

· 实验研究 ·

脓毒症相关性脑病大鼠静息态神经网络功能改变

刘菁 纪木火 杨建军

【摘要】 目的 采用静息态功能磁共振(rs-fMRI)观察脓毒症相关性脑病(SAE)大鼠神经网络功能改变。方法 健康雄性SD大鼠30只,随机分为对照组和SAE组。SAE组大鼠采用腹腔注射脂多糖(LPS)1 mg/kg建立SAE模型,对照组大鼠腹腔注射等容量生理盐水。使用区域一致性(ReHo)方法检测大鼠异常脑区并将其作为种子点进行全脑功能连接分析,并在LPS腹腔注射48 h后进行行为学测试。结果 与对照组比较,SAE组在强迫游泳实验不动时间明显延长[(38.93±13.84) s vs (22.06±6.75) s, $P < 0.05$];前扣带回皮层(ACC)及右侧尾状核(CPu) ReHo值明显增加,分别为(1.21±0.07 vs 0.97±0.12, $P < 0.05$)及(1.34±0.09 vs 1.17±0.16, $P < 0.05$);将ACC作为种子点,其与后扣带回皮层(RSC)的功能连接明显增强(0.45±0.06 vs 0.11±0.02, $P < 0.05$);将右侧CPu作为种子点,其与左侧CPu的功能连接明显增强(0.33±0.07 vs 0.07±0.01, $P < 0.05$);抑郁样行为与ACC($r^2 = 0.3573$, $P = 0.0186$)及右侧CPu($r^2 = 0.5036$, $P = 0.0030$)升高的ReHo值以及双侧CPu之间增强的功能连接($r^2 = 0.3159$, $P = 0.0292$)呈现一定的相关性。结论 ACC和右侧CPu ReHo值的增高及双侧CPu功能连接的增强可能参与大鼠SAE的情感损害。

【关键词】 脓毒症;情感;功能连接;神经网络

Abnormality of resting-state functional network in a rat animal model of sepsis-associated encephalopathy LIU Qiang, JI Muhuo, YANG Jianjun. Department of Anesthesiology, the Affiliated Hospital of Southeast University, Nanjing 210009, China

Corresponding author: YANG Jianjun, Email: jianjunyang1971@163.com

【Abstract】 Objective To explore changes in the functional network in an animal model of SAE induced by lipopolysaccharide (LPS) challenge. **Methods** Thirty male Sprague-Dawley rats were randomly allocated into control group and group SAE. SAE model was established by intraperitoneal injection of LPS 1 mg/kg in group SAE, while the same amount of saline was injected in the control group. Firstly, we used regional homogeneity (ReHo) method to exam abnormal brain regions between the control and SAE groups and then considered them as seeds for functional connectivity analysis, and behavioral tests were performed at 48 hours after LPS intraperitoneal injection. **Results** Compared with the control group, our study showed LPS impaired mood function, as reflected by depression-like behavior of prolonged immobility [(38.93 ± 13.84) s vs (22.06 ± 6.75) s, $P < 0.05$] in the forced swim test; LPS induced significantly increased ReHo values in the anterior cingulate cortex (ACC) and caudate putamen (CPu) of (1.21 ± 0.07 vs 0.97 ± 0.12, $P < 0.05$) and (1.34 ± 0.09 vs 1.17 ± 0.16, $P < 0.05$) respectively; the ACC seed showed increased functional connectivity with the retrosplenial cortex (0.45 ± 0.06 vs 0.11 ± 0.02, $P < 0.05$); the right CPu seed showed increased functional connectivity with the left CPu (0.33 ± 0.07 vs 0.07 ± 0.01, $P < 0.05$); the depression-like behavior was associated with increased ReHo values in the ACC and right CPu as well as increased functional connectivity between the right CPu and left CPu. **Conclusion** This study suggests that the impaired mood function in SAE is associated with increased ReHo values in the ACC and right CPu as well as increased functional connectivity between the right CPu and left CPu, indicating that the abnormality of resting-state functional network may be a potential mechanism involved in SAE.

【Key words】 Sepsis; Mood; Functional connectivity; Neural circuit

脓毒症相关性脑病(sepsis-associated encephalopathy, SAE)

是由脓毒症导致的一种中枢神经系统并发症^[1],是指大脑在没有直接感染证据的前提下,因全身炎症反应而出现的弥漫性功能障碍,表现为谵妄、记忆受损及情感认知障碍,常伴有行为异常、生活不能自理、生活质量下降甚至死亡率增

DOI: 10.12089/jca.2019.01.013

基金项目:国家自然科学基金(81771156,81772126)

作者单位:210009 南京市,东南大学附属中大医院麻醉科(刘菁、纪木火);郑州大学第一附属医院麻醉科(杨建军)

