

实验性大鼠高血压颅内动脉瘤模型的建立及发生机制的初步研究

关俊宏¹,张绪新¹,张建海¹,陈铎¹,姜卫国²,刘冬娟³

(1. 中国医科大学附属盛京医院神经外科, 辽宁 沈阳 110004; 2. 附属盛京医院病理科; 3. 基础医学院组胚电镜室)

[摘要] 目的:探讨实验性大鼠高血压脑动脉瘤形成及脑血管早期病理改变与脑动脉瘤形成的关系。方法:140只SD大鼠随机分为4组,实验组结扎左颈总动脉+电凝两侧肾动脉后支+饮1%的盐水;高血压组电凝两侧肾动脉后支+饮1%的盐水;高血流量组结扎左颈总动脉+饮1%的盐水;对照组不加任何处置,24周后取大鼠右侧大脑前动脉-嗅动脉(ACA-OA)应用光镜及电镜观察脑血管组织学改变。结果:实验组与高血压组血压显著升高,实验组在13只大鼠中在右侧大脑前动脉和嗅动脉分叉处及附近发现瘤前、早期及进展期的动脉瘤改变。结论:高血压和血流动力学异常引起的内弹力膜与平滑肌的破坏是脑动脉瘤发生的因素。

[关键词] 高血压;颅内动脉瘤;大鼠

[中图分类号] R363.2 [文献标识码] A [文章编号] 0258-4646(2007)06-0647-03

Experimentally induced intracranial aneurysms in hypertensive rats and its mechanism

GUAN Jun-hong¹,ZHANG Xu-xin¹,ZHANG Jian-hai¹,CHEN Duo¹,JIANG Wei-guo²,LIU Dong-juan³

(1. Department of Neurosurgery, Shengjing Hospital, China Medical University, shenyang 110004 China; 2. Department of Pathology, Shengjing Hospital; 3. Department of Histology and Embryology, College of Basic Medical Science)

[Abstract] Objective: To investigate relationship between early histologic changes of cerebral arteries and cerebral aneurysms formation induced by renal hypertension in rats. Methods: 140 rats were divided into 4 groups randomly, Group A: ligate the left common artery, electric coagulate the bilateral ramus posterior arteriae renalis, give them 1% saline for drinking, Group B: electric coagulate the bilateral ramus posterior arteriae renalis, give them 1% saline for drinking, Group C: ligate the left common artery, give them 1% saline for drinking, Group D: no operation and give tap water for drinking. Six months later, the junctions of the anterior cerebral (ACA) and the olfactory artery (OA) were routinely examined under light and electronic. Results: In the treated group, various stages of cerebral aneurysms were detected in 13 of 35 rats at the bifurcations and nonbranching sites of the right anterior cerebral arteries and olfactory arteries. Conclusion: There is a close relationship between the changes of intimal pad and the aneurysmal formation. The initial injury of endothelial cells followed by energetic metabolic disturbance of smooth muscle cells, which resulting in degeneration or disruption of the internal elastic lamina, may contribute to aneurysmal formation under stress of hypertension and abnormal hemodynamics.

[Key words] intracranial aneurysm; hypertension; rat

脑动脉瘤是一种严重威胁人们生命和健康的常见脑血管疾病,人群中的发生率为2%^[1],一旦破裂出血,致残致死率很高,其发病机理尚未完全明了。因此,建立经济、有效的脑动脉瘤动物模型,揭示其发病机理,对脑动脉瘤的防治具有重要意义。对4 518人的回顾性研究发现脑动脉瘤患者同时患高血压的概率显著增高^[2]。本研究通过建立肾性高血压脑动脉瘤模型来揭示脑血管早期病理改变与脑动脉瘤形成的关系。

