

高渗盐水治疗脊髓急性压迫损伤的实验研究

李方财 陈其昕 徐侃

(浙江大学医学院附属第二医院骨科, 浙江 杭州 310009)

【摘要】 目的 观察高渗盐水对脊髓损伤的治疗作用,并探讨其作用机制。方法 36 只 SD 大鼠造成 T₁₀ 节段脊髓急性压迫损伤后,随机分为三组:高渗盐水治疗组、生理盐水治疗组及对照组,每组观察损伤后 1、4 周两时间段;评价动物神经功能,观察各时间段脊髓病理改变,计算脊髓残留组织保留率。结果 ①高渗盐水治疗组动物神经功能恢复更快、更完全,与生理盐水组及对照组相比差异有显著意义 ($P < 0.05$);②损伤后 1 周,高渗盐水治疗组脊髓组织炎症反应、水肿明显减轻;③损伤后 4 周,高渗盐水治疗组脊髓残留组织保留率显著增加,与其它两组相比差异有显著性意义 ($P < 0.01$)。结论 高渗盐水能减轻脊髓组织病理改变,促进神经功能恢复;减轻损伤后脊髓组织的炎症反应及水肿是其作用机制之一。

【关键词】 脊髓损伤; 功能恢复; 盐水,高渗

Effect of hypertonic saline on acute spinal cord compression in rats LI Fangcai, CHEN Qixin, XU Kan. Department of Orthopaedics, the Second Affiliated Hospital of Medical College of Zhejiang University (Zhejiang Hangzhou, 310009, China)

【Abstract】 **Objective** To observe the effect of hypertonic saline on acute spinal cord compression and investigate its mechanisms **Methods** 36 SD rats were randomized into three groups after experienced acute spinal cord compression at the level of T₁₀: The hypertonic saline treated group, normal saline treated group and control group. The observing period in each group was as following: 1 week post injury and 4 week post injury. All animals were sacrificed after evaluating the neurological function at the end of the observing period. T₉₋₁₁ spinal cords were removed after perfusion fixation. We observed the pathological changes of spinal cord at each observing period and measured the spared tissue area of spinal cord at 1st and 4th weeks post injury. **Results** There was significant better neurological recovery in the hypertonic saline treated group than in the others ($P < 0.05$). The edema and inflammation of spinal cord in the hypertonic saline treated group was lighter than that in the other two at 1 week post injury. Accordingly, the extent of spared tissue of spinal cord increased significantly in the hypertonic saline treated group at 4 week post injury ($P < 0.01$). **Conclusion** These results strongly suggest that the hypertonic saline can reduce the pathological changes of spinal cord injury, and improve the recovery of nervous function. Alleviating edema and inhibiting inflammation of spinal cord is one of the mechanisms of this effect.

【Key words】 Spinal cord injuries; Habilitation; Saline solution, hypertonic

脊髓继发性损伤机制是导致脊髓损伤后神经功能丧失的主要原因,而脊髓继发损伤机制是渐进发生、并可逆转的,因此,阻止或减轻脊髓继发损伤机制成为脊髓损伤治疗的主要目的^[1]。近来研究表明,高渗盐水能减轻或阻止脊髓损伤后的一些继发性损伤机制,以及减轻脊髓损伤早期的组织病理改变^[2,3],但尚缺乏长期的行为学与组织学证据。本研究通过脊髓急性压迫损伤动物模型,观察脊髓损伤

后大鼠后肢运动功能恢复及脊髓病理改变,探讨高渗盐水对脊髓损伤的治疗作用及其作用机制,为临床应用高渗盐水治疗脊髓损伤提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物模型制作 重量 350~400 g 的 SD 大鼠,1% 戊巴比妥钠腹腔内注射麻醉后,取俯卧位。咬除 T₁₀ 棘突至根部,用牙科打磨钻于椎板上磨制一直径约 2.8 mm 圆孔,去除局部黄韧带,旋入直径 3.0 mm

