

# 锰离子增强磁共振成像在大鼠嗅球神经传导及早期确定脑缺血中心研究中的应用

方可<sup>①</sup> 李英霞<sup>①</sup> 刘 华<sup>②</sup> 廖维靖<sup>②</sup> 雷 皓<sup>①\*</sup>

(① 中国科学院武汉物理与数学研究所, 波谱与原子分子国家重点实验室, 武汉 430071; ② 武汉大学中南医院, 武汉 430071.)

\* 联系人, E-mail: [leihao@wipm.ac.cn](mailto:leihao@wipm.ac.cn)

**摘要** 以二价锰离子( $Mn^{2+}$ )为示踪剂的磁共振成像是近年来发展起来的可在体、动态地追踪神经传导通路和研究大脑功能的一种脑成像新技术. 利用这项技术对静息状态下  $Mn^{2+}$  在大鼠嗅球层状结构间的传递过程以及大鼠急性脑缺血模型中的钙离子( $Ca^{2+}$ )超载过程进行了研究, 得到了大鼠嗅球高空间分辨率的层状结构图像, 并测得静息状态下  $Mn^{2+}$  在嗅球层状结构间的表观传递速率大约为 0.2 mm/h. 急性大鼠脑缺血研究结果表明, 缺血早期存在  $Mn^{2+}$  沉积区域的面积(代表缺血过程中存在  $Ca^{2+}$  超载的区域)仅为扩散加权图像中的高信号区域面积的(55±15)%, 提示以  $Mn^{2+}$  为示踪剂的磁共振成像比常用的扩散加权成像能更为准确地早期确定缺血中心区域.

**关键词** 磁共振成像 脑缺血 二价锰离子 钙离子 嗅球

以二价锰离子( $Mn^{2+}$ )为示踪剂的磁共振成像是近年来发展迅速的一种脑成像新技术. 这项技术最早由 Lin 和 Koretsky 提出<sup>[1]</sup>, 它的基本原理是以  $Mn^{2+}$  作为钙离子( $Ca^{2+}$ )的示踪剂, 通过观测功能或病理状态下  $Ca^{2+}$  在神经细胞内外以及神经突触间的传递过程, 未在体、动态地追踪神经传导通路以及研究大脑功能.  $Mn^{2+}$  之所以能用作  $Ca^{2+}$  的示踪剂是因为它具有 2 个特性: (i)  $Mn^{2+}$  的大小与  $Ca^{2+}$  相近, 在生物上是  $Ca^{2+}$  的类似物<sup>[2]</sup>, 可通过电压门控  $Ca^{2+}$  通道和基于微管道的传输系统在神经细胞内/间传递<sup>[3~5]</sup>; (ii)  $Mn^{2+}$  是一种顺磁性物质, 它的存在会缩短其周围水质子的磁共振  $T_1$  弛豫时间<sup>[6]</sup>, 达到磁共振成像显影的效果. 这种成像方法自提出以来, 受到了越来越多神经科学研究者的重视. 利用这种方法, Pautler 和 Koretsky 等人<sup>[3,7]</sup> 对小鼠视觉和嗅觉的神经传导通路以及嗅觉功能进行了研究. Linden 等人<sup>[8~10]</sup> 用这种方法探讨了欧洲八哥发声控制系统的神经传导路径和功能. Duong 等人<sup>[11]</sup> 用这种方法对用大鼠前爪电刺激时脑的激活情况进行了研究, 并与用常规基于血氧水平依赖(BOLD)效应的磁共振脑功能成像所获得的结果进行了比较. Aoki 等人<sup>[12]</sup> 利用这种方法对大鼠大脑中动脉栓塞脑缺血模型进行了研究.

本文在扩展了前人实验结果的基础之上, 以  $Mn^{2+}$  为示踪剂, 用高空间分辨率和组织对比度的磁共振成像研究了静息状态下  $Mn^{2+}$  在大鼠嗅球层状结

构间的传递以及大鼠急性脑缺血模型中的  $Ca^{2+}$  超载过程.

## 1 材料与方法

(i) 动物准备. 雄性 Wistar 大鼠(180~210 g)16 只, 其中嗅球实验用 6 只, 脑缺血实验用 10 只(实验组与对照组各 5 只). 动物用 10% 乌拉坦(Urethane)溶液按 10 mL/kg 的剂量腹腔注射麻醉, 实验表明, 此剂量可维持大鼠稳定麻醉状态达 20 h 左右. 整个实验过程中, 将一接有循环热水(水槽水温 55~60°C)的水垫覆盖大鼠背部, 以保持大鼠体温(直肠温度)在 (37±2)°C. 动物一旦被固定在磁体腔内后即不再被移动, 直至实验结束.

(ii) 嗅球实验. 400 mmol/L  $MnCl_2$  溶液用生理盐水和无水氯化锰( $MnCl_2$ )比配制. 用微量加样器将 5  $\mu$ L  $MnCl_2$  溶液滴入麻醉老鼠的右侧或双侧鼻腔中, 并确保在滴入过程中  $MnCl_2$  溶液不被呛出. 随后将大鼠固定在动物床上, 进行磁共振成像测试. 磁共振检测时大鼠自主呼吸磁体腔内空气.

