

磨薄颅骨后大鼠经颅超声灌注成像表现及安全性评估

周琛云¹, 朱晓霞^{1,3}, 徐子林², 周裕卿³, 唐琳^{1,3}, 罗燕¹, 阎锋^{1,3*}

(1. 四川大学华西医院超声科, 成都 610041; 2. 四川大学华西临床医学院, 成都 610041;
3. 四川大学华西医院超声影像药物研究室, 成都 610041)

【摘要】 目的 通过磨薄SD大鼠局部颅骨改善声窗后观察右脑经颅超声灌注成像表现并行定量评估, 初步评价磨骨及经颅超声对血-脑脊液屏障的影响。**方法** 将48只SD大鼠分为A、B两组。A组6只大鼠在右侧局部颅骨磨薄前、后分别进行一次经颅超声灌注成像, 比较成像效果。检查结束后, 其中4只大鼠行大脑依文思蓝(EB)染色, 2只行头部核磁共振(MRI)检查, 并均于处死后取两侧颅骨骨质做H&E染色, 测量磨头骨后剩余颅骨厚度。B组42只大鼠将右侧局部颅骨磨薄后行视交叉平面的右脑经颅超声灌注成像(团注0.15 mL超声造影剂SonoVueTM), 并行动态超声造影分析(时间-强度曲线)获取磨头骨后正常大鼠大脑经颅超声灌注成像参数。**结果** SD大鼠磨骨后右脑灌注成像效果改善明显, 呈“快速增强、快速廓清、缓慢清除”的特点。时间-强度曲线定量分析结果: 峰值强度(PI)磨头骨后较磨头骨前约增加3倍[(9.98 ± 2.35) vs (3.24 ± 1.49) dB, $P < 0.01$], 而达峰时间(TTP)无明显改变[(4.66 ± 0.45) vs (3.86 ± 1.43) s, $P > 0.01$]。右侧颅骨磨薄后的厚度约(66.1 ± 11.4) μm; EB染色及MRI检查未发现明显的血-脑脊液屏障破坏。**结论** 颅骨磨薄手术对SD大鼠脑组织无明显损伤并可明显改善经颅超声灌注成像效果, 该技术可用于小动物的经颅超声灌注成像的定量分析。这种微创、实时影像方法可用于各种小动物病理模型的脑血流动态变化的研究。

【关键词】 超声灌注成像; 经颅超声; 大鼠; 时间-强度曲线

【中图分类号】 Q95-33

【文献标识码】 A

【文章编号】 1005-4847(2018) 05-0541-07

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2018.05.001

Assessment of transcranial ultrasound perfusion and safety following skull thinning in rats

ZHOU Chenyun¹, ZHU Xiaoxia^{1,3}, XU Zilin², ZHOU Yuqing³,
TANG Lin^{1,3}, LUO Yan¹, YAN Feng^{1,3*}

(1. Department of Ultrasound, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. West China School of Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041; 3. Department of Laboratory of Ultrasound Imaging Drugs, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041)
Corresponding author: YAN Feng. E-mail: yan_feng@scu.edu.cn

【Abstract】 Objective To examine the efficacy and safety (blood-brain barrier permeability) of right hemisphere cerebral perfusion imaging using transcranial ultrasound following skull thinning in the rat. **Methods** Forty-eight Sprague Dawley rats received local skull-thinning surgery for transcranial ultrasound perfusion imaging (with injection of 0.15 mL SonoVueTM). Perfusion findings were compared before and after the skull surgery in six rats, and the brains were examined by magnetic resonance imaging ($n = 2$) or Evans blue staining ($n = 4$). The skulls of the rats were also removed for

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(81571131, 51703141)。

Funded by National Natural Science Foundation of China(81571131, 51703141).

【作者简介】 周琛云(1978年—)女, 博士, 讲师, 研究方向: 颅脑及颈动脉超声。Email: echo_@163.com

【通信作者】 阎锋(1955年—), 男, 博士, 研究方向: 超声造影剂及其临床应用。Email: yan_feng@scu.edu.cn

pathological examination to measure the thickness of the remaining skull. Perfusion in the right hemisphere of the brain was analyzed in 48 rats with a time-intensity curve to obtain quantitative transcranial ultrasound perfusion imaging parameters.