不锈钢螺丝钉,根据预实验结果,造成脊髓约 50% 压迫损伤(按脊髓前后径计算)。24 h 后旋出螺丝钉、咬除上下各一节段棘突、椎板及黄韧带。

1.2 动物分组 36 只 SD 大鼠随机分为三组:高渗盐水治疗组、生理盐水治疗组、对照组,对照组仅完成上述模型,未接受任何治疗;高渗盐水治疗组除完成上述模型外,于压迫 5 min 后,股静脉注射 7.5% 高渗盐水,剂量为 5 ml/kg;生理盐水治疗组则以生理盐水代替高渗盐水,余同上。每组观察损伤后 1、4 周两时间段,各时间段每组动物数均为 6 只。

1.3 神经功能评价

1.3.1 膀胱自主排空功能评价 以膀胱能自主排空且排尿连续为功能恢复,而膀胱不能自主排空、排尿淋漓为无功能恢复。

1.3.2 Basso, Beattie, Bresnahan (BBB) 运动评分^[4] 于宽阔平地上进行,观察动物后肢各关节活动、行走步态、前后肢协调性等,分数为 0~21 分(完全无活动为 0 分,活动正常为 21 分),以双后肢分数的平均值作为最后评分。

1.4 组织学方法与评估 于观察期结束、神经功能评价后,用致死量戊巴比妥钠处死大鼠。组织灌注固定法,取出 T₉、T₁₀、T₁₁ 三节段脊髓。标本连续冰冻切片,分别行 HE 染色及甲苯胺蓝染色。观察损伤段及其头尾段脊髓组织的病理改变;并把损伤段脊

髓组织分为损伤组织与残留组织两部分,以神经元及轴突的染色、外形、密度基本正常者为残留组织^[5]。应用 Osiris 软件(Version 4.09 GENIVA University)计算残留组织保留率(残留组织面积/脊髓横截面面积×100%)。

1.5 统计学方法 所有资料采用 SPSS 10.0 软件行单因素方差分析加 q 检验,以 P<0.05 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 神经功能评价

2.1.1 膀胱自主排空功能 高渗盐水治疗组动物膀胱自主排空功能恢复较生理盐水治疗组及对照组更快、更完全;于损伤后 4 周,高渗盐水治疗组动物恢复率为 83.3%,而生理盐水治疗组、对照组分别为 33.3%、50%,见图 1。

2.1.2 BBB 运动评分 高渗盐水治疗组动物后肢运动功能恢复也更快、更完全, BBB 运动评分与其余两组间差异有显著性意义(损伤后 1 周 F=6.268, P<0.05;损伤后 4 周 F=28.487, P<0.01);于损伤后 4 周,生理盐水治疗组、对照组 BBB 运动评分分别为 6.4±2.1、6.9±2.5(后肢三关节有明显活动,但不能支撑体重),而高渗盐水治疗组为 11.6±5.4(后肢能站立,但步态及运动协调性有不同程度障碍),见图 2。

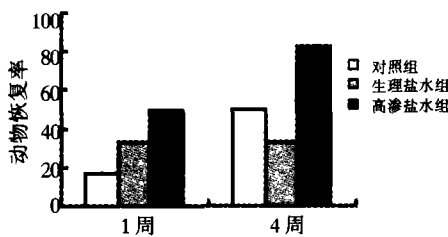
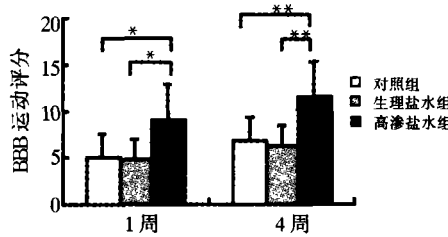
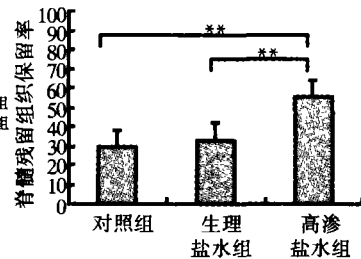


图 1 动物膀胱自主排空功能恢复率(%)



