

· 研究快报 ·

皮肤电极刺激糖尿病兔膀胱的电信号传导
及对膀胱机械收缩偶联的影响

王新民 张庆梅 徐平 薛萌 何毅平

【摘要】目的 探讨皮肤电极刺激膀胱的电信号传导及对膀胱机械收缩偶联的影响。**方法** 将 30 只雄性大白兔分为糖尿病组及正常对照组,糖尿病组经耳缘静脉注射四氧嘧啶制成糖尿病动物模型,正常对照组则注入等量生理盐水。待模型制作成功后,2 组实验兔膀胱内均注入生理盐水 40 ml,然后采用皮肤电极电刺激膀胱腹部投影区,分别观察电刺激强度为 5.84 V、8.00 V 及 11.00 V 时 2 组实验兔膀胱电信号和膀胱压力变化情况。**结果** 2 组实验兔的电信号衰减程度并不随刺激信号强度变化而变化,其中正常对照组衰减(99.88 ± 0.00)%,糖尿病组衰减(99.93 ± 0.00)%;糖尿病组的衰减幅度显著大于正常对照组($P < 0.01$)。在低、中、高 3 种刺激强度下,正常对照组膀胱电压分别为(7.09 ± 0.29) mV、(8.99 ± 0.35) mV 及(13.13 ± 0.45) mV,糖尿病组则分别为(4.48 ± 0.46) mV、(5.99 ± 0.46) mV 及(8.75 ± 0.44) mV;可见 2 组实验兔膀胱电压均随刺激信号增强而增大($P < 0.01$);在电刺激强度相同情况下,糖尿病组膀胱电压均不及正常对照组($P < 0.01$)。在电刺激前及低、中、高强度刺激时,正常对照组膀胱内压分别为(43.78 ± 3.12) mmHg、(44.33 ± 3.13) mmHg、(50.59 ± 3.27) mmHg 及(57.40 ± 3.41) mmHg,糖尿病组则分别为(31.04 ± 2.26) mmHg、(31.61 ± 2.36) mmHg、(33.67 ± 1.80) mmHg 及(37.02 ± 2.44) mmHg;可见 2 组实验兔膀胱内压均随膀胱电信号增强而增大($P < 0.05$),其中糖尿病组膀胱内压在刺激前及不同强度刺激时均显著低于正常对照组水平($P < 0.05$)。**结论** 皮肤电刺激信号经大幅衰减后可传导至膀胱组织,并引起膀胱内压增高,此作用随电刺激强度增加而增大;糖尿病兔的电信号衰减幅度显著大于正常兔,而膀胱内压则明显低于正常兔。

【关键词】 皮肤电极; 膀胱刺激; 电信号传导; 糖尿病; 膀胱压力; 兔

当前糖尿病(diabetes mellitus, DM)是全球主要流行病之一,以周围神经损伤为主因的糖尿病神经源性膀胱(diabetic cystopathy, DCP)在 DM 患者中的发病率高达 40% ~ 60%^[1-2]。DCP 患者终因膀胱过度扩张而出现顽固性尿潴留,需持续导尿或膀胱造瘘等有创治疗,容易诱发顽固的尿路逆行感染、败血症甚至肾功能衰竭,严重影响患者生活质量及生命。目前微电极神经刺激对于中枢神经损伤(如脊髓损伤)所致的神经源性膀胱具有一定疗效,但对 DCP 患者几乎无效;而绕开 DCP 受损的膀胱支配神经,直接用皮肤电极刺激膀胱可减少 DCP 患者的膀胱残余尿量甚至促其恢复排尿,可见皮肤电极刺激膀胱可能是无创治疗 DCP 的有效措施之一^[1-2],但关于其治疗机制目前鲜见报道。本研究尝试采用皮肤电极刺激正常兔及 DM 兔膀胱腹部投影区,并观察电信号传导情况及对膀胱兴奋-收缩偶联的影响。现报道如下。

材料与方 法

一、试剂和仪器

主要试剂及仪器包括:四氧嘧啶(Alloxan, Sigma 公司)、乌拉坦(国药集团化学试剂有限公司)、硫化钠(广州市番禺力强化工厂)、快速血糖仪及血糖试纸(美国强生公司)、低频电脉

