

家兔脑出血模型头颅CT值变化规律初步探讨

李颖慧¹, 张林山¹, 伍国锋², 任思颖², 李军², 王丽琨², 杨林³

摘要 目的:通过立体定向技术注射家兔自体动脉血到达脑基底节区的方法,构建家兔脑出血模型,分析不同时间段注射血液后头颅CT值的演变规律,探讨脑出血后头颅CT混合征形成的可能机制。**方法:**健康家兔70只,根据注入脑组织血液成分的不同分为全血组(50只)、血浆组(10只)和血清组(10只);对于全血组,根据注血间隔时间的不同又分为5个亚组,分别为A亚组(间隔1h)、B亚组(间隔2h)、C亚组(间隔3h)、D亚组(间隔4h)、E亚组(间隔5h),每组10只,首次注射自体动脉血形成血肿后分别在不同时间段内再次注射相同成分的血液到血肿周边形成二次血肿;对于血清组和血浆组,于注射全血形成血肿后同时间段内向血肿周边或对侧分别注射自体血清或血浆,造模完成后立即行头颅CT,记录家兔头颅CT不同区域的CT值,对比注射不同血液成分CT值的变化和同一血液成分间隔不同时间CT值的变化规律。**结果:**全血组经不同时间段向颅内注血可形成高低不同密度的血肿病灶,其低密度部位CT值高于脑组织与脑脊液,类似混合征表现;血清和血浆组亦可形成高低密度,但低密度部位与脑脊液CT值相近,不易区分,不符合混合征征象。**结论:**二次出血可能是脑出血头颅CT混合征的形成原因,而低密度区可能是首发出血,高密度区则可能是新发出血。

关键词 脑出血;CT;混合征;家兔

中图分类号 R741;R743.34 文献标识码 A DOI 10.16780/j.cnki.sjssgncj.2018.05.001

Preliminary Study on Variation Pattern of CT Values in Rabbits with Cerebral Hemorrhage

LI Ying-hui¹, ZHANG Lin-shan¹, WU Guo-feng², REN Si-ying², LI Jun², WANG Li-kun², YANG Lin³. 1. Department of Emergency Medicine Teaching and Research, Clinical Medicine College, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 2. Department of Emergency Medicine, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 3. Department of Radiology, Affiliated Wudang Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550000, China

Abstract Objective: To establish a rabbit model of intracerebral hemorrhage by injecting autologous arterial blood into the basal ganglia region of rabbits by stereotactic technique, then analyze the evolution of CT values after injection of blood at different time periods in order to explore the possible mechanism of the formation of blend sign. **Methods:** Seventy healthy rabbits were divided into whole blood group (n=50), plasma group (n=10), and serum group (n=10) according to the different blood components injected into the brain. The whole blood group was divided into 5 subgroups with 10 rabbits per subgroup according to time interval between injections: subgroup A (1 h gap), subgroup B (2 h gap), subgroup C (3 h gap), subgroup D (4 h gap), and subgroup E (5 h gap). After the first injection of autologous arterial blood to form a hematoma, the same component of blood was injected again at different intervals into the periphery of the hematoma to form a secondary hematoma; for rabbits in the serum group and plasma group, after hematoma was formed by injection of whole blood, within the same period of time, serum or plasma was injected at positions contralateral or ipsilateral to the first hematoma. Head CT scan was performed immediately following generation of model, and CT value of different cerebral regions was recorded. The CT value of groups injected with different blood components was compared, and the CT value variation pattern between groups injected with the same components at different time intervals was assessed. **Results:** In the whole blood group, injection of blood at different time intervals resulted in hematoma lesions of different densities. The CT value at the low-density site was higher than that of brain tissue and cerebrospinal fluid and was similar to the blend sign. The high and low densities were also formed in the serum and plasma groups, but the low-density sites showed similar CT values as that of cerebrospinal fluid; it was not easily distinguishable and did not meet the criteria of blend sign. **Conclusion:** Secondary hemorrhage may be the cause of brain CT blend sign in intracerebral hemorrhage. Low-density areas may indicate initial bleeding while high-density areas may be secondary bleeding.

