



40 Hz 节律刺激对阿尔茨海默病和认知功能的影响*

赵娜^{1,2)} 何生^{1,2)} 施立楠^{1)**}

(¹⁾ 中国科学院生物物理研究所脑与认知科学国家重点实验室, 北京 100101; ²⁾ 中国科学院大学生命科学学院, 北京 100049)

摘要 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 等神经退行性疾病对人类健康造成了严重威胁, 目前仍缺乏有效的治疗方法。近期, 通过改进脑电异常的伽马节律网络来干预 AD, 为改善其疾病症状带来了新的希望。本文综述了近年来关于 40 Hz 节律刺激对 AD 病理和认知功能影响的研究进展。研究表明, 40 Hz 节律刺激能够显著改善 AD 小鼠模型的病理特征和人类 AD 患者的认知能力。此外, 40 Hz 节律刺激对健康人的认知功能有一定的提升作用。本文讨论了 40 Hz 节律刺激的神经同步原理和作用机制, 并评估了其作为一种非侵入式治疗手段的安全性。最后, 分析了当前研究的局限性, 并展望了未来的研究方向。总之, 尽管 40 Hz 节律刺激对健康人的认知影响有限, 但显示出作为 AD 治疗手段的潜力, 未来需要进一步研究以确认其在临床应用中的有效性和作用机制。

关键词 阿尔茨海默病, 40 Hz 节律刺激, 非侵入式治疗, 神经振荡-外界节律同步化现象, 神经机制, 认知功能
中图分类号 R741 **DOI:** 10.16476/j.pibb.2024.0377

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是老年人中最常见的神经退行性疾病, 主要临床表现为记忆力衰退、学习能力下降、感知障碍、语言功能受损以及性格异常。AD 的核心致病假说之一是老年斑 (由 β 淀粉样蛋白 ($A\beta$) 形成) 和神经纤维缠结 (由过度磷酸化 tau 蛋白 (p-tau) 组成)。目前, 针对 AD 患者的治疗主要集中于缓解症状和使用靶向药物治疗患者大脑的物理病变, 但这些方法无法阻止疾病的进程, 有效的治疗手段十分匮乏^[1]。最近的研究给 AD 的病理性治疗带来了新的见解和发现, 这些研究聚焦于通过恢复患者受损的神经振荡来实现治疗效果。

神经元产生的电生理信号以不同频率周期性振荡, 这些节律模式被称为神经振荡。神经振荡被分为不同频段 (delta、theta、alpha、beta、gamma), 可以粗略地认为每种频段与不同的神经活动模式以及认知功能相关。很多研究探讨了神经振荡在不同认知功能中的作用, 其中伽马 (gamma) 振荡 (30~100 Hz) 广泛存在于大脑皮层网络活动中, 并在高级认知功能中发挥关键作用, 包括信息整

合^[2-3]、选择性注意^[4]和记忆处理^[5-6]等。

大量研究表明, AD 小鼠模型和 AD 患者的伽马振荡存在异常。hAPP 小鼠在伽马振荡活动减少期间, 脑网络会出现明显的脉冲信号, 即超同步现象^[7]; TgCRND8 小鼠在 $A\beta$ 过量产生前, 海马的 gamma-theta 耦合被严重破坏^[8-9]; 5xFAD 小鼠相比野生型小鼠, 伽马功率显著降低^[10]。一些临床研究也显示, AD 患者的记忆和认知障碍与大脑中的伽马振荡异常密切相关^[11]。在老年受试者 (50~88 岁) 中, 伽马功率随年龄增长而下降^[12]; AD 患者的 gamma-theta 跨频耦合明显低于轻度认知障碍 (mild cognitive impairment, MCI) 患者和健康志愿者^[13]; Nakazono 等^[14]概述 AD 动物模型和 AD 患者的内嗅海马回路中的伽马振荡受到损害, 并认为这种损害是记忆和痴呆的基础。这些研究表明,

* 科技创新2030-“脑科学与类脑研究”重大项目 (2021ZD0204200) 资助。

** 通讯联系人。

Tel: 010-64887032, E-mail: shiii@ibp.ac.cn

收稿日期: 2024-08-24, 接受日期: 2024-09-11

AD与大脑中的伽马振荡有密切联系,但这种联系是否仅仅是神经病理症状的伴随现象尚不明确。因此,通过不同方式调控大脑伽马振荡,以研究其对AD小鼠模型和患者病理及症状的影响,或许可以解答这一问题。目前调制伽马振荡中最引人注目的是40 Hz节律刺激对AD的影响,也是本文讨论的重点。

本文回顾了外源性40 Hz节律刺激(如视觉刺激、听觉刺激或经颅电磁刺激)对AD小鼠、患者病理以及健康人认知的影响,阐述了其神经机制,提出了改进措施,并评估了安全性和实用性,最后展望了未来研究方向。希望本文能为40 Hz节律刺激作为一种非侵入式神经调控手段用于治疗神经疾病提供参考。

1 40 Hz节律刺激对AD病理和症状的影响

Li-Huei Tsai团队^[10]开展了一系列开创性的研究,发现与正常野生型小鼠相比,患有AD的5×FAD小鼠在尖峰涟漪(sharp-wave ripples, SWRs)期间慢伽马振荡功率降低,且这些瞬时伽马振荡是一个以频率为40 Hz为中心的分布。一些研究表明,40 Hz振荡在皮质唤醒或感官信息处理方面具有重要作用。例如,早期的研究发现,使用不同频率的听觉刺激可以诱发听觉稳态反应(auditory steady-state response, ASSR),其中40 Hz刺激的反应振幅最大^[15]。相比于健康人,AD患者^[16]、精神分裂症患者^[17]皮层和皮层下的40 Hz相关成分有所减少。Pastor等^[18]研究发现,相比于其他频率的听觉信号,40 Hz的听觉刺激能引发更强的脑电图(electroencephalogram, EEG)信号和区域脑血流量(cerebral blood flow, CBF),并选择性地激活桥小脑听觉区域,这一脑区在抑制和时间控制中起着重要作用。这些证据表明,40 Hz在神经响应上可能具有特殊性,或许在恢复伽马神经振荡和治疗AD方面有重要作用。因此,大多数研究通过外源性40 Hz节律刺激诱发大脑40 Hz神经振荡来探索其对AD的影响。这种神经振荡与外界周期性刺激同步的现象被称为神经振荡-外界节律同步化现象(neural entrainment)^[19-20],目前,外源性诱发大脑40 Hz振荡的方法主要包括光遗传技术、经颅交流电刺激(transcranial alternating current stimulation, tACS)、经颅磁刺激(transcranial magnetic stimulation, TMS)、声音、光和震动等。

1.1 AD小鼠模型的研究

许多研究表明,AD小鼠模型的伽马振荡存在异常^[8-10]。通过外源性40 Hz节律刺激改善伽马神经振荡,可能有助于减轻AD病理和改善症状。40 Hz节律刺激能够减少与AD成因相关的生物标记物,如A β 斑块和p-tau缠结,并激活小胶质细胞和类淋巴系统(glymphatic system)。Iaccarino等^[10]率先发现,通过光遗传和光闪烁刺激诱发40 Hz伽马神经活动,可以降低AD小鼠模型脑中A β 的沉积,减少斑块的产生。实验表明,40 Hz蓝光照射光遗传修饰的中间神经元1 h,能使5×FAD小鼠海马CA1区的A β 斑块减少约50%;将患病小鼠直接暴露在40 Hz闪烁光中1 h,A β 水平降低,但在12 h之后又恢复到原来水平,这说明短暂的视觉光闪烁对A β 水平的影响是暂时的。将5×FAD小鼠暴露在40 Hz闪烁白光中,1 h/d,7 d后,视觉皮层中的A β 斑块数量减少67.2%,斑块大小减少63.7%;在TauP301S tau蛋白小鼠模型中,p-tau缠结减少约40%。这些效应具有40 Hz频率特异性,8 Hz或随机频率无效。其他研究也发现,40 Hz节律刺激可以减少A β 沉淀和tau蛋白的过度磷酸化^[21-24]。Martorell等^[24]进一步发现,视听结合刺激比单独使用视觉或听觉刺激作用范围更广,显著减少新皮质(如内侧前额皮质)和海马CA1区域的A β 斑块数量和体积,并诱导小胶质细胞聚集在斑块周围,增强其对斑块的吸收能力。

