

高时空分辨的脑功能光学成像研究进展 *

王 珍¹⁾ ** 刘庆莹²⁾

(¹⁾ 华中科技大学生命科学与技术学院, 武汉 430074; ²⁾ 华中科技大学同济医学院解剖学系, 武汉 430030)

摘要 脑功能成像技术对深入分析脑的信息加工过程, 揭示脑的高级功能至关重要, 是目前国际研究热点, 已经在神经科学研究和神经系统疾病的临床诊断方面取得了很大的进展. 已有脑功能成像技术如: 功能磁共振成像 (fMRI)、正电子断层成像 (PET)、脑电图 (EEG)、脑磁图 (MEG) 等等, 虽然已被成功用于脑功能研究, 但是目前这些方法也存在着时间或空间分辨率不够的局限. 比较而言, 光学成像方法表现出其独特魅力. 激光散斑衬比成像和内源信号光学成像由于能提供空间取样、时间分辨率及空间分辨率三者的最佳组合和无需加入外源性标记物等特点, 与其他脑功能成像技术相比其优势可能更为突出. 具有较高的时间和空间分辨率的这两种脑功能光学成像技术及其应用都取得了重大发展, 成为研究脑皮层功能构筑和脑病理生理的有力工具. 但是目前这两种成像方法也面临着一些挑战.

关键词 激光散斑衬比成像, 内源信号光学成像, 脑血流速度, 内源光学信号

学科分类号 Q63

脑功能成像是以神经活动产生的血流或代谢方面的变化为信号, 经过图像处理并运用成像技术, 将脑的活动以直观的图像形式表达出来. 脑功能成像技术对深入分析脑的信息加工过程, 揭示脑的高级功能至关重要, 是目前国际研究热点, 在神经科学研究和神经系统疾病的临床诊断方面取得了很大的进展.

已有脑功能成像技术如: 功能磁共振成像 (functional magnetic resonance imaging, fMRI)、正电子断层成像 (positron emission tomography, PET)、脑电图 (electroencephalogram, EEG)、脑磁图 (magnetoencephalography, MEG) 等等, 虽然已被成功用于脑功能研究, 但是目前这些方法也存在着时间或空间分辨率不够的局限^[1]. 比较而言, 光学成像方法表现出其独特魅力, 能提供多种从不同的时间和空间尺度上研究脑功能的多种成像技术, 从而可以得到有关脑组织的解剖结构信息、功能状态、血流动力学、代谢状况等参数的变化. 光学成像方法的成像范围涵盖了从细胞、神经、脑片、局部脑皮层到整体的脑功能成像.

脑血流速度 (cerebral blood flow, CBF) 的时空变化对于研究脑功能活动和脑疾病的病理机制非常重要. 目前常用的 CBF 测量方法存在空间分辨率不够, 或需加入外源性标记物, 或需加入扫描装置

等不足 (表 1). 因此, 在无需扫描条件下实现对区域性的 CBF 进行高时空分辨率监测是这个领域的发展趋势. 激光散斑衬比成像 (laser speckle contrast imaging, LSCI) 技术就是一种无需扫描的、具备高时空分辨率的、能同时获得 CBF 等多种生物信息的光学成像技术, 并且日益受到人们的重视. 2001 年 Dunn 等^[2]最早将激光散斑衬比成像技术应用于监测大鼠 CBF, 很快被广泛应用于监测不同实验条件下的 CBF 变化.

内源信号光学成像技术 (intrinsic optical signals imaging, IOSI) 因为能提供空间取样、时间分辨率及空间分辨率三者的最佳组合, 与其他脑功能成像技术相比其优势可能更为突出. 由于内源信号光学成像技术的灵敏性高, 能用于多种生理信号的成像, 为我们更好地理解脑皮层功能构筑、生理和病理状态提供了基础.

虽然这两种光学成像方法由于具有较高的时间和空间分辨率, 已经被广泛用于脑功能研究 (表 2), 但是目前这两种成像方法也面临着一些挑战. 有些是所有脑功能光学成像方法共有的, 有些是其成像

* 中国博士后科学基金 (第 40 批) 资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 027-87792033, E-mail: angelwangzhen197@163.com

收稿日期: 2007-09-12, 接受日期: 2007-11-14

技术本身决定的、不可避免的，从某种程度上这也决定了这两种光学成像方法未来的发展趋势^[3]。下面将这两种光学成像方法在脑功能研究中的应用及其未来可能的发展趋势进行简要的综述。

