



动物慢性脑缺血模型的研究现状

王丽晔^{1,2}, 陈志刚², 罗玉敏¹

(1. 首都医科大学宣武医院, 北京 100053; 2. 北京中医药大学附属东方医院, 北京 100078)

【摘要】 慢性脑缺血主要由于全脑血流供应减少, 从而发生脑组织不同程度病理损害, 出现记忆力下降等一系列症状, 引起学者广泛关注。对慢性脑缺血病理机制及损伤后修复的研究更是当今神经科学研究的热点之一。本文通过对近年来国内外研究进行总结, 就其模型制作、评价方法及常见问题予以综述, 为慢性脑缺血的进一步研究提供参考资料。

【关键词】 慢性脑缺血; 模型; 动物; 评价方法

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 04-0067-07

doi: 10. 3969. j. issn. 1671. 7856. 2014. 004. 015

Current research status on animal models of chronic cerebral ischemia

WANG Li-ye^{1,2}, CHEN Zhi-gang², LUO Yu-min¹

(1. Xuanwu Hospital Affiliated to the Capital Medical University, Beijing 100053, China;

2. Dong Fang Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078)

【Abstract】 Due to the reduced cerebral blood supply, chronic cerebral circulation insufficiency (CCCI) causes diverse pathological damages to different degrees in the brain, and consequently leading to memory deterioration and a series of symptoms. Researches on pathological mechanism and repairing of CCCI damages are one of hot spots in neuroscience. In this article, current researches on animal models of chronic cerebral ischemia are reviewed. The authors would summarize the model preparation, evaluation of methodology and frequent questions, and to provide useful reference for further studies on chronic cerebral circulation insufficiency.

【Key words】 Chronic cerebral ischemia; Chronic cerebral circulation insufficiency; Animal model; Evaluation methodology

慢性脑缺血是指大脑整体水平的血液供应减少(低于 40 ~ 60 mL/100 g/min)的状态, 是临床常见病、多发病。慢性脑缺血初期表现为头晕头重, 且无血管性或其他脑器质性病变的明确提示, 故临床诊断与治疗均具有一定的难度。但长期处于慢性脑缺血状态可使脑组织产生慢性缺血, 呈现大脑皮质萎缩、神经元变性、脑白质疏松、胶质细胞增生等一系列病理改变, 导致认知功能下降, 进而发展

为痴呆或其他脑血管病。慢性脑缺血被认为是 Alzheimer 病、血管性痴呆(vascular dementia, VD)、Binawanger 病、缺血性卒中等多种疾病发生发展过程的一个重要环节。对其诊断及治疗的研究刻不容缓, 本文就慢性脑缺血动物实验中的模型、评价及常见问题予以综述, 为慢性脑缺血的进一步研究提供参考资料。

[作者简介] 王丽晔(1988-), 女, 博士研究生, 主要研究方向: 慢性脑供血不足病理机制及治疗, E-mail: wangliye2013@126.com。

[通讯作者] 罗玉敏(1965-), 女, 教授, 博士, 主要研究方向: 脑血管病, E-mail: yumin1111@ccmu.edu.cn。

1 模型制作

慢性脑缺血的常见动物模型有大鼠、小鼠和兔等模型。其中鼠类较其它哺乳动物更易获得,且容易饲养,繁殖快,抗感染能力强,因而深受现代研究者的青睐。

1.1 大鼠慢性脑缺血模型的制作

大鼠脑血管除缺失大脑前交通动脉外,其余结构与人类基本相同,均由前循环颈内动脉系统及后循环椎基底动脉系统构成,前后循环通过 Willis 环相互沟通,保证脑部供血。且大鼠价格低廉、来源充足、实验条件较好控制,是目前制作慢性脑缺血模型的常用动物。但因其头颅体积较小,血管造影等操作具有一定难度,且鼠的脑缺血代偿能力不同于人类,故不能完全等同于人类慢性脑缺血状态。

大鼠慢性脑缺血模型可分为血管闭塞、动静脉瘘及控制血管直径等方法。血管闭塞方法提出较早,方法多样,操作简单,应用广泛。动静脉瘘及控制血管直径方法应用较少,操作相对复杂。

1.1.1 血管闭塞法:血管闭塞分为 2~4 条脑血管闭塞的不同方法,因前循环提供脑部 2/3 的供血,后循环供血相对较少,故我们常选择结扎前循环血管,如颈总动脉或颈内动脉,后通过后循环代偿及侧枝循环建立,造成慢性全脑缺血;或前循环与后循环结扎配合,但损伤程度较大,操作具有一定难度;因后循环供血区域较小,单纯结扎后循环易于代偿,故多不采用。