(iii) 急性缺血模型. 我们选用的是改进的线栓法大脑中动脉栓塞(MCAO)缺血模型<sup>[13]</sup>. 具体步骤如下: 颈部切开后, 首先分离右侧颈总动脉、右侧迷走神经和右侧颈外动脉, 并用丝线结扎右侧颈外动脉; 结扎右侧颈总动脉的近心端后用微动脉夹暂时夹闭其远心端; 在靠近近心端处剪一小口, 插入 PE-50 导管后松开微动脉夹, 将导管伸入至颈内动脉; 以 8

mL/kg的剂量从导管手推注入25%的甘露醇以破坏右侧血脑屏障;3 min后手推注入0.4 mL 10 mmol/L的 $\text{MnCl}_2$ 溶液,拔出导管并同时将近心端夹闭;在完成 $\text{MnCl}_2$ 溶液注射3 min内,将尼龙线栓从颈总动脉剪口处送入,沿颈内动脉直至大脑中动脉起始部,造成大脑局部缺血。缺血10 min后进行磁共振成像检测。对照组手术过程与模型组基本相同,只是尼龙线栓送入的深度不及模型组,不足以造成脑缺血。

(iv) 成像测量。所有的磁共振成像检测均在配备有直径为20 cm梯度线圈的Biospec 4.7 T/30 cm动物成像仪(BRUKER, 德国)上完成。成像实验用直径为12 cm的Helmholtz体线圈激发,直径为2.5 cm的表面线圈接受,激发线圈与接受线圈之间存在主动去耦。嗅球实验采用翻转恢复序列,成像参数为:视野(FOV)1.5 cm × 1.5 cm, 矩阵256 × 256, 翻转恢复时间(TI) = 450 ms, 片厚0.8 mm, 重复时间(TR) = 6000 ms, 回波时间(TE) = 15 ms, 图像空间分辨率达到58  $\mu\text{m}$  × 58  $\mu\text{m}$  × 800  $\mu\text{m}$ 。观察嗅觉皮层实验采用饱和恢复自旋回波 $T_1$ 加权序列,参数为:FOV 3 cm × 3 cm, 矩阵128 × 128, 片厚1 mm, TR = 300 ms, TE = 15 ms, 4次采样平均。缺血实验采用的成像参数为:FOV 3 cm × 3 cm, 矩阵128 × 128, 片厚1 mm, 自旋回波 $T_1$ 加权序列:TR = 300 ms, TE = 15 ms, 4次采样平均, 采样时间153 s;自旋回波 $T_2$ 加权序列:TR = 2500 ms, TE = 120 ms, 2次采样平均;自旋回波扩散加权序列:b值分别为12, 353和1299  $\text{s/mm}^2$ , 扩散加权梯度方向为z方向, 扩散加权梯度间隔 $\Delta$  = 25 ms, 扩散加权梯度时间 $\delta$  = 10 ms, TR = 2500 ms, TE = 50 ms。

(v) 数据处理。所有的数据用BRUKER成像仪随机所带图像处理专用软件PARAVISION处理。嗅球实验中先将嗅球各层状结构作为感兴趣区用曲线勾画出来,信号强度取平均值。不同层状结构其平均信号强度在滴入 $\text{Mn}^{2+}$ 后的不同时间先后达到最小值。各层在其平均信号强度达到最小值时,其 $T_1$ 弛豫时间应相同。因为组织的 $T_1$ 弛豫时间与它当中所含 $\text{Mn}^{2+}$ 的浓度呈线性关系<sup>[11]</sup>,所以我们认为各层在其平均信号强度达到最小值时,它们当中所含的 $\text{Mn}^{2+}$ 的浓度也相同。 $\text{Mn}^{2+}$ 在嗅球层状结构间的平均表观传递速率以不同层状结构其平均信号强度达到最小值时的时间之差除以层间距离得到。缺血实验中的信号异常区域用曲线勾画,取信号强度的平均值进行

比较。缺血区域面积大小用区域中所包含像素的数目来表示。

## 2 结果与讨论

### 2.1 大鼠嗅球层状结构间的神经传导

图1显示的是大鼠嗅球高空间分辨率的 $T_1$ 加权磁共振解剖图像,图中可清晰分辨出的嗅球层状结构包括嗅神经层(ONL),嗅小球层(GL),外网丛层(EPL),颗粒细胞层(GCL)和皮下区域(SEZ)。图2显示的是3只大鼠(a, b和c)在右侧鼻腔中滴入 $\text{MnCl}_2$ 溶液之前(a1, b1, c1),5 h后(a2, b2, c2)和15 h后(a3, b3, c3)的嗅球图像。3只大鼠左侧嗅球的信号强度在整个实验中均没有明显改变,而右侧嗅球各层信号强度随时间有明显变化,嗅球左右两侧信号的差异显然是滴入的 $\text{Mn}^{2+}$ 传递到右侧嗅球并沉积的结果。 $\text{Mn}^{2+}$ 不仅在嗅上皮和嗅球中沉积,还能随嗅觉神经传导通路到达嗅觉皮层。图3显示的是单侧鼻腔(a)和双侧鼻腔(b和c)滴入了高浓度 $\text{MnCl}_2$ 溶液10 h后大鼠前脑切片的饱和恢复 $T_1$ 加权图像,与滴入锰鼻腔相对应的嗅觉皮层呈高亮度区,表明其中水质子 $T_1$ 弛豫时间缩短,有 $\text{Mn}^{2+}$ 沉积。

