

家犬自体血栓性脑梗死模型的建立

杨建军, 宋雪丹, 陈海英, 周立群

(解放军第113医院神经外科, 浙江宁波 315040)

[摘要] 目的 建立一种适合溶栓的急性脑梗死模型。方法 选用成年家犬31只, 经股动脉插管至颈内动脉, 用自体血栓栓塞大脑中动脉, 数字减影血管造影(DSA)及病理检查证实脑梗死。结果

24只犬的脑梗死模型成功建立, 成功率达77%。结论 通过介入方法建立的自体血栓性脑梗死模型稳定性好, 方法简便。

[关键词] 脑梗死; 动物模型; 自体血栓

中图分类号: R332 献标识码: A 文章编号: 1672-271X(2009)03-0196-03

Establishment of Acute Cerebral Infarction Model in Dog with Autologous Blood Clot

YANG Jian-jun, SONG Xue-dan, CHEN Hai-ying, ZHOU Li-qun (Department of Neurosurgery, the 113th Hospital of PLA, Ningbo 315040, Zhejiang, China)

[Abstract] **Objective** To establish a kind of acute cerebral infarction model for thrombolysis. **Methods**

31 dogs were collected for Middle Cerebral Artery(MCA) embolization with autologous blood clot by femoral artery punctured and catheterized. Cerebral infarction was demonstrated by DSA examination and pathologic examination. **Results** 24 models of cerebral infarction were established with self-thrombolus of dogs, the success rate was 77%. **Conclusion** The cerebral infarction model with autologous blood clot was good for its stability and easy method by interventional method.

[Key words] Cerebral infarction; Animal model; Autologous blood clot

脑梗死的发病率、病死率、致残率及复发率较高, 药物治疗往往不能及时使血管再通, 导致较高的致残率和病死率。溶栓治疗急性脑梗死的疗效已经得到肯定^[1-2], 但对溶栓的时间窗、溶栓途径、溶栓药物的剂量仍有较多的争论^[3]。目前能提供溶栓实验的动物模型不多, 且大多数模型操作复杂、动物病死率高。本实验提供一种简单、稳定、适合溶栓的动物模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物 健康家犬31只, 体重15~20 kg, 雌雄不限。

1.2 主要实验材料 Toshiba血管数字造影机、常规开颅包、常规脑血管造影包。药品: 注射用硫酸妥钠(上海新亚产品), 2, 3, 5-三甲基氯化四唑(上海化学试剂公司产品)。造影器材: 4 F椎动脉造影管、穿刺鞘等(强生公司产品)。

1.3 模型制作过程 2%的硫酸妥钠液腹腔内注

射, 25 mg/kg。麻醉成功后, 实验动物仰卧位固定于数字减影血管造影(DSA)手术台上。股动脉穿刺置入5 F鞘, 鞘内抽取动脉血2 ml, 加入凝血酶150 U后注入4 F椎动脉造影管中, 放置10 min后推出已凝固的血栓, 修剪成长约5 mm, 放入磷酸缓冲液中待用。4 F椎动脉造影管置入家犬颈内动脉, 从导管内注入血栓, 造影提示大脑中动脉栓塞及对应供血区缺血表现。动物放置6 h后再次行脑血管造影, 证实栓子未自溶, 血管无再通现象, 脑梗死模型建立成功。

1.4 观察指标

1.4.1 神经功能障碍 观察有无肢体偏瘫、行走不稳。

1.4.2 模型建立情况 观察模型是否成功建立, 栓子自溶情况。

1.4.3 病理学检查 6 h后处死家犬, 开颅取脑, 大脑冠状切片成厚约3 mm, 放入2% 2, 3, 5-三甲基氯化四唑(TTC)溶液中染色, 37℃避光温浴30 min,

