

大鼠皮层扩散性抑制过程的在体内源光信号成像*

李鹏程 陈尚宾 骆卫华 骆清铭**

(华中科技大学生物医学光子学教育部重点实验室, 武汉 430074)

摘要 皮层扩散性抑制 (cortical spreading depression, CSD) 是研究偏头痛、脑梗塞等疾病的一种重要病理模型。而 CSD 过程中伴随发生的皮层血液动力学变化目前尚不完全清楚。利用高分辨的内源光信号成像技术, 在体观测了大鼠 CSD 产生和发展过程中 540 nm 及 660 nm 波长皮层反射内源光信号变化的时空动力学特征, 分析讨论了引起这一内源光信号变化可能的内在生理机制。实验结果显示, CSD 诱发的内源光信号变化呈现多时相的特点, 其传播由刺激中心以同心圆的样式向周围扩散, 速度约为 (3.7 ± 0.4) mm/min。对于 540 nm, CSD 引起了皮层反射光强的降低 [幅度 $(-2.1 \pm 1.2)\%$, 持续时程 (16.2 ± 3.8) s], 升高 [幅度 $(2.9 \pm 1.6)\%$, 持续时程 (13.8 ± 2.2) s], 再降低 [幅度 $(-14.2 \pm 4.5)\%$, 持续时程 (40.6 ± 8.4) s] 和再升高持续时程 $[(146.2 \pm 40.3)$ s], 同时观测到软脑膜动脉的大幅度舒张, 血管管径变化峰值增大了 $(69.2 \pm 26.1)\%$ 。而对于 660 nm, 内源光信号变化的时间特性在皮质区主要表现为反射光强的增大 [幅度 $(3.8 \pm 0.6)\%$, 持续时程 (17.9 ± 5.1) s], 减小 [幅度 $(-3.0 \pm 1.7)\%$, 持续时程 (43.3 ± 6.4) s] 和稍后持续缓慢的光强增加。

关键词 皮层扩散性抑制, 光学成像, 内源信号, 大鼠

学科分类号 Q63

皮层扩散性抑制系指各种刺激因素使大脑皮质局部神经元去极化, 导致神经元电活动受抑制, 并且以波的形式自源处向周围组织扩散。皮层扩散性抑制 (cortical spreading depression, CSD) 可通过 K^+ 、机械或电刺激诱发, 是研究偏头痛^[1~3]、脑梗塞^[4]等疾病的一种重要病理模型。自 1944 年 Leão^[5]首次观察到 CSD 现象以来, 陆续的研究表明 CSD 伴随着 EEG 抑制、直流电位变化、细胞外 K^+ 浓度的升高和细胞外间隙的减小^[1,6]。而对于 CSD 过程中皮层血液动力学的变化, 采用激光多普勒流速仪、PET、MRI 和脑血管直径检测等技术的研究表明, CSD 首先引起 1~2 min 局部脑血流量和血容量的增加, 并于随后产生一持续的长时间脑血流减小和缺血^[3]。此外, CSD 还会诱发软脑膜动脉血管的大幅度舒张^[6]。然而产生这些血液动力学变化内在的生理机制目前并不完全清楚^[1], 并且研究中所采用的这些血液动力学变化检测技术本身也存在一些不足。激光多普勒血流测速虽然具有很高的时间分辨率, 但只能对单个空间位置处血流变化的时域过程进行评价; PET、MRI 技术虽然可以进行无损伤的三维层析成像, 但其空间分辨率一般仅为毫米量级。因此, 有必要采用更高时间和空间分辨率的脑皮层活动在体成像技术对 CSD 传播的速度、空间模式以及伴随的血液动力学变化进行更精细的研究。

脑皮层活动的内源光信号成像 (intrinsic

optical signal imaging, IOSI) 是到目前为止具有最高的空间分辨率 (20 μ m) 和较高的时间分辨率 (数十毫秒) 的在体脑功能成像技术^[7]。该技术采用一定波长的非相干单色光直接照射裸露的脑皮层 (或透过磨薄的颅骨), 通过测量皮层反射和后向散射光光强来反映皮层功能活动引起的局部氧合血红蛋白 HbO_2 、还原血红蛋白 Hb 浓度以及组织光散射特性的改变^[8]。作为在功能柱水平上研究脑皮层功能构筑和动力学特征的重要手段, 该技术已在研究哺乳动物视觉、听觉、躯体感觉皮层的功能构筑及神经元活动的血液动力学响应方面取得了重要进展^[9]。近年来国外的一些研究小组在离体的鸡视网膜^[10]、大鼠海马^[11~13]和新皮层^[14,15]脑片上进行了大量的研究, 考察了滴注高浓度 KCl 溶液和缺氧诱导的扩散抑制 (spreading depression, SD) 过程中内源光信号 (intrinsic optical signal, IOS) 变化的时空特性及其与神经元电活动、细胞外间隙变化之间的关系。由于离体脑片上的研究缺乏对血液动力学这一重要因素的考察, 因此有必要进一步研究在体情况下皮层扩散抑制过程中内源光信号变化的

