

研究论文

大鼠海马CA3区 θ ~ γ 神经振荡与空间认知能力相关性研究

李敏^{1,*}, 叶政², 朱再满¹, 刘克宇³, 孙晓艳², 孟郝²

皖南医学院¹生理学教研室; ²临床医学院; ³研究生学院, 芜湖 241002

摘要: 本研究旨在探索海马CA3区 θ ~ γ 神经振荡相位-幅值耦合(phase-amplitude coupling, PAC)强度与大鼠电击回避训练前后空间辨别和认知能力改变的相关性。依据Y型迷宫电击回避训练结果, 将CA3区埋置电极大鼠分为快回避反应组和普通回避反应组。无线遥测电击回避训练前后两组大鼠海马CA3区神经元局部场电位(local field potential, LFP), 利用MATLAB小波包提取分析CA3区 θ 振荡(3~7 Hz)与低频 γ 振荡(30~60 Hz) PAC变化。结果显示, 快回避反应组大鼠在训练前部分频段 θ ~ γ 振荡PAC明显高于普通回避反应组($P < 0.05$)。在训练“达标”后, 两组大鼠均出现 θ ~ γ 振荡PAC增加($P < 0.05$), 普通回避反应组大鼠部分频段 θ ~ γ 振荡PAC明显高于快回避反应组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。以上结果提示, 一定强度的训练可以改变大鼠空间辨别和认知能力, 其机制是增强大鼠海马神经元 θ ~ γ 神经振荡同步性, 即提高大鼠海马神经元 θ ~ γ 相位-幅值交错频率耦合度。

关键词: 海马; θ ~ γ 神经振荡; 相位-幅值耦合; 认知能力; 小波包提取

中图分类号: R338.2

Correlation between theta–gamma neural oscillations in hippocampal CA3 area and the spatial identifying and cognitive ability in rats

LI Min^{1,*}, YE Zheng², ZHU Zai-Man¹, LIU Ke-Yu³, SUN Xiao-Yan², MENG Hao²

¹Department of Physiology; ²Clinical Medical College; ³Graduate School, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

Abstract: The present study was aimed to explore the correlation between θ – γ neural oscillations phase-amplitude coupling (PAC) in hippocampal CA3 area and the changes of spatial identifying and cognitive ability before and after shock avoidance training in rats. According to the results of Y-type maze shock avoidance training, the rats were divided into two groups: the fast avoidance response group and the general avoidance response group. The local field potential (LFP) of hippocampal CA3 area was recorded by wireless telemetry before and after shock avoidance training. The variation of θ oscillation (3–7 Hz) and low- γ neural oscillation (30–60 Hz) PAC in hippocampal CA3 area was analyzed by MATLAB wavelet packet extraction technique. The results showed that, compared with the general avoidance response group, the fast avoidance response group exhibited higher θ – γ neural oscillation PAC in hippocampal CA3 area before training. θ – γ oscillation PAC in hippocampal CA3 area was increased in both groups after training. It was also noticed that θ – γ neural oscillation PAC of some frequency bands in the general avoidance response group were significantly higher than those in the fast avoidance response group. The results suggest that certain intensity of training can change the spatial identifying and cognitive ability of rats, and the mechanism may involve the increase of the synchrony of θ – γ neural oscillation, i.e., the enhancement of θ – γ phase-amplitude alternating frequency coupling in hippocampal neurons.

Key words: hippocampus; theta–gamma neural oscillation; phase-amplitude coupling; cognitive ability; wavelet packet extraction

Received 2021-04-13 Accepted 2021-06-28

This work was supported by the Key Project of Natural Science Research of Universities in Anhui Province, China (No. KJ2019A0407, KJ2018A0268), the Program for Excellent Young Talents in Colleges and Universities in Anhui Province, China (No. gxyq 2017038), and the Young and Middle Age Scientific Research Fund for Colleges and Universities (No. WK201801).

*Corresponding author. E-mail: limin851022@163.com

学习与记忆是脑的高级功能之一,是一切认知活动的基础。海马是中枢神经系统参与学习记忆的重要脑区^[1,2],其大锥体神经元顶树突呈并行排列,同方向的突触电流在空间记忆形成过程中极易诱导神经元集群同步化放电活动,这种节律性的电生理活动称为神经振荡(neural oscillation)。近年来关于海马内神经振荡的研究有许多重要的发现。Muzzio等在奖赏驱动的工作记忆实验中,发现海马CA3和CA1区 γ 相位同步化增加,CA1中 γ 能量也明显增强^[3],这与Gregoriou等^[4]提出的相同节律的神经振荡在不同脑区间表现为相位同步的结论一致。而在认知行为学研究中常见同一脑区不同节律神经振荡的相互调制,如 θ 节律和 γ 节律有相位-幅值耦合(phase-amplitude coupling, PAC)现象, γ 节律的振幅由 θ 节律的相位调节,而这种跨频率耦合(cross-frequency coupling, CFC)可增强大鼠的工作记忆功能^[5,6]。Tort等^[7]在大鼠T型迷宫实验中发现,海马神经元 θ ~ γ 神经振荡PAC强度在T型迷宫训练中具有快速动态变化的特征,在执行空间任务过程中PAC可迅速地从无耦合提升到强耦合,再进一步恢复至基本无耦合状态,而在T形路口需要进行空间决策时PAC强度达最大值。