Results After the surgery, the ultrasound perfusion imaging of the right hemisphere was improved, with typical perfusion patterns including a rapid wash-in and wash-out, and slow clearance of the contrast enhancement. The average peak intensity (PI) value after skull thinning was almost three times higher than that before surgery [(9.98 ± 2.35) dB vs (3.24 ± 1.49) dB, respectively; $P < 0.01$], while the time to peak (TTP) was unchanged [(4.66 ± 0.45) s vs (3.86 ± 1.43) s, respectively; $P > 0.01$]. The thickness of the thinned skull after grinding was approximately (66.1 ± 11.4) μm . Evans blue staining and magnetic resonance imaging showed no observable blood brain barrier damages. **Conclusions** Skull-thinning surgery is safe and can be applied to small animals for quantitative ultrasound imaging without a craniotomy. This minimally invasive and real-time imaging technique may be useful for dynamic studies of cerebral blood flow changes in various animal disease models.

【Keywords】 Ultrasound perfusion imaging; intracranial ultrasound; rat; time-intensity curve

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

第二代微泡型超声造影剂 SonoVue 是一种血池造影剂,不会向血管外组织中渗透。超声造影技术不仅可以观察大血管的血流灌注情况,还可以对脏器的微小血管进行观察,从而对组织微循环的血流灌注进行评价,因此又被称为超声灌注成像技术^[1]。目前 SonoVue 已应用于多种器官组织的微循环研究,如肝、肾等^[2-3]。在颅脑方面,已有临床研究证实经颅超声灌注成像技术可以在早期显示出脑卒中患者局部脑血流灌注量的不足,区分梗死区和非梗死区,甚至有检测“半暗带”的能力^[4-5]。与其他活体灌注成像技术相比,经颅超声灌注成像技术应用便捷、实时,有望成为更普及的活体脑灌注定量研究的影像学方法。

目前对于脑卒中机制的研究应用最广泛的是大鼠脑卒中中线栓法模型^[6]。模型大多选用体重在 250 ~ 300 g 8 周龄左右的 SD 雄性大鼠^[7-8]。但由于该日龄段的大鼠颅骨厚度达 0.5 mm,骨缝严密,无合适的骨窗容超声波穿透,超声在大鼠颅脑方面的研究较少。参考 Errico 等^[9]在大鼠颅脑研究中应用的技术,本实验试将大鼠右侧局部颅骨(大脑中动脉分支分布区相对应的颅骨)磨薄后进行脑组织的超声灌注成像,观察其改善声波穿透的效果及经颅超声灌注成像模式,并通过时间-强度曲线测量各定量参数的正常值范围。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠(SD)共 48 只,体重 250 ~ 300 g,购于成都达硕实验动物有限公

司【SCXK(川)2015-030】。饲养于四川大学华西医院实验动物中心屏障环境中【SYXK(川)2013-119】,环境温度为 $(25 \pm 2)^{\circ}\text{C}$,湿度为 50%~70%,12 h 光照阴暗交替。本实验得到四川大学华西医院实验动物中心动物伦理委员会许可(伦理审查批准编号:2016037 A),所有动物实验操作均按照四川大学华西医院实验动物中心的操作指南执行,并符合中华人民共和国《实验动物管理条例》。

1.1.2 仪器与试剂

使用彩色多普勒超声诊断仪(Philips iU 22,美国),L12-5 线阵探头,经颅超声灌注成像技术为超声诊断仪自带的脉冲反转技术。超声造影剂使用 SonoVue®(意大利 Bracco 公司),每瓶含六氟化硫气体 59 mg,白色冻干粉 25 mg,其微泡直径 1 ~ 10 μm ,平均约 2.5 μm 。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组

大鼠术前空腹 8 h,并分为 A、B 两组,分别为 6 只和 42 只大鼠。A 组大鼠在右侧局部颅骨磨薄前、后分别进行一次经颅超声灌注成像,比较成像效果。检查结束后,其中 4 只大鼠行大脑依文思蓝(EB)染色,2 只行头部核磁共振(MRI)检查,并均于处死后取两侧颅骨骨质做 H&E 染色,测量磨头骨后剩余颅骨厚度。B 组 42 只大鼠将右侧局部颅骨磨薄后行视交叉平面的右脑经颅超声灌注成像。

1.2.2 磨薄颅骨手术

使用 10% 水合氯醛(3.5 mL/kg)腹腔注射麻醉,并用加热毯保温,保持大鼠体温稳定在 $(37 \pm 0.5)^{\circ}\text{C}$ 。大鼠头部皮肤除毛消毒,头皮做一弧形切口,用刮刀分离皮下组织直至露出颅骨表面,用双氧水擦拭颅骨