Table 1 General methods for monitoring blood flow
表 1 常用的监测血流速度方法

方法种类	方法名称	基本原理	优点	缺点
间接方法	局部组织阻抗式容积脉波描记方法、光电反射式容积脉波描记方法、多点温度测量方法。	通过阻抗、血容、温度反映血流量的变化。	非侵入性；无需要加入外源性物质。	只能提供对血流变化的一种非常定性的描述；空间分辨率极低。
直接方法	血细胞荧光示踪活体观测方法、氦离子稀释法、放射性微球技术。	用荧光物质标记血细胞、选择不能通过毛细血管的直径为 20~50 μm 标记放射性同位素的微球、将氢作为指示剂的方法。	直接对血流进行测量，观察更为简便、准确、可靠。	需要引入外源性物质，对生物组织本身的生理参数可能会产生一定影响。
单点测量方法	超声多普勒技术、激光多普勒技术与各种“单点”激光散斑技术。	利用多普勒效应或时变散斑的统计特性对血流速度进行连续监测。	对血流速度进行连续监测，时间分辨率高。	空间分辨率不够高；要实现对区域性的血流进行监测，还需增加扫描装置。
区域性监测方法	激光散斑衬比成像。	由散射介质运动引起的空间模糊程度来获得二维血流速度分布图。这种模糊程度用散斑衬比表示。	无需扫描；高时间(数十毫秒)和空间(数十微米)分辨率；能实现对区域性血流进行监测。	只能对生物组织浅表层的血流变化进行测量。

Table 2 Applications of two optical imaging methods to brain functional research
表 2 两种光学成像在脑功能研究中应用

成像方法		脑功能激活(生理)状态下神经血管反应		病理状态下神经血管反应		
内源信号光学成像	脑皮层功能构筑	躯体感觉皮层(大鼠、猫、松鼠猴、人等)	扩散性抑制(SD)	各种刺激方法诱导 SD		
		视觉皮层(猫、小鼠、丛猴等)		脑缺血状态下自发 SD		
		听觉皮层(南美栗鼠、猫、雪貂等)	癫痫(人或动物)——可获得有关癫痫病理的、			
		嗅觉皮层(大鼠、小鼠等)	定位的信息			
			脑外伤等(人)			
		与空间注意力有关的顶叶皮层(猴类等)				
激光散斑衬比成像	不同状态下的脑血流速度(CBF)变化					

1 激光散斑成像

血流速度是血流动力学中一个重要参量，对于血流速度的监测有多种方法，如 fMRI 和 PET 都是通过监测血流速度时空变化来研究神经活动的响应特性，但其时间和空间分辨率远比光学成像技术低。而目前用于监测血流速度的光学方法，如：激光多普勒测速仪、激光散斑干涉测量技术等只能对单点处的速度进行测量。若要对大面积区域的流速分布进行监测，需另加机械扫描装置，如彩色多普勒成像，扫描激光多普勒测速仪等，然而这将限制了成像的时间和空间分辨率。因此，一种在无需扫描条件下能实现对区域性血流速度进行高的时间和空间分辨率监测的技术是这个领域的发展趋势。激

光散斑成像技术能够实现在无需扫描的条件下对区域性流速分布进行监测，并且该方法具有较高的时间(几十毫秒)和空间分辨率(数微米)，因此日益受到人们的重视。

1.1 激光散斑成像技术基本原理及分析方法

当激光照射在相对粗糙的物体表面上，经过不同光程的散射光之间相互干涉，形成随机干涉图样，即散斑。如果散射介质在运动，图像中的每一个像素将产生随时间变化的散斑图样。该图样在时间和空间上的光强变化包含着散射介质的运动信息。通过电荷耦合器件(charge coupled device, CCD)对散斑图样进行成像，分析由散射介质运动引起的空间模糊程度来获得高的空间和时间分辨率的二维速度分布图。这种模糊程度用散斑衬比表

示,即光强的平均标准偏差与平均强度的比值.散斑衬比值在0与1之间,速度越大,衬比值越小,速度越小,衬比值越大.散斑衬比值1表示该区域不存在散斑图样的模糊,即没有运动,衬比值越接近0,表示散射介质运动越快.

上述这种由Briers等首先提出的激光散斑成像是一种基于时间积分散斑的一阶空间统计特性的散斑成像技术,又被称为激光散斑空间衬比成像技术(laser speckle spatial contrast analysis, LSSCA).尽管这种激光散斑成像方法与其他方法(如:激光扫描多普勒)相比,具有较高的时间和空间分辨率,但是它也有一些缺点,如:分析信号时采用对区域性像素进行平均来获得空间统计特性,从而丢失了空间分辨率.2003年Cheng等^[3~7]将上述方法进行改进,建立具有更高时空分辨率的激光散斑时间衬比成像技术(laser speckle temporal contrast analysis, LSTCA),改进后的LSI不仅具有更高的空间分辨率,还能提供一些有关小血管的血流灌注信息.最近,Li等^[8]进一步研究发现,采用LSTCA方法经大鼠完整颅骨进行散斑成像,不仅能清楚地显示CBF和脑血管形态结构,还能明显地消除静态结构(如颅骨)所产生激光散斑的影响.

