

缺血性脑卒中动物模型的研究进展

董波¹, 刘嘉欣¹, 熊伟², 唐宋琪², 黄巍¹

(1. 成都中医药大学基础医学院, 成都 611137; 2. 成都岐黄博恩生物科技有限公司, 成都 611130)

[摘要] 缺血性脑卒中是指因脑部血液循环障碍, 缺血、缺氧所致局限性脑组织缺血性坏死或软化, 而出现相应的神经系统功能缺损。该病是导致残疾甚至死亡的主要原因之一, 严重威胁着人类健康。目前治疗缺血性脑卒中仍存在困难。为了研究缺血性脑卒中的发病机制, 更好地预防和治疗缺血性脑卒中, 建立合适的动物模型至关重要。本文针对缺血性卒中动物模型的制备方法及其优缺点进行综述。

[关键词] 缺血性脑卒中; 动物模型; 研究进展

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)01-0054-08

Progress in Animal Models of Ischemic Stroke

DONG Bo¹, LIU Jiaxin¹, XIONG Wei², TANG Songqi², HUANG Wei¹

(1. College of Basic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

2. Chengdu Qihuang Boen Biotechnology Co., Ltd., Chengdu 611130, China)

Correspondence to: HUANG Wei, E-mail: gracehw@126.com

[ABSTRACT] Ischemic stroke refers to the ischemic necrosis or softening of limited brain tissue caused by cerebral blood circulation disorder, ischemia and hypoxia, resulting in corresponding neurological functional defects. Ischemic stroke is one of the primary causes of human disability, seriously threatens human health, and there is still no effective treatment by now. In order to study the pathogenesis of ischemic stroke and prevent and treat it better, it is very important to establish appropriate animal models. This paper aims to summarize the animal models of ischemic stroke and its advantages and disadvantages.

[Key words] Ischemic stroke; Animal model; Research progress

缺血性脑卒中 (ischemic stroke) 指血栓或栓子阻塞脑血管引起短暂或永久脑血流供应障碍, 脑组织缺血缺氧坏死, 导致神经功能缺损, 产生包括偏瘫、失语、认知和学习能力受损等一系列临床综合征。在所有的卒中病例中, 大约87%属于缺血性脑卒中^[1]。治疗缺血性脑卒中是目前研究的难点之一。为了更好地理解缺血性脑卒中发生的病理生理学机制, 提出合适的治疗策略, 建立符合条件的动物模型必不可少。然而目前尚没有一种动物模型可以完全复制人类缺血性脑卒中的特点和发病进程。

缺血性脑卒中模型与实际病例之间存在差异, 相似于人类缺血性卒中的动物模型对科研及临床工作意义重大^[2-3]。相关研究^[4-6]表明, 建立缺血性脑卒中模型可选动物种类包括非人灵长类动物 (猴、狨猴

等)、啮齿类动物 (小鼠、大鼠、沙鼠等)、非啮齿类动物 (猫、犬、猪、羊等) 3大类。根据研究目标挑选最适宜的动物, 建立与人类缺血性脑卒中最为相仿的疾病模型对于研究缺血性脑卒中疾病发生机制及防治策略具有关键效用。

本文结合文献, 按照动物品种品系、造模时间、造模方法、判定指标对缺血性脑卒中动物模型进行总结, 综合评价各种缺血性脑卒中动物模型的特点, 以供研究者根据实验目的, 选择最恰当的动物模型。

1 缺血性脑卒中动物模型的建立方法

根据缺血性脑卒中的发病部位、病因、诊疗思路及现在研究者的新发现, 对缺血性脑卒中动物模型的常用造模方法及使用的动物总结如图1。具体综述如下。

[基金项目] 国家自然科学基金(82074329)

[作者简介] 董波 (1990—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药方剂配伍理论研究。E-mail: 359344243@qq.com;

