

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.04.006

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.04.006

个体化慢性结肠电刺激对慢传输型便秘模型犬排便及胃肠传输的影响

朱丹^{1,2}, 李艳梅¹, 姚树坤^{1,2}, 陈朔¹, 陈少轩³, 杜玉惠⁴

(1. 中日友好医院消化内科, 北京 100029; 2. 中国医学科学院北京协和医学院研究生院, 北京 100730;
3. 中日友好医院普外科, 北京 100029; 4. 常州瑞神安医疗器械有限公司, 江苏 常州 213000)

[摘要] 目的: 探讨个体化慢性结肠电刺激对慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)模型犬排便情况和胃肠传输功能的影响。方法: 纳入8只比格犬为研究对象, 随机分为电刺激组和假刺激组, 所有犬行开腹手术植入结肠电刺激系统, 待恢复后进入干预期。采用低纤维素饮食联合复方地芬诺酯和盐酸阿洛司琼进行STC造模, 共计5周, 第2周同时进行个体化结肠电刺激/假刺激(只模拟动作, 不开启电刺激), 观察和记录犬排便次数、大便性状, 干预完成后测定胃肠传输时间(gastrointestinal transit time, GITT), 比较2组间差别。结果: 8只比格犬均顺利完成所有实验项目, 所筛选的刺激参数间存在个体差异。与假刺激组相比, 电刺激可以增加排便频率[(3.08±0.31)次/d vs (2.43±0.43)次/d, P=0.049]、缓解排便性状(3.30±0.32 vs 2.55±0.47, P=0.037)、缩短GITT[(32.98±2.38) h vs (40.85±1.31) h, P=0.001]。结论: 个体化慢性结肠电刺激能够缓解STC模型犬的便秘症状、促进胃肠蠕动。

[关键词] 慢传输型便秘; 动物模型; 结肠电刺激; 胃肠传输

Effects of individualized chronic colonic electrical stimulation on defecation and gastrointestinal transit in slow transit constipation dogs

ZHU Dan^{1,2}, LI Yanmei¹, YAO Shukun^{1,2}, CHEN Shuo¹, CHEN Shaoxuan³, DU Yuhui⁴

(1. Department of Gastroenterology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029; 2. Graduate School of Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730; 3. Department of General Surgery, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029; 4. Rishena Technology Development Co. Ltd., Changzhou Jiangsu 213000, China)

Abstract **Objective:** To explore the effect of individualized chronic colonic electrical stimulation on defecation and gastrointestinal transit in slow transit constipation dogs. **Methods:** Eight beagles were included in this study, which were randomly divided into an electrical stimulation group and a sham stimulation group. All dogs

收稿日期 (Date of reception): 2017-12-27

通信作者 (Corresponding author): 姚树坤, Email: yaosk123@126.com

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金 (81541014)。This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81541014).

underwent operation to implant the colonic electrical stimulation system, and given intervention when recovered. A combination of low fiber diet, compound diphenoxylate and aldosterone hydrochloride in oral administration for consecutive 5 weeks, individual colonic electrical stimulation/sham stimulation (simulated actions only, no electrical stimulation) were given from the second week, defecation and gastrointestinal transit time (GITT) were assessed. **Results:** Eight dogs went through all experiment items. Individual differences were found among the selected individualized parameters. Compared with the sham stimulation group, electrical stimulation could increase the frequency of defecation [(3.08±0.31) times/d vs (2.43±0.43) times/d, $P=0.049$], relieve the stool consistency (3.30±0.32 vs 2.55±0.47, $P=0.037$), shorten GITT [(32.98±2.38) h vs (40.85±1.31) h, $P=0.001$]. **Conclusion:** The individualized chronic colonic electrical stimulation can relieve the constipation symptoms and promote the gastrointestinal peristalsis in STC model dogs.

