

颅内动脉瘤动物模型的制作

姬斌 姜晓丹 段传志

【关键词】 颅内动脉瘤; 动物模型

【中图分类号】 R739.41 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-8925(2009)08-0862-03

Production of Intracranial aneurysms animal model Ji Bin, JIANG Xiao-dan, DUAN Chuan-zhi. Neurosurgery Institute, Key Laboratory on Brain function Repair and Regeneration of Guangdong Province, Department of Neurosurgery, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, China

Corresponding author: JIANG Xiao-dan, Email: jiangxiao_dan@163.com

【Key words】 Intracranial aneurysm; Models, animal

颅内动脉瘤是最常见的脑血管病之一,发病率仅次于脑血栓形成和高血压性脑出血。动脉瘤破裂每年发病率约 10/10 万人,而未破裂动脉瘤由于多数无症状,发病率难以准确计算,根据尸检及影像检查结果估算为 0.2%~8.9%^[1,2]。因此,探讨颅内动脉瘤的组织病理学与病理生理学改变、动脉瘤的演变过程和破裂机制对预防颅内动脉瘤破裂和临床治疗具有极其重要的意义,而这些研究在一定程度上均依赖于建立稳定可靠的颅内动脉瘤模型。理想的动物颅内动脉瘤模型应该具备以下特点:(1)在与人类颅内动脉形态结构相似的基础上,动脉瘤的病因学、组织病理结构和血流动力学亦与人的动脉瘤相同或相似;(2)动脉瘤结构稳定、大小和形状可控制、可重复性好;(3)制作周期短、制作方便快捷、费用较低;(4)具有一定的体积和强度,便于实验观察和操作。近年来,依托所建立的动物颅内动脉瘤模型进行基础与临床研究的报道逐渐增多^[3,4],本文就制作颅内动脉瘤模型的实验动物选择和颅内动脉瘤模型建立方法的研究进展予以综述。

一、实验动物的选择

大鼠、兔、狗、猪和猴等动物是常见的实验动物,这些动物椎动脉系统发达,在制作动脉瘤模型时不会因颈动脉阻断而发生脑缺血性坏死。大鼠价格便宜,容易获取,容易暴露颈总动脉,动脉瘤模型通畅率高,瘤内血流动力性好,但血管直径太小,术后死亡率高,因此主要应用于动脉瘤发病机制和血流动力学方面的研究^[5]。兔的颈总动脉直径和组织学结构与人的大脑中动脉起始段非常相近,血栓形成机制和纤溶系统也与人类非常接近,但耐受力差,麻醉和手术死亡率高^[6]。狗的周围血管较粗大,颈部动脉的直径和血流动力学接近于人类,易于管理,耐受力强,手术死亡率和手术并发症较其他

动物低,但是其具有与人类不同的高凝倾向和很强的纤溶系统,多用于血管内治疗方面的研究^[7]。近来,很多研究人员选用猪进行动脉瘤模型制作,这是由于猪除了具有狗的优点外,其纤溶、凝血系统更接近于人类,缺点是猪的周围血管细小,不易管理,不能耐受较长时间的手术。灵长类动物具有与人类非常相似的生长发育和疾病发生机制、自然史、组织结构、血液动力学、凝血和纤溶系统,用其模型进行实验的结果可信度高,容易管理,手术耐受性较其他动物好,缺点是实验动物不易获得并且费用较高^[8]。

二、颅内动脉瘤的制作方法

(一)外科手术移植法

1. 静脉移植法:German 和 Black^[9]首先在犬的身上用静脉移植法获得侧壁动脉瘤模型,具体方法是:暴露颈外静脉,切取片段,然后暴露双侧颈总动脉,在一侧颈总动脉起始处近端结扎,远端与对侧颈总动脉行端侧吻合,在两侧颈总动脉之间建分叉,在分叉处用静脉片段缝制动脉瘤模型。

此方法经过众多学者的不断完善,目前已成为构建动脉瘤模型较成熟的方法,可通过将游离的静脉段以显微外科手术吻合到载瘤动脉的相应部位,从而制作出侧方、顶端、分叉部和梭形动脉瘤模型;也可根据需要,在特定的部位制作形态和大小不同的动脉瘤模型。该方法所需时间短,成功率高,能随意控制动脉瘤模型的大小和瘤颈宽度,适用于血流动力学和血管内治疗等方面的研究。静脉移植法制作的颅内动脉瘤模型不足之处在于:(1)动脉瘤模型缝合处有疤痕形成,易诱发血栓形成;(2)动脉瘤模型瘤壁结构与人类动脉瘤相差很大,人类动脉瘤平均厚度为 51 μm,内弹力层和中膜缺失,而用于静脉移植法的静脉壁平均厚度为 290 μm,具有完整的内弹力板和中膜,难以自发破裂;(3)动脉瘤模型没有真正的瘤颈,亦无自发生长、破裂的趋势。

