

应用手持激光器建立光化学法脑梗死动物模型

卢宝全¹, 尚小明², 杨峰³, 韩德昌⁴, 李相春⁴, 洪军⁵

(1. 唐山工人医院神经内科, 唐山 063000; 2. 唐山工人医院心内科, 唐山 063000;
3. 河北联合大学附属医院神经外科, 唐山 063000; 4. 唐山工人医院核磁共振室, 唐山 063000;
5. 唐山工人医院神经外科, 唐山 063000)

【摘要】 目的 应用手持激光器作为光源建立光化学法局灶性脑梗死动物模型。方法 将36只SD大鼠随机分为4组,即A组:开骨窗至硬脑膜,不注射玫瑰红,手持激光器照射5 min; B组:开骨窗至硬脑膜,注射玫瑰红,手持激光器照射5 min; C组:保留颅骨内板,注射玫瑰红,手持激光器照射5 min; D组:开骨窗至硬脑膜,注射玫瑰红,冷光源照射40 min。于术后24、48 h对各组大鼠进行神经功能的行为学评分,进行MR扫描,术后48 h处死动物,TTC染色测量梗死体积,光镜下观察病理改变,比较各组的模型制作成功率。结果 不同方法进行动物模型制作时,24h神经功能的行为学评分有显著性差异,48 h后差异消失。头部MR扫描显示,A组未见脑梗死形成,B组、C组全部有脑梗死灶形成,D组仅部分大鼠形成梗死灶,但体积明显较B、C组小,另外C组有2例合并硬膜外血肿。TTC染色A组未见梗死灶形成,B组、C组可见恒定的梗死灶,D组仅部分形成梗死灶。B、C、D组模型制作成功率分别为100%、80%、50%,将B组、C组合并为手持激光器组,与冷光源组(D组)比较,两种方法间有显著性差异($P=0.026$)。结论 应用手持激光器作为照射光源与冷光源相比,有更高的模型制作成功率。

【关键词】 脑梗死;光化学法;大鼠

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)09-0063-05

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.009.014

Photochemical Ischemic Stroke Model Made by Hand-held Laser in Rats

LU Bao-quan¹, SHANG Xiao-ming², YANG Feng³, HAN De-chang⁴, LI Xiang-chun⁴, HONG Jun⁵

(1. Department of Neurology, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000, China;
2. Department of Cardiology, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000, China;
3. Neurosurgery, Hebei United University Affiliated Hospital, Tangshan 063000, China;
4. MRI Scanning Room, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000, China;
5. Neurosurgery, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000)

【Abstract】 Objective The objective of this study is to observe the effect of photochemical ischemic stroke model made by hand-held laser in rats. **Methods** 36 rats were randomly divided into four groups: group A, a skull hole was made deep to dura, irradiated by hand-held laser without rose-bengal injection for 5 minutes; group B, a skull hole was made deep to dura, irradiated by hand-held laser for 5 minutes with rose-bengal injection; group C, a skull hole was made deep to inner plate, irradiated by hand-held laser for 5 minutes with rose-bengal injection; group D, a skull hole was made deep to dura, irradiated by cold light source for 40 minutes with rose-bengal injection. Neurological deficit was evaluated 24 and 48 hours after surgery. MR scan was performed at 24 hours and the rats were killed at 48 hours, then the infarct volume was measured by TTC staining and the pathological changes was observed by light microscopy, comparing the success rate between two different irradiation sources. **Results** The neurological deficit differed at 24 hours but converged at 48 hours. MR scan showed no infarction in group A and some in group D, obvious infarction in all rats from group B and C, but epidural hematoma occurred in two rats of group C. TTC staining showed no infarction in group A, an infarction

lesion occurred constantly in the left irradiated region in group B and C, but infarction occurred only in half of the rats in group D. The successful rate of model-made was 100%、80% and 50% in group B, group C and group D respectively. Combining group B and group C into hand-held laser group, compared with the cold light source group (group D), there was a significant difference between two groups ($P = 0.026$). **Conclusions** In the procedure of photochemical ischemic stroke model made, compared with cold light source, the successful rate was higher when using hand-held laser as the irradiating source.

