

• 基础研究 •

半定量和定性方法评价截瘫大鼠后肢运动功能恢复的比较

张纭^{1,2}, 纪树荣^{1,2}, 范晓华^{1,2}, 周红俊^{1,2}, 刘根林^{1,2}

[摘要] 目的 了解胸髓完全横断大鼠后肢运动功能恢复的特点;探讨评价截瘫大鼠后肢运动恢复的最佳方法。方法 26只成年 Wistar大鼠随机分为假手术组、脊髓横断损伤组和减重平板步行训练组,分别于术前和术后 1 d、7 d、15 d、30 d 和 45 d,采用 BBB 开放空间运动评分和 ACOS(average combined scores)神经行为学评定观察大鼠后肢运动功能的恢复情况,并比较其异同点。结果 术后 1 d 大鼠后肢呈弛缓性瘫痪, BBB 和 ACOS 评分均为 0 分;30 d 和 45 d 时与损伤组比较,训练组大鼠后肢运动功能恢复明显, BBB 和 ACOS 评分均存在显著性差异。术后 15 d 与 30 d、45 d, 30 d 与 45 d 相比,损伤组和训练组内 ACOS 评分均存在显著性差异。损伤组与训练组 BBB 和 ACOS 评分的 Pearson 相关系数分别为 0.991 与 0.987。结论 胸髓完全横断大鼠仍存在部分后肢运动功能自发恢复的征象,减重平板步行训练能促进截瘫大鼠后肢运动功能的恢复。半定量和定性方法的评价结果均能较好地体现损伤后运动功能的恢复情况,两者相关性高。其中半定量方法能更敏感地反映不同时间点不同组别间运动恢复的细微变化。

[关键词] 脊髓损伤;运动功能;康复;评定;大鼠

Semiquantitative and Qualitative Assessment of Functional Recovery after Spinal Cord Injury in Adult Rats ZHANG Ying, JI Shurong, FAN Xiao-hua, et al. Faculty of Rehabilitation of Capital Medical University, Beijing Charity Hospital, Beijing 100068, China

Abstract: **Objective** To investigate the characteristic of hindlimb movement recovery in adult rats after spinal cord injury and how to assess it. **Methods** 26 adult female rats were randomized in sham, completely midthoracic spinal cord transected (at T₈ level) or body weight supported treadmill training (BWSTT) groups. Their motor function were assessed with Basso, Beattie, Bresnahan locomotor rating scale for open field (BBB scale) and average combined scores (ACOS). **Results** None of the rats exhibited hindlimb movements after operation. 30 d and 45 d after operation, BBB and ACOS score of rats in BWSTT group showed better than that in SCI group. There were significant differences in ACOS score among 15 d, 30 d and 45 d after operation in both group. **Conclusion** Partial spontaneous hindlimb functional recovery can be found in chronic adult spinal cord injured rats and BWSTT would facilitate the recovery. Both semiquantitative and qualitative assessment were strongly correlated with locomotor recovery, but the semiquantitative assessment shows more sensitive.

Key words: spinal cord injury; locomotor function; rehabilitation; assessment; rats

[中图分类号] R651.2 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2006)11-0957-03

[本文著录格式] 张纭,纪树荣,范晓华,等.半定量和定性方法评价截瘫大鼠后肢运动功能恢复的比较[J].中国康复理论与实践,2006,12(11):957-959.

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是严重致残性疾病,目前尚无有效措施实现功能的完全恢复。因此,利用动物模型进行相关研究,对指导临床治疗具有重要意义。对 SCI 后动物运动功能的评估是研究的先决条件。本文分别采用半定量和定性的神经行为学评定方法,探讨评价脊髓完全横断大鼠后肢运动恢复的最佳方法。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组 成年健康雌性 Wistar 大鼠 26 只,体重 250~300 g。随机分为 3 组:假手术组(Sham 组, n=6)、脊髓横断损伤组(SCI 组, n=10)和减重平板步行训练组(body weight supported treadmill training,

