

• 实验研究 •

兔颈总动脉血栓 MRI 定量评价的初步研究

毛漪川, 周强, 朱默, 汪灵杰, 郭凌川, 李勇刚

【摘要】 目的:研究兔颈总动脉血栓 MRI T_1 -mapping 及 T_2 -mapping 定量评估的可行性。**方法:**健康雄性新西兰大白兔 20 只, 随机分为 4.5 h 组、6.0 h 组、8.0 h 组及 12.0 h 组, 每组 5 只, 采用改良的凝血酶法建立兔右颈总动脉血栓模型。建模成功后的实验兔对应各组时间点进行 3D-TOF、 T_1 WI、 T_2 WI 黑血序列、 T_1 -mapping 及 T_2 -mapping 序列扫描, 比较各序列的图像质量及各时间点组的 T_1 值与 T_2 值; 每个时间点组扫描结束后立即处死实验兔, 与组织病理学结果进行对照研究。**结果:**病理证实 20 只兔均建模成功。不同序列图像质量评分均高于 2 分, 满足诊断要求。两位医师图像质量评分的 Kappa 值均高于 0.75。建模后 4.5 h、6.0 h、8.0 h、12.0 h 组的 T_1 值平均值依次为 (1403.22 ± 150.63) ms、(1496.92 ± 231.73) ms、(1271.58 ± 282.48) ms、(1236.90 ± 342.80) ms; 各时间点组的 T_2 值平均值依次为 (80.88 ± 9.18) ms、(79.38 ± 13.45) ms、(63.36 ± 8.00) ms、(48.72 ± 4.45) ms。建模后 4.5~12.0 h, 各组之间的 T_1 值差异无统计学意义 ($P>0.05$); T_2 值在 4.5 h 组与 6.0 h 组间差异无统计学意义 ($P>0.05$), 余各组之间 T_2 值差异均有统计学意义 (P 值均 <0.05)。**结论:**MRI T_1 -mapping 及 T_2 -mapping 技术可用于颅颈动脉血栓的定量评价, 有望用于不同时间及类型颅颈动脉栓子的鉴别诊断。

【关键词】 兔; 颈总动脉; 血栓; 磁共振成像**【中图分类号】** R743.3; R445.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2020)01-0027-05

DOI:10.13609/j.cnki.1000-0313.2020.01.006

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Preliminary study on quantitative MRI technique for rabbit common carotid artery thrombosis MAO Yi-chuan, ZHOU Qiang, ZHU Mo, et al. Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, China

【Abstract】 Objective: To study the feasibility of quantitative assessment of rabbit common carotid arterial thrombus using T_1 - and T_2 -mapping techniques. **Methods:** The male New Zealand white rabbits were randomly enrolled into 4.5h, 6h, 8h and 12h groups ($n=5$ in each group) and used to establish the carotid arterial thrombus models by modified thrombin method. After that, all of the rabbits performed MRI which included 3D-TOF, T_1 WI, Black-blood T_2 WI, T_1 - and T_2 -mapping at the corresponding time points. And then, image quality was compared among different MRI sequences and the T_1 and T_2 times were compared among different groups. The rabbits were immediately sacrificed after MRI examination. The histopathological examination was performed and compared with MRI. **Results:** Pathology confirmed all of 20 rabbit models were successfully established. All MR images met the diagnostic requirements (the quality scores were more than 2 points) and the Kappa values of the image quality scores of each sequence from two physicians were all higher than 0.75. In successively longer thrombus groups, the average values of T_1 time were (1403.22 ± 150.63) ms, (1496.92 ± 231.73) ms, (1271.58 ± 282.48) ms, and (1236.90 ± 342.80) ms, respectively. Respective averages values of T_2 time were (80.88 ± 9.18) ms, (79.38 ± 13.45) ms, (63.36 ± 8.00) ms, and (48.72 ± 4.45) ms. There was no statistical difference in the values of T_1 time among the groups ($P>0.05$). However, there was significant difference in the values of T_2 time between different groups ($P<0.05$) except between the 4.5h group and the 6h group ($P>0.05$). **Conclusion:** MRI T_1 - and T_2 -mapping can be used for the

作者单位: 215000 苏州, 苏州大学附属第一医院放射科(毛漪川, 周强, 朱默, 汪灵杰, 李勇刚), 病理科(郭凌川)

作者简介: 毛漪川(1993-), 女, 杭州人, 硕士研究生, 主要从事磁共振血管成像研究工作。

通讯作者: 李勇刚, E-mail: liyonggang224@163.com

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81671743); 2016 年江苏省高层次卫生人才“六个一工程”项目(LGY2016035); 2018 年苏州市临床重点病种诊疗技术专项项目(LCZX201801)

quantitative evaluation of cranial carotid artery thrombosis, and it is expected to be useful tool for the judgment of different times and types of cranial carotid emboli.

