

# 褪黑激素对大鼠弓状核神经元自发单位放电的调制作用

李晓君, 刘甘泉, 郭廖南, 陈培熹

(中山大学中山医学院生理教研室, 广东 广州 510080)

**摘要:**【目的】研究褪黑激素(MEL)对大鼠下丘脑弓状核(ARC)神经元自发单位放电活动的影响。【方法】记录ARC神经元自发单位放电,微电泳注射MEL。分析注射MEL前和注射MEL时ARC神经元自发单位放电的放电间隔(ISI)及其变化率。【结果】微电泳MEL时,220个ARC神经元自发单位放电活动的变化有3种情况:92个单位(41.82%)的ISI减小(兴奋);61个单位(27.73%)的ISI增加(抑制);67个单位(30.45%)的ISI无明显改变(不反应)。【结论】MEL对ARC大部分神经元的自发放电活动有兴奋或抑制的调制作用,以兴奋作用为主,但对小部分神经元的自发放电活动无明显影响。

**关键词:**弓状核;褪黑激素;电生理学

**中图分类号:**R388.2

**文献标识码:**A

**文章编号:**1672-3554(2003)04-0340-04

## Modulation of Melatonin on Spontaneous Unit Discharges of the Arcuate Nucleus in Rats

LI Xiao-jun, LIU Gan-quan, GUO Liao-nan, CHEN Pei-xi

(Department of Physiology, Zhongshan Medical College, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

**Abstract:**【Objective】To study the effects of melatonin (MEL) on spontaneous unit discharges of the hypothalamic arcuate nucleus (ARC) in rats. 【Methods】The spontaneous unit discharges of the ARC neurons were recorded and MEL was microiontophoretically applied. The interspike intervals (ISI) of spontaneous unit discharges before and during application of MEL and the change rates of mean ISI were analysed. 【Results】During iontophoresis of MEL, the changes of spontaneous unit discharges in 220 neurons could be divided into three kinds: ① 92 units (41.82%) showed decrease in ISI (excitation); ② 61 units (27.73%) showed increase in ISI (inhibition); ③ 67 units (30.45%) had no significant change in ISI (no response). 【Conclusion】The modulation of MEL on the spontaneous unit discharges in most of ARC neurons can be either excitatory or inhibitory, in which the major is excitatory. But in a small population of ARC neurons, the spontaneous unit discharges have no significant change by MEL.

**Key words:** arcuate nucleus; melatonin; electrophysiology

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2003, 24(4):340~343]

褪黑激素(melatonin, MEL)对中枢神经系统神经元自发放电活动影响的报道不一。有研究发现, MEL对大鼠和仓鼠下丘脑视前区和下丘脑前部(POA/AHA)神经元的自发放电活动仅有兴奋作用,使51个细胞中的36个细胞放电率增加10%

~187%;其余细胞放电率无明显改变<sup>[1]</sup>。另有研究发现, MEL对中脑网状结构<sup>[2]</sup>、大脑皮层<sup>[3]</sup>和海马<sup>[4]</sup>神经元的自发放电活动的影响主要是抑制作用,对下丘脑视交叉上核(SCN)神经元自发放电活动的影响有抑制、兴奋和无反应3种情况<sup>[5]</sup>。下丘

收稿日期:2003-11-20

基金项目:中山医科大学科研基金资助项目(1995)

作者简介:李晓君(1955-),女,北京人,主管技师。

脑是神经内分泌的重要调节中枢,也是 MEL 的主要作用部位之一。探讨 MEL 对下丘脑神经元活动的影响,将有助于进一步了解 MEL 对中枢神经系统神经元活动影响的规律。MEL 对下丘脑弓状核(nucleus arcuatus, ARC)神经元自发放电活动有何影响,目前尚未见报道。本实验用微电泳方法研究 MEL 对 ARC 神经元自发放电活动的影响。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物和处理