BWSTT 组, n=10)。

1.2 模型制备和术后处理 戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔麻醉,俯卧固定,自背部正中切开 T₇、椎体水平的皮肤,切除 T₈ 椎板,暴露脊髓。Sham 组不做任何处理,直接逐层缝合切口。SCI 组和 BWSTT 组参照 Roy^[1]和王春婷^[2]建立脊髓横断模型方法,在 T₈ 椎体水平,用尖锐刀片自背侧至腹侧快速分层横断脊髓,同时造成 2 mm 左右的缺损,再抬起脊髓两断端确认横断的完全性,压迫止血后,逐层缝合。术后单笼饲养,青霉素腹腔注射 3 d 预防感染,每天辅助排尿、排便 2~4 次。

1.3 减重平板步行训练 BWSTT 组于脊髓横断损伤 5 d 后开始减重平板步行训练^[3],每天 1 次,每次 30 min,每周 5 次。开始减重量为大鼠体重的 50%,跑台速度设为 7~10.5 m/min,以后减重量和速度依大鼠的能力进行调整。

1.4 行为学观察 分别于术前和术后 1 d、7 d、15 d、

作者单位:1.首都医科大学康复医学院,北京市 100068;2.北京博爱医院,北京市 100068。作者简介:张纭(1974-),女,江苏无锡市人,博士研究生,主要研究方向:骨科康复。通讯作者:纪树荣。

30 d和 45 d,由双人在单盲下根据 BBB(Basso, Beattie 和 Bresnahan)开放空间运动评分^[4-5]和均值结合量表 (average combined scores, ACOS)^[6]对各组动物进行行为学评定。评定前排空大鼠膀胱。

1.5 统计学方法 实验结果用 ($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 11.5 统计软件进行单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果

2.1 一般情况 Sham组 6只大鼠全部存活,SCI组和 BWSTT组各死亡 2只大鼠,死亡原因可能为麻醉意外、上升性脊髓损伤和泌尿系感染等。于术后 45 d对存活的 SCI组和 BWSTT组大鼠行脊髓再次横断,并灌注取材,脊髓连续切片,行 HE 染色,均证实为脊髓完全横断大鼠。

2.2 BBB评分 所有组别术前 BBB评分均为 21 分。Sham组术后 BBB评分无变化,仍为 21 分。SCI组和 BWSTT组大鼠术后 1 d后肢呈弛缓性瘫痪,爬行运动完全靠前肢带动,BBB评分均为 0 分;7 d与 15 d时,

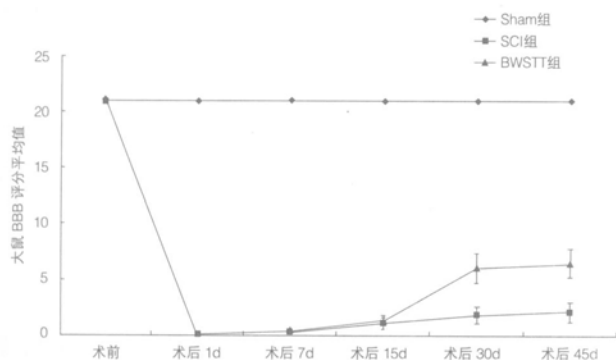


图 1 各组大鼠 BBB评分

2.4 BBB评分和 ACOS评分的相关性 经 Spearman 相关检验分析,两种评分标准在 SCI组和 BWSTT组的 Pearson相关系数分别为 0.991 与 0.987 ($P = 0.00$), BBB评分和 ACOS评分高度相关。

3 讨论

本研究发现,随时间延长,第 10 胸髓完全横断后未接受任何干预措施的部分 SCI组大鼠,仍存在后肢运动功能自发恢复的征象。这种自发恢复的机制与损伤部位以下腰骶段脊髓内保留的步行低级控制中枢——中枢模式发生器 (central pattern generator, CPG)有关。脊髓步行 CPG具有独立于脑等脊髓上位神经中枢的控制,自动产生稳定振荡,维持运动样神经