Key words intracerebral hemorrhage; CT; blend sign; rabbit

作者单位

1. 贵州医科大学临床医学学院急诊医学教研室
贵阳 550000;
2. 贵州医科大学附属医院急诊医学科
贵阳 550004
3. 贵州医科大学附属医院乌当医院影像科
贵阳 550018

基金项目

国家自然科学基金(No.81460185/H906);
贵州省科学技术基金[(2013)2043];
贵州省高血压性脑出血微创诊疗科技创新人才团队基金[黔科合人才团队(2014)2040];
贵阳市科技计划项目(筑科合同[20161001]51号)及(筑科合同[2017]5-1号)
收稿日期
2018-02-28
通讯作者
伍国锋
wuguofeng3013@sina.com
任思颖
610909857@qq.com

脑出血是神经科常见急症^[1],占卒中发病率的10%~20%^[2],目前尚未发现特效的治疗方案^[3]。初始脑出血血肿体积和发生位置是30d死亡率的预测因素^[4]。超过30%的自

发性脑出血患者会出现血肿扩大,进而影响其预后及转归^[5]。近年来,一些影像学指标对血肿扩大的预测在临床工作中的地位越来越重要,目前发现可以预测血肿扩大的影像学指征主要包括:平扫CT的“混合征”、“黑洞征”、“漩涡征”,增强CT的“渗漏征”,CTA的“斑点征”。混合征预测脑出血血肿扩大在国内外已被众多临床专家证实,但其形成机制及主要成分变化目前不得而知,Li等^[2]推测其可能发生再出血或血肿扩大,相对低密度区可能是由于活动性出血尚未凝结有流动性而形成,基于此推断,本研究通过动物实验初步探究脑出血后头颅CT混合征的形成原因,以期能对脑出血后血肿扩大起预防作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康家兔 70 只,雌雄均可,体质量 3.0~3.4 kg,由贵州医科大学实验动物中心提供,由专人按清洁级家兔饲养。根据注入脑组织血液成分的不同分为全血组、血浆组和血清组,根据注血间隔时间的不同,全血组又分为 5 个亚组,分别为 A 亚组(间隔 1 h)、B 亚组(间隔 2 h)、C 亚组(间隔 3 h)、D 亚组(间隔 4 h)、E 亚组(间隔 5 h)。

1.1.2 主要试剂与材料 ZH-蓝星 B 型兔脑立体定位仪(购于淮北正华生物仪器设备有限公司);电子天平(购于德国 Satourious 公司);5415 R 高速离心机(购于赛默飞公司);4℃冰箱(购于海尔公司);骨蜡(购于美国强生公司),128 层螺旋 CT(购于以色列 PHILIPS 公司);戊巴比妥钠(购于鑫伟烨化工有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 脑出血混合征模型的建立 家兔脑出血模型的制作参照本课题组前期发表的文献^[5-8]。家兔称重后耳缘静脉缓慢注射 5%戊巴比妥(1 mg/kg)麻醉,当兔子出现呼吸浅慢、角膜反射消失、无疼痛反应时麻醉结束。将家兔固定在立体定位仪上,剪毛,暴露头顶部皮肤,碘伏消毒手术区域。手术刀切开皮肤暴露颅骨,3% H_2O_2 烧灼骨膜以暴露前囟和人字缝,于 AP:1 mm, L:6 mm 处钻孔。用 7 号针头沿钻孔位置垂直注入 12 mm,注血 0.3 mL 保持匀速缓慢,前后持续约 3 min,注血完毕后针头保持原位 10 min,待血液凝固后缓慢拔出,骨蜡封闭针孔。全血组在基础造模的基础上根据时间的不同进行颅内二次注血,于 AP:0 mm, L:4 mm 处钻孔,再次注入 0.3 mL,余操作同前。血清组家兔麻醉后取动脉血 3 mL 于生化管中,3 000 r/min

