

◆ 实验研究

320-slice CT perfusion imaging evaluation on ischemia reperfusion injury in rabbit lower limb

XU Chun-xue, WANG Xiao-bai*, ZHANG Yan, ZHANG Hong, LI Cheng-zhi,
GUAN Min, ZHANG Wen-tao, BAI Le

(Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510630, China)

[Abstract] **Objective** To observe the changes of CT perfusion imaging (CTPI) parameters and their correlation with serum amylase (CK, LDH, MDA, SOD) in lower limb ischemia reperfusion injury (I/R) rabbit models. **Methods** Thirty New Zealand white rabbits were randomly assigned to I/R group and sham group. Rabbits in I/R group were assigned immediately, 6 h, 12 h, 24 h subgroups after reperfusion (each $n=6$). Blood supply of right lower limbs were clamped for 3 h and recovered reperfusion, CTPI parameters, including blood flow (AF), blood volume (BV) and contrast clearance rate (C) were obtained, while blood samples were taken immediately, 6 h, 12 h, 24 h after reperfusion in I/R group. Reperfusion parameters ratio between the right side and left side (rAF, rBV, rC) were calculated, and the serum level of CK, LDH, MDA, SOD were tested. The relationship between CTPI parameters and biochemical indexes were analyzed. **Results** Compared with sham group, rAF mean value was 0.92 ± 0.14 , 0.89 ± 0.12 , 0.88 ± 0.20 , 0.75 ± 0.11 in I/R subgroups, respectively, gradually decreased with reperfusion time extension ($P < 0.05$). Serum CK, LDH and MDA of each I/R subgroup were significantly higher than those in sham group ($P < 0.05$), SOD decreased gradually with time going ($P < 0.05$). The correlation coefficients of rAF and LDH, CK, MDA, SOD were -0.64 , -0.47 , -0.68 and 0.59 , respectively ($P < 0.05$), rBV had correlation with LDH ($r = -0.45$, $P < 0.05$). **Conclusion** 320-slice CTPI parameters can noninvasively, semi-quantitatively and accurately reflect the microcirculation changes over time of lower limb IR injury of rabbit. rAF can reflect degree of muscle injury after reperfusion better than rBV and rC.

[Key words] Reperfusion injury; Lower extremity; Rabbits; Tomography, X-ray computed

320 排 CT 灌注成像评价兔下肢缺血再灌注损伤

徐春雪, 王晓白*, 张艳, 张红, 李承志, 关敏, 章文涛, 白乐

(暨南大学附属第一医院放射科, 广东广州 510630)

[摘要] **目的** 观察兔下肢急性缺血再灌注损伤 CT 灌注成像(CTPI)参数的演变规律及与血清酶学检测指标(CK、LDH、MDA、SOD)的相关性。**方法** 将 30 只新西兰大白兔随机分为缺血再灌注(I/R)组与假手术组。将 I/R 组分为再灌注即刻、6、12、24 h 亚组, 每组 6 只, 分别在右下肢缺血 3 h 后再灌注即刻、6 h、12 h、24 h 时间点行双下肢 CTPI 并采血, 得到 CT 灌注值血流量(AF)、血容量(BV)、对比剂清除率(C), 计算右下肢与左下肢各参数的比值, 即 rAF、rBV、rC, 并测定血清 CK、LDH、MDA、SOD; 最后分别对 rAF、rBV、rC 与生化指标进行相关性分析。**结果** 与假手术组比较, I/R 组再灌注即刻、6、12、24 h 亚组的 rAF 均值分别为 0.92 ± 0.14 、 0.89 ± 0.12 、 0.88 ± 0.20 、 0.75 ± 0.11 , 随再灌注时间延长逐渐降低($P < 0.05$); I/R 各亚组血清 CK、LDH 及 MDA 显著高于假手术组(P 均 < 0.05), 而 SOD 随再灌注时间延长而逐渐降低($P < 0.05$)。rAF 与 LDH、CK、MDA、SOD 的相关系数分别为 -0.64 、 -0.47 、 -0.68 、 0.59 (P 均 < 0.05), 仅 rBV 与 LDH 存在相关性($r = -0.45$, $P < 0.05$)。**结论** 320 排 CTPI 可无创、半定量、较准确地监测兔下肢骨骼肌随再灌注时间

