基于11.7 T磁共振探索超短波对轻度创伤性脑损伤大鼠脑灰质体积的影响

马珩钞[1,5]，陈桂琳[1,5]，杨澳娇[1,5]，史旭东[1,5]，倪立桐[1,2]，宁亚蕾[3]，江小霞[4]，李世俊[2]，张　军[5]
[1]解放军医学院，北京　100853；[2]解放军总医院第一医学中心放射诊断科，北京　100853；[3]陆军军医大学陆军特色医学中心，重庆　400038；[4]军事科学院军事医学研究院，北京　100850；[5]解放军总医院第一医学中心神经外科，北京　100853

摘要：背景　轻度创伤性脑损伤(mild traumatic brain injury，mTBI)每年影响约4 200万人，已成为重大公共卫生负担。11.7 T超高场强磁共振技术为mTBI微结构动态追踪及修复机制解析提供了新策略。**目的**　基于11.7 T超高场强磁共振成像技术，探究超短波(ultrashort wave，USW)干预对mTBI大鼠脑灰质体积(gray matter volume，GMV)动态变化及神经行为功能的影响。**方法**　将45只雄性SD大鼠随机分为单纯损伤组(mTBI组)、超短波干预组(USW组)和对照组，每组各15只。通过单次冲击波建立mTBI模型，USW组接受超短波干预，对照组不进行损伤和干预。分别于造模后3～5 d (急性期)、2周(亚急性期)及1个月(慢性期)时行11.7 T磁共振T2加权像扫描，运用基于体素形态学测量(voxel-based morphometry，VBM)分析全脑GMV差异，同步进行旷场实验(open field test，OFT)和高架十字迷宫实验(elevated plus maze，EPM)评估大鼠的运动能力和焦虑样行为。**结果**　mTBI组在伤后3～5 d、2周和1个月时，GMV降低的差异团块数量分别为11、5和4个($P<0.05$)，均低于对照组，主要涉及前边缘系统、纹状体及顶叶联络皮质等脑区；USW干预可改善GMV萎缩，干预后各时间点mTBI组/USW组差异脑区中分别有4/6、3/4、2/3个团块GMV恢复($P<0.05$)；组内分析显示，mTBI组GMV在1个月内随时间逐渐恢复，而USW组GMV在2周时即达相对稳定水平。mTBI组3～5 d时运动能力下降(较对照组慢速运动时间比例增加，$P<0.01$)，伴随持续性焦虑样行为(较对照组开放臂区域活动降低，$P<0.05$)；USW组在2周时运动功能及焦虑样反应均增强(总路程及开放臂区域活动增加，$P<0.05$)，且1个月时焦虑指标与对照组比较无统计学差异($P>0.05$)，但mTBI组仍可见持续焦虑样行为(开放臂次数比例下降，$P<0.05$)。相关性分析发现，右侧前边缘系统(r=-0.631)及纹状体(r=-0.645) GMV减少与mTBI组慢速运动时间比例增加相关，左顶叶联络皮质GMV下降(r=0.727)与开放臂时间比例减少相关($P<0.05$)。**结论**　基于11.7 T磁共振数据进行VBM分析可敏感捕捉mTBI后灰质体积的动态演变。超短波可促进GMV恢复，并改善mTBI急性期运动障碍及慢性焦虑样行为，为临床mTBI精准康复提供了影像学与行为学双重证据。

关键词：创伤性脑损伤；超高场强磁共振；基于体素的形态学测量；超短波；行为学评估；大鼠
中图分类号：R642　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**2095-5227(2025)07-0680-10
DOI：10.12435/j.issn.2095-5227.24100803
引用本文：马珩钞，陈桂琳，杨澳娇，等.基于11.7　T磁共振探索超短波对轻度创伤性脑损伤大鼠脑灰质体积的影响［J］.解放军医学院学报，2025，46（7）：680-689.

Effects of ultra short wave therapy on gray matter volume in rat models of mild traumatic brain injury using 11. 7 T MRI

MA Hengchao[1,5], CHEN Guilin[1,5], YANG Aojiao[1,5], SHI Xudong[1,5], NI Litong[1,2], NING Yalei[3], JIANG Xiaoxia[4], LI Shijun[2], ZHANG Jun[5]
[1]Chinese PLA Medical School, Beijing 100853, China; [2]Department of Radiology, the First Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100853, China; [3]Army Medical Center, Army Medical University, Chongqing 400038, China; [4]Military Medical Research Institute of the Academy of Military Sciences, Beijing 100850, China; [5]Department of Neurosurgery, the First Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100853
Corresponding author: ZHANG Jun. Email: junzhang301@163.com

Abstract: Background　Mild traumatic brain injury (mTBI) affects approximately 42 million individuals annually, constituting a major global public health challenge. The 11.7T ultrahigh-field magnetic resonance imaging (MRI) offers novel strategies for tracking microstructural dynamics and elucidating repair mechanisms in mTBI. **Objective**　To investigate the effects of ultrashort wave (USW) intervention on dynamic gray matter volume (GMV) changes and neurobehavioral functions in mTBI rats

收稿日期：2024-10-08
第一作者：马珩钞，在读硕士。Email: mhcneuro@163.com
通信作者：张军，博士，主任医师，教授，博士生导师。Email: junzhang301@163.com

using 11.7T MRI. **Methods** Forty-five male Sprague-Dawley rats were randomly divided into mTBI group (single blast wave-induced mTBI model), USW group (mTBI with USW intervention), and control (Ctrl) group (no injury or intervention), with 15 rats in each group. Longitudinal 11.7T MRI T2-weighted imaging was performed during acute (3-5 days), subacute (2 weeks), and chronic (1 month) phases. Voxel-based morphometry (VBM) was applied to analyze whole-brain GMV alterations, while open field test (OFT) and elevated plus maze (EPM) were synchronously conducted to quantify locomotor activity and anxiety-like behaviors. **Results** Compared to the Ctrl group, the mTBI group exhibited significantly reduced GMV in 11, 5, and 4 clusters at 3-5 days, 2 weeks, and 1 month, respectively ($P<0.05$), predominantly involving the prelimbic system, striatum, and parietal associative cortex. USW intervention markedly attenuated GMV atrophy, with 4/6, 3/4, and 2/3 clusters showing GMV recovery at the corresponding time points ($P<0.05$). Longitudinal analysis revealed gradual GMV recovery in the mTBI group over 1 month, whereas the USW group achieved stable GMV levels by 2 weeks. The mTBI group displayed acute locomotor deficits (increased % slow movement time *vs* Ctrl, $P<0.01$) and persistent anxiety-like behaviors (reduced open-arm activity *vs* Ctrl, $P<0.05$). In contrast, the USW group showed significant improvements in locomotor function and anxiety-like responses by 2 weeks (increased total distance and open-arm activity, $P<0.05$), with anxiety indices normalizing to Ctrl levels at 1 month ($P>0.05$), while the mTBI group retained chronic anxiety (reduced open-arm entries, $P<0.05$). Correlation analysis identified significant associations between GMV reductions in the right prelimbic system (r=-0.631) and striatum (r=-0.645) with increased % slow-motion time, and between left parietal associative cortex GMV loss (r=0.727) and reduced open-arm time ($P<0.05$). **Conclusion** VBM analysis based on 11.7T MRI sensitively captures dynamic GMV evolution post-mTBI. USW intervention promotes GMV restoration, mitigates acute motor deficits, and alleviates chronic anxiety-like behaviors, thus providing dual imaging and behavioral evidence to support precision rehabilitation strategies for mTBI.

