

3. 0T MRI in observation on atherosclerotic plaque progression in the abdominal aorta of rabbits

MA Xiao-hai¹, ZHANG Zhao-qi^{1*}, ZHAO Quan-ming², YU Wei¹,
SHANG Jian-feng³, ZHAO Lei¹, FENG Ting-ting²

(1. Department of Radiology, 2. Department of Cardiology, 3. Department of Pathology,
Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective** To visualize plaques progression and monitor arterial remodeling during progression of atherosclerosis in rabbit model with 3.0T MR. **Methods** Twenty New Zealand white rabbits were randomly allocated into experimental group ($n=16$) and control group ($n=4$). Atherosclerotic lesions were induced in the abdominal aorta by balloon injury and cholesterol feeding. MR examinations were performed at the end of 2nd month, 3rd month and 4th month after aortic denudation. Lumen diameter, vessel wall thickness, total vessel area, lumen area and vessel wall area were calculated in MR images, taking histological results as standard reference. **Results** Seventeen rabbits (14 of experimental group and 3 of control group) received all 3 times MR examination. Compared with control group, vessel wall thickness and area in experimental group increased significantly ($P<0.01$). Lumen area progressive stenosis was not clear, even slight dilation developed in the experimental group. Vessel wall enhancement in experimental group was higher than that of control group, in spite of this progressive was not obviously. Compared with histology, MRI had more good performance in detection lipid and fibrotic plaque other than calcification. **Conclusion** High-resolution MRI can be used to monitor progression of atherosclerosis in rabbit models, which is helpful for further research of prognosis and intervention therapy.

[Key words] Magnetic resonance imaging; Atherosclerosis; Plaque; Arterial remodeling

3.0T MRI 观察兔腹主动脉粥样 硬化斑块演变过程

马晓海¹, 张兆琪^{1*}, 赵全明², 于薇¹, 商建峰³, 赵蕾¹, 冯婷婷²

(1. 首都医科大学附属北京安贞医院医学影像科, 2. 心内科, 3. 病理科, 北京 100029)

[摘要] **目的** 探讨 MRI 在识别兔动脉粥样硬化斑块中的诊断价值。 **方法** 20 只新西兰白兔, 随机设置实验组 16 只, 对照组 4 只, 结合球囊拉伤腹主动脉和间断高脂饲料喂养, 建立动脉粥样硬化模型; 在建模后 2、3、4 个月分别行高分辨 MR 成像。通过测量腹主动脉管壁厚度和面积、管腔面积、管壁信号增强程度等指标, 观察腹主动脉壁的重构过程, 并对模型最终的斑块成分进行 MRI 和组织病理结果对照研究。 **结果** 对 17 只兔(实验组 14 只, 对照组 3 只)完成 3 次 MR 检查, 并获得组织病理学结果。MRI 显示, 实验组腹主动脉管壁厚度和面积逐渐增厚, 且与同期对照组相比差异均有统计学意义($P<0.01$); 实验组腹主动脉管腔进行性扩张, 管壁强化程度较对照组增加明显, 但演变过程不明显。另外, MRI 对兔腹主动脉硬化斑块的成分判限制在纤维、脂质和钙化斑块, 对纤维斑块、脂质斑块识别率较高。 **结论** 高分辨 MRI 可以无创性地观察动脉粥样硬化动物模型腹主动脉管壁重构的演变过程, 有助于对动脉硬化斑块的预后和药物干预进行探索。

[基金项目] 国家自然科学基金(30870733、30972810、81071196)。

[作者简介] 马晓海(1976—), 男, 河北石家庄人, 博士, 副主任医师。研究方向: 心血管影像。E-mail: maxi8238@gmail.com

[通讯作者] 张兆琪, 首都医科大学附属北京安贞医院医学影像科, 100029。E-mail: zhaoci5000@vip.sohu.com

[收稿日期] 2011-07-20 **[修回日期]** 2011-10-15

[关键词] 磁共振成像; 动脉粥样硬化; 斑块; 管壁重构

[中图分类号] R445.2; R-332 [文献标识码] A [文章编号] 1003-3289(2012)03-0412-04

动脉粥样硬化及其并发症是发达国家人口的主要死亡原因之一,近年来在我国也呈逐渐增高趋势^[1]。多种影像学检查方法可对动脉硬化的高风险并发症进行评估,特别是 MRI,不但可以判断管腔的狭窄程度,还能定性和定量评估动脉硬化斑块,因此在相关研究中越来越受到关注^[2]。

