

微电泳 5-羟色胺和灭吐灵对大鼠 体感皮质单位放电的影响^①

陈钟伦^② 刘甘泉 姚愈忠 陈培熹

(中山医科大学生理学教研室; 广州, 510089)

提 要 用 Wistar 大鼠在氨基甲酸乙酯麻醉下研究微电泳 5-羟色胺(5-HT)和 5-HT₄ 受体选择性激动剂灭吐灵对大脑皮质第一体感区(S I 区)自发单位放电(S I-SUD)和诱发单位放电(S I-EUD)的影响。用计算机分别作放电间隔均值(ISI)和标准化互协方差函数(NCCVF)分析和统计学处理。结果表明:①5-HT 对部分 S I-SUD 单位有抑制或易化影响,其中 5~20 nA 时,只出现抑制影响;40~160 nA 时有抑制或易化影响,抑制的例数较多。②微电泳 5-HT 5~20 nA 时,对 S I-EUD 单位无明显影响;40~160 nA 时对部分 S I-EUD 单位有抑制或易化的影响,抑制例数较多。③在 5-HT 抑制单位,单独或同时微电泳 5-HT 和灭吐灵均能抑制 S I-SUD 和 S I-EUD,且给药组之间无显著性差异,提示 5-HT₄ 受体可能与 5-HT 抑制作用有关。

主题词 血清素/生理学; 甲氧氯普胺/拮抗剂和抑制剂; 躯体感觉皮质/生理学; 受体,血清素/生理学; 电生理学

中图分类号 R338.8

大脑皮质有广泛的 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)能神经纤维投射^[1]。5-HT 对神经元活动的影响非常复杂,其影响规律及机制至今还未清楚^[2~4]。5-HT₄ 受体存在于许多组织(包括脑组织)中^[5],它对大脑皮质 S I 区单位放电的影响尚未见报道。探讨 5-HT 对 S I 区单位放电的影响以及 5-HT₄ 受体在其中的作用,对进一步阐明大脑皮质的活动规律以及 5-HT 的作用机制有重要的意义。

1 材料和方法

1.1 动物及处理

实验用 Wistar 大鼠,体重 210 g ± 20 g ($\bar{x} \pm s$),雌雄不限。用 20%氨基甲酸乙酯麻

醉(1 g/kg,腹腔注射)。将头固定在脑立体定位仪上,开颅,暴露一侧大脑皮质 S I 区,滴适量石蜡油。分离对侧隐神经,放置刺激电极,将周围皮肤制成皮兜,注入石蜡油保护神经。动物肛温维持在 37 °C ± 1 °C。

1.2 刺激神经方法

在观察 S I-EUD 时,用 SEN-7103 型电子刺激器(日本光电公司产)发出单个或 2 个方波电脉冲(经隔离器输出)刺激隐神经。方波波宽 0.2 ms,频率 0.5 Hz,强度 2.5~4.5 mA。

1.3 记录和微电泳方法

用尖端直径 5~12 μm 的 7 管玻璃微电极的中心管(2 mol/L NaCl 4~14 MΩ)记录皮质单位放电。以颅骨矢状缝和冠状缝交叉点为零点,取 AP 0~2.5 mm, LR 0.5~3

① 本课题由 CMB 资助;

② 第一作者,男,1948 年出生,讲师,国内访问学者,广东药学院生理学教研室(广州市海珠区宝岗,邮政编码 510220)

mm 为记录部位。用 PF5-48 型,微电极操纵器(日本光电公司产)将微电极插入皮质内。单位放电信号经 MEZ-8201 型微电极放大器送入 V-212 型示波器(日本 NITACHI DEMSHI, LTD 产)上线观察,同时输入到 CKQ-1 型窗口鉴别器(蚌埠无线电研究所产)。鉴别情况在示波器下线显示,窗口鉴别器的窗内输出放电信号与刺激器发出的时间信号并行送入 Apple II 型计算机作初步处理后储存于磁盘。

