第 62 卷　第 5 期
2026 年 9 月

南京大学学报(自然科学)
JOURNAL OF NANJING UNIVERSITY
(NATURAL SCIENCE)

Vol. 62, No. 5
Sept., 2026

DOI:10.13232/j.cnki.jnju.2026.05.004

视觉刺激诱发大鼠皮质下视觉通路响应的功能超声成像研究

顾书源,杜秉泽,顾竹笑*,屠　娟,章　东
(南京大学物理学院声科学与工程系,南京,210093)

摘　要:功能超声成像(functional Ultrasound Imaging,fUS)基于超快速多普勒成像和神经血管耦合机制,可以在较大视野内以较高时空分辨率来记录脑血容量(Cerebral Blood Volume,CBV)的动态变化,为啮齿动物深部脑区功能研究提供了新的成像手段. 为了观察视觉刺激诱发的大鼠皮质下视觉通路活动,采用平面波复合超快速超声成像系统,对麻醉状态下成年雄性SD (Sprague-Dawley)大鼠进行单眼蓝光闪烁刺激同步成像. 视觉刺激频率为12 Hz,单周期包括5 s刺激和55 s静息;在上丘(Superior Colliculus,SC)和外侧膝状核(Lateral Geniculate Nucleus,LGN)所在冠状面分别采集10个刺激周期的数据,并通过奇异值分解杂波滤波、功率多普勒计算和周期叠加提取刺激相关CBV变化. 结果显示,左眼刺激主要诱发右侧SC和LGN区域CBV升高,右眼刺激主要诱发左侧SC区域响应,可能反映大鼠视觉信息处理具有明显的对侧优势. SC区响应幅值约为5%～10%,峰值约为9%,刺激结束后恢复较慢;LGN区峰值约为6%,响应与刺激输入更同步,刺激结束后约5 s恢复至静息水平. 表明fUS能够无造影剂地显示大鼠深部视觉相关结构的刺激响应及其空间分布,为后续开展啮齿动物视觉通路功能血流动力学研究提供了实验依据和方法参考.

关键词:功能超声成像,超快速多普勒,神经血管耦合,视觉刺激,上丘,外侧膝状核
中图分类号:Q426.4　　**文献标志码:**A

Functional ultrasound imaging of subcortical visual pathway responses evoked by visual stimulation in rats

Gu Shuyuan, Du Bingze, Gu Zhuxiao*, Tu Juan, Zhang Dong
(Department of Acoustics, School of Physics, Nanjing University, Nanjing, 210093, China)

Abstract: Functional ultrasound imaging (fUS), based on ultrafast Doppler imaging and the neurovascular coupling mechanism, can record dynamic changes in cerebral blood volume (CBV) with high spatiotemporal resolution over a large field of view, providing a novel imaging approach for studying the functions of deep brain regions in rodents. To investigate activity in the subcortical visual pathway of rats evoked by visual stimulation, we employed a plane-wave-based composite ultrafast ultrasound imaging system to perform synchronized imaging during monocular blue-light flicker stimulation in anesthetized adult male Sprague-Dawley rats. The visual stimulus frequency was 12 Hz, with each cycle comprising 5 s of stimulation followed by 55 s of rest. We acquired data from ten stimulus cycles in the coronal planes containing the superior colliculus (SC) and the lateral geniculate nucleus (LGN), and extracted stimulus-related CBV changes using singular value decomposition for clutter suppression, power Doppler computation, and temporal averaging. Results showed that stimulation of the left eye primarily induced increases in CBV in the right SC and LGN, whereas stimulation of the right eye predominantly elicited responses in the left SC, suggesting a clear contralateral dominance in rat visual information

基金项目:国家自然科学基金(12227808)
收稿日期:2026－07－29
* 通信联系人,E-mail:gzx@nju.edu.cn

processing. The amplitude of the SC response was approximately 5%～10%, with a peak around 9%, and recovery after stimulation was relatively slow. In contrast, the LGN exhibited a peak of about 6%, with a response more closely synchronized with the stimulus input and returning to baseline within approximately 5 s post-stimulation. These findings demonstrate that fUS can noninvasively visualize stimulus-evoked responses and their spatial distribution in deep visual-related structures of rats, providing experimental evidence and methodological guidance for future studies of the functional hemodynamics of visual pathways in rodents.

Keywords: functional ultrasound imaging, ultrafast Doppler, neurovascular coupling, visual stimulation, superior colliculus, lateral geniculate nucleus

大脑功能成像通过记录神经活动相关的结构、代谢或血流动力学变化，实现对脑区功能定位和动态活动过程的可视化，是神经科学和临床神经病学的重要研究手段[1-2]，目前常用的脑功能成像技术包括功能磁共振成像（functional Magnetic Resonance Imaging，fMRI）、正电子发射断层成像（Positron Emission Tomography，PET）以及多种光学成像方法．光学成像具有很高的时空分辨率，但受限于光在生物组织中的散射和吸收，通常难以覆盖较深脑区；PET能够反映代谢活动，但空间分辨率相对有限，且需要使用放射性示踪剂；fMRI具有全脑覆盖和较好的非侵入性，已成为脑功能研究的重要工具，但其设备成本、空间占用和时间分辨率等因素限制了其在小动物动态功能研究中的灵活应用[2-4]．因此，发展兼具较高时空分辨率、较大成像深度、便携性和低成本优势的脑功能成像方法，对于啮齿动物神经环路研究具有重要意义．

