

• 实验研究 Experimental research •

320 排螺旋 CT 灌注成像和 DSA 彩色编码成像
评估兔急性骨骼肌缺血-再灌注损伤研究

李承志, 刘育齐, 张 红, 刘玉龙, 李王海, 李明月, 王晓白, 张 艳

【摘要】 目的 探讨多排螺旋 CT 行 CT 灌注(CTP)成像和彩色编码 DSA(ccDSA)成像在评估兔后肢急性缺血-再灌注(I-R)损伤中的诊断和临床应用价值。**方法** 50 只新西兰大白兔随机分为实验组($n=40$)和对照组($n=10$)。兔右后肢缺血 3 h 后,实验组接受再灌注,对照组仅作假手术;分别在 0、6、12、24 h 作双后肢影像学评估($n=10$)。实验组每一时点进一步随机均分为 CTP 亚组和 ccDSA 亚组,分别获取双后肢 CTP 相关参数血流量(AF)、血容量(BV)、对比剂清除率(C)和 ccDSA 参数对比剂峰值(peak),计算双后肢各参数比值 AF-R/L、BV-R/L、C-R/L 和 peak-R/L;检测血清肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)并分别与 AF-R/L、BV-R/L、C-R/L、peak-R/L 比值作相关性分析,对 AF-R/L 与 peak-R/L 作相关性分析。**结果** 再灌注过程开始后,AF-R/L、BV-R/L、C-R/L、peak-R/L 平均比值分别由 1.07 ± 0.08 、 1.03 ± 0.06 、 0.93 ± 0.15 和 1.09 ± 0.04 下降至 0.75 ± 0.11 、 0.85 ± 0.14 、 0.71 ± 0.18 和 0.45 ± 0.08 。AF-R/L 与 CK、LDH、MDA、SOD 血清水平间相关系数分别为 -0.60 、 -0.44 、 -0.62 、 0.57 ($P<0.05$);peak-R/L 与 CK、LDH、MDA、SOD 血清水平间相关系数分别为 -0.68 、 -0.71 、 -0.66 、 0.59 ($P<0.05$),与 AF-R/L 间相关系数为 0.70 ($P<0.05$)。**结论** 320 排螺旋 CT 行 CTP 成像与 ccDSA 成像,均可在一定程度上量化反映兔后肢骨骼肌 I-R 损伤发生及严重程度。

【关键词】 缺血-再灌注损伤; CT 灌注成像; 骨骼肌; 彩色编码 DSA 成像

中图分类号:R651.3,R337 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2019)-06-0566-05

320-slice spiral CT perfusion imaging and color-coded DSA imaging for the evaluation of acute skeletal muscle ischemia-reperfusion injury in experimental rabbits LI Chengzhi, LIU Yuqi, ZHANG Hong, LIU Yulong, LI Wanghai, LI Mingyue, WANG Xiaobai, ZHANG Yan. Department of Intervention and Vascular Surgery, First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou, Guangdong Province 510630, China

Corresponding author: ZHANG Yan, E-mail: dsazy@163.com

【Abstract】 Objective To discuss the clinical application of multi-slice spiral CT perfusion (CTP) imaging and color-coded DSA (ccDSA) imaging in diagnosing acute skeletal muscle ischemia-reperfusion (I-R) injury of hind limbs in experimental rabbits. **Methods** A total of 50 New Zealand white rabbits were randomly divided into experimental group ($n=40$) and control group ($n=10$). The ischemic status of rabbit right hind limb was kept for 3 hours, then, the rabbits of the experimental group received reperfusion, while the rabbits of the control group received sham operation. Imaging evaluation of bilateral hind limbs was conducted at 0, 6, 12 and 24 hours after treatment separately ($n=10$ at each time point). At each time point, the rabbits of the experimental group were further randomly and equally divided into CTP sub-group and ccDSA sub-group. The CTP-related parameters, including blood flow (AF), blood volume (BV), contrast agent clearance rate (C), and the ccDSA parameter of maximum contrast enhancement value (peak value) were separately obtained. The ratios of parameters of bilateral hind limbs, including AF-R/L, BV-R/L, C-R/L and peak-R/L, were calculated. The serum creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), malondialdehyde

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2019.06.014

基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金项目(21617318)

