

MRI 血氧水平依赖成像评价正常大鼠肾脏 氧合水平的重复性研究

杨学东 曹菊 王霄英 李晓玫 许玉峰 蒋学祥

【摘要】 目的 探讨用 MR 血氧水平依赖 (BOLD) 成像评价大鼠肾脏氧合水平的重复性和科学性。方法 5 只健康雄性 Wistar 大鼠, 扫描前称量大鼠体重, 在 3.0 T MR 扫描仪上分别在第 1 天 (d1)、第 5 天 (d5)、第 10 天 (d10)、第 30 天 (d30) 和第 50 天 (d50) 行 BOLD 成像, 测量表观自旋-自旋弛豫率 (R_2^*)。在 d30 和 d50 扫描完成后, 注射呋塞米 10 min 后再次扫描, 计算注药前后 R_2^* 的差值 (ΔR_2^*)。对 5 次扫描的 R_2^* 进行重复测量方差分析, 对 d30 和 d50 注射呋塞米前后的皮、髓质 R_2^* 和皮、髓质 ΔR_2^* 进行配对 t 检验, 观察呋塞米对皮、髓质 R_2^* 的影响并评价 R_2^* 的重复性。结果 d1、d5、d10、d30 和 d50 大鼠体重分别为 (150.4 ± 3.7)、(170.2 ± 7.0)、(201.0 ± 5.8)、(306.2 ± 17.0) 和 (352.0 ± 12.2) g, 差异有统计学意义 ($F = 422.103, P < 0.01$); 肾脏皮、髓质 R_2^* 值差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。d30 皮、髓质 R_2^* 在注射呋塞米前分别为 (25.2 ± 1.2) 和 (32.8 ± 2.2) Hz, 注射后分别为 (21.1 ± 2.2) 和 (25.9 ± 3.0) Hz, 皮、髓质 R_2^* 在注射呋塞米后均降低 ($P < 0.01$); d50 皮、髓质 R_2^* 在注射呋塞米前分别为 (25.9 ± 0.8) 和 (34.3 ± 3.9) Hz, 注射后分别为 (20.2 ± 1.5) 和 (27.0 ± 3.2) Hz, 皮、髓质 R_2^* 在注射呋塞米后均降低 ($P < 0.01$)。d30 皮、髓质 ΔR_2^* 值分别为 (4.1 ± 1.7) 和 (6.9 ± 2.8) Hz, d50 皮、髓质 ΔR_2^* 值分别为 (5.8 ± 1.1) 和 (7.3 ± 2.8) Hz, 2 次检查皮、髓质的 ΔR_2^* 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 大鼠肾脏皮、髓质基础 R_2^* 值在 50 d 内稳定, 不受体重影响; 在 3.0 T MR 上, 应用呋塞米后大鼠肾脏皮、髓质 R_2^* 值均降低。

【关键词】 肾皮质; 肾髓质; 磁共振成像; 动物, 实验

Reproducibility of measuring renal oxygenation by blood oxygen level-dependent MRI in rat
YANG Xue-dong*, CAO Ju, WANG Xiao-ying, LI Xiao-mei, XU Yu-feng, JIANG Xue-xiang.* Department of
Medical Imaging, Peking University First Hospital & Functional Imaging Center, Advanced Academy of
Interdisciplinary Sciences, Peking University, Beijing 100034, China

Corresponding author: WANG Xiao-ying, Email: cjr.wangxiaoying@vip.163.com

【Abstract】 Objective To evaluate the reproducibility of measuring renal oxygenation in rat using blood oxygen level-dependent MR imaging (BOLD MRI). Methods Five intact male Wistar rats were included in this study and their body weights were measured before MRI scans. BOLD MRI were performed on day 1 (d1), day 5 (d5), day 10 (d10), day 30 (d30) and day 50 (d50) on a 3.0 T MR scanner to measure the apparent spin-spin relaxation (R_2^*). On d30 and d50, the differences of R_2^* (ΔR_2^*) were calculated between before and 10 min after furosemide injection through the tail vein. The reproducibility of the baseline R_2^* of 5 times repeated scans were verified by the repeated-measure ANOVA test. The R_2^* and ΔR_2^* between pre-and post-furosemide injection on d30 and d50 were measured on the cortex and the medulla and a paired t test was run to analyze their responses to furosemide and the reproducibility of R_2^* . Results The average body weight on d1, d5, d10, d30 and d50 was (150.4 ± 3.7) g, (170.2 ± 7.0) g, (201.0 ± 5.8) g, (306.2 ± 17.0) g and (352.0 ± 12.2) g, respectively, with statistical difference ($F = 422.103, P < 0.01$). The R_2^* showed no statistical difference in the cortex and medulla among the five scans ($P > 0.05$). On d30, the R_2^* of the cortex and medulla was (25.2 ± 1.2) and (32.8 ± 2.2) Hz before and significantly decreased to (21.1 ± 2.2) and (25.9 ± 3.0) Hz after furosemide administration,

