

· 基础研究 ·

大鼠脊髓急性损伤后血流动力学变化的光学监测

苏昊 郑启新 骆清铭

【摘要】目的 观察脊髓损伤后血流动力学的变化,探讨脊髓损伤的血流动力学机制。**方法** 雌性 SD 大鼠 20 只,分为对照组和损伤组,每组 10 只。Nystrom 法制造大鼠脊髓(T₁₀₋₁₁)中度压迫性损伤模型。利用激光散斑成像系统监测大鼠脊髓损伤后第 10 分钟、30 分钟、1 小时、2 小时、3 小时、6 小时背部血管内的血流速度和血流量以及血管管径的变化。**结果** 对照组大鼠各时间点血管内的血流速度、血流量以及血管管径均较稳定,无明显波动。损伤组大鼠各项指标均低于对照组。**结论** 激光散斑成像技术可以用于监测脊髓血流动力学的变化;急性脊髓损伤后血流动力学的变化提示进行性的“创伤后缺血”,静脉回流受阻可能是引起创伤后缺血的一个重要因素。

【关键词】 激光散斑成像; 脊髓损伤; 血流动力学; 缺血

Observing hemodynamic changes in the spinal cord after acute spinal cord injury SU Hao*, ZHENG Qi-xin, LUO Qing-ming. * Department of Traumatic Orthopaedics, Yantai Yuhuangding Hospital, Qingdao University Medical College, Yantai 264000, China

【Abstract】 Objective To observe any changes in spinal cord hemodynamics after spinal cord injury and to investigate their mechanism. **Methods** Twenty female Sprague-Dawley rats were divided into a control group and a moderate injury group, 10 rats in each group. A rat model of spinal cord injury caused by moderate compression was established using Nystrom's method. Changes in the velocity and volume of blood flow and in the diameters of vessels of the spinal cord were monitored for 6 hours using laser speckle imaging. **Results** No changes in the velocity or volume of blood flow or in the diameter of vessels were observed in the control group, but all of these indices diminished significantly in the injury group. **Conclusions** Laser speckle imaging can be used to monitor changes in spinal cord hemodynamics. Such changes after acute spinal cord injury indicate progressive post-injury ischemia. The occlusion of veins may be an important contributor to post-injury ischemia.

【Key words】 Laser speckle imaging; Spinal cord injury; Hemodynamics; Ischemia

脊髓损伤的机制分为原发性损伤和继发性损伤两种,缺血是继发性脊髓损伤机制的基础,与临床功能缺陷的程度相平行^[1,2]。因此,对脊髓损伤后缺血机制的研究尤为重要。血流动力学的变化作为缺血后表现的一个重要方面,对研究脊髓损伤的缺血机制和治疗有重大意义。

自 20 世纪 80 年代后,激光散斑成像技术逐渐被用于监测人的皮肤、眼底的血流分布以及大鼠脑皮质的血流动态变化等^[3]。激光散斑成像作为一种新的区域性流速监测技术,能够实现在无需扫描的条件下,以较高的空间分辨率(13 μm)和时间分辨率(25 ms)活体、动态、非接触地监测血流速度、

血管管径和血流量的变化,获得血流动力学的多个指标^[4]。

本研究采用激光散斑成像技术来监测脊髓损伤前、后脊髓背部表面血管内的血流速度和血流量、血管管径以及血管旁无明显可见血管区域的血流速度的变化,从而研究脊髓损伤后血流动力学的变化,探讨脊髓损伤的缺血机制。

材料与方法

一、动物分组及脊髓损伤模型制作

成年雌性 SD 大鼠 20 只,体重为(250 ± 20)g,随机分为对照组和损伤组,每组 10 只。

采用 Nystrom 等^[5]的方法制作脊髓损伤模型。无菌操作,10% 水合氯醛(400 mg/kg 体重)腹腔注射麻醉,暴露 T₁₀ ~ T₁₁ 节段硬脊膜,将 35 g 重物通过 2.2 mm × 5.0 mm 弧形光滑金属垫片压迫于该段脊髓后正中部,时间为 5 min,造成中度脊髓损伤。对照组

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2009.09.002

作者单位:264000 烟台,青岛大学医学院附属烟台毓璜顶医院创伤骨科(苏昊);华中科技大学同济医学院附属协和医院骨科(郑启新);华中科技大学生命科学与技术学院生物医学光子学教育部重点实验室(骆清铭)

