

·实验研究 Experimental research·

利用猪颅底奇网制作动静脉畸形模型的实验研究

吕明明, 范新东, 苏立新

【摘要】 目的 利用猪颅底奇网制作一种简单、经济的动静脉畸形模型。**方法** 通过显微外科手术,将猪一侧颈总动脉与颈内静脉或颈外静脉吻合,建成动静脉畸形模型。吻合术后行血管造影及组织学检查。**结果** 8 头家猪手术后全部成活。血流自右侧咽升动脉流经奇网和对侧咽升动脉,进入颈内/外静脉。术后 3 周 1 头家猪死亡。另 1 头家猪 1 个月时吻合口闭塞。**结论** 使用动静脉端端吻合的方法制作急性期动静脉畸形的动物模型是可行的,但作为慢性期模型还有待改进。

【关键词】 动静脉畸形; 动物模型; 奇网; 血管吻合

中图分类号:R743.4 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2011)-09-0713-04

The establishment of arteriovenous malformation model by using basicranial rete mirabile: an experimental study in swine LÜ Ming-ming, FAN Xin-dong, SU Li-xin. Department of Radiology, Ninth People's Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200011, China

Corresponding author: FAN Xin-dong, E-mail: fanxindong@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To seek a simple, economical way to establish an animal model of arteriovenous malformation by using basicranial rete mirabile in swine. **Methods** A total of 8 swine were subjected to arteriovenous anastomosis by connected the common carotid artery to the internal or external jugular vein through microsurgery method. Digital subtraction angiography and histological examination were performed after surgery. **Results** All of the 8 swine survived after the procedure and no infection or hemiparalysis were observed. The right ascending pharyngeal artery angiography after operation showed that the blood flow from the right ascending pharyngeal artery, via the rete mirabile, drained to the left ascending pharyngeal artery and flowed into the internal or external jugular vein. One swine died 3 weeks after the surgery. Obstruction of the stoma occurred in another swine. **Conclusion** It is experimentally feasible to establish an animal model of acute arteriovenous malformation by end-to-end anastomosis between common carotid artery and internal or external jugular vein in swine. But the technique for the establishment of a chronic arteriovenous malformation needs to be improved. (J Intervent Radiol, 2011, 20: 713-716)

【Key words】 arteriovenous malformation; animal model; rete mirabile; vascular anastomosis

动静脉畸形(arteriovenous malformation, AVM)是一种因缺乏正常的毛细血管床而导致动、静脉直接交通的先天性脉管畸形。口腔颌面部的体表面积虽然仅占全身的 14%,但全身 50%以上的 AVM 发生在该区。迄今为止,AVM 的诊断和治疗仍是外科领域较为棘手的难题之一^[1-2]。随着治疗技术及介入栓塞材料的不断改进,建立组织学和血流动力学更

接近临床的动物模型,并以此为基础进行相关研究,对于探索 AVM 的发生发展过程及治疗方法具有重要意义。本实验主要探索利用猪颅底奇网制作 AVM 模型,追踪观察其影像学及组织学变化,并作出相关分析。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康家猪 9 只,雌雄不限,由上海南汇特种动物养殖场提供,购回后由我院动物房饲养。实验动物纳入标准:体重 15 ~ 25 kg,营养状

基金项目:上海交通大学“医工(理)交叉研究基金”(YG2010 MS53)、上海市卫生局青年基金(2009Y045)

作者单位:200011 上海交通大学医学院附属第九人民医院放射科(吕明明、范新东),口腔颌面外科(苏立新)

