

· 基础研究 ·

运动训练对脊髓损伤大鼠运动及神经功能恢复的影响

徐冬晨 王红星 雷晓婷 丁新生 姚莉 张宁 王彤

【摘要】目的 探讨不同运动训练时程对大鼠脊髓损伤后运动、神经功能恢复的影响。**方法** Sprague-Dawley 大鼠 95 只,分为模型组(未给予运动训练)、实验组(根据训练时程分为训练 1 周、2 周、3 周、4 周组)和假手术组(切除椎板暴露脊髓,但不造成脊髓损伤)。采用改良 Allen 撞击法制作胸髓(T₁₀)不完全损伤模型。运动方式采用重量支撑平板步行训练,在不同时间点采用斜板试验、改良 Tarlov 评分、Basso-Beattie-Bresnahan(BBB)评分、脊髓体感诱发电位进行运动及神经功能评定。**结果** ①运动功能:大鼠运动训练 1、2、3 和 4 周后,运动功能均较模型组有明显提高($P < 0.05$);②脊髓体感诱发电位:大鼠运动训练 2、3 和 4 周后,N1 波峰潜伏期较模型组显著缩短($P < 0.05$),且随训练时程增加而逐步缩短($P < 0.05$)。**结论** 部分重量支撑平板步行训练能有效改善不完全性脊髓损伤大鼠运动及神经功能,并且其改善作用与运动训练时程相关。

【关键词】 运动训练; 大鼠; 脊髓损伤

The effect of exercise on locomotor and neurological functional improvement after spinal cord injury XU Dong-chen*, WANG Hong-xing, LEI Xiao-ting, DING Xin-sheng, YAO Li, ZHANG Ning, WANG Tong.
* Department of Rehabilitation Medicine, The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

Corresponding author: WANG Tong, Email: wangtong60621@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate the effect of exercise on the recovery of locomotor and neurological function in rats after incomplete spinal cord injury (SCI). **Methods** Ninety-five male Sprague Dawley rats were randomly divided into a control group, a training group (including subgroups which received training for 1 week, 2 weeks, 3 weeks and 4 weeks) and a sham operation group. The control and training groups were administered an SCI model at the T₁₀ level by extradural compression using a modified Allen's stall with a damage energy of 40 g·cm. These rats were loosely restrained and given partial weight-bearing treadmill training 5 min/time, twice a day for 1-4 weeks. Locomotor and neurological function were evaluated with inclined plane tests, modified Tarlov scores, the Basso-Beattie-Bresnahan scale and spinal cord somatosensory evoked potential (SCSEP) before injury and at different time points thereafter. **Results** Locomotor function improved significantly at different time points during the training, and significantly better than in the control group. In the rats trained for 2-4 weeks, SCSEP latency shortened significantly compared to the control group. The latency shortened gradually with longer exercise. **Conclusions** Exercise with partial weight support may improve locomotor and neurological function. The improvements are correlated closely with the duration of the training.

【Key words】 Exercise training; Spinal cord injury

由于中枢神经再生的复杂性,如何促进脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)后功能恢复仍然是当前临床治疗的重点和难点。一些临床和实验研究提示,运动训练可促进 SCI 后功能恢复^[1-4]。但何种运动

训练方案能最大程度地促进患者功能恢复,目前尚未见报道。我们的前期实验证实了 SCI 后存在自然恢复规律^[5],本研究在此前提下,观察不同运动训练时程对 SCI 大鼠运动、神经功能恢复的影响,报道如下。

材料与方法

一、实验动物与分组

成年健康雄性 Sprague-Dawley 大鼠 95 只,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,许可证号 SCXK(沪)2003-0003,体重 290 ~ 350 g。分为假手术组 10

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2010.01.004

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30671018)

作者单位:210029 南京,南京医科大学第一附属医院康复医学科(徐冬晨、王红星、王彤),神经内科(雷晓婷、丁新生),骨科(姚莉、张宁);南京特殊教育职业技术学院康复系(徐冬晨)

