

·基础研究·

超早期高压氧应用对脊髓完全横断损伤大鼠后肢骨密度的影响*

刘 敏¹ 伍贤平¹ 童 敏¹ 伍西羽¹

摘要

目的:探讨超早期高压氧应用对脊髓完全横断损伤大鼠后肢骨密度(BMD)的影响。

方法:①55只3月龄健康雌性SD大鼠随机分为假手术组(Sham组,15只)、模型组(CSCT组,20只)及高压氧组(HBO组,20只)。Sham组仅行T10椎板切除术,其余两组均行T10椎板水平脊髓完全横向切断术。②HBO组于术后第3小时置于动物舱内开始高压氧处理,10d为1疗程,共3疗程,其中第一疗程每日2次,第二、三疗程均每日1次,每疗程间休息6d。③术后6周末取材,采用Delphi A型扇形束DEXA骨密度仪检测各组离体股骨、胫骨整体及其不同区域BMD。

结果:CSCT组与Sham组比较,前者股骨整体、股骨远端(FR1,FR2)、近端(FR6,FR7)及胫骨近端(TR1,TR2)BMD均明显下降,差异有显著性意义($P < 0.05-0.01$);HBO组与CSCT组比较,前者股骨整体BMD明显增加($P < 0.05$),而胫骨整体、股骨及胫骨其他各区域BMD均略呈上升趋势,但差异无显著性意义。

结论:超早期高压氧应用可减缓脊髓完全横断损伤大鼠后肢骨丢失。

关键词 超早期高压氧;脊髓完全横断;大鼠;骨密度

中图分类号:R651.2 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2012)-09-0818-04

Effects of ultra-early stage hyperbaric oxygenation on the hindlimb bone mineral density in rats after complete spinal cord transection/LIU Min, WU Xianping, TONG Min, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2012, 27(9): 818—821

Abstract

Objective: To study the effects of ultra-early stage hyperbaric oxygenation(HBO) on the hindlimb bone mineral density(BMD) in rats after complete spinal cord transection(CSCT).

Method: Fifty-five SD rats were randomly assigned into three groups: sham-operated(Sham) group, CSCT group, and HBO group. All rats underwent laminectomy at T10, while rats in CSCT and HBO groups also underwent CSCT at the same level. Three hours post operation, HBO group started receiving HBO therapy comprising three courses of 10-day treatment. BMD of total femur, total tibia and their sub-regions in vitro was measured with dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA).

Result: After 6-week treatment, BMD of total femur, BMD in regions1—2 at the distal femur(FR1,FR2), BMD in regions 6—7 at the proximal femur(FR6,FR7) and BMD in regions 1—2 at the proximal tibia(TR1,TR2) in vitro decreased markedly in CSCT group at 6 weeks post-operation compared with that in Sham group ($P < 0.05-0.01$). In HBO group, BMD of total femur in vitro was significantly higher than that in CSCT group ($P < 0.05$), whereas BMD of the femur sub-regions, total tibia, and tibia sub-regions in vitro tended to be higher than those in CSCT group, but without statistical significance.

Conclusion: Ultra-early stage HBO could alleviate the hindlimb bone loss in femur bone in rats following complete spinal cord transection.

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2012.09.007

*基金项目:湖南省科技厅基金(2008SK3108)资助项目

1 中南大学湘雅二医院康复科,长沙,410011

作者简介:刘敏,女,副教授;收稿日期:2012-01-06

Author's address Department of Rehabilitation, The Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, 100068

Key word hyperbaric oxygenation; ultra-early stage; spinal cord transection complete; rats; bone mineral density

