

论 著

艾司氯胺酮对清醒小鼠
大脑活动剂量依赖性影
响的MRI特征研究*

刘正来 张京硕 郑育娟

敖 利*

唐山市妇幼保健院 (河北唐山 063000)

【摘要】目的 评估艾司氯胺酮对清醒小鼠大脑活动剂量依赖性影响。方法 小鼠分别给药1.0、3.3或10mg/kg艾司氯胺酮，并在给药后10分钟成像记录MRI小鼠脑图谱。从图谱中提取134个不同脑区域的特定位置信息，包括血氧水平依赖性(BOLD)阳性和阴性信号区域。结果 许多区域如皮质、海马体和丘脑表现出剂量依赖性的BOLD阳性信号减少。在比较三种剂量时，最常见的特征是U形，其中3.3剂量的信号变化最小。在1.0mg/kg时，前脑区和海马区的阳性BOLD显著增加。BOLD预期的剂量依赖性增加没有实现；相反，最低剂量1.0 mg/kg对大脑活动的影响最大。前额叶皮层和海马体被显著激活，证实了先前在人类和动物中的成像研究。结论 1.0 mg/kg的艾司氯胺酮敏感性可以通过完全清醒小鼠对抗N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)受体亲和力比艾司氯胺酮更强来解释。

【关键词】艾司氯胺酮；小鼠；血氧水平依赖性；N-甲基-D-天冬氨酸受体

【中图分类号】R445.2

【文献标识码】A

【基金项目】2022年度河北省医学科学研究课题(20221752)

DOI:10.3969/j.issn.1672-5131.2025.02.059

MRI Study of Dose-dependent Effects of Esketamine on Brain Activity in Awake Mice*

LIU Zheng-lai, ZHANG Jing-shuo, ZHENG Yu-juan, AO Li*.

Tangshan Maternal and Child Health Hospital, Tangshan 063000, Hebei Province, China

ABSTRACT

Objective This study was conducted to evaluate the dose-dependent effects of esketamine on brain activity in awake mice. **Methods** Mice were given 1.0, 3.3 or 10 mg/kg esketamine, respectively, and the MRI brain map of mice was recorded 10 minutes after administration. Location-specific information was extracted from 134 different brain regions, including blood oxygen level dependent (BOLD) positive and negative signal regions. **Results** Many regions such as the cortex, hippocampus, and thalamus showed dose-dependent decreases in BOLD positive signals. When comparing the three doses, the most common feature is a U-shape, with 3.3 doses showing the least variation in signal. At 1.0 mg/kg, positive BOLD increased significantly in the forebrain and hippocampus. The expected dose-dependent increase in BOLD did not materialize; In contrast, the lowest dose of 1.0 mg/kg had the greatest effect on brain activity. The prefrontal cortex and hippocampus were significantly activated, confirming previous imaging studies in humans and animals. **Conclusion** 1.0 mg/kg esketamine sensitivity can be explained by a stronger affinity for the N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) receptor than esketamine in fully awake mice.

Keywords: Esketamine; Mice; Blood Oxygen Level Dependence; N-methyl-d-aspartate Receptor

氯胺酮对大脑的作用机制导致难治性抑郁症(TRD)的缓解还没有完全阐明^[1]，有研究表明前额叶皮层和海马体可能受到药物的影响^[2]。艾司氯胺酮是一种混杂的分子，被认为N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)拮抗剂，但对血清素、多巴胺、胆碱能和阿片受体具有显著的亲和力^[3]。艾司氯胺酮在广泛的剂量范围内具有活性，在动物中具有不同的行为效应，从低剂量范围(1mg/kg)增强运动活动到高剂量范围(30 mg/kg)的抗抑郁、镇痛、拟精神和麻醉作用^[4]。虽然已经对清醒和麻醉动物的艾司氯胺酮进行了几项成像研究，重点关注与高剂量范围相关的大脑活动，但尚无观察艾司氯胺酮低剂量效应研究，且未有在清醒小鼠上使用血氧水平依赖(BOLD)药理学磁共振成像(phMRI)进行测试^[5]。因此，本研究旨在评估艾司氯胺酮对清醒小鼠大脑活动剂量依赖性影响。

