

• 实验研究 •

中华小型猪心肌微循环障碍的影像学研究

唐翔, 吕滨, 赵世华, 唐跃, 吕凤英, 方伟, 陆敏杰, 鲁锦国, 陈雄彪, 蒋世良

【摘要】 目的:MSCT、MRI 和 SPECT 对中华小型猪心肌微循环障碍的显示效果。**方法:**中华小型猪 8 只,全部雄性,体重 (22.8 ± 0.9) kg。实验猪接受 MSCT 扫描 1 次后 1 周内于前降支中远段注射 105 μ m 微球,术后 27 天行 SPECT,28 天行造影、MSCT 和 MRI 检查各 1 次,最后处死动物送病理检查。**结果:**4 只实验猪死亡,其余 4 只完成所有检查。病理染色未均见梗死。术前与术后 28 天 MSCT 扫描测量每搏输出量、收缩末期容积、舒张末期容积和射血分数的差异均无统计学意义($P > 0.05$)。术前与术后 28 天的 MSCT 扫描测量左室前壁、左室侧壁及室间隔的平均 CT 值在动脉期、延迟 1、3、5 和 10 min 自身对照均没有统计学差异。术后 28 天的左室前壁、左室侧壁及室间隔在 MSCT 动脉期均未见异常灌注减低区域,延迟扫描也未出现强化;MRI 均未见异常灌注减低区域,延迟扫描也未见强化;SPECT 扫描示上述区域均未见明显灌注减低区域。**结论:**MSCT、MRI 和 SPECT 对于没有明显病理染色的梗死区域及心功能变化的微循环障碍显示是受限的。

【关键词】 体层摄影术, X 线计算机; 磁共振成像; 正电子发射体层摄影术; 病理; 心肌微循环障碍; 动物实验

【中图分类号】 R814.42; R445.2; R815 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2010)03-0263-04

Comprehensive Imaging Study of Myocardial Microcirculation Disturbance in Chinese Mini-swine Model TANG Xiang, LV Bin, ZHAO Shi-hua, et al. Department of Radiology, Fuwai Hospital, Chinese Academy of Medical Science, Peking Union Medical College, Beijing 100037, P. R. China

【Abstract】 Objective: To study the efficacy of multi-detector row computed tomography (MSCT), magnetic resonance imaging (MRI) and single photon emission computed tomography (SPECT) in the demonstration of myocardial microcirculation disturbance in Chinese mini-swine model. **Methods:** Eight male Chinese mini swines with the body weight as (22.8 ± 0.9) kg were chosen. MSCT was performed before the experiment, then within 1 week, 105 microspheres with the diameter of about 100μ m were injected into the middle/distal segment of left anterior descending coronary artery. On the 27th day after injection, SPECT was performed. On the 28th day, coronary imaging, including MSCT, MRI were undertaken. All of the experimental animals were sacrificed for pathology examination. **Results:** Four pigs died and could not fulfill the requirement of experiment, another 4 completed the whole process. No infarction was detected by pathology examination. No statistical differences were showed in the stroke volume, end systolic volume, end diastolic volume and ejection fraction before and after the 28th day of the operation ($P > 0.05$); The average CT value of lateral wall of left ventricle, anterior wall of left ventricle and interventricular septum at the arterial phase, delayed 1min, 3min, 5min, 10min and the 28th postoperative day measured on MSCT didn't showed statistical differences as well. All the above-mentioned areas had neither abnormally decreased perfusion regions in the arterial phase nor enhancement in delayed phases. Neither abnormally decreased perfusion regions nor enhancement in delayed phases were shown on MRI. SPECT showed no low perfusion regions in the above-mentioned regions. **Conclusion:** The role of MSCT, MRI, SPECT were limited in the detection of myocardial microcirculation disturbance with no apparent infarct changes on pathology or impaired cardiac function.