【Key words】 Rabbits; Carotid; Thrombosis; Magnetic resonance imaging

醒后卒中是急性脑卒中的一种特殊类型,是指患者在睡眠中发生的卒中。由于患者发病时间不明确,常被排除在溶栓治疗之外。目前,临床上常采用 DWI 与 T₂-FLAIR 的不匹配来观察缺血半暗带的存在与否及范围,并推测大致发病时间,但其准确性尚有待提高。临床上迫切需要寻找新的能准确预测醒后卒中患者动脉栓子形成时间、栓子成分及可溶性的定量影像学分析方法。MRI T₁-mapping 及 T₂-mapping 技术能够定量评估病变组织的不同成分及水含量的差异,有望区分不同性质与成分的动脉栓子。本研究初步探讨 MRI T₁-mapping 及 T₂-mapping 技术用于兔颈总动脉血栓定量测量的可行性,为进一步开展脑卒中患者动脉栓子成分及形成时间 MRI 评估的临床研究奠定技术基础。

材料与方法

1. 实验动物及模型制作

选用健康雄性新西兰大白兔 20 只,清洁级,2~3 月龄,体重 1.5~2.0 kg,随机分为 4 组,分别为 4.5 h 组、6.0 h 组、8.0 h 组及 12.0 h 组,每组 5 只。实验用兔均由苏州大学医学院实验动物中心提供。实验动物使用经苏州大学附属第一医院伦理委员会批准。

颈总动脉血栓模型采用颈总动脉内注射凝血酶的方法建立。具体方法如下:新西兰大白兔肌肉注射速眠新(0.2 mL/kg)及耳缘静脉注射 1%戊巴比妥钠(1 mL/kg)麻醉后,取颈部正中切口,沿右侧胸锁乳突肌外侧缘分离出右侧颈总动脉(图 1),颈总动脉中段两端放置血管夹,中间长度约 15 mm,微量注射器穿刺针抽取凝血酶 10U 及兔夹闭颈总动脉段内自体血,混合 30~60 s,随后注射至夹闭的颈总动脉管腔内,5 分钟后先松开近端血管夹,再过 5 min 后松开远端血管夹。止血后逐层缝合肌肉与皮肤,术后肌肉注射青霉素 40 万单位。MRI 及手术病理发现局部颈总动脉血栓形成为建模成功。

2. 磁共振检查

动物麻醉:各组兔颈总动脉血栓模型建立后根据相应的时间点进行 MRI 扫描,扫描前先经耳缘静脉注射地西洋(安定)1 mL,然后肌肉注射速眠新 0.2 mL/kg。

MRI 扫描序列及参数: MRI 检查采用 Siemens Skyra 3.0T 磁共振成像系统,16 通道膝关节线圈,兔子取俯卧位,头先进。扫描序列包括 3D-TOF、T₁WI、T₂WI 黑血、T₁-mapping 及 T₂-mapping 序列。主要

扫描参数:①3D-TOF 序列,TR 20 ms,TE 3.11 ms,视野 150 mm×150 mm,层厚 1 mm,层数 96 层,层间距 0 mm,扫描时间 2 min 33 s;②冠状面 T₁WI 黑血序列,TR 650 ms,TE 23 ms,视野 150 mm×150 mm,层厚 0.8 mm,层数 10 层,层间距 0 mm,扫描时间 53 s;③横轴面 T₁WI 黑血序列,TR 731 ms,TE 10 ms,视野 150 mm×150 mm,层厚 2 mm,层数 8 层,层间距 0 mm,扫描时间 5 min 51 s;④横轴面 T₂WI 黑血序列,TR 678 ms,TE 61 ms,视野 150 mm×150 mm,层厚 2 mm,层数 8 层,层间距 0 mm,扫描时间 2 min 32 s;⑤T₁-mapping 序列,翻转角分别为 5°和 26°,TR 15 ms,TE 2.49 ms,视野 160 mm×160 mm,层厚 2 mm,层数 8 层,层间距 0 mm,扫描时间 2 min 34 s;⑥T₂-mapping 序列,TE 分别为 11.2、22.4、33.6、44.8、56 ms,TR 1950 ms,视野 160 mm×160 mm,层厚 2 mm,层数 8 层,层间距 0 mm,扫描时间 5 min 37 s。

