

❖ 实验研究

DTI quantitative evaluation of functional changes after acute traumatic spinal cord injury in rats

ZHENG Yingyan¹, LIU Jianyi¹, YANG Libin¹, LIU Fang^{2*}, XIAO Zebin¹,
SHE Dejun¹, XING Zhen¹, ZHANG Yuyang¹, CAO Dairong¹(1. Department of Radiology, 2. Department of Hyperbaric Oxygen Chamber, the First
Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China)

[Abstract] **Objective** To explore the value of DTI quantitative parameters in evaluating neurological function changes of acute traumatic spinal cord injury (TSCI) in rat models. **Methods** The modified Allen's dropping weight technique was used to establish TSCI rat models. Then the rats were divided into mild injury group, moderate injury group and severe injury group (each $n=10$). DTI examination and Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) score were performed pre-TSCI and 0 h, 6 h, 24 h, 3 day, 7 day and 14 day post-TSCI, respectively. The BBB scores and DTI parameters, including FA, mean apparent diffusivity (MD), radial diffusivity (RD) and axial diffusivity (AD) were measured and compared among groups. The correlation between BBB scores and the parameters was evaluated. **Results** The differences of FA, MD and RD value were statistically significant among varying injury degree groups and different time points after TSCI (all $P<0.05$). AD value had statistical difference among different time points ($F=12.720$, $P<0.001$), whereas no difference was found among varying injury degree groups ($F=0.469$, $P=0.630$). FA and MD values decreased while RD increased 0 h post-TSCI. Then RD and MD increased continuously, whereas FA decreased continuously until 24 h post-TSCI (all $P<0.05$), and the parameters kept stable after 24 h post-TSCI (all $P>0.05$). The BBB scores were lowest on 0 h post-TSCI, then maintained increasing (all $P<0.05$). In addition, the BBB scores and MD values had good correlation ($r=0.958$, $P<0.01$). **Conclusion** DTI can quantitatively evaluate function changes of TSCI in rat models. Moreover, treatment within 24 h post-TSCI might be recommended for TSCI therapy.

[Key words] Magnetic resonance imaging; Diffusion tensor imaging; Spinal cord injuries

DOI: 10.13929/j.1003-3289.201709153

DTI 定量评价大鼠急性创伤性脊髓损伤后功能改变

郑颖彦¹, 刘建宜¹, 杨丽彬¹, 刘芳^{2*}, 肖泽彬¹,
余德君¹, 邢振¹, 张宇阳¹, 曹代荣¹

(1. 福建医科大学附属第一医院影像科, 2. 高压氧室, 福建 福州 350005)

[摘要] **目的** 探讨 DTI 定量参数动态评价大鼠不同程度急性创伤性脊髓损伤(TSCI)后功能改变的价值。**方法** 采用改良 Allen 打击法制备轻度、中度及重度损伤组大鼠急性 TSCI 模型各 10 只。于损伤前、损伤后即刻、6 h、24 h、3 天、7 天及 14 天分别行 DTI 检查及运动功能评分(BBB)评分, 获得并比较轻、中、重度损伤组大鼠 TSCI 后不同时间点 DTI 参数[FA、平均表观扩散系数(MD)、径向扩散系数(RD)及轴向扩散系数(AD)]值及 BBB 评分的差异, 分析大鼠 BBB 评分与各参数间的相关性。**结果** 轻、中、重度损伤组间和 TSCI 后不同时间点间 FA、MD 及 RD 值差异均有统计学意义(P 均 <