作者简介: 杨建军(1970-), 男, 上海人, 硕士, 主治医师, 从事神经外科脑血管病的基础与临床研究。

观察大脑缺血情况。脑标本常规固定、脱水、透明、石蜡包埋、切片及 HE 染色,光镜观察。

2 结果

2.1 成功率 建立模型的 31 只家犬中,1 只因麻醉过深死亡,2 只因输液过多、过快导致肺水肿死亡,1 只因股动脉穿刺失败失血过多死亡,3 只 6 h 后复查造影提示栓子自溶,血管再通,24 只数字减影血管造影检查证实栓子未自溶(图 1),24 只大脑中动脉供血区未显影或表现为染色较浅(图 2),脑梗死模型成功建立,成功率为 77%。



图 1 血栓注入后,左侧 MCA 栓塞

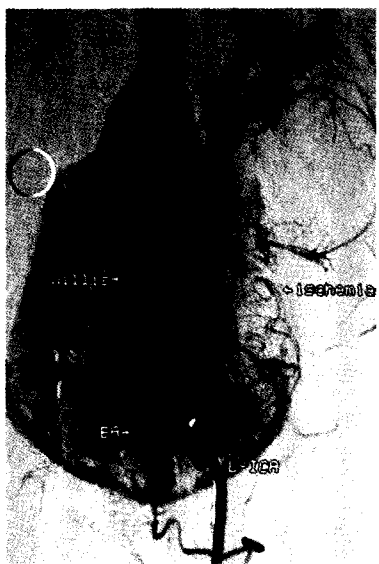


图 2 造影实质期,显示缺血区域

2.2 神经功能障碍 20 只出现了不同程度的肢体偏瘫,行走不稳,4 只行走正常。

2.3 病理学观察

2.3.1 TTC 染色 光镜观察提示 20 只大脑中动脉梗塞区呈现浅红色或白色,而正常非缺血区呈现红色(图 3)。4 只没有特征性的表现。



图 3 TTC 染色,正常脑组织红染(上块),缺血脑组织呈现浅红色或白色(下块)

2.3.2 HE 染色 24 只光镜观察均提示血管内红色血栓形成,神经细胞呈现不同程度的缺血性改变,主要表现为神经细胞外形成三角形,胞浆、胞核深染,内部结构不清。部分标本的缺血中心区脑组织呈均匀红染、无结构,表现为凝固性坏死。细胞间质也有不同程度的水肿(图 4)。

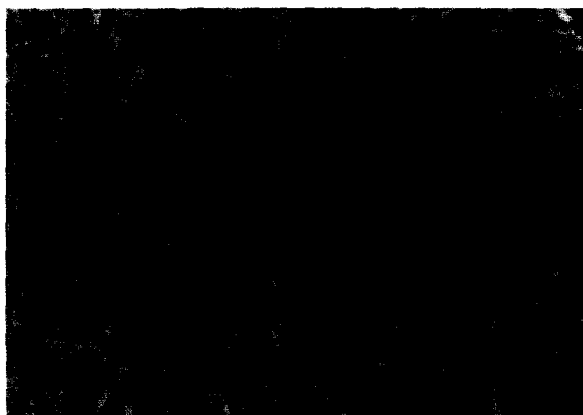


图 4 栓塞后,神经细胞缺血性改变,间质水肿(HE 染色,10×40)

3 讨论

家犬脑梗死模型的制作有手术和栓塞两种方法。开颅结扎法形成的梗死范围广,但手术复杂、创伤大、病死率高,且不适合溶栓的实验研究^[4]。而

且,单纯结扎一侧颈内动脉后,由于家犬的脑底动脉环(Willis 环)非常发达,血流可以通过对侧的后交通和前交通来供应结扎侧的颈内动脉系统,往往梗死的发生率很低。在栓塞法中,大部分报道多以肌肉组织、聚乙烯醇(PVA)颗粒或微栓子悬液作为栓子来制造脑梗死模型^[5],这种方法与临床脑梗死的病因学和病理生理过程有较大的差异,同样这种模型是不能进行溶栓的实验研究。也有报道通过分离颈部血管,从颈内动脉内直接注射自体血栓来制造脑梗死模型^[6-8]。但此种方法手术创伤较大,而且由于没有行 DSA 检查,模型是否成功建立主要依靠神经功能的缺失来评定,可能会受主观影响而使评判结果有一定的偏差。本方法是通过介入法注入自体血栓来制作脑梗死模型,其优点为:①手术创伤小,不需开颅,病死率低。②可直接观察栓塞部位及直接了解模型是否成功。③梗塞形成的区域较为恒定,多在大脑中动脉供血区。

