文章编号:1000-5404(2008)10-0969-04

论著

大鼠实验性脑室出血后慢性脑积水动物模型的建立及病理学观察

宫国旗,孟 辉,夏永智,冯 华 (第三军医大学西南医院神经外科,全军神经系统疾病微创诊治专科中心,重庆 400038)

摘 要:目的 建立一种稳定、高效、死亡率低的成年大鼠脑室出血后慢性脑积水动物模型。**方法** SD雌性大鼠110只,采用随机数字表法分为3组:生理盐水对照组及侧脑室注血组各50只,正常对照组10只。采用侧脑室注血法于侧脑室注入自体不抗凝血130 μl制备大鼠脑室出血后慢性脑积水动物模型,以术后28 d时大鼠前囟后0.4 mm冠状面的侧脑室宽度评价脑积水的发生情况。分别于术后24 h、72 h、7 d、14 d及28 d处死大鼠,测量上述平面侧脑室指数(侧室面积/脑片面积×100),并观察脑室出血后脑组织病理结构变化。**结果** 正常对照组无脑积水,生理盐水对照组在各时相点未出现脑积水,侧脑室注血组28 d时10只大鼠中7只发生脑积水。28 d时侧室指数分别为正常对照组(0.79±0.49)、生理盐水对照组(1.05±0.41)、侧脑室注血组大鼠(4.51±1.94);侧脑室注血组与生理盐水对照组及正常对照组相比均有非常显著差异($P<0.01$)。侧脑室注血组大鼠24、72 h脑室周围白质水肿,脑组织细胞增生,胼胝体出现扭曲和肿胀;7 d时侧脑室积血已经消散,出现含铁血黄素侧脑室壁沉积;28 d时室管膜细胞有纤毛和微绒毛的缺失。生理盐水对照组无以上变化。**结论** 采用侧脑室注血法可以制备大鼠脑室出血后慢性脑积水模型。

关键词: 脑室出血;动物模型;脑积水
中图法分类号: R-332;R742.7;R743.34 **文献标识码:** A

Experimental chronic hydrocephalus after intraventricular hemorrhage in rats: establishment of animal model and pathological observation

GONG Guo-qi, MENG Hui, XIA Yong-zhi, FENG Hua (Department of Neurosurgery, Southwest Hospital, Third Military Medicine University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To establish the rat model of chronic hydrocephalus after intraventricular hemorrhage (IVH). **Methods** Totally 110 Sprague Dawley female rats were divided into 3 groups: IVH group ($n=50$), saline control group ($n=50$) and the normal group ($n=10$). The rats in IVH group were infused autologous whole blood (130 μl) into the right lateral cerebral ventricle. All rats except the normal group were sacrificed on day 1, 3, 7, 14, 28 after operation, and the transverse diameter of the lateral ventricle was measured to evaluate hydrocephalus and the index of ventricle. The pathological changes of the brain were observed. **Results** Hydrocephalus occurred in 7 out of 10 rats in IVH group at 28 d. The index of ventricle in IVH group (4.51±1.94) was higher than that of saline control group (1.05±0.41) and the normal group (0.79±0.49) ($P<0.05$). In the brain of the rats in the IVH group, we observed edema of white matter surrounding ventricle, twist and engorge of callosum, proliferation of rhagiocrine cells in 24, 72 h after operation, absence of ciliums and microvillares of the ependymal cells on day 28. No similar changes occurred in the other two groups. **Conclusion** Injecting autologous blood into right lateral cerebral ventricle can produce chronic hydrocephalus similar to hydrocephalus after intraventricular hemorrhage.

Key words: intraventricular hemorrhage; animal model; hydrocephalus

脑积水是脑出血后的常见并发症。据统计高达50%的自发性脑出血合并脑室出血,其中35%会发展为脑出血后脑积水。目前虽然有脑脊液分流手术和三脑室底造瘘手术,但总体治疗效果仍然不佳[1,2]。由于对出血后慢性脑积水的发生机制尚不清楚,难以在出血后做到早期防治。我科临床病例观察发现脑出血后慢性脑积水、脑脊液中组织纤维化标志物Ⅰ型前胶

