

❖ 实验研究

Establishment and assessment of chronic coronary stenosis model for fractional flow reserve derived from coronary CT angiography in Bama miniature pig

MA Yue¹, HOU Yang^{1*}, LI Dongyu², LIU Xingli³, QIAO Aike⁴,
HOU Yingying⁴, WANG Yuke⁵, GUO Qiyong¹

(1. Department of Radiology, 2. Department of Cardiac Surgery, 3. Department of Third Cardiology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China; 4. College of Life Science and Bioengineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China; 5. Department of Radiology, Liaoning Provincial People's Hospital, Shenyang 110016, China)

[Abstract] **Objective** To establish chronic coronary stenosis model for fractional flow reserve derived from coronary CT angiography (FFR_{CT}) in Bama miniature pig, and to evaluate its reliability. **Methods** Sixteen Bama miniature pigs were used to establish chronic coronary stenosis models through placing Ameroid constrictor into proximal or middle segments of left anterior descending arteries (LAD). In the 2nd week after modeling, the degrees of stenosis were monitored with coronary CTA. Invasive coronary angiography was used to verify stenosis degrees and measure fractional flow reserve (FFR) within 2 days of last coronary CTA examination. Computational fluid dynamics model was constructed and FFR_{CT} was calculated by the specialized laboratory based on coronary CTA data respectively. Simulated FFR_{CT} and FFR values were compared to verify this model. **Results** Models were successfully established in 10 pigs with a total of 24 coronary CT examinations, of which image quality met the diagnostic requirements. All models were with LAD stenosis < 25% in the 2nd week after operation. LAD stenosis > 50% was found in the 3rd week in 9 pigs, and the other one was found with LAD stenosis > 50% in the 4th week. The results of coronary CTA corresponded to those of coronary angiography. There was no significant difference between simulated FFR_{CT} and FFR value ($t = -1.13$, $P = 0.29$). **Conclusion** Through placing Ameroid constrictor into LAD of Bama miniature pig and monitoring the degree of stenosis with coronary CTA, model of chronic coronary stenosis could be successfully established, which are suitable for noninvasive simulating hemodynamics study based on coronary CTA.

[Key words] Coronary stenosis; Models, animal; Tomography, X-ray computed; Coronary angiography

DOI:10.13929/j.1003-3289.201704013

建立及评价适于血流储备分数 CT 成像模拟的小型猪慢性冠状动脉狭窄模型

马 跃¹, 侯 阳^{1*}, 李东玉², 刘兴利³, 乔爱科⁴, 侯映映⁴,
王玉科⁵, 郭启勇¹

(1. 中国医科大学附属盛京医院放射科, 2. 心脏外科, 3. 第 3 心血管内科, 辽宁 沈阳 110004;

[基金项目] 国家自然科学基金(81301221)、辽宁省教育厅高等学校创新团队(LT2014017)。

[第一作者] 马跃(1983—), 女, 辽宁锦州人, 博士, 主治医师。研究方向: 胸部影像诊断。E-mail: mmaayyueeezz@163.com

[收稿日期] 侯阳, 中国医科大学附属盛京医院放射科, 110004。E-mail: houyang1973@163.com

[收稿日期] 2017-04-05 **[修回日期]** 2017-11-23

4. 北京工业大学生命科学与生物工程学院, 北京 100124;

5. 辽宁省人民医院放射科, 辽宁 沈阳 110016)

[摘要] **目的** 建立适于血流储备分数 CT 成像(FFR_{CT})模拟研究的小型猪慢性冠状动脉狭窄模型,并评价其可靠性。**方法** 巴马小型猪 16 头,开胸于冠状动脉前降支近或中段放置 Ameroid 缩窄环。建模后第 2 周进行冠状动脉 CTA 监测其狭窄程度;末次冠状动脉 CTA 检查 2 日内进行冠脉造影验证狭窄程度,并测血流储备分数(FFR)。基于冠状动脉 CTA 图像建立计算流体力学模型,获得 FFR_{CT} 值,并与 FFR 值进行比较,验证模型可靠性。**结果** 10 头小型猪成功建模,共完成 CTA 检查 24 次,图像质量均达到诊断要求。术后第 2 周,前降支轻微狭窄,术后第 3 周 9 头实验猪狭窄 $>50\%$,术后第 4 周其余 1 头狭窄 $>50\%$ 。冠状动脉 CTA 示狭窄程度与冠状动脉造影结果一致。 FFR_{CT} 值与实测 FFR 值差异无统计学意义($t=-1.13, P=0.29$)。**结论** 应用 Ameroid 环置入巴马小型猪冠状动脉左前降支近段或中段,并定期采用 CTA 监测,可有效建立适用于基于冠状动脉 CTA 图像无创性血流动力学模拟研究的慢性冠状动脉狭窄模型。

