

· 基础研究 ·

运动训练对脑出血大鼠神经功能恢复的影响

李红玲 刘春辉 葛艳萍 李春岩

【摘要】目的 探讨运动训练对脑出血大鼠神经功能恢复的影响。**方法** 将 90 只 SD 大鼠随机分为运动组、对照组和假手术组,每组 30 只。运动组和对照组应用胶原酶诱导脑出血模型,假手术组用生理盐水替代胶原酶。运动组于术后 24 h 开始跑笼运动训练,每天 40 min,连续 1 个月。分别于术后 3、7、14、21 及 28 d 对 3 组大鼠进行姿势反射、平衡、肌力评定。**结果** 运动组功能恢复明显好于对照组,假手术组无明显功能障碍。**结论** 早期运动训练有助于脑出血大鼠神经功能恢复。

【关键词】 脑出血; 运动; 康复; 大鼠

The effects of exercise training on nerve functional recovery in rats with intracerebral hemorrhage LI Hong-ling*, LIU Chun-hui, GE Yan-ping, LI Chun-yan. * Department of Rehabilitation, The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China

【Abstract】Objective To explore the effects of exercise training (ET) on the functional recovery of nerves (NFR) in rats with intracerebral hemorrhage (ICH). **Methods** Ninety Sprague-Dawley rats were randomly divided into an ET group, a control group and a sham operation group (SO group). An ICH model was established with collagenase in the ET and control groups, while sodium chloride was used with the SO group. The ET group exercised for 40 min a day from 24 h to 30 d after the operation. Attitudinal reflexes, balance function and muscle strength were assessed at 24 h, 3 d, 7 d, 14 d, 21 d and 28 d after the operation. **Results** Compared with the control group, NFR values were increased significantly in the ET group, and there was no obvious dysfunction in the SO group. **Conclusion** Early ET can contribute to functional recovery after ICH.

【Key words】 Cerebral hemorrhage; Exercise training; Rehabilitation

目前,对脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)尚缺乏有效的治疗手段,即使及时清除血肿也难以取得满意的疗效。以往研究证实,运动训练可明显改善脑梗死大鼠的功能预后^[1,2],但国外有关运动训练对脑出血实验动物神经功能影响方面的研究较少^[3],国内尚鲜见相关报道。本研究旨在探讨运动训练对脑出血大鼠神经功能恢复的影响。

材料与方法

一、实验动物与分组

健康雄性 SD 大鼠 90 只,体重为 270 ~ 300 g,由河北医科大学基础医学院实验动物中心提供,以标准饲料和纯净水喂养,饲养环境为我院动物室多层层流架(河北省石家庄市长风净化设备厂,河北省实验动物研究中心监制),恒温(20 ~ 25℃)。将 90 只大鼠随机分为运动组、对照组和假手术组,每组 30 只。运动组和对照组应用胶原酶诱导脑出血模型,假手术组用生

理盐水替代胶原酶。每组又分为术后 24 h、72 h、7 d、14 d、21 d 和 28 d 6 个时相点,每个时相点 5 只。

二、材料与试剂

立体定位仪(江湾 I 型 C);微量注射器 5 μ l(上海安亭微量进样器厂生产);行为学评定用具(自制);手术器械;麻醉药速眠新 II(长春军需大学兽医研究所生产);VII 型胶原酶(美国 Sigma 公司),用生理盐水配制成 0.2 U 胶原酶/ μ l 的溶液。

三、动物模型的建立

用速眠新 II 号(0.8 ~ 1.0 ml/kg 体重)肌肉注射麻醉大鼠后,将其俯卧位,头部固定在立体定位仪上,使前囟和后囟在同一平面上。头部去毛、消毒,于颅正中切开头皮约 2 cm,在前囟后 1 mm、中线向右旁开 3 mm 处颅骨上钻一直径约 1 mm 的小孔(尾状核部位),深达骨膜,然后将 2.5 μ l 生理盐水(含有胶原酶 0.2 U/ μ l)微量注射器垂直固定在立体定位仪上,使针头与小孔在一条直线上,进针约 6 mm(尾状核位置),然后缓慢推入脑内,注射完毕后,将针留置 10 min,然后将微量注射器缓慢退出,用医用石蜡封闭骨孔,并给动物编号。假手术组的操作方法同上,将微量注射器缓慢进入脑内,注射同等剂量的生理盐水,留针

