

功能超声成像技术的研究进展

贺鑫媛¹, 赵学波²

¹青海省人民医院超声科, 青海 西宁

²达州市中心医院超声科, 四川 达州

收稿日期: 2024年11月12日; 录用日期: 2024年12月6日; 发布日期: 2024年12月13日

摘要

由于超快超声成像技术的出现, 极大地提高了超声对低速、微血流检测的灵敏度, 进而衍生出基于超声的脑功能成像技术, 即功能超声成像(fUSI)。fUSI是一种新兴的高时空分辨率的移动神经成像工具, 可观察到血流动力学的微小变化, 这些变化反映通过神经血管耦合激活的神经元代谢活动的变化。本文就fUSI在神经成像领域的应用研究方面进行介绍。

关键词

功能超声成像, 超快超声成像, 神经血管耦合, 功能连接

Research Progress of Functional Ultrasound Imaging Technology

Xinyuan He¹, Xuebo Zhao²

¹Department of Ultrasound, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining Qinghai

²Department of Ultrasound, Dazhou Central Hospital, Dazhou Sichuan

Received: Nov. 12th, 2024; accepted: Dec. 6th, 2024; published: Dec. 13th, 2024

Abstract

The advent of ultrafast ultrasound imaging technology has greatly improved the sensitivity of ultrasound for low-velocity, micro-flow detection, which in turn has led to the derivation of an ultrasound-based functional brain imaging technique, namely functional ultrasound imaging (fUSI). fUSI is an emerging mobile neuroimaging tool with high spatial and temporal resolution that can observe small changes in hemodynamics that reflect activation through neurovascular coupling of neuronal metabolic activity. In this paper, we present the research aspects of fUSI in the field of neuroimaging applications.

文章引用: 贺鑫媛, 赵学波. 功能超声成像技术的研究进展[J]. 临床个性化医学, 2024, 3(4): 1597-1604.

DOI: 10.12677/jcpm.2024.34229

Keywords

Functional Ultrasound Imaging, Ultrafast Ultrasound Imaging, Neurovascular Coupling, Functional Connectivity

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

在过去几十年里,神经科学家们一直致力于大脑的复杂组织和相互联系的可视化探索。对大脑的可视化包含了结构和功能成像两类,结构成像包括了常规的计算机断层扫描成像(computed tomography, CT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)和传统的 B 超成像等技术。而功能成像是大脑的神经活动、代谢情况等可视化探索,这些情况是通过解剖结构无法获取的。功能成像能够在响应某种刺激或功能时,提供大脑如何被激活及被激活区域等信息,因此在神经科学研究领域具有重要意义[1]。而我们重点在于探讨脑功能成像技术。

常见脑功能成像技术包括功能磁共振成像(functional MRI, fMRI)、正电子发射断层扫描(position emission tomography, PET)和功能超声成像等技术。fMRI 可以在高场磁共振扫描仪上测量顺磁性的脱氧血红蛋白和抗磁性的氧合血红蛋白,血液脱氧会引起磁信号变化,即血氧水平依赖性(blood oxygen level dependent, BOLD)信号[2]。BOLD 信号是通过神经血管耦合与神经元激活间接相关[2]。fMRI 虽然有非侵入性和非电离性等优点,但可移动性差、成本高、普及率低和有限的灵敏度及空间和时间分辨率差进而限制了其发展。PET 的原理是注射放射性和生物活性示踪剂(如氟脱氧葡萄糖),以葡萄糖的消耗与脑代谢的可视化相联系,进而反映脑功能变化相关的大脑局部代谢情况[3]。PET 同样是一种功能强大、敏感性高的核成像,且所使用的示踪剂具有放射性,因此需要专用安全设备。由于 PET 的空间分辨率较差,必须与 MRI 或 CT 等解剖成像相结合。因此同样限制了其临床应用。

2011 年,开发了一种用于对大脑活动进行成像的新方法,称为功能超声成像(functional ultrasound imaging, fUSI) [4]。fUSI 通过检测流动血液的超声回声来测量脑微血管系统中的脑血容量(cerebral blood volume, CBV)变化,血液回声可以从其他脑组织中分离出来,获得视场中每个体素内血流量的时间快照,创建出微米级和毫秒级分辨率的全脑神经活动图。超快超声成像[5]的出现极大地提高了血流敏感性,并最终导致了基于超声的脑功能成像,使用小血容量变化的检测作为大脑活动的替代物。它将超声运用到神经成像中,研究人员指出,超声可能成为神经领域的主要参与者。fUSI 得益于全超声成像的已知优势,它是一种安全,快速且便携式的方法,可以深入组织内成像。本文主要对 fUSI 的应用研究进展展开综述。