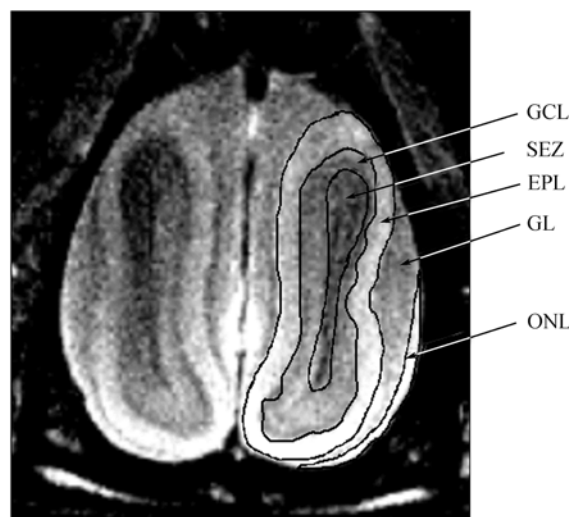


图1 大鼠嗅球高空间分辨率的翻转恢复(TI = 450 ms) $T_1$ 加权磁共振解剖图像  
可清晰分辨出的嗅球层状结构包括嗅神经层(ONL)、嗅小球层(GL)、外网丛层(EPL)、颗粒细胞层(GCL)和皮下区域(SEZ)

图4分别显示的是2只右侧鼻腔内滴入了 $\text{MnCl}_2$ 溶液的大鼠(a, b)归一化(以整个左侧嗅球的平均强度

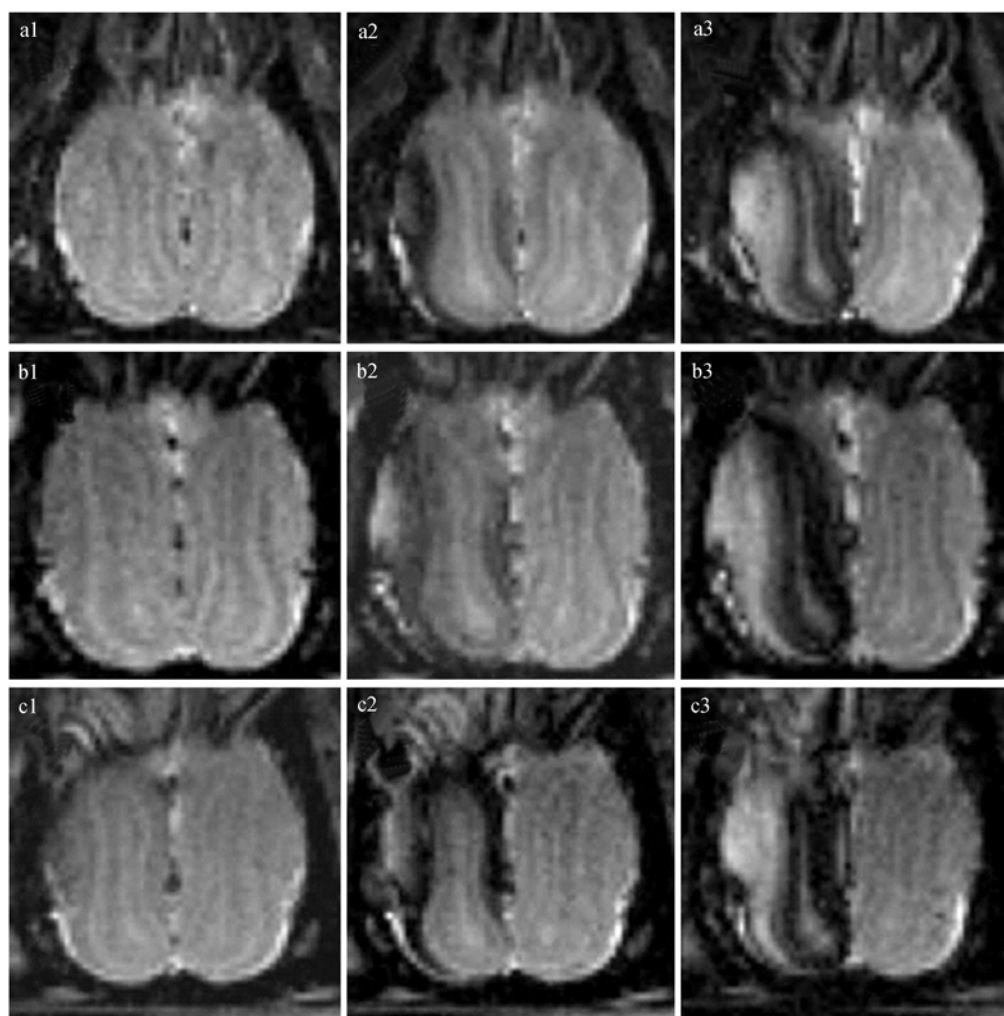


图 2 右侧鼻孔中滴入  $\text{MnCl}_2$  溶液之前(1)以及 5 (2)和 15 h(3)后大鼠嗅球冠状切面的翻转恢复  $T_1$  加权图像  
同一行中的像采自同一大鼠, 不同行(a, b, c)中的数据来自不同大鼠

为基准)后的右侧嗅球各层信号强度随时间变化的曲线. 2 只大鼠的数据基本相似, 除了 SEZ 层的信号强度随时间一直下降以外, 其他各层的信号强度都是先减小后增大, 类似于  $T_1$  弛豫的翻转恢复过程. 右侧嗅球层状结构信号强度的变化实际上反映的是随着  $\text{Mn}^{2+}$  沉积浓度的逐渐增大, 各层  $T_1$  弛豫时间不断减小的过程. 由于缺乏定标曲线, 本研究还得不到在各层中沉积的  $\text{Mn}^{2+}$  的定量浓度. 各层信号强度随时间的变化曲线还表明  $\text{Mn}^{2+}$  在右侧嗅球各层中是由外层逐渐向内层传递的. 这种传递在没有嗅觉刺激的情况下较为缓慢的, 5 只大鼠的数据显示  $\text{Mn}^{2+}$  从 GL 层到 EPL 层的平均表观传递速度约为 0.2 mm/h.

