

论 著

## 不同嗅觉刺激模式对嗅觉fMRI的影响研究\*

1. 天津医科大学一中心临床学院  
(天津 300192)

2. 河北省青县人民医院  
(河北 沧州 062650)

3. 天津市第一中心医院放射科,  
天津市影像医学研究所  
(天津 300192)

张 慧<sup>1</sup> 孙海珍<sup>1</sup> 赵延通<sup>2</sup>  
倪红艳<sup>3</sup> 沈 文<sup>3</sup> 尹建忠<sup>3</sup>

**【摘要】目的** 通过观察嗅觉中枢的激活情况,探讨不同的嗅觉刺激模式是否会影晌嗅觉fMRI结果。**方法** 分别选择两种不同的嗅觉刺激模式对同一受试者进行嗅觉fMRI检查,选择双侧初级嗅觉皮层区为ROI,观察其在两种模式下的激活情况以及BOLD信号强度的变化,比较两者之间是否有所差别。**结果** 16名正常志愿者两种嗅觉刺激模式下的ROI区激活体素数无统计学差异(定时模式为 $69.00 \pm 80.23$ ,触发模式为 $102.81 \pm 151.44$ ,  $P$ 值=0.42),且平均BOLD时间-信号强度变化曲线也无统计学差异( $P$ 值=0.167)。**结论** 无论是定时模式还是触发模式,在刺激持续时间内均存在至少一次的有效吸气相,嗅觉中枢的激活反应也是没有差异的,因此不同嗅觉刺激模式对嗅觉fMRI结果是没有影响的。

**【关键词】** 嗅觉;功能性磁共振成像;初级嗅觉皮层

**【中图分类号】** R339.12

**【文献标识码】** A

**【基金项目】** 天津市卫生局攻关课题(13KG107);天津市科委支撑计划重点项目(15ZCZDSY00520)

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5131.2016.04.001

通讯作者:尹建忠

## The Effects of Different Odor Stimulation Paradigms On Olfactory fMRI Study\*

ZHANG Hui, SUN Hai-zhen, ZHAO Yan-tong, et al., The First Central Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300192, China

**[Abstract]** **Objective** To study the effects of different odor stimulation paradigms on olfactory fMRI results by observing the activation of olfactory central system. **Methods** Two different olfactory stimulation paradigms olfactory fMRI were executed on the same subjects, and extracted bilateral primary olfactory cortex area as ROI, observing its activation responding and BOLD signal intensity changes, to see whether there are any differences between the two paradigms. **Results** The ROI area activation responding of both two odor stimulation paradigms of 16 normal volunteers showed no statistical differences (fixed paradigm were  $69.00 \pm 80.23$ , trigger paradigm were  $102.81 \pm 151.44$ ,  $P$  values=0.42), and there was no statistical differences between the two average time of BOLD signal intensity curve ( $P$  values=0.167). **Conclusion** No matter what the paradigm is, there should be at least one effective inspiratory phase in the duration of odor stimulation, it should cause the same activation response in the olfactory center. Therefore, different paradigms of olfactory stimulation do not effect on the result of olfactory fMRI.

**[Key words]** Olfaction; Functional Magnetic Resonance Imaging; Primary Olfactory Cortex

功能性磁共振成像(functional magnetic resonance imaging, fMRI)作为一种具有较高时间和空间分辨率的非创伤性神经影像检查手段<sup>[1-2]</sup>,目前已被广泛应用于检测脑神经元的功能。嗅觉fMRI是利用外界的嗅觉刺激,观察嗅觉中枢神经元活动的一种任务态fMRI检查方法,由于其可以反应嗅觉相关脑区的激活情况,可被用于会累及嗅觉神经中枢的疾病的研究,如阿尔茨海默病,原发性帕金森等<sup>[3-4]</sup>。但是,受试者呼吸频率及幅度个体差异较大,而且气味刺激的时间与呼吸频率是否同步不可控制,这可能会影响到嗅觉fMRI结果的评估。一些研究认为,在受试者吸气时开始给予气味刺激和随机给予气味刺激,其结果是不一致的<sup>[5]</sup>。本研究分别选择两种不同的气味刺激模式,一种为定时模式,即刺激开始的时间是固定的,可发生在呼吸周期的任何一个时相,另一种为触发模式,即仅在感应到受试者吸气相开始时给予气味刺激,通过观察嗅觉中枢的激活情况,来比较不同的嗅觉刺激模式是否会对嗅觉fMRI的结果产生影响。

