

·综述 General review·

血管腔内弹性蛋白酶诱导兔动脉瘤模型制作进展

马永迁, 王育波, 于金录, 罗 祺

【摘要】 血管腔内弹性蛋白酶诱导兔动脉瘤模型因其形态学、组织学、血流动力学与人类颅内动脉瘤相似,广泛应用于颅内动脉瘤病因、栓塞材料等方面研究。现总结国内外血管内弹性蛋白酶诱导兔动脉瘤模型相关文献,阐述动物模型制作方法及特点。

【关键词】 弹性蛋白酶;动脉瘤;兔;综述

中图分类号:R543.5 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2012)-03-0257-04

Research progress in the establishing of intraluminal elastase-induced aneurysm model in rabbits MA

Yong-qian, WANG Yu-bo, YU Jin-lu, LUO Qi. Department of Neurosurgery, Bethune First Hospital of Jilin University, Changchun, Jilin Province 130021, China

Corresponding author: LUO Qi

【Abstract】 Intraluminal elastase-induced aneurysm rabbit models have been widely used in the research of the etiology of intracranial aneurysms, the embolic agents and so forth, because the aneurysms thus produced are strikingly similar to human intracranial aneurysms in morphology, histology, hemodynamics, etc. This paper aims to make a comprehensive review of the intraluminal elastase-induced aneurysm rabbit models by summarizing the relevant medical documents published at home and abroad, focusing on the preparation of the animal model and its features. (J Intervent Radiol, 2012, 21: 257-260)

【Key words】 elastase; aneurysm; rabbit; review

颅内动脉瘤是自发性蛛网膜下腔出血最主要的原因,占颅内出血的 25%,致死率和致残率都很高。随着弹簧圈和其他新的栓塞材料的发明,颅内动脉瘤的治疗,特别是血管内治疗技术不断更新。建立组织学和血流动力学类似于人类动脉瘤的实验动物动脉瘤模型显得十分重要。血管腔内弹性蛋白酶诱导法制作兔动脉瘤模型是近年来广泛使用的颅内动脉瘤动物模型。

1 兔解剖及生理特点

兔性情温和,适应性强,容易饲养,费用低廉。兔的双侧颈总动脉直径 3 ~ 5 mm,与人类的颅内动脉二级血管大脑中动脉直径相似^[1];80%双侧颈总动脉共同起源于头臂干,制作分叉型动脉瘤较为理想^[2];而且选用兔制作右侧颈总动脉起始部动脉瘤时间较短,模型长期开放,兔右侧颈总动脉起始部血液剪切率高,符合人颅内动脉瘤的血流动力学特

征^[3]。兔的凝血和纤溶系统与人类相似,评价栓塞材料、栓塞效果以及观察诱发血栓能力十分可靠^[4]。兔越来越多应用于动脉瘤模型制作,但其耐受力差,麻醉和手术死亡率高。

2 弹性蛋白酶诱导动脉瘤模型制作方法

2.1 血管内球囊阻断结合弹性蛋白酶诱导制作方法

该方法应用血管内介入技术结合外科操作制作动脉瘤模型^[1]。具体制作方法是:颈部正切口,钝性分离右侧颈总动脉,自右侧颈总动脉远端结扎,穿刺动脉置入导管鞘,经导管鞘送入球囊,充盈球囊封堵右侧颈总动脉起始部,向动脉残腔内注入猪胰弹性蛋白酶,注射过程中注意观察有无球囊移位、蛋白酶是否流入头臂干及右侧颈总动脉有无扩张等,约 20 min 后移去残腔内液体,撤出微导管、球囊,拔出导管鞘,在穿刺点以下丝线结扎,连续缝合皮肤。2000 年 Altes^[5]等首次应用此方法制作动脉瘤模型,此模型在形态学、组织学及血流动力学与颅内动脉瘤极其相似,而且通畅率高,稳定性好,容易复制,越来越多的应用于动脉瘤研究中。此方法缺

点是球囊位置不当时,可出现球囊封堵不全,导致弹性蛋白酶泄漏,出现气管出血性坏死,以及有引起肺部并发症致实验动物死亡的可能^[6],另外一些异常气管动脉起源于右侧颈总动脉,弹性蛋白酶也可经此途径导致出血性气管坏死^[7]。术中需 DSA 造影监测,费用昂贵。