作者单位:510630 广州 暨南大学附属第一医院介入与血管外科

通信作者:张 艳 E-mail: dsazy@163.com

(MDA) and superoxide dismutase(SOD) were tested, and correlation between the above indexes and ratios of AF-R/L, BV-R/L, C-R/L and peak-R/L was separately analyzed. The correlation between AF-R/L and peak-R/L was analyzed. **Results** After the reperfusion process started, the mean ratios of AF-R/L, BV-R/L, C-R/L and peak-R/L decreased from initial (1.07 ± 0.08), (1.03 ± 0.06), (0.93 ± 0.15) and (1.09 ± 0.04) to (0.75 ± 0.11), (0.85 ± 0.14), (0.71 ± 0.18) and (0.45 ± 0.08) respectively. The correlation coefficients between AF-R/L and serum levels of CK, LDH, MDA, SOD were -0.60 , -0.44 , -0.62 and 0.57 respectively ($P<0.05$). The correlation coefficients between peak-R/L and serum levels of CK, LDH, MDA, SOD were -0.68 , -0.71 , -0.66 and 0.59 respectively ($P<0.05$). The correlation coefficient between peak-R/L and AF-R/L was 0.70 ($P<0.05$). **Conclusion** Both 320-slice spiral CT perfusion imaging and ccDSA imaging can, to a certain extent, quantitatively reflect the occurrence and severity of acute skeletal muscle I-R injury of hind limbs in experimental rabbits. (J Intervent Radiol, 2019, 28: 566-570)

【Key words】 ischemia reperfusion injury; CT perfusion imaging; skeletal muscle; color-coded DSA imaging

近年临床上骨骼肌缺血-再灌注(I-R)损伤越来越常见,如果未及时处理,除了会引起严重肢体损伤,还可能造成多脏器衰竭,甚至死亡^[1]。I-R损伤发生及严重程度可通过临床症状和实验室检查指标肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)等直接客观地判断^[2]。随着医学影像学不断发展,CT灌注(CTP)成像^[3-4]、MRI^[5-6],甚至 DSA 均可应用于心脏和脑 I-R 损伤评估^[7-8]。本研究采用 CTP 成像和彩色编码 DSA(ccDSA)成像技术评估兔后肢急性骨骼肌 I-R 损伤,并对两种方法作对比分析,旨在为临床提供更加客观有效的骨骼肌 I-R 损伤评估方法。

1 材料与方法

1.1 实验分组

50 只新西兰大白兔随机分为 I-R 损伤实验组($n=40$)和对照组($n=10$)。实验组进一步随机均分为 CTP 亚组($n=20$)和 ccDSA 亚组($n=20$)。实验组兔右后肢缺血 3 h 后开始再灌注,并在再灌注发生第 0、6、12、24 h 作影像学评估,每一时点 CTP 扫描和 DSA 造影各 5 只。

1.2 缺血模型构建

麻醉成功后将实验兔固定在手术台上,每隔 3 h 经耳缘静脉补充注射 1%戊巴比妥维持麻醉(30 mg/kg)。实验组腹部备皮、消毒,显露和分离右侧髂总动脉、髂内动脉和髂腰动脉,手术缝线临时结扎上述动脉,同时用橡皮筋扎紧兔尾,防止侧支循环影响缺血模型构建;模型构建 3 h 后,松开结扎缝线造成右下肢再灌注。对照组仅作开腹处理,不结扎动脉。

1.3 CTP 成像

CTP 亚组实验兔再灌注发生第 0、6、12、24 h,采用 Aquilion One 320 排螺旋 CT(日本东芝公司)作双后肢全程扫描,分别定义为 CT-0、CT-6、CT-12、CT-24 亚组。扫描前经耳缘静脉用高压注射器以 1 mL/s 速率注入 3 mL 碘克沙醇(320 mg I/mL),随后以同样速率注入 0.9% 氯化钠溶液 8 mL ;延迟 3 s 后开始 CT 扫描。

1.4 ccDSA 成像

与 CTP 亚组相似,ccDSA 亚组实验兔补充麻醉后仰卧位固定于 Artis Zeego 型 DSA 机(德国 Siemens 公司)扫描床,切开皮肤并分离右侧颈总动脉,经颈总动脉置入 2.7 F 微导管(日本 Terumo 公司),微导丝引导下将微导管头端送至腹主动脉下段;再灌注发生第 0、6、12、24 h 对兔后肢作造影——高压注射器经微导管以 3 mL/s 速率注入碘克沙醇(320 mg I/mL),注射压力 200 psi ,总注射剂量 9 mL ,DSA 采集频率为 6 帧/s ,分别定义为 DSA-0、DSA-6、DSA-12、DSA-24 亚组。