40 Hz节律刺激能够减少神经退化,增强免疫反应和保护神经元。Adaikkan等^[25]发现,暴露于40 Hz LED灯下的正常小鼠和神经退行性疾病小鼠,其初级视觉皮层、海马和前额叶皮层中都能诱发伽马神经振荡。此外,40 Hz光闪烁刺激还减少了神经元和突触的损失,降低了神经炎症水平,并改善了突触功能。Garza等^[26]发现,40 Hz光闪烁能够调节细胞因子和磷酸化蛋白网络,进而影响免疫反应、突触可塑性及神经元健康。线粒体功能障碍被认为是AD早期事件之一,与神经元损伤密切相关^[27],40 Hz白色LED闪烁光可能通过增强AD小鼠大脑的mitoK ATP通道孔亚基表达和通道活性来改善线粒体性能,减少神经元损伤^[28]。这些效应共同提供了神经保护作用,延缓了小鼠神经退化的进程。

最近的研究发现,40 Hz视听刺激可以通过影响大脑的类淋巴系统来清除A β 沉淀。具体来说,40 Hz节律刺激能够通过增强动脉搏动、促进星形

胶质细胞水通道蛋白4 (water channel aquaporin-4, AQP4) 的极化和扩张脑膜淋巴管来调节脑脊液和间质液的流动。这可能是因为40 Hz刺激增强了中间神经元释放血管活性肠肽 (vasoactive intestinal peptide, VIP), 从而促进AQP4蛋白的极化和动脉运动, 进而增强类淋巴系统对A β 的清除^[29]。有研究还发现, 在C57/BL6小鼠中, 40 Hz光闪烁在非麻醉和非睡眠状态下显著增强了脑内胶质淋巴系统的流动, 这与星形胶质细胞AQP4极化增加和血管舒缩作用增强有关。此外, 腺苷受体A_{2A}R (adenosine-A_{2A} receptor) 信号通路被认为是40 Hz光闪烁促进胶质淋巴流动的神化学基础^[30]。血管运动与大脑废物的清理有关, 通过光遗传学研究发现, 伽马振荡可以增加血管直径和血液含氧量^[31]。Martorell等^[24]的研究也支持这一观点, 他们发现使用40 Hz听觉诱发伽马振荡后, 小鼠的听觉皮层和海马的血管直径有所增加。

40 Hz节律刺激可以改善睡眠障碍。研究显示, 昼夜节律失调可能是AD发病机制的一个促进因素, 并且能加重AD相关的认知障碍和病理变化^[32]。Yao等^[23]研究表明, 进行1 h/d、持续30 d的40 Hz光闪烁刺激可以缓解APP/PS1小鼠模型的昼夜节律紊乱, 这可能是因为丘脑中与节律相关的中枢时钟神经元抑制功能增强所致。小鼠暴露于40 Hz光闪烁刺激30 min后, 初级视觉皮层中的腺苷水平显著增加。这一现象可能与神经元胞内AMPK相关能量代谢通路的持续激活促使腺苷通过核苷平衡转运体2 (equilibrative nucleoside transporter-2, ENT2) 释放到细胞外有关。这一结果表明, 在初级视觉皮层中, ENT2介导的腺苷信号可能是40 Hz光闪烁诱发睡眠的神化学基础, 并与40 Hz节律刺激改善睡眠的神化机制有关。此外, 该研究还发现, 患有失眠的儿童在经历30 min的40 Hz光闪烁刺激后, 入睡潜伏期缩短、总睡眠时间增加、夜间觉醒次数减少, 显著改善了失眠儿童的睡眠状况, 揭示了治疗失眠的新途径^[33]。

40 Hz节律刺激不仅减轻AD小鼠模型的病理特征, 促进大脑健康, 还改善了其行为表现, 特别是空间学习和记忆能力^[22, 24-25]。

然而, 这些研究存在争议。Soula等^[34]发现, 40 Hz光闪烁照射小鼠并未显著影响小胶质细胞和A β , 也未能在AD小鼠海马区引发40 Hz伽马活动。Yang等^[35]研究发现, 每天暴露于24 Hz、40 Hz和80 Hz刺激各1 h、持续5周的5 $\times$ FAD小

鼠, 其小胶质细胞数量未增加, 视觉皮层和海马中的A β 沉淀也未减少。一般的病理检测多在切片上观察, 最新的研究则是在活体小鼠中进行的, 1 h 40 Hz感官刺激后, AD小鼠的病理斑块并未减少^[36]。

综上所述, 大多数AD小鼠模型的研究支持外源性40 Hz节律刺激能诱发神经振荡-外界节律同步化且显著减少AD相关病理标记物, 激活小胶质细胞, 调节免疫反应, 保护神经和改善代谢功能, 甚至在一定程度上缓解昼夜节律紊乱, 改善小鼠的行为认知表现, 但能否在深层脑区海马等诱发神经振荡-外界节律同步化, 以及能否减少AD生物标记物受到部分研究的质疑。

1.2 AD患者的研究

小鼠模型的研究提示40 Hz节律刺激在治疗AD方面可能具有巨大的潜在临床价值, 那么它对AD患者是否同样有效呢?

多项研究发现, 40 Hz节律刺激能够改善AD患者的行为和认知能力。之前的研究表明, 周期性的体感刺激能有效诱发相应频率的神经振荡同步化现象^[37]。Clements-Cortes等^[38]将振动触觉刺激与声音刺激 (rhythmic sensory stimulation, RSS) 结合起来, 评估40 Hz (为避免适应实际为39.96~40.06 Hz) 多感觉刺激对AD的影响。相比对照条件 (仅观看自然风光视频), 接受RSS刺激的患者其认知能力和心理功能被显著改善, 具体而言就是随着治疗时间的增加, 圣路易斯大学心理状态 (The Saint Louis University Mental Status, SLUMS) 测试得分随着治疗时间增加而提高, 而对照组无显著变化。行为学的结果表明, 40 Hz RSS刺激或许能对AD患者产生显著的临床影响, 且对轻度和中度AD患者影响更大。

一致的结果在其他多项研究中得到了验证。患者在经过40 Hz视听刺激治疗后, 在AD评估量表-认知分量表 (Alzheimer's Disease Assessment scale-cognitive, ADAS-Cog)、简易智能精神状态检查量表 (Mini-Mental State Examination, MMSE)、蒙特利尔认知评估表 (Montreal Cognitive Assessment, MoCA)、临床痴呆评定量表 (Clinical Dementia Rating, CDR) 和面孔-姓名联想延迟回忆测试 (Face-Name Association Delayed Recall Test, FNA-DRT) 等认知测试中的表现有所改善或保持稳定, 整体功能衰退减缓。同时, 他们的心理状况和情绪也得到改善, 轻度到中度AD患

者的睡眠质量和日常节律得到提升^[39-41]。

研究表明, tACS对MCI和AD患者的认知和病理有改善作用。相比于假tACS, AD患者在经历40 Hz tACS治疗后, Rey听觉言语学习(Rey Auditory Verbal Learning Test, RAVL)、FNA-DRT以及各种认知测试的表现都有所提高^[42-43]。不同的干预方案可以得到相似的结果, 例如不同的40 Hz tACS干预位置, 如双侧颞叶^[44]、左侧角回^[45], 40 Hz tACS与认知训练的联合治疗^[46-47], 这些都能改善AD患者的认知和记忆表现。然而, 也有研究表明, 患者在经过40 Hz tACS治疗后认知并未改善^[48-49]。

40 Hz节律刺激影响AD患者的脑网络连接功能。Chan等^[39]首先在第一阶段癫痫病人中发现皮层区域和皮层下脑区(如海马、杏仁核和岛叶)能产生40 Hz伽马振荡; 在第二阶段轻度AD患者中进行的, 进行40 Hz/d感官刺激3个月, 结果显示默认模式网络和内侧视觉网络的功能连接增强。在其他研究中也得到一致的结果^[50-51]。以前的研究发现, 重复经颅磁刺激(repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS)对AD不仅有诊断价值而且还有治疗潜力^[43, 52-54], 其中40 Hz rTMS的治疗增强了颞顶叶区域到额叶区域的功能连接, 伽马频谱功率也有增加趋势^[55]。

40 Hz节律刺激能够减少大脑退化, 增强神经保护。接受40 Hz治疗的患者脑室扩张和海马萎缩较少^[39]; AD患者经过40 Hz视听治疗后相比对照组, 白质和髓鞘含量损失减少^[56], 灰质体积的损失减少^[55]。脑脊液中的对小胶质细胞和星形胶质细胞有潜在负面影响的细胞因子和免疫因子有下降趋势^[50]。40 Hz tACS刺激还能提高胆碱能传递的间接指标——短潜伏期传入抑制(short-latency afferent inhibition, SAI), 表明胆碱能神经系统功能有所改善^[43]。

大脑灌注(perfusion)是指血液通过脑组织, 为其提供必要的氧气和营养, 同时带走代谢废物的过程。AD患者存在明显的灌注缺陷^[57], 研究显示, 节律刺激可以增加健康人的CBF^[18, 58], Sprugnoli等^[49]研究了40 Hz tACS刺激对AD患者脑血流灌注的影响, 结果表明在tACS治疗后, 轻度或中度AD患者的双侧颞叶CBF显著增加, 并且CBF的变化与情景记忆表现以及伽马波段频谱功率变化呈正相关。

