

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.19.004

不同训练方法对大鼠骨折后脊髓功能恢复的影响*

卫永鲲¹ 马慧玲² 欧阳振¹ 杨立峰¹ 雷涛³

(1 西安交通大学医学院附属 3201 医院骨科 陕西 汉中 723000; 2 汉中职业技术学院医学系 陕西 汉中 723000;

3 空军军医大学军事生物医学工程学系 陕西 西安 720000)

摘要 目的:分析不同训练方法对大鼠骨折后脊髓功能恢复的影响。**方法:**随机选取 40 只 Sprague Dawley (SD)大鼠,建立骨折合并脊髓损伤模型,另取 10 只大鼠作为正常组。将建模成功的 SD 大鼠随机分为模型组、减重平板训练组、游泳训练组和转笼训练组。分别于损伤前和损伤后对大鼠的运动功能进行评测;术后 35 d 对大鼠的运动诱发电位((motor evoked potentials, MEP)、脑源性神经生长因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、神经元特异性烯醇化酶 (neuron-specific enolase, NSE) 和脊髓组织 Cleaved Caspase-3 表达量、肌纤维横截面积和直径进行评测。**结果:**损伤后,手术组大鼠运动功能评分均降低;经不同方式训练后,大鼠的运动功能评分均上升,14 d~35 d 数据差异有统计学意义($P<0.05$)。术后 35 d,与模型组相比,训练组大鼠运动诱发电位潜伏期均缩短,波幅、BDNF 和 NSE 表达量、肌纤维横截面积和直径均增大,Cleaved Caspase-3 表达量均降低,14 d~35 d 数据差异有统计学意义($P<0.05$)。其中,减重平板训练组各指标检测结果最优。**结论:**三种训练方式均可促进大鼠骨折后脊髓功能恢复,其中减重平板训练组恢复效果>游泳训练组>转笼训练组。

关键词:训练方法;脊髓功能;运动诱发电位;脑源性神经生长因子;神经元特异性烯醇化酶

中图分类号:R-33;R651.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)19-3621-06

Effects of Different Training Methods on the Recovery of Spinal Cord Function after Fracture in Rats*

WEI Yong-kun¹, MA Hui-ling², OUYANG Zhen¹, YANG Li-feng¹, LEI Tao³

(1 Department of Orthopaedics, 3201 Hospital, Xi'an Jiaotong University Medical College, Hanzhong, Shaanxi, 723000, China;

2 Department of Medicine, Hanzhong Vocational and Technical College, Hanzhong, Shaanxi, 723000, China;

3 Department of Military Biomedical Engineering, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 720000, China)

ABSTRACT Objective: To analyze the Effects of different training methods on the recovery of spinal cord function after fracture in rats. **Methods:** Forty SD rats were randomly selected to establish the model of fracture combined with spinal cord injury, and another 10 rats were selected as the normal group. SD rats were randomly divided into model group, weight-loss training group, swimming training group and rotating cage training group. The motor function of rats was evaluated before and after injury. The motor evoked potential (MEP), brain-derived nerve growth factor (BDNF), neuron specific enolase (NSE) and cleaved caspase-3 expression in spinal cord tissue, cross-sectional area and diameter of muscle fibers were measured 35 days after operation. **Results:** After the injury, the motor function scores of the rats in the operation group decreased. After training in different ways, the score of motor function of rats increased, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). On the 35th day after operation, compared with the model group, the latency of motor evoked potential in the training group was shortened, the amplitude, the expression of BDNF and NSE, the cross-sectional area and diameter of muscle fiber were increased, and the expression of cleaved caspase-3 was decreased, and the difference between the 14 d and 35 d was statistically significant ($P<0.05$). Among them, the test results of each index of the weight-loss plate training group are the best. **Conclusion:** Three training methods can promote the recovery of spinal cord function after fracture in rats, among which the recovery effect of weight-loss plate training group > swimming training group > rotating cage training group.

