

· 论著 ·

缺血性脑卒中节律时钟功能与 MRI 脑连接变化相关性研究

吴晓莉 白帆 张璐 刘丽旭 陈予东 厉含之 蔡言宁 张通

100068 北京, 中国康复研究中心神经康复科 首都医科大学康复医学院(吴晓莉、张璐、刘丽旭、陈予东、厉含之、张通); 100068 中国康复研究所康复医学研究部 神经损伤与康复北京市重点实验室 北京脑重大疾病研究院神经损伤与修复研究所(白帆); 100054 北京, 首都医科大学宣武医院神经生物室 教育部神经变性病重点实验室(蔡言宁)

通信作者: 张通, Email: Tom611@126.com; 蔡言宁, Email: Yanningcai@yahoo.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2025.09.003

【摘要】目的 探究缺血性脑卒中患者外周生物时钟节律的变化, 并分析这种改变与特定脑区功能性连接改变之间的相关性。**方法** 采用前瞻性病例对照设计, 于 2018 年 1 月—2019 年 7 月在中国康复研究中心神经康复科招募 17 例缺血性脑卒中患者为卒中患者组, 并在社会上招募 17 名健康对照者为健康对照组。比较两组血清处理后 U2OS 细胞的外周脑和肌肉芳烃受体样蛋白 1(*Bmal1*) 日常振荡周期。同时, 利用静息态功能磁共振成像(rs-fMRI) 技术, 以双侧下丘脑为种子点, 比较两组间的脑功能连接变化。采用 Spearman 相关分析卒中患者生物时钟节律变化与脑功能连接改变之间的相关性。**结果** 卒中患者组外周 *Bmal1* 日常振荡周期 $[24.33 \pm 0.42]h$ 长于健康对照组 $[23.81 \pm 0.48]h$, 差异有统计学意义 ($t=3.352, P=0.002$)。在脑功能连接方面, 卒中患者组展现出下丘脑至右侧距状回以及下丘脑至右侧罗兰氏岛盖的脑功能连接增强现象, 并且这种脑功能连接的增强程度与 *Bmal1* 振荡周期的长度呈正相关 ($r=0.369, P=0.032; r=0.393, P=0.022$)。**结论** 缺血性脑卒中患者的外周生物时钟节律发生了改变, 并可能与特定脑功能区的功能连接变化有关。

【关键词】 卒中; 生物节律; 静息态功能磁共振成像; 功能连接; *Bmal1***基金项目:** 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目 (2017CZ-3)

Correlation of rhythm clock function and MRI brain connectivity changes in ischemic stroke

Wu Xiaoli, Bai Fan, Zhang Lu, Liu Lixu, Chen Yudong, Li Hanzhi, Cai Yanning, Zhang Tong

Department of Neurorehabilitation, China Rehabilitation Research Center & School of Rehabilitation Medicine, Capital Medical University, Beijing 100068, China (Wu XL, Zhang L, Liu LX, Chen YD, Li HZ, Zhang T); Rehabilitation Medicine Research Department, China Rehabilitation Research Institute & Beijing Key Laboratory of Neurological Injury and Rehabilitation & Institute of Neurological Injury and Rehabilitation, Beijing Institute of Brain Disorders, Beijing 100068, China (Bai F); Neurobiology Laboratory Room, Xuanwu Hospital, Capital Medical University & Key Laboratory of Neurodegenerative Diseases, Ministry of Education, Beijing 100054, China (Cai YN)

Corresponding authors: Zhang Tong, Email: Tom611@126.com; Cai Yanning, Email: Yanningcai@yahoo.com

【Abstract】Objective To explore changes in peripheral biological clock rhythms in patients with ischemic stroke and to analyze the correlation between such changes and alterations in functional connectivity in specific brain regions. **Methods** Using a prospective case-control design, 17 ischemic stroke patients were recruited as the stroke patient group from January 2018 to July 2019 at the Department of Neurorehabilitation, China Rehabilitation Research Center, and 17 healthy controls were recruited from the community as the healthy control group. The oscillatory periods of peripheral brain and muscle ARNT-Like protein 1 (*Bmal1*) expression in U2OS cells after serum treatment were compared between the two groups. Resting-state functional magnetic resonance imaging (rs-fMRI) was used to compare changes in brain functional connectivity between the two groups with bilateral hypothalamus as seed points. Spearman correlation was used to analyze the correlation between changes in biological clock rhythms and alterations in brain functional connectivity among stroke patients. **Results** The peripheral *Bmal1* daily oscillation period was longer in stroke patient

group $[(24.33 \pm 0.42) \text{ h}]$ than in healthy control group $[(23.81 \pm 0.48) \text{ h}]$, and the difference was statistically significant ($t=3.352$, $P=0.002$). In terms of brain functional connectivity, stroke patient group demonstrated enhanced brain functional connectivity from the hypothalamus to the right talar gyrus and from the hypothalamus to the right Roland's insula lid, and the extent of this enhanced brain functional connectivity was positively correlated with the length of the *Bmal1* oscillatory period, with statistically significant differences ($r=0.369$, $P=0.032$; $r=0.393$, $P=0.022$). **Conclusions** Peripheral biological clock rhythms are altered in patients with ischemic stroke and may be associated with changes in functional connectivity in specific brain regions.

