

Models and Assessment Tests of the Spinal Cord Injury in Rats

Ghazal Rahmani^{1,2}, Hamze Mirshekari^{1,2}, Fahime Zavvari^{1,2}, Fariba Karimzadeh^{3*}¹Department of Physiology, Medical school, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran²Shefa Neuroscience Research Center, Khatam Alanbia Hospital, Tehran, Iran³Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Article Info:

Received: 30 June 2020

Revised: 15 Aug 2020

Accepted: 23 Nov 2020

ABSTRACT

Introduction: Functional improvement is the major goal of therapeutic intervention in animal models of different diseases. To test therapeutic approaches of spinal cord injury (SCI), it is essential to produce an appropriate SCI animal model. In this model, the pathophysiological processes and histological alterations should be similar to humans. Most of the mechanisms for drug effect in SCI in human and animal spinal cord seems to be similar. The main types of experimental models of SCI with various applications have been reviewed. In the next step, behavioral tests to assess spinal cord injuries were mentioned. **Conclusion:** Choosing an appropriate SCI model is crucial for the accuracy of investigations. The validity of any behavioral test depends on the reliability, authenticity, and universality. In this article, besides the illustration of different models and evaluating tests of spinal injury, selection criteria, as well as advantages and disadvantages, are discussed.

Keywords:

1. Spinal Cord Injuries
2. Behavior Rating Scale
3. Rats

*Corresponding Author: Fariba Karimzadeh

E-mail: karimzade.f@iums.ac.ir

مدل‌ها و آزمون‌های ارزیابی‌کننده آسیب طناب نخاعی در موش صحرایی

غزال رحمنی^۱، حمزه میرشکاری^۲، فهیمه زواری^۱، فریبا کریم‌زاده^{۳*}

^۱گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
^۲مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا، بیمارستان خاتم الانبیاء، تهران، ایران
^۳مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله:

پذیرش: ۳ آذر ۱۳۹۹

اصلاحیه: ۲۵ مرداد ۱۳۹۹

دریافت: ۱۰ تیر ۱۳۹۹

چکیده

مقدمه: بهبود عملکرد، هدف اصلی مداخله درمانی در مدل‌های حیوانی بیماری‌های مختلف است. برای آزمایش رویکردهای درمانی آسیب نخاعی (SCI)، تهیه یک مدل حیوانی SCI مناسب ضروری است. در این مدل، فرآیندهای پاتوفیزیولوژیک و تغییرات بافت‌شناسی باید شبیه انسان باشد. به نظر می‌رسد بسیاری از مکانیسم‌های اثر دارو در SCI در نخاع انسان و حیوان مشابه هستند. در این مطالعه، ابتدا انواع اصلی مدل‌های تجربی SCI با کاربردهای مختلف بررسی شده است. در مرحله بعدی، آزمایشات رفتاری برای ارزیابی آسیب‌های نخاعی ذکر شده است. **نتیجه‌گیری:** انتخاب یک مدل مناسب SCI برای درستی انجام تحقیقات بسیار مهم است. اعتبار هر آزمون رفتاری به قابلیت اطمینان، اصالت و رایج بودن آن بستگی دارد. در این مقاله، علاوه بر نشان دادن مدل‌های مختلف و بررسی آزمایش‌های ضایعه نخاعی، معیارهای انتخاب آن‌ها و همچنین مزایا و معایب آن‌ها مورد بحث قرار گرفته است.

واژه‌های کلیدی:

۱. آسیب‌های طناب نخاعی
۲. مقیاس رتبه‌بندی رفتار
۳. موش‌های صحرایی

*نویسنده مسئول: فریبا کریم‌زاده

پست الکترونیک: karimzade.f@iums.ac.ir

مقدمه

در دسترس هستند و احتمال عفونت پس از جراحی در آنها پایین است (۶). بیشترین مطالعات در زمینه ضایعات نخاعی بر روی نخاع سینه‌ای بوده است اما اکثر صدمات SCI در انسان در ناحیه نخاع گردنی است. مدل‌های SCI بر اساس نوع آسیب به دو دسته آسیب‌های مکانیکی (۵/۹۴ درصد) و آسیب‌های غیرمکانیکی (۵/۵ درصد) تقسیم می‌شود. مدل‌های آسیب‌های مکانیکی عبارتند از: فشار^۲، له شدگی^۳ و قطع عرضی نخاع^۴ در این میان، مدل له شدگی بیشترین کاربرد را دارد.

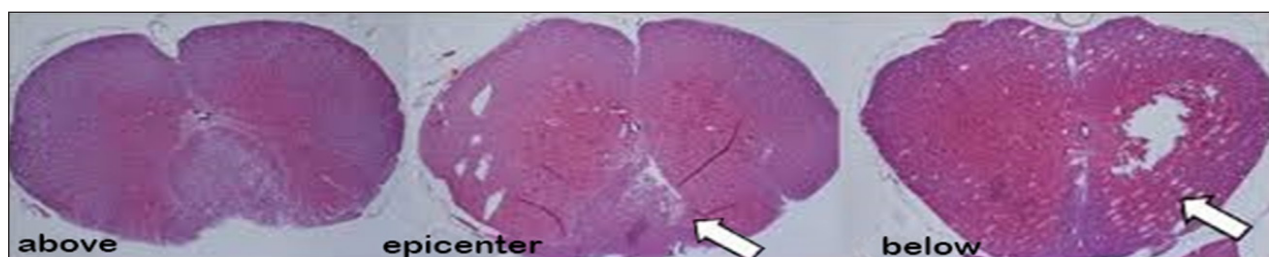
۱- روش‌های مکانیکی ایجاد مدل‌های ضایعه نخاعی: ۱-۱- مدل فشردگی^۵: جابجایی قطعات استخوانی بداخل کانال مهره‌ای به دنبال فشار منجر به آسیب در نخاع می‌گردد. مدت زمان درگیری و میزان نیروی وارده بر نخاع بر روی نتیجه پاتولوژیکی نخاعی تأثیر می‌گذارد. هر چه مدت زمان کمتر و یا نیروی وارده کمتر باشد بهبودی پس از ضایعه بیشتر و زودتر اتفاق می‌افتد. اما در صورتی که مدت زمان فشار و یا نیروی وارده بر نخاع زیاد باشد بهبودی عملکردی کاهش می‌یابد. البته میزان نیروی وارده فاکتور موثرتری در میزان آسیب ایجاد شده است (۷). بنابراین به هنگام ایجاد مدل فشاری ضایعه نخاعی، به وسیله تغییر در مدت زمان فشار و میزان نیروی وارده، شدت‌های مختلفی از ضایعه نخاعی ایجاد می‌گردد. در صورت کوتاه بودن زمان اعمال فشار، بهبودی حرکات حیوان در حداکثر ۴ هفته اول پس از ضایعه حاصل می‌شود و سیر صعودی دارد. در میمون‌ها بهبودی از ضایعه نخاعی ایجاد شده حداقل ۸ هفته زمان می‌برد (۸).

تصویر ۱ نمونه‌ای از ضایعه نخاعی در اثر اعمال فشار بر نخاع را نشان می‌دهد. ایجاد فشار بر روی نخاع توانسته است در قسمت مرکز و نیز زیر ناحیه اعمال فشار ضایعه نخاعی ایجاد نماید. اما در یک سانتیمتر بالای ناحیه اعمال فشار، نخاع سالم می‌باشد و ضایعه‌ای در آن مشاهده نمی‌شود. در مدل فشردگی، ایجاد فشار بر روی نخاع با استفاده از ابزارهای متفاوتی ایجاد می‌شود که عبارتند از: ۱- کلیپس، ۲- بالون، ۳- فورسپس^۶، تسمه (تصویر ۲). معمول‌ترین ناحیه برای ایجاد

آسیب طناب نخاعی^۱ (SCI) منجر به پیامدهای جدی در عملکرد نوروفیزیولوژیکی می‌گردد و باعث کاهش کیفیت زندگی افراد می‌شود. اختلالات نوروفیزیولوژیکی شامل اختلالات حسی، حرکتی، دستگاه ادراری، تنفسی و یا ترکیبی از همه موارد ذکر شده می‌باشد (۱). تقریباً هر سال در آمریکا حدود ده هزار نفر به نوعی دچار آسیب طناب نخاعی می‌شوند که از نظر اقتصادی نیز هزینه بسیار بالایی را بر دوش جوامع تحمیل می‌کند (۲). در ایران هزاران بیمار ضایعه نخاعی وجود دارد که از این تعداد ۲ هزار نفر قربانیان جنگ تحمیلی هستند و مابقی در اثر عواملی نظیر تصادف، سقوط از ارتفاع، زلزله یا عوامل دیگر دچار آسیب نخاعی شده‌اند (۳، ۴). به‌منظور پیشرفت و توسعه مداخلات درمانی در جهت بهبود عوارض آسیب‌های طناب نخاعی عمدتاً از مطالعات حیوانی استفاده می‌شود. عمده مطالعات SCI در موش‌های صحرایی و پس از آن در موش‌های سوری و به نسبت‌های کمتر در خوکچه هندی و سپس حیوانات دیگر صورت می‌گیرد (۱). مطالعات ضایعات نخاعی بر روی حیوانات شامل سه مرحله اساسی می‌باشند:

- ۱- مدل سازی SCI
- ۲- آزمون‌های رفتاری جهت تعیین میزان آسیب و همچنین تخمین میزان تأثیر مداخلات درمانی
- ۳- بررسی‌های بافتی ضایعات

لازم به ذکر است که برای تعیین یک مدل مناسب ابتدا باید هدف مطالعه در نظر گرفته شود. با توجه به اینکه مدل‌های مختلف SCI اثرات نسبتاً متفاوتی را بر روی کانال نخاعی بر جای می‌گذارند به تبع آن اختلالات مورفولوژیکی و در نتیجه تغییرات رفتاری حرکتی متفاوتی حاصل خواهد شد. همچنین جهت تعمیم مطالعات حیوانی به انسان باید گونه‌ای را در نظر گرفت که از نظر مورفولوژیکی بیشترین شباهت را به انسان داشته باشد. از این نظر موش صحرایی حیوان مناسبی است چون ضایعه ایجاد شده به دنبال SCI در نخاع همانند انسان می‌باشد (۵). همچنین موش‌های صحرایی سریعاً به محیط سازگار می‌شوند، به راحتی



تصویر ۱- ضایعه نخاعی در مدل فشاری. مقاطع افقی از طناب نخاعی پس از ایجاد ضایعه. علامت پیکان‌ها کناره‌های خلفی و جانبی بافت نخاعی از دست رفته را نشان می‌دهند. سمت راست: یک سانتیمتر پایین محل ایجاد ضایعه، قسمت وسط: مرکز ایجاد ضایعه و سمت چپ: یک سانتیمتر بالای محل ایجاد ضایعه که نخاع سالم می‌باشد (۹).

¹ Spinal cord injury

² Compression

³ Contusion

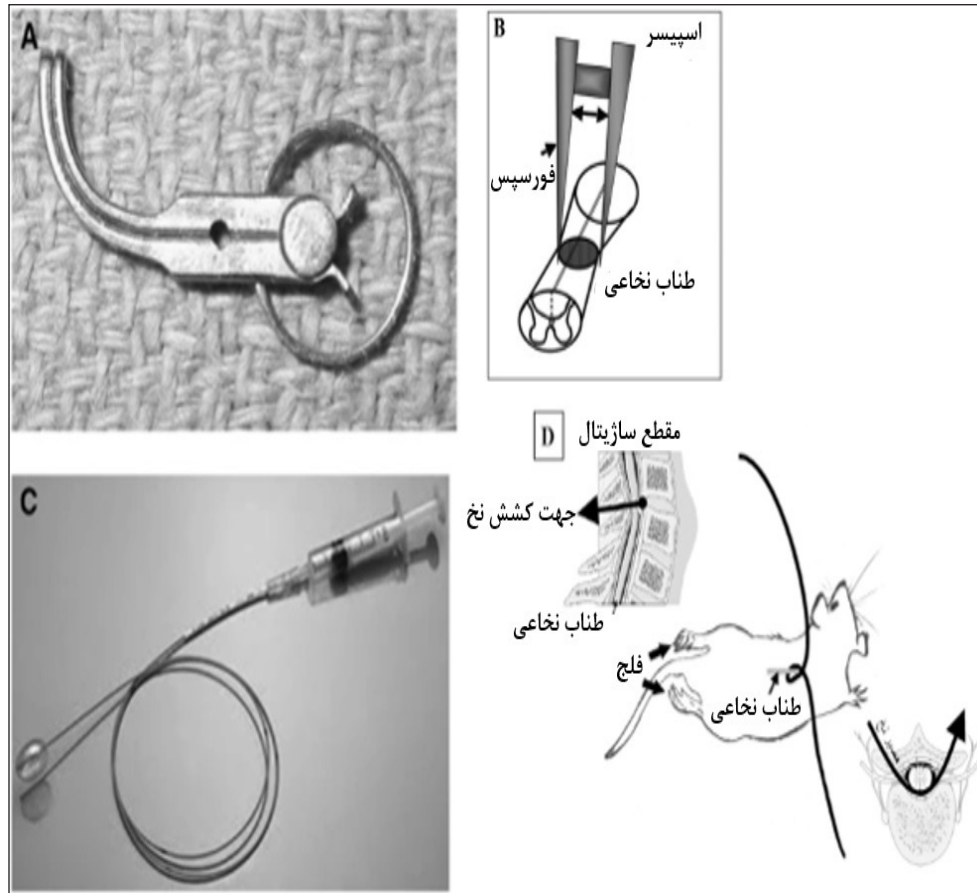
⁴ Transection

⁵ Compression model

⁶ Forceps

زدن استخوان مهره‌ای و دیدن نخاع ۳- استفاده از کلیپس با قدرت‌های مختلف بدون صدمه به سخت شامه. برطبق مطالعات مختلف بطور میانگین می‌شود

ضایعه نخاعی مهره‌های پشتی ۸ تا ۱۱ می‌باشند. ۱-۱-۱- فشار با کلیپس: مراحل فشار با کلیپس عبارتند از: ۱- برداشت زوائد مهره‌ای در محل ۲- کنار



تصویر ۲- ابزارهای ایجاد ضایعه نخاعی. A: کلیپس آنوریسم. پس از لامینکتومی در سطح مهره نخاعی مورد نظر، کلیپس آنوریسم به دور نخاع بسته می‌شود. B: فورسپس. به دنبال لامینکتومی، یک جفت فورسپس در اطراف نخاع قرار داده می‌شود و با استفاده از یک اسپیسر فشرده می‌شود و برای مدت زمان انتخابی، آسیب نخاعی ایجاد می‌کند. C: بالون. پس از لامینکتومی کاتتر فلزی نرمی که به سر آن بالون متصل است وارد پیرامون سطح نخاعی مورد نظر شده و میزان فشار بالون توسط تغییر حجم هوای سرنگ تنظیم می‌شود. D: تسمه. توسط یک سوزن، تسمه نازک از طریق سوراخ بین مهره‌ای وارد فضای نخاع می‌شود و سپس دور نخاع پیچیده می‌شود. یک طرف تسمه به وزنه‌ای متصل است. با کشش وزنه بر روی نخاع فشار ایجاد می‌شود. میزان و طول مدت کشش، شدت ضایعه را تعیین می‌کند (۱۰).