图像分析:所有图像均上传至 PACS 工作站,由 2 位有经验的影像诊断医师分别对 MRI 图像进行质量评价。根据图像有无伪影及变形、是否能分辨血栓等对图像质量进行评分:1 分,图像伪影较多,变形严重,不能显示血栓,不能用于诊断;2 分,图像有少许伪影,可分辨血栓,不影响诊断;3 分,图像质量非常好,无伪影,血栓显示清晰。

T₁ 值及 T₂ 值的测量:在 Siemens Skyra 3.0T 的工作站上直接打开 T₁-mapping 的原始图像及伪彩图,首先预览 T₁-mapping 的原始图像,观察血栓的走行及大小,然后将原始图像与伪彩图对应,在原始图像选择血栓中心位置及合适的大小勾画 ROI,在伪彩图相应位置测量 T₁ 值。以同样的方法测量 T₂ 值。

3. 病理学检查

MRI 检查结束后,经兔耳缘静脉注射肝素(200 U/kg)抗凝,以空气栓塞法处死实验兔。解剖并游离右侧颈总动脉血栓,以 4%的多聚甲醛液固定,石蜡包埋,行常规 HE 染色,镜下观察。

4. 统计学分析

采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。采用 Kappa 分析对 2 位医师的图像质量主观评分进行一致性分析,其中 Kappa 值≥0.75 为一致性良好,0.40≤Kappa 值<0.75 为一致性较好,Kappa 值<0.4 为一致性差。测量结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各时间点组间 T₁ 值和 T₂ 值的比较采用单因素方差分析。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 兔颈总动脉血栓模型成功率及病理检查结果

经病理证实,20 只兔子均建模成功。兔颈总动脉血栓肉眼观察均呈红色血凝块,大小 0.5~1.0 cm,边缘略不规则。各组血栓切片 HE 染色镜下显示淡粉色的纤维蛋白网罗大量红细胞,混杂有核细胞成分(图 2)。

2. MRI 图像质量评价及定量 MRI 测量

两位医师对 20 只颈总动脉血栓模型兔的 MRI 各序列图像质量评分均在 2 分以上,各序列图像质量主观评分结果的一致性较好(表 1)。

兔颈总动脉血栓在 3D-TOF 图像上均表现为管腔内低信号的充盈缺损(图 3);T₁WI、T₂WI 黑血序列图像上血栓均表现为高信号(图 4~5);T₁-mapping 原

表 1 不同 MRI 序列图像质量评分结果

成像序列	医师 1	医师 2	Kappa 值
3D-TOF	3.00	3.00	1.000
T ₁ WItra	3.00	3.00	1.000
T ₂ WItra	2.75	2.75	1.000
T ₁ Wicor	2.75	2.75	1.000
T ₁ -mapping	2.70	2.75	0.875
T ₂ -mapping	2.60	2.60	1.000

始图像上血栓表现为相对低信号,T₁-mapping 伪彩图可清楚显示血栓(图 6);T₂-mapping 原始图像上血栓表现为高信号,T₂-mapping 伪彩图可显示血栓(图 7)。

建模后 4.5 h、6.0 h、8.0 h 及 12.0 h 组血栓 T1 值及 T2 值的平均值见表 2。T1 值各时间点组之间的差异无统计学意义($P>0.05$)。4.5 h 组与 6.0 h 组的 T2 值差异无统计学意义($P>0.05$),余各时间点组之

