

· 基础研究 ·

A 型肉毒毒素注射联合运动训练对脊髓损伤大鼠运动功能及腓肠肌功能的影响

曹雅娜 王红星 王彤 陈思婧 吴勤峰

【摘要】目的 观察 A 型肉毒毒素(BTX-A)注射联合运动训练对脊髓损伤(SCI)大鼠运动功能及腓肠肌功能的影响,探讨其治疗 SCI 的可能机制。**方法** 选取成年健康雌性 SD 大鼠 48 只,采用 Allen's 打击法制成 SCI 模型,按随机数字表法将其分为未运动 + 生理盐水注射组(Con-NS 组)、运动 + 生理盐水注射组(Ex-NS 组)、未运动 + 肉毒毒素(BTX)注射组(Con-BTX 组)、运动 + BTX 注射组(Ex-BTX 组),每组 12 只。制模过程中因大鼠死亡、体重明显降低等原因,各组均剔除 2 只,每组剩余 10 只。大鼠 SCI 造模成功后,进行腓肠肌 BTX-A 或生理盐水注射,术后 7 ~ 35 d 对 Ex-NS 组、Ex-BTX 组大鼠进行减重平板训练(BWSTT)。于术前、术后 2 d 及术后每周对各组大鼠进行斜板评分,术后 35 d 处死大鼠,处死前、后对大鼠进行足趾外展评分(DAS)及电生理检测,观察腓肠肌大体形态并测量其湿重。**结果** 造模前、造模 2 d 时,4 组大鼠斜板试验角度之间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。与 Con-NS 组比较,Ex-NS 组在造模后 2 ~ 5 周的斜板试验角度较大($P < 0.05$)。Con-BTX 组与 Ex-BTX 组同时时间点斜板试验角度比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。Ex-NS 组造模后 2 ~ 5 周的斜板试验角度高于 Ex-BTX 组($P < 0.05$)。Con-NS 组与 Ex-BTX 组同时时间点斜板试验角度比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。Con-NS 组、Ex-NS 组大鼠 DAS 评分均为 0 分,Con-BTX 组、Ex-BTX 组大鼠 DAS 评分均为 4 分,组间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。与 Con-NS 组、Ex-NS 组比较,Con-BTX 组、Ex-BTX 组大鼠 DAS 评分较高($P < 0.05$)。Con-NS 组、Ex-NS 组大鼠腓肠肌未发生明显萎缩,Ex-NS 组大鼠腓肠肌较 Con-NS 组大鼠腓肠肌饱满。Con-BTX 组、Ex-BTX 组大鼠腓肠肌发生明显萎缩,色泽变暗。Ex-NS 组大鼠腓肠肌湿重大于 Con-NS 组($P < 0.05$),与 Con-NS 组比较,Con-BTX 组、Ex-BTX 组大鼠腓肠肌湿重均较低($P < 0.05$)。与 Ex-NS 组比较,Con-BTX 组、Ex-BTX 组大鼠腓肠肌湿重显著较低($P < 0.05$)。各组大鼠复合肌肉动作电位(CMAP)潜伏期之间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。与 Con-NS 组、Ex-NS 组比较,Con-BTX 组、Ex-BTX 组大鼠 CMAP 振幅均较低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 运动训练可显著改善 SCI 大鼠的运动功能及骨骼肌功能,BTX-A 注射可抑制运动训练的这一改善作用。

【关键词】 脊髓损伤; 运动训练; 肉毒毒素; 腓肠肌; 肌肉复合动作电位

Effects of botulinum toxin combined with treadmill training on motor and gastrocnemius function after spinal cord injury Cao Yana*, Wang Hongxing, Wang Tong, Chen Sijing, Wu Qinfeng. * Department of Rehabilitation Medicine, The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