表面至可清晰显示矢状缝、冠状缝及人字缝。暴露颞嵴,分离右侧颞肌。将颅钻钻速调至 1~2 档,用 2.3 mm 圆钻头打磨右侧颅骨约 6 mm×6 mm 范围(矢状缝旁开 6 mm,冠状缝前 3 mm 至冠状缝后 3 mm 的区域),至刚能显示大脑表面血管时,改用 1.2 mm 圆头,钻速调至 0~1 档继续打磨,直至透过剩余颅骨能清晰观察到该区域内的大脑表面血管,且能明显看到脑组织向外膨出。打磨过程中注意动作轻柔缓慢,并用 0.9% 生理盐水持续冲洗创面以降低打磨区温度,每只大鼠打磨时间约 30 min。

1.2.3 经颅超声灌注成像

大鼠俯卧于固定台上,保证头颈部呈水平位,无左右偏斜,两前肢自然放置于头部两侧,两后肢自然向后伸展。将 L12-5 探头固定于脑立体定位仪的立臂上,保证每次成像时超声探头均垂直于大鼠大脑,行冠状切面成像。将探头中心移动至大鼠两眼后毗连线处上方,立体定位仪位置数值归零,然后旋转相应旋钮使探头向尾侧移动约 5.5 mm 至视交叉平面。下降探头至清晰显示大鼠大脑后进行超声造影检查。超声仪主要条件设置如下:时间补偿增益(TGC)均置于最大处;机械指数(MI)为 0.10;焦点(FOCUS)位于深度范围 0.5~0.75 cm 处;超声造影增益(Gain for Contrast)为 75%。所有大鼠检查时均保持以上设置不改变。SonoVue 干粉每瓶加入 5 mL 0.9% 生理盐水配置成溶液。每次行超声造影时均给予 0.15 mL 快速经尾静脉团注,并随后推注 0.3 mL 的 0.9% 生理盐水。团注造影剂同时开启计时器并存储动态图像 30 s。A 组及 B 组大鼠均进行以上相同操作,其中 A 组在分离右侧颞肌后磨骨前,进行一次经颅超声灌注成像。

1.2.4 EB 染色及 MRI 成像

A 组大鼠在第二次经颅超声成像结束后,随机选择 4 只 SD 大鼠将 2% EB 溶液按 3 mL/kg 的剂量经尾静脉注入大鼠体内,2 h 后使用 0.9% 生理盐水经心脏灌注直至右心耳流出液清亮,立即断头取脑,观察大脑表面 EB 染色情况,照相,放入 -20℃ 冰箱冰冻 20 min 后以 2 mm 间隔自脑前极开始切片,共切 6 片,观察脑实质染色情况并照相。

A 组剩余 2 只 SD 大鼠在经颅超声成像后 2 h 使用 3T-西门子磁共振仪(Siemens Tim Trio)进行颅脑检查。大鼠头部放置于直径为 60 mm 的大鼠专用接收线圈内,采用快速自旋回波序列在三组互相

垂直的方向上进行了图像采集。T1/T2 序列的加权相均为一组冠状位的图像,其具体序列参数设置如下:T1WI:TR/TE: 250 ms/12 ms;层厚: 2 mm;激励次数: 2;Matrix: 320×320;FOV read: 60 mm;FOV phase: 60 mm。使用 Gd-DTPA (0.2 mmol/kg) 经尾静脉团注进行增强扫描,分别在用药前、用药后 5 min 各采集 3 次图像。T2WI:TR/TE: 8190 ms/69 ms;层厚: 1 mm;激励次数: 1;Matrix: 384×384;FOV: 64 mm×64 mm。

1.2.5 双侧颅骨 HE 染色

将 A 组 6 只大鼠处死,取磨薄的骨片与对侧同样位置的骨片约 4 mm×6 mm 大小行 HE 染色。在显微镜下测量各骨片的厚度,每条骨片测量三次,取平均值。

1.2.6 图像处理及统计分析

检查结束后使用 DICOM 格式存储图像并进行脱机分析。逐帧回放动态图像,观察右脑的灌注模式。使用仪器自带的 QLAB 8.1 分析软件,在右脑内勾勒出范围约 22.0~23.0 mm² 的感兴趣区,其形态与右侧脑切面类似,外侧缘贴近于大鼠的脑实质外侧缘(见图 3),得到右脑时间-强度曲线。使用 log-normal WIWO 模式拟合曲线,得到 6 个定量参数:峰值强度(PI)、上升时间(RT)、达峰时间(TTP)、峰值下降至一半强度的时间(TPH)、增强斜率(WIS)、曲线下面积(AUC)。

1.3 统计学方法

使用 IBM SPSS 22.0 软件进行统计学分析,经颅超声灌注成像各定量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, $\bar{x}$ 为平均值, s 为标准差。