Keywords: mild traumatic brain injury; ultra-high field magnetic resonance imaging; voxel-based morphometry; ultrashort wave; behavioral assessment; rat

Cited as: Ma HCH, Chen GL, Yang AJ, et al. Effects of ultra short wave therapy on gray matter volume in rat models of mild traumatic brain injury using 11.7 T MRI[J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2025, 46(7): 680-689.

轻度创伤性脑损伤(mild traumatic brain injury，mTBI)每年影响约4 200万人，占所有脑损伤的80%～90%，已成为一个严重的公共卫生问题[1]。尽管被归类为“轻度”，但20%～30%的mTBI患者在伤后6个月仍存在头痛、认知障碍等症状，且与痴呆、帕金森病等神经精神疾病风险显著相关[2]。mTBI的病理机制复杂，早期因机械外力导致轴突损伤和代谢紊乱，随后引发神经炎症、氧化应激等次生损伤，远期可能导致脑白质微结构异常及神经退行性变[3]。目前mTBI的临床诊断依赖格拉斯哥昏迷评分(13～15分)、短暂意识丧失等主观指标，常规CT/MRI难以检测细微损伤，且症状(如头晕、记忆减退)缺乏特异性，易受患者心理状态等因素干扰[4]，有待探索更敏感的诊断方式。超高场强(≥7 T)磁共振技术凭借其显著提高的空间分辨率和信噪比，已被广泛应用于神经影像学研究。11.7 T超高场磁共振成像技术更可精确地解析脑微结构病变，是目前可及的较为先进的实验技术。基于体素的形态学测量(voxel-based morphometry，VBM)是一种基于高分辨率三维结构像来计算灰质体积(gray matter volume，GMV)的分析方法，可精准量化大脑形态学改变[5]。目前mTBI的治疗手段存在显著局限——药物因血脑屏障穿透率低、靶点单一而疗效不足[6]；物理疗法(如高压氧)虽能改善脑血流，但缺乏促进神经修复的分子证据[7]。超短波(ultrashort wave，USW)疗法在中枢神经系统损伤中可调控神经炎症、促进损伤修复[8]。但其在mTBI中的作用尚不明确。本研究建立mTBI大鼠模型，将超短波干预与11.7 T超高场强磁共振技术结合，分析3～5 d(急性期)、2周(亚急性期)及1个月(慢性期)时的GMV动态变化及行为学损害情况，并探索超短波干预对GMV的调控作用及行为学改善情况。通过关联分析寻找其促进神经功能康复的潜在靶点，为开发基于影像标志物的精准康复策略提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组与数据采集设计

本研究所有动物实验均经中国人民解放军军事医学研究院实验动物管理与使用委员会批准(批准号：IACUC-DWZX-2021-759)。实验选用45只2～3月龄(体质量250～350 g) SPF级健康雄性SD大鼠，均购自斯贝福(北京)生物技术有限公司。所有大鼠于军事医学研究院SPF级屏障环境中分笼饲养，环境温度20～25℃，相对湿度50%～60%，光照周期为12 h光照/12 h黑暗，自由摄食饮水，每周更换垫料2次。采用完全随机分组设计，通过随机数字表法将大鼠分为以下3组(每组15只)：mTBI组，仅建立mTBI模型，不接受其他干预；USW组，仿mTBI组建模，改良神经功能缺损评分(modified neurological severity score，mNSS)评估后接受超短波干预；对照组，仅接受相同的麻醉

与固定操作，不进行损伤(建模)和干预。以成功建模后为实验起点，分别在实验的3～5 d、2周和1个月时进行11.7 T磁共振数据采集及行为学评估。

1.2　mTBI大鼠模型建立与评估

采用陆军特色医学中心野战外科研究所的BST-I型生物激波管装置，根据既往研究及既往mTBI模型建立经验设置驱动压力5.0 MPa (超压峰值为328.04 kPa)，夹膜厚度4.0 mm + 4.0 mm，单次冲击波建模[9]。实验动物使用2.5%三溴乙醇，按照1.2 mL/100 g剂量腹腔注射麻醉后俯卧位水平放置于激波管内，左侧面对入射波。冲击波建模后采用mNSS评估大鼠的脑损伤程度。mNSS包括运动、感觉、平衡和反射4个方面，总分0～18分，1～6分定性为轻度损伤[10]。该方法建立的mTBI大鼠模型mNSS通常稳定在1～6分，损伤程度判定为轻度[9]。

1.3　超短波干预

在既往相关研究中，超短波干预疗法通常采用频率27.12 MHz、无热量档、1次/d、每次7～10 min、连续治疗1周的干预策略，并显示出良好的安全性和有效性[8,11]。为了在致伤后尽早捕捉mTBI大鼠急性期的影像学表现，同时兼顾超短波干预的早期有效性，本研究结合先前预实验情况，设计超短波干预方案如下：将清醒状态大鼠固定于大鼠固定器(深圳华阳，型号：18-7214)中，限制其头部活动，对USW组大鼠采用超短波治疗仪(汕头达佳，DL-CII)进行干预。使用前开机预热10 min。将两电极平行对置于大鼠头部两侧，距头皮约2 cm，选择无热量1档，频率为27.12 MHz。USW组大鼠于建模后开始治疗，1次/d，每次10 min，第1次数据采集前连续干预3次，第2次和第3次数据采集前均连续干预7次。对照组及mTBI组大鼠以同样的条件置于超短波治疗仪两电极间，但不开机。

1.4　11.7 T磁共振数据采集与数据预处理

所有扫描均在中国科学院生物物理研究所11.7 T动物临床前磁共振成像仪(Bruker 11.7 T BioSpec，德国，配备四通道容积发射线圈和2 × 2表面阵列接收线圈)进行。将大鼠放入5%异氟烷氧气麻醉诱导盒中进行麻醉诱导，诱导成功后将大鼠从诱导盒取出，快速将大鼠头部放置于麻醉面罩里固定。在磁共振扫描期间通过2%异氟烷氧气维持麻醉。扫描过程中持续监测呼吸和心率。T2加权成像采用快速自旋回波序列，参数：TR/TE=3 500/30 ms，回波链长度=8，视野35 mm × 35 mm，矩阵256×256，体素分辨率0.137 mm × 0.137 mm × 0.8 mm，层厚0.8 mm，非连续切片(间隙0.3 mm)。排除有图像伪影的大鼠数据，最终纳入的VBM分析的数量为对照组7例，mTBI组11例，USW组11例。用医学图像转换工具dcm2niix将原始DICOM格式的结构像数据转化成NIFTI格式的文件。将所有图像进行体素10倍放大。在MATLAB平台通过SPM12 + CAT12工具箱对T2结构像进行空间分割和空间标准化，获取灰质体积图。采用半高全宽(FWHM)为8 mm的各向同性高斯核对灰质体积图进行图像平滑。

