

. 实验研究 .

血清同型半胱氨酸水平升高促进大鼠
颅内动脉瘤的形成

孙 艳 张巧莲 刘 莉 王会荣 黄生炫

【摘要】 目的 探讨颅内动脉瘤大鼠模型的构建方法及高同型半胱氨酸血症对大鼠颅内动脉瘤形成的影响。**方法** 将 36 只 SD 雌性成年大鼠随机等分为 3 组,即传统模型组、新模型组和对照组,每组 12 只。传统模型组切除双侧卵巢,结扎双侧肾动脉后支和左侧颈总动脉,造模后 1 周喂以含 8%氯化钠饲料;新模型组按同样方法造模后 1 周喂以含 8%氯化钠和 3%的 L-甲硫氨酸的饲料;对照组仅暴露左侧颈总动脉和双肾,饲喂普通饲料。造模前及造模后 1、6 个月,测量血压 1 次;造模后 6 个月,检测血清雌二醇和同型半胱氨酸(Hcy),以及外周血基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)和超氧化物歧化酶(SOD)mRNA 水平;扫描电镜观察颅内动脉瘤形成情况。**结果** 三组大鼠初始血压无统计学差异($P>0.05$);造模 1 个月,传统模型组和新模型组大鼠血压均显著升高($P<0.05$);造模后 6 个月,新模型组大鼠血压显著高于传统模型组($P<0.05$)。造模 6 个月,新模型组大鼠血清 Hcy 水平[(46.87±9.09)mol/L]明显高于传统模型组[(14.32±5.61)mol/L; $P<0.05$]和对照组[(15.29±4.90)mol/L; $P<0.05$]。造模 6 个月,新模型组[(103.16±7.20)pmol/L]和传统模型组[(95.43±8.28)pmol/L]大鼠血清雌二醇水平明显低于对照组[(176.72±11.41)pmol/L; $P<0.05$]。传统模型组和新模型组大鼠外周血 MMP-9、iNOS、SOD mRNA 水平较对照组均明显增高($P<0.05$),而且新模型组明显高于传统模型组($P<0.05$)。新模型组颅内动脉瘤形成率(91.67%)明显高于传统模型组(41.67%; $P<0.05$)。**结论** L-甲硫氨酸喂养大鼠可诱导形成高同型半胱氨酸血症,血清同型半胱氨酸水平升高促进大鼠颅内动脉瘤的形成。

【关键词】 颅内动脉瘤;高同型半胱氨酸血症;动物模型;大鼠

【文章编号】 1009-153X(2024)02-0105-06 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 743.9

Elevated serum homocysteine promotes the formation of intracranial aneurysms in rats

SUN Yan¹, ZHANG Qiao-lian², LIU Li¹, WANG Hui-rong³, HUANG Sheng-xuan⁴. 1. Department of Neurocritical Medicine, Characteristic Medical Center of the PAP, Tianjin 300162, China; 2. Department of Neurology, Characteristic Medical Center of the PAP, Tianjin 300162, China; 3. Department of Neurosurgery, Baoji People's Hospital, Baoji 721000, China; 4. Department of Neurosurgery, Fujian Medical University Affiliated Sanming First Hospital, Sanming 365000, China

【Abstract】 Objective To investigate the method for establishing a rat model of intracranial aneurysm and the effect of hyperhomocysteinemia on the formation of intracranial aneurysms. **Methods** Thirty-six female adult SD rats were randomly divided into 3 groups: traditional model (TM) group, new model (NM) group and control group, with 12 rats in each group. Bilateral ovaries were removed, and the posterior branches of the bilateral renal arteries and the left common carotid artery were ligated in the rats both in TM and NM groups. Then the rats in the TM group were fed with 8% sodium chloride diet for 1 week, and the rats in the NM group were fed with 8% sodium chloride diet with 3% L-methionine for 1 week. The left common carotid artery and both kidneys were exposed and normal diet was fed in rats in the control group. Blood pressures were measured before modeling, and 1 and 6 months after modeling. Serum estradiol and homocysteine (Hcy), and mRNA levels of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), inducible nitric oxide synthase (iNOS), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), and superoxide dismutase (SOD) in the peripheral blood were measured 6 months after modeling. The formation of intracranial aneurysm was observed by scanning electron microscope. **Results** There was no significant difference in the initial blood pressure among three groups ($P>0.05$). Blood pressures in the TM and NM groups were significantly increased 1 month after modeling ($P<0.05$). Blood pressure in the NM group was significantly higher than that in the TM group 6 months