微电极的药物管分别灌注 0.04 mol/L 5-羟色胺(serotonin, 美国, Sigma 产)和 0.03 mol/L 灭吐灵(metoclopramide, 美国, Sigma 产)。对照管灌注 0.165 mol/L 氯化钠。pH 值均为 4.0 ± 0.5 。微电泳时,药物管用正电流,对照管给与极性相反、电流强度相等的平衡电流,以保证微电极尖端下电势为零。各药物单独微电泳时间均为 2 min,两次微电泳之间间隔 4~10 min。微电泳间歇期,药物管与对照管均施加 5~10 nA 的滞留电流。

1.4 结果处理和统计分析

在 Apple II 型微电脑对 SI-SUD 资料作放电频率直方图以及微电泳前、微电泳时和微电泳后各 1 min 的放电间隔(ISI)分析。对 SI-EUD 资料作放电阵列图和标准化互

协方差函数(NCCVF)分析^[6,7],分别测定微电泳前、微电泳时和微电泳停止后各 1 min SI-EUD 的潜伏期、时程、NCCVF 积分值以及标准差,并打印出 NCCVF 图和积分值直方图。按照文献提出的标准来判断放电单位对药物的反应性质^[6,7],以 ISI 均值变化率或 NCCVF 积分值变化率的绝对值 $\geq 20\%$ 为用药后有明显变化的标准。变化率计算公式如下:变化率 = [(微电泳时的值-微电泳前的值) ÷ 微电泳前的值] × 100%。然后进一步作微电泳前和微电泳时 ISI 均值、ISI 均值变化率、NCCVF 积分值和 NCCVF 积分值变化率的自身配对 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为有显著性差异的界限。

2 结 果

2.1 不同剂量 5-HT 对 SI-SUD 的影响

不同剂量 5-HT 对 SI-SUD 单位的影响见表 1。在检查的 124 例中,55 例对 5-HT 无明显反应。在有反应的 69 例中,5~20nA 的 5-HT 只表现为抑制作用($n=11$),40~160nA 的 5-HT,可以为抑制作用($n=40$)或兴奋作用($n=18$),以抑制为主。在 5-HT 抑制单位中,当剂量增大时,SI-SUD 受抑制的程度也增大,呈量效关系(图 1)。

表 1 微电泳 5-HT 对 SI-SUD 单位的影响

电流剂量 ¹⁾	例数(<i>n</i>)	抑 制		兴 奋		无明显变化	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
5	17	3	17.6	0	0	14	82.4
20	19	8	42.1	0	0	11	57.9
40	28	10	35.7	5	17.9	13	46.4
80	35	20	57.1	8	22.9	7	20.0
160	25	10	40.0	5	20.0	10	40.0
合 计	124	51	41.1	18	14.5	55	44.4

1)1/nA

2.2 不同剂量 5-HT 对 S I -EUD 的影响

不同剂量 5-HT 对 S I -EUD 单位的影响见表 2、图 2。5~20 nA 的 5-HT 对 S I -EUD 无明显影响(n=22); 40~160 nA 的

