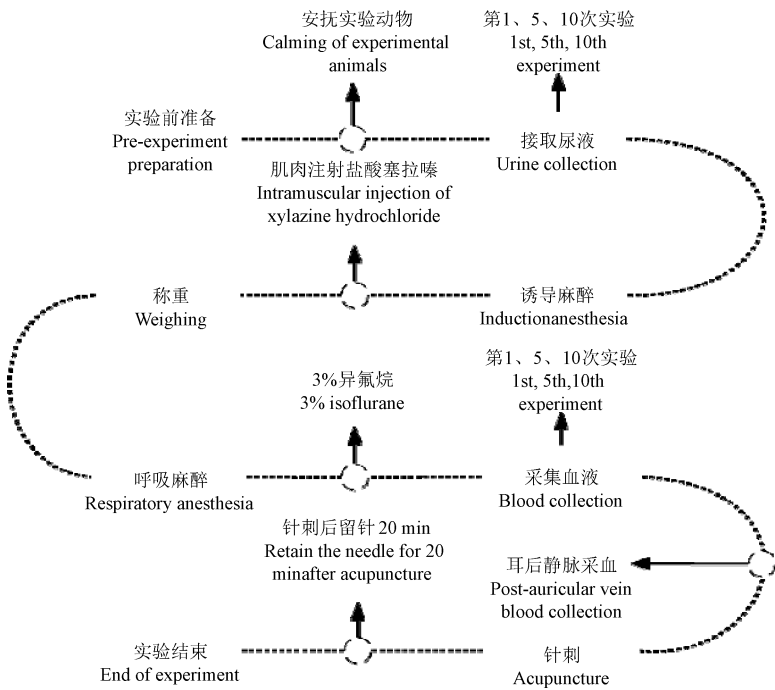


图 1 平台构建流程图

Figure 1 Flowchart of platform construction

1.2.1 实验前准备

麻醉前 1 h 对实验动物进行观察、安抚。

1.2.2 尿液采集

麻醉前 30 min 将动物移出笼中,清洁尿道口并将接尿袋固定在动物尿道口接取尿液。

1.2.3 诱导麻醉

按照 0.15 mL/10 kg 抽取盐酸赛拉嗪对巴马小型猪进行诱导麻醉。麻醉时实验人员双手紧握小型猪后肢抬起使动物悬空,麻醉人员在小型猪臀部肌肉丰厚处快速注射麻醉药品。注射完成后按压针口 5 ~ 10 s。注射完成后将小型猪放回笼中,小型猪出现四肢无力、眼睑下垂、站立不稳时判断麻醉有效。

1.2.4 体重测量

完成诱导麻醉后,助手从笼中抬起动物后肢放置于便携移动装置上(手拉式行李箱),扶持猪身运至称重处。称重前测量助手体重并记录,助手称重后抓起动物后肢进行二次称重并记录。称重完成后将动物放回便携移动装置,运往手术台。

1.2.5 呼吸麻醉

运至手术台后,助手左右手分别提起猪前后肢、另一人托举动物背部,防止脱臼。将动物按侧卧位安置后迅速接入呼吸麻醉面罩,麻醉呼吸机设置潮气量(Vt)10 mL/kg,氧流量 2 L/min,初始异氟烷吸入浓度为 3%。等待动物四肢无力、眼睑反射消失,判断麻醉稳定,稳定后将呼吸麻醉浓度调整为 1.5%。

1.2.6 生命体征监测

将心电监测电极分别贴在动物肢体内侧腋窝下(共 4 个电极),肛温监测头消毒后插入肛门约 3 cm,血氧夹夹至动物耳后静脉。

1.2.7 血液采集

采血前实验人员进行手部消毒,选取动物耳后静脉,局部用 75%乙醇消毒。一手按压血管近心端使血管充盈,另一手准备进针。进针后,出现回血判断进针成功。助手将集血针刀依次插入采血管(抗凝紫色管、血清黄色管),每管取 2 ~ 3 mL。血清管冷藏保存,抗凝管采血后迅速上下颠倒摇匀 10 次,常温保存。采血完毕后迅速拔针,用干棉球按压针口。

1.2.8 针刺操作验证

为验证实验动物平台针刺操作的可行性及安全性,通过人工针刺及智能针灸机器人针刺模块进

行双重验证,同时以人工针刺操作验证流程作为参照,初步观察智能针灸机器人针刺模块在该实验动物平台的应用效果以及操作中是否出现异常情况。

(1)人工针刺操作验证:考虑到人体复杂的生理结构,验证实验分别选取了邻近内脏处、肌肉丰厚处、骨缝处、神经密集处等与人体穴位有一定联系的不同部位的 6 个穴位作为针刺穴位,分别为膊尖、抢风、后三里、小胯、会阳、百会。穴位示意图 2。

