

鞘内置管技术在大鼠胸髓损伤模型中的改进及应用

李向哲¹, 谢财忠², 王娜¹, 宋新建³, 吴勤峰⁴, 方露¹, 王彤^{5*}

(¹南京医科大学第一临床医学院, 江苏 南京 210029; ²南京军区南京总医院康复科, 江苏 南京 210002; ³南通市第二人民医院康复科, 江苏 南通 226002; ⁴南通大学附属医院康复中心, 江苏 南通 226001; ⁵南京医科大学第一附属医院康复中心, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:探索一种适用于 T10 脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)大鼠模型的鞘内置管法,为 SCI 模型提供更佳的蛛网膜下腔给药方案。方法:选择 60 只雌性 SD 大鼠,随机分为 L3~4 置管组(T 组)和 L6~S1 置管组(C 组)。对比两组置管和 SCI 后致残率、死亡率、咬管率、利多卡因试验、体重变化和蓝墨水定位试验情况,并在 SCI 后 1 周行 Alzet 渗透压泵植入术,观察长期置管和渗透压泵植入对大鼠死亡率、体重和脊髓形态的影响。结果:置管及 SCI 后 7 d,两组咬管率对比具有明显差异($P < 0.05$),总淘汰率具有显著差异($P < 0.01$);置管及 SCI 后两组大鼠体重均出现下降,置管后第 35 天 T 组大鼠体重高于 C 组($P < 0.05$);蓝墨水定位试验显示,两组导管均通畅且位置未出现明显偏移;Alzet 渗透压泵植入 4 周,组织相容性良好;HE 染色显示,两组腰髓后角均受到轻度压迫。结论:经 L3~4 置管法致残率和咬管率低,且更易操作,是一种较为理想的 SCI 模型鞘内置管法。

[关键词] 大鼠;脊髓损伤;鞘内置管;蛛网膜下腔

[中图分类号] R744

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2016)10-1202-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20161011

Improvement and application of intrathecal catheterization in rat with thoracic cord injury

Li Xiangzhe¹, Xie Caizhong², Wang Na¹, Song Xinjian³, Wu Qinfeng⁴, Fang Lu¹, Wang Tong^{5*}

(¹The First Clinical Medical College of NJMU, Nanjing 210029; ²Department of Rehabilitation Medicine, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing 210002; ³Department of Rehabilitation Medicine, the Second Peoples Hospital of Nantong, Nantong 226002; ⁴Department of Rehabilitation Medicine, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001; ⁵Department of Rehabilitation Medicine, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To explore an intrathecal catheterization method that suitable for T10 spinal cord injury (SCI) rats model, which can be better used for dosing subarachnoid space in (spinal cord injury, SCI) model. **Methods:** A total of 60 female SD rats were randomly divided into the L3~4 catheterization group (T group) and the L6~S1 catheterization group (C group). After 7 days of intrathecal catheterization and SCI, the differences between two types of intrathecal catheterization in disability rate, mortality, biting catheter rate, lidocaine test, weight changes and blue ink location test were compared. After 7 days of SCI, Alzet osmotic pumps were implanted into two groups respectively, then we observed the mortality, weight and the morphology of the spinal cord after long-term catheter and osmotic pumps implanted in SCI rats. **Results:** After 7 days of intrathecal catheterization and SCI, the biting catheter rate of the two groups had significant difference ($P < 0.05$), and total elimination rate had significant difference ($P < 0.01$). After intrathecal catheterization and SCI, the weights of the two groups were decreased, and after 35 days of intrathecal catheterization, the weight of rats in the T group was higher than that in the C group ($P < 0.05$). Blue ink location test showed that there was no appearance of catheter obstruction and position migration in the two groups. After 4 weeks of Alzet osmotic pumps implanted, the histocompatibility of Alzet osmotic pumps were well. HE staining showed that the lumbar spinal cords in the two groups were all been compressed mildly. **Conclusion:** The L3~4 intrathecal catheterization is ideal for SCI model in rats as the biting catheter rate and mortality is lower, and the operation is easier.