1.1.1.1 两血管闭塞法(2-vessel occlusion, 2-VO):目前认为就慢性脑缺血模型中,两血管结扎法所致脑损伤动物间可比性较强,稳定性最佳,适合长期慢性病程及轻度脑缺血的研究,亦被认为是造成慢性低灌注及白质损伤最常用的模型^[1]。

1992 年 Torre JC^[2]首次采用永久性结扎 Wistar 大鼠双侧颈总动脉法(permanent occlusion of bilateral common carotid arteries, BCCA)制作出慢性脑缺血的动物模型,即将大鼠麻醉后同时结扎双侧颈总动脉,是目前公认比较好的慢性脑缺血模型。由于海马对于缺血非常敏感,损伤后常引起学习记忆功能下降,故该模型亦为 VD 最常用的模型^[3]。该法优点是操作简便,重复性好,缺血程度基本相同,有较好可比性,大鼠学习记忆能力降低显著,而无神经功能缺损症状,有利于慢性病程的研究观察^[4],是慢性脑缺血研究中常用模型^[5-6],在小鼠慢

性脑缺血模型中也可见该方法研究^[7]。脑血流监测显示双侧颈总动脉堵塞 2.5 h 后,皮质和海马的血流量减少 25%~50%;术后 7 d,血流量仍显著减少,为正常水平的 60%~75%,并且维持这个水平至少几个月。但该模型具有一定的缺陷,颈总动脉供血区域广泛,同时结扎双侧颈总动脉,对动物急性损伤较大,易导致动物死亡,且颈总动脉供应眼动脉血流,对视功能具有明显损害,对行为学结果的影响不容忽视。

2002 年 Sarti 等^[8]认为 BCCA 可能过急过快的减少了血流,引起的急性损伤较严重,对该法进行改良,先行单侧颈总动脉结扎,1 周后再行对侧颈总动脉结扎,先后两次麻醉及创伤,较传统方法感染机会增大,应注意抗感染药物的应用,但该法可以降低大鼠术后的病死率,渐渐在研究中被应用^[9]。

因颈总动脉闭塞后对视功能的影响,双侧颈内动脉闭塞的方法应运而生,在 1997 年由 Ohta 等^[10]提出,于颈内动脉的翼腭动脉分支之上节扎颈内动脉,消除了对视觉的损害,对于需要保留完善视觉系统功能的模型,此方法具有较大优势。但针对此模型的应用及研究较少,无论是在脑缺血程度还是病变范围均与 BCCA 模型不尽相同,对本模型的评价还需要进一步的研究。

Horeck^[11]于 2009 年提出了采用闭塞两条血管造成三条脑内血管供血阻断的头臂干联合左侧颈总动脉闭塞法,即采用微侵袭胸腔外先闭塞头臂干,同时结扎左侧颈总动脉。闭塞头臂干,可导致右侧颈总动脉及右侧椎动脉闭塞,联合左侧颈总动脉闭塞,可导致前循环和部分后循环血流阻断,造成全脑缺血。该法操作复杂,对大鼠损伤较大,广泛应用具有一定难度。

1.1.1.2 三血管闭塞法(3-vessel occlusion, 3-VO):3-VO 法指闭塞一条颈总动脉及两侧椎动脉或者两条颈总动脉及一条椎动脉。3-VO 的缺点是需要直接暴露基底动脉,手术创伤大,在手术中对周围组织、神经牵拉较严重。

3-VO 术后即表现出明显脑缺血状态,缺血量会减少 85%左右,与急性全脑缺血相似。从血管解剖学及血液供应情况推测,3VO 为再灌注恢复最快者,9 周后缺血将会被完全代偿,恢复到正常水平,故该模型更适合急性全脑缺血性疾病损伤的研究。

Hans-Jorg Busch^[12]认为一侧颈总动脉及双侧椎动脉闭塞是最好的模型制作方法,先通过脊椎旁通

路闭塞双侧椎动脉,1 h 后闭塞一侧颈总动脉。该方法可有效降低脑血流量,且不造成组织损伤。研究显示随着适应性调节及显著的侧枝循环代偿,术后 1 周同侧脑血流量即增加 39%,3 周后增加 72%。