脊髓完全损伤是一种严重的神经系统创伤,除常常带来难以恢复的感觉运动功能障碍外,继发的骨质疏松(osteoporosis, OP)因易致骨折可进一步阻碍患者的康复进程。有资料显示完全性脊髓损伤较不完全性脊髓损伤发生OP的可能性提高6.17倍^[1],完全性SCI患者发生骨折的风险大于不完全性SCI患者^[2],故脊髓完全损伤是至今尚未解决的医学难题。虽有文献表明高压氧治疗对不完全性脊髓损伤功能恢复有促进作用,且越早效果越好^[3-8],但临床观察发现对脊髓完全损伤患者术后即使早期采用高压氧综合治疗疗效仍难以令人满意,有资料显示脊髓损伤后抢救的黄金时期是0—6h^[9],本作者通过研究发现脊髓损伤后黄金时期即采用高压氧治疗可促进脊髓全横断损伤大鼠后肢运动功能的部分恢复^[10],并可改善脊髓全横断损伤大鼠骨转换^[11],但在脊髓损伤后的黄金时期采用高压氧治疗对脊髓全横断损伤大鼠后肢骨丢失的影响如何,目前国内外尚未见报道。本研究对脊髓完全横断损伤(complete spinal cord transaction, CSCT)大鼠采用超早期高压氧治疗,通过观察脊髓损伤后肢股骨、胫骨不同区域骨密度的变化,以探讨超早期高压氧治疗对脊髓完全横断损伤大鼠后肢骨丢失的影响。

1 材料与方法

1.1 动物分组

3月龄SD大鼠(雌性)55只(由本院动物室提供,合格证:SCXK(湘)2003—0003),体质量195—240g,随机分成3组,即假手术组(Sham, 15只),模型组(CSCT, 20只)及高压氧组(HBO, 20只)。Sham组仅行T10椎板切除,不损伤脊髓,CSCT组与HBO组均行T10椎板切除并在该水平横断脊髓(因实验处理过程中有动物因故死亡,故每组最终动物数不一,具体只数见结果)。

1.2 方法

1.2.1 CSCT模型制备^[12]:大鼠术前禁食12h,称重,采用10%水合氯醛腹腔注射麻醉(0.3ml/100g体重,水合氯醛购自中南大学湘雅二医院制剂室),俯卧位

固定于手术台上,胸背部剃毛备皮,75%酒精消毒,铺消毒巾。按肋骨确定椎体序列,自背部正中切开T8—12椎体水平的皮肤、皮下及筋膜,剥离竖脊肌,暴露T9—11椎体棘突及双侧椎板。模型组与高压氧组均切除T10椎板,充分暴露T10椎体水平的脊髓,以弯头眼科镊轻轻挑起脊髓并用尖锐刀片横切脊髓,动物即刻出现摆尾,双下肢抽搐或尿失禁,以无菌纱布按压止血后逐层缝合,制成脊髓损伤模型。Sham组仅行T10椎板切除,不损伤脊髓,之后逐层缝合。

1.2.2 高压氧处理:高压氧组在脊髓损伤后3h即开始高压氧治疗。将武汉七〇一研究所提供的婴儿纯氧舱(YLC0.5/1A型)改作动物舱使用,门缝洗舱法^[13]洗舱10min至舱内氧浓度达93%—95%,将舱门关紧,20min内加压到2.2个绝对大气压(ATA),稳压40min(吸氧浓度97%—99%),后用15—20min匀速减至环境压出舱。为保持舱内氧浓度,稳压全过程持续低流量等量换气。10d为1疗程,共3疗程,其中第一疗程每日2次,第二、三疗程每日1次,每疗程间休息6d。

1.2.3 大鼠饲养及护理。术后每只动物肌肉注射青霉素16万U/d,连续1周。每日定量供应充足饲料和水,在安静、通风、清洁环境下分笼饲养,任意进食本院动物室自产大鼠全价颗粒饲料(约含钙1.5%和磷0.9%)和自来水,饲养环境温度控制在22—25℃,相对湿度40%—70%。

