

应用 MRI 预扫描定位提高大鼠脑立体定位术的准确性

和清源¹, 韩鸿宾¹, 马长城², 李 东³

(1. 北京大学第三医院放射科, 北京 100191; 2. 北京大学第三医院神经内科, 北京 100191;
3. 北京大学第三医院中医科, 北京 100191)

【摘要】 目的 评价 MRI 预扫描方法在鼠脑穿刺定位准确性上的作用与价值。材料与方法 选取健康雄性 SD 大鼠 18 只, 随机分为 2 组, 分别为 MRI 预扫描定位组 (9 只), 在 MR 图像指导下进行穿刺注射; 以及经典穿刺组 (9 只), 不采用 MR 影像学检测定位, 严格按照脑立体定位图谱进行穿刺注射。穿刺以通过苍白球中心的鼠脑切面中尾状核区为靶目标, 穿刺后采用 MRI 影像学方法确定穿刺点位置, 比较 MRI 预扫描定位穿刺与经典立体定位穿刺的准确度。结果 MRI 预扫描定位组穿刺准确率为 88.89%, 经典穿刺组穿刺准确率为 66.67%; 两种方法的穿刺定位差异有显著性 ($P < 0.05$), MRI 预扫描组的穿刺定位准确度明显高于经典穿刺组。结论 MRI 预扫描可显著提高鼠脑立体定位穿刺的准确度, 是进行立体定位精细穿刺的必要操作。

【关键词】 磁共振; 立体定位; 大鼠; 脑; 穿刺

【中图分类号】 R445, R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)08-0029-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.008.007

Value of MRI Pre-Scanning in Improving the Accuracy of Stereotactic Brain Puncture in Rats

HE Qing-yuan¹, HAN Hong-bin¹, MA Chang-cheng², LI Dong³

(1. Department of Radiology; 2. Department of Neurology; 3. Department of Chinese Medicine, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the value of MRI pre-scanning technique in stereotactic brain puncture in rats. **Methods** Totally 18 SD rats were randomly divided into 2 groups ($n = 9$): control group, in which the brain puncture was performed in strict accordance with the stereotactic brain atlas, and experimental group, in which MRI pre-scanning was performed and brain puncture was guided by the images. Rats in both groups were injected 2 μ L Gd-DTPA, taking caudate nucleus in the axial section which crosses the center of globus pallidus as target. Then MRI scanning was performed with three-dimensional magnetization-prepared rapid gradient-echo sequence to detect the enhancement of Gd-DTPA and compare the brain puncture accuracy between the two groups. **Results** The number of rats which were located precisely was 8 in experimental group (88.89%), and 3 in the control group (66.67%). The difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.05$). The accuracy of experimental group was much higher than that of control group. **Conclusion** MRI pre-scanning can improve the accuracy of stereotactic brain puncture, and it is a necessary step to confirm accuracy and repeatability of the stereotactic operations.

【基金项目】 国家自然科学基金资助项目(30972811), 国家重大设备仪器专项基金(2011YQ030114)。

【作者简介】 和清源(1982-), 男, 主要研究方向: 功能磁共振的开发与应用。E-mail: heqingyuan@bjmu.edu.cn。

【通讯作者】 韩鸿宾(1971-), 男, 教授, 研究员, 主任医师。E-mail: hanhongbin@bjmu.edu.cn。

【Key words】 MRI; Stereotaxic technique; Rat; Brain.

在某些临床诊疗及动物实验中,需要在较少损伤中枢神经系统的情况下,把细微的电极或导管有目的地插入脑的某些深部结构,这种定向安置的技术称为脑立体定位术(brain stereotactic technique)。它是在脑内进行电刺激、记录细胞放电、进行微量注射及推挽灌流等项实验时必不可少的步骤^[1]。准确进行立体定位是决定整个实验成功与否的关键步骤。目前大多数动物实验进行立体定位的依据是立体定位图谱。然而由于客观条件及伦理约束,导致制作脑立体定位图谱时解剖的动物数量有限,因此立体定位图谱本身的准确度也相应受到限制,通常有 0.5 mm 左右的误差^[2,3]。某些目标核团往往短径只有 1 mm 甚至更小,0.5 mm 的误差会导致定位到完全不同的脑区,直接导致实验的失败,导致大鼠无谓的牺牲,并浪费实验资源与人力资源。因此,寻找一种提高立体定位穿刺准确率的方法是非常必要的。

