



大鼠海马神经元对于高频脉冲刺激的暂态响应*

胡一凡 封洲燕** 王兆祥 郑吕漂

(浙江大学生物医学工程与仪器科学学院, 生物医学工程教育部重点实验室, 杭州 310027)

摘要 闭环刺激是深部脑刺激 (deep brain stimulation, DBS) 的重要发展方向之一, 有望用于治疗多种脑神经系统疾病. 与常规开环的长时间持续刺激不同, 闭环刺激通常采用短促的高频脉冲序列. 而神经元对于高频刺激的响应存在暂态过程, 在初期的短时间内会发生很大变化, 从而影响闭环刺激的作用. 为了研究这种暂态过程, 在大鼠海马 CA1 区传出轴突纤维 (alveus) 上施加不同频率的恒频以及随机变频的逆向高频刺激 (antidromic high-frequency stimulation, A-HFS), 并以逆向诱发的群峰电位 (antidromically-evoked population spike, APS) 的幅值作为指标来考察神经元群体的响应. 研究表明, 100、133 和 200 Hz 的恒频 A-HFS 初期, APS 迅速衰减, 脉冲频率越高, APS 衰减越快. 平均不到 1 s 时间内 APS 的幅值就会下降一半以上, 100 Hz 时的平均半衰期为 ~0.96 s, 频率增加 1 倍至 200 Hz 时, 平均半衰期缩短至 ~0.21 s. 使用 100~200 Hz 范围内实时微调脉冲间隔的随机变频刺激, 则可以显著延缓神经元响应的衰减速度, 延长刺激作用的维持时间. 这些结果可以为短促闭环刺激等 DBS 新模式开发提供依据.

关键词 高频刺激, 暂态响应, 群峰电位, 脉冲频率, 脉冲间隔

中图分类号 R338, R318

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0325

深部脑刺激 (deep brain stimulation, DBS) 已在临床上用于帕金森病等脑神经系统疾病的治疗. 目前, 常规 DBS 采用开环刺激模式, 施加的是连续不断的脉冲序列, 持续数小时、数天甚至数月. 为了提高治疗效率、减小风险、节省电能, 也为了拓展 DBS 在更多脑疾病治疗中的应用, 闭环刺激 (close-loop neurostimulation) 成为近年来 DBS 的重要发展方向之一, 受到广泛关注^[1].

闭环刺激可以根据实时监测的脑神经活动状态, 按需施加刺激脉冲以调节异常的神经活动, 目前已经在某些神经疾病的治疗中展现了良好的前景. 例如: 通过监测大脑皮层特定的神经电信号变化来施加电刺激用于治疗癫痫^[2-3]; 通过实时检测丘脑底核 (subthalamic nucleus, STN) 神经元的 β 振荡放电活动并施加电刺激, 可以治疗帕金森病^[1]; 对穹窿 (Fornix) 施行闭环刺激有望治疗阿尔茨海默病^[4]. 闭环刺激通常采用短促的脉冲串刺激, 例如, 治疗癫痫的皮层刺激常采用时长为 0.1~0.2 s 的脉冲串, 脉冲频率为 100~200 Hz^[2-5].

临床治疗中 DBS 的脉冲频率通常大于

100 Hz^[1]. 控制帕金森病症状时 130~185 Hz 的脉冲刺激效果较好, 有时所需的脉冲频率也可达 200 Hz 以上^[6]. 许多研究表明, 在这种高频刺激 (high-frequency stimulation, HFS) 作用下, 即便不涉及突触传递, HFS 轴突和胞体对于 HFS 的直接响应也会在刺激起始的数秒或不到 1 秒之内产生很大改变. 例如, 神经元细胞膜对于高频脉冲的响应会从开始时的紧跟每个脉冲产生动作电位, 逐渐变成跟随不能, 或者发生去极化阻滞等现象^[7-9]. 这种快速的动态变化会影响闭环刺激所采用脉冲串的作用效果.

为了深入揭示高频脉冲刺激起始阶段的神经元动态响应, 本文在大鼠海马 CA1 区神经元轴突上施加不同脉冲频率的恒频和随机变频刺激, 并以逆向诱发胞体产生的群峰电位 (antidromically-evoked population spike, APS) 作为衡量指标, 考

* 国家自然科学基金 (30970753) 资助项目.

** 通讯联系人.

E-mail: fengzhouyan@zju.edu.cn

收稿日期: 2020-09-08, 接受日期: 2020-11-20

察神经元群体的响应与脉冲频率、脉冲个数和脉冲间隔等刺激参数之间的关系。研究结果可以为DBS闭环刺激的参数选择提供指导。

1 材料与方法

1.1 动物手术和电极植入

雄性成年 Sprague-Dawley 大鼠 26 只 (体重 (330 ± 47) g, 购自浙江省医学科学院实验动物中心), 腹腔注射乌拉坦 (Urethane, 1.25 g/kg) 麻醉后, 固定于立体定位仪上, 打开左侧部分颅骨, 植入记录电极和刺激电极。