【Key words】 Stroke; Periodicity; Resting-state functional magnetic resonance imaging; Functional connectivity; *Bmal1*

Fund program: Special Project for Fundamental Research Funds of Central-level Public Welfare Research Institutes(2017CZ-3)

近年来,研究揭示昼夜节律在卒中的发生、进展及康复过程中扮演着重要角色,不仅可增加卒中风险,还可通过调控血管内皮细胞功能、脂质与葡萄糖代谢、凝血与血栓形成、血管张力、小胶质细胞活化及神经炎症等多个病理生理环节影响卒中^[1-2]。而缺血性脑卒中亦可诱发昼夜节律紊乱^[3],改变节律基因表达^[4-5]。这种昼夜节律与卒中存在双向调控机制^[6],为卒中防治提供新思路^[3]。此外,更多研究关注卒中及伴昼夜节律障碍疾病(如谵妄、睡眠呼吸暂停等)的脑功能连接(functional connectivity, FC)变化。发现昼夜节律紊乱与扣带回、海马旁回、小脑及丘脑等FC异常紧密相关^[7-8],提示昼夜节律失调可能重塑脑功能网络结构。如卒中后睡眠呼吸暂停患者丘脑连接异常^[9],女性护士昼夜节律紊乱与下丘脑连接相关^[10]。然而,卒中后中枢与外周昼夜节律的同步机制尚不明晰。昼夜节律由核心时钟基因驱动,其中脑和肌肉芳烃受体样蛋白1(brain and muscle ARNT-Like protein 1, *Bmal1*)对维持24 h周期至关重要^[11-12]。利用*Bmal1*-荧光素酶报告基因(*Bmal1-luc*)自主报告系统,研究者已实现细胞层面昼夜节律的实时监测^[13-14]。本研究采用稳定表达*Bmal1*的人类骨肉瘤细胞U2OS细胞系作为模型,通过监测缺血性脑卒中患者血清处理后的细胞*Bmal1*振荡周期,深入剖析卒中外周节律的具体影响。同时,采用基于种子点分析法的静息态功能磁共振成像(resting-state functional magnetic resonance imaging, rs-fMRI)技术^[15],进一步探究外周节律时钟改变与脑FC之间的内在联系,为理解卒中后节律变化的神经机制提供新依据,探索康复干预策略。

对象与方法

一、研究对象

采用前瞻性病例对照设计。选取2018年1月—2019年7月在中国康复研究中心神经康复科住院的缺血性卒中患者为卒中患者组。纳入标准:(1)符合

《中国急性缺血性脑卒中诊治指南2018》^[16],并经头颅CT或头颅MRI确诊的缺血性脑卒中患者;(2)患者年龄18~60岁;(3)右利手;(4)确诊为首次发作的缺血性脑卒中;(5)卒中病程超过2周,且病情已趋于稳定;(6)卒中前无睡眠障碍记录;(7)无严重认知障碍,MMSE评分30分^[17-18];(8)头颅MRI确认卒中病灶位于大脑中动脉区域;(9)患者需签署书面知情同意书。排除标准:(1)有其他神经系统疾病史的患者;(2)存在严重失语、痴呆或无法配合检查的情况;(3)卒中前有使用镇静剂、抗焦虑药或抗抑郁药的历史;(4)依从性较差,无法完成样本采集及MRI评估流程的患者。同时,剔除中途退出研究、无法配合试验或因病情加重而无法继续的患者。此外,通过社会招募与卒中患者年龄、性别相匹配的健康受试者作为健康对照组。纳入标准:(1)年龄18~60岁;(2)右利手;(3)体健,无其他疾病史;(4)能够配合完成MRI检查;(5)提供书面知情同意书。排除有倒班/轮班工作,半年内有跨时区旅行经历、患有焦虑、抑郁或存在睡眠障碍,以及头颅MRI结构有异常的个体。本研究在中国康复研究中心进行,已获得该中心伦理委员会的正式批准(批件号:2017-074-1),并严格遵循《赫尔辛基宣言》的标准执行。最终,本研究共纳入了54名受试者,其中包括30名健康对照者和24例缺血性脑卒中患者。经过进一步筛选,排除了颅内存在其他异常病灶、血样采集不配合等可能影响试验情况的受试者后,最终确定了17名年龄性别相匹配的健康对照者和17例缺血性脑卒中患者参与本研究。

二、方法

1.研究方法:(1)一般资料收集。问卷包括年龄、性别、受教育年限、职业等。(2)标本采集与保存。入组后的次日上午6:00,对受试者进行空腹外周静脉血采集。血液样品在室温下静置30 min后,以5 000 g的离心力离心10 min,随后收集血清,并立即在-80℃条件下冷冻保存,直至后续实验使用。

