

DTI and ¹H-MRS features of early changes in focal traumatic brain injury rat models

LIU Ying¹, HE Wen¹, LI Shaowu², ZOU Lili³, MA Jun^{3*}

(1. Department of Ultrasound, 3. Department of Radiology, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China; 2. Beijing Neurosurgical Institute, Beijing 100050, China)

[Abstract] **Objective** To analyze DTI and ¹H-MRS changes in perilesional region following focal traumatic brain injury (TBI) in rats. **Methods** Twenty-four healthy male SD rats were randomly divided into TBI group ($n=16$) and control group ($n=8$). Traumatic rat models were made in TBI group with hydraulic cortical injury. The rats in two groups underwent DTI and ¹H-MRS scanning at 1 h, 3 h, and 5 h after models established. ADC value, FA value, N-acetylaspartate (NAA)/creatinine (Cr), choline-containing compounds (Cho)/Cr and lactate (Lac)/Cr were measured in perilesional region (including cortex, external capsule, hippocampus and corpus callosum) and the corresponding parts in contralateral hemisphere. The control group were measured in the corresponding regions in bilateral hemisphere. The statistical analysis was performed. **Results** ADC values significantly decreased, FA increased, NAA/Cr decreased and Lac/Cr increased in perilesional regions compared with contralateral hemisphere at three time points (all $P<0.05$). Cho/Cr had no statistical significant difference ($P>0.05$) at three time points. ADC decreased ($P<0.001$) and FA increased ($P=0.002$) in perilesional regions compared 1 h with 3 h after hydraulic cortical injury. ADC increased ($P=0.005$) and FA decreased ($P=0.012$) compared 3 h with 5 h after hydraulic cortical injury. There were no statistical differences in all parameters of control group (all $P>0.05$). **Conclusion** Microstructural and metabolic changes exist from 1 h to 5 h in perilesional region in rats after TBI, secondary brain injury may occur at 1 h, which become worse at 3 h after trauma.

[Key words] Brain injuries; Diffusion tensor imaging; Magnetic resonance spectroscopy; Animal experimentation

DOI:10.13929/j.1003-3289.2016.09.002

大鼠局灶性脑创伤早期的 DTI 和¹H-MRS 的特征

刘影¹, 何文¹, 李少武², 邹丽丽³, 马军^{3*}

(1. 首都医科大学附属北京天坛医院超声科, 3. 放射科, 北京 100050;
2. 北京市神经外科研究所, 北京 100050)

[摘要] **目的** 探讨大鼠局灶性创伤性脑损伤(TBI)早期创伤灶周围区的 DTI 和¹H-MRS 参数随时间的变化。**方法** 健康雄性 SD 大鼠 24 只, 随机分为创伤组 16 只、对照组 8 只。创伤组制作大鼠液压冲击脑皮质损伤动物模型, 于两组模型制作后 1、3、5 h 行 DTI 和¹H-MRS 扫描, 分别测量伤侧病灶周围区及健侧半球对应部位的 DTI 参数 ADC 值、FA 值和¹H-MRS 参数 N-乙酰天门冬氨酸(NAA)/肌酸(Cr)、胆碱类化合物(Cho)/Cr 和乳酸(Lac)/Cr, 对照组测量双侧大脑半球相应部位各指标, 并进行统计学分析。**结果** 创伤组伤后 1、3、5 h 创伤侧病灶周围区与健侧对应部位比较, ADC 值均降低、FA 值均升高(P 均 <0.05); NAA/Cr 均降低、Lac/Cr 均升高(P 均 <0.05), Cho/Cr 差异无统计学意义(P 均 >0.05)。创伤灶周围区伤后 3 h 较 1 h 的 ADC 值降低($P<0.001$)、FA 值升高($P=0.002$), 伤后 5 h 较 3 h 的 ADC 值升高($P=0.005$)、FA 值降低($P=0.012$)。对照组双侧大脑半球各时间点各指标差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。**结论** 大鼠

[第一作者] 刘影(1986—), 女, 北京人, 硕士, 医师。研究方向: 中枢神经系统的超声和影像学诊断。E-mail: liu_ying126@126.com

