研究进展

浅析面瘫动物模型的制备与比较*

李小娟 赵中亭 曹朝霞 魏玉婷 严兴科

(甘肃中医药大学, 兰州 730000)

摘要:目的 对面瘫动物不同模型相关文献进行检索,分析各种模型制备方法的优缺点,探寻适合不同研究类型模型的制备方法,从而为面瘫动物模型的制备提供实验依据。**方法** 检索近十年来面瘫动物模型制备的相关文献,对各种实验动物及造模方法进行归纳总结。**结果** 目前面瘫模型制备使用较多的动物有大鼠、小鼠、日本大耳白兔等,造模方法有面神经切断法、压榨法、牵拉法等。**结论** 目前面瘫模型的制备方法较多,各有优缺点,根据研究目的不同选择不同的造模方法,才能给针灸治疗面瘫提供科学依据。

关键词:面瘫;造模动物;造模方法

中图分类号: R-332 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-6179(2019)02-0083-04

DOI:10.3969/j.issn.1006-6179.2019.02.017

面瘫是针灸临床常见病和多发病,是针灸治疗的优势病种。面瘫的诱发原因目前尚未确定,且存在各种假说[1-7]包括血管痉挛学说、病毒感染学说、免疫学说、神经源性学说、遗传学说、妊娠学说等,但都缺乏高质量的证据支持,给临床研究带来了很大的困难,尤其是对动物实验的机制探讨出了难题。在动物模型的选择上,如何选择最真实模拟现实面瘫发病情况的造模方法成为研究成败的关键。目前面瘫模型较多使用的动物有:大鼠、小鼠、日本大耳白兔等。造模方法[8-12]有面神经切断、压榨、牵拉、结扎、撞击、爆破冲击、激光照射、冷热刺激、接种病毒等,这些造模方法各有特点。如何恰当地选择不同类型面瘫动物模型,对探讨针灸治疗不同类型面瘫的作用机制尤为重要,本文对各种实验动物及造模方法进行归纳总结,现综述如下:

1 造模动物

在实验中多选用啮齿类动物为造模动物,其中大鼠、小鼠、兔在面瘫研究中最常使用。

1.1 大鼠

大鼠来源十分广泛,价格相对便宜,易于调教和捕捉,再生能力和抗感染能力都很强,其面神经主干较浅且粗大,与人类较为相似,故大鼠较多地用于神经损伤性面瘫的造模。Jang 等[13]选取大鼠暴露左侧面神经主干,用微血管钳钳夹一分钟,最后建立左侧面部面神经麻痹模型。虞彬艳等[14]用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠后,参考王杰等[15]制备缺血性面瘫大鼠模型的方法,于右颈侧切口,暴露颈外动脉,结扎颈外动脉,以制备缺血性面瘫大鼠模型。苏莉莎等[16]用乌拉坦腹腔注射麻醉大鼠,暴露右侧颈乳孔外的面神经主干,并将其于远侧神经干处切断,切除 5 mm 防止其再生,止血、缝合伤口,术后可见术侧触须即刻失去拂动能力,并向尾侧垂下,瞬目反射表现较迟钝,闭眼幅度变弱甚至不能诱发,周围性面瘫模型复制成功。

1.2 小鼠

小鼠体型小,性情温顺,不主动咬人,易于饲养管理,较多地用于病毒性面瘫造模。Hato 等[17]在研究 HSV-1 感染导致贝尔麻痹发病机制实验中,采用于小鼠耳后接种 HSV-1 病毒液建立贝尔氏麻痹模型。古林涛等[18]腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉小鼠,搔刮小鼠左侧近耳根部耳廓皮肤,取 25 μL HSV-1 病毒液接种于小鼠耳廓创面,接种病

收稿日期:2018-07-05

* **基金项目:**甘肃省自然科学基金(No.:148RJZA066)