【Key words】 Tomography, X-ray computed; Magnetic resonance imaging; Single photon emission computed tomography; Pathology; Myocardial microcirculation disturbance; Animal experimentation

冠状动脉内微小栓子进入心肌内引发微血管阻塞从而导致心肌微循环缺血。本研究建立中华小型猪心肌微循环障碍模型,比较 MSCT、MRI 和 SPECT 对中华小型猪心肌微循环障碍的检测效果,旨在提高冠脉病变的影像诊断水平。

材料与方法

本试验获得医院伦理委员会通过,所有试验人员均获得动物实验资格证书。按体重 20.0~25.0 kg、性别雄性的原则挑选中华小型猪,共 8 只,体重 (22.8 ± 0.9) kg,心率 (120 ± 11) bpm。实验猪采用全身麻醉,耳缘静脉留置三通管。所有入选猪首先进行 1 次 MSCT 增强扫描,完成后 7 天内行微球注射手术。术后饲养至 27 天完成 1 次 SPECT 检查,第 28 天时首先行 CAG,其后相继完成 1 次 MRI 和 1 次 MSCT 检查,

作者单位: 100037 北京,北京协和医学院中国医学科学院阜外心血管病医院放射科

作者简介: 唐翔(1981—),男,安徽人,硕士研究生,主要从事心血管影像学诊断及介入治疗工作。

通讯作者: 吕滨, E-mail: blu@vip.sina.com

基金项目: 教育部新世纪优秀人才支持计划(CET-04-0189)

最后处死动物取心脏标本进行 TTC 染色。1~3 号实验猪为预试验猪,与其它试验猪间差别为注射微球悬浊液剂量不同,从 3 号猪开始,注射剂量为微球悬浊液 0.5 ml。

1. MSCT 扫描方案

实验猪麻醉后取仰卧位,使用 GE Lightspeed VCT 机,回顾性心电门控,扫描范围自主动脉根部至心脏膈面。扫描参数:层厚 0.625 mm,64i $\times$ 0.625 mm,0.35 s/r,120 kV,500 mA,螺距 0.24,视野 250 mm $\times$ 250 mm。对比剂使用 Iohexol 350(350 mg I/ml)。使用高压自动注射器(Stellant, Medrad),连接耳缘静脉三通管,以 1.50 ml/s 流率先后注射对比剂 15 ml、对比剂与生理盐水混合液(3:7 的体积比)5 ml 和生理盐水 15 ml。动脉期扫描应用对比剂示踪法,在主动脉根部层面根据降主动脉内径选择兴趣区,当 CT 值超过 80 HU 时延迟 5 s 手动触发扫描。对比剂注射完成后 1、3、5 和 10 min 分别再次启动 MSCT 扫描。将 30%~80% R-R 间期内图像手动 5%为间隔拆分。所有数据均在工作站(GE AW 4.3)上进行处理。

2. MRI 扫描方案

使用 Siemens Avanto 1.5 T 超导磁共振成像仪,最大梯度场 45 mT/m,最大梯度切换率 200 mT/(m $\cdot$ ms),采用 8 通道心脏线圈,前瞻性心电门控。对比剂为马根维显,注射器连接耳缘静脉三通管。麻醉后实验猪取仰卧位,常规扫描包括序列包括 2D TrueFISP 序列和前瞻性心电门控 TSENSE 梯度回波电影序列,分别行左室多个长轴位(包括两腔心长轴,四腔心长轴)及 8 层左室短轴位电影扫描。对比剂增强心肌首过灌注成像采用 TSENSE EPI GRE 序列,以 4~5 ml/s 流率注射对比剂,剂量 0.1 mmol/kg,完成后以同一流率追加 20 ml 生理盐水,注射与扫描同时开始。心肌灌注成像完成后立即以 2 ml/s 的流率追加等量的对比剂及 20 ml 生理盐水,10 min 后行相位敏感反转恢复序列 T_1 WI 扫描,包括 6~8 层左室短轴切面、左室两腔心切面及四腔心切面各 1 层。数据在工作站(Syngo Argus)上处理。