闭塞两侧颈总动脉和一侧椎动脉也是 3-VO 的常见方法。Motonomu^[13]于 1985 年提出,先通过枕部最长肌终止处 3 mm × 3 mm 的骨窗电灼切断椎动脉,随后结扎双侧颈总动脉。此模型急性缺血亦明显。故后期对此方法改良^[14],先电灼左侧椎动脉,同时结扎右侧颈总动脉,1 周后再结扎左侧颈总动脉,此法可降低急性脑缺血程度,减少对慢性脑缺血病理生理过程的干扰,从而延长慢性脑缺血时间,便于各种干预手段的实施及成效判定。此改良方法产生的慢性脑缺血损害迅速、确切、重复性好,局部脑血流量在术后脑皮质和海马可减至正常的 85% 和 62%,9 周左右脑供血基本恢复。

1992 年 Torre JC^[2]提出结扎左锁骨下动脉及双侧颈总动脉制作慢性脑缺血动物模型,因左锁骨下动脉供应左侧椎动脉血流,故间接形成左侧椎动脉及双侧颈总动脉闭塞。首先行喉部至剑突做一切口,剪断前四根肋骨,结扎左锁骨下动脉,在暴露缝合双侧颈总动脉,缝合后实现模型制作。该模型避免对椎动脉的直接操作,但需剪断肋骨暴露左锁骨下动脉,故损伤易较大。

1.1.1.3 四血管闭塞法(4-vessel occlusion,4-VO):四血管结扎法即闭塞两条前循环供血动脉及双侧椎动脉,该模型动物在 8 周内持续明显的脑灌注降低,但由于动物椎动脉与脊管前动脉间的交通支脉存在,个体差异较大,且手术过程复杂,动物死亡率较高。

双侧椎动脉电凝合并双侧颈总动脉反复夹闭法是目前国际公认血管性痴呆的造模方法。首先灼断双侧椎动脉,24 h 后用微动脉夹行双侧颈总动脉反复夹闭,双侧同时夹闭 5 min,松开 30 min,重复 3 次。术后 8~12 周脑血流量趋于稳定,但海马区未达到正常的脑供血量,形成慢性大脑缺血,适于亚急性的研究。但该模型两次手术,手术复杂,创伤较大,死亡率较高。

文献报道称三步四血管结扎法可明显降低动物的病死率,且模型的稳定性,可复制性均较好。因分次闭塞椎动脉会增加动物的颈部感染风险和手术应激反应,可采取^[15]先闭塞双侧椎动脉,再分

次闭塞双侧颈总动脉方法,间隔为 1 周。还有先闭塞双侧椎动脉,再依次闭塞双侧颈内动脉的方法,虽行为学上可出现学习记忆能力下降^[16],但此法仍被认为未表现出持续明显的动物认知功能的降低。

1.1.2 动静脉瘘造模法:动静脉瘘慢性脑缺血模型主要是由于血流动力学改变而导致相应供血区脑灌注压降低,同时引流静脉压升高而导致局部脑组织灌注回流障碍引起的非梗死性慢性脑缺血。根据吻合方式不同,分为动静脉远端的端一端吻合模型和动静脉端一侧吻合模型。

1989 年 Morgan 等^[17]首次尝试将大鼠右侧颈总动脉和颈外静脉的近心端结扎,并将其远心端行端端吻合,使颅内动脉和静脉发生分流;Bederson^[18]将大鼠颈总动脉近心端与颈外静脉远心端吻合,残端结扎,致使颈总动脉的血液经吻合口流入颈外静脉,可使平均动脉压、脑灌注压和大脑中动脉血流速度均明显下降;2002 年 Hai^[19]采用右侧颈外静脉、颈总动脉端侧吻合和双侧颈外动脉及对侧横窦引流静脉结扎的方法,易可导致脑缺血,均可制作慢性脑缺血模型。

1.1.3 控制血管直径造模法:控制血管直径^[20]是通过将血管与注射器针头系紧后拔出针头以减小血管直径,该方法能保留脑血管,对脑部损伤较小,且可定量控制血管狭窄程度。曾有报道称该模型在术后 2 h 血流量明显降低,1 d 后开始恢复,30 d 左右基本恢复正常,其时程及血流量的减少程度与动脉狭窄的程度有关。

