

· 基础研究 ·

磁共振扩散张量成像在高压氧治疗创伤性脊髓损伤大鼠疗效评估中的应用

刘芳¹ 刘建宜² 郑颖彦² 杨丽彬² 赵益晶² 肖泽彬² 余德君² 曹代荣²

¹福建医科大学附属第一医院高压氧室,福州 350005; ²福建医科大学附属第一医院影像科,福州 350005

通信作者:刘芳,Email:913542386@qq.com

【摘要】 目的 探讨磁共振扩散张量成像(DTI)在高压氧治疗创伤性脊髓损伤(TSCI)大鼠疗效评估中的应用价值。**方法** 应用改良的 Allen's 法制备大鼠 TSCI 模型 30 只,按随机数字表法分为脊髓损伤组(损伤组)15 只和脊髓损伤高压氧治疗组(治疗组)15 只。治疗组 TSCI 后每日干预 2 次,连续干预 3 d 后每日干预 1 次,共干预 4 周,损伤组 TSCI 后不进行高压氧干预。2 组大鼠均于损伤后即刻、6 h、24 h、3 d、7 d、14 d、21 d、28 d 行 3.0T DTI 检查和大鼠运动功能评分(BBB 评分)。采用两因素重复测量方差分析评估 2 组大鼠间 DTI 特征性参数值[部分各向异性(FA)、平均表观弥散率(MD)、径向弥散率(RD)及轴向弥散率(AD)]以及 BBB 评分的差异性,同时运用 LSD-t 检验分析 2 组大鼠上述各参数在各时间点的组间差异。**结果** 损伤 24 h、3 d、7 d、14 d、21 d、28 d 后,治疗组的 FA 值均显著高于损伤组同时时间点,差异均有统计学意义($P<0.05$)。损伤 24 h、3 d、7 d、14 d、21 d、28 d 后,治疗组的 MD 值和 RD 值均显著低于损伤组同时时间点,差异均有统计学意义($P<0.05$)。损伤 14 d、21 d、28 d 后,治疗组的 AD 值均显著高于损伤组同时时间点,差异均有统计学意义($P<0.05$)。损伤 3 d、7 d、14 d、21 d、28 d 后,治疗组的 BBB 评分均显著高于损伤组同时时间点,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** DTI 特征性参数可较好地评估脊髓功能,并可为高压氧治疗 TSCI 大鼠后的动态评估提供有价值的信息。高压氧治疗有助于 TSCI 大鼠运动功能的恢复。

【关键词】 高压氧治疗; 脊髓损伤; 磁共振成像; 扩散张量成像; 大鼠

基金项目:福建省自然科学基金(2016J01526)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2022.04.001

Applying magnetic resonance diffusion tensor imaging in hyperbaric oxygen treatment of traumatic spinal cord injury in rats

Liu Fang¹, Liu Jianyi², Zheng Yingyan², Yang Libin², Zhao Yijin², Xiao Zebin², She Dejun², Cao Dairong²

¹Department of Hyperbaric Oxygen Treatment, ²Imaging Department, The First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China

Corresponding author: Liu Fang, Email: 913542386@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the value of diffusion tensor imaging (DTI) in evaluating the effects of hyperbaric oxygen therapy (HOT) in treating spinal cord injury. **Methods** The modified Allen's method was used to induce a traumatic spinal cord injury in 30 rats who were then divided randomly into an injured group and a treatment group, each of 15. The treatment group was given HOT twice a day for 3 days, then once a day for a total of 4 weeks. The injured group did not receive HOT. DTI was performed (along with Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) evaluation) at 0h, 6h, 24h, as well as 3, 7, 14, 21 and 28 days after the operation. Two-factor repeated measures ANOVA was conducted to analyze any differences in the DTI results: the fractional anisotropy, mean apparent diffusivity, radial diffusivity and axial diffusivity, as well as the BBB scores. LSD t-tests were performed to analyze the significance of the differences at different time points. **Results** At each time point after 24h the average FA value of the treatment group was significantly higher than the injured group's average, while its average MD and RD values were significantly lower. Beyond 14 days the average AD value of the treatment group was significantly higher than that of the injured group. The treatment group's average BBB score was also significantly higher at all the time points beyond 3 days. **Conclusions** DTI results can evaluate spinal cord function and provide valuable information for the dynamic assessment of hyperbaric oxygen therapy after a traumatic spinal cord injury, and the therapy promotes the recovery of motor function, at least in rats.