此外,本课题组先前在Y迷宫电击回避实验中,发现空间认知能力较强的大鼠,其海马CA3区 θ 节律保持在较高水平, γ_1 节律增加,而空间认知能力较弱的大鼠 θ 节律明显降低并伴有大幅波的显著减少^[8]。由此,我们提出以下问题:在电击回避训练中,大鼠海马CA3区是否会形成 θ ~ γ 神经振荡和PAC现象?这种神经振荡及其耦合度的改变与大鼠空间辨别和认知能力是否有关联?为解决这些问题,本研究拟用Y迷宫电击回避训练将大鼠分为快回避反应组和普通回避反应组,采用脑电无线遥测技术记录回避训练前后大鼠海马CA3区神经元局部场电位(local field potential, LFP),通过MATLAB小波包提取分析CA3区 θ 振荡(3~7 Hz)与低频 γ 振荡(30~60 Hz)PAC变化,探究海马CA3区 θ ~ γ 神经振荡与大鼠电击回避训练前后空间辨别和认知能力改变的相关性,为临床认知功能改善和认知障碍干预提供新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 实验对象和仪器 SPF级雄性Sprague-Dawley(SD)大鼠40只,体重250~300 g,上海斯莱克实验

动物有限责任公司提供,许可证号:SCXK(沪)2012-0002。常规饲养,自由进水进食。动物实验经皖南医学院动物福利和伦理委员会审查和批准。

生理无线遥测系统(BW-200,成都泰盟科技有限公司),迷宫刺激器(MG-3Y型,张家港市教学实验器械厂),大鼠脑立体定位仪(DW-2000,成都泰盟软件有限公司),冰冻切片机(HM525NX,上海赛默飞世尔有限公司)。

1.2 海马CA3区定位及电极埋置 大鼠采用25%氨基甲酸乙酯(4 mL/kg)腹腔注射麻醉。海马CA3区定位依据大鼠脑立体定位图谱^[9]确定(AP: -2.04 mm; ML: 1.0 mm; DV: 3.8 mm)。0.2 mm针灸针喷绝缘漆后作为记录电极(其尖端磨去绝缘漆部分长约0.1 mm),埋置于左右侧海马CA3区,用自凝牙科水泥连同接地电极固定并封闭切口,术后肌肉注射青霉素(400 kU/kg)3 d,24 °C恒温常规饲养7 d。预实验大鼠冰冻切片进行海马CA3区定位校正。

1.3 海马CA3区神经元LFP无线遥测 生理无线遥测系统主要包括电磁发射子、智能接收机、网络中心机及配套记录分析软件。大鼠海马CA3区神经元LFP的无线遥测由埋置记录电极输出,外置式电磁发射子自动采集,并经智能接收机解码,网络中心机输送至电脑端配套记录软件分析。其采样参数设置为:低通滤波100 Hz,高通滤波0.10 Hz,采样率Fs为500 Hz。

1.4 大鼠Y迷宫电击回避训练及动物分组 Y迷宫电刺激装置由三个支臂和一个连接区组成,各臂末端装有信号灯,信号灯开启指示该臂为安全区(即该臂底部不通电),另两臂和连接区均通电。本研究采用随机不休息、安全区无规则变换电击方法,测试大鼠电击回避反应及安全区的辨别能力。实验分为预选期和测试期,实验预选期剔除电击反应不敏感大鼠^[8],测试期将大鼠置于Y迷宫适应3~5 min,以所在迷宫支臂为起点,当另一支臂信号灯亮后或者大鼠遭受电击(50~70 V)一次性逃避至安全区(即亮灯区),并且在信号灯持续时间内(10 s)不折返,记为“正确反应”;否则记为“错误反应”。在迷宫训练中,若连续10次测试中有9次及以上为“正确反应”,则认定为训练“达标”,大鼠训练“达标”后即停止测试。每日测试20次,未“达标”大鼠次日重复上述测试,直至第4天(第4天仍未“达标”大鼠被剔除)。在大鼠训练前(预选实验后)和“达标”即刻,均在其所处臂内实时遥测其CA3区

LFP。

本研究中动物分组：将1 d内(20次测试)训练“达标”大鼠设为快回避反应组,供统计所用共11只;将2~4 d(40~80次测试)训练“达标”大鼠设为普通回避反应组,共18只,从中随机选出11只供统计所用。

1.5 大鼠海马CA3区神经元LFP小波包提取

神经元LFP属于非线性信号,小波提取及分析将其从一维的时域信号转变为二维的时域-频域尺度信号,有效提高了原始脑电信号的提取精度^[10,11]。利用MATLAB软件,针对大鼠原始LFP进行非线性小波包提取,由于原始LFP采样率Fs为500 Hz,根据奈奎斯特采样定理(Nyquist-Shannon sampling theorem)可推出小波包提取输出信号的最大检测频率为250 Hz。采用Mallat二元分解算法,对原始脑电信号进行高频部分和低频部分的分解,逐层推进下去,分解信号的带宽(bandwidth, BW)为Fs/2ⁿ⁺¹,在9层分解频带数目为512(2⁹)个,则BW近似为0.5 Hz,与原始采样率最为接近。

