

超高 b 值 DWI 预测兔肾缺血再灌注损伤程度的实验研究

余安定, 罗凯, 伏庆琳, 潘靓, 张志平, 陈杰

【摘要】 目的:探讨超高 b 值扩散加权成像(UHBV-DWI)对不同程度肾缺血再灌注损伤(IRI)动物模型的诊断价值及其与左肾实质水通道蛋白 1(AQP-1)和 AQP-2 之间的相关性。**方法:**将 32 只健康新西兰大白兔随机分为 IRI 组($n=24$)和对照组($n=8$)。IRI 组实验兔又均分为 3 个亚组(缺血 45 min 组、缺血 60 min 组和缺血 75 min 组),分别夹闭左肾蒂 45、60 和 75 min,对照组($n=8$)行假手术处理。IRI 组和对照组中每只兔子分别于术后 48 h 行 T_2 WI 和多 b 值(0、50、100、150、200、300、500、800、1000、1300、1500、1700、2000、2500、3000、3500、4000 和 4500 s/mm²)DWI 扫描,测量并计算左肾皮质(CO)和外髓质(OM)在超高 b 值(>1500 s/mm²)时的表观扩散系数(ADC_{uh})值。随后,手术切除每只兔的左肾进行 HE 及 AQP-1、AQP-2 免疫组化染色,分析 ADC_{uh} 值与 AQP-1、AQP-2 表达水平的相关性。**结果:**缺血 60 min 组与缺血 75 min 组之间左肾 CO 和 OM 的 ADC_{uh} 值的差异均无统计学意义($P=0.129, 0.339$),但两组的两个部位的 ADC_{uh} 值均显著低于对照组(P 均 <0.001)和缺血 45 min 组(P 均 <0.001)。缺血 45 min 组左肾 CO 的 ADC_{uh} 值与对照组之间的差异无统计学意义($P=0.123$),而左肾 OM 的 ADC_{uh} 值低于对照组且差异有统计学意义($P=0.039$)。左肾 CO 和 OM 的 ADC_{uh} 值与 AQP-1(CO: $r=0.673, P<0.001$; OM: $r=0.769, P<0.001$)和 AQP-2(CO: $r=0.621, P<0.001$; OM: $r=0.443, P=0.011$)的表达水平均具有显著相关性。**结论:**UHBV-DWI 能无创性表征肾缺血再灌注损伤的严重程度,而且可在一定程度上反映 AQP-1 和 AQP-2 的表达水平。

【关键词】 肾脏病变; 缺血再灌注损伤; 水通道蛋白; 超高 b 值; 扩散加权成像; 磁共振成像; 实验研究

【中图分类号】 R445.2; R692.2; R543.5 **【文献标识码】** A

【文章编号】 1000-0313(2023)04-0375-07

DOI:10.13609/j.cnki.1000-0313.2023.04.002

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Experimental study of ultra high b-value DWI for assessment of rabbit renal ischemia reperfusion injury degree YU An-ding, CHEN Jie, LUO Kai, et al. Department of Radiology, Third Affiliated Hospital of Soochow University, Jiangsu 213003, China

【Abstract】 Objective: To evaluate the value of ultra high b-value diffusion weighted imaging (UHBV-DWI) in evaluating the degree of renal ischemia-reperfusion injury (IRI) model of rabbits and its correlation with the expression level of AQP-1 and AQP-2 in renal parenchyma. **Methods:** Thirty-two healthy New Zealand white rabbits were randomly divided into IRI group and control group, and the rabbits in IRI group were then divided into three sub-groups (45min, 60min and 75min ischemia group) according to the left renal artery occlusion time (40, 60 and 75min, respectively). All rabbits underwent T_2 WI and multiple b-values (0, 50, 100, 150, 200, 300, 500, 800, 1000, 1300, 1500, 1700, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000 and 4500s/mm²) DWI scan 48h after reperfusion at a 3.0T MR scanner with a 12-channel phased array flexible coil, and then the values of apparent diffusion coefficient (ADC_{uh}) from ultra-high b-values (>1500 s/mm²) were measured and calculated in the left renal cortex (CO) and outer medulla (OM). The left kidney of each rabbit was taken out by surgery for HE staining and immunohistochemical staining of AQP-1 and AQP-2, and the correlation between ADC_{uh}

作者单位: 213003 苏州, 苏州大学附属第三医院(常州市第一人民医院)放射科

作者简介: 余安定(1998-), 女, 安徽安庆人, 硕士研究生, 主要从事肾缺血病变的影像学研究工作。

通讯作者: 陈杰, E-mail: slqyuer@126.com

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81971572); 常州市科技支撑计划社会发展项目(CE20225038); 江苏省卫生健康委员会重点项目(K2019023); 常州市卫健委重大项目(ZD202010); 常州市应用基础研究项目(CJ20200115); 常州市青年科技人才工程(2020-86)

value and the expression levels of AQP-1 and AQP-2 in renal parenchyma was analyzed. **Results:** There were no significant differences in ADC_{uh} values of CO and OM between 60min and 75min ischemia group ($P=0.129$ and 0.339 , respectively). The ADC_{uh} values of CO and OM in 60min and 75min ischemia group were significantly lower than those in the control group (all $P<0.001$) and 45min ischemia group (all $P<0.001$). There was no significant difference in the ADC_{uh} value of CO between the 45min ischemia group and the control group ($P=0.123$). The ADC_{uh} values of OM in 45min ischemia group was lower than those in control group ($P=0.039$). The ADC_{uh} values of CO and OM in left renal were correlated with the levels of AQP-1 (CO: $r=0.673$, $P<0.001$; OM: $r=0.769$, $P<0.001$) and AQP-2 (CO: $r=0.621$, $P<0.001$; OM: $r=0.443$, $P=0.011$). **Conclusion:** UHBV-DWI can noninvasively characterize the severity of renal ischemia-reperfusion injury, and reflect the expression levels of AQP-1 and AQP-2 of renal parenchyma to a certain extent.