1 资料与方法

1.1 动物资料 雄性C57BL/J6小鼠(n=32)，约100日龄，体重在28~30g之间，小鼠维持在12:12 h的光-暗循环中，允许自由获取食物和水。所有小鼠均按照指南进行饲养和照料，并遵守医院动物伦理委员会的规定。将小鼠随机分为生理盐水组、1.0、3.3、10mg/kg艾司氯胺酮组。

1.2 研究方法 艾司氯胺酮从西格玛化学公司购买，溶于0.9%的氯化钠，用于注射。在第一次成像前一周，小鼠首先在1%-2%异氟醚麻醉下被固定在保持系统中。在恢复意识后，小鼠被放置在模拟核磁共振扫描仪环境中30分钟，在连续四天时间里重复方案，以减少清醒动物成像期间自主神经系统诱导的影响(例如心率、呼吸、皮质类固醇水平和运动的变化)，提高图像质量。

随后小鼠被随机分为四组，每组8只。MRI脉冲序列(18层；0.75 mm；视野1.8cm²；数据矩阵128×128；TR2.1 S；TE 12.4ms；Effect TE 48 ms；NEX6；6.5min采集时间)收集高分辨率解剖数据集。功能图像采集采用HASTE脉冲序列(18层；0.75 mm；视野1.8 cm；数据矩阵96×96；TR6 S；TE 4ms；有效TE 24 ms；15分钟采集时间；面内分辨率187.5μm²)。控制窗前50次扫描采集(每次采集18个切片)，覆盖5分钟基线。在控制窗后，注射载体或艾司氯胺酮，然后在10分钟内再进行100次采集。共收集134个脑区中54个列表，发现1.0mg/kg剂量对增强BOLD信号最为有效。没有大脑区域显示出剂量依赖的大脑活动增加。相反，有许多大脑区域显示出艾司氯胺酮对大脑活动的剂量依赖性减少^[4]。

1.3 统计学方法 统计采用SPSS 26.0软件进行，艾司氯胺酮对脑活动的剂量依赖效应通过BOLD信号相对于基线的正负百分比变化来量化。对于每个体素，使用独立的t检验来评估这些变化的统计意义，T检验采用了95%的置信度、双尾分布和异方差假设。使用Kruskal-Wallis检验统计量，比较对照剂量和艾司氯胺酮剂量之间134个区域中每个区域的激活体素数量。用Wilcoxon秩和检验进行后处理分析。当P≤0.05时，实验组之间的脑区被认为具有统计学意义上的差异。

2 结 果

2.1 神经解剖学分析 具体如图1所示，神经解剖学显示采集脉冲序列脑图像示例。第一行在每次成像过程开始时使用256×256×256的数据矩阵、在3.0cm视场中的18个切