[关键词] 冠状动脉狭窄;模型;动物;体层摄影术,X 线计算机;冠状血管造影术

[中图分类号] R541.4; R814.42 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2018)02-0166-05

研究^[1-5]显示,血流储备分数 CT 成像(fractional flow reserve derived from coronary computed tomography angiography, FFR_{CT})可实现对冠状动脉解剖学狭窄及功能性缺血的一站式评估。建立可用于 FFR_{CT} 模拟研究的慢性冠状动脉狭窄动物模型,对于明确不同狭窄时血流动力学变化及模拟靶血管两端边界条件的设置具有重要意义。本研究拟采用 Ameroid 缩窄环制备慢性冠状动脉狭窄模型,并通过冠状动脉 CTA 监测狭窄进展,探讨制备适合用于 FFR_{CT} 动物模型的可行性。

1 材料与方法

1.1 研究对象 健康巴马小型猪 16 头,雌雄不限,体质量 $22\sim 30\text{ kg}$,平均 $(25.1\pm 2.5)\text{ kg}$,由我院实验动物中心提供。Ameroid 缩窄环直径 2.5 mm ,外环为硬塑料。本实验经我院医学伦理委员会审核通过(2013PS96K)。

1.2 模型建立 将实验猪保定于手术台,经药物诱导麻醉后,以气管插管、呼吸机辅助呼吸及异氟烷吸入维持麻醉;开胸后,游离冠状动脉左前降支(left anterior descending artery, LAD)近段或中段约 $0.5\sim 1.5\text{ cm}$ (避开第 1 对角支)后植入 Ameroid 环,调整环的位置使其位于左心耳和肺动脉间沟;确认无活动出血后关胸、正常饲养。模型建立后第 2 周对模型动物进行冠状动脉 CTA,如管径狭窄(diameter stenosis, DS) $<25\%$ 则监测时间间隔为 1 周,如 $25\%\leq \text{DS}<50\%$ 则监测时间间隔为 3 天,直至 DS 超过 50% 。最后 1 次冠状动脉 CTA 当日进行超声检查,2 日内进行冠状动脉造影及血流储备分数(fractional flow reserve, FFR)测定。

1.3 影像学检查

1.3.1 冠状动脉 CTA 采用 Philips Brilliance 256

iCT,回顾性心电门控扫描。以高压注射器经耳缘静脉注射对比剂(碘海醇 350 mgI/ml) 35 ml ,速率 3 ml/s ,跟注生理盐水 15 ml 冲管。管电压 100 kV ,管电流 $200\sim 600\text{ mAs}$,准直 $128\times 0.625\text{ mm}$ 、重建层厚 0.9 mm ,采用自动阈值触发扫描。ROI 置于升主动脉。 $30\%\sim 80\%\text{ R-R}$ 间期 10% 为间隔重建,选取图像质量最佳时相进行分析,观察 Ameroid 环位置和冠状动脉狭窄程度。

图像质量及冠状动脉狭窄程度由 2 名工作经验丰富的医师采用盲法独立评价,意见不统一时协商解决。冠脉 CTA 图像质量以 4 分法评定^[6]:1 分,无伪影;2 分,少许伪影;3 分,基本满足诊断要求;4 分,无法评价。冠状动脉狭窄程度采用目测法分为 5 级^[7]:轻微狭窄($\text{DS}<25\%$)、轻度狭窄($25\%\leq \text{DS}<50\%$)、中度狭窄($50\%\leq \text{DS}<70\%$)、重度狭窄($70\%\leq \text{DS}<99\%$)及次全-完全闭塞(DS 为 $99\%\sim 100\%$)。

基于冠状动脉 CTA 图建立计算流体力学模型并计算 FFR_{CT} 值(由北京工业大学生物医学工程实验室完成),步骤见图 1。原始 CTA 数据经 Mimics、Geomagic、SolidWorks 处理后,采用 ANSYS Workbench 进行有限元网格划分,输入端施加冠状动脉入口流速波形,出口端施加压力波形,心动周期按实际测量值确定。采用 ANSYS 提供的 CFD 求解器进行迭代计算,经后处理,获得可视化压力云图,对 FFR_{CT} 值进行计算。模拟 $\text{FFR}_{\text{CT}} = \text{最大充血态全心动周期狭窄远端平均压(Pd)}/\text{全期主动脉根部平均压力(Pa)}$ 。

