

·基础研究·

水中活动平板训练对脊髓损伤大鼠体感、运动诱发电位及运动功能的影响*

陶涛涛¹ 林海燕¹ 屠文展¹ 刘怀霞¹ 程博¹ 庄进飞¹ 蒋松鹤^{1,2}

摘要

目的:探讨水中平板训练对脊髓损伤(SCI)大鼠体感诱发电位(SEP)、运动诱发电位(MEP)及运动功能的影响。

方法:将成年雄性SD大鼠25只,随机分为假模组、模型对照组、水疗训练组、减重平板训练组和水中平板训练组。采用改良Allen's打击法制作T10—11 SCI模型,采用BBB评分、爬网格实验、SEP及MEP评定肢体功能及训练效果。

结果:BBB评分及爬网格实验显示,水中平板训练组的大鼠后肢运动功能较其他组明显改善($P<0.05$)。SEP、MEP的潜伏期,三组训练组较模型对照组均有显著缩短($P<0.05$);但三组训练组之间MEP潜伏期差异无显著性意义($P>0.05$)。水中平板训练组较减重平板训练组SEP、MEP波幅明显增大,差异均有显著性意义($P<0.05$)。

结论:三组训练对脊髓损伤大鼠SEP、MEP及运动功能均有不同程度的促进恢复作用,其中水中平板训练最为显著。

关键词 脊髓损伤;运动诱发电位;体感诱发电位;水中活动平板训练

中图分类号:R651.2, R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2011)-11-1020-05

The effect of underwater treadmill training on somatosensory evoked potential, motor evoked potential and locomotive functional recovery in rats following spinal cord injury/YAO Taotao, LIN Haiyan, TU Wenzhan, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine,2011,26(11): 1020—1024

Abstract

Objective: To provide experimental evidences for the effectiveness of underwater treadmill training on somatosensory evoked potential(SEP), motor evoked potential(MEP) and locomotive functional recovery in rats following spinal cord injury (SCI).

Method: A total of 25 Sprague Dawley rats were randomly divided into five groups: sham group, control group, hydrotherapy training group, body weight supported treadmill training group and underwater treadmill training group. SCI model was performed by generating a contusion at T10 segment with the modified Allen's punch method. In this study, Basso, Beattie, and Bresnahan (BBB) locomotor rating scale, climbing test, SEP and MEP were used to investigate hindlimb function recovery.

Result: The BBB locomotor rating scale and climbing test showed, locomotor recovery improved more significantly in underwater treadmill training group than that in hydrotherapy training group and body weight supported treadmill training group ($P<0.05$). The latencies of SEP and MEP in three rehabilitation groups decreased obviously compared with that in control group ($P<0.05$), but there was no significant difference among the latencies of MEP in three rehabilitation groups($P>0.05$). The wave amplitude of SEP and MEP in underwater treadmill training group increased obviously compared with that in body weight supported treadmill training group,there was significant difference between the two rehabilitation groups($P<0.05$).

Conclusion: Three kinds of rehabilitation training all can promote the improvements of SEP,MEP and locomotive

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2011.11.007

*基金项目:温州市科技局资助项目(Y20090197)

1 温州医学院附属第二医院康复理疗中心,温州,325027; 2 通讯作者

作者简介:陶涛涛,男,研究生; 收稿日期:2011-03-28

function, the underwater treadmill training group is the best one among three rehabilitation groups.

Author's address Rehabilitation and Physical Medicine department of 2nd affiliated hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou, 325027

Key word spinal cord injury; motion evoked potential; somatosensory evoked potential; underwater treadmill training

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是致残率较高的中枢神经系统(central nervous system, CNS)损伤。已有报道,减重步行训练能促进实验动物后肢运动功能的恢复^[1],临床研究也表明能促进患者的运动功能及步态恢复^[2];水疗训练可能减轻肢体痉挛^[3]。本研究将减重平板训练与水疗融合为一体,自制水中跑台^[4],观察水中平板步行训练(underwater treadmill training)对SCI大鼠运动功能及电生理影响;本课题组前期研究表明,水中平板步行训练能显著增强大鼠脊髓中脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)、神经营养素-3(neurotrophin-3, NT-3)的表达^[5]。本文进一步观察SCI大鼠体感诱发电位(somatosensory evoked potential, SEP)和运动诱发电位(motor evoked potential, MEP),探讨水中平板步行训练对SCI大鼠上行和下行两条传导通路的促通作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