* 国家杰出青年科学基金 (60025514), 国家自然科学基金 (30070215) 和国家基础研究重大项目前期研究专项基金 (973) (2001CCA04100) 资助项目。

** 通讯联系人。 Tel: 027-87544624, Fax: 027-87542341

E-mail: ibp@mail.hust.edu.cn

收稿日期: 2003-01-22, 接受日期: 2003-02-28

时空特性. 目前国际上对 CSD 过程中内源光信号变化的在体成像研究还很不充分, Alyssa 等^[16]对大鼠采用机械针刺诱导 CSD, 并对 850 nm 波长的皮层反射内源光信号变化进行了在体成像; Yutaka 等^[17]则对大鼠和猫在体观测了高浓度 KCl 微量注射诱发的 CSD 过程中 540 nm 波长透射内源光信号的变化特性. 540 nm 常被用于近似描述局部脑组织中总血红蛋白浓度(血容量)的变化. 850 nm 则因其光强变化与血容量和血氧的变化均有关, 不利于分离出单独的因素. 而 660 nm 通常被用来近似表征组织中 Hb 浓度的变化^[7~9]. 在 Yutaka 等的研究中, 将直径 0.2 mm 的导光光纤插入脑实质作为照明光源. 而照明光纤插入脑实质本身就容易诱发 CSD, 不利于实验动物保持稳定的状态. 而且该方法光强微弱, 信噪比较低, 需采用昂贵的像增强器. 相比而言, 反射式的在体光学成像可以避免这些缺点.

本实验采用波长为 540 nm 和 660 nm 的非相干单色光进行高分辨的在体内源光信号成像, 观测了 CSD 产生和发展过程中大鼠皮层反射内源光信号变化的时间特性、波长相关性、空间分布特征及其传播模式, 以及软脑膜动脉直径的变化, 分析讨论了可能导致这些内源光信号变化的内在生理机制.

1 材料与方法

1.1 动物准备

实验动物为体重在 200~300 g 之间的成年雄性 Sprague Dawley 大鼠 16 只, 其中用于 540 nm 和 660 nm 波长的成像实验各 8 只. 大鼠经 α 水合氯醛与乌拉坦按 50 mg/kg 和 600 mg/kg 进行腹腔注射麻醉后, 对其实施股动脉插管手术. 股动脉插管连接压力传感器用以监测实验中大鼠的平均动脉血压. 用加热垫控制其体温于 $(37.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$. 实验过程中大鼠股动脉血压, 心率, 直肠温度由 PCLab 生物信号采集系统及相应的传感器连续监测, 保证实验过程中各参数处于正常范围. 将大鼠固定于大鼠脑立体定位仪, 用生理盐水冷却的牙科钻磨薄大鼠一侧顶骨, 直至产生约 $7\text{ mm} \times 6\text{ mm}$ 大小的“透明”颅窗, 窗中心位于前囟后 3.5 mm, 侧 3 mm 处. 磨薄后的颅骨厚度一般小于 $100\text{ }\mu\text{m}$. 颅窗四周用牙科水泥围高, 加入二甲基硅油. 动物准备完成后, 在进行针刺诱导 CSD 前静置 1 h, 以保证动物处于一个比较稳定的生理状态.

1.2 CSD 诱导

在颅窗中心、角落或光学成像范围之外某处采用机械针刺的方法诱导 CSD, 针刺时避开有较粗脑血管的位置. 实验所用钢针尖端直径 0.1 mm, 锥度 10.5° , 刺入深度 1 mm, 持续时间 1~2 s. 每次 CSD 诱导于光学成像记录开始约 10 s 后进行.