1.5　行为学评估

旷场实验(open field test，OFT)：用于评估大鼠活动能力和焦虑样行为[12]。将100 cm × 100 cm × 40 cm的黑色敞箱按4 × 4平均划分成16宫格，中心4块区域设置为“中心区域”，其余为“外周区域”。将大鼠由中心区域放入5 min，应用VisuTrack软件(上海欣软)记录大鼠活动。评估的指标包括总路程(cm)、不动时间(%)、慢速运动时间(%)、快速运动时间(%)以及在中心区域的区域路程(cm)、区域时间(s)和进入次数。不动时间指活动速度＜0.5 cm/s的时间；慢速运动时间指活动速度为0.5～5 cm/s的时间；快速运动时间指速度＞15 cm/s的时间。

高架十字迷宫实验(elevated plus maze，EPM)：用于评估大鼠焦虑样行为[13]。实验装置由4个臂组成，臂长50 cm、宽10 cm，呈十字形交叉，每臂均与中心区域相通。其中两个相对的臂是封闭的，高30 cm，称为“闭合臂”，另两个臂称为“开放臂”。装置离地高度50 cm。将大鼠放置于中心区域，允许其自由探索5 min，并应用VisuTrack软件记录大鼠活动。评估指标包括总路程(cm)、进臂总次数、在开放臂中的区域路程(cm)、区域时间(s)、进入次数、开放臂次数比例(%)和开放臂时间比例(%)。大鼠在开放臂活动减少提示焦虑样行为。

1.6　统计学分析

采用MATLAB + SPM12软件对预处理后的数据进行全脑VBM分析，基于SIGMA图谱进行差异脑区汇报[14]，并用MRIcrooGL软件进行结果可视化。参考Ashburner和Friston[15]提出的VBM分析指南，对3组分别在3个时间点的数据进行单因素方差分析，阈值设置为voxel $P<0.01$，cluster size＞100，采用FWE方法进行多重比较校正。在

voxel $P<0.001$、cluster $P<0.05$、FWE校正的情况下分别对3组进行3个时间点的单因素方差分析。将差异脑区的值提取出来，组间采用独立样本t检验、组内采用配对样本t检验进行两两比较明确变化方向。行为学数据采用SPSS 26.0软件进行统计分析。数据服从正态分布时，采用单因素方差分析比较3组之间的均值差异，数据以$\bar{x}\pm s$表示。若方差齐，使用Bonferroni检验进行事后比较；若方差不齐，采用Welch检验比较组间的均值差异，并使用Games-Howell检验进行事后比较。若数据不服从正态分布，采用Kruskal-Wallis H检验比较3组间的中位数差异，数据以$M(IQR)$表示，并进行Dunn事后比较。另将VBM分析中提取出的差异团块GMV值与行为学指标进行关联分析。数据服从正态分布时采用Pearson相关，否则采用Spearman相关。统计绘图在GraphPad Prism 9.5中完成。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　VBM组间分析

(1) 3～5 d时。整体分析：发现14个差异团块，峰值点脑区分别位于左侧基底前脑区、右侧中脑导水管周围灰质、左侧内嗅皮质、右侧前边缘系统、右侧纹状体、左侧胼胝体和相关皮质下白质、右外侧次级视觉皮质、左侧海马CA3区、右侧嗅球小球层、左侧初级躯体感觉皮质异颗粒区、左外侧顶叶联络皮质、右侧次级运动皮质、左侧初级运动皮质和左侧中外侧次级视觉皮质。事后分析：发现mTBI组与对照组有11个差异团块的GMV值存在统计学差异($P<0.05$)，其中有10个为mTBI组＜对照组；mTBI组与USW组有6个差异团块的GMV值存在统计学差异($P<0.05$)，其中有4个为mTBI组＜USW组(表1，图1，图2)。

(2) 2周时。整体分析：发现8个差异团块，峰值点脑区分别位于右侧纹状体、右侧海马CA3区、左侧海马齿状回、右侧无颗粒岛叶皮质、右侧初级躯体感觉桶状皮质、左侧次级听觉皮质背侧部、左侧前边缘系统和右侧初级运动皮质。事后分析：发现mTBI与对照组有5个差异团块的GMV值存在统计学差异($P<0.05$)，其中有4个为mTBI组＜对照组；mTBI组与USW组有4个差异团块的GMV值存在统计学差异($P<0.05$)，其中有3个为mTBI组＜USW组(表2，图3，图4)。

(3) 1个月时。整体分析：发现6个差异团块，峰值点脑区分别位于右侧内嗅皮质、左侧纹状体、左外侧内嗅皮质、左侧纹状体、右侧下行离皮质通路与苍白球和右侧无颗粒岛叶皮质。事后分析：发现mTBI组与对照组有4个差异团块的GMV值存在统计学差异($P<0.05$)，且均为mTBI组＜对照组；mTBI组与USW组有3个差异团块的GMV值存在统计学差异($P<0.05$)，其中有2个为mTBI组＜USW组(表3，图5，图6)。

表1　3～5 d时3组大鼠VBM方差分析结果

Tab. 1　Results of VBM ANOVA for rats in the three groups at 3 - 5 days

团块	峰值点脑区	MNI峰值坐标			F值	团块体素数
		X	Y	Z		
1	左侧基底前脑区	-1.20	-1.215	0.79	9.033	218
2	右侧中脑导水管周围灰质	0.60	1.185	-4.01	11.594	1 290
3	左侧内嗅皮质	-3.30	-0.615	1.69	6.970	261
4	右侧前边缘系统	2.85	1.035	3.34	7.239	225
5	右侧纹状体	5.10	1.185	-2.21	12.933	1 065
6	左侧胼胝体和相关皮质下白质	-4.95	2.235	-7.46	10.649	465
7	右外侧次级视觉皮质	5.40	3.435	-6.86	11.073	174
8	左侧海马CA3区	-2.40	3.435	-1.91	12.955	207
9	右侧嗅球小球层	0.00	4.035	8.14	11.992	142
10	左侧初级躯体感觉皮质异颗粒区	-5.55	5.385	0.19	8.465	182
11	左外侧顶叶联络皮质	-4.80	6.435	-2.36	11.169	488
12	右侧次级运动皮质	1.20	6.135	2.74	8.621	258
13	左侧初级运动皮质	-2.10	6.135	3.34	7.155	102
14	左侧中外侧次级视觉皮质	-2.55	7.035	-7.01	9.453	152