作者单位: 100034 北京大学第一医院医学影像科 北京大学前沿交叉学科研究院功能成像研究中心 (杨学东、王霄英、许玉峰、蒋学祥); 北京大学第一医院肾内科 北京大学肾脏病研究所卫生部肾脏疾病重点实验室 (曹菊、李晓玫)

通信作者: 王霄英, Email: cjr.wangxiaoying@vip.163.com

respectively($P < 0.01$). On d50, the R_2^* of the cortex and medulla was (25.9 ± 0.8) and (34.3 ± 3.9) Hz before and significantly decreased to (20.2 ± 1.5) and (27.0 ± 3.2) Hz after furosemide administration, respectively($P < 0.01$). The R_2^* on the cortex and medulla was (4.1 ± 1.7) and (6.9 ± 2.8) Hz on d30 and (5.8 ± 1.1) and (7.3 ± 2.8) Hz on d50, respectively, but there is no significant difference between cortex and medulla ($P > 0.05$). Conclusion The baseline R_2^* in the cortex and medulla were reproducible over 50 days and they were not body weighted. On 3.0 T MR scanners, R_2^* in the cortex and medulla decreased significantly after administration of furosemide.

【Key words】 Kidney cortex; Kidney medulla; Magnetic resonance imaging; Animals, laboratory

肾脏 MR 血氧水平依赖 (blood oxygen level-dependent, BOLD) 成像的测量指标为表观自旋-自旋弛豫率(R_2^*), 即 $1/T_2^*$ 。 R_2^* 同血液中氧合、去氧血红蛋白的比例相关, 其数值的降低可反映出氧分压的升高。1.5 T MR 研究表明, BOLD 成像评价肾脏氧合水平准确可靠, 并已经用来监测药物对肾脏氧合水平的影响, 评价高血压、急性肾缺血、急性输尿管梗阻及糖尿病肾病等氧合水平的变化^[1-6], 并已经证明肾脏皮、髓质 R_2^* 在人体具很好的重复性^[7]。随着 3.0 T MR 的应用, 已有 3.0 T MR 用于肾脏 BOLD 成像的研究, 其优势在于可以增加图像的信噪比和空间分辨率^[8-11]。大鼠是制作肾病模型常用的实验动物, 生长发育快, 短时间内体重可发生明显变化, 本研究目的在于探讨用 BOLD MRI 评价大鼠肾脏氧合水平的重复性。

资料与方法

1. 动物准备: 7 只健康雄性 1 个月龄 Wistar 大鼠, 均购自中国医学科学院实验动物研究所, 其中 2 只因麻醉意外分别于第 1 次检查前和检查后死亡, 最终有 5 只大鼠纳入本研究。每次扫描前均禁食 24 h, 不限制饮水。扫描前称量大鼠体重并记录。采用 2% 戊巴比妥钠 2 ml/kg 腹腔注射麻醉。本实验已通过北京大学第一医院动物伦理委员会审查。

2. 设备及扫描方法: 采用 GE Signa Excite 3.0 T MR 扫描仪, 3 in (1 in = 2.54 cm) 专用表面线圈, 大鼠取仰卧位, 四肢固定, 进行轴面 T_1 WI、 T_2 WI 和 BOLD 成像。 T_1 WI 采用快速毁损梯度回波 (GRE) 序列, TR 200.0 ms, TE 3.1 ms, 反转角 70° ; T_2 WI 采用快速自旋回波 (FSE) 序列, TR 2800.0 ms, TE 108.1 ms; BOLD 成像采用多回波 GRE 序列, TR 100.0 ms, TE 2.0 ~ 31.4 ms (16 个回波), 反转角 45° ; 带宽 31.3 kHz, 矩阵为 96×96 。各序列层厚均为 3 mm, 进行无间隔扫描。分别于第 1 天 (d1)、第 5 天 (d5)、第 10 天 (d10)、第 30 天 (d30) 和第 50 天 (d50) 对大鼠进行 MR 扫描。在 d30 和 d50 扫描完