基金项目:国家"十一五"科技攻关项目(2006BAI01A12)
Supported by the "Eleventh Five-Year Plan" for Sci & Tech Research of China (2006BAI01A12)
作者简介:宫国旗,男,河北省东光县人,硕士研究生,主治医师,主要从事脑出血和脑外伤方面的研究。电话:(023)68773071,E-mail:gongguoqi2000@yahoo.com.cn
通信作者:冯 华,电话:13708321681,E-mail:fenghua8888@yahoo.com.cn
收稿日期:2008-01-15;修回日期:2008-02-02

原(PⅠCP)、Ⅲ型前胶原(PⅢNP)、透明质酸(HA)及层黏蛋白(LN)含量均显著增高,提示脑出血后脑积水患者蛛网膜下腔存在纤维增生趋势,这可能是出血后慢性脑积水形成的病理学基础[2]。本实验通过二次注血法建立大鼠脑出血后慢性脑积水模型研究脑室出血后慢性脑积水的发生情况,为进一步研究脑出血后慢性脑积水的发生机制提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

健康成年雌性 SD 大鼠 110 只(第三军医大学实验动物中心),体质量(210±10)g。采用随机数字表法分为 3 组:生理盐水对照组及侧脑室注血组各 50 只,正常对照组 10 只。生理盐水对照组及侧脑室注血组分别分为术后 24 h、72 h、7 d、14 d 及 28 d 5 个时相点,每个时相点 10 只大鼠。

1.2 试剂及设备

1.2.1 试剂 4% 多聚甲醛(4 ℃,pH 7.4),Gill 改良苏木精,1% 伊红染色液,1% 甲苯胺蓝染色液,2.5% 戊二醛。

1.2.2 设备 小型动物实验专用脑立体定向仪配 ST-Ⅲ型手动推进器(西光医疗器械公司),微量注射器(宁波市三爱仪器厂),光学显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物模型制备 参照 Lodhia 等[3]方法并改良,采用二次注血法。5% 水合氯醛(250 mg/kg)腹腔注射麻醉。将大鼠固定于脑立体定向仪上,按照大鼠解剖图谱定位右侧侧脑室,进针点坐标:前囟后 0.8 mm,中线右侧 1.6 mm,垂直进针 3.2 mm。钻孔至硬脑膜,取大鼠尾静脉血65 μl,置于固定于立体定向仪的微量进样器内,10 μl/min 匀速注血,留针 5 min 后退针,间隔 5 min 再次吸取 65 μl 静脉血后依法操作,骨蜡封颅,缝合头皮。生理盐水对照组用同样的方法分 2 次注入等量生理盐水,正常对照组不手术,同一环境喂养 28 d。

1.3.2 一般情况观察 各组大鼠自由进食、水,观察大鼠在各时相点饮食、呼吸、心率、体温变化及活动、死亡情况等。

1.3.3 取材及病理观察 大鼠于各时相点,以水合氯醛按 400 mg/kg 深麻醉,用生理盐水及多聚甲醛固定液灌洗后断头取脑,取侧脑室顶壁组织作电镜标本后迅速置于 2% 戊二醛中送检,其余组织于多聚甲醛溶液中固定后制备冠状面,连续 4 μm 石蜡切片,行 HE 染色、尼氏染色观察。

1.3.4 脑积水鉴定及侧室指数计算 标本取材后参照 Kim 等[4]的方法,根据大鼠前囟后 0.4 mm 冠状面的侧脑室宽度将大鼠脑积水分为轻、中、重度,1.0~1.5 mm 为轻度脑积水,1.6~2.0 mm为中度脑积水,>2.0 mm 为重度脑积水。计算出该平面侧室指数(侧室面积/脑片面积×100)。

1.4 统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件,各组侧室指数比较采用 t 检验和秩和检验。

2 结果

2.1 一般情况

侧脑室注血组及生理盐水对照组术后麻醉苏醒即表现精神萎靡、竖毛,24 h 后恢复正常。各组大鼠饮食情况,呼吸、心率、体温变化无明显区别,无死亡。

2.2 脑积水的发生情况

正常对照组无脑积水,生理盐水对照组各时相点无脑积水发生,侧脑室注血组 28 d 时 10 只大鼠中有 7 只发生脑积水,前囟后 0.4 mm 冠状面的侧脑室宽度处于 1.0~1.6 mm。

