



## 间断 theta 脉冲磁刺激对空间工作记忆相关神经振荡及其同步性的影响\*

郭苗苗<sup>1,2,3,4)\*\*</sup> 张彪<sup>1,2,3,4)</sup> 张天恒<sup>5)</sup> 王田<sup>1,2,3,4)</sup> 翟昊迪<sup>1,2,3,4)</sup> 徐桂芝<sup>1,2,3,4)</sup>

<sup>(1)</sup> 河北工业大学生命科学与健康工程学院, 天津 300130;

<sup>(2)</sup> 河北工业大学, 省部共建电工装备可靠性与智能化国家重点实验室, 天津 300130;

<sup>(3)</sup> 河北工业大学, 天津市生物电工与智能健康重点实验室, 天津 300130;

<sup>(4)</sup> 河北工业大学, 河北省生物电磁学与神经工程重点实验室, 天津 300130;

<sup>(5)</sup> 石家庄学院机电学院, 石家庄 050035)

**摘要** 目的 间断 theta 脉冲磁刺激 (iTBS) 已被证实可以通过夹带大脑不同频段神经振荡调控工作记忆功能, 但其对神经振荡及其同步性的调节尚不清晰。本研究旨在探讨 iTBS 对大鼠局部脑区及跨脑区神经振荡及其同步性的影响, 探究 iTBS 调控工作记忆的作用机制。方法 24 只大鼠根据年龄及是否接受 iTBS 分为 4 组, 应用时频分布、相位同步性以及相位-幅值耦合分析方法, 对比分析各组大鼠在进行空间工作记忆 (SWM) 行为学任务的过程中前额叶和海马脑区 theta 及 gamma 频段局部场电位信号神经振荡的变化规律。结果 随着年龄增长, 老年大鼠学会 SWM 任务规则所用时间明显增加 ( $P=0.0056$ ); iTBS 可以缩短成年大鼠 ( $P=0.0011$ ) 和老年大鼠 ( $P=0.0090$ ) 学会 SWM 任务规则所用时间。相比成年大鼠, 老年大鼠前额叶和海马脑区 theta 和 gamma 频段神经振荡的时频能量 ( $\theta$ :  $P<0.0001$ ;  $\gamma$ :  $P<0.0001$ )、跨脑区相位-幅值耦合作用 (PFC-HPC:  $P=0.0002$ ; HPC-PFC:  $P=0.0277$ ) 均出现一定程度的下降; iTBS 可以提高成年大鼠 ( $\theta$ :  $P<0.0001$ ;  $\gamma$ :  $P<0.0001$ ) 和老年大鼠 ( $\theta$ :  $P=0.0144$ ;  $\gamma$ :  $P=0.0006$ ) 神经振荡的时频能量以及老年大鼠跨脑区相位-幅值耦合作用 (PFC-HPC:  $P=0.0180$ ; HPC-PFC:  $P=0.0221$ )。此外, 两脑区各频段信号的时频能量及相位-幅值耦合与大鼠行为学正确率均具有正相关关系。结论 iTBS 可以增强老年大鼠的 SWM 能力以及认知功能, 这与老年大鼠 SWM 任务期间跨脑区 theta 频段和 gamma 频段神经振荡的时频能量以及跨脑区相位幅值耦合增强有关。对于成年大鼠, iTBS 通过提升成年大鼠 SWM 任务期间两脑区 theta 频段和 gamma 频段神经振荡的时频能量增强其 SWM 能力与认知功能。

**关键词** 间断 theta 脉冲磁刺激, 空间工作记忆, 神经振荡, 相位同步性, 相位-幅值耦合

**中图分类号** R318, R338

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2023.0466

神经退行性疾病是困扰当今社会的一大难题。作为典型的神经退行性疾病, 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 的症状常伴有工作记忆 (working memory, WM) 障碍, 对患者生活、家庭造成了巨大的影响。WM 是高级中枢系统的重要功能, 负责将离散的信息进行暂时的存储和加工, 在许多复杂的认知活动和记忆活动中起着重要的作用<sup>[1]</sup>。WM 功能困难或受损会导致 WM 障碍, 严重影响患者日常生活。

空间工作记忆 (spatial working memory, SWM) 是实时记住空间位置的能力, 是认知行为中的一项重要功能。研究发现, SWM 强烈依赖于

大脑区域之间的协调相互作用, 由脑内神经振荡所介导<sup>[2]</sup>。神经振荡是由局部神经元群或跨脑区的神经元集合体的活动产生的节律性波动<sup>[3]</sup>, 脑内具有不同频率范围的神经振荡, 为脑中群体神经元编码、存储和神经信息提取提供了一种时间上的同

\* 国家自然科学基金 (52320105008), 国家重点研发计划 (2022YFC2402203), 河北省自然科学基金 (E2021202222, F2024202085), 河北省科技计划 (18963001D, 215676146H, 225676163GH), 天津市自然科学基金 (20JCQNJC00710, 21JCXJC00090) 和河北工业大学电气设备可靠性与智能化国家重点实验室 (EERI\_OY2021009) 资助项目。

\*\* 通讯联系人。

Tel: 15900241399, E-mail: gmm@hebut.edu.cn

收稿日期: 2023-11-24, 接受日期: 2024-02-29

步, 也反映了脑神经网络信息处理的不同活动模式。研究证实, theta频段和gamma频段神经振荡与记忆和认知功能密切相关<sup>[4]</sup>。Crdozo-Cruz等<sup>[5]</sup>研究发现, 神经性疼痛大鼠WM缺陷与前额叶-纹状体theta频段神经振荡的动力学改变有关; Thompson等<sup>[6]</sup>针对51名年轻被试的研究发现, 顶叶gamma频段神经振荡对WM回忆过程具有显著的调节作用。此外, 神经振荡已被证明能够通过交叉频率耦合(cross-frequency coupling, CFC)的作用方式, 在大脑认知功能过程中协调脑区间的动态交流<sup>[7-8]</sup>。相位同步和相位-幅值耦合是两种常见的CFC模式, 相位同步是指两种或多种不同频率神经振荡以一致的相对相位角振荡的过程, 相位-幅值耦合是指高频信号幅值与低频信号相位之间的同步或耦合。研究发现, theta-gamma耦合在记忆感觉过程中协调不同脑区之间的通信, 并与WM任务需求有特定的相关性<sup>[9]</sup>。Sedghizadeh等<sup>[10]</sup>通过对Wistar大鼠的研究发现, 大鼠前额叶、海马脑区theta-gamma相位幅值耦合可以作为大鼠模型中由于神经退行性变引起的记忆障碍的诊断工具; Ku等<sup>[11]</sup>通过记录大鼠海马体不同位置的电生理信号发现, CA3神经元与CA1神经元theta振荡的相位同步性对成功的识别记忆起着重要作用; Kumar等<sup>[12]</sup>研究了重复成对关联刺激对AD患者背外侧前额叶皮层(dorsolateral prefrontal cortex, DLPFC)可塑性和WM性能的影响, 结果发现, 经过2周的刺激后, 刺激组患者在WM期间存在theta-gamma耦合增强的现象, 而对照组没有显著性变化。因此, 探究通过干预SWM相关神经振荡及其同步性调控SWM的方法对WM障碍的治疗具有重要的科学价值。

近年来, 非侵入性脑部刺激(non-invasive brain stimulation, NIBS)技术在改善认知功能障碍方面展现了良好的应用前景, 受到了国内外研究人员的广泛关注。其通过对大脑皮质神经元进行刺激, 改变大脑皮质神经元的兴奋性, 从而达到对目标受试认知能力的调控作用<sup>[13-14]</sup>。作为典型的NIBS技术, 经颅磁刺激(transcranial magnetic stimulation, TMS)可以通过夹带大脑特定频段的神经振荡优化神经兴奋性和不同神经信号模式之间共编码改善WM<sup>[3, 15-17]</sup>。间断theta脉冲磁刺激(intermittent theta burst stimulation, iTBS)是一种新兴的TMS技术, 已被应用于多种神经类疾病的科学研究与临床治疗中<sup>[18]</sup>。与传统TMS技术相

比, iTBS能以较低的刺激强度在较短时间内对特定神经元集群产生持久的后效应, 被认为是更有效的WM障碍调控刺激手段<sup>[19]</sup>。Zhang等<sup>[20-21]</sup>研究发现, 重复经颅磁刺激(repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS)可以显著提高大鼠WM中局部场电位(local field potential, LFP)信号theta频段和gamma频段的时频能量; Giacomo等<sup>[22]</sup>通过对比经过20 Hz rTMS刺激的AD患者与对照组AD患者的局部gamma振荡, 发现刺激后AD患者的局部gamma振荡显著增强。Albouy等<sup>[23]</sup>研究发现, TMS可以通过夹带效应调节被试背侧通路的theta振荡, 从而调节被试的听觉WM能力。然而, TMS对神经振荡及其同步性的调节尚不清晰。

基于此, 本研究旨在探索iTBS对Wistar大鼠SWM改善的神经振荡机制, 分析刺激后大鼠SWM任务过程中前额叶皮层(prefrontal cortex, PFC)及海马体(hippocampus, HPC)脑区内theta频段(4~12 Hz)与gamma频段(30~80 Hz)LFP信号的时频能量、相位同步性以及相位-幅值耦合的变化, 并对不同电生理参数与行为学正确率进行相关性分析, 探究iTBS对WM相关脑区之间神经振荡的影响及iTBS改善SWM的电生理机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

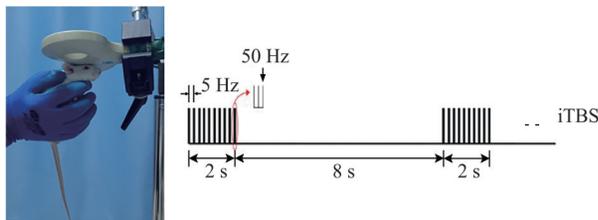
Wistar大鼠是实验室研究中最常用的大鼠品系之一, 其遗传背景相对稳定, 且在其年龄增长过程中可能出现神经退行性变、 $\beta$ 淀粉样蛋白沉积和认知功能损害等AD相关病理特征。因此Wistar大鼠成为研究AD病理生理学和评估潜在治疗方法的合适模型。基于此, 本研究的动物样本为采购于北京维通利华实验动物技术有限公司的12只成年Wistar大鼠(6~8周龄)与12只老年Wistar大鼠(72~80周龄)。本实验已由河北工业大学生物医学伦理委员会审查通过(审查编号: HEBUTaCUC2021022)。成年大鼠与老年大鼠分别被随机均分为两组(成年对照组(AC) vs 成年刺激组(AS); 老年对照组(EC) vs 老年刺激组(ES)), 每只大鼠随机进行编号。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 iTBS

本研究以测量大鼠的运动阈值为基础确定iTBS的刺激强度, 最终确定刺激强度为100%运动

阈值<sup>[24-25]</sup>。经过测定,确定最终刺激强度的大小约为0.48 T。iTBS采用英国Magstim公司生产的Rapid2重复脉冲磁刺激系统,使用8字型线圈,进行刺激时,线圈平行于大鼠顶骨头皮表面,置于其上方2~3 mm处。iTBS的丛间频率为5 Hz,每个丛刺激内包括3个频率为50 Hz的单脉冲,刺激模式为每隔8 s发放一次时长2 s的丛刺激(图1)。成年刺激组与老年刺激组大鼠于每日9:00~12:00接受一次iTBS,单次刺激时长200 s,共计600个脉冲,连续刺激14 d。成年对照组与老年对照组大鼠,于每日同一时间段内进行iTBS假刺激,即将线圈垂直于大鼠顶骨头皮表面放置,以保证其有效刺激面不会对大鼠产生刺激效果,刺激参数与刺激组一致,并同时与刺激组相同的抚摸、抓握等操作。



**Fig. 1 Stimulus diagram and stimulus mode diagram**

The iTBS used has an intra cluster frequency of 50 Hz and an inter cluster frequency of 5 Hz.