1.6 θ - γ 神经振荡相位-幅值交错频率耦合分析

利用小波基重构相应频段LFP信号,进行小波消噪去趋势处理,利用小波包PAC分析方法,对大鼠海马CA3区LFP的 θ 振荡(3~7 Hz)与低频 γ 振荡(30~60 Hz)采用希伯特变换(Hilbert transform),提取 θ 振荡的相位值 $\varphi_{fp}(t)$,以及低频 γ 振荡包络波形的强度值 $A_{fA}(t)$,构建时间序列的矩阵 $[\varphi_{fp}(t), A_{fA}(t)]$,以每10°为相位组距,将一个 θ 振荡周期N分为36等份,每一等分为j,叠加并计算序列中每一等份 γ 振荡包络波形的平均强度。若 $\langle A_{fA}(t) \rangle_{\varphi_{fp}(j)}$ 为j相位所对应的 γ 振荡的平均强度,则可计算其熵值(H):

$$H = - \sum_{j=1}^N P_j \ln(P_j)$$

其中 P_j 为:

$$P_j = \frac{\langle A_{fA}(t) \rangle_{\varphi_{fp}(j)}}{\sum_{j=1}^N \langle A_{fA}(t) \rangle_{\varphi_{fp}(j)}}$$

则耦合调制指数(modulation index, MI)^[12]为:

$$MI = \frac{H_{\max} - H}{H_{\max}}$$

上述MI值可反映相位-幅值交错频率耦合强

度。MI值越高,意味着 θ - γ 神经振荡PAC强度越强,即 γ 波振幅随着 θ 波某一相位明显增高,表现出波动性,相反, γ 波振幅随 θ 波相位波动较小。

1.7 数据处理和统计分析 实验数据采用SPSS 21.0软件进行统计分析,以mean \pm SD表示。两个独立样本比较时采用t检验,不满足检验条件时,采用秩和检验,当 $P < 0.05$ 时认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠迷宫电击回避反应能力的比较

对比两组大鼠迷宫电击回避训练达标参数^[8],结果显示,较普通回避反应组,快回避反应组大鼠电击回避反应达标所需的天数(days to reach the standard, DRS)、达标所需的训练次数(training number, TN)、错误反应次数(error reaction number, ERN)均显著减少,正确反应率(correct response rate, CRR)显著提高($P < 0.01$),主动回避率(active avoidance rate, AAR)未见明显差异,提示快回避反应组大鼠对于电击加光照空间(安全区)所激发的条件性学习记忆能力,即空间辨别和认知能力明显优于普通回避反应组大鼠(表1)。

2.2 大鼠海马CA3区神经元LFP及其小波提取

在大鼠迷宫电击回避训练实验中,利用无线遥测系统记录大鼠训练前、训练“达标”即刻所在迷宫支臂大鼠海马CA3区神经元LFP(图1A)。利用小波包提取方法,从原始LFP中提取 θ 波(3~7 Hz)(图1B)和低频 γ 波(30~60 Hz)(图1C)。进一步将 θ 波(3~7 Hz)分为了3~5 Hz和5~7 Hz两个频段,低频 γ 波(30~60 Hz)分为了30~34、32~36、34~38、36~40、38~42、40~44、42~46、44~48、46~50、48~52、50~54、52~56、54~58、56~60 Hz共14个频段,本文后续研究将比较不同回避反应组大鼠 θ 波和 γ 波不同频段PAC情况,以揭示其与迷宫训练中大鼠空间辨别和认知能力的相关性。

2.3 电击回避训练前后普通回避反应组大鼠 θ - γ 神经振荡PAC的比较

针对普通回避反应大鼠海马CA3区LFP中 θ 波(3~7 Hz)和低频 γ 波(30~60 Hz)相位-幅值交错频率耦合强度(图2A、B)分析发现:在电击回避训练后,大鼠海马CA3区 θ - γ 神经振荡多个频段(3~5 Hz与44~48 Hz、52~56 Hz; 5~7 Hz与42~46 Hz、44~48 Hz、52~56 Hz)耦合度明显高于训练前($P <$

表1. 两组大鼠迷宫电击回避训练达标参数对比

Table 1. Parameters of electric shock avoidance training to reach the standard from different groups in Y type maze

Group	DRS	TN	CRR	AAR	ERN
GAR	3.63 ± 0.80	72.50 ± 16.03	0.65 ± 0.07	0.05 ± 0.05	25.83 ± 9.07
FAR	0.80 ± 0.25*	16.00 ± 5.07*	0.82 ± 0.13*	0.05 ± 0.12	3.40 ± 2.85*

Mean ± SD, $n = 11$. * $P < 0.01$ vs GAR. GAR: general avoidance response group; FAR: fast avoidance response group; DRS: days to reach the standard; TN: training number; CRR: correct response rate; AAR: active avoidance rate; ERN: error reaction number.