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2024.02.009

基金项目:福建省卫健委科技计划项目(2021GGB022)

作者单位:300162 天津,武警特色医学中心神经重症医学科(孙 艳、刘 莉),神经内科(张巧莲);721000 陕西,宝鸡市人民医院神经外科(王会荣);365000 福建三明,福建医科大学附属三明市第一医院神经外科(黄生炫)

通信作者:王会荣,Email:mr_19@sina.com

after modeling ($P<0.05$). Six months after modeling, the serum Hcy level in the NM group $[(46.87\pm9.09) \text{ mol/L}]$ was significantly higher than those in the TM group $[(14.32\pm5.61) \text{ mol/L}; P<0.05]$ and the control group $[(15.29\pm4.90) \text{ mol/L}; P<0.05]$. Six months after modeling, the serum estradiol levels in the NM group $[(103.16\pm7.20) \text{ pmol/L}]$ and the TM group $[(95.43\pm8.28) \text{ pmol/L}]$ were significantly lower than that $[(176.72\pm11.41) \text{ pmol/L}]$ in the control group ($P<0.05$). The mRNA levels of MMP-9, iNOS, and SOD in the TM and NM groups were significantly higher than that in the control group ($P<0.05$), and the mRNA levels of MMP-9, iNOS, and SOD in the NM group were significantly higher than those in the TM group ($P<0.05$). The intracranial aneurysm formation rate in the NM group (91.67%) was significantly higher than that (41.67%) in the TM group ($P<0.05$). **Conclusions** L-methionine feeding can induce hyperhomocysteinemia in adult SD rats, and the increase of serum homocysteine level promotes the formation of intracranial aneurysm in adult SD rats.

【Key words】 Intracranial aneurysm; Hyperhomocysteinemia; Animal model; Adult SD rats

颅内动脉瘤是颅内动脉血管壁局限性病理性扩张产生的瘤样突起,发病率在0.2%~9%^[1]。颅内动脉瘤病人面临的最大威胁是其破裂引起的蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH)。然而颅内动脉瘤的发病非常隐匿,绝大部分病人在瘤体破裂前几乎毫无症状,一旦破裂引发SAH,就会严重危及病人的生命^[2]。目前,颅内动脉瘤病人的临床治疗包括血管介入栓塞及开颅手术夹闭,因两者均不需要进行组织切除,所以颅内动脉瘤的人体标本,特别是脑血管组织标本极难获取,已成为制约其病因机制研究的瓶颈问题,因此,动物模型的构建便成了破解以上问题的重要手段。

Nagata 等^[3]在 1980 年首次通过结扎大鼠双侧肾动脉后支及单侧颈总动脉,造成肾性高血压并改变颅内血流动力学,成功构建颅内动脉瘤大鼠模型,同时证实高血压和局部血流动力学改变是大鼠颅内动脉瘤模型构建中不可或缺的条件。这一模型被认为是大鼠颅内动脉瘤模型的经典模型,也是各改良模型的基础,但颅内动脉瘤形成率偏低,仅约 30%^[4]。2009 年, Eldawoody 等^[5]在经典模型的基础上,引入双侧卵巢结扎术,以去除雌激素对血管的保护作用,提高了大鼠颅内动脉瘤的形成率,但仍不足 50%。另外,也有学者利用其它动物进行颅内动脉瘤模型的构建,但仅能用于血流动力学和血管内治疗研究^[6]。因此,在大鼠颅内动脉瘤经典模型基础上构建一种发病率更高、更符合人体发病机制的颅内动脉瘤动物模型,对深入开展颅内动脉瘤的病因机制研究具有重要的现实意义。

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是存在于人体内的一种含硫氨基酸。血清 Hcy 浓度过高可形成高同型半胱氨酸血症(hyperhomocysteinemia, HHcy)。近年来的研究发现,HHcy 对颅内动脉瘤的发生和发展可能具有重要的促进作用,特别在高血压人群中,HHcy 病人更容易发生动脉瘤性 SAH^[7],

