

体感皮质浅层和深层诱发 单位放电的胆碱能调制

刘甘泉 姚愈忠 陈培熹

(生理学教研室)

摘要 用标准化互协方差函数(NCCVF)分析微电泳乙酰胆碱(Ach),阿托品(Atr)和六羟季胺(C_6)对刺激隐神经引起体感皮质(SI区)诱发细胞放电(ED)的影响,并比较浅层和深层细胞反应的差异。Ach抑制浅层(10/13)细胞的ED,易化深层(7/9)细胞的ED。Atr易化浅层(19/22)细胞的ED,抑制深层(10/19)细胞的ED。 C_6 抑制浅层(12/16)细胞的ED,易化深层(8/12)细胞的ED。Atr和 C_6 对(20/25)细胞的作用相反。实验结果表明Ach对ED既有易化作用,又有抑制作用,对浅层细胞以抑制作用为主,对深层细胞以易化作用为主。Ach的调制作用主要是通过毒蕈碱型乙酰胆碱受体(mAChR)来实现。皮层中可能还存在有抑制型和易化型的烟碱型乙酰胆碱受体(nAChR)。

关键词 乙酰胆碱;毒蕈碱型乙酰胆碱受体;烟碱型乙酰胆碱受体;体感皮质;诱发单位放电;隐神经;猫

中图分类号 R388.25

大脑皮质有许多胆碱能纤维和胆碱敏感细胞。Ach对皮质神经元自发放电活动的影响,主要是增强深层细胞的自发放电活动^[1-3],而抑制浅层细胞的自发放电活动^[4]。近年又发现哺乳动物大脑皮质中存在有毒蕈碱型乙酰胆碱受体(mAChR)和烟碱型乙酰胆碱受体(nAChR)及其亚型^[5,6]。为了探讨Ach在SI区感觉传入中的作用,本实验用微电泳方法研究Ach,Atr,和 C_6 对刺激隐神经引起SI区诱发细胞放电(ED)的影响。放电反应作标准化互协方差函数(NCCVF)分析^[8],并比较浅层和深层细胞反应的差异。

材料与方 法

动物与处理 实验用猫,体重2~3 kg。在1%氯醛糖(80mg/kg, i.v)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,在近中段放置刺激电极和记录电极,用石蜡油池保护神经以防干燥。开颅暴露对侧SI区,用3%琼脂封固暴露部分。作第四脑室脑脊液引流,以减小脑搏

动。在氯醛糖麻醉6 h后开始实验观察和记录,以减小麻醉药物的影响。此时静脉注射4%三碘季铵酚0.3~0.5 ml制动,并给予人工呼吸。动物肛温维持在 $38^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

刺激和微电泳方法 用中等强度的单个方波电泳冲连续刺激隐神经。刺激参数:主间隔2 s,波宽0.2 ms,强度15 V。玻璃多管微电极的中心记录管充灌2 mol/L NaCl (5~15 M Ω),药物注射用侧管分别充灌Ach (0.5 mol/L, pH 4), Atr (0.1 mol/L, pH 5)和 C_6 (2 mol/L, pH 5.5)。另一侧管充以0.165 mol/L NaCl,作施加平衡电流和对照用。各侧管电阻为20~50 M Ω 。微电泳注射电流为30~60 nA,注入时间为1~1.5 min。每次药物注入相隔2 min以上。不作药物注入期间给予5~10 nA的反向滞留电流。

记录和分析方法 微电极在推进器控制下垂直步进插入SI区皮层内记录刺激隐神经诱发的神经元放电活动。电极尖端在皮质内的深度由推进器的液晶显示器显示。神经元放电信号经微电极放大器放大,送入示波器观察,经

窗口鉴别器整形后输入微机数字化并贮存入软盘。实验后作 NCCVF 分析 (NCCVF 图和积分值) 及用药前后配对 *t* 检验。

结 果

在 S I 区共记录 44 个细胞的 ED 活动, 其中 23 个细胞位于皮质浅层 (1~1 000 μm), 21 个位于皮质深层 (1 001~200 μm)。用药前, 浅层和深层神经元 ED 的 NCCVF 积分值分别是 0.95 ± 0.42 和 0.97 ± 0.42, 两者无显著性差异 (*P* > 0.05)。

Ach 对 S I 区 ED 的影响 共观察 22 个神经元的 ED。Ach 使 10 个神经元的 ED 反应增强, 12 个神经元的 ED 反应减弱。10 个 Ach 易化细胞中 7 个位于皮质深层 (图 1)。12 个 Ach 抑制细胞中 10 个位于皮质浅层 (图 2)。表明 Ach 对 S I 区细胞的 ED 既有易化作用, 又有抑制作用。对浅层细胞以抑制作用为主, 对深层细胞以易化作用为主。

Atr 对 S I 区 ED 的影响 共观察 41 个细胞的 ED。Atr 使 28 个细胞的 ED 增强, 13 个细胞的 ED 减弱。28 个 Atr 易化细胞中 19 个位于浅层。13 个 Atr 抑制细胞中 10 个位于深层。提示 S I 区细胞可能存在有作用不同的两种 mAChR 亚型。抑制型 mAChR 主要分布在浅层细胞, 而易化型 mAChR 主要分布在深层细胞。

