

# 超声刺激对大鼠多皮层 ECoG 的调控

王君, 随力

上海理工大学医疗器械与食品学院, 上海 200093

**【摘要】目的:** 为了进一步揭示超声刺激的神经调控机制以及超声刺激引起的刺激效应范围, 将超声刺激经颅施加到大鼠前额叶皮层部位, 同步记录和分析前额叶、顶叶及枕叶皮层的皮层电位(Electrocorticogram, ECoG)的变化特征。**方法:** 在大鼠麻醉状态下, 利用脑立体定位仪将超声探头定位在大鼠前额叶部位的正上方, 刺激时间为 20 min。以功率谱密度(Power Spectral Density, PSD)、振幅及互相关系数值为指标, 分析比较超声刺激前、刺激中、刺激后的 ECoG 总功率、平均幅值以及皮层间的互相关系数值。**结果:** (1) 超声刺激会增加前额叶皮层 ECoG 的总 PSD 和平均幅值( $P<0.05$ ), 超声刺激停止后, 在较短的时间内 ECoG 恢复到刺激前水平; (2) 在顶叶及枕叶皮层, 超声刺激对总 ECoG 及各频段信号的 PSD、平均幅值无显著性影响。但在超声刺激过程中, 枕叶 ECoG 的部分时间段的平均幅值相对于刺激前有显著性差异, 即在超声刺激的后半段时间内, 超声刺激产生刺激效应范围扩散到枕叶皮层。**结论:** 超声刺激对刺激局部的 ECoG 具有调控作用, 且这种调控具有及时性及快速恢复的特点。超声刺激对 ECoG 的调控效应范围总体上来说是局限性的, 对远离刺激部位的其他脑皮层 ECoG 的影响尚无明确关系, 其效应很可能是超声刺激局部引起的后续神经网络反应。

**【关键词】** 超声刺激; ECoG; 脑皮层; 神经调控

**【中图分类号】** R318

**【文献标志码】** A

**【文章编号】** 1005-202X(2020)01-0090-08

## Regulation of electrocorticogram in multiple cortical layers of rats by ultrasound stimulation

WANG Jun, SUI Li

School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China

**Abstract: Objective** To further reveal the mechanisms of neuromodulation by ultrasound stimulation and the range of stimulatory effects caused by ultrasound stimulation, to apply ultrasound stimulation to the prefrontal cortex of rats for synchronously recording and analyzing the changes characteristics of electrocorticogram (ECoG) in the prefrontal, parietal and occipital cortices. **Methods** Under anesthesia, a stereotaxic apparatus was used to place the ultrasound transducer right above the prefrontal lobe of rats, and the stimulation duration was 20 min. Power spectral density (PSD), amplitude and interrelationship values were used as indicators to analyze and compare the total power and mean amplitude of ECoG as well as interrelationship values among cortices of pre-, mid- and post-ultrasonic stimulations. **Results** (1) Ultrasound stimulation increased the total PSD and mean amplitude of the ECoG of the prefrontal cortex ( $P<0.05$ ). After the ultrasound stimulation stopped, the ECoG returned to the pre-stimulation level in a short time. (2) In the parietal and occipital cortices, ultrasound stimulation had no significant effect on the PSD and mean amplitude of ECoG and each frequency band. However, during the ultrasound stimulation, the average amplitude of the partial periods in the occipital cortex was obviously different from that before stimulation, which indicated that during the second half of the ultrasound stimulation, the range of the stimulatory effect caused by ultrasound stimulation was diffused to the occipital cortex. **Conclusion** Ultrasound stimulation can regulate the ECoG of local stimulation region, and the neuromodulation has the characteristics of promptness and rapid recovery. In general, the regulation effect of ultrasound stimulation on ECoG is limited. The effect of ultrasound stimulation on the ECoG of other cortical layers away from the stimulation sites remains unclear, and the effect is probably the subsequent neural network response caused by ultrasound stimulation.

**Keywords:** ultrasound stimulation; electrocorticogram; cerebral cortex; neuromodulation

**【收稿日期】** 2019-06-09

**【基金项目】** 国家自然科学基金(11179015); 上海理工大学科技发展项目(16KJFZ107, 2017KJFZ160)

**【作者简介】** 王君, 硕士研究生, 研究方向: 生物医学工程, E-mail: wj\_150917@163.com

**【通信作者】** 随力, 教授, 研究方向: 神经工程, E-mail: lsui@usst.edu.cn

## 前言

超声神经调控采用超声波作为刺激能量的传播载体, 其波动能量能有效穿透不同深度的组织<sup>[1]</sup>。结合多阵元超声换能器及相控阵技术, 超声波的传播路径以及聚焦范围可被精确调控, 因此超声神经刺

激相对于其他传统的电、磁、光神经刺激技术,是一种非侵入型刺激脑神经的技术,具有方向性强、穿透深度大、靶点控制准确、无创及图像引导等优点<sup>[2-3]</sup>。目前有研究表明超声刺激可改变脑组织的电生理特性,具有中枢神经调控的作用,且随着超声技术的发展,超声神经调控技术可用于治疗人类的多种神经精神类疾病<sup>[4]</sup>。

大脑是一个网络结构,并且具有很强的可塑性。前额叶皮层是脑的高级中枢,在思维推理、行为计划和组织管理、情绪调控、工作记忆以及注意力调节等脑高级功能中起关键作用<sup>[5]</sup>。有研究表明,前额叶皮层与皮层及皮层下结构有着十分丰富的交互联系<sup>[6]</sup>,和其他脑区具有交互信息的输入、输出关系,通过调节前额叶皮层可起到调控部分脑高级功能的作用<sup>[7-8]</sup>。已知超声刺激会显著增加前额叶皮层各频段信号的绝对功率谱平均值,且随着超声刺激强度的增强,超声神经调控效果更加显著,刺激成功率越高。但有相关研究表明,更强的超声刺激强度和作用时间不会增加运动反应的强度与持续时间,即超声刺激效应不会随作用时间的延长而增强<sup>[9]</sup>。目前尚未有研究表明超声刺激前额叶皮层会使前额叶皮层的输出增强,从而改变其他脑区的电生理特点。因而在本次研究中,利用多通道信号采集系统,将超声刺激经颅施加到大鼠前额叶皮层部位,同步记录和分析前额叶、顶叶及枕叶皮层的电信皮层(Electrocorticogram, ECoG)的变化特征,进一步揭示超声刺激的神经调控机制以及超声刺激引起刺激效应范围。