HHcy 联合血流动力学改变可促进颅内动脉瘤形成^[8]。甲硫氨酸可在大鼠体内通过去甲基化转变为 Hcy,而过量服用甲硫氨酸会导致血清 Hcy 浓度增高,造成大鼠形成 HHcy^[9]。本研究在 Eldawoody 等^[5]改良模型基础上,在大鼠的饮食饲喂中加入甲硫氨酸,诱导 HHcy,提高了大鼠颅内动脉瘤的发生率。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 清洁级雌性 SD 大鼠 36 只,8~10 周龄,体重 250~300 g,购自军事医学科学院实验动物中心,许可证号为 SCXK-(军)2012-0004。在每日 12 h 光照条件下饲养,4 只/笼,供以标准饮食,适应性喂养 1 周,手术前不禁食水。将大鼠按随机数字表法随机等分为 3 组($n=12$),即对照组、传统模型组和新模型组。

1.2 主要试剂 戊巴比妥钠、氯化钠、L-甲硫氨酸、多聚甲醛、肝素钠购自北京索莱宝科技有限公司,总 RNA 小量提取试剂盒购自北京安赞诺生物科技有限公司,cDNA 试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司,实时荧光定量 PCR 试剂盒购自北京康为世纪生物科技有限公司,Batson's#17 组织结构侵蚀试剂盒购自东莞市汉诺生物技术有限公司。

1.3 大鼠模型的构建 腹腔注射 1%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉大鼠,必要时增加麻醉用药量。传统模型组与新模型组进行以下操作:①结扎左侧颈总动脉;②背部入路切除双侧卵巢;③结扎双侧肾动脉后支。对照组仅暴露左侧颈总动脉和双侧肾动脉。术后康复性饲养,若术后 3 d 内出现不进食现象或死亡,则进行相应增补。常规饮食康复性饲养 1 周后,传统模型组喂以含 8%氯化钠饲料,新模型组喂以同时含 8%氯化钠和 3% L-甲硫氨酸的饲料,对照组饲喂普通饲料。

1.4 大鼠血压的测定 造模前及造模后 1、6 个月,采用无创鼠尾压测量仪测定大鼠清醒状态下尾动脉收

缩压,每个时间节点连续测量 3 d,每天测量 1 次。采集第 3 次测量的数据作为大鼠尾动脉收缩压值,目的是使大鼠适应血压测量环境,避免因挣扎导致的血压波动。

1.5 血液标本的采集 造模后 6 个月,应用乙醚气体麻醉大鼠,剪除大鼠一侧胡须,将直径为 0.9 mm 毛细玻璃管截断长约 1.2 cm 长度,将毛细玻璃管浸润 1%肝素钠后,经外眦旋转刺入大鼠眼眶后上方,促凝管和 EDTA 抗凝管各接取 1 ml 血液。促凝管血液由本院检验科检测雌二醇和 Hcy 浓度,抗凝管血样用于后续 RNA 的提取。

1.6 实时荧光定量 PCR 检测 按照试剂盒说明书提取总 RNA 并反转录成 cDNA,实时荧光定量 PCR 检测基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloprotein-9, MMP-9)、诱导型一氧化氮合酶(inductible nitric oxide synthase, iNOS)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的 mRNA。反应条件均采用两步法:95 ℃、10 min 预变性,95 ℃、15s,60 ℃、1 min;共 40 个循环,随后以 0.3 ℃的梯度升温行融解曲线分析。应用 2^{-ΔΔCt}法计算相对表达量。各引物序列详见表 1。

1.7 电镜检查 使用树脂单体灌注固定,待树脂完全凝固后,将脑取出,仅保留颅底动脉及其附着脑组织,置于饱和氢氧化钾溶液,白天每两小时摇晃一次,每 24 小时更换一次溶液,3 d 可得到完整 Willis 环。扫描电子显微镜下观察:Ⅰ期动脉瘤为血管壁无膨出,仅存在血管内皮损伤;Ⅱ期动脉瘤为动脉壁明显向外膨出,但瘤体最长径小于该处动脉内径的二分之一;Ⅲ期动脉瘤为动脉壁明显向外膨出,且瘤体最长径大于等于该处动脉内径的二分之一。

