

高脂血症兔颈总动脉血流动力学超声检测及病理检验

孙立涛¹, 田家玮¹, 付 旷², 王珍珍¹, 王 影¹, 刘宇杰¹

(哈尔滨医科大学附属第二医院 1. 超声医学科 2. 核磁共振室, 吉林省哈尔滨市 150086)

[关键词] 内科学; 超声医学; 兔; 颈总动脉; 动脉粥样硬化; 血流动力学

[摘要] **目的** 利用多普勒超声对高脂血症兔不同时间段的血流动力学检查, 探讨动脉粥样硬化早期血流动力学变化规律。**方法** 60 只新西兰大白兔随机分为 2 组, 对照组 15 只, 基础饲料喂养; 实验组 45 只, 高脂饮食。各组再随机分为 3 个亚组, 分别喂养至 4 周、8 周和 12 周, 超声测量颈总动脉血流动力学参数包括: 收缩期峰值流速、舒张期流速、搏动指数、阻力指数, 收缩期和舒张期血管内径, 并行血脂及病理学检查。**结果** 实验组兔血清中胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇含量显著升高, 8 周达高峰, 12 周略有下降; 高密度脂蛋白胆固醇含量 8 周开始显著降低; 甘油三酯含量随造模时间延长逐渐升高 ($P < 0.01$)。同一时相点上, 与对照组比较, 各实验组颈总动脉血管内径、阻力指数差异均有显著性 ($P < 0.01$), 收缩期峰值流速在 12 周, 舒张期峰值流速在 4 周、8 周, 搏动指数在 4 周、12 周差异均有显著性 ($P < 0.05$)。组间比较, 舒张期内径差异无显著性 ($P > 0.05$), 收缩期内径在 4 周和 12 周时差异均有显著性 ($P < 0.05$), 收缩期峰值流速、舒张期流速、搏动指数在 4 周与 12 周, 8 周与 12 周时差异有显著性 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$); 阻力指数在 4 周与 8 周、12 周, 8 周与 12 周差异均有显著性 ($P < 0.01$)。**结论** 血流动力学检测可以动态观察动脉粥样硬化发生发展的过程, 其改变早于形态学改变, 对早期诊断动脉粥样硬化具有重要意义。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Ultrasound Measurement and Pathological Analysis of Common Carotid Artery Hemodynamic Changes in Hyperlipidemia Rabbits

SUN Li-Tao, TIAN Jia-Wei, FU Kuang, WANG Zhen-Zhen, WANG Ying, and LIU Yu-Jie

(Ultrasound Department and MRI Department, The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, China, 150086)

[KEY WORDS] Ultrasonography; Rabbit; Common carotid artery; Atherosclerosis; Hemodynamics

[ABSTRACT] **Aim** To observe the hyperlipemia rabbit hemodynamic changes in the early stage of atherosclerosis by using Doppler ultrasound at different time point. **Methods** 60 white big-ear rabbits were divided into two groups randomly: 15 rabbits (control group) were fed with normal rabbit chow, while 45 rabbits (experiment group) were fed with high cholesterol diet. Then each group was divided into three subgroups that were fed for 4 weeks, 8 weeks and 12 weeks respectively. Hemodynamic parameters (including systolic peak velocity, diastolic velocity, pulsatility index, resistant index, diameter of systole and diastole), blood lipid levels and the pathological examination were detected at each time point. **Results** Levels of cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol of experiment group increased significantly and reached peaks at 8 week, then they decreased slightly at 12 week; levels of high density lipoprotein cholesterol decreased significantly from 8 week; triglyceride level had an obvious elevation during the experiment ($P < 0.01$). The rabbit blood vessel diameter and resistance index were with significant difference compared with control group at the same time point ($P < 0.01$). Systolic peak velocity of 12 week, diastolic peak velocity of 4 week and 8 week, and pulsatility index of 4 week and 12 week of experiment group were all significant in statistics ($P < 0.05$). Among the subgroups Dd had no significant changes; Ds changed at 4 week and 12 week ($P < 0.05$); Vs, Vd and PI between 4 week and 12 week, 8 week and 12 week were different ($P < 0.01$ or $P < 0.001$); RI between 4 week and other two time points, 8 week and 12 week were different ($P < 0.01$). **Conclusion** Hemodynamic changes of color Doppler, that presented earlier than morphology, may dynamically detect the progression of atherosclerosis, and play an important role in early diagnosis of atherosclerosis.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)性疾病是一个全球的重负,不但威胁发达国家像北美和欧洲,对中国、印度这样的发展中国家也是一个严重的威胁。