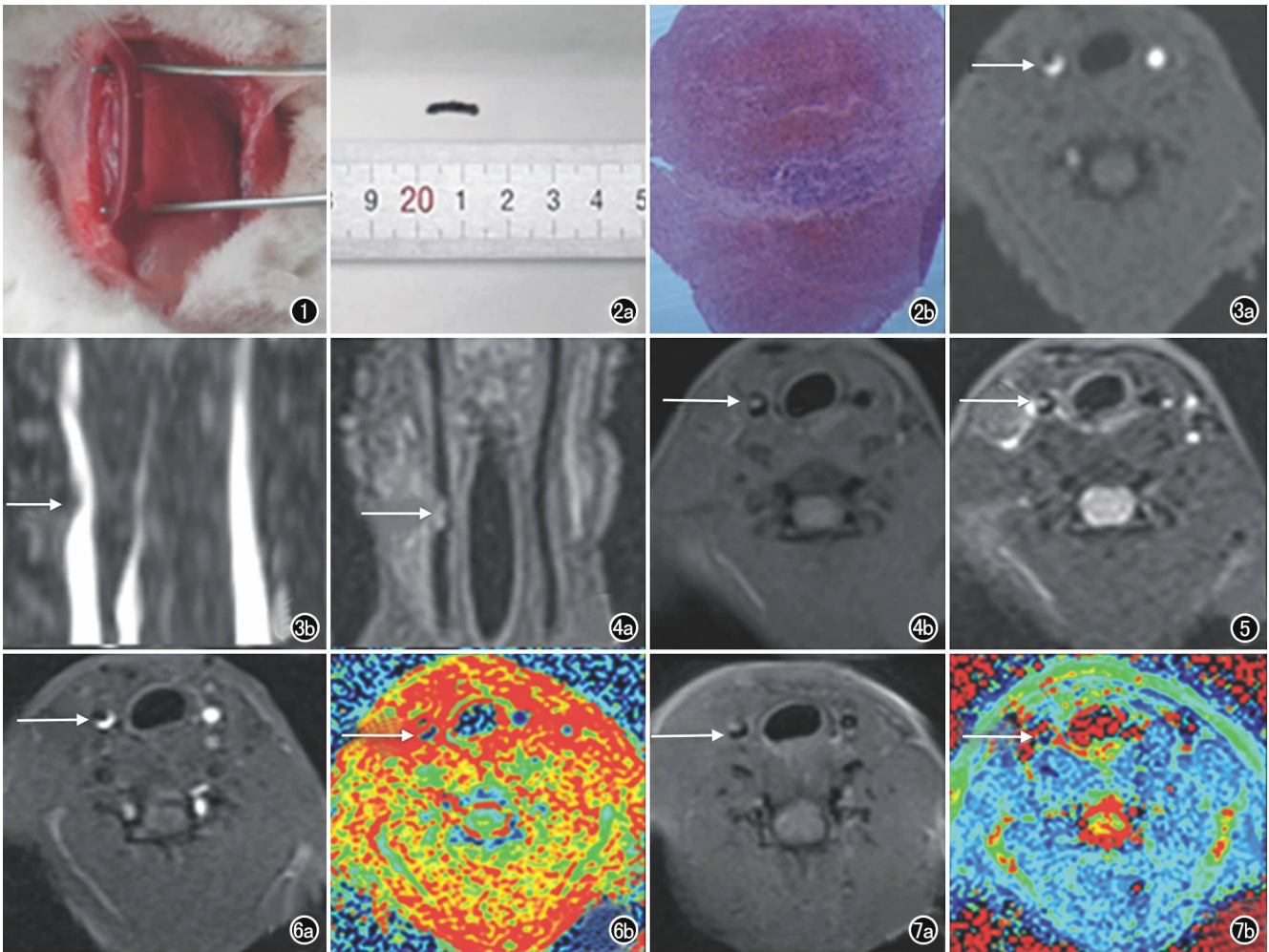


图 1 解剖分离右侧颈总动脉。图 2 a) 血栓肉眼观为深红色血凝块,长径约 1.3cm; b) 镜下示淡粉色的纤维蛋白网罗大量的红细胞,其中混杂有核细胞成分(×40, HE)。图 3 a) 双侧颈总动脉 3D-TOF 序列原始图像示右侧颈总动脉内低信号充盈缺损(箭); b) 双侧颈总动脉 3D-TOF 序列 MIP 图像示右侧颈总动脉充盈缺损(箭)。图 4 a) T₁WI 冠状面图像示血栓呈高信号(箭); b) T₁WI 横轴面图像示血栓呈高信号(箭)。图 5 T₂WI 横轴面图像示血栓呈高信号(箭)。图 6 a) T₁-mapping 原始图像示血栓呈相对低信号(箭); b) T₁-mapping 伪彩图,测得血栓(箭)的 T1 值为 1414.2ms。图 7 a) T₂-mapping 原始图像示血栓呈高信号(箭); b) T₂-mapping 伪彩图,测得血栓(箭)的 T2 值为 66.5ms。

表 2 不同时间点血栓 T1 值及 T2 值

指标	4.5h 组	6.0h 组	8.0h 组	12.0h 组
T1 值(ms)	1403.22±150.63	1496.92±231.73	1271.58±282.48	1236.90±342.80
T2 值(ms)	80.88±9.18	79.38±13.45	63.36±8.00	48.72±4.45