模型组(CSCT)及高压氧组(HBO)采用相同的护理:①人工排尿:术后每日早晚2次,排尿时,左手撑起大鼠腹部,右手触摸找到充盈的膀胱,然后按住膀胱底,自上而下轻柔挤压,逼尿排出;②防止压疮:挤压膀胱排尿后,及时清理会阴或包皮,使其保持干燥,被尿液浸湿的肢体及时用温肥皂水清洗,并用电吹风吹干。将动物放在软垫上,并常改变体位。局部撒敷褥疮粉,预防后肢水肿。

1.2.4 BMD测定。各组大鼠均于术后6周末,小心剥取右侧股骨及胫骨,分别将右股骨、胫骨仰置于有机玻璃上,采用当今先进的Delphi A型扇型束

DEXA 骨密度仪将股骨和胫骨各平均分成7个区域(7个R)进行BMD测定^[14](见图1—2),该仪器测量大鼠离体股骨、胫骨BMD的批内、批间精密度变异系数(CV)分别为2.02%和2.18%^[15]。

图1 大鼠离体股骨的骨密度测定

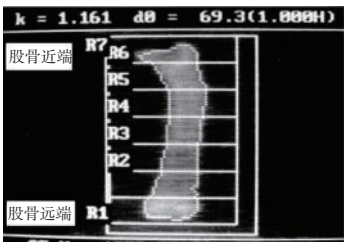
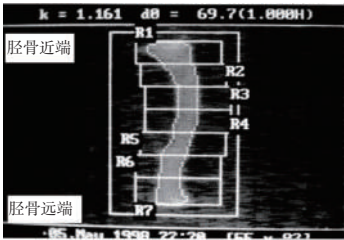


图2 大鼠离体胫骨的骨密度测定



1.3 统计学分析

所有数据经SPSS 13.0统计软件包处理,结果以均数±标准差表示,采用方差分析进行比较(*F*检验),根据方差齐性或不齐性分别采用LSD或Tamhane作两两比较。

2 结果

2.1 死亡情况

实验期间,死亡13只大鼠,其中CSCT组、HBO组分别有8只、5只死亡,总死亡比例13/55,SCI后死亡比例13/40,主要死因为胃肠道、泌尿系并发症及自噬后创面感染,死亡者未列入检测指标的统计。

2.2 治疗前后各组体重测定

疗前各组体质量差异无显著性意义(*P*>0.05),具有可比性。疗后假手术组体质量明显高于其他两组(*P*<0.01)。见表1。

2.3 疗后各组离体股骨整体及其不同区域BMD

疗后假手术组与其他两组比较,假手术组股骨整体、远端(FR1,FR2)及近端(FR6,FR7)BMD明显高于其他组,且差异有显著性意义(*P*<0.05—0.01);疗后高压氧组与模型组比较,高压氧组股骨整体BMD明显高于模型组,差异有显著性意义(*P*<0.05)。见表2。

2.4 疗后各组离体胫骨整体及其不同区域BMD

疗后假手术组与其他两组比较,假手术组胫骨近端(TR1,TR2)BMD明显高于其他组,且差异有显著性意义(*P*<0.05)。HBO组与CSCT组比较,HBO组胫骨整体、股骨及胫骨其他各区域BMD值均较CSCT组呈上升趋势,但差异无显著性。见表3。

表1 治疗前后各组体重比较 ($\bar{x}\pm s, g$)

组别	例数	疗前	疗后
假手术组	15	222.9±10.6	282.3±8.2
模型组	12	220.8±11.0	237.8±5.9 ^①
高压氧组	15	223.1±11.5	242.6±7.2 ^①

与假手术组比较:①*P*<0.01

表2 疗后各组离体股骨整体及其不同区域BMD测定结果比较 ($\bar{x}\pm s, g/mm^2$)