1.8 统计学分析 应用 SPSS 17.0 软件分析;计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析和 LSD-*t* 检验;计数资料采用 Fisher 确切概率法检验;*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血压的变化 造模前,各组大鼠尾动脉初始收缩压无统计学差异(*P*>0.05);造模 1 个月,传统模型组和新模型组大鼠尾动脉收缩压均显著高于对照组(*P*<0.05),但两个模型组间无明显差异(*P*>0.05);造模后 6 个月,新模型组大鼠尾动脉收缩压进一步升高,明显高于传统模型组(*P*<0.05)。见图 1。

2.2 血清雌激素水平的变化 造模后 6 个月,新模型

组和传统模型组大鼠血清雌二醇明显低于对照组(*P*<0.05),两个模型组之间无明显差异(*P*>0.05)。见图 2。

2.3 血清 Hcy 水平的变化 造模后 6 个月,新模型组大鼠血清 Hcy 浓度明显高于传统模型组和对照组(*P*<0.05)。见图 3。

2.4 外周血 MMP-9、iNOS、SOD mRNA 水平的变化 两个模型组大鼠外周血 MMP-9、iNOS、和 SOD mRNA 水平较对照组均明显增高(*P*<0.05),而且,新模型组增高更加显著(*P*<0.05)。见图 3。

2.5 颅内动脉瘤的形成情况 传统模型组首次造模后死亡 2 只,新模型死亡 1 只,均进行增补。传统模型组 10 处形成颅内动脉瘤,其中Ⅰ期 5 处,Ⅱ期 3 处,Ⅲ期 2 处;5 只大鼠形成组Ⅱ期或Ⅲ期颅内动脉瘤。新模型组 17 处形成颅内动脉瘤,其中Ⅰ期 6 处,Ⅱ期 4 处,Ⅲ期 7 处;11 只大鼠形成组Ⅱ期或Ⅲ期颅内动脉瘤。新模型组颅内动脉瘤形成率(91.67%, 11/12)明显高于传统模型组(41.67%, 5/12; *P*<

表 1 本研究使用的引物序列
Table 1 Primer sequences used in this study

基因		引物序列(5'-3')
MMP-9	上游	ACAACGTCTTTCACCTACCAA
	下游	CAAAAGAGGAGCCTTAGTTC
iNOS	上游	TTCAGGTATGCGGTATTTGG
	下游	GTTGGAAGTGTAGCGTTTCG
MCP-1	上游	CACTCACCTGCTGCTACTCAT
	下游	CTACAGCTTCTTTGGGACACCT
SOD	上游	GGCCAAGGGAGATGTTACAA
	下游	GCTTGATAGCCTCCAGCAAC
GAPDH	上游	TACACTGAGGACCAGGTTG
	下游	CCCTGTTGCTGTAGCCATA

表 2 三组大鼠颅内动脉瘤的数量和部位
Table 2 Number and location of intracranial aneurysms of rats in the three groups

动脉瘤数量和部位	传统模型组	新模型组	对照组
大鼠总数(只)	12	12	12
动脉瘤分期(处)			
Ⅰ期	5	6	
Ⅱ期	3	4	
Ⅲ期	2	7	
动脉瘤部位(处)			
ACA-OA 分叉处	7	14	
ACA	1	2	
ACOMA	2	1	

