

电针结合磁刺激对脊髓损伤大鼠逼尿肌兴奋性及 α -SMA 的影响

程宇核¹, 王俊华¹, 李海峰¹, 朱小虎¹, 谢谨^{1,2}, 邹旭丹¹, 万超¹

【摘要】 目的:探讨电针及磁刺激治疗脊髓损伤(SCI)模型大鼠,对其逼尿肌兴奋性及 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)的影响,从而探讨其作用机制。方法:SD大鼠50只,随机分为正常组、模型组、电针组、磁刺激组和联合组,分别采用对应的治疗;采用重物坠落打击方法制备SCI模型;治疗后,测定各组大鼠离体逼尿肌肌条的最小收缩张力及收缩频率,采用免疫组化法观察大鼠逼尿肌中 α -SMA 阳性细胞数量。结果:治疗10次后,膀胱逼尿肌离体肌条最小收缩张力比较,联合组明显低于模型组、磁刺激组和电针组,电针组和磁刺激组均明显低于模型组(均 $P<0.05$);各组肌条收缩频率及 α -SMA 阳性细胞表达比较,联合组均明显高于模型组、磁刺激组和电针组,电针组和磁刺激组均明显高于模型组(均 $P<0.05$)。结论:电针及磁刺激治疗均能显著提高脊髓损伤后膀胱逼尿肌中 α -SMA 含量,增强膀胱逼尿肌兴奋性,改善脊髓损伤后尿潴留状况,电针结合磁刺激治疗效果更好。

【关键词】 脊髓损伤;针刺/电针;磁刺激;尿潴留; α -平滑肌肌动蛋白

【中图分类号】 R49;R683.2 **【DOI】** 10.3870/zgkf.2013.05.002

Effect of electroacupuncture combined with magnetic stimulation therapy on the excitability of detrusor and expression of α -SMA in rats with spinal cord injury CHENG Yu-he, WANG Jun-hua, LI Hai-feng, et al. Affiliated Taihe Hospital to Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China

【Abstract】 Objective: To investigate the influence of electroacupuncture and magnetic stimulation therapy on the detrusor excitability and α -SMA of rats with spinal cord injury (SCI) and the mechanism. Methods: Forty SD rats were randomly divided into 5 groups: normal group, model group, electroacupuncture group, magnetic stimulation group, and combination group. The SCI model was prepared by heavy objects fall method. The minimum shrinkage tension and contraction frequency of isolated detrusor muscle strips in rats were measured. Immunohistochemical methods were adopted to quantify the α -SMA positive cells of the detrusor. Results: After 10 times of treatment, the minimum shrinkage tension in combination group was obviously lower than model group, electroacupuncture group and magnetic stimulation group, and that in electroacupuncture group and magnetic stimulation group was lower than in model group (all $P<0.05$). The contraction frequency and the number of α -SMA positive cells in combination group were obviously increased as compared with model group, electroacupuncture group and magnetic stimulation group, and those in electroacupuncture group and magnetic stimulation group were significantly increased as compared with model group (all $P<0.05$). Conclusion: Electroacupuncture and magnetic stimulation therapy could significantly increase α -SMA content of the detrusor and detrusor excitability, and improve urinary retention condition, and the combination of electroacupuncture with magnetic stimulation treatment showed more satisfactory effectiveness.

【Key words】 spinal cord injury; acupuncture/electroacupuncture; magnetic stimulation; urinary retention; α -SMA

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)后神经源性尿潴留,引起严重的小便功能障碍和尿路感染,造成患者的生活质量下降,严重可导致慢性肾功能衰竭,威胁患者生命。近年来,针刺及磁刺激在临床及动物实验中

治疗尿潴留中显示有较好疗效^[1-2],本文以电针结合磁刺激综合治疗SCI模型大鼠,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 ①动物:成年健康清洁级SD雌性大鼠50只,体质量(225.0 $\pm$ 25.0)g,由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供。②试剂: α -SMA一抗、二抗、相关显色剂等(武汉博士德生物公司)。

1.2 方法 ①分组及干预:50只大鼠随机分为正常

基金项目:湖北省教育厅重点科研立项(D20092104)