超声成像具有安全、成本较低、便携和穿透能力较好的特点，在临床诊断和生物医学研究中应用广泛．然而，传统多普勒超声受制于逐线扫描成像帧率和微弱血流探测灵敏度，难以稳定显示脑内微血管血流．超快速超声成像利用平面波发射与相干复合成像显著提高帧率，使大视野内微血流的高灵敏度探测成为可能[3,5-9]．在此基础上发展起来的功能超声成像（functional Ultrasound Imaging，fUS）通过功率多普勒信号表征局部脑血容量（Cerebral Blood Volume，CBV）的变化，并利用神经血管耦合关系间接反映神经活动[10]，已被应用于感觉刺激诱发脑功能定位、静息态功能连接、药物作用评价和脑机接口等场景[4,11-13]．

视觉系统是脊椎动物获取环境信息的重要通路，涉及视网膜、视神经、上丘（Superior Colliculus，SC）、外侧膝状核（Lateral Geniculate Nucleus，LGN）、初级视觉皮层及高级视觉皮层等多级结构[6]．在啮齿动物中，SC和LGN均位于相对较深的脑区，其中，LGN承担视觉信息中继和初步加工功能，SC与视觉诱发的快速反射和定向行为密切相关．电生理记录可直接反映神经元活动，但常具有侵入性且空间覆盖范围有限；内源光学成像适合皮层表面活动研究，却难以覆盖SC和LGN等深部结构；高场fMRI虽可用于小动物全脑功能研究，但在动态分辨率、系统复杂度和实验灵活性方面仍存在限制[1-4,15]．因此，fUS有望成为研究啮齿动物视觉通路，尤其是深部皮质下视觉结构功能活动的有力补充．

本研究以视觉刺激下大鼠皮质下视觉通路的血流动力学响应为对象，建立单眼视觉刺激同步fUS成像流程，重点观察SC和LGN对周期性蓝光刺激的响应特征，并通过左右眼分别刺激验证视觉信息处理的偏侧化现象．研究旨在验证fUS对大鼠深部视觉结构功能响应的显示能力，并为后续开展啮齿动物视觉环路及神经血管耦合研究提供方法学基础．

1　材料与方法

1.1　实验动物与伦理　实验采用成年雄性SD（Sprague-Dawley）大鼠（总样本量$n=5$），周龄为8～10周，体重为200～250 g．饲养于标准环境，室温维持在（24±2）℃，相对湿度为（60±5）%，采用12 h/12 h昼夜交替光周期，自由摄取标准饲料和饮用水．在动物生理状态稳定且成像条件允许的情况下，同一只动物可完成不同冠状面或左右眼刺激条件下的重复测量．不同实验任务之间间

隔不少于 10 min,并在确认局部CBV恢复至稳定基线后开展下一项采集. 各实验任务所用动物存在部分重叠,因此各任务样本量之和不等于实验动物总数. 左右眼刺激的先后顺序采用交叉平衡方式确定,以降低刺激顺序和视觉适应对结果的影响. 所有动物实验操作由接受过专业训练的人员完成,遵循《实验动物护理和使用指南》相关原则,实验方案经南京大学实验动物伦理及福利委员会审查批准(伦理批准编号为 20251015). 实验过程中尽可能减少动物使用数量及其不适.

1.2 麻醉、固定与颅窗制备 实验前使用异氟烷吸入麻醉. 诱导麻醉浓度为 3%,待麻醉起效后将大鼠固定于脑立体定位仪. 实验和成像过程中维持麻醉浓度为 0.5%,并通过加热垫将体温维持在约 37 ℃. 固定时依次调整齿杆和双侧耳杆,使大鼠头部稳定、颅骨保持水平. 由于颅骨会引起超声衰减和相位畸变,为了获得稳定的脑内微血流信号,在目标区域上方制备矩形颅窗. 根据大鼠脑立体定位图谱[16],颅窗覆盖范围为 Bregma −3.00 mm 至 Bregma −7.00 mm,左右范围约为双侧各 0.5 mm. 操作过程中尽量避免损伤硬脑膜,以降低炎症反应和运动伪影对功能成像结果的影响.

1.3 视觉刺激装置与刺激范式 视觉刺激装置基于 Arduino UNO R3 开发板搭建,通过 Arduino IDE 编写控制程序以驱动蓝色 LED 光源. LED 的峰值发射波长为 460 nm,光谱半峰全宽为 20 nm. LED 光源置于大鼠单侧眼前约 1 cm 处,刺激开始前,在动物眼球所在平面采用光功率计测量光强,实测辐照度为 0.3~0.5 mW•cm^{-2}. LED 在眼前形成的有效照射区域能覆盖整个瞳孔范围.

实验过程中使用遮光布覆盖动物,使其在静息阶段处于暗环境,视觉刺激装置如图 1 所示. 考虑到大鼠对蓝光刺激较敏感,采用 12 Hz 蓝光闪烁刺激;每个刺激周期为 60 s,其中刺激持续 5 s,静息 55 s. 进行单眼刺激时,非刺激眼使用黑色遮光材料完全遮挡. 更换刺激眼时,同步调整 LED 位置,使光源与受刺激眼之间的距离、入射角度、辐照度和照射范围保持一致.

二维功能成像时,在同一冠状面连续采集 10 个刺激周期. 视觉偏侧化实验中,同一只动物分别接受左眼和右眼刺激. 左右眼刺激顺序采用交叉平衡方式确定,两种刺激条件之间间隔 10 min,并在确认局部脑血容量变化恢复至稳定基线后再进行下一次采集,以降低刺激顺序、视觉适应和前一刺激残余血流动力学响应的影响.

1.4 超快速超声成像系统与扫描装置 使用 128 阵元线阵超声探头及配套超声成像系统.