注: *P<0.05, **P<0.01
图 2 BBB 运动评分



注: **P<0.01
图 5 脊髓残留组织保留率(%)

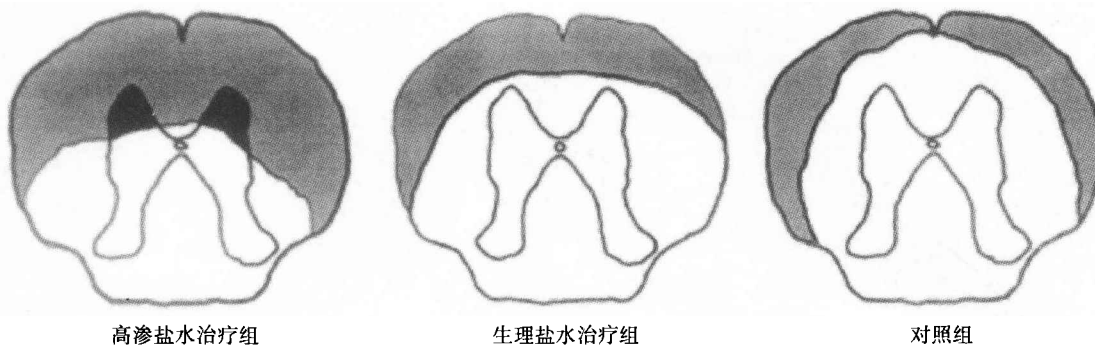
2.2 组织学评价

2.2.1 组织学一般观察 于损伤后 1 周,脊髓组织表现为不同程度的炎症、水肿以及神经元不同程度的变性、坏死,高渗盐水治疗组上述病变程度较其它两组轻微、范围也减小,而生理盐水治疗组与对照组间无明显差异,见图 3。于损伤后 4 周,脊髓组织出现不同程度的坏死,坏死组织表现为空洞形成、胶质细胞增生、脊髓软化等,高渗盐水治疗组上述病变较其它两组明显减轻,损伤组织范围缩小,见图 4。

2.2.2 损伤节段脊髓残留组织保留率 对照组、生理盐水治疗组、高渗盐水治疗组脊髓残留组织保留率(%)分别为:29.5±9.7、33.1±8.9、55.7±5.9,高渗盐水治疗组较其它两组差异有显著性意义(F=15.357, P<0.01),见图 5。

3 讨论

3.1 动物模型 本研究采用大鼠脊髓急性压迫损伤模型,主要基于临床上的脊髓损伤大多来自于脊柱骨折脱位所造成的脊髓急性压迫。此外,根据预



注:灰色区域为脊髓残留组织,白色区域为损伤组织
图 4 损伤后 4 周各组脊髓残留组织、损伤组织示意图

实验结果,当脊髓受压 50% 并持续 24 h,脊髓神经功能恢复即非常有限甚至不恢复。因此我们采用持续压迫 24 h 的动物模型,以利于更好地评价高渗盐水的治疗作用。

3.2 高渗盐水对脊髓损伤的治疗作用 本研究结果显示,高渗盐水治疗组的各项评价指标与生理盐水治疗组、对照组相比差异有显著性意义。高渗盐水治疗组的动物膀胱自主排空功能及后肢运动功能恢复较其余两组更快、更完全。于损伤后 4 周,高渗盐水治疗组 BBB 运动评分显著恢复,动物能站立;而生理盐水治疗组及对照组的动物 BBB 运动评分虽有一定程度的恢复,但不及高渗盐水治疗组。组织学观察也显示,于损伤后各期,高渗盐水治疗组脊髓组织变性、坏死明显减轻,范围也明显缩小;并且,于损伤后 4 周,高渗盐水治疗组脊髓残留组织保留率较其它两组显著增加。上述结果说明,高渗盐水有利于减轻损伤后各期脊髓组织的病理改变并促进神经功能恢复,从我们长达 4 周的研究结果表明,它对脊髓损伤的治疗作用是确切而稳定的。