实验用 SD 大鼠,雌雄不限,体质量 200 ~ 220 g,自然光照条件下饲养。在 200 g/L 氨基甲酸乙酯麻醉(1.2 mg/g,腹腔注射)下,作气管切开插管后,将动物头部固定在脑立体定位仪上。开颅,暴露一侧大脑皮层,脑表面滴加适量石蜡油,以防干燥。打开小脑延髓池引流脑脊液,以减少脑搏动。实验观察过程中,用三碘季铵酚制动,并给予人工呼吸。动物肛温维持在(37 ± 1)℃。

### 1.2 记录和微电泳方法

多管微电极的中心管充灌含 20 g/L 溴胺天蓝的 0.5 mol/L 醋酸钠溶液(电阻 5 ~ 20 MΩ),用于记录神经元自发放电活动;一个侧管充灌 20 mmol/L MEL(Sigma 公司),作微电泳药物用;另一个侧管充灌 0.165 mol/L NaCl 作对照及注射平衡电流用。用微电极操纵器(PF5-48 型,日本光电公司)将微电极垂直推进,记录 ARC 神经元自发单位放电活动。记录部位:以前囟为零点,前后(AP)1 ~ 2 mm,左右(LR)0.1 ~ 0.5 mm,深度(H)9 ~ 9.5 mm。神经元自发放电信号经微电极放大器(MEZ-8201 型,日本 Nitachi denshi. Ltd.)放大后,在双线示波器(V-212 型,日本 Nitachi denshi. Ltd.)上线观察,同时输入到窗口鉴别器(CKQ-1 型,蚌埠无线电研究所)以鉴别神经元放电信号,鉴别情况在示波器下线显示。窗口鉴别器窗内输出的神经元放电信号与刺激器的时间信号并行输入微机作初步处理后存盘。

微电泳(BH-2 型直流微电泳仪,美国 Medical Systems Corp.)注射 MEL 时,使用正极电流,对照管则同时通以极性相反、电流强度相等的平衡电流。微电泳注射的电流强度为 10、20、40、80、160 nA。每次微电泳注射的时间为 60 s。不给药时药物管和对照管通以 5 ~ 10 nA 的滞留电流。

部分实验结束后,中心管通以 5 ~ 10 μA 阴极电流将溴胺天蓝泳出,脑组织固定后以组织学方法检查电极插入部位。

### 1.3 结果处理和统计学分析

打印神经元自发放电序列密度直方图,分析微电泳 MEL 前和微电泳 MEL 时各 1 min 时段自发放电的放电间隔(interspike interval, ISI),以均值 ± 标准差表示。计算微电泳前和微电泳时放电间隔均值(MISI)变化率, MISI 变化率 = [(微电泳时 MISI - 微电泳前 MISI) ÷ 微电泳前 MISI] × 100%。参照文献[6]提出的药效评定标准,以 MISI 变化率 ≥ ± 30% 为用药后有明显反应的标准, MISI 变化率 ≥ + 30% 为抑制反应, MISI 变化率 ≥ - 30% 为兴奋反应, MISI 变化率 < ± 30% 为用药后无明显反应。用 POMS 统计学软件分别对 MEL 兴奋单位、MEL 抑制单位和无明显反应单位作微电泳前和微电泳时 MISI 的自身配对 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为有显著性差异的界限。

## 2 结 果

### 2.1 ARC 神经元自发放电活动的特点

本研究共记录 220 个 ARC 神经元自发放电单位,按其放电频率分为两类:低频放电单位(放电频率 ≤ 2/s),占 77.73%;高频放电单位(放电频率 > 2/s),占 22.27%。按其放电活动的节律性又可分为:不规则放电单位(占 86.82%),放电随机出现,相间不均匀,频率较低;和节律性放电单位(占 13.18%),节律性地出现爆发性放电,每个放电串约有 3 ~ 10 个动作电位,持续约 10 ~ 80 ms。