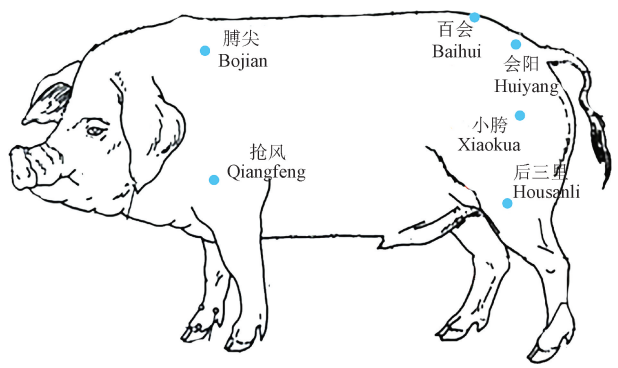


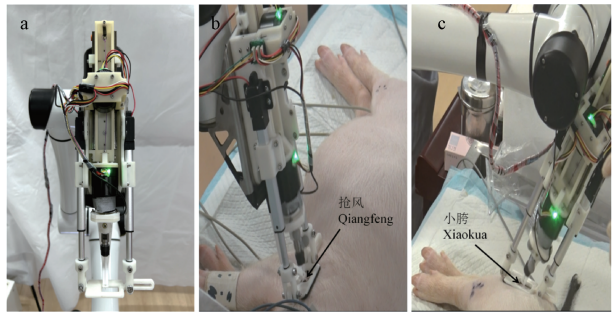
图 2 小型猪穴位图
Figure 2 Acupoints of miniture pig

其中膊尖穴位于肩胛骨前角与肩胛软骨结合部的凹陷中。穴位下是颈部斜方肌,深层有颈和胸的菱形肌、颈腹锯肌,且邻近肺部。抢风穴位于肩关节与肘突连线近中点的凹陷中。穴位局部有臂三头肌,深层有正中和尺神经、胸外神经、胸背静脉桡神经以及肩胛下动脉和静脉。后三里穴位于第三腓骨肌与腓骨长肌之间的肌沟中,膝盖骨外侧后下方约 6 cm 处,即小腿上端外侧腓骨小头下方的凹陷中。穴位下有腓骨第三肌、趾外侧伸肌,深层有腓神经分布。小胯穴位于股骨后缘,大胯穴后下方,坐骨结节至膝盖骨上缘连线之中点处。穴位下有臀二头肌,深部有坐骨神经旋股内动脉支。会阳穴位于荐部,尾骨端旁开 1 cm。穴位下有尾肌以及骨后皮神经。百会穴位于腰荐部,末节腰椎与第一荐椎棘突之间的凹陷处正中。穴位下有臀中肌,深部有脊髓^[17]。

针刺时首先进行穴位(膊尖、抢风、后三里、小胯、会阳、百会)定位,共针刺 6 穴,每穴 1 针,针刺前对穴位局部皮肤进行 75%乙醇消毒。进行针刺操作:膊尖穴斜刺,向后下方斜 45°进针,进针深度为 2.5 ~ 3.0 cm;抢风穴直刺,垂直皮肤 90°进针,进针深度为 2.5 ~ 3.0 cm;后三里穴直刺,垂直皮肤 90°进针,进针深度为 2.5 ~ 3.0 cm;小胯穴斜刺,向后

下方斜 45°进针,进针深度为 3.0 ~ 3.5 cm;会阳穴直刺,垂直皮肤 90°进针,进针深度为 3.0 ~ 3.5 cm;百会穴直刺,垂直皮肤 90°进针,进针深度为 2.5 ~ 3.0 cm。所有穴位针刺到一定深度后均进行捻转、提插手法各 10 次,共 20 次手法。针刺后留针 20 min。针刺结束后用干棉球按压针孔迅速拔针,结束针刺。

(2) 针灸机器人智能针刺模块验证:为初步验证小型猪实验动物平台基于智能针灸机器人针刺的可行性,人工针刺操作验证后,使用针灸机器人智能针刺模块(图 3)进行针刺。在已选 6 个穴位的基础上每个穴旁 10 mm 处取一点,共 12 点对实验动物进行不同频率及角度的针刺操作(考虑到不同穴位的生理结构有一定差异性,故选取邻近每个穴位 10 mm 的点作为额外针刺点)。提插捻转频率设定两档,慢速每分钟 60 次,快速每分钟 120 次。捻转角度设 3 档:60°、180°、360°。



注:a:针灸机器人智能针刺模块;b:抢风穴智能针刺模块针刺测试;c:小膀胱穴智能针刺模块针刺测试。

图3 针灸机器人智能针刺模块及测试
Note. a. Acupuncture robot intelligent acupuncture module. b. Qiangfeng point intelligent acupuncture module acupuncture test. c. Xiaokua point intelligent acupuncture module acupuncture test.

