

• 实验研究 •

CT 灌注成像对大鼠脑梗死半暗带的时间依赖性

尹峰, 朱静, 蔡书抑, 张洪伟, 韩辉

【摘要】 目的:应用 CT 灌注成像对急性脑梗死缺血半暗带阈值进行判定,并着重探讨其时间依赖性。**方法:**取 110 只 Wister 大鼠,随机分为 3 组:对照组(10 只)、缺血组(50 只,分为 5 个亚组)、缺血再灌注组(50 只,分为 5 个亚组)。用栓线法制作大鼠脑缺血动物模型,后 2 组于手术后 5 个时间点(2、4、6、8 和 10 h)分别行 CT 灌注成像检查,再灌注组经再灌注 24 h 后还需再次行 CT 灌注成像检查。检查结束后对图像进行判定,确定半暗带和最终梗死区的 rCBF 值,并取大鼠的脑组织进行病理观察。**结果:**缺血 2 h 和 4 h 的中心区及边缘区,缺血 6、8 和 10 h 的边缘区为半暗带,在缺血 4 h 之前,即使此区域的 rCBF 低至 0.143,仍可逆;缺血 6 h 之后 $rCBF > 0.223$ 以及 10 h 之后 $rCBF > 0.271$ 的区域才有挽救的意义。病理检查显示在缺血 6 h 后,光镜和电镜发现有坏死神经细胞。**结论:**CT 灌注成像能够判断半暗带及其阈值,预测其转归。在判断阈值应考虑到阈值与缺血时间的关系。

【关键词】 急性脑梗死; 体层摄影术, X 线计算机; 灌注; 半暗带

【中图分类号】 R814.42; R743.31 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2011)07-0701-04

Time dependence of penumbra in acute cerebral ischemia of rat with CT perfusion imaging YIN Feng, ZHU Jing, QI Shu-yi, et al. Department of CT, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, P. R. China

【Abstract】 Objective: To investigate the viability thresholds of penumbra with CT perfusion imaging in acute cerebral ischemia especially concentrated at time dependence of penumbra. **Methods:** 110 Wister rats were used in this study, which were randomly divided into three groups: control group (10 rats), ischemic group (50 rats) and reperfusion group (50 rats). The ischemic model was done with obstructing unilateral middle cerebral artery by ligation, the last two groups were sub-divided into 5 sub-groups, with 10 rats in each of them and CT perfusion was performed at 2h, 4h, 6h, 8h, 10h respectively after the ligation procedure. Furthermore, CT perfusion was performed again 24h after reperfusion for the third group (reperfusion group). Images were evaluated after examination, and the rCBF value of penumbra and the final infarct areas were measured and calculated. Then, cerebral tissues were examined by light microscope and electron microscope. **Results:** Penumbra included the center and marginal regions 2h, 4h after, and the marginal regions 6h, 8h, 10h after ischemic procedure. The damage of ischemic regions were still reversible even the rCBF was as low as 0.143, as ischemia produced less than 4h. The damage could only be salvaged as $rCBF > 0.223$ when ischemia produced more than 6h; or $rCBF > 0.271$ when ischemia produced more than 10h. When ischemia lasted as 6h or more, necrotic neural cells could be revealed on light microscope or electron microscope. **Conclusion:** Penumbra and its viability threshold could be evaluated as well as its outcome could be predicted on CT perfusion imaging. Time dependence is significant in evaluating the viability threshold of the damaged cerebral tissue.

