

• 实验研究 •

兔慢性肺动脉血栓栓塞模型的建立及其 64 层螺旋 CT 表现

周智鹏, 王海龙, 杜振宗, 邱维加, 张辉阳, 凌秀梅

【摘要】 目的:建立兔的慢性肺动脉血栓栓塞模型,研究其 64 层 CT 肺动脉成像表现。**方法:**健康家兔 28 只,体重 2.0~2.5 kg。栓塞组 20 只,假栓塞组 8 只。栓塞组兔肺动脉多次注入自体血栓,血栓直径为 1~2 mm,长 3~5 mm,每次栓塞量约 3~5 条,栓塞前后和 12 周时 64 层螺旋 CT 平扫和 CT 肺动脉成像扫描,分析其影像学表现特点。**结果:**栓塞组 20 只动物,死亡 4 只,存活并符合实验要求动物 16 只,成功率 80%;假栓塞组无动物死亡。兔肺动脉栓塞后血浆 D-二聚体在急性期明显增高,约增加 80%,在慢性期降至正常水平。栓塞组 16 例 CT 肺动脉成像均发现肺动脉栓塞直接征象并经过病理证实。慢性肺动脉栓塞的间接征象中,肺动脉直径增粗的发生率为 87.5%,肺梗死发生率为 18.8%,斑片状实变影和胸膜增厚的发生率为 12.5%,肺少血的发生率为 6%。**结论:**兔自体血栓反复注射法建立慢性肺血栓栓塞模型有较高的可行性,64 层 CT 肺动脉成像能清楚显示肺动脉栓塞的直接征象和间接征象,有助于肺动脉栓塞的诊断。

【关键词】 兔;慢性肺动脉栓塞;计算机断层肺动脉造影

【中图分类号】 R814.42; R816.41 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2011)04-0398-04

Study of chronic pulmonary thromboembolism model in rabbits with 64-slice spiral CT ZHOU Zhi-peng, WANG Hai-long, DU Zhen-zong, et al. Department of Radiology, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guangxi 541001, P. R. China

【Abstract】 Objective: To establish a model of chronic pulmonary thromboembolism in rabbits and study the CT pulmonary angiography (CTPA) imaging using 64-slice spiral CT. **Methods:** 28 healthy rabbits with the body weight as 2.0~2.5 kg were used for this study. They were divided randomly into 2 groups: control group (sham embolization) 8 rabbits, embolization group, 20 rabbits. Repeated injections of heat-treated autologous clot (3~5 clots/injection) with thrombus diameter of 1~2 mm and length of 3~5 mm were performed to produce PE. CTPA was performed before and immediately after embolization, respectively, and 12 weeks later (chronic phase). The CT findings were analyzed retrospectively. **Results:** In the embolization group, 4 rabbits died and 16 (80%) survived which reached the experimental requirements. No animal died in the control group. Plasma D-dimer were significantly increased about 80% 30 min after PE, and reduced to normal in the chronic phase. Direct signs of PE were assessed in all embolization group rabbits showing occlusive artery on CTPA and pathology. Of the indirect signs of chronic pulmonary embolism, there were increase of the pulmonary artery diameter (87.5%), pulmonary infarction (18.8%), pulmonary consolidation and pleural thickening (12.5%), and pulmonary ischemia (Westermarck's sign) was shown as 6%. **Conclusion:** Repeated injection of autologous blood clot to establish chronic pulmonary thromboembolism model had a high feasibility. The direct and indirect signs of PE could be clearly depicted on 64-slice spiral CT which is helpful to improve the standard of diagnosis.

【Key words】 Rabbits; Chronic pulmonary embolism; Computed tomography pulmonary angiography

肺动脉栓塞(pulmonary embolism, PE)是指肺动脉主干及其分支被内源性或外源性栓子堵塞后发生的肺循环功能障碍性疾病。常见栓子来源于下肢深静脉血栓、风湿性心脏病发生的血栓和原发于肺动脉本身的血栓。慢性肺动脉栓塞(chronic pulmonary embolism, CPE)是急性肺栓塞(acute pulmonary embolism, APE)或肺动脉原位血栓形成的长期后果,由于血栓不能完全溶解,血栓机化,肺动脉内膜慢性炎症并增厚,发展为慢性肺栓塞,最终导致慢性肺动脉高压和肺的通气或血流灌注失衡,进一步发展会出现呼吸功能不全、低氧血症和右心衰竭。一般认为发病时间在 15 天