冲膀胱治疗仪(深圳市力合医疗器械有限公司)、BL-410 型生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司)、F8 双腔导尿管、绝缘双电极导线(深圳邦华电子器材行)、一次性心电电极导片等。

二、动物分组及模型制作

共选取 4 月龄纯种雄性新西兰大白兔 30 只,体重 1.4 ~ 2.1 kg,由广东省医学实验动物中心提供,单笼、室温环境下喂养,自由摄食、饮水,经适应性喂养 2 周后,采用随机数字表法将其分为正常对照组(10 只)及糖尿病组(20 只)。待实验兔空腹 10 h 后,将四氧嘧啶用无菌生理盐水配成浓度为 5% 的溶液,在 30 s 内按 120 mg/kg 体重一次性经耳缘静脉注入糖尿病组实验兔体内,正常对照组则通过耳缘静脉注入等量生理盐水。从注药后第 3 天开始,每天监测空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)变化情况,如连续 5 d 实验兔 FBG ≥ 16.7 mmol/L 则提示制模成功。

三、电刺激方法

造模 4 周后于空腹实验兔下腹正中耻骨联合上三横指处开 3 cm 长的横切口,测量腹壁肌层厚度并暴露膀胱,经尿道插入并固定 F8 双腔导尿管,排尽尿液后,将一对信号记录电极固定于膀胱两侧顶部肌层内,两电极平行、间距 5 mm 放置,电极另一端引至体外并接通 BL-410 型生物机能实验系统。另一对信号记录电极则经切口皮下置于切口上方 2 cm 旁开腹中线各 1 cm 处的腹壁肌层内,电极另一端也连接 BL-410 型生物机能实验系统;逐层缝合切口,但保持腹腔与大气压交通。于膀胱内注入 40 ml 生理盐水后,将导尿管与测压装置相连接从而形成密闭空间,维持注水后的膀胱容积基本不变,使

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2011.011.020

基金项目:深圳市重点科技项目(NO.201001003)

作者单位:518020 深圳,暨南大学第二临床医学院(王新民、张庆梅、徐平、薛萌);深圳市南湾人民医院(何毅平)

充盈的膀胱顶部贴于下腹壁,于切口上方 2 cm 旁开腹中线各 1 cm 处经皮肤电极给予膀胱投影区电刺激,电刺激频率为 16 Hz,刺激电压分别为 5.84 V、8.00 V 及 11.00 V,记录刺激前及不同强度电刺激时 2 组实验兔腹壁肌层、膀胱电信号和膀胱压力变化情况。BL-410 型记录仪设置参数如下:时间滤波 0.01 s,高频滤波 30 Hz,走速 125 ms/格,50 Hz 滤波设置启用,电信号记录增益为 100 倍,膀胱压力记录增益为 200 倍,取电信号曲线或膀胱压力曲线上同一脉冲波波幅的正、负绝对值之和作为记录值,其中能记录到的基础肌电信号几乎为 0,加之被传导的电刺激信号所抑制,故肌电信号可忽略不计,2 对信号记录电极只能记录到波形和频率完全一致、仅波幅不同的电信号,信号衰减幅度 = (上级信号强度 - 下级信号强度) / 上级信号强度 × 100%。

四、统计学分析

本研究所得计量数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 SPSS 13.0 版统计学软件包进行数据分析,各实验兔组间比较采用 *t* 检验,组内比较采用单因素方差分析,*P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、2 组实验兔一般资料比较

正常对照组 10 只实验兔均完成实验,糖尿病组先后有 11 只死亡,共有 9 只完成实验,即 2 组共有 19 只兔实验数据纳入最终分析。2 组兔实验前、后体重及 FBG 数据详见表 1,表中数据显示,实验前 2 组实验兔体重及 FBG 组间差异均无统计学意义 (*P* > 0.05);实验进行 4 周时,发现正常对照组体重明显大于糖尿病组,而 FBG 则显著低于糖尿病组,组间差异均具有统计学意义 (*P* < 0.05)。