刘嘉欣 (1992—), 女, 硕士, 研究方向: 中药方剂配伍理论研究。E-mail: 2574922786@qq.com。*为共同第一作者。

[通信作者] 黄巍 (1974—), 女, 博士, 硕士生导师, 教授, 研究方向: 中药方剂配伍理论研究。E-mail: gracehw@126.com

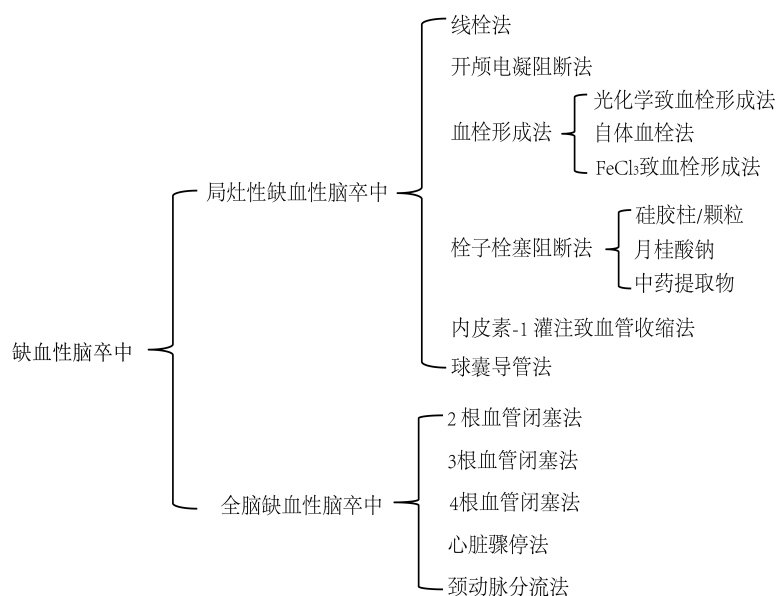


图1 缺血性脑卒中动物模型的常用造模方法

Figure 1 Common modeling methods for animal models of ischemic stroke

1.1 局灶性缺血性脑卒中造模方法

1.1.1 线栓法

1986年, 日本学者 Koizumi 等^[7]发明了线栓法以制备局灶性脑缺血大鼠模型, 基本操作是: 于颈总动脉分叉部或颈外动脉残端插入栓线, 栓线相继经过颈内动脉、大脑后动脉、大脑前动脉起始段; 栓线在插入过程中与颈内动脉结合, 逐渐闭塞颈内动脉血流, 引起大脑中动脉供血区缺血、梗死。1989年, Longa 等^[8]对此模型进行了改良, 其方法为: 先分离并结扎颈外动脉, 同时暂时性结扎颈总动脉, 将颈内动脉进行分离, 剪断颈外动脉, 从颈外动脉靠结扎线的远端做切口, 插入尼龙线使其经过颈总动脉分叉进入颈内动脉, 至有轻微阻力为止, 阻断邻近的大脑中动脉所有血供。目前该方法被认为是局灶性脑缺血模型的标准建立方法, 在国内外得到了广泛运用^[9-10]。线栓法造模的优点在于避免了开颅手术, 可任意控制再灌注时间, 便于实验研究。

1.1.2 开颅电凝阻断法

1981年 Tamura 等^[11]提出电凝法, 即通过外科手术方法灼烧或结扎脑部血管, 造成永久性脑梗死, 不发生再灌注。开颅电凝阻断法的效果稳定, 造模成功率高^[12]。然而其缺点是由于制作模型过程中需打开硬脑膜, 故模型动物大脑可能直接受钻孔器损伤, 或因电凝, 脑部血管受热而受损; 且打开硬脑膜后, 大脑直接暴露于空气中, 颅内压会因局部脑区温度变化受影响^[13]。

1.1.3 血栓形成法

通过形成血栓建立脑缺血模型的方法有3种: 光化学法、自体血栓法和FeCl₃致血栓形成法。

1985年 Waston 等^[14]建立了大鼠光化学法脑缺血模型, 其方法为: 选定照射部位, 充分暴露颅骨, 大鼠尾静脉注射玫瑰红B, 用相应光源进行照射; 部位大小可按照需要调整, 一般选在皮质功能区如运动感觉区^[15-16], 以利于评定观察。此种模型是光化学法诱导皮质局灶性脑缺血的经典模型, 目前已发展为4型^[17]。注入动物体内的光敏染料在特定波长光源照射下, 发生Ⅱ型光化学反应, 产生并释放单态氧, 血管内皮细胞膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应, 膜通透性增加, 血管内皮损害, 诱发血小板聚集, 光照区血管内血栓形成, 使局部脑组织发生不可逆缺血性损伤^[18]。在光敏染料注射早期, 模型动物即可出现血脑屏障开放、严重的血管源性脑水肿及微血管血栓, 因此可用于脑梗死后微血管损伤及血脑屏障改变后的病理生理、生化等研究, 亦可用于抗血小板药物防治研究^[18-21]。但此方法造成皮质终末动脉永久性闭塞, 无法再灌注, 不利于侧支循环建立及缺血再灌注损伤研究; 而且虽有缺血半暗带存在, 但由于范围狭小且消失快, 也不便于观察缺血半暗带变化及研究相关药物的防治作用。

1997年, Busch 等^[22]用自体血凝块经颈动脉注射, 制成大鼠脑栓塞模型。具体方法是: 动物自体血加凝血酶块制成血栓, 导入目标动脉阻断血流, 造成

脑组织缺血。该模型可产生显著而持久的供血中断,形成范围恒定和边界清楚的梗死灶,在确定血栓注入颈内动脉后,造模成功率达80%以上。本模型具有良好的稳定性和可重复性,更贴近临床脑栓塞特征,适合于各种脑缺血实验研究,尤其是溶栓治疗的研究。

FeCl₃致血栓法制成大脑中动脉栓塞的方法是:暴露大脑中动脉,将吸有50% FeCl₃溶液10 μL的小片定量滤纸敷在大脑中动脉上,30 min后取下^[23]。FeCl₃损伤局部大脑中动脉血管内皮,使血管内膜脱落,进而激活血小板,导致局部血栓形成,最终大脑中动脉供血区出现梗塞。此模型出现的神经症状、脑梗死范围等指标与线栓法致大脑中动脉栓塞模型基本接近。

1.1.4 栓子栓塞阻断法

通过注入栓子建立脑缺血模型的方法主要有3种:硅胶柱/硅胶颗粒栓子栓塞阻断法、月桂酸钠法、中药提取物注入法。

1983年,Okada等^[24]发现利用硅胶柱栓子注入大脑中动脉主干可栓塞相应血管,形成可靠、重复性好的犬深部脑梗死模型。张放等^[25]经颈外动脉向颈内动脉注射硅胶颗粒,硅胶颗粒属于微栓子,随血流进入颈内动脉引起脑血管栓塞。此方法可建立基本稳定的脑栓塞动物模型,用于急性脑缺血研究。

