

·实验研究 Experimental research·

DSA 灌注成像在急性缺血-再灌注损伤兔模型中的应用

何子聪, 曹彦龙, 李承志, 张 艳

【摘要】 目的 探讨 DSA 灌注成像技术评估骨骼肌缺血-再灌注损伤(IRI)的应用价值。**方法** 将 30 只新西兰大白兔随机分为 IRI 0 h 组、6 h 组、12 h 组、24 h 组和对照组,每组各 6 只。IRI 各组分别在右下肢缺血 3 h 恢复血流灌注后 0 h、6 h、12 h、24 h 接受双下肢动脉 3D DSA 造影,对照组不予特殊处理即行双下肢动脉 3D 造影,同时检测血清肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)水平变化。用 DSA 灌注成像后处理软件 Syngo DynaPBV 分析造影图像,计算出双下肢灌注参数之血流容积(BV)及其两者比值之相对血流容积(rBV),将各时点测得的 rBV 与实验室指标作相关性分析。**结果** 与对照组相比,DSA 灌注参数 rBV 在 IRI 6 h 组、12 h 组、24 h 组间差异有统计学意义($P<0.05$);IRI 各组间比较,rBV 随再灌注时间延长逐渐降低($F=5.816, P<0.05$)。Pearson 相关性分析显示,IRI 组各时点 rBV 值与实验室检查指标 CK($r=-0.91, P<0.05$)、LDH($r=-0.90, P<0.05$)、MDA($r=-0.85, P<0.05$)呈负相关,与 SOD($r=0.74, P<0.05$)呈正相关。**结论** 术中应用 DSA 灌注成像技术评估肢体 IRI 安全可行,其灌注参数与实验室指标间有较好相关性,可实时评估术中骨骼肌 IRI 程度。

【关键词】 数字化三维血管造影;缺血-再灌注损伤;DSA 灌注成像

中图分类号:R364 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2019)-08-0765-05

Application of DSA perfusion imaging in rabbit model with acute ischemia-reperfusion injury HE

Zicong, CAO Yanlong, LI Chengzhi, ZHANG Yan. Department of Interventional Radiology 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 application value of DSA perfusion imaging technique in the evaluation of skeletal muscle ischemia-reperfusion injury (IRI). **Methods** Thirty New Zealand white rabbits were randomly and equally divided into five groups with 6 rabbits in each group; including 0-hour, 6-hour, 12-hour and 24-hour IRI groups (study group) and control group. The right lower limb ischemia lasting for 3 hours was produced by artery ligation, and at 0-hour, 6-hour, 12-hour and 24-hour after restoration of blood perfusion 3D-DSA angiography of bilateral lower extremity arteries was separately performed for the experimental rabbits of the corresponding IRI group. For the rabbits of the control group, 3D-DSA angiography of bilateral lower extremity arteries was directly carried out with no special treatment. The serum levels of creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) were tested. Using DSA perfusion imaging post-processing software Syngo DynaPBV, the angiographic images were analyzed, the blood flow volume (BV) and relative blood flow volume (rBV) of both lower extremity perfusion parameters were calculated, and the correlation analysis between rBV measured at different time points and the above mentioned laboratory indexes was conducted. **Results** Compared with the control group, in the study group statistically significant difference in rBV value of DSA perfusion parameter existed between each other

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2019.08.013

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血管外科(何子聪、李承志、张 艳);新疆喀什地区第一人民医院(曹彦龙)

通信作者:张 艳 E-mail: dsazy@163.com

among 6-hour, 12-hour and 24-hour IRI groups ($P < 0.05$). The comparison among the 4 IRI groups showed that along with the prolongation of reperfusion time, rBV value decreased gradually ($F = 5.816, P < 0.05$). Pearson correlation analysis indicated that in each IRI group the rBV value of each time point bore a negative relationship with CK ($r = -0.91, P < 0.05$), LDH ($r = -0.90, P < 0.05$) and MDA ($r = -0.85, P < 0.05$), while had a parallel relationship with SOD ($r = 0.74, P < 0.05$). **Conclusion** For the evaluation of skeletal muscle IRI, intraoperative use of DSA perfusion imaging technique is safe and feasible. The perfusion parameters of DSA are well correlated with laboratory indexes, which are very helpful in making real-time evaluation of skeletal muscle IRI during operation. (J Intervent Radiol, 2019, 28: 765-769)

