

• 实验研究 Experimental research •

小鼠 Willis 环右颈总动脉灌注 Microfil 成像研究

陈 蓐, 王 武, 李永东, 李明华

【摘要】 目的 评估通过小鼠右侧颈总动脉途径灌注对比剂 Microfil 显示 Willis 环的可行性和效果。方法 选取 20 只雄性 C57BL/6 小鼠(约 14 周龄, 重约 20 g)。将小鼠肝素化、麻醉后固定、解剖胸腔, 依次自小鼠心尖灌注 0.9%氯化钠溶液、4%多聚甲醛溶液和 2%戊二醛溶液混合液; 分离右侧颈总动脉, 经右侧颈总动脉近端灌注 Microfil, 4℃过夜; 取脑后体视镜下观察 Willis 环。将体视镜下观察到的 Willis 环定义为完全充盈、大部分充盈和充盈不良。结果 20 只小鼠全部灌注成功, 其中完全充盈 11 只(55%), 大部分充盈 4 只(20%), 充盈不良 5 只(25%)。大体观察小鼠 Willis 环完整, 染色血管清晰; 体视镜下 Willis 环充盈、立体。结论 通过小鼠右侧颈总动脉途径灌注 Microfil 显示 Willis 环方法简单、可行, 不仅能使 Willis 环充盈良好, 还能清晰显示其立体结构, 具有 MRA 成像效果。

【关键词】 Willis 环; 灌注; Microfil

中图分类号: R743.3 文献标志码: A 文章编号: 1008-794X(2018)-05-0458-04

The visualization of Willis circle by using Microfil perfusion through right common carotid artery in experimental mice CHEN Mo, WANG Wu, LI Yongdong, LI Minghua. Department of Diagnostic and Interventional Radiology, Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

Corresponding author: LI Yongdong, E-mail: liydsh@163.com

【Abstract】 **Objective** To evaluate the feasibility and efficacy of Microfil perfusion through right common carotid artery to visualize Willis circle in experimental mice. **Methods** Twenty male C57BL/6 mice (about 14 weeks of age and 20 g of weight) were selected. The mice were heparinized and fixed after general anesthesia, then the thoracic cavity was surgically opened. The saline, 4% paraformaldehyde solution, and 2% glutaraldehyde solution were perfused in turn into left ventricle from the apical part of the mice. After separating right common carotid artery, Microfil was perfused through the detaining needle in left ventricle that was inserted into the proximal end of right common carotid artery, the mice were stored at 4℃ overnight, then their brains were removed and the Willis circle of each mouse was examined under stereomicroscope. Based on the stereomicroscopic findings, Willis circle could be classified into three types: totally filling, largely filling and poorly filling. **Results** Successful Microfil perfusion was accomplished in all 20 mice. Of the 20 mice, totally filling was observed in 11 (55%), largely filling in 4 (20%), and poorly filling in 5 (25%). Gross observation showed that Willis circle was complete, the stained blood vessel was clear; under stereomicroscope Willis circle showed well-stacked with stereoscopic effect. **Conclusion** For the visualization of Willis circle of experimental mice, Microfil perfusion through right common carotid artery is a simple and feasible method. This technique can not only make the Willis circle well filled, but also clearly display its stereoscopic structures, having the effect of MRA imaging. (J Intervent Radiol, 2018, 27: 458-461)

