

## • 实验研究 Experimental research •

## 血管结扎结合弹力酶诱导法兔动脉瘤模型的制作

卢 川, 谢谦宇, 刘林祥

**【摘要】 目的** 用血管结扎结合弹力酶诱导法制作形态学更类似于人颅内动脉瘤的兔动脉瘤动物模型。**方法** 分别将 10 只新西兰大白兔用血管结扎结合弹力酶诱导法和 6 只新西兰大白兔用外科缝合法制作出两种兔动脉瘤模型。1 周和 1 个月后分别经股动脉行动脉瘤模型 DSA 检查, 观察动脉瘤的通畅率、形态变化和病理改变。**结果** 两种方法制作出的动脉瘤充盈良好; 1 周后造影显示: 10 个用血管结扎法制作的动脉瘤模型全部通畅; 6 个用外科缝合法制作动脉瘤模型仅见 2 个动脉瘤显影, 4 个动脉瘤均闭塞。1 个月后造影检查显示: 10 个用血管结扎法制作动脉瘤仍保持通畅; 2 个用外科缝合法制作通畅的动脉瘤均闭塞。造模后和其后 1 个月血管结扎法制作的动脉瘤宽径和长径分别是  $(3.70 \pm 0.16)\text{mm}$ 、 $(6.53 \pm 0.65)\text{mm}$  和  $(5.06 \pm 0.31)\text{mm}$ 、 $(9.0 \pm 0.52)\text{mm}$  ( $P < 0.05$ )。病理结果显示: 动脉瘤模型动脉壁内弹力层和中弹力层基本缺失。**结论** 用血管结扎法制作出的动脉瘤模型通畅率高、具有自发生长的特征, 其形态学和人类颅内动脉瘤类似。

**【关键词】** 动脉瘤; 动物模型; 结扎; 弹力酶; 兔

中图分类号: R543.5 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2010)-09-0722-04

**The preparation of aneurysm model in rabbits by vessel ligation and elastase-induced technique** LU Chuan, XIE Qian-yu, LIU Lin-xiang. School of Radiology, Taishan Medical College, Taian 271016, China  
Corresponding author: LU Chuan, E-mail: michaelu89@sina.com.cn

**【Abstract】 Objective** To establish an aneurysm model, which is quite similar to the human intracranial aneurysm in morphology, in rabbits by means of vessel ligation together with elastase-induced technique. **Methods** Sixteen New Zealand white rabbits were used in this study. Distal carotid ligation and intraluminal elastase incubation was employed in ten rabbits (study group) to create aneurysm on the right common carotid artery. And surgical suture of a segment of the left carotid common artery was carried out in six rabbits (used as control group) to establish the aneurysm model. DSA exam of the created aneurysms by using catheterization via femoral artery was performed at one week and at one month after surgery. The patency, morphology and pathology of the aneurysms were observed. The results were statistically analyzed. **Results** The aneurysms in both groups remained patent after they were created. Angiography one week after the surgery showed that all the aneurysms in study group were patent, while in control group only two aneurysms showed opacification with contrast medium and the remaining four aneurysms were all occluded. DSA at one month after the procedure demonstrated that all the aneurysms in study group remained patent, and the previous two patent aneurysms in control group became occluded. The mean width and length of the aneurysmal cavity in study group immediately after the procedure were  $(3.70 \pm 0.16)\text{mm}$  and  $(6.53 \pm 0.65)\text{mm}$  respectively, which enlarged to  $(5.06 \pm 0.31)\text{mm}$  and  $(9.0 \pm 0.52)\text{mm}$  respectively one month after the surgery. The difference in size changes was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Pathologically, almost complete absence of the internal elastic lamina and medial wall elastin of the aneurysms was observed. **Conclusion** The aneurysm model prepared with vessel ligation together with elastase-induced technique carries high patent rate and possesses the feature of spontaneous growing, moreover, its morphology is quite similar to the human intracranial aneurysms. (J Intervent Radiol, 2010, 19: 722-725)

**【Key words】** aneurysm; animal model; ligation; elastase; rabbit

作者单位: 271016 泰安 山东省泰山医学院放射学院(卢 川、刘林祥); 湖南省长沙市第三人民医院介入科(谢谦宇)  
通信作者: 卢 川 E-mail: michaelu89@sina.com.cn

