

·实验研究 Experimental research·

一种新的血管内穿刺脑血管痉挛模型

涂建飞, 刘一之, 纪建松, 赵中伟

【摘要】 目的 探讨采用血管内穿刺法制作兔脑血管痉挛(CVS)模型的方法。**方法** 对 78 只新西兰大白兔采用血管内穿刺法产生蛛网膜下腔出血(SAH),制作 CVS 模型。存活兔随机分成 3、12 h、1、2、3、7 和 14 d 组,共 7 组,设置正常组及对照组(无蛛网膜下腔出血)各 5 只。每只兔术前、术后常规行头颅 CT 检查,处死后常规行 HE 染色观察后交通动脉及基底动脉管腔内直径及管壁厚度改变。**结果** 78 只兔中,成功制成模型并获取标本 45 只(SAH 组 35 只,对照组 10 只),模型制作成功率为 57.7%。SAH 组后交通动脉及基底动脉管腔内直径在 SAH 后 12 h 分别缩小了 45.6%和 52.3%。随后血管直径呈双相期改变,管腔直径在第 7 天再次明显缩小,分别下降了 31.2%和 48.6%。**结论** 采用经股动脉行血管内穿刺法制作的兔 CVS 模型病理改变明显,是一种适合研究 CVS 发生机制的动物模型,虽然动物死亡率高,但是注意操作的细节和应用新型合适材料,能提高模型制作的成功率。

【关键词】 脑血管痉挛; 动物模型; 血管内穿刺

中图分类号:R743 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2011)-08-0637-04

A new cerebral vasospasm model established with endovascular puncture technique TU Jian-fei, LIU Yi-zhi, JI Jian-son, ZHAO Zhong-wei. Department of Radiology, Lishui Municipal Central Hospital, Lishui, Zhejiang Province 323000, China

Corresponding author: TU Jian-fei, E-mail: jianfei1133@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the method of establishing cerebral vasospasm (CVS) models in rabbits by using endovascular puncture technique. **Methods** Endovascular puncture procedure was performed in 78 New Zealand white rabbits to produce subarachnoid hemorrhage (SAH). The survival rabbits were randomly divided into seven groups (3 h, 12 h, 1 d, 2 d, 3 d, 7 d and 14 d), with five rabbits in each group for both study group (SAH group) and control group. Cerebral CT scanning was carried out in all rabbits both before and after the operation. The inner diameter and the thickness of vascular wall of both posterior communicating artery (PcoA) and basilar artery (BA) were determined after the animals were sacrificed, and the results were analyzed. **Results** Of 78 experimental rabbits, CVS model was successfully established in 45, including 35 of SAH group and 10 of control subgroup. The technical success rate was 57.7%. Twelve hours after the procedure, the inner diameter of PcoA and BA in SAH group was decreased by 45.6% and 52.3%, respectively, when compared with these in control group. The vascular narrowing showed biphasic changes, the inner diameter markedly decreased again at the 7th day when the decrease reached its peak to 31.2% and 48.6%, respectively. **Conclusion** Endovascular puncture technique is an effective method to establish CVS models in rabbits. The death rate of experimental animals can be decreased if new interventional material is used and the manipulation is carefully performed. (J Intervent Radiol, 2011, 20: 637-640)

【Key words】 cerebral vasospasm; animal model; endovascular puncture

理想的脑血管痉挛(cerebral vasospasm, CVS)动物模型应符合以下条件^[1]:①模型出现 CVS 的症状与人类 CVS 症状相似;②模型制作简单,费用低;

③所用动物脑血管变异较少;④CVS 的程度可以控制;⑤可用此模型进行 CVS 慢性期的实验;⑥在一定部位有较高的脑缺血发生率;⑦有类似动脉瘤破裂时动脉壁损伤的机制;⑧有急性颅内压增高的表现;⑨在蛛网膜下腔中有足够量的血凝块。现有模型中,在体动物模型以颅内动脉穿刺法可以引发非

作者单位:323000 浙江省丽水市中心医院放射科(涂建飞、纪建松、赵中伟);苏州大学附属一院介入科(刘一之)
通信作者:涂建飞 E-mail: jianfei1133@163.com

常严重的 CVS, 其临床过程与人蛛网膜下腔出血 (subarachnoid hemorrhage, SAH) 相似, 主要优点是血块由颅内血管产生, 能较好的模拟血管破裂后颅内的病理生理改变; 其次是与注血模型不同, 不受干扰的持续监测血管破裂后颅内压的改变^[2-3]。但操作较为困难, 动物死亡率较高^[24]。鉴于动脉穿刺法模型在实验中的价值, 本文旨在探讨采用一种新的血管内穿刺法制作兔 CVS 模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物和分组

