Дата публикации: 01.12.2023
DOI: 10.24412/2588-0500-2023_07_04_25
УДК 616.832-001.6:57.081.4

Publication date: 01.12.2023
DOI: 10.24412/2588-0500-2023_07_04_25
UDC 616.832-001.6:57.081.4

ТЕСТЫ ОЦЕНКИ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ И ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПРИ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В.Ф. Репс[1,2]

[1]Пятигорский государственный научно-исследовательский институт курортологии – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии Федерального медико-биологического агентства», г. Пятигорск, Россия

[2]Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пятигорск, Россия

Аннотация. В литературном аналитическом обзоре рассматриваются разновидности поведенческих тестов для оценки дефицита локомоторной функции при повреждении спинного мозга в эксперименте. Отличие тестов связано не только с различными параметрами и системами оценок двигательной активности при моделировании травмы спинного мозга, но и уровнем и степенью его повреждения. Согласно проведенному аналитическому обзору наиболее надежные и валидные – это BBB (Бассо, Битти и Бреснахан) тест, тест «Горизонтальная лестница» и балансовый тест.

Ключевые слова: повреждение спинного мозга, эксперимент, поведенческие тесты, локомоторная функция, BBB тест.

TESTS FOR ASSESSING BEHAVIORAL AND MOTOR ACTIVITY IN SPINAL CORD INJURY IN AN EXPERIMENT

V.F. Reps[1,2]

[1]Pyatigorsk State Research Institute of Balneology – branch of the FSBI “Federal Scientific and Clinical Center for Medical Rehabilitation and Balneology of the FMBA”, Pyatigorsk, Russia

[2]Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia

Annotation. The literature analytical review examines the types of behavioral tests for assessing the locomotor function deficit in spinal cord injury in an experiment. The difference between the tests is due not only to the different parameters and systems of motor activity assessments in modeling spinal cord injury, but also to the level and degree of its damage. According to the analytical review, the most reliable and valid ones are the Basso, Beattie and Bresnahan scale, the Horizontal Ladder test and the tapered/ledged beam-walking test.

Keywords: spinal cord injury, experiment, behavioral tests, locomotor function, Basso, Beattie and Bresnahan scale.

Введение. Травма спинного мозга – одна из лидирующих патологий в мире. Разработка эффективных стратегий восстановления спинного мозга после травм различной этиологии для клинической практики остается актуальной проблемой.

Моделирование повреждения спинного мозга лабораторных животных (на крысах и мышах) представляют собой важную возможность, с помощью которой можно оценить стратегии лечения и понять патологическую основу травм спинного мозга (ТСМ) [1-6]. Модели на крысах также позволили понять, как изменяется нейронная сеть после повреждения спинного мозга и каковы механизмы восстановления путем усиления процессов спонтанной регенерации и противодействия внутренним межклеточным тормозящим факторам [7-8].

Основным критерием оценки адекватности модели является выявление морфологических изменений (регенерация аксонов, миелинизация, васкуляризация, плотность глиального рубца, воспалительная реакция) с помощью гистологических методик. Как правило, исследуются поперечные и сагиттальные срезы в зоне повреждения и прилежащие (проксимальные) и дистальные участки в области травмы. Вспомогательные диагностические тесты включают МРТ-диагностику и функциональную оценку на основе электромиографии. Клиническая оценка основана на оценочных шкалах Бассо, Битти и Бреснахан (тест BBB) для регистрации изменений двигательной активности после различной степени и локализации повреждения спинного мозга [9-13].

Экспериментальные модели повреждения спинного мозга способствовали разработке и апробации надежных тестов для оценки восстановления двигательных и сенсорных функций на разных стадиях после ТСМ. Это целая батарея поведенческих тестов, включающих тесты оценки ходьбы по сетке, тесты на равновесие и многие дополнительные тесты (регистрация длины, ширины и угла шага) с использованием видеозаписей [14-15].