基础值后, 经尾静脉注射 10 mg/kg 的呋塞米 (天津金耀氨基酸有限公司), 10 min 后再次进行同样 BOLD 成像序列的扫描。由 2 名有经验的 MRI 医师对所有的图像进行评价, 观察肾脏皮、髓质形态及信号有无异常, 意见不一致时通过协商达成一致。

3. 数据测量: 本课题组以往的研究已经证实, 不同观察者间和同一观察者自身测量的数据具有较高的重复性^[8], 故本研究由 1 名研究者完成数据测量。将扫描数据传至 AW 4.2 工作站, 用 Functool 软件生成 R_2^* 图, 然后测量右肾皮、髓质的 R_2^* , 对于右肾因肠内气体等原因有明显伪影者测量左肾数据。测量 R_2^* 时尽量在靠近肾门水平, 选取 1 或 2 个层面的皮、髓质测量, 避开伪影干扰区, 分别选取至少 4 个 ROI (每个 ROI 的像素数 > 10), 计算其平均值。将呋塞米注射前后的 R_2^* 相减分别得到皮、髓质 R_2^* 。

4. 统计学方法: 采用 SPSS 10.0 统计软件, 对 5 次 R_2^* 基础值及体重进行重复测量方差分析, 判断其重复性。采用重复测量方差分析内的“Pairwise Comparisons”法进行两两比较。分别对 d30 和 d50 皮、髓质呋塞米应用前后的 R_2^* 进行配对 t 检验, 观察呋塞米对皮、髓质 R_2^* 的影响; 对 d30 和 d50 的皮、髓质 R_2^* 进行 2 次检查配对 t 检验, 评价 R_2^* 的重复性。为判断呋塞米对皮、髓质 R_2^* 影响程度的不同, 对皮、髓质 R_2^* 行配对 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。用个体内及个体间的变异系数评价测量数据的变异程度。

结 果

5 只大鼠均顺利完成检查。轴面 T_1 WI 和 T_2 WI 均未见大鼠肾脏形态及信号异常。5 次检查中除第 1 次扫描中 1 只大鼠因右肾伪影明显而测量左肾外, 其余均为右肾数据。所有测量的肾脏图像质量均满足测量需求^[8]。

1. 大鼠体重的变化及肾脏基础 R_2^* 值的重复性: 5 次检查过程中大鼠体重逐渐增加, 差异有统计

学意义; 5 次检查皮、髓质 R_2^* 值差异均无统计学意义, 表明皮、髓质 R_2^* 基础值在 50 d 内可重复 (表 1)。5 次扫描的平均皮质 R_2^* 为 (24.9 ± 1.2) Hz, 髓质 R_2^* 为 (33.0 ± 2.2) Hz。个体自身皮、髓质变异系数分别为 $(4.830 \pm 0.004)\%$ 和 $(6.540 \pm 0.031)\%$; 个体间皮、髓质变异系数分别为 $(4.690 \pm 0.018)\%$ 和 $(6.190 \pm 0.034)\%$ 。

表 1 5 只大鼠 5 次检查的体重和肾脏皮、髓质 R_2^* 值结果比较 (均 ± s)

检查时间	体重 (g)	皮质 R_2^* (Hz)	髓质 R_2^* (Hz)
第 1 天	150.4 ± 3.7	25.0 ± 1.7	32.0 ± 2.2
第 5 天	170.2 ± 7.0	24.4 ± 1.5	32.7 ± 1.2
第 10 天	201.0 ± 5.8	24.1 ± 0.7	33.1 ± 0.8
第 30 天	306.2 ± 17.0	25.2 ± 1.2	32.8 ± 2.2
第 50 天	352.0 ± 12.2	25.9 ± 0.8	34.3 ± 3.9
F 值	422.103	2.104	0.552
P 值	<0.01	>0.05	>0.05

