

急性脊髓前动脉及双侧椎动脉阻断对 颈髓血流量影响的实验研究

孙其志,任先军,陈军花,欧阳忠

(第三军医大学新桥医院骨科 400037 重庆市)

【摘要】目的:研究颈部脊髓前动脉及双侧椎动脉阻断对颈髓血流量的影响及其病理学变化。**方法:**将 48 只家兔随机分为阻断脊髓前动脉组与阻断脊髓前动脉和双侧椎动脉组,术后 6h、24h、72h 采用激光多普勒血流测定仪检测颈髓血流灌注量,电镜观察颈髓组织细胞形态学、免疫组化检测神经丝的变化。**结果:**脊髓前动脉阻断后颈髓血流量下降 1/2,随后有所回升,但依然处于低灌注状态;阻断脊髓前动脉和双侧椎动脉后,其血流量下降更为显著,为对照组的 1/3,电镜及免疫组化显示两组均出现了缺血性改变,经统计学检验两组每一时相点的血流量和神经丝表达程度均有显著性差异($P<0.05$)。**结论:**颈髓前部血流量除与脊髓前动脉有关外,前根动脉也有一定的作用,临床上各种原因造成脊髓前动脉或根动脉的损伤均可能导致颈髓缺血性损伤。

【关键词】 脊髓前动脉;前根动脉;颈髓;血流量;缺血性损伤

中图分类号:R361 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2005)-08-0489-04

An experimental study on ischemic injuries of cervical spinal cord after acute blockade of anterior spinal artery and bilateral vertebral arteries/SUN Qizhi,REN Xianjun,CHEN Junhua,et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord,2005,15(8):489-492

【Abstract】 Objective:To study the effect on the blood supply of cervical spinal cord and its correspondent histopathological changes after acute injuries of anterior spinal artery and bilateral vertebral arteries.**Method:** Forty-eight rabbits were randomly divided into two groups:anterior spinal arteries were blocked as group I, and anterior spinal artery and bilateral vertebral arteries were both blocked as group II. Blood flow changes of cervical spinal cord were measured by Laser Doppler Flowmetry (LDF) after 6 hours, 24 hours and 72 hours. Cell morphology and expression of neurofilament in the cervical spinal cord were noted by the electron microscope and immunohistochemistry respectively.**Result:**The blood flow of cervical spinal cord in test group I decreased to half of that of its control group after blocking the anterior spinal artery. With the prolonging of ischemic time, the blood flow increased gradually. But it was still far much lower than that of its control group. The blood flow of the cervical spinal cord decreased even more in test group II, which was only one third of its control group's. Acute ischemic changes both appeared in the two experimental groups. There were significant differences in blood flow and expression level of neurofilament between the two experiment groups at every time point ($P<0.05$). **Conclusion:**Anterior radicular arteries, as well as anterior spinal cord artery, play an important role in blood supply of anterior cervical spinal cord, and any injuries to one of them can undoubtedly result in cervical spinal cord ischemic lesion.

【Key words】 Anterior spinal artery; Anterior radicular artery; Cervical spinal cord; Blood flow; Ischemic injury

【Author's address】 Department of Orthopedics, Xinqiao Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China

颈部脊髓血供丰富,主要有脊髓前、后动脉和根动脉,它们在颈髓血供中占有十分重要的作用。临床上许多因素可造成脊髓前动脉及前根动脉的

损伤。本实验旨在研究脊髓前动脉以及前根动脉损伤后对颈髓血流量的影响及其病理学变化。

1 材料与方法

1.1 动物与分组

选取健康日本大耳白兔 48 只,雌雄不限,体

第一作者简介:男(1977-),住院医师,医学硕士,研究方向:脊柱外科

电话:(023)65230671 E-mail:sunqizhi915@sohu.com

重 2.5~3.0kg, 随机分成两组: 阻断脊髓前动脉组(A 组)和阻断脊髓前动脉+双侧椎动脉组(B 组)。两组均设有对照组(A1 组和 B1 组), 各 6 只动物; 实验组按缺血时间又分为 6h (A2、B2 组)、24h (A3、B3 组)和 72h (A4、B4 组), 每组每个时间点 6 只动物。