通信作者:范新东 E-mail: fanxindong@yahoo.com.cn

况良好,无全身系统性疾病,动作敏捷。

1.1.2 仪器与设备 常规手术器械、显微吻合器械、穿刺针、造影导管、导丝、DSA 血管造影仪(INNOVA-3100,美国 GE 公司)。

1.2 方法

1.2.1 血管吻合建立 AVM 模型 实验动物共 9 头猪。随机选取 1 头家猪直接注射戊巴比妥钠(100 mg/kg)处死,并开颅取颅底奇网及颈动静脉血管制作组织标本作为组织学观察的空白对照组。实验组 8 头家猪,编号为 A~H。动物术前 12 h 禁饮食,应用盐酸氯胺酮 2 mg/kg 肌肉注射诱导麻醉。然后开通耳缘静脉通道,以 1%盐酸氯胺酮葡萄糖溶液静脉滴注维持动物在满意的麻醉状态。8 头猪均采用左侧气管旁纵切口,切口长 6~10 cm。切开皮肤,皮下筋膜,暴露胸锁乳突肌。在胸锁乳突肌外侧表面分离出颈外静脉备用。钝性分离充分暴露颈总动脉和颈内静脉。分别游离出一段颈总动脉及颈内静脉。根据与颈总动脉管径匹配情况,选择颈内静脉或颈外静脉进行显微吻合。使用动脉夹及静脉夹分别暂时夹闭颈总动脉远心端及颈内、颈外静脉近心端,结扎颈总动脉近心端以及颈内、颈外静脉远心端。用 2%利多卡因冲洗端口消除血管痉挛,然后选用 8-0 无损伤带针尼龙缝合线吻合颈总动脉的远心端与颈内静脉的近心端(图 1)。松开血管夹,冲洗吻合口并行静脉通畅试验检查,观察有无漏血,如有漏血缝合漏口,然后分层关闭创口。

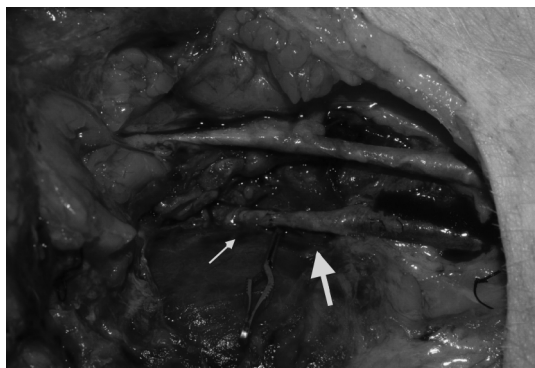


图 1 颈总动脉-颈内静脉吻合图

1.2.2 影像学检查及组织标本制作 术前 1 周随机选取 3 头家猪行咽升动脉血管造影作为血管造影的空白对照。吻合术后即刻经股动脉行右侧咽升动脉造影,评价实验动物模型的血管构筑情况及血流动力学特征。具体方法为解剖游离猪右侧股动脉,采用 Seldinger 技术穿刺股动脉,送入 4 F 导管鞘建立血管通道。然后在路图引导下将 4 F 椎动脉

导管引入右侧咽升动脉造影。采用高压注射器注射对比剂,注射速率为 3 ml/s,剂量为 5 ml。AVM 模型建立后 1 周行第 2 次动脉造影检查。吻合术后 1 个月行第 3 次血管造影检查。然后将存活动物全部处死、取颅底奇网制作组织标本。取颅底奇网的同时,还取颈动静脉吻合口处血管。标本经 4%甲醛固定 72 h 后,常规脱水、石蜡包埋、切片、HE 染色。然后用光学显微镜放大 40、100、400 倍观察。

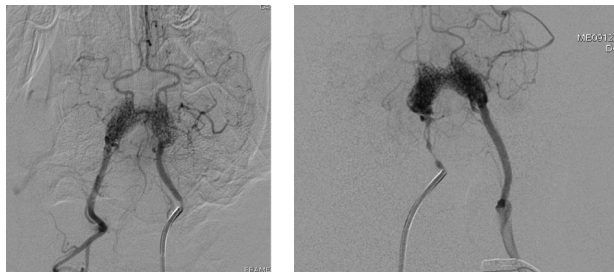
2 结果

2.1 手术成功率和术后动物行为

实验组 8 头家猪,3 头采用颈总动脉-颈外静脉吻合,5 头采用颈总动脉-颈内静脉吻合。外科吻合术后动物全部存活,无切口感染,伤口愈合良好,四肢肌力正常,无肢体偏瘫现象,运动及饮食可。术后 3 周有 1 头家猪出现四肢肌力减弱、头低位、饮食减少等症状,并逐渐加重,于 1 周内死亡。另外 7 头家猪观察 1 个月未见运动及饮食异常。