然而, 40 Hz节律刺激对AD患者脑中A β 斑块

和p-tau缠结的影响较小。使用PiB PET方法对A β 进行成像的研究显示, 接受10 d、2 h/d、40 Hz光闪烁治疗的A β 阳性患者, 其大脑皮层中A β 沉积没有显著减少^[59]。经过40 Hz视听结合刺激治疗后, AD患者脑脊液中的A β 和p-tau/t-tau水平无明显变化^[50]。Dhaynaut等^[48]招募的5名轻度到中度AD患者中, 有3名患者在受刺激的颞叶区域显示出p-tau沉积的减少, 但A β 沉积没有显著变化。与AD小鼠相比, 人类患者体内相关生物标记物的改变有限, 可能需要更长时间的治疗才能看到明显效果。

综上所述, 外源性40 Hz视听刺激或电磁刺激能有效改善AD患者的认知功能、行为表现和多种病理特征, 但对A β 斑块和p-tau缠结的影响仍需更多研究支持。

2 40 Hz节律刺激对健康人认知的影响

上文讨论了40 Hz节律刺激对AD小鼠模型和人类AD患者的影响。那么, 对于健康人来说, 40 Hz节律刺激对认知是否有影响? 健康人的认知状况本身较好, 40 Hz节律刺激能否进一步提升其认知功能?

在AD患者研究中, 发现40 Hz节律刺激能有效改善其记忆表现。健康人的记忆在40 Hz刺激下是否能表现得更好呢? Jirakittayakorn等^[60]的EEG研究发现, 健康人在经过15 min的40 Hz双耳节拍刺激后, 大部分脑区被激活, 记忆表现显著改善。Sharpe等^[61]研究发现, 健康被试接受4周的25、40或100 Hz双耳节拍刺激后, 3组人在认知任务中都没有显著提升, 只有40 Hz组在记忆任务中有统计学意义上的提高。但需要注意的是, 40 Hz组的前测记忆分数本身较低, 其他组本身已经表现较好, 可能不太容易提高, 这表明40 Hz节律刺激在被试表现较差的情况下更有效, 同时40 Hz节律刺激也能改善情绪。相比于控制条件和60 Hz条件, 被试在40 Hz听觉刺激和40 Hz tACS刺激条件下工作记忆表现最佳^[62]。

然而, Borges等^[63]的荟萃分析表明, 40 Hz双耳节拍刺激是否对记忆或伽马功率谱密度有影响是不确定的。Lin等^[64]的研究也表明, 被试在暴露于1 h的40 Hz蓝光刺激前后和0 Hz蓝光对照条件, 记忆表现都没有差异, 但在40 Hz蓝光条件下, 与记忆相关的脑区如海马和顶叶的功能连接增强。或许对健康人来说, 40 Hz节律刺激对记忆的

影响需要更长时间才能见效。在视觉阈值和短期空间记忆任务中, 40 Hz 双耳节拍与闪烁视觉刺激结合也未见改善^[65]。40 Hz 刺激对健康人记忆表现的影响有待进一步验证。

有研究表明, 40 Hz 双耳节拍不仅改善了工作记忆, 还增强了与注意相关的 Higuchi 分形维数 (Higuchi fractal dimension, HFD), 作者推测工作记忆的提高可能源于注意的改善^[66]。在全局-局部任务范式中, 相比对照条件 (纯音), 被试倾听 40 Hz 双耳节拍的声音, 反应时更短, 全局效应 (局部反应时减去全局反应时) 减少, 说明 40 Hz 双耳节拍增强了注意的集中程度^[67]。40 Hz 双耳节拍对注意任务的提升在多篇研究中得到验证^[68-70]。此外, 注意力也会影响 40 Hz 节律刺激在大脑中的响应^[71]。关于 40 Hz 视觉闪烁对健康人认知影响的研究相对较少, 有节奏的视觉刺激可以提高大脑皮层功能网络的效率, 促进注意力, 在 40 Hz 条件下被试的反应速度增加^[72]。

40 Hz 节律刺激对其他认知过程同样有影响。40 Hz tACS 会干扰音素分类任务中的感知学习, 表明伽马振荡能调制音素特征的处理过程^[73]; 40 Hz/10 Hz tACS 可能提高人类产生顿悟的概率, 在产生顿悟解决问题之前 300 ms 内, 39 Hz 左右的伽马振荡显著增加^[74]; 40 Hz tACS 可以增强健康被试的面孔知觉, 即相比于假刺激 (未接受 tACS 刺激), 离线刺激 (接受 tACS 刺激后再做任务) 条件下, 被试更容易将 Mooney 感知为面孔, 说明伽马波振荡对形成有意义的感知有贡献^[75]。

3 40 Hz神经调控的作用机制

研究表明, 40 Hz 节律刺激对认知缺陷的 AD 小鼠模型和 AD 患者有显著改善, 但对健康人的影响较小。那么, 40 Hz 节律刺激是如何在大脑中实现神经同步并治疗 AD 的呢?

3.1 伽马神经振荡的同步性与产生机制

神经振荡-外界节律同步化与单纯的刺激追踪 (stimulus-tracking) 不同的是, 其本质上是对内源性神经活动的动态调制^[19-20], 而刺激追踪不会影响正在进行的大脑内部节律, 这也是在脑电研究中常用的频率标记的基础^[76]。外源性节律感觉刺激 (如视觉、听觉) 如何诱发大脑神经振荡的同步? Thut 等^[20] 提出的节律同步模型对此进行了阐释。简化版的描述就是将一个小神经元集体比作逆时针旋转的矢量振荡器, 其矢量旋转速度决定了振荡器

的频率, 相位和振幅描述了振荡器的瞬时状态。当外部有周期性刺激时, 与外界刺激相位不同的振荡器会受到影响, 相位逐渐靠近外界刺激, 通过反复重置内源性神经元的相位达到同步化。

伽马振荡在细胞层面被认为是由抑制性中间神经元和兴奋性神经元之间相互作用产生的, 特别是快速放电的 PV+ (parvalbumin-positive) 中间神经元承担了重要作用^[77]。产生伽马振荡的主要模型有两个: 兴奋性-抑制性 (excitatory inhibitory, E-I) 模型和抑制性-抑制性 (inhibitory inhibitory, I-I) 模型。在 E-I 模型中, 兴奋性神经元 (如锥体神经元) 的活动激活抑制性神经元, 导致兴奋性神经元接受抑制而降低活动, 随着抑制减弱, 兴奋性神经元会再次产生脉冲, 形成一个循环, 包含兴奋和抑制的交替。在 I-I 模型中, 足够的驱动力让抑制性神经元放电, 产生同步抑制性突触后电位, 然后通过抑制性神经元之间的相互作用产生伽马振荡^[78]。AD 患者的神经元网络可能因兴奋性和抑制性神经元之间突触传递的障碍而改变^[7, 79]。伽马神经网络功能障碍被认为是 AD 的早期症状, 通过恢复伽马振荡的功能来改善 AD 病理和症状具有潜力并得到了越来越多的探索。

3.2 40 Hz伽马振荡普遍存在

40 Hz 振荡活动在清醒和做梦时较多, 但在深度睡眠期间活动非常少。因此, Llinás 和 Ribary^[80] 认为, 40 Hz 的脑活动与认知有关, 其来源可能是丘脑-皮层特异性和非特异性环路之间的相干 40 Hz 共振。跨物种的 EEG 分析表明 40 Hz 附近有更高的振幅^[81]。在听觉相关研究中, 40 Hz 振荡的独特性表现为相比其他频率产生的 ASSR 更大^[15, 82-83]。在海马 SWRs 期间, 伽马功率增加, 这些瞬时伽马频率以 40 Hz 为中心进行分布^[10]。由此可见, 40 Hz 是大脑中普遍存在的内源性神经振荡, 包括在大脑皮层、海马、丘脑等区域, 这为利用外源节律性刺激诱发 40 Hz 伽马活动提供了理论基础。

3.3 多种神经振荡-外界节律同步化方法

已有研究表明, 不同类型的外源性节律刺激均可以引发大脑中的神经振荡-外界节律同步化现象。

a. 光声刺激。在 AD 患者的研究中, 有报道显示, 感觉刺激的伽马节律同步化 (Gamma ENtrainment Using Sensory stimulus, GENUS) 刺激能在癫痫病人的海马、杏仁核和脑岛诱导 40 Hz 活动^[39]。早期在麻醉猫脑中记录局部场电位的研究表明, 光闪烁刺激能在视觉皮层产生 2~50 Hz 的