3. SPECT 扫描方案

采用低能高分辨平行孔准直器的双探头 GE Infinia SPECT 仪,实验猪麻醉后自耳缘静脉三通管注射^{99m}Tc-MIBI 15 mCi(401 原子能研究所),注射后立即注入 5.0 ml 生理盐水。维持麻醉状态 2 h 后行静息心肌断层灌注显像。采集条件:矩阵 64 $\times$ 64,放大率 2.0,右前斜 45°至左后斜 45°共采集 30 个角度,数据在主机自带工作站(GE Esoft)上使用 Butterworth 滤波重建。陡度因子和截止频率分别为 5 和 0.45。重建垂直长轴位、水平长轴位和短轴位图像。

4. 微球制作

使用 99%聚苯乙烯+1%乙二烯苯复合塑料微球,直径约 100 μ m(78~112 μ m),密度 0.18 g/ml。每 1 ml 微球悬液中约含 1×10^5 个塑料微球(天津南开大学和成公司)^[1]。首先用电子天平称取 1.0 g 微球,用滤纸包裹。其后将 1 个微球包、1 瓶 250 ml 瓶装生理盐水和 1 个可反复使用的封口袋封装后使用环氧乙烷灭菌备用。使用时将封装袋内物品置于手术台上,由手术操作者将微球倒入盐水瓶后封盖,将袋置于震荡器上以 200 r/min 的速度震荡 15 min 后备用。

5. 手术方案

使用 GE Innova 2000 DSA 血管造影仪。造影前禁食 24 h,全身麻醉状态下,应用 Seldinger 法经右侧股动脉置入 6F 动脉鞘管,按标准投照角度,使用 5F 左冠状动脉导管手动快速推入对比剂(Iohexo 350)约 10 ml 后行左冠状动脉造影。使用 3F 导管超选择性插至前降支(left anterior descending artery, LAD)中远段,使用 1.0 ml 注射器抽取微球悬浊液 0.5 ml(含 0.5×10^5 个微球),在 30 s 内将液体缓慢推入导管。注射完成后立刻抽取 2.0 ml 生理盐水在 60 s 内缓慢推注。操作完成后撤出所有导管,缝合右侧腹股沟皮肤。

6. 病理检查

高钾注射处死实验猪,将心脏取出。自心尖到心底部于垂直室间隔方向切成厚约 5 mm 薄片后,使用氯化三苯基四氮唑(triphenyltetrazolium chloride, TTC)染色约 5 min。

7. 数据分析和统计

对 MSCT 动脉期及延迟 1、3、5 和 10 min 时的图像进行分析,观察心脏各层面是否存在首过灌注减低区或延迟强化区。使用 Ejection Fraction 模块,选取动脉期图像重建心脏短轴位图像,观察是否存在首过灌注异常。调取 45% R-R 间期(收缩末期)、75% R-R 间期(舒张末期)的图像进行心功能计算,记录收缩末期容积(end-systolic volume, ESV),舒张末期容积(end-diastolic volume, EDV),每搏输出量(stroke volume, SV)和射血分数(ejection fraction, EF)值。将首过灌注及延迟 1、3、5 和 10 min 时 75% R-R 间期的图像同时调用,测量左室前壁、室间隔和左室侧壁的 CT 值,测量位置均为同一层面的同一位置,每次测量时兴趣区大小为 5.0 mm²。

使用 MRI 工作站心功能模块计算心功能参数,包括 ESV、EDV、SV 和 EF。观察左室前壁、室间隔和左室壁的首过灌注和延迟增强图像。

观察两腔心长轴位、四腔心长轴位及 8 层左室短轴面 SPECT 图像,明确左室前壁、室间隔和左室侧壁

的灌注情况。

根据存活心肌染色为砖红色,梗死心肌不能染成红色,明确左室前壁、室间隔和左室侧壁的染色情况。

使用 SAS 9.1.3 统计软件。使用配对 t 检验分析 MSCT 检查时测量的各项心功能参数值在术前与术后 28 天的差异以及 MRI 与 MSCT 测量的各项心功能参数间的关系。使用配对 t 检验分析猪术前与术后左室前壁、室间隔、左室侧壁在动脉期及延迟 1、3、5 和 10 min 时的 CT 值是否存在差异。 $P<0.05$ 为差异有显著性意义

