

## ·实验研究 Experimental research·

## 犬下肢深静脉血栓模型的实验研究

张 鹏, 施海彬, 刘 圣, 李麟荪

**【摘要】** 目的 研究用介入技术建立一种能用于诊断及治疗的犬深静脉血栓动物模型, 评价其技术可行性和稳定性。方法 6 只成年毕格犬, 任意选择一侧髂股静脉为实验侧, 另一侧为对照侧。DSA 透视引导下经颈外静脉及股静脉途径分别将直径 10 mm 与 6 mm 的球囊导管置于髂总静脉近心端及股静脉远心端, 充盈球囊阻断血流, 并经导管注入凝血酶 100 u。1 h 后行超声检查, 4 h 后抽瘪两端球囊退出导管, 24 h 后行静脉顺行造影、肺动脉造影及病理检查。结果 6 只犬全部成功建立髂股静脉血栓。24 h 后动物均存活, 未出现严重并发症。静脉造影及病理检查证实急性静脉血栓形成, 血栓长度  $(5.68 \pm 0.50)$  cm。对照侧静脉内无血栓形成。结论 介入技术建立的犬下肢深静脉血栓模型具有操作简单、创伤小、动物易存活、血栓形成快速可靠的优点, 可用于深静脉血栓的影像诊断及临床治疗研究。

**【关键词】** 静脉血栓; 动物模型; 犬; 放射学; 介入

中图分类号: R543.6 文献标识码: A 文章编号: 1008-794X(2006)05-0299-04

**Establishment of deep venous thrombosis model in dogs with interventional technique** ZHANG Peng, SHI Hai-bin, LIU Sheng, LI Lin-sun. Department of Interventional Radiology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

**【Abstract】 Objective** To establish a new canine model of deep venous thrombosis that can be suited for the study of diagnosis and thrombolytic therapy, and to evaluate its feasibility and stability. **Methods** The unilateral iliofemoral venous thrombosis was formed in each of six beagle dogs, and the contralateral iliofemoral vein was taken as control. Under fluoroscopic guidance, the balloon catheters with diameter of 10 mm and 6 mm were placed into the proximal part of common iliac vein and distal part of femoral vein through external jugular vein and femoral vein respectively. Then contrast agent was injected into the balloon to occlude the blood flow and followed by 100 u thrombin through the balloon catheter into the femoral vein. One hour later the iliofemoral veins on both sides were examined by the ultrasound and then the two balloon catheters were sucked and removed 4 hours later. Antegrade venography of both iliofemoral veins and pulmonary artery angiography were performed 24 h after withdrawal of balloon catheters. Finally the animal were sacrificed and the iliofemoral veins of both sides were taken out for pathological study. **Results** The iliofemoral venous thrombosis on experimental side was formed in all 6 dogs at 24 h without any severe complications. Antegrade venography and pathological examination confirmed the formation of acute venous thrombosis with segmental length of  $(5.68 \pm 0.50)$  cm, but no thrombosis occurred in the control side. **Conclusions** The creation of deep venous thrombosis model in dogs with interventional technique is simple, microinvasive and reliable. The method does serve usefully for the research of imaging diagnosis and clinical therapy. (J Intervent Radiol, 2006, 15: 299-302)

**【Key words】** Venous thrombosis; Animal model, dogs; Radiology, interventional

深静脉血栓形成(DVT)的动物模型是研究体内静脉血栓形成的发病机制、病理生理变化和评价各种诊断及治疗方法的重要条件。尤其近年来出现了许多治疗深静脉血栓的介入新方法, 亟需建立较为理想的 DVT 动物模型为这些方法用于临床提供

实验依据。本研究用介入微创技术成功建立了犬下肢深静脉血栓模型, 并对其操作技术可行性及模型稳定性进行分析总结, 现报道如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

成年健康毕格犬 6 只 (南京安立默实验动物繁殖中心提供), 体重 12 ~ 17 kg, 雌雄不拘。采用自身

基金项目: 江苏省“135”医学重点人才工程资助项目 (编号 35-55)

作者单位: 210029 南京医科大学第一附属医院介入放射科

通讯作者: 施海彬

万方数据

对照研究,任意选择一侧髂股静脉为实验组,对侧髂股静脉为对照组。

## 1.2 实验方法

1.2.1 动物麻醉 肌注 3%戊巴比妥钠 20 ~ 30 mg/kg 麻醉,根据角膜反射消失及呼吸节律在 12 ~ 16 次/min 控制麻醉深度。给予吸氧(2 ml/s),密切观察其心率和呼吸变化。