1 实验对象与方法

1.1 实验对象

实验选用健康成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠,体质量 130~150 g,上海杰思捷实验动物中心提供。常规分笼饲养,自由饮水进食,室温控制在 18~22 °C,相对湿度为 40%~70%,光照时间为 12/24 h,实验室通风良好。

1.2 ECoG 电极的植入

7%的水合氯醛腹腔麻醉大鼠(0.5 mL/100 g),待大鼠完全麻醉后,将其自然俯卧,头部固定在脑立体定位仪系统上。皮肤消毒后沿大鼠头皮中线切开,钝性分离骨膜,用 30% 的双氧水涂擦去除颅骨外的软组织,充分暴露大鼠前、后囟及冠、矢状缝等骨性标志<sup>[10]</sup>。参照大鼠脑立体定位图谱确定前额叶、顶叶及枕叶皮层 3 个部位的坐标(在矢状缝右侧皮层)<sup>[11]</sup>:前囟前 3 mm,旁开 1 mm;前囟后 1 mm,旁开 3 mm;

前囟后 6 mm,旁开 2 mm。在 3 个坐标以及离前囟点较远的颅骨处(接地电极用,在矢状缝左侧皮层)做标记,用颅骨钻在标记处缓慢垂直向下钻透颅骨(注意避免钻破硬脑膜)。在钻孔处分别植入直径 1 mm 的小螺钉,作为脑皮层电极,并用牙科水泥固定电极,待大鼠手术恢复后 2~3 d 进行后续实验。

1.3 超声刺激和多皮层 ECoG 记录

本实验采用一种自制的用于脑神经刺激的程控超声发生器,利用该发生器驱动自制的超声探头经颅刺激大鼠的前额叶皮层<sup>[12]</sup>。实验中将探头固定在脑立体定位仪上,使其精准地定位在前额叶部位的正上方。超声声脉冲群涉及到的相关参数设置为:中心频率 500 kHz,强度 5.915 W/cm<sup>2</sup>,声脉冲群重复频率 1 000 Hz,每个脉冲宽度 0.4 ms,刺激时长 800 ms,两次刺激时间间隔 10 s,超声刺激总时间 20 min<sup>[12-13]</sup>。用 Biopac 多导生理记录仪(美国 BIOPAC 公司),同步记录大鼠前额叶、顶叶及枕叶皮层的 ECoG,如图 1 所示,其中 AMP 为 ECoG 的幅值。采样频率 1 000 Hz,采样时间 1.0~1.5 h,包括超声刺激未给予前 10 min 的基础 ECoG、超声刺激过程中 20 min 的 ECoG、刺激停止后 30 min 左右的 ECoG。整个记录过程中,大鼠处于麻醉状态(麻醉剂量同第 1.2 节中 ECoG 电极植入手术)。

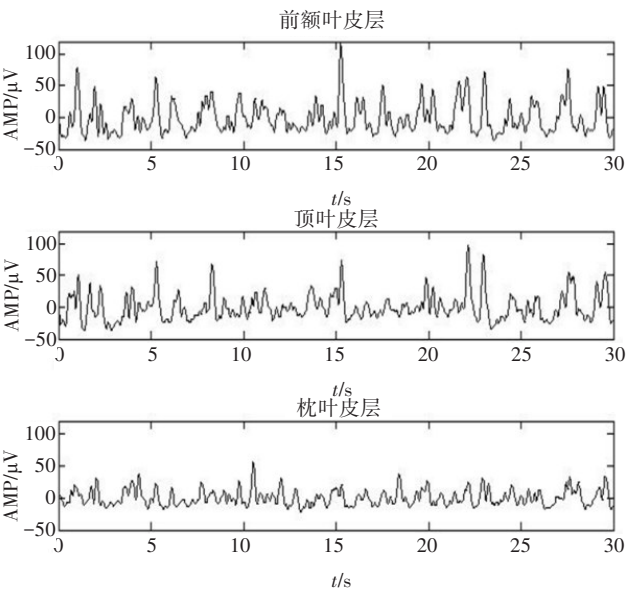


图1 前额叶、顶叶及枕叶皮层的 ECoG

Fig.1 ElectroCorticogram (ECoG) of the prefrontal, parietal and occipital cortices

1.4 互相关函数和相关系数

1.4.1 互相关函数 研究两个变量间的关系问题,称为相关分析。在相关分析中研究两个信号的相互程度关系(即两信号波形上的相似程度,时间轴上的位

置差异),用互相关函数来描述。互相关函数是信号分析里的概念,描述随机信号 $x(t)$ 、 $y(t)$ 在任意两个不同时刻 $t_1$ 、 $t_2$ 取值间的相关程度<sup>[14]</sup>,互相关函数可以用足够长的统计时间内的时间历程样本 $x(t)$ 和 $y(t)$ 乘积的时间平均来计算,即:

$$R_{xy}(\tau)=\lim_{T\rightarrow\infty}\frac{1}{T}\int_0^{\tau}x(t)y(t+\tau)dt$$

(1)

式中, $\tau$ 为拖延时间。相关系数(归一化相关函数)定义为:

$$r_{xy}=R_{xy}(\tau)/\sqrt{R_{xx}(0)R_{yy}(0)}$$

(2)

式中, $R_{xx}(0)$ 、 $R_{yy}(0)$ 分别为信号 $x(t)$ 和 $y(t)$ 在零点的自相关函数。

**1.4.2 相关系数** 相关系数是衡量两个随机变量之间线性相关程度的指标,描述的是一种非确定性的关系<sup>[15-16]</sup>。两个随机变量 $X$ 、 $Y$ 的相关系数 $r$ 的计算公式如下所示:

$$r=\frac{\text{Cov}(X,Y)}{\sigma_X\sigma_Y}=\frac{E\left[\{(X-E(X))\}\{(Y-E(Y))\}\right]}{\left[E\{(X-E(X))^2\}\right]^{\frac{1}{2}}\left[E\{(Y-E(Y))^2\}\right]^{\frac{1}{2}}}$$

