

·实验研究 Experimental research·

介入法猴大脑中动脉栓塞模型的制作及评价

徐军红, 邓燕贤, 邱维加, 周智鹏, 张辉阳, 曾阳东

【摘要】 目的 探讨介入法猴大脑中动脉栓塞模型的制作及评价。方法 选择猕猴 13 只作为实验动物,经股动脉穿刺插管引入微导管超选至大脑中动脉注入适量自体血栓,分别于术后 2 h 及 24 h 行 MR 检查。结果 13 只猴均成功插管至大脑中动脉并栓塞自体血栓。12 只表现为大脑中动脉分支减少,部分分支闭塞;2 h 弥散加权成像(DWI)可见高信号,T₂WI 无异常,24 h 复查 MR 示在相同位置 DWI 及 T₂WI 均可见高信号。重度栓塞 1 只,表现为大脑中动脉主干闭塞,分支广泛减少;2 h DWI 可见大片高信号,于术后 18 h 死亡。结论 经股动脉微导管超选择猴大脑中动脉栓塞模型的建立具有操作简单、可重复性好及死亡率低的优点,而栓塞术后 2 h 的 DWI 即可显示脑梗死。

【关键词】 大脑中动脉栓塞;介入;弥散加权成像;猴

中图分类号:R743.4 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2012)-07-0578-04

The establishment and evaluation of middle cerebral artery occlusion model in monkeys by interventional management XU Jun-hong, DENG Yan-xian, QIU Wei-jia, ZHOU Zhi-peng, ZHANG Hui-yang, ZENG Yang-dong. Department of Radiology, the Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin, Guangxi Province 541001, China.

Corresponding author: QIU Wei-jia, E-mail: vega_cn@163.com

【Abstract】 Objective To discuss the establishment of middle cerebral artery occlusion (MCAO) model in monkeys and to evaluate its usefulness. **Methods** A total of 13 healthy adult monkeys (*Macaca mulatta*) were used in this study as the experimental animals. The model was established by injecting auto-blood clots into middle cerebral artery (MCA) through the inserted micro-catheter to occlude the artery. MR examination was performed at 2 and 24 hours after the embolization. **Results** Super-selective catheterization of MCA and injection of auto-blood clots into MCA were successfully accomplished in all monkeys. Reduced number of branches of MCA and occlusion of some branches were observed in 12 cases. MRI performed at two hours after the procedure showed that there were high signals on diffusion weighted imaging (DWI) and no abnormal findings were observed on T₂WI. Follow-up MRI performed at 24 hours after the procedure demonstrated that high signals could be seen on both DWI and T₂WI at the same areas. Severe embolization was observed in one monkey, which was manifested as the occlusion of the main trunk of MCA as well as sparsely distributed branches. On two-hour DWI large area of high signal was observed. This experimental monkey died 18 hours after the operation. **Conclusion** The middle cerebral artery occlusion model can be effectively established in monkeys by super-selective catheterization of MCA and injection of auto-blood clots into MCA via the femoral artery with a micro-catheter. This technique is easy to manipulate with excellent repeatability and lower mortality. The cerebral infarction can be well displayed on DWI as early as two hours after the embolization.(J Intervent Radiol, 2012, 21: 578-581)

【Key words】 middle cerebral artery occlusion; intervention; diffusion weighted imaging; monkey

脑缺血具有很高的发生率、致残率和致死率,

严重威胁着人类的健康。大脑中动脉是人类脑缺血的多发部位,且大多数大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)由血栓栓塞引起^[1]。临床研究急性大脑中动脉缺血性脑梗死由于受诸多因素的限制,结果往往不甚理想。因此,建立一种

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2012.07.012

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30860293)

作者单位:541001 桂林 广西桂林医学院附属医院放射科

通信作者:邱维加 E-mail: vega_cn@163.com

理想的大脑中动脉血栓栓塞脑缺血模型对研究其发病机制、诊断治疗后的预后评价都具有重要意义。非人灵长类动物的脑血管解剖结构和脑组织对缺血的反应与人类相似,是制备脑缺血模型的理想动物^[2]。本实验选择灵长类动物广西猕猴(*Macaca mulatta*)为对象,采用经股动脉入路行介入栓塞其大脑中动脉方法制作脑缺血模型并行 MR 检查确认脑梗死形成。