[基金项目] 福建省自然科学基金(2016J01526)。

[第一作者] 郑颖彦(1992—), 女, 福建泉州人, 在读硕士。研究方向: 中枢神经系统影像诊断。E-mail: 864593792@qq.com

[通信作者] 刘芳, 福建医科大学附属第一医院高压氧室, 350005。E-mail: 913542386@qq.com

[收稿日期] 2017-09-26 **[修回日期]** 2018-03-27

0.05);TSCI 后不同时间点间 AD 值差异有统计学意义($F=12.720, P<0.001$),而轻、中、重度损伤组间 AD 值差异无统计学意义($F=0.469, P=0.630$)。大鼠 TSCI 后即刻 FA、MD 值减低, RD 值升高,后 FA 值持续降低, MD 和 RD 值持续升高至 24 h(P 均 <0.05), 24 h 后趋于稳定(P 均 >0.05)。大鼠 BBB 评分损伤后即刻降至最低值,之后持续上升(P 均 <0.05),且 BBB 评分与 MD 相关性最高($r=0.958, P<0.01$)。结论 DTI 可动态定量评价大鼠 TSCI 后功能改变;推测 TSCI 后 1 天之内可能为治疗最佳时间窗。

[关键词] 磁共振成像;扩散张量成像;脊髓损伤

[中图分类号] R641; R445.2 [文献标识码] A [文章编号] 1003-3289(2018)06-0807-05

创伤性脊髓损伤(tramatic spinal cord injury, TSCI)的致死率及致残率较高,并常导致神经功能障碍^[1],早期诊断和治疗与预后密切相关。DTI 可无创反映脊髓的病理生理改变,能早期发现病灶、量化损伤程度并辅助评估远期功能预后,可较常规 MRI 提供更多的诊断和功能信息^[2-4]。本研究采用改良 Allen 打击法制备不同程度急性 TSCI 大鼠模型,分析 DTI 参数与不同程度 TSCI 后神经功能改变的相关性,旨在寻找最佳治疗时间窗,为临床治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选取清洁级成年雌性 SD 大鼠 30 只,周龄 6~8 周,体质量 180~200 g,由福建医科大学动物实验中心提供,许可证号:SCXK(闽)2016-0002。将大鼠随机分为轻度、中度或重度损伤组,每组各 10 只。

1.2 建立大鼠急性 TSCI 模型 腹腔注射 10%水合氯醛 3 ml/kg 体质量麻醉大鼠后,将其俯卧保定于实验操作台,无菌条件下以 T10 椎体为中心作矢状切口,暴露 T9~T11 椎板及棘突,去除 T10 椎板,暴露硬脊膜。将大鼠固定于 NYU 脊髓损伤打击器,使用直径 2.5 mm、重量 10 g 的撞击棒从不同高度(轻度损伤组 12.5 mm,中度损伤组 25.0 mm,重度损伤组 50.0 mm)自由落下撞击脊髓,从坠落到抬起撞击棒持续时间为 10 s。建模成功后压迫止血,并缝合皮肤及皮下组织。

1.3 检查方法 采用 Siemens Magnetom Skyra 3.0T 超导 MR 扫描仪,3.0T 大鼠线圈(CG-MUC18-H300-AS,上海辰光医疗科技股份有限公司),分别于损伤前、损伤后即刻、6 h、24 h、3 天、7 天及 14 天对大鼠行常规 MR 及 DTI 检查。将大鼠俯卧位保定于线圈内,以脊髓损伤处为扫描中心,扫描序列如下:轴位 DTI 采用读出方向分段采样技术(readout segmentation of long variable echo-trains, RESOLVE)扩散序列,梯度场方向为 20 个, b 值 $=0.800 \text{ s/mm}^2$, FOV 162 mm $\times$ 81 mm,矩阵 168 $\times$ 168,层厚 2.0 mm,层间距 0.2 mm;轴位 T2WI, TR 3 510 ms, TE 80 ms, FOV

162 mm $\times$ 81 mm,矩阵 192 $\times$ 192,层厚 2.0 mm,层间距 0.2 mm;矢状位 T1WI, TR 628 ms, TE 12 ms, FOV 55 mm $\times$ 55 mm,矩阵 256 $\times$ 256,层厚 1.5 mm,层间距 0.1 mm;矢状位 T2WI, TR 2 070 ms, TE 79 ms, FOV 55 mm $\times$ 55 mm,矩阵 256 $\times$ 256,层厚 1.5 mm,层间距 0.1 mm。