2.2 造影检查

术前对照组 3 头家猪经股动脉行咽升动脉造影,见双侧颅底奇网显影(图 2)。经右咽升动脉注入对比剂后,见血流自右咽升动脉流经颅底奇网、左咽升动脉、左颈总动脉及双侧颈内动脉。实验组 8 头家猪术后即刻经股动脉行右侧咽升动脉造影,均见血流自右咽升动脉(供血动脉)经过颅底奇网(异常血管团)流入左咽升动脉、左颈总动脉再流入左颈内、颈外静脉(回流静脉)回流心脏,并见双侧颈内动脉显示。回流静脉提前显示,显示时间为 0.7~1.6 s,平均 0.92 s。表明 AVM 实验动物模型建立成功。实验组在手术后 1 周再次行手术对侧咽升动脉造影,均可见血流自供血动脉经双侧颅底奇网、手术侧咽升动脉,流入回流静脉,吻合口通畅。术后 1 个月取剩余 7 头家猪行动脉造影,6 头家猪吻合口通畅,1 头家猪吻合口闭塞不通。



2a 术前造影见双侧奇网与咽升动脉及颈内动脉相通

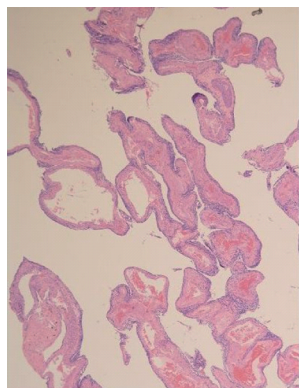
2b 术后造影见血流自右咽升动脉经双侧奇网、左侧咽升动脉,流入左颈内静脉

图 2 术前、术后颈总动脉造影

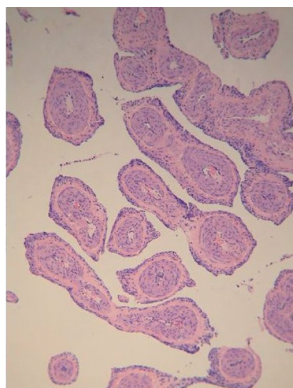
2.3 组织学检查

取作为空白对照的组织切片光学显微镜观察,见家猪颅底奇网内微血管之间紧密环绕、彼此交通。微血管管壁多具有完整的血管内膜、平滑肌层及血管外膜,内外膜清晰可辨。并且微血管之间有结缔组织连接,与人类的微小动脉类似。

吻合术 1 周后死亡动物的奇网,见奇网血栓形成,血管管壁厚薄不一。增厚血管的中层平滑肌明显增生变厚,管腔狭窄,部分管腔扩张(图 3)。双侧奇网对比观察,见右侧微血管管壁增厚较左侧(吻合侧)显著。观察吻合口下端静脉可见管径增粗,管壁增厚。显微镜下见管壁平滑肌增厚,内膜呈局灶性增厚,且厚薄不均,内见弹性纤维及胶原沉积,即静脉动脉硬化。



3a 正常奇网



3b 建模后的奇网,其微血管管壁增厚,管腔狭窄(HE,40×)

图 3 血管组织学所见

3 讨论

AVM 是一种先天性的发育异常,源于胚胎第 4~8 周时局部血管异常分化^[1-2]。AVM 在疾病早期可引起外形的改变。随着病变发展“盗血”加剧,周围组织缺血,出现经久不愈的溃疡、喷射状出血、颈静脉怒张和充血性心力衰竭等症状,严重地威胁着患者的生命和生存质量^[3]。建立 AVM 实验动物模型,对于研究其病理生理学,血流动力学特点及研究各种栓塞材料治疗后变化等方面具有重要意义。良好的 AVM 模型要能够模拟人类的 AVM,具有可重复性。对于动物模型,应能够存活一定时间。根据不同的研究目的,选用的实验动物和模型制作方法也各不相同。用于制作脑 AVM 模型的动物主要有猪、羊、犬、鼠、猫等。由于猪的头颈部解剖学特点类似人类,经济易得、容易饲养等,目前制作 AVM 动物模型最常用的实验动物是猪^[4,5]。

猪无颈内动脉颅外段,其咽升动脉自颈总动脉

分出后进入颅内,在功能上相当于人的颈内动脉颈段。枕动脉先发出咽升动脉,本干向前内方向走行,其终末支在蝶鞍两侧破裂孔处形成微血管网,称为奇网(rete mirabile)。两侧的奇网之间相互交通,并汇聚成颈内动脉,供应脑组织。猪的奇网在形态学上与人 AVM 的畸形血管团相似。而且猪颈部血管包括颈总动脉和颈内静脉、颈外静脉,口径比较大,有利于手术操作、技术掌握和提高建模的成功率。利用猪制作 AVM 动物模型,主要是在已经存在 AVM 供血动脉(咽升动脉)和畸形血管团(双侧奇网)的基础上,建立 AVM 的引流静脉^[6-7]。