组别	例数	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R整
假手术组	15	0.272±0.018	0.201±0.007	0.169±0.013	0.189±0.011	0.209±0.014	0.222±0.016	0.206±0.019	0.213±0.012
模型组	12	0.240±0.017 ^①	0.136±0.015 ^②	0.151±0.017	0.170±0.016	0.191±0.012	0.195±0.011 ^①	0.178±0.013 ^①	0.158±0.007 ^①
高压氧组	15	0.251±0.013 ^①	0.145±0.014 ^②	0.159±0.016	0.175±0.009	0.193±0.012	0.205±0.012 ^①	0.183±0.010 ^①	0.185±0.010 ^{①③}

与假手术组比较:①*P*<0.05;②*P*<0.01;高压氧组与模型组比较:③*P*<0.05

表3 疗后各组离体胫骨整体及其不同区域BMD测定结果比较 ($\bar{x}\pm s, g/mm^2$)

组别	例数	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R整
假手术组	15	0.252±0.019	0.165±0.020	0.153±0.012	0.151±0.009	0.163±0.010	0.152±0.005	0.205±0.014	0.186±0.012
模型组	12	0.211±0.014 ^①	0.126±0.016 ^①	0.139±0.010	0.147±0.010	0.158±0.012	0.148±0.006	0.187±0.015	0.165±0.005
高压氧组	15	0.222±0.015 ^①	0.134±0.013 ^①	0.141±0.011	0.149±0.008	0.159±0.007	0.150±0.011	0.189±0.017	0.172±0.010

与假手术组比较:①*P*<0.05

3 讨论

SCI后大鼠骨代谢迅速发生改变,以骨吸收增强为特点,损伤平面以下骨量丢失快速发生。本研究结果显示脊髓损伤(完全横断)6周末,假手术组与其他两组比较,假手术组股骨整体、股骨远端(FR1—2)、近端(FR6—7)及胫骨近端(TR1—2)BMD均明显高于其他组,且差异有显著性意义($P < 0.05—0.01$),而假手术组其他部位BMD值较其他两组对应部位的BMD值均略高,但差异无显著性意义。该结果说明:①本实验建立的动物模型已继发OP;②脊髓完全横断损伤后早期股骨远端、近端及胫骨近端松质骨较多,骨转换活性较高,骨丢失较快,尤以股骨远端(FR2)更明显($P < 0.01$),而股骨中段及胫骨中远段主要由皮质骨组成,骨转换活性较低,骨丢失不明显,此与文献报道相符^[16]。但早期股骨整体呈现明显骨丢失。

疗后6周末,高压氧组与模型组比较,高压氧组股骨整体BMD较模型组明显增加,差异有显著性意义($P < 0.05$),而胫骨整体、股骨及胫骨其他各区域BMD值均较模型组略呈上升趋势,但差异无显著性意义,结果说明超早期高压氧治疗可减缓脊髓完全损伤大鼠所致后肢骨丢失。分析其原因可能:SCI后OP的发病机制主要与神经损伤、内分泌代谢紊乱、损伤平面以下应力减少或消失等因素共同参与有关,超早期高压氧治疗一是可通过明显减轻损伤节段脊髓组织含水量,促进损伤大鼠双后肢运动功能的部分恢复^[10],从而使股骨、胫骨受到一定肌肉机械负荷的刺激,产生负压电位^[17],增加后肢骨皮质血流量及促进性激素分泌^[18]均可促骨形成,使其骨量有所增加,而以股骨总体骨量增加更明显,可能与股骨较胫骨所承受的肌肉机械负荷更强有关;二是可改善脊髓完全横断损伤大鼠骨转换^[11],对骨形成有促进作用,对骨吸收有抑制作用;三是可通过改善全身血运,增加血氧含量、血氧张力、改善微循环,刺激毛细血管的新生及侧枝循环的形成,从而使全身骨量有所增加^[19—21]。

总之,超早期高压氧治疗可减缓脊髓完全横断损伤大鼠后肢骨丢失,为脊髓完全性损伤的临床治疗提供一定指导意义。而超早期高压氧治疗可否促进脊髓完全横断损伤大鼠脊髓白质有髓鞘神经轴突