Keywords slow transit constipation; animal model; colonic electrical stimulation; gastrointestinal transit

慢性便秘是临床上最常见的消化道疾病之一, 其中慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)所占比例最大^[1], 表现为排便次数减少、粪便量减少、粪便干结、排便费力等。目前临床常用的治疗方法主要包括生活方式调整、药物治疗、精神心理治疗、生物反馈治疗、外科手术治疗等^[2]。但是治疗效果均不够理想, 致不少患者过度依赖泻剂, 或不得不手术切除肠段; 症状长期不愈又可诱发或加重一系列身体或心理疾病, 严重影响患者生存质量^[3]。作为一种新兴治疗手段, 结肠电刺激(colonic electrical stimulation, CES)日益引起人们重视。CES指通过在结肠黏膜或浆膜下埋置电极, 接受外源性电脉冲, 进而调控肠道电活动, 影响消化道动力, 缓解疾病症状。本研究在STC模型犬上植入CES系统, 探索慢性CES对便秘模型犬排便情况、胃肠传输的治疗效果, 进一步为CES治疗慢性便秘的临床应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

健康成年雌性比格犬8只(北京金牧阳实验动物养殖有限责任公司), 年龄(11.88±2.12)个月, 体重(8.36±0.70) kg, 于实验室标准条件饲养。植入式胃肠电刺激(gastrointestinal electrical stimulation, GIES)系统由常州瑞神安医疗器械有限公司提供, 包括刺激器、导线及可于体外调整参数的编程棒(图1A, 1B)。本研究由中日友好医院伦理委员会批准同意。

1.2 方法

1.2.1 CES系统的植入

术前1 d禁食并做好肠道准备。盐酸赛拉嗪

30 mg(吉林省敦化市圣达动物药品有限公司)肌肉注射及3%戊巴比妥钠0.25 mL/kg(中国医药集团上海化学试剂公司)腹腔注射联合麻醉。经开腹手术, 于近端结肠(距回盲部1 cm)及直肠乙状结肠交界(距肛门口10 cm)浆膜下、沿结肠纵轴对称各植入1对电极, 电极的另一端与刺激器相连, 刺激器埋置于腹部皮下(图1C~1F)。术后给予镇痛药及抗生素治疗3 d, 2周恢复期。

1.2.2 刺激参数及模式的设定

根据课题组既往研究^[4]结果, CES采用波宽恒定的串脉冲刺激及双部位刺激: 参数为40 Hz, 2 s开、3 s关, 波宽恒定4 ms, 电流从1 mA开始逐渐增大, 直至犬出现躁动、吼叫等不适症状, 以出现症状反应前的最大电流作为刺激电流, 近端结肠和直乙交界处的刺激参数均采用此方法筛选。双部位刺激即先近端结肠刺激30 min, 再直乙交界刺激30 min。分别于上午8:30和下午2:30进行, 连续刺激4周。假刺激组只模拟操作, 并不开启刺激。

1.2.3 排便记录及胃肠传输实验

于8:00—20:00每2 h巡视一次动物排便情况, 夜间由摄像机实时监测记录。记录每次排便的时间点、大便性状, 大便性状采用Bristol评分法^[5]表示, 计算每天平均排便次数及平均大便性状得分。将3种形状不同、各20根的钡条(天津塑料研究有限公司)分别于0, 12, 24 h喂入动物口中。收集0 h起每次所排粪便, 计数粪便中所含钡条的形状及数目, 直到所有钡条排出体外。胃肠传输时间(gastrointestinal transit time, GITT)定义为90%的钡条(18根)排出体外的时间, 取3种形状钡条所测的平均值为每次测定的最终值^[4]。

1.2.4 STC模型的建立方法

在借鉴Sanmiguel等^[6]及本团队既往研究^[7]的基础上, 采用饮食控制联合药物的造模方法: 服

用低纤维素肉罐头(烟台中宠食品股份有限公司) 400 g/d, 以及3 mg/(kg·d)复方地芬诺酯(常州康普药业有限公司)、5 mg/d盐酸阿洛司琼(湖北巨胜科技有限公司)每日清晨喂入口中并确保吞咽; 所有犬均不限制饮水。