[Key words] rat; spinal cord injury; intrathecal catheterization; subarachnoid space

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(10): 1202-1207]

[基金项目] 国家自然科学基金(81171851)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: wangtong60621@163.com

鞘内置管是一种常用的脊髓蛛网膜下腔给药方式,在临床及基础研究中广泛应用。在非脊髓损伤大鼠模型中,目前较为常用的鞘内置管方式有:经寰-枕膜鞘内置管(Yaksh 置管法)^[1-2]、经寰-枢椎鞘内置管^[3]、经 L3~4 鞘内置管^[4]和经 L6~S1 鞘内置管^[4-5]等。上述方法可根据不同的实验需求择优选择^[6]。然而,在大鼠脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)模型中,即使损伤部位在同一节段,鞘内置管方式的应用也相对不统一。因此建立一种适用于 SCI 大鼠模型的鞘内置管方法十分必要。

本研究采用广泛应用的大鼠 T10 打击损伤模型,使用 PE-10 导管,改进传统置管方式,观察两种腰骶椎鞘内置管法对实验大鼠的致残率、死亡率、咬管率、导管通畅性、利多卡因试验、体重、渗透压泵植入及长期导管留置对脊髓微观结构的影响,旨在提供一种更适宜于 SCI 大鼠模型的鞘内置管方法。

1 材料和方法

1.1 材料

PE-10 导管(聚乙烯塑料导管,内径 0.28 mm,外径 0.64 mm)、PE-50 导管(内径 0.58 mm,外径 0.99 mm,Smiths Medical International Ltd. 公司,英国);NYU 脊椎冲击损伤仪 model I 型(美国新泽西州立大学神经科学联合中心实验室提供);Alzet 渗透压泵(Alzet Osmotic Pumps 2004 型,Alzet 公司,美国);2%盐酸利多卡因注射液(上海禾丰制药有限公司);青霉素钠(黑龙江哈药集团制药总厂);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(上海碧云天);25 μ L 微量进样器(上海高鸽)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物及分组

SPF 级成年雌性 SD 大鼠 60 只 [许可证号:SCXK(沪)2013-0016(上海西普尔-必凯实验动物有限公司)],10 周龄,体重约 210 g。按随机数字表法分为 2 组:经 L3~4 鞘内置管组(T 组)和经 L6~S1 鞘内置管组(C 组),每组 30 只。饲养于恒温环境,自然光照,自由饮食。

1.2.2 鞘内置管和脊髓损伤模型制作

分别剪取长为 6 cm 和 8 cm 的 PE-10 导管各 30 根,并用手术缝合线标记距导管一端约 2 cm 和 4 cm 处,分别用于 L3~4 置管和 L6~S1 置管。75%酒精浸泡灭菌,储存备用。两组大鼠均使用 10%水合氯醛 0.3 mL/100 g 腹腔注射麻醉。定位:双侧髂嵴连线中点棘突为 L6,以此定位手术操作部位。麻醉

