维普资讯 http://www.cqvip.com

Sprague-Oawley鼠大脑中动脉闭塞模型

神经病学研究所 李敬诚* 董为伟 傅雅谷

提 要 研究SD鼠大脑中动脉闭塞（MCA-0）模型的稳定性及定量分析方法。采用电凝法闭塞MCA。闭塞时采用低位骨窗法并注意到MCA血管变异对模型稳定性的影响。观测了鼠在MCA后脑梗塞体积（Infarct volume，IV），组织病理学及神经功能缺失征（NDS）的变化。结果表明本模型所致脑梗塞的稳定性良好，IV变异系数（CV）为：CV 6 hr. 18.19%、CV 24 hr. 8.34%及CV 7d 17.27%

关键词 大脑中动脉；梗塞；大鼠
中图分类号 R741.044

理想的局部脑缺血模型应产生可预知和较一致的脑血流量变化，形成一定部位和范围可预知的、较稳定的脑梗塞[1]。Tamura及Bederson等建立的模型能基本达到这一要求[2,3]，但其稳定性尚欠满意。为此，我们采用低位骨窗法并注意到SD鼠MCA近侧段血管变异对脑梗塞形成稳定性的影响，建立了较稳定的鼠局部脑缺血模型。

材料及方法

实验动物与实验设计 采用随机区组设计，将42只健康雄性Sprague-Dawley鼠（体重309±36.89克，按窝别、体重组成配伍组（每一配伍组含6只鼠），分别将它们随机分配到MCA-o 6hr.、24hr.、7天及相应假手术组中（区组数为7），使各处理组间动物生物学特点较均衡，以避免非实验因素的影响。

闭塞MCA 大鼠经2%水合氯醛（3.5mg/100克）腹腔注射麻醉后，取右颞入路，在无菌操作下于右眦与右耳连线中点作一长1.5cm垂直皮肤切口。从鳞颞骨附着处经骨膜下作颞肌钝性分离至颧弓处。切除颞骨后份，保留其鳞骨颞突约0.2mm。在切除少许下颌冠突和翼外肌后，清晰暴露卵圆孔上方鳞骨隆起部（其骨壁内为MCA近侧段）。于鳞骨颞突前0.3mm处，以保留的鳞骨颞突为固定点，用3#牙钻作一2.5×4mm骨窗（先用3#直钻平行于骨面作一"Π"形骨槽）。小心取下骨片，用11#手术尖刀刺破硬脑膜，清晰暴露MCA近侧段。假手术组动物在暴露MCA后作骨窗封闭。缺血组动物于麻醉90分钟时，在体视显微镜放大20倍下，使用微双极电凝器（RF-1型，上海计量局实验工厂）低能射频电流凝闭从嗅束内2mm始到大脑下静脉止之MCA近侧段（包括MCA变异分支），MCA-0后用一石蜡液浸渍的小乳胶片敷盖，用从原骨窗取下的骨片重新封闭骨窗后分层缝合切口。术中使用加热垫保持体温在37±0.5℃，并经右股动脉插管作连续动脉血压监测，稳定血压在90mmHg以上。术后肌注庆大霉素8万单位。

NDS评分 采用Lundy神经运动功能障碍评分法[4]，功能分值从正常到异常分级改为1—5分，包括体位、偏瘫、肢体拖曳、环形运动、活动情况、爬附屏板试验等项。单盲评定NDS。

微机辅助的脑梗塞体积测定 采用氯化—2,3,5—三苯基四氮唑（Triphenyltetrazolium chloride，TTC）（E.M.K.进口分装）作组化染色，以识别脑梗塞范围[5]。动物断头，3分钟内取出全

* 研究生，现在遵义医学院神内科

维普资讯 http://www.cqvip.com

脑，切去额极1mm，间隔2mm作6个脑连续冠状切块。立即将6块等厚（2mm）脑切块置37℃、2%TTC生理盐水溶液中作避光恒温孵育30min，常规固定后摄彩色照片。染色孵育后，可见正常脑组织呈鲜红色，梗塞灶未被染色而显苍白色。使用与IBM/PC微机兼容的MAS图像处理系统（重庆大学光电精密机械研究所）经定标后测定脑切块嘴尾侧面脑皮质、基底节区梗塞面积及梗塞总面积（mm^2）（采样分辨率512×512个象素，精确度$10^{-4}mm^2$，误差<1.12%）。参照Nedergaard脑体积计算公式[6]，略作修改：$V=\frac{(A_1+A_2)}{2}\cdot d(mm^3)$。式中$V$为体积，$A_1$、$A_2$分别表示切块嘴、尾侧面面积（$mm^2$），$d$为切块厚度（mm）。梗塞体积（IV）以其占脑总体积的百分数表示。各冠状切块脑梗塞体积求和，即为脑梗塞总体积（%）。