(3)

式中, $\text{Cov}(X,Y)$ 是随机变量 $X$ 与 $Y$ 的协方差函数, $\sigma_X$ 与 $\sigma_Y$ 分别代表两个变量的标准差, $E(X)$ 与 $E(Y)$ 为两者的平均值。相关系数 $r$ 的取值范围是 $[-1,1]$ ,相关系数反映两个变量间的相关程度,相关系数 $r$ 显示的只是一个比率,相关系数的正负号只表示相关的方向, $r>0$ 表示正相关, $r<0$ 表示负相关。 $r$ 的绝对值表示变量之间相关程度的高低,对于 $r$ 的大小表示意义为: $0.00\sim\pm0.30$ 表示微相关; $\pm0.30\sim\pm0.50$ 表示实相关; $\pm0.50\sim\pm0.80$ 表示显著相关; $\pm0.80\sim\pm1.00$ 表示高度相关。

1.5 数据分析及统计学方法

对采集到的各皮层的 ECoG 用 ACK 软件进行预处理,首先去除 50 Hz 的工频干扰,然后进行滤波(频谱范围为 0~150 Hz),随后进行频谱分析。大鼠各皮层的 ECoG 分析指标主要有功率谱密度(Power Spectral Density, PSD)、平均幅值以及互相关系数。所有数据用均数±标准差表示,ECoG 数据采用单因素方差分析和配对  $t$  检验进行统计学处理, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 超声刺激对各皮层 ECoG 总 PSD 值的影响

为比较超声刺激前、中、后 3 个时间段的 ECoG 的总 PSD 值,将超声刺激前 ECoG 的 PSD 值设为 100%,得到超声刺激中及刺激后的 PSD 的百分比数值(表 1)。

其方差分析表明:在前额叶皮层,超声刺激前与刺激中、刺激中与刺激后的 ECoG 的 PSD 值差异有统计学意义 $[F_{(2,24)}=7.541, P=0.002\ 9]$ ,刺激前与刺激后的 ECoG 的 PSD 值无显著性差异( $P>0.05$ );在顶叶及枕叶皮层,超声刺激前、刺激中及刺激后的 ECoG 信号的 PSD 值差异没有统计学意义 $\{[F_{\text{顶叶}(2,24)}=1.695, P=0.204\ 8]$ 、 $[F_{\text{枕叶}(2,24)}=2.653, P=0.091]\}$ 。此结果表明超声刺激施加在前额叶皮层时会引起 PSD 的升高,超声刺激结束后,升高的 PSD 值恢复至刺激前水平。但超声刺激引起的刺激效应范围是有局限的,超声刺激对远离前额叶皮层的其他皮层 ECoG 的 PSD 值无影响。

表 1 超声刺激 3 个时间段内各皮层 ECoG 的 PSD 百分比数值(%)  
Tab.1 Power spectral density (PSD) percentages of ECoG of each cortex during 3 periods of ultrasound stimulation (%)

部位	刺激前	刺激中	刺激后
前额叶皮层	100±0	144.20±12.60**	91.49±12.60
顶叶皮层	100±0	136.40±29.10	92.60±11.10
枕叶皮层	100±0	135.20±11.90	106.60±8.20

与刺激前比较,\*\*表示  $P<0.01$

为了揭示超声刺激引起 PSD 值增加的时间效应关系,将 ECoG 进行分期处理,超声刺激中分为 0~1、1~2、2~3、3~4、4~5、5~10、10~20 min 时间段。同样,超声刺激后分为 0~5、5~10、10~20 min 时间段。图 2a~图 2c 为各皮层超声刺激前、刺激中各时间段及刺激后各时间段的 PSD 百分比数值。由图 2a 可知,在前额叶皮层,刺激前与刺激中各时间段的 ECoG 的 PSD 值差异有统计学意义,且刺激中各时间段的 PSD 值无差异 $[F_{(7,64)}=0.262\ 8, P=0.966]$ 。相对于刺激前,刺激后各时间段的 ECoG 的 PSD 值差异无统计学意义( $P>0.05$ )。在整个刺激过程中,PSD 值增量达到 45%~65%。由图 2b 可知,在顶叶皮层,相对于超声刺激前,刺激中各时间段以及刺激后各时间段的 PSD 值差异无统计学意义( $P>0.05$ ),在整个刺激过程中,PSD 值增量为 35%~55%。由图 2c 可知,在枕叶皮层,刺激中 3~4、15~20 min 的 PSD 值与刺激前相比有显著性差异,刺激中其他时间段及刺激后各时间段的 PSD 值与刺激前相比无显著性差异。在整个刺激过程中,PSD 值增量达到 10%~25%。结果表明,超声刺激一开始,前额叶 ECoG 的 PSD 值就有了显著增加,随着刺激时间的延长,刺激局部的刺激效应没有随之增强,但产生刺激效应范围扩散到枕叶皮层,刺激结束前的 5 min 内,枕叶 ECoG 的 PSD 值增强了( $P<0.05$ )。刺激结束后,各皮层 ECoG 的 PSD 值都在较短的时间内(5 min 内)恢复至刺激前水平。

