

· 综述 ·

局灶脑缺血模型的制作研究现状

朱心红 陈素云[△]

缺血性中风的现代医学临床和实验研究已十分广泛,而中医对其有较好的临床疗效,因而选择有效的中药或方剂进行治疗缺血性中风的临床或实验研究有望找到中西医结合的“切入点”。脑缺血模型的准确建立对临床脑缺血病理生理的研究和药物疗效评定意义重大。目前常用的模型有:全脑缺血模型、局灶脑缺血模型(永久或短暂性)、微栓子脑缺血模型。本文仅就局灶脑缺血模型的建立作一综述。

1 实验动物的选择 制作脑缺血模型选用的实验动物有:小鼠、大鼠(Wistar、SD、Fischer-344等)、蒙古沙土鼠、猫、狗、猪、羊以及灵长类动物猕猴等,其中最为常用的是大鼠,使用率超过90%⁽¹⁾。选用大鼠作为脑缺血模型具有以下优点:(1)大鼠具有种系内纯性好,与人类有类似的脑血管解剖特点;(2)大鼠有极强的抗感染能力和生命力,常规操作一般不会引起伤口继发感染,存活时间较长;(3)成本低;(4)能够为动物保护者接受。

2 麻醉剂的选择与使用 制作脑缺血模型常选用乌拉坦、戊巴比妥钠、苯巴比妥钠、水合氯醛、氟烷、盐酸氯胺酮和盐酸赛拉嗪等麻醉剂。研究表明:人工辅助通气状态下的氟烷吸入麻醉,术中监测血压、血气,整个过程接近人类的手术麻醉过程。戊巴比妥钠、水合氯醛对脑温的影响较小,有人建议在条件不够的情况下可用2%戊巴比妥钠45mg/kg腹腔内注射麻醉⁽²⁾。苯巴比妥钠、乌拉坦等对血糖有影响⁽³⁾,其中,苯巴比妥钠有脑保护作用,有人建议不宜使用⁽⁴⁾。

3 造模方法

3.1 自发性脑卒中模型 采用自发性高血压大鼠或通过肾动脉狭窄或包裹肾脏的方法造成动物肾性高血压(使一侧动脉狭窄的称为双肾一狭型,使两侧动脉狭窄的称为双肾二狭型,先切除一侧肾脏,再狭窄保留肾的肾动脉称为单肾一狭型⁽⁵⁾)。随着鼠龄的增长而产生自发性脑卒中。这种造模方法可以得到与临床疾病发病相似的模型,适合于脑缺血的病理生理学研究,脑血管的形态学研究以及药物的疗效评定,但造模成功后尚有待进一步确定是出血还是缺血,病变部位具

有随机性,不利于实验研究,且费用高。

3.2 大脑中动脉阻塞(MCAO)模型

3.2.1 栓线法 由Koizumis创立,由于其具有不开颅、易操作、损害小、对生理指标影响小、成功率高、缺血区固定多在缺血侧尾壳核、背外侧皮质⁽⁶⁾,可对比性强,且可实现再灌注以及评价方法简单等优点而受到学者们的高度重视。但制作模型过程中仍需注意:(1)实验动物的选取:动物的体重直接影响实验的成败。刘亢丁等⁽⁶⁾认为大鼠的适宜体重为250~300g,>350g大鼠的颅内血管增粗,难以完全阻断大脑中动脉(MCA)血流;<240g大鼠栓线有时难以插入管腔内。Li FH等⁽⁷⁾认为大鼠的体重<300g者,栓塞往往不易成功。可见,做栓线法造MCAO模型,大鼠的体重应选300~350g者为佳。(2)尼龙线的选取与头端的处理:Aspey QS等⁽⁸⁾选用4.0单尼龙线,将其头端烫圆(直径为0.3mm),头端以外的部分敷以硅酮弹性胶(直径为0.27mm);杨世方等⁽⁹⁾分别采用3.0单尼龙线,将其一端加热使之成光滑球面;陈春富等⁽¹⁰⁾将4.0单尼龙线头端5mm涂一层柔性聚脂树脂,保证了再灌注时血流再通。Connolly Jr ES等⁽¹¹⁾研究表明:同种动物、同种方法(线径、线长一定)动物体重重者的梗塞面小,体重轻者的梗塞面大;若限定体重,栓线规格大(线径5.0 μ m)梗塞大。(3)进线长度:体重决定进线长度,体重重者进线深,轻者进线浅;一般认为进线长度为(18.5 $\pm$ 0.5)mm。(4)评价方法:陈春富等⁽¹⁰⁾认为栓线即刻出现同侧Horner氏综合征和麻醉清醒后出现闭塞对侧前肢运动功能障碍,均能反映MCAO成功与否。(5)线栓法MCAO模型可用于脑缺血病理生理及药物治疗的研究。(6)线栓法MCAO模型的研究目前仅局限于啮齿类动物。另外,Wang LC等⁽¹²⁾选用22月龄的大鼠制作线栓MCAO模型,表明不宜选用老龄大鼠。

