

脑卒中又称“中风”、“脑血管意外”，是一种急性脑血管疾病，包括缺血性和出血性卒中，其中缺血性脑血管病占 60-70%。

卒中又名大脑中动脉栓塞（middle cerebral artery occlusion, MCAO），是一种局灶性脑缺血模型，目前应用最广泛的脑缺血模型。其发病机理与人类缺血性脑卒中表现相似，对于制作模拟人脑缺血模型对脑缺血发病机制及药物筛选有重要意义。

MCAO 模型制备方法

缺血性脑卒中模型有很多制备方法，包括光化学法、三氯化铁法、线栓法、自体血栓法、电流损伤法及自发性 MCAO 法等。

其中，由于线栓法具有不开颅、效果肯定、可准确控制缺血及再灌注时间等方面的优点，对研究神经元对缺血的敏感性与耐受性、药物疗效观察以及再灌注损害和治疗时间窗等方面较为理想，是目前应用最广泛的脑缺血动物模型方法。

缺血性脑卒中动物模型制备方法优缺点

模型制备方法	优点	缺点
线栓法	缺血部位恒定；不需开颅，避免了颅内环境的改变和感染；能准确控制缺血和再通的时间；并发症少，死亡率低	对实验动物体重有要求；手术操作有一定难度；与人类卒中中存在一定差异
自体血栓法	缺血部位较为恒定，与临床症状相似，可进行动物体内的溶栓实验	缺血时间相对不好控制，诱导血栓形成需要一段时间
光化学法	造模成功率高；无需开颅，死亡率低；可通过控制实验参数，任意改变梗死灶的大小、位置、程度；适用于慢性脑缺血研究	与人类脑卒中存在差异；属于终末动脉永久性闭塞，妨碍扩血管药的治疗观察

线栓法制备 MCAO 模型的路径主要有三种，包括：

- ◆ 颈总动脉-颈内动脉-大脑中动脉;
- ◆ 颈外动脉-颈内动脉-大脑中动脉;
- ◆ 颈内动脉-大脑中动脉

如何选择更好的制备路径，优点缺点一个都不能跑：

颈总动脉-颈内动脉-大脑中动脉路径

*用途：*缺血及缺血再灌注制作。

*优点：*操作简单，无需对颈内动脉及颈外动脉进行细分。

*缺点：*再灌注模型时因颈总动脉被结扎，同侧颈外动脉血供消失，颈内动脉血供消失，所以仅仅是由对侧颈内动脉及基底动脉两条血供提供 willis 环内血供，属于代偿性再灌注。

