技术方法

文章编号:1000-5404(2006)06-0606-02

大鼠爆炸性脑创伤模型建立

楚燕飞,李兵仓,陈 菁,王建民,张良潮,陈志强,康建毅 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所六研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400042)

提 要: 目的 建立一种稳定、可靠的大鼠爆炸性脑水肿动物模型。**方法** Wistar成年大鼠105只随机分为80、150 mg TNT当量组和假手术组($n=35$),右侧额顶部开直径为1 cm的骨窗后分别用80 mg和150 mg TNT当量电雷管在5 cm垂直距离爆炸,于1、2、3、4、5、6、7 d检测损伤区脑水肿指数和光、电镜病理形态变化。**结果** 150 mg TNT当量组大鼠在伤后2 d内全部死亡,80 mg TNT当量组大鼠存活时间在7 d以上,伤后2 d水肿达高峰,第3~7天水肿逐渐减退。**结论** 80 mg TNT当量电雷管在5 cm的爆炸距离可造成稳定的大鼠爆炸性脑水肿模型。

目前研究爆炸性脑水肿的动物模型主要采用大动物如犬、兔、猪等[1],不但价格昂贵,饲养繁琐,而且相关分子生物学试剂的购买也十分困难,这给研究带来很大的不便。近年来大鼠的基因测序已经完成,国内外市场上相关抗体也十分完备,因此建立一种大鼠的爆炸性脑水肿动物模型可为研究和治疗爆炸性脑水肿提供一个比较好的实验平台。

1 材料与方法

1.1 动物及实验分组

Wistar成年大鼠105只(大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供),雌雄不限,体质量220~250 g,随机分为80 mg TNT当量电雷管组、150 mg TNT当量电雷管组和假手术组($n=35$),以上各组又随机分为1、2、3、4、5、6、7 d组($n=5$)。

1.2 模型制作

大鼠用1%戊巴比妥钠(20~30 mg/kg)腹腔注射麻醉成功后,头部剃毛,无菌条件下于右侧额顶部开直径为1 cm的骨窗,保持硬脑膜完整,彻底止血后于1 h内放于自制爆炸架下,分别用80 mg和150 mg TNT当量电雷管于5 cm的垂直距离爆炸,Wavebook/516A压力测试系统检测爆炸压力,爆炸后1 h行清创缝合术。假手术组大鼠只开骨窗而不行爆炸致伤。

1.3 动物取材

于伤后1、2、3、4、5、6、7 d将大鼠用1%戊巴比妥钠麻醉后取损伤边缘0.5 cm处脑组织分别行脑水肿指数测定和光、电镜检查。脑水肿指数测定采用干湿重法[2]。光镜检查标本经4%多聚甲醛固定12 h后常规石蜡包埋,冠状切片,厚度8 μm,HE染色,Olympas显微镜下观察病理形态改变。电镜检查标本经3%戊二醛固定12 d后Epon812/618包埋,超薄切片经枸橼酸铅染色后在JEM-1200E透射电镜下观察超微结构改变。

1.4 统计学分析

数据用$\bar{x}\pm s$表示,采用Excel 2000软件对各组数据行t检验。

2 结果

2.1 爆炸压力

80 mg TNT当量组爆炸压力为(15.2±1.1) kPa;150 mg TNT当量组爆炸压力为(27.82±1.25) kPa,二者相差显著($P<0.01$)。

2.2 一般改变

爆炸瞬间80 mg当量组和150 mg当量组大鼠均可看到短暂的呼吸暂停,然后呼吸变深、变慢,后逐渐加快。150 mg当量组大部分动物在爆炸后立即出现呼吸、心跳骤停,且全部于2 d内死亡;80 mg当量组大鼠于术后8~12 h清醒,醒后精神萎靡、食欲差,无癫痫和肢体瘫痪,生存时间全部在7 d以上。