颅内动脉瘤是因脑血管病死亡的主要原因之一。随着治疗颅内动脉瘤新的介入栓塞材料不断研制, 治疗技术不断改进, 建立组织学和血流动力学

真正类似于人脑动脉瘤的可信的动脉瘤实验模型显得十分重要。本研究主要探索制作出近似于人类颅内动脉瘤的动脉瘤模型,并作出一些相关的分析。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物 成年健康新西兰大白兔 16 只,雌雄不限,体重 3.0 ~ 3.5 kg。随机将其分为两组,血管结扎结合弹力酶诱导法 10 只,外科缝合法 6 只。

1.1.2 仪器与设备 常规手术器械、穿刺针及造影导管、西门子 DSA 机等。

### 1.2 方法

1.2.1 血管结扎结合弹力酶诱导法兔动脉瘤模型制作 从兔耳缘静脉建立静脉通道,静滴 2.5%戊巴比妥钠 2.5 ml 全麻。固定兔、备皮消毒,沿兔颈正中线切开兔颈部皮肤,逐层钝性分离皮下各层组织,显露并游离右侧颈总动脉。用动脉夹夹闭右颈总动脉起始端,用 5-0 线在合适位置结扎右侧颈总动脉远端。在颈总动脉远端结扎点前端剪断右侧颈总动脉,形成一颈总动脉残端。用 1 ml 注射器抽取生理盐水冲洗右侧颈总动脉残端,而后用 1 ml 注射器抽取弹力酶溶液(5 u/ $\mu$ l, E1250, Sigma 公司)注入右侧颈总动脉残端,退出注射器,封闭右侧颈总动脉残端,使弹力酶溶液浸泡于该动脉段 20 min,用 1 ml 注射器抽取生理盐水反复冲洗该动脉段后,用 5-0 线距右侧颈总动脉开口约 7 ~ 10 mm 处结扎该动脉段,松开动脉夹,可见一随动脉血搏动的“动脉桩”,此即用血管结扎结合弹力酶诱导法(以下简称结扎法)所制作出来的“动脉瘤”。之后逐层缝合皮下组织及皮肤。

1.2.2 外科缝合法兔动脉瘤模型制作 兔的麻醉和结扎法相同。游离双侧颈总动脉,用 5-0 线在合适位置双重结扎左颈总动脉近端及远端,用动脉夹夹闭右颈总动脉近端及远端。从左颈总动脉结扎段剪出长约 1 cm 之小动脉段,浸泡于弹性蛋白酶溶液(5 u/ $\mu$ l, E1250, Sigma 公司)中约 20 min。显微镜下分离右侧颈总动脉使之表面光滑,用显微剪刀于右颈总动脉纵行切开长约 2 mm 之小口。取出小动脉段,用生理盐水冲洗干净后在显微镜下用 9-0 无创缝合针线将其一端缝合在右侧颈总动脉之切口处。用小夹夹闭小动脉段另一端。取下原夹闭左颈总动脉远端及近端之动脉夹,见右颈总动脉及缝合之小动脉段充盈良好,载瘤动脉通畅。结扎小动脉段末端,此小动脉段即为该实验所要制作的右颈总

动脉侧方动脉瘤。

1.2.3 动脉瘤造影随访 动脉模型建立 1 周后行动脉瘤模型造影。游离兔右侧股动脉,用 4 F 穿刺鞘组的 4 F 穿刺针穿刺股动脉成功后,采用 Seldinger 技术送入 4 F 导管鞘建立血管通道,直接送入 4 F 椎动脉导管插入主动脉弓或头臂干,手推 1 ml 对比剂行 DSA 检查后,拔管及动脉鞘,结扎右侧股动脉,缝合创口,送兔回动物房。动脉瘤模型制作后 1 个月行第 2 次动脉瘤模型造影检查,方法同第一次造影。

