

• 实验研究 •

兔颈动脉粥样硬化模型的构建及 MR 成像的初步实验

麦筱莉, 滕皋军, 朱斌, 陈骏, 朱光宇, 李国昭

【摘要】 目的:联合高脂饮食及球囊扩张右侧颈动脉制作新西兰兔动脉粥样硬化模型,应用磁共振动态观测动脉粥样硬化形成过程。**方法:**高脂饮食联合球囊扩张右侧颈动脉制作新西兰兔动脉粥样硬化模型,于球囊扩张前及扩张后 2、4、8 和 12 周取静脉血检测血脂改变情况;行颈部 MR 成像,观察并记录颈动脉血管壁及管腔的变化情况,测量颈部血管的对比度噪声比(CNR)及血管腔内信噪比(SNR),同时行颈动脉病理学检查。**结果:**高脂饮食后第 2、4、8 和 12 周血浆胆固醇、甘油三酯水平呈进行性增加;MRI 显示高脂喂养后 4 周(球囊扩张后 3 周)可见血管壁增厚,差异具有统计学意义($P < 0.001$),高脂喂养 8 周后可见血管腔狭窄,差异有统计学意义($P < 0.05$);增厚的血管壁于各成像序列上均呈不均匀高信号,颈部 CNR 测量结果显示,质子密度加权像(PDWI)的 CNR 最高,最利于颈部血管的显示;血管腔内的 SNR 测量结果亦显示 PDWI 的 SNR 最高,成像质量最好。病理学检测示高脂喂养、球囊损伤后内膜破坏、血管平滑肌增厚,第 12 周可见典型的粥样斑块形成。**结论:**高脂饮食加球囊扩张可成功制作兔动脉粥样硬化损伤模型,临床应用型 1.5T MRI 可动态观察这一病理过程,与病理检测结果有很好的相关性。

【关键词】 动脉粥样硬化; 颈动脉; 模型; 动物; 磁共振成像

【中图分类号】 R543.4; R445.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2009)12-1304-05

Preliminary Experimental Study of Establishing Carotid Artery Atherosclerosis Models and Their MR Imaging in Rabbits

MAI Xiao-li, TENG Gao-jun, ZHU Bin, et al. Department of Radiology, Drum Tower Hospital, Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, P. R. China

【Abstract】 Objective: To establish atherosclerosis models in the right carotid arteries in New Zealand rabbits by balloon dilatation endothelial injury and high cholesterol diet feeding, using MR scan to dynamically observe the process of atherosclerosis formation. **Methods:** Balloon dilatation in combination with high cholesterol diet feeding were used to establish atherosclerosis models in the right carotid arteries of 12 New Zealand rabbits. The levels of serum triglyceride and cholesterol was examined before and 2, 4, 8, 12 weeks after balloon dilatation, MR scanning of the neck were performed. The changes of carotid artery wall and arterial lumen were observed and recorded. The contrast signal ratio (CNR) and intra-luminal signal to noise ratio (SNR) of the right carotid artery on MRI were measured and pathology of carotid artery were performed as well. **Results:** The level of serum cholesterol and triglyceride increased progressively after 2, 4, 8, 12 weeks of high cholesterol diet feeding. MR imaging showed thickening of the injured arterial wall 4 weeks of high cholesterol diet feeding (3 weeks of balloon dilation), with significant statistical difference ($P < 0.001$); Narrowing of carotid artery lumen was assessed after 8 weeks of high cholesterol diet feeding, with statistical difference ($P < 0.05$). Heterogeneous hyper-intensity of the thickened arterial wall were showed in all MR sequences. The CNR measured showed the highest in proton density weighted imaging (PDWI), which was the best in showing cervical vessels. The highest intra-luminal SNR was also showed on PDWI, with the best image quality. The pathology study showed that injured endothelium and thickening of vascular smooth muscle after high cholesterol diet feeding, typical atheromatous plaque could be assessed at 12 week after the above-mentioned procedures. **Conclusion:** High cholesterol diet feeding in combination with interventional balloon dilatation can successfully establish carotid artery atherosclerosis in New Zealand rabbit models, pathology process of atherosclerosis can be dynamically observed by conventional 1.5T MR system, the MR findings are well correlated with pathology.