1 材料与方法

1.1 实验动物

广西雄性猕猴 13 只(经审批购于桂林永福动物实验基地),体重 5 ~ 8 kg, 年龄 5 ~ 7 岁。

1.2 实验方法

1.2.1 自体血栓制备 术前抽取实验猴静脉血 2 ml, 2 000 g 离心 10 min, 取上清液, 再次 2 000 g 离心 10 min, 抽去上半部上清液, 余下部分加入凝血酶 10 u 迅速注入直径 0.58 mm 长硅胶管中静置。

1.2.2 手术方法 动物全麻后仰卧固定于木板置于介入手术台, 右侧腹股沟区备皮, 常规消毒铺巾后切开皮肤, 钝性分离肌肉暴露股动脉, 直视下穿刺置管置入 4 F 导管鞘, 并用 4 F cobra 导管, 分别于主动脉弓及颈总或颈内动脉造影, 经同轴导管技术引入 1.7 F 神经介入微导管 (echelon10 美国 ev3 公司) 插管至大脑中动脉的 M1 段并造影。经微导管加压注入自体血栓(切取 20 cm 长硅胶管)并记录栓塞时间, 5 min 后造影复查并撤出导管, 缝合切口后拔除动脉鞘并压迫 20 min, 术后 2 h 行 MR 扫描, 复苏后送回动物房, 术后监测动物神经功能变化, 并做好记录分析, 于 24 h 复查 MR。

1.2.3 动物头部磁共振扫描方法 麻醉状态下将实验动物转运至 MR 室, 采用 1.5 T 核磁共振(Simens 公司)和头部线圈, 行头部轴位扫描, 扫描序列为 T₁WI、T₂WI 及 DWI, 层厚 3 mm, 主要参数 T₁WI:Se 序列 TE 11.0 TR 500 ms T₂WI:Tse 序列 TR 4100 ms TE 96 DWI:EPI 序列 TR 3000 ms TE 81 b = 0, 1000。

2 结果

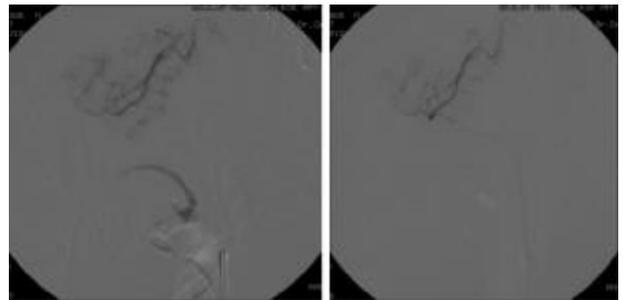
2.1 模型建立情况

全部实验动物均穿刺插管成功, 微导管顺利插入猴大脑中动脉起始段并注入制备好的自体血栓, 10 只栓塞右侧大脑中动脉, 3 只栓塞左侧大脑中动脉。插管时间(透视时间)1.5 ~ 10 min, 平均 4.7 min。术中动物未出现异常, 栓塞 2 h 所有动物均顺利复

苏。清醒后实验动物出现不同程度肢体神经功能障碍。术后 18 h 有 1 只动物死亡。

2.2 影像学表现

比较动物栓塞前后 DSA 表现, 12 只表现为大脑中动脉分支减少(图 1a、1b), 部分分支闭塞, 其 2 h MR 检查 DWI 可见片状高信号(图 2a), ADC 图相同位置显示低信号(图 2b), 即 ADC 值降低, 其中 7 只发生在基底节区, 5 只发生在顶枕叶, 均为单一病灶, ADC 值平均 $4.18 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$ (对侧正常值 $6.56 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$); 24 h 复查 MR 示相同位置脑梗死 (T₁WI 低信号, T₂WI、DWI 高信号, 图 2c、2d)。动物清醒后出现不同程度神经功能障碍。重度栓塞 1 只表现为大脑中动脉主干闭塞, 分支广泛减少, 2 h 后 MR 检查示 DWI 可见大片状高信号, 清醒后观察其反应差, 严重跛行, 单侧肢体无力, 行动困难并于栓塞术后 18 h 死亡。



