

大鼠部分重量支撑平板训练新模型在不完全性脊髓损伤运动功能改善中的应用*

徐冬晨^{1,2} 王红星¹ 王彤^{1,3}

摘要

目的:探讨部分重量支撑平板训练(BWSTT)新模型对不完全性SCI大鼠功能改善的效果。

方法:成年健康SD大鼠40只,随机分成对照组、实验组,采用改良Allen撞击法制作脊髓不完全损伤模型。实验组大鼠采用自制装置进行BWSTT。在不同时间点采用斜板试验、改良Tarlov评分、BBB评分进行运动功能评定。

结果:实验组大鼠运动训练2—4周组,斜板实验、改良Tarlov评分、BBB评分均较对照组显著提高($P<0.05$),训练3周和4周组较训练1周和2周组显著提高($P<0.05$)。

结论:BWSTT新模型能有效改善不完全性脊髓损伤大鼠运动功能,并与运动训练时程相关。

关键词 脊髓损伤;部分重量支撑平板训练;运动功能

中图分类号:R651.2,R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2010)-08-0721-04

The effect of new model of body weight support treadmill training on the improvement of locomotor function in incomplete spinal cord injury rats/XU Dongchen,WANG Hongxing,WANG Tong//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2010, 25(8): 721—724

Abstract

Objective:To study influences of new model of body weight support treadmill training(BWSTT) on the improvement of locomotor function in incomplete after spinal cord injury(SCI) rats.

Method:Forty healthy adult SD rats were randomly divided into control group and training group. Incomplete SCI rat model was made by extradural compression using modified Allen's stall with damage energy of 40 gcm force. These rats were loosely restrained on treadmill. Locomotor function was evaluated by inclined plane tests, modified Tarlov scores, Basso-Beattie-Bresnahan(BBB) scales.

Result:Rats' locomotor function improved significantly after new model of BWSTT in different durations compared with control group ($P<0.05$). The effects of 3-week and 4-week training were better than that of 1-week and 2-week training($P<0.05$).

Conclusion:New model of BWSTT might improve the locomotor function of incomplete SCI rats, and the effect was correlated closely with the duration of exercise training.

Author's address Dept. of Rehabilitation Medicine,The First Hospital of Nanjing Medical University,210029

Key words spinal cord injury; body weight support treadmill training; locomotor function

脊髓损伤(spinal cord injury,SCI)是造成功能障碍的重要原因之一,近年来各种治疗对脊髓损伤

功能恢复的作用及作用机制的研究成为热点^[1-2],其中,运动训练中的部分重量支撑平板训练(body

DOI10.3969/j.issn.1001-1242.2010.08.001

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30671018)

1 南京医科大学第一附属医院康复医学科,210029; 2 南京特殊教育职业技术学院康复科学系; 3 通讯作者

作者简介:徐冬晨,男,硕士,讲师; 收稿日期:2009-09-01

weight supported treadmill training, BWSTT)对脊髓损伤患者步行能力提高的相关研究备受关注^[3-5],研究主要关注这种运动训练对脊髓损伤恢复的作用机制^[6-8],目前这方面的研究主要集中在动物实验。设计一个操作简单、有效、适合于脊髓损伤肢体瘫痪大鼠的 BWSTT 模型很有必要,有利于观察 BWSTT 对脊髓损伤功能恢复的影响,明确 BWSTT 的治疗效果;有利于进一步开展运动训练对中枢性损伤(如脊髓损伤、脑损伤等)功能恢复机制的基础实验研究。为此,我们参考了国外有关资料^[9-10],自行设计了一种简易大鼠 BWSTT 运动模型,观察脊髓损伤后第 7 天开始接受不同时间程的 BWSTT 对脊髓损伤肢体瘫痪大鼠运动功能恢复的影响,以明确 BWSTT 对脊髓损伤大鼠运动功能恢复的治疗效果,确定该新模型在脊髓损伤实验研究中的可行性。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