离心 10 min 后保留上清液储存于冻存管中放入 4℃冰箱备用。基础造模结束后暂不缝合皮肤,于 AP:0 mm, L:4 mm 处钻孔。用 7 号针头沿钻孔位置将 0.3 mL 家兔自体血清垂直注入家兔脑实质内,注入深度 8 mm,注血过程保持匀速缓慢。同时在第一次注血的轴对称位置 AP:1 mm, L:6 mm 处钻孔,将 0.3 mL 家兔自体血清垂直注入家兔脑实质内,注入深度 12 mm,注入过程保持匀速缓慢。拔针后骨蜡封闭针孔防止形成颅内积气,消毒头骨暴露区域,缝合皮肤。血浆组:家兔麻醉后取动脉血 3 mL 于枸橼酸钠抗凝管中,3 000 r/min 离心 10 min 后保留上清液储存于冻存管中放入 4℃冰箱备用,余具体步骤同血清组。所有家兔造模结束后立即行头颅 CT 扫描,两次注射区域出现不同密度即为造模成功。

1.3 观察指标

记录家兔头颅 CT 不同区域的 CT 值,对比注射不同血液成分 CT 值的变化和同一血液成分间隔不同时间 CT 值的变化规律。

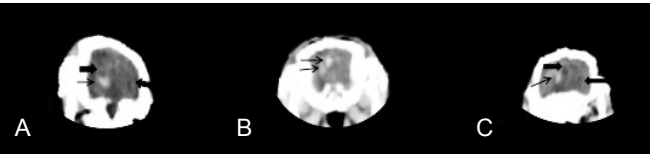
1.4 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析,所有资料均符合正态分布,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,t 检验及单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同血液成分形成的影像学征象

全血组经不同时间段向颅内注血可形成高低不同密度的血肿病灶区,其低密度区 CT 值高于脑组织与脑脊液,血清组和血浆组亦可形成高低密度,但其低密度区与脑组织 CT 值相近,不易区分,不符合混合征征象(图 1)。