(3) 利用 U2OS 细胞系作为研究模型评估外周节律时钟变化。采用慢病毒介导技术,将携带 *Bmal1-luc* 报告基因的慢病毒载体稳定转染至 U2OS 细胞中,并通过单细胞克隆技术筛选出同质细胞群^[14]。①细胞培养:在添加了 10% 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、1% 抗生素和 1% GlutaMAX 的 DMEM(dulbecco's modified eagle medium)培养基中对细胞进行培养直至长满培养皿。②细胞同步化:随后将细胞转移至高浓度血清培养基中进行同步化 2 h,其中添加了 50% FBS、1% 抗生素、1% GlutaMAX 和 45 mmol/L NaHCO_3 。③制备条件培养基(CM):向不含酚红的 DMEM 中补充 1% 抗生素、1% GlutaMAX、1% 荧光素、4.5 mmol/L NaHCO_3 及 10 mmol/L HEPES,调整 pH 至 7.2,以获得 CM。④实时报告基因检测准备:将 U2OS 细胞转移至补充了 10% 受试者血清的 CM,以探究人血清对细胞周期长度的影响。同时,设立对照组,在含有 10% FBS 的 CM 中测试 U2OS 细胞,以确定基础昼夜节律,作为试验的质量控制^[14, 19-20]。⑤生物发光测量及数据分析:使用 LumiCycle(Actimetrics, IL, USA)设备,对细胞进行连续 7 d 的生物发光测量。使用 LumiCycle Analysis 程序分析生物发光数据以确定昼夜周期长度。(4)MRI 检查。所有受试者在入组后 48 h 内,于 16:00 接受 MRI 扫描。采用配备 8 通道头部线圈的 Philips Achievea 3T MRI 扫描仪进行数据采集。扫描采用梯度回波平面成像序列,实现对全脑的覆盖,具体参数包括:重复时间 2 000 ms,回波时间 30 ms,反转角 90° ,视野 $220 \text{ mm} \times 220 \text{ mm}$,切片数 50 个,层间距 0.6 mm。此外,还收集了高分辨率的三维解剖 T1 加权扫描图像用于后续配准(矢状位采集,重复时间 8.2 ms,回波时间 3.2 ms,翻转角度 8° ,切片数 301 个,矩阵 $256 \text{ mm} \times 256 \text{ mm}$)。所有扫描工作均由同一名经验丰富的放射科医生完成。(5)神经影像数据处理与分析。利用专业的脑影像数据处理与分析平台(DPABI)对 MRI 数据进行预处理和深入分析。利用解剖自动标记(anatomical automatic labeling, AAL)图谱提取各区域定量平均值。将 DICOM(digital imaging and communications in medicine)格式的医学数字图像转换为 NIFTI(neuroimaging informatics technology initiative)格式,以蒙特利尔神经学研究所(Montreal Neurological Institute, MNI)的 EPI(极平面图像)模板为参考标准,逐一检查数据的成像质量,并进行时间片校正和头动校正。数据经高斯平滑和低频滤波处理后,利用 AAL 图谱定义感兴趣区域(region of interest, ROI),并以双侧下丘脑作为种子点,通过独

立样本 *t* 检验或 Mann-Whitney *U* 检验,分析卒中患者组与健康对照组组间下丘脑与各 ROI 的平均脑 FC 值差异。计算种子区域内体素与全脑体素的皮尔逊相关系数,得到全脑平均相关系数图,即 FC 图。使用 8 mm 半高宽(FWHM)高斯核对 FC 图平滑处理,最后,基于广义线性模型在 SPM 12 软件中采用体素对体素分析,通过双样本 *t* 检验确定组间差异, $P < 0.05$ (高斯随机场校正)下获得统计差异参数图。

2. 统计学方法:采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据处理。采用 Kolmogorov-Smirnov 检验结合直方图进行正态分布检验,符合正态分布的计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验。非正态分布的计量资料采用中位数和四分位数 [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示,两组间比较 Mann-Whitney *U* 检验,为控制 I 型错误风险,采用 Benjamini-Hochberg 校正控制显著性水平。计数资料用频数、百分数(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 Spearman 秩相关分析,以 U2OS 细胞系中 *Bmal1* 的日常振荡周期长度为自变量,以卒中后相应 FC 的改变为因变量,探索两者之间相关性。双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 受试者特征:两组年龄、性别及受教育年限比较,差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。卒中患者病程(39.82 ± 21.38)d,以右侧偏瘫为主,见表 1。

2. 卒中患者外周节律时钟变化:与健康对照组的样本处理比较,卒中患者组样本处理下的人类骨肉瘤细胞 U2OS 细胞系的 *Bmal1* 日常振荡周期显著延长,两组比较差异有统计学意义($t=3.352$, $P=0.002$),见表 1。

