

## 兔股动脉狭窄的超声与病理对照研究

张 锋<sup>1</sup>, 孙 鑫<sup>2</sup>, 李 舒<sup>1</sup>, 王坤坤<sup>1</sup>, 姜海宇<sup>1</sup>, 刘露阳<sup>1</sup>, 吴长君<sup>1</sup>, 汪 勇<sup>3</sup>

(1. 哈尔滨医科大学附属第一医院超声科, 哈尔滨 150001; 2. 哈尔滨医科大学附属第一医院心内科, 哈尔滨 150001;  
3. 意大利百胜公司, 哈尔滨 150001)

**【摘要】** 目的 探讨高频超声在兔股动脉狭窄的应用价值。方法 24只新西兰兔随机分为三组, 每组8只, 制备兔股动脉硬化模型; 股动脉球囊损伤后分别高脂喂养4周、8周、12周, 取耳缘静脉血检测胆固醇水平的变化, 采用18 MHz超高频超声探头观察股动脉的狭窄情况, 测量造模处直径狭窄率、收缩期峰值血流速度(PSV), 病理检测动脉管腔的面积狭窄率。结果 (1) 随着高脂喂养时间的延长, 血中胆固醇水平递增, 组间比较差异具有统计学意义( $P < 0.001$ )。 (2) 与造模前(0周)相比较, 高脂喂养4周、8周、12周时股动脉造模处出现不同程度的狭窄, 狭窄程度随时间延长逐渐增加, 组间两两比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); 狭窄处收缩期血流峰值流速随着狭窄程度的增加而加快, 组间比较具有统计学意义( $P < 0.001$ )。 (3) 随着高脂喂养时间的延长, 病理组织的面积狭窄率增加, 组间比较均具有统计学差异( $P < 0.05$ )。结论 (1) 高脂喂养加球囊损伤能造成不同程度的兔股动脉狭窄; (2) 超高频超声能够清晰地显示不同程度的兔股动脉狭窄, 可用于动物外周血管疾病模型的检测。

**【关键词】** 超高频超声; 直径狭窄率, 收缩期峰值流速(PSV); 动脉狭窄, 面积狭窄率; 兔

**【中图分类号】** R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 08-0019-05

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.008.005

### Comparative study of ultrasonography and pathology in rabbit models of femoral artery stenosis

ZHANG Feng<sup>1</sup>, SUN Xin<sup>2</sup>, LI Shu<sup>1</sup>, WANG Kun-kun<sup>1</sup>, JIANG Hai-yu<sup>1</sup>, LIU Lu-yang<sup>1</sup>, WU Chang-jun<sup>1</sup>, WANG Yong<sup>3</sup>

(1. The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Department of Ultrasound, Harbin 150001;

2. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Haerbin 150001, China;

3. Italy yum, Haerbin 150001)

**【Abstract】 Objective** To explore the application value of ultra-high frequency ultrasound in detection of femoral artery stenosis in rabbits. **Methods** Twenty-four healthy male New Zealand white rabbits (body weight 2.5 - 3.0 kg) were randomly divided into three groups, 8 rabbits in each group. Preparation of femoral atherosclerosis model; the rabbits were fed with high fat diet for 4 weeks, 8 weeks and 12 weeks after femoral artery balloon injury, respectively. The changes of cholesterol level were observed. We used ultra-high frequency ultrasonic probe to observe the femoral artery, to assess the diameter stenosis rate and peak systolic velocity (SPV) at the symptomatic side, and the histological areal stenosis was evaluated. **Results** 1. The blood cholesterol levels were increased after fed high cholesterol diet, with a significant difference among the groups ( $P < 0.001$ ); 2. There was a stenosis to a different degree in the modeling artery after fed

[作者简介] 张锋(1982-), 女, 博士研究生, E-mail: doctor\_zf@163.com。

[通讯作者] 吴长君(1964-), 女, 博士, 教授, 从事超声诊断学研究, E-mail: bccjw@sohu.com。

high cholesterol diet for 4 wks, 8 wks, and 12 wks, and the stenosis degree was increased gradually. At 12 w, the degree of stenosis was higher than that at 4 w and 8 w, respectively, showing statistical significance ( $P < 0.001$ ). At the symptomatic side, the peak systolic flow velocity was increased, and it was higher at 12 w than that at 4w and 8 w, respectively. 3. With the extension of time, the arterial stenosis rate was increased along with the time course ( $P < 0.05$ ).