【Key words】 Willis circle; perfusion; Microfil

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2018.05.014

作者单位: 200233 上海交通大学附属第六人民医院介入影像科

通信作者: 李永东 E-mail: liydsh@163.com

Willis 环由两侧大脑前动脉起始段、两侧颈内动脉末端、两侧大脑后动脉借前、后交通动脉连通而成,其作用是调节血液分配,维持脑营养和功能活动。Willis 环是颅内动脉瘤和脑缺血好发部位,颅内动脉瘤尤其好发于 Willis 环动脉分叉部^[1]。小鼠因体型小、便于操作、价格便宜、转基因种系多等优势常用于脑动脉瘤、脑缺血、阿尔兹海默症等^[2-5]模型的 Willis 环建模。通过小鼠 Willis 环灌注成像了解其完整结构,可为小鼠脑动脉瘤和脑缺血模型提供有效的实验证据。目前 Willis 环灌注方法多通过小鼠心尖处(左心室)进行心脏灌注,应用不同灌注剂(混合或不混合染液),最后取脑观察 Willis 环。这些方法虽可观察到 Willis 环结构,但多不完整或充盈不良,对微小脑动脉瘤就更难以清晰显示。为解决这些问题,本实验通过小鼠右侧颈总动脉灌注对比剂 Microfil 显示 Willis 环,旨在评价其成像可行性和效果。

1 材料与方法

1.1 实验动物

清洁级 C57BL/6 小鼠 20 只(雄性,约 14 周龄,

重约 20 g)。本实验设施环境条件符合中国国家标准《实验动物环境及设施》(GB14925-2001)对屏障动物实验设施的有关标准,动物饲养管理和动物实验操作符合《上海市实验动物管理条例》等法规要求。所有小鼠经标准实验室饮食喂养。研究时间为 2016 年 3 月至 2017 年 6 月。

1.2 方法

小鼠肌内注射肝素(500 U/kg),30 min 后肌内注射氯氨酮稀释液(1:4)0.2 mL 作麻醉;固定小鼠后解剖胸腔,依次自心尖灌注 37℃0.9%氯化钠溶液 10 mL、4%多聚甲醛溶液和 2%戊二醛溶液混合液(1:1)15 mL;显微镜下分离右侧颈总动脉,将 24 g 留置针从心尖插入右侧颈总动脉起始部或中段,连接注射器后 30 min 内匀速缓慢推注 Microfil(MV-130:稀释剂:硬化剂=4:5:0.45)5 mL,灌注操作示意图见图 1;灌注后小鼠 4℃过夜,从面部分离颅底骨后取脑,浸入 4%甲醛中 2~3 d,Stemi 508 型和 Axiocam 506 color 型体视镜(德国 Carl Zeiss 公司)下观察。

1.3 评价

将体视镜下观察到的 Willis 环定义为 3 种状

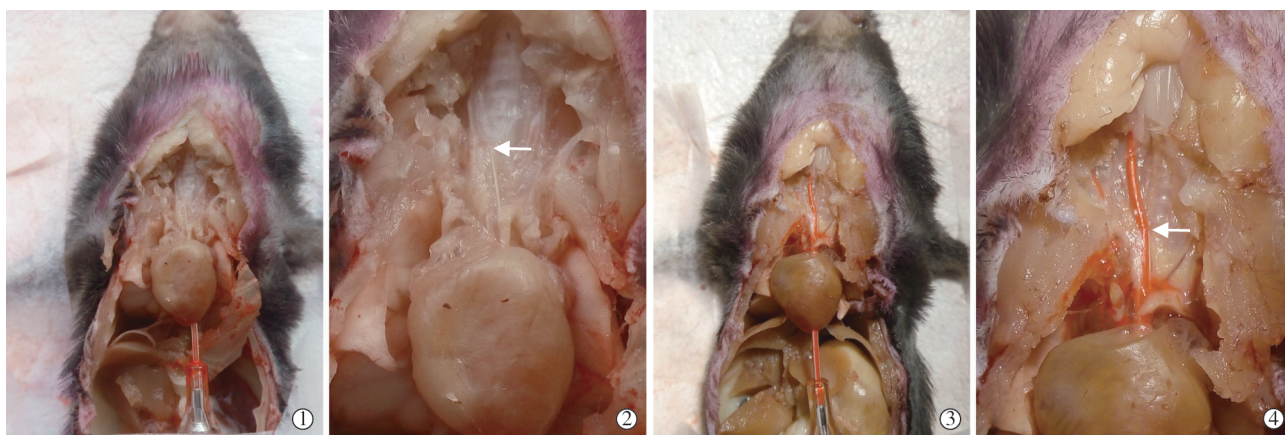


图 1 小鼠灌注操作示意图
①24 g 留置针自小鼠心尖插入右侧颈总动脉起始部或中段,未灌注 Microfil;②未灌注 Microfil 时右侧颈总动脉局部示意图(箭头指向 24 g 留置针尖端);③24 g 留置针自小鼠心尖插入右侧颈总动脉起始部或中段灌注 Microfil;④灌注 Microfil 后右侧颈总动脉局部示意图(箭头指向 24 g 留置针尖端)