حجم کوچک بهبودی کامل خواهد شد (۱۲).

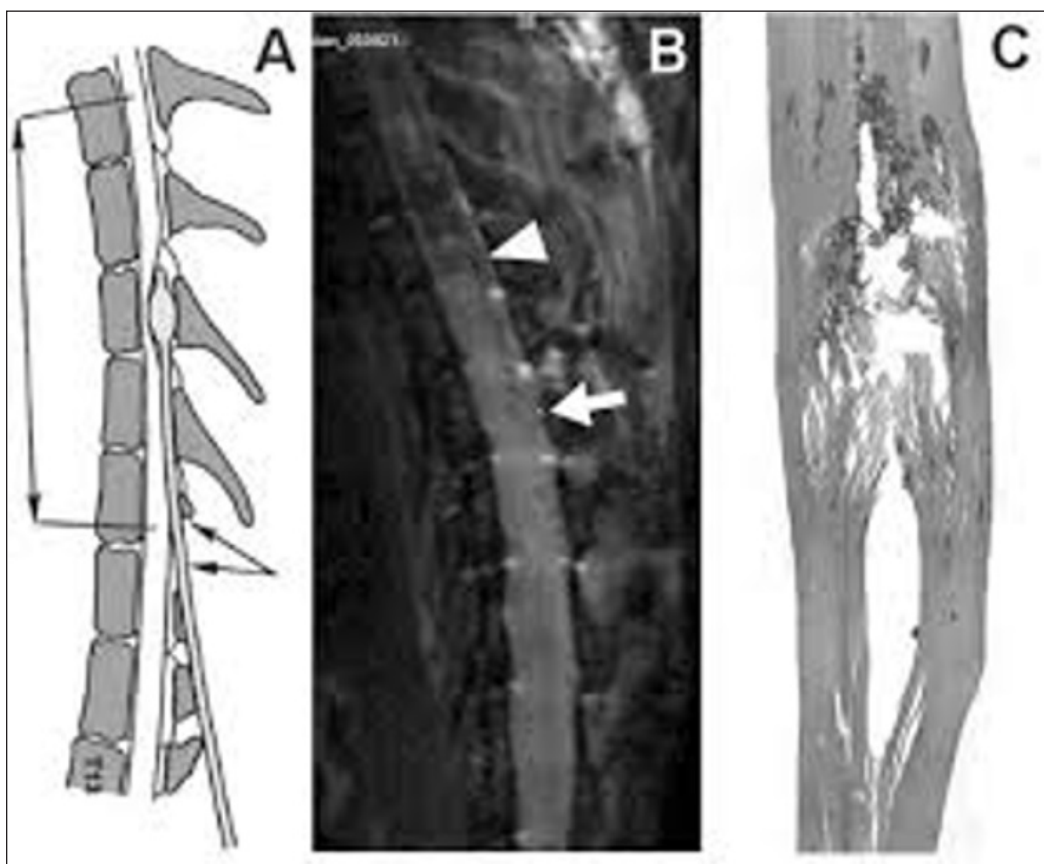
روش فشاری برای تحقیقات تعمیم دهنده به انسان مناسب است. در وضعیت مزمن در این روش SCI، آسیب بافت گلیال ایجاد می‌شود و برای بررسی اثر درمانی مداخلات دارویی و مطالعات نورورپروتکتیو این نکته مهم است. اما محدودیت مهم این روش این است که ممکن است در یکسری از مسیرهای عصبی آسیب مورد نظر ایجاد نشود و نتایج مداخلات درمانی جهت ترمیم عصب خارج از انتظار ما باشد. همچنین ممکن است ۴ تا ۶ هفته بعد وسعت ناحیه آسیب افزایش یابد که نشان‌دهنده مراحل تشکیل ضایعه ثانویه است (۱۴).

سه این ۱-۱-۳- فشار کنترل شده با فورسپس در این روش از فورسپس‌های خاص که با ابزار فشارنده

قدرت میزان فشردگی با کلیپس استفاده می‌شود:

- ۱- قدرت ۲/۵ گرم جهت ایجاد ضایعه خفیف
 - ۲- قدرت ۹/۱۶ گرم جهت ایجاد ضایعه متوسط
 - ۳- قدرت ۵۰-۵۳ گرم جهت ایجاد ضایعه شدید
- حداقل زمان فشار با کلیپس ۱۵ دقیقه و حداکثر زمان ۲۴۰ دقیقه می‌باشد (۱۱).

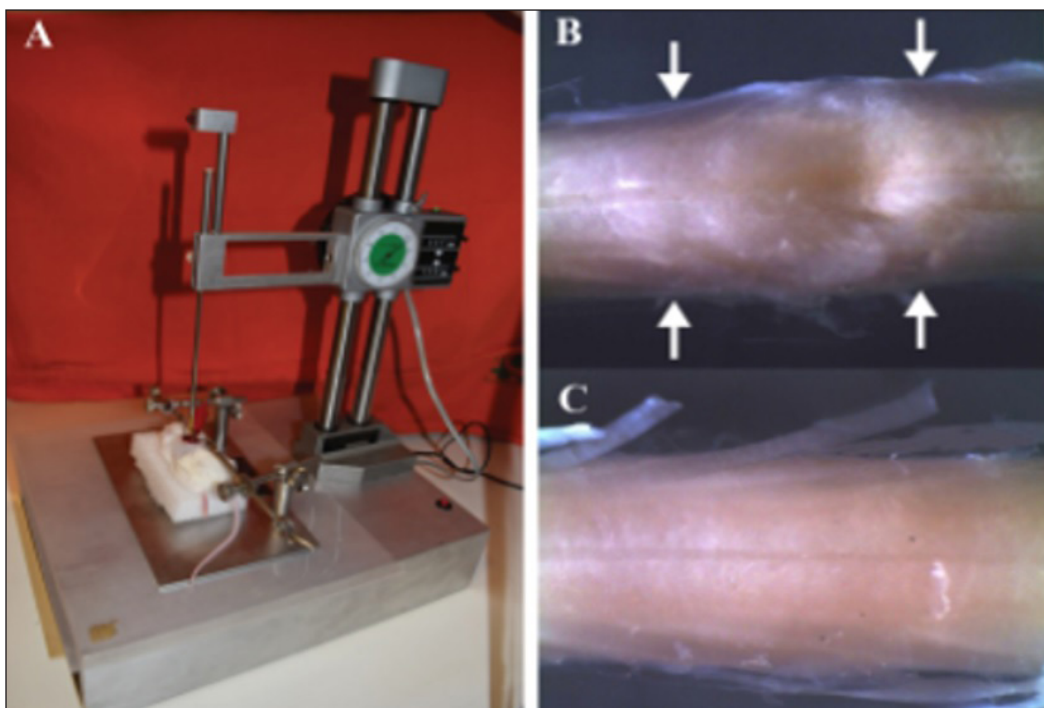
۱-۱-۲- فشار با بالون: در این روش سه حجم هوا در مهره‌های پشتی ۵ تا ۹ در فضای خارج سخت شامه با طول مدت ۱ دقیقه تا ۵ ساعت داده می‌شود. حجم‌های ۱ سی سی، ۹/۰ سی سی و ۸/۰ سی سی به ترتیب برای حجم‌های بزرگ، متوسط و کوچک بکار می‌رود. در روش فشار با بالون، پس از آزاد شدن نخاع از فشار، در عرض یک دقیقه برای بالون با حجم بزرگ، در مدت ۳۰ ثانیه برای بالون متوسط و در عرض ۲ ساعت برای بالون با



تصویر ۳- فشار با بالون. A: محل ورود بالون که عموماً از مهره‌های پایین‌تر از سطح نخاعی مورد نظر است. پیکان‌ها نشان دهنده جایگاه ورود بالون هستند. B: MRI گرفته شده قبل از ایجاد ضایعه. C: مقطع ضایعه در رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین پس از بالون گذاری (۱۳).

حجم بزرگتری از بافت تحت فشار و جابجایی قرار می‌گیرد. در تمام زیرگروه‌های مدل فشردگی، پس از ایجاد ضایعه باید تخلیه مثانه حیوان روزی ۲ بار تا یک هفته و سپس روزی یک بار صورت گیرد (۱۵).

نگهداری شده میزان نیرو به طور دقیق و کاملاً کنترل شده، جهت ایجاد صدمه فوکال بر روی نخاع استفاده و ضایعه با شدت متوسط در حیوان ایجاد می‌شود. در مقایسه با روش کلیپس آنورسیم در این روش



تصویر ۴- روش فشار کنترل شده با فورسپس. A: دستگاه فشارنده. B: طناب نخاعی که به میزان ۳/۵ میلی‌متر تحت فشار بوده است. پیکان‌ها لبه‌های ورود فشار را نشان می‌دهند. C: نخاع سالم (۱۶-۱۷).

۲-۱- مدل له شدگی

مدل له شدگی یا کانتیوژن می‌تواند ضایعاتی که بدنبال سقوط از ارتفاع و خرد شدن ستون فقرات ایجاد می‌شوند را بازسازی نماید. در موش‌های صحرایی برای ایجاد چنین صدمه‌ای روش کانتیوژن در سطح مهره‌های پشتی انجام می‌شود (۱۸). مدل‌های مهره‌های پشتی قابل اطمینان و جهت تولید و تکثیر مجدد بافتی آسانتر هستند. از آنجایی که ماده خاکستری نخاع در این ناحیه باعث فقدان عملکرد مشخص می‌گردد صدمه در این قسمت امکان ایزولاسیون و مطالعه نقایص ماده سفید را نیز می‌دهد (۱۹).

در مطالعات اخیر کانتیوژن در سطح نخاع گردنی نیز بررسی شده است. قطع ماده سفید در این ناحیه منجر به فلج سفت^۷ می‌گردد که با درد مزمن و فقدان حس همراه می‌باشد. آسیب‌های نخاع گردنی همچنین اختلال عملکرد جهاز هاضمه، اختلالات قلبی عروقی و نیز اختلالات عملکرد جنسی را به دنبال دارد. این مدل جهت ارزیابی حرکات رو به جلو و عقب و همچنین ارزیابی بهبود کانال نخاعی در اثر مداخلات درمانی، ایجاد می‌گردد (۲۰). له شدگی تحت کنترل استریوتاکسی صورت می‌گیرد. ابزارها و فشارنده‌های^۸ متفاوتی برای این مدل وجود دارد. علت آسیب سقوط وزنه از ارتفاع می‌باشد که حدود ۱۰ گرم وزن دارد (۲۱). ابتدا لامینکتومی تحت بیهوشی عمومی و زیر دستگاه استریوتاکسی انجام می‌شود و سپس دستگاه فشارنده به صورت عمودی در فاصله ۲-۳ میلی‌متر بالای محل لامینکتومی قرار داده می‌شود و وزنه از ارتفاع‌های متفاوت روی محل ساقط می‌شود.

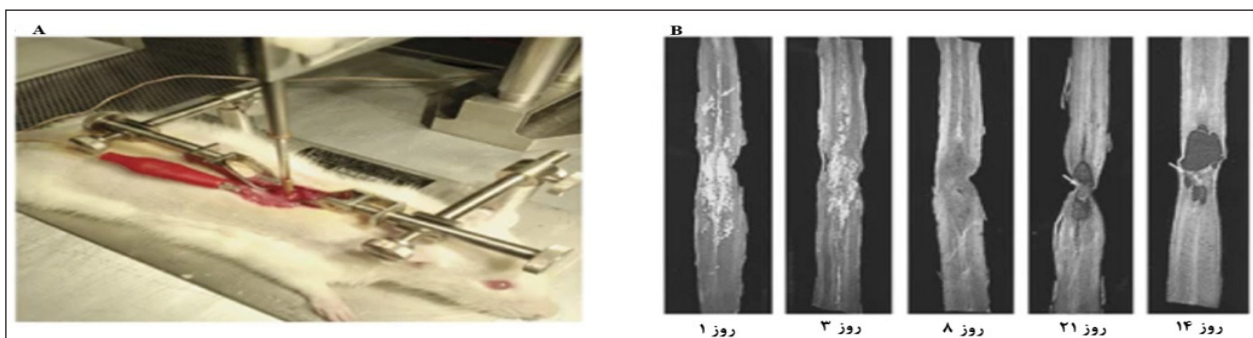
پس از ایجاد آسیب نخاعی، خونریزی ناحیه ساب دورال با محلول سالین شسته می‌شود. گاهی اوقات از باسیتراسین استفاده می‌شود و سپس ماهیچه‌ها و پوست بخیه زده می‌شوند. استفاده از آنتی بیوتیک‌های

خوراکی جهت پیشگیری از عفونت جراحی ضروری است (۲۲). در موش‌های صحرایی که در ناحیه گردنی دچار آسیب می‌شوند به مدت یک هفته اشکال و نقص کامل حرکتی اندام قدامی و فقدان توانایی تحمل وزن بدن وجود دارد. به همین علت باید در قفس‌های جداگانه نگهداری شوند و از نظر دفع ادرار و مدفوع و غشاهای مخاطی جهت وضعیت هیدراتاسیون، تغذیه، تنفس و وزن حیوان تحت کنترل قرار گیرند (۲۳).

۳-۱- مدل قطع عرضی نخاع

این مدل برای مطالعه اثر مواد بیوشیمیایی و فاکتورهای نوروتروفیک و کاشت سلولی مهم است و اختصاصاً روشی مناسب برای بررسی ترمیم و رژنراسیون عصبی، استراتژی‌های مهندس بافت و پلاستیسیته نورونی می‌باشد (۲۴). همچنین مدل قطع عرضی نخاع جهت مطالعه مسیرهای نورون‌های حرکتی و مدارهای عصبی در سطوح مختلف نخاع بسیار مهم است. از آنجایی که در موارد کلینیکی آسیب‌های نخاعی بندرت با قطع کامل طناب نخاعی مواجه می‌شویم، بنابراین مدل‌های قطع عرضی نخاع به درستی پاتوفیزیولوژی SCI را ارائه نمی‌دهند و پایه مناسبی برای سنجش درمان‌های نوروپروتکتیو نمی‌باشند (۲۵). در موش‌های صحرایی بسته به نوع برش نخاعی ۲ نوع مدل اصلی قطع عرضی نخاعی وجود دارد.