通信作者:杨建军,Email: jianjunyang1971@163.com

高^[2]。SAE 的病理生理学机制尚不清楚^[3]。鉴于神经网络连接紊乱常见于多种神经精神疾病^[4],本研究采用静息态功能磁共振(resting-state functional magnetic resonance imaging, rs-fMRI)检测 SAE 大鼠相关脑区区域一致性(regional homogeneity, ReHo)值,并将其中的异常脑区作为种子点进行全脑功能连接分析,判断 SAE 中是否存在神经网络连接紊乱。

材料与方法

实验动物与分组 健康雄性 SD 大鼠 30 只,体重 320~380 g,给予 12 h/12 h 光照周期,23~25 ℃ 生长环境,自由进食饮水。所有大鼠随机分配至对照组或 SAE 组,每组 15 只。

SAE 模型建立 根据文献[5]的方法,SAE 组大鼠采用腹腔注射脂多糖(LPS) 1 mg/kg,对照组大鼠腹腔注射等容量生理盐水。

rs-fMRI LPS/生理盐水腹腔注射 24 h 后,大鼠经异氟醚和右美托咪定麻醉,俯卧于小动物磁共振扫描床上,以牙钩和俩耳杆固定其头部。应用动物生理检测仪监测 RR 和 HR。采用德国 Bruker 公司 7.0T 小动物磁共振扫描仪,使用大鼠专用头线圈,在回波平面成像序列下采集功能磁共振数据,主要参数:重复时间 2 000 ms,回波时间 18 ms,分辨率 0.5 mm×0.5 mm,层厚 1 mm,层间距 0 mm,距阵 64×64,翻转角 30°。

ReHo 值计算及种子点功能连接分析 应用 SPM8 软件进行数据处理和统计分析。根据文献[6]的方法进行 ReHo 值的计算。将 ReHo 值发生显著改变的脑区作为进一步功能连接分析的种子点,并应用 REST 软件进行相关区域的功能连接分析。

行为学测试 LPS 腹腔注射 48 h 后进行行为学测试。采用旷场实验观察其探索行为及焦虑样行为,强迫游泳实验观察其抑郁样行为。

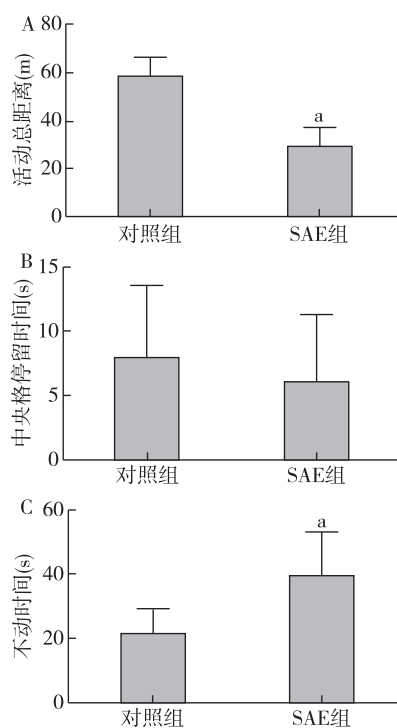
统计分析 采用 SPSS 16.0 进行数据统计及分析。正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,经 Kolmogorov—Smirnov 检验,组间比较采用两独立样本 *t* 检验;影像学结果与抑郁样行为关系采用 Pearson 相关性分析。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

在旷场实验中,与对照组比较,SAE 组大鼠在空旷区域活动总距离明显缩短(*P*<0.05),而在中央格停留时间差异无统计学意义(图 1A,1B)。强迫

游泳实验中,与对照组比较,SAE 组不动时间明显延长[(38.93±13.84)vs (22.06±6.75)s, *P*<0.05](图 1C)。

与对照组比较,SAE 组大部分脑区包括 ACC 及 CPu 的 ReHo 值显著增加,分别为(1.21±0.07 vs 0.97±0.12, *P*<0.05)及(1.34±0.09 vs 1.17±0.16, *P*<0.05)。与对照组比较,将 ACC 作为种子点,SAE 组后扣带回皮质(RSC)的功能连接显著增强(0.45±0.06 vs 0.11±0.02, *P*<0.05)。此外,以右侧 CPu 作为种子点,SAE 组右侧 CPu 与左侧 CPu 的功能连接显著增强(0.33±0.07 vs 0.07±0.01, *P*<0.05)(图 2—5)。