图 1 小鼠灌注操作示意图

况:①完全充盈,即所有血管包括双侧颈内动脉、大脑中动脉和大脑前动脉充盈良好、灌注清晰,立体感强;②大部分充盈,即部分血管充盈良好、灌注清晰;③充盈不良,即仅有少部分血管充盈良好。

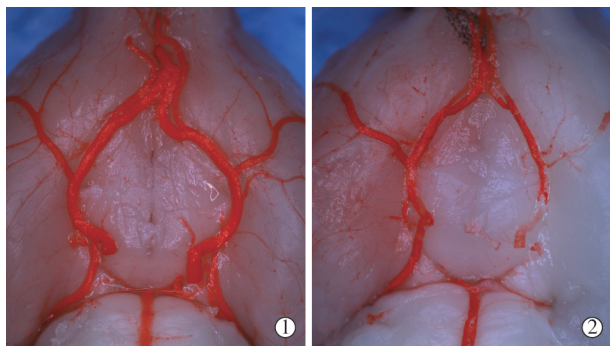
2 结果

通过小鼠右侧颈总动脉途径 Microfil 灌注 Willis 环成像技术建立的小鼠 Willis 环形态结构见

图 2。20 只实验小鼠全部灌注成功,总灌注成功率为 100%。其中完全充盈 11 只(55%),大部分充盈 4 只(20%),充盈不良 5 只(25%)。大体观察小鼠灌注后 Willis 环完整,染色血管显示清晰;体视镜下观察小鼠 Willis 环清晰、充盈、立体。

3 讨论

相比大型动物,小型动物(如鼠科、兔等)更常



①Willis 环完全充盈;②Willis 环大部分充盈

图 2 小鼠 Willis 环形态结构

用于动脉瘤和脑缺血建模试验^[6]。其中鼠科动物体型小、价格便宜,且因转基因技术发展有着广泛种系,可进行复杂分子和细胞技术检测^[7],故最常用于动脉瘤和脑缺血实验研究,而小鼠 Willis 环灌注常作为实验环节一部分。

小鼠 Willis 环灌注前试验已有学者报道,但方法与本研究有所不同。Lee 等^[8]对小鼠皮下注射肝素再麻醉 30 min 后,先灌注温 0.9%氯化钠溶液和 2%戊二醛,再以持续 100 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)压力向左心室灌注多聚甲醛固定血管,脑充盈后在 55℃恒温箱过夜聚合,再浸入 15%氢氧化钾溶液腐蚀,流水冲洗,浸入 5%蚁酸 15 min,冷冻干燥机中脱水 48 h;脱水样本覆盖上离子涂层后于扫描电镜(韩国 COXEM 公司)下观察。此方法可观察到清晰的动脉图像,但灌注方法操作复杂,处理时间长,腐蚀剂存在一定危险性,且未经染色,观察效果欠佳。李广意等^[9]在实验小鼠麻醉后,体视显微镜下向左心室灌注填充剂(过氧乙稀 10 g、乙酸乙脂 90 mL、邻苯二甲丁 2.7 mL 和红色油料适量按比例配制),再将小鼠头部分离并浸于盐酸,对颅骨进行腐蚀软化;待颅骨软化后用手术器械剥离,于体视镜下观察。此方法优点是所取 Willis 环完整,缺点是取脑操作复杂,需要盐酸反复腐蚀小鼠颅骨,还要再用器械修饰。Sugiyama 等^[10]在小鼠麻醉后左心室插管,先后注射 0.9%氯化钠溶液 2 mL 和预先混有 Mogul L 碳黑 50 μ L 的乳胶复合物 0.5 mL 进行灌注。