记录电极 (recording electrode, RE) 是 16 通道微电极阵列 (#Poly2, NeuronNexus Inc., USA), 植入至海马 CA1 区 (AP: -3.5 mm; ML: 2.7 mm; DV: 2.5 mm)。刺激电极 (antidromic stimulating electrode, ASE) 是同芯双极电极 (#CBCSG75, FHC Inc., USA), 植入至 CA1 区神经元的轴突束 Alveus 上 (AP: -4.8 mm; ML: 2.7 mm; DV: 2.3 mm)。施加的刺激诱发轴突产生动作电位, 逆向传导并兴奋神经元胞体。根据刺激脉冲诱发的电位波形及其幅值在 16 个记录通道上的变化, 可以确定电极植入位置的正确性^[10]。选择位于 CA1 区胞体层的某个记录通道分析逆向高频刺激 (antidromic high-frequency stimulation, A-HFS) 期间的诱发电位变化 (图 1a)。

1.2 刺激的施加和神经电信号的采集

使用自行设计的 LabView 程序触发刺激器 (Model 3800, A-M Systems Inc., USA) 产生脉宽为 0.1 ms 的双相对称电流型脉冲, 脉冲强度设置为 $0.3 \sim 0.5$ mA, 使得单脉冲刺激诱发的 APS 达到可诱发 APS 最大幅值的 $3/4$ 左右。高频刺激 A-HFS 的脉冲序列分为恒频和变频两种。其中, 恒频 A-HFS 的脉冲频率分为 100 、 133 和 200 Hz 三种。变频 A-HFS 的平均脉冲频率为 133 Hz, 脉冲间隔 (inter-pulse-interval, IPI) 均匀随机地分布于 $5 \sim 10$ ms (对应脉冲频率为 $200 \sim 100$ Hz)。A-HFS 的时长为 1 min。

记录电极采集的细胞外电位信号经过放大器 (Model 3600, A-M Systems Inc., USA) 放大之后, 用 PowerLab 数据采集器 (Model PL3516, AD Instruments Inc, Australia) 以 20 kHz 的采样率获取数据并保存, 用于离线分析。采集的原始信号的频率范围为 $0.3 \sim 5\,000$ Hz, 再用截止频率为 5 Hz 的数字高通滤波去除低频场电位信号, 用于分析 APS

诱发波。

1.3 群峰电位检测与分析

利用阈值法检测 A-HFS 期间紧随每个刺激脉冲之后的 APS 诱发波, 检测阈值设为 0.1 mV, 小于此阈值的未检出 APS 的幅值视为 0 。计算检出 APS 的幅值, 即基线水平与 APS 波谷点之间的电位差, 它可以反映刺激脉冲激活的神经元数量及其发放的同步程度。此外, 计算 A-HFS 期间每 0.1 s 时间窗内诱发的最大和平均 APS 幅值。A-HFS 首个脉冲诱发的 APS 幅值相当于基线状态下神经元群体对单个脉冲的响应, 将其作为基准, 求 A-HFS 期间 APS 的归一化幅值。

A-HFS 期间诱发的 APS 幅值变化用双指数函数拟合, 并用误差均方的 F 检验来评价拟合模型的统计学意义, 本文所有双指数拟合的检验结果均为 $P < 0.001$, 表明拟合均有意义 (结果中不再标注)。在拟合线上求得幅值衰减为初始值一半时的时间, 即半衰期 (half-value time), 用于描述 A-HFS 初期 APS 幅值的衰减速度。

统计数据表示为 (均值 $\pm$ 标准差)。每组数据均符合正态分布 (Kolmogorov-Smirnov 检验, $P > 0.20$)。采用配对 t 检验 (paired t -test)、单因素方差分析 (One-way ANOVA) 和 Post hoc Bonferroni test 检验多组数据之间差异的显著性, $P < 0.05$ 为差异显著。 n 表示实验次数。

2 结 果

2.1 神经元对于恒频 A-HFS 的响应随时间的变化

在海马 CA1 区的传出轴突 Alveus 施加 1 min 的恒频 A-HFS 刺激时, 仅在起始时各脉冲可以诱发幅值相似的 APS (~ 9 mV), 随后 APS 迅速减小至稳态。脉冲频率越高, APS 衰减越快。A-HFS 结束之后, 单个测试脉冲诱发的 APS 很快恢复 (图 1b)。这与之前已发表的研究结果一致^[8-9]。双指数函数可以拟合 A-HFS 期间 APS 的衰减, 并且两个指数函数描述的动力学过程时间常数差别很大, 分别为不到一秒和数百至上千秒的级别, 对应于 A-HFS 起始的快速变化和稳态时的微小变化。3 种脉冲频率 100 、 133 和 200 Hz 下的 APS 幅值减小的半衰期差别明显 (图 1b 拟合曲线上的红点及右侧数值)。

由图 2a 所示的统计数据 ($n = 9$) 可见, 在 3 种脉冲频率的 A-HFS 作用下, 刺激诱发的平均归一化 APS 幅值从同为起始的 100% 开始, 迅速产生差