以内为 APE,发病时间大于 3 个月为 CPE。本实验利用兔自体血栓,经过多次重复栓塞模拟临床上慢性肺动脉血栓栓塞过程,监测各项生理指标,旨在利用 64 层螺旋 CT 肺动脉成像(computed tomography pulmonary angiography, CTPA)研究其影像学表现特点。

材料与方法

1. 实验动物及分组

健康家兔 28 只(桂林医学院动物实验中心提供),性别不限,体重 2.0~2.5 kg。按随机数字表法为两组,假栓塞组 8 只,栓塞组 20 只。

2. 自体血栓制备

无菌条件下,从动物兔耳缘中动脉抽血 1 ml/kg,加入凝血酶 10 U/ml 后注入无菌培养皿内混匀,静置 20~30 min,待其自凝后放入 60℃~70℃水浴箱中,

作者单位: 541001 广西,桂林医学院附属医院放射科(周智鹏、邱维加、张辉阳、凌秀梅),心胸外科(杜振宗、王海龙)

作者简介: 周智鹏(1976—),男,湖北天门人,副主任医师,主要从事心血管和脑缺血疾病的影像诊断工作。

通讯作者: 杜振宗, E-mail: duzhenzong@sina.com

基金项目: 广西壮族自治区科技厅自然科学基金资助(桂科自 0848016)

水浴 10~15 min,取出后置于冰箱冷藏备用。手术时将血凝块取出,用手术刀片制成直径为 1~2 mm,长为 3~5 mm 的柱形血栓备用。

3. 慢性肺动脉栓塞模型建立

实验家兔术前禁食 12 h,给予 30 g/l 戊巴比妥钠耳缘静脉注射麻醉,剂量为 1 ml/kg。麻醉后的家兔常规颈部备皮和消毒,切开皮肤,暴露颈外静脉,经颈外静脉插入中心静脉导管,插入深度为 3 cm 左右,经导管缓慢注射制备好的血栓 3~5 条后,经导管推注生理盐水 10 ml。用 8~0 的手术丝线分别缝合血管插管口和手术切口。动物苏醒后放回桂林医学院动物实验中心饲养。在第一次注栓后 2 周、4 周和 8 周时,重复上述麻醉和注栓实验步骤。

4. 动脉血氧分压和二氧化碳分压测定以及 D-二聚体测定

在栓塞前、栓塞后 30 min、4 周、8 周和 12 周分别测量动脉血氧分压、二氧化碳分压(美国 CIBA-CORNING 公司 170 型血气分析仪以及配套试剂盒)和 D-二聚体(日本东亚公司的 Sysmex CA6000 全自动血栓/止血分析仪和配套试剂盒)。

5. 肺部 CT 平扫和 CTPA 扫描

所有存活动物均于第一次注栓前后和注栓后第 4 周、8 周以及 12 周分批行胸部 CT 平扫和 CTPA 扫描。

仪器与药品:GE 公司 LightSpeed 64 层 VCT 机;EZEM 公司 Empower 高压注射器;对比剂为碘普罗氨(300 mg I/ml)和生理盐水按照 10:3 稀释后高压注射器团注。

CT 扫描方法:兔取仰卧位,正侧位定位片覆盖全肺,平扫管电压 120 kV,管电流 80 mA。增强扫描经兔耳前静脉以 0.5 ml/s 速率注射稀释后的对比剂 4 ml,扫描前延迟时间 7 s,管电压 120 kV,管电流 300 mA,机架转速 0.4 s/r,探测器宽度 0.625 mm×64,视野 12.5 cm,矩阵 512×512。

图像后处理和分析:将所有数据传输至 GE AW4.4 工作站,完成图像的后处理和分析。

肺动脉测量:分别由 3 位有经验的医生测量肺动脉主干、右肺动脉和左肺动脉起始段直径,取平均值作为最终测量结果。

6. 栓塞肺组织及血栓的病理观察

于栓塞后 4 周、8 周和 12 周期时用快速放血法分批处死动物。沿肺动脉走行纵行切开肺动脉,取出含血栓的肺组织,置于 10% 的甲醛常温固定至石蜡包埋。应用磷钨酸苏木精染色观察血栓情况。

