

# 现代 神经病学进展

# Progress in Neurology

王拥军 卢德宏  
崔丽英 李文慧

主编

 科学技术文献出版社

# 现代神经病学进展

Progress in Neurology

(3)

主 编

王拥军 崔丽英 卢德宏 李文慧

科学技术文献出版社

Scientific and Technical Documents Publishing House

北 京

**图书在版编目(CIP)数据**

现代神经病学进展(3)/王拥军等主编.-北京:科学技术文献出版社,  
2004.1

ISBN 7-5023-4483-7

I. 现… II. 王… III. 神经病学-进展 IV. R741

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 103346 号

**出 版 者** 科学技术文献出版社

**地 址** 北京市复兴路 15 号(中央电视台西侧)/100038

**图书编务部电话** (010)68514027,(010)68537104(传真)

**图书发行部电话** (010)68514035(传真),(010)68514009

**邮 购 部 电 话** (010)68515381,(010)58882952

**网 址** <http://www.stdph.com>

**E-mail:** stdph@istic.ac.cn

**策 划 编 辑** 陈玉珠

**责 任 编 辑** 付秋玲

**责 任 校 对** 赵文珍

**责 任 出 版** 王芳妮

**发 行 者** 科学技术文献出版社发行 全国各地新华书店经销

**印 刷 者** 富华印刷包装有限公司

**版 ( 印 ) 次** 2004 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

**开 本** 850×1168 32 开

**字 数** 382 千

**印 张** 15.625

**印 数** 1~4000 册

**定 价** 25.00 元

© 版权所有 违法必究

购买本社图书,凡字迹不清、缺页、倒页、脱页者,本社发行部负责调换。

(京)新登字 130 号

## 内 容 简 介

本书是北京神经病学学术沙龙(BNC)的定期出版物,专门介绍国外神经病学的最新动态。第3辑共8个专题,汇集了我国神经病学专家们对当代国际上神经病学热点问题和焦点问题的理解,具有基础研究与临床研究相结合的特点。

本书适用于基础医学研究人员、临床神经病学工作者以及大专院校有关专业的师生参考。

---

科学技术文献出版社是国家科学技术部系统唯一一家中央级综合性科技出版机构,我们所有的努力都是为了使您增长知识和才干。

## 编 委

(按姓氏笔画排列)

毕 齐  
陈天风  
樊东升  
贺茂林  
姜卫剑  
李宝民  
李文慧  
马维娅  
牛俊英  
宿英英  
魏东宁  
余华峰  
张 通  
张微微

陈海波  
崔丽英  
高旭光  
黄一宁  
郎森阳  
李存江  
卢德宏  
孟晓落  
戚晓昆  
王拥军  
尹 岭  
袁 云  
张 茁  
赵伟秦

# 前 言

《现代神经病学进展》已经出版两期,其受欢迎的程度远远超出我们的想像。现代神经病学的迅猛发展给我们带来新的信息和知识,获取新的知识已经成为大家的共同追求,这也是鼓励我们不断推出新专辑的原因。

本辑进展主要集中在脑血管疾病,脑血管病越来越受到神经科医生的重视,对其的认识日新月异。我们讨论了目前使用的缺血性脑血管病的动物模型,复习了缺血性脑血管病的临床亚型,重点描述了卒中单元的研究进展,这对普及卒中单元会起到一定的作用。卒中后吞咽困难是个古老但是没有得到足够重视的问题,我们用了很大的篇幅来介绍吞咽困难的基本知识和进展。神经保护剂目前只是神经科临床的治标药物,我们对它的使用的反思希望对正确认识缺血神经保护有些帮助。重新审视神经保护剂临床失败的经验,不能不使我们思考药物临床试验的设计方法和相关问题,自1999年12月,STAIR连续出版了有关卒中临床试验的一系列规范,包括STAIR I、II和III,本辑的最后一篇文章请神经科专家和临床流行病学家对相关规范进行复习,目的是为以后国内新药临床试验提供参考。