团块体素数＞100，体素比较的$P<0.01$(经FWE校正)。

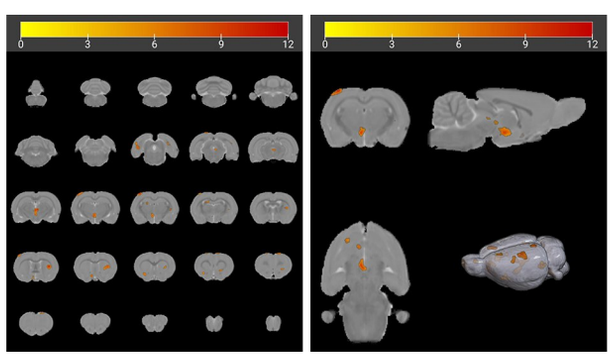


图1　3～5 d时3组大鼠间的差异团块脑图

Fig. 1　Brain map of significant clusters among the three groups at 3-5 days

2.2　VBM组内分析

(1) 对照组：组内分析发现1个差异团块，峰值点脑区位于左侧纹状体。事后分析发现1个月时

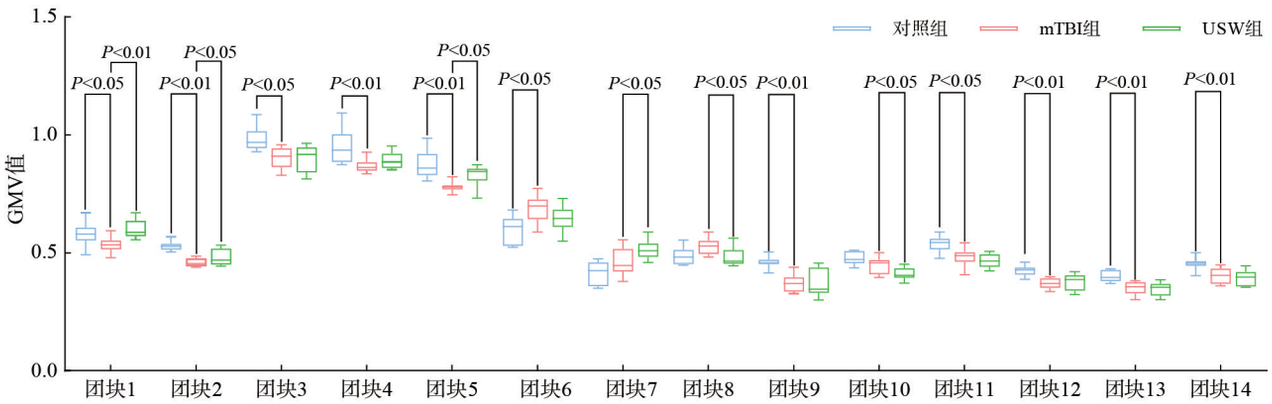


图 2　3～5 d时3组大鼠间各差异团块事后分析结果

Fig. 2　Post hoc analysis of each significant cluster among the three groups at 3-5 days

表 2　2周时3组大鼠VBM方差分析结果

Tab. 2　Results of VBM ANOVA for rats in the three groups at 2 weeks

团块	峰值点脑区	MNI峰值坐标			*F*值	团块体素数
		X	Y	Z		
1	右侧纹状体	1.05	-0.765	1.69	15.475	1 345
2	右侧海马CA3区	4.65	2.685	-4.46	21.200	1 011
3	左侧海马齿状回	-4.35	1.335	-5.51	10.315	128
4	右侧无颗粒岛叶皮质	3.30	2.685	3.94	7.597	118
5	右侧初级躯体感觉桶状皮质	3.90	4.785	-2.51	11.708	517
6	左侧次级听觉皮质背侧部	-7.50	3.135	-3.11	15.451	478
7	左侧前边缘系统	-0.15	3.135	1.84	12.535	678
8	右侧初级运动皮质	2.55	5.985	2.89	8.110	148

团块体素数＞100，体素比较的P＜0.01(经FWE校正)。

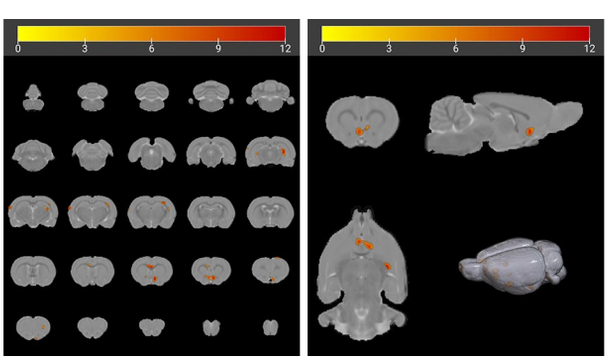


图 3　2周时3组大鼠间的差异团块脑图

Fig. 3　Brain map of significant clusters among the three groups at 2 weeks

GMV高于3～5 d和2周时(P＜0.05)(表4，图7，图8)。

(2) mTBI组：组内分析发现5个差异团块，峰值点脑区分别为右侧下丘脑、左侧下托、左侧纹状体、左侧前边缘系统和右侧纹状体。事后分析发现2周时与3～5 d时有4个差异团块的GMV值存在统计学差异(P＜0.05)，且均为2周时＞3～5 d

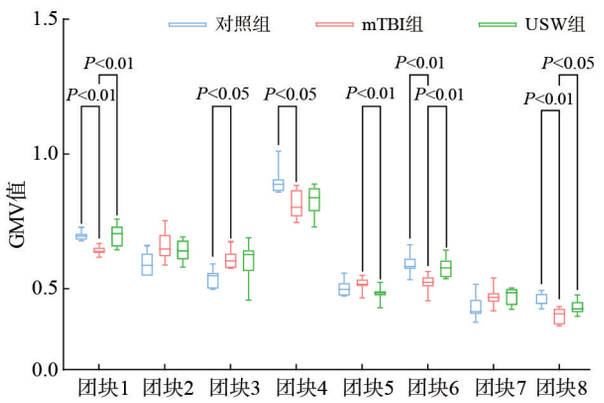


图 4　2周时3组大鼠间各差异团块事后分析结果

Fig. 4　Post hoc analysis of each significant cluster among the three groups at 2 weeks

表 3　1个月时3组大鼠VBM方差分析结果

Tab. 3　Results of VBM ANOVA for rats in the three groups at 1 month

团块	峰值点脑区	MNI峰值坐标			*F*值	团块体素数
		X	Y	Z		
1	右侧内嗅皮质	3.45	-2.715	-2.96	7.1544	116
2	左侧纹状体	-4.05	-0.915	-0.56	9.315	536
3	左外侧内嗅皮质	-7.05	-1.665	-5.36	7.165	180
4	左侧纹状体	-0.60	-0.165	2.14	10.487	724
5	右侧下行离皮质通路与苍白球	4.35	0.135	-2.21	13.346	268
6	右侧无颗粒岛叶皮质	3.15	2.685	3.94	9.478	255

团块体素数＞100，体素比较的P＜0.01(经FWE校正)。

时；1个月时与2周时有4个差异团块的GMV值存在统计学差异(P＜0.05)，且均为1个月时＞2周时(表5，图9，图10)。

(3) USW组：组内分析发现5个差异团块，峰值点脑区分别为左侧内嗅皮质、右侧基底前脑区、右侧纹状体、左侧初级视觉皮质双眼区和左侧海马CA3区。事后分析发现2周时与3～5 d时有5个

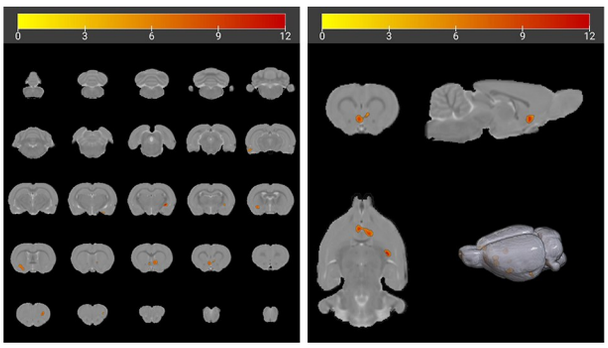


图 5 1个月时3组大鼠间的差异团块脑图

Fig. 5 Brain map of significant clusters among the three groups at 1 month

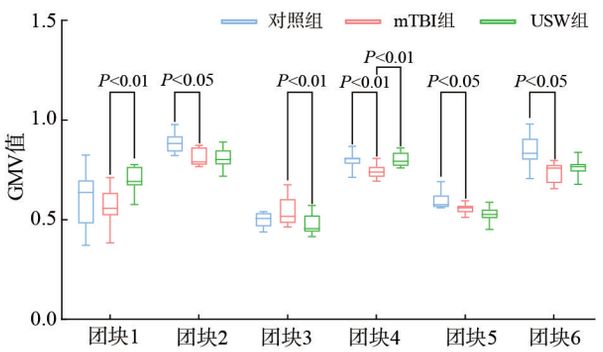


图 6 1个月时3组大鼠间各差异团块事后分析结果

Fig. 6 Post hoc analysis of each significant cluster among the three groups at 1 month