仅做椎板切除术,不损伤脊髓。所有大鼠均在手术后通过腹腔注射 1.0 ml 生理盐水,补充因手术丧失的血容量。

用电热毯保持大鼠肛温在 37 ~ 39℃。用立体定位仪固定大鼠脊柱,以消除因呼吸所造成的脊柱运动,在暴露的硬脊膜表面不断滴加温热(38℃)的生理盐水,以尽量保持脊髓的正常生理状态。

二、脊髓血流动力学的监测

利用激光散斑成像系统(由华中科技大学生命科学与技术学院生物医学光子学教育部重点实验室提供)监测大鼠脊髓血流动力学的变化。

1. 激光散斑成像系统:激光散斑成像系统包括光路和成像系统两部分(图 1、图 2)。光路由氦-氖(He-Ne)($\lambda = 632.8 \text{ nm}$, 3 mw)激光器发出光束耦合,形成直径为 8 mm 的光纤束,成像系统由带电子耦合器件(charge coupled device, CCD)(Pixelfly, Pco Computer Optics)相机的变焦体视显微镜(SZ6045TR, Olympus)、图像采集卡与图像采集控制软件、信号分析软件构成。激光散斑成像技术能达到的探测深度约为 500 μm ~ 1 mm。

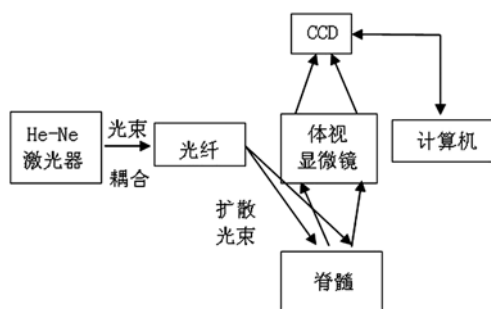


图 1 激光散斑成像系统的示意图

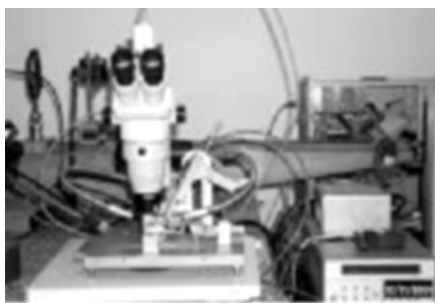


图 2 激光散斑成像系统的实物图

2. 图像采集与处理:将制作好的大鼠脊髓模型放在体视显微镜的正下方,调焦,以能够在显示器上清楚地透过硬脊膜观察到大鼠脊髓背部表面血管为准。先用白光照射大鼠脊髓背部,利用激光散斑成像系统透过硬脊膜获得正常大鼠脊髓背部表面血管的白光图,再改用激光,透过硬脊膜,由计算机控制在动物模型制作成功后即刻也就是 0 min 连续采集 20 帧正常脊髓

背部表面血管的原始散斑图像,然后保持大鼠位置不动,施行压迫损伤,损伤后第 10 分钟、30 分钟、1 小时、2 小时、3 小时、6 小时再分别采集 20 帧原始散斑图像。对照组则不进行损伤,直接在相应的时间点采集图像。每帧原始散斑图像大小为 640 像素 $\times$ 480 像素,体视显微镜的放大倍数为 1.5 倍,监测的脊髓背部的区域面积为 4.2 mm $\times$ 3.2 mm。CCD 曝光时间为 20 ms。

用 Matlab 6.1 软件对原始的散斑图像进行处理,获得各时间点的伪彩色血流图,颜色越红代表相应的流速越快。以 0 min 时的伪彩色血流图为准,各时间点上的伪彩色血流图与它相比较,通过 Matlab 6.1 软件计算,得出各时间点脊髓血流动力学指标变化的百分数。

3. 监测指标:选择大鼠脊髓背部表面正中血管(血管 2)及其分支(血管 1)和血管旁无明显可见血管区域(原始面积为 0.5 mm $\times$ 0.5 mm)进行血流动力学研究,监测血管旁无明显可见血管区域的血流速度(A)(%)、血管 1 的血流速度(B)(%)、血管 2 的血流速度(C)(%)、血管 2 的管径(D)(%)和血管 2 内血流量(E)(%)的变化。