Pautler和Koretsky最先使用 $\text{Mn}^{2+}$ 增强的磁共振成像对小鼠嗅觉神经传导通路及嗅觉功能进行了研究[3,7]. 他们的实验主要取得了 2 点结果: (i) 滴入小鼠鼻腔中的 $\text{Mn}^{2+}$ 可以沿动物嗅觉神经传导通路, 先后进入嗅上皮、嗅神经、嗅球、嗅束及嗅皮层; (ii)  $\text{Mn}^{2+}$ 在动物嗅觉神经系统中具有选择性地沉积在嗅觉功能活跃的区域, 如嗅球的嗅小球层. 本研究使用Wistar大鼠, 实验方法与Pautler和Koretsky的实验方法大抵相似, 部分实验结果与他们在小鼠上获得的实验结果相同. 但Pautler和Koretsky的实验由于空间分辨率低和缺乏组织对比度等原因, 没有得到关于 $\text{Mn}^{2+}$ 在嗅球层状结构中传递的动态信息和定量



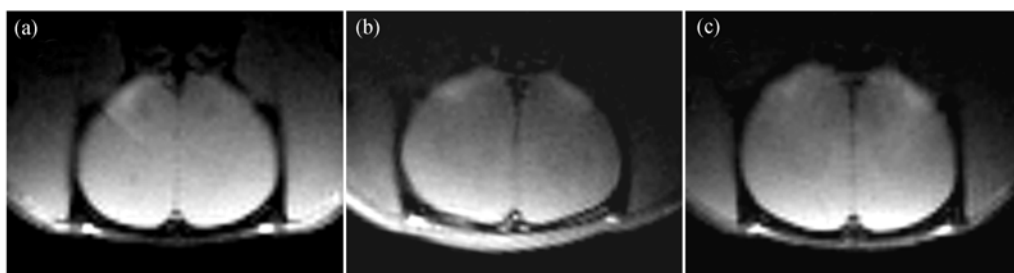


图3 单侧(a)和双侧(b, c)鼻腔中滴入高浓度  $\text{MnCl}_2$  溶液 10 h 后大鼠前脑切片的饱和恢复  $T_1$  加权图像  
图中高亮信号区为大鼠的初级嗅觉皮层

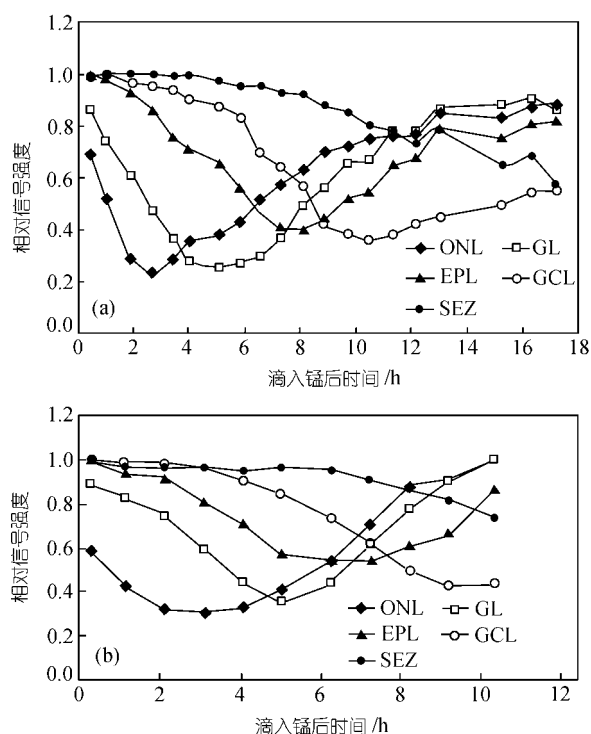


图4 大鼠(a, b)右侧鼻孔中滴入  $\text{MnCl}_2$  溶液后其右侧嗅球中各层状结构相对  $T_1$  加权信号强度随时间变化的曲线

信息. 本研究中采用了高空间分辨率的  $T_1$  加权翻转恢复序列, 对嗅球层状结构的显示大大优于 Pautler 和 Koretsky 实验中所使用的饱和恢复序列(图 1 和 2). 也正是由于我们图像的高空间分辨率和组织对比度, 使得我们有可能观测到  $\text{Mn}^{2+}$  在嗅球各层之间的动态传递. 实验结果表明在我们的实验条件下, 这种传递是比较慢的(约 0.2 mm/h), 这可能是因为: (i) 实验中没有采用特殊嗅觉刺激, 大鼠嗅觉系统功能活动不明显; (ii) 乌拉坦麻醉对嗅觉系统有抑制作用<sup>[14]</sup>.