1a 栓塞前造影显示大脑中动脉及分支 1b 血栓栓塞后造影示大脑中动脉分支减少

图 1 动物栓塞前后 DSA 表现

3 讨论

国际脑血管病委员会极力主张脑缺血的研究应建立在局部脑缺血模型基础上^[3]。啮齿类动物模型在脑缺血模型中应用最为广泛, 但啮齿类动物的大脑与人类存在明显差异, 而非人灵长类动物更接近于人, 因此我们选用广西资源较丰富的猕猴作为实验动物。大脑中动脉是人类脑缺血的多发部位, 绝大多数脑缺血模型都是针对大脑中动脉展开的。而猴的脑血管结构及脑组织构成类似人类, 特别是大脑中动脉的分布区域与人类相似, 脑血管及脑组织的大小也适合并可进行行为学或神经学变化观察。

近年来开发了多种非人灵长类动物脑缺血模型的造模方法, 包括经眶入路法、开颅法、光化学法和介入法等^[4], 各种方法各有其优缺点, 除经股动脉介入法外, 其他均需行外科手术, 制作流程复杂, 使用仪器较多, 且对动物损伤较大, 术中监护及术后护理繁琐并影响术后行为学观察及神经功能评价。

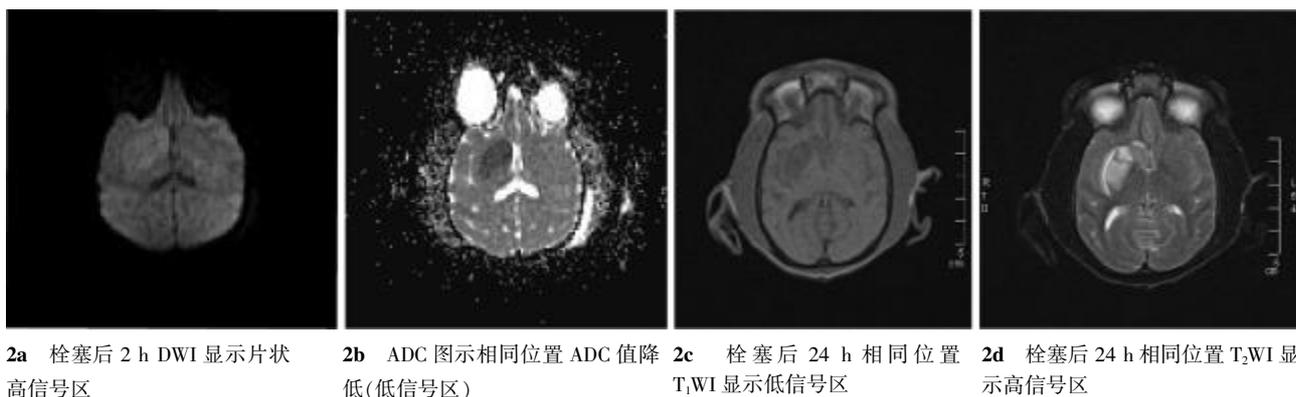


图 2 血栓栓塞后磁共振影像所见

本研究结果表明,经股动脉介入血栓栓塞猴大脑中动脉法具有操作简单、精确、可重复性强,猴脑血管大小适合介入导管置入,栓塞猴可行 CT 或 MR 检查确定栓塞程度并可进行行为学观察及神经功能评价。本实验创伤小,避免了外科手术造成的出血、感染及术后护理难题。本组共 13 只动物,插管成功率 100%,透视时间(导管操作)1.5 ~ 10 min,平均 4.7 min,无一只动物因插管操作造成死亡。而且其操作过程与人脑血管介入治疗一致,并可选用脑血管介入器材,无需使用特殊器材。