三、统计学分析

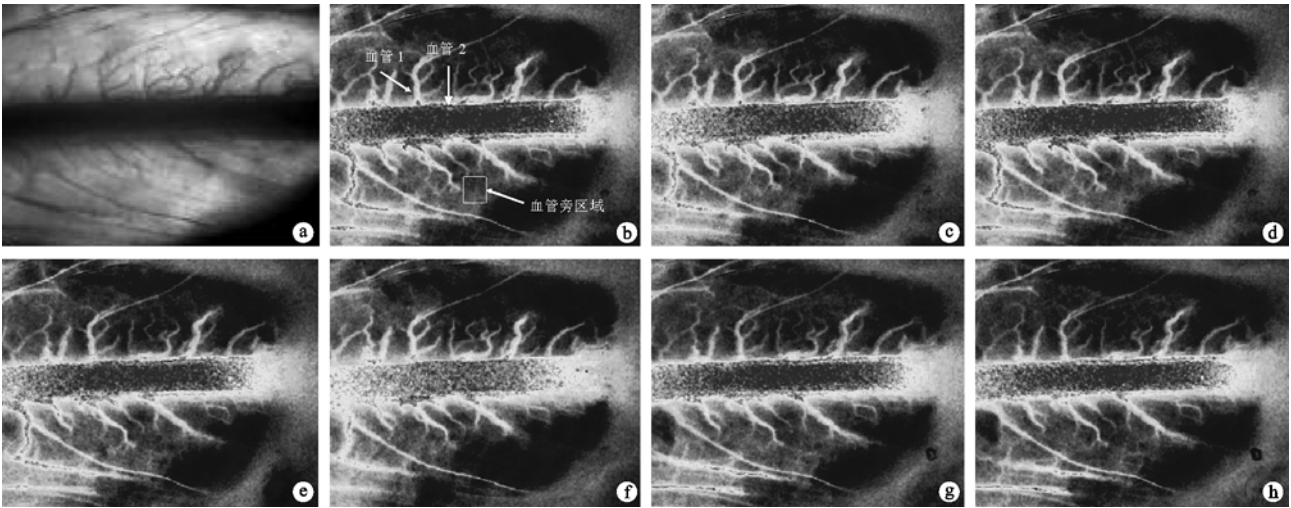
所有数据均以($\bar{x} \pm s$)表示,通过 SPSS 12.0 版软件采用 t 检验进行评价, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

在白光的照射下,利用激光散斑成像系统,可以观察血流的方向。大鼠脊髓 T₁₀ ~ T₁₁ 节段背部表面的可见血管几乎全为静脉。正中的一条粗大血管为脊髓后静脉,其余血管为其分支(图 3a、图 4a)。

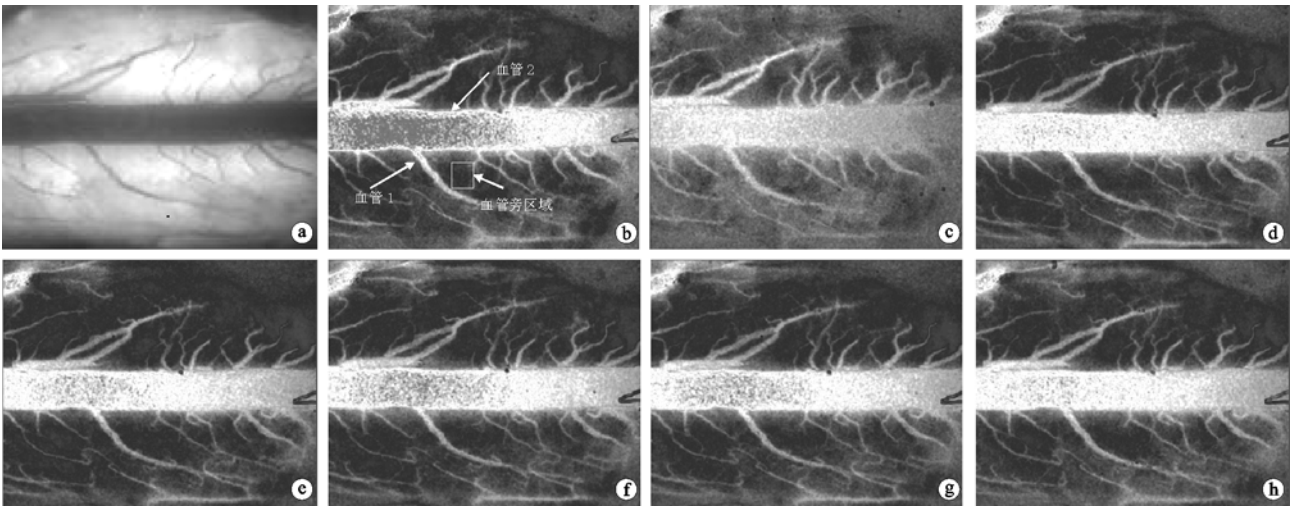
从伪彩色血流图上可以看到,对照组各时间点血管 1、血管 2 及其大部分分支颜色、管径无明显变化,血流速度无明显变化(图 3);损伤组伤后第 10 分钟即出现血管 1、血管 2 及其大部分分支的颜色变浅、血流速度变慢,各时间点血管 2 管径较损伤前有所缩小,一些小分支血管的血流逐渐减慢,甚至停止(图 4)。

