

恒河猴急性酒精暴露颞叶静息态脑功能改变

9.4T MRI 初步研究

李燕^{1,2}, 王海宝¹, 余永强¹, 王松², 钱俊超³, 钟凯³

摘要 目的 用 9.4T 静息态功能磁共振(fMRI)基于分数低频振荡幅度(fALFF)算法分析恒河猴急性酒精暴露颞叶脑功能变化。方法 先后对 5 只健康雄性恒河猴行静脉注射酒精前(自身对照组)和静脉注射酒精 10 min 后(酒精组)9.4T 静息态 fMRI 扫描,经 fALFF 算法分析并比较两组颞叶 fALFF 值,寻找差异脑区。结果 酒精组颞叶 fALFF 值低于自身对照组的脑区为左侧颞上回、左侧颞中回、左侧颞下回($P < 0.01$);酒精组颞叶 fALFF 值高于自身对照组的脑区为右侧颞上回、右侧颞叶海马旁回、左侧颞下回($P < 0.01$)。结论 利用 9.4T rs-fMRI 进行恒河猴急性酒精暴露颞叶脑功能改变研究是安全可行的;恒河猴急性酒精暴露颞叶脑功能改变明显,右侧增强,左侧以减低为主,其中左侧颞下回呈混合性改变。

关键词 酒精;静息态脑功能;恒河猴;9.4T MRI

中图分类号 R 445.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2018)08-1236-04

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.08.016

随着神经影像学的发展,高场强磁共振设备的应用为酒精脑损伤脑功能研究提供了强有力的设备支持。目前,3 T 以上高场强磁共振应用于人类脑功能研究仍然处于探索阶段,Hetherington et al^[1]研究表明通过适当的方法可以使用 7T 磁共振波谱成像进行海马损伤检测。虽然 3T 静息态功能磁共振成像(resting state functional magnetic resonance imaging,rs-fMRI)研究恒河猴和人类急性酒精脑功能变化已有报道^[2-3],但是 9.4T 高场强的非人灵长类动物急性酒精脑功能研究鲜有报道。早前研究^[4]

显示非人灵长类动物默认模式网络(default mode network,DMN)具有自身的特点比如视觉皮层和颞上回部分脑区只在非人灵长类动物 DMN 中出现。针对恒河猴颞上回的特点,该实验采用 9.4T rs-fMRI 基于分数低频振荡幅度(fractional amplitude of low frequency,fALFF)分析恒河猴酒精静脉注射后急性期颞叶脑功能的改变,以探索新的研究方法和依据,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验对象及设计 健康雄性恒河猴 5 只,无长期酒精接触史。年龄 6 岁,体质量 7.40~13.80 kg。实验方法为给酒精前后自身对照^[2]。详细实验过程:首先将恒河猴用 3% 戊巴比妥钠肌肉注射诱导麻醉,剂量 1 ml/kg,诱导期约 20 min(视情况适当加量,总用药量小于 1.5 ml/kg),于踝上小腿部静脉放置留置针,确定动物达麻醉状态后运送至扫描室,摆好体位,采用面罩给予气体麻醉(异氟烷气体 1.5%~2% 麻醉维持),接显示器对呼吸进行监控。先进行一次血氧水平依赖性(blood oxygen level dependent,BOLD)和 3D 结构像扫描,以获取自身对照组数据,然后按 0.44 g/kg 的剂量静脉给药,该过程约 5 min。给药后 10 min 进行第二次 BOLD 扫描。整个扫描过程约 1 h,实验结束后将恒河猴送回动物房,保持其呼吸道通畅,恒河猴清醒后 6 h 予以进食。本实验共成功进行 5 只恒河猴 9.4T rs-fMRI 数据采集。

1.2 实验扫描参数 扫描设备为 Agilent 9.4T/400 mm 大孔径动物磁共振扫描仪,体线圈和 4 通道相控阵线圈分别进行信号发射和接收。静息态功能像血氧水平依赖 EPI 4 次激发全脑轴位扫描,回波时间(echo time,TE)9.8 ms,重复时间(repetition time,TR)500 ms,偏转角度(flip angle,FA)90°,视野(field of view,FOV)90 mm×90 mm,矩阵 64×64,层厚 2.5 mm,层距 0 mm,层数 20;轴位 3D 解剖图像采用快速扰相梯度序列扫描,TE 3.7 ms,TR 9 ms,FA 8°,FOV 90 mm×90 mm;矩阵 192×192,层厚 0.5 mm,层数 192。