选取清洁级成年健康雄性SD大鼠25只,体重200—250g,由温州医学院实验动物中心提供。从上述大鼠中按随机数字表抽取5只做假模组,假模组大鼠仅手术切除T10椎板暴露脊髓组织;其余大鼠制成SCI模型,并将造模成功大鼠随机分为模型对照组、水疗训练组、减重平板训练组和水中平板训练组,每组各5只大鼠。在模型制作过程中及术后按照各组模型制作时相应的要求补足死亡的大鼠。

1.2 SCI模型制作过程

选用10%水合氯醛腹腔注射麻醉后,常规消毒,定位棘突后以T10为中心作皮肤切口长约3cm,剥离周围软组织后显露并咬除T10及部分T9、T11棘突和椎板,暴露脊髓背侧硬膜,用改良Allen's法制作不完全脊髓损伤动物模型,将动物固定在脊髓致伤装置底座上,用脊髓打击器致伤大鼠脊髓^[6]。撞击成功标准为:撞击的脊髓组织充血、水肿,大鼠尾巴出现痉挛性摆动,双后肢躯体回缩样扑动,双后肢

呈弛缓性瘫痪。假模组除不致伤外,其余操作同致伤组。常规消毒、分层缝合。术后常规肌肉注射庆大霉素预防感染(20万U,1次/d,共3d)。大鼠制模成功后每日上午、下午、晚上各进行1次腹部按摩和挤压操作以协助排尿。

1.3 各组大鼠的康复训练方案

1.3.1 假模组:仅行椎板切除术,未打击脊髓,不进行康复训练。

1.3.2 模型对照组:按50(g·cm·force)重量致伤脊髓,造成脊髓损伤,不进行康复训练。

1.3.3 水疗训练组:在装有恒温装置的水槽中进行水中自由运动训练,如游泳,设定水温为30℃。

1.3.4 减重平板训练组:将大鼠置于自制跑台中,用自制布套包裹大鼠胸腹部,将其悬吊以达到减重的目的;并将大鼠前肢固定于步行横杠上,达到使其双后肢在跑台上进行步行训练的目的,初次训练时跑台速度设1.5m/min,以后减重量和速度依大鼠的能力进行调整,速度范围在1.5—3.5m/min。

1.3.5 水中平板训练组:用同样的方法将大鼠置于带有恒温装置的大鼠水中跑台中,跑台中加入适量的水(以完全浸没大鼠双后肢为宜),水温设定为30℃,其余同减重平板训练组^[5]。

各训练组于术后1周开始训练,每次30min,每周6次,共训练8周。

1.4 大鼠运动功能评定

采用BBB运动功能评分法,将动物放置于直径为2m的圆形平台上,观察记录其后肢的行走及肢体活动。伤后第1天、第7天、第3周、第5周、第7周、第9周进行,每次3人参加评定,在单盲条件下采用BBB(Basso, Beattie and Bresnahan)评分^[7],取平均值,左右两侧评分不同时取平均值。由于动物昼夜活动情况差异较大,故选在晚间20:00进行评分。术后9周,每组5只受试动物均予爬网格实验,网格全长约75cm,做成坡度为45°的斜面坡道,各组均在同一时间段一次性完成检测。