作者单位:050000 石家庄,河北医科大学第二医院康复科(李红玲、刘春辉、葛艳萍),神经内科(李春岩)

通讯作者:李春岩

10 min。手术结束后将大鼠放回标准笼内饲养。

四、运动训练用具及方法

运动组大鼠于造模后 24 h 开始,由专人按运动训练时间表对大鼠进行训练。训练用跑笼为周长 200 cm、长 50 cm 的圆柱形细钢丝网制滚筒,底座有一固定架,一端有一手摇柄,用手摇柄可控制其转动的速度,跑笼中间分为 3 格,可同时训练 3 只大鼠。第 2 ~ 14 天,按 4 r/min 速度转动跑笼,每次 40 min,每 5 min 休息 2 min,每天 1 次。第 15 ~ 28 天,跑笼内每隔 50 cm 加一高 1.5 cm、宽 1.0 cm 的木条,共 4 条,跑笼转速为 5 r/min。用于训练大鼠抓握、旋转及跑动。加障碍物后可训练大鼠进行跳越运动。对照组和假手术组大鼠不做运动训练,只限于笼内活动。

五、大鼠行为学评测

术前及术后不同时相点按下列 4 种方法进行行为学评测。

1. Bederson 神经功能评分^[4]:轻抓大鼠尾巴,提起高于桌面 10 cm,正常大鼠两只前爪伸向桌面。脑损伤大鼠瘫痪侧前肢屈曲,姿势变化从轻度屈腕、伸肘、肩外展,到严重的腕肘屈曲、肩内旋外展。将大鼠放在一张大、软、有弹性、光滑的记录纸上,利于爪子抓牢。然后提起尾部,用手轻推大鼠肩部,直到前肢滑动几公分。这一动作在不同方向重复数次。正常或轻度功能障碍的大鼠,会在不同方向以同样的力抵抗推力。0 分:无神经功能缺损;1 分:前肢出现任何屈曲成分(即提尾悬空实验阳性),不伴其他不正常;2 分:侧推抵抗力下降(即侧向推力试验阳性),伴前肢屈曲,无转圈行为;3 分:同 2 级行为,伴自发性旋转(自由活动向瘫痪侧划圈)。

2. 平衡木行走试验(beam-walking test)^[5]:测定运动整合及协调能力。平衡木长 80 cm,宽 2.5 cm,平放在距离地面高 10 cm 处。按 Feeney 的评分标准评分,0 分——穿过平衡木,不会跌倒;1 分——穿过平衡木,跌倒机会小于 50%;2 分——穿过平衡木,跌倒机会大于 50%;3 分——能穿过平衡木,但受累的瘫痪侧后肢不能帮助向前移动;4 分——不能穿过平衡木,但可坐在上面;5 分——将大鼠放在平衡木上会掉下来。

3. 肌力测验[或双侧前爪抓握(bilateral forepaws grasp)]^[6]:取直径为 0.15 mm、长为 46 cm 的铁丝绳,置于距地面 70 cm 高度上,其下放高 3.5 cm 的泡沫箱。将大鼠两只前爪放在绳上,放开,记录大鼠在绳上的时间。0 分——挂在绳上 0 ~ 2 s;1 分——挂在绳上 3 ~ 4 s;2 分——挂在绳上 5 s;3 分——挂在绳上 5 s,将后腿放在绳上。