【Key words】 Atherosclerosis; Carotid arteries; Models, animal; Magnetic resonance imaging

动脉粥样硬化性心血管疾病是中老年人的主要致死原因之一,目前磁共振成像是显示动脉粥样硬化的

无创性检查手段。近年来,动物实验和临床研究结果表明^[1-3],MRI 能够显示主动脉、颈动脉甚至冠状动脉粥样斑块的位置、厚度及其主要成分,并且对疗效随访有较大帮助。运用单纯高脂饲料喂养的方法建立的动物动脉粥样硬化模型对以血管内膜损伤为病理基础的动脉粥样硬化性疾病的研究不理想,联合高脂饲料喂养及球囊损伤两种方法建立新西兰兔右侧颈动脉粥样

作者单位: 210008 南京,南京大学医学院附属鼓楼医院放射科(麦筱莉、朱斌); 210008 南京,东南大学附属中大医院放射科(滕皋军、陈骏、朱光宇、李国昭)

作者简介: 麦筱莉(1977—),女,广西柳州人,博士,主治医师,主要从事影像诊断及分子影像学研究工作。

通讯作者: 滕皋军, E-mail: gjteng@vip.sina.com

基金项目: 国家自然科学基金(90606007, 30670604)

硬化模型,利用 MRI 动态观察颈动脉粥样硬化的发展过程,可为动脉粥样硬化性心血管疾病的影像学诊断作有益的探讨。

材料与方法

实验动物:选用成年健康雄性新西兰大白兔 12 只,许可证号 SCXK(苏 2002-0025),质量 2.0~2.5 kg,普通清洁级。

实验方法:制作新西兰兔动脉粥样硬化模型:新西兰兔高脂饲料喂养 1 周后,行右侧颈动脉造影、球囊扩张手术。用 1%戊巴比妥钠按 2 ml/kg 的剂量自耳缘静脉注射麻醉。手术切开右侧腹股沟组织,暴露右侧股动脉,穿线后提起。用泰尔茂套管针直视下穿刺股动脉,留置 4.0F 管鞘,选择性右侧颈总动脉插管并造影证实导管位置后,同样对另一侧颈总动脉行造影检查,证实无血管变异。交换 3.0F 球囊导管(直径 1 mm,长度 1.5 cm)至右侧颈总动脉中段,用对比剂充盈球囊至 6~8 kPa 压力,持续 30 s,间隔 60 s,重复 3 次后,保留球囊内压力,来回拖拉球囊 3 次,退出球囊导管,造影证实扩张成功后退出导管鞘。术后继续高脂饲料喂养。

血浆胆固醇及甘油三酯的测定:分别于高脂喂养前及喂养后第 2、4、8、12 周末自耳缘静脉抽取空腹静脉血 2 ml,高速离心析出血清后吸出,应用生化自动分析仪检测血清胆固醇、甘油三酯的含量。

磁共振成像:分别于高脂喂养前及喂养后第 4、8、12 周末随机选取 3 只新西兰兔进行 MRI 扫描。经耳缘静脉按 2 ml/kg 体重的剂量注射 1%戊巴比妥钠溶液麻醉新西兰兔,固定于 1.5T MR 机检查床上,膝关节包裹线圈,视野 10 cm×10 cm,激励次数 2~4 次,层厚 2.5 mm,无间隔,T₁WI、T₂WI 和质子密度加权像(proton density weighted imaging,PDWI)的矩阵均为 512×512。成像序列:SE T₁WI,TR 500.0 ms,TE 12.5 ms;FSE T₂WI,TR 2840 ms,TE 98.4 ms,回波链 16;PDWI,TR 2000 ms,TE 15 ms。