血管闭塞法、动静脉瘘造模法及控制血管直径的方法均是在慢性脑缺血模型制作中的常用方法,各有其优缺点,血管闭塞方法效果直接、明显,应用广泛,但局部牵拉刺激明显;动静脉瘘造模法操作复杂,对大鼠损伤较大;控制血管直径方法研究较少,对针头直径与慢性脑缺血时程关系还有待于进一步研究。研究者可根据自己的研究目的选择模型制作方法。

1.2 小鼠慢性脑缺血模型的制作

小鼠模型因其后交通动脉发育不完整,与人类解剖结构具有较大区别,故其应用相对少,随之模型制作种类亦少。常见的为右侧颈总动脉闭塞模型及微线圈模型。

右侧颈总动脉闭塞(right unilateral common carotid artery occlusion,rUCCAO)模型是由日本学者提出^[21],其认为颈部多发大血管狭窄或闭塞所致的

慢性缺血情况与临床情况有一定差别,在 2-VO 基础上提出 rUCCAO 模型。此模型与临床中单发血管狭窄所致的慢性脑缺血更接近,且该模型在研究慢性脑缺血炎症反应、认知障碍以及脑白质损伤方面具有一定的应用价值,对阐明血管性痴呆,尤其是皮质下缺血性痴呆的病理生理学机制有一定的作用。同时,该模型的动物死亡率较低,血流量减低较明显,对研究慢性脑缺血后炎症与抗炎反应的变化等方面都有一定的价值。

Shibata 等^[22]在实验中采用钢琴弦制作内径 0.16~0.22 mm 的微弹簧圈,通过缠绕双侧颈总动脉造成双侧颈总动脉狭窄,制作慢性脑缺血模型。此模型为可控性,与大鼠控制血管直接模型的原理相同。该模型对皮质损伤较轻,同时对视通路的影响较小。但目前关于该模型的研究报道较少,其应用价值有待进一步研究。

1.3 其它动物

家兔易于饲养、性格温顺、繁殖率高,但是大脑皮质不够发达,效果不理想。猪的脑血管形态和生理特征以及代谢方面与人类相似,且侧枝循环少,较适合于脑血管病的研究,但体型庞大,品系不纯,故未广泛应用。狗的脑皮质较发达,且抗手术打击能力强,但狗的脑血管与人有较大差异,且其颈内-外动脉间有非常丰富的吻合网,单根颅内动脉阻塞很难形成稳定的脑梗死灶。猴的脑解剖和生理特征、对药物的反应及代谢都和人类很相似,是研究人类神经系统疾病的理想动物,但由于其价格昂贵、不易饲养和来源困难等,从而限制了其被广泛使用。

2 模型评价

2.1 总体评价

术后大鼠出现精神萎靡,反应迟钝,神情呆滞,站立不稳,少食,少饮等表现,3~5 d 后精神逐渐恢复,1 周时基本正常,但仍比较迟钝。

2.2 行为学评价

行为学检测是模型评价的重要手段,具体方法的选择主要根据慢性脑缺血后的症状表现。当慢性脑缺血涉及后循环时,后循环对前庭供血相应减少,出现眩晕症状。对此可通过眩晕潜伏期的测定,判断术后动物状态。将大鼠置于 200 r/min 的旋转诱导仪上旋转 1 min,后置于底部带电周围绝缘的实验箱内,并即刻电击。大鼠从旋转停止至跳上

橡胶柱逃避电击,并在橡胶柱上保持 30 s 定为眩晕潜伏期。潜伏期越长提示眩晕越严重。曾有实验记载,于颈总动脉结扎后 8 周、12 周、16 周测定眩晕潜伏期,结果显示眩晕潜伏期与术后时长呈正相关。

慢性脑缺血随着病程进展,会出现记忆力下降,故记忆功能的评价也是慢性脑缺血模型常用的评价方法。测定学习记忆功能的方法主要有 Morris 水迷宫试验、Y-迷宫试验、跳台试验、穿梭箱训练等。Morris 水迷宫和 Y-迷宫常用于研究动物的空间学习记忆,跳台试验、穿梭箱试验等属于操作式条件反射。