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

只(切除椎板暴露脊髓,但不造成 SCI)、模型组 35 只(造成 SCI,但不进行运动训练)和实验组 50 只(造成 SCI,并进行运动训练)。实验组根据训练时程分为训练 1 周组 20 只、训练 2 周组 15 只、训练 3 周组 10 只、训练 4 周组 5 只,共 4 个亚组。模型组和实验组分别在损伤前以及损伤后第 1 天、第 1 周、第 2 周、第 3 周、第 4 周和第 5 周进行评定,其中模型组在上述 7 个时间点分别处死,每次 5 只大鼠;实验组各亚组在相应时间点进行观察和评定,训练时程结束后处死,每个观察时间点处死 5 只,另作他用。

二、模型制作

采用 1% 戊巴比妥钠(0.5 ml/100 g 体重)腹腔注射麻醉大鼠后,切除 T₁₀ 椎板,暴露脊髓,采用改良 Allen 撞击法^[6](致伤能量为 10 g×4 cm)制作不完全性 SCI 模型(大鼠尾巴痉挛摆动、躯体回缩扑动及双下肢瘫痪表明造模成功)。缝合伤口后,每只实验动物给予 20 万 U 青霉素肌肉注射,以预防感染,连续 3 d;行人工腹部按摩,以协助排尿,每日 2 次,至形成反射性排尿为止。

三、运动训练方法

实验组进行重量支撑平板步行训练,在 SCI 后第 7 天开始^[5],通过在活动平板上方的吊带装置将大鼠放置于活动平板上(图 1 和 2)。该装置用两块长玻璃分成 3 个跑道,装置上方有 4 根横向的各带有 3 个钩子(分别在 3 个跑道上方)的硬铁丝通过。训练前将两根短铁丝自带的夹子分别夹住同一只大鼠的颈部和靠近尾巴根部躯干处皮肤,再将两根短铁丝另一头自带的钩子挂在同一跑道上方前后两根硬铁丝的钩子上,将大鼠放置于活动平板上后,大鼠将被迫持续步行活动患肢。此装置可给予大鼠部分重量支撑,为体重的 20%~40%,速度为 8 m/min,每次 5 min,每日 2 次。各亚组训练时程分别为 1 周、2 周、3 周和 4 周。



图 1 运动训练装置



图 2 大鼠重量支撑平板训练

四、运动功能的评定

运动功能评定采用国际常规评定方法,包括斜板试验^[7]、改良 Tarlov 评分^[8]、Basso-Beattie-Bresnahan(BBB)评分^[9]。

1. 斜板试验:将大鼠放置于同一光滑木板上,其身体轴线与斜板纵轴垂直,将木板由 0°轻轻抬起,每次升高 5°,以大鼠能停留 5 s 的最大角度为其功能值。

2. 改良 Tarlov 分级:根据后肢的活动、负重、行走情况将其运动功能分为 6 个等级,其中后肢无活动,不能负重为 0 级,行走功能正常为 5 级,两者之间根据情况分别定为 1~4 级。

3. BBB 评分:该评分系统将大鼠后肢运动分为 22 个等级,其中后肢全瘫为 0 分,功能完全正常为 21 分,两者之间根据功能分别定为 1~20 分;其基本内容包括关节活动的数目和范围、负重程度及前后肢协调性、前后爪和尾部活动情况。

评定者熟练掌握和应用相关评定方法。评定时间为上午 8 点。

五、脊髓体感诱发电位的检测

应用 Medtronic Keypoint 4ch 型诱发电位仪在各时间点进行脊髓体感诱发电位(spinal cord somatosensory evoked potential, SCSEP)检测^[5]。麻醉大鼠后,将刺激电极的正、负极分别插入其后肢胫骨前肌腱与肌腹,间距 2 cm;记录电极插于 T₈~T₉ 棘间韧带;参考电极插于同一水平皮下,与记录电极间隔 2 cm;地线插于腹部皮下。刺激参数:强度为 10 mA,频率为 2 Hz,波宽为 1 ms,叠加 200 次。以第 1 个负波(N 波)的波峰潜伏期为观察指标,波峰潜伏期延长程度反映 SCI 程度。每次测试重复 3 次,求平均值。