**Conclusions** 1. High fat diet combined with balloon injury can cause varying degrees of rabbit femoral artery stenosis; 2. Ultrahigh frequency ultrasound can clearly show different degrees of rabbit femoral artery stenosis, and can be used for detecting the lesions in animal models of peripheral vascular diseases.

**【Key words】** Ultra-high frequency ultrasound; Diameter stenosis rate; Peak systolic low velocity (PSV); Atherosclerosis; Area stenosis rate; Rabbit

冠心病、糖尿病是常见病、多发病,在我国发病率逐年上升,并且常累及动脉系统,引起外周血管疾病,随着病变的进展,病人出现间歇性跛行、静息痛等症状。下肢血管病变是糖尿病病人致死致残的主要原因,据统计,糖尿病患者的下肢截肢率是非糖尿病患者的 15 倍,50% 的截肢患者在四年内进行对侧截肢。因此,早期发现、诊断病变,阻止病情进一步发展,将有助于疾病的预后。为了达到这一目的,很多学者已经利用动物模型在动脉硬化的形成机制方面做了大量的研究,但目前的文献显示动脉硬化动物模型的检测手段大部分仍然仅局限于组织的病理学诊断,这一现状一定程度上限制了科学研究在动物实验中的进展。本研究拟采用 18 MHz 超声探头评估兔股动脉的狭窄,探讨超声在实验动物外周血管疾病中的应用价值。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

选择 24 只雄性新西兰兔,体质量(2.5~3.0) kg,由哈尔滨医科大学附属第二医院实验动物中心提供(实验动物生产许可证号:SCXK(黑)2013-001,实验动物使用合格证号 SYXK(黑)2013-002)。

### 1.2 动物分组及模型的制备

24 只实验兔随机分为三组,每组 8 只,均进行双侧股动脉球囊损伤。使用戊巴比妥钠(30 mg/mL)耳缘静脉注射麻醉,剂量为 30 mg/kg,麻醉后将动物固定于兔台上。电推去术区毛发,手触及股动脉搏动后,局部消毒、开皮、分离股动脉,找到股动脉主干和其分叉腘动脉及隐动脉,耳缘静脉注入肝素,动脉夹夹闭股动脉近心端,手术缝线结扎腘动脉远心端,眼科剪剪开腘动脉近心端(距离股动脉分叉点 2 cm),插入球囊(2.0 × 15) mm 距离股动脉分叉约 1.5 cm 处,6~8 atm 打入球囊中,来回拉拽球囊三次损伤动脉内膜,撤去球囊压力,拔出球

囊,结扎腘动脉近心端,逐层缝合肌肉及皮肤。术后肌注青霉素 5 d(40 万单位/d),三组实验动物术后分别高脂喂养 4 周、8 周、12 周。高脂饲料成分为:1.5% 胆固醇,10% 猪油,7.5% 蛋黄粉。

### 1.3 实验仪器及试剂

Mylab90 彩色多普勒超声诊断仪(百胜公司),LA435 线阵探头,探头中心频率 18 MHz(百胜公司),光学显微镜(Nikon 公司),切片机(德国徕卡公司),戊巴比妥钠(Sigma 公司),多聚甲醛(Sigma 公司),肝素钠(天津药业焦作有限公司),青霉素(山西振东泰盛制药有限公司),HE 染色液(湖北泰康医疗设备有限公司)。