1.3 光学成像

如图 1 所示, 实验所用光学成像系统由显微镜 (Olympus 6045 SZ) 和 12bit 快速电荷耦合器件 (charge coupled device, CCD) 成像系统 (PixelFly VGA, PCO, Germany) 构成. 该 CCD 摄像头为 640 (H) $\times$ 480 (V) 象素, 在 25 ms 曝光时间下可获得最高 40 fps (frames per second) 的成像速度. 由于皮层扩散性抑制为一较慢生理过程, 为减少记录的图像数据量, 实验中采用了 16 帧的在线平均, 因此实际时间分辨率为 2.5 fps. 图像的在线平均同时也改善了系统的成像信噪比, 有利于微弱信号的提取. 实验中光学成像面积为 $5.3\text{ mm} \times 4\text{ mm}$, 空间分辨率约 $8\text{ }\mu\text{m}/\text{pixel}$. 对每次 CSD 诱导, 连续记录 400 s, 共计 1000 帧大鼠皮层的光反射图像. 其中开始的约 20 帧图像于 CSD 诱发前采集, 作为基线. 照明光源为波长 540 nm ($\Delta\lambda=20\text{ nm}$) 和 660 nm ($\Delta\lambda=20\text{ nm}$) 的发光二极管 (light emission diode, LED). LED 由可调恒电流源电路驱动点亮, 以保证实验过程中光源发光强度的稳定性. 整个光学成像系统置于防震光学平台上以减小环境震动可能对实验稳定性造成的影响.

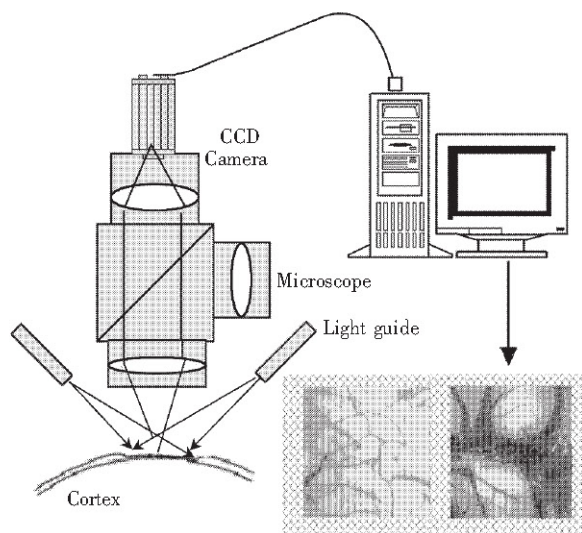


Fig. 1 Schematics of the intrinsic optical signal imaging system

1.4 数据处理

为提取 CSD 产生和发展过程中内源光信号变化的时空特性, 我们在 Matlab 计算平台下对实验中采集的图像序列进行分析处理. 以图像序列中各图像对其前一帧图像的变化率来反映内源信号变化的空间分布, 定义为 $DI_i = (I_i - I_{i-1}) / I_i$, 其中 I_i 为第 i 帧皮层光反射图像的灰度 (即第 i 时刻皮层反射光强的空间分布). 为描述皮层 (或血管) 某位置处内源光信号变化的时间特性, 对实验中所成每一帧图像计算感兴趣区域 (region of interest, ROI) 内图像灰度的平均值, 并计算其相对于基线 (即 CSD 诱导前) 的变化率, 即 $\Delta R_i = (R_i - R_{baseline}) / R_{baseline}$. 式中 R_i 为第 i 帧图像中某 ROI 内的平均反射光强, $R_{baseline}$ 则为 CSD 诱导前该 ROI 内 R 的平均值. 此外, 对于采用 540 nm 波长成像的实验来说还可同时获得皮层表面脑血管的形态变化 (这里主要考察血管直径).

2 结果与分析

2.1 540 nm 内源光信号变化的时空特性

图 2a 为机械针刺诱发的 CSD 过程中典型的 540 nm DI 空间分布模式及其传播特性. 如图 2a 所示, CSD 诱发的皮层反射内源光信号变化在空间分布上呈同心圆的样式, 并由发源处向四周均匀扩散. 这一扩散不具备沿某特殊方向或血管结构的特异性 (提示所观测到的内源光信号变化主要反映的是皮质区神经元、神经胶质细胞及毛细血管的响应), 且历经反射光强减小、增加、减小、增加等多个时相. 各时相的空间分布也具有不同的特点.