### 2.2 MEL 对 ARC 神经元自发放电活动的影响

微电泳 MEL 时,220 个自发放电单位中,92 个单位(41.82%)的放电频率增加(图 1A),61 个单位(27.73%)的放电频率降低(图 1B),67 个(30.45%)单位的放电频率无明显改变。微电泳 MEL 前和微电泳 MEL 时神经元自发放电的 ISI 变化见表 1,提示 MEL 对 ARC 大部分神经元自发放电活动有明显的兴奋性或抑制性调制作用,以兴奋作用为主;但对小部分神经元自发放电活动无明显影响。

MEL 注射剂量( $I_{MEL}/nA$ ) 10、20、40、80、160 nA 时, MEL 兴奋单位 MISI 变化率分别为 -(41.70 ± 20.28)% , -(49.42 ± 20.62)% , -(51.26 ± 20.07)% ,

-(52.79±28.08)%,-(59.93±26.32)% (图 2A); MEL 抑制单位 MISI 变化率分别为 (75.67±58.09)%,(94.13±65.17)%,(141.88±234.38)%,(84.74±95.21)%,(86.96±63.03)% (图 2B)。

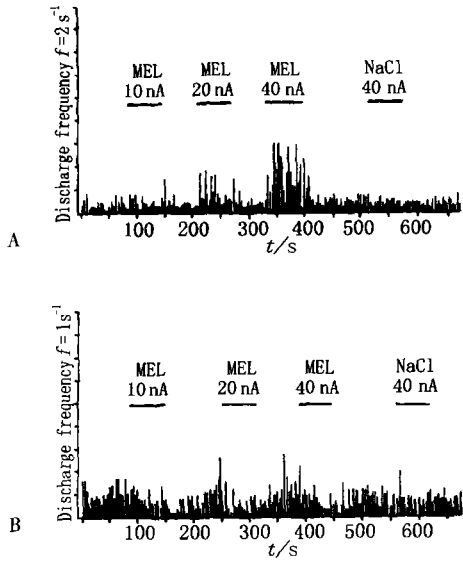


图 1 微电泳褪黑激素对弓状核神经元自发单位放电的影响

Fig. 1 Effects of MEL on spontaneous unit discharges of the ARC neurons

A: MEL-excitatory unit; B: MEL-inhibitory unit

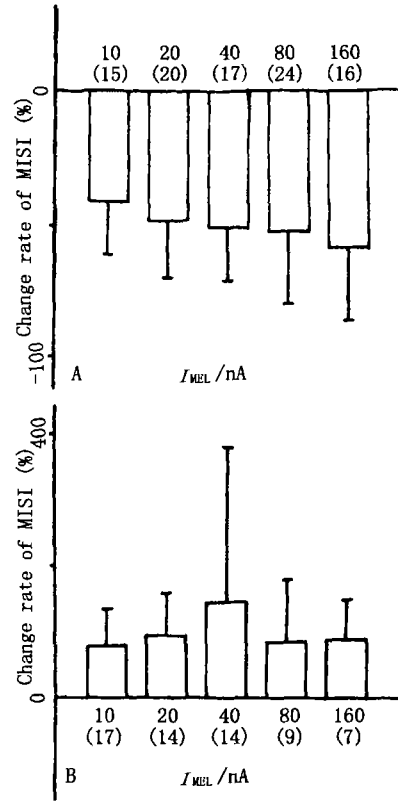


图 2 不同剂量的褪黑激素对弓状核神经元自发单位放电的放电间隔均值变化率的影响

Fig. 2 Effects of melatonin in different doses on change rate of MISI of spontaneous unit discharge of ARC neurons

A: MEL-excitatory unit; B: MEL-inhibitory unit. The numbers in brackets are the numbers of tested units. MISI, Mean value of interspike interval