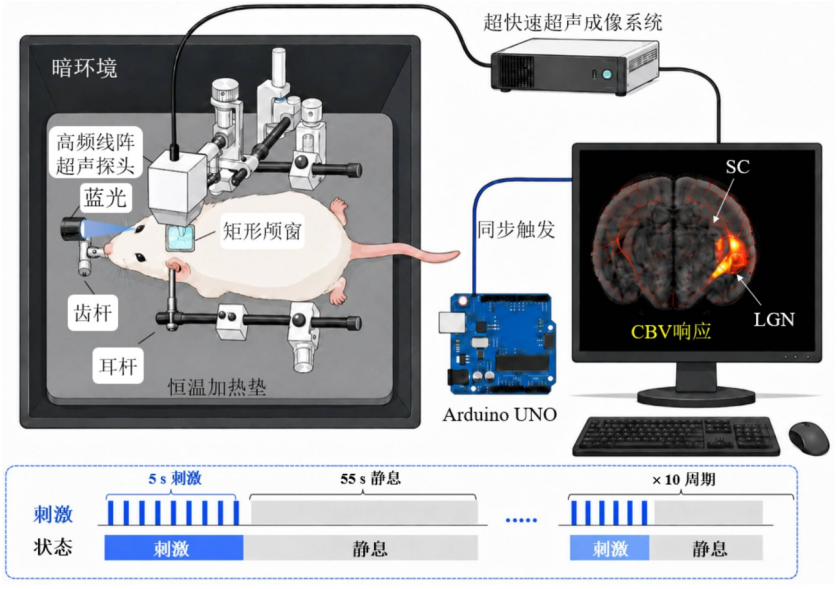


图 1 视觉刺激装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the visual stimulation device

探头阵元间距为0.1 mm，平面波发射中心频率为16.7 MHz，脉冲长度为三个周期，系统采样率为50 MHz. 为了覆盖大鼠全脑深度，成像深度设置为15 mm，成像视野约为10 mm×15 mm. 在该成像深度下，平面波复合后的成像帧率稳定在441 fps. 二维成像时，探头固定于目标冠状面；扫描成像时，探头安装于三轴电动扫描装置，扫描范围为Bregma −3.00 mm至Bregma −6.00 mm，步长为0.15 mm，共采集20个冠状面.

1.5　数据处理与刺激响应提取　对采集到的射频数据首先进行检波和时间增益补偿，以获得适合后续处理的包络图像序列. 随后采用奇异值分解（Singular Value Decomposition，SVD）杂波滤波进行组织运动、血流信号和电子噪声分离[17]. 具体地，每1000帧图像构成一个处理单元，将二维空间信息展开为矩阵行向量，时间序列作为列向量. 对该矩阵进行SVD处理，并将特征值从大到小排列. 通过设定合适的阈值将代表组织信号的大特征值和代表噪声的小特征值设为零来进行滤波，实现高灵敏度的血流提取.

以滤波后的信号的功率多普勒强度近似表征局部CBV，刺激相关响应以CBV相对于静息基线的百分比变化表示. 为了降低心跳、呼吸和随机噪声造成的波动，数据处理时先进行滑动平均，再以刺激前静息段作为基线计算CBV变化百分比. 每个60 s刺激周期包括5 s视觉刺激和55 s静息，以每个周期刺激开始前的10 s静息数据作为该周期的局部基线.

二维功能成像中，以刺激起始时刻为时间零点，将同一动物、同一冠状面采集的10个刺激周期进行时间对齐，并对各周期的CBV相对变化曲线逐点平均，以提高刺激相关响应的信噪比. 10个刺激周期属于同一动物内的技术重复，不作为10个独立的生物学样本.

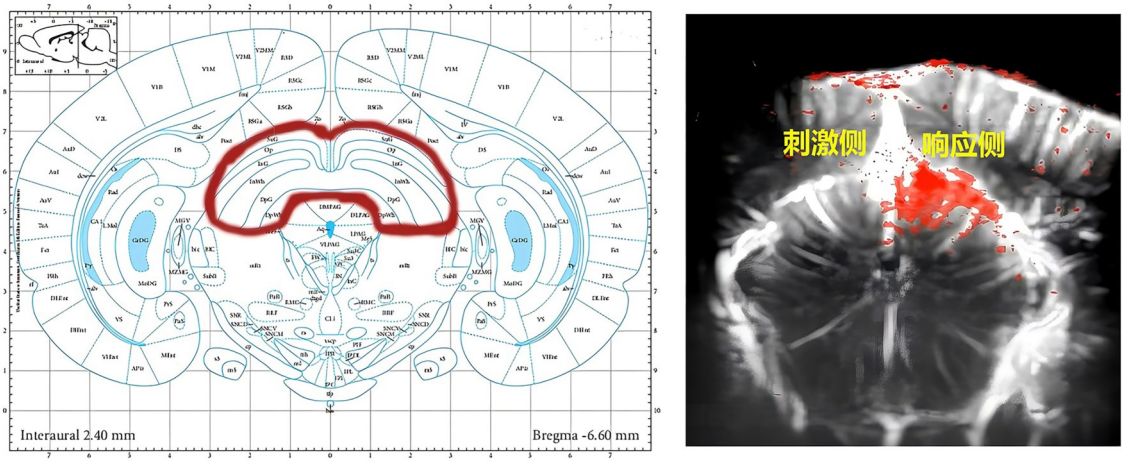
2　实验结果

2.1　视觉刺激下皮质下视觉结构的功能超声显示　在开颅窗条件下，超快速微血流成像能够显示大鼠全脑深度范围内的血管分布. 功率多普勒图像提供了清晰的脑内血流结构轮廓，为后续将功能响应区域与脑立体定位图谱进行对应提供了基础. 结合Bregma坐标，重点选择包含SC和LGN的冠状面进行成像，SC和LGN所在冠状面的解剖定位参照Paxinos和Watson编制的大鼠脑立体定位图谱[16]. SC观察切面位于Bregma −6.60 mm附近，可见上丘相关分区以及邻近视觉皮层区域（图2）. LGN观察切面位于Bregma −4.44 mm附近，该切面LGN区域较为典型.