2. 基于超声的功能成像技术

2.1. 神经血管偶联

认知范式会引起与代谢需求增加相关的脑血流(cerebral blood flow, CBF)变化,即神经血管偶联(neurovascular coupling, NVC)。在大脑中,神经元活动的增加触发血管舒张,随之是血流量和血容量的局部增加,以满足激活区域对 O_2 和 $C_6H_{12}O_6$ 的额外需求。在大脑中的血液从动脉流向较小的小动脉,为毛细血管网提供营养,血液和神经元之间的 O_2 、 $C_6H_{12}O_6$ 和代谢产物进行物质交换,然后,毛细血管内的血液随静脉排出大脑。要紧的是,深部小动脉和毛细血管处于神经血管耦合效应的中心,因为它占脑血容量的

80%以上[6], 并且是神经元激活后第一个扩张的血管[7]。扩张诱导这些血管中血流速度和血容量的增加, 起效时间约为 200 ms, 在神经元激活后的峰值时间约为 1 s [8]。神经血管耦合通常以线性模型为特征, 称为血流动力学响应函数, 该模型已在功能磁共振成像(fMRI)的背景下进行了广泛研究[9]。基于这些知识, fUSI 通过使用超声波以 1 Hz 帧率的成像小动脉和毛细血管内的血容量来推断活动。

2.2. 功能性经颅多普勒

超声多普勒成像长期以来一直被用于通过血流获得大脑活动的基本功能测量。功能性经颅多普勒超声(functional transcranial Doppler ultrasound, fTCD)是使用经颅多普勒超声(transcranial Doppler ultrasound, TCD)研究刺激过程中发生的神经激活, 例如物理运动, 皮肤中触觉传感器的激活以及查看图像。神经激活是从提供参与处理感觉输入的大脑区域的脑血流速度(cerebral blood flow velocity, CBFV)的增加中推断出的。例如, 观看明亮的光线会导致大脑皮层枕叶的神经活动增加, 从而导致供应枕叶的大脑后动脉的血流量增加。在 fTCD 中, CBFV 的变化用于估计 CBF 的变化。fTCD 凭借其对于主要脑动脉血流速度的高时间分辨率、低成本和便携性, 比 fMRI 和其他神经成像方式更具有优势[10]。

2.3. 功率多普勒和超声造影成像

功率多普勒是一种多普勒序列, 用于测量图像每个像素中从红细胞反向散射的超声能量。功率多普勒(PD)信号与脑血容量(CBV)成正比, 并且与噪声相对稳定, 使其成为 fUS 成像中使用的主要信号。然而, 传统的功率多普勒成像缺乏检测小动脉/小静脉的敏感性, 因此无法通过神经血管耦合提供局部神经功能信息[11]。在血流中添加超声造影剂可提高常规功率多普勒成像的灵敏度[12][13]。事实上, 超声造影剂(通常是注射到血液中的微气泡)会产生很强的回声; 即使是单个气泡也很容易被检测到, 因此能够粗略检测大脑各个区域的脑激活[14]。另外, 声学造影剂不会被人体细胞吸收[15]。考虑到气体的高百分比, 超声造影剂主要通过肺部消除, 其余少量泡壳被肝胆系统消除。因此, 不良反应事件的发生率非常低。

2.4. 超快超声成像

由于超快超声成像技术的出现, 在过去十年中, 超声波对低速血流的灵敏度有了很大程度上的提高[16]。超快超声成像已经成为神经科学的一种无价的工具, 特别是在可视化功能性血管结构和实时导航大脑方面[17]。超声成像已经经历了范式的转变与超快超声使用非聚焦波的出现。除了增加了 100 倍帧率(高达 10,000 Hz), 这种新技术还打破了传统的定量/定位平衡, 提供了完整的视野血流图, 并同时获得了单像素水平(至 50 μm)的精细速度测量。空间和时间维度上的数据连续性极大地改善了组织/血液过滤过程, 从而提高了对小血流速度(降至 1 毫米/秒)的敏感性[18]。在神经科学中, 这种对大脑小血管流的访问导致了超声波作为一种新的和成熟的神经成像方式的引入。与 fMRI 技术一样, fUSI 得益于神经血管耦合机制, 从而获取了局部神经功能信息。