[通信作者] 马军, 首都医科大学附属北京天坛医院放射科, 100050。E-mail: dr_ma@sina.com

[收稿日期] 2016-02-27 **[修回日期]** 2016-07-31

脑皮质局灶性损伤后 1~5 h 创伤灶周围区存在微观结构及代谢变化,创伤灶周围区的继发性脑损伤于伤后 1h 已发生,而伤后 3 h 可能有所加重。

[关键词] 脑损伤;扩散张量成像;磁共振波谱成像;动物实验

[中图分类号] R445; R-332 [文献标识码] A [文章编号] 1003-3289(2016)09-1320-05

目前,创伤性脑损伤(tramatic brain injury, TBI)是造成中青年高死亡率、高致残率的重要原因^[1-4],其占各类创伤总数的 15%左右,但死亡率高达 85%^[3,5]。CT 及 MR 检查虽对原发性创伤灶的检出敏感性较高,但并不能发现 TBI 后创伤灶周围脑组织的微观结构及代谢变化等继发性改变。本研究采用 DTI 和¹H-MRS 技术观察大鼠脑皮质局灶性创伤早期创伤灶周围脑组织的参数变化,探讨 TBI 早期创伤灶周围继发性脑损伤随时间的变化规律。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 选取健康雄性 SD 大鼠 24 只,清洁级,体质量 250~300 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物许可证批号 SCXK(京)2007-0001,于北京市神经外科研究所动物实验室饲养。将实验动物随机分为两组,创伤组 16 只,对照组 8 只。本实验通过首都医科大学及北京市神经外科研究所动物伦理委员会批准。

1.2 仪器与药物 采用 Bruker BioClinScan7.0 T 超高场动物 MR 扫描仪,孔径 31 cm,梯度场强 290 mT/m,转换速率 1 160 T/m/s,专用小动物线圈以及 Siemens 公司操作系统;10%水合氯醛;动物用脑立体定位仪;颅骨开窗术使用牙科台式电钻;侧方液压冲击脑损伤仪(兰州军区乌鲁木齐总医院提供)。

1.3 方 法

1.3.1 制作动物模型 采用 McIntosh 等^[6]的方法建立大鼠侧方液压冲击脑皮质损伤模型,10%水合氯醛 0.4 g/kg 体质量腹腔注射麻醉,麻醉成功后大鼠俯卧位固定于立体定位仪上,正中矢状线偏左切开皮肤,剥离中线右侧颅骨外膜,在右顶部距矢状缝旁开 3.0 mm,冠状缝后 3.5 mm 处钻开直径约 3.0 mm 的圆形骨窗,保持硬脑膜完整。采用侧方液压冲击脑损伤仪,设置压力 2.5~3.0 atm,时程 40~50 ms,致创伤组大鼠右顶叶局部脑皮质液压冲击伤。温生理盐水冲洗伤口,消毒完毕后缝合头皮。对照组大鼠头部用同样方法开颅骨窗,但不进行冲击致伤。

1.3.2 MR 扫描 对两组大鼠在模型制作后 1、3、5 h 分别行头部 MR 扫描,扫描序列包括轴位 T2WI, TR 3 140 ms, TE 41 ms, 矩阵 240×320, FOV 40 mm×

40 mm;冠状位 T2WI, TR 2 353 ms, TE 40 ms, 矩阵 240×320, FOV 41 mm×41 mm;矢状位 T2WI, TR 2 500 ms, TE 41 ms, 矩阵 240×320, FOV 35 mm×35 mm;DTI,采用单次激发自旋平面回波序列, b=0、1 000 s/mm², 30 个方向, TR 5 000 ms, TE 35 ms, 矩阵 128×128, FOV 30 mm×36 mm, 层厚 1 mm, 层间距 0.3 mm, 扫描层数 24 层;MRS,采用多体素化学位移成像(chemical shift imaging, CSI)序列, TR 1 500 ms, TE 135 ms, 体素大小 2 mm×2 mm×2 mm。

1.4 图像分析

1.4.1 DTI 参数测量 DTI 数据采用 MR 扫描仪自带软件进行测量,选取创伤侧病灶周围的脑皮质、外囊、海马、胼胝体和健侧对应部位放置(图 1)圆形 ROI (面积 2 mm²),分别测量脑损伤后 3 个时间点伤侧病灶周围区及健侧对应部位的 ADC 值和 FA 值,分析创伤周围区 ADC 值、FA 值随时间的变化趋势。对照组 ROI 放置于双侧大脑半球相应部位,方法同上。