同步反应, 包括 40 Hz^[80]。在健康人 1~100 Hz 的 EEG 反应记录中, 光闪烁刺激能在枕叶脑区引起高达 90 Hz 的同步反应^[84]。最近的研究表明, 40 Hz 光闪烁刺激能在 AD 患病小鼠的初级视觉皮层引起同步活动^[10, 24, 34]。部分研究还报道了光闪烁刺激在人类或小鼠的大脑海马、前额叶等区域引起 40 Hz 振荡^[24-25, 85], 但也有研究未在海马发现振荡^[34]。

b. 听觉刺激。Zachle 等^[86]对 1 kHz 纯音调幅信号(调制频率从 20~100 Hz, 步长 1 Hz)诱发的 ASSR 进行了系统的研究, 发现 40 Hz 听觉刺激能稳定地产生 40 Hz 的神经响应。之前的研究已经表明, 当听觉刺激以~40 Hz 的频率传递时, 人类头皮记录的 ASSR 最大^[15, 82-83]。

c. 经颅电磁刺激。tACS 期间使用脑磁图(magnetoencephalography, MEG)或 EEG 会产生很大伪影, 使得在电刺激期间同时记录 MEG 或 EEG 的数据质量受影响。然而, 在离线记录中, 40 Hz tACS 刺激后的伽马功率显著增强^[43]。动物研究已证明, tACS 通过改变细胞的静息膜电位来调节神经元的自发放电率, 记录到对应频率的同步神经活动^[87]。通过信号源的重新建模, tACS-MEG 联合记录表明 23 Hz tACS 刺激能产生相应的同步活动^[88]。虽然目前没有直接看到 40 Hz tACS 诱发的 40 Hz 神经振荡-外界节律同步化活动, 但从以前的结果可以推测出 40 Hz tACS 能够产生神经振荡-外界节律同步化反应。TMS 和 EEG 的联合记录显示, 随着节律性 alpha-TMS 脉冲序列的进行, 目标 alpha 活动增强, 无节律性 TMS 未观察到同步, 这说明节律性 TMS 能同步内源性振荡^[20]。虽然目前还没有 40 Hz TMS 和 EEG 联合记录的数据证明 40 Hz TMS 可以诱发神经振荡-外界节律同步化, 但后测的伽马振荡趋势显著提升^[55], 说明 40 Hz TMS 能够对大脑的伽马振荡产生持续的影响, 表明这并不仅仅是刺激追踪反应。

以上证据表明, 外源性 40 Hz 节律刺激能有效地在大脑中产生神经振荡-外界节律同步化。

3.4 40 Hz 节律刺激改善 AD 的可能机制

恢复伽马网络异常是通过怎样的神经机制来改善 AD 病理和症状呢? 目前的研究提出了外源性 40 Hz 节律刺激通过在大脑中产生神经振荡-外界节律同步化进而影响 AD 的神经病理学的下述可能机制^[29, 89-90]。

a. 恢复神经网络功能。增强伽马振荡的同步,

恢复 AD 患者或小鼠的异常神经网络。伽马振荡在高级认知功能中起关键作用, 通过恢复正常的伽马活动, 可以改善信息处理和记忆功能^[50-51, 55]。

b. 促进小胶质细胞的功能。40 Hz 节律刺激促进小胶质细胞的功能, 减少如 A β 和 p-tau 等的沉积。这些蛋白质的异常积累被认为是 AD 病理的重要特征, 通过清除这些病理性蛋白质, 可以减缓或逆转 AD 的进程^[10, 21-24]。

c. 促进类淋巴系统。40 Hz 刺激激活类淋巴系统, 并通过增加脑脊液和间质液的流动, 促进有害物质的清除^[29-30]。

d. 改善脑血灌注。40 Hz 节律刺激增加血管直径, 改善 AD 患者的脑血灌注。研究表明, AD 患者存在显著的脑血流灌注缺陷, 40 Hz 刺激通过增加 CBF 和脑血容量(cerebral blood volume, CBV)来改善大脑的供血, 从而提高大脑功能^[24, 31, 49]。

e. 增强神经保护。40 Hz 节律刺激促进神经保护, 增强突触可塑性, 减缓神经退化。通过增加神经元的生存和功能, 40 Hz 刺激可以改善认知功能并延缓 AD 的进展^[25, 28, 39, 43, 50, 55-56]。

这些机制可能协同作用来调制大脑活动, 最终达到减轻病灶, 提高行为和认知表现的效果。

4 提升 40 Hz 节律刺激的依从性和有效性

增加外源性 40 Hz 刺激诱发的神经振荡-外界节律同步化现象的有效性, 提高 AD 患者对 40 Hz 外源节律刺激的依从性能更好地提升 AD 治疗效果。增强 40 Hz 神经振荡-外界节律同步化有如下的可能方法:

a. 调整刺激参数。不同颜色、强度和频率的光在人类大脑中引起的伽马振荡效果不同。实验表明, 闪烁频率为 34~38 Hz 的 400 cd/m²白光最适合产生伽马振荡。在老年人中, 发现更强的亮度 700 cd/m²是可以被忍受且能诱导强烈的伽马节律^[91]。这些发现表明, 有效诱导伽马振荡的最佳刺激参数可能因大脑的特征(例如年龄等)而异。在健康人的实验中, 琥珀色-红色闪烁组合引起的 40 Hz 稳态视觉诱发电位最高^[92]。

b. 结合认知任务。EEG 和颅内脑电图(intracranial electroencephalogram, iEEG)的结果显示, 被试暴露在 40 Hz 光闪烁刺激的同时加入认知任务, 不仅能增强大脑中 40 Hz 振荡的功率, 还能促进 40 Hz 的振荡传递到更深的脑区, 比如海马^[93]。

c. 打开与关闭视听通道。Jones等^[94]记录EEG信号, 研究光刺激是否能同步人脑的40 Hz活动。结果显示40 Hz比60 Hz和80 Hz反应强度更大。同步的电极数量随着光强度的增加而增加, 其中初级视觉皮层的振幅最大, 但颞叶电极同步较少。在睁闭眼条件下, 听觉和视觉刺激对大脑产生的同步不同。相比方波和睁眼条件, 40 Hz正弦波闭眼条件下的声音在前额叶区域诱发最强的40 Hz神经反应^[95]。

d. 多种感官刺激与运动结合。研究表明, 运动有助于减少由AD神经病变引起的神经毒性, 促进神经元再生^[96]。视听刺激结合, 必要时辅以运动, 可以更好地改善AD病理和症状。Park等^[22]将40 Hz光闪烁和运动锻炼结合发现, 3×Tg小鼠AD模型海马中的A β 和p-tau减少, 空间学习和记忆也得到改善。运动和40 Hz光闪烁结合的条件, 相比单一的运动或40 Hz闪烁, 在降低AD病理和提高行为方面效果最佳。40 Hz与运动锻炼结合的其他研究也得到相似的结论^[97]。

e. 改变刺激形式提高依从性。用音乐代替枯燥的纯音^[98-99], 用多频技术减少患者对40 Hz闪烁的感知也可增加舒适感^[41], 利用颜色融合可以让人类感知不到闪烁^[100-101]。有研究采用不可见光谱诱发40 Hz神经活动发现, 枕叶脑区电极的同步电活动虽然比可见40 Hz光闪烁诱发的低很多, 但相比基线40 Hz的神经活动显著提高^[102], 阈值下40 Hz闪烁可能对认知和大脑萎缩率产生潜在的有益影响(目前实验组和对照组差异较小), 目前的临床实验(NCT05260177)正在进行中, 实验结果有待进一步验证^[103]。

5 40 Hz节律刺激的安全性评估

在健康被试的研究中, 40 Hz光闪烁刺激在亮度适中的情况下, 其引起的不良反应, 如疲劳、眩晕和头痛等, 均为轻微且可耐受^[90]。对于AD患者, 在为期数月的试验中, 研究者评估了40 Hz视听刺激的安全性、耐受性和依从性。结果表明, 每日在家中使用40 Hz感官刺激对于AD患者安全且耐受性良好^[104-106], 在针对癫痫患者的研究中, 也未观察到癫痫活动的诱发或其他严重不良反应^[39]。此外, 关于tACS治疗的研究同样支持40 Hz刺激的安全性和可耐受性^[107-108]。迄今为止, 没有研究报告40 Hz刺激具有任何严重的副作用, 因此40 Hz节律刺激可被视为一种安全的潜在AD治疗

新方法。

6 总结与展望

AD等神经退行性疾病在全球范围内有着深远的影响, 预计到2050年, 全球将有约1亿AD患者^[109], 然而, 目前依然缺乏有效的治疗方法。本综述回顾了非侵入式40 Hz节律刺激在治疗AD方面的研究进展, 对其可能的神经机制进行了总结, 并从临床研究及安全性等方面评估了其治疗潜力。