测量管壁厚度及管腔面积,按公式(1)和公式(2)分别计算对比度噪声比(contrast to noise ratio,CNR)和血管腔内信噪比(signal to noise ratio,SNR):

$$CNR = \frac{SI_1 - SI_2}{SD_N} \quad (1)$$

$$SNR = \frac{SI_2}{SI_N} \quad (2)$$

其中 SI₁ 为邻近肌肉组织信号强度,SI₂ 为兴趣区信号强度,SI_N 为背景噪声,SD_N 为背景噪声的标准差。管壁厚度测量:选取扫描中间层面的 6~8 层,取

测量平均值;管腔面积测量:选取扫描中间层面的 6~8 层,勾画出血管内腔的边缘即得该层面管腔面积,求和后取平均值得到平均管腔面积;SNR 的测量:勾画出血管内腔的边缘,测得该层面血管腔内的信号强度平均值,与背景噪声相除后即得到该层面的 SNR 值,选取扫描中间层面的 6~8 层进行血管腔内 SNR 求和,取其平均值,即得到平均 SNR 值。CNR 的测量方法同 SNR,亦取扫描中间层面的 6~8 层进行 CNR 求和,取其平均值。

组织病理学分析:分别于高脂喂养前及喂养后第 4、8、12 周末 MRI 扫描结束后处死 2 只模型兔。选取扩张血管段约 1 cm 置于 10%甲醛溶液中固定,常规石蜡包埋,血管横断面连续切片,进行 HE 染色,光镜下观察血管内膜、血管壁及血管腔的变化,并用 Motic 数码摄像系统测定血管壁厚度。

统计学分析:应用 SPSS 11.5 软件对测量所得各组数据进行比较分析,计算各组 SNR、CNR、血管壁厚度、血管腔面积的平均值及其标准差,多组比较采用单因素方差分析,手术前后不同时间比较采用 *t* 检验,不同时间段血管壁厚度 MRI 测量值与 Motic 数码摄像系统测量值间采用 Spearman 相关分析,*P* < 0.05 时认为有统计学意义。

结 果

1. 血浆胆固醇、甘油三酯测定结果

高脂饲料喂养前及喂养后第 2、4、8 和 12 周末模型兔血清胆固醇、甘油三酯的变化情况见表 1,可见高脂饲养前的血清胆固醇、甘油三酯水平显著低于高脂饲养后的各时间组,且随着高脂饲料喂养时间的延长,血中胆固醇、甘油三酯的含量呈进行性增加,与高脂饲料喂养前比较,均显示差异有显著性意义。

表 1 高脂饲料喂养不同时间点的血脂浓度 (mmol/l)

高脂喂养时间	血脂浓度	
	胆固醇	甘油三酯
高脂前	6.07±0.22	1.12±0.32
高脂后 2 周	12.87±0.33	1.78±0.35
高脂后 4 周	18.17±0.31	3.06±0.43
高脂后 8 周	30.84±0.41	4.84±0.54
高脂后 12 周	38.42±0.36	5.40±0.37

注:高脂饲料喂养后与喂养前比较,差异有极显著性意义(*P* < 0.001)。

2. 动脉粥样硬化模型制作

球囊扩张前,可见双侧颈总动脉均匀、等宽,无明显局限性狭窄或扩张(图 1);球囊扩张后,造影显示右侧颈动脉明显扩张,两端可见血管痉挛收缩(图 2),退出球囊导管,造影证实右侧颈动脉局部扩张,呈囊样塑形(图 3)。

