

# 电针对缺血性脑卒中大鼠运动功能CatWalk行为学的影响\*

姚建宁<sup>1</sup> 上官豪<sup>1</sup> 王 鲜<sup>1</sup> 郑 蕊<sup>1</sup> 柳维林<sup>1</sup> 黄 佳<sup>1</sup> 陶 静<sup>1</sup> 陈立典<sup>1,2</sup>

## 摘要

**目的:**研究电针对缺血性脑卒中大鼠运动功能CatWalk行为学相关参数的影响。

**方法:**采用改良线栓法制备大鼠大脑中动脉闭塞再灌注模型。雄性SD大鼠随机分成3组:假手术组、模型组、电针组。对模型组、电针组大鼠在电针干预前后进行神经行为学评分;同时在电针干预7d后,分别对3组大鼠进行CatWalk步态分析系统的行为学检测。来探讨电针治疗缺血性脑卒中大鼠运动功能的有效性,以及CatWalk步态分析系统可以作为评价电针改善运动功能的可行性。

**结果:**电针治疗7d后,电针组与模型组的神经行为学评分有显著性差异( $P < 0.05$ );而CatWalk步态分析系统结果显示从大鼠的运动速度、持续时间和每一只爪子的爪印面积、最大接触面积、最大压强、平均压强、步长等不同客观参数,显示了模型组与假手术组之间的差异( $P < 0.05$ ),以及电针组与模型组之间的差异。

**结论:**电针改善缺血性脑卒中大鼠运动功能CatWalk行为学,促进脑功能恢复。CatWalk步态分析系统可以精确、客观地反映出大鼠运动功能的变化,对于电针对大鼠行为学实验研究有重要意义。

**关键词** 电针;缺血性脑卒中;运动功能;CatWalk步态分析系统

中图分类号:R743.3, R245 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2016)-05-0499-06

**Effect of electroacupuncture on motor function analyzed by CatWalk gait system in cerebral ischemic rats/YAO Jianning, SHANGGUAN Hao, WANG Xian, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2016, 31(5): 499—504**

## Abstract

**Objective:** To study the effect of electroacupuncture (EA) treatment on the CatWalk behavior parameters relevant with the motor function in rats with ischemic stroke.

**Method:** Middle cerebral artery occlusion(MCAO)-reperfusion model was established by modified thread-occlusion method. Male SD rats were randomly divided into three groups: sham operation group, model group, and EA group. In the model group and EA group, we scored the neurobehavioral function before and after intervention. At 7d after intervention, three groups were given behavioral assessment using the CatWalk gait analysis system. We evaluated the effectiveness of the electroacupuncture and the feasibility of the CatWalk gait analysis system.

**Result:** For the neurobehavioral score, there was a significant difference between the EA group and the model group after 7d treatment( $P < 0.05$ ). The results from CatWalk gait analysis system showed the differences in motor speed, duration, each paw print area, the maximum contact area, the maximum intensity, mean intensity, stride length between the model group and the EA group or the sham group ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** The EA improves CatWalk behaviors of motor function and brain function in rats with ischemic stroke. The CatWalk gait analysis system could reflect the changes in motor function in rats accurately and ob-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2016.05.001

\*基金项目:国家自然科学基金资助项目(81273835);福建省医学创新课题资助计划(2012-CX-28)

1 福建中医药大学康复医学院,福州,350122; 2 通讯作者

作者简介:姚建宁,男,博士研究生; 收稿日期:2014-08-26

jectively, which has important significance for the research on the electroacupuncture effect on the behavior of rats.

**Author's address** College of Rehabilitation Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, 350122

**Key word** electroacupuncture; ischemic stroke; motor function; CatWalk gait analysis system

缺血性脑卒中是脑血管病事件中最常见的疾病,占85%—90%的比例<sup>[1]</sup>。据WHO公布资料显示,我国脑卒中后存活的患者中约70%—80%遗留有不同程度的功能障碍<sup>[2]</sup>。运动功能障碍是脑卒中患者最常见的表现。临床研究已证实针刺对于脑卒中患者运动功能的康复具有明确疗效<sup>[3]</sup>。本实验选取传统治疗脑卒中常用的“曲池”、“足三里”两穴研究缺血性脑卒中大鼠的运动功能。