【Key words】 Acute cerebral infarction; Tomography, X-ray computed; Perfusion; Penumbra

CT 灌注成像可以对脑缺血半暗带的阈值进行判定,对超早期脑梗死的诊断和治疗具有重要意义。半暗带阈值的判定不能采用同一标准,缺血区域的最后转归要同时考虑缺血程度及缺血维持的时间,半暗带阈值有时间依赖性。本研究根据大鼠急性脑缺血的不同时间点,应用 CTP 对半暗带的阈值进行判定。CT 灌注成像参数中脑血流量(cerebral blood flow, CBF)具有较高的敏感性^[1,2],且 rCBF 具有高度特异性^[3],可以更好地显示缺血再灌注时期大鼠脑内血流的分布

及变化,能够提供可靠的实验依据。

材料与方法

1. 动物

选择 110 只 Wister 大鼠,体重 200~250 g,雌雄不限,均皆由哈尔滨医科大学第三临床医学院动物实验中心提供。

2. 仪器

采用 Siemens Somatom Sensation 16 型螺旋 CT 机、Medrad 高压注射器和自制大鼠固定架。

3. 实验分组

110 只 Wister 大鼠随机分为 3 组:第一组为对照组(A),共 10 只大鼠;第二组为缺血组(B),包括缺血

作者单位: 150001 哈尔滨,哈尔滨医科大学第一临床医学院干部一病房

作者简介: 尹峰(1978—)女,黑龙江人,硕士,主要从事急性脑卒中的影像学研究工作。

通讯作者: 韩辉, E-mail: annebelfeng@163.com

基金项目: 哈医大一院科研基金(2009Y27)

2 h 组、4 h 组、6 h 组、8 h 组和 10 h 组,每亚组有 10 只大鼠;另一大组为缺血再灌注组(C),包括缺血 2、4、6、8 和 10 h 再灌注 24 h 组,每亚组有 10 只大鼠。

4. 动物模型制备

参照改良 Zea Longa^[4,5]方法,用栓线法制作大鼠脑缺血动物模型。再灌注时,只需将外留栓线拔出至颈总动脉即可。A 组为假手术组,仅暴露血管,并不插线。

5. CT 灌注扫描方法及图像后处理

对照组及缺血组的各个亚组分别于栓塞后相应的时间点(2、4、6、8 和 10 h)行 CT 灌注成像检查,再灌注组则于各个时间点的灌注前后分别行 CT 灌注成像的检查。扫描条件:80 kV、300 mA、层厚 1.5 mm、矩阵 512×512、视野 200 mm×200 mm。首先行全脑平扫,动态 CT 测量层面设置在距大脑皮质前缘 10 mm 处(实验动物脑组织切片与 CT 扫描层面相吻合)。开始扫描 4 s 后从股静脉以 0.5 ml/s,流率总量 3.0 ml 注入优维显,扫描速度 1 层/s,持续 40 s,获得连续动态图像传入工作站,经后处理获得 CBF 图。将左侧大脑半球定义为同侧,右侧大脑半球定义为对侧。在 B 组和 C 组(灌注前)的 CBF 图像中,程序根据不同的血流值自动添加伪彩,利用彩色图像的不同色阶来直观显示脑组织不同血流程度的对比。将位于左侧大脑外侧的深紫色区定为中心区,内侧蓝色区为边缘区,绿色区为正常组织。在每个区域各取 5 个双侧对称的兴趣区,记录每个 ROI 的相对 CBF (relative cerebral blood flow, rCBF)值。C 组再灌注后的 CBF 图像则根据再灌注前确定的 ROI 进行测量和计算。

6. 神经功能评分

对实验大鼠采用 Zea-Longa 标准进行评分:无神经功能缺损表现为 0 分;栓塞灶对侧前爪内收、不能伸直记 1 分;向偏瘫侧转圈为 2 分;行走时身体向偏瘫侧倾倒为 3 分;意识丧失,完全不能行走为 4 分。

7. 病理学检查

B 组及 C 组动物于最后一次行 CT 灌注成像扫描后立即处死,对照组于假手术 24 h 后处死,切取标本进行光镜和电镜检查。

8. 统计学处理

统计结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 13.0 对各组相应数据进

行统计学分析。统计方法为配对 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

结 果

1. CT 灌注脑血流功能成像表现

CBF 图显示对照组两侧大脑半球无缺血表现。

缺血 2 h 和 4 h 的中心区及边缘区均为可恢复的脑组织,其 rCBF 的可信区间为 0.143~0.546;6 h 及 8 h 的边缘区也为可逆的半暗带组织,其 rCBF 的可信区间为 0.223~0.409;10 h 边缘区的 rCBF 的可信区间为 0.271~0.365。