В связи с этим актуальна проблема выбора определенных поведенческих тестов для оценки двигательной активности животных после ТСМ в зависимости от характера повреждения и периода восстановления – острый, подострый и хронический.

Цель исследования: провести аналитический обзор по тестам оценки поведенческой активности животных при травме спинного мозга в эксперименте и выявить наиболее надежные и валидные для этой патологии.

Методы и организация исследования. Проведен анализ научных публикаций по данным электронных баз PubMed, Web of Science, e-Library с учетом критериев оценки нарушенных функций центральной нервной системы. Условием поиска были предусмотрены фильтры электронных публикаций, которые включали полный текст, мета-анализ, рандомизированные контролируемые исследования по экспериментальному моделированию повреждений спинного мозга и оценке нарушений двигательной активности передних и задних конечностей. Использованы следующие ключевые слова для идентификации публикаций на русском и английском языках: экспериментальное моделирование травмы спинного мозга, оценка потери и восстановления сенсорных и двигательных функций; experimental spinal cord injury, forelimb locomotor rating scale for behavioral assessment of recovery.

Результаты исследования и их обсуждение. У крыс развиваются симптомы, подобные тем, которые наблюдаются у людей после травмы спинного мозга, и существует несколько поведенческих тестов, доступных для оценки потери и восстановления сенсорных и двигательных функций, хотя у людей с травмой спинного мозга обычно оценивают восстановление деятельности мочевого пузыря, кишечника и половых функций прежде, чем восстановление походки. Но при этом все-таки единственным наиболее заметным признаком функционального восстановления после травмы спинного мозга как у людей, так и у крыс является восстановление способности ходить.

С этой точки зрения поведенческий тест BBB наиболее предпочтителен для оценки как подвижности отдельных суставов задних конечностей, так и способности животного ставить их параллельно телу для поддержания веса тела над поверхностью пола. Поэтому этот тест стал универсальной мерой функциональности после индукции и лечения ТСМ у лабораторных животных [9-10].

Отмечается, что баллы теста BBB от 0 до 21 (от полной вялой параплегии до нормальной функции) анализируются почти как линейные, нормально распределенные данные [11] и точно определяют уровни функциональности. Обученный персонал оценивает травмы очень похоже, что демонстрирует надежность этого мето-

да в дополнении к его валидности. Оценки в диапазоне от 0 до 7 сосредоточены в основном на движениях тазобедренного, коленного и голеностопного суставов, ключи диапазона от 8 до 13 – на размещении лап и координации, а баллы от 14 до 21 в значительной степени зависят от устойчивости туловища, положения хвоста и положения лап. Этот метод оценки был процитирован примерно в большом количестве опубликованных на сегодняшний день исследований.

Подшкала BBB [16] фокусируется на дополнительных функциональных дефицитах (таких, как зазор между пальцами, положение лап, нестабильность и положение хвоста) и особенно полезен в случае, если степень травмы – от умеренной до тяжелой. Помимо ходьбы, плавания и перехода вброд у крыс изменения двигательной активности после ТСМ также можно анализировать с помощью других систем оценки [17-18].

Тест BBB позволяет регистрировать изменения локомоторной функции животного в зависимости от периода после ТСМ и в то же время фиксировать различия степени спонтанного восстановления функции при травмах различной этиологии (рис. 1) [19].