动物行为学评价是对大鼠大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型的神经功能缺损和运动功能恢复情况进行评估的首要实验指标<sup>[4]</sup>。CatWalk是一种自动化的计算机辅助的步态分析技术,能够快速、客观地定量测量分析大量的动态和静态的步态参数。CatWalk最早应用于脊髓损伤模型的功能学评价<sup>[5]</sup>。目前该系统已经拓展应用于神经痛<sup>[6-7]</sup>、外周神经损伤<sup>[8]</sup>、脑损伤<sup>[9]</sup>等疾病及神经功能、神经再生领域的研究。最近几年才应用于脑缺血模型<sup>[10-11]</sup>。目前利用CatWalk系统对电针对缺血性脑卒中运动功能疗效的研究尚未见报道。因此,本实验通过观察电针对MCAO大鼠CatWalk行为学相关指标参数的影响,来评价针刺改善运动功能的疗效,为临床提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

健康SD大鼠,雄性,体质量(280±20)g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供(SCXK(沪)2007—0005),于福建中医药大学实验动物中心适应性喂养,饲养于SPF级动物实验室,模拟标准日夜系统,予以自由饮食及饮水。46只SD大鼠,随机分为假手术组12只及手术组34只,其中手术组在经ZeaLonga法<sup>[12]</sup>制备左侧大脑中动脉缺血模型2小时后,据神经行为学评分<sup>[12]</sup>将手术组随机分为模型组与电针组。而假手术组只分离左侧颈总、颈内、颈外动脉,不插线栓。神经行为学评估法:无神经损伤相

关症状为0分;大鼠右侧前爪呈屈曲为1分;大鼠自发性行走时向右侧转圈为2分;大鼠身体向右侧倾倒为3分;大鼠丧失意识无法自发行走为4分。0分及4分的大鼠为造模失败,不纳入实验。最终模型组12只,电针组12只。

### 1.2 主要仪器与试剂

CatWalk步态分析系统(以下简称CatWalk),该系统由测试设备、电脑主机和软件3部分组成,其中测试设备的核心是一块长1.3m的玻璃板。在黑暗的环境中(低于20流明),当动物在玻璃板上走过时接触到玻璃板,旁边的荧光照射进玻璃板,荧光就会从底部反射出足印的形状,并由位于通道下部的高速摄像机记录动物的足迹。记录分析软件为CatWalk XT 10.0由荷兰Noldus Information Technology公司生产。

激光多普勒血流检测仪(BIOPAC Systems, Goleta, CA, USA);G6850电针仪(上海医用电子仪器厂生产);华佗牌30号针灸针(苏州医疗用品厂生产);TTC试剂:2,3,5-氯化三苯基四氮唑(Sigma USA);10%水合氯醛(福建中医药大学中西医结合研究院)。

### 1.3 模型制备方法

实验大鼠术前24h禁食,不禁水。实验采用改良的ZeaLonga方法<sup>[12]</sup>,制备局灶性脑缺血动物模型,具体造模过程如下:使用10%水合氯醛(0.3ml/100g体重)经腹腔麻醉。大鼠先处于俯卧,矢状位剪开额顶部皮肤约2cm,暴露皮下筋膜,用浸满双氧水的棉签摩擦暴露的筋膜,直至暴露出颅骨前囟及左侧半颅骨。将激光多普勒血流仪的探头固定于前囟向左5mm,向后3mm定位点上,开始记录左侧大脑中动脉供血区域血流变化值,当所示数值平稳,开始制作MCAO模型:将大鼠轻放至仰卧位(注意探针)并固定,取颈部正中开口1.5—2cm,暴露分离颈总动脉(common carotid artery, CCA)、颈外动脉(external carotid artery, ECA)、颈内动脉(internal

carotid artery, ICA)。结扎CCA近心端及ECA,用微动脉夹夹闭远端ICA,在距CCA分叉处1.0cm处用显微剪刀剪一切口,采用直径为0.2mm尼龙线,头端涂上硅胶,使顶端直径约为0.22—0.25mm,自左侧CCA插入ICA至有少许阻力为止(自ECA与ICA分叉处起计算插入约18—22mm),线栓到达大脑中动脉分支处,此时LDF显示血流下降至基础值的20%—30%<sup>[13]</sup>,即为栓塞成功,再固定线栓,颈部伤口缝合。待缺血2h后回抽线栓至CCA分叉处,恢复再灌注,此时MCAO模型制备完成。假手术组只分离颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉,但不结扎、插线,稍后缝合伤口。手术结束后,所有动物放置于25℃室温环境下苏醒,保持正常饮水、饮食,直到动物恢复活动。

