



非侵入性光闪烁刺激对成年小鼠 初级视觉皮层功能特性的影响*

李雪琪¹⁾ 周逸峰^{1,2)**} 徐光威^{1)**}⁽¹⁾ 中国科学技术大学生命科学与医学部, 合肥 230026; ⁽²⁾ 合肥微尺度物质科学国家研究中心, 合肥 230026)

摘要 **目的** 作为经典视觉通路的中枢门户, 初级视觉皮层不仅负责视觉信息的编码处理, 还与一些高级认知功能脑区存在着密切的神经环路连接。研究表明, 40 Hz 闪烁刺激可以诱导脑内产生 gamma 振荡, 显著改善神经退行性疾病的学习和认知障碍。同时, 自然界中也存在着部分光闪烁现象。初级视觉皮层作为视觉信息传入大脑的第一站中枢皮层, 深入解析非侵入性闪烁光刺激对其信息处理的调控机制显得尤为关键。本研究系统探讨了非侵入性光闪烁刺激对成年小鼠 V1 神经元功能特性的影响, 以期能够了解非侵入性光闪烁对脑功能的影响。**方法** 本研究通过给 3 组成年小鼠施加不同频率的闪烁刺激 (20、40 和 60 Hz), 利用在体多通道电生理技术探究了其对成年小鼠初级视觉皮层神经元感受野特性的影响。**结果** 实验结果表明, 连续 2 个月不同频率的闪烁刺激使小鼠 V1 神经元的方位调谐能力增强, 40 Hz 和 60 Hz 的闪烁刺激还使神经元的对比敏感度得到改善, 而 20 Hz 没有明显影响。通过进一步分析, 发现 3 种频率都可以使神经元的反应变异性下降, 信噪比上升, 神经元之间的噪音相关性下降。**结论** 非侵入性的光闪烁刺激通过影响初级视觉皮层神经元的神经信息处理效率, 改善了方位调谐能力和对比敏感度, 为多种闪烁光如何影响视觉感知提供了新的实验证据, 也为深入理解特定频率的闪烁光如何改善脑功能的机制提供了新的线索。

关键词 非侵入性闪烁光刺激, 初级视觉皮层, 在体电生理, 信息处理

中图分类号 Q424

DOI: 10.16476/j.pibb.2025.0106

CSTR: 32369.14.pibb.20250106

视觉系统对于动物从复杂且动态的环境中提取和解析信息至关重要, 它不仅支持基本的感知功能, 还参与空间导航和物体识别等更高层次的认知活动^[1-2]。视觉处理的高效性和适应性依赖于对视觉场景时空特征的精确编码。光闪烁现象普遍存在于自然和人工环境中。研究显示, 由于环境因素如风吹树叶或水面反射, 户外场景中的时域照明变化会产生 5~60 Hz 范围内的光闪烁, 且 10~50 Hz 是自然界中能感知的最常见的闪烁频率^[3]。此外, 荧光灯和发光二极管 (light emitting diode, LED) 灯等人工光源通常在数百赫兹的频率下产生闪烁, 城市环境中生物体也常暴露于复杂的光闪烁模式之下^[4]。这些动态视觉输入要求视觉系统在时变条件下保持特征编码的高效性和感知的稳定性。

越来越多的证据表明, 节律性视觉刺激能够调节神经活动和感知能力。特定频率的非侵入性光闪烁已被证实能够诱发皮层反应, 并影响视觉皮层的

信息处理过程^[5-7]。特定频率的闪光可以在视觉皮层诱导局部场电位能量强度的变化^[5], 甚至可能导致动物对物体运动检测能力的下降^[7]。同时, 伽马频段 (约 40 Hz) 的光闪烁已被证明能够在皮层诱导 γ 波振荡, 并改善神经退行性疾病等小鼠模型的认知功能^[8-10]。然而, 大多数相关研究聚焦于病理状态, 或未系统比较不同频率闪烁在健康大脑中的作用, 也并没有聚焦视觉信息处理的最基本单元——神经元是如何受到闪光调控的。与自然环境相关、具备频率依赖性的皮层调控机制仍有待深入

* 国家自然科学基金 (32070990), 安徽省教育厅高校自然科学基金 (2022AH052326W) 和合肥国家综合科学中心合肥脑计划资助项目。

** 通讯联系人。

周逸峰 Tel: 13033082368, E-mail: zhouy@ustc.edu.cn

徐光威 Tel: 18655182170, E-mail: weixu@ustc.edu.cn

收稿日期: 2025-03-14 接受日期: 2025-06-09

研究。

因此,一个关键的科学问题值得深入探究:长期暴露于不同频率的光闪烁是否会通过改变初级视觉皮层(V1)神经元的感受野特性,调节其功能属性。V1作为大脑视觉信息处理的首个皮层环节,是整合和重构来自视网膜输入的核心区域,对高级视觉加工具有奠基性作用。V1神经元的感受野属性决定了其对不同视觉特征的编码能力^[11-12],而神经元反应的变异性、信噪比等信息处理参数则直接影响了视觉系统对外界刺激的分辨与适应能力,这些都是实现精确视觉感知的基础^[13-14]。已有理论和实验证据表明,感觉输入能够显著影响V1中神经元的感受野特性、编码效率及群体活动的精度^[15-18]。节律性感觉输入调节一些神经编码参数,可能是视觉系统适应动态环境的关键机制之一^[5, 7]。然而,不同频率的非侵入性光闪烁是否以及如何调节健康动物V1神经元的感受野属性和信息处理效率,目前尚不明确。

在本研究中,我们系统探究了20、40、60 Hz三种非侵入性光闪烁对成年小鼠V1神经元功能特性的影响。通过在体多通道电生理记录,评估不同频率闪烁对V1神经元方向调谐性、对比敏感度以及信息处理(如反应变异性 and 信噪比)等指标的影响。本研究旨在阐明视觉皮层应对动态光环境的适应机制,并为频率特异性的感觉皮层调控提供新的实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物

本研究使用的动物为C57BL/6J小鼠(年龄:12周;体重:(21±2)g)。每组小鼠的数量为5只。所有实验小鼠均按照标准饲养于笼盒中,饲养环境为12:12 h的光照:黑暗循环,恒温(23~25℃),恒湿(60%)的SPF环境,食物和水均可自由获得。本研究相关实验操作均通过了中国科学技术大学动物伦理审查委员会的批准(安全伦理号:USTCACUC24120122084)。

1.2 闪烁光刺激

本实验自制了一个不透光的双层木制的箱子,中间隔层放置隔音棉,避免外界声音干扰。闪光刺激设备是由白色LED灯珠和FeelTech FY3200S双通道任意波形数字显示(digital display scope, DDS)函数信号发生器组成。根据前人报道过的闪烁光刺激方案^[9, 19],本研究首先选取了20和40

Hz两种频率,由于80 Hz频率已被发现未能缓解阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)或脑缺血模型小鼠等的部分病理特征^[9-10],而60 Hz可以使小胶质细胞介导神经周围网重塑,恢复神经可塑性^[20]。因此,本研究选取20、40和60 Hz三种频率来探究非侵入性闪烁光刺激对初级视觉皮层的影响。LED灯珠与信号发生器连接,利用信号发生器设置灯珠的频率,频率分别设置为20 Hz(25 ms灯亮,25 ms灯灭),40 Hz(1.5 ms灯亮,1.5 ms灯灭)和60 Hz(8.33 ms灯亮,8.33 ms灯灭),各组LED灯珠均为白光,笼内不同位置平均光强范围为100~200 lux。在每次开始闪光刺激前,会用示波器检验校正信号发生器的频率,调试正确后,开始实验。实验前,小鼠被送入箱中适应30 min,随后打开信号发生器,设置好小鼠对应频率后进行1 h的闪烁刺激,刺激期间,小鼠未获得食物和水。刺激结束后,小鼠被移至饲养笼中静置30 min,随后送回饲养间。对照组小鼠会进行相同的操作,所给的刺激为与实验组相同光强的恒定光,闪光刺激连续2个月(图1)。

1.3 在体多通道电生理

1.3.1 动物手术

将小鼠从饲养笼转移至麻醉盒中,用棉签蘸取异氟烷放到麻醉盒中,待小鼠进入深度麻醉后,迅速拿出,转移至电生理台,利用耳夹、嘴夹将小鼠头部固定,并给小鼠两侧眼睛都涂上红霉素眼膏,以防长时间的光源照射损伤小鼠的眼睛,影响后续实验。手术用的所有器具在手术前都用酒精进行消毒。用手术剪剪去小鼠头部表面毛发,酒精擦拭后,剪开小鼠头皮,将小鼠颅骨充分暴露出来。用立体定位仪先将小鼠头部调平,然后定位小鼠双侧V1皮层(前囟往后3.5 mm,中缝左右2.5 mm)的位置。颅骨钻调至适当转速后打磨颅骨,直至暴露出V1皮层。另外,还需在小脑位置用颅骨钻钻一个直径约为1 mm的窗口,用于埋置螺钉,将螺钉与电极用杜邦线连接,以排除小鼠身体有动作时带来的噪音干扰。以上操作均在体视镜下完成。手术全程都利用异氟烷气体麻醉系统(浓度为1%~2%的异氟烷和氧气的混合气体)给小鼠持续低剂量的麻醉,保证小鼠在实验过程中不会清醒。