目前心脑血管疾病已成为威胁人类健康的“头号杀手”,然而绝大多数心脑血管事件发生在“健康”人群,仅有 20% 的事件发生在确诊为临床疾病的患者,因此早期准确地诊断亚临床动脉硬化,对预防心脑血管事件的发生具有重要意义。本研究采用高脂血症兔模型,通过彩色多普勒超声观察颈动脉的早期动脉硬化的血流动力学的变化,探讨多普勒超声对早期 As 诊断的可能性。

[收稿日期] 2007-09-26

[修回日期] 2008-07-25

[基金项目] 黑龙江省科技厅自然基金项目(D200603)

[作者简介] 孙立涛,博士,副主任医师,研究方向为心血管超声,联系电话为 0451-86605253, E-mail 为 litaosun1971@sina.com。通讯作者田家玮,硕士,主任医师,博士研究生导师,研究方向为心血管超声。付况,博士,副主任医师,研究方向为心血管磁共振成像。

1 资料与方法

1.1 研究对象

新西兰大白兔 60 只(哈尔滨医科大学二院动物实验中心提供),雄雌各半,4~6 个月的月龄,体重 2.5 ± 0.5 kg。室温下单笼饲养,经 1 周适应性饲养后进入实验。随机分成 2 组,对照组 15 只和实验组 45 只。各组再随机分成 3 个亚组,对照组每个亚组 5 只,实验组每个亚组 15 只:分别喂养 4 周,8 周和 12 周。A 组饲以基础饲料,B 组饲以高脂饲料,另添加 15% 蛋黄粉(江西泰和县蛋黄粉厂)、5% 动物油和 2% 胆固醇(北京奥博星试剂厂,生物化学试剂、分析醇二级),配以基础饲料加工而成的颗粒饲料。每只兔每天自由喂养。在喂养 4 周、8 周和 12 周时进行血脂、颈动脉多普勒超声及病理学检测。

1.2 血脂检查

于兔耳缘静脉采取 2 mL 血液标本,应用日立-7170 全自动生化分析仪检测血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、甘油三酯(triglyceride, TG)。

1.3 超声检查

应用美国 GE Vivid 7 超声诊断仪,选用高频线阵探头,频率 5~14 MHz 进行分析。用 3% 戊巴比妥钠,按照 30 mg/kg 将兔耳缘静脉注射麻醉后,仰卧位固定于检查床上,颈前备皮。探头置于兔气管旁,显示颈总动脉短轴,将探头转动 90°,沿血管走行做颈总动脉纵切扫查,在下颌角颈总动脉分叉近心端 1.0 cm 处测量,观察血流充盈情况,取样容积置于病变处血管中心,使声束与血流间夹角 $< 60^\circ$,观察

频谱特征,测量收缩期峰值流速(systolic peak velocity, Vs),舒张期峰值流速(diastolic peak velocity, Vd),搏动指数(pulsatility index, PI)、阻力指数(resistance index, RI)、收缩期血管内径(systolic blood vessel inner diameter, Ds),舒张期血管内径(diastolic blood vessel inner diameter, Dd)。

1.4 病理学检查

在 4 周、8 周和 12 周完成上述检查后,利用空气栓塞法处死兔,按超声探测部位截取相应的颈总动脉,肉眼观察有无形态学改变,然后将截取病变部位 5~10 mm,剥脱血管外膜的结缔组织,生理盐水冲洗,并用生理盐水加压灌注动脉腔使管腔呈充盈状态,应用手术剪刀沿动脉管腔剖开,仔细检查动脉腔内壁光滑程度,有无斑块及斑块的部位,继而将截取的动脉编号、标记,放置在 10% 多聚甲醛标记的小广口瓶内固定,石蜡包埋,切片,HE 染色和弹力纤维染色,光镜下进行观察。