### 1.4 超声扫查内容

分别于造模前(即 0 周)、4 周、8 周、12 周进行超声检查,扫查深度及增益条件均保持一致。观察双侧股动脉长轴方向距离股动脉分叉前 1.5 cm 处有无斑块形成,及管腔狭窄处的直径狭窄率(D%),彩色多普勒超声观察动脉管腔内的血流充盈情况,测定狭窄处的收缩期峰值血流速度(PSV)。

### 1.5 血胆固醇水平的测定

分别检测 0 周、4 周、8 周、12 周静脉血中总胆固醇的水平。

### 1.6 病理检测

三组实验动物于 4 周、8 周、12 周行病理取材,取材部位为股动脉分叉前(1~2)cm,4% 甲醛溶液中固定,常规脱水、石蜡包埋、切片和 HE 染色,光学显微镜下观察动脉管腔的组织形态学特点,并测量动脉管腔的面积狭窄率。

### 1.7 统计学方法

采用 Graphpad Prism 5 统计软件,所有计数资料均以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。组间计量资料比较采用两样本 T 检验,参数间相关性分析采用皮尔森相关系数和线性回归。 $P < 0.05$  认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组兔血中胆固醇水平结果分析

4 周、8 周、12 周兔血胆固醇水平分别为(535.98 ± 136.36) mg/dL、(1144.32 ± 156.01) mg/dL、(1943.46 ± 182.27) mg/dL, 与 0 周的(63.61 ± 34.08) mg/dL 比较差异均具有统计学意义( $P < 0.001$ ); 三组之间血中总胆固醇水平两两比较差异均具有统计学意义( $P < 0.001$ )(图 1), 即随着高脂喂养时间的延长, 血中胆固醇水平递增。

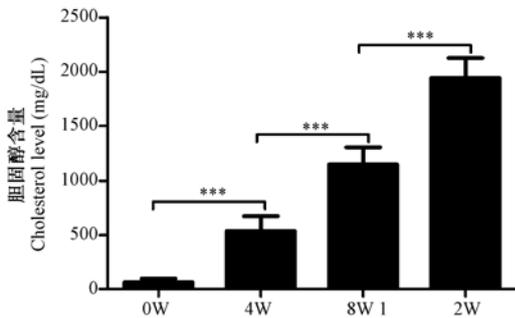


图 1 各组间血胆固醇水平比较(\*\*\*  $P < 0.001$ )

Fig. 1 Comparison of blood cholesterol levels at different time points

### 2.2 超声检查结果分析

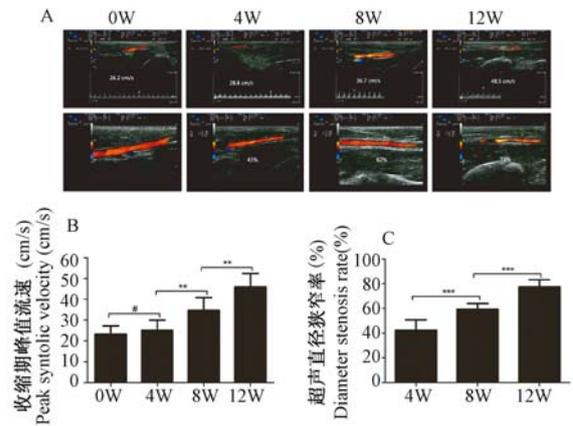
与 0 周时相比较, 4 周、8 周、12 周时股动脉造模处出现不同程度的狭窄, 超声直径狭窄率分别为(42.25 ± 8.50)%、(59.37 ± 4.53)%、(77.37 ± 5.70)%, 8 周与 4 周相比、12 周与 8 周相比均具有统计学意义( $P < 0.001$ ), 随着时间的延长, 动脉狭窄程度逐渐增加; 狭窄处收缩期血流峰值流速分别为(25.1 ± 4.86) cm/s、(34.68 ± 6.18) cm/s、(45.98 ± 6.47) cm/s, 8 周与 4 周、12 周与 8 周组间比较具有统计学意义( $P < 0.01$ ), 4 周与 0 周时相比, 血流速度呈上升趋势, 但没有统计学意义( $P > 0.05$ )(见图 2)。