1.3.2 冠状动脉血管造影 采用 Siemens Axiom Aritis DTA 心血管造影数字减影机。5F 导管手动注入威视派克 270 mgI/ml , 10 ml ,行左冠状动脉造影,冠状动脉狭窄评定程度同冠状动脉 CTA。冠状动脉

造影后,采用微量泵通过耳缘静脉注射 ATP 140 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{min})$,诱发冠状动脉最大充血稳态,用导管 Volcano S5 (Volcano 公司)行冠状动脉 FFR 测定,5 min 后重复测量,取均值。

1.3.3 超声检查 采用 Philips iU22 超声诊断仪。待实验猪全身麻醉后取左侧卧位,在胸骨旁 LAD 入口处选取垂直于血管长轴方向测量血流速度波形并保存。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 20.0 统计分析软件。FFR_{CT} 值与实测 FFR 值比较采用配对样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 建模结果 共 16 头实验猪

(编号 1~16)中,对 15 头(编号 1~4、6~16)成功将缩窄环放置于 LAD 近段或中段,对另 1 头(编号 5)开胸后即发现冠状动脉变异、未找到 LAD。成功放置缩窄环的 15 头实验猪中,1 头(编号 1)死于术中心室颤动,2 头(编号 2、11)死于术后早期(2 周内)狭窄冠状动脉急性痉挛所致的心肌缺血,1 头(编号 6)死于术后早期(2 周内)重症肺炎,1 头(编号 7)死于术后第 4 周冠状动脉造影检查时的麻醉意外。其余 10 头(编号 3、4、8~10、12~16)均成功建模,并存活至完成影像学检查,成功率为 62.50%(10/16)。

2.2 影像学检查结果 对 10 头成功建模实验猪共完成冠状动脉 CTA 检查 24 次,图像质量均达到诊断要

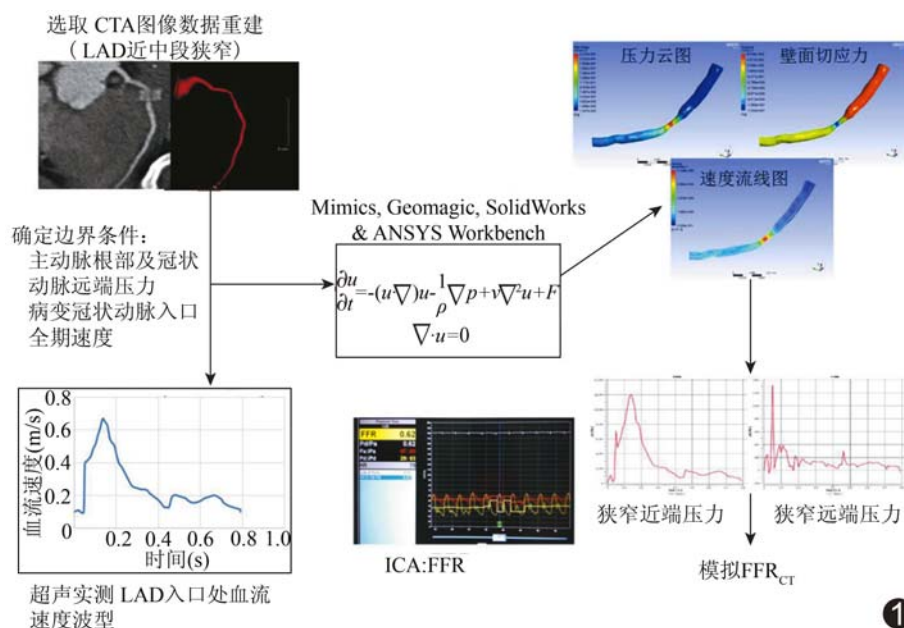


图 1 基于冠状动脉 CTA 图像建立计算流体力学模型及 FFR_{CT} 值的计算过程

求(1 分 17 次,2 分 7 次)。冠状动脉 CTA 显示,术后第 2 周 LAD 均呈轻微狭窄,随时间延长,狭窄程度逐渐加重,术后第 3 周 9 头实验猪狭窄 $> 50\%$,术后第 4 周其余 1 头狭窄 $> 50\%$ 。以最后 1 次 CTA 检查与冠状动脉造影进行对比,两者的狭窄程度符合率为 100%(表 1,图 2)。对 10 头实验猪中 9 头获得 FFR 值,另 1 头因完全闭塞导丝未通过闭塞处,FFR 值为 0 (表 1)。