### 1.2.2 实验设置

iTBS结束后通过在体多通道微电极植入手术,在大鼠PFC和HPC内植入Plexon公司生产的2×8通道双脑区微电极阵列,电极丝的材料为是镍铬合金丝,其表面包裹有聚酰亚胺作为绝缘层,直径为25 μm,电极丝之间的间距为300 μm,手术时在大鼠PFC和HPC脑区内各植入8个通道的电极阵列。术后静养恢复48 h,并保证大鼠正常饮食饮水。之后,将大鼠置于T迷宫中令其自由探索(连续2 d,30 min/d),以保证大鼠熟悉T迷宫环境,从而保证行为学实验顺利进行。随后进行基于食物奖励的T迷宫SWM行为学任务,统计每只大鼠学会SWM行为学任务规则所用天数并记录每只大鼠每日执行SWM行为学任务的正确率,使用Plexon公司生产的Cineplex Studio软件和OmniPlex Server软件同步采集大鼠SWM任务过程中的行为学视频以及神经电信号。其中,神经电信号的采样率为1 kHz,并通过500 Hz低通滤波器从神经电信号中提取LFP数据(在体多通道微电极植入手术及T迷宫实验操

作见参考文献[21])。

### 1.2.3 局部场电位信号预处理

本研究选择大鼠学会行为学任务规则后的数据作为有效数据,并截取大鼠在T迷宫行为学任务延时交替选择阶段经过行为学参考点前后各2 s的原始LFP信号(共4 000个采样点)作为有效数据进行后续分析。采用陷波器和切比雪夫I型滤波器去除50 Hz工频干扰以及基线漂移。预处理完成后,使用巴特沃斯滤波器提取PFC和HPC脑区theta频段及gamma频段的神经振荡,利用希尔伯特变换提取PFC和HPC脑区theta频段和gamma频段神经振荡相位及幅值信息(图2)。图2a和2b分别为提取到的theta频段和gamma频段神经振荡;图2c和2d分别为提取到的两脑区theta频段神经振荡的相位和部分两脑区gamma频段神经振荡的相位;图2e为PFC脑区theta频段神经振荡的相位信号和HPC脑区gamma频段神经振荡的幅值信号;图2f为HPC脑区theta频段神经振荡的相位信号和PFC脑区gamma频段神经振荡的幅值信号。

### 1.2.4 基于短时傅里叶变换的时频分析

短时傅里叶变换(short-time Fourier transform, STFT)是一种常见的信号时域分析方法,其基本思想是使用窗函数截取信号,计算时间窗内信号的频谱分布并以一定的步长滑动窗函数进行计算,得到频率随时间的变化关系,即信号的时域分布特征。STFT的定义为:

$$\text{STFT}(f, \tau) = \int_{-\infty}^{+\infty} [x(t)w(t - \tau)]e^{-j2\pi ft} dt \quad (1)$$

式中 $x(t)$ 为已知的时间信号, $w(t - \tau)$ 为窗函数, $f$ 为频率。最后的结果是信号 $x(t)$ 在 $t = \tau$ 处,窗函数宽度内的傅里叶变换,通过代入不同的时间点 $\tau$ ,就可以得到各个时间段内信号的频率信息。本研究中选取汉明窗函数,窗口宽度为1 000 ms,时移步长为200 ms。频谱则为STFT后结果绝对值的平方:

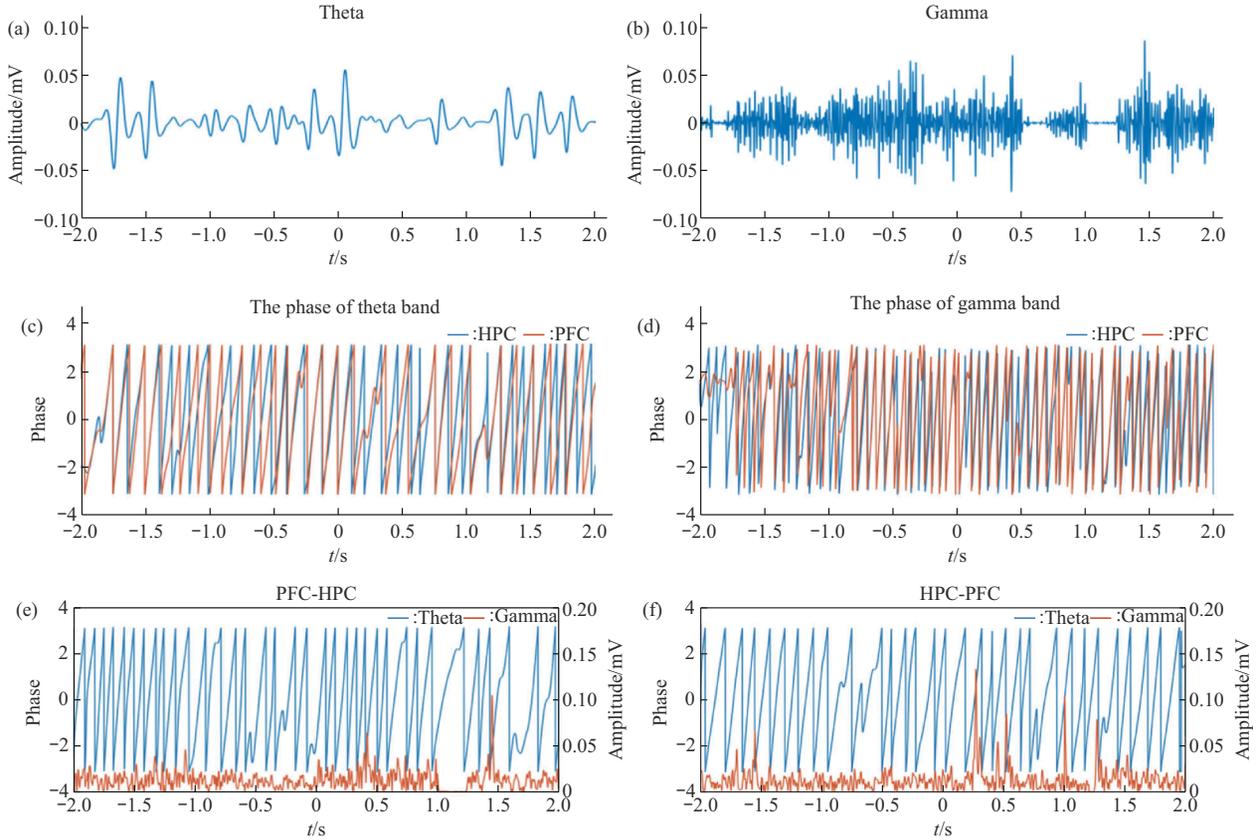
$$P(f, t) = |\text{STFT}(f, t)|^2 \quad (2)$$

选取PFC及HPC两个脑区theta和gamma频段的LFP信号计算信号的时频能量分布,对比各组大鼠WM过程中时频能量的差异。

### 1.2.5 基于相位锁定值的相位同步性分析

本研究通过计算相位锁定值(phase locking value, PLV)的方法表征各频段信号间的相位同步关系。PLV的计算过程如下:

a. 对于给定的信号 $x(n)$ 以及 $y(n)$ ,利用希尔伯



**Fig. 2 Schematic diagram of segmentation effect and cross-frequency coupling**

(a, b) Corresponding to the extracted time domain sequence of the theta band (a) and gamma band (b) signals; (c, d) corresponding to phase maps of LFP signals in theta (c) and some gamma (d) frequency bands (800 sampling points) of two brain regions; (e, f) corresponding to schematic diagram of phase-amplitude coupling between the phase of the PFC-HPC (e) and HPC-PFC (f) low-frequency signals and the amplitude of the high-frequency signal.

特变换提取出其相位信号  $\Phi_1(n)$  与  $\Phi_2(n)$ 。

b. 根据两信号的相位信号计算相位锁定值:

$$PLV = \left| \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N e^{i(\Phi_1(n) - \Phi_2(n))} \right| \quad (3)$$

其中  $PLV$  的取值范围在 0~1 之间,  $PLV$  越接近 0, 表示两信号间的相位同步性越低,  $PLV$  越接近于 1, 则表示两信号间的相位同步性越高。本研究以提取到的两脑区 theta 和 gamma 频段的相位信号为基础, 通过式 (3) 分别计算各组大鼠 WM 任务过程中跨脑区 theta 频段和 gamma 频段的  $PLV$  矩阵。通过对比分析, 探究 iTBS 对大鼠 WM 过程中跨脑区神经振荡相位同步性的影响。

### 1.2.6 基于调制指数的相位-幅值耦合分析

本研究以相位-幅值耦合调制指数 (modulation index,  $MI$ ) 量化跨脑区 theta 及 gamma 频段神经振荡的相位-幅值耦合。对于给定的低频信号  $x(n)$  以及高频信号  $y(n)$ ,  $MI$  的计算过程如下:

a. 通过希尔伯特变换提取  $x(n)$  的相位时间信号  $\theta_x(n)$  和  $y(n)$  幅值时间信号  $a_y(n)$ 。

b. 将  $\theta_x(n)$  和  $a_y(n)$  合并形成新的相位-幅值信号  $Z_{xy}(n)$ 。

c. 利用希尔伯特变换提取  $Z_{xy}(n)$  的相位信号, 并将其等分为 18 个相位 bin, 计算每个 bin 中的平均幅值  $\bar{a}_j$ , 并将其归一化:

$$p(j) = \frac{\bar{a}_j}{\sum_{k=1}^N \bar{a}_k} \quad (4)$$

其中  $N$  为 bin 的总数目,  $j$  表示第  $j$  个相位 bin。

d. 之后计算香农熵:

$$H = -\sum_{j=1}^N p(j) \log_2 p(j) \quad (5)$$

e. 则  $MI$  的计算公式为:

$$MI = \frac{H_{\max} - H}{H_{\max}} \quad (6)$$

其中  $H_{\max}$  为  $H$  的最大值, 其只有当  $P = \frac{1}{N}$  时取得,

MI的取值范围在0~1之间，MI的值越大表示两信号之间的相位-幅值耦合性越强。基于此，本研究使用希尔伯特变换提取两脑区theta频段的相位信号和gamma频段的幅值信号，分别计算前额叶-海马脑区以及海马-前额叶脑区theta频段信号相位及gamma频段信号幅值之间的相位幅值耦合调制指数，研究iTBS对大鼠WM期间LFP信号相位-幅值耦合性的影响。

### 1.2.7 基于皮尔逊相关系数的相关性分析

为了探究各频段信号的电生理参数与大鼠认知功能的关系，本研究对大鼠行为学实验正确率分别与求得的时频能量、PLV以及MI进行相关性分析，包括散点图的绘制和相关系数的计算。相关系数的计算方法如下所示：

$$\rho_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} \quad (7)$$

式中  $x_i$  和  $y_i$  为两个待求变量， $\bar{x}$  和  $\bar{y}$  为其各自的平

均值。 $\rho_{xy}$  为相关系数，其范围为  $-1 \leq \rho_{xy} \leq 1$ ，越接近-1，两变量负相关程度越高，越接近1，则正相关程度越高，为0时，两个变量互不相关。