后取俯卧位,以髂嵴连线中点上约 2 cm 或髂嵴连线中点备皮,消毒铺巾。

鞘内置管操作:①经 L3~4 鞘内置管:以 L3~4 为中心,纵行切开皮肤约 2~3 cm,钝性分离皮下组织及肌肉,暴露 L3~4 棘突间隙,剪除部分 L4 棘突,以扩大置管视野。清除棘突间组织,用齿镊上提 L3 棘突,暴露 L3~4 背侧间孔,用 19G 穿刺针垂直穿刺硬脊膜及蛛网膜,进针约 1~2 mm,突破蛛网膜后可有落空感,此时倾斜针头向头侧,使针柄与脊柱呈约 30°夹角,再缓慢进针约 1~2 mm,拔出针头,可见清澈脑脊液流出,标志穿刺成功。将准备好的导管沿穿刺孔插入蛛网膜下腔,插入长度为 2 cm,导管内口约位于 L1 椎体(约对应 L3~4 脊髓节段),插入时可见大鼠甩尾及后肢抽动,并有脑脊液顺导管流出,随呼吸波动,标志导管位于蛛网膜下腔。逐层缝合肌肉,每缝一针将缝线环绕导管逐层缝扎固定;最后缝合皮肤时,也逐针固定导管于皮外,导管外端朝向头侧。缝合完毕后,使用 25 μ L 微量进样器连接导管注入 20 μ L 无菌生理盐水,冲洗导管。之后,使用酒精灯加热镊子尖端,封闭导管外口。术后恒温环境下单笼饲养,以防相互撕咬导管;自然光照,自由饮食;给予小腿三头肌肌注青霉素钠 20 万 U/d,连续 3 d;②经 L6~S1 鞘内置管:以 L6~S1 为中心切开皮肤,暴露 L6~S1 棘突间隙。导管插入蛛网膜下腔长度为 4 cm。余操作同 L3~4 置管。

于鞘内置管后第 8 天,麻醉动物(麻醉剂量同前),定位 T10 棘突,备皮消毒,行 T10 椎板切除术,暴露脊髓(勿损伤蛛网膜),采用 Allen's 法制作 T10 重度不完全性 SCI 模型,损伤剂量为 10 g \times 25 mm。打击成功后可见大鼠后肢及尾巴出现痉挛性抽动,标志造模成功。逐层缝合肌肉及皮肤,局部碘伏消毒。术后恒温环境下单笼饲养;自然光照,自由饮食;给予小腿三头肌肌注青霉素钠 20 万 U/d,连续 3 d。

1.2.3 置管后致残率评估

置管后第 1 天,根据 BBB 评分和改良 Tarlov 评分^[7],若置管后大鼠有任一侧后肢 BBB 评分 \leq 20 分或 Tarlov 评分 \leq 4 分,记为致残,不计入后续研究。

1.2.4 利多卡因试验

于置管后第 7 天,在大鼠清醒状态下,剪开导管外口封闭处,使用 25 μ L 微量注射器沿导管注入 2%利多卡因 20 μ L 后再次封堵导管。如导管末端位于腰骶膨大蛛网膜下腔处,在注入利多卡因后,大鼠后肢出现麻痹,钳夹缩足反应消失,待药效退去后恢复正常。淘汰利多卡因试验失败者,不计入后

续研究。

1.2.5 咬管率、体重变化及死亡率

两组置管大鼠的咬管率共观察2周(即鞘内置管后第1~7天和SCI后第1~7天),记录大鼠对导管的抓咬情况;体重于置管后1~14 d隔天记录(即置管后0、2、4、6、8、10、12和14 d,于早8点进行称量,精确到个位);死亡率在鞘内置管后0~7 d、8~14 d、15~42 d,分三阶段观察,最后合计为总死亡率。

1.2.6 脊髓损伤后导管通畅性及位置验证

于SCI后第7天(即鞘内置管后第15天),从两组中随机选择剩余约1/2的SCI大鼠,验证两组模型所置导管的通畅性及位置。验证方法:在大鼠麻醉状态下,使用25 μL 微量注射器经导管注入20 μL 蓝墨水,注入后即刻处死大鼠,迅速取出脊髓,观察脊髓蓝染情况。

