DOI:10.16016/j.1000-5404.1999.07.007

胚胎脊髓移植联合应用神经生长因子、尼莫地平对成鼠损伤脊髓功能的影响*

邓少丽** 袁 涛*** 廖维宏 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第三研究室) 重庆,400042

提 要 **目的**:研究胚胎脊髓移植联合应用神经生长因子(NGF)及尼莫地平(ND)对脊髓损伤的修复作用。**方法**:72只大鼠半切洞脊髓损伤后,随机分为单纯胚胎脊髓移植组,移植+NGF组,移植+NGF+ND组,并观察了脊髓血流量(SCBF),运动诱发电位(MEP)及行为学变化。**结果**:NGF与ND可明显增加损伤移植部位的血流量,缩短MEP潜伏期,且显著提高后肢运动功能的Tarlov评分。**结论**:胚胎脊髓移植与NGF、ND联用,可促进大鼠损伤脊髓功能恢复。

关键词 胚胎组织移植;神经生长因子;尼莫地平;脊髓损伤
中图法分类号 R651.2;R826.64

一些低等动物在脊髓横切伤后植入胚胎脊髓,可使结构和功能得到较满意的修复,但哺乳动物脊髓结构的重建和功能的恢复还远不尽人意[1,2]。本实验在进行胚胎脊髓移植的同时,联合应用神经生长因子(Nerve growth factor,NGF)及尼莫地平(Nimodipine,ND),以进一步增强成鼠脊髓功能的恢复,并对功能恢复的血循环基础-血流量及脊髓诱发电位、行为学进行了观察,以说明损伤脊髓的功能恢复状况。

1 材料与方法

1.1 脊髓损伤模型的建立及移植程序

成年健康Wistar大鼠72只,雌雄不拘,体重200~260 g,暴露脊髓腰膨大部位,于腰膨大中段左侧,用虹膜刀半切硬脊膜,并伸入脊髓内,毁损部分脊髓组织,用玻璃针头吸出已毁损的脊髓组织,制成直径2~3 mm的洞腔。然后在手术显微镜下仔细剥离出妊娠14 d孕鼠的胚胎脊髓,用玻璃针头小心将胚胎脊髓注入受体脊髓洞腔,用8个零的缝合线缝合硬脊膜,并缝合皮下组织、皮肤,术毕肌注青霉素。

1.2 实验分组

72只大鼠随机分为3组,每组24只:①单纯胚胎脊髓移植组(Tr):建立损伤模型后直接移入胚胎脊髓;②移植+NGF组(TN):脊髓损伤后植入浸泡有NGF液(2 000 Bu/ml)的胚胎脊髓,并于蛛网膜下腔内插入导管,固定后于术后每天经导管给予NGF 500 Bu;③移植+NGF+ND组(TNN):胚胎脊髓及NGF后植入方法同前,立即于腹腔随同葡萄糖液注射ND 0.5 mg/kg。

1.3 观察指标

手术后7、15、30、60 d观察。

1.3.1 脊髓血流量(Spinal cord blood flow,SCBF)测定 腹腔麻醉大鼠后,先行气管插管,然后将记录电极通过立体定位仪置入损伤移植部位,参考电极置于T_8椎旁皮下。将气管导管连于呼吸机对动物行辅助呼吸,打开血流量测定仪,待描笔稳定后,经呼吸机吸入20%氢气1~3 min,记录完整氢清除曲线,经半对数转换,求出半衰期$T_{1/2}$,按$SCBF=0.693/T_{1/2}\times 100$算出血流量。

1.3.2 脊髓运动诱发电位(Motor evoked potential,MEP)的检查 应用三医大研制的SYD-4228型诱发电位仪,刺激频率4 Hz,波宽0.2 ms,强度40~60 V,计算机叠加200次。刺激电极正极置于颅骨皮层,负极置于头皮下,记录电极置于坐骨神经,参考电极插于椎旁肌。

1.3.3 行为学观察 采用改良Tarlov评分法对术后各组大鼠后肢运动功能进行评分,分为0~5分,分数越高,功能愈好。

1.4 统计学处理

数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用t检验。

2 结果

2.1 脊髓血流量的变化

脊髓半切洞损伤后,损伤部位血流量急剧下降,经过胚胎脊髓移植,血流量缓慢上升,在30 d时可基本达到正常脊髓血流量水平。移植+NGF组的脊髓血流量在术后两周明显高于同时期单纯移植组($P<0.05$)。移植+NGF+ND组在术后两周内不仅明显高于单纯移植组($P<0.01$),在术后一周内还明显高于移植+NGF组($P<0.05$),见表1。

2.2 脊髓诱发电位的变化

本实验记录到的MEP为不规则的多相波,多由平滑的向下正波(P_1波)和呈平台状的向上负波(N_1波)组成。单纯移植

* 全军医药卫生"九五"科技基金资助项目,No. 96Z013
** 邓少丽,女,26岁,检验医师,硕士,现在检验科
*** 普通外科

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

组在术后 MEP 潜伏期无明显变化，至 60 d 时稍有缩短。移植＋NGF 组的 P_1 波潜伏期在早期比单纯移植组明显缩短（$P<0.05$），移植＋NGF＋ND 组的潜伏期在早期比其它两组皆有明显缩短，见表 2。