Figure 3 Acupuncture robot intelligent needling module and test

1.3 统计学分析

巴马小型猪在实验中麻醉稳定后,使用心电监测装置进行全程监测,并记录针刺前、针刺后的心电监测数据作为结果评价数据,包括巴马小型猪的心率、收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)、体温。以上数据均使用 Excel 2016 进行整理分析,计算 10 次实验心率、血压及体温的平均值。巴马小型猪的尿常规、血常规及血生化指标均由天津科韵科技有限公司进行检测,使用 Excel 2016 进行数据整理。使用

GraphPad Prism 8.0.2 制作折线图描述 10 次实验的数据变化情况,进行前后自身对比。统计学方法应用 SPSS 20.0 统计软件处理数据,用 One-way ANOVA 进行单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 心电监测

通过 10 次实验全程对巴马小型猪的心率监测(图 4)发现,实验全程平均心率为每分钟 124 次。实验前动物平均心率为每分钟 133 次。在针刺前对实验动物的抓取称重环节,由于动物的情绪紧张、挣扎可能会引起一段时间的心率波动,导致麻醉后的一段时间保持较高的心率,同时肌注盐酸塞拉嗪其药理作用会使动物产生短时间的心率及血压升高。在针刺后动物的平均心率为每分钟 112 次,相较针刺前有所下降,且更加稳定,心率变化均在正常范围内。针刺前心率波动幅度较大,考虑麻醉药理作用及动物应激导致,不代表出现病理性改变。实验前后心率无显著性差异($P > 0.05$)(表 1)。

2.2 体温

在实验的过程中通过对巴马小型猪的体温观察发现(图 4),巴马小型猪在室温 25℃下的体温平均为 36℃。体温在实验过程中无明显的变化,体温变化均在正常范围内且实验前后体温无显著性差异($P > 0.05$)(表 1)。

2.3 血压

在分析 3 只巴马小型猪 10 次实验的血压监测后得到数据(图 5),实验动物的平均血压为 87/36 mmHg。与心率的变化情况类似,在针刺前血压较高,针刺前平均血压为 95/42 mmHg,针刺结束后血压降低,针刺后平均血压为 78/30 mmHg。针刺前血压波动幅度较大,考虑麻醉药理作用及动物应激导致,不代表出现病理性改变。在实验过程中观察到针刺后血压较针刺前稳定,且较针刺前更低。实验前后血压无显著性差异($P > 0.05$)(表 1)。

2.4 血常规结果、血生化结果

实验前后血常规及血生化中的重要值进行前后对比发现白细胞计数(white blood cell, WBC)、红细胞计数(red blood cell, RBC)、血细胞比容(hematocrit, HCT)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)等反应损伤炎症等安全性的