本研究报告的只是我们的一部分研究结果, 在以后的实验中我们将利用高空间分辨率的  $\text{Mn}^{2+}$  增强磁共振成像观测不同嗅觉刺激条件下  $\text{Mn}^{2+}$  在嗅球中沉积的空间选择性以及定量测量  $\text{Mn}^{2+}$  在嗅球层状结构间传递速率的快慢, 并以此来深入研究大鼠嗅觉功能.

## 2.2 急性缺血模型研究

图 5 显示的是  $\text{Mn}^{2+}$  增强后的大鼠脑中海马层面上—冠状切片的磁共振图像, 其中图 5(a)取自一对照组大鼠, 图 5(b)~(f)取自同一缺血大鼠的同一切片; 图 5(g)~(i)分别取自另外 3 只缺血大鼠. 缺血大鼠的磁共振图像包括  $T_2$  加权像(图 5(b)和(c)), 扩散加权像(图 5(d)), 表观扩散系数(ADC)像(图 5(e))以及  $T_1$  加权像(图 5(f)~(i)), 所有 MCAO 大鼠图像的采样时间均在缺血后 20~90 min 之间. 对照组大鼠的  $T_1$  加权像上(图 5(a))左右两侧脑的信号强度没有显著差别, 说明虽然脑中被引入了外源性的  $\text{Mn}^{2+}$ , 但在不缺血的情况下  $\text{Mn}^{2+}$  不会形成具有空间选择性的沉积. 缺血大鼠的  $T_2$  加权像(图 5(b)和(c))中没有出现高强信号区, 说明缺血脑组织在缺血的早期不存在像缺血晚期那样明显的血管源性和细胞毒性水肿. 在短回波时间( $TE = 50$  ms)的  $T_2$  加权像(图 5(b))中, 左右两侧脑的信号强度没有显著差别; 但在长回波时间( $TE = 120$  ms)的  $T_2$  加权像(图 5(c))中, 缺血侧大脑的部分区域呈低信号, 表明这些区域中水的  $T_2$  弛豫时间有所降低. 缺血侧脑在扩散加权像(图 5(d))上呈高强信号区, 在定量 ADC 像(图 5(e))上呈低信号区, 表明缺血脑组织中水分子的扩散速率较正常侧有所下降, 其平均降幅约在 20% 左右. 缺血侧部分脑区在  $T_1$  加权像(图 5(f)~(i))上呈高亮信号(平均强度为正常侧对称区域平均信号强度的  $(167 \pm 18)\%$ ), 表明这些区域中水的  $T_1$  弛豫时间有降低. 缺血侧脑中在  $T_1$  加权像