结 果

8 只实验猪中 4 只猪死亡,死亡原因:1 号猪在注射微球悬浊液(4 ml)过程中,突发心室颤动经抢救无效后死亡;2 号猪共注射微球悬浊液 2.0 ml,术中顺利,术后在 1 h 时麻醉复苏中突发心室颤动,抢救无效后死亡;3 号猪共注射微球悬浊液 0.5 ml,术中及术后麻醉复苏过程均顺利,但术后 4 h 行 MSCT 增强扫描过程中突发心室颤动,抢救无效后死亡;5 号猪注射微球悬浊液 0.5 ml,术中及术后麻醉复苏过程均顺利,但存在萎靡不振,纳差,术后未再行影像学检查,饲养至第 7 天时死亡,尸检发现胸腔及肺内大量清亮漏出液,死亡原因急性左心功能衰竭。

存活 4 只实验猪术后 28 天时 MSCT 动脉期、MRI 首过灌注及延迟扫描、SPECT 扫描均未显示心肌灌注异常区域,TTC 染色也未见心肌梗死区域(图 1)。4 只存活猪术前及术后 28 天 MSCT 测量的各项心功能参数见表 1,术后 28 天 MRI 测量的各项心功能参数见表 2。

表 1 术前及术后 28 天 MSCT 心功能参数测量结果

编号	SV(ml)		ESV(ml)		EDV(ml)		EF(%)	
	术前	术后	术前	术后	术前	术后	术前	术后
1	17.0	19.1	15.3	16.1	32.3	35.2	52.6	54.3
2	16.6	14.0	18.2	19.0	34.8	33.9	47.7	53.1
3	16.6	18.3	18.8	17.9	35.4	36.2	46.9	50.6
4	19.9	20.1	13.3	14.0	33.2	34.1	60.0	58.9
均值	17.5	17.9	16.4	16.8	33.9	34.9	51.8	54.2

表 2 术后 28 天 MRI 测量心功能参数结果

编号	SV(ml)	ESV(ml)	EDV(ml)	EF(%)
1	16.4	14.6	31	52.9
2	18.4	14.8	33.8	55.4
3	14.0	19.9	33.9	41.3
4	10.4	12.8	23.8	44.9
均值	14.8	15.5	30.6	48.6

将术前与术后 28 天 MSCT 心功能参数测量结果进行配对 t 检验, $SV(t=-0.329,P=0.746)$ 、 $ESV(t=-0.577,P=0.604)$ 、 $EDV(t=-1.190,P=0.320)$ 和 $EF(t=-1.736,P=0.181)$ 术前及术后测量结果间差异均无显著性意义。

将术后 28 天 MSCT 心功能参数测量结果与 MRI 测量结果进行配对 t 检验, $SV(t=1.058,P=0.368)$ 、 $ESV(t=0.548,P=0.622)$ 、 $EDV(t=1.928,P=0.149)$ 和 $EF(t=1.513,P=0.227)$ 在术前术后差异均无显著性意义。