【Key words】 Renal disease; Ischemic reperfusion injury; Aquaporin; Ultra high b-value; Diffusion weighted imaging; Magnetic resonance imaging

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是以肾小球滤过率迅速下降为特征的临床综合征,为慢性肾病的危险因素,发病率和死亡率均较高^[1]。肾缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI)是 AKI 的主要原因,可导致肾小管上皮细胞对水和钠离子的重吸收减弱,尿浓缩能力明显下降,这与水通道蛋白(aquaporin, AQP)的调节密切相关^[2]。目前临床上评估肾损伤的金标准是穿刺活检,为有创性检查,易发生出血、感染等并发症。而传统的无创性评估方法包括血清肌酐、尿素氮等生化指标,易受到多种因素影响,不能反映单侧肾损伤的严重程度^[3]。超高 b 值磁共振扩散加权成像(ultra high b-value diffusion weighted imaging, UHBV-DWI)为一种无创性检查技术,通过采用更多、更高的 b 值,可以较准确地反映 AQP 的膜扩散运动,为检测水分子运动提供了新的方向。本文主要通过建立不同损伤程度的兔肾 IRI 模型,旨在探讨 UHBV-DWI 对肾 IRI 的诊断价值及其与肾实质 AQP-1 和 AQP-2 水平的相关性。

材料与方法

1. 实验对象和模型建立

选取月龄 2~3 个月、体重 2.0~2.5 kg 的健康新西兰大白兔 32 只,随机分为 IRI 组($n=24$)和对照组($n=8$)。根据缺血时间将 IRI 组实验兔分为 3 个亚组(缺血 45 min 组、缺血 60 min 组和缺血 75 min 组,每组 8 只)。IRI 组实验兔在室温下经肌肉注射 3%戊巴比妥溶液(1.0 mL/kg)进行麻醉,且在建模过程中持续吸入异氟烷(2%~3%异氟烷加 100%氧气,流量为 3.0 L/min)维持麻醉,使实验兔保持全身麻醉状态 1.0~2.0 h。实验兔右侧卧位固定于手术台上,左肾区备皮、消毒,逐渐进入腹腔,用无创性动脉夹夹闭左肾蒂造成肾缺血,夹闭成功标准为肾脏颜色由鲜红色

转为暗红色,用 0.9%的温生理盐水(37℃)纱布覆盖伤口,保持腹腔水化,3 个组夹闭时间分别为 45、60 和 75 min,然后松开动脉夹,此时左肾由暗红色转为鲜红色表示再灌注成功,关闭腹腔。对照组术中不做左肾蒂夹闭处理,余操作同 IRI 组。IRI 组和对照组均于术后 48 h 行 MRI 检查,随后经耳缘静脉采用空气栓塞法处死实验兔,取其左肾进行病理检查。

2. MRI 检查方法

使用 GE Discovery Silent 3.0T 磁共振仪和 12 通道相控阵柔性线圈。所有实验兔行横轴面常规 T_2 WI 及多 b 值 DWI 扫描(后续选取 $b>1500$ s/mm² 的超高 b 值进行后处理计算)。检查前实验兔禁食、禁水 6.0 h,吸入异氟烷(2%~3%异氟烷加 100%氧气,流量为 3.0 L/min)麻醉后,取左侧卧位置于检查床上固定,沙袋置于腹部两侧。扫描范围为左肾上极至下极,横轴面扫描定位线垂直于左肾长轴,中心位于左肾门水平。FSE T_2 WI 扫描参数:TR 1807 ms, TE 85 ms, 矩阵 256×224 , 层厚 4.0 mm, 层间距 1.0 mm; 平面回波多 b 值 DWI 扫描参数:TR 2000 ms, TE 112 ms, 矩阵 64×32 , 层厚 4.0 mm, 层间距 0.3 mm, 共 18 个 b 值(0、50、100、150、200、300、500、800、1000、1300、1500、1700、2000、2500、3000、3500、4000 和 4500 s/mm²)。

3. 图像后处理及分析

将所有 DWI 数据传输至 GE AW4.7 高级工作站。使用三指数模型软件,对 $b>1500$ s/mm² 的超高 b 值(1700、2000、2500、3000、3500、4000 和 4500 s/mm²) DWI 数据进行拟合,计算公式为:

$$S/S_0 = \exp(-b \times ADC) \quad (1)$$

其中, S 为采用 b 值时的扩散加权成像信号强度, S_0 为 b 值为 0 时的信号强度, $b>1500$ s/mm²。

由两位分别具有 10 和 5 年经验的放射科医师(观察者 A 和 B)在工作站使用后处理软件独立对 DWI 图

像进行分析和测量。参考 T₂WI 图像,在 DWI 图像上选取肾门层面,在左肾皮质(cortex,CO)和外髓质(outer medulla,OM)区域勾画 ROI,尽量避开出血区和伪影,然后将 ROI 复制到相应的 ADC_{wh}伪彩图上,获得 CO 和 OM 的 ADC_{wh}值。其中观察者 A 在 2 个部位各绘制 2 次 ROI(间隔 30 天),观察者 B 仅在 2 个部位各绘制 1 次 ROI。取观察者 A 和观察者 B 的 3 次测量的 ADC_{wh}值的平均值用于后续分析。