78 只健康清洁级新西兰大白兔 (由苏州大学医学院实验动物中心提供, 体重 2.5 ~ 3.5 kg, 月龄 4 ~ 5); 随机分为正常对照组、无 SAH 组 (导丝进入颈内动脉, 但未刺破颈内动脉) 及 SAH 组。SAH 组又随机分为 SAH 后 3、12 h, 1、2、3、7 和 14 d 组, 共 7 组, 每组 5 只。正常对照组及无 SAH 组各 5 只。

1.2 方法



1a 刺破前颈内动脉造影, 颈内动脉扭曲



1b 刺破后颈内动脉造影示即刻痉挛



1c 导丝刺破颈内动脉



1d 颈内动脉起始段走行顺畅

图 1 实验操作过程

采用 Philip 4 排螺旋 CT (Marconi MX8000), 扫描参数为层厚 2.5 mm, 间隔 2.5 mm, Fov 80 mm, 16 层。术后即刻、处死前各组兔再次行头颅 CT 检查, 评价 SAH 改变。SAH 量的评估: 0 级, 蛛网膜下腔显示清楚, 密度低; I 级, 蛛网膜下腔显示不清, 可见点片状高密度影; II 级, 蛛网膜下腔多个层面可见环状高密度影; III 级, 蛛网膜下腔多个层面见较厚的高密度影。

1.2.3 HE 染色观察 每只兔常规行病理检查。切片时选择基底动脉 (basilar artery, BA) 上段、后交通动脉 (posterior communicating artery, PCoA) 血管切面及附近脑组织, 石蜡包埋切片。常规 HE 染色, 在 HE × 100 的视野下测量 BA 及 PCoA 腔内血管直径

1.2.1 动物模型的制备 血管内穿刺法制作兔 SAH 模型。采用 30% 乌来糖 (2.0 ~ 3.0 ml/kg) 溶液静脉注射麻醉成功后, 将兔仰卧固定于自制手术台, 并摆正头颅位置。安尔碘消毒后铺无菌单, 在右腹股沟钝性分离出股动脉, 在动脉上剪一小口, 引入 0.035 英寸导丝和 4 F H1 超滑导管, 透视下将导管插入右 (左) 颈总动脉中上段, 常规行右颈总动脉造影, 了解颈内动脉起始段血管走行情况。随后引入预塑形的 EXCEL-14 微导管和 Transend 微导丝, 在路图下将导管插入颈内动脉 (ICA)。然后换用 Transend 微导丝硬头经微导管进入 ICA, 此过程中应在透视下密切观察导管形态改变, 并作适当调整, 以确保导管不会滑出 ICA。当导丝硬头进入 ICA 后, 快速将导丝推出导管约 1 cm, 重复 1 ~ 2 次后, 退出导丝。随后经导管再次造影, 了解刺破后血管的即刻改变 (图 1)。最后拔出导管, 结扎右股动脉, 缝合皮肤。

1.2.2 CT 检查 术前常规行头颅 CT 检查。CT 机

及血管壁厚度, 血管直径测量取管腔内直径纵轴及横轴两值的均值。同时观察血管周围脑组织有无坏死表现。

1.2.4 CVS 的判断标准 采用大血管管腔直径缩小为判断 CVS 标准: 若 SAH 组 PCoA 和 BA 直径同对照组均值无统计学差异, 则视为未发生 CVS; 若与对照组均值存在差异, 则视为发生 CVS。

1.3 统计学分析

实验数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, SPSS 13.0 统计数据软件包进行 *F* 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 SAH 造模成功率

本组 78 只兔中, 成功制成模型并获取标本 45 只, 模型制作成功率为 57.7%, 其中 SAH 组 35 只, 对照组 10 只。死亡 33 只, 死亡原因主要为颅内大出血、麻醉意外及大动脉损伤等, 其中因颅内出血死亡 25 只, 其中 13 只发生于术后 6 h 内。

2.2 CT 扫描结果

SAH 组 35 只兔中, 术前头颅 CT 扫描显示蛛网膜下腔清晰; 术后头颅 CT 扫描显示 I 级 8 只, 伴有脑肿胀 4 只; II 级 16 只; III 级 11 只; 未见硬膜下血肿及颅内血肿, 未见气颅改变。各时间点兔处死前

头颅 CT 扫描显示: 3 h ~ 2 d 组兔的 SAH 较术前减少, 4 只显示蛛网膜下腔清楚; 3 ~ 14 d 组见蛛网膜下腔清楚。意外死亡组中见气颅及颅内血肿等改变, 出血量多。

2.3 血管痉挛的形态学结果

所有 SAH 模型中, 在本实验各观察时间点内, 后交通动脉及基底动脉均出现管腔内直径缩小, 3、12 h 组最明显, 随后在第 7 天再次明显收缩。而血管壁厚度的增加, 则以 7 d 组最明显(表 1)。