部分大鼠出现后肢单或双关节的运动恢复,BBB评分为 0~3 分,但损伤组和治疗组间无显著性差异 (分别为 $P = 0.968$, $P = 0.974$);30 d与 45 d时,大鼠出现明显的后肢运动功能恢复,BWSTT组大鼠 BBB评分均高于 SCI组 (分别为 $P = 0.049$, $P = 0.043$),但所有动物 BBB评分均未超过 10 分,尚不能达到频繁或持续负重的步行能力。

组内比较,两组大鼠术后各时间点的 BBB评分和术前比较均有显著性差异 ($P < 0.05$)。治疗组术后 1~7 d与 30~45 d比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。见图 1。

2.3 ACOS评分 Sham组术后出现一过性的活动减少,但 ACOS评分变化无显著性差异。SCI组和 BWSTT组大鼠 ACOS评分术前无显著性差异 ($P > 0.05$);术后 30 d与 45 d时,两组间存在显著性差异 ($P = 0.044$, $P = 0.034$)。

组内比较,两组 ACOS评分在术后 15 d、30 d、45 d 两两比较均有显著性差异 (均 $P < 0.05$)。见图 2。

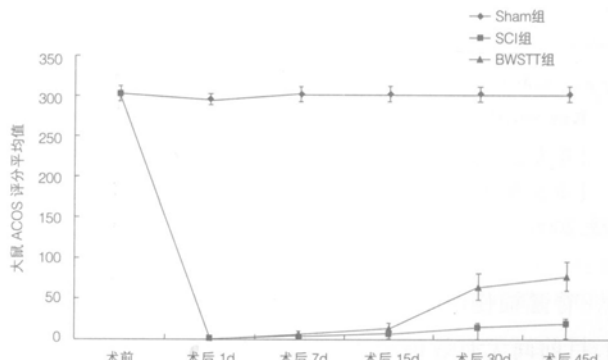


图 2 各组大鼠 ACOS评分

活动的特性^[7]。

本研究表明,BWSTT能促进 SCI后运动功能的恢复。原因可能在于步行训练能促进脊髓内步行 CPG 神经元的自我调整和轴突出芽,增强损伤部位以下未受损脊髓环路训练依赖性的神经可塑性,从而产生治疗效果^[7-8]。

SCI后完整的动物神经行为学评价应包括感觉、运动、反射功能的综合评价。Gale于 1985 年建立了一套涉及上述 3 项功能的神经功能综合评分 (combined behavioural score, CBS)标准^[9],但由于其标准值范围跨度大,记分呈跳跃分布,精确性不足;并且所需设备较复杂,人为因素较多,难以推广。后曾尝试应用包括

运动记分、伸趾、触地反应、回缩反射、翻正反射、斜板试验和游泳试验等 8 项内容在内的改良 CBS 法^[10]对研究动物进行评分,虽然弥补了单一运动功能评价的不足,但是由于动物对感觉检测应答的局限性,变异较大。另外,运动记分也过于粗略,不够精细。我们发现,截瘫大鼠后肢运动功能自发恢复的现象与其反射功能密切相关,初步推测 SCI 后早期回缩反射的存在可用于预测自发恢复现象的出现(另文报道)。

于 1995 年正式提出的 BBB 评分体系专门用于评价大鼠胸髓损伤后后肢功能恢复情况,是目前应用最广的定性评价方法。评分与以往累积求和不同,呈渐进性排列,每一分数都有一独立标准,可较好地反映大鼠 SCI 后运动功能恢复的细节及规律^[4-5]。傅强等对大鼠急性脊髓压迫损伤模型进行了斜板试验、Tarlov 评分和 BBB 评分法等不同运动功能评价方法的研究后发现, BBB 评分具有明显优势,无需特殊设备,相关性最高,能体现损伤后大鼠后肢运动功能恢复过程中每一阶段的所有行为变化,且与脊髓损伤的程度高度相符,可做为评价大鼠 SCI 模型神经功能恢复研究的标准评分方案^[11]。