### 2.3 病理组织学面积狭窄率及组间比较

球囊损伤加高脂喂养 4 周、8 周、12 周后, 造模处的动脉管腔内均出现狭窄, 病理组织学的面积狭窄率分别为(50.78 ± 7.28)%、(67.77 ± 6.81)%、(83.20 ± 7.95)%, 8 周与 4 周、12 周与 8 周之间比较均具有统计学差异( $P$  分别小于 0.001、0.01), 随着时间的延长, 动脉管腔横断面的残余面积逐渐减少。(图 3)

### 2.4 病理与超声结果对照分析

球囊损伤加高脂喂养 4 周、8 周、12 周的超声直径狭窄率与病理组织的面积狭窄率相关性分析结



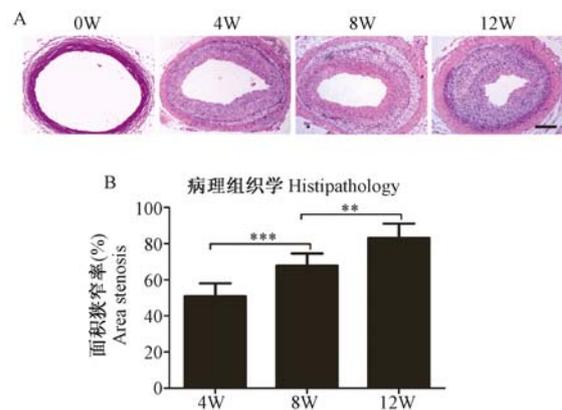
A: 0 周、4 周、8 周、12 周时动脉管腔的血流充盈情况; B: 0 周、4 周、8 周、12 周时动脉管腔狭窄处收缩期峰值流速 (PSV); C: 4 周、8 周、12 周时动脉管腔的直径狭窄率 (# 无统计学意义、\*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ )

图 2 各时间点动脉管腔的直径狭窄率及收缩期峰值血流速度

A: Blood filling condition at the time of 0 w, 4 w, 8 w and 12 w.

B: The peak systolic velocity (PSV) at the stenosis site of the artery lumen at 0 w, 4 w, 8 w and 12 w. C: The diameter stenosis rate of arterial lumen at 4 w, 8 w, and 12 w.

Fig. 2 The diameter stenosis rate and peak systolic velocity at different time points



注: A: 0 周、4 周、8 周、12 周时的动脉管腔狭窄情况;

B: 4 周、8 周、12 周时组织面积狭窄率组间比较;

图 3 动脉管腔组织学的面积狭窄率

A: The artery lumen stenosis at 0 w, 4 w, 8 w and 12 w.

B: Comparison of tissue areal stenosis at 4 w, 8 w and 12 w.

Fig. 3 Histological areal stenosis of the arterial lumen

果表明,  $R^2 = 0.60$ ,  $P < 0.001$ , 二者呈线性正相关(图 4)。

## 3 讨论

外周血管疾病是指冠状动脉以外的动脉狭窄或闭塞性病变, 主要在心血管疾病、糖尿病的人群

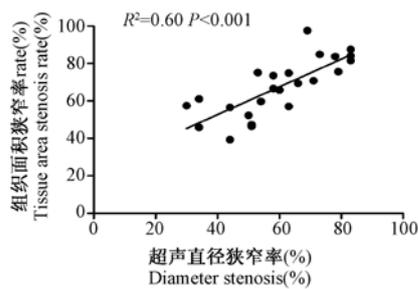


图 4 组织面积狭窄率与超声直径狭窄率相关性分析

Fig. 4 Correlation analysis of the tissue area stenosis rate and ultrasonic diameter stenosis rate