1.3.2 在体多通道电生理记录

使用多通道密歇根线性硅电极(A1×,间距为25~50 μm)记录小鼠V1区域0~1 000 μm范围内的神经元发放。给小鼠的视觉刺激是通过Matlab软

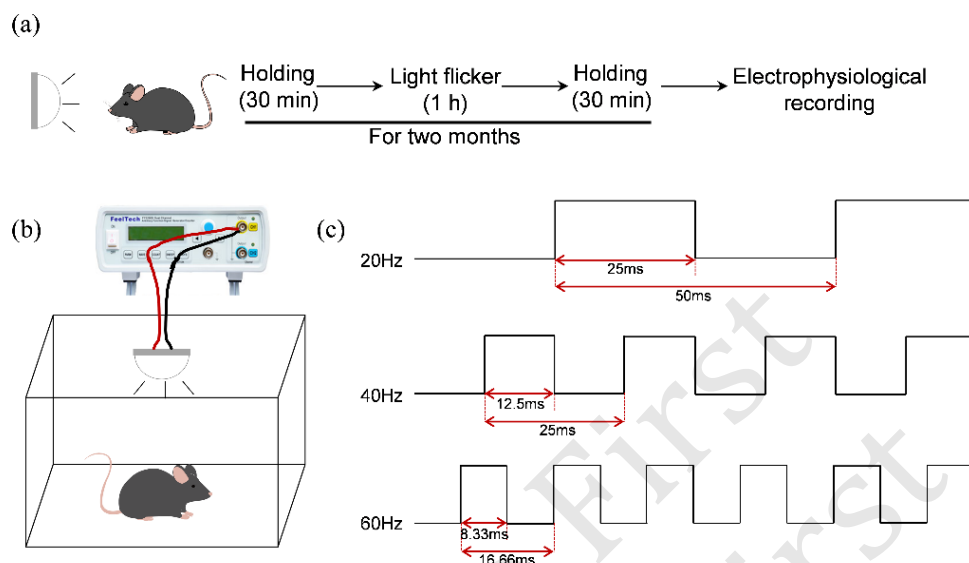


Fig. 1 Schematic diagram of light flicker stimulation scheme

(a) Flowchart of experimental procedure. (b) Schematic diagram of light flicker stimulation device. The apparatus comprises a light-tight wooden box, soundproofing cotton, LED bulbs and a signal generator. (c) Schematic diagram of light flicker stimulation at different frequencies. The LED bulb is controlled by the signal generator, enabling it to flash at distinct frequencies: 20 Hz (25 ms on/25 ms off), 40 Hz (12.5 ms on/12.5 ms off) and 60 Hz (8.33 ms on/8.33 ms off).

件编写程序生成正弦运动光栅, 并呈现在显示屏上。显示屏放置于距离小鼠眼睛 30 cm, 并与小鼠身体轴线呈 45° 夹角处。检测小鼠 V1 神经元活性、方位调谐能力和信息处理能力的变化时, 视觉刺激的光栅包含 12 个不同方向, 分别为 0°、30°、60°、90°、120°、150°、180°、210°、240°、270°、300°、330°, 另外, 还有一个无光栅的灰屏对照刺激。每一轮完整的视觉刺激 (包含所有的方向) 记为一个 sweep, 而每一个 sweep 中每个不同的刺激方向记为一个 trial。光栅朝着与其方位垂直的方向移动, 每个光栅刺激呈现时间为 1 s。每次刺激之间会有 0.5 s 的无光栅空白刺激。实验记录过程中, 不同朝向的光栅随机呈现, 共呈现 10 个周期 (sweeps) (图 2a)。检测小鼠 V1 神经元对比敏感度的变化时, 视觉刺激的光栅会固定为小鼠偏好的一个方位, 呈现该方位光栅不同的对比度, 分别为 0%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、95%。每个光栅刺激呈现时间为 1 s。同样, 每次刺激之间会有 0.5 s 的无光栅空白刺激。实验记录过程中, 不同对比度的光栅随机呈现, 共呈现 10 个周期 (sweeps) (图 2b)。

在记录小鼠神经元发放的过程中, 所有的神经

元发放信号首先通过前端放大器的滤波 (750~4000 Hz) 和放大 (cut-off frequency: 10 kHz), 然后将其传递至神经信号处理系统 (sample frequency: 30 kHz, 16 bits), 该系统会将所接收到的电信号转换为数字信号, 最终保存于计算机中, 用于后续的聚类分析。为了探究不同频率的闪烁刺激对成年小鼠 V1 神经元功能特性的影响, 本研究分析了神经元的自发反应和峰值反应、方位偏好指数、对比度阈值、半饱和对比度 C_{50} 、法诺因子、信噪比以及神经元对的噪音相关性。

a. 神经元活性

本研究用神经元的自发发放速率和峰值发放速率来表征神经元活性的变化。将灰屏刺激下神经元的反应强度定义为神经元的自发反应 (spontaneous response); 将偏好方位视觉刺激下的神经元反应强度定义为神经元的峰值反应 (peak response)。

b. 方位偏好指数 (orientation bias index, OB)

OB 计算公式^[21]:

$$OB = \left| \frac{\sum_k R_k e^{i2\theta_k}}{\sum_k R_k} \right|$$

其中, R_k 表示当光栅刺激朝向为 θ_k 时神经元的反应强度。OB 的取值范围为 0 ~ 1, 当 OB 值为 0 时,

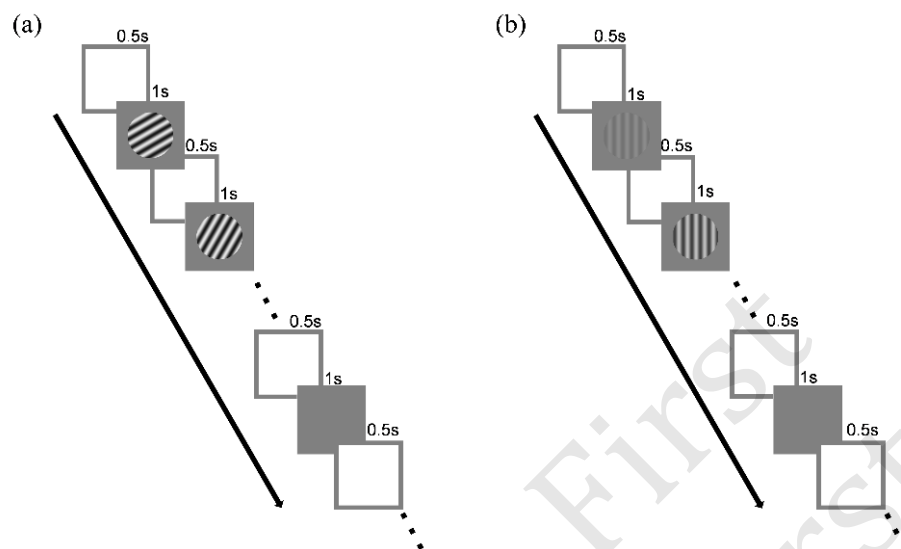


Fig. 2 Flowchart of in vivo electrophysiological visual stimulation program

(a) A sample stimulus map used to assess changes in mice V1 neuron activity, orientation tuning and information processing capabilities. (b) A sample stimulus map used to assess changes in the contrast sensitivity of mice V1 neurons.

代表该神经元对任何方位的光栅刺激都没有显著偏好；当OB值为1时，则代表该神经元显著偏好某一特定方位，表现出了强烈的方位选择性。OB值越大，表示该神经元的方位调谐能力越好。

c. 对比度阈值 (contrast threshold)

本研究中神经元的对比度阈值是通过受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic curves, ROC) 分析得出的。根据视觉刺激周期将神经元自发反应和不同对比度下的诱发反应放电序列划分为不同的时间窗 (bin)，构建不同对比度光栅刺激的放电频率直方图 (spike firing histogram, SFH)。ROC曲线以命中概率为纵坐标，以虚报概率为横坐标。其中，命中概率是指在SFH中神经元响应刺激发放率超过标准发放率的概率，虚报概率是指SFH中神经元自发活动发放率超过标准发放率的概率。通过绘制不同标准发放率下的命中概率和虚报概率，从而生成ROC曲线。ROC曲线下面积表示神经元对每个对比刺激反应的准确度。将准确度与视觉刺激对比度之间通过Weibull方程进行拟合得到对比度反应曲线。对比度阈值定义为在神经测量函数上响应概率为0.75时的对比度^[22]。

$$P(x) = a - (a - b) \times e^{-\left(\frac{x}{c}\right)^d}$$

其中， P 指神经元的响应概率， a 是饱和概率； b 是机会概率； x 是光栅刺激的对比度； c 是水平位置；

d 是陡峭程度。本研究为确保结果的精确性，选取拟合优度大于0.7的神经元进行对比度阈值变化的统计。

d. C_{50}

根据Naka-Rushton函数拟合不同对比度光栅刺激下神经元的发放率，方程如下^[23]：

$$R = R_{max} \frac{C^n}{C^n + C_{50}^n} + m$$

其中， R_{max} 指神经元的峰值反应； C 为视觉刺激的对比度， n 为参数，决定调谐曲线的陡峭程度； C_{50} 为半饱和对比度； m 为神经元的自发反应。选取 C_{50} 作为神经元对比敏感度的量化指标， C_{50} 值越大，神经元对比敏感度越弱。

e. 法诺因子 (Fano factor, FF)

本研究中法诺因子是通过神经元反应的方差与反应均值的比值计算得出的，通常用来表征神经元的反应变异性。

FF计算公式^[22]：

$$FF = \frac{\sigma^2}{R_{means}}$$

其中， σ^2 指神经元对各个trial的反应方差， R_{means} 指神经元对各个trial的平均反应。

f. 信噪比 (signal-to-noise ratio, SNR)

信噪比通常用于表示神经元区分有效信号与噪

音的能力, 是衡量神经元信息保真度的关键指标^[24]。本研究通过使用ROC方法来计算信噪比。该方法的优势在于综合考虑了神经元自发和诱发反应的变异性和发放强度, 能更全面地表征信噪比。首先, 实验记录到了神经在其偏好方位刺激下的发放序列, 将其归一化, 按时间窗划分。时间窗的大小取决于视觉刺激的最优时间频率, 换句话说, 不同记录穿刺的时间窗是不同的。找到该穿刺的最大发放, 以1为步长, 将阈值设置为从0到最大发放加1。如果当前时间窗中神经元的诱发发放高于阈值, 将其记为“Hit”; 如果当前时间窗中神经元的自发发放高于阈值, 则记为“False”。由此得到一系列不同阈值下Hit和False的比率, 以此绘制ROC曲线, 曲线下面积(AUC)即为SNR的值。

g. 噪音相关性 (noise correlation, r_{sc})