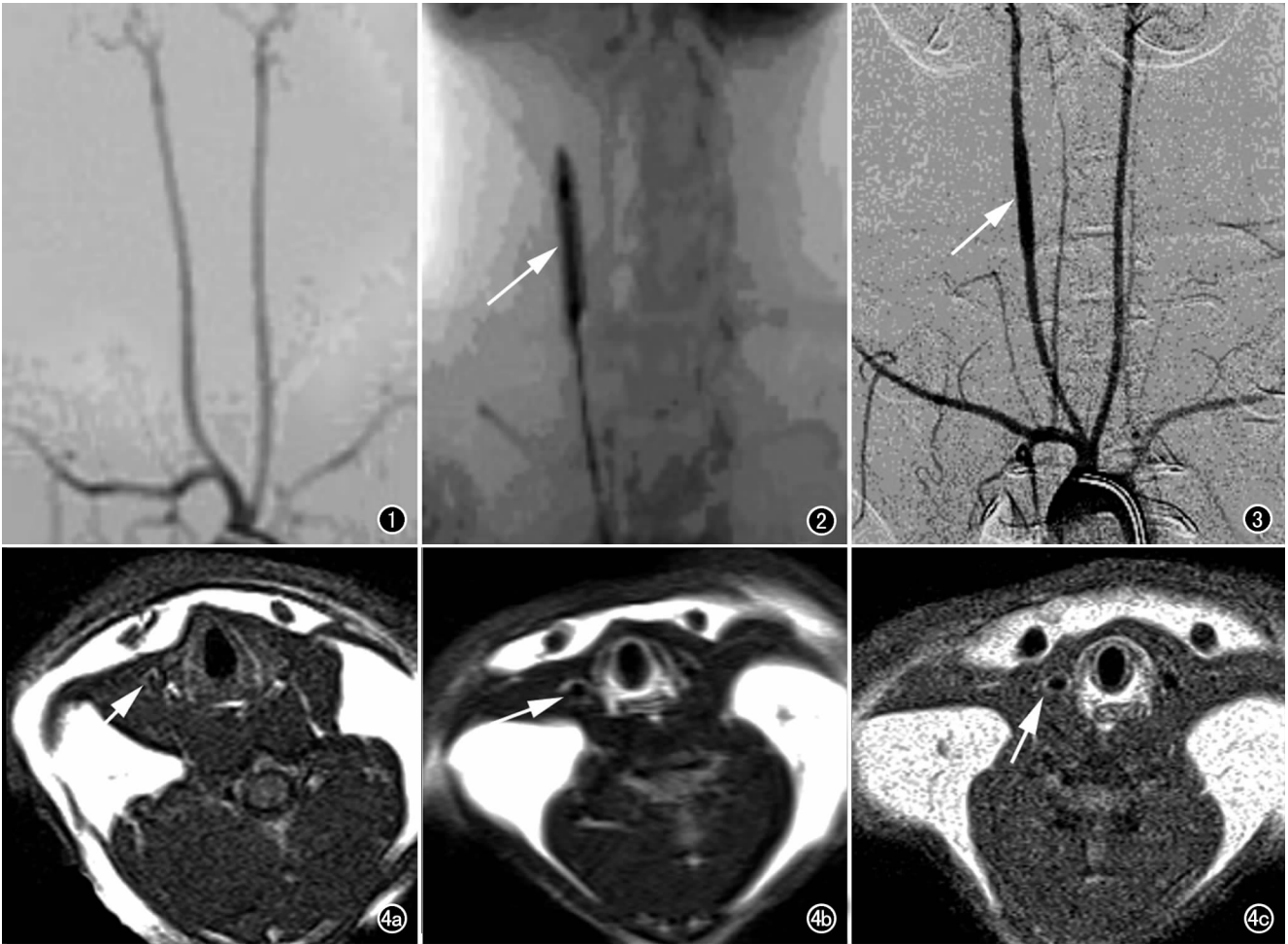


图 1 球囊扩张前 DSA 示颈动脉无明显异常。 图 2 球管扩张即刻 DSA 示右侧颈动脉明显扩张(箭)。 图 3 球囊扩张后 DSA,示损伤局部血管明显扩张,呈囊样塑形(箭)。 图 4 高脂喂养后 12 周 MRI,示血管壁增厚(箭),在各成像序列上均表现为不均匀高信号,血管内膜不光滑,血管腔不同程度变窄。a) T₁WI 图; b) T₂WI 图; c) PDWI 图。

