论著

# T<sub>2</sub>W-DRIVE-HR序列在 钆造影核磁共振成像检 测豚鼠实验性内耳内淋 巴积水中的应用\*

马永勤<sup>1</sup> 葛建刚<sup>2</sup> 季 微<sup>2</sup> 徐丽华<sup>1</sup> 姜正林<sup>1</sup> 王国华<sup>1,\*</sup> 周 鑫<sup>1,\*</sup>

- 江苏省南通大学特种医学研究院 (江苏南通 226019)
- 2.江苏省南通市第二人民医院影像科 (江苏南通226006)

【摘要】目的研究驱动平衡自旋回波序列(T2W-DRIVE-HR)在钆造影核磁共振成像(MRI)时检测豚鼠 内耳内淋巴积水的效果。方法 8只雌性豚鼠分为两 组,包括对照组和内淋巴积水模型组(腹腔注射醋酸 去氨加压素),各组相应处理17天后进行内耳磁共振 成像和组织形态学检查。结果 T2W-DRIVE-HR序列 在矢状位扫描时内耳成像效果好。内耳磁共振成像 结果表明,与对照组相比,积水模型组豚鼠耳蜗内 淋巴体积明显增加(t=3.594, P<0.05);组织形态学 结果表明,与对照组相比,积水模型组豚鼠耳蜗每 一转中阶面积/(前庭阶面积+中阶面积)的比值明显升 高(t=3.105, P<0.05)。结论腹腔注射醋酸去氨加压 素诱导豚鼠内耳内淋巴积水,使用T2W-DRIVE-HR序 列在钆造影磁共振成像检测的内耳内淋巴积水与组 织形态学检测结果一致,说明该序列可用于豚鼠内 耳内淋巴积水的检测。

【关键词】内淋巴积水;磁共振成像;T<sub>2</sub>WI-DRIVE-HR序列;内耳;豚鼠 【中图分类号】R445.2 【文献标识码】A

【基金项目】国家自然科学基金青年项目 糖皮质激素调节内耳内淋巴液平衡的 分子机制及其在抗运动病中的作用 (81801867)

DOI:10.3969/j.issn.1672-5131.2023.07.001

# The Application of T<sub>2</sub>W-DRIVE-HR Sequence in Gadolinium Contrast Magnetic Resonance Imaging in the Detection of Experimental Endolymphatic Hydrops in the Inner Ear of Guinea Pigs\*

MA Yong-qin<sup>1</sup>, GE Jian-gang<sup>2</sup>, JI Wei<sup>2</sup>, XU Li-hua<sup>1</sup>, JIANG Zheng-lin<sup>1</sup>, WANG Guo-hua<sup>1,\*</sup>, ZHOU Xin<sup>1,\*</sup>.

- 1.Institute of Special Environmental Medicine, Nantong University, Nantong 226019, Jiangsu Province, China
- 2.Department of imaging, Nantong Second People's Hospital, Nantong 226006, Jiangsu Province, China

# ABSTRACT

**Objective** To study the effect of driving balanced spin echo sequence( $T_2W$ -DRIVE-HR)in detecting endolymphatic hydrops in the inner ear of guinea pigs during gadolinium contrast magnetic resonance imaging (MRI). **Methods** Eight female guinea pigs were divided into control group and endolymphatic hydrocephalus model group (intraperitoneal injection of desmopressin acetate). Magnetic resonance imaging and histomorphology examinations of the inner ear were performed after 17 days of treatment in each group. **Results**  $T_2W$ -DRIVE-HR sequence has better imaging effect in sagittal scanning of inner ear. The MRI images of the inner ear showed that the volume of endolymph in the cochlea was higher in the hydrops model group than in the control group (t=3.594, P<0.05). The histomorphology of inner ear showed that the ratio of media scale area to media scale and vestibular scale area was increased in the hydrops model group compared with the control group (t=3.105, P<0.05). **Conclusion** Intraperitoneal injection of desmopressin acetate can induce endolymphatic hydrops in guinea pigs. The results of endolymphatic hydrops in the inner ear using  $T_2W$ -DRIVE-HR sequence are consistent with histomorphology. Thus, this sequence can be used for the measurement of endolymphatic hydrops.