表 1 2 组实验兔实验前、后体重及 FBG 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	体重(kg)		FBG(mmol/L)	
		实验前	实验进行 4 周时	实验前	实验进行 4 周时
正常对照组	10	1.77 ± 0.30	2.31 ± 0.16 ^a	5.76 ± 0.6	5.70 ± 0.59 ^a
糖尿病组	9	1.88 ± 0.18	2.10 ± 0.18	5.61 ± 0.6	24.56 ± 8.32

注:与糖尿病组比较,^a*P* < 0.05

表 2 2 组实验兔皮肤电刺激信号的传导与衰减情况分析 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	低强度刺激(5.84 V)			中强度刺激(8.00 V)			高强度刺激(11.00 V)		
		腹肌电位 (mV)	膀胱电位 (mV)	总衰减 百分比(%)	腹肌电位 (mV)	膀胱电位 (mV)	总衰减 百分比(%)	腹肌电位 (mV)	膀胱电位 (mV)	总衰减 百分比(%)
正常对照组	10	11.18 ± 0.55	7.09 ± 0.29 ^c	99.88 ± 0.00	13.09 ± 0.49 ^a	8.99 ± 0.35 ^{ac}	99.88 ± 0.00	16.99 ± 0.52 ^{ab}	12.82 ± 0.37 ^{abc}	99.88 ± 0.00
糖尿病组	9	7.90 ± 0.46 ^d	4.48 ± 0.46 ^{cd}	99.93 ± 0.00 ^d	9.41 ± 0.40 ^{ad}	5.99 ± 0.46 ^{acd}	99.93 ± 0.00	12.21 ± 0.58 ^{abd}	8.75 ± 0.44 ^{abcd}	99.92 ± 0.00

注:与低强度刺激比较,^a*P* < 0.05;与组内中强度刺激比较,^b*P* < 0.05;与腹肌电位比较,^c*P* < 0.05;与正常对照组比较,^d*P* < 0.05

表 3 2 组实验兔在不同强度电刺激时皮肤到膀胱衰减情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	从皮肤到腹肌的衰减百分比(%)			从腹肌到膀胱的衰减百分比(%)		
		低强度刺激时	中强度刺激时	高强度刺激时	低强度刺激时	中强度刺激时	高强度刺激时
正常对照组	10	99.81 ± 0.00	99.84 ± 0.00 ^a	99.85 ± 0.00 ^{ab}	36.5 ± 1.3	31.3 ± 1.5 ^a	22.8 ± 1.0 ^{ab}
糖尿病组	9	99.86 ± 0.00 ^c	99.88 ± 0.00 ^{ac}	99.89 ± 0.00 ^{abc}	43.5 ± 2.5 ^c	36.4 ± 1.7 ^{ac}	28.3 ± 0.7 ^{abc}

注:与组内低强度刺激时比较,^a*P* < 0.05;与组内中强度刺激时比较,^b*P* < 0.05;与正常对照组同时段比较,^c*P* < 0.05

二、皮肤电刺激信号的传导及衰减分析

2 组实验兔分别经低、中、高 3 个强度皮肤电刺激时,发现其腹肌(abdominal muscle, AM)及膀胱(bladder, BL)电压均随电刺激强度增加而增大(*P* < 0.01),其中膀胱电压明显低于腹肌电压(*P* < 0.01),2 组实验兔电压从皮肤到腹肌的衰减百分比(attenuated percentage, AP)均在(99.81 ± 0.00)% 以上,且随电刺激强度增加,AP 逐渐增大(*P* < 0.01);从腹肌到膀胱的 AP 则在(22.8 ± 1.0)% 以上,且随电刺激强度增加,AP 逐渐减小(*P* < 0.01);但 2 组实验兔电压从皮肤到膀胱的总衰减百分比(total attenuated percentage, TAP)在不同刺激强度下组内差异均无统计学意义(*P* > 0.05);糖尿病组腹肌及膀胱电压均明显低于正常对照组(*P* < 0.01),而 AP 则明显高于正常对照组(*P* < 0.01)。具体数据详见表 2、表 3。