Corresponding author: Wang Tong, Email: wangtong60621@163.com

【Abstract】Objective To observe the effects of botulinum toxin A (BTX-A) injection combined with treadmill training on motor and gastrocnemius function in rats after spinal cord injury (SCI), so as to develop a possible treatment. **Methods** A total of 48 female Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups ($n = 12$ in each): a control group which received normal saline injection (group Con-NS), an exercise group with normal saline injection (group Ex-NS), the other control group with BTX-A injection (group Con-BTX) and an exercise group which also received BTX-A injection (group Ex-BTX). All rats were subjected to incomplete SCI modelling using Allen's method. Each group then had 10 members left because of death or significant weight loss. After SCI modelling, BTX-A or normal saline were injected to rats' gastrocnemius, followed by weight support treadmill training (BWSTT) on days 7 through 35 days for the two exercise groups. Motor function was evaluated using inclined plane test before and 2 days, 1, 2, 3, 4 and 5 weeks after the injury. All rats were sacrificed 35 days after the surgery. Digit Abduction Scoring (DAS) and electrophysiological testing were performed prior to sacrifice, and the general form and the wet

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2014.012.002

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81171851)

作者单位:210029 南京,南京医科大学第一临床学院(曹雅娜);南京医科大学第一附属医院(江苏省人民医院)康复医学中心(王红星、王彤、陈思婧);南通大学附属医院康复医学科(吴勤峰)

通信作者:王彤,Email:wangtong60621@163.com.cn

weight of gastrocnemius were observed after resection. **Results** No significant differences in the inclined plane angle among 4 groups were detected before injury and 2 days afterward ($P > 0.05$). At the 2nd-5th week, however, the inclined plane angles in group Ex-NS were significantly higher than those in group Con-NS ($P < 0.05$). Those of group Ex-NS were also significantly higher than group Ex-BTX 2-5 weeks after injury ($P < 0.05$). No significant differences were detected between group Con-BTX and group Ex-BTX, as well as group Con-NS and group Ex-BTX at each time point ($P > 0.05$). And the average DAS score in group Con-BTX and group Ex-BTX was 0, while that of Con-NS group and group Ex-NS were both 4. There were no significant differences between the two normal saline injection groups ($P < 0.05$), nor between the two BTX-A injection groups ($P < 0.05$). However, the average DAS scores in the Con-BTX and Ex-BTX groups were significantly higher than the Con-NS and Ex-NS groups ($P < 0.05$). No significant atrophy of gastrocnemius muscles were observed in the Con-NS group or Ex-NS group, and as would be expected, the muscles in group Ex-NS were thicker on average than those in group Con-NS. Significant atrophy was observed in group Con-BTX and group Ex-BTX. Moreover, the muscle wet weight was significantly higher in group Ex-NS than group Con-NS ($P < 0.05$). Compared with group Con-NS and group Ex-NS, the muscle wet weight was significantly lower in group Con-BTX and group Ex-BTX ($P < 0.05$). No significant differences in the latency of the compound muscle action potential (CAMP) were detected among 4 groups ($P > 0.05$), but the CAMP amplitude was significantly less in the control groups than in the exercise groups. ($P < 0.05$). **Conclusions** Exercise training can significantly improve motor and skeletal muscle function in SCI rats, but BTX-A injection can inhibit the improvement.

【Key words】 Spinal cord injury; Treadmill training; Botulinum toxin; Compound muscle action potential

有研究报道,运动训练可显著改善患者和大鼠的运动功能及肌肉功能^[1-3]。但运动训练通过何种途径促进脊髓可塑性发生改变尚不得而知。有研究报道,运动训练可通过运动过程中的感觉刺激输入、神经肌肉活动等途径促进脊髓可塑性发生改变,从而改善功能,但均未得到证实^[4-5]。A 型肉毒毒素 (botulinum toxin type A, BTX-A) 是一种可以阻断神经肌接头处神经递质传递的神经毒素^[6]。在肉毒毒素 (botulinum toxin, BTX) 注射后进行运动训练是否仍能促进脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 大鼠神经及肌肉功能恢复,尚鲜见报道。本研究对大鼠腓肠肌内注射 BTX-A, 以此阻断腓肠肌的神经肌肉活动,观察运动训练对 SCI 大鼠后肢运动功能、腓肠肌形态及电生理指标的影响,旨在验证外周神经肌肉活动增强是否是运动训练促进 SCI 后功能康复的重要途径之一,从而探讨运动训练改善 SCI 运动功能障碍的机制,为 SCI 的康复治疗提供理论依据。