2.3 模型血流动力学模拟可靠性验证 通过计算流体力学方法,对 10 头实验猪均成功建模并获得 FFR_{CT} 值(表 1,图 2)。FFR_{CT} 值为 0.65 ± 0.27 、实测 FFR 值为 0.59 ± 0.28 ,差异无统计学意义($t = -1.13$, $P = 0.29$)。

表 1 实验猪 LAD 冠状动脉 CTA 及冠状动脉造影检查

编号 (n=10)	体质量 (kg)	LAD 近、中段 平均直径(mm)	冠状动脉 CTA			冠状动脉造影		
			术后时间(天)	狭窄程度(%)	FFR _{CT}	术后时间(天)	狭窄程度(%)	FFR _{CT}
3	35	2.5	16	80	0.44	16	80	0.47
4	30	2.0	22	90	0.76	22	90	0.62
8	47	2.5	16	50	0.85	17	50	0.81
9	25	2.7	16	100	0	16	100	0
10	23	2.5	16	60	0.57	17	60	0.88
12	26	2.5	19	60	0.60	19	60	0.31
13	34	2.5	16	70	0.81	16	70	0.45
14	28	2.3	16	70	0.86	17	70	0.83
15	35	2.5	16	80	0.78	16	80	0.78
16	28	2.5	19	70	0.84	19	70	0.70