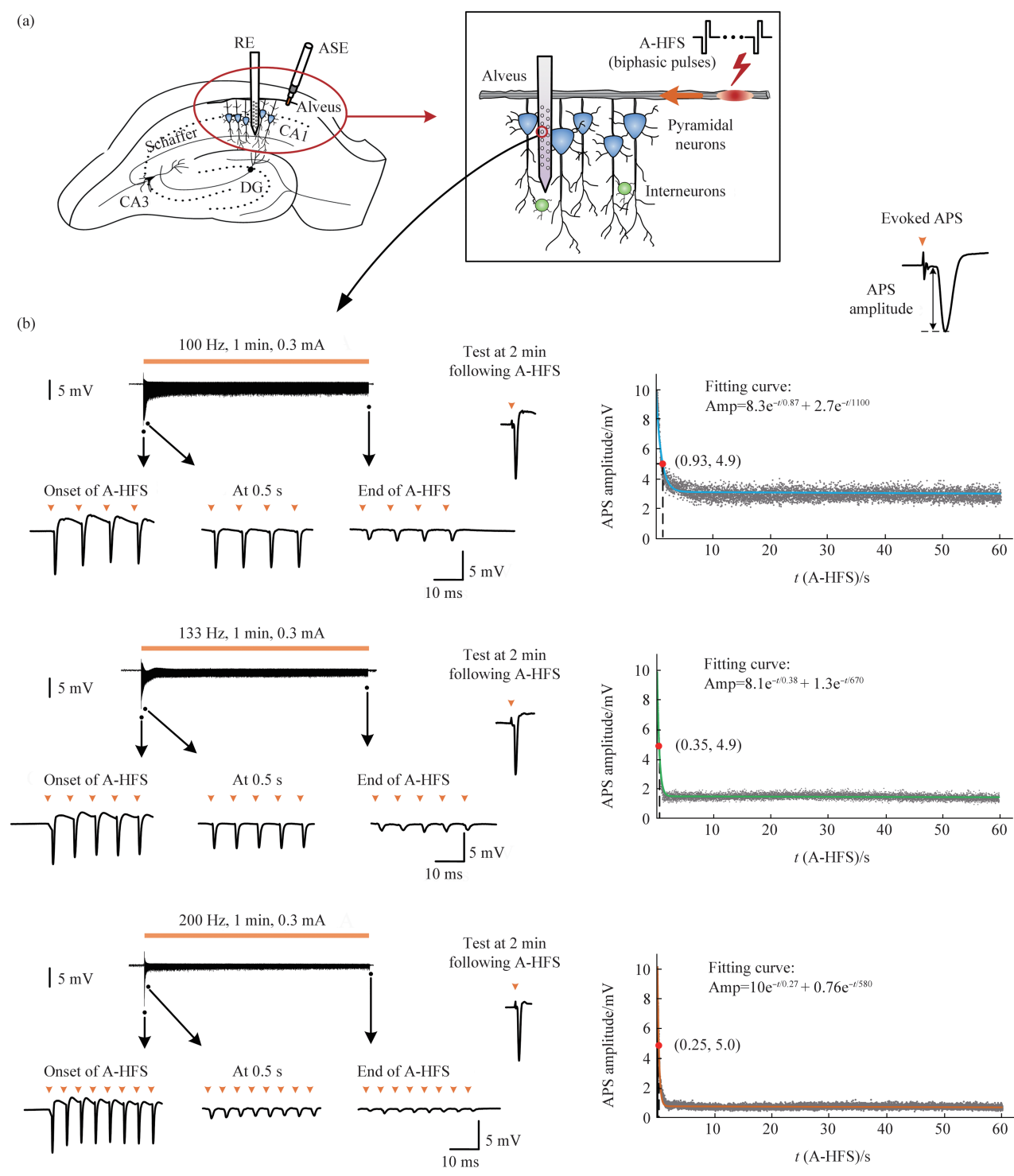


Fig. 1 Evoked potentials recorded in the pyramidal layer of the rat hippocampal CA1 region during A-HFS with different pulse frequencies

(a) Schematic diagram of the implant positions of the recording electrode (RE) and the antidromic stimulation electrode (ASE). (b) Typical responses of the neuronal population to the 100, 133 and 200 Hz A-HFS in the CA1 region. Left column: the evoked potentials (the stimulation artifacts and the local field potentials below 5 Hz are removed). The evoked APS waveforms at the onset, 0.5 s and 1 min of A-HFS are expanded. The orange inverted triangles denote the locations of applied stimulation pulses. Right column: The change of APS amplitude with its double-exponential fitting curve. The red dot together with the two values on the right denote the point on the fitting curve with the half-value time and the 1/2 initial APS amplitude.

别. 在A-HFS的0.2 s之后, 3种频率诱发的APS幅值之间都存在显著差异, 直至1 min刺激结束. 100、133和200 Hz刺激初期APS幅值下降的半衰期分别为 (0.96 ± 0.09) s、 (0.50 ± 0.15) s和 (0.21 ± 0.07) s, 3组数值之间具有显著差异 ($P < 0.01$, One-way ANOVA及Post-hoc Bonferroni test, $n = 9$) (图2b). 可见, 3种频率刺激的平均半衰期

均小于1 s.