[作者简介] 徐春雪(1987—), 女, 湖北荆门人, 在读硕士。研究方向: 影像诊断。E-mail: 350581945@qq.com

[通讯作者] 王晓白, 暨南大学附属第一医院放射科, 510630。E-mail: xiaobaiwang@163.com

[收稿日期] 2013-12-02 **[修回日期]** 2014-05-08

推移的微循环改变;rAF 较 rBV、rC 能更好地反映肌肉组织再灌注后损伤情况。

[关键词] 缺血再灌注损伤;下肢;兔;体层摄影术,X 线计算机

[中图分类号] R814.42; R-332 [文献标识码] A [文章编号] 1003-3289(2014)08-1151-05

在创伤、动脉移植术、断肢再植和骨筋膜室综合征等血管损伤性疾病中,血流灌注恢复后缺血组织损伤情况并未改善反而加重的现象称为缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, I/R)^[1]。肢体缺血再灌注后血流动力学改变以及伴随的再灌注失败一直是临床难点,轻者可致肢体功能障碍,重者可致肢体坏死、截肢甚至多器官功能衰竭,危及生命^[2]。作为一种非创性检查方法,CT 灌注成像(CT perfusion imaging, CTPD)已成功用于检测脑、肝、肾等脏器病变,具有很高的时间和空间分辨率,能在微血管水平评估组织灌注情况。本研究应用 320 排容积 CTPI 观察兔下肢 I/R 模型在再灌注不同时间点灌注参数的变化,并探讨其与肌酸激酶(creatine kinase, CK)、乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)之间的相关性。

1 材料与方法

1.1 兔下肢 I/R 模型的制备及分组 健康新西兰大白兔 30 只,雌雄不限,体质量 2.0~2.5 kg,购于暨南大学实验动物管理中心(SCXK2009-0023),分为 I/R 组与假手术组;I/R 组按时间分为在灌注即刻、6、12、24 h 亚组,各 6 只。术前禁饲 12 h,自由饮水。以 10%水合氯醛溶液(3~4 ml/kg 体质量)腹腔注射进行麻醉,之后仰卧位保定。参考文献[3]方法,I/R 组

开腹后用 4 号丝线依次结扎右侧髂总、右侧髂外动脉及双侧髂腰动脉、髂内动脉,并用丝线捆扎尾巴以结扎尾动脉,以右髂外动脉苍白塌陷、搏动消失为结扎成功;3 h 后松开右侧髂总及髂外动脉处丝线,血管充盈并可触及搏动代表再灌注成功,关闭腹腔。假手术组仅做开关腹处理。对各组动物均于耳缘静脉留置 22G 三通留置管。实验中对动物的处置符合中华人民共和国科学技术部 2006 年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准^[4]。

1.2 CT 灌注扫描及图像后处理 采用 Toshiba Aquilion One 320 排 CT 机行双下肢 CT 灌注扫描。以高压注射器经兔耳缘静脉以 1 ml/s 流率注入碘克沙醇(320 mgI/ml) 3 ml,再以相同速率注入生理盐水 8 ml,延迟 3 s 开始扫描。共采集数据 60.5 s,前 22.5 s 间隔 1.5 s 采集 1 次,曝光时间 0.5 s,共采集 12 次;中间 18 s 间隔 2.5 s 采集 1 次,曝光时间 0.5 s,共采集 6 次;后 20 s 间隔 4.5 s 采集 1 次,曝光时间 0.5 s,共采集 4 次。扫描参数:探测器排列 320×0.5 mm,层厚 0.5 mm,0.5 s/rot,管电压 80 kV,管电流 40 mA。将采集的容积数据导入 Vitrea 后处理工作站,在 Body Perfusion 灌注软件中选用最大斜率法和 Patlak plot 法进行图像后处理分析,以左侧股动脉为参照血管得到灌注伪彩图。由 2 名影像学医师独立采集灌注参数,在伪彩图中手动选取 ROI,大小约 0.5 cm²,两侧