3. 磁共振成像

高脂饲料喂养前及喂养后第 4、8 和 12 周末 MRI 扫描示高脂饲料喂养前,双侧颈动脉等宽,动脉壁显示欠清,于各成像序列均未见增厚,血管腔流空;球囊扩张术后,随着高脂饲料喂养时间的延长,双侧颈动脉壁均可见增厚,信号于各成像序列上增高,由于右侧颈动脉球囊损伤,血管壁较左侧厚,血管腔较左侧窄,管腔内可见脂肪样高信号改变(图 4),不同时间段血管壁厚度、血管腔面积测量结果见表 2,CNR 及管腔内

SNR 测量结果见表 3。

表 2 高脂饲料喂养不同时间点的右侧颈动脉 MRI 测量值

高脂喂养时间	血管壁厚度 ($\times 10^{-2}$ cm)	血管腔面积 ($\times \text{mm}^2$)
高脂前	2.94 $\pm$ 0.19	2.28 $\pm$ 0.17
高脂后 4 周	7.28 $\pm$ 0.42*	2.28 $\pm$ 0.23
高脂后 8 周	9.39 $\pm$ 0.19*	2.04 $\pm$ 0.25**
高脂后 12 周	12.44 $\pm$ 0.26*	2.02 $\pm$ 0.14**

注: * 高脂饲料喂养后与喂养前比较,差异有极显著性意义($P<0.001$); ** 与高脂饲料喂养前比较,差异有显著性意义($P<0.05$)。

表 3 高脂饲料喂养不同时间点的右侧颈动脉各序列的 SNR 及 CNR 值

高脂喂养时间	SNR			CNR		
	T ₁ WI	T ₂ WI	PDWI	T ₁ WI	T ₂ WI	PDWI
高脂前	3.11 $\pm$ 1.49	1.93 $\pm$ 0.18	2.45 $\pm$ 0.83	7.40 $\pm$ 1.05	0.81 $\pm$ 0.34	7.60 $\pm$ 1.58
高脂后 4 周	2.07 $\pm$ 0.68	2.96 $\pm$ 0.13*	3.55 $\pm$ 1.11	5.78 $\pm$ 0.53	2.88 $\pm$ 1.06	7.17 $\pm$ 1.56
高脂后 8 周	2.32 $\pm$ 0.43	2.87 $\pm$ 0.66*	2.79 $\pm$ 0.89	5.83 $\pm$ 1.02	2.34 $\pm$ 1.01	6.96 $\pm$ 1.67
高脂后 12 周	2.44 $\pm$ 0.54	2.59 $\pm$ 0.18*	2.99 $\pm$ 1.08	5.81 $\pm$ 0.57	2.95 $\pm$ 0.42	5.68 $\pm$ 0.89