表 4 对照组大鼠3个时间节点间的VBM方差分析结果

Tab. 4 Results of VBM ANOVA among the three sessions in the Ctrl group

团块	峰值点脑区	MNI峰值坐标			F值	团块体素数
		X	Y	Z		
1	左侧纹状体	-5.10	-0.015	-1.01	27.655	1 846

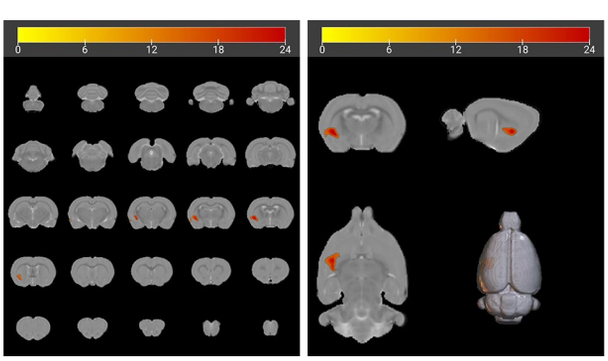


图 7 对照组大鼠3个时间节点间的差异团块脑图

Fig. 7 Brain map of significant clusters among the three sessions in the Ctrl group

差异团块的GMV值存在统计学差异($P<0.05$)，其中有4个为2周时>3～5 d时；1个月时与2周时各差异团块的GMV值均无统计学差异($P>0.05$)(表6，图11，图12)。

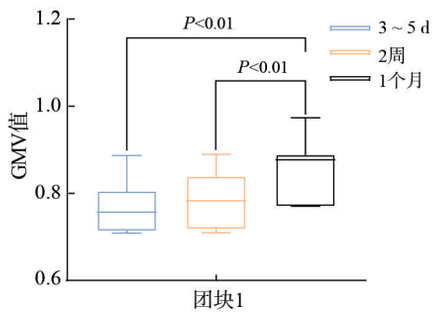


图 8 对照组3个时间节点间差异团块事后分析结果

Fig. 8 Post hoc analysis among the three sessions in the Ctrl group

表 5 mTBI组大鼠3个时间节点间的VBM方差分析结果

Tab. 5 Results of VBM ANOVA among the three sessions in the mTBI group

团块	峰值点脑区	MNI峰值坐标			F值	团块体素数
		X	Y	Z		
1	右侧下丘脑	0.00	-1.215	-1.91	15.485	633
2	左侧下托	-2.10	4.035	-5.36	33.599	2 397
3	左侧纹状体	-4.95	-0.165	-2.51	15.835	1 663
4	左侧前边缘系统	-2.40	0.435	2.59	28.552	1 318
5	右侧纹状体	3.75	1.035	1.09	26.401	926

团块体素数>100，体素比较的$P<0.01$(经FWE校正)。

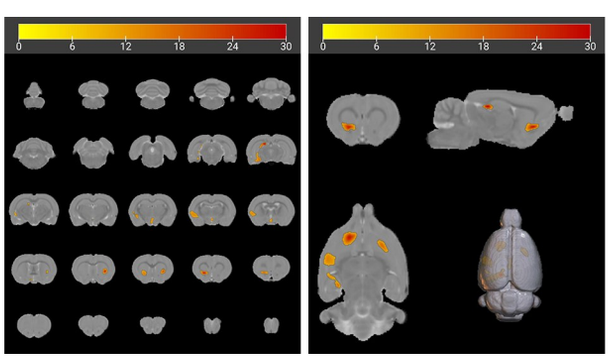


图 9 mTBI组大鼠3个时间节点间的差异团块脑图

Fig. 9 Brain map of significant clusters among the three sessions in the mTBI group

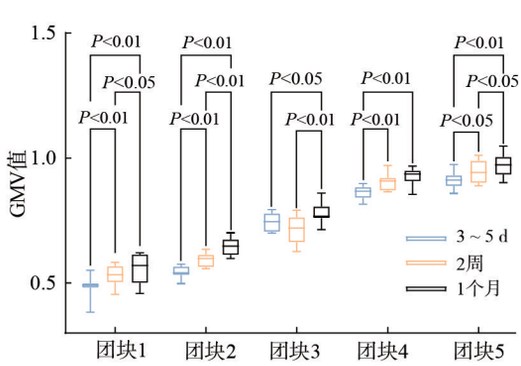


图 10 mTBI组3个时间节点间各差异团块事后分析结果

Fig. 10 Post hoc analysis among the three sessions in the mTBI group

表 6　USW组大鼠3个时间节点间的VBM方差分析结果

Tab. 6　Results of VBM ANOVA among the three sessions in the USW group

团块	峰值点脑区	MNI峰值坐标			F值	团块体素数
		X	Y	Z		
1	左侧内嗅皮质	-4.20	-2.565	-0.11	14.390	528
2	右侧基底前脑区	0.30	-0.465	2.44	52.892	805
3	右侧纹状体	3.60	1.485	1.24	25.797	1 956
4	左侧初级视觉皮质双眼区	-4.95	4.185	-7.31	21.548	1 055
5	左侧海马CA3区	-4.05	3.735	-3.26	39.611	564

团块体素数＞100，体素比较的P＜0.01(经FWE校正)。

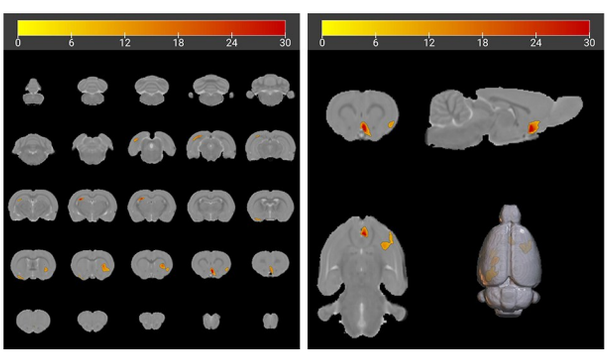


图 11　USW组大鼠3个时间节点间的差异团块脑图

Fig. 11　Brain map of significant clusters among the three sessions in the USW group