【第一作者】刘正来，男，主治医师，主要研究方向：妇产麻醉。E-mail: tcy19716@163.com

【通讯作者】敖 利，女，副主任医师，主要研究方向：妇产麻醉。E-mail: tcy19716@163.com

片的解剖扫描期间收集轴位切片。第二行显示相同图像,但使用HASTE脉冲序列收集了用于功能分析的图像,数据矩阵更大为

96 × 96。注意功能图像和其原始解剖图像之间的解剖保真度,解析134个分割大脑区域时,确保无任何失真。

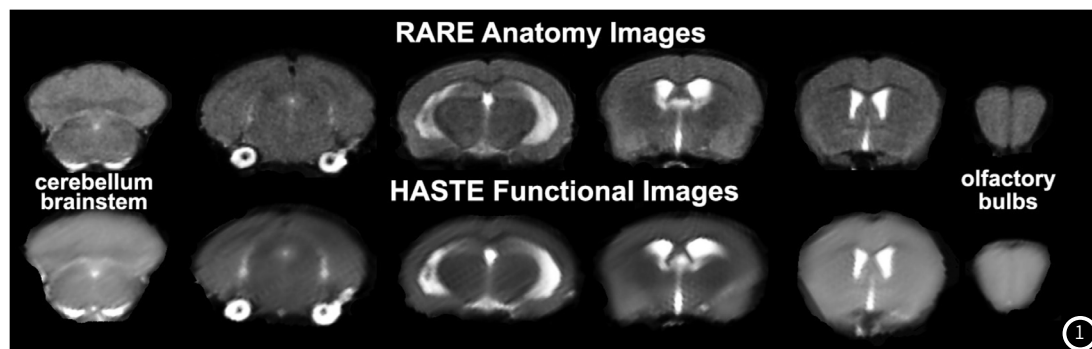


图1 神经解剖学分析。

2.2 BOLD定位分析 同时受影响的阳性体素和阴性体素在海马复合体中的位置如图2所示,阴性和阳性BOLD的载体从未超过清醒成像设定的2%阈值,1.0mg/kg艾司氯胺酮剂量下显示显著增加或减少的体素平均数目($n=8$),高于或低于基线。

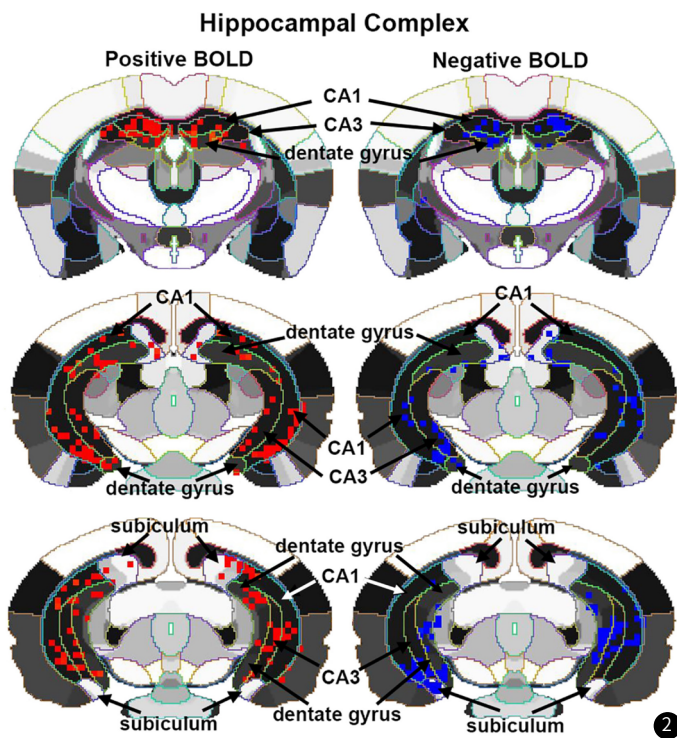


图2 正、负BOLD体素的定位。2D图显示了扫描过程中收集的阳性和阴性BOLD体素的定位,这些体素被记录到MRI小鼠图谱中,按头侧(上)至尾侧(下)排列。

2.3 神经解剖学分析 许多区域如皮质、海马体和丘脑表现出剂量依赖性的BOLD阳性信号减少。在比较三种剂量时,最常见的特征是U形,其中3.3剂量的信号变化最小。在1.0mg/kg时,前脑区和海马区的阳性BOLD显著增加。BOLD预期的剂量依赖性增加没有实现;相反,最低剂量1.0mg/kg对大脑活动的影响最大。前额叶皮层和海马体被显著激活,证实了先前在人类和动物中的成像研究。