2.2 血管临时夹闭结合弹性蛋白酶诱导制作方法

此方法应用临时血管夹暂时夹闭右侧颈总动脉起始部阻断血流,代替球囊封堵。颈部正中切口,分离颈前肌肉,钝性分离右侧颈总动脉,暴露清楚右侧颈总动脉起始部及右侧锁骨下动脉,必要时为显示清楚可切除第一肋骨及胸骨柄,丝线结扎右侧颈总动脉远端,临时血管夹夹闭右侧颈总动脉起始部,穿刺血管残端,置入导管鞘,注入猪胰弹性蛋白酶,约 20 min 后,撤出导管鞘,丝线结扎动脉,撤出临时血管夹,缝合皮肤。2004 年 Hoh 等^[8]首先采用

此方法制作了兔动脉瘤模型,此方法可将右侧颈总动脉完全夹闭,避免弹性蛋白酶泄漏,而且动脉瘤夹占用空间小,保证了右侧颈总动脉起始部弹力层被酶充分消化,更易形成动脉瘤^[3]。也可将右侧颈总动脉起源的异常动脉结扎,避免出血性气管坏死。术中不需 DSA 设备,费用低廉。但是手术创伤较大,需要较高手术技巧,分离右侧颈总动脉起始部过程中容易出现难以控制的颈外静脉损伤出血^[4]。

3 动脉瘤大小的可控性

人类动脉瘤形态、大小各异,如何制作出所需大小及形态的动脉瘤模型,是亟待解决的问题,血管腔内弹性蛋白酶诱导法制作兔动脉模型动脉的大小可能与弹性蛋白酶剂量、作用时间,血管结扎部位、球囊阻断部位有关(表 1)。

3.1 弹性蛋白酶剂量与作用时间

表 1 蛋白酶剂量与所制作动脉瘤各参数的关系

作者	酶剂量/u	作用时间/min	结扎部位/mm	球囊部位	长径/mm	宽径/mm	瘤颈/mm
Cloft 等 ^[16]	50	30	15 ~ 20	R-CCA	4.9 ± 1.52	3.0 ± 0.63	— ^b
Altes 等 ^[15]	100	20	15 ~ 20	R-CCA	7.5 ± 1.6	4.5 ± 1.2	— ^b
Kallmes 等 ^[9]	100	20	— ^b	R-CCA	8.7 ± 2.6	4.1 ± 1.1	— ^b
Krings 等 ^[23]	20	20	20 ~ 25	R-CCA	7.62 ± 4.13	3.24 ± 1.65	2.44 ± 1.22
Thiex 等 ^[11]	30	20	35 ~ 40	R-CCA	10.5 ± 2.65	4.0 ± 0.82	1.6 ± 0.6
	30	20	10 ~ 20	R-CCA	3.67 ± 1.15	2.67 ± 0.58	1.6 ± 0.6
	30	20	35 ~ 40	头臂干	10.2 ± 2.08	4.67 ± 0.58	3.4 ± 1.1
	30	20	10 ~ 20	头臂干	3.8 ± 1.10	2.8 ± 0.84	3.4 ± 1.1
Doerfler 等 ^[18]	50	15	10	R-CCA	6.2	2.8	2.7
Ding 等 ^[24]	200	20	— ^b	R-CCA	10.2 ± 1.4	4.4 ± 0.7	2.2 ± 0.3
Ding 等 ^[10]	200	20	10	R-CCA	7.3 ± 1.9	2.5 ± 0.7	2.7 ± 0.6
	200	20	15	R-CCA	9.0 ± 1.7	3.7 ± 0.7	3.3 ± 0.8
Kallmes 等 ^[25]	100	20	15 ~ 20	R-CCA	8.0 ± 2.1	3.8 ± 0.7	2.7 ± 1.2
Krings 等 ^[27]	20	20	— ^b	R-CCA	6.4 ± 3.7	3.6 ± 1.5	2.6 ± 1.4
Ding 等 ^[15]	200	20	20 ~ 30	R-CCA	8.7 ± 1.7	3.8 ± 0.8	3.5 ± 0.7
祝 胜等 ^[17]	75	20	15 ~ 20	瘤夹 ^a	4.55 ± 1.45	— ^b	4.23 ± 0.91
王奎重等 ^[26]	75	20	10 ~ 15	瘤夹 ^a	6.8 ± 1.7	3.5 ± 0.9	3.4 ± 1.6
卢 川等 ^[13]	500	20	7 ~ 10	瘤夹 ^a	9.0 ± 0.52	5.06 ± 0.31	— ^b
王奎重等 ^[29]	75	20	15	瘤夹 ^a	5.45 ± 1.79	3.43 ± 0.76	2.64 ± 0.71

