

# 线栓法制备大鼠局灶性脑缺血模型的研究进展

肖莹,刘树民

[摘要] 线栓法制备的大鼠局灶性大脑中动脉闭塞模型(MCAO)具有不开颅、效果肯定、可控制缺血与再灌注时间的特点,该模型自创建以来得到广泛应用。但由于该模型手术操作比较复杂,许多因素可直接影响模型的成功率,结果给复制带来较大的困难。针对该模型存在的不足,学者们对手术操作、线栓的制备进行了改进,并探讨了手术中动物的选择、麻醉剂的选择等影响因素。

[关键词] 大脑中动脉闭塞;局灶性脑缺血;模型;大鼠;综述

Advance in Cerebral Ischemic Model with Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats (review) XIAO Ying, LIU Shu-min. Heilongjiang University Of Traditional Chinese Medicine, Hebin 150040, Heilongjiang, China

**Abstract:** The middle cerebral artery occlusion (MCAO) in rats remained a focus cerebral ischemic model that is non-incisioned, reliable, as well as the ischemic and refusion time can be controlled, which is widely used since it was created. However, because it is needed complex operations, associated with many factors, it is difficult to establish. Many scholars have modified the operation, shape of the occlusion line, as well as the variety, narcotic drugs and so on.

**Key words:** middle cerebral artery occlusion (MCAO); focus cerebral ischemic; model; rats; review

[中图分类号] R743.32 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2006)11-0939-02

[本文著录格式] 肖莹,刘树民.线栓法制备大鼠局灶性脑缺血模型的研究进展[J].中国康复理论与实践,2006,12(11):939-940.

线栓法制备的大鼠局灶性大脑中动脉闭塞模型(MCAO)是目前对缺血性脑血管疾病进行研究较常用的动物模型。但由于手术操作比较复杂,许多因素对实验结果均有明显影响,可直接影响模型的成功率,结果给复制带来较大的困难。针对该模型存在的不足和影响因素,学者们进行了有意义的探讨和改进。

## 1 手术操作的改进

1986年,Koizumi等首次采用不开颅经颈总动脉栓入尼龙线致大脑中动脉闭塞获得成功<sup>[1]</sup>;后经Zea-Longa等对此法适当改进<sup>[2]</sup>后被广泛用于实验性脑缺血的研究。目前,Koizumi法和Longa法已成为该模型制备具有代表性的方法。具体操作方法为:麻醉大鼠仰卧于手术台上,颈部正中切口,逐层分离并暴露颈部血管,从颈外动脉(ECA)或颈总动脉(CCA)分叉处插入4-0单股尼龙线,进入颈内动脉(ICA),阻断大脑中动脉(MCA)起始段;缝合皮肤,留一线端在外。一定时间后,轻轻提拉插线,有阻力是提示栓线头端已达ECA或CCA切口处,即为制备再灌注模型,勿需再次切开颈部。两方法的操作不同之处在于:Longa法是把尼龙线头端烧成球形,而Koizumi法则是在尼龙线远端涂一层硅树脂(涂线长度约5mm,使直径为0.20mm的线达到0.25mm)。近年来学者们在这一手术基础上,又进行了不同的改进。

1.1 改进手术操作 主要的改进方法有:①左侧颈部手术入路;从CCA近分叉处切口进线;不结扎ECA的分支及翼腭动脉(PPA)<sup>[3]</sup>。②永久结扎CCA近心端,并将线栓改为由CCA与ICA分叉处插入;实验中采用短暂夹闭PPA,而非传统意义上的结扎PPA<sup>[4]</sup>。③右侧颈部切口;从CCA分叉处采用套管进线;分离PPA但不进行结扎<sup>[5]</sup>。徐氏证明,不结扎PPA也可以很好地引起局部脑缺血<sup>[6]</sup>。④左侧颈部切口;PPA的暂时夹闭<sup>[7]</sup>。⑤在颈动脉分叉部仔细分离迷走神经节;手术仅结扎CCA<sup>[8]</sup>。⑥沿ICA一直分离至看到其入颅分支与PPA分叉处,观察线栓走行状况,若顺利将长度约20mm的线栓插入,则无需对PPA进行操作,完成手术;如只进入10mm左右即遇到明显阻力,则线栓进入PPA的可能性很大,此时可将线栓撤离至