2.3 后肢运动功能 Tarlov 评分结果

脊髓损伤经胚胎脊髓移植后，受体动物的后肢运动功能逐渐恢复，到 60 d 时，90％动物已与正常动物无明显区别。移植＋NGF 组在移植后 7、15 d，Tarlov 评分明显高于单纯移植组（$P<0.05$）。移植＋NGF＋ND 组不仅在术后 7、15 d 时明显高于单纯移植组（$P<0.05$），且在 7 d 时明显高于移植＋NGF 组（$P<0.05$）。30 d 后 3 组差异不显著，见表 3。

表 1 大鼠脊髓损伤移植部位 SCBF 变化

（$\bar{x}\pm s$，q_V/ml · min^{-1} · 100 g^{-1}）

Tab 1 Changes of SCBF in injured spinal cord of rats（$\bar{x}\pm s$，q_V/ml · min^{-1} · 100 g^{-1}）

Group	Time after injury (d)			
	7	15	30	60
Tr	50.82±13.69	59.29±16.07	70.24±6.18	70.28±5.72
TN	58.84±15.17△	65.48±12.60△	70.89±5.94	70.76±8.04
TNN	62.74±11.72△*	68.29±6.73△	72.48±9.60	71.61±7.09

△：$P<0.05$ *vs* Tr；*：$P<0.05$ *vs* TN

表 2 各组 MEP 潜伏期比较（t/ms，$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

Tab 2 Comparison of MEP latency in different groups（t/ms，$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

Group	15 d after injury		30 d after injury		60 d after injury	
	P_1	N_1	P_1	N_1	P_1	N_1
Tr	2.86±0.72	4.83±0.67	2.90±0.71	4.76±0.49	2.38±0.39	4.32±0.65
TN	2.27±0.92△	4.52±0.41	2.50±0.44△	4.59±0.34	2.32±0.40	4.18±0.38
TNN	2.01±0.19△	3.98±0.31△*	1.96±0.20△*	4.02±0.52△*	2.19±0.70	4.04±1.03

△：$P<0.05$ *vs* Tr；*：$P<0.05$ *vs* TN

表 3 后肢运动功能评分表（$\bar{x}\pm s$）

Tab 3 Score of motor function in hind limbs（$\bar{x}\pm s$）

Group	Time after injury (d)			
	7	15	30	60
Tr	1.50±0.41	2.92±0.61	4.02±0.32	4.50±0.42
TN	2.11±0.47△	3.98±0.21△	4.13±0.38	4.61±0.41
TNN	2.71±0.39△*	4.11±0.47△	4.31±0.42	4.73±0.39

△：$P<0.05$ *vs* Tr；*：$P<0.05$ *vs* TN

3 讨论

胚胎脊髓移植修复成鼠脊髓损伤，可使损伤脊髓的功能得到一定程度的恢复，但恢复的程度远不尽如人意。本实验在移植胚胎脊髓的同时，加入 NGF 和 ND，结果发现，NGF、ND 能加快损伤脊髓血流量的恢复，明显缩短大鼠损伤脊髓 MEP 潜伏期，并促进其运动功能的恢复，二者联用比单用 NGF 效果更佳。

在促进胚胎脊髓对损伤脊髓功能修复的作用上，NGF、ND 主要作用于损伤早期，此时移植物与宿主结合并不紧密，建立的纤维联系也不多，此时的功能恢复很可能与胚胎脊髓，NGF 提供的神经营养因子有关，神经营养因子抑制受损神经元逆行性溃变，ND 有效拮抗钙内流，改善继发性损伤，有利神经元再生修复。胚胎脊髓、NGF 和 ND 共同有效改善了损伤神经元的微环境[3]，有利轴突延伸，也可能促进了残存脊髓的代偿作用，使脊髓功能得到一定程度恢复。

在移植 30 d 后，移植物与宿主脊髓有机融合并促进宿主神经联系的部分重建，此时移植物作为连接损伤脊髓两端的“桥状结构”或“中继结构”可能是损伤脊髓功能恢复的重要原因[4]。

参考文献

1 Nogradi A, Vrbora G. The use of embryonic spinal cord grafts to replace identified motoneuron pools depleted by a neurotoxic lectin, volkensin. Exp Neuro, 1994, 129(1): 130

2 Pallini R, Fermandez G, Gangitano C, *et al*. Studies on embryonic transplants to the transected spinal cord of adult rats. J Neurosurg, 1989, 70(2): 454

3 Nicholls J, Saunders J. Regeneration of immature mammalian spinal cord after injury. TINS, 1996, 19(6): 229

4 李兵仓，廖维宏，李应玉. 大鼠胚胎脊髓对成鼠急性脊髓损伤的组织修复作用. 中华创伤杂志，1993，9(4)：199

（收稿：1998-12-05；修回：1999-03-31）

（编辑 刘 鹏）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

The effects of fetal spinal cord transplantation, nerve growth factor and nimodipine on functional recovery of injured spinal cord in rats*