3.3 高渗盐水治疗脊髓损伤的机制 高渗盐水治疗脊髓损伤的机制目前仍不明确^[6]。本研究结果显示,高渗盐水治疗组脊髓组织炎症反应、水肿明显减轻,相应地,脊髓组织的变性、坏死也较轻微。这一结果表明,高渗盐水通过抑制损伤后脊髓组织的炎症反应、减轻组织水肿,从而一定程度上阻止脊髓继发性损伤的进一步发展^[3,7]。因此,我们认为,减轻损伤后脊髓组织的炎症反应与水肿是高渗盐水治疗脊髓损伤的作用机制之一。

尽管高渗盐水能减轻或抑制脊髓损伤的一些继

发性损伤机制,促进脊髓损伤后的神经功能恢复,但脊髓继发性损伤机制是一系列非常复杂的病理反应过程,单通过高渗盐水就欲解决脊髓损伤的所有病理机制显然也是不现实的。然而高渗盐水在临床上较易获得、价格低廉,且尚未发现其明显的毒副作用^[8]。因此,如果结合其它一些药物同时治疗脊髓损伤,将有可能获得更满意的疗效。

(本文图 3 见后插页 1)

参考文献

- 1 Harat M, Radek A, Kochanowski J. The pathophysiology of acute spinal cord injury and a hope for a successful treatment. *Neurol Neurochir Pol*, 1996, 30(1):123-135.
- 2 Spera PA, Vasthare US, Tuma RF, et al. The effects of hypertonic saline on spinal cord blood flow following compression injury. *Acta Neurochir(Wien)*, 2000, 142(7):811-817.
- 3 Spera PA, Arfors KE, Vasthare US, et al. Effect of hypertonic saline on leukocyte activity after spinal cord injury. *Spine*, 1998, 23(22): 2 444-2 448.
- 4 Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *Neurotrauma*, 1995, 12:1-21.
- 5 Behrmann DL, Bresnahan JC, Beattie MS. Modeling of acute spinal cord injury in the rat: Neuroprotection and enhanced recovery with methylprednisolone, U-74006F and YM-14673. *Experimental Neurology*, 1994, 126:61-75.
- 6 Sumas ME, Legos JJ, Nathan D, et al. Tonicity of resuscitative fluids influences outcome after spinal cord injury. *Neurosurgery*, 2001, 48(1):167-172.
- 7 Dussar I, Schwab ME. Secondary cell death and the inflammatory reaction after dorsal hemisection of the rat spinal cord. *Eur J Neurosci*, 1994, 6(5):712-724.
- 8 Zapata RL, Hansbrough JF, Greenleaf G. Effects of small volume bolus treatment with intravenous normal saline and 7.5 percent saline in combination with 6 percent dextran-40 on metabolic acidosis and survival in burned mice. *Burns*, 1995, 21:185-190.

(收稿:2002-05-23 修回:2002-11-18 编辑:李为农)

高渗盐水治疗脊髓急性压迫损伤的实验研究

(正文见 522 页)