4. 前肢放置检测(measurement of forelimb placing)^[7]:检查者手持大鼠背部皮肤使四肢悬空,将一

侧胡须刷触桌面角边缘,测试同侧前肢的活动情况,未受损者可将前肢迅速放到桌面,脑损伤时此动作有不同程度的损害。大鼠每侧受测 10 次,前肢触及桌面角边缘次数的百分率即为该侧得分。注意:抓握大鼠要轻柔,前肢自由悬垂,试验前轻轻上下活动大鼠,尽量让其放松,如大鼠挣扎,肌肉紧张或肢体放在试验者手上不计在内。

六、称量大鼠体重

于不同时相点对每只大鼠进行称重,平均值作为各组的体重。

七、统计学分析

用 State 统计软件进行单因素方差分析(one-way-ANOVA),样本均数两两比较。

结 果

一、动物存活率

90 只实验大鼠共死亡 9 只,其中运动组大鼠于注射麻药后 20 min 死亡 1 只,术后 5 d 时死亡 2 只,7 d 时死亡 1 只,8 d 时死亡 2 只;对照组 1 只于注射麻药后 20 min 死亡,1 只死于术后 5 d;假手术组 1 只于麻醉后 40 min 死亡。运动组及对照组术后(5 ~ 8 d)大鼠死亡时明显消瘦,体重约 150 g。解剖发现,术后 5 d 死亡的 2 只大鼠,脑水肿明显,但血肿大部分已吸收。其余 4 只死亡大鼠血肿基本吸收,血肿周围脑组织未见明显水肿表现。大鼠存活率为 90% (81/90)。胶原酶诱导的 60 只 ICH(运动组和对照组)大鼠,于注药后 6 h 出现行为学改变且存活的为造模成功,成功率为 90% (54/60)。对各组死亡大鼠予以及时补充。

二、行为学改变

1. Bederson 神经功能评定:术后 24 h 运动组和对照组功能损伤无差异,与假手术组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),之后运动组和对照组的姿势反应逐渐恢复,直至术后 21 d 完全恢复正常。虽然运动组比对照组有较好的恢复趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2. 平衡木行走试验:术后 24 h 运动组和对照组平衡功能差异无统计学意义,与假手术组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),之后运动组开始改善,7 d 时改善显著($P < 0.05$),14 d 时恢复正常。而对照组功能恢复较慢,损伤持续到 21 d 才恢复。见表 1。

3. 肌力测验:运动组和对照组术后 24 h 肌力无差异,二者与假手术组相比差异有统计学意义($P < 0.05$),运动组于术后 72 h 开始恢复肌力,7 d 时较对照组改善明显($P < 0.01$),14 d 时恢复正常。而对照组术后 28 d 时仍未完全恢复正常。见表 1。

4. 前肢放置检测:运动组和对照组大鼠术后 24 h

二者无差异,与假手术组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。运动组大鼠 72 h 开始出现功能改善,7 d 时改善明显,与假手术组和对照组均有统计学意义($P < 0.01$),14 d 时,与对照组比较仍有差异,术后 28 d 时基本恢复正常。而对照组恢复较慢,术后 21 d 仍与假手术组有差异。见表 1。

三、大鼠体重的改变

术后 24 h 时 3 组大鼠体重无差异,72 h 时变化不明显;7 d 后运动组与对照组和假手术组比较,体重明显减轻,尤其在术后 7 d。之后运动组大鼠体重逐渐增加,但与对照组和假手术组比较差异仍有统计学意义($P < 0.01$)。见表 2。

讨 论

应用胶原酶诱导的 ICH 模型存活率及成功率高,均为 90%。运动组大鼠术后死亡 6 只,占 20% (6/30),对照组死亡 2 只,占 6.7% (2/30),假手术组死亡 1 只,占 3.3% (1/30),9 只中 3 只因麻醉意外死亡,另外 6 只于术后第 5~8 天死亡,除 2 只大鼠脑组织水肿明显,考虑为脑疝形成致死外,另外 4 只精神萎靡、消瘦、体重 150~200 g,解剖未见明显脑水肿,且血肿基本吸收,可能为个体差异使得大鼠不能耐受每天 40 min 的运动训练而死亡。Humm 等^[8]研究认为,在