噪音相关性指实验过程中在前后不同的sweep中呈现相同的视觉刺激trial, 两个神经元反应产生波动的线性相关程度, 定义为两个神经元对相同刺激反应变异性的皮尔森相关系数。

r_{sc} 的计算公式^[25]:

$$r_{sc} = \frac{E(N_1 \cdot N_2) - E(N_1) \cdot E(N_2)}{\sigma_{N_1} \cdot \sigma_{N_2}}$$

其中, E 是期望值, σ 是标准差, N_1 和 N_2 是两个神经元反应波动的集合, 集合中的元素为每个trial下神经元的反应波动幅度 z 。

z 的计算公式:

$$z = \frac{R_{trial} - E(R)}{\sigma}$$

R_{trial} 是神经元在每个trial下的反应, E 是神经元反应的均值, σ 是神经元反应的标准差。

1.4 数据分析和统计

在体多通道电生理记录到的神经元发放的数据利用Offline Sorter软件通过波形特征分离出单个神经元, 之后用Matlab软件进行进一步的拟合分析计算。用GraphPad Prism 10进行数据分析, 若数据为两组独立数据且符合正态分布, 采用Unpaired two tailed t -test; 若数据不符合正态分布, 采用Mann-Whitney U test, 当 $P < 0.05$ 时认为两组数据具有显著差异。本研究还分析了实验组与对照组之间的效应量和置信区间, 其中, 效应量用Cliff's delta (δ)值表示, 具体的效应量和置信区间报告见表S1~S8。

2 结果

2.1 不同频率的闪烁刺激对神经元方位调谐能力的影响

当小鼠年龄为12周左右时, 分别给4组小鼠不同频率的闪光刺激, 连续2个月。闪烁完成后进行在体多通道电生理记录(图3a, b)。首先, 探究了长期的闪烁刺激对小鼠V1区神经元的方位调谐的影响, 通过检测小鼠V1区单个神经元对于不同视觉刺激的响应, 分析神经元活性及方位调谐的变化。在实验记录过程中, 为检测V1神经元活性的变化, 会呈现给小鼠两种刺激, 分别为灰屏刺激和不同方位的移动正弦光栅刺激。其中, 当呈现灰屏刺激时, 记录到的为V1神经元的自发反应; 而当呈现移动的正弦光栅刺激正好为小鼠的偏好方位时, 记录到的为V1神经元的峰值反应。结果发现, 相较于对照组, 20 Hz的闪烁刺激使神经元的自发反应和最大反应活性均显著下降(图3c, f); 40 Hz和60 Hz的闪烁刺激只影响了神经元的自发反应活性(图3d, e, g, h)。

在实验过程中, 小鼠V1区域的神经元对于不同方位的光栅刺激会产生不同强度的响应, 这种响应被定义为方位调谐(orientation tuning)能力。如果呈现的光栅刺激的方位恰好与某神经元的偏好方位相同, 那么此时该神经元的反应最强。在本研究中, 采用OB来表征神经元方位调谐的变化。OB值越大, 说明这一神经元的方位调谐能力越好, 神经元对偏好方位和与其垂直的方位的反应差异越大, 神经元的方位调谐曲线就会越趋于扁平; 而OB值越小, 说明这一神经元的方位调谐能力越差, 神经元对偏好方位和与其垂直的方位的反应差异越小, 神经元的方位调谐曲线就会越趋于圆滑(图4a~d)。电生理结果发现, 相较于对照组, 20 Hz、40 Hz和60 Hz组的OB值显著上升(图4e~g), 表明3种频率都改善了小鼠V1神经元的方位调谐能力。

2.2 不同频率的闪烁刺激对神经元对比敏感度的影响

对比敏感度(contrast sensitivity, CS)是指机体识别物体与背景间细微明暗差异的能力, 是视觉系统处理输入信息的基础之一, 也是表征视觉功能的重要指标^[26-27]。神经元的对比度阈值越小, 表明神经元的对比敏感度越高。除了对比度阈值外, C_{50} 也可以用来度量神经元对比敏感度的变化, 它

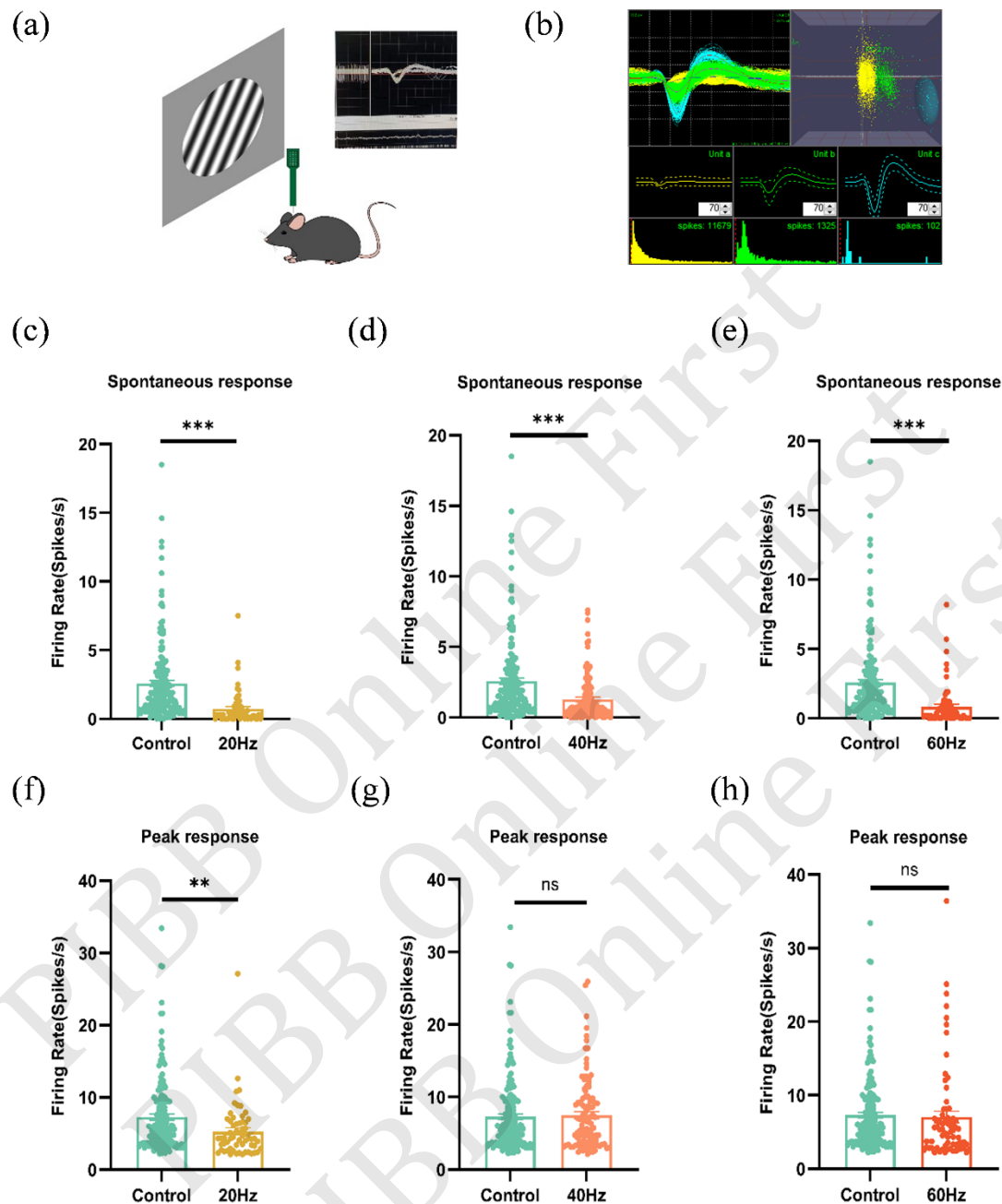


Fig. 3 Effects of non-invasive light flicker stimulation on neuronal activity

(a) A schematic diagram of multichannel electrophysiological experiment *in vivo*. During recording, the electrode was inserted to depths ranging from 600 to 1 000 μm , and the display screen presenting raster stimulation was placed 30 cm from the eye opposite the recorded brain region. The upper right corner illustrates a schematic representation of neuronal firing. (b) A schematic diagram of neuron classification. After processing the original neural release data, neurons were sorted into individual neurons using Offline Sorter software for subsequent analysis. The baseline is indicated in yellow, while green and blue represent two distinct neurons. (c) The change of spontaneous response of single neuron in V1 of 20 Hz group. Control: $n=5$, 165 cells; 20 Hz: $n=5$, 60 cells; $\delta=-0.61$; Mann-Whitney U test, $P<0.0001$. (d) The change of spontaneous response of single neuron in V1 of 40 Hz group. Control: $n=5$, 165 cells; 40 Hz: $n=5$, 110 cells; $\delta=-0.38$; Mann-Whitney U test, $P<0.0001$. (e) The change of spontaneous response of single neuron in V1 of 60 Hz group. Control: $n=5$, 165 cells; 60 Hz: $n=5$, 70 cells; $\delta=-0.58$; Mann-Whitney U test, $P<0.0001$. (f) The change of peak response of single neuron in V1 of 20 Hz group. Control: $n=5$, 165 cells; 20 Hz: $n=5$, 60 cells; $\delta=-0.26$; Mann-Whitney U test, $P<0.01$. (g) The change of peak response of single neuron in V1 of 40 Hz group. Control: $n=5$, 165 cells; 40 Hz: $n=5$, 110 cells; $\delta=0.0$; Mann-Whitney U test, $P=0.625$. (h) The change of peak response of single neuron in V1 of 60 Hz group. Control: $n=5$, 165 cells; 60 Hz: $n=5$, 70 cells; $\delta=-0.14$; Mann-Whitney U test, $P=0.0905$. The above data are expressed as Mean $\pm$ SEM.