2. 动脉移植法:国内尹可等^[10]报道了将经弹力酶处理过的兔一侧动脉段移植到对侧颈动脉侧壁建立颅内动脉瘤模型的方法。此动脉瘤模型可以自发生长、自发破裂,在自然发

DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2009.08.029

基金项目:广东省科技计划项目(2006B36001006);广州市科技计划项目(2006J1-C0081)

作者单位:510282 广州,广东神经外科研究所,南方医科大学珠江医院神经外科,广东省脑功能修复与再生重点实验室

展、病理和行为表现上与临床动脉瘤更加相似。此外,这种方法还具有静脉移植法的优点,可以随意塑造动脉瘤模型的形态,同时引出了在动脉瘤形成过程中存在弹力纤维和胶原纤维共同破坏的理论。

(二)动脉局部结构破坏法

动脉内弹力层和中层缺失是人颅内动脉瘤的重要病理特点之一,众多学者都尝试破坏动脉的弹力层和中层,以获得在病理形态上与临床颅内动脉瘤相近的动物模型。1987年,Hartz等^[10]通过CO₂激光动脉切开术破坏颈动脉壁形成了颅内动脉瘤模型,病理检查显示动脉中层坏死、内弹力膜断裂。还有学者用创伤手术及显微外科手术方法破坏动脉结构,从而在血流的冲击下逐渐形成动脉瘤模型。刘兵等^[11]通过显微手术方法直接破坏大鼠颈动脉分叉部位的内膜和内弹力层,成功诱导出颅内囊状动脉瘤模型,并且经过一段时间的血流冲击,动脉瘤模型的长、宽、高均明显增大,在此基础上结扎对侧颈总动脉以增加同侧的血流量,动脉瘤模型在高度上继续增大;HE染色显示动脉壁上没有内膜,仅由中膜和外膜组成,在接近瘤顶部位瘤壁变薄,但仍可分辨出中膜和外膜。此方法在短期内可形成较大的动脉瘤,但是这种动脉瘤并不是真的动脉瘤,而是假性动脉瘤,容易破裂和形成血栓。

(三)酶破坏血管壁法

该方法主要采用弹性蛋白酶破坏血管壁的弹力层,模拟人颅内动脉瘤内弹力层和中层缺失这一重要病理生理学特点而诱发动脉瘤。1996年,Cawley等^[12]用不同浓度猪胰弹性蛋白酶灌注结扎颈外动脉形成袋状血管腔,获得了兔的颅内动脉瘤模型,组织学检查显示弹力层完全消失,无瘢痕形成。Miskolzi等^[13]在体外模型的基础上将浓缩的猪胰蛋白酶用微量注射器分别注射到右侧颈总动脉分叉处和甲状腺动脉起始处,形成了兔的颅内动脉瘤模型,组织切片显示瘤壁较薄,仅由胶原纤维和少量细胞构成。他认为局部酶处理对动脉瘤的形成具有决定性的意义,这种方法模拟了人体内动脉瘤迅速形成的过程。2004年,Sasaki等^[14]用不同浓度的弹性蛋白酶局部损伤雄性日本白兔的颈总动脉,模拟了动脉瘤从产生至破裂的全过程。这种动脉瘤模型的特点是简单易行,在病理上较静脉移植法制作的模型更接近于临床的动脉瘤。但是此法在大型动物的大血管中诱发成功率低,且诱发模型的大小、形状随机性大,动脉瘤诱发到破裂的时间很短。以酶破坏血管壁法制作的动脉瘤既可以用于病因方面的研究,也可用于治疗方面的研究,是目前研究的热点。

(四)病因诱导法

动脉的肌层由一个个平滑肌细胞平行或螺旋行排列而成,具有随动脉压的变化不断调整其管壁张力、支持和保护动脉管径的功能。动脉分叉处平滑肌层结构的异常变化和胚胎分支的不完全退化为动脉瘤产生提供了潜在的场所。另外,颅内动脉管壁较薄,动脉在颅内的行程中迂回、曲折,而脑动脉血流供应的需求量大,致使脑血管所承受的血流冲击比其他部位同口径要大。动脉壁肌层的这些缺陷加上动脉血流的不断冲击,是动脉瘤形成的重要原因。因此,众多学者通过各种改变颅内血流动力学的实验来研究血流动力学改变