缺血性大鼠模型中皮质损伤后,如立即开始进行强制性运动治疗,可使梗死皮质周围组织谷氨酸释放增加,大鼠过度兴奋,反而会加重脑损伤,使运动功能预后不佳。对于 ICH 大鼠而言,也许存在同样原因,但明确的死因有待于进一步研究。

运动组大鼠 ICH 后,体重持续下降,术后 14 d 时降至最低,之后虽有增长,但与对照组和假手术组相比,术后 28 d 时仍有明显差异。对照组大鼠体重虽然在 ICH 术后 7~14 d 也有减轻,但 21 d 后基本与假手术组大鼠增长程度一致。而假手术组大鼠 7 d 之内体重未增,14 d 后才开始增长。上述结果显示,手术损伤和运动训练与大鼠体重减轻有关,ICH 14 d 内影响明显。

目前研究证实,康复治疗可明显改善脑梗死大鼠的功能预后^[1,2]。康复治疗方法主要为运动训练,包括被动运动和主动运动。在缺血性脑血管疾病的康复治疗中,提倡在发病后早期开始运动功能的康复治疗,但 ICH 后开始运动功能康复治疗的时机还不明确,尽早开始被动运动可能有利。Ronning 等^[9]认为,卒中单元对 ICH 患者有利,可降低死亡率并改善患者的预后,这得益于卒中单元的早期康复治疗。尽早开始被动运动使 ICH 患者的并发症减少,有利于康复期的康复治疗,对运动功能预后有利。研究认为,只要患者的意识状态不再恶化或血肿未破入脑室,被动运动

表 1 运动组、对照组和假手术组不同时间行为学变化(分, $\bar{x} \pm s$)

组 别	n	Bederson 神经功能评分					
		24 h	72 h	7 d	14 d	21 d	28 d
运动组	30	2.6 ± 0.55 *	2.0 ± 0.0 *	0.4 ± 0.89	0.2 ± 0.45	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
对照组	30	2.6 ± 0.55 #	2.2 ± 0.45 #	0.6 ± 0.55	0.8 ± 0.84	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
假手术组	30	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
组 别	n	平衡木行走试验					
		24 h	72 h	7 d	14 d	21 d	28 d
运动组	30	3.6 ± 0.55 *	2.6 ± 0.55 *	1.0 ± 0.0 * △	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
对照组	30	3.6 ± 0.55 #	3.0 ± 0.0 #	1.6 ± 0.55 #	0.2 ± 0.45	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
假手术组	30	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
组 别	n	肌力测验					
		24 h	72 h	7 d	14 d	21 d	28 d
运动组	30	0.4 ± 0.55 *	1.8 ± 0.45 △ ☆	2.6 ± 0.55 ▲	3.0 ± 0.0 △	3.0 ± 0.0	3.0 ± 0.0
对照组	30	0.4 ± 0.55 #	0.8 ± 0.84 #	1.2 ± 0.45 #	1.8 ± 0.84 ★	2.2 ± 0.84	2.6 ± 0.55
假手术组	30	3.0 ± 0.0	3.0 ± 0.0	3.0 ± 0.0	3.0 ± 0.0	3.0 ± 0.0	3.0 ± 0.0
组 别	n	前肢放置检测					
		24 h	72 h	7 d	14 d	21 d	28 d
运动组	30	38.0 ± 13.04 *	58.0 ± 8.375 *	72.0 ± 8.37 * ▲	86.0 ± 5.48 △	90.0 ± 7.07	96 ± 5.48
对照组	30	38.0 ± 13.04 #	46.0 ± 11.40 #	54.0 ± 5.48 #	68.0 ± 14.83 #	74.0 ± 20.74	92.0 ± 8.37
假手术组	30	80.0 ± 10.0	92.0 ± 8.37	92.0 ± 8.48	96.0 ± 5.48	96.0 ± 5.48	98.0 ± 4.47

