

颈脊髓慢性压迫模型的建立及其病理改变

吴 叶¹, 侯树勋¹, 何海龙², 贾连顺²

(1 解放军总医院 304 临床部全军骨科研究所 100037 北京市;

2 第二军医大学长征医院全军骨科研究所 200003 上海市)

【摘要】目的:建立与临床相近的颈脊髓慢性压迫动物实验模型,观察其 MRI 和病理改变。**方法:**56 只 20~24 个月的雄性山羊(体重 13~17kg,平均 15kg),随机分为对照组(8 只)、颈脊髓压迫 3 个月组(24 只)和 6 个月组(24 只)。均经前路通过 C5 置入钛合金螺钉,后路在相应的椎板下置入钛合金钢板,不直接压迫颈脊髓,当羊颈椎活动时才会对脊髓逐渐造成压迫和损害。对照组山羊螺钉和钢板置入后立即取出。在置入螺钉和钢板后 3 个月和 6 个月时对山羊进行运动功能评分,颈椎拍 X 线片和进行 MRI 检查,然后处死山羊取颈髓做病理检查。对照组山羊做相同检查。**结果:**对照组山羊的运动功能评分(平均 5.0±0.0 分)和影像学检查均没有明显变化。而脊髓压迫 3 个月和 6 个月组山羊运动功能评分分别为 3.8±0.6 分和 2.7±1.2 分,与对照组比较 $P<0.05$;MRI T2 加权矢状位和冠状位像均可见受压部位脊髓白质和灰质密度明显增加。病理检查发现受压 3 个月组在脊髓前角和后角出现神经原减少和坏死,且压迫 6 个月组较压迫 3 个月变化更为明显。**结论:**新的颈脊髓慢性压迫动物实验模型容易复制,通过该模型可较好地观察脊髓受压不同时间的影像学 and 病理改变。

【关键词】 颈椎;脊髓;慢性压迫;动物模型

中图分类号:R681.5,R319 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2006)-01-0057-04

Establishing a chronic compression model of cervical spinal cord and studying the pathological changes/WU Ye,HOU Shuxun,HE Hailong,et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord,2006,16 (1):57~61

【Abstract】 Objective:To establish a kind of animal experimental model with typical clinical characteristics of cervical compressive myelopathy and study the changes of MRI and pathology.**Method:**Fifty six 20~24 months old goats (body weights:13~17kg,mean:15kg) were randomly divided into three groups in this study:control group (n=8),compression 3 months (n=24) and 6 months (n=24) groups.In this model,the compression was given to a single intervertebral space(C5) using titanium screw from the front and a titanium plate from the dorsal side,the changes of clinical characteristics,MRI and pathology were studied.**Result:**In the control group,the motor function was normal.In the compression 3 and 6 months group,by using the modification of Tarlov's classification,the motor function was 3.8±0.6 and 2.7±1.2 respectively.On MRI T2-weighted sagittal images,hyperintensity area was found in the medullary of the compressed area,on T2-weighted axial images,intensities of the white and gray matters on the compressed area were higher than those in the areas without compression.Histologically,the gray and white matter was associated with the compression of the anterior horn and posterior horn,it was also associated with the compression time.When spinal cord were compressed 3 months,the nerve cells decreased and some of them were necrosis,axonal degeneration and mild demyelination.After spinal cord were compressed 6 months,the present changes were more severe.**Conclusion:** The new kind of animal experimental model can be duplicated efficiently.Using this model,the destructive pathologic changes in the chronic compression spinal cord can be noticed.