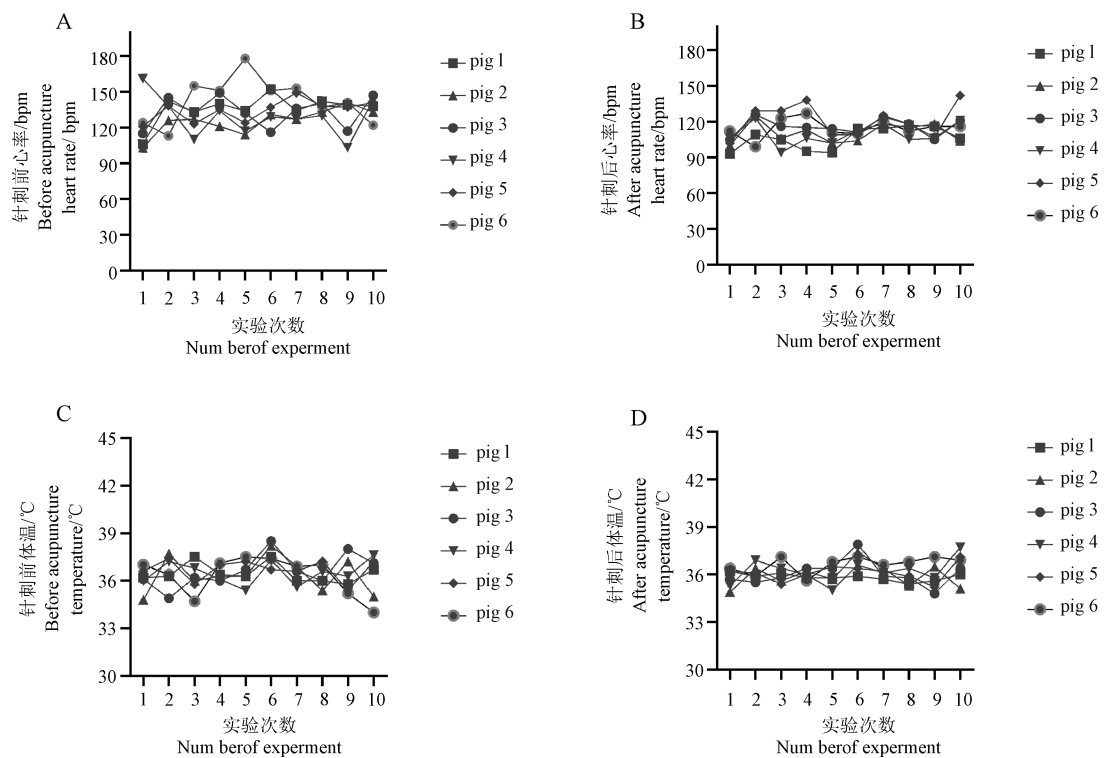


图 4 实验前后巴马小型猪心率及体温

Figure 4 Heart rate and body temperature of Bama miniature pigs before and after the experiment

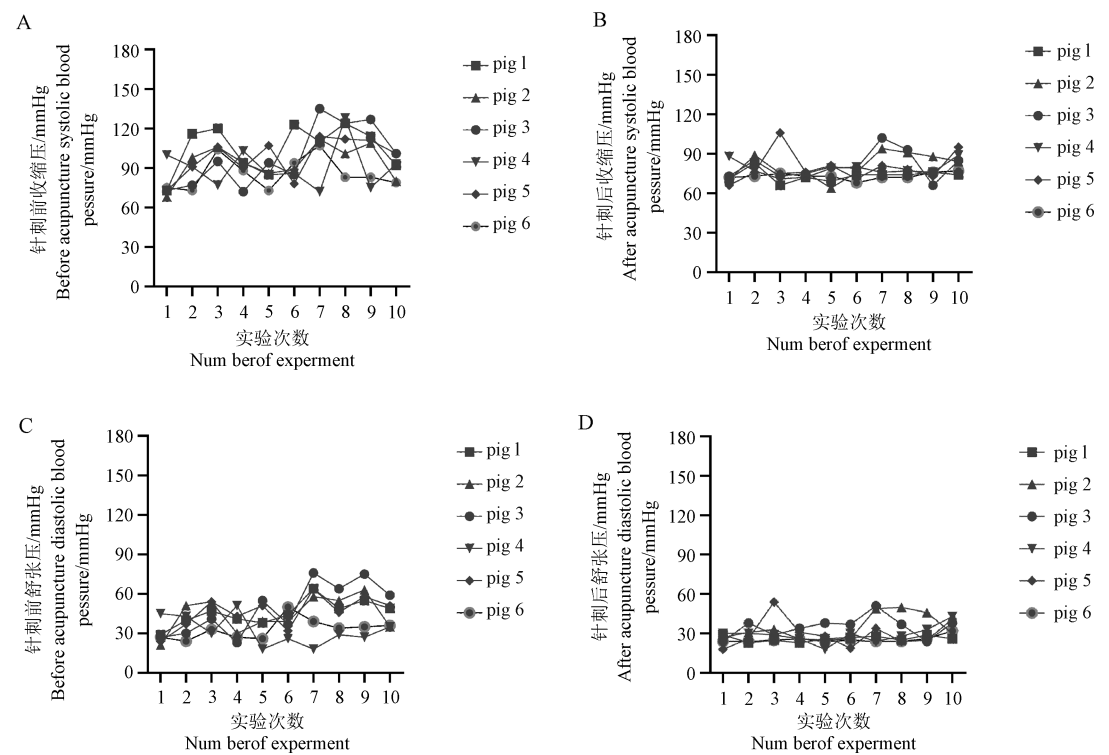


图 5 实验前后巴马小型猪收缩压及舒张压

Figure 5 Systolic and diastolic blood pressure of Bama miniature pigs before and after the experiment