### 1 材料和方法

**1.1 研究对象** 本研究招募无嗅觉障碍的健康志愿者20名,均为右利手,且无头部外伤、脑肿瘤、呼吸系统疾病及精神疾病等影响神经心理和嗅觉的疾病,并无吸烟史、精神药物服用史。所有受试者均签署知情同意书。

**1.2 嗅觉刺激方式** 嗅觉刺激过程应用嗅觉刺激器V2(Emerging Tech Trans, LLC)完成。控制系统采用仪器自带的设定系统,通过编制不同程序控制在6种不同气味源之间进行自由切换,在MR检查时同时按下开关键,即可在设定的时间内完成嗅觉刺激。控制系统末端连接放置气味源的1-6号玻璃瓶及一个放置超纯水的玻璃瓶。气味源的终末

端连接一个小型的塑料面罩,戴在受试者鼻前。每名受试者均在剑突水平佩戴呼吸传感器,通过刺激器记录受试者的呼吸频率及幅度,以及每次刺激的起始和结束时间。刺激器可设定的模式分两种,一种定时模式,一种触发模式。

本研究气味源采用可引起较显著的嗅觉中枢神经元活动且基本不会产生对三叉神经的额外刺激的薰衣草溶液<sup>[6]</sup>,但溶液浓度有所不同,分别为0.10%、0.33%和1.00%。嗅觉刺激采用事件相关设计,刺激持续时间为6s,定时模式刺激间隔时间为固定的36s,而触发模式会在经过设定的间隔36s后通过感应到的吸气相触发下一次的刺激。气味源按照浓度由低到高的顺序依次呈递,每种浓度连续刺激5次,共计15次。总的空气流速控制在6L/min。

在正式开始检查前,对受试者进行呼吸训练,让其平静呼吸。在检查时,让受试者手握触发气囊,嘱其在闻到味道的时候按一下气囊,每次按下气囊的时间也通过刺激仪记录。

**1.3 嗅觉fMRI扫描** 采用Siemens Trio Tim 3.0 T MR扫描仪和32通道头线圈。受试者取仰卧位,固定头部,嘱其闭眼,并保持均匀呼吸。嗅觉功能像采用EPI序列,TR=3000ms,TE=30ms,反转角(FA)=90°,视野(FOV)=220 mm×220mm,矩阵64×64,层厚4mm,层间距0.8mm,层数25层。定时模式采集250帧图像,共12分38秒,触发模式采集350帧图像,共17分38秒。同时扫描薄层矢状面T1WI结构像,TR=1900ms,TE=2.5ms,FA=30°,FOV=250 mm×250mm,矩阵=256×256,层厚1.0mm,无间隔扫描,层数176层。为减少嗅

觉适应对本实验的影响,每名受试者两次扫描均分成两天进行。

**1.4 数据处理及统计分析** fMRI数据采用Matlab 2010版本的SPM8软件进行数据处理。首先进行预处理,之后,建立模型,选择双侧初级嗅觉皮层(primary olfactory cortex, POC)区为感兴趣区(region of interest, ROI)(图1),分别对两组进行单样本t检验( $P < 0.05$ ,体素阈值为0),获得两组POC区的激活图。