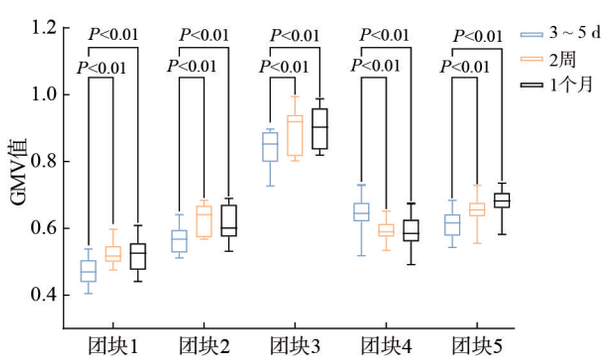


图 12　USW组3个时间节点间各差异团块事后分析结果

Fig. 12　Post hoc analysis among the three sessions in the USW group

2.3　行为学差异

2.3.1　旷场实验　(1) 3～5 d时：对照组、mTBI组和USW组的慢速运动时间比例分别为23.96%±5.26%、30.31%±2.81%、29.33%±6.26%，进行单因素方差分析，F=7.040，P=0.002。两两比较结果显示，mTBI组慢速运动时间比例显著高于对照组(P=0.001)，提示mTBI组运动能力相比对照组有所下降；USW组慢速运动时间比例显著高于对照组(P=0.043)，提示此时USW组运动能力相比对照组有所下降(表7，图13A)。将VBM分析中得到的3～5 d时mTBI组降低/升高的11个差异团块GMV值逐一与3～5 d时mTBI组慢速运动时间比例进行相关性分析，结果提示mTBI组的慢速运动时间比例与右侧前边缘系统(r=−0.631，P=0.037)和右侧纹状体(r=−0.645，P=0.032) GMV呈显著负相关，即mTBI组大鼠其慢速运动时间比例增加可能与右前边缘系统及右侧纹状体GMV下降存在相关性(图13B，图13C)。

(2) 2周时：mTBI组的中心区域路程、中心区域时间、中心区域进入次数相比对照组均显著下降(P＜0.05)，提示此时mTBI大鼠存在焦虑反应。而USW组的中心区域路程、中心区域时间、中心区域进入次数相比mTBI组均显著升高(P＜0.05)，相比对照组无统计学差异(P均＞0.05)，提示超短波疗法可显著改善mTBI大鼠的焦虑反应。USW组的总路程和快速运动时间比例均显著高于mTBI组，不动时间比例显著低于mTBI组(P＜0.05)。上述结果均提示经超短波干预后大鼠有更强的活动能力(表7，图13D～图13I)。

(3) 1个月时：3组大鼠间各指标均差异统计学意义(P＞0.05)。

2.3.2　高架十字迷宫实验　(1) 3～5 d时：mTBI组和USW组的开放臂时间比例均小于对照组(P＜0.05)，且USW组开放臂次数比例小于对照组，mTBI组与对照组虽无统计学差异(P＞0.05)，但对比数据可见mTBI组的开放臂次数比例显著小于对照组。以上数据表明在3～5 d时，mTBI大鼠相比正常对照大鼠表现出焦虑反应。此时急性期超短波干预尚未表现出明显改善结果(表8，图14A，图14B)。另外，将VBM分析中得到的3～5 d时mTBI组降低/升高的11个差异团块GMV值逐一与3～5 d时mTBI组开放臂次数比例和开放臂时间比例进行相关性分析，结果发现mTBI组的开放臂时间比例与左外侧顶叶联络皮质GMV呈显著正相关(r=0.727，P=0.014)，即mTBI组大鼠开放臂时间比例降低可能与左外侧顶叶联络皮质GMV下降存在显著相关性(图14C)。

(2) 2周时：USW组大鼠的开放臂区域路程、开放臂区域时间、开放臂进入次数、开放臂次数比例和时间比例均＞mTBI组(P＜0.05)，表现出更佳的运动表现。但mTBI组与对照组间各指标均无统计学差异(P＞0.05)(表8，图14D～图14G)。

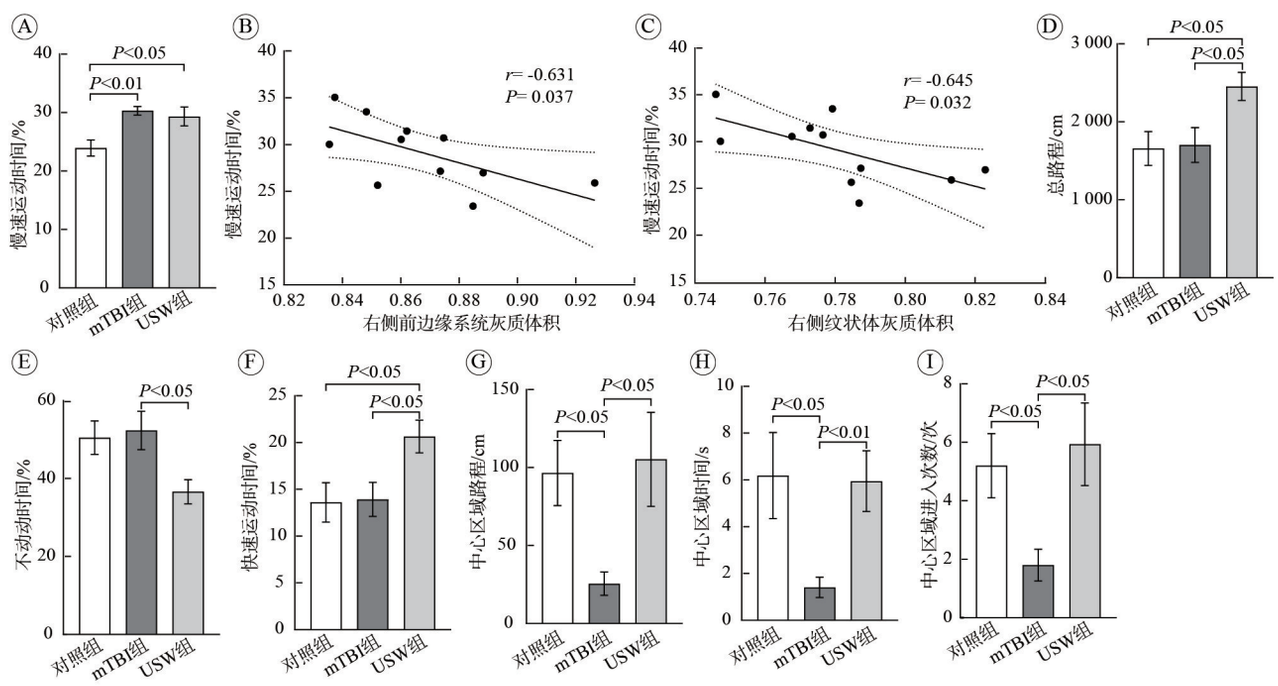
(3) 1个月时：mTBI组大鼠开放臂次数比例小

表 7　3组大鼠在不同时间节点的旷场实验显著性差异

Tab. 7　Significant differences in OFT among the three groups

时间	行为学指标	对照组(n=15)	mTBI组(n=15)	USW组(n=15)	*H*/*F*值	*P*值
3～5 d	慢速运动时间/(%，$\bar{x}\pm s$)	23.96±5.26	30.31±2.81[a]	29.33±6.26[a]	7.040	0.002
2周	总路程/[cm，*M*(*IQR*)]	1 644.08 (1 005.24～2 437.62)	1 852.49 (690.09～2 409.29)	2 593.00 (2 046.50～2 991.83)[ab]	8.991	0.011
	不动时间/[%，*M*(*IQR*)]	51.41(33.54～65.10)	48.11(35.58～72.85)	33.73(28.36～37.79)[b]	7.850	0.020
	快速运动时间/(%，$\bar{x}\pm s$)	13.62±8.14	13.94±7.02	20.66±6.77[ab]	4.408	0.018
	中心区域路程/[cm，*M*(*IQR*)]	74.92(23.85～145.67)	16.8(0.00～56.63)[a]	78.73(27.38～130.77)[b]	10.676	0.005
	中心区域时间/[s，*M*(*IQR*)]	3.46(2.08～7.20)	0.93(0.00～2.18)[a]	5.16(1.67～9.11)[b]	11.811	0.003
	中心区域进入次数/[次，*M*(*IQR*)]	5(1～8)	1(0～3)[a]	4(2～10)[b]	9.253	0.010