Morris 水迷宫 (Morris water maze, MWM) 是慢性脑缺血研究中常用的记忆能力评价方法,主要用于测试实验动物对空间位置觉和方向觉(空间定位)的学习记忆能力。实验主要包含定位航行实验和空间探索实验,分别对大鼠的学习能力及记忆能力进行评价。慢性脑缺血模型动物游泳速度正常,但找不到平台,或者时而出现攀爬行为,或者沿着迷宫侧壁转圈,进而逃避潜伏期长,游泳距离长,说明大鼠的学习记忆能力差,学习记忆受损严重。在水迷宫的搜索策略上,正常大鼠经过训练学习后,基本呈现为直线式的寻找平台策略;而慢性脑缺血大鼠呈现周围式和随机式,游过路程明显延长,亦表明其对于空间学习的能力明显下降。Yi Shu^[23]利用 Morris 水迷宫将 2-VO1 周、4 周、8 周进行对比,训练 2d 后 2-VO 组逃避延迟明显高于假手术组,于目的象限的时间亦明显减少,而 4 周和 8 周两组之间无明显差异。

Y 迷宫是一种短时空辨别学习记忆测试,又可同时检测动物的主动回避反应和被动回避反应,是检验动物学习记忆特点的常用工具,但 Y 迷宫对动物的惩罚如电击本身带有刺激性,对动物完成学习记忆任务有一定的干扰。实验结果表明,正确学习记忆功能大约为电击 18~20 次,术后 12 周大鼠正确学习记忆成绩为电击 (39.5 ± 4.3) 次,16 周为 (58.3 ± 5) 次。可见慢性脑缺血大鼠学习记忆能力下降。

跳台试验原理是利用大鼠在开阔的空间通常在边缘与角落里活动。将动物放在平台上后,它会跳下平台并向四周进行搜索,但空间底部铺以通电铜栅,动物跳下平台将受到电击,其正常反应是跳回平台以躲避伤害性刺激。多数动物可能再次或多次跳至铜栅上,受到电击后又迅速跳回平台。训

练 5 min, 记录每只大鼠首次跳上平台所需的时间(反应时间)和 5 min 内受到的电击次数(错误次数), 作为学习成绩。24 h 后重复上述试验, 记录每只大鼠首次跳下平台的时间(潜伏期)和错误次数, 作为记忆成绩。慢性脑缺血大鼠学习成绩中的反应时间和错误次数明显增多, 记忆成绩中的潜伏期时间较学习时显著减少, 但错误次数明显增多。

穿梭箱法、八臂辐射迷宫及识别物体测验也均是监测动物记忆水平的常用方法, 文献报道 2-VO 术后穿梭箱失败的比例升高; 在 2-VO 术后 6 个月和 1 年进行的辐射臂迷宫测试提示后期大鼠空间学习能力下降是因为低灌注引起的永久性神经损害; 2-VO 术后 60 d 和 90 d 行识别物体测验, 发现 2-VO 的鉴别指数下降, 提示其视空间学习能力及非空间记忆能力均受到损害。

以上方法均为评定慢性脑缺血记忆损害的常用方法, 在研究不同模型的作用机制及药物治疗效果有不同的意义, 故在研究中都有涉及。

2.3 神经电生理改变

有关慢性脑供血不足模型神经电生理改变的研究报道相对较少, 其中脑电图 (electroencephalogram, EEG) 的监测更常见。

用脑电图观察到半数的 2-VO 实验动物在急性期脑波幅度先开始下降, 然后节律逐渐消失, 术后 300 ~ 400 s EEG 上显示为一条等电线^[24]。脑低灌注后急性期神经电生理活动消失可能与缺血阈有关, 随着脑血流逐渐下降, 少血变成缺血时神经元的电活动将受到影响。给 2-VO 模型视网膜闪光刺激, 可以从枕叶皮质记录到视觉诱发电位^[25]。在 2-VO 模型术后 10 d, 记录到 P2 波, 波峰潜伏期增加, 幅度减少。这可能是由于脑低灌注使视网膜、视神经和视束广泛损害, 因此皮层神经元的电位活动减低, 不容易被记录。研究还发现在 2-VO 术后, 一侧海马 CA3 区受到电刺激, 可以在对侧海马 CA1 区记录到刺激诱发的群峰电位, 术后 80 - 150 min 诱发的群峰电位幅度迅速下降甚至记录不到, 但是这种情况是可逆的。但在术后 3 d, 诱发的群峰电位与假手术组无明显区别。对于这种现象目前有两种解释: 尽管神经元突然死亡, 可能是代谢适应机制, CA1 区锥形细胞的电活动不受影响; 2-VO 术后第 2 天海马的血流已经开始恢复, 促使锥形细胞的功能恢复^[26]。Farkas E 等^[27]通过 EEG 技术验证该模型在痴呆形成中的作用。EEG 作为临床常见检查设