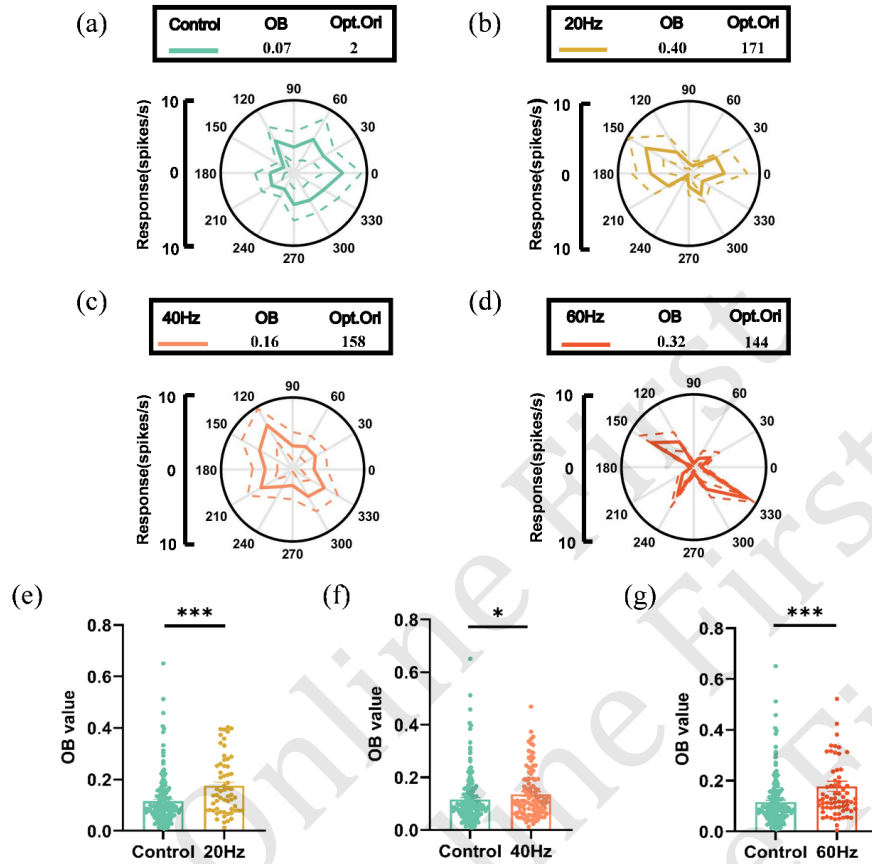


Fig. 4 Effects of non-invasive light flicker stimulation on neuronal orientation tuning

(a-d) A sample diagram depicting the orientation tuning curves of a single neuron from the Control (a), 20 Hz (b), 40 Hz (c) and 60 Hz (d) groups. It demonstrates that the closer the end of the tuning curve is to the peripheral edge, the more sensitive the neuron is to orientation. The label “Opt.Ori” indicates the neuron’s preferred orientation, determined by fitting a double Gaussian curve. (e) The change of orientation tuning ability of single neuron in V1 of 20 Hz group. Control: $n=5$, 165 cells; 20 Hz: $n=5$, 60 cells; $\delta=0.35$; Mann-Whitney U test, $P<0.0001$. (f) The change of orientation tuning ability of single neuron in V1 of 40 Hz group. Control: $n=5$, 165 cells; 40 Hz: $n=5$, 110 cells; $\delta=0.17$; Mann-Whitney U test, $P<0.05$. (g) The change of orientation tuning ability of single neuron in V1 of 60 Hz group. Control: $n=5$, 165 cells; 60 Hz: $n=5$, 70 cells; $\delta=0.32$; Mann-Whitney U test, $P<0.0001$. The above data are expressed as Mean $\pm$ SEM.

表示神经元对于刺激的反应达到最大反应的一半时所对应的刺激对比度。 C_{50} 的值越小, 表示神经元的对比敏感度越高, 同时它也体现了神经元内部的对比度增益, 通过观察 C_{50} 的变化, 可以评估神经元对比度增益控制的强弱^[28-29]。结果发现, 相较于对照组, 40 Hz和60 Hz组神经元的对比度阈值和 C_{50} 均显著降低 (图5b, c, e, f), 而20 Hz组没有明显变化 (图5a, d)。

2.3 不同频率的闪烁刺激对神经元信息处理能力的影响

上述结果表明, 不同频率的闪烁刺激改善了神经元的方位调谐能力和对比敏感度, 而这可能与神经元对于信息的传递能力有关。在初级视觉皮层, 不同类型的神经元对相同视觉刺激会表现出显著的放电差异性 (图6a), 称为“反应变异性

(response variability)^[30]”, 这是V1区神经元信息处理机制的重要特征, 其动态调节可能反映了皮层网络对复杂环境输入的适应性优化策略。在本研究中, 用法诺因子来表征神经元反应变异性的, 法诺因子越大, 表明神经元的反应变异性越大, 神经元处理信息的效率就越低。除了法诺因子外, SNR也是反映神经元信息处理能力的一个重要指标。它与神经元提取有用信息, 排除噪音的能力有关。SNR越大, 表明神经元排除噪音的能力越强。本文统计分析了3组频率小鼠V1神经元的法诺因子和SNR。结果发现, 相较于对照组, 20、40和60 Hz组的法诺因子显著降低, SNR显著增加 (图6b~g), 表明3种频率均使神经元信息处理能力增强。

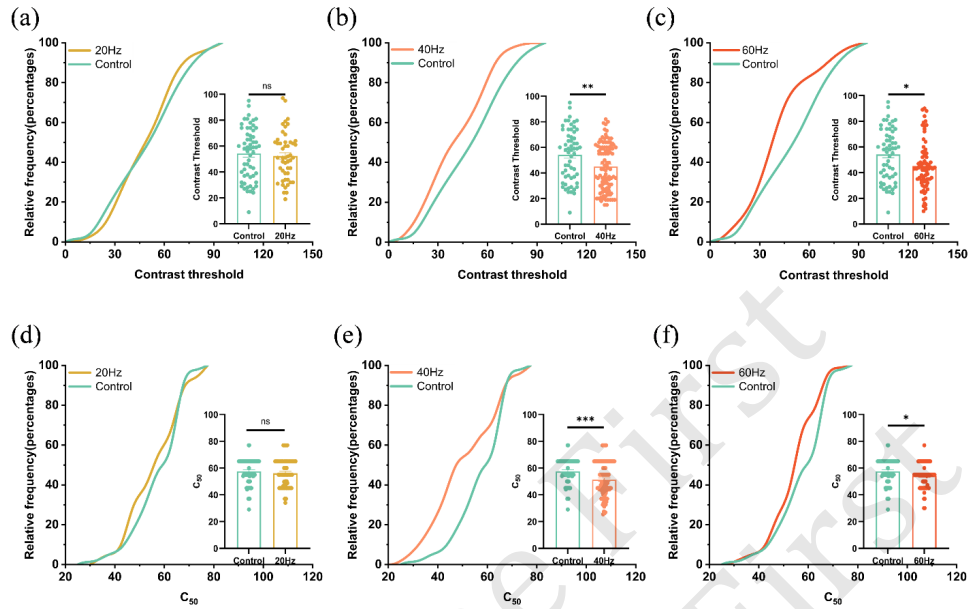


Fig. 5 Effects of non-invasive light flicker stimulation on contrast sensitivity of neurons

(a) The change of contrast threshold of single neuron in V1 of 20 Hz group. Control: $n=5$, 59 cells; 20 Hz: $n=5$, 49 cells; $\delta=-0.05$; Mann-Whitney U test, $P=0.613$ 0. (b) The change of contrast threshold of single neuron in V1 of 40 Hz group. Control: $n=5$, 59 cells; 40 Hz: $n=5$, 102 cells; $\delta=-0.27$; Mann-Whitney U test, $P<0.01$. (c) The change of contrast threshold of single neuron in V1 of 60 Hz group. Control: $n=5$, 59 cells; 60 Hz: $n=5$, 74 cells; $\delta=-0.25$; Mann-Whitney U test, $P<0.05$. (d) The change of C_{50} of single neuron in V1 of 20 Hz group. Control: $n=5$, 74 cells; 20 Hz: $n=5$, 54 cells; $\delta=-0.01$; Mann-Whitney U test, $P=0.323$ 3. (e) The change of C_{50} of single neuron in V1 of 40 Hz group. Control: $n=5$, 74 cells; 40 Hz: $n=5$, 112 cells; $\delta=-0.30$; Mann-Whitney U test, $P<0.001$. (f) The change of C_{50} of single neuron in V1 of 60 Hz group. Control: $n=5$, 74 cells; 60 Hz: $n=5$, 74 cells; $\delta=-0.20$; Mann-Whitney U test, $P<0.05$. The above data are expressed as Mean $\pm$ SEM.

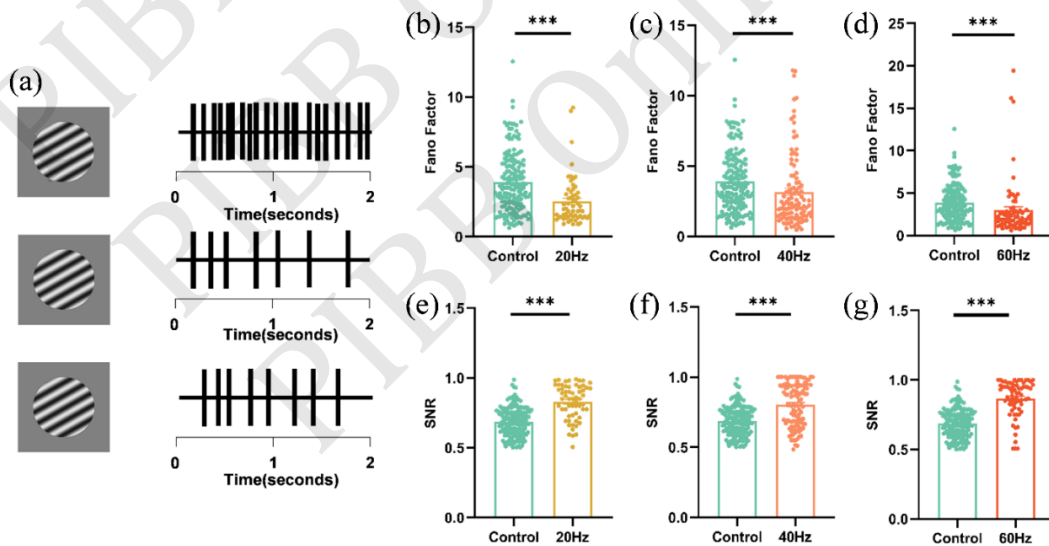


Fig. 6 Effects of non-invasive light flicker stimulation on neuronal information processing