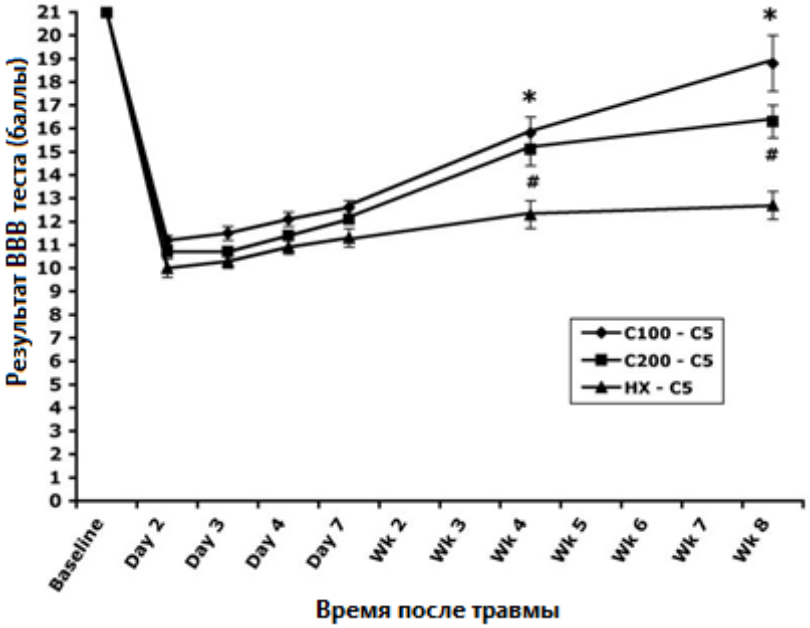


Рис. 1. Сравнение применение теста BBB на моделях контузионных (C100 и C200) и гемисекции (HS) (по Singh A. et al., 2014) [19]

Примечание: baseline – точка отсчета; day – день; wk – неделя; C100 и C200 (легкая контузия, умеренная контузия) – модели с различной силой воздействия на область шейного отдела (C5 – cervical vertebra 5 – шейный позвонок 5)

В дополнение к BBB тесту предлагается более детальная оценка постановки передних и/или задних конечностей животного (табл. 1). Сразу после травмы движения во всех трех суставах задних конечностей (плечевом, локтевом, запястном) значительно нарушены, а восстановление движений в этих суставах оценивается как его отсутствие, незначительное (менее 50% от нормального диапазона движений) или обширное (более 50%) во время передвижения (баллы: 0-6). После улучшения движений двух или всех суставов наблюдается улучшение положения стопы. Отмечается подошвенное или дорсальное расположение стопы без, с частичной или полной поддержкой веса (оценка: 7). Улучшение также распространялось на дорсальные степпинги (шаги) с частичной или полной поддержкой веса, за

которым следовали случайные (менее 50%), частые (50-95%) и непрерывные (100%) подошвенные степпинги (шаги) (баллы: 8-11). Как только наблюдалось непрерывное подошвенное размещение стопы, внимание обращается на лапу. Положение лап оценивается как параллельное или повернутое во время передвижения (баллы: 11-13).

Таблица 1

Тест оценки двигательной активности передних или задних конечностей у крыс после травмы спинного мозга [19]

БАЛЛЫ	**ОПИСАНИЕ КАТЕГОРИЙ ШКАЛЫ**
0 =	Отсутствие движений конечности (плечевой, локтевой или лучезапястный суставы)
1 =	Незначительные движения одного или двух суставов конечности
2 =	Экстенсивное движение в одном суставе и незначительное движение или отсутствие движения в другом суставе конечности
3 =	Незначительные движения всех трех суставов конечности
4 =	Экстенсивное движение в одном суставе и незначительное движение в двух суставах конечности
5 =	Обширные движения в двух суставах и легкие движения в одном суставе конечности или без него
6 =	Экстенсивное движение всех трех суставов конечности
7 =	Дорсальное или подошвенное размещение конечности без поддержки или с частичной опорой веса на эту конечность во время стойки
Поддержка веса видна, когда тело приподнято над поверхностью и видно напряжение мышц в локтевом и/или плечевом суставе. По определению, эта конечность не может шагать без поддержки веса. Подошвенный шаг считается случайным, если 1-50% шагов являются подошвенными, частым, если 51-99% шагов являются подошвенными, и непрерывным, если 100% шагов являются подошвенными.	
8 =	Только дорсальный шаг
9 =	Дорсальный шаг с редким подошвенным шагом
10 =	Частые подошвенные шаги с редкими дорсальными шагами
11 =	Непрерывное подошвенное шагание с плохим контролем запястья, на что указывает сочетание повернутого и параллельного положения лап (либо при начальном контакте, либо при отрыве, либо и то, и другое) и отсутствие зазора между пальцами
12 =	Непрерывный подошвенный шаг с преобладающим поворотом положения лапы (либо при начальном контакте, либо при отрыве, либо в обоих случаях) и без зазора между пальцами
13 =	Непрерывный подошвенный шаг с преимущественно параллельным положением лап (либо при начальном контакте, либо при отрыве, либо в обоих случаях) и без зазора между пальцами ног.
14 =	Непрерывный подошвенный шаг с преобладающим поворотом положения лапы (либо при начальном контакте, либо при отрыве, либо и то, и другое) и случайный или частый занос пальцев
15 =	Непрерывное подошвенное шагание с преимущественно параллельным положением лапы (либо при начальном контакте, либо при отрыве, либо и то, и другое) и иногда зазор между пальцами