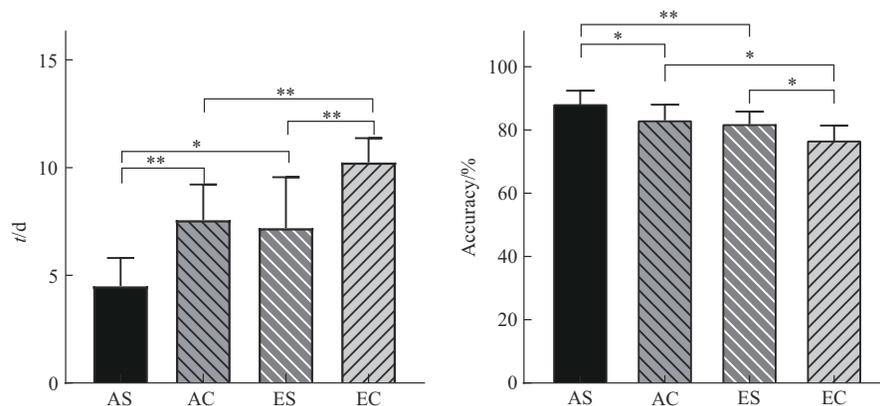
### 1.2.8 统计分析

本研究采用  $t$  检验法分别对各组大鼠同一频段神经振荡的平均时频能量、各组大鼠同一频段神经振荡的平均PLV、各组大鼠跨脑区神经振荡的平均MI进行统计学检验，以  $P$  值表示各组数据之间差异的显著性水平。当  $P < 0.05$  时，表示两组数据之间的差异具有统计学意义，并记为“\*”，当  $P < 0.01$  时，表示两组数据之间的差异具有显著的统计学意义，记为“\*\*”。

## 2 结 果

### 2.1 iTBS对大鼠工作记忆行为学能力的影响

本研究以大鼠学会SWM行为学任务规则所用时间(天)及各组大鼠学会任务规则后的平均正确率反映各组大鼠的SWM能力(图3)。



**Fig. 3 The average number of days and the average accuracy rate of each group learning SWM behavior experiment rules**

The data obtained after statistical analysis is displayed in the form of “mean ± standard deviation”. The figure on the left shows the average number of days for the four groups of rats to learn the experimental rules of SWM behavior: AS (4.50±1.309) d, AC (7.56±1.657) d, ES (7.20±2.354) d, and EC (10.25±1.118) d. The figure on the right shows the average accuracy of the four groups of rats after learning the SWM behavioral task: AS (88.50±1.247)%, AC (83.44±1.632)%, ES (82.19±1.288)%, and EC (77.00±2.000)%. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ . AS: adult stimulation group; AC: adult control group; ES: elderly stimulation group; EC: elderly control group.

结果显示，老年对照组大鼠所用时间显著多于成年对照组大鼠 ( $P=0.0056$ )，老年刺激组大鼠所用时间显著少于老年对照组大鼠 ( $P=0.0090$ )，成年刺激组大鼠显著少于成年对照组大鼠 ( $P=0.0011$ )，而老年刺激组与成年对照组大鼠所用时间之间的差异无统计学意义 ( $P=0.4805$ )。同时，老年对照组大鼠行为学任务平均正确率低于成年对照组大鼠 ( $P=0.0249$ )，老年刺激组大鼠平均正确率高于老

年对照组大鼠 ( $P=0.0490$ )，成年刺激组大鼠高于成年对照组大鼠 ( $P=0.0285$ )，而老年刺激组与成年对照组大鼠平均正确率之间的差异无统计学意义 ( $P=0.6019$ )。结果证明，随着年龄的增长，大鼠脑认知功能下降，从而使大鼠出现一定程度的SWM障碍，iTBS可以提高成年大鼠和老年大鼠的SWM能力，改善由于年龄增加引起的老年大鼠大脑认知功能退化，增强大鼠的脑认知功能。

## 2.2 时频能量

### 2.2.1 theta频段神经振荡的时频分布

应用时频分析方法, 对4组大鼠SWM行为学任务期间PFC及HPC脑区theta频段神经振荡的时频能量进行分析, 取同组大鼠所有正确进行T迷宫实验时同脑区8个通道的数据进行平均(图4)。结

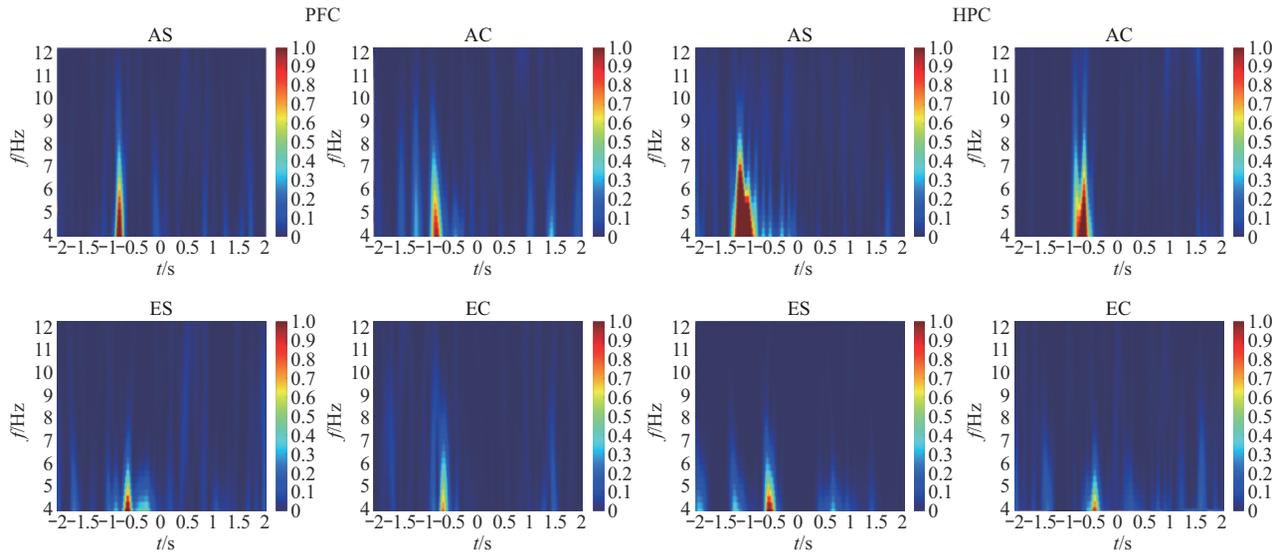


Fig. 4 Time-frequency energy map of theta band LFP signals in PFC and HPC in each group of rats

进一步分析各组大鼠进行SWM行为学任务时PFC及HPC脑区theta频段神经振荡的平均时频能量, 并进行统计学对比分析(图5)。结果显示, 对于大鼠PFC脑区theta频段神经振荡的平均时频能量, 成年对照组大鼠显著高于老年对照组大鼠( $P < 0.0001$ )且显著低于成年刺激组大鼠( $P < 0.0001$ ), 老年刺激组大鼠高于老年对照组大鼠( $P = 0.0144$ ), 表明随着年龄的增长, 大鼠进行SWM行为学任务时PFC脑区theta频段能量会出现一定程度的下降, iTBS可以提高成年大鼠和老年大鼠进行SWM行为学任务时PFC脑区theta频段能量, 改善由于年龄增长造成的老年大鼠进行SWM行为学任务时PFC脑区theta频段神经振荡能量的降低。同样, 对于大鼠HPC脑区theta频段神经振荡的平均时频能量, 成年对照组大鼠显著高于老年对照组大鼠( $P < 0.0001$ )且低于成年刺激组大鼠( $P = 0.0302$ ), 老年刺激组大鼠显著高于老年对照组大鼠( $P = 0.0062$ ), 表明随着年龄的增长, 大鼠进行SWM行为学任务时HPC脑区theta频段能量会出现一定程度的下降, iTBS可以提高成年大鼠和老年大鼠进行SWM行为学任务时HPC脑区theta频

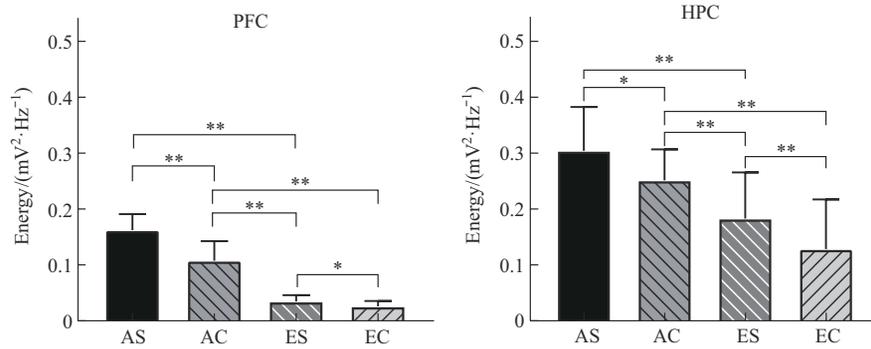
果显示, 4组大鼠两脑区theta频段神经振荡的能量峰值均出现于参考点前0.5~1 s内, 并且成年刺激组大鼠较其他组大鼠神经振荡能量峰值出现的时间更早, 老年对照组大鼠较其他组大鼠神经振荡能量峰值出现的时间更晚, 这可能是由于认知功能强的大鼠可以更早地对行为学任务产生反应。

段能量, 改善由于年龄增长造成的老年大鼠进行SWM行为学任务时HPC脑区theta频段神经振荡能量的降低。

### 2.2.2 gamma频段神经振荡的时频分布

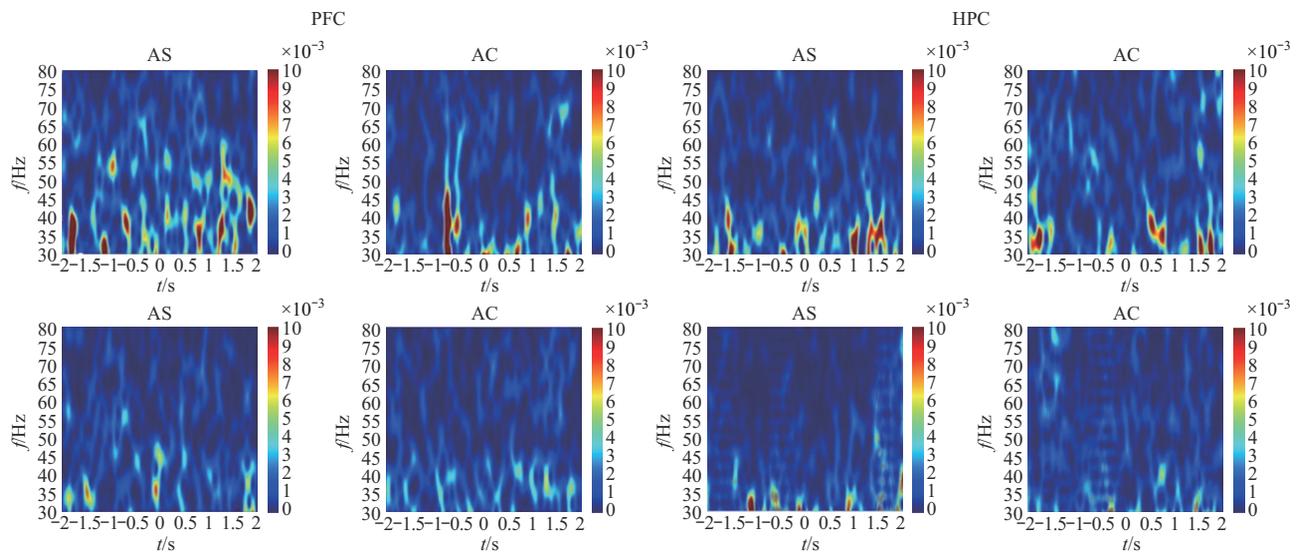
对4组大鼠PFC及HPC脑区gamma频段的神经振荡的时频能量进行分析, 发现其能量在时间维度上分布较为平均且明显低于theta频段神经振荡的时频能量(图6)。

进一步分析各组大鼠进行SWM行为学任务时两脑区gamma频段的平均时频能量, 并进行统计学对比分析(图7)。对于大鼠PFC脑区gamma频段神经振荡的平均时频能量, 研究发现, 随着年龄的增长, 老年对照组大鼠进行SWM行为学任务时PFC脑区gamma频段神经振荡的时频能量显著低于成年对照组大鼠( $P < 0.0001$ ), 成年刺激组大鼠gamma频段神经振荡的平均时频能量显著高于老年对照组( $P < 0.0001$ ), 老年刺激组显著高于老年对照组( $P = 0.0006$ ), 表明, iTBS可以提高成年大鼠和老年大鼠进行SWM行为学任务时PFC脑区gamma频段能量, 改善老年大鼠进行SWM行为学任务时由于年龄增加而引起的PFC脑区gamma频