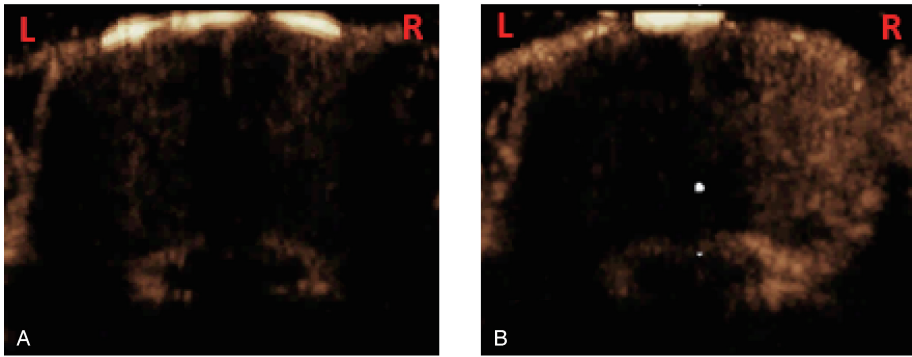
2 实验结果

2.1 正常 SD 大鼠右侧局部颅骨磨薄前及磨薄后经颅超声灌注成像的表现

实验中共有 4 只大鼠死亡,其中 3 只为麻醉意外死亡,1 只在磨薄颅骨过程中死亡,均另购大鼠进行了补充。

A 组大鼠在磨薄颅骨前行经颅超声灌注成像,发现超声信号在矢状缝及双侧颞嵴深面衰减极严重,造影增强强度极低,仅矢状缝与双侧颞嵴之间深面的脑实质可见轻度的增强(见图 1 A)。

B 组大鼠于磨薄右侧局部颅骨后行经颅超声灌注成像,矢状缝及左侧颞嵴深面衰减仍然存在,但右脑增强效果明显改善(见图 1 B)。



注: A. 磨薄右侧局部颅骨前, 右脑增强超声峰值强度为 3.67 dB; B. 磨薄右侧局部颅骨后, 右脑增强超声峰值强度增加至 12.01 dB。

图 1 同一只大鼠磨骨前后超声灌注成像效果的比较(L:左侧;R:右侧)

Note. (A) The peak intensity of the right hemisphere was 3.67 dB before thinning of the right skull. (B) The peak intensity of the right hemisphere increased to 12.01 dB after thinning of the skull.

Figure 1 Comparison of ultrasound perfusion imaging before and after skull grinding in the same rat (L: left. R: right)

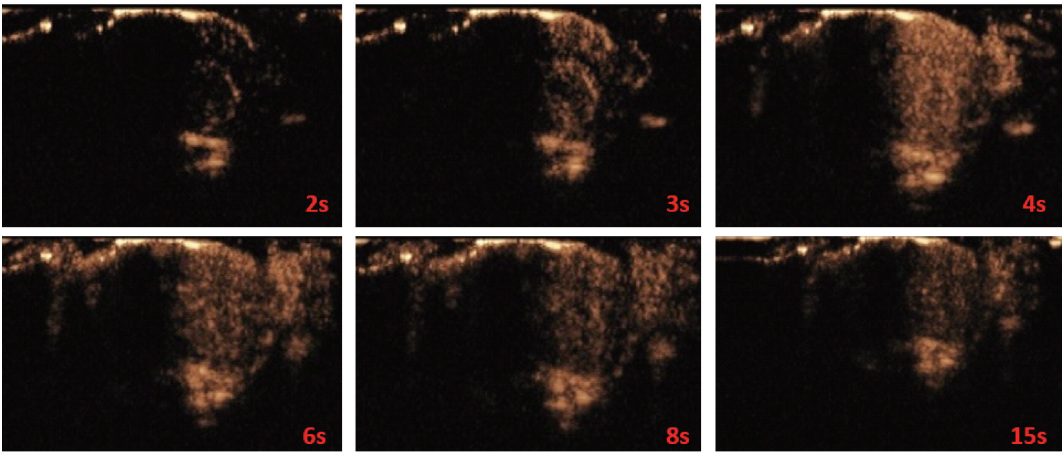


图 2 造影剂注射后不同时间的经颅超声灌注成像图像(s:秒)

Figure 2 Transcranial ultrasound perfusion imaging at different times after contrast agent injection (s, seconds)

逐帧观察造影动态图像发现,在造影剂注入后 1~2 s 大鼠右脑区域开始增强,增强迅速,至 2~4 s 时达高峰,各区域增强强度较为均匀一致,随后迅速廓清,至 30 s 时,造影剂的廓清已降低到峰值的一半以上(见图 2 和图 3)。