注:与对照组比较,^a*P*<0.05

图 1 两组大鼠行为学测试的比较

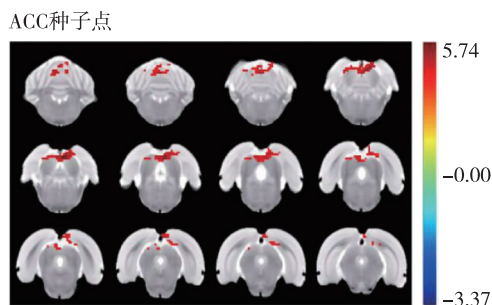
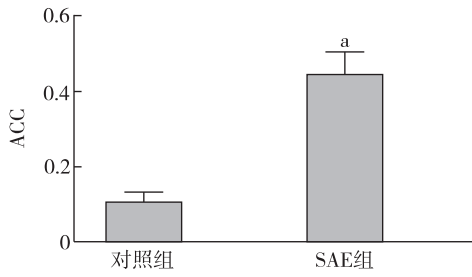


图 2 两组大鼠 ACC 种子点 ReHo 激活信号



注:与对照组比较,^a $P < 0.05$

图 3 两组大鼠 ACC 种子点 ReHo 值及其功能连接的比较

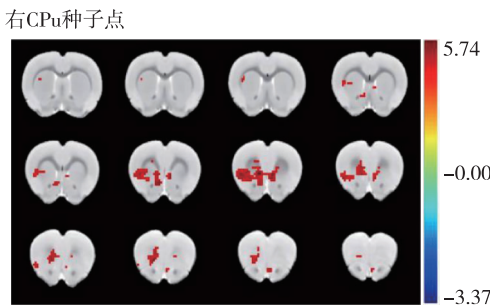
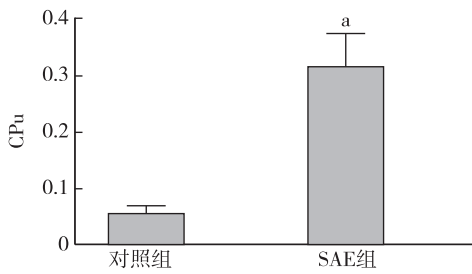


图 4 两组大鼠右侧 CPu 种子点 ReHo 激活信号



注:与对照组比较,^a $P < 0.05$

图 5 两组大鼠 CPu 种子点 ReHo 值及其功能连接的比较

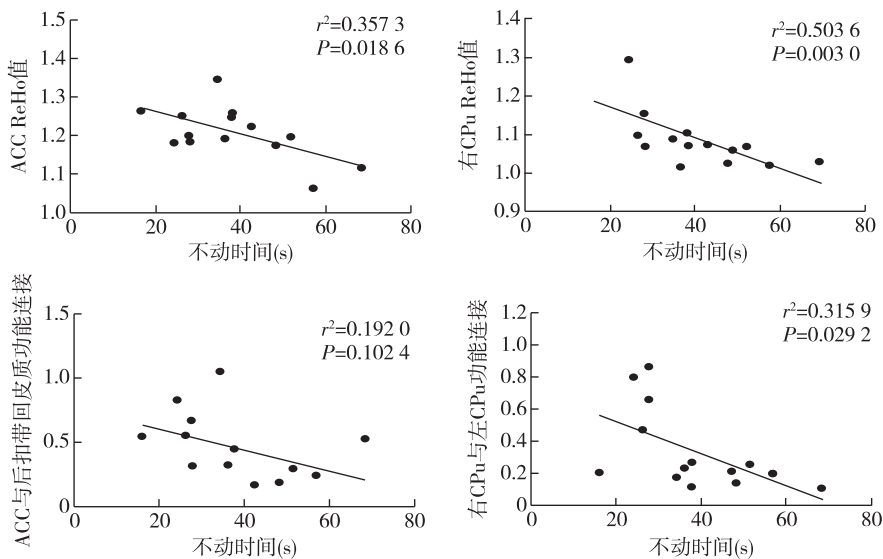


图 6 SAE 组大鼠脑功能连接与抑郁样行为的相关性分析

在 SAE 组中,ACC($r^2=0.3573, P=0.0186$)和右侧 CPu($r^2=0.5036, P=0.0030$)的 ReHo 值与其抑郁样行为呈现出明显的相关性,同时,其左右侧 CPu 之间的增强的功能连接($r^2=0.3159, P=0.0292$)亦与其抑郁样行为同样显著相关。然而,ACC 与后扣带回皮质的功能性连接未呈现出上述相关性($r^2=0.1920, P=0.1024$)(图 6)。

讨 论

本研究中 SAE 组出现了抑郁样行为,应用 rs-fMRI 发现其 ACC 及右 CPu ReHo 值明显增高,提示这种自发的神经活动异常可能是情感认知损害的病理生理机制。