注:a 表示血管临时夹闭结合弹性蛋白酶诱导制作的动脉瘤模型;b 示文献未列举相应数据

血管腔内注射弹性蛋白酶剂量,目前国内外尚无统一意见,综合国内外相关文献,注射剂量多在 20 ~ 100 u,可能与实验动物体重有关。弹性蛋白酶剂量与动脉瘤大小有无关系,目前尚无系统研究。Kallmes 等^[9]血管腔内分别注射 50 u、100 u 弹性蛋白酶,3 周后造影发现动脉瘤宽径(约 4 mm)、长径(约 8 mm)差异无统计学意义,这可能与内弹力层破坏在动脉瘤早期生长过程发挥重要作用有关,也可能与注射蛋白酶剂量偏低,实验动物数目少,得出假阴性结果有关。血管腔内弹性蛋白酶滞留时间

国内外多为 20 min^[5,9-10],Kallmes 等^[9]同时也研究了蛋白酶作用时间与动脉瘤大小的关系,血管腔内注射 100 u 弹性蛋白酶,分别滞留 10、20 min,3 周后动脉瘤大小差异也无统计学意义。

3.2 血管结扎部位与血流阻断部位

通过提高血管结扎部位高度,延长残端血管长度,可增大动脉瘤大小。Ding 等^[10]分别在距右侧颈总动脉起始部 10、15 mm 处结扎动脉,3 周后动脉瘤在长径、宽径、瘤颈及瘤体容积大小差异均有统计学意义。Thiex 等^[10]也在距右侧颈总动脉 10 ~ 20 mm,

30 ~ 40 mm 结扎动脉,血管结扎距离与动脉瘤长径呈线性相关(Spearman 相关系数 = 0.949),同样也认为通过提高血管结扎部位高度,可增大动脉瘤大小。瘤颈处的损伤可能在动脉瘤的形成过程中起到了关键作用,Wang 等^[12]用拱形动脉瘤夹在右侧颈总动脉起始部临时阻断血流,弹性蛋白酶可充分消化瘤颈,发现更易形成动脉瘤或较大动脉瘤。球囊阻断部位的不同主要影响动脉瘤颈大小,Thiex 等^[10]同时研究了球囊阻断部位与瘤颈大小关系,他们将一组(A 组)实验动物球囊放置在右侧颈总动脉起始部暂时阻断血流,另一组(B 组)实验动物球囊放置在头臂干右侧颈总动脉段,以增大弹性蛋白酶与右侧颈总动脉开口处的接触面积,3 周后发现 A 组动脉瘤颈 1 ~ 3 mm, B 组 2 ~ 5 mm,差异具有统计学意义。

4 模型动脉瘤形成时间及稳定性

动脉瘤模型的形成并稳定决定了进行栓塞材料研究的时间窗,国内卢川等^[13]在造模术后 1、3 周分别造影发现,3 周时动脉瘤大小明显大于 1 周时,表明模型动脉瘤术后进行增大。Fujiwara 等^[14]对模型动脉瘤进行性增大做了连续性动态影像学观察,认为大约 1 个月模型动脉瘤高度及长度稳定。Ding 等^[15]在造模术后 1、3、6、9、12 个月造影,动脉瘤大小差异无统计学意义($P = 0.045$),表明动脉瘤在造模术后 3 周左右稳定形成。国内外多数学者在弹性蛋白酶注射后 3 周行造影检查或栓塞材料的研究^[2,4,6-7,16]。动脉瘤模型的稳定性对栓塞材料、瘤腔内血流动力学、组织学及分子生物学方面的研究至关重要,目前关于弹性蛋白酶诱导兔动脉瘤模型稳定性研究较少,2006 年 Ding 等^[15]对 20 个动脉瘤模型 2 年连续动态观察,在各时间段动脉瘤大小、体积无统计学差异,随后在 2010 年他们又对 11 个动脉瘤模型在 1 个月、2 年、5 年造影复查,动脉瘤大小同样也无统计学差异,但是有 1 例窄颈动脉瘤出现自发性血栓形成^[28],提示随着时间延长动脉瘤腔内自发性血栓形成的概率增大。