成年健康雄性 SD 大鼠 40 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—350g,随机分组,分为对照组 20 只(未给予 BWSTT 运动训练)、实验组 20 只(给予 BWSTT 运动训练),其中对照组根据观察时间进一步分为 2 周组、3 周组、4 周组、5 周组,实验组不同训练时间(1 周、2 周、3 周、4 周)进一步分为训练 1 周组、2 周组、3 周组、4 周组,每一组设 5 只大鼠。

1.2 脊髓损伤模型制作

采用 1%戊巴比妥钠(0.5ml/100g 体重)腹腔注射麻醉大鼠成功后,将其俯卧位固定,咬除 T10 棘突和椎板,暴露脊髓,采用改良 Allen 撞击法制作不完全性脊髓损伤模型,致伤能量为 40gcm(10g 重锤自 4cm 高处落下)。缝合伤口后,连续 3d 按每只大鼠 20 万单位青霉素/d 肌肉注射,以预防感染。每日人工按摩腹部以协助排尿 2 次,至形成反射性排尿为止。

1.3 BWSTT 运动模型的设计及训练

通过在活动平板(T1501)上架设一个减重装置,装置为长方体,长 85cm,宽 50cm,高 25cm,边框由铝合金制成;装置四周镶上透明玻璃,便于观察;在装置的纵向上镶上两块低高度的玻璃,将跑道均分为

3 个跑道(跑道宽度约为 14cm);在装置上端的横向上架设四根硬度较强的铁丝(每根铁丝长度约为 52cm,每根铁丝之间的距离约为 15—25cm)。从前向后,第一、三根铁棒上分别固定三个钩子,每个钩子均在每个跑道上方的中央,训练前将一根带夹子的短铁丝的夹子夹住大鼠的项背部皮肤,再用一根带夹子的可调节长度的铜线的夹子夹住大鼠背部靠近尾巴根部的皮肤,将大鼠放置在活动平板上,短铁丝的另一端钩住同一跑道上方的第一或第三铁丝上的钩子,铜线另一端调节成钩子钩住同一跑道上方的第二或第四铁丝,长度调节以减重最少大鼠能主动运动为度。

本研究通过此装置给大鼠部分重量支撑(静态时减重的量为体重的 20%—40%,即开始训练时减重的量需要达到约 40%,随着功能恢复,需要减重的量也在减少,所以减重的量作为变量变化较大,这一改变是通过一端夹住大鼠背部靠近尾巴根部皮肤的铜线长短的调节,并与一端夹住大鼠的项背部皮肤的固定长度的短铁丝共同来实现减重的。减重的量是用利用称重器测量减重后大鼠的重量,再经转换获得的)下进行重量支撑平板训练(图 1),实验组在 SCI 后第 7 天开始训练^[11]。每次可满足 6 只大鼠同时进行训练。训练平板的速度为 8m/min,训练时间为每日 2 次,每次 5min,训练时间程分别为 1—4 周。

图 1 大鼠部分重量支撑平板训练



1.4 运动功能评定

1.4.1 斜板试验^[12]:将大鼠放置于同一光滑木板上,身体轴线与斜板纵轴垂直位放置,然后将木板由 0°轻轻抬起(头高脚低方向),斜板每次升高 5°,动作要保持均匀,以大鼠能够停留 5s 的最大角度为其功能值。该法操作简单,主要反映大鼠后肢肌力恢复程度,在对大鼠的运动功能评定中应用较多。损伤程度

越重,利用该法的评分结果之间的差异越显著,但不能揭示大鼠神经功能的细微恢复,如爪的位置、尾的下垂或上翘等,而且干扰因素多,评价有时可能不准确或精确。

1.4.2 改良 Tarlov 评分^[13]:观察大鼠后肢运动情况。分级如下:0 级:后肢无活动,不能负重;1 级:后肢可见活动但不能负重;2 级:后肢活动频繁或有力,不能负重;3 级:后肢可支持体重,能走 1—2 步;4 级:可行走,仅有轻度障碍;5 级:行走正常。该法简单易行,可靠性强,主要反映大鼠肢体的自主运动,包括后肢有无活动、活动是否频繁、有力、能否负重等情况,但评分过于粗糙,难以反映运动功能变化的细节,也无法显示左右两侧不对称性的差别。