神经功能影像目前已成为神经生理学研究的一种重要手段,它包括功能连接分析、独立成分分析、区域一致性(ReHo)分析等方法。基于血氧水平依赖(blood oxygen level—dependent, BOLD)的 fMRI 是近年来在脑科学研究中最为广泛应用的一项技术,其通过对不同脑区间进行功能连接分析评估全脑功能^[4],可提示不同脑区之间的内在联系^[8]。前期神经影像学研究发现全身炎症反应可改变静息态的神经网络功能连接^[7]。然而,这种方法无法精确定位病变的异常脑区。与功能连接分析不同的是,ReHo 技术可间接反映局部脑区神经元活动时间上的一致性,因此可用来定位异常脑区,许多研究也证实了 ReHo 技术在多种神经系统疾病中研究异常脑区的可行性^[9-10],但其在 LPS 诱导的 SAE 情感损害进行脑功能分析的研究尚未见报道。

本研究提示 ACC 及 CPu 的 ReHo 值或许可以作为 SAE 情感损害的一种潜在标记物。在 ReHo 分析基础上,又分别以 ACC 和 CPu 作为种子点,进行了全脑功能连接分析,发现 SAE 组 ACC 与 RSC 之间以及右侧 CPu 与左侧 CPu 之间出现明显增强的功能连接。已有研究表明,ACC 及 CPu 参与情感、奖赏及认知环路的交互作用机制^[11-12]。啮齿类动物的 RSC 属于大脑默认网络的核心部分,而在本研究中,ACC 与 RSC 之间功能连接的异常改变提示了大脑默认网络的变化。以往研究表明,CPu 参与情绪、认知等功能的调节,尤其在抑郁症中发挥重要作用^[13]。本研究中 SAE 组右侧 CPu 与左侧 CPu 之间的功能连接增强,提示其可能是抑郁症情绪波动及行为异常的潜在机制。而双侧 CPu 功能连接的增强与抑郁样行为之间存在明显的相关性,进一步证明了在 SAE 情感损害中神经网络机制的重要性。

综上所述,本研究通过静息状态的脑功能磁共振分析,发现在 SAE 情感损害中,相关脑区的 ReHo 值增高,脑区间的功能连接异常,提示静息态神经网络改变在 SAE 情感损害中可能发挥重要作用。然而,SAE 确切的神经网络机制仍有待于进一步的研究和证实。

参 考 文 献

- [1] Iwashyna TJ, Ely EW, Smith DM, et al. Long-term cognitive impairment and functional disability among survivors of severe sepsis. *JAMA*, 2010, 304(16):1787-1794.
- [2] 唐会, 罗丹, 纪木火, 杨建军, 等. 脓毒症相关性脑病的研究进展. *临床麻醉学杂志*, 2016, 32(7):717-720.
- [3] Ji MH, Qiu LL, Yang JJ, et al. Sepsis-induced selective parvalbumin interneuron phenotype loss and cognitive impairments may be mediated by NADPH oxidase 2 activation in mice. *J Neuroinflammation*, 2015, 12:182.
- [4] Lei X, Wang Y, Mantini D, et al. Neuronal oscillations and functional interactions between resting state networks. *Hum Brain Mapp*, 2014, 35(7):3517-3528.
- [5] 黄伟平, 祝森志, 刘新强, 等. 胆碱能抗炎通路介导石杉碱甲 A 对脓毒症相关性脑病的保护作用. *中华危重病急救医学*, 2016, 28(5):450-454.
- [6] Zang Y, Jiang T, Lu Y, et al. Regional homogeneity approach to fMRI data analysis. *Neuroimage*, 2004, 22(1):394-400.
- [7] Labrenz F, Wrede K, Benson S, et al. Alterations in functional connectivity of resting state networks during experimental endotoxemia-An exploratory study in healthy men. *Brain Behav Immun*, 2016, 54:17-26.
- [8] Kern KC, Gold SM, Lee B, et al. Thalamic-hippocampal-prefrontal disruption in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neuroimage Clin*, 2014, 8:440-447.
- [9] Liu Y, Zhao X, Chen Z, et al. Regional homogeneity associated with overgeneral autobiographical memory of first-episode treatment-naive patients with major depressive disorder in the orbitofrontal cortex: a resting-state fMRI study. *J Affect Disord*, 2017, 209:163-168.
- [10] Chen HJ, Zhu XQ, Yang M, et al. Changes in the regional homogeneity of resting-state brain activity in minimal hepatic encephalopathy. *Neurosci Lett*, 2012, 507(1):5-9.
- [11] Felger JC, Li Z, Haroon E, et al. Inflammation is associated with decreased functional connectivity within corticostriatal reward circuitry in depression. *Mol Psychiatry*, 2016, 21(10):1358-1365.
- [12] Wise T, Marwood L, Perkins AM, et al. Instability of default mode network connectivity in major depression: a two-sample confirmation study. *Transl Psychiatry*, 2017, 7(4):e1105.
- [13] 王晓平, 蒋玉美, 李文杰. 几种基底神经节相关疾病的神经精神症状. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2010, 17(4):286-289.

(收稿日期:2018-03-02)