收稿日期:2013-05-17

作者单位:1. 湖北医药学院附属太和医院,湖北十堰442000;2. 湖北中医药大学,武汉430065

作者简介:程宇核(1982-),男,住院医师,主要从事骨关节病康复方面的研究。

通讯作者:谢谨。

组、模型组、电针组、磁刺激组及联合组各 10 只。正常组不造模不治疗,模型组只造模不治疗,电针组采用电针治疗,磁刺激组采用磁刺激骶神经治疗,联合组给予电针联合磁刺激治疗。②造模:大鼠称重麻醉后,俯卧位,固定头部及四肢;据浮肋连接的 T_{13} 作为骨性标志来定位 T_8 ;备皮消毒后,于后正中线依次手术切开皮肤、皮下筋膜,向两侧钝性分离竖脊肌,暴露 $T_6 \sim T_{10}$ 脊椎,切除 T_8 双侧椎板,完全暴露硬脊膜;用重物坠落装置,置长度与直径均为 2mm 的探针于其上,从 3cm 高处将 10g 砝码自由坠落撞击探针;大鼠身体出现痉挛性颤动,造模成功;逐层缝合切口肌肉及皮肤。造模后肌肉注射青霉素 8 万 U,每天 2 次,连续 3d;腹部按摩辅助排尿,每天 2 次。③电针法:造模后 24h 即开始治疗。采用 LH202H 型韩式仪,选用疏密波,频率 2Hz/15Hz,强度 1mA,正极联关元穴,负极接鼠尾。采用 28 号华佗牌 0.5 寸的不锈钢毫针,选取大鼠“关元”穴进行针刺(脐下约 25mm 处),直刺 2mm;每天 1 次,每次 20min,共 10 次。④磁刺激:采用丹麦 Dantec 公司磁刺激器,将直径为 9mm 的圆型线圈放置在大鼠骶骨处,线圈中心对准骶骨上缘与尾骨上缘正中连线中点,距离皮肤 1cm,频率为 0.5Hz,70% 的最大输出强度(脉冲磁场的强度峰值为 1.9T),每次 30 个脉冲,中间间隔 2min,每天 1 次,共 10 次。

1.3 评定标准 ①离体逼尿肌条机械牵拉刺激试验。膀胱逼尿肌取材,大鼠麻醉后,快速切取全膀胱,立即放入 4℃ Kerb 营养液中,依据肌纤维方向纵行切成 $10\text{mm} \times 3\text{mm} \times 3\text{mm}$ 肌条。肌条两端以丝线结扎,一端通过器官槽底部的小钩与微调螺旋相连,另一端与拉力传感器感应头相连,器官槽内充满 37℃ 恒温的 Kerb 液,液体中通以 95% O_2 和 5% CO_2 混合气体,微调螺旋调节肌条长度,拉力传感器与 MP150W SW 型 16 导生理记录仪连接,检测信号录入计算机。检测以下几个指标:A.机械牵拉致逼尿肌出现收缩时的最小张力。先把肌条标本置入浴槽后平衡 30min,使肌条处于完全放松的无张力状态,调节微调螺旋,逐渐缓慢牵拉肌条直至其出现收缩,记录使逼尿肌出现收缩时的最小张力,此张力越小,逼尿肌的兴奋性越高。B.一定前负荷下逼尿肌收缩频率。调节微螺旋,牵拉肌条至张力为 1.0g 时固定肌条长度,连续记录肌条张力变化 15min,记录收缩峰数,检测逼尿肌的收缩频率,频率越高反映逼尿肌的兴奋性越高。②膀胱平滑肌 α -SMA 免疫组化染色。大鼠膀胱逼尿肌取材,常规固定、切片,免疫组化染色,封片,拍照。采用 Image-Pro Plus 软件(美国)对切片进行图像分析。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计学软件进行

分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

各组膀胱逼尿肌离体肌条最小收缩张力比较,正常组最低,联合组明显低于模型组、磁刺激组和电针组,电针组和磁刺激组均明显低于模型组(均 $P < 0.05$);各组肌条收缩频率比较,正常组最高,联合组明显高于模型组、磁刺激组和电针组,电针组和磁刺激组均明显高于模型组(均 $P < 0.05$);2 项指标电针组与磁刺激组比较差异均无统计学意义。见表 1。