2.5. 功能超声成像

fUSI 通过绘制血流局部变化来可视化神经活动。超声波量化该流量的能力通常基于多普勒效应-由于发射器(在这种情况下, 红细胞散射)相对于检测器的运动而引起的发射波的频率偏移。多普勒超声常用于心脏病学, 经颅骨应用经颅多普勒可检测基底脑内动脉的血流。然而, 常规多普勒超声的速度和信噪比(SNR)不足以检测由神经血管耦合引起的细微血流变化, 直到微视血流超声成像的发展[5]。与常规超声扫描仪的典型每秒 50 帧相比, 超快超声成像每秒可以产生数千幅图像。超快超声成像的关键是使用平面波(即没有焦点)传输而不是顺序聚焦光束, 平面波返回从红细胞散射的回波, 红细胞在每个体素内的运动改变了体素在连续帧之间产生的回波的复振幅。目前, 常见的 fUSI 实现使用 5 千赫兹的脉冲重复频率, 10

个角度和 200 个复合帧(每帧以 500 赫兹采集)在 400 ms 内产生一个 PD 图像。在这些参数下, fUSI 对来自大脑血管的 CBV 变化敏感, 实现对脑功能的多模态评估[19]。

3. 功能超声成像的应用

3.1. 术中成像

肿瘤神经外科在很大程度上依赖于肿瘤与脑组织之间进行连续的术中成像。fUSI 是一种新兴的高时空分辨率的移动神经成像工具, 可观察到血流动力学的微小变化, 这些变化反映了通过神经血管耦合激活的神经元代谢活动的变化。在临床肿瘤学中, 普遍接受的是, 肿瘤血管生成以及作为这样的肿瘤脉管系统, 与正常新生血管的生长方式不同[20]。fUSI 的使用, 使我们能够在低级和高级肿瘤中识别出高达 300 μm 分辨率的肿瘤特异性脉管系统。当前, fUSI 的敏感性提高了临床医生访问微血管血液以及布局神经元活动读数的机会。在神经外科手术背景下, fUSI 提供了一种激活重要的脑功能区域的方法, 例如, 在切除肿瘤过程中改善了切除边缘[21]。此技术能够实现在肿瘤切除期间对皮质功能实时检测[22], 从而能够对认知区域并避免去除功能上的必需结构进行深入描绘, 使得该技术在推进最大安全肿瘤边界的切除很有价值。研究表明[21], 基于 fUSI 捕获任务诱发的功能性皮质反应以及肿瘤与健康组织之间血管特征差异的能力, 表明了 fUSI 与清醒脑部手术的相关性; 由于当前神经外科仍依靠固有的有限的术前成像技术对肿瘤切除进行指导, 因此, fUSI 有成为一种高度灵活的技术潜力, 可在具有高时空分辨率的术中环境提供功能解剖和功能信息。

3.2. 卒中成像

fUSI 作为一种血流成像技术, 在缺血性中风或闭塞后的脑灌注与血流调节也有一定研究。2018 年, Brunner 等人[23]在动物模型中绘制了再灌注图, 并研究了体感和运动结构中闭塞侧和非闭塞侧的 fUSI 信号时间过程的斜率。2020 年, Hingot 等人[24]最近在完整颅骨的血栓性中风的小鼠模型中发现, fUSI 能够检测在中风发作后的最初 2 小时内溶栓后的再灌注。获得数据与使用 MRI 后 24 小时测得的缺血性病变匹配。这样, fUSI 可以在中风的程度和药物治疗中风的效果方面进行实时检测如重组组织纤溶酶激活剂(rtPA)在不同时间点。因此, fUSI 能够在卒中发作早期时间范围内诊断缺血性损伤, 预测预后和对治疗的反应[24]。