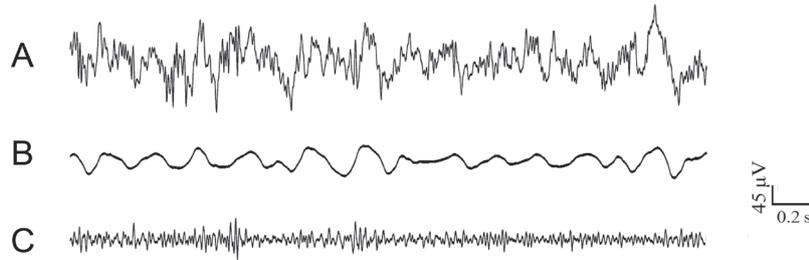


图 1. 大鼠海马CA3区神经元原始局部场电位(LFP)及其小波提取

Fig. 1. The original LFP from hippocampal CA3 area in 2[#] rat and results of wavelet extraction. A: LFP in hippocampal CA3 area; B: θ rhythm (3–7 Hz); C: Low γ rhythm (30–60 Hz).

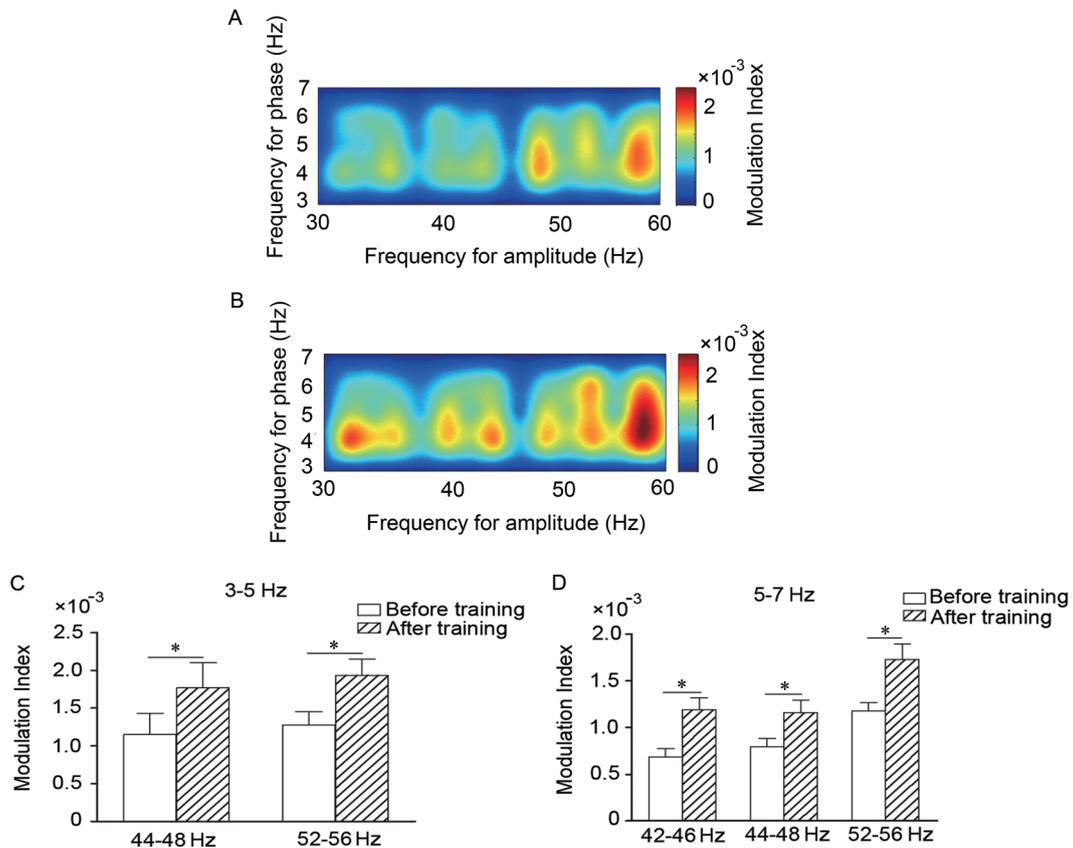


图 2. 电击回避训练前后普通回避反应组大鼠海马CA3区 θ - γ 神经振荡PAC分析

Fig. 2. Analysis of θ - γ PAC in CA3 area before and after electric shock avoidance training in general avoidance response group. A: Modulation index (MI) of θ rhythm (3–7 Hz) and γ rhythm (30–60 Hz) before electric shock avoidance training; B: MI of θ rhythm (3–7 Hz) and γ rhythm (30–60 Hz) after electric shock avoidance training. C: MI of θ rhythm (3–5 Hz) and γ rhythm (44–48 Hz, 52–56 Hz) before and after electric shock avoidance training. D: MI of θ rhythm (5–7 Hz) and γ rhythm (42–46 Hz, 44–48 Hz, 52–56 Hz) before and after electric shock avoidance training. Mean ± SD, $n = 11$. * $P < 0.05$.