1.2.7 长期导管及微量渗透压泵植入

于SCI后第7天(鞘内置管后第15天),将两组剩余符合要求的SCI大鼠植入Alzet渗透压泵。渗透压泵植入前准备:将Alzet渗透压泵置于无菌生理盐水中孵育约12 h,植入前使用1 mL注射器灌注200 μL 灭菌0.01 mol/L PBS备用。常规麻醉、备皮、消毒、铺巾后,再次切开之前鞘内置管手术处,使用蚊式止血钳在背部皮下钝性分离一囊腔,将准备好的渗透压泵置于其中。使用PE-50导管作为渗透压泵调节器与PE-10导管的连接,连接后手术缝线缝扎固定。无菌生理盐水局部冲洗后,缝合皮肤。术后仍单笼饲养,并给予小腿三头肌肌注青霉素钠20万U/d,连续3 d。观察并记录各组大鼠体重变化,每周记录1次,共观察4周。

1.2.8 长期导管植入后腰骶段脊髓形态学观察

实验结束后,麻醉大鼠,暴露心脏,连接灌注器,以心尖偏左2 mm左右进针,快速灌注无菌生理

盐水300 mL,之后换用4%多聚甲醛溶液300 mL灌注,先快后慢,取出脊髓后再固定24 h。选取目标节段脊髓(导管末端所在腰骶膨大位置),酒精梯度脱水(70% \rightarrow 80% \rightarrow 90% \rightarrow 95% \rightarrow 100%),二甲苯透明,石蜡包埋切片(4 μm)。脱蜡至水,苏木素-伊红(HE)染色,观察脊髓组织形态学改变。

1.3 统计学方法

使用SPSS 19.0软件进行统计学分析。计量资料使用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,时间效应和置管方式对大鼠体重的影响使用一般线性模型重复测量方差分析,服从近似正态分布的两组间体重差异采用成组 t 检验,组内不同时间点体重差异采用单因素方差分析;两组间率和构成比资料的比较采用 χ^2 检验。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 置管后致残率、死亡率、咬管率、利多卡因试验及蓝墨水定位试验结果

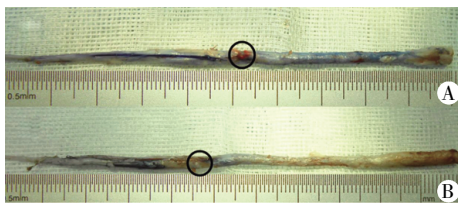
根据实验设计,分不同时间段对两组大鼠置管后的各项指标进行对比,前一时间段被淘汰的大鼠不计入后一阶段的统计分析。T组与C组间的致残率(置管后第1天)、死亡率(置管后0~7 d)及利多卡因试验阴性率(置管后第7天)对比显示,C组大鼠上述指标的百分比均大于T组,但两组间差异无统计学意义($P > 0.05$);咬管率(置管后0~14 d),两组间差异具有统计学意义($P < 0.05$);死亡率(置管后8~14 d),两组间对比无统计学差异($P > 0.05$);两组间总淘汰率(致残+咬管+利多卡因试验阴性)(置管后0~14 d)对比,差异具有显著统计学意义($P < 0.01$);总死亡率(0~42 d)两组间无统计学差异($P > 0.05$,表1)。

蓝墨水定位试验及Alzet渗透压泵植入于鞘内置管后第14天进行,两组符合实验要求的大鼠数

表1 两组置管后各指标的比较

Table 1 General characteristics of the two groups after intrathecal catheterization				[n(%)]	
置管后情况	T组	C组	χ^2 值	P值	
致残率	1/30(3.33)	4/30(13.33)	1.964	0.161	
咬管率	0/28(0.00)	5/24(20.83)	6.454	0.011	
利多卡因试验阴性率	0/28(0.00)	1/19(5.26)	1.506	0.220	
蓝墨水定位试验阳性率	13/13(100.00)	8/8(100.00)	-	-	
总淘汰率(致残+咬管+利多卡因试验阴性)	1/30(3.33)	10/30(33.33)	9.017	0.003	
置管后死亡率					
0~7 d	1/29(3.45)	2/26(7.69)	0.479	0.489	
8~14 d	2/28(7.14)	1/18(5.56)	0.045	0.831	
15~42 d	0/13(0.00)	0/9(0.00)	-	-	
0~42 d	3/29(10.34)	3/20(15.00)	0.239	0.625	