(a) Schematic diagram of neuronal response variability. (b) The change of Fano Factor of single neuron in V1 of 20 Hz group. Control: $n=5$, 165 cells; 20 Hz: $n=5$, 60 cells; $\delta=-0.4$; Mann-Whitney U test, $P<0.000$ 1. (c) The change of Fano Factor of single neuron in V1 of 40 Hz group. Control: $n=5$, 165 cells; 40 Hz: $n=5$, 106 cells; $\delta=-0.27$; Mann-Whitney U test, $P<0.001$. (d) The change of Fano Factor of single neuron in V1 of 60 Hz group. Control: $n=5$, 165 cells; 60 Hz: $n=5$, 70 cells; $\delta=-0.40$; Mann-Whitney U test, $P<0.0001$. (e) The change of SNR of single neuron in V1 of 20 Hz group. Control: $n=5$, 165 cells; 20 Hz: $n=5$, 60 cells; $\delta=0.6$; Mann-Whitney U test, $P<0.000$ 1. (f) The change of SNR of single neuron in V1 of 40 Hz group. Control: $n=5$, 165 cells; 40 Hz: $n=5$, 110 cells; $\delta=0.45$; Mann-Whitney U test, $P<0.000$ 1. (g) The change of SNR of single neuron in V1 of 60 Hz group. Control: $n=5$, 165 cells; 60 Hz: $n=5$, 70 cells; $\delta=0.7$; Mann-Whitney U test, $P<0.000$ 1. The above data are expressed as Mean $\pm$ SEM.

2.4 不同频率的闪烁刺激对神经元对噪音相关性的影响

上述结果发现神经元反应变异性发生了变化, 而在局部的神经网络中, 相邻的神经元会接收到一些共同的信息输入, 因而会共享一部分反应变异性, 也称为噪音, 这种神经元对之间的反应变异性共享程度就定义为噪音相关性。它直接决定了神经元处理信息的精度, 也决定了视觉系统的高精度编码^[13-14], 噪音相关性越高, 表明神经元越难处理大脑中的噪音信息。因此, 鉴于神经元对之间的噪

音相关性与视觉系统神经元信息处理能力的联系, 本研究检测分析了对照组、20 Hz、40 Hz和60 Hz组小鼠V1区神经元对之间的噪音相关性的变化, 进一步探究不同频率的光闪烁刺激对小鼠V1区神经元信息处理能力的影响。结果发现, 相较于对照组, 20 Hz、40 Hz和60 Hz组神经元对的噪音相关性显著下降(图7a, d, g), 说明这3种频率均显著改善了神经元之间的信息传递效率。有研究发现, 神经元对的噪音相关性会随着神经元之间的距离和发放率的不同而发生变化^[31-33], 结果发现,

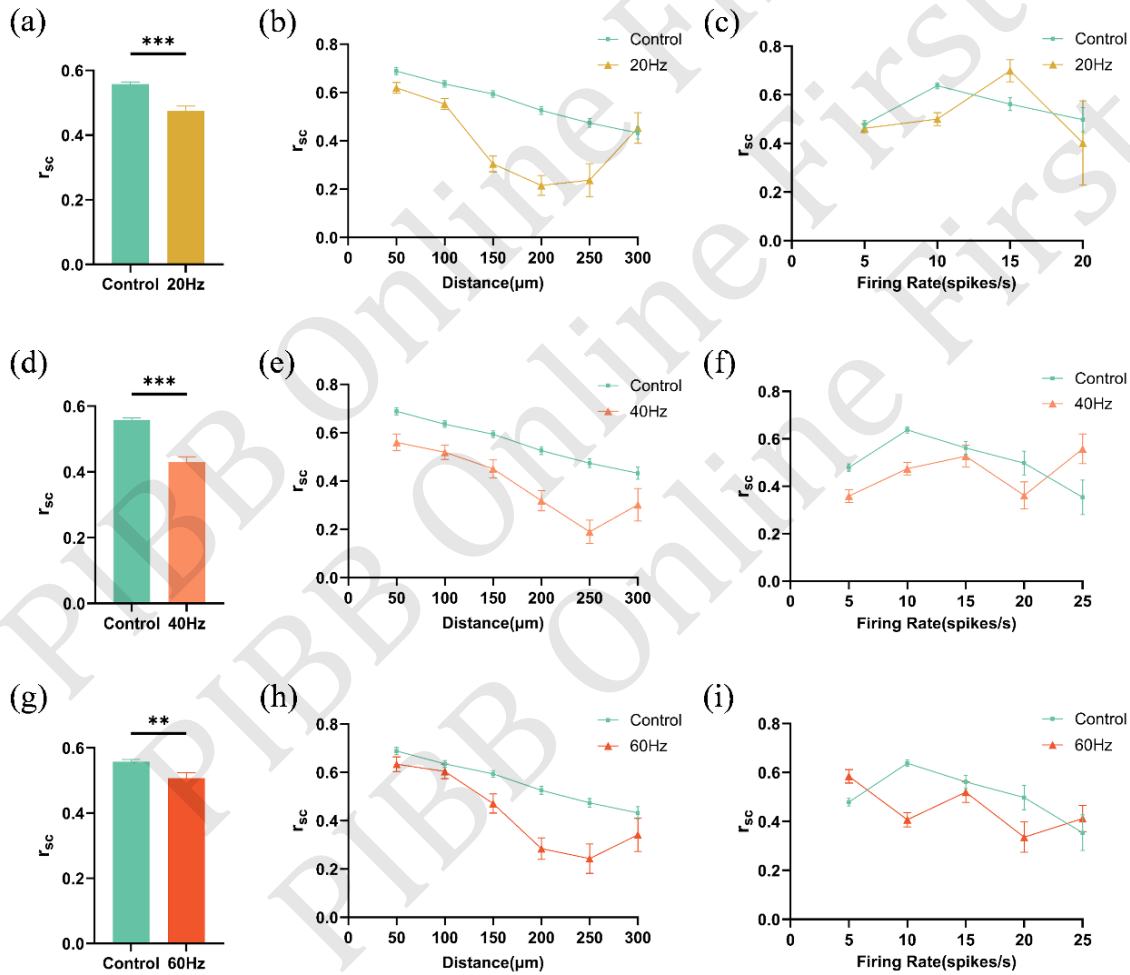


Fig. 7 Effects of non-invasive light flicker stimulation on neuronal noise correlation

(a) The change of noise correlation between neuronal pairs in 20 Hz group. Control: n (the number of mice) = 5, n (the number of neuron pairs) = 2 878; 20 Hz: n (the number of mice) = 5, n (the number of neuron pairs) = 677; $\delta = -0.1$; Mann-Whitney U test, $P < 0.001$. (b) The variation of neuronal noise correlation with distance in 20 Hz group. (c) The variation of neuronal noise correlation with firing rate in 20 Hz group. (d) The change of noise correlation between neuronal pairs in 40 Hz group. Control: n (the number of mice) = 5, n (the number of neuron pairs) = 2 878; 40 Hz: n (the number of mice) = 5, n (the number of neuron pairs) = 550; $\delta = -0.19$; Mann-Whitney U test, $P < 0.001$. (e) The variation of neuronal noise correlation with distance in 40 Hz group. (f) The variation of neuronal noise correlation with firing rate in 40 Hz group. (g) The change of noise correlation between neuronal pairs in 60 Hz group. Control: n (the number of mice) = 5, n (the number of neuron pairs) = 2 878; 60 Hz: n (the number of mice) = 5, n (the number of neuron pairs) = 445; $\delta = -0.08$; Mann-Whitney U test, $P < 0.01$. (h) The variation of neuronal noise correlation with distance in 60 Hz group. (i) The variation of neuronal noise correlation with firing rate in 60 Hz group. The above data are expressed as Mean $\pm$ SEM.

对照组和3个闪烁刺激组神经元的噪音相关性随距离和发放率变化的趋势基本一致(图7b, c, e, f, h, i),说明闪烁刺激引起的噪音相关性变化没有受到神经元之间距离或发放率的影响。

3 讨论

本研究利用在体多通道电生理技术,探究了不同频率的非侵入性闪烁刺激对成年小鼠V1神经元功能特性的影响及其机制。结果表明,3种频率的闪烁刺激均使V1神经元的方位调谐能力增强,神经元自发反应活性降低;其次,40 Hz和60 Hz的闪烁刺激显著提高了神经元的对比敏感度,而20 Hz的闪烁刺激未影响神经元的对比敏感度;此外,3种频率的闪烁刺激均增强了V1神经元的处理能力,并显著降低了神经元对之间的噪音相关性。这些结果表明,光闪烁刺激能够通过改善神经元的方位调谐能力、对比敏感度和信息处理效率,从而优化V1神经元的功能调控。

研究发现,3种频率的闪烁刺激均显著降低了V1神经元的自发反应,而在峰值反应方面,20 Hz使神经元的峰值反应显著减弱,40 Hz和60 Hz未对峰值反应产生影响。这些结果表明,不同频率的闪烁刺激可能通过不同的机制调控视觉皮层神经元的活动状态。自发反应的降低可能与视觉皮层中抑制性神经元活动的增强有关。已有研究表明,视觉的节律性闪光刺激能够显著激活以PV⁺中间神经元为主的局部抑制性网络,增强视觉皮层网络整体的抑制性水平^[34],降低神经元的自发活性。值得注意的是,20 Hz刺激在降低自发活动的同时,还显著降低了神经元的诱发峰值反应,表明20 Hz刺激可能诱导了视觉皮层网络更广泛、更整体性的抑制效应。已有研究表明,beta频段(15~30 Hz)视觉刺激不仅能够调动PV⁺中间神经网络,还可能更有效地激活SOM⁺等其他类型抑制性中间神经元^[35-36],从而形成更广泛的抑制性网络活性,导致网络整体兴奋性降低。此外,长期低频(beta频段)刺激可能导致缺乏有效的兴奋性网络稳态补偿机制,最终表现为视觉诱发反应的明显降低。相比之下,40和60 Hz的高频闪烁刺激未显著影响神经元的诱发峰值反应,这可能与gamma频段(30~80 Hz)视觉刺激更为选择性地增强PV⁺中间神经网络的抑制效能有关^[37-38]。gamma频段视觉刺激可能通过调控PV⁺中间神经元与兴奋性锥体神经元之间的局部环路,使视觉皮层神经元在基础状态(无