表 1 微电泳褪黑激素对弓状核神经元自发单位放电的放电间隔均值的影响

Table 1 Effects of microiontophoretically applied MEL<sup>1)</sup> on MISI<sup>2)</sup> of spontaneous unit discharge of ARC<sup>3)</sup> neurons [(x̄±s), t<sub>b</sub>/ms]

I <sub>MEL</sub> /nA	Number of units	n	t(Excitatory unit)/ms		t(Inhibitory unit)/ms		t(No change unit)/ms			
			Before ionophoresis	During ionophoresis	n	Before ionophoresis	During ionophoresis	n	Before ionophoresis	During ionophoresis
10	48	15	1 753 ± 1 164	1 065 ± 721 <sup>4)</sup>	17	1 399 ± 1 384	2 331 ± 2 401 <sup>4)</sup>	16	1 282 ± 1 227	1 028 ± 1 009
20	47	20	1 694 ± 1 335	781 ± 698 <sup>4)</sup>	14	1 386 ± 1 421	2 311 ± 2 082 <sup>4)</sup>	13	1 613 ± 747	1 553 ± 758
40	48	17	1 240 ± 959	531 ± 378 <sup>4)</sup>	14	1 342 ± 909	2 413 ± 1 541 <sup>4)</sup>	17	2 738 ± 3 844	2 609 ± 3 305
80	44	24	2 022 ± 2 134	972 ± 1 464 <sup>4)</sup>	9	1 086 ± 877	1 592 ± 1 111 <sup>4)</sup>	11	1 644 ± 1 285	1 560 ± 1 053
160	33	16	1 931 ± 1 836	568 ± 480 <sup>4)</sup>	7	939 ± 906	1 489 ± 1 130 <sup>4)</sup>	10	1 893 ± 1 184	1 836 ± 1 005

1)MEL, Melatonin; 2)MISI, Mean value of interspike interval; 3)ARC, Arcuate nucleus; 4) P < 0.01 vs before ionophoresis of MEL

### 3 讨 论

本实验记录在体大鼠 ARC 神经元自发放电, 以低频、不规则活动为主要形式, 与大鼠的离体下丘脑脑片 ARC 神经元自发放电活动的形式基本相

同<sup>[7]</sup>。在本实验中, MEL 对 ARC 神经元自发放电活动的调制作用可以是兴奋作用(92/220)或者是抑制作用(61/220), 以兴奋作用为主, 但对部分 ARC 神经元(67/220)的自发放电活动无明显影响。这与文献报道的 MEL 神经元活动只有兴奋作用, 未见抑制作用<sup>[1]</sup>或以抑制作用为主<sup>[2-4]</sup>不同。因而提

示, MEL 对中枢神经系统神经元活动的影响是复杂的, MEL 对同一核团神经元自发放电活动可同时具有兴奋和抑制的影响。但对同一神经元重复使用 MEL 时, 自发放电活动变化的形式相同, 未见同时具有兴奋和抑制两种变化形式(图 1)。

MEL 的生物学效应是通过其特异性受体介导的。目前知道, MEL 的细胞膜受体至少可分 2 类, ML1 受体和 ML2 受体, 它们都是 G 蛋白耦联受体。ML1 受体使 cAMP 生成减少而 cGMP 生成增加, ML2 受体使磷脂酰肌醇二磷酸(PIP<sub>2</sub>) 分解, 生成三磷酸肌醇(IP<sub>3</sub>) 和二酰基甘油(DAG)。cAMP, cGMP, IP<sub>3</sub> 和 DAG 分别通过一系列级联信号转导作用而产生生物学效应<sup>[8]</sup>。最近还发现, 除膜受体外, MEL 也可以激活核受体而介导其功能。MEL 作用机制的复杂性, 提示了 MEL 对中枢神经系统神经元活动影响的多样性。有研究指出, MEL 对下丘脑视交叉上核(SCN) 神经元自发放电活动的影响有 3 种情况: 31% 神经元(30/97) 为抑制, 15% 神经元(15/97) 为兴奋, 54% 神经元(52/97) 无反应<sup>[5]</sup>。这与本实验观察到的 MEL 对 ARC 神经元自发放电活动的影响有 3 种情况相符。因此, 认为激素只有单一的兴奋或抑制作用的传统观点, 看来不适用于 MEL。