4. 病理学分析

IRI 组和对照组的实验兔均于 MRI 扫描结束后立即处死,取出左肾,用 4% 甲醛固定液浸泡,石蜡包埋,常规 HE 染色,在光镜下观察肾脏损伤的病理表现。

5. AQP 免疫组织化学染色

石蜡包埋肾组织后,切片、脱蜡、水化,微波修复抗原,滴加抗体,于 4℃ 下孵育过夜。按链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶(streptavidin peroxidase,SP)试剂盒说明进行操作,滴加 3,3'-二氨基联苯胺(3,3'-N-diaminobenzidine tetrahydrochloride,DAB)显色复合液显色 0.5~2.0 min,镜下控制着色,胞膜有黄褐色颗粒为阳性表达。在每只实验兔左肾标本的 CO 和 OM 区域分别随机选取 5 个视野进行观察和计数(放大倍数 400),利用 Image-Pro Plus 6.0 软件对 AQP-1 和 AQP-2 阳性表达情况进行量化处理,测得累积光密度值(Integral optical density,IOD),每个指标取 5 个视野的平均值用于后续统计分析。

6. 统计学分析

使用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析。采用 Kolmogorov-Smirnov 检验对数据分布进行正态性检验,然后采用 Levene 检验进行方差齐性检验,对符合正态分布且满足方差齐性的定量资料采用均值±标准差表示,并应用单因素方差分析进行组间比较;不符合正态分布或方差不齐的定量资料采用中位数(四分位间距)表示,使用非参数 Kruskal-Wallis 检验评估组间差异。采用单因素方差分析比较左肾 CO 和 OM 的 ADC_{wh}值、AQP-1 及 AQP-2 的 IOD 值在 4 组(3 个 IRI 组及

对照组)之间的差异,进一步组间两两比较采用 LSD 检验。采用 Pearson 相关系数分析对照组和 IRI 组左肾 CO 和 OM 的 AQP-1 和 AQP-2 IOD 值与 ADC_{wh}值的相关性($|r| \geq 0.75$ 表示相关性极强; $0.5 \leq |r| < 0.75$ 表示相关性较强; $0.25 \leq |r| < 0.5$ 表示中等程度相关; $0 \leq |r| < 0.25$ 表示弱或无相关)^[4]。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 各组实验兔 CO 和 OM 的 ADC_{wh}值的比较

对照组和 3 个 IRI 组的 ADC_{wh}值及统计分析结果见表 1 和图 1~2。四组之间实验兔左肾 CO 和 OM 的 ADC_{wh}值的差异均有统计学意义($P < 0.001$)。进一步组间两两比较的结果:缺血 60 min 组及缺血 75 min 组左肾 CO 的 ADC_{wh}值均明显低于对照组和缺血 45 min 组,差异均有统计学意义($P < 0.001$);缺血 45 min 组左肾 CO 的 ADC_{wh}值与对照组之间的差异无统计学意义($P = 0.123$);缺血 60 min 组左肾 CO 的 ADC_{wh}值与缺血 75 min 组之间的差异无统计学意义($P = 0.129$)。缺血 60 min 组及缺血 75 min 组左肾 OM 的 ADC_{wh}值均显著低于对照组和缺血 45 min 组,差异均有统计学意义($P < 0.001$);缺血 45 min 组左肾 OM 的 ADC_{wh}值低于对照组,差异有统计学意义($P = 0.039$);缺血 60 min 组左肾 OM 的 ADC_{wh}值与缺血 75 min 组差异无统计学意义($P = 0.339$)。

此外,所有实验兔的左肾 CO 和 OM 的 ADC_{wh}值分别为 $(0.437 \pm 0.017) \times 10^{-3}$ 和 $(0.427 \pm 0.018) \times 10^{-3}$ s/mm²,CO 的 ADC_{wh}值高于 OM,差异有统计学意义($P = 0.020$)。

2. 肾组织 HE 染色结果

光镜下可见对照组左肾肾小管管腔清晰,间质无水肿、充血。缺血 45 min 组出现肾小管上皮细胞轻度水肿,部分小管上皮细胞坏死,凋亡,刷状缘消失。缺血 60 min 和缺血 75 min 组左肾病理表现总体大致相仿,坏死细胞数量增加,坏死的小管细胞部分脱落入管腔内,管内出现大量的蛋白管形、红细胞管形;肾间质

