

· 基础研究 ·

大鼠前脊髓综合征的模型制备及评价

闫金玉 李剑锋 张旭 刘遵南

【摘要】目的 建立大鼠前脊髓综合征模型,并评价其可靠性。方法 选择 55 只 Wistar 大鼠,分为假手术组 10 只和实验组 45 只;实验组大鼠放置腹侧致伤钩对其腹侧脊髓形成压迫,造成不同程度脊髓损伤,并根据压迫重量和时间分为轻度、中度、重度损伤 3 个亚组。造模后第 1 天、第 7 天、第 14 天、第 4 周和第 8 周采用斜板试验和 BBB 评分法对大鼠进行行为学评定,并于造模前和造模后第 8 周检测大鼠体感诱发电位(SEP)和运动诱发电位(MEP)潜伏期。结果 造模后,各实验组斜板试验角度及 BBB 评分均明显低于假手术组($P < 0.01$),轻、中、重度损伤组之间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);手术第 8 周,各实验组 MEP 潜伏期明显高于假手术组($P < 0.05$),各实验组间差异有统计学意义($P < 0.05$);重度损伤组 SEP 潜伏期明显高于假手术组($P < 0.05$)。结论 我们所制备的前脊髓综合征模型出现明显的行为学及神经电生理学改变;根据不同的压迫重量和时间可以制备出不同程度的前脊髓综合征,可作为较为可靠的前脊髓综合征模型。

【关键词】前脊髓综合征; 模型; 体感诱发电位; 运动诱发电位; Wistar 大鼠

A new model of anterior spinal cord injury syndrome YAN Jin-yu, LI Jian-feng, ZHANG Xu, LIU Zun-nan. Rehabilitation Department, The Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010030, China. Corresponding author: LI Jian-feng, Email: jianfeng0471@163.com

【Abstract】Objective To evaluate a new model of anterior spinal cord injury (SCI) syndrome and to explore the pathophysiology of SCI. Methods Fifty-five Wistar rats were randomly divided into a sham-operated group (10 rats) and an experimental group (45 rats). A metal hook was fixed in front of the rats' abdomens to compress the ventral part of the spinal cord in the experimental group. According to the degree and time of compression, the rats in the experimental group were divided into light, moderate, heavy injury subgroups. The tilt board test and the Bosso-Beattie-Bresnahan (BBB) locomotor rating scale were used to assess the rats' behavior at the 1st, 7th and 14th days and after 4 and 8 weeks. The latency of somatosensory evoked potential (SEP) and motor evoked potential (MEP) were measured before and 8 weeks after the operation. Results After the operation the gradients in the tilt board test and BBB scores in the experimental subgroups were all significantly lower than in the sham-operated group. There were also significant differences among the 3 severity subgroups. Eight weeks after the operation the average MEP latencies in the experimental subgroups were significantly longer than in the sham-operated group, and there were also significant differences among the 3 severity sub-groups. MEP in the heavy injury subgroup was significantly longer compared with the sham-operated group. Conclusions Obvious behavioral and neuroelectrophysiological changes were observed in the injured rats. Models of different severity could be prepared and reproduced to simulate clinical SCI.

【Key words】Anterior spinal cord injury syndrome; Models; Somatosensory evoked potential; Motor evoked potential

脊髓损伤(spinal cord injury)是中枢神经系统的严重损伤,多因车祸、坠落伤等造成脊柱骨折、脱位所致。有统计数字表明,脊髓损伤占全身创伤的0.2%~0.5%,在脊柱骨折患者中有16%~40%并发脊髓损伤,常遗留严重伤残。随着人类社会现代化的进程,脊髓损伤的发病率在全球呈现出上升的趋势,仅美国每

年就有超过10万例新发病例^[1]。脊髓损伤从病理学角度可以分为完全性脊髓损伤和不完全性脊髓损伤,而不完全性脊髓损伤则包括Brown-Sequard综合征、中央脊髓综合征、前脊髓综合征、后脊髓综合征及少见的单侧肢麻痹,其中前脊髓综合征、中央脊髓综合征、Brown-Sequard综合征占不完全性脊髓损伤的90%。理想的脊髓损伤动物模型是探索脊髓损伤病理机制及有效治疗手段的前提。我们通过建立大鼠前脊髓综合征模型,研究其神经电生理学改变,评定其可靠性,为探讨判断脊髓损伤程度的方法并优选治疗方案奠定基础。现报道如下。