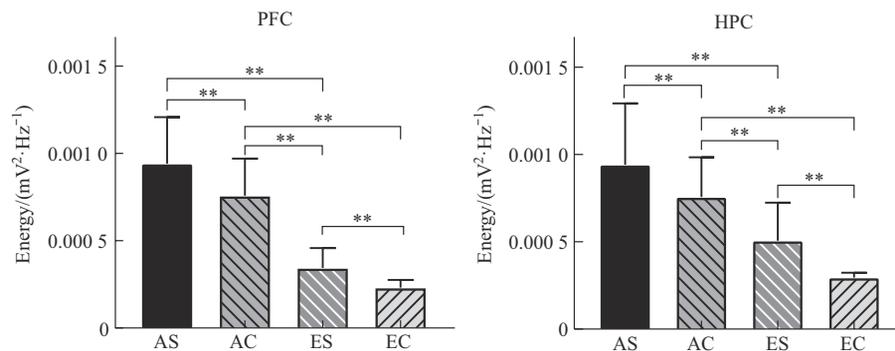


**Fig. 5** Average time-frequency energy statistics of theta band LFP signals in each group of rat PFC and HPC

The left figure shows the average time-frequency energy of the theta band LFP signals in the PFC brain regions of four groups of rats, which are AS ( $0.162 \pm 0.029$ )  $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , AC ( $0.108 \pm 0.035$ )  $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , ES ( $0.035 \pm 0.012$ )  $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , and EC ( $0.026 \pm 0.009$ )  $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , respectively. The right figure shows the average time-frequency energy of the theta band LFP signals in the HPC brain regions of four groups of rats, which are AS ( $0.305 \pm 0.078$ )  $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , AC ( $0.251 \pm 0.056$ )  $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , ES ( $0.183 \pm 0.083$ )  $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , and EC ( $0.129 \pm 0.089$ )  $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , respectively. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .



**Fig. 6** Time-frequency energy map of gamma band LFP signals in PFC and HPC in each group of rats



**Fig. 7** Average time-frequency energy statistics of gamma band LFP signals in each group of rat PFC and HPC

The left figure shows the average time-frequency energy of the gamma band LFP signals in the PFC brain regions of four groups of rats, which are AS ( $9.420 \pm 2.665$ )  $\times 10^{-4}$   $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , AC ( $7.576 \pm 2.127$ )  $\times 10^{-4}$   $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , ES ( $3.448 \pm 1.133$ )  $\times 10^{-4}$   $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , and EC ( $2.317 \pm 0.114$ )  $\times 10^{-4}$   $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , respectively. The right figure shows the average time-frequency energy of the gamma band LFP signals in the HPC brain regions of four groups of rats, which are AS ( $9.420 \pm 3.507$ )  $\times 10^{-4}$   $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , AC ( $7.563 \pm 2.287$ )  $\times 10^{-4}$   $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , ES ( $5.075 \pm 2.169$ )  $\times 10^{-4}$   $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , and EC ( $2.955 \pm 0.701$ )  $\times 10^{-4}$   $\text{mV}^2/\text{Hz}$ , respectively. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .

段能量的降低。对于大鼠HPC脑区gamma频段神经振荡的平均时频能量, 研究发现, 随着年龄的增长, 老年对照组大鼠进行SWM行为学任务时HPC脑区gamma频段神经振荡的时频能量显著低于成年对照组大鼠 ( $P < 0.0001$ ), 成年刺激组大鼠gamma频段神经振荡的平均时频能量显著高于老年对照组 ( $P = 0.0053$ ), 老年刺激组显著高于老年对照组 ( $P < 0.0001$ ), 表明, iTBS可以提高成年大鼠和老年大鼠进行SWM行为学任务时HPC脑区gamma频段能量, 改善老年大鼠进行SWM行为学任务时由于年龄增加而引起的HPC脑区gamma频段能量的降低 (各组大鼠进行SWM行为学任务过程中平均能量峰值的对比分析见图S1)。

### 2.2.3 时频能量值与正确率的相关性

为了探究大鼠进行SWM行为学任务期间两脑区时频能量值的大小与大鼠认知能力强弱之间的关联性, 本研究基于皮尔逊相关系数, 对所有大鼠每天进行SWM行为学任务的正确率与当天大鼠进行WM行为学任务期间两脑区各频段时频能量平均值进行相关性分析, 并绘制其散点图 (图8)。

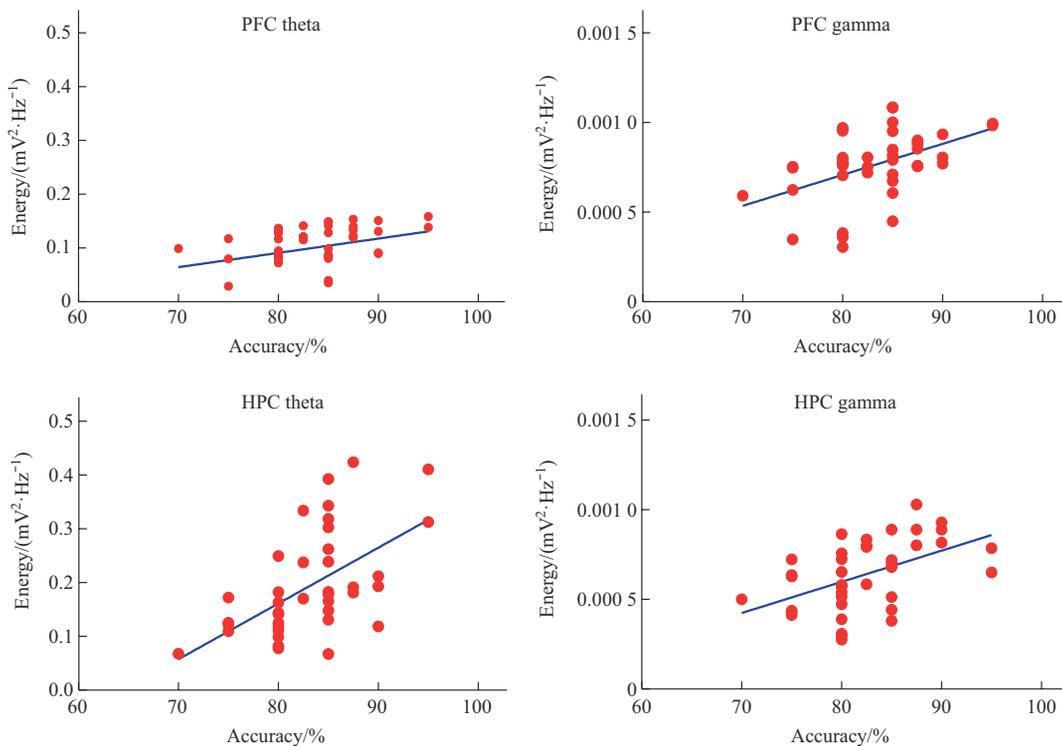
大鼠进行WM行为学任务期间两脑区各频段

神经振荡的时频能量与行为学任务正确率的散点图均大致成一条向上的斜线, 结合其皮尔逊相关系数: PFC theta频段 ( $\rho = 0.393$ ,  $P = 0.0043$ )、PFC gamma频段 ( $\rho = 0.478$ ,  $P = 0.0018$ )、HPC theta频段 ( $\rho = 0.561$ ,  $P = 0.0002$ ) 以及HPC gamma频段 ( $\rho = 0.495$ ,  $P = 0.0013$ ), 表明大鼠进行SWM行为学任务期间两脑区theta频段及gamma频段神经振荡的时频能量与行为学任务正确率之间呈正相关关系, 即在大鼠进行SWM行为学任务期间两脑区theta频段及gamma频段神经振荡的时频能量的大小与大鼠认知能力的强弱呈正相关, SWM行为学任务期间两脑区theta频段及gamma频段神经振荡的能量值越高, 大鼠进行SWM行为学实验的表现越好, 大鼠的认知能力越强。

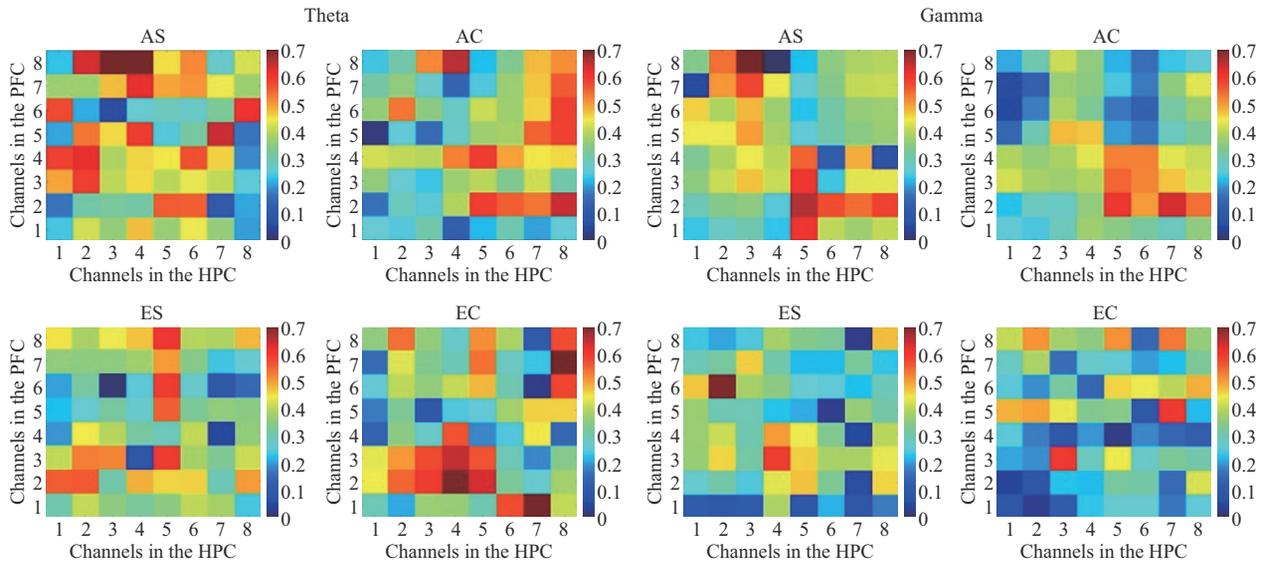
## 2.3 相位同步性

### 2.3.1 跨脑区各频段信号的相位同步性

本研究基于PLV对各组大鼠PFC及HPC脑区内theta频段和gamma频段神经振荡的相位同步性进行分析。计算各组大鼠所有正确进行T迷宫实验时跨脑区神经振荡的平均PLV值, 得到各通道间的相位同步性 (图9)。



**Fig. 8** Scatter plots of time–frequency energy and behavioral task accuracy of LFP signals in the theta and gamma frequency bands of two brain regions during WM behavioral tasks in rats

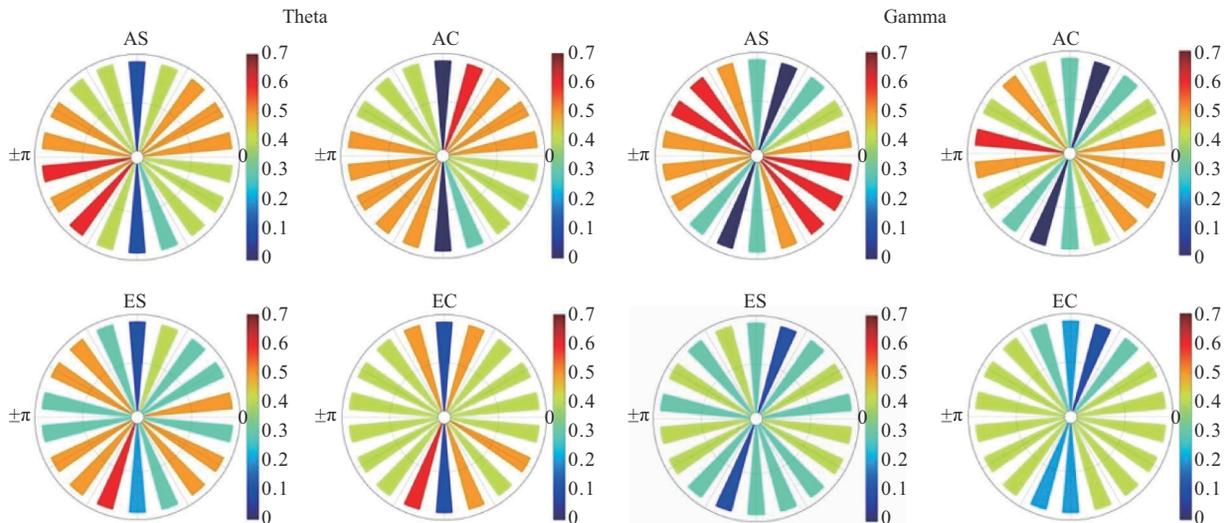


**Fig. 9 Mean PLV of theta and gamma frequency band neural oscillations between channels of PFC and HPC brain regions in each group**

The horizontal axis represents 8 microfilament electrode channels in the HPC brain area, and the vertical axis represents 8 microfilament electrode channels in the PFC brain area.