这些结果表明, 脉冲频率越高, 神经元群体的起始响应能够保持的时间就越短. 较高的脉冲频率意味着单位时间内所含脉冲个数较多, 那么, 是否由于经历较多的刺激脉冲而使得神经元的响应下降呢? 下面考察神经元响应与刺激脉冲个数之间的关系.

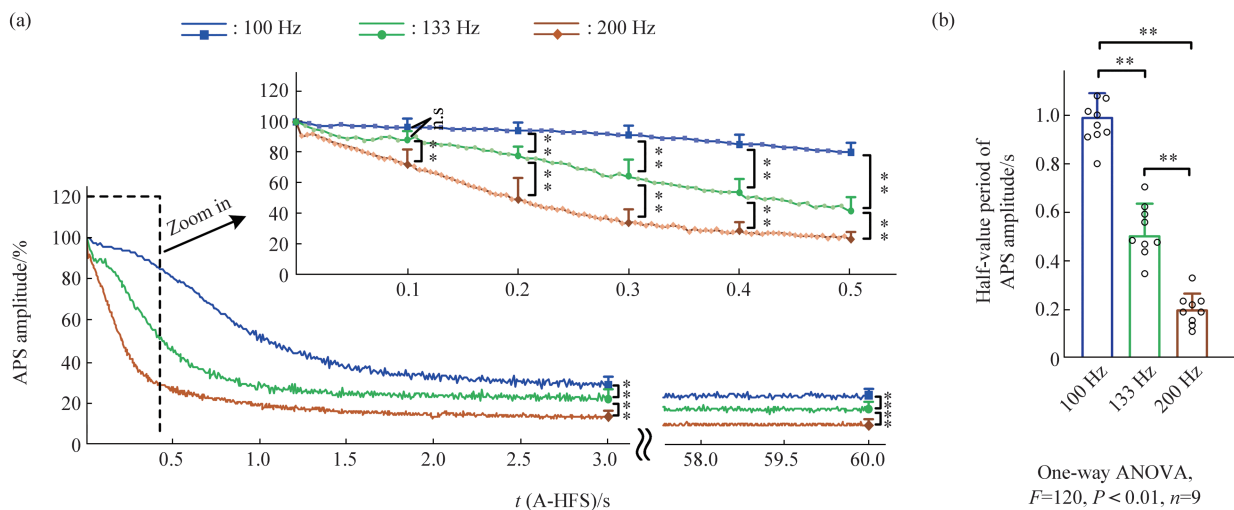


Fig. 2 Dynamic change of APS amplitudes at the initial period of A-HFS with different pulse frequencies

(a) The mean normalized APS amplitude during A-HFS with the three pulse frequencies respectively. The initial 0.5 s data are expanded with standard deviations and the results of significance tests only represented at every 0.1 s for clarity. (b) The comparison of the half-value time of APS amplitude decreases among the three data group. Post hoc Bonferroni test: n.s $P > 0.05$, ** $P < 0.01$; $n = 9$.

2.2 神经元对于恒频A-HFS的响应随刺激脉冲个数的变化

在3种频率的恒频A-HFS期间, 诱发波APS的平均幅值随着脉冲个数的增加逐渐减小 (图3). 200 Hz时APS减小最快, 其次是133和100 Hz. 在

第10个脉冲作用时, 133和100 Hz之间已出现显著差别. 第20个脉冲之后, 3种频率的APS幅值之间都具有显著差异 ($P < 0.05$, One-way ANOVA及Post-hoc Bonferroni test, $n = 9$).

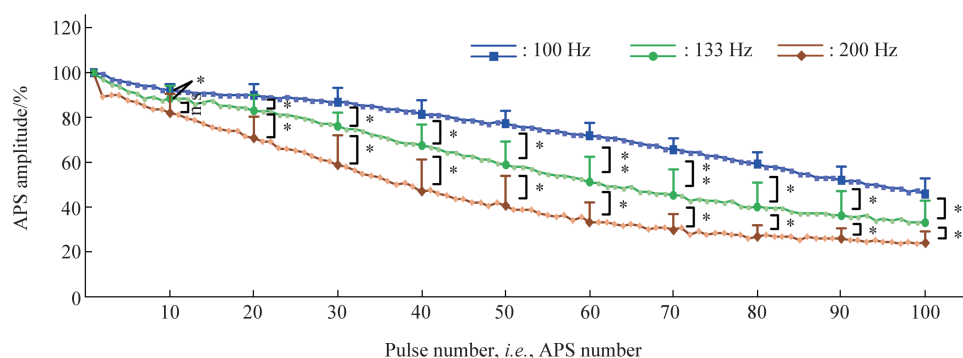


Fig. 3 Dynamic change of the mean normalized APS amplitude with the pulse number at the initial period of A-HFS with the three different pulse frequencies

n.s $P > 0.05$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, paired t -test; $n = 9$.

该结果表明, 脉冲频率较高时, 只需较少脉冲个数就可以快速改变神经元的响应. 因此, 神经元响应的衰减速度并非仅取决于所经历的脉冲个数, 而是由于脉冲间隔的缩短 (即脉冲频率的提高).