1.4 图像处理 将 DTI 数据传送至 Siemens Syngo. via VB10B 后处理工作站,由 2 名主治医师共同对照轴位 T2WI,于脊髓损伤中心手动勾画 ROI,尽量包括病灶并避开脑脊液和出血区域,测量 FA、平均扩散率(mean diffusion, MD)、径向扩散率(radial diffusion, RD)及轴向扩散率(axial diffusion, AD)。所有数据各测量 3 次,并取其平均值。以病灶 ROI 为种子点,重建扩散张量纤维束成像(diffusion tensor tractography, DTT)图。

1.5 行为学评价 在 MRI 检查结束后的各个时间点,由 2 名研究人员以盲法采用 Basso-Beattie-Bresnahan (BBB)法^[5]对大鼠运动功能进行评分,并取其平均值。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计分析软件,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示。以多因素方差分析比较轻、中、重度损伤组间和 TSCI 后不同时间点 DTI 参数及 BBB 评分的差异,两两比较采用 Bonferroni 检验。以 Pearson 线性相关分析评估 BBB 评分与各参数值间的相关性。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 常规 MRI 表现 12 只急性 TSCI 大鼠表现为出血型,脊髓中央大范围低信号,伴周边环状小范围高信号出血区(轻度损伤组 3 只,中度组 4 只,重度组 5 只);7 只表现为水肿型,损伤区中央及周围见高信号水肿区(轻度组 4 只,中度组 2 只,重度组 1 只),11 只表现为挫伤型,中央小范围低信号伴周边大范围高信号的挫伤区(轻度组 3 只,中度组 4 只,重度组 4 只)。损伤后 7 天,脊髓水肿基本消失,挫伤范围逐渐缩小,伤后 7~10 天脊髓内软化灶形成,或伴有不同程度萎缩(图 1)。

2.2 DTI 参数 不同程度急性 TSCI 大鼠损伤区脊

髓均出现神经纤维束中断及破坏(图 2)。轻、中、重度损伤组间和 TSCI 后不同时间点间 FA、MD 及 RD 值差异均有统计学意义(P 均 <0.05);TSCI 后不同时间点间 AD 值差异有统计学意义($F=12.720, P<0.001$),而轻、中、重度损伤组间 AD 值差异无统计学意义($F=0.469, P=0.630$)。大鼠 TSCI 即刻 FA、MD 值减低, RD 值升高,之后 FA 值持续降低, MD 和

RD 值持续升高,损伤前与损伤后即刻、损伤后即刻与 6 h、6 h 与 24 h 间差异均有统计学意义(P 均 <0.05),至 24 h 后趋于稳定,损伤后 24 h 与 3 天、3 天与 7 天及 7 天与 14 天间差异均无统计学意义(P 均 >0.05);AD 值在 TSCI 即刻降低,损伤前与损伤后即刻差异具有统计学意义($P<0.001$),之后各时间点差异均无统计学意义(P 均 >0.05);见表 1~4。

表 1 各组 TSCI 大鼠脊髓损伤前及损伤后不同时间点 FA 值($\bar{x}\pm s$)

组别	损伤前	损伤后					
		即刻	6 h	24 h	3 天	7 天	14 天
重度损伤组	0.62±0.01	0.38±0.01	0.37±0.04	0.34±0.04	0.34±0.02	0.34±0.03	0.34±0.02
中度损伤组	0.61±0.03	0.41±0.06	0.38±0.04	0.36±0.02	0.35±0.03	0.36±0.03	0.36±0.02
轻度损伤组	0.61±0.01	0.43±0.02	0.40±0.02	0.37±0.03	0.35±0.03	0.36±0.04	0.36±0.02