表 1 兔脑血管动态改变表

参数	正常对照组	未SAH组	SAH组						
			3 h组	12 h组	1 d组	2 d组	3 d组	7 d组	14 d组
PCOA直径	196.81 ± 10.16	188.12 ± 9.86	108.22 ± 12.10	110.88 ± 13.30	159.88 ± 11.61	151.89 ± 16.10	139.98 ± 20.67	139.09 ± 8.56	158.88 ± 18.1
PCOA管壁	28.45 ± 6.71	30.10 ± 7.08	30.22 ± 6.11	32.96 ± 4.24	32.45 ± 7.01	35.18 ± 7.97	34.94 ± 3.71	44.65 ± 8.33	36.1 ± 8.01
BA直径	196.81 ± 10.16	188.12 ± 9.86	108.22 ± 12.10	110.88 ± 13.30	159.88 ± 11.61	151.89 ± 16.10	139.98 ± 20.67	139.09 ± 8.56	158.88 ± 18.1
BA管壁	28.45 ± 6.71	30.10 ± 7.08	30.22 ± 6.11	32.96 ± 4.24	32.45 ± 7.01	35.18 ± 7.97	34.94 ± 3.71	44.65 ± 8.33	36.1 ± 8.01

3 讨论

CVS 发生机制迄今仍不清楚, 尤其是早期脑损伤的概念的提出, 更是对建立适宜的动物模型提出了更高的要求^[2,5]。目前最常用的动物模型多采用双次注血法制作, 具有可复制性、与人 CVS 时间一致、成功率高等优点, 但是其忽略了下述病理生理改变: 由于动脉损伤, 脑组织受到血流的直接冲击而导致的损伤和血管生物活性物质的释放。血管内穿刺模型则较好的解决了上述问题, 并能基本符合理想动物模型的条件^[6-7]。但以往模型多采用鼠作为实验对象, 存在颅内血管侧支丰富、不易出现脑缺血改变、痉挛时间窗短等缺点。所以本实验制作新的血管内穿刺模型并研究其在 CVS 的病理表现, 可更好的研究脑血管痉挛。

3.1 模型的适用性

目前国内外广泛应用的模型是采用双次注血法制作兔 CVS^[1,7-8], 该模型痉挛时间窗与人的痉挛时间相接近, 实验过程中可通过血管造影确定血管痉挛及病变的程度。

本研究表明 SAH 后实验兔 PCoA 及 BA 均出现管腔内直径的缩小, 呈现双相期改变。血管壁厚度的增加, 则以 7 d 组最明显。表明该模型出现急性期、慢性期双相改变, 与人 CVS 进程相符。同时实验兔在 SAH 后行为学改变, 以及血管壁出现细胞凋亡、周围脑组织出现缺血损伤等病理改变, 均体现了本模型在研究 CVS 方面的适宜性。相对于国内外广泛采用的兔双次注血模型、血管内穿刺模型, 本模型具有如下特点: ①能够充分模拟血管破裂后的

病理生理改变, 可使实验结果更具准确性, 本组的实验结果也证明了此点。同时采用微穿刺法, 可以减少其他手术方法所致的干扰因素; ②大部分动脉瘤破裂的位置在前循环, 本实验采用兔 ICA 穿刺法, 具有较高的模拟性; ③本模型可以采用 CT 研究 SAH 表现, 更是对痉挛提供了重要依据。SAH 后 CT 扫描可见出血量, 可以参考 Fisher 分级进行评估。本组部分病例 CT 扫描见蛛网膜下腔显示不清的原因可能是兔颅腔小, 周围颅骨可产生大量伪影, 对于少量出血难以准确判断。由于本模型充分结合了当前两种动物模型的优点, 能比较全面的表现出 SAH 后的病理生理改变, 接近于理想动物模型所具备的条件。

3.2 CVS 模型死亡率的评价

本组动物死亡率偏高, 与文献报道相符^[9-10]。死亡主要发生在 SAH 后 24 h 内, 原因主要是刺破 ICA 时出血过多, 兔因瞬时颅内高压而死亡; 同时尚有导丝对脑组织的损伤所致因素; 其次是导管对兔大动脉损伤等原因。本组 4 只兔因腹主动脉及髂动脉严重损伤而死亡, 兔腹主动脉及胸主动脉内径约 3 mm, 常用的动物体内造影管为 4 F 导管, 很容易损伤动脉壁^[11]。我们在总结原因后, 在此次实验上改进方法, 明显降低了死亡率。