2.3 神经元对于变频A-HFS的动态响应

图4a为133 Hz恒频A-HFS (左图) 与平均频率也为133 Hz的100~200 Hz随机变频A-HFS (右图) 作用下的神经元群体响应示例. A-HFS起始~0.1 s内, 两种刺激的每个脉冲都能诱发大幅值的APS波 (~9 mV), 幅值减小不明显. 经过~4 s刺激后, APS幅值都明显减小, 但此时恒频刺激每个脉冲诱发的APS幅值较稳定 (3.9~4.0 s内的变化范围为1.90~2.16 mV), 而变频刺激每个脉冲诱发的APS幅值存在较大变化 (3.9~4.0 s内的变化范围为0~6.72 mV), 直至1 min刺激结束均如此. 恒频 (左图) 和变频 (右图) 刺激的每0.1 s平均APS幅值在A-HFS初期都迅速减小, 根据指数函数拟合曲线, 两者的半衰期均小于1 s (图4b). 但两种刺激的每0.1 s最大APS幅值的半衰期却差别明显: 恒频的最大APS与平均APS的衰减速度相似, 而变频的最大APS衰减速度比平均APS慢得多.

对恒频刺激和变频刺激各9组实验数据的每0.1 s平均和最大APS幅值分别做双指数拟合, 其 F 检验结果均为 $P < 0.001$, 表明拟合模型可以反映数据的变化. 依据拟合曲线计算半衰期得到的统计数据表明, 恒频和变频刺激初期每0.1 s平均APS幅值的半衰期分别为 (0.54 ± 0.15) s和 (0.67 ± 0.36) s, 两者无显著差异 ($P > 0.05$, paired t -test, $n = 9$, 图4c右图). 但是在此期间, 恒频和变频刺激的每0.1 s最大APS的半衰期分别为 (0.55 ± 0.15) s和 (7.23 ± 2.19) s, 两者之间差异显著 ($P < 0.01$, paired t -test, $n = 9$, 图4d右图). 在A-HFS的0.2 s之后, 变频刺激诱发的最大APS幅值都显著高于恒频刺激, 直至1 min刺激结束.

这些结果表明, 100~200 Hz的实时变频刺激虽然脉冲间隔仅在5~10 ms内微小变动, 但是, 却可以显著延缓神经元群体最大响应的衰减速度, 延长刺激作用的保持时间.

3 讨 论

本研究的主要发现是: 在DBS所涉及的100~200 Hz脉冲刺激的频率范围内, 刺激频率越高, 刺激起始阶段神经元的响应衰减就越快, 能够保持的时间越短, 且较少的脉冲数就可以引起神经元响

应较大的衰减; 实时微调刺激脉冲的间隔可能减缓这种衰减. 其中的机制和潜在的应用意义分析如下.

根据前人的研究, 神经元的轴突对于脉冲刺激的响应阈值比胞体等其他结构要低^[11]. 本文的刺激电极作用于海马CA1区神经元的轴突束, 因此, 刺激脉冲首先激活轴突产生动作电位, 然后快速逆向传至胞体并兴奋胞体产生动作电位, 使得高频刺激初期的每个脉冲都能够诱发大量神经元的同步响应, 产生大幅值的APS (图1b). 但是, 这种响应并不能长时间维持.

神经元对于高频脉冲响应的衰减可能与轴突传导障碍或/和胞体兴奋能力降低等因素有关. 之前的研究表明, A-HFS起始时持续密集脉冲诱发的动作电位会引起轴突细胞膜外钾离子浓度迅速升高, 使得细胞膜处于持续的去极化状态, 降低了膜上钠离子通道的活性, 导致轴突的细胞膜无法紧跟每个脉冲产生动作电位, 也就是发生了去极化阻滞^[12-13]. 于是, 沿轴突传出去的兴奋也就减弱. 而且, 脉冲频率越高, 每个脉冲诱发的神经元群体响应 (即APS) 越小. 3种不同频率 (100、133和200 Hz) 的A-HFS期间, 神经元群体的稳态响应分别衰减为起始响应的20%、15%和10%左右 (图2a). 不过, 由于频率高的刺激序列包含的脉冲多, 不同频率刺激期间单位时间内累积的神经元活动仍然接近^[9], 只是频率较高的刺激诱导的神经元群体活动的同步性降低^[13-14]. 但是, A-HFS初期的暂态响应与稳态响应不同. A-HFS最初每个脉冲都能够诱发大幅值APS响应 (图1b), 因此, 起始阶段神经元响应的累积强度, 即一定时间内的APS幅值之和, 与脉冲频率成正比, 频率越高, 累积响应就越强.