使用自由曲线勾勒右脑感兴趣区(ROI),平均面积为 $(22.36 \pm 0.2) \text{ mm}^2$ 。分析结果发现正常 SD 大鼠灌注成像模式为早期快速增强、快速下降,后期缓慢廓清,时间-强度曲线表现为早期陡峭的上升支,下降支开始陡峭,与上升支形成一尖峰,后期下降支缓慢的下降(见图 3)。

2.2 正常 SD 大鼠右侧局部颅骨磨薄前及磨薄后经颅超声灌注成像

A 组 6 只正常 SD 大鼠磨头骨前与磨头骨后右

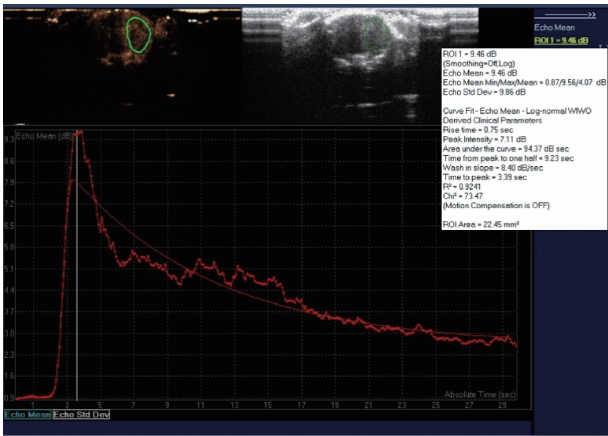


图 3 正常 SD 大鼠右脑的增强超声时间-强度曲线
Figure 3 Time-intensity curve of enhanced ultrasound in the right hemisphere of the brain in normal rats

脑实质灌注增强的时间 - 强度曲线参数(见图 4)。

2.3 右侧大脑 ROI 感兴趣区经颅超声灌注成像参数测定

实验提取了 48 只正常 SD 大鼠右脑磨头骨后脑实质灌注增强的时间 - 强度曲线(TIC 曲线),并使用 log-normal WIWO 模式拟合曲线,得到 6 个参数的平均值为:RT(上升时间):(1.23 ± 0.48) s,PI(峰值强度):(9.69 ± 1.98 dB),AUC(曲线下面积):(141.42 ± 38.04) dB/s,TPH(峰值下降至一半

强度的时间):(12.00 ± 6.45) s,WIS(增强斜率):(7.85 ± 2.53) dB/s,TTP(达峰时间):(4.16 ± 0.89) s。

2.4 磨头骨联合经颅超声造影技术对脑组织的安全性评估

与对侧未打磨的区域相比,EB 染色显示右侧打磨区域的大脑皮质及实质内均无明显蓝染区域,核磁 T2WI 显示打磨区域的脑组织表面没有明显高信号;增强 MRI 未见造影剂局部浓聚区(见图 5)。

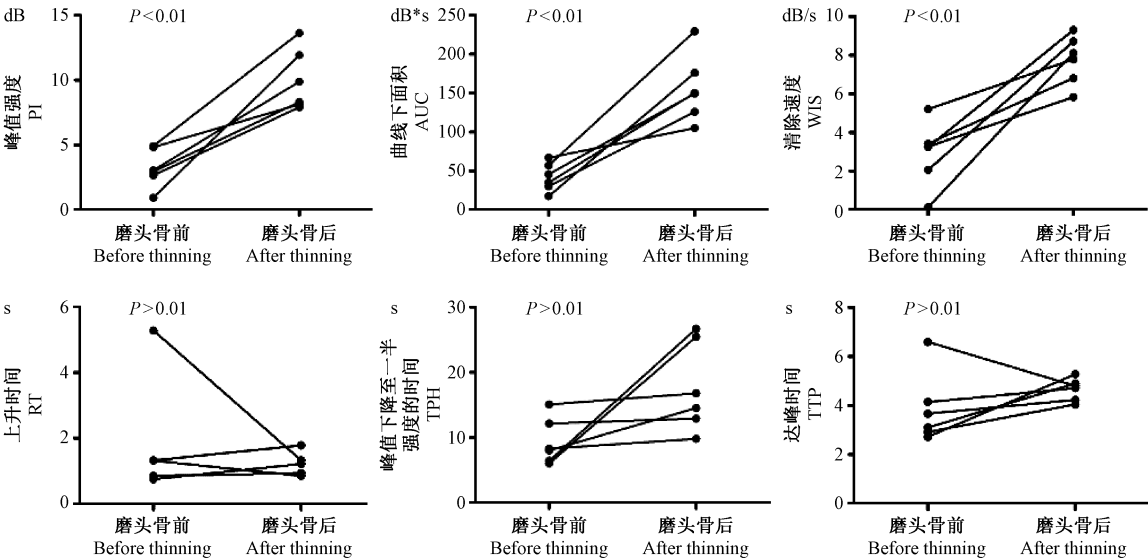


图 4 正常 SD 大鼠磨头骨前与磨头骨后右脑时间 - 强度曲线各定量参数的比较

Figure 4 Comparison of parameters of the time-intensity curve before and after skull thinning in normal rats