表 3 各组间血栓 T1 值与 T2 值多重比较的 P 值

指标	4.5h vs. 6.0h	4.5h vs. 8.0h	4.5h vs. 12.0h	6.0h vs. 8.0h	6.0h vs. 12.0h	8.0h vs. 12.0h
T1 值	0.579	0.438	0.330	0.192	0.136	0.837
T2 值	0.802	0.009	0.000	0.015	0.000	0.024

间的差异均有统计学意义(P 值均 <0.05 ,表 3)。

讨 论

醒后卒中血管内栓子的来源主要是心源性栓子和动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)斑块破裂后局部血栓形成或脱落的斑块,大脑中动脉是血管栓塞最常见的部位。人大脑中动脉的管径与家兔的颈总动脉管径相近,本实验构建新西兰大白兔颈总动脉血栓模型并进行 MR 成像研究,初步评估 MRI T_1 -mapping 及 T_2 -mapping 技术用于颅颈动脉血栓评价的图像质量及判断血栓形成时间的可行性,为进一步开展醒后卒中的临床 MRI 定量研究奠定基础。

目前,常用的动脉血栓动物模型建立的方法包括自体血栓栓塞法、光化学法及球囊损伤结合高脂饮食饲养法。本研究采用了操作简便、建模时间短的自体血栓栓塞法。自体血栓栓塞法通常为在目标血管内注射凝血酶或通过介入的方法在特定血管放置自体血栓。笔者对凝血酶注射法进行改良,抽取颈总动脉内的自体血与凝血酶混合后注射到两端夹闭的颈总动脉内。改进的凝血酶法在注射器中将自体血与凝血酶混合,形成一种高凝状态,一方面减少了穿刺时动脉血外溢,另一方面凝血酶能使形成的血栓块更好地固缩,以防自溶^[1]。改良的凝血酶法一方面保证了血栓形成的成功率,另一方面克服了血管介入操作的技术难题,为血栓定量 MRI 测量研究提供了简单易行的动物模型建模方法。

本研究中, MRI T_1 -mapping 及 T_2 -mapping 成像在保证图像信噪比的前提下,采用大矩阵、小视野进行扫描,提高了图像的空间分辨率并降低了测量误差。结果表明 T_1 -mapping 及 T_2 -mapping 的图像质量较高,扫描时间短,能够满足临床诊断要求。

T_1 -mapping 及 T_2 -mapping 是 MRI 定量测量新发展起来的技术,相关研究表明 T_1 -mapping 及 T_2 -mapping 技术能较敏感地反映组织成分及含水量的细微变化^[2,3]。Caspar 等^[4]采用 T_1 -mapping 和 T_2 -mapping 技术研究颅内血栓的 T1 值和 T2 值的变化,发现形成时间小于一周的新鲜颅内血栓的 T1 值平均

值为(911±177)ms,小于形成时间大于一个月的陈旧性颅内血栓(1169±107)ms;颅内血栓的 T2 值两者无明显差异(73.8±7.3)ms vs (71.9±10.9)ms。目前,尚未见有关 T_1 -mapping 及 T_2 -mapping 技术在脑卒中动脉栓子 MR 成像方面的研究报道。

多项研究发现发病后 3.0~4.5 h 静脉使用重组组织型纤溶酶原激活剂(rt-PA)溶栓治疗仍然有效^[5-7],认为 AIS 溶栓时间窗可延长至发病 4.5 h 内。6 h 是目前临床上使用尿激酶溶栓的时间窗^[8]。根据国际惯例以“最后正常”的时间计算发病时间窗,醒后卒中的发病时间窗与正常人的睡眠时间大致相同,通常为8~12 h。因此本研究选取了血栓形成后 4.5 h、6.0 h、8.0 h 及 12.0 h 等较早期的时间点作为关键的时间点进行分析。

血栓主要由红细胞、血小板及纤维蛋白构成,各成分的构成比不同,则血栓的可溶性及硬度也大不相同。临床研究表明,血栓内红细胞含量越高,溶栓效率及血管再通率越高^[9,10]。心源性栓子形成时间较长,硬度及溶栓难度较大;AS 斑块破裂后局部血栓形成时间短,硬度及溶栓难度小。血栓的形成时间、成分、可溶性与临床治疗密切相关。血栓形成后不同时间点含水量会发生变化,随着红细胞萎缩脱水,纤维蛋白收缩增强,血清析出,使得血栓中的水分逐渐减少。血栓形成早期,红细胞内的血红蛋白会经历氧合血红蛋白-脱氧血红蛋白-正铁血红蛋白的变化并导致血栓 MRI 信号的变化。血栓形成晚期,血栓逐渐机化,由新生结缔组织、残存的纤维蛋白及细胞碎片取代红细胞、血小板及纤维蛋白,血栓 MRI 信号也随之发生改变^[11]。