۱-۳-۱- مدل قطع ناکامل یا نسبی^۹ نخاع: بسته به نوع تحقیق از قسمت‌های مختلف جانبی یا خلفی و فانیکولوس خلفی^{۱۰} برش داده می‌شود. این روش برای تعمیم به صدمات انسانی مناسب نیست. در این روش ستون‌های خلفی و شکمی طناب نخاعی از سمت جانبی تا خط وسط برش داده می‌شود. این مدل در نواحی سطوح گردنی مناسب‌تر است که مسئول حرکات اندام‌های قدامی است (۲۶). برش‌های دوطرفه در مسیر خلفی برای بررسی رژنراسیون عصب



تصویر ۵- کانتیوژن یا له شدگی. A: پس از لامینکتومی ستون نخاعی توسط ایمپکتور ثابت نگه داشته شده و با کلمپ ضایعه ایجاد می‌شود. تصویر B: پیشرفت ضایعه در مدل کانتیوژن پس از ۱، ۳، ۸، ۲۱ روز و ۱۴ هفته. تحلیل و دژنراسیون آکسون‌ها بتدریج بیشتر می‌گردد (۱۰).

⁷ Spasticity

⁸ Impactor

⁹ Partial transection

¹⁰ Dorsal funiculus

این مدل بخش خاصی از پیامدهای ثانویه ضایعات نخاعی را ایجاد می‌کنند و برای بررسی مکانیسم‌های مولکولی ناشی از SCI و درمان‌های مختلف روی راه‌های عصبی استفاده می‌گردند. این فرآیند باعث ایجاد درد غیر طبیعی یا آلودینیا و درد بیش از حد یا هیپرآلژزیا می‌گردد که نشانگر آسیب در ریشه خلفی نخاع و فقدان عمل مهارى مسیرهای نزولی در رابطه با نقص سیستم مهارى گابا آرژیکى می‌باشد (۳۲). در این روش نیازی به لامینکتومی یا ترومای مکانیکی نیست، بلکه یک ماده حساس به نور مانند اریتروسین B به صورت داخل وریدی به حیوان تزریق شده و در ناحیه خلفی نخاع تحت پرتوافکنی قرار می‌گیرد (۳۳). واکنش فتوشیمیایی در عروق نسبت به این ماده سبب ایجاد استرس اکسیداتیو و سپس احتقان عروقی و ادم در مسیرهای عصبی ماده سفید می‌شود که پاسخ پلاکتی را بر می‌انگیزد و سبب انسداد رگ و انفارکتوس پارانشیم می‌گردد (۳۴). این ایسکمی باعث فلج حیوان می‌شود. بعلاوه واکنش فتوشیمیایی می‌تواند منجر به نکروز هموراژیک ماده خاکستری شود (۳۲).

۲-۲- ایجاد سمیت عصبی:

این مدل به وسیله تزریق گلوتامات، آسپاراتات، NMDA^{۱۱} و

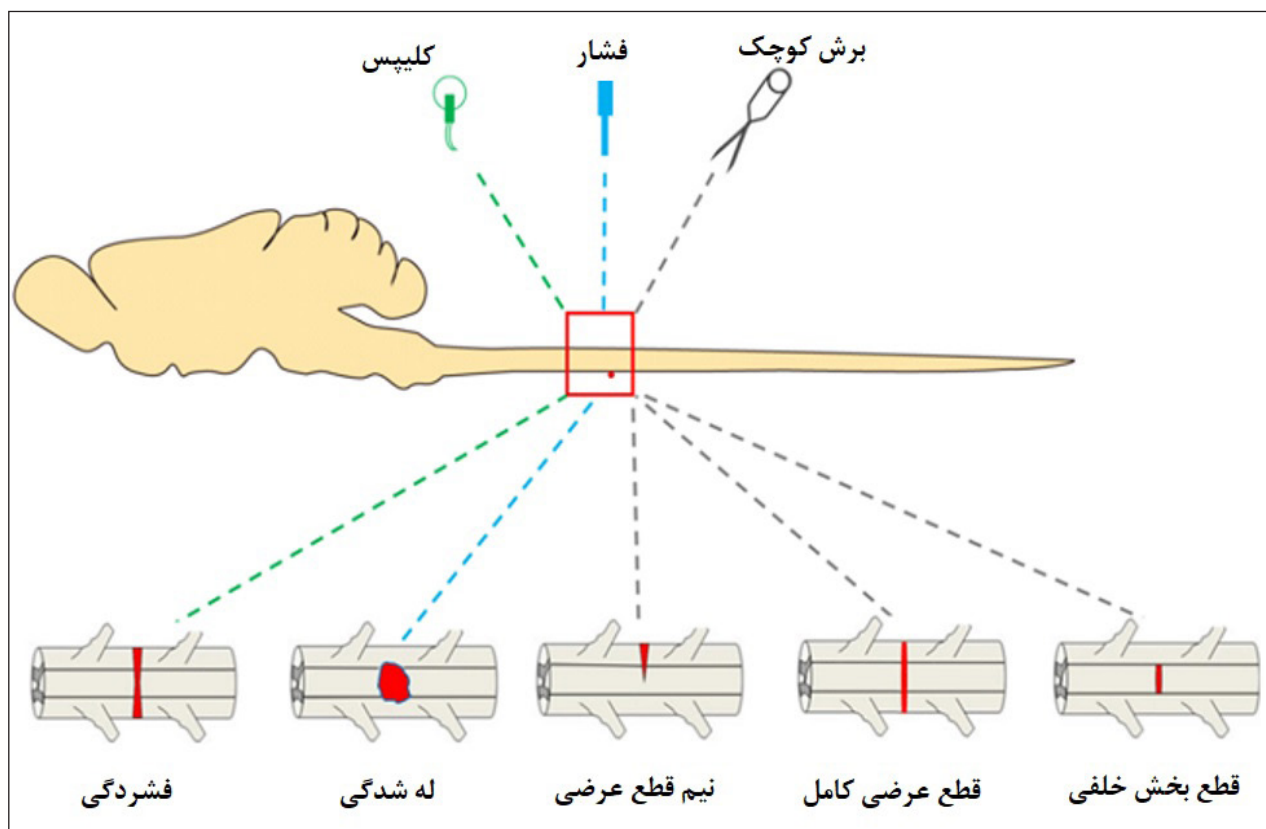
مناسب نیست، اما جهت مشخص شدن تغییر رنگ و بافت ماده خاکستری و سفید مناسب است (۲۷).

۲-۳-۱- مدل قطع عرضی کامل نخاعی: در این مدل لازم است که برش طناب نخاعی هم در مسیرهای صعودی و هم نزولی صورت گیرد. پس از قطع مسیرها قسمت‌های شکمی آکسون باریک شده و تحلیل می‌روند. مراقبت در این روش شامل کنترل تخلیه روده، مثانه و مجرای ادرار می‌باشد (۲۸). در اکثر مطالعات جهت بررسی بهبودی حرکت از مدل قطع عرضی کامل و بیشتر از موش‌های صحرایی استفاده می‌شود (۶۵ درصد). همچنین ۲۳ درصد از گربه‌ها و ۱۲ درصد از موش‌های سوری استفاده می‌شود. ناحیه مناسب این روش به طور معمول مهره‌های پستی ۶ تا ۱۳ می‌باشد (۲۹). مطالعات کاشت سلولی در این مدل قابل انجام است. محل کاشت سلول شوان عمدتاً مهره‌های پستی ۹ تا ۱۱ می‌باشد. این مداخلات می‌توانند باعث ترمیم نورونی و پیشگیری از تشکیل زخم‌های گلیال شوند (۳۰).

۲-۲- مدل‌های ضایعات نخاعی غیر مکانیکی

مدل‌های ضایعات نخاعی غیر مکانیکی بیشتر جهت بررسی نوروپاتی و درمان آن کاربرد دارند. این مدل‌ها عبارتند از:

۲-۱- ایجاد ایسکمی به وسیله فوتون (پرتوهای فوتوشیمیایی):



تصویر ۶- نمایش شماتیک مدل‌های ضایعه نخاعی: قطع عرضی نخاع به صورت کامل، ناقص و یا از بخش خلفی نخاع صورت می‌گیرد (۳۱).

^{۱۱} N-Methyl D- Aspartic Acid

کاینیک اسید با استفاده از میکرودیالیز ایجاد می گردد (۳۵).

۲-۳- ایجاد استرس اکسیداتیو:

استرس اکسیداتیو با تجویز موادی مانند سوپراکسید، هیدروکسیل و پراکسی نیترات القا می شود. این مواد در نهایت سبب پراکسیداسیون لیپیدی، تخریب نورونی، صدمات ثانویه نخاعی و ایجاد درد غیرطبیعی می شوند (۳۶).
۲-۴- ایجاد آسیب نخاعی به وسیله التهاب: التهاب به وسیله تزریق زیموسان (مخمیری که با فعال کردن ماکروفاژها باعث التهاب عصبی و اختلالات فوق الذکر می گردد) القا می شود.

۲-۵- ایسکمی - پرفیوژن مجدد:

جریان خون نخاعی به وسیله آئورت سینه‌ای و آئورت شکمی تامین می شود. به علت جراحی‌های توراسیک یا کلمپ‌های آنوریسمی آئورت جریان خون شکمی سینه‌ای ممکن است کاهش یابد یا قطع شود. مطالعات نشان داده‌اند که ایسکمی گذرا به خودی خود عامل آسیب نخاعی نیست بلکه پرفیوژن مجدد پس از ایسکمی ممکن است مسئول عوارض شدید SCI باشد (۳۷). جهت ایجاد مدل ایسکمی - ری پرفیوژن آسیب نخاعی از طریق توراکتومی جانبی و سپس با روش کلمپ متقاطع آئورت نزولی، به صورت گذرا بمدت ۳۰ دقیقه ایسکمی ایجاد شده و آنگاه با برداشتن کلمپ پرفیوژن مجدد برقرار می شود (۳۷). مدل‌های ایسکمی بیشتر جهت بررسی اثرات داروها و یا فاکتورهای رشد روی نخاع انجام می شود. پس از ایسکمی معمولاً آلودینیا ظاهر می شود که طول دوره آن از چند ساعت تا چند روز متفاوت است (۲۳). به عنوان جمع بندی روش‌های ایجاد ضایعات نخاعی در جدول ۱ خلاصه شده است.

آزمون‌های رفتاری جهت ارزیابی تغییرات عملکردی در مدل‌های ضایعات نخاعی (SCI) جهت بررسی عملکردهای نورولوژیکی و تأیید تغییرات نورونی نیاز به انجام آزمون‌های رفتاری می باشد.

جدول ۱- روش‌های ایجاد مدل‌های ضایعات نخاعی

روش‌های مکانیکی ایجاد مدل‌های ضایعه نخاعی		روش‌های غیر مکانیکی ایجاد مدل‌های ضایعه نخاعی	
مدل فشردگی	مدل له شدگی	مدل قطع عرضی نخاعی	ایجاد ایسکمی به وسیله فوتون (پرتوهای فوتو شیمیایی)
فشردگی با کلیس		مدل قطع عرضی ناکامل یا نسبی نخاعی	ایجاد ضایعه نخاعی با سمیت عصبی
فشردگی با بالون			ایجاد ضایعه نخاعی بوسیله استرس اکسیداتیو
فشردگی با فورسپس			ایجاد ضایعه نخاعی بوسیله التهاب
		مدل قطع عرضی کامل نخاعی	ایسکمی - پرفیوژن مجدد

¹² Rearing test

¹³ Reaching test

¹⁴ Basso - Beattie - Bresnahan

¹⁵ Ground reaction factor

۱- آزمون‌های سنجش مسیرهای حرکتی:

مسیرهای حرکتی نزولی شامل مسیر هرمی و خارج هرمی است که به سمت مراکز حرکتی پایینتر در نخاع می‌روند و مسئول انتقال اطلاعات به فیبرهای عضله برای شروع حرکت هستند. مسیر کورتیکواسپانیال مهم‌ترین مسیر در کنترل حرکات ماهرانه است. پس از صدمه به طناب نخاع گردنی حرکت اندام قدامی دچار اشکال می‌گردد (۴۲).

۱-۱- آزمون رسیدن ماهرانه اندام قدامی

ابزار این آزمون شامل یک جعبه به ابعاد $40 \times 25 \times 30$ سانتی‌متر با دیواره‌هایی از جنس پلکسی گلاس می‌باشد. در وسط ابزار دیوار پلکسی گلاسی به ابعاد 10×10 سانتی‌متر قرار دارد. دو سوراخ $5 \times 2/5$ سانتی‌متر در کف جعبه وجود دارد در سمت چپ ابزار یک شکاف جهت بررسی و در سمت راست هم شکاف دیگری برای استفاده از هر دو دست در نظر گرفته شده است. در بیرون جعبه، ۲ سانتی‌متر بالاتر از کف ابزار یک سینی حاوی گلوله‌های غذا قرار داده شده است. موش‌های صحرایی می‌بایست جهت رسیدن به گلوله‌های غذا با اندام قدامی خود از فاصله بین دو شکاف چپ و راست بگذرند (۴۳). برنامه تمرین ۲ هفته انجام می‌گردد. جهت راحتی تمرین ۲ هفته محرومیت غذایی در نظر گرفته می‌شود. گلوله غذا در سینی در داخل گودالی قرار می‌گیرد تا موش‌های صحرایی به راحتی به آن دسترسی داشته باشد. در مرحله اصلی آزمون حیوان باید ۳۰ دفعه حرکت رسیدن به غذا را انجام دهد (با ۳۰ گلوله غذا). ۱۰ گلوله برای آماده سازی و ۲۰ گلوله برای ارزیابی اصلی رفتار حیوان در نظر گرفته می‌شود. برای هر گلوله ۵ ثانیه زمان داده می‌شود. تلاش حیوان جهت رسیدن به غذا به حرکتی اطلاق می‌شود که نتیجه‌اش تماس تمام اندام قدامی موش‌های صحرایی با سینی بیرونی و باز کردن اندام خلفی می‌باشد (۲۳). در این تست حرکات حیوان از نظر کیفی و کمی

(۴۱، ۳۸). در صدمات SCI، موش‌های صحرایی وزن خود را به اندام دیگر منتقل می‌کنند (۳۸). آزمون‌های اندازه‌گیری انرژی جنبشی و از جمله GRF اطلاعات جدیدی در مورد رفتارهای جبرانی و همچنین بهبودی پس از SCI فراهم می‌کنند. این آزمون‌ها روش‌هایی حساس برای تعیین تغییر در رفتار حیوان هستند.

