

犬肾下腹主动脉假性动脉瘤模型的建立

宋润泽¹, 杨永珠¹, 张勇学², 陆清声², 李 南², 肖 煜²

(1. 兰州大学第二医院血管外科, 兰州 730030; 2. 第二军医大学长海医院血管外科, 上海 200433)

【摘要】目的:建立适用于血液动力学研究的犬肾下腹主动脉假性动脉瘤模型, 并进行形态学及血液动力学评估。**方法:**选取健康雌性比格犬 14 只, 其中 7 只采取传统静脉补片方法建立假性动脉瘤作为对照组, 另外 7 只采取新的“袋状”静脉补片方法建立假性动脉瘤模型作为实验组。并于术后即刻、7、14 d 及 30 d 进行计算机断层扫描血管成像。术后 7 d 行彩超检查, 对其进行形态学及血液动力学评估。**结果:**实验动物存活率 100%。对照组在术后即刻、7、14、30 d 时局部管壁扩张率分别为 $(6.11 \pm 2.38)\%$ 、 $(26.14 \pm 7.14)\%$ 、 $(63.42 \pm 12.77)\%$ 、 $(88.26 \pm 14.42)\%$, 实验组在术后即刻、7、14、30 d 时局部管壁扩张率分别为 $(199.39 \pm 14.92)\%$ 、 $(216.83 \pm 14.68)\%$ 、 $(239.30 \pm 16.75)\%$ 、 $(266.30 \pm 16.48)\%$ 。在各观测点上, 实验组较对照组管壁扩张率高, 差异有统计学意义。**结论:**采取“袋状”静脉补片法建立的犬肾下腹主动脉假性动脉瘤的模型在形态学及血液动力学方面更加符合人体假性动脉瘤的特点。

【关键词】动脉瘤; 腹; 疾病模型; 犬

【中图分类号】R654.3

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-03-03

Establishment of infrarenal abdominal aortic pseudoaneurysm model in dogs

Song Runze¹, Yang Yongzhu¹, Zhang Yongxue², Lu Qingsheng², Li Nan², Xiao Yu²

(1. Department of Vascular Surgery, the Second Hospital of Lanzhou University; 2. Department of Vascular Surgery, the Second Military Medical University, Changhai Hospital)

【Abstract】Objective: To establish infrarenal abdominal aortic pseudoaneurysm model in dogs for hemodynamic study and to do morphologic and hemodynamic assessment. **Methods:** Fourteen female beagle dogs were selected, seven taking the traditional vein patch to establish pseudoaneurysm were regarded as control group and the other seven taking new ‘pocket’ vein patch to establish pseudoaneurysm model as experimental group. CT angiography examination was carried out immediately and on 7, 14, 30 d after the operation. Color Doppler ultrasound was carried out on 7 d after the operation. Morphologic and hemodynamic assessments were made. **Results:** Experimental animal survival rate was 100%. Local wall expansion rate at immediate postoperative period and at 7, 14, 30 d after the operation were $(6.11 \pm 2.38)\%$, $(26.14 \pm 7.14)\%$, $(63.42 \pm 12.77)\%$, $(88.26 \pm 14.42)\%$ in control group while $(199.39 \pm 14.92)\%$, $(216.83 \pm 14.68)\%$, $(239.30 \pm 16.75)\%$, $(266.30 \pm 16.48)\%$ in experiment group. Wall expansion rates were higher in experiment group than in control group at each observation point, with statistically significant differences. **Conclusion:** Adopting ‘pocket’ vein patch to establish infrarenal abdominal aortic pseudoaneurysm model in dogs is more in line with the morphological and hemodynamic characteristics of the human pseudoaneurysm.

【Key words】 aortic aneurysm; abdomen; disease model; dog

腹主动脉瘤(abdominal aortic aneurysm, AAA)是腹主动脉局限性退化扩张至超过正常主动脉直径的 1.5 倍以上^[1]。AAA 有自然破裂的风险, 据估计约一半以上的 AAA 在未到医院诊治之前已破裂死亡, 90% 以上的破裂者发生猝死, 因而 AAA 是严重危害患者生命的重大血管疾病, 构建 AAA 动物模

型, 评估其形态学和血流动力学具有重要现实和指导意义。

20 世纪 90 年代初 Parodi 首先在国际上开展了微创腔内隔绝术(endovascular graft exclusion, EVGE), 用于治疗 AAA^[2]。我国于 1997 年也已成功开展了此类手术^[3-4]。与传统手术相比, 其微创特色明显降低了并发症及死亡率^[5]。Henry 等^[6]于 2008 年首先使用多层裸支架治疗肾动脉瘤, 并取得了很好疗效。为了研究犬肾下腹主动脉假性动脉瘤多层裸支架隔绝动脉瘤后瘤腔内血液动力学变化的研究, 构建了