C₆ 对 S I 区 ED 的影响 共观察 28 个细胞的 ED。C₆ 使 12 个细胞的 ED 增强, 16 个细胞的 ED 减弱。12 个 C₆ 易化细胞中 8 个位于深层。16 个 C₆ 抑制细胞中 12 个位于浅层。提示 S I 区细胞也可能存在有作用不同的两种 nAChR 亚型。易化型 nAChR 主要分布在浅层细胞, 抑制型 nAChR 主要分布在深层细胞。

附表总结 Ach, Atr 和 C₆ 分别对 S I 区浅层和深层细胞 ED 的影响。

Atr 和 C₆ 对同一细胞 ED 的影响 在 25 个细胞先后微电泳 Atr 和 C₆, 两者对大部分细胞 (*n* = 20) 的 ED 影响相反; 即 Atr 起易化作用, C₆ 则呈抑制效应。反之亦然。但在小部 分细胞

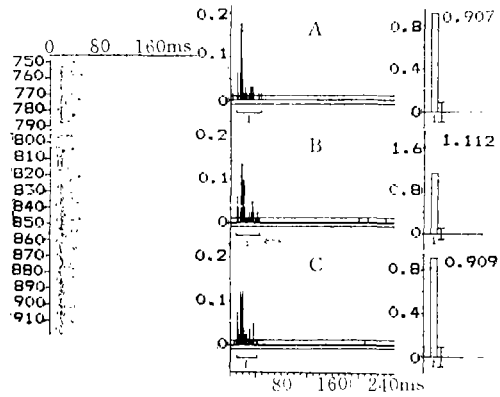


图1 Ach对深层细胞 ED 反应的易化作用

该皮质细胞深度为 1 389 μm。阵列图 (左): 纵座标为刺激同步信号序列, 横座标为刺激后时间。在刺激同步信号 810~840 微电泳注入 Ach 30 nA。NCCVF 图 (中): 纵座标为 NCCVF 值, 横座标为刺激后时间。A: Ach 作用前 (取样段为刺激同步信号 750~780); B: Ach 易化作用 (取样段为刺激同步信号 830~860); C: Ach 作用后 (取样段为刺激同步信号 870~900)。NCCVF 积分值直方图 (右): 各图分别为相应的 NCCVF 图中横线部分 ED 峰面积的积分。纵座标为 NCCVF 积分值。直方柱右侧竖线为 2.58S (SD)

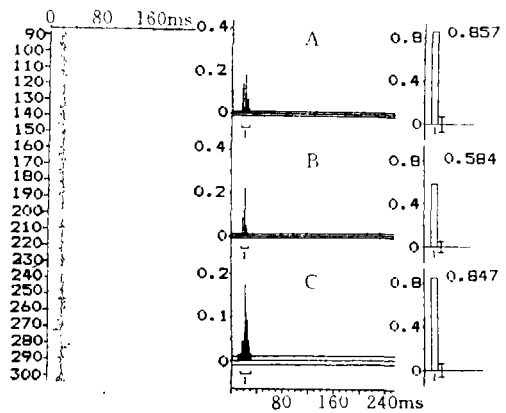


图2 Ach对浅层细胞 ED 反应的抑制作用

该皮质细胞深度为 110 μm。阵列图 (左): 在刺激同步信号 110~150 微电泳注入 Ach 60 nA。NCCVF 图 (中): A: Ach 作用前 (取样段为刺激同步信号 90~110); B: Ach 抑制作用 (取样段为刺激同步信号 110~140); C: Ach 作用后 (取样段为刺激同步信号 250~280)。NCCVF 积分值直方图 (右)。其余说明同图 1

(*n* = 5) 两者对 ED 的影响相同。提示 mAChR 和 nAChR 可能共存于同一神经元上, 而且在大多数神经元上两者的作用相反。

附表 体感皮质 ED 反应的胆碱能调制作用

	乙酰胆碱		阿托品		六烃季胺	
	易化	抑制	易化	抑制	易化	抑制
浅层	3	10*	19*	3*	4	12*
深层	7*	2	9*	10*	8*	4

注:表中数字为细胞数,*该组细胞ED反应的NCCVF积分值用药前后配对t检验有非常显著差异($P < 0.01$)

讨 论

Krnjevic'等^[1,3]曾报道微电泳ACh主要使大脑皮层深层细胞的自发放电活动增强,而Phillis等^[4]报道ACh使浅层细胞的自发放电活动减弱。本实验的结果进一步表明,ACh对SI区细胞ED活动既有易化作用,又有抑制作用:对浅层细胞以抑制作用为主,对深层细胞以易化作用为主。