磁共振成像技术(magnetic resonance imaging, MRI)可在体、无创地对大鼠脑组织形态学进行成像,在 MRI 图像指导下进行立体定位操作,在理论上将会提高立体定位的准确性,并保证实验结果的可信性与可重复性。本研究以对 SD 大鼠为研究对象,选取包含有多个脑区的大脑横断切面,对特定脑区(尾状核)进行穿刺注射,采用磁共振示踪技术验证穿刺位置,评价 MRI 预扫描定位方法在鼠脑立体定位穿刺上的作用与价值。

1 材料和方法

1.1 主要材料与仪器

MRI 扫描使用德国西门子公司磁共振机(Siemens TRIO 3.0 T);MR 示踪剂为钆喷酸葡胺注射液(4.69 g/10 mL,北京北陆药业有限公司生产),用去离子水稀释至 30 $\mu\text{mol/L}$;大鼠脑立体定位穿刺操作使用美国 Stoelting 公司单臂脑立体定位仪。

1.2 实验动物与分组

健康雄性 SD 大鼠,体重 250 ~ 300 g,由北京大学实验动物中心提供(实验动物使用许可证:SYXK(京)2011-0039;实验动物生产许可证:SCXK(京)2011-0012)。实验用大鼠 18 只,其中甲组 9 只大鼠为 MRI 预扫描定位组,此组大鼠在穿刺前经 MR 扫描,并在 MR 图像指导下在脑尾状核位置进行微量注射;乙组 9 只大鼠为经典穿刺组,不采用 MR 影像

学检测定位,严格按照脑立体定位图谱在尾状核内进行微量注射。

1.3 立体定位和药物注射

本研究选择在通过苍白球中心的鼠脑横断切面,以左侧尾状核为目标区进行穿刺注射。大鼠经 10% 水合氯醛(400 mg/kg)腹腔注射麻醉后,俯卧位固定于脑立体定位仪,头皮正中切开,分离骨膜,暴露前囟,于颅骨背侧前囟后 1.0 mm,左旁开 3.5 mm 处钻一直径为 2.0 mm 的小孔,甲组大鼠前囟处用示踪剂做一标记,首先经过预扫描,根据 MRI 图像,测量并计算大鼠前囟与尾状核区的空间位置,以前囟区标记点为指导进行定位穿刺,并注射示踪剂;乙组大鼠严格按照立体定位图谱,前囟后 1.0 mm,左旁开 3.5 mm,进针深度 5.0 mm 位置进行穿刺并注射示踪剂。两组大鼠都以 0.2 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的速度恒速注射 2 μL Gd-DTPA,注射完毕后,留针 5 min,缓慢移出针头。

1.4 MRI 图像采集与测量

在打药完成后立即对两组大鼠进行 MRI 扫描,采用体素为(0.6 \times 0.6 \times 0.6)mm 的三维磁化强度预备梯度回波序列(three-dimensional magnetization prepared rapid acquisition gradient echo sequences, 3D-MP RAGE),采集大鼠全脑 T1 图像后,用三维重建技术获得鼠脑横断位(轴位)的图像,测量 MRI 图像中增强区域的核心位置,也即穿刺注射点的位置。

1.5 统计学方法

设微量注射到尾状核区为成功,注射到其他位置为不成功,对两组大鼠的注射成功率做 χ^2 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。所得数据均由 SPSS 13.0 统计软件分析。

2 结果

甲组(MR 预扫描定位组)大鼠在左侧尾状核微量注射 Gd-DTPA 后,通过 MR 扫描发现,有 8 只大鼠的注射点在目标位置,即尾状核区,占本组大鼠总数的 88.89%,另外一只大鼠的注射点在丘脑区(图 1)。乙组(经典穿刺组)大鼠中有 6 只的穿刺点在尾状核区,占有所有大鼠的 66.67%;另外 3 只大鼠中,有 2 只注射到丘脑区,占大鼠总数 22.22%,1 只注射到白质区,占大鼠总数的 11.11%(图 2,表 1)。

采用 SPSS13.0 统计软件对两组大鼠的注射成功率进行卡方检验 (Fisher 精确概率法), 甲组 (预扫描定位组) 穿刺准确度增高有显著性意义 ($P < 0.05$)。

表 1 两种穿刺方法准确率的情况
Tab. 1 Comparison of the puncture accuracy in rats of the two groups