2.2.1 大体观察 生理盐水对照组无脑积水发生,但个别动物 24、72 h 可见右侧脑室少许积血。侧脑室注血组:术后 24 h 可见右侧侧脑室积血;72 h 时右侧侧脑室积血较前有所吸收;7 d 时 8 只大鼠有双侧侧脑室扩张,侧脑室积血已完全吸收;14 d 时 7 只可见双侧侧脑室扩张;28 d 时 7 只大鼠发生脑积水(图 1)。

2.2.2 侧室指数 正常对照组侧室指数(0.79±0.49),与生理盐水对照组 28 d 时相比无统计学差异($P>0.05$)。生理盐水对照组及侧脑室注血组大鼠侧室指数均在 72 h 达到 1 个峰值后回落,此 2 组侧室指数在各时相点比较均有统计学差异($P<0.01$)。见表 1。

表 1 2 组大鼠不同时相点的侧室指数($n=10,\bar{x}\pm s$)

组别	24 h	72 h	7 d	14 d	28 d
生理盐水对照组	1.64±0.28	1.76±0.27	1.41±0.26	1.09±0.33	1.05±0.41
侧脑室注血组	3.47±0.27[a]	4.93±0.67[a]	4.65±2.03[a]	4.50±1.85[a]	4.51±1.94[a]

a:$P<0.01$,与生理盐水对照组比较

2.3 病理组织学观察

生理盐水对照组各时相点无明显变化。侧脑室注血组大鼠 24 h 可见右侧侧脑室积血,脑室周围白质水肿,脑组织细胞增生,胼胝体出现扭曲和肿胀;72 h 侧脑室积血较 24 h 减少;7 d 时积血已经吸收消散,出现含铁血黄素侧脑室壁沉积;14 d 及 28 d 时胼胝体纤维间隙增宽,胶质细胞增生等(图 2)。各组各时相点尼氏染色无明显变化。

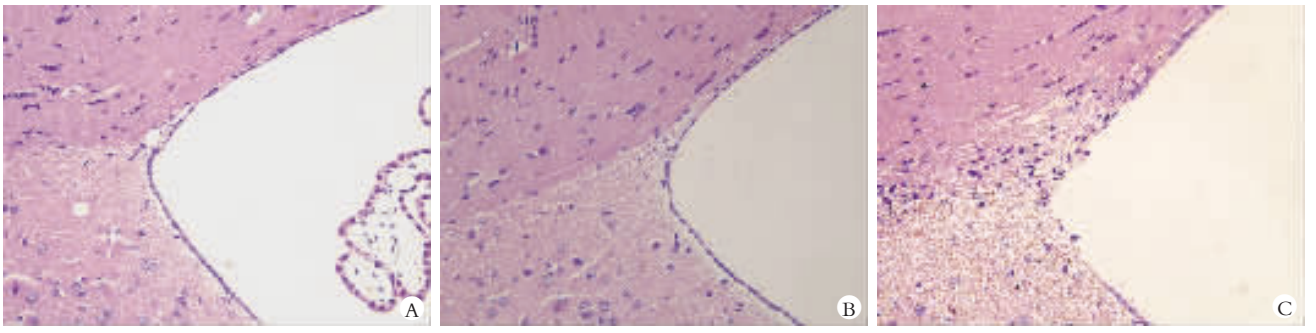
2.4 电镜观察

正常对照组及生理盐水对照组 28 d 时侧脑室顶壁室管膜细胞排列紧密,纤毛无缺失;侧脑室注血组 28 d 时出现深染和固缩细胞(图 3),纤毛扭曲或丧失,粗面内质网肿胀,部分线粒体嵴出现明显肿胀。



A:正常对照组; B:生理盐水对照组;C:侧脑室注血组

图 1 各组大鼠术后 28 d 脑组织标本观察



A:正常对照组;B:生理盐水对照组;C:侧脑室注血组

图 2　各组大鼠术后 28 d 侧脑室组织病理学观察　(HE ×400)