尚华等^[26]应用月桂酸钠成功建立兔脑局部缺血模型,其方法是将月桂酸钠溶液注入兔颈内动脉后造成局部脑缺血。月桂酸钠导致血栓的原理是,损伤血管内皮细胞,进而引起血小板粘附聚集。应用月桂酸钠制作局部脑缺血模型能尽量减少脑手术损伤,而且可以避免颅内组织暴露于大气中,颅内环境稳定性并未遭到破坏。该方法中动物可存活较长时间,便于影像动态观察,且具有较高的成功率。

有研究者采用中药白芨及其加工物作为栓塞剂建立大鼠脑缺血模型,其方法为:由颈内动脉注入一定量的白芨微粒悬液或白芨胶,栓子进入颈内动脉-大脑中动脉系统,阻塞大脑中动脉分支及动脉开口^[27-28]。白芨富含黏胶类物质白芨胶,白芨胶由甘露糖和葡萄糖聚合而成,无毒、无抗原,具有促进红细胞积聚、缩短凝血时间及凝血酶原时间的作用,能促进血栓形成^[29-30]。研究资料表明白芨胶或白芨微粒是理想的血管栓塞剂^[31-32]。

1.1.5 内皮素-1灌注致血管收缩法

张世红等^[33]为小鼠脑内埋置一根套管至大脑中动脉附近,通过套管在动物大脑中动脉附近局部微量注射内皮素-1,也可建立局灶性脑缺血模型。内皮素-1

是迄今为止发现的最强的血管收缩因子之一,在体外对血管平滑肌有持久而强的收缩作用。将内皮素-1直接注入活体的脑组织能明显减少局部血流,导致局部组织损伤,因此可用于大脑中动脉周围注射诱导局灶性脑缺血。在大脑中动脉周围注射内皮素-1后,动物可出现明显的神经症状,神经元减少,以及脑水肿和梗死灶。与其他脑缺血模型相比,脑内局部注射内皮素-1可在动物清醒状态下诱导脑缺血,从而直接观察缺血后动物的行为改变,同时可避免线栓法对血管内皮的机械性损伤以及麻醉对脑缺血过程的影响。

1.1.6 球囊导管法

Gao等^[34]利用自制微球囊导管盲插法建立猕猴大脑中动脉闭塞再灌注模型。为提高稳定性和可重复性,郭云良等^[35]经颈总动脉或股动脉介入手术,将标准微球囊导管插入大脑中动脉的起始部,然后充盈微球囊以阻断大脑中动脉血流,退出微球囊后实现大脑中动脉血流再灌注。此方法易于标准化操作,手术成功率高,重复性好,手术过程无需退出球囊即可通过微球囊导管向大脑中动脉注射微量药物,为后续治疗研究提供了有利条件,且可用于其他大型动物,应用前景好。

1.2 全脑缺血性脑卒中造模方法

1.2.1 2根血管闭塞法

通过大鼠双侧颈总动脉永久性阻断建立全脑缺血性脑卒中模型,操作简单,重复性好,常用于慢性全脑缺血研究^[36]。其中,长爪沙鼠的大脑动脉环存在不同程度的缺失,夹闭长爪沙鼠颈总动脉即可获得比大鼠、小鼠更加典型的全脑缺血动物模型^[37]。因此,长爪沙鼠全脑缺血模型已成为研究全脑缺血的理想动物模型。

1.2.2 3根血管闭塞法

田鹤邨等^[38]采用阻断基底动脉和两侧颈总动脉的方法造成全脑缺血,阻断脑主干血管及侧支血管血液供应,造成慢性脑供血不足模型。该方法优点是缺血迅速,效果好,可进行血管再灌注,适用于急性全脑缺血性疾病损伤的研究;缺点是操作过程中会暴露基底动脉,手术创伤大,手术中对周围组织、神经造成较严重牵拉,同时夹闭基底动脉时易损伤延髓。

1.2.3 4根血管闭塞法

1979年Pulsinelli等^[39]采用夹闭双侧椎动脉及颈动脉的方法,制作了全脑缺血性脑卒中模型。目前,Pulsinelli四血管法建立的大鼠全脑缺血模型已被广泛采用。该模型的缺血效果确切,但存在操作复杂、翼

突孔难寻找、椎动脉阻断困难、术中模型动物易出血和死亡等缺点。

1.2.4 心脏骤停法

靖颖霞^[40]利用呼气末夹闭气管致窒息、3 kg重物压迫胸部、夹闭心底血管丛3种方法致心脏骤停,引起脑血流中断。心脏骤停后造成的突然血流中断对大脑损害严重,脑组织缺血缺氧10 s左右即可出现意识丧失,造成全脑缺血性损伤。

1.2.5 颈动脉分流法

花放等^[41]通过夹闭大鼠双侧颈总动脉,同时经

右颈外动脉持续抽吸颈总动脉内血液,造成大鼠全脑缺血。该方法具有效果可靠、再灌注充分、制备简便、成功率高,并可经颈动脉注入药物等优点,适用于全脑缺血再灌注损伤及其干预措施的实验研究。