1.4 电针的干预过程

电针组大鼠在造模后第一天即开始电针干预。采用捆绑法固定,所有电针组大鼠取患侧“曲池”、“足三里”穴,穴位定位参考《实验针灸学》<sup>[14]</sup>。局部消毒后,用华佗牌30号0.5寸毫针,斜刺0.2—0.3cm,接G6805型电针仪,电压峰值6V,以大鼠肢体轻轻抖动为度,选用疏密波,频率1—20Hz,电针时间30min。电针干预时间为7d。假手术组及模型组同时以同样的方法固定30min,但不予电针刺激。

1.5 神经行为学及CatWalk行为学检测

46只SD雄性大鼠首先在实验前,进行CatWalk适应性训练1周,训练合格标准为:大鼠连续不停顿地通过通道至少3次<sup>[15—16]</sup>。大鼠在电针干预7d后,模型组和电针组先进行神经行为学评分;之后3组分别接受CatWalk系统步态分析。每只大鼠接受至少3次评估,每次必须连续地走完设定好的长度范围玻璃平板,整个实验过程在暗室环境中完成。CatWalk系统在识别并标记出每一个脚印后,将自动产生一系列步态参数,包括速度、持续时间、爪间宽度(base of support,BOS)、爪印面积、最大接触面积、平均压强、摆动速度、摆动时间、位相滞后等<sup>[9]</sup>。

1.6 统计学分析

实验数据采用统计软件SPSS 18.0处理,计量资料均以均数±标准差表示,两组间比较采用两独立样本t检验或Mann-Whitney U检验;多组均数间的比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用

LSD法。

2 结果

2.1 MCAO模型制备后第7天TTC染色结果

典型的TTC染色图片,可见正常组织为红色,而梗死灶不着色,显示为白色,证明MCAO模型造模成功。

2.2 神经行为学评分结果

模型组和电针组在缺血再灌注后2h时(未经电针干预),两组之间的评分差异无显著性( $P=0.660$ )。而在电针干预治疗7d后,电针组的神经行为学评分与模型组相比,差异有显著性意义( $P=0.001$ );揭示电针对MCAO大鼠的神经功能有改善作用。见表1。

2.3 CatWalk分析结果

2.3.1 各组大鼠运动速度及持续时间的结果分析:模型组大鼠运动速度较假手术组明显减慢( $P<0.05$ ),而持续时间增加( $P<0.05$ );电针治疗7d后,电针组与模型组比较:运动速度增加,持续时间减少,差异均有显著性意义( $P<0.05$ )。见表2。

2.3.2 各组大鼠步态静态参数的结果分析:模型组大鼠爪印面积(右前爪、右后爪)、最大接触面积(右前爪、右后爪)、最大压强(右前爪、右后爪)、平均压强(右前爪、右后爪、左前爪、左后爪)参数变化较假手术组比较均有明显降低( $P<0.05$ );电针治疗7d后,电针组大鼠爪印面积(右前爪、右后爪)、最大接触面积(右前爪、右后爪)、最大压强(右前爪、右后爪)、平均压强(右前爪、右后爪、左后爪)较模型组均有明显改善( $P<0.05$ );经电针治疗后左前爪的平均压强较模型组比较( $P=0.064$ ),提示电针仍有改善左前爪的平均压强作用的趋势。见表3。