激光散斑成像采集的数据庞大难以分析,尤其是在有数千幅图像,每幅图像有数百万像素的情况下.因此,一方面LSI逐渐成为一种可进行实时医学成像的技术,而另一方面其复杂的计算,在某中程度上限制了这种技术应用前景.2005年Liu等^[9]从聚类分析的基本数学思想出发,将已经成功应用于fMRI信号分析的时间聚类分析方法,首次用于激光散斑衬比成像技术分析大脑体感皮层血流速度时空改变的图像数据.在麻醉状态下,刺激大鼠坐骨神经,经磨薄的颅骨采用LSI监测体感皮层局部CBF时空动态变化.并采用时间聚类分析方法,分析上述实验获得的数据,发现经过这种分析方法处理后的实验结果与采用激光多普勒血流仪(laser Doppler flowmetry, LDF)和fMRI监测获得的CBF变化结果相似而且更为精确.

1.2 激光散斑成像技术在扩散性抑制和脑缺血研究中的应用

激光散斑成像技术具有非接触、无损和实时成像等优点.自2001年Dunn等^[2]建立这种动态的、具有高分辨率的,能监测大CBF的激光散斑成像系统以来,这项技术开始在生命科学领域得到广泛的应用.已成为一种稳定的能对动物模型CBF动

态变化进行全场成像的技术.并且已经有许多研究证实,LSI获得的CBF变化与同时采用LDF采集的有关CBF变化数据进行比较,获得一致的有关CBF变化的实验结果.但是LSI具有独特优势,使得LSI更适合于神经生理学的基础研究^[10,11].

2001年Dunn等首次提出这种高分辨率的CBF动态成像方法.采用激光对脑皮层进行散斑成像,获得具有数十微米的空间分辨率和毫秒级时间分辨率的相对CBF图像.并通过联合采用这种激光散斑成像和电生理记录,首次获得了局灶性脑缺血和皮层扩散性抑制(cortical spreading depression, CSD)过程中相对CBF的动态变化图像,结果发现:a.大脑中动脉栓塞后,大鼠脑皮层残余CBF呈梯度改变,包括缺血中心核、半暗带、低血流灌注区域、正常血流灌注区域.b.CSD传播过程中有直径约2~3 mm皮层区域出现CBF增加,这种CBF增加以2~3 mm/min速度进行传播^[2].

后来Dunn等又将上述激光散斑衬比成像系统与快速多波长成像系统进行整合,能同时对脑的总血红蛋白(total hemoglobin concentration, HbT)、氧代谢率(cerebral metabolic rate of oxygen, CMRO(2))和CBF进行成像的系统.并首先用于研究大鼠CSD发生过程中氧合血红蛋白(oxy-hemoglobin, HbO)、脱氧血红蛋白(deoxy-hemoglobin, HbR)及CBF变化情况^[12,13].这种成像技术不仅可对脑血液动力学的时空动态变化进行详细定量分析,也可对氧代谢进行成像.这点对神经科学研究者来说意义重大,将有助于更好了解正常和疾病状态下的神经、代谢、血液动力学的相互关系.2004年Ayata等^[14]也采用多波长反射成像和激光散斑衬比成像技术研究发现,CSD传播过程中大鼠、小鼠的CBF改变并不完全一样,小鼠出现显著的低灌注,其原因可能为小鼠大脑血管对细胞外K⁺浓度增加更为敏感.

激光散斑成像也被广泛用于脑缺血动物模型的研究.不仅能监测缺血中心内、外CBF变化,同时也能实时显示缺血中心核的进展情况^[15]和检测近梗塞去极化(peri-infarct depolarization, PID)是否发生及其影响.为了验证这种方法用于监测大脑皮层PID的敏感性和对大脑皮层血流灌注程度的定量能力,Strong等^[16]对结扎猫的大脑中动脉并进行散斑成像,从散斑衬比图像计算得出散斑逆相关时间(inverse speckle correlation time, ICT)图像.通过计算血液中伞形酮清除率(umbelliferone clearance,

CBF(umb)), 研究 ICT 与血流灌注之间的定量关系. 并通过比较直流电位(direct current, DC)变化和 ICT 变化来检测 PIDs 是否发生. 结果显示, ICT 值、CBF(umb)值和由此推导出血流灌注大小之间高度相关. 通过监测 DC 可检测到 90% 的 PIDs, 而通过 ICT 变化只能检测 56% 的 PIDs. Strong 等^[17]进一步研究猫脑的 PID 持续时间和血流灌注之间的关系, 发现血流灌注的瞬时变化模式和变化程度及与之相伴的去极化事件随脑回位置不同而变化. 有时皮层去极化事件导致的血流灌注下降的后果是非常严重且不可逆转, 甚至超过了先发生的去极化事件的影响. 还证实在动脉阻塞造成的脑中风模型, 皮层血流灌注下降及与其有关的 PIDs 导致半暗带区域的进一步恶化. 所有这些研究表明, 对有脑回的脑而言, 血流灌注下降和 PIDs 在脑缺血梗塞过程中起重要的而不是补充的作用.