作者介绍: 宋润泽, Email: songrz10@lzu.edu.cn,

研究方向: 血管外科。

通信作者: 杨永珠, Email: 516097231@qq.com。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000092.html>

牛颈静脉替代比格犬腹主动脉构建腹主动脉假性动脉瘤模型。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

移植物选用牛颈静脉(来自附近牛羊屠宰场),无菌处理,分装于生理盐水冻存管中,液氮冻存储备。健康雌性格犬 14 只,体质量 10~14 kg,1 岁龄,自由摄食和进水,室温 23℃~25℃,独笼饲养。所有手术操作均在长海医院血管外科实验室进行。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 健康雌性格犬 14 只,将其随机分为 2 组,其中 7 只采取传统静脉补片方法建立假性动脉瘤作为对照组,另外 7 只采取新的“袋状”静脉补片方法建立假性动脉瘤模型作为实验组。

1.2.2 牛颈静脉的选取及处理 取新鲜牛颈静脉 10 条(自牛颈部平咽后气管断面,沿颈静脉沟向近心端游离,致胸骨柄外侧),完整切下颈外静脉,用清水冲洗去除血细胞及污渍,置于冰生理盐水中带回,热缺血时间在 2 h 以内。在实验室无菌条件下剔除牛颈静脉外膜、脂肪及结缔组织,生理盐水冲洗 3 遍后,置于生理盐水冻存管中,液氮冻存储备。

1.2.3 移植物准备 牛颈静脉常温解冻后,置 1:5 000 洗必泰溶液中浸泡 30 min,0.4%戊二醛溶液中浸泡 30 min 去抗原处理,生理盐水冲洗 3 遍后,浸泡于 0.1%碱性 PBS 溶液中待用。

1.2.4 术前准备 比格犬术前禁食 24 h,禁水 12 h。

1.2.5 麻醉剂监护 氯胺酮 10 mg+咪达唑仑 5 mg 肌肉注射麻醉,约 5 min 后比格犬肌肉松弛,反射减弱,约 10 min 角膜反射迟钝或消失,术中给予氯胺酮+咪达唑仑维持麻醉。

1.2.6 动物手术过程 麻醉满意后,比格犬取平卧位,妥善固定四肢及头部,腹部备皮,常规消毒手术视野,铺无菌巾单,选腹部正中切口,长约 20 cm,依次切开皮肤、皮下组织至腹白线,交替提起腹膜,确认肠道未被提起后切开腹膜进腹,将大网膜推向上腹部,肠道推向右上腹,显露后腹膜,触及腹主动脉搏动及位置,小心剪开后腹膜,钝性分离腹主动脉周围组织,锐性分离腹主动脉,分离长度约 6 cm,上下端分别悬吊带控制,局部腰动脉分别套袋阻断。实验组选准备好的牛颈静脉长约 2.0 cm,一端修建成弧形,5-0 prolene 无创血管缝线连续外翻缝合盲端,备用。对照组修剪成长径 2.0 cm,短径 1.0 cm 椭圆形补片。静脉注射 1 mg/kg 全身肝素化,腹主动脉近心端和远心端阻断钳阻断,两钳间距 5 cm,主动脉前壁修剪出大小约长径为 2 cm,短径 1.0 cm 椭圆形破口,将实验组和对照组牛颈静脉 5-0 prolene 无创血管缝线连续外翻吻合至破口处。开放阻断钳检查吻合口,吻合口少量渗血采用局部压迫止血,针眼大量出血采用移植物外包裹来止血。腹主动脉近远心端搏动良好。测量:动脉瘤上缘距肾动脉距离、下缘至髂动脉分叉处的距离、动脉瘤的长度、直径及上、下瘤颈部血管直径。查无活动性出血,腹膜与腹白线

一起关腹,缝合伤口。术后禁食水 8 h,术后连续 3 d 给予肌注抗生素,8 d 后拆除手术缝线。术后 3 月处死犬,解剖出犬腹主动脉及假性动脉瘤。

1.2.7 测量 术中测量动脉瘤的长度、直径及上、下瘤颈部血管直径。术后 7、14、30 d 分别行计算机断层扫描血管成像(computed tomography angiography,CTA)检查测量腹主动脉最大直径并计算瘤体扩张率。瘤体扩张率=(瘤体直径-腹主动脉瘤直径)/腹主动脉直径×100%。术后 7 d 彩超测量腹主动脉假性动脉瘤入口、瘤腔内及出口处血流速度。