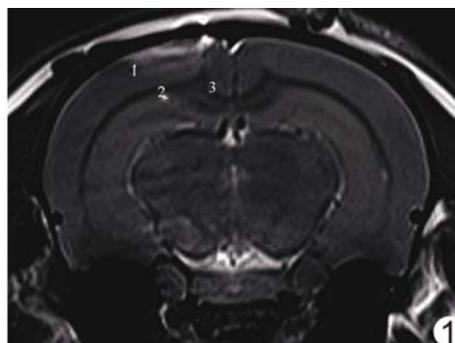


图 1 大鼠头部轴位 T2WI 右侧皮质创伤灶为高信号,创伤灶周围区包括脑皮质(1)、外囊+海马(2)和胼胝体(3)

1.4.2 MRS 参数测量 采用 MR 扫描仪预装波谱分析软件计算各代谢物水平,对应化学位移处波峰面积积分作为化合物的相对定量值。以肌酸(creatine, Cr)为参照物,计算伤侧病灶周围区与健侧对应部位的 N-乙酰天门冬氨酸(N-acetylaspartate, NAA)/Cr、胆碱类化合物(choline-containing compounds, Cho)/Cr、乳酸(lactate, Lac)/Cr 比值。对照组 ROI 放置于双侧大脑半球相应部位,方法同上。DTI 和¹H-MRS 各参数值均为各 ROI 测量值的均值。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计分析软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 同一时间点伤侧和健侧对应脑区参数比较采用配对资料 *t* 检验; 3 个时间点间 DTI 参数的比较采用完全随机设计的单因素方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

创伤组创伤侧病灶周围区伤后 1、3、5 h 与健侧对应部位比较, ADC 值降低、FA 值升高, 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05 , 表 1); NAA/Cr 降低、Lac/Cr 升高, 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05), Cho/Cr 差异无统计学意义 (P 均 > 0.05), 见表 2 和图 2。

表 1 创伤组创伤侧病灶周围区与健侧对应部位伤后不同时间 ADC 值和 FA 值结果 ($\bar{x} \pm s$)

侧别	ADC 值 ($\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$)			FA 值		
	1 h	3 h	5 h	1 h	3 h	5 h
创伤侧	0.68 ± 0.04	0.55 ± 0.08	0.62 ± 0.07	0.32 ± 0.06	0.41 ± 0.07	0.34 ± 0.06
健侧	0.72 ± 0.06	0.73 ± 0.05	0.74 ± 0.06	0.25 ± 0.05	0.27 ± 0.04	0.29 ± 0.07
<i>t</i> 值	2.312	6.768	4.820	3.712	3.286	3.151
<i>P</i> 值	0.035	<0.001	0.001	0.002	0.005	0.007

表 2 创伤组创伤侧病灶周围区与健侧对应部位伤后不同时间 MRS 参数结果 ($\bar{x} \pm s$)

侧别	NAA/Cr			Cho/Cr			Lac/Cr		
	1 h	3 h	5 h	1 h	3 h	5 h	1 h	3 h	5 h
创伤侧	1.47 ± 0.11	1.43 ± 0.09	1.32 ± 0.09	0.60 ± 0.07	0.62 ± 0.04	0.62 ± 0.05	0.17 ± 0.07	0.27 ± 0.17	0.16 ± 0.06
健侧	1.55 ± 0.06	1.52 ± 0.05	1.53 ± 0.03	0.58 ± 0.06	0.61 ± 0.07	0.60 ± 0.04	0.04 ± 0.06	0.08 ± 0.10	0.08 ± 0.09
<i>t</i> 值	2.366	2.740	6.767	1.935	1.223	1.424	4.073	3.733	2.636
<i>P</i> 值	0.025	0.014	<0.001	0.076	0.253	0.186	0.001	0.002	0.019