۴- بررسی‌های الکتروفیزیولوژی:

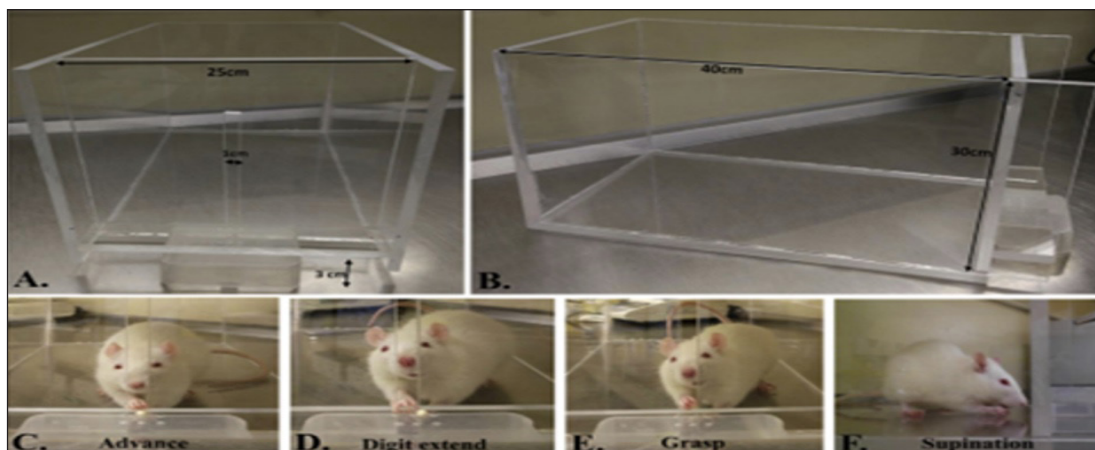
بررسی‌های الکتروفیزیولوژی به منظور بررسی پتانسیل‌های حسی پیکری و حسی انجام می‌شوند. در این روش نیاز به کاشت الکترودهای ثبت‌کننده در داخل جمجمه می‌باشد که با تحریک این الکترودها در ماهیچه حرکات رفلکسی پدیدار می‌شود. پاسخ‌های برانگیخته الکتریکی پاسخ‌های رفتاری نیستند، اما ارتباط نزدیکی با رفلکس‌ها و عملکرد حرکتی دارند (۴۱). پس از SCI یکسری از رفلکس‌های حرکتی عضلانی دچار اختلال می‌شوند که توسط سنجش‌های الکتروفیزیولوژی قابل ثبت هستند مانند: رفلکس‌های نخاعی موضعی (رفلکس هافمن یا رفلکس‌های فلکسوراندام‌ها) و رفلکس دم حیوان، همچنین این روش برای آزمودن سلامت مسیرهای عصبی از نخاع به عضلات، فعالیت الکتریکی عضلات^{۱۶} (MEP) و یا برای ثبت فعالیت و پاسخ به تحریک حسی کاربرد دارد. در این روش قدرت و زمان رفلکس بررسی می‌شود، اما از معایب این روش می‌توان به این مورد اشاره نمود که نیاز به بیهوشی و کنترل عفونت دارد، ضمن اینکه تمامی رفتارها با این روش قابل سنجش نیست و حیوان نمی‌تواند بعضی از رفتارها را به طور طبیعی انجام دهد (۳۸). براساس مسیرهای عصبی آزمون‌های ارزیابی عملکرد حیوان در ضایعات نخاعی به موارد زیر تقسیم می‌شوند:

۱- حرکتی: Climb grip strength test- Fore limb reaching test

۲- حسی: Von Frey filament

۳- حسی حرکتی: ladder walking test

۴- لوکوموتور: swim test, BBB (۳۱).



تصویر ۷- رسیدن ماهرانه اندام قدامی: ابزار این تست شامل یک ظرف پلکسی گلاس به ابعاد $40 \times 25 \times 30$ سانتی‌متر با یک روزنه به قطر ۲ سانتی‌متر برای رسیدن دست حیوان به غذای بیرون ظرف است. مراحل پشت سرهم این تست از چپ به راست شامل پیشروی رو به جلو، باز کردن انگشتان، گرفتن گلوله غذا و بالا گرفتن پنجه جهت خوردن غذا می‌باشد (۳۱).

¹⁶ Muscle electrical potential

این آزمون جهت پیش‌بینی نقص حرکتی در اعضا پس از SCI طراحی شده و قدرت فلکسور ماهیچه‌ها را می‌سنجد. موش‌های صحرایی پس از آسیب یک طرفه قدرت به چنگ گرفتن را برای همیشه از دست می‌دهد. در این تست عادت سازی^{۱۷} به شرایط آزمون قبل از آزمون اصلی لازم می‌باشد. موش‌های صحرایی از قسمت گردن یا پشت گرفته می‌شود و به او اجازه داده می‌شود که یک میله فلزی را گرفته و بکشد. سپس در صفحه افقی از قسمت دم کشیده می‌شود. سنسور قدرت کشش حیوان را ثبت می‌کند تا زمانی که میله را رها کند (۴۵).

این روش ساده برای ارزیابی بهبودی در زمان کم و فوری است. اما در روزهای بعدی آزمون بدلیل اینکه حیوان احساس خوشایندی از کشیده شدن دمش ندارد ممکن است همکاری لازم را نداشته و قدرت واقعی اندام حیوان ثبت نشود (۴۸).

۳-۱- رفتار جستجوگرانه در حالت عمودی: این آزمون به طور اختصاصی جهت بررسی عدم تقارن صورت می‌گیرد. وقتی حیوان در یک سیلندر استوانه‌ای قرار می‌گیرد به طور خود به خود، با حمایت پنجه‌های قدامی در وضعیت عمود بر دیواره سیلندر می‌ایستد. در این حرکت حیوان انتخاب می‌کند که وزنش را روی کدام دست منتقل کند و نشان می‌دهد که کدام

ارزیابی می‌شوند. در ارزیابی کمی ۱۰ جزء حرکت حیوان سنجش می‌شود و مقیاس نمره دهی از ۰-۲ می‌باشد. نمره صفر: رسیدن نرمال، نمره یک: رسیدن غیرنرمال و نمره ۲ عدم وجود حرکت می‌باشد.

رفتارهای کیفی شامل رسیدن انگشتان تا خط وسط، تا کردن انگشتان، تا کردن آرنج، جلو رفتن، باز کردن انگشتان، گرفتن گلوله غذا و طاق باز خوابیدن می‌باشد. محدودیت مهم این تست این است که ضایعه نسبی نخاع گردنی ممکن است اختلالی در موفقیت عمل رسیدن حیوان به غذا ایجاد نکند. همچنین ممکن است برگشت کامل مسیر هرمی آسیب دیده، همراه با برگشت رفتار اصلی نباشد (۴۴). در اختلال عمل دستیابی به هدف به احتمال زیاد آسیب همزمان ماده سفید و خاکستری وجود دارد که با مدل ضایعه ناشی از له شدگی در نخاع گردنی ایجاد می‌شود. در آزمون فوق اگر موش‌های صحرایی بیش از ۷۵ درصد زمان داده شده را جهت دستیابی به هدف استفاده کند یعنی این که یک اندام قدامی او بهتر عمل می‌کند و دیگری ضعیف‌تر است. ولی در صورتی که عمل فوق در کمتر از ۷۵ درصد زمان صورت گیرد به این معنا است که هر دو دست حیوان سالم و بدون مشکل حرکتی است (۲۳).

۲-۱- آزمون قدرت عضلات اندام قدامی و خلفی:



تصویر ۸- آزمون قدرت عضلات اندام قدامی و خلفی: این ابزار شامل یک شبکه فلزی است که به یک ترانس دایورس دیجیتالی نیرو متصل می‌شود. مد دستگاه روی T-PK گذاشته شده روی صفر تنظیم می‌شود. موش صحرایی به طور موازی با شبکه قرار گرفته به آرامی از ناحیه دم کشیده می‌شود و پیک‌های مقاومتی حیوان روی صفحه نمایش توسط فرد ثبت می‌گردد (۴۶-۴۷).

¹⁷ Habituation

جراحی و ایجاد مدل ضایعه نخاعی، حیوان ۲ بار جهت عادت نمودن، در سیلندر قرار داده می‌شود. آزمون در روزهای ۲، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ پس از جراحی صورت می‌گیرد و به رفتارهای زیر امتیاز داده می‌شود:

- ۱- فشار دادن پنجه روی کف زمین موقع بلند شدن.
- ۲- ثبت پنجه‌ای که برای حمایت وزن در طول بلند شدن

دست کارایی بیشتری دارد. در گوشه پشتی سیلندر یک آئینه قرار داده می‌شود به طوری که پنجه‌ها در تمام مدت مشاهده شوند و رفتار حیوان هم از طریق دوربین فیلمبرداری ثبت می‌شود. یک آزمونگر blind-ed هم به رفتار پنجه‌های حیوان نمره می‌دهد (۳۸).

در این تست نیازی به پیش آزمون نیست اما قبل از



تصویر ۹- رفتار جستجوگرانه در حالت عمودی: ظرف شفاف استوانه‌ای جهت بررسی سلامت اندام قدامی. حیوان سالم از هر دو دست به طور مساوی برای بلند شدن و رفتار جستجوگرانه استفاده می‌کند. اما حیوان با ضایعه نخاعی یک دست را جهت بلند شدن به کار می‌برد (۴۹).

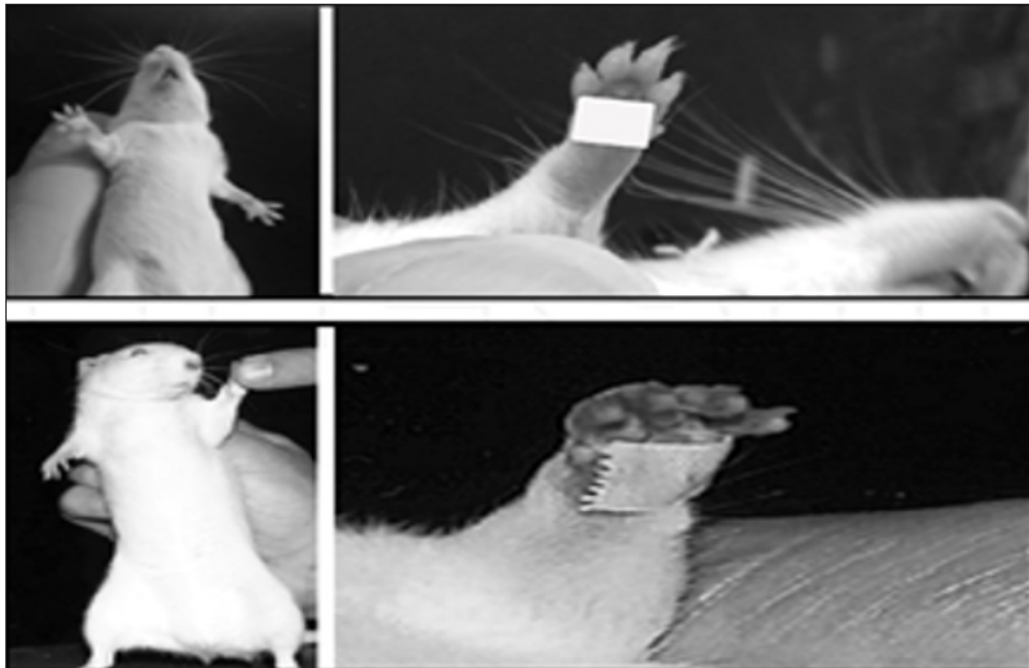
این آزمون جهت ارزیابی مهارت پنجه قدامی حیوان انجام می‌شود. برای انجام آزمون از جعبه‌ای استفاده می‌شود که در دو طرف داخل آن پلکان صعودی وجود دارد. گلوله‌های غذا در چاهک‌های هر پله گذاشته می‌شود به طوری که حیوان بتواند به آسانی با پایین گذاشتن پنجه قدامی به طرف ستون آن را بردارد. ابتدا به مدت ۳ روز عادت سازی به ابزار Staircase انجام می‌شود و حیوان با گلوله‌های غذا (۵۰ گلوله) در قفس آشنا می‌شود. در این مدت غذا در قفس پراکنده می‌باشد مدت هر مرحله ۵ دقیقه می‌باشد. مرحله بعدی تمرین است، به این صورت که از شروع تمرین گلوله‌های غذا درون چاهک‌های روی پله‌ها گذاشته می‌شوند. این آزمون ۵ مرحله دارد و هر مرحله ۱۰ دقیقه طول می‌کشد. مرحله تمرین

استفاده می‌شود (بکارگیری مستقل یک پنجه، یا استفاده همزمان از دو پنجه یا غالب بودن یک پنجه بر دیگری).

۳- پنجه‌ای که به هنگام بلند شدن از زمین پس از حالت درازکش وزن را تحمل می‌کند (۵۰).

۴-۱- جدا کردن بر چسپ از اندام‌ها و یا پیشانی^{۱۸}: موش‌های صحرایی به طور اختصاصی در یک قفس شخصی، تمیز و خالی بدون هیچ مزاحمتی به مدت ۵ دقیقه قرار داده می‌شوند. برچسبی روی پیشانی حیوان مابین دو چشمانش و یا به یکی از اعضای حیوان چسبانده می‌شود و عمل جدا کردن برچسب توسط موش صحرایی، ثبت می‌شود. این تست در ۵ مرحله ۳۰ ثانیه‌ای انجام می‌شود (۵۱). ۵-۱- آزمون عبور از پله برای دستیابی به غذا

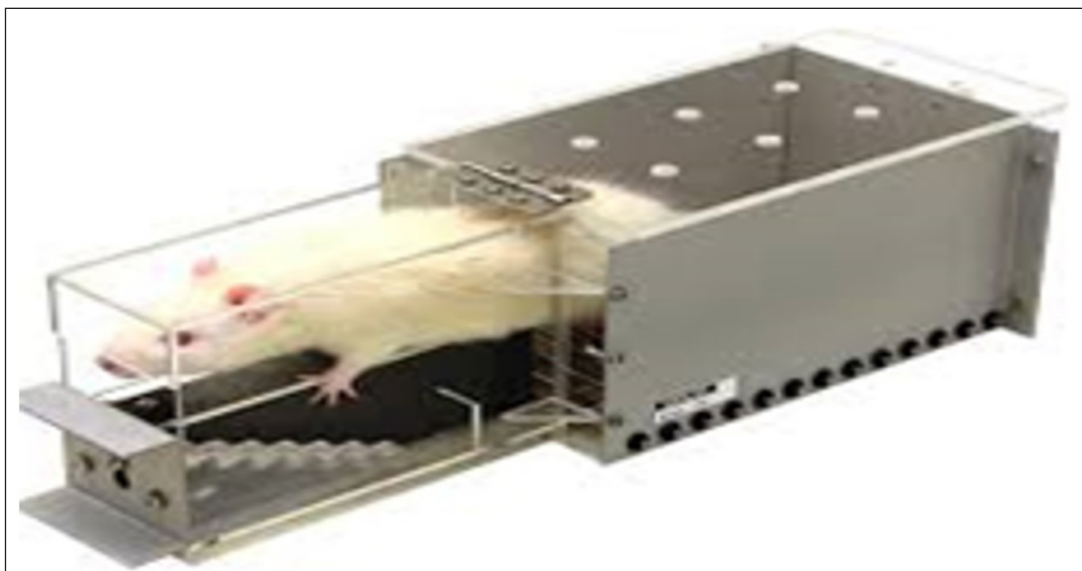
¹⁸ Forehead or limb sticker removal test



تصویر ۱۰- آزمون جدا کردن برچسب (۵۲).