3.3. 早产儿/新生儿的应用

fUSI 是诊断和一系列监测早产儿脑损伤的重要工具。早产儿发生缺氧性损伤、脑室内出血、脑室周围白质软化和出血性脑积水的风险明显较高, 新生儿科医生越来越依赖 fUSI 来启动医疗和外科干预, 因为它能够在床边使用[25]。虽然 MRI 被认为是检测早产儿脑损伤的金标准, 但 fUSI 检查提供了独特的优势, 如成本效益、诊断实用性和便携性, 且在早产儿或新生儿的影像学检查中, fUSI 完全是无创的, 因为囟门窗是透明的。2017 年, Demene 等人[26]发现 fUSI 能够区分睡眠阶段(使用 EEG 测量作对照)并定位癫痫新生儿癫痫发作期间的发作性脑活动, 且证实了癫痫发作后电活动期间皮层中未曾描述过的慢速活动波。2021 年, Baranger 等人[27]在早产儿中首次评估人类 fUSI 静息状态大脑连接性发现了早产儿、新生儿和足月儿的大脑状态明显不同, 尤其是在足月儿的丘脑皮质连接增加。此方法可能成为床旁评估大脑网络成熟的有力工具, 且有可能成为神经发育障碍和自闭症谱系障碍的生物标志。

3.4. 功能连接学

所谓“功能连接学”, 我们指的是旨在扩展我们对全脑水平上各种大脑功能的网络和路径知识的实

验。在这种背景下, fUSI 是一种相对年轻的技术。成像内在的大脑连接可以是一种强大的非侵入性方法, 用于绘制大脑中的动态网络。fUSI 已应用于许多配置中的大脑连接改变的研究, 比如, 大鼠幼崽中显示, 与对照组相比, 胎儿生长限制模型显示出普遍联通性降低, 且早期注射催产素可减低这种影响[28]; 最近, fUSI 首次提供了在清醒小鼠中任务诱导的失活和默认模式网络(default mode network, DMN)断开的证据[29]。另外, 在关节炎大鼠模型中, 与对照组相比, 在 fUSI 中能够识别大脑网络来识别慢性疼痛的存在[30]。Rabut 等人[31]使用 fUSI 的功能应用在药理学研究和药物发现的读数中也是合适的, 包括没有麻醉偏倚的清醒小鼠。同时, 人类新生儿床旁 fUSI 的无创图像功能连接模式的可能性为 fUSI 丰富我们对人类大规模网络正常和异常发展的理解提供了一个有前景的途径[27]。

3.5. 药理学功能超声

药物干扰是一种通过选择性抑制或激动特定的神经受体来调节神经活动的方法。血脑屏障(BBB)的 fUSI 开孔是一种成熟的技术, 它依赖于循环微气泡的稳定空化(膨胀和收缩), 机械地打开形成血脑屏障的紧密连接。在当前的研究中[32], 使用药理学功能超声(pharmacofus)在麻醉大鼠中评估了阿托莫西汀(atomoxetine, ATX) (治疗注意力缺陷和多动障碍的药物), 证明了 ATX 在视觉皮层、齿状回和丘脑始终表现出血流动力学效应, 尤其在视觉区域, 且 ATX 效应的时间分布具有剂量依赖性。2020 年, Vidal 等人[33]使用 fUSI 监测甲氟喹和多奈哌齐在麻醉的阿尔兹海默症小鼠模型中海马体的血流动力学效应, 发现两种药物联合使用时海马体的血流动力学效应变化明显, 但单独低剂量使用时信号非常有限, 证明两种药物具有协同作用。2022 年, Vidal 等人[34]又强调了多奈哌齐抵消了东莨菪碱对功能连接变化的影响, 并证实了使用药物-fUSI 对认知障碍(包括常见和罕见的神经障碍)的兴趣。因此, fUSI 毫无疑问为药物的血流动力学特征提供了新的契机, 构建了一种创新的可推动新药开发的非侵入性技术。

3.6. 脑 - 机接口

脑 - 机接口(BCI)技术是理解神经回路和系统的动态活动以及诊断和治疗神经系统疾病的关键。一个主要的动机是开发微创临床脑 - 机接口的可能性, 其中植入超声换能器代替头骨的切片, 通过完整的保护硬脑膜进行成像, 从而绕过了硬脑膜手术的潜在并发症。2021 年, Norman 等人[35]记录了猕猴在运动计划期间的后顶叶皮层的 fUSI, 随之使用运动前延迟期的 fUSI 信号来预测运动时间、方向和效应器(眼睛或手)。研究结果, 证明了在执行运动意图之前以超过 85% 的准确率解码运动意图。这些发现的转化为人类神经影像学和 BCI 在未来研究具有重要意义。此进步在于开发侵入性较小、高分辨率和可扩展的神经记录和大脑接口的工具。随着 fUSI 硬件和软件的发展能够实现实时成像和处理, fUSI 可能会成为未来 BCI 的宝贵工具。