3. 卒中恢复期患者下丘脑 FC 异常及与 *Bmal1* 日常振荡周期相关分析:卒中患者组与健康对照组比较,在多个脑区观察到了显著的 FC 改变,见图 1。包括额叶、双侧枕叶、左侧基底节、双侧扣带回以及右侧罗兰氏岛盖等,见表 2。经 Benjamini-Hochberg 校正控制显著性水平后,主要差异脑区为双侧枕叶,以舌叶和距状叶为主, $P \leq 0.025$ 。进一步对脑 FC 变化与 *Bmal1* 日常振荡周期长度进行了 Spearman 秩相关性分析,结果显示,下丘脑至右侧距状回($r=0.369$, $P=0.032$)及至右侧罗兰氏岛盖($r=0.393$, $P=0.022$)的脑 FC 增强可能与 *Bmal1* 日常振荡周期的延长相关(均 $P < 0.05$),见表 3。

表 1 所有受试者的人口统计学和临床特征

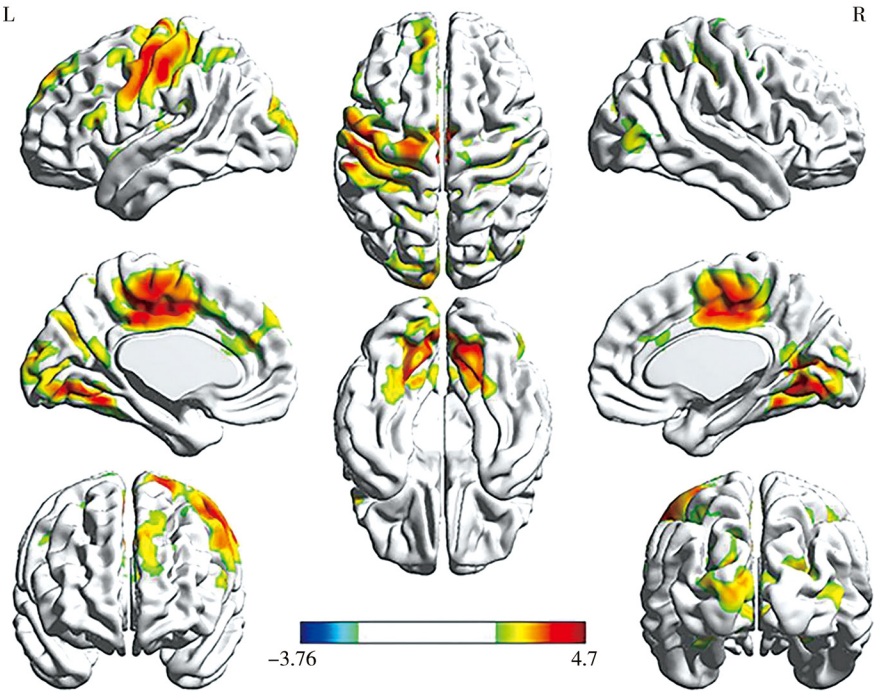
项目	健康对照组 (n=17)	卒中患者组 (n=17)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	51.88 $\pm$ 10.83	54.41 $\pm$ 10.42	0.694	0.493
病程(d, $\bar{x} \pm s$)	-	39.82 $\pm$ 21.38	-	-
病灶部位[例(%)]				
右侧基底节区	-	3(3/17)	-	-
左侧基底节区	-	10(10/17)	-	-
左侧基底节区及大脑皮层	-	4(4/17)	-	-
受教育年限(年, $\bar{x} \pm s$)	16.06 $\pm$ 3.86	13.41 $\pm$ 4.86	1.757	0.089
性别[例(%)]				
男	9(9/17)	11(11/17)	0.486	0.728
女	8(8/17)	6(6/17)		
<i>Bmal1</i> 日常振荡周期 (h, $\bar{x} \pm s$)	23.81 $\pm$ 0.48	24.33 $\pm$ 0.42	3.352	0.002

注: - 无数据

讨 论

本研究采用人类骨肉瘤细胞U2OS系作为模型,通过比较卒中患者与健康对照者血清分别处理过的U2OS细胞外周*Bmal1*基因转录震荡周期,结果发现,经卒中患者血清处理的U2OS细胞中,*Bmal1*基因的转录振荡周期显著延长。为探究这一现象背后是否涉及脑功能网络机制,本研究进一步采用了rs-fMRI技术,对脑FC进行了分析。结果显示,与健