#### Keywords: Endolymphatic Hydrops; Magnetic Resonance Imaging; T<sub>2</sub>W-DRIVE-HR Sequence; Inner Ear; Guinea Pig

内耳内淋巴积水是内淋巴容量增大导致内淋巴间隙扩张的病理表现,会出现波动性 听力损失、发作性眩晕、耳充盈感以及耳鸣<sup>[1-2]</sup>。持续性内淋巴积水可能会导致立体纤 毛或突触连接丧失,造成永久性听力损失。许多疾病均与内淋巴积水有关,包括梅尼埃 病、急性低频感音神经性听力下降、低频型突发性耳聋、耳鸣-耳聋-眩晕综合征、耳硬 化症、莱姆病等<sup>[2]</sup>。内淋巴积水的形成与内淋巴液生成增多、重吸收减少相关,包括内 淋巴囊的功能异常、内耳先天性发育异常或畸形、激素调节、自身免疫机制、病毒感染 '等<sup>[3]</sup>。由于内淋巴液深藏在膜迷路中很难直接检测到它的变化,虽然临床上可通过颞骨 检测确诊内淋巴积水,但这种方式在活体上难以进行检测。目前,检测内淋巴积水的手 段有耳蜗电图、前庭诱发肌源性电位、纯音听阈、阈上听功能、冷热试验和头脉冲试验 等检查,但均无法直观、准确地显示患者内耳的内淋巴积水及其程度,这对临床的正确 诊断和治疗造成一定的影响<sup>[4-5]</sup>。近年来,随着影像学技术的飞速发展,核磁共振成像 技术(MRI)在临床上广泛应用,临床可通过内耳磁共振成像方法直观地观察内耳淋巴液 的分布情况来判断患者是否存在内淋巴积水,但是缺乏组织学验证,并MRI各种检测序 列存在一些缺点,导致对一些临床表现和检测图像结果无法做出很好的解释<sup>[6]</sup>。此外, 在进行动物实验,研究内耳和前庭与内淋巴积水相关疾病时,受限于磁共振成像检测设 备与相关技术,目前还没有形成公认一致的方法来清楚地检测动物内耳内淋巴积水的情 况。由于豚鼠内耳结构与人类较为相似,因此,本研究在成功建立豚鼠内淋巴积水模型 的基础上,研究内耳钆造影核磁共振成像时T<sub>2</sub>W-DRIVE-HR序列在内淋巴积水检测中的 应用,同时通过检测内耳标本的组织形态学变化来进行佐证,为内耳内淋巴积水机制及 防治方法的研究提供技术基础。

## 1 资料与方法

#### 1.1 一般资料

1.1.1 实验动物及分组 选用健康雌性豚鼠,体重250-300g,购自南通大学实验动物中心,自由饮食。8只豚鼠随机分为两组,每组4只,分别为对照组和内淋巴积水模型组。动物实验符合ARRIVE(动物研究)指南,并得到南通大学动物伦理委员会的批准(S20220222-025)。

1.1.2 内淋巴积水模型建立 每日腹腔注射醋酸去氨加压素(DDAVP)4µg/kg,连续注射7

天后,加大剂量为6μg/kg继续腹腔注射3天,停药7天后进行内耳 MRI检测和组织形态学检测<sup>[7]</sup>。

1.1.3 实验药物 醋酸去氨加压素注射液,深圳翰宇药业股份有限 公司,产品批号:2022201106,国家准字H20064094。钆喷酸 葡胺注射液,广州康臣药业有限公司,产品批号:20210512,国 家准字H10950270。

#### 1.2 实验方法

1.2.1 内耳核磁共振成像 豚鼠后爪外侧静脉注射钆喷酸葡胺注 射液剂量为0.6mL/kg,浓度为469mg/mL,1.5小时后使用10% 水合氯醛麻醉并进行俯卧位内耳磁共振扫描,使用飞利浦3.0T MRI,4通道动物专用线圈,T<sub>2</sub>W-DRIVE-HR序列对内耳及颞骨岩 部等部位进行扫描。采集参数:重复时间(TR)=1550ms,回波时 间为251.8ms,视野为50mm×50mm,采集矩阵为124×149,