2018-03-12 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81571308、81171326);安徽省高校省级自然科学基金项目(编号:KJ2013ZD08)

作者单位:¹安徽医科大学第一附属医院放射科,合肥 230022

²安徽医科大学第四附属医院放射科,合肥 230022

³中国科学院合肥物质科学研究院强磁场科学中心,合肥 230031

作者简介:李燕,男,硕士研究生;

余永强,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail:yuyongqiang@hotmail.com

1.3 图像后处理 使用 MatLab 7.12 (R2011a) dpa-bi 子软件 DPARSF 3.2 for monkey data 和 SPM 12 fMRI 数据处理软件进行数据处理;首先进行图像格式转换,由 DICOM 格式换为 NIFTI 格式;去除前 10 个时间点数据;进行头动校正并将数据归入 112RM-SL_T1 模板进行标准化处理,以 2 mm × 2 mm × 2 mm 体素单元重采样;然后进行高斯半高全宽 (3 mm) 平滑处理;去线性漂移和低频滤过处理,活动频率范围为 0.01 ~ 0.08 Hz 的低频信号;使用 Friston24 去除协变量,包含去趋势线、头动参数、脑白质、脑脊液信号等;计算并导出全脑 fALFF 值。以颞叶为兴趣区将组间兴趣区颞叶 fALFF 值有差异的脑区通过 MRICroN 软件显示,后续通过 MNI 坐标依据猴脑解剖图谱确定差异脑区的具体位置^[5-6]。

1.4 统计学处理 通过 SPM 12 软件对恒河猴酒精组和自身对照组颞叶 fALFF 值进行配对样本 *t* 检验 $P < 0.01$ (非校正) 及簇丛 ≥ 5 个体素为差异有统计学意义,通过 MNI 坐标依据猴脑解剖图谱确定差异有统计学意义脑区的具体位置。

2 结果

2.1 差异脑区 酒精组与自身对照组颞叶 fALFF 值差异有统计学意义脑区见表 1。

2.2 差异脑区具体位置 酒精组颞叶 fALFF 值低于自身对照组的脑区为左侧颞上回、左侧颞中回、左侧颞下回,酒精组颞叶 fALFF 值高于自身对照组的脑区为右侧颞上回、右侧颞叶海马旁回、左侧颞下回,簇丛均 ≥ 5 个体素,见图 1。

表 1 酒精组与自身对照组颞叶 fALFF 值相比差异有统计学意义的脑区

脑区	侧别	体素	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	MIN 坐标 (mm)		
					X	Y	Z
酒精组低于自身对照组的脑区							
颞上回	左	6	9.466	0.000	-13	6	-16
颞上回	左	14	4.119	0.007	-17	8	-16
颞中回	左	10	6.431	0.002	-23	2	-2
颞下回	左	5	6.372	0.002	-23	-6	-10
颞下回	左	14	9.259	0.000	-21	-2	-14
酒精组高于自身对照组的脑区							
颞上回	右	5	5.291	0.003	21	10	-12
颞叶海马旁回	右	7	11.420	0.000	15	-32	-4
颞下回	左	6	8.659	0.000	-7	-6	-16