在光镜下,可见 α -SMA 主要在肌层表达,主要为胞浆着色,反应物质为棕褐色,正常组中反应物质分布均匀,其余各组分布稍杂乱。各组均有一定量的 α -SMA 阳性细胞表达,正常组中阳性表达最高,联合组明显高于模型组、磁刺激组和电针组(均 $P < 0.05$),电针组与磁刺激组比较差异无统计学意义,但均明显高于模型组(均 $P < 0.05$)。见表 1 和图 1a~e。

表 1 5 组大鼠逼尿肌肌条最小张力、收缩频率及膀胱平滑肌 α -SMA 表达比较 $\bar{x} \pm s$

组别	n	最小张力(g)	收缩频率(次/分)	α -SMA (个/ mm^2)
正常组	10	0.32 ± 0.04	5.09 ± 0.62	75.50 ± 7.48
模型组	10	0.79 ± 0.12^a	1.53 ± 0.17^a	35.97 ± 3.12^a
电针组	10	0.61 ± 0.06^{abc}	2.04 ± 0.19^{abc}	50.17 ± 4.49^{abc}
磁刺激组	10	0.60 ± 0.05^{abc}	2.15 ± 0.25^{abc}	52.32 ± 4.67^{abc}
联合组	10	0.51 ± 0.04^{ab}	2.52 ± 0.28^{ab}	61.35 ± 5.73^{ab}

与正常组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与联合组比较,^c $P < 0.05$

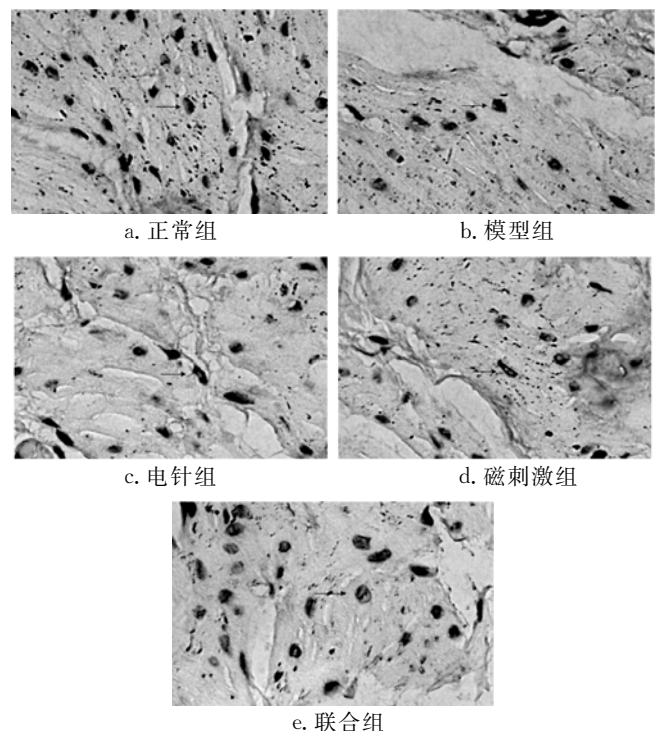


图 1a~e α -SMA 免疫组化图片

3 讨论

膀胱正常的排尿贮尿功能是通过逼尿肌的收缩和舒张活动来实现的,这一过程既受各级神经的调控,又与逼尿肌的兴奋收缩特征有关,逼尿肌的兴奋性维持在正常范围对膀胱保持的排尿贮尿功能十分重要,许多膀胱排尿贮尿功能障碍与逼尿肌兴奋性改变相关。众多临床实践证实,电针治疗 SCI 后尿潴留可有效改善膀胱逼尿肌功能,缓解尿道外括约肌痉挛,使内外括约肌功能协同,从而逐步达到自主排尿的功能状态^[3-5]。磁刺激技术是利用时变电流流入线圈,产生时变磁场,在组织内产生感应电流刺激机体达到治疗作用的一种新型神经生理学技术,磁刺激能促进神经的再生和运动功能的恢复,其优势是无痛、无创伤、操作简单、易于重复。研究表明功能性磁刺激骶神经根技术,能引起膀胱逼尿肌压力升高,引发排尿,治疗 SCI 引起的小便障碍^[6-7]。Brodak 等^[8]认为磁刺激可通过盆神经内的副交感神经通道,直接兴奋逼尿肌,或者激起膀胱反射性收缩。Fujishiro 等^[9]认为磁刺激引起膀胱逼尿肌收缩排尿是直接刺激副交感神经的结果。本研究中观察到电针、骶神经根磁刺激及电针结合骶神经根磁刺激均能降低 SCI 尿潴留大鼠逼尿肌收缩的最小张力并提高其收缩频率,即提高逼尿肌兴奋性,从而改善排尿功能障碍,电针结合骶神经根磁刺激治疗,其效果优于单一治疗方式。