实验组兔子行造影后,取 3 只行静脉内推注过量麻醉药处死。将动脉瘤连同载瘤动脉切取,置于 4%甲醛溶液中固定。弹力纤维染色后光镜下观察。

### 1.3 数据的采集和统计学处理

统计学分析应用 SPSS11.0 统计软件,实验数据以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,用配对样本  $t$  检验和卡方检验, $P < 0.05$  差异有统计学意义。 $P < 0.01$  统计学差异非常显著。

## 2 结果

用结扎法制作 10 个动脉瘤模型和用外科缝合法制作 6 个动脉瘤模型,术后均见动脉瘤充盈良好,可见动脉瘤明显的搏动。

### 2.1 1 周后造影检查显示

10 个用结扎法制作的动脉瘤模型全部通畅,测量动脉瘤长度平均值为(6.53  $\pm$  0.65)mm,宽度平均为(3.7  $\pm$  0.16)mm。用外科缝合法制作动脉瘤模型 6 个,造影仅见 2 个动脉瘤显影(图 1、2),其余动脉瘤均闭塞。

### 2.2 1 个月后血管造影检查显示

用结扎法制作动脉瘤呈囊状,各测量数值见表 1。动脉瘤长度平均值为:(9.0  $\pm$  0.52)mm,宽度平均值为:(5.06  $\pm$  0.31)mm。2 个用外科缝合法制作通畅的动脉瘤均闭塞。

实验组术后 1 周和 1 个月造影的动脉瘤宽径和长径的比较运用配对样本的  $t$  检验  $P < 0.05$ ,差异有统计学意义。

### 2.3 病理检查

动脉瘤模型的病理结果显示动脉瘤模型动脉壁内弹力层和中弹力层基本缺失,而正常动脉壁内弹力层和中弹力层完整。

## 3 讨论

### 3.1 传统的动脉瘤模型的制作方法

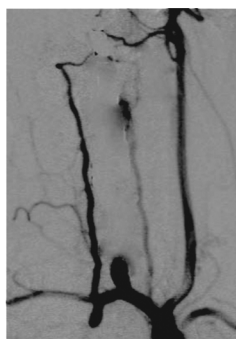
传统的动脉瘤模型制作方法主要有病因诱导



a 结扎右侧颈总动脉后形成的动脉瘤



b 结扎法制作动脉瘤术后 1 周造影



c 结扎法制作的动脉瘤术后 1 个月造影示动脉瘤增大

图 1 结扎法制作兔颈总动脉动脉瘤



a 外科缝合法制作动脉瘤模型术后 1 周造影



b 外科缝合法制作动脉瘤模型术后 1 周造影示动脉瘤闭塞

图 2 缝合法制作兔颈总动脉动脉瘤

表 1 结扎法动脉瘤长径 2 次造影测量结果 (mm)

实验兔编号	术后 1 周	术后 1 个月
1	6.2 × 3.6	9.5 × 4.8
2	6.0 × 3.5	9.2 × 4.8
3	6.5 × 3.7	8.5 × 5.0
4	7.0 × 3.7	9.5 × 5.5
5	7.0 × 3.6	9.0 × 5.6
6	5.6 × 3.7	8.5 × 4.9
7	6.9 × 4.0	8.9 × 5.3
8	7.8 × 3.8	10.0 × 5.0
9	6.0 × 3.9	8.5 × 4.7
10	6.3 × 3.5	8.6 × 5.0

法、血管移植法、血管内球囊阻断结合弹性蛋白酶消融法等。病因诱导法是通过模拟动脉瘤发病有关的已知致病因素建立的动脉瘤动物模型。但其主要应用于动脉瘤的病因、发病机制组织病理及分子生物学方面的研究。静脉移植法是应用外科方法将静脉袋移植于动脉的不同部位,形成各种类型的动脉瘤模型。但该方法最明显的不足之处是因为静脉移植成型的动脉瘤由静脉袋吻合而成所产生的动脉瘤不同于真正临床动脉瘤的组织学改变。血管内球囊阻断结合胰弹力酶动脉诱导法最早是由 Cloft 等<sup>[1]</sup>提出来的,Kallmes 等<sup>[2]</sup>在此基础上,作出了一些技术上的改进。该法相对于 Cloft 法操作容易,现在大多数学者采用的一种方法。