指标均无明显差别($P > 0.05$)(表 1)。

2.5 尿常规结果

实验前后尿常规中尿白细胞、尿蛋白、尿隐血等均为阴性,未见异常情况(表 2)。

表 1 实验前后巴马小型猪生理指标及血常规

Table 1 Physiological indexes and haematological routine of Bama miniature pigs before and after the experiment			
指标 Signs	初次实验(针刺前) First experiment(Before acupuncture)	末次实验(针刺后) Last experimen(After acupuncture)	P 值 P value
心率/bpm HR/bpm	121.7 ± 8.5	116.5 ± 3.7	0.636
收缩压/mmHg SBP/mmHg	77.0 ± 4.7	83.5 ± 3.0	0.238
舒张压/mmHg DBP/mmHg	28.8 ± 3.4	34.8 ± 2.6	0.169
体温/℃ Temperature /℃	36.1 ± 0.3	36.2 ± 0.4	0.850
白细胞计数/(10 ³ /μL) WBC/(10 ³ /μL)	14.1 ± 1.2	11.2 ± 0.7	0.420
红细胞计数/(10 ⁶ /μL) RBC/(10 ⁶ /μL)	6.8 ± 1.1	6.2 ± 1.7	0.971
红细胞压积/% HCT/%	38.3 ± 5.0	31.2 ± 1.2	0.452
平均红细胞体积/fL MCV/fL	52.0 ± 1.9	50.0 ± 1.5	0.578
红细胞平均血红蛋白量/(pg/Cell) MCH/(pg/Cell)	15.0 ± 5.4	14.5 ± 5.7	0.693
平均红细胞血红蛋白浓度/(gHb/dL) MCHC/(gHb/dL)	290.6 ± 2.8	290.0 ± 3.7	0.934
血小板计数/(10 ³ /μL) PLT/(10 ³ /μL)	491.8 ± 82.0	656.7 ± 33.2	0.079
谷草转氨酶/(U/L) AST/(U/L)	54.8 ± 5.8	54.5 ± 4.1	0.974
谷丙转氨酶/(U/L) ALT/(U/L)	92.8 ± 6.8	76.5 ± 14.4	0.280

表 2 实验前后巴马小型猪尿常规

Table 2 Urine routine of Bama miniature pigs before and after the experiment			
尿常规 Urinalysis		1 st	10 th
白细胞 White blood cells	定量 Quantitative	0	0
	定性 Qualitative	—	—
蛋白质 Protein	定量 Quantitative	0	0
	定性 Qualitative	—	—
隐血 Occult	定量 Quantitative	0	0
	定性 Qualitative	—	—
酮体 Ketone	定量 Quantitative	0	0
	定性 Qualitative	—	—

3 讨论

本团队初步建立针对智能针灸机器人针刺可行性及安全性评价的稳定实验动物平台,同时根据实验探索中发现的一些问题,进一步对方案设计及实验开展进行了完善优化。

2.6 针灸机器人智能针刺模块验证结果

针灸机器人智能针刺模块针刺手法操作均顺利完成,实验过程中未出现针刺相关异常情况如弯针、断针、滞针等,实验动物未出现明显异常。

3.1 实验流程优化

在实验进行的初期由于缺少实践经验,本团队参照过去的文献^[15]所采用的小型猪实验方式进行实验操作。实验过程中出现了许多不稳定因素,实验动物的状态以及实验流程受到了不同程度的影响,其中包括实验进行的时间、实验操作方法、实验步骤这 3 大方面。在不同的实验时间动物的生理状态有所区别,为保证实验动物状态的稳定,研究人员结合相关研究经验^[18],并进行预实验分别尝试在 9:00 ~ 12:00 和 15:00 ~ 18:00 进行同样的实验,实验后将实验所得数据进行对比分析,分析后发现在 9:00 ~ 12:00 时间段实验动物的心率、血压更加平稳,在接触的过程中更不容易产生应激反应,因此最终将实验进行的时间定在 9:00 ~ 12:00 之间。

在实验中需要对实验动物的尿样和血样进行采集,进一步对动物进行麻醉。为尽可能减少麻醉药物对动物生理、生化指标产生影响,实验早期研究人员将尿样、血样的采集安排在完成麻醉后即刻进行。由于雄性小型猪的尿道结构与家猪类似^[19],输尿管呈 U 型,无法进行插管导尿,尿样的采集无法顺利进行。研究人员在多次实验后发现在实验前对动物进行安抚时实验动物会出现排尿行为。后续研究人员将尿样的采集安排在实验前安抚的

阶段,并使用集尿袋进行尿样的采集。

3.2 麻醉方式及剂量选择

考虑到智能针灸机器人在针刺操作的过程中耗时较长,因此在麻醉方式上选择了盐酸塞拉嗪诱导麻醉和异氟烷呼吸麻醉以确保麻醉稳定。在实验过程中亦需要实验动物保持稳定的固定体位,因此需要准确控制合适的麻醉剂量避免实验过程中动物苏醒情况的发生。在两种麻醉方式配合过程中,根据实验目的,对麻醉的剂量进行了多次尝试和调整。

3.2.1 麻醉方式

在实验过程中,为避免长时间麻醉对动物引起的呼吸抑制、心率改变,采取一次性诱导麻醉以及较小浓度(2%浓度)的异氟烷呼吸麻醉,但这种麻醉方式有一定的时间限制^[20-21]。在实验过程中约 90 min 诱导麻醉会逐渐失效,低浓度的呼吸麻醉不足以维持稳定的麻醉状态。根据实验评价内容的不同对于诱导麻醉剂量以及是否联合用药要酌情考虑。