对照组大鼠各时间点血流动力学的各项指标均较稳定,无明显波动。损伤组大鼠脊髓损伤后 10 min 即可见到指标 A、B、C、E 明显下降,为损伤前的 40.0% 左右;指标 D 也有明显的缩小,为损伤前的 83.6%。以后,血流动力学的各项指标有轻度的改善,在伤后 30 min 左右开始略有升高,至伤后 2 h 左右再次下降,直至伤后 6 h,仍在继续下降。损伤组各项指标均低于对照组($P < 0.05$)。见表 1。



注:a. 对照组第 0 分钟白光照射下血管的分布 ($\times 1.5$); b. 对照组第 0 分钟伪彩色血流图; c. 对照组伤后第 10 分钟伪彩色血流图; d. 对照组伤后第 30 分钟伪彩色血流图; e. 对照组伤后第 1 小时伪彩色血流图; f. 对照组伤后第 2 小时伪彩色血流图; g. 对照组伤后第 3 小时伪彩色血流图; h. 对照组伤后第 6 小时伪彩色血流图

图 3 对照组大鼠脊髓背部血管图



注:a. 损伤组第 0 分钟白光照射下血管的分布 ($\times 1.5$); b. 损伤组第 0 分钟伪彩色血流图; c. 损伤组伤后第 10 分钟伪彩色血流图; d. 损伤组伤后第 30 分钟伪彩色血流图; e. 损伤组伤后第 1 小时伪彩色血流图; f. 损伤组伤后第 2 小时伪彩色血流图; g. 损伤组伤后第 3 小时伪彩色血流图; h. 损伤组伤后第 6 小时伪彩色血流图

图 4 损伤组大鼠脊髓背部血管图

表 1 2 组大鼠脊髓血流动力学的变化 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	只数	血管旁区域血流速度(A)	血管1血流速度(B)	血管2血流速度(C)	血管2管径(D)	血管2血流量	组别	只数	血管旁区域血流速度(A)	血管1血流速度(B)	血管2血流速度(C)	血管2管径(D)	血管2血流量
对照组	10						损伤组	10					
伤后 10 min		94.63 $\pm$ 3.08	92.84 $\pm$ 6.92	94.64 $\pm$ 2.19	98.42 $\pm$ 2.16	92.00 $\pm$ 3.50	伤后 10 min		43.84 $\pm$ 5.43 ^a	44.73 $\pm$ 5.56 ^a	46.73 $\pm$ 3.74 ^a	83.60 $\pm$ 4.11 ^a	39.04 $\pm$ 1.96 ^a
伤后 30 min		96.83 $\pm$ 4.23	93.76 $\pm$ 2.11	94.95 $\pm$ 4.05	99.41 $\pm$ 7.43	93.41 $\pm$ 4.17	伤后 30 min		49.96 $\pm$ 2.96 ^a	53.04 $\pm$ 3.38 ^a	58.83 $\pm$ 4.80 ^a	91.01 $\pm$ 3.36 ^a	55.61 $\pm$ 6.14 ^a
伤后 1 h		94.80 $\pm$ 2.66	94.60 $\pm$ 3.14	95.92 $\pm$ 3.23	99.20 $\pm$ 5.38	95.09 $\pm$ 3.91	伤后 1 h		56.47 $\pm$ 3.26 ^a	60.09 $\pm$ 2.36 ^a	64.35 $\pm$ 4.41 ^a	92.24 $\pm$ 1.98 ^a	60.13 $\pm$ 4.11 ^a
伤后 2 h		96.87 $\pm$ 3.10	96.06 $\pm$ 4.47	96.17 $\pm$ 3.44	99.15 $\pm$ 3.52	94.17 $\pm$ 3.12	伤后 2 h		59.30 $\pm$ 4.04 ^a	58.69 $\pm$ 2.20 ^a	65.26 $\pm$ 3.44 ^a	94.97 $\pm$ 1.96 ^a	63.98 $\pm$ 3.58 ^a
伤后 3 h		96.44 $\pm$ 4.35	95.17 $\pm$ 3.03	96.72 $\pm$ 3.48	98.47 $\pm$ 4.76	92.98 $\pm$ 5.18	伤后 3 h		51.08 $\pm$ 3.46 ^a	50.99 $\pm$ 6.74 ^a	57.06 $\pm$ 3.77 ^a	93.70 $\pm$ 2.68 ^a	52.49 $\pm$ 3.76 ^a
伤后 6 h		95.70 $\pm$ 3.18	94.55 $\pm$ 4.76	93.83 $\pm$ 1.96	98.70 $\pm$ 2.71	92.68 $\pm$ 3.31	伤后 6 h		47.74 $\pm$ 2.07 ^a	47.97 $\pm$ 4.02 ^a	53.77 $\pm$ 2.75 ^a	85.07 $\pm$ 3.78 ^a	46.28 $\pm$ 2.27 ^a