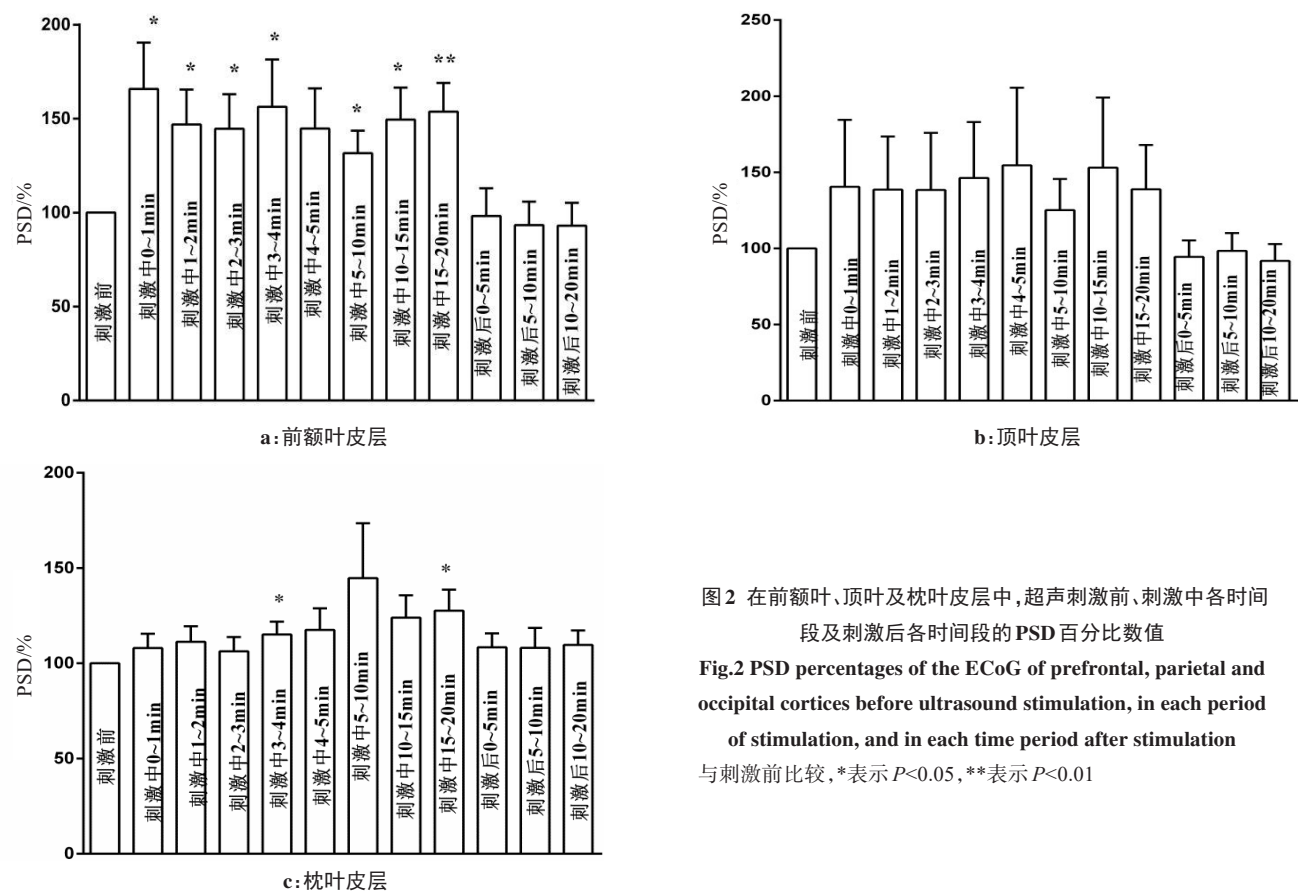


图2 在前额叶、顶叶及枕叶皮层中,超声刺激前、刺激中各时间段及刺激后各时间段的PSD百分比数值

Fig.2 PSD percentages of the ECoG of prefrontal, parietal and occipital cortices before ultrasound stimulation, in each period of stimulation, and in each time period after stimulation  
与刺激前比较,\*表示 $P<0.05$ ,\*\*表示 $P<0.01$

2.2 超声刺激对各频段 PSD 值的影响

超声刺激经颅施加在前额叶皮层,研究超声刺激对各皮层 ECoG 的各频段 PSD 值的影响。其中图 3 为前额叶皮层、顶叶皮层及枕叶皮层超声刺激 3 个时间段内各频段信号的 PSD 百分比数值。在前额叶皮层,δ波 $[F_{(2,24)}=7.835, P=0.013\ 2]$ 、θ波 $[F_{(2,24)}=5.527, P=0.013\ 6]$ 、α波 $[F_{(2,24)}=5.207, P=0.013\ 2]$ 、β波 $[F_{(2,24)}=5.173, P=0.013\ 6]$ 这 4 个频段的 PSD 值都呈现增长趋势,且各频段 PSD 值的增量为 35%~50%。与超声刺激前相比,刺激中各频段的 PSD 值都存在显著性差异( $P<0.05$ ),刺激结束后,4 个频段的 PSD 值恢复到刺激前水平。在顶叶皮层,ECoG 的 4 个频段的 PSD 值都呈现增长趋势,各频段 PSD 值的增量为 35%~45%,但相对于超声刺激前,刺激中与刺激后各频段的 PSD 值都无显著性差异( $P>0.05$ )。枕叶皮层 ECoG 的 4 个频段的 PSD 值都呈现增长趋势,各频段 PSD 值的增量为 30%~40%,但刺激中及与刺激后各频段的 PSD 值与刺激前相比无显著性差异( $P>0.05$ )。结果表明,超声刺激对各皮层 ECoG 的各频段 PSD 值的影响是不一致的,在前额叶皮层,超声刺激对各频段 ECoG 总 PSD 都有增强效应,且各频段的增强效应是一致的;而在顶叶、枕叶皮层,超声刺激对 ECoG 各频段总 PSD 无显著性影响。

