

·实验研究 Experimental research·

犬动脉瘤模型建立后瘤内血栓形成的相关因素研究

周 兵, 李明华, 王建波, 朱悦奇, 袁建华, 俞文强

【摘要】 目的 分析犬动脉瘤成模后可能影响瘤内血栓形成的相关因素,探索降低瘤内血栓的方法。**方法** 将 20 只实验犬分 4 组建立犬双侧颈动脉侧壁动脉瘤:垂直型动脉瘤+术后不抗凝;垂直型动脉瘤+术后抗凝;倾斜型动脉瘤+术后不抗凝;倾斜型动脉瘤+术后抗凝。术后 2~4 周造影观察动脉瘤内血栓形成情况。对可能影响瘤内血栓形成的相关因素(性别,月龄,手术时间,动脉瘤形态,术后抗凝,颈部血肿)进行统计学分析,重点研究动脉瘤形态和术后抗凝的关系。统计软件使用 SPSS 12.0。**结果** 20 只实验犬分 4 组成功建立犬颈动脉侧壁动脉瘤模型 40 枚,术后 7 只实验犬出现颈部血肿;术后 2~4 周造影共发现瘤内血栓形成 8 枚(20%)。单因素分析显示动脉瘤形态和颈部血肿对瘤内血栓形成有影响,术后抗凝因素无影响;进一步分层检验仍未发现术后抗凝因素有影响。**结论** 建立倾斜型动脉瘤和减少术后颈部血肿形成能够降低动脉瘤模型建立后瘤内血栓形成,术后使用抗凝并不降低瘤内血栓形成。

【关键词】 动脉瘤;模型;瘤内血栓;抗凝

中图分类号:R743 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2011)-04-0287-05

Study on the related factors influencing the formation of intra-aneurysmal thrombosis in the established side-wall aneurysmal model in canine ZHOU Bing, LI Ming-hua, WANG Jian-bo, ZHU Yue-qi, YUAN Jian-hua, YU Wen-qiang. Department of Interventional Radiology, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China

Corresponding author: LI Ming-hua

【Abstract】 Objective To analyze the related factors influencing the formation of intra-aneurysmal thrombosis (IAT) in the established side-wall aneurysmal model in canine, and to discuss the measures to prevent the occurrence of IAT. **Methods** Twenty canines were randomly divided into 4 groups for building side-wall aneurysmal model: group A, vertical aneurysm without use of postoperative anticoagulation medication; group B, vertical aneurysm with use of postoperative anticoagulation medication; group C, oblique aneurysm without use of postoperative anticoagulation medication; and group D, oblique aneurysm with use of postoperative anticoagulation medication. Angiography was performed to evaluate the IAT. The potential related factors influencing the formation of IAT, including sex, age, operative time, aneurysmal morphology, postoperative anticoagulation medication and cervical hematoma, were statistically analysed with emphasis on aneurysmal morphology and the use of postoperative anticoagulation medication. The statistical software SPSS 12.0 was employed. **Results** A total of 40 aneurysms were successfully established in 20 canines. Cervical hematoma occurred in 7 canines and IAT developed in 8 aneurysms. The univariate analysis showed that the formation of IAT was significantly influenced by the aneurysmal morphology and cervical hematoma. Surprisingly, the formation of IAT bore no relation to the postoperative anticoagulation, whether the medication was employed or not, which was further confirmed by stratified analysis. **Conclusion** To establish oblique aneurysm and to reduce the occurrence of cervical hematoma can effectively decrease the incidence of IAT in established side-wall aneurysmal model in canine. The postoperative anticoagulation medication can not decrease the incidence of IAT. (J Intervent Radiol, 2011, 20: 287-291)

【Key words】 aneurysm; model; intra-aneurysmal thrombosis; anticoagulation

作者单位:310014 杭州 浙江省人民医院放射科介入病房(周兵、袁建华、俞文强);上海交通大学附属第六人民医院放射科(李明华、王建波、朱悦奇)

通信作者:李明华

颅内动脉瘤(intracranial aneurysm, ICA)是临床最常见的脑血管病之一。尸解显示在人群中的发病率为 2%~5%^[1]。动脉瘤破裂所致的蛛网膜下腔出

血占自发性蛛网膜下腔出血病例的 70% ~ 80%^[2]。建立动脉瘤模型是研究动脉瘤血流动力学、改进动脉瘤治疗方法和验证各种新型介入器械的基础。动脉瘤模型建立以后瘤内血栓形成是导致模型失败的重要原因之一。本研究通过建立犬颈动脉瘤模型对瘤内血栓形成的相关因素进行研究,重点探讨动脉瘤形态和术后抗凝因素的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 成年毕格犬,购自上海市实验动物中心,雌雄不限,体重 15 ~ 25 kg。购进后给予注射狂犬疫苗进行免疫,2 周后造模。饲养条件及环境符合实验要求。