5 随访方法及途径

5.1 DSA 是动脉瘤模型复查及随访的主要手段,目前主要有经股动脉、耳中央动脉及耳缘静脉 3 种途径。

5.1.1 经股动脉途径 是确定动脉瘤大小及方位最为准确的途径,图像质量清晰可靠。但是由于兔股动脉较为纤细,目前尚无市售针对兔动脉血管

鞘,常用人动脉血管鞘代替,兔股动脉穿刺后损伤严重,造影结束后需结扎股动脉,影响随后进行的栓塞材料的应用及研究,而且不能长期系列随访研究,目前较少用于随访。

5.1.2 经耳缘静脉途径 是目前模型动脉瘤栓塞后随访的主要方法^[14,17],静脉留置针穿刺耳缘静脉,经留置针注射对比剂,对比剂随静脉血流到右心房,然后进入右心室和肺动脉,经过肺循环后到达肺静脉和左心房,由左心室泵入主动脉弓,即可见弓上动脉瘤显影,操作方法简单、方便,创伤小,可进行长期系列随访研究。在显示动脉瘤大小及位置方面,与经动脉造影无显著差别^[18],但是图像质量差于经动脉途径造影,造影过程中所需对比剂剂量较大,容易引起心力衰竭。

5.1.3 经左耳中央动脉途径 Miskolczi 等^[19]首先应用这种方法,留置针穿刺动脉,经留置针注射对比剂,对比剂逆流至主动脉弓,可使弓上动脉瘤显影。Ding 等^[2]研究发现经左耳中央动脉造影在显示动脉瘤大小及形态方面与经股动脉途径无显著差异,操作可重复性强,简单,方便。图像质量取决于弓上大血管变异,左右颈总动脉共用一干时,图像清晰;左右颈总动脉分别起源于主动脉弓时,影像质量较差^[2,19]。

5.2 磁共振血管造影(MRA)及 CT 血管造影(CTA)

近年,MRA 和 CTA 逐步应用于动脉瘤模型随访中,无需 DSA 机器,费用低廉,可进行后处理,三维重建,显示更加详细的动脉瘤信息,指导治疗栓塞策略。Doerfler 等^[17]比较 DSA、CTA 及 MRA 检查方法在显示动脉瘤大小及形态,结果无统计学差异,但其操作过程烦琐、复杂。CTA 及 MRA 显示动脉瘤有一定假阴性,尤其是直径小于 3 mm 的动脉瘤^[20-22]。

6 问题与展望

血管腔内弹性蛋白酶诱导兔动脉瘤模型因其形态学、组织学、血流动力学与人类颅内动脉瘤相似,通畅率高,稳定性好等特点,广泛应用于颅内动脉瘤病因、栓塞材料等方面研究。但此模型仍不是标准的疾病动物模型,动物模型的制作方法、弹性蛋白酶剂量、作用时间及动脉瘤可控性等方面,目前尚无统一标准。因此仍需大量相关的实验研究,使之成为规范化的疾病模型。

[参考文献]