$P < 0.01$ 及簇丛 ≥ 5 个体素为差异有统计学意义

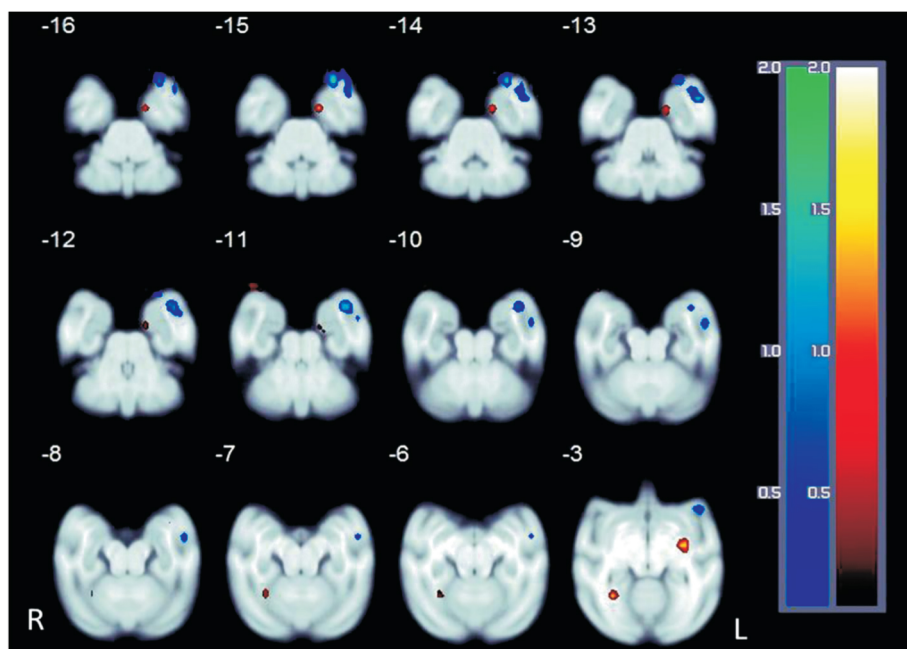


图 1 酒精组与自身对照组颞叶 fALFF 值比较差异有统计学意义的脑区
冷色区域:酒精组 fALFF 值低于自身对照组的脑区;暖色区域:酒精组 fALFF 值高于自身对照组的脑区

3 讨论

神经影像学检查设备的不断更新,促使成像方法亦得到不断发展,rs-fMRI 的出现使得对“活体”大脑静止状态下的复杂功能结构进行准确描述成为可能^[7],由此对人类脑功能的研究取得了很大进展。rs-fMRI 中 BOLD 信号与神经血管及血流动力学机制密切相关,高的低频振幅(amplitude of low-frequency fluctuation, ALFF)值表明该脑区自发神经活动更高,在去除心跳和呼吸的影响后 fALFF 可以更准确地描述^[8-9]。进一步研究^[10]显示 BOLD 信号对血管活性物质如酒精非常敏感,因此利用 BOLD 信号探讨急性酒精暴露对大脑神经功能影响是可行的。基于前述的各种研究结果,目前使用 rs-fMRI BOLD 信号 fALFF 算法进行酒精脑功能改变研究技术已经成熟。

酒精对神经系统的影响是广泛的,不仅多个神经递质受到影响,在细胞水平亦有所改变,酒精可以使细胞膜的转运功能发生变化,因此急性酒精暴露后便会立即引起脑神经元活动异常和局部脑血流量的改变,酒精神经系统作用与情感、记忆处理、认知和感觉运动功能关系密切^[11]。动物实验将许多人为不可控因素的影响降到很小,研究^[4]证明恒河猴与人类的 DMN 具有相似性,在麻醉状态下 DMN 网络连接的完整性仍然存在。因此,恒河猴急性酒精暴露脑损伤模型对人类急性酒精脑损伤研究具有重要价值。

Telesford et al^[4] 研究显示恒河猴静脉注射 1g/kg 剂量酒精 10 min 后,静息态脑网络发生了显著改变。丁兆明等^[2] 使用 3T rs-fMRI 对恒河猴研究显示,静脉注射 0.44 g/kg 剂量酒精 10 min 后脑功能的改变具有全脑效应,其中涉及颞叶的脑区共 5 个点($P < 0.01$ 、簇丛 ≥ 3 个体素):减低为右侧颞中回、左侧颞上沟,增强为双侧颞下回、左侧颞叶海马旁回。本组研究显示静脉注射 0.44 g/kg 剂量酒精 10 min 后,恒河猴颞叶脑功能改变明显,涉及两侧颞叶共 8 个点($P < 0.01$ 、簇丛 ≥ 5 个体素),有 fALFF 减低和增加等不同功能改变,减低的颞叶脑区为左侧颞上回、左侧颞中回、左侧颞下回,增强的颞叶脑区为右侧颞上回、右侧颞叶海马旁回、左侧颞下回。通过对比看出在相同实验设计下,9.4T rs-fMRI 的功能改变检出点要多于 3T rs-fMRI,而且检出簇丛数较大,这主要是得益于 9.4T 更高的信噪比和分辨率。