1.1.2 仪器和设备 动物实验专用手术台,739 型九孔无影灯等手术设备;医院内集中供氧终端供氧设备;SIEMENS AXIOM-Artis 平板数字减影血管造影机;手术器械包括常规手术包,显微外科器械,高频电凝刀;医用真丝缝线;实验药品包括注射用硫酸妥钠,肝素钠注射液,低分子肝素钙,注射用青霉素钠;典必乐非离子型对比剂。

1.2 实验方法

1.2.1 静脉囊移植法建立犬颈动脉侧壁囊性动脉瘤 根据动脉瘤形态和术后是否抗凝分 4 组造模,每组各 5 只。A 组将静脉囊垂直缝合于颈动脉侧壁建立垂直型动脉瘤,术后不抗凝;B 组将静脉囊头侧倾斜缝合于颈动脉侧壁建立倾斜型动脉瘤,术后不抗凝;C 组建立垂直型动脉瘤,术后抗凝;D 组建立倾斜型动脉瘤,术后抗凝。

1.2.2 静脉囊法建立犬颈动脉侧壁动脉瘤 术前常规禁食 12 h,静脉麻醉。实验犬取仰卧位,鼻导管插管并连接氧气管,术中开放静脉通路,持续静脉滴注抗生素。沿颈部正中线自甲状软骨下方向下做一长约 10 ~ 15 cm 的纵行切口,游离颈外静脉约 5 ~ 6 cm,取下做成大小相等的 2 个静脉囊。根据分组不同,静脉囊的缝合端做成横形或斜行。钝性分离颈阔肌、胸锁乳突肌,游离部分颈内动脉后,在欲缝合部位剪一大小约 4 mm × 6 mm 的切口,使用 6-0 或 8-0 的显微缝线将备好的静脉囊吻合于血管侧壁。倾斜型使其头侧倾斜吻合(图 1)。吻合完成使用聚维酮碘冲洗手术区并逐层缝合肌肉和皮肤。术后常规使用抗生素(青霉素 400 万 u/d 或头孢呋辛 1 g/d,链霉素 0.5 g/d)3 d,C 组和 D 组实验犬术后给予抗凝治疗 3 d(低分子肝素钙 1 000 u/12 h)。

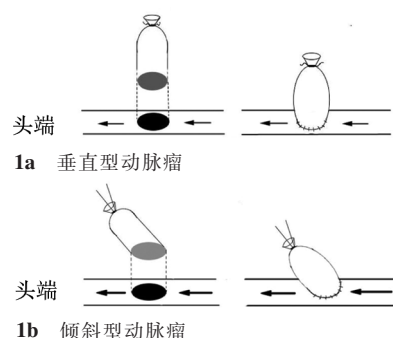


图 1 2 种动脉瘤吻合方法

1.2.3 术后处理 2 ~ 4 周行 DSA 造影,造影从股动脉穿刺完成。以动脉瘤腔内有明确显示的充盈缺损或动脉瘤闭塞作为瘤内血栓形成的诊断标准,观察动脉瘤内的血栓形成情况。

1.3 统计分析

统计造影中发现的瘤内血栓情况,对可能影响瘤内血栓形成的因素(性别,月龄,手术时间,动脉瘤形态,术后抗凝,颈部血肿)进行单因素分析;以动脉瘤形态作为分层因素对抗凝组和不抗凝组进行比较,以是否抗凝作为分层因素对倾斜型动脉瘤组和垂直型动脉瘤组进行比较。统计软件使用 SPSS 12.0 版。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模结果

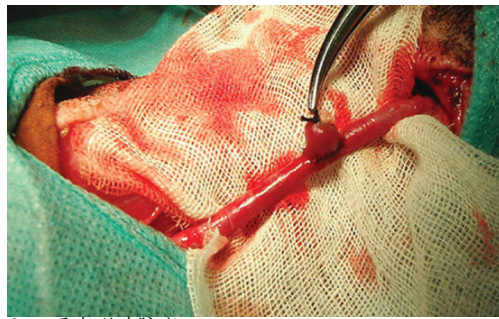
20 只实验犬按分组成功建立侧壁动脉瘤 40 枚。动脉瘤制作完成后见充盈良好,呈囊状,倾斜型动脉瘤其头侧倾斜角度大约在 45°左右,透过瘤壁可见其内有涡流形成(图 2)。手术后 7 只实验犬出现颈部血肿,其中抗凝组 4 只,未抗凝组 3 只。经抗炎治疗后颈部血肿于 1 ~ 2 周内消退,其中 1 只进行了经皮穿刺血肿抽吸,未出现明显颈部感染动物。