Key words: Training method; Spinal cord function; Motor evoked potential; Brain derived nerve growth factor; Neuron specific enolase

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R651.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)19-3621-06

前言

脊髓损伤(Spinal cord injury, SCI)是一种严重致残性伤害,主要由交通、工矿事故及运动意外所造成的严重中枢神经系统

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(51907197);陕西省科技厅基金项目(2019SF-168)

作者简介:卫永鲲(1972-),男,硕士,主任医师,研究方向:骨科方面相关研究,电话:13772809549,E-mail:weiyongkun197201@163.com

(收稿日期:2020-03-05 接受日期:2020-03-31)

损伤^[1]。根据相关报告,SCI 具有高发生率、高致残率,但其实际发病率比统计数据更高,因部分数据不包括入院前死亡的 30%^[2,3]。该损伤发生常伴随着感觉、运动、神经的功能的障碍以及相关并发症的出现,对患者的日常生活及健康具有严重不良影响,也给家庭和社会造成巨大的经济负担^[4]。目前国内外研究主要集中在对脊髓损伤研究或骨折的研究,很少研究关注骨折合并脊髓损伤,因此,以骨折合并脊髓损伤动物模型研究不同训练方法对大鼠骨折后脊髓功能恢复的影响是十分必要的。相关研究结果显示,大鼠发生 SCI 后,会出现神经元大量丢失,从而导致神经功能障碍或丧失^[5]。运动训练对中枢神经再生环境的改善具有积极作用,SCI 大鼠通过各种运动训练,BDNF、神经生长导向因子 Slit2、人生长相关蛋白的表达规律均有显著变化,脊髓功能和骨折恢复效果得到不同程度的提高^[6]。运动训练常用方法为减重训练、游泳训练和转笼训练等,不同运动训练因训练强度和训练时间不同,提高效果也不一致。本研究建立了骨折合并 SCI 模型,主要研究三种训练方法对大鼠脊髓功能恢复的影响,报告如下。

1 材料和方法

1.1 主要试剂和仪器

水合氯醛(购自国药集团化学试剂有限公司);苏木精-伊红(H&E)染色试剂盒(购自迈基生物-中国);Caspase-3 免疫组化试剂盒(购自江苏莱生物科技有限公司);大鼠脑源性神经生长因子(BDNF)和神经元特异性烯醇化酶(NSE)免疫组化试剂盒(购自上海安研生物有限公司)。

1.2 实验动物选择

选取健康雄性 SD 大鼠 48 只,体重 290~320 g,SPF 级,购自陕西省医学实验动物中心。分笼饲养,自由饮水,环℃,相对湿度控制在 50%~55%,昼夜 12 h 循环照明,通风良好。环境温度控制在 25±2℃。

1.3 骨折合并脊髓损伤大鼠模型建立

大鼠采用 10%水合氯醛(300 mg/kg)行腹腔注射麻醉后,去除背部、左后肢外侧以及膝关节前侧毛发并消毒手术区域,取俯卧位,纵行切开大鼠背部 T10 处皮肤及皮下组织,分离皮下组织,剥离棘突旁肌肉,切除 T10 棘突,用咬骨钳咬去椎板,暴露脊髓硬膜,然后用重约 30 g 小球顺导管从 3 cm 高度自由落体打击脊髓。逐层缝合 SD 大鼠肌层、皮下组织、皮肤。然后采用单纯骨折组股骨骨折模型的方法制造股骨骨折。造模结束后各大鼠皮下注射 8×10⁴ U 青霉素预防感染^[7]。

1.4 实验动物分组及给药方法

将造模成功且成活的 40 只大鼠随机分成 A 组(模型组,不做任何训练)、B 组(减重平板训练)、C 组(游泳训练)和 D 组(转笼训练),每组 10 只。造模一周后开始训练,训练频率:3 次/d,每周训练 5 d,每次 15 min,连续 4 w。减重平板训练采用专用跑步机及自制减重装置,跑步速度为 0.8 km/h,加重量为体重的 20%~40%(随着时间逐渐减少减重量,第 1 w 加重 40%,第 2 w 减重 35%,第 3 w 减重 30%,第 4 w 减重 20%)^[8]。水中训练即游泳训练,将 75 cm×50 cm×45 cm 的游泳池内灌入深 35 cm 的自来水,水温保持在 33℃~36℃。转笼训练采用长 30 cm、直径 60 cm 的圆形滚筒笼,一端有手摇柄,训练时

将转速控制在 5 r/min。另取 10 只大鼠作为正常组,不做任何处理。

1.5 正常观察指标及评价方法

1.5.1 运动功能评定 分别于损伤前、损伤后 1 d、7 d、14 d、21 d、28 d 和 35 d 对大鼠的运动功能进行评测。

1.5.2 斜坡试验 将大鼠置于同一光滑斜坡上,将模板由 0°轻轻抬起,每次升高 5°,以大鼠能在斜坡上维持 5 s 的最大角度值为其功能值,并进行记录^[9]。