【key words】 Cervical;Spinal cord;Chronic compression;Animal model**【Author's address】** Institute of Orthopaedics,the 304 Clinical Department of the General Hospital of PLA, Beijing,100037,China

第一作者简介:男(1966-),主治医师,医学博士,研究方向:脊柱外科

电话:(010)66867350 E-mail:wuye_1966@sohu.com

脊髓型颈椎病的主要病理变化是脊髓受压后功能部分或完全丧失。由于缺乏满意的脊髓慢性压迫模型,对于颈椎病患者发生不可逆性病理改

变的机制目前仍然不是非常清楚。尽管脊髓压迫模型有许多种,但许多所谓的脊髓慢性压迫实际上是一种渐进性压迫,准确的说只是一种亚急性脊髓损害。由于慢性脊髓压迫实验模型都存在其设计上的不足,因此,对于由此产生的实验结果目前仍然存在较大的争论。作者试图建立一种与临床更为接近的颈脊髓慢性压迫模型,并对颈脊髓压迫的 MRI 及其病理改变做进一步的探讨。

1 材料和方法

1.1 实验动物及材料

56 只 20~24 个月的雄性山羊(体重 13~17kg,平均 15kg),随机分为对照组(8 只)、颈脊髓压迫 3 个月组(24 只)和 6 个月组(24 只)。所有山羊统一饲养 2 周后开始实验(动物由第二军医大学动物实验室提供)。

实验用钛合金空心螺钉外径 6mm,内径 2mm,长 20mm;钛合金钢板长 12mm,宽 6mm,厚 1mm(由武进医疗器械厂定制)。

1.2 动物模型制作方法

用 1%戊巴比妥钠 40mg/kg 全麻,手术中静脉输液给药以维持足够的麻醉时间。手术期间采用电生理监测(第三军医大学野战外科研究所研制的 SYD-4228 生理多媒体实验系统),防止手术直接损伤脊髓,确保螺钉没有直接对脊髓造成压迫。一期手术在 C5 椎体前方钻孔,用一小圆头的探子从此孔探至硬膜囊洞深,拧入直径 6mm 空心钛合金螺钉,当拧入深度达到探子探测的深度时用 C 型臂 X 线机透视直接观察螺钉,确定螺钉进入椎管而不至于直接压迫脊髓。如果诱发电位波形有轻微的变化,立即停止拧入,往后退出 0.5mm。为了避免前后路同时手术出血过多,后路手术在第一次手术后 2 周进行,在 C5 椎板下置入长 12mm 宽 6mm 厚 1mm 的钛合金钢板,术中监测同前路手术,确保术中不直接压迫颈脊髓,当羊颈椎活动时才会对脊髓逐渐造成压迫和损害(图 1)。对照组山羊采用相同的前后路手术,但螺钉和钢板置入后立即取出。

1.3 观察指标

1.3.1 行为学评估 所有山羊正常圈养。手术后 3、6 个月时采用 Tarlov 运动功能评分^[1]改良方法对其行为进行评分:正常步态,可以跳跃,5 分;能跑不能跳,4 分;能走不能跑,3 分;后肢可

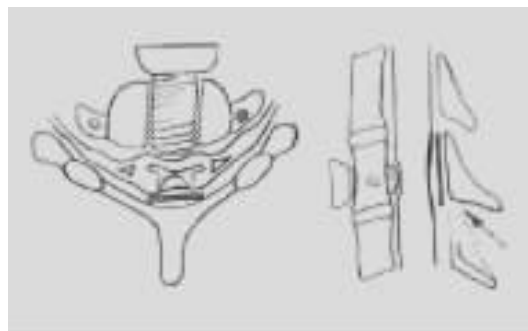


图 1 压迫模型示意图

以站立不能走,2 分;后肢可以活动不能站立,1 分;后肢全瘫,0 分。

1.3.2 X 线检查 拍摄山羊颈椎正侧位 X 线片,观察内置钢板、螺钉的位置变化。

1.3.3 MRI 检查(Siemens, Germany, 1.5T) 动物采用静脉维持麻醉, T1 加权 TR 350ms, TE 15ms, T2 加权 TR 1000ms, TE 120ms。主要扫描矢状位和轴位。通过 T1 加权轴位像判断受压节段脊髓压迫情况。脊髓信号的改变主要通过 T2 加权像判断。脊髓在椎管内的占位率=(螺钉压迫处脊髓的前后径/椎管前后径)×100%。