最近 Shin 等^[18]利用 LSI 技术研究急性脑中风的治疗措施. 已有研究发现, 正常气压下增加氧浓度可作为治疗急性脑中风的方法. 因为动物模型研究发现正常气压下高氧可减少脑缺血损伤, 并有助于功能恢复. 但是其神经保护机制至今存在争议. Shin 等同时采用实时的、二维的多波长反射成像和激光散斑成像, 监测正常气压下高氧对 CBF 的影响和缺血皮层的氧代谢. 研究表明, 缺血后正常气压下高氧导致 HbO 快速递增, 缺血后 60 min 内, 缺血中心核的 HbO 浓度几乎增加 1 倍. 高氧还改善 CBF, 因此缺血 60 min 后, 残余 CBF < 20% 的区域缩小 45%. 另外, 高氧使 PIDs 发生次数至少减少了 60%, 从而降低 PIDs 对 CBF 和代谢的恶化作用. 小鼠的脑梗塞面积与对照组比较减少 45%. 所有实验结果表明: 大鼠在局灶性脑缺血时, 正常气压下, 氧浓度增加可改善缺血脑皮层 CBF 和氧代谢, 并能抑制大脑皮层的 PID, 从而发挥神经保护作用. 另外也有研究表明在急性脑缺血情况下 Rho 激酶负性调节 eNOS (endothelial nitric oxide synthase) 活性, 从而加重 CBF 不足. 所以 Rho 激酶的小分子抑制剂上调 eNOS 活性可能会成为急性脑中风的一种有效治疗措施^[19].

1.3 其他应用

由于 CBF 对轻度低血压的响应存在很大差异. 有研究者采用 LSI 监测不同皮层区域在平均动脉血压 (mean arterial blood pressure, MABP) 为 70 mmHg 条件下 CBF 变化. 还有研究者将 LSI 和黄素蛋白自发荧光 (flavoprotein autofluorescence,

AF) 联合应用于脑功能激活时氧代谢和 CBF 变化. 最近还有将 LSI 技术用于人类脑淀粉样血管病的动物模型研究.

2 内源信号光学成像

2.1 内源信号光学成像原理

内源信号指由于神经元电活动引起的有关物质成分及其运动状态改变, 从而导致组织光学特性变化. 所谓内源, 意指在不对组织施加染色、荧光标记等外源性影响, 信号由组织本身的光学特性变化所引起, 主要包括吸收和散射的变化. 由于在可见和近红外波段脑皮层主要吸收色团是血红蛋白, 一般认为脑皮层功能活动引起局部 HbO₂ 和 HbR 浓度变化是内源性光吸收变化的主要因素. 因此, 从吸收的角度, 基于内源信号的光学成像是神经元电活动的间接反映, 主要反映神经活动所诱发的局部脑血液动力学变化. 对于引起散射变化的内在生理机制可能涉及神经元细胞膜去极化, 动作电位产生过程中离子、水分子运动, 细胞外空间的收缩和膨胀, 毛细血管舒张或神经递质释放等多种因素, 但其确切机制目前仍不完全清楚. 而在裸露的脑皮层和透过头皮、颅骨进行无损伤测量的在体脑皮层活动研究中, 内源信号中光吸收变化成分占主导地位.

IOSI 是一种优越的在体脑功能成像技术, 可以对较大范围的皮层区域进行成像, 具有数十毫秒的时间分辨和数十微米的空间分辨. 自 20 世纪 80 年代 Grinvald 等首次利用 IOSI 在暴露的脑皮层上进行有关神经活动的成像, 作为研究脑皮层功能构筑和血流动力学特征的重要手段, 该技术已在研究哺乳动物大脑皮层功能构筑及神经活动的血液动力学响应方面取得了非常重要的进展, 引起了神经科学领域的广泛关注.

2.2 在扩散性抑制和脑缺血研究中的应用

IOSI 能以较高的分辨率提供 CSD 传播过程时空变化模式. 与其他那些有较好的时间分辨率或者有较好的空间分辨率, 但不能同时兼备的方法如 DC 电极记录、MRI 等相比, IOSI 具有其独特的优势^[20]. 如前所述, 内源信号光学成像可以同时提供很高的时间和空间分辨率, 适合研究哺乳动物大脑皮层功能构筑, 并已取得非常重要的研究进展. Luo 等采用 IOSI 最新研究还发现不同强度坐骨神经刺激在大鼠初级躯体感觉皮层区域诱发响应的时空动态变化不同. 伤害性刺激和非伤害性刺激所激活的功能性充血早期响应的空间模式存在着差异, 光信

号的峰值响应幅值与持续时间随刺激强度呈非线性增加趋势. 以上结果表明, 初级躯体感受皮层参与了伤害性刺激的传导与调制过程, 激活区域周围的反信号可能会为相对低的空间或者时间分辨率的功能成像研究带来不一致的结果^[21].