人类脑血栓形成的大部分是白色血栓,是在动脉内膜受损的基础上,在正常循环和压力下形成的,主要成分为血小板和纤维蛋白。而我们所采用的栓子是血凝块,即红色血栓,其主要成分为红细胞及血小板^[9],纤维蛋白含量较少,虽然在制作栓子的过程中加入了凝血酶,血栓形成后又放入磷酸缓冲液中加以固缩,但仍有 3 只动物出现了栓子自溶。所以,栓子的制作方法仍需进一步的改进。

血栓的大小在一定程度上决定着模型能否成功建立。血栓直径过小,血栓注射时不能栓塞大脑中动脉的起始部,经血流冲击变形后到达大脑中动脉的终末枝,神经功能障碍不容易表现出来。血栓直径过大,栓塞的部位一般在颈内动脉,如上所述,由于家犬 Willis 环十分发达,脑梗死发生的可能性很小。本实验中有 3 例血栓栓塞的部位在颈内动脉,1 例由于血栓过小到达了大脑中动脉(MCA)的终末枝,动物麻醉清醒后无明显的神经功能障碍,行走正常。而且,TTC 染色也未见典型的缺血区。所以,在进行 DSA 检查时必须测量 MCA 的直径,根据 MCA 的

直径来制作血栓的大小,这样可使成功率大大提高。本实验中所测家犬 MCA 的直径平均为 1.2 mm,制作栓子时用 4 F 造影管,栓子直径也为 1.2 mm。但由于个体差异,仍导致 4 例动物模型未能完好建立。

本实验采用介入法进行脑梗死模型的制作,对动物的创伤小,成功率高,模型建立的评判标准直接客观。但必须拥有神经介入技术,所以在一定程度上限制了模型的广泛应用。但随着神经介入的发展,本模型将成为研究脑梗死的理想动物模型,包括溶栓药物的治疗时间、给药途径、药物的疗效及安全性的研究。

参考文献

- [1] Rajane C, Lisboa M, Borko D, et al. Analysis of the safety and efficacy of intra-arterial thrombolytic therapy in ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2002, 33(10): 2866-2871.
- [2] Randall T, Higashida MD, Anthony J, et al. Trial design and reporting standards for intra-arterial cerebral thrombolysis for acute ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2003, 34(8): 109.
- [3] Qureshi AI, Boulos AS, Hanel RA, et al. Randomized comparison of intra-arterial and intravenous thrombolysis in a canine model of acute basilar artery thrombosis [J]. *Neuroradiology*, 2004, 46(4): 988-995.
- [4] 刘 喆, 赖新生. 大脑中动脉闭塞缺血模型大鼠的建立与评价 [J]. *中国行为医学科学*, 2005, 14(10): 877-881.
- [5] 顾为望, 张玉勋, 曲莉芝. 急性脑梗死实验动物模型研究进展 [J]. *中国实验动物学杂志*, 1998, 8(4): 243-247.
- [6] 龚建平, 钱铭辉, 曹幼甫, 等. 犬脑梗死模型的 CT 和病理研究 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 1995, 11(1): 57-59.
- [7] 金冠民, 袁 涛, 刘怀军, 等. 自体血栓栓塞性兔大脑中动脉脑梗死影像学模型的建立 [J]. *临床放射学杂志*, 2008, 27(9): 1266-1269.
- [8] 关微华, 赵育梅, 徐 超. 一种改良的大鼠脑血栓栓塞模型 [J]. *中华神经外科杂志*, 2006, 22(4): 251-254.
- [9] Overgaard K, Sereghy T, Boysen G, et al. A rat model of reproducible infarction using thrombotic blood clot emboli [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1992, 12(3): 484-490.

(收稿日期:2008-11-14;修回日期:2009-03-09)

(本文编辑:黄攸生; 英文编辑:王建东)