注: * 高脂饲料喂养后与喂养前比较,差异有显著性意义($P<0.05$)。

4. 病理组织学观察

未损伤动脉内膜完整,内弹力板连续完整,中层平滑肌细胞排列整齐,呈梭形,无明显脂质沉积(图 5);球囊损伤后即刻可见内膜破坏,部分内膜脱落,局部血小板聚集,内皮细胞缺损,中层平滑肌组织未见明显损伤(图 6);球囊损伤后 3 周可见内膜断续不完整,中层平滑肌组织明显增生(图 7);球囊损伤后 11 周,病理上可见典型的粥样斑块形成,斑块表面为增厚的内膜,内膜下斑块内可见大量泡沫细胞,斑块基底部为增生的平滑肌组织(图 8)。高脂喂养前及喂养后 4、8、12 周, Motic 数码摄像系统测得血管壁厚度分别为 $(117.00 \pm 11.96) \mu\text{m}$ 、 $(234.00 \pm 10.33) \mu\text{m}$ 、 $(427.00 \pm 37.64) \mu\text{m}$ 、 $(636.00 \pm 58.51) \mu\text{m}$,与高脂喂养前比较,高脂喂养后 4、8 和 12 周血管壁厚度明显增厚,差异具有统计学意义。不同时间段血管壁厚度 MR 测量值与 Motic 数码摄像系统测量值间具有显著相关性 ($r=0.99, P<0.01$)。

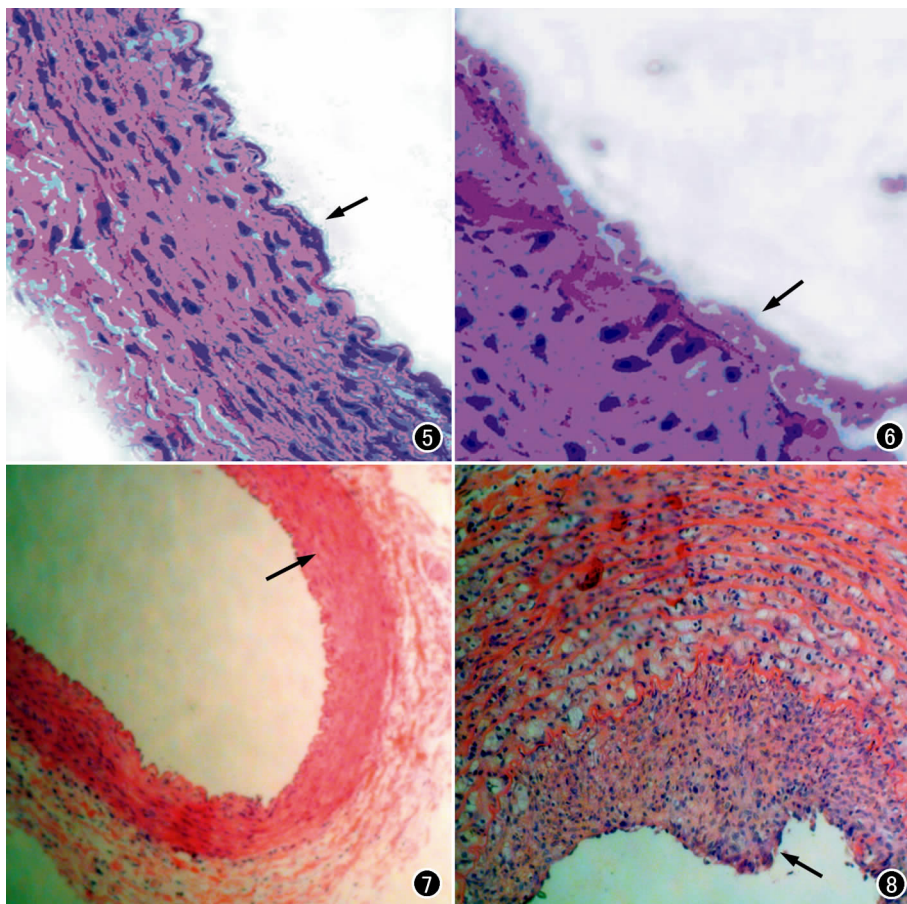


图 5 正常颈动脉,内膜(箭)完整($\times 200$, HE)。图 6 球囊损伤后即刻,内膜完整性消失、内膜破坏(箭),局部血小板浸润($\times 200$, HE)。图 7 球囊损伤后 3 周(高脂喂养后 4 周),血管肌层明显增生(箭),内膜不完整($\times 40$, HE)。图 8 球囊损伤后 11 周(高脂喂养后 12 周),血管内粥样斑块(箭)形成,斑块表面为增厚的内膜,内膜下有大量泡沫细胞浸润,中层平滑肌层增生($\times 100$, HE)。