注:ACA. 大脑前动脉;OA. 眼动脉;ACOMA. 前交通动脉

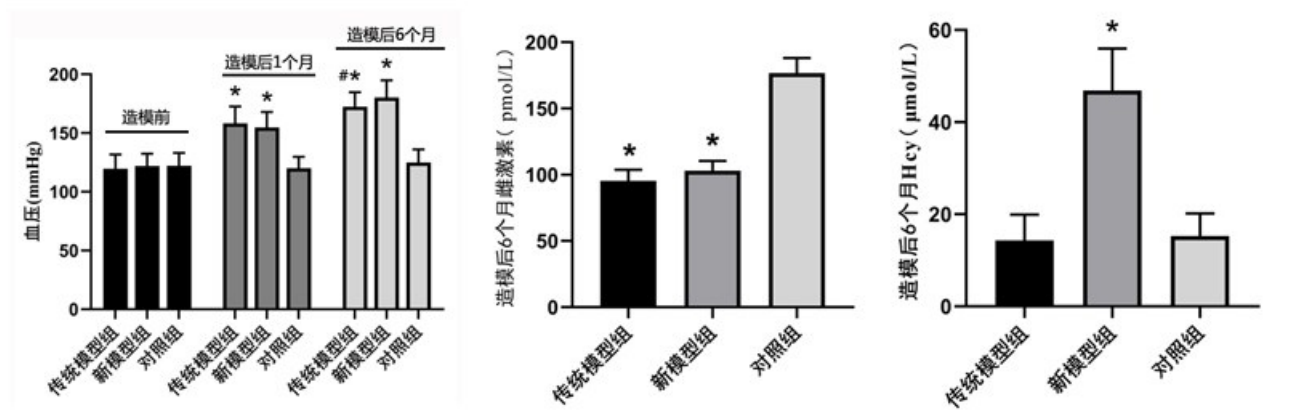


图1 三组大鼠造模前后血压、血清雌激素和Hcy水平的比较
与对照组比较,* $P<0.05$;与传统模型组比较,# $P<0.05$;Hcy. 同型半胱氨酸

Figure 1 Comparison of blood pressures, and serum levels of estrogen and Hcy among three groups

* showing $P<0.05$ vs. control group; # showing $P<0.05$ vs. traditional model group; Hcy indicating homocysteine.

0.05)。见表2、图4。

3 讨论

本实验结果显示,结扎大鼠双侧肾动脉后支联合高盐饮食1个月,大鼠尾动脉收缩压平在150 mmHg以上,显著增高;饮食6个月,大鼠尾动脉收缩压进一步升高,达170 mmHg以上。这可以稳定地构建大鼠肾性高血压模型,这与既往报道^[3,5]一致。同时,结扎单侧颈总动脉可改变颅内血管的血流动力学,使壁面切应力(wall shear stress, WSS)发生改变。一般情况下,维持正常细胞形态的WSS大约2 Pa,而过高的WSS会导致局部血管壁退化、扩张甚至膨胀,进而导致动脉瘤的形成。过低的WSS会导致上皮细胞间隙破坏、抗氧化和抗炎介质调节失常,使得血管壁重塑,甚至细胞变性、凋亡^[10]。本实验发现,两个模型组外周血 iNOS、MMP-9 mRNA 水平均显著升高,表明血流动力学改变已造成了大鼠血管内皮损伤和细胞外基质降解的环境。这两个因素可协同促使大鼠脑血管内物理力学方面的改变,通过一系列化学变化损伤脑血管内皮细胞,破坏血管中膜,从而使动脉壁发生形态学变化^[11]。因此,血压与血流动力学改变应为大鼠颅内动脉瘤模型构建的基础条件。

本研究结果还显示,大鼠血清雌激素水平在双侧卵巢切除后6个月后明显下降,这可有效减弱雌激素对血管的保护作用,并提升颅内动脉瘤的发生率^[5]。同时,临床研究表明,绝经期女性由于雌激素水平显著下降,其颅内动脉瘤的发生率明显提升