0.05)(图 2C、D)。该结果提示,普通回避反应组大鼠在经历了 40~80 次训练后,海马 CA3 区多个频段 θ - γ 振荡 PAC 增强,这与普通回避反应组大鼠空间辨别和认知能力在训练后增强,即迷宫回避训练“达标”有关。

2.4 电击回避训练前后快回避反应组大鼠 θ - γ 神经振荡PAC的比较

针对快回避反应组大鼠海马 CA3 区 LFP 中 θ 波 (3~7 Hz) 和低频 γ 波 (30~60 Hz) 相位 - 幅值交错频率耦合强度 (图 3A、B) 的分析结果显示,在电击回避训练后,大鼠海马 CA3 区 θ - γ 神经振荡 (5~7

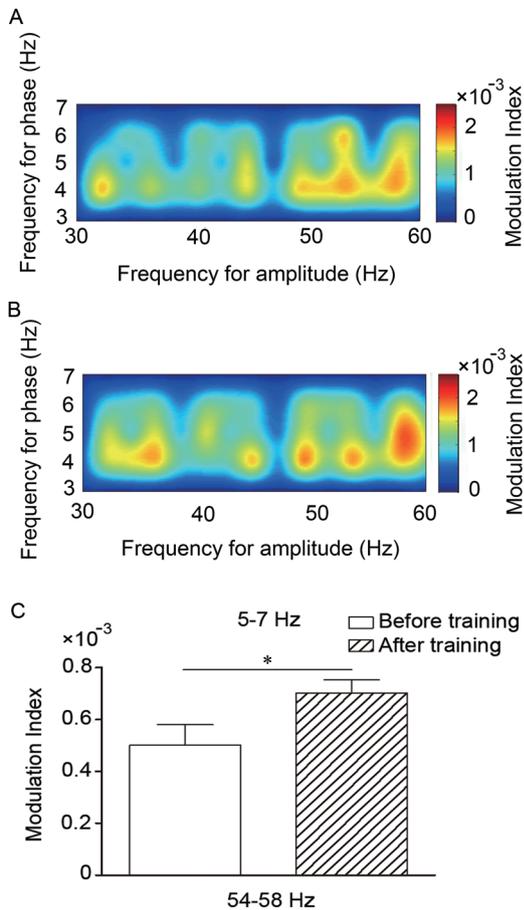


图 3. 电击回避训练前后快回避反应组大鼠CA3区 θ - γ 神经振荡PAC分析

Fig. 3. Analysis of θ - γ PAC in CA3 area before and after electric shock avoidance training in fast avoidance response group. A: Modulation index (MI) of θ rhythm (3~7 Hz) and γ rhythm (30~60 Hz) before electric shock avoidance training; B: MI of θ rhythm (3~7 Hz) and γ rhythm (30~60 Hz) after electric shock avoidance training. C: MI of θ rhythm (5~7 Hz) and γ rhythm (54~58 Hz) before and after electric shock avoidance training. Mean \pm SD, $n = 11$. * $P < 0.05$.

Hz 与 54~58 Hz) 耦合度明显高于训练前 ($P < 0.05$) (图 3C)。该结果提示,快回避反应组大鼠训练后 θ - γ 神经振荡 PAC 的增强与其在电击回避训练中空间辨别和认知能力较强有关。

2.5 两组大鼠训练前后 θ - γ 神经振荡PAC的分析

针对电击训练前海马 CA3 区 θ - γ 神经振荡 (图 2A、3A) 的分析结果显示,快回避反应组大鼠 θ - γ 振荡 (3~5 Hz 与 52~56 Hz) 耦合度明显高于普通回

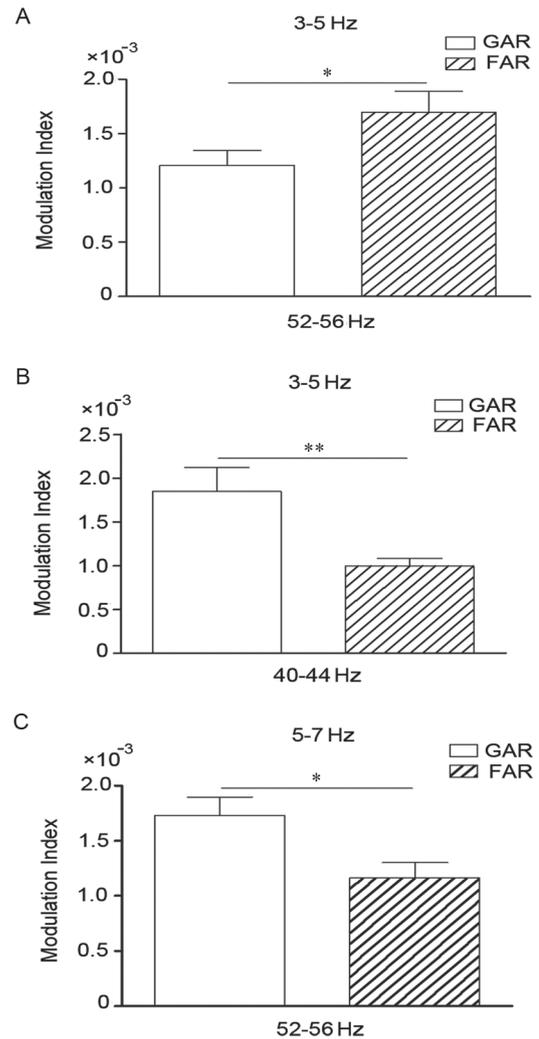


图 4. 两组大鼠电击回避训练前后 θ - γ 神经振荡PAC的分析

Fig. 4. Analysis of θ - γ PAC in CA3 area before and after electric shock avoidance training in two groups. A: Modulation index (MI) of θ rhythm (3~5 Hz) and γ rhythm (52~56 Hz) before electric shock avoidance training; B: MI of θ rhythm (3~5 Hz) and γ rhythm (40~44 Hz) after electric shock avoidance training. C: MI of θ rhythm (5~7 Hz) and γ rhythm (52~56 Hz) after electric shock avoidance training. Mean \pm SD, $n=11$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. GAR: general avoidance response group; FAR: fast avoidance response group.