经微导管介入栓塞材料可选择真丝线段、弹簧圈、聚乙烯醇(PVA)颗粒、氰基丙烯酸正丁酯(NBCA)、自体血栓等,均可导致 MCAO,但大多数临床病例中 MCAO 是由于血栓栓塞引起,近年来越来越多的人认识到血栓栓塞模型的优点并将其用于脑缺血动物模型的制作^[5-6]。自体血栓栓塞类似于人类脑梗死的脑动脉血栓形成或血栓栓塞,有利于进一步溶栓治疗及病理学、影像学的研究。经微导管于大脑中动脉内注射自体血栓精度高,避免栓塞其他部位而造成术后神经功能评价差异。由于微导管内腔细小,使用常规方法用注射器推送血栓不易成功。经反复实验,我们选择 5 ml 注射器,用针头插入血栓硅胶管远端,硅胶管近端插入微导管接口处然后加压注射。硅胶管太长时注射困难需分段注射,20 cm 硅胶管内血栓需分 2 段注射。

本组实验脑缺血模型造模成功率高,13 只猴全部插管及经微导管注入血栓成功。注入血栓后 2 h 所有实验动物 MR 检查证实脑缺血或梗死,仅 1 只猴因过度栓塞于 18 h 后死亡。

栓塞程度的选择:本实验目的为获取稳定猴大脑中动脉血栓栓塞脑缺血模型,为后续药物治疗或脑组织保护药物研究提供平台,其栓塞程度不宜过

重或过轻,以中度栓塞为宜。周智鹏等^[7]认为直径 0.58 mm、长 20 cm 的血栓即可造成中度范围和程度的脑缺血。本实验选取相同大小的血栓,13 只实验猴中 12 只为中度栓塞,仅 1 只重度栓塞(18 h 后死亡),符合实验要求。

本组动物模型制作过程有如下体会:①实验过程要严格无菌操作。②血栓制作要细心,要选取中间段硅胶管内血栓。③因猴颈内动脉弯曲及颅内血管细小,选取 1.7 F 微导管系统可使操作简单,缺点是价格昂贵且血栓注入困难。④不宜过度栓塞。

猴大脑中动脉血栓栓塞后即造成急性脑缺血。对于急性脑缺血或梗死的检出一般认为 CT 灌注及核磁共振 DWI 较为敏感^[8-9]。本文选用 MR 作为脑缺血检出方法。急性缺血后,神经元细胞在缺血几分钟内发生细胞毒性水肿,细胞内外离子平衡失调,钠-钾泵失灵,细胞外水向细胞内渗透,导致细胞内水分子增多,细胞外水分子减少,故缺血区组织内水分子扩散受阻,ADC 下降,DWI 信号增高。随着缺血时间延长,血管内皮细胞受损,通透性增加,出现血管源性水肿,T₂WI 信号开始增高。一般认为 DWI 对于超急性脑梗死的检出具有重要意义^[10],DWI 对脑梗死的检出明显早于常规 T₂WI^[11]。有文献认为 DWI 表现判断脑梗死造模成功的敏感性为 100%,特异性为 100%,可以早期显示脑缺血部位及范围,为脑梗死造模提供直观的影像学信息^[12]。本组实验所有 13 只猴大脑中动脉栓塞 2 h 后 DWI 均显示高信号,除 1 只猴死亡外其余 12 只 24 h 复查 MR 均证实相同位置脑梗死形成。

总之,经股动脉微导管超选择猴大脑中动脉血栓栓塞模型的建立具有精确、稳定、创伤小、可重复性好及死亡率低的优点,DWI 能及时检出栓塞范围及程度,虽然有实验动物难以获得、实验器材昂贵

及介入操作要求高而难以大规模应用,但仍不失为理想的造模方法,为进一步进行脑梗死相关药物治疗及神经细胞保护等研究打下坚实基础。

[参考文献]