2.2.1 在活体动物研究中的应用.

20 世纪 90 年代, Yoon 等^[22]率先在大鼠脑皮层上采用 IOSI 研究 CSD 在大鼠感觉运动皮层的时空发展模式, 发现钾离子在大鼠皮层上诱导的 CSD 过程中 IOS 变化的空间模式, 与传统认为 CSD 波传播模式是均一的观点相反, CSD 波传播是先有不对称的波前, 紧随其后的 CSD 波是非均一传播. 这些 IOS 反映 SD 有关的分子和代谢过程, 并预言 IOSI 可能会成为一种研究大脑皮层病理生理和功能结构非常有用的技术^[22]. Ba 等^[23]首次采用多波长光学成像研究活体动物脑皮层上与 CSD 有关的 IOS 变化, 以探讨 CSD 发生过程中反射光强变化产生原因. 研究发现: 波长为 850 nm 和 550 nm 时, IOS 呈三相变化即增强 (phase 1)、降低 (phase 2)、再增强 (phase 1); 波长为 610 nm 时, IOS 变化的 phase 1 与波长为 850 nm 和 550 nm 时的 phase 1 相似. 但是 phase 2 情况比较复杂, 表现为脑实质的反射光强下降, 而脑血管反射光强增强. 在 phase 3 则反射光强下降. 相对于光信号变化来说, 与 SD 有关血容变化出现稍晚, 在时间上与光信号的 phase 2 和 phase 3 对应. 这些结果表明, CSD 发生过程中光散射变化先于血流灌注的响应, 血容增加 (phase 2) 伴有脱氧血红蛋白减少, 血容减少 (phase 3) 伴有脱氧血红蛋白增加. 以前的研究表明, SD 引起的血量减少是代谢需求减少的结果, 而本研究结果表明, 这种血量减少是由于氧供应明显减少不能满足组织需要.

国内利用 IOSI 研究 CSD 起步稍晚, 直到 2000 年 Li 等^[24]采用 IOSI 研究 CSD 产生和发展过程中皮层 IOS 变化的时域特性、波长相关性、空间分布特征及其传播模式. 并且发现针刺诱发 CSD 发生过程中, 软脑膜动脉血管直径表现出多时相的变化, 在大幅度舒张之前还发生了一小幅度的舒张和收缩^[25]. 杨媛媛等^[26]采用 IOSI, 进一步深入研究 ATP 敏感的 K^+ 通道(K_{ATP})抑制剂: 格列本脲 (glibenclamide, glyb) 作用下针刺诱导大鼠 CSD 过程中皮层反射内源光信号变化的时间特性、空间分布特征, 以及软脑膜动脉血管舒缩的变化.

随后, Chen 等^[27]采用 IOSI 技术在大鼠诱导的

CSD 或局灶性脑缺血后自发的 CSD 方面进行了许多研究, 并取得了一些创新性结果. 包括采用 IOSI 观察发现: 钾离子或针刺诱导产生 CSD, 除了首次 CSD 外, 后续 CSD 并不总是在整个观察皮层上完全传播, 有时在靠近大脑中线的皮层区域会停止传播, CSD 波传播模式在大鼠皮层不同区域是随时间变化的, 这种变化与 CSD 波之间的时间间隔有关. Chen 等^[28~30]还发现: 大脑中动脉栓塞后, 出现一系列自发 CSD 波, 与这种自发 CSD 相关的 IOS 变化表现出明显区域差异性. 随着自发 CSD 产生, CSD 起源的位置也在不断迁移, 有向靠近中线区域移动的趋势. 没有 CSD 传播的区域逐渐扩大. Chen 等以上的工作证明了 CSD 时空动态发展存在不均一性, 对传统观念认为 CSD 是一个“全或无”过程的认识是一种重要补充. 特别是缺血自发 CSD 的特征可用于监测局灶性脑缺血的动态发展过程. 继 Chen 之后, Wang 等^[31]联合利用激光散斑成像、内源信号光学成像和电生理记录等方法, 研究大鼠脑缺血后钾离子诱导产生 CSD 过程中, CBF 不同区域的内源光学信号出现 4 种时间改变模式. 这些结果表明, CSD 过程中不同的 IOS 特性可能在一定程度上反映了 CSD 发生之前的 CBF 不同.

