•糖尿病影像学专题 •

双能量 CT 多期增强扫描评价兔糖尿病肾病模型滤过功能受损的 初步研究

赵凯,隋雪晴,王蕊,林志勇,王素霞,王霄英

【摘要】目的:以兔糖尿病肾病(DN)模型为研究对象,利用双能量 CT(DECT)多期增强扫描评估肾脏滤过功能的变化。方法:10只新西兰大白兔入组,注射四氧嘧啶 72h 后,血糖浓度>16.0 mmol/L 认为 DM 模型诱导成功,DM 诱导成功者在注射后 28 d 血糖浓度仍保持>16.0 mmol/L 认为 DN 模型制作成功。采集 2 个时刻的 DECT 数据:四氧嘧啶注射前的基线数据和 DN 模型数据。用双能量分析软件测量 6 个时间点(注射对比剂 10~60 min 内,每隔 10 min 行 1 次 DECT 扫描)肾皮质碘浓度,比较基线与 DN 模型的时间-浓度曲线,并将正常肾脏与 DN 模型肾脏的光镜、电镜病理进行比较分析。结果:10 只兔子中7 只成功诱导 DM,最终 4 只 DN 模型制作成功,并完成 DECT 数据采集。病理结果提示 DN 模型的肾脏均有明确 DN 病理改变。基线数据显示:对比剂注射后 10~60 min 内,兔子肾脏皮质碘浓度均呈现下降趋势;而 DN 模型数据显示:对比剂注射后 10~60 min 内,兔子肾脏皮质碘浓度均呈现下降趋势;而 DN 模型数据显示:对比剂注射后 10~60 min 内,兔子肾脏皮质碘浓度均呈现下降趋势;而 DN 模型数据显示:对比剂注射后 10~60 min 内,兔子肾脏皮质碘浓度适量的未进入对比剂分泌阶段,提示其肾脏滤过功能受损。结论:DECT 多期增强扫描可检测 DN 模型肾脏滤过功能的受损。

【关键词】 糖尿病;糖尿病肾病;肾小球滤过率;疾病模型,动物;体层摄影术,X线计算机

【中图分类号】R587.24; R814.42; R-332 【文献标识码】A 【文章编号】1000-0313(2016)02-0129-04

DOI:10.13609/j. cnki. 1000-0313. 2016. 02. 008

Evaluation of renal filtration function impairment in diabetic nephropathy rabbit model: a preliminary study evaluated by multiphase contrast-enhanced dual energy CT ZHAO Kai, SUI Xue-qing, WANG Rui, et al. Department of Radiology, Peking University First Hospital, Beijing 100034, P. R. China

[Abstract] Objective: To evaluate the changes of renal filtration function in diabetic nephropathy (DN) rabbit model by multiphase contrast-enhanced dual energy CT (DECT). Methods: Ten New Zealand rabbits were included. The rabbits were induced to diabetes mellitus (DM) by intravenous injection of alloxan. If the blood glucose level was more than 16. 0mmol/L after 72 hours of injection, the DM model was considered to be successfully established. DECT was scanned prior to and 28 days after injection of alloxan, which was considered as baseline data and diabetic nephropathy (DN) data, respectively. Dynamic DECT images were post—processed to quantify the iodine concentration of renal cortex at each time point. Light and electron microscope pathology results were obtained. **Results**: The DN data of 4 rabbits were obtained and pathological changes could be seen in the kidneys. For the data of baseline, the iodine concentration of rabbit kidney cortex from 10min to 60min showed a trend of decline. But for data of DN, this trend disappeared, indicating the impairment of renal filtration function. **Conclusion**: For DN model of rabbit, the filtration function of kidney can be detected by multiphase contrast—enhanced DECT.

[Key words] Diabetes mellitus; Diabetic nephropathies; Glomerular filtration rate; Disease models, animal; Tomography, X-ray computed

糖尿病肾病(diabetic nephropathy,DN)是由糖尿 病引起的、危害性最大的慢性并发症之一,其临床特征 为蛋白尿、渐进性肾功能损害、高血压、水肿等,晚期可 出现严重肾功能衰竭,是糖尿病患者的主要死亡原因 之一^[1]。DN的发病机制、疾病监测以及治疗还有许 多未解决的问题。既往研究^[2,3]表明糖尿病(diabetes mellitus,DM)早期表现为肾小球高滤过、高灌注,随 着病程的延长,血糖的持续升高会导致肾小球系膜细 胞增多、系膜基质增生等改变,肾小球的滤过功能会逐 渐受损。