通过左心室进行心脏灌注,Willis 环不易完全充盈。为解决这一问题,本实验在保留前实验优点基础上对某些步骤加以改进。首先,与之前学者研究的通过心尖-左心室-主动脉弓-头臂干-右侧颈总动脉-右侧颈内动脉-Willis 环行心脏灌注途径不同,本实验经右侧颈总动脉-右侧颈内动脉-Willis 环途径灌注,省去了心尖-左心室-主动脉弓-头臂

干这一中间环节,使得灌注血管充盈度更好,Willis 环动脉显像更加具有立体感。相比于其它研究者灌注后易于观察 Willis 环血管外径,本实验灌注后更易于观察 Willis 环血管内径,达到 MRA 观察效果。其次,本实验选择 Microfil 对比剂进行小鼠 Willis 环灌注。Microfil 是由 MV 染料、稀释剂、硬化剂按一定比例混合而成的复合物。在生理注射压力下灌注 Microfil 即能充满小鼠微血管,并使其不透明;Microfil 具有微小收缩性,可完全填充血管,提高血管灌注连续性,保证灌注后微循环在观察时清晰生动;经 Microfil 灌注的组织颜色具有多样化,便于显微检查和摄片^[11]。再次,小鼠经灌注后从面部分离颅底骨取脑,无需腐蚀取脑。经过改进后,操作步骤得以简化且更安全,试验用时相应缩短。

实施本实验需注意:①Microfil 浓度配比。硬化剂浓度过高可能在未完全灌注前 Microfil 先凝固,不能完成灌注,浓度过低则长时间灌注也不凝固,导致血管充盈不充分。②0.9%氯化钠溶液和固定剂推速可相对较快。Microfil 灌注速度应缓慢匀速,流量过快可能造成小血管破裂,Willis 环得不到完全灌注。但应注意 Microfil 要在 30 min 内灌注完成。

本实验结论认为,通过小鼠右侧颈总动脉途径灌注 Microfil 显示 Willis 环方法简单、可行,不仅能使小鼠 Willis 环充盈良好,还能清晰显示其立体结构,具有 MRA 成像效果。

[参考文献]

- [1] Alfano JM, Kolega J, Natarajan SK, et al. Intracranial aneurysms occur more frequently at bifurcation sites that typically experience higher hemodynamic stresses[J]. *Neurosurgery*, 2013, 73: 497-505.
- [2] Nowicki KW, Hosaka K, Walch FJ, et al. M1 macrophages are required for murine cerebral aneurysm formation[J]. *J Neurointerv Surg*, 2018, 10: 93-97.
- [3] Hecht N, Schneider UC, Czabanka M, et al. Endothelial progenitor cells augment collateralization and hemodynamic rescue in a model of chronic cerebral ischemia[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2014, 34: 1297-1305.
- [4] Roher AE, Esh C, Kokjohn TA, et al. Circle of willis atherosclerosis is a risk factor for sporadic alzheimer's disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23: 2055-2062.
- [5] Beckmann N, Schuler A, Mueggler T, et al. Age-dependent cerebrovascular abnormalities and blood flow disturbances in APP23 mice modeling Alzheimer's disease[J]. *J Neurosci*, 2003, 23: 8453-8459.
- [6] 杨 飞,姜建威,王 鹏,等.新西兰大白兔脑血管造影:脑

- 底动脉环的解剖与变异[J]. 介入放射学杂志, 2013, 22: 216-218.
- [7] Bouzeghrane F, Naggara O, Kallmes DF, et al. In vivo experimental intracranial aneurysm models: a systematic review [J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2010, 31: 418-423.
- [8] Lee S, Kim IK, Ahn JS, et al. Deficiency of endothelium-specific transcription factor Sox17 induces intracranial aneurysm [J]. Circulation, 2015, 131: 995-1005.
- [9] 李广意, 邹柯杰, 赵娟, 等. 利用灌注技术观察昆明小鼠 Willis 环的形态结构[J]. 实验动物科学, 2014, 31: 21-22.
- [10] Sugiyama Y, Yagita Y, Oyama N, et al. Granulocyte colony-stimulating factor enhances arteriogenesis and ameliorates cerebral damage in a mouse model of ischemic stroke[J]. Stroke, 2011, 42: 770-775.
- [11] Zhu YQ, Dai DY, Xing HX, et al. Concomitant aneurysm detection in an intracranial dolichoectasia mouse model using a MicroFil polymer perfusion technique[J]. J Neurointerv Surg, 2017, 9: 783-786.
- (收稿日期: 2017-07-26)
(本文编辑: 边 皓)