در پستانداران حرکات جنبشی و تحرک توسط یک الگوی مولد مرکزی یا CPG^{۱۹} حرکت به طور ریتمیک کنترل می‌شود. محل CPG در سراسر نخاع قرار دارد. اما بیشتر در بخش پایین مهره‌های کمری یافت می‌شود و فعالیت حرکتی بازکننده و خم‌کننده را کنترل می‌کند. آزمون‌های لوکوموتور به طور رایج در موش‌های صحرایی استفاده می‌شوند. این آزمون‌ها عبارتند از (۲۴): آزمون جعبه باز، مقیاس نمره دهی بازو-بُتی-برسنان

پیش از آزمون ۲ روز متوالی می‌باشد و امتیازات پایه در این مدت ثبت می‌شود. سپس ۳ بار در هفته، به مدت ۴ هفته آزمون اصلی انجام می‌شود. مدت آزمون ۱۵ دقیقه می‌باشد و در پایان مرحله با توجه به تعداد گلوله‌های باقیمانده، تعداد گلوله‌های خورده شده محاسبه شده و ثبت خواهد شد که نشان دهنده موفقیت حیوان در بدست آوردن غذا می‌باشد (۵۰).
۲- آزمون‌های ارزیابی تحرک یا لوکوموتور



تصویر ۱۱- عبور از پله برای دستیابی به غذا: تست ارزیابی مهارت اندام قدامی. این ابزار دارای دوجعبه در امتداد هم می‌باشد. در جعبه دوم پله‌های صعودی کار گذاشته شده و دارای چاهک‌های حاوی غذا هستند. حیوان باید پاهای خود را به درستی روی پله نگه داشته و دستپایش را وارد چاهک نماید تا به غذا دست بیابد. تعداد گلوله‌های خورده شده معیار موفقیت اوست (۵۳-۵۴).

¹⁹ Central panel generator

۲-۲- مقیاس بازو-بتی-برسنان (BBB)

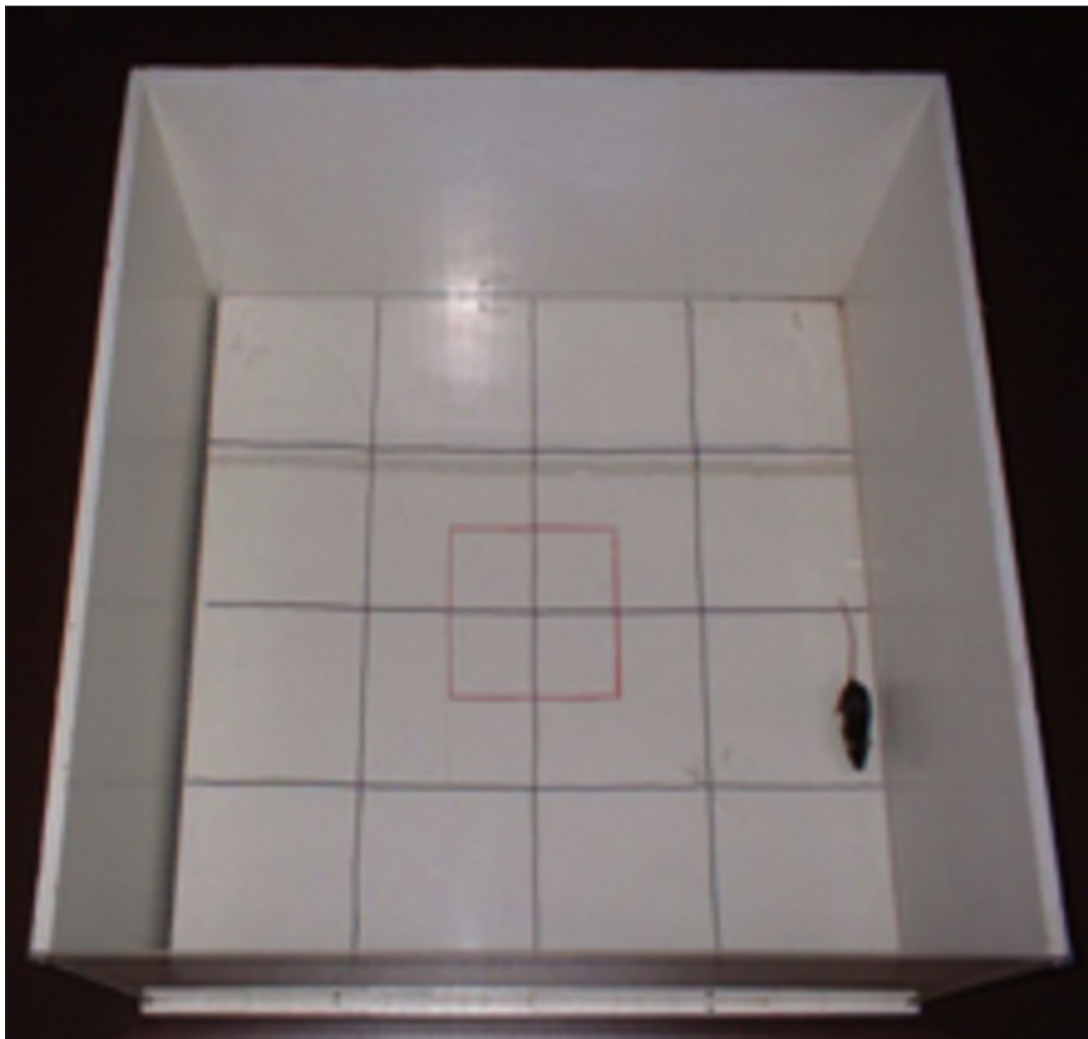
در سال ۱۹۹۵ این مقیاس به منظور استاندارد کردن سنجش رفتار لوکوموتور در ابزار جعبه باز، توسط سه محقق فوق طراحی شد و به عنوان تستی معتبر در سراسر دنیا استفاده می شود. این آزمون می تواند حتی پیشرفت های کوچک حرکتی را تعیین کند. تا سال ۱۹۹۶ این تست جهت صدمات خفیف و متوسط استفاده می شد. اما هم اکنون در آسیب های شدید هم به کار می رود. البته بررسی دقیق هماهنگی اندام های قدامی و خلفی نسبت بهم مشکل است (۵۹). عمده کاربرد این روش جهت ارزیابی انواع حرکات اندام خلفی است و نمره دهی بین صفر تا ۲۱ صورت می پذیرد. از نمره ۰ تا ۷ مربوط به حرکات مفاصل و از نمره ۸ تا ۲۱ مربوط به قدم زدن کف پای و هماهنگی مداوم بین اندام هاست.

از مزایای BBB می توان به موارد زیر اشاره نمود:

(BBB)، آزمون شنای اجباری، آویختن از اندام، عدم تقارن اندام های قدامی، حرکات خودکار در گردشگاه، آزمون راه رفتن گربه ای شکل و آزمون عملکرد اندام خلفی.

۲-۱- آزمون جعبه باز

آزمون جعبه باز در سال ۱۹۵۴ توسط تارلو-کلینگر برای موش صحرایی طراحی شد و بیشتر در آسیب های نخاعی مدل له شدگی کاربرد دارد. این آزمون جهت بررسی هماهنگی اندام ها و رفتار اضطرابی، همچنین ارزیابی اثر داروهای درمانی بر رفتارهای شبه اضطرابی در جوندگان و رفتار کاوشگرانه پس از SCI توراسیک و بررسی تحرک اندام خلفی انجام می شود (۵۵). ابزار این تست یک جعبه پلکسی گلاس تیره با یک میدان باز می باشد که به خانه های 12×12 سانتی متر تقسیم شده است. موش صحرایی در وسط میدان قرار داده می شود و تعداد خانه های پیموده شده در مدت زمان معین شمرده می شوند (۵۶).



تصویر ۱۲- آزمون جعبه باز: جعبه پلکسی گلاس به ابعاد 60×60 سانتی متر جهت بررسی تحرک حیوان و اضطراب بعد از SCI و رفتار کاوشگرانه بکار گرفته می شود. کف ظرف شامل تقسیم بندی های 12×12 سانتی متر است. موش صحرایی در مرکز این قسمت ها قرار می گیرد. و تعداد بخش های پیموده شده محاسبه می شود (۵۸-۵۷).

این تست تعدادی از پارامترهای قدم گذاشتن و هماهنگی حرکتی را در طول حرکت در محیط گردشگاه به طور مداوم بررسی می‌کند. ابزار این تست شامل یک گردشگاه طولی با یک کف شیشه‌ای و دو دیواره شفاف پلاستیکی می‌باشد که به فاصله ۸ سانتیمتر از هم قرار گرفته‌اند. این سیستم در یک اتاق تاریک قرار دارد و منبع نوری از دو لوله فلورسنت پنجه پاهای حیوان را به هنگام لمس شیشه روشن می‌کند و توسط این درخشش ایجاد شده مسیر چرخش و حرکت حیوان احساس و با دوربین فیلمبرداری ثبت می‌گردد. سپس تمام حرکات چهار پنجه حیوان با نرم‌افزار مخصوص و توسط فرد دیگری (blinded) آنالیز می‌شود (۵۰). پارامترهای حرکتی که در این آزمون ارزیابی می‌شوند عبارتند از:

طول قدم‌ها، تاب و چرخش پنجه (مدت زمان فاصله بین یک قدم و قدم بعدی روی پنجه مورد نظر)، وضعیت ایستایی (مدت زمانی که یک پنجه خاص در یک مسیر حرکت است)، نقطه حمایتی (فاصله بین دو پنجه قدامی و خلفی) و سطوح تماس پنجه (بر اساس شدت نور ساطع شده مشخص می‌شود). در این تست به حیوانات در هفته قبل از جراحی تمرین پیش از آزمون داده می‌شود، بدین ترتیب که می‌بایستی روی دستگاه راه بروند تا امتیازات پایه ثبت شود. و سپس در روزهای ۲، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ تست می‌شوند و حرکات آنها مورد ارزیابی قرار می‌گیرد (۲۸).

۳- آزمون‌های حسی- حرکتی

سیستم حسی پیکری مسیرهای آوران و وبران را با مسیرهای مرکزی جهت حفظ تعادل در طول حرکات مفاصل هماهنگ می‌کند. آسیب‌های یک طرفه یا دو طرفه طناب نخاعی مسئول نقص‌های مزمن حسی و حرکتی می‌باشد (۶۳). این آزمون‌ها چند که اساس مشابهی دارند عبارتند از: راه رفتن روی توری^{۲۰}، راه رفتن روی میله نردبان^{۲۱}، صعود از شبکه عمودی^{۲۲} و بالا رفتن از طناب.

۱-۳- راه رفتن روی سطح مشبک

این تست برای ارزیابی سلامت مسیرهای آوران و وبران حسی- حرکتی به کار می‌رود (۶۴). همچنین مهارت حرکات اندام‌های قدامی و خلفی و هماهنگی بین آنها را بررسی می‌کند. به طوری که موش صحرایی باید پای خود را در همان نقطه‌ای قرار دهد که دست خود را گذاشته است. هر موش صحرایی در روی شبکه‌ای فلزی قرار می‌گیرد. دور شبکه را حصاری فرا گرفته است. در هنگام حرکت موش صحرایی باید پاهایش را به صورت صحیح در جاهای مخصوص قرار دهد. نقص حرکتی به پایین افتادن پنجه پای حیوان و لغزش آن اطلاق می‌شود. در مدت یک دقیقه خطاهای حرکتی

۱- نیاز به تمرین و آموزش پیش از آزمون ندارد.
۲- از آنجایی که بررسی بازه زیادی از عملکردهای حیوان انجام می‌شود، سلامت مسیر رتیکولواسپینال و وستیبولار را می‌سنجد.

۲-۳- آزمون شنای اجباری (FST)

این آزمون جهت ارزیابی بهبود حرکت پس از آسیب نخاعی و بررسی سفتی عضلانی پس از ایجاد مدل له شدگی استفاده می‌شود. ابزار آزمون عبارت است از سیلندری از جنس پلکسی گلاس با قطر ۲۰ سانتیمتر و ارتفاع ۵۰ سانتیمتر. سیلندر تا ارتفاع ۳۰ سانتیمتر از آب با دمای °C ۲۸-۳۲ پر می‌شود.



تصویر ۱۳- آزمون شنای اجباری: ابزار آزمون سیلندر پلکسی گلاس شفاف است سطح آب باید ۲۰ سانتیمتر از سطح ظرف پایین تر باشد تا موش صحرایی نتواند از آب خارج شود. حرکات لوکوموتور اندازه‌گیری می‌شود. کل مدت زمان آزمون ۶ دقیقه است که ۱ دقیقه اول جهت سازگاری با محیط در نظر گرفته می‌شود. این تست جهت بررسی رفتار شبه افسردگی نیز کاربرد دارد و معیار افسردگی زمان بی حرکتی است (۶۰-۶۱).

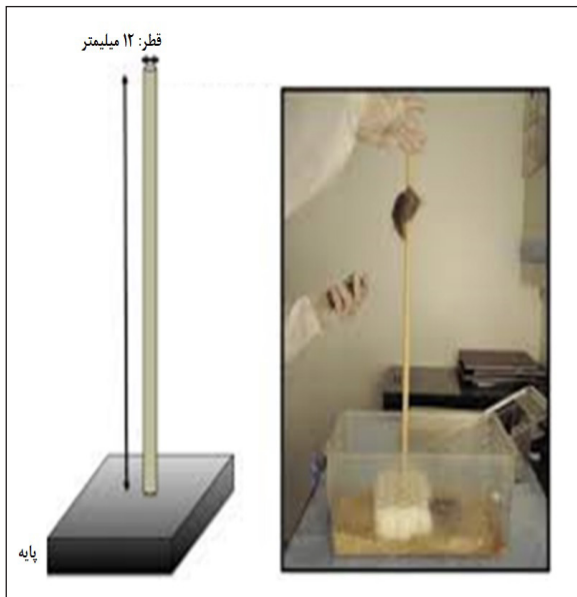
در طول آزمون پارامترهای زیر اندازه‌گیری می‌شود: حرکات اندام قدامی و پنجه خلفی فاصله بین پنجه خلفی و دم که وضعیت رفتاری شنای حیوان را می‌سنجد. محدودیت آزمون این است که در صدمات کامل SCI قابل استفاده نیست و موش‌های صحرایی نیاز به تمرین ویژه دارند (۶۲).

