

大脑皮质体感区 C类纤维诱发单位放电的胆碱能调制作用^①

刘甘泉^② 姚愈忠 陈培熹

(中山医科大学生理教研室; 广州, 510089)

摘要 用微电泳技术研究乙酰胆碱 (ACh)及胆碱能受体阻断剂阿托品 (Atr)和六羟季胺 (C₆)对电刺激猫隐神经 C类纤维诱发的大脑皮质体感 I 区 (S 区)神经元单位放电 (C-ED)的影响。结果表明,绝大部分 C-ED 单位 (22/24)位于大脑皮质的深层; ACh能明显抑制大部分单位 (5/8)的 C-ED,标准化互协方差函数 (NCCVF)积分值降低 ($P < 0.05$); Atr使大部分单位 (11/17)的 C-ED增强, NCCVF积分值增加 ($P < 0.05$); 而 C₆使大部分单位 (6/9)的 C-ED减弱, NCCVF积分值降低 ($P < 0.05$)。表明, C类纤维诱发的大脑皮质单位放电接受胆碱能调制,可能主要通过胆碱能 M 受体起抑制作用,还有胆碱能 N 受体的易化作用。提示 ACh在大脑皮质的神经元水平上也可能参与痛觉的调制。

主题词 躯体感觉皮质; 神经纤维; 乙酰胆碱; 受体; 胆碱能拮抗剂和抑制剂; 电生理学

中图分类号 R388.25

大脑皮质是否参与痛觉的调制,长期以来一直存在争议。近年来,痛生理的研究表明,大脑皮质不仅接受疼痛的传入信息,也参与疼痛的调节过程^[1]。某些神经递质和调质(如内啡肽等)在疼痛调节中的作用也受到了研究者的普遍重视。但是,在种系发生和个体发生中出现最早的神经递质乙酰胆碱 (ACh)与大脑皮质疼痛调制关系的研究资料相对较少,特别是在神经元水平上, ACh对伤害性刺激诱发的大脑皮质神经元单位放电的影响,尚未见报道。本实验以猫隐神经 C类纤维传入冲动诱发的大脑皮质体感 I 区 (S 区)神经元单位放电 (C-ED)作为慢痛指标,用微电泳技术观察 ACh,胆碱能 M 受体 (mAChR)阻断剂阿托品 (Atr)和胆碱能 N 受体 (nAChR)阻断剂六羟季胺 (C₆)对 C-ED的影响,为阐明大脑皮质参与痛觉调制及 ACh在此调制中的作用提供直接和可靠的证据。

1 材料与方 法

1.1 动物与处理

实验用猫,体重 2~3 kg,在 w (氯醛糖) = 0.01, 80 mg/kg,静脉注射麻醉下,将动物头部固定于立体定位仪上。手术分离一侧隐神经,结扎并剪断外周端,在近中段依次放置刺激电极、银-氯化银阻

滞电极和记录电极。用石蜡油池防止神经干燥。开颅暴露对侧 S 区。定位后用 w (琼脂) = 0.03 封闭暴露的大脑部分,并作小脑延髓池脑脊液引流,以减轻脑的搏动。为减小麻醉药物对实验的影响,麻醉后 6 h 开始实验观察和记录。此时静脉注射 w (三碘季铵酚) = 0.04, 0.3~0.5 mL 制动,同时给予人工呼吸。实验过程中动物的肛温维持在 $38^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

1.2 刺激神经和选择性阻断 A类纤维

用电子刺激器 (日本 Nihon Kohden, SEN-7103 型)发出单个或双个电脉冲 (主间隔 2 s,波宽 0.2 ms,强度 2 mA)连续刺激隐神经。同时用阳极电流阻断法阻断粗纤维兴奋的传入,并在示波器上监视隐神经复合动作电位,调节适当的阻滞电流 (50~100 μA)使 A类纤维动作电位消失,只允许 C类纤维动作电位向中枢传入。

1.3 记录神经元放电和微电泳方法

多管微电极的中心管充灌 2 mol/L NaCl (电阻 5~15 M Ω),作记录神经元放电动用。在微电极操纵器控制下将微电极垂直插入 S 区皮质内。神经元放电信号经微电极放大器 (日本 (Nihon Kohden, MEZ-8201 型)放大后在示波器上观察,同时经窗口鉴别器 (蚌埠无线电研究所, CKQ-1 型),将窗内输出的神经元放电信号送入微机作初步处理后存盘。