动脉硬化的发生、发展、演变和转归过程是心血管领域基础和临床研究的热点。普遍认为家兔动脉硬化模型是适宜的研究模型^[3-4]。本研究利用 3.0T 高分辨 MR 对兔动脉粥样硬化斑块模型进行动态监测,与病理结果进行对照,验证 MRI 判断斑块成分的准确性。

1 材料与方法

1.1 实验动物与模型建立

健康纯种雄性新西兰大白兔 20 只,3~4 月龄,体质量 2.0~3.0 kg。

随机分为实验组($n=16$)和对照组($n=4$)。

对实验组动物应用高脂饲料(4%猪油、1%胆固醇、95%基础饲料)每天 120~140 g 喂养 2 周,之后行主动脉球囊拉伤术。以 3%戊巴比妥腹腔注射(1 ml/kg)麻醉动物,分离出右侧股动脉后,以 4F Fogarty 球囊导管插入股动脉,上行约 20 cm 后,到达约主动脉瓣水平。向球囊内注入生理盐水 0.3 ml,向下拖拉球囊至髂总动脉分叉处,反复 3 次。此后间断高脂饲料喂养 16 周。对照组始终给予普通饲料。

1.2 仪器与方法

在建模开始后 2~4 个月末分别行 MR 检查。采用 GE Signa HDx 3.0T MR 仪,8 通道心脏专用线圈。在定位相扫描的基础上行三维时间飞跃(TOF)扫描,根据 TOF 扫描结果确定扫描范围,包括右肾动脉开口以上约 2 cm 至双侧髂动脉开口处,扫描层数 25~30 层;获得轴位 2D DIR T1WI 及 FSE T2WI,层厚均为 5 mm,扫描层数约 25~30 层。完成平扫后,通过耳缘静脉注射对比剂钆喷酸葡胺注射液 0.1 mmol/kg 体质量,再次采集 T1WI。

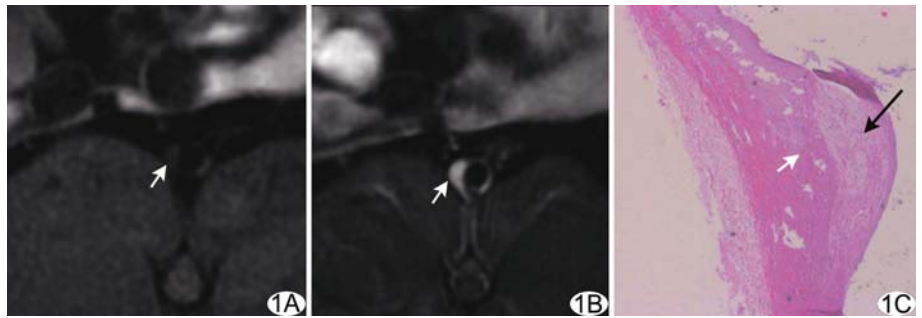


图 1 纤维斑块(短箭)T1WI(A)呈等偏高信号,增强扫描(B)呈均匀强化,病理图(C, HE, ×40)示斑块以纤维成分为主,但其内仍可见脂肪细胞浸润(长箭)

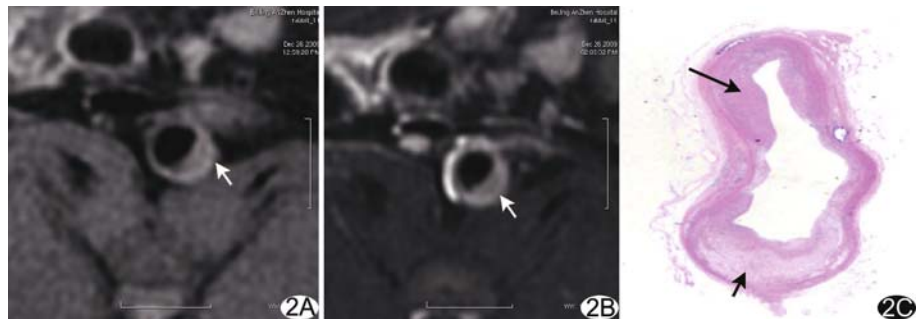


图 2 脂质斑块(短箭) T1WI(A)呈等混杂高信号,增强扫描(B)呈纤维帽强化明显,而脂质部分强化程度较轻(中心低信号带),病理图(C, HE, ×40)可见含纤维帽的脂质斑块,而长箭提示同层面的纤维斑块