最近, Brennan 等利用 IOSI 在 CSD 研究方面也取得很大的进展, CSD 被认为是偏头痛发病的基础机制, 啮齿动物的 CSD 模型被用作偏头痛模型. Brennan 等^[32]采用 IOSI 和电生理技术诱导雌性小鼠产生 CSD 的刺激阈值明显低于雄性小鼠. 这结果可能有助于解释临床上女性偏头痛的患病率大于男性的现象. 已有较多的研究表明, CSD 发生时伴随有明显的血管扩张和血管收缩现象, 但是 CSD 发生过程中有关于这种血管现象和皮层实质的关系仍然不清楚. 为研究这两者之间的关系, Brennan 等^[33]同时采用 IOSI 和电生理记录, 研究麻醉状态下的小鼠和大鼠 CSD 发生过程的血管和实质的改变. 研究的结果表明与 CSD 有关的血管传播性扩张有其内在机制. 这种显著的血管传导对与 CSD 有关的疾病(包括偏头痛、脑中风、脑外伤)的发病来说是非常重要的.

IOSI 在脑缺血动物模型研究中的应用, 除了上述用于研究缺血过程中自发 CSD 或 PID 或缺氧去极化(anoxic depolarization, AD)外, 还有人采用 IOSI 研究局灶性脑缺血病变后的功能重建. 脑缺血后的功能重建是临床上脑缺血三个特点之一.

2003 年开始, Zepeda 等在这方面做了一些初步探讨, 研究初级视觉皮层(V1)发生局灶性缺血病变后不同时间点的视网膜 - 皮层拓扑和方向优势性功能图谱发生重建. Zepeda 等^[34]采用 IOSI 观察猫初级视觉皮层发生缺血病变后视网膜 - 皮层拓扑关系的功能重建, 第一次较为全面地研究视觉皮层发生局灶性缺血病变后皮层功能重建的可能机制.

2.2.2 在离体脑片研究中的应用. 早在 Yoon 等采用 IOSI 研究 CSD 在大鼠感觉运动皮层的时空发展模式之前, Turner 等^[35]采用 IOSI 研究海马脑片短暂缺氧时, 不能诱导产生 SD 样缺氧去极化波(注: 皮层扩散性抑制发生在脑皮层以外, 就简称 SD 波), 缺氧时间长, 才有可能在海马 CA1 区诱导产生 SD 波. 在 SD 研究应用方面, IOSI 不仅具有高时空分辨率的优势, 可清楚显示大鼠海马脑片在正常情况下或剥夺氧 / 葡萄糖或给予不同药物作用下, SD 产生位置和传播范围. 这些研究结果为研究脑中中风时 SD 在脑缺血损害中所起的作用提供支持^[36].

2.2.3 其他应用. IOSI 作为研究脑皮层功能构筑和血流动力学特征的重要手段, 该技术已在研究哺乳动物大脑皮层功能构筑及神经活动的血液动力学响应方面取得了非常重要的进展, 引起了神经科学领域的广泛关注. 广泛应用在研究哺乳动物躯体感觉皮层功能的构筑. 在视觉皮层功能构筑和听觉皮层功能构筑应用方面也引起了广泛的关注. 还已成功地被应用于神经外科手术(特别是癫痫病人手术)中, 并展现出可喜的应用前景.

3 内源信号光学成像和激光散斑成像未来的发展趋势

具有较高时间和空间分辨率的内源信号光学成像和激光散斑成像技术已发展多年, 可用于活体动物或人的脑皮层功能构筑和病理生理的研究. 这两种成像方法在脑功能研究应用过程中, 其方法本身也一直在发展和完善, 未来可能朝以下几个方面发展:

由于内源光学信号的确切生理来源至今没有定论, 所以为了阐述内源光信号对应的生理意义及其与神经元电活动的关系, 还需要借助已有的、公认的技术手段(如电生理记录等)与其进行对比. 另外, 在研究脑皮层功能激活时, 内源信号光学成像如何尽可能提供精确的、与刺激完全对应的脑功能激活图谱也是内源信号光学成像技术未来发展需要

考虑的热点问题. 还有, 如何消除有关于这种方法分辨率的一些争议, 因为其分辨率受所用光源的波长、实验动物生理状态的影响等等. 我们期望内源信号光学成像方法和对内源信号的解析能得到进一步的发展, 从而成为对神经科学家更有用的脑功能成像技术.

同样, 虽然激光散斑衬比成像技术能实时监测血流速度的动态改变. 但是由于被监测的对象本身复杂性, 所以与其他的测量血流速度的方法一样, 激光散斑衬比成像技术很难获得血流速度的准确绝对值而只是相对值. 但这些局限性不会成为这种技术用于临床检测和诊断的主要障碍.

激光散斑衬比成像和内源信号光学成像还有面临一些共同的挑战: 一方面, 它们都只提供二维的在体高分辨成像, 但不具有深度方向的分辨能力, 所以穿透脑皮层的能力受限(大约数百微米). 另一方面, 这两种成像方法(包括其他光学成像方法)未来面临的最大的挑战仍然是将这些方法应用于人的临床研究方面.