3.2.2 麻醉剂量

本实验通过对小型猪的心电监测发现,针对低月龄的小型猪(3 月龄以下),实验动物的心率波动较大,在饲养一段时间后随着实验动物自身的成长,心率波动幅度变小,且麻醉状态下幼猪心率相比成熟动物更快^[22]。在实验初期由于实验条件的优化不够充分,偶见麻醉后实验动物心率异常升高,且远超于正常值。在实验过程中考虑到多方因素的影响,首先确定了实验环境的温度以及湿度,保证了实验动物对环境的适应性。考虑到心电监测装置的电极夹可能对实验动物局部皮肤刺激较大,将电极夹改用粘贴式电极片,更换后心电监测异常波动减少但心率仍会出现异常升高,由此考虑心率异常与麻醉剂量有关。由于盐酸塞拉嗪会对心率产生影响^[23-24],于是在原有麻醉条件的基础上将初始麻醉剂量由 0.20 mL/10 kg 调整为 0.15 mL/10 kg,调整后心率异常情况明显改善,保证实验动物能够尽可能在稳定的状态进行实验。

3.3 穴位定位方法及穴位选择

在智能针灸机器人智能针刺模块操作过程中,需要进行多方面的测试,分别选取了膊尖、抢风、后三里、小胛、会阳、百会这 6 个穴位。其中膊尖穴位于肩胛前角与脊柱之间,穴位下肌肉组织薄弱,深层邻近肺,由于在针刺相邻脏器的穴位时常用斜刺的方式,遵循这个原则,研究人员在膊尖穴采用斜

刺;选取了前后肢肌肉较为丰厚处的穴位抢风、小胛穴进行针刺,此二穴相应穴区下有丰富的神经血管分布,小胛穴下分布着猪的坐骨神经及其分支,抢风穴下有正中神经和尺神经以及胸外神经等,同时穴区下存在较为丰富的血管。为观察肌肉丰厚处的穴位是否会出现滞针、弯针的现象,在小胛穴处亦进行斜刺。百会穴在猪的背部,腰椎和荐椎之间的孔隙中^[25],该穴位进行直刺,以验证针刺是否会对脊髓造成损伤;会阳穴在猪的尾部附近且组织较为薄弱,浅表神经血管较丰富,在该穴进行直刺;后三里在猪后肢骨缝之间,深层有神经血管分布,浅表肌肉较少,该穴可以观察进针角度可能对特殊穴区下组织产生的影响。在后续智能针灸机器人针刺模块验证中依然遵循上述原则在每个穴位旁开 10 mm 处取 6 点进行了验证。

3.4 评价指标的选取

实验中选取了血常规、血生化中的部分数据作为实验动物安全性相关评价的指标,主要考虑到在针刺的过程中可能出现的安全问题,如局部组织可能产生损伤导致炎症的发生,在针刺部分邻近内脏部位也可能会造成内脏的损伤,引起生理生化指标的改变等。日常的心电监测以及体温数据的记录用以观察实验动物在实验过程中是否是稳定安全的状态,同时也可以根据心电监测判断麻醉是否稳定,在实验过程中根据心电监测的部分指标改变判断动物是否需要调整呼吸麻醉的浓度,保证实验安全进行。

3.5 情感培养的介入

在对巴马小型猪可行性及安全性评价实验动物平台的探索中发现,对于小型猪这种较大体型实验动物的麻醉以及固定是较为困难的部分。在整个实验过程中要保证实验动物的精神稳定和动物的安全是重中之重。小型猪在实验过程中无法充分适应实验环境和实验流程会导致动物自身生理、精神状态不稳定,实验操作进行十分困难。同时小型猪由于体重增长快,不适合过久的适应性饲养,因此在实验中进行适当的人文关怀,频繁的互动是促进实验动物适应环境的重要手段。定期对实验动物进行抚摸,会有效促进动物对环境的适应,在后续的麻醉、称重等环节中会有事半功倍的效果。在正式实验前,对比了不同操作方式进行抓取、麻醉、称重对动物产生的影响。对同样的实验动物分别进行了直接的抓取、麻醉、称重和肢体接触安抚

后抓取、麻醉、称重,对比发现经过肢体接触安抚后实验动物反抗程度明显低于直接进行抓取时,同时经过安抚后在实验过程中进入稳定状态时间较短,心率较为稳定。

3.6 针灸机器人智能针刺模块验证

在正式实验后,使用针灸机器人智能针刺模块对动物平台进行了初步验证,在验证实验过程中发现针灸机器人智能针刺模块能够在巴马小型猪身上进行多种参数组合的针刺操作,其皮肤的耐受性也远超出人类皮肤,在多次针刺后仍未出现局部皮肤的过敏反应,无异常情况发生。后续的智能针灸机器人实验也可在此基础上进行更全面的测试。同时针灸机器人智能针刺模块操作与人工手法操作对比,为针灸机器人智能针刺模块后续研发提供了更贴近现实、符合临床的设计思路,丰富了未来智能针灸机器人相关实验的研究方向。