表 1 对照组和 IRI 组左肾 CO 和 OM 的 ADC_{wh}值及 AQP-1 和 AQP-2 的 IOD 值的比较

指标	对照组	缺血 45min 组	缺血 60min 组	缺血 75min 组	F 值	P 值
ADC _{wh} /×10 ⁻³ s/mm ²						
CO	0.455±0.006	0.449±0.005	0.425±0.010	0.420±0.007	44.107	<0.001
OM	0.447±0.007	0.436±0.007	0.415±0.011	0.410±0.014	22.420	<0.001
AQP-1 IOD/×10 ⁴						
CO	6.885±0.742	4.418±0.787	3.320±0.868	3.369±0.748	35.943	<0.001
OM	5.595±0.816	3.676±0.716	2.732±0.763	2.494±0.500	31.625	<0.001
AQP-2 IOD/×10 ⁴						
CO	2.304±0.487	1.456±0.403	1.084±0.428	0.809±0.466	16.920	<0.001
OM	2.415±0.549	1.719±0.642	1.124±0.539	1.192±0.513	9.008	<0.001

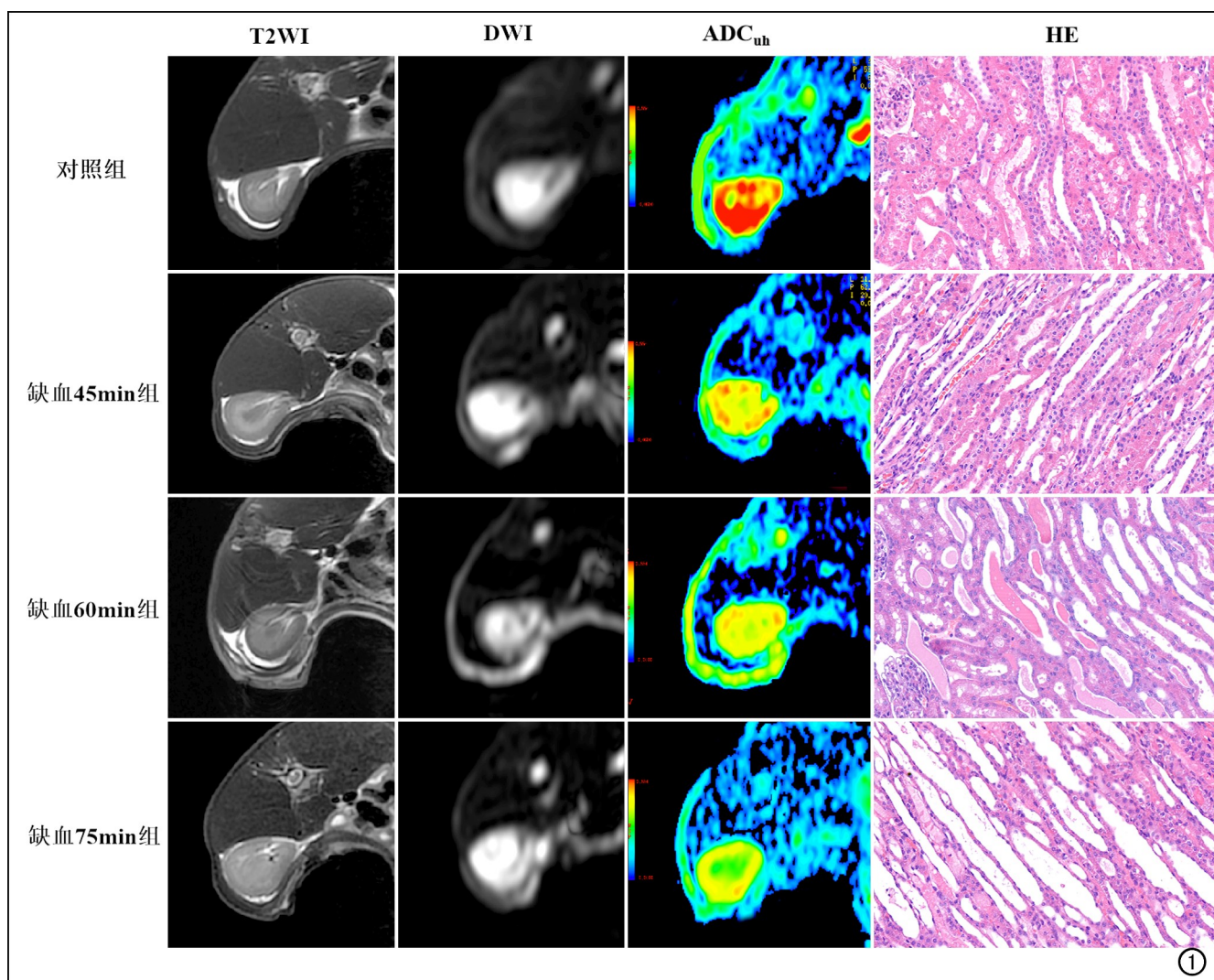


图1 对照组和 IRI 组(缺血 45min、60min 和 75min 组)的 T_2WI 、DWI、 ADC_{ah} 伪彩图和 HE 病理染色图像 ($\times 400$)。 T_2WI 显示各组实验兔左肾皮髓质分界清晰。DWI 显示各组中左肾 CO 呈高信号, OM 呈低信号, 皮髓质分界尚清晰。 ADC_{ah} 伪彩图显示随着缺血时间的延长, 左肾皮髓质由红色逐渐变黄变绿。病理结果显示缺血 45min 组部分肾小管细胞坏死、凋亡, 刷状缘消失, 肾间质血管扩张, 红细胞渗出; 缺血 60min 和缺血 75min 组病理结果表现基本相似, 出现更多的肾小管上皮细胞坏死、凋亡以及管型, 肾间质出现灶性出血区和更多的炎性细胞浸润。