1.2.5 实验流程

所有犬进入实验室后, 每日给予充足的标准固体犬饲料400 g(北京华卓康生物科技股份有限公司), 不限制饮水, 给予至少2周适应期。随机分为电刺激组($n=4$)和假刺激组($n=4$), 所有犬接受手术, 经腹部正中切口植入CES系统, 充分恢复(2周)后进入干预期。所有犬进行低纤维素饮食联

合复方地芬诺酯、盐酸阿洛司琼便秘造模, 在第2周开始同时进行CES(首次刺激前进行参数的个体化筛选, 随后均直接采用此参数进行刺激)或假刺激, 第5周起观察并记录每日排便情况, 5周后干预结束, 测定GITT。经手术取出电刺激系统, 所有犬恢复后由社会爱心人士领养(图2)。

1.3 统计学处理

采用SPSS 24.0统计软件进行分析。符合正态分布的计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 两组间排便频率、排便性状、GITT之间的比较采用 t 检验。 $\alpha=0.05$ 作为检验标准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

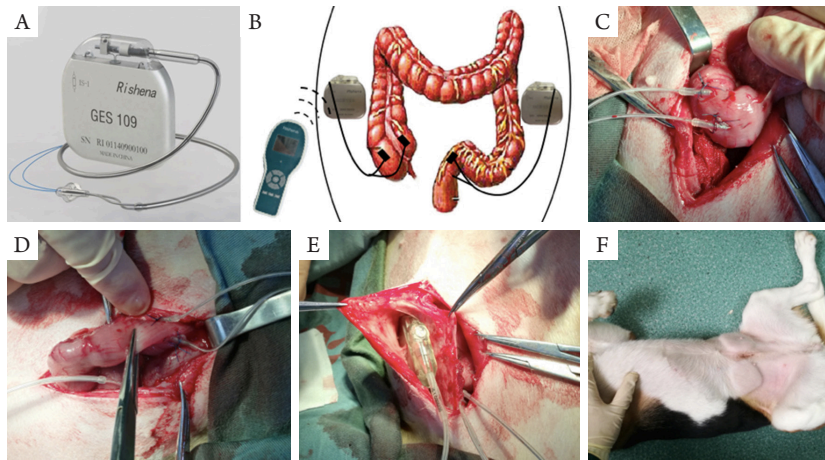


图1 结肠电刺激系统示意图及植入过程

Figure 1 Schematic diagram and implantation process of the colonic electrical stimulation system

(A)结肠电刺激器; (B)结肠电刺激系统植入部位及操作模式图; (C)近端结肠电极植入; (D)直乙交界电极植入; (E)刺激器皮下埋置; (F)手术恢复后外观。

(A) Stimulator; (B) Schematic diagram of the colonic electrical stimulation system; (C) Implantation of proximal colon electrodes; (D) Implantation of rectosigmoid junction electrodes; (E) Implantation of stimulator; (F) Recovery from the surgery.

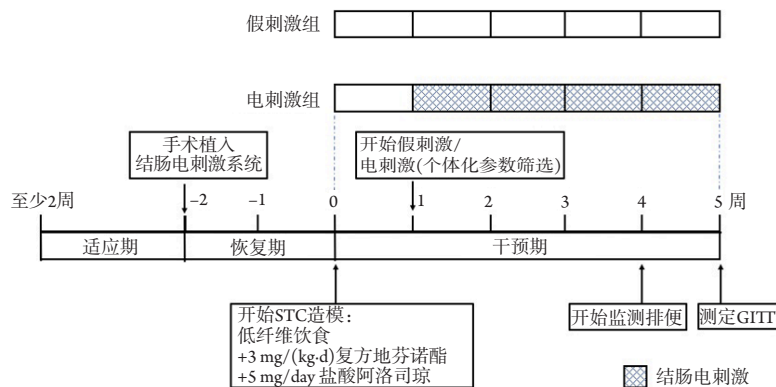


图2 实验流程图

Figure 2 Experimental protocol

2 结果

2.1 一般资料

8只犬随机分为2组, 电刺激组、假刺激组之间年龄[(12.00±2.35)个月 vs (11.75±2.22)个月, $P=0.882$]、体重[(8.07±0.39) kg vs (8.65±0.88) kg, $P=0.270$], 差异无统计学意义(表1)。