中发病率比较高,以动脉粥样硬化性外周动脉疾病和糖尿病足为主要表现。此类患者发病早期可以无明显临床症状,随着病程的进展,病情逐渐加重,极大地降低了患者的生活质量,增加了致残率和致死率,给社会和家庭都带来了沉重的负担,同时,外周血管疾病是全身系统性疾病,经常与其他血管病变如颈动脉粥样硬化同时存在,而后者则是脑缺血疾病危险增高的标志,对脑梗死有一定的预测价值<sup>[1,2]</sup>。研究表明,股动脉的硬化比颈动脉硬化发生的更早<sup>[3]</sup>,Lekakis 等<sup>[4]</sup>研究发现股总动脉内中膜厚度是冠状动脉疾病的独立预测因子,且与冠状动脉硬化呈正相关。因此,建立可靠的动物模型并选择实时、有效、可重复性好的检测手段,对于研究外周血管疾病很有科研价值。

球囊损伤加高脂喂养是目前动物模型中最常用的一种动脉硬化造模方法<sup>[5-8]</sup>,本研究采用此方法成功构建了兔双侧股动脉狭窄的模型,与文献报道相符<sup>[9-10]</sup>。本实验结果显示,在球囊损伤加高脂喂养后 4 周末即出现了血胆固醇水平升高,病理组织学显示动脉管腔呈 50% 左右的狭窄;8 周末、12 周末血中胆固醇水平进一步显著升高,病理组织学的管腔狭窄率分别达到了 60%、75%,这与文献中所报道的 8 周出现典型的动脉硬化的结果相一致<sup>[10]</sup>。

现有的研究结果显示,动脉硬化动物模型的检测手段大部分局限于血中脂类成分的检测及病理组织学的诊断<sup>[5]</sup>,仅有少数文献显示超声技术用于动脉硬化模型检测动物脂肪肝水平及颈动脉内-中膜厚度的变化<sup>[11-14]</sup>。目前,高频超声技术已经广泛的应用于浅表器官疾病的诊断,包括颈动脉疾病、皮下软组织、乳腺、甲状腺等方面;高频超声被认为是一种无创的、可靠的评价人颈动脉内中膜厚度的手段,与 MRA、动脉造影相比,更经济、重复性

更好。以往的研究表明<sup>[15-19]</sup>,5-12 MHz 高频超声探头在诊断正常臂部尺神经及正中神经病变、外周血管疾病、小儿腹部疾病及腮腺肿瘤方面有肯定的诊断价值;20 MHz 超高频超声在诊断乳腺病变、阴茎硬结、眼、甲状腺等浅表器官病变的诊断已取得显著效果<sup>[20-23]</sup>。Latham 等<sup>[23]</sup>人使用 50 MHz 的超高频微型超声探头检测术中尺、桡动脉穿刺置管过程,取得满意的检测图像,尤其是在 6 岁以下儿童的术中麻醉中具有明确的引导作用。人和动物股动脉位置均比较表浅,本研究采用 18 MHz 超高频超声探头观察实验兔股动脉狭窄的情况,结果显示,高脂喂养 4 周以后,超声可以探测到动脉管腔出现了大于 40% 的狭窄,高脂喂养 8 周后动脉管腔的超声直径狭窄率在 50% 以上,与病理组织学的面积狭窄率保持一致,二者呈高度正相关( $R^2 = 0.60$ )。在本实验中 8 周和 12 周组分别有 1 只、3 只兔股动脉出现完全堵塞,动脉管腔内充满低回声,未探及血流信号;随着狭窄程度的增加,4 周管腔内狭窄处的血流速度呈现上升的趋势,但与造模前相比并无统计学意义,8 周、12 周狭窄处的收缩期峰值流速明显加快,血流频谱舒张期反向波,失去动脉血流的三相波特点,呈典型的动脉狭窄性改变。