2 缺血性脑卒中模型动物的综合评价

不同动物的缺血性脑卒中模型有各自的优缺点,选择合适的模型动物对相关研究极其重要。表1列出了不同方法建立缺血性脑卒中模型的动物选择及评价指标。

表1 缺血性脑卒中模型的动物选择

Table 1 Animal selection of ischemic stroke models

造模方法	模型动物	评价指标
线栓法	SD大鼠、Wistar大鼠、昆明小鼠、新西兰白兔、自发性高血压大鼠	神经功能评分;行为学测试(神经、肌肉运动功能、前庭运动功能);脑组织切片病理形态学观察
开颅电凝阻断法	SD大鼠、BALB/c小鼠、新西兰白兔、巴马香猪、C57BL/6J小鼠	神经功能评分;行为学测试(神经、肌肉运动功能、前庭运动功能);脑组织切片病理形态学观察
光化学致血栓形成法	昆明小鼠、Wistar大鼠、食蟹猴	观察行为学变化;血脑屏障的完整性及梗塞面积观察;HE染色
血栓形成法(自体血栓法)	家犬、Beagle犬、Wistar大鼠、家兔	神经功能评分;脑组织切片病理形态学观察;测定脑组织含水量及梗死体积率
FeCl ₃ 致血栓形成法	新西兰白兔	行为改变;DSA图像表现;TTC染色测定脑梗死范围;脑组织切片病理形态学观察
栓子栓塞阻断法(硅胶柱/硅胶颗粒)	家犬、新西兰白兔	行为学观察;大脑微血管造影;脑组织切片病理形态学观察查
栓子栓塞阻断法(月硅酸钠)	新西兰白兔	CT灌注成像;脑组织切片病理形态学观察
栓子栓塞阻断法(中药提取)	Wistar大鼠	神经功能障碍检查评分;脑组织切片病理形态学观察
内皮素-1灌注致血管收缩法	SD大鼠	神经症状评分;24 h切出脑片,计算大脑半球体积及脑梗死体积;脑片作HE染色,计数存活神经元数
球囊导管法	猕猴	生命体征(体温、呼吸、心率);Task-oriented神经行为功能评分;磁共振扫描和血管成像,计算脑梗塞体积
2根血管闭塞法	SD大鼠、长爪沙鼠	模型动物死亡率、行为学评分;脑组织细胞坏死率、凋亡率、炎症因子;脑组织切片病理形态学观察
3根血管闭塞法	Wistar大鼠	模型动物意识形态、生命体征;脑组织切片病理形态学观察
4根血管闭塞法	SD大鼠、日本大耳白兔、家猫、杂种犬、Wistar大鼠	模型动物生存情况、意识形态;脑组织切片病理形态学观察
心脏骤停法	SD大鼠	脑组织切片病理形态学观察,行免疫组化观察脑内炎症指标
颈动脉分流法	SD大鼠	脑电图检测;瞳孔颜色观察;平均动脉压;脑组织切片病理形态学观察

注:DSA即数字减影血管造影;TCC即2,3,5-氯化三苯基四氮唑。

2.1 大鼠

大鼠脑动脉解剖结构接近人类,神经系统较为发达,颅底动脉环结构完整,与人类脑动脉结构差异小,闭塞后累及额顶背外侧皮层、尾状核和苍白球,部分实验结果显示还波及颞区和梨状区,与人类大脑中动

脉主干闭塞后的病理范围相似。大鼠生命力顽强,抗病力尤其是抗感染能力强,能经受麻醉、外科手术及术后感染的考验,可实现对神经功能缺陷、药物疗效等长期观察;而且同系大鼠间遗传差异小,可保证实验对象的一致性。因此,大鼠是最常用的缺血性脑卒

中模型动物^[42]。

2.2 兔

兔脑动脉由颈内动脉和椎动脉两套血管组成, 脑内外循环之间没有网, 与人体解剖情况相似。兔大脑中动脉主干阻断后, 侧支循环对大脑中动脉供血区的代偿作用很小, 有利于建立重复、稳定的脑梗死模型。兔属于中型动物, 相对大型动物如犬、猴等成本低、温顺, 对手术具有较强耐受性, 术后死亡率低, 且术后存活时间较长; 同时, 可通过耳缘静脉注射给药和采血, 便于多项生理指标检测或动态观察等后期研究进行。此外, 兔的颈部血管粗大, 可进行再灌注研究。

2.3 小鼠

小鼠价格低廉, 来源丰富, 繁殖周期短, 适应性强, 用小鼠建立模型制作方法简单, 生理指标易检测^[43]。但是不同品系小鼠的大脑动脉解剖结构存在差异, 这影响小鼠实验结果。而且小鼠性别、体质量等对手术结果也存在影响。另外, 相对于大鼠及其他动物, 小鼠存在手术耐受性差、操作精细度要求高等问题。

2.4 沙鼠

沙鼠以其独特的脑部构造成为用于筛选脑保护活性成分或脑保护药物的新兴、主流实验动物。从生理结构上讲, 90%的蒙古沙鼠颈内动脉与椎底动脉的后交通支缺失, 大脑基底动脉环(Willis环)不完善。沙鼠脑缺血模型的制作方法简单, 再灌注研究操作方便, 近年来在研究脑缺血后脑内各种病理变化机制及药物脑保护作用中得到广泛应用, 如脑缺血后神经元的凋亡机制、神经元对缺血的耐受性、再灌注损伤、溶栓治疗时间窗及药物保护作用、药物治疗安全性等领域。利用沙鼠制作的单侧脑缺血再灌注模型是优秀的病理、生理同体对照的缺血性脑卒中模型。夹闭颈总动脉即可实现短暂性脑缺血模型的制作。与其他动物相比, 沙鼠具有体质量较轻、给药量较少、手术操作简单、创伤小、成功率高的优势。然而正是因为其独特的生理特点, 沙鼠模型的适用范围也较为局限, 目前仅用于全脑缺血性脑卒中研究。