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2011.04.001

作者单位:010030 呼和浩特,内蒙古医学院第二附属医院康复医学科

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30860300)

通信作者:李剑锋,Email: jianfeng0471@163.com

材料和方法

一、实验动物和分组

成年 Wistar 大鼠 55 只(由内蒙古大学动物中心提供),平均体重(247 ± 20)g,雌雄不限,利用 SAS 8.2 软件将其随机分为假手术组 10 只、实验组 45 只。实验组又根据压迫重量及时间分为轻度损伤组、中度损伤组及重度损伤组 3 个亚组,每亚组 15 只。

二、前脊髓综合征模型制作

利用杠杆原理制备大鼠 T_{11} 前脊髓综合征模型^[2]。实验大鼠胸背部剃毛备皮,常规消毒,根据肋骨确定椎体序列;用 2% 戊巴比妥钠(30 mg/kg 体重)腹腔内注射麻醉后俯卧位固定(包括头部);以 T_{11} 椎骨为中心切开皮肤,暴露单侧 T_{10-12} 椎板及 T_{11} 下关节突,用自制咬骨钳咬去 T_{11} 椎弓根、横突,保留椎板,暴露 T_{11} 脊髓节段;将自制致伤钩置于暴露的大鼠脊髓腹侧(图 1)后观察到大鼠无反应即可挂上砝码,轻度损伤组砝码 5 g、压迫 3 min,中度损伤组砝码 10 g、压迫 5 min,重度损伤组砝码 20 g、压迫 10 min。术后损伤区以消毒温盐水冲洗完毕,逐层缝合。



图 1 前脊髓综合征造模示意图

假手术组暴露单侧 T_{10-12} 椎板及 T_{11} 下关节突,用自制咬骨钳咬去 T_{11} 椎弓根、横突,保留椎板,暴露 T_{11} 脊髓节段,其后不做任何处理,直接逐层缝合切口。

三、术后处理

术后控制室温在 $18 \sim 22^{\circ}\text{C}$,清洁笼具,单笼喂养,腹腔注射青霉素 30 万 U 连续 3 d;注意保暖,皮下注射生理盐水或葡萄糖液,预防失血性休克;每日定时挤压膀胱 2~3 次,直至膀胱排尿反射恢复;肛内注开塞露,每日 1 次;每天定时翻身,预防褥疮发生。

四、行为学检查

分别在术后第 1 天、第 7 天、第 14 天、第 4 周和第 8 周,采用斜板试验^[3]测定各组大鼠斜板角度,并采用 BBB(Basso-Beattie-Bresnahan)评分法^[4]评定实验动

物后肢功能状况。

五、电生理学检测

脊髓电生理检测法用淮北正华生物仪器设备有限公司产 MD3000 型生物信号采集处理系统,记录体感诱发电位(somatosensory evoked potential, SEP)和运动诱发电位(motor evoked potential, MEP)潜伏期,于术前和术后第 8 周各测定 1 次。

六、统计分析

本研究采集数据为计量资料,用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 11.0 版统计软件进行分析,所得数据资料应用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

术后 1 周内实验大鼠轻、中度损伤组各死亡 1 只,重度损伤组死亡 3 只,均因感染所致。

一、行为学观察结果

各实验组大鼠均发生了不同程度的后肢肌力减退、行走缓慢、步态异常等运动功能障碍及括约肌功能障碍等脊髓损伤表现,其中,重度压迫组有 9 只大鼠后肢全瘫。斜板试验结果显示,脊髓损伤后第 1 天各实验组斜板角度明显减小,与假手术组相比差异均有统计学意义($P < 0.01$),各实验组间差异有统计学意义($P < 0.05$),第 7 天各实验组斜板角度进一步减小,与术后第 1 天相比差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