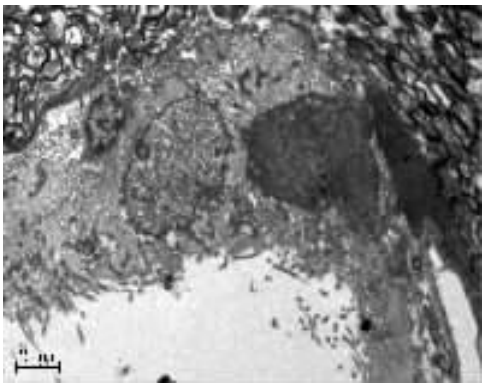


图 3　侧脑室注血组大鼠术后 28 d 侧脑室顶壁组织电镜观察

3　讨论

目前国外脑积水模型多是通过脑脊液通路的机械性梗阻的方法诱导脑积水(向枕大池内注射高岭土、黏性硅油或氰基丙烯酸酯凝胶),其机制是蛛网膜下腔发生无菌性炎症而导致黏连闭锁从而在第 4 脑室出口水平阻塞脑脊液的循环通路。也有人使用微球囊枕大池植入法[4]直接造成梗阻性脑积水。但高岭土和黏性硅油等都具有一定的刺激性,枕大池植入微球囊适合急性脑积水的研究。这些模型所形成的脑积水与临床脑室出血、蛛网膜下腔出血及脑外伤后发生的慢性脑积水有一定差别,所以脑室内注血制作的脑积水模型更接近临床脑积水患者的病理生理学改变。自 20 世纪 70 年代以来,为深入了解脑积水的病理变化及探讨治疗解决的办法,人们采用侧脑室注血法制作了一些脑积水动物模型,但大鼠脑出血后脑积水模型还不多。

本实验选择成年 SD 雌性大鼠。在预实验实施过程中发现,在短时间内给予侧脑室一次性注入较多血会造成部分血液沿着针道外溢,降低脑积水形成率;若注射时间过长血液会出现凝固,造成注入困难,故改为二次注血,间隔 5 min。目前国内外尚少见大鼠脑室出血后脑积水的模型报道,评价大鼠脑积水模型的标准也不一。Shinoda 等[5]以内侧隔核平面侧脑室前角宽度加后角宽度之和来分级,Kim 等[4]以大鼠前囟后 0.4 mm 冠状面的侧脑室宽度作为分度标准。我们选择 Kim 标准的原因是因为它比较容易定位。依据 Kim 等的标准,本实验中 28 d 时侧脑室注血组大鼠脑积水程度为轻至中度。Lodhia 等[3]选择成年 SD 大鼠,体质量(350 ± 50)g,在 15 min 内在侧脑室注入不抗凝血 200 μl 观察脑积水后的变化,但没有提供有关脑积水大鼠发生数量情况。本实验结果表明,采用侧脑室二次穿刺注入130 μl 不抗凝自体血可制备脑室出血后慢性脑积水动物模型。理论上增加注血量会增加脑积水大鼠数量及程度,需在以后的实验中进一步证实。

侧脑室侧室指数可反映侧脑室扩张程度。侧脑室注血组大鼠侧室指数从侧脑室注血后开始升高,表明脑室呈扩张趋势,由于积血块的占位压迫出现侧脑室扩张,脑室周围白质水肿,胼胝体扭曲和肿胀。随积血的消散侧室指数略有下降(因部分大鼠脑室进一步扩张,而部分大鼠脑室开始恢复),而脑室扩张大鼠室管膜及脑室周围白质损伤和修复仍在继续:出现胼胝体纤维间隙增宽,脑组织细胞增生等。但各时相点大鼠皮层神经元尼氏体变化不明显,说明在脑室出血后发生的慢性脑积水过程中,大脑皮层神经元功能受到影响相对较小。Dai 等[6]采取在犬侧脑室体部自体动脉血凝块灌注建模,也发现类似病理改变。胼胝体等部位轴索损伤是各型脑积水白质病理改变的一个共同特征,在慢性脑积水的发生、发展过程中具有重要意义。本实验中同样观察到这种病理改变,符合临床脑室出血后慢性脑积水患者的病理情况,说明该模型适合脑室出血后慢性脑积水的病理研究。

Lodhia 等[3]已证实脑室出血后存在脑水肿和室周白质损伤,早期的脑室扩张与积血块的存在及脑脊液的循环损害有关。但积血消散,脑脊液吸收正常后脑室扩张仍然存在。本实验显示在脑积水大鼠脑室壁有含铁血黄素沉积,室管膜及室周白质的损伤呈继续发展趋势。有人分析了脑室出血后脑积水形成的可能机制,认为脑室出血后脑脊液中铁离子与室周白质损伤