在临床工作中,对 DN 患者肾功能的准确评估及 早期发现肾功能不全是至关重要的,其中肾小球滤过 率(glomerular filtration rate,GFR)是最重要的评估 指标^[4]。使用外源性标志物来测定肾清除率(包括菊 粉和^{99m}Tc 核素成像方法),其临床实用性欠佳;而采用 内源性标志物评价肾小球滤过功能可行性更高,其中 以 24 小时血清肌酐(serum creatinine,Scr)清除率最 为常用,但是其结果往往不够准确。

双能量 CT(dual energy CT, DECT)可对某些物 质进行定量分析,特别是对碘的定量测量,在临床用量

作者单位:100034 北京,北京大学第一医院医学影像科(赵凯、隋 雪晴、王蕊、林志勇、王霄英),超微病理中心(王素霞) 作者简介:赵凯(1987-),男,山东泰安人,博士,住院医师,主要从

手影像新技术研究。 通讯作者:王雪英, E-mail: cjr. wangxiaoying@vip. 163. com

范围内是非常准确的^[5]。而碘对比剂在肾脏皮质内的 代谢,可以非常好地反映肾小球滤过功能。本研究以 兔 DN 模型为研究对象,探索 DECT 多期增强扫描评 估肾脏滤过功能的可行性。

材料与方法

1. 实验动物

本研究通过北京大学第一医院实验动物伦理委员 会批准。10 只健康雄性新西兰大白兔被纳入此研究, 体重 2.5~3.5 kg。自由采食法饲养。

CT 扫描前 10 h 禁食,自由进水。CT 扫描时固定 兔,利用呼吸式动物麻醉机(Matrx VME, Midmark Corporation, Versailles, Ohio, USA),通过专用动物面 單使其吸入异氟醚直至麻醉成功。

2. DN 模型的建立

对每只兔子按照 100 mg/kg 的剂量静脉注射四 氧嘧 啶,注射完后 72 h 测试血糖,血糖浓度 >16.0 mmol/L即认为 DM 诱导成功,其中在四氧嘧 啶注射后 28 d 仍保持血糖增高且存活的兔子,认为 DN 模型制作成功。

3. CT 扫描方案

每只兔扫描 2 次,分别为四氧嘧啶注射前数据(基 线值)和四氧嘧啶注射后 28 d 的数据(DN 值)。

使用双源 CT 扫描仪(Siemens, Erlangen, Germany),行 DECT 多期增强扫描。对比剂为碘帕醇 (370 mg I/mL),注射剂量4 mL。注射对比剂后 10~ 60 min,每隔 10 min 进行 1 次 DECT 扫描(80 kVp/ Sn140 kVp,100 mAs,层厚 1.0 mm),扫描范围覆盖左 肾,共获得连续6期的数据。

4. 数据后处理

在后处理工作站上,使用双能量分析软件测量6 个时间点的肾脏皮质碘浓度。在碘图分析工具中选择 肾脏最中央的层面,在左肾皮质区域手工勾画感兴趣 区(region of interest,ROI),避开伪影较大的肾脏上 下极区域。以所得肾皮质碘浓度值绘制时间-浓度曲 线,用于观察肾脏对碘的滤过趋势。

5. 组织学检查

实验结束后用过量麻醉药(戊巴比妥钠)处死所有 动物,以肾门为中心做 3~5 mm 短轴切片,用 10%福 尔马林固定,依次用 70%、80%、90%、95%酒精和无 水酒精对组织进行脱水,然后用二甲苯替代出酒精对 样本透明,将透明好的组织块置入已在温箱(56℃~ 58℃)内熔化的石蜡内,放置适当时间,使石蜡浸入组 织并替换出二甲苯,后经包埋、切片,完成 HE 染色。 用光镜观察肾脏组织结构变化。取部分肾脏标本用戊 二醛固定,后经包埋、切片,制作电镜标本。由一名有 30年工作经验的肾脏病理学专家阅片,观察肾小球、 肾小管、肾间质及肾血管等。

结 果

1. DN 模型的情况

10 只兔子中 7 只兔子成功诱导出 DM,其中 4 只 在注射后 28 d 仍保持血糖增高且存活,完成 DN 模型 的制作。

2. DECT 结果

基线 DECT 多期增强扫描过程中(延迟扫描 60min),4 只兔子肾脏皮质碘浓度均呈下降趋势(表 1);而 4 只 DN 模型兔在 DECT 多期增强扫描中,肾 脏皮质碘浓度均无明显下降趋势(表 2),提示尚未进 入对比剂代谢的第二阶段,肾脏滤过功能受损。

表1 基线状态兔肾脏皮质碘浓度变化

DECT 延迟时间	肾皮质的碘浓度值(mg/mL)				
(min)	1号	2号	3号	4 号	
10	3.0	2.8	3.8	2.9	
20	2.7	2.8	2.3	1.8	
30	2.5	2.6	2.5	1.5	
40	2.4	2.3	2.2	1.4	
50	2.4	2.2	2.0	1.4	
60	2.4	1.9	2.2	1.3	

