

脑性瘫痪动物模型研究进展

卜笑松, 唐久来

[摘要] 利用不同脑瘫高危因素制备的脑瘫动物模型的脑组织病理改变和行为学变化,与脑瘫儿童的临床表现有许多相似之处。因此,脑瘫动物模型是进一步研究人类脑瘫的极佳工具。笔者主要综述有关模型动物和模型制作方法的研究进展。

[关键词] 脑性瘫痪;动物模型;综述

Advance in Research of Animal Model of Cerebral Palsy (review) BU Xiao-song, TANG Jiu-lai. The Department of Pediatrics, the First Hospital Affiliated to Anhui Medical University, He fei 230022, Anhui, China

Abstract: The animal model of cerebral palsy established using different high risk factors of cerebral palsy had pathologic changes in cerebral tissues and special behavior that similar to clinical manifestation of children with cerebral palsy. So animal model of cerebral palsy is a good tool to help study about human cerebral palsy. The authors mainly introduce the advance in research of selecting model animal and building method.

Key words: cerebral palsy; animal model; review

[中图分类号] R742.3 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2007)12-1106-02

[本文著录格式] 卜笑松,唐久来.脑性瘫痪动物模型研究进展[J].中国康复理论与实践,2007,13(12):1106-1107.

脑瘫是出生前后脑发育阶段各种原因所致的非进行性脑损伤综合征,主要造成儿童的慢性运动肢体障碍^[1]。导致脑瘫的原因很多,高危因素中以早产、窒息、核黄疸为主^[2]。随着产科和新生儿重症监护治疗技术的提高,新生儿的存活率明显提高,但伴有脑损伤的新生儿的比例也相应增加。对脑瘫患儿进行早期诊断、早期干预,提高脑瘫患儿的生存质量,是减少儿童残疾需要解决的课题。因此,建立切实可行的脑瘫动物模型对脑瘫的实验研究和临床工作都有重要意义。

1 模型动物

人类疾病动物模型建立的最终目的是防治疾病,而疾病模型研究结果的可靠程度取决于模型与人类疾病的相似性或可比性。因此,动物模型的选择直接关系到实验的成败。国内外报道的脑瘫模型动物有鼠、兔、羊等,其中大鼠具有大小合适、比较经济、繁殖较快、易于纯系繁殖、抗感染力强、实验方便等优点,而且其神经解剖与人类极为接近^[3],脑体积小便于脑组织病理变化和生化改变的观察,行为表现多样,情绪反应敏感,因此目前大多倾向采用大鼠作为脑瘫模型动物。

2 模型制作方法

脑瘫的病因有多种,但以早产、窒息、核黄疸为主,其主要病理改变为脑室周围白质软化。

2.1 早产致脑瘫 反复宫内感染致早产所引发的神经病理改变类似于脑瘫^[4]。2001年,Doma等给孕17d的大鼠宫内接种脂多糖(lipopolysaccharide, LPS),诱发早产^[5]。宫内感染诱发早产的机制包括以下两方面:①炎症反应学说:炎性细胞因子与脑白质损害及脑瘫的发生高度相关,动物试验也有类似发现,给孕鼠体内注入LPS后1h,新生鼠脑内白细胞介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α mRNA呈剂量依赖性增

加,LPS处理组海马区、皮质酸性纤维蛋白呈阳性,星形细胞增多,髓鞘碱性蛋白下降,小神经胶质细胞活性改变^[6];炎症因子通过刺激其他细胞因子及NO合成,中性粒细胞浸润,黏附分子表达,破坏少突胶质细胞,在未发育成熟的脑组织内引起白质损伤^[7];早产儿发生脑瘫的机制可能为:母亲/宫内感染→(内毒素)→炎性细胞因子释放→前列腺素释放→早产、低胎龄→脑室周围白质软化→脑瘫;②干扰胎盘血液循环:Garnier于胎羊羊膜腔内注射LPS,可引起胎羊血pH、SaO₂明显升高,结果造成供应脑的血流量减少。但以上仅限于对早产机制的探索,国内李晓捷成功运用此方法建立了早产致脑瘫的大鼠模型,其具体模型建立方法为:给孕16、17d的实验组大鼠腹腔注射LPS致早产,后恒温恒湿母乳喂养,于30d后进行神经行为学检测。由于脑瘫患儿一般1岁左右才出现明显的临床症状,至2岁时固定化,而大鼠1月龄相当于人类2~5岁,此时大鼠的行为、姿势、肌张力与成年鼠无明显差异,其神经行为学特征表现已能够充分展示,故此时的行为学检测能够反映脑瘫动物模型的特点。