2.3 超声刺激对 ECoG 平均幅值的影响

为了研究超声刺激对各皮层 ECoG 各频段的影响,对超声刺激 3 个时间段内的 ECoG 与各频段信号的平均幅值做了分析。为了便于比较,将超声刺激前 ECoG 信号的平均幅值设为 100%。由表 2 可知,在前额叶皮层,与超声刺激前相比,刺激中的总 ECoG $[F_{(2,42)}=6.277, P=0.006\ 4]$ 、δ波 $[F_{(2,42)}=6.225, P=0.006\ 6]$ 、α波 $[F_{(2,42)}=2.73, P=0.085\ 4]$ 及β波 $[F_{(2,42)}=4.1, P=0.029\ 4]$ 的平均幅值差异达到显著性水平。且相对于刺激前,刺激后的总 ECoG 与各频段信号的平均幅值差异无统计学意义( $P>0.05$ )。在顶叶及枕叶皮层,刺激中与刺激后的总 ECoG 及各频段信号的平均幅值与刺激前相比无显著性差异( $P>0.05$ ,顶叶皮层、枕叶皮层超声刺激 3 个时间段内 ECoG 与各频段信号的平均幅值未显示)。结果表明,超声刺激可增强被刺激皮层的总 ECoG 及其各频段信号的平均幅值,在刺激停止后,ECoG 恢复到刺激前水平。但在未刺激到的皮层(顶叶、枕叶皮层),超声刺激未能引起总 ECoG 及各频段信号的平均幅值的显著性变化。

对超声刺激前、刺激中不同时间段及刺激后不同时间段的 ECoG 的平均幅值做了分析,见表 3(刺激前为 100%,刺激后各时间段的平均幅值与刺激前相比无显著性差异,刺激前及刺激后各时间段的数值未显示)。

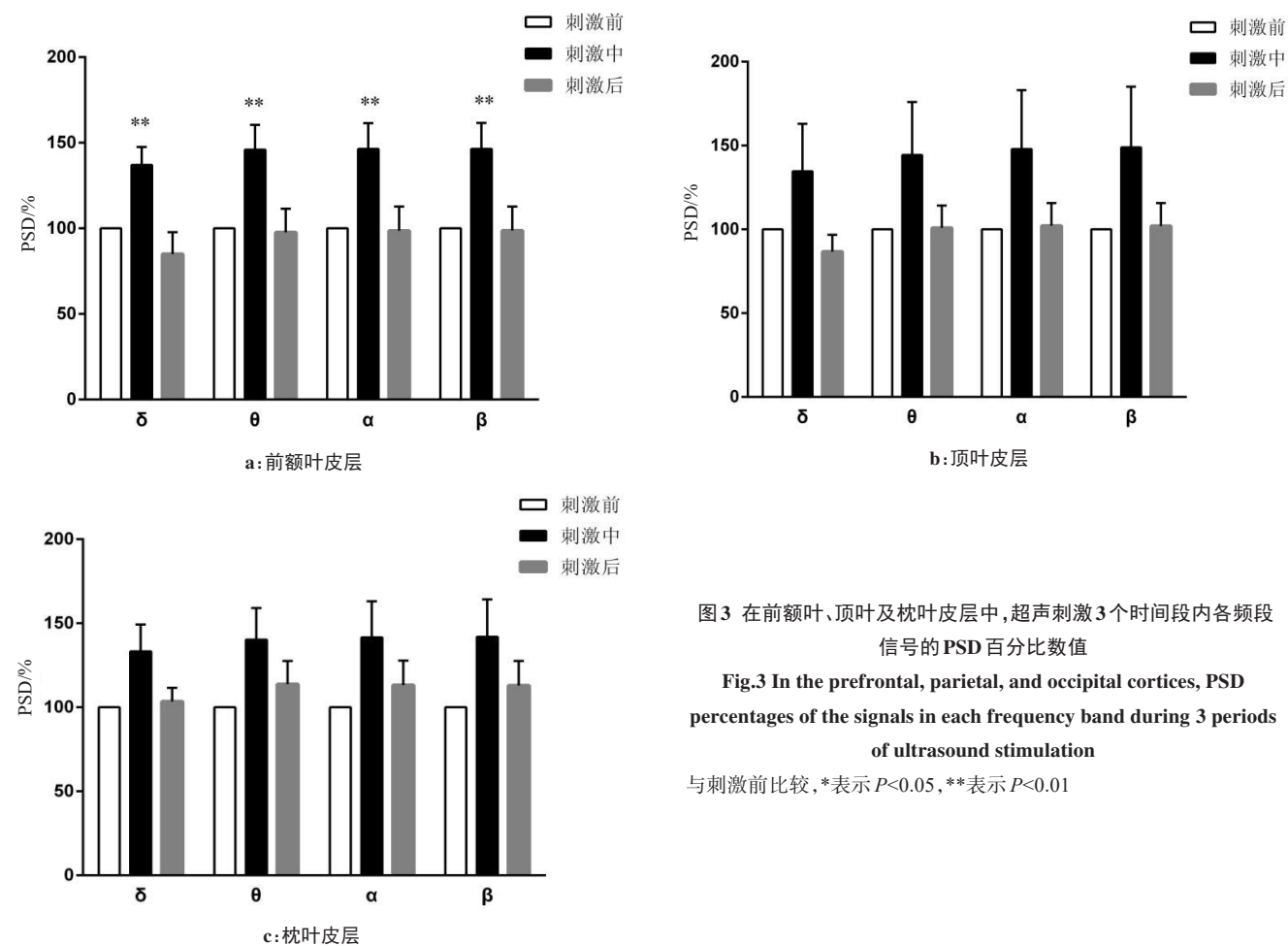


图3 在前额叶、顶叶及枕叶皮层中,超声刺激3个时间段内各频段信号的PSD百分比数值

Fig.3 In the prefrontal, parietal, and occipital cortices, PSD percentages of the signals in each frequency band during 3 periods of ultrasound stimulation

与刺激前比较,\*表示  $P<0.05$ ,\*\*表示  $P<0.01$

表2 前额叶皮层超声刺激3个时间段内 ECoG 与各频段信号的平均幅值(% ,  $n=9$ )

Tab.2 In the prefrontal cortex, the mean amplitude of ECoG and each frequency band during 3 periods of ultrasound stimulation (% ,  $n=9$ )

参数	刺激前	刺激中	刺激后
总 ECoG	100±0	119.10±5.60**	93.32±7.40
$\delta$	100±0	116.60±4.60**	90.64±7.90
$\theta$	100±0	132.10±17.00	106.40±12.70
$\alpha$	100±0	131.30±13.70*	106.30±10.60
$\beta$	100±0	120.60±6.40**	99.13±8.20