2.2 实验性动脉瘤造影结果

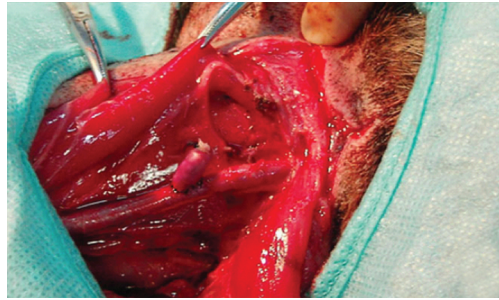
实验犬于 2 ~ 4 周进行 DSA 造影,显示共有 8 枚动脉瘤内形成明显血栓。其中 A 组 5 枚,B 组 2 枚,C 组 1 枚,D 组内未见有血栓形成。瘤内血栓多位于动脉瘤的顶壁和侧壁,表现为瘤腔变小,瘤腔内不规则充盈缺损。A 组中有 1 枚大量血栓形成,动脉瘤几近闭塞(图 3)。

2.3 影响因素分析

对可能影响瘤内血栓形成的相关因素进行单因素统计学分析,这些因素包括性别,月龄,手术时间,动脉瘤形态,术后抗凝,颈部血肿。结果显示动脉瘤形态和术后颈部血肿的发生是瘤内血栓形成



2a 垂直型动脉瘤



2b 倾斜型动脉瘤

图 2 2 种动脉瘤制作完成后模型



3a 少量血栓



3b 中量血栓



3c 几乎闭塞

图 3 不同程度瘤内血栓形成

表 1 各相关因素的单因素分析结果

参数	瘤内血栓		统计量	P 值
	有	无		
动物[n(雄/雌)]	7/2	17/14	0.732	0.395
月龄(月)	13.1 ± 6.2	10.7 ± 4.9	1.154	0.251
手术时间(min)	121.7 ± 33.2	106.4 ± 24.6	1.466	0.145
动脉瘤形态 (倾斜/垂直)	7/1	13/19	3.906	0.048
术后抗凝(否/是)	6/2	14/18	1.406	0.236
颈部血肿(是/否)	6/2	8/24	5.007	0.025

注:单因素分析显示动脉瘤形态和颈部血肿为瘤内血栓形成的危险因素

的危险因素,术后是否抗凝未显示出差异有统计学意义(表 1)。

2.4 多因素分析结果

为进一步去除动脉瘤形态和抗凝 2 个因素的相互影响,我们分别以动脉瘤形态作为分层因素比较抗凝因素对瘤内血栓的影响,以抗凝作为分层因素比较动脉瘤形态对瘤内血栓的影响。分层后结果显示倾斜型动脉瘤较垂直型动脉瘤的瘤内血栓形成率低,而术后抗凝组和未抗凝组之间瘤内血栓仍未有差别(表 2)。

3 讨论

作为研究疾病病因和治疗的重要基础,建立与人类 ICA 类似的动物模型非常重要。Krings 等^[3]认为,理想 ICA 模型应该具备以下特点:①未治疗的动脉瘤长期开放;②动脉瘤形态学上符合瘤颈部剪切力高的特征;③动脉瘤大小和载瘤动脉与人 ICA 相似;④动脉瘤壁具备内皮成分以防止血小板激活

表 2 术后抗凝和动脉瘤形态为分层因素的分层结果 (n)

动脉瘤形态	不抗凝		抗凝		统计量
	血栓	无血栓	血栓	无血栓	
垂直型	5	5	2	8	$\chi^2_{cmh} = 6.000$ $P = 0.014$
倾斜型	1	9	0	10	
统计量	$\chi^2_{cmh} = 2.909$ $P = 0.088$				