2.2 缺血和(或)缺氧性脑瘫 新生儿期的急性或慢性缺氧会导致长期的神经系统的缺陷,包括脑瘫^[8]。新生鼠缺血缺氧后出现的神经病理特征与人类的表现类似^[9],如呈现缺血半球侧感觉皮质纹状体及海马萎缩。人类脑组织缺血缺氧后的表现为多样性,但通常特殊的损伤在大脑中动脉及出现脑室周围白质软化。制作此种模型国内外比较普遍的做法是造成单侧颈总动脉闭塞,再将动物置于用8% O₂和92% N₂的混合气体造成的缺氧环境中。但此模型一般用于研究急性期或亚急性期的病变,与脑瘫这种静止期病变不相符合,且出现的病理改变并不能代表脑瘫的病理改变,动物出现的运动神经系统的表现也不能代表脑瘫,若想将其成熟地运用到脑瘫动物模型,还有待于进一步制定统一的判断标准。Start给新生小鼠造成缺氧,再人为给予运动限制^[10]。他认为,脑瘫患者会因为吸收机能障碍而致身体发育缺陷,动物也同样会出现这种情况。在他的实

作者单位:安徽医科大学第一附属医院儿科,安徽合肥市 230022。

作者简介:卜笑松(1982-),女,安徽合肥市人,硕士研究生,主要研究方向:小儿神经康复。

验中,实验鼠出现身体发育障碍,及肌张力轻微增高,伴步态改变及相关原始运动组织的破坏。Weiss 给小鼠从出生后第 4 天到第 34 天,全天均置于亚致死性的缺氧环境,结果小鼠出现脑室周围白质软化,与早产导致的脑损伤相似,并包括以下病理改变:脑室扩大、脑白质减少、少突胶质细胞增生、皮质下白质选择性损伤,而且对缺氧鼠出生后第 75 天的行为学检测亦显示明显异常^[11]。Vehara 通过出生后第 4 天小鼠的双侧颈动脉闭塞制造小啮齿类动物的脑室周围白质软化,在出生后第 6 天即进行病理检测,发现内囊周围白质出现凝固性坏死和囊性损伤^[12]。但应当认识到,这只是 6 d 的病变,与出现脑瘫时间点仍有一定差距,但可作为模型制作的一种参考。

2.3 胆红素脑病性脑瘫 血浆中未与葡萄糖醛酸结合的胆红素主要与清蛋白连接,只有少数呈游离状态,且游离胆红素学说认为,血脑屏障功能健全时血浆游离胆红素通过一条稳定途径自由通过血脑屏障^[13]。国内孙叶强等给仔兔腹腔注射胆红素,剂量分别为 200 mg/kg 和 300 mg/kg,发现自然哺育 45 d 后,注射 200 mg/kg 胆红素的仔兔与正常仔兔无明显差别,而注射 300 mg/kg 胆红素的仔兔其神经行为学评分与正常仔兔的差异有显著性意义。在我国,胆红素脑病是脑瘫的主要病因。新生儿发生核黄疸后,急性期脑组织的病理改变主要是丘脑下核、苍白球、海马、动眼神经等明显萎缩,有的病例亦累及间脑、脊髓前脚及小脑,光镜下可见神经细胞变性坏死;急性期过后出现的脑瘫病例首先出现丘脑下核及苍白球病变,这些部位的神经细胞显著减少,脊髓神经纤维亦减少,并有星形胶质细胞增生肥大、纤维形成等^[14]。在上述的 300 mg/kg 胆红素腹腔注射的仔兔中,数只出现明显运动姿势异常,即有脑瘫的表现,病理切片及灰结节水平冠状切面可见明显黄染,基底节尤为明显,有的部位呈深黄色,光镜下有片状胆红素颗粒聚集,神经细胞受损,表现为核扭曲,形状古怪,有的已消失,只剩下模糊的大体轮廓,神经元明显减少,胶质细胞亦受累,有的部位可见胶质细胞增生,与新生儿黄疸急性期过后出现的脑瘫病例首先发生丘脑下核及苍白球的病变,这些部位神经细胞显著减少、脊髓神经纤维亦减少、星形胶质细胞增生肥大、纤维形成等相似。