有关[7]。而Wan等[8]在脑出血大鼠的实验研究中发现脑出血后脑脊液中铁离子含量升高,使用铁离子螯合剂可降低脑脊液中铁离子浓度,但铁离子螯合剂在脑室出血后脑积水的形成中是否有作用还需要进一步研究。

本实验所用模型制作方法简单,动物死亡率低,脑积水形成情况稳定,对研究脑室出血后慢性脑积水的进一步发展机制具有重要价值。

参考文献:

[1] Huttner H B, Kohrmann M, Berger C, *et al*. Influence of intraventricular hemorrhage and occlusive hydrocephalus on the long-term outcome of treated patients with basal ganglia hemorrhage: a case-control study [J]. J Neurosurg, 2006, 105(3): 412-417.

[2] 孟 辉, 张礼均, 卢佳友, 等. 脑出血后慢性脑积水脑脊液中PⅠCP、PⅢNP、HA、LN的水平及意义[J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2007, 12(2): 82-84.

[3] Lodhia K R, Shakui P, Keep R F. Hydrocephalus in a rat model of intraventricular hemorrhage[J]. Acta Neurochir Suppl, 2006, 96: 207-211.

[4] Kim D S, Oi S, Hidaka M, *et al*. A new experimental model of obstructive hydrocephalus in the rat: the micro-balloon technique[J]. Childs Nerv Syst, 1999, 15(5): 250-255.

[5] Shinoda M, Hidaka M, Lindqvist E, *et al*. NGF, NT-3 and Trk C mRNAs, but not TrkA mRNA, are upregulated in the paraventricular structures in experimental hydrocephalus[J]. Childs Nerv Syst, 2001, 17(12): 704-712.

[6] Dai J, Li S Q, Li X X, *et al*. Mechanism of pathological changes of intraventricular hemorrhage in dogs[J]. Journal of Shanghai Second Medical University, 2004, 16(1): 56-60, 68.

[7] Whitelaw A, Cherian S, Thoresen M, *et al*. Posthaemorrhagic ventricular dilatation: new mechanisms and new treatment[J]. Acta Paediatr Suppl, 2004, 93(444): 11-14.

[8] Wan S, Hua Y, Keep R F, *et al*. Deferoxamine reduces CSF free iron levels following intracerebral hemorrhage[J]. Acta Neurochir Suppl, 2006, 96: 199-202.

(编辑 龙 亮)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2008)10-0972-01

尺桡骨间骨软骨瘤1例

张富军 (解放军251医院放射科,河北 张家口 075000)

1 临床资料

患儿,女,8岁,主因左前臂不能旋转3个月就诊。查体见左前臂不能做旋前及旋后运动,不痛,皮温正常。X线平片示左尺骨干中上段见一骨性突起,带蒂,邻近桡骨受压硬化,诊为骨软骨瘤。见图1。

手术所见:充分显露后,见肿瘤呈典型骨软骨瘤结构(骨性基底、软骨帽、纤维膜)。将肿瘤及基底周围正常骨质一并切除。病理诊断:骨软骨瘤。

2 讨论

骨软骨瘤非常多见[1,2],但生长在尺桡骨间者却报道极少。因其生长慢,病程长,早期无症状,多不引起注意。往往在X线检查中才发现。无症状者可不予手术,但应密切观察。若出现症状、影响功能,或短期内明显增大时,则应手术切除。手术切除要彻底,否则易复发。

关键词:骨软骨瘤;尺桡骨间
中图法分类号:R738.3 **文献标识码**:B

作者简介:张富军,男,河北省张家口市人,主治医师。电话:15930300383,E-mail: zhangfujun1973@qq.com

收稿日期:2008-03-19;**修回日期**:2008-04-01



A: 左尺骨干; B: 邻近桡骨

图1 患儿左前臂X线表现

参考文献:

[1] 梁志延, 明宗军, 朱慧兰. 少见骨软骨瘤X线诊断[J]. 中国厂矿医学, 2007, 20(2): 115.

[2] 万玉珍, 王晓明, 王振平, 等. 少见部位骨软骨瘤2例报告[J]. 实用放射学杂志, 2005, 21(5): 557-558.

(编辑 龙 亮)