材料与方法

一、实验动物及分组

选取成年健康雌性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 48 只,体重 220 ~ 250 g,均由北京联合利华实验动物有限公司提供。按照随机数字表法将大鼠分为未运动 + 生理盐水注射组 (Con-NS 组)、运动 + 生理盐水注射组 (Ex-NS 组)、未运动 + BTX 注射组 (Con-BTX 组)、运动 + BTX 注射组 (Ex-BTX 组),每组 12 只。Con-NS 组、Ex-NS 组、Con-BTX 组、Ex-BTX 组因术后泌尿系感染分别死亡 2 只、1 只、1 只、2 只。Con-BTX 组、Ex-BTX 组在 SCI 模型制作过程中因体重明显降低 (低于同组平

均体重 30 g 以上),各剔除 1 只,每组均剩余 10 只。

二、主要实验试剂及仪器

注射用 BTX-A (保妥适,葛兰素史克股份有限公司);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);减重平板运动训练装置 (自制,国家实用新型专利,专利号 ZL 2009 2 0235390.5);Keypoint 4 肌电图仪 (丹麦);BSM-220.3 型电子天平 (上海)。

三、模型制备

大鼠称重后,采用 10% 水合氯醛 (0.35 ml/kg) 腹腔注射麻醉大鼠,行 T₁₀ 椎板切除术,暴露脊髓后,根据改良 Allen's 重锤打击法原理,取 10 g 重锤从 25 mm 高处落下致重度 SCI,制作不完全性 SCI 模型。模型制作成功的标志:重锤落下后,大鼠后肢及尾巴痉挛摆动、躯体回缩扑动,大鼠清醒后后肢无主动活动、无逃避反射、爬行时后肢拖动。对 Con-BTX 组及 Ex-BTX 组大鼠双侧腓肠肌注射 BTX-A,5 U/侧,对 Con-NS 组及 Ex-NS 组大鼠注射等体积生理盐水。术后连续 3 d 肌注 20 万 U 青霉素预防感染,人工按摩膀胱排尿,每日 2 次,至形成反射性排尿为止。

四、运动训练

造模 1 周后,对 Ex-NS 组、Ex-BTX 组大鼠进行运动训练,每日 2 次,每次 20 min,每周连续训练 5 d,共训练 4 周^[7]。本研究选用减重平板训练 (body weight support treadmill training, BWSTT),训练装置为实验动物专用跑步机。该装置跑台速度为 0.4 ~ 0.7 km/h,减重程度为体重的 20% ~ 40% (随时间延长逐渐降低减重程度)^[1]。Con-NS 组、Con-BTX 组大鼠置于笼内静养。

五、运动功能评分

1. 斜板试验^[8]:于造模前、造模后 2 d 及造模后 1、2、3、4、5 周对各组大鼠进行斜板试验评分。将大鼠放置于橡胶制作的平板上,其身体轴线与斜板纵轴垂直,然后将橡胶板由 0°轻轻抬起(头高脚低方向),每次升高 5°,抬高动作需保持均匀,直到大鼠无法维持其自身体重达 5 s 以上,以大鼠能停留 5 s 的最大角度作为其功能值,每只大鼠测 3 次,取平均值。斜板评分主要用于反映大鼠的后肢肌力,依据斜板试验所获的角度进行评定,斜板角度越大,表明大鼠的后肢肌力越好。