1.3 统计学方法

2 组间比较采用 SPSS 10.0 软件包作独立样本 *t* 检验,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 腹主动脉假性动脉瘤的制作

14 例实验犬手术过程顺利,建模成功,成功率 100%。其动脉瘤呈卵圆形,流出道通畅,形态良好(图 1)。腹主动脉瘤制作耗时最长的是血管吻合且血管吻合是手术成败的关键。手术所需时间表见表 1。

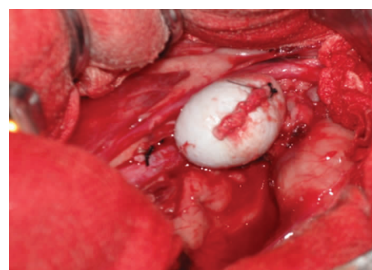


图 1 术中构建犬腹主动脉假性动脉瘤

Fig.1 Building abdominal aortic pseudoaneurysm during the operation

表 1 腹主动脉假性动脉瘤制作时间 (min, $\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Production time of abdominal aortic pseudoaneurysm (min, $\bar{x} \pm s$)

项目	实验组 ($n=7$)	对照组 ($n=7$)
制作手术通路	8 ± 2	8 ± 2
剥离腹主动脉	8 ± 3	9 ± 2
吻合血管	57 ± 10	48 ± 10
阻断腹主动脉	68 ± 8	55 ± 10
手术全过程	100 ± 11	83 ± 15

2.2 术后行 CTA 检查

实验组和对照组建模成功,近远端血流通畅局部有血栓形成,未见明显狭窄,图 2 为实验组构建模型术后 7 d CTA 检查所见。术后观察 1 月,瘤体有缓慢增长的趋势,未见明显排异表现。实验组和对照组瘤体直径有明显差异,术后即刻、7、14、30 d,实验组较对照组有明显差异。随着时间的推移,实验组与对照组腹主动脉瘤假性动脉瘤瘤体均有逐渐增大的趋势(图 3)。实验组和对照组建立的模型在术后即刻、7、14、30 d 时局部管壁扩张率分别为 $(6.11 \pm 2.38)\%$ 、 $(26.14 \pm$

7.14)%、 $(63.42 \pm 12.77)\%$ 、 $(88.26 \pm 14.42)\%$, 实验组在术后即刻、7、14、30 d 时局部管壁扩张率分别为 $(199.39 \pm 14.92)\%$ 、 $(216.83 \pm 14.68)\%$ 、 $(239.30 \pm 16.75)\%$ 、 $(266.30 \pm 16.48)\%$ 。在各观测点上, 实验组较对照组管壁扩张率明显高, 其差异有统计学意义($P < 0.01$) (表 2)。

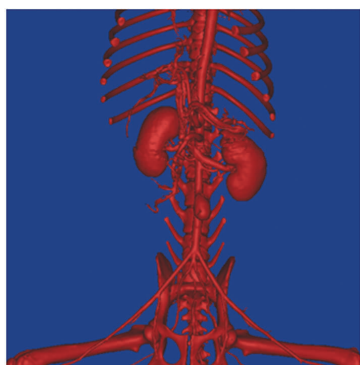


图 2 实验组犬术后 7 d CTA

Fig.2 CTA in experimental group at 7 d after operation

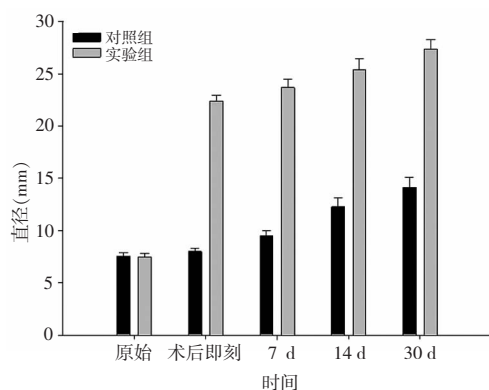


图 3 不同时间段腹主动脉假性动脉瘤直径

Fig.3 Diameters of abdominal pseudoaneurysm at different time periods

2.3 术后 7 d 行彩超检查

对照组血流速度多表现为层流, 血流信号以红色血流信号为主, 而实验组建立模型中在瘤体突出部位出现红、蓝相嵌的湍流及蓝色逆流 (图 4)。通过测定入口、瘤体内及出口处血流速度发现对照组血流速度各部位无明显差别, 其差别无统计学意义 ($P > 0.05$), 而采用实验组出口处血流速度明显加快, 表现为湍流, 出口处血流速度明显高于入口处和瘤腔内血流速度, 其差异有统计学意义 ($P < 0.01$) (图 5)。