【Key words】 Hyperbaric oxygenation; Spinal cord injuries; Magnetic resonance imaging; Diffusion

tensor imaging

Funding: The Natural Science Foundation of Fujian Province (2016J01526)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2022.04.001

创伤性脊髓损伤 (traumatic spinal cord injury, TSCI) 是由各种暴力引起的脊髓结构和功能上的损害, 具有致残率高、恢复率低的特点^[1]。高压氧治疗 (hyperbaric oxygenation, HBO) 是近年来治疗 TSCI 的主要方法之一, 其疗效已得到临床和动物实验的证实^[2-3]。目前, 高压氧治疗的疗效评估主要是依据美国脊髓损伤协会 (American Spinal Injury Association, ASIA) 标准分级, 无法进行定量分析^[4]。研究发现, 磁共振弥散张量成像 (diffusion tensor imaging, DTI) 可对脊髓损伤进行无创性评估^[5], 但目前鲜有文献应用 DTI 来评估高压氧治疗后 TSCI 的神经功能改变。本研究观察了 DTI 特征性参数在高压氧治疗大鼠脊髓损伤后的变化, 旨在探究 DTI 动态评估高压氧治疗 TSCI 大鼠疗效的应用价值。

材料与方法

一、实验动物与分组

选取清洁级 SD (Sprague-Dawley) 大鼠 30 只, 由福建医科大学动物实验中心提供 [动物生产许可证号: SCXK (闽) 2016-0002], 体重 180~200 g, 平均体重 (189.0±5.5) g, 鼠龄 6~8 周, 平均鼠龄 (7.0±0.6) 周。采用随机数字表法将 30 只大鼠随机分为脊髓损伤组 (损伤组) 15 只和脊髓损伤高压氧治疗组 (治疗组) 15 只。

二、TSCI 模型建立

损伤组和治疗组均参照 Park 等^[6]的脊髓撞击法制作 TSCI 模型。采用 2% 戊巴比妥钠 (50 mg/kg 体重) 腹腔注射麻醉大鼠。大鼠取俯卧位, 于胸腰背部去毛, 碘伏消毒、铺无菌单, 以 T₁₀ 椎体为中心作纵行皮肤切口, 暴露 T₉₋₁₁ 椎板及棘突, 咬除 T₁₀ 椎板, 暴露脊髓。应用 NYU 打击器 (New York University impactor) (美国 W.M. Keck 公司, Model III 型), 将直径 2.5 mm、重量为 10 g 的打击杆从 12.5 mm 高度垂直落下损伤脊髓。造模成功的标志为: 撞击脊髓时, 大鼠发生身体抖动, 双下肢迅速回缩、弹动, 尾巴翘起并迅速落下, 脊髓打击处迅速淤血^[7]。随后止血并缝合肌肉和皮肤。术后应用抗生素, 于大鼠后肢肌注射硫酸庆大霉素 (福建产, 国药准字 H35020363) 0.2 万 U/次, 每日注射 2 次, 连续 3 d。应用下腹部按压膀胱法进行人工排尿, 每日 2 次, 直至大鼠自主排尿功能恢复。

三、高压氧干预

治疗组大鼠采用烟台冰轮高压氧舱有限公司制造

的实验动物高压氧舱 (许可证编号: TS2210150-2019) 于损伤 6 h 后进行 HBO 干预。首先将大鼠置于纯氧舱中, 舱内温度 22~25 ℃, 常压下纯氧洗舱 10 min, 使舱内氧浓度 ≥95%, 用 10 min 时间匀速将舱压升至 0.2 MPa (2 ATA), 稳压 60 min, 然后用 10 min 匀速减压出舱。治疗组于造模成功后即刻开始高压氧干预, 每日干预 2 次, 连续干预 3 d 后每日干预 1 次, 共干预 4 周。损伤组不进行高压氧干预, 饲养条件与高压氧组相同。