① 国家教委科研基金资助课题; ② 第一作者, 1944 年出生,男,副教授。

供实验后进一步分析。

药物注射用的侧管分别充灌 0.5 mol/L Ach (美国 Sigma, pH 4), 0.1 mol/L Atr (上海试剂三厂, pH 5) 和 2 mol/L G₆ (德国 Darmstadt, pH 5.5)。另一侧管充灌 0.165 mol/L NaCl, 作施加平衡电流和对照用。各侧管电阻 20~50 MΩ。微电泳注射 (美国 Medical Systems Corp, BH-2 型微电泳仪) 电流为 10~30 nA, 注射时间 1.5~2 min。每次用药之间相隔 2 min 以上。不作药物注射期间, 药物管给予 5~10 nA 的滞留电流。

1.4 统计分析

根据神经元放电阵列图, 分别对用药前和用药时 1 min 的神经元放电作标准化互协方差函数 (NCCVF) 分析, 并打印 NCCVF 图和 NCCVF 积分值直方图^[2]。用 POMS 程序进行用药前后的 NCCVF 积分值配对 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为显著性差异界限。

2 结果

2.1 S₁ 区的 C-ED

在 S₁ 区的十字沟后 1~2 mm, 矢状缝旁开 2~4 mm 范围内共记录了 24 个 C-ED 神经元单位。除 2 个单位位于浅层 (皮质表面下 800~1 000 μm) 外, 其余均位于深层 (皮质表面下 1 000~2 000 μm)。不同单位之间 C-ED 的潜伏期、放电持续时间及标准化互协方差函数 (NCCVF) 积分值变动范围较大。24 个单位中, C-ED 潜伏期最短为 105 ms, 最长为 275 ms, 平均为 161.26 ms ± 44.07 ms ($\bar{x} \pm s$); 放电持续时间最短为 17 ms, 最长为 55 ms, 平均为 36.91 ms ± 22.75 ms; NCCVF 积分值最小为 0.1 000, 最大为 1.0 341, 平均为 0.3 839 ± 0.2 624。

2.2 Ach 对 S₁ 区 C-ED 的影响

在微电泳 Ach (10~30 nA) 的 8 个单位中, 5 个单位的 C-ED 被明显抑制。Ach 对 C-ED 抑制作用的潜伏期较长, 用药后通常 20~30 s 才出现较明显的抑制作用; 抑制的持续时间也较长, 在停止电泳 Ach 后, 有的单位抑制作用持续 10 min 以上, 而且抑制作用可被 Atr 阻断 (图 1)。NCCVF 积分值从微电泳 Ach 前的 0.5 243 ± 0.1 293 降低为 0.3 526 ± 0.1 910 ($P < 0.05$)。Ach 使另外 3 个单位 C-ED 增

强, NCCVF 积分值从微电泳 Ach 前的 0.1 900 ± 0.1 581 增加到 0.2 923 ± 0.2 813, 但无统计学差异。表明, Ach 对 S₁ 区的 C-ED 主要起抑制作用。

2.3 Atr 对 S₁ 区 C-ED 的影响

微电泳 Atr (10~30 nA) 使 17 个 C-ED 单位中 11 个单位的 C-ED 增强, NCCVF 积分值从微电泳前的 0.3 702 ± 0.2 436 增加到 0.4 511 ± 0.2 742 ($P < 0.05$); 其余 6 个单位 C-ED 减弱, NCCVF 积分值从微电泳前的 0.3 017 ± 0.2 441 降低到 0.1 022 ± 0.1 150, 但差异无统计学意义。提示, mAChR 对 C-ED 的影响以抑制为主。

2.4 C₆ 对 S₁ 区 C-ED 的影响

微电泳 C₆ (10~30 nA) 使 9 个 C-ED 单位中 6 个单位的 C-ED 减弱, NCCVF 积分值从微电泳前的 0.3 014 ± 0.1 944 降低到 0.2 073 ± 0.1 495 ($P < 0.05$); 其余 3 个单位 C-ED 增强, NCCVF 积分值从微电泳前的 0.2 693 ± 0.0 875 增加到 0.3 633 ± 0.1 162, 其差异也无统计学意义。提示, nAChR 对 C-ED 主要为兴奋性作用。