^[12]。因此,去雌激素保护既符合人体颅内动脉瘤的病因又可提升颅内动脉瘤模型的造模成功率,应为大鼠颅内动脉瘤模型构建的必要条件之一。

本研究应用含3%甲硫氨酸的饲料,对新模型组

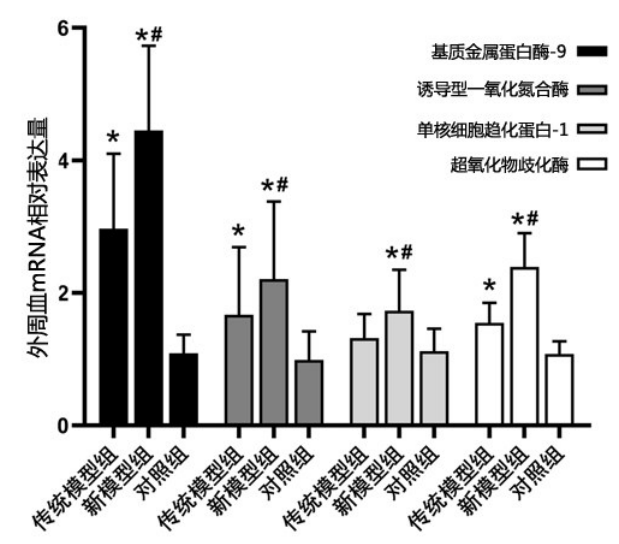


图2 三组大鼠外周血 MMP-9、iNOS、MCP-1、SOD mRNA 表达水平的变化

与对照组比较,* $P<0.05$;与传统模型组比较,# $P<0.05$;MMP-9. 基质金属蛋白酶-9;iNOS. 诱导型一氧化氮合酶;MCP-1. 单核细胞趋化蛋白-1;SOD. 超氧化物歧化酶

Figure 2 Changes in mRNA levels of MMP-9, iNOS, MCP-1, and SOD in peripheral blood of rats in the three groups

* showing $P<0.05$ vs. control group; # showing $P<0.05$ vs. traditional model group; MMP-9 indicating matrix metalloprotein-9; iNOS indicating inducible nitric oxide synthase; MCP-1 indicating monocyte chemoattractant protein 1; SOD indicating superoxide dismutase

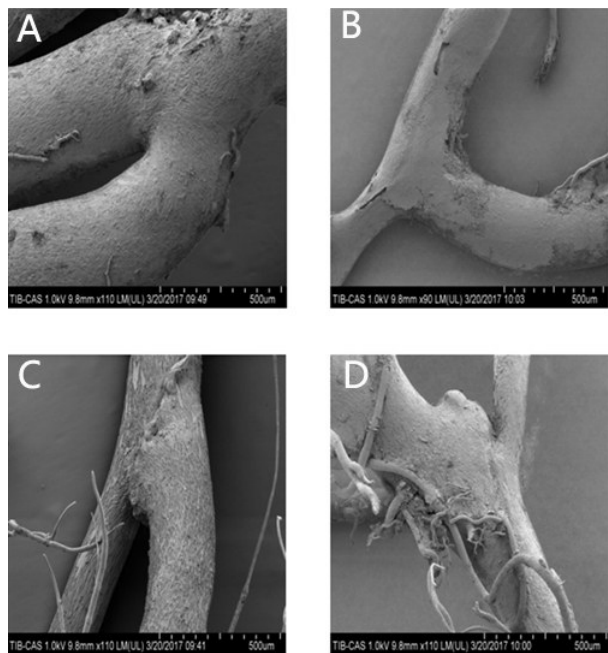


图3 扫描电镜观察大鼠颅内动脉瘤的形态
A. 正常动脉($\times 110$); B. I 期动脉瘤, 分叉处仅存在内皮损伤, 未形成突起($\times 90$); C. II 期动脉瘤, 形成突起, 但瘤体最长径小于血管内径 $1/2(\times 110)$; D. III 期动脉瘤, 形成突起, 且瘤体最长径大于等于血管内径 $1/2(\times 110)$

Figure 3 Morphology of intracranial aneurysms at different stages in rats observed by scanning electron microscope

A: Normal artery ($\times 110$). B: Stage I aneurysm, only endothelial injury exists at the bifurcation, no protrusion is formed ($\times 90$). C: Stage II aneurysm, protrusion is formed, but the longest diameter of the tumor is less than $1/2$ of the inner diameter of the vessel ($\times 110$). D: Stage III aneurysm, protrusion is formed, and the longest diameter of the tumor is greater than or equal to $1/2$ of the inner diameter of the vessel ($\times 110$).