最初的光强下降 (暗环) 的空间分布不太规则, 并且在软脑膜动脉上表现出较大的幅度. 随后光强增加 (亮环) 的空间分布则呈现边界平滑、锐利、均匀的圆形. 相比而言, 接着产生较大幅度的光强减弱和增强的空间分布虽然也是均匀规则的圆形, 但其边界较宽, 有明显的扩散效应. 进一步考察皮质区固定空间位置上内源光信号变化的时间特性 ΔR , 如图 3a 所示, CSD 首先引起皮层反射光强的轻微下降 [N1, 幅度 $(-2.1 \pm 1.2)\%$, 持续时程 $(16.2 \pm 3.8)\text{s}$]; 紧接着产生反射光强的小幅增强 [P2, 幅度 $(2.9 \pm 1.6)\%$, 持续时程 $(13.8 \pm 2.2)\text{s}$]; 随后出现一大幅度的反射光强下降 [N3, 幅度 $(-14.2 \pm 4.5)\%$, 持续时程 $(40.6 \pm 8.4)\text{s}$] 和上升 [P4, $(146.2 \pm 40.3)\text{s}$]. 图 3 是单次测量中获得的结果. 图 3 中曲线的基本形状在不同实验动物, 不同 CSD 诱发以及同次测量中不同位置等情况下都较一致, 但信号的幅度和各阶段持续的时程有一定的差异. 同次测量中, 不同空间位置的时程曲线形状相似, 但时间上有延迟 (图 3a). 该延迟体现了 CSD 的 “传播” 过程. 在传播的法线方向上取离诱发中心不同距离的几个位置, 根据其间的延迟即可计算出传播的速度. 经统计, CSD 引起的皮层反射光强的这一多时相变化以 $(3.7 \pm 0.4)\text{mm/min}$ 的速度自诱发中心向四周扩散. 这一速度与其他文献中采用电生理等方法获得的 CSD 传播速度 $(3 \sim 5\text{mm/min})$ 相近^[1,3,5]. 此外, 在 67% 的实验中 P4 阶段的光强上升超过了基线水平. 统计检验还表明, 在成像的范围内皮质区 (内含毛细血管) 和动脉血管上内源光信号变化的幅度

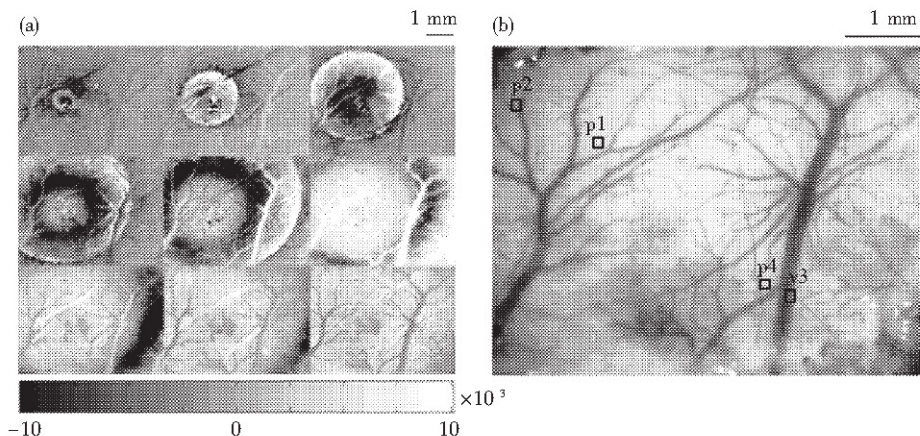


Fig. 2 Spatial pattern of 540 nm ratio image (DI) and its progress during CSD at every 12.8 s in a rat (a) and raw optical reflectance image at 540 nm (b)

和持续时程无显著性差异。而在大静脉血管上内源光信号变化的特性与周围皮质区和动脉血管上不

同,如图 3b 所示。

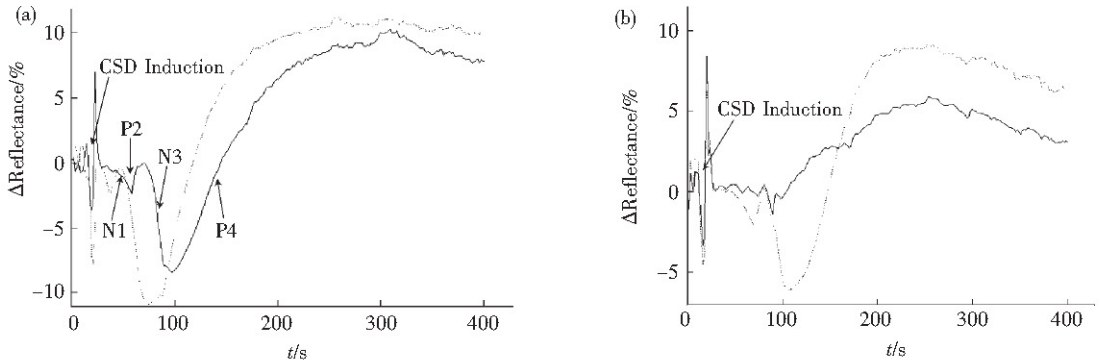


Fig. 3 Temporal characteristics of IOS responses at 540 nm during CSD in a rat

(a) Time courses of the changes of optical reflectance in the two parenchyma ROIs (p1, p2) marked in Figure. 2b. —: parenchyma 1 (p1); ...: parenchyma 2 (p2). (b) Time courses of the changes of optical reflectance in the vein (v3) and parenchyma (p4) ROIs marked in Figure. 2b. —: vein; ...: parenchyma.