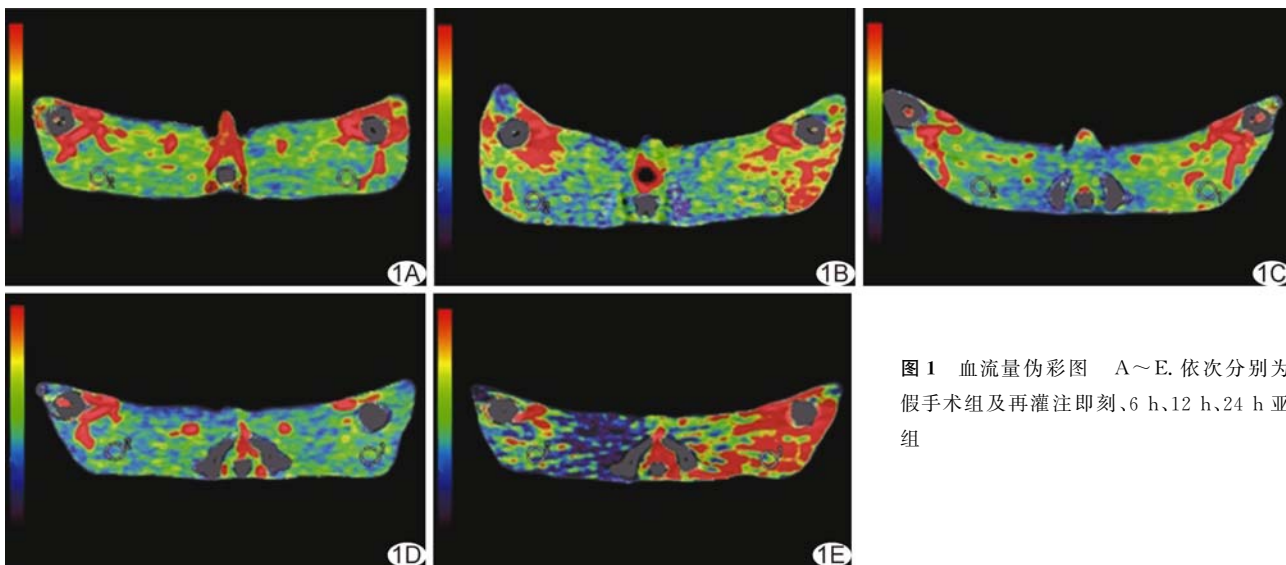


图 1 血流量伪彩图 A~E. 依次分别为假手术组及再灌注即刻、6 h、12 h、24 h 亚组

对称,选取双侧股四头肌测量,尽量避开肉眼可见的骨骼、血管及液化坏死区。连续选定 5 个肌肉层面,测得血流量(arterial blood flow, AF)、血容量(blood volume, BV)、对比剂清除率(clearance, C),并取平均值,计算各组右下肢与左下肢肌肉各灌注参数的比值,即 rAF、rBV、rC。

表 1 I/R 各亚组与假手术组各灌注参数比较($\bar{x} \pm s$)

分组	rAF	rBV	rC
I/R 组			
再灌注即刻亚组	0.92±0.14*	0.98±0.18	0.83±0.16
再灌注 6 h 亚组	0.89±0.12*	0.97±0.29	0.79±0.08
再灌注 12 h 亚组	0.88±0.20*	0.88±0.11*	0.73±0.06*
再灌注 24 h 亚组	0.75±0.11*	0.85±0.14*	0.71±0.18
假手术组	1.07±0.08	1.03±0.06	0.93±0.15

注: *:与假手术组比较, $P < 0.05$

1.3 生化指标检测 对各组均在 CT 灌注扫描前于一侧颈外静脉采血 3 ml, 常温静置 30 min 后以 3000 rpm 离心 10 min, 取上部血清于 -20℃ 冰箱内冻存, 以备检测 CK、LDH、MDA、SOD。采用全自动生化分析仪测定 CK、LDH; 分别采用硫代巴比妥钠法和黄嘌呤氧化

酶法检测 MDA 和 SOD, 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所, 严格按照说明书进行操作。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 16.0 统计学软件。组间比较采用单因素方差分析, 以两样本 t 检验对假手术组与 I/R 各组 rAF、rBV、rC 及 CK、LDH、MDA、SOD 进行比较, 同时分别对 rAF、rBV、rC 与各生化指标 CK、LDH、MDA、SOD 行 *Pearson* 相关性分析; 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 I/R 各亚组与假手术组 CT 灌注参数变化特点 与假手术组比较, I/R 各亚组 rAF 在各时间点差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05), 而 rBF 在再灌注 12 h、24 h 亚组及 rC 在再灌注 12 h 组差异有统计学意义 (P 均 < 0.05); 方差分析显示 5 组间 rAF 值差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 并随再灌注时间推移呈逐渐下降趋势(表 1、图 1)。

2.2 生化指标变化情况 与假手术组比较, I/R 各亚

表 2 I/R 各亚组与假手术组血清 LDH、CK、MDA、SOD 水平($\bar{x} \pm s$)