穿刺位置 Puncturesite	穿刺到相应脑区的大鼠数量 The number of rats ineach group	
	甲组 (只)	乙组 (只)
	Experimental group	Control group
尾状核区 Caudate nucleus	8	6
白质区 White matter	0	1
丘脑区 Thalamus	1	2
总计 Totally	9	9

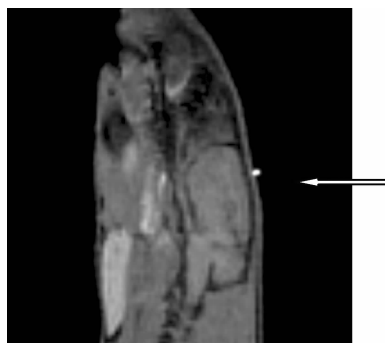


图 1 大鼠预扫描 MR 图像, 白色箭头所指高亮的信号区即示踪剂定位标记点, 根据图像测量标记点到目标核团的空间位置, 指导立体定位穿刺。

Fig. 1 A pre-scanning image of rat brain. The highlight shown by white arrow was position marker, by which the position of caudate nucleus in space could be calculated.

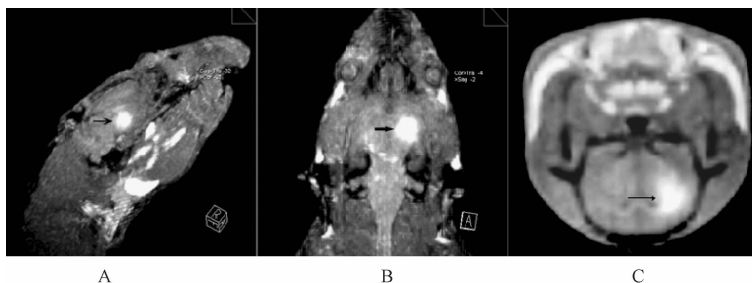


图 2 在尾状核区微量注射示踪剂 Gd-DTPA 1 h 后得到的 MRI 图像, A、B、C 图分别为 MR 扫描并 3D 重建后大鼠脑不同角度的截图, 图中的箭头所指高亮区域为示踪剂扩散区域。

Fig. 2 Images of a rat taken at 1 hour after Gd-DTPA injection into the caudate nucleus. The high signal intensity region, shown by the black arrow, indicates the injection site.

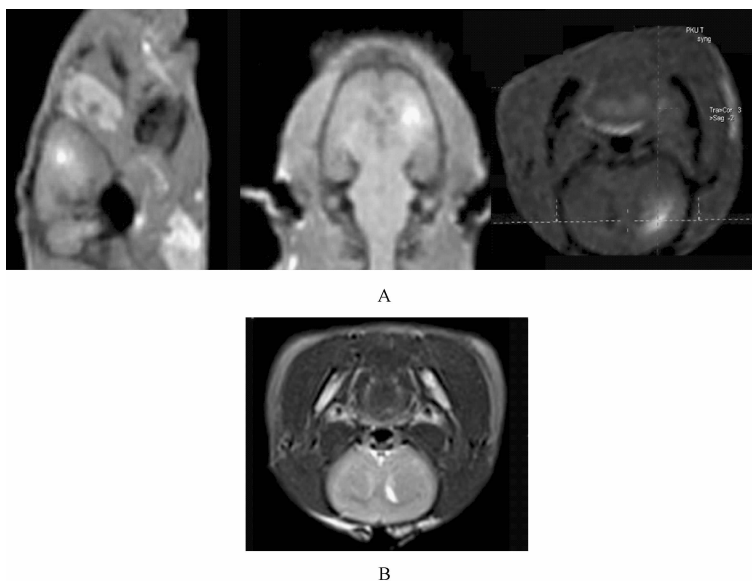


图 3 A 图为在白质区微量注射示踪剂 Gd-DTPA 1 h 后得到的 MRI 图像; B 图为在丘脑区微量注射示踪剂 Gd-DTPA 1 h 后得到的 MRI 图像, T2 图像可见丘脑区高信号, 为穿刺损伤变化。

Fig. 3 A. The image of a rat taken at 1 hour after Gd-DTPA injection into the white matter. B. The image of a rat taken at 1 hour after Gd-DTPA injection into the thalamus area. The high signal intensity region on T2 image indicates the puncture injury on thalamus area.