为了直观展示大鼠WM期间PFC及HPC脑区神经振荡不同相位之间的相位同步性，本研究将大鼠PFC脑区神经振荡的相位均分为18个相位bin，

计算每个相位bin中同一时间段内theta频段和gamma频段信号的PLV（图10）。



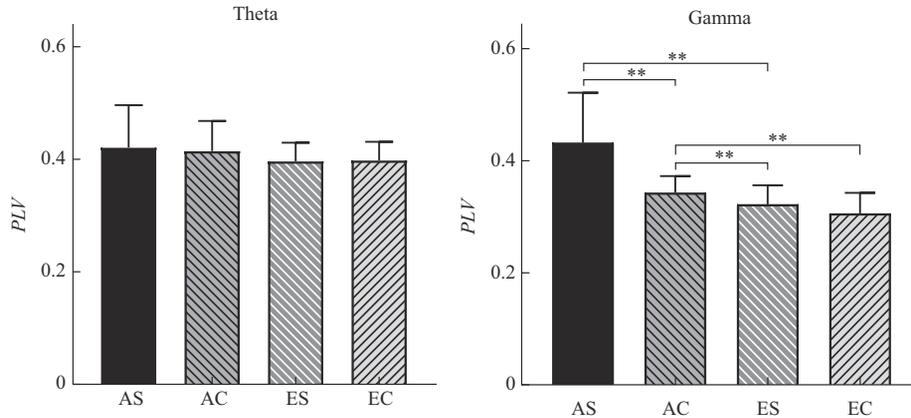
**Fig. 10 PLV of each phase of the PFC and HPC brain regions in the theta band and gamma band LFP signals in each group**  
Each colored small sector in the figure represents a phase bin, which is divided into 18 phase bins between  $-\pi$  and  $\pi$ . The left image shows the PLV of the theta frequency band LFP signals in both brain regions, while the right image shows the PLV of the gamma frequency band LFP signals in both brain regions.

结果显示，两个脑区theta频段之间PLV的最低值总是出现在PFC脑区theta频段相位信号的

$4\pi/9 \sim 5\pi/9$ 的相位bin中。而在gamma频段，各组大鼠之间的HPC与PFC脑区内gamma频段神经振荡

PLV的最低值并未出现与theta频段一样的规律, 并且各组大鼠HPC与PFC脑区内gamma频段神经振荡PLV在数值大小方面具有一定的差异。因此进

一步计算各组大鼠在执行T迷宫SWM行为学实验过程中, HPC与PFC脑区内的theta频段和gamma频段神经振荡的平均PLV(图11)。



**Fig. 11 Average PLV of LFP signals in the two brain bands of the rats in the theta band and gamma band**

The left figure shows the average PLV of the theta frequency band LFP signals in the two brain regions of four groups of rats, namely AS (0.4210±0.0754), AC (0.4147±0.0535), ES (0.3966±0.0330), and EC (0.3984±0.0328); the figure on the right shows the average PLV of gamma frequency band LFP signals in the two brain regions of four groups of rats, namely AS (0.4322±0.0894), AC (0.3429±0.0297), ES (0.3222±0.0340), and EC (0.3058±0.0369). \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ .

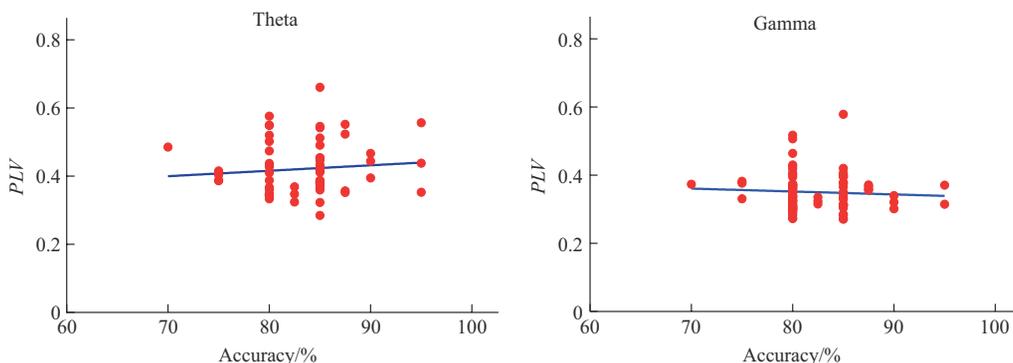
结果发现, 各组大鼠跨脑区theta频段平均PLV之间的差异均无统计学意义, 提示iTBS后, 大鼠SWM期间跨脑区theta频段相位同步性未发生变化。而在gamma频段, 与成年对照组相比, 老年对照组大鼠在执行SWM行为学任务过程中HPC与PFC之间的gamma频段神经振荡的PLV数值显著降低 ( $P=0.0005$ ), 成年刺激组大鼠显著增高 ( $P<0.0001$ ), 老年对照组大鼠与老年刺激组大鼠SWM行为学任务过程中跨脑区gamma频段LFP信号的PLV数值之间的差异不具有统计学意义 ( $P=0.1670$ ), 表明随着年龄的增长, 大鼠执行SWM任务过程中跨脑区gamma频段神经振荡的相位同步性降低, iTBS可以有效提升成年大鼠执行SWM

任务过程中跨脑区gamma频段神经振荡的相位同步性, 但对老年大鼠执行SWM任务过程中跨脑区gamma频段神经振荡的相位同步性没有显著影响。

### 2.3.2 相位锁定值与正确率的相关性

本研究基于皮尔逊相关系数, 进一步对所有大鼠每天进行SWM行为学任务的正确率与当天大鼠进行SWM行为学任务期间跨脑区theta频段和gamma频段神经振荡的平均PLV进行相关性分析, 并绘制其散点图(图12)。

结果显示, 大鼠进行SWM行为学任务期间跨脑区theta频段神经振荡的平均PLV与行为学任务正确率的散点图大致呈一条向上的斜线, 但其趋势不明显, 皮尔逊相关系数为 $\rho=0.098$  ( $P=0.4464$ );



**Fig. 12 Scatterplot of average PLV and behavioral task accuracy of LFP signals in both brain regions theta and gamma band during WM behavioral task in rats**

同时,大鼠进行SWM行为学任务期间跨脑区gamma频段神经振荡的平均 $PLV$ 与行为学任务正确率的散点图大致呈一条向下的斜线,但其趋势不明显,皮尔逊相关系数为 $\rho=-0.063$  ( $P=0.5789$ ),结果证明大鼠进行SWM行为学任务期间跨脑区theta和gamma频段神经振荡的平均 $PLV$ 与行为学任务正确率之间无相关关系。

## 2.4 相位-幅值耦合

### 2.4.1 跨脑区相位-幅值耦合

本研究基于 $MI$ 对各组大鼠执行WM行为学任务期间PFC脑区与HPC脑区跨脑区theta频段神经振荡的相位及gamma频段神经振荡的幅值之间的相位幅值耦合进行分析,并取同组大鼠所有正确进行T迷宫实验时同脑区8个通道的数据进行平均(图13)。

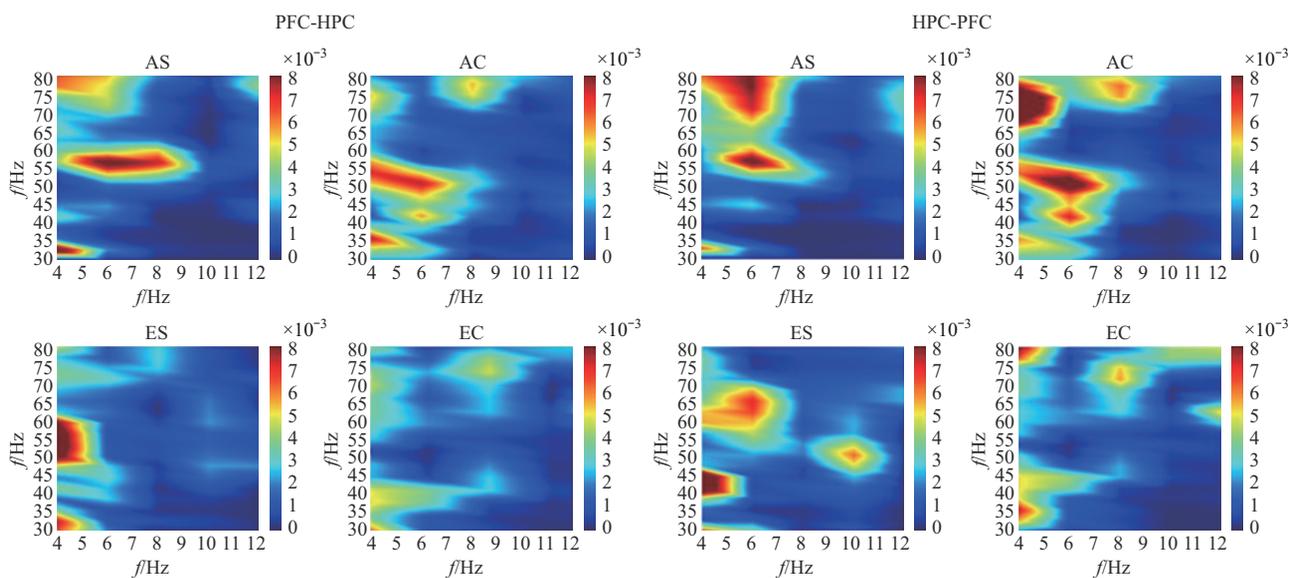


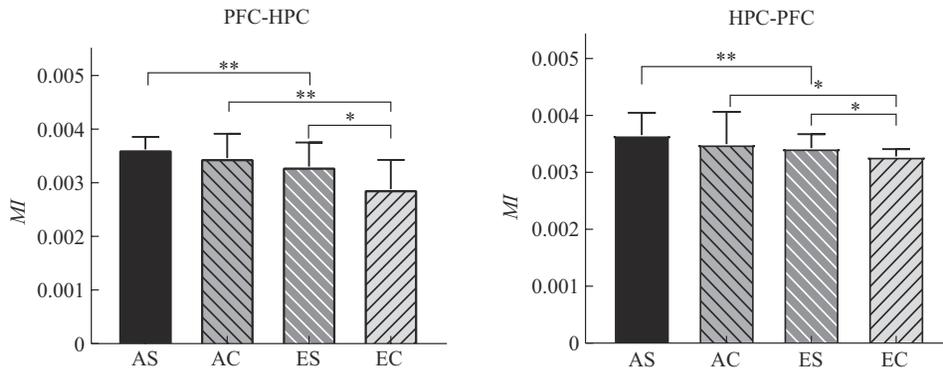
Fig. 13 PFC-HPC and HPC-PFC phase amplitude coupling diagram of rats in each group

The horizontal and vertical coordinates of the image represent the frequency range of the theta band and gamma band signals, respectively, and the shade of color indicates the value of  $MI$ .