3.7. 其他应用

fUSI 可以成像小鼠大脑中的特定桶[36]、灵长类动物的眼优势柱[37]以及小鼠大脑中更高视觉区域[2]。另外, fUSI 还揭示了深层区域的功能信号, 如杏仁核[2]或丘脑小核[38], 这两种情况都得到了电生理学证实。2021 年, Nayak 等人[39]探索了在啮齿动物中使用 fUSI 来可视化与丘脑深部刺激相关的大脑激活的可行性, 展示了 fUSI 成像作为一种研究工具的功能和可行性, 以识别与深部脑刺激相关的大脑区域。2022 年, Reaux-le-goazigo 等人[40]结合 fUSI 和超声定位显微镜(ultrasound localization microscopy, ULM)显示大鼠三叉神经节血管系统的不典型特征, 这种创新的成像方法为未来研究三叉神经局部血流和诱发的血流动力学反应的机制开辟了道路, 这很有可能成为理解和治疗衰弱性三叉神经疼痛的关键机制。2023 年, Hu 等人[41]使用 fUSI 来解析麻醉的雌性雪貂 V1 整个方向域的 3D 结构, 发现它们的宽度和区

域内的距离在 V1 的背侧和腹侧区域可能不同, 这些发现证明了 fUSI 在揭示传统表面成像方法无法达到的皮质区域的 3D 功能结构方面的能力。

4. 总结与展望

我们对大脑复杂组织和相互作用的理解已经被神经成像技术的进步所推动。在过去的几十年里, 超声的出现使得超声成像在灵敏度和时空分辨率方面突破了关键的障碍, 这一突破使超声成像成为功能和血管信息的全面神经成像模式。fUSI 是一种与 fMRI 类似的超声成像技术, 能够以高时空分辨率和高灵敏度对全脑的活动进行成像。fUSI 成功地与密集多级阵列[38] [42]和光遗传学[43]甚至 PET 扫描兼容, 这也使得它更具有实用性。虽然 fUSI 技术仍处于起步阶段, 但在提供活体大脑的结构和功能的成像信息, 准确诊断和治疗大脑疾病显示出了巨大潜力[44]。在成人脑肿瘤手术中用于皮层测绘, 在新生儿中, 通过凶门窗对癫痫监测或脑功能连接床旁评估。在卒中发作早期时间范围内诊断缺血性损伤, 预测预后和对治疗的反应。药理学家们使用功能连接作为读数器进行药理学研究。尽管颅骨屏障对大型动物的超声成像并不透明, 但 fUSI 已被应用于特定的临床环境中。在技术方面, fUSI 在过去几年中在成熟度和适用性方面都有所提高, 但仍存在一些局限性, 如容积成像和经颅成像。最近, 新技术的发展首次证明了 4D 功能超声成像的概念, 可以在全脑尺度上映射大脑活动和功能连接, 尽管这种方法的灵敏度仍然没有二维成像高。由于成人颅骨密度较高, 很少在成人身上进行测试或应用[45]。造影剂的使用也可能有助于颅骨成像, 这将应用于成人成为可能。在应用方面, fUSI 已经成为一种有趣的工具, 适用于范围包括视觉、疼痛、决策、意志、社会互动、睡眠和药理, 如癫痫、中风、阿尔茨海默病、多发性硬化症、自闭症、神经发育疾病, 这个应用范围将持续快速增长[16]。最近超声神经技术的商业化将使该技术在临床应用中变得更加容易, 而神经科学家和超声工程师及超声医生之间正在进行的合作将推动超声波在生物领域的发展[13]。

总之, 作为一种新的神经成像方式, fUSI 是一种可移动、低成本、无创的、具有高穿透深度和时空分辨率的理想成像技术。希望 fUSI 在未来临床神经学研究中进一步发挥重要作用。