[a]$P<0.05$，*vs* 对照组；[b]$P<0.05$，*vs* mTBI组。



A：3～5 d时3组大鼠间慢速运动时间(%)差异；B、C：3～5 d时mTBI组右侧前边缘系统和右侧纹状体GMV与慢速运动时间(%)相关性分析；D～I：2周时3组大鼠间总路程、不动时间(%)、快速运动时间(%)、中心区域路程、中心区域时间和中心区域进入次数差异。

图 13　旷场实验分析结果

Fig. 13　Results of open field test analysis

于对照组($P<0.05$)，其开放臂时间比例也似乎小于对照组。USW组各指标与mTBI组和对照组相比均无统计学差异($P>0.05$)，但观察数据可见USW组的开放臂时间比例呈现出大于mTBI组的趋势($P=0.30$)，但开放臂次数比例仍稍低于对照组($P=0.08$)。以上结果提示在1个月时(慢性期)mTBI大鼠相比正常对照大鼠仍可见焦虑反应，而经超短波干预的大鼠焦虑反应有所改善(表8，图14H，图14I)。

3　讨论

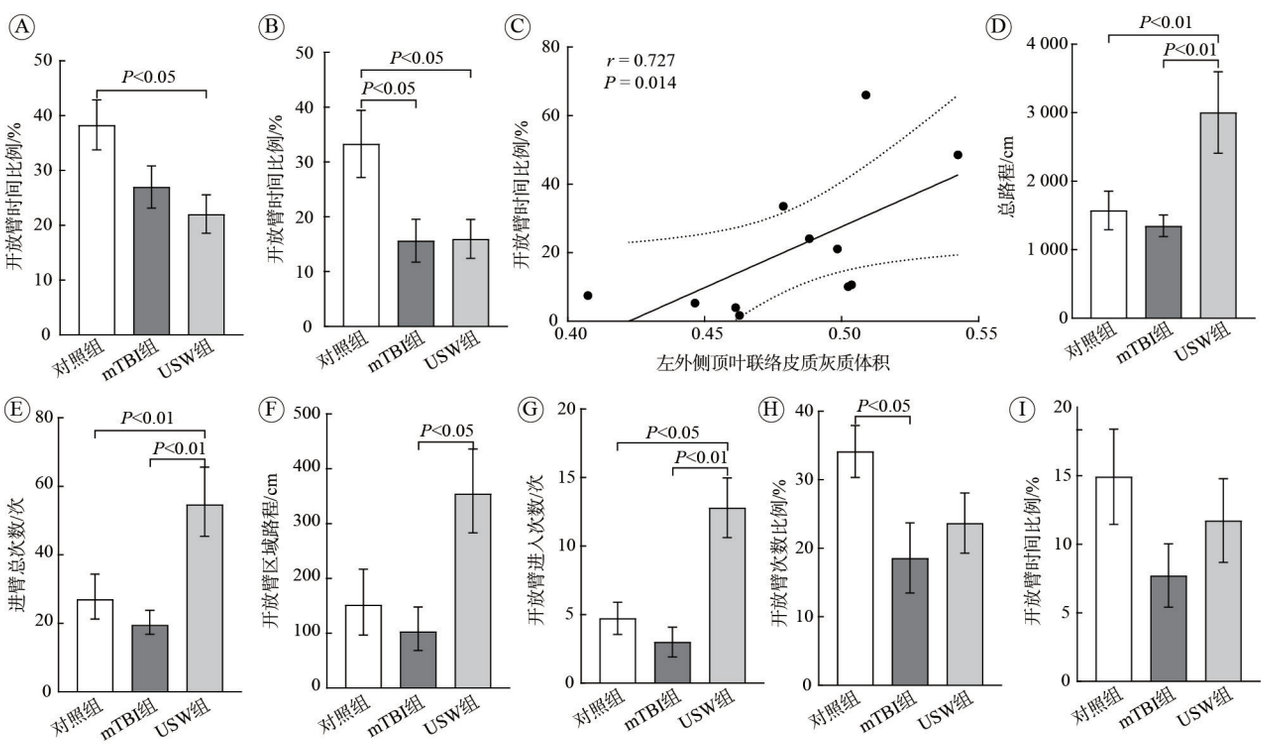
mTBI因早期症状隐匿、常规影像及生物标志物检测不敏感，常被漏诊，增加了远期神经退行风险，亟需高灵敏度诊断技术[16]。既往研究表明，mTBI后GMV的异常具有显著的时空异质性。Hellewell等[17]对12名检查前6个月内经历过爆炸致神经损伤(blast-induced neurotrauma，BINT)的军事人员进行全脑VBM分析，发现与对照组(n=8)相比，BINT组的GMV广泛显著下降，特别是在颞叶、楔前叶和丘脑。Killgore等[18]纳入了伤后2周(n=2)、1个月(n=6)、3个月(n=5)、6个月(n=10)和1年(n=3)的mTBI患者及12名健康对照者，通过VBM分析，发现受伤后时间越长，腹内侧前额叶和右侧梭状回的GMV越大，甚至可显著大于健康对照组，可能是由于参与情绪调节的皮质区域的代偿性重塑。Babu Henry Samuel等[19]对88例TBI

表 8　3组大鼠在不同时间节点的高架十字迷宫实验显著性差异

Tab. 8　Significant differences in EPM among the three groups

时间	行为学指标	对照组(n=15)	mTBI组(n=15)	USW组(n=15)	*H*/*F*值	*P*值
3～5 d	开放臂次数比例/(%，$\bar{x}\pm s$)	38.32±17.63	27.01±14.98	22.08±13.56[a]	4.340	0.019
	开放臂时间比例/[%，*M*(*IQR*)]	30.39(13.94～48.16)	10.12(3.99～24.08)[a]	17.77(3.21～25.19)[a]	6.514	0.038
2周	总路程/[cm，*M*(*IQR*)]	1 290.38 (892.08～1 931.94)	1 445.93 (966.85～1 930.89)	2 166.38 (1 946.88～2 898.66)[ab]	19.535	＜0.001
	进臂总次数/[次，*M*(*IQR*)]	19(13～30)	19(5～30)	43(34～59)[ab]	18.512	＜0.001
	开放臂区域路程/[cm，*M*(*IQR*)]	26.86(0.00～264.03)	12.14(0.00～222.68)	317.76(77.91～714.59)[b]	7.756	0.021
	开放臂进入次数/[次，*M*(*IQR*)]	4(0～7)	2(0～4)	15(5～22)[ab]	13.287	0.001
1个月	开放臂次数比例/[%，*M*(*IQR*)]	32.26(20.00～46.67)	11.11(0.00～35.71)[a]	20.00(9.09～42.86)	6.213	0.045
	开放臂时间比例/[%，*M*(*IQR*)]	8.60(4.73～28.60)	3.99(0.00～16.66)	9.60(3.14～15.44)	3.694	0.158