注:LAD 近、中段平均直径为冠脉 CTA 图像中测量实验猪 LAD 近段与中段(非环处)的直径并计算二者的平均值

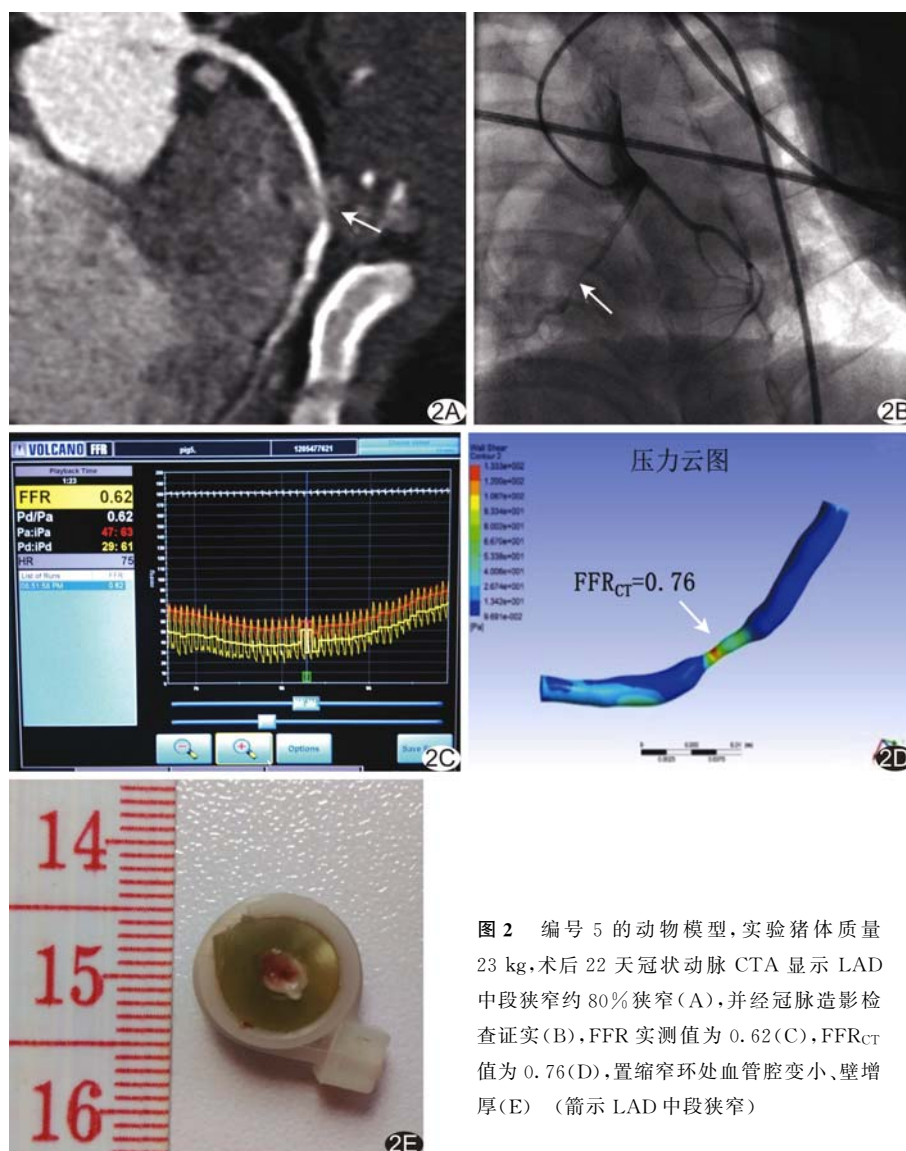


图2 编号5的动物模型,实验猪体质量23 kg,术后22天冠状动脉CTA显示LAD中段狭窄约80%狭窄(A),并经冠脉造影检查证实(B),FFR实测值为0.62(C),FFR_{CT}值为0.76(D),置狭窄环处血管腔变小、壁增厚(E) (箭示LAD中段狭窄)

后不易造成猝死,动物存活率较高、存活时间较长,但其缺点是位置较深不易分离,侧支循环血管较多,易引起分离时出血及靶血管周围炎性粘连,且管径相对较小,不利于影像学观察。本实验采用小猪LAD建模,避免了上述缺点,提高了靶血管的CTA图像质量,且不易形成侧支循环,慢性心肌缺血模型更易形成,且小型猪LAD管径较粗,更适用于冠状动脉CTA观察;同时,Ameroid狭窄环外层材料选择塑料结构,避免CTA图像中金属伪影干扰。

祝曙光等^[13-14]研究表明,Ameroid狭窄环建立模型时,靶血管通常在4~6周达到重度狭窄甚至闭塞。本研究旨在制作可引起心肌缺血的中、重度狭窄模型,故通过冠状动脉CTA监测靶血管狭窄进展时,起始时间设定为第2周。同时,为避免靶血管闭塞无法进行FFR测量,根据前次血管狭窄程度为轻微或轻度狭窄,分别设定重复检查时间间隔为1周或3天;结果表明通过CTA监测90%的靶血管被成功制成中、重度狭窄,其中存在血流动力学障碍血管占66.67%,且

3 讨论

本研究将Ameroid狭窄环置于巴马小型猪LAD近段或中段,可有效建立适用于FFR_{CT}研究的慢性冠状动脉狭窄模型,成功率较高。模型的冠状动脉CTA图像质量符合诊断及建立血流动力学模型的要求。本研究基于冠状动脉CTA图像得出的计算流体力学模拟指标FFR_{CT}值与实测FFR值差异无统计学意义($t = -1.13, P = 0.29$),表明模型可靠性好。

参照既往研究^[8],本研究选用小型猪作为建模对象,冠状动脉CTA图像质量可满足定量分析要求。既往^[9-12]研究中,通过Ameroid狭窄环建立模型时多选用左回旋支(left circumflex, LCX),因为小型猪LCX支配的心肌有相对多的侧支循环,当其发生狭窄

90%的成模时间为3周内。本研究还发现,开胸手术操作的轻柔度、术后预防感染及实验动物的个体差异均可影响靶血管的狭窄程度及速度,其中Ameroid狭窄环与靶血管直径的匹配度影响较为重要。本研究靶血管均选用直径为2.5 mm的Ameroid狭窄环,其中1头实验猪LAD直径为2.0 mm,明显小于狭窄环直径,其在第4周狭窄程度才>50%;1头实验猪靶血管于第3周进展为完全闭塞,可能与其直径稍大于狭窄环直径及个体差异有关,还需要进一步大样本实验来补充和完善相关数据。

本研究建模成功率较高,与术中无菌操作及术后重视预防感染有关;仅1头实验猪于术后13天死于重症肺炎。有学者推荐^[15]建模后连续肌注青霉素

(400 万 U)3 天预防感染。

本研究显示,模拟指标 FFR_{CT} 值与造影实测的 FFR 值差异无统计学意义,进一步验证了本研究动物模型的冠状动脉 CTA 图像符合血流动力学模拟研究的要求,可用于模拟冠状动脉病变时血流动力学指标的研究。同时,通过模拟 FFR_{CT} 值可进一步评价动物模型是否存在心肌缺血,实现对动物模型靶血管的解剖形态学及血流动力学一站式评价,使模型制作更准确、更符合研究需求。