Den Shaoli, Yuan Tao, Liao Weihong (Research Institute of Field Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042)

Abstract Objective: To observe the therapeutic effects of fetal spinal cord transplantation (FSCT), nerve growth factor (NGF) and nimodipine (ND) on the functional recovery of injured spinal cord. Methods: 72 rats were inflicted with hemisectional cavitational injury of the spinal cord and the rats were divided into 2 groups; transplantation+NGF (TN) and transplantation+NFG+ND treated (TNN) groups. Spinal cord blood flow (SCBF), motor evoked potential (MEP) and the functions of the hind limbs were observed. Results: NGF and ND could increase SCBF, shorten the latency of MEP and improve the Tarlov score of the functions of the hind limbs. Conclusion: FSCT in association with NGF and ND can promote the recovery of the motor functions of the rats with hemisectional cavitational injury of the spinal cord.

Key words fetal tissue transplantation; nerve growth factor; nimodipine; spinal cord injury

* This project was supported by the "Ninth five" obligatory budget of PLA, No. 96Z013

昏迷110小时的重型减压病1例救治成功

The successful resurrection of a patient after 110 hours coma with serious decompression sickness

王湘渝* 郑世钢 王强 张香菊 李兴明 谭聪 王勇 晏莉娜 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所高压氧治疗科) 重庆, 400042

患者,男性,35岁,潜水工龄8年,既往身体健康。因在万县地区云阳县打捞沉船,于1998年1月13日13点着重潜装具潜入长江40 m深水中,水温7℃,水底作业1 h后因供气管被岩石卡住,入水2 h后2 min拉出。出水面即感头胀、眼黑,又迅速潜入10 m水深中停留20 min后用3 min浮出水面。约20 min后,感双下肢奇痒,当日15点55分送本地县医院诊治,经头颅CT检查无异常发现,即送入病房后发生意识障碍,出现浅昏迷,当日22点患者右肩胛下、双下肢皮下出现大小不等的大理石样斑纹,给予静脉输入抗凝药物和血小板悬液(剂量不详),入院2 d病情无缓解。于1月16日7点转送到该地区市医院治疗,用纯氧舱加压至2.8 ATA,稳压50 min,用18 min减压出舱,患者意识障碍加重,处深昏迷。1月17日又行HBO治疗1次,方案同前,病情仍无缓解。于1月18日5点40分转到我院急诊室,查体:T36℃,P112次/min,R24次/min,BP13/10 kPa,全身皮肤未触及皮下气肿,右肩胛区及双下肢皮下有大小不等的大理石样斑纹,深昏迷,眶上神经压痛无反应,双侧瞳孔约3 mm,对光反射迟钝,颈强直,气管居中,双肺可闻少许痰鸣音,心率110次/min,心律齐、无杂音,腹软,双膝腱反射亢进,巴氏征阳性,双肘、膝关节强直,四肢皮肤非凹陷性水肿。动脉血气:PaO_2 10.6 kPa, $PaCO_2$ 4.7 kPa, pH 7.522, BE 7.0 mmol/L,于当日7点钟送到我科行加压治疗。根据患者的病史和体征,参考美国及我国空气潜水减压病加压治疗表[1,2]Ⅳ氧方案进行修定治疗压力为5.6 ATA,稳压30 min后减压至各站(各停留站间上升移行时间改为3～5 min),其余步骤同Ⅳ氧方案,同时在舱内给予静脉滴入低分子右旋糖酐、能量合剂、抗生素等药物治疗,治疗3小时47分钟(舱内压力2.2 ATA),压眶上神经有疼痛反应,双肺呼吸音清晰,其余体征无变化,共治疗6小时15分钟(总减压时间共36 min)出舱,患者仍处昏迷状态,送回病房,继续配合上述药物,并加用降低颅内压、皮质激素药物、常压吸氧治疗和临床实验检查。脑电图示:普遍性重度异常。核磁共振示:双侧大脑半球白质区及胼胝体压部呈多处缺血梗塞灶。肝功酶谱结果:总蛋白48 g/L,白蛋白33.8 g/L,球蛋白14.95 g/L,均低于正常值,谷草转氨酶55 IU/L,总胆红素24.64 μmol/L,直接胆红素13.20 μmol/L,乳酸脱氢酶452 IU/L,碱性磷酸酶174 IU/L,均高于正常。因低蛋白血症,故采取每天输入血浆200～300 ml或20%人体白蛋白50 ml。鉴于患者减压病昏迷已有5 d,故次日改用Ⅱ氧[1]方案进行治疗(各停留站间上升移行时间改为3～5 min),其余步骤同Ⅱ氧方案,压力4 ATA,1次/d,经此方案治疗两次后,患者出现无意识地翻身,侧卧,意识处于朦胧状态,1月21日8点开始改行常规HBO治疗,治疗压力2 ATA,带面罩吸氧30 min 2次(中间休息10 min吸舱内空气),最后用30 min减压出舱。当日下午17点患者神志逐渐清醒,问之能简单回答,但回答不切题,瞳孔对

(下转487页)

* 王湘渝,男,53岁,副主任医师,副教授

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net