反转角度为90°,扫描层数为200层,扫描层厚为0.2mm,平均扫描时长为21min31s。

1.2.2 内耳组织形态学标本制作 麻醉状态下分离豚鼠双侧内耳组 织,4%PFA固定24小时,5%盐酸脱钙4小时,流水冲洗过夜后进 行逐级酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,进行切片(方向与蜗轴 平行,厚度为5μm),行HE染色。

1.2.3 内耳磁共振图像处理 利用ImageJ软件框选内耳内淋巴液区 域并进行面积计算,再框选耳蜗和前庭区域计算总面积,根据扫 描层厚计算体积及计算耳蜗内淋巴液占耳蜗和前庭总淋巴液体积 比值。

1.2.4 内淋巴积水的形态学评价 前庭膜将耳蜗基底膜以上的空间 分为两部分,即前庭阶和中阶,当内淋巴液增加时, 形态上耳蜗的 中阶部分会显现扩张,赖斯纳斯膜发生偏移, 这是内淋巴积水的 组织形态学标志<sup>[8]</sup>。中阶面积/(中阶面积+前庭阶面积)的比值明显 增加,即表示发生了内淋巴积水<sup>[9]</sup>。

1.2.5 统计与分析 各组数据以均数±标准差(Means±SD)表示, 采用Graphpad Prism 7软件处理研究数据,数据分布在正态性检 验和方差齐性检验通过后,进行独立样本t检验,P<0.05为差异 具有统计学意义。

## 2 结 果

2.1 内耳钆增强磁共振成像 首先,磁共振成像比较未注射造影剂和造影剂静脉注射后60min、90min、120min的豚鼠内耳横段位扫描结果。如图1所示,未注射造影剂时耳蜗显影较弱(图1A),造影剂注射60min后耳蜗轻微显影(图1B);造影剂注射90min后耳蜗显影较60min增强(图1C);造影剂注射120min后耳蜗显影较90min减弱,且轮廓显影模糊(图1D)。以上结果表明,注射造影剂后90min进行内耳磁共振成像效果较好。

随后,在造影剂注射后90min分别对豚鼠进行横段位和矢状 位扫描,并分别重建出矢状位和横段位图像。如图2所示,横段 位扫描耳蜗、前庭部位轮廓(图2A)较矢状位扫描后重建成横段位 的图像(图2B)模糊;矢状位扫描可清晰观察到耳蜗各阶轮廓(图 2D),且比横段位扫描重建成矢状位图像(图2C)更加清楚。因此, 后续采用矢状位扫描检测豚鼠内耳内淋巴情况。

2.2 内淋巴水肿MRI检测结果 对照组(图3A)和内淋巴积水模型 组(图3B)内淋巴液区呈低信号(长箭头),外淋巴液区因充盈钆造 影剂对比增强而表现为高信号(短箭头)。与对照组比较,内耳内 淋巴积水模型组长箭头所指低信号区域变大,计算耳蜗内淋巴液 体积占耳蜗和前庭总淋巴液体积的比例,发现内淋巴积水模型组 的这一比值明显增加(P<0.05,图3C),以上结果说明内淋巴积水 模型组豚鼠内耳的内淋巴液容量明显增加。

2.3 组织形态学检测结果 对照组(图4A)豚鼠的内耳切片中,前 庭膜平直无膨隆现象;内淋巴积水模型组(图4C)豚鼠内耳切片中 前庭膜向前庭阶膨隆。计算两组豚鼠耳蜗第三转的中阶(SM)和前 庭阶(SV)的面积,与对照组相比,内淋巴积水模型组第三转耳蜗 中阶面积/(前庭阶面积+中阶面积)的比值明显升高(P<0.05,图 4B)。计算耳蜗每一转的中阶面 积/(前庭阶面积+中阶面积)的比值 平均值,结果同样显示中阶面 积/(前庭阶面积+中阶面积)的平均 值明显升高(P<0.05,图4D)。