[Key words] digital 3D angiography; ischemia-reperfusion injury; DSA perfusion imaging

骨骼肌缺血-再灌注损伤 (ischemia-reperfusion injury, IRI) 在外周动脉闭塞性病变、血管和肌肉创伤、游离组织转移以及耗时的修复和移植手术中常难以避免^[1], 而骨骼肌具有较其它组织、脏器更旺盛的新陈代谢, 对于 IRI 更为敏感^[2]。因此, 临床疾病诊疗过程中需对骨骼肌 IRI 发生及其损伤程度作出及时准确判断。DSA 造影一直是外周动脉疾病 (PAD) 诊断金标准^[3], 可直观地评估血管解剖结构。近年随着科技发展和影像学检查适应证不断扩大, 各种后处理技术革新使得 DSA 能够实现对局部血流的量化^[4-6]。作为德国 Siemens 公司 Artis Zee 系列产品中新推出的一款影像后处理软件, Syngo DynaPBV 可对 DSA 所获图像数据进行处理并计算出局部血流灌注参数——血流容积 (BV)。本研究旨在采用 DSA 灌注成像技术 DynaPBV 观察兔下肢急性 IRI 后肌肉组织灌注参数变化, 探讨其在评估骨骼肌 IRI 中的应用价值。

1 材料与方法

1.1 器械和试剂

4 F 血管鞘组、2.7 F Progreat 微导管购自日本 Terumo 公司, 戊巴比妥钠购自国药集团化学试剂北京公司, 碘克沙醇 (320 mg I/mL) 购自北京北陆集团公司, 丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.2 实验动物

选用成年健康新西兰大白兔 30 只 (广州市花都区花东信华实验动物养殖场), 不限雌雄, 体重在 2.0~2.5 kg, 平均 (2.2±0.2) kg, 均普通饲料喂养。

1.3 实验方法

本研究实验设计获得暨南大学医学伦理学委员会审批。将 30 只新西兰大白兔随机分为 IRI 0 h 组、6 h 组、12 h 组、24 h 组和对照组, 每组各 6 只。

动物模型制作: 3% 戊巴比妥钠溶液 (1~

1.2 mL/kg) 经耳缘静脉注射麻醉实验兔, 予仰卧位固定于固定板上, 中下腹部备皮、消毒、铺巾, 耻骨联合上 3 cm 行正中纵行切口。对 IRI 各组实验兔, 完全显露出荐中动脉和双侧髂总、髂外、髂内、髂腰动脉后, 分别用 4 号丝线依次结扎荐中动脉、双侧髂腰动脉、髂内动脉及右髂总、髂外动脉, 并用丝线捆扎尾巴 (结扎尾动脉), 右髂外动脉苍白塌陷、搏动消失表示结扎成功; 3 h 后松开右髂总和髂外动脉处丝线, 血管充盈并可触及搏动表示再灌注成功; 随后关闭腹腔, 等待扫描。对对照组实验兔, 麻醉固定后仅行开腹处理, 上述动脉分支不予结扎。

3D DSA 造影: 麻醉、固定后, 暴露一侧颈部并备皮、消毒、铺巾, 切开颈部皮肤和筋膜, 显露一侧颈总动脉, 18 G 穿刺针穿刺之并引入 4 F 血管鞘, 透视下将 2.7 F Progreat 微导管送至腹主动脉下段, 导管头端置于双侧髂动脉分叉上方约 3 cm 处。对照组于完成处理后直接行双下肢动脉 3D 造影, IRI 各组分别于恢复灌注后 0 h、6 h、12 h、24 h 造影。选择 Artis Zeego DSA 机于 8S Neuro 模式, 碘克沙醇 (320 mg I/mL) 与 0.9% 氯化钠溶液 1:1 配比后, 用 Mark V 高压注射器 (美国 Medrad 公司) 以 1 mL/s 速率、300 psi 压力经微导管匀速注入。每组造影影像均采集至静脉期下腔静脉显影。

1.4 图像后处理

将 3D 造影的原始图像数据导入 Leonardo 后处理工作站, Syngo DynaPBV 软件进行后处理得到 DSA 灌注图像, 分别在两侧大腿股外侧肌区域对称地选取面积约 50 mm² 感兴趣区 (ROI), 从而获得并计算出患侧肢体 DSA 灌注参数 BV 及其与对侧肢体灌注参数的比值——相对 BV (rBV)。DSA 灌注图像后处理和 ROI 选定均由 2 名经验丰富的介入和血管外科医师合作进行, 所选区域避开骨骼和血管。为求准确, 每只实验兔 DSA 灌注参数检测均重复 3 次。