3.3 制作方法的探讨

兔脑主要由后循环供血, ICA 细小, 且 ICA 起始部扭曲, 3 F 微导管及导丝由于偏硬偏粗, 不能进入 ICA。采用动脉瘤导管可以进入 ICA。操作时注意采用路图技术。同时实验兔应采用深麻醉状态, 以

免在导管进入 ICA 时因兔活动导致血管痉挛。操作中动作要轻柔,避免因导管刺激导致动脉痉挛,进而使导管不能进入 ICA 的情况发生。由于在 4 F 导管内引入微导管,2 支导管间的腔隙很小,容易导致血栓形成。本组早期由于未控制好肝素用量,经常发现导管内血栓形成或兔在刺破动脉时出血过多,可以采取下列措施有效解决:①术中给予导管加压冲洗,冲洗液为 5%葡萄糖 250 ml 中加入 0.2 ml 肝素;②微导管进入 4 F 导管后加大滴速;③冲洗导管的 500 ml 液体中加入 0.6 ~ 0.8 ml 肝素。

从股动脉到 ICA 距离较长,且主动脉弓发出颈总动脉存在一定的角度,若刺破颅内动脉时选用较细导丝,如弹簧圈支撑导丝,则由于张力不够,不能刺破动脉,而较粗导丝则不能进入 ICA。实验中采用 0.010 英寸导丝硬头获得很好的刺破动脉效果。在刺破动脉过程中,注意控制刺破次数,导丝刺破 1 ~ 2 次即可,次数过多会导致颅内出血增加,实验兔容易死亡。

本组结果提示,采用经股动脉行血管内穿刺法制作的 CVS 模型病理改变明显,是一种适合研究 CVS 发生机制的动物模型。虽然模型死亡率偏高,但是注意操作的细节和应用新型材料,能提高血管内穿刺模型制作的成功率。

[参 考 文 献]

[1] 贾 莉,孙保亮,张 磊.蛛网膜下腔出血性脑血管痉挛动物

模型的制作[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13: 8147 - 8150.

[2] Chaill J, Zhang JH. Subarachnoid hemorrhage: is it time for a new direction?[J]. Stroke, 2009, 40: S86 - S87.

[3] Lin CL, Calisaneller T, Ukita N, et al. A murine model of subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm [J]. J Neurosci Methods, 2003, 123: 89 - 97.

[4] 叶 伟,王晓峰,赵春波,等.蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛的发生机制研究进展[J].中华实验外科杂志,2006,23: 124 - 126.

[5] Cahill J, Calvert JW, Zhang JH, et al. Mechanisms of early brain injury after subarachnoid hemorrhage [J]. J Cerebr Blood Flow Metab, 2006, 26: 1341 - 1353.

[6] Cahill J, Calvert JW, Solaroglu I, et al. Vasospasm and p53-induced apoptosis in an experimental model of subarachnoid hemorrhage[J]. Stroke, 2006, 37: 1868 - 1874.

[7] Santhanam RV, Smith AL, Akiyama M, et al. Role of endothelial NO synthase phosphorylation in cerebrovascular protective effect of recombinant erythropoietin during subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm[J]. Stroke, 2005, 36: 2731 - 2737.

[8] Maeda Y, Hirano K, Hirano M, et al. Enhanced contractile response of the basilar artery to platelet-derived growth factor in subarachnoid hemorrhage[J]. Stroke, 2009, 40: 591 - 596.

[9] 涂建飞,刘一之,纪建松,等.血管内穿刺法制作兔脑血管痉挛模型[J].介入放射学杂志,2008,17: 870 - 873.

[10] 吴 健,余 健,印 佳,等.实验性兔脑血管痉挛模型中 I 型钙蛋白酶表达的初步研究[J].介入放射学杂志,2010,19: 631 - 634.

[11] 段鸿洲,莫大鹏,李 良,等.两种验证兔脑血管痉挛的造影方法比较[J].中国微侵袭神经外科杂志,2010,15: 319 - 322.

(收稿日期:2011-02-21)

·消 息·

第一届全国儿科介入放射学研讨会 暨儿科介入诊疗进展学习班通知

为推动我国儿科介入事业的发展,普及儿科介入诊疗知识与技能,规范儿科介入诊疗,由中华医学会放射学分会儿科学组主办,广东省放射学分会介入学组与广州市妇女儿童医疗中心介入科承办,第一届全国儿科介入治疗研讨会暨儿科介入诊疗新进展学习班,将于 2011 年 9 月 22 日至 25 日在广州举行。本次会议以专家讲座与病例讨论为主,届时将邀请国内著名介入医学专家作专题讲座,同时就国际、国内儿科介入放射学领域的最新研究进展进行广泛交流。参会代表将获得国家级继续教育学分 8 分[2011-09-04-064(国)]。会议详情请登录网站:<http://www.fejr.org/>。