缺血再灌注组再灌注前后 rCBF 的测量结果见表 1。缺血 2 h 和 4 h 再灌注组中,中心区及边缘区再灌注前后的 rCBF 样本均数皆有明显差异,说明血流再通时,以上区域均无绝对坏死的梗死区,是可以挽救的缺血组织(图 1、2)。6、8 和 10 h 再灌注组中,中心区 rCBF 值在灌注前后无明显差异,而边缘区灌注前后的 rCBF 值有明显差异,说明这两组大鼠在再灌注前已形成不可逆的坏死区,但边缘区的血流在解除阻塞后可以恢复(图 3、4)。我们可以初步判定即使在栓塞 10 h 后仍有半暗带的存在。

2. 神经功能评分

缺血再灌注组大鼠神经功能评分情况见表 2。大鼠于缺血 2 h 出现轻度神经缺损症状,再灌注 24 h 后基本恢复。大鼠于缺血 4、6、8 和 10 h 后出现明显神

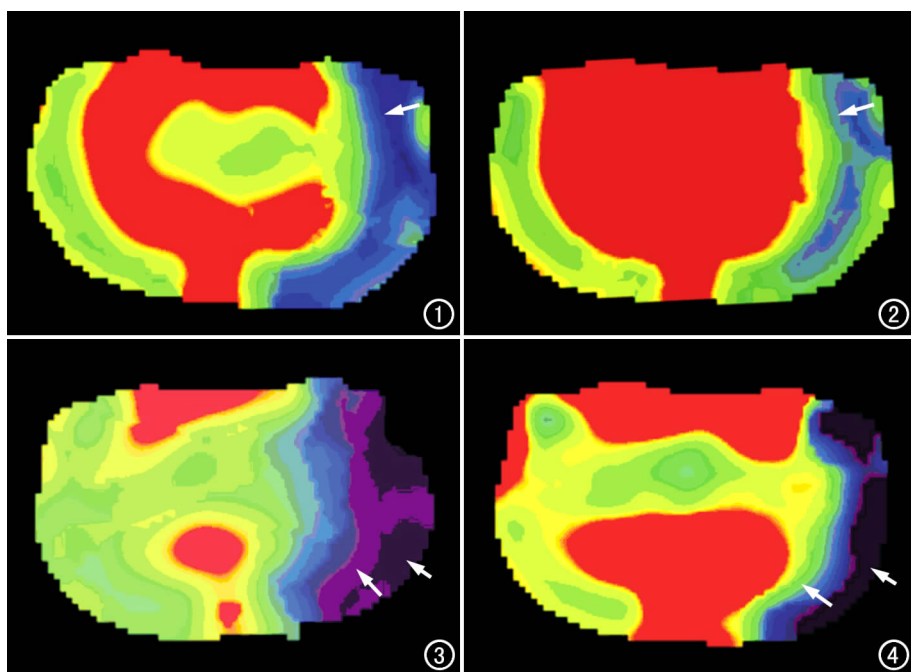


图 1 缺血 2 h CBF 图,示缺血区呈蓝色(箭)。图 2 缺血 2 h 再灌注 24 h 组 CBF 图,示缺血中心区及边缘区血流恢复(箭)。图 3 缺血 8 h CBF 图,示缺血边缘区血流减低(长箭),缺血中心区血流明显减低(短箭)。图 4 缺血 8 h 再灌注 24 h 组, CBF 图,示缺血边缘区血流恢复(长箭),中心区血流未恢复(短箭)。