本研究的局限性:①模拟 FFR_{CT} 时,边界条件中靶血管入口处流速为超声实测波型,增加了建模的复杂程度,建模时间较长(约 4 h),有待进一步简化;②样本量较少,靶血管的狭窄程度及速度尚不能精确控制,有待进一步增大样本研究。

总之,Ameroid 缩窄环置入巴马小型猪 LAD 近段或中段,并通过冠状动脉 CTA 监测靶血管狭窄程度及进展,可制备出符合血流储备分数 CT 成像研究的慢性冠状动脉狭窄模型,为进一步分析冠状动脉不同程度狭窄时血流动力学变化规律及流体力学建模边界条件的设置奠定基础。

[参考文献]

- [1] Koo BK, Erglis A, Doh JH, et al. Diagnosis of ischemia-causing coronary stenoses by noninvasive fractional flow reserve computed from coronary computed tomographic angiograms. Results from the prospective multicenter DISCOVER-FLOW (Diagnosis of Ischemia-Causing Stenoses Obtained Via Noninvasive Fractional Flow Reserve) study. *J Am Coll Cardiol*, 2011,58(19): 1989-1997.
- [2] Nørgaard BL, Jensen JM, Leipsic J. Fractional flow reserve derived from coronary CT angiography in stable coronary disease: A new standard in non-invasive testing? *Eur Radiol*, 2015,25(8): 2282-2290.
- [3] Min JK, Berman DS, Budoff MJ, et al. Rationale and design of the DeFACTO (Determination of fractional flow reserve by anatomic computed tomographic angiography) study. *J Cardiovasc Comput Tomogr*, 2011,5(5):301-309.
- [4] Nørgaard BL, Leipsic J, Gaur S, et al. Diagnostic performance of noninvasive fractional flow reserve derived from coronary computed tomography angiography in suspected coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*, 2014,63(12):1145-1155.
- [5] 祁小龙, 罗文韬, 季文彬, 等. 冠状动脉血流储备分数研究进展. *中国医学影像技术*, 2013,29(5):818-821.
- [6] Li MH, Zhang JY, Pan JW, et al. Obstructive coronary artery disease: Reverse attenuation gradient sign at CT indicates distal retrograde flow-A useful sign for differentiating chronic total occlusion from subtotal occlusion. *Radiology*, 2013,266(3): 766-772.
- [7] Cury RC, Abbara S, Achenbach S, et al. CAD-RADS (TM) Coronary Artery Disease - Reporting and Data System. An expert consensus document of the Society of Cardiovascular Computed Tomography (SCCT), the American College of Radiology (ACR) and the North American Society for Cardiovascular Imaging (NASCI). Endorsed by the American College of Cardiology. *J Cardiovasc Comput Tomogr*, 2016,10(4):269-281.
- [8] Kajander S, Joutsiniemi E, Saraste M, et al. Cardiac positron emission tomography/computed tomography imaging accurately detects anatomically and functionally significant coronary artery disease. *Circulation*, 2010,122(6):603-613.
- [9] Sabe AA, Potz BA, Elmadhun NY, et al. Calpain inhibition improves collateral-dependent perfusion in a hypercholesterolemic swine model of chronic myocardial ischemia. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2016,151(1):245-252.
- [10] 文利, 崔建华, 黄河, 等. 适于影像学研究的猪慢性心肌缺血模型的制备. *第三军医大学学报*, 2010,32(12):1245-1248.
- [11] Coenen A, Lubbers MM, Kurata A, et al. Fractional flow reserve computed from noninvasive CT angiography data: Diagnostic performance of an on-Site clinician-operated computational fluid dynamics algorithm. *Radiology*, 2015, 274(3):674-683.
- [12] Roth D, Maruoka Y, Rogers J, et al. Development of coronary collateral circulation in left circumflex Ameroid occluded swine myocardium. *Am J Physiol*, 1987,253(5 Pt 2):H1279-H1288.
- [13] 祝曙光, 熊利华, 谢鸿发, 等. 小型猪慢性缺血性心脏病模型的建立. *中国临床康复*, 2006,10(20):46-47.
- [14] Miyasaka Y, Haiden M, Kamihata H, et al. Usefulness of strain rate imaging in detecting ischemic myocardium during dobutamine stress. *Int J Cardiol*, 2005,102(2):225-231.
- [15] 鲁琳, 姜明武, 申云霞, 等. 猪冠状动脉微栓塞致心肌梗死模型的建立. *中国医学影像技术*, 2014,30(11):1605-1608.