2.3.3 各组大鼠步态动态参数的结果分析:由分析结果可见模型组大鼠的BOS(前爪)、步长(右前爪、右后爪、左前爪、左后爪)、摆动时间(左前爪)、摆动

表1 ZeaLonga神经行为学评分 ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别   | 例数 | 2h                     | 7d                     |
|------|----|------------------------|------------------------|
| 假手术组 | 12 | 0                      | 0                      |
| 模型组  | 12 | 1.67±0.14              | 1.42±0.15              |
| 电针组  | 12 | 1.75±0.13 <sup>①</sup> | 0.50±0.15 <sup>②</sup> |

①电针组与2h模型组比较 $P>0.05$ ;②电针组与7d模型组比较 $P<0.05$



速度(右后爪、左后爪)与假手术组比较差异显著( $P < 0.05$ )。经电针干预治疗7d后,电针组大鼠步长(右前爪、右后爪、左前爪、左后爪)、摆动速度(右后爪)增加,与模型组比较差异有显著性( $P < 0.05$ )。而两前爪间距离在模型组、电针组分别为( $3.15 \pm 0.11$ ) cm和( $3.33 \pm 0.12$ ) cm,两组比较 $P = 0.225$ ;两组的两后爪间距离及组间比较 $P$ 值依次为: $4.51 \pm 0.14$ 、 $4.76 \pm 0.16$ ,  $P = 0.258$ ,均无显著性差异。并且各组大鼠四爪单脚站立时间差异无显著性( $P > 0.05$ )。见表4。

**2.3.4 各组大鼠步态协调性参数的结果分析:**从位相滞后参数的结果分析得出:模型组大鼠同侧右前肢→右后肢的时间较假手术组明显缩短,差异具有显著性( $P < 0.05$ );电针治疗7d后,电针组大鼠右前肢→左后肢的时间及左前肢→左后肢的时间较模型组均有明显缩短,差异均有显著性意义( $P < 0.05$ )。

在步态模式中,AB步态模式所占比例最多,其次为CA、CB、RA步态模式。RB、AA两种步态模式在3组中均未出现。在行走支撑模式中,大鼠最常用的都是同时三只肢体着地,其次是四肢着地或两只对角线肢体着地;同侧的或前后的两只肢体着地及单只肢体着地的情况均比较少见。见表5。

表2 各组大鼠运动的速度和持续时间 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=12$ )

| 参数       | 假手术组         | 模型组                      | 电针组                       |
|----------|--------------|--------------------------|---------------------------|
| 速度(cm/s) | 12.254±0.642 | 7.934±0.642 <sup>①</sup> | 10.425±0.897 <sup>②</sup> |
| 持续时间(s)  | 3.148±0.166  | 5.126±0.406 <sup>①</sup> | 4.230±0.292 <sup>②</sup>  |

①模型组与假手术组比较 $P < 0.05$ ;②电针组与模型组比较 $P < 0.05$

表3 各组大鼠步态静态参数 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=12$ )

| 参数                       | 假手术组          | 模型组                        | 电针组                        |
|--------------------------|---------------|----------------------------|----------------------------|
| 爪印面积(cm <sup>2</sup> )   |               |                            |                            |
| 右前爪                      | 0.670±0.049   | 0.438±0.044 <sup>①</sup>   | 0.579±0.036 <sup>②</sup>   |
| 右后爪                      | 1.150±0.097   | 0.533±0.077 <sup>①</sup>   | 0.799±0.083 <sup>②</sup>   |
| 最大接触面积(cm <sup>2</sup> ) |               |                            |                            |
| 右前爪                      | 0.571±0.039   | 0.373±0.032 <sup>①</sup>   | 0.485±0.043 <sup>②</sup>   |
| 右后爪                      | 0.673±0.025   | 0.362±0.058 <sup>①</sup>   | 0.582±0.061 <sup>②</sup>   |
| 最大压强(a.u.)               |               |                            |                            |
| 右前爪                      | 251.283±0.565 | 245.296±1.287 <sup>①</sup> | 248.348±1.101 <sup>②</sup> |
| 右后爪                      | 252.707±0.363 | 246.800±1.137 <sup>①</sup> | 250.572±0.737 <sup>②</sup> |
| 平均压强(a.u.)               |               |                            |                            |
| 右前爪                      | 232.279±1.499 | 225.270±1.582 <sup>①</sup> | 229.028±0.701 <sup>②</sup> |
| 右后爪                      | 233.093±1.211 | 227.630±1.758 <sup>①</sup> | 231.196±0.698 <sup>②</sup> |
| 左前爪                      | 233.038±1.177 | 225.011±1.937 <sup>①</sup> | 228.947±1.235              |
| 左后爪                      | 232.279±1.499 | 223.369±2.282 <sup>①</sup> | 231.210±1.150 <sup>②</sup> |