出现灶性出血区, 其内可见炎性细胞浸润(图 1)。

3. 免疫组化结果

免疫组化显示 AQP-1 主要表达于近端小管顶端膜和髓袢降支细段, AQP-2 主要分布于集合管。对照组和 3 个 IRI 组的 AQP-1 和 AQP-2 的 IOD 值及统计分析结果见表 1 和图 3~4。四组之间实验兔左肾 CO 和 OM 的 ADC_{ah} 值及 AQP-1、AQP-2 的 IOD 值的差异均有统计学意义 ($P < 0.001$)。进一步组间两两比较的结果: 对照组左肾 CO、OM 的 AQP-1 IOD 值高于 IRI 组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.001$); 缺血 45 min 组左肾 CO、OM 的 AQP-1 IOD 值均高于缺血 60 min 组, 差异均有统计学意义 (P 值分别为 0.009 和 0.013)。缺血 45 min 组左肾 CO、OM 的 AQP-1 IOD

值均高于缺血 75 min 组, 差异均有统计学意义 (P 值分别为 0.013 和 0.002); 缺血 60 min 组左肾 CO 和 OM 的 AQP-1 IOD 值与缺血 75 min 组比较, 差异均无统计学意义 (P 值分别为 0.901 和 0.507)。

对照组左肾 CO 和 OM 的 AQP-2 IOD 值均高于缺血 45 min 组, 差异均有统计学意义 (P 值分别为 0.001 和 0.020)。对照组左肾 CO 和 OM 的 AQP-2 IOD 值均高于缺血 60 min 组及缺血 75 min 组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.001$)。缺血 45 min 组左肾 CO 的 AQP-2 IOD 值高于缺血 75 min 组, 差异有统计学意义 ($P = 0.007$)。缺血 45 min 组左肾 CO 的 AQP-2 IOD 值与缺血 60 min 组比较, 差异无统计学意义 ($P = 0.107$)。缺血 45 min 组左肾 OM 的 AQP-2 IOD

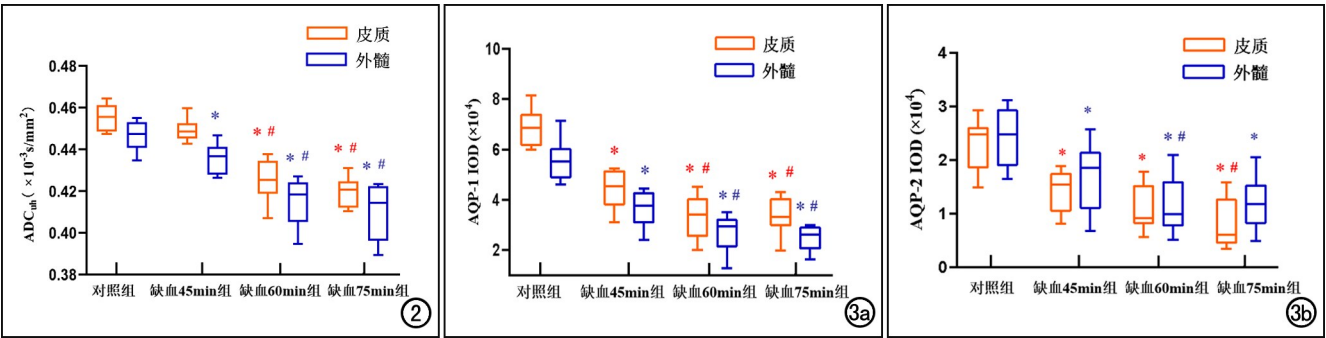


图 2 对照组和 IRI 组左肾 CO 和 OM 的 ADC_u 值箱式图。* 代表与对照组相比 $P < 0.05$ ；# 代表与缺血 45min 组相比 $P < 0.05$ 。 图 3 对照组和 IRI 组左肾 CO 和 OM 的 AQP-1、AQP-2 IOD 值箱式图。a) AQP-1 IOD 值；b) AQP-2 IOD 值。* 与对照组相比 $P < 0.05$ ；# 与缺血 45min 组相比 $P < 0.05$ 。

值高于缺血 60 min 组且差异有统计学意义 ($P = 0.072$)。缺血 60 min 组左肾 CO、OM 的 AQP-2 的 IOD 值与缺血 75min 组相比，差异均无统计学意义 ($P = 0.043$)，与缺血 75 min 组相比差异无统计学意义 ($P =$