表1 8只比格犬一般资料

Table 1 Comparison of general information of eight beagle canines

动物编号	体重/kg	年龄/月	是否电刺激组
1	9.50	11.0	否
2	8.10	15.0	是
3	8.02	11.0	是
4	8.46	13.0	否
5	7.50	9.0	否
6	7.60	9.5	是
7	8.54	12.5	是
8	9.13	14.0	否
$\bar{x} \pm s$	8.36 ± 0.70	11.88 ± 2.12	—

2.2 CES 参数的个体化筛选

实验采用调节波幅的参数筛选方法, 电流从1 mA逐渐增大, 其余参数固定(40 Hz, 2 s开、3 s关, 波宽恒定4 ms)。比格犬在较低强度的CES时适应良好, 无特殊症状, 随着刺激强度增加, 开始出现躁动、吼叫等表现(表2)。

表2 刺激组4只比格犬个体化参数筛选

Table 2 Individual parameters of CES for four beagle canines in electrical stimulation group

动物编号	近端结肠参数	直乙交界参数
2	4.00 mA/4.00 ms	3.50 mA/4.00 ms
3	4.00 mA/4.00 ms	5.00 mA/4.00 ms
6	3.75 mA/4.00 ms	4.00 mA/4.00 ms
7	4.00 mA/4.00 ms	4.00 mA/4.00 ms

2.3 排便记录

进行干预后假刺激组4只犬均出现明显的排便频率减少、大便硬结(图3A, 3B), 并伴有排便费力、排便时躁动、低吼的表现, 电刺激组的症状相对较轻。排便情况的监测结果提示, 电刺激组排便频率为(3.08±0.31)次/d, 大便性状得分为3.30±0.32, 均高于对照组的排便频率(2.43±0.43)次/d和大便性状得分2.55±0.47, 差异均有统计学意义($t=2.464, 2.666; P=0.049, 0.037$; 图3C, 3D)。

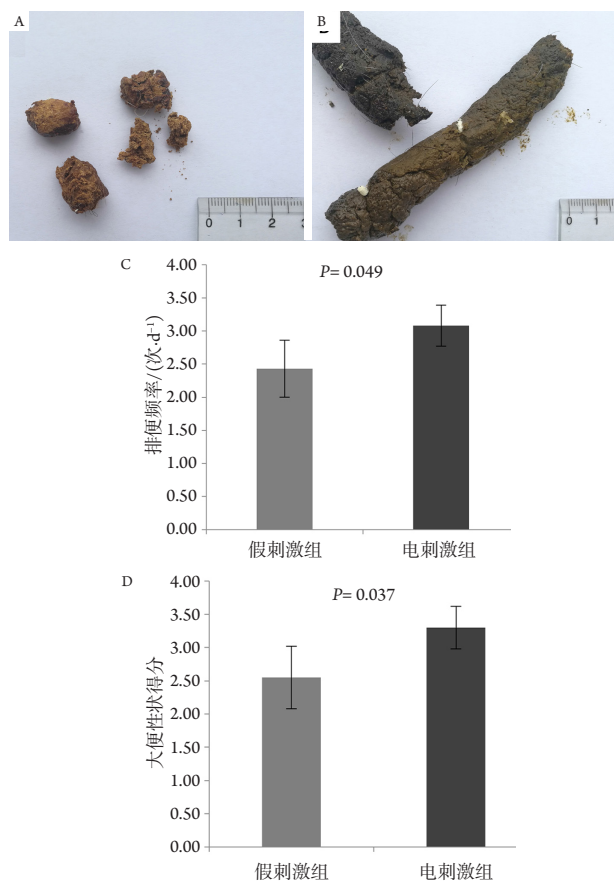


图3 两组大便性状观察及排便频率、大便性状得分比较

Figure 3 Stool character and comparison of defecation frequency and stool form scale between the two groups