注:A:血清组,细箭头所指为全血,粗箭头为血清;B:全血组,箭头所指为全血,两次注射形成相对高低密度;C:血浆组,细箭头为全血,粗箭头为血浆

图 1 注射不同血液成分形成的颅内血肿 CT

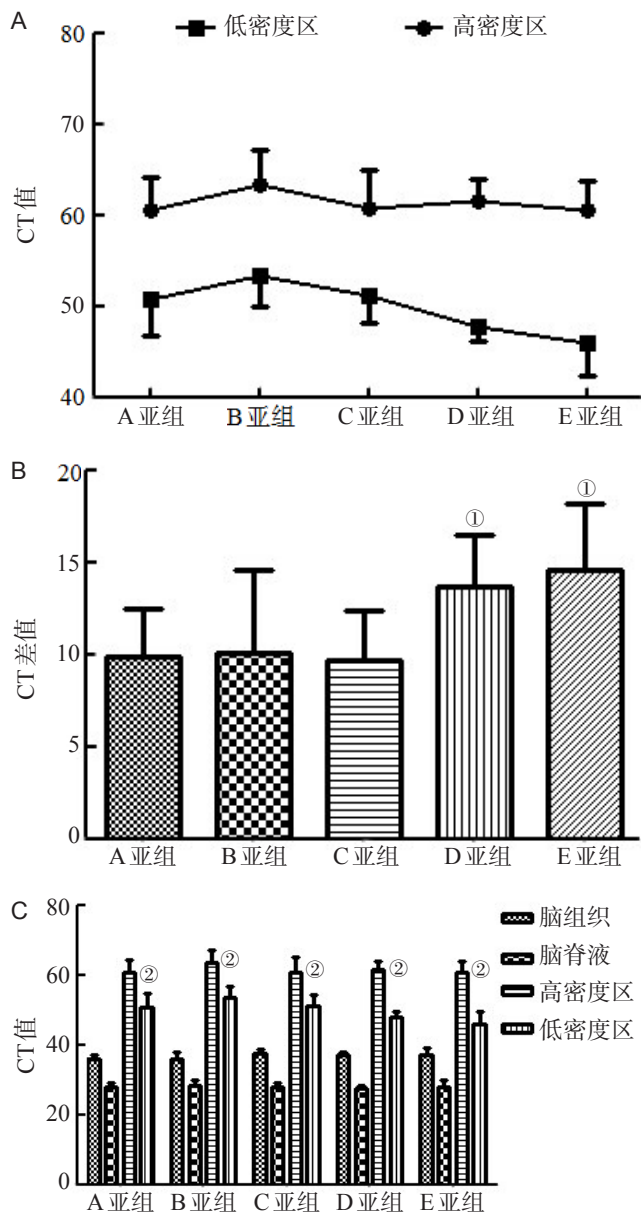
2.2 全血组同时间段内高低密度 CT 值对比

全血组可形成混合密度,高低密度 CT 值之间差异有统计学意义($P<0.05$),但高低密度之间差值均<18 HU(表 1);全血不同时间低密度 CT 值对比发现 A、B、C 亚组低密度区 CT 值要高于 D、E 两亚组,差异有统计学意义($P<0.05$);将不同时间段高低密度差值行单

因素方差分析结果显示,A、B、C三亚组之间差值低于D、E两亚组,差异有统计学意义($P<0.05$),脑组织及脑脊液CT值对比差异无统计学意义($P>0.05$,表1、图2)。

2.3 血浆及血清组高低密度CT值对比

血清组和血浆组高低密度之间差异有统计学意义($P<0.05$),高低密度差值之间差异无统计学意义($P>0.05$),脑组织及脑脊液CT值对比差异无统计学意义($P>0.05$,表1)。



注:A:高低密度CT值变化趋势;B:不同间隔时间CT差值变化,与A、B、C亚组对比,^① $P<0.05$;C:不同间隔时间不同部位CT值变化,与同组间高密度区对比,^② $P<0.05$

图2 全血组各亚组CT值比较

3 讨论

自发性脑出血(spontaneous intracerebral hemorrhage, SICH)发病率约占卒中的15%,其30 d病死率约40%^[9-11]。有研究表明卒中后血肿量每增加1 mL,患者

的死亡或致残率可增加5%,因此早期发现血肿扩大倾向并积极有效治疗可改善预后。Li等^[12]研究显示“混合征”可临床预测血肿扩大。本课题组的前期临床研究也证明脑出血“混合征”和“黑洞征”可预测微创术后的血肿扩大^[13],在混合征组和非混合征组之间可观察到再出血发生率的显著差异。但目前尚未有研究证实高密度与相对低密度区的主要形成机制及主要成分。