2.5 犬

犬为肉食性动物, 易于驯养, 对手术具有较强耐受性, 大脑体积较大, 便于手术操作及影像学检查。而且犬的大脑血管分布与人相似, 循环系统和神经系统相对较完善, 便于脑血管显微外科的研究。其缺点是犬的脑血管变异较大, 建模时常导致梗死范围不一致。

2.6 猫

猫属于多脑回动物, 皮层发达, 在脑血管分布、血流、代谢等方面比非人灵长类动物更接近于人类。其缺点在于猫脑的大部分血液由颈总动脉供应, 而人脑主要由颈内动脉及椎动脉供血, 这方面与人脑的差异大。

2.7 猪

猪脑解剖结构与人相近, 其灰白质的分布及比例、脑形态学发展和神经系统发育的一系列演变也和人脑相似^[44]。猪脑皮质卷积状及新皮层神经元的总数更接近于灵长类动物。猪脑的体积、大小适合活体动物的诱发电位记录、神经外科手术的操作及影像学检测^[45-46]。另外, 猪对手术的耐受性及抗感染能力较高。

2.8 猕猴、食蟹猴

非人灵长类动物在体位、行为、运动、感觉、新皮质的比例、脑血管的构筑、非骨性脑膜和右手优势等方面与人类类似, 而且脑血管和组织对脑缺血的反应最接近人类脑卒中^[47-48]。但是由于价格昂贵、不易饲养、来源短缺以及存在伦理争议等问题, 该类动物的广泛应用受到一定限制。

2.9 其他模型动物

自发性高血压大鼠是目前国际上公认的比较理想的原发性高血压动物模型。高血压是脑卒中的重要危险因素, 采用自发性高血压大鼠建立缺血性脑卒中模型能较好地模拟临床实际。随着生物技术研究发展, 运用转基因小鼠可以建立全脑缺血模型和局灶性脑缺血模型, 并可用于自由基、炎症细胞因子、兴奋性氨基酸受体、载脂蛋白等研究。而且转基因小鼠模型可通过基因操作方法, 将相关基因导入受精卵或着床前的胚胎细胞中, 使其在脑内特异性表达, 为研究某个基因或相关因素在发病机制中的作用提供了可能。

3 缺血性脑卒中动物模型的综合评价

理想的动物模型应结合研究者目的, 达到研究者预期效果, 与所研究的人类疾病在病理和发展过程相似, 同时考虑造模周期、成功率、经济效应等因素^[49-51]。合适的缺血性脑卒中动物模型应当符合下列特征: 能控制缺血时间、部位、程度; 与缺血性脑卒中相关的因素如血压、血气、体温、血糖等可被控制; 避免其他疾病对实验结果产生影响。经过多年发展, 目前已建立多种成熟的缺血性脑卒中模型。且随研究者对实验动物模型不断改良, 相继出现了重复性高、

病死率低, 具有良好应用前景的新型缺血性脑卒中模型。

3.1 局灶性缺血性脑卒中模型

局灶性脑缺血符合临床上大部分缺血性脑卒中患者的病变类型, 其中85%的缺血性脑卒中是由大脑中动脉引起, 因此大脑中动脉闭塞模型被普遍认为是局灶性脑缺血的标准动物模型。局灶性缺血性脑卒中动物模型是指通过线栓阻断、开颅手术、药物、异物栓塞等外界手段使实验动物大脑缺血缺氧, 从而导致脑卒中。模型动物主要包括大鼠、兔、猫等。动物模型建立时, 线栓法是目前公认的局灶性脑缺血模型的标准建立方法, 其优点是能够精确控制再灌注时间, 可模拟血管内血栓移除, 缺血半暗带明显, 可避免开颅损伤。随着研究进步, 对于线栓的选择范围也在不断改良优化。线栓法建模的缺点主要是不具备可视性, 具有蛛网膜下腔出血风险, 不适用于溶栓研究。开颅法也被认为是较经典的造模方法, 优点是可视性强, 梗死灶形成时间短, 通过阻断大脑中动脉不同部位可对梗死部位和范围实现一定控制; 其缺点是需要开颅, 手术损伤大, 而且容易造成颅内感染。光化学致血栓形成法的优点是梗死灶定位准确, 能保持颅骨完整, 且可通过改变荧光照射部位, 调整照射光圈大小以及照射时间, 从而控制梗死区域及梗死程度; 缺点是会引起血管性水肿, 血脑屏障破坏, 神经功能缺损不明显, 且能自发再灌注。 FeCl_3 致血栓形成法的优点是适用于活体显微技术, 缺点是对重组人组织型纤溶酶原激活物(rt-PA)敏感性不足, 不适用于神经保护性药物研究。另外, 自体血栓阻塞法建立的梗死模型更接近人类缺血性卒中的病理过程, 缺点是定位不准确, 梗死范围广。

3.2 全脑缺血性脑卒中模型

动脉阻断法(包括2根、3根、4根血管闭塞法)是通过闭塞相关血管, 造成大脑缺氧缺血而致全脑缺血; 其优点是造模成功率高, 指标观察明确简单, 可根据实验需要确定阻断血管时间长短以控制脑缺血程度, 适用于血管再灌注; 缺点是手术难度大且对周围组织牵拉严重, 恢复血流时会受影响。其中, 4根血管闭塞法因其高度模拟人类急性缺血性变化, 缺血后生理指标稳定, 病理改变充分, 因此被认为是迄今为止最理想的全脑缺血动物模型的建立方法; 其缺点是动物存活率相对低, 模型制作有难度, 有时分离不足, 视野受限。大鼠、沙鼠、家兔因其生理特性, 是目前全脑缺血性脑卒中动物模型建立时最常选用的实验动物。