1.5.3 运动功能评分 根据 Basso-Beattie-Bresnahan(BBB)评分标准对大鼠后肢的运动功能进行评分。将大鼠放置于一开阔平地上,让其自由爬行,观察大鼠后肢活动情况,包括后肢关节活动、负重情况、步态、尾巴状态、协调动作和精细动作等。此评分从 0~21 分共有 22 个等级,完全瘫痪为 0 分,完全正常为 21 分,等级越高,后肢运动功能越好。评定前需排空膀胱,评定过程中保持环境安静。由两名熟悉 BBB 评分标准的非本研究人员进行评估,每次 5 min 左右,取平均值^[10]。

1.5.4 改良 Tarlov 评分 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:后肢不能活动和负重为 0 分;后肢可进行轻微活动但不能负重计 1 分;后肢活动频繁或有力,但不能负重和步行计 2 分;后肢可支持体重,仅有轻度障碍,明显无力为 3 分;可负重和行走,仅有情况障碍,明显无力为 4 分;行走功能正常为 5 级^[11]。

1.5.5 MEP 检查 末次运动功能评定结束后,将大鼠麻醉后固定在手术台上,常规显露颅骨,用颅钻在大鼠前肢皮层代表区对应颅骨处钻孔,暴露大脑皮层运动区。把接受电极放在大脑皮层运动区,将刺激电极放在大鼠脊髓伤点上^[12]。将肌电图针插入股四头肌内,另一端插入诱发电位仪的 input 孔。地线放于刺激电极与接受电极之间,插在臀大肌或股四头肌内。刺激参数:刺激频率 4 Hz,波宽 0.2 ms,强度 1.8~2.0 m,单方波电脉冲,不需要平均。打印记录运动诱发电位的潜伏期和波幅的波形曲线,每次测试至少重复刺激 2 次以获得稳定的波形。

1.5.6 BDNF 和 NSE 表达^[13] 诱发电位检查结束后,将大鼠处死,取损伤部位脊髓组织,经常规固定、脱水、石蜡包埋、切片后,按试剂盒说明书方法对脑源性神经生长因子(BDNF)和神经元特异性烯醇化酶(NSE)表达进行免疫组化染色,检测脊髓组织神经纤维恢复情况。取 5 个不同高倍视野,胞浆呈浅黄色、棕黄、棕褐色细胞为阳性,记录阳性细胞数百分比,取平均值。

1.5.7 脊髓组织 Cleaved Caspase-3 表达水平 采用免疫组化法进行检测。上述小鼠每只取 5 张距损伤中心 0.5 cm 内的切片,常规脱蜡,3%过氧化氢处理、高温修复、血清封闭、一抗 4℃孵育过夜(浓度为 1:50,阴性对照组用 PBS 代替),隔日采用二抗室温孵育 30 min,然后二氨基联苯胺(DAB)显色,甘油封片后,于倒置显微镜下观察切片上棕色部位(阳性表达位置)及颜色强弱(棕色),用 Image-Pro Plus 5.0 对阳性表达区平均光密度进行分析。以上各步骤间均用 PBS 漂洗 3 次,每次 5 min^[14]。

1.5.8 肌纤维横截面积和直径 取任意一侧腓肠肌,经常规固定、脱水、石蜡包埋、切片后,每只大鼠随机选取 5 张切片,作 HE 染色,在光学显微镜下观察形态学改变并拍照。采用 Image-Pro Plus 5.0 图像分析软件机选每张切片的肌纤维横截面积和直径^[15]。

1.6 统计学方法

采用 SPSS16.0 统计学软件对数据进行统计学分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示, 以重复测量和 one-way ANOVA 作差异显著性分析。 $P < 0.05$ 为方差有统计学意义。

2 结果

2.1 运动功能评定

2.1.1 斜板试验 损伤前、损伤后各组大鼠斜板运动功能评分

结果显示, 四个手术组大鼠损伤后斜板运动功能评分均较损伤前降低, 降低幅度无统计学意义 ($P > 0.05$)。损伤后, 三个训练组大鼠分别给予减重平板训练、游泳训练和转笼训练, 并于训练不同时间后对大鼠的斜板运动功能进行评分, 结果显示, 与模型组相比, 三个训练组大鼠各时间点斜板运动功能评分均呈上升趋势, 且上升幅度均大于模型组, 14 d~35 d 数据差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。三个训练组中, 减重平板训练组斜板功能运动评分优于游泳训练组和转笼训练组。