注: R_2^* 为表观自旋-自旋弛豫率。大鼠体重除第 1 天与第 5 天相比 $P < 0.05$ 外, 第 1 天与第 10 天、第 30 天及第 50 天相比的 P 值均 < 0.01 ; 第 5 天分别与第 10 天、第 30 天及第 50 天比较的 P 值均 < 0.01 ; 第 10 天与第 30 天相比 $P > 0.05$, 第 10 天与第 50 天相比 $P < 0.01$; 第 30 天与第 50 天相比 $P < 0.01$

2. 注射呋塞米对皮、髓质 R_2^* 的影响及 R_2^* 的重复性: 注射呋塞米后, 肾脏皮质和髓质的 R_2^* 均降低 (图 1, 2), d30 和 d50 注射前后 R_2^* 差异均有统计学意义 (表 2)。d30 和 d50 注射呋塞米后 R_2^* 皮质间和髓质间差异均无统计学意义 (表 3)。

表 2 5 只大鼠注射呋塞米前后肾脏皮、髓质的 R_2^* 值结果比较 (Hz, 均 ± s)

注射时间	第 30 天		第 50 天	
	皮质 R_2^*	髓质 R_2^*	皮质 R_2^*	髓质 R_2^*
注射呋塞米前	25.2 ± 1.2	32.8 ± 2.2	25.9 ± 0.8	34.3 ± 3.9
注射呋塞米后	21.1 ± 2.2	25.9 ± 3.0	20.2 ± 1.5	27.0 ± 3.2
t 值	5.41	5.61	12.17	5.81
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注: R_2^* 为表观自旋-自旋弛豫率

表 3 5 只大鼠不同时间注射呋塞米后肾脏皮、髓质的 R_2^* 值结果比较 (Hz, 均 ± s)

检查时间	皮质 R_2^*	髓质 R_2^*	t 值	P 值
第 30 天	4.1 ± 1.7	6.9 ± 2.8	-2.758	>0.05
第 50 天	5.8 ± 1.1	7.3 ± 2.8	-1.906	>0.05
t 值	-1.672	-0.214	—	—
P 值	>0.05	>0.05	—	—

注: R_2^* 为注射呋塞米前、后表观自旋-自旋弛豫率的差值; — 为未计算

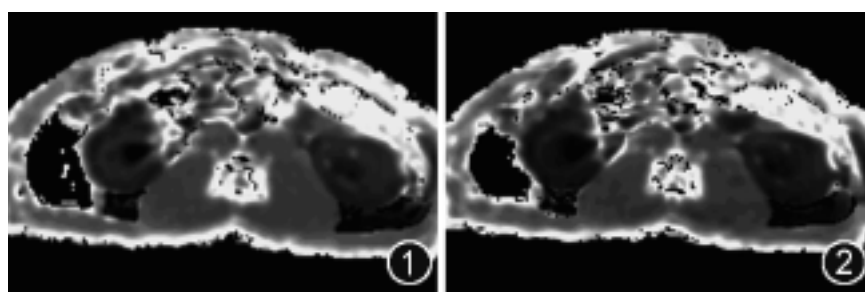


图 1, 2 分别为注射呋塞米前、后大鼠肾脏表观自旋-自旋弛豫率图。图 1 可见肾脏髓质信号高于皮质, 反映髓质氧合水平低于皮质。图 2 可见在窗宽、窗位同图 1 的情况下, 注射呋塞米后肾脏皮、髓质信号均降低

讨 论

肾脏髓质的高代谢和供给血管的特殊分布决定了其氧分压较低, 目前认为髓质的氧供和消耗的不平衡在缺血、对比剂、内源和外源性肾毒素等引起的急性肾功能衰竭中发挥作用, 故评价肾脏尤其是髓质的氧合状况具有重要的临床意义^[12]。测量氧分压的惟一直接方法是将氧敏感性微电极植入肾脏实质内, 这种方法创伤大, 不适合在人体应用。MR BOLD 成像已被证明能够反映肾脏氧分压的改变, R_2^* 值的升高代表氧分压的降低^[1-6, 11, 13-14]。临床应用及实验研究前要解决的主要问题之一是验证该方法的稳定性。