1.2.2 动物模型制作 麻醉成功后将犬仰卧固定于自制操作台,任意选择一侧股静脉区备皮,消毒铺巾后用改良 Seldinger 法穿刺股静脉远端置入 6F 导管鞘,同时右侧颈静脉区备皮,同法穿刺右颈外静脉置入 6F 导管鞘。经颈静脉鞘引入 5F(10 mm × 40 mm)球囊导管在 DSA (德国西门子公司: Polytron1000)透视下经导丝引导将球囊置于实验侧髂总静脉近下腔静脉开口处,充盈球囊阻断髂总静脉;同时经股静脉鞘引入另一个 5F(6 mm × 20 mm)球囊导管将球囊置于股静脉远心端,充盈球囊阻断股静脉,并经导管注入用生理盐水 5 ml 稀释的凝血酶 100 u;两个球囊间距 4 ~ 6 cm,即为血栓形成段(图 1)。4 h 后抽瘪两端球囊退出导管,拔出导管鞘,穿刺点压迫止血。



图 1 近端球囊位于髂总静脉近下腔静脉开口处,远端球囊位于股静脉,两球囊间距 4 ~ 6 cm

## 1.3 彩色多普勒超声及静脉造影检查

注入凝血酶后 1 h 及撤出两侧球囊导管后对实验侧静脉行彩色多普勒超声(美国 GE 公司: LOGIQ9)检查,观察血栓形成及静脉血流情况,同时检查对侧髂股静脉。24 h 后行两侧股静脉逆行造影及经颈外静脉插管行肺动脉造影检查。

## 1.4 大体标本及病理检查

造影后静脉推注 10%氯化钾处死动物,取血栓万方数据

形成节段及对侧正常节段髂股静脉血管,测量血栓长度,其后置于 10%甲醛溶液中固定,1 周后横切血管段制成病理切片,经苏木精-伊红染色及石蜡包埋,置显微镜下观察血栓形成情况。

## 2 结果

6 只动物均成功建立髂股静脉血栓模型,3 只位于左侧髂股静脉,3 只位于右侧。形成血栓长(5.68 ± 0.50) cm。对照侧静脉内血流通畅,未见血栓形成。6 只犬均存活,一般情况良好,未出现静脉血管损伤破裂出血等严重并发症以及呼吸困难、气促、呛咳、休克等肺动脉栓塞症状。

模型建立后实验侧静脉行彩色多普勒二维超声检查见管腔内实质性中低回声,管腔增粗,探头加压后静脉管腔不能压瘪;对照侧静脉腔内呈无回声,探头加压后静脉管腔可压瘪。彩色血流法(CDFI)及多普勒频谱(Doppler)检查见实验侧静脉管腔内无彩色血流及血流频谱信号,对照侧静脉见充盈管腔的彩色血流信号及随呼吸变化的血流频谱(图 2 ~ 4)。实验侧股静脉逆行造影见股静脉至髂总静脉内明显充盈缺损,髂总静脉近心端及下腔静脉显影浅淡,造影剂经周围开放的侧支循环回流。有 4 只犬见髂内静脉显影,另 2 只犬髂内静脉未见显影。对照侧股静脉逆行造影见静脉血流通畅,管壁光滑,无充盈缺损。肺动脉造影见肺动脉主干显影清晰,其内未见充盈缺损(图 5 ~ 7)。

血栓段髂股静脉病理检查,肉眼下见血栓充满静脉管腔,呈紫红色,与管壁粘连。光镜下可见血管内皮细胞基本完整,内膜未见明显破坏。血栓以均匀分布的红细胞为主,并见纤维素网状结构及散在血小板及白细胞。血栓与管壁粘连,同时可见静脉瓣伸入管腔,其内膜上有血栓黏附(图 8,9)。

## 3 讨论

DVT 有很高的致残及致死率<sup>[1]</sup>。理论上,血栓形成主要是由于:①血管内膜损伤;②血流缓慢、淤滞;③血液高凝状态。而以后 2 个因素为主<sup>[2]</sup>。静脉血栓动物模型的建立即根据此原理通过各种方法造成局部静脉血流滞缓或高凝状态<sup>[3]</sup>。

目前文献报道较多的方法是通过手术切开暴露静脉,结扎静脉两端形成血栓<sup>[4-8]</sup>。该方法建立的血栓模型可靠,效果较为满意且可用于各种动物,但造模的手术操作过程烦琐,对动物创伤较大,且静脉血管菲薄,在操作中较易损伤而引发大出血。