六、统计学分析

应用 SPSS 14.0 版软件进行统计分析,所得数据均以($\bar{x} \pm s$)表示,计量资料比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、造模情况

模型组大鼠死亡 5 只,实验组大鼠死亡 4 只,死亡主要原因为尿潴留、感染,死亡的大鼠随后补足。

二、运动功能评定结果

实验组大鼠行运动训练 2~4 周后,斜板试验、改良 Tarlov 分级、BBB 评分均较模型组显著提高 ($P < 0.05$);训练 3 周组和训练 4 周组各项指标较训练 1 周组和训练 2 周组显著提高 ($P < 0.05$);在运动训练结束后继续观察,各实验组运动功能仍呈增加趋势,但差异无统计学意义,见图 3~5。

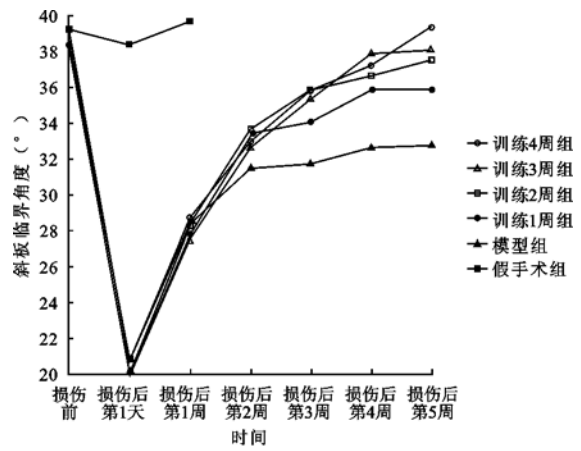


图 3 各组不同时间点斜板临界角度的变化

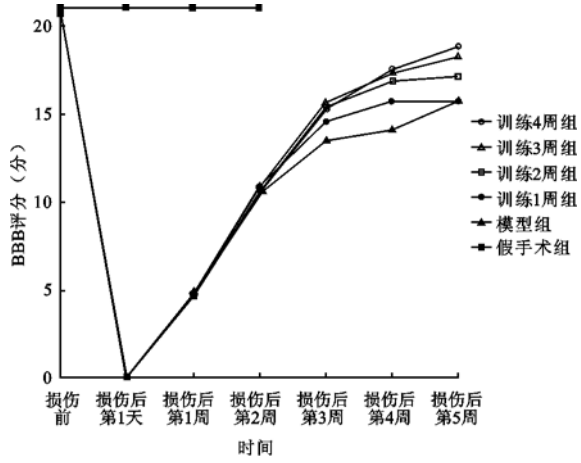


图 4 各组不同时间点 BBB 评分的变化

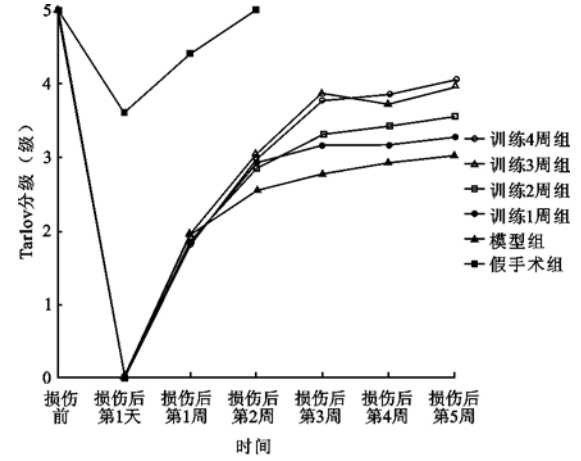


图 5 各组不同时间点 Tarlov 分级的变化

三、SCSEP 检测结果

实验组大鼠训练 2~4 周后,N1 波峰潜伏期较模型组显著缩短 ($P < 0.05$),且随着训练时程增加,N1 波峰潜伏期进一步缩短 ($P < 0.05$),但未恢复至损伤前水平。运动训练 1 周组各观察时间点的 N1 波峰潜伏期与模型组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);假手术组损伤前、后 N1 波峰潜伏期比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