目前的研究结果显示, 40 Hz节律刺激对AD患病小鼠在病理和行为表现上均有显著改善。对于人类患者, 尽管对生物病理标志物(如A β 和p-Tau沉淀)的改善效果有限, 这可能是由于患者数量少、治疗时间短所致, 但大多数患者的认知行为均有所改善。对于正常人, 部分结果也显示40 Hz节律刺激可改善注意力和记忆表现

多项研究指出, 小胶质细胞可能是这些刺激方法产生疗效的关键机制之一。在40 Hz刺激下, 小胶质细胞聚集并清除病理蛋白质。此外, 40 Hz节律刺激有助于神经保护, 减少神经退化, 并增强类淋巴系统功能。伽马振荡的诱发可能通过调节神经元的兴奋-抑制平衡来实现大脑功能的恢复。然而, 研究中仍有许多未解之谜。

a. GENUS节律刺激的传播机制。40 Hz光闪烁刺激不仅能激活初级视觉皮层、躯体感觉皮层、海马和前额叶等脑区的40 Hz神经活动, 并且这些脑区的神经活动之间存在高度一致性^[25]。虽然存在高一致性, 但其建立的方式确是未知的, 40 Hz振荡是通过脑区之间的层级结构逐级别传播, 还是说同时发生呢, 通路是什么?

b. AD治疗的最佳参数。40 Hz在治疗中是否是特异的? Jiang-Xie等^[110]认为, 只要神经元同步放电都能促进大脑清理工作, 放电频率似乎并不重要, 但目前大部分的研究都集中在40 Hz, 少数研究表明40 Hz频率对AD治疗效果的特异性^[10]。这引出了几个关键问题: 不同脑区是否有不同的关键频率? 40 Hz是否是普遍的调协频率?

c. 40 Hz神经振荡-外界节律同步化的实施方法。不同调控方法的原理是否相同? 相比深部脑刺激(deep brain stimulation, DBS)等技术, 40 Hz感官刺激的调控范围目前无法精准控制, 如何精准调控相关脑区需要进一步的探索。

d. 刺激强度与副作用。外界输入的40 Hz刺激强度越大, 产生的伽马神经振荡-外界节律同步化

的强度也越大^[90], 强烈的 40 Hz 刺激可能引发炎症反应和小胶质细胞的大量聚集, 直接或间接损伤神经元^[111], 过强的 40 Hz 刺激是否会导致神经炎症? 如何在不引发严重副作用的情况下, 最大化 40 Hz 刺激的疗效?

e. 其他认知障碍的应用。目前有少数研究将 40 Hz 节律刺激应用于其他有关认知障碍的疾病, 以及化疗引起的脑病理和认知障碍^[97, 112-115], 此外, 40 Hz 节律刺激还被用于增加神经可塑性, 例如促进斑马鱼视网膜神经节细胞的树突轴突再生^[116]。40 Hz 节律刺激在其他认知障碍及其神经病理中有效性还需进一步评估。

f. 多感官刺激结合的原理。40 Hz 的视听结合刺激似乎比单一的刺激效果更好, 其背后的原理是什么? 是否只是因为伽马夹带的范围从视觉脑区扩展到听觉脑区 (1+1=2), 还是多模态刺激激活了大脑的多模态整合机制^[117], 从而增强了 40 Hz 的作用效果?

总的来说, 目前的研究数量有限、样本量小, 对于常规应用的实施仍需要更多、更大规模的研究。这些关键问题的解决将有助于更好地理解 and 应用 40 Hz 节律刺激在 AD 及其他神经疾病中的潜力和机制。

参 考 文 献

- [1] Long J M, Holtzman D M. Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies. *Cell*, 2019, **179**(2): 312-339
- [2] Castelhana J, Rebola J, Leitão B, *et al.* To perceive or not perceive: the role of gamma-band activity in signaling object percepts. *PLoS One*, 2013, **8**(6): e66363
- [3] Kreiter A K, Singer W. Stimulus-dependent synchronization of neuronal responses in the visual cortex of the awake macaque monkey. *J Neurosci*, 1996, **16**(7): 2381-2396
- [4] Jensen O, Kaiser J, Lachaux J P. Human gamma-frequency oscillations associated with attention and memory. *Trends Neurosci*, 2007, **30**(7): 317-324
- [5] Gruber T, Tsivilis D, Montaldi D, *et al.* Induced gamma band responses: an early marker of memory encoding and retrieval. *Neuroreport*, 2004, **15**(11): 1837-1841
- [6] Sederberg P B, Schulze-Bonhage A, Madsen J R, *et al.* Hippocampal and neocortical gamma oscillations predict memory formation in humans. *Cereb Cortex*, 2007, **17**(5): 1190-1196
- [7] Verret L, Mann E O, Hang G B, *et al.* Inhibitory interneuron deficit links altered network activity and cognitive dysfunction in Alzheimer model. *Cell*, 2012, **149**(3): 708-721
- [8] Goutagny R, Gu N, Cavanagh C, *et al.* Alterations in hippocampal network oscillations and theta-gamma coupling arise before Aβ overproduction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Eur J Neurosci*, 2013, **37**(12): 1896-1902
- [9] van den Berg M, Toen D, Verhoye M, *et al.* Alterations in theta-gamma coupling and sharp wave-ripple, signs of prodromal hippocampal network impairment in the TgF344-AD rat model. *Front Aging Neurosci*, 2023, **15**: 1081058
- [10] Iaccarino H F, Singer A C, Martorell A J, *et al.* Gamma frequency entrainment attenuates amyloid load and modifies microglia. *Nature*, 2016, **540**(7632): 230-235
- [11] Mably A J, Colgin L L. Gamma oscillations in cognitive disorders. *Curr Opin Neurobiol*, 2018, **52**: 182-187
- [12] Murty D V P S, Manikandan K, Kumar W S, *et al.* Gamma oscillations weaken with age in healthy elderly in human EEG. *Neuroimage*, 2020, **215**: 116826
- [13] Musaeus C S, Nielsen M S, Musaeus J S, *et al.* Electroencephalographic cross-frequency coupling as a sign of disease progression in patients with mild cognitive impairment: a pilot study. *Front Neurosci*, 2020, **14**: 790
- [14] Nakazono T, Jun H, Blurton-Jones M, *et al.* Gamma oscillations in the entorhinal-hippocampal circuit underlying memory and dementia. *Neurosci Res*, 2018, **129**: 40-46
- [15] Galambos R, Makeig S, Talmachoff P J. A 40-Hz auditory potential recorded from the human scalp. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, **78**(4): 2643-2647
- [16] Ribary U, Ioannides A A, Singh K D, *et al.* Magnetic field tomography of coherent thalamocortical 40-Hz oscillations in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88**(24): 11037-11041
- [17] Kwon J S, O'Donnell B F, Wallenstein G V, *et al.* Gamma frequency-range abnormalities to auditory stimulation in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 1999, **56**(11): 1001-1005
- [18] Pastor M A, Artieda J, Arbizu J, *et al.* Activation of human cerebral and cerebellar cortex by auditory stimulation at 40 Hz. *J Neurosci*, 2002, **22**(23): 10501-10506
- [19] Bánki A, Brzozowska A, Hoehl S, *et al.* Neural entrainment vs. stimulus-tracking: a conceptual challenge for rhythmic perceptual stimulation in developmental neuroscience. *Front Psychol*, 2022, **13**: 878984
- [20] Thut G, Schyns P G, Gross J. Entrainment of perceptually relevant brain oscillations by non-invasive rhythmic stimulation of the human brain. *Front Psychol*, 2011, **2**: 170
- [21] Chang Y P, Chien C F, Huang L C, *et al.* White light stimulation at gamma frequency to modify the Aβ42 and tau proteins in SH-SY5Y cells. *Am J Alzheimers Dis Other Dement*, 2024, **39**: 15333175241236251
- [22] Park S S, Park H S, Kim C J, *et al.* Physical exercise during exposure to 40-Hz light flicker improves cognitive functions in the 3xTg mouse model of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*, 2020, **12**(1): 62
- [23] Yao Y, Ying Y, Deng Q, *et al.* Non-invasive 40-hz light flicker ameliorates Alzheimer's-associated rhythm disorder via regulating central circadian clock in mice. *Front Physiol*, 2020, **11**: 294
- [24] Martorell A J, Paulson A L, Suk H J, *et al.* Multi-sensory gamma stimulation ameliorates Alzheimer's-associated pathology and