结果显示,各组大鼠前额叶-海马的相位幅值耦合 $MI$ 峰值均出现于前额叶theta频段信号的低频部分(4~8 Hz),且随着行为学表现的提高,其峰值有向theta频段信号的高频范围移动的趋势。与之类似,各组大鼠海马-前额叶的相位幅值耦合的峰值均出现于海马theta频段信号的低频部分(4~8 Hz),且随着行为学表现的提高,其峰值有向前额叶gamma频段信号的高频范围移动的趋势。并且在数值上,前额叶-海马相位-幅值耦合以及海马-前额叶相位-幅值耦合均表现为成年组强于老年组,刺激组强于对照组。在此基础上,进一步计算4组大鼠在SWM行为学任务期间前额叶-海马及海马-前额叶 $MI$ 的平均值,并进行统计学分析(图14)。

结果显示,与成年对照组大鼠相比,老年对照

组大鼠执行SWM行为学任务过程中前额叶-海马的平均 $MI$ 显著降低( $P=0.0002$ ),而老年刺激组大鼠执行SWM行为学任务过程中前额叶-海马的平均 $MI$ 高于老年对照组大鼠( $P=0.0180$ ),但在成年大鼠中,虽然刺激组大鼠执行SWM行为学任务过程中前额叶-海马的平均 $MI$ 虽略高于成年对照组大鼠,但不具有统计学意义( $P=0.0734$ )。同样,与成年对照组大鼠相比,老年对照组大鼠执行SWM行为学任务过程中海马-前额叶的平均 $MI$ 降低( $P=0.0277$ ),而老年刺激组大鼠执行SWM行为学任务过程中海马-前额叶的平均 $MI$ 高于老年对照组大鼠( $P=0.0221$ ),但在成年大鼠中,虽然刺激组大鼠执行SWM行为学任务过程中海马-前额叶的平均 $MI$ 虽略高于成年对照组大鼠,但不具有统计学意义( $P=0.4817$ )。结果表明,随着年龄的增长,老



**Fig. 14** Statistical chart of mean *MI* of PFC-HPC and HPC-PFC in each group of rats

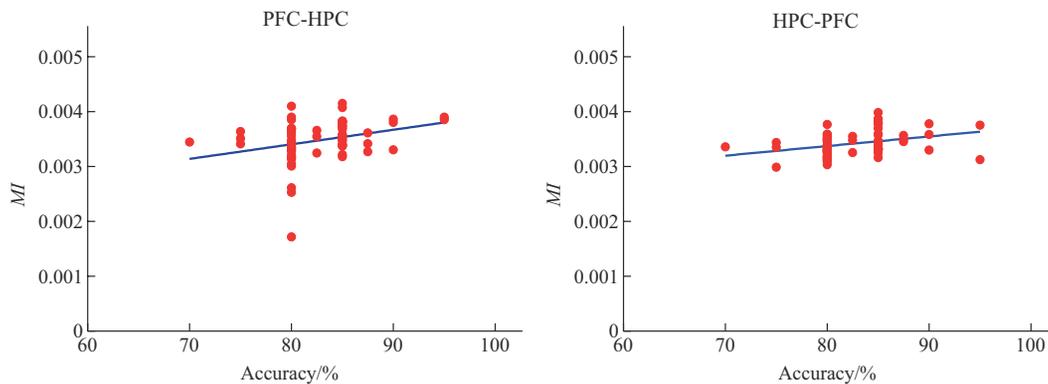
The left figure shows the average *MI* of PFC-HPC in each group of rats during WM behavioral tasks, which are AS ( $3.625 \pm 0.230 \times 10^{-3}$ ), AC ( $3.461 \pm 0.454 \times 10^{-3}$ ), ES ( $3.304 \pm 0.447 \times 10^{-3}$ ), and EC ( $2.880 \pm 0.547 \times 10^{-3}$ ), respectively; the figure on the right shows the average *MI* of HPC-PFC in each group of rats during WM behavioral tasks, which are AS ( $3.674 \pm 0.379 \times 10^{-3}$ ), AC ( $3.534 \pm 0.489 \times 10^{-3}$ ), ES ( $3.436 \pm 0.238 \times 10^{-3}$ ), and EC ( $3.282 \pm 0.131 \times 10^{-3}$ ), respectively. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .

年大鼠执行SWM行为学任务过程中跨脑区theta频段和gamma频段神经振荡相位-幅值耦合性显著减弱, iTBS可以增强老年大鼠执行SWM行为学任务过程中跨脑区theta频段和gamma频段神经振荡相位-幅值耦合程度, 但不能影响成年大鼠执行SWM行为学任务过程中跨脑区theta频段和gamma频段

神经振荡相位-幅值耦合程度。

#### 2.4.2 调制指数与正确率的相关性

本研究基于皮尔逊相关系数, 对所有大鼠每天进行SWM行为学任务的正确率与当天大鼠进行SWM行为学任务期间跨脑区平均*MI*进行相关性分析, 并绘制其散点图(图15)。



**Fig. 15** Scatterplot of mean *MI* of PFC-HPC and HPC-PFC versus behavioral task accuracy during WM behavioral task in rats

结果显示, 大鼠进行SWM行为学任务期间前额叶-海马平均*MI*以及海马-前额叶平均*MI*与行为学任务正确率的散点图均大致成一条向上的斜线, 结合其皮尔逊相关系数: 前额叶-海马 ( $\rho = 0.301$ ,  $P < 0.05$ )、海马-前额叶 ( $\rho = 0.343$ ,  $P < 0.01$ ), 证明大鼠进行SWM行为学任务期间跨脑区theta频段相位信号与gamma频段幅值信号的平均*MI*与行为学任务正确率之间呈正相关关系, 即大鼠进行SWM

行为学任务期间前额叶-海马以及海马-前额叶相位-幅值耦合性的高低与大鼠认知功能的强弱有关, 两脑区前额叶-海马以及海马-前额叶相位-幅值耦合程度越高, 大鼠SWM能力越高, 认知功能越强。

### 3 讨 论

theta和gamma频段神经振荡及其同步性与WM密切相关, 近年来, 通过干预WM相关神经振

荡及其同步性进而调控 WM 引起了国内外学者的广泛关注。作为新兴的无创调控技术, iTBS 在通过夹带大脑不同频段神经振荡进而调控 WM 方面展现了巨大的前景, 然而 iTBS 对神经振荡及其同步性的调节尚不清晰。本研究针对各组大鼠 SWM 行为学任务过程中 PFC 及 HPC 脑区 theta 频段和 gamma 频段的神经振荡, 从时频能量、相位同步性及相位幅值耦合多个角度研究了 iTBS 对大鼠神经振荡的影响, 并结合皮尔逊相关系数探索了 iTBS 通过神经振荡调控 SWM 的电生理机制。

WM 是大脑中与信息进行短时加工与暂时存储的记忆系统, 在人类许多复杂的认知活动中起着重要的作用。随着年龄的增长, 老年大鼠的 WM 能力出现明显的下降, 已有的研究表明, 磁刺激可以改善由于年龄增长引起的认知障碍, 提高实验动物的行为学表现<sup>[25-27]</sup>。本研究使用 iTBS 模式 TMS 分别作用于成年和老年模型大鼠, 对比刺激组与对照组大鼠学会 T 迷宫 WM 任务规则所用的时间及其平均正确率, 与之前的研究结果一致, 证明 iTBS 可以减少大鼠学会 T 迷宫行为学任务规则所用时间并提高大鼠进行行为学任务的平均正确率。

大脑中的 HPC 与 PFC 是 WM 的主要负责脑区, 研究表明, 跨脑区 theta 频段与 gamma 频段的神经节律振荡交互共同参与了 WM 过程, 对 WM 的编码、保持和提取过程具有重要的意义<sup>[28-30]</sup>。在具有认知障碍的动物模型中, 具有明显的 theta 振荡和 gamma 振荡的减弱或异常现象<sup>[31-32]</sup>; Kendrick 等<sup>[33]</sup> 研究发现, 经过 iTBS 后与 WM 相关的神经生理学发生显著的变化。本研究针对各组大鼠进行 SWM 行为学任务期间 PFC 和 HPC 两脑区 theta 频段和 gamma 频段神经振荡进行分析, 对比研究 iTBS 对两脑区 theta 频段和 gamma 频段神经振荡的时频能量以及交叉频率耦合效果的影响, 以此探究 iTBS TMS 对大鼠 SWM 相关脑区神经节律的影响。

神经振荡是指大脑神经元之间周期性的电活动, 在认知过程中起着重要的作用。研究表明, 不同频段的神经振荡在认知中扮演的不同的角色, theta 频段神经振荡与注意力、学习和记忆等认知功能密切相关, 而 gamma 频段神经振荡在认知过程中与信息处理和认知整合有关<sup>[34]</sup>。基于此, 本研究通过对大鼠 SWM 任务过程中神经振荡的时频能量进行分析, 结果发现, 大鼠 SWM 任务过程中, 前额叶和海马脑区 theta 频段和 gamma 频段神经振荡能量均随着年龄增长而降低, iTBS 可以提

高大鼠 SWM 任务过程中双脑区 theta 频段和 gamma 频段神经振荡的时频能量值, 这与之前的研究结果一致<sup>[35]</sup>。同时, 两脑区 theta 频段神经振荡的时频能量峰值均出现在参考点前 0.5~1 s 内, 推测其与大鼠对 SWM 行为学任务的反应有关, 并且不同组大鼠出现峰值的时间略有不同, 结合各组大鼠在 SWM 行为学任务中的表现以及其不同的脑认知能力, 推测脑认知能力强的大鼠在 SWM 行为学任务中反应时间更短。进一步对各组大鼠进行 SWM 行为学任务的正确率与任务期间 LFP 信号的时频能量进行相关性分析发现, 大鼠 SWM 行为学任务期间两脑区 theta 频段和 gamma 频段的神经振荡的时频能量与大鼠行为学正确率均呈正相关, 并且 HPC 脑区 theta 频段神经振荡与行为学正确率的相关性最强, 推测其变化与大鼠 SWM 能力的改变有关, 即 iTBS 可以通过增加大鼠两脑区 theta 和 gamma 频段神经振荡的能量, 促进大鼠在 SWM 行为学任务中的表现, 增强大鼠的认知功能。研究结果表明, theta 频段和 gamma 频段 LFP 信号是 PFC 及 HPC 脑区中与 WM 密切相关的主要特征, theta 和 gamma 振荡模式是大脑不同区域之间进行信息交流的重要形式<sup>[36]</sup>。因此, PFC 和 HPC 脑区中 LFP 信号的 theta 和 gamma 振荡可以反映 SWM 过程中神经元的放电特征, 不同组别之间 theta 和 gamma 能量的差异可以反映不同组别的大鼠在 SWM 任务学习能力上的差异。事实上, 衰老会改变大脑神经元的内在兴奋性, 这种神经兴奋性的异常或下降都与认知障碍有关, iTBS 可以增强大脑皮层的兴奋性, 提升大脑神经元放电活动, 从而影响与 WM 相关的神经信息活动, 这与之前的研究结果一致<sup>[37-38]</sup>。

近年来, 不同脑区神经振荡的 CFC 受到了越来越多的关注, 被广泛用于大脑学习、记忆的研究中。Davoudi 等<sup>[39]</sup> 研究发现, 大脑的视觉 WM 与 alpha、gamma 之间的 CFC 有关; Tort 等<sup>[40]</sup> 研究发现, theta 与 gamma 频段的 CFC 对大脑的认知功能有十分重要的作用。本研究针对两种常见的 CFC 类型进行分析, 研究 iTBS 对大鼠 SWM 行为学任务过程中两脑区神经振荡耦合效果的影响。对大鼠 SWM 过程中的神经振荡相位同步性的分析表明, 大鼠在执行 T 迷宫 WM 行为学实验的过程中 PFC 与 HPC 内的神经元集群发放的 LFP 信号在 theta 频段、gamma 频段均具有一定程度上的相位同步性, 但各组大鼠 theta 频段神经振荡相位同步性之间无明显差异。同时, 相关性分析表明, 大鼠 SWM 行为