量为:T 组 26 只,C 组 17 只。每组各取总数的 1/2 (蓝墨水定位试验:T 组 13 只,C 组 8 只;Alzet 渗透压泵植入:T 组 13 只,C 组 9 只)进行对比研究。蓝墨水注射后解剖发现,两种置管方式在置管后 14 d (SCI 后第 7 天)均能保证通畅性,脊髓蓝染范围可达胸髓以上;两种置管方式导管末端均位于腰骶膨大中部(约平对 L3~4 脊髓节段)。Alzet 渗透压泵植入后死亡率(置管后 15~42 d)对比,差异无统计学差异($P > 0.05$,表 1,图 1)。



A:T 组大鼠脊髓蓝染情况;B:C 组大鼠脊髓蓝染情况;黑色圆圈所示为脊髓损伤位置;两图左侧可见灌注蓝墨水的 PE-10 导管。

图 1 两组大鼠脊髓蓝染情况

Figure 1 Blue-stain of the spinal cord in the two groups

2.2 置管后两组大鼠体重变化情况

两组大鼠各时间点体重分布均符合正态分布且方差齐性。置管后 0~14 d 两组大鼠体重在时间主效应上存在显著性差异($F=50.259, P < 0.001$),但在置管方式主效应上没有统计学差异 ($F=0.238, P > 0.05$,表 2)。

表 2 鞘内置管及 SCI 后两组大鼠体重变化

Table 2 Weight changes after intrathecal catheterization and SCI in the two groups (g)

置管后时间	T 组(n=26)	C 组(n=17)
0 d	210.62 ± 8.77	212.41 ± 10.11
2 d	201.35 ± 8.67*	197.65 ± 11.14*
4 d	195.61 ± 7.49*	193.00 ± 9.73*
6 d	195.50 ± 7.77*	197.82 ± 10.24*
8 d	202.69 ± 4.95*	200.94 ± 10.91*
10 d	197.19 ± 4.82*	194.94 ± 10.14*
12 d	192.81 ± 7.18*	191.53 ± 8.51*
14 d	196.54 ± 9.39*	195.06 ± 14.62*

与同组 0 d 体重相比,* $P < 0.001$ 。

多重比较显示,两组体重在置管后第 2 日均较术前显著下降($P < 0.001$),并于第 12 天降至最低点(与基线体重相比, $P < 0.001$),组内两最低点差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 长期微量渗透压泵植入情况

Alzet 渗透压泵植入后,两组大鼠均未出现明显感染或死亡情况(T 组 13 只,C 组 9 只)。渗透压泵植入后即置管后 14~42 d, 两组大鼠体重在时间和

置管方式的主效应与前者相似(时间: $F=35.809, P < 0.001$;置管方式: $F=0.376, P > 0.05$)。两组间同一时间体重对比,除置管后第 35 天 T 组大鼠体重明显高于 C 组($P < 0.05$),余时间点组间差异无统计学意义($P > 0.05$,表 3),且两组大鼠体重均逐步增加。与渗透压泵植入前相比,两组大鼠在植入后第 1 周及 2 周体重无明显增加($P > 0.05$),后 2 周两组大鼠体重均明显高于同组第 14 d 体重($P < 0.001$);但与基线体重相比,只有 T 组于后 2 周明显增加($P < 0.05$,表 3)。实验结束后观察,渗透压泵周围被结缔组织包绕,未出现渗出或化脓,未见明显排异反应,说明该渗透压泵组织相容性良好,可以长时间在体使用(图 2)。

表 3 渗透压泵植入后两组大鼠体重变化

Table 3 Weight changes after Alzet osmotic pumps implanted in the two groups (g)