图 2 注入凝血酶后 1 h 二维超声见实验侧静脉内呈中低回声, 管腔较对照侧明显增粗, 对照侧静脉内呈无回声(箭头所示为球囊导管头端)

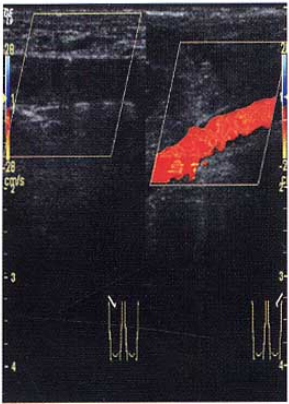


图 3 退出球囊后 CDFI 示实验侧静脉内无彩色血流信号, 对照侧静脉内见充盈管腔的血流信号

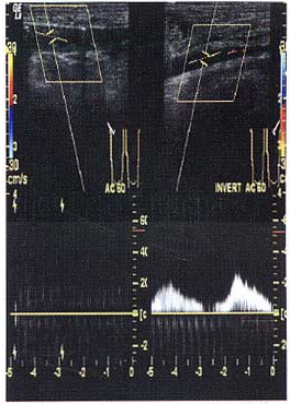


图 4 退出球囊后多普勒超声示实验侧静脉内无血流频谱, 对照侧见静脉血流频谱随呼吸变化

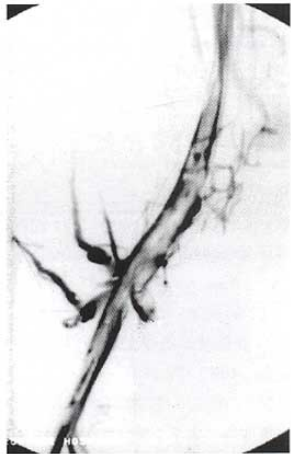


图 5 实验侧顺行股静脉造影显示股静脉至髂总静脉内明显充盈缺损, 周围见丰富的侧支循环显影



图 6 对照侧顺行股静脉造影显示股静脉血流通畅, 管壁光滑, 其内无充盈缺损

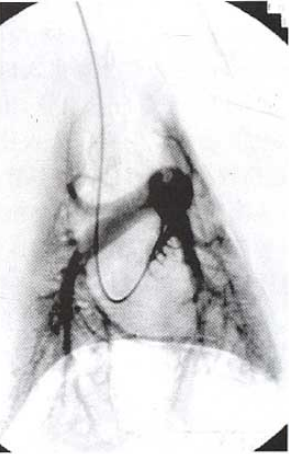


图 7 肺动脉造影见肺动脉主干显影清晰, 未见充盈缺损

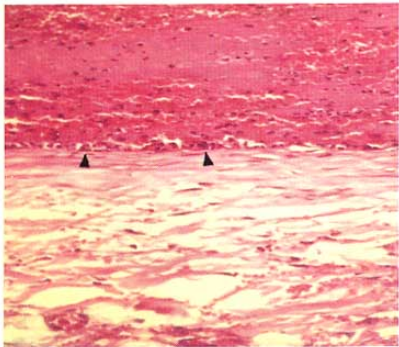


图 8 血栓成分以红细胞及纤维素为主, 并见散在分布的血小板及白细胞, 内皮细胞基本完整, 与血栓粘连(箭头所示) HE 染色  $\times 200$

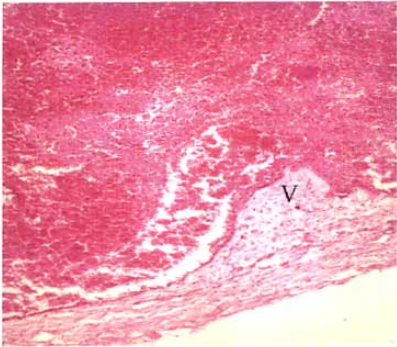


图 9 静脉内膜完整, 静脉瓣(V)突向管腔, 其上有血栓黏附 HE 染色  $\times 100$



近年来由于血管腔内除栓治疗的兴起而出现了新的造模方法。Gu 等<sup>[9]</sup>和 Trerotola 等<sup>[10]</sup>分别报道经股静脉插入 Fogarty 球囊导管至肾静脉下方,充盈球囊完全阻断下腔静脉血流并保留球囊于静脉内形成腔静脉血栓,该方法虽无需切开暴露下腔静脉,但 Fogarty 导管固定较为困难,球囊易移动而造成造模失败或动物死亡,且血栓形成时间较长。Haage 等<sup>[11]</sup>报道于下腔静脉内置入长约 3~4 cm 的支架,以异物刺激诱导血栓形成,该方法无需固定球囊,但支架不易获取、置入操作存在一定的难度,且置入的支架仍有移位引起异位栓塞的危险。Tacke 等<sup>[12]</sup>将弹簧圈置入静脉,用其代替球囊阻断血流形成静脉血栓,但同样存在弹簧圈置入较困难、可能移位等问题,并且若将该模型用于血管腔内除栓治疗的研究则弹簧圈可能阻碍器械的通过进而影响实验效果。

本实验将介入技术用于动物模型的制作,经股静脉及颈外静脉穿刺插管分别引入球囊阻断静脉两侧血流,无需切开暴露静脉血管,用介入的方法模拟了外科切开结扎,发挥了介入技术微创的优点,对动物创伤较小。考虑到球囊导管固定困难,我们经导管注入凝血酶大大缩短了血栓形成的时间,因此无需将导管长时间留置于动物体内,从而避免了球囊移位致异位栓塞等问题。彩色多普勒超声检查证实注入凝血酶后 1 h 静脉内即有血栓形成。病理显示形成的血栓组成成分以红细胞及纤维素网为主,散在分布血小板与白细胞,与临床深静脉急性血栓病理基本一致。同时可见静脉瓣伸入静脉管腔,其内膜上有血栓黏附,有利于进一步研究血栓及除栓治疗对静脉瓣的影响。

本实验中用改良 Seldinger 法直接经皮穿刺静脉血管,其中股静脉的穿刺与临床穿刺入股静脉方法基本相同。而颈外静脉的穿刺则有所不同,之所以选择颈外静脉是因为犬的颈外静脉较颈内静脉粗大。在预实验中我们发现犬颈外静脉位置非常表浅,颈部备皮后大多可见有突出于皮肤表面的血管走行,可直视下直接穿刺;如直视穿刺困难,则可经股静脉鞘插管置入导丝于颈外静脉作为定位标记透视下穿刺。实验中有 4 只犬直视下直接穿刺,2 只犬在直视下直接穿刺多次未果后经透视下定位穿刺成功。

本模型制作成功率高,操作简单,动物创伤小,血栓形成快速、可靠,且符合临床病理表现,可用于深静脉血栓的影像学诊断、病理生理变化及溶栓治

疗等研究。当然也存在不足,球囊撤出后理论上存在血栓脱落导致肺栓塞的可能,虽然本实验中 6 只犬均未出现肺栓塞表现且肺动脉造影均未见肺动脉栓塞,考虑与实验时间短或脱落栓子小有关,但若要建立陈旧性血栓模型,则需动物存活时间较长,肺栓塞的可能性将加大。考虑可通过置入腔静脉滤器等方法予以预防,还有待进一步研究。当然,我们也将进一步探索用此方法制作肺动脉栓塞模型的可能性。