如图3上图显示了注射艾司氯胺酮后前脑内阳性和阴性BOLD变化的激活量(A)和时间序列(B)。在构成前脑的7个区域中,有4个区域的BOLD比1.0mg的对照组显著增加($*P<0.05$)。1.0mg/kg剂量也显著大于10mg/kg剂量($\#P<0.05$, $\#\#P<0.01$)。3.3 mg/kg剂量也显著大于10mg/kg剂量的艾司氯胺酮($+P<0.05$)。在使用艾司氯胺酮后,前脑没有区域显示出明显的负BOLD体积活动。图3下图显示了注射艾司氯胺酮后回路中正、负BOLD变化的激活量(A)和时间序列(B)。BOLD的1.0mg显著增加了大鼠腹侧苍白球和伏隔壳面积($*P<0.05$)。

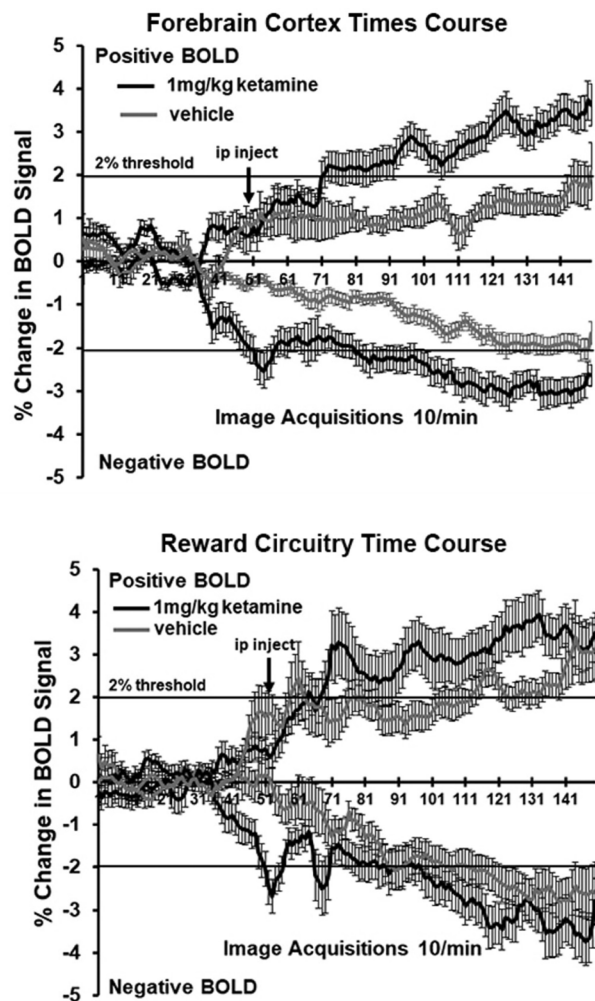


图3 上图:与对照剂相比,1.0mg艾司氯胺酮在15min的成像周期内,BOLD信号阳性和阴性变化。下图:载体与艾司氯胺酮之间的差异。

3 讨论

氯胺酮在具有不同行为影响的广泛剂量下都是活跃的,从低剂量时增强运动活动到高剂量时麻醉^[5]。虽然已经有几项关于清醒和麻醉动物的艾司氯胺酮的成像研究,重点是与较高剂量相关的大脑活动^[2,6]。本研究是为了观察低剂量范围从1.0到10mg/kg的艾司氯胺酮影响,艾司氯胺酮是被批准用于治疗TRD的氯胺酮的更活跃的异构体。本研究发现,大多数大脑区域显示出大剂量反应减少,对1.0mg/kg剂量最敏感的脑区是前额叶皮质和海马区^[7]。有研究^[8]在清醒大鼠身上测试了3毫克/公斤的氯胺酮,并在