表 2 各组 TSCI 大鼠脊髓损伤前及损伤后不同时间点 MD 值($\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}, \bar{x}\pm s$)

组别	损伤前	损伤后					
		即刻	6 h	24 h	3 天	7 天	14 天
重度损伤组	1.20±0.21	1.00±0.10	1.11±0.24	1.22±0.29	1.33±0.14	1.37±0.30	1.42±0.26
中度损伤组	1.24±0.22	1.14±0.23	1.27±0.34	1.33±0.16	1.38±0.15	1.44±0.26	1.52±0.18
轻度损伤组	1.31±0.15	1.17±0.22	1.28±0.13	1.40±0.18	1.44±0.18	1.53±0.10	1.59±0.02

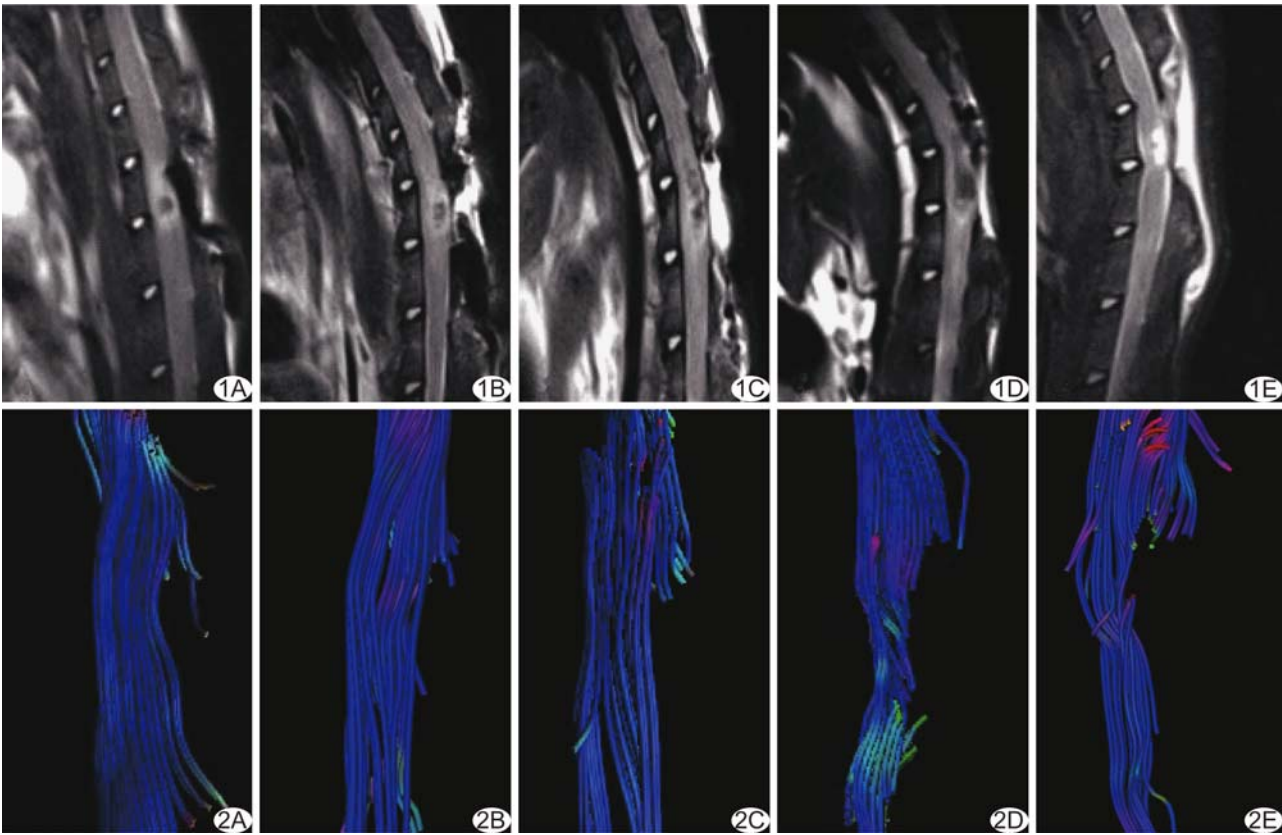


图 1 重度损伤组 TSCI 大鼠 MRI A. 损伤即刻 T2WI 示脊髓内低信号区,周围环绕高信号; B~D. 损伤后 6 h(B)、24 h(C)和 3 天(D) T2WI 示脊髓内出血范围较前增大,周围高信号范围缩小; E. 损伤 7 天脊髓内见软化灶形成

图 2 重度损伤组 TSCI 大鼠 DTT 图像 损伤后即刻(A)、6 h(B)、24 h(C)、3 天(D)和 7 天(E)脊髓神经纤维束中断、破坏

表 3 各组 TSCI 大鼠脊髓损伤前及损伤后不同时间点 AD 值($\times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	损伤前	损伤后					
		即刻	6 h	24 h	3 天	7 天	14 天
重度损伤组	1.91 $\pm$ 0.23	1.74 $\pm$ 0.20	1.82 $\pm$ 0.24	1.77 $\pm$ 0.28	1.76 $\pm$ 0.18	1.91 $\pm$ 0.30	1.95 $\pm$ 0.21