1.4.3 Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) 评分^[14]:观察大鼠后肢运动情况。将大鼠后肢运动分为 22 级。后肢无可见的运动为 0 分,后肢运动功能正常为 21 分,两者之间根据功能,分别定为 1—20 分。该法是目前脊髓损伤后肢运动功能常用的评分标准,主要反映大鼠的综合运动功能,包括肢体关节活动的数目和范围,负重程度及前后肢协调性,前后爪和尾部的活动情况,且可记录两侧肢体运动功能的非平行性变化,可以说几乎包括了 SCI 后大鼠后肢恢复过程中所有行为变化,能较精确地反映后肢功能情况,且与 SCI 的程度高度相符,又无需特殊设备,但评分标准比较复杂,难记,观察人员要进行培训,以减少主观因素是影响,目前此法应用最广。

在本实验中采用斜板测定、改良 Tarlov 评分、BBB 评分结合应用,以弥补单一评定方法的不足,提高了评估的准确性和敏感性。以上运动功能的评定因大鼠昼夜活动差别较大,时间统一为上午 8:00 开始。

1.5 统计学分析

应用 SPSS14.0 软件进行数据统计分析,计量资料采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异具有显著性意义。

2 结果

实验过程中提前死亡的大鼠通过再造模补足,所以实验中共建立大鼠 SCI 模型 45 只,对照组大鼠死亡 3 只,实验组大鼠死亡 2 只,死亡主要原因为尿潴留、感染。实验组、对照组大鼠运动功能评定结果

如下:

实验组大鼠重量支撑平板训练 2—4 周后,斜板试验临界角度、改良 Tarlov 评分、BBB 评分均较对照组显著提高($P<0.05$),重量支撑平板训练 3 周和 4 周后斜板试验临界角度、改良 Tarlov 评分、BBB 评分也均较重量支撑平板训练 1 周和 2 周后显著提高($P<0.05$),见表 1。

表 1 各组不同时间点斜板测定临界角度、改良 Tarlov、BBB 评分结果 ($\bar{x}\pm s$)

	脊髓损伤后			
	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周
斜板测定临界角度				
实验组	33.33±2.58	35.83±3.76 ^①	37.85±2.67 ^①	39.28±1.88 ^①
对照组	31.43±2.43	31.71±1.88	32.57±2.43	32.70±3.56
改良 Tarlov 评分结果				
实验组	2.93±0.98	3.33±0.81	3.72±0.53 ^①	4.05±0.37 ^①
对照组	2.53±0.98	2.78±0.73	2.93±1.03	3.03±1.03
BBB 评分				
实验组	11.00±1.97	15.50±2.91 ^①	17.35±2.28 ^①	18.85±2.42 ^①
对照组	10.50±2.37	13.50±1.45	14.12±1.51	15.75±1.85

①与对照组比较 $P<0.05$

3 讨论

早在 1983 年,Rossignol 等借助一种固定装置对脊髓横断性损伤的猫进行连续几周的重量支撑步行训练,即猫的身体重量被悬挂,身体重量部分抵消,用前肢辅助其后肢行走,帮助其恢复步行能力^[9];随后有学者采用不同类型的重量支撑训练系统从事运动对 SCI 功能恢复作用机制的实验研究^[9-10]。随着 BWSTT 在中枢运动控制障碍患者康复训练中的广泛应用,其治疗效果和作用机制的研究成为康复医学关注的热点。动物实验研究也逐渐开展起来,但目前的 BWSTT 模型对于 SCI 大鼠有一些不足之处,本实验建立了 SCI 大鼠 BWSTT 的新模型,更接近于动物实验的实际情况。该方法采用夹子固定大鼠较用特制的马甲固定大鼠容易,固定效果也更好,重量支撑控制调节方便,并且多只大鼠同步训练的设计更为实验节约了时间,保证了大量动物进行训练的可行性。BWSTT 利用悬吊装置不同程度地减少步行时下肢的负重,不少研究认为在减去身体重量的 40% 以下较为适合,本实验同时结合动物实际情况^[15-16],发现 20%—40% 较为合适,故采用此减轻程度。BWSTT 新模型使用中要注意的是,为减轻此方