采用REST软件提取每名受试者双侧POC区的血氧浓度水平(blood oxygen level dependent, BOLD)信号,并对其进行分析,分别获得15次刺激的时间-信号强度变化曲线,再对16名受试者进行平均。然后对两组的双侧POC区平均BOLD时间-信号强度变化曲线进行配对t检验。

## 2 结果

**2.1 基本情况** 本研究最终纳入受试者16名,排除了头动过大者2名(三维旋转均超过1°),以及嗅觉触发感应不灵敏者2名(在触发模式的350帧扫描内未能完成预先设定的15次嗅觉刺激)。其中男7名,女9名,年龄23~28岁,平均年龄(25.4±1.4)岁。受试者在接受MR扫描过程中,均保持清醒、平静呼吸,且能在主观闻到味道后按下气囊配合。

**2.2 两种模式POC区激活情况** 选择双侧POC区为ROI,包括主要包括嗅核、梨状皮层、嗅结节、杏仁核、杏仁核周围皮层及内嗅

皮层等<sup>[7,8]</sup>,分别观察两种模式的POC区激活情况(图2,3),均可见明显激活。然后,分别提取每名受试者两种模式下双侧POC区激活体素数,计算16名受试者的均值和标准差,并进行配对t检验,可以发现,两种模式结果并无差异( $P > 0.05$ )(表1)。

**2.3 两种模式双侧POC区平均BOLD时间-信号强度变化曲线** 绘制两种模式时双侧POC区的平均BOLD信号强度随时间变化的曲线,对其进行比较发现,两者之间无差异( $P > 0.05$ )(图4)。

## 3 讨论

由于多种神经系统退行性变早期均会出现嗅觉受累,嗅觉fMRI也逐渐成为研究的热点。但是人类对嗅觉的反应不如视觉、听觉等其他感觉敏感,极易出现嗅觉适应,且个体之间差异较大,影响因素较多,因此,如何提高嗅觉fMRI结果的敏感性及其可靠性一直困扰着我们。其中最为重要的是,呼吸会对结果产生什么样的影响,以及刺激时间与呼吸时相是否同步是否会造结果的不一致性,这些问题都影响对嗅觉fMRI结果的正确分析。

人类感觉到气味的强弱与其呼吸的幅度和频率都是密切相关的,而由于呼吸幅度和频率的不同也会产生相应的一些生理学的改变,如脑血流量和血氧含量的变化,进而引起BOLD信号的改变<sup>[9]</sup>。为了最大限度地减少这些因素的影响,本研究在开始进行

表1 两种模式双侧POC区激活体素数

刺激模式	激活体素数
定时模式	69.00 ± 80.23
触发模式	102.81 ± 151.44
t值	0.83
P值	0.42

磁共振检查前都会对受试者进行呼吸训练。但是, Wang等<sup>[5]</sup>的研究认为, 即使是平静呼吸的情况下, 在不同的呼吸时相给予气味刺激, 也会对嗅觉fMRI结果产生影响, 且在吸气相开始时给予气味刺激得到的结果是最理想的。

本研究设定的每次气味刺激持续时间为6s, 在这一段时间内, 每名受试者都可以至少完成一个呼吸周期, 也就是说, 无论是对于定时模式还是触发模式而言, 每次刺激都是确定有效的, 只要在这6s时间内有吸气相产生, 受试者都是可以接收到嗅觉刺激, 产生反应的, 而刺激器记录到的受试者的主观反应也证明, 其在刺激时间内有效吸气相的末端能够闻到气味。这就证明了, 在我们设定6s的刺激时间内, 定时模式和触发模式下受试者接收到的嗅觉刺激并没有差别。在吸气相时, 气味分子撞击鼻腔黏膜, 其内的嗅细胞发出嗅丝, 到达嗅球, 再通过嗅束至POC区<sup>[10]</sup>, 使相应区域神经元活动增加, 这一过程是在气味分子通过吸气进入鼻腔黏膜时开始的, 与刺激的开始时间并无相关, 因而得到的嗅觉中枢的激活情况也是没有差异的。