分组	LDH(U/L)	CK(U/L)	MDA(nmol/ml)	SOD(U/ml)
I/R 组				
再灌注即刻亚组	806.00±164.22*	388.79±81.99*	2.07±0.29*	149.31±19.58*
再灌注 6 h 亚组	1227.60±227.48*	478.42±75.13*	2.12±0.39*	147.21±22.16*
再灌注 12 h 亚组	1246.40±169.67*	507.08±36.20*	2.34±0.55*	141.68±22.48*
再灌注 24 h 亚组	1570.20±123.14*	517.99±93.07*	3.20±0.59*	137.19±14.43*
假手术组	450.20±91.84	227.65±74.70	1.50±0.36	175.26±12.91

注: *:与假手术组比较, $P < 0.05$

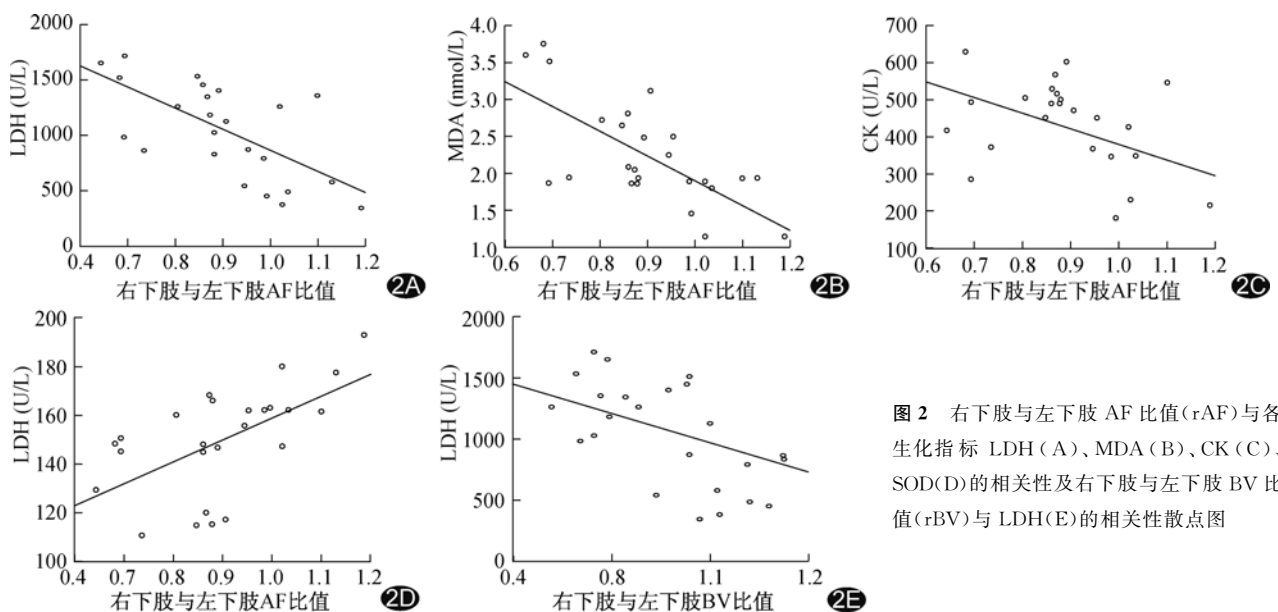


图 2 右下肢与左下肢 AF 比值(rAF)与各生化指标 LDH (A)、MDA (B)、CK (C)、SOD(D)的相关性及右下肢与左下肢 BV 比值(rBV)与 LDH(E)的相关性散点图

组生化指标差异均有统计学意义(P 均 <0.05),方差分析显示 5 组间 LDH、CK 及 MDA、SOD 值差异均有统计学意义(P 均 <0.05),其中 LDH、CK、MDA 随着灌注时间推移逐渐升高,SOD 逐渐降低(表 2)。rAF 与 LDH、CK、MDA 间均呈负相关($r=-0.64, P<0.05; r=-0.47, P<0.05; r=-0.68, P<0.05$); rAF 与 SOD 呈正相关($r=0.59, P<0.05$); rBV 仅与 LDH 呈负相关($r=-0.45, P<0.05$,图 2),而 rC 与各生化指标之间不存在显著相关(P 均 >0.05)。

3 讨论

近年来,国内外对组织缺血再灌注损伤的研究集中在心、肾、肝、脑、肺、肠等重要器官^[5]。但骨骼肌 I/R 损伤也是一个亟待解决的临床难题,不仅引起局部肢体功能障碍,且可通过血液循环引起全身性反应。每年每十万人中约有 13~17 例骨骼肌 I/R 损伤,死亡率达 18%^[6]。目前对缺血再灌注损伤机制的研究较多,但仍存在争议,多数研究认为氧自由基是引起缺血再灌注损伤的重要因素。本研究采用相对定量方法对所得灌注参数进行处理,并对不同时间点进行比较。