1.3.4 光镜检查(Olympus BX51) 以 C5 脊髓受压区为中心切下长约 3cm 脊髓,将前后压痕最明显处切下长约 7mm,经过去离子后置入磷酸盐缓冲液中,随后石蜡包埋,切片,片厚 5 μ m,分别进行 HE、Nissls、Homles 染色,观察对照组、脊髓受压 3 个月和 6 个月组灰质前角及白质前、侧索内脊髓神经纤维、神经原等结构的改变。

1.3.5 电镜检查 脊髓受压 3 个月和 6 个月处死,按照常规取材方法切取长 3cm 的受压节段脊髓,置入 2.5%戊二醛溶液固定 30min。在解剖显微镜下切取脊髓受压中心处灰质前角及白质前索、侧索各 1mm³ 组织块,继续置入 2.5%戊二醛溶液固定 1 周。用 0.1mmol/L 的 PBS(pH 7.3)冲洗标本,再用 1%锇酸固定,丙酮逐级脱水, Epon 812 环氧树脂包埋。经半薄切片定位后作超薄切片,醋酸铀染色后应用日立 H-600 透射电镜扫描观察脊髓超微结构的改变。

1.4 统计方法

用 SPSS 12.0 统计软件处理数据,所有数据作均数的 *t* 检验,样本均数用 $\bar{x} \pm s$ 表示, *P* < 0.01 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 山羊的运动功能评分

所有造模手术均未引起山羊死亡。术后当天山羊均在观察室内观察, 每只输 400 万单位青霉素/500ml 生理盐水。术后第 2 天, 山羊行走正常, 但不愿意跑动, 术后 5d 山羊活动恢复正常, 运动功能评分为 5 分。手术后观察时间 3~6 个月。对照组未出现脊髓受压的运动功能改变, 而 48 只颈脊髓前路压迫的山羊在观察 3 个月时均出现跑动困难, 尤其是跨越 40cm 高以上障碍时需要绕开障碍而行。运动功能评分 3.8 ± 0.6 分; 6 个月时变化更为明显, 行走缓慢, 后肢颤抖, 运动功能评分为 2.7 ± 1.2 分。压迫 3 个月和 6 个月与对照组(平均评分 5 分)比较, $t_1=2.852, P_1=0.003$; 压迫 6 个月与 3 个月组相比, $t_2=2.838, P_2=0.007$, 均有统计学差异。

2.2 影像学表现

2.2.1 X 线片 山羊颈椎侧位片显示置入的钛合金螺钉均处于 C5 椎体中间部位, 2 只山羊正位片显示后路置入的钢板向侧方轻微偏斜(图 2、3)。

2.2.2 MRI 观察 对照组山羊颈椎管内脑脊液充盈良好, 脊髓信号正常, T1 加权轴位片上测量脊髓前后径占椎管前后径的 $(57.3 \pm 5.9)\%$ 。实验组(压迫 3 个月和压迫 6 个月组)可见脊髓前方螺钉压迫和后方钢板压迫处脑脊液充盈缺损, T1 加权轴位片上测量脊髓前后径占椎管前后径的 $(33.7 \pm$

$4.5)\%$, 与对照组比较差异有显著性($P < 0.01$)。在压迫 3 个月和 6 个月时 T2 加强矢状位片上可见脊髓受到压迫区域灰质和白质的信号较没有压迫部位明显要高(图 4、5)。