1.3 图像后处理及数据分析

将 MRI 传输至 ADW 4.2 工作站进行后处理,为保持 MRI 与病理层面匹配,定义各序列右肾动脉开口层面为 0,向上为负,向下为正。在 T1WI 上计算腹主动脉管壁厚度的平均值,手动绘出腹主动脉管壁的内、外径,计算血管壁厚度、管腔面积及血管壁面积。同时测量腹主动脉在增强前后的平均信号强度(signal intensity, SI),计算增强前后腹主动脉管壁的信号变化: $\% SI = (SI_{post} - SI_{pre}) / SI_{pre} \times 100\%$ 。

对第 3 次 MR 扫描图像进行分析,评判斑块存在与否及斑块成分,将每一层面分成如下类型^[5-6]:正常,即血管壁无明显增厚或增厚程度<平均管壁厚度的 30%,也可表现为增强扫描后管壁信号强度增加<50%;管壁增厚型,即血管壁对称性增厚≥平均管壁厚度的 30%,也可表现为增强后信号强度增加≥50%;纤维斑块,斑块呈均匀一致强化;脂质斑块,可见显著强化的纤维帽和弱强化的脂质核心;管壁钙化, T1WI、T2WI 均呈低信号,增强扫描后无强化。标记

斑块位置以便与病理结果对照。

1.4 组织病理学分析 为便于与 MR 扫描层面对应, 病理以右肾动脉开口处为基准点, 近心端为负, 远心端为正, 对腹主动脉标本由上到下方向每 5.0 mm 为一节段分为若干节段, 仅保留 MRI 分析结果认为存在斑块的节段。进行连续 4 μm 厚度切片并 HE 染色。镜下逐段评估病理切片, 依据美国心脏病协会的病理分型标准^[7]对动脉硬化斑块进行分型。

1.5 统计学分析 使用 SPSS 13.0 统计软件包, 计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物模型制备及腹主动脉 MRI 结果 实验组动物在饲养过程中死亡 1 只, 球囊拉伤实验死亡 1 只, 共有 14 只完成 3 次 MR 检查。对照组动脉在饲养过程中死亡 1 只。

实验组和对照组腹主动脉管腔面积、管壁厚度、管壁面积以及 %SI 见表 1。与对照组相比, 实验组管壁厚度和面积、管腔面积及 %SI 均随时间明显增大 ($P < 0.01$)。实验组腹主动脉管壁厚度和面积、管腔面积随时间延长均增加 (P 均 < 0.05), 对照组管壁厚度和面积、管腔面积随时间延长不同程度地增加, 但仅管腔面积在 2、3 个月间差异有统计意义 ($P < 0.05$), 余差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 MRI 测量腹主动脉结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	管壁厚度 (mm)	管壁面积 (mm ²)	管腔面积 (mm ²)	%SI
实验组				
2 个月	1.0 ± 0.2	10.8 ± 1.2	6.0 ± 1.5	160 ± 64
3 个月	1.1 ± 0.3	12.1 ± 3.3	7.1 ± 2.1	149 ± 50
4 个月	1.2 ± 0.2	18.5 ± 4.8	12.9 ± 4.0	148 ± 60
对照组				
2 个月	0.6 ± 0.2	3.1 ± 1.7	6.8 ± 2.3	42 ± 23
3 个月	0.6 ± 0.3	4.6 ± 1.7	8.0 ± 4.3	64 ± 31
4 个月	0.7 ± 0.3	5.0 ± 4.2	8.8 ± 4.3	42 ± 23

第 3 次 MR 扫描于两组共获得 413 层 (实验组 336 层) 腹主动脉轴位图像, 其中正常管腔 77 层 (实验组 31 层), MRI 显示管壁增厚 234 层 (实验组 205 层), 102 层 (实验组 100 层) 诊断为明确斑块形成, 其中脂质斑块 30 层, 纤维斑块 47 层, 管壁钙化 25 层。纤维斑块表现为 T1WI 低或等信号, T2WI 等信号,