注:运动组与假手术组比较, * $P < 0.01$, ☆ $P < 0.05$;对照组与假手术组比较, # $P < 0.01$, ★ $P < 0.05$;运动组与对照组比较, △ $P < 0.05$, ▲ $P < 0.01$

表 2 运动组、对照组和假手术组不同时间大鼠体重变化(g, $\bar{x} \pm s$)

组 别	n	24 h	72 h	7 d	14 d	21 d	28 d
运动组	30	300 ± 0.0	285 ± 10.0	225.6 ± 11.26 * △	204 ± 5.48 * △	348 ± 21.68 * △	362 ± 16.43 * △
对照组	30	300 ± 0.0	290 ± 13.04	249 ± 7.42 #	253 ± 6.71 #	392 ± 8.37	392 ± 8.37
假手术组	30	300 ± 0.0	300 ± 0.0	300 ± 0.0	320 ± 5.10	400 ± 0.0	400 ± 0.0

注:运动组与对照组比较, * $P < 0.01$;对照组与假手术组比较, # $P < 0.01$;运动组与假手术组比较, △ $P < 0.01$

活动均应于发病后 24 h 内开始,康复治疗也“尽早”开始,但发病后具体什么时间开始主动运动功能锻炼,报道中并未明确说明。DeBow 等^[3]在一项大鼠 ICH 模型的研究中认为,主动运动锻炼不宜过早开始,在他们的研究中,ICH 后 7 d 开始的强制性运动治疗可降低鼠脑损伤体积并使运动功能得到改善。功能改善的机制不是单方面的,而是多种因素所致。如运动训练可以减轻由于原发性出血性损害快速发展所致的对侧神经元变性和退变,从而起到神经细胞保护作用^[10];皮质、皮质下组织重组,突触再生,树突发芽等^[11-13]也是促进功能恢复的原因。本研究在 ICH 后 24 h 开始对大鼠进行运动训练,72 h 出现功能改善,14~21 d 基本恢复正常,研究结果显示,早期开始主动运动训练同样可以改善 ICH 大鼠的神经功能。而且在不同时间点处死大鼠后,并未观察到运动组血肿扩大。而对照组大鼠只限于在笼内自由活动,未进行运动训练,其神经功能恢复较运动组慢,个别功能于 ICH 术后 28 d 仍不能恢复正常。这可能是由于大鼠运动受到限制,造成功能废用,从而影响其功能恢复^[14]。

脑损伤实验动物的神经功能评测方法不少,本研究选择了 4 种不同的方法,以检测其姿势、平衡、肌力及前肢放置功能。实验结果表明,运动组大鼠各项功能均有改善,但 Bederson 姿势反射和平衡功能评测差异无统计学意义,一方面原因可能是功能改善不够显著,另一方面可能是检测方法敏感性较差,不能很好地反映神经功能改善情况。而肌力和前肢放置检测方法可以较好地反映 ICH 大鼠神经功能变化,而且持续时间较长。

总之,早期运动训练可以改善 ICH 大鼠的神经功能。至于开始运动训练的最佳时间,尚有待于进一步研究。

参 考 文 献

- 1 徐莉,李玲,陈景藻,等. 康复训练对大鼠脑梗塞神经功能恢复的影响. 中华物理医学与康复杂志,2000,22:86-88.