颈外动脉-颈内动脉-大脑中动脉

*用途：*缺血及缺血再灌注制作。

*优点：*再灌注效果明显可靠，无需结扎颈总动脉，再灌注时可以将线栓抽出至颈外动脉，恢复术侧颈内动脉的血供。

*缺点：*路线颈外动脉较深，暴露距离较短，容易多度刺激颈动脉体，操作难易程度适中，且造成术侧颈外动脉血供缺失。

颈内动脉-大脑中动脉

*用途：*永久性缺血。

*优点：*保留术侧颈外动脉的血供，无需结扎颈外动脉及颈总动脉。

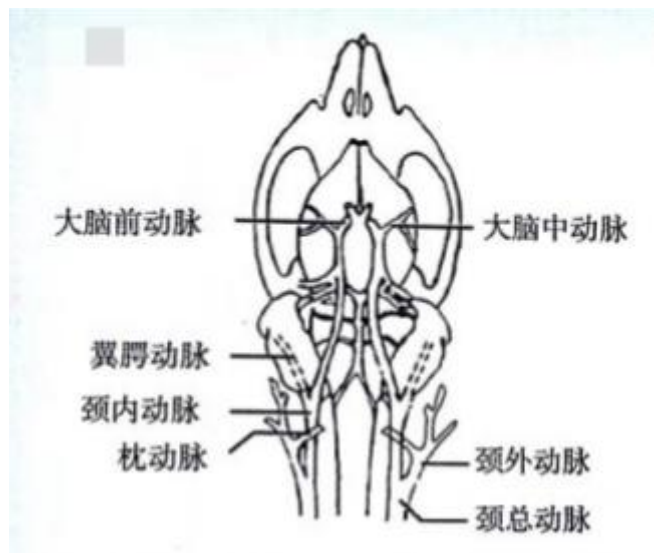
*缺点：*颈内动脉解剖位置较深，操作血管距离较短，操作难易程度适中。

综上，如果模型制作需要缺血再灌注，一般推荐从颈外动脉作为入口插入到大脑中动脉。

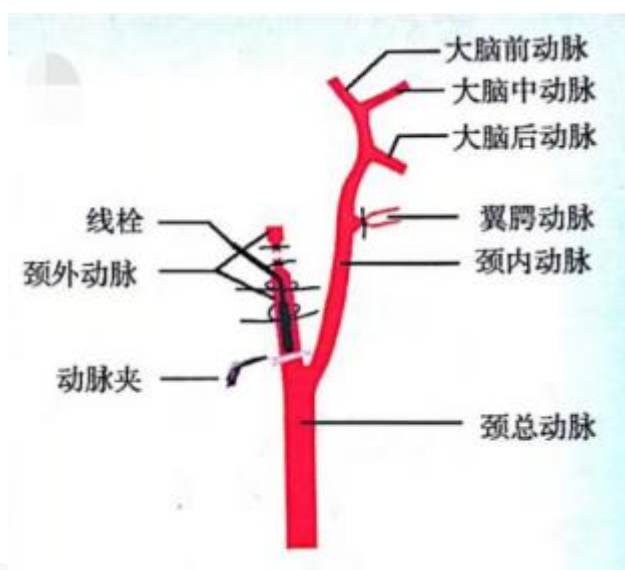
MCAO 模型制备基本步骤

操作是考验实验者技术水平的时候,操作步骤和要点牢记了,你就是实验室里最靓的仔:

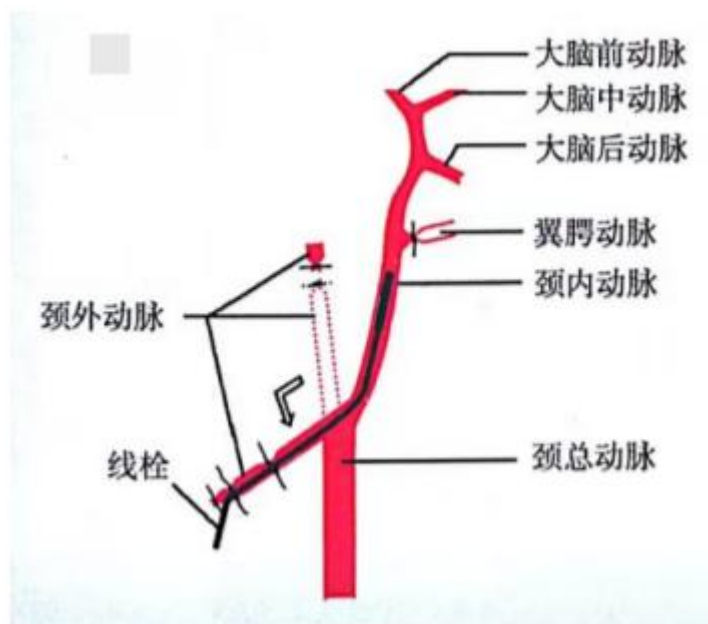
A. 颈正中切口,分离周围组织,显微镜下暴露颈总动脉和颈内、外动脉。



B. 分离颈总动脉,并单线备用,沿颈总动脉向远心端依次分离出颈外动脉、甲状腺上动脉、枕下动脉以及颈内动脉,在颈外动脉及枕下动脉穿双线备用。分离颈外动脉、颈内动脉和翼腭动脉,结扎翼腭动脉,保持颈总动脉的唯一分支颈内动脉的开放。



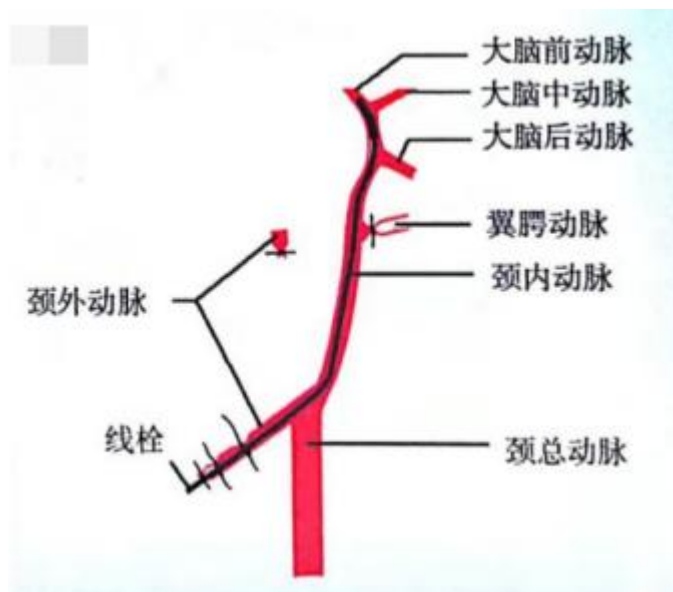
C. 双线结扎颈外动脉和枕下动脉后剪断血管，在颈外动脉上打一个松节，备用。动脉夹夹闭颈总动脉近心端及颈内动脉，颈外动脉上剪开 45°小口，向颈内方向插入线栓扎紧固定线，松开动脉夹。



D. 将包有硅胶的线栓小心地从颈外动脉插入颈内动脉，直至大脑中动脉的起始处。不同老鼠需要线栓的头径大小各不相同，根据实验动物大小和头径尺寸需求选择合适的线栓。

线栓插入的长度不同老鼠也有不同差别，对于大鼠而言插入深度一般是 2cm，在离线栓头部 2cm 位置做标记，当插入深度达到标记处则基本线头达到了大脑中动脉处。

如果在插入 1cm 后就无法插入了，则表明线头进入了翼腭动脉，如果插入 1.6cm 就无法插入则表明线头卡在了入颅处，则需要往外抽出，反复几次仍旧不行则需要更换线栓，很可能前端已经变形。



E. 若要恢复大脑中动脉的血流, 只需把线栓拔出, 使头端退到颈外动脉, 不宜全部拔出以免动脉破口出血, 结扎死颈外动脉残端, 颈总动脉血流就可以再灌注到中动脉。

F. 缝合伤口皮肤, 等动物麻醉苏醒后放回笼中, 术后予以注射生理盐水减少死亡率, 且术中术后都要注意动物保温和监测生命体征, 室温维持 25°C 为宜, 注意术后护理。

此外, 在操作中一定要注意的几点:

- ✓ 血压
- ✓ 体温
- ✓ 线栓进线深度和线栓包裹
- ✓ 动物的品系和梗死体积
- ✓ 血糖对梗死体积的影响
- ✓ 脑水肿对梗死体积的影响
- ✓ 梗塞时间对梗死体积的影响

MCAO 模型检测

模型评估是检验成果的关键步骤,你做了吗?