注:分层卡方检验显示不同动脉瘤形态间血栓形成有统计学差异,是否抗凝间无统计学差异

从而导致血栓形成;⑤动脉瘤壁薄弱;⑥模型建立时间短;⑦模型建立的可重复性好;⑧所建立模型

动物的凝血系统与人相似。目前动脉瘤模型制作选用的最常用动物为犬、猪、兔、大鼠、羊、猴子等。

静脉囊移植法是目前较为成熟并使用较多的动脉瘤模型的制作方法,该法是将一段静脉做成静脉囊后吻合于颈内动脉的侧壁做成的动脉瘤。1954 年 German 等^[4]首先将颈静脉和颈动脉端侧吻合,然后结扎颈静脉建立了动脉瘤模型。后来经过 Gulglielmi 等^[5]、Kallmes 等^[6]和 Lieber 等^[7]的努力和改进,不但改进了直-侧动脉瘤模型,还在此基础上建立了分叉部动脉瘤和基底动脉顶端动脉瘤模型,并且应用于动脉瘤血流动力学和介入器械的研究。以免为实验动物通过弹力蛋白酶消化右颈总动脉后结扎右颈总动脉形成的动脉瘤是近年兴起的动脉瘤模型制作方法,国内文献已有报道^[8]。其制作方法相对复杂,需要一定的实验培训才能完成。

尽管犬静脉囊法动脉瘤模型已经广泛应用于临床各种神经介入器械如颅内支架、弹簧圈等的动物实验,但关于动脉瘤模型的瘤内自发血栓形成方面的专门研究较少。静脉囊法动脉瘤模型制作完成后可出现瘤内自发血栓形成,甚至引起动脉瘤闭塞。German 等^[4]制作并观察了 21 枚颈动脉侧壁动脉瘤模型,该模型未采用斜行切口,动脉瘤的长轴与颈动脉处于垂直状态。结果发现有 11(52%)枚动脉瘤在 2 周之内自发形成血栓而闭塞。Yoshino 等^[9]进行的实验中制作了 11 枚垂直型侧壁动脉瘤和 33 枚倾斜型侧壁动脉瘤,随访时发现 11 枚动脉瘤内均有血栓形成,而 33 枚斜行动脉瘤内有 1 枚血栓形成。Turk 等^[10]的一项回顾性研究中对 1999 年到 2005 年制作的共 326 例动脉瘤模型进行了统计,102 例侧壁动脉瘤中有 14 例出现瘤内血栓,224 例分叉部动脉瘤中仅有 1 例出现瘤内血栓,但此研究对瘤内血栓的判断主要是以不影响进一步使用为标准,因此报道的发生率可能偏低。Kallmes 等^[11]在 8 只实验犬的双侧建立 16 枚动脉瘤,并使用超声和 DSA 随访,2 周时发现 3 枚动脉瘤内出现血栓。虽然以上报道瘤内血栓形成的发生率有较大差异,但均显示垂直型侧壁动脉瘤内易形成瘤内血栓。

为了降低静脉囊法动脉瘤模型的瘤内血栓形成率,从而为下一步实验提供合格的动物模型,并且探索减少瘤内血栓的方法,我们对可能影响瘤内血栓形成的相关因素进行了动物实验研究,并且着重考察了动脉瘤形态和术后抗凝 2 个因素。已有文献报道术中或术后抗凝能够减少动脉瘤模型建立后的瘤内血栓形成率^[12]。本实验结果显示,40 枚动

脉瘤中有 8 枚产生了血栓,其中 10 枚未抗凝的垂直型动脉瘤中有 5 枚发生了不同程度的血栓,并且有 1 枚动脉瘤几近闭塞,而 10 枚抗凝的倾斜型动脉瘤无一枚瘤内血栓形成。因此,考虑动脉瘤形态和术后抗凝治疗可能是瘤内血栓形成的重要因素。进行单因素分析和分层分析后统计显示,倾斜型动脉瘤和垂直型动脉瘤的瘤内血栓形成差异有显著的统计学意义。虽然本研究中显示术后是否抗凝的对瘤内血栓形成差异无统计学意义($P = 0.08$),但两组在统计概率上也接近临界值($P = 0.05$)。

倾斜型动脉瘤和垂直型动脉瘤的主要区别在于动脉瘤的血流动力学不同。Szikora 等^[13]使用有限容积模式通过模拟 21 例随机挑选的动脉瘤,分析动脉瘤内血流分布、瘤内压力和剪切力,发现动脉瘤和载瘤动脉的角度是影响动脉瘤内血流分布和瘤内压力的最重要因素,其作用超过动脉瘤形态的影响。与载瘤动脉接近平行的动脉瘤,其内主要以喷射性血流为主,瘤内压力分布不均匀,血流紊乱、流速较快;与载瘤动脉接近垂直的动脉瘤,其内以涡流为主,瘤内压力分布均匀,血流规律且流速较慢。Rayz 等^[14]对 3 例基底动脉动脉瘤患者进行了计算机流体力学(computational fluid dynamics,CFD)分析,模拟了动脉瘤内的血流分布,并与随访发现的瘤内血栓形成的部位作对照,发现 CFD 模拟血流中血流速度慢、出现 2 次循环血流的部位,其血栓发生的概率明显增高。因此,我们认为,与垂直型动脉瘤相比较,倾斜型动脉瘤血栓形成较少的原因主要是动脉瘤与载瘤动脉的角度变化,是瘤内血流速度增加和血流紊乱造成的。