2. 足趾外展评分(digit abduction score, DAS)^[9]:造模后 5 周处死大鼠,处死前、后采用 DAS 评分对大鼠后肢肌肉的无力程度进行评定。突然提起大鼠尾巴,使大鼠悬空,产生惊吓反应,大鼠出现后肢伸直、足趾外展等表现,通过观察后肢足趾外展情况来判断肌肉的无力程度,每只大鼠测 3 次,取平均值。该评分共 5 个等级,0 分、1 分、2 分、3 分、4 分,0 分表示正常,4 分表示肌肉严重弱化。

六、电生理检查

处死大鼠前进行电生理检查,采用 Keypoint 4 型肌电图仪检测大鼠腓肠肌的复合肌肉动作电位(compound muscle action potential, CMAP)。采用 10% 水合氯醛(0.35 ml/kg)麻醉后,将大鼠以俯卧位固定于实验台上,所有电极均使用针电极,将刺激电极阳极插入大鼠髌关节处,刺激电极阴极插入大鼠腘窝处,记录电极置于大鼠腓肠肌肌腹,参考电极置于大鼠小腿前皮下,地线置于跟腱处皮下,电刺激强度为 10~20 mA,以能引起最大振幅为度,刺激频率 2 Hz,记录最大负极波的潜伏期及波幅。

七、肌肉大体形态观察及湿重检测

造模后 5 周,采用断头法处死各组大鼠,逐层分离小腿后侧皮肤、筋膜,暴露腓肠肌后,分离出双侧腓肠肌并观察拍照,并采用 BSM-220.3 型电子天平称量其湿重。

八、统计学分析

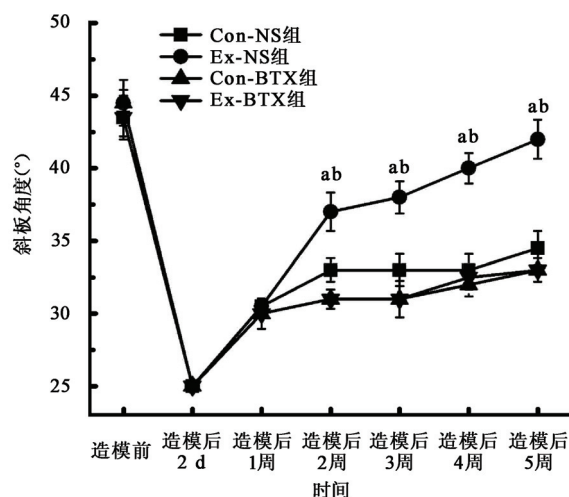
采用 SPSS 13.0 版统计学软件进行数据分析,所有数据经检验均呈正态分布且方差齐性。斜板试验评分结果采用重复测量数据分析,其余数据均使用单因素方差分析,若单因素方差分析结果有统计学差异,再进行两两分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

一、运动功能评分

造模前、造模 2 d 时,4 组大鼠斜板试验角度之间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。与 Con-NS 组比较,Ex-NS 组在造模后 2~5 周的斜板试验角度较大,差异有统计学意义($P < 0.05$)。Con-BTX 组与 Ex-BTX

组同时时间点斜板试验角度比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。Ex-NS 组造模后 2~5 周的斜板试验角度高于 Ex-BTX 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。Con-NS 组与 Ex-BTX 组同时时间点斜板试验角度比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),详见图 1。



注:与 Con-NS 组比较,^a $P < 0.05$;与 Ex-BTX 组比较,^b $P < 0.05$

图 1 各组大鼠不同时间点的斜板试验角度

Con-NS 组、Ex-NS 组大鼠 DAS 评分均为 0 分,组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。Con-BTX 组、Ex-BTX 组大鼠 DAS 评分均为 4 分,组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与 Con-NS 组、Ex-NS 组比较,Con-BTX 组、Ex-BTX 组大鼠 DAS 评分较高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