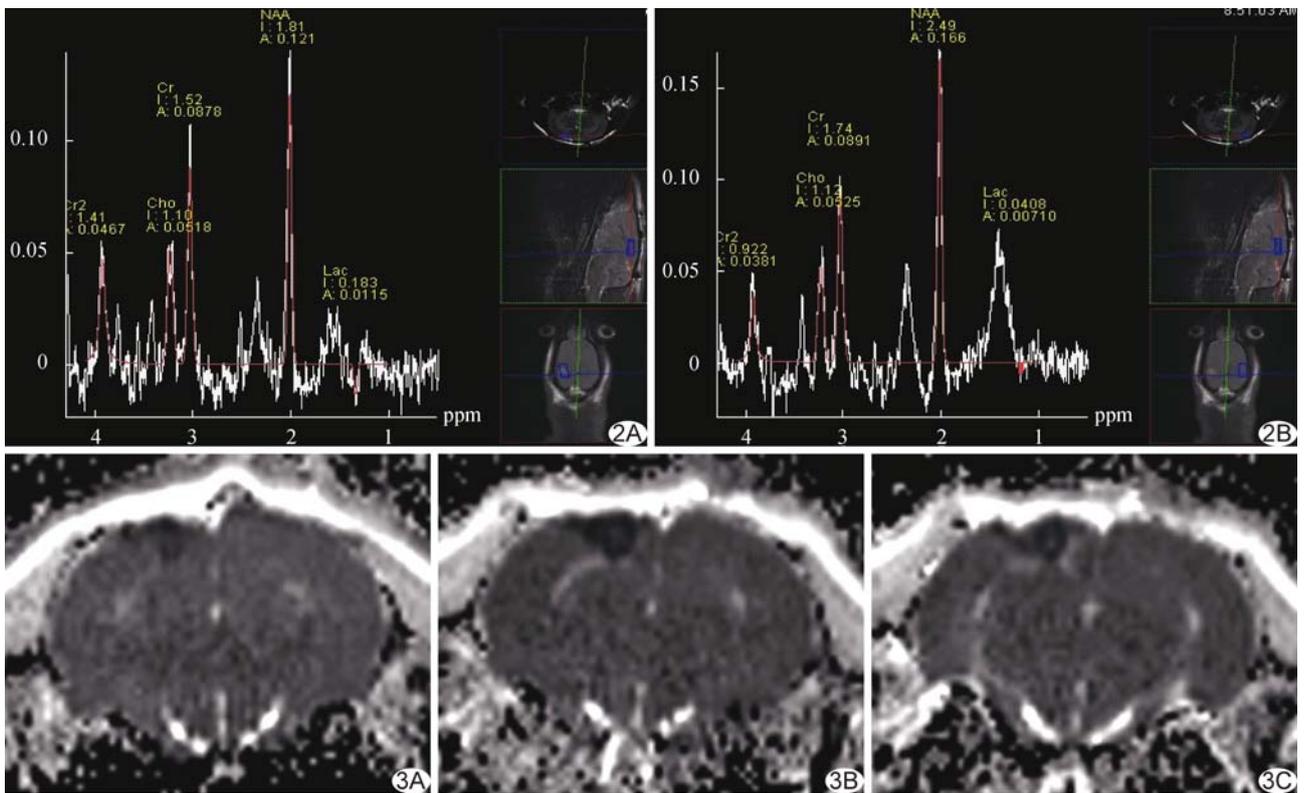


图 2 创伤组伤后 1 h 病灶周围区 (A) 及健侧对应部位 (B) MRS 图 病灶周围区 NAA/Cr 降低、Lac/Cr 升高, Cho/Cr 无明显改变 图 3 创伤组伤后 1 h (A)、3 h (B)、5 h (C) ADC 图 创伤灶周围区信号较对侧降低, 伤后 3 h 创伤灶周围区信号明显降低, 伤后 5 h 信号有所恢复

创伤组创伤侧病灶周围区伤后 3 个时间点间 ADC 值 ($F=7.092, P=0.003$) 和 FA 值 ($F=6.140, P=0.004$) 差异有统计学意义, 且伤后 3 h 与 1 h 比较, ADC 值降低 ($t=4.794, P<0.001$), FA 值升高 ($t=3.385, P=0.002$); 伤后 5 h 与 3 h 比较, ADC 值升高 ($t=3.030, P=0.005$), FA 值降低 ($t=2.686, P=0.012$); 伤后 5 h 与 1 h 比较, ADC 值 ($t=0.684, P>0.05$)、FA 值 ($t=0.853, P>0.05$) 差异无统计学意义。伤后 1、3、5 h 创伤灶周围区 ADC、FA 值变化见图 3~5。