Продолжение таблицы 1

16 =	Непрерывный подошвенный шаг с преимущественно параллельным положением лапы (либо при начальном контакте, либо при отрыве, либо и то, и другое) и частый занос пальцев
17 =	Непрерывный подошвенный шаг с преимущественно параллельным положением лап (либо при начальном контакте, либо при отрыве, либо и то, и другое) и постоянный зазор между пальцами ног

Животные должны были иметь непрерывную подошвенную походку перед оценкой зазора пальцев. Зазор между пальцами стопы оценивается для того, чтобы определить, поднимался ли палец над землей и очищался ли он во время фазы движения при повороте. Лапа, однако, могла быть как параллельной, так и повернутой наружу. Зазор между пальцами стопы у животных с подошвенным шагом затем оценивали как случайный (менее 50%), частый (более 50%, но менее 99%) и непрерывный (100%) (баллы: 14-17). Более высокий балл присваивается животному с параллельным расположением лап и случайным зазором, чем животному с таким же зазором, но повернутой лапой. У животных с частым или непрерывным расхождением пальцев часто наблюдается параллельное расположение лап.

Еще один тест, используемый для регистрации нарушений двигательной активности животных после ТСМ в эксперименте – тест-хождение по балке – балансовый тест (tapered/ledged beam-walking test) [20].

Балансировку тела и ходьбу оценивают с помощью теста на ходьбу по лучу (балке). Животного помещают в середину балки длиной 2 метра и диаметром 2 см, подвешенной на высоте 60 см над землей между двумя платформами. Животного оценивают следующим образом: нормальная ходьба не менее 1 метра по балке; проползание по балке не менее 1 м, касаясь балки животом; способность оставаться на балке, но неспособность двигаться; и неспособность балансировать на балке (табл. 2) [20].

Таблица 2

Характеристика основных категорий оценки двигательной активности балансного (tapered/ledged beam-walking test) теста

ТЕСТ	**БАЛЛЫ**
Балансный тест (норма – 0; максимум поражения – 6 баллов)	
0-устойчивая поза	**0**
1-зажимание края балки	1
2-обнимание балки и падение одной конечности с балки	2
3-обнимание балки и падение двух конечностей с балки, или вращение на балке (>30 с)	3
4-попытка удержаться на балке, но падение (>20 с)	4
5-попытка удержаться на балке, но падение (>10 с)	5
6-падение без попытки удержаться на балке или зависание на балке(<10 с)	6

Этот тест чувствителен к оценке расстройств движения задних конечностей и сохранения равновесия.

Тест «Горизонтальная лестница» разработана для оценки дефицита двигательной активности как передних, так и задних конечностей после повреждения сенсомоторной коры у крыс. На горизонтальной лестнице крысы с ТСМ хватаются за ступеньки передними конечностями. Следовательно, соскальзывание передних конечностей (захват ступеньки и затем соскальзывание) или неправильное положение передних конечностей (шаг

запястьем) легко идентифицируются. Что касается задних конечностей, у крыс оценивают только соскальзывания; неправильное положение задних конечностей не оценивается, потому что крысы с ТСМ делают слишком много разных шагов задними конечностями [21].