神经病学范围广泛,本辑只是摘取进展中的一小部分,在以后的进展丛书中我们希望得到您的赐教,也衷心地等待您对本书的批评和建议。中国神经病学的进步需要大家的共同努力。

# 目 录

|                        |     |
|------------------------|-----|
| 1 脑缺血动物模型研究及评价         | 1   |
| 2 缺血性脑卒中的亚型分析          | 59  |
| 3 卒中单元研究进展             | 127 |
| 4 卒中后吞咽困难的机制、评价方法和治疗   | 203 |
| 5 神经保护治疗路在何方           | 301 |
| 6 急性卒中临床试验的历史、现状和展望    | 363 |
| 7 CADASIL 的研究进展        | 419 |
| 8 新国际分类中需重新认识的癫痫和癫痫综合征 | 451 |

# 脑缺血动物模型研究及评价

首都医科大学附属北京天坛医院神经内科

刘茅茅 王拥军

|                      |    |
|----------------------|----|
| 一、缺血动物模型简介及分类        | 4  |
| 二、确定脑缺血损伤变量          | 6  |
| 三、神经元选择性的易损和迟发性神经元死亡 | 7  |
| 四、脑缺血模型              | 8  |
| 五、局灶缺血模型             | 16 |
| 六、转基因小鼠模型            | 29 |
| 七、缺血动物模型的行为评价        | 35 |
| 八、影响缺血性脑损害因素         | 46 |
| 九、结语——动物实验结果的临床应用价值  | 47 |





目前研究脑卒中的实验,绝大部分都是采用动物为材料。我们所知道有关脑缺血梗塞所造成的精细的病理变化,全部都是由动物实验的结果得来的。如果想充分而且有系统的对在缺血状态下脑部的病理与生理反映和治疗方法加以研究,一种高重复性且生理条件可被充分控制的活体动物模式绝对有其必要,其理由如下:①临床上脑卒中的症状、诱因与解剖上的位置是非常多变且难以捉摸。正因为有这么多的变数,所以根本不可能像从事动物实验一样,做非常严谨的控制与精密细微的分析;②严谨精密的组织病理学,生物化学与生理学上的研究工作,往往需要进行有伤害性的外科手术和直接在脑组织采样,这些是临床研究上无法办到的;③脑缺血所引发的立即反应,即最初几秒钟或几分钟内所发生的各种生物化学反应,或者一系列的连锁反应,也只有在动物模型上才能掌握和研究;④研究缺血伤害(ischemia)的一个很重要的领域就是不正常的回流。所以,血管分布的存在,是不可或缺的,就这点而言活体实验,就比组织器官培养和细胞培养较为优越。用于实验的动物,从体积小的到体积大的都有,包括老鼠、兔、猫、狗、猴等。但最常选用的实验动物是啮齿类动物,因为有以下优点:①动物价格低廉,来源充足,能保证供给;②体积小,相对各项花费亦少,如手术材料费少,各项生化反应的检测费用也较少;③属近亲交配,遗传变异较少,同种同质性等条件较高;④与人类循环系统、血管分布、生理状况等条件相当接近;⑤脑体积小、相对容易处理,组织采样和处理困难度因而下降;⑥从生态和伦理道德方面考虑,易被外界认同;⑦符合 1999 年佛罗里达 STAIR 会议有关脑缺血动物模型研究的建议。

影响动物模型结果及预后的因素相当多,包括动物种系、外科手术、麻醉剂的使用、缺血持续时间及缺血再灌注时间、血糖水平、脑温体温的控制等。另外还包括对脑缺血模型活体动物行为特征的判定,脑组织切片染色方法及病理形态的观察。为了对各种模

型结果作出有意义的比较,我们有必要对各模型缺血损伤之间的不同点及造成损伤的方式作出适当的评价。了解在不同模型之间影响损伤进一步进展的因素,认识在对细胞的死亡测定作出解释时出现的问题。

本文将对广泛应用于研究领域的几个重要脑缺血动物模型进行归纳、评价,并对各个模型与相对应的临床脑血管病进行比较讨论。

## 一、缺血动物模型简介及分类

1960年,Leaven第一次把颈动脉结扎的技术引入脑缺血模型中并结合缺氧环境制成缺氧缺血动物模型,旨在研究比较大鼠脑部各区对缺氧的耐受性。LEVINE实验的当初旨意是为减低动物死亡率,提高脑部缺氧损害的敏感性而设计结扎一侧颈总动脉的。由此而建立的LEVINE模型开创了在体脑缺血动物模型的新纪元。在60年代中期具有里程碑式的意义。Brow,Beiwely等利用此模型创立了啮齿动物脑细胞损伤的研究理论体系。现大多数在体动物模型的建立是靠血管闭塞对前脑造成主要影响而实现的。它发展于20世纪70年代后期至80年代初期,之后逐渐分为两个类型:全脑缺血和局灶缺血。但改良的LEVINE模型制品(缺氧缺血)具有以上两型的一些特性。

