

- an eurysms. Surg Neuro l, 2009, 72(5): 444-450 .
- [17] Xu BN, Wang FY, Liu L, et al . Hemodynamics model of fluid-solid interaction in internal carotid artery aneurysms . Neurosury , 2011, 34(1) : 39-47.
- [18] Rohde S, Lahmann K, Beck J, et al. Fourier analysis of intracranial aneurysms: towards an objective and quantitative evaluation of the shape of aneurysms. Neuroradiology 2005, 47(2) : 121-126.
- [19] Mu SQ, Yang XJ, Zhang Y, et al. Three-dimensional numerical simulation and hemodynamic analysis of intracranial longitypical aneurysms. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2009, 10; 89(5) : 310-313.
- [20] Woowon, Kyehan R. Hemodynamics of Cerebral Aneurysms: Computational Analyses of AneurysmProgress and Treatment. Comput Math Methods Med, 2012, 2: 782-801.
- [21] James G, Joe T. Perfusion systems that minimize vascular volume fraction in engineered tissues. Biomicrofluidics, 2011, 5(2) : 2201-2212.
- [22] Ingebrigtsen T, Morgan MK, Faulder K, et al . Bifurcation geometry and the presence of cerebral aneurysms. J Neurosurg, 2004, 101(1) : 108-113 .

动脉瘤模型的研究现状

周加浩 综述 方兴根 徐善水 审校

皖南医学院附属弋矶山医院神经外科,安徽省芜湖市 241001

摘要:为了探讨动脉瘤的病因以及研究新的栓塞材料,必须建立可靠的动脉瘤模型。动脉瘤模型的建立方法很多,有病因诱导法、血管移植法、动脉局部结构破坏法、弹性蛋白酶诱导法等。除了传统的梭形和囊形,近年亦出现了巨大、复杂以及分叉部的动脉瘤模型,且在形态、血流动力学以及组织学特征上更趋于人类自然发生的动脉瘤。本文回顾各种动脉瘤模型的建立方法,并阐明各种模型的优缺点及应用进展。

关键词:动脉瘤;模型;动物

颅内动脉瘤是颅内动脉管腔局部的异常扩张,颅内动脉瘤破裂是自发性蛛网膜下腔出血最主要的原因,致死率和致残率高^[1],其破裂出血的发病率在脑血管疾病中占第三位,仅次于脑血栓形成和高血压脑出血。由于组织标本采取困难,颅内动脉瘤的基因研究受到限制,其发生的病理生理机制仍不是很明确。因此,建立可靠的动脉瘤模型对于研究颅内动脉瘤病因、病理生理以及治疗都具有重要意义。现就近年来动脉瘤模型的研究进展做一综述。

1 病因诱导法

早在1972年Ferguson^[2]通过实验研究提出血流动力学所产生的搏动力、压力和切应力导致动脉内弹力层退行性变是颅内动脉瘤产生的主要原因。2010年,Metaxa等^[3]结扎兔双侧颈总动脉,结果显示所有基底动脉顶端分叉部内弹力膜均缺失,认为基底动脉顶端破坏性改变的程度与血流动力学损

伤的强度有关。在此研究的基础上,Kolega等^[4]在第2天和第5天取下基底动脉末端组织行免疫组织化学和定量PCR检测,发现血流增加后的第2天,受高管壁切应力和压力梯度的基底动脉顶端分叉处内弹力层缺失,并且证实内弹力层缺失与局部细胞凋亡和MMP-2及MMP-9的高表达有关。另外,有少量的炎症细胞散在分布于分叉部的血管外膜,而不是集中于内弹力层缺失和基质金属蛋白酶表达的部位。从而认为在高血流动力学作用下,动脉管壁发生的破坏性重塑来源于内在的血管壁细胞,而不是因为炎症细胞浸润。

这一方法制作的模型不损伤动脉结构,是血流动力学改变诱发的“真正”的动脉瘤模型,证实高血流动力学、高血压、代谢在动脉瘤形成过程中起着重要作用。但是,此类模型也存在很多不足,动脉瘤出现的位置和频率存在不确定性,大小、外形