本实验结果(图 2) 还表明, MEL 的剂量对兴奋单位和抑制单位自发放电活动的调制作用不同。在本实验 MEL 注射剂量范围内, MEL 对兴奋单位的兴奋作用随剂量的增加而逐渐增大。MEL 对抑制单位的抑制作用, 在较小剂量时, 抑制作用也是随剂量的增加而增大; 在剂量为 40 nA 时, 抑制作用达到最大; 当剂量进一步增加时, 抑制作用反而降低。提示, 在较高剂量时, 介导 MEL 抑制作用的受体可能较容易发生脱敏。

从 MEL 兴奋单位和抑制单位微电泳 MEL 前后 MISI 的变化来看(表 1), 神经元在微电泳前自发放电频率较低(MISI 较大) 时, 出现兴奋反应的可能性较大, 而自发放电频率较高(MISI 较小) 时, 出现抑制反应的可能性较大。提示, MEL 对 ARC 神经元自发放电活动的调制作用可能与神经元自发放电活动水平有关。本实验室<sup>[9]</sup> 也观察到, 刺激猫外周神经引起体感皮层神经元诱发放电的变化与神经

元的自发“背景”放电活动有关。自发放电 ISI 均值小的神经元, 诱发放电的 ISI 均值增大(抑制); 而自发放电 ISI 均值大的神经元, 诱发放电的 ISI 均值减少(兴奋)。关于神经元自发放电活动水平与反应(兴奋或抑制) 的确切关系, 仍需要进一步研究。

ARC 神经元参与多种功能活动的调节, 如生殖的神经内分泌调节、摄食行为调节和镇痛等。我们的实验虽然无法确定对 MEL 产生反应的细胞类型, 但实验结果表明, MEL 对 ARC 大部分神经元电活动有调制作用, 而且这种调制作用不是单一的, 既有兴奋作用也有抑制作用, 以兴奋作用为主。

#### 参考文献:

- [1] Demaine C, Kann H C. Hypothalamic neurons as possible target cells for pineal indoles [J]. *J Physiol*, 1979, 291: 49 P.
- [2] Pazo J H. Effects of melatonin on spontaneous and evoked neuronal activity in the mesencephalic reticular formation [J]. *Brain Res Bull*, 1979, 4(6): 725.
- [3] 应水旺, 张家驹, 郝苏阳, 等. 微电泳给予褪黑激素对大鼠大脑皮层神经元自发和谷氨酸诱发放电的影响[J]. *福建医学院学报*, 1988, 22(2): 102.
- [4] 应水旺, 郝苏阳, 张建瑜, 等. 微电泳给予褪黑激素对大鼠海马单位放电的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 1989, 5(2): 187.
- [5] Mason R, Rusak B. Neurophysiological responses to melatonin in the SCN of short-day sensitive and refractory hamsters [J]. *Brain Res*, 1990, 533(1): 15.
- [6] Koyama Y, Kayama Y. Mutual interactions among cholinergic, noradrenergic and serotonergic neurons studied by iontophoresis of these transmitters in rat brainstem nuclei [J]. *Neuroscience*, 1993, 55(4): 1117.
- [7] 陶 萍, 梅 俊. 5-羟色胺对大鼠下丘脑弓状核神经元自发放电活动的影响[J]. *生理学报*, 1996, 48(2): 157.
- [8] Dubocovich M L. Melatonin receptors: are there multiple subtypes? [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 1995, 16(2): 50.
- [9] 曹 阳, 陈培熹. 猫体感皮层神经元自发放电活动对诱发放电的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 1990, 6(2): 113.

(编辑 张敏瑞)