### 3.2 结扎结合弹力酶诱导法兔动脉瘤制作的基本思路

该动脉瘤模型制作方法的基本思路与血管内球囊阻断结合弹力酶诱导法类似,但我们在此方法上做了一系列改进。针对 Cloft 法技术上的缺陷,如球囊位置不适当时,可出现球囊封堵不全,而导致注入胰弹力蛋白酶时发生酶的泄漏。有时还可因影像假象而使球囊进入主动脉弓,扩张球囊时封堵了主动脉弓血流。本研究用动脉夹直接阻断右侧颈总

动脉的血流和球囊阻断类似。但操作起来相对简单,直接结扎右侧颈总动脉远端形成动脉瘤,避免了 Cloft 法所制动脉瘤的顶端为球囊,而非真实动脉壁的缺陷。

### 3.3 实验所积累的经验

3.3.1 解剖兔颈部是本实验的关键技术 分离兔颈部动脉时必须非常仔细,以免造成大血管破裂,造成大出血导致实验动物死亡。分离右侧颈总动脉起始端时,需要在尽量暴露较大视野同时而不破坏胸腔腔和损伤大血管。因为头臂干及右侧颈总动脉距离主动脉弓及心脏很近,右侧颈总动脉距离主动脉弓约 2 cm,而且前方有颈外静脉,并有胸骨阻挡,有时需要剪开少量胸骨。

3.3.2 关于弹力酶的应用 弹力蛋白所形成的内弹力板是脑动脉内层的主要成分,一旦内弹力板变性、变薄、断裂,在血流的冲击和压力下,血管壁向外膨出形成动脉瘤。对于弹力酶浓度的使用,国内有研究表明,活性浓度为 1.5 u/μl 的弹力酶溶液对动脉壁作用最强,诱发动脉瘤的效果最明显。弹力酶浓度高于或低于 1.5 u/μl,其诱发动脉瘤的作用逐渐降低,当高于 6.0 u/μl 或低于 1.5 u/μl 时,则无诱发动脉瘤的作用<sup>[3]</sup>。关于弹力酶浸泡时间的长短,国内外文献报道不太一致,Dinga 等<sup>[4]</sup>认为弹力酶浸泡时间为 20 min。我们的经验是用 5 u/μl 的弹力酶浸泡 20 min,这样的动脉血管在浸泡过后弹性减小,但也不至于浸泡时间过长而导致该血管段而像“烂泥”一样而不利于随后的操作。

3.3.3 造影方法的选择 对动脉瘤造影方法的选择有通过股动脉插管法、耳缘静脉造影法和耳动脉造影法。耳缘静脉造影的对比剂必须通过体循环和肺循环再显影、所需对比剂剂量太大、可能引起实验兔心力衰竭和对比剂反应。左耳中央动脉造影法



穿刺技术和麻醉要求较高,麻醉太浅则在造影过程中动物容易移动,若麻醉较深可能导致动物呼吸停止<sup>[5]</sup>。本研究选择通过股动脉造影,虽然操作较耳缘静脉造影复杂,但因为通过导管直接注射对比剂,对比剂用量小、浓度高、非常清楚显示动脉瘤及载瘤动脉。虽然术后结扎兔股动脉,导致兔短期内跛行。但实践证明:1 星期后,兔行动恢复正常,无明显影响。第 2 次实验时,我们可选择在另一侧股动脉穿刺。Onizuka 等<sup>[6]</sup>在兔动脉瘤模型制作后造影随访时也经兔右侧股动脉入路、用 4 F 穿刺鞘和 4 F 导管进行造影检查。

**3.3.4 动脉瘤模型的相关分析** 由于采取兔颈总动脉制作动脉瘤,所得到的动脉瘤大小(长度平均约为 6.5 mm,宽度平均为 3.7 mm),瘤颈宽度(平均约为 4 mm),载瘤动脉的管径(平均约为 3 ~ 5 mm)都跟人类颅内动脉瘤相近,因而非常适合作栓塞材料的研究。Ding 等<sup>[4]</sup>关于兔动脉瘤模型体积控制研究结果表明:兔右侧颈总动脉结扎的高度不同制作出动脉瘤的体积不同;距右侧颈总动脉起始部 15 mm 结扎制作出动脉瘤的瘤颈、瘤体宽度、瘤体的高度大于距右侧颈总动脉起始部 10 mm 结扎出的动脉瘤的瘤颈、瘤体宽度、瘤体的高度。