前15分钟内显示出峰值反应,突出表现为前额叶皮质、纹状体、丘脑和海马区的阳性BOLD激活。有研究报告^[9],30 mg/kg剂量的氯胺酮导致前额叶皮质、前扣带回和海马区BOLD信号显著增加,而腹侧被盖区、黑质和中脑导水管周围灰质的BOLD信号减少,10mg/kg氯胺酮的清醒大鼠在增强对比脑血流成像中显示前额叶皮质和前扣带回增加。有研究报告^[10],给予30 mg/kg氯胺酮的35只麻醉小鼠显示,雌性小鼠的海马和前额叶皮质之间的静息状态大脑功能连接(RsFC)增加,但雄性没有。有研究认为^[11],给予健康志愿者(0.50mg/kg)或麻醉大鼠(25 mg/kg)氯胺酮的效果导致前额叶皮质和海马区之间的耦合显著增加。事实上,已经有许多人类研究氯胺酮对大脑活动的亚麻醉影响。有研究^[12]报告了在使用低剂量的消旋氯胺酮(约1 mg/kg)的pMRI研究中,健康志愿者额叶和扣带回皮质、尾状/壳核和小脑的血流量随剂量的增加而增加。

本研究发现,许多大脑区域,例如前脑、丘脑、海马体和下丘脑,只对最低1毫克/公斤的剂量敏感。其他区域,如感觉运动皮质,显示出下降的剂量反应。脑桥、延髓和小脑等后脑区域对1毫克和10毫克的剂量有反应,但对3.3毫克的剂量没有反应(U型曲线)。艾司氯胺酮有一种下降的、剂量依赖的负性效应,以及上面提到的1毫克类似的U型反应10毫克剂量对负性BOLD的影响最大^[13]。这种假定的艾司氯胺酮减少大脑活动可能解释了在动物身上观察到的许多行为变化,例如,探索、恐惧和焦虑,但机制尚不明确^[14]。尽管如此,仍然有一些相似和确证的发现,特别是前额叶皮质和海马区的激活^[15]。有研究^[16]在低剂量(1mg/kg)的艾司氯胺酮对前额叶和海马区的激活中证实低剂量的氯胺酮可以影响大脑活动,而不会引起任何认知或行为反应,1.0毫克/公斤的艾司氯胺酮显著增加了组成前额叶皮质的几个区域的大胆激活体积,例如,前额叶、眶、运动和额叶联合皮质^[17]。本研究中,由CA1、CA3和下丘脑组成的海马区复合体在激活体积和随时间变化的百分比方面都显示出显著变化^[18]。有研究认为^[19],艾司氯胺酮增加伏隔核壳和腹侧苍白球的激活体积,但不增加伏隔核或嗅结节的激活体积,而伏隔核和嗅结节都是腹侧被盖的传出靶点区域。这些区域的收集和VTA没有显示注射艾司氯胺酮后随着时间的推移BOLD信号的减少显著增加^[20]。

综上所述,本研究旨在研究麻醉下剂量的艾司氯胺酮对与抑郁相关的脑区的整体影响。使用pMRI在健康清醒的小鼠身上测试艾司氯胺酮的快速和广泛的影响。BOLD的预期剂量依赖性增加并未实现;相反,1.0mg/kg的最低剂量对大脑活动的影响最大。前额叶皮质和海马体显著激活,对1.0mg/kg剂量艾司氯胺酮的敏感性可以通过在完全清醒的小鼠身上进行成像来解释。

参考文献

- [1] Wei Q, Chen C, Zhu J, et al. Influence of low-dose esketamine on postoperative depressive symptoms in patients with breast cancer (EASE): study protocol for a randomised controlled trial[J]. *BMJ Open*, 2023, 13 (9): e75767.
- [2] Wu Y, Zhang Y, Xie B, et al. Esketamine mitigates cognitive impairment following exposure to LPS by modulating the intestinal flora/subdiaphragmatic vagus nerve/spleen axis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 126: 111284.
- [3] Huang R, Lin B, Tian H, et al. Prenatal exposure to general anesthesia drug esketamine impaired neurobehavior in offspring[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2023, 43 (6): 3005-3022.
- [4] Wang C M, Zhang Y, Yang Y S, et al. Effect of esketamine pretreatment on acute sepsis-associated encephalopathy[J]. *Exp Neurol*, 2023, 372: 114646.