作者简介:李小娟(1991—),女, 2016 级在读硕士研究生,研究方向:针灸调节效应的生物学机制研究.E-mail:928170475@qq.com

通信作者:严兴科(1974—),男,教授,博士生导师,研究方向:针灸调节效应研究.E-mail: yanxingke@126.com

毒后第三天,通过观察小鼠瞬目反射及胡须运动是否减弱、鼻尖是否偏向对侧,以判断面瘫造模是否成功。

1.3 兔

实验动物兔体形大,性情温和,面神经粗大,面肌功能相对强大,便于观察,且与人类解剖及生理接近,头面部较大,易于取穴治疗。卫彦和寇吉友[19]选用日本大耳白兔,3%戊巴比妥钠静脉麻醉,取耳屏前至下颌角下缘"S"形切口,钝性剥离皮肤、皮下组织,在腮腺筋膜表面向前剥开皮瓣,用小号持针器钳夹面神经,造模成功标准为兔的胡须由直立变为偏向后方,触须运动消失,面运动神经传导速度减慢。王宇娟等[20]选用新西兰兔,用戊巴比妥钠耳缘静脉推注麻醉,暴露面神经颞外段,在进入颈乳孔前 1 cm 面神经总干处切断神经,术后第七天肌电图检查发现,实验兔患侧肌出现失神经肌电图表现,即单侧周围性面瘫兔模型成功。

2 造模方法

在实验中面瘫造模多选用面神经切断法、面神经压榨法、面神经牵拉法、寒冷刺激法、阻断血管法、接种病毒法,研究者根据面瘫模型的适用范围选用相应的面瘫造模方法。

2.1 面神经切断法

面神经切断法即将暴露的实验动物的神经上颊支切除其中的一段,任其回缩,造成神经缺损的动物模型造模法。面神经切断法是直接切断面神经来模拟面瘫发生时面神经的瘫痪状态。朱鸃[21]、孙健等[22]采用面神经切断法,将面神经切断,模型成功体现了面瘫时神经功能缺损的特点,符合外伤造成面神经瘫痪的特点。

2.2 压榨法

压榨法即将麻醉后的动物解剖并暴露实验侧面神经出颅后的面神经总干,并用丝线在紧靠茎乳孔处紧密牢固地结扎面神经总干的面神经瘫痪的造模方法。目前在针刺治疗面神经麻痹的实验研究中最常用的动物模型是压榨损伤性动物模型[23]。王恺等[24]用压榨法进行造模,成功后观察病理改变,电镜下髓鞘形态、轴索形态出现病变,模型成功模拟了因各种原因造成的神经被压迫导致的面瘫,此模型重点侧重面瘫时神经本身的改变,符合血管痉挛导致的神经缺血的学说。

2.3 牵拉法

牵拉法即神经延长法,是外科领域如肢体牵引、下颌骨延长、组织扩张及创伤等所出现的一种现象,根据这种神经延长的现象发明的一种面瘫模型的造模方法,具体方法是将延长器置于神经所在的平面上,通过旋转螺帽使牵引轮与支撑轮处于同一高度,将已解剖游离的神经套入支撑轮及牵引轮的槽沟中,进行匀速牵拉,最终造成实验动物面神经缺血的造模方法。牙祖蒙等[25]以弦式加载的方式对面神经进行延长,观察延长前后面神经的病理形态学及电生理变化,此模型良好地体现了神经缺损后神经的损伤与修复,但应用范围局限性较大。

2.4 寒冷刺激法

寒冷刺激法即通过冷空气刺激的方式造成面瘫模型的方法。Zealear 等[26]通过冷空气刺激动物鼓膜造成面瘫的方法,观察面神经的传导,复合动作电位,神经内膜、轴索、髓鞘和轴索的改变研究面瘫的机制。此模型良好地模拟了自然环境下面瘫的诱发,符合血管痉挛说,但此模型造模成功率差,受个体健康因素影响严重,实际操作难度很大。

2.5 阻断血管法

面神经血管痉挛、面神经缺血是面瘫学说之一,因此选择性切断面神经供血,建立面神经麻痹的动物模型,此方法主要阻断小脑前下动脉、耳后动脉的分支茎乳动脉、脑膜中动脉的岩浅支等面神经的血管,此方法主要用于面神经病因学的研究。Kumoi 等[27]通过栓塞猫的颌内动脉、耳后动脉和颌外动脉,实验动物都出现面瘫症状。王杰等[28]扎闭大鼠的面动脉、舌动脉、颞浅动脉和近端颈外动脉,并注入栓塞剂后,实验动物立即出现同侧面瘫,此模型良好地模拟了神经缺血的情况,符合面瘫的血管痉挛缺血学说。

2.6 接种病毒法

最近的研究显示,单纯疱疹病毒 1 型是贝尔氏麻痹的一个主要病因因素[29]。Jiang 等[30]使用由 26 号针头将双边耳廓表面划伤并进行 HSV-1 滴度,结果面部神经麻痹的发病率为 50%。Wang 等[31]对 BALB/c 小鼠四周进行双边耳廓表面划伤并进行 HSV-1 滴度,结果接种小鼠之间出现不同程度的面瘫。相关研究中发现物理及缺血模型与临床上面神经麻痹的病理生理过程不尽相同,并不能完全反应机体的病理变化,采用病毒感染造模的研究能更贴近面神经麻痹发生的病理生理改变,使得实验结果