肌动蛋白具有收缩能力的细微蛋白, α -SMA 是逼尿肌细胞中收缩成分肌丝的重要组成成分,其改变会影响逼尿肌的收缩性和顺应性。史晓东等^[10]研究证实了膀胱肌层含有大量 α -SMA 阳性染色纤维,其主要分布在膀胱肌层, α -SMA 表达的高低与逼尿肌收缩能力的强弱正相关。本研究中观察到模型组中 α -SMA 表达明显低于于其他组,而联合组中的 α -SMA 阳性表达明显高于另外两治疗组。本研究结果中电针结合骶神经根磁刺激比单纯电针或骶神经根磁刺激对神经源性膀胱更好治疗效果,电针结合骶神经根磁刺激能降低 SCI 尿潴留大鼠逼尿肌的最小张力并提高

其收缩频率提高逼尿肌的收缩能力及其兴奋性,促进逼尿肌 α -SMA 表达,提示促进膀胱逼尿肌中 α -SMA 表达可能为电针及磁刺激治疗 SCI 后尿潴留的作用机制之一。另外,联合组在各指标中较单一治疗疗效更好,但与正常组相比仍然有较大差异,因为本研究观察时间偏短,其差异是否与治疗时间有关,可再延长观察时间进一步研究。

【参考文献】

- [1] 吴伯涛,李娟娟.电针联合间歇导尿治疗脊髓损伤后尿潴留 68 例[J].中医研究,2012,27(11):68-70.
- [2] 朱毅,黄杰,程洁,等.电针对 T10 水平脊髓全横断尿潴留大鼠逼尿肌及尿道外括约肌肌电活动的影响[J].中国康复医学杂志,2013,27(2):124-128.
- [3] 王俊华,陈邦国,尹晶,等.电针关元穴对脊髓损伤后尿潴留大鼠逼尿肌兴奋性的影响[J].湖北中医学院学报,2009,4(7):33-35.
- [4] 吴东,曾立志,朱崇田,等.针灸配合膀胱功能训练治疗脊髓损伤后尿潴留 35 例[J].上海针灸杂志,2006,25(10):33.
- [5] 周凌云,李杰,李春梅,等.电针八髎、会阴治疗脊髓损伤性尿潴留疗效观察[J].中国针灸,2006,26(4):237-239.
- [6] Lin VW, Hsiao I, Perkas I. Micturition by functional magnetic stimulation in dogs: a preliminary report[J]. NeuroUrol Urodyn, 1997, 16(4):305-313.
- [7] Brindley GS. The first 500 patients with sacral anterior root stimulator implants: general description[J]. Paraplegia, 1994, 32(12):795-799.
- [8] Brodak PP, Bidair M, Joseph A, et al. Magnetic stimulation of the sacral roots[J]. NeuroUrol Urodyn, 1993, 12(6):533-540.
- [9] Fujishiro T, Takahashi S, Enomoto H, et al. Magnetic stimulation of the sacral roots for the treatment of urinary frequency and urge incontinence: an investigational study and placebo controlled trial[J]. J Urol, 2002, 168(3):1036-1039.
- [10] 史晓东,胥少汀,刘智,等.兔脊髓不同平面损伤后尿流动力与膀胱 AchE、 α -SMA 表达的研究[J].中国脊柱脊髓杂志,2002,12(5):359-362.

欢 迎 投 稿