注:与对照组同期比较,^a $P < 0.05$

讨 论

一、激光散斑成像系统

1. 激光散斑成像原理:激光散斑是指当激光照射在相对粗糙(和光的波长相比)的物体表面上,经过不同光程的散射光之间相互干涉,形成的随机干涉图样。当被激光照亮的区域经过 CCD 成像系统时,产生颗粒状或斑纹状像面散斑。如果散射介质在运动,图像中的每一个像素将产生随时间变化的散斑图样。在时间和空间上的强度变化包含着散射介质的运动信息。激光散斑成像技术通过 CCD 相机对散斑图样成像,分析由流速引起的空间模糊程度来获得高空间和时间分辨率的二维流速分布图,从而求出相对速度。

2. 激光散斑成像技术的优点:目前常用的监测动物脊髓血流动力学变化的方法有氢清除法、微球法、放射自显影法及激光多普勒法等。它们只能用来监测脊髓血流量的变化,指标单一,很难全面地反映脊髓血流动力学的变化,并且存在着对脊髓组织有损伤或需要加入外源性标记物或具有放射性或空间分辨率不够高等缺陷^[2,6,7]。我们将激光散斑成像技术用于监测脊髓血流动力学的变化,取得了肯定的结果。目前,国内外尚未见类似研究报道。

激光散斑成像技术无需注入造影剂,无需扫描,操作简便,可透过硬脊膜或其他一定厚度组织,以较高的空间分辨率(13 μm)和时间分辨率(25 ms)监测血流动力学的变化,获得血流速度、血管管径和血流量的多个血流动力学指标,并且能够清楚地观察血流方向,从而区分动、静脉。本研究发现,大鼠脊髓 T₁₀~T₁₁ 节段背部表面的可见血管中,正中的一条粗大血管为脊髓后静脉,其余血管为其分支,这与 Koyanagi 等^[8]的研究结果也是相一致的。处理后的伪彩色血流图可以直观地观察血流速度的变化和血管的膨胀或收缩,还可以从伪彩色血流图上任意选择感兴趣的区域进行血流动力学的研究。

本研究显示,激光散斑成像技术可以准确、动态、活体、非接触地监测脊髓血流动力学的变化,直观地观察血管形态和血流速度的改变,为研究实验性脊髓压迫刺激或损伤前后以及药物干预等条件下血流动力学的变化提供了一种确实、可靠的监测手段。