表 2 DN 兔肾脏皮质碘浓度变化

DECT 延迟时间	肾皮质的碘浓度值(mg/mL)				
(min)	1号	2号	3号	4号	
10	1.6	2.7	2.9	4.8	
20	1.3	2.4	4.4	6.3	
30	1.7	2.6	2.7	5.1	
40	1.5	2.5	2.9	4.6	
50	1.3	2.5	3.8	6.2	
60	1.4	2.4	4.2	6.2	

3. 病理结果

大体病理:正常兔肾脏(本课题组其他研究提供) 外观暗红,表面光滑,无凹痕及出血点,皮髓质分界清 晰。DN 兔的肾脏,外观普遍缺少色泽,颜色苍白,另 可见凹痕及出血点,皮髓质分界模糊(图 1)。

光镜:正常肾脏的肾小球无明显病变,毛细血管袢 开放良好,系膜细胞和基质未见明显增生。而 DN 兔 肾小球系膜细胞和基质呈轻至中度增生,毛细血管袢 开放不良,肾小球体积未见肥大(图 2)。

电镜:正常肾脏足细胞的足突排列整齐,足突孔规则统一。DN 兔肾脏足突细胞可见较多的融合,足突 孔变小或者消失(图 3)。

讨 论

各种肾实质病变的发生、发展及康复几乎均能引 起血流灌注及滤过功能的改变,从而导致 GFR 的改 变。多种方法可用于 GFR 的检测,其中菊粉检测法虽



图 1 兔肾脏大体病理标本。a) 正常兔肾脏呈暗红色;b) 正常兔肾脏,剖面示皮髓质分 界清晰; c) DN 免肾脏, 色泽发暗, 呈土灰色; d) DN 免肾脏剖面示皮髓质分界模糊; e) DN 兔肾脏表面出现凹痕(箭); f) DN 兔肾脏表面可见出血点(箭)。

然是金标准,但其过程繁琐,目前已较少使用。在临床 实际工作中,经常使用方便快捷的 Scr 水平估算 GFR,但是其结果不够准确。研究显示,只有当 GFR 下降超过 50%,Scr 才会升高^[4]。

影像技术对肾脏的血流灌注滤过功能的研究逐渐 从形态学检测向功能学评价发展。核医学肾图是根据

GFR 的估算^[6,7]。对比剂进入人 体后,在随血液运输到各个器官和组织的过程中,不断 地被吸收、分布、代谢,最终排出体外。对比剂在血液 中的浓度,即单位容量(mL)血液中对比剂的含量 (mg)随时间和空间而变化。根据对比剂浓度随时间

> 变化的情况计算 GFR,多是应用 房室模型来模拟其生理过程。

DECT 利用物质对不同能量

的碘对比剂有着和菊粉相似的肾

脏代谢(被肾小球滤过目不会被肾

小管重吸收),可以用来进行肾脏

大多数肾脏功能成像估算 GFR 时使用双室模型,本研究也 是如此。对比剂进入系统后几乎 立即分布到中央房室,然后缓慢地 分布到周边房室。中央房室包括 血液与能瞬时取得平衡的组织,如 心、肝、肾、脑、腺体、肌肉等。周边 房室包括血液灌注贫乏的、难以瞬 时取得平衡的组织,如骨、脂肪、皮 肤等。对比剂静脉注射后瞬时进 入中央房室,之后一边消除,一边 流入周边房室,此阶段称为分布阶 段(第一时相);达到分布平衡后, 曲线进入下降较慢的消除阶段,此 阶段主要反映对比剂的消除过程 (第二时相)^[8,9]。细胞外液量(ex-C(t)与GFR之间关系为:C(t) = $Cmax e^{-Qt}, Q = GFR/ECFV, C(t)$



兔肾脏光镜病理结果(HE,×400)。a) DN 兔肾脏 HE 染色示肾小球饱满伴系膜 tracellular fluid volume, ECFV)、 图 2 细胞增生(箭); b) 正常兔肾脏 HE 染色。 图 3 兔肾脏电镜病理结果。a) DN 兔可见 较多节段性融合的足突细胞(箭);b)正常兔肾脏足突细胞(箭)。

131

为某一时间点靶器官细胞外间隙对比剂浓度,Cmax 理论上为第一时相末、第二时相初时对比剂浓度。使 用这个公式进行分析的前提条件是对比剂代谢已经进 入了第二阶段,也就是碘对比剂在血浆和细胞外液已 经达到了完全的平衡。有研究报道通过拟合时间-信 号强度曲线估算 GFR 发现,在肾功能正常的情况下, 最合适的图像采集时间是 40~65 min,过早测量会与 第一时相交叉,过高估计 GFR;而过晚测量会使图像 噪声增加,影响测量的准确性^[11]。