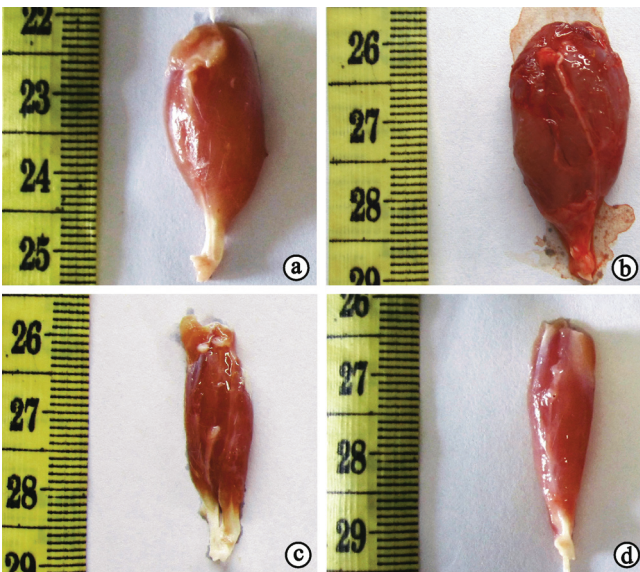
二、各组大鼠腓肠肌大体形态及湿重测量结果

Con-NS 组、Ex-NS 组大鼠腓肠肌未发生明显萎缩,Ex-NS 组大鼠腓肠肌较 Con-NS 组大鼠腓肠肌饱满。Con-BTX 组、Ex-BTX 组大鼠腓肠肌发生明显萎缩,色泽变暗,详见图 2。

Con-NS 组、Ex-NS 组大鼠之间比较,Ex-NS 组大鼠腓肠肌湿重大于 Con-NS 组($P < 0.05$)。与 Con-NS 组比较,Con-BTX 组、Ex-BTX 组大鼠腓肠肌湿重均较低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 Ex-NS 组比较,Con-BTX 组、Ex-BTX 组大鼠腓肠肌湿重显著较低($P < 0.05$)。Con-BTX 组、Ex-BTX 组大鼠之间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),详见表 1。

三、各组大鼠电生理指标比较

各组大鼠 CMAP 潜伏期之间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。Con-NS 组、Ex-NS 组大鼠 CMAP 振幅之间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。Con-BTX 组、Ex-BTX 组大鼠 CMAP 振幅之间比较,差异亦无统计学意义($P > 0.05$)。与 Con-NS 组、Ex-NS 组比较,Con-BTX 组、Ex-BTX 组大鼠 CMAP 振幅均较低,差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表 2。



注:a 为 Con-NS 组大鼠腓肠肌大体形态,黄色皮尺单位为 cm;b 为 Ex-NS 组大鼠腓肠肌大体形态,黄色皮尺单位为 cm;c 为 Con-BTX 组大鼠腓肠肌大体形态,黄色皮尺单位为 cm;d 为 Ex-BTX 组大鼠腓肠肌大体形态,黄色皮尺单位为 cm

图 2 各组大鼠腓肠肌大体形态

表 1 各组大鼠腓肠肌湿重比较(g, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	腓肠肌湿重
Con-NS 组	10	1.04 ± 0.10
Ex-NS 组	10	1.29 ± 0.08 ^a
Con-BTX 组	10	0.52 ± 0.05 ^{ab}
Ex-BTX 组	10	0.52 ± 0.07 ^{ab}

注:与 Con-NS 组比较,^a $P < 0.05$;与 Ex-NS 组比较,^b $P < 0.05$

表 2 各组大鼠 CMAP 潜伏期、振幅比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	潜伏期(ms)	振幅(mV)
Con-NS 组	10	0.82 ± 0.13	27.36 ± 3.94
Ex-NS 组	10	0.76 ± 0.11	28.76 ± 3.69
Con-BTX 组	10	0.82 ± 0.07	5.24 ± 1.07 ^{ab}
Ex-BTX 组	10	0.81 ± 0.07	5.16 ± 0.93 ^{ab}