4 总结与展望

本实验主要目的是搭建针刺智能机器人可行性及安全性评价实验动物平台,为进一步开展智能针灸机器人针刺操作相关实验奠定基础。经过巴马小型猪实验动物平台探索,得出以下结论:在建立动物实验平台的过程中需要对实验时间、流程、麻醉方式及剂量、对小型猪的感情培养、环境等方面需要重点关注,在确保实验平台建立的严谨性、科学性的同时保证实验动物受到充分的人文关怀。但本实验建立的实验动物平台在应用方面仍有一定局限性,本实验仅针对麻醉状态下针刺进行了评估且不涉及各类疾病的造模,在基于巴马小型猪实验动物的其他相关实验中依然要根据不同的情况对巴马小型猪实验动物平台进行新的探索和优化。智能针灸机器人处于研发阶段,结合目前已有的经验,并在医学和人工智能交叉应用发展的角度进行实验优化,是推进智能针灸机器人完成研发的核心环节,建立科学的实验动物平台是研发的关键助力。利用严谨科学的基础实验作为智能针灸机器人研发中的优化验证能够推动中医智能机器人在医学领域的标准化、产业化,使中医智能装备能够更贴合实际的满足临床需求,将科技成果转化为临床产品满足更广泛的临床需求,促进中医药事业的传承创新发展,同时也能够带来强大的经济效益,使中医学领域在现代科技的促进下达到新的高度。

参 考 文 献(References)

[1] 国务院办公厅 国务院办公厅关于印发中医药振兴发展重大

工程实施方案的通知(国办发[2023]3号)[J]. 中华人民共和国国务院公报, 2023, 8: 24.

General Office of the State Council. Circular of the general office of the state council on the issuance of the implementation plan of major projects for the revitalization and development of traditional chinese medicine (Guo Ban Fa [2023] No. 3) [J]. J State Council Gazet People's Republic Chin, 2023, 8: 24.

[2] 潘礼庆, 沈晓冬. 机器人技术在中医领域中的应用[J]. 机器人技术与应用, 2010, 1: 28-30.

PAN L Q, SHEN X D. Robotics technology in the instrumentation of traditional Chinese medicine treatment [J]. Robot Tech Appl, 2010, 1: 28-30.

[3] 郭仪, 许斌, 胡楠. 人工智能在辅助中医临床领域的研究现状与展望[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(6): 76-78.

GUO Y, XU B, HU N. Current situation and prospect of artificial intelligence assisting traditional Chinese medicine clinical practice [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2021, 39 (6): 76-78.

[4] 范琦琦, 李芝奇, 陈美琳, 等. 基于斑马鱼模型的中药安全性评价研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(1): 278-287.

FAN Q Q, LI Z Q, CHEN M L, et al. Research progress on safety evaluation of traditional Chinese medicine based on zebrafish model [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(1): 278-287.

[5] 魏若尧. 决明子冻干粉对SD大鼠的安全性评价&镍变应性接触性皮炎动物模型的建立和分析[D]. 北京: 北京协和医学院; 2017.

WEI R Y. Safety evaluation of *Semen Cassiae* freeze-dried powder on SD rats & establishment and analysis of animal model of nickel allergic contact dermatitis [D]. Beijing: Peking Union Medical College; 2017.

[6] 郭翔, 汤海燕, 张艳芳, 等. 家兔血液灌流动物模型的构建和安全性评价[J]. 中国血液净化, 2017, 16(3): 188-191.

GUO X, TANG H Y, ZHANG Y F, et al. The establishment and safety evaluation of a rabbit model for hemoperfusion [J]. Chin J Blood Purif, 2017, 16(3): 188-191.

[7] LIU Y, CHEN J Y, SHANG H T, et al. Light microscopic, electron microscopic, and immunohistochemical comparison of *Bama* minipig (*Sus scrofa domestica*) and human skin [J]. Comp Med, 2010, 60(2): 142-148.

[8] NING X, YANG K, SHI W, et al. Comparison of hypertrophic scarring on a red Duroc pig and a Guangxi Mini *Bama* pig [J]. Scars Burn Heal, 2020, 6: 2059513120930903.

[9] MA Z, MAO C, CHEN X, et al. Peptide vaccine against ADAMTS-7 ameliorates atherosclerosis and postinjury neointima hyperplasia [J]. Circulation, 2023, 147(9): 728-742.

[10] YAN X, WU Y, ZHONG F, et al. iTRAQ and PRM-based quantitative proteomics in T2DM-susceptible and-tolerant models of *Bama* mini-pig [J]. Gene, 2018, 675: 119-127.