ROI由两名相互独立的研究者完成勾画，采用两者交集作为最终ROI，左右两侧ROI尽量保持相似的面积和对称位置. 对ROI内所有像素的CBV相对变化取空间平均，获得SC和LGN的时间响应曲线. 在单眼周期性蓝光刺激条件下，功能超声图像显示刺激相关CBV变化百分比升高主要出现在对侧皮质下视觉结构，而同侧对应区域响应较弱或未见明显响应. 说明在本实验条件下，fUS能够从深部脑区微血流信号中提取与视觉刺激相关的局部血流动力学变化，并可用于区分不同视觉核团的空间位置和响应模式.

2.2　上丘对单眼视觉刺激的响应特征　在Bregma −6.60 mm冠状面，对大鼠左眼施加12 Hz蓝光闪烁刺激后，右侧SC区域出现明显CBV变化百分比升高，而左侧SC区几乎未见明显响应，视觉皮层区域在本实验条件下也未观察到稳定响应（图2b）. 提取SC区域像素并计算10个周期内CBV变化百分比曲线可见，CBV变化百分比随刺激周期呈现重复性升高（图3）. 单周期数据中可观察到刺激后CBV变化百分比快速上升，但受心跳、呼吸及轻微运动影响，曲线存在较大波动，个别周期出现超过15%的异常变化，可能与动物瞬时抖动或噪声有关.

经10个刺激周期对齐叠加后，SC区刺激响应曲线明显平滑，响应过程更清晰（图4）. 刺激开始后，SC区CBV变化百分比迅速升高，响应首先出现在局部血管邻近区域，随后扩展至较大范围SC区域. 刺激结束后约5 s内CBV变化百分比达到峰值，约9%，整体响应幅值主要位于5%～10%. 此后CBV变化百分比逐渐下降，但恢复过程较慢，刺激结束后约25 s才基本恢复至静息水平. 提示SC对视觉刺激具有快速启动但较慢恢复的血流动力学响应特点，与其参与视觉诱导的快速定向和反射调控功能相一致.



(a) (b)

图 2 Bregma −6.60 mm 大鼠脑冠状面结构及 SC 解剖位置，改绘自 Paxinos 和 Watson 大鼠脑立体定位图谱[16](a)与功能超声图像(b)

Fig. 2 Coronal anatomical structure and functional ultrasound response at Bregma −6.60 mm: (a) coronal atlas section showing the anatomical location of the SC, adapted from the rat brain stereotaxic atlas of Paxinos and Watson[16], (b) functional ultrasound image of the visual stimulus-evoked response

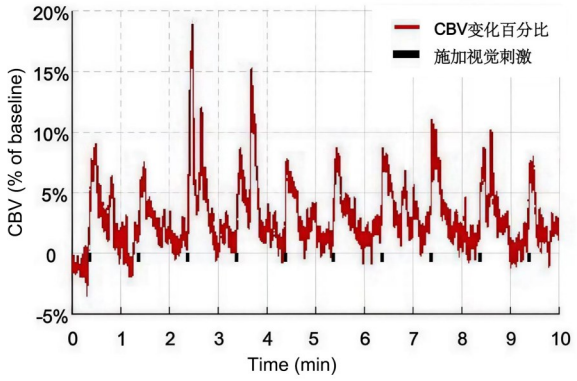


图 3 SC 区全程 CBV 变化百分比曲线

Fig. 3 Percentage change of CBV in the SC during the complete stimulation sequence

2.3 外侧膝状核对单眼视觉刺激的响应特征

在 Bregma −4.44 mm 冠状面进行成像时，左眼视觉刺激主要诱发右侧 LGN 区域响应，而左侧 LGN 未见明显 CBV 变化百分比升高(图 5). 与 SC 相似，单周期原始 CBV 变化百分比曲线受全脑血流波动和随机噪声影响较大，尤其在连续刺激后期，视觉刺激相关的局部 CBV 变化百分比升高容易被整体基线变化所掩盖. 经周期叠加后，LGN 区刺激响应得以从噪声背景中提取.

LGN 区 CBV 变化百分比在刺激开始后迅速升高，并在刺激持续期间达到峰值，峰值约为 6%(图 6). 与 SC 相比，LGN 区响应更加贴近刺激时程：刺激开始后上升更集中，刺激结束后衰减更快，约 5 s 内即可恢复至接近静息水平. 该结果提示，LGN 的血流动力学响应与视觉信息输入具有更强同步性，与其作为视觉信息中继与初步处理核团的功能定位相一致.

2.4 单眼视觉刺激诱发的大脑偏侧化响应

为了进一步验证大鼠视觉信息处理的偏侧化特征，在 SC 所在冠状面分别对左右眼施加相同刺激参数的蓝光闪烁刺激. 结果显示，右眼刺激主要诱发左侧 SC 区域 CBV 变化百分比升高，左眼刺激主要诱发右侧 SC 区域 CBV 变化百分比升高(图 7)，提示单眼视觉输入在大鼠脑内以对侧处理为主. 值得注意的是，在右眼刺激条件下，靠近中线的对侧优势区域以外仍可见少量同侧或中线附近响应，提示左右眼视觉信息处理并非完全分离，可能存在一定程度的纤维交叉重叠或双侧网络协同. 总体而言，本研究观察到的功能超声响应支持大鼠视觉系统中较强的对侧优势.