表 1 斜板试验观察结果 (n=10, $\bar{x} \pm s$)
Table 1 Observation results of inclined plate test (n=10, $\bar{x} \pm s$)

Groups	Group A(°)	Group B(°)	Group C(°)	Group D(°)	F	P
Before injury	42.5 $\pm$ 2.6	44.0 $\pm$ 3.2	43.0 $\pm$ 2.6	43.5 $\pm$ 2.4	0.556	0.641
1 d	14.0 $\pm$ 2.1	15.5 $\pm$ 1.6	15.0 $\pm$ 2.4	16.0 $\pm$ 2.1	1.721	0.180
7 d	18.0 $\pm$ 2.6	20.0 $\pm$ 2.4	18.5 $\pm$ 2.4	18.5 $\pm$ 2.4	1.256	0.304
14 d	19.5 $\pm$ 2.6	29.5 $\pm$ 5.0	28.0 $\pm$ 2.6	22.5 $\pm$ 3.5	16.861	<0.05
21 d	22.5 $\pm$ 2.6	30.5 $\pm$ 2.8	32.0 $\pm$ 3.5	31.0 $\pm$ 3.9	17.922	<0.05
28 d	25.5 $\pm$ 2.8	35.5 $\pm$ 1.6	34.0 $\pm$ 2.1	34.5 $\pm$ 2.8	37.120	<0.05
35 d	28.5 $\pm$ 2.4	38.0 $\pm$ 3.5	36.0 $\pm$ 2.1	37.5 $\pm$ 2.6	26.491	<0.05

2.1.2 Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) 运动功能评分 损伤前、损伤后各组大鼠 BBB 运动功能评分结果显示, 四个手术组大鼠损伤后 BBB 运动功能评分均降低至 0, 各组评分无统计学意义 ($P > 0.05$)。损伤后, 三个训练组大鼠分别给予减重平板训练、游泳训练和转笼训练, 并于训练不同时间后对大鼠的 BBB

运动功能进行评分, 结果显示, 与模型组相比, 三个训练组大鼠各时间点 BBB 运动功能评分均呈上升趋势, 且上升幅度均大于模型组, 14 d~35 d 数据差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。三个训练组中, 减重平板训练组 BBB 功能运动评分优于游泳训练组和转笼训练组。

表 2 BBB 运动功能评分结果 (n=10, $\bar{x} \pm s$)
Table 2 BBB motor function score results (n=10, $\bar{x} \pm s$)

Groups	Group A(score)	Group B(score)	Group C(score)	Group D(score)	F	P
Before injury	21.0 $\pm$ 0.0	21.0 $\pm$ 0.0	21.0 $\pm$ 0.0	21.0 $\pm$ 0.0	/	/
1 d	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	/	/
7 d	1.4 $\pm$ 0.5	2.3 $\pm$ 0.7	2.0 $\pm$ 0.8	1.7 $\pm$ 0.7	3.253	0.033
14 d	6.3 $\pm$ 0.7	10.4 $\pm$ 1.1	9.4 $\pm$ 0.8	6.7 $\pm$ 0.7	58.272	<0.05
21 d	8.0 $\pm$ 0.8	12.5 $\pm$ 0.8	11.3 $\pm$ 1.1	9.1 $\pm$ 1.1	44.946	<0.05
28 d	10.2 $\pm$ 1.0	13.7 $\pm$ 1.1	13.4 $\pm$ 1.2	10.9 $\pm$ 1.4	22.751	<0.05
35 d	12.6 $\pm$ 0.7	16.7 $\pm$ 1.1	16.6 $\pm$ 0.8	13.4 $\pm$ 1.0	55.894	<0.05