1.5 体感及运动诱发电位检查

参照文献^[8-9],以10%水合氯醛,以3ml/kg为考量,腹腔注射麻醉,将大鼠固定于脑立体定位仪上,常规消毒,剪去颅顶毛,在前囟部位沿中线切开皮肤1.5cm,钝性分离,充分暴露颅骨,清楚地暴露颅骨骨缝,在冠状缝前后缘各1—2mm、矢状缝旁开2—3mm,用颅骨钻钻开一直径1.5mm左右球形小孔,要求恰好钻到出现白色略带透明的骨皮质,然后用眼科镊,轻轻挑起残余的骨皮质暴露出完好的硬脑膜。记录电极采用尖端直径1mm的银球电极,记录时其顶端以刚好接触硬脑膜为宜。采用RM6240型四通道多功能信号采集系统(成都仪器厂)检测大鼠SEP,采用正电压单刺激,手动触发,电刺激强度为9V,波宽0.1ms,频率40Hz,灵敏度50μV,手动叠加50次以上,将刺激电极正极插入上述钻孔处对侧后肢腓肠肌,负极位于正极远端1cm处,记录电极则置于上述钻孔处;参考电极位于同一水平皮下,与记录电极间隔1cm,地线插在背部皮下。用同样的方法在前囟后1—2mm、矢状缝旁开1mm(相当于大脑皮质运动区)处行颅骨钻孔,用相同信号采集系统检测大鼠MEP。采用正电压单刺激,手动触发,电刺激强度为10V,波宽0.1ms,频率40Hz,灵敏度20μV,手动叠加50次以上,将刺激电极正极插入上述钻孔处,负极位于同一水平头皮下1cm处,记录电极则置于胫前肌中份,参考电极位于记录电极远端,与记录电极间隔1cm,地线插在背部皮下。两者都以第1个负波(N波)的潜伏期和波幅作为观察指标。

1.6 统计学分析

采用SPSS 16.0版软件进行数据统计分析,所得数据均以均数±标准差表示,计量资料采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 SEP和MEP检测结果分析

各组与假模组比较SEP的潜伏期均有延长($P < 0.05$);水中平板训练组、水疗训练组、减重平板训练组较模型对照组的SEP、MEP潜伏期均有显著缩短($P < 0.05$);水中平板训练组较水疗训练组SEP潜伏期明显缩短($P < 0.05$)。各组与假模组比较SEP的波幅均减小,差异有显著性意义($P < 0.05$);水疗训练组与模型对照组相比SEP波幅增大,但差异无显著性意义($P > 0.05$),其余各训练组较模型对照组波幅明显增大,差异均有显著性意义($P < 0.05$);水中平板训练组较模型对照组、水疗训练组以及减重平板训练组SEP波幅明显增大,差异均有显著性意义($P < 0.05$)。

各组与假模组比较MEP的潜伏期均有延长($P < 0.05$);水中平板训练组较水疗训练组及减重平板训练组MEP潜伏期有缩短,但这三组之间差异无显著性意义($P > 0.05$)。水疗训练组及减重平板训练组与假模组比较MEP的波幅明显减小($P < 0.05$),水中平板训练组与假模组比较MEP的波幅减小,但差异无显著性意义($P > 0.05$);水中平板训练组较减重平板训练组、水疗训练组及模型对照组波幅显著增大($P < 0.05$)。见表1,图1—2。

表1 9周后各组之间SEP和MEP的潜伏期和波幅的比较

组别	例数	SEP		MEP	
		潜伏期(ms)	波幅(μV)	潜伏期(ms)	波幅(μV)
假模组	5	7.50 ± 1.83	41.52 ± 5.55	7.41 ± 1.84	78.70 ± 11.42
模型对照组	5	21.18 ± 2.12 ^①	16.05 ± 1.88 ^①	14.24 ± 3.83 ^①	26.38 ± 3.95 ^①
水疗训练组	5	16.42 ± 2.93 ^{①②}	19.06 ± 4.40 ^①	9.24 ± 2.22 ^②	34.02 ± 6.52 ^①
减重平板训练组	5	14.66 ± 2.33 ^{①②}	22.69 ± 4.38 ^{①②}	8.53 ± 2.43 ^②	44.07 ± 8.44 ^{①②}
水中平板训练组	5	12.22 ± 1.99 ^{①②}	28.48 ± 2.89 ^{①②③}	8.41 ± 1.11 ^②	78.23 ± 10.49 ^{②③}