- improves cognition. *Cell*, 2019, **177**(2): 256-271.e22
- [25] Adaikkan C, Middleton S J, Marco A, *et al.* Gamma entrainment binds higher-order brain regions and offers neuroprotection. *Neuron*, 2019, **102**(5): 929-943.e8
- [26] Garza K M, Zhang L, Borron B, *et al.* Gamma visual stimulation induces a neuroimmune signaling profile distinct from acute neuroinflammation. *J Neurosci*, 2020, **40**(6): 1211-1225
- [27] Devi L, Prabhu B M, Galati D F, *et al.* Accumulation of amyloid precursor protein in the mitochondrial import channels of human Alzheimer's disease brain is associated with mitochondrial dysfunction. *J Neurosci*, 2006, **26**(35): 9057-9068
- [28] Nazari M, Vajed-Samiei T, Torabi N, *et al.* The 40-hz white light-emitting diode (LED) improves the structure-function of the brain mitochondrial KATP channel and respiratory chain activities in amyloid beta toxicity. *Mol Neurobiol*, 2022, **59**(4): 2424-2440
- [29] Murdock M H, Yang C Y, Sun N, *et al.* Multisensory gamma stimulation promotes glymphatic clearance of amyloid. *Nature*, 2024, **627**(8002): 149-156
- [30] Sun X, Dias L, Peng C, *et al.* 40 Hz light flickering facilitates the glymphatic flow *via* adenosine signaling in mice. *Cell Discov*, 2024, **10**(1): 81
- [31] Mateo C, Knutsen P M, Tsai P S, *et al.* Entrainment of arteriole vasomotor fluctuations by neural activity is a basis of blood-oxygenation-level-dependent "resting-state" connectivity. *Neuron*, 2017, **96**(4): 936-948.e3
- [32] Iacobelli P. Circadian dysregulation and Alzheimer's disease: a comprehensive review. *Brain Sci Adv*, 2022, **8**(4): 221-257
- [33] Zhou X, He Y, Xu T, *et al.* 40 Hz light flickering promotes sleep through cortical adenosine signaling. *Cell Res*, 2024, **34**(3): 214-231
- [34] Soula M, Martín-Ávila A, Zhang Y, *et al.* Forty-hertz light stimulation does not entrain native gamma oscillations in Alzheimer's disease model mice. *Nat Neurosci*, 2023, **26**(4): 570-578
- [35] Yang Y L, Lai T W. Chronic visual stimulation with LED light flickering at 24, 40, or 80 Hz failed to reduce amyloid β load in the 5XFAD Alzheimer's disease mouse model. *eNeuro*, 2023, **10**(8): ENEURO.0189-ENEURO.0123.2023
- [36] Byron N. Depth-resolved Fibre Photometry for Alzheimer's Disease Plaque Pathology *in vivo*[D]. Glasgow: University of Strathclyde, 2024:253-289
- [37] Jamali S, Ross B. Sustained changes in somatosensory gamma responses after brief vibrotactile stimulation. *Neuroreport*, 2014, **25**(7): 537-541
- [38] Clements-Cortes A, Ahonen H, Evans M, *et al.* Short-term effects of rhythmic sensory stimulation in Alzheimer's disease: an exploratory pilot study. *J Alzheimers Dis*, 2016, **52**(2): 651-660
- [39] Chan D, Suk H J, Jackson B L, *et al.* Gamma frequency sensory stimulation in mild probable Alzheimer's dementia patients: results of feasibility and pilot studies. *PLoS One*, 2022, **17**(12): e0278412
- [40] Cimenser A, Hempel E, Travers T, *et al.* Sensory-evoked 40-hz gamma oscillation improves sleep and daily living activities in Alzheimer's disease patients. *Front Syst Neurosci*, 2021, **15**: 746859
- [41] Li K Y, Chien C F, Huang L C, *et al.* Exploring the impact of 40 Hz multi-luminaire light exposure in Alzheimer's dementia: insights from a convenient sampling, non-randomized case-control study. *J Neurol*, 2024, **271**(8): 5425-5432
- [42] Benussi A, Cantoni V, Cotelli M S, *et al.* Exposure to gamma tACS in Alzheimer's disease: a randomized, double-blind, sham-controlled, crossover, pilot study. *Brain Stimul*, 2021, **14**(3): 531-540
- [43] Benussi A, Cantoni V, Grassi M, *et al.* Increasing brain gamma activity improves episodic memory and restores cholinergic dysfunction in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, 2022, **92**(2): 322-334
- [44] Zhou D, Li A, Li X, *et al.* Effects of 40 Hz transcranial alternating current stimulation (tACS) on cognitive functions of patients with Alzheimer's disease: a randomised, double-blind, sham-controlled clinical trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2022, **93**(5): 568-570
- [45] Bréchet L, Yu W, Biagi M C, *et al.* Patient-tailored, home-based non-invasive brain stimulation for memory deficits in dementia due to Alzheimer's disease. *Front Neurol*, 2021, **12**: 598135
- [46] Jacobson N, Lithgow B, Jafari Jozani M, *et al.* The effect of transcranial alternating current stimulation with cognitive training on executive brain function in individuals with dementia: protocol for a crossover randomized controlled trial. *JMIR Res Protoc*, 2022, **11**(4): e37282
- [47] Moussavi Z, Kimura K, Kehler L, *et al.* A novel program to improve cognitive function in individuals with dementia using transcranial alternating current stimulation (tACS) and tutored cognitive exercises. *Front Aging*, 2021, **2**: 632545
- [48] Dhaynaut M, Sprugnoli G, Cappon D, *et al.* Impact of 40 Hz transcranial alternating current stimulation on cerebral tau burden in patients with Alzheimer's disease: a case series. *J Alzheimers Dis*, 2022, **85**(4): 1667-1676
- [49] Sprugnoli G, Munsch F, Cappon D, *et al.* Impact of multisession 40Hz tACS on hippocampal perfusion in patients with Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*, 2021, **13**(1): 203
- [50] He Q, Colon-Motas K M, Pybus A F, *et al.* A feasibility trial of gamma sensory flicker for patients with prodromal Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2021, **7**(1): e12178
- [51] Lahijanian M, Aghajan H, Vahabi Z. Auditory gamma-band entrainment enhances default mode network connectivity in dementia patients. *Sci Rep*, 2024, **14**(1): 13153
- [52] Millet B, Mouchabac S, Robert G, *et al.* Transcranial magnetic stimulation (rTMS) on the precuneus in Alzheimer's disease: a literature review. *Brain Sci*, 2023, **13**(9): 1332
- [53] Lin Y, Jiang W J, Shan P Y, *et al.* The role of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in the treatment of cognitive impairment in patients with Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol Sci*, 2019, **398**: 184-191
- [54] Koch G, Bonni S, Pellicciari M C, *et al.* Transcranial magnetic stimulation of the precuneus enhances memory and neural activity