BBB 评分结果显示,脊髓损伤后第 1 天各实验组 BBB 评分均明显低于假手术组($P < 0.01$),且损伤越严重评分越低,各实验组间差异有统计学意义($P < 0.05$);其后各实验组动物后肢功能均有不同程度恢复,其中轻、中度损伤组术后第 8 周与第 1 天比较,评分明显提高,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 0.05),重度损伤组术后第 8 周与第 1 天比较评分也有所提高,但差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

二、电生理检测结果

重度压迫组后肢全瘫的 9 只动物的 MEP 和 SEP 均测不到,中度压迫组有 4 只 MEP 测不到。各实验组和假手术组术前的 SEP、MEP 潜伏期比较,差异无统计学意义;术后第 8 周各实验组 MEP 潜伏期明显高于假手术组($P < 0.05$),各实验组间差异有统计学意义,重度损伤组 SEP 潜伏期明显高于假手术组、轻度损伤组和重度损伤组($P < 0.05$),见表 3。

讨 论

前脊髓综合征的病理生理机制非常复杂,研究其组织病理学、细胞学、组织化学以及电生理变化,对于阐明前脊髓综合征的自然病程和探索新的治疗方法有

表 1 各组术后斜板试验结果(° , $\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	第 1 天	第 7 天	第 14 天	第 4 周	第 8 周
假手术组	10	66.74 ± 8.07	66.12 ± 8.89	65.93 ± 9.27	66.58 ± 9.85	67.11 ± 9.51
轻度损伤组	14	53.37 ± 7.28 ^a	43.28 ± 8.15 ^d	42.11 ± 8.46 ^d	43.63 ± 7.42 ^d	44.98 ± 10.03 ^d
中度损伤组	14	47.68 ± 7.06 ^a	39.76 ± 7.44 ^{bd}	38.47 ± 7.72 ^{bd}	40.14 ± 9.94 ^{bd}	42.51 ± 7.55 ^{bd}
重度损伤组	12	41.32 ± 7.85 ^a	34.28 ± 7.78 ^{bcd}	33.62 ± 7.33 ^{bcd}	34.27 ± 8.28 ^{bcd}	35.54 ± 9.89 ^{bcd}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.01$;与轻度损伤组比较,^b $P < 0.05$;与中度损伤组比较,^c $P < 0.05$;与第 1 天组内比较,^d $P < 0.05$

表 2 各组术后 BBB 评分比较(分, $\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	第 1 天	第 7 天	第 14 天	第 4 周	第 8 周
假手术组	10	20.32 ± 5.26	21.00 ± 0.00	21.00 ± 0.00	21.00 ± 0.00	21.00 ± 0.00
轻度损伤组	14	8.32 ± 4.25 ^a	10.77 ± 4.57 ^a	11.07 ± 3.88 ^a	11.64 ± 3.16 ^a	13.31 ± 4.61 ^{ad}
中度损伤组	14	3.52 ± 3.14 ^{ab}	4.76 ± 5.17 ^{ab}	4.92 ± 4.81 ^{ab}	5.18 ± 4.19 ^{ab}	6.32 ± 3.53 ^{abc}
重度损伤组	12	0.84 ± 3.07 ^{abc}	1.28 ± 3.77 ^{abc}	1.62 ± 4.31 ^{abc}	2.07 ± 4.27 ^{abc}	2.58 ± 3.89 ^{abc}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.01$;与轻度损伤组比较,^b $P < 0.05$;与中度损伤组比较,^c $P < 0.05$;与第 1 天组内比较,^d $P < 0.01$,^e $P < 0.05$

表 3 各组手术前、后的 SEP、MEP 潜伏期比较(ms, $\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	SEP		MEP	
		术前	术后第 8 周	术前	术后第 8 周
假手术组	10	4.14 ± 0.13	4.31 ± 0.19	3.72 ± 0.16	3.63 ± 0.18
轻度损伤组	14	4.13 ± 0.14	4.24 ± 0.16	3.84 ± 0.18	4.63 ± 0.09 ^a
中度损伤组	14	4.22 ± 0.17	4.34 ± 0.13	3.81 ± 0.14	4.92 ± 0.08 ^{ab}
重度损伤组	12	4.17 ± 0.12	5.91 ± 0.08 ^{abc}	3.79 ± 0.19	5.72 ± 0.12 ^{abc}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与轻度损伤组比较,^b $P < 0.05$;与中度损伤组比较,^c $P < 0.05$