- [1] Smith WS, Sung G, Starkman AS, et al. Safety and efficacy of mechanical embolectomy in acute ischemic stroke: results of the MERCI trial [J]. Stroke, 2005, 36: 1432 - 1438.
- [2] Yamashita T, Saido TC, Takita M, et al. Transient brain ischaemia provokes Ca²⁺, PIP2 and calpain responses prior to delayed neuronal death in monkeys [J]. Eur J Neurosci, 1996, 8: 1932 - 1944.
- [3] Garcia JH. Experimental ischemia stroke: a review [J]. Stroke, 1984, 15: 5 - 14.
- [4] 吴婷婷, 屈会化, 王雪茜, 等. 非人灵长类局部脑缺血动物模型研究现状[J]. 中国实验动物学报, 2011, 19: 263 - 268.
- [5] 李永东, 赵俊功, 李明华, 等. 急性血栓性大脑中动脉栓塞缺血模型的建立[J]. 介入放射学杂志, 2008, 17: 122 - 128.
- [6] 全冠民, 袁涛, 刘怀军, 等. 自体血栓栓塞性兔大脑中动脉脑梗死影像学模型的建立 [J]. 临床放射学杂志, 2008, 27: 1266 - 1269.
- [7] 周智鹏, 邓燕贤, 邱维加, 等. 不同程度猴脑缺血模型的 CT 灌注和脑血管造影评价 [J]. 临床放射学杂志, 2008, 27: 1585 - 1588.
- [8] Mayer TE, Hamann G F, Baranezyk J, et al. Dynamic CT perfusion imaging of acute stroke [J]. AJNR, 2000, 21: 1441 - 1449.
- [9] Dwyer MG, Bergsland N, Saluste E, et al. Application of hidden Markov random field approach for quantification of perfusion/diffusion mismatch in acute ischemic stroke[J]. Neurol Res, 2008, 30: 827 - 834.
- [10] Schlaug G, Siewert B, Benfield A, et al. Time course of the apparent diffusion coefficient (ADC) abnormality in human stroke[J]. Neurology, 1997, 49: 113 - 119.
- [11] 王琦, 徐荣天, 李松柏, 等. MR 弥散加权成像对超急性脑梗塞的临床研究 [J]. 中国医学影像技术, 2002, 18: 640 - 641.
- [12] 杨利霞, 贾文霄, 丁爽, 等. DWI 评价大鼠急性脑梗死模型制备的价值[J]. 中国医学影像技术, 2009, 25: 536 - 539.

(收稿日期: 2011-10-08)

(本文编辑: 侯虹鲁)

·消息·

第十届中国介入放射学学术大会 (2012CSIR) 暨 2012 国际 栓塞会议 (Best-GEST2012)

第十届中国介入放射学学术大会(2012CSIR)暨 2012 国际栓塞会议(Best-GEST2012)拟于 2012 年 10 月 31 日至 11 月 3 日在南京国际展览中心召开。大会由中华医学会放射学分会(介入学组)主办,东南大学医学院附属中大医院、南京市第一人民医院承办,《当代医学》杂志社协办,大会秉承“交流、合作、创新、发展”的宗旨,并首次联合国际栓塞会议(Best-GEST2012)共同举办 2012 国际栓塞会议,将是一次国内外学术交融的盛会。

本次大会将涵盖所有介入医学领域的临床与基础研究,包括传统领域:血管介入、神经介入、肿瘤介入、非血管介入等;包括疼痛、粒子植入等边缘交叉领域;还包括分子影像、纳米医学及分子靶向药物治疗等前沿热点领域。

大会高度重视学术性,以专题内容为特色。国际会议和国内会议都将设立学术专题,会议研讨就专题而展开。届时国际国内著名的介入放射学、影像学、血管外科、神经内外科、肿瘤学、护理学等多学科专家将会充分展示各自研究领域的新理念、新研究、新技术和新成果。大会授予国家 1 类继续教育学分。

本次会议将迎接数十名国际专家以及数百名国际参会代表,近 200 位中国学术专家和 1500 余名国内的参会代表,以及全球范围内的 300 多位厂商代表,见证中国介入放射学的学术繁荣与快速发展。

大会组委会秘书处联系电话:010-84288944;传真电话:010-84662099。

欢迎登陆大会官方网站:www.2012CSIR.com