法对大鼠皮肤造成的疼痛,选择了弹性适当的夹子,并在夹子上接触大鼠皮肤的部分用胶布粘上,避免夹子棱角对大鼠造成不良刺激。

BWSTT 模型对大鼠的作用与以往常规运动训练如游泳、电刺激行走、FES 肌肉收缩等不同,它是通过强制大鼠反复进行爬行周期这一整套过程来学习爬行,以此提高肢体的综合运动功能,采用该模型可以使得在传统中认为尚无法开始爬行训练的大鼠早期进行训练。已经有许多动物研究证实,通过连续的 BWSTT,可以使脊髓腰段完全横断的猫恢复步行能力^[9-10]。

我们在研究中发现,在大鼠不完全性 SCI 后的第 7 天开始进行不同时程 BWSTT,从表 1 结果分析来看,接受 BWSTT 的大鼠运动功能改善比对照组明显,BWSTT 干预时间长(3—4 周)运动功能恢复比干预短的明显。提示:BWSTT 对不完全性 SCI 肢体瘫痪大鼠运动功能恢复有明显效果,确定该 BWSTT 新模型在脊髓损伤实验研究中的可行性。

参考文献

- [1] 孙嘉利,欧阳亚涛,唐丹,等.截瘫步行器对截瘫患者日常生活活动能力的影响[J]. 中国康复医学杂志,2007,22(7):609—611.
- [2] 赵晔,丁文元,张为,等.促红细胞生成素对大鼠急性脊髓损伤后后肢功能及 NF- κ B 表达的影响 [J]. 中国康复医学杂志,2007,22(10):904—907.
- [3] Musselman KE, Fouad K, Misiaszek JE, et al. Training of walking skills overground and on the treadmill: case series on individuals with incomplete spinal cord injury [J]. Phys Ther, 2009,89(6):601—11.
- [4] Sherman MF, Lam T, Sheel AW. Locomotor-respiratory synchronization after body weight supported treadmill training in incomplete tetraplegia: a case report [EB/OL]. <http://www.nature.com/sc/journal/vaop/ncurrent/abs/sc200950a.html>,2009-05-19.
- [5] 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.
- [6] Winchester P, McColl R, Query R, et al. Changes in supraspinal activation patterns following robotic locomotor therapy in motor-incomplete spinal cord injury [J]. Neurorehabil Neural Repair, 2005;20:233.
- [7] Barrière G, Leblond H, Provencher J, et al. Prominent Role of the Spinal Central Pattern Generator in the Recovery of Locomotion after Partial Spinal Cord Injuries [J]. J Neurosci, 2008,9;28(15):3976—87.
- [8] 张纓,纪树荣,孙异临,等.脊髓横断大鼠减重平板步行训练后脊髓前角神经元超微结构的可塑性变化 [J]. 中国康复医学杂志,2009,24(4):306—308.
- [9] Peter AC Lim, Adela M Tow. Recovery and regeneration after spinal cord injury: a review and summary of recent literature [J]. Ann Acad Med Singapore, 2007,36:49—57.
- [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]. Journal of Neurotrauma, 2003, 20(8):699—706.
- [11] 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 [J]. 中华物理医学与康复杂志,2008,30(7):433—436.
- [12] Cheng H, Cao Yihai, Olson L. Spinal cord repair in adult paraplegic rats: partial restoration of hind limb function [J]. Science, 1996,273(7):510—513.
- [13] Rivlin AS, Tator CH. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in rat [J]. J Neurosurg, 1977,47(2):577—581.
- [14] Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats [J]. J Neurotrauma, 1995, 12(1):1—21.
- [15] 霍速,纪树荣.减重步行训练的临床研究[J].中国康复理论与实践,2003,9(2):115—118.
- [16] 杨振中,贺雪琴,赵秀梅.减重步行训练对不完全性脊髓损伤患者步行能力的影响[J].现代医药卫生,2006,22(12):80.