注:与 Con-NS 组比较,^a $P < 0.05$;与 Ex-NS 组比较,^b $P < 0.05$

讨论

BWSTT 是临床及基础实验研究中常用的一种康复干预措施。有研究发现,平板训练对 SCI 大鼠及患者的运动功能、肌肉功能、电生理指标有改善作用^[10-14]。BTX 是临床上常用的一种可逆性肌松剂,其可通过抑制神经肌肉接头处乙酰胆碱释放,降低脑卒中、脑瘫、SCI 患者痉挛肌肉的肌张力,便于在 BTX 注射后开展康复训练^[15-18]。本研究采用 BTX-A 对大鼠腓肠肌进行注射,以阻断运动过程中腓肠肌的肌肉活动,观察 BWSTT 对 SCI 大鼠运动功能、肌肉功能、电生理指标的影响。

SCI 后运动功能的恢复程度取决于神经肌肉功能

的优劣。本研究采用斜板试验评分及 DAS 评分作为运动功能评定方法,斜板试验能准确反映大鼠后肢的整体运动功能,DAS 评分可快速评价注射 BTX 后大鼠后肢的肌肉弱化程度,测试注射局部的肌肉功能。研究发现,BWSTT 可提高 SCI 大鼠后肢的运动功能,这一发现与国内外相关研究^[10,13]结果一致,其机制可能与提高脊髓内环境中有利因子(如神经营养因子、神经递质等)含量,改善神经肌肉功能有关^[19]。然而,本研究发现,腓肠肌注射 BTX 后,BWSTT 改善 SCI 大鼠运动功能的作用减弱,这一发现提示运动过程中除本体感觉传入刺激外,肌肉收缩活动也发挥着不可替代的作用^[20-21]。BTX 可抑制运动终板处乙酰胆碱的释放水平^[15]。通过对运动终板处的活动抑制,降低肌肉的收缩功能,一般情况下,临床上通过减少运动神经元冲动的过多释放,达到缓解 SCI 患者肌肉痉挛的作用,同时,这一做法也会影响注射局部的肌肉力量。在近期的研究中发现,BTX 可降低正常大鼠肌肉及脊髓内神经营养因子等神经可塑性相关蛋白的表达含量^[22]。由此推测,BTX 抑制 SCI 大鼠运动功能恢复的机制除其直接作用外,还可能与 BTX 抑制肌内自身有利因子表达,使部分肌纤维发生不可逆损伤有关;另一方面,BTX 可能通过抑制肌源性神经营养因子向脊髓内逆向传递或抑制脊髓内源性神经营养因子表达,从而影响运动神经功能恢复。

与本课题组前期研究一致,本研究也发现 BWSTT 可提高 SCI 大鼠的肌肉重量。腓肠肌注射 BTX 后,发生明显萎缩,运动训练对于提高 SCI 大鼠肌肉重量并无实际意义。对于同月龄大鼠,肌肉力量在很大程度上取决于肌肉重量,肌肉功能的维持依赖于神经的营养作用,提示 BTX 可能通过影响 SCI 后神经功能恢复,降低神经对肌肉的营养支持作用,从而影响运动训练对 BTX 注射后肌肉的改善作用。