创伤组健侧对应部位脑组织 3 个时间点间 ADC ($F=0.759, P>0.05$)、FA 值 ($F=0.622, P>0.05$) 比较差异无统计学意义。

对照组双侧大脑半球及不同时间点间各参数比较差异均无统计学意义 (P 均 >0.05)。

3 讨论

临床试验^[7]报道 TBI 急性期患者的治疗时间窗为伤后 4 h 或更长。本研究通过动物实验, 观察脑创伤后 1~5 h 大鼠继发性脑创伤的发展变化规律, 为临床寻求 TBI 最佳治疗窗提供依据。病理学上 TBI 分为原发性和继发性。原发性 TBI 指创伤事件作用于头部时立即发生的不可逆脑损伤, 主要包括脑挫裂伤、颅神经损伤以及弥漫性轴索损伤等; 继发性 TBI 指创伤后几分钟、几小时、几天或更长时间发生的神经细胞损伤, 与机械损伤、缺氧、兴奋性氨基酸毒性作用、炎性因子释放、氧自由基形成等一系列微观变化密切相关^[8]。

DTI 利用水分子弥散各向异性进行成像, 主要用于研究脑白质纤维束结构的完整性、致密性和方向性, 可在微观水平发现轴突和髓鞘损伤^[9], FA 值增高提示神经纤维排列紧密, FA 值降低反映纤维排列紧密性降低, 轴索破坏或髓鞘损伤。¹H-MRS 通过检测不同化合物中氢质子在强磁场作用下产生的不同化学位移峰值, 对脑内多种代谢物进行定量分析, 是一种无创性检测活体组织代谢产物化学成分和含量的新技

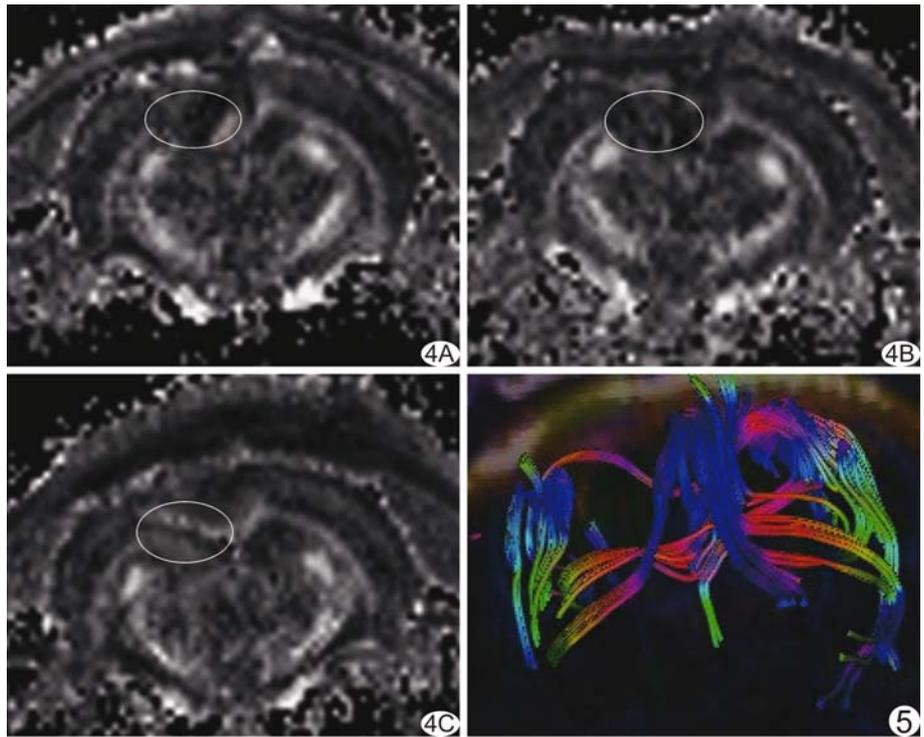


图 4 创伤组伤后 1 h(A)、3 h(B)、5 h(C)FA 图 创伤灶周围区信号增高, 伤后 3 h 信号最高, 5 h 信号略降低 (椭圆形内为创伤周围区) 图 5 伤后 5 h DTI 纤维束成像 右侧大脑皮质创伤灶周围区纤维束断裂、缺失