四、磁共振检查

应用德国西门子公司 3.0T 磁共振扫描仪行 DTI 检查, 采用 3T 老鼠线圈 (上海辰光医疗科技股份有限公司, CG-MUC 18-H300-AS 型) 分别于损伤后即刻、6 h、24 h、3 d、7 d、14 d、21 d、28 d 对 2 组大鼠进行扫描。俯卧位固定大鼠, 行轴位 T₂ 加权像 (T₂-weighted imaging, T₂WI) 及轴位 DTI 检查。轴位 T₂WI 扫描参数包括: 重复时间 (time of repetition, TR) = 3510 ms, 回波时间 (time of echo, TE) = 80 ms, 视野 (field of view, FOV) 为 162 mm×81 mm, 矩阵 192×192, 层厚 2.0 mm, 层间距 0.2 mm。DTI 扫描采用读出方向分段采样技术 (readout segmentation of long variable echo-trains, RESOLVE) 扩散序列, 扫描参数为: TR = 3130 ms, TE1 = 65 ms, TE2 = 93 ms, 梯度场方向 = 20, 扩散加权系数 b 值 = 0、800 s/mm², FOV 162 mm×81 mm, 矩阵 168×168, 层厚 2.0 mm。

五、图像后处理

将 DTI 数据传送至德国西门子公司图像后处理工作站, 应用 VB10B 版 Syngo.via 软件, 以轴位 T₂WI 为对照, 于脊髓损伤中心手动勾画感兴趣区 (region of interest, ROI), 尽量包括病灶, 并避开脑脊液和出血区域。由 2 名主治医师分别测量部分各向异性 (fractional anisotropy, FA)、平均弥散率 (mean diffusion, MD)、径向弥散率 (radial diffusion, RD) 和轴向弥散率 (axial diffusion, AD) 值 2 次, 取平均值, 意见不同时协商一致。同时重建弥散张量纤维束示踪成像 (diffusion tensor tractography, DTT) 图, FA 阈值为 0.2, 轨道角为 30°。

六、运动功能评价

采用 BBB (Basso-Beattie-Bresnahan) 评分系统^[8]评价大鼠的运动功能。由 2 名熟悉 BBB 评分系统的研究人员采用双盲法进行, 每只大鼠每次评估 4 min, 观察动物的行走、躯干运动及协调情况, 评分范围是 0~21 分, 0 分表示无运动功能, 21 分表示运动功能正

常,评分结果取平均值。

七、统计学分析

采用 SPSS 19.0 版统计学软件进行数据分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示。应用两因素重复测量方差分析比较损伤组和治疗组间 DTI 参数以及 BBB 评分的差异。同时运用 LSD-t 检验分析 DTI 参数和 BBB 评分 2 组大鼠各时间点的组间差异。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、2 组大鼠各时间点的 DTI 参数变化

2 组大鼠损伤后 FA 值的变化趋势相似,均于损伤 24 h 内持续降低,经过一段平衡期后缓慢回升(治疗组的平衡期为损伤 24 h 后至损伤 3 d 后,损伤组的平衡期为损伤 24 h 后至损伤 14 d 后)。损伤后即刻和损伤 6 h 后,2 组大鼠的 FA 值组间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);损伤 24 h、3 d、7 d、14 d、21 d、28 d 后,治疗组的 FA 值均显著高于损伤组同时间点,差异均有统计学意义($P < 0.05$),详见图 1A。

损伤后,损伤组 MD 值逐渐升高(至损伤 24 h 后),损伤 24 h 后至损伤 14 d 后保持平稳,并于损伤 14 d 后再次上升;治疗组无平衡期,MD 值于损伤后即