置管后时间	T 组(n=13)	C 组(n=9)
14 d	195.69 ± 10.04#	196.83 ± 9.94
21 d	198.54 ± 7.07#	197.78 ± 9.83
28 d	201.38 ± 7.84#	203.33 ± 7.38
35 d	217.08 ± 4.21**	210.33 ± 7.30*
42 d	221.77 ± 5.40**	218.33 ± 8.80*

与 C 组体重相比,* $P < 0.05$;与同组 14 d 体重相比,** $P < 0.05$ 。



图 2 渗透压泵植入 4 周后大体情况

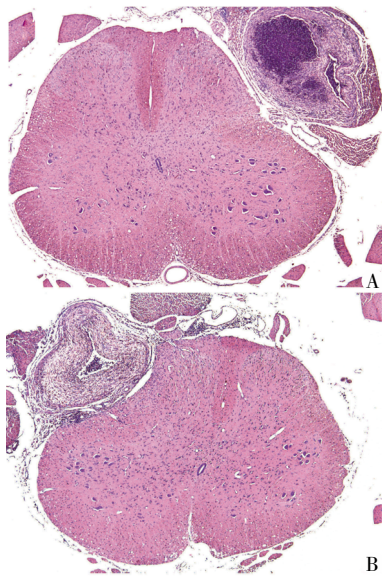
Figure 2 General situation after 4 weeks of the osmotic pumps implantation

2.4 长期鞘内置管对腰髓微观结构的影响

HE 染色发现,两种鞘内置管法在导管长期留置后,蛛网膜下腔内的导管均被结缔组织包绕,可能存在慢性炎症反应,并且导管对脊髓均有不同程度的压迫,压迫主要存在于单侧脊髓后角及脊神经后根(导管在取材时已拔出,图 3)。

3 讨论

鞘内置管给药是研究脊髓生理病理变化的重要手段,鞘内置管技术在非 SCI 模型中研究应用相对较多^[6],然而该技术在 SCI 模型中的应用则相对比较混乱。在大鼠 SCI 模型中,颈段 SCI 常采用 Yaksh 置管法^[8-9],置管位置常位于颈膨大处;T9~T10



A:T 组长期鞘内置管后脊髓 HE 染色;B:C 组长期鞘内置管后脊髓 HE 染色。

图 3 长期鞘内置管后脊髓微观结构变化(HE 染色,×50)

Figure 3 Microstructure changes of the spinal cord in two groups after long term intrathecal catheterization (HE staining,×50)

SCI 后鞘内置管法包括 Yaksh 置管法^[10]、经 L6~S1 置管^[9]、损伤局部鞘内置管^[11-12]和经胸椎鞘内置管^[13]等,置管位置常位于腰骶膨大处。除 L6~S1 置管法外,其余置管方法只能在 SCI 术同时或 SCI 术后植入,不利于观察置管对脊髓的损伤。因此,考虑到 T9~T10 SCI 模型置管方法的不一致性,本研究经过分析认为,适合该类 SCI 模型的鞘内置管方法应满足如下条件:①在 SCI 前对导管的通畅性及植入位置进行验证,并可观察导管植入对脊髓和脊神经造成的急性损伤;②导管植入后不破坏拟损伤脊髓节段的蛛网膜;③导管植入术后给予一定的机体恢复时间,且导管不妨碍后续 SCI 手术的操作(导管不经过拟损伤节段);④缩短整体导管长度,减少无效腔,导管留置于皮外而不受大鼠撕咬或抓扯;⑤置管成功率及动物死亡率不逊于经典腰椎置管法;⑥脊髓损伤后可连接微量泵药设备埋于皮下长期连续给药或顺导管间断注射给药。所以本文认为,Yaksh 置管法、经寰-枕膜置管和损伤局部直接导管插入均不符合上述要求。而胸椎鞘内置管又类同于 Yaksh 置管法,自胸髓蛛网膜下腔向下置管,也不符合上述要求。