2.2 660 nm 内源光信号变化的时空特性

CSD 引起的 660 nm 皮质反射内源光信号变化的时空特性见图 4 和图 5。如图 4 所示, 660 nm 信号变化的时间特性与 540 nm 不同, 在皮质区主要表现为—明显的反射光强增大 [P1, 幅度 (3.8 ± 0.6)%, 持续时程 (17.9 ± 5.1)s], 然后光强减小 [N2, 幅度 (-3.0 ± 1.7)%, 持续时程 (43.3 ± 6.4)s] 和稍后持续缓慢的光强增加, 而在大静脉血管上除 P1, N2 与皮质区相同 (无显著性差异) 外, 还存在紧接着的较大幅度的光强增加 [P3, 幅度 (3.7 ± 2.1)%] 和恢复过程。P1、N2 阶段相

应的内源光信号变化的空间分布及传播模式与 540 nm 的 P2、N3 阶段相似, 分别对应于一平滑、锐利、均匀传播的亮带 (光强增加) 和一较宽的暗带 (光强减小)。而在 N2 之后光强缓慢增加恢复基线水平的过程中, 由于静脉血管上内源光信号变化在此阶段与皮质区的差异, 造成了内源光信号变化的空间分布图像中出现明显的静脉血管。比较皮质区 540 nm 和 660 nm 内源光信号变化的时间特性, 我们发现 660 nm 的 P1、N2 时相与 540 nm 的 P2、N3 时相在光强变化的方向和持续时间方面也有较好的一致性。

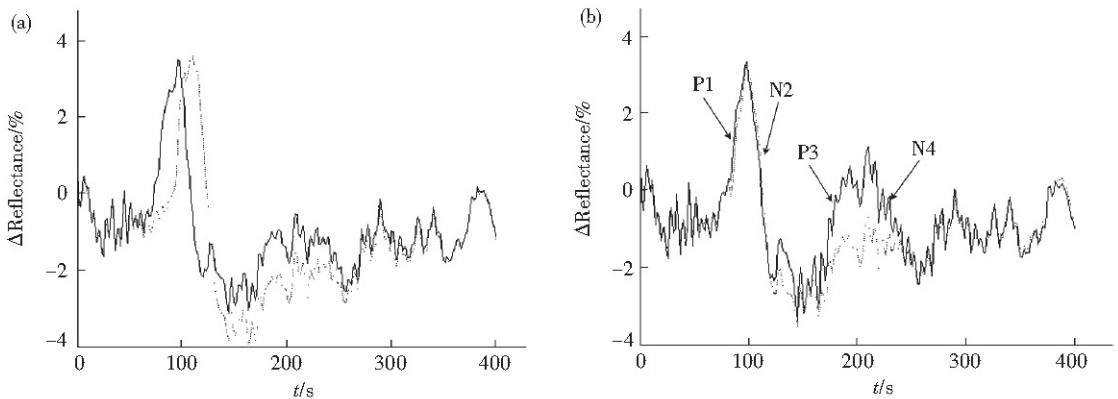


Fig. 4 Temporal characteristics of IOS responses at 660 nm during CSD in a rat

(a) Time courses of the changes of optical reflectance in the two parenchyma ROIs (p1, p2) marked in Figure. 5b. —: parenchyma 1 (p1); ...: parenchyma 2 (p2). (b) Time courses of the changes of optical reflectance in the vein (v3) and parenchyma (p4) ROIs marked in Figure. 5b. —: vein; ...: parenchyma.