正常情况下,组织内的自由基清除剂超氧化物歧化酶发挥着阻止细胞过氧化的重要作用^[7];血流再灌注时氧自由基产生增加,超氧化物歧化酶减少,抗氧化能力下降,使细胞膜发生脂质过氧化,不断损伤组织以及含巯基的蛋白质和酶,最终导致组织细胞损伤从可逆向不可逆转变,直至细胞死亡,因而超氧化物歧化酶的活性可反映组织清除自由基的能力。作为自由基引起的脂质过氧化终末代谢产物,MDA 被广泛用于评估机体内脂质过氧化的程度,可间接反映自由基水平,判断细胞损伤的程度^[8]。目前大部分研究常联合检测 MDA 和 SOD 来推测体内自由基代谢情况。本研究显示,再灌注过程中,MDA 值从(1.50±0.36)nmol/ml 持续上升到(3.20±0.59)nmol/ml ($P<0.05$),而 SOD 值从(175.26±12.91)U/ml 下降到(137.19±14.43)U/ml ($P<0.05$),说明骨骼肌损伤随再灌注时间延长而逐渐加重,提示可早期使用自由基清除剂或抗氧化剂进行预防,以减轻血流恢复后对肢体的损害。正常骨骼肌细胞内含有丰富的 CK 及 LDH,缺血损伤时由于细胞膜结构破坏而大量释放入血,故血中 CK 及 LDH 活性可作为评估骨骼肌细胞损伤程度的指标。本实验中,与假手术组比较,I/R 各亚组 CK 及 LDH 值均升高,且在 24 h 内呈逐渐上升趋势($P<0.05$)。

酶学及病理学研究^[9-10]证实,缺血 3 h 可对组织造

成严重的缺血再灌注损伤。本实验 IR 组动物在血流恢复即刻已有显著血清酶学改变,与既往研究结果一致。Kloner 等^[11]发现,在再灌注早期已有氧自由基聚集在缺血组织内,引起微循环血管基质膜过氧化,导致微血管通透性增加;损伤的血管内皮趋化血小板和颗粒细胞聚集形成血栓,同时缩血管物质如血栓素 A₂、内皮素等产生使血管痉挛、阻力增加,这些因素综合导致血流速及血容量减低,代谢产物清除速率也相应减慢。因此,检测和评估缺血再灌注后微循环状况相当重要。CTPI 能快速、无创、半定量地反映活体组织的血流灌注情况,以放射性示踪稀释原理和中心容积定律为基础,对选定层面进行快速动态扫描。静脉团注对比剂后,局部组织微循环分布及灌注状况引起 CT 值变化;通过测定局部组织的碘聚集量,可根据数学模型计算出相应的灌注值 AF、BV 及 C 值^[12]。动物血供存在个体差异,特别在麻醉后心输出量差别较大,导致不同个体的灌注参数的绝对值差异很大。采用相对定量的研究方法,可在最大程度上消除个体差异对实验结果的影响^[13]。本实验结果显示,与假手术组对比,I/R 组 rAF 在 24 h 内减少约 30%,并呈随时间推移而明显下降的趋势($P<0.05$),而 rAF 与各血清生化指标间存在相关性(相关系数分别为-0.64、-0.47、-0.68、0.59),进一步提示 rAF 可以较好地反映缺血再灌注损伤情况。

总之,利用 320 排容积 CTPI 可早于形态学改变发现骨骼肌再灌注损伤情况,对于血清酶学指标及体征等评估骨骼肌损伤程度是很好的补充。

[参考文献]

- [1] Redfern J, Burks R. 2009 survey results: Surgeon practice patterns regarding arthroscopic surgery. *Arthroscopy*, 2009, 25(12):1447-1452.
- [2] Yassin MM, Harkin DW, Barros DSa AA, et al. Lower limb ischemia-reperfusion injury triggers a systemic inflammatory response and multiple organ dysfunction. *World J Surg*, 2002, 26(1):115-121.
- [3] Chervu A, Moore WS, Homsher E, et al. Differential recovery of skeletal muscle and peripheral nerve function after ischemia and reperfusion. *J Surg Res*, 1989, 47(1):12-19.
- [4] 宗阿南,郑志红,史晓萍,等.探讨《关于善待实验动物的指导性意见》,饲养,应用,运输及相关方面的措施. *实验动物科学 ISTIC*, 2008, 25(2):63-64.
- [5] Tonon J, Cecchini AL, Brunnquell CR, et al. Lung injury-dependent oxidative status and chymotrypsin-like activity of skeletal muscles in hamsters with experimental emphysema. *BMC Muscu-*