因此,本文认为,腰骶椎鞘内置管可能会更适用于胸段 SCI 大鼠模型。本研究使用常用的 PE-10 导管,对 L3~4 和 L6~S1 鞘内置管法进行了改进,即

①导管外部直接缝于腰部皮外,而不经皮下引导至颈部固定,减少了导管自身长度和容量;②导管植入后行逐层缝扎固定,之后再逐针固定于皮外,除 L5~S1 组个别大鼠导管被抓咬外,没有出现导管移位或脱出情况;③在 SCI 术前 1 周置管,不影响后续 SCI 手术的进行,并可观察导管植入对脊髓或脊神经的损伤情况,且留有一定的体能恢复时间,减少鞘内置管手术对 SCI 后功能的影响。

本研究结果显示,与 L6~S1 鞘内置管相比,L3~4 鞘内置管总淘汰率明显更低,死亡率、总体安全性及有效性也优于前者。上述差异可能是由于经 L3~4 鞘内置管导管在蛛网膜下腔的行程短于 L6~S1 鞘内置管,损伤脊髓和神经根的可能性更小。在操作中还发现,L3~4 置管更易观察到脑脊液顺导管外流,L6~S1 则不易观察到,这可能与大鼠脊髓解剖结构及脑脊液分布有关。关于导管被撕咬情况,我们的结果显示,该现象只出现在 L6~S1 鞘内置管组,且集中于第 1 周(SCI 术前)出现,可能是因为导管位置越靠下,大鼠前后肢和头部越容易接触导管;SCI 后无导管抓咬情况,可能是由于 SCI 影响了大鼠后肢及躯干的活动范围。在死亡率方面,两组大鼠死亡主要集中于鞘内置管和 SCI 后 1 周(即鞘内置管后 0~14 d),这可能与置管和 SCI 操作导致的脊髓损伤与刺激、应激反应、感染等有关。此外,虽然 L3~4 置管法在个别时间点体重增加多于 L6~S1 置管法,但两者总体趋势差异并不大。总之,与经典 Yaksh 置管法研究结果相比,本研究采用的 L3~4 置管法明显降低了大鼠的死亡率和致残率,优于 Yaksh 置管方法^[3-4]。

此外,本研究还验证了在体微量泵药设备(Alzet 渗透压泵)在 SCI 模型中的应用,该渗透压泵在国内外研究中已广泛使用,其连接导管后通过渗透压进行精确连续给药^[8,12,14-16]。本文结果也显示,该微量渗透压泵与组织间具有良好的相容性,未见排异反应。说明该置管方式能够满足长期微量泵药的要求。

然而,不可否认的是,两组大鼠在长期鞘内置管后均出现了不同程度的脊髓压迫现象,导管周围均被结缔组织包绕,但脊髓整体结构仍保持相对完整,脊髓前角受累较小,两组从形态上对比差异不大。这可能是因为 PE-10 导管组织相容性较差,如选用组织相容性更好、管径更细的导管,上述现象可能会减少。国内有研究对比使用聚氨酯导管 Polyurethane Microspinal catheters(内径 0.12 mm,外径 0.35 mm)

与PE-10导管鞘内置管后发现, Microspinal对脊髓组织的伤害更小,更有利于大鼠的功能恢复^[2]。可见Microspinal材质的导管具有更好的组织亲和力。但是,该作者也指出, Microspinal导管价格较昂贵,限制了其应用。而PE-10导管相对更廉价,如置管位置避开目标脊髓节段或短期应用,可能对实验影响不大。

综上所述,本研究结果提示,改进型L3~4鞘内置管法可安全有效地应用于SCI模型,该方法可以在SCI术前验证导管位置及观察动物肢体残疾情况,能够比较安全地应用于SCI模型,并可保证长期微量鞘内给药。如果后续研究能对L3~4鞘内置管技术的操作和材料进一步改进,将会更有助于SCI大鼠脊髓水平的病理生理学研究。

[参考文献]