Тест «Горизонтальная лестница» имеет ряд преимуществ по сравнению с другими инструментами оценки двигательной активности животных после ТСМ, включая простоту регистрации нарушений двигательной активности животных, однозначно оцениваемые параметрические данные и архивную видеозапись события. В последнее время этот тест широко используется для количественной оценки восстановления функции у крыс с травмами позвоночника [22].

Заключение. Несмотря на достаточно большое разнообразие разработанных и используемых поведенческих тестов при экспериментальном моделировании ТСМ для оценки самовосстановления функций спинного мозга, их выбор для регистрации восстановления локомоторной функции лабораторных животных зависит от степени и фактора повреждения, а также уровня повреждения спинного мозга (шейный, грудной и/или поясничные отделы). Согласно проведенному аналитическому обзору наиболее надежные и валидные – это BBB тест, тест «Горизонтальная лестница» и балансовый тест.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Onifer, S. M. Rat models of traumatic spinal cord injury to assess motor recovery / S. M. Onifer, A. G. Rabchevsky, S. W. Scheff // ILAR J. – 2007. – Vol. 48(4). – P. 385-395.
2. Translational spinal cord injury research: preclinical guidelines and challenges / Reier P. J., Lane M. A., Hall E. D. [et al] // Handb. Clin. Neurol. – 2012. – Vol. 109. – P. 411-433.
3. A systematic review of experimental strategies aimed at improving motor function after acute and chronic spinal cord injury / J. Gomes-Osman, M. Cortes, J. Guest, A. Pascual-Leone // J. Neurotrauma. – 2016. – Vol. 33. – P. 425-438.
4. Experimental Models of Spinal Cord Injury in Laboratory Rats / Minakov A. N., Chernov A. S., Asutin D. S. [et al] // Acta Naturae. – 2018. – Vol. 10(3). – P. 4-10.
5. Refinement of the spinal cord injury rat model and validation of its applicability as a model for memory loss and chronic pain / Harikrishnan V. S., Palekkodan H., Fasaludeen A. [et al] // Heliyon. – 2021. – Vol. 7(7). – P. 07500.
6. Minimally Invasive, Fast Spinal Cord Lateral Hemisection Technique for Modeling Open Spinal Cord Injuries in Rats / Csomó K. B., Varga G., Belik A. A. [et al] // J Vis Exp. – 2022. – Vol. 23. – P. 181.
7. Kjell, J. Rat models of spinal cord injury: from pathology to potential therapies / J. Kjell, L. Olson // Dis Model Mech. – 2016. – Vol. 9(10). – P. 1125-1137.
8. Fan, B. Progression in translational research on spinal cord injury based on microenvironment imbalance / B. Fan, Z. Wei, S. Feng // Bone Res. – 2022. – Vol. 10(1). – P. 35.
9. Basso, D. M. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats / D. M. Basso, M. S. Beattie, J. C. Bresnahan // J Neurotrauma. – 1995. – Vol. 12(1). – P. 1-21.
10. Basso, D. M. Behavioral testing after spinal cord injury: congruities, complexities, and controversies / D. M. Basso // J Neurotrauma. – 2004. – Vol. 21(4). – P. 395-404.
11. Scheff, S. W. A statistical method for analyzing rating scale data: the BBB locomotor score / S. W. Scheff, D. A. Saucier, M. E. Cain // J. Neurotrauma. – 2002. – Vol. 19. – P. 1251-1260.
12. Neurological recovery following traumatic spinal cord injury: A systematic review and meta-analysis / Khorasanizadeh M., Yousefifard M., Eskian M. [et al] // J. Neurosurg. – 2019. – Vol. 30. – P. 683-699.
13. Fibrotic Scar After Spinal Cord Injury: Crosstalk With Other Cells, Cellular Origin, Function, and Mechanism / Li Z., Yu S., Hu X. [et al] // Front Cell Neurosci. – 2021. – Vol. 15. – P. 720938.
14. Chiu C.W., Cheng H., Hsieh S. L. Contusion Spinal Cord Injury Rat Model. / C.W. Chiu, H.