①与假模组比较 $P < 0.05$;②与对照组比较 $P < 0.05$;③与减重平板组比较 $P < 0.05$

2.2 行为学观察

2.2.1 BBB评分。通过对各组实验大鼠SCI后连续8周的BBB评分分析后发现,所有组别大鼠术前BBB评分均为21分。假模组术后BBB评分仍为21分;各造模组术后第1天大鼠后肢均呈弛缓性瘫痪,爬行动作完全依靠前肢运动完成,BBB评分为0分;

术后1周BBB评分为0—4分,各组比较差异无显著性意义($P > 0.05$);术后3周和术后5周,各训练组大鼠BBB评分与模型对照组相比均明显增高($P < 0.05$);术后7周,水中平板训练组和减重平板训练组与模型对照组及水疗训练组相比,分值均明显增高($P < 0.05$);术后9周,水中平板训练组与水疗训练组及减

重平板训练组相比,分值均显著增高($P<0.05$),而水疗训练组与减重平板训练组比较差异无显著性意义($P>0.05$)。见表2。

2.2.2 爬网格实验。术后9周,每组5只受试动物在5min内应用后肢爬行长约75cm、坡度45°的斜面网格坡道。假模组均能爬完全长并攀上平台;模型对

照组大鼠后肢无运动,只能依靠前肢拖行,该组均无法攀上平台;其他三组训练组大鼠均能不同程度地利用后肢运动攀爬并且部分大鼠能用后肢支撑爬行。结果水疗训练组有1只攀上平台;减重平板训练组有2只攀上平台;水中平板训练组有2只攀上平台。

图1 大鼠皮质体感诱发电位(SEP)

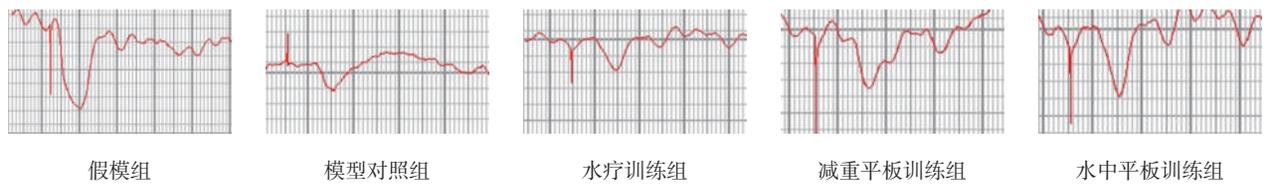


图2 大鼠运动诱发电位(MEP)

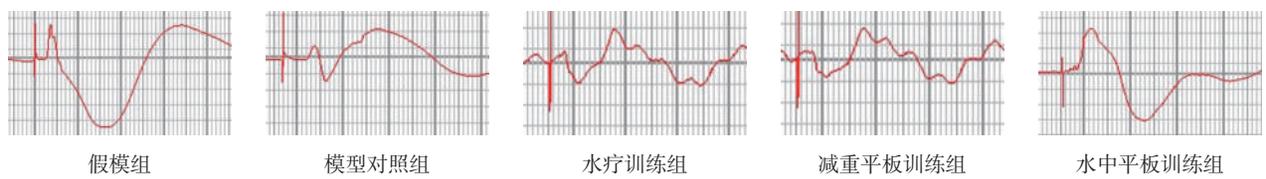


表2 脊髓损伤后各组BBB评分随时间变化情况

($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	第1天	第1周	第3周	第5周	第7周	第9周
假模组	5	21.00 ± 0.00	21.00 ± 0.00	21.00 ± 0.00	21.00 ± 0.00	21.00 ± 0.00	21.00 ± 0.00
模型对照组	5	0	1.40 ± 1.14	5.00 ± 1.58	6.60 ± 1.14	7.00 ± 0.71	7.20 ± 1.30
水疗训练组	5	0	2.80 ± 0.84	8.20 ± 2.68 ^①	10.20 ± 2.77 ^①	11.50 ± 2.30 ^①	13.00 ± 1.87 ^①
减重平板训练组	5	0	3.20 ± 2.17	9.80 ± 1.92 ^①	12.00 ± 2.35 ^①	13.60 ± 1.52 ^{①②}	14.20 ± 1.48 ^①
水中平板训练组	5	0	2.80 ± 1.92	10.60 ± 2.88 ^①	12.80 ± 2.68 ^①	14.60 ± 1.52 ^{①②}	16.60 ± 1.14 ^{①②③}