- [5] Liu P, Zhang K, Tong C, et al. Progesterone alleviates esketamine-induced hypomyelination via PI3K/Akt signaling pathway in the developing rat brain[J]. *Biotechnol Genet Eng Rev*, 2023: 1-16.
- [6] Liu G X, Li Z L, Lin S Y, et al. Mapping metabolite change in the mouse brain after esketamine injection by ambient mass spectrometry imaging and metabolomics[J]. *Front Psychiatry*, 2023, 14: 1109344.
- [7] Caliman-Fontes A T, Leal G C, Correia-Melo F S, et al. Brain-derived neurotrophic factor serum levels following ketamine and esketamine intervention for treatment-resistant depression: secondary analysis from a randomized trial[J]. *Trends Psychiatry Psychother*, 2023, 45: e20210298.
- [8] Yu K, Song Z, Zhang B, et al. Effect of postoperative application of esketamine on postoperative depression and postoperative analgesia in patients undergoing pancreatoduodenectomy: a randomized controlled trial protocol[J]. *Trials*, 2023, 24 (1): 546.
- [9] Tang Y, Liu Y, Zhou H, et al. Esketamine is neuroprotective against traumatic brain injury through its modulation of autophagy and oxidative stress via AMPK/mTOR-dependent TFEB nuclear translocation[J]. *Exp Neurol*, 2023, 366: 114436.
- [10] Wydra K, Witek K, Suder A, et al. Esketamine Inhibits Cocaine-Seeking Behaviour Subsequent to Various Abstinence Conditions in Rats[J]. *Biomolecules*, 2023, 13 (9).
- [11] Halaris A, Cook J. The glutamatergic system in treatment-resistant depression and comparative effectiveness of ketamine and esketamine: role of inflammation?[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2023, 1411: 487-512.
- [12] Falkenberg I, Bitsch F, Liu W, et al. The effects of esketamine and treatment expectation in acute major depressive disorder (Expect): study protocol for a pharmacological fMRI study using a balanced placebo design[J]. *Trials*, 2023, 24 (1): 514.
- [13] Boudieu L, Menetrier M, Llorca P M, et al. The efficacy and safety of intranasal formulations of ketamine and esketamine for the treatment of major depressive disorder: a systematic review[J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15 (12).
- [14] Li Y, Wu Z Y, Zheng W C, et al. Esketamine alleviates postoperative cognitive decline via stimulator of interferon genes/ TANK-binding kinase 1 signaling pathway in aged rats[J]. *Brain Res Bull*, 2022, 187: 169-180.
- [15] Medeiros G C, Gould T D, Prueitt W L, et al. Blood-based biomarkers of antidepressant response to ketamine and esketamine: a systematic review and meta-analysis[J]. *Mol Psychiatry*, 2022, 27 (9): 3658-3669.
- [16] Beanes G, Caliman-Fontes A T, Souza-Marques B, et al. Effects of GRIN2B, GRI1A1, and BDNF polymorphisms on the therapeutic action of ketamine and esketamine in treatment-resistant depression patients: secondary analysis from a randomized clinical trial[J]. *Clin Neuropharmacol*, 2022, 45 (6): 151-156.
- [17] Kawazoe K, McGlynn R, Felix W, et al. Dose-dependent effects of esketamine on brain activity in awake mice: a BOLD pMRI study[J]. *Pharmacol Res Perspect*, 2022, 10 (6): e1035.
- [18] Wang Y, Zhang Y, Wang K, et al. Esketamine increases neurotransmitter releases but simplifies neurotransmitter networks in mouse prefrontal cortex[J]. *J Neurophysiol*, 2022, 127 (2): 586-595.
- [19] Matloka M, Janowska S, Gajos-Draus A, et al. Esketamine inhaled as dry powder: pharmacokinetic, pharmacodynamic and safety assessment in a preclinical study[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2022, 73-74: 102127.
- [20] Lengvenyte A, Strumila R, Olie E, et al. Ketamine and esketamine for crisis management in patients with depression: why, whom, and how?[J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2022, 57: 88-104.

(收稿日期: 2024-01-17)

(校对编辑: 赵望淇)