与动脉瘤形成之间的关系。Hashimoto等^[15]首先制作了高血压大鼠模型,然后结扎一侧或两侧颈总动脉,并且给予β-氨基丙腈饲养,成功制作出Willis环前、后部的动脉瘤。Kondo等^[17]通过结扎大鼠的左侧颈总动脉和肾性高血压的方法成功诱发了右大脑前动脉和嗅动脉分叉处颅内动脉瘤模型。Morimoto等^[18]通过结扎左侧颈总动脉和双侧肾动脉后支,给予高盐饮食诱导出鼠颅内动脉瘤,显微镜下病理改变为:内弹力层破碎,平滑肌层变薄,外膜退化,与人类囊性动脉瘤病理改变极为相似,从而证实了血流压力所起的作用。这种方法不损伤动脉结构,是血液动力学改变诱发的动脉瘤,病理改变与人动脉瘤相似,证实了血流动力学和血压的改变在动脉瘤的形成中有重要作用。但是此法耗时较长,动脉瘤生长的部位、数量等无法预测,且动脉瘤较小,不能供外科操作。

(五)血管内介入法

近年来,随着血管介入技术的广泛开展,血管内介入技术制作动脉瘤模型得到越来越多的应用。Cloft等^[19]应用球囊阻塞兔左侧颈总动脉和结扎兔颈外动脉,并用导管技术向残腔内注入猪胰弹性蛋白酶等药物,成功获得了颅内动脉瘤模型,病理发现血管壁弹力层破坏;而对照组未给予胰弹性蛋白酶,获得的动脉瘤则非常小,并且在1~3个月内完全闭塞。梁晓东等^[20]运用血管内介入方法用冠状动脉球囊导管扩张右颈总动脉近段,再用可脱球囊于扩张段远端将其栓塞,建立了犬颈总动脉分叉部囊状动脉瘤模型,动脉瘤瘤颈的平均宽度为2.6mm,动脉瘤体/颈比平均为2.2;此动脉瘤模型的长度和宽度在第2天即明显缩小,第3天趋于消失;病理检查结果显示管壁内膜完整,中膜部分破坏,内皮完整。相对于其他方法,血管内介入法制作动脉瘤更为快捷、可靠,形态学近似临床常见的颅内动脉瘤,可重复性好,但是由于手术需要导管和造影设备,因此费用高、技术难度大,限制了该技术的推广。

三、现状与展望

颅内动脉瘤模型的建立对动脉瘤发生机制的研究起着重要作用,也为研究动脉瘤病因和治疗提供了有效的材料与手段。但是目前动脉瘤模型与人类脑动脉瘤形成因素和过程并不完全吻合,至今尚没有一种能够被广泛采用且能满足临床、科研需要的标准化颅内动脉瘤模型。纵观国内外研究现状,血管内介入和弹力酶相结合的方法将成为标准化颅内动脉瘤模型制作研究的发展趋势。

随着分子生物学和细胞生物学的不断发展,还可以从微观角度进一步了解颅内动脉瘤的形成机制,通过基因工程技术建立转基因动物模型。计算机以及生物医学工程技术的发展,则为我们在计算机上模拟动脉瘤发生、发展以及破裂的全过程奠定了基础。

参 考 文 献

- [1] Tomasello F, D'Avella D, Salpietro FM, et al. Asymptomatic aneurysms. Literature meta-analysis and indications for treatment [J]. J Neurosurg Sci, 1998, 42(1): 47-51.
- [2] Rosenom J, Eskesen V, Schmidt K, et al. Unruptured intracranial

aneurysms: an assessment of the annual risk of rupture based on epidemiological and clinical data[J]. Br J Neurosurg, 1988, 2(3): 369-377.

[3] Turk AS, Aagaard-Kienitz B, Niemann D, et al. Natural history of the canine vein pouch aneurysm model [J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2007, 28(3): 531-532.

[4] Yuki L, Lee D, Murayama Y, et al. Thrombus organization and healing in an experimental aneurysm model. Part II. The effect of various types of bioactive bioabsorbable polymeric coils [J]. J Neurosurg, 2007, 107(1): 109-120.

[5] Jamous MA, Nagahiro S, Kitazato KT, et al. Role of estrogen deficiency in the formation and progression of cerebral aneurysms. Part I : experimental study of the effect of oophorectomy in rats [J]. J Neurosurg, 2005, 103(6): 1046-1051.

[6] Spetzger U, Reul J, Weis J, et al. Endovascular coil embolization of microsurgically produced experimental bifurcation aneurysms in rabbits[J]. Surg Neurol, 1998, 49(5): 491-494.