1. 肾脏皮、髓质基础 R_2^* 的重复性: R_2^* 值受到血容量、血管几何构型和所用射频脉冲参数等各种因素的影响^[1-6, 11, 13-14], 因此, 其稳定性尤为重要。Li 等^[7] 已经采用 1.5 T MR 仪证实人体肾脏皮、髓质 R_2^* 在 270 d 时间段内具有很好的重复性, 变异较小。肾脏病变动物实验已经在 1.5 T MR 仪上证实了正常大鼠应用一氧化氮 (NO) 合成抑制剂和 (或) 前列腺素合成抑制剂后髓质 R_2^* 明显增加, 表明髓质氧合状态的下降^[15-16], 而高血压大鼠模型的 NO 活性降低^[16-17]。Ries 等^[6] 采用 BOLD 成像对大鼠的糖尿病肾病进行了研究, 认为由于继发于高滤过的主动水重吸收增加, 导致耗氧量增加, 早期糖尿病肾病髓质 T_2^* 降低 (R_2^* 升高)。这些研究均是选用对照组进行的横向研究。由于部分肾病模型的制作需要一定时间跨度, 若要进行模型制作前后的自身对照, 必须保证其高可重复性, 大鼠体重可在短时间内明显增加, 故需分析体重对大鼠肾脏 R_2^* 的影响。

本实验选用的是 1 个月龄大鼠, 至实验结束时已接近 3 个月龄, 此期约相当于大鼠从幼年到成年的发育过程, 结果显示, 5 次测量体重差异明显, 皮、髓质 R_2^* 值差异无统计学意义, 表明此时间段的体

重增加和发育过程并不影响肾脏皮、髓质 R_2^* 值,重复性较好,与成年人体研究结果一致^[7]。本研究所测的肾脏皮、髓质基础 R_2^* 值均高于文献报道的 1.5 T MR 结果^[1-6,11],而与本课题组前期的实验结果^[8]和文献报道的 3.0 T MR 结果接近^[9-10],这是因为 3.0 T 较 1.5 T 仪器对磁敏感效应更敏感,随场强增高会缩短 T_2^* 时间,从而使 R_2^* 增高^[8]。本研究中皮、髓质 R_2^* 值的变异系数结果显示所测数据变异小,笔者认为与实验大鼠来源于一个种系,个体间生理差异较小,且实验大鼠的各项生理条件控制较为一致,同时本研究时间跨度小于文献报道的 270 d 有关。根据本研究结果,对于 1~3 个月龄的大鼠,在 50 d 的时间范围内,建立肾病模型,使用 BOLD 成像进行自身皮、髓质 R_2^* 的对照研究是可行的。

2. 呋塞米对肾脏皮、髓质 R_2^* 值的影响及 R_2^* 的重复性:呋塞米对皮质的氧分压无显著影响^[18]。注射呋塞米后髓质 R_2^* 明显低于注射前,而皮质 R_2^* 值的变化不明显,表明 R_2^* 能够反映呋塞米对皮、髓质氧分压产生的影响^[2,7,11]。Li 等^[7] 则证实其变化值 R_2^* 的个体重复性好。

本研究中同一组大鼠 2 次扫描均表明,注射呋塞米后,皮质和髓质的 R_2^* 均显著降低,这一结果不同于早期 1.5 T 的研究,而与最近报道的 3.0 T 和 1.5 T MR 研究结果类似^[9,19]。笔者推测皮质 R_2^* 显著降低的部分原因可能是应用呋塞米后皮质含水量增加所致。注射呋塞米后,皮质内的远段肾小管和集合管内尿量增多,使含水增加,从而延长了局部的 T_2 弛豫时间,继而延长 T_2^* ,使 R_2^* 降低^[19]。而且,3.0 T 肾脏的基础 R_2^* 以及注射利尿剂后 R_2^* 的变化值比 1.5 T 明显增加^[8,10],进一步扩大了这种作用。另外,氧合升高在其中也发挥了作用。

本研究的不足在于未能检测大鼠肾脏血流随月龄增加的变化情况,需要进一步的研究探讨肾脏血流随生长发育的变化及其与 R_2^* 的关系。

总之,1 到 3 个月龄的正常大鼠肾脏皮、髓质基础 R_2^* 值在 50 d 的时间段内是稳定的,不受发育及体重的影响。在 3.0 T MR 扫描上行 BOLD 成像检查时,应用呋塞米后,肾脏皮、髓质 R_2^* 值均显著降低。