①模型组与假手术组比较 $P < 0.05$ ;②电针组与模型组比较 $P < 0.05$

表4 各组大鼠步态动态参数 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=12$ )

| 参数         | 假手术组         | 模型组                       | 电针组                       |
|------------|--------------|---------------------------|---------------------------|
| BOS(cm)    |              |                           |                           |
| 前爪         | 3.663±0.103  | 3.150±0.106 <sup>①</sup>  | 3.334±0.124               |
| 后爪         | 5.147±0.296  | 4.507±0.140               | 4.757±0.158               |
| 步长(cm)     |              |                           |                           |
| 右前爪        | 6.381±0.460  | 4.541±0.257 <sup>①</sup>  | 5.637±0.197 <sup>②</sup>  |
| 右后爪        | 6.234±0.204  | 5.385±0.086 <sup>①</sup>  | 5.837±0.153 <sup>②</sup>  |
| 左前爪        | 6.205±0.290  | 5.192±0.139 <sup>①</sup>  | 5.829±0.239 <sup>②</sup>  |
| 左后爪        | 6.522±0.289  | 5.059±0.260 <sup>①</sup>  | 5.968±0.146 <sup>②</sup>  |
| 单脚站立时间(s)  |              |                           |                           |
| 右前爪        | 0.132±0.011  | 0.153±0.016               | 0.179±0.012               |
| 右后爪        | 0.102±0.004  | 0.126±0.011               | 0.105±0.009               |
| 左前爪        | 0.121±0.011  | 0.166±0.023               | 0.149±0.012               |
| 左后爪        | 0.097±0.008  | 0.114±0.009               | 0.116±0.011               |
| 摆动时间(s)    |              |                           |                           |
| 右前爪        | 0.143±0.012  | 0.174±0.018               | 0.158±0.011               |
| 右后爪        | 0.117±0.014  | 0.185±0.034               | 0.121±0.008               |
| 左前爪        | 0.132±0.011  | 0.184±0.016 <sup>①</sup>  | 0.171±0.011               |
| 左后爪        | 0.123±0.022  | 0.208±0.076               | 0.153±0.020               |
| 摆动速度(cm/s) |              |                           |                           |
| 右前爪        | 40.508±1.923 | 33.662±2.857              | 38.248±2.866              |
| 右后爪        | 56.129±3.400 | 40.831±3.356 <sup>①</sup> | 53.985±3.085 <sup>②</sup> |
| 左前爪        | 39.232±2.210 | 33.893±2.287              | 36.139±2.025              |
| 左后爪        | 57.479±2.821 | 44.676±2.937 <sup>①</sup> | 49.967±2.822              |

①模型组与假手术组比较 $P < 0.05$ ;②电针组与模型组比较 $P < 0.05$

表5 各组大鼠步态协调性参数 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=12$ )

| 参数        | 假手术组         | 模型组                       | 电针组                       |
|-----------|--------------|---------------------------|---------------------------|
| 位相滞后(%)   |              |                           |                           |
| 右前爪→左后爪   | 14.695±0.977 | 16.371±1.540              | 9.960±0.821 <sup>②</sup>  |
| 左前爪→右后爪   | 18.019±2.423 | 14.031±2.494              | 12.891±2.217              |
| 左后爪→右后爪   | 48.219±2.043 | 42.066±3.550              | 50.692±1.229              |
| 左前爪→右前爪   | 46.205±2.014 | 50.725±2.023              | 49.696±1.572              |
| 右前爪→右后爪   | 66.024±1.561 | 57.005±2.174 <sup>①</sup> | 60.820±1.730              |
| 左前爪→左后爪   | 63.453±1.393 | 67.318±2.584              | 59.268±1.958 <sup>②</sup> |
| 步态模式(%)   |              |                           |                           |
| CA        | 19.444       | 10.784                    | 10.938                    |
| CB        | 9.259        | 6.863                     | 12.500                    |
| RA        | 5.926        | 0.000                     | 2.083                     |
| AB        | 65.370       | 82.353                    | 74.479                    |
| 行走支撑模式(%) |              |                           |                           |
| Single    | 0.802        | 1.173                     | 0.616                     |
| Diagonal  | 18.352       | 15.635                    | 22.857                    |
| Girdle    | 0.855        | 0.926                     | 0.013                     |
| Lateral   | 0.818        | 0.740                     | 1.822                     |
| Three     | 45.290       | 51.907                    | 46.081                    |
| Four      | 33.883       | 29.619                    | 28.611                    |