1.5 实验室指标检测

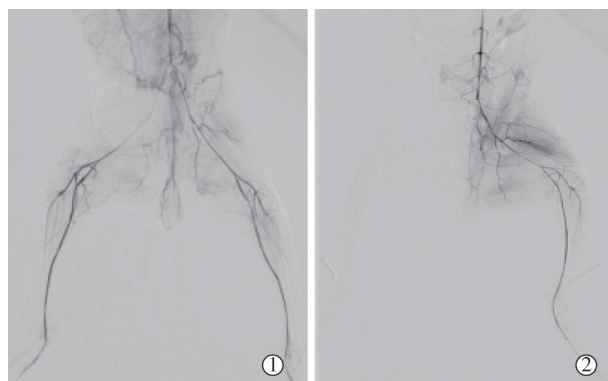
DSA 造影前,均于各组实验兔颈外静脉采血 3 mL,检测血清肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、MDA 和 SOD 水平。CK、LDH 用全自动生化分析仪检测,MDA 用硫代巴比妥钠法检测,SOD 用黄嘌呤氧化酶法检测。

1.6 统计学处理

采用统计学软件 SPSS 25.0 分析实验数据,组间比较用单因素方差分析,各组灌注参数与实验室指标用 Pearson 相关性分析;计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, $P<0.05$ 视为差异有统计学意义。

2 结果

对照组和 IRI 各组全部 30 只实验兔均成功建模(图 1),并在各自时间点上顺利完成 3D DSA 造影。与对照组相比,DSA 灌注参数 rBV 在 IRI 6 h 组、12 h 组、24 h 组间差异有统计学意义($P<0.05$)(表 1);IRI 各组间比较,rBV 随再灌注时间延长逐渐降低($F=5.816, P<0.05$)(图 2)。



①结扎右下肢动脉前;②结扎后

图 1 DSA 造影证实建模成功

实验室指标检测显示,IRI 各组血清 CK、LDH、MDA 含量与对照组相比均升高,SOD 含量均降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)(表 2)。IRI 各组间比较显示,血清 CK、LDH、MDA 含量均随再灌注时间延长逐渐升高($P<0.05$),SOD 含量随再灌注时间延长逐渐降低,但在再灌注 12 h 内差异无统计学意义

表 1 各组 DSA 灌注参数

组别	rBV/%
对照组	1.28 \pm 0.37
IRI 0 h 组	1.08 \pm 0.17
IRI 6 h 组	0.86 \pm 0.05*
IRI 12 h 组	0.20 \pm 0.05*
IRI 24 h 组	0.04 \pm 0.02*

* 与对照组比较, $P<0.05$

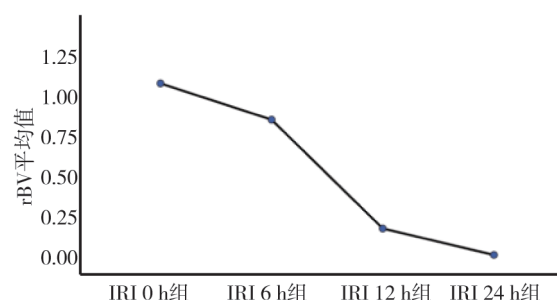


图 2 IRI 各组 rBV 变化曲线

义($P>0.05$)(图 3)。

Pearson 相关性分析显示,IRI 组各时点 rBV 值与实验室检查指标 CK($r=-0.91, P<0.05$)、LDH($r=-0.90, P<0.05$)、MDA($r=-0.85, P<0.05$)呈负相关,与 SOD($r=0.74, P<0.05$)呈正相关(图 4)。

3 讨论

DSA 灌注成像技术是在 DSA 造影的同时,通过 Syngo DynaPBV 后处理软件获取检查对象的功能成像和血流灌注参数,目前主要应用于神经系统功能评估。DynaPBV 可在术中通过检测脑 BV(CBV),量化地反映脑组织缺血状态^[7],从而为急性脑卒中术前快速评估提供一种新的便捷选择,并可在术中指导下治疗方案制定^[8]。颈动脉支架植入术(CAS)后高灌注综合征常带来严重并发症,而 DynaPBV 能于 CAS 前后即行 CBV 检测,不必运送患者出手术室,利于及时评估 CAS 疗效和术后脑灌注情况^[9]。DynaPBV 在评估脑肿瘤^[10]、肝脏肿瘤^[11-12]血流灌注和栓塞术疗效等方面的应用,亦展现出实用价值。