的芽生、神经干细胞的转移分化及调节脊髓全横断损伤所致内分泌紊乱等,尚需进一步研究。

参考文献

- [1] Garland DE, Adkins RH, Kushwaha V, et al. Risk factors for osteoporosis at the knee in the spinal cord injury population [J]. J Spinal Cord Med, 2004, 27(3):202—206.
- [2] Mulrow J, O'Toole GC, McManus F. Traumatic lower limb fractures following complete spinal cord injury[J]. Ir Med J, 2005, 98(5):141—142.
- [3] 俞友皆,黄莘莘.早期高压氧治疗对不完全性颈髓损伤患者神经功能恢复的影响[J].实用医学杂志,2008,4(9):1559—1561.
- [4] 李志才,宋一平,穆小萍,等.高压氧治疗脊髓损伤的疗效观察[J].中华物理与康复杂志,2008,30(3):150—151.
- [5] 王庆鹏,孙永明.高压氧对脊髓损伤患者功能恢复的影响[J].中国康复医学杂志,2009,24(3):271.
- [6] 胡文涛,李少敏,谢继萍,等.高压氧对脊髓损伤患者运动和感觉功能的疗效[J].宁夏医学杂志,2010,32(9):828—829.
- [7] 何坚,韦贵珠.加用高压氧综合疗法治疗脊髓损伤的疗效观察[J].临床医学,2011,(03):31—32.
- [8] 周建华,尹庆水,潘刚明.脊髓损伤的高压氧治疗及时机、时限的疗效观察[J].实用医学杂志,2010,26(18):3342—3344.
- [9] 南登昆.康复医学[M].北京:人民卫生出版社,2004:224.
- [10] 刘敏,伍贤平,童敏.超早期高压氧治疗对脊髓全横断大鼠脊髓水肿及后肢运动功能的影响[J].南方医科大学学报,2009,29(10):2014—2017.
- [11] 童敏,伍贤平,陈军,等.脊髓完全横断损伤大鼠的骨转换:超早期高压氧干预之效应[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(15):2684—2687.
- [12] 闫慧博,金大地,鲁凯伍,等.稳定性大鼠脊髓全横断模型的建立[J].中国组织工程研究与临床康复,2007,(6):1091—1094.
- [13] 吴峰静,彭争荣,吴致德.婴幼儿气舱的操作方法介绍[J].中国临床康复,2002,6(24):3745.
- [14] Lu R, Hu CP, Wu XP, et al. Effect of age on bone mineral density and the serum concentration of endogenous nitric oxide synthase inhibitors in rats[J]. Comp Med, 2002, 52(3): 224—228.
- [15] Lu ZY, Liao EY, Wu XP, et al. Dual-energy X-ray absorptiometry of rats: precision and measurement of bone loss in vivo [J]. Chin J Osteoporosis, 2001,7(3):199—201,229(in China)
- [16] 叶超群,纪树荣,张庆民,等.脊髓损伤后大鼠骨代谢与骨密度变化[J].中国康复医学杂志,2005,20(4):258—260.
- [17] Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. Health benefits of physical activity: the evidence[J]. CMAJ, 2006, 174(6):801—809.
- [18] Salvesen H, Johansson AG, Foxdal P, et al. Intact serum parathyroid hormone levels increase during running exercise in well-trained men[J]. Calcif Tissue Int, 1994, 54(4):256—261.
- [19] 赵玉梅,孙莉,石燕.高压氧治疗骨折延迟愈合患者17例[J].中华物理医学与康复杂志,2004,26(8):5—6.
- [20] 赵宁.高压氧辅助治疗下颌骨粉碎性骨折疗效观察[J].中华实用诊断与治疗杂志,2011,25(3):274—275.
- [21] 郭新银,孙兆云,李雪芹.骨肽静滴联合高压氧吸入高压氧治疗骨折延迟愈合、骨不连疗效观察及机制探讨[J].山东医药,2010,50(22):66—69.