7. 统计学处理

实验结果用 EXCEL 自带的统计软件进行统计学分析。包括动脉血氧分压、二氧化碳分压,血浆 D-

二聚体和肺动脉直径等数据的分析和统计。

结 果

实验动物栓塞组 20 只动物,死亡 4 只,致死率为 20%,存活并符合实验要求动物 16 只,成功率 80%。假栓塞组无动物死亡。

1. 实验兔生命体征和血气检测

动脉血氧分压栓塞前平均(95.5 ± 2.5) mmHg,栓塞 30 min 后平均(74.6 ± 3.2) mmHg(差异有统计学意义, $t=17.881, P<0.01$);二氧化碳分压栓塞前平均(29.1 ± 2.4) mmHg,栓塞 30 min 后升高至平均(38.5 ± 1.4) mmHg(差异有统计学意义, $t=28.610, P<0.01$)。两者在第 4 周后均回到接近正常水平一直持续到第 12 周(差异无统计学意义, $t=0.837 \sim 1.419, P>0.05$)。

2. 栓塞前后 D-二聚体浓度改变

栓塞前平均(102.9 ± 2.9) ng/ml,栓塞后 30 min 平均(219.3 ± 7.3) ng/ml,增加约 80%(差异有显著统计学意义, $t=37.183, P<0.01$),第 4 周以后降至正常水平并延续到第 12 周(差异无统计学意义, $t=0.029 \sim 1.330, P>0.05$)。

3. 栓塞组 16 例栓塞后 64 层 CTPA 影像征象

直接征象(图 1~4):①肺动脉分支减少或者管腔阻塞、中断(16 例);②肺动脉或者分支内可见圆形或卵圆形、偏心或附壁半圆形充盈缺损(16 例);③血管内壁不光整(16 例)。间接征象(图 5~8):①类圆形或者楔形肺梗死(3 例);②斑片状实变影(2 例);③肺少血征(1 例);④胸膜增厚(2 例);⑤肺动脉增粗(14 例)。

4. 动物兔慢性肺动脉栓塞前后病理变化

假栓塞组正常肺动脉分支管壁光滑、规则(图 9a);栓塞组可见部分肺动脉管腔内壁不规则,周围组织慢性炎症改变(图 9b);肺动脉血管阻塞,栓子周围有混合血栓和凝血血栓形成(图 9c);慢性肺动脉栓塞可见机化血栓附着于血管壁(图 9d)。

5. 栓塞组肺动脉主干及右肺动脉和左肺动脉均增粗

栓塞后肺动脉主干增粗约 30%,差异具有明显统计学意义($t=2.973, P<0.01$),右肺动脉和左肺动脉栓塞前后差异无统计学意义($t=1.687, t=1.727, P>0.05$)。

讨 论

慢性血栓栓塞是急性肺栓塞或肺动脉原位血栓形成的长期后果,可导致肺动脉压力升高,预后很差。Kim^[1]的研究表明,手术依然是治疗慢性肺动脉栓塞的有效方法,但是手术效果可能受多种因素的影响,需