视觉刺激时)的活动明显降低(即自发反应降低),同时兴奋性网络可能出现稳态可塑性机制的补偿性增强,从而在视觉刺激诱发时维持或提高神经元对视觉刺激的响应选择性与信号处理效率^[39-40]。这种选择性抑制而伴随兴奋性补偿机制的模式,可能是维持神经元峰值诱发反应稳定的关键所在。此外,上述频率特异性的差异也可能与不同视觉刺激频率诱导的神经振荡模式有关。gamma频段(40和60 Hz)的视觉刺激更容易诱导gamma振荡,而gamma振荡被广泛报道有助于增强神经元之间的功能连接,提高神经网络的信息编码效率和选择性^[41-42]。而beta频段(20 Hz)的视觉刺激可能更容易诱导beta振荡,已有研究表明,SOM⁺抑制性中间神经元更倾向于参与beta振荡,PV⁺中间神经元也可适度参与其中^[35],这或许造成了20 Hz刺激作用于更广泛的神经元群体,表现为对视觉皮层神经元活动更整体、更广泛的抑制效应^[43]。

三种频率的闪烁刺激均显著提高了V1神经元的方位调谐能力,表明光闪烁刺激能够普遍增强视觉皮层神经元对特定方位刺激的选择性响应。此前的结果显示,40和60 Hz的节律性闪光刺激显著减弱了自发反应的强度,但对诱发反应并无明显影响。这表明,这两种节律性闪光刺激对低强度兴奋性活动具有选择性抑制作用,而对高强度兴奋性活动不产生抑制。由此,神经元对非最优刺激的响应减弱,但对最优视觉刺激的响应不受影响。这种机制缩窄了神经元的方位调谐带宽,从而增强了方位选择性。长期的20 Hz闪光刺激则能够激活包括PV⁺和SOM⁺抑制性神经元在内的更广泛的抑制网络,这些抑制效应通过重塑神经元的方位调谐曲线,进一步提高了方位选择能力^[44]。

在对比敏感度方面,40和60 Hz的闪烁刺激显著降低了神经元的对比度阈值和C₅₀值,表明高频闪烁刺激增强了神经元对低对比度刺激的感知能力和对比度增益控制能力;而20 Hz的闪烁刺激没有造成影响,这可能是因为40和60 Hz均属于gamma频段,可以诱导产生gamma振荡,这有助于神经元活动同步化^[45],增强对低对比度的响应,从而提高对比敏感性。相比之下,20 Hz无法诱导gamma振荡,因此未能影响神经元的对比敏感度。此外40和60 Hz的闪光刺激都降低了神经元的反应变异性,神经元反应变异性的降低会增加对视觉刺激的敏感性^[46],这也是我们观察到40和60 Hz的闪烁刺激增强了神经元对比度感知能力的重要

原因。

在神经系统中, 单个神经元在面对重复刺激时理应保持高度一致的放电模式, 以实现外界信息表征的保真度。神经元反应变异性的变化会对其自身的编码信息以及传递信息的效率产生影响^[30]。当神经元的反应变异性较小时, 它能够将其所接收到的信息编码到更为精确的发放序列中, 从而提高处理信息的效率; 而当神经元的反应变异性较大时, 它将所接收到的信息进行进一步的处理时会更耗时, 导致处理信息的效率降低^[47]。而在视觉系统中, 它每天所接收到的信息都是大量且多变的, 所以需要神经元具有更加准确高效的处理信息的能力, 解析神经元反应变异性的变化也就显得十分重要。另外, 在很多研究中会将神经元的反应变异性看作是一种“噪音”, 所以, 与噪音相关的另一个指标——SNR的变化也同样值得探究。神经元的SNR是衡量神经系统辨别有效信号(如特定刺激诱发的动作电位)与背景噪声(如随机神经活动或外界干扰)能力的关键指标^[24]。高SNR表明神经元能够精确地编码和传递有效信息, 从而提高感知、决策或行为的表现。本研究结果发现, 20 Hz、40 Hz和60 Hz的闪烁刺激均使小鼠V1神经元的反应变异性下降, 信噪比上升, 说明3种频率的闪烁刺激都可以改善V1区神经元的信息传递和编码能力。

上述反应变异性和信噪比的变化均是分析了V1区单个神经元的变化, 为了进一步观察神经元整体水平上处理能力的变化, 本研究继续分析了神经元之间协同处理信息的能力——噪音相关性的变化。相关研究已经表明, 神经元之间的噪音相关性会直接影响群体编码的信息容量^[48], 过高可能会降低群体编码的信息容量, 例如, 当多个神经元的噪音波动高度正相关时, 其冗余性会削弱群体信号的信噪比, 导致感知或决策等任务中的表现下降(如视觉辨别任务的准确性降低)^[31, 49]。本研究结果发现, 20 Hz、40 Hz和60 Hz组小鼠V1区神经元对的噪音相关性均出现显著下降, 并且这种变化没有受到神经元之间的距离或发放率差异的影响。这说明闪烁刺激使神经元群体协同处理信息的能力得到了改善。

本研究是在小鼠闪光刺激结束后进行在体电生理记录, 主要探究了不同频率的非侵入性光闪烁刺激对初级视觉皮层神经元功能特性的影响, 但没有关注闪光刺激引起的效应所持续的时间, 未来可以针对急性光闪烁后检测神经元反应的变化和慢性光

闪烁后引起的神经元反应变化的持续时间进行进一步的研究。而对于小鼠行为水平上的影响, Adaikkan等^[8]发现, 在CK-p25模型小鼠中, 为期6周的40 Hz光刺激使小鼠空间记忆能力得到改善; 另有研究发现, 7 d的40 Hz光刺激改善了野生型小鼠的新物体识别表现^[50]; 21 d的40 Hz光刺激使应激小鼠的认知功能增强^[51]等。He等^[52]为了验证长期闪光刺激的安全性和可行性, 给AD患者进行了为期8周的40 Hz光闪烁, 结果表明, 长期闪烁刺激没有任何明显的安全性和耐受性问题, 并且还增强了神经网络连接。同时, 有研究将成年弱视大鼠暴露于丰富的环境中, 电生理结果与视觉行为任务结果一致, 均证明丰富的环境使弱视大鼠的视锐度提高^[53]。而本研究已经在神经元水平发现, 特定频率的闪烁光对小鼠方位调谐能力等的改善, 所以, 本研究猜测长期非侵入性闪烁刺激可能会改善小鼠在行为任务中的表现, 但未来仍需要进一步结合神经调控技术来探究。此外, 本研究发现, 闪光刺激可能对视觉皮层的兴奋/抑制平衡产生了影响, 但是缺乏对抑制系统最直接的检测, 例如对特定亚型(如PV⁺、SOM⁺或VIP⁺)抑制性中间神经元的活动进行直接的记录和分析, 也未对GABA合成酶(如GAD67)、突触囊泡转运体(如VGAT)或抑制性受体(如GABA受体亚型)的表达和功能变化进行分子生物学或电生理学层面的验证。因此, 本研究尚不能明确揭示不同频率闪烁刺激在视觉皮层中具体作用于哪些抑制性神经元类型, 也不能完全排除其他类型的中间神经元或非特异性抑制效应的影响。未来的研究需要进一步结合特异性的转基因动物模型、光遗传学或化学遗传手段以及分子生物学实验, 明确闪烁刺激引起的视觉皮层兴奋/抑制平衡变化背后的具体细胞和分子机制, 以更加深入地揭示不同频率闪烁刺激调控神经网络活动的精细机制。

本研究中, 我们使用了特定频率(20、40和60 Hz)的视觉闪烁刺激, 观察到视觉皮层神经元的自发活动和诱发活动发生了频率特异性的变化。然而, 值得注意的是, 我们呈现给实验动物的是视网膜层面的特定频率刺激, 而这种节律刺激信号从视网膜经外侧膝状体(LGN)传递至视觉皮层(V1)的过程中, 可能并不一定以完全相同的频率或强度被神经系统编码和传递。已有研究提出, 从视网膜到视觉皮层的信息传递过程中, 频率特征可能会发生一些变化, 包括信号强度的衰减、特定频

率的选择性增强（共振现象）或抑制（频率筛选现象），以及局部神经元环路的非线性整合作用^[36, 54-55]。例如，视网膜和LGN神经元可能能够较好地响应特定频率的视觉刺激，但视觉皮层神经元可能仅对特定频率范围内的刺激表现出强烈的频率锁相效应，而对其他频率的锁相效应则较弱^[55]。因此，视觉皮层记录到的局部场电位（LFP）信号频率可能并不总是精确地对应于视觉刺激的频率。在本研究中，我们虽然观察到不同频率的视觉刺激对V1神经元活动状态产生明显不同的调控效应，但并未直接测量视觉皮层LFP与刺激频率之间的相位锁定效应或频率响应特征。因此，我们目前尚无法明确视觉皮层神经网络是否以与视觉刺激相同的频率可靠地响应，或是否存在频率相关的衰减或增强效应。未来研究中，我们建议进一步使用视觉刺激与V1局部场电位或多通道记录技术，明确视觉皮层神经网络对不同频率刺激的频率追随能力、频率依赖的锁相效应及共振特征，以更深入地理解视觉刺激频率在视网膜—LGN—视觉皮层通路上的传递与整合机制。明确视觉皮层频率响应特性不仅对于理解视觉刺激如何调控神经网络活动具有重要意义，也对于视觉刺激相关的临床干预策略的优化具有重要指导意义^[8-9, 52]。频率刺激的有效性可能取决于视觉通路对刺激频率的传递和整合效率，因此未来的研究和临床干预策略需要考虑视觉皮层频率响应特性，以优化刺激频率选择。