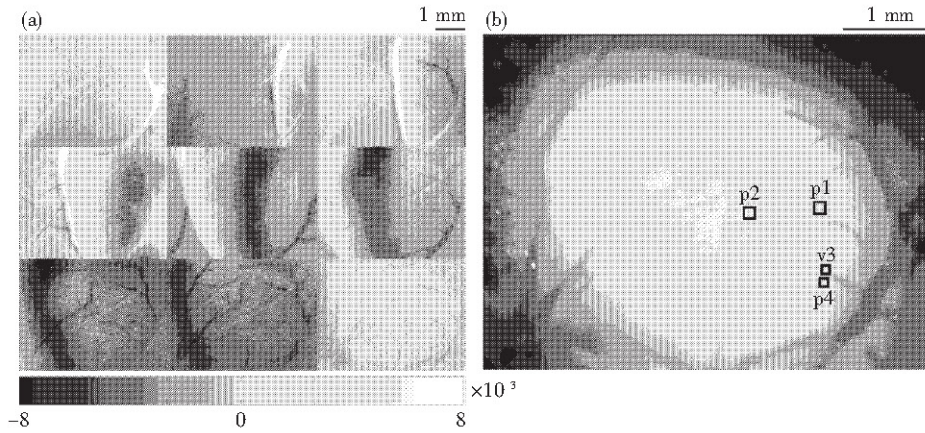


Fig. 5 Spatial pattern of 660 nm ratio images *DI* and its progress during CSD at every 12.8 s in a rat (a) and Raw optical reflectance image at 660 nm (b)

2.3 CSD 过程中软脑膜动脉的舒张和收缩

在 540 nm 光源照明的实验中, 由于原始的皮层光反射图像可以清晰地显示皮层血管的形态, 因此在该波长除反射内源光信号的变化外, 还可同时观测 CSD 过程中软脑膜动脉血管的管径变化. 实验中我们观察到针刺诱导 CSD 后, 软脑膜动脉血管发生了大幅度的舒张, 血管管径变化峰值较针刺诱导前增大了 $(69.2 \pm 26.1)\%$. 软脑膜动脉舒张到达峰值后逐渐收缩, 且在约 70% 的实验中, 收缩后的软脑膜动脉血管直径比 CSD 诱导前减小了 $(11.5 \pm 4.4)\%$, 与前面 540 nm 的部分实验中观察到的 P4 阶段反射光强增加超过了基线水平相对应, 提示此阶段反射光强超过基线可能是脑皮层组织缺血造成. 另外, 我们还观察到该软脑膜动脉血管的舒张和收缩表现出局部逐段舒缩的特点. 即舒张和收缩不是在整条血管上同时发生, 而是随着如图 2a 中所示同心圆扩散, 是逐段发生的. 并且动脉局部舒张达到峰值的时间, 与该处内源光信号变化时间特性曲线中 N3 阶段达到峰值时的时间无显著差异.

3 讨 论

在可见光和近红外光波段, 脑皮层组织中主要的吸收色团是血红蛋白. 540 nm 是 HbO_2 和 Hb 吸收的等值区, 因此实验中 540 nm 的内源光信号变化, 主要应该反映了皮层中局部血红蛋白浓度的变化 (在血球容积比一定的情况下也相当于脑血容量). 特别是在该波长内源光信号变化的 N3 和 P4 阶段, 这一推测还与实验中同时观察到的软脑膜动

脉血管的局部舒缩相证实. 不过对 N1 和 P2 这两个过程, 情况则比较复杂, 不能简单地将此时内源光信号变化的原因仅仅归结于局部脑血容量的变化. 近年来针对离体大鼠新皮层和海马脑切片的研究显示, 在采用滴加高浓度 KCl 溶液, 或缺氧所诱发 SD 的传播过程中, 也能观察到脑切片反射内源光信号的增加, 透射内源光信号的降低以及伴随着的细胞膨胀^[11~18]. 由于离体脑切片研究中排除了血液这一因素的影响, 上述结果表明引起 CSD 过程中在体内源光信号变化的内在机制, 包含了非血液动力学变化的成分. 在我们的 CSD 在体光学成像中, 皮层光反射增加过程 P2 与离体研究中测量到的脑切片反射光强增加的持续时程相近. 这就提示在该阶段, 内源光信号改变的内在机理除了血管性因素产生的光吸收变化外, 还可能包括光散射变化引起的反射光强改变. 在以往的研究中, 一般认为脑皮层神经元活动过程中光散射的改变可能是因为离子和水分子运动、细胞外空间的收缩和膨胀、膜流动性的改变、毛细血管舒张或神经递质的释放造成, 但其具体机理到现在仍不十分清楚^[19]. 对于 SD 过程, 由于测量到离体脑切片上细胞外空间的收缩, 开始普遍认为细胞膨胀是引起 SD 内源光散射变化的主要因素^[20]. 然而最近的研究逐渐证实了 SD 过程中反射内源光信号的增强与细胞外体积无关, 并推测线粒体的膨胀与之有关^[12]. Dmitriy 等^[18] 和 Aitken 等^[21] 研究了降低细胞外液渗透压引起细胞膨胀时内源光信号变化的特征. 结果发现, 轻度或中度降低细胞外液渗透压引起细胞膨胀会引起脑切片反射光强的降低. 而大幅度减小