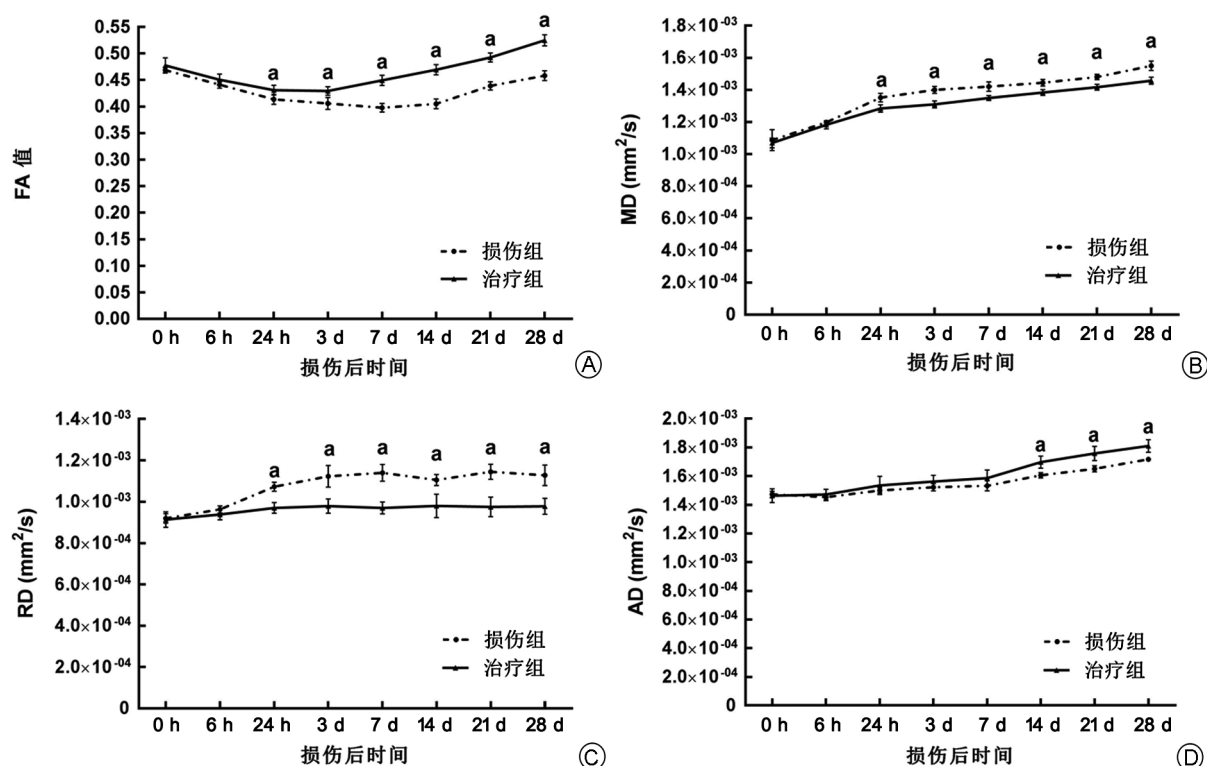
表现为持续缓慢的上升。损伤后即刻和损伤 6 h 后,2 组大鼠的 MD 值组间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);损伤 24 h、3 d、7 d、14 d、21 d、28 d 后,治疗组的 MD 值均显著低于损伤组同时间点,差异均有统计学意义($P < 0.05$),详见图 1B。

2 组大鼠的 RD 值均于损伤后 24 h 内逐渐升高,后趋于稳定。损伤后即刻和损伤 6 h 后,2 组大鼠的 MD 值组间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);损伤 24 h、3 d、7 d、14 d、21 d、28 d 后,治疗组的 RD 值均显著低于损伤组同时间点,差异均有统计学意义($P < 0.05$),详见图 1C。

损伤后,损伤组 AD 值于损伤后即刻至损伤 7 d 后保持平稳,然后逐渐升高至损伤 28 d 后;治疗组损伤后 AD 值表现为持续逐渐上升,于损伤 14 d、21 d、28 d 后高于损伤组。损伤后即刻和损伤 6 h、24 h、3 d、7 d 后,2 组大鼠的 AD 值间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);损伤 14 d、21 d、28 d 后,治疗组的 AD 值均显著高于损伤组同时间点,差异均有统计学意义($P < 0.05$),详见图 1D。