本文对于A-HFS初期神经元动态响应的分析揭示了新信息: A-HFS诱导的神经元响应的“半衰期”与脉冲频率成反比, 频率越高, 半衰期越短. 频率由100至200 Hz升高1倍, 半衰期却缩短至约1/5 (图2b). 而且, 值得注意的是, 微调脉冲间隔的实时变频刺激可以将“半衰期”延长10倍以上 (图4d). 虽然变频刺激期间的平均神经元响应与恒频刺激无明显差别, 但是, 变频期间频繁出现的较大响应意味着较多神经元的同步活动, 具有较强的兴奋作用. 此外, 与恒频刺激诱发规律性的神经元响应不同, 随机变频刺激诱导的神经元群体的同步响应具有随机性^[15-16], 可以避免节律性

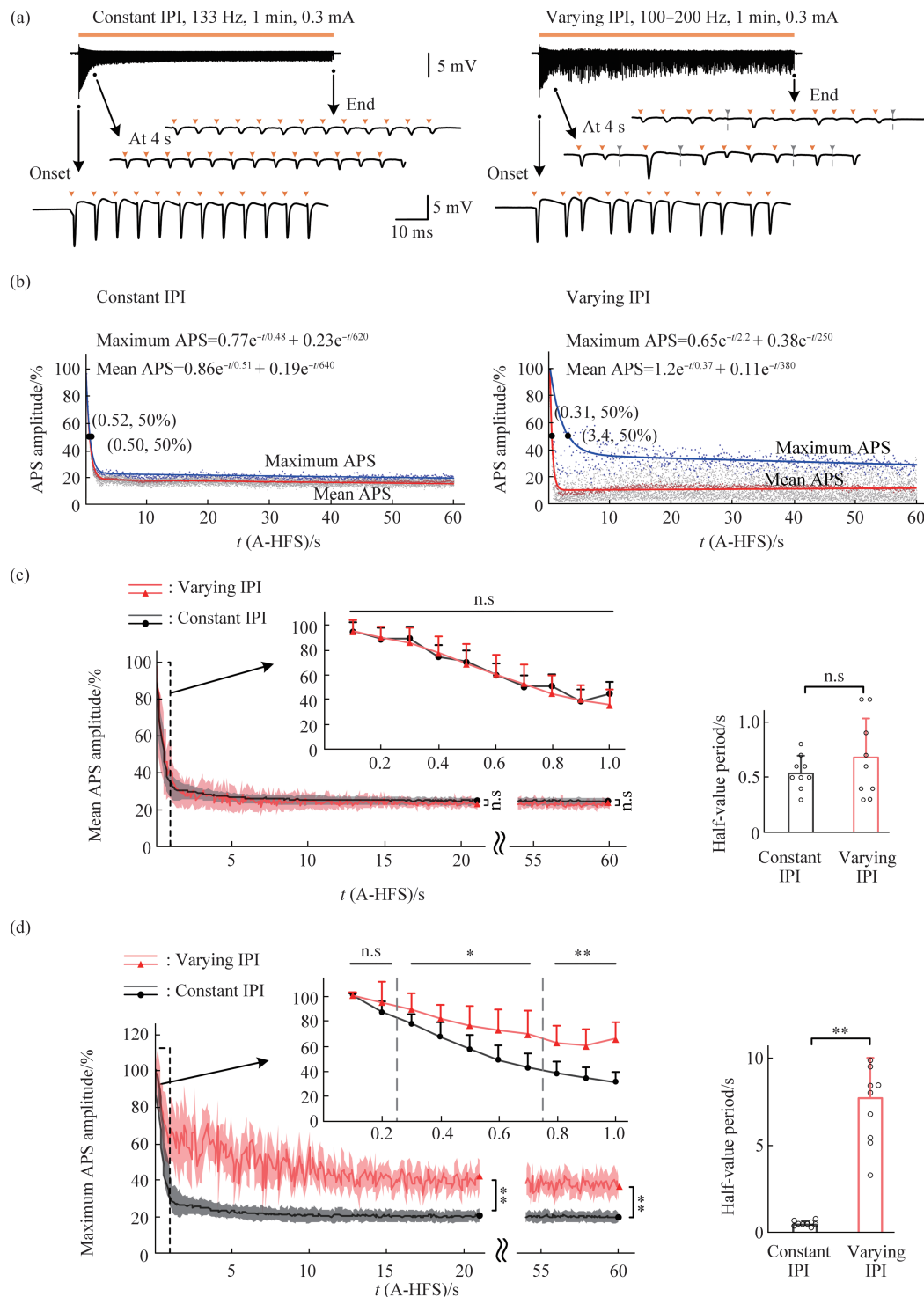


Fig. 4 Comparisons of the neuronal responses to the constant-frequency stimulation and varying-frequency stimulation with a same average frequency

(a) Typical neuronal responses (APS) during a constant-frequency A-HFS (left) and a varying-frequency A-HFS (right). The APS waveforms at the onset, 4 s and the end of 1 min A-HFS are expanded below. The orange inverted triangles denote the applied pulses which induce an obvious APS. The gray inverted triangles denote the applied pulses which fail to induce an APS. (b) The normalized APS amplitude (the gray dots) during a constant-frequency A-HFS and a varying-frequency A-HFS and their fitting curves of the mean and the maximum APS amplitudes per 0.1 s (the brown and blue dots) during the corresponding A-HFS showed in (a). The black dots on the curves denote the locations of half-value times of the mean and maximum APS amplitudes, respectively. (c) The mean APS amplitudes per 0.1 s during the 1 min constant-frequency (black curve) and varying-frequency (red curve) A-HFS. The light shades represent the range of a standard deviation. The histogram on the right shows the statistical comparison of the half-value times of mean APS amplitudes. (d) Statistical comparison of the maximum APS amplitudes per 0.1 s during the period of constant-frequency and varying-frequency A-HFS (left), and their corresponding half-value times (right). n.s. $P > 0.05$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, paired t -test; $n = 9$.