5-HT 对 59 例中的 31 例有明显影响,为抑制作用(n=24)或兴奋作用(n=27),以抑制作用为主。

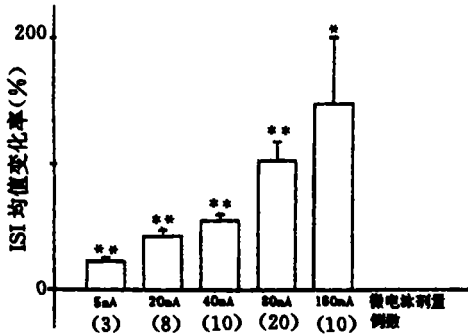


图 1 5-HT 抑制 S I -SUD 作用的量效关系与微电泳前比较, * :P<0.05, ** :P<0.01

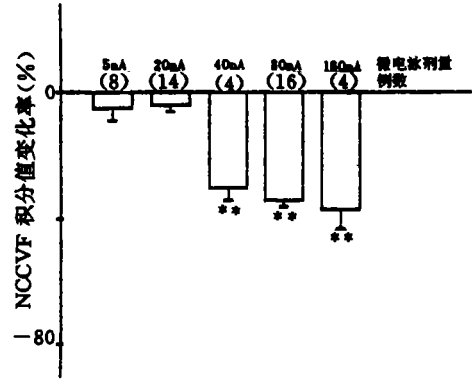


图 2 不同剂量 5-HT 对 S I -SUD 的抑制作用与微电泳前比较, * :P<0.05, ** :P<0.01

表 2 微电泳 5-HT 对 S I -EUD 单位的影响

电流剂量 ¹⁾	例数(n)	抑 制		兴 奋		无明显变化	
		n	%	n	%	n	%
5	8	0	0	0	0	8	100.0
20	14	0	0	0	0	14	100.0
40	12	4	33.3	1	8.3	7	58.3
80	38	16	42.1	4	10.5	18	47.4
160	9	4	44.4	2	22.2	3	33.3
合 计	81	24	29.6	7	8.6	50	61.7

1)I/nA

2.3 灭吐灵与 5-HT 抑制 S I -SUD 作用的相互关系

(1)8 例实验中,单独微电泳 5-HT (80 nA)或灭吐灵(80 nA)时,S I -SUD 的 ISI 均值均明显增加,ISI 均值变化率分别为 80.5%±59.5%(P<0.01)和 68.2%±44.6%(P<0.01);先微电泳 5-HT,再同时微电泳灭吐灵时,ISI 均值变化率为 219.1%±233.7%(P<0.05)。(2)另 8 例实验中,单

独微电泳 5-HT(80 nA)或灭吐灵(80 nA)时 ISI 均值都明显增加,ISI 均值变化率分别为 95.3%±60.8%(P<0.01)和 71.4%±38.5%(P<0.01);先微电泳灭吐灵,再同时微电泳 5-HT 时,ISI 均值变化率为 148.7%±156.8%(P<0.05)。以上各给药组之间的组间检验均无显著性差异(P>0.05)(表 3)。提示,5-HT 和灭吐灵可能作用于相同的 5-HT 受体亚型对 S I -SUD 起抑制作用。

表3 灭吐灵与5-HT对S I-SUD的ISI均值(t/ms)抑制作用的相互影响($\bar{x}\pm s$)

组别	微电泳前	微电泳时	变化值	变化率(%)
1. 先微电泳5-HT组($n=8$)				
5-HT	523±211	903±318	380±197 ¹⁾	80.5±59.5 ^{1),3)}
灭吐灵	549±267	925±494	376±303 ¹⁾	68.2±44.6 ^{1),3)}
5-HT+灭吐灵	523±232	1671±1220	1148±1123 ²⁾	219.1±233.7 ^{2),3)}
2. 先微电泳灭吐灵组($n=8$)				
灭吐灵	646±266	1071±488	425±270 ¹⁾	71.4±38.5 ^{1),3)}
5-HT	607±242	1071±198	464±124 ¹⁾	95.3±60.8 ^{1),3)}
灭吐灵+5-HT	608±233	1504±993	896±918 ²⁾	149.7±156.8 ^{2),3)}

1)与微电泳前比较, $P<0.01$; 2)与微电泳前比较, $P<0.05$; 3)各组间比较, $P>0.05$

2.4 灭吐灵与5-HT抑制S I-EUD作用的相互关系

(1)4例实验中,单独微电泳5-HT(80 nA)或灭吐灵(80 nA)时,S I-EUD的NCCVF积分值均明显减少,NCCVF积分值变化率分别为-27.1%±6.3%($P<0.01$)和-34.3%±12.7%($P<0.05$);先微电泳5-HT,再同时微电泳灭吐灵时,NCCVF积分值变化率为-37.8%±8.7%($P<0.01$);(2)另6例实验中,单独微电泳灭吐灵(80 nA)