综上所述,球囊损伤联合高脂喂养可以造成不同程度的兔股动脉狭窄,且随着喂养时间的延长,动脉的狭窄程度增加;18 MHz 超高频超声探头的应用可以清晰显示兔股动脉的管壁结构、管腔内狭窄及血流充盈的情况,对显示动物模型中外周动脉狭窄具有灵活、直观、无创、可重复性好等优点,能够为动物实验尤其是取血受限的小型动物研究的顺利进行提供便利的条件。

#### 参考文献:

- [1] 王晓芳,鞠雪涛,张虹,等. 彩色多普勒超声诊断颈动脉粥样硬化与脑梗死的相关性研究 [J]. 新乡医学院学报, 2013, 30(9):733-735.
- [2] Salonen JT, Salonen R. Ultrasonographically assessed carotid morphology and the risk of coronary heart disease [J]. Arterioscler Thromb, 1991, 11(5):1245-1249.
- [3] Schmidt C, Fagerberg B, Hulthe J. Non-stenotic echolucent ultrasound-assessed femoral artery plaques are predictive for future cardiovascular events in middle-aged men [J]. Atherosclerosis. 2005, 181(1):125-30.
- [4] Lekakis JP, Papamichael CM, Cimponeriu AT, et al. Atherosclerotic changes of extracoronary arteries are associated with the extent of coronary atherosclerosis [J]. Am J Cardiol, 2000, 85:949-52.
- [5] 李艳阳,吕仕超,仲爱芹,等. 实验性动脉粥样硬化动物模

- 型研究概况 [J]. 心脏杂志, 2014, 26(4): 491-493.
- [6] 张军平, 许颖智, 李良军, 等. 实验性动脉粥样硬化模型复合建模的方法及评价 [J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(10): 41-45.
- [7] 黄成磊, 李天奇, 乔伟伟, 等. 兔股动脉粥样硬化症改良模型的建立及评价 [J]. 实验动物与比较医学, 2007, 27(1): 6-10.
- [8] 李秋梅, 王硕仁, 赵明镜, 等. 家兔实验性血管成形术后在狭窄模型的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2007, 17(4): 203-209.
- [9] 刘佳春, 王大明, 李志国, 等. 小型猪颈动脉粥样硬化型狭窄模型的初步建立 [J]. 中华神经外科杂志, 2006, 22(12): 756-758.
- [10] 管耘园, 叶炳华, 卢辉和, 等. 球囊损伤加高脂喂养建立兔颈动脉粥样硬化模型 [J]. 实验动物科学, 2007, 24(1): 6-9.
- [11] 杨康敏, 杨柳, 朱海波. 超声影像分析在高脂血症金黄地鼠模型构建中的动态监测 [J]. 中国比较医学杂志, 2013, 23(4): 5-9.
- [12] 高树彪, 王硕仁, 赵明镜, 等. 体表高频超声测定兔颈动脉的二维图像表现和血流特点 [J]. 中国比较医学杂志, 2007, 17(4): 225-227.
- [13] 佟怀宇, 周定标, 李俊来, 等. 高分辨超声动态观察家兔颈动脉粥样硬化模型颈动脉内膜剥脱术前后血管内膜的变化 [J]. 中国临床康复, 2005, 9(25): 120-122.
- [14] 李晓娟, 张大鹏, 隋丽华, 等. 超声在评价大鼠酒精性脂肪肝模型中的应用 [J]. 中国比较医学杂志, 23(4): 19-22.
- [15] 周琛云, 廖会, 蒋璐蔓. 高频超声显示及测量正常臂部尺神经及正中神经 [J]. 中国医学影像技术, 2009, 25(9): 1677-1679.
- [16] 赵淑芝, 辛朝晖, 吕永锋. 下肢血管疾病的高频超声检查 [J]. 医学影像学杂志, 2005, 15(1): 43-45.
- [17] 秦博, 张芳, 曲红培. 高频超声在下肢血管疾病中的应用 [J]. 上海医学影像, 2008, 17(3): 251-253.
- [18] 陈志奎, 张秀娟, 黄静, 等. 高频超声诊断腮腺肿瘤 [J]. 中国医学影像技术, 2011, 27(9): 1775-1778.
- [19] Koelmay MJ, den Hartog D, Prins MH, et al. Diagnosis of arterial disease of the lower extremities with duplex ultrasonography [J]. Br J Surg, 1996, 83: 404-409.
- [20] 黄道中, 陆永萍, 张青萍, 等. 20MHz 超高频探头超声检查阴茎硬结病变的临床应用价值 [J]. 中国男科学杂志, 2003, 17(2): 122-123.
- [21] Rjosk - Dendorfer D, Gürtler VM, Sommer W, et al. Value of high resolution compression elastography and color Doppler sonography in characterization of breast lesions: comparison of different high-frequency transducers [J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2014, 2(28): 1386-0291.
- [22] 黄道中, 黎春雷, 张青萍. 高频超声在浅表器官病变中的应用价值 [J]. 中华超声影像学杂志, 2004, 13(6): 442-445.
- [23] Latham GJ, Veneracion ML, Joffe DC, et al. High-frequency micro-ultrasound for vascular access in young children—a feasibility study by the high-frequency ultrasound in kids study (HUSKY) group [J]. Paediatr Anaesth. 2013, 23(6): 529-35.