学任务过程中跨脑区 theta 频段神经振荡的 *PLV* 与大鼠行为学正确率之间无显著的相关性。此外, 在 gamma 频段, 统计结果显示 iTBS 对大鼠 SWM 行为学任务过程中跨脑区 gamma 频段神经振荡的相位同步性具有一定的影响, 但相关性分析表明, 大鼠 SWM 行为学任务过程中跨脑区 gamma 频段神经振荡的 *PLV* 与大鼠行为学正确率之间无显著的相关性, 即大鼠 SWM 过程中跨脑区 theta 和 gamma 频段神经振荡的相位同步性的大小与大鼠认知功能的强弱无关。有研究结果表明, 大脑中 theta 频段神经振荡的相位同步性与任务转换中的主动控制相关<sup>[41]</sup>。然而, 在本研究中, 并未涉及到任务的转换, 这可能是导致不同组别的大鼠两脑区 theta 频段神经振荡相位同步性差异未达到统计学意义的原因。另一方面, gamma 频段神经振荡的相位同步性被认为在整合感觉和经验、维持时刻意识的连贯状态方面发挥重要作用<sup>[42]</sup>。因此, 本研究中成年刺激组大鼠两脑区 gamma 频段相位同步性增强可能反映了刺激后大鼠有意地将注意力集中在特定的感知或认知任务上, 然而相关性分析表明, 其与大鼠 T 迷宫行为学任务正确率之间并无直接关系, 因此仍需后续工作进行研究。

大脑中低频节律一般由外界的感觉和运动事件以及内部的学习记忆等认知过程来进行驱动, 高频节律则主要涉及利用神经元的快速发放来进行神经计算和交流。theta-gamma 相位幅值耦合是指 gamma 振荡幅值或能量锁定在特定的 theta 相位上, 从而实现不同时空尺度上的神经信息通讯和交流。对大鼠 SWM 行为学任务过程中跨脑区 theta 频段和 gamma 频段的相位-幅值耦合的研究发现, 随着年龄的增长, 老年对照组大鼠进行 SWM 行为学任务期间前额叶-海马以及海马-前额叶 theta、gamma 频段神经振荡的相位-幅值耦合程度显著低于成年对照组, 并且老年刺激组大鼠相位-幅值耦合程度明显强于老年对照组大鼠。即 iTBS 可能通过增强两脑区的跨脑区耦合, 提升老年大鼠 SWM 行为学能力, 改善大鼠的认知功能, 这一结论与 Goodman 等<sup>[43]</sup>、Noda 等<sup>[44]</sup> 的研究结果是一致的。除此之外, 大鼠前额叶-海马的相位-幅值耦合随着行为学表现的提高其峰值似乎更加偏向于向前额叶 theta 频段信号的中频 (8 Hz) 范围移动, 而海马-前额叶的相位-幅值耦合随着行为学表现的提高其峰值似乎更加偏向于向前额叶 gamma 频段信号的高频范围移动。这种变化可能反映了工作网络与情景记

忆编码之间的改变, 然而神经振荡活动在不同脑区、持续时间和功能作用方面的差异尚不明确, 仍需大量的研究探查其具体机制。此外, 相关性分析表明, 大鼠进行 SWM 行为学任务期间前额叶-海马以及海马-前额叶 theta、gamma 频段神经振荡的相位-幅值耦合程度与大鼠 SWM 行为学任务的正确率均呈正相关关系, 即 iTBS 可能通过增加大鼠进行 SWM 行为学任务期间前额叶-海马以及海马-前额叶 theta、gamma 频段神经振荡的相位-幅值耦合程度, 促进大鼠在 SWM 行为学任务中的表现, 改善大鼠的认知功能。已有研究证明, 低频节律的相位反映了神经元或神经元集群的膜电位的兴奋性, 高频节律的幅值能量反映了神经元突触活动的变化<sup>[45]</sup>, 因此耦合活动的增强可能与神经元的突触结构或突触可塑性有关, 这需要后续的工作进行进一步的探究。

值得注意的是, 本研究在主要研究之外发现, iTBS 对成年大鼠及老年大鼠跨脑区耦合作用的调制效果存在一定的差异, 具体表现为 iTBS 可以促进老年大鼠 SWM 行为学任务期间跨脑区 theta-gamma 频段的相位-幅值耦合, 但对成年大鼠无明显作用, 这可能是由于随着年龄的增长, 大鼠大脑的初始状态发生了变化, 从而导致 iTBS 不同年龄段大鼠产生了不同的刺激效果。这一结论与 Weiler 等<sup>[46]</sup> 的研究结果一致。由此, 我们认为, 本研究的部分结果在一定程度上支持了 iTBS 的刺激效果与刺激前大脑的状态有关, 即 iTBS 具有一定的状态依赖效应。

同时, 本研究仍然具有一定的局限性。主要为不同大鼠之间具有一定程度的个体化差异, 本研究并未针对个体化差异进行讨论, 未来的研究应该更集中于个性化的刺激方案, 研究个体化差异对刺激效果的影响, 以期对 iTBS 的临床应用提供理论支撑。

## 4 结 论

本研究的结果表明, 随着年龄的增长, 老年大鼠 SWM 能力显著下降, 表现出一定程度的认知功能障碍, iTBS 可以提高大鼠行为学认知能力, 改善老年大鼠因衰老而引起的 SWM 能力下降。同时, 老年大鼠进行 SWM 任务期间 PFC 和 HPC 脑区 theta 频段和 gamma 频段神经振荡的时频能量、跨脑区相位-幅值耦合较成年大鼠均出现了一定程度的下降, iTBS 可以提高成年大鼠和老年大鼠两脑

区 theta 频段和 gamma 频段神经振荡的时频能量以及老年大鼠跨脑区相位-幅值耦合作用。通过相关性分析推测, iTBS 可能通过增加大鼠 SWM 任务期间 PFC 和 HPC 脑区 theta 频段和 gamma 频段神经振荡的时频能量以及跨脑区相位幅值耦合作用增强大鼠的 SWM 能力以及认知功能。

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

PIBB\_20230466\_Figure\_S1.pdf

### 参 考 文 献

- [1] 王鑫麟,邱晓悦,翁旭初,等. 工作记忆的神经振荡调控:基于神经振荡夹带现象. 心理学进展,2022, 4(30): 802-816  
Wang X L, Yue X Y, Weng X C, *et al.* Adv Psychol, 2022, 4(30): 802-816
- [2] Buzsaki G. Neuronal oscillations in cortical networks. Science, 2004, 304(5679): 1926-1929
- [3] 王瞳,刘爽,郭欣萌,等. 外源节律性脑刺激技术在精神神经类疾病治疗中的应用. 生物化学与生物物理进展, 2023, 50(10): 2262-2275  
Wang T, Liu S, Guo X M, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2023, 50(10): 2262-2275
- [4] Chen B, Ciria L F, Hu C, *et al.* Ensemble of coupling forms and networks among brain rhythms as function of states and cognition. Commun Biol, 2022, 5(1): 82
- [5] Cardoso-Cruz H, Laranjeira I, Monteiro C, *et al.* Altered prefrontal-striatal theta-band oscillatory dynamics underlie working memory deficits in neuropathic pain rats. Eur J Pain, 2022, 26(7): 1546-1568
- [6] Thompson L, Khuc J, Sacconi M S, *et al.* Gamma oscillations modulate working memory recall precision. Exp Brain Res, 2021, 239(9): 2711-2724
- [7] Gouveris H, Koirala N, Anwar A R, *et al.* Reduced cross-frequency coupling and daytime sleepiness in obstructive sleep apnea patients. Biology, 2022, 11(5): 700
- [8] Chang P, Bush D, Schorge S, *et al.* Altered hippocampal-prefrontal neural dynamics in mouse models of down syndrome. Cell Rep, 2020, 30(4): 1152-1163
- [9] Abubaker M, Al Qasem W, Kvašňák E. Working memory and cross-frequency coupling of neuronal oscillations. Front Psychol, 2021, 12: 756661
- [10] Sedghizadeh M J, Taqi A A, Karimani F, *et al.* Theta-gamma phase-amplitude coupling deficit in streptozotocin AD rat model. Alzheimer's Dement, 2023, 19: e066107
- [11] Ku S, Atucha E, Alavi N, *et al.* Phase locking of hippocampal CA3 neurons to distal CA1 theta oscillations selectively predicts memory performance. Cell Rep, 2024, 43(6): 114276
- [12] Kumar S, Zomorodi R, Ghazala Z, *et al.* Effects of repetitive paired associative stimulation on brain plasticity and working memory in Alzheimer's disease: a pilot randomized double-blind-controlled trial. Int Psychogeriatr, 2023, 35(3): 143-155
- [13] Stekic A, Zeljkovic M, Zarić K, *et al.* Intermittent theta burst stimulation ameliorates cognitive deficit and attenuates neuroinflammation via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in Alzheimer's-like disease model. Front Aging Neurosci, 2022, 14: 889983
- [14] Gu J, Li D, Li Z, *et al.* The effect and mechanism of transcranial direct current stimulation on episodic memory in patients with mild cognitive impairment. Front Neurosci, 2022, 16: 811403
- [15] 潘召韬,马宇涛,肖彪,等. 化学和物理干预治疗阿尔茨海默病的机制. 生物化学与生物物理进展, 2023, 50(10): 2287-2304  
Pan Z T, Ma Y T, Xiao B, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2023, 50(10): 2287-2304
- [16] 张安琪,王玲,王宁,等. 神经调控技术在阿尔茨海默病认知障碍研究中的应用. 生物化学与生物物理进展, 2023, 50(10): 2276-2286  
Zhang A Q, Wang L, Wang N, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2023, 50(10): 2276-2286
- [17] Guo M M, Wang T, Zhai H D. Effects of rTMS on working memory abilities and time-varying spectrum coherence of LFPs and spikes in rats. Int J Comp Math Electr Electron Eng, 2023, 42(1): 56-67
- [18] Rossi S, Antal A, Bestmann S, *et al.* Safety and recommendations for TMS use in healthy subjects and patient populations, with updates on training, ethical and regulatory issues: expert guidelines. Clin Neurophysiol, 2021, 132(1): 269-306
- [19] Diao X, Lu Q, Qiao L, *et al.* Cortical inhibition state-dependent iTBS induced neural plasticity. Front Neurosci, 2022, 16: 788538
- [20] Zhang T H, Xu G Z, Guo M M. Effect of intermittent theta burst transcranial magnetic stimulation on correlation brain network between the hippocampus and prefrontal cortex of rats. Int J Appl Electromagn Mech, 2022, 70(4): 491-500
- [21] 张天恒,郭苗苗,徐桂芝,等. 间歇性 $\theta$ 节律经颅磁刺激改善大鼠工作记忆的海马与前额叶跨脑区神经网络效应研究. 生物化学与生物物理进展, 2022, 49(8): 1573-1585  
Zhang T H, Guo M M, Xu G Z, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2022, 49(8): 1573-1585
- [22] Giacomo K, Elias P C, Sonia B, *et al.* Precuneus magnetic stimulation for Alzheimer's disease: a randomized, sham-controlled trial. Brain, 2022, 145(11): 3776-3786
- [23] Albouy P, Weiss A, Baillet S, *et al.* Selective entrainment of theta oscillations in the dorsal stream causally enhances auditory working memory performance. Neuron, 2017, 94(1): 193-206
- [24] Wang T, Guo M M, Wang N, *et al.* Effects of theta burst stimulation on the coherence of local field potential during working memory task in rats. Brain Res, 2023, 181: 148408
- [25] Sigrist C, Vöckel J, MacMaster F P, *et al.* Transcranial magnetic stimulation in the treatment of adolescent depression: a systematic review and meta-analysis of aggregated and individual-patient data from uncontrolled studies. Eur Child Adolesc Psych, 2022, 31(10): 1501-152
- [26] Begemann M J, Brand B A, Čurčić-Blake B, *et al.* Efficacy of non-