收稿日期:2012-09-10;修回日期:2012-10-22

作者简介:周加浩(1987-),男,在读硕士研究生,主要从事脑血管病的基础与临床研究。

通讯作者:徐善水(1966-),男,主任医师,副教授,硕士生导师,主要从事脑血管病的基础与临床研究。

不固定,形成时间较长且显著改变动物生理状况,死亡率较高,另外由于载瘤动脉和动脉瘤较小,无法应用于栓塞材料的研究。

2 血管移植法

2.1 静脉移植法

自1954年 German 和 Black 最先利用静脉移植法成功创建动脉瘤模型以来,随着显微外科技术的发展,静脉移植建立动脉瘤模型已成为比较成熟的动脉瘤构建方法。该种建模方法不仅可以随意制成不同大小和形状的动脉瘤,而且成本低廉、所需时间短、成型后通畅率高。但此种模型在组织结构上具有完整的内弹力层和中膜,难以自发生长和破裂^[5]。另外,建模需要娴熟的显微外科技术,且瘤颈吻合口缝线手术创伤,易导致瘢痕形成和动脉瘤闭塞。

2007年, Turk 等^[6] 回顾性研究了6年间在30只犬身上用显微缝合建立的326个静脉袋动脉瘤模型,其中侧壁动脉瘤102个,9个自行闭塞,分叉部动脉瘤224个,1个自行闭塞,无动脉瘤破裂。2011年, Olabe 等^[7] 在家猪身上利用两条动脉和一条静脉建立分叉部动脉瘤模型,之后用微量移液管向瘤顶部滴加稀硫酸增加动脉瘤的脆性,并在其周围滴上胶水模仿蛛网膜连接纤维的解剖环境。这种分叉部动脉瘤模型给神经外科和介入医师带来一个新的培训体系。

近年来,有学者^[8] 成功建立犬分叉部巨大静脉袋动脉瘤模型,最大直径超过20 mm。亦有学者成功建立了复杂双小叶、复杂双囊、宽颈静脉袋动脉瘤模型^[9],并且死亡率低,短期通畅率高,体积大,为新的栓塞材料的研究提供广阔的前景。

2.2 动脉移植法

2007年, Yang 等^[10] 游离并切取兔右颈总动脉的一段,在体外经弹力酶和胶原酶消化后,制成动脉袋嫁接于由左颈总动脉与剩下的右颈总动脉吻合建立的动脉弓形结构上,从而成功建立分叉部的“动脉袋”动脉瘤模型。这类模型具有自发生长和破裂的趋势,在形态学和病理学方面与临床动脉瘤相似,但仍不能避免显微缝合所引起的血管损伤。最近亦有学者通过显微手术成功地将大鼠的颈动脉节段移植到腹主动脉分叉部建立纯动脉结构的动脉瘤模型^[11]。

3 动脉局部结构破坏法

上世纪80年代就有学者通过CO₂激光破坏颈动脉壁形成动脉瘤模型,病理检查显示动脉中层坏

死、内弹力膜断裂。国内亦有学者利用负压装置对兔腹主动脉局部持续施加负压增大跨壁压差使局部发生形变而建立囊状动脉瘤模型^[12],动脉瘤模型的形态及数量均可以控制,不但保持了血管内膜完整性,而且保留了动脉壁的结构,但由于负压装置规格限制,目前还无法制作出颅内动脉瘤模型。Chiou 等^[13] 使用氯化钙对小鼠腹主动脉外膜给药,三周后血管直径增加110%,病理结果显示内膜和中膜有大量炎性细胞浸润。Longo 等^[14] 进一步研究认为血管直径增加与MMP-12表达有关,MMP-12缺乏减缓动脉瘤的增长,可能的机理是抑制了巨噬细胞的增殖。弹性蛋白酶诱导动脉瘤模型实际上也是损伤动脉局部结构,将在下面做进一步的论述。

4 弹性蛋白酶诱导法

自1990年 Anidjar 等通过动脉内使用弹性蛋白酶成功建立大鼠腹主动脉梭形动脉瘤以来,弹性蛋白酶诱导动脉瘤模型的建立受到了广大学者的青睐,应用越来越广泛,方法也越来越多。