缺血-再灌注引起的血液流变学异常和微循环

表 2 各组血清 CK、LDH、MDA、SOD 水平

组别	CK/(U/L)	LDH/(U/L)	MDA/(nmol/mL)	SOD/(U/mL)
对照组	387.50 \pm 12.48	395.88 \pm 15.07	1.57 \pm 0.21	177.14 \pm 5.66
IRI 0 h 组	674.41 \pm 57.17*	576.71 \pm 38.16*	1.97 \pm 0.05*	149.90 \pm 7.85*
IRI 6 h 组	3 690.47 \pm 294.02*	1 086.06 \pm 135.43*	2.12 \pm 0.06*	145.42 \pm 3.68*
IRI 12 h 组	5 880.17 \pm 215.18*	1 448.61 \pm 149.29*	2.38 \pm 0.12*	144.90 \pm 3.98*
IRI 24 h 组	8 954.27 \pm 470.78*	2 019.58 \pm 106.55*	3.11 \pm 0.17*	133.30 \pm 3.40*

* 与对照组比较, $P<0.05$

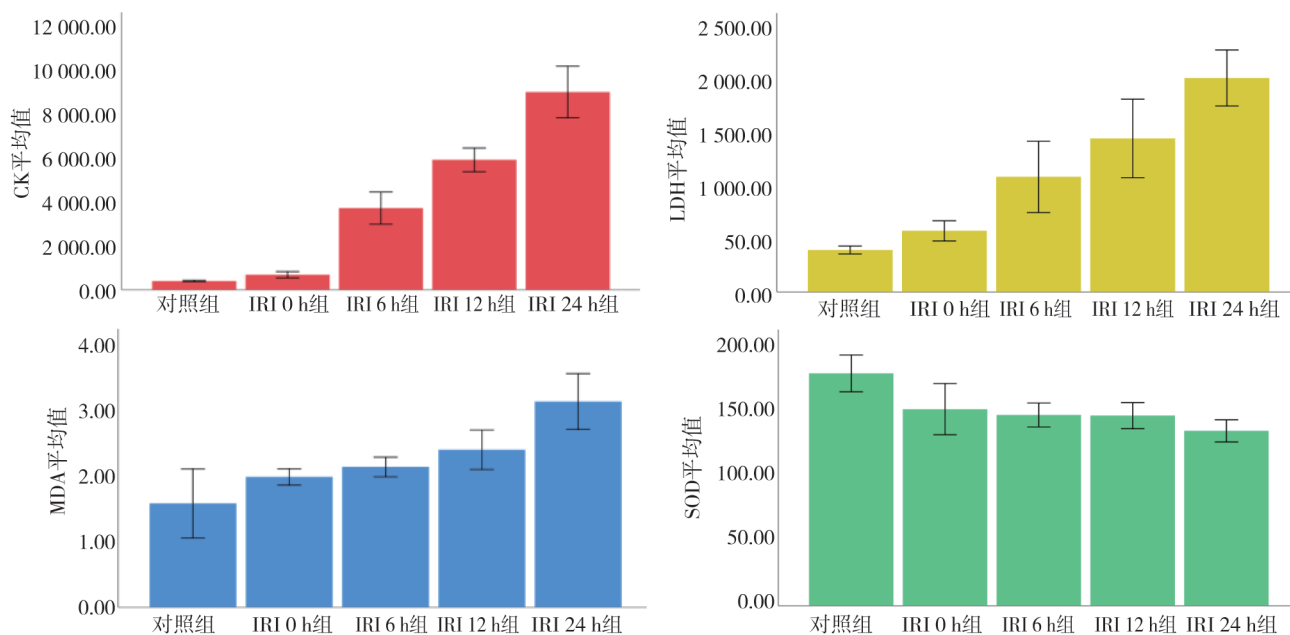


图3 各组实验室指标变化趋势

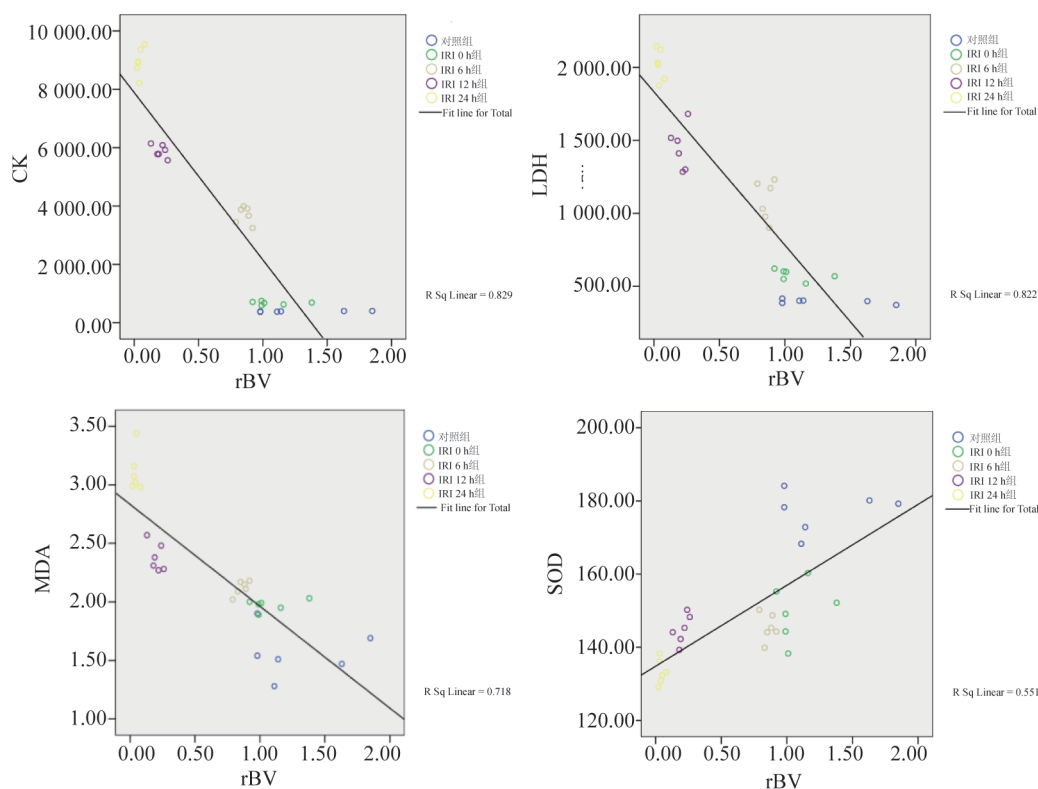


图4 rBV 与 CK、LDH、MDA、SOD 相关性散点图