3.2.2 机械闭塞法 多采用机械夹闭或电凝MCA起始部的方法造模,文献报道所不同的是手术入路有经颅、经眶、经颞的差别。

3.2.3 MCA管腔内诱发血栓形成法 郭京等⁽¹³⁾采用长约2mm的细铜丝,穿刺入MCA管腔中诱发血栓形成。该法吸取了经眶手术准确可靠和血管内栓塞的优点,克服了电凝法阻断血管同时也阻断管壁

上植物神经的缺点,适用于脑缺血后早期血流动力学改变及植物神经系统对脑血管的调节作用的研究。

3.2.4 微栓子法 微栓子栓塞法脑缺血模型由于其不能预见缺血部位和范围,不能再通而限制了其应用。Zhang RL 等^[14]改进了此法,采用富含纤维蛋白、外径 0.3mm、长 25mm 的微栓子阻断 MCA,除 6 只(共 74 只)死亡外,余均获得成功;24h、48h、168hMCAO 阻断率分别为:100%、62%、25%。研究表明该法重复率高,梗塞面积确定,梗塞造成的缺血细胞损害同临床相似,可以用来评定抗纤凝药物的疗效。

3.2.5 光化学诱导法 Wester P 等^[15]采用改进的光化学诱导法制造一个环行(ring)缺血区,用于研究缺血半暗带;模型缺血解剖部位限于 MCA 以及分支供血区。该模型手术创伤小,易操作,可以获得长、短期生存的实验动物,缺血损伤持久,病理生理机制与临床缺血性中风的半暗带机制相似;控制光照参数还可以获得再灌注模型。另外,光化学诱导法模型是目前局灶性脑缺血模型中动物存活时间最长的,可用于中医中风后遗症模型制作的研究。

4 椎基底动脉系统脑缺血模型 李学佩等^[16]采用在基底动脉上放置 0.5g 金属球的方法造成基底动脉痉挛性脑缺血模型,符合临床椎-基底动脉供血不足的病理生理。赵士福等^[17]采用电凝基底动脉尖端造成基底动脉全段缺血,制作了适合于急性脑干缺血的电生理病理及生化研究的脑干缺血模型。

5 问题与展望

5.1 关于模型的制作 笔者认为制作好的局部脑缺血模型应具备以下条件(1)尽可能符合临床实际(2)高度的可复制性(3)易操作,影响因素少(4)手术最好不开颅,不麻醉或无创伤性。

此外,临床上脑缺血中风多发生于脑动脉硬化的基础之上,因而造模可采用二步法,即:先造脑动脉硬化模型,在此基础上再造局部脑缺血模型。这方面的研究已有进展。谭盛等^[18]采用在肾血管性高血压大鼠基础上辅以动脉给予纤维蛋白原,利血平等药物复制混合性中风模型。王健等^[19]从中医对中风的病因病机认识入手,根据中医“饥则损气”、“劳则气耗”及“甘肥贵人则膏粱之疾”的理论,将自然病因、病性和年龄、体质等加以综合,采用饥饿、劳累、高脂饮食,选用中老年大鼠结扎左侧颈总动脉的方法,成功复制了缺血性中风气虚血瘀证动物模型。曾锦旗等^[20]采用二步造模方法制作了出血性中风中经络模型。

关于模型制作,还可以通过转基因法培育高等动物的中风易发模型,使之更接近与人类中风病的发生,

进而探讨其发生的机理,进行新药的疗效评定。目前用不同基因型的同种动物来研究中风的发病机理已取得了一些进展^[11 21 22],通过转基因法培育高等动物的中风易发模型可从中得以借鉴。