2.3 病理改变观察

2.3.1 大体观察 所有受压迫处脊髓变宽, 前方压迫处呈凹陷状, 脊膜变薄。后方有长方形压痕, 脊膜变薄但较前方稍厚。

2.3.2 光镜观察 HE 染色: 对照组神经原和神经纤维结构正常(图 6, 后插页 II); 脊髓受压 3 个月时白质轻度脱髓鞘, 神经原变性不明显(图 7, 后插页 II); 脊髓压迫 6 个月时部分神经原发生变性(图 8, 后插页 II)。Nissls 染色: 对照组脊髓神经结构正常; 脊髓压迫 3 个月组可见多数神经原变性坏死, 结构不清, 神经细胞减少, 但存在正常结构; 脊髓压迫 6 个月组尼氏染色细胞减少, 多数神经原周围可见不规则透亮区。Hemles 染色: 对照组脊髓的神经原和神经纤维结构正常(图 9, 后插页 II); 脊髓压迫 3 个月可见神经原发生不同程度的变性, 部分神经原周围存在不规则的透亮区(图 10, 后插页 II); 脊髓压迫 6 个月出现神经原部分变性, 胞浆中嗜银颗粒不均, 有小片状嗜银沉着(图 11, 后插页 II)。

2.3.3 电镜观察 对照组脊髓超微结构正常(图 12, 后插页 II); 脊髓受压 3 个月后线粒体肿胀, 嵴消失, 尼氏体的粗面内质网排列紊乱, 表面核糖体

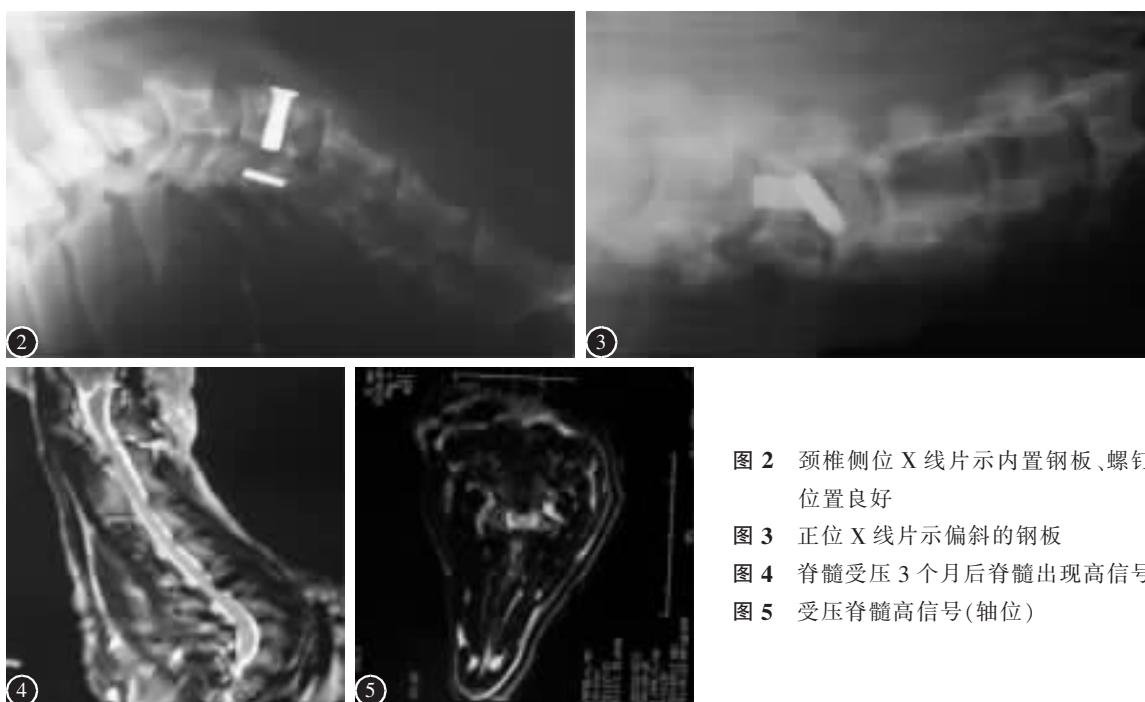


图 2 颈椎侧位 X 线片示内置钢板、螺钉位置良好

图 3 正位 X 线片示偏斜的钢板

图 4 脊髓受压 3 个月后脊髓出现高信号

图 5 受压脊髓高信号(轴位)