或5-HT(80 nA)时,S I-EUD的NCCVF积分值均明显减少,NCCVF积分值变化率分别为-33.0%±1.2%($P<0.01$)和-31.2±8.0%($P<0.01$);先微电泳灭吐灵,再同时微电泳5-HT时,NCCVF积分值变化率为-44.0%±9.7%($P<0.01$)。以上各给药组之间的组间检验均无显著性差异($P>0.05$) (表4)。提示,5-HT和灭吐灵可能作用于相同的5-HT受体亚型对S I-EUD起抑制作用。

表4 灭吐灵与5-HT对S I-EUD的NCCVF积分值抑制作用的相互影响($\bar{x}\pm s$)

组别	微电泳前	微电泳时	变化值	变化率(%)
1. 先微电泳5-HT组($n=4$)				
5-HT	0.888±0.263	0.641±0.217	-0.228±0.059 ¹⁾	-27.1±6.3 ^{1),3)}
灭吐灵	0.840±0.227	0.551±0.189	-0.289±0.138 ²⁾	-34.3±12.7 ^{1),3)}
5-HT+灭吐灵	0.802±0.357	0.488±0.206	-0.314±0.189 ²⁾	-37.8±8.7 ^{1),3)}
2. 先微电泳灭吐灵组($n=6$)				
灭吐灵	0.870±0.386	0.558±0.188	-0.312±0.231 ²⁾	-33.0±1.2 ^{1),3)}
5-HT	0.774±0.203	0.541±0.184	-0.233±0.054 ¹⁾	-31.2±8.0 ^{1),3)}
灭吐灵+5-HT	0.890±0.374	0.493±0.198	-0.397±0.218 ¹⁾	-44.0±9.7 ^{1),3)}

1)与微电泳前比较, $P<0.01$; 2)与微电泳前比较, $P<0.05$; 3)各组组间比较, $P>0.05$

3 讨论

Krnjevic等^[2]观察到微电泳5-HT可抑制猫大脑皮质诱发单位放电。Roberts等^[3]

发现大脑皮质神经元约30%可被5-HT兴奋。Bindman等^[4]报道,在麻醉动物中,经常可以观察到5-HT抑制大脑皮质神经元放电。本实验观察到,微电泳5-HT能影响大鼠大脑皮质部分S I-SUD和S I-EUD单位活

动,可以为抑制作用,也可以为易化作用,均以抑制作用为主。

Bockeart 等^[5]报道,灭吐灵能选择性激动 5-HT₁ 受体。本实验观察到,5-HT 与灭吐灵对某些自发和诱发放电单位都有明显的抑制作用,而且给药组之间无显著性差异,提示 5-HT 和灭吐灵可能通过相同的 5-HT₁ 受体对 S I -SUD 和 S I -EUD 产生抑制作用。这在过去的文献中尚未见报道。Bockeart 等^[5]又指出,脑内 5-HT₁ 受体存在于突触前,5-HT₁ 受体与腺苷酸环化酶偶联,导致 cAMP 升高并激活蛋白激酶 A,从而使 K⁺ 通道关闭,细胞膜去极化。这个去极化反应开放了电压敏感性 Ca²⁺ 通道,升高细胞内 Ca²⁺ 离子,可引起某些递质的释放增加。结合本实验结果,我们推测,大鼠大脑皮质 S I 区某些自发或诱发放电单位的突触前神经元膜上可能存在有 5-HT₁ 受体,5-HT 和灭吐灵抑制自发或诱发放电单位活动的途径可能有两个:①激动突触前抑制性神经元上的 5-HT₁ 受体,引起抑制性递质释放增加,从而抑制突触后神经元的自发诱发放电活动;②激动突触前兴奋性神经元上的 5-HT₁ 受体,产生去极化的突触前抑制,使兴奋性递质释放减少,也可以抑制突触后神经元的自发或诱发放电活动。