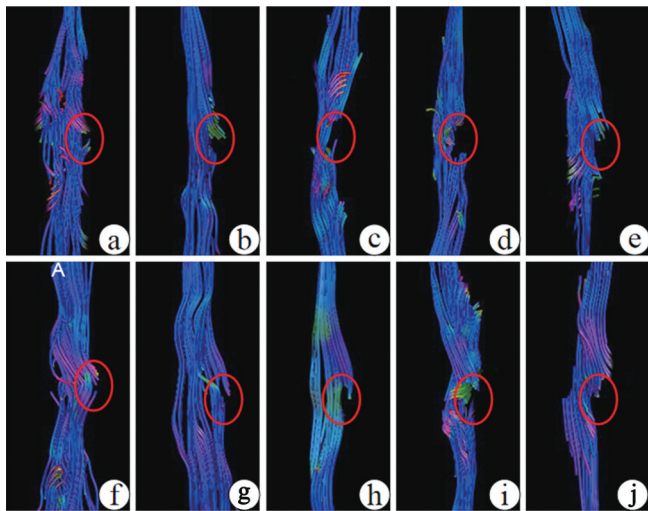
二、2 组大鼠 DTT 图的比较

损伤组和治疗组于损伤后即刻均可见纤维束局部中断和破坏;于损伤 7 d、21 d 后,损伤组脊髓损伤的程度较治疗组更严重,详见图 2。



注:A为FA值变化图;B为MD值变化图;C为RD值变化图;D为AD值变化图;与损伤组比较, $^a P < 0.05$;0 h即损伤后即刻

图1 2组大鼠 DTI 参数变化

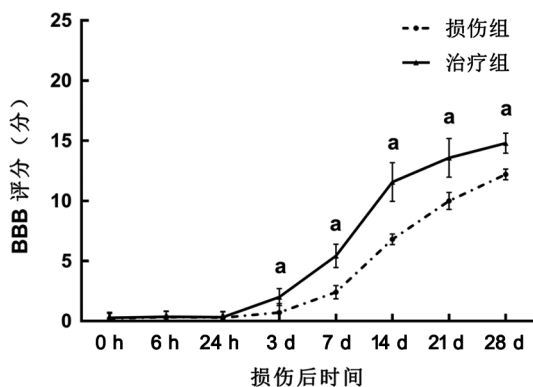


注:a~e 分别为损伤组损伤即刻和损伤 24 h、3 d、7 d、21 d 后的 DTT 图;f~j 分别为治疗组损伤后即刻和损伤 24 h、3 d、7 d、21 d 后的 DTT 图;损伤部位以红圈标记

图 2 2 组大鼠各时间点的 DTT 图

三、2 组大鼠 BBB 评分的比较

损伤后即刻,2 组大鼠的 BBB 评分均达到最低点,表现为后肢 1~2 个关节轻微运动 (11/30) 甚至后肢完全无运动 (19/30),并均于损伤后即刻至损伤 24 h 后保持平稳,于损伤 3 d 后至损伤 28 d 后持续上升。损伤后即刻和损伤 6 h、24 h 后,2 组大鼠的 BBB 评分组间比较,差异均无统计学意义 ($P>0.05$);损伤 3 d、7 d、14 d、21 d、28 d 后,治疗组的 BBB 评分均显著高于损伤组同时间点,差异均有统计学意义 ($P<0.05$),详见图 3。



注:与损伤组比较,* $P<0.05$

图 3 2 组大鼠的 BBB 评分比较

讨 论

本研究结果提示,随着时间的推移,TSCI 大鼠的脊髓神经功能会逐渐恢复,而高压氧治疗可加快修复的过程。本课题组既往的动物实验也发现,DTI 特征性参数值的变化可以很好地反映脊髓损伤后脊髓功能