避反应组 ($P < 0.05$) (图 4A)。该结果提示, 快回避反应组大鼠在训练前部分频段 $\theta\sim\gamma$ 振荡 PAC 可能是其在电击加光照空间 (安全区) 条件性刺激所致的迷宫回避反应中能力较强, 很快能训练“达标”的原因。

对电击训练后海马 CA3 区 $\theta\sim\gamma$ 神经振荡 (图 2B、3B) 的分析结果显示, 普通回避反应组大鼠海马 CA3 区 $\theta\sim\gamma$ 神经振荡 (3~5 Hz 与 40~44 Hz; 5~7 Hz 与 52~56 Hz) 耦合度明显高于快回避反应组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$) (图 4B、C)。该结果提示, 由于快回避反应组大鼠训练前即存在部分频段 $\theta\sim\gamma$ 振荡 PAC 现象, 故其电击回避反应能力强, “达标”所需训练次数少, 训练后其 $\theta\sim\gamma$ 振荡 PAC 增强不及普通回避反应组, 进一步提示 $\theta\sim\gamma$ 神经振荡的产生可能与一定强度的训练有关。

3 讨论

大鼠 Y 迷宫电击回避训练中安全区的识别, 与海马性空间辨别和认知能力密切相关。本研究结果显示, 快回避反应组大鼠各项指标均优于普通回避反应组, 提示快回避反应大鼠对于电击加光照空间 (安全区) 所激发的条件性空间辨别和认知能力相对较强。本研究组先前研究结果显示, 与空间认知能力增强相关的大鼠海马 CA3 区 θ 节律保持在较高水平, γ_1 节律增加^[8], 但未阐明是否会形成 CA3 区的 $\theta\sim\gamma$ 神经振荡和 PAC 现象、以及 PAC 与大鼠电击回避反应能力是否存在相关性。本研究遥测训练“达标”即刻所在迷宫支臂大鼠海马 CA3 区 LFP, 该脑电信号包含了大鼠在迷宫训练中空间辨别及记忆编码的重要信息。

由于生物信号特别是脑电活动信号具有非周期性和突变性特点, 因此本研究采用小波包提取分析技术, 通过提取大鼠海马 CA3 区神经元 LFP, 将无限长的三角函数基转变为有限长会衰减的小波基, 通过对小波基的伸缩和平移来拟合原始信号, 其优点在于具有良好的时频特性, 既保证了原始信号的提取精度, 又非常符合生物信号的特点^[10, 13]。在此基础上, 本研究利用小波包 PAC 分析法, 将提取的 θ 波 (3~7 Hz) 和低频 γ 波 (30~60 Hz) 切割为不同频段, 分析不同反应组大鼠不同频段 $\theta\sim\gamma$ 神经振荡 PAC 的变化。首先, 本研究结果显示, 电击回避训练前, 在迷宫场景中快回避反应组大鼠即存在部分频段 γ 节律 (52~56 Hz) 的振幅由 θ 节律 (3~5

Hz) 的相位调制的跨频率耦合现象, 我们推测这可能是快回避反应组大鼠迷宫回避反应能力较强, 很快能训练“达标”的原因。本研究结果还显示, 快回避反应组大鼠在训练前即存在部分频段 $\theta\sim\gamma$ 振荡 PAC 高于普通回避反应组大鼠, 我们认为这正是快回避反应大鼠“先天”(本身)突触可塑性较强的一种体现。Reinhart 等^[14]在与年龄相关的认知行为学研究发现, $\theta\sim\gamma$ 振荡 PAC 较强的年轻人完成工作记忆相关任务的成功率较高。Xu 等^[15]在硫化氢改善突触可塑性相关的血管性痴呆大鼠的认知缺陷研究中发现, 认知功能正常大鼠海马 CA3 θ (3~8 Hz)-CA1 低频 γ (30~50 Hz) PAC 明显高于认知缺陷大鼠。可见, 这种“先天”具备的 $\theta\sim\gamma$ 神经振荡的耦合, 对接下来“工作任务”的正确执行至关重要。我们由此推测, 本研究中不同回避反应大鼠在迷宫训练中空间辨别和认知能力的差异与其“先天”神经元突触可塑性不同有关。另有电生理学研究表明, 某些药物阻断 CA3~CA1 兴奋性突触传递后, 其神经振荡降低, 从而减弱了大鼠在水迷宫实验中的空间辨别能力^[16]。与没有被记住的线索相比, 那些被成功记住的线索出现时, 海马的 γ 振荡同步化活动增强^[17]。在工作记忆保持阶段, 海马 CA1 的 $\theta\sim\gamma$ 神经振荡 PAC 有所增强^[18]。当动物学习精确空间位置定位任务时, 海马 CA3 区低频 γ 振荡的振幅增加^[19]。以上研究均证明, γ 神经振荡参与记忆编码、工作记忆和记忆检索等海马性高级功能活动, 也进一步验证了海马 CA3~CA1 神经元突触可塑性与海马 $\theta\sim\gamma$ 神经振荡同步性的连锁关系。由此我们推测, 普通回避反应组大鼠在训练前 $\theta\sim\gamma$ 神经振荡 PAC 处于较低水平可能是由其海马神经元突触可塑性较弱所致, 然而经历 2~4 d (40~80 次测试) 训练“达标”后, 普通回避反应组大鼠海马 CA3 区出现多个频段 $\theta\sim\gamma$ 神经振荡 PAC 的增强, 行为学上表现为其迷宫电击回避反应能力的增强。Lasztóczy 等^[20]研究发现, 小鼠在反复经过固定区域不同位置时, 海马 CA1 区 LFP 的 θ 振荡与发自 CA1 区不同层次的三种不同频段的 γ 振荡发生 PAC, 同时 CA1 区单个独立的位置细胞可以整合并传递多频段 γ 振荡, 进而增强小鼠位置辨别能力。我们推测, 训练后 $\theta\sim\gamma$ 神经振荡 PAC 的增强, 在一定程度上与大鼠电击回避实验中空间辨别和认知能力呈正相关, 其本质在于训练 (行为学实验) 可以改变大鼠海马神经元突触可塑性, 而突触可塑性的增强自然伴随着神