表 1 缺血再灌注组的 rCBF 测量结果

缺血时间	中心区			边缘区		
	灌注前	灌注后	P 值	灌注前	灌注后	P 值
2 h	0.211±0.014	0.994±0.079	<0.0001	0.486±0.037	0.936±0.023	<0.0001
4 h	0.175±0.015	0.207±0.041	>0.05	0.472±0.027	0.902±0.097	<0.0001
6 h	0.155±0.034	0.146±0.043	>0.05	0.411±0.032	0.545±0.021	<0.0001
8 h	0.069±0.018	0.073±0.031	>0.05	0.348±0.025	0.533±0.039	<0.0001
10 h	0.054±0.022	0.077±0.020	>0.05	0.318±0.024	0.546±0.053	<0.0001

注:检验水准 $\alpha=0.05$ 。

经缺损症状,缺血 4、6 和 8 h 再灌注后虽较前略有好转,但仍存在有一定的神经缺损症状,缺血 10 h 再灌注前后神经功能评分无明显差异。

表 2 缺血再灌注组的大鼠的神经功能评分

时间点	再灌注前	再灌注 24 h 后	P 值
2 h	0.864±0.201	0.346±0.246	<0.05
4 h	0.945±0.132	0.387±0.164	<0.05
6 h	3.316±0.574	2.043±0.282	<0.05
8 h	4.438±0.616	2.657±0.378	<0.05
10 h	4.959±0.465	4.353±0.330	>0.05

3. 病理检查结果

对照组:光镜及电镜观察显示神经元、胶质细胞和内皮细胞均无明显异常。

缺血组及缺血再灌注组光镜检查:缺血 2 h 和 4 h 组可见血管间隙增宽,神经细胞轻度水肿,再灌注组与缺血组相比变化明显,细胞水肿减轻,血管间隙较前好

转(图 5、6);缺血 6 h 组可见血管间隙,神经元间隙显著增宽,神经核固缩,细胞水肿明显,再灌注后见细胞水肿稍轻,核固缩细胞减少;缺血 8 h 和 10 h 组可见广泛神经元变性坏死,再灌注组较再灌注前略有好转。电镜检查:缺血 4 h 组神经元细胞核畸变明显,染色质呈细沙状,可见高密度的染色质块状散布,血管痉挛,再灌注组神经元恢复状态较好(图 7、8);缺血 8 h 和 10 h 后,电镜下表现为神经终末大部分呈空泡状,细胞器完全消失,突触明显减少,核膜皱折,可见核固缩的神经元细胞,再灌注组较前相比变化均不明显。

讨 论

挽救可逆性损伤是脑缺血治疗的核心,一般来说临床对脑梗死的溶栓治疗主要针对发病在 6 h 内者,此治

疗时间窗一定程度上带有盲目性。Jones 等^[6]夹闭猕猴大脑中动脉后发现,缺血半暗带其实是一个动力学概念,除了血流量减少外,另一主要因素是夹闭的时间。他们指出,脑血流量为 15 ml/(100g·min)左右的脑组织,对夹闭的耐受时间是 3 h,而只有 5 ml/(100g·min)血流灌注的脑组织,其耐受时间只有 2 h。Hoffner 等^[7]在颈动脉内膜切除术中发现,患者 CBF 低于 16~18 ml/(100g·min)时脑电波变得低平。Thijs 等^[8]认为,仅根据灌注减低区的大小而不考虑灌注减低的程度会误导临床,缺血范围较大而程度较低时,可能仅有小范围的组织会发生梗死。而有国内学者研究证实即使发病 26 h 之后,仍可能有缺血半暗带的存在^[9]。