۴-۲- آزمون آنالیز کمیتی Cat Walk way

²⁰ Grid walking

²¹ Ladder-rung walking test

²² Inclined grid climbing



تصویر ۱۵- بالا رفتن از طناب : در اینجا موش صحرایی از طنابی به قطر ۱۲/۲۵ اینچ و بلندی ۱۶۰ سانتی‌متر بالا می‌رود و تعداد لغزش‌ها و سر خوردن‌های اندام خلفی توسط دوربین ثبت می‌شود. در هر آزمون موش صحرایی ۴ بار از طناب بالا می‌رود. این آزمون ۴۲ روز پس از ضایعه انجام می‌گردد (۶۹-۷۰).

۴-۳- راه رفتن روی نردبان

این آزمون در بسیاری از مطالعات ضایعات نخاعی برای سنجش هماهنگی بین اندام‌ها کاربرد دارد و تقریباً ۲ ماه پس از ایجاد آسیب نخاعی انجام می‌شود. موش صحرایی در یک محفظه پلکسی گلاس به ابعاد 20×100 قرار می‌گیرد که در آن نردبانی بطول حدود ۱ متر که دارای ۵۰ نرده می‌باشد قرار داده شده است. بین میله‌های نردبان بین ۰/۶ تا ۲ سانتی‌متر فاصله وجود دارد. در این آزمون نیز هنگام حرکت تعداد خطاهای حرکتی شمارش می‌شود (۶۵). به‌منظور تشویق موش صحرایی برای قدم زدن روی نردبان در انتهای مسیر حرکت غذا گذاشته می‌شود. این تست مقیاس ۷ نمره‌ای دارد و نیاز به تمرین به مدت چند روز خواهد بود (۷۱). این تست برای ارزیابی ضایعات مسیر کورتیکو - روبرو - اسپاینال کاربرد دارد. در ضایعات بخش خلفی این مسیر تعداد خطاهای حرکتی حین قدم گذاشتن زیاد شده و همچنین طول قدم‌های اندام قدامی کوتاه‌تر می‌گردد که به دنبال آن حیوان قادر نیست اندام خلفی (پای) خود را به درستی روی نرده‌ها قرار دهد و باعث سر خوردن یا افتادن پا به داخل چاله‌ها می‌شود (۷۲).

۴-۴- آزمون‌های حسی

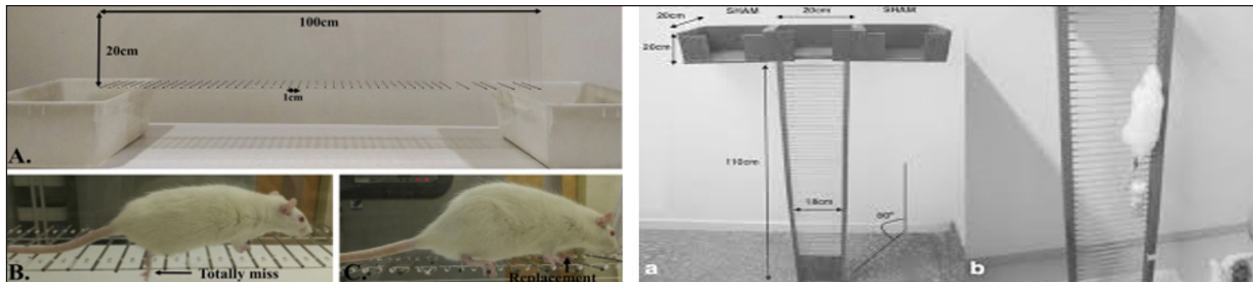
مسیرهای آوران حس پیکری و حس عمقی نقش

شمارش می‌شوند. در موش صحرایی سالم لغزش پا مشاهده نمی‌شود. اما در موش صحرایی دچار آسیب نخاعی به کرات دیده می‌شود. در موش‌های صحرایی تحت درمان تعداد لغزش‌ها کاهش می‌یابد (۶۵).



تصویر ۱۴- صعود از شبکه (۶۷).

۲-۳- آزمون صعود از شبکه: ابزار این آزمون یک صفحه مشبک است که سوراخ‌های آن 25×25 میلی‌متر می‌باشند. صفحه مشبک به صورت شیب‌دار با زوایای مختلف ۴۵، ۶۰، ۷۵ و ۹۰ درجه قرار دارد و به یک صفحه افقی ختم می‌شود که در آن غذای مورد علاقه حیوان به عنوان پاداش قرار داده می‌شود. حیوان باید بتواند از سطح مشبک بالا رفته و بدن خود را به طور کامل به سکو افقی منتقل کند. آن دسته از حیوانات که قادر به رسیدن به بالای شبکه هستند اما قادر به عبور از صفحه افقی با اندام‌های عقبی نباشند به عنوان شکست خورده در آزمون در نظر گرفته می‌شوند (۶۶). موش صحرایی به تمرین پیش از آزمون احتیاج دارد. ۳-۳- بالا رفتن از طناب: این آزمون جهت بررسی توازن میان رفتار حسی و حرکتی حیوان انجام می‌شود (۴۵). طنابی به طول ۱۶۰ سانتی‌متر و قطر ۲۵/۱ اینچ وجود دارد که موش صحرایی ۴ بار از آن بالا می‌رود (۶۸). پیش از آزمون اصلی حیوانات تمرین داده می‌شوند. در مرحله تمرین موش صحرایی بر روی طناب افقی راه می‌رود. آزمون اصلی ۴۲ روز پس از آسیب نخاعی انجام می‌شود و تعداد کل لغزش پای حیوان شمارش می‌شود. همه مراحل فوق توسط دوربین فیلمبرداری ثبت می‌گردد.



تصویر ۱۶- راه رفتن روی نردبان: ابزار متداول جهت بررسی رفتار حسی و حرکتی پس از ایجاد ضایعه نخاعی، که به شکل نردبانی فلزی به طول ۱ متر می باشد. نردبان به صورت عمودی یا افقی می باشد. در مدل افقی سطح راهرو بدون شیب می باشد. در حین حرکت روی نردبان حالات مختلف پا و پنجه، تعداد کل حرکات پلانستار (کل کف پا روی میله قرار دارد)، پنجه، لغزش و سر خوردن پا، کشیدن پا و افتادن پا بین میله ها بوسیله دوربین ثبت و آنالیز می گردد. در برخی از آزمون ها همزمان با حرکت حیوان، الکترودهایی به اندام او وصل است و الکترومیوگرافی (EMG) نیز از عضلات ثبت می شود (۷۲-۷۴).

آلودینیای ضعیف تر و شدت کمتر آسیب می باشد (۷۸). در برخی از مدل های ایسکمی، تست های آلودینیا که بصورت وارد کردن ضربه های مکرر با نوک مداد به کف پا می باشد، علاوه بر سنجش پاسخ حیوان در دور کردن اندام، پاسخ های وکالیزیشن یا ایجاد صدا را نیز ارزیابی می نماید به اینصورت که با افزایش شدت تحریک دامنه و شدت ایجاد صدا بیشتر می شود (۸۱، ۸۰، ۳۲).

۴-۱-۲- تحریک کف پا با سوزن

جهت بررسی هیپرالژزی مکانیکی است. حیوان روی شبکه سیمی گذاشته می شود. زمان عادت کردن به محیط جدید ۱۵ دقیقه است. سپس با وسیله ای نوک تیز مانند سوزن به کف پای حیوان فشار وارد می شود و آستانه حساسیت حیوان اندازه گیری می شود (۸۲). سوزن با زاویه ۳۰ درجه به یک مبدل نیروی دستی وصل می شود. سیگنال های تولید شده از جانب مبدل^{۲۳} به وسیله یک آمپلی فایر ثبت و با نرم افزار مخصوص آنالیز می گردد. در هر آزمون ۵ الی ۶ بار به قسمت قدامی کف پا سوزن زده می شود. باید مراقب بود در یک نقطه دو بار ضربه وارد نشود. فواصل ضربه ها ۲ الی ۶ ثانیه می باشد. نیروی آستانه حداکثر نیرویی است که سبب پاسخ عقب کشیدن و دور کردن پا می شود. البته در صورت عدم پاسخ نیز

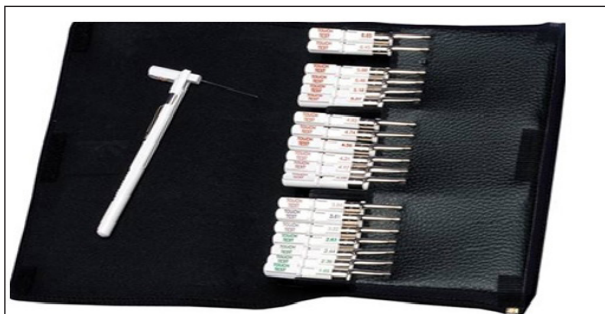
مهمی در کنترل عملکردهای حرکتی دارند. بنابراین آزمون های حسی برای ارزیابی پاسخ موش های صحرایی در حضور تحریکات گرمایی، سرمایی و درد بکار گرفته می شوند که شامل موارد زیر است (۷۵):

۴-۱-۱- تست درد نوروپاتیک

جهت بررسی میزان آلودینیا و هیپرالژزی در اندام خلفی حیوان دو روش متفاوت استفاده می گردد (۷۶):

۴-۱-۱-۱- تحریک حسی با تارهای ون فری

تحریک حسی با تار جهت ارزیابی آلودینیا و با تحریک غیردردناک انجام می شود. در این آزمون حیوان بر روی یک شبکه سیمی و داخل محفظه پلاکسی گلاس به ابعاد ۲۰×۲۰ سانتیمتر و ارتفاع ۳۰ سانتیمتر قرار می گیرد. بعد از عادت کردن حیوان به محیط، از تارهای با وزن های مختلف ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۵، ۲۶، ۶۰ گرم جهت تحریک پای حیوان استفاده می شود. هر تار سه بار و بمدت یک ثانیه به کف پای حیوان فشار داده می شود. در صورتی که برای هر شماره تار حیوان دو بار پای خود را بلند کند آن شماره به عنوان آستانه تحریک در نظر گرفته می شود (۷۷). آزمون با کمترین شماره آغاز می گردد. هر چه پاسخ حیوان نسبت به تار با شماره بالاتر مثبت باشد نشان دهنده آستانه بالاتر تحریک،



تصویر ۱۷- بررسی حس لمس و درد پنجه خلفی با تارهای ون فری. حیوان در محفظه شفاف پلاکسی گلاس قرار می گیرد و با تارهای محرک درد به پنجه ضربه وارد می شود. تحریک از ضعیف شروع و رفته رفته شدیدتر می گردد. پاسخ حیوان به صورت دور کردن اندام و ایجاد صدا می باشد (۷۹).

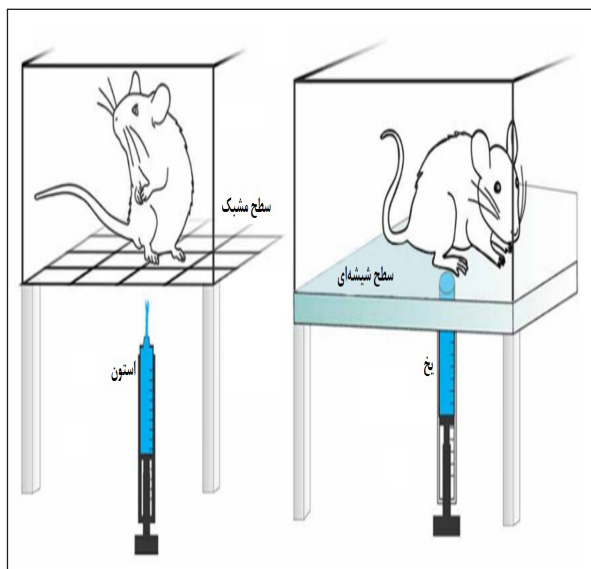
²³ Transducer



تصویر ۱۹- آزمون حس گرما: حیوان در محفظه شفاف روی صفحه داغ قرار گرفته و دمای صفحه بتدریج تا ۵۲ درجه سانتی گراد افزایش می‌یابد. مدت زمان قطع حرارت در صورت عدم پاسخ ۳۰ ثانیه است (۸۸-۹۰).

۳-۴- آزمون حس سرما

از تست سرما جهت سنجش درد هم استفاده می‌شود. مورد مصرف اتیل کلراید و استون می‌باشد. هیپرالژی و آلودینیا در ایسکمی و مدل‌های آسیب نخاعی از جمله کانتیوژن، کامپرشن و همی سکشن دیده می‌شود (۹۱).



تصویر ۲۰- آزمون حس سرما: حیوان را در یک محفظه شفاف روی شبکه میله‌ای قرار داده و توسط سرنگ قطره‌ای استون به کف پای او پاشیده می‌شود. در صورت ایجاد پاسخ، مثبت و در صورت عدم پاسخ، منفی در نظر گرفته می‌شود. این عمل ۵ بار تکرار می‌شود و تعداد پاسخ‌های مثبت به صورت درصد بیان می‌شود (۹۲-۹۳).

تا نیروی ۵۰ گرم فشار وارده قطع می‌گردد (۸۳).



تصویر ۱۸- تحریک کف پا با سوزن: جهت بررسی پاسخ افزایش یافته درد به تحریک دردناک، حیوان روی شبکه سیمی قرار می‌گیرد و هر ۱۵ ثانیه یکبار به مدت یک ثانیه با وارد کردن فشار توسط سوزن به کف پا تحریک انجام شده و حیوان پای خود را بلند می‌کند و این پاسخ مثبت در نظر گرفته می‌شود (۸۴-۸۵).

۲-۴- آزمون حس گرما

در گذشته جهت تست گرما از تحریک دم استفاده می‌شد. بدین ترتیب که زیر دم حیوان شعله حرارت گذاشته می‌شد و حیوان به محض حس درد و سوزش تکان ناگهانی در دم ایجاد می‌کرد. اما امروزه از صفحه داغ استفاده می‌گردد. موش‌های صحرایی در روزهای ۳، ۵، ۷ و ۱۰ بعد از ضایعه نخاع پشتی روی یک صفحه فلزی قرار داده می‌شوند. سپس صفحه تا دمای 50 ± 2 درجه سانتی گراد گرم می‌شود. واکنش مثبت حیوان جهت دور شدن از محرک به صورت پربدن و لیسیدن پنجه ظاهر می‌شود. میزان تأخیر در این پاسخ به عنوان شدت آسیب تلقی می‌گردد. در صورتی که حیوان پاسخی نشان نداد نتیجه آزمون منفی در نظر گرفته می‌شود. زمان قطع حرارت ۳۰ ثانیه است (۸۶). این زمان در صورت پاسخ ندادن حیوان هم اعمال می‌شود تا از سوختگی پوست جلوگیری شود (۸۷).