1.2 动物模型制备

速眠新 II (长春军需大学兽医研究所生产)以 0.15ml/kg 肌肉注射麻醉, A 组采用右侧颈前路纵行入路, 暴露椎体, 确定 C2 椎体后在上面用骨刀及其刮匙开 0.7×0.3cm 左右的小孔, 以明胶海绵止血, 显微镜下剪开硬脊膜、蛛网膜, 用自制显微细钩勾起脊髓前动脉, 剪断, 止血, 可以看到白色脊髓组织后缝合, 其对照组做同样的操作, 不剪断脊髓前动脉。B 组需作两个切口, 阻断脊髓前动脉方法同上, 阻断椎动脉采用颈静脉切迹上 1cm 处做颈前横切口, 在椎动脉进入横突孔前结扎并剪断, 其对照组进行同样的操作但不剪断脊髓前动脉和双侧椎动脉。整个手术过程均无菌操作, 术后青霉素抗感染, 由专人同一条件下饲养。

1.3 观察指标

1.3.1 颈髓血流量 血流量检测采用第三军医大学野战外科研究所二室的激光多普勒血流测定仪 (Laser Doppler Flowmetry, LPF, 瑞典百灵威, Perimed AB 公司生产, 型号: FeriFlux System 5000), 通过专门程序 Perisoft 进行操作, 显示并记录波形、计算并存储血流数据。将动物模型重新打开颈前部切口, 找到椎体小孔, 向下扩大小孔到 C3~C4 节段, 剪开硬脊膜和蛛网膜, 看到白色的脊髓组织, 术野和探头覆盖 1% 琼脂液 (溶于 0.9% 生理盐水)。将光纤探头用自制支架固定于 C3~C4 脊髓表面距前中央沟旁 1.5mm, 触而不压, 这样有助于测量颈髓血流时记录的数据不因呼吸运动而发生改变, 保持测定区域相对恒定, 同时不会损伤脊髓。被测区域无可视血管, 连续记录 10min, 将记录的数据通过 Perisoft 程序处理即可得到相关的值。

1.3.2 免疫组化 在相应时间点处死动物后快速取出兔的 C3~C4 节段脊髓, 40% 甲醛固定。其中一部分用来观察神经微丝 68 (NF68) 在不同时相点颈髓组织表达情况。抗 NF68 购自武汉博士德公司, 稀释浓度 1:100。免疫组化操作按照 SABC (Strept Avidin-Biotin Complex, 链霉亲和素-过氧

化物酶复合物)法进行, 免疫组化染色结果采用真彩色医学图像分析软件 (Midia Cybernetics 公司 image-pro plus 4.5), 参考有关文献^[1]进行分析。每组随机选择 6 张免疫组化染色片, 用阳性染色面积 (Area)、阳性染色积分光密度 (IOD) 两项作为定量指标。

1.3.3 病理学改变 所取标本的另一部分常规制成切片后于光镜及电镜下观察并比较不同组标本病理学上的差异。

1.4 统计学处理

实验数据用 SPSS 10.0 软件处理, 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 比较组内不同时相点的差异采用单因素方差分析, 组间差异用 *t* 检验。

2 结果

2.1 颈髓血流量情况

阻断脊髓前动脉后 6h, 颈部血流量最低, 随着缺血时间的延长, 血流量有所恢复, 但仍处于较低水平; 在阻断脊髓前动脉的基础上进一步阻断双侧椎动脉后其颈髓血流量下降更加明显, 而且在每一个时相点都明显低于阻断脊髓前动脉组。经统计学分析两组存在显著性差异 ($P < 0.01$, 表 1)。

2.2 NF68 表达变化

镜下观察发现随着缺血时间的延长和缺血程度的增加, 其表达逐渐减弱 (图 1~5, 后插页 IV)。软件分析显示无论是阳性染色面积 (Area) 还是平均光密度 (integral optical density, IOD), 颈髓缺血后都明显下降, 而且随着缺血时间的延长呈进行性下降, 两组之间也存在显著性差异 ($P < 0.05$, 表 1)。