术^[10]。目前可以确定的常规代谢物有 NAA、Cho、Cr、Lac 等。NAA 常用于评估神经元的密度及线粒体的功能, NAA 含量降低, 反映神经元丢失或能量代谢障碍; Cho 是细胞膜转换的标记物, Cho 升高反映细胞膜的损伤、降解或胶质细胞增殖; Cr 被认为是脑内不同条件下最稳定的代谢物, 可作为参照物, 评价代谢物比率的变化; Lac 在正常情况下检测不到, 在病理条件下如有氧代谢障碍或糖酵解增加时其含量明显增加。

3.1 DTI 参数变化 本研究发现创伤灶周围区伤后 1、3、5 h ADC 值较对侧降低, FA 值升高。ADC 值降低提示病灶周围区水分子弥散受限, 即发生细胞毒性水肿, 且伤后 1~5 h 细胞毒性水肿持续存在, 与既往研究^[11]结果一致。创伤造成局部脑组织缺血缺氧, 细胞能量代谢受损使细胞膜上的 Na^+-K^+ 泵功能障碍, 钠离子内流, 细胞内渗透压增加导致 ADC 值降低^[11]。另外, ADC 值降低还与肿胀的细胞器阻挡细胞内水分子的弥散及细胞质的黏度增加有关。FA 值升高则是由于细胞内外水分子分布异常所致^[12]。

本研究显示创伤灶周围区伤后 3 h 与 1 h 比较 ADC 值降低 ($P<0.001$)、FA 值升高 ($P=0.002$), 提示细胞毒性水肿在伤后 1~3 h 逐渐加重, 细胞外间隙水

含量进一步降低,纤维排列更加紧密,细胞内更多的水分子沿与轴索平行方向规律运动,各向异性增加^[13]。但创伤灶周围区伤后 5 h 与 3 h 比较 ADC 值升高($P=0.005$)、FA 值下降($P=0.012$),表明 3~5 h 水分子弥散受限减轻,提示发生轴索破坏、髓鞘损伤,使纤维束完整性降低。有研究^[14]显示脑创伤后脑组织内电解质平衡紊乱、细胞内水肿达到一定限度,细胞骨架消散,细胞膜结构破坏,水分子弥散空间扩大,弥散各向异性程度降低,导致 ADC 值升高,FA 值下降。

Xu 等^[11]研究发现大鼠创伤灶周围脑组织 FA 值在脑皮质损伤后 2~4 h 降低,亦有研究^[15]建立动物脑创伤模型发现,伤后 4~120 h FA 值下降。Li 等^[16]发现大鼠脑创伤后 3~72 h,胼胝体、外囊、海马和内囊的 FA 值显著降低,免疫组化证实创伤灶周围脑组织发生轴索断裂。以上与本研究发现的创伤灶周围区伤后 3~5 h FA 值降低的时间窗相近,提示 3~5 h 创伤灶周围区脑组织的继发性损伤有所加重,可能出现纤维束断裂、髓鞘损伤,但有待病理研究进一步证实。

3.2 MRS 参数变化 本研究显示,创伤组创伤侧病灶周围区伤后 1、3、5 h 与健侧对应部位脑组织比较, NAA/Cr 降低、Lac/Cr 升高(P 均 <0.05),Cho/Cr 无明显变化(P 均 >0.05)。Rubin 等^[17]采用 MRS 技术发现液压冲击致大鼠脑创伤后 1 h 创伤灶周围皮质 NAA 降低。Gasparovic 等^[18]在大鼠局灶性皮层损伤模型中发现创伤后 2 h 病灶周围区 NAA/Cr 降低,但并未发现明显的神经细胞死亡或轴索损伤。本研究发现伤后 1 h、3 h NAA/Cr 降低,分析原因可能与线粒体损伤、有氧代谢功能障碍有关;伤后 5 h NAA/Cr 降低可能是纤维束断裂、神经元丢失及线粒体损伤共同作用的结果。3 个时间点 Lac/Cr 升高,提示病灶周围区存在急性有氧代谢障碍,无氧代谢增加,导致 Lac 含量升高。本研究伤后 3 个时间点与对侧比较,Cho 无明显变化,可能与细胞膜的降解及胶质细胞增殖主要发生在 TBI 后期有关。