此外，本研究所采用的是长期（数周）的视觉闪烁刺激，而非短期或急性刺激。这种长期的视网膜输入节律性变化可能不仅影响视觉皮层神经元的功能活动，也可能引起视觉皮层网络的结构可塑性变化^[20, 56-57]。例如，我们观察到长期20 Hz（beta频段）视觉刺激显著降低了视觉皮层神经元的自发和诱发反应，提示可能存在更广泛的抑制效应。相比之下，长期40和60 Hz（gamma频段）刺激仅降低自发活动而不显著影响诱发反应，这可能反映了选择性增强PV⁺抑制性网络，同时兴奋性神经元可能出现稳态结构补偿以维持视觉信息处理效率。然而，本研究尚未直接测量这些潜在的结构变化，未来研究需要进一步采用免疫组织化学等手段，更深入地明确长期频率视觉刺激诱发视觉皮层结构重塑的具体机制及其功能意义。

综上所述，本研究揭示了不同频率的光闪烁刺激对初级视觉皮层神经元功能特性的显著调控作用，进一步证明了光闪烁作为一种动态视觉信号对

视觉感知的潜在影响，为闪烁刺激对大脑功能的影响机制提供了新的线索。

4 结论

在本研究中，将成年小鼠分为四组，分别为20 Hz、40 Hz和60 Hz和对照组，各组小鼠接受其相应频率的闪烁刺激，对照组为与实验组相同光强的恒亮光，连续刺激2个月，利用在体多通道电生理技术探究了3种不同频率对成年小鼠V1区神经元感受野特性的影响及其潜在机制。首先发现，20 Hz使神经元的自发和峰值反应降低，40 Hz和60 Hz使神经元的自发反应降低。随后，分析神经元的方位调谐能力和对比敏感度的变化，发现3种频率均使方位调谐能力增强，而对于对比敏感度，40 Hz和60 Hz有明显增强效果。进一步分析其中可能的原因，发现三组小鼠神经元的反应变异性下降，SNR上升，且神经元对的噪音相关性下降。这些结果表明，视觉系统可能通过对不同频率光的选择性适应，优化感受野特性，从而在复杂的光环境中实现高效的信息编码和感知能力，同时，本研究也为理解闪烁刺激对大脑功能的影响提供了重要的实验依据。

附件 见本文网络版 (<http://www.pibb.ac.cn>, <http://www.cnki.net>) :

PIBB_20250106_Table_S1.pdf

PIBB_20250106_Table_S2.pdf

PIBB_20250106_Table_S3.pdf

PIBB_20250106_Table_S4.pdf

PIBB_20250106_Table_S5.pdf

PIBB_20250106_Table_S6.pdf

PIBB_20250106_Table_S7.pdf

PIBB_20250106_Table_S8.pdf

参考文献

- [1] Niell C M. Cell types, circuits, and receptive fields in the mouse visual cortex. *Annu Rev Neurosci*, 2015, 38: 413-431
- [2] Harris K D, Mrsic-Flogel T D. Cortical connectivity and sensory coding. *Nature*, 2013, **503**(7474): 51-58
- [3] Menciloglu M, Grabowecky M, Suzuki S. Correction: neural, functional, and aesthetic impacts of spatially heterogeneous flicker: a potential role of natural flicker. *PLoS One*, 2020, **15**(1): e0228810
- [4] Wilkins A, Veitch J, Lehman B. LED lighting flicker and potential health concerns: IEEE standard PAR1789 update. In 2010 IEEE

- Energy Conversion Congress and Exposition. Atlanta, GA, USA, 2010: 171-178
- [5] Feng T, Cheng Y, Zhang S, *et al.* The LFP responses in primary visual cortex to light flickering stimulation. In 2024 IEEE Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS). Xi'an, China, 2024: 1-5
- [6] Soula M, Martín- Ávila A, Zhang Y, *et al.* Forty-hertz light stimulation does not entrain native gamma oscillations in Alzheimer's disease model mice. *Nat Neurosci*, 2023, **26**(4): 570-578
- [7] Minamisawa G, Funayama K, Matsumoto N, *et al.* Flashing lights induce prolonged distortions in visual cortical responses and visual perception. *eNeuro*, 2017, **4**(3): ENEURO.0304-16.2017
- [8] Adaikkan C, Middleton S J, Marco A, *et al.* Gamma entrainment binds higher-order brain regions and offers neuroprotection. *Neuron*, 2019, **102**(5): 929-943.e8
- [9] Iaccarino H F, Singer A C, Martorell A J, *et al.* Gamma frequency entrainment attenuates amyloid load and modifies microglia. *Nature*, 2016, **540**(7632): 230-235
- [10] Zheng L, Yu M, Lin R, *et al.* Rhythmic light flicker rescues hippocampal low gamma and protects ischemic neurons by enhancing presynaptic plasticity. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 3012
- [11] Rucci M, Ahissar E, Burr D. Temporal coding of visual space. *Trends Cogn Sci*, 2018, **22**(10): 883-895
- [12] Goris R L T, Simoncelli E P, Anthony Movshon J. Origin and function of tuning diversity in macaque visual cortex. *Neuron*, 2015, **88**(4): 819-831
- [13] Stringer C, Michaelos M, Tsybouski D, *et al.* High-precision coding in visual cortex. *Cell*, 2021, **184**(10): 2767-2778.e15
- [14] Rumyantsev O I, Lecoq J A, Hernandez O, *et al.* Fundamental bounds on the fidelity of sensory cortical coding. *Nature*, 2020, **580**(7801): 100-105
- [15] Stigliani A, Jeska B, Grill-Spector K. Encoding model of temporal processing in human visual cortex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, **114**(51): E11047-E11056
- [16] Saleem A B, Ayaz A, Jeffery K J, *et al.* Integration of visual motion and locomotion in mouse visual cortex. *Nat Neurosci*, 2013, **16**(12): 1864-1869
- [17] Gavornik J P, Bear M F. Learned spatiotemporal sequence recognition and prediction in primary visual cortex. *Nat Neurosci*, 2014, **17**(5): 732-737
- [18] Iurilli G, Ghezzi D, Olcese U, *et al.* Sound-driven synaptic inhibition in primary visual cortex. *Neuron*, 2011, **73**(4): 814-828.
- [19] Lee J, Jang D, Kunanbayev K, *et al.* 20 and 40-Hz Flickering-Light Stimulation Induces Changes in Functional Connectivity of Memory-Related Areas. 2022 Conference on Cognitive Computational Neuroscience. San Francisco: CCN, 2022.
- [20] Venturino A, Schulz R, De Jesús-Cortés H, *et al.* Microglia enable mature perineuronal nets disassembly upon anesthetic ketamine exposure or 60-Hz light entrainment in the healthy brain. *Cell Rep*, 2021, **36**(1): 109313
- [21] Xu G, Hu F, Wang X, *et al.* Bisphenol A exposure perturbs visual function of adult cats by remodeling the neuronal activity in the primary visual pathway. *Arch Toxicol*, 2018, **92**(1): 455-468
- [22] Hu F, Xu G, Zhang L, *et al.* Chronic bisphenol A exposure triggers visual perception dysfunction through impoverished neuronal coding ability in the primary visual cortex. *Arch Toxicol*, 2022, **96**(2): 625-637.
- [23] Hu F, Liu J, Xu G, *et al.* Bisphenol A exposure inhibits contrast sensitivity in cats involving increased response noise and inhibitory synaptic transmission. *Brain Res Bull*, 2020, **157**: 1-9
- [24] Czanner G, Sarma S V, Ba D, *et al.* Measuring the signal-to-noise ratio of a neuron. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(23): 7141-7146
- [25] Wang X, Zhang B, Wang H, *et al.* Aging affects correlation within the V1 neuronal population in rhesus monkeys. *Neurobiol Aging*, 2019, **76**: 1-8
- [26] O'Carroll D C, Wiederman S D. Contrast sensitivity and the detection of moving patterns and features. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2014, **369**(1636): 20130043
- [27] Stalin A, Dalton K. Relationship of contrast sensitivity measured using quick contrast sensitivity function with other visual functions in a low vision population. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2020, **61**(6): 21
- [28] Yang Y, Liang Z, Li G, *et al.* Aging affects contrast response functions and adaptation of middle temporal visual area neurons in rhesus monkeys. *Neuroscience*, 2008, **156**(3): 748-757
- [29] Mante V, Frazor R A, Bonin V, *et al.* Independence of luminance and contrast in natural scenes and in the early visual system. *Nat Neurosci*, 2005, **8**(12): 1690-1697
- [30] Rajdl K, Lansky P, Kostal L. Fano factor: a potentially useful information. *Front Comput Neurosci*, 2020, **14**: 569049
- [31] Cohen M R, Kohn A. Measuring and interpreting neuronal correlations. *Nat Neurosci*, 2011, **14**(7): 811-819
- [32] Smith M A, Kohn A. Spatial and temporal scales of neuronal correlation in primary visual cortex. *J Neurosci*, 2008, **28**(48): 12591-12603
- [33] Wasmuht D F, Parker A J, Krug K. Interneuronal correlations at longer time scales predict decision signals for bistable structure-from-motion perception. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 11449
- [34] Yan H, Deng X, Wang Y, *et al.* Enhancement of spatial learning by 40 Hz visual stimulation requires parvalbumin interneuron-dependent hippocampal neurogenesis. *bioRxiv*, 2024. DOI: 10.1101/2024.04.28.591481
- [35] Chen G, Zhang Y, Li X, *et al.* Distinct inhibitory circuits orchestrate cortical beta and gamma band oscillations. *Neuron*, 2017, **96**(6): 1403-1418.e6
- [36] Schneider M, Tzanou A, Uran C, *et al.* Cell-type-specific propagation of visual flicker. *Cell Rep*, 2023, **42**(5): 112492
- [37] Cardin J A, Carlén M, Meletis K, *et al.* Driving fast-spiking cells induces gamma rhythm and controls sensory responses. *Nature*, 2009, **459**(7247): 663-667
- [38] Sohal V S, Zhang F, Yizhar O, *et al.* Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. *Nature*,