2.3 病理改变

2.3.1 大体改变 伤后1 h内可看到脑皮层血管破裂出血、局部脑挫裂伤,脑组织水肿,膨出骨窗,150 mg当量组脑挫裂伤严重,脑组织碎裂,出血明显。

2.3.2 光镜下所见 在第1~2天150 mg当量组大鼠可见明显的脑挫裂伤,皮质的连续性消失,脑实质内出血严重;80 mg当量组脑挫裂伤较轻,仅可见散在皮质下出血,并出现明显的脑水肿表现,在术后第2天达高峰,第3~7天,脑水肿逐渐减退。结果见图1-3。

2.3.3 电镜下所见 80 mg TNT当量组电镜下可见毛细血管破裂,毛细血管内皮细胞肿胀,胞饮小泡增多,细胞间隙增宽。部分神经细胞染色质弥散,细胞质水肿,高尔基体扁平囊扩张,粗面内质网脱颗粒,线粒体肿胀空化,溶酶体增多,细胞核、细胞质溶解,核仁消失。髓鞘扭曲、崩解,板层结构破坏,鞘壁皱缩,鞘内结构溶解,轴突肿胀、空化。伤后第2天尤为显著,第3~7天脑水肿表现逐渐减轻。结果见图4。

基金项目:全军医学科学技术研究"十五"计划指令性课题(01L060)
Supported by the Mandatory Scientific Research Project of the "Tenth Five-Year Plan" of PLA (01L060)

作者简介:楚燕飞(1971-),男,河南省睢县人,博士研究生,主治医师,主要从事中枢及周围神经损伤方面的研究,发表论文5篇。电话:(023)68757436

通讯作者:李兵仓,电话:(023)68757564

收稿日期:2005-02-03;**修回日期**:2005-11-29

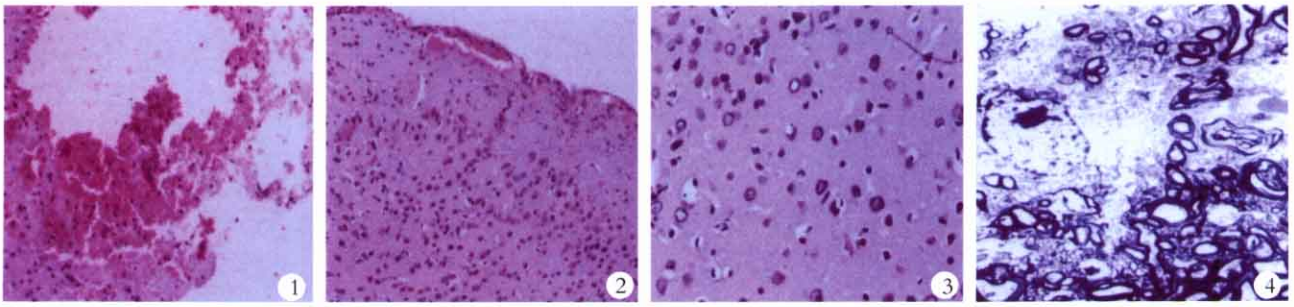


图 1　伤后第 1 天 150 mg TNT 当量组大鼠脑挫裂伤严重，脑内可见严重的出血　（HE ×100）
图 2　伤后第 1 天 80 mg TNT 当量组大鼠脑挫裂伤较轻，可见少量皮质下出血　（HE ×100）
图 3　伤后第 3 天 80 mg TNT 当量组大鼠深部脑实质内神经元和胶质细胞肿胀，出现核空泡　（HE ×200）
图 4　伤后第 3 天 80 mg TNT 当量组损伤区髓鞘扭曲、崩解，板层结构破坏，鞘壁皱缩，鞘内结构溶解，轴突肿胀、空化　（EM ×2 000）

2.4　脑水肿指数

150 mg 当量组因大鼠全部于伤后 2 d 内死亡，未行脑含水量测定，80 mg 当量组伤后第 2 天水肿达高峰，后逐渐下降，到第 7 天脑含水量仍高于假手术组（$P<0.05$）。结果见表 1。