讨 论

本研究的方法为部分重量支撑平板步行训练^[10],更接近于临床 SCI 患者康复训练,且训练时间、训练强度可控性好,训练中大鼠的依从性高,所有大鼠均能完成训练。这可能与本研究对象为不完全性 SCI 大鼠有关。此外,本研究采用多通道平板进行多只大鼠同步训练,保证了大量动物进行训练的可行性。

实验结果提示,在 SCI 大鼠运动训练 2~4 周后,其运动和神经功能的改善显著高于模型组 ($P < 0.05$),其中运动训练 3 周和 4 周后功能改善最为显著。提示时程为 3 周以上的运动训练能有效地改善 SCI 大鼠运动及神经功能,呈现出功能随运动时程延长而提高的趋势。此外,研究结果还提示,在运动训练结束后,运动功能仍有进一步改善的趋势,但与运动结束即刻比较,差异无统计学意义。因此,运动训练效果是否具有延续作用还需要进一步研究。

表 1 各组不同时间点 N1 波峰潜伏期的变化 (ms, $\bar{x} \pm s$)

分 组	例数	损伤前	运动训练前		运动训练阶段			
			损伤后第 1 天	损伤后第 7 天	损伤后第 2 周	损伤后第 3 周	损伤后第 4 周	损伤后第 5 周
训练 4 周组	5	5.7 ± 1.0	10.8 ± 2.2	9.1 ± 1.8	7.8 ± 2.1	7.0 ± 1.6 ^a	6.3 ± 1.4 ^a	6.0 ± 1.2 ^a
训练 3 周组	10	5.7 ± 1.0	11.3 ± 2.4	9.4 ± 1.5	8.0 ± 1.9	7.1 ± 1.4 ^a	6.4 ± 1.5 ^a	6.1 ± 1.6 ^a
训练 2 周组	15	5.7 ± 1.0	11.1 ± 1.9	9.2 ± 1.3	7.9 ± 2.1	6.9 ± 1.6 ^a	6.7 ± 1.6 ^a	6.6 ± 1.7 ^a
训练 1 周组	20	5.7 ± 1.0	11.0 ± 2.4	9.5 ± 1.7	8.1 ± 1.8	7.4 ± 1.3	7.0 ± 1.7	7.0 ± 1.7
模型组	35	5.7 ± 1.0	11.3 ± 2.0	9.4 ± 1.5	8.5 ± 2.0	7.5 ± 1.5	7.3 ± 1.3	7.2 ± 1.5
假手术组	10	6.0 ± 0.7	6.1 ± 0.9	-	-	-	-	-

注:与模型组比较,^a $P < 0.05$

斜板试验、改良 Tarlov 分级、BBB 评分均为成熟的评定方法,与 SCI 程度相关性好,能准确地反映大鼠运动功能,但难以直接反映脊髓神经功能。近年来,SCSEP 检测在 SCI 评定中得到了广泛应用,可较为客观地反映 SCI 严重程度,并为预后判断、治疗方案制定及疗效评估提供了参考依据。但 SCSEP 只能反映脊髓感觉传导功能,不能对运动传导功能进行判断^[11]。因此,SCSEP 检测结合斜板试验、改良 Tarlov 评分、BBB 评分等运动功能评定,就能较为全面地反映脊髓整体功能情况,保证研究结果的准确性和可靠性。

总之,本研究以运动训练作为外源性刺激,以运动时程为变量,研究结果提示部分重量支撑平板步行训练能有效改善不完全性 SCI 大鼠的运动及神经功能,且其功能改善程度与运动训练时程相关。