3 讨论

本研究利用 fUS 观察大鼠 SC 和 LGN 在单眼视觉刺激下的血流动力学响应. 与主要适用于皮层表面的光学成像方法相比，fUS 能够覆盖大鼠

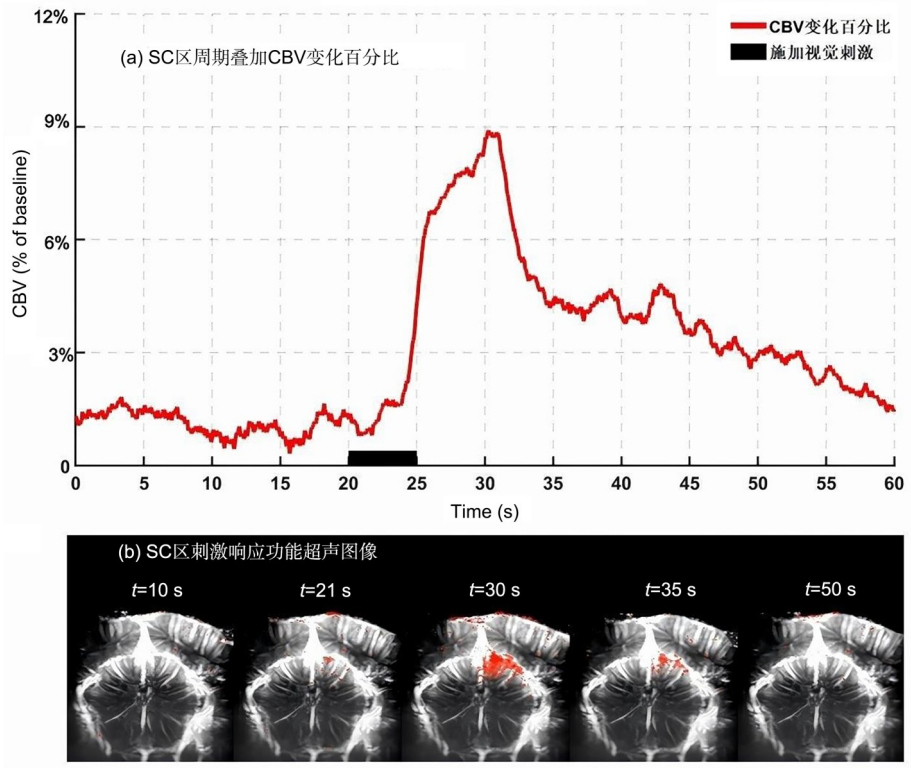


图4　10个刺激周期对齐叠加后获得的SC区CBV变化曲线(a)及代表性功能超声图像(b)

Fig. 4　The change curve of CBV in the SC region obtained by aligning and superimposing 10 stimulation cycles (a) and representative functional ultrasound images (b)

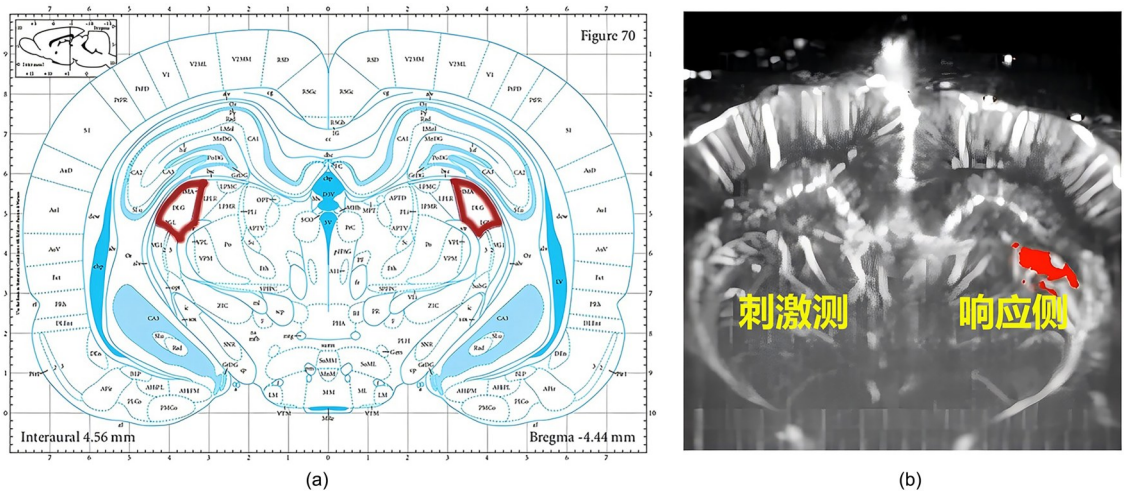


图5　Bregma −4.44 mm冠状面结构与功能超声成像结果：(a)大鼠脑冠状面结构及LGN解剖位置，改绘自Paxinos和Watson大鼠脑立体定位图谱[16]；(b)视觉刺激诱发的功能超声响应图像。

Fig. 5　Coronal anatomical structure and functional ultrasound response at Bregma −4.44 mm: (a) Coronal atlas section showing the anatomical location of the LGN, adapted from the rat brain stereotaxic atlas of Paxinos and Watson[16], (b) functional ultrasound image of the visual stimulus-evoked response