2.1.3 改良 Tarlov 评分 损伤前、损伤后各组大鼠改良 Tarlov 评分结果显示, 四个手术组大鼠损伤后改良 Tarlov 评分均降低至 0, 各组评分无统计学意义 ($P > 0.05$)。损伤后, 三个训练组大鼠分别给予减重平板训练、游泳训练和转笼训练, 并于训练不同时间后对大鼠的进行改良 Tarlov 评分, 结果显示, 与模型组相比, 三个训练组大鼠各时间点改良 Tarlov 评分均呈上升趋势, 且上升幅度均大于模型组, 14 d~35 d 数据差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。三个训练组中, 1 d~21 d 减重平板训练组改良 Tarlov 评分优于游泳训练组和转笼训练组; 28 d 和 35 d 减重平板训练组和游泳组数据差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 运动诱发电位 (MEP) 检查

损伤后 35 d 各组大鼠运动功能评分结束后对大鼠的运动诱发电位进行检查, 结果显示, 与正常组相比, 四个手术组大鼠的潜伏期均延长, 波幅均降低, 各组结果差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与模型组相比, 三个训练组大鼠的潜伏期均缩短, 波幅均增大, 各组结果差异均统计学意义 ($P < 0.05$)。三个训练组检测结果相比, 减重平板训练组大鼠的潜伏期缩短和波幅增大幅度最大, 转笼训练组大鼠的潜伏期缩短和波幅增大幅度最小。

2.3 BDNF 和 NSE 表达

运动诱发电位检测结束后对大鼠的 BDNF 和 NSE 进行评

测,结果显示,与模型组相比,三个训练组大鼠的 BDNF 细胞数和 NSE 细胞数均增大,各组结果差异均有统计学意义($P<0.05$)。三个训练组检测结果相比,减重平板训练组大鼠的 BDNF 细胞数和 NSE 细胞数增大幅度最大,转笼训练组大鼠的 BDNF 细胞数和 NSE 细胞数增大幅度最小,即说明减重平板训练效果优于游泳训练和转笼训练。

表 3 改良 Tarlov 评分结果($n=10, \bar{x} \pm s$)
Table 3 Improved Tarlov score results($n=10, \bar{x} \pm s$)

Groups	Group A(score)	Group B(score)	Group C(score)	Group D(score)	F	P
Before injury	5.0± 0.0	5.0± 0.0	5.0± 0.0	5.0± 0.0	/	/
1 d	0.0± 0.0	0.0± 0.0	0.0± 0.0	0.0± 0.0	/	/
7 d	0.7± 0.5	1.3± 0.7	1.0± 0.7	1.0± 0.7	1.521	0.226
14 d	1.4± 0.7	2.1± 0.7	1.9± 0.9	2.0± 0.7	4.240	<0.05
21 d	2.1± 0.6	3.0± 0.8	2.9± 0.9	2.7± 0.7	2.940	<0.05
28 d	2.6± 0.8	3.4± 0.8	3.4± 0.8	3.1± 0.6	4.513	<0.05
35 d	2.8± 0.6	3.5± 0.8	3.5± 0.8	3.1± 0.6	4.466	<0.05

表 4 运动诱发电位检查结果($n=10, \bar{x} \pm s$)
Table 4 Examination results of motor evoked potentials($n=10, \bar{x} \pm s$)

Groups	Incubation period(ms)	Amplitude(μ v)
A group	14.91± 0.82	0.36± 0.05
B group	8.41± 0.81	1.03± 0.14
C group	8.58± 0.52	1.00± 0.14
D group	10.50± 1.26	0.87± 0.08
E group	5.51± 0.28	1.47± 0.08
F	184.522	144.834
P	<0.05	<0.05

表 5 BDNF 和 NSE 表达结果($n=10, \bar{x} \pm s$)
Table 5 BDNF and NSE expression results($n=10, \bar{x} \pm s$)

Groups	BDNF cell number	NSE cell number
Group A	2.9± 0.7	2.3± 0.3
Group B	4.5± 1.1	4.0± 0.6
Group C	4.0± 0.9	3.5± 0.4
Group D	3.5± 0.4	2.8± 0.4
F	28.331	7.637
P	<0.05	<0.05

2.4 脊髓组织 Cleaved Caspase-3 表达水平

采用 IPP 软件对损伤部位脊髓组织中 Cleaved Caspase-3 表达水平进行灰度分析,结果显示,与模型组相比,三个训练组大鼠的平均光密度均降低,各组结果差异均有统计学意义($P<0.05$)。三个训练组检测结果相比,减重平板训练组大鼠的