康对照组比较,卒中患者在下丘脑至右侧枕叶(特别是距状回)和右侧岛叶(罗兰氏岛盖区)的脑FC呈现出显著增强。这种增强与U2OS细胞中*Bmal1*基因日常振荡周期的延长呈正相关,提示外周生物钟节律与脑FC变化之间可能存在联系。人体昼夜节律系统受到包括*Bmal1*在内的多个基因和蛋白的精密调控,形成接近24 h的振荡周期^[5, 12]。既往研究发现,生物钟核心基因多态性与缺血性脑卒中患病风险有关联,如周期性昼夜节律调节因子1(period circadian regulator 1, *PER1*) rs2253820位点的遗传变异会增加缺血性脑卒中的患病风险,且该位点携带C等位基因者的患病危险更高^[21]。此外,卒中后外周昼夜节律生物标志物(如褪黑素、皮质醇、体温及血压)也常出现异常变化^[7]。也有研究发现,隐花色素1(cryptochrome 1, *Cry1*)表达的上调可能反映了卒中患者的昼夜节律失调^[5];同时,环境中的颗粒空气污染也能通过影响*Cry1/Cry2*的甲基化状态来调控卒中患者的预后^[22]。因此,深入探究卒中后外周昼夜节律的变化具有重要意义。在本研究中,观察到卒中患者血清标本处理的U2OS细胞中*Bmal1*的日常振荡周期显著延长。类似的现象在肺癌、老年人和睡眠时相延迟障碍的研究中也有报道^[19, 23-24]。尽管这些研究中振荡周期的延长程度各异,且振荡周期延长的具体生理或病理意义尚未



注: 图中色标卡中暖色表示卒中患者组相较于健康对照组的FC升高区域, 冷色则表示卒中患者组比健康对照组FC降低区域; L 左侧; R 右侧; FC 功能连接

图 1 卒中患者组和健康对照组静息状态下的平均脑功能连接差异区域

表 2 卒中患者组和健康对照组的静息状态下脑功能连接差异区域比较

组别	例数	左侧楔状叶 ($\bar{x} \pm s$)	右侧楔状叶 ($\bar{x} \pm s$)	右侧枕下叶 ($\bar{x} \pm s$)	左侧枕上叶 ($\bar{x} \pm s$)	右侧枕上叶 ($\bar{x} \pm s$)	左侧舌叶 ($\bar{x} \pm s$)	右侧舌叶 ($\bar{x} \pm s$)
健康对照组	17	-0.11 ± 0.11	-0.09 ± 0.11	-0.06 ± 0.12	-0.10 ± 0.10	-0.10 ± 0.08	-0.77 ± 0.12	-0.06 ± 0.16
卒中患者组	17	0.01 ± 0.13	0.00 ± 0.15	0.04 ± 0.17	-0.01 ± 0.12	-0.01 ± 0.11	0.07 ± 0.16	0.07 ± 0.16
<i>t</i> / <i>Z</i> 值		-3.025	-2.099	-2.093	-2.222	-2.604	-2.884	-2.422
<i>P</i> 值		0.005	0.045	0.045	0.033	0.014	0.007	0.021

组别	例数	左侧距状叶 ($\bar{x} \pm s$)	右侧距状叶 ($\bar{x} \pm s$)	左侧苍白球 [$M(P_{25}, P_{75})$]	左侧壳核 ($\bar{x} \pm s$)	左侧扣带回 中部($\bar{x} \pm s$)	右侧扣带回 中部($\bar{x} \pm s$)	右侧罗兰氏岛 盖($\bar{x} \pm s$)
健康对照组	17	-0.09 ± 0.11	-0.09 ± 0.06	-0.070(-0.150, 0.052)	-0.01 ± 0.21	-0.10 ± 0.12	-0.12 ± 0.12	0.05 ± 0.18
卒中患者组	17	0.06 ± 0.15	0.06 ± 0.15	0.137(-0.015, 0.238)	0.14 ± 0.17	-0.00 ± 0.12	0.03 ± 0.15	-0.09 ± 0.12
<i>t</i> / <i>Z</i> 值		-3.381	-2.805	-3.152	-2.324	-2.314	-3.244	-2.109
<i>P</i> 值		0.002	0.008	0.001	0.027	0.027	0.003	0.043

表 3 两组间静息状态下脑 FC 显著差异性脑区及 *Bmal1* 日常振荡周期之间的相关性分析(*r* 值)

项目	<i>Bmal1</i> 日常振荡 周期	左侧距状叶	右侧距状叶	左侧扣带回 中部	右侧扣带回 中部	左侧楔状叶	右侧楔状叶
<i>Bmal1</i> 日常振荡周期	1						
左侧距状叶	0.333	1					
右侧距状叶	0.369 ^a	0.910 ^b	1				
左侧扣带回中部	0.184	0.789 ^b	0.721 ^b	1			
右侧扣带回中部	0.234	0.684 ^b	0.720 ^b	0.774 ^b	1		
左侧楔状叶	0.201	0.742 ^b	0.655 ^b	0.741 ^b	0.727 ^b	1	
右侧楔状叶	0.107	0.736 ^b	0.782 ^b	0.617 ^b	0.697 ^b	0.801 ^b	1
左侧舌叶	0.254	0.891 ^b	0.828 ^b	0.763 ^b	0.582 ^b	0.675 ^b	0.642 ^b
右侧舌叶	0.318	0.845 ^b	0.913 ^b	0.701 ^b	0.579 ^b	0.612 ^b	0.687 ^b
右侧枕下叶	0.302	0.513 ^b	0.697 ^b	0.395 ^a	0.496 ^b	0.295	0.457 ^b
左侧枕上叶	0.216	0.709 ^b	0.662 ^b	0.649 ^b	0.662 ^b	0.914 ^b	0.760 ^b
右侧枕上叶	0.185	0.769 ^b	0.851 ^b	0.624 ^b	0.693 ^b	0.763 ^b	0.927 ^b
左侧苍白球	0.260	0.581 ^b	0.546 ^b	0.545 ^b	0.646 ^b	0.520 ^b	0.361 ^a
左侧壳核	0.280	0.581 ^b	0.497 ^b	0.552 ^b	0.543 ^b	0.523 ^b	0.373 ^a
右侧罗兰氏岛盖	0.393 ^a	0.445 ^b	0.593 ^b	0.288	0.544 ^b	0.347 ^a	0.488 ^b