大鼠进行饲喂6个月,血清Hcy水平明显升高,使大鼠形成HHcy,其产生的损害与胱硫醚 β 合成酶缺乏所致的遗传性HHcy相当^[13]。这与Xu等^[8]在模型大鼠饮水中按1 g/kg/day的剂量加入甲硫氨酸饲喂,诱导大鼠HHcy的方法相类似。但甲硫氨酸加入至饮水中会产生较难闻的刺鼻气味,使部分大鼠减少饮水总量加以规避,或造成其Hcy水平波动较大,不利于模型的稳定。将甲硫氨酸加入饲料中做成合成饲料对大鼠进行饲喂,可有效改善这种情况,使大鼠血清Hcy水平更加可控,模型更加稳定。

本实验结果显示,新模型组造模成功率得到显著提升,且III期动脉瘤形成率显著增高。这提示HHcy可促进大鼠颅内动脉瘤的形成。Semmler等^[14]发现Hcy代谢相关基因的多态性与高加索人颅内动

脉瘤的发生相关。另外,Huo等^[17]针对卒中病人进行临床的大样本RCT研究,提示血清Hcy升高可能与颅内动脉瘤密切相关。HHcy促进大鼠颅内动脉瘤形成,可能有以下方面原因:①HHcy导致的病理生理改变与颅内动脉瘤形成和破裂的组织学特征密切相关。Eberhardt等^[15]研究表明轻度升高的Hcy可通过增加活性氧含量并降低iNOS活性,从而促进血管内皮损伤。研究证明,Hcy的升高还可使血管壁MMP2和MMP9的表达增加,促进细胞外基质降解和平滑肌凋亡,这与颅内动脉瘤形成的组织学改变高度吻合。②HHcy可加重血管内炎症反应。本研究新模型组大鼠外周血MCP-1、SOD mRNA水平显著增高。这提示HHcy大鼠机体炎症水平明显升高,氧化应激明显加重。Akalin等^[16]证实Hcy升高导致的机体氧化应激可进一步引起炎症的级联反应。而MMP、肿瘤坏死因子、氧自由基等炎性介质,可通过氧化应激、炎性细胞浸润等途径导致血管内皮细胞的损伤和功能紊乱,损伤的内皮细胞表达粘附分子及各种趋化性细胞因子,可介导单核细胞的粘附、激活,进一步诱导并促进内皮细胞血管重塑和凋亡,最终导致颅内动脉瘤的形成。③HHcy与高血压及血流动力学改变之间具有协同损伤作用。动物实验发现,HHcy与颅内血流动力学改变同时存在时,可促进大鼠颅内动脉瘤的形成。同时,高血压与HHcy同时存在时,二者还可相互促进,增加血管损伤,促进颅内动脉瘤的形成^[15]。

本实验在Eldawoody等^[5]传统颅内动脉瘤大鼠模型构建方法的基础上,通过增加甲硫氨酸饲喂诱导大鼠HHcy,增强各危险因素间的协同与交互作用。从模型制备的操作层面来看,该方法采取双侧背部切口替代传统造模的腹部切口,用以完成大鼠卵巢和双侧肾动脉的结扎。其优势在于能够有效避免切口与垫料之间的接触,进而降低伤口感染的风险。同时该造模方法的各项操作均能够在一次手术中完成,避免了传统模型多次手术的风险。加之饲喂方法的改良,可有效控制模型大鼠甲硫氨酸摄入与血清Hcy水平。这使得该模型造模操作的工作量有所减少,技术难度有所降低,术后大鼠恢复较快,制备方法较为合理。从模型构建的结果来看,与传统模型构建方法相比,HHcy与高血压、血流动力学改变、去雌激素保护等多种因素交互作用可明显提升颅内动脉瘤大鼠模型的造模成功率,明显提升III期颅内动脉瘤的占比。总体来看,该模型稳定可靠,重复性好,且造模方法更加接近人体颅内动脉瘤形成过程,

或可用于颅内动脉瘤病因机制的深入研究。但人体颅内动脉瘤的形成与破裂是一个极其复杂的过程,从现有的研究结果来看,除上述危险因素外,颅内动脉瘤的形成与破裂还与年龄、吸烟、肥胖以及动脉粥样硬化等多种因素密切相关^[17,18],而该模型的造模方法并未涉及,存在其机制研究的局限性。同时,本模型考虑的造模因素均与颅内动脉瘤密切相关,且存在极强的协同与交互作用,但这些协同作用的基础理论尚不够清晰,作用路径仍不够明确,亟待更多的研究加以探讨。