• 病例报告 Case report •

肝癌化疗栓塞后溶瘤综合征 1 例

赵丹, 梁斌, 王勇, 郑传胜

【关键词】 溶瘤综合征; 肝细胞癌; 化疗栓塞; 并发症

中图分类号: R735.7 文献标志码: D 文章编号: 1008-794X(2018)-05-0461-03

Tumor lysis syndrome after transcatheter arterial chemoembolization: report of one case ZHAO Dan, LIANG Bin, WANG Yong, ZHENG Chuansheng. Department of Radiology, Affiliated Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei Province 430022, China

Corresponding author: LIANG Bin, E-mail: bliang@mails.tjmu.edu.cn (J Intervent Radiol, 2018, 27: 461-463)

【Key words】 tumor lysis syndrome; hepatocellular carcinoma; transcatheter arterial chemoembolization; complication

病历资料

患者男, 78 岁。因“肝癌第 10 次 TACE 后 4 个月”入院。既往有丙型肝炎(丙肝)病史 10 余年, 曾因肝硬化伴脾功能亢进(脾亢)行脾动脉栓塞术。入院后肝脏 CT 检查提示: 肝左外及左内叶节段性弥漫性肝癌病灶 14.0 cm×5.8 cm×7.5 cm; 右肝散在结节灶卫星灶及碘油沉积影; 门脉左支癌栓, 左内支完全阻塞, 左外支部分阻塞, 门脉右支及门脉主干通畅; 癌灶占全肝比例<70%(图 1)。患者肝功能 Child-Pugh 分级 A 级, ECOG 体力状况评分 1 分, AFP>80 000 μg/L。诊断为肝癌 TACE 术后复发, 有行再次 TACE 适应证, 无禁忌证。遂于 2017 年 6 月 13 日行介入治疗: 肝动脉造影显示肝左叶可见大片状肿瘤染色, 肝右叶另见结节状肿瘤染色, 间接

门脉造影左支未见显示; 介入治疗采用 2.7 F 微导管, 先置管至肝左动脉主干远端注入粒径 100~300 μm PVA 微球及适量粒径 300~500 μm 海绵明胶颗粒, 栓塞终点为肝左动脉前向血流明显减慢; 再置管于肝右叶肿瘤供血动脉内缓慢注入碘油 5 mL+表阿霉素 10 mg 混悬液, 追加适量 300~500 μm 海绵明胶颗粒, 栓塞终点为肿瘤供血动脉前向血流阻断(图 2)。术后 2 d 内患者除有肝区不适及厌食、恶心呕吐等消化系统症状外并无其他特殊不适; 至术后第 3 天患者病情迅速恶化, 患者无明显诱因下出现烦躁不安、神志不清等症状。查体: 呼之不应, 双侧瞳孔缩小, 对光反射迟钝, 全身皮肤黏膜及巩膜重度黄染, 移动性浊音阳性; 同时急查各项实验室指标提示患者肝肾功能较术前明显下降, 并出现电解质紊乱如高尿酸、高钾、高磷、低血钙等。至此, 此患者诊断为肝癌化疗栓塞术后溶瘤综合征(tumor lysis syndrome, TLS)。患者经治疗无效于术后第 3 天晚死亡。患者术前术后实验室检查结果见表 1。

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2018.05.015

作者单位: 430022 武汉 华中科技大学同济医学院附属协和医院放射科

通信作者: 梁斌 E-mail: bliang@mails.tjmu.edu.cn