电生理是一种客观检测神经及肌肉功能的手段。本研究应用肌电图检测 CMAP 的潜伏期及波幅,以此反映神经传导及肌肉的活动能力。研究中发现,各组大鼠 CMAP 潜伏期之间无明显差异,提示 BTX 未影响 SCI 大鼠的运动神经纤维传导,这一结果与 Tsai 等^[23]研究相一致。研究表明,BTX 只能部分阻断大鼠骨骼肌的神经肌肉接头,并不影响轴突传递^[24]。CMAP 振幅是神经所支配肌肉肌纤维的动作电位总和,即肌纤维数目与肌纤维动作电位去极化程度成正比。在有关周围神经损伤的研究中,发现 CMAP 振幅与力量的恢复具有相关性^[24]。本研究注射生理盐水的两组大鼠中,BWSTT 有提高 SCI 大鼠 CMAP 振幅的趋势,但无显著性差异,这一结果虽不能证实运动训练对肌纤维功能具有改善作用,但可初步推测 CMAP 振幅高低主

要与被激活肌纤维的数目有关。本研究发现,BTX 能显著降低 CMAP 振幅,且运动训练对 SCI 大鼠 CMAP 振幅无明显影响,其机制可能与 BTX 抑制神经肌肉接头传递,从而降低被激活肌纤维数目有关,提示 BTX 可能会影响运动训练对肌肉功能的改善作用。

临床上常应用 BTX-A 来降低痉挛肌肉的肌张力,但对肌张力的影响具有可逆性。在基础研究发现,肌注 BTX 可造成部分运动终板退变,还可诱发神经芽生出新的运动终板,出现肌纤维代偿性肥大^[25]。这种代偿作用可能是 BTX 具有可逆性所致,但对于已退变的运动终板功能是否具有可逆性仍需探讨。因此,在临床应用中可能不仅需控制总注射剂量,以预防全身过量反应,对于单块肌肉的注射剂量也应严格控制。此外,本实验中发现 BTX 注射后 1 个月,SCI 大鼠腓肠肌仍明显萎缩,即使配合运动训练也不能改善肌肉的萎缩状态及运动功能,推测可能与本实验中使用 BTX 的剂量较大有关。目前,有关 BTX 注射对 SCI 患者远期功能预后影响的研究尚较为缺乏,有待于进一步研究。

综上所述,BWSTT 可显著改善 SCI 大鼠的运动功能、肌肉功能及电生理指标,但肌肉注射 BTX 阻断肌肉收缩活动后,运动的改善作用被抑制。由此可见,维持肌肉收缩活动是运动训练起效的关键所在,BTX-A 肌肉注射后会影响到肌肉的功能活动与恢复程度,故在临床应用中应严格掌握其剂量及适应症,其对肌肉功能活动与恢复产生影响的具体机制尚有待于后续研究。