(A) 假刺激组大便性状; (B) 电刺激组大便性状; (C) 两组间排便频率的差异; (D) 两组间大便性状得分的差异。

(A) Stool character in the sham stimulation group; (B) Stool character in electrical stimulation group; (C) Comparison of defecation frequency between the two groups; (D) Comparison of stool form scale between the two groups.

2.4 胃肠传输试验

与假刺激组的(40.85±1.31) h相比, 电刺激组的GITT(32.98±2.38) h显著缩短, 差异有统计学意义($t=-5.793$, $P=0.001$, 图4)。

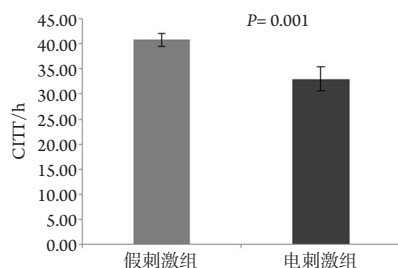


图4 假刺激组与电刺激组在GITT的差异

Figure 4 Comparison of GITT between the sham stimulation group and the electrical stimulation group

3 讨论

STC是临床上最常见的消化道疾病之一, 但缺少有效的治疗方法。GIES与心脏起搏器的原理相似, 通过发放一定模式的电脉冲调节胃肠道平滑肌的运动。其安全性好、手术创伤小、不改变胃肠道解剖结构, 较传统的外科手术有明显的优势。GIES在治疗肥胖症、假性肠梗阻、大便失禁、便秘等胃肠道功能障碍性疾病中已进行大量研究, 其中胃电刺激治疗顽固性胃轻瘫已被FDA批准^[8]。CES治疗便秘也受到广泛关注。

目前国内外均存在关于CES的动物实验。但是既往实验^[9-11]多采用大鼠或小鼠作为研究对象, 鼠类体积小, 与人体差异巨大, 难以对适用于人体的电刺激系统和参数进行研究, 并且影像学等各种指标不易观察, 影响疾病诊断的准确性, 操作也不易进行。其次, 既往研究^[7,12]多采用为期数天的短期造模方案, 而便秘为慢性疾病, 造模时间过短不易反应疾病特点及治疗的效果。另外, 既往实验^[11,13]多在不同动物个体上采用相同的刺激参数, 忽略了个体差异。本研究在既往实验基础上进行逐一改进。首先, 实验采取比格犬为研究对象, 其与人的消化系统结构和功能极为类似, 代表性强; 体积大, 可以使用与人体完全相同的仪器进行研究, 这对电刺激在人体的应用、刺激器的升级研发、人体适宜的模式和参数筛选等具有重要的作用, 是小动物实验无法实现的。比格犬性情温和、依从性强, 便于观察和操作。另外, 本研究STC造模长达5周, 能更好地反应便秘这一

慢性疾病的特点应用症状相关指标, 并结合GITT功能测定, 使便秘的诊断更加准确。且研究根据动物的症状反应选择个体化参数刺激, 能更好地解决个体存在差异的情况, 研究中参数筛选的结果提示, 不同个体之间对刺激的耐受并不相同。采用个体化刺激既可避免因刺激参数过小而引起的效果不够理想, 也避免了因参数过大而引发的耐受不佳, 是更加理想的刺激模式。实验结果表明: 电刺激组犬较假刺激组排便频率增加, 大便性状得到改善, GITT缩短。既往造模经验^[14]认为GITT≥36 h为造模成功的标准, 假刺激组的GITT为(40.85±1.31) h, 仍符合便秘诊断, 而电刺激组的GITT为(32.98±2.38) h, 已不够慢性便秘的诊断标准。认为个体化慢性CES在STC模型犬上具有非常理想的治疗效果。