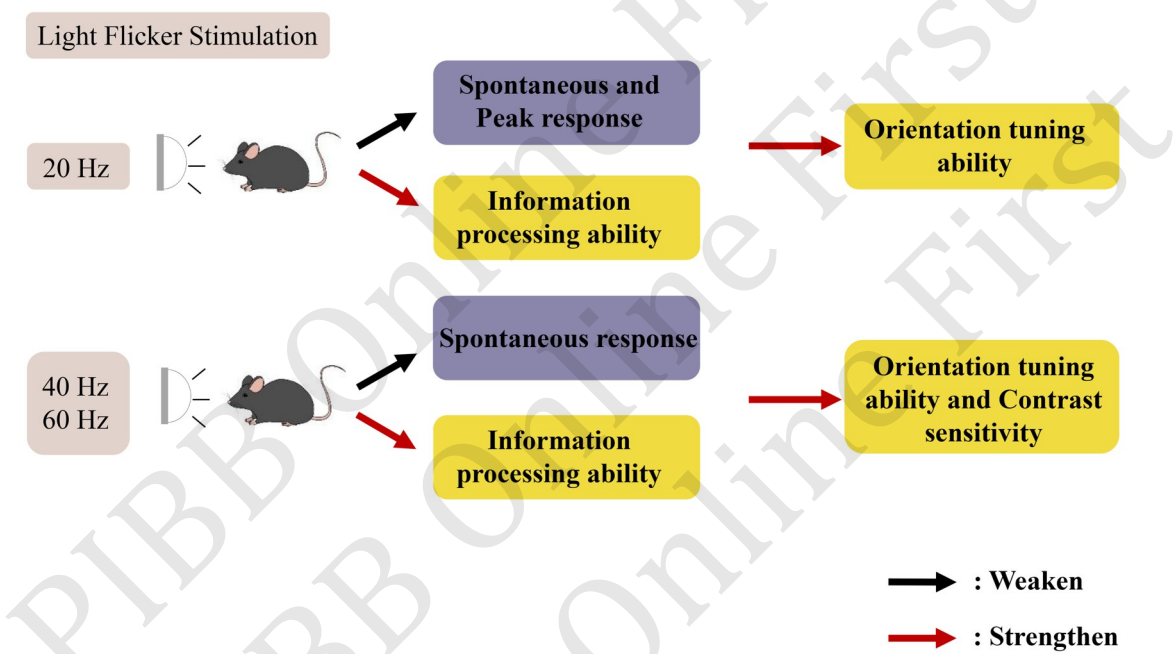
- 2009, **459**(7247): 698-702
- [39] Turrigiano G G. The self-tuning neuron: synaptic scaling of excitatory synapses. *Cell*, 2008, **135**(3): 422-435
- [40] Keck T, Toyozumi T, Chen L, *et al.* Integrating hebbian and homeostatic plasticity: the current state of the field and future research directions. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2017, **372** (1715): 20160158
- [41] Ichim A M, Barzan H, Moca V V, *et al.* The gamma rhythm as a guardian of brain health. *Elife*, 2024, **13**: e100238
- [42] Han C, Shapley R, Xing D. Gamma rhythms in the visual cortex: functions and mechanisms. *Cogn Neurodyn*, 2022, **16**(4): 745-756
- [43] Zhang X, Wang H, Guo Y, *et al.* Beta rebound reduces subsequent movement preparation time by modulating of GABAA inhibition. *Cereb Cortex*, 2024, **34**(2): bhae037
- [44] Lee S H, Kwan A C, Zhang S, *et al.* Activation of specific interneurons improves V1 feature selectivity and visual perception. *Nature*, 2012, **488**(7411): 379-383
- [45] Fries P. A mechanism for cognitive dynamics: neuronal communication through neuronal coherence. *Trends Cogn Sci*, 2005, **9**(10): 474-480
- [46] Mitchell J F, Sundberg K A, Reynolds J H. Differential attention-dependent response modulation across cell classes in macaque visual area V4. *Neuron*, 2007, **55**(1): 131-141
- [47] Kostal L, Lansky P, Rospars J P. Neuronal coding and spiking randomness. *Eur J Neurosci*, 2007, **26**(10): 2693-2701
- [48] Bartolo R, Saunders R C, Mitz A R, *et al.* Information-limiting correlations in large neural populations. *J Neurosci*, 2020, **40**(8): 1668-1678
- [49] Leavitt M L, Pieper F, Sachs A J, *et al.* Correlated variability modifies working memory fidelity in primate prefrontal neuronal ensembles. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, **114**(12): E2494-E2503
- [50] Tian T, Qin X, Wang Y, *et al.* 40 Hz light flicker promotes learning and memory *via* long term depression in wild-type mice. *J Alzheimers Dis*, 2021, **84**(3): 983-993
- [51] Yao J, Zhang L, Zhang C, *et al.* Rhythmic gamma frequency light flickering ameliorates stress-related behaviors and cognitive deficits by modulating neuroinflammatory response through IL-12-Mediated cytokines production in chronic stress-induced mice. *Brain Behav Immun*, 2024, **121**: 213-228
- [52] He Q, Colon-Motas K M, Pybus A F, *et al.* A feasibility trial of gamma sensory flicker for patients with prodromal Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2021, **7**(1): e12178
- [53] Tognini P, Manno I, Bonaccorsi J, *et al.* Environmental enrichment promotes plasticity and visual acuity recovery in adult monocular amblyopic rats. *PLoS One*, 2012, **7**(4): e34815
- [54] Bastos A M, Vezoli J, Bosman C A, *et al.* Visual areas exert feedforward and feedback influences through distinct frequency channels. *Neuron*, 2015, **85**(2): 390-401
- [55] Saleem A B, Lien A D, Krumin M, *et al.* Subcortical source and modulation of the narrowband gamma oscillation in mouse visual cortex. *Neuron*, 2017, **93**(2): 315-322
- [56] Garza K M, Zhang L, Borron B, *et al.* Gamma visual stimulation induces a neuroimmune signaling profile distinct from acute neuroinflammation. *J Neurosci*, 2020, **40**(6): 1211-1225
- [57] Nazari M, Vajed-Samiei T, Torabi N, *et al.* The 40-hz white light-emitting diode (LED) improves the structure - function of the brain mitochondrial KATP channel and respiratory chain activities in amyloid beta toxicity. *Mol Neurobiol*, 2022, **59**(4): 2424-2440

Effects of Non-invasive Light Flicker on Functional Properties of Primary Visual Cortex in Adult Mice*

LI Xue-Qi¹⁾, ZHOU Yi-Feng^{1,2)**}, XU Guang-Wei^{1)**}

⁽¹⁾Division of Life Sciences and Medicine, University of Science and Technology of China, Hefei, Anhui 230026, China;
⁽²⁾Hefei National Laboratory for Physical Sciences at the Microscale, Hefei, Anhui 230026, China)

Graphical abstract



Abstract Objective As the central hub of the classical visual pathway, the primary visual cortex not only encodes and processes visual information but also establishes dense neural circuit connections with higher-order cognitive brain regions. Numerous studies have shown that 40 Hz flicker stimulation can induce gamma oscillations in the brain and significantly improve learning and cognitive impairments in patients with neurodegenerative diseases. Moreover, flickering light phenomena naturally occur in daily environments. Given that the primary visual cortex serves as the brain's first cortical hub for receiving visual input, it is essential to comprehensively understand how non-invasive light flicker stimulation modulates its information processing mechanisms. This study systematically investigates the effects of non-invasive light flicker stimulation at different frequencies on the functional properties of neurons in the primary visual cortex of adult mice, aiming to uncover how such stimulation modulates this region and, consequently, affects overall brain function. **Methods** Three groups of adult mice (approximately 12 weeks old) were exposed to light flicker stimulation at frequencies of 20 Hz, 40 Hz, and 60 Hz, respectively, for a duration of two months. A control group was exposed to the same light intensity without flickering. Following the stimulation period, in vivo multi-channel electrophysiological recordings were conducted. During these recordings, anesthetized mice were presented with various types of moving sinusoidal light gratings to assess the effects of different flicker frequencies on the functional properties

of neurons in the primary visual cortex. **Results** The experimental results demonstrate that two months of light flicker stimulation at 20 Hz, 40 Hz, and 60 Hz enhances the orientation tuning capabilities of neurons in the primary visual cortex. Specifically, 40 Hz and 60 Hz stimulation improved contrast sensitivity, whereas 20 Hz had no significant effect. Further analysis revealed that all three frequencies reduced neuronal response variability (as measured by the Fano Factor), increased the signal-to-noise ratio, and decreased noise correlation (rsc) between neurons. **Conclusion** Non-invasive light flicker stimulation enhances orientation tuning (e. g., orientation bandwidth) and contrast sensitivity (e.g., contrast threshold and C50) in neurons of the primary visual cortex. This enhancement is likely due to improved information processing efficiency, characterized by reduced neuronal variability and increased signal-to-noise ratio. These findings suggest that the primary visual cortex can achieve precise and efficient information encoding in complex lighting environments by selectively adapting to different flicker frequencies and optimizing receptive field properties. This study provides new experimental evidence on how various types of light flicker influence visual perception and offers insights into the mechanisms through which specific frequencies enhance brain function.

Key words non-invasive light flicker, primary visual cortex, *in vivo* electrophysiology, information processing

DOI: 10.16476/j.pibb.2025.0106

CSTR: 32369.14.pibb.20250106

* This work was supported by grants from The Natural Science Foundation of China (32070990), Natural Science Research in Colleges and Universities of Anhui Provincial Department of Education (2022AH052326) and Hefei Comprehensive National Science Center Hefei Brain Project.

** Corresponding author.

ZHOU Yi-Feng. Tel: 86-13033082368, E-mail: zhouy@ustc.edu.cn

XU Guang-Wei. Tel: 86-18655182170, E-mail: weixu@ustc.edu.cn

Received: March 14, 2025 Accepted: June 6, 2025