重要的意义,而研究前脊髓综合征最基本的条件是建立标准、理想的动物模型。理想的动物实验模型应具备四方面的条件:临床相似性、可控性、可操作性与可重复性。临床上,脊髓损伤的外力多来自脊髓前方,如椎体骨折、脱位及脊髓前动脉受损伤等,因此前脊髓综合征在脊髓损伤患者中较为常见;而且脊髓运动神经元及脊髓白质的继发性损伤有其自身的特点,即损伤水平以下运动、痛觉和温度觉完全丧失,而因后索有不同程度保存,所以深触觉、位置觉和振动觉得以保留,这种损伤明显恢复的可能性较小^[5]。鉴于此型脊髓损伤的特殊性,建立以腹侧脊髓损伤为主的前脊髓损伤模型并对其进行深入研究非常必要。

行为学评价是用于评估脊髓损伤后功能变化、功能自然恢复程度以及干预治疗效果的重要措施^[6]。BBB 评分是目前应用最广泛的脊髓损伤评价方法,可作为大鼠脊髓损伤后运动功能恢复的标准评分方案^[7]。但是这种方法容易受主观因素影响而导致结果失真,所以本研究利用双盲、双人独立评分最后取平均值的方法,尽可能提高评定结果的准确性。斜板试验及 BBB 评分结果显示,各实验组手术后均造成不同程度的脊髓损伤,并引起相应的功能障碍,随着压迫重量和时间的增加,脊髓损伤的程度也随之加重。

电生理检测的方法比较客观可靠,尤其适用于动物脊髓损伤后不易直接观察运动和感觉反射的情况,常用的神经电生理评价指标有 SEP 和 MEP。SEP 可

反映脊髓传导功能受损的程度,MEP 则可反映运动功能情况,MEP 与 SEP 结合可客观地反映脊髓功能状况^[8]。本实验发现,大鼠脊髓受压后电生理特性的改变和损伤程度相一致,轻、中度压迫组 SEP 潜伏期与假手术组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),可能是由于轻、中度腹侧压迫时脊髓背侧传导通路受损较小的缘故;而各实验组的 MEP 潜伏期均明显较假手术组长,而且损伤越严重 MEP 潜伏期也越长,这与腹侧压迫损伤主要累及运动神经元的理论相符;重度压迫损伤组的 SEP 和 MEP 潜伏期均明显延长,说明重度压迫损伤不仅累及腹侧脊髓,背侧脊髓也有不同程度受累。上述结果提示,以压迫程度对损伤分级是合理的。

本实验所构建的大鼠前脊髓综合征模型,利用杠杆原理对大鼠脊髓腹侧进行压迫,具有制作相对简单、成功率高、可控性好等优点,这种方法更贴近于临床实际,能模拟人体发生脊髓损伤的特殊病理过程^[9];并能通过对压迫重量和时间的调节较精确地控制压迫程度,制作不同程度前脊髓损伤模型。不足之处在于需要切除拟损伤脊髓节段的椎板和附着肌肉、骨骼及韧带组织,不可避免地损伤周围组织、形成瘢痕^[10];并且暴露脊髓可造成感染、脊柱错位等严重并发症^[11],但熟练操作后便可避免,所以我们认为该模型是较为理想的前脊髓综合征动物实验模型。

参 考 文 献

- [1] Marshall LF. Epidemiology and cost of central nervous system injury.