3 讨论

大脑皮质的胆碱能神经纤维支配主要来自基底前脑的胆碱能神经元投射及大脑皮质的内在胆碱能神经元。Ach 在大脑皮质信息处理过程中的作用相当复杂。大量的证据表明, Ach 对大脑皮质神经元的自发放电活动和体感传入的诱发活动的影响, 既有易化作用也有抑制作用。近年来的研究还表明, Ach 参与皮质下中枢的镇痛过程。胆碱酯酶抑制剂及 mAChR 激动剂在脊髓水平具有镇痛作用^[3], 脑室内注射或某些核团内注射胆碱能激动剂也具有镇痛作用^[4,5]。但是, 在大脑皮质水平上对 Ach 与痛觉调节关系的研究不多。关新民等^[6]的研究表明, 针刺镇痛时大鼠脑组织 (包括大脑皮质) 的 Ach 含量明显增加, 尾核与间脑内 Ach 更新率增加, 而且其 Ach 水平与针刺镇痛作用呈正相关。本实验用微电泳技术在神经元水平上证明了, Ach 对反映痛觉的 S₁ 区 C-ED 主要起抑制作用。支持在中枢神经系统中, 除内啡肽能镇痛系统外, 还存在有胆碱能镇痛系统^[5]。Ach 除了在大脑皮质下中枢参与镇痛外, 在大脑皮质水平也参与痛觉的调节。本实验从神经元水平上为大脑皮质的胆碱能镇痛作用提供了直接的证据。