①模型组与假手术组比较 $P < 0.05$ ;②电针组与模型组比较 $P < 0.05$

注:步态模式:CA:从右前肢→左前肢→右后肢→左后肢;CB:从左前肢→右前肢→左后肢→右后肢;RA:从右前肢→左前肢→左后肢→右后肢;RB:从左前肢→右前肢→右后肢→左后肢;AA:从右前肢→右后肢→左前肢→左后肢;AB:从左前肢→右后肢→右前肢→左后肢;行走支撑模式:Single:一只肢体着地;Diagonal:两只对角线的肢体着地;Girdle:两只前后的肢体着地;Lateral:两只同侧的肢体着地;Three:三只肢体着地;Four:四肢肢体着地

### 3 讨论

#### 3.1 电针“曲池”、“足三里”减少缺血性脑卒中神经功能缺损

大量文献报道或临床研究表明,电针治疗对脑卒中患者的康复具有明确的疗效<sup>[17-18]</sup>。脑卒中属于中医学“中风”范畴,团队前期在脑卒中病的针灸古文献梳理中发现,阳明经之合穴“曲池”、“足三里”穴分别是上肢和下肢最常用的两个穴位。并且在长期的脑卒中病临床康复研究中发现两穴组合对于脑卒中患者的功能恢复有着良好的疗效。薛茜等<sup>[18]</sup>发现电针阳明经穴位可改善脑卒中偏瘫患者运动功能。公维军等<sup>[19]</sup>发现电针能有效改善脑卒中后偏瘫痉挛期患者的肌张力,在提高患者运动功能方面有较明显的疗效。因此,电针“曲池”、“足三里”作为治疗脑卒中后运动功能障碍的一种有效措施具有重要的临床意义和扎实的基础研究。本实验研究也发现,电针可以有效改善大鼠缺血再灌注损伤后的 Zealunga 评分,并减少脑梗死面积。但是电针改善运动功能的具体指标尚缺乏系统性的客观评价。

#### 3.2 电针“曲池”、“足三里”对缺血性脑卒中运动功能的影响

目前,用于评估大鼠缺血再灌注损伤后的感觉运动功能,常用的神经行为学评估方法有: ZeaLunga 评分<sup>[12]</sup>、mNSS 评分<sup>[20]</sup>、Bederson 评分法<sup>[21]</sup>。在评分过程中,评分结果受测试者的主观性影响较大,不同的测试者可能会使测试结果出现不同差异。为了客观地评价大鼠运动功能,近年采用 CatWalk 步态评估系统通过对不同步态的动态和静态参数的采集,则可清晰、客观地反映出大鼠的整体运动情况和大鼠四肢爪子每一肢体的具体运动情况,以及大鼠运动的协调性。该系统最早主要应用于大鼠脊髓损伤后,肢体运动功能方面的研究<sup>[5]</sup>,随后逐渐用于其他类型的神经系统疾病模型实验。本研究首次采用 CatWalk 步态分析系统评估电针治疗缺血再灌注损伤后运动功能的疗效。

本实验研究应用了 CatWalk 步态分析系统对假手术组、模型组及电针组大鼠的步态参数做了一个较全面的分析。对各组大鼠运动速度和持续时间变化的研究发现,模型组大鼠运动速度较假手术组明显降低;该研究结果与 Wang 等<sup>[10]</sup>的研究结果不一