备, 在人类慢性脑缺血的研究中应用更为广泛^[28]。

在神经电生理研究中 P300 的测定也逐渐被大家重视。由于 P300 电位在事件相关电位中具有特殊意义, 被称为“认知”电位, 受到了学者们广泛注意, 大量的临床研究亦发现并证实, 在认知功能损害的有关疾病中, P300 潜伏期和波幅亦发生相应改变, 为有认知功能损害疾病的诊断和评估预后提供了一个重要客观的辅助手段。因 P300 潜伏期的改变, 较其他检测指标出现早, 因而越来越多地应用于痴呆的早期发现及诊断上。结合慢性脑供血不足记忆力的下降及与血管性痴呆的密切关系, 理论上慢性脑缺血不足的动物 P300 潜伏期将会延长, 但是暂无就此实验的相关描述。

2.4 监测脑血流量

在慢性血管源性脑缺血模型中, 我们常检测脑血流量 (cerebral blood flow, CBF) 来确定动物的低灌注状态, 在慢性脑缺血模型中, 脑血流量的监测更是动物状态的“金指标”。

以 2-VO 模型为例, 2-VO 术后在不同时间点不同脑区的脑血流变化不同。2-VO 模型一旦建立, 脑血流速度会迅速下降, 下降最明显的部位是皮层和白质, 海马次之, 一直持续到术后 4 周, 在术后 8 周到 3 个月脑血流下降速度减缓^[29], 术后 6 个月时的脑血流变化与对照组无明显区别。说明 2-VO 术后脑血流变化可根据代谢和组织稳态分成 3 个时期: 从血管结扎开始到术后 2 ~ 3 d 为急性期, 此期脑血流变化非常明显, 开始时脑血流迅速下降, 以后持续在较低水平, 出现缺血缺氧状态, 影响神经组织的电生理变化; 术后 8 周到 3 个月为慢性期, 脑低血流转为慢性状态, 脑糖代谢也下降, 这一期与人类老龄化和 VD 状态形成的脑血流下降极其相似; 3 个月以后为恢复期, 此期脑血流逐渐恢复到基线水平, 脑低灌注和异常状态的代谢逐渐停止。

在目前研究中, 多用 CBF 评定模型质量及治疗效果, 如 Zhang X 等^[30]人通过 CBF 观测针灸对痴呆的治疗机制。

3 常见问题

3.1 鼠龄的选择

动物年龄与慢性脑缺血损伤程度及恢复时间密切相关, Sivilia S^[31]将 3 月龄成年鼠与 12 月龄老年鼠进行比较, 发现在 2-VO 术后 8d, 成年鼠海马区出现神经再生, 同期老年鼠无该反应, 提示年龄在

神经功能恢复中起决定性作用。目前关于慢性脑缺血模型动物年龄的比较中,多见于大鼠及小鼠研究,不同年龄各有其不同意义。如有学者应用此模型对出生后 1 d 的 SD 大鼠幼崽进行研究^[32],Gong H^[33]对年轻大鼠行双侧颈内动脉结扎模型观察其变化,结果显示在术后 7 d 可见大脑后部及部分海马血管功能性区域下降,而 14 d 后基本恢复正常,提示年轻鼠恢复较快,考虑与血管新生及神经可塑性相关。中年鼠^[34]的研究显示其损伤较年轻鼠严重,尤以皮质、海马神经退行性病变为甚。而老年鼠因其细胞死亡率高,修复能力弱,所产生的功能损害表现最早且最严重,但其死亡率亦因此升高。研究认为血管内皮功能障碍^[35]是老年鼠损害程度大的原因之一,也在一定程度上导致老年人慢性脑缺血的高发病率。故研究者应根据自己实验目的及思路选择适当年龄大鼠。

3.2 常见模型致死率对比

双侧颈总动脉同时进行结扎(BCCA 模型),对动物急性损伤较大,故 24 h 病死率高。据此开创出间断结扎双侧颈总动脉的改良法,可以明显提高动物的存活率,Cechetti F 等^[36]研究对比 BCCA 法该方法可明显提高术后 3 月动物存活率。但该方法两次结扎间断 1 周,对于慢性脑缺血的形成过程具有一定的影响,不排除最终损害减轻的可能。相对而言,三血管及四血管结扎因椎动脉的参与,使局部损伤及整体损伤程度明显升高,且因椎动脉闭塞致脑干供血减少,导致生命中枢受抑制。但总体比较而言,颈内动脉代替颈总动脉结扎^[15]及间断结扎均能明显提高生存率。