1.5 图像后处理

CT 和 DSA 扫描所有原始数据分别上传至 Vitrea(日本 Toshiba 公司)和 Leonardo(德国 Siemens 公司)后处理平台,相关数据由各自软件自动运算。2 名有经验的介入医师在获取图像中分别在兔双侧股外侧肌群内取 50 mm^2 感兴趣区(ROI),CTP 亚组和 ccDSA 亚组 ROI 均位于骨和血管外软组织内。在 CTP 亚组分别获取兔右侧和左侧后肢 ROI 数据参数血流量(AF)、血容量(BV)、对比剂清除率(C),在 ccDSA 亚组获取右侧和左侧 ROI 数据参数对比剂峰值(peak)。为了避免个体差异,对上述数据右侧和

左侧比值, 即 AF-R/L、BV-R/L、C-R/L、peak-R/L 作统计学分析。

1.6 实验室检查

CT、DSA 扫描前, 全部实验兔经颈外静脉采血 3 mL; 血样中血浆经离心和分离储存于 -20°C , 并经生化检测仪自动检测 CK、LDH, 硫巴比妥钠法检测 MDA, 黄嘌呤氧化酶法检测 SOD。

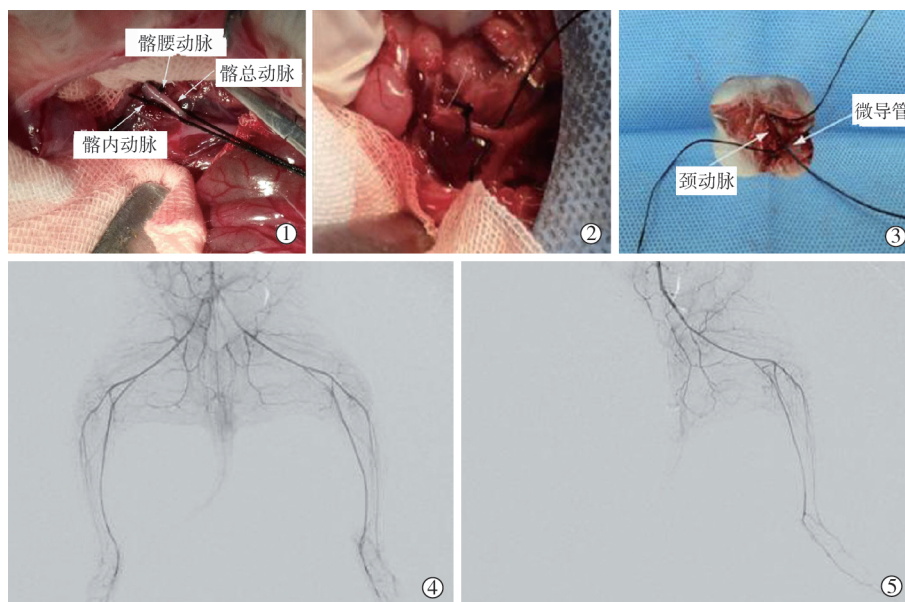
1.7 统计学方法

采用 SPSS 16.0 软件对所得数据作统计学分析。组间比较用单因素方差分析, 对照组与实验各

组分别用独立 t 检验。AF-R/L、BV-R/L、C-R/L、peak-R/L 比值分别与实验室检查结果 CK、LDH、MDA、SOD 血清水平作 Pearson 相关性分析, AF-R/L 与 peak-R/L 作相关性分析。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