与刺激前比较,\*表示  $P<0.05$ ,\*\*表示  $P<0.01$

表3的数据显示,在前额叶皮层,刺激中各时间段的ECoG的平均幅值与刺激前相比都有显著性差异;在顶叶皮层,相对于超声刺激前,刺激中各时间段及刺激后各时间段的平均幅值均无显著性差异( $P>0.05$ );在枕叶皮层,刺激前与刺激中3~4 min( $P=0.0255$ )、4~5 min( $P=0.0388$ )及15~20 min( $P=0.0114$ )的平均幅值都有显著性差异,与刺激中其他时间段及刺激后各时间段的平均幅值无显著性差异。

为了了解超声刺激引起枕叶皮层 ECoG 部分时间段平均幅值显著性增加的原因,对刺激前、刺激中及刺激后不同时间段的 ECoG 各频段的平均幅值做了进一步的分析,见表4。表4的数据显示,与刺激前相比, $\delta$ 频段在刺激中3~4、4~5及10~20 min的平均幅值有了增强,且具有显著性差异( $P<0.05$ ),这与总 ECoG 的平均幅值的变化趋势基本一致(ECoG 与  $\delta$  频段增量在110%左右,其他频段在115%左右)。而  $\theta$ 、 $\alpha$  及  $\beta$  频段的平均幅值的变化趋势基本一致,即在超声刺激开始0~5与10~20 min内,3个频段的平均幅值与刺激前相比都具有显著性差异( $P<0.05$ )。

2.4 各皮层 ECoG 的相关性分析

为了从多个方面揭示超声刺激引起的刺激效应范围,对前额叶、顶叶及枕叶皮层的 ECoG 进行相关性分析,得到皮层间的互相关系数。研究发现:前额叶、顶叶皮层间 ECoG 的相关系数值为0.45~0.65,前额叶、枕叶皮层间 ECoG 的相关系数值为0.25~0.35,顶叶、枕叶皮层间 ECoG 的相关系数值为0.25~0.40,且超声刺激对皮层间的互相关系数无显著性差异( $P>0.05$ )。对前额叶、顶叶及枕叶皮层的 ECoG 各频段进行相关性分析,如图4所示。结果表明,无论是

表3 超声刺激前与刺激中各时间段内 ECoG 的平均幅值(%, n=9)  
Tab.3 Mean amplitude of ECoG before and during ultrasound stimulation (%, n=9)

刺激时间	前额叶皮层	顶叶皮层	枕叶皮层
刺激中 0~1 min	128.50±9.94*	111.10±14.01	104.60±3.80
刺激中 1~2 min	121.50±7.17**	111.40±10.90	110.20±5.29
刺激中 2~3 min	118.90±7.13*	112.80±12.20	104.00±3.56
刺激中 3~4 min	125.50±8.70*	113.20±10.35	107.60±3.07*
刺激中 4~5 min	119.90±8.50*	118.70±16.37	109.70±4.31*
刺激中 5~10 min	111.90±5.52*	105.70±4.99	118.20±11.38
刺激中 10~15 min	120.70±6.86**	114.90±13.02	110.30±4.94
刺激中 15~20 min	122.60±6.06**	111.30±9.62	110.20±3.58*

与刺激前比较, \*表示  $P<0.05$ , \*\*表示  $P<0.01$

表4 枕叶皮层超声刺激前与刺激中各时间段内 ECoG 的平均幅值(%, n=9)  
Tab.4 Mean amplitude of ECoG of the occipital cortex before and during ultrasound stimulation (%, n=9)

刺激时间	ECoG	$\delta$	$\theta$	$\alpha$	$\beta$
刺激中 0~1 min	104.60±3.80	105.20±4.54	110.90±5.15*	112.80±5.60*	112.80±5.60*
刺激中 1~2 min	110.20±5.29	110.40±4.95	115.70±6.46*	115.60±6.63*	116.00±6.22
刺激中 2~3 min	104.00±3.56	103.60±4.38	107.30±5.69	108.30±6.07	107.90±5.87
刺激中 3~4 min	107.60±3.07*	109.40±3.46*	112.00±3.93	111.90±4.24**	112.10±3.93*
刺激中 4~5 min	109.70±4.31*	112.40±4.98	116.80±5.42**	116.50±5.73**	116.30±5.25*
刺激中 5~10 min	118.20±11.38	119.30±11.34	121.80±12.05	122.20±12.83	121.90±12.56
刺激中 10~15 min	110.30±4.94	112.30±3.91**	115.40±5.37*	115.20±5.72*	114.60±5.52*
刺激中 15~20 min	110.20±3.58*	112.50±4.12**	115.90±5.63*	115.60±5.78*	115.00±5.55*

与刺激前比较, \*表示  $P<0.05$ , \*\*表示  $P<0.01$

刺激前、刺激中还是刺激后,前额叶、顶叶皮层间 ECoG 的  $\delta$  频段的互相关系数值要高于其他频段,且这两皮层间 4 个频段的互相关性都为实相关;而在前额叶、枕叶皮层间 ECoG 的  $\delta$  频段的互相关系数要高于其他频段,但除了  $\delta$  频段间的相关程度是微相关,前额叶与枕叶皮层间其他 3 个频段都无相关性,该实验结果与表 4 呈现的实验结果一致。

### 3 讨论

超声神经调控是一种非侵入型刺激脑神经的技术,具有特定调控被刺激部位的功能。如将超声脉冲施加到大鼠的整个运动皮层  $I_{\text{SATA}}=4.69\sim9.38\text{ mW/cm}^2$ ,其中  $I_{\text{SATA}}$  为空间平均脉冲平均声强 (Spatial-Average Temporal-Average Intensity),观察到大鼠的四肢及胡须有明显的收缩运动,利用声准直器将超声刺激作用在大鼠运动皮层的特定脑区 ( $I_{\text{SATA}}=28.73\sim57.47\text{ mW/cm}^2$ ),可观察到与特定脑区相对应的肌肉群的收缩运动,其结果表明