组织病理学观察 在脑冠状切块经TTC染色摄影后，行常规HE染色，切片厚度8μm。在光镜下由专业病理人员作单盲阅片。

统计方法 在微机上行随机区组方差分析，完全随机方差分析、方差齐性检验及配对t检验等统计处理。

实验结果

SD鼠MCA血管变异 术中发现右MCA多呈单干型（n=36，85.72%），14.28%有血管变异，少数存在起始部的"扣眼结构"（buttonhole formation,BF），及MCA近侧段的"裂口样扣眼状结构"（cleft-like buttonhole formation，CLBF）（n=2，4.76%）。

表1 运动功能障碍评分

术后时间	n	假手术组	缺血组	p
6hr	21	6.26±0.74	18.90±4.36	0.001
24hr	14	6.07±0.65	16.50±3.46*	0.001
7d	7	6.06±0.95	11.17±3.49*	0.001

* 缺血6hr与24hr组间无显著性差异 （p>0.05）

* 缺血6hr,24hr组与缺血7d．组间有显著性差异(0.05≥p≥0.01)

NDS评分 见附表1

脑梗塞体积（IV） 缺血后6h.、24h.皮质IV值逐渐扩大（P<0.01），而缺血24h、与7天间无显著性差异（P>0.05）。缺血6h．及7天皮质IV值变异系数（CV）较大（26.62%、34.72%），而缺血24h.CV值较小（10.84%），提示缺血早期以及亚急性期脑皮质梗塞形成范围的个体差异较大。基底节区IV值在缺血6h、24h．及7天间无显著性差异(P>0.05)，提示基底节区梗塞形成较皮质稳定。脑梗塞总体积(TIV)及CV分别为：TIV 6h.13.14±2.27，CV 6h. 18.19%；TIV 24h.23.14±1.93，CV 24h. 8.34%；TIV 7d.23.14±7.21，CV 7d 17.27%。可见各CV值均较小，提示脑梗塞体积变异小，重复性较好。

组织病理学变化 典型的缺血性梗塞位于基底节区和新皮质。缺血6h.即可见明确的坏死灶及其周围神经元核嗜碱性增强，胞浆着色浅淡等缺血性改变。缺血24h．坏死灶扩大、呈均质状，其周围神经元核固缩、溶解、碎裂，合并灶周小胶质细胞增生、脑水肿。缺血7天脑梗塞灶软化，脑水肿减轻，血管周围大量多核白细胞及单核细胞渗出，移行细胞转化为泡沫细胞，胶质增生活跃，灶周可见毛细血管轻度增生。

讨论

MCA闭塞法及手术方法 采用微动脉夹等外部压迫法闭塞鼠MCA近侧段，在操作上较困难，只适用于闭塞嗅沟以上MCA皮质支，因其不能闭塞豆纹动脉，难以形成基

维普资讯 http://www.cqvip.com

底节区梗塞。采用引入外源栓子（如自体血凝块等）法所形成的脑梗塞的部位、范围和程度又难以控制。我们的实验结果表明，采用电凝法闭塞MCA发出豆纹支的近侧段是可行的。为避免在MCA近侧段闭塞时因骨窗过高而须过度翻起大脑所致的脑损伤[3]，我们改为低位骨窗法开窗。术后用骨片封闭骨窗，可避免颅外因素（如骨窗外肌肉供血等）的影响。

SD鼠MCA血管变异 本组鼠中14.28%存在因胚胎发育时网状血管融合不全所致的血管变异，Brown也发现13.79%SD鼠有此类变异[7]。我们认为其闭塞与否对脑梗塞的稳定性有很大的影响。因豆纹动脉从MCA发出点与MCA近侧段长度关系不明确[8]，故欲造成基底节区一致性缺血，增加脑梗塞形成的稳定性，须对该变异，特别是MCA近侧段CLBF的两个分支都作凝闭处理。

脑梗塞部位和稳定性 实验结果表明闭塞MCA近侧段（从嗅束内侧2mm始到大脑下静脉止）可形成100%的脑梗塞。梗塞部位位于新纹体（尾、壳核）及新皮质。由于豆纹动脉闭塞，侧支循环极差的新纹体可迅速形成梗塞，而受ACA发出的Huebner's动脉支配的旧纹体可不受累及。