2.3 病理学变化

表 1 激光多普勒检测颈髓前部表面血流量的变化和 NF68 在颈髓组织中不同时相点的表达 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

	血流量 (PU)	Area	IOD
A1 组	125.700±6.282	2404.00±254.60	193.63±8.87
A2 组	62.492±1.267	1571.10±203.74	122.93±13.64
A3 组	73.58±2.897	1265.12±89.12	110.59±18.95
A4 组	91.840±1.698	1058.86±119.47	93.93±7.28
B1 组	126.404±7.5447	2291.92±363.97	197.94±13.14
B2 组	42.525±1.567 ^①	971.06±68.87 ^②	102.52±9.18 ^②
B3 组	54.432±2.402 ^③	823.88±101.98 ^④	81.54±5.46 ^④
B4 组	74.382±3.681 ^⑤	521.69±48.92 ^⑥	62.04±4.74 ^⑥

注: 与 A2 组比较^① $P < 0.01$, ^② $P < 0.05$; 与 A3 组比较^③ $P < 0.01$, ^④ $P < 0.05$; 与 A4 组比较^⑤ $P < 0.01$, ^⑥ $P < 0.05$

无论是 A 组还是 B 组,随着缺血时间延长,神经细胞凋亡程度明显加大,而且 B 组较 A 组在相同时间点神经细胞凋亡更加明显。光镜下:A1 组,组织、细胞形态正常,无急性缺血病变。A2 组,白质疏松、水肿;胞核消失,细胞外形改变,固缩,染色加深,有水肿。A3 组,胞体肿胀,胞核分解,消失,尼氏体消失,急性缺血改变。A4 组,细胞体固缩、变形,周围水肿,胞核分解,消失。B1 组,正常组织和细胞,无缺血性改变。B2 组,细胞不规则,水肿、固缩,尼氏体消失,胞核分解。B3 组,嗜神经现象,神经细胞浓缩,染色加深,胞核消失,呈缺血性改变。B4 组,胶质细胞增生,有卫星现象,神经细胞变性,水肿、固缩,胞核消失。

电镜下:A1 组,正常,无线粒体的肿胀及内质网的扩张(图 6,后插页 IV)。A2 组,溶酶体增多,线粒体肿胀,胞质致密,有固缩改变。A3 组,轴浆内线粒体肿胀,轴突肿胀,破裂,有空泡,髓鞘分层,洋葱样变,脱失(图 7,后插页 IV)。A4 组,病变较普遍,线粒体肿胀,内质网扩张显著。B1 组,正常,无线粒体的肿胀及内质网的扩张(图 8,后插页 IV)。B2 组,内质网轻到中度扩张,线粒体肿胀。B3 组,线粒体肿胀明显,内质网明显扩张,脱颗粒,有破裂趋势,轴突髓鞘分层,紊乱(图 9,后插页 IV)。B4 组,线粒体肿胀,内质网扩张,轴浆肿胀、变淡。

3 讨论

3.1 人类颈髓血供及根动脉的解剖特点及实验模型选择

颈部脊髓和脊神经的血供主要来自脊髓前、后动脉;其次来自椎动脉等节段性动脉发出的根动脉。根动脉按进入脊髓的位置不同可分为前根动脉和后根动脉,它们分别伴神经前根和后根汇入脊髓前、后动脉维持它们的连续性。脊髓前动脉及其前根动脉供应脊髓前 2/3,脊髓后动脉及其后根动脉供应脊髓后 1/3,脊髓前、后动脉之间极少吻合^[2]。由于脊髓后动脉连续性比较好,而且有更多的后根动脉,因此脊髓后 1/3 发生缺血的机率很小,根动脉的损伤主要对脊髓前 2/3 产生影响^[3]。

兔与人的脊髓血管构筑相似^[4-5],根动脉的数量、分布、大小、起源和位置个体差异比较大,动物模型制作中不能准确地阻断某一条或某几条根动脉。本实验制作两种动物模型,一是阻断脊髓前动