1 材料与方法

1.1 模型制备

选140只6~7周健康雄性SD大鼠,体质量

150~250 g(中国医科大学盛京医院实验动物中心提供),随机分为实验组、高血压组、高血流量组、正常对照组,每组35只。各组术前禁食1夜,均采用腹腔注射10%水合氯醛(0.03 ml/kg)麻醉,术后1周用1%的盐水代替饮用水,继续饲养至24周处死。实验组:分别取颈部正中和腹正中纵行切口,在显微镜下分离结扎左颈总动脉和钝性分离电凝两侧肾动脉后支;高血压组:选腹正中纵行切口显微镜下分离电凝两侧肾动脉后支;高血流量组:取颈部正中切口,在显微镜下分离结扎左颈总动脉;正常对照组:不加任何处置,饮用自来水。第24周各组大鼠在腹腔注射10%水合氯醛(0.03 ml/kg)全麻下,快速开胸并将导管从左心室插入升主动脉,先用30 ml生理盐水经导管快速灌注,同时剪开腔静脉排放血液,灌注4%多聚甲醛(甲醛磷酸盐缓冲液)120 ml处死,在手术显微镜下仔细解剖出大鼠的颅底血管,分离颅底

[基金项目] 辽宁省自然科学基金资助项目(20052103)

[作者简介] 关俊宏(1962-),男,副教授,博士。

E-mail: guanjh@cmu2h.com

动脉环及其主要分支标本。

1.2 血压测量

所有大鼠在动脉瘤诱导前、饲养中及处死前的血压用鼠尾测压仪测量大鼠的尾动脉压。使用 SBP-1 型大鼠心率血压仪（中日友好医院临床医学研究所）经大鼠的尾动脉测量动脉收缩压，每只鼠每次测前在恒温加热箱内放置 2~5 min，以防外界温度对血压的影响，测 3 次，取平均值。术前 1d 测血压作基础血压，分别在手术后 2 周、6 周、12 周、18 周及处死前测量血压。

1.3 标本处理

将标本浸泡在 2.5% 的戊二醛固定液（4 ℃）中 24 h，取未结扎侧（右侧）大脑前动脉-嗅动脉（ACA-OA）分叉处进行电镜常规脱水，锇酸固定，Epon 812 包埋。半薄切片光学定位，70 nm 超薄切片，醋酸铀及枸橼酸铅双重染色，光镜观察；超薄切片用 JEM-1200EX 型透射电镜观察，拍片。

1.4 光镜观察

依据 KONDO^[3] 对大鼠动脉瘤分类标准分为 3 类：Ⅰ：动脉瘤前期，仅有内弹力板的断裂而无动脉壁的膨出；Ⅱ：早期动脉瘤，动脉壁向外膨出，但膨出的高度小于动脉瘤颈远心和近心端之间距离的 1/2；Ⅲ：进展性动脉瘤，膨出的高度大于动脉瘤颈远心和近心端之间距离的 1/2。

1.5 电镜观察

电镜下的动脉瘤也分为 3 类：动脉瘤前改变表现为血管壁内皮细胞间隙增宽，表面不光滑，内皮细胞与基底膜间隙增宽，部分内弹力膜断裂，平滑肌细胞排列较整齐。早期动脉瘤改变表现为内皮细胞部分脱落至完全消失。内弹力膜断裂或消失。平滑肌细胞大小不一、排列紊乱、可见变性坏死的平滑肌细胞，细胞间为结缔组织充填，血管壁变薄。进展性动脉瘤表现为内皮细胞消失，平滑肌细胞仅存留一层或消失，动脉壁由疏松结缔组织构成，管壁很薄。

1.6 统计分析

用 SPSS 10.0 作各组不同时间点收缩压的 *t* 检验，实验组和高血压组与正常对照组相比 *P* < 0.01 时，差异有显著性意义。

2 结果

2.1 生存情况

除实验组和高血压组分别有 2 只大鼠不明原因死亡，其他各组鼠均存活至处死。手术干预各组切口均甲级愈合。

2.2 血压变化

实验组和高血压组自第 2 周起比高流量组和正常对照组血压显著升高，以后血压稳步上升。高流量组和对照组血压则保持在正常范围（表 1）。

表 1 各组实验大鼠各时间点血压比较 ($\bar{x} \pm s, \text{mmHg}$)

Tab.1 The blood pressure comparison among the experiment groups ($\bar{x} \pm s, \text{mmHg}$)