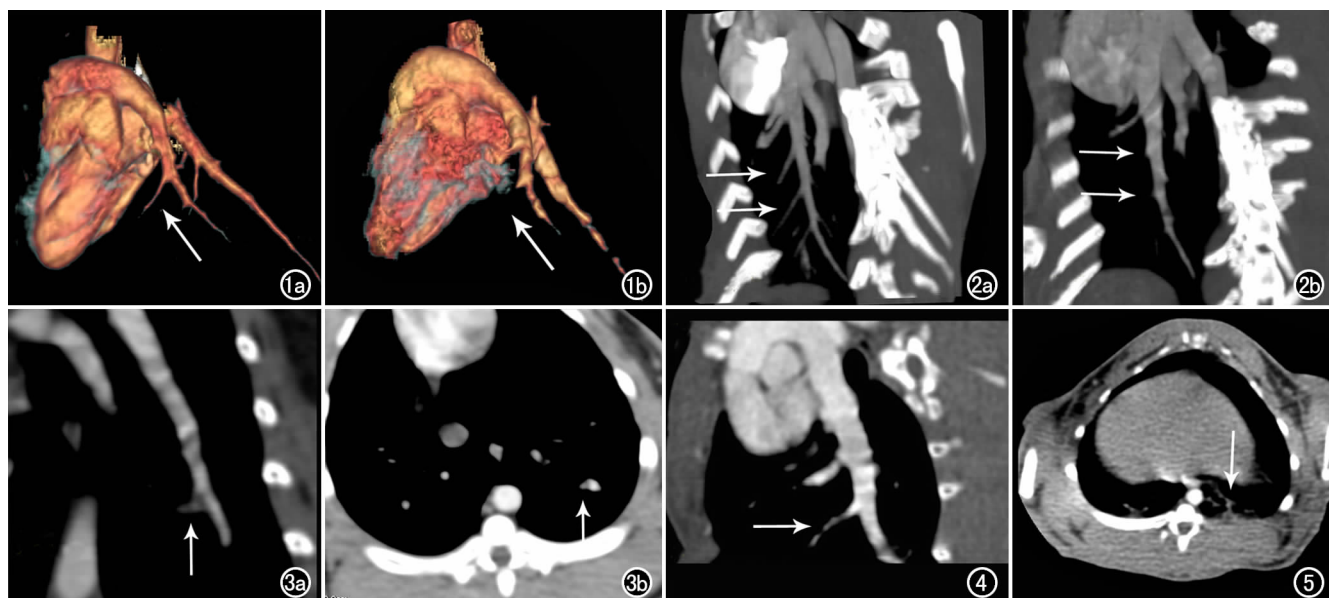


图 1 VR 图像对比显示肺动脉分支血流中断(箭)。a) 栓塞前; b) 栓塞后。图 2 曲面重组图像显示肺动脉分支血流中断(箭)。a) 栓塞前; b) 栓塞后。图 3 肺动脉分支血栓栓塞(箭)。a) 曲面重组; b) 轴面图像。图 4 曲面重组图, 示肺动脉分支内壁不光整(箭), 局部可见不规则充盈缺损。图 5 肺梗死。CT 示左下肺呈楔形的局灶性肺梗死(箭)。

要采用规范的评估系统进行随访、测评。建立有效的慢性肺动脉栓塞模型, 有助于提高对该疾病的认识和研究水平, 给临床治疗提供更多的帮助。很多学者利用猪、犬和兔等动物成功建立急性肺动脉栓塞模型^[2-5]并在此基础上建立慢性肺动脉栓塞模型^[6,7]。本实验选择兔作为实验材料, 利用兔自体血栓制作栓塞剂, 通过多次注射模拟深静脉血栓脱落后肺栓塞的情况, 建立慢性肺动脉栓塞模型, 最大程度的模拟临床慢性肺动脉栓塞发生的情况。在预实验中, 发现静脉血栓的形状、性状、数量和流入速度决定肺栓塞的面积和肺动脉压力升高的情况。因此在栓子制作过程中添加凝血酶, 是为了使栓子能够对抗肺较强的血栓自溶能力而

不易破碎以提高成功率。自体血栓形成后将其行热处理(70 ℃水浴 10 min), 以期使纤维蛋白发生最低限度的变性, 增加血块稳定性的同时最大程度保证血凝块原有性质, 客观真实地模拟慢性肺动脉血栓栓塞的过程。栓子被剪成小圆柱型缓慢多次注入, 是为了避免血栓聚集成团块, 堵塞肺动脉主干引起广泛肺栓塞, 造成实验动物死亡。本实验栓塞组死亡 4 例, 其中 1 例发生在首次栓塞手术中, 2 例发生在再次栓塞手术中, 1 例发生在栓塞手术完成后。存活栓塞组 16 例动物 CTPA 检查均发现肺动脉栓塞直接征象, 成功率为 80%, 假栓塞组无动物死亡。预实验、合理的选择栓塞物和栓塞量是保证实验成功的主要因素。实验动物肺