در زمینه ایجاد مدل‌های آسیب نخاعی روش‌های گوناگونی مانند ایسکمی و مدل‌های تروماتیک از قبیل فشردگی، له شدگی و قطع عرضی وجود دارد. فشردگی و له شدگی رایج‌ترین روش‌ها در مطالعات آزمایشگاهی و بالینی هستند. آسیب وارد شده از طریق آن‌ها از نظر هیستوپاتولوژیکی و رفتاری شبیه انسان است. همچنین صدمات ثانویه ایجاد شده در این روش‌ها تقریباً با انسان برابر است. به‌علاوه، ضایعات قابل ترمیم بوده و از لحاظ بررسی نتایج مداخلات قابل اطمینان هستند. به همین علت جهت تعیین میزان آسیب و اثرات داروهای مختلف

جهت انجام آزمون ابتدا موهای پوست پا تراشیده می‌شود و مقداری اتیل کلراید و یا استون با اسپری روی پوست پاشیده می‌شود و پاسخ ثبت شده به شکل زیر درجه‌بندی می‌گردد. نمره صفر به منزله عدم پاسخ، نمره یک پاسخ لوکالیزه، نمره ۲ برای ایجاد اصوات گذرا و نمره ۳ جهت صدای ممتد منظور می‌گردد (۹۴). در مواردی که ضایعه یک طرفه نخاعی وجود دارد جهت تشخیص درد یک طرفه از استون استفاده می‌گردد (۹۵-۹۷).

نتیجه‌گیری

جدول ۲- آزمون‌های رفتاری جهت ارزیابی تغییرات عملکردی در مدل‌های ضایعات نخاعی (SCI)

آزمون‌های حس‌حس	آزمون‌های حسی-حرکتی	آزمون‌های ارزیابی تحرک یا لوکوموتور	آزمون‌های سنجش مسیرهای حرکتی
آزمون درد نوروپاتیک	راه رفتن روی سطح مشبک	آزمون جعبه باز	آزمون رسیدن ماهرانه اندام قدامی
تحریک حسی با تارهای ون فری	آزمون صعود از شبکه	آزمون بازو-بٹی-برسان (BBB)	آزمون قدرت عضلات اندام قدامی و خلفی
تحریک کف پا با سوزن	بالا رفتن از طناب	آزمون شنای اجباری	رفتار جستجوگرانه در حالت عمودی
آزمون حس گرما	راه رفتن روی نردبان	آزمون آنالیز کمیتی Cat Walk Way	جدا کردن بر چسپ از اندام‌ها و یا پیشانی
آزمون حس سرما			آزمون عبور از پله برای دستیابی به غذا

می‌باشد. با توجه به هدف مطالعه، از نیروها در زمان‌های متفاوت استفاده می‌گردد. مناسب‌ترین زمان ۶۰ ثانیه جهت نخاع توراسیک است و در نخاع کمری تا ۱۵ دقیقه فشردگی قابل افزایش است. نیروی وارده از ۲۰ گرم تا ۵۰ گرم متغیر است. میزان ضایعه بستگی به اندازه حفره تشکیل شده و درجه باریک شدن ماده سفید نخاع دارد. محل مدل‌سازی ضایعه نخاعی در اکثر مطالعات نخاع پشتی می‌باشد. زیرا ایجاد آسیب در نخاع گردنی علاوه بر احتمال اختلال تنفسی و مرگ حیوان، بدلیل اشکال در اندام قدامی جهت رسیدن به غذا و مراقبت از خود موجب کاهش وزن و بی‌غذایی می‌گردد. نکته دیگر در انتخاب محل ضایعه نوع تغییر رفتاری مورد نظر است. به‌عنوان مثال در صورتی که هدف ارزیابی میزان تحرک باشد بهتر است نخاع سینه‌ای و کمری حیوان در نظر گرفته شود، چون ضایعه در این ناحیه اشکال در حرکات اندام خلفی ایجاد می‌نماید که نقش مهمی در تحرک حیوان دارد. در صورتی که بررسی تغییرات مسیرهای حرکتی (تلاش حیوان برای دستیابی به غذا و یا آزمون جدا کردن برچسب از پیشانی و آزمون‌هایی از این قبیل) مورد نظر باشد بهتر است ضایعه در نخاع گردنی ایجاد شود. جهت درمان‌های کاشت سلولی مانند کاشت سلول شوان، ارزیابی فعالیت حسی-حرکتی و هماهنگی اندام‌های قدامی و خلفی از آزمون‌های متنوع راه رفتن روی شبکه و صعود از نردبان استفاده می‌شود. قبل از انجام هر آزمون رفتاری باید خوگیری به شرایط محیط آزمون صورت گیرد، زیرا

بر رژنراسیون عصبی بسیار مناسب می‌باشند. اما روش صدمات قطع عرضی بدلیل اینکه در بالین بندرت اتفاق می‌افتد می‌توان از آن در مطالعات مهندسی بافت و کاشت سلولی بهره گرفت. علاوه بر موارد فوق آسیب‌های نخاعی ایجاد شده به روش ایسکمی و پرتوافکنی و مواد شیمیایی نیز وجود دارد که جهت بررسی نوروپاتی و دارو درمانی در بیماری‌های مزمن کاربرد دارد. این روش‌ها کمتر تهاجمی هستند و احتیاجی به لامینکتومی ندارند. برای بررسی صدمات حاد نخاعی آزمون‌های مختلفی وجود دارد که به شرح آنها پرداخته شد. چند نکته مهم در زمینه ایجاد مدل‌های آسیب نخاعی وجود دارد که لازم است قبل از انجام مطالعه مورد توجه قرار گیرند. به‌عنوان مثال در مدل فشردگی جهت کاهش هزینه و بدست آمدن نتیجه بهترین انتخاب نوع ایمپکتور باید با دقت صورت گیرد چرا که به‌عنوان مثال ایمپکتور^{۲۴} (IH) نسبت به بقیه ایمپکتورها بسیار گران قیمت می‌باشد. به‌علاوه برای تثبیت شدن آن بر روی نخاع باید از فورسپس استفاده کرد، ضمن اینکه فقط قسمت خلفی نخاع را تحت فشردگی قرار می‌دهد. ابزار آلن که هنوز در بسیاری از مراکز استفاده می‌شود کم هزینه است، اما گریزی از مداخلات آزمونگر و اپراتور در آن نیست و نیاز به دقت و تجربه کافی دارد. از بین تمام روش‌ها فشردگی با گیره (کلیپس) فشار مناسبی جهت ضایعه نخاعی ایجاد می‌کند. مکانیسم ضایعه ایجاد شده در آن ترکیبی از فشار حاد و سپس تداوم این فشار و آنگاه برداشت فشار پس از آسیب

²⁴ Infinite Horizontal; IH

جهت بررسی سلامت مسیر عصبی. در صورتی که نمره آزمون BBB پایین و بین صفر تا ۹ باشد از تست شنای اجباری، رسیدن اندام قدامی و تست ترجیح پنجه پا به همراه یکی از تست‌های رفلکسی استفاده می‌گردد. در جمع‌بندی پیشنهاد می‌شود که جهت مشخص کردن دقیق ضایعات نخاعی و آنالیز رفتاری پس از آسیب طناب نخاعی تلاش جدی و هوشمندانه‌ای صورت گیرد تا اختلالات حسی-حرکتی بدرستی ارزیابی شوند.

1. Kjell J, Olson L, Abrams M. Improved recovery from spinal cord injury in rats with chronic parvovirus serotype-1a infection. *Spinal Cord*. 2016; 54(7): 517.
2. Talac R, Friedman J, Moore M, Lu L, Jabbari E, Windebank AJ, et al. Animal models of spinal cord injury for evaluation of tissue engineering treatment strategies. *Biomaterials*. 2004; 25(9): 1505-10.
3. Ebrahimzadeh MH, Soltani-Moghaddas SH, Birjandinejad A, Omid-Kashani F, Bozorgnia S. Quality of life among veterans with chronic spinal cord injury and related variables. *Archives of trauma research*. 2014; 3(2).
4. Derakhshanrad N, Yekaninejad M, Vosoughi F, Fazel FS, Saberi H. Epidemiological study of traumatic spinal cord injuries: experience from a specialized spine center in Iran. *Spinal Cord*. 2016; 54(10): 901-7.
5. Liu NK, Zhang YP, Titsworth WL, Jiang X, Han S, Lu PH, et al. A novel role of phospholipase A2 in mediating spinal cord secondary injury. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*. 2006; 59(4): 606-19.
6. Lee D-H, Lee JK. Animal models of axon regeneration after spinal cord injury. *Neurosci Bull*. 2013; 29(4): 436-44.
7. Rivlin A, Tator C. Effect of duration of acute spinal cord compression in a new acute cord injury model in the rat. *Surg Neurol*. 1978; 10(1): 38-43.
8. Dolan EJ, Tator CH, Endrenyi L. The value of decompression for acute experimental spinal cord compression injury. *J Neurosurg*. 1980; 53(6): 749-55.
9. Su Y, Lin C, Lee K, Tsai T, Wu S, Hwang S, et al. A modified compression model of spinal cord injury in rats: functional assessment and the expression of nitric oxide synthases. *Spinal Cord*. 2015; 53(6): 432-5.

هر نوع استرس نتیجه آزمون را تغییر داده و غیر قابل اطمینان خواهد کرد. مقیاس نمره بندی BBB جهت بررسی تحرک اندام خلفی پس از مدل کانتیوژن در نخاع توراسیک انجام می‌شود و تست معتبری در سراسر دنیا می‌باشد. در مقیاس فوق باید سه چیز اندازه‌گیری شود: ۱- تحرک حیوان، درحیوانات قراردادن صحیح پنجه در محل مورد نظر معیار مهم فعالیت حرکتی است. ۲- انجام رفتار خاص هر آزمون. ۳- رفلکس حرکتی

منابع

10. Cheriyan T, Ryan D, Weinreb J, Cheriyan J, Paul J, Lafage V, et al. Spinal cord injury models: a review. *Spinal Cord*. 2014; 52(8): 588-95.
11. Guha A, Tator C, Endrenyi L, Piper I. Decompression of the spinal cord improves recovery after acute experimental spinal cord compression injury. *Spinal Cord*. 1987; 25(4): 324-39.
12. Šedý J, Urdzíkova L, Likavčanová K, Hejčl A, Burian M, Jendelová P, et al. Low concentration of isoflurane promotes the development of neurogenic pulmonary edema in spinal cord injured rats. *J Neurotrauma*. 2007; 24(9): 1487-501.
13. Tarlov I, Klinger H, Vitale S. Spinal cord compression studies: I. experimental techniques to produce acute and gradual compression. *AMA Archives of Neurology & Psychiatry*. 1953; 70(6): 813-9.
14. Sun G-d, Chen Y, Zhou Z-g, Yang S-x, Zhong C, Li Z-z. A progressive compression model of thoracic spinal cord injury in mice: function assessment and pathological changes in spinal cord. *Neural regeneration research*. 2017; 12(8): 1365.
15. Onifer SM, Rabchevsky AG, Scheff SW. Rat models of traumatic spinal cord injury to assess motor recovery. *ILAR journal*. 2007; 48(4): 385-95.
16. McDonough A, Monterrubio A, Ariza J, Martínez-Cerdeño V. Calibrated forceps model of spinal cord compression injury. *JoVE (J VIS EXP)*. 2015; (98): e52318.
17. Borges PA, Cristante AF, Barros-Filho TEPd, Natalino RJM, Santos GBd, Marcon RM. Standardization of a spinal cord lesion model and neurologic evaluation using mice. *Clinics*. 2018; 73.
18. Young W. Spinal cord contusion models. *Prog Brain*

Res. 137: Elsevier; 2002. p. 231-55.

19. Lane MA, White TE, Coutts MA, Jones AL, Sandhu MS, Bloom DC, et al. Cervical prephrenic interneurons in the normal and lesioned spinal cord of the adult rat. *J Comp Neurol*. 2008; 511(5): 692-709.

20. Van Gorp S, Leerink M, Nguyen S, Platoshyn O, Marsala M, Joosten E. Translation of the rat thoracic contusion model; part 2-forward versus backward locomotion testing. *Spinal Cord*. 2014; 52(7): 529.

21. Young W. Mascal spinal cord contusion model. *Animal models of acute neurological injuries*. Springer, Berlin; 2009.

22. Soblosky JS, Song J-H, Dinh DH. Graded unilateral cervical spinal cord injury in the rat: evaluation of forelimb recovery and histological effects. *Behav Brain Res*. 2001; 119(1): 1-13.

23. Schrimsher GW, Reier PJ. Forelimb motor performance following cervical spinal cord contusion injury in the rat. *Exp Neurol*. 1992; 117(3): 287-98.

24. Sharif-Alhoseini M, Khormali M, Rezaei M, Safdarian M, Hajighadery A, Khalatbari M, et al. Animal models of spinal cord injury: a systematic review. *Spinal Cord*. 2017; 55(8): 714.

25. Shah PK, Gerasimenko Y, Shyu A, Lavrov I, Zhong H, Roy RR, et al. Variability in step training enhances locomotor recovery after a spinal cord injury. *Eur J Neurosci*. 2012; 36(1): 2054-62.

26. Steward O, Willenberg R. Rodent spinal cord injury models for studies of axon regeneration. *Exp Neurol*. 2017; 287: 374-83.

27. Savas S, Delibas N, Savas C, Sütçü R, Cindas A. Pentoxifylline reduces biochemical markers of ischemia-reperfusion induced spinal cord injury in rabbits. *Spinal Cord*. 2002; 40(5): 224.

28. Hamers FP, Lankhorst AJ, van Laar TJ, Veldhuis WB, Gispens WH. Automated quantitative gait analysis during overground locomotion in the rat: its application to spinal cord contusion and transection injuries. *J Neurotrauma*. 2001; 18(2): 187-201.

29. Battistuzzo CR, Callister RJ, Callister R, Galea MP. A systematic review of exercise training to promote

locomotor recovery in animal models of spinal cord injury. *J Neurotrauma*. 2012; 29(8): 1600-13.

30. Daniel Pearce D, Eduardo Marcillo A, Oudega M, Paul Lynch M, McGhee Wood P, Bartlett Bunge M. Transplantation of Schwann cells and olfactory ensheathing glia after spinal cord injury: does pretreatment with methylprednisolone and interleukin-10 enhance recovery? *J Neurotrauma*. 2004; 21(9): 1223-39.

31. Ahmed RU, Alam M, Zheng Y-P. Experimental spinal cord injury and behavioral tests in laboratory rats. *Heliyon*. 2019; 5(3): e01324.