细胞外液渗透压,造成细胞体积极度增大时,反射光强却产生翻转,表现为和SD过程中所观察到的一样:反射光增强、透射光减小。Bahar等^[13]则监测了离体大鼠海马切片上SD过程中内源光信号和若丹明123荧光的变化,其结果支持Müller等关于线粒体膨胀引起SD过程中光散射改变的推测。

在660 nm, Hb对该波长光的吸收大约是HbO₂的10倍。因此当仅考虑光吸收因素时,该波长内源光信号的变化可近似认为反映了脑皮层组织中还原血红蛋白Hb浓度的变化。我们的结果中660 nm内源光信号的时间特性主要表现为反射光强的上升(P1)和下降(N2)。该波长反射光强的增大从吸收角度讲意味着皮层脑组织对光的吸收减弱,也即组织中Hb浓度降低;反之,反射光强的减弱则提示Hb浓度的升高。从生理上说,Hb浓度降低可能是由于总血红蛋白浓度降低或血氧饱和度升高,而Hb浓度的升高则可能是因为总血红蛋白浓度升高或者组织耗氧量增加导致的Hb增加。对比两个波长的结果可以看出,660 nm内源光信号变化P1、N2阶段相应的空间分布及传播模式与540 nm的P2、N3阶段相似,且其变化的方向与持续时程也相似。这提示在该阶段二者内在的生理机制中占主导因素的是光散射和血容量的变化,而非血氧状态的改变。特别对于660 nm的P1和540 nm的P2阶段,我们推测CSD过程中线粒体膨胀或其他因素造成的光散射变化,是产生这一时期皮层光反射增强的主要因素。首先,一般而言,光散射变化对所有的波长至少在改变反射光强变化的方向(增大、减小)上是一致的。其次,如果此时的反射光增强是由于皮层组织血容量减小造成的,则两波长光强变化幅度应该有较大的不同。因为540 nm Hb的吸收约是660 nm Hb的15倍,HbO₂则更高达156倍,而实验中两波长反射光强增加的幅度却相差不大,540 nm为(2.9+1.6)%;660 nm为(3.8+0.6)%。

我们的实验为高分辨地在体研究哺乳动物CSD过程的动力学特征提供了一种新的方法。今后的研究可进一步结合高分辨的光学层析成像方法,如光学相干层析成像术、多光子激发荧光显微成像术,对CSD在不同脑皮质层中传播的过程进行更深入的在体研究。

参 考 文 献

- Lauritzen M. Pathophysiology of the migraine aura: The spreading depression theory. *Brain*, 1994, **117**: 199~210
- Hayrunnisa B, Uwe R, Andrew K D, *et al.* Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nature Medicine*, 2002, **8** (2): 136~142
- Michael F J, Justin M S, Simon J B, *et al.* Cortical spreading depression and migraine: new insights from imaging? *Trends in Neurosciences*, 2001, **24** (5): 266~271
- Takano K, Latout L, Formato J E, *et al.* The role of spreading depression in focal ischemia evaluated by diffusion mapping. *Ann Neurol*, 1996, **39**: 300~318
- Leão A. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J Neurophysiol*, 1944, **7**: 359~390
- Leão A. Pial circulation and spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J Neurophysiol*, 1944, **7**: 391~396
- Vanzetta I, Grinvald A. Evidence and lack of evidence for the initial dip in the anesthetized rat: implications for human functional brain imaging. *Neuroimage*, 2001, **13**: 959~967
- Frostig R D, Lieke E E, Ts'o D Y, *et al.* Cortical functional architecture and local coupling between neuronal activity and the microcirculation revealed by high resolution optical imaging of intrinsic signals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, **87**: 6082~6088
- Grinvald A, Shoham D, Shmuel A, *et al.* *In vivo* optical imaging of cortical architecture and dynamics. In: Windhorst U, Johansson H, ed. *Modern Techniques in Neuroscience Research*. Berlin: Springer, 1999. 893~969
- Peixoto N L V, Fernandes V M, Hanke W. Correlation of the electrical and intrinsic optical signals in the chicken spreading depression phenomenon. *Neuroscience Letters*, 2001, **299**: 89~92
- Katharina B, Florian W, Herbert S, *et al.* Intrinsic optical imaging reveals regionally different manifestation of spreading depression in hippocampal and entorhinal structures *in vitro*. *Experimental Neurology*, 2002, **175**: 76~86
- Müller M, Somjen G G. Intrinsic optical signals in rat hippocampal slices during hypoxia-induced spreading depression-like depolarization. *J Neurophysiol*, 1999, **82**: 1818~1831
- Bahar S, Fayuk D, Somjen G G, *et al.* Mitochondrial and intrinsic optical signals imaged during hypoxia and spreading depression in rat hippocampal slices. *J Neurophysiol*, 2000, **84**: 311~324
- Lian T, Daniel M, Sabina H, *et al.* Light scattering in rat neocortical slices differs during spreading depression and ischemia. *Brain Research*, 2002, **952**: 290~300
- Ildiko V, Nicole K, Heiko J L. Optical recording of spreading depression in rat neocortical slices. *Brain Research*, 2001, **898**: 288~296
- Alyssa M O, David E R, Arpitha M, *et al.* Characterization of optical intrinsic signals and blood volume during cortical spreading depression. *Neuro Report*, 2000, **11** (10): 2121~2125
- Yutaka T, Minoru T, Istvan S, *et al.* Repetitive concentric wave-ring spread of oligemia/hyperemia in the sensorimotor cortex accompanying K⁺-induced spreading depression in rats and cats. *Neuroscience Letters*, 2002, **322**: 157~160
- Dmitriy F, Peter G A, George G S *et al.* Two different mechanisms underlie reversible, intrinsic optical signals in rat hippocampal slices. *J Neurophysiol*, 2002, **87**: 1924~1937
- Villringer A. and Chance B. Non-invasive optical spectroscopy and imaging of human brain function. *Trends in Neuroscience*, 1997, **20**: 435~442
- Holthoff K, Witte O W. Intrinsic optical signals in rat