全脑缺血模型的病理生理改变更类似于心跳骤停后的状况,引起选择性神经元死亡(selective delayed neuronal death)。对所导致的神经元损害可进行量化测定,是研究者用于精确评价神经元保护剂效能的量化模式。由于局灶缺血过程中有许多变量需加以控制,故在用局灶缺血模型作新药的临床前期试验前,先用全脑缺血模型进行筛选。

全脑缺血模型与临床脑卒中过程相差甚远,而局灶性缺血模型较接近人类脑卒中发病时的临床情况。局灶缺血是由Robinson

等于 1975 年提出的,当初的目的在于通过闭塞大鼠一侧大脑中动脉(MCA)后测定儿茶酚胺的水平及对其行为学进行研究。此后,大量的局灶缺血模型都是通过各种方法造成 MCA 沿线上一处或多处的血流暂时性或永久性阻断来制作的,力求建立重复性好的缺血模型以经得起药物干预的检验。局灶缺血模型无疑是研究脑卒中病理生理机制和药物效能评价的较为理想的模式。

但脑缺血模型绝大多数是用年轻、健康的动物复制的,而临床 95% 的脑卒中发生于老年或中年以后,发病前有广泛的高血压动脉硬化,脑血管自动调节储备功能及侧枝循环受损;高血压动物形成的自发性脑梗塞是目前最接近临床脑梗塞发病情况的卒中模型。常用日本种的自发性高血压大鼠(SHR)及其易卒中亚型(SHRSP)。

腔隙梗塞是由于脑动脉的穿枝小血管闭塞而导致的。1982 年 Fisher 描述了至少 20 种不同腔隙梗塞综合征的临床特点。之后为研究腔隙性梗死的发病机制,又陆续发展建立了模拟腔隙性梗死的动物模型,其中有 Futrell 于 1988 年建立的光化学法,线栓法及由 Toshima 等建立的大鼠颈内动脉注射月桂酸钠的方法,为临床多发小梗塞灶或腔隙梗塞灶提供了研究的空间。

缺氧缺血模型这一改良 LEVINE 模型现多用在幼龄的动物上,主要用于研究围产期新生儿脑缺氧缺血损伤的发病机制,本文不作重点介绍。

转基因小鼠是利用基因工程技术使某种特定基因在脑内过表达或不表达,所建立的全脑缺血模型和局灶缺血模型在近十几年显示了它巨大的研究应用价值,为分别研究每个因素在脑血管发病机制中的作用提供可行的途径。

脑缺血动物模型分类表

---

全脑缺血模型

沙土鼠 2 根血管闭塞模型

双侧颈总动脉暂时性闭塞

大鼠 2 根血管闭塞模型

双侧颈总动脉暂时性闭塞 + 低血压(50mmHg)

大鼠 4 根血管闭塞

双侧颈总动脉暂时性闭塞 + 双侧椎动脉永久闭塞

其它

心跳骤停

断头术

颈部压迫

增加脑脊液压

局灶缺血模型

永久性或暂时性

大脑中动脉闭塞(MCAO)—闭塞方法:夹闭,结扎,动脉内插线法  
(蘸胶/不蘸胶),烧灼术(非暂时性)

自发性高血压鼠(SHR)模型—MCA 区更稳定的梗塞

永久性局灶模型—血栓和栓塞模型

用玫瑰红 B(rose bengal)产生光化学血栓(有一个梗死核心而无半  
暗带区。非暂时性模型)

颈内动脉注入碳中心球

颈总注入血小板凝集物

颈总动脉注入小血凝块(如果用 tpa 干预此模型可成为暂时性的)