2.5 磨薄后的颅骨及其 HE 染色

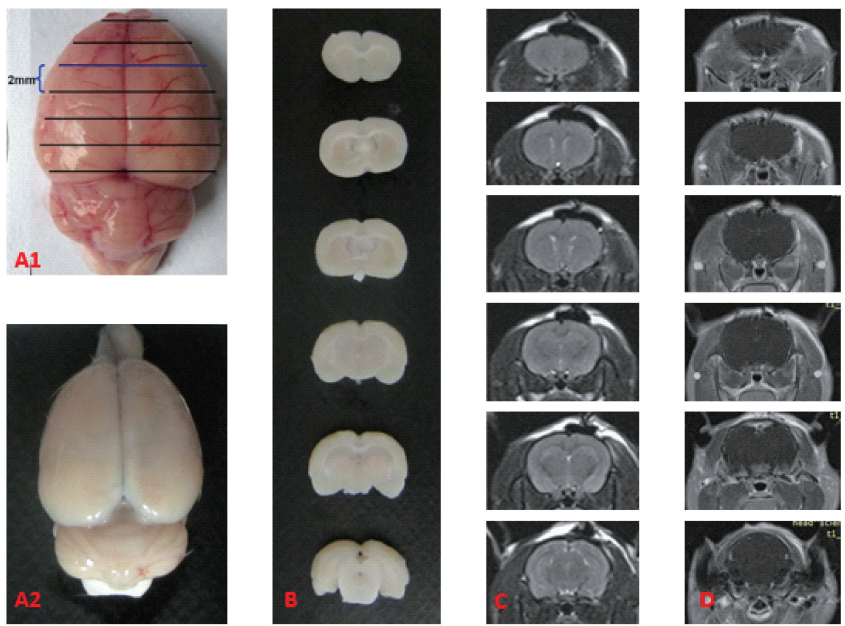
HE 染色显示剩余骨片的厚度平均值为(66.1 ± 11.4) μm,对侧相应区域的平均值为(202.0 ± 23.2) μm(图 6)。

3 讨论

为消除骨质对超声的衰减,保证经颅超声灌注成像的效果,进行开颅操作肯定是最佳的,但这种操作也会带来一些不良影响,如脑水肿、颅内压的改变、血-脑脊液屏障的破坏等^[10-11]。因此本实验只磨薄局部颅骨,并保证了大脑微环境的稳定。磨骨技术的关键是必须保持低转速,最大程度的降低机械力对脑组织的损伤。同时还需要使用室温的生理盐水不断地冲洗创面,极大的控制了局部温度的升高。Urban 等^[10]已经通过免疫染色的方法证实了这样的操作可以有效的降低局部的炎症反应以及神经细胞的死亡。我们在进行经颅超声灌注成像时也密切关注操作的安全性。我们将超声造影的机械指数设定为 0.10,造影剂剂量选择有效检

测的最小剂量 0.15 mL,每次超声检查时间控制在 10 min 之内,避免了经颅超声检查可能导致的颅内温度升高及脑组织损伤等问题^[12-13]。

血-脑脊液屏障是大脑具有保护作用的重要特殊结构,这种结构可使脑组织不受循环血液中有毒物质的损害,以保证脑内生理状况的稳定性^[15]。打磨颅骨和超声波都有导致血-脑脊液屏障通透性增加的风险。EB 染色是目前使用最广泛的检测血-脑脊液屏障开放性的手段之一。依文思蓝为一种相对分子质量为 961 的蓝色染料,一般不会穿过血管壁,经心脏灌注后可被完全清除,但一旦穿过血管壁进入到脑组织中则无法通过经心脏灌注方法所清除而在脑中显示出蓝染区域,因此可用于评价血-脑脊液屏障的通透性^[16]。核磁造影剂为一种钆剂(Gd-DTPA),分子量更小,仅约 500,且不与血液成分结合,能更加有效的评价更细微的血-脑脊液屏障开放^[17]。通过这两种手段,我们初步验证了磨薄大鼠局部颅骨联合经颅超声灌注成像不会破坏血-脑脊液屏障,证明这个技术具有一定的安全性。