1.5 统计学处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SAS 9.13 统计学软件进行分析。统计方法采用方差分析,组间比较采用 SNK 检验, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 血脂检查结果

实验组兔 TC、LDL 和 TG 呈升高趋势,以 TC 为著,在 4 周时增高 30 倍左右,TC、LDL 上升幅度于第 8 周达高峰,12 周时回落,趋于稳定,TG 持续升高,而 HDLC 呈下降趋势,亦于第 8 周下降明显,12 周有所回升,趋于稳定。不同处理组间差异有显著性($P < 0.01$,表 1)。

表 1. 4 组家兔血脂水平比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

分 组	例数	TC	TG	HDLC	LDLC
对照组	15	1.12 ± 0.46	0.84 ± 0.33	0.73 ± 0.28	1.31 ± 0.56
实验组 4 周组	15	33.96 ± 2.79^a	1.12 ± 0.48^a	0.72 ± 0.22	6.51 ± 0.60^a
实验组 8 周组	15	42.32 ± 2.72^a	3.22 ± 1.03^a	0.27 ± 0.05^a	14.19 ± 2.39^a
实验组 12 周组	15	39.29 ± 0.89^a	3.78 ± 0.80^a	0.35 ± 0.12^a	8.26 ± 0.10^a

a 为 $P < 0.01$,与对照组比较。

2.2 血流动力学变化情况

血流动力学参数情况为 Ds、Dd 和 Vs 受高脂因素的影响,差异有显著性($P < 0.01$);搏动指数受时间因素及两者交互作用的影响,差异有显著性($P < 0.01$);Vd 受时间、高脂因素的影响,差异有显著性($P < 0.01$);RI 受时间与高脂因素及两者交互作用

的影响,差异有显著性($P < 0.05$)。同一时间点上,与对照组比较,实验组兔各项血流动力学指标,Ds、Dd 和 RI 差异有显著性($P < 0.05$);Vs 在 12 周时差异有显著性,Vd 和 PI 在 4 周和 12 周时差异有显著性($P < 0.01$)。组间比较 Ds 差异无显著性;Dd 在 4 周和 12 周,Vs、Vd 和 PI 在 4 周与 12 周,8 周与 12 周

时差异有显著性($P < 0.01$); RI 在 4 周与 8 周、12 周, 8 周与 12 周差异均有显著性($P < 0.01$)。从上面各项指标中也可以看到这样的趋势, 血管内径先呈现轻度的扩张, 然后出现回缩, 以 Dd 变化比较明显; Vd 变化同血管内径变化趋势一致; PI 和 RI

随着造模时间的延长, 出现先减低后升高的趋势(表 2)。对照组兔频谱呈双峰, 包络光滑, 主波高尖、有频窗; 实验组兔的频谱包络光滑, 其频谱形态未见明显改变, 随着喂养时间的延长 PI 和 RI 值先降低后增高, 实验组中重者甚至出现负向波(图 1)。