较强的神经元活动, 而许多节律性活动是病理性活动的标志, 例如STN的 β 节律是帕金森病的重要病理特征, 已被用做闭环刺激治疗帕金森病的反馈信号^[1, 17]. 因此, 不规则的随机变频刺激是有待开发的一种DBS新模式^[18-20].

DBS的开环刺激采用长时间持续的脉冲序列, 而闭环刺激则可能采用短促的脉冲序列. 神经元的高频刺激稳态响应与初始暂态响应之间的显著差别, 意味着开环刺激与闭环刺激的作用机制不同. 长时间的开环刺激可以阻断神经元的信息传导^[7-8, 21], 或者诱导神经元的去同步活动^[7, 14, 22-23]. 而短促的闭环刺激利用的可能是刺激脉冲强有力的兴奋作用. 例如, 这种强兴奋作用可能产生“以毒攻毒”的效果^[24], 从而阻止癫痫发作^[25-27].

此外, 本文所研究的神经元响应未涉及突触传递, 考察的是神经元及其轴突对于电刺激的直接响应. 这些响应会沿轴突顺向传导至末梢的突触, 作用于突触后神经元, 进而激活下游神经元, 产生更复杂的反应, 包括短促高频脉冲刺激可能诱导的突触可塑性, 如长时程增强(long-term potentiation, LTP)^[28-29]. 如果闭环刺激过程中频繁地开启和关闭刺激, 短时间内重复短促高频刺激串, 那么, 前导刺激还会影响后续刺激的作用, 经过突触投射至下游各级神经元的作用也会不同于无突触参与的直接作用. 这些都有待进一步的研究. 不过, 本文的神经元对于刺激的直接响应是后续各级响应的基础.

总之, 本文的研究显示, 高频脉冲刺激只能在初始不到1 s的时间内保持较强的兴奋作用, 之后兴奋作用迅速衰减, 且频率越高衰减越快, 微小的脉冲间隔变化可以减缓衰减速度. 这些结果可以为DBS的短促闭环刺激等新刺激模式的开发提供依据.

参 考 文 献

- [1] Bouthour W, Mégevand P, Donoghue J, *et al.* Biomarkers for closed-loop deep brain stimulation in Parkinson disease and beyond. *Nature Reviews Neurology*, 2019, **15**(6): 343-352
- [2] Jobst B C, Kapur R, Barkley G L, *et al.* Brain-responsive neurostimulation in patients with medically intractable seizures arising from eloquent and other neocortical areas. *Epilepsia*, 2017, **58**(6): 1005-1014
- [3] Fisher R S, Velasco A L. Electrical brain stimulation for epilepsy. *Nature Reviews Neurology*, 2014, **10**(5): 261-270
- [4] Senova S, Chaillet A, Lozano A M. Focical closed-loop stimulation for Alzheimer's Disease. *Trends in Neurosciences*, 2018, **41**(7): 418-428
- [5] Bergey G K, Fisher R S. *Brain Stimulation for Epilepsy*. John Wiley & Sons, Ltd, 2015
- [6] Castrioto A, Volkmann J, Krack P. Chapter 11 - Postoperative management of deep brain stimulation in Parkinson's disease// Lozano A M, Hallett M. *Handbook of Clinical Neurology*. [S. I.]: Elsevier, 2013: 129-146
- [7] Jensen A L, Durand D M. High frequency stimulation can block axonal conduction. *Experimental Neurology*, 2009, **220**(1): 57-70
- [8] Feng Z, Zheng X, Yu Y, *et al.* Functional disconnection of axonal fibers generated by high frequency stimulation in the hippocampal CA1 region *in-vivo*. *Brain Research*, 2013, **1509**: 32-42
- [9] Feng Z, Yu Y, Guo Z, *et al.* High frequency stimulation extends the refractory period and generates axonal block in the rat hippocampus. *Brain Stimulation*, 2014, **7**(5): 680-689
- [10] 封洲燕, 光磊, 郑晓静, 等. 应用线性硅电极阵列检测海马场电位和单细胞动作电位. *生物化学与生物物理进展*, 2007, **34**(4): 401-407
- [11] Ranck J B. Which elements are excited in electrical stimulation of mammalian central nervous system: a review. *Brain Research*, 1975, **98**(3): 417-440
- [12] Bellinger S C, Miyazawa G, Steinmetz P N. Submyelin potassium accumulation may functionally block subsets of local axons during deep brain stimulation: a modeling study. *Journal of Neural Engineering*, 2008, **5**(3): 263-274
- [13] Guo Z, Feng Z, Wang Y, *et al.* Simulation study of intermittent axonal block and desynchronization effect induced by high-frequency stimulation of electrical pulses. *Frontiers in Neuroscience*, 2018, **12**: 858
- [14] Wang Z, Feng Z, Wei X. Axonal stimulations with a higher frequency generate more randomness in neuronal firing rather than increase firing rates in rat hippocampus. *Frontiers in Neuroscience*, 2018, **12**: 783
- [15] Feng Z, Ma W, Wang Z, *et al.* Small changes in inter-pulse-intervals can cause synchronized neuronal firing during high-frequency stimulations in rat hippocampus. *Frontiers in Neuroscience*, 2019, **13**: 36
- [16] Zheng L, Feng Z, Hu H, *et al.* The appearance order of varying intervals introduces extra modulation effects on neuronal firing through non-linear dynamics of sodium channels during high-frequency stimulations. *Frontiers in Neuroscience*, 2020, **14**: 397
- [17] Little S, Brown P. Debugging adaptive deep brain stimulation for Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 2020, **35**(4): 555-561
- [18] Hess C W, Vaillancourt D E, Okun M S. The temporal pattern of stimulation may be important to the mechanism of deep brain stimulation. *Experimental Neurology*, 2013, **247**: 296-302
- [19] Gunduz A, Foote K D, Okun M S. Reengineering deep brain stimulation for movement disorders: emerging technologies. *Current Opinion in Biomedical Engineering*, 2017, **4**: 97-105