ECA、ICA处,提起PPA,以帮助线栓沿ICA进入颅内而最终阻塞MCA<sup>[9]</sup>。⑦从颈外动脉进线至大脑前动脉,堵住大脑中动脉入口从而造成MCAO,不同之处在于本方法需两次手术以达到两次缺血及两次再灌注的目的,预缺血后先将线栓拔出再缝合皮肤,预缺血与第2次缺血之间线栓则留置于皮下,术中不结扎PPA<sup>[10]</sup>。

根据以上资料,可总结出各学者在手术操作上主要的改进是:①左侧或右侧颈部手术入路,较正中切口易行肌肉分离,出血少,手术视野暴露好,便于分离血管;②从CCA近分叉处切口进线,线栓头端更容易插入血管,手术成功率较从ECA进线大大提高;③实验中采用短暂夹闭PPA或不结扎PPA,手术损伤小,出血少,模型制作成功率大大提高,明显优于传统的操作方法。另外,学者们均提出在手术过程中要注意避免损伤迷走神经。这些共性的改进值得我们重视。

1.2 阻断深度 黄氏认为,尼龙线入ICA的深度要足够到达大脑前动脉,实验显示,CCA处插入,其深度为 $(18 \pm 0.5)$ mm,过短则不能阻塞<sup>[4]</sup>。高氏在实验中证实,手术插线过深(大于18mm)容易导致死亡<sup>[11]</sup>。徐氏实验的大脑中动脉起始部与颈内动脉起始部的距离在1.55~1.65cm,与大鼠体重无相关关系;栓线插入深度小于等于1.60cm的造模成功率为28.57%,深度大于1.60cm的造模成功率为83.33% ( $P < 0.05$ );栓线法制作大鼠MCAO模型的插线深度最小为1.65cm。他们认为,在1.65~2.00cm是有效安全范围<sup>[12]</sup>。崔氏<sup>[13]</sup>插线深度依不同个体门齿根部前沿(T点)距颈总动脉分叉点(C点)的连线(TC线)长而定,以 $TC = 39$ mm,深度=17.5mm为基准适当调整,TC线长者,颈总动脉分叉位置偏后,穿丝深度须相应增加,否则须适度减少;回归方程为:穿丝深度=1.0657×TC线长(mm)-2.6345,经方差分析, $P < 0.01$ ,两者间存在线性回归关系。

## 2 线栓制备的改进

线栓材质的选择及对其头端的具体处理是影响线栓法建模成败的关键所在。针对这一问题,学者也进行了有意义的探索。

2.1 栓线材料的选择 包括:①硅橡胶和多聚赖氨酸处理的线栓<sup>[3]</sup>。②采用白色直径约0.23mm日本产尼龙鱼线,制作长35mm的栓线<sup>[4]</sup>。③采用固体石蜡处理的栓线,再灌注时抽出栓线不会引起石蜡脱落<sup>[14]</sup>。

作者单位:黑龙江中医药大学中医药研究院,黑龙江哈尔滨市150040。作者简介:肖莹(1981-),女,黑龙江哈尔滨市人,硕士研究生,主要研究方向:心脏血管药理学研究。

**2.2 栓线头端的处理** ①将鱼线的一端竖直蘸入聚胺酯中约5 mm,取出后聚胺酯在鱼线远端呈水滴状。将蘸好的线栓在通风处晾干3 d以上,显微镜下筛选出前端光滑钝圆且直径达0.25 mm者,酒精消毒后以黑色标记笔在距插入端18 mm、20 mm处分别做标记<sup>[4]</sup>。②栓子前端涂一薄层silicone,干燥后具有弹性,适应性更强,适合颅内血管变异<sup>[15]</sup>。③选用直径0.205 mm鱼线,统一制作的黑色线栓头端为乳白色,最大直径不超过0.30 mm,便于观察其在血管内的走行方向和长度;线栓尾端可移动的白色棉线用于标记插入总长度,一般为(19.5 ± 0.5) mm<sup>[8]</sup>。④选用直径0.235 mm的尼龙线,只需稍作加热使其头端光滑不刺破血管即可<sup>[10]</sup>。另外,关氏认为,尼龙线的硬度通常随着直径增大而增大,这两个因素对成功率的负面影响此消彼长,所以在制作模型时需要同时平衡这两个因素<sup>[16]</sup>。