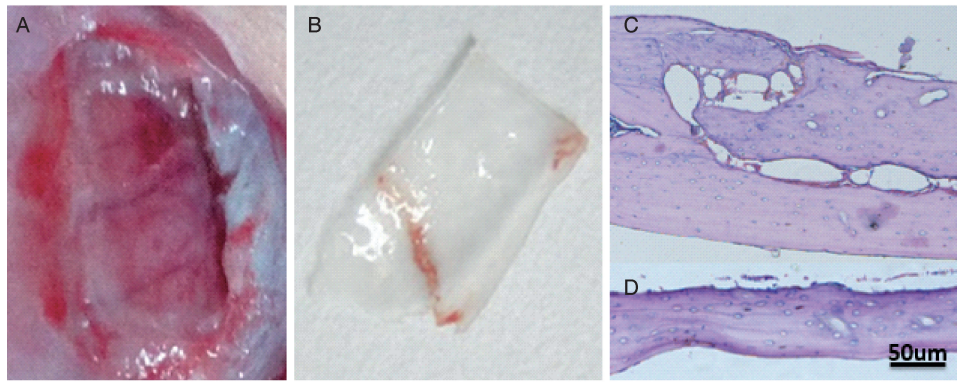


注:A;EB 染色后的大脑表面无明显蓝染区;B:EB 染色切片显示大脑皮质及实质内均无明显蓝染区域;C: MRI T2WI 显示脑组织内无明显脑水肿表现;D:增强 MRI 未见造影剂局部浓聚区。

图 5 磨薄部分颅骨及经颅超声对脑组织的安全性评估

Note. (A) No obvious Evans blue staining on the brain surface. (B) No obvious Evans blue staining in the cerebral cortex or parenchyma (C) No obvious cerebral edema on T2-weighted magnetic resonance imaging (MRI). (D) No local concentration of contrast agent was observed by enhanced MRI.

Figure 5 Assessment of the safety of skull thinning and transcranial contrast-enhanced ultrasound



注:A. 磨薄颅骨后的大鼠头部;B. 磨薄的颅骨照片;C. 左侧相同位置未经磨薄的颅骨 HE 切片;D. 右侧局部磨薄的颅骨 HE 切片。

图 6 磨薄颅骨后的大鼠头部、剩余颅骨骨片及颅骨的 H&E 染色切片

Note. (A) Rat cranium after grinding of the skull. (B) The thinned skull. (C) Histology of the unthinned skull at the equivalent position on the left hemisphere. (HE staining) (D) Histology of the thinned skull on the right side.

Figure 6 The skull after skull-thinning surgery

本实验比较了 A 组 6 只大鼠磨薄颅骨前后经颅超声灌注成像参数,结果发现所有与声强相关的参数,前后有显著差异,但时间参数均没有明显差异。综上所述磨薄颅骨可以明显改善大脑造影效果,但不会影响血流灌注速度。

峰值强度 (PI) 是反映组织脑血流灌注状态的重要指标,是反映在单位体积内造影剂的剂量^[2]。既往文献中以人脑超声造影的研究较多,但由于受

到颅骨骨质厚度及检测深度等因素的影响,各参数差异较大,比如 PI 在正常人群中的范围可达 3 ~ 6 倍,因此很难在人与人之间进行比较^[14]。而在我们的实验中,B 组 48 只磨骨后正常大鼠的 PI 表现出了较好的一致性,说明了该实验方法在大鼠脑灌注成像定量研究中的可行性,同时也证明经颅超声灌注成像在活体大鼠大脑灌注的研究中可能具有很好的应用价值。

本研究也存在一定的局限性。为了尽量减小对大鼠的损伤并缩短手术时长,本研究没有对大鼠左侧颅骨进行磨骨操作,因此不能进行两侧脑组织灌注的对比分析。另外,我们使用的超声造影剂 SonoVue 是目前国内唯一能应用于人体的造影剂,安全性好,但稳定性欠佳,在高频探头条件下成像效果有限,廓清过于快速,不利于后期对低灌注区的仔细观察。未来如能自行研制长循环造影剂,应该能明显改善成像的效果。