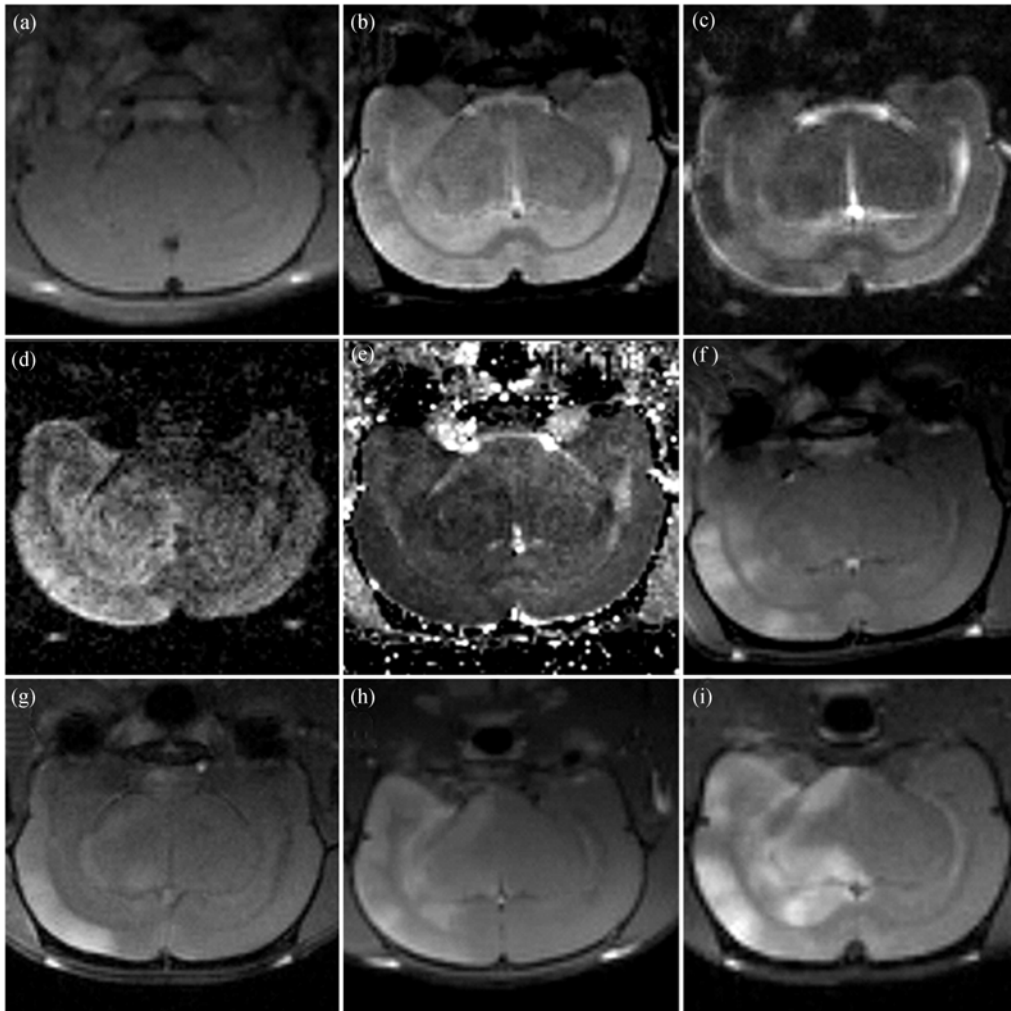


图 5 注入  $Mn^{2+}$  后大鼠脑中海马层面上一冠状切片的磁共振图像

(a)取自一对照组大鼠, (b)~(f)取自同一缺血大鼠的同一切片, (g)~(i)取自另外 3 只缺血大鼠. 缺血大鼠的磁共振图像包括不同回波时间(TE)的自旋回波  $T_2$  加权像(b: TE=50 ms; c: TE=120 ms), 扩散加权像(d)(b=1299 s/mm<sup>2</sup>), 表观扩散系数(ADC)像(e)以及  $T_1$  加权像(f)~(i), 所有图像的采样时间均为缺血后 20~90 min

(图 5(f))中呈高亮信号的区域与在长回波时间  $T_2$  加权像(图 5(c))中呈低信号的区域在空间位置上非常一致; 这些区域中水质子  $T_1$  和  $T_2$  弛豫时间的同时降低, 表明其中存在某种顺磁性物质的有空间选择性的沉积, 而沉积的顺磁性物质最有可能就是我们注入的外源性的  $Mn^{2+}$ . 从图 5 我们还可注意到, 由缺血引起的水分子扩散异常的区域(图 5(d)和(e))要大于有  $Mn^{2+}$  沉积的区域(图 5(c)和(f)), 前者的面积大约是后者面积的 1.5 倍. 其他 3 只缺血大鼠缺血侧脑在  $T_1$  加权图像(图 5(d), (h)和(i))上也存在有高亮信号区, 类似于图 5(f). 但不同大鼠缺血侧脑在  $T_1$  加权像上呈高亮信号的区域的位置和大小不尽相同, 这可能与大鼠的个

体差异以及不同大鼠其脑缺血程度不一致有关. 平均所有大鼠结果发现缺血早期存在  $Mn^{2+}$  沉积区域的面积(代表缺血过程中存在  $Ca^{2+}$  超载的区域)仅为扩散加权图像中的高信号区域面积的(55±15)%.

由于外源性的  $Mn^{2+}$  在血浆中的半衰期仅为 4.7 min<sup>[15]</sup>, 且在对照组大鼠的脑中没有出现高亮信号, 所以图 5(f)中增强的信号可以认为是  $Mn^{2+}$  在细胞内沉积所致, 尾状核和皮层出现的高亮信号区反映的应该是缺血早期出现  $Ca^{2+}$  超载的区域. 在急性脑缺血过程中, 脑血流的阻断或降低首先影响葡萄糖的正常有氧分解, 使得大脑能量代谢异常, 造成脑组织中三磷酸腺苷(ATP)浓度下降, 能量供给缺乏. 缺乏

ATP化学能的支持,神经细胞中 $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ 交换泵工作停止,使细胞内 $\text{Na}^+$ 浓度升高,从而破坏静息膜电位,进而使得电压依赖性 $\text{Ca}^{2+}$ 通道打开,细胞外 $\text{Ca}^{2+}$ 涌入细胞内,造成细胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度的上升,即所谓的钙超载.大量实验证据表明,细胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 超载是造成神经细胞缺血性损伤的最重要因素之一<sup>[16,17]</sup>,观测缺血过程中细胞内的 $\text{Ca}^{2+}$ 超载过程可能对准确判断缺血中心提供有用信息.

目前脑缺血磁共振成像研究中一般认为扩散加权像上显示出来的高强信号区(也就是ADC像上的低信号区)就是缺血中心,即存在不可逆缺血损伤的区域<sup>[18]</sup>.但最近的研究表明扩散异常区域并不能真正代表存在不可逆缺血损伤的缺血中心<sup>[19]</sup>.ADC值的变化反映的是细胞毒性水肿和细胞内外水的不正常扩散及交换.细胞毒性水肿在很大程度上反映的仅仅是神经细胞在形态学上的变化,而不能准确标记出不可恢复的缺血中心区域.有研究表明,部分扩散加权高信号缺血区域在再灌过程中可以恢复<sup>[19,20]</sup>,说明ADC异常的区域大于真正的缺血中心区.