混合征是临床常见的预测脑出血血肿扩大的影像学指标,其定义为血肿内存在界限清楚的相邻的低密度区和高密度区,两区域CT值相差至少18 HU,且相对低密度区不能被高密度区包裹^[2]。本课题组的前期研究表明混合征可独立预测立体定向颅内血肿穿刺引流术后再出血的发生,而早有研究表明脑出血后6 h内行立体定向手术再出血发生率明显高于6 h后,那么再出血率升高的原因是否可能为混合征区域是由于发生二次出血致使发病时间 <6 h?众所周知,脑部血管破裂引起凝血系统被激活,正常情况下动脉血液凝固后可析出血清,但脑出血后,红细胞被挤压破坏,凝血因子被消耗,血凝块回缩亦可析出血浆。血液中引起衰减的主要物质是血浆蛋白和红细胞,而红细胞内主要由血红蛋白引起X线的衰减,因此,血红蛋白是引起CT密度变化的主要物质^[14]。血液溢出血管后,红细胞分解,溢出含铁血黄素,纤维蛋白引起血肿收缩,CT值为50~80 HU,血肿CT值与血色素的含量有直接关系,血色素每下降1 g,CT值减少2 HU。本研究通过两次向家兔头内不同的部位注射自体动脉血及不同的血液成分,发现全血组可形成类似混合征的CT高低密度,而血清组和血浆组未能形成,此结果也印证引起CT值变化的主要物质是血红蛋白。Li等^[2]猜测混合征低密度的形成原因可能是有持续的液态血液不断流出,因新发流动性出血的CT值稍低于已凝结血液的CT值。本研究将全血组分成5个亚组,分别间隔1~5 h两次注血,结果显示,第二次注血形成血肿区的CT值高于首次。血管破裂使血液流出,红细胞受到挤压发生凝聚、破裂,释放血红蛋白,其CT值为47~60 HU,随着血凝块增多,血肿内血红蛋白浓度较前明显增加,CT值可上升到85~90 HU,且随着时间推移CT值不断衰减^[15]。不同时间段的血液血红蛋白浓度不同,因此在CT上形成高低不同密度。但本研究进行实验家兔第二次注血后立即行头颅CT,扫描CT结果显示新注入血液CT值并未低于首次注血CT值,故低密度区血液是否为新发流动性血液还有待商榷。本研究中家兔CT值并未相差18 HU,可能与家兔血液成分、注射时间、血液状态、

表1 全血组不同亚组注射血液形成血肿的CT值变化(HU, $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	高密度区	低密度区	高-低差值	脑组织	脑脊液
全血组						
A亚组	10	60.57±3.55	50.71±3.89	9.86±2.60	36.06±0.85	27.90±1.01
B亚组	10	63.37±3.75	53.28±3.30	10.09±4.48	35.89±2.01	28.10±1.77
C亚组	10	60.83±4.06	51.13±3.01	9.70±2.66	37.37±1.21	27.86±1.22
D亚组	10	61.50±2.42	47.80±1.68 ^①	13.70±2.77 ^②	37.10±0.82	27.34±1.08
E亚组	10	60.48±3.21	45.88±3.59 ^①	14.60±3.59 ^②	37.00±1.87	27.86±2.18
血浆组	10	54.17±3.46	25.40±2.09 ^③	28.77±5.49	37.28±1.39	27.62±0.78
血清组	10	52.65±6.35	25.99±2.23 ^③	26.66±7.60	37.26±0.99	27.93±0.52

注:低密度区全血各亚组之间对比差异有统计学意义($F=8.375, P<0.05$),组间两两对比行LSD检验结果显示,与前三亚组对比,D、E两亚组低密度区CT值降低,^① $P<0.05$;高密度区各亚组对比差异无统计学意义($F=1.209, P=0.32$);高低密度之间CT差值具有统计学意义($F=5.127; P=0.002$),组间两两对比行LSD检验结果显示,与前三亚组对比,D、E两亚组差值增高,^② $P<0.05$;各亚组脑组织CT值之间差异无统计学意义($F=2.115, P=0.095$);各亚组脑脊液CT值之间差异无统计学意义($F=0.352, P=0.841$)。与同组高密度区比较,^③ $P<0.05$

混入其他物质等有关。本研究尚存在诸多不足,因应用自体动脉血注射法构建家兔脑出血模型,针道与脑脊液相通,故可能混入脑脊液对血液有稀释作用而影响CT值的变化。与此同时,本研究注射的血清和血浆为离心后的纯血清和血浆,因此CT值低于全血和脑组织,但脑出血患者因为颅内空间密闭,红细胞破裂和血液凝固可析出血清和血浆,但在此过程中可混入全血起到稀释作用,进而CT值升高,故暂不能排除血清和血浆的稀释作用。

综上所述,本研究表明头颅CT混合征的高低密度(高密度及次高密度)两部分可能均是相同成分为全血,不同时间点注射全血到基底节区可以形成混合征,而注射血浆或血清不能形成混合征。二次出血可能是脑出血头颅CT混合征的形成原因,低密度区是可能是首发出血,高密度区可能是新发出血。