基金项目

青海省“昆仑英才·高原名医”计划(青人才字[2023]5 号)。

参考文献

- [1] Huang, L., He, Q., Wang, R., Wei, X., Xie, G. and Luo, J. (2022) The Developments and Applications of Functional Ultrasound Imaging. *Journal of Biomedical Engineering*, **39**, 1015-1021.
- [2] Macé, É., Montaldo, G., Trenholm, S., Cowan, C., Brignall, A., Urban, A., *et al.* (2018) Whole-Brain Functional Ultrasound Imaging Reveals Brain Modules for Visuomotor Integration. *Neuron*, **100**, 1241-1251.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.11.031>
- [3] Tournier, N., Comtat, C., Lebon, V. and Gennison, J. (2021) Challenges and Perspectives of the Hybridization of PET with Functional MRI or Ultrasound for Neuroimaging. *Neuroscience*, **474**, 80-93. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.10.015>
- [4] Macé, E., Montaldo, G., Cohen, I., Baulac, M., Fink, M. and Tanter, M. (2011) Functional Ultrasound Imaging of the Brain. *Nature Methods*, **8**, 662-664. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1641>
- [5] Tanter, M. and Fink, M. (2014) Ultrafast imaging in Biomedical Ultrasound. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, **61**, 102-119. <https://doi.org/10.1109/tuffc.2014.2882>
- [6] Ji, X., Ferreira, T., Friedman, B., Liu, R., Liechty, H., Bas, E., *et al.* (2021) Brain Microvasculature Has a Common Topology with Local Differences in Geometry That Match Metabolic Load. *Neuron*, **109**, 1168-1187.e13. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.02.006>
- [7] Rungta, R.L., Chaigneau, E., Osmanski, B. and Charpak, S. (2018) Vascular Compartmentalization of Functional Hyperemia from the Synapse to the Pia. *Neuron*, **99**, 362-375.e4. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.06.012>