5.2 关于实验动物 脑缺血模型中所选用的实验动物多为青壮年健康动物,不符合临床实际患者的发病情况。对脑缺血易发模型的研究也表明健康动物与非健康动物对脑缺血的反应亦明显不同,参与脑缺血的机制也不同。Connolly Jr ES 等^[11]对卒中性自发性高血压大鼠和 Wistar 大鼠 MCAO 后进行对比研究,结果显示卒中性自发性高血压大鼠发生不可逆的脑缺血损伤,而 Wistar 大鼠只有轻微的脑缺血损伤。Fujishima 等^[23]用氢离子清除法测定自发性高血压大鼠和正常血压大鼠的大脑皮质和丘脑的局部脑血流量,结果表明结扎 MCA 后,自发性高血压大鼠的大脑皮质和丘脑的局部脑血流量明显低于正常血压大鼠,而未结扎前两者无明显差别。

5.3 关于实验结果 人和动物之间由于基因类型差别,因而参与脑缺血发病的物质基础也不同,不能简单地将实验结果用于临床上。为此,我们可以选用多种实验动物进行实验,当实验出现相似结论时再类推及人类。比如,脑缺血溶栓治疗时间窗的研究表明,无论猫、鼠、灵长类或其他实验动物 MCAO 后 3~4h 再灌注治疗为最佳时间,由此推测人类中风的最佳治疗时间窗也应在 3~4h 或稍长时间。临床研究也表明<6h 的超早期治疗有益于预后^[24]。

由上述可预见采用二步法,选用中老年大鼠,从中西医病因学角度,多因素性复制脑动脉硬化模型,然后在此基础上用 Zhang RL 等^[14]改进的微栓子法制作 MCAO 模型,就可以获得比较符合临床实际的缺血性中风模型或中风后遗症模型。

(感谢本校生理教研室高天明教授的指导)

参 考 文 献

1. Kim HK, Experimental models of cerebral ischemia. Acta - Anaesthesiologica - scandinavica 1997 ;41(Supply 111):91-92.
2. 王 伟. 严格控制实验条件,建立标准化脑缺血动物模型. 中华神经外科杂志 1998 ;14(5):261-263.
3. Roos MW, Sperber GO, Johansson A, et al. An experimental model of cerebral microischemia in rabbits. Experimental Neurology 1996 ;137(1):73-80.
4. 臧人和,刘文耀,雪来提,等. 实验性大脑中动脉区脑梗塞模型的建立. 中华神经外科杂志 1987 (2):97-99.
5. 彭 英,黄如训. 高血压脑动脉硬化性脑卒中动物模型. 国

- 外医学神经病学神经科学杂志 1992 ;21(19):60—62.
6. 刘亢丁, 苏志强, 李毅平, 等. 实验性局灶性脑缺血再灌注动物模型的改进及评价. 中风与神经疾病杂志 1997 ;14(2): 87—88.
 7. Li FH, Han S, Tatlisumak T, et al. A new model to improve inbore middle cerebral artery occlusion in rats. Stroke 1998 ; 29:1715—1720.
 8. Aspey QS, Cohen S, Patel Y, et al. Middle cerebral artery occlusion in the rat: consistent protocol for a model of stroke. neuropathology and applied neurobiology 1998 ;24:487—497.
 9. 杨世方, 闵宝珍, 周锡英. 大鼠局灶性脑缺血再灌注模型的研究. 中风与神经疾病杂志 1996 ;13(1):15—17.
 10. 陈春富, 李劲松. 栓线法大鼠局灶性脑缺血模型的研究. 中风与神经疾病杂志 1996 ;13(1):18—19.
 11. Connolly Jr ES, Stern DM, Solomon RA, et al. Procedural and strain-related variables significantly affect outcome in a murine model of focal cerebral ischemia. Neurosurgery 1996 ; 38(3):523—532.
 12. Wang LC, Futrell N, Wang DZ, et al. A reproducible model of middle cerebral infarcts, compatible with long-term survival, in aged rats. Stroke 1995 ;26:2087—2090.
 13. 郭京, 杜晓立, 张军, 等. 猫局部性脑缺血模型的建立和改进. 中华神经外科杂志 1987 ;2(2):101—103.
 14. Zhang RL, Chopp M, Zhang ZG, et al. A rat model of embolic cerebral ischemia. Brain Research 1997 ;766:83—92.
 15. Wester P, Watson BD, Prado R, et al. A photothrombotic 'Ring' model of rat stroke-in-evolution displaying putative penumbral inversion. Stroke 1995 ;26:444—450.
 16. 李学佩, 马芙蓉, 王伟, 等. 椎基底动脉脑缺血动物模型. 北京医科大学学报 1995 ;27(6):427—428.
 17. 赵士福, 王东武, 张基谟, 等. 实验性脑干缺血动物模型的建立. 中国神经精神疾病杂志 1995 ;21(1):40—41.
 18. 谭盛, 黄如训, 陶玉倩. 混合性中风的实验动物模型研究. 中国神经精神疾病杂志 1997 ;23(6):327—329.
 19. 王健, 胡建鹏. 缺血性中风气虚血瘀证动物模型的初步研究. 安徽中医学院学报 1999 ;18(2):46—49.
 20. 曾锦旗, 金益强, 胡随瑜. 出血性中风中经络动物模型的制作. 湖南中医学院学报 1998 ;18(3):4—6.
 21. Chan PH. Role of oxidants in ischemic brain damage. Stroke 1996 ;27(6):1124—1129.
 22. Barone FC, Knudsen DJ, Nelson AH, et al. Mouse strain differences in susceptibility to cerebral ischemia related to cerebral vascular anatomy. J Cereb. Blood Flow Metab 1993 ;13: 683—692.
 23. Fujishima M. Effects of experimental occlusion of the basilar artery by magnetic location of iron filing on cerebral blood flow and metabolism and cerebrovascular response to CO₂ in the dog. Neurology 1970 ;20:925.
 24. Myron D. The validity of rodent brain-ischemia models is self-evident. Arch Neurol 1996 ;53:1065—1066.