本研究是对形成时间较早(12 h 以内)的血栓进行研究,发现血栓的 T1 值和 T2 值随时间推移呈逐渐下降的趋势。在该时期内血栓的含水量逐渐减少,故 T1 值与 T2 值表现为逐渐缩短。此时,红细胞内的氧合血红蛋白向脱氧血红蛋白转变,脱氧血红蛋白为顺磁性物质,能够缩短 T1 值与 T2 值。脱氧血红蛋白缩短 T2 值的效应较 T1 值显著,这可能是 T2 值变化的差异较 T1 值显著的原因。4.5 h 组与 6.0 h 组未有明显的变化可能是由于两组之间的时间间隔较短以及实验

样本量较小的缘故。

本研究仍存在一定局限性:①样本量小且只研究了 12 h 内血栓信号的变化;②研究对象为动物模型的血栓,跟患者的实际血栓类型存在一定差异;③仅用 HE 染色证实血栓的病理,没有进一步分析血栓成分。

综上所述,采用改良的凝血酶法建立兔颈总动脉血栓模型,操作简单易行,建模成功率高。MRI T_1 -mapping 及 T_2 -mapping 技术对兔颈总动脉内血栓成像的图像质量良好,能够满足临床诊断要求,并且初步验证了定量 MRI 技术可以显示动脉血栓形成时间的变化。定量 MRI T_1 -mapping 及 T_2 -mapping 技术应用于醒后卒中脑动脉栓子形成时间及成分的判断具有理论及技术上的可行性,为后续研究不同时间点血栓及不同性质栓子的临床 MRI 评估奠定了技术基础。

参考文献:

- [1] Esmon CT. Basic mechanisms and pathogenesis of venous thrombosis[J]. Blood Reviews, 2009, 23(5): 225-229.
- [2] Ferreira VM, Piechnik SK, Dall'Armellina E, et al. T_1 -mapping for the diagnosis of acute myocarditis using CMR: comparison to T_2 -weighted and late gadolinium enhanced imaging[J]. JACC Cardiovascular imaging, 2013, 6(10): 1048-1058.
- [3] Xia R, Lu X, Zhang B, et al. Assessment of myocardial edema and area at risk in a rat model of myocardial infarction with a faster T_2 -mapping method[J]. Acta Radiol, 2015, 56(9): 1085-1090.
- [4] Caspar T, El Ghannudi S, Ohana M, et al. Magnetic resonance e-

valuation of cardiac thrombi and masses by T_1 and T_2 -mapping: an observational study[J]. Int J Cardiovasc Imaging, 2017, 33(4): 551-559.

- [5] Hacke W, Donnan G, Fieschi C, et al. Association of outcome with early stroke treatment: pooled analysis of ATLANTIS, ECASS, and NINDS rt-PA stroke trials[J]. Lancet, 2004, 363(9411): 768-774.
- [6] Ahmed N, Wahlgren N, Grond M, et al. Implementation and outcome of thrombolysis with alteplase 3 ~ 4. 5h after an acute stroke: an updated analysis from SITS-ISTR[J]. Lancet Neurol, 2010, 9(9): 866-874.
- [7] Liao XL, Wang CX, Wang YL, et al. Implementation and outcome of thrombolysis with alteplase 3 to 4. 5h after acute stroke in Chinese patients[J]. CNS Neurosci Ther, 2013, 19(1): 43-47.
- [8] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018[J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(9): 666-682.
- [9] Brinjikji W, Duffy S, Burrows A, et al. Correlation of imaging and histopathology of thrombi in acute ischemic stroke with etiology and outcome: a systematic review[J]. J Neurointerv Surg, 2017, 9(6): 529-534.
- [10] Choi MH, Park GH, Lee JS, et al. Erythrocyte fraction within retrieved thrombi contributes to thrombolytic response in acute ischemic stroke[J]. Stroke, 2018, 49(3): 652-659.
- [11] Corti R, Osende JI, Fayad ZA, et al. In vivo noninvasive detection and age definition of arterial thrombus by MRI[J]. J Am Coll Cardiol, 2002, 39(8): 1366-1373.

(收稿日期: 2019-02-11 修回日期: 2019-08-22)