全部 50 只实验兔建模成功 (图 1), 各组 CTP 扫描和 DSA 造影图像获取顺利 (图 2)。实验过程中无实验兔意外死亡。



①分离髂总动脉和髂腰动脉;②结扎右侧髂总动脉和髂腰动脉;③经一侧颈内动脉送入导管作腹主动脉造影;④⑤双后肢动脉造影确认结扎动脉前后血流状态变化

图 1 动物模型构建过程

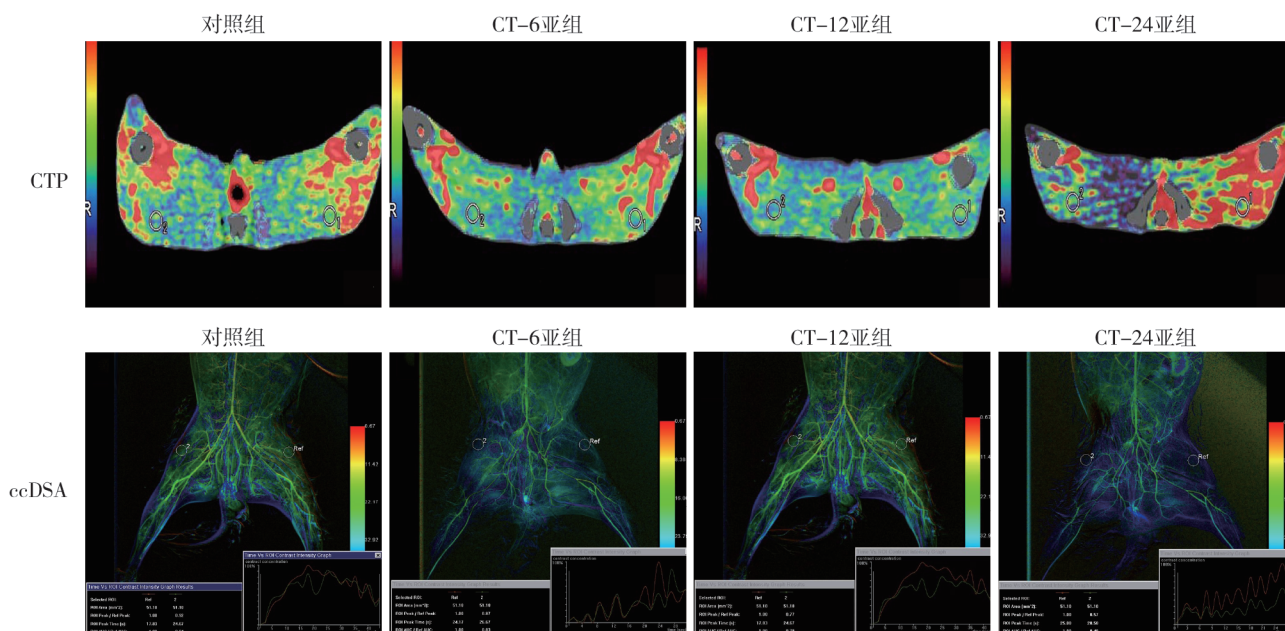


图 2 兔后肢 CTP 成像 ROI 选择与 ccDSA 成像血流图

CTP 成像与 ccDSA 成像所获相关参数见表 1。CTP 亚组与对照组 AF-R/L 差异有统计学意义($P<0.05$),BF-R/L、C-R/L 仅在再灌注 12 h、24 h 时点与对照组差异有统计学意义($P<0.05$)。经单因素方差分析,CTP 亚组各时点 AF-R/L 间差异有显著统计

学意义($F=6.206, P=0.002$),且随再灌注时间延长,AF-R/L 逐渐下降;BV-R/L、C-R/L 各时点间差异无统计学意义($P>0.05$)。ccDSA 亚组与对照组 peak-R/L 差异有统计学意义($P<0.05$),且随再灌注时间延长,peak-R/L 逐渐下降。

表 1 CTP 成像与 ccDSA 成像所获数据参数

 $\bar{x}\pm s$

组别	AF-R/L	BV-R/L	C-R/L	组别	peak-R/L
对照组	1.07±0.08	1.03±0.06	0.93±0.15	对照组	1.09±0.04
CT-0 亚组	0.92±0.14*	0.98±0.18	0.83±0.16	DSA-0 亚组	0.93±0.04*
CT-6 亚组	0.89±0.12*	0.97±0.29	0.79±0.08	DSA-6 亚组	0.80±0.06*
CT-12 亚组	0.88±0.20*	0.88±0.11*	0.73±0.06*	DSA-12 亚组	0.65±0.03*
CT-24 亚组	0.75±0.11*	0.85±0.14*	0.71±0.18	DSA-24 亚组	0.45±0.08*