[7] Darsaut T, Bouzeghrane F, Salazkin I, et al. The effects of stenting and endothelial denudation on aneurysm and branch occlusion in experimental aneurysm models [J]. J Vasc Surg, 2007, 45(6): 1228-1235.

[8] Tenjin H, Fushiki S, Nakahara Y, et al. Effect of Guglielmi detachable coils on experimental carotid artery aneurysms in primates[J]. Stroke, 1995, 26(11): 2075-2080.

[9] German WJ, Black SP. Experimental production of carotid aneurysms[J]. N Engl J Med, 1954, 250(3): 104-106.

[10] 尹可, 丁艳玲, 吴中学, 等. 弹力酶诱发动脉瘤模型[J]. 中国医学科学院学报, 2001, 23(5): 435-438.

[11] Hartz RS, McCarthy WJ, LoCicero J 3rd, et al. Arterial aneurysm model using laser energy[J]. J Surg Res, 1987, 43(2): 109-113.

[12] 刘兵, 高永中, 浦佩玉. 大鼠实验性囊状动脉瘤生长塑形模型的建立[J]. 中国临床神经外科杂志, 2004, 9(6): 444-446.

[13] Cawley CM, Dawson RC, Shengelaia G, et al. Arterial saccular aneurysm model in the rabbit[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 1996, 17(9): 1761-1766.

[14] Miskolczi L, Guterman LR, Flaherty JD, et al. Saccular aneurysm induction by elastase digestion of the arterial wall: a new animal model[J]. Neurosurgery, 1998, 43(3): 595-600.

[15] Sasaki K, Ujiie H, Higa T, et al. Rabbit aneurysm model mediated by the application of elastase[J]. Neurol Med Chir (Tokyo), 2004, 44(9): 473-474.

[16] Hashimoto N, Handa H, Nagata I, et al. Experimentally induced cerebral aneurysms in rats: Part V. Relation of hemodynamic in the circle of Willis to formation of aneurysms[J]. Surg Neurol, 1980, 13(1): 41-45.

[17] Kondo S, Hashimoto N, Kikuchi H, et al. Apoptosis of medial smooth muscle cells in development of saccular cerebral aneurysms in rats[J]. Stroke, 1998, 29(1): 181-188.

[18] Morimoto M, Miyamoto S, Mizoguchi A, et al. Mouse model of cerebral aneurysm: experimental induction by renal hypertension and local hemodynamic changes [J]. Stroke, 2002, 33(7): 1911-1915.

[19] Cloft HJ, Altes TA, Marx WF, et al. Endovascular creation of a vivo bifurcation aneurysm model in rabbits[J]. Radiology, 1999, 213(1): 223-228.

[20] 梁晓东, 刘一之, 倪才方, 等. 介入法制作犬颅内动脉瘤模型[J]. 介入放射学杂志, 2004, 13(5): 444-445

(收稿日期:2009-01-28)

(本文编辑:卢丽玉)



· 通知 ·

中华医学会系列杂志又添新成员
——《中国临床营养》更名为《中华临床营养杂志》

经国家新闻出版总署批准,《中国临床营养杂志》于 2009 年 3 月正式成为中华医学会系列杂志之一,并更名为《中华临床营养杂志》(CN 11-5822/R)。

《中国临床营养杂志》1993 年创刊,是我国临床营养领域的专业学术杂志,为中国科技统计源期刊(中国科技核心期刊)、中国知识资源总库、中国学术期刊综合评价数据库、中国生物医学文献光盘数据库期刊。并被美国化学文摘(CA)、美国《剑桥科学文摘(自然科学)》(CSA Nat Sci)、荷兰医学文摘(EM)数据库等国际著名检索系统收录。

《中华临床营养杂志》除了继续报道肠外肠内营养的基础和临床等研究成果外,将进一步扩大征稿范围,包括各学科相关的临床研究工作及各类基础研究成果等;栏目设有述评、指南、论著、综述、基础研究、病例报告和工作进展等。同时该刊将使用中华医学会杂志社稿件远程管理系统,实现在线投稿、审稿、稿件查询及绩效评价等网络化管理;此外,该刊还将自行创建免费期刊全文发布平台,以更好地为读者和作者服务。欢迎与该刊报道范围相关的基础、临床、流行病、营养、药学、护理等工作者的踊跃投稿。

编辑部地址:北京市东单三条九号《中华临床营养杂志》编辑部 邮编:100730;电话:010-65105897,传真:010-65133074, Email:cjcn1993@imicams.ac.cn,网址:http://www.cjcn.cn