- Clin Neurosurg, 2000, 46: 105-112.
- [2] 张秋林, 赵定麟, 年广义, 等. 大鼠脊髓腹侧压迫损伤模型的制备. 第二军医大学学报, 2000, 21: 396-397.
- [3] Rivlin AS, Tator CH. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in the rat. J Neurosurg, 1977, 47: 577-581.
- [4] Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC, et al. MASCIS evaluation of open field locomotor scores: effects of experience and team-work on reliability. J Neurotrauma, 1996, 13: 343-359.
- [5] Marsala J, Kluchoo D, Marsala M. Spinal cord gray matter layers rich in NADPH diaphorase-positive neurons are refractory to ischemia-reperfusion-induced injury: a histochemical and silver impregnation study in rabbit. Exp Neurol, 1997, 145: 165-179.
- [6] Kesslak JP, Keirstead HS. Assessment of behavior in animal models of spinal cord injury. Spinal Cord Med, 2003, 26: 323-328.
- [7] Mets GA, Curt A, van de Ment H, et al. Validation of the weight-drop contusion model in rats: a comparative study of human spinal cord injury. J Neurotrauma, 2000, 17: 1-17.
- [8] 赵学仁, 王忠诚, 谭郁玲. 大鼠急性脊髓损伤 SEP 和 MEP 比较研究. 中华神经外科杂志, 1997, 13: 289-291.
- [9] Talac R, Friedman JA, Moore MJ, et al. Animal models of spinal cord injury for evaluation of tissue engineering treatment strategies. Biomaterials, 2004, 25: 1505-1510.
- [10] Fukuda S, Nakamura T, Kishigami Y, et al. New canine spinal cord injury model free from laminectomy. Brain Res Protocols, 2005, 14: 171-180.
- [11] Purdy PD, White III CL, Baer DL, et al. Percutaneous trans-lumbar spinal cord compression injury in dogs from an angio-plasty balloon: MR and histopathologic changes with balloon sizes and compression times. Am J Neuroradiol, 2004, 25: 1435-1442.

(修回日期: 2011-01-02)

(本文编辑: 吴倩)

· 消息 ·

中国康复医学会第十届全国运动疗法学术大会征文通知

中国康复医学会第十届全国运动疗法学术会议定于 2011 年 8 月 19 日至 23 日在上海国际贵都大饭店召开。此次大会由中国康复医学会全国运动疗法专业委员会主办, 上海市康复医学会、复旦大学附属华山医院、上海市残疾人联合会、上海市医学会物理医学与康复分会、复旦大学上海医学院康复医学系协办, 复旦大学附属华山医院康复医学科承办。

本次大会的主题是: 运动康复、助飞复能。会议将邀请国内外著名物理医学与康复专家作专题报告, 并请资深治疗师主讲和示范, 欢迎广大国内外康复医学及相关领域的同道参会。会议授 I 类学分 10 分。会议期间(8 月 19 日 18:00 时)还将召开本专业委员会全体委员会议和常委会议, 请全体委员务必准时参加。

征文范围

1. 神经系统伤病康复: 脑卒中、脑外伤、脊髓损伤、脑瘫及周围神经损伤等的康复治疗。
2. 骨关节系统伤病康复: 截肢、骨折、慢性骨关节疾病、关节置换术后等的康复治疗。
3. 内科疾病康复: 高血压病、冠心病、心肌梗塞、慢阻肺、糖尿病等的康复治疗。
4. 其他: 假肢矫形器、传统康复、社区康复、康复护理、学科建设及康复教育等。

征文要求

1. 撰写要求: 论文应未公开发表, 文责自负。论文摘要格式按照科技期刊的要求(题目、作者、单位、邮编; 目的、方法、结果、结论、关键词), 字数在 1000 字以内, 5 号宋体字, Word 文档格式。附个人简历。

2. 投稿方式: 本次大会只接受网上投稿, 投稿时请标注会议征文或优秀论文征文。投稿请登录大会网站: www.ydlf2011sh.org。欢迎没有投稿的康复医学界同道参会。

3. 优秀论文评选: 参加优秀论文评选者, 网上投稿后寄送 4 千字论文全文两份(信封标注优秀论文评审)。邮寄地址: 上海市复旦大学附属华山医院康复医学科, 白玉龙收, 邮编: 200040。

4. 截稿日期: 2011 年 6 月 30 日。

中国康复医学会
运动疗法专业委员会