[11] 袁进, 顾为望. 小型猪作为人类疾病动物模型在生物医学研究中的应用[J]. 动物医学进展, 2011, 32(2): 108-111.

YUAN J, GU W W. Application of miniature pig as animal

model of human disease in biomedical research [J]. Prog Vet Med, 2011, 32(2): 108-111.

[12] 涂尾龙, 吴潇, 王洪洋, 等. 实验用小型猪的品种资源概况及其应用研究进展 [J]. 上海畜牧兽医通讯, 2022, 4: 1-10.

TU W L, WU X, WANG H Y, et al. Research progress on breed resources and application of experimental miniature pigs [J]. Shanghai J Anim Husb Vet Med, 2022, 4: 1-10.

[13] 王爱德. 广西巴马小型猪的选育研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2004, 14(3): 160.

WANG A D. Study on breeding of *Bama* minipig in Guangxi [J]. Chin J Comp Med, 2004, 14(3): 160.

[14] 王爱德, 兰干球, 郭亚芬. 广西巴马小型猪的培育 [J]. 实验动物科学, 2010, 27(1): 60-63.

WANG A D, LAN G Q, GUO Y F. Genetic breeding of guangxi *Bama* mini-pig [J]. Lab Anim Sci, 2010, 27(1): 60-63.

[15] 陈雨荣, 安星兰, 张胜, 等. 中国小型猪在生物医药领域的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(5): 695-706.

CHEN Y R, AN X L, ZHANG S, et al. Progress in the use of Chinese miniature pigs in biomedical research [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(5): 695-706.

[16] 张燕华, 刘天斌, 曲庆美, 等. 巴马小型猪植入式遥测动物模型的建立及应用 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(10): 2049-2053.

ZHANG Y H, LIU T B, QU Q M, et al. Establishment and application on implantable telemetry animal model of *Bama* miniature pigs [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(10): 2049-2053.

[17] 李贵兴. 新编中兽医学 [M]. 济南: 山东科学技术出版社; 2012.

LI G X. New traditional Chinese veterinary medicine [M]. Jinan: Shandong Science and Technology Press; 2012.

[18] 王爱德, 覃灿, 蓝干球. 广西巴马小型猪解剖结构初探 [J]. 上海实验动物科学, 1991, 11(3): 188-190.

WANG A D, QIN C, LAN G Q. Preliminary study on anatomical structure of *Bama* miniature pig in Guangxi [J]. Shanghai Lab Anim Sci, 1991, 11(3): 188-190.

[19] 吴曙光, 钱宁. 速眠新在实验动物麻醉中的应用 [J]. 贵阳中医学院学报, 2007, 29(1): 58-60.

WU S G, QIAN N. Application of sumianxin in anesthesia of experimental animals [J]. J Guiyang Coll Tradit Chin Med, 2007, 29(1): 58-60.

[20] ZHANG Z, BAI H, ZHANG B, et al. Comparison of cardiorespiratory and anesthetic effects of ketamine-midazolam-xylazine-sufentanil and tiletamine-zolazepam-xylazine in miniature pigs [J]. PLoS One, 2022, 17(7): e0271325.

[21] 曹春艳, 胡正云, 陈博. 不同麻醉方法在幼龄贵州小型猪构建颅骨缺损模型及修复术中麻醉效果的比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(4): 41-45.

CAO C Y, HU Z Y, CHEN B. Comparison of three anesthetic procedures during the establishment of and recovery effect on adolescent Guizhou minipig models of skull defect [J]. Chin J Comp Med, 2017, 27(4): 41-45.

[22] 焦昆, 朱力鸣, 卢静. 氯胺酮和速眠新 II 复合麻药剂量对巴马小型猪的麻醉效果及影响 [J]. 实验动物科学, 2016, 33(5): 57-60.

JIAO K, ZHU L M, LU J. The anesthesia effects of ketamine and sumianxin II on *Bama* Minipig [J]. Lab Anim Sci, 2016, 33(5): 57-60.

[23] CHANG L J, KO J C, WEIL A B, et al. Comparison of anesthetic and cardiorespiratory effects of tiletamine-zolazepam-detomidine-butorphanol, tiletamine-zolazepam-xylazine-butorphanol, and ketamine-detomidine-butorphanol in pigs [J]. J Am Vet Med Assoc, 2021, 258(8): 883-891.

[24] 路广会. 小型猪脊髓的解剖 [J]. 中国兽医杂志, 1989, 25(12): 4-5.

LU G H. Anatomy of spinal cord in minipigs [J]. Chin J Vet Med, 1989, 25(12): 4-5.

[25] LIU G H, TSAI M Y, CHANG G J, et al. Safety assessment of the auto manipulation device for acupuncture in sprague-dawley rats: preclinical evaluation of the prototype [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2018, 2018: 5708393.

[收稿日期] 2023-12-18