【Key words】 Ischemic stroke; Photochemically induced thrombosis; Rat

为研究脑梗死及相关脑动脉病变的发生发展机制,拓宽防治措施,验证治疗效果等,需建立相应的动物模型,为此,国内外学者做了大量探索^[1-3]。对于局灶性脑梗塞动物模型,最常采用线栓法阻断大脑中动脉血流,虽梗塞体积较恒定,但损伤较大^[3]。而对于微小动脉病变所致脑梗死动物模型的研究较少,自发性高血压、微栓塞等均可造成微小动脉闭塞,但数量、部位难以控制,不利于实验研究^[4-6]。光化学法血栓形成(photochemically induced thrombosis, PIT)脑梗死模型的制作是利用特定波长的光照与注入血液中的光敏剂发生光化学反应,损伤血管内皮后引起一系列凝血反应,导致血栓形成。照射皮层可以造成特定区域微小动脉闭塞,形成面积相对恒定的梗死,有利于脑保护等研究^[7,8],且相对于机械性阻塞血流的方法,具有损伤轻,手术简单等优点,其对动脉内皮损伤模拟了一种人类的发病机制。

在光化学法动物模型制作过程中,照射光源一般使用氩氦激光或者冷光源,前者价格昂贵而后者输出光强较弱。目前,不同波长的手持式激光器(激光手电或激光笔)已得到普及,其发出的激光波长范围非常适合光化学反应,且价格低廉,但未有应用于动物模型制作中的报道,故本研究对此进行探索。另外,比较了去掉颅骨与保留内层骨皮质的实验效果,以便于确定一种可靠地、简便易行的局灶性脑梗死模型制作方法。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

健康成年 SD 大鼠 36 只,体重 200 ~ 250 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物合格证号 SCXK(京)2006 - 0009,清洁级(SPF),自然光照,环境安静,自由进食饮水,饲养温度 20 ~ 28℃,相对湿度 40 ~ 70%,模型制作前适应性喂养 1 周。

1.1.2 主要试剂配置及仪器使用方法

1) 将玫瑰红 B (RB, 分子量为 1017.6) 溶于 0.9% 生理盐水中配成浓度为 3.3% 的溶液避光低温保存备用。

2) 冷光源:应用 250W 金属卤化灯为发光光源,光导纤维输出,外接 546 nm 滤波片,使之投射出单一绿色光束。手术时用带有 5 mm 直径小孔的黑色避光纸遮蔽周围组织。

3) 手持式激光器(波长 532 nm,可调焦):手术时调焦,使照射范围直径为 5 mm。

1.2 实验方法

1.2.1 光照度稳定性测定

固定冷光源及手持激光器后,应用数字照度计(MasTech-LX1010B,深圳华谊公司)测量二者的光照度,每 10s 钟采样一次,时长 5min。计算平均值、标准差,由此求的变异系数,比较二者有无差异。

1.2.2 动物分组

选择 250 ~ 300 g 大鼠 36 只,根据预实验及文献报导^[7,9],将大鼠随机编号后分为 4 组, A 组 6 只,其余组各有 10 只。A 组:开骨窗至硬脑膜,不注射玫瑰红,手持激光器照射 5 min; B 组:开骨窗至硬脑膜,注射玫瑰红,手持激光器照射 5 min; C 组:保留颅骨内板,注射玫瑰红,手持激光器照射 5 min; D 组:开骨窗至硬脑膜,注射玫瑰红,冷光源照射 40 min。

1.2.3 动物模型的制作

将大鼠称重,按照 0.3mL/100g 剂量腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉,利用立体固定架前端的门齿环以及双侧的耳钉,对大鼠头部进行固定。之后沿头正中中线切开皮肤,长度约 1.5 cm,分离暴露颅骨,以矢状缝左侧 3 mm,冠状缝后 3 mm 为中心,磨钻打开直径约 5 mm 的骨窗,保留硬脑膜。C 组仅钻透颅骨的外板及板障,保留内板并打磨平整。除 A 组外,按照 30 mg/kg 剂量于尾静脉注入 3.3% 的玫瑰红,持续时间约 2 ~ 3 min,随后用冷光源或手持激光器照射目标区域,照射距离为 3 mm,照射时间依分组而定。照射结束后局部用庆大霉素盐水冲洗,缝