图1 注射钆造影剂后内耳磁共振成像。注:图1A:未注射造影剂;图1B:注射造影剂后60min;图1C:注射造影剂后 90min;图1D:注射造影剂后120min。图2 注射钆造影剂后不同扫描方式磁共振成像。注:图2A:横段位扫描图;图2B: 矢状位扫描后横段位重建图;图2C:横段位扫描后矢状位重建图;图2D:矢状位扫描图。图3 豚鼠内耳钆增强磁共振成 像。注:图3A:Control组内耳部分;图3B:DDAVP组内耳部分;图3C:耳蜗内淋巴液体积占耳蜗和前庭总淋巴液体积的 比值。图4 豚鼠内耳形态学检测。注:图4A:Control组;图4B:耳蜗第三转中阶面积/(前庭阶面积+中阶面积)比率统计 图;图4C:DDAVP组;图4D:耳蜗中阶面积(SM)/(前庭阶面积+中阶面积)平均比率统计图。

### 3 讨 论

内耳可分为骨迷路和膜迷路,骨迷路与膜迷路之间充满外淋 巴,膜迷路内充满内淋巴,二者最近处仅以前庭膜相隔<sup>[10]</sup>。内淋 巴液与外淋巴液不同,其成分独特,具有高K+浓度(140 mM)和 低Na+浓度(15 mM)的特点。它的高度正电性会形成正电梯度(被 称为"耳蜗内电位"),从而使耳蜗具有高度代谢的神经元活性, 提供听觉和平衡觉形成过程中机电转导过程所需要的电化学梯度 以及维持内环境的稳态<sup>[11]</sup>。虽然耳蜗内、外淋巴存在离子成分差 异,但是由于前庭膜组织结构较薄,很难区分内外淋巴液,是内 淋巴积水显影的一个重大难题<sup>[12]</sup>。近年来,随着MRI技术的应用 和发展以及内耳钆增强磁共振造影技术的出现使内淋巴积水可视 化成为了可能<sup>[13]</sup>。内淋巴液存在于膜迷路中,膜迷路与骨迷路之 间还存在外淋巴液,钆增强磁共振成像不仅可清晰分辨液体和周 围软组织,并且由于钆造影剂主要进入外淋巴空间而不是内淋巴 空间,因此可以通过观察内耳中造影剂的存在(外淋巴空间)和不 存在(内淋巴空间)来区分外淋巴液的图像和内淋巴液,从而可通 过信号高低区分内外淋巴液<sup>[14-16]</sup>。目前,已有两种钆造影剂注射 方法应用于临床: 鼓室内和静脉内注射, 静脉注射造影剂较为普 遍<sup>[17]</sup> 。经鼓膜鼓室内注射钆造影是创伤性操作,存在局部疼痛恐 感染、穿刺点不愈合等风险,因此大多数患者不易接受该方 惧、 式<sup>[18, 19]</sup>。静脉注射造影剂虽然快捷方便,但是药物剂量及浓度较 大,可能存在全身不良反应。并且,通过静脉途径能够进入内耳 淋巴液的造影剂浓度相对较低,造成淋巴成像效果可能不如经鼓 膜注射[19,20]

本研究选择经静脉注射造影剂后进行内耳磁共振检测,在对 豚鼠内耳进行成像过程中,无明显的不良影响,且具有较好的成 像效果。在静脉注射钆造影剂后60min、90min、120min,进行 豚鼠内耳磁共振扫描,以确定造影剂最佳显影时间,结果发现在 造影剂注射90min时显影效果最佳。