MCA闭塞后所形成的基底节区梗塞范围较稳定，个体差异小；相反，脑皮质的梗塞范围稳定性差，个体差异大，这可能与SD鼠MCA供血区脑皮质的侧支循环及动脉吻合存在较大的个体差异有关。本实验各缺血组示脑梗塞总体积变异较小，说明我们建立的MCA闭塞模型具有较好的稳定性和可复制性，这是局部脑缺血模型建立标准中很重要的一条[9]。

组织病理学及NDS 本组实验显示随缺血时间延长，脑梗塞灶逐渐扩大至较稳定的水平，并出现吞噬细胞吞噬脂质、胶质增生等相应的病理变化，形成典型的缺血性梗塞，表明我们的模型是成功的。NDS是否出现也是模型成功指标之一，本组动物均在MCA闭塞后早期就出现了NDS，而假手术组动物不出现NDS。以往对缺血后NDS的评价有较详细的研究[3]，而我们认为仅对NDS初略分级尚感不够。我们采用的评分法能提供一全面、精确的NDS评定指标；同时NDS评分数据化后，为指标间的相关性分析提供了方便。

总之，本实验性大鼠局部脑缺血模型具有以下特点：（1）采用低位骨窗、乳胶膜保护脑组织及骨片骨窗封闭等措施，避免了非实验因素所致脑损伤的可能。（2）在MCA闭塞时注意了因MCA血管变异对脑梗塞形成的稳定性的影响。（3）梗塞形成率高，范围较广且可预知。（4）脑梗塞形成重复性较好，模型具有较高的稳定性。（5）缺血后可出现较一致的NDS。（6）设计并印证了对该动物模型适用的定量化指标，在局部脑缺血的实验研究中具有实际应用意义。

（本实验承我校病理教研室李志荣副教授及重庆卫干院杨红讲师大力支持，特此致谢）

参考文献

[1] Garcia JH. Stroke 1984; 15:5
[2] Tamura A, et al. J Cereb Blood Flow Metabol 1981; 1:53
[3] Bederson JB, et al. Stroke 1986; 17:472
[4] Lundy EF, et al. Stroke 1985; 16:855
[5] Bederson JB, et al. Stroke 1986; 17:1304
[6] Nedergaard M. Acta Neurol Scand 1988; 77:81
[7] Brown JO. Anat Rec 1966; 156:99
[8] Yamori Y, et al. Stroke 1976; 7:46
[9] Bose B, et al. Brain Res 1984; 311:385

（收稿日期 1991-07-07）

（下转113页）

维普资讯 http://www.cqvip.com

THE LONG-TERM RESULTS OF OPERATIVE TREATMENT IN INVASIVE GERVICAL CARCINOMA

Cao Quansun, et al

Department of Obstetrics and Gynecology,

The First Hospital

From 1962 to 1985, 304 cases of invasive cervical carcinoma were operated. There were 265 cases of squamous carcinoma, 30 cases adenocarcinoma and 9 cases adenosquamous carcinoma. 300 patients were followed up for 5—29 years. Among them 50 cases died of recurrences. The 10-year cure rate in different clinical stages are: Ⅰa 100%, Ⅰb 91.15%, Ⅱ 77.12%, Ⅲ 81.46%. The factors influencing the final results of operation were investigated. The most inportant factors were the stage of the disease when first treated, the presence or absence of cancer in pelvic nodes and excisional margins, and whether supplementary therapy had been given when there were positive nodes and/or excisional margins.

KEY WORDS Carcinoma cervix uteri; Operative treatment; Cure rate

(上接120页)

THE MODEL OF MIDDLE CEREBRAL ARTERY OCCLUSION ON SPRAGUE-DAWIEY RAT

Li Jincheng, et al

The reproducibility of the middle cerebral artery occlusion (MCA-o) model on SD rat, and the method of quantitative analysis for this model were studied. MCA-o was made by using of electrocoagulatic method. During operating, by taking approach of lower bone window, and considering the vessel variation of MCA, which could influence the model's reproducibility. The infarct volume, histopathological changes, and neurological deficits were observed. The results were indicated that the reproducibility of cerebral infarction induced by this model was good. The variation coeffecient of infarct volume on 6h, 24h, and 7d after occlusion of MCA were 18.19%, 8.34%, and 17.27%, respectively

KEY WORDS Middle cerebral artery; infarction; rat