分组	<i>n</i>	术前	术后 2 周	术后 6 周	术后 10 周	术后 18 周	术后 24 周
实验组	33	102.58 ± 8.46	146.37 ± 11.15 ¹⁾	165.64 ± 10.74 ¹⁾	195.19 ± 9.84 ¹⁾	199.47 ± 12.42 ¹⁾	197.31 ± 10.51 ¹⁾
高血压组	33	100.19 ± 9.38	142.34 ± 10.91 ¹⁾	168.20 ± 8.32 ¹⁾	190.27 ± 12.36 ¹⁾	198.29 ± 10.46 ¹⁾	193.48 ± 9.83 ¹⁾
高流量组	35	102.42 ± 9.36	120.14 ± 8.23	119.27 ± 7.52	115.25 ± 9.468	122.37 ± 11.34	119.36 ± 9.49
对照组	35	100.45 ± 10.58	114.52 ± 7.27	118.31 ± 11.06	118.31 ± 11.06	126.63 ± 10.19	119.36 ± 9.49

注：1)与对照组相比 *P* < 0.01

2.3 光镜观察

实验组 33 只大鼠显微镜下共出现 13 个动脉瘤，均在 ACA-OA 分叉处。动脉瘤前期 8 例，早期动脉瘤 4 例，进展期脑动脉瘤 1 例，余 20 例和高血压组，高流量组及正常对照组在动脉分叉处及主干上均未见动脉瘤样结构改变。脑动脉瘤前期表现为 ACA-OA 分叉处血管壁内皮细胞消失，内弹力膜分层及分叉部远心端出现内弹力板断裂，管壁轻度变薄但无明显的管壁外突；早期动脉瘤内膜垫消失，内弹力板断裂或消失，血管壁扩张，中膜平滑肌层变薄，且出现平滑肌层排列紊乱和形态扭曲，动脉壁外突明显（图 1）。进展性动脉瘤改变表现为血管壁内

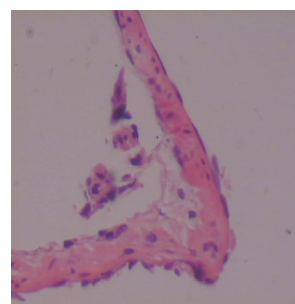


图 1 实验组早期动脉瘤 光镜 × 400

Fig.1 Observation of earlier period of aneurysm in treated group LM × 400

皮细胞肥大或萎缩、脱落；内弹力膜分层、变细、在动脉瘤入口处部分或完全中断消失，动脉瘤入口处动

脉内膜增厚;平滑肌细胞大小不一,排列紊乱,数目减少,可见空泡化及变性坏死的平滑肌细胞,外膜在瘤颈处可见增厚(图2)。

2.4 电镜观察

正常的 ACA-OA 分叉处脑动脉壁由内皮细胞、内弹力膜、紧密排列的 3~4 层平滑肌细胞和外膜构成(图3),与光镜观察一致。实验组在 ACA 和 OA 分支的主干上可见内皮细胞部分脱落,内弹力膜断裂,平滑肌细胞排列紊乱,可见变性坏死的平滑肌细胞(图4);内皮细胞消失,平滑肌细胞间为结缔组织充填(图5)。