前期研究^[7] 表明大脑奖赏网络和腹侧视觉系统受到酒精干扰可以引起情绪改变和视觉功能降低,颞叶调节包括视觉与听觉,颞中、下回以处理视觉信息为主,颞上回有边缘关联整合功能,颞上回的功能还涉及语义记忆^[12]。本研究表明静脉注射酒精急性期即出现双侧颞叶多个脑回功能改变,其中左侧颞下回呈混合性改变。李子朋等^[3] 研究健康成年人饮酒后 30 min 大脑静息态脑网络发生广泛性改变,并提出饮酒后颞上回等脑区功能增强与酒精依赖可能有关的推测,本研究亦表明颞上回为恒河猴酒精急性期脑功能影响靶点区域。

酒精急性期脑功能靶点的研究可以为后续酒精成瘾机制研究提供动态跟踪依据。Weber et al^[13] 通过健康男性饮酒研究表明饮酒后 DMN 连接随着时间有不同变化,急性酒精暴露对脑灌注的影响亦存在个体差异、剂量依赖性和区域性差异^[14],给药方式和检测时间点不同,会有不同的脑功能改变。不同的脑区对酒精的敏感度不同,急性期脑活动及血流量改变越明显,经历长期饮酒过后结构及功能损伤程度会越明显^[15]。一项通过超过 30 年大脑结构和功能的重复测量表明,即使在中等水平饮酒,也会导致大脑的不良结果^[16]。所以酒精急性脑功能改变检出点越多,对于后续酒精脑损伤动态研究的靶点选择具有重要意义,9.4T rs-fMRI 可以检测出更多的功能改变点,在非人灵长类动物模型研究中具有明显优势。

本研究经过预实验扫描参数的调整、设置,成功完成实验序列扫描 5 只猴子,动物模型扫描后无明显异常行为表现,说明利用 9.4T rs-fMRI 进行非人灵长类动物模型的酒精性脑功能损伤研究是安全的,为非人灵长类动物酒精模型的研究提供了新的方法。

本研究的不足在于样本量较少,虽然 9.4T 磁共振信噪比及分辨率高,但是受到线圈限制研究兴趣区不能覆盖全脑,后续研究可增加样本量,改进线圈及扫描参数,进行全脑研究。

综上所述,利用 9.4T rs-fMRI 进行恒河猴急性酒精暴露颞叶脑功能改变研究是安全可行的,为后续的非人灵长类动物酒精模型研究提供了新的方法;恒河猴急性酒精暴露颞叶脑功能改变明显,右侧增强,左侧以减低为主,其中左侧颞下回呈混合性改变。