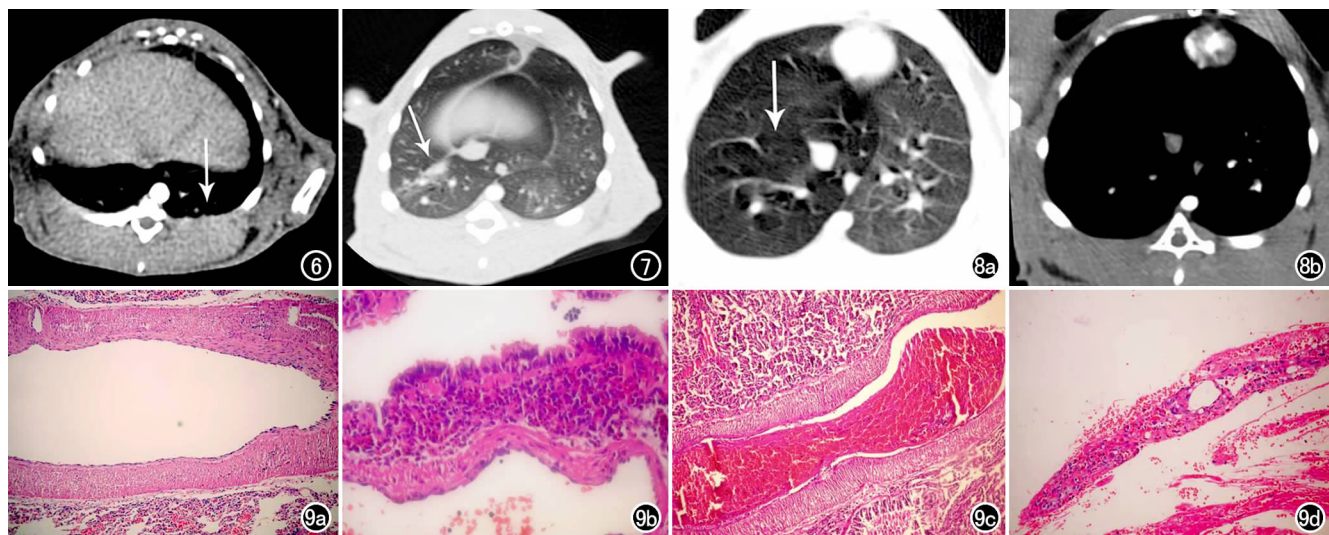


图 6 胸膜增厚。CT 示左侧胸膜轻度增厚(箭)。图 7 肺实变。CT 示右下肺斑片状实变影(箭)。图 8 肺少血征。a) CT 增强后右肺密度降低(箭); b) 纵隔窗显示右下肺血管分支减少。图 9 a) 假栓塞组正常肺动脉分支; b) 栓塞组肺动脉分支显示管壁不规则, 周围组织慢性炎症改变; c) 肺动脉小分支内血栓形成; d) 机化血栓附着于血管壁。

动脉栓塞后血氧分压明显下降,血二氧化碳分压升高,栓塞组栓塞前氧分压平均为 95.2 mmHg,栓塞后 30 min 下降到 74.6 mmHg,栓塞后 4 周回到接近正常水平,栓塞组二氧化碳分压平均为 27.5 mmHg,栓塞后 30 min 上升到 38.5 mmHg,栓塞后 4 周回到正常水平。而假栓塞组氧分压和二氧化碳分压在栓塞前后均未见明显区别。血氧分压和二氧化碳分压的变化间接证明了栓塞成功。肺动脉病理改变直接确诊了肺动脉栓塞的存在。

D-二聚体是已交联的纤维蛋白的降解产物,它的生成或增高反映了凝血和纤溶系统的激活,其血浆中的水平可代表体内凝血酶的活性及纤维蛋白的生成情况,可作为体内血栓形成的指标之一。D-二聚体具有很高的阴性预测价值,King 等^[8]报道阴性预测值为 97%,阳性预测值为 25%,D-二聚体可以单独作为一个判断标准来筛选是否有肺动脉栓塞的患者。但是其特异度不高,只有 18%。石士奎等^[9]研究也表明,急性肺动脉栓塞在 14 天以后 D-二聚体值回到正常,本实验肺动脉栓塞后 30 min 可见到明显增高,4 周后测 D-二聚体值回到正常水平,与文献报道相符合。

多层螺旋 CT 肺动脉血管成像(computed tomography pulmonary angiography,CTPA)扫描成像时间短、覆盖范围广、Z 轴分辨率高以及良好的图像后处理质量,提高了诊断效率,目前已经作为临床可疑肺动脉栓塞患者的首选影像检查方法^[10-12]。本研究利用 64 层螺旋 CT 进行实验兔的 CTPA 扫描,64 层 CT 最小探测器宽度为 0.625 mm,肺部最快扫描时间为 0.4 s/r,明显减少了呼吸运动的影像,提高了图像质量。肺动脉栓塞的直接征象表现:肺动脉分支减少或者管腔阻塞、中断;肺动脉或者分支内可见圆形或卵圆形、偏心或附壁半圆形充盈缺损;血管内壁不光整。本实验栓塞组所有动物均发现肺动脉栓塞直接征象。慢性肺动脉栓塞的间接征象中,肺动脉直径增粗的发生率最高,为 87.5%,肺梗死发生率为 18.8%,斑片状实变影和胸膜增厚的发生率分别为 12.5%,肺少血的发生率为 6%。临床工作中,16 层及以上 CT 或者双源 CT 对肺段以上的血管栓塞诊断率较高,对亚段小动脉栓塞的诊断存在一定的局限性^[12-14]。由于兔的肺动脉分支较小,主肺动脉范围 4~8 mm,左、右肺动脉主干约为 2.5~5.0 mm,肺段动脉小分支大多在 1.0~2.5 mm,本研究通过多种重组方式来观察肺动脉栓塞情况,对于 1.5 mm 以上的血管发生的栓塞,均能正确诊断,对于小于 1 mm 的血管,经过对比栓塞前的图像,也能做出正确诊断。同时间接征象的存在也提示了肺动脉栓塞的可能性,有报道在 CTPA 检查阴性的高危患者中,有 1%最终还是确诊为肺动脉栓塞^[15]。