* 与对照组比较, $P<0.05$

实验室检查血清生化指标见表 2。实验组 CK、LDH、MDA 值与对照组相比明显升高,SOD 值与对照组相比明显降低($P<0.05$)。单因素方差分析显

示,实验组亚组间 CK、LDH 值差异有统计学意义($P<0.05$),MDA、SOD 差异无统计学意义($P>0.05$)。

参数相关性分析显示,CK、LDH、MDA 与 AF-R/L

表 2 各组实验室检查血清生化指标

 $\bar{x}\pm s$

组别	CK/(U/L)	LDH/(U/L)	MDA/(nmol/mL)	SOD/(U/mL)
对照组	389.75±42.25	402.38±26.23	1.51±0.30	172.82±7.06
实验组				
I-R 0 h	688.98±35.22*	568.65±42.85*	2.03±0.24*	152.14±15.06*
I-R 6 h	3668.19±599.56*	1 172.59±89.86*	2.11±0.33*	148.72±15.80*
I-R 12 h	5780.22±421.64*	1 410.76±198.32*	2.38±0.46*	142.24±12.73*
I-R 24 h	8954.13±894.36*	2 031.80±265.28*	3.07±0.60*	136.12±11.40*

* 与对照组比较, $P<0.05$

呈负相关($r=-0.60, P<0.05$)($r=-0.44, P<0.05$)($r=-0.62, P<0.05$),SOD 与 AF-R/L 呈正相关($r=0.57, P<0.05$);LDH 与 BV-R/L 呈负相关($r=-0.45, P<0.05$),C-R/L 与所有实验室检查结果无相关性($P>0.05$)。peak-R/L 与 CK、LDH、MDA 呈负相关($r=-0.68, P<0.05$)($r=-0.71, P<0.05$)($r=-0.66, P<0.05$),与 SOD 呈正相关($r=0.59, P<0.05$)。peak-R/L 与 AF-R/L 呈正相关($r=0.70, P<0.05$)。

3 讨论

I-R 损伤后及早评估可帮助临床医师及时准确治疗,预防严重并发症发生^[9]。本研究成功构建兔骨骼肌 I-R 损伤模型,采用 CTP 成像和 ccDSA 成像技术在再灌注发生第 0、6、12、24 h 进行评估,获得相关 AF-R/L、BV-R/L、C-R/L 和 peak-R/L 参数,同时检测 CK、LDH、MDA、SOD 值,并对上述数据作统计学分析,探讨 CTP 成像和 ccDSA 成形成在骨骼肌 I-R 损伤评估中的应用。

CTP 成像原理是在外周静脉注射对比剂的同时,对组织或脏器某一选定层面进行数字化扫描,从而获得 ROI 内每一像素的时间-密度曲线(TDC)^[10]。

CTP 成像在心肌、脑和肝脏 I-R 损伤评估中发挥积极作用^[11],但用于评估骨骼肌 I-R 损伤的报道却很少。本研究为避免个体差异,分析了 AF-R/L、BV-R/L、C-R/L 比值,CTP 亚组与对照组相比 AF-R/L 呈明显下降趋势,并在第 24 h 时点下降了 30%($P<0.05$),而 AF-R/L 与生化指标间相关性进一步说明其可反映 I-R 损伤;此外,BV-R/L、C-R/L 与生化指标间差异无统计学意义。基于上述结果,本研究认为 AF-R/L 与 BV-R/L、C-R/L 相比,能更及时准确地反映 I-R 损伤发生和进展,即通过 CTP 成像尽早评估患者 AF-R/L 比值,可提示临床医师作出更加及时准确的治疗。

ccDSA 成像通过分析血管中流动对比剂引起的密度变化,并将这些数据转化为连续像素,最终经计算机处理得出有关血流分布和血流容积的相关功能参数^[12]。与 CTP 亚组获得的参数类似,为避免外界因素影响研究结果,本研究经计算获取兔后肢 peak-L/R 比值并作进一步统计分析,实验各亚组 peak-R/L 比值与对照组相比均明显降低,且随再灌注进展呈逐渐下降趋势,至第 24 h 时点达到最低。这一结果与上述研究结果相吻合,因此可理解为

peak-R/L 比值在一定程度上可反映 I-R 损伤严重程度。这一结论可很大程度上帮助临床医师合理应用 ccDSA 成像评估 I-R 损伤发生和进展,指导治疗。