合头部伤口,待生命体征恢复平稳后放入笼中继续饲养。

1.3 动物观测指标

1.3.1 神经功能的行为学评分

参考 Bederson 5 级分级法^[10],于术后 24 h、48 h 对各组大鼠进行神经功能的行为学评分。

1.3.2 头部核磁共振(MR)扫描检查

于术后 24 h 对大鼠头部进行 MR 扫描,检查前 5 min 腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉。单独或 2~4 只同时固定于自制的泡沫板上,使用关节线圈对大鼠头部进行扫描,扫描层面间距为 2 mm。

1.3.3 脑梗死体积测定及病理学检查

术后 48 h 大鼠麻醉后迅速开胸,剪开右心耳,从左心室给予生理盐水 100 mL 灌注,断头取脑,-20℃ 冰箱冻保存 20 min。对于所取脑组织,用标尺在脑表面正中中线以 2 mm 等分,用病理切片从视交叉前 1 mm 左右冠状位切脑,其后间隔 2 mm 连续做 6 个冠状切片。每组随即抽取 2 个标本用于 HE 染色,其余用于脑梗死体积测定。

1.3.3.1 脑梗死体积测定

将所需标本放入 2% TTC 液,37℃ 下孵育 20 min(10 min 后翻面),正常脑组织染成红色,梗死灶染成白色。染色后置于 4% 多聚甲醛固定,24 h 后用 Olympus 数码相机照相后输入电脑,应用 Imagine-pro plus6.0 版测量各层面的梗死面积,将梗死灶面积乘以层厚 2 mm 得出每个层面的梗死灶体积,相加各层面的梗死灶体积即得出整个脑组织的梗死灶体积。

1.3.3.2 病理学检查

将所需的脑组织切片置于 4% 多聚甲醛固定 24 h 以上,梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋后将脑组织切片,厚度约 4 μm,37~38℃ 水浴展片,普通载物片捞片,置 60℃ 烤箱中 1 h,苏木精-伊红染色,树胶封片。

1.3.4 模型制作成功率

模型制作成功的条件:①MR 检查及 TTC 染色可见梗死灶形成,或得到光镜下病理观察验证;②模型制作后 24 h 内出现过神经学异常;③未出现血肿及其它严重并发症,48 h 内存活。同时满足以上条件者为模型制作成功,除以同组大鼠的数目即为模型制作成功率。

1.4 统计学处理

采用 SPSS16.0 for windows 统计软件进行统计学处理。采用 Kruskal-Wallis 非参数检验,当差异具有显著性时($P < 0.05$),采用 Mann-Whitney 非参数检验来分析组间的差异。正态分布数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间的比较用单因素方差分析,两组间率的比较用 χ^2 检验,必要时用 Fisher 确切概率法。 $P = 0.05$ 为显著性检验水准。

2 结果

2.1 光照强度稳定性测定

冷光源光照度为 $7.20 \pm 0.67 \times 10^3$ 勒克斯(Lux),手持激光器的光照度为 $(1.29 \pm 0.11) \times 10^5$ Lux,后者是前者的 18 倍。光照度变异系数冷光源为 9.3%,手持激光器为 8.5%,并无显著性差异($P = 0.53$)。

2.2 一般情况及神经行为学评分

48 h 内 36 只大鼠无死亡出现。麻醉清醒后,大鼠精神萎靡,活动及摄食减少,术后 24 h 神经行为学评分多在 2 分以下,C 组有两只大鼠评分达到 3 分,后证实为合并硬膜外血肿。术后 24 h 神经行为学评分,各组间存在显著性差异($P = 0.000$),进一步进行两两比较,显示 A 组与 B 组、A 组与 C 组、D 组与 B 组、D 组与 C 组之间存在显著性差异($P < 0.05$)。48h 后神经行为缺损多有明显好转,各组间神经行为学评分无显著性差异($P = 0.2$),见表 1。