项目	左侧舌叶	右侧舌叶	右侧枕下叶	左侧枕上叶	右侧枕上叶	左侧苍白球	左侧壳核	右侧罗兰氏 岛盖
<i>Bmal1</i> 日常振荡周期								
左侧距状叶								
右侧距状叶								
左侧扣带回中部								
右侧扣带回中部								
左侧楔状叶								
右侧楔状叶								
左侧舌叶	1							
右侧舌叶	0.916 ^b	1						
右侧枕下叶	0.598 ^b	0.780 ^b	1					
左侧枕上叶	0.695 ^b	0.636 ^b	0.400 ^a	1				
右侧枕上叶	0.708 ^b	0.797 ^b	0.589 ^b	0.763 ^b	1			
左侧苍白球	0.561 ^b	0.493 ^b	0.307	0.394 ^a	0.393 ^a	1		
左侧壳核	0.636 ^b	0.505 ^b	0.252	0.446 ^b	0.323	0.853 ^b	1	
右侧罗兰氏岛盖	0.439 ^b	0.551 ^b	0.589 ^b	0.390 ^a	0.572 ^b	0.309	0.340 ^a	1

注: ^a*P* < 0.05, ^b*P* < 0.01; FC 功能连接; *Bmal1* 脑和肌肉芳烃受体样蛋白 1 基因

完全明确,但这一发现可能暗示缺血性脑卒中后外周节律时钟发生了某种改变。

研究表明,脑区功能的复杂性和网络结构在适应环境变化中起着重要作用。在伴有严重昼夜节律紊乱的谵妄患者中,观察到视交叉上核(suprachiasmatic nucleus, SCN)至不同脑区的FC发生了显著变化^[8]。同样,睡眠剥夺也影响了下丘脑与其他脑区之间的FC,这种变化可能与注意力障碍存在关联^[25]。长期夜班工作的护士则展现出下丘脑至小脑蚓部FC的增强,且这种增强与Epworth睡眠量表(Epworth Sleepiness Scale, ESS)评分呈正相关^[10]。在脑卒中患者中,研究发现特定脑区(如次级视觉皮层、额颞顶叶、枕叶、丘脑等)的损害与睡眠-觉醒昼夜节律紊乱密切相关^[9, 26-27]。还有研究显示,卒中后失眠患者的脑区活动也存在显著差异,包括静息态低频振荡分数幅度(fractional amplitude of low-frequency oscillation in resting state, fALFF)和局部一致性(regional homogeneity, ReHo)的变化^[28]。本研究也发现,卒中患者组与健康对照组在脑FC上存在显著差异,特别是下丘脑至右侧枕叶和岛叶之间的FC增强,并且这种增强与*Bmal1*日常振荡周期的延长显著相关。这些研究共同表明,卒中患者的睡眠-觉醒昼夜节律紊乱可能与特定脑区损害有关。然而,尚需进一步的研究来明确这些变化的因果关系。

研究发现,静息状态下的脑功能与执行功能任务期间的脑功能存在偏侧化差异,并且性别可能会对大脑区域的同质性产生影响^[29-31]。此外,不同昼夜节律表型的受试者在运动网络的脑FC上也表现出差异^[32]。另有研究表明,一天中的时间、性别、大脑的偏侧化,甚至受试者的昼夜节律表型都可能对大脑的功能状态产生影响^[33]。为了更全面地理解脑FC变化与卒中后外周生物节律之间相关性,未来的研究需要综合考虑多种因素,包括卒中的亚型、病灶具体部位、时间点(一天中的不同时间段)、性别、大脑偏侧化等。同时,增加样本量进行亚组分析,以及引入更多的节律指标(如褪黑素节律、睡眠调查问卷、核心体温监测以及时钟基因表达转录等),将有助于提高研究结果的可靠性和普适性。

综上所述,本研究在探讨缺血性脑卒中患者外周生物时钟节律与脑FC变化的相关性方面取得了有意义的结果,为理解卒中后节律变化的神经机制提供了新的依据。但受限于样本量较小、研究方法单一性以及缺乏长期随访数据等因素,未来研究需进一步扩大样本、优化方法、结合多种成像模式,并充分考虑多种影响因素,以更全面地理解卒中后生物节律变化的机制。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