低分子肝素作为临床最为常用的抗凝药物,能够通过抑制凝血活酶的形成及作用而阻断凝血酶原转变为凝血酶,从而延长凝血过程。与人类的凝血功能相比较,犬的凝血功能明显增强^[15]。以往多个研究显示,动脉瘤模型建立后瘤内血栓形成的时间多发生于模型建立后的早期,通常是 2 周以内。因此,我们期望能够通过术后使用抗凝治疗,达到降低瘤内血栓形成的目的。关于静脉移植法制作动脉瘤模型过程中急性期是否使用肝素抗凝以减少血栓形成尚存在争议。有学者认为肝素抗凝可能会减少急性期血栓形成。我们通过分组研究,并进行分层以控制动脉瘤形态的干扰因素,结果显示是否使用抗凝治疗两组间未见明显差异。虽然本组资料中使用抗凝治疗的动物没有出现抗凝相关的严重出血性事件,但我们在大量动物实验中的确体会到使

用抗凝药物后不易止血的情况。

本实验研究表明,在犬动脉瘤模型建立中,建立倾斜型动脉瘤和预防颈部血肿能够减少瘤内血栓的形成,术后抗凝未能显示出降低瘤内血栓形成的作用。进一步扩大实验样本量可能得到更可靠的结果。

[参考文献]

- [1] Chyatte D, Lewis I. Gelatinase activity and the occurrence of cerebral aneurysms[J]. Stroke, 1997, 28: 799 - 804.
- [2] International study of unruptured intracranial aneurysms investigations. Unruptured intracranial aneurysms-risks of rupture and risks of surgical intervention[J]. N Engl J Med, 1998, 339: 1725 - 1733.
- [3] Krings T, Moller-Hartmann W, Hans FJ, et al. A refined method for creating saccular aneurysms in the rabbit[J]. Neuroradiology, 2003, 45: 423 - 429.
- [4] German WJ, Black SP. Experimental production of carotid aneurysms[J]. N Engl J Med, 1954, 250: 104 - 106.
- [5] Guglielmi G, Ji C, Massoud TF, et al. Experimental saccular aneurysms. II. A new model in swine [J]. Neuroradiology, 1994, 36: 547 - 550.
- [6] Kallmes DF, Altes TA, Vincent DA, et al. Experimental sidewall aneurysms: a natural history study [J]. Neuroradiology, 1999, 41: 338 - 341.
- [7] Lieber BB, Gounis MJ. The physics of endoluminal stenting in the treatment of cerebrovascular aneurysms [J]. Neurol Res, 2002, 24(Suppl 1): S33 - 42.
- [8] 卢川, 谢谦宇, 刘林祥. 血管结扎结合弹力酶诱导法兔动脉瘤模型的制作[J]. 介入放射学杂志, 2010, 19: 722 - 725.
- [9] Yoshino Y, Niimi Y, Song JK, et al. Preventing spontaneous thrombosis of experimental sidewall aneurysms: the oblique cut [J]. AJNR, 2005, 26: 1363 - 1365.
- [10] Turk AS, Aagaard-Kienitz B, Niemann D, et al. Natural history of the canine vein pouch aneurysm model[J]. AJNR, 2007, 28: 531 - 532.
- [11] Kallmes DE, Altes TA, Vincent DA, et al. Experimental sidewall aneurysms: a natural history study [J]. Neuroradiology, 1999, 41:338 - 341.
- [12] 杨志刚, 刘建民, 王奎重, 等. 犬侧壁动脉瘤模型建立方法的改良及评价[J]. 介入放射学杂志, 2009, 18: 748 - 752.
- [13] Szikora I, Paal G, Ugron A, et al. Impact of aneurysmal geometry on intraaneurysmal flow: a computerized flow simulation study[J]. Neuroradiology, 2008, 50: 411 - 421.
- [14] Rayz VL, Boussel L, Lawton MT, et al. Numerical modeling of the flow in intracranial aneurysms: prediction of regions prone to thrombus formation[J]. Ann Biomed Eng, 2008, 36: 1793 - 1804.
- [15] Feingold HM, Pivacek LE, Melaragno AJ, et al. Coagulation assays and platelet aggregation patterns in human, baboon, and canine blood[J]. Am J Vet Res, 1986,47: 2197 - 2199.

(收稿日期:2010-10-01)