参 考 文 献

- [1] 徐江,王熠钊,黄晓琳,等. 硬膜外脊髓电刺激结合减重跑台训练对脊髓损伤大鼠运动功能的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2008,30(7):437-440.
- [2] Macias M, Nowicka D, Czupryn A, et al. Exercise-induced motor improvement after complete spinal cord transection and its relation to expression of brain-derived neurotrophic factor and presynaptic markers[J]. BMC Neurosci, 2009,16(12):144.
- [3] van den Brand R, Heutschi J, Barraud Q, et al. Restoring voluntary control of locomotion after paralyzing spinal cord injury[J]. Science, 2012,336(6085):1182-1185.
- [4] Martinez M, Delivet-Mongrain H, Leblond H, et al. Effect of locomotor training in completely spinalized cats previously submitted to a spinal hemisection[J]. J Neurosci, 2012,32(32):10961-10970.
- [5] Button DC, Kalmar JM, Gardiner K, et al. Does elimination of afferent input modify the changes in rat motoneuron properties that occur following chronic spinal cord transection[J]. J Physiol, 2008,586(2):529-544.
- [6] Simpson LL. The origin, structure, and pharmacological activity of botulinum toxin[J]. Pharmacol Rev, 1981,33(3):155-188.
- [7] 王红星,徐冬晨,姚莉,等. 脊髓损伤大鼠运动及神经功能自然恢复规律的探讨[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2008,30(7):433-436.
- [8] Rivlin AS, Tator CH. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in the rat[J]. J Neurosurg, 1977,47(4):577-581.
- [9] Broide RS, Rubino J, Nicholson GS, et al. The rat Digit Abduction Score (DAS) assay: a physiological model for assessing botulinum neurotoxin-induced skeletal muscle paralysis[J]. Toxicon, 2013,71(9):18-24.
- [10] de Leon RD, See PA, Chow CH. Differential effects of low versus high amounts of weight supported treadmill training in spinally transected rats[J]. J Neurotrauma, 2011,28(6):1021-1033.
- [11] Stevens JE, Liu M, Bose P, et al. Changes in soleus muscle function and fiber morphology with one week of locomotor training in spinal cord contusion injured rats[J]. J Neurotrauma, 2006,23(11):1671-1681.
- [12] Jayaraman A, Liu M, Ye F, et al. Regenerative responses in slow and fast-twitch muscles following moderate contusion spinal cord injury and locomotor training[J]. Eur J Appl Physiol, 2013,113(1):191-200.
- [13] 徐冬晨,王红星,雷晓婷,等. 运动训练对脊髓损伤大鼠运动及神经功能恢复的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2010,32(1):9-12.
- [14] 丁晓晶,王瑾,王红星,等. 不同训练方式对脊髓损伤大鼠运动功能及神经肌肉形态学的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2011,33(10):725-730.
- [15] Singh BR. Botulinum neurotoxin structure, engineering, and novel cellular trafficking and targeting[J]. Neurotox Res, 2006,9(2-3):73-92.
- [16] Picelli A, Lobba D, Midiri A, et al. Botulinum toxin injection into the forearm muscles for wrist and fingers spastic overactivity in adults with chronic stroke: a randomized controlled trial comparing three injection techniques[J]. Clin Rehabil, 2013, 28(3):232-242.
- [17] Marchiori C, Roche N, Vuillerme N, et al. Effect of multisite botulinum toxin injections on gait quality in adults with cerebral palsy[J]. Disabil Rehabil, 2014,36(23):1971-1974.
- [18] Xing ST, Wang D, Wen XH, et al. Clinical research of electroacupuncture combined with acupoint-injection of botulinum toxin A in treating the muscle spasticity by spinal cord injury[J]. Zhongguo Gu Shang, 2010,23(5):350-353.
- [19] Joseph MS, Tillakaratne NJ, de Leon RD. Treadmill training stimulates brain-derived neurotrophic factor mRNA expression in motor neurons of the lumbar spinal cord in spinally transected rats[J]. Neuroscience, 2012,224(11):135-144.
- [20] Magnuson DS, Smith RR, Brown EH, et al. Swimming as a model of task-specific locomotor retraining after spinal cord injury in the rat[J]. Neurorehabil Neural Repair, 2009,23(6):535-545.
- [21] Houglund MT, Harrison BJ, Magnuson DS, et al. The transcriptional response of neurotrophins and their tyrosine kinase receptors in lumbar sensorimotor circuits to spinal cord contusion is affected by injury severity and survival time[J]. Front Physiol, 2012,9(7):478.
- [22] Gomez-Pinilla F, Ying Z, Roy RR, et al. Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity[J]. J Neurophysiol, 2002,88(5):2187-2195.
- [23] Tsai SW, Chen CJ, Chen HL, et al. Effects of treadmill running on rat gastrocnemius function following botulinum toxin A injection[J]. J Orthop Res, 2012, 30(2):319-324.
- [24] Holland RL, Brown MC. Postsynaptic transmission block can cause terminal sprouting of a motor nerve[J]. Science, 1980,207(4431):649-651.
- [25] 俞雅珍,孙异临. 痉挛性瘫痪大鼠肌注肉毒毒素后肌肉组织超微结构变化[J]. 实用儿科临床杂志, 2008,23(14):1093-1095.

(修回日期:2014-10-20)

(本文编辑:凌 琛)