- [20] Grill W M. Temporal pattern of electrical stimulation is a new dimension of therapeutic innovation. *Current Opinion in Biomedical Engineering*, 2018, **8**: 1-6
- [21] Grill W M, Snyder A N, Miocinovic S. Deep brain stimulation creates an informational lesion of the stimulated nucleus. *Neuroreport*, 2004, **15**(7): 1137-1140
- [22] Rosenbaum R, Zimnik A, Zheng F, *et al.* Axonal and synaptic failure suppress the transfer of firing rate oscillations, synchrony and information during high frequency deep brain stimulation. *Neurobiology of Disease*, 2014, **62**: 86-99
- [23] Feng Z, Wang Z, Guo Z, *et al.* High frequency stimulation of afferent fibers generates asynchronous firing in the downstream neurons in hippocampus through partial block of axonal conduction. *Brain Research*, 2017, **1661**: 67-78
- [24] Gwinn R P, Spencer D D. Fighting fire with fire: brain stimulation for the treatment of epilepsy. *Clinical Neuroscience Research*, 2004, **4**(1): 95-105
- [25] Lesser R P, Kim S H, Beyderman L, *et al.* Brief bursts of pulse stimulation terminate afterdischarges caused by cortical stimulation. *Neurology*, 1999, **53**(9): 2073
- [26] Sun F T, Morrell M J. Closed-loop neurostimulation: the clinical experience. *Neurotherapeutics*, 2014, **11**(3): 553-563
- [27] 曹嘉悦, 封洲燕, 郭哲杉, 等. 闭环式电刺激抑制痫样棘波发放的机制研究. *中国生物医学工程学报*, 2016, **35**(1): 79-87
Cao J Y, Feng Z Y, Guo Z S, *et al.* *Chinese Journal of Biomedical Engineering*, 2016, **35**(1): 79-87
- [28] Abraham W C, Huggett A. Induction and reversal of long-term potentiation by repeated high-frequency stimulation in rat hippocampal slices. *Hippocampus*, 1997, **7**(2): 137-145
- [29] Bliss T V P, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*, 1973, **232**(2): 331-356

Transient Neuronal Responses to High-frequency Pulse Stimulation in Rat Hippocampus*

HU Yi-Fan, FENG Zhou-Yan**, WANG Zhao-Xiang, ZHENG Lü-Piao

(Key Laboratory of Biomedical Engineering of Education Ministry, College of Biomedical Engineering and Instrumentation Science, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

Abstract Closed-loop stimulation is one of the important development directions of deep brain stimulation (DBS) that is promising for treating various brain disorders. Contrast to the conventional open-loop stimulation with continuous stimulation for long periods of time, the closed-loop stimulation usually utilizes short sequences of high-frequency pulses. However, neuronal responses to the high-frequency stimuli may change substantially in a short period of time because of the transient process at the beginning of stimulation. The change may affect the stimulation efficacy. To investigate the transient process of high-frequency stimuli, antidromic high-frequency stimulation (A-HFS) with different constant pulse frequencies as well as varying frequency was applied at the alveus of rat hippocampal CA1 region. The amplitude of antidromically-evoked population spike (APS) was used as an index to evaluate the neuronal responses to A-HFS. The results show that at the initial period of A-HFS with a constant pulse frequency of 100, 133 and 200 Hz, the APS decreased rapidly. A higher pulse frequency generated a faster attenuation of the APS. The mean amplitudes of APS decreased by more than half within less than 1 s. The mean half-value time of APS amplitude was ~0.96 s with 100 Hz A-HFS and decreased to ~0.21 s with the pulse frequency doubled to 200 Hz. With randomly-varying frequencies in the range of 100–200 Hz to tune the pulse interval in real time, the attenuation speed of neuronal responses was significantly slowed down to prolong the maintenance of the stimulation effect. These results provide clues to develop new DBS paradigms for the implementation of short closed-loop stimulations.

Key words high-frequency stimulation, transient response, population spike, pulse frequency, inter-pulse interval

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0325

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (30970753).

** Corresponding author.

E-mail: fengzhouyan@zju.edu.cn

Received: September 8, 2020 Accepted: November 20, 2020