4.1 弹性蛋白酶滴注动脉壁

1998年, Miskolczi 等首次报道兔颈总动脉外膜滴注弹性蛋白酶后,短时间内可诱发动脉瘤,且病理改变与人颅内动脉瘤基本相似。Miskolczi 等^[15] 通过手术暴露猪甲状腺上动脉分叉部和颈总动脉分叉部后,经外膜注射胰弹性蛋白酶破坏动脉壁中层结构诱发动脉瘤,病理学发现动脉壁仅由胶原纤维和一些细胞组成。这一方法诱发动脉瘤模型方法简单,所需时间短,不需要复杂的显微外科技术,瘤颈部无吻合口,且病理学改变与人颅内动脉瘤相似。但由于酶的消化,可能导致整个动脉瘤壁长期处于炎症的修复过程。

2010年, Hoh 等用弹性蛋白酶浸泡免疫荧光小鼠的颈总动脉建立囊状动脉瘤模型,并对动脉瘤病理生理进行了进一步研究^[16]。结果表明:动脉瘤壁内弹力膜缺失,具有自发生长的趋势,动脉瘤位置均可见骨髓分化细胞的募集反应,且MMP-9高表达。此方法可用于动脉瘤病理生理学研究,但也有它的不足之处,不清楚在自然发生的人颅内动脉瘤中弹性蛋白酶有没有起作用,另外模型是建立在颅外的颈总动脉,并不是真正的颅内动脉瘤。

4.2 弹性蛋白酶结合血管内介入技术

近年来,应用血管内介入技术制作动脉瘤模型越来越多,具体的方法包括:球囊阻塞、扩张术和血管内层结构损伤技术。血管内介入法与弹性蛋

白酶结合应用可获得更好的结果,1996年,Cawley等最先在实验中结扎兔颈外动脉,并通过导管技术超选于颈外动脉残腔注入胰弹性蛋白酶,孵化45 min后诱导出颈动脉囊性动脉瘤。Ding等^[17]于2006年对这一方法进行了改进,首先充分暴露兔右颈总动脉并向下分离至锁骨下动脉和头臂干,结扎右颈总动脉远端,近端剪开动脉侧壁,5F血管鞘逆行插入右颈总动脉,通过血管鞘注入造影剂显示颈总动脉开口,3F的Fogarty球囊微导管通过血管鞘到达右颈总动脉与锁骨下动脉连接处,整个球囊位于锁骨下动脉和头臂干,用造影剂充盈球囊,通过血管鞘向右颈总动脉残腔内注入弹性蛋白酶消化血管壁20 min后,撤除球囊和鞘管,鞘管穿刺处血管结扎。该方法操作简单,不需要股动脉穿刺,可用于研究分叉部动脉瘤的病理变化和新的血管内治疗装置。2010年,他们对用该方法建立的动脉瘤进行了长达5年的随访^[18]。12个动脉瘤中,11个动脉瘤随访5年仍保持完全开放,1个窄颈动脉瘤在随访2年和5年时有部分血栓形成。同一年,他们对不同长宽比的该动脉瘤模型进行了基因学分析认为在高长宽比动脉瘤中,骨桥蛋白、组织蛋白酶L、纤维连接蛋白、CD14、钙磷脂结合蛋白I等表达上调,而肌球蛋白、CD34等表达降低^[19]。Zeng对该模型的血流动力学和几何学特征进行了研究认为与人类颅内动脉瘤相似^[20]。

除了在右颈总动脉建立动脉瘤模型,Ding等^[21]以同样的方法在兔左颈总动脉建立了分叉部动脉瘤。术后3周行血管造影发现建立的13个动脉瘤都保持通畅,其中10个动脉瘤起源于头臂干和主动脉弓分叉部,呈分叉部动脉瘤形态改变,2个起源于头臂干,1个起源于主动脉弓,形成侧壁动脉瘤。

该模型长期通畅率高、不需要复杂的显微外科手术操作,但建立的动脉瘤局限于特定部位,另手术中需要导管和造影设备,费用高,很难在国内广泛推广。

4.3 弹性蛋白酶结合显微外科技术

4.4 弹性蛋白酶结合动脉瘤夹

2004年,Hoh等利用动脉瘤夹临时夹闭兔右颈总动脉起始部,然后残腔内注入弹性蛋白酶诱导动脉瘤^[22]。具体步骤为:暴露右颈总动脉、右锁骨下动脉和头臂干,丝线结扎右颈总动脉远端,近端起始部用临时动脉瘤夹夹闭,静脉套管针自远端向近端逆行插入,残腔内注入100单位猪胰弹性蛋白酶消化20 min,松开临时动脉瘤夹,逐层缝合肌肉和