三、实验兔膀胱电压与机械收缩偶联分析

2 组实验兔膀胱压力峰值均随其刺激电压增加有增高趋势,且在一定条件下具有线性关系(正常对照组 *r* = 0.869,糖尿病组 *r* = 0.750, *P* < 0.01),详见图 1;进一步分析发现,正常对照组在中、高强度刺激时、糖尿病组在高强度刺激时,其膀胱压力峰值与基础状态值间差异具有统计学意义(*P* < 0.05);另外糖尿病组在各种强度刺激下的膀胱压力值均低于正常对照组相应水平(*P* = 0.000),具体数据详见表 4。

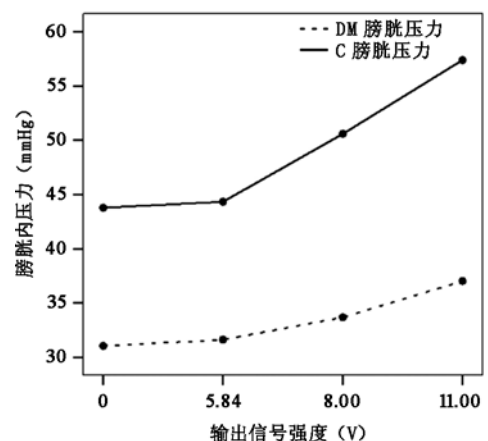


图 1 2 组实验兔在不同电刺激强度时膀胱压力值比较

表 4 2 组实验兔在不同强度电刺激时膀胱电压与膀胱压力的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	膀胱电压(mV)				膀胱压力(mmHg)			
		基础状态	低强度刺激时	中强度刺激时	高强度刺激时	基础状态	低强度刺激时	中强度刺激时	高强度刺激时
糖尿病组	9	0	4.48 ± 0.46 ^c	5.99 ± 0.46 ^{ac}	8.75 ± 0.44 ^{abc}	31.04 ± 2.26 ^c	31.61 ± 2.36 ^c	33.67 ± 1.80 ^c	37.02 ± 2.44 ^{abc}
正常对照组	10	0	7.09 ± 0.29	8.99 ± 0.35 ^a	12.82 ± 0.37 ^{ab}	43.78 ± 3.12	44.33 ± 3.13	50.59 ± 3.27 ^a	57.40 ± 3.41 ^{ab}

注:与组内低强度刺激或基础状态时比较,^a $P < 0.05$;与组内中强度刺激时比较,^b $P < 0.05$;与正常对照组同时段比较,^c $P < 0.05$

讨 论

与中枢神经损伤性膀胱(central nerve injury cystopathy, CNICP)不同,DCP属周围神经损伤性神经源性膀胱(peripheral nerve injury cystopathy, PNICP),诸如控制代谢、营养神经(甲基B12、神经节苷脂等)、神经生长因子及其基因治疗等手段往往难以奏效,尿潴留患者最终难逃持续导尿或膀胱造瘘,容易诱发顽固性尿道感染、甚至肾功能衰竭而死亡,对患者生活质量造成严重影响。

目前有研究通过对神经通路给予电刺激(如阴部神经电刺激、骶椎和神经根电刺激、植入式微电极程序刺激等)、甚至建立人工体神经-内脏神经反射通路等治疗因脊髓损伤后截瘫导致的CNICP患者,发现具有一定疗效^[3-6],但鲜见有采用神经电刺激治疗糖尿病性PNICP成功的报道,主要原因可能是DCP患者周围神经已发生损伤,从而导致神经电刺激疗效不佳。