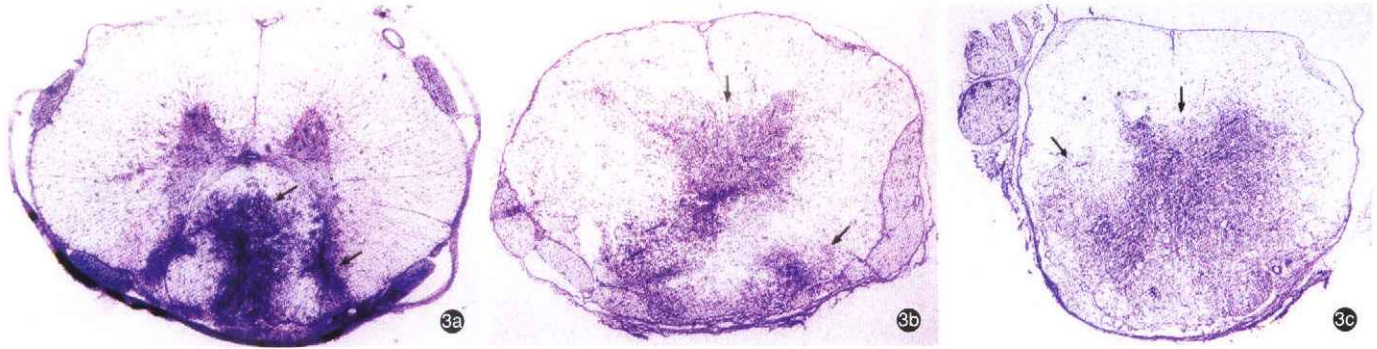


图 3a 为高渗盐水治疗组, 组织炎症水肿较轻微, Vissl $\times 40$; 图 3b、3c 分别为生理盐水治疗组及对照组, 炎症反应较高渗盐水治疗组严重, 脊髓组织水肿明显(↑所示为组织炎症反应区域), Vissl $\times 40$

图 3 损伤后 1 周各组脊髓组织病理改变

胚胎脊髓移植联合甲基强的松龙治疗脊髓损伤的实验研究

(正文见 537 页)

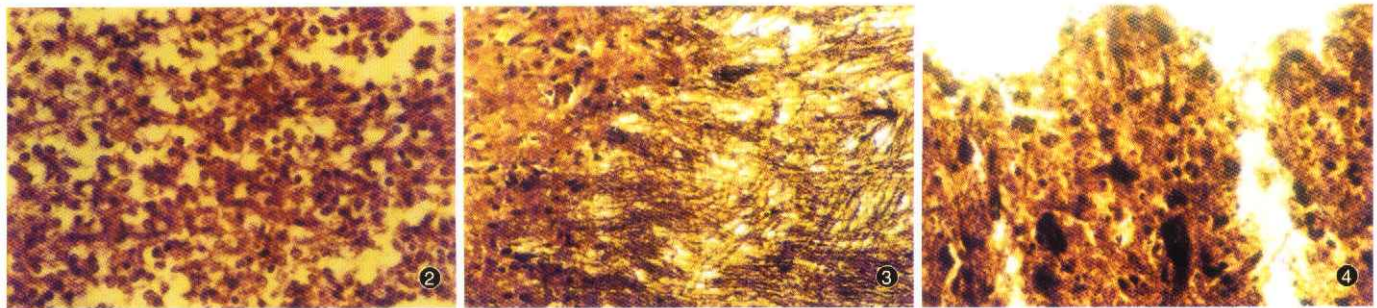


图 2 胚胎脊髓 HE 染色横断面 $\times 200$, 示大量幼稚神经细胞 图 3 移植 8 周后 A 组损伤区银染色纵切面 200 倍, 示移植成熟的胚胎脊髓组织与周围的脊髓灰质形态学联系, 可见神经纤维进入灰质核团, 图 4 B 组损伤区 8 周后很染色横切面 $\times 200$, 示空泡变性 & 空洞形成, 损伤区边缘神经纤维坏死、消失。

中国中西医结合学会接纳会员通知

本会是依法登记成立的全国性社团法人、学术性群众团体。宗旨是团结广大中西医结合医学科学技术工作者, 促进中西医结合医学科学技术的繁荣和发展, 促进中西医结合医学科学技术的普及和推广, 促进中西医结合医学科学技术人才的成长和提高, 积极开展中西医结合科技咨询工作 为我国人民的健康和社会主义建设服务。

本会的主要任务是开展中西医结合医学学术交流, 编辑出版综合性和专业性中西医结合医学学术刊物, 开展医学继续教育, 普及中西医结合医学知识, 开展国际间的联络与交流, 开发和推广科技成果等, 本会设有普通会员、外籍会员、资深会员、团体会员、名誉会员等。欢迎在科研、教学、医疗、预防、药物、编辑出版及组织管理等从事中西医结合工作(大学本科毕业工作三年以上, 专科毕业工作五年以上)的科技工作者和单位、企业、团体等加入本会。具体入会办法请与各省、自治区、直辖市中西医结合学会联系。