参 考 文 献

- 1 韩济生,任民峰,汤 健,等. 中枢神经介质概论. 第 2 版. 北京:科学出版社,1980. 50~57
- 2 Krnjevic K, Phillis JN. Actions of certain amines on cerebral cortical neurones. *Br J Pharmacol*, 1963, 20: 47
- 3 Roberts MHT, Straughan DW. Excitation depression of cortical neurones by 5-hydroxytryptamine. *J Physiol*, 1967, 193: 269
- 4 Bindman L, Lippold O. Possible transmitters in the cerebral cortex. In Bindman L Lippold O ed. *The neurophysiology of the cerebral cortex*. London: Edward Arnold (Publisher) Ltd, 1981. 149~164
- 5 Bockeart J, Fozard JR, Dumuis A, Clarke DE. The 5-HT₁ receptor: a place in the sun. *Trends Pharmacol Sci*, 1992, 13: 141
- 6 邵学思,陈培熹. 神经元放电活动的统计信号分析 I. 神经元放电活动的统计性质的描述. *生物物理学报*, 1988, 4(3): 251
- 7 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

(1994-12-06 收稿 1995-06-24 修回)

EFFECT OF MICROIONTOPHORETICALLY APPLIED 5-HYDROXYTRYPTAMINE AND METOCLOPRAMIDE ON UNIT DISCHARGES OF PRIMARY SOMATOSENSORY CORTEX IN RAT

Chen Zhonglun Liu Ganquan Yao Yuzhong Chen Peixi

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

The effects of microiontophoretic 5-hydroxytryptamine(5-HT, serotonin) and metoclopramide on spontaneous unit discharges (S I -SUD) and evoked unit discharges (S I -EUD) of primary somatosensory cortex in Wistar rats anesthetized with urethane were investigated.

ed. The results are as following: (1) Effects of 5-HT on S I -SUD can be inhibitory or facilitating. In 5~20 nA, only inhibitory effects are found; in 40~160 nA, both inhibitory and facilitating effects can be observed, and the major effect is inhibitory. (2) In 5~20 nA, no obvious effects of 5-HT on S I -EUD are found. In 40~160 nA, both inhibitory and facilitatory effects of 5-HT on S I -EUD can be observed, and the major effect is also inhibitory. (3) Microiontophoretic 5-HT or metoclopramide (agonist of 5-HT₄ receptor) could inhibit S I -SUD and S I -EUD in some neurons, and there is no obvious difference between the inhibitory effects of the two drugs. It is suggested that in some neurons the 5-HT₄ receptor might mediate the 5-HT inhibitory effects on S I -SUD and S I -EUD.

Subject headings serotonin/physiology; metoclopramide/antagonists and inhibitors; somatosensory cortex/physiology; receptors, serotonin/physiology; electrophysiology

· 新 成 果 ·

白内障摘除人工晶体植入术后角膜 散光的演变及其控制的研究

课题负责 刘奕志

(中山医科大学中山眼科中心, 广州, 510060)

该课题对手术源性散光进行了长期动态的观察, 确定了其峰值和平均自然回归量; 在此基础上, 术中分别运用手术角膜镜和 Terry 手术角膜计, 定性和定量地测量角膜散光, 调整切口缝合结扎的张力, 或术中采用经我们改良的巩膜瓣切口; 术后早期应用 Nd:YAG 激光、氩激光或刀片对高度循规性角膜散光者进行选择性的角膜缘缝线切断术, 并用线性回归的方法确定了每断一条缝线可减少 1.02 D 角膜散光这一数量关系。术后晚期在 Terry 手术角膜计的引导下, 对高度散光者采用弧形角膜切开方法处理。正由于在手术源性角膜散光产生和变化的三个主要环节研究上, 采用了定量的方法, 可有效地将其加以控制。本研究结果得到了国内外许多同行学者的承认, 1994 年获国家教委科技进步二等奖。

(陈丽芳)