4 展望

人类缺血性脑卒中的发病机制及病理生理学过程尚未明确, 临床上对于缺血性脑卒中仍缺乏有效的治疗措施。脑缺血动物模型的局限性仍是基础研究难以实现向临床转化的主要原因。目前绝大多数脑缺血动物模型仅仅只能模拟缺血性脑卒中机制的一个或几个方面, 尚没有普遍适用的脑缺血动物模型。本文对各种缺血性脑卒中动物模型的制作方法及其优缺点进行了分析阐述, 研究者可根据不同实验目的选择相应的实验动物模型。如何对缺血性脑卒中动物模型进行改进, 使其与临床情况更吻合, 仍是目前医学科研工作者需要解决的难题。需要明确模型动物和人类的种属差异, 通过了解不同脑缺血模型的优势与不足, 选择适合自己研究方向的动物模型, 并在科学技术更新的同时不断对模型进行改良, 更好地实现对并发症的模拟以及对生理学影响因素的控制。因此, 探索出更接近人类卒中发病过程的动物模型迫在眉睫, 这可能会进一步加深人们对于缺血性脑卒中病理机制的认识, 开发出利于转化的药物, 为缺血性脑卒中的治疗开辟新的道路。

[作者贡献]

董波: 提出论文思路, 设计论文内容, 负责论文撰写;
刘嘉欣: 提供论文材料及整理文献资料;
熊伟: 参与选题与设计, 资料分析;
唐宋琪: 提供研究方案, 修订论文;
黄巍: 终审论文, 指导性支持。

[利益声明] 所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] PAUL S, CANDELARIO-JALIL E. Emerging neuroprotective strategies for the treatment of ischemic stroke: an overview of clinical and preclinical studies[J]. *Exp Neurol*, 2021, 335: 113518. DOI: 10.1016/j.expneurol.2020.113518.
- [2] 张昕, 秦冬冬, 尹勇. 啮齿类脑卒中动物模型的建立[J]. *中国康复*, 2018, 33(2):152-155. DOI: 10.3870/zgkf.2018.02.019.
- [3] 于洋, 朱雨岚. 缺血性脑卒中后血管生成研究的进展[J]. *心血管康复医学杂志*, 2021, 30(1):99-102. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0074.2021.01.26.
- [4] 刘勇, 魏鑫甜, 陈伊. 局灶性脑缺血动物模型的制备探究[J]. *中国中医急症*, 2019, 28(1):177-180, 185. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2019.01.056.
- [5] 唐青青, 马勋泰. 缺血性卒中后癫痫动物模型的研究进展[J]. *癫痫杂志*, 2020, 6(5): 428-430. DOI: CNKI: SUN: DXZA.0.2020-05-010.
- [6] 王晋晨, 熊晓星. 缺血性脑卒中动物模型研究进展[J]. *医学综述*, 2020, 26(10): 1881-1886, 1892. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2020.10.002.