有学者发现,经体腔或开腹直接电刺激膀胱可增强膀胱排空功能,对CNICP和以DCP为代表的PNICP均有治疗作用^[2,7]。本研究前期工作发现,采用皮肤电极刺激腹壁膀胱投影区,对治疗DCP患者具有一定疗效,重度DCP患者在此基础上辅以持续开放导尿管等措施,可减少或消除DCP患者膀胱残余尿量,促使尿潴留患者恢复排尿功能,其确切机制有待深入探讨^[2,8]。本研究结果发现,频率为16 Hz、强度为5.84 V、8.00 V及11.00 V电刺激信号均能通过皮肤、腹壁大幅衰减后传导至膀胱组织,其中从皮肤到腹壁的衰减幅度高达99.8%以上,可能与皮肤及皮下脂肪组织的电阻较大有关;从腹壁到膀胱的衰减幅度约为22.8%左右,可能与体液及浆膜的电阻抗相对较小有关;但糖尿病兔在体重减轻及腹壁皮下脂肪减少的情况下,不同强度电刺激时其信号衰减幅度均显著大于正常对照组,可能与其脂代谢紊乱所造成的体液和组织中脂质含量增多、从而增加电阻抗有关^[9]。

目前有临床报道称电刺激可导致膀胱逼尿肌收缩而排尿^[2,3,7-9],但大多采用刺激神经通路进行排尿,而经皮肤或经体腔直接刺激膀胱收缩而排尿的报道相对较少。本研究结果表明,皮肤电刺激信号经大幅衰减后可传导至膀胱,并引起膀胱内压相应增高,结合表4数据可知频率为16 Hz、强度达(8.75 ± 0.44)mV或(8.99 ± 0.35)mV的膀胱电刺激能引起糖尿病兔或

正常兔膀胱内压显著增加,故认为经皮电刺激信号能传导至膀胱并引起膀胱兴奋-收缩偶联;并且糖尿病兔在基础状态或电刺激情况下,其膀胱内压均显著低于正常兔水平,可能与糖尿病兔膀胱逼尿肌存在显微或超微结构损伤、甚至胆碱能M3表达水平下降等因素有关^[1,7]。

综上所述,皮肤电刺激信号经皮肤到腹壁、腹壁到膀胱两次大幅衰减后可传导至膀胱组织,并引起膀胱逼尿肌兴奋-收缩偶联,有助于糖尿病大鼠排尿功能改善,该技术有望用于无创治疗以DCP为代表的PNICP患者,具有广阔的临床应用前景。

参 考 文 献

- [1] 王新民. 糖尿病大鼠膀胱M2、M3受体表达及胰岛素治疗的影响. 中国糖尿病杂志, 2009, 17: 341-346.
- [2] 王新民, 赵雷, 崔艳凤, 等. 经皮电脉冲刺激治疗糖尿病神经源性膀胱的疗效研究. 中国全科医学杂志, 2006, 9: 1164-1165.
- [3] Michael R, Balken HV, Bart LH. The use of electrical devices for the treatment of bladder dysfunction: a review of methods. J Urol, 2004, 172: 846-851.
- [4] Donaldson N, Perkins T, Pachnis I, et al. Design of an implant for preventing incontinence after spinal cord injury. Artif Organs, 2008, 32: 586-891.
- [5] Clarke JO, Jagannath SB, Kallou AN, et al. An endoscopically implantable device stimulates the lower esophageal sphincter on demand by remote control: a study using a canine model. Endoscopy, 2007, 39: 72-76.
- [6] Wang HZ, Li SR, Wen C, et al. Morphological changes of cholinergic nerve fibers in the urinary bladder after establishment of artificial somatic-autonomic reflex arc in rats. Neurosci Bull, 2007, 23: 277-281.
- [7] Wang XM, Zhang MX, Zhao L, et al. The starling mechanism of the urinary bladder contractile function and the influence of hyperglycemia on diabetic rats. J Diabetes Complications, 2010, 24: 121-128.
- [8] 王新民, 卢伟文, 李路, 等. 经皮电脉冲刺激治疗糖尿病神经源性膀胱的疗效分析. 中华物理医学与康复杂志, 2002, 24: 644-647.
- [9] Urmev WF. Using the nerve stimulator for peripheral or plexus nerve blocks. Minerva Anestesiol, 2006, 72: 467-471.

(修回日期: 2011-09-16)

(本文编辑: 易 浩)

本刊办刊方向:

立足现实; ; 关注前沿; ; 贴近读者; ; 追求卓越