32. Hao J-X, Xu X-J, Aldskogius H, Seiger Å, Wiesenfeld-Hallin Z. Allodynia-like effects in rat after ischaemic spinal cord injury photochemically induced by laser irradiation. *Pain*. 1991; 45(2): 175-85.

33. Piao MS, Lee J-K, Jang J-W, Kim S-H, Kim H-S. A mouse model of photochemically induced spinal cord injury. *J. Korean Neurosurg. Soc*. 2009; 46(5): 479.

34. Nakae A, Nakai K, Yano K, Hosokawa K, Shibata M, Mashimo T. The animal model of spinal cord injury as an experimental pain model. *Biomed Res. Int*. 2011; 2011.

35. Liu D, Xu G-Y, Pan E, McAdoo D. Neurotoxicity of glutamate at the concentration released upon spinal cord injury. *Neuroscience*. 1999; 93(4): 1383-9.

36. Liu D, Bao F, Prough DS, DeWitt DS. Peroxynitrite generated at the level produced by spinal cord injury induces peroxidation of membrane phospholipids in normal rat cord: reduction by a metalloporphyrin. *J Neurotrauma*. 2005; 22(10): 1123-33.

37. Lafci G, Gedik HS, Korkmaz K, Erdem H, Cicek OF, Nacar OA, et al. Efficacy of iloprost and montelukast combination on spinal cord ischemia/reperfusion injury in a rat model. *J Cardiothorac Surg*. 2013; 8(1): 64.

38. Muir GD, Webb AA. Assessment of behavioural recovery following spinal cord injury in rats. *Eur J Neurosci*. 2000; 12(9): 3079-86.

39. Whishaw IQ, Gorny B, Sarna J. Paw and limb use in skilled and spontaneous reaching after pyramidal tract, red nucleus and combined lesions in the rat: behavioral and anatomical dissociations. *Behav Brain Res*. 1998; 93(1-2): 167-83.

40. Šedý J, Urdzíkova L, Jendelová P, Syková E.

Methods for behavioral testing of spinal cord injured rats. *Neurosci Biobehav Rev*. 2008; 32(3): 550-80.

41. Tasch U, Moubarak P, Tang W, Zhu L, Lovering R, Roche J, et al., editors. An Instrument That Simultaneously Measures Spatiotemporal Gait Parameters and Ground Reaction Forces of Locomoting Rats. ASME 2008 9th Biennial Conference on Engineering Systems Design and Analysis; 2008: American Society of Mechanical Engineers Digital Collection.

42. Raineteau O, Schwab ME. Plasticity of motor systems after incomplete spinal cord injury. *Nat. Rev. Neurosci*. 2001; 2(4): 263.

43. Chan CC, Khodarahmi K, Liu J, Sutherland D, Oschipok LW, Steeves JD, et al. Dose-dependent beneficial and detrimental effects of ROCK inhibitor Y27632 on axonal sprouting and functional recovery after rat spinal cord injury. *Exp Neurol*. 2005; 196(2): 352-64.

44. Piecharka DM, Kleim JA, Whishaw IQ. Limits on recovery in the corticospinal tract of the rat: partial lesions impair skilled reaching and the topographic representation of the forelimb in motor cortex. *Brain Res Bull*. 2005; 66(3): 203-11.

45. Anderson KD, Gunawan A, Steward O. Quantitative assessment of forelimb motor function after cervical spinal cord injury in rats: relationship to the corticospinal tract. *Exp Neurol*. 2005; 194(1): 161-74.

46. De Luca A, Tinsley J, Aartsma-Rus A, van Putten M, Nagaraju K, de La Porte S, et al. Use of grip strength meter to assess the limb strength of mdx mice. *SOP DMD_M*. 2008; 2(001).

47. Grip strength meter: Nanjing Biomedical Research Institute of Nanjing University; [cited 2018]. <http://www.nbri-nju.com/en-us/service-view-Grip-strength>.

48. Alam M, Garcia-Alias G, Shah PK, Gerasimenko Y, Zhong H, Roy RR, et al. Evaluation of optimal electrode configurations for epidural spinal cord stimulation in cervical spinal cord injured rats. *J Neurosci Methods*. 2015; 247: 50-7.

49. Livingston-Thomas JM, Tasker RA. Animal models

of post-ischemic forced use rehabilitation: methods, considerations, and limitations. *Exp Transl Stroke Med*. 2013; 5(1): 2.

50. Starkey ML, Barritt AW, Yip PK, Davies M, Hamers FP, McMahon SB, et al. Assessing behavioural function following a pyramidotomy lesion of the corticospinal tract in adult mice. *Exp Neurol*. 2005; 195(2): 524-39.

51. Bouet V, Boulouard M, Toutain J, Divoux D, Bernaudin M, Schumann-Bard P, et al. The adhesive removal test: a sensitive method to assess sensorimotor deficits in mice. *Nat Protoc*. 2009; 4(10): 1560.

52. Bouet V, Freret T. A master key to assess stroke consequences across species: The Adhesive Removal Test. *Advances in the Preclinical Study of Ischemic Stroke*. 2012: 47.

53. Singh A, Murray M, Houle JD. A training paradigm to enhance motor recovery in contused rats: effects of staircase training. *Neurorehabil Neural Repair*. 2011; 25(1): 24-34.

54. Staircase pellet reaching test devise KF Technology life science tools: http://www.kftechnology.it/newsite/images/djcatalog/s_taircase_rats_mice.jpg.

55. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol*. 2003; 463(1-3): 3-33.

56. Mills CD, Grady JJ, Hulsebosch CE. Changes in exploratory behavior as a measure of chronic central pain following spinal cord injury. *J Neurotrauma*. 2001; 18(10): 1091-105.

57. Paré WP. Open field, learned helplessness, conditioned defensive burying, and forced-swim tests in WKY rats. *Physiol Behav*. 1994; 55(3): 433-9.

58. open feild test <https://dyrefaciliteter.au.dk/institut-for-biomedicin/phenotyping/behavioural-phenotyping/>: Aarhus Universitet.

59. Koopmans GC, Deumens R, Honig WM, Hamers FP, Steinbusch HW, Joosten EA. The assessment of locomotor function in spinal cord injured rats: the importance of objective analysis of coordination. *J*

Neurotrauma. 2005; 22(2): 214-25.

60. Zavvari F, Karimzadeh F. A Methodological Review of Development and Assessment of Behavioral Models of Depression in Rats. *Neurosci. J. Shefaye Khatam*. 2015; 3(4): 151-60.

61. Forced swimming test https://en.wikipedia.org/wiki/Behavioural_despair_test 2019.

62. Smith RR, Burke DA, Baldini AD, Shum-Siu A, Baltzley R, Bunker M, et al. The Louisville Swim Scale: a novel assessment of hindlimb function following spinal cord injury in adult rats. *J Neurotrauma*. 2006; 23(11): 1654-70.

63. Schallert T, Fleming SM, Leasure JL, Tillerson JL, Bland ST. CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, parkinsonism and spinal cord injury. *Neuropharmacology*. 2000; 39(5): 777-87.

64. Chao O, Pum M, Li J-S, Huston J. The grid-walking test: assessment of sensorimotor deficits after moderate or severe dopamine depletion by 6-hydroxydopamine lesions in the dorsal striatum and medial forebrain bundle. *Neuroscience*. 2012; 202: 318-25.

65. Sharp KG, Flanagan LA, Yee KM, Steward O. A re-assessment of a combinatorial treatment involving Schwann cell transplants and elevation of cyclic AMP on recovery of motor function following thoracic spinal cord injury in rats. *Exp Neurol*. 2012; 233(2): 625-44.

66. Semler J, Wellmann K, Wirth F, Stein G, Angelova S, Ashrafi M, et al. Objective measures of motor dysfunction after compression spinal cord injury in adult rats: correlations with locomotor rating scores. *J Neurotrauma*. 2011; 28(7): 1247-58.

67. Ramón-Cueto A, Cordero MI, Santos-Benito FF, Avila J. Functional recovery of paraplegic rats and motor axon regeneration in their spinal cords by olfactory ensheathing glia. *Neuron*. 2000; 25(2): 425-35.

68. Thallmair M, Metz GA, Z'Graggen WJ, Raineteau O, Kartje GL, Schwab ME. Neurite growth inhibitors restrict plasticity and functional recovery following corticospinal tract lesions. *Nat Neurosci*. 1998; 1(2): 124-31.

69. Vogel W. Physiological disposition of 5-methoxytryptamine and the rope climbing performance

of rats. *Psychopharmacologia*. 1969; 15(2): 88-95.

70. Mann A, Chesselet M-F. Techniques for motor assessment in rodents. *Mov Disord: Elsevier*; 2015. p. 139-57.

71. Metz GA, Whishaw IQ. Cortical and subcortical lesions impair skilled walking in the ladder rung walking test: a new task to evaluate fore-and hindlimb stepping, placing, and co-ordination. *J Neurosci Methods*. 2002; 115(2): 169-79.

72. Bolton DA, Arthur D, Ballermann M, Misiaszek JE, Fouad K. Task specific adaptations in rat locomotion: runway versus horizontal ladder. *Behav Brain Res*. 2006; 168(2): 272-9.

73. Cummings BJ, Engesser-Cesar C, Cadena G, Anderson AJ. Adaptation of a ladder beam walking task to assess locomotor recovery in mice following spinal cord injury. *Behav Brain Res*. 2007; 177(2): 232-41.

74. Peixinho-Pena LF, Fernandes J, de Almeida AA, Gomes FGN, Cassilhas R, Venancio DP, et al. A strength exercise program in rats with epilepsy is protective against seizures. *Epilepsy Behav*. 2012; 25(3): 323-8.

75. Lindsey AE, LoVerso RL, Tovar CA, Hill CE, Beattie MS, Bresnahan JC. An analysis of changes in sensory thresholds to mild tactile and cold stimuli after experimental spinal cord injury in the rat. *Neurorehabil Neural Repair*. 2000; 14(4): 287-300.

76. Christensen MD, Everhart AW, Pickelman JT, Hulsebosch CE. Mechanical and thermal allodynia in chronic central pain following spinal cord injury. *Pain*. 1996; 68(1): 97-107.

77. Crown ED, Ye Z, Johnson KM, Xu G-Y, McAdoo DJ, Hulsebosch CE. Increases in the activated forms of ERK 1/2, p38 MAPK, and CREB are correlated with the expression of at-level mechanical allodynia following spinal cord injury. *Exp Neurol*. 2006; 199(2): 397-407.

78. Kingery WS. A critical review of controlled clinical trials for peripheral neuropathic pain and complex regional pain syndromes. *Pain*. 1997; 73(2): 123-39.

79. 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. *Pain*. 2003; 102(1-2): 203-9.

80. Morais SVd, Czeckzo NG, Malafaia O, Ribas Filho JM, Garcia JBS, Miguel MT, et al. Osteoarthritis model induced by intra-articular monosodium iodoacetate in rats knee. *Acta Cir Bras.* 2016; 31(11): 765-73.
81. Touch Test Sensory Kit <https://www.leicabiosystems.com/research/neuroscience/surgical-instrumentation/surgical-accessories/products/touch-test-sensory-kit/>: Leica Biosystems.
82. Finnerup NB, Sorensen F, Johannesen IL. Intravenous lidocaine relieves spinal cord injury pain. *Anesthesiology.* 2005; 102(5): 1023-30.
83. Yadlapalli JSK, Dogra N, Walbaum AW, Prather PL, Crooks PA, Dobretsov M. Pinprick hypo-and hyperalgesia in diabetic rats: Can diet content affect experimental outcome? *Neurosci Lett.* 2018; 673: 24-7.
84. Dai Y, Kondo E, Fukuoka T, Tokunaga A, Miki K, Noguchi K. The effect of electroacupuncture on pain behaviors and noxious stimulus-evoked Fos expression in a rat model of neuropathic pain. *J. Pain.* 2001; 2(3): 151-9.
85. Asthana P, Zhang N, Kumar G, Chine VB, Singh KK, Mak YL, et al. Pacific ciguatoxin induces excitotoxicity and neurodegeneration in the motor cortex via caspase 3 activation: implication for irreversible motor deficit. *Mol Neurobiol.* 2018; 55(8): 6769-87.
86. Scheid T, Moraes MS, Henriques TP, Riffel APK, Belló-Klein A, Poser GLV, et al. Effects of methanol fraction from leaves of *Schinus terebinthifolius* raddi on nociception and spinal-cord oxidative biomarkers in rats with neuropathic pain. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2018; 2018.
87. Carter M, Shieh JC. Guide to research techniques in neuroscience: Academic Press; 2015.
88. Rossi HL, Neubert JK. Effects of hot and cold stimulus combinations on the thermal preference of rats. *Behav Brain Res.* 2009; 203(2): 240-6.
89. Nozadze I, Tsiklauri N, Gurtskaia G, Tsagareli MG. Role of thermo TRPA1 and TRPV1 channels in heat, cold, and mechanical nociception of rats. *Behav Pharmacol.* 2016; 27(1): 29-36.
90. Hotplate Analgesia Meter <https://www.somatco.com/hotplateforanimal.htm>: Somatco.
91. Allchorne AJ, Broom DC, Woolf CJ. Detection of cold pain, cold allodynia and cold hyperalgesia in freely behaving rats. *Mol Pain:* 2005; 1: 1744-8069-1-36.
92. Chen J, Joshi SK, DiDomenico S, Perner RJ, Mikusa JP, Gauvin DM, et al. Selective blockade of TRPA1 channel attenuates pathological pain without altering noxious cold sensation or body temperature regulation. *Pain.* 2011; 152(5): 1165-72.
93. Deuis JR, Dvorakova LS, Vetter I. Methods used to evaluate pain behaviors in rodents. *Front Mol Neurosci.* 2017; 10: 284.
94. M'dahoma S, Barthélemy S, Tromilin C, Jeanson T, Viguier F, Michot B, et al. Respective pharmacological features of neuropathic-like pain evoked by intrathecal BDNF versus sciatic nerve ligation in rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2015; 25(11): 2118-30.
95. Xie J, Yoon YW, Yom SS, Chung JM. Norepinephrine rekindles mechanical allodynia in sympathectomized neuropathic rat. *Analgesia.* 1995; 1(2): 107-13.
96. M'Dahoma S, Bourgoïn S, Kayser V, Barthélémy S, Chevarin C, Chali F, et al. Spinal cord transection-induced allodynia in rats-behavioral, physiopathological and pharmacological characterization. *PLoS One.* 2014; 9(7).
97. Finnerup NB, Johannesen I, Fuglsang-Frederiksen A, Bach FW, Jensen TS. Sensory function in spinal cord injury patients with and without central pain. *Brain.* 2003; 126(1): 57-70.