对临床更具有现实指导意义。

3　讨论与展望

综上所述,面瘫动物模型已经成为面瘫研究中使用广泛且重要的手段之一。面瘫造模的动物种类繁多,造模方法各具特色,神经损伤性面瘫模型最为常用,其应用范围也最为广泛,适用于研究面神经损伤后的恢复情况、病理生理变化、失神经支配后肌肉的运动、面神经核和神经元的结构、功能的变化以及面神经营养因子与神经损伤关系等。缺血性面瘫模型适用于血管痉挛缺血所致的面神经麻痹的研究,该模型的建立主要用于面神经病因学的研究,为进一步研究面瘫的病位提供了科学依据。病毒性面瘫模型不仅说明了 HSV-1 感染能够导致面瘫,也为进一步深入研究贝尔麻痹的发病机理和治疗提供依据。然而目前仍有许多待解决的问题,动物模型的制备未能完全贴近人面瘫的实际发病情况,其发病机制还未能完全阐释清楚,动物模型只能间接反映人类疾病。造模时对动物年龄、面神经卡压时间、神经切断长度等缺乏统一的标准,不能较为精准地模拟动物面瘫实际情况。中医认为急性周围性面瘫有风、寒、热、外伤等病因,病机方面多因脉络空虚,风寒、风热之邪乘虚侵袭面部筋络导致气血阻滞、经络不通而发病,但目前未能紧扣中医辨证辨病,未能客观模拟中医不同证型的面瘫。在未来的研究中如何解决诸如此类的问题,有待于广大临床及科研工作者进一步广泛深入地研究,在今后的研究中我们应重点将中医理论与现代临床研究相结合。

参 考 文 献

[1] Lee L N, Lyford-Pike S, Boahene K D. Traumatic facial nerve injury[J]. Otolaryngol Clin North Am, 2013, **46**(5): 825-839.

[2] Choi J W, Park Y H. Facial Nerve Paralysis in Patients With Chronic Ear Infections: Surgical Outcomes and Radiologic Analysis[J]. Clin Exp Otorhinolaryngol, 2015, **8**(3): 218-223.

[3] Gagyor I, Madhok V B, Daly F, *et al*. Antiviral treatment for Bell's palsy (idiopathicfacial paralysis)[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2015, 11: CD001869.

[4] 李健东,赵亮,王佳,等.贝尔麻痹的发病诱因调查[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2006,**13**(2):95-96.

[5] 戴晓蓉, 王继华, 陈杰,等. 神经电生理检测指标对周围性面神经麻痹的预后判断价值[J]. 中国临床神经科学, 2014, **22**(4):421-425.

[6] 王拥军. 神经内科学高级教程[M].北京: 人民军医出版社, 2014.

[7] Vakharia K.Bell's Palsy[J]. Facial Plast Surg Clin North Am, 2016, **24**(1): 1-10.

[8] 王俊, 虞彬艳, 周斯斯,等. 粗针神道穴平刺对周围性面瘫大鼠面神经基因表达谱的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016, **31**(1):287-291.

[9] 韦英姿, 宣丽华. 周围性面瘫动物模型的制备与应用现状[J]. 江西中医药大学学报, 2014, **26**(6):90-93.

[10] 张微, 孙运花, 史庆卫,等. 电针对面神经损伤兔面神经超微结构的影响[J]. 针刺研究, 2012, **37**(4):296-301.

[11] 李昕蓉, 张勤修. 面瘫动物模型的研究现状[J]. 中华中医药杂志, 2012, **27**(11):2903-2906.

[12] 彭晓华,孙运花,李瑛,等.面神经损伤动物模型的实验观察[J].四川中医,2009,**27**(12):20-21.

[13] Jang C H, Cho Y B, Choi C H. Effect of ginkgo biloba extract on recovery after facial nerve crush injury in the rat[J]. Int J Pediatr Otorhi-nolaryngol, 2012, **76**(12): 1823-1826.

[14] 虞彬艳, 宣丽华, 吕善广,等. 粗针督脉平刺治疗缺血性面瘫大鼠的机制探讨[J]. 上海针灸杂志, 2015, **34**(3):256-259.