但 Guertin 认为,包括 BBB 法在内的定性方法主要是为存在白质纤维残留的不完全脊髓损伤而设计,对于评价完全性脊髓横断损伤后的自发恢复不够敏感,故于 2005 年提出了半定量评价的 ACOS 评分方法^[6]。本研究同时应用了定性和半定量这两种评价方法对胸髓完全横断的大鼠进行了研究。从我们的实验结果来看,术后 45 d 时大鼠 BBB 评分均值最高,但 SCI 组仅为 2.125 分, BWSTT 组也仅为 6.5 分;而一般认为,小于 4 分为无运动功能恢复。我们认为这与 BBB 评分过分关注神经功能的细微恢复,如前后肢的协调、爪的位置、有无伸趾、尾的下垂或上翘等有关。对于完全性 SCI 大鼠来说,这些功能是难以恢复的。所以 BBB 评分虽然可以揭示术后 30 d、45 d 时治疗组和损伤组间存在显著性差异,但对于两组内术后 15 d、30 d、45 d 各时间点间的比较时,却未发现存在显著性差异。半定量 ACOS 评分对神经功能恢复的后期差异较敏感,在组间和组内都可发现显著性差异,能从量上体现功能的细小恢复变化。相关分析也证实, ACOS 评分与 BBB 评分高度相关。

较之定性方法的简单快速,该半定量方法不足之处是较繁琐,评分较复杂。我们建议,在进行胸髓完全横断损伤大鼠动物模型研究时,可将 BBB 评分作为常规观察指标,以初步判定干预组与损伤组间的差异;而半定量方法能敏感反映不同时间点不同组别间的微小差别,可视实验需要酌情应用。需要强调的是,虽然两种方法都存在设备简单、无创伤和可重复性好的优点,但仍存在人为因素,评分也都有一定的主观成份,需对观察人员进行相关培训,以尽量减少人为因素对实验结果的影响。

[参考文献]

- [1] Roy RR, Hodgson JA, Lauret SD, et al. Chronic spinal cord-injured cats: surgical procedures and management[J]. Lab Anim Sci, 1992, 42: 335 - 343.
- [2] 汪春婷,游思维,刘惠玲,等.成年大鼠 4 种脊髓全横断方法的比较[J].第四军医大学学报, 2002, 23(11): 965 - 968.
- [3] Roy RR, Talmadge RJ, Hodgson JA, et al. Training effects on soleus of cats spinal cord transected (T₁₂₋₁₃) as adults[J]. Muscle Nerve, 1998, 21: 63 - 71.
- [4] 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.
- [5] Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC, et al. MASCIS evaluation of open field locomotor scores: effects of experience and teamwork on reliability. Multicenter animal spinal cord injury study[J]. J Neurotrauma, 1996, 13(7): 343 - 359.
- [6] Guertin PA. Semiquantitative assessment of hindlimb movement recovery without intervention in adult paraplegic mice[J]. Spinal Cord, 2005, 43(3): 162 - 166.
- [7] Dietz V. Spinal cord pattern generators for locomotion[J]. Clin Neurophysiol, 2003, 114: 1379 - 1389.
- [8] Marder E, Rehm KJ. Development of central pattern generating circuits[J]. Curr Opin Neurobiol, 2005, 15(1): 86 - 93.
- [9] Gale K, Kerasidis H, Wrathall JR. Spinal cord contusion in the rat: behavioral analysis of functional neurologic impairment[J]. Exp Neurol, 1985, 88(1): 123 - 131.
- [10] Hara M, Takayasu M, Watanabe K, et al. Protein kinase inhibition by fasudil hydrochloride promotes neurological recovery after spinal cord injury in rats[J]. J Neurosurg, 2000, 93(1 Suppl): S94 - S101.
- [11] 傅强,侯铁胜,鲁凯伍,等.大鼠胸段脊髓损伤后后肢运动功能不同评价标准的比较研究[J].中国脊柱脊髓杂志, 2001, 11(5): 278 - 281.

(收稿日期: 2006-07-26)