Cleaved Caspase-3 检测平均光密度和游泳训练训练组大鼠的降低幅度较大,两组数据差异无统计学意义($P>0.05$),即说明减重平板训练组 Cleaved Caspase-3 表达量与游泳训练训练组一致,均低于转笼训练组。

表 6 Cleaved Caspase-3 表达水平检查结果($n=10, \bar{x} \pm s$)
Table 6 Cleaved Caspase-3 expression level check results($n=10, \bar{x} \pm s$)

Groups	Group A(point)	Group B(point)	Group C(point)	Group D(point)	F	P
Expression level	0.45± 0.07	0.22± 0.04	0.21± 0.04	0.30± 0.03	54.403	<0.05

2.5 肌纤维横截面积和直径

各组大鼠肌纤维横截面积和直径检测结果显示,与正常组相比,四个手术组大鼠的肌纤维横截面积和肌纤维直径均降低,各组数据差异均有统计学意义($P<0.05$)。与模型组相比,三个训练组大鼠纤维横截面积和肌纤维直径均增大,各组数据

差异均有统计学意义($P<0.05$)。三个训练组相比,减重平板训练组大鼠纤维横截面积和肌纤维直径增大幅度最大,转笼训练大鼠纤维横截面积和肌纤维直径增大幅度最小,即减重平板训练更有助于肌纤维的恢复。

表 7 肌纤维横截面积和直径检查结果($n=10, \bar{x} \pm s$)

Table 7 Examination results of muscle fiber cross-sectional area and diameter($n=10, \bar{x} \pm s$)

Groups	Muscle fiber cross-sectional area(μm^2)	Muscle fiber diameter(μm)
Group A	32.51 $\pm$ 2.88	6.11 $\pm$ 0.27
Group B	51.22 $\pm$ 3.03	8.15 $\pm$ 0.25
Group C	40.64 $\pm$ 2.90	7.01 $\pm$ 0.30
Group D	36.56 $\pm$ 3.55	6.19 $\pm$ 0.37
Group E	55.23 $\pm$ 3.03	8.47 $\pm$ 0.38
F	98.064	116.872
P	<0.05	<0.05

3 讨论

脊髓损伤是临床上比较常见的中枢神经系统损伤,目前其急性期治疗方式仍以手术治疗为主。通常术后患者仍存在损伤平面以下的肢体无法正常活动、神经功能障碍等问题^[16]。脊髓损伤或骨折合并脊髓损伤后脊髓功能的恢复是研究的重点,临床研究发现,骨折或脊髓损伤后,康复运动对损伤后脊髓功能的恢复有重要的作用,可帮助骨折及脊髓损伤患者恢复患者的部分功能,预防术后并发症发生^[17,18]。因此,运动训练是临床上促进骨折愈合和脊髓功能恢复的重要措施,通过动物实验研究运动训练对骨折愈合或脊髓功能恢复的影响及恢复机制是临床前研究常用的手段^[19,20]。目前研究采用较多的训练方法为减重跑台训练、游泳训练和自发性转笼训练。减重跑台训练是目前被广泛使用的训练方法,该方法不同于常规康复训练如单纯的肌力、关节活动等,可模拟人类的步行方式,通过激活 SCI 大鼠脊髓神经元,促进其后脊髓结构恢复,减轻疼痛^[21,22]。游泳是一种特殊的减重训练方式,水的浮力可提供体重支撑,让 SCI 大鼠在自然状态下有组织有计划的游泳。相关研究表明:游泳训练对 SCI 大鼠运动功能恢复有很大作用,有助于脊髓损伤后大鼠运动功能的恢复。转笼训练是一种主动运动,无需外界刺激,一般可分为单纯性转笼运动和食物诱惑转笼运动,可激活神经元的活动恢复,促进轴突再生以及神经营养因子生成,有助于促进 SCI 的治愈。

BDNF 参与感觉、运动神经元的发育分化与生长再生,运动训练后 SCI 大鼠脊髓内 BDNF 的表达较对照组明显增加,表明运动训练可促进脊髓内 BDNF 的表达,调控轴突生长/再生,从而促进 SCI 运动功能恢复^[23,24]。NSE 可作为神经元损伤的敏感性标志物应用于临床研究,其绝大部分在中枢神经系统的灰质内,损伤的神经细胞变性坏死,得以释放的 NS 可通过血-脊髓屏障浸入外周血,研究发现证实,运动训练可促进脊髓内 NSE 的表达^[25,26]。