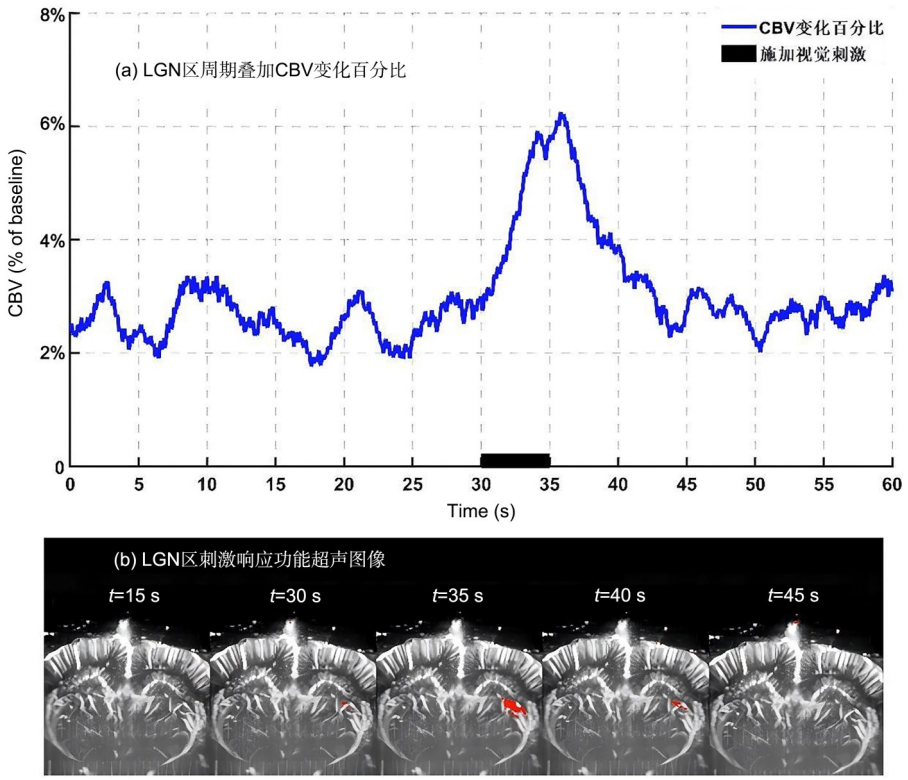


图 6 10 个刺激周期对齐叠加后获得的 LGN 区 CBV 变化曲线(a)及代表性功能超声图像(b)

Fig. 6 The change curve of CBV in the LGN region obtained by aligning and superimposing 10 stimulation cycles (a) and representative functional ultrasound images (b)

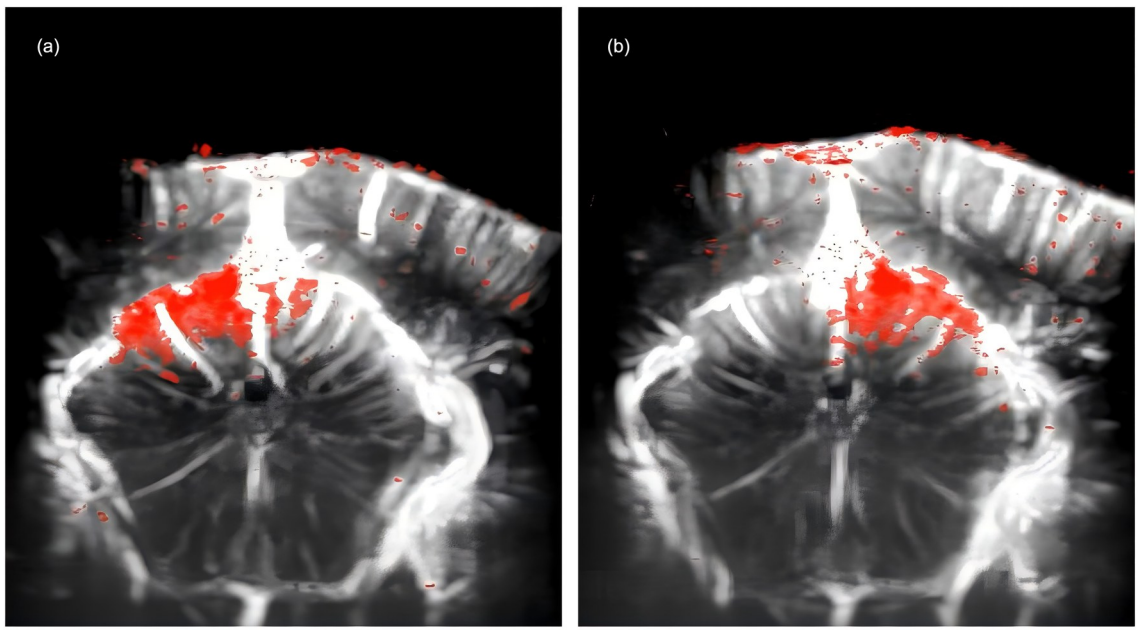


图 7 单眼视觉刺激诱发的大脑偏侧化响应图像:右眼刺激(a)和左眼刺激(b)

Fig. 7 Brain lateralization response evoked by monocular visual stimulation: right (a) or left (b)

深部视觉结构；与电生理记录相比，fUS可在较大视野内同时显示血管结构和功能响应；与小动物fMRI相比，fUS系统更加便携，能够以较高时间分辨率记录刺激诱发的血流变化．研究结果显示，fUS不仅能定位视觉刺激诱发的皮质下响应区域，还能比较不同核团的响应幅度和恢复过程，说明该技术适合用于啮齿动物深部神经环路的功能血流动力学研究．

本研究采用12 Hz蓝光闪烁、5 s刺激和55 s静息的周期性视觉刺激范式，主要基于啮齿动物视觉通路的频率响应特征以及fUS血流动力学检测的时间需求．已有高分辨率BOLD-fMRI研究显示，大鼠SC在单眼和双眼闪烁刺激条件下对较高频率视觉刺激具有较强响应，其中8～12 Hz范围内的刺激可有效诱发SC活动[18]．近期基于fUS的彩色光刺激研究也显示，蓝光刺激可在视觉皮层和LGN中诱发较明显的CBV变化[19]．因此，本研究选择12 Hz蓝光闪烁作为视觉输入，旨在提高皮质下视觉结构响应的可检测性．需要指出，5 s刺激和55 s静息并非某一固定标准范式，而是结合fUS反映的血流动力学响应特点进行的实验设置．较短刺激时间有助于降低连续光刺激引起的适应效应和动物状态漂移，较长静息时间有助于SC和LGN的CBV响应在下一周期开始前尽量恢复至基线水平，减少相邻刺激周期之间的响应重叠[20]．本研究中LGN区刺激结束后5 s恢复，而SC区恢复时间可达25 s，也从结果层面支持设置较长静息间隔的必要性．