(收稿 2000-06-16 修回 2001-04-08)

化痞散外用治疗癰疽疔瘡 28 例

李毅¹ 韩文彬²

1996 年 1 月~2000 年 3 月,我们应用自拟方化痞散配合小金丹治疗癰疽疔瘡 28 例,现报道如下。

临床资料 28 例均为门诊患者,符合《皮肤性病学》[陈洪铎.第 4 版.北京:人民卫生出版社,1997:169]诊断标准。男 23 例,女 5 例,年龄 18~42 岁,平均 26.5 岁;病程 6 个月~7 年,平均 3.2 年。皮损多发者 12 例,单发者 16 例;皮损无明显诱因突然发生者 13 例,皮肤外伤或烧烫伤后继发者 15 例;早期进行性皮损 17 例,静止期皮损 11 例;皮损发于胸骨区附近者 21 例,发于肩、颈、背等其他部位者 7 例。

治疗方法 化痞散药物组成:丹参、海藻、瓦楞子各 20g,昆布、枳实、五倍子、莪术、防己各 15g,硃砂、木香各 10g,朱砂、蜈蚣各 5g。将上药共研细末。取小金丹(由白胶香、草乌头、五灵脂、地龙、马钱子、乳香、没药、当归身、麝香、墨炭组成,四川省阿坝州制药厂生产)1 管研末加入化痞散药末 30g 中,用适量麻油、蜂蜜调匀后,摊在同皮损一样大小的桑皮纸上,敷贴于患

处,盖上纱布,用胶布固定。每 3 天更换敷药 1 次,治疗 3~6 个月后观察疗效。

结果 疗效评定标准参照《临床疾病诊断依据治愈好转标准》[孙传兴主编.第 2 版.北京:人民军医出版社,1998:306]。治愈(癰疽消退,观察半年无复发)13 例,好转(癰疽消退 50% 以上,或癰疽消退,在半年内复发)12 例,无效(癰疽无变化或消退 < 50%)3 例。

体会 癰疽疔瘡是特殊体质发生的一种结缔组织过度增生的良性肿瘤,易诊而难治。类似于中医文献中的“肉龟疮”,认为本病的发生是气血凝滞不散,阻于肌肤所致。化痞散中丹参、莪术活血祛瘀,木香、枳实行气散痞,海藻、昆布、硃砂、瓦楞子破瘀散结,软坚消肿;五倍子、朱砂、蜈蚣解毒破坚。中药药理研究表明海藻、莪术、丹参、蜈蚣、硃砂有抗肿瘤作用;昆布所含碘化物能使病态的组织崩溃;防己碱对转化生长因子 β 促癰疽胶原基质收缩具有阻断作用。通过临床观察证明,化痞散治疗癰疽疔瘡,方法简便,安全有效。

(收稿 2001-04-23)

1. 四川省医学科学院附属医院(四川 641400) 2. 四川省简阳市三岔中心卫生院
万方数据