- 2 高谦,吴宗耀,姚志彬,等. 运动训练促进小鼠脑局灶缺血后功能恢复. 中华物理医学与康复杂志,2000,22:273-275.
- 3 DeBow SB, Davies ML, Clarke HL, et al. Constraint-induced movement therapy and rehabilitation exercise lessen deficits and volume of brain injury after stratal hemorrhagic stroke in rats. *Stroke*, 2003, 34: 1021-1026.
- 4 Bederson JB, Pitlis LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke*, 1986;17:472-476.
- 5 Altumbabic M, Peeling J, Bigio MRD, et al. Intracerebral hemorrhage in the rat: effects of hematoma aspiration. *Stroke*, 1998, 29:1917-1923.
- 6 Dean RL 3rd, Scozafava J, Goas JA, et al. Age-related differences in behavior across the life span of the C57BL/6J mouse. *Exp Aging Res*, 1981, 7:427-451.
- 7 Hua Y, Schallert T, Keep RF, et al. Behavioral tests after intracerebral hemorrhage in the rat. *Stroke*, 2002, 33:2478-2484.
- 8 Humm JL, Kozlowski DA, James DC, et al. Use dependent exacerbation of brain damage occurs during an early post-lesion vulnerable period. *Brain Res*, 1998, 783:286-292.
- 9 Ronning OM, Guldvog B, Stavem K, et al. The benefit of an acute stroke unit in patients with intracerebral hemorrhage: a controlled trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2001, 70:631-634.
- 10 Del Bigio MR, Yan HJ, Buist R, et al. Experimental intracerebral hemorrhage in rats: magnetic resonance imaging and histopathological correlates. *Stroke*, 1996, 27:2321-2319.
- 11 Biernaskie J, Corbett D. Enriched rehabilitative training promotes improved forelimb motor function and enhanced dendritic growth after focal ischemic injury. *J Neurosci*, 2001, 21:5272-5280.
- 12 Kleim JA, Barbay SA, Cooper NR, et al. Motor learning-dependent synaptogenesis is localized to functionally reorganized motor cortex. *Neurobiol Learn Mem*, 2002, 77:63-77.
- 13 Jones TA, Chu CJ, Grande LA, et al. Motor skill training enhances lesion-induced structural plasticity in the motor cortex of adult rats. *J Neurosci*, 1999, 19:10153-10163.
- 14 Kozlowski DA, James DC, Schallert T. Use-dependent exaggeration of neuronal injury after unilateral sensorimotor cortex lesions. *J Neurosci*, 1996, 16:4776-4786.

(修回日期:2006-07-03)

(本文编辑:松 明)

· 消息 ·

中华医学会杂志社总编辑游苏宁喜获“韬奋出版新人奖”和中国科协先进工作者荣誉称号

中国出版工作者协会与韬奋基金会联合评选的全国首届“韬奋出版新人奖”已评定揭晓,颁奖仪式于 2006 年 4 月 25 日在京举行,中华医学会杂志社总编辑游苏宁作为我国科技期刊界的惟一代表喜获“韬奋出版新人奖”。

“韬奋出版新人奖”是根据中央宣传部中宣办发函[2005]69 号文件批复精神,为弘扬韬奋精神,表彰和奖励为出版改革和出版繁荣做出重大贡献的有功人员,为出版行业树立学习榜样,努力推动建设一支政治强、业务精、作风好的出版队伍而特设立的。获奖者涵盖出版业的各个领域,他们是全国出版界学习的模范。

另外,根据中国科协(科协发组字[2006]32 号)文件精神,经各全国学会、协会、研究会和各省市区科协推荐,评审委员会评审,中国科协第六届全国委员会常务委员会批准,中华医学会杂志社总编辑游苏宁还荣获了“第四届中国科协先进工作者”称号。

游苏宁是我国科技期刊编辑学研究的学科带头人。为科技部“精品科技期刊发展战略”总体组成员,科技部“中国科技期刊发展战略研究”课题执行组长;中国科协“2020 年的中国科学技术发展研究——医学科学技术综合专题研究”专家组成员;中国科技期刊编辑学会副理事长,《编辑学报》副主编。2002 年获第四届“全国百佳出版工作者”称号。2003 年被评为中国科协“全国防治非典型肺炎优秀科技工作者”。以上奖项的获得,不仅是对他在编辑行业勤于笔耕 20 年的肯定,也是对他为科技事业辛勤工作、甘于奉献精神的表彰,同时也是中华医学会的光荣。

中华医学会