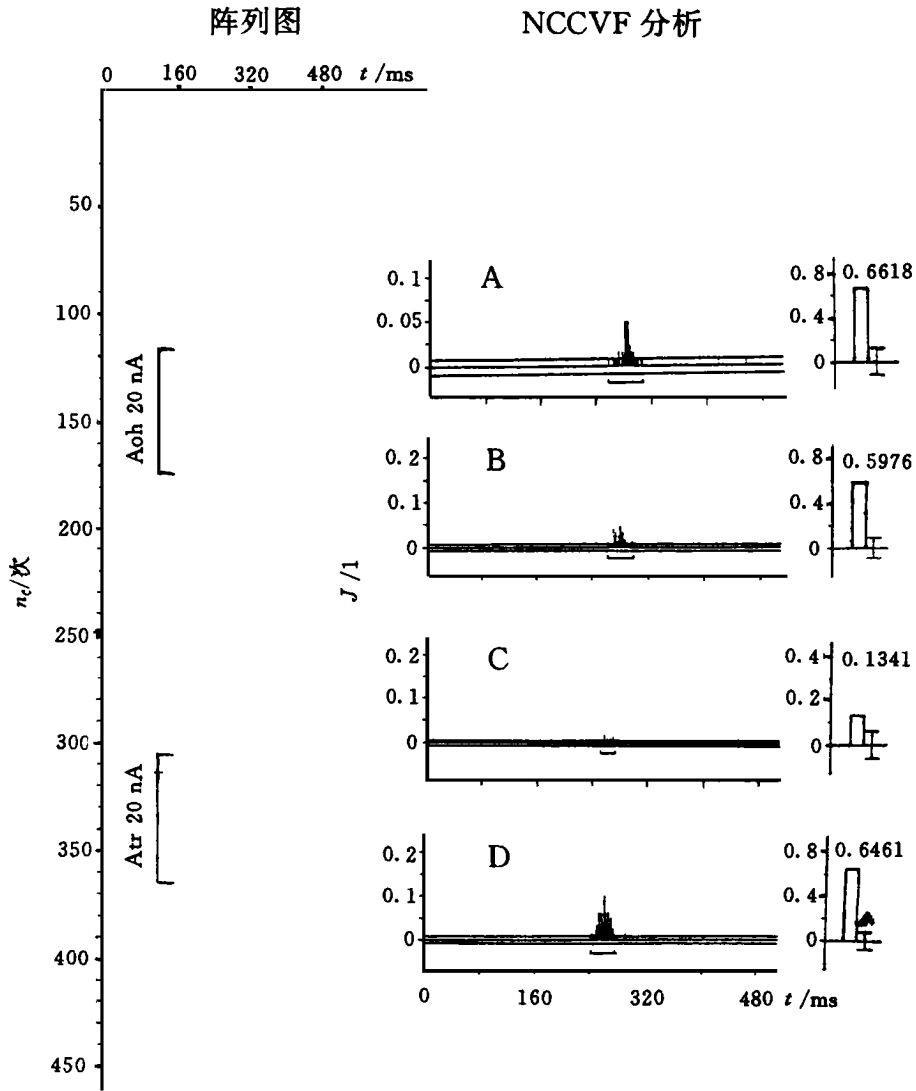


图 1 微电泳 ACh对 SI 区神经元 C-ED的抑制作用

显示 ACh对 C-ED抑制作用的潜伏期较长,抑制的持续时间也较长,并可被 Atr阻断。左:神经元放电阵列图,纵坐标为刺激同步信号序列, n_c 代表刺激次数,单位为次;横坐标为刺激后时间,单位为 ms。右: C-ED的 NCCVF图及相应的 NCCVF积分值。A 微电泳 ACh前(分析段为刺激同步信号序列 20~ 50), B 微电泳 ACh 20 nA时(分析段为刺激同步信号序列 120~ 150), C 停微电泳 ACh后(分析段为刺激同步信号序列 240~ 270), D 微电泳 Atr 20 nA时(分析段为刺激同步信号序列 320~ 350)。NCCVF图 0线上方的横线及积分值直方图右侧竖线表示 2.58 s。J代表 NCCVF积分值,单位为 1。

本实验结果还表明, mAChR阻断剂 Atr使大部分单位的 C-ED明显增强,而 nAChR阻断剂 C₆使大部分单位的 C-ED明显减弱。提示, ACh抑制 C-ED的作用可能主要以 mAChR为中介。这也与在大脑皮质下中枢通过 mAChR参与镇痛相一致^[3-5]。此外, ACh还可能通过 nAChR易化 C-ED。

本实验所探查到的绝大部分 C-ED单位(22/24)位于大脑皮质深层(大脑皮质表面 1 000 μm以下)。袁斌等^[7]也观察到,大鼠 SI 区对伤害性刺激反应的伤害感受性神经元绝大部分位于皮层的 IV~ VI层。看来,传入到大脑皮质的伤害性刺激的信息主要在皮质的深层进行处理和调制。我们曾报道,在大

脑皮质的深层 Ach 对 A 类纤维传入信息的调制作用是以易化为主,而且主要也是通过 mAChR 起作用^[8]。结合本实验结果分析,同样在大脑皮质的深层,对于 A 类纤维传入与 C 类纤维传入的不同性质信息,Ach 的调制作用不同。Ach 增强 A 类纤维传入所诱发的神经元活动,促进了信息的传递过程,而抑制 C 类纤维传入的伤害性刺激信息在大脑皮质所引起的反应,避免了过强刺激可能对神经元造成的损害,而起保护作用。Ach 的这两方面作用都符合 Ach 在大脑皮质水平的信息处理过程中的调制作用,能选择性地控制外周信号的传入,因而都具有重要的生理意义。可以设想,在 A 类纤维和 C 类纤维同时传入时,激活了中枢的胆碱能神经元,其末梢释放的 Ach 加强了 A 类纤维传入的信息,而抑制了 C 类纤维传入的信息,这可能与针刺信息和疼痛信息在大脑皮质水平的整合有关。我们在实验中观察到,在大脑皮质存在 A 类纤维诱发电位或诱发放电的情况下,往往不出现 C 类纤维诱发电位或诱发放电^[8,9],也可能与 Ach 的这种调制作用有关。大脑皮质中 mAChR 有不同的亚型,不同的亚型可以分布于细胞的不同区域^[10],这可能是 Ach 使神经元对不同性质信号反应不同的原因。

(明华生、林文健同志参加本研究的技术工作,谨此致谢)

参 考 文 献

- 1 林郁,徐维. 大脑皮质层参与疼痛的调节. 生理科学进展, 1985, 16(1): 13
- 2 邵学思,陈培熹. 神经元放电活动的统计信号分析. II. 神经元放电反应的定量分析. 生物物理学报, 1988, 4(4): 322
- 3 Hartvig P, Gillberg P G, Gordh T, *et al*. Cholinergic mechanisms in pain and analgesia. Trends Pharmacol Sci, 1989 Dec, Suppl: 75
- 4 Oliveira M A, Prado W A. Antinociception and behavioral manifestations induced by intracerebroventricular or intra-amygdaloid administration of cholinergic agonists in the rat. Pain, 1994, 57: 383
- 5 徐广银,端木肇夏,印其章. 中枢乙酰胆碱在痛觉调制和镇痛中的作用. 针刺研究, 1993, 18(1): 1
- 6 关新民,王才源,余福,等. 中枢乙酰胆碱与针刺镇痛关系的研究. 针刺研究, 1991, 16(2): 129
- 7 袁斌,刘新领. 电针对大鼠大脑皮层 S 区神经元对伤害感受性反应的影响. 针刺研究, 1992, 17(2): 90
- 8 刘甘泉,姚愈忠,陈培熹. 体感皮质浅层和深层诱发单位放电的胆碱能调制. 中山医科大学学报, 1993, 14(3): 200
- 9 陈培熹,翁纪伟. 刺激隐神经 C 类纤维诱发体感皮层电反应(平均诱发电位). 生理学报, 1986, 38(1): 1
- 10 Hulme E C, Birdsall N J M, Buckley N J. Muscarinic receptor subtypes. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1990, 30: 633