近年,Donoghue等^[9]研究ACh对鼠SI区诱发放电的影响中发现,ACh对浅层和深层细胞的主要作用都是易化作用。他们以刺激后时间直方图(PSTH)的最大放电频率作指标。PSTH的峰值受多种因素的影响,例如平均放电率的改变等。Donoghue等在实验中也注意到ACh同时也改变了神经元的自发放电活动。因此,平均放电率的改变有可能掩盖诱发放电的变化。此外,最大放电频率的变化并不能准确地反映一定时间内诱发放电数目的改变。本实验用NCCVF分析ED反应,消除了平均放电率改变的影响,而且以某一时间段的积分值表示发生ED机率的大小,从而能较准确地分析神经元的时锁反应活动^[8]。另一原因可能是动物种属不同和皮层深、浅层划分上的差异。

本实验观察到,用mAChR阻断剂Atr后,浅层大部分细胞(19/21)的ED反应加强,而用nAChR阻断剂C₆后,浅层大部分细胞(12/16)的ED反应减弱。表明ACh对浅层细胞的抑制作用主要是通过mAChR来实现的,而易化作用可能是通过nAChR。然而,Atr却使深层大多数细胞(10/19)的ED反应减弱,C₆使深层大多数细

胞(8/12)的ED反应加强。表明ACh对深层细胞的易化作用主要是通过mAChR₁来实现的,而抑制作用可能是通过nAChR。因此,在实现ACh对SI区浅层细胞ED反应的抑制作用和深层细胞ED反应的易化作用中,mAChR起着主导作用。它在浅层和深层的作用不同,可能是两种mAChR亚型。抑制型mAChR主要分布在浅层细胞,易化型mAChR主要分布在深层细胞。同时,我们的实验还提示在同一细胞上可能同时存在有mAChR和nAChR,这也支持Schroeder等^[7]发现这两种受体在人的皮质神经元上共存的现象。并且在SI区大多数细胞,这两种受体的作用相反,因而使ACh对皮层细胞活动的调制作用更复杂和更精细。

本文刺激隐神经所用的强度可引起A类和C类纤维的传入。但是在A类和C类纤维同时传入的情况下,A类纤维传入抑制了C类纤维传入的诱发电反应,大脑皮层只表现为对A类纤维传入发生诱发电反应^[10],故本文记录的ED可看作是A类纤维传入引起的诱发电反应。作者将另文报道ACh对C类传入诱发电反应的影响。

参 考 文 献

1. Krnjevic' K, Phillis JW. Acetylcholine-sensitive cells in the cerebral cortex. *J Physiol* 1963;166:296
2. Crawford JM, Curtis DR. Pharmacological studies on feline Betz cells. *J Physiol* 1966;186:121
3. Krnjevic' K, et al. The mechanism of excitation by acetylcholine in the cerebral cortex. *J Physiol* 1971;215:247
4. Phillis JW, York DH. Cholinergic inhibition in cerebral cortex. *Brain Res* 1967; 5:517
5. Mash DC, Mesulam M-M. Distribution of muscarinic receptor subtypes within architectonic subregions of the primate cortex. *TIPS* 1988,suppl:89
6. Harfstrand A, et al. Distribution of nicotinic receptors in the rat tel-and dienc-

- ephalon: A quantitative receptor autoradiographical study using [^3H] acetylcholine, [$\alpha^{125}\text{I}$] bungarotoxin and [^3H] nicotine. *Acta Physiol Scand* 1988;132:1
7. Schroeder H, et al. Human cortical neurons contain both nicotinic and muscarinic acetylcholine receptors: An immunocytochemical double-labeling study. *Synapse* 1989;4(4):319
8. 邵学恩, 陈培熹. 神经元放电活动的统计信号分析. I. 神经元放电反应的定量分析. *生物物理学报* 1988;4(4):322
9. Donoghue JP, Carroll KL. Cholinergic modulation of sensory response in rat primary somatic sensory cortex. *Brain Res* 1987; 408:367
10. 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
(1992-09-01收稿 1992-12-29修回)

CHOLINERGIC MODULATION OF EVOKED UNIT DISCHARGES IN SUPERFICIAL AND DEEP LAYERS OF PRIMARY SOMATIC CORTEX IN CATS

Liu Ganquan Yao Yuzhong Chen Peixi

(Department of Physiology)

The evoked unit discharges (ED) of primary somatic cortex (S I) elicited by stimulation on the saphenous nerve were analysed with normalized cross-covariance function (NCCVF). The effects of acetylcholine (Ach), atropine (Atr) and hexamethonium (C_6) iontophoretically applied on the ED were examined and the response characteristics of cells in superficial and deep layers were compared. Ach suppressed the ED response in 10 of 13 units in superficial layer, but enhanced the ED response in 7 of 9 units in deep layer. Atr showed enhancement effect in 19 of 22 units in superficial layer, but showed inhibitory effect in 10 of 19 units in deep layer. When C_6 was applied, response suppression was observed in 12 of 16 units in superficial layer, whereas response enhancement was observed in 8 of 12 units in deep layer. In twenty of 25 units observed, the effect of Atr was opposite to the one of C_6 in the same cell. These studies suggest that the predominant modulation effect of Ach on ED is a facilitation in deep layer and a suppression in superficial layer. These modulation effects of Ach are mainly mediated by mAChR. The inhibitory and facilitating nAChR I may be also present in S I.

Key words acetylcholine; muscarinic receptor; nicotinic receptor; somatosensory cortex; evoked unit discharge; saphenous nerve; cat