细胞凋亡是受一系列连续基因调控的程序化反应,Cas-

pase-3 是细胞凋亡蛋白级联反应的必经之路,当细胞发生凋亡时,Caspase-3 被活化成 Cleaved Caspase-3,它的活化是凋亡进入不可逆阶段的标志^[27-29]。临床及研究证实各种不同类型的脊髓损伤引起的继发性神经元死亡中广泛存在着细胞凋亡,运动训练可促进神经元的再生,但是运动训练是否降低神经元的死亡尚未可知^[30]。本研究对训练后脊髓组织中 Cleaved Caspase-3 的表达进行了检测,结果显示,训练组大鼠的 Cleaved Caspase-3 表达量较模型组较低,说明运动训练可通过降低神经元死亡速率,提升脊髓功能。另外,研究发现,运动功能的恢复与神经肌肉功能恢复相关,本研究也对各组大鼠的肌纤维横截面积和直径进行了检测,结果显示,训练组大鼠的纤维横截面积和直径恢复速度大于模型组,说明通过运动可加快神经肌肉功能恢复,进而加快神经和运动功能的恢复。

综上,三种训练方式均可促进对大鼠骨折后脊髓功能恢复,其中减重平板训练组恢复效果>游泳训练组>转笼训练组。

参考文献(References)

- [1] Chen X, Cui J, Zhai X, et al. Inhalation of Hydrogen of Different Concentrations Ameliorates Spinal Cord Injury in Mice by Protecting Spinal Cord Neurons from Apoptosis, Oxidative Injury and Mitochondrial Structure Damages [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47(1): 176-190
- [2] Wang S, Mohammed S, Ali J. Spine and spinal cord injury [M]// The Surgical Critical Care Handbook: Guidelines for Care of the Surgical Patient in the ICU, 2017
- [3] Sun G, Li G, Li D, et al. hucMSC derived exosomes promote functional recovery in spinal cord injury mice via attenuating inflammation[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2018, 1(89): 194-204
- [4] Wang Q, He Y, Zhao Y, et al. A Thermosensitive heparin-polyoxamer hydrogel bridge aFGF to treat spinal cord injury [J]. Acs Appl Mater Interfaces, 2017, 9(8): 6725-6745
- [5] Rosenzweig ES, Brock JH, Lu P, et al. Restorative effects of human neural stem cell grafts on the primate spinal cord[J]. Nature medicine, 2018, 24(4): 484-490