4 只实验猪术前及术后 28 天时左室前壁、侧壁及室间隔在动脉期及延迟 1、3、5 和 10 min 时的 CT 值均值及统计学分析结果见表 3。

表 3 术前及术后 28 天在 MSCT 扫描不同时间点 CT 值

部位	CT 值(HU)		配对 t 检验	
	术前	术后	t 值	P 值
左室前壁				
动脉期	73.34	69.06	0.937	0.418
延迟 1 min	78.02	59.25	2.274	0.108
延迟 3 min	66.08	52.37	1.425	0.249
延迟 5 min	60.07	48.52	1.290	0.288
延迟 10 min	54.00	55.96	2.313	0.314
室间隔				
动脉期	71.64	72.85	1.546	0.220
延迟 1 min	61.94	67.1	2.421	0.094
延迟 3 min	68.52	53.17	0.069	0.950
延迟 5 min	60.37	49.55	2.292	0.106
延迟 10 min	46.84	46.26	0.125	0.909
左室侧壁				
动脉期	76.75	79.51	-0.372	0.735
延迟 1 min	71.36	77.56	-0.812	0.476
延迟 3 min	65.50	60.78	0.569	0.609
延迟 5 min	54.41	54.35	0.013	0.991
延迟 10 min	54.50	56.52	-0.327	0.765

术前与术后 28 天时左室前壁、室间隔及左室侧壁的 CT 值在动脉期及延迟 1、3、5 和 10 min 时差异均无

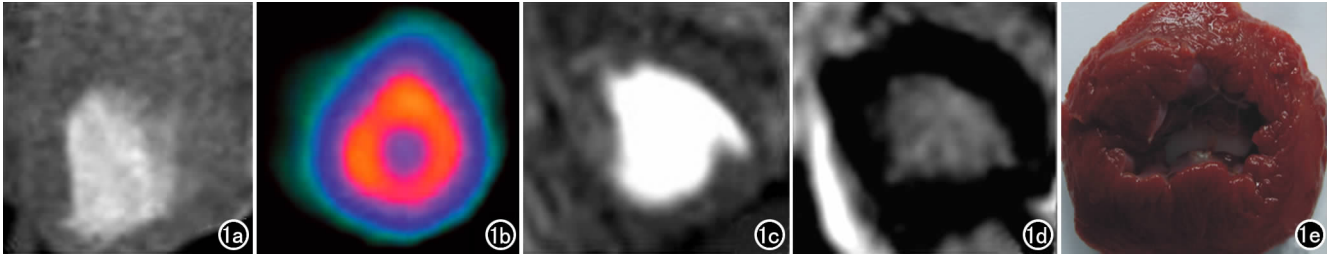


图 1 中华小型猪,体重 24.2 kg,心率 114 次/分,术中编号 02。a) MSCT 动脉期未见心肌灌注减低; b) SPECT 示心肌无明显灌注减低区; c) MRI 首过灌注未见心肌灌注减低; d) MRI 延迟扫描未见心肌延迟增强; e) TTC 染色未见梗死心肌。

统计学意义。

讨 论

以往的研究中心肌微循环障碍的影像学研究报告较少。本研究以病理学为金标准,比较不同影像学方法对同一模型的显示情况。

猪、犬、兔和大鼠等都是常用的心脏影像学检查动物,但大鼠和兔的心脏体积太小,不利于观察;犬的心脏冠状动脉不完全与人类相同且侧支循环较人类丰富;只有猪的冠状动脉解剖结构及侧支循环发达程度与人最接近^[2],且心脏较大易于影像学观察。因此本实验选择标准化动物中华小型猪作为实验材料。

通过超选择性冠脉左前降支中远段注射 100 μm 微球的方式造成心肌的微栓塞模型。实验过程中发现微球量较大时极易导致室颤的发生,动物术中死亡率高,其机制可能是微球进入心肌内微血管后对心电传导束的干扰。微球量减少时,ST 段仍有改变,动物不再出现术中死亡。但微球注射较少时,大体 TTC 染色没有显示心肌梗死。

可用于评价心肌的影像学方法有 MSCT、MRI、SPECT 及心脏超声。心脏超声可以评价室壁运动情况及心功能,但受操作者经验等因素影响较大而不易具有重复性。有文献报道,心脏超声、MSCT 和 MRI 测得的心功能指标间有很好的相关性^[3-5],MRI 延迟强化与 MSCT 的延迟强化对于梗死心肌面积的显示也有很好的吻合度^[6]。本实验选择方案较为固定的 MSCT、MRI 和 SPECT 作为实验内容。