脱失,核固缩、溶解(图 13,后插页Ⅱ)。压迫 6 个月时脊髓白质内脱髓鞘改变与轴索的损害同时存在,轴突肿胀,髓鞘松散,部分崩解。微血管内皮细胞肿胀,管壁有裂隙。在脱髓鞘区有吞噬细胞,其胞浆内可见被吞噬的髓鞘碎片和脂滴(图 14,后插页Ⅱ)。

3 讨论

脊髓型颈椎病的主要病理变化结果是脊髓神经细胞功能的改变,引起这些病理改变的原因是因为颈椎退变导致脊髓长期持续受压。因此,所有颈脊髓病变研究的实验模型主要就是考虑如何模拟脊髓长期持续压迫的方式引起与颈椎病相同的病理改变以及相似的临床症状。一般说来,要造成脊髓压迫模型,必须具备三个条件:(1)椎管相对狭窄;(2)硬脊膜和蛛网膜下腔部分或完全堵塞;(3)保持脊柱的正常运动。

1911 年 Allen 首次报道了脊髓损伤的模型,此后多种动物模型和方法用于脊髓损伤的研究,但主要是直接打击或钳夹致急性脊髓损伤,慢性脊髓压迫模型相当少。慢性脊髓压迫可以逐渐增加压力的方式通过气囊或金属螺钉形成^[2],也可以通过硬膜外肿瘤产生^[3]。虽然螺钉或气囊可以很容易地控制进入的深度和压力的大小,但压力本身会对脊髓造成损伤,这种损伤实际上是一种急性脊髓损伤。肿瘤组织模型主要采用转移瘤作为移植体,对其生长的速度和形状不容易控制,而且肿瘤组织向周围扩散会对脊髓和周围组织产生直接影响,容易导致实验结果不理想。

文献报道,颈椎管狭窄的患者较一般患者更容易发生颈椎病。Shinomiya 等^[2]通过颈椎前路拧入螺钉观察动物行为,在脊髓受压达 50%时仍然不会出现明显的行为学改变。Schramm 等^[4]通过后路椎板钻孔,拧入合适的螺钉,开始不产生直接的脊髓压迫,随后采用固定的螺钉拧入频率,缓慢、多次逐渐将螺钉拧入,从而对脊髓产生一种逐渐增加的压迫,当脊髓受压达到椎管直径 66%时开始出现症状。从上述实验中可见单独的颈椎前路或后路脊髓压迫都不容易产生脊髓的慢性压迫。

为了防止因为手术操作或对脊髓直接加压产生的脊髓损伤,作者选用颈椎前、后路压迫的方式建立脊髓慢性压迫模型。该模型虽然经过前后路两次手术,但两次手术只涉及 1 个椎体,没有涉及

到椎间盘和小关节,保持了椎间盘和小关节的正常结构,保证了手术后颈椎正常的活动范围。而且,由于脊髓前方置入一定深度的螺钉,减小了脊髓前方的活动空间,限制了颈椎活动过程中脊髓往前方的自由活动;同时,在相应的椎板下置入钢板又从同一平面限制了脊髓后方的活动范围,这样当颈椎正常活动时,从前后两个方向均对脊髓的同一水平造成压迫。通过电生理和 C 型臂 X 线机监测,手术本身并没有造成脊髓的直接损伤,在颈椎活动过程中逐渐损害脊髓,其作用机理更加接近临床颈椎病产生的机制。手术后经过 6 个月的观察,发现山羊在颈脊髓受压 3 个月后就出现了行为学的改变,并出现了一些相应的病理改变,这些结果证明了这种脊髓压迫的方式的有效性。