增强扫描后可见斑块呈均匀一致强化 (图 1); 脂质斑块 (图 2) T1WI 呈等或偏高信号, 其内含低信号的脂质坏死核心, T2WI 呈高混杂信号, 增强后信号可增强, 而脂质坏死核心强化程度低于纤维帽成分。钙化在 T1WI、T2WI 及增强后均呈低信号。

2.2 MRI 与组织病理学结果的对照 镜下可见实验组血管内壁增厚明显, 大量泡沫细胞形成, 存在斑块的切片可见内膜下增厚的纤维帽和脂质核心, HE 染色蓝色颗粒为斑块内钙化; 对照组内膜光滑, 管壁厚度均匀, 中层无平滑肌细胞增生和炎性细胞浸润。

比较第 3 次 MRI 与对应层面的病理结果, 证实 MRI 诊断为纤维斑块的 47 层面中, 主要为 III 型斑块或 IV、V 型斑块; MRI 诊断为脂质斑块的 30 层面中, 大部分为 IV、V 型斑块, 而 25 层 MRI 诊断为管壁钙化的层面中, 病理确认 15 层 (表 2)。

3 讨论

3.1 MRI 对兔腹主动脉壁的动脉硬化重构过程的观察 传统的影像学方法有助于判断管腔的狭窄程度, 但对血管壁的观察并不满意。由于动脉管腔可向外扩张以弥补进展的动脉硬化, 维持正常管径, 故 MRI 评估动脉硬化的重点不仅在于判断管腔狭窄程度, 还包括观察管壁重构及识别斑块成分^[8]。

Ronald 等^[9]利用 MRI 动态观察血管壁的重构情况, 发现在建模早期即可出现血管壁面积增厚, 晚期这一变化更加明显, 但该研究仅利用低浓度高脂饲养喂养建立模型, 观察时间较长。本研究早期使用球囊拉伤腹主动脉内膜, 并参照 Phinikaridou 等^[4]方法给予间断高脂喂养, 降低肝中毒导致的死亡率, MRI 在较短时间内检测到斑块的出现率为 29.76% (100/336)。

本研究显示实验组腹主动脉管壁明显厚于对照组, 随着动脉硬化程度的加重, 管壁增厚程度愈加明显。实验组腹主动脉管壁厚度和面积、管腔面积在 3 次 MR 扫描后均有增加。其中管腔面积增加较显著, 并非理论上认为的管腔逐渐狭窄, 提示管壁正性重构的演变强于斑块致管腔狭窄的演变。同期对照组数据提示, 随喂养时间延长, 管壁厚度及血管壁测量值增加, 但大部分变化不具有统计学意义。这些结论与

表 2 MRI 与组织病理学对斑块类型的识别

斑块	MRI (斑块层数)	病理诊断斑块层数 (%)					
		I, II 型	III 型	IV, V 型	VI 型	VII 型	VIII 型
纤维斑块	47	8(17.02)	22(46.81)	14(29.78)	—	—	3(6.38)
脂质斑块	30	—	5(16.67)	23(76.67)	2(6.67)	—	—
钙化斑块	25	2(8.00)	7(28.00)	—	—	15(60.00)	1(4.00)

Worthley 等^[8]的研究结果一致。既往研究^[4,8-9]对管壁信号的变化并未特别关注。本研究中实验组在建模后 2 个月管壁即出现明显强化,同期对照组动物亦出现管壁强化,考虑原因是兔的腹主动脉中层纤维组织强化,受 MRI 空间分辨力限制,不能将动脉壁区分出内膜、中层和外膜,导致图像表现为管壁强化。另外,在动态 MR 扫描过程中,腹主动脉管壁的强化并无明显差异,考虑原因是在建模初期利用球囊拉伤血管内膜,导致纤维组织增生在早期就很明显。