作者贡献声明 构思与研究设计为吴晓莉、白帆,资料收集、采血为张璐、陈予东、厉含之,样本分析为白帆、蔡言宁,数据整理及论文撰写为吴晓莉,统计分析为吴晓莉、刘丽旭,论文审核和修订为张通、蔡言宁

参 考 文 献

- [1] 贾慧,王迪,所芮,等.昼夜节律紊乱增加卒中风险机制的研究进展[J].中国卒中杂志, 2023, 18(5): 520-526. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5765.2023.05.005.
Jia H, Wang D, Suo R, et al. Research advances on mechanisms of increased stroke risk by circadian rhythm disruption[J]. Chin J Stroke, 2023, 18(5): 520-526.
- [2] Zhang Y, Zhao X, Guo C, et al. The circadian system is essential for the crosstalk of VEGF-notch-mediated endothelial angiogenesis in ischemic stroke[J]. Neurosci Bull, 2023, 39(9): 1375-1395. DOI: 10.1007/s12264-023-01042-9.
- [3] Korostovtseva LS, Kolomeichuk SN. Circadian factors in stroke: a clinician's perspective[J]. Cardiol Ther, 2023, 12(2): 275-295. DOI: 10.1007/s40119-023-00313-w.
- [4] Pajedienne E, Paulekas E, Salteniene V, et al. Diurnal variation of clock genes expression and other sleep-wake rhythm biomarkers among acute ischemic stroke patients[J]. Sleep Med, 2022, 99: 1-10. DOI: 10.1016/j.sleep.2022.06.023.
- [5] Roy K, Maji D, Deb I. Increase of Cry 1 expression is a common phenomenon of the disturbed circadian clock in ischemic stroke and opioid addiction[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2021, 558: 8-13. DOI: 10.1016/j.bbrc.2021.04.053.
- [6] Gottlieb E, Landau E, Baxter H, et al. The bidirectional impact of sleep and circadian rhythm dysfunction in human ischaemic stroke: a systematic review[J]. Sleep Med Rev, 2019, 45: 54-69. DOI: 10.1016/j.smrv.2019.03.003.
- [7] Zhu Y, Ren F, Zhu Y, et al. Gradually increased interhemispheric functional connectivity during one night of sleep deprivation[J]. Nat Sci Sleep, 2020, 12: 1067-1074. DOI: 10.2147/NSS.S270009.
- [8] Kyeong S, Choi Sh, Eun Shin J, et al. Functional connectivity of the circadian clock and neural substrates of sleep-wake disturbance in delirium[J]. Psychiatry Res Neuroimaging, 2017, 264: 10-12. DOI: 10.1016/j.psychres.2017.03.017.
- [9] Sacchetti MI, Di Mascio Mt, Tinelli E, et al. Resting state functional thalamic connectivity abnormalities in patients with post-stroke sleep apnoea: a pilot case-control study[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21: 2676-2689.
- [10] 吴晓莉,白帆,王云雷,等.女性护士昼夜节律紊乱与静息态下丘脑功能性连接的相关性研究[J].神经疾病与精神卫生, 2022, 22(6): 432-438. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2022.06.010.
Wu XL, Bai F, Wang YL, et al. Correlation between circadian rhythm disorder and resting hypothalamic functional connection in female nurses[J]. Journal of Neuroscience and Mental Health, 2022, 22(6): 432-438.
- [11] Ray S, Valekunja Uk, Stangherlin A, et al. Circadian rhythms in the absence of the clock gene *Bmal1* [J]. Science, 2020, 367: 800-806. DOI: 10.1126/science. aaw7365.