[15] 王杰, 戴春富, 赵晖,等. 大鼠缺血性面神经瘫痪动物模型的建立[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 1999, **13**(10): 464-465.

[16] 苏莉莎,冯俊,杜经纬,等.葛根素对面运动神经元的营养保护作用[J].贵阳医学院学报,2013,**38**(6):632-634.

[17] Hato N, Kohno H, Yamada H, *et al*. Role of nitric oxide in the onset of facial nerve palsy by HSV-1 infection [J]. JAMA Otolaryngol Head Neck Surg, 2013, **139**(12): 1339-1342.

[18] 古林涛,王海波,李建峰,等.病毒性面瘫小鼠脾脏糖皮质激素受体表达的研究[J].山东大学学报,2012,**50**(3):44-49.

[19] 卫彦, 寇吉友. 电针对兔实验性周围性面瘫干预作用量效关系的影响[J]. 上海针灸杂志, 2014, **33**(6):589-591.

[20] 王宇娟,李克勇,刘景全,等.建立"人工面神经技术"恢复周围性面瘫兔的闭眼功能[J].现代生物医学进展,2011,11(15): 2828-2831.

[21] 朱鋆. 面神经离断伤后核团微环境中 NG2 蛋白表达和 NG2 阳性细胞反应的研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2010.

[22] 孙健,董玮,谢富强,等.骨形态发生蛋白 2 与壳聚糖神经支架复合体修复兔面神经损伤[J].中国组织工程研究与临床康复,2008,**12**(10): 1811-1813.

[23] 唐宏智, 陈大帅, 李瑛. 面瘫不同动物模型的制备与比较[J]. 河南中医, 2013, **33**(6):947-948.

[24] 王恺,徐丽蓉,罗德懦,等.家兔急性实验性面神经损伤的组织病理观察[J].华西医科大学学报,2001,**32**(1):70-72.

[25] 牙祖蒙,陈宗基,王建华,等.弦式加载法延长面神经模型的建立[J].中国修复重建外科杂志,2000,**14**(2): 90-92.

[26] Zealear D L, Bryant G L Jr, Logan M B, *et al*. An investigation of acutefacial paralys is in an mials induced by exposu re of the tympanicmem-brane to cold air: Otolaryngol[J]. Head Neck Surg, 1995, **113**(6): 760-765.

[27] Kumoi T, Iritani H, Nishmiura Y, *et al*. Anmial model for ische-

mic facial nerve paralysis with select ivevascular embolization[J]. AnnOtol Rhinol Laryngo,1992,**101**(5): 423-429.

[28] 王杰,戴春富,赵晖,等.大鼠缺血性面神经瘫痪动物模型的建立[J].临床耳鼻咽喉科杂志,1999,**13**(10): 464-465.

[29] Carreno M, Llorente J, Melón S, *et al*. Use of double PCR in an experimental mode of HSV-1 infection of the facial nerve[J]. Acta Otorrinolaringol Esp,1999,**50**(7): 512-518.

[30] Jiang T, Wang H B, Fan Z M, *et al*. Prevention of facial nerve paralysis induced by herpes simplex virus type 1 (HSV-1) in mouse and establishment of a relapse model induced by reactivation of latent HSV-1[J]. Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi,2007,**42**(9):683-686.

[31] Wang H B, Feng H Y, Fan Z M, *et al*. Experimental study of thefacial nerve paralysis induced by herpes simplex virus type 1 in-fection in mice[J]. Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi,2006,**41**(1): 13-16.

Preparation and Comparison of Facial Paralysis Animal Model

LI Xiaojuan, ZHAO Zhongting, CAO Zhaoxia, WEI Yuting, YAN Xingke

(*Gansu University of Chinese Medicine*, *Lanzhou* 730000, *China*)

Abstract: Objective To search the relevant literature of different models of facial paralysis, analyze the advantages and disadvantages of various models, and explore the production method suitable for different types of models, so as to provide experimental evidence for making animal models of facial paralysis. **Method** The related literatures about animal models of facial paralysis have been searched in the past decade, and various experimental animals and modeling method have been summarized. **Result** At present, most animals used in facial paralysis model are rats, mice and Japanese white rabbits. The method of facial nerve transection, compression and traction are the method of modeling. **Conclusion** There are many ways to make facial paralysis model, each has its own advantages and disadvantages. According to different research purposes, it is possible to explain the acupuncture treatment of facial paralysis.

Key words: Facial paralysis; animal modeling; modeling methods