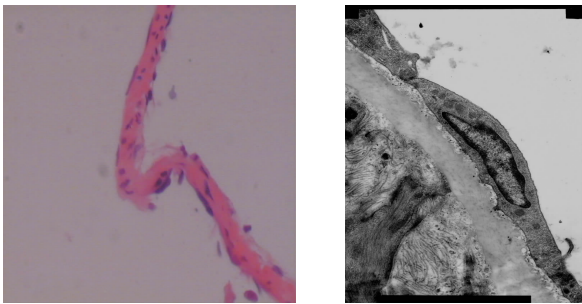


图2 实验组进展性动脉瘤光镜×400

Fig.2 Observation of advanced aneurysm in treated group LM×400

图3 对照组 ACA-OA 分叉部 电镜×10 000

Fig.3 Observation of the junction of ACA-OA in control group EM×10 000

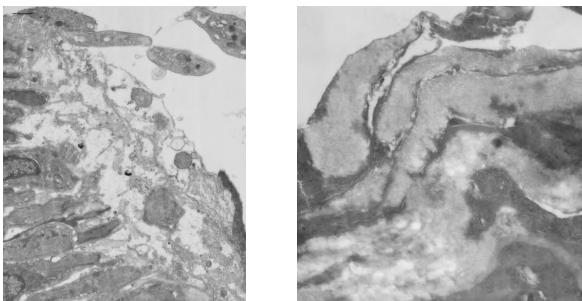


图4 实验组早期动脉瘤 电镜×10 000

Fig.4 Observation of earlier period of aneurysm in experimental group EM×10 000

图5 实验组进展性动脉瘤 电镜×10 000

Fig.5 Observation of advanced aneurysm in experimental group EM×10 000

3 讨论

颅内动脉瘤破裂常表现为自发性蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH)和颅内血肿,致残率和死亡率很高^[4]。因此探讨动脉瘤的病理形态、演变过程对临床治疗具有重要意义。大鼠脑动脉瘤模型则具有经济、动脉瘤通畅率高(由于动脉搏动

快,发生血栓可能性小),血管不易痉挛等优点,而且较符合人类脑动脉瘤的病理生理改变。

实验性大鼠脑动脉瘤模型的建立,能否形成高血压是关键,对于肾性高血压模型建立方法较多,近年有学者经背双侧切口手术入路行大鼠双侧肾动脉后支结扎建立高血压模型^[5],取得良好效果。本组实验采用经典开腹电凝大鼠双肾动脉后支引起肾性高血压的方法,我们在制作过程中体会到:(1)经腹电凝双肾动脉后支在手术操作中可以同结扎颈总动脉选用同一位(仰卧位固定),避免了术中变换体位而增加感染的机会。(2)术前禁食1夜可以避免手术中肠管膨胀,更好的显露肾动脉,同时减少术中牵拉损伤引起术后肠梗阻的发生,我们在术中同时运用小纱布块推挡肠管也取得较好效果。(3)关腹前用温生理盐水冲洗腹腔可以避免残存血引发术后肠梗阻,还可以补充术中丢失的腹腔液。(4)预防切口感染一直是实验大鼠存活的关键,我们在实验中选用3-0丝线全层连续缝合腹直肌,间断结节缝皮。术后7d切口均甲级愈合,无一例感染。(5)本实验组和高血压组大鼠除各有2只死亡(不排除恶性高血压死亡),余66只大鼠高血压达100%。

大鼠肾性高血压导致脑动脉瘤的发生率在10%~30%之间。本组脑动脉瘤样改变的发生率为39%(13/33),出瘤率较高,分析原因可能与如下因素有关:(1)本实验手术组大鼠切口甲级愈合率100%,死亡率3%(4/140),生存率较高;(2)实验组和高血压组高血压达100%,而且较稳定;(3)本实验延长了喂养时间至24周是增加动脉瘤发生率的主要因素。

本实验只有实验组发生动脉瘤,而高血压组、高血流量组及正常对照组均未诱导发生动脉瘤,实验组动脉瘤发生部位均在颈总动脉非结扎侧动脉 ACA-OA 分叉部,其原因与血流动力学改变和该处动脉壁发生退行性变有关。血液在血管内流动是波动性层流状态,其轴心血流速度快,靠近血管壁血流速度慢,结扎一侧颈总动脉明显改变脑血流的分布情况,增加了对侧的脑灌注,且未结扎侧的 ACA-OA 是侧支循环的主要部位。在巨大的血流冲击下,轴心血流冲击 ACA-OA 分叉部导致局部血管壁内弹力膜破坏、内皮细胞受损、血管弹力组织和平滑肌层及动脉瘤壁中的胶原受损,致使动脉瘤形成。本实验病理观察到内皮细胞脱落、消失,内弹力膜分层,中膜平滑肌细胞大小不一,排列不整齐,坏死、消失,

(下转第 667 页)