经颅超声刺激可以针对性地刺激大鼠的特定脑区并促进神经电位的产生<sup>[17]</sup>。王勇<sup>[13]</sup>将超声刺激经颅施加到大鼠的运动功能区 ( $I_{\text{SPPA}}=5.9\text{ W/cm}^2$ ),其中  $I_{\text{SPPA}}$  为空间峰值脉冲平均声强 (Spatial-Peak Pulse-Average Intensity),观察到大鼠的后腿下肢的肌电信号有显著性变化,而将相同的超声波施加到其他皮层,大鼠后腿下肢的肌电信号无显著性差异。本研究中将超声刺激施加到大鼠前额叶皮层结果表明,前额叶皮层 ECoG 的平均幅值及 PSD 有了增长。这些研究结果均说明超声刺激可改变刺激部位的电生理特性,可能的调控机制为:超声刺激诱发细胞膜的机械变形或激活细胞膜内特定的机械敏感离子通道的活性,改变跨膜电流的大小,产生动作电位,从而激活神经元活性。

超声刺激除了有直接神经调控作用之外,可能存在间接的神经调控效应。如 Sato 等<sup>[18]</sup>研究表明,超声波应用于视觉皮层,在较低的超声强度下 ( $I_{\text{SPTA}}=0.11\sim1.30\text{ W/cm}^2$ ),其中  $I_{\text{SPTA}}$  为空间峰值时间平

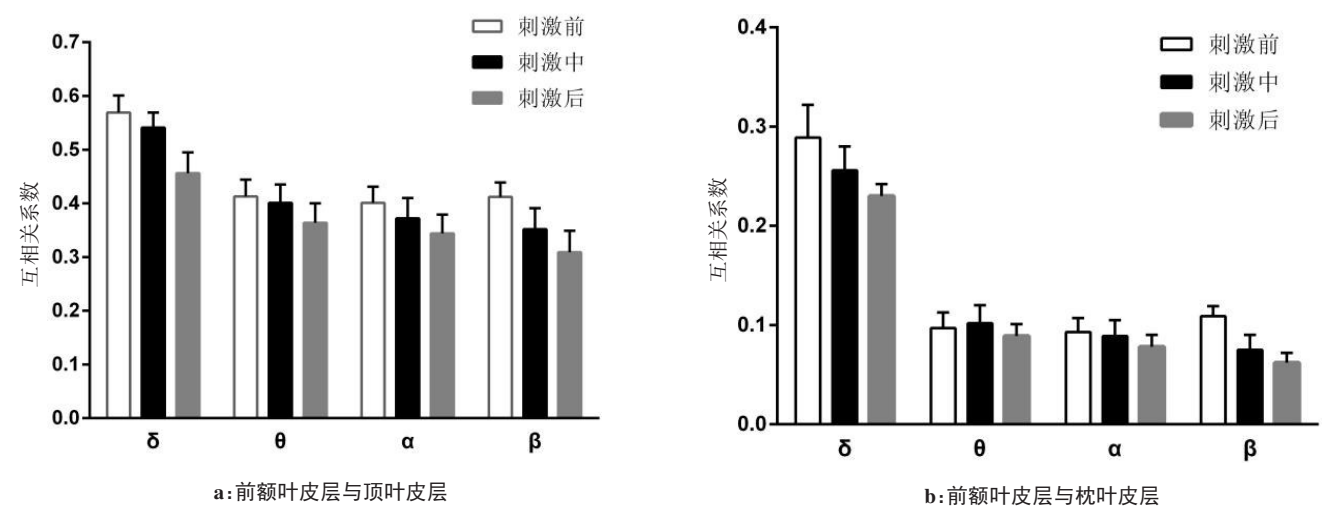


图4 前额叶与顶叶皮层间以及前额叶与枕叶皮层间 ECoG 各频段间的互相关系数

Fig.4 Interrelationship values of ECoG in each frequency band between prefrontal cortex and parietal cortex and between prefrontal and occipital cortex

与刺激前比较,\*表示  $P<0.05$ ,\*\*表示  $P<0.01$

均声强 (Spatial-Peak Temporal-Average Intensity), 只有听觉皮质显示出兴奋反应; 在较高的超声强度下 ( $I_{\text{SPTA}}=4.2 \text{ W/cm}^2$ ), 听觉皮质显示兴奋性信号, 视觉皮质在超声脉冲波施加 400 ms 后被激活, 即超声刺激激活视觉皮质外, 还导致听觉皮质通路的激发。本研究中得到类似的实验结果, 超声脉冲刺激作用前额叶皮层, 除了在前额叶皮层引起神经调控效应, 也造成枕叶皮层电信号的改变。我们的实验结果也进一步表明, 超声刺激引起了枕叶皮层的部分时间段 ECoG 平均幅值的增长, 且对  $\delta$ 、 $\theta$ 、 $\alpha$ 、 $\beta$  这 4 个频段的平均幅值都有不同程度的影响。这些研究结果均表明超声刺激可以引起刺激局部的神经调控效应, 也引起了远离刺激局部的神经反应。

在本次实验中, 超声刺激引起枕叶皮层 ECoG 的显著性变化, 而对顶叶皮层无显著性影响。针对这一效应提出两种可能假设: (1) 超声刺激参数在超声神经调控中起着十分重要的作用, 在该组刺激参数下 ( $I=5.915 \text{ W/cm}^2$ ,  $F=500 \text{ kHz}$ ,  $\text{PRF}=1 \text{ 000 Hz}$ ,  $\text{PD}=0.4 \text{ ms}$ ,  $\text{SD}=800 \text{ ms}$ ,  $\text{SI}=10 \text{ s}$ ,  $T=20 \text{ min}$ ), 相对于顶叶皮层, 枕叶皮层对超声脉冲波的机械效应更加敏感, 当超声刺激前额叶改变了脑组织的电生特征, 枕叶皮层能比较快速做出响应; (2) 大脑是一个网络结构, 在超声刺激引起前额叶神经信息的变化, 通过前额叶皮层与枕叶皮层间某种直接或间接的神经通路, 将刺激信息扩散到枕叶皮层并引起该皮层脑电活动的变化。因而在后续的实验设计中, 可通过设置多组刺激参数组合来研究超声刺激激活顶叶 (或其他皮层) 的刺激参数阈值。

综上所述, 超声刺激对大鼠前额叶皮层的 ECoG 具有调控作用, 这种调控具有及时性及快速恢复的

特点。在超声刺激参数一定的情况下, 超声刺激引起的刺激效应范围是局限的, 且超声刺激对远离刺激皮层的其他皮层的调控效应具有不确定性。

【参考文献】

[1] 黎国锋, 邱维宝. 超声神经调控技术与科学仪器[J]. 生命科学仪器, 2017, 1(15): 3-8.