2.3 头部 MR 扫描情况

术后 24 h 头部 MR 扫描显示,A 组未见脑梗死形成,B 组、C 组全部有脑梗死灶形成,D 组仅部分大鼠形成梗死灶,但体积明显较 B、C、小。另外 C 组有 2 例合并硬膜外血肿(图 1)。

2.4 TTC 染色梗死体积测定

TTC 染色可见正常脑组织着深红色,梗死脑组织呈白色(彩插 4 图 2)。A 组未见梗死灶形成,B 组、C 组全部于左侧照射区形成部位恒定的梗死灶,局部脑组织苍白、肿胀明显,冠状面成“碗型”,尖端指向侧脑室,深达皮质全层,体积为 B 组 $16.7 \pm 3.23 \text{ mm}^3$,C 组 $15.6 \pm 2.85 \text{ mm}^3$,二者间无显著性差异($P > 0.05$)。D 组仅部分形成梗死灶,且体积($5.2 \pm 1.96 \text{ mm}^3$)明显小于 B 组、C 组($P < 0.01$)。

表 1 模型制作后 24 h (括号内为 48 h) 的神经功能缺损评分

Tab. 1 Numbers of rats with different neurological deficit score on 24hrs and 48hrs after PIT stroke model made in four groups

组别 Group	鼠数 N	神经功能缺损评分(术后 24 h/术后 48 h) neurological deficit score on 24hrs(48hrs)			
		0	1	2	3
A	6	6(6)	0(0)	0(0)	0(0)
B	10	0(9)	9(1)	1(0)	0(0)
C	10	0(8)	7(0)	1(2)	2(0)
D	10	5(10)	5(0)	0(0)	0(0)

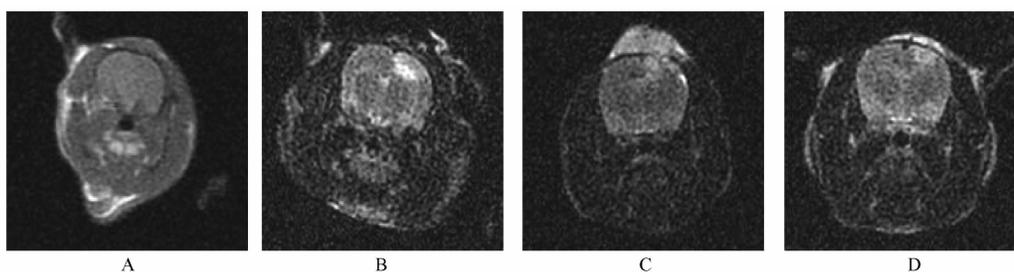


图 1 各组大鼠术后 24 h 头部 MR 扫描, 示 B、C、D 组照射区梗死灶, C 组可见硬膜外血肿

Fig. 1 MR scanning on 24 hrs after PIT stroke model made in four groups, showed the ischemic lesion of rat brain in group B, C and D, an epidural hematoma appeared simultaneously in a rat from group C

2.5 脑组织病理学检查

A 组大鼠光镜下观察脑组织结构正常, 细胞形态规整, 细胞核完整。大脑皮质神经细胞层次清晰, 神经元边界清, 锥体细胞突起明显, 胞核呈圆形或椭圆形, 染色质分布均匀、色淡, 核仁清晰、染色较深, 胞浆无水肿表现, 内皮细胞及周围间隙形态结构正常。

B 组、C 组大鼠脑标本镜下观察, HE 染色可见病灶与周围组织分界清楚, 梗死灶内脑组织软化, 细胞碎裂, 胞浆液化, 核固缩或偏位, 细胞溶解后形成的格子细胞等。神经元呈不同程度的缺血性改变, 肿胀的神经元胞浆淡染, 呈圆形或椭圆形, 皱缩的神经元染色深, 胞体小, 呈三角形。许多神经元外形不易辨认, 大部分细胞结构消失, 胞浆空泡样变性。病灶中心微血管内血栓形成及淤血, 坏死边缘区可见中性粒细胞浸润。