#### [参考文献]

- [1] Haines ST. Venous thromboembolism: pathophysiology and clinical presentation[J]. Am J Health Syst Pharm, 2003, 60(Suppl 7): S3 - S5.
- [2] 李家增, 贺石林, 王鸿利, 等主编. 血栓病学[M]. 北京: 科学出版社, 1998.5 - 8.
- [3] Levi M, Dörrfler-Melly J, Johnson GJ, et al. Usefulness and limitations of animal models of venous thrombosis [J]. Thromb Haemost, 2001, 8:1331 - 1333.
- [4] Cho JS, Martelli E, Mozes G, et al. Effects of thrombolysis and venous thrombectomy on valvular competence, thrombogenicity, venous wall morphology, and function[J]. J Vasc Surg, 1998, 28: 787 - 799.
- [5] Rhodes JM, Cho JS, Gliviczki P, et al. Thrombosis for experimental deep venous thrombosis maintains valvular competence and vasoreactivity[J]. J Vasc Surg, 2000, 31: 1193 - 1205.
- [6] 戎建杰, 伍波, 何礼荣, 等. 导管直接溶栓治疗犬股静脉急性深静脉血栓后静脉壁形态学的变化[J]. 苏州大学学报(医学版), 2004, 24: 169 - 172.
- [7] 王辉, 王岭, 陈江浩, 等. 腔内超声溶栓治疗犬外周血管血栓形成[J]. 第四军医大学学报, 2003, 24: 870 - 872.
- [8] 周为民, 李晓强, 余朝文, 等. 血栓消融、溶栓和取栓对犬股静脉壁形态学影响的研究[J]. 中国普通外科杂志, 2003, 18: 214 - 216.
- [9] Gu X, Sharafuddin MJ, Titus JL, et al. Acute and delayed outcomes of mechanical thrombectomy with use of the steerable Amplatz thrombectomy device in a model of subacute inferior vena cava thrombosis[J]. J Vasc Interv Radiol, 1997, 8: 947 - 956.
- [10] Trerotola SO, McLennan G, Davidson D, et al. Preclinical in vivo testing of the Arrow-Trerotola percutaneous thrombolytic device for venous thrombosis[J]. J Vasc Interv Radiol, 2001, 12: 95 - 103.
- [11] Haage P, Tacke J, Boveland J, et al. Prototype percutaneous thrombolytic device: preclinical testing in subacute inferior vena caval thrombosis in a pig model[J]. Radiology. 2001, 220: 135 - 141.
- [12] Tacke J, Vorwerk D, Bucker A, et al. Experimental treatment of early chronic iliac vein thrombosis with a modified hydrodynamic thrombectomy catheter: preliminary animal experience[J]. J Vasc Interv Radiol, 1999, 10: 57 - 63.