北京市中西医结合学会(100005 北京市东单一条甲七号) 联系人 黄毅 (010)65250460, 天津市中西医结合学会(300074 天津市河西区佟楼佟里 19 号) 联系人 郭莉 (022) 23330203, 河北省中西医结合学会(050011 石家庄市福强大街 68 号) 联系人 董淑萍 (0311) 5814762, 内蒙古自治区中西医结合学会(010020 呼和浩特市中山东路 78 号内蒙古卫生厅) 联系人 于连云 (0471) 6939270, 山西省中西医结合学会(030012 太原市青年路 180 号) 联系人 宋明镇 (0351) 2023577-2298, 4039503, 辽宁省中西医结合学会(110031 沈阳市皇姑区黑龙江街 60 号) 联系人 蒋淑媛 (024)86807998, 吉林省中西医结合学会(130012 长春市湖光路 32 号) 联系人 何莉 (0431) 5513379-3888, 黑龙江省中西医结合学会(150001 哈尔滨市南岗区阿什河街 122 号) 联系人 韩志杰 (0451) 3628864, 2528772, 上海市中西医结合学会(200040 上海市北京西路 1623 号 402 室) 联系人 刘文菊 (021) 62581714, 江苏省中西医结合学会(210029 南京市汉中路 282 号) 联系人 李华 (025) 6617284, 浙江省中西医结合学会(310007 杭州市天目山路 132 号) 联系人 顾佩芳 (0571) 88082211-3410, 安徽省中西医结合学会(230031 合肥市梅山路安徽医学院第一附属医院) 联系人 沈德凯 (0551) 2821006 2013, 福建省中西医结合学会(350003 福州市吉屏路 61 号) 联系人 肖钦朗 (0591) 7824528, 江西省中西医结合学会(330077 南昌市文教路 221 号) 联系人 吴跃进 (0791)8511741, 8511921, 山东省中西医结合学会(250011 济南市青年东路 1 号) 联系人 王广梅 (0531)2626231, 河南省中西医结合学会(450004 郑州市城北路 7 号) 联系人 王凌云, 毛开颖 (0371)6348703, 6331768, 湖北省中西医结合学会(430064 武汉市武昌区千家桥 100 号) 联系人 刘慧康 (027)87893467, 湖南省中西医结合学会(410008 长沙市湘雅路 38 号) 联系人 刘祖贞 (0731)4822167, 广东省中西医结合学会(510095 广州市淘金北路 77 号(麓湖湖南塔) 4 楼 404 室) 联系人 余和明 (020)83600105, 海南省中西医结合学会(570102 海口市龙华路海南医学院附院中医科) 联系人 韩平 (0898)66211844, 广西壮族自治区中西医结合学会(530021 广西南宁市桃源路 35 号) 联系人 李方 (0771)2803986, 四川省中西医结合学会(610041 成都市文庙西街 80 号) 联系人 李成林 (028)86136576, 重庆市中西医结合学会(400001 重庆市渝中区道门口 40 号) 联系人 马力 (023)63800302, 贵州省中西医结合学会(550002 贵州省贵阳市市东路 90 号贵州中医研究所内) 联系人 李志伟 (0851)5928416, 云南省中西医结合学会(650011 昆明市光华街 120 号) 联系人 葛元站 (0871)3613387, 陕西省中西医结合学会(710003 西安市西华门 20 号) 联系人 张德义 (029)7250672, 宁夏回族自治区中西医结合学会(750001 银川市解放西街 101 号) 联系人 王忠和 (0951)5024754, 甘肃省中西医结合学会(730030 甘肃省兰州市嘉峪关路 438 号) 联系人 戴恩来 (0931)8942372, 青海省中西医结合学会(810012 西宁市南川西路 69 号) 联系人 刘佳 (0971)6253443, 新疆维吾尔自治区中西医结合学会(830000 乌鲁木齐市黄河路 53 号新疆自治区中医院) 联系人 尔建民 (0991)5813156。