D 组的两只大鼠之中一只存在小的梗死灶, 另一只未见异常。

2.6 模型制作成功率比较

B 组、C 组、D 组模型制作成功率分别为 100%、80%、50%, 将 B 组、C 组合并为手持激光器组, 与冷光源组(D 组)比较, 经确切概率法验证, 两种方法间有显著性差异($P=0.026$)。

3 讨论

目前局灶性脑梗死模型制作时需要结扎动脉或机械性阻塞远端血流, 创伤大, 且技术操作具有一定难度, 一些学者开始探索相对简单的局灶性脑缺血模型。方法之一是在颅内注射血管收缩物质如内皮素, 以造成局部缺血^[11]。这种方法已在大鼠得到重复验证, 但在小鼠上制作时, 则需结合其他药物注入或血管结扎才能形成梗死灶^[12]。另外, 此方法虽然简便, 但形成的缺血灶部位不确切, 而且死亡率并不低。光化学法制作脑梗死模型由 Watson 等^[13]于 1985 年首次报道后, 已得到广泛应用^[14,15]。其原理是由注入动物体内特殊的光敏物质即光敏剂, 在特定波长的光源照射下, 诱发光化学反应, 产生并释放活性氧自由基, 导致血管内皮细胞损害, 引发血小板聚集粘附, 形成血管内血栓, 闭塞血管, 导致局部组织缺血缺氧, 最终发生不可逆组织损伤。

光化学法脑梗死动物模型的制作, 光敏剂和照射光源是两个主要条件。玫瑰红 B 是迄今已知最强的光敏剂, 其最大吸收波长为 549 nm。照射光源国内多应用冷光源, 配合滤光片, 光导纤维输出单色光, 照射时间 8~30 min 不等^[9,16,17]。为提高照射

效果,我们将冷光源照射时间设定为 40 min,模型制作成功率仍低于手持激光器组,且脑梗死体积多小于预期。其原因可能为玫瑰红 B 虽为强光敏剂,但所需光照强度大,自制的冷光源输出的光照度低,仅为手持激光器的 1/18,虽增加时间仍难以满足需要。而手持激光器不仅光照度高,我们所进行的稳定性测定,也证明了短时间内稳定性强,不会很快出现光照强度衰减的现象,相信随着大容量充电电池的应用,其光照强度可以在较长时间内保持,更加适合于实验研究。另外,该研究中不注射光敏剂的 A 组,手持激光器照射 5 min 并未引起局部组织肿胀、坏死,也说明了其安全性,但更长时间的照射是否安全需要进一步验证。

在光化学法局灶性脑梗死模型制作过程中,一般需要开骨窗,即去掉颅骨,暴露硬脑膜。但有报道不破坏颅骨或者仅仅去掉颅骨的外板和板障,保留内板,适宜光源照射后同样可以制成局灶性脑梗死模型^[18,19],我们对此也进行了验证,发现确实可以在照射方向形成局灶性梗死灶,但少数大鼠合并出现硬膜外血肿,考虑其原因可能为:颅骨内板与硬脑膜之间存在大量的桥静脉,光化学反应后同样可以形成血栓,阻塞血流,淤血致一定程度引起静脉破裂出血,从而造成硬膜外血肿。因此建议模型制作时去掉颅骨为宜。