---

## 二、确定脑缺血损伤变量

脑血流下降的程度可直接作为衡量脑缺血改变的指标,它通

过三个变量来反映此变化,这三个变量即电子传导的抑制、ATP 的下降和自由基的产生,毋庸置疑地是所有继发改变的基本根源。前两个变量似乎与血流下降的程度有直接的关系。而第三个变量——自由基的产生可能是血流速率改变后的更为复杂的作用。因为自由基的激活是在电子传导抑制和氧化双重作用下引发的,所以自由基在血流非零状态时产生的最多。关于血流速率与自由基产生两者的确切关系尚未明了。

血流非零状态时,其它的改变如 pH 的降低,白细胞聚集等对脑组织都可产生较严重的损害。由此可见:血流下降可产生直接的损害但不是损害的总结果。在许多情况下尽管 ATP 维持在一定的水平,但提高血糖水平仍可加重脑缺血损害,所以单靠 ATP 的下降不是衡量缺血损伤程度的可靠指标。作为一个复杂的过程,脑缺血损伤的本质可能是 ATP/电子传导下降以及自由基升高综合作用的结果,是缺血期血流速率变化的复杂作用。我们可以通过增加缺血的持续时间来作为加重脑组织损伤程度的手段。除此以外,仅根据缺血和 ATP 下降的程度来估计其对脑组织造成的早期潜在的损伤效果是很困难的。

### 三、神经元选择性的易损和迟发性神经元死亡

脑组织耐受缺血的时间依缺血的程度、组织的能量储备(包括初期和继发的储备)及能量消耗率而不同。不同的区域对缺血的易感性不同。得知海马是对缺血反映最敏感的区域之一已有很长时间(Brierley 1976)。在整个海马不同的亚区神经元的易感性也各不相同,其中 CA1 区和 CA4 区对缺氧缺血最敏感,而 CA3 和齿状回可耐受相对严重的缺血损害。全脑缺血 5 min 就可造成几乎全部 CA1 锥体神经元细胞不可逆的迟发死亡(DND),其它的神经

细胞不受任何影响。20 min 的缺血引起 CA3 神经元死亡,但对海马区的齿状回细胞或 CA1 中的中间神经元丝毫不产生作用。

1982 年 Kirino, Pulsinelli 分别提出了迟发性神经元死亡的概念,它是指在暂时性缺血损伤后,海马的 CA1 区神经元选择性被损伤,丧失的 CA1 神经元在缺血后 3~4 d 方可被检测到。此现象说明 CA1 的损伤是一个慢性的病理变化过程,在细胞形态改变到能被光学显微镜可明显分辨出的程度需再花费至少 2 d 的时间。大量的 DND 研究是在沙土鼠全脑缺血模型上进行的,针对 3~30 min 不同时程缺血所造成的沙土鼠海马区损伤结果的研究发现:能引起 CA1 区选择性迟发死亡的时间可短至 5 min,3 min 基本上不引起变化。如此看来,在 3~5 min 可能存在缺血损伤的时间阈值,超过此阈值,CA1 的 DND 速度是加速的。但无论缺血时间多长,都需花 2~3 d 才可检测到坏死的细胞,对细胞进行超微结构研究证实 DND 是细胞的坏死过程而非凋亡过程。

在足以引起海马迟发神经元死亡的缺血时间范围内,加重缺血损伤程度将会产生纹状体和皮层第三层、第五层锥体细胞小到中等大小的坏死。有趣的是与我们的直觉恰恰相反:这些耐受缺血能力较强的区域,其坏死所用的时间却短于 CA1 敏感区(在纹状体 6~12 h 即可检测到坏死的细胞)。锥体神经元死亡的一般方式是从正中到两旁,从中隔部位到颞部,好比原野中扩散的野火。关于细胞群易感性的发病机制尚未明了,但似乎与海马区脉管系统并无关系。

#### 四、脑缺血模型

广义上的全脑缺血是指大脑总体血流的减少或终止。用各种方法导致心跳骤停建立的实验动物模型模拟了临床上类似情况发生后的病理生理改变,但心脏循环衰竭影响的不仅仅是脑组织,同

时它导致严重的心、肝、肾并发症,还可造成脑干受损,动物死亡率高。造成完全全脑缺血(complete brain ischemia)的方法还有断头术、颈部止血带压迫及增加颅内压等方法,这些方法共同的缺点是不能实现脑部再灌注,引发的病理改变与临床相差太远。