- in prodromal Alzheimer's disease. *Neuroimage*, 2018, **169**: 302-311
- [55] Liu C, Han T, Xu Z, *et al.* Modulating gamma oscillations promotes brain connectivity to improve cognitive impairment. *Cereb Cortex*, 2022, **32**(12): 2644-2656
- [56] Da X, Hempel E, Ou Y, *et al.* Noninvasive gamma sensory stimulation may reduce white matter and myelin loss in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2024, **97**(1): 359-372
- [57] Chen W, Song X, Beyea S, *et al.* Advances in perfusion magnetic resonance imaging in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2011, **7**(2): 185-196
- [58] Pastor M A, Artieda J, Arbizu J, *et al.* Human cerebral activation during steady-state visual-evoked responses. *J Neurosci*, 2003, **23**(37): 11621-11627
- [59] Ismail R, Hansen A K, Parbo P, *et al.* The effect of 40-hz light therapy on amyloid load in patients with prodromal and clinical Alzheimer's disease. *Int J Alzheimers Dis*, 2018, **2018**: 6852303
- [60] Jirakittayakorn N, Wongsawat Y. Brain responses to 40-Hz binaural beat and effects on emotion and memory. *Int J Psychophysiol*, 2017, **120**: 96-107
- [61] Sharpe R L S, Mahmud M, Kaiser M S, *et al.* Gamma entrainment frequency affects mood, memory and cognition: an exploratory pilot study. *Brain Inform*, 2020, **7**(1): 17
- [62] Manippa V, Nitsche M A, Filardi M, *et al.* Temporal gamma tACS and auditory stimulation affect verbal memory in healthy adults. *Psychophysiology*, 2024, **61**(11): e14653
- [63] Borges L R, Arantes A P B B, Naves E L M. Influence of binaural beats stimulation of gamma frequency over memory performance and EEG spectral density. *Healthcare (Basel)*, 2023, **11**(6): 801
- [64] Lin Z, Hou G, Yao Y, *et al.* 40-Hz blue light changes hippocampal activation and functional connectivity underlying recognition memory. *Front Hum Neurosci*, 2021, **15**: 739333
- [65] Hsiung P C, Hsieh P J. Forty-Hertz audiovisual stimulation does not have a promoting effect on visual threshold and visual spatial memory. *J Vis*, 2024, **24**(2): 8
- [66] Wang L, Zhang W, Li X, *et al.* The effect of 40 Hz binaural beats on working memory. *IEEE Access*, 2022, **10**: 81556-81567
- [67] Colzato L S, Barone H, Sellaro R, *et al.* More attentional focusing through binaural beats: evidence from the global-local task. *Psychol Res*, 2017, **81**(1): 271-277
- [68] Engelbregt H, Meijburg N, Schulten M, *et al.* The effects of binaural and monaural beat stimulation on cognitive functioning in subjects with different levels of emotionality. *Adv Cogn Psychol*, 2019, **15**(3): 199-207
- [69] Ross B, Lopez M D. 40-Hz binaural beats enhance training to mitigate the attentional blink. *Sci Rep*, 2020, **10**(1): 7002
- [70] Shekar L, Suryavanshi C, Nayak K. Effect of alpha and gamma binaural beats on reaction time and short-term memory. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol*, 2018, **8**(6): 829-833
- [71] Tiitinen H, Sinkkonen J, Reinikainen K, *et al.* Selective attention enhances the auditory 40-Hz transient response in humans. *Nature*, 1993, **364**(6432): 59-60
- [72] You J, Xu M, Li R, *et al.* 40-Hz rhythmic visual stimulation facilitates attention by reshaping the brain functional connectivity. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*, 2020, **2020**: 2873-2876
- [73] Rufener K S, Zaehle T, Oechslin M S, *et al.* 40Hz-transcranial alternating current stimulation (tACS) selectively modulates speech perception. *Int J Psychophysiol*, 2016, **101**: 18-24
- [74] Santarnecchi E, Sprugnoli G, Bricolo E, *et al.* Gamma tACS over the temporal lobe increases the occurrence of Eureka! moments. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 5778
- [75] Palmisano A, Chiarantoni G, Bossi F, *et al.* Face pareidolia is enhanced by 40 Hz transcranial alternating current stimulation (tACS) of the face perception network. *Sci Rep*, 2023, **13**(1): 2035
- [76] Keitel C, Quigley C, Ruhnau P. Stimulus-driven brain oscillations in the alpha range: entrainment of intrinsic rhythms or frequency-following response?. *J Neurosci*, 2014, **34**(31): 10137-10140
- [77] Sohal V S. How close are we to understanding what (if anything) γ oscillations do in cortical circuits?. *J Neurosci*, 2016, **36**(41): 10489-10495
- [78] Buzsáki G, Wang X J. Mechanisms of gamma oscillations. *Annu Rev Neurosci*, 2012, **35**: 203-225
- [79] Palop J J, Mucke L. Amyloid-beta-induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: from synapses toward neural networks. *Nat Neurosci*, 2010, **13**(7): 812-818
- [80] Llinás R, Ribary U. Coherent 40-Hz oscillation characterizes dream state in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**(5): 2078-2081
- [81] Bressler S L, Freeman W J. Frequency analysis of olfactory system EEG in cat, rabbit, and rat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1980, **50**(1/2): 19-24
- [82] Ross B, Borgmann C, Draganova R, *et al.* A high-precision magnetoencephalographic study of human auditory steady-state responses to amplitude-modulated tones. *J Acoust Soc Am*, 2000, **108**(2): 679-691
- [83] Spydell J D, Pattee G, Goldie W D. The 40 hertz auditory event-related potential: normal values and effects of lesions. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1985, **62**(3): 193-202
- [84] Rager G, Singer W. The response of cat visual cortex to flicker stimuli of variable frequency. *Eur J Neurosci*, 1998, **10**(5): 1856-1877
- [85] Blanpain L T, Cole E R, Chen E, *et al.* Multisensory flicker modulates widespread brain networks and reduces interictal epileptiform discharges. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 3156
- [86] Zaehle T, Lenz D, Ohl F W, *et al.* Resonance phenomena in the human auditory cortex: individual resonance frequencies of the cerebral cortex determine electrophysiological responses. *Exp Brain Res*, 2010, **203**(3): 629-635
- [87] Ali M M, Sellers K K, Fröhlich F. Transcranial alternating current stimulation modulates large-scale cortical network activity by network resonance. *J Neurosci*, 2013, **33**(27): 11262-11275
- [88] Witkowski M, Garcia-Cossio E, Chander B S, *et al.* Mapping entrained brain oscillations during transcranial alternating current stimulation (tACS). *Neuroimage*, 2016, **140**: 89-98
- [89] Manippa V, Palmisano A, Filardi M, *et al.* An update on the use of gamma (multi)sensory stimulation for Alzheimer's disease

- treatment. *Front Aging Neurosci*, 2022, **14**: 1095081
- [90] Manippa V, Palmisano A, Nitsche M A, *et al*. Cognitive and neuropathophysiological outcomes of gamma-tACS in dementia: a systematic review. *Neuropsychol Rev*, 2024, **34**(1): 338-361
- [91] Park Y, Lee K, Park J, *et al*. Optimal flickering light stimulation for entraining gamma rhythms in older adults. *Sci Rep*, 2022, **12**(1): 15550
- [92] Henney M A, Carstensen M, Thorning-Schmidt M, *et al*. Brain stimulation with 40 Hz heterochromatic flicker extended beyond red, green, and blue. *Sci Rep*, 2024, **14**(1): 2147
- [93] Khachatryan E, Wittevrongel B, Reinartz M, *et al*. Cognitive tasks propagate the neural entrainment in response to a visual 40 Hz stimulation in humans. *Front Aging Neurosci*, 2022, **14**: 1010765
- [94] Jones M, McDermott B, Oliveira B L, *et al*. Gamma band light stimulation in human case studies: groundwork for potential Alzheimer's disease treatment. *J Alzheimers Dis*, 2019, **70**(1): 171-185
- [95] Han C, Zhao X, Li M, *et al*. Enhancement of the neural response during 40Hz auditory entrainment in closed-eye state in human prefrontal region. *Cogn Neurodyn*, 2023, **17**(2): 399-410
- [96] Nichol K E, Poon W W, Parachikova A I, *et al*. Exercise alters the immune profile in Tg2576 Alzheimer mice toward a response coincident with improved cognitive performance and decreased amyloid. *J Neuroinflammation*, 2008, **5**: 13
- [97] Guo J, Cao Y, Zhang T, *et al*. Multisensory fusion training and 7, 8-dihydroxyflavone improve amyloid- β -induced cognitive impairment, anxiety, and depression-like behavior in mice through multiple mechanisms. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2024, **20**: 1247-1270
- [98] Nagatani Y, Takazawa K, Maeda K, *et al*. Gamma-modulated human speech-originated sound evokes and entrains gamma wave in human brain. *Appl Acoust*, 2023, **211**: 109518
- [99] Wang C, Li M, Szanton S, *et al*. A qualitative exploration of 40 Hz sound and music for older adults with mild cognitive impairment. *Geriatr Nurs*, 2024, **56**: 259-269
- [100] Jiang Y, Zhou K, He S. Human visual cortex responds to invisible chromatic flicker. *Nat Neurosci*, 2007, **10**(5): 657-662
- [101] Martin L. Critical duration, the differential luminance threshold, critical flicker frequency, and visual adaptation: a theoretical treatment. *J Opt Soc Am*, 1968, **58**(3): 404-415
- [102] Agger M P, Carstensen M S, Henney M A, *et al*. Novel invisible spectral flicker induces 40 Hz neural entrainment with similar spatial distribution as 40 Hz stroboscopic light. *J Alzheimers Dis*, 2022, **88**(1): 335-344
- [103] Agger M P, Horning M, Carstensen M S, *et al*. Study on the effect of 40 Hz non-invasive light therapy system. A protocol for a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *Front Aging Neurosci*, 2023, **15**: 1250626
- [104] Agger M P, Danielsen E R, Carstensen M S, *et al*. Safety, feasibility, and potential clinical efficacy of 40 Hz invisible spectral flicker versus placebo in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease: a randomized, placebo-controlled, double-blinded, pilot study. *J Alzheimers Dis*, 2023, **92**(2): 653-665
- [105] Hajós M, Boasso A, Hempel E, *et al*. Safety, tolerability, and efficacy estimate of evoked gamma oscillation in mild to moderate Alzheimer's disease. *Front Neurol*, 2024, **15**: 1343588
- [106] Williams M, Cimenser A, Hempel E, *et al*. Safety, feasibility, and adherence of a daily, in-home gamma sensory stimulation therapy with the Cognito Sensory Stimulation System in Alzheimer's subjects. *Alzheimers Dementia*, 2021, **17**(S9): e056480
- [107] Antal A, Alekseichuk I, Bikson M, *et al*. Low intensity transcranial electric stimulation: safety, ethical, legal regulatory and application guidelines. *Clin Neurophysiol*, 2017, **128**(9): 1774-1809
- [108] Jones K T, Gallen C L, Ostrand A E, *et al*. Gamma neuromodulation improves episodic memory and its associated network in amnesic mild cognitive impairment: a pilot study. *Neurobiol Aging*, 2023, **129**: 72-88
- [109] International A D, Wimo A, Ali G C, *et al*. World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia: an Analysis of Prevalence, Incidence, Cost and Trends. London: Alzheimer's Disease International, 2015:12-15
- [110] Jiang-Xie L F, Drieu A, Bhasi K, *et al*. Neuronal dynamics direct cerebrospinal fluid perfusion and brain clearance. *Nature*, 2024, **627**(8002): 157-164
- [111] Hansen D V, Hanson J E, Sheng M. Microglia in Alzheimer's disease. *J Cell Biol*, 2018, **217**(2): 459-472
- [112] Black T, Jenkins B W, Laprairie R B, *et al*. Therapeutic potential of gamma entrainment using sensory stimulation for cognitive symptoms associated with schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev*, 2024, **161**: 105681
- [113] Kim T, James B T, Kahn M C, *et al*. Gamma entrainment using audiovisual stimuli alleviates chemobrain pathology and cognitive impairment induced by chemotherapy in mice. *Sci Transl Med*, 2024, **16**(737): eadf4601
- [114] Liu Y, Li X, Liu S, *et al*. Study on gamma sensory flicker for insomnia. *Int J Neurosci*, 2024. DOI: 10.1080/00207454.2024.2342974
- [115] Dietrich J, Parsons M W, Santarnecchi E. Exploring novel therapeutic avenues for chemotherapy-related cognitive impairment. *Cancer Res*, 2024, **84**(13): 2041-2042
- [116] Hu H, Pang Y, Luo H, *et al*. Noninvasive light flicker stimulation promotes optic nerve regeneration by activating microglia and enhancing neural plasticity in zebrafish. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2024, **65**(5): 3
- [117] Okray Z, Jacob P F, Stern C, *et al*. Multisensory learning binds neurons into a cross-modal memory engram. *Nature*, 2023, **617**(7962): 777-784