我们观察到缺血早期扩散加权高信号区域面积比 $\text{Mn}^{2+}$ 增强 $\text{T}_1$ 加权像高亮信号区域的面积大. Kohno等人<sup>[18]</sup>报道大鼠脑血流低于 $41 \text{ mL} \cdot (100 \text{ g})^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 时就可以引起扩散加权像的变化. Harris等人<sup>[21]</sup>发现大鼠脑血流大于 $15 \text{ mL} \cdot (100 \text{ g})^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 时细胞内不会出现 $\text{Ca}^{2+}$ 超载.所以扩散加权异常在脑血流下降的过程中应该比 $\text{Ca}^{2+}$ 超载先出现,其区域从理论上讲也会大些.  $\text{Mn}^{2+}$ 增强的 $\text{T}_1$ 加权成像方法显示的可能是缺血最严重的中心区域.本研究结果显示,  $\text{Mn}^{2+}$ 沉积的区域位于ADC像低信号区中,且面积只有它的一半左右,与上述推论一致.虽然扩散加权成像是目前应用最为广泛的用于早期观测脑缺血损伤的磁共振成像技术,但 $\text{Mn}^{2+}$ 增强的 $\text{T}_1$ 加权成像可显示缺血中存在 $\text{Ca}^{2+}$ 超载的区域,能为急性脑缺血的早期、准确探测和确定缺血中心提供新的有用信息.

### 2.3 $\text{Mn}^{2+}$ 在神经系统中的传递

大量的实验结果表明,  $\text{Mn}^{2+}$ 在中枢神经系统中的传递是通过 $\text{Ca}^{2+}$ 通道来进行的,而不仅仅只是一种简单的物理扩散或渗透. 3方面的实验证据可支持这一观点: (i)  $\text{Ca}^{2+}$ 通道的阻断剂可阻止 $\text{Mn}^{2+}$ 在中枢神经系统中的“传递”<sup>[3]</sup>; (ii)  $\text{Mn}^{2+}$ 在中枢神经系统中只能沿轴突正向传递,而不能逆向传递,我们在预实验中

曾把 $\text{Mn}^{2+}$ 注射到嗅球,发现在足够长的时间里,  $\text{Mn}^{2+}$ 不能反向“渗透”到嗅上皮; (iii)  $\text{Mn}^{2+}$ 在中枢神经系统中的传递速度与功能有关,脑功能活动的增强可以加速 $\text{Mn}^{2+}$ 的“传递”<sup>[9]</sup>.

### 2.4 $\text{Mn}^{2+}$ 增强的磁共振成像技术的局限性

外源性 $\text{Mn}^{2+}$ 被神经细胞吸收后,在脑组织中的滞留时间相对较长<sup>[22]</sup>.本研究中的嗅球实验在24 h内没有观察到 $\text{Mn}^{2+}$ 增强效果的减弱.在脑组织中滞留时间长带来了这种方法研究大脑功能活动中的一个缺陷,那就是时间分辨率不高.同时,  $\text{Mn}^{2+}$ 在神经系统中需要累积到一定的量才能明显改变磁共振图像的对比度而被观测到,而 $\text{Mn}^{2+}$ 传递和积累在正常状态下是比较慢的,需要足够长的时间才能完成(图3)

$\text{Mn}^{2+}$ 增强磁共振成像在实际应用中的另一个障碍是 $\text{Mn}^{2+}$ 的生物毒性.有实验表明,当细胞内锰离子浓度超过 $250 \mu\text{mol/L}$ 时,就会产生细胞毒性<sup>[23]</sup>.高剂量的 $\text{Mn}^{2+}$ 还会损伤一些器官(如心脏)的功能<sup>[24]</sup>.鉴于 $\text{Mn}^{2+}$ 的生物毒性,实验需要选择合适的 $\text{Mn}^{2+}$ 浓度和成像参数,一方面要使 $\text{Mn}^{2+}$ 浓度低于能够造成急性中毒反应的水平之下,同时又要能得到足够的成像对比度.我们实验中使用的 $\text{Mn}^{2+}$ 的浓度和剂量低于报道中产生生物毒性的 $\text{Mn}^{2+}$ 浓度<sup>[7,12]</sup>,实验过程中处于麻醉状态的老鼠没有出现任何可观测到的锰中毒反应的症状.由于 $\text{Mn}^{2+}$ 的生物毒性,这种方法要应用到临床上,还有一些技术问题需要克服.但人们已经尝试着将这种方法用于临床,用它来早期确定人心肌缺血的中心区域<sup>[25]</sup>.

## 3 结论

本研究用高空间分辨率的以 $\text{Mn}^{2+}$ 为示踪剂的磁共振成像探测和研究了 $\text{Mn}^{2+}$ 在大鼠嗅球层状结构间的传递以及大鼠急性脑缺血模型中 $\text{Ca}^{2+}$ 超载的过程.得到了嗅球清晰的高分辨率层状结构图,并测得在静息状态下 $\text{Mn}^{2+}$ 在大鼠嗅球层状结构中的传递速率约为 $0.2 \text{ mm/h}$ .在急性脑缺血研究中,我们发现脑缺血早期存在 $\text{Mn}^{2+}$ 沉积区域的面积(代表存在 $\text{Ca}^{2+}$ 超载的区域)仅为扩散加权图像高信号区域面积的 $(55 \pm 15)\%$ ,提示以 $\text{Mn}^{2+}$ 为示踪剂的磁共振成像比常用的扩散加权成像能更为准确地早期确定缺血中心区域.

致谢 感谢郑婵娟和向赞同学在动物手术中的帮助. 本研究为中国科学院“引进海外杰出人才计划”和国家自然科学基金(批准号: 10234070, 30370419)资助项目.