- ✓ 血流监测是模型检测的常规方式

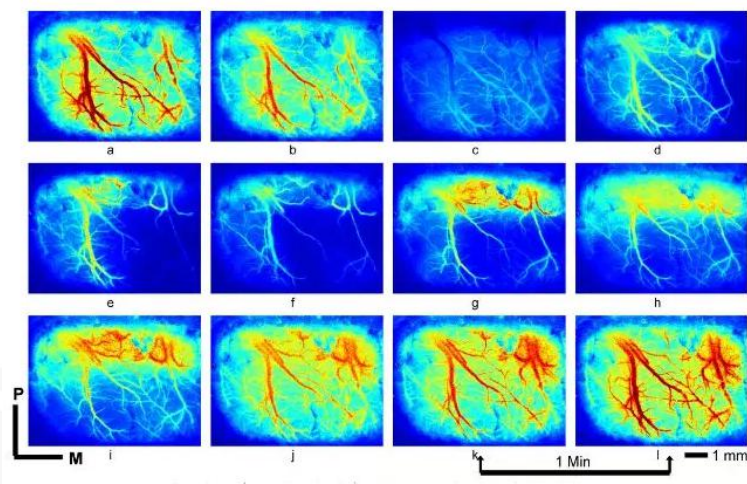


动物生命科学

瑞沃德激光散斑 RFLSI III

脑部血流的测量在很多实验模型中非常有用,包括蛛网膜下腔出血,各种不同部位,不同方法造成的脑出血、脑缺血、脑损伤以及药物对脑血流的影响等。

测量脑血流保证了对于损伤的确认,并且可以确认时间周期,在这个时间周期内血流下降、上升或者完全没有血流,这在脑缺血模型中非常重要。



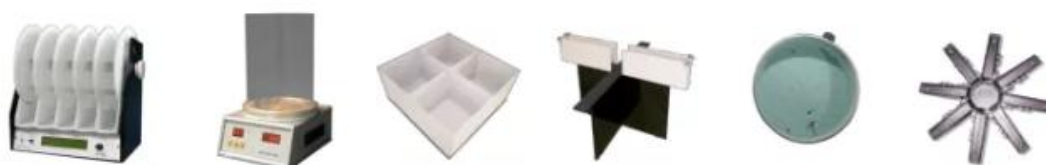
小鼠中动脉栓塞再灌注 (MCAO) 大脑皮层上血流分布的时空变化。

✓ 行为学检测

动物行为学检测是评估实验动物模型和治疗效果的重要手段之一，主要分为运动功能、记忆功能和综合功能的评估。

运动功能行为学评估包括：肢体对称性试验、悬空旋转试验、转子转棒试验、圆通试验、转角试验、平衡木试验、水平楼梯行走试验和传统粘条试验等。

记忆功能行为学评估包括水迷宫、放射状迷宫等。



常见的行为学评分包括:

1. 参考 Longa5 分制法，缺血 24 小时评判。

0 分：无神经损伤症状；1 分：不能完全伸展对称前爪；2 分：向对侧转圈；3 分：向对侧倾倒；4 分：不能自发行走，丧失意识。分值越高，说明动物行为障碍越严重。

2. Bederson 神经功能 4 分制评分

正常：0 级，无明显症状；

轻度：1 级，前肢屈曲；

严重：2 级，侧推抵抗力下降，伴前肢屈曲；

3 级，侧推抵抗力下降，伴前肢屈曲，有自发性旋转。

分值越高,说明动物行为障碍越严重。

✓ TTC 染色

此方法简便快速,根据染出的梗死区的颜色区别可计算梗死体积的大小。注意切脑要固定在某一脑结构才能保持脑标本的可比性。



尾声

模型失败没关系，思维导图先捋清楚，找出原因重头再来，你还是一条好汉：



- a. 线栓插入翼腭动脉，并未阻塞大脑中动脉的起始端。
- b. 线栓进线长度不够，没有刚好到达大脑中动脉的起始端。
- c. 线栓粗细与血管内径不符，未能起到完全梗塞的目的。
- d. 梗塞时间太短，未能引起脑组织缺血坏死。
- e. 线栓损伤血管内皮，暴露了血管胶原层，形成血栓堵塞血管，再灌注后血流无法恢复。

实验前可先用肝素浸泡浸泡 5min。

- f. 线栓进入大脑前动脉太深或线栓直径太粗导致蛛网膜下腔出血。
- g. 部分鼠存在大脑中动脉变异，虽然模型制作过程中操作没有技术性问题，仍可能不成功。