LI G F, QIU W B. Ultrasound neuromodulation technology and scientific equipment[J]. Life Science Instruments, 2017, 1(15): 3-8.

[2] 王君, 随力, 蔡爱楠, 等. 超声刺激参数在超声神经调控中的作用[J]. 中国医学物理学杂志, 2018, 35(2): 237-242.

WANG J, SUI L, CAI A N, et al. Effects of ultrasound stimulation parameters on neuromodulation[J]. Chinese Journal of Medical Physics, 2018, 35(2): 237-242.

[3] NAOR O, KRUPA S, SHOHAM S. Ultrasonic neuromodulation[J]. J Neural Eng, 2016, 13(3): 031003.

[4] YUAN Y, YAN J Q, MA Z T, et al. Noninvasive focused ultrasound stimulation can modulate phase-amplitude coupling between neuronal oscillations in the rat hippocampus[J]. Front Neurosci, 2016, 10(191): 348-354.

[5] 茅正梅, 李葆明.  $\alpha_2$  肾上腺素受体与前额叶皮层认知功能[J]. 生理科学进展, 1999, 30(1): 17-22.

MAO Z M, LI B M.  $\alpha_2$  adrenergic receptor and prefrontal cortex cognitive function[J]. Advances in Physiological Sciences, 1999, 30(1): 17-22.

[6] 刘兆瑞, 张雪寒. 用光遗传方法激活前额叶皮层对脑区 c-Fos 表达的影响[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2017(3): 11-16.

LIU Z R, ZHANG X H. Effects of optogenetics stimulation of prefrontal neurons on c-Fos expression in prefrontal-related regions[J]. Journal of Yangzhou University (Agriculture and Life Sciences), 2017(3): 11-16.

[7] CASTELLANOS F X, TANNOCK R. Neuroscience of attention-deficit/ hyperactivity disorder: the search for endophenotypes[J]. Nat Rev Neurosci, 2002, 3(8): 617-628.

[8] 陈帅禹, 庄乾, JACKSON T, 等. 前额叶的无创神经干预对饮食控制的影响: 基于 rTMS 和 tDCS 研究的综述[J]. 心理科学, 2017, 40(6): 1511-1517.

- CHEN S Y, ZHANG Q, JACKSON T, et al. Effect of non-invasive neural intervention of prefrontal lobe on diet control: a review based on rTMS and tDCS studies[J]. Journal of Psychological Science, 2017, 40(6): 1511-1517.
- [9] KING R L, BROWN J R, NEWSOME W T, et al. Effective parameters for ultrasound-induced *in vivo* neurostimulation[J]. Ultrasound Med Biol, 2013, 39(9): 312-331.
- [10] 黄思佳, 随力, 任杰, 等. 恐惧记忆的形成对大鼠内侧额叶皮层 ECoG 的影响[J]. 生物医学工程进展, 2015, 36(2): 86-90.
- HUANG S J, SUI L, REN J, et al. Effects of fear memory formation on ECoG in rat prefrontal cortex [J]. Progress of Biomedical Engineering, 2015, 36(2): 86-90.
- [11] PAXINOS G, WASTON C. The rat brain in stereotaxic coordinates [M]. 4th ed. Manhattan: Academic Press, 1998: 6-54.
- [12] 胡胜男, 吴永亮, 张荣娟, 等. 一种用于脑神经刺激的程控超声发生器[J]. 中国生物医学工程学报, 2017, 36(5): 589-595.
- HU S N, WU Y L, ZHANG Y J, et al. A programmable ultrasound generator for brain stimulation[J]. Chinese Journal of Biomedical Engineering, 2017, 36(5): 589-595.
- [13] 王勇. 基于经颅超声刺激的脑调控系统设计及实验研究[D]. 秦皇岛: 燕山大学, 2014.
- WANG Y. Design and experimental study of brain regulation system based on transcranial ultrasound stimulation [D]. Qinhuangdao: Yanshan University, 2014.
- [14] 肖倩, 王建辉, 方晓柯, 等. 一种基于互相关函数的小波系数相关阈值去噪方法[J]. 东北大学学报(自然科学版), 2011, 32(3): 318-321.
- XIAO Q, WANG J H, FANG X K, et al. A wavelet coefficient correlation threshold denoising method based on cross correlation function[J]. Journal of Northeastern University (Natural Science), 2011, 32(3): 318-321.
- [15] 陈琳, 潘海鸿, 黄江. 基于互相关函数的培养神经网络动态特征分析[J]. 生物医学工程研究, 2008, 27(3): 150-153.
- CHEN L, PAN H H, HUANG J. Dynamic characteristics analysis of cultured neuron network based on cross correlation function [J]. Biomedical Engineering Research, 2008, 27(3): 150-153.
- [16] 周金治, 唐肖芳. 基于相关系数分析的脑电信号特征选择[J]. 生物医学工程学杂志, 2015, 32(4): 735-739.
- ZHOU J Z, TANG X F. Feature selection of EEG signals based on correlation coefficient analysis[J]. Journal of Biomedical Engineering, 2015, 32(4): 735-739.
- [17] 郭腾飞. 经颅超声刺激在缺血性脑损伤中的保护研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2014.
- GUO T F. Pulsed transcranial ultrasound stimulation neuroprotective [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2014.
- [18] SATO T, SHAPIRO M G, TSOA D Y. Ultrasonic neuromodulation causes widespread cortical activation *via* an indirect auditory mechanism[J]. Neuron, 2018: S089662731830387.

(编辑:陈丽霞)