[修回日期]2014-06-20

## (上接第 15 页)

- [10] 王婷, 郑长青. 细胞因子在炎症性肠病发病机制中的作用 [J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(1): 72-75.
- [11] Arai S, Tsuji M, Kim SJ, et al. Babesia canis infection in canine-red blood cell-substituted CID mice [J]. Int J Parasitol, 1998, 28(9): 1429-1435.
- [12] 张光玉, 王云甫, 黄朝芬, 等. IL-2 对小鼠旋毛虫感染的影响 [J]. 热带医学杂志, 2006, 6(5): 542-543.

[修回日期]2014-05-22

## (上接第 18 页)

- [3] Huber A, Bach M, Frede HG. Pollution of surface waters with pesticides in Germany: modeling non-point source inputs [J]. Agric Ecosyst Environ, 2000, 80(3): 191-204.
- [4] 姚洪波, 陈玉姬, 孙秀玖, 等. 口服 2, 4-滴丁酯 3 例临床观察 [J]. 中国工业医学杂志, 2004, 17(1): 35-35.
- [5] 黄风华, 郑新民, 张元珍, 等. 诊断超声波照射对大鼠睾丸总抗氧化能力、丙二醛及脂质过氧化物酶水平和生殖细胞凋亡的影响 [J]. 武汉大学学报(医学版), 2007, 28(1): 85-88.
- [6] Nakbi A, Tayeb W, Dabbou S, et al. Hypolipidemic and antioxidant activities of virgin olive oil and its fractions in 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid - treated rats [J]. Nutrition, 2012, 28(1): 81-91.
- [7] Troudi A, Sefi M, Ben Amara I, et al. Oxidative damage in bone and erythrocytes of suckling rats exposed to 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid [J]. Pesticide Biochem Physiol, 2012, 104(1): 19-27.
- [8] 徐宏伟, 马爱国. 维生素 A 缺乏对大鼠生精能力及睾丸标志酶活性的影响 [J]. 中国公共卫生, 2002, 18(11): 1298-1299.
- [9] 李丽萍, 刘秀芳, 宁艳花, 等. DEHP 对大鼠睾丸能量代谢酶的影响及其氧化损伤作用 [J]. 宁夏医科大学学报, 2010, 1: 027.
- [10] Gorini A, Canosi U, Devecchi E, et al. ATPases enzyme activities during ageing in different types of somatic and synaptic plasma membranes from rat frontal cerebral cortex [J]. Progr Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiat, 2002, 26(1): 81-90.

[修回日期]2014-05-21