POC区是初级嗅觉中枢, 其直接接受来自嗅球传导的嗅觉刺激, 与嗅觉功能密切相关<sup>[11]</sup>, 一些中枢神经系统退行性变如AD早期最易累及POC区<sup>[12]</sup>, 因此本研究选择POC区为ROI, 获得受试者嗅觉刺激的反应情况, 其在接受刺激后早期有强烈地反应, 而在随后的30-40s逐渐减弱。但是当给予同一种气味连续刺激时, POC区

会产生嗅觉适应<sup>[13]</sup>, 因此, 本研究选择三种不同浓度的薰衣草制剂由低到高依次呈递, 最大限度减小嗅觉适应对结果的影响。

总之, 在进行嗅觉fMRI检查时, 应当尽量避免呼吸幅度和频率、嗅觉适应等因素的干扰, 而对于不同的嗅觉刺激模式, 只要保证受试者在气味刺激持续时间内至少有一个有效的吸气相, POC区的激活反应是没有差别的。同时, 考虑到触发模式需要更久的扫描时间, 且部分受试者会由于呼吸触发不敏感而无法完成嗅觉fMRI检查, 笔者推荐在进行嗅觉fMRI检查时, 首选定时模式。

### 参考文献

- [1] 张洪英, 高歌军, 滕皋军. 阿尔茨海默病的情影记忆fMRI研究[J]. 中国CT和MRI杂志. 2007. 5(3): 38-40.
- [2] 黎元, 冯晓源, 汤伟军, 等. 汉字词组语义辨别脑功能区定位的fMRI研究[J]. 中国CT和MRI杂志. 2004. 2(2): 1-4.
- [3] Barresi M, Ciurleo R, Giacoppo S, et al. Evaluation of olfactory dysfunction in neurodegenerative diseases[J]. J Neurol Sci, 2012, 323(1-2): 16-24.
- [4] Wang J, Eslinger P J, Doty R L, et al. Olfactory deficit detected by fMRI in early Alzheimer's disease[J]. Brain Res, 2010, 1357: 184-194.
- [5] Wang J, Sun X, Yang Q X. Methods for olfactory fMRI studies: Implication of respiration[J]. Hum Brain Mapp, 2014, 35(8): 3616-3624.
- [6] Patton HD. Taste, olfaction and visceral sensation[J]. Medical Physiology and Biophysics Philadelphia: Saunders, 1960: 374-377.

- [7] Toledano A, Borromeo S, Luna G, et al. Objective assessment of olfactory function using functional magnetic resonance imaging[J]. Acta Otorrinolaringol Esp, 2012, 63(4): 280-285.
- [8] Zelano C, Montag J, Johnson B, et al. Dissociated representations of irritation and valence in human primary olfactory cortex[J]. J Neurophysiol, 2007, 97(3): 1969-1976.
- [9] Raj D, Anderson A W, Gore J C. Respiratory effects in human functional magnetic resonance imaging due to bulk susceptibility changes[J]. Phys Med Biol, 2001, 46(12): 3331-3340.
- [10] Smejkal V, Druga R, Tintera J. Olfactory activity in the human brain identified by fMRI[J]. Bratisl Lek Listy, 2003, 104(6): 184-188.
- [11] Howard J D, Plailly J, Grueschow M, et al. Odor quality coding and categorization in human posterior piriform cortex[J]. Nat Neurosci, 2009, 12(7): 932-938.
- [12] Christen-Zaech S, Kraftsik R, Pilleveit O, et al. Early olfactory involvement in Alzheimer's disease[J]. Can J Neurol Sci, 2003, 30(1): 20-25.
- [13] Yousem D M, Williams S C, Howard R O, et al. Functional MR imaging during odor stimulation: preliminary data[J]. Radiology, 1997, 204(3): 833-838.

(本文图片见封二)

(本文编辑: 张嘉瑜)

【收稿日期】2016-03-08