3.2 兔腹动脉硬化斑块的 MRI 特点与组织病理学分型的相关性 在人类颈动脉硬化斑块 MR 成像研究中,将颈动脉硬化斑块分为正常、弥漫增厚、脂质斑块、复杂斑块、钙化斑块和单纯纤维斑块,并与组织病理学分型具有良好的对应关系。但在动物研究中,上述分型标准过于复杂,组织病理学结果也证实,动物模型的腹主动脉壁上,大部分动脉硬化表现为管壁增厚,以纤维组织增生为主;此外,由于动脉拉伤导致的炎症反应,使得斑块内炎性细胞——这一提示斑块易损性的指标在建模早期就相对常见^[11]。本研究结果与上述结论一致。

本研究仅对 MRI 诊断为斑块的图像进行了病理学分析。经病理证实, MRI 确诊的纤维斑块中, 46.81%(22/47)为弥漫增厚, 46.80%(22/47)为误诊,这是因为组织病理学检查与 MRI 对纤维斑块的定义不同。镜下大部分纤维斑块均有不同程度的管壁增厚和泡沫细胞浸润,因此部分层面被 MRI 诊断为 IV、V 型斑块。MRI 诊断脂质斑块的准确性达 76.67%(23/30),另将 6.67%(2/30)的复杂斑块诊为脂质斑块,考虑与其含有的脂质成分有关。经病理证实, MRI 诊断管壁钙化仅有 60.00%(15/25)正确,另有 8.00%(2/25)正常管壁、28.00%(7/25)弥漫增厚和 4.00%(1/25)单纯纤维斑块被误诊为钙化。由此可见, MRI 对脂质斑块的判断能力较好,对纤维斑块的误判、过度诊断和不足诊断比例相当,对管壁钙化的诊断能力一般。另外,由于本研究只对 MRI 可见的斑块进行了病理观察,不能除外漏诊部分斑块(MRI 未显示斑块而未进行病理分析)的可能性。

本研究结果显示,高分辨 MRI 可观察腹主动脉管

壁的重构过程,并可对斑块成分进行鉴别与分型。作为重要的研究手段,在体 MRI 结合兔模型有助于未来对斑块干预治疗后的演变、转归效果进行动态监测,为进一步研究动脉粥样硬化打下基础。

[参考文献]

- [1] Writing Group Members, Lloyd-Jones D, Adams RJ, et al. Heart disease and stroke statistics—2010 update: A report from the American Heart Association. *Circulation*, 2010, 121(7):e46-e215.
- [2] Fuster V, Fayad ZA, Moreno PR, et al. Atherothrombosis and high-risk plaque: Part II: Approaches by noninvasive computed tomographic/magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46(7):1209-1218.
- [3] 仲琳,张运,张梅,等.兔动脉粥样硬化易损斑块模型的建立. *基础医学与临床*, 2005, 25(4):370-374.
- [4] Phinikaridou A, Hallock KJ, Qiao Y, et al. A robust rabbit model of human atherosclerosis and atherothrombosis. *J Lipid Res*, 2009, 50(5):787-797.
- [5] Ma ZL, Teng GJ, Chen J, et al. A rabbit model of atherosclerosis at carotid artery: MRI visualization and histopathological characterization. *Eur Radiol*, 2008, 18(10):2174-2181.
- [6] 宋琼,夏黎明,王承缘,等.兔早期动脉粥样硬化斑块的 MRI 表现与组织病理学对照研究. *中华放射学杂志*, 2006, 40(4):431-433.
- [7] Stary HC. Natural history and histological classification of atherosclerotic lesions: An update. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(5):1177-1178.
- [8] Worthley SG, Helft G, Fuster V, et al. Serial in vivo MRI documents arterial remodeling in experimental atherosclerosis. *Circulation*, 2000, 101(6):586-589.
- [9] Ronald JA, Walcarius R, Robinson JF, et al. MRI of early- and late-stage arterial remodeling in a low-level cholesterol-fed rabbit model of atherosclerosis. *J Magn Reson Imaging*, 2007, 26(4):1010-1019.
- [10] Steen H, Lima JA, Chatterjee S, et al. High-resolution three-dimensional aortic magnetic resonance angiography and quantitative vessel wall characterization of different atherosclerotic stages in a rabbit model. *Invest Radiol*, 2007, 42(9):614-621.
- [11] Phinikaridou A, Ruberg FL, Hallock KJ, et al. In vivo detection of vulnerable atherosclerotic plaque by MRI in a rabbit model. *Circ Cardiovasc Imaging*, 2010, 3(3):323-332.