目前广泛用于研究工作的全脑缺血模型实际是狭义模型,即非完全的全脑缺血模型(incomplete brain ischemia):脑血流短暂地近乎完全终止后(一般为 5~15 min),随后实现脑血流再灌注,由此产生的结果并非实际意义的脑血流完全中断,只是造成绝大部分前脑均匀损害,相对保留了脑干的血流,这样可保证实验动物有自主呼吸,大大提高了动物存活率。制作全脑缺血模型的方法很多,最常用的是三种:沙土鼠 2 根血管闭塞(2-VO)、大鼠的 4 根血管闭塞(4-VO)及 2 根血管闭塞+体循环低血压。对转基因小鼠全脑缺血模型的建立有其特殊性,基本遵循 2 根血管闭塞法,详见转基因鼠。全脑缺血模型用于对 DND 机制及神经保护剂筛选的研究。Hossmann 对全脑缺血模型的制作方法总结如下表。

| 导致缺血的方法       | 鼠品种   | 研究者及年代                      |
|---------------|-------|-----------------------------|
| <b>心跳骤停法</b>  |       |                             |
| 氯化钾注入         | 大鼠    | Blomqvist and Wieloch, 1985 |
| 胸腔内钩          | 大鼠    | Korpatchev et al., 1982     |
| 窒息法           | 大鼠    | Katz et al., 1995           |
| <b>主动脉闭塞法</b> | 大鼠    | Wade et al., 1975           |
| 颈部气囊+低血压      | 大鼠    | Nemoto and Frinak, 1981     |
|               | 大鼠    | Siemkowicz and Hansen, 1978 |
| <b>颈动脉闭塞</b>  | 大鼠    | Mitsufuji et al., 1996      |
|               | 沙土鼠   | Kobayashi et al., 1977      |
|               | 清醒沙土鼠 | Chandler et al., 1985       |
|               | 沙土鼠   | Tomida et al., 1987         |



续表

| 导致缺血的方法      | 鼠品种 | 研究者及年代                       |
|--------------|-----|------------------------------|
| + 低血压        | 大鼠  | Smith et al. ,1984           |
| + 锁骨下动脉闭塞    | 大鼠  | De la Torre,1991             |
| + 基底动脉闭塞     | 大鼠  | Kameyama et al. ,1985        |
| + 翼突腭动脉闭塞    | 大鼠  | Gumerlock et al. ,1989       |
| + 颈静脉闭塞      | 大鼠  | Aragno and Doni,1976         |
| 颈动脉和椎动脉闭塞    | 大鼠  | Pulsinelli and Brierley,1979 |
| <b>颅内高压法</b> |     |                              |
| 用液体灌输        | 大鼠  | Siesjö and Zwetnow,1970      |
| + 低血压        | 大鼠  | Ljunggren et al. ,1974       |
| + 腹膜透析       | 大鼠  | Kawakami and Hossmann,1977   |
| 断头术          | 大鼠  | Kriegelstein et al. ,1987    |

### 1. 沙土鼠 2 根血管闭塞模型(2-VO)

人类和大鼠脑血管解剖中的后交通动脉是组成脑底 Willis 环的重要血管,由此建立广泛的侧枝循环。蒙古沙土鼠 *Mongolian gerbil*(*Merions unguiculatus*)后交通动脉缺如是由 Levine 和 Payan 首次发现的。当时他们通过单侧结扎沙土鼠的颈总动脉(CCA),发现可导致严重的神经体征并于 2 d 内死亡。随后的组织病理学揭示:沙土鼠缺乏存在于其它种系中的后交通动脉。后来逐渐发现,仅通过闭塞两侧颈总动脉就足以导致严重的前脑缺血。

制作模型的基本过程:沙土鼠体重一般选择 60~80 g 左右,麻醉后,暴露、分离双侧颈总动脉,用丝线或动脉夹暂时性闭塞双侧颈总动脉,缺血时间为 3~30 min 不等,随后实现脑血流再灌注。也可在造成沙土鼠双侧颈总动脉缺血前(一般至少在 7 d 前),事先于血管周围植入闭塞器,实现对清醒动物的多次反复的缺血操作,以观察无麻醉情况下动物脑血流改变及反复多次发作的缺血对脑组织病理改变影响。制成的模型可用于对活体动物脑血流、EEG、行为学等方面的观察和对脑组织切片进行组织病理学