1994 年,Chaloupka 等^[8]通过穿刺海绵窦法制作了猪的 AVM 模型。这是首次在动脉和静脉窦之间建立具有畸形血管团的 AVM 动物模型。同年 9 月,Massoud 等^[9]采用外科手术结合血管内技术,建立了猪的 AVM 模型。但建立过程比较复杂,不断有人对其进行修改与简化,提出新的建立方法。我们通过将左侧颈总动脉远心端与颈内、颈外静脉近心端进行端端吻合,使血液由对侧咽升动脉经过奇网、同侧咽升动脉、颈总动脉,然后通过吻合口流入颈内、颈外静脉。由于颈总动脉和颈内静脉相伴行,且两者管径相近,行端端吻合简单、省时。但有时颈内静脉非常纤细,与颈总动脉行端端吻合较困难,此时可将颈总动脉远心端与颈外静脉近心端吻合。有文献报道,因颈总动脉与颈外静脉之间隔有胸锁乳突肌,吻合时易造成吻合口张力过大、扭转等的情况^[10]。根据我们的经验,在颈总动脉与颈外静脉吻合时,可将血管充分游离,并将胸锁乳突肌暂时性离断,待血管吻合后再将胸锁乳突肌断端缝合、覆盖吻合口。实验组中 3 只动物采用颈总动脉-颈外静脉吻合,影像学检查及解剖检查均未见吻合口出现扭转、牵拉等情况。

本组实验中,6 头家猪(6/8)吻合后 1 个月造影见吻合口仍然通畅,表明模型建立成功。1 头家猪(1/8)发生吻合口闭塞,解剖后,见吻合口大量血栓形成。1 头家猪于吻合术后 3 周内死亡,究其原因,可能是由于建立的 AVM 不断发展,脑供血不足、回心血量增加,导致动物大脑缺血,心力衰竭所致^[11]。猪的颅内供血主要来源于双侧咽升动脉,其基底动脉不发达。制作模型时,牺牲了左咽升动脉,使其与颈内、颈外静脉相接,成为引流静脉的一部分,减少了颅内的血供。模型建立后颅内供血主要依赖右咽升动脉。右咽升动脉在向颅内供血的同时,还向建立的畸形血管团供血。由于引流静脉段为负压,具有

抽吸作用,引起模型的“盗血”作用。另外, Massoud 模型及国内报道的类似动物模型,在吻合颈总动脉与颈内、颈外静脉的同时,栓塞或结扎了吻合侧的颈外动脉^[7,9-10]。本实验组动物模型未结扎吻合侧颈外动脉,简化了手术步骤,缩短了手术时间,增加了血流量,减少了吻合口形成血栓的机会。但同时有可能增加了回心血量,加重了心脏负担,导致动物心力衰竭,死亡。

实验中,术后 1 个月死亡动物奇网的组织病理学观察见微动脉管壁增厚,尤其是管壁的中层平滑肌明显增生变厚。同时吻合口处静脉管腔扩张。这与文献报道的人 AVM 的供血动脉改变相似^[12-13]。人 AVM 的供血动脉可观察到管壁增厚,平滑肌厚薄不均、排列紊乱,弹力膜大部分破坏消失,并可见胶原纤维增生,部分区域纤维粗大呈均质状。引流静脉可见管腔明显粗大,管壁厚薄不均,管壁菲薄处只有数层退行性变的平滑肌和胶原纤维^[14-15]。

应用猪颅底奇网建立的 AVM 动物模型在血流动力学、影像学及组织学上很好的模拟了人体的 AVM,但还存在着一些不足^[12-17]:①由于咽升动脉通过奇网向颅内供血,奇网与颈内动脉直接相通。所以在测试栓塞材料时无论是颗粒还是 NBCA 胶、无水乙醇等,都有可能随血液流入颈内动脉,导致动物的瘫痪或死亡。②左咽升动脉供血缺失,大脑供血动脉减少,加上 AVM 不断加剧的“盗血”作用,导致猪脑缺血、心力衰竭,难以长期存活。这对于研究 AVM 长期的血流动力学、组织学、影像学改变,以及血管内介入治疗后的观察是不足的。③Massoud 等^[9]报道奇网内没有直径大于 1 mm 的微血管,模型不能模拟畸形血管团内存在动静脉瘘的人脑 AVM。④Murayama 等^[18]报道奇网不仅与颈内动脉相通,还通过发自颈外动脉的支吻合 (ramus anastomoticus, RA) 和动脉吻合 (arteria anastomotica, AA) 与颈外动脉吻合。由于这些动脉的存在,模型的引流静脉(咽升动脉),畸形血管团(奇网)内的压力增高可通过双侧颈内动脉及其引流静脉侧的 RA 和 AA 而缓冲,这就使得模型在血管内栓塞治疗阻塞引流静脉、畸形血管团破裂出血等并发症方面不能完全模拟。