经振荡同步性的增强, θ - γ 神经振荡 PAC 即是神经振荡同步性的一种形式。而在病理状态下, θ - γ 神经振荡 PAC 与疾病状态也有一定的关系。Goutagny 等^[21] 利用 Matlab 多窗谱分析一月龄的阿尔茨海默病模型组转基因小鼠, 结果显示在 β 淀粉样蛋白大量累积前, 有部分模型组小鼠海马区 LFP 信号的 θ - γ 振荡 PAC 强度明显降低。该研究提示, 针对 θ - γ 神经振荡 PAC 处于较低水平的普通回避反应大鼠, 我们可否模拟 θ - γ 神经振荡, 通过深部脑刺激的方式“人为”调制其 θ - γ 振荡 PAC 强度, 进而增强其条件性空间辨别和认知学习能力, 这将成为后续研究的思路之一。

值得一提的是, 在训练“达标”后, 电击回避反应能力差异的两组大鼠均出现 θ - γ 振荡 PAC 增强, 但普通回避反应组大鼠部分频段 θ - γ 振荡 PAC 明显高于快回避反应组。我们推测 θ - γ 神经振荡 PAC 的产生可能与一定强度的训练有关。Bott 等^[22] 在小鼠迷宫训练研究中发现, 当动物进行目标抉择时, 其海马 θ - γ 神经振荡耦合度往往随着训练的增加而增强。Jones 等^[23] 研究显示, 工作记忆训练可增强部分频段 θ - γ 振荡 PAC 的持久性。以上这些结果进一步明确了本研究训练导致的大鼠海马神经元突触可塑性增强的程度可能在普通回避反应组更高(其训练次数多), 因而其 θ - γ 相位-幅值交错频率耦合强度增加的更多。众所周知, 短时记忆在海马形成, 传递到新皮质形成长时记忆, 在这个记忆巩固的过程中, 实质上是位置细胞进行空间学习、在脑内形成位置野的过程, θ 节律可以顺序激活位置细胞集群产生同步化放电, 只有那些接收到足够兴奋刺激的位置细胞, 也就是在早期记忆中不断得到强化的突触, 才能抵抗普遍性的抑制并将记忆转移到长期储存中。由此我们推测, 一定强度的训练可以通过经验集成, 将支持记忆机制的相关细胞集群联系起来, 在短时记忆转变为长期记忆的过程中不可或缺。

一般情况下, 不同频率的神经振荡原则上可以独立运行和工作, 实际上它们也可能会同时出现, 互相调制进而影响神经元的活动(即神经元突触可塑性)。本研究通过提取海马 LFP 不同节律, 分析不同节律不同频段 PAC, 初步论证了大鼠海马 CA3 区 θ - γ 神经振荡耦合现象与其迷宫回避反应能力的相关性, 即: 一定强度的训练可以使得大鼠空间辨别和认知能力得以改变, 其机制在于神经振荡活动

模式的改变, 具体地说是增强了神经元 θ - γ 神经振荡同步性, 即海马神经元 θ - γ 相位-幅值交错频率耦合度的增强。在本研究基础上, 后续我们将模拟特征性 θ - γ 神经振荡, 调制迷宫电击回避反应能力较弱的普通回避反应大鼠脑内 θ - γ 神经振荡活动, 观察其对大鼠空间辨别和认知能力的影响并探讨其分子机制, 为临床认知功能改善和认知障碍干预提供新的思路和方法。