### 3 手术需要注意的事项

①在正式手术前,所有手术器械、仪器、试剂、物品等摆放整齐以节约时间;使用皮下注射2%利多卡因可减少动物的痛苦和挣扎;②分离皮下组织、肌肉、腺体等时动作应轻柔,在分离气管前肌肉时注意保护好甲状腺和甲状旁腺;③血管分离要到位,使用电凝器可明显减少小血管的出血,从而保证手术视野清晰,尤其是肌肉内部的血管和ECA的一些细小分支,未明确时不可随意离断;④结扎血管时要注意力度和方向,由于血管被膜被分离后血管表面相当光滑,结扎不牢可能导致难以控制的出血;大鼠的血管较为纤细,止血困难,出血后由于血管收缩而难以寻找血管断端,此对术者相当不利;这类出血对补液途径相对困难的大鼠有时常是致命的;⑤术中还要注意保护与血管紧密相连的神经,注意观察神经的颜色、反光性和轻触时的感觉,切勿损伤或离断;牵拉迷走神经时可见动物呼吸明显减慢甚至血液呈深紫色,出现肢体末端紫绀,在无法给予辅助通气时,应暂停操作,一般来说,动物呼吸可恢复到麻醉后的平稳状态,血液颜色也可恢复到正常,这时再继续手术较为安全<sup>[8]</sup>。胡氏提出,应将室温控制在25℃~30℃,术中还应根据肛温测定给予灯泡保暖,或用电风扇及冰块降温,以维持肛温在(37±0.5)℃;同时还应注意观察呼吸情况<sup>[17]</sup>。田氏总结,在分离颈动脉分叉部的迷走神经节后,大鼠的MCAO术中死亡率明显下降<sup>[7]</sup>。郝氏提出,尼龙线插入前最好在肝素溶液中浸泡,以免致局部血栓形成影响再灌注<sup>[10]</sup>。刘氏在给大鼠拔线再灌注时再次麻醉了大鼠,降低了颅内出血率,使实验成功率大大提高<sup>[6]</sup>。另外,国外学者指出,近几年的研究结果证实,局灶性或全脑性脑缺血时动物血糖轻度升高,血糖本身就可使脑梗死的面积明显增加。为了控制动物血糖水平,在实验前禁食12~24 h,但不禁水;同时还应注意观察呼吸情况,如发现呼吸道分泌物多时,应及时给与吸痰防止窒息。

### 4 动物的选择

**4.1 鼠种和种系** MACO后,Wistar大鼠平均梗死体积最小,变异大;Sprague-Dawley大鼠梗死体积稍大,但同样变异大;Fisher 344大鼠梗死体积最大且变异性小;高血压大鼠比正常血压大鼠梗死体积大;Wistar大鼠衍生的脑卒中倾向大鼠(SHRSP)阻塞远端MAC引起的梗死体积最大。即使是同一鼠种,不同的种系对脑梗死体积也有明显的影响,自发性高血压大鼠Kyushu系比Izm系的梗死体积大,性别对梗死的影响不显著<sup>[19-20]</sup>。目前最常用的是Wistar大鼠和SD大鼠。

**4.2 性别** 由于雌激素对脑缺血有保护作用,所以除因研究雌激素作用机制而选择雌性动物外,目前多选择雄性动物。

**4.3 年龄** 目前的实验仍以青壮年大鼠为主。

**4.4 体重** 多选用250 g左右的大鼠,目前学者针对这一问题,尚无严格统一的选择。

需要特别注意的是:学者普遍认为,若批次、来源不同,大鼠的生理状况会有变异,需要及时调整线栓直径和入线深度与

之相匹配。

### 5 麻醉剂的选择

国际通行的气体麻醉剂是氟烷(halothane),优点是麻醉起效快,呼吸平稳,便于术中调控麻醉深度。研究表明,人工辅助通气状态下的氟烷吸入麻醉,术中监测血压、血气,整个过程接近人类的手术麻醉过程。戊巴比妥钠、水合氯醛对脑温的影响较小,有人建议在条件不够的情况下可用2%戊巴比妥钠45 mg/kg腹腔内注射麻醉。苯巴比妥钠、乌拉坦对血糖有影响,其中,苯巴比妥钠有脑保护作用,有人建议不宜使用<sup>[19-20]</sup>。