以上研究可以说明半暗带的判定仅看缺血时间和范围是片面的,还应该考虑血流灌注减少的程度,即使缺血时间>6 h,仍可能由

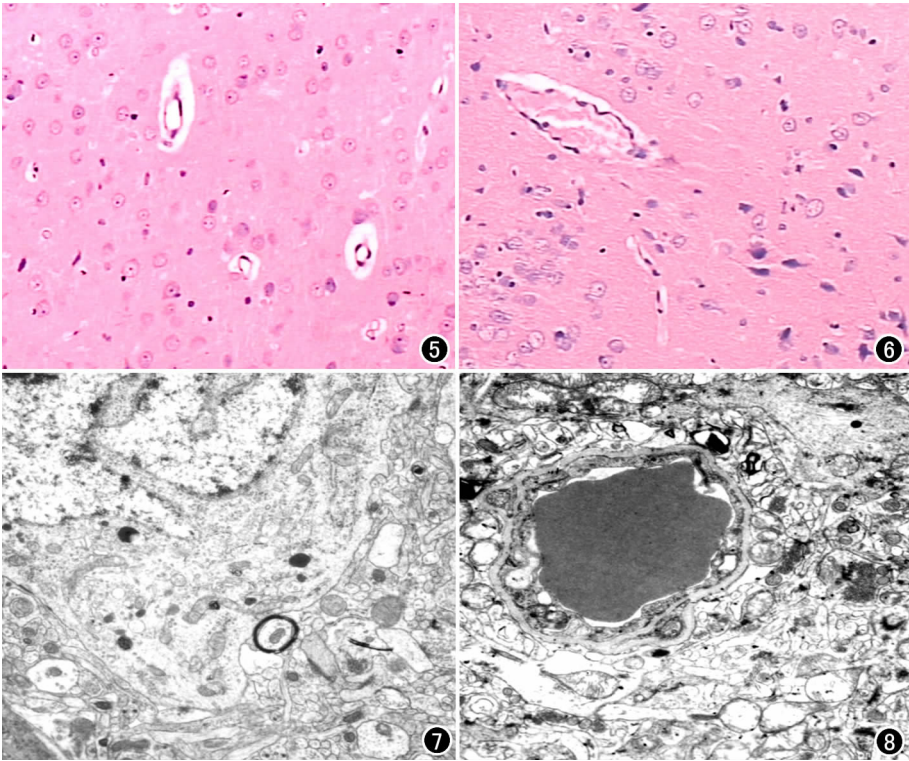


图 5 缺血 2 h 组,镜下示血管间隙增宽,神经间隙增大,神经元数量减少(×400, HE)。图 6 缺血 2 h 再灌注组,镜下示细胞水肿减轻,血管间隙较前好转(×400, HE)。图 7 缺血 4 h 组,镜下示神经元细胞核畸变明显,染色质呈细沙状,也可见高密度的染色质块状散布,尼氏体减少。图 8 缺血 4 h 再灌注组,电镜下示血管腔内被白细胞堵塞,血管基膜完好。

于缺血程度较轻,细胞未达到膜衰竭阈值,如果及时改善血流灌注,神经细胞仍有恢复正常的可能。因此,在临床工作中,需结合病变血管的狭窄程度、其周围的侧支循环情况、脑组织血流储备等多种因素综合判定脑组织实际的缺血程度,而缺血程度的不同也意味其存活情况可能不同,因此半暗带的判定应考虑其时间依赖性。对于实验大鼠,在近乎相同的血管闭塞程度下,利用 CTP 分析脑梗死半暗带的时间依赖性有一定临床意义。

有些学者利用 CBF 与 CBV 不匹配区来粗略判定半暗带,此方法错判了一些 CBF 和 CBV 均轻度下降的区域,该区域如若侧支循环能及时建立,血供及时恢复,也可以挽救;同时也有采用 CTP 与 CTA 源图像相结合来分析图像的不匹配区,并利用全脑三维容积重组技术来判定半暗带。但这两种方法还是包含一些主观因素,笔者旨在寻找一种更加客观的、数字化的半暗带阈值的判定方法,本实验选择了 rCBF 数值变化作为半暗带阈值判定的指标,以期能够选择出更加及时准确并具有前瞻性的半暗带筛选方法。