致,其 MCAO 模型大鼠运动速度没有变化,而与汤浩等<sup>[22]</sup>学者研究的结果一致, MCAO 大鼠运动速度降低。此外,本实验研究发现电针治疗 MCAO 大鼠后,大鼠运动速度增加,持续时间减少,从而运动功能得到改善。

#### 3.3 电针对缺血性脑卒中 CatWalk 静态和动态参数的影响

本研究发现 MCAO 后大鼠损伤对侧的爪印面积、最大接触面积、最大压强和四肢的平均压强明显减少。说明大脑中动脉缺血再灌注后,造成大脑中动脉分布的相应运动皮质区域损伤,可能影响了大鼠的承重功能及肢体的跖面使用,与汤浩等<sup>[22]</sup>研究相一致。经过电针治疗后,大鼠损伤对侧的爪印面积、最大接触面积、最大压强和平均压强(右前肢、右后肢、左后肢)得到改善,而左前肢平均压强( $P=0.064$ )无显著性变化,但有改善趋势。说明大鼠在电针治疗后,四肢的力量均有所增加,导致其爪印面积、接触面积、压强增加。

脑缺血再灌注后大鼠四肢步长明显减小,电针治疗后步长有明显恢复。各组大鼠中单脚站立时间无显著性差异,考虑可能与大鼠的步态模式及行走支撑模式的不同有关。模型组四肢摆动时间延长,左前肢明显;电针治疗后四肢摆动时间有减少趋势。

#### 3.4 电针对缺血性脑卒中大鼠步态协调性参数的影响

位相滞后及步态模式是能反映大鼠运动协调性的参数<sup>[23]</sup>。位相滞后是用于测定两只爪子之间的相对时间关系。初始着地的爪子(定义为着地爪, termed target paw)相对于另一只爪子(定义为迈步爪, termed anchor paw)迈出一步的时间在一个步循环中占的比率称为位相滞后,位相滞后的计算方式可以是同前肢或同后肢,也可以是同左侧或右侧之间,或者是对角线的两爪之间<sup>[10]</sup>。

MCAO 后模型组大鼠同为后侧的左后肢→右后肢的时间有缩短,且同为右侧的右前肢→右后肢的时间较假手术组明显缩短。由于手术侧为左侧,右侧肢体偏瘫受损,提示左侧代偿性地增加迈步速度,以减少右侧肢体支撑的时间。电针治疗后,右前肢→左后肢及左前肢→左后肢的时间明显缩短,可能与正常步态模式 AB、CB、RA 中为一连贯的动作

有关,电针作用后使步态模式改变。步态模式参数也是反映协调性的参数,与张润等<sup>[24]</sup>研究结果相似,均是以AB交替型步态模式为主,是最常见的步态模式。在大鼠造模后及电针治疗后,仍然占主导地位。其次为CA、CB、RA步态模式,RB、AA两种步态模式在实验研究中均未出现。行走支撑模式参数结果表明,各组大鼠均是以三只肢体着地支撑为主,来保持运动过程中身体的协调平衡。

综上所述,本实验研究从CatWalk各个参数来看,其总体结果和神经行为学评分具有一致性,缺血再灌注后大鼠的运动功能明显出现功能障碍,电针干预治疗7d后则运动功能得到改善。不同的是,神经行为学评分只是从整体上粗略地反映出运动功能的情况,而CatWalk步态分析系统则客观有效地记录下实验动物的各项参数,并对大量参数进行精确计算、分类,在一定程度上保证了客观性,同时也对各项参数做出了定量的分析,是一种系统、客观、可靠的行为学研究方法,可综合分析模型的多种行为学特征。通过电针对缺血性脑卒中大鼠运动功能CatWalk行为学相关参数的探讨,进一步明确了电针的疗效,及CatWalk步态分析系统可以作为评价电针改善运动功能的可行性及科学性,为今后的电针对大鼠行为学的实验性研究提供参考。