线栓法制备MCAO模型普遍为人们所接受,但也存在一定问题,影响模型制备的因素较多,应就影响模型制备的各种因素进行探索,最终的目标是尽可能有效控制一切影响因素,使得线栓法MCAO模型的制备在成功率、梗死体积、SAH发生率、动物死亡方面达到规范、优化和严谨,进而使得MCAO模型能最大程度的接近人类局灶性脑缺血的发病过程。总之,线栓法制备大鼠局灶性脑缺血模型在各个方面尚需进一步规范,有待建立统一的实验标准。

### 【参考文献】

- [1] Koizumi J, Yoshida Y, Nakazawa T, et al. Experimental studies of ischemia brain edema. I. A new experimental model of cerebral embolism infarcts in the ischemia area [J]. Jpn J Stroke, 1986, (8): 1-8.
- [2] Zea-Longa Z, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.
- [3] 刘运泉,戴颖.线栓法大鼠局灶性脑缺血模型的改进[J].中国临床解剖学杂志, 2005, 23(2): 222-223.
- [4] 黄斌,王兴勇,匡凤梧,等.线栓法制备Wistar大鼠局灶性脑缺血模型的实验研究[J].现代医药卫生, 2005, 21(15): 1935-1937.
- [5] 任建勋,刘俊,沈映君.线栓法建立大鼠局灶性脑缺血模型方法的改进[J].四川生理科学杂志, 2005, 27(2): 60-61.
- [6] 徐立新,袁芳.改良的大鼠脑局部缺血模型[J].中国康复理论与实践, 2005, 11(1): 23-24.
- [7] 刘富东,许燕,杨倩.线栓法制作局灶性脑缺血再灌注动物模型的研究[J].皖南医学院学报, 2003, 22(1): 22-24.
- [8] 田士强,王任直,李桂林,等.大鼠局灶性脑缺血模型的改进[J].基础医学与临床, 2004, 24(4): 499-451.
- [9] 宋红松,樊东升,王荫华.血管内直接线栓闭塞法制备大鼠缺血性脑梗死模型[J].中国康复理论与实践, 2004, 10(4): 245-246.
- [10] 郝玉曼,罗祖明,周东.局灶性缺血诱导脑缺血耐受的动物模型[J].中风与神经疾病杂志, 2003, 20(2): 129-131.
- [11] 高卓,张力.线栓法制备大鼠局灶性脑缺血模型的失败原因探悉[J].实验动物科学与管理, 2005, 22(1): 55-57.
- [12] 徐佳,葛林宝,徐鸣曙,等.鼠栓线法MCAO模型中栓线插入深度的研究[J].上海实验动物科学, 2002, 22(4): 209-212.
- [13] 崔龙,李忠仁.同身寸法估算大鼠局灶性脑缺血模型线栓深度[J].南京中医药大学学报, 2005, 21(1): 40-42.
- [14] 冯新红,沈霞,袁伟,等.栓线法制作局灶性大鼠脑缺血再灌注模型的改进及效果[J].徐州医学院学报, 2003, 23(6): 483-485.
- [15] 吉训明,凌锋,赵喜庆,等.改良可逆性局灶性脑缺血模型建立[J].介入放射学杂志, 2005, 14(2): 178-181.
- [16] 关云谦,陈彪,周茗,等.尼龙线直径和硬度对大鼠线栓法脑缺血模型成功率的影响[J].中国医学科学院学报, 2004, (5): 600.
- [17] 胡凌,高培毅.线栓法制备大鼠局灶性脑缺血模型影响因素的探讨[J].中国医学影像技术, 2004, 20(10): 1624-1626.
- [18] Garcia JH. A reliable method to occlude a middle cerebral artery in Wistar rats [J]. Stroke, 1993, 24(9): 1423.
- [19] Cai H, Yao H, Ibayashi S. Photothrombotic middle cerebral artery occlusion in spontaneously hypertensive rats: influence of substrain, gender, and distal middle cerebral artery patterns on infarct size [J]. Stroke, 1998, 29: 1982-1987.
- [20] Hilary VC, James HS. Genetic and gender influences on sensitivity to focal cerebral ischemia in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat [J]. Hypertension, 1999, 33: 681-685.

(收稿日期:2006-07-21)