①与对照组同时点相比 $P<0.05$;②与水疗训练组同时点相比 $P<0.05$;③与减重平板组同时点相比 $P<0.05$

3 讨论

SCI是常见的中枢神经系统致残性损伤之一,常造成患者不同程度的运动功能障碍,极大地降低患者的生存质量。恢复双下肢的步行能力是大多数SCI患者最迫切的需求之一。水中平板步行训练结合了减重步行训练和水疗的优点,可能有助于患者降低肌张力、缓解肌痉挛,更好地促进下肢运动功能的恢复,改善患者的步行姿势,提高步行能力。林海燕等^[5]将40只成年雄性SD大鼠制作成SCI模型后分别采用不同的康复训练方法,训练8周后采用BBB评分、爬网格试验进行大鼠后肢功能评定,并使用免疫组织化学方法检测大鼠脊髓中BDNF、NT-3的表达,认为水中平板训练可能通过影响BDNF及NT-3的表达增强SCI大鼠脊髓可塑性,促进后肢运动功能的恢复。丛芳等^[10]对11例外伤性不完全性SCI患

者进行水中平板步行训练等康复治疗,认为在常规康复治疗基础上进行水中平板步行训练可改善不完全性脊髓损伤患者的运动、感觉功能及生活自理能力。叶超群等^[11]报道了20例SCI患者进行水中步行训练的随机对照研究,发现实验组患者肌张力、ASIA运动评分及步行能力等的改善程度均明显优于对照组;Miyoshi等^[12]通过三维运动观察及肌电图检测发现,正常人使用机器人辅助的水中步态训练可保持髋、膝和足轨迹的角位移模式,使摆动期胫前肌和站立期股二头肌的肌电活动降低。本实验结果显示,SCI大鼠在术后9周时,水中平板训练组的BBB评分高于其余各组,且较少出现后肢痉挛;在爬网格实验中,水中平板训练组大鼠爬上平台的数量较多,且爬行速度也较快。

SEP是对神经系统自周围皮肤痛觉末梢至感觉

皮质的浅感觉上传导通路的功能进行客观检测的常用手段,是判断CNS受损后康复的良好预期指标,检查结果的重复性也较好^[13]。当机体脊髓发生损伤后,由于感觉及运动传导通路受损,通常会导致MEP及SEP潜伏期和波幅发生改变^[14-15]。SEP主要评价脊髓后索感觉传导功能,所以不能完全反映运动传导束功能状态;而MEP是直接兴奋大脑皮质运动区后,在脊髓中枢或外周神经肌肉记录的电位活动,它经脊髓内下行的锥体系和(或)锥体外系向下传导,较之SEP更为直接、客观地反映运动传导束的机能状态。NA Quraishi^[6]等对102位脊柱畸形的成人患者在接受脊柱手术的时候进行了术中神经电生理的监测,与手术后神经病学的相关检查做比较,并对这些数据做了统计分析。研究认为在脊柱畸形矫形手术中监测SEP及MEP等神经电生理数据是一项可行的方法,而且这些神经电生理数据对预后的判断与手术后神经病学的相关检查做比较,有将近100%的敏感度和84.3%的特异度。周红俊等^[17]分别按照脊髓损伤神经学分类国际标准与SEP检查结果将100例SCI患者分为完全性和不完全性损伤两组,并对两者进行比较,认为SEP是否出现完全性传导阻滞可作为判断脊髓是否为完全性损伤的一项客观有用的标准。本实验把两者联合起来评价SCI的恢复情况,用电生理技术多方面了解脊髓上行与下行两条通路的恢复程度,以评价各种训练方式在SCI后功能恢复中作用。本实验结果发现,各训练组的SEP、MEP的潜伏期和波幅较对照组均有不同程度的好转,其中水中平板训练组SEP、MEP的潜伏期与各造模组相比缩短最明显,其波幅与各造模组相比较增高最明显,波幅的变化情况同潜伏期变化情况基本一致。