[a]$P<0.05$，*vs* 对照组；[b]$P<0.05$，*vs* mTBI组。



A、B：3～5 d时3组大鼠间开放臂次数比例(%)和开放臂时间比例(%)差异；C：3～5 d时mTBI组左外侧顶叶联络皮质GMV与开放臂时间比例(%)的相关性分析；D～G：2周时3组大鼠间总路程、进臂总次数、开放臂区域路程和开放臂进入次数差异；H、I：1个月时3组大鼠间开放臂次数比例(%)和开放臂时间比例(%)差异。

图 14　高架十字迷宫实验分析结果

Fig. 14　Results of elevated plus maze test analysis

患者进行VBM分析后发现，较高的匹兹堡睡眠质量指数总分(睡眠质量差)与较低的小脑GMV显著相关，提示mTBI后GMV变化可能与神经功能障碍存在关联。现有研究多聚焦于mTBI慢性期病理特征，对急性至亚急性期GMV动态演变及其与神经功能障碍的脑区相关性缺乏系统探讨。本研究基于USW干预的潜在疗效，结合11.7 T超高场强磁共振成像技术超高空间分辨率的优势，分析mTBI的GMV演变特征，并探索USW干预对mTBI后GMV的调节作用。

本研究发现，3～5 d时(急性期)，相比对照组大鼠，mTBI组大鼠GMV显著下降、运动能力受损，并伴随持续性焦虑样反应。在mTBI后2周(亚急性期)和1个月(慢性期)时，大鼠的运动能力未见显著下降，且GMV逐渐恢复，该变化可能与神经可塑性、胶质细胞活化及炎症反应的消退有关[20-21]。相关性分析发现，OFT慢速运动时间比例增加与右侧前边缘系统和右侧纹状体GMV下降显

著相关，提示这些脑区体积减小可能与运动能力下降和焦虑样行为有关。EPM实验开放臂时间比例下降与左外侧顶叶联络皮质GMV下降显著相关，可能反映该脑区在空间探索和情绪调节中的作用。回顾既往研究发现，前边缘系统能通过多巴胺能调节运动，其与运动皮质的功能连接增强可改善运动能力[22]；焦虑障碍中，前额叶-边缘系统静息态活动异常(如杏仁核-前额叶连接减弱)是核心特征[23]；黑质-纹状体通路是中枢神经系统中重要的多巴胺能通路，参与运动控制等，其多巴胺能信号异常直接导致帕金森病。此外，前额叶-纹状体环路异常可同时影响运动控制(如自闭症重复行为)和焦虑样行为，凸显二者神经机制的紧密关联[24-25]；顶叶联络皮质整合感觉-运动信息以协调运动计划，并通过与前额叶及边缘系统连接异常参与焦虑环路调控[26]。综上，前边缘系统、纹状体、顶叶联络皮质参与运动控制和情绪调节，支持本研究中上述脑区GMV减少与行为学指标异常的相关性。同时，本研究发现mTBI大鼠GMV呈现动态演变的病理过程，不同时间点的峰值点脑区并不完全重叠。因此，对于mTBI的研究不应仅局限于伤后早期(如1周内)，还应关注其动态演变特征。

mTBI目前缺乏有效的干预措施。近年来，低剂量超短波疗法已在多种急性炎症的治疗中取得了良好的效果，其作用机制主要为抑制炎症、消除水肿、改善血液循环和促进神经再生等[27-28]。该疗法目前已证实可改善轻度脊髓损伤大鼠的免疫微环境，降低TNF-α和IL-1β的表达，改善大鼠的运动功能，并且其损伤修复效果可能与干细胞治疗的效果类似甚或更佳[29]。另有研究发现，低剂量超短波疗法可改善控制性皮质冲击(controlled cortical impact，CCI)小鼠的运动功能、空间记忆能力和焦虑情绪[8]。本研究通过组间分析发现，在实验3～5 d、2周和1个月时，USW组均有多数差异团块的GMV值较mTBI组升高。在组内分析中，USW组共发现5个差异团块，在2周/1个月间各差异团块的GMV值均无统计学差异，但mTBI组仍有4个差异团块的GMV值在2周时低于1个月时，提示低剂量超短波可以促进mTBI后GMV的恢复。有研究指出mTBI亚急性期GMV减少与水肿消退和神经退变相关，而超短波可能通过抗炎和神经营养支持减缓这一过程[30]。另外，行为学评估发现，经超短波干预后，2周时(亚急性期) mTBI大鼠运动能力显著改善，且在2周(亚急性期)及1个月(慢性期)时mTBI大鼠仍可见焦虑反应，而经超短波干预的mTBI大鼠未见明显焦虑反应。

本研究的局限性包括样本量不均衡、尚未结合分子病理学验证及麻醉干扰未排除，后续研究拟结合多模态成像技术、组织病理学检测及长期追踪完善机制研究，进一步明确超短波作用的关键靶区及调控通路。

综上，本研究基于11.7 T MRI的VBM分析揭示mTBI大鼠全脑GMV动态演变规律：3～5 d (急性期)前边缘系统、纹状体及顶叶联络皮质等广泛脑区GMV显著下降，且可能与运动迟缓和焦虑样行为相关；超短波干预在2周时(亚急性期)即促进纹状体等脑区GMV恢复，并显著改善运动探索能力及焦虑样行为；至1个月时(慢性期)，mTBI组仍存在纹状体GMV持续性下降。本研究通过全脑GMV时空动态分析及行为学评估初步验证了超短波促进mTBI康复的效果，为临床前研究提供了影像学证据，但未来需通过进一步生物学验证推动其临床转化。

作者贡献 马珩钞：数据分析，论文撰写；陈桂琳、杨澳娇：数据采集；史旭东、倪立桐：审读和修订；宁亚蕾、江小霞、李世俊、张军：监督指导。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突。

数据共享声明 本论文相关数据可依据合理理由从作者处获取，Email：mhcneuro@163.com。

参考文献

1 Hoogenboom WS，Branch CA，Lipton ML. Animal models of closed-skull，repetitive mild traumatic brain injury［J］. Pharmacol Ther，2019，198：109-122.

2 Howlett JR，Nelson LD，Stein MB. Mental health consequences of traumatic brain injury［J］. Biol Psychiatry，2022，91（5）：413-420.

3 Adams C，Bazzigaluppi P，Beckett TL，et al. Neurogliovascular dysfunction in a model of repeated traumatic brain injury［J］. Theranostics，2018，8（17）：4824-4836.

4 Schmid W，Fan YY，Chi TY，et al. Review of wearable technologies and machine learning methodologies for systematic detection of mild traumatic brain injuries［J］. J Neural Eng，2021，18（4）：041006.

5 沈善昌，姜兴岳. 基于体素的形态学测量在认知障碍相关疾病中的研究进展［J］. 磁共振成像，2019，10（11）：851-854.

6 Deselms H，Maggio N，Rubovitch V，et al. Novel pharmaceutical treatments for minimal traumatic brain injury and evaluation of animal models and methodologies supporting their development［J］. J Neurosci Methods，2016，272：69-76.

（下转第698页）