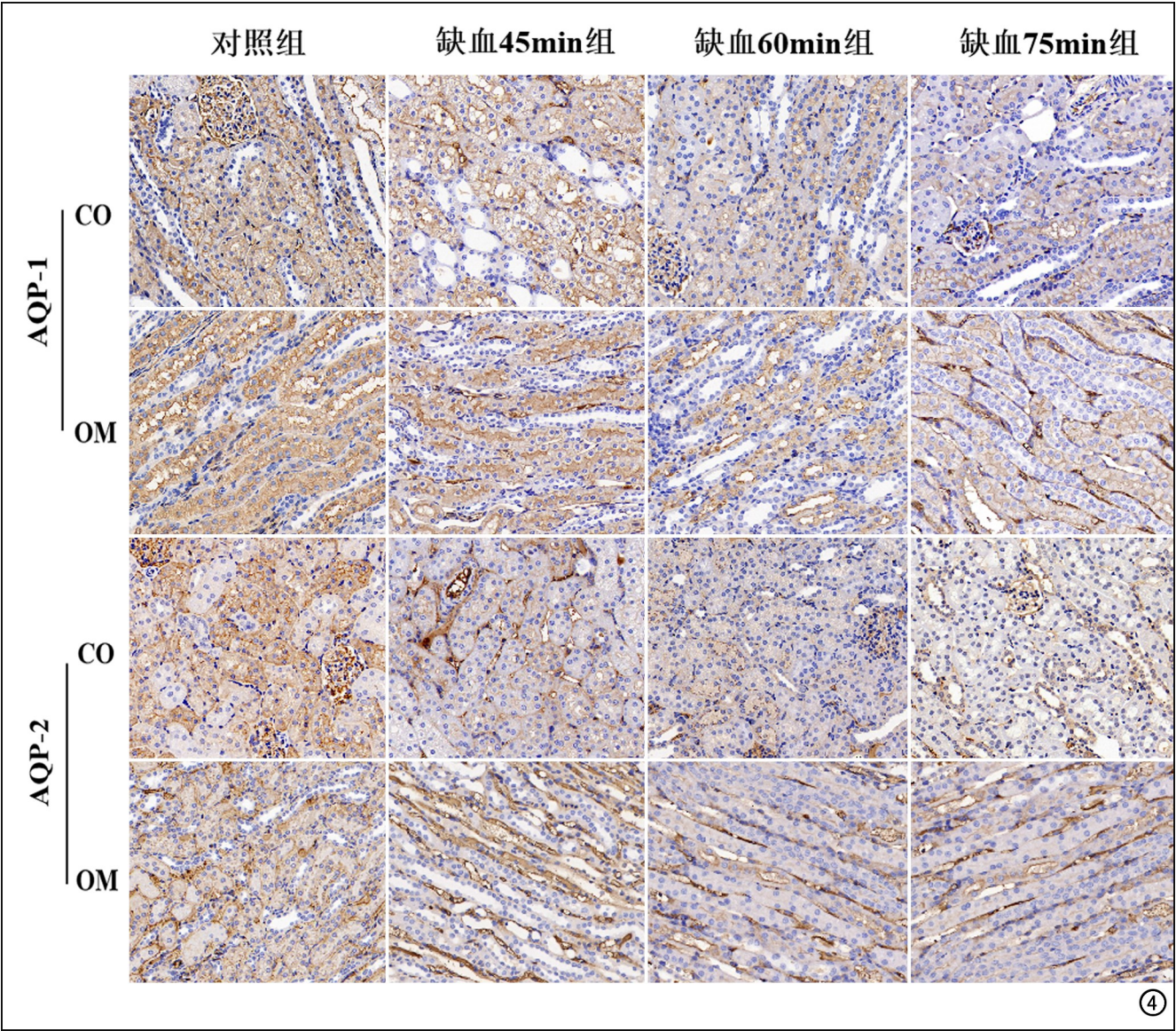


图 4 对照组和 IRI 组左肾 CO 和 OM 的 AQP-1 和 AQP-2 免疫组化染色图 (×400)，显示左肾 CO、OM 的 AQP-1 及 AQP-2 阳性表达量随着缺血时间的延长逐渐减少。

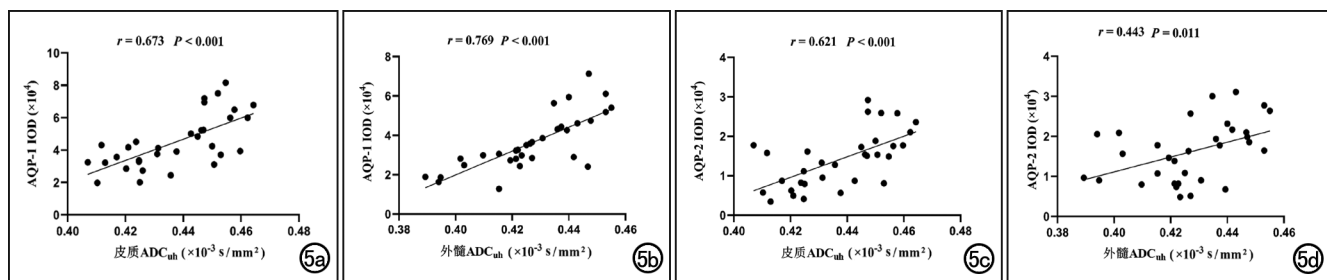


图5 相关性分析散点图。a)左肾CO的 ADC_{uh} 值与AQP-1 IOD值呈较强正相关;b)左肾OM的 ADC_{uh} 值与AQP-1 IOD值呈极强正相关;c)左肾CO的 ADC_{uh} 值与AQP-2 IOD值呈较强正相关;d)左肾OM的 ADC_{uh} 值与AQP-2 IOD值呈中等程度正相关。

值分别为0.229和0.809)。

4. 相关性分析

IRI组实验兔左肾CO和OM的 ADC_{uh} 值与AQP-1、AQP-2 IOD值的相关性分析散点图见图5。左肾CO的 ADC_{uh} 值与AQP-1 IOD值呈较强正相关($r=0.673$ 、 $P<0.001$);左肾OM的 ADC_{uh} 值与AQP-1 IOD值呈极强正相关($r=0.769$ 、 $P<0.001$);左肾CO的 ADC_{uh} 值与AQP-2 IOD值呈较强正相关($r=0.621$ 、 $P<0.001$);左肾OM的 ADC_{uh} 值与AQP-2 IOD值呈中等程度正相关($r=0.443$ 、 $P=0.011$)。