## 参 考 文 献

- Lin Y J, Koretsky A P. Manganese ion enhances  $T_1$ -weighted MRI during brain activation: An approach to direct imaging of brain function. *Magn Reson Med*, 1997, 38(3): 378~388
- Hunter D R, Komai H, Haworth R A, et al. Comparison of  $Ca^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$ , and  $Mn^{2+}$  fluxes in mitochondria of the perfused rat heart. *Circ Res*, 1980, 47(5): 721~727
- Pautler R G, Koretsky A P. Tracing odor-induced activation in the olfactory bulbs of mice using manganese-enhanced magnetic resonance imaging. *NeuroImage*, 2002, 16(2): 441~448 [\[DOI\]](#)
- Narita K, Kawasaki F, Kita H. Mn and Mg influxes through Ca channels of motor nerve terminals are prevented by verapamil in frogs. *Brain Res*, 1990, 510(2): 280~295
- Drapeau P, Nachshen D A. Manganese fluxes and manganese-dependent neurotransmitter release in presynaptic nerve endings isolated from rat brain. *J Physiol*, 1984, 348: 493~510
- Geraldes C F, Sherry A D, Brown R D. Magnetic field dependence of solvent proton relaxation rates induced by  $Gd^{3+}$  and  $Mn^{2+}$  complexes of various polyaza macrocyclic ligands: Implication for NMR imaging. *Magn Reson Med*, 1986, 3(2): 242~250
- Pautler R G, Silva A C, Koretsky A P. *In vivo* neuronal tract tracing using manganese-enhanced magnetic resonance imaging. *Magn Reson Med*, 1998, 40(5): 740~748
- van der Linden A, Verhoye M, Van Meir V, et al. *In vivo* manganese-enhanced magnetic resonance imaging reveals connections and functional properties of the songbird vocal control system. *Neuroscience*, 2002, 112(2): 467~474 [\[DOI\]](#)
- Tindemans I, Verhoye M, Balthazart J, et al. *In vivo* dynamic ME-MRI reveals differential functional responses of RA- and area X-projecting neurons in the HVC of canaries exposed to conspecific song. *Eur J Neurosci*, 2003, 18(12): 3352~3360
- van Meir V, Verhoye M, Absil P, et al. Differential effects of testosterone on neuronal populations and their connections in a sensorimotor brain nucleus controlling song production in songbirds: A manganese enhanced-magnetic resonance imaging study. *Neuroimage*, 2004, 21(3): 914~923 [\[DOI\]](#)
- Duong T Q, Silva A C, Lee S P, et al. Functional MRI of calcium-dependent synaptic activity: Cross correlation with CBF and BOLD measurements. *Magn Reson Med*, 2000, 43(3): 383~392
- Aoki C, Ebisu T, Tanaka C, et al. Detection of the anoxic depolarization of focal ischemia using manganese-enhanced MRI. *Magn Reson Med*, 2003, 50(1): 7~12 [\[DOI\]](#)
- Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*, 1989, 20(1): 84~91
- McGivern J, Scholfield C N. Action of general anaesthetics on unclamped  $Ca^{2+}$ -mediated currents in unmyelinated axons of rat olfactory cortex. *Eur J Pharmacol*, 1991, 203(1): 59~65 [\[DOI\]](#)
- Gerardin B, McCann E, Lundberg C, et al. Selective tissue accumulation of manganese and its effect on regional blood flow and haemodynamics after intravenous infusion of its chloride salt in the rat. *Int J Tissue React*, 1985, 7(3): 373~380
- Sims N R, Zaidan E. Biochemical changes associated with selective neuronal death following short-term cerebral ischaemia. *Int J Biochem Cell Biol*, 1995, 27(6): 531~550 [\[DOI\]](#)
- Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. *Physiol Rev*, 1999, 79(4): 1431~1568
- Kohno K, Hoehn-Berlage M, Mies G, et al. Relationship between diffusion-weighted MR images, cerebral blood flow, and energy state in experimental brain infarction. *Magn Reson Imaging*, 1995, 13(1): 73~80 [\[DOI\]](#)
- Busch E, Kruger K, Allegrini P R, et al. Reperfusion after thrombolytic therapy of embolic stroke in the rat: Magnetic resonance and biochemical imaging. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1998, 18(4): 407~418 [\[DOI\]](#)
- Kidwell C S, Saver J L, Mattiello J, et al. Thrombolytic reversal of acute human cerebral ischemic injury shown by diffusion/perfusion magnetic resonance imaging. *Ann Neurol*, 2000, 47(4): 462~469 [\[DOI\]](#)
- Harris R J, Symon L. Extracellular pH, potassium, and calcium activities in progressive ischaemia of rat cortex. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1984, 4(2): 178~186
- Newland M C, Cox C, Hamada R, et al. The clearance of manganese chloride in the primate. *Fundam Appl Toxicol*, 1987, 9(2): 314~328
- Aschner M, Aschner J L. Manganese neurotoxicity: Cellular effects and blood-brain barrier transport. *Neurosci Biobehav Rev*, 1991, 15(3): 333~340
- Brurak H, Schjitt J, Berg K, et al. Manganese and the heart: acute cardiodepression and myocardial accumulation of manganese. *Acta Physiol Scand*, 1997, 159(1): 33~40 [\[DOI\]](#)
- Skjold A, Vangberg T, Kristoffersen A, et al. Preliminary experience with intracellular manganese ions as contrast agents in human myocardium. In the 12th Annual Meeting of International Society for Magnetic Resonance in Medicine. 2004. Kyoto, Japan.

(2004-02-17 收稿, 2004-05-14 收第 1 次修改稿,  
2004-08-03 收第 2 次修改稿)