参 考 文 献

- [1] Pedersen M, Dissing TH, Morkenborg J, et al. Validation of quantitative BOLD MRI measurements in kidney: application to unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int*, 2005, 67: 2305-2312.
- [2] Epstein FH, Veves A, Prasad PV. Effect of diabetes on renal medullary oxygenation during water diuresis. *Diabetes Care*, 2002, 25: 575-578.
- [3] Prasad PV, Epstein FH. Changes in renal medullary PO_2 during water diuresis as evaluated by blood oxygenation level-dependent magnetic resonance imaging: effects of aging and cyclooxygenase inhibition. *Kidney Int*, 1999, 55: 294-298.
- [4] Zuo CS, Rofsky NM, Mahallati H, et al. Visualization and quantification of renal R_2^* changes during water diuresis. *J Magn Reson Imaging*, 2003, 17: 676-682.
- [5] Epstein FH, Prasad P. Effects of furosemide on medullary oxygenation in younger and older subjects. *Kidney Int*, 2000, 57: 2080-2083.
- [6] Ries M, Basseau F, Tyndal B, et al. Renal diffusion and BOLD MRI in experimental diabetic nephropathy. *J Magn Reson Imaging*, 2003, 17: 104-113.
- [7] Li LP, Storey P, Pierchala L, et al. Evaluation of the reproducibility of intrarenal R_2^* and ΔR_2^* measurements following administration of furosemide and during water load. *J Magn Reson Imaging*, 2004, 19: 610-616.
- [8] 杨学东,曹菊,王霄英,等. 3.0 T 磁共振大鼠肾脏血氧水平依赖成像的初步研究. *中国医学影像技术*, 2007, 23: 809-811.
- [9] Li LP, Ji L, Lindsay S, et al. Evaluation of intrarenal oxygenation in mice by BOLD MRI on a 3.0 T human whole-body scanner. *J Magn Reson Imaging*, 2007, 25: 635-638.
- [10] Li LP, Vu AT, Li BS, et al. Evaluation of intrarenal oxygenation by BOLD MRI at 3.0 T. *J Magn Reson Imaging*, 2004, 20: 901-914.
- [11] Prasad PV, Edelman RR, Epstein FH. Noninvasive evaluation of intrarenal oxygenation with BOLD MRI. *Circulation*, 1996, 94: 3271-3275.
- [12] Brezis M, Rosen S, Silva P, et al. Renal ischemia: a new perspective. *Kidney Int*, 1984, 26: 375-383.
- [13] Prasad PV, Chen Q, Goldfarb JW, et al. Breath-hold R_2^* mapping with a multiple gradient-recalled echo sequence: application to the evaluation of intrarenal oxygenation. *J Magn Reson Imaging*, 1997, 7: 1163-1165.
- [14] Boxerman JL, Hamberg LM, Rosen BR, et al. MR contrast due to intravascular magnetic susceptibility perturbations. *Magn Reson Med*, 1995, 34: 555-566.
- [15] Prasad PV, Priatna A, Spokes K, et al. Changes in intrarenal oxygenation as evaluated by BOLD MRI in a rat kidney model for radiocontrast nephropathy. *J Magn Reson Imaging*, 2001, 13: 744-747.
- [16] Li L, Storey P, Kim D, et al. Kidneys in hypertensive rats show reduced response to nitric oxide synthase inhibition as evaluated by BOLD MRI. *J Magn Reson Imaging*, 2003, 17: 671-675.
- [17] Koller A, Huang A. Impaired nitric oxide-mediated flow-induced dilation in arterioles of spontaneously hypertensive rats. *Circ Res*, 1994, 74: 416-421.
- [18] Brezis M, Rosen S. Hypoxia of the renal medulla: its implications for disease. *N Engl J Med*, 1995, 332: 647-655.
- [19] Pedersen M, Vajda Z, Stodkilde-Jorgensen H, et al. Furosemide increases water content in renal tissue. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2007, 292: F1645-F1651.

(收稿日期: 2007-12-03)

(本文编辑: 张晓冬)