中度损伤组	2.08 $\pm$ 0.16	1.64 $\pm$ 0.26	1.84 $\pm$ 0.24	1.70 $\pm$ 0.25	1.66 $\pm$ 0.23	1.85 $\pm$ 0.23	2.06 $\pm$ 0.13
轻度损伤组	1.91 $\pm$ 0.19	1.78 $\pm$ 0.13	1.63 $\pm$ 0.10	1.80 $\pm$ 0.10	1.90 $\pm$ 0.10	1.97 $\pm$ 0.11	2.00 $\pm$ 0.13

表 4 各组 TSCI 大鼠脊髓损伤前及损伤后不同时间点 RD 值($\times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	损伤前	损伤后					
		即刻	6 h	24 h	3 天	7 天	14 天
重度损伤组	0.86 $\pm$ 0.10	1.04 $\pm$ 0.23	1.11 $\pm$ 0.23	1.20 $\pm$ 0.37	1.25 $\pm$ 0.21	1.18 $\pm$ 0.32	1.18 $\pm$ 0.22
中度损伤组	0.75 $\pm$ 0.15	0.94 $\pm$ 0.11	1.06 $\pm$ 0.33	1.20 $\pm$ 0.10	1.10 $\pm$ 0.10	1.10 $\pm$ 0.10	1.10 $\pm$ 0.10
轻度损伤组	0.82 $\pm$ 0.14	0.92 $\pm$ 0.17	1.04 $\pm$ 0.15	1.0 $\pm$ 0.01	1.13 $\pm$ 0.17	1.11 $\pm$ 0.16	1.05 $\pm$ 0.07

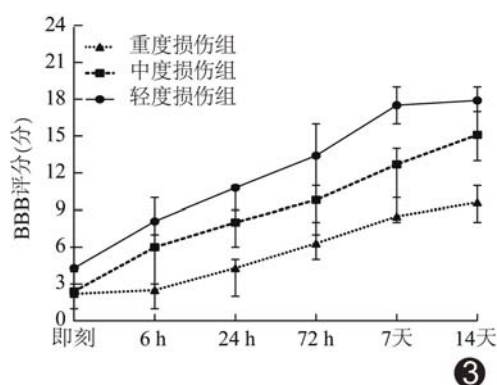


图 3 轻、中、重度损伤组 TSCI 大鼠损伤后各时间点 BBB 评分

2.3 BBB 评分 不同损伤组间及 TSCI 后各个时间点大鼠 BBB 评分差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。轻、中、重度损伤组中,损伤前 BBB 评分均为 21 分,TSCI 后即刻评分降至最低点,之后持续上升,各时间点间评分差异均有统计学意义(P 均 <0.05 ,图 3)。