皮肤。该方法较以往的方法简单,可重复性好,并且其血流动力学和组织学特性与人动脉瘤相似。其缺点在于分离血管时对动物损伤较大,而且使用的临时动脉瘤夹占用空间较大,操作不方便。

考虑到这些缺点,Wang等^[23]在此基础上做了进一步研究认为弹性蛋白酶和临时动脉瘤夹的位置对该模型的成功建立至关重要,并提出了改良的建模方法。第一,用临时弧形动脉瘤夹代替前面的直动脉瘤夹,占用空间小,操作方便。第二,部分分离右锁骨下动脉而不处理头臂干,对动物损伤小。第三,弧形动脉瘤夹内侧缘位于右颈总动脉和右锁骨下动脉连接部以下,且装有弹性蛋白酶的套管针头尽量靠近动脉瘤夹,以保证瘤颈部充分消化。此方法操作简单,能诱导出宽颈动脉瘤,远期通畅率高,且病理改变与人颅内动脉瘤相似,已成为被大部分实验中心所采用的建模方法。

5 综合方法

近年来,有学者将弹性蛋白酶结合高血压,即往高血压大鼠的蛛网膜下腔注射弹性蛋白酶诱发颅内动脉瘤^[24,25]。该模型体现了人类颅内动脉瘤的高血压和弹力层退化两个临床特征。模型中的高血压是通过持续静脉点滴血管紧张素II诱导,单独使用血管紧张素II或弹性蛋白酶并不能诱发动脉瘤,这说明弹性蛋白酶和高血压的协同作用对这种模型的成功建立是必需的。这一方法可用来建立大型颅内动脉瘤,周期短,可重复,组织学改变与人类颅内动脉瘤很相似,可用于颅内动脉瘤的病理生理学研究,但由于需要向脑脊液腔注射弹性蛋白酶,针尖需精确定位,因此需要很高的技术操作。

除了弹性蛋白酶诱导动脉瘤模型,2011年,de Oliveira等^[26]使用木瓜蛋白酶成功诱导囊状动脉瘤。然而在形成囊状动脉瘤方面,木瓜蛋白酶是否优于弹性蛋白酶还有待进一步对比研究。

综上所述,现有的各种制作动脉瘤模型的方法均有其优劣之处,只能根据不同的研究目的选择不同的模型。相比较而言,弹性蛋白酶诱导法建立的动脉瘤效果确切,模型较稳定,且在形态、组织病理和生长机制上接近临床上自然发生的动脉瘤,既可用于动脉瘤发生与发展机制的研究,也可用于治疗方面的研究,是目前最常用的动脉瘤模型,然而要建立一个模型在大体形态和组织学特征等各个方面完全模拟人体内自然发生的动脉瘤,还有待进一步研究和完善。