二、脊髓损伤后血流动力学的变化

本实验可以直观地从伪彩色血流图上观察到进行性的脊髓“创伤后缺血”。

数据处理后,我们发现损伤段血管 1,2 和血管旁无明显可见血管区的血流速度、血管 1 的管径以及血流量先是降低,在伤后 30 min 左右开始略有升高,至

伤后 2 h 左右再次下降,直至伤后 6 h,继续下降,未见回升。出现上述变化可能与下列因素有关:对脊髓背部用 35 g 重物压迫 5 min 后,被压迫区域所有血管的血流被暂时阻断,发生原发性脊髓损伤。解除压迫后,动、静脉血流恢复,静脉回心血流增加,故血管旁区域和血管 1,2 的血流速率开始回升,血管 1 的管径有所舒张,血流量增加;伤后 2 h 后各项指标开始再度下降,可能是脊髓继发性损伤机制的启动所导致的。因此,若能在脊髓损伤后短时间内恢复脊髓的血流,有可能减轻或阻断脊髓的继发性损伤,可能对恢复脊髓的功能有帮助。

在实验的过程中,我们还观察到微小血管的血流在损伤后逐渐减慢,直到停止。原因还不明确,可能与原发性脊髓损伤后血管受损、血小板聚集、血栓形成等因素有关。有的大鼠在脊髓压迫伤后立即出现血管周围的出血。脊髓的血管位于硬脊膜下,出血可能为血管的机械性损伤所致。

三、脊髓损伤的缺血机制

急性脊髓损伤后进行性的“创伤后缺血”是由系统和局部两部分共同参与调控的。

系统原因主要是脊髓的自身调节紊乱。正常脊髓存在血流的自身调节,在相当宽的动脉压范围内,脊髓血流平稳在一定水平。急性脊髓损伤后,交感神经张力降低,心输出量减少,血压下降,同时脊髓自身调节血流的能力受到损害,使得脊髓组织在血压较低时,不能有效保证局部的血供,从而导致脊髓缺血^[9]。

局部原因可能与下列因素有关:①脊髓损伤后产生的氧自由基、一氧化氮、血小板活化因子、花生四烯酸代谢产物、血栓素 A₂ 等物质以及机械性损害使微血管收缩、通透性增高、血小板聚集,导致脊髓微血管内微血栓形成或栓塞、脊髓缺血^[10]。②急性脊髓压迫性损伤后,血管内皮细胞损伤或水肿,释放血管活性物质如内皮素等引起血管通透性的增加,导致血管内蛋白质渗漏、血管周围组织水肿。由于脊髓被包在一层相对紧张的软脊膜中,水肿增加了脊髓和软脊膜之间的空隙压力,产生了髓内高压,导致静脉回流受阻,这会引起静脉内血液逆向涌动。血液的逆向涌动冲破薄的血管壁,就会发生沿着这些静脉的血液外渗,引起脊髓内部静脉出血,出血可以加重缺血或经过血小板聚集途径发生血栓形成,进而造成脊髓血流量明显下降^[11]。有研究显示,静脉回流受阻在急性脊髓继发性损伤中起重要作用,可以加重脊髓后柱的缺血以及引起脊髓白质损伤^[12]。本实验的结果也提示急性脊髓压迫性损伤后静脉回流受阻。

总之,激光散斑成像技术可以准确、动态、活体、

非接触地监测脊髓血流动力学的变化,直观地观察血管形态和血流速度的改变,为研究实验性脊髓压迫损伤前后以及药物干预等条件下血流动力学的变化提供了一种确实、可靠的监测手段。急性脊髓损伤后脊髓血流动力学的变化提示进行性的“创伤后缺血”,其因素有多方面,本实验证实了静脉回流受阻可能是其中的一个重要方面。