4 小结

本实验通过磨薄颅骨的技术将颅骨的厚度控制在一定的范围之内,显著改善了 SD 大鼠大脑的经颅超声灌注成像效果,并通过 EB 染色及 MRI 成像初步证实了该操作的安全性。使用磨薄颅骨后的经颅超声灌注成像有望成为未来脑缺血、脑出血等大鼠模型中一种快速、实时、准确的评估脑血流灌注的影像学方法。同时经颅超声灌注成像为血流动力学相关的脑疾病(如卒中、胶质瘤、血管硬化等)提供了新的活体影像分析手段。

参 考 文 献(References)

- [1] Kaspar M, Partovi S, Aschwanden M, et al. Assessment of microcirculation by contrast-enhanced ultrasound: a new approach in vascular medicine[J]. *Swiss Med Wkly*, 2015, 145: w14047.
- [2] Liu D, Qian L, Wang J, et al. Hepatic perfusion parameters of contrast-enhanced ultrasonography correlate with the severity of chronic liver disease[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2014, 40(11): 2556–2563.
- [3] Lamby P, Jung F, Graf S, et al. Effect of iodinated contrast media on renal perfusion: A randomized comparison study in pigs using quantitative contrast-enhanced ultrasound (CEUS) [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 13125.
- [4] Meairs S, Kern R. Intracranial perfusion imaging with ultrasound [J]. *Front Neurol Neurosci*, 2015, 36: 57–70.
- [5] Reitmeir R, Eyding J, Oertel MF, et al. Is ultrasound perfusion imaging capable of detecting mismatch? A proof-of-concept study in acute stroke patients[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2017, 37(4): 1517–1526.
- [6] 屈会化, 赵琰, 卢建秋, 等. 缺血性中风动物模型研究现状[J]. *中国实验动物学报*, 2010, 18(04): 360–363.
- Qu HH, Zhao Y, Lu JQ, et al. Current status of research on animal models of experimental ischemic stroke [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2010, 18(04): 360–363.
- [7] 赵浩, 李永宁, 王任直, 等. 大鼠局灶性脑缺血模型的有效制备[J]. *中国实验动物学报*, 2009, 17(06): 432–436 + 396.
- Zhao H, Li YN, Wang RZ, et al. Comparison of three procedures in the establishment of rat models of focal cerebral ischemia[J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2009, 17(06): 432–436 + 396.
- [8] 崔煦然, 刘钊, 张志斌, 等. 大鼠局灶性脑缺血模型评价方法间关联性分析[J]. *中国实验动物学报*, 2015, 23(05): 506–508 + 512.
- Cui XR, Liu Z, Zhang ZB, et al. Analysis of the correlation between three evaluation methods of rat models of focal cerebral ischemia/reperfusion [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2015, 23(05): 506–508 + 512.
- [9] Errico C, Pierre J, Pezet S, et al. Ultrafast ultrasound localization microscopy for deep super-resolution vascular imaging [J]. *Nature*, 2015, 527(7579): 499–502.
- [10] Urban A, Mace E, Brunner C, et al. Chronic assessment of cerebral hemodynamics during rat forepaw electrical stimulation using functional ultrasound imaging [J]. *Neuroimage*, 2014, 101: 138–149.
- [11] 金国良, 代荣晓, 俞学斌等. 开颅手术对大鼠血脑屏障的影响[J]. *中华创伤杂志*, 2009, (9): 807–810.
- Jin GL, Dai RX, Yu XB, et al. Effect of craniotomy on blood-brain barrier in rats[J]. *Chin J Trauma*, 2009, (9): 807–810.
- [12] Brayman AA, Lizotte LM, Miller MW. Erosion of artificial endothelia in vitro by pulsed ultrasound: acoustic pressure, frequency, membrane orientation and microbubble contrast agent dependence[J]. *Ultrasound Med Biol*, 1999, 25(8): 1305–1320.
- [13] Wu J, Cubberley F, Gormley G, et al. Temperature rise generated by diagnostic ultrasound in a transcranial phantom[J]. *Ultrasound Med Biol*, 1995, 21(4): 561–568.
- [14] Federlein J, Postert T, Meves S, et al. Ultrasonic evaluation of pathological brain perfusion in acute stroke using second harmonic imaging[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2000, 69(5): 616–622.
- [15] Zlokovic BV. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders[J]. *Neuron*, 2008, 57(2): 178–201.
- [16] Zeynalov E, Jones SM, Seo JW, et al. Arginine-vasopressin receptor blocker Conivaptan reduces brain edema and blood-brain barrier disruption after experimental stroke in mice [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0136121.
- [17] Bing KF, Howles GP, Qi Y, et al. Blood-brain barrier (BBB) disruption using a diagnostic ultrasound scanner and definity in mice[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2009, 35(8): 1298–1308.

[收稿日期] 2018–05–09