3 讨论

在某些采用微量注射进行治疗的实验中,注射的药物到达靶位置的浓度与其疗效关系密切,如果穿刺点位置不准确,在非目标脑区进行微量注射后,药物的扩散路径与浓度变化规律有很大差别,甚至在同一核团的不同位置注射,其扩散规律与浓度变化规律也不相同^[4-5]。所以在此类实验中,如果要保证实验的准确性与可重复性,一定要每次微量注射都穿刺到同一位置,因此,消除大鼠的个体差异,保证微量注射位置一致,是非常必要的。而且由于立体定位图谱在制作过程中使用的动物数量有限,所以一般只针对某一体重范围的动物进行制作,所以如果实验需要采用体重不在此范围的动物,那么就只能根据图谱中所给出的校正公式进行估算,其可靠性得不到保证^[2-3]。

导致穿刺不准确的因素有多个,首先需考虑人为因素。熟练掌握穿刺技术的实验者会获得较高的实验成功率,然而要熟练掌握穿刺技术,其代价可能是数十只实验动物的牺牲,以及实验资源、人力资源的浪费。这在动物权利日益受到重视的今天,越来越难以被伦理所接受,因此,如何提高穿刺准确度,指导实验者迅速掌握穿刺技术,是迫切需要解决的问题。

除了人为因素外,导致穿刺失败的主要原因是:(1)大鼠个体差异。以本实验为例,体重较大的大鼠(超过脑立体定位图谱所规定的平均体重),按照图谱所标注的位置进行穿刺操作,则穿刺点偏内侧,进针后注射位置偏浅,很容易注射入丘脑区;同样,体重较小的大鼠(低于脑立体定位图谱所规定的平均体重)的穿刺点则偏外侧,多误穿刺到白质纤维区。(2)实验中对穿刺精确度的要求超出了脑立体定位图谱所能达到的最大限度。本实验采用的脑立体定位图谱精确度为 0.5 mm,而大鼠脑中各核团体积非常小,如本实验穿刺层面,多数核团的短径低于 1 mm,如白质区、丘脑区等,即使体积较大的尾状核与苍白球,其短径也小于 2 mm,在这种情

况下,即便是与脑立体定位图谱中的标准体重的大鼠,0.5 mm 的误差也会导致完全不同的实验结果(图 3)。

因此,立体定位图谱的坐标并不适用于大鼠的精细穿刺,而采用影像学方法来指导定位不但可以提高穿刺的准确度,而且可以验证穿刺结果,提高实验可信度。MRI 技术可在体无创的显示组织器官内部结构,尤其是可清楚显示神经系统并通过三维立体重建在不同的角度观察穿刺点的位置(图 2),这些优势是 X 线与 CT 所无法比拟的。在每次立体定位注射前,先对大鼠头部进行 MRI 扫描,在 MR 图像上测量出尾状核区的位置后再微量注射核磁示踪剂 Gd-DTPA。注射完成后所有对大鼠进行 MRI 扫描, MRI 图像中增强区域呈水滴状,水滴中心即为穿刺注射点。在本研究中,采用 MR 图像指导定位后,穿刺准确率提高到 88.89%,而经典注射组的穿刺准确率只有 66.67%。对两组大鼠的注射成功率进行 χ^2 检验(Fisher 精确概率法)得到 P 值小于 0.05,二者有统计学差异,因此采用 MR 图像指导定位可显著提高注射的准确率。

综上所述,仅依靠立体定位图谱进行精细穿刺等操作是不准确的,为保证立体定位实验准确性与可重复性,采用 MRI 预扫描是有效而必要的方法。

参考文献:

- [1] 余秀平,陈春鹏. 大鼠脑的立体定位技术的应用体会 [J]. 解剖学研究, 2005(01): 75-75.
- [2] Paxinos G. 大鼠脑立体定位图谱(第 3 版) [M]. 诸葛启钊,译. 北京:人民卫生出版社. 2005: 2-30.
- [3] 陈志宏,张一模,张宝琳. 脑立体定位方法及图谱研制进展 [J]. 承德医学院学报, 1999, (01): 68-70.
- [4] Sykova E, Nicholson C. Diffusion in brain extracellular space [J]. *Physiol Rev*, 2008, (4): 1277-1340.
- [5] 王俊华,田牛,郑世荣,等. 大鼠脑内组织通道对物质传递的性质研究 [J]. 微循环学杂志, 2001, (03): 1-4.

[修回日期]2012-05-09