Kanchiku 等^[5]曾经采用相似的方法用兔做实验,认为实验结果较为理想。我们采用羊做实验,主要考虑羊性格温顺,容易管理,手术时可以更好地进行麻醉和维持麻醉时间,手术操作方便,在透视机下操作可以基本保证不会因为手术本身对脊髓造成急性损伤。而且羊的椎管粗大,前后径为 $8.2 \pm 0.2 \text{ mm}$,左右径为 $9.5 \pm 0.6 \text{ mm}$,手术中使用的各种器械容易准备。无论做行为学评估还是进行电生理检测都较为容易。值得注意的是,我们在预实验中发现手术中后路薄钛板往往易偏向一侧,如果硬膜囊两侧受压不一致,当颈椎前后屈伸活动时,硬膜囊有可能向一侧偏移,逃避前路对其产生的直接压迫,这样有些动物症状不会非常明显,影响实验结果。因此手术时应该尽量将薄钛板放置在椎管后侧正中。采用上述模型,作者通过光镜和电镜对山羊受压脊髓的病理改变进行了研究,结果发现这些病理变化结果与颈椎患者尸体解剖检查的病理结果相符合^[6-8]。

MRI 用于急性和亚急性脊髓压迫模型的研究较多,而对于脊髓长期慢性压迫后发生的改变,由于始终没有固定的模型,所以很少有这方面的报道。Al-Mefty 等^[9]的研究发现,狗的脊髓慢性压迫模型中,脊髓受压部位 T2 加权表现有蛇眼样的高信号区,病理检查发现是脊髓灰质中的囊性坏死。Fukuoka^[10]在脊髓亚急性压迫模型中也发现脊髓压迫区域 T2 信号增强。我们的实验发现在脊髓受到压迫节段的 T2 加权髓内信号增强。这些结果与颈椎病患者的病理改变基本一致。

总的说来,本实验所采用的动物模型可以较为有效地复制出与颈椎病患者相似的临床症状,手术操作方便,用于研究颈椎病的发病机制较为合适。

4 参考文献

1. Tarlovs LM, Klinger H, Vitale S, et al. Spinal cord compression studies[J]. Arch Neurol Psychiat, 1953, 70(6): 813-819.
2. Shinomiya K, Mutoh N, Furuya K, et al. Study of experimental cervical spondylotic myelopathy[J]. Spine, 1992, 17(10S): S383-387.
3. Manabe S, Tanaka H, Higo Y, et al. Experimental analysis of the spinal cord compressed by spinal metastasis[J]. Spine, 1989, 14(12): 1308-1315.
4. Schramm J. A model for chronic spinal cord compression in cats[J]. Neurochirurgia (Stuttg), 1982, 25(4): 113-115.
5. Kanchiku T, Taguchi T, Kaneko K, et al. A new rabbit model for the study on cervical compressive myelopathy [J]. J Orthop Res[J], 2001, 19(4): 605-613.
6. Bohlman H, Emery S. The pathophysiology of cervical spondylosis and myelopathy[J]. Spine, 1988, 13(7): 843-846.
7. Yamaura I, Yone K, Nakahara S, et al. Mechanism of destructive pathologic changes in the spinal cord under chronic mechanical compression[J]. Spine, 2002, 27(1): 21-26.
8. Fehlings MG, Skaf G. A review of the pathophysiology of cervical spondylotic myelopathy with insights for potential novel mechanisms drawn from traumatic spinal cord injury[J]. Spine, 1998, 23(24): 2730-2737.
9. Al-Mefty O, Harkey HL, Marawi I, et al. Experimental chronic compressive cervical myelopathy [J]. J Neurosurg, 1993, 79(4): 550-561.
10. Fukuoka M, Matsui N, Otsuka T, et al. Magnetic resonance imaging of experimental subacute spinal cord compression[J]. Spine, 1998, 23(14): 1540-1549.

(本实验在动物饲养过程中得到江苏省武警总医院领导和骨科、影像科、手术室的大力支持,在电生理监测中得到第三军医大学野战外科研究所伍亚民教授的无私帮助,在此一并致以衷心感谢!)