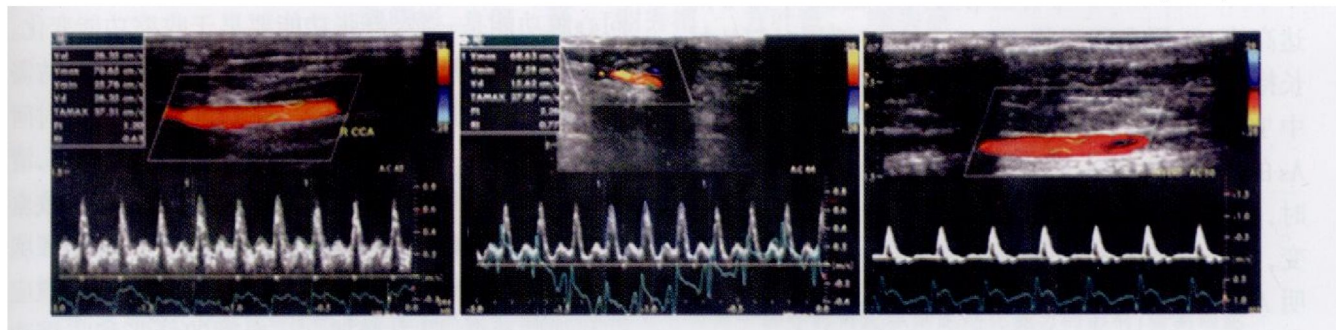


图 1. 兔的血流频谱图) 左图为正常兔, 血流频谱为高阻型; 中图为实验 4 周组, 血流频谱为低阻型; 右图为高脂喂养 12 周组, 血流频谱为高阻型, 舒张早期出现负向波。

表 2. 超声检测兔血流动力学参数结果 ($\bar{x} \pm s$)

分 组	例数	Dd(mm)	Ds(mm)	Vs(cm/s)	Vd(cm/s)	PI	RI
对照 4 周组	5	1.70 $\pm$ 0.12	1.90 $\pm$ 0.14	63.60 $\pm$ 0.19	13.86 $\pm$ 2.65	2.25 $\pm$ 0.44	0.76 $\pm$ 0.03
实验 4 周组	14	1.92 $\pm$ 0.14 ^a	2.24 $\pm$ 0.18 ^a	59.73 $\pm$ 8.83	24.08 $\pm$ 4.15 ^a	1.18 $\pm$ 0.22 ^a	0.59 $\pm$ 0.04 ^a
对照 8 周组	5	1.60 $\pm$ 0.10 ^a	1.74 $\pm$ 0.09	50.96 $\pm$ 5.99	11.30 $\pm$ 2.24	1.86 $\pm$ 0.13	0.78 $\pm$ 0.02
实验 8 周组	14	1.83 $\pm$ 0.22	2.22 $\pm$ 0.24 ^a	65.70 $\pm$ 15.66	22.62 $\pm$ 8.43 ^a	1.49 $\pm$ 0.47	0.65 $\pm$ 0.08 ^a
对照 12 周组	4	1.55 $\pm$ 0.13	1.73 $\pm$ 0.17	45.37 $\pm$ 8.04	10.20 $\pm$ 1.41	1.84 $\pm$ 0.39	0.77 $\pm$ 0.07
实验 12 周组	14	1.78 $\pm$ 0.14 ^b	2.14 $\pm$ 0.19 ^a	79.77 $\pm$ 26.13 ^a	7.20 $\pm$ 5.25	3.44 $\pm$ 1.32 ^a	0.91 $\pm$ 0.07 ^a

a 为 $P < 0.01$, b 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.3 病理检查结果

实验组 4 周时颈动脉内膜光滑、完整, 无脂斑、脂纹出现; 仅见部分区域平滑肌细胞大小不等, 间隙增宽, 排列紊乱, 少量细胞核增大; 部分区域弹力纤维变细, 间隙增大(图 2 和图 3)。8 周时内膜可见少量泡沫细胞沉积, 内皮细胞排列紊乱, 弹力纤维局部中断或消失。12 周时可见针头样的黄色斑点隆起于管腔面, 内膜增厚, 大量泡沫细胞聚集, 形成脂纹, 并可见平滑肌细胞增生(图 4)。对照组内膜光滑, 完整, 未见泡沫细胞沉积和平滑肌细胞增生。

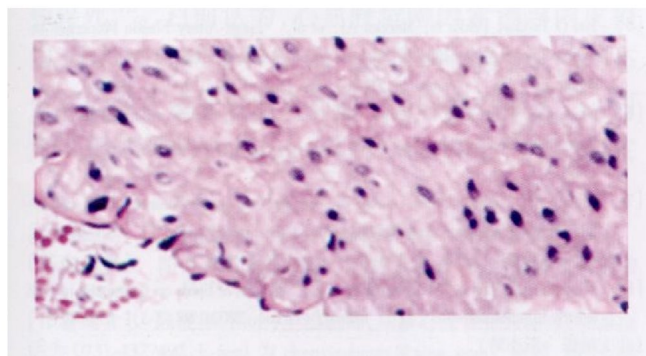


图 2. 实验组 4 周时部分区域见平滑肌细胞排列紊乱(HE × 40)