本研究观察到，LGN区CBV响应与刺激时程较接近，刺激结束后恢复较快；相比之下，SC区CBV响应持续时间较长．该差异与二者在视觉通路中的功能分工具有一定一致性，即LGN主要承担视网膜信息向视觉皮层传递前的中继和初步加工，SC则参与视觉诱发的定向反应、感觉整合及相关行为调控．然而，这一解释应视为基于神经血管耦合关系提出的生理学推断，不能将两脑区的CBV变化直接等同于神经元放电活动．fUS测量的是微血流信号变化，其时间过程不仅取决于局部神经活动，还受到神经血管耦合效率、血管密度与管径、血管顺应性、局部基线灌注状态以及麻醉深度等多种因素影响．因此，SC恢复较慢既可能与其神经活动持续时间较长有关，也可能部分反映SC与LGN在局部血管网络构成和血流调节动力学方面的差异．基于现有fUS结果，尚不能确定两种可能因素的相对贡献，也不能仅依据血流动力学曲线推断两脑区神经元活动的精确起始时间、持续时间或放电强度．

本研究采用周期叠加和时间平滑来提高刺激响应的信噪比，这些处理虽然有利于提取稳定的平均血流动力学趋势，但也可能使短时、快速的响应成分被平滑．因此，目前观察到的LGN与SC响应差异更适合解释为两脑区在本实验成像与处理条件下呈现出的总体血流动力学差异，不宜表述为其神经活动时程存在确定差异．后续研究可在同一视觉刺激范式下同步开展fUS与局部场电位、单元放电或多通道电生理记录，以比较神经电活动与CBV变化之间的起始潜伏期、峰值时刻和恢复过程；也可结合钙成像记录神经元群体活动，并通过组织学染色或血管铸型评估SC和LGN局部血管结构．多模态同步测量有助于区分神经活动差异与血管动力学差异对fUS响应时程的贡献，更准确地解释两脑区的功能响应特征．

运动伪影是功能超声成像中需要重点控制的因素之一．由于fUS依赖微弱血流信号提取，呼吸、心跳、头部轻微位移及偶发性肌肉抖动均可能引起功率多普勒强度波动，并进一步影响CBV变化曲线的稳定性．本研究在实验设计和数据处理中采取多层次控制措施．例如，通过异氟烷维持麻醉、脑立体定位仪固定头部以及加热垫维持体温，尽量减少动物自主运动和生理状态波动；其次，在数据处理阶段采用SVD杂波滤波分离组织运动信号、血流信号和电子噪声，并结合滑动平均和10个刺激周期对齐叠加，提高刺激相关响应的信噪比．上述处理有助于削弱随机噪声和部分低频组织运动对结果的影响，然而，SC区全程CBV曲线中仍可见个别周期出现异常高幅值波动，提示瞬时运动或非刺激相关血流变化没有被完全消除．因此，本研究所得响应曲线应理解为在周期叠加后提取到的平均血流动力学趋势，而非单周期神经活动的精确表征．后续研究可进一步引入帧间图像配准、异常周期剔除、呼吸/心跳同步记录以及基于相关性的运动伪影判别方法，以提高

单次刺激响应分析的可靠性.

左右眼分别刺激结果显示,单眼视觉输入主要诱发对侧SC响应,符合啮齿动物视觉通路中视神经纤维大量交叉的解剖学特征[14,16]. 同时,部分中线附近或同侧小范围响应提示单眼输入并非完全由单侧脑区独立处理,可能与未完全交叉纤维、双侧投射、局部血流扩散或图像配准误差有关. 该现象提示,在利用fUS研究感觉通路偏侧化时,除峰值响应区域外,还应进一步量化响应面积、对侧/同侧响应比和跨周期稳定性,以更准确地描述偏侧优势程度.

当然,本研究仍存在若干局限. 例如,没有观察到稳定的视觉皮层响应,这一结果需要从生理状态、刺激参数和声学成像条件三方面综合理解. 首先,异氟烷麻醉可能抑制皮层神经活动,并改变神经血管耦合效率,使视觉皮层的CBV变化幅度低于本研究当前检测阈值. 其次,采用单眼蓝光闪烁刺激,刺激强度、照射角度、视野覆盖范围和对比度可能更有利于诱发SC和LGN等皮质下结构响应,不足以稳定驱动视觉皮层形成可重复的血流动力学变化. 再次,视觉皮层位于相对浅表区域,容易受到开颅窗边界、耦合剂层、近场成像质量、表层大血管信号和阈值设定的影响;若数据处理流程主要优化于深部微血流显示,较弱或较弥散的皮层响应也可能被滤波、阈值化或背景血流波动所掩盖. 因此,未观察到视觉皮层响应并不必然意味着皮层没有参与视觉信息处理,更可能反映当前麻醉状态、刺激范式和fUS处理流程对弱皮层响应的显示能力仍有限. 后续可采用清醒固定动物模型,系统比较不同光强、频率、持续时间、对比度和双眼/单眼刺激条件下的视觉响应,并针对皮层浅表血流特点优化SVD阈值、响应阈值和统计检验方法.

此外,扫描功能成像中每个冠状面仅采集一个刺激周期,虽然可以提供空间分布信息,但信噪比低于周期叠加成像,且不同切面之间可能受到动物状态漂移、刺激适应和探头移动误差影响. 未来可采用二维矩阵阵列或行列阵探头实现实时体积fUS,以避免逐面扫描带来的时间错配,进一步提高对视觉通路三维功能活动的观测能力[21-25].