## 参考文献

- [1] Donnan GA, Fisher M, Macleod M, et al. Stroke[J]. Lancet, 2008, 371(9624):1612—1623.
- [2] 姚滔涛,王宁华,陈卓铭.脑卒中运动功能训练的循证医学研究[J].中国康复医学杂志,2010,25(6):565—570.
- [3] Zhang GC, Fu WB, Xu NG, et al. Meta analysis of the curative effect of acupuncture on post-stroke depression[J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2012, 32(1):6—11.
- [4] Vandeputte C, Taymans JM, Casteels C, et al. Automated quantitative gait analysis in animal models of movement disorders[J]. BMC Neuroscience, 2010, 11(1):92.
- [5] Hamers FP, Lankhorst AJ, van Laar TJ, et al. Automated quantitative gait analysis during overground locomotion in the rat: its application to spinal cord contusion and transection injuries[J]. Journal of Neurotrauma, 2001, 18(2):187—201.
- [6] Vrinten DH, Hamers FF. 'CatWalk' automated quantitative gait analysis as a novel method to assess mechanical allodynia in the rat; a comparison with von Frey testing[J]. Pain, 2003, 102(1—2):203—209.
- [7] Gabriel AF, Marcus MA, Honig WM, et al. The CatWalk method: a detailed analysis of behavioral changes after acute inflammatory pain in the rat[J]. J Neurosci Methods, 2007, 163(1):9—16.
- [8] Bozkurt A, Scheffél J, Brook GA, et al. Aspects of static and dynamic motor function in peripheral nerve regeneration: SSI and CatWalk gait analysis[J]. Behav Brain Res, 2011, 219(1):55—62.
- [9] Neumann M, Wang Y, Kim S, et al. Assessing gait impairment following experimental traumatic brain injury in mice[J]. J Neurosci Methods, 2009, 176(1):34—44.
- [10] Wang Y, Bontempi B, Hong SM, et al. A comprehensive analysis of gait impairment after experimental stroke and the therapeutic effect of environmental enrichment in rats[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2008, 28(12):1936—1950.
- [11] Encarnacion A, Horie N, Keren-Gill H, et al. Long-term behavioral assessment of function in an experimental model for ischemic stroke[J]. J Neurosci Methods, 2011, 196(2):247—257.
- [12] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1):84—91.
- [13] 吴劲松.激光多普勒血流测定法在局部脑血流量监测中的应用[J].国外医学·脑血管疾病分册,1999,7(3):162—164.
- [14] 李忠仁.实验针灸学[M].北京:中国中医药出版社,2007:255.
- [15] Deumens R, Jaken RJ, Marcus MA, et al. The CatWalk gait analysis in assessment of both dynamic and static gait changes after adult rat sciatic nerve resection[J]. J Neurosci Methods, 2007, 164(1):120—130.
- [16] Miyagi M, Ishikawa T, Kamoda H, et al. Assessment of gait in a rat model of myofascial inflammation using the CatWalk system[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2011, 36(21):1760—1764.
- [17] 刘英,邹尚军.电针治疗对早期康复急性脑卒中患者运动功能的影响[J].中国康复理论与实践,2007,13(10):969—970.
- [18] 薛茜,熊国星,霍国敏,等.电针阳明经穴位对偏瘫患者运动功能康复的影响[J].中国康复理论与实践,2007,13(11):1056—1057.
- [19] 公维军,张通,崔利华,等.电针足三里改善脑卒中偏瘫痉挛期患者下肢运动功能的临床研究[J].中国康复理论与实践,2008,14(11):1057—1058.
- [20] Lu M, Chen J, Lu D, et al. Global test statistics for treatment effect of stroke and traumatic brain injury in rats with administration of bone marrow stromal cells[J]. J Neurosci Methods, 2003, 128(1—2):183—190.
- [21] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination[J]. stroke, 1986, 17(3):472—476.
- [22] 汤浩,项永生,郭阳,等.CatWalk步态分析系统分析大鼠大脑中动脉阻塞模型的行为学特征[J].中华神经医学杂志,2011,10(12):1243—1249.
- [23] Hamers FP, Koopmans GC, Joosten EA. CatWalk-assisted gait analysis in the assessment of spinal cord injury[J]. J Neurotrauma, 2006, 23(3—4):537—548.
- [24] 张润,秦琨,法志强,等.CatWalk系统评估脐带间充质干细胞移植治疗大鼠脑损伤后运动功能的恢复情况[J].南方医科大学学报,2012,32(4):449—455.