综上所述,DTI 和¹H-MRS 参数变化表明大鼠脑皮质局灶性损伤后 1~5 h 创伤灶周围区出现微观结构及代谢变化,继发性脑损伤于伤后 1 h 已发生,而伤后 3 h 有所加重。TBI 后 3 h 内给予干预可能会控制继发性脑损伤的进展。

[参考文献]

[1] Lescot T, Fulla-Oller L, Po C, et al. Temporal and regional changes after focal traumatic brain injury. *J Neurotrauma*, 2010,

27(1):85-94.
 [2] 王凯, 马军. 脑创伤周围半暗带的研究进展. *中国医学影像技术*, 2012, 28(3):596-599.
 [3] Hackenberg K, Unterberg A. Traumatic brain injury. *Nervenarzt*, 2016, 87(2):203-214.
 [4] 史东立, 金真, 胥晓明, 等. MR 观察猫脑创伤前乙醇摄入对伤后脑水肿的影响. *中国医学影像技术*, 2013, 29(3):142-145.
 [5] Joseph B, Haider A, Rhee P. Traumatic brain injury advancements. *Curr Opin Crit Care*, 2015, 21(6):506-511.
 [6] McIntosh TK, Vink R, Noble L, et al. Traumatic brain injury in the rat: Characterization of a lateral fluid-percussion model. *Neuroscience*, 1989, 28(1):233-244.
 [7] Stein DG. Progesterone in the treatment of acute traumatic brain injury: A clinical perspective and update. *Neuroscience*, 2011, 191:101-106.
 [8] 杨树源. 急性脑创伤后继发性神经细胞损伤的研究进展. *中华神经外科杂志*, 2004, 20(2):15-19.
 [9] Shenton ME, Hamoda HM, Schneiderman JS, et al. A review of magnetic resonance imaging and diffusion tensor imaging findings in mild traumatic brain injury. *Brain Imaging Behav*, 2012, 6(2):137-192.
 [10] Marino S, Ciurleo R, Bramanti P, et al. ¹H-MR spectroscopy in traumatic brain injury. *Neurocrit Care*, 2011, 14(1):127-133.
 [11] Xu S, Zhuo J, Raczy J, et al. Early microstructural and metabolic changes following controlled cortical impact injury in rat: A magnetic resonance imaging and spectroscopy study. *Neurotrauma*, 2011, 28(10):2091-2102.
 [12] Mayer AR, Ling J, Mannell MV, et al. A prospective diffusion tensor imaging study in mild traumatic brain injury. *Neurology*, 2010, 74(8):643-650.
 [13] Zappalà G, Thiebaut de Schotten M, Eslinger PJ. Traumatic brain injury and the frontal lobes: What can we gain with diffusion tensor imaging. *Cortex*, 2012, 48(2):156-165.
 [14] Koliás AG, Guilfoyle MR, Helmy A, et al. Traumatic brain injury in adults. *Prac Neurol*, 2013, 13(4):228-235.
 [15] van der Zijden JP, van der Toorn A, van der Marel K, et al. Longitudinal in vivo MRI of alterations in perilesional tissue after transient ischemic stroke in rats. *Exp Neurol*, 2008, 212(1):207-212.
 [16] Li S, Sun Y, Shan D, et al. Temporal profiles of axonal injury following impact acceleration traumatic brain injury in rats—a comparative study with diffusion tensor imaging and morphological analysis. *Int J Legal Med*, 2013, 127(1):159-167.
 [17] Rubin Y, Cecil K, Wehrli S, et al. High-resolution ¹H NMR spectroscopy following experimental brain trauma. *J Neurotrauma*, 1997, 14(7):441-449.
 [18] Gasparovic C, Arfai N, Smid N, et al. Decrease and recovery of N-acetylaspartate/creatinine in rat brain remote from focal injury. *J Neurotrauma*, 2001, 18(3):241-246.