[参 考 文 献]

- [1] Isoda K, Fukuda H, Takamura N, et al. Arteriovenous malformation of the brain-histological study and micrometric measurement of abnormal vessels [J]. Acta Pathol Jpn, 1981, 31: 883 - 893.
- [2] Yakes WF, Rossi P, Odink H. How I do it. Arteriovenous malformation management [J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 1996, 19: 65 - 71.
- [3] Fan XD, Su LX, Zheng JW, et al. Ethanol embolization of arteriovenous malformations of the mandible [J]. AJNR, 2009; 1178 - 1183.
- [4] 王大明, 张鸿祺, 凌 锋. 脑动静脉畸形动物模型的进展 [J]. 中国临床神经科学, 2000, 8: 230 - 231.
- [5] 盛希忠, 刘作勤. 利用猪制作脑动静脉畸形模型及其应用 [J]. 介入放射学杂志, 2006, 15: 122 - 125.
- [6] 盛希忠, 刘作勤. 猪头颈部动脉血管解剖学及其在脑动静脉畸形研究中的意义 [J]. 实验动物科学与管理, 2005, 22: 13 - 17.
- [7] 盛希忠, 刘作勤. 家猪头颈部血管解剖学研究及其在人脑血管病研究中的意义 [J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16: 208 - 210.
- [8] Chaloupka JC, Vinuela F, Robert J, et al. An *in vivo* arteriovenous malformation model in swine: preliminary feasibility and natural history study [J]. AJNR, 1994, 15: 945 - 950.
- [9] Massoud TF, Ji C, Vinuela F, et al. An experimental arteriovenous malformation model in swine: anatomic basis and construction technique [J]. AJNR, 1994, 15: 1537 - 1545.
- [10] 宁显宾, 赵长福, 罗 祺. 家猪脑动静脉畸形的模型建立及其研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18: 25 - 28.
- [11] 王大明, 凌 锋, 王安顺, 等. 颅内动静脉畸形动物模型制作与栓塞的实验研究 [J]. 中华外科杂志, 2001, 39: 179 - 181.
- [12] 王大明, 凌 锋, 刘冬戈, 等. 脑动静脉畸形动物模型栓塞后病理改变初步观察 [J]. 中华外科杂志, 1998, 36: 574 - 574.
- [13] Nataf F, Meder JE, Roux FX, et al. Angioarchitecture associated with haemorrhage in cerebral arteriovenous malformation. A prognostic statistical model [J]. Neuroradiology, 1997, 39: 52 - 58.
- [14] 柳登高, 马绪臣, 高 岩, 等. 动静脉瘘、动静脉畸形组织病理学观察 [J]. 现代口腔医学杂志, 2002, 16: 17 - 20.
- [15] Jahan R, Solberg TD, Lee D, et al. An arteriovenous malformation model for stereotactic radiosurgery research [J]. Neurosurgery, 2007, 61: 152 - 159.
- [16] Storer KP, Tu J, Karunanayaka A, et al. Coadministration of low-dose lipopolysaccharide and soluble tissue factor induces thrombosis following radiosurgery in an animal AVM model [J]. Neurosurgery, 2007, 61: 604 - 611.
- [17] Tu J, Karunanayaka A, Windsor A, et al. Comparison of an animal model of arteriovenous malformation with human arteriovenous malformation [J]. J Clin Neurosci, 2010, 17: 96 - 102.
- [18] Murayama Y, Massoud TF, Viuela F. Hemodynamic changes in arterial feeders and draining veins during embolotherapy of arteriovenous malformations: An experimental study in a swine model [J]. Neurosurgery, 1998, 43: 96 - 104.

(收稿日期:2011-04-01)

[1] Isoda K, Fukuda H, Takamura N, et al. Arteriovenous malformation of the brain-histological study and micrometric measurement of abnormal vessels [J]. Acta Pathol Jpn, 1981,