参考文献

- 1 Buzsáki G, Logothetis N, Singer W. Scaling brain size, keeping timing: evolutionary preservation of brain rhythms. *Neuron* 2013; 80(3): 751-764.
- 2 Hanson A. Spontaneous electrical low-frequency oscillations: a possible role in *Hydra* and all living systems. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2021; 376(1820): 20190763.
- 3 Muzzio IA, Kentros C, Kandel E. What is remembered? Role of attention on the encoding and retrieval of hippocampal representations. *J Physiol* 2009; 587(12): 2837-2854.
- 4 Gregoriou GG, Gotts SJ, Zhou H, Desimone R. High-frequency, long-range coupling between prefrontal and visual cortex during attention. *Science* 2009; 324(5931): 1207-1210.
- 5 Vivekananda U, Bush D, Bisby JA, Baxendale S, Rodionov R, Diehl B, Chowdhury FA, McEvoy AW, Miserocchi A, Walker MC, Burgess N. Theta power and theta-gamma coupling support long-term spatial memory retrieval. *Hippocampus* 2021; 31(2): 213-220.
- 6 Padilla-Coreano N, Canetta S, Mikofsky RM, Alway E, Passecker J, Myroshnychenko MV, Garcia-Garcia AL, Warren R, Teboul E, Blackman DR, Morton MP, Hupalo S, Tye KM, Kellendonk C, Kupferschmidt DA, Gordon JA. Hippocampal-prefrontal theta transmission regulates avoidance behavior. *Neuron* 2019; 104(3): 601-610.
- 7 Tort AB, Kramer MA, Thorn C, Gibson DJ, Kubota Y, Graybiel AM, Kopell NJ. Dynamic cross-frequency couplings of local field potential oscillations in rat striatum and hippocampus during performance of a T-maze task. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(51): 20517-20522.
- 8 Wang WW (汪炜炜), Wang DD, Wang D, Guan Y, Tang YY, Ye Z, Li J, Li M, Zhu ZM, Pan QW. Alteration of neural oscillations in hippocampal CA3 area in the fast avoidance response rat before and after electric shock avoidance training. *Acta Physiol Sin (生理学报)* 2015; 67(5): 487-496 (in Chinese).
- 9 George P, Charles W. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, 2007, 50.
- 10 Bai Y (白羽), Bai JM, Li J, Li M, Yu R, Pan QW. Wavelet

- packet extraction and entropy analysis of telemetry EEG from the prelimbic cortex of medial prefrontal cortex in morphine-induced CPP rats. *Acta Physiol Sin* (生理学报) 2014; 66(6): 675–682 (in Chinese).
- 11 Ye Z (叶政), Yu R, Li J, Li M, Zhu ZM, Wang DD, Pan QW. Changes of theta oscillation of prelimbic cortex in heroin-induced CPP rats. *Chin J App Physiol* (中国应用生理学杂志) 2016; 32(5): 431–437 (in Chinese).
 - 12 Canolty RT, Edwards E, Dalal SS, Soltani M, Nagarajan SS, Kirsch HE, Berger MS, Barbaro NM, Knight RT. High gamma power is phase-locked to theta oscillations in human neocortex. *Science* 2006; 313(5793): 1626–1628.
 - 13 Li Y, Wei HL, Billings SA, Sarrigiannis PG. Time-varying model identification for time-frequency feature extraction from EEG data. *J Neu Meth* 2011; 196(1): 151–158.
 - 14 Reinhart RMG, Nguyen JA. Working memory revived in older adults by synchronizing rhythmic brain circuits. *Nat Neurosci* 2019; 22(5): 820–827.
 - 15 Xu X, Liu C, Li Z, Zhang T. Effects of hydrogen sulfide on modulation of theta-gamma coupling in hippocampus in vascular dementia rats. *Brain Topogr* 2015; 28(6): 879–894.
 - 16 Xu X, An L, Mi X, Zhang T. Impairment of cognitive function and synaptic plasticity associated with alteration of information flow in theta and gamma oscillations in melamine-treated rats. *PLoS One* 2013; 8(10): e77796.
 - 17 Fell J, Klaver P, Lehnertz K, Grunwald T, Schaller C, Elger CE, Fernández G. Human memory formation is accompanied by hinal-hippocampal coupling and decoupling. *Nat Neurosci* 2001; 4(12): 1259–1264.
 - 18 Van Vugt MK, Schulze-Bonhage A, Litt B, Brandt A, Kahana MJ. Hippocampal gamma oscillations increase with memory load. *J Neurosci* 2010; 30(7): 2694–2699.
 - 19 Tort AB, Komorowski RW, Manns JR, Kopell NJ, Eichenbaum H. Theta-gamma coupling increases during the learning of item-context associations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(49): 20942–20947.
 - 20 Lasztóczy B, Klausberger T. Hippocampal place cells couple to three different gamma oscillations during place field traversal. *Neuron* 2016; 91(1): 34–40.
 - 21 Goutagny R, Gu N, Cavanagh C, Jackson J, Chabot JG, Quirion R, Krantic S, Williams S. Alterations in hippocampal network oscillations and theta-gamma coupling arise before A β overproduction in a mouse model of Alzheimer’s disease. *Eur J Neurosci* 2013; 37(12): 1896–1902.
 - 22 Bott JB, Muller MA, Jackson J, Aubert J, Cassel JC, Mathis C, Goutagny R. Spatial reference memory is associated with modulation of theta-gamma coupling in the dentate gyrus. *Cereb Cortex* 2016; 26(9): 3744–3753.
 - 23 Jones KT, Johnson EL, Berryhill ME. Frontoparietal theta-gamma interactions track working memory enhancement with training and tDCS. *Neuroimage* 2020; 211: 116615.