- [6] Kao T, Shumsky JS, Murray M, et al. Exercise induces cortical plasticity after neonatal spinal cord injury in the rat[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(23): 7549-7557
- [7] Wang HL, Sheng WB, Xu T, et al. Preparation of a femoral fracture model combined with spinal cord injury in Sprague-Dawley rats[J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2014, 18 (18): 2818-2823
- [8] 王刚, 刘宏建, 李振伟, 等. 早期康复干预对脊髓损伤患者术后神经功能及运动功能的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2019, 36(2): 349-352
- [9] Zheng WD, Zhou FL, Liu J. Ginkgo lactone B's protective effects on spinal cord injury and its relationship with STAT1 signaling[J]. *Biomedical Research*, 2017, 28(22): 9830-9834
- [10] Abdanipour A, Moradi F, Fakheri F, et al. The effect of lithium chloride on BDNF, NT3, and their receptor mRNA levels in the spinal contusion rat models[J]. *Neurol Res*, 2019, 41(6): 577-583
- [11] Li Y, Gu R, Zhu Q, et al. Changes of spinal edema and expression of Aquaporin 4 in methylprednisolone-treated rats with spinal cord injury[J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2018, 48(4): 453-459
- [12] Bunday KL, Urbin MA, Perez MA. Potentiating paired corticospinal-motoneuronal plasticity after spinal cord injury [J]. *Brain Stimul*, 2018, 11(5): 1083-1092
- [13] Chung HJ, Chung WH, Lee JH, et al. Expression of neurotrophic factors in injured spinal cord after transplantation of human-umbilical cord blood stem cells in rats[J]. *J Vet Sci*, 2016, 17(1): 97-102
- [14] Luo HY, Zeng ZW, Yu XB, et al. Effect of electroacupuncture with different frequencies on hindlimb locomotor function and expression of LC3, Beclin 1 and cleaved Caspase-3 proteins in spinal cord injury rats[J]. *Zhen Ci Yan Jiu*, 2019, 44(9): 625-631
- [15] 丁晓晶, 王瑾, 王红星, 等. 不同训练方式对脊髓损伤大鼠运动功能及神经肌肉形态学的影响[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2011, 33 (10): 725-730
- [16] Liu CB, Yang DG, Meng QR, et al. Dynamic correlation of diffusion tensor imaging and neurological function scores in beagles with spinal cord injury [J]. *Neural Regeneration Research*, 2018, 13 (5): 877-886
- [17] van der Scheer JW, Martin Ginis KA, Ditor DS. Effects of exercise on fitness and health of adults with spinal cord injury [J]. *Neurology*, 2017, 89(7): 736-745
- [18] Gollie JM. Fatigability during volitional walking in incomplete spinal cord injury: Cardiorespiratory and motor performance considerations [J]. *Neural Regen Res*, 2018, 13(5): 786-790
- [19] Cratsenberg KA, Deitrick CE, Harrington TK, et al. Effectiveness of Exercise Programs for Management of Shoulder Pain in Manual Wheelchair Users With Spinal Cord Injury [J]. *J Neurol Phys Ther*, 2015, 39(4): 197-203
- [20] Nash MS, Groah SL, Gater DR Jr, et al. Identification and Management of Cardiometabolic Risk after Spinal Cord Injury: Clinical Practice Guideline for Health Care Providers [J]. *Top Spinal Cord Inj Rehabil*, 2018, 24(4): 379-423
- [21] Sliwinski C, Nees TA, Puttagunta R, et al. Sensorimotor Activity Partially Ameliorates Pain and Reduces Nociceptive Fiber Density in the Chronically Injured Spinal Cord [J]. *J Neurotrauma*, 2018, 35 (18): 2222-2238
- [22] Takiguchi R, Tran VT, Yamamoto SI. Validation of the Novel Body Weight Support System Using Pneumatic Artificial Muscle: A Case Study [J]. *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering*, 2019, 68(2): 6411-647
- [23] Marchionne F, Krupka AJ, Lemay MA. Effects of chronic intrathecal infusion of BDNF on interneuronal activity in a large animal model of spinal cord injury[C]// 2017 IEEE Signal Processing in Medicine and Biology Symposium (SPMB), IEEE, 2018
- [24] Kim YM, Jin JJ, Lee SJ, et al. Treadmill exercise with bone marrow stromal cells transplantation facilitates neuroprotective effect through BDNF-ERK1/2 pathway in spinal cord injury rats[J]. *J Exercise Rehabilitation*, 2018, 14(3): 335-340
- [25] Du W, Li H, Sun J, et al. The Prognostic Value of Serum Neuron Specific Enolase (NSE) and S100B Level in Patients of Acute Spinal Cord Injury [J]. *Med Sci Monitor: Internat Med J Experiment Clin Res*, 2018, 24(30): 4510-4515
- [26] Wang Y, Liu CF, Wang QP, et al. Establishment of a Spinal Cord Injury Model in Adult Rats by an Electrocircuit-Controlled Impacting Device and its Pathological Observations [J]. *Cell Biochemistry Biophysics*, 2014, 69(2): 333-340
- [27] Qi L, Jiang-Hua M, Ge-Liang H, et al. MiR-34a Inhibits Spinal Cord Injury and Blocks Spinal Cord Neuron Apoptosis by Activating Phatidylinositol 3-kinase (PI3K)/AKT Pathway Through Targeting CD47[J]. *Curr Neurovasc Res*, 2019, 16(4): 373-381
- [28] Hu JZ, Wang XK, Cao Y, et al. Tetramethylpyrazine facilitates functional recovery after spinal cord injury by inhibiting MMP2, MMP9, and vascular endothelial cell apoptosis[J]. *Curr Neurovasc Res*, 2017, 14(2): 110-116
- [29] Wang H, Liu C, Mei X, et al. Berberine attenuated pro-inflammatory factors and protect against neuronal damage via triggering oligodendrocyte autophagy in spinal cord injury [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(58): 98312-98321
- [30] Warner FM, Cragg JJ, Steeves JD, et al. Clinical Trials and Spinal Cord Injury: Challenges and Therapeutic Interventions[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(58): 98312-98321