讨 论

肾脏是通过浓缩和稀释功能来维持体内水分平衡的关键器官,发生IRI时主要表现为肾小管上皮细胞的结构性改变以及肾小管对水钠的重吸收能力受损等功能性缺陷^[5],这与AQP的异常调节密切相关。AQP是一种完整的膜通道蛋白,在肾脏中主要表达AQP-1~AQP-7和AQP-11,其中AQP-1和AQP-2在肾脏水处理过程中发挥至关重要的作用^[6]。肾IRI时可导致AQP-1和AQP-2表达水平显著下降,使得尿液浓缩功能障碍及尿渗透压降低。AQP-1主要表达于近端小管、髓袢降支细段和直血管降支,AQP-2主要分布于集合管主细胞^[7],与本研究结果相符。

磁共振DWI通过采用连续、多个不同梯度的b值获得反映组织细胞中呈不同扩散运动水分子的分子谱,b值越高,水分子自由扩散及血流灌注引起的信号衰减越明显,检测的结果越接近AQP内转运的水分子^[8-9]。UHBV-DWI主要通过三指数模型拟合一系列超高b值($>1500 \text{ s/mm}^2$)获得 ADC_{uh} ,能一定程度上间接反映细胞膜上AQP的表达水平和功能^[10-14]。Ling等^[14]研究发现在帕金森患者相关脑区的 ADC_{uh} 值显著降低,且与脑组织AQP表达水平具有相关性,比其它扩散参数更早出现变化。Zhao等^[13]研究发现双相情感障碍-II患者小脑内 ADC_{uh} 值升高,同时该区域AQP-4表达水平上调。Wang等^[15]研究发现糖尿

病大鼠肾脏CO及OM的 ADC_{uh} 值较对照组升高,并与AQP-2表达水平呈正相关。本研究采用UHBV-DWI技术来挖掘 ADC_{uh} 值与肾缺血再灌注损伤AQP-1、AQP-2表达的相关性,结果显示左肾皮质 ADC_{uh} 值与AQP-1、AQP-2的IOD值具有中等~极强相关性,表明 ADC_{uh} 值可反映肾IRI中肾实质内AQP的变化情况。

本研究结果显示,IRI组左肾皮、髓质的 ADC_{uh} 值随着缺血时间的延长较对照组显著降低。IRI可启动炎症级联反应,包括产生细胞因子、趋化因子和白细胞活化、加剧组织损伤并引起AQP失调等^[16],并且炎症细胞的浸润程度与缺血时间长短有关。董杨^[17]研究表明MCP-1、TNF- α 及IL-6等炎症因子的基因表达随缺血时间延长而出现增加的趋势。此外,ATP参与合成蛋白质以及维持正常肾小管上皮细胞的结构,肾IRI时可导致线粒体功能障碍和ATP耗竭,继而可导致AQP显著降低^[18]。随着缺血时间的延长,线粒体结构大量破坏,ATP水平进一步下降,AQP降低更明显^[19]。本研究中病理及免疫组化结果同样证实随着缺血时间的延长,肾小管上皮细胞损伤加重、坏死和凋亡加剧,炎症细胞浸润更明显,AQP表达量显著下降。

本研究中,缺血60 min组与缺血75 min组之间左肾CO和OM的 ADC_{uh} 值的差异均无统计学意义($P>0.05$)。病理检查结果显示当缺血时间达到60 min时,肾小管上皮细胞会发生不可逆损伤,肾脏皮质髓质内大量肾小管上皮细胞坏死、脱落,肾间质内炎症细胞明显浸润;而缺血45 min时,仅出现部分肾小管细胞水肿、凋亡。现有研究发现,不同缺血时间引起的急性肾IRI损伤的程度存在“临界点”,“临界点”前急性肾损伤程度呈缓慢上升趋势,在“临界点”后损伤程度急剧上升,迅速接近损伤程度的峰值,并趋于稳定^[20]。Guseinov等^[21]研究表明兔肾缺血超过60 min后肾小管上皮细胞大规模死亡,受损组织产生过量活性氧引发氧化应激,爆发层级瀑布反应,从而造成肾不可逆损伤,与本文相符。

本研究发现肾 IRI 时左肾 OM 的 ADC_{uh} 值的变化趋势更明显,这主要由于肾 OM 具有特殊的直小血管结构,仅接受少量(5%)的肾血流,导致供氧受限以及血液回流延迟。此外,肾 OM 主要结构为肾小管上皮细胞,近端小管 S3 段糖酵解能力低下、髓袢升支对钠的主动重吸收均需要大量消耗 ATP^[22],上述生理特点导致肾 OM 更易受到缺血再灌注损伤的影响,表现为 ATP 显著下降,AQP 表达量明显降低。

本研究存在以下不足之处:①仅分析了肾缺血 45、60 和 75 min 后再灌注 48 h 的结果,有待今后进一步完善实验设计和方法,补充更多缺血时间组,并观察不同再灌注时间点 ADC_{uh} 值的动态变化;②本研中样本量较少,后续会进一步扩大样本量,增加实验结果的可靠性;③麻醉药的使用可能会降低血压,减少肾血流灌注,对图像测量数据产生一定的影响。