(收稿日期: 2006-01-09)

作者: 张鹏, 施海彬, 刘圣, 李麟荪, ZHANG Peng, SHI Hai-bin, LIU Sheng, LI Lin-sun  
作者单位: 210029, 南京医科大学第一附属医院介入放射科  
刊名: 介入放射学杂志   
英文刊名: JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY  
年, 卷(期): 2006, 15(5)  
被引用次数: 2次

## 参考文献(12条)

1. Haines ST [Venous thromboembolism: pathophysiology and clinical presentation](#) 2003(zk)
2. 李家增, 贺石林, 王鸿利 [血栓病学](#) 1998
3. Levi M, D(o) rffler-Melly J, Johnson GJ [Usefulness and limitations of animal models of venous thrombosis](#) 2001
4. Cho JS, Martelli E, Mozes G [Effects of thrombolysis and venous thrombectomy on valvular competence, thrombogenicity, venous wall morphology, and function](#) 1998
5. Rhodes JM, Cho JS, Glaviczk P [Thrombosis for experimental deep venous thrombosis maintains valvular competence and vasoreactivity](#) 2000
6. 戎建杰, 伍波, 何礼荣 [导管直接溶栓治疗犬股静脉急性深静脉血栓后静脉壁形态学的变化](#)[期刊论文]-[苏州大学学报\(医学版\)](#) 2004
7. 王辉, 王岭, 陈江浩 [腔内超声溶栓治疗犬外周血管血栓形成](#)[期刊论文]-[第四军医大学学报](#) 2003
8. 周为民, 李晓强, 余朝文 [血栓消融、溶栓和取栓对犬股静脉壁形态学影响的研究](#)[期刊论文]-[中国普通外科杂志](#) 2003
9. Gu X, Sharafuddin MJ, Titus JL [Acute and delayed outcomes of mechanical thrombectomy with use of the steerable Amplatz thrombectomy device in a model of subacute inferior vena cava thrombosis](#) 1997
10. Trerotola SO, McLennan G, Davidson D [Preclinical in vivo testing of the Arrow-Trerotola percutaneous thrombolytic device for venous thrombosis](#) 2001
11. Haage P, Tacke J, Bovelander J [Prototype percutaneous thrombolytic device: preclinical testing in subacute inferior vena caval thrombosis in a pig model](#) 2001
12. Tacke J, Vorwerk D, Bucker A [Experimental treatment of early chronic iliac vein thrombosis with a modified hydrodynamic thrombectomy catheter: preliminary animal experience](#) 1999

## 引证文献(2条)

1. 刘政, 张玥, 侯玉芬 [深静脉血栓形成动物模型的研究进展](#)[期刊论文]-[中华中医药学刊](#) 2010(1)
2. 周春高, 施海彬, 刘圣, 王成虎, 刘海日, 李麟荪 [自制可回收下腔静脉滤器预防急性肺栓塞的实验研究](#)[期刊论文]-[介入放射学杂志](#) 2007(6)

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_jrfsxzz200605014.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz200605014.aspx)

授权使用: qkxb11(qkxb11), 授权号: 79f4f8f7-ed15-4e78-9ba4-9e1f0004ee28

下载时间: 2010年10月30日