讨 论

1. 构建新西兰兔动脉粥样硬化模型

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)主要累及体循环的大、中动脉,涉及多个组织器官和系统,发病机制目前尚不明确,多认为是一种特殊的炎症反应。在实验研究中,制备标准的动物模型是实验成败的关键,从而建立一种简便易行、重复性好、有典型病理改变、易于评价及适于干预治疗的动物模型显得尤为重要。兔价格适中,易于饲养,对高脂敏感,容易形成 AS,可用于影像学的活体观察研究及介入放射学的治疗研究,所以,兔成为应用最广泛的实验性 AS 模型动物。兔颈动脉与人类冠状动脉相同,均为肌性动脉,但兔 AS 斑块早期多在胸主动脉发生,而且选用单纯高脂饲料喂养建立的 AS 动物模型与人类血管内膜损伤为病理基础的动脉粥样硬化性疾病不尽相同,所以颈动脉粥样斑块模型必须先造成内膜损伤,同时喂饲高胆

固醇饲料,损伤可加剧内膜粥样斑块的形成,但动脉损伤程度与内膜增生间无相关性^[4]。

本实验通过高脂饲料喂养联合球囊损伤血管内膜建立右侧颈动脉粥样硬化模型。高脂饲料喂养后 2 周血脂明显升高,且呈进行性升高趋势,说明高胆固醇血症是 AS 发生、发展的始动因素,大量流行病学资料显示,AS 的严重程度随血浆胆固醇水平的升高呈线形加重,血浆胆固醇的浓度与冠心病病死率呈正相关^[5];内皮损伤是动脉粥样硬化性疾病发生、发展的关键,内皮失去完整性促成早期动脉硬化病变的形成^[6]。实验中 DSA 显示损伤局部血管明显扩张,呈囊样塑形,术后即刻损伤血管的 HE 染色结果示血管内膜损伤明显,局部血小板聚集,符合血管内膜损伤后的病理学改变,证实球囊扩张新西兰兔颈动脉局部可造成血管内膜损伤。血管造影、组织光镜观察证实有以脂质堆积为主的 AS 斑块形成,说明笔者成功建立了 AS 的实验动物模型。建立该模型选用国内外常用的新西兰兔作为实

验动物,采用 3F 球囊导管,以一侧股动脉为入径,在 X 线透视下逆行至颈动脉,进行双侧颈动脉的造影以检测靶血管的形态,而后形成一侧 AS 模型。这种方法定位准确、重复性好,形成的 AS 确切、可靠,是理想的 AS 模型。

2. 动脉粥样硬化形成过程的 MRI

高脂饮食前及介入术后 3 周、7 周及 11 周(高脂饮食后 4、8、12 周)对新西兰兔进行 MRI 检查,可见血管壁进行性增厚,血管腔进行性狭窄,与病理组织切片有良好的一致性。高脂饲料喂养前,血管腔通畅,由于流空效应,血管腔于 MRI 各成像序列上均呈均匀一致低信号,与周围组织有良好的对比度,血管壁薄,显示欠清;高脂饲料喂养联合球囊损伤血管后,随着时间的延长,颈动脉腔内可见点状高信号影出现,管腔内信号增高、不均匀,血管壁明显不均匀增厚,各成像序列均显示为不均匀高信号影,血管内壁毛糙,勾画出血管腔轮廓。运用 MRI 测量血管壁厚度、血管腔面积,结果显示,与实验前相比,高脂饲料喂养加球囊损伤后 4 周,血管壁厚度增加,8 周时,血管腔面积减小。对应的颈动脉病理学检查结果发现,血管内膜损伤,局部平滑肌明显增生,血管壁可见粥样斑块形成,斑块表面内膜增厚,内膜下泡沫细胞聚集。由于受磁共振设备磁场强度及成像线圈的限制,实验中笔者利用临床实用型 1.5T MR 成像仪不能有效的发现小的粥样斑块、鉴别粥样斑块的成分,只能由血管壁的不规则增厚和血管腔内出现高信号影间接判断粥样斑块形成。高场、小型动物专用 MR 成像设备的运用将有效改善动