由于该方法应用弹力酶破坏动脉壁,其获得的动脉瘤模型在组织学上相对于传统的静脉移植法更接近于自然发病的动脉瘤。本实验通过前后 2 次造影证实了该模型具有自发生长的特征。10 个用结扎法制作的动脉瘤模型第 1 次造影动脉瘤长度平均值为 6.5 mm,宽度平均为 3.7 mm。第 2 次血管造影检查,动脉瘤长度平均值为 9.0 mm,宽度平均值为 5.1 mm。表明术后 1 个月动脉瘤明显长大 ( $P < 0.05$ )。Fujiwara 等<sup>[7]</sup>研究表明:弹力酶诱导的兔动脉瘤模型在制作后约 1 个月趋于稳定、这种动脉瘤模型内栓塞实验时间应至少在制作后 21 d 后进行。

**3.3.5 结扎法相对于外科缝合法制作动脉瘤模型的优点** 实验结果表明:用外科缝合法制作 6 个动脉瘤模型,1 周后造影仅 2 例通畅,通畅率低,而且通畅的瘤体显影不佳,有闭合的趋势。1 个月后造影,该 2 例动脉瘤全部闭塞。而结扎法制作 10 例动脉瘤模型,术后 1 周和 1 个月造影全部通畅。本实

验证明了用结扎法制作的动脉瘤模型通畅率高,但对其长期稳定性没有进一步证实。Ding 等<sup>[8]</sup>的研究结果表明兔动脉瘤模型可以保持 2 年的长期通畅。

**3.3.6 动脉瘤模型的不足之处** 组织学上与临床颅内动脉瘤不完全相同,临床颅内动脉瘤缺乏中膜,而该模型有完整的 3 层结构,且中层平滑肌变厚。该模型不能自发破裂,因此该模型对瘤颈的研究可能不适合。制作出的动脉瘤位置、类型相对单一,无法复制顶端动脉瘤的模型。该实验未对动脉瘤的远期通畅率和稳定性进一步研究。

总之,用血管结扎法结合弹力酶诱导制作出的动脉瘤模型通畅率高,优于外科缝合法;具有自发生长的特征、和人类颅内动脉瘤模型类似。

#### [参 考 文 献]

- [1] Cloft HJ, Altes TA, Marx WF, et al. Endovascular creation of an in vivo bifurcation aneurysm model in rabbit[J]. Radiology, 1999, 213: 223 - 228.
- [2] Kallmes DF, Altes TA, Vincent DA, et al. Experimental side-wall aneurysms: a natural history study [J]. Neuroradiology, 1999, 41: 338 - 341.
- [3] 苏 正,李铁林,黄 庆,等. 弹性蛋白酶快速诱发动脉瘤动物模型实验研究[J]. 中华神经精神病杂志, 2002, 28: 182 - 184.
- [4] Ding YH, Daia D, Danielson MA, et al. Control of aneurysm volume by adjusting the position of ligation during creation of elastase-induced aneurysms: a prospective study [J]. AJNR, 2007, 28: 857 - 859.
- [5] Miskolczi L, Nemes B, Cesar L, et al. Contrast injection via the central artery of the left ear in rabbits: a new technique to simplify follow-up studies [J]. AJNR, 2005, 26: 1964 - 1966.
- [6] Onizuka M, Miskolczi L, Gounis MJ, et al. Elastase-induced aneurysms in rabbits: effect of postconstruction geometry on final size[J]. AJNR, 2006, 27: 1129 - 1131.
- [7] Fujiwara NH, Cloft HJ, Marx WF, et al. Serial angiography in an elastase-induced aneurysm model in rabbits: evidence for progressive aneurysm enlargement after creation [J]. AJNR, 2001, 22: 698 - 703.
- [8] Ding YH, Dai D, Lewis DA, et al. Long-term patency of elastase-induced aneurysm model in rabbits[J]. AJNR, 2006, 27: 139 - 141.

(收稿日期:2010-02-11)