- neocortical slices measured with near-infrared dark-field microscopy reveal changes in extracellular space. *J Neurosci*, 1996, **16**: 2740~2749
- 21 Aitken P G, Fayuk D A, Somjen G G, *et al.* Use of intrinsic optical signals to monitor physiological changes in brain tissue slices. *Methods: a Companion to Methods in Enzymology*, 1999, **18**: 91~103
- 22 Malonek D, Dirnagl U, Lindauer U *et al.* Vascular imprints of neuronal activity: Relationships between the dynamics of cortical blood flow, oxygenation, and volume changes following sensory stimulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**: 14826~14831

In vivo* Optical Imaging of Intrinsic Signal During Cortical Spreading Depression in Rats

LI Peng-Cheng, CHEN Shang-Bin, LUO Wei-Hua, LUO Qing-Ming**

(Key Laboratory of Biomedical Photonics, Ministry of Education, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China)

Abstract Cortical spreading depression (CSD) is an important disease model for migraine and cerebral ischemia. The spatio-temporal characteristics of the intrinsic optical signals (IOS) at 540 nm and 660 nm during CSD were investigated by high resolution optical reflectance imaging through thinned skull in rats. The possible physiological mechanisms underlying the IOS were discussed. The CSD were induced by pinprick in 16 α -chloralose/urethane anesthetized Sprague-Dawley rats. A four-phasic IOS response of decreased [amplitude (-2.1 ± 1.2)%, duration (16.2 ± 3.8) s], increased [amplitude (2.9 ± 1.6)%, duration (13.8 ± 2.2) s], decreased [amplitude (-14.2 ± 4.5)%, duration (40.6 ± 8.4) s] and increased (146.2 ± 40.3) s optical reflectance was observed at pial arteries and parenchyma sites in all experimental animals at 540 nm. The IOS spreads peripherally from the site of CSD induction at speeds of (3.7 ± 0.4) mm/min, accompanying a dramatic dilation (69.2 ± 26.1)% of the pial arteries. At 660 nm, a three-phasic IOS response of increased [amplitude (3.8 ± 0.6)%, duration (17.9 ± 5.1) s], decrease [amplitude (-3.0 ± 1.7)%, duration (43.3 ± 6.4) s] and increased optical reflectance was recorded at parenchyma sites.

Key words cortical spreading depression, optical imaging, intrinsic signal, rat

* This work was supported by grants from The National Science Fund for Distinguished Young Scholars (60025514), The National Natural Sciences Foundation of China (30070215) and The National Basic Research Programme of China (2001CCA04100).

** Corresponding author. Tel: 86-27-87544624, Fax: 86-27-87542341, E-mail: ibp@mail.hust.edu.cn

Received: January 22, 2003 Accepted: February 28, 2003