(1996-04-12收稿 1997-01-20修回)

CHOLINERGIC MODULATION OF THE C FIBER-EVOKED DISCHARGES OF SINGLE NEURONS IN THE PRIMARY SOMATOSENSORY CORTEX

Liu Ganquan Yao Yuzhong Chen Peixi

(Department of Physiology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510089)

The effects of iontophoretic application of acetylcholine (Ach) and cholinergic receptor blockers atropine (Atr) and hexamethonium (C₆) on the C fiber-evoked discharge (C-ED) of single neurons in the primary somatosensory cortex (S₁) were investigated in cats. Most of neurons (22/24) were located in the deep layer, 1 000~2 000 μm below the cortical surface. Among most of the cells tested (5/8) the C-ED was significantly suppressed when Ach was delivered, with a decrease in the mean integral value of normalized cross-covariance function (NCCVF) from 0.5 243 ± 0.1 293 to 0.3 526 ± 0.1 910 ($P < 0.05$). The significant enhancement of C-ED was observed in 11 out of 17 cells tested when Atr was ejected. The mean integral value of NCCVF was 0.4 51 ± 0.2 742 compared

(下转第 120 页)

- 4 Blout E R, Asadounian A. Polypeptide III. The synthesis of high molecular weight poly- γ -benzyl-L-glutamates. J Am Chem Soc, 1956, 78: 941
- 5 Sederal W L, Banties A, Feijen J. A route to anionic hydrophilic films of copolymers of L-lysine, L-aspartic acid and L-aspartic acid esters. Polymers, 1975, 16: 736
- 6 Sidman K R, Schwoppe A D, Steber W D, *et al.* Biodegradable implantable sustained release systems based on glutamic acid copolymers. J Membrane Sci, 1980, 7: 277
- 7 Manabu S, Yoshimitsu K. Preparation and drug-releasing behaviour of copoly (α -amino acid) membranes. J Membrane Sci, 1986, 27: 241
- 8 马季涛,董岸杰,吕俊怀,等. 辐照交联聚硅氧烷-18甲基炔诺酮体系缓释行为的研究. 中国生物医学工程学报, 1989, 8(4): 236
- 9 Sidman K R, Steber W D, Schwoppe A D, *et al.* Controlled release of macromolecules and pharmaceuticals from synthetic polypeptides based on glutamic acid. Biopolymers, 1983, 22: 547

(1996-03-10收稿 1997-01-08修回)

THE EFFECT OF HYDROPHILIC POLY AMINO ACID FILMS ON DRUG PERMEABILITY

Pan Shirong Huang Ningfang

(Department of Artificial Heart, The First Affiliated Hospital,
Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

The authors measured the permeability of leucine-methyl glutamate glutamic acid copolymer films to 5-fluorouracil, hydrocortisone sodium succinate, bleomycin, mitomycin and *in vitro* drug-release test of tablet with coated film. The results showed that the coefficient of permeability of copolymers films would increase with an increase in the content of glutamic acid of copolymer film, but decrease with an increase in relative molecular mass of drug penetrated through the films. Drug-release test *in vitro* indicated that the drug-release from the tablet kept a constant rate which depended on their coefficient of permeability.

Subject headings fluourouracil /pharmacokinetics; hydrocortisone/analogue and derivate; hydrocortisone / pharmacokinetics; bleomycin /pharmacokinetics; mitomycin /pharmacokinetics; delayed-action preparations / pharmacokinetics; menbranae /pharmacokinetics

(上接第 116 页)

with 0.3702 ± 0.2436 in control ($P < 0.05$). However, 6 of 9 cells tested decrease their C-ED following G application. The mean integral value of NCCVF decreased from 0.3014 ± 0.1944 to 0.2073 ± 0.1495 ($P < 0.05$). These studies suggest that C-ED can be modulated by Ach. The suppression and enhancement effects of Ach may be predominantly mediated through muscarinic and nicotinic receptors, respectively. It also suggests that Ach may modulate the pain processing in the cerebral cortex level.

Subject headings somatosensory cortex; nerve fibers; acetylcholine receptor; cholinergic/antagonists and inhibitors; electrophysiology