2.4 术后 3 月形态学观察

术后 3 月处死实验组与对照组比格犬, 见实验组腹主动脉假性动脉瘤包膜完整, 符合假性动脉瘤形态学特性 (图 6)。

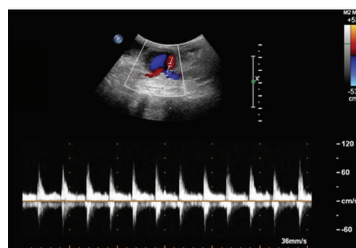


图 4 术后实验组彩超检查

Fig.4 Postoperative Color Doppler ultrasound examination of experimental group

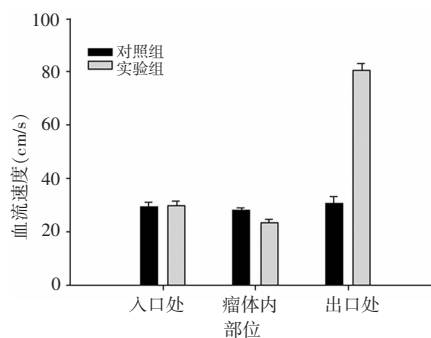


图 5 不同部位血流速度

Fig.5 Blood flow velocity of different parts of the tumor



图 6 术后 3 月处死实验组解剖腹主动脉假性动脉瘤

Fig.6 Abdominal aortic pseudoaneurysm at 3 months after the operation in experimental group

3 讨论

主动脉瘤的外科治疗由于主动脉瘤的位置不同而有不同的治疗方法, 除经典传统外科手术治疗外, 腔内血管外科治疗目前已在临床广泛开展。EVGE 作为一种 AAA 外科治疗 AAA 手段目前已有 17 年的历史, 裸支架对于治疗 AAA 仍在探索研究阶段。对照组建立的犬肾下腹主动脉假性动脉瘤的模型在形态学及血液动力学方面更加符合人体假性动

表 2 术后不同时间段腹主动脉扩张率 ($\%, \bar{x} \pm s$)

Tab.2 Expansion rates of abdominal aorta at different time periods postoperatively ($\%, \bar{x} \pm s$)

	术后即刻	7 d	14 d	30 d
对照组 (7 例)	6.11 ± 2.38	26.14 ± 7.14	63.42 ± 12.77	88.26 ± 14.42
实验组 (7 例)	199.39 ± 14.92	216.83 ± 14.68	239.30 ± 16.75	266.30 ± 16.48
t 值	31.522	30.811	22.046	21.917
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

脉瘤的特点。

通过实验组和对照组制作腹主动脉假性动脉瘤模型均造模成功,术后 7、14、30 d 实验组和对照组均有缓慢增大趋势,说明采用牛颈静脉补片造模后随着血流的逐渐冲击,局部有缓慢增大趋势。通过实验组与对照组相比较,采用对照组制作假性动脉瘤模型在形态上更符合人体假性动脉瘤。

在人体中,当 AAA 的直径 >3.0 cm 时出现湍流,在犬的模型中 AAA 的内径 >1.5 cm 时出现湍流^[7]。在平均血流速度和血液黏度不变的情况下,当血管直径超过一定的值,则会发生湍流。另外,湍流发生于动脉瘤的形状有关。本实验通过传统静脉补片法构建瘤体较小,形状为梭形,血流变现为层流,通过对照组建立的模型中,瘤体直径较大,形状多为卵圆形,血液易在瘤腔内形成湍流,从而出现红蓝相间血流信号。出口处的血流速度明显高于入口处和瘤腔内血流速度。

犬有 7 对腰动脉,除第 1、2 对(有时还有第 3 对)从锁骨下动脉发出和腰 7 动脉多为髂内动脉或骶正中动脉分之外,其余均从降主动脉背侧发出^[8]。文献报道应用外科学方法建立 AAA 模型进行支架治疗^[9],主要采用主动脉切除,吻合人工血管的方法,此方法势必要结扎腰动脉等血管分支,造成不能较好的观察植入支架后分支血管的通畅情况。采用实验组和对照组均可以尽可能保留腰动脉及肠系膜下动脉,更符合人体腹主动脉假性动脉瘤的特点,适合于腹主动脉假性动脉瘤的血流动力学及腔内治疗研究。