的改变^[9]。DTI 参数值中的 FA 值主要反映水分子扩散的各向异性所占比重,正常情况下,在脊髓白质神经纤维束中,由于轴突的细胞膜和髓鞘对水分子运动的限制,使其虽然朝各个方向各向异性扩散,但主要方向是与纤维束方向一致^[10]。本课题组认为,TSCI 后,由于神经纤维束断裂、轴突变性、髓鞘崩解,部分水分子扩散不再受脊髓纤维束的约束,因此 FA 值下降;TSCI 后,由于纤维束的断裂使得水分子沿着轴突方向的扩散能力受限,可引起反映平行于轴突的扩散水平的 AD 值降低;TSCI 后,髓鞘崩解使水分子沿着水平方向的扩散能力增加,可引起反映垂直轴突方向扩散水平的 RD 值升高;而 MD 值反映的是平均扩散水平,是 AD 值和 RD 值综合变化的结果^[9]。

本研究结果显示,TSCI 后 FA 值在 24 h 内持续降低,而 MD、RD 值则持续升高,该结果提示,TSCI 后,随着继发性炎症反应的进行,受损组织细胞间隙的水肿也逐渐进展。损伤 24 h 后,治疗组 FA 值高于损伤组,而 MD 值、RD 值低于损伤组,差异均有统计学意义 ($P<0.05$),该结果提示,高压氧治疗可减轻损伤后的继发性水肿^[11]。治疗组的 BBB 评分在损伤后即刻至损伤 24 h 后与损伤组比较,差异均无统计学意义 ($P>0.05$),但之后均显著高于损伤组同时间点 ($P<0.05$)。本课题组认为,由于神经轴突功能的恢复需要一定的时间,因此 BBB 评分的表现相对滞后。

本研究结果还显示,TSCI 后,2 组大鼠的 FA 值和 MD 值均有一个相对稳定期,提示在某个时间段内脊髓损伤与自身修复达到动态平衡。本研究对比 2 组的稳定期后发现,损伤组的稳定期在损伤 24 h 后至损伤 14 d,治疗组的稳定期仅在损伤 24 h 后至损伤 3 d,治疗组 FA 值、MD 值的变化早于损伤组,提示高压氧治疗可抑制继发性损伤,促进损伤后脊髓功能的恢复,其可能的机制是高压氧治疗可以抑制 TSCI 后细胞凋亡,减少神经细胞的坏死^[3]。治疗组 RD 值在损伤 24 h 后保持平稳,说明高压氧可以稳定损伤后继发性水肿,并阻止髓鞘的进一步破坏。由于神经轴突恢复较慢,AD 值在损伤后即刻至 7 d 无明显改变,在损伤后 14 d 后,治疗组 AD 值明显高于损伤组且差异有统计学意义,这与高压氧治疗可以促进轴突的再生有关^[12]。DTT 图通过三维重建的方式形象地展示了纤维束的演变情况,治疗组的纤维束的恢复情况优于损伤组,这是由于高压氧对细胞具有保护作用,可以促进轴突再生。

本课题组认为,TSCI 后,由于脊髓继发性炎症反应,可导致损伤区域脊髓神经细胞的髓鞘解体和轴突变性,DTI 参数可较好地反映脊髓损伤后的这些变化^[13]。高压氧治疗可通过调控 IL-1 β , TNF- α 等多种炎症因子,减轻炎症反应^[14],缩短脊髓炎症反应的进

程,DTI 参数亦可如实地反映此进程的改变。

综上所述,DTI 检查具有无创性和可重复性,并且对高压氧治疗 TSCI 的疗效判断具有积极意义,可为临床诊疗提供更为客观的依据,具有广泛的临床应用前景。

参 考 文 献

[1] 王佳,翟炎冰,赵世同,等.针灸治疗创伤性脊髓损伤诊疗特点分析[J].世界中医药,2016,11(2):343-347.DOI:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.02.043.

[2] Tan JW,Zhang F,Liu HJ,et al.Hyperbaric oxygen ameliorated the lesion scope and nerve function in acute spinal cord injury patients: a retrospective study[J].Clin Biochem,2018,53:1-7.DOI:10.1016/j.clinbiochem.2017.12.001.