- [7] KOIZMI J, YOSHID Y, NAKAZAWA T, et al. Experimental studies of ischemic brain edema: A new experimental model of cere-bral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area[J]. *Stroke*, 1986, 16(8):1-8.
- [8] LONGA E Z, WEINSTEIN P R, CARLSON S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1):84-91. DOI: 10.1161/01.str.20.1.84.
- [9] SHI K, ZOU M, JIA D M, et al. tPA mobilizes immune cells that exacerbate hemorrhagic transformation in stroke[J]. *Circ Res*, 2021, 128(1):62-75. DOI: 10.1161/circresaha.120.317596.
- [10] HERMANN D M, POPA-WAGNER A, KLEINSCHNITZ C, et al. Animal models of ischemic stroke and their impact on drug discovery[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2019, 14(3): 315-326. DOI: 10.1080/17460441.2019.1573984.
- [11] TAMURA A, GRAHAM D I, MCCULLOCH J, et al. Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1981, 1 (1):53-60. DOI: 10.1038/jcbfm.1981.6.
- [12] KOLOSOWSKA N, GOTKIEWICZ M, DHUNGANA H, et al. Intracerebral overexpression of miR-669c is protective in mouse ischemic stroke model by targeting MyD88 and inducing alternative microglial/macrophage activation[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 194. DOI: 10.1186/s12974-020-01870-w.
- [13] CAI B, WANG N. Large animal stroke models vs. rodent stroke models, pros and cons, and combination? [J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2016, 121: 77-81. DOI: 10.1007/978-3-319-18497-5_13.
- [14] WATSON B D, DIETRICH W D, BUSTO R, et al. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis[J]. *Ann Neurol*, 1985, 17(5): 497-504. DOI:10.1002/ana.410170513.
- [15] LEE J K, PARK M S, KIM Y S, et al. Photochemically induced cerebral ischemia in a mouse model[J]. *Surg Neurol*, 2007, 67 (6):620-625; discussion 625. DOI: 10.1016/j.surneu.2006.08.077.
- [16] HOFF E I, BLOKLAND A, RUTTEN K, et al. Dissociable effects in reaction time performance after unilateral cerebral infarction: a comparison between the left and right frontal cortices in rats[J]. *Brain Res*, 2006, 1069(1): 182-189. DOI: 10.1016/j.brainres.2005.11.070.
- [17] CHEN F, SUZUKI Y, NAGAI N, et al. Rodent stroke induced by photochemical occlusion of proximal middle cerebral artery: evolution monitored with MR imaging and histopathology[J]. *Eur J Radiol*, 2007, 63(1):68-75. DOI: 10.1016/j.ejrad.2007.01.005.
- [18] 马浚宁, 高俊玮, 侯博儒, 等. 光化学栓塞法建立缺血性脑卒中动物模型[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(49): 7951-7957. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2015.49.014.
- [19] UZDENSKY A B. Photothrombotic stroke as a model of ischemic stroke[J]. *Transl Stroke Res*, 2018, 9(5):437-451. DOI: 10.1007/s12975-017-0593-8.
- [20] LUO H Y, RAHMAN M, BOBROVSKAYA L, et al. The level of proBDNF in blood lymphocytes is correlated with that in the brain of rats with photothrombotic ischemic stroke[J]. *Neurotox Res*, 2019, 36(1): 49-57. DOI: 10.1007/s12640-019-00022-0.
- [21] SEQUEIRA E, PIERCE M L, AKASHEH D, et al. Epicortical brevetoxin treatment promotes neural repair and functional recovery after ischemic stroke[J]. *Mar Drugs*, 2020, 18(7):374. DOI: 10.3390/md18070374.
- [22] BUSCH E, KRÜGER K, HOSSMANN K A. Improved model of thromboembolic stroke and rt-PA induced reperfusion in the rat[J]. *Brain Res*, 1997, 778(1): 16-24. DOI: 10.1016/s0006-8993 (97)01008-1.
- [23] ARROYO A B, FERNÁNDEZ-PÉREZ M P, DEL MONTE A, et al. miR-146a is a pivotal regulator of neutrophil extracellular trap formation promoting thrombosis[J]. *Haematologica*, 2021, 106 (6):1636-1646. DOI: 10.3324/haematol.2019.240226.
- [24] OKADA Y, SHIMA T, YOKOYAMA N, et al. Comparison of middle cerebral artery trunk occlusion by silicone cylinder embolization and by trapping[J]. *J Neurosurg*, 1983, 58(4):492-499. DOI: 10.3171/jns.1983.58.4.0492.
- [25] 张放, 姚振威, 冯晓源, 等. 急性兔脑栓塞模型的建立[J]. *中国实验动物学报*, 2007, 15(6):458-460,494. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2007.06.014.
- [26] 尚华, 刘怀军, 雷建明, 等. 化学诱导兔脑缺血模型早期 MSCT 灌注成像实验性研究[J]. *河北医药*, 2010, 32(17):2312-2314. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2010.17.002.
- [27] 王俊涛, 田铧, 肖思建, 等. 中药白芨建立大鼠脑缺血模型可行性探讨[J]. *第四军医大学学报*, 2007, 28(3):283-285. DOI: 10.3321/j.issn:1000-2790.2007.03.027.
- [28] 程瑞新, 丁永红, 段承祥, 等. 中药白芨胶体建立急性脑梗塞模型[J]. *上海医学影像*, 2001, 10(1):59-60. DOI: 10.3969/j.issn.1008-617X.2001.01.025.
- [29] 芦金清, 张亚东. 白及胶的实验研究[J]. *中成药*, 1996, 18(12): 2-3.
- [30] 郑传胜, 冯敢生, 张彦舫. 中药白芨胶作为血管栓塞剂的实验研究[J]. *中华放射学杂志*, 1998, 32(3):43-46. DOI: 10.3760/j.issn: 1005-1201.1998.03.014.
- [31] 宋善俊, 王辨明, 沈迪, 等. 17 种中草药体外血液凝固筛选实验研究[J]. *武汉医学院学报*, 1977, 6(6):83-86,89.
- [32] 葛勤, 刘同华, 黄林清. 中药白芨作为血管栓塞剂及药物载体的研究概况[J]. *中国药房*, 2003, 14(5): 49-51. DOI: 10.3969/j.issn.1001-0408.2003.05.026.
- [33] 张世红, 魏尔清, 朱朝阳, et al. 白三烯受体拮抗剂 ONO-1078 对内皮素-1 诱导的大鼠局灶性脑缺血的保护作用[J]. *药学报*, 2004(1). DOI:10.3321/j.issn:0513-4870.2004.01.001.
- [34] GAO H M, LIU Y Q, LU S P, et al. A reversible middle cerebral artery occlusion model using intraluminal balloon technique in monkeys[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2006, 15(5):202-208. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2006.05.010.
- [35] 郭云良, 高焕民, 李子祥, 等. 对微球囊栓塞大鼠脑中动脉制作猕猴局灶性脑缺血再灌注模型的评价[J]. *解剖学报*, 2008, 39(6):944-947. DOI: 10.3321/j.issn:0529-1356.2008.06.035.
- [36] 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. DOI: 10.1016/j.brainres.2004.07.024.
- [37] 周好乐, 杜小燕, 路静, 等. 长爪沙鼠脑底动脉 Willis 环变异缺失遗传特性分析及脑缺血模型高发群体的初步培育[J]. *中国比较医学杂志*, 2011, 21(8): 40-43. DOI: 10.3969/j.issn. 1671-7856.