[1] Yaksh TL, Rudy TA. Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space[J]. *Physiol Behav*, 1976, 17(6): 1031-1036

[2] 邹望远, 郭曲练, 蔡进, 等. Microspinal导管在大鼠蛛网膜下腔置管中的应用[J]. *中国比较医学杂志*, 2006, 16(7): 411-414

[3] 陈锐, 王华, 江伟. 大鼠经寰枢椎蛛网膜下腔置管法与传统置管法的比较[J]. *中国比较医学杂志*, 2013, 23(7): 32-35

[4] 邓亚南, 刘艳芳, 陈建平, 等. 经大鼠腰骶部鞘内置管给药技术的研究[J]. *中国医学创新*, 2014, 11(18): 33-35

[5] Jasmin L, Ohara PT. Long-term intrathecal catheterization in the rat[J]. *J Neurosci Methods*, 2001, 110(1/2): 81-89

[6] 郑良杰, 黄丽衡, 张长椿. 大鼠蛛网膜下腔置管方法的研究进展[J]. *临床麻醉学杂志*, 2011, 27(10): 1032-1033

[7] 吴卓, 赵敏, 王永红, 等. 大鼠脊髓损伤后不同行为学评分方法的比较研究[J]. *中国矫形外科杂志*, 2014, 22(13): 1221-1225

[8] Mantilla CB, Gransee HM, Zhan WZ, et al. Motoneuron BDNF/TrkB signaling enhances functional recovery after cervical spinal cord injury[J]. *Exp Neurol*, 2013, 247(9): 101-109

[9] Karalija A, Novikova LN, Kingham PJ, et al. The effects of N-acetyl-cysteine and acetyl-L-carnitine on neural survival, neuroinflammation and regeneration following spinal cord injury[J]. *Neuroscience*, 2014, 269(6): 143-151

[10] Zendedel A, Nobakht M, Bakhtiyari M, et al. Stromal cell-derived factor-1 alpha (SDF-1 α) improves neural recovery after spinal cord contusion in rats[J]. *Brain Res*, 2012, 1473(9): 214-226

[11] Popovich PG, Tovar CA, Lemeshow S, et al. Independent evaluation of the anatomical and behavioral effects of Taxol in rat models of spinal cord injury[J]. *Exp Neurol*, 2014, 261(11): 97-108

[12] 祁全, 毕郑钢, 杨卫良, 等. Rolipram联合少突胶质前体细胞移植治疗大鼠脊髓损伤[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(40): 7462-7469

[13] Cowley KC, Macneil BJ, Chopek JW, et al. Neurochemical excitation of thoracic propriospinal neurons improves hindlimb stepping in adult rats with spinal cord lesions [J]. *Exp Neurol*, 2015, 264(2): 174-187

[14] Tashiro S, Shinozaki M, Mukaino M, et al. BDNF induced by treadmill training contributes to the suppression of spasticity and allodynia after spinal cord injury via up-regulation of KCC2[J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2015, 29(7): 677-689

[15] Ishii H, Tanabe S, Ueno M, et al. IFN- γ -dependent secretion of IL-10 from Th1 cells and microglia/macrophages contributes to functional recovery after spinal cord injury [J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(7): e710

[16] Zhao RR, Andrews MR, Wang D, et al. Combination treatment with anti-Nogo-A and chondroitinase ABC is more effective than single treatments at enhancing functional recovery after spinal cord injury[J]. *Eur J Neurosci*, 2013, 38(6): 2946-2961

[17] 蔡诗昆, 刘正霞, 周萍, 等. 雌二醇对血管紧张素II诱导的高血压心肌肥厚小鼠T淋巴细胞的影响[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2015, 35(2): 149-154

[18] 代永鑫, 朱莹, 李宁, 等. 慢性低灌注诱导海马CA1区 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP/JNK/c-Jun信号通路及雌激素的保护作用 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2016, 36(1): 33-38

[收稿日期] 2016-04-24