参 考 文 献

- [1] Hop JW, Rinkel GJ, Algra A, et al. Case-fatality rates and functional outcome after subarachnoid hemorrhage : a systematic review. *Stroke*, 1997, 28 (3) : 660-664.
- [2] Ferguson GG. Physical factors in the initiation, growth, and rupture of human intracranial saccular aneurysms. *J Neurosurg*, 1972, 37 (6) : 666-677.
- [3] Metaxa E, Tremmel M, Natarajan SK, et al. Characterization of Critical Hemodynamics Contributing to Aneurysmal Remodeling at the Basilar Terminus in a Rabbit Model. *Stroke*, 2010, 41 (8) : 1774-1782.
- [4] Kolega J, Gao L, Mandellbaum M, et al. Cellular and Molecular Responses of the Basilar Terminus to Hemodynamics during Intracranial Aneurysm Initiation in a Rabbit Model. *J Vasc Res*, 2011, 48 (5) : 429-442.
- [5] Abruzzo T, Shengelaia GG, Dawson RC 3rd, et al. Histologic and morphologic comparison of experimental aneurysms with human intracranial aneurysms. *Am J Neuroradiol*, 1998, 19 (7) : 1309-1314.
- [6] Turk AS, Aagaard-Kienitz B, Niemann D, et al. Natural history of the canine vein pouch aneurysm model. *Am J Neuroradiol*, 2007, 28 (3) : 531-532.
- [7] Olabe J, Olabe J, Roda J. Microsurgical cerebral aneurysm training porcine model. *Neurol India*, 2011, 59 (1) : 78-81.
- [8] Ysuda R, Strother CM, Aagaard-kienitz B, et al. A large and giant bifurcation aneurysm model in canines : proof of feasibility. *Am J Neuroradiol*, 2012, 33 (3) : 507-512.
- [9] Marbacher S, Erhardt S, Schläppi JA, et al. Complex bilobular, bisaccular, and broad-neck microsurgical aneurysm formation in the rabbit bifurcation model for the study of upcoming endovascular techniques. *Am J Neuroradiol*, 2011, 32 (4) : 772-777.
- [10] Yang XJ, Li L, Wu ZX. A novel arterial pouch model of saccular aneurysm by concomitant elastase and collagenase digestion. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2007, 8 (10) : 697-703.
- [11] Mücke T, Hölzle F, Wolff KD, et al. Microsurgically induced pure arterial aneurysm model in rats. *Cent Eur Neurosurg*, 2011, 72 (1) : 38-41.
- [12] 王小燕,张昆亚,刘志成,等.利用力学方法建立囊状动脉瘤动物模型.北京生物医学工程,2008,27(6):632-636.
- [13] Chiou AC, Chiu B, Pearce WH. Murine aortic aneurysm produced by periarterial application of calcium chloride. *J Surg Res*, 2001, 99 (2) : 371-376.
- [14] Longo GM, Buda SJ, Fiotta N, et al. MMP-12 has a role in abdominal aortic aneurysms in mice. *Surgery*, 2005, 137 (4) : 457-462.
- [15] Miskolczi L, Guterman LR, Flaherty JD, et al. Saccular aneurysm induction by elastase digestion of the arterial wall : a new animal model. *Neurosurgery*, 1998, 43 (3) : 595-600.
- [16] Hoh BL, Velat GJ, Wilmer EN, et al. A novel murine elastase saccular aneurysm model for studying bone marrow progenitor-derived cell-mediated processes in aneurysm formation. *Neurosurgery*, 2010, 66 (3) : 544-550; discussion 550.
- [17] Ding YH, Danielson MA, Kadirvel R, et al. Modified technique to create morphologically reproducible elastase-induced aneurysms in rabbits. *Neuroradiology*, 2006, 48 (8) : 528-532.
- [18] Ding Y, Dai D, Kadirvel R, et al. Five-year follow-up in elastase-induced aneurysms in rabbits. *Am J Neuroradiol*, 2010, 31 (7) : 1236-1239.
- [19] Kadirvel R, Ding YH, Dai D, et al. Differential expression of genes in elastase-induced saccular aneurysms with high and low aspect ratios. *Neurosurgery*, 2010, 66 (3) : 578-584.
- [20] Zeng Z, Kallmes DF, Durka MJ, et al. Hemodynamics and anatomy of elastase-induced rabbit aneurysm models : similarity to human cerebral aneurysms? *Am J Neuroradiol*, 2011, 32 (3) : 595-601.
- [21] Ding YH, Kadirvel R, Dai D, et al. Creation of bifurcation-type elastase-induced aneurysms in rabbits. *Am J Neuroradiol*, 2011, Sep 8 [Epub ahead of print] .
- [22] Hoh BL, Rabinov JD, Pryor JC, et al. A modified technique for using elastase to create saccular aneurysms in animals that histologically and hemodynamically resemble aneurysms in human. *Acta Neurochir (Wien)*, 2004, 146 (7) : 705-711.
- [23] Wang K, Huang Q, Hong B, et al. Neck injury is critical to elastase-induced aneurysm model. *Am J Neuroradiol*, 2009, 30 (9) : 1685-1687.
- [24] Nuki Y, Tsou TL, Kurihara C, et al. Elastase-induced intracranial aneurysms in hypertensive mice. *Hypertension*, 2009, 54 (6) : 1337-1344.
- [25] Tada Y, Kanematsu Y, Kanematsu M, et al. A mouse model of intracranial aneurysm : technical considerations, 2011, 111 : 31-35.
- [26] de Oliveira IA, Mendes Pereira Caldas JG, Arailjo Oliveira H, et al. Development of a new experimental model of saccular aneurysm by intra-arterial incubation of papain in rabbits. *Neuroradiology*, 2011, 53 (11) : 875-881.