脉模型,二是在阻断脊髓前动脉基础上进一步阻断双侧椎动脉模型。前者颈髓前 2/3 主要是来自椎动脉和其它动脉发出的前根动脉的血供;后者颈髓前 2/3 主要来自椎动脉以外的其它血管发出的前根动脉的血供,两动物模型之间的差别即是椎动脉发出的前根动脉。本实验主要探讨脊髓前动脉及其部分前根动脉损伤后对颈髓前 2/3 血供影响及其病理学变化。

3.2 脊髓前动脉及前根动脉损伤对颈髓的影响

临床上各种原因都可以造成脊髓前动脉、根动脉或发出根动脉的节段性动脉的损伤,影响脊髓血供,进而导致脊髓缺血性病变。颈髓血供丰富,对于颈部脊髓前动脉或根动脉损伤后是否可以造成颈髓缺血还存在争议。Brouwers 等^[6]报道因 C6 神经根诊断性阻滞导致类固醇药物注入 C6 处根动脉引起阻塞,从而造成了颈髓的梗死;Karasek 等^[7]也报道过类似病例。有人推测在颈椎病减压手术后造成的 C5 瘫痪是由于损伤了 C5 处的根动脉所致^[8];但也有学者认为颈部根动脉的损伤通常不会造成颈髓的缺血^[9]。由于不能确定根动脉损伤后是否对颈髓造成严重损害,给临床操作带来了困扰。

本实验研究发现兔正常颈髓表面血流量为 125PU 左右,阻断脊髓前动脉 6h 后颈髓血流减少到 62.492PU,降低了一半,在此基础上进一步阻断双侧椎动脉以消除前根动脉的血供后,其血流量从正常的 126.404PU 下降到 42.525PU,可以说是在 62.492PU 的基础上下降了 20 个单位左右,由此可见脊髓前动脉是脊髓前部主要的供应动脉,而前根动脉也占有一定的作用。但是否前根动脉的作用可以忽略不计呢?A 组三个时相点分别下降了 50.3%、41.5%、26.9%,而 B 组三个时相点分别下降了 66.4%、56.9%、41.2%。统计显示,两组在每个时相点都存在显著性差异($P<0.01$),而这个差异主要是由于部分前根动脉的有无所造成的。当然由于两组都是缺血组,还应该考虑到有其它因素比如其它血管的代偿等的影响,但可以说前根动脉的缺失是颈髓血流量进一步减少的主要原因。因此我们认为脊髓前动脉是前部颈髓主要的供血动脉,但是前根动脉也起到不可缺失的作用。

神经细胞是脊髓组织的主要构成细胞,它的结构的稳定性直接关系到脊髓组织的结构和功

能^[10]。而神经元所特有的结构蛋白是神经丝(neurofilament, NF), 它广泛分布于神经元的胞体和突起内, 按分子量的不同分为三种: 68kD、140kD、200kD, 只有 NF68 的神经丝存在于胞体和轴突中。作为神经元的标志蛋白, 它的变化可以反映神经元的消长。在缺血损伤后, 由于脊髓组织血流下降, ATP 减少, 进而导致 NF 分解增加和合成减少, 因此可以反映神经损伤的程度。本实验利用 NF68 单抗, 借助免疫组化方法对脊髓缺血不同时相点的神经细胞进行检测, 通过 NF 的变化来判断脊髓缺血损伤的程度及随时间变化的情况。

实验发现, 脊髓前动脉阻断后, 电镜显示颈髓组织结构随缺血时间增加变性逐渐加重, NF68 在胞体和突起内的阳性颗粒逐渐减少, 表明神经元胞体和轴突内细胞骨架结构紊乱, 颈髓组织结构损害。说明尽管有前根动脉的代偿, 脊髓前动脉的损伤依然造成了颈髓缺血性损害。通过 A 组和 B 组不同时相点的阳性 Area 和 IOD 的比较发现, 两组之间存在显著性差异($P < 0.05$)。说明前根动脉的存在与否对颈髓造成的损害是有显著性差异的, 前根动脉的缺失同样会对颈髓组织带来损害。有学者^[2]研究发现脊髓缺血半小时脊髓组织就可以发生不可逆的缺血性损害, 其损害是渐进性的。本实验也证实了这个观点, 颈髓缺血 6h 后开始观察颈髓组织的病理变化, 发现颈髓随着时间的延长, 血流量有所恢复, 但是其组织结构依然发生不同程度的损害。