- [12] Pagani L, Semenova Ea, Moriggi E, et al. The physiological period length of the human circadian clock in vivo is directly proportional to period in human fibroblasts[J]. PLoS One, 2010, 5: e13376. DOI: 10.1371/journal.pone.0013376.
- [13] Zhang EE, Liu AC, Hirota T, et al. A genome-wide RNAi screen for modifiers of the circadian clock in human cells[J]. Cell, 2009, 139(1): 199-210. DOI: 10.1016/j.cell.2009.08.031.
- [14] Ramanathan C, Khan SK, Kathale ND, et al. Monitoring cell-autonomous circadian clock rhythms of gene expression using luciferase bioluminescence reporters[J]. J Vis Exp, 2012, 67: 4234. DOI: 10.3791/4234.
- [15] Boren SB, Savitz SI, Ellmore TM, et al. Longitudinal resting-state functional magnetic resonance imaging study: a seed-based connectivity biomarker in patients with ischemic and intracerebral hemorrhage stroke[J]. Brain Connect, 2023, 13(8): 498-507. DOI: 10.1089/brain.2022.0017.
- [16] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018 [J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(9): 666-682. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2018.09.004.
Chinese Society of Neurology, Chinese Stroke Society. Chinese guidelines for diagnosis and treatment of acute ischemic stroke 2018 [J]. Chin J Neurol, 2018, 51(9): 666-682.
- [17] Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician[J]. J Psychiatr Res, 1975, 12(3): 189-198. DOI: 10.1016/0022-3956(75)90026-6.
- [18] 史悦, 高小夏, 谈笑, 等. 中文版认知障碍简测量表与简易精神状态检查量表在脑卒中患者认知评估中的比较分析[J]. 重庆医科大学学报, 2021, 46(11): 1310-1314. DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002918.
Shi Y, Gao XX, Tan X, et al. Comparative analysis of brief assessment of impaired cognition (Chinese version) and mini mental state examination scales in cognitive assessment of stroke patients[J]. Journal of Chongqing Medical University, 2021, 46(11): 1310-1314.
- [19] Chang Y, Zhao C, Ding H, et al. Serum factor(s) from lung adenocarcinoma patients regulates the molecular clock expression[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2021, 147(2): 493-498. DOI: 10.1007/s00432-020-03467-5.
- [20] Gao J, Yang C, Ding H, et al. 2,2,2-Trichloroethanol lengthens the circadian period of Bmal1-driven circadian bioluminescence rhythms in U2OS cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 462: 239-244. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.04.123.
- [21] 施海媛, 谭沙一君, 李路明, 等. 生物钟核心基因多态性与缺血性脑卒中疾病的关联性[J]. 中风与神经疾病杂志, 2024, 41(2): 123-128. DOI: 10.19845/j.cnki.zfysjbjzz.2024.0024
Shi HY, Tan SYJ, Li LM, et al. Association of core circadian clock gene polymorphism with ischemic stroke[J]. Journal of Apoplexy and Nervous Diseases, 2024, 41(2): 123-128.
- [22] Cantone L, Tobaldini E, Favero C, et al. Particulate air pollution, clock gene methylation, and stroke: effects on stroke severity and disability[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21: 3090. DOI: 10.3390/ijms21093090.
- [23] Pagani L, Schmitt K, Meier F, et al. Serum factors in older individuals change cellular clock properties[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108: 7218-7223. DOI: 10.1073/pnas.1008882108.
- [24] Micic G, De Bruyn A, Lovato N, et al. The endogenous circadian temperature period length (tau) in delayed sleep phase disorder compared to good sleepers[J]. J Sleep Res, 2013, 22: 617-624. DOI: 10.1111/jsr.12072.
- [25] Qi J, Li BZ, Zhang Y, et al. Altered hypothalamic functional connectivity following total sleep deprivation in young adult males[J]. Front Neurosci, 2021, 15: 688247. DOI: 10.3389/fnins.2021.688247.
- [26] 文世全, 段劲峰, 冯由军. 脑卒中病人睡眠-觉醒昼夜节律紊乱的影像学研究[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2016, 19(2): 21-22. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5110.2016.02.011.
Wen SQ, Duan JF, Feng YJ. Imaging study of sleep-wake circadian rhythm disorder in stroke patients[J]. Chinese Journal of Practical Nervous Diseases, 2016, 19(2): 21-22.
- [27] 钱洪春, 张萍淑, 元小冬, 等. 卒中伴阻塞性睡眠呼吸暂停患者认知功能损害与睡眠参数的关系[J]. 天津医药, 2024, 52(6): 619-624. DOI: 10.11958/20231238.
Qian HC, Zhang PS, Yuan XD, et al. Relationship between cognitive impairment and sleep parameters in stroke patients with obstructive sleep apnea[J]. Tianjin Medical Journal, 2024, 52(6): 619-624.
- [28] Wang H, Huang Y, Li M, et al. Regional brain dysfunction in insomnia after ischemic stroke: a resting-state fMRI study[J]. Front Neurol, 2022, 13: 1025174. DOI: 10.3389/fneur.2022.1025174.
- [29] Yan H, Zuo XN, Wang D, et al. Hemispheric asymmetry in cognitive division of anterior cingulate cortex: a resting-state functional connectivity study[J]. Neuroimage, 2009, 47: 1579-1589. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2009.05.080.
- [30] Lembach A, Stahr A, Ali AAH, et al. Sex-dependent effects of Bmal1-deficiency on mouse cerebral cortex infarction in response to photothrombotic stroke[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(10): 3124. DOI: 10.3390/ijms19103124.
- [31] Xu C, Li C, Wu H, et al. Gender differences in cerebral regional homogeneity of adult healthy volunteers: a resting state FMRI study[J]. BioMed Res Int, 2015: 183074. DOI: 10.1155/2015/183074.
- [32] Facer-Childs ER, De Campos BM, Middleton B, et al. Temporal organization of the brain's intrinsic motor network: the relationship with circadian phenotype and motor performance[J]. Neuroimage, 2021, 232: 117840. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2021.117840.
- [33] 邢寒棋, 戴慧. 昼夜节律在脑的多模态 MRI 中的研究进展[J]. 磁共振成像, 2024, 15(3): 190-195. DOI: 10.12015/issn.1674-8034.2024.03.031.
Xing HQ, Dai H. Research progress on circadian rhythms in multimodal MRI of the brain[J]. J Magn Reson Imaging, 2024, 15(3): 190-195.

(收稿日期: 2024-09-03)

(本文编辑: 王影)