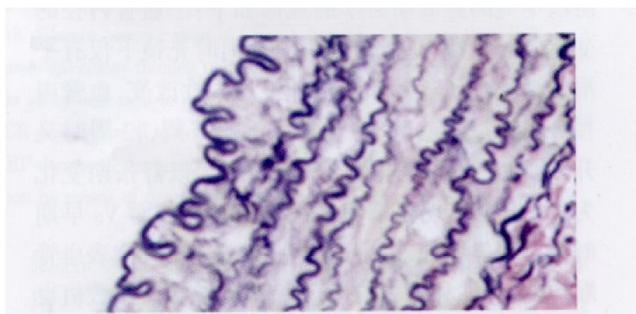


图 3. 实验组 4 周时部分区域见弹力纤维变细(弹力纤维染色 × 40)

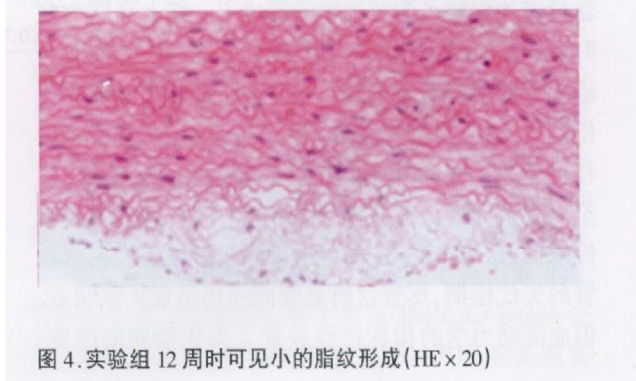


图 4. 实验组 12 周时可见小的脂纹形成(HE × 20)

3 讨论

高脂血症是导致 As 最重要的危险因素^[1]。超声检测血流动力学参数改变对诊断早期 As 具有重要的参考价值。本研究发现 4 周、8 周和 12 周血清中 TC、LDLC 和 TG 均明显增高, TC、LDLC 于第 8 周达高峰, 12 周有所回落, 而 TG 则随着造模时间的延长持续升高, 这与以往的文献报道不一致^[2]。血清中 TC、LDLC 和 TG 含量升高, 可损伤内皮细胞, 促进 As 的形成, 造模 4 周时, 在高脂血症而无 As 形成时, 内皮细胞部分结构及弹力纤维就已经发生了改变, 8 周时, 组织学上表现为散在的小脂点形成, 说明 As 形成, 同时 HDLC 出现减低, 则说明抗 As 过程的出现, As 造模的成功, 值得提出的是兔龄在 As 形成中具有一定的作用, 本实验虽然将喂养时间控制在一定范围内, 但 Vd、搏动指数、阻力指数仍受时间及高脂因素两者交互作用的影响, 因此, 制做 As 模型时, 要考虑到喂养时间因素影响。

血流动力学变化规律 As 所引起的管壁组织学和生物力学的改变必然会影响到循环系统的功能, 已有报道在 As 早期, 甚至在发现血管内中膜增厚以前, 即可发生血管壁的功能失调^[3,4], 即高胆固醇血症时血管功能就已经发生改变。作者将 As 早期的时间段规定为高脂血症形成到条形脂纹形成的这一阶段中兔的血流动力学的规律如下: 血管内径的变化以舒张期为主, 高脂饲养 4 周时光镜下仅有平滑肌细胞排列紊乱和弹性纤维局限性改变, 血管内径表现为扩张趋势, 持续扩张到第 8 周, 12 周时又开始回缩; ④血流速度同样也表现为以舒张期变化为著, Vd 也呈现先增高, 后下降的趋势; 而 Vs 早期时未见明显增加, 以后逐渐呈升高趋势; ⑤代表血管顺应性、弹性和阻力的指标搏动指数、阻力指数值也表现为先减低后升高的趋势, 说明高脂血症形成时, 血管弹性有所增加, 即血管壁已经发生功能性的改变, 但其导致血管弹性增加的确切机制仍不十分清楚, 有报道 As 早期动脉弹性增加是由于血管壁脂质含量增加促使了泡沫细胞的形成^[5]。综上高脂血症时血管的这种代偿期一直持续到 8 周, 在 12 周时当动脉管壁形成典型的脂纹小斑块, 血管壁出现失代偿期表现, 管径开始回缩, 但与对照组比较, 血管内径仍呈现扩张的状态, 但 Vs 开始增快, Vd 减低, 甚至出现负向的血流速度, 血管阻力增加、顺应性及弹性减低, 这也证实 As 的早期即脂纹期就已经出现血管的失代偿期, 尽管这时血管内径仍呈现扩张状态, 但血流动力学的指标已经表现了失代偿期的改变。