本组实验结果显示, 脊髓前动脉是颈髓主要的供应动脉, 它的损伤可以导致颈髓组织结构发生变化, 引起缺血性损害; 前根动脉在颈髓血供中起着不可或缺的作用, 它的损伤同样会导致颈髓血流量减少, 进而发生缺血性损害。

虽然兔与人类在颈髓血供相似, 但不能完全

代替人类。根动脉的个体差异性和现有的试验条件不能探讨哪些根动脉是主要的, 哪些是次要的。临床上应注意避免脊髓前动脉以及前根动脉的损伤, 以免对颈髓造成损害。

4 参考文献

1. 蔡文琴, 王泊云. 实用免疫细胞化学与核酸分子杂交技术[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1994. 186-188.
2. 胥少汀, 郭世绂. 脊髓损伤基础与临床[M]. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 198-231.
3. Shamji MF, Maziak DE, Shamji FM, et al. Circulation of the spinal cord: an important consideration for the thoracic surgeons[J]. Ann Thorac Surg, 2003, 76(1): 315-321.
4. Soutoul JH, Gouaze A, Castaing J, et al. Les arteres de la moelle epiniere cervicale chez quelques animaux d'experimentation: etude comparative avec la vascularisation humaine[J]. Arch Anat Histol Embryol, 1965, 48(1): 77-93.
5. 伍亚民, 王正国, 朱佩芳, 等. 脊髓缺血损伤模型的研究概况[J]. 中华创伤杂志, 1999, 15(2): 106-108.
6. Brouwers PJ, Kottnik EJ, Simon MA, et al. A cervical anterior spinal artery syndrome after diagnostic blockade of the right C6-nerve root [J]. Pain, 2001, 91(3): 397-399.
7. Karasek M, Bogduk N, et al. Temporary neurologic deficit after cervical transforaminal injection of local anesthetic [J]. Pain Med, 2004, 5(2): 202-205.
8. Sakaura H, Hosono N, Mukai Yet al. C5 palsy after decompression surgery for cervical myelopathy: review of the literature[J]. Spine, 2003, 28(21): 2447-2451.
9. Shimomura Y, Hukuda S, Mizuno S, et al. Experimental study of ischemic damage to the cervical spinal cord[J]. Neurosurg, 1968, 28(6): 565-581.
10. Uchida K, Baba H, Maezawa Y, et al. Progressive changes in neurofilament proteins and growth-associated protein 43 immunoreactivities at the site of cervical spinal cord compression in spinal hyperostotic mice[J]. Spine, 2002, 27(5): 480-486.

(收稿日期: 2004-09-23 末次修回日期: 2005-04-13)

(英文编审 蒋欣)

(本文编辑 彭向峰)

消息

2006年《实用骨科杂志》征订启示

《实用骨科杂志》由中华医学会山西分会和北京大学第三医院主办, 山西医科大学第二医院承办。本刊设有论著、实验研究、经验、短篇、个案、基层园地、麻醉、护理、影像、骨科史萃等栏目, 宗旨是以实用和普及为主, 兼顾提高。本刊大 16 开版, 96 页, 铜版纸印刷, 每册 8.50 元, 全年 6 册, 共 51.00 元。双月刊, 逢双月 25 日出版, 全国各地邮局(所)均可订阅, 如有不便, 也可向编辑部邮购。中国标准连续出版物号: ISSN 1008-5572/CN 14-1223/R。国内邮发代号: 22-174。国外代号: BM 1499。邮编: 030001; 地址: 山西省太原市五一一路 382 号山西医科大学第二医院内《实用骨科杂志》编辑部; E-mail: SGKZ@Chinajournal.net.cn; http://SGKZ.Chinajournal.net.cn; 电话: (0351) 3365705; 3072133; 传真: (0351) 3072133。