所以在不断改进和完善上述脑功能光学成像技术的同时, 如果将光学成像的方法与其他脑研究方法(分子生物学、生理学等多种手段)结合起来, 将会大大有助于我们对脑功能本质的理解.

参 考 文 献

- Casey B J, Haan M. Introduction: New methods in developmental science. *Developmental Science*, 2002, **5**(3): 265~267
- Dunn A K, Bolay H, Moskowitz M A, *et al.* Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2001, **21**(3): 195~201
- Cheng H, Luo Q, Liu Q, *et al.* Laser speckle imaging of blood flow in microcirculation. *Phys Med Biol*, 2004, **49**(7): 1347~1357
- Cheng H, Luo Q, Zeng S, *et al.* Hyperosmotic chemical agent's effect on *in vivo* cerebral blood flow revealed by laser speckle. *Appl Opt*, 2004, **43**(31): 5772~5777
- Cheng H, Luo Q, Zeng S, *et al.* Modified laser speckle imaging method with improved spatial resolution. *J Biomed Opt*, 2003, **8**(3): 559~564
- Cheng H, Luo Q, Zeng S, *et al.* Optical dynamic imaging of the regional blood flow in the rat mesentery under the effect of noradrenalin. *Progress in Natural Science*, 2003, **13**(5): 397~400
- Cheng H, Luo Q, Wang Z, *et al.* Efficient characterization of regional mesenteric blood flow by use of laser speckle imaging. *Appl Opt*, 2003, **42**(28): 5759~5764
- Li P, Ni S, Zhang L, *et al.* Imaging cerebral blood flow through the intact rat skull with temporal laser speckle imaging. *Opt Lett*, 2006, **31**(12): 1824~1826
- Liu Q, Wang Z, Luo Q. Temporal clustering analysis of cerebral