2.4 相关性分析 BBB 评分与 MD、AD 值呈正相关($r=0.958, 0.695$, P 均 <0.001),与 FA 值呈负相关($r=-0.433$, $P=0.008$),与 RD 值无相关($r=0.232$, $P>0.05$)。

3 讨论

TSCI 后脊髓的病理生理状况呈动态变化,除直接损伤外,血脊髓屏障通透性改变、微灌注紊乱及持续性轴突去极化等一系列改变亦可造成脊髓继发性损伤,导致神经功能障碍^[6-7]。目前,常规 MRI 是脊髓损伤的首选影像学检查方法^[8],可清晰显示受损脊髓内的挫伤、出血及水肿等,但在早期发现病灶及评估神经

功能状态方面仍有局限性。DTI 是在 DWI 基础上发展而来的成像技术,通过量化水分子扩散的各向异性来反映组织微观结构,现已被广泛用于定量评价创伤后神经纤维束的改变^[9-10]。

本研究在 TSCI 后各时间点测量不同损伤程度大鼠的 DTI 参数,结果表明脊髓损伤即刻 FA、MD 及 AD 值减低,RD 值升高。在脊髓神经纤维束中,水分子受到髓鞘和细胞膜的限制,主要以平行于长轴的方向扩散;当 TSCI 造成原本纵向排列的神经纤维束中断,细胞骨架崩解及快速转运功能丧失引起细胞器的障碍,可导致水分子扩散的各向异性减低,使得反映各向异性所占比重的 FA 值及平行于长轴方向扩散系数的 AD 值下降^[11];RD 值升高的原因可能在于胶质细胞凋亡、髓鞘脱失及血管源性水肿引起细胞外水分子数目增加^[7,12]。本研究结果显示,大鼠 TSCI 早期 FA 值随时间而继续降低,而 MD 及 RD 值持续升高则可能是血管源性水肿所致。FA、MD 及 RD 值均于损伤后 24 h 时趋于稳定,提示损伤后 24 h 的 DTI 参数值能较准确地反映轴索损伤及细胞坏死,可作为影像学检查的最佳时间点,与 Li 等^[13]的研究结果类似。

本研究对 TSCI 后各时间点大鼠进行 BBB 评分评估脊髓功能,结果显示,在损伤即刻,因大鼠脊髓休克致正常神经元活动受到破坏,各损伤组 BBB 评分均明显下降,表现为后肢软瘫(19/30)或部分有轻微关节运动(11/30);但伤后 6 h 大鼠 BBB 评分即可出现回升,部分轻度损伤组大鼠此时后肢关节活动功能可完全恢复(4/10),而重度组恢复速率相对较慢,2 周时多数大鼠尚无爪掌面支撑移动(6/10)。尽管大鼠在非治疗情况下可出现自发性运动功能恢复,但打击程度增加导致损伤脊髓白质残余量较少^[14],可能是造成重度

损伤组恢复速率缓慢及功能恢复不完全的原因。

既往研究^[12,15]认为 FA 值在反映病变及脊髓功能远期预后方面敏感度最佳,但本研究结果表明 MD 值与大鼠的 BBB 评分相关性($r=0.958$)更好,提示 MD 值更适宜作为定量评估急性脊髓损伤后功能评估的指标。此外,Zhao 等^[15]认为损伤后 1~3 天为病理生理改变的关键时期,而本研究中 MD 值于大鼠损伤后 24 h 即保持相对稳定,原因可能为脊髓继发性损伤及自发性恢复同时存在,推测损伤后 1 天内进行早期治疗,或有助于减少继发性脊髓损伤,保护残余神经功能。