参 考 文 献

- [1] Mehrholz J, Kugler J, Pohl M. Locomotor training for walking after spinal cord injury. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008, 16: CD006676.
- [2] 卢占斌, 陈先, 刘兰泽, 等. 等速练习在不完全性脊髓损伤患者中的应用. *中国康复医学杂志*, 2008, 23: 459-460.
- [3] Van Meeteren NL, Eggers R, Lankhorst AJ, et al. Locomotor recovery after spinal cord contusion injury in rats is improved by spontaneous

exercise. *J Neurotrauma*, 2003, 20: 1029-1037.

- [4] Beaumont E, Houle JD, Peterson CA, et al. Passive exercise and fetal spinal cord transplant both help to restore motoneuronal properties after spinal cord transection in rats. *Muscle Nerve*, 2004, 29: 234-242.
- [5] 王红星, 徐冬晨, 姚莉, 等. 脊髓损伤大鼠运动与神经功能自然恢复规律的探讨. *中华物理医学与康复杂志*, 2008, 30: 433-436.
- [6] Falconer JC, Narayana PA, Bhattacharjee M, et al. Characterization of an experimental spinal cord injury model using waveform and morphometric analysis. *Spine*, 1996, 21: 104-112.
- [7] Cheng H, Cao Y, Olson L. Spinal cord repair in adult paraplegic rats: partial restoration of hind limb function. *Science*, 1996, 273: 510-513.
- [8] Rivlin AS, Tator CH. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in rat. *J Neurosurg*, 1977, 47: 577-581.
- [9] Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma*, 1995, 12: 1-21.
- [10] Multon S, Franzen R, Poirrier AL, et al. The effect of treadmill training on motor recovery after a partial spinal cord compression-injury in the adult rat. *J Neurotrauma*, 2003, 20: 699-706.
- [11] 徐冬晨, 王红星, 王彤. 诱发电位在大鼠脊髓损伤模型中的应用. *中国康复医学杂志*, 2007, 22: 1128-1130.

(收稿日期: 2008-12-20)

(本文编辑: 吴 倩)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

中华医学会杂志社对一稿两投问题处理的声明

为维护中华医学会系列杂志的声誉和广大读者的利益,现将中华医学会系列杂志对一稿两投和一稿两用问题的处理声明如下:

1. 本声明中所涉及的文稿均指原始研究的报告或尽管 2 篇文稿在文字的表达和讨论的叙述上可能存在某些不同之处,但这些文稿的主要数据和图表是相同的。所指文稿不包括重要会议的纪要、疾病的诊断标准和防治指南、有关组织达成的共识性文件、新闻报道类文稿及在一种刊物发表过摘要或初步报道而将全文投向另一种期刊的文稿。上述各类文稿如作者要重复投稿,应向有关期刊编辑部做出说明。

2. 如 1 篇文稿已以全文方式在某刊物发表,除非文种不同,否则不可再将该文投寄给他刊。

3. 请作者所在单位在来稿介绍信中注明文稿有无一稿两投问题。

4. 凡来稿在接到编辑部回执后满 3 个月未接到退稿,则表明稿件仍在处理中,作者欲投他刊,应事先与该刊编辑部联系并申述理由。

5. 编辑部认为文稿有一稿两投嫌疑时,应认真收集有关资料并仔细核实后再通知作者,同时立即进行退稿处理,在做出处理决定前请作者就此问题做出解释。期刊编辑部与作者双方意见发生分歧时,应由上级主管部门或有关权威机构进行最后仲裁。

6. 一稿两用一经证实,期刊编辑部将择期在杂志中刊出其作者姓名和单位及撤销该论文的通告;对该作者作为第一作者所撰写的一切文稿,中华医学会系列杂志 2 年内将拒绝其发表;并就此事件向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报。

中华医学会杂志社
2008 年 12 月修订