(收稿日期:2005-05-08 修回日期:2005-11-07)

(英文编审 郭万首)

(本文编辑 彭向峰)

(上接第 56 页)

降,大小便功能逐渐好转。跟踪随访至术后 15 个月时,感觉平面为 T12, L1 以下浅感觉左侧明显减退,右侧轻度减退,肌力(左/右)髂腰肌 4/4,股四头肌 5/5-,胫前肌 4/5,伸肌 4/5-,小腿三头肌 4/4,双下肢肌张力轻度升高, Ashworth 痉挛分级 2 级,患者可弃拐行走,双侧腹壁反射、提睾反射正常,双膝腱反射、跟腱反射活跃,鞍区感觉左侧减退,肛门收缩左侧力量减弱,球海绵体反射阳性,双侧巴氏征阳性,无自主性阴茎勃起及射精,能自行排尿,但尿频,每次排尿 100~150ml,大便秘结。

讨论 自发性硬膜外血肿少见,亦称非创伤性硬脊膜外血肿。早期诊断是改善自发性硬膜外血肿预后的前提。颈背部疼痛多为自发性硬膜外血肿的首发症状,早期易与颈肌筋膜炎、颈肌损伤相混淆,但颈肌疾患所致颈背痛程度较轻,理疗、封闭或非甾体类药物易缓解,而自发性硬膜外血肿的疼痛剧烈,呈放射痛,且短期内出现进行性截瘫^[1],保守治疗无效。当颈背部疼痛伴有双下肢麻木,保守治疗不能使症状缓解时,应进一步检查,防止漏诊。检查的平面要依症状和体征而定。随着 MRI 的临床应用,自发性硬膜外血肿得以早期发现。MRI 为颈胸段的损伤提供了最好的影像,血肿在吸收过程中分为急性期、亚急性期和慢性期,各期 MRI 信号强度高低不同。急性期 1~3d,红细胞内为脱氧血红蛋白, T1WI 上呈稍低信号强度, T2WI 上呈低信号强度。特别注意在出血时间不超过 24h,即在超急性期, T1WI 上呈等或稍低信号强度, T2WI 上呈

稍高信号强度^[2]。本患者早期曾行胸椎 MRI 检查,其上界仅至 T4 水平,未能显示颈胸段,延误了早期诊断时机。依据疼痛最剧烈的部位及神经损伤平面,第二次 MRI 检查诊断为超急性期自发性硬膜外血肿。

目前自发性硬膜外血肿病因还不清楚,很难作预防性治疗。一旦明确诊断且临床有神经症状时,应及时采取血肿清除、脊髓减压术。术后神经功能的恢复取决于距脊髓减压手术的时间、术前血肿对脊髓的压迫程度以及脊髓损伤的严重程度^[3]。不完全性脊髓损伤时,在脊髓损伤节段以远有一些运动和感觉得以保留,预后较完全性脊髓损伤要好^[4]。手术距出现症状的时间越短,预后越好。早期手术减压,解除血肿对脊髓的压迫,可以避免神经功能恶化,获得良好的预后。

参考文献

1. Mattle H, Sieb JP, Rohner M, et al. Nontraumatic spinal epidural and subdural hematomas[J]. Neurology, 1987, 37: 1351-1356.
2. 王云钊, 兰宝森主编. 骨关节影像学[M]. 北京: 科学出版社, 2002. 277-278.
3. 王少波, 蔡钦林, 党耕町, 等. 颈椎椎管扩大术后硬膜外血肿[J]. 中华骨科杂志, 1999, 19(2): 86-88.
4. 卢世壁主译. 坎贝尔骨科手术学[M]. 第 9 版. 济南: 山东科学技术出版社, 2004. 2648.

(收稿日期:2005-04-21 修回日期:2005-06-15)

(本文编辑 卢庆霞)