4 结论

SCI大鼠经各种方法训练后,其运动功能均可得到一定的恢复,以水中平板训练较佳;在电生理检查中,水中平板训练组的SEP、MEP与对照组比较潜伏期明显缩短,波幅明显增高;提示水中平板步行训练能较好的促进SCI大鼠上行和下行两条传导通路的恢复,从而促进感觉和运动功能的恢复,达到步行功能恢复的目的。此外,本实验观察到水中平板步

行训练组与水疗训练组大鼠较少发生后肢痉挛,表明其对痉挛的预防及改善有一定的效果,但其具体疗效及机制,有待进一步的研究。

参考文献

- [1] 张纭,纪树荣,孙异临,等.胸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,2009,4(10):306—308.
- [2] 范晓华,纪树荣,周红俊,等.减重平板步行训练对完全性脊髓损伤患者下肢骨骼肌萎缩与步行能力的影响[J].中国康复理论与实践,2008,14(1):50—52.
- [3] 张志杰,刘春龙,冯亚男,等.温泉水疗对改善胸段不完全性脊髓损伤患者肌痉挛的疗效观察[J].中国康复理论与实践,2009,15(5):472—473.
- [4] 屠文展,姜穗,蒋松鹤,等.大鼠水中跑台[P].专利号ZL 2009 1 0095261.5
- [5] 林海燕,屠文展,陶涛涛,等.水中平板步行训练对脊髓损伤大鼠运动功能及脑源性神经营养因子、神经营养因子-3表达的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2010,32(12):36—38.
- [6] Young W. Spinal cord contusion models[J]. Progress in brain research, 2002, 137:231—255.
- [7] Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC, et al. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats[J]. J Neurotrauma, 1995, 12(1):16—21.
- [8] 包新民,舒斯云.大鼠脑立体定位图谱[M].第2版,北京:人民卫生出版社,1991.17—30.
- [9] 林栋,张学君,吴强,等.大鼠皮层诱发电位的实验方法探索[J].福建中医学院学报,2006,16(4):46—47.
- [10] 丛芳,周红俊,李建军,等.水中平板步行训练对脊髓损伤患者康复疗效的初步观察[J].中国康复理论与实践,2006,12(12):1021—1023.
- [11] 叶超群,纪树荣,孟伶,等.水中步行训练在脊髓损伤患者康复中的应用[J].中华物理医学与康复杂志,2005,27(4):221—223.
- [12] Miyoshi T, Hiramatsu K, Yamamoto S, et al. Robotic gait trainer in water: development of an underwater gait-training orthosis[J]. Disabil Rehabil, 2008, 30(2):81—87.
- [13] 胡晓晴,唐娜编译.体感诱发电位的基本原理[J].国外医学·物理医学与康复学分册,2005,25(2):53—55.
- [14] Wang CX, Nuttin BJ, Gybels JM, et al. Motor evoked potentials in a static load model of spinal cord injury in the rat[J]. Neurosurgery, 1993, 32(2):269—273.
- [15] Arunkumar MJ, Srinivasa Babu K, Chandry MJ, et al. Motor and somatosensory evoked potentials in a primate model of experimental spinal cord injury[J]. Neurol India, 2001, 49(3):219—224.
- [16] Quraishi NA, Lewis SJ, Kelleher MO, et al. Intraoperative multimodality monitoring in adult spinal deformity: analysis of a prospective series of one hundred two cases with independent evaluation[J]. Spine, 2009, 34(14):1504—1512.
- [17] 周红俊,汪家琼,刘根林,等.脊髓损伤完全与否与体感诱发电位的关系[J].中华物理医学与康复杂志,2002,24(3):160—161.