- blood flow activation maps measured by laser speckle contrast imaging. *J Biomed Opt*, 2005, **10**(2): 024019
- 10 Ayata C, Dunn A K, Gursoy O Y, *et al.* Laser speckle flowmetry for the study of cerebrovascular physiology in normal and ischemic mouse cortex. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2004, **24**(7): 744~755
 - 11 Dunn A K, Bolay H, Moskowitz M A, *et al.* Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2001, **21**(3): 195~201
 - 12 Dunn A K, Devor A, Bolay H, *et al.* Simultaneous imaging of total cerebral hemoglobin concentration, oxygenation, and blood flow during functional activation. *Opt Lett*, 2003, **28**(1): 28~30
 - 13 Dunn A K, Devor A, Dale A M, *et al.* Spatial extent of oxygen metabolism and hemodynamic changes during functional activation of the rat somatosensory cortex. *Neuroimage*, 2005, **27**(2): 279~290
 - 14 Ayata C, Shin H K, Salomone S, *et al.* Pronounced hypoperfusion during spreading depression in mouse cortex. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2004, **24**(10): 1172~1182
 - 15 Paul J S, Luft A R, Yew E, *et al.* Imaging the development of an ischemic core following photochemically induced cortical infarction in rats using laser speckle contrast analysis (lasca). *Neuroimage*, 2006, **29**(1): 38~45
 - 16 Strong A J, Bezzina E L, Anderson P J, *et al.* Evaluation of laser speckle flowmetry for imaging cortical perfusion in experimental stroke studies: Quantitation of perfusion and detection of peri-infarct depolarisations. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2006, **26**(5): 645~653
 - 17 Strong A J, Anderson P J, Watts H R, *et al.* Peri-infarct depolarizations lead to loss of perfusion in ischaemic gyrencephalic cerebral cortex. *Brain*, 2007, **130**(Pt 4): 995~1008
 - 18 Shin H K, Dunn A K, Jones P B, *et al.* Normobaric hyperoxia improves cerebral blood flow and oxygenation, and inhibits peri-infarct depolarizations in experimental focal ischaemia. *Brain*, 2007, **130**(Pt 6): 1631~1642
 - 19 Shin H K, Salomone S, Potts E M, *et al.* Rho-kinase inhibition acutely augments blood flow in focal cerebral ischemia via endothelial mechanisms. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, **27**(5): 998~1009
 - 20 O'Farrell A M, Rex D E, Muthialu A, *et al.* Characterization of optical intrinsic signals and blood volume during cortical spreading depression. *Neuroreport*, 2000, **11**(10): 2121~2125
 - 21 Luo W, Li P, Chen S, *et al.* Differentiating hemodynamic responses in rat primary somatosensory cortex during non-noxious and noxious electrical stimulation by optical imaging. *Brain Res*, 2007, **1133**(1): 67~77
 - 22 Yoon R S, Tsang P W, Lenz F A, *et al.* Characterization of cortical spreading depression by imaging of intrinsic optical signals. *Neuroreport*, 1996, **7**(15-17): 2671~2674
 - 23 Ba A M, Guiou M, Pouratian N, *et al.* Multiwavelength optical intrinsic signal imaging of cortical spreading depression. *J Neurophysiol*, 2002, **88**(5): 2726~2735
 - 24 李鹏程, 陈尚宾, 骆卫华, 等. 大鼠皮层扩散性抑制过程的在体内源光信号成像. *生物化学与生物物理进展*, 2003, **30**(4): 605~611
Li P C, Chen S B, Lu W H, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2003, **30**(4): 605~611
 - 25 Li P, Luo Q, Luo W, *et al.* Spatiotemporal characteristics of cerebral blood volume changes in rat somatosensory cortex evoked by sciatic nerve stimulation and obtained by optical imaging. *J Biomed Opt*, 2003, **8**(4): 629~635
 - 26 杨媛媛, 李鹏程, 曾绍群, 等. 格列本脲对大鼠皮层扩散性抑制中脑血管的调节作用. *生物化学与生物物理进展*, 2006, **33**(9): 902~907
Yang Y Y, Li P C, Zen S Q, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2006, **33**(9): 902~907
 - 27 Chen S, Li P, Luo W, *et al.* Time-varying spreading depression waves in rat cortex revealed by optical intrinsic signal imaging. *Neurosci Lett*, 2006, **396**(2): 132~136
 - 28 Chen S, Li P, Luo W, *et al.* Origin sites of spontaneous cortical spreading depression migrated during focal cerebral ischemia in rats. *Neurosci Lett*, 2006, **403**(3): 266~270
 - 29 冯哲, 陈尚宾, 李鹏程, 等. 光学成像观测大鼠局灶性脑缺血的动态过程. *生物化学与生物物理进展*, 2005, **32**(9): 871~875
Feng Z, Chen S B, Li P C, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2005, **32**(9): 871~875
 - 30 Chen S, Feng Z, Li P, *et al.* *In vivo* optical reflectance imaging of spreading depression waves in rat brain with and without focal cerebral ischemia. *J Biomed Opt*, 2006, **11**(3): 34002
 - 31 Wang Z, Li P, Luo W, *et al.* Peri-infarct temporal changes in intrinsic optical signal during spreading depression in focal ischemic rat cortex. *Neurosci Lett*, 2007, **424**(2): 133~138
 - 32 Brennan K C, Reyes M R, Lopez Valdes H E, *et al.* Reduced threshold for cortical spreading depression in female mice. *Ann Neurol*, 2007, **61**(6): 603~606
 - 33 Brennan K C, Beltran-Parrazal L, Lopez Valdes H E, *et al.* Distinct vascular conduction with cortical spreading depression. *J Neurophysiol*, 2007, **97**(6): 4143~4151
 - 34 Zepeda A, Arias C, Sengpiel F. Optical imaging of intrinsic signals: Recent developments in the methodology and its applications. *J Neurosci Methods*, 2004, **136**(1): 1~21
 - 35 Turner D A, Aitken P G, Somjen G G. Optical mapping of translucence changes in rat hippocampal slices during hypoxia. *Neurosci Lett*, 1995, **195**(3): 209~213
 - 36 Joshi I, Andrew R D. Imaging anoxic depolarization during ischemia-like conditions in the mouse hemi-brain slice. *J Neurophysiol*, 2001, **85**(1): 414~424

Progress on Optical Imaging of Functional Brain With High Temporal and Spatial Resolution*

WANG Zhen^{1)**}, LIU Qing-Ying²⁾

¹⁾ School of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China;

²⁾ Department of Human Anatomy, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract Techniques for functional brain imaging are critical to analyze the information processing of brain and to reveal the advanced functions in brain. These techniques are the hot topics of international research. Great success has been obtained with neuroimaging techniques in the fields of neuroscience research and clinical diagnosis. Existing brain functional imaging such as magnetic resonance imaging (fMRI), positron emission tomography (PET), electroencephalogram (EEG), magnetoencephalography (MEG) and so on, have been successfully used to study brain function. However, these methods have some limitations unavoidably in the temporal or spatial resolution at present. Comparatively, the optical imaging technologies of brain function show their unique charms. Laser speckle imaging (LSI) and intrinsic optical signals imaging (IOSI) stand out because they offer a superior combination of spatial sampling, spatial resolution and temporal resolution; on the other hand, they have no need to use exogenous contrast agents. Great developments also have been obtained in both techniques and applications of brain optical imaging, and they have become powerful tools for *in vivo* studying functional architecture and pathophysiology in cerebral cortex by monitoring hemodynamics. However, the two optical imaging techniques are confronted with some challenges.

Key words laser speckle contrast imaging, intrinsic optical signals imaging, cerebral blood flow, intrinsic optical signals

*This work was supported by a grant from Chinese Postdoctoral Science Foundation (the 40th).

**Corresponding author. Tel: 86-27-87792033, E-mail: angelwangzhen197@163.com

Received: September 12, 2007 Accepted: November 14, 2007