【伦理学声明】:所有动物实验均按照《实验动物-动物福利伦理审查指南》的伦理标准进行。本研究方案于 2021 年 12 月 10 日经中国人民武装警察部队特色医学中心实验动物伦理委员会批准,批号为:动物 2021-0019。

【利益冲突声明】:本文不存在任何利益冲突。

【作者贡献声明】:孙艳、王会荣负责实验设计和实施、收集数据并分析、撰写论文及修改论文;王会荣、黄生炫参与修改论文及最后定稿;张巧莲、刘莉参与收集数据、分析。

【参考文献】

[1] LIU Z, AJIMU K, YALIKUN N, *et al.* Potential therapeutic strategies for intracranial aneurysms targeting aneurysm pathogenesis [J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 1238.

[2] LAWTON MT, VATES GE. Subarachnoid hemorrhage [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(3): 257-266.

[3] NAGATA I, HANDA H, HASHIMOTO N, *et al.* Experimentally induced cerebral aneurysms in rats: Part VI. Hypertension [J]. *Surg Neurol*, 1980, 14(6): 477-479.

[4] 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.

[5] ELDAWOODY H, SHIMIZU H, KIMURA N, *et al.* Simplified experimental cerebral aneurysm model in rats: comprehensive evaluation of induced aneurysms and arterial changes in the circle of Willis [J]. *Brain Res*, 2009, 1300: 159-168.

[6] GAO L, HOI Y, SWARTZ DD, *et al.* Nascent aneurysm formation at the basilar terminus induced by hemodynamics [J]. *Stroke*, 2008, 39

(7): 2085-2090.

[7] HUO Y, LI J, QIN X, *et al.* Efficacy of folic acid therapy in primary prevention of stroke among adults with hypertension in China: the CSPPT randomized clinical trial [J]. *JAMA*, 2015, 313(13): 1325-1335.

[8] XU Y, TIAN Y, WEI HJ, *et al.* Methionine diet-induced hyperhomocysteinemia accelerates cerebral aneurysm formation in rats [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 494(2): 139-144.

[9] MILOVANOVIC P, HRNCIC D, RADOTIC K, *et al.* Moderate hyperhomocysteinemia induced by short-term dietary methionine overload alters bone microarchitecture and collagen features during growth [J]. *Life Sci*, 2017, 191(10): 9-16.

[10] SHIMADA K, FURUKAWA H, WADA K, *et al.* Angiotensin-(1-7) protects against the development of aneurysmal subarachnoid hemorrhage in mice [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35(7): 1163-1168.

[11] PENN DL, WITTE SR, KOMOTAR RJ, *et al.* The role of vascular remodeling and inflammation in the pathogenesis of intracranial aneurysms [J]. *J Clin Neurosci*, 2014, 21(1): 28-32.

[12] VLAK MH, RINKEL GJ, GREEBE P, *et al.* Lifetime risks for aneurysmal subarachnoid haemorrhage: multivariable risk stratification [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2013, 84(6): 619-623.

[13] RASMUSSEN K, MOLLER J. Total homocysteine measurement in clinical practice [J]. *Ann Clin Biochem*, 2000, 37(Pt 5): 627-648.

[14] SEMMLER A, LINNEBANK M, KREX D, *et al.* Polymorphisms of homocysteine metabolism are associated with intracranial aneurysms [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2008, 26(4): 425-429.

[15] EBERHARDT RT, FORGIONE MA, CAP A, *et al.* Endothelial dysfunction in a murine model of mild hyperhomocyst(e)inemia [J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(4): 483-491.

[16] AKALIN A, ALATAS O, COLAK O. Relation of plasma homocysteine levels to atherosclerotic vascular disease and inflammation markers in type 2 diabetic patients [J]. *Eur J Endocrinol*, 2008, 158(1): 47-52.

[17] GU YX, CHEN XC, SONG DL, *et al.* Risk factors for intracranial aneurysm in a Chinese ethnic population [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2006, 119(16): 1359-1364.

[18] TROMP G, WEINSHEIMER S, RONKAINEN A, *et al.* Molecular basis and genetic predisposition to intracranial aneurysm [J]. *Ann Med*, 2014, 46(8): 597-606.

(2023-05-05 收稿, 2023-11-06 修回)