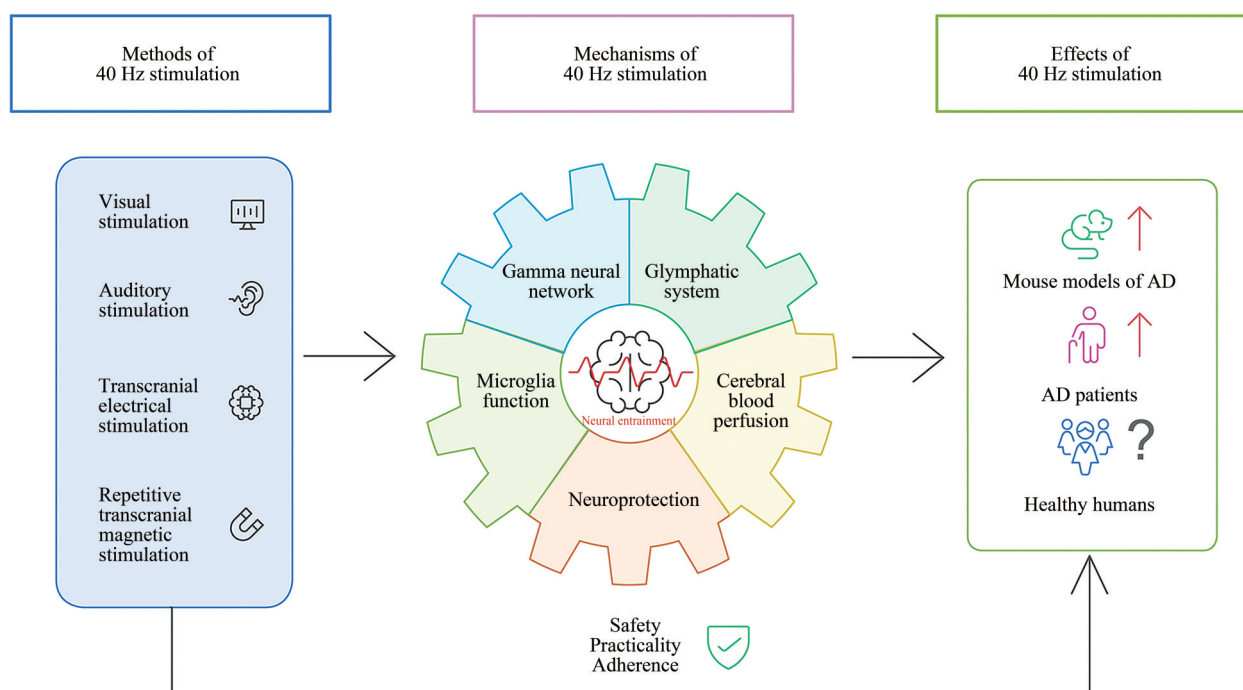
Effects of 40 Hz Rhythmic Stimulation on Alzheimer's Disease and Cognitive Function*

ZHAO Na^{1,2)}, HE Sheng^{1,2)}, SHI Li-Nan^{1)**}

⁽¹⁾State Key Laboratory of Brain and Cognitive Science, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

⁽²⁾College of Life Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Graphical abstract



Abstract Alzheimer's disease (AD), characterized by cognitive decline and neurodegeneration, currently relies on pharmacological treatments that are limited in efficacy and often accompanied by side effects. As the number of AD patients increases, so does the economic burden on both the global healthcare system and families of patients, further worsening the quality of life for patients in their later years. Therefore, it is crucial to find new and more effective therapeutic approaches. This necessity has sparked a growing interest in non-invasive therapies, such as 40 Hz rhythmic stimulation, which aims to modulate brain activity to potentially reverse pathological changes and alleviate symptoms. This review provides an overview of the effects of 40 Hz stimulation on AD pathology and symptoms, its impact on cognitive functions in healthy individuals, the underlying mechanisms of action, and strategies to enhance the treatment's compliance and effectiveness.

* This work was supported by a grant from STI2030-Major Projects (2021ZD0204200).

** Corresponding author.

Tel: 86-10-64887032, E-mail: shiii@ibp.ac.cn

Received: August 24, 2024 Accepted: September 11, 2024

Research has demonstrated that 40 Hz rhythmic stimulation, particularly through auditory and visual modalities, can influence core AD pathologies. In mouse models of AD, this stimulation has been shown to reduce amyloid-beta protein (A β) plaques and phosphorylated tau protein levels, hallmarks of AD pathology. These effects are thought to stem from enhanced waste clearance mechanisms, facilitated by the stimulation of the glymphatic system and the activation of microglia. Clinical applications in AD patients have shown promising results, with improvements noted in cognitive functions and behavioral symptoms. These findings suggest that 40 Hz rhythmic stimulation could offer a non-pharmacological option to mitigate the pathological progression and symptomatic expression of AD. In healthy individuals, the cognitive outcomes of 40 Hz stimulation appear more variable. Some studies indicate potential enhancements in memory and attention, proposing that 40 Hz stimulation may bolster cognitive resilience and processing efficiency in a non-diseased brain. However, these effects are not consistently replicated across studies, indicating that individual differences and specific stimulation parameters may significantly influence outcomes. The beneficial effects of 40 Hz rhythmic stimulation are believed to be primarily due to neural entrainment, where neural circuits synchronize their activity to the external frequency. This entrainment may restore the balance between excitatory and inhibitory neural activity, which is often disrupted in AD mice and AD patients. By reinforcing natural brain rhythms, 40 Hz stimulation may enhance neural connectivity and function, facilitating cognitive and memory processes that are deteriorated in AD. Neural entrainment at 40 Hz has been demonstrated to aid in restoring neural network function, enhancing the glymphatic system, improving cerebral blood flow, and providing neuroprotection. These mechanisms are thought to work synergistically to regulate brain activity, potentially leading to a reduction in lesions and an improvement in cognitive performance. To optimize the therapeutic benefits of 40 Hz stimulation, several factors need to be considered. Treatment protocols should be tailored to individual needs, accounting for variability in disease progression and personal health status. Enhancing patient compliance involves simplifying treatment regimens and using portable, user-friendly devices that can be easily incorporated into daily routines. Ongoing research should focus on refining stimulation parameters and delivery methods to maximize efficacy and minimize potential side effects. In conclusion, while 40 Hz rhythmic stimulation represents a promising avenue for treating AD and enhancing cognitive functions, further research is required to fully elucidate its mechanisms, refine its application, and ensure its practicality and efficacy in broad clinical and everyday settings.

Key words Alzheimer's disease, 40 Hz rhythmic stimulation, non-invasive treatment, neural entrainment, neural mechanism, cognitive function

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0377