4 结语

慢性脑缺血因其高发病率及与血管性痴呆的密切关系倍受关注,近年来对其机制及药效的研究不断增多,但目前研究尚不够深入。对于模型构建无统一标准,致使后续研究无法同向比较;模型不够完善,存在死亡率高、模型不稳定等因素;模型评价方法相对复杂,增加实验难度。随着研究的深入,旨求明确慢性脑缺血机制,并研制合适药物有效作用于靶点,减轻其症状及延缓其进程。

参考文献:

- [1] Jiwa NS, Garrard P, Hainsworth AH. Experimental models of vascular dementia and vascular cognitive impairment: a systematic review [J]. *J Neurochem*, 2010, 115(4):814-828.
- [2] la Torre JC, Fortin T, Park GA, et al. Chronic cerebrovascular insufficiency induces dementia-like deficit in aged rats [J]. *Brain Res*, 1992, 582(2):186-195.
- [3] Farkas E, Luiten PG, Bari F, et al. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the rat: a model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases [J]. *Brain Res Rev*, 2007, 54(1):162-180.
- [4] Ohtani R, Tomimoto H, Kondo T, et al. Upregulation of ceramide and its regulating mechanism in a rat model of chronic cerebral ischemia [J]. *Brain Res*, 2004, 1023(1):31-40.
- [5] Azzubaidi MS, Saxena AK, Talib NA, et al. Protective effect of treatment with black cumin oil on spatial cognitive functions of rats that suffered global cerebrovascular hypoperfusion [J]. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 2012, 72(2):154-165.
- [6] Xi Y, Wang M, Zhang W, et al. Neuronal damage, central cholinergic dysfunction and oxidative damage correlate with cognitive deficits in rats with chronic cerebral hypoperfusion [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2013, 109C:7-19.
- [7] Toyama K, Koibuchi N, Uekawa K, et al. Apoptosis signal-regulating kinase 1 is a novel target molecule for cognitive impairment induced by chronic cerebral hypoperfusion [J]. *Arterioscl, Thromb Vase Biol*, 2014, 34(3):616-625.
- [8] Sarti C, Pantoni L, Bartolini L, et al. Cognitive impairment and chronic cerebral hypoperfusion: what can be learned from experimental models [J]. *Neurol Sci*, 2002, (3):203-204.
- [9] Cechetti F, Worm PV, Lovatel G, et al. Environmental enrichment prevents behavioral deficits and oxidative stress caused by chronic cerebral hypoperfusion in the rat [J]. *Life Sci*, 2012, 91(1-2):29-36.
- [10] Ohta H, Nishikawa H, Kimura H, et al. Chronic cerebral hypoperfusion by permanent internal carotid ligation produces learning impairment without brain damage in rats [J]. *Neuroscience*, 1997, 79(4):1039-1050.
- [11] Horecky J, Baciak L, Kasparová S, et al. Minimally invasive surgical approach for three-vessel occlusion as a model of vascular dementia in the rat-brain bioenergetics assay [J]. *J Neurol Sci*, 2009, 283(1-2):178-181.
- [12] Busch HJ, Buschmann IR, Mies G, et al. Arteriogenesis in hypoperfused rat brain [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2003, 23:621-628.
- [13] Kameyama M, Suzuki J, Shirane R, et al. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the rat-three vessel occlusion model [J]. *Stroke*, 1985, 16:489-493.
- [14] 刘晖章, 王建, 张磊. 改良型三血管结扎慢性脑缺血模型大鼠的行为学评价 [J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2009, 11(18):966-969.
- [15] Neto F, Paganelli A, Benetoli A, et al. Permanent, 3-stage, 4-vessel occlusion as a model of chronic and progressive brain hypoperfusion in rats: a neurohistological and behavioral analysis [J]. *Behav Brain Res*, 2005, 160(2):313-322.
- [16] Dias Fiuza Ferreira E, Valério Romanini C, Cypriano PE, et al. Sildenafil provides sustained neuroprotection in the absence of