由于该模型为皮层脑梗死,损害部位仅为皮质感觉运动区,皮质下纹状体、海马和丘脑未受损,加之大鼠强大的回复能力,大鼠神经行为学异常轻微,尤其 48 h 后与无损伤组差异已不显著,提示在该模型中不宜将神经行为学评分作为干预因素效果的较长时间观测指标。即使在经典线栓法制备的局灶性脑梗死模型(大脑中动脉栓塞)中,王志强等^[20]研究认为大鼠的肢体运动功能与脑梗死体积并无相关性,48 h 内肢体运动功能正常的大鼠并不一定不形成梗死灶,同时造模术后没有梗死灶的大鼠,也不一定完全没有神经功能缺损症状。因此,模型制作成功与否需结合术后大鼠的神经功能缺损评分、TTC 染色后的脑梗死体积、脑组织病理切片的镜下观察等方面进行综合界定。为便于活体判断,我们又加入了 MR 扫描检查,但由于显示清晰度原因,未作定量分析(梗死面积或体积计算),仅作为定性判断。

相比较其它模型制作方法,光化学法具有梗死部位提前预知、梗死体积恒定、模型制作成功率高等优势,但目前局灶性脑梗死模型的制作仍以机械

性阻断 MCA 血流为主,原因之一是照射光源不易获得,国外多应用氩氦激光,价格昂贵,国内多应用冷光源,虽价格相对低廉,一般实验室仍难以拥有。近几年,手持激光器已广泛普及,其成本更为低廉。经我们实验观察,在光化学法脑梗死模型制作时,完全能代替冷光源,且较冷光源更为方便、实用,适合我国开展相关实验研究。

参考文献:

- [1] Trent M Woodruff, John Thundyil, Sung-Chun Tang et al. Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke [J]. *Mol Neurodegener*, 2011, 6 (1): 11.
- [2] Sicard KM, Fisher M. Animal models of focal brain ischemia [J]. *Exp Transl Stroke Med*, 2009, 1 : 7.
- [3] Durukan A, Tatlisumak T. Ischemic stroke in mice and rats [J]. *Methods Mol Biol*, 2009, 573 : 95 - 114.
- [4] Okamoto K, Yamori Y, Nagaoka A. Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHR) [J]. *Circ Res* [J], 1974, 34 : 143 - 153.
- [5] Rossmeisl JH Jr, Rohleder JJ, Pickett JP, Duncan R, Herring IP. Presumed and confirmed striatocapsular brain infarctions in six dogs [J]. *Vet Ophthalmol*, 2007, 10 : 23 - 36.
- [6] Atochin D, Murciano J, Gursoy-Ozdemir Y, Krasik T, Noda F, Ayata C, Dunn A, Moskowitz M, Huang P, Muzykantov V. Mouse model of microembolic stroke and reperfusion [J]. *Stroke*, 2004, 35 : 2177 - 2182.
- [7] Watson BD, Dietrich WD, Busto R, et al. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis [J]. *Ann Neurol*, 1985, 17 (5): 497 - 504.
- [8] Chen F, Suzuki Y, Naqai 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.
- [9] 高红莉,刘昭纯. 活血熄风方对缺血性中风大鼠大脑皮层血流量和脑梗死体积的影响 [J]. *山东中医药大学学报*, 2008, 32 (1): 62 - 65.
- [10] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination [J]. *Stroke*, 1986, 17 (3): 472 - 476.
- [11] Fuxe K, Cintra A, Andbjør B, et al. Centrally administered endothelin - 1 produces lesions in the brain of the male rat [J]. *Acta Physiol Scand*, 1989, 137 (1): 155 - 156.
- [12] Horie N, Maag AL, Hamilton SA, et al. Mouse model of focal cerebral ischemia using endothelin - 1 [J]. *J Neurosci Methods*, 2008, 173 (2): 286 - 290.
- [13] Watson BD, Dietrich WD, Busto R, et al. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis [J]. *Ann Neurol*, 1985, 17 (5): 497 - 504.