2.4 其他 以上都是针对造成脑瘫的病因进行研究的几种动物模型,还有其他的许多方法,如皮质内立体定向注射兴奋性毒素 N-甲基-D-天冬氨酸受体兴奋剂(N-methyl-D-aspartate receptor agonist)造成的脑室白质周围软化,与早产所致的脑室白质周围软化相似^[15];采用电毁损锥体束建立的一侧肢体痉挛性脑瘫模型等^[16]。

总之,建立脑瘫动物模型的方式有多种,但最终都要归结到对模型动物的运动神经系统的鉴定,即是否达到脑瘫标准,鉴定方法有悬吊试验、跳台试验、水迷宫试验、斜坡试验等。由于脑瘫是脑损伤综合征,其临床表现有多样性,因此并非一种实验就能代表脑瘫的所有临床表现。脑瘫动物模型未来的发展方向应紧紧围绕脑瘫属静止性病变这一特征,开展模型动物的鉴定。但由于人类与动物脑瘫的差异,使此方面的工作更加困难。目前,国内外在此领域还没有足够的研究,也没有一个

令人非常满意的模型,这既是一种挑战,又是一种机遇,相信不久的将来,理想的脑瘫动物模型定会出现,这将进一步推动脑瘫治疗的研究。

[参考文献]

- [1] Koman LA. Cerebral palsy[J]. Lancet, 2004, 363(9421): 1619—1631.
- [2] 李晓捷,高晶,孙忠人,等. 宫内感染致早产鼠脑瘫动物模型制备及其鉴定的实验研究[J]. 中国康复医学杂志, 2004, 19(12): 885—889.
- [3] Vannucci RC. Experimental model of perinatal hypoxic-ischemic brain damage[J]. AP MIS, Suppl, 1993, 40: 89—95.
- [4] Duncan JR, Cock ML, Scheerlinck JPY, et al. White matter injury after repeated endotoxin exposure in the preterm ovine fetus[J]. Pediatr Res, 2002, 52(6): 941—949.
- [5] Dom A, Brian K, Joey P, et al. Interleukin-10 administration and bacterial endotoxin-induced preterm birth in a rat model[J]. Obstet Gynecol, 2001, 98(3): 476—480.
- [6] Cai Z, Pan ZL, Pang Y, et al. Cytokine induction in fetal rat brains and brain injury in neonatal rats after maternal lipopolysaccharide administration[J]. Pediatr Res, 2000, 47(1): 64—72.
- [7] Saliba E, Henrot A. Inflammatory mediators and neonatal brain damage[J]. Biol Neonate, 2001, 79(3-4): 224—227.
- [8] Calvert JW, Yin W, Patel M, et al. Hyperbaric oxygenation prevented brain injury induced by hypoxia-ischemia in a neonatal rat model[J]. Brain Res, 2002, 951(1): 1—8.
- [9] Jansen EM, Low WC. Long-term effects of neonatal ischemic hypoxic brain injury on sensorimotor and locomotor tasks in rats[J]. Behav Brain Res, 1996, 78(2): 189—194.
- [10] Strata F, Coq JO, Byl N, et al. Effects of sensorimotor restriction and anoxia on gait and motor cortex organization: implications for a rodent model of cerebral palsy[J]. Neuroscience, 2004, 129: 141—156.
- [11] Weiss J, Takizawa B, McGee A, et al. Neonatal hypoxia suppresses oligodendrocyte $\text{Nog}\sigma\text{A}$ and increases axonal sprouting in a rodent model for human prematurity[J]. Exp Neurol, 2004, 189(1): 141—149.
- [12] Uehara H, Yoshioka H, Kawase S, et al. A new model of white matter injury in neonatal rats with bilateral carotid artery occlusion[J]. Brain Res, 1999, 837(1-2): 213—220.
- [13] Buatlid D. How bilirubin gets into the brain[J]. Clin Perinatal, 1990, 17(2): 449.
- [14] 孙叶强,李晓捷,吴军,等. 胆红素致新生兔脑瘫动物模型的实验研究[J]. 中国康复, 1999, 14(2): 65—67.
- [15] Hennebert O, Marret S, Carmeliet P, et al. Role of tissue-derived plasminogen activator (t-PA) in an excitotoxic mouse model of neonatal white matter lesions[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2004, 63(1): 53—63.
- [16] 吴珊鹏. 大鼠痉挛性脑瘫模型的改建[J]. 中国康复, 1998, 13(3): 103—104.

(收稿日期: 2006-11-27)