这与 Glagov 等^[6] 研究结果相一致的。

从本研究结果还可以发现, Vs 表现为持续的升高, 但只有到了 12 周时与对照组比较才有统计学意义, 而 Vd 在 4 周和 8 周时 Vd 明显增加, 于 12 周时 Vd 基本恢复到初始状态。这说明了血管壁的功能同心脏功能是一致的, 舒张功能要早于收缩功能变化。这主要由于高脂血症早期, 机体为了满足自身的需要, 表现为以舒张功能主的一系列改变, 但随着时间的延长, 脂蛋白等血液成分在血管壁的大量沉积, 清除率降低, 红细胞的携氧及释放氧能力的减低, 致血管内皮细胞缺氧, 内膜断裂, 巨噬细胞、平滑肌细胞增生, 弹力纤维中断, 造成管壁结构改变, 血管顺应性和弹性减低, 阻力增加^[7,8], 血管的舒张和收缩功能同时发生改变。以前的研究中忽视了 As 的脂纹形成以前的血流动力学变化, 仅从脂纹期开始观察了血流动力学变化, 表现为 Vs 增加, Vd 减低, 血流阻力明显增加, 血管弹性减低。因此, 作者可以这样认为: As 脂纹期虽然是 As 的早期, 但血管壁的功能已经表现为失代偿期, 只是血管内径较基础状态仍表现为扩张, 而在整个连续的变化过程中呈现的是缩窄的趋势, 但各项血流动力学指标表现了一种失代偿期的改变。

总之, 通过上述的研究证明彩色多普勒超声通过对血流动力学指标的检测可以早期发现 As 血管壁的功能变化, 为早期诊断 As 提供了重要参数。

[参考文献]

- [1] Xia HM, Gao YH, Cui H, et al. Ultrasonic techniques in monitoring the morphology and histology characteristics of aorta in atherosclerotic rabbits [J]. *Chin J Med Imaging Technol*, 2003, **19** (12): 1 600-602.
- [2] Wang HY, He ZY, Ding QH, et al. The changes and effects of Na⁺-K⁺-ATPase in red cell and the parameters of blood viscosity in progress of atherosclerosis of rabbits [J]. *J Third Mil Med Univ*, 1997, **19** (6): 213-216.
- [3] Manijhe MD, Negah N, Hajhir S. Detection of initial symptoms of atherosclerosis using estimation of local static pressure by ultrasound [J]. *Atherosclerosis*, 2005, **178**: 123-128.
- [4] Nagai Y, Mutsumoto M, Metter EJ. The carotid artery as a noninvasive window for cardiovascular risk in apparently healthy individuals [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2002, **15**: 1 101-108.
- [5] Jyri O Toikka, Pekka N, Markku AJ, et al. Large-Artery Elastic Properties in Young Men Relationships to Serum Lipoproteins and Oxidized Low-Density Lipoproteins [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, **19** (2): 436-441.
- [6] Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, et al. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries [J]. *N Eng J Med*, 1987, **316** (22): 1 371-375.
- [7] Klimov AN, Denisenko AD. On the seeming and real atherogenicity of LDLP-IgG immune complexes in blood plasma and the arterial wall [J]. *Vestn Ross Akad Med Nauk*, 2007, **7**: 3-6.
- [8] Tousoulis D, Davies G, Ambrose J, et al. Effects of lipids on thrombotic mechanisms in atherosclerosis [J]. *Intern J Cardiol*, 2002, **86** (2-3): 239-247.

(此文编辑 李玲玲)