Cheng, S. L. Hsieh // Bio Protoc. – 2017. – Vol. 7(12). – P. 2337.
15. Locomotor improvement of spinal cord-injured rats through treadmill training by forced plantar placement of hind paws / Hayashibe, M., Homma, T., Fujimoto, K. [et al] // Spinal Cord. – 2016. – Vol. 54. – P. 521–529.
16. Lankhorst, A. J. Experimental spinal cord contusion injury: comparison of different outcome parameters / A. J. Lankhorst, M. R. Verzijl, F. P. T. Hamers // Neurosci. Res. Commun. – 1999. – Vol. 24. – P. 135-148.
17. A sensitive and reliable test instrument to assess swimming in rats with spinal cord injury / N. Xu, E. Åkesson, L. Holmberg, E. A. Sundström // Behav. Brain Res. – 2015. – Vol. 291. – P. 172-183.
18. Profiling locomotor recovery: comprehensive quantification of impairments after CNS damage in rodents / Zörner B., Filli L., Starkey M. L. [et al] // Nat. Methods. – 2010. – Vol.7. – P. 701-708.
19. Forelimb locomotor rating scale for behavioral assessment of recovery after unilateral cervical spinal cord injury in rats / Singh A., Krisa L., Frederick K. L. [et al] // J Neurosci Methods. – 2014. – Vol. 226. – P. 124-131.
20. Методы оценки неврологического дефицита у крыс после 30-минутной фокальной ишемии мозга на ранних и поздних сроках постишемического периода / Дайнеко А. С., Шмонин А. А., Шумеева А. В. [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2014. – Т.13. – №1(49). – С. 68-78. [In English] Dajneko A.S., Shmonin A.A., Shumeeva A.V., Kovalenko E.A., Mel'nikova E.V., Vlasov T.D. Assessment of neurological deficit in the early and late phase after a 30-minute of focal cerebral ischemia in rats. *Regional blood circulation and microcirculation*, 2014, vol. 13(1), pp. 68-78. (in Russ.)
21. Horizontal ladder task-specific re-training in adult rats with contusive thoracic spinal cord injury / Onifer S.M., Zhang O., Whitnel-Smith L.K. [et al] // Restor Neurol Neurosci. – 2011. – Vol. 29(4). – P. 275-286.
22. The Foot Fault Scoring System to Assess Skilled Walking in Rodents: A Reliability Study / L. A. Martins, A. Schiavo, L. L. Xavier, R. G. Mestriner // Front. Behav. Neurosci. – 2022. – Vol. 16. – P. 892010.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:
Валентина Федоровна Репс – доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник экспериментальной лаборатории Пятигорского государственного научно-исследовательского института курортологии – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии Федерального медико-биологического агентства» (Пятигорского ГНИИК ФФГБУ ФНКЦ МРиК ФМБА России; профессор кафедры терапевтических дисциплин Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Пятигорск, e-mail: v.reps@mail.ru. ORCID: 0000-0003-4878-6797.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:
Valentina Fedorovna Reps – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Leading Researcher of the Experimental Laboratory, Pyatigorsk State Research Institute of Balneology – branch of the FSBI "Federal Scientific and Clinical Center for Medical Rehabilitation and Balneology of the FMBA"; Professor of the Department of Therapeutic Disciplines, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, e-mail: v.reps@mail.ru. ORCID: 0000-0003-4878-6797.

Для цитирования: Репс, В. Ф. Тесты оценки поведенческой и двигательной активности при травме спинного мозга в эксперименте / В. Ф. Репс // Современные вопросы биомедицины. – 2023. – Т. 7. – № 4. DOI: 10.24412/2588-0500-2023_07_04_25

For citation: Reps V.F. Tests for assessing behavioral and motor activity in spinal cord injury in an experiment. *Modern Issues of Biomedicine*, 2023, vol. 7, no. 4. DOI: 10.24412/2588-0500-2023_07_04_25