目前,临床检测内淋巴积水的手段最常用的是3.0T MRI和 1.5T MRI<sup>[21-22]</sup>。常用的序列有3D FLAIR序列、3D real IR序列、 T<sub>2</sub>-SPACE序列、3D-CISS序列和T<sub>2</sub>W-DRIVE-HR序列。应用广泛 的是3D FLAIR序列,但是也存在一些不足,比如难以辨别内淋巴 与迷路周围骨质,耳蜗成像欠佳<sup>[21]</sup>。3D real IR序列对内淋巴积 水的评估更加精确,但其对造影剂的浓度要求较高,若达不到相应 浓度则成像效果差。 $^{[23]}$ 。T<sub>2</sub>-SPACE序列的信噪较低,成像较为 模糊,而且耳蜗、半规管、前庭处的细节相较于3D-CISS有明显 损失。3D-CISS序列的空间分辨率极高(可达0.5mm水平),能清 晰显示内耳耳蜗、前庭及半规管等结构,同时3D-CISS序列作为水 成像的成熟技术,能突出显示迷路内的淋巴液,达到"迷路造影" 的效果。但是,由于基底膜和前庭膜比较薄,因此只能用超高 场MRI才能显示出来,例如9.4T MRI机<sup>[24]</sup>。本研究尝试采用T<sub>2</sub>W-DRIVE-HR 序列进行豚鼠内耳磁共振扫描,最先进行横段位扫描 时,发现只能观察到内耳耳蜗、前庭、半规管等轮廓,无法清晰 观察到内外淋巴液。然后,我们改变了豚鼠扫描体位,采用矢状 位扫描,结果发现矢状位扫描不仅可清晰观察到耳蜗、前庭、半 规管等结构,还能观察到内淋巴液和外淋巴液的分界,从而进行 较精确的测量。T<sub>2</sub>W-DRIVE-HR序列扫描时间短且成像清晰,对 豚鼠进行静脉注射钆造影剂后,进行内耳磁共振水成像,可清晰 观察到耳蜗内淋巴液和外淋巴液的分界。采用ImageJ软件对豚 鼠内耳的每一个层面的耳蜗内淋巴液面积和耳蜗和前庭部位的总 面积进行计算,按照层厚0.2mm计算出耳蜗内淋巴液体积占耳蜗 和前庭部位总淋巴体积的占比。结果发现,内淋巴积水模型组脉 鼠耳蜗的内淋巴液体积占比较对照组明显增加(P<0.05)。同时, 我们对豚鼠内耳也进行了组织形态学的验证。将内淋巴慢性水肿 模型豚鼠的内耳组织形态学检测的水肿变化结果与MRI结果进行 比较,发现内耳MRI 测量的水肿比例与通过组织形态学获得的相 似,这为利用该方法检测内耳内淋巴积水提供了有力的佐证。

由于MRI检测方法分辨率有限,我们无法完全复制实际的组 织病理学结果。并且,MRI检测需要进行额外的图像后处理,尤 其是若进行三维重构,需要一定的时间。总体来说,本研究结果 表明T<sub>2</sub>W-DRIVE-HR序列有望用于内淋巴积水的检测,后续我们 将用此方法进行人体内耳成像观察,若可用于临床诊断,将对人 体内耳疾病的诊断发挥作用,通过检测患者内淋巴积水,为临床 诊治梅尼埃病等内耳疾病、评估病情与治疗效果等提供可靠影像 学参考依据,值得进一步研究探索。