表 1　假手术组和 80 mg TNT 组 BEI 比较

组别	脑水指数（%，$\bar{x}\pm s$）						
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
80 mg TNT 当量组	84.65 ± 1.11[a]	85.03 ± 0.52[a]	84.54 ± 0.58[a]	83.46 ± 0.94[a]	82.55 ± 1.01[a]	81.87 ± 0.77[a]	80.21 ± 1.29[a]
假手术组	77.25 ± 1.02	79.24 ± 0.78	79.35 ± 1.14	79.14 ± 1.03	79.03 ± 0.45	79.12 ± 0.56	79.42 ± 0.77

a：$P<0.05$，与假手术组比较

3　讨论

外伤性脑水肿是颅脑损伤后主要继发性病理改变，也是临床上致残和致死的主要原因之一，制作脑水肿动物模型，研究脑水肿的发生、发展可为临床治疗提供依据。以往研究颅脑爆炸伤主要采取大剂量雷管或者制式炸弹爆炸[3]，不但动物死亡率高，致伤模型不稳定，而且多合并有其他脏器的损伤，这也会对脑水肿的发生、发展产生重要的影响。考虑以上因素，本实验首创了在小动物－大鼠模型中应用小剂量雷管定向爆破的方法制作了稳定、可靠的脑爆炸伤动物、模型，为人们研究和治疗爆炸性脑水肿提供了一个较好的实验平台。

本实验模型中爆炸引起颅脑损伤的机制主要是爆炸产物和冲击波到达表层的脑组织后造成直接破坏作用[4]，然后能量通过传导作用造成邻近组织的损伤，因此可在深部的组织中看到血管破裂出血，神经元和胶质细胞坏死。早期伤区脑组织肿胀主要是血管扩张引起脑含水量增加引起的。实验早期阶段电镜下观察到毛细血管紧密连接的开放、小泡转运的增强、以及内皮细胞的损伤是血-脑屏障破坏的主要表现[5]，可以预计本实验爆炸伤早期主要造成的是血管源性脑水肿。后期因为神经元和胶质细胞缺血缺氧和炎症介质的释放引起脑组织细胞破坏产生细胞毒性脑水肿[6]。

在实验中，爆炸直接冲击部位在“非优势半球”（右侧）的额颞叶，运动区的损伤比较轻，因此并没有观察到明显的神经损害症状。当然，本实验因为去除了大鼠的颅骨，和临床上去骨瓣减压类似，在一定程度上也减缓了脑水肿的发生、发展，这也是 80 mg 当量组大鼠在度过了急性创伤和麻醉期后生存率高的原因。150 mg 当量的雷管致伤因为其爆炸压力大，对大脑的损伤严重，因此出现大部分动物迅速死亡。

关键词：大鼠；脑水肿；爆炸伤
中图法分类号：R-332；R651.15　　**文献标识码**：B

参考文献：

[1] 陈　旭，郑惠民，谢惠君. 脑水肿的实验研究[J]. 临床神经病学杂志，2000，13(3)：187－188.
[2] 张　捷，胡威夷，黄茂清，等. 高原习居与空运犬颅脑火器伤脑水肿的比较[J]. 解放军医学杂志，1996，21(5)：382－384.
[3] 刘鲁岳，李兵仓，吴国萍. 颅脑爆炸伤后脑组织兴奋性氨基酸含量变化的实验研究[J]. 第三军医大学学报，2003，25(5)：461－462.
[4] 黎　鳌，盛志勇，王正国. 现代战伤外科学[M]. 北京：人民军医出版社，1998：93.
[5] HELLAL F，BONNEFONT ROUSSELOT D，CROCI N，*et al*. Pattern of cerebral edema and hemorrhage in a mice model of diffuse brain injury[J]. Neurosci Lett，2004，357(1)：21－24.
[6] CERNAL I，VINK R，ZAPPLE D N，*et al*. The pathobiology of moderate diffuse traumatic brain injury as identified using a new experimental model of injury in rats[J]. Neurobiol Dis，2004，17(1)：29－43.

（编辑　陈聪连）