参考文献

[1] Hetherington H P, Hamid H, Kulas J, et al. MRSI of the medial

- temporal lobe at 7 T in explosive blast mild traumatic brain injury [J]. *Magn Reson Med*, 2014, 71(4):1358–67.
- [2] 丁兆明,王海宝,余永强,等. 静息态 fMRI 评估酒精注射急性期恒河猴脑功能改变 [J]. *中国医学影像技术*, 2016, 32(7):995–9.
- [3] 李子朋,程文文,王海宝,等. 急性酒精暴露脑功能改变的静息态 fMRI [J]. *中国医学影像技术*, 2016, 32(12):1848–51.
- [4] Telesford Q K, Laurienti P J, Friedman D P, et al. The effects of alcohol on the nonhuman primate brain: a network science approach to neuroimaging [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2013, 37(11):1891–900.
- [5] Martin R F, Bowden D M. A stereotaxic template Atlas of the macaque brain for digital imaging and quantitative neuroanatomy [J]. *Neuroimage*, 1996, 4(2):119–50.
- [6] Lewis J W, Van Essen D C. Corticocortical connections of visual, sensorimotor and multimodal processing areas in the parietal lobe of the macaque monkey [J]. *J Comp Neurol*, 2000, 428(1):112–37.
- [7] Spagnoli F, Cerini R, Cardobi N, et al. Brain modifications after acute alcohol consumption analyzed by resting state fMRI [J]. *Magn Reson Imaging*, 2013, 31(8):1325–30.
- [8] Khalili-Mahani N, Van Osch M J, De Rooij M, et al. Spatial heterogeneity of the relation between resting-state connectivity and blood flow: an important consideration for pharmacological studies [J]. *Hum Brain Mapp*, 2014, 35(3):929–42.
- [9] Yan C G, Zhang Y F. DPARSF: A MATLAB toolbox for “pipe-line” data analysis of resting-state fMRI [J]. *Front Syst Neurosci*, 2010, 4:13.
- [10] Rickenbacher E, Greve D N, Azma S, et al. Effects of alcohol intoxication and gender on cerebral perfusion: an arterial spin labeling study [J]. *Alcohol*, 2011, 45(8):725–37.
- [11] Bjork J M, Gilman J M. The effects of acute alcohol administration on the human brain: insights from neuroimaging [J]. *Neuropharmacology*, 2014, 84:101–10.
- [12] Chang E F, Rieger J W, Johnson K, et al. Categorical speech representation in human superior temporal gyrus [J]. *Nat Neurosci*, 2010, 13(11):1428–32.
- [13] Weber A M, Soreni N, Noseworthy M D. A preliminary study on the effects of acute ethanol ingestion on default mode network and temporal fractal properties of the brain [J]. *MAGMA*, 2014, 27(4):291–301.
- [14] Strang N M, Claus E D, Ramchandani V A, et al. Dose-dependent effects of intravenous alcohol administration on cerebral blood flow in young adults [J]. *Psychopharmacology*, 2015, 232(4):733–44.
- [15] Ramage A E, Lin A L, Olvera R L, et al. Resting-state regional cerebral blood flow during adolescence: associations with initiation of substance use and prediction of future use disorders [J]. *Drug Alcohol Depend*, 2015, 149:40–8.
- [16] Topiwala A, Allan C L, Valkanova V, et al. Moderate alcohol consumption as risk factor for adverse brain outcomes and cognitive decline: longitudinal cohort study [J]. *BMJ*, 2017, 357:j2353.

A preliminary study of 9.4T MRI on the changes of the temporal resting state of the brain in the acute alcohol exposure of rhesus monkey

Li Yan^{1,2}, Wang Haibao², Yu Yongqiang², et al

(¹Dept of Radiology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022;

²Dept of Radiology, The Forth Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To analyze the functional changes of temporal lobe of acute alcohol exposure in rhesus monkeys by rs-fMRI at 9.4T based on fractional low frequency oscillation amplitude (fALFF) algorithm. **Methods** Five healthy male rhesus monkeys were anesthetized with 9.4T rs-fMRI before intravenous injection of alcohol (self-control group) and intravenous alcohol 10 minutes (alcohol group). The fALFF algorithm was used to analyze and compare the fALFF values of the temporal lobe of the two groups to find the different brain regions. **Results** In the alcohol group, the fALFF of the temporal lobe was lower than that of the control group (left superior temporal gyrus, left middle temporal gyrus, left inferior temporal gyrus) ($P < 0.01$), the fALFF of the temporal lobe was higher than that of the control group (right superior temporal gyrus, right temporal gyrus parahippocampal gyrus, left inferior temporal gyrus) ($P < 0.01$). **Conclusion** It is safe and feasible to use 9.4T rs-fMRI to study the changes of temporal lobe brain function after acute alcohol exposure in rhesus monkeys. The temporal lobe brain function of acute alcohol exposure of rhesus monkeys is obvious. The right side is enhanced and the left side is reduced mainly, and the left inferior temporal gyrus shows a mixed change.

Key words alcohol; resting brain function; rhesus monkey; 9.4T MRI