[3] 刘芳,陈虹,苏华,等.高压氧对大鼠继发性脊髓损伤保护作用的实验研究[J].中华物理医学与康复杂志,2010,32(9):649-652.DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2010.09.003.

[4] Hadley MN,Walters BC,Aarabi B,et al.Clinical assessment following acute cervical spinal cord injury[J].Neurosurgery,2013,72:40-53.DOI:10.1227/NEU.0b013e318276edda.

[5] Vedantam A,Jirjis MB,Schmit BD,et al.Diffusion tensor imaging of the spinal cord: insights from animal and human studies[J].Neurosurgery,2014,74(1):1-8.DOI:10.1227/NEU.0000000000000171.

[6] Park JH,Kim JH,Oh SK,et al.Analysis of equivalent parameters of two spinal cord injury devices: the New York University impactor versus the infinite horizon impactor[J].Spine J,2016,16(11):1392-1403.DOI:10.1227/NEU.0000000000000171.

[7] 熊春翔,宗少晖,曾高峰,等.大鼠 Allen's 脊髓损伤模型的建立及评价.广西医科大学学报,2011,28(2):215-217.DOI:10.16190/j.cnki.45-1211/r.2011.02.032.

[8] Zhang C,Chen K,Han X,et al.Diffusion tensor imaging in diagnosis of post-traumatic syringomyelia in spinal cord injury in rats[J].Med Sci Monit,2018,24:177-182.DOI:10.12659/MSM.907955.

[9] 郑颖彦,刘建宜,杨丽彬,等.DTI 定量评价大鼠急性创伤性脊髓损伤后功能改变[J].中国医学影像技术,2018,34(6):807-811.DOI:10.13929/j.1003-3289.201709153.

[10] Jirjis MB,Kurpad SN,Schmit BD.Ex vivo diffusion tensor imaging of spinal cord injury in rats of varying degrees of severity[J].J Neurotrauma,2013,30(18):1577-1586.DOI:10.1089/neu.2013.2897.

[11] Yang J,Wang G,Gao C,et al.Effects of hyperbaric oxygen on MMP-2 and MMP-9 expression and spinal cord edema after spinal cord injury[J].Life Sci,2013,93(25-26):1033-1038.DOI:10.1016/j.lfs.2013.10.015.

[12] Geng CK,Cao HH,Ying X,et al.The effects of hyperbaric oxygen on macrophage polarization after rat spinal cord injury[J].Brain Res,2015,1606:68-76.DOI:10.1016/j.brainres.2015.01.029.

[13] Zhang D,Li X,Zhai X,et al.Feasibility of 3.0 T diffusion-weighted nuclear magnetic resonance imaging in the evaluation of functional recovery of rats with complete spinal cord injury[J].Neural Regen Res,2015,10(3):412-418.DOI:10.4103/1673-5374.153689.

[14] Patel NP,Huang JH.Hyperbaric oxygen therapy of spinal cord injury[J].Med Gas Res,2017,7(2):133-143.DOI:10.4103/2045-9912.208520.

(修回日期:2022-02-17)
(本文编辑:阮仕衡)

· 消息 ·

欢迎免费索取《中华物理医学与康复杂志》样刊

希望免费拥有一本《中华物理医学与康复杂志》,并与周围的同事分享吗?

只要您认真填写下表,留下基本的个人资料并寄回本编辑部(地址:武汉市蔡甸区中法新城同济专家社区 E 栋;邮编:430100),就能免费获得本刊样刊一份。

《中华物理医学与康复杂志》免费样刊索取表

姓名:	性别:	年龄:	学历/学位:	职务:
工作单位:	E-mail:			
专业特长/研究方向:				
在研课题名称:				
最希望本刊刊登哪方面信息:				
详细通讯地址:	邮编:			
贵院图书馆是否订有《中华物理医学与康复杂志》?			是 ☐	否 ☐
贵院图书馆全称:	详细地址:		邮编:	