- [8] Hirano, Y., Stefanovic, B. and Silva, A.C. (2011) Spatiotemporal Evolution of the Functional Magnetic Resonance Imaging Response to Ultrashort Stimuli. *The Journal of Neuroscience*, **31**, 1440-1447. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.3986-10.2011>
- [9] Hillman, E.M.C. (2014) Coupling Mechanism and Significance of the BOLD Signal: A Status Report. *Annual Review of Neuroscience*, **37**, 161-181. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-071013-014111>
- [10] Hage, B.D., Truemper, E.J. and Bashford, G.R. (2021) Functional Transcranial Doppler Ultrasound for Monitoring Cerebral Blood Flow. *Journal of Visualized Experiments*. <https://doi.org/10.3791/62048>
- [11] Mace, E., Montaldo, G., Osmanski, B., Cohen, I., Fink, M. and Tanter, M. (2013) Functional Ultrasound Imaging of the Brain: Theory and Basic Principles. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, **60**, 492-506. <https://doi.org/10.1109/tuffc.2013.2592>
- [12] Heiles, B., Terwiel, D. and Maresca, D. (2021) The Advent of Biomolecular Ultrasound Imaging. *Neuroscience*, **474**, 122-133. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2021.03.011>
- [13] Rabut, C., Yoo, S., Hurt, R.C., Jin, Z., Li, H., Guo, H., et al. (2020) Ultrasound Technologies for Imaging and Modulating Neural Activity. *Neuron*, **108**, 93-110. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.09.003>
- [14] van Raaij, M.E., Lindvere, L., Dorr, A., He, J., Sahota, B., Foster, F.S., et al. (2011) Functional Micro-Ultrasound Imaging of Rodent Cerebral Hemodynamics. *NeuroImage*, **58**, 100-108. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.05.088>
- [15] Ferraioli, G. and Meloni, M.F. (2018) Contrast-Enhanced Ultrasonography of the Liver Using Sonovue. *Ultrasonography*, **37**, 25-35. <https://doi.org/10.14366/usg.17037>
- [16] Deffieux, T., Dmené, C. and Tanter, M. (2021) Functional Ultrasound Imaging: A New Imaging Modality for Neuroscience. *Neuroscience*, **474**, 110-121. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2021.03.005>
- [17] Blons, M., Deffieux, T., Osmanski, B., Tanter, M. and Berthon, B. (2023) PerceptFlow: Real-Time Ultrafast Doppler Image Enhancement Using Deep Convolutional Neural Network and Perceptual Loss. *Ultrasound in Medicine & Biology*, **49**, 225-236. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2022.08.016>
- [18] Baranger, J., Mertens, L. and Villemain, O. (2020) Blood Flow Imaging with Ultrafast Doppler. *Journal of Visualized Experiments*. <https://doi.org/10.3791/61838-v>
- [19] Boido, D., Rungta, R.L., Osmanski, B., Roche, M., Tsurugizawa, T., Le Bihan, D., et al. (2019) Mesoscopic and Microscopic Imaging of Sensory Responses in the Same Animal. *Nature Communications*, **10**, Article No. 1110. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09082-4>
- [20] Forster, J., Harriss-Phillips, W., Douglass, M. and Bezak, E. (2017) A Review of the Development of Tumor Vasculature and Its Effects on the Tumor Microenvironment. *Hypoxia*, **5**, 21-32. <https://doi.org/10.2147/hp.s133231>
- [21] Soloukey, S., Vincent, A.J.P.E., Satoer, D.D., Mastik, F., Smits, M., Dirven, C.M.F., et al. (2020) Functional Ultrasound (fUS) during Awake Brain Surgery: The Clinical Potential of Intra-Operative Functional and Vascular Brain Mapping. *Frontiers in Neuroscience*, **13**, Article 1384. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01384>
- [22] Imbault, M., Chauvet, D., Gennisson, J., Capelle, L. and Tanter, M. (2017) Intraoperative Functional Ultrasound Imaging of Human Brain Activity. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 7304. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06474-8>
- [23] Brunner, C., Korostelev, M., Raja, S., Montaldo, G., Urban, A. and Baron, J. (2018) Evidence from Functional Ultrasound Imaging of Enhanced Contralesional Microvascular Response to Somatosensory Stimulation in Acute Middle Cerebral Artery Occlusion/Reperfusion in Rats: A Marker of Ultra-Early Network Reorganization? *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, **38**, 1690-1700. <https://doi.org/10.1177/0271678x18786359>
- [24] Hingot, V., Brodin, C., Lebrun, F., Heiles, B., Chagnot, A., Yetim, M., et al. (2020) Early Ultrafast Ultrasound Imaging of Cerebral Perfusion Correlates with Ischemic Stroke Outcomes and Responses to Treatment in Mice. *Theranostics*, **10**, 7480-7491. <https://doi.org/10.7150/thno.44233>
- [25] Hwang, M., Tierradentro-García, L.O., Hussaini, S.H., Cajigas-Loyola, S.C., Kaplan, S.L., Otero, H.J., et al. (2021) Ultrasound Imaging of Preterm Brain Injury: Fundamentals and Updates. *Pediatric Radiology*, **52**, 817-836. <https://doi.org/10.1007/s00247-021-05191-9>
- [26] Demene, C., Baranger, J., Bernal, M., Delanoë, C., Auvin, S., Biran, V., et al. (2017) Functional Ultrasound Imaging of Brain Activity in Human Newborns. *Science Translational Medicine*, **9**, eaah6756. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aah6756>
- [27] Baranger, J., Demene, C., Frerot, A., Faure, F., Delanoë, C., Serroune, H., et al. (2021) Bedside Functional Monitoring of the Dynamic Brain Connectivity in Human Neonates. *Nature Communications*, **12**, Article No. 1080. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21387-x>
- [28] Mairesse, J., Zinni, M., Pansiot, J., Hassan-Abdi, R., Demene, C., Colella, M., et al. (2018) Oxytocin Receptor Agonist Reduces Perinatal Brain Damage by Targeting Microglia. *Glia*, **67**, 345-359. <https://doi.org/10.1002/glia.23546>
- [29] Ferrier, J., Tiran, E., Deffieux, T., Tanter, M. and Lenkei, Z. (2020) Functional Imaging Evidence for Task-Induced