障碍所致组织血流灌注减少,是造成骨骼肌 IRI 的重要原因^[13],因此通过监测肌肉组织灌注情况评估其损伤程度是一种可行方法。结合 Syngo DynaPBV 可于术中实时获得局部组织灌注情况的优势,本研究尝试将 DSA 灌注成像技术用于评估肢体 IRI 动

物模型,成功通过 DynaPBV 获取了实验兔肢体灌注参数 BV。但由于不同个体肢体灌注参数绝对值差异较大,本研究采用比较相对值的方法,即比较患侧肢体灌注参数与健侧比值 rBV,以便最大程度消除个体差异对实验结果的影响。

有研究发现,骨骼肌 IRI 后 24 h 内肌肉组织损伤程度随再灌注时间延长逐渐加重,光镜下可见细胞间质肿胀、剧烈炎性浸润和肌纤维坏死^[14]。另一研究观察到骨骼肌发生 IRI 后,随时间推移逐渐出现血液黏度增高、红细胞聚集增强、血流减慢、白色微栓形成及无复流现象等微循环改变^[15]。本研究结果显示肢体灌注参数 rBV 随再灌注时间延长逐渐降低,其变化趋势与既往文献报道骨骼肌 IRI 过程中肌肉组织和微循环病理变化一致。

既往研究显示,随着骨骼肌 IRI 时间延长和组织损伤程度加重,CK、LDH、MDA 浓度逐渐升高,SOD 浓度逐渐降低^[16]。本研究中血清 CK、LDH、MDA、SOD 含量变化亦证实这一点。Pearson 相关性分析发现,rBV 与 CK、LDH、MDA、SOD 等实验室指标均有较好相关性,进一步说明 rBV 所反映的组织灌注情况与组织 IRI 程度具良好一致性。