因此对于临床上血浆 D-二聚体水平不高,无明确直接征象的患者,如果有间接征象的存在,也要警惕慢性肺动脉栓塞的存在。

兔自体血栓慢性肺动脉栓塞模型的建立为慢性肺动脉栓塞的研究提供了一个更符合临床的研究平台,64 层螺旋 CT 肺动脉造影显示的直接征象和间接征象对临床诊断肺动脉栓塞提供了更多的依据。

(注:1 mmHg=0.133 kPa)

参考文献:

- [1] Kim NHS. Assessment of operability in chronic thromboembolic pulmonary hypertension[J]. Am Thorac Soc, 2006, 3(7): 584-588.
- [2] 柴学, 张龙江, 胡小波, 等. 急性肺栓塞影像动物模型的建立[J]. 医学研究生学报, 2009, 22(8): 811-814.
- [3] 李永忠, 李坤成, 杜祥颖, 等. 螺旋 CT 肺动脉造影诊断肺小动脉血栓的实验研究[J]. 中华放射学杂志, 2002, 36(11): 1046-1049.
- [4] Thoma P, Rondelet B, Mélot C, et al. Acute pulmonary embolism: relationships between ground-glass opacification at thin-section CT and hemodynamics in pigs[J]. Radiology, 2009, 250(3): 721-729.
- [5] Dias-Junior CA, Gladwin MT, Tanus-Santos JE. Low-dose intravenous nitrite improves hemodynamics in a canine model of acute pulmonary thromboembolism[J]. Free Radic Biol Med, 2006, 41(12): 1764-1770.
- [6] 贾一新, 李简. 慢性血栓栓塞性肺动脉高压实验动物模型的建立[J]. 中国临床康复, 2005, 31(9): 119-121.
- [7] Bonderman D, Jakowitsch J, Redwan B, et al. Role for staphylococci in misguided thrombus resolution of chronic thromboembolic pulmonary hypertension [J]. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology, 2008, 28(4): 678-684.
- [8] King V, Vaze AA, Moskowitz CS, et al. D-Dimer assay to exclude pulmonary embolism in high-risk oncologic population: correlation with CT pulmonary angiography in an urgent care setting[J]. Radiology, 2008, 247(3): 854-861.
- [9] 石士奎, 程敬亮, 杨运俊, 等. 多排螺旋 CT 肺血管成像结合血浆 D-二聚体测定对肺动脉栓塞的诊断价值[J]. 实用放射学杂志, 2007, 23(7): 907-910.
- [10] Schoepf UJ, Costello P. CT angiography for diagnosis of pulmonary embolism: state of the art[J]. Radiology, 2004, 230(2): 329-337.
- [11] 陈广, 马大庆, 贺文, 等. 多层螺旋 CT 肺动脉栓塞直接征象与溶栓效果的对照[J]. 中华放射学杂志, 2004, 38(10): 1069-1071.
- [12] 江安红, 刘斌, 余永强, 等. 64 层螺旋 CT 血管造影三维重组在肺栓塞检查中的临床应用[J]. 中国医学影像技术, 2006, 22(10): 1517-1520.
- [13] 崔立明, 韩萍, 梁波, 等. 16 层螺旋 CT 在实验性肺栓塞中的应用[J]. 实用放射学杂志, 2006, 22(8): 901-904.
- [14] Zhang LJ, Zhao YE, Wu SY, et al. Pulmonary embolism detection with dual-energy CT: experimental study of dual-source CT in rabbits[J]. Radiology, 2009, 252(1): 61-70.
- [15] Goodman LR, Lipchik RJ, Kuzo RS, et al. Subsequent pulmonary embolism: risk after a negative helical CT. Pulmonary angiogram-prospective comparison with scintigraphy[J]. Radiology, 2000, 215(2): 535-542.

(收稿日期: 2010-05-06 修回日期: 2011-01-28)