[1] Kadirvel R, Ding YH, Dai D, et al. Molecular indices of

- apoptosis activation in elastase-induced aneurysms after embolization with Platinum coils[J]. *Stroke*, 2007, 38: 2787 - 2794.
- [2] Ding YH, Dai D, Danielson MA, et al. Intra-arterial digital subtraction angiography through the ear artery for experimental aneurysm imaging[J]. *AJNR*, 2006, 27: 1700 - 1702.
- [3] 王奎重, 刘建民. 弹性蛋白酶诱导兔囊状动脉瘤模型制作及应用进展[J]. *中华实验外科杂志*, 2009, 26: 407 - 408.
- [4] 谢谦宇, 卢川, 蒋雪梅. 血管内球囊阻断结合弹力酶诱导法制作颅内动脉瘤动物模型及应用进展[J]. *介入放射学杂志*, 2009, 18: 786 - 788.
- [5] Altes T, Cloft HJ, Short JG, et al. 1999 ARRS Executive Council Award. Creation of saccular aneurysms in the rabbit: a model suitable for testing endovascular devices. *American Roentgen Ray Society*[J]. *AJR*, 2000, 174: 349 - 354.
- [6] Thiex R, Hans FJ, Krings T, et al. Haemorrhagic tracheal necrosis as a lethal complication of an aneurysm model in rabbits via endoluminal incubation with elastase [J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2004, 146: 285 - 289.
- [7] Möller-Hartmann W, Krings T, Stein KP, et al. Aberrant origin of the superior thyroid artery and the tracheoesophageal branch from the common carotid artery: a source of failure in elastase-induced aneurysms in rabbits[J]. *AJR*, 2003, 181: 739 - 741.
- [8] Hoh BL, Rabinov JD, Pryor JC, et al. A modified technique for using elastase to create saccular aneurysms in animals that histologically and hemodynamically resemble aneurysms in human[J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2004, 146: 705 - 711.
- [9] Kallmes DF, Fujiwara NH, Berr SS, et al. Elastase-induced saccular aneurysms in rabbits: a dose-escalation study [J]. *AJNR*, 2002, 23: 295 - 298.
- [10] Thiex R, Möller-Hartmann W, Hans FJ, et al. Are the configuration and neck morphology of experimental aneurysms predictable? A technical approach [J]. *Neuroradiology*, 2004, 46: 571 - 576.
- [11] Ding YH, Dai 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.
- [12] Wang K, Huang Q, Hong Q, et al. Neck injury is critical to Elastase-Induced Aneurysm model [J]. *AJNR*, 2009, 30: 1685 - 1687.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] Ding YH, Dai D, Lewis DA, et al. Long-term patency of elastase-induced aneurysm model in rabbits[J]. *AJNR*, 2006, 27: 139 - 141.
- [16] Cloft HJ, Altes TA, Marx WF, et al. Endovascular creation of an in vivo bifurcation aneurysm model in rabbits [J]. *Radiology*, 1999, 213: 223 - 228.
- [17] 祝胜, 刘建民, 王奎重, 等. 兔囊性动脉瘤模型静脉造影的应用经验[J]. *介入放射学杂志*, 2009, 18: 518 - 520.
- [18] Doerfler A, Becker W, Wanke I, et al. Multimodal imaging in the elastase-induced aneurysm model in rabbits: a comparative study using serial DSA, MRA and CTA[J]. *Rofo*, 2004, 176: 590 - 596.
- [19] 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.
- [20] Adams WM, Laitt RD, Jackson A. The role of Mr angiography in the pretreatment assessment of intracranial aneurysms: a comparative study[J]. *AJNR*, 2000, 21: 1618 - 1628.
- [21] Okahara M, Kiyosue H, Yamashita M, et al. Diagnostic accuracy of magnetic resonance angiography for cerebral aneurysms in correlation with 3D-digital subtraction angiographic images: a study of 133 aneurysms[J]. *Stroke*, 2002, 33: 1803 - 1808.
- [22] Korogi Y, Takahashi M, Mabuchi N, et al. Intracranial aneurysms: diagnostic accuracy of Mr angiography with evaluation of maximum intensity projection and source images [J]. *Radiology*, 1996, 199: 199 - 207.
- [23] Krings T, Hans FJ, Möller-Hartmann W, et al. Time-of-flight-, phase contrast and contrast enhanced magnetic resonance angiography for pre-interventional determination of aneurysm size, configuration, and neck morphology in an aneurysm model in rabbits[J]. *Neurosci Lett*, 2002, 326: 46 - 50.
- [24] Ding YH, Dai D, Lewis DA, et al. Angiographic and histologic analysis of experimental aneurysms embolized with Platinum coils, Matrix, and HydroCoil[J]. *AJNR*, 2005, 26: 1757 - 1763.
- [25] Kallmes DF, Ding YH, Dai D, et al. A second-generation, endoluminal, flow-disrupting device for treatment of saccular aneurysms[J]. *Stroke*, 2009, 30: 1153 - 1158.
- [26] 王奎重, 刘建民, 杨志刚, 等. 渐变网格球扩支架治疗兔囊状动脉瘤[J]. *中国微侵袭神经外科杂志*, 2009, 14: 426 - 429.
- [27] Krings T, Möller-Hartmann W, Hans FJ, et al. A refined method for creating saccular aneurysms in the rabbit[J]. *Neuroradiology*, 2003, 45: 423 - 429.
- [28] Ding Y, Dai D, Kadirvel R, et al. Five-year follow-up in elastase-induced aneurysms in rabbits[J]. *AJNR*, 2010, 31: 1236 - 1239.
- [29] 王奎重, 刘建民, 黄青海, 等. 改良的弹性蛋白酶诱导兔囊状动脉瘤模型[J]. *中华神经外科杂志*, 2010, 26: 744 - 747.

(收稿日期:2011-07-21)

(本文编辑:俞瑞纲)