本研究局限性在于所用动物模型为急性 IRI 模型,而诸如动脉硬化闭塞症所致肢体慢性缺血在开通血管后骨骼肌 IRI 亦需要及时判断,因此 DSA 灌注成像上急性和慢性骨骼肌 IRI 表现是否一致,目前仍需进一步研究证实。

本研究结论认为,术中应用 DSA 灌注成像技术评估肢体 IRI 安全可行,其灌注参数与实验室指标间有较好相关性,可实时评估术中骨骼肌 IRI 程度。

[参考文献]

- [1] Wang WZ, Baynosa RC, Zamboni WA. Therapeutic interventions against reperfusion injury in skeletal muscle [J]. J Surg Res, 2011, 171: 175-182.
- [2] Huang T, Wang W, Tu C, et al., Hydrogen - rich saline attenuates ischemia - reperfusion injury in skeletal muscle [J]. J Surg Res, 2015, 194: 471-480.
- [3] Suzuki M, Tanaka R, Yoshioka K, et al., Subtraction CT angiography for the diagnosis of iliac arterial steno - occlusive disease [J]. Jpn J Radiol, 2016, 34: 194-202.
- [4] Kim AH, Shevitz AJ, Morrow KL, et al., Characterizing tissue perfusion after lower extremity intervention using two-dimensional color - coded digital subtraction angiography [J]. J Vasc Surg, 2017, 66: 1464-1472.
- [5] Hinrichs JB, Murray T, Akin M, et al., Evaluation of a novel 2D perfusion angiography technique independent of pump injections for assessment of interventional treatment of peripheral vascular disease [J]. Int J Cardiovasc Imaging, 2017, 33: 295-301.
- [6] Shakur SF, Brunozi D, Hussein AE, et al., Validation of cerebral arteriovenous malformation hemodynamics assessed by DSA using quantitative magnetic resonance angiography: preliminary study [J]. J Neurointerv Surg, 2018, 10: 156-161.
- [7] Yang M, Wu J, Ma L, et al., The value of syngo dynavb neuro during neuro-interventional hypotensive balloon occlusion test [J]. Clin Neuroradiol, 2015, 25: 387-395.
- [8] Bley T, Strother CM, Pulfer K, et al. C-arm CT measurement of cerebral blood volume in ischemic stroke: an experimental study in canines [J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2010, 31: 536-540.
- [9] Fujimoto M, Itokawa H, Moriya M, et al. Evaluation of cerebral hyperperfusion after carotid artery stenting using C-arm CT measurements of cerebral blood volume [J]. Clin Neuroradiol, 2018, 28: 253-260.
- [10] Wen LL, Zhang X, Zhang QR, et al. Flat - detector computed tomography PBV map in the evaluation of presurgical embolization for hypervascular brain tumors [J]. J Neurointerv Surg, 2017, 9: 1139-1144.
- [11] Zhuang ZG, Zhang XB, Han JF, et al. Hepatic blood volume imaging with the use of flat-detector CT perfusion in the angiography suite: comparison with results of conventional multislice CT perfusion [J]. J Vasc Interv Radiol, 2014, 25: 739-746.
- [12] Pereira PL, Kruger K, Hohenstein E, et al. Intraprocedural 3D perfusion measurement during chemoembolisation with doxorubicin-eluting beads in liver metastases of malignant melanoma [J]. Eur Radiol, 2018, 28: 1456-1464.
- [13] Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia - reperfusion injury [J]. J Pathol, 2000, 190: 255-266.
- [14] Carmo-Araujo EM, Dal-Pai-Silva M, Dal-Pai V, et al. Ischaemia and reperfusion effects on skeletal muscle tissue: morphological and histochemical studies [J]. Int J Exp Pathol, 2007, 88: 147-154.
- [15] 范里, 刘世清. 骨骼肌缺血再灌注损伤后的血液流变性及微循环变化 [J]. 微循环学杂志, 1999, 9: 13-15.
- [16] Bosco G, Yang ZJ, Nandi J, et al. Effects of hyperbaric oxygen on glucose, lactate, glycerol and anti - oxidant enzymes in the skeletal muscle of rats during ischaemia and reperfusion [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2007, 34: 70-76.

(收稿日期:2018-10-30)

(本文编辑:边 伟)