综上所述,DTI 特征性参数在动态评价不同程度大鼠急性 TSCI 后脊髓功能中具有重要价值;MD 值能较好地量化急性脊髓损伤后神经功能状态的变化,且推测损伤后 1 天内可作为 TSCI 临床早期干预的最佳时间窗。但本实验未能与脊髓组织病理学变化进行对照,且大鼠创伤模型虽然接近于人类 TSCI 的发生过程,并具有一定的临床相关性,但仍需大样本临床试验进一步加以验证。

[参考文献]

- [1] 刘芳,陈佳,苏华,等.不同时间窗高压氧干预对大鼠脊髓损伤后细胞凋亡及脊髓功能恢复的影响.吉林大学学报(医学版),2015,41(3):578-583.
- [2] Loy DN, Kim JH, Xie M, et al. Diffusion tensor imaging predicts hyperacute spinal cord injury severity. J Neurotrauma, 2007, 24(6):979-990.
- [3] Kim JH, Song SK, Burke DA, et al. Comprehensive locomotor outcomes correlate to hyperacute diffusion tensor measures after spinal cord injury in the adult rat. Exp Neurol, 2012, 235(1):188-196.
- [4] 王霄英,谭可,倪石磊,等.MRI 和 DTI 评价犬急性脊髓损伤后的形态及功能改变.中国医学影像技术,2004,20(12):1821-1824.
- [5] Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. J Neurotrauma, 1995, 12(1):1-21.
- [6] Kulkarni MV, McArdle CB, Kopanicky D, et al. Acute spinal cord injury: MRI imaging at 1.5T. Radiology, 1987, 164(3):837-843.
- [7] Kim JH, Loy DN, Liang HF, et al. Noninvasive diffusion tensor imaging of evolving white matter pathology in a mouse model of acute spinal cord injury. Magn Reson Med, 2007, 58(2):253-260.
- [8] Bozzo A, Marcoux J, Radhakrishna M, et al. The role of magnetic resonance imaging in the management of acute spinal cord injury. J Neurotrauma, 2011, 28(8):1401-1411.
- [9] Dsouza MM, Choudhary A, Poonia M, et al. Diffusion tensor MR imaging in spinal cord injury. Injury, 2017, 48(4):880-884.
- [10] 刘影,何文,李少武,等.大鼠局灶性脑创伤早期的 DTI 和¹H-MRS 的特征.中国医学影像技术,2016,32(9):1320-1324.
- [11] Cheran S, Shanmuganathan K, Zhuo J, et al. Correlation of MR diffusion tensor imaging parameters with ASIA motor scores in hemorrhagic and nonhemorrhagic acute spinal cord injury. J Neurotrauma, 2011, 28(9):1881-1892.
- [12] Patel SP, Smith TD, VanRooyen JL, et al. Serial diffusion tensor imaging in vivo predicts long-term functional recovery and histopathology in rats following different severities of spinal cord injury. J Neurotrauma, 2016, 33(10):917-928.
- [13] Li XH, Li JB, He XJ, et al. Timing of diffusion tensor imaging in the acute spinal cord injury of rats. Sci Rep, 2015, 5:12639.
- [14] 裴晓姣,杨朝阳,郝鹏,等.成年大鼠重度脊髓损伤后损伤中心不同白质束的病理变化.中国康复理论与实践,2015,21(4):373-377.
- [15] Zhao C, Rao JS, Pei XJ, et al. Longitudinal study on diffusion tensor imaging and diffusion tensor tractography following spinal cord contusion injury in rats. Neuroradiology, 2016, 58(6):607-614.

文章题名要求

▲题名应以简明、确切的词语反映文章中最重要、最核心的特定内容,要符合编制题录、索引和检索的有关原则,并有助于选定主题词。

▲中文题名一般不宜超过 20 个字,必要时可加副题名。

▲英文题名应与中文题名含义一致。

▲题名应避免使用非公知公用的缩写词、字符、代号,尽量不出现数学公式和化学式。