综上,UHBV-MRI 可通过 ADC_{uh} 值推测兔肾在不同缺血时间后 AQP 量的改变,无创性间接反映肾再灌注损伤程度与缺血时间之间的相关性,为临床早期评价和治疗肾 IRI 提供帮助。

参考文献:

- [1] Lee K, Jang HR, Jeon J, et al. Repair phase modeling of ischemic acute kidney injury: recovery vs. transition to chronic kidney disease[J]. *Am J Transl Res*, 2022, 14(1): 554-571.
- [2] Su W, Cao R, Zhang XY, et al. Aquaporins in the kidney: physiology and pathophysiology[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2020, 318(1): 193-203.
- [3] 查婷婷, 邢伟, 陈杰, 等. MR 血氧水平依赖成像评价兔肾缺血再灌注损伤的实验研究[J]. *临床放射学杂志*, 2016, 35(2): 296-300.
- [4] Ye W, Li J, Guo C, et al. Can intravoxel incoherent motion diffusion-weighted imaging characterize the cellular injury and microcirculation alteration in hepatic ischemia-reperfusion injury? An animal study[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2016, 43(6): 1327-1336.
- [5] Magouliotis DE, Tasiopoulou VS, Svokos AA, et al. Aquaporins in health and disease[J/OL]. *Adv Clin Chem*, 2020, 98: e149-e171. DOI: 10.1016/bs.acc.2020.02.005.
- [6] He J, Yang B. Aquaporins in renal diseases[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(2): e366. DOI: 10.3390/ijms20020366.
- [7] Feraille E, Sassi A, Olivier V, et al. Renal water transport in health and disease[J]. *Pflugers Arch*, 2022, 474(8): 841-852.
- [8] 张志平, 邢伟, 陈杰. 磁共振水通道蛋白分子成像机制及研究进展[J]. *放射学实践*, 2021, 36(8): 1064-1068.

- [9] 林艳红, 孙夕林, 程雁, 等. 水通道蛋白分子成像研究[J]. *放射学实践*, 2015, 30(6): 622-625.
- [10] 张志平, 罗凯, 陈沁, 等. MRI 水通道蛋白分子成像评估肾脏缺血再灌注损伤的可行性研究[J]. *国际医学放射学杂志*, 2022, 45(1): 27-31.
- [11] Tan Y, Zhang H, Wang XC, et al. The value of multi ultra high-b-value DWI in grading cerebral astrocytomas and its association with aquaporin-4 [J/OL]. *Br J Radiol*, 2018, 91 (1086): e20170696. DOI: 10.1259/bjr.20170696.
- [12] Zhao L, Luo Z, Qiu S, et al. Abnormalities of aquaporin-4 in the cerebellum in bipolar II disorder: an ultra-high b-values diffusion weighted imaging study[J/OL]. *J Affect Disord*, 2020, 274: e136-e143. DOI: 10.1016/j.jad.2020.05.035.
- [13] Lin XY, Zhang ZP, Zhao ZS, et al. Investigation of apparent diffusion coefficient from ultra-high b-values in Parkinson's disease [J]. *Eur Radiol*, 2015, 25(9): 2593-2600.
- [14] 马婉玲, 魏梦绮, 任静, 等. 3.0T MRI 水通道蛋白分子成像在胰腺癌的应用价值[J]. *放射学实践*, 2017, 32(11): 1165-1169.
- [15] Wang Y, Zhang H, Zhang R, et al. Investigation of aquaporins and apparent diffusion coefficient from ultra-high b-values in a rat model of diabetic nephropathy[J/OL]. *Eur Radiol Exp*, 2017, 1(1): e13. DOI: 10.1186/s41747-017-0016-3.
- [16] Liu QJ, Kong YL, Guo XD, et al. GSK-3beta inhibitor TDZD-8 prevents reduction of aquaporin-1 expression via activating autophagy under renal ischemia reperfusion injury[J/OL]. *FASEB J*, 2021, 35(8): e21809. DOI: 10.1096/fj.202100549R.
- [17] 董杨. 缺血再灌注所致急性肾损伤及其预后的评估和影响因素研究[D]. 上海交通大学, 2019. DOI: 10.27307/d.cnki.gsjtu.2019.000140.
- [18] Hussein AA, El-Dken ZH, Barakat N, et al. Renal ischaemia/reperfusion injury: possible role of aquaporins[J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2012, 204(3): 308-316.
- [19] 贾圣琪, 罗文龙, 田丁元, 等. 急性肾缺血再灌注损伤模型小鼠线粒体去乙酰化酶 3 的表达[J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(8): 1172-1178.
- [20] 王雷, 陈健文, 李怀康, 等. 大鼠肾脏外科性缺血时间与急性肾损伤的剂量-反应曲线特征研究[J]. *中华实验外科杂志*, 2021, 38(11): 2204-2207.
- [21] Guseinov RG, Popov SV, Gorshkov AN, et al. Effects of the of renal warm ischemia time on the recovery of filtration function in the experiment[J]. *Urologiia*, 2017, 36(6): 20-29.
- [22] Hall AM, de Seigneux S. Metabolic mechanisms of acute proximal tubular injury[J]. *Pflugers Arch*, 2022, 474(8): 813-827.

(收稿日期: 2022-10-06 修回日期: 2022-12-11)