- loskelet Disord, 2013, 14(1):39-39.
- [6] Hynes BG, Margey RJ, Ruggiero Li N, et al. Endovascular management of acute limb ischemia. *Ann Vasc Surg*, 2012, 26(1):110-124.
- [7] Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, et al. Ischemia/reperfusion injury. *Journal of Surgical Research*, 2002, 105(2):248-258.
- [8] Badcock NR, Zoanetti GD, Martin ES. Nonchromatographic assay for malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct with HPLC equivalence. *Clin Chem*, 1997, 43(9):1655-1657.
- [9] Gürke L, Mattei A, Chaloupka K, et al. Mechanisms of ischemic preconditioning in skeletal muscle. *J Surg Res*, 2000, 94(1):18-27.
- [10] 周跃, 梅芳瑞, 曾维权. 止血带下肢体缺血再灌注损伤的实验探讨. *中华创伤杂志*, 1990, 6(4):216-219.
- [11] Kloner RA, Przyklenk K, Whittaker P. Deleterious effects of Oxygen radicals in ischemia/reperfusion. Resolved and unresolved issues. *Circulation*, 1989, 80(5):1115-1127.
- [12] Laurent GJ, van Dalen HC, Hendriks HJ, et al. When is supervised exercise therapy considered useful in peripheral arterial occlusive disease? A nationwide survey among vascular surgeons. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2012, 43(3):308-312.
- [13] 卢再鸣, 陆晓梅, 潘诗农, 等. 256 层 CT 灌注成像评价兔失神经支配后肢缺血后肢急性期毛细血管床血容量的动态变化. *中华放射学杂志*, 2010, 44(6):663-667.

“光子杯”CT 新技术征文通知

在过去的四十年中,随着 X 射线球管、探测器技术、CT 系统设计、图像重建算法以及计算机技术的不断发展,CT 图像质量得到了明显的提高。尤其是在最近十年里,随着从扫描环节到图像重建环节整个影像链的构建发生革命性的变化,CT 得到了迅猛的发展,CT 的扫描速度和诊断能力都发生了根本性的改进,大大拓展了 CT 在临床上的应用范围。现代高端 CT 在继承传统 CT 成像技术的同时,还不断创新推出 CT 先进的成像技术,如 Stellar 光子探测器、锐影成像技术、大螺距炫速扫描、原始数据迭代算法成像等均已应用于临床。

众所周知,随着我国影像事业的发展,我国医生已经可以与国际同行同时使用最先进的 CT 设备平台。如何在同样先进的设备平台上开展和总结我国医生自己的学术研究和成就,已成为我们和广大医生的迫切愿望。因此,《中国医学影像技术》期刊社与西门子(中国)有限公司联合举办“光子杯”CT 新技术征文活动,旨在推动放射科医师和技术人员对 CT 新技术的认识和应用水平,提高相关领域的临床与科研水平,更好地为患者服务。

1. 征文内容

高端 CT 成像的临床应用,特别是利用各种划时代新技术在临床应用中的新方法、新技术、新发现和新理论的临床研究、实验研究、病例总结等。

2. 征文要求

(1)未在国内外杂志上公开发表的论文均可。研究要具有科学性、实用性和创新性,保证研究的方法能在临床推广使用。

(2)参照《中国医学影像技术》杂志稿约要求,通过《中国医学影像技术》投稿系统网上投稿(www.cjmit.com)。网上投稿过程中,请在填写“中文题目”一栏时,在中文题目后面用括号标注“西门子征文大赛”字样,以免与其他稿件混淆。

3. 征文截止时间 2014 年 12 月。

4. 奖励方式

参与活动的优秀论文评审通过者优先在《中国医学影像技术》和《中国介入影像与治疗学》杂志上发表。并在发表的优秀论文中评选出 1~3 等奖共 10 名,颁发证书及奖品。

5. 联系方式

杜艳霞 电话:010-82547901/2-808;E-mail:duyx@mail.ioa.ac.cn

主办单位保留对本次征文活动的最终解释权。

《中国医学影像技术》期刊社

2013 年 9 月 29 日