在本实验的缺血再灌注组中,将那些再灌注前后的 rCBF 差异有统计学意义的区域定义为缺血半暗带,其中包括 2 h 的中心区和边缘区,4、6、8 和 10 h 的边缘区。这些区域(共 300 个兴趣区)的 rCBF 的均值为 (0.315 ± 0.111) ,其 95% 可信区间为 $0.148 \sim 0.510$ 。本试验中发现,缺血 10 h 后经血流再通,仍可有半暗带的存在。从以上数据可以认为当 $rCBF < 0.148$ 时,此区域为不可逆的坏死区;而 $rCBF > 0.510$ 时,则为相对正常的脑组织。不过,在本实验的缺血 6 h 中心区的 rCBF 的均数为 0.155 ± 0.034 ,似乎应归为半暗带区,但事实证明该区域再灌注后血流没有明显恢复,所以半暗带阈值判定应该结合缺血时间来进行分析。

缺血 2 h 和 4 h 的中心区及边缘区都为可恢复的脑组织,其 rCBF 的可信区间为 $0.143 \sim 0.546$;6 h 及 8 h 的边缘区也为可逆的半暗带组织,其 rCBF 的可信区间为 $0.223 \sim 0.409$;10 h 边缘区的其 rCBF 的可信区间为 $0.271 \sim 0.365$ 。所以可以认为,在 4 h 缺血之

前,即使该区域的 rCBF 低至 0.143,仍是可逆的缺血半暗带组织;缺血 6 及 8 h 之后只有 $rCBF > 0.223$ 时以及缺血 10 h 之后 $rCBF > 0.271$,该区域才有挽救的意义。

从以上数据中可看出,缺血 10 h 之后,半暗带有可能存在的,而半暗带的阈值与缺血 6 h 以内相比要更高些,半暗带的阈值随着缺血时间的增加而提高,即当患者缺血时间短, rCBF 值很低也有挽救的价值,缺血时间延长, rCBF 值达到一定程度才是可挽救的组织。这就提出了在临床工作中,对半暗带的阈值要依据不同的缺血时间来判断。CT 灌注成像对急性脑梗死缺血半暗带的时间依赖性研究完善了判定半暗带的单一性,能够为临床医师提供有价值的信息,从而使溶栓治疗个体化,减小梗死面积,提高脑梗死患者的生存质量。

参考文献:

- [1] Konig M. Brain perfusion CT in acute stroke; current status[J]. Eur J Radiol, 2003, 45(Supple 1): S11-S22.
- [2] Mayer TE, Hamann GF, Baranczyk J, et al. Dynamic CT perfusion imaging of acute stroke[J]. AJNR, 2000, 21(8): 1441-1449.
- [3] Nabavi DG, Ditttrich R, Kloska SP, et al. Window narrowing: a new method for standardized assessment of the tissue at risk-maximum of infarction in CT based brain perfusion maps[J]. Neurol Res, 2007, 29(3): 296-303.
- [4] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.
- [5] 李浩, 贾建平. 大鼠大脑中动脉线栓法的改良与评价[J]. 中风与神经疾病杂志, 2006, 23(6): 666-668.
- [6] Jones TH, Morawetz RB, Crowell RM, et al. Thresholds of focal cerebral ischemia in awake monkeys[J]. Neurosurg, 1981, 54(6): 773-782.
- [7] Hoffner EG, Case I, Jain R, et al. Cerebral perfusion CT: technique and clinical applications[J]. Radiology, 2004, 231(3): 632-644.
- [8] Thijs VN, Adami A, Neumann-Haefelin T, et al. Relationship between severity of MR perfusion deficit and DWI lesion evolution[J]. Neurology, 2001, 57(7): 1205-1211.
- [9] 马春, 于聪, 赵建农, 等. CT 灌注成像对脑梗死缺血半暗带的动态观察[J]. 中国医学计算机成像杂志, 2008, 14(3): 195-199.

(收稿日期: 2010-12-30 修回日期: 2010-03-21)