考虑,以减轻饲养管理和科研人员的工作强度,达到提高实验动物管理水平。

IVC 笼具设计、制作质量的好坏,直接影响我国实验动物的质量和实验结果^[8]。在研究国外同类产品技术指标之后制定 IVC 笼具的设计、制作技术标准显得尤为重要^[9]。在国内外 IVC 笼具广泛用于医学、生物学、药学、遗传学、环境卫生学等相关领域 SPF 级实验动物的饲养及动物实验室,它们设计与应用合理与否对实验动物的质量和动物实验结果的科学性及其动物福利等有重要影响^[10,11]。

独立换气树鼩专用隔离笼具是满足树鼩生物学特点,树鼩感染性疾病动物模型实验生物安全要求为设计思路,提高和解决饲养管理、质量控制及感染性疾病动物模型实验过程中实际问题为目的,同时是在我国积极推进实验动物标准化体系建设的背景下,为早日建立和完善实验用树鼩的实验动物标准化而展开的前期探索,具有一定创新性。该套笼具设计新颖,选用材质、制作设计空间都应符合实验动物福利的要求,保证了实验动物自由采食、饮水、自由活动等功能,具备结构简单、易清洗消毒等特点,提高了实验树鼩的生活质量,操作方便、安全、可靠,有效降低工作强度,提高动物管理和职业卫生防护水平,因此,开发具有生物安全要求的树鼩专用动物实验笼具,对于使用树鼩开展人类重大传染病研究具有广泛的应用价值和市场

前景。

参考文献:

- [1] 施新猷. 现代医学实验动物学[M]. 北京:人民军医出版社, 2000:170-171.
- [2] 彭燕章,叶智彰,邹如金,等. 树鼩生物学[M]. 昆明:云南科技出版,1991:1-4.
- [3] 角建林,刘汝文,陈丽玲,等. 树鼩资源的开发利用与标准化研究—我国实验动物资源建设发展战略探讨[J]. 中国比较医学杂志,2009,19(7):73-78.
- [4] 中华人民共和国国家标准. GB14925-2001[S]. 实验动物:环境及设施.
- [5] 江苏省地方标准. DB32/T1216-2008[S]. 实验动物笼器具隔离器.
- [6] GB50243-2002 通风空调工程施工质量验收统一标准.
- [7] 宗阿南,杨葳,尚昌连,等. 独立送排风笼具(IVC)送排风系统技术研究[J]. 实验动物科学与管理, 2005, 22(3): 61-62.
- [8] 宗阿南,周欣,王丽清,等. 独立通风笼具主体结构设计制作技术规范的研究[J]. 中国比较医学杂志,2004,14(5):307-308.
- [9] 齐海涛,王有为,卢笑丛. 独立换气净化笼具(IVC)国内外研究进展[J]. 中国比较医学杂志,2006,16(2):122-125.
- [10] 尹松林,袁春萍,严国锋,等. 独立通气笼具的技术分析与发展前景[J]. 实验动物与比较医学, 2005, 25(3): 186-189.
- [11] 施正良,仲晓萍,饶江宁. IVC 应用研究初报[J]. 上海实验动物科学,2004,24(2):109-110.

[修回日期]2012-08-25

(上接第 67 页)

- [14] Qu WS, Wang YH, Wang JP, et al. Galectin - 1 enhances astrocytic BDNF production and improves functional outcome in rats following ischemia [J]. Neurochem Res, 2010, 35(11): 1716-1724.
- [15] Pantoni L. Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges [J]. Lancet Neurol, 2010, 9(7):689-701.
- [16] 潘惠娟,李玲,刘卫等. 光化学法诱导大鼠双侧海马梗死模型的建立[J]. 中华物理医学与康复杂志,2005,27(11):645-648.
- [17] 邵义祥,朱顺星,丁莉等. 光化学法诱导兔脑梗死模型[J].

上海实验动物学,2004,24(2):91-93.

- [18] 周薇,胡豫,魏文宁. 光化学法诱导大鼠脑皮质微血管梗塞凝血系统动态变化的研究[J]. 微循环杂志,2004,14(3):66-67.
- [19] 游宇,赵振伟,王梁等. 不开颅光化学诱导兔脑皮层梗死模型的建立[J]. 中华实验外科杂志,2007,9:1055-1056.
- [20] 王志强,张小宁,姜涛等. 脑梗死大鼠神经功能缺损评分与脑梗死体积的相关性研究[J]. 中国临床神经科学,2008,16(4):394-399.

[修回日期]2012-08-31