- Deactivation and Disconnection of a Major Default Mode Network Hub in the Mouse Brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **117**, 15270-15280. <https://doi.org/10.1073/pnas.1920475117>
- [30] Rahal, L., Thibaut, M., Rivals, I., Claron, J., Lenkei, Z., Sitt, J.D., *et al.* (2020) Ultrafast Ultrasound Imaging Pattern Analysis Reveals Distinctive Dynamic Brain States and Potent Sub-Network Alterations in Arthritic Animals. *Scientific Reports*, **10**, Article No. 10485. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66967-x>
- [31] Rabut, C., Ferrier, J., Bertolo, A., Osmanski, B., Mousset, X., Pezet, S., *et al.* (2020) PharmacofUS: Quantification of Pharmacologically-Induced Dynamic Changes in Brain Perfusion and Connectivity by Functional Ultrasound Imaging in Awake Mice. *NeuroImage*, **222**, Article 117231. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.117231>
- [32] Vidal, B., Droguerre, M., Venet, L., Zimmer, L., Valdebenito, M., Mouthon, F., *et al.* (2020) Functional Ultrasound Imaging to Study Brain Dynamics: Application of PharmacofUS to Atomoxetine. *Neuropharmacology*, **179**, Article 108273. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108273>
- [33] Vidal, B., Droguerre, M., Valdebenito, M., Zimmer, L., Hamon, M., Mouthon, F., *et al.* (2020) PharmacofUS for Characterizing Drugs for Alzheimer's Disease—The Case of THN201, a Drug Combination of Donepezil Plus Mefloquine. *Frontiers in Neuroscience*, **14**, Article 835. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00835>
- [34] Vidal, B., Pereira, M., Valdebenito, M., Vidal, L., Mouthon, F., Zimmer, L., *et al.* (2022) PharmacofUS in Cognitive Impairment: Lessons from a Preclinical Model. *Journal of Psychopharmacology*, **36**, 1273-1279. <https://doi.org/10.1177/02698811221128963>
- [35] Norman, S.L., Maresca, D., Christopoulos, V.N., Griggs, W.S., Demene, C., Tanter, M., *et al.* (2021) Single-Trial Decoding of Movement Intentions Using Functional Ultrasound Neuroimaging. *Neuron*, **109**, 1554-1566.e4. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.03.003>
- [36] Brunner, C., Grillet, M., Sans-Dublanç, A., Farrow, K., Lambert, T., Macé, E., *et al.* (2020) A Platform for Brain-Wide Volumetric Functional Ultrasound Imaging and Analysis of Circuit Dynamics in Awake Mice. *Neuron*, **108**, 861-875.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.09.020>
- [37] Blaize, K., Arcizet, F., Gesnik, M., Ahnine, H., Ferrari, U., Deffieux, T., *et al.* (2020) Functional Ultrasound Imaging of Deep Visual Cortex in Awake Nonhuman Primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **117**, 14453-14463. <https://doi.org/10.1073/pnas.1916787117>
- [38] Sans-Dublanç, A., Chrzanowska, A., Reinhard, K., Lemmon, D., Nuttin, B., Lambert, T., *et al.* (2021) Optogenetic fUSI for Brain-Wide Mapping of Neural Activity Mediating Collicular-Dependent Behaviors. *Neuron*, **109**, 1888-1905.e10. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.04.008>
- [39] Nayak, R., Lee, J., Chantigian, S., Fatemi, M., Chang, S. and Alizad, A. (2021) Imaging the Response to Deep Brain Stimulation in Rodent Using Functional Ultrasound. *Physics in Medicine & Biology*, **66**, 05LT01. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/abdee5>
- [40] Réaux-Le-Goazigo, A., Beliard, B., Delay, L., Rahal, L., Claron, J., Renaudin, N., *et al.* (2022) Ultrasound Localization Microscopy and Functional Ultrasound Imaging Reveal Atypical Features of the Trigeminal Ganglion Vasculature. *Communications Biology*, **5**, Article No. 330. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03273-4>
- [41] Hu, W., Zhu, S., Briggs, F. and Doyley, M.M. (2023) Functional Ultrasound Imaging Reveals 3D Structure of Orientation Domains in Ferret Primary Visual Cortex. *NeuroImage*, **268**, Article 119889. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2023.119889>
- [42] Nunez-Elizalde, A.O., Krumin, M., Reddy, C.B., Montaldo, G., Urban, A., Harris, K.D., *et al.* (2022) Neural Correlates of Blood Flow Measured by Ultrasound. *Neuron*, **110**, 1631-1640.e4. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2022.02.012>
- [43] Edelman, B.J., Ielacqua, G.D., Chan, R.W., Asaad, M., Choy, M. and Lee, J.H. (2021) High-Sensitivity Detection of Optogenetically-Induced Neural Activity with Functional Ultrasound Imaging. *NeuroImage*, **242**, Article 118434. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2021.118434>
- [44] Qiu, W., Bouakaz, A., Konofagou, E.E. and Zheng, H. (2021) Ultrasound for the Brain: A Review of Physical and Engineering Principles, and Clinical Applications. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, **68**, 6-20. <https://doi.org/10.1109/tuffc.2020.3019932>
- [45] Zheng, Y., Yang, Y., Zhang, Q., Jiang, D., Tu, J., Zhang, D., *et al.* (2022) Ultrasonic Methods for Brain Imaging: Techniques and Implications. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, **69**, 3526-3537. <https://doi.org/10.1109/tbme.2022.3173035>