有研究显示一些实验室检查指标可定量反映 I-R 损伤发生及严重程度^[13]。本研究在影像学评估前经兔耳缘静脉采血检测 LDH、CK、MDA、SOD,旨在通过实验室检测指标进一步量化评估实验动物后肢 I-R 损伤情况,结果显示实验组 LDH、CK 值与对照组相比明显升高,且与再灌注发生时间呈正相关。这表明再灌注发生时损伤即存在,且随时间延长损伤逐渐加重。

本研究中 AF-R/L、peak-R/L 比值与实验室检查生化指标间相关性,可一定程度上反映两者能客观评估 I-R 损伤,即这 2 个指标可量化体现 I-R 损伤发生及严重程度。此外,ccDSA 成像原理与 CTP 成像类似,均源于 TDC 获得相关参数。AF-R/L、peak-R/L 比值间呈正相关性进一步说明两者客观性相互支撑,即采用 CTP 成像和 ccDSA 成像评估 I-R 损伤安全可行。急性下肢缺血动脉再通治疗首选术式为 DSA 引导下腔内介入术,DSA 与 CT、MRI 相比操作时间更短,术中可对血管和肢体进行实时评估,提前预估肢体会否发生严重 I-R 损伤,为下一步治疗提供及时重要的参考依据。ccDSA 成像在原有 DSA 基础上直接进行后处理,故无需多余 X 射线曝光量和对对比剂,这也是其优势之一。

本研究结论认为,320 排螺旋 CT 行 CTP 成像与 ccDSA 成像均可在一定程度上量化反映兔后肢骨骼肌 I-R 损伤发生及严重程度,两者具有各自优势且相互支撑。

[参 考 文 献]

- [1] Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury[J]. Br Med Bull, 2004, 70: 71-86.
- [2] Bosco G, Yang Z, Nandi J, et al. Effects of hyperbaric oxygen on glucose, lactate, glycerol and anti-oxidant enzymes in the skeletal muscle of rats during ischemia and reperfusion[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2007, 34: 70-76.
- [3] Burk LM, Wang KH, Wait JM, et al. Delayed contrast enhancement imaging of a murine model for ischemia reperfusion with carbon nanotube micro-CT[J]. PLoS One, 2015, 10: e0115607.
- [4] 郭成伟,曹希明,李新云,等.兔肝缺血再灌注损伤 CT 灌注及其病理对照[J].医学影像学杂志,2011,21:607-610.
- [5] Jiang CJ, Wang ZJ, Zhao YJ, et al. Erythropoietin reduces apoptosis of brain tissue cells in rats after cerebral ischemia/reperfusion injury: a characteristic analysis using magnetic resonance imaging[J]. Neural Regen Res, 2016, 11: 1450-1455.
- [6] 蔡立珍,闫少珍,王晓莉,等. MRI-DWI 评估褪黑素对脑缺血再灌注损伤保护作用的实验研究[J].临床放射学杂志,2015,34:1999-2003.
- [7] Koome M, Churilov L, Chen Z, et al. Computed tomography perfusion as a diagnostic tool for seizures after ischemic stroke[J]. Neuroradiology, 2016, 58: 577-584.
- [8] Nakanishi R, Matsumoto S, Alani A, et al. Diagnostic performance of transluminal attenuation gradient and fractional flow reserve by coronary computed tomographic angiography (FFR-CT) compared to invasive FFR: a sub-group analysis from the DISCOVER-FLOW and DeFACTO studies[J]. Int J Cardiovasc Imaging, 2015, 31: 1251-1259.
- [9] 蒋高霞,徐桂华,孟娣娟.肢体缺血预处理缓解缺血再灌注损伤的研究进展[J].中国普通外科杂志,2012,21:877-880.
- [10] Miles KA, Hayball M, Dixon AK. Colour perfusion imaging: a new application of computed tomography[J]. Lancet, 1991, 337: 643-645.
- [11] Heemskerk AM, Drost MR, van Bochove GS, et al. DTI-based assessment of ischemia-reperfusion in mouse skeletal muscle[J]. Magn Reson Med, 2006, 56: 272-281.
- [12] Strother CM, Bender F, Deuerling-Zheng Y, et al. Parametric color coding of digital subtraction angiography[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2010, 31: 919-924.
- [13] Brickson S, Hollander J, Corr DT, et al. Oxidant production and immune response after stretch injury in skeletal muscle[J]. Med Sci Sports Exerc, 2001, 33: 2010-2015.

(收稿日期:2018-08-13)

(本文编辑:边 佶)