- 2011.08.010.
- [38] 田鹤邨, 陈前芬, 谢群. 三血管阻断与重开放造成的大鼠全脑缺血再灌注损伤的实验研究[J]. 蚌埠医学院学报, 1993, 18(2):113-117. DOI: CNKI:SUN:BANG.0.1993-02-019.
- [39] PULSINELLI W A, BRIERLEY J B. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat[J]. Stroke, 1979, 10(3):267-272. DOI: 10.1161/01.str.10.3.267.[LinkOut]
- [40] 靖颖霞. 三种心脏骤停大鼠模型心肺复苏效果及脑损伤程度的研究[D]. 长沙: 中南大学, 2012: 45.
- [41] 花放, 丁晓慧, 刘文瑞, 等. 颈动脉负压分流制作大鼠全脑缺血/再灌注模型[J]. 中国实验动物学报, 2001, 9(1): 34-40. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2001.01.006.
- [42] ALIENA-VALERO A, BAIXAULI-MARTÍN J, CASTELLÓ-RUIZ M, et al. Effect of uric acid in animal models of ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2021, 41(4): 707-722. DOI: 10.1177/0271678x20967459.
- [43] GRATE L L, GOLDEN J A, HOOPES P J, et al. Traumatic brain injury in piglets of different ages: techniques for lesion analysis using histology and magnetic resonance imaging[J]. J Neurosci Methods, 2003, 123(2):201-206. DOI: 10.1016/S0165-0270(02)00361-8.
- [44] SAULEAU P, LAPOUBLE E, VAL-LAILLET D, et al. The pig model in brain imaging and neurosurgery[J]. Animal, 2009, 3(8):1138-1151. DOI: 10.1017/s1751731109004649.
- [45] WHITE E, WOOLLEY M, BIENEMANN A, et al. A robust MRI-compatible system to facilitate highly accurate stereotactic administration of therapeutic agents to targets within the brain of a large animal model[J]. J Neurosci Methods, 2011, 195(1):78-87. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2010.10.023.
- [46] D'ARCEUIL H E, DE CRESPIGNY A J. Imaging stroke evolution after middle cerebral artery occlusion in non-human Primates[J]. Open Neuroimag J, 2011, 5:216-224. DOI: 10.2174/1874440001105010216.
- [47] FLURI F, SCHUHMANN M K, KLEINSCHNITZ C. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research[J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9: 3445-3454. DOI: 10.2147/DDDT.S56071.
- [48] KAISER E E, WEST F D. Large animal ischemic stroke models: replicating human stroke pathophysiology[J]. Neural Regen Res, 2020, 15(8):1377-1387. DOI: 10.4103/1673-5374.274324.
- [49] CANDELARIO-JALIL E, PAUL S. Impact of aging and comorbidities on ischemic stroke outcomes in preclinical animal models: a translational perspective[J]. Exp Neurol, 2021, 335:113494. DOI: 10.1016/j.expneurol.2020.113494.
- [50] 王丹, 殷梅. 性激素与缺血性脑卒中关系的研究进展[J]. 医学综述, 2020, 26(23): 4689-4693. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2020.23.020.
- [51] WANG J H, ZHANG P, TANG Z P. Animal models of transient ischemic attack: a review[J]. Acta Neurol Belg, 2020, 120(2): 267-275. DOI: 10.1007/s13760-020-01295-5.
- (收稿日期: 2021-03-09 修回日期: 2021-09-06)
(本文编辑: 富群华, 张俊彦)

《实验动物与比较医学》有关实验动物福利伦理内容的说明

本刊是我国实验动物科学与比较医学领域的一本专业学术期刊,严格遵守国家实验动物相关法律、法规和标准,包括但不限于《实验动物管理条例》(2017年3月1日修订版)和《实验动物福利伦理审查指南》(GB/T 35892—2018)等,同时参考借鉴国际生物医学期刊关于动物实验研究报告的相关指南共识(如ARRIVE 2.0、IGP 2012、IAVE Guidelines 2010等)。因此,本刊对所有涉及动物实验的来稿均需审查实验动物福利与伦理相关内容。现将一些具体要求说明如下:

1. 涉及动物实验的来稿,需提供实验动物生产许可证和质量合格证,以及动物实验场所的实验动物使用许可证。以上证明须与使用动物种类及动物实验单位名称相匹配,并在正文中列出其对应的许可证编号。

2. 涉及动物实验的来稿,需在考虑3R(替代、减少和优化)原则的基础上设计动物实验,并提供作者单位实验动物福利伦理委员会(或相关机构)出具的实验动物福利伦理审查批件。批件中所列内容须与投稿文章相吻合,并在正文中列出对应的批准编号。

3. 实验动物的用药,尤其是麻醉镇痛用药必须优先使用药用级麻醉剂,特别是当涉及存活手术的动物实验时。鉴于无法确定非药用级麻醉剂(如三溴乙醇、水合氯醛等)的相关性状及对实验动物的影响,从而不能保障实验动物福利及研究结果的可靠性,而且目前已有更优的市售麻醉药剂可供选择,因此本刊不建议使用上述试剂。如确需使用,请提供充足理由说明及相应的批准文件。

4. 涉及肿瘤动物模型的研究,本刊参考国内及国际通用准则,建议单个肿瘤体直径不超过20 mm(小鼠)或40 mm(大鼠)且不出现明显的肿瘤溃疡。如投稿文章有超出上述标准的研究内容,需提交作者单位相关肿瘤动物模型研究的指导原则文件,以及从科学角度判断投稿文章中肿瘤体积合理性的依据材料。

《实验动物与比较医学》编辑部