- invasive brain stimulation on cognitive functioning in brain disorders: a meta-analysis. *Psychol Med*, 2020, **50**(15): 2465-2486
- [27] Zhang N, Xing M, Wang Y, *et al.* Repetitive transcranial magnetic stimulation enhances spatial learning and synaptic plasticity via the VEGF and BDNF-NMDAR pathways in a rat model of vascular dementia. *Neuroscience*, 2015, **311**: 284-291
- [28] Li J, Cao D, Dimakopoulos V, *et al.* Anterior-posterior hippocampal dynamics support working memory processing. *J Neurosci*, 2022, **42**(3): 443-453
- [29] 张引, 梁腾飞, 陈江涛, 等. 连接视觉长时记忆与视觉工作记忆的认知及其神经机制. *生理学报*, 2019, **71**(1): 62-72  
Zhang Y, Liang T F, Chen J T, *et al.* *Acta Physiologica Sinica*, 2019, **71**(1): 62-72
- [30] Holstein M V, Floresco S B. Dissociable roles for the ventral and dorsal medial prefrontal cortex in cue-guided risk/reward decision making. *Neuropsychopharmacology*, 2020, **45**(4): 683-693
- [31] Arroyo-García L E, Isla A G, Andrade-Talavera Y, *et al.* Impaired spike-gamma coupling of area CA3 fast-spiking interneurons as the earliest functional impairment in the App<sup>NL-G-F</sup> mouse model of Alzheimer's disease. *Mol Psychiatr*, 2021, **26**(10): 5557-5567
- [32] Andrade-Talavera Y, Rodríguez-Moreno A. Synaptic plasticity and oscillations in Alzheimer's disease: a complex picture of a multifaceted disease. *Front Molec Neurosci*, 2021, **14**: 696476
- [33] Kendrick K M, Zhan Yang, Fischer H, *et al.* Learning alters theta amplitude, theta-gamma coupling and neuronal synchronization in inferotemporal cortex. *BMC Neurosci*, 2011, **12**(1): 55-78
- [34] Chen B, Ciria LF, Hu C, *et al.* Ensemble of coupling forms and networks among brain rhythms as function of states and cognition. *Commun Biol*, 2022, **5**(1): 82
- [35] 童禹铭, 徐桂芝, 郭苗苗, 等. 高频重复经颅磁刺激对大鼠工作记忆局部场电位和锋电位时频特征的影响. *中国康复理论与实践*, 2020, **26**(12): 1401-1409  
Tong Y M, Xu G Z, Guo M M, *et al.* *Chin J Rehabil Theory Pract*, 2020, **26**(12): 1401-1409
- [36] Curic S, Andreou C, Nolte G, *et al.* Ketamine alters functional gamma and theta resting-state connectivity in healthy humans: implications for schizophrenia treatment targeting the glutamate system. *Front Psychiatry*, 2021, **12**: 671007
- [37] Hoy KE, Bailey N, Michael M, *et al.* Enhancement of working memory and task-related oscillatory activity following intermittent theta burst stimulation in healthy controls. *Cereb Cortex*, 2016, **26**(12): 4563-4573
- [38] Wang S T, Li K, Zhao S K, *et al.* Early-stage dysfunction of hippocampal theta and gamma oscillations and its modulation of neural network in a transgenic 5xFAD mouse model. *Neurobiol Aging*, 2020, **94**: 121-129
- [39] Davoudi S, Parto Dezfouli M, Knight R T, *et al.* Prefrontal lesions disrupt posterior alpha-gamma coordination of visual working memory representations. *J Cogn Neurosci*, 2021, **33**(9): 1798-1810
- [40] Tort A B, Komorowski R W, Manns J R, *et al.* Theta-gamma coupling increases during the learning of item-context associations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(49): 20942-20947
- [41] López M E, Pusic S, Pereda E, *et al.* Dynamic low frequency EEG phase synchronization patterns during proactive control of task switching. *Neuroimage*, 2018, **186**: 70-82
- [42] Luo X, Che X, Li H. Concurrent TMS-EEG and EEG reveal neuroplastic and oscillatory changes associated with self-compassion and negative emotions. *Int J Clin Health Psychol*, 2023, **23**(1): 100343
- [43] Goodman M S, Sani Ee V K, Reza Z, *et al.* Theta-gamma coupling and working memory in Alzheimer's dementia and mild cognitive impairment. *Front Aging Neurosci*, 2018, **10**: 101
- [44] Noda Y, Zomorodi R, Saeki T, *et al.* Resting-state EEG gamma power and theta-gamma coupling enhancement following high-frequency left dorsolateral prefrontal rTMS in patients with depression. *Clin Neurophysiol*, 2017, **128**(3): 424-432
- [45] Xiao Z, Martinez E, Kulkarni P M, *et al.* Cortical pain processing in the rat anterior cingulate cortex and primary somatosensory cortex. *Front Cell Neurosci*, 2019, **13**: 165
- [46] Weiler M, Moreno-Castilla P, Starnes H M, *et al.* Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation in aged rats depend on pre-treatment cognitive status: toward individualized intervention for successful cognitive aging. *Brain Stimul*, 2021, **14**(5): 1219-1225

## Effect of Intermittent Theta Burst Stimulation on Spatial Working Memory-related Neural Oscillations and Their Synchronicity\*

GUO Miao-Miao<sup>1,2,3,4)\*\*</sup>, ZHANG Biao<sup>1,2,3,4)</sup>, ZHANG Tian-Heng<sup>5)</sup>, WANG Tian<sup>1,2,3,4)</sup>,  
ZHAI Hao-Di<sup>1,2,3,4)</sup>, XU Gui-Zhi<sup>1,2,3,4)</sup>

<sup>1)</sup>School of Health Science and Biomedical Engineering, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China;

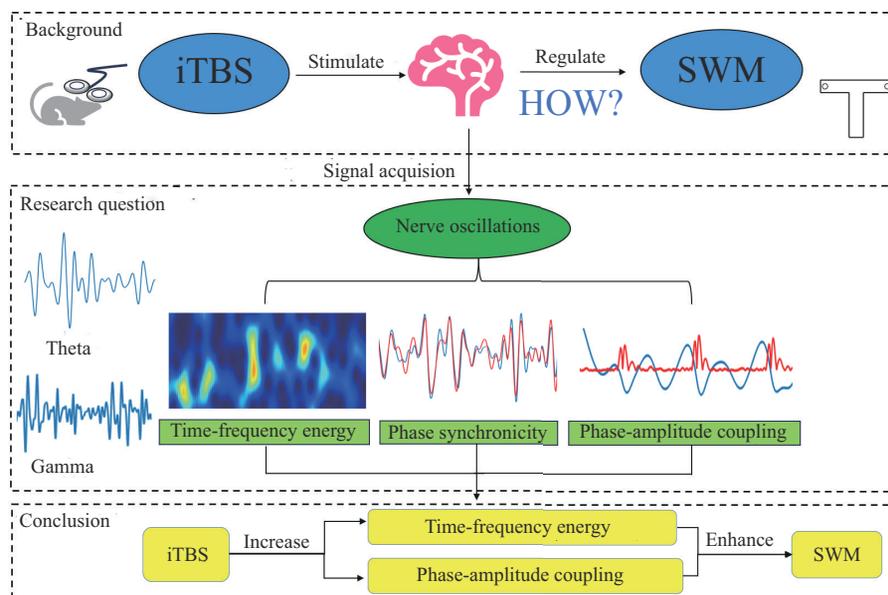
<sup>2)</sup>State Key Laboratory of Reliability and Intelligence of Electrical Equipment, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China;

<sup>3)</sup>Tianjin Key Laboratory of Bioelectromagnetic Technology and Intelligent Health, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China;

<sup>4)</sup>Hebei Key Laboratory of Bioelectromagnetics and Neuroengineering, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China;

<sup>5)</sup>School of Mechanical and Electrical Engineering, Shijiazhuang University, Shijiazhuang 050035, China)

### Graphical abstract



**Abstract Objective** Spatial working memory (SWM) is an important function in cognitive behavior, and working memory impairment can seriously affect the patient's life and cause great stress to the patient. Intermittent theta burst stimulation (iTBS) has been shown to regulate working memory function by entrainment of neural oscillations in different frequencies of the brain, but its regulation of working memory-related neural oscillations and their synchronization is not clear. The purpose of this study was to study the effect of iTBS on neural oscillation and synchronization in local and transbrain regions of rats, and to explore the mechanism of iTBS in regulating working memory. **Methods** Twenty-four rats were randomly divided into four groups

\* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (52320105008), National Key Research and Development Program of China (2022YFC2402203), the Natural Foundation of Hebei Province, China (E2021202222, F2024202085), the S&T Program of Hebei, China (18963001D, 215676146H, 225676163GH), the Natural Science Foundation of Tianjin, China (20JCQNJC00710, 21JCZXCJC00090), and the State Key Laboratory of Reliability and Intelligence of Electrical Equipment of Hebei University of Technology (EERI\_OY2021009).

\*\* Corresponding author.

Tel: 86-15900241399, E-mail: gmm@hebut.edu.cn

Received: November 24, 2023 Accepted: February 29, 2024

according to their age and whether they received iTBS stimulation (AS: adult stimulation group, AC: adult control group, ES: elderly stimulation group, EC: elderly control group). Using the methods of time-frequency distribution, phase synchronization and phase-amplitude coupling analysis, the changes of local field potential signal neural oscillations in the prefrontal and hippocampal brain regions of theta and gamma bands in the process of spatial working memory behavioral tasks in each group of rats were compared and analyzed, and the relationship between the changes of neural oscillations in the two brain regions and the changes in spatial working memory ability of rats was judged based on the Pearson correlation coefficient. **Results** With the increase of age, the time taken by the elderly rats to learn the spatial working memory task rules increased significantly ( $P=0.0056$ ), and the time taken by iTBS stimulation to learn the SWM task rules in adult rats ( $P=0.0011$ ) and elderly rats ( $P=0.0090$ ) was shortened. At the same time, compared with adult rats, the time-frequency energy of theta and gamma band neural oscillations in the prefrontal and hippocampal brain regions of elderly rats (theta:  $P<0.0001$ ; gamma:  $P<0.0001$ ) and phase-amplitude coupling across brain regions (PFC-HPC:  $P=0.0002$ ; HPC-PFC:  $P=0.0277$ ) decreased to a certain extent, and iTBS stimulation could increase the time-frequency energy of neural oscillations of adult rats (theta:  $P<0.0001$ ; gamma:  $P<0.0001$ ) and elderly rats (theta:  $P=0.0144$ ; gamma:  $P=0.0006$ ) and the phase-amplitude coupling effect across brain regions in elderly rats (PFC-HPC:  $P=0.0180$ ; HPC-PFC:  $P=0.0221$ ). In addition, the time-frequency energy and phase-amplitude coupling of signals in each frequency band of the two brain regions were positively correlated with the behavioral accuracy of rats, while the phase synchronization of theta band and gamma band neural oscillations in the two brain regions during working memory was not correlated with the behavioral accuracy. **Conclusion** iTBS can enhance SWM ability and cognitive function in elderly rats, and this improvement is associated with increased coupling of time-frequency energy and cross-brain phase amplitude of neural oscillations across theta and gamma bands during SWM tasks. Similarly, in adult rats, iTBS enhances SWM ability and cognitive function by increasing the time-frequency energy of theta and gamma band neural oscillations in both brain regions during SWM tasks. Furthermore, in addition to the main findings, this study provides evidence supporting the state-dependent effects of iTBS stimulation to some extent.

**Key words** intermittent theta burst stimulation, spatial working memory, nerve oscillations, phase synchronicity, phase-amplitude coupling

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2023.0466