本实验中,因 DN 模型的数量较少,且 DN 模型的 肾脏明显受损,60 min 仍未达第二时相,所以没有进 行 eGFR 的计算,仅比较了 DN 模型建立前后,碘对比 剂在肾脏皮质的清除趋势。本研究结果显示,当兔肾 脏未受到损害时,在 10~60 min 内,肾脏皮质碘浓度 均呈明显下降趋势,说明已经进入第二时相;DN 造模 成功后,兔肾脏受损,在 10~60 min 内,肾脏皮质碘浓 度无明显下降趋势,而是呈波动改变,提示此时尚未进 入对比剂代谢的第二时相,故此时无法通过双室模型 方法进行 GFR 的估算,需要延长扫描时间。

在 DN 的发生、发展过程中,肾脏的血流灌注模式 与肾脏病理变化关系密切。本研究结果显示:与正常 兔比较,DN 兔肾脏滤过功能减低,考虑与系膜细胞增 生、系膜基质增厚、足突细胞融合等有关,最终导致肾 小球滤过膜功能减低,GFR 减低,还可能导致部分毛 细血管管腔狭窄或闭塞、血管阻力增加、血流灌注速度 减低、血容量降低、血流量减少^[12],最终导致对比剂廓 清速率减慢,血流淤滞,而病理的相关改变也证实了这 一点。

本研究存在不足之处:①由于 DM 诱导有一定失 败率,在兔饲养期间也存在意外死亡或者自我恢复正 常的可能,导致本研究最终 DN 样本量较少,将来可进 一步增加样本量、延长扫描时间进行 GFR 的测试。② 本研究以肾脏病理结果作为金标准,可以说明肾脏的 镜下微观改变,如果加上核素测量 GFR 等作为金标 准,结果会更有说服力。③本研究使用 DECT 多期增 强扫描,应注意到射线辐射的问题。目前本方案仅推 荐用于动物实验,做疾病机制的研究,不建议用于人 体。人体肾脏功能的研究,仍建议用无创的 MR 功能 成像。将来可联合使用 DECT 与 MR 功能成像两种 方法,优化试验设计,用 DECT 所揭示的碘浓度变化, 对 MR 功能成像所得参数进行解释。

总之,针对 DN 模型,使用 DECT 多期增强扫描,可反映肾脏滤过功能受损的变化;将来可进一步加大 样本量,对 DECT 定量测定 GFR 的能力进行评估。

参考文献:

- [1] 姚建,陈名道.糖尿病肾病及其早期防治[J].中华内分泌代谢杂 志,2002,18(4):330-331.
- [2] Schwieger J, Fine LG. Renal hypertrophy, growth factors, and nephropathy in diabetes mellitus [J]. Semin Nephrol, 1990, 10(3): 242-253.
- [3] Seyer-Hansen K. Renal hypertrophy in experimental diabetes mellitus[J]. Kidney Int, 1983, 23(4):643-646.
- [4] Baskar V, Venugopal H, Holland MR, et al. Clinical utility of estimated glomerular filtration rates in predicting renal risk in a district diabetes population [J]. Diabet Med, 2006, 23 (10): 1057-1060.
- [5] Chiro GD, Brooks RA, Kessler RM, et al. Tissue signatures with dual-energy computed tomography[J]. Radiology, 1979, 131(2): 521-523.
- [6] Blomley MJ, Dawson P. Review article: the quantification of renal function with enhanced computed tomography [J]. Br J Radiol, 1996,69(827):989-995.
- [7] Hackstein N, Puille MF, Bak BH, et al. Measurement of single kidney contrast media clearance by multiphasic spiral computed tomography:preliminary results[J]. Eur J Radiol, 2001, 39(3): 201-208.
- [8] Hackstein N, Buch T, Rau WS, et al. Split renal function measured by triphasic helical CT[J]. Eur J Radiol, 2007, 61(2): 303-309.
- [9] Hackstein N, Wiegand C, Rau WS, et al. Glomerular filtration rate measured by using triphasic helical CT with a two-point Patlak plot technique[J]. Radiology, 2004, 230(1):221-226.
- [10] 蒋振兴,王毓,丁玖乐,等. 血氧水平依赖 MRI 评估糖尿病肾病 肾功能损伤的研究[J]. 磁共振成像,2015,6(7):524-528.
- [11] Boss A, Martirosian P, Gehrmann M, et al. Quantitative assessment of glomerular filtration rate with MR gadolinium slope clearance measurements: a phase I trial[J]. Radiology, 2007, 242 (3):783-790.
- [12] 刘志红,黎磊石. 糖尿病肾病发病机理[J]. 中华肾脏病杂志, 1999,(2):120.

(收稿日期:2015-12-20 修回日期:2016-01-10)