物动脉粥样硬化模型的成像质量,为心血管疾病的早期诊断、准确评估及发病机制的探讨提供有益的实验基础,有利于临床心血管疾病的有效防治。

高脂饲料喂养联合球囊损伤可成功建立新西兰兔颈动脉粥样硬化模型,该模型符合以血管损伤为病理基础的动脉粥样硬化性疾病的发病机制研究要求,重复性好。MRI 可动态观察动脉粥样硬化形成过程,间接评价硬化程度及斑块形成。

参考文献:

- [1] Steen H, Lima JA, Chatterjee S, et al. High-resolution Three-dimensional Aortic Magnetic Resonance Angiography and Quantitative Vessel Wall Characterization of Different Atherosclerotic Stages in a Rabbit Model[J]. Invest Radiol, 2007, 42(9): 614-621.
- [2] Touzé E, Toussaint JF, Coste J, et al. Reproducibility of High-resolution MRI for the Identification and the Quantification of Carotid Atherosclerotic Plaque Components Consequences for Prognosis Studies and Therapeutic Trials[J]. Stroke, 2007, 38(6): 1812-1819.
- [3] Maintz D, Ozgun M, Hoffmeier A, et al. Whole-heart Coronary Magnetic Resonance Angiography: Value for the Detection of Coronary Artery Stenoses in Comparison to Multislice Computed Tomography Angiography[J]. Acta Radiol, 2007, 48(9): 967-973.
- [4] Durard E, Mallat Z, Added F, et al. Time Courses of Apoptosis and Cell Proliferation and Their Relationship to Arterial Remodeling and Restenosis after Angioplasty in an Atherosclerotic Rabbit Model[J]. J Am Coll Cardiol, 2002, 39(10): 1680-1685.
- [5] 杨永宗. 中国动脉粥样硬化病理生理学研究近况[J]. 中国动脉硬化杂志, 2004, 12(4): 481-489.
- [6] Lusis AJ. Atherosclerosis[J]. Nature, 2000, 407(6801): 233-241.

(收稿日期:2009-03-18 修回日期:2009-03-30)

书 讯

南昌大学第一附属医院龚洪翰教授主编的《医学影像学知识竞赛题库》已由人民军医电子出版社出版。该题库有试题 14000 余道,5000 余幅图像。题库分技术与诊断两大部分,诊断中又按系统分类,涵盖了 X 线、CT、MR、DSA、超声及核医学。该题库有必答题、抢答题、必答题风险题、抢答风险题和最终抢答题等五种题型。竞赛时可分 2—12 组,每组 1—12 人,可用于个人对个人、小组对小组、班级对班级或校际间的知识竞赛,最多可同时让 144 人参赛,同时可计算每个参赛者的成绩,客观地反映参赛者对专业知识掌握的情况。应用该题库进行专业知识竞争,可实现考试中娱乐,娱乐中考试;实现考试的公开、公平、公正。该题库主要由管理端与竞赛端两大部分组成,管理端程序有备份、修改、新建竞赛试题功能。试题标有题号、章节、子类、题型、阶段、难易度等,操作简便。竞赛端有时间显示、时间设定、计分显示、分值设定等。竞赛前可设定竞赛题的范围、数目及难易等,可用于各类医学院校或医院的影像专业知识的竞赛。

该题库(光盘)定价 120 元,欢迎来电来函购买。

地址:南昌市永外正街 17 号 南昌大学第一附属医院 王琳娜

电话:0791-8693825 或 8692582 手机:13879196968