#### 参考文献

- ALSARHAN H, KADHIM S. Treatment of Meniere's disease by multi-session dexamethasone injections [J]. Int Tinnitus J, 2022, 26 (1): 75-8.
- [2] 杜镐, 钟时勋. 内淋巴积水的产生机制及病因研究[J]. 智慧健康, 2022, 8(11): 23-7.
- [3] PAPARELLA M M, DJALILIAN H R. Etiology, pathophysiology of symptoms, and pathogenesis of Meniere's disease[J]. Otolaryngol Clin North Am, 2002, 35 (3): 529-45.
- [4]李玲,陈良.关于梅尼埃病内淋巴积水定位诊断的文献综述[J].中华耳科学杂志,2021,19(4):674-8.
- [5] 姚士红,金攀,胡涛,等.梅尼埃病患者MRI造影所见内淋巴积水程度的临床相关性研究[J].中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志,2017,25(2):139-42.
- [6] CHO Y S, KIM J S, KIM M B, et al. Validation of inner ear MRI in patients with Ménière's disease by comparing endolymphatic hydrops from histopathologic specimens [J]. Sci Rep, 2021, 11 (1): 17738.
- [7] 苑述刚, 樊巧玲, 阮时宝, 等. 建立标准梅尼埃病膜迷路积水豚鼠模型方法实验研究 [J]. 中医学报, 2010, 25 (6): 1124-6.
- [8] 王娜,李曼,王静,等.大鼠膜迷路积水模型的建立及评定[J].中华耳科学杂志,2021,19(1):97-100.
- [9] JIANG L, HE J, CHEN X, et al. Effect of electroacupuncture on arginine vasopressin-induced endolymphatic hydrops [J]. J Tradit Chin Med, 2019, 39 (2): 221-8.
- [10] PFAFF C, SCHULTZ J A, SCHELLHORN R. The vertebrate middle and inner ear: A short overview [J]. J Morphol, 2019, 280 (8): 1098-105.
- [11] STEPHENSON R, MANGASARIAN A, ISHIYAMA G, et al. Immunohistochemical location of Na(+), K(+)-ATPase αl subunit in the human inner ear[J]. Hear Res, 2021, 400: 108113.
- [12] 高可雷,李鹏,蒋海燕,等.大鼠内耳解剖结构及其取材技术[J].中华耳科学杂志,2015,13(1):18-24.
- [13] ZANETTI D, CONTE G, SCOLA E, et al. Advanced Imaging of the Vestibular Endolymphatic Space in Ménière's Disease[J]. Front Surg, 2021, 8: 700271.
- [14] 闫一敏,陈子涵,刘永刚,等.MRI内耳水成像对内耳畸形的诊断及人工耳蜗植入的 术前指导价值分析[J].中国CT和MRI杂志,2022,20(7):31-3.
- [15]陈秋,王幼勤,郭洪源. 颞骨HRCT与内耳MRI在人工耳蜗植入术前评估中应用对比 [J].贵州医药,2017,41(8):885-7.
- [16] JASIŃSKA A, LACHOWSKA M, WNUK E, et al. Magnetic resonance imaging of the inner ear in the diagnostics of Ménière's disease[J]. Otolaryngol Pol, 2020, 75 (2): 1-8.
- [17] IIDA T, TERANISHI M, YOSHIDA T, et al. Magnetic resonance imaging of the inner ear after both intratympanic and intravenous gadolinium injections [J]. Acta Otolaryngol, 2013, 133 (5): 434-8.
- [18] 李进叶, 孙立新, 李龙, 等. 经鼓室和静脉途径给药后内耳3D-FLAIR MRI观察梅尼埃 病迷路变化[J]. 中国医学影像技术, 2020, 36(1): 46-9.
- [19] NAGANAWA S, NAKASHIMA T. Visualization of endolymphatic hydrops with MR imaging in patients with Ménière's disease and related pathologies: current status of its methods and clinical significance[J]. Jpn J Radiol, 2014, 32 (4): 191-204.
- [20]LIU Y, PYYKKÖ I, NAGANAWA S, et al. Consensus on MR Imaging of Endolymphatic Hydrops in Patients With Suspected Hydropic Ear Disease (Meniere) [J]. Front Surg, 2022, 9: 874971.
- [21] 韩永平,张俊义,高霞,等.1.5T MRI条件钆造影在梅尼埃病患者中的临床应用[J]. 中华耳科学杂志,2019,17(6):833-7.
- [22]魏璐璐,黄维平,尹中普,等.人工耳蜗植入术前颞骨HRCT与内耳MR的评估价值[J]. 中国CT和MRI杂志,2018,16(12):37-40.
- [23] CHEN W, GENG Y, NIU Y, et al. Inner ear MRI enhancement based on three dimensional-real IR sequence in patients with Meniere's disease after intravenous gadolinium injection: Comparison of different doses used and exploration of an appropriate dose[J]. Clin Otolaryngol, 2022.
- [24] 黄耀渠,赵晓梅,秦红卫,等.磁共振3D-CISS序列诊断梅尼埃病的价值和限度[J]. 放射学实践,2010,25(3):293-6.

# (收稿日期: 2022-10-25) (校对编辑:姚丽娜)