参 考 文 献

- [1] Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, et al. Acute spinal cord injury, part I: pathophysiologic mechanisms. Clin Neuropharmacol, 2001, 24: 254-264.
- [2] Hamamoto Y, Ogata T, Morino T, et al. Real-time direct measurement of spinal cord blood flow at the site of compression; relationship between blood flow recovery and motor deficiency in spinal cord injury. Spine, 2007, 32: 1955-1962.
- [3] Dunn AK, Bolay H, Moskowitz MA, et al. Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. J Cereb Blood Flow Metab, 2001, 21: 195-201.
- [4] 张丽, 李鹏程, 倪松林, 等. 超深低温作用下大鼠脑血流变化的激光散斑成像监测. 生物物理学报, 2006, 22: 303-309.
- [5] Nystrom B, Berglund JE. Spinal cord restitution following compression injuries in rats. Acta Neurol Scand, 1988, 78: 467-472.
- [6] Brattli OS, Nystuen K, Saether OD, et al. Regional distribution of blood flow during proximal aortic cross-clamping: an experimental study using coloured microspheres. Scand J Clin Lab Invest, 2007, 67: 526-535.
- [7] Ueda Y, Kawahara N, Tomita K, et al. Influence on spinal cord blood flow and function by interruption of bilateral segmental arteries at up to three levels; experimental study in dogs. Spine, 2005, 30: 2239-2243.
- [8] Koyanagi I, Tator CH, Lea PJ. Three-dimensional analysis of the vascular system in the rat spinal cord with scanning electron microscopy of vascular corrosion casts. Part 1: Normal spinal cord. Neurosurgery, 1993, 33: 277-283.
- [9] Garstang SV, Miller-Smith SA. Autonomic nervous system dysfunction after spinal cord injury. Phys Med Rehabil Clin N Am, 2007, 18: 275-296.
- [10] Ambrozaitis KV, Kontautas E, Spakauskas B, et al. Pathophysiology of acute spinal cord injury. Medicina (Kaunas), 2006, 42: 255-261.
- [11] Sekhon LH, Fehlings MG. Epidemiology, demographics, and pathophysiology of acute spinal cord injury. Spine, 2001, 26: S2-12.
- [12] Stys PK. White matter injury mechanisms. Curr Mol Med, 2004, 4: 113-130.

(修回日期: 2008-12-29)

(本文编辑: 松 明)

· 短篇论著 ·

窄谱中波紫外线联合更昔洛韦、复方甘草酸苷治疗中老年带状疱疹的疗效分析

张冬云 魏国 史永俭 张春敏 马冬梅

带状疱疹是一种急性疱疹性皮肤病, 神经痛为其特征之一, 年龄越大, 患病率越高, 年老体弱者易发生后遗神经痛。本病治疗方法很多, 疗效不一。我们采用窄谱中波紫外线联合更昔洛韦、复方甘草酸苷治疗中老年带状疱疹患者 45 例, 取得了良好的疗效, 现报道如下。

一、资料与方法

(一) 临床资料

随机选取 2007 年 1 月至 2008 年 6 月间就诊于本科的中老年带状疱疹患者 80 例, 均符合带状疱疹的临床诊断标准^[1], 均为年龄 > 40 岁、皮损面积 $\geq 100 \text{ cm}^2$ 、目测类比评分法 (visual analogue scale, VAS) 评分 ≥ 4 分的中重度患者, 且无紫外线照射禁忌证及光敏性疾病, 无严重心、肝、肾功能障碍或糖尿病等系统性疾病, 就诊前 7 d 内未服用过抗病毒药物及免疫调节剂。将 80 例患者分为治疗组和对照组。治疗组 45 例中, 男 20 例, 女 25 例; 年龄 40 ~ 75 岁, 平均 (54.62 ± 8.49) 岁; 病程 $(4.16 \pm$

1.33) d; 皮疹分布胸背部 25 例, 上肢 11 例, 下肢 9 例。对照组 35 例中, 男 16 例, 女 19 例; 年龄 40 ~ 79 岁, 平均 (55.34 ± 10.82) 岁; 病程 (4.37 ± 1.29) d; 皮疹分布胸背部 18 例, 上肢 10 例, 下肢 7 例。2 组在性别、年龄、病程及病情严重程度等方面经统计学分析, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具可比性。

(二) 治疗方法

1. 治疗组: ①用更昔洛韦 250 mg 溶于生理盐水 250 ml 中, 静脉滴注, 每日 1 次, 连用 7 d; ②复方甘草酸苷 80 mg 稀释于 5% 葡萄糖液 250 ml 中, 静脉滴注, 每日 1 次, 连用 7 d; ③采用 UV100L 型窄谱中波紫外线仪 (德国 Waldmann 公司生产) 对所累及的部位进行窄谱中波紫外线局部照射, 首次剂量 $0.4 \sim 0.5 \text{ J/cm}^2$, 根据照射后有无红斑反应, 逐渐增加剂量 20% ~ 30%, 隔日照射 1 次, 连用 5 次。

2. 对照组: 仅给予更昔洛韦和复方甘草酸苷治疗, 方法同治疗组。

(三) 观察指标及观察方法

治疗第 3, 5, 7 天及治疗结束后 7 d 时, 详细记录患者疼痛缓解、皮损结痂、疼痛消失及痂皮脱落等情况 (根据实际需要适当延长观察时间)。皮损结痂时间指全部水疱干涸结痂; 痂皮