总体上,本研究证明了fUS在显示大鼠深部皮质下视觉结构刺激响应方面的可行性,但其结果解释仍需结合运动伪影控制、麻醉影响、视觉刺激参数和神经血管耦合特性进行综合判断.

4 结论

本研究基于超快速多普勒和功能超声成像技术,实现麻醉大鼠单眼视觉刺激下皮质下视觉通路血流动力学响应的可视化. 结果表明,周期性蓝光刺激能诱发对侧SC和LGN区域CBV升高,且两类核团呈现不同的响应时程,SC响应幅值较高、恢复较慢,LGN响应与刺激输入更同步、恢复更快. 左右眼分别刺激进一步显示,大鼠单眼视觉输入以对侧脑区处理为主,存在明显偏侧优势. 以上实验结果说明功能超声成像能够在无造影剂条件下显示大鼠深部视觉相关结构的刺激响应及其空间分布,为啮齿动物视觉通路功能研究和神经血管耦合研究提供了一种有效的成像方法.

参考文献

[1] Macé E, Montaldo G, Cohen I, et al. Functional ultrasound imaging of the brain. Nature Methods, 2011,8(8):662-664.

[2] Mace E, Montaldo G, Osmanski B F, et al. Functional ultrasound imaging of the brain: Theory and basic principles. IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, 2013,60(3):492-506.

[3] Tanter M, Fink M. Ultrafast imaging in biomedical ultrasound. IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, 2014, 61(1): 102-119.

[4] Deffieux T, Demene C, Tanter M. Functional ultrasound imaging: A new imaging modality for neuroscience. Neuroscience,2021,474:110-121.

[5] Szabo T L. Diagnostic ultrasound imaging: Inside out. New York:Academic Press,2004.

[6] Torp H. Signal processing in ultrasound Doppler and color flow imaging. 2002-10-15. http://folk.ntnu.no/htorp/Undervisning/FlowMeas02/papers/, 2024-05-25.

[7] Brunel C, Torguet R, Rouvaen K M, et al. Ultrafast

echotomographic system using optical processing of ultrasonic signals. Applied Physics Letters, 1977, 30(8): 371－373.

[8] Sandrin L, Catheline S, Tanter M, et al. Time-resolved pulsed elastography with ultrafast ultrasonic imaging. Ultrasonic Imaging, 1999, 21(4): 259－272.

[9] Montaldo G, Tanter M, Bercoff J, et al. Coherent plane-wave compounding for very high frame rate ultrasonography and transient elastography. IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, 2009, 56(3): 489－506.

[10] Girouard H, Iadecola C. Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension, stroke, and Alzheimer disease. Journal of Applied Physiology, 2006, 100(1): 328－335.

[11] 黄俐杰，何琼，王锐，等. 功能超声成像技术及其应用研究进展. 生物医学工程学杂志，2022, 39(5): 1015－1021.

[12] Norman S L, Maresca D, Christopoulos V N, et al. Single-trial decoding of movement intentions using functional ultrasound neuroimaging. Neuron, 2021, 109(9): 1554－1566.e4.

[13] Griggs W S, Norman S L, Deffieux T, et al. Decoding motor plans using a closed-loop ultrasonic brain-machine interface. Nature Neuroscience, 2024, 27(1): 196－207.

[14] Sefton A J, Dreher B, Harvey A. Visual system// Paxinos G. The Rat Nervous System. Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 2004: 1083－1165.

[15] Gesnik M, Blaize K, Deffieux T, et al. 3D functional ultrasound imaging of the cerebral visual system in rodents. NeuroImage, 2017, 149: 267－274.

[16] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. New York: Academic Press, 1982.

[17] Demené C, Deffieux T, Pernot M, et al. Spatiotemporal clutter filtering of ultrafast ultrasound data highly increases doppler and fUltrasound sensitivity. IEEE Transactions on Medical Imaging, 2015, 34(11): 2271－2285.

[18] Van Camp N, Verhoye M, De Zeeuw C I, et al. Light stimulus frequency dependence of activity in the rat visual system as studied with high-resolution BOLD fMRI. Journal of Neurophysiology, 2006, 95(5): 3164－3170.

[19] Zhang J H, Gong C, Yang Z H, et al. Ultrasound flow imaging study on rat brain with ultrasound and light stimulations. Bioengineering, 2024, 11(2): 174.

[20] Lau C, Zhou I Y, Cheung M M, et al. BOLD temporal dynamics of rat superior colliculus and lateral geniculate nucleus following short duration visual stimulation. PLoS One, 2011, 6(4): e18914.

[21] Errico C, Osmanski B F, Pezet S, et al. Transcranial functional ultrasound imaging of the brain using microbubble-enhanced ultrasensitive Doppler. NeuroImage, 2016, 124(Part A): 752－761.

[22] Demené C, Robin J, Dizeux A, et al. Transcranial ultrafast ultrasound localization microscopy of brain vasculature in patients. Nature Biomedical Engineering, 2021, 5(3): 219－228.

[23] Demené C, Tiran E, Sieu L A, et al. 4D microvascular imaging based on ultrafast Doppler tomography. NeuroImage, 2016, 127: 472－483.

[24] Rabut C, Correia M, Finel V, et al. 4D functional ultrasound imaging of whole-brain activity in rodents. Nature Methods, 2019, 16(10): 994－997.

[25] Sauvage J, Flesch M, Fink M, et al. A large aperture row-column-addressed probe for *in vivo* 3D ultrafast Doppler imaging. IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, 2018, 65(10): 1884－1895.

（责任编辑　杨可盛）