注射前与注射后 28 天 MSCT 动脉期扫描和延迟扫描均没有出现心肌灌注减低或延迟强化的表现。左室前壁、室间隔和左室侧壁的 CT 值无明显改变。整体心功能也未见明显下降趋势。MRI 增强扫描未显示左室前壁、室间隔和左室侧壁在首过灌注及延迟扫描时有异常改变。电影序列也未见心肌运动功能减低。SPECT 检查示左室前壁、室间隔和左室侧壁均未出现灌注异常的区域。

在 MSCT 增强扫描和 MRI 扫描过程中均未对实验猪进行呼吸控制,而且中华小型猪心率过快,本研究中心率为 103~135 次/分,平均(120 $\pm$ 11)次/分,运动伪影和图像错层影响了图像观察,尤其是心功能计算时,实验猪心脏边界不易准确标记。由于猪心率、体重

的差异以及人工启动扫描时间的差别,对比剂的部分容积效应影响了心肌 CT 值的准确测量。本研究采用的 100 μm 微球为外源性塑料,建模成功率较高(4/8)。有研究采用内源性血栓制作的 100 μm 微球,同样采用导管法超选择插管至冠脉左前降支中段,注射 0.2 g 血栓,建模成功率 73.1%(19/26),死亡原因为室颤(3/5)和麻醉意外(2/5)^[9]。另有研究采用更小的 42 μm 微球,在冠脉左前降支中段注入约 1.2×10^5 微球,术中死亡率仅 16.7%(1/6),死因为麻醉意外^[10]。

综上所述,MSCT、MRI 和 SPECT 对于没有明显病理染色的梗死区和心功能变化的微循环障碍显示是受限的。

参考文献:

- [1] 傅向华,刘晓坤,谷新顺,等.经导管冠脉内微球灌注建立小型猪慢性缺血性心力衰竭模型研究[J].中华医学杂志,2006,86(16):1129-1132.
- [2] 施冰,郭红,邓小莉,等.中国小型猪慢性心肌缺血模型的制备[J].中国临床保健杂志,2006,9(2):134-136.
- [3] Schuijf JD, Bax JJ, Salm LP, et al. Noninvasive coronary imaging and assessment of left ventricular function using 16-slice computed tomography[J]. Am J Cardiol, 2005, 95(5):571-574.
- [4] 赵希刚,李坤成,杜祥颖,等.64 排增强螺旋 CT 法评价左室心功能与屏气 MRI 电影法的比较研究[J].中华医学杂志,2006,86(38):2723-2725.
- [5] 高波,郭启勇,雷晶,等. MSCT、超声心动图与 MRI 评价左室心功能的比较研究[J].临床放射学杂志,2007,26(10):985-989.
- [6] Baks T, Cademartiri F, Moelker AD, et al. Multislice computed tomography and magnetic resonance imaging for the assessment of reperfused acute myocardial infarction[J]. J Am Coll Cardiol, 2006, 48(1):144-152.
- [7] Mahnken AH, Koos R, Katoh M, et al. Assessment of myocardial viability in reperfused acute myocardial infarction using 16-slice computed tomography in comparison to magnetic resonance imaging[J]. J Am Coll Cardiol, 2005, 45(12):2042-2047.
- [8] Gerber BL, Belge B, Legros GJ, et al. Characterization of Acute and Chronic Myocardial Infarcts by Multidetector Computed Tomography: Comparison With Contrast-enhanced Magnetic Resonance[J]. Circulation, 2006, 113(5):823-833.
- [9] 陈良,傅向华,姜云发,等.小型猪心肌梗死介入治疗后无复流动物模型的制备[J].中国实验动物学报,2008,16(2):138-141.
- [10] 马剑英,钱菊英,葛俊波,等.经导管急性冠状动脉微栓塞对急性期左室心功能的影响[J].中华超声影像学杂志,2006,15(12):948-949.

(收稿日期:2009-07-20 修回日期:2009-11-05)