- learning recovery following the 4-vessel occlusion/internal carotid artery model of chronic cerebral hypoperfusion in middle-aged rats [J]. *Brain Res Bull*, 2013, 90:58–65.
- [17] Morgan MK, Anderson RE, Sundt TM Jr. A model of the pathophysiology of cerebral arteriovenous malformations by a carotid-jugular fistula in the rat [J]. *Brain Res*, 1989, 496(1–2):241–250.
- [18] Bederson JB, Wiestler OD, Bristle O, et al. Intracranial venous hypertension and the effects of venous outflow obstruction in a rat model of arteriovenous fistula [J]. *Neurosurgery*, 1991, 29(3):341–350.
- [19] Hai J, Ding M, Guo Z, et al. A new rat model of chronic cerebral hypoperfusion associated with arteriovenous malformations [J]. *J Neurosurg*, 2002, 97(5):1198–1202.
- [20] 周振华, 陈康宁, 周宇, 等. 可控制狭窄程度的鼠颈动脉狭窄模型建立及认知功能改变[J]. *中国临床康复*, 2004, 281(81):6052–6054.
- [21] Yoshizaki K, Adachi K, Kataoka S, et al. Chronic cerebral hypoperfusion induced by right unilateral common carotid artery occlusion causes delayed white matter lesions and cognitive impairment in adult mice [J]. *Exp Neural*, 2008, 210(2):585–591.
- [22] Shibata M, Ohtani R, Ihara M, et al. White matter lesions and glial activation in a novel mouse model of chronic cerebral hypoperfusion [J]. *Stroke*, 2004, 35(11):2598–2603.
- [23] Shu Y, Zhang H, Kang T, et al. PI3K/Akt signal pathway involved in the cognitive impairment caused by chronic cerebral hypoperfusion in rats [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12):e81901.
- [24] Briede J, Duburs G. Protective effect of cerebrocrast on rat brain ischemia induced by occlusion of both common carotid arteries [J]. *Cell Biochem Funct*, 2007, 25(2):203–210.
- [25] Aytac E, Seymen HO, Uzun H, et al. Effects of iloprost on visual evoked potentials and brain tissue oxidative stress after bilateral common carotid artery occlusion [J]. *Prostagl Leukot Essent Fatty Acids*, 2006, 74(6):373–378.
- [26] Marosi M, Rakos G, Robotka H, et al. Hippocampal (CA1) activities in Wistar rats from different vendors. Fundamental differences in acute ischemia [J]. *J Neurosci Methods*, 2006, 156(1–2):231–235.
- [27] Farkas E, Obrenovitch TP, Institóris Á, et al. Effects of early aging and cerebral hypoperfusion on spreading depression in rats [J]. *Neurobiol Aging*, 2011, 32(9):1707–1715.
- [28] Rodriguez G, Vitali P, Canfora M, et al. Quantitative EEG and perfusional single photon emission computed tomography correlation during long-term donepezil therapy in Alzheimer's disease [J]. *Clin Neurophysiol*, 2004, 115(1):39–49.
- [29] Hai J, Wu YF, Lin Q, et al. Cerebral blood flow and metabolic changes in hippocampal regions of a modified rat model with chronic cerebral hypoperfusion [J]. *Acta Neurol Belg*, 2013, 113(3):313–317.
- [30] Zhang X, Wu B, Nie K, et al. Effects of acupuncture on declined cerebral blood flow, impaired mitochondrial respiratory function and oxidative stress in multi-infarct dementia rats [J]. *Neurochem Int*, 2014, 65:23–29.
- [31] Sivilia S, Giuliani A, Del Vecchio G, et al. Age-dependent impairment of hippocampal neurogenesis in chronic cerebral hypoperfusion [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2008, 34(1):52–61.
- [32] Cai Z, Pang Y, Xiao F, et al. Chronic ischemia preferentially causes white matter injury in the neonatal rat brain [J]. *Brain Res*, 2001, 898(1):126–135.
- [33] Gong H, Shu L, Xu H, et al. Bilateral internal carotid arteries ligation temporary impairs brain vasculature in young rats [J]. *Auton Neurosci*, 2013, 173(1–2):39–44.
- [34] Ferreira ED, Romanini CV, Mori MA, et al. Middle-aged, but not young, rats develop cognitive impairment and cortical neurodegeneration following the four-vessel occlusion/internal carotid artery model of chronic cerebral hypoperfusion [J]. *Eur J Neurosci*, 2011, 34(7):1131–1140.
- [35] Toda N. Age-related changes in endothelial function and blood flow regulation [J]. *Pharmacol Ther*, 2012, 133(2):159–176.
- [36] Cechetti F, Worm PV, Pereira LO, et al. The modified 2VO ischemia protocol causes cognitive impairment similar to that induced by the standard method, but with a better survival rate [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2010, 43(12):1178–1183.

[修回日期]2014-02-19