目前采用的造模方法是传统静脉补片置换法,静脉间置法。选用的置换材料有 Dacron 人造血管、腹直肌后鞘等。在本研究中选用牛颈静脉作为置换材料,牛颈静脉厚度与犬腹主动脉厚度相当,取材方便,材料规整,价格低廉,吻合容易,同时与犬腹主动脉有明显差异,适合建立明确的动脉假性动脉瘤模型,本模型选用牛颈静脉作为制作假体材料正是考虑其优势所在。同时,牛颈静脉作为异种移植材料,牛颈静脉必须经过充分交联鞣制去除其免疫原性,戊二醛作为经典的免疫原性去除剂,已临床应用多年,主要是其具有灭菌,充分去除组织免疫原性等特点而普遍应用^[10]。研究发现 0.4%戊二醛可以达到充分去抗原效果^[11]。本实验过程中牛颈静脉与周围组织融合良好,未见因移植物排斥而引发相应并发症。

合理的切口部位可减少手术时间,本手术可选择侧卧位,左肋部切口,但左肋部切口操作困难,原因是该切口与腹主动脉垂直,腹主动脉暴露困难,

即便扩大切口也只能显露部分腹主动脉,且肠管常涌入切口,影响手术操作。本手术选择腹白线切口,腹主动脉与切口平行,暴露腹腔后用大块灭菌纱布将肠管推向腹腔前方,腹主动脉暴露完全,便于手术操作,手术进程加快,提高手术成功率。

血管吻合是手术成功的关键,由于腹主动脉梭形切口和传统牛颈静脉补片或“袋状”牛颈静脉补片口径不一致,血管吻合采用二定点缝合,助手固定牵引线,然后术者采用连续外翻缝合吻合腹主动脉与静脉补片。吻合时要注意:①要有足够的边距,边距过小易导致吻合口破裂,从而引起内出血致手术失败。②严格掌握吻合口两侧针距,因为吻合口两侧度管径不相等,因而两侧针距也不相等。血管阻断时间也要严格控制。阻断腹主动脉后,下肢势必缺血,如果缺血时间过长,容易发生瘫痪。要求手术人员熟练操作、配合流畅,加快血管吻合,减少阻断时间,快速回复血供。

总之,采取对照组建立的犬肾下腹主动脉假性动脉瘤的模型在形态学及血液动力学方面更加符合人体假性动脉瘤的特点,是一种具有较大实用价值的动物模型。

参 考 文 献

- [1] Brevetti G, Laurenzano E, De MJ, et al. Infrarenal abdominal aortic aneurysms[J]. *G Ital Cardiol (Rome)*, 2007, 8(9): 543-551.
- [2] Ricotta JJ, Malgor RD, Oderich GS. Endovascular abdominal aortic aneurysm repair: part I [J]. *Ann Vasc Surg*, 2009, 23(6): 799-812.
- [3] 景在平, Muller-weifle H, Raithal D. 腔内隔绝术治疗腹主动脉瘤[J]. *中华外科杂志*, 1998, 36(4): 212-214.
- [4] 冯翔, 赵珺, 景在平. 腹主动脉瘤大鼠模型的建立[J]. *第二军医大学学报*, 1998, 20(11): 913-914.
- [5] Stone WM, Fankhauser GT, Bower TC, et al. Comparison of open and endovascular repair of inflammatory aortic aneurysms[J]. *J Vasc Surg*, 2012, 56(4): 951-955.
- [6] Henry M, Polydorou A, Frid N, et al. Treatment of renal artery aneurysm with the multilayer stent[J]. *J Endovasc Ther*, 2008, 15(2): 231-236.
- [7] 陆清声, 景在平, 徐静, 等. 不同内径腹主动脉瘤腔内血流状况分析[J]. *中华试验外科杂志*, 2004, 21(4): 397-399.
- [8] 徐明, 杨惠林, 倪才方, 等. 犬胸腰段选择性脊髓动物造影的解剖学研究[J]. *中华临床解剖学杂志*, 2001, 19(1): 65-67.
- [9] Balko A, Piasecki GJ, Shah DM, et al. Transfemoral placement of intraluminal polyurethane prosthesis for abdominal aortic aneurysm[J]. *J Surg Res*, 1986, 40(4): 305-309.
- [10] 王晖, 胡建国, 吴忠仕, 等. 不同交联方法处理的牛颈静脉移植后免疫学的研究[J]. *中国医师杂志*, 2005, 7(7): 928-930.
- [11] 何德沛, 严宇, 吴洪坤, 等. 牛颈静脉带瓣管道重建犬右心室流出道及其血流动力学研究[J]. *重庆医学*, 2011, 40(27): 2709-2710.

(责任编辑: 关蕴良)