参考文献

[1] 韩书清, 戴芹, 王章勇, 等. 微创软通道与硬通道手术治疗幕上高血
压脑出血的临床对比研究[J]. 神经损伤与功能重建, 2017, 12: 260-261.
[2] Li Q, Zhamg G, Huang YJ, et al. Blend sign on computedtomography:
novel and reliable predictor for early hematoma growth in patients with
intracerebral hemorrhage[J]. Stroke, 2015, 46: 2119-2123.
[3] Zhao XR, Gonzales N, Aronowski J. Pleiotropic role of PPAR γ in
intracerebral hemorrhage: an intricate system involving Nrf2, RXR, and
NF- κ B[J]. Cns Neurosci Ther, 2015, 21: 357-366.
[4] 杭航, 王丽琨, 伍国锋, 等. 罗格列酮预处理对凝血酶激活的大鼠小
胶质细胞过氧化酶活化增生受体依赖还原型辅酶/II 醌氧化还原酶 I 及

γ 谷氨酰半胱氨酸合成酶表达的影响[J]. 中华神经科杂志, 2016, 49:
536-542.
[5] Wu G, Li C, Wang L, et al. Minimally invasive proceduresfor
evacuation of intracerebral hemorrhage reduces perihematomal glutamate
content, blood-brain barrier permeability and brain edema in rabbits[J].
Neurocrit Care, 2011, 14: 118-126.
[6] Wu G, Sheng F, Wang L, et al. The pathophysi0109icaltime window
study of performing minimally invasive procedures for the intracerebral
hematoma evacuation in rabbit[J]. Brain Res, 2012, 1465: 57-65.
[7] Wu G, Wang L, Hong Z, et al. Effects of minimally invasive
procedures for removal of intracranial hematoma on matrix
metalloproteinase expression and blood-brain barrier permeability in
perihematomal brain tissues[J]. Neurol Ras, 2011, 33: 300-306.
[8] 任思颖, 杨勤, 伍国锋, 等. MIS 后病灶区灌注 RSG 对家兔 ICH 模型
血肿周围继发性脑损伤的作用[J]. 重庆医学, 2016, 45: 3896-3899.
[9] Qureshi AI, Mendelow AD, Hanley DF. Interacerebral haemorrhage[J].
Lancet, 2009, 373: 1632-1644.
[10] Van Asch CJ, Luitse MJ, Rinkel GJ, et al. Incidence,case fatality,and
functional outcome of intracerebral haemorrhage over time, according to
age, sex, and ethnic origin: a systematic review and meta-analysis[J].
Lancet Neurol, 2010, 9: 167-176.
[11] Demchuk AM, Dowlatshahi D, Rodriguez-Luna D, et al. Prediction of
haematoma growth and outcome in patients with intracerebral
haemorrhage using the CT-angiography spot sign (PREDICT): a
prospective observational study[J]. Lancet Neurol, 2012, 11: 307-314.
[12] Li Q, Zhamg G, Huang YJ, et al. Blend sign on computedtomography:
novel and reliable predictor for early hematoma growth in patients with
intracerebral hemorrhage[J]. Stroke, 2015, 46: 2119-2123.
[13] Wu G, Shen Z, Wang L, et al. Post-operative re-bleeding in patients
with hypertensive ICH is closely associated with the CT blend sign[J].
BMC Neurol, 2017, 17: 131-153.
[14] 张玉忠, 张雪林, 张文生, 等. 胸部非增强 CT 评价贫血的准确性[J].
中华放射学杂志, 2006, 40: 1068-1070.
[15] Derex L, Hermier M, Adeleine P, et al. ClinicalI and imaging
predictors of intracerebral haemorrhage in stroke patients treated with
intravenous tissue plasminogen activator[J]. J Neurol Neurosurg
Psychiatry, 2005, 76: 70-75.

(本文编辑:王晶)