本研究存在几点不足: 因各方面条件制约, 动物数量较少; 未设置完全正常组、单纯便秘组进行对照, 可能影响结论的可靠性, 需后期加大样本量并完善设置对照进一步验证。

综上, 本研究对STC模型犬进行个体化慢性CES, 并评估了犬的排便频率、大便性状、胃肠传输功能, 认为该刺激方案具有非常理想的治疗效果。

参考文献

1. Shahid S, Ramzan Z, Maurer AH, et al. Chronic idiopathic constipation: more than a simple colonic transit disorder[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2012, 46(2): 150-154.
2. Frattini JC, Noguera JJ. Slow transit constipation: a review of a colonic functional disorder[J]. *Clin Colon Rectal Surg*, 2008, 21(2): 146-152.
3. Belsey J, Greenfield S, Candy D, et al. Systematic review: impact of constipation on quality of life in adults and children[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2010, 31(9): 938-949.
4. Chen S, Liu L, Guo X, et al. Effects of colonic electrical stimulation using different individual parameter patterns and stimulation sites on gastrointestinal transit time, defecation, and food intake[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2016, 31(2): 429-437.
5. O'Donnell LJ, Virjee J, Heaton KW. Detection of pseudodiarrhoea by simple clinical assessment of intestinal transit rate[J]. *BMJ*, 1990, 300(6722): 439-440.
6. Sanmiguel CP, Casillas S, Senagore A, et al. Neural gastrointestinal electrical stimulation enhances colonic motility in a chronic canine model of delayed colonic transit[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2006, 18(8): 647-653.

7. Chen S, Li Y, Yao S, et al. Implantable colonic electrical stimulation improves gastrointestinal transit and defecation in a canine constipation model[J]. *Neuromodulation*, 2016, 19(1): 108-115.
8. Guo X, Li Y, Yao S, et al. Parameter selection and stimulating effects of an adjustable gastric electrical stimulator in dogs[J]. *Obes Surg*, 2014, 24(1): 78-84.
9. Sevcencu C, Rijkhoff NJ, Sinkjaer T, et al. Colon emptying induced by sequential electrical stimulation in rats[J]. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng*, 2005, 13(4): 516-523.
10. Sevcencu C, Rijkhoff NJ, Sinkjaer T. Muscular vs. neural activation in propulsion induced by electrical stimulation in the descending colon of rats[J]. *Neuromodulation*, 2005, 8(2): 131-140.
11. Liu S, Chen JD. Colonic electrical stimulation regulates colonic transit via the nitrergic pathway in rats[J]. *Dig Dis Sci*, 2006, 51(3): 502-505.
12. Vaucher J, Cerantola Y, Gie O, et al. Electrical colonic stimulation reduces mean transit time in a porcine model[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2010, 22(1): 88-92.
13. Amaris MA, Rashev PZ, Mintchev MP, et al. Microprocessor controlled movement of solid colonic content using sequential neural electrical stimulation[J]. *Gut*, 2002, 50(4): 475-479.
14. 陈朔. 个体化结肠电刺激对犬胃肠传输、排便、摄食的影响及机制研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2016.
CHEN Shuo. Effects and mechanisms of individualized colonic electrical stimulation on gastrointestinal transit time, defecation and food intake[D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2016.

本文引用: 朱丹, 李艳梅, 姚树坤, 陈朔, 陈少轩, 杜玉惠. 个体化慢性结肠电刺激对慢传输型便秘模型犬排便及胃肠传输的影响[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(4): 718-723. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.04.006

Cite this article as: ZHU Dan, LI Yanmei, YAO Shukun